جامعة قاصدي مرباح ورقلة

كلية العلوم والعلوم الهندسية

قسم هندسة الطرائق

الرقم التسلسلي .....
.....

مذكرة لنيل شهادة الماجستير في الكيمياءالعضوية

تخصص : تصنيع عضوي وفيتوكيمياء

من إعداد الطالب : سنيقرة موسى

بعنوان :

تصنيع بعض مشتقات الأوكساسيلين ودراسة فعاليتها البيولوجية على بعض أنواع البكتريا

نوقشت يوم :14 /2008/04

أمام لجنة المناقشة المكونة من :

د. لعجال سقني	أستاذ محاضر بجامعة ورقلة	رئيسا
د. دندوقي حسين	أستاذ محاضر بجامعة ورقلة	مناقشا
د.غراف نور الدين	أستاذ محاضر بجامعة ورقلة	مناقشا
أ.د. صخري لخضر	أستاذ التعليم العالي بجامعة ورقلة	مؤطرا

تشكرات

الحمد لله أولا و أخيرا

الذي أعانني و وفقني لإنجاز هذا العمل

كما أخص بالشكر الأستاذ الشرف الدكتور لخضر صخري الذي كان له الفضل في إنجاز هذا العمل بفضل نصائحه و توجيهاته كما لا أنسى كل أساتذتي الذين درسوني من المرحلة الإبتدائية حتى المرحلة الجامعية و أخص بالذكر الأستاذ نجيمي محمد السعيد و الدكتور دندوقي حسين و الدكتور سقني لعجال و الأستاذة رحيم أم الخير الذين كانوا عونا لي في إنجاز هذا العمل .

و أوجه شكري الخالص لأستاذي الدكتور الوناس علي الذي قام بإجراء التحاليل الطيفيةفي مخبر جامعة Remmes كلية الكيمياء بفرنسا .

كما أتقدم بجزيل الشكر و عظيم الإمتنان لكل أعضاء لجنة التقييم ،

على تشريفي بقبولهم تثمين و تقييم هذا العمل و هم : الدكتور سقني لعجال رئيسا و الدكتور دندوقي حسين مناقشا و الدكتور غراف نور الدين مناقشا و الأستاذ الدكتور صخري لخضر مؤطرا .

كما أتقدم بجزيل الشكر و عظيم الإمتنان لعائلتي

الذين كان لهم الدور الفعال في إنماء هذا العمل و أولهم أمي الكريمة وكل إخوتي وأخواتي .

كما لا أنسى أصدقائي الأعزاء الذين بادروا بكل ما يملكونه من جهد في مساعدتي

و تقديم يد العون وهم جميع أعضاء الدفعتين وأخص منهم قادري لزهر و دربد محمد الحبيب و شولة سميرة و بوقوادة مصطفى إلى كل هولاء و غيرهم كثيرين أقدم تشكراتي .

الملخص:

العدوى الفيروسية إبتداءا من أنفلونزا و الزكام العادي إلى الأمراض الأخرى الخطيرة مثل الهربس و الإيدز ، تمثل 60 % من الأمراض ، بخلاف الأمراض التي تسببها البكتيريا و تمثل 15 % .
و منذ الأربعينيات و الكيميائيون يطورون كل أنواع المضادات الحيوية التي لها فاعلية عالية (أدوية السولفات و البنيسيلين و الحلقات الرباعية ...إلخ) ، وهي مضادات فيروسية لها فاعلية عالية ضد العدوى البكتيرية ، لكن التقدم العلمي للمضادات الحيوية و يزداد صعوبة نتيجة تأقلم البكتيريا مع هذه المضادات .
و الهدف من هذا المشروع هو تحضير مشتقات الأوكساسيلين ، ثم إستعمالها كمضادات حيوية على البكتيريا ، و الإستراتيجية المتخذة هي تحضير هذه المركبات عن طريق تفاعلات الإستبدال الإلكتروفيلي :

- إدخال أملاح الديازو المحضرة من الأنيلين .
- إدخال مجموعة النيترو .
- إدخال مجموعة اليود .

و المركبات الناتجة تستخدم كمضادات حيوية جديدة .

Kay words : Oxacillin , azo salts , anti biotics , microbs

Abstract :

Viral infections-from influenza and the common cold to the more serious herpes infections and AIDS – account for about 60 of illnesses , contrasted with about 15 for bacterial infections .Since the 1940's , chemists have developed all sorts of highly effective antibiotics (sulfa drugs , penicillins , tetracyclines , and others) that are effective against bacterial infections , but progress with antiviral agents has been-antiviral agents has been slower and more difficult.
Our objective of this work is to synthesise some oxacillin derivatives , then use them as antibiotics on some sorts of microbs , the synthetic methodology , to prepare the oxacillin derivatives that will be used as antibiotics , via the electrophilic substitution :

- insertiong the diazo salts prepared from aniline .
- insertiong the nitro group .
- insertiong the iodo group .

on the oxacillin .

قائمة الأشكال

الشكل	الصفحة
الشكل-01- مخطط تحديد بنية البنيسيلين	13
الشكل-02- التفاعلات المسؤولة عن بناء الجدار الخلوي	25
الشكل-03- تثبيط التفاعلات عند إستخدام مضاد من عائلة البيتا لاكتامين	25
الشكل-04- تحديد قطر منطقة التثبيط	27
الشكل-05- خاصية الجذمة البكتيرية	27
الشكل-06- رسم تخطيطي لخلية بكتيرية	31
الشكل-07- مقارنة بين سالبة و موجبة الغرام	33
الشكل-08- طيف RMN للبنيسيلينيات	54
الشكل-09- ناتج تفاعل ديازوأوكساسيلين	69
الشكل-10- ناتجي يودوأوكساسيلين و نيتروأوكساسيلين	60
الشكل-11- ملخص نتائج التفاعلات	61
الشكل-12- قطر التثبيط للمركبات الناتجة	62

الفهـــــــــــرس

مقدمة..... 01

الفصل الأول :

1- المضادات المكروبية 04

1/1- العوامل الكيميائية 04

2/1- العوامل الفيزيائية 04

3/1- العوامل البيوكيميائية 05

2- طريقة الإنتاج 05

3- غاية الإستعمال 06

4- تصنيف المضادات الحيوية 06

5- التسمية 08

6- بعض أنواع البنيسيلين 08

7- البنية العامة للبنيسيلين 09

8- تحديد البنية الكيميائية 10

9- الخواص الكيميائية للبنيسيلينيات و نتائجها العملية 12

10- الحركية الدوائية للمضادات الحيوية 16

11- التأثيرات الجانبية للمضادات الحيوية 17

12- عمل المضادات الحيوية 18

13- أقسام المضادات الحيوية 18

14- الأوكساسيلين 19

15- طريقة عمل الأوكساسيلين..... 22

16- طريقة تحديد درجة حساسية المضادات الحيوية 23

الفصل الثاني :

1- مدخل 28
2- مفهوم البكتيريا 28
3- تصنيف البكتيريا 29
4- الفطريات 36
5- تعريف الفطريات 36
6- الأمراض الفطرية 37

الفصل الثالث :

1- مركبات الديازونيوم

1- تعريف 39
2- تحضير مركبات الديازو 39
3- خواص أملاح الديازو 39
4- تسمية مركبات الديازو 40
5- تفاعلات أملاح الديازونيوم 41

2- الإستبدال الإلكتروفيلي

1- مدخل 43
2- الآلية العامة لتفاعل الإستبدال الإلكتروفيلي 44
3- أثر المجموعات البديلة (الفاعلية و التوجيه) 49

الفصل الرابع :

تصنيع المركبات

1- مقدمة 52
2- طريقة تحضير آزوأوكساسيلين 52
3- تفاعلات التزاوج (آلية التفاعل) 52
4- التحليل الآلي للأوكساسيلين 54
5- إدخال مجموعة النيترو 56
6- إدخال مجموعة اليود 57

الفصل الخامس :

تجريب المركبات المحضرة على البكتيريا

1- مقدمة 58
2- الأدوات و المواد المستخدمة 58
3- ملخص النتائج..... 61
4- مناقشة النتائج 63

الخلاصة 65

المراجع 67

الملحق 72

مقدمة

مصطلح المضاد الحيوي Anti Biotique هو مصطلح إغريقي بمعنى ضد الحياة (ضد)Contre =Anti (الحياة) Lavie =Bios .

أستعملت الكلمة لأول مرة من طرف العالم Vullemin 1889 الذي عرفها بأنها الشروط التي تتوفر لكائن حي فيمكن له بها إبادة كائن حي آخر ليحتفظ هو بحياته و وجوده ولا يختلف تعريف فيولمين لهذه الظاهرة كثيرا عن التعريف الحالي و الذي ذكره واكسمان Waksman (1945) في أن هذه الظاهرة ترجع إلى أفراد مواد كيميائية ذات تأثير ضار بالمكروبات [1] .

و هي مواد أكتشفت أصلا في العضويات الدقيقة، إلا أنها أصبحت اليوم تنتج تركيبيا على نطاق واسع لاستخدامها في عضويات دقيقة أخرى أو وقف نموها . و يستفاد من هذه المضادات في معالجة الالتهابات الجرثومية أو الفطرية . وكان باستور Pasteur قد لاحظ تأثير هذه المضادات ، في حين أثبت الكسندر فليمنغ Fleming Alexander لأول مرة في عام 1929.

أن عفن (Penicillium notatum) ينتج مادة البنسلين القادرة على القضاء على بعض أنواع الجراثيم ، وفي عام 1940 تمكن العالمان فلوري Florey و شاين Chain من صنع كميات كافية من البنسلين . ويعتبر عزل الستربتوميسين من قبل واكسمان Waksman و الغراميسيدين من قبل دوبوس Dubos وعزل السيفالوسبورين ، من أهم الاكتشافات المبكرة للمضادات الحيوية المفيدة في معالجة الالتهابات التي تصيب الانسان ، و هناك العديد من أنواع المضادات الحيوية ، و البحث مازال مستمرا لإكتشاف المزيد منها ، و قد ساهمت المضادات الحيوية شبه التركيبية ، حيث الجزيء الأساسي معدل كيميائيا ، في زيادة مدى المواد الموجودة طبيعيا [2] .

في السنوات الأخيرة هناك عدد كبير من النشريات التي تتعلق بتحضير و إستخلاص مركبات فعالة بيولوجيا مثل

Comarins [3] , P-nitrophenylselenocyanate [4] , Pyrazoline-5-ones [5]

,

Thiacarbamides [6] , Substituted benzimidazole derivatives [7]

و مركبات أخرى .

إن الإستعمال المتتابع للمضادات الحيوية ينقص من فاعلية هذه الأخيرة تجاه البكتيريا وهذا لأن البكتيريا تتعرف على المضاد الحيوي و تكتسب مناعة ضده ، و لهذا جاءت فكرة إضافة مجموعات كيميائية للمضاد الحيوي مما يزيد من طول عمر فاعليته و توسع مجال فاعليته ، ولقد قمنا في هذه المذكرة بإدخال مجموعات الديازونيزم و النيترو و اليود على الأوكساسيلين .

وقد تضمن البحث خمسة فصول ، تطرقنا في الفصل الأول دراسة حول المضادات الحيوية من حيث الفاعلية والتصنيف ، و قد اعتبرنا التصنيف حسب الصيغة الكيميائية و درسنا البينيسيلينيات بصفة خاصة و بنيتها الكيميائية و مواقع الفاعلية فيها .
أما الفصل الثاني فقد تتحدثنا فيه على البكتيريا من حيث التصنيف و الأنواع و الشكل و درسنا فيه الفطريات

و تأثير المضادات الحيوية على هذه الميكروبات .

أما في الفصل الثالث فرأينا الإستبدال الإلكتروفيلي و خاصة على ذرة الكربون الغير مشبعة و رأينا خصائصه و شروطه و تحدثنا على مركبات الديازو و تطرقنا إلى طرق تحضيرها و خصائصها و إستعمالاتها . وفي الفصل الرابع رأينا تحضير مشتقات الأوكساسيلين التي إستخدمناها كمضادات للبكتيريا .
أما الفصل الخامس رأينا فيه إستخدام مشتقات الأوكساسيلين المحضرة كمضادات للبكتيريا و ذلك بإستخدام طريقة الإنتشار .

الفصل الأول

عموميات حول المضادات الحيوية

ظهر مصطلح الكيمياء العلاجية Chimiothérapie و الذي يعني إستخدام المركبات الكيميائية في العلاج و هذا في عام 1909 من قبل العالم بول ارليخ Paul Ehrlich و يعتمد هذا المصطلح على قاعدة أن كل مركب كيميائي يستخدم للمعالجة يجب أن يكون ضارا للبكتيريا و لا يشكل أي ضرر ضد خلايا الكائن الحي و قد أدت أبحاث ارليخ إلى علاج داء السيفليس و نال عن ذلك جائزة نوبل .

1- المضادات المكروبية:

إن معالجة الأمراض المعدية و المحافظة على الأطعمة و الأغذية والقضاء على الميكروبات الضارة بالبيئة ، يستلزم استعمال المضادات الميكروبية والتي تنقسم إلى ثلاثة أقسام :

1/1- العوامل الكيميائية Les agents chimiques :

1/1/ أ- المعقمات Sterilisates :

و هي تعمل على إزالة أو قتل الميكروبات أو تثبيط الفيروسات ، على المادة الحية ، دون إلحاق الضرر بها .

1/1/ ب- المطهرات Désinfectants :

وهي تعمل نفس عمل المعقمات لكن على مستوى الجمادات (لكونها سامة للكائن الحي) .

و هذين العاملين نتيجتهما لحظية ، أي أن فعلهما يكون على الميكروبات الموجودة لحظة العملية [8] .

2/1- العوامل الفيزيائية :

2/1/أ- الحرارة :

وهذا برفع درجات الحرارة للتعقيم مما يؤدي إلى موت المكروبات ، وتكون درجة الحرارة من 100 م° إلى180 م° ، كما لدرجات الحرارة المنخفضة تأثير كذالك فعندها تتوقف البكتيريا عن التكاثر فقط و تستعمل هذه الطريقة في حفظ المواد الغذائية و المعلبات .

2/1/ ب- الإشعاعات :

تستعمل الأشعة X و γ وUV في التعقيم فمثلا الأشعة X و γ تستخدم لتعقيم مواد التجميل و المواد الصيدلانية ، إضافة إلى تعقيم الأجهزة و الأدوات الجراحية .

و الأشعة UV تستعمل لتطهير غرف العمليات ، و الغرف المبردة لتخزين اللحوم ... الخ ، إضافة إلى استخدامها لتعقيم الأغلفة و العلب ، كتعقيم علب الحليب المبستر [8،9] .

3/1- العوامل البيوكيميائية (المضادات الحيوية) :

في عام 1928 لاحظ الباحث ألكسندر فلمنغ Fleming Alexander ، أن البكتيريا ستافيلوكوك دوري Staphylocoque doré ، التي قام بزرعها على جيلوز مغذي ، بالقرب من عفن بنيسيلينيوم Pénicillium الذي أفرز مادة أدت إلى قتل أو تثبيط نمو البكتيريا ، فهو الذي أكتشف بالصدفة أول مضاد حيوي و هو البنيسيلين Pénicilline ، الذي لم يستعمل إلا عام 1942 [8] ، و منذ ذلك الوقت تزايد إنتاج البنيسيلين من 1.8 كغ إلى حوالي 10 آلاف طن عام 1986 ، في بلد واحد كالولايات المتحدة [10] .

إن كلمة مضاد حيوي Antibiotique تعطي تعريفا واسعا جدا لهذه الزمرة من الأدوية فهي تشمل كل المواد المطهرة Antiseptique مع الأخذ بعين الاعتبار عدم سمية هذه المواد للجسم المضيف[1] . ولقد عرفها فاسكل كما يلي:

المضاد الحيوي هو كل مادة تعترض تطور نمو الجراثيم المرضية في العضوية الإنسانية ، بشرط أن تكون عديمة السمية بالمقدار العلاجي المستعمل لدى الإنسان و لكن مثل هذا التعريف يشمل أيضا المركبات الاصطناعية مثل السلفاميدات (مضادات الجراثيم) و الايزونيازيد ، ولهذا يجب أخذ الاعتبارين التاليين عند تعريف المضاد الحيوي [10] .

3/1/ أ- طريقة الإنتاج :

المضادات الحيوية هي مركبات تنتجها العضوية الحية كالفطور والبكتيريا والنباتات الراقية .

و تلعب الكائنات المجهرية دورا مميزا في إنتاج المضادات الحيوية ، فأكثر من 85 % من المضادات الحيوية التي تم التعرف عليها تكونها المكروبات ، فحوالي 60 % ينتج من الأكتينوميسيتات Actinomycétes (وهي جنس بكتيري له شكل خيطي مثل الفطريات) ، و 10 % من البكتيريا و 10% من الفطريات ، و الباقي من كائنات أخرى [10] .

3/1/ب ـ غاية الاستعمال:

يعتبـــر واكسمان أن المضادات الحيوية هي المواد التي تؤثر علـــى الجراثيم ، فتوقف نموها أو تبيدها ، ولكن بعد تعدد استعمال هذه المضادات الحيوية أصبح هذا التعريف يشمل أيضا التأثير على الفيروسات و الفطور الطفيلية وحتى التأثير على بعض الخلايا السرطانية عند الإنسان [11].

4/1- تصنيف المضادات الحيوية :

يمكـــننا أن نصنـــف المضادات الحيويـــة وفـــق خصائصها : الأصـــل ، الطبيعة الكيميائية ، طريقة عملها ، مجال عملها Specter d'action ، مكوناتها الكيميائية ، مقاومة البكتريا لها [11] .

و تصنف المضادات الحيوية حسب طبيعة بنيتها الكيميائية إلى :

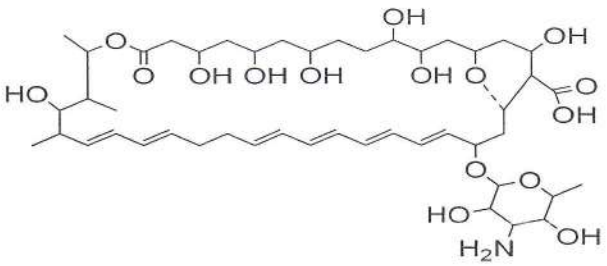
- مضادات حيوية تستعمل مضادة للفطور
- مضادات حيوية من طبيعة سكريدية
- التتراسيكلينات
- مضادات حيوية من طبيعة ببتيدية

1/4/1- مضادات حيوية تستعمل مضادة للفطور :

هي مضادات حيوية يملك أغلبها بنية Polyéne أي عدد من الروابط الثنائية المتناوبة و أهمها :

نيستاتين Nystatine :

وهو مسحوق أصفر بني قليل الإنحلال في الماء والكحول يؤثر على فطور تدعى Candida albicans يعطى عن طريق الفم بمقدار (1.5 – 5) مليون وحدة دولية في معالجة الفطور الجلدية ، ويستعمل أيضا بشكل مرهم .



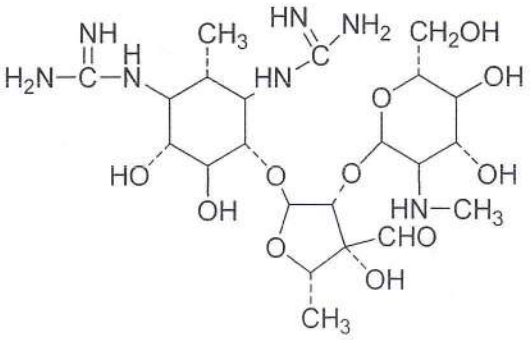
Nystatine

2/4/1- مضادات حيوية من طبيعة سكرية :

وأهمها الستربتوميسين و هو مضاد حيوي عزل من قبل Bugi-Schatz-Waksman عام 1944 من مزارع فطور Streptomyces griseus و يعطي عند تحلله بالإماهة ثلاثة أجزاء :

- ستربتيدين
- ستربتوز
- N-مثيل غلوكوزامين

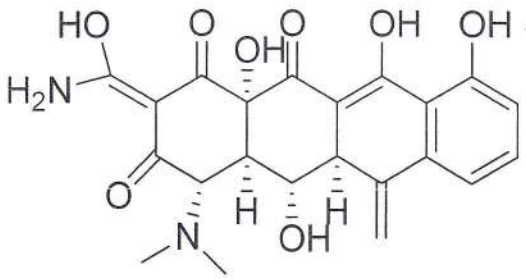
وترتبط هذه المركبات مع بعضها البعض بروابط إيثيرية ، و بنيته من الشكل :



Streptomycine

3/4/1- التتراسيكلينات :

تشمل هذه المجموعة عددا من المضادات الحيوية ذات بنية متشابهة مشتقة من نواة النفتاسين ، وكمثال نأخذ الميتاسكلين :



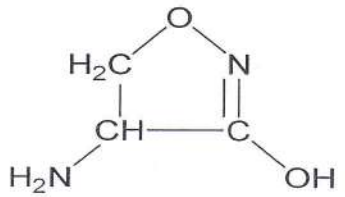
Metacycline

4/4/1 – مضادات حيوية من طبيعة ببتيدية :

وتنقسم إلى قسمين :

أ- مشتقات حموض أمينية :

و أهمها السيكلو سيرين وهو مضاد حيوي عزل لأول مرة عام 1955 من مزرعة فطور Streptomces orchidaceus يتمتع بطيف جرثومي واسع (الجراثيم الإجابية و السلبية الغرام) و يؤثر بشكل خاص على عصيات السل و الجذام و يمتلك البنية التالية : أمينو-4 إيزوكزازوليدون-3



أمينو-4 إيزوكزازوليدون-3

ب- مشتقات ببتيدية بسيطة :

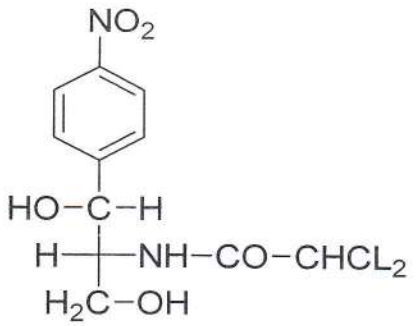
وتضم مجموعة البيتا لاكتامين (البنيسيلين و السيفالوسبورين)و الكلورامفينيكول

ب/1- الكلورامفينيكول :

هو مضاد كان يستحصل عليه من مزارع فطور Streptomyces Venzuelae ، أما حاليا فإنه يحضر بالإصطناع الكيميائي .

أما البنية العامة فهي مشتقة من دي كلور أسيتاميد المتبادل على الآزوت أي :

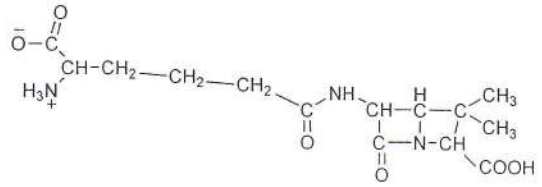
بارا نيتروفنيل-1 دي كلور أسيتاميد-2 بروبان دي أول-1 ،3



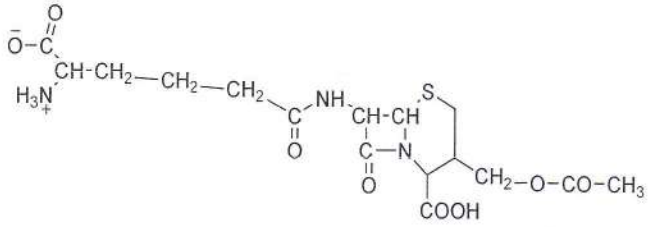
Chloramphenicol

ب/2- السيفالوسبورين :

هو مضاد حيوي ينتجه فطر Cephalosporium acremonium و قد عزل من قبل BROTZ عام 1945 ، ويوجد على نوعين N و C .



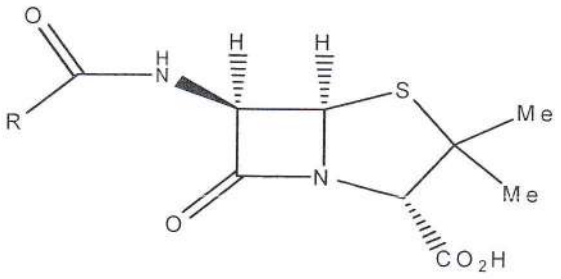
Cephalosporine –N



Cephalosporine – C

ب/3- البنيسيلين:

البنيسيلين مضاد حيوي أكتشف لأول مرة من قبل Fleming سنة 1929 و يستحصل عليه من بعض مزارع فطور البنيسيلينيوم و خاصة P. Chrysogenum و P-Notatum .



البنية العامة للبنيسلين pénicilline

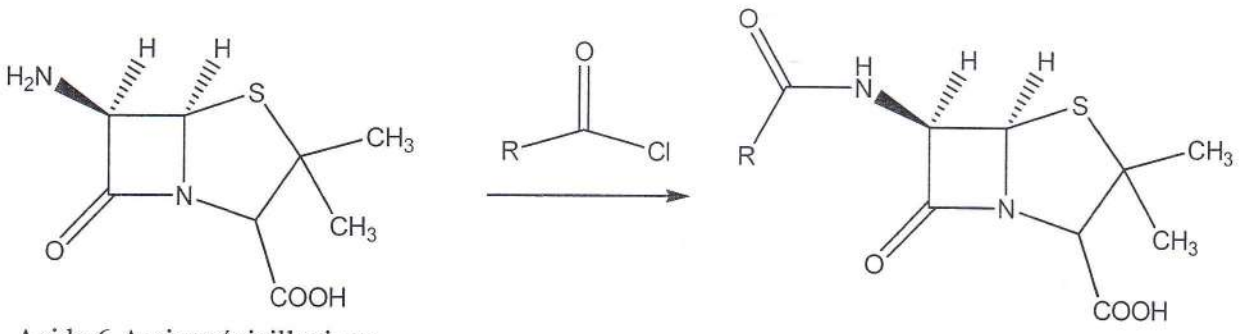
تحتوي هذه البنية على :

- بنية ببتيدية : وظيفتا أميد.
- حلقة ثيازوليدين Thiazolidine : تحمل وظيفة كاربوكسيل وجذري مثيل
- حلقة آزيتيدين Azétidine وتشتمل على :

وظيفةβ–لاكتام β–Lactame

ومجموعة أمينو –أسيل Amino-Acyle

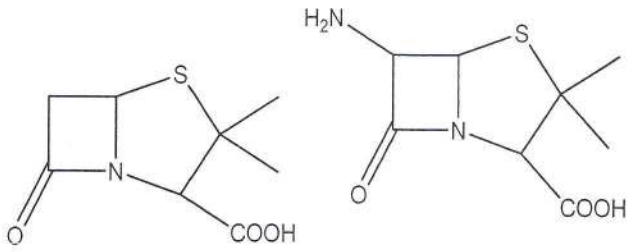
تختلف البنيسيلينيات عن بعضها البعض باختلاف طبيعة الجذر (R-CO-) الذي يرتبط بالوظيفة الأمينية على الكربون 6 .



Acide 6-Aminopénicillanique

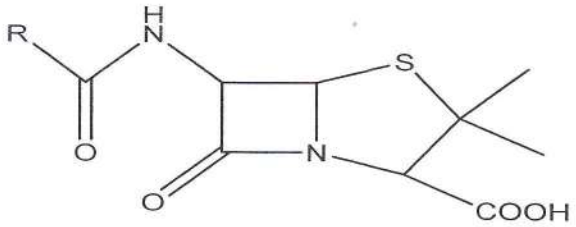
5/1– التسمية:

تشتق كل البنيسيلينيات من بنية حمض أمينو –6– بنيسيلانيك :



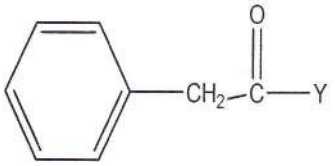
AC.Pénicillanique AC.Amino-6Pénicillanique

تدعى البنيسيلينيات بأسيل أمينو–6–بنيسيلانيك ، و بشكل عام يسمى البنيسيلين بوضع اسم الجذر (R) أمام كلمة بنيسيلين

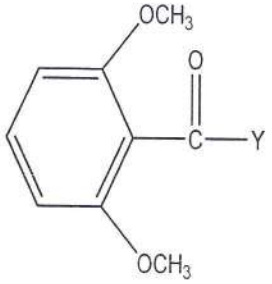


R-Pénicilline

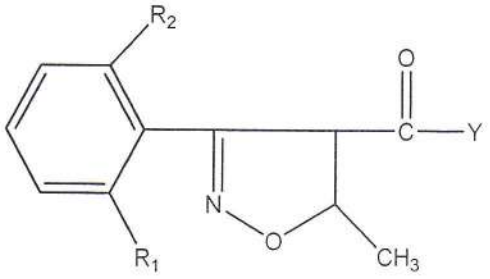
6/1- بعض أنواع البنيسيلين:



Benzylpénicilline(pénicillineG)

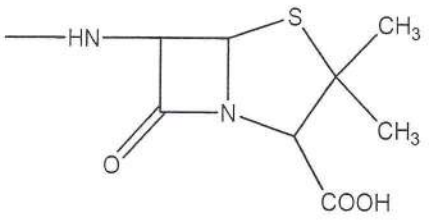


Méticilline



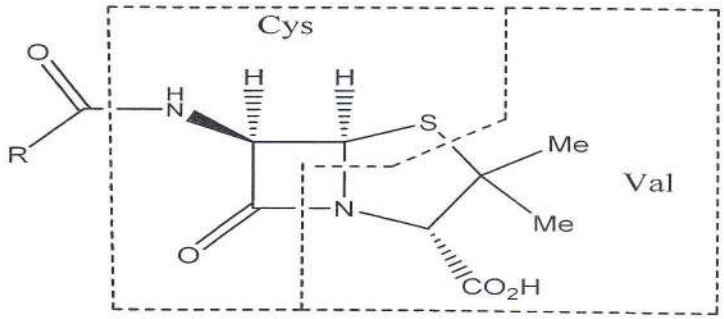
R1 = H, R2 = H Oxacilline
R1 = H, R2 = CL Cloxacilline
R1 = CL, R2 = CL Dicloxacilline
R1 = F, R2 = CL Flucloxacilline

Y =

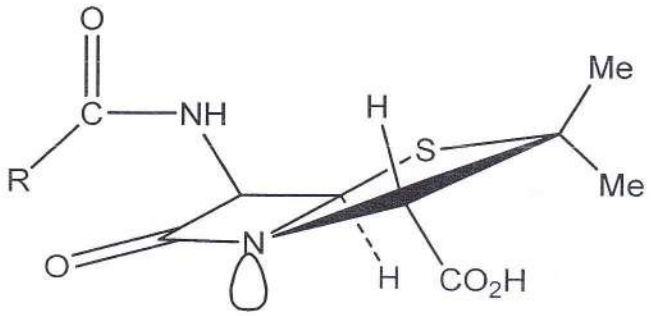


7/1- البنية العامة للبنيسلين:

يتكون البنيسلين من نضام ثنائي حلقي ، حلقة رباعية تحتوي على وظيفة ß لاكتام مع حلقة خماسية ثيازوليدين ومن ملاحظتنا لبنيته نجد أنه عبارة عن اتحاد حمضين أمنيين هما السيستيين cystéine و الفالين valine أما الشكل الفراغي للمركب فهو يشبه كتاب نصف مفتوح .



منشأ البنيسلين من الفالين و السيستيين

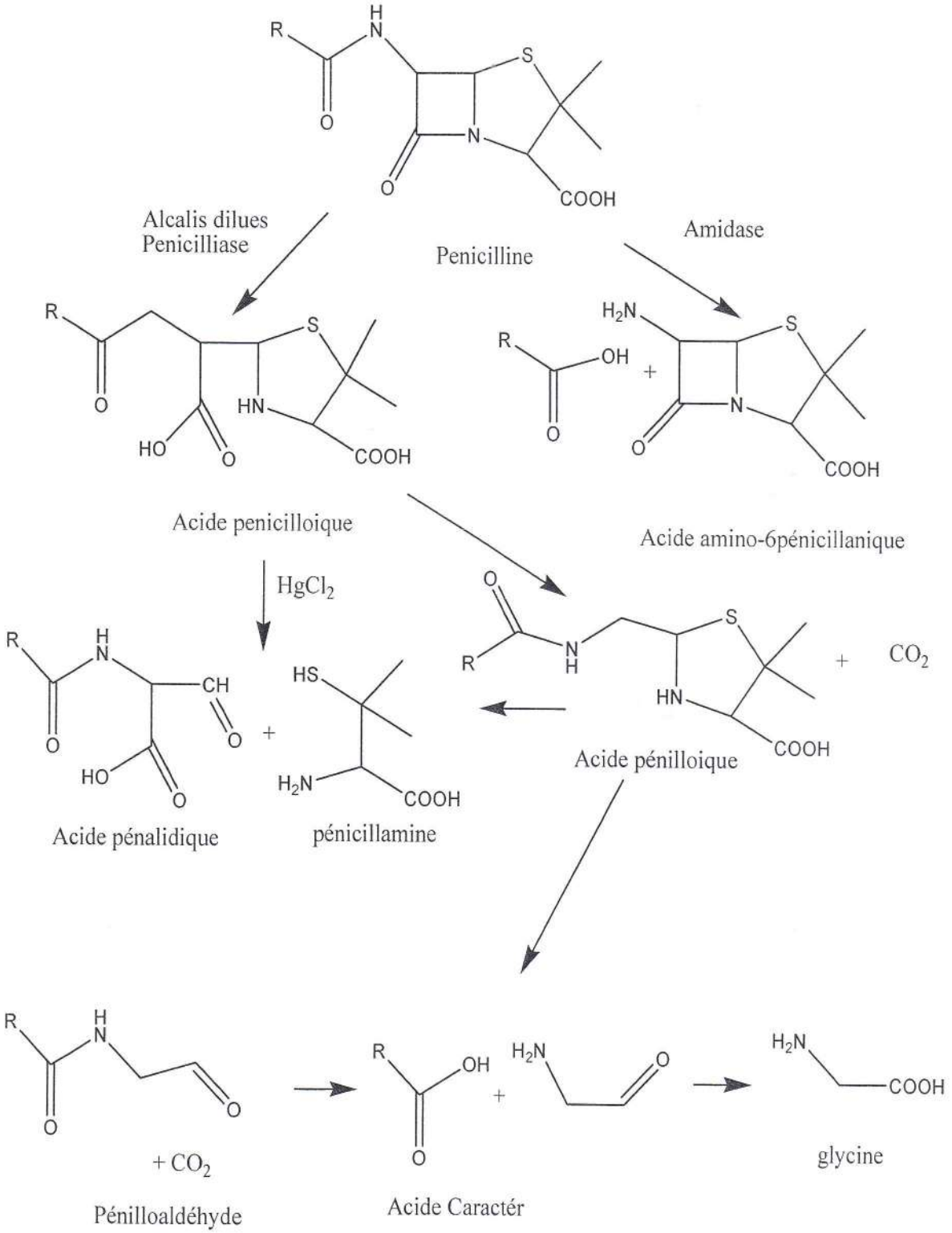


البنية الفراغية للبنيسلين

– السلسلة الجانبية R تتغير بحسب تغير مكونات وسط التخمر مثلا تم الحصول على pénicilline V بإضافة حمض فنوكسي أسيتيك كطليعة إلى وسط الزرع .

8/1- تحديد البنية الكيميائية للبنيسيلين :

لقد تم تحديد البنية للبنيسيلين بواسطة تفاعلات الإماهة Hydrolyse باستعمال الكواشف الكيميائية (حموض ، قلويدات ، كلور الزئبق) أو الإماهة بواسطة الخمائر (أميداز Amidase و البنيسيليناز Pénicillinase) كما هو موضح فيما يلي [11] .



الشكل -01- مخطط تحديد بنية البنيسيلين

9/1-الخواص الكيميائية للبنيسيلينيات ونتائجها العملية : [11]

1/9/1- خواص تعود إلى مجموعة الكربوكسيل COOH-:

البنيسيلينيات حموض عضوية ، قليلة الانحلال في الماء ، وتنحل في المحاليل العضوية ، تعطي البنيسيلينيات بواسطة هذه المجموعة :

أ- **أملاحا معدنية :**

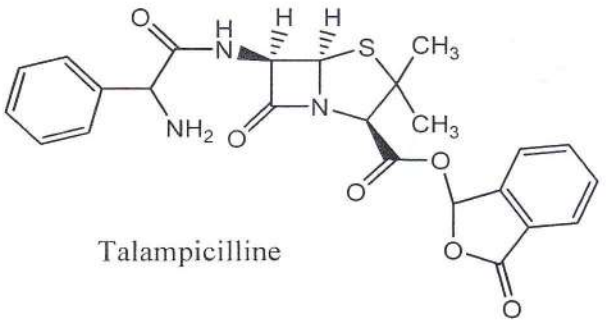
الأملاح القلوية تنحل في الماء وهي الشكل المستعمل في المداواة .

ب-**أملاحا أمنية :**

قليلة الانحلال في الماء ، تتميه ببطء في العضوية (تستخدم هذه الخاصية في البنيسيلينيات ذات التأثير المديد Pénicilline Retard) وتسمى البنيسلينيات الأمينية ومثال ذلك Extencilline.

ج- **أسترات :**

يتم في بعض الأحيان استخدام البنسيلينات على شكل أسترات مما يساعد على امتصاصها في بعض المناطق التي لا يمكن للبنسلين أن يجتازها بشكله الطبيعي و مثال ذلك Talampicilline.



Talampicilline

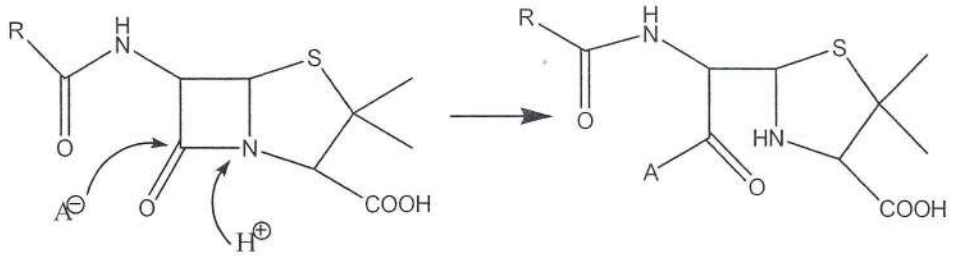
2/9/1- خواص تعود الى حلقة β-لاكتام :

إن سهولة إماهة هذه الحلقة وإنفتاحها تحدد الخواص الكيميائية وطريقة استعمال أنواع البنيسيلين عامة .

إن إنفتاح حلقة β-لاكتام ينتج بتأثر الكواشف الكيميائية المحبة للنواة Nucléophiles والمحبة للإلكترونات Electrophiles .

أ- تأثير الكواشف المحبة للنواة

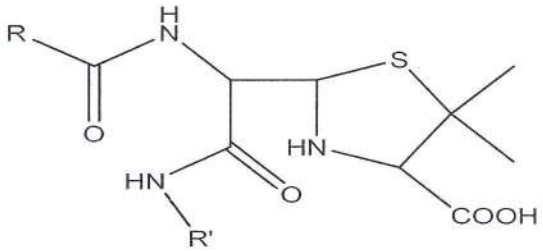
إن كل البنيسيلينيات حساسة بشكل قوي لتأثير الكواشف المحبة للنواة , حيث يتم التفاعل على الشكل التالي :



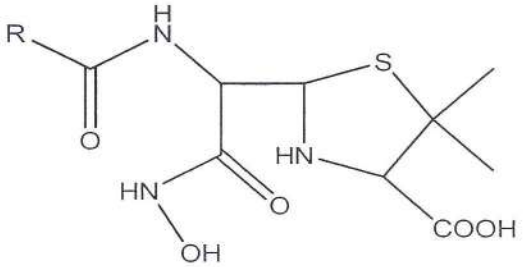
فبتأثر القلويدات OH^- في وسط مائي وبالدرجة العادية من الحرارة تحدث الإماهة بسرعة وبشكل كامل ويتحول البنيسيلين إلى بنيسيلوات قلوية Pénicilloates alcaline وهي غير فعالة حيويا.

وبتأثير الكحولات القلوية $R\text{-}CH_2\text{-}ONa$ يعطي البنيسيلين أسترات لحمض البنيسيلوئيك وهي غير فعالة حيويا .

و بتأثير الأمينات يعطي البنيسيلين أميدات حمض البنيسيلوئيك وأن بعض هذه الأميدات ذات ألوان خاصة تستخدم في المعايرة اللونية .



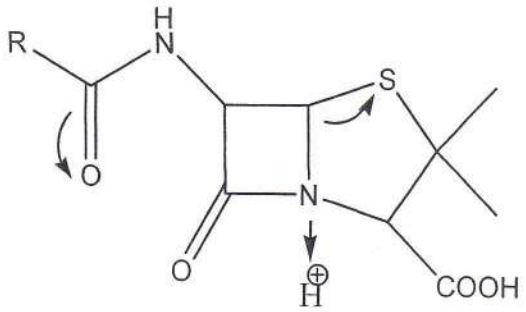
وبتأثير الهيدروكسيل أمين يعطي البنيسيلين هيدروكزاميك AC Hydroxamique



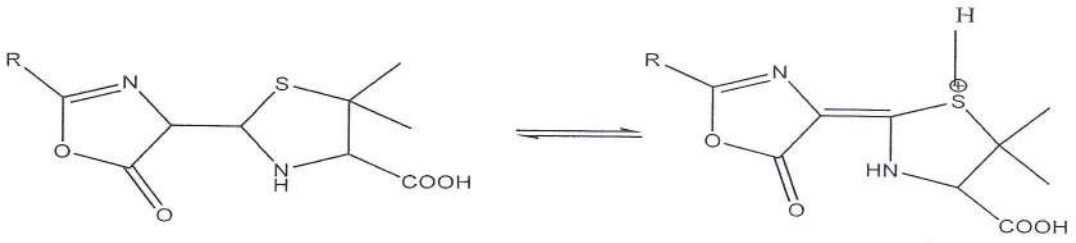
إن هذا الحمض هو أيضا غير فعال حيويا . يستخدم في التفاعلات الذاتية حيث يعطي مع شوارد الحديد لونا أحمر و يستفاد منه أيضا في المعايرة اللونية .

ب- تأثير الكواشف المحبة للالكترونات

يمكـــن أن يحدث تأثيـــر الكواشف المحبـــة للإلكترونـــات علـــى البنيسيليـــن في مستـــوى آزوت نـــواة β-لاكتام وكبريت نواة الثيازوليدين . يرتبط هـــذا النـــوع مـــن التفاعل بتأثيـــر المحرض Effet inducteur للمجموعة أسيل أمينو R-CO-NH- المرتبطة على الكربون 6 .

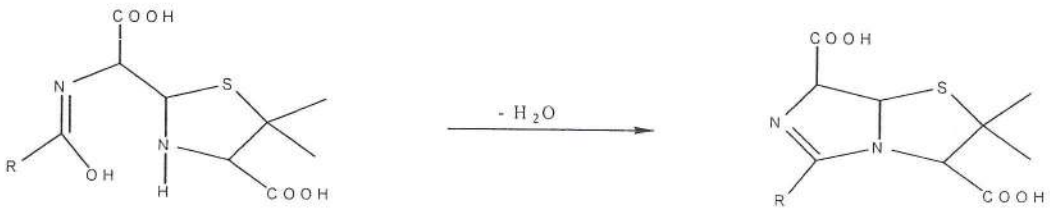


ويؤدي إلـــى تشكـــل نواة الاكزازولون Oxazolone



Acide Pénicillénique

ففي وسط حمضي قوي ونتيجة حدوث توازنات عديدة داخل بنية الجزيء , يمكن أن يتشكل حمض البينيليك AC . Pénillique



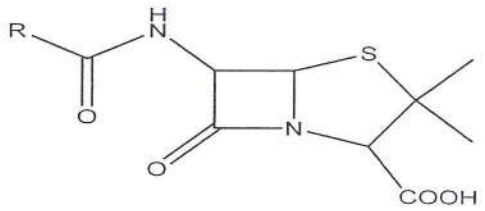
Acide Pénicillique

وبهذا الشكل فإن مجموعة أسيل أمينو R-CONH تلعب دورا مهما في ثبات جزيء البنيسيلين تجاه الحموض .

فإذا كان الجذر(R) معطيا للإلكترونات فإنه ينشط حدوث تفاعل البنيسيلين مع الكاشف المحب للإلكترونات وإذا كان جاذب للإلكترونات فإنه يثبط هذا التفاعل وبالتالي يزيد من ثبات البنيسيلين اتجاه الأحماض.

3/9/1- خواص تعود إلى جذر الأسيل R-CO

تتميز البنيسيلينيات عن بعضها البعض بنوعية الجذر R-CO الذي يرتبط بالوظيفة الأمينية على الكربون (6) أما البنيسيلينيات الطبيعية هي :



R-Pénicilline

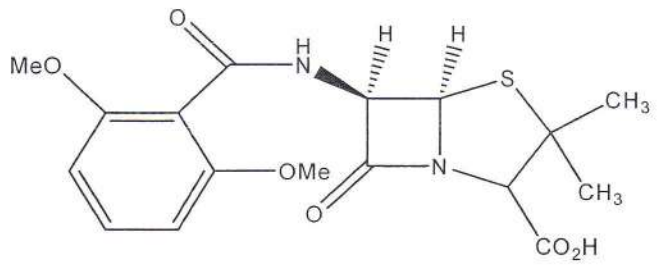
وقد ثبت علميا أنه عندما يراد إستحصال الأنواع الطبيعية من البنيسيلين من مزارع فطور البنيسيليوم , بإضافة بعض المركبات الكيميائية (الطلائع Précurseurs) من نموذج R-COOH إلى وسط الزرع , فإن هذه المواد توجه الإصطناع الحيوي نحو البنيسيلين الذي يحمل الجذر(R) (جذر الطليعة نفسه) , فمثلا للحصول على البنيسيلين G (بنزيل بنيسيلين) يضاف حمض فنيل أستيك C_6H_5-CH_2-COOH إلى وسط الزرع ولكن هذه الطريقة لا تصلح إلا من أجل مشتقات حمض الخل وحيد التبادل R-CH_2-COOH وهو يوافق فقط البنيسيليات الطبيعية .

أما بالنسبة للبنيسيلينات نصف الاصطناعية فيتم الحصول عليها من معالجة حمض 6- بنيسيلانيك (الذي ينتج من إماهة البنيسيلين الطبيعي) مع كلورورات الأحماض التي تحمل الجذر R-CO والمميز للبنيسيلين المراد تصنيعه [11] .

10/1- الحركية الدوائية للمضادات الحيوية Pharmacocinétique: [12]

1/10/1- الإدخال Administration

يتحدد سبيل الإدخال للبنيسيلينيات على أساس ثبات الدواء في حمض كلور الماء المعدي من جهة و شدة الإنتان من جهة أخرى فيعطى مثلا بنيسيلين G والبروكائين بنيسيلين و البنزاسين بنيسيلين و الميتسيللين و التيكارسيللين و الكاربنسيلين و المزلوسيللين و الآزلوسيللين حقنا عضليا أو وريديا لأنها تتخرب بحموضة المعدة بينما يعطى بنسيلين V عن طريق الفم لأنه يقاوم حمض كلور الماء المعدي في حين يمكن إعطاء الأمبيسيلين و الأموكساسيلين عن طريق الفم أو الحقن وذلك حسب شدة الإنتان .



المثيسلين Methicilline

2/10/1- الإمتصاص Absorption

بعض البنيسيلينيات تمتص بشكل غير كامل عند إعطائها فمويا حيث يمكن الإستفادة منها في علاج الإنتانات الجرثومية في الأمعاء ، بينما يمتص البعض الآخر مثل الاموكسيسيلين بشكل كامل.

البعض من البنسسينليات يتأثر إمتصاصه بوجود الطعام بـ 30- 60 دقيقة أو بعد 2 - 3 ساعة من تناول الطعام . وتكون البنيسيلنيات الأخرى أقل تأثرا بالطعام .

3/10/1- التوزع Distribution

يتوزع الشكل الحر للبنيسيلين في كامل أنحاء الجسم حيث تستطيع عبور الحاجز المشيمي ولكن لن يظهر لها تأثيرات مشوهة للجنين أما وصولها إلى العظام و السائل الدماغي الشوكي فهو غير كافي علاجيا إن لم تكن هذه الأعضاء مصابة بإنتان ، وتكون السحايا الملتهبة أكثر

نفوذية للبنيسيلين وخاصة خلال اليوم الأول ، وعند خمود الالتهاب يصبح الحاجز الدموي الدماغي غير نفوذ للبنيسيلين .

4/10/1- الإستقلاب Metabolism

إن استقلاب البنيسيلين في الكبد ضعيف ، حيث يتم حدوث استقلاب قليل للبنيسيلين G .

5/10/1- الإطراح Excretion

تطرح البنيسيلينيات عن طريق الكلية بالإفراز الأنبوبي والرشح الكبدي لذلك يجب ضبط الجرعات الدوائية بشكل جيد عند المرضى ضعيفي الوظيفة الكلوية ، و يثبط البرونسيد إفراز البنيسيلينيات .

11/1- التأثيرات الجانبية Effects Adverse : [13]

بالرغم من أن البنيسيلينيات كثيرة السلامة إلا أنها قد تحدث التأثيرات الجانبية التالية :

1/11/1- فرط الحساسية Hypersensitivity :

وتظهر على شكل طفح جلدي حمامي حطاطي أو على شكل وذمة وعائية (تورم الشفاه و اللسان و حول العين) وقد تحصل صدمة تقيئ تسبب الوفاة .

2/11/1- الإسهال Diarrhea :

ويحدث من جراء إعطاء البنيسيلينيات الفموية و خاصة ذات الامتصاص الكامل .
وينتج عن اضطراب التوازن الطبيعي للفلورة المعوية .

3/11/1- إلتهاب الكلية Nephritis :

تسبب معظم البنيسيلنيات و خاصة الميتيسيلين التهاب كلية خلالي حاد .

4/11/1- السميةالعصبية Neurotoxicity :

تحرض البنسلينات النوبات الاختلاجية عندحقنها داخل السحايا إذا بلغت مستويات مصلية عالية وخاصةعند المرضى المصابين بالصرع .

5/11/1- إضطراب وظيفةالصفيحات Platelet dysfunction:

يلاحظ هذا التأثير عند إعطاء الكاربنسلين و التيكارسلين حيث ينقص تراص الصفيحات الدموية مع بعضها كما يلاحظ هذا التاثيرعند المرضى الذين يتناولون مميعات الدم.

6/11/1- التسمم الشاردي Cation Toxicity :

يحصل التسمم الشاردي بأملاح الصوديوم و البوتاسيوم الداخلة في تركيب المشتق البينيسليني .

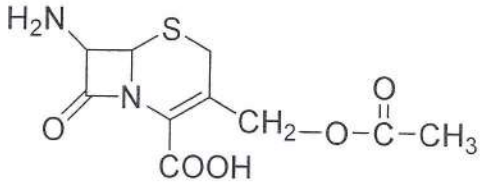
12/1- عمل المضادات الحيوية :

عرف علماء البكتيريا عمل المضادات الحيوية بأنه ذلك التأثير أو الفاعلية البيولوجية التي تعمل على كبت أو قتل البكتيريا [14,11] .

تختلف المضادات الحيوية في طرق عملها و تأثيرها داخل الجسم داخل فهي تنقسم إلى ثلاث طرق تبعا لكيفية تأثيرها على البكتيريا [14] .

1/12/1- مضادات تعمل على الغلاف الخارجي للبكتيريا :

وهي مضادات تؤثر و تعيق عمل الخلية البكتيرية و بالتالي إيقاف عملها و نموها و مثل ذلك البنيسيلين (Penicilline) ، سيفلوسبورين (Cephalasporine) ، فانكوميسين (Vanacomicine) ، سيكلوسيرين (Ciclosporine) [11،8] .



Cephalasporine

2/12/1- مضادات تعمل على الغلاف الداخلي للبكتيريا :

هناك مضادات حيوية توصف لإذابة الأغشية الخلفية البكتيرية مثل نيستاتين (Nistatin) [8].

3/12/1- مضادات لإيقاف صناعة البروتين :

هي مضادات حيوية توقف و تعيق تكوين و تصنيع بروتين الخلية مثل سبيترين (Septrin) .

13/1- أقسام المضادات الحيوية:

تنقسم إلى :

1/13/1- مضادات حيوية كابحة لنشاط الخلية البكتيرية :

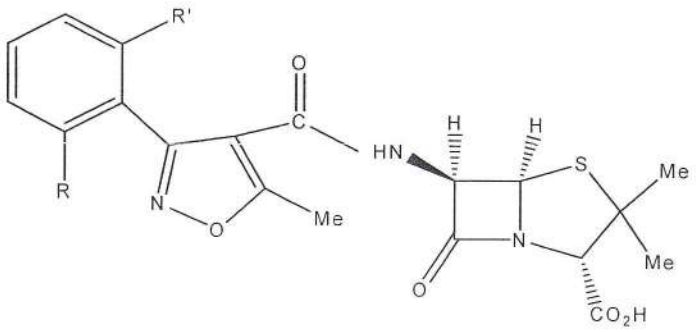
وهي مضادات تمنع تكاثرها ، وتوقف نموها وهذا ما يساعد في القضاء عليها مثل : سلفوناميد ، كلورام فينكول [15].

2/13/1- مضادات حيوية قاتلة للخلية البكتيرية :

و يكون التأثير إما عن طريق جدار خليتها ، أو بالتسبب في انتفاخ خليتها و انفجارها ، أو بمنع تكوين البروتين داخلها ، و من المضادات الحيوية : أمبيسيلين ، جنتاميسين ، بنيسيلين [15] .

14/1- الأوكساسيلين Oxacilline :

و يضم الأوكساسيلين و الكلوكساسيلين و الفلوكلوكساسيلين و هي تنتمي إلى البنيسيلينيات النصف مصنعة و تمتلك الصيغة العامة التالية :



Oxacilline R=R'=H
Cloxacilline R=Cl. R'=H
Flucloxacilline R=Cl .R'=F

الأوكساسيلين و الكلوكساسيلين و الفلوكساسيلين تقاوم الوسط الحامضي و كذلك إنزيم البنيسيليناز (هو إنزيم تفرزه بعض البكتيريا من اجل تحطيم البنيسيلين و جعله غير فعال).

و الفرق بين الكلوكساسيلين و الفلوكساسيلين هو طبيعة المستبدل الهالوجيني الموجود على نواة البنزين و لهذه الهالوجينات تأثير على الحركية الدوائية لهذه المضادات فيما يخص إمتصاصها في الجسم و الأهمية تكمن في تشكيل روابط مع البروتينات البلازمية مثلا :

الكلوكساسيلين يمتص بشكل جيد على مستوى الزغبات المعوية (أحسن من الأوكساسيلين) .

الفلوكلوكساسيلين روابطه بالبروتينات البلازمية جد ضعيفة مما يجعل تركيز المضاد الحر (الدواء) عالي.

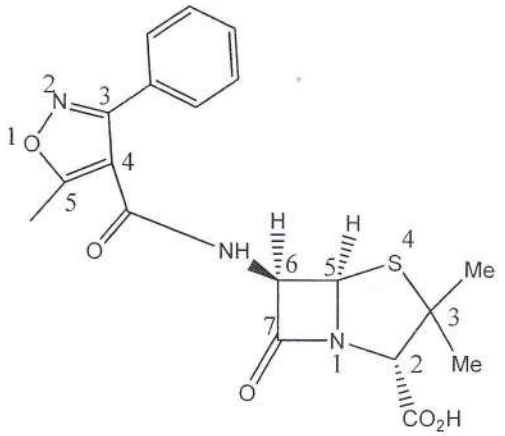
و هذه المضادات غير فعالة ضد بكتيريا الغرام السلبي ، و هذا راجع إلى أن بكتيريا الغرام السلبي تحتوي على غشاء خارجي مشكل من الليبيدات و البروتينات وهذا الغشاء يلعب دور صاد للهجوم من قبل المضادات الحيوية [16] .

1/14/1- الخصائص:

الأوكساسيلين مضاد حيوي مقاوم للبنيسيليناز و يستخدم ضد بكتيريا Staphylocoques و قد تم إستخدامه في الفترة 1965-1970 عند ظهور نوع من بكتيريا Staphylocoque مقاومة للبنيسيلين G

و إمتصاص الأوكساسيلين سريع على مستوى الجهاز الهضمي و إنتشاره جيد في الأغشية و تتم عملية أيضه بصفة جيدة ، حوالي 45 ٪ في الكبد وعملية طرحه بشكل أساسي على مستوى الكلية بشكله الفعال

حوالي 30 ٪ في ظرف 24 سا بالنسبة للأوكساسيلين و حوالي 80 ٪ في ظرف 24 بالنسبة للكلوكساسيلين و الفلوكلوكساسيلين .



Oxacilline

يسمى الأوكساسيلين حسب قواعد IUPAC

(2R,5R,6S) -3,3-dimethyl-6-[(5-methyl-3-phenyl-1,2-oxazole-4-carbonyl)amino]
-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptane-2-carboxylic acid

3/14/1-الخصائص الفيزيوكيميائية :

الأوكساسيلين عبارة عن مسحوق أبيض له رائحة خفيفة ، قليل الإنحلال في الماء (ينحل في حالة الأملاح) و ينحل في المذيبات العضوية .

صغته العامة $C_{19}H_{19}N_3O_5S$

وزنه الجزيئي 401.437 غ/مول

درجة الإنصهار 254 م°

2/14/1- طيفه الجرثومي :

إن الأوكساسيلين ذو تأثير كبير على البكتيريا و خاصة الموجبة الغرام فطيفه الجرثومي واسع حيث يقضي على :

- *Staphylocoque*
- *Steptocoque* (بالخصوص *Entérocoque*)
- *Pneumocoque*
- *Gonocoque*
- *Méningocoque*
- *Clostriduin Pefringens*

ورغم إتساع طيفه إلا أن هناك أنواع من البكتيريا مقاومة له و هي:

- *Stapylocoque méti-R* و هي ناتجة عن طفرة
- *S-Résistense Ehétrogéne*

و العصيات سالبة الغرام مثل :

- *Légionella*
- *Bacteroides*
- *Mycoplasma*
- *Chlamydiae*
- *Rickettsieae*

3/14/1- الإستخدام :

يستخدم بشكل خاص ضد Staphylocoque الحساسة إلى هذا النوع من Penicilline عندما يكون تموضع البكتيريا جلدي [17] .

4/14/1- الأعراض الجانبية :

أ- الحساسية ضد البنيسيلينيات

ب- إرتفاع درجة الحرارة

ت- إضطرابات هضمية

5/14/1- موانع الإستعمال:

أ- القصور الكلوي

ب- الحمل و الإرضاع (إستعمال ممكن بشكل حذر)

6/14/1- التجاذبات الدوائية :

يستخدم الأوكساسيلين بالتعاون مع فوسفوميسين Fosfomycine (لمعالجة بكتيريا S-méti-R) ، الأمينوزيد Aminoside و حمض الفيسيديك Acide Fusidique .

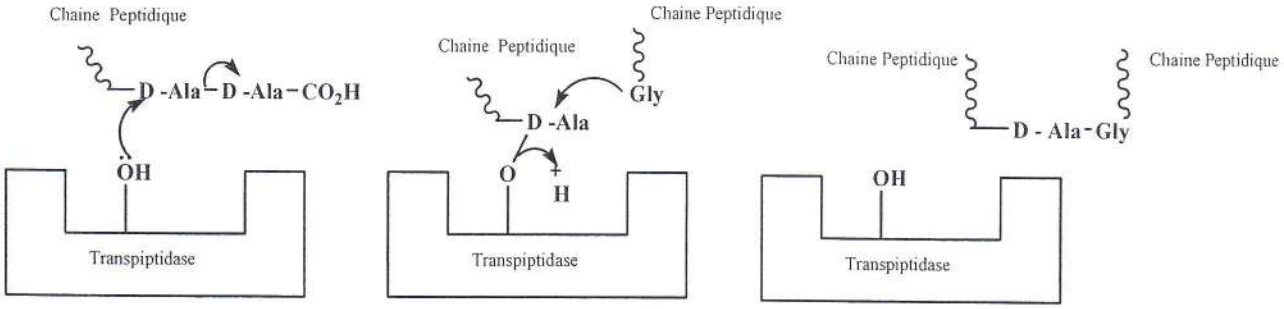
و غير متوافق فيزوكيميائيا أي لا يمزج مع مركبات أخرى في نفس القارورة خصوصا المحاليل اللبيدية و الأحماض الأمينية و مضادات حيوية أخرى .

7/14/1- طريقة عمل الاوكساسيلين :

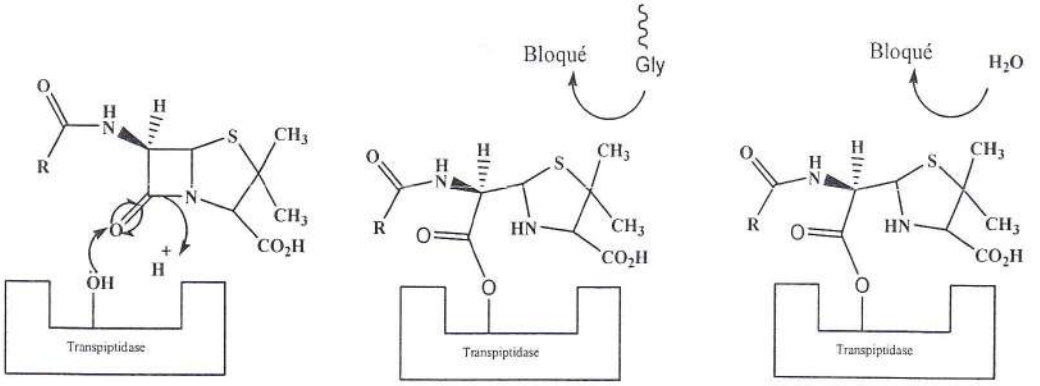
من أجل أن تعيش البكتريا يجب أن تكون مقاومة للعديد من الظروف مثل تغير pH ، الحرارة ، الضغط الحلولي وبسبب هذا نجدها محاطة بجدار خلوي لا نجده عند غيرها من الخلايا في الكائنات الحية ويعد هذا الجدار هدف ممتاز للمركبات المضادة للبكتريا مثل البنسيلين و السيفالوسبورين .

يتكون جدار الخلية الجرثومية أساسا من جزيئات Peptidoglycane بمعنى آخر يتشكل من أجزاء بيبتيدية وأجزاء غليوكان glycanes. من ناحية الشكل الجدار مشكل من سلاسل متوازية من glycanes هو عبارة عن تناوب لـــ : Acide N -acétylmuramique (NAM) و N-acétylglucosamine (NAG)] فعلى مستوى مجموعة الكربوكسيل في المركب NAM تلتصق السلاسل البيبتيدية كما أنها تلتصق بعضها ببعض مشكلة في النهاية الجدار الخلوي للخلية البكترية وهذا عن طريق استخدام أنزيم Transpiptidase .

هذا التفاعل الأخير هو ما تستهدفه مجموعة البيتالاكتام مما يؤدي إلى توقف تصنيع الجدار الخلوي للبكتريا وبالتالي يجعل البكتريا غير متحكمة في نفاذية الغشاء مما يعرضها إلى حلول عالي (دخول الماء إلى الخلية بكمية كبيرة) مما يود ي إلى انفجارها وبالتالي موتها . [18]



الشكل- 2- التفاعلات المسؤولة عن بناء الجدار الخلوي للبكتريا



الشكل - 3- تثبيط التفاعلات عند استخدام مضادات من عائلة البيتالاكتامين

15/1- طريقة تحديد درجة حساسية المضادات الحيوية : [1] ، [19] ، [20]

المضادات الحيوية هي مركبات كيميائية محضرة ذات فاعلية خاصة بتراكيز مخففة .
بعض المضادات الحيوية تملك فاعلية (كبيرة أو صغيرة) التي تختلف حسب البكتيريا الحساسة لفعل المضاد .

و معرفة الفاعلية للمضادات الحيوية (المقاومة الطبيعية للبكتيريا) تسمح بالقيام بالمعالجة .
والبكتيريا تستطيع أن تملك مقاومة للمضاد الحيوي بتعديل أساسي في جيناتها .

2/15/1- خاص الجذمة البكتيرية (La Souche Bactérienne) :

في علم الطب الجذمة البكتيرية ، هي مقاومة البكتيريا للمضاد على حسب تركيز المضاد الحيوي ، أي بارتفاع التركيز تقل المقاومة لإعطاء أفق لكي تتم المعالجة .

3/15/1- كيفية المعالجة بالمضاد الحيوي :

أ- المبدأ :

لكل مضاد حيوي تركيز محدد يستعمل في المعالجة يقضي على البكتيريا و لا يضر بالعضوية للشخص المريض و يسمى هذا التركيز (CMI) و هو التركيز الأقل للمضاد الحيوي القادرعلى مواجهة البكتيريا و التثبيط الكامل لها و نقصانها .

و من أهم الطرق المستخدمة لمعالجة البكتيريا طريقة الانتشار .

ب- طريقة الانتشار:

Antibiogramme par diffusion sur milieu gélose (méthodes des disques)

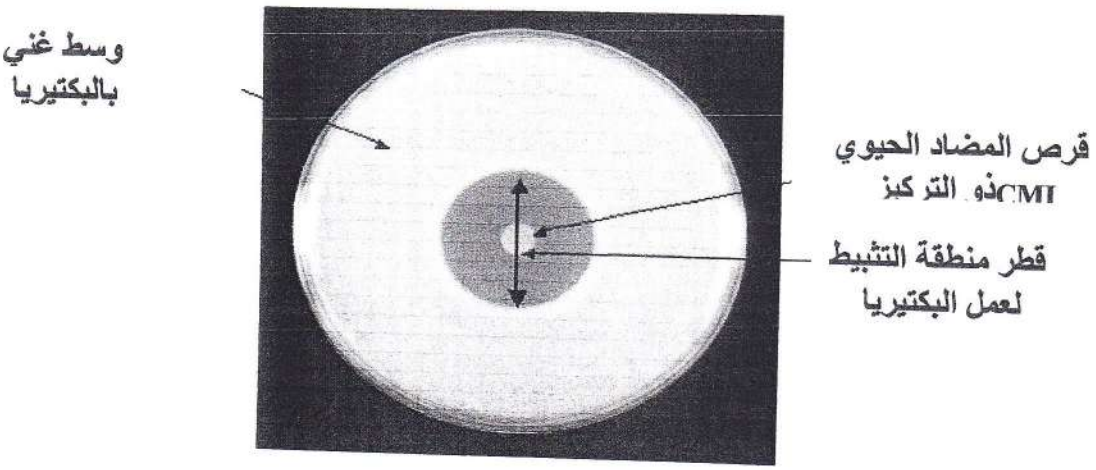
من أجل تحديد مدى حساسية السلالات البكتيرية للعوامل المضادة للبكتيريا و هي تقدير جرعة (تركيز) المضاد الحيوي القادر على إحداث هذا التأثير ، نلجأ إلى طريقة Antibiogramme عن طريق الإنتشار على وسط صلب ، حيث تحضر الأقراص بورق واتمان التي تشبع بالتركيز المحدد من المضادات الحيوية (أو المواد المراد معرفة تأثيرها على البكتيريا كالمواد التي حضرناها في بحثنا هذا) و توضع في أحواض بترية على الوسط الصلب تكون مشبعة مسبقا بلقاح بكتيري

بطريقة المسح ، و تعتبر هذه الطريقة شائعة الإستعمال في مخابر الميكروبيولوجيا و هذا راجع لسهولة تحقيقها و تعتبر كذلك طريقة غير مكلفة بالمقارنة مع الطرق الأخرى ، و بالمقابل تعطي نتائج جيدة حيث تمكننا من معرفة مدى حساسية البكتيريا للمضاد الحيوي [2] .

و المواد المستخدمة في هذه الطريقة هي :

- الأقراص و هي أوراق بيفارد ، قطرها حوالي 06 مم تحتوي على المضاد الحيوي.
- علب بيتري و هي علب من البلاستيك شفافة .
- وسط جيلوزي Miller Hinton و هو وسط مغذي للبكتيريا .
- الحاضنة و يتم فيها ضبط درجة الحرارة حوالي 37 م° .

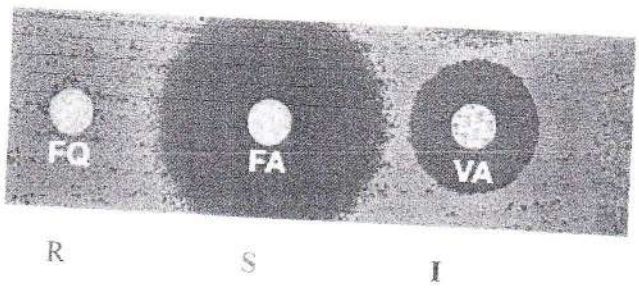
و الشكل رقم 01: يبين منطقة التثبيط :



الشكل-04- تحديد قطر منطقة التثبيط

ج- قراءة النتائج :

خاصية الجذمة البكتيرية هي حساس (S) ، مقاوم (R) ، حساسية متوسطة (I) و الشكل 05: يوضح ذلك .



الشكل – 05 – خاصية الجذمة البكتيرية

و نعتمـــد فـــي القراءة علـــى المعطيـــات التاليـــة :

(C) : هو التركيز الأعلى الحرج للمضاد الحيوي تكون فيها الفاعلية ضعيفة .

(c) : هو التركيز الأقل الحرج للمضاد الحيوي تكون فيها الفاعلية كبيرة .

C		c
CMI	CMI	CMI
الفئة المقاومة	الفئة الوسطية	الفئة الحساسة

المخطط -1- فئات الفعالية حسب تراكيز المضاد الحيوي

- إذا كان CMI > c الجذمة البكتيرية حساسة للمضاد الحيوي (S) .
- إذا كان CMI < C الجذمة البكتيرية مقاومة للمضاد الحيوي (R).
- إذا كان C< CMI > c الجذمة البكتيرية ذات حساسية وسطية للمضاد الحيوي (I).

الفصل الثاني

عموميات حول البكتيريا

1- مدخل :

الميكروبات هـــي كائنات حيـــة دقيقـــة (فطريات ، بكتيريا ، فيروسات .....) تتواجد في كل مكان من المحيط الذي نعيـــش فيه ، منـــها الفطريات التـــي تتجمع فـــي عـــدة أجناس وأنواع ، فالبعض منها نافع في الصناعة الصيدلانية وفي الصناعة الزراعية الغذائية والبعـــض الأخر ضار يسبب إتلاف المواد الغذائية وتلوث الجـــو ، مما ينتج عنه عدة أمراض في العالم الحيواني (الحساسية ،التسمم ...) وفي العالم النباتي أيضا (مرض العفونة) ، ومن أنواع الفطريات علـــى سبيـــل المثال نذكر (saccharomyces cereviceae ، candida albicans) ومن الأجناس الميكروبات الأكثر انتشارا أيضا نذكر البكتيريا [20] .

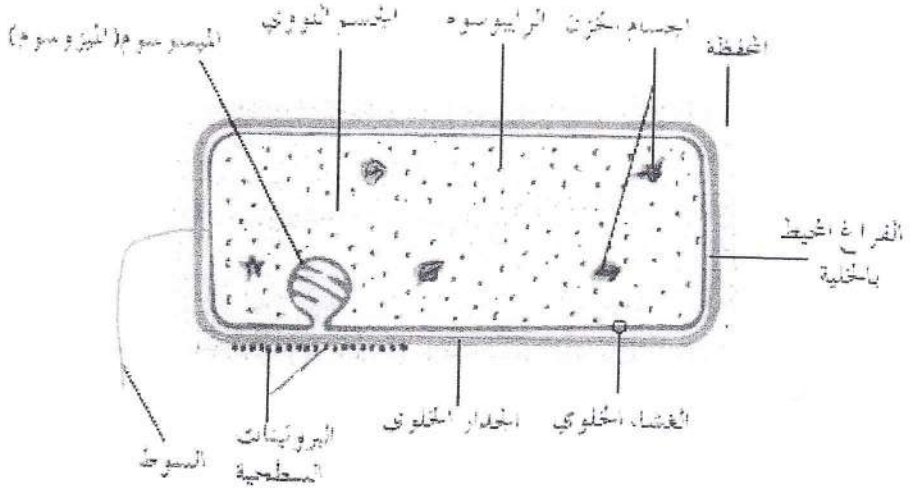
2- مفهوم البكتيريا :

البكتيريا كائنات دقيقة مجهرية أحادية الخلية بدائية النواة (Procaryote) ، كروية ، عصوية أو حلزونية الشكل ، يتراوح طولها بين 1 µ m إلى بضع عشرات من الميكرونات ، نجدها في كل مكان حولنا فهي في كل الماء والطعام ، التربة و الهواء [21- 24] .

تركيبة الخلية البكتيرية بسيطة ، إذ تتركب من جدار وغشاء خلويين يحيطان بالسيتوبلازم فالأول جدار خلوي سميك وصلب هو الذي يعطيها شكلها الثابت و يحميها من أي هجوم خارجي ، أما الثاني رفيع السمك يسمى بالغشاء الخلوي السيتوبلازمي ، أما المساحة الداخلية للخلية فهي تمثل السيتوبلازم ، وهي في الغالب جد متجانسة تحتوي على ريبوزومات ذات شكل حبيبي كروي ، كما تحتوي على أجسام ذات قوام حبيبي يمكن للبكتيريا أن تخزن بها الطاقة ، إضافة إلى إحتوائها على جزيئة أو أكثر من ال ADN البلازمي أو ما تسمى بالبلازميدات ، وهـــي تتكاثر بصورة مستقلة عن كروموزوم الـــ ADN الخاص بالنواة ، و إن هذه الأخيرة ليس لها غشاء نووي [21- 23] .

الجدار والغشاء الخلويين ، السيتوبلازم و النواة هي عناصر ثابتة و أساسية لكل أنواع الخلايا البكتيرية فبعض الأنواع تكون محاطة من الخارج بمحفظة (Capsule) ، أو لها سوط يساعدها على الحركة إذا كانت من البكتيريا المتحركة ، إضافة إلى أن بعض أنواع البكتيريا لها زوائد خلوية تسمى البيلي Pili [21- 23] ، وهي تساعد الخلية البكتيرية على الالتصاق بالوسط الذي تكون فيه .

و الشكل التالي رسم تخطيطي يوضح بنية الخلية البكتيرية .



الشكل رقم -06 - رسم تخطيطي لخلية بكتيرية

دورة حياة الخلية البكتيرية تنحصر في إستمرارية إنقسامها ، حيث حوالي كل 20 د يمكن للخلية الواحدة أن تنقسم لتعطي خليتين بكتيريتين [21] ، فخلال ساعات تتكاثر الملايين من الخلايا البكتيرية ، وأغلب الأجناس البكتيرية تتكاثر بنفس الطريقة ، وتسمى بطريقة الإنتشار الثنائي [24,23] ولدرجة الحرارة تأثير على بقاء وتكاثر البكتيريا ، فمنها من تعيش و تتكاثر في درجات حرارة منخفظة -18 م° -0 م°، ومنها من تعيش في درجات حرارة عالية 45 م° ، 60 م° [22] , إضافة إلى أن ال PH المثالي لنمو البكتيريا هو في حدود PH=7 .

كما أن الأوساط الغنية بالرطوبة والماء تعتبر وسط جيد لتكاثر البكتيريا [23،22] .

يصنف العلماء البكتيريا إلى عدة تصنيفات .

3- تصنيف البكتيريا :

1/3- حسب الشكل :

تصنف البكتيريا حسب شكل خلاياها ، فمنها ذات الشكل الكروي (Coque، Cooci) مثل البكتيريا Streptocoques ، وذات الشكل العصوي أو العصيات (Bacille) ، مثل(Entérobactérie) , و أخرى ذات شكل لولبي (forme Spirallée) مثل Leptospire [23،22] .

2/3- بكتيريا هوائية ولاهوائية :

يعتمد هذا التصنيف على مدى حاجة البكتيريا للأكسجين للعيش و التكاثر فمنها البكتيريا الهوائية مثل Neisseria ذات الغرام السلبي ، شكلها كروي متزاوج ، غير متحركة هوائية ، توجد بالبلعوم الأنفي ، واللاهوائية مثل Clostridium ذات الغرام الموجب ، شكلها عصوي ، متجرثمة بجرثومة بيضاوية غير متحركة ، لاهوائية ، توجد بالبراز ، أما البكتيريا الإختيارية للهواء مثل Escherichia-coli ذات الغرام السالب ، شكلها عصوي ، متحركة إختيارية للهواء توجد بالأمعاء الغليظة [23،25] .

3/3- بكتيريا ذاتية التغذية و عضوية التغذية :

البكتيريا ذاتية التغذية هي التي تستهلك الكربون لأجل النمو ، التكاثر...إلخ ، من ثاني أكسيد الكربون ، حيث يمثل الكربون نسبة 50٪ منوزن البكتيريا الجاف ، و البكتيريا عضوية التغذية هي التي تتحصل على الكربون من المواد العضوية مثل السكريات ، الأحماض الأمينية ، الأحماض الدهنية ...إلخ[23،25] .

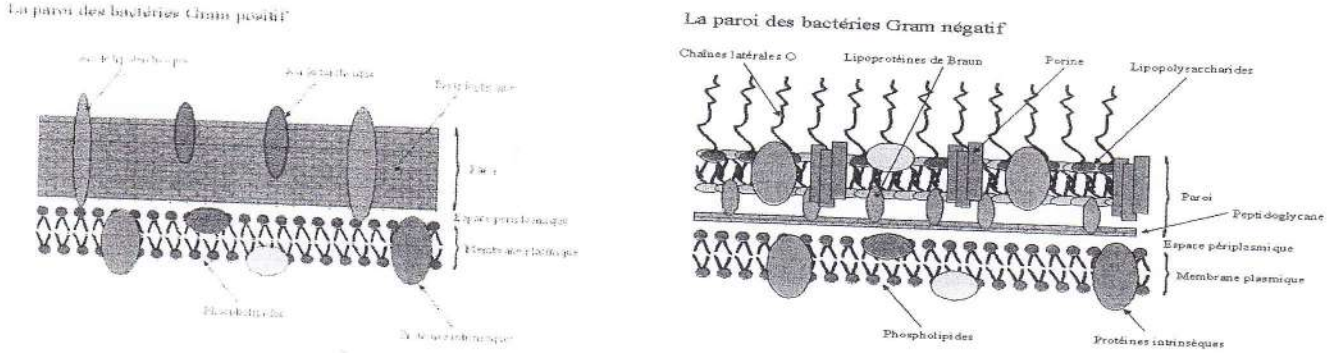
4/3- بكتيريا الغرام الإيجابي و الغرام السلبي Gram Positive et Gram Négative :

نظام آخر لتصنيف البكتيريا و ذلك بإستعمال الإختلافات الموجودة في تركيب جدران الخلية و يوضح هذا الإختلاف حسب التقنية المسماة (grams stain) نسبة إلى العالم البلجيكي H , C , JGRAM ، المخترعة سنة 1884 و التي تعرف بها البكتيريا بـ : بكتيريا (Gram Positive) ، بكتيريا (Gram Négative) .

عند تلوين بكتيريا (Gram Positive) بكاشف خاص ذو لون أرجواني تمتص اللون و تظهر أرجوانية أما البكتيريا (Gram Négative) عند تلوينها بنفس الكاشف لا تحافظ على اللون و تصبح ذات لون وردي ، وكذالك جدار خلية البكتيريا (Gram Positive) أسمك من جدران خلية البكتيريا (Gram Négative) .

إن معرفة إذا ما كانت البكتيريا (Gram Positive) أو(Gram Négative) هي المسببة للمرض يتيح للطبيب معرفة المضاد الحيوي المناسب [26] .

وتعود هذه الفروق إلى بنية الجدار الخلوي فالخلية سالبة الغرام تحتوي على غشاء خارجي مشكل من الفوسفوليبيدات Phospholipides وهذا ما لا نجده في البكتريا موجبة الغرام ، ونتيجة لهذا الفرق تعطي البكتريا ألوان مختلفة مع صبغة الغرام : فإذا حافظت البكتريا على لون الكاشف كانت بكتريا موجبة الغرام أما إذا تغير اللون إلى وردي كانت البكتريا سالبة الغرام .



الشكل -07- مقارنة بين بنية جدار البكتريا سالبة وموجبة الغرام

كما يمكن تصنيف البكتيريا إلى بكتيريا ضارة بصحة الإنسان و أخرى نافعة .

5/3- البكتيريا النافعة و البكتيريا الضارة (المسببة للأمراض) :

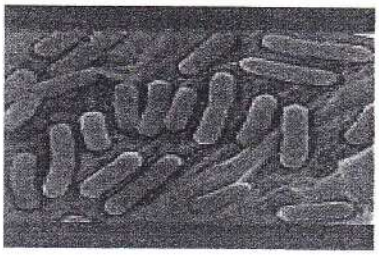
لقد إرتبط إسم البكتيريا كثيرا بالأمراض التي تسببها للإنسان و لكن الإكتشافات الحديثة و التقدم السريع الذي حدث في العلوم التطبيقية أظهرت أن البكتيريا تلعب دورا هاما في كثير من الصناعات الغذائية و الدوائية و التخلص من المواد العضوية و الغير عضوية و كذالك معالجة المياه و المعالجة الحيوية لمختلف المزارع وإستخدامها في إنتاج الطاقة و غاز الميثان [27] .

كما تعمل البكتيريا في جسم الإنسان على حمايته من الكائنات الحية الأخرى المسببة للأمراض.

ولها دور سلبي حيث أن معظم حالات الأمراض البكتيرية الداخلية على الجسم هي المسؤولة على ذلك وتعرف بالبكتير (Pathogéne) ، وهي تنتقل عن طريق العدوى من الأشخاص المرضى ، الحيوانات و تلوث المياه والغذاء. كما يمكن حدوث مرض بكتيري بعد عملية جراحية ، حوادث مؤدية إلى ضعف جهاز المناعة[27] .

ومن أنواع البكتيريا التي أجرينا عليها الإختبارات .

1/4- إشيريشيا كولي *Escherichia coli*



الشكل رقم02 : إشيريشيا كولي ملاحظة بالميكروسكوب الإلكتروني

هي بكتيريا ذات غرام سالب ، وهي البكتيريا التي تنتمي إلى

المملكة: *Bacteria* .

التصنيف: *Proteobacteria* .

القسم : *Gammaproteobacteria* .

الرتبة : *Enterobacteriales* .

العائلة : *Enterobacteriaceae* .

الجنس : *Escherichia*.

الصنف: *Escherichia coli* .

وهـــي بكتيريا هوائية ذات غرام سلبي ، تعـــيش في جسم الإنسان والحـــيوان والنبات وفي التربة ، تكون متحركة على شكل عصيات ، مسببة للأمراض من هذه الأمراض : أمـــراض الجهاز البولي ، الإسهال الطفيلي ، إلتهاب السحايا وتسمم الدم [28-31] .

2/4- ستافيلوكوكيز أروز *Staphylococcus aureus* :

هي بكتيريا ذات غرام موجب ، وهي البكتيريا التي تنتمى إلى :

المملكة : *Bacteria* .

التصنيف: *Firmicutes* .

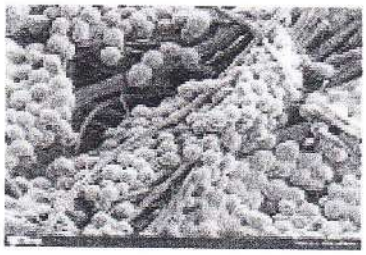
القسم : *Bacilli*.

الرتبة *Bacillales* .

العائلة : *Staphylococcaceae*.

الجنس : *Staphylococcus*.

الصنف: *Staphylococcus aureus* .



الشكل رقم 03 : ملاحظة بالمكروسكوب الإلكتروني Staphylococcus

تم تعريفها من طرف لويس باستور سنة 1879 [32] ، و في سنة 1883[33] أطلق Ogston إسم staphylocoque المنقسم إلى شطرين و الذي يتناسب مع تعريف لويس باستور [34]

Kokkos : حبوب متجمعة على شكل كومة غير منتظمة .

Staphylos : عنقود عنب .

تعتبر هذه البكتيريا كثيرة التواجد في الطبيعة ، موجبة الغرام هوائية و غير هوائية ، لها القدرة على تحليل كريات الدم الحمراء ، يمكنها إفراز سموم بالجسم الموجودة فيه أو في بيئة النمو ، فهي سلالات ممرضة ، كما تحدث تسمما غذائيا ، وتتواجد لدى الإنسان في الجلد والأمعاء والجهاز التناسلي وعلى الوجه ، هذه البكتيريا مسؤولة على تشكل الصديد ، تظهر هذه البكتيريا تحت المجهر على شكل كريات ، يتراوح قطرها من 0.8 إلى 1 ميكرومتر و هي غير متحركة وموجبة الغرام

ذات لـــون أصفر براق ، تكون عنـــاقيد (cocci)و هي بكتيريا كروية الشكل تسمى كوكسي على شكـــل أكوام [28-31].

3/4- انتروبكتيريا هافنيا *Enterobacter hafniae*

هي بكتيريا ذات غرام سالب ، وهي البكتيريا التي تنتمي إلى

المملكة : *Bacteria* .

التصنيف: *Proteobacteria* .

القسم : *Gammaproteobacteria* .

الرتبة : *Enterobacteriales* .

العائلة : *Enterobacteriaceae* .

النوع : *Enterobacter* .

الصنف : *Enterobacter hafniae* .

وهي بكتيريا متجانسة إنتهازية ، صعبةالعزل ،غالبا ما تكون في وسط مختلط بالبكتيريا ، تتسبب في تعفن الدم و إلتهاب المعدة والأمعاء و الإلتهاب الرئوي ، كما تتسبب أيضا في جرح المسالك البولية ، تكثرعند الأطفال خاصة ذي 09 أشهر[28-31]

4/4- كلبسولابنوموني *Klebsiella pneumoniae*

هي بكتيريا ذات غرام سالب ، وهي البكتيريا التي تنتمي إلى :

المملكة: *Bacteria*

التصنيف: *Proteobacteria* .

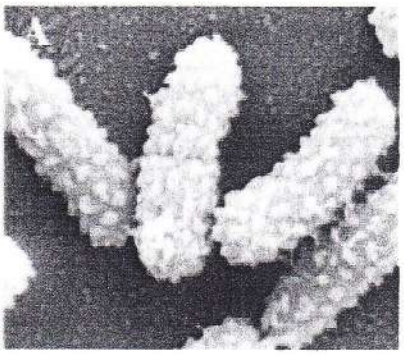
القسم : *Gamma proteobacteria* .

الرتبة : *Enterobacteriales* .

العائلة : *Enterobacteriaceae* .

النوع : *Klebsiella* .

الصنف: *Klebsiella pneumoniae* .



الشكل رقم05 : ملاحظة بالميكروسكوب الإلكتروني

وتتواجد في الجهاز التنفسي والمثانة البولية للإنسان وهي من البكتيريات الإنتهازية ، حيث تتسبب في الأمراض التنفسية و البولية مثل ، (إلتهاب الرئة ، الضيق التنفسي ....) وتسبب أيضا تعفن الدم حين الصدمات [28-31].

5/4- بروتيوس ميرابيليس *Proteus mirabilis*

هي البكتيريا التي تنتمي إلى :

المملكة: *Bacteria*

التصنيف: *Proteobacteria* .

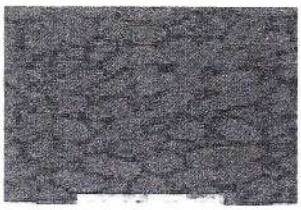
القسم : *Gammaproteobacteria* .

الرتبة : *Enterobacteriales* .

العائلة : *Enterobacteriaceae* .

النوع : *Proteus* .

الصنف: *Proteus mirabilis* .



الشكل رقم06 : Proteus mirabilis
ملاحظة بالميكروسكوب الإلكتروني

وهي بكتيريا لا هوائية ذات غرام سلبي ، تتواجد في المثانة البولية .

تتشكل لديها القدرة على إنتاج مستويات عالية من بكتيريا التحليل البولي (urease) ، وبذلك يجعل البول أكثر قلوية إذ يمكن لها من تحليل اليوريا إلى امونيا NH_3 .

و إذا تركت دون علاج ، زادت القلوية ويمكن أن تؤدي إلى تكوين بلورات من كربونات الكالسيوم . البكتريا التي يمكن أن توجد في الأحجار المتشكلة في الكلى وهي كامنة فيها ، يمكن معاوده الإصابة حتى بعد العلاج بالمضادات الحيوية.

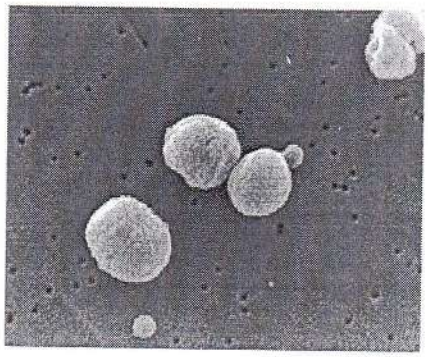
بمرور الزمن ، قد ينمو الحجر إلى درجة تسبب الإعاقة والفشل الكلوي.

والبكتيريا قد تسبب أيضا في تسمم الدم و الإلتهابات الرئوية [28-31].

علاج هذه الأمراض الناجمة عن البكتيريا ، يتم عن طريق استعمال المضادات الحيوية .

6/4- ستربتوكوك بنيموني: Streptocoque pneumonie

هي البكتيريا التي تنتمي إلى :



المملكة: *Bacteria*

التصنيف: *Proteobacteria* .

القسم: *Firmicutes* .

الرتبة : *Lactobacillales* .

العائلة: *Streptococcaceae* .

النوع : *Bacilli* .

الصنف: *Streptococcus* .

إسمها القديم Diplococcus pneumonia و تمت إعادة تسميتها من جديد Streptococcus pneumonia تنمو على شكل سلاسل في الأوساط السائلة ، تنتمي إلى البكتيريا الموجبة الغرام وتتسبب في أمراض عديدة من بينها الالتهاب السحائي ، والتهاب الجيوب الأنفية ، والتهابات الأذن، والأنيميا (فقر الـــدم) [28-31] .

5 - مقاومة البكتريا للمضادات الحيوية :

إن أكثر الأشياء التي تجلب الانتباه إلى عمل البكتريا هي المقاومة نظرا لكونها المسؤولة عن نسبة الوفيات الناتجة عن الأمراض الوبائية إضافة إلى الخسائر المادية للنظام الصحي للبلدان ذلك أن الأمراض الوبائية تشكل اكبر مشكل صحي على وجه الأرض حتى الآن.

الفصل الثالث

مركبات الديازو والإستبدال الإلكتروفيلي

1-تعريف :

يطلق إسم مركبات الآزو على المركبات التي تحتوي جزيئاتها على مجموعة آزو (-N=N-) يتصل تكافؤاها الطليقان بشقين هيدروكربونيين ، و يتم الحصول عليها إنطلاقا من الأمينات العطرية [36] .

2-تحضير مركبات الديازو:

يتم الحصول على هذه المركبات إنطلاقا من أمين عطري يتفاعل بالبارد (0 م°) مع محلول حمض الآزوتي HNO_2 ، و لما كان هذا الحمض غيرثابت فإنه يحضر في بيئة التفاعل في وسط يحتوي على الأمين وذلك بفعل زيادة من حمض قوي (الذي يبرتن الأمين) في ملح نتريت .

$$ArNH_2 + HCl \longrightarrow ArNH_3^+ + Cl^-$$
$$NaNO_2 + HCl \longrightarrow HNO_2 + Na^+ + Cl^-$$
$$ArNH_3^+ + HNO_2 \longrightarrow ArN_2^+ + 2H_2O$$

أما الأمينات الآليفاتية الأولية و الثانوية و الثالثية فعند تفاعلها مع حمض النيتروز تعطي على الترتيب الكحول و النيتروجين الحر و N- نيتروزوأمينات و هي سوائل زيتية القوام و من مسببات السرطان و أما الثالثية فتعطي إتزان بين الأمين ، و ملح الأمين و مركب N- نيتروزوأمونيوم [37] .

3-خواص أملاح الديازو :

أملاح الديازونيوم مواد صلبة بلورية ، تذوب بسهولة في الماء ، و قليلة الإنحلال في أغلب المذيبات العضوية ، و الأكثر ثباتا بكثير في البارد منه في الساخن ، و تكمن فائدة مركبات الديازو في كونها موادا وسطية تصلح للعديد من التفاعلات التي تجرى دائما في محلول ، و لا تحضر إلا محاليلها و ذلك بالطريقة التالية :

الأمين العطري المنحل في ثلاثة مكافئات من حمض كلور الماء بصورة عامة يبرد إلى الدرجة 0-5 م° ، يضاف إليه و على دفعات صغيرة محلول نتريت الصوديوم [36،37].

$$ArNH_2 + HCl + NaNO_2 \xrightarrow{\text{في الماء 0 م°}} ArN_2^+Cl^- + Na^+Cl^- + H_2O$$

و قد تم التحقق من ذلك ، و حسب حموضة الوسط التفاعلي من وجود آليتين للتشكل .

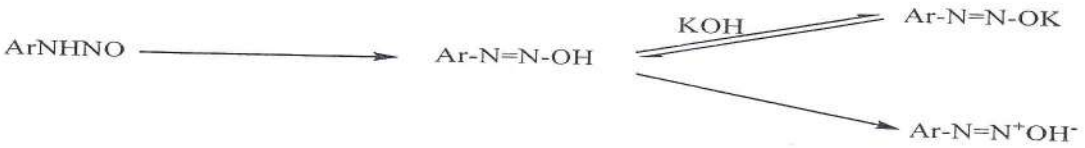
1- في الوسط الحامضي الممدد يكون N_2O_3 هو العامل الفعال .

$$N_2O_3 + ArNH_2 \longrightarrow ArNHNO + HNO_2$$

2- في الوسط الحامضي المركز يكون حمض الآزوتي المبرتن $H_2^+NO_2$ هو العامل الفعال .

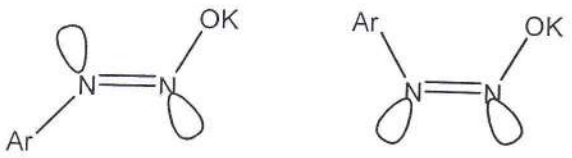
$$H_2^+NO_2 + ArNH_2 \longrightarrow ArNHNO + H^+ + H_2O$$

و بعد ذلك يتماكب N – نيتروزو الأمين الحاصل حسب التفاعل .



إن حموض أريل الديازوئيك حموض ضعيفة تكافئ في قوتها قوة حمض الآزوتي ، و هي لم تعزل مطلقا في الحالة البلورية ذلك لأن التحميض يجعل التوازن يتقهقر نحو ملح الديازونيوم .

و بالمقابل فقد بلورات أملح البوتاسيوم إنطلقا من محاليل قلوية مركزة ، ونقيت بالبلورة في وسط لامائي (كحول أو إيثر) ، و قد تم تبيان وجود شكلين لها ، مقرون و مفروق [37] .

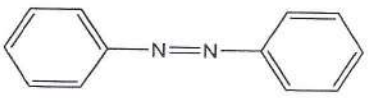


مفروق مقرون

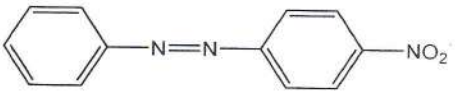
و الشكل المقرون أكثر فاعلية من الشكل المفروق .

4-تسمية مركبات الديازو :

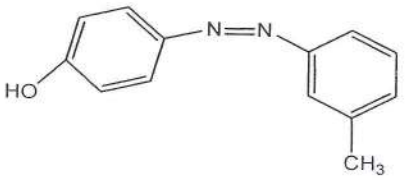
يمكن تسمية مركبات الآزو Ar-N=N-Ar بطريقتين ، فالمركبات الأقل تعقيدا تسمى كمشتقات الآزو بنزين (Aso benzene) و يشار إلى مواقع المجاميع المعوضة على الحلقتين بمجموعتين من الأرقام ، و توضع فتحة على الأرقام في حالة التمييز بين المواقع على الحلقتين في المركب الواحد [38] .



Azo benzene



P-Nitro azo benzene



3- Methyl - 4'- hydroxy azo benzene

5-تفاعلات أملاح الديازونيوم :

أملاح الديازونيوم شديدة الفعالية و هي من أكثر فئات المركبات العضوية إستخداما في أغراض التصنيع ، يمكن إحلال مجموعة بأي من عدة مجموعات أخرى أو قد تكون ذرتا النيتروجين جزءا من جزئ جديد . يمكن تقسيم التفاعلات التي تستخدم فيها هذه الأملاح إلى ثلاثة أقسام [37،36].

أ- تفاعلات تبادلية :

يتصاعد فيها النيتروجين و تحل مجموعة أخرى محل مجموعة الديازونيوم .

و مثال ذلك تفاعل ساند ماير Sandmeyer و يتم فيه تسخين ملح الديازونيوم بحضور محلول حمضي من ملح بروم أو يود قلوي إلى مشتق أريلي مبروم أو ميودد [36] .

$$C_6H_5\text{-}N_2^+Cl^- \xrightarrow{KI\ ,^\circ\ 95} C_6H_5\text{-}K^+Cl^- + N_2$$

ب- إختزال مجموعة الديازونيوم مع فقد النتروجين أو الإحتفاظ به :

و مثال ذلك الإختزال إلى أمين و نشاذر حين يمزج محلول بنزين ديازونيوم كلوريد مع الهيدروجين تحت ضغط 2 إلى 3 جـو في وجود البلاتين كعامل محفز يتكون الأنيلين و كلوريد الأمونيوم وفق التفاعل التالي [36] .

$$C_6H_5\text{-}N_2^+Cl^- \xrightarrow[Pt]{3H_2} C_6H_5NH_2 + NH_4Cl$$

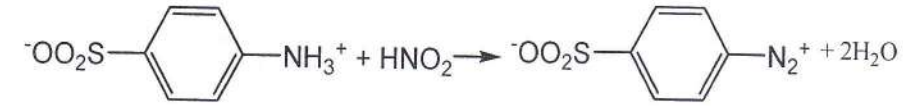
و في حالة فقد النيتروجين كمثال على ذلك الإختزال بإستخدام قصديريت الصوديوم أو حمض هيبوفوسفورو [37].

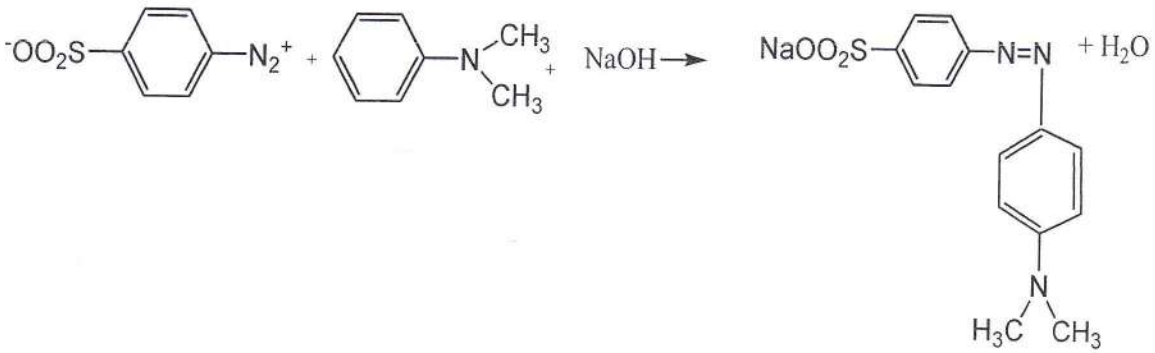
$$C_6H_5\text{-}N_2^+Cl^- + Na_2SnO_2 + NaOH \longrightarrow C_6H_6 + Na_2SnO_3 + NaCl + N_2$$

ج- تفاعلات الإزدواج حيث تبقى ذرتا النيتروجين كجزء من التركيب الجزئي للمركب الجديد :

و من اشهر التفاعلات تفاعلات تكوين أصباغ الآزو و يتم فيها إستبدال ملح الآزو بمجموعة أخرى أو ذرة أخرى وفق تفاعل إستبدال إلكتروفيلي و هي طريقة تحضير معظم الأصباغ .

و مثال ذلك المثيل البرتقالي أو حمض ثنائي مثيل أمينو – آزو بنزين سلفونيك و هو كاشف يستخدم في معايرات الأحماض و الأسس و يتم وفق التفاعل التالي [36] .



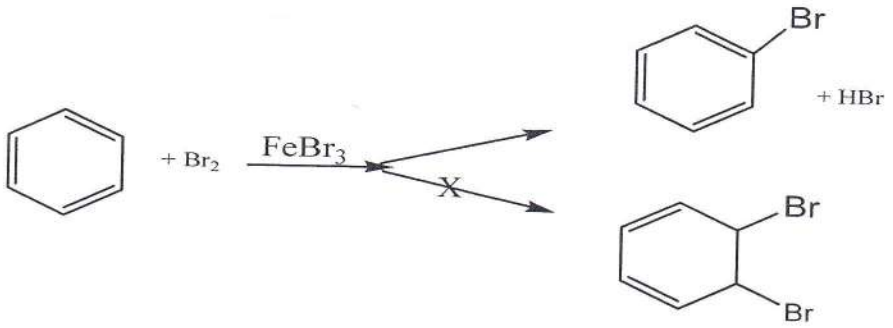


الإستبدال الإلكتروفيلي

1- مدخل :

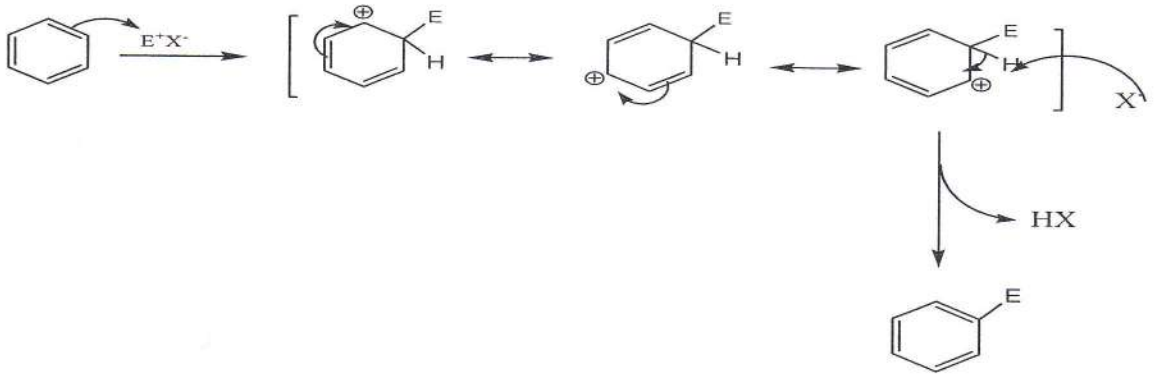
عندما يتفاعل ألكين مع كاشف باحث عن الإلكترون يتكون عادة أيون موجب بيني (عادة أيون كربون موجب) يمكنه أن يتفاعل بعد ذلك بإحدى طريقتين ، فإذا تفاعل مع باحث عن النواة يكتمل تتابع الإضافة إلى الرابطة المضاعفة ، و هذا خاص بالمركبات غير الآروماتية ، و إذا فقد ذرة أو مجموعة من المركب البيني فإنه يعيد تكوين رابطة ثنائية و بذلك يتم الإستبدال و هذا الطريق الأخير تتميز به المركبات الآروماتية [37] .

و لقد كان البنزين لغزا أمام الكيميائيين في القرن التاسع عشر ، فصغته الجزيئية C_6H_6 بما تدل عليه نسبة الكربون إلى الهيدروجين عالية توضح أنه مركب على درجة كبيرة من التشبع و مع هذا فإن البنزين يتفاعل مع الباحثات عن الإلكترون بدرجة أبطأ كثيرا من تفاعل معظم الألكينات و المركبات عديدة الروابط الثنائية ، و زيادة على ذلك فإن تفاعلات الإضافة النموذجية في معظم الألكينات غير شائعة في البنزين و مشتقاته و تعتبر تفاعلات الإستبدال من الخواص المميزة للمركبات الآروماتية [36] .



ويحيط مجال المركبات الآروماتية بمدى أوسع بكثير من تركيبات البنزين و مشتقاته و بعض هذه المركبات يتكون من حلقتين مندمجتين و إدخال ذرات أخرى غير الكربون في الهيكل [36].

2-الآلية العامة لتفاعل الإستبدال الإلكتروفيلي :

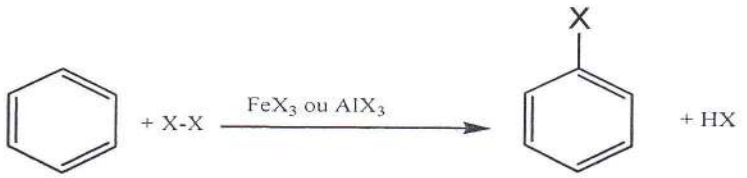


ومن أشهر التفاعلات التي تتم على البنزين و المركبات الآروماتية نذكر .

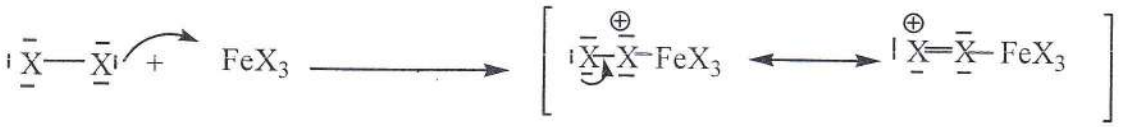
أ-الهلجنة :

الكواشف المستخدمة في أغلب الأحيان للهلجنة الآروماتية هي الهالوجينات (الجزيئية) الكلور Cl_2 والبروم Br_2 ، اليود I_2 ، و التفاعلات في حالتها النموذجية أبطأ كثيرا من تفاعلات النترتة ، و في كثير من الأحوال تحتاج إلى محفز للحصول على مردود جيد .

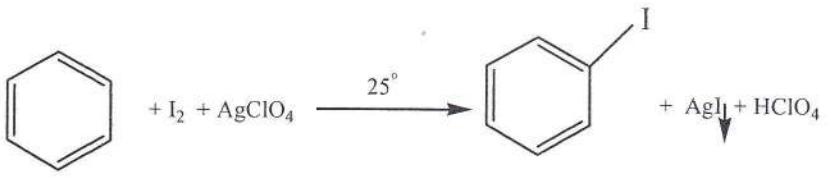
و يتم وفق التفاعل التالي [38].



و تحضير الكاشف الإلكتروفيلي يتم كالتالي .



واليودنة عادة بطيئة جدا و هي لاتفيد إلا مع المركبات الآروماتية النشطة لأن اليود ضعيف الفاعلية و لذلك يجب إضافة فوق كلورات الفضة لمخلوط التفاعل [37] .

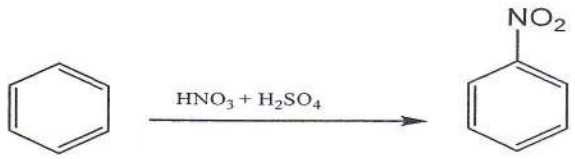


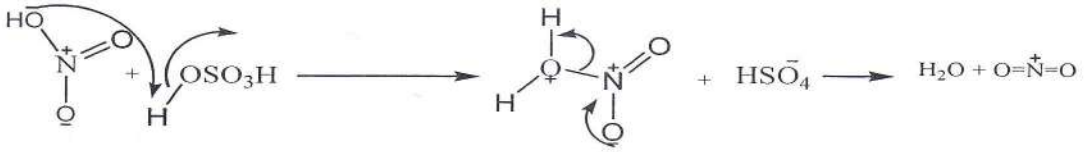
80 %

و فلورة المركبات الآروماتية ناشرة للحرارة بدرجة كبيرة و عادة ما تتم بطرق غير مباشرة .

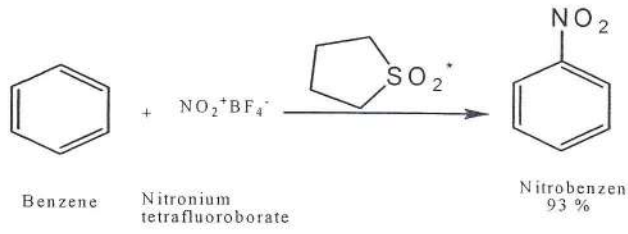
ب- النترتة :

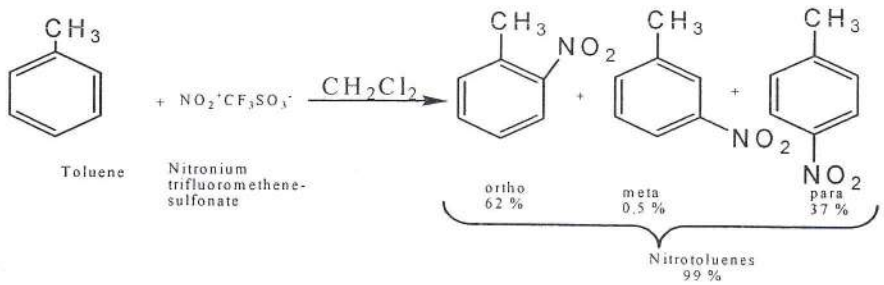
تجرى نترتة المركبات الآروماتية في معظم الأحيان بإستخدام خليط من حمض الكبريتيك و النتريك المركزين وعلى سبيل المثال فالبنزين مثلا يعطي حصيلة حوالي 95% من نيتروبنزين عند إجراء التفاعل عند 25–40 م° ويتم فيها تحضير أيون النيترونيوم (NO_2^+) و يتم وفق الآلية [37،36].





و هناك كثير من أملاح النترونيوم المستقرة معروفة و هي تقوم بنترتة الحلقة الآروماتية بطريقة مشابهة لمخلوط نتريك – كبريتيك و نذكر منها .



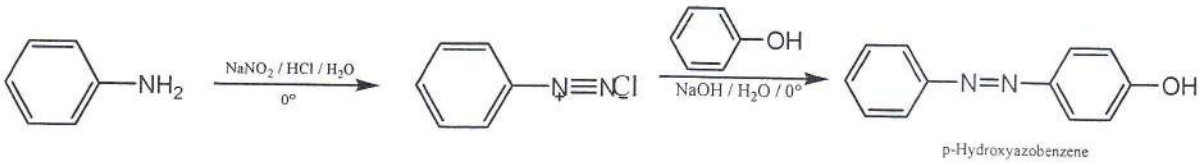


على الرغم من أن املاح النترونيوم قد أستخدمت في النترتة إلا أنها مواد قابلة للانفجار ، لذلك تفضل كواشف أخرى في التصنيع العضوي .

و نترتة مركب آروماتي تكون من خطوة واحدة في تخليق عدد كبير من المركبات [36].

ه- إزدواج ديازونيوم :

تعتبر أملاح أريل ديازونيوم باحثات عن الإلكترون ناجعة تجاه المركبات العضوية النشطة ، و التفاعل الذي يعرف بإسم إزدواج ، ذو فائدة عظمى في الحصول على مشتقات أريل آزوفينول و أريل آزوأمين و ينتج المركب الرئيسي عادة من الإزدواج عند الموضع بارا بالنسبة للبديل المنشط و هو مركب ملون على درجة عالية من التزاوج .



p-Hydroxyazobenzene

و قد كان تفاعل إزدواج ديازونيوم كمصدر لمواد الصباغة ذا أهمية في التطورات الأولى في الكيمياء العضوية ، و حتى هذه الأيام فإن أكثر من 50 % من المواد الملونة المحضرة عبارة عن صبغات آزو ، و هنا يتآلف الكيمياء والتقنية بدرجة عالية من الإرتقاء ليقدما عمليات صباغة ذات ألوان ثابتة تتحمل الغسيل و تتفق مع بنية الأنسجة المختلفة [36،38] .

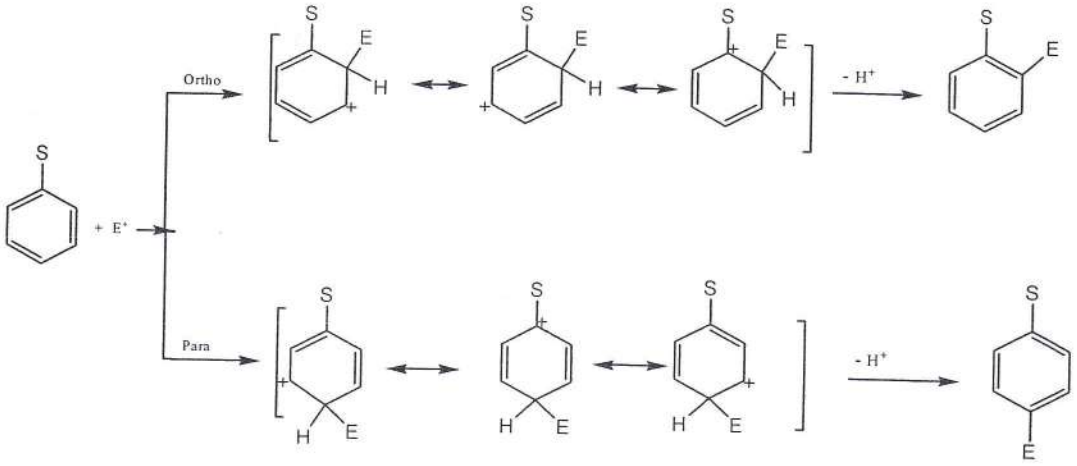
3-أثر المجموعات البديلة (الفاعلية و التوجيه): [40]

عندما تتعرض مشتقات البنزين لهجوم إلكتروفيلي ، فإن للمجموعات الموجودة على الحلقة أثرا على كل من معدل التفاعل و موقع الهجوم . لذلك نقول بأن المجموعات البديلة تؤثر على الفاعلية و التوجيه في الإحلال الآروماتي الإلكتروفيلي .

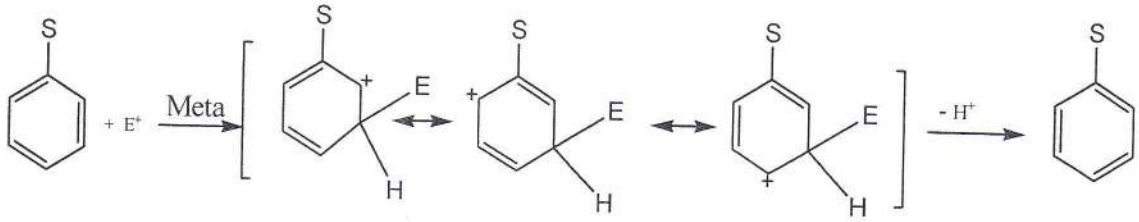
و نستطيع أن نقسم المجموعات البديلة إلى طائفتين حسب أثرهما على فاعلية الحلقة ، فتلك التي تجعل الحلقة أكثر فاعلية من البنزين نفسه توصف بأنها مجموعات منشطة ، أما تلك التي تجعل الحلقة أقل فاعلية من البنزين فإنها تعرف بالمجموعات المخملة .

و نجد كذلك أن المجموعات تنقسم إلى قسمين بحسب تأثيرها على توجيه هجوم الإلكتروفيل ، فبعض المجموعات تميل إلى توجيه التفاعل بصورة رئيسية نحو موقعي أورثو و بارا بالنسبة لها ، و لذلك نسميها موجهة أورثو – بارا لأنها تميل إلى توجيه المجموعة الجديدة نحو موقعي أورثو و بارا ، أما النوع الآخر من المجموعات ، فإنها تميل إلى توجيه الإلكتروفيل نحو موقع ميثا ، فنطلق عليها موجهة ميثا .

1/3- المجموعة المنشطة أرثو – بارا :



من خلال هذه الصيغ نلاحظ أن الموقع ميثا يكون فقير إلكترونيا و هذا ما يجعل الإلكتروفيل يفضل الموقعين أورثو و بارا بصفة كبيرة ، و المجموعات التي تؤدي إلى هذا التوجيه هي كل المجموعات التي تزيد الشحنة في الحلقة (تعوض الفقر الإلكتروني) مثل المجموعات الألكيلية و المجموعات الحاملة لزوج إلكتروني يمكنه تخفيف الشحنة الموجبة في الحلقة بواسطة الفعل الميزوميري مثل الهالوجينات.



من خلال صيغ الرنين نلاحظ أن الموقعين أورثو و بارا يعانيان فقر إلكتروني و منه فإن الإلكتروفيل في حالة الهجوم يكون الموقع ميثا هو المفضل و المجموعات التي تؤدي إلى هذا التوجيه هي كل المجموعات التي تنقص الشحنة في الحلقة (تزيد الفقر الإلكتروني)

الفصل الرابع

الجزء العملي

تصنيع المركبات

1-مقدمة :

بعدما سلطنا الضوء على الجانب النظري للمضادات الحيوية و تصنيفها و طريقة تأثيرها ، ثم إنتقلنا إلى البكتيريا و مميزات عائلاتها و تصنيفها ، قمنا في هذا الفصل بتحضير مشتقات الأوكساسيلين التي إستخدمناها كمضادات للبكتيريا و كانت طريقة التحضير وفق تفاعل الإستبدال الإلكتروفيلي والأوكساسيلين المستخدم يحمل المواصفات التالية :

درجة النقاوة 100 %

صغته العامة $C_{19}H_{19}N_3O_5S$

وزنه الجزيئي 401.437 غ/مول

درجة الإنصهار 254 م°

2- طريقة تحضير آزو أوكساسيلين :

1/2- المرحلة الأولى :

في بيشر سعته 250ملل مزود بمحرك وموضوع في حمام جليدي نذيب الانيلين (0.5115g، 5.49mmol) في محلول مشكل من 1ملل من حمض كلور الماء و2ملل من الماء المقطر ونقوم بالتحريك مع مراعاة درجة الحرارة أقل من 5 م° .

في بيشر سعته 250 ملل نذيب (0.7g , 10.14 mmol) من نتريت الصوديوم $NaNO_2$ في 5ملل من الماء المقطر ونقوم بتبريد المحلول .

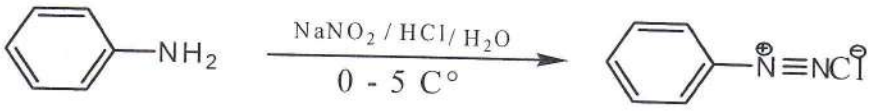
نقوم بإضافة محلول نتريت الصوديوم إلى المحلول الأول بقدر 0.5 ملل في كل مرة وكل هذا مع التحريك . التفاعل ناشر للحرارة ويجب أن لا تتجاوز الحرارة 5 م° لكي لا يتفكك ملح الديازونيوم.

2/2- المرحلة الثانية : تفاعل التزاوج

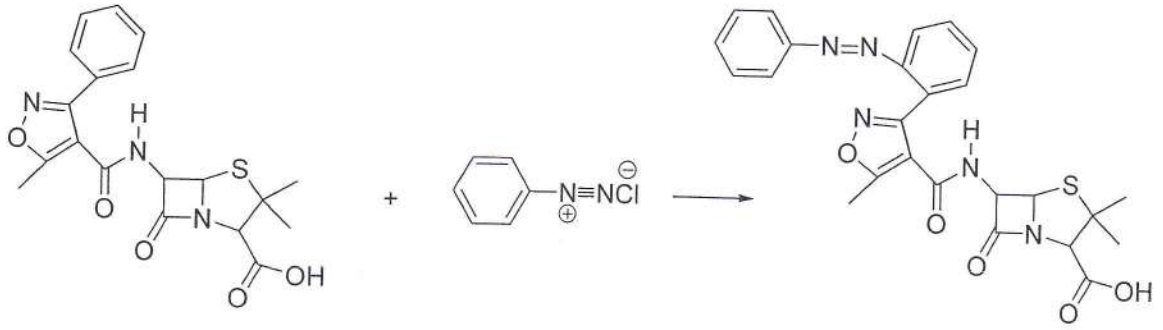
نحضر في أرلن محلول يحتوي على (2g , 4.62mmol) من الأوكساسيلين الحقني مذاب في 10ملل من الماء المقطر ونبرد المزيج مع التحريك حتى درجة حرارة أقل من 5 م° ثم نقوم بتسريع التحريك ونضيف محلول ملح الديازونيوم ببطء إلى المزيج فنلاحظ تشكل راسب أصفر بعد إنتهاء الإضافة نترك المزيج يبرد مع التحريك لمدة 30 دقيقة [38] .

3/2- آلية التفاعل :

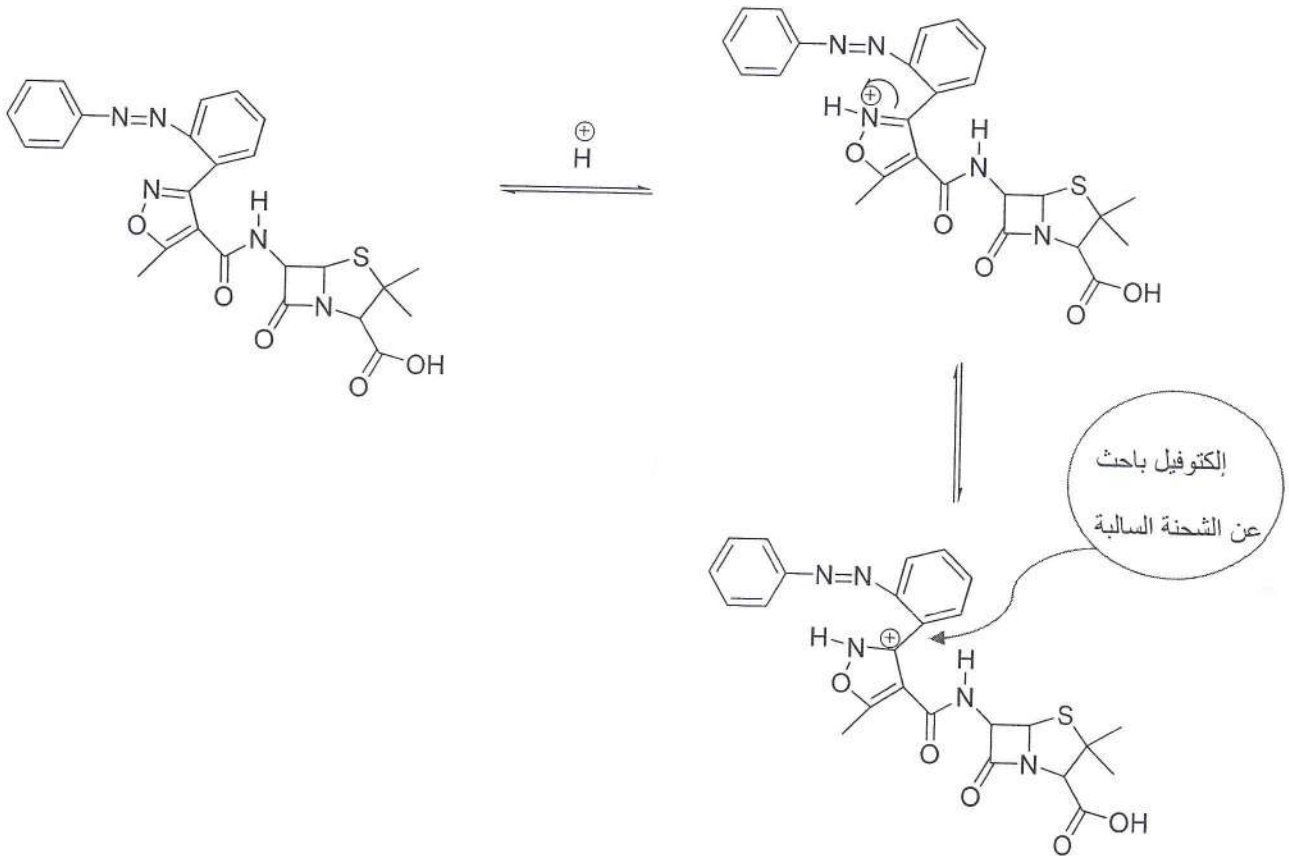
الخطوة الأولى:



الخطوة الثانية :



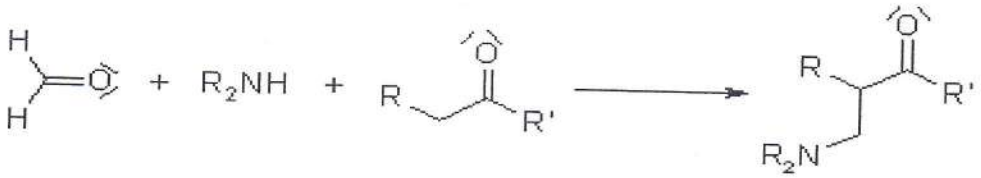
وبما أن الوسط حامضي فإنه



وبما أن الخطوة تتمثل في غلق الحلقة و لا يحدث هذا إلا إذا كان التوجيه في الموقع أورثو

و هذا التفاعل مشابه لتفاعل مانيش الذي يتم وفق الخطوات التالية :

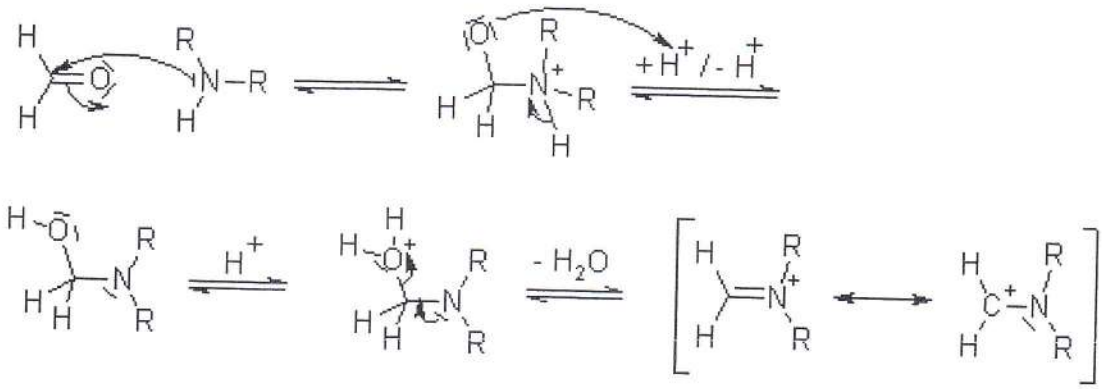
تفاعل مانيش (Mannich réaction) [41،40]

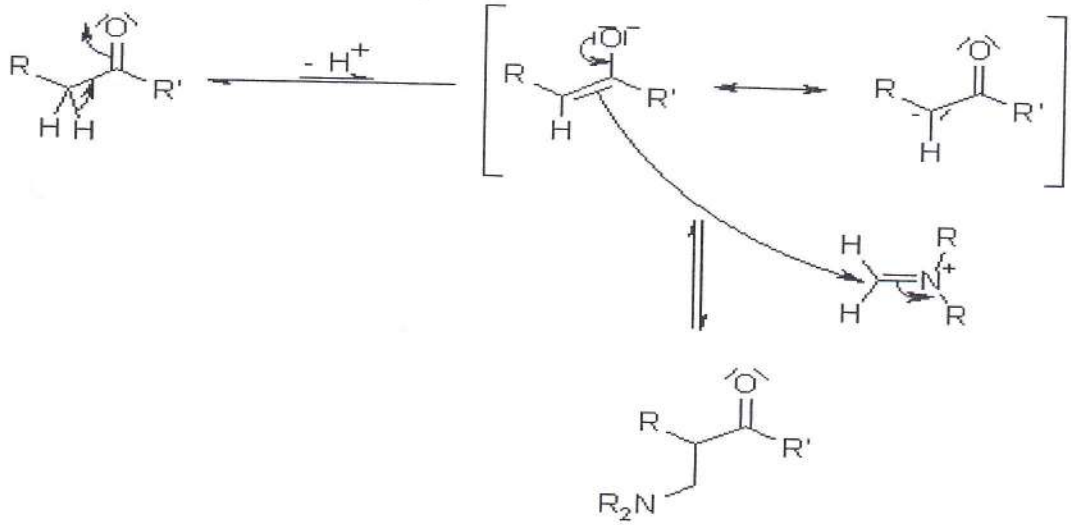


و يبدو أن تفاعل مانيش يتبع عدة ميكانيكيات متعددة ، و ذلك بحسب المتفاعلات و ظروف التفاعل .

و هناك ميكانيكية يبدو أنها السائدة في الوسط المتعادل أو الحمضي .

الميكانكية:





4/2- حساب مردود التفاعل :

بعد نهاية التفاعل تحصلنا على راسب ذو لون أصفر قمنا بعملية الترشيح تحت الفراغ ثم غسل الراسب بالماء المقطر ثم تركناه يجف لمدة يومين ، بعدما وزنا الراسب وجدنا كتلته تساوي 0.5غ

و كان مردود التفاعل (25 %) .

و بعد عملية التنقية التي تمت كالتالي :

قمنا بإذابة الراسب في محلول من NaOH تركيزه 10^{-4} مول/ل ثم عملية الترشيح ثم أضفنا محلول مخفف من HCl تركيزه 10^{-4} مول/ل (حتى تحول الوسط إلى وسط حامضي) فتشكل الراسب من جديد بعد غسل الراسب بالماء المقطر و تجفيفه وجدنا وزنه 0.3غ فكان المردود (15 %) .

5/2 – التحليل الآلي للأوكساسيلين :

IR : (C=O)(1759.0–1722.3) ، (Aromatique) (2050.2 –1911.3) (OH Acide)(3184.3) ، (Vmax ((KBr DiSc,cm^{-1})) ، (613.3– 767.6) مستبدل أحادي .

النتائج التي تحصلنا عليها وهي قمة أحادية عند (1.35–1.89) ppm التي تعود إلى بروتونات المثيل للبنيسيلين ، و الأطياف أظهرت قمة عند (6.9–7.5) ppm التي تعود لبروتونات الحلقة الآروماتية ، هذه النتائج تنسجم تماما مع النتائج المنشورة من قبل Mojtaba Shamsipur [42] .

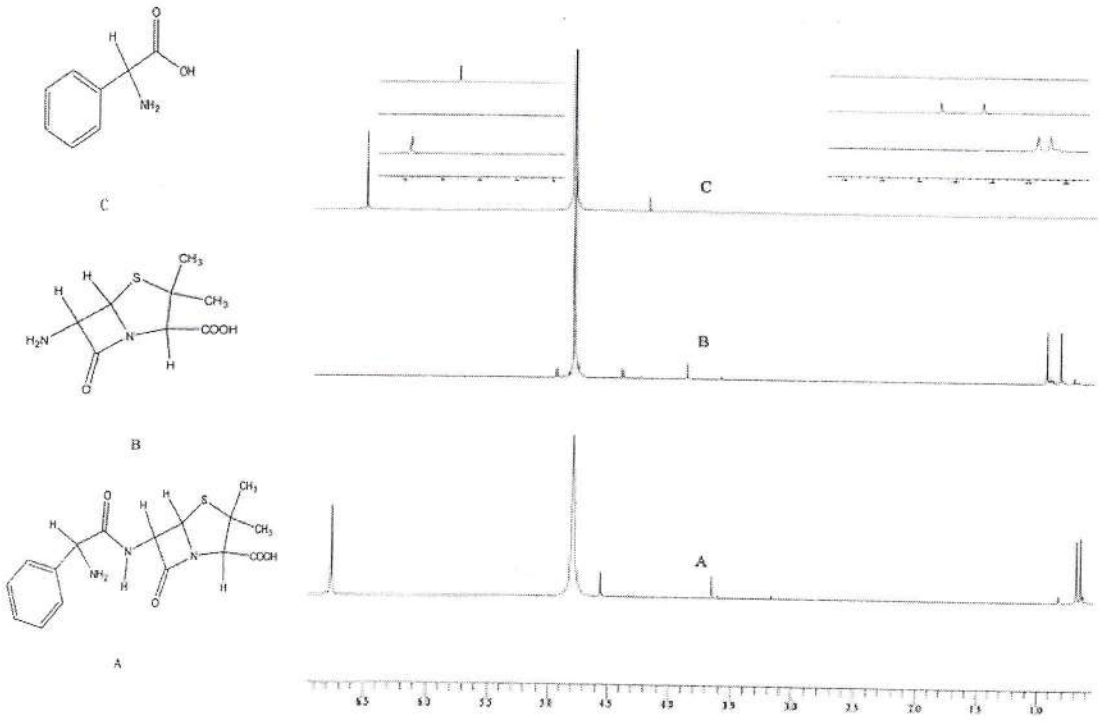
مع أخذ بنظر الإعتبار الإزاحة الثابتة الملاحظة في كل القمم و هذا نتيجة إستعمالنا للمذيب $CDCl_3$ بدلا من D_2O .

و Mojtaba و مساعديه إستعملوا $D_2O/HCOOH$ كمذيب مناسب و وجدوا طيف البنيسيلين (أمبيسيلين) له القمة الأحادية عند 0.640 و 0.675 ppm التي تعود إلى C-H المجاورة لمجموعة COOH– ، و الأطياف تظهر قمة عند 6.76 ppm ل Ar-H .

هذه النتائج موافقة تماما للباحثين K.L.Tyczkowska و M.M.Siegel [43– 45]

وفي كل اطيافهم لاحظوا قيمتين احاديتين عند(4.78 و7.63) (ppm)الموافقة ل : H_2Oو HCOOH على التوالي

الوسط البيولوجي عادة يكون في وسط مائي وD_2Oالمختار لكل اطياف (H^1RMN) المنجزة للباحثين المذكورين سابقا. بالاضافة الى كل هذا البنيسيلينيات لها استقرارية محدودة وخاصة في المذيبات العضوية وينتج نواتج التفكك المختلفة. لهذه الاسباب فان مشتقات البنيسيلين لم تظهر اشارات لبروتونات β–لاكتام وH المجاورة ل COOH-



الشكل -08- طيف RMN للبنيسيلينيات [43]

6/2- التحليل الآلي لديازو أوكساسيلين:

IR : (N=N) (1553.3سم$^{-1}$) (C-N). (1257.5-1022.2سم$^{-1}$) (C=O)(1600.8 – 1558.4)

(Vmax (KBr DiSc,cm^{-1}) ، (3178.5)(OH Acide) (1772.5-1699.2) (Aromatique)

^{1}H-RMN γ (CDCl$_3$, 200 MHz): 1.6581.716. (CH$_3$,H , 3 (2CH$_3$, 6H) . (H,aromatic) 7.8 - 6.5

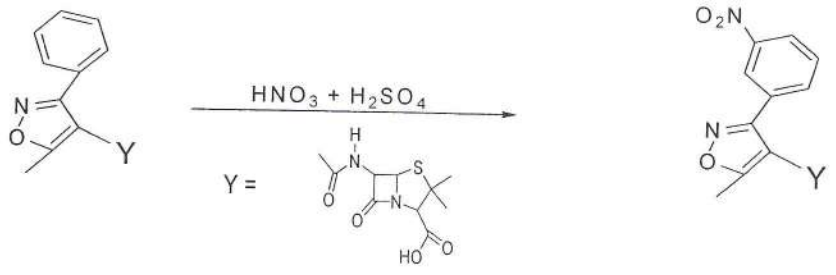
3/3- إدخال مجموعة النيترو:

1/3- طريقة العمل :

في دورق ثلاثي العنق سعته 250 ملل بخلاط و مبرد هوائي و قمع فصل و ميزان حرارة . وضعنا 1 ملل من حمض الآزوت المركز في دورق الإصطناع مع التحريك ، و أضفنا إليه بحذر و على دفعات 1ملل من حمض الكبريت الكثيف و بردنا المزيج حتى الدرجة 25-30 م° ، و أضفنا إليه و بحذر و بالتدرج 10 ملل من الماء المقطر .

في بيشر سعته 250 ملل وضعنا (9.13 ميلي مول ،4 غ) من الأوكساسيلين و أضفنا إليه 10 ملل من الماء المقطر بعد الذوبان وضعنا المحلول في دورق ثلاثي العنق مزود بخلاط مغناطيسي و حمام مائي و بواسطة قمع الفصل أضفنا المزيج الحمضي (H_2SO_4 , HNO_3) و كنا نراقب درجة الحرارة أثناء التفاعل ، و يجب أن لا تزيد عن 60 م° و لا تنخفض عن 25 م° .

لأنها إذا إرتفعت درجة الحرارة عن 60 م° تحدث نترجة ثانية و ثالثة و إذا إنخفظت عن 25 م° يتوقف التفاعل . وبعد إضافة كل الكمية يسخن المزيج المتفاعل لمدة 40-50 د في حمام مائي و عند الدرجة 60 م° مع وصل الدورق بمبرد هوائي [46] .



3/3- حساب مردود التفاعل :

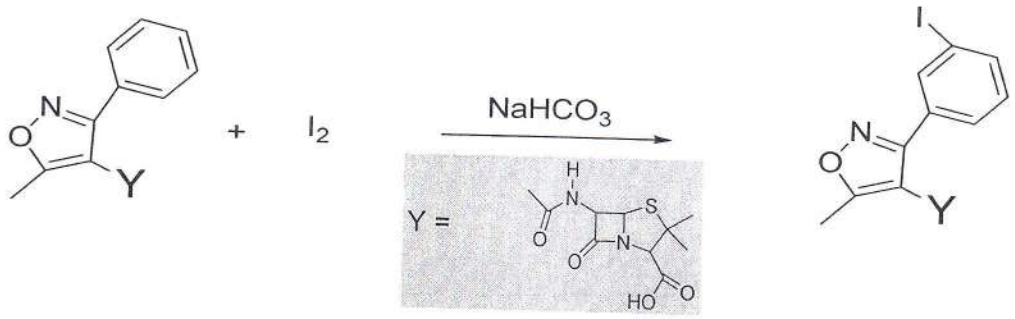
تحصلنا على راسب أبيض مصفر وزنه 3.4 غ قمنا بعملية الترشيح تحت الفراغ ثم غسل الراسب بالماء المقطر ثم تركناه يجف لمدة يومين ، و مردود التفاعل 85% و بعد عملية التنقية التي تمت كالتالي :

قمنا بإذابة الراسب في محلول من NaOH تركيزه 10^{-4} مول/ل ثم عملية الترشيح ثم أضفنا محلول مخفف من HCl تركيزه 10^{-4} مول/ل (حتى تحول الوسط إلى وسط حامضي) فتشكل الراسب من جديد بعد غسل الراسب بالماء المقطر و تجفيفه وجدنا وزنه 2.83غ فكان المردود (70.75 %) .

4- إدخال مجموعة اليود :

1/4- طريقة العمل :

في بيشر سعته 250 ملل مزود بمحرك مغناطيسي وضعنا (9.13 mmol ،4 غ) من الأوكساسيلين و 10 ملل من الماء المقطر و (1.26 غ ، 0.015l ميلي مول) من بيكربونات الصوديوم و (2.1 غ ، 0.008 ميلي مول) من مسحوق اليود وإضافة قطع من الجليد ، و قمنا بالتحريك حتى إختفاء لون اليود ، و لمدة 30 د فحصلنا على راسب أبيض بعد عملية الترشيح و تجفيفه وجد وزنه 3.84 غ و منه فمردود التفاعل 96 % [46] .



3/4- حساب مردود التفاعل :

وبعد عملية التنقية التي تمت كالتالي :

قمنا بإذابة الراسب في محلول من NaOH تركيزه 10^{-4} مول/ل ثم عملية الترشيح ثم أضفنا محلول مخفف من HCl تركيزه 10^{-4} مول/ل (حتى تحول الوسط إلى وسط حامضي) فتشكل الراسب من جديد بعد غسل الراسب بالماء المقطر و تجفيفه وجدنا وزنه 3.75غ فكان المردود (93.75%) .

الفصل الخامس

دراسة الفاعلية البيولوجية للمركبات المصنعة

1- مقدمة :

في هذا الفصل سوف نتحدث عن طريقة تحديد فاعلية المضاد الحيوي و نوعية البكتيريا التي يبيدها و قد إستخدمنا طريقة الإنتشار و هي من أكثر الطرق إستخداما و إنتشارا و هي زرع البكتيريا في علب بيتري الحاوية على وسط مغذي و هو Miller Hinton ثم وضع الأقراص الحاوية على المضاد الحيوي و بعد ذلك توضع العلب في الحاضنة تحت درجة 37 م° و لمدة 24 ساعة ثم يقاس القطر و هو مسافة بعد البكتيريا عن المضاد الحيوي [20].

2-الأدوات و المواد المستخدمة :

- المواد المحضرة في الفصل الرابع (نواتج التفاعلات)
- علب بيتري
- الوسط المغذي وسط جيولوزي Miller Hinton
- الحضنة
- البكتيريا (و قد إستخدمنا عدة أنواع)
- الأقراص : هي أوراق بيفارد , قطرها حوالي 06مم

أ-الخطوة الأولى :

قمنا بوزن 0.05غ من كل ناتج من نواتج تفاعلات الأوكساسيلين التي أجريناها في المخبر وهي (إدخال مجموعة الديازونيوم ومجموعة النيترو و اليود) لكل مركب و إذابة كل وزنة في 100 ملل من الماء المقطر وبعد ذلك أخذنا أوراق بيفارد و وضعنا على كل قصاصة قطرة و قطرتين و ثلاثة قطرات من المحاليل المحضرة سابقا ، و بذلك قد حصلنا على الأقراص التي تحتوي على المضاد الحيوي ، و بتركيز مساويا للتركيز المستخدم في الأقراص الطبية وهو 5 µg و نصف التركيز 2.5 µg و ضعف التركيز 10 µg و نتركها تجف .

ب-الخطوة الثانية :

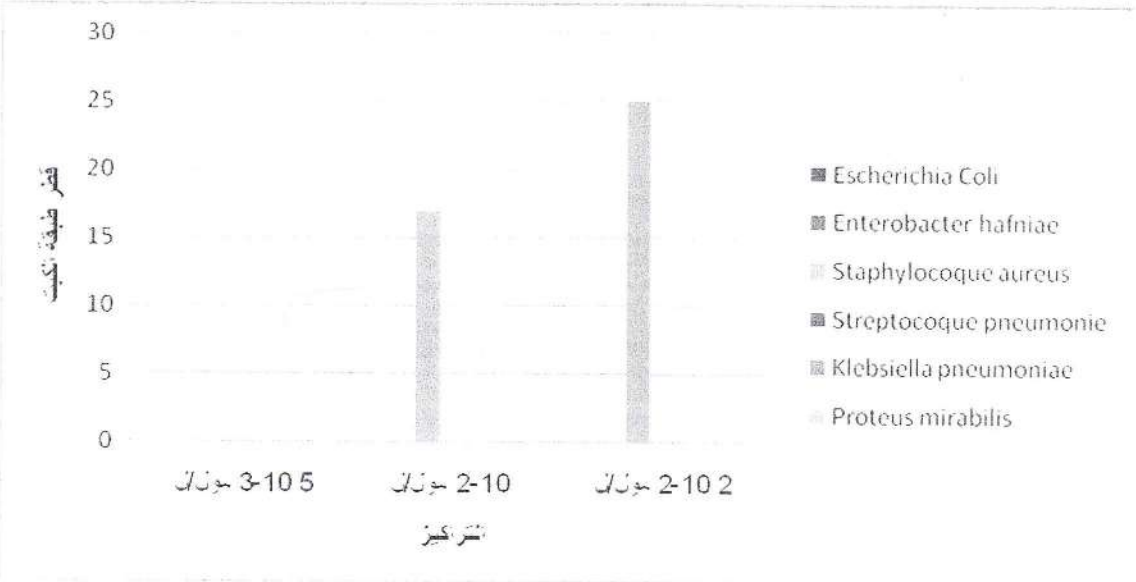
زرع البكتيريا في علب بيتري الحاوية على المادة المغذية و هي وسط جيولوزي Miller Hinton ثم توضع العينات و تتم عملية الحضن في الحاضنة و لمدة 24 ساعة .

ملاحظة :

البكتيريا المستخدمة مأخوذة من المرضى و هي الطريقة المعمول بها في التحاليل الطبية .
أخذنا علب بيتري حاوية على مادة مغذية (وسط الزرع) و هي Miller Hinton و زرعنا في كل أربعة منها نوع معين من البكتيريا و في كل مجموعة وضعنا نفس التركيز من المضادات المختلفة و تحصلنا على النتائج التالية

- ناتج تفاعل ملح الديازو مع الأوكساسيلين

التراكيز			الميكروبات المختبرة
10^{2-} 2 مول/ل	10^{2-} مول/ل	10^{3-} 5 مول/ل	
----	----	----	Escherichia Coli
----	----	----	Enterobacter hafniae
25	17	----	Staphylocoque aureus
----	----	----	Streptocoque pneumonie
----	----	-----	Klebsiella pneumoniae
-----	----	----	Proteus mirabilis



الشكل-09- ناتج ديازو أوكساسيلين

- ناتج تفاعل النيترو مع الأوكساسيلين .

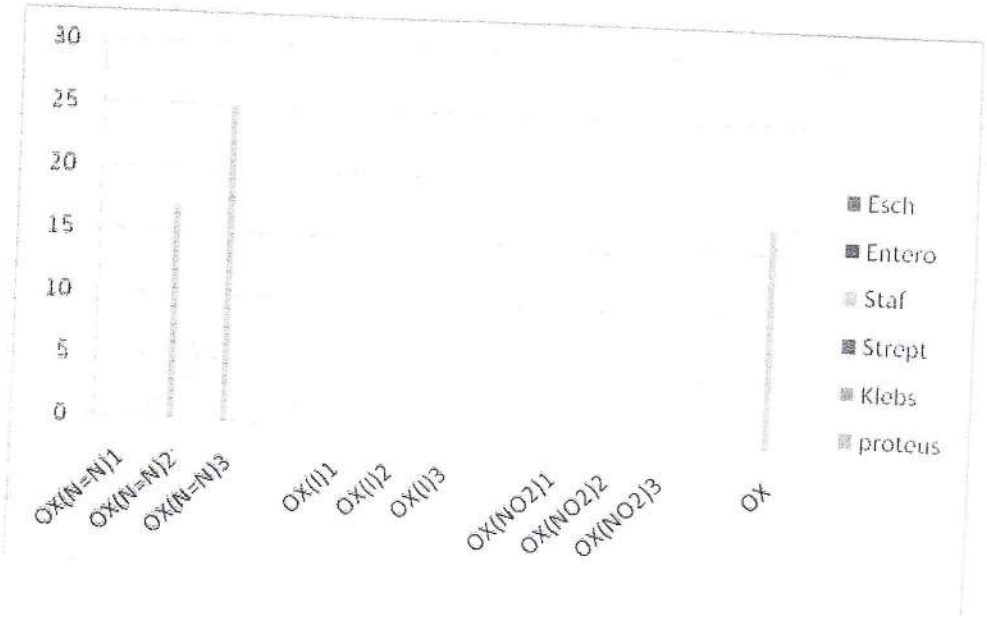
التراكيز			الميكروبات المختبرة
$10\ 2^{-2}$ مول/ل	10^{-2} مول/ل	$10\ 5^{-3}$ مول/ل	
----	----	----	Escherichia Coli
----	----	----	Enterobacter hafniae
----	----	----	Staphylocoque aureus
----	----	----	Streptocoque pneumonie
----	----	----	Klebsiella pneumoniae
----	----	----	Proteus mirabilis

- ناتج تفاعل اليود مع الأوكساسيلين .

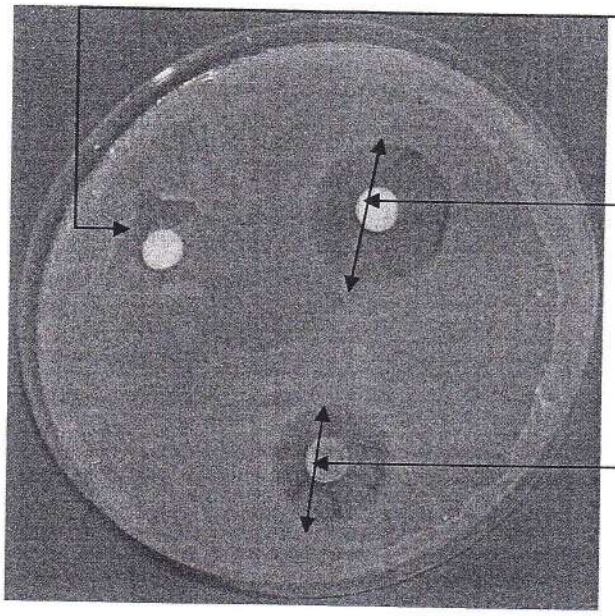
التراكيز			الميكروبات المختبرة
$10\ 2^{-2}$ مول/ل	10^{-2} مول/ل	$10\ 5^{-3}$ مول/ل	
----	----	----	Escherichia Coli
----	----	----	Enterobacter hafniae
----	----	----	Staphylocoque aureus
----	----	----	Streptocoque pneumonie
----	----	----	Klebsiella pneumoniae
----	----	----	Proteus mirabilis

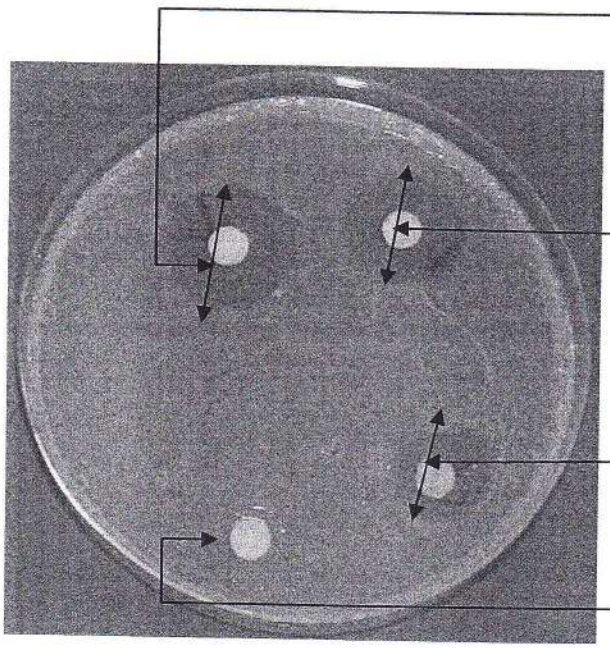
الشكل-10- ناتجي يودو أوكساسيلين و نيترو أوكساسيلين

البكتيريا / المركب	Esch	Entero	Staf	Strept	Klebs	proteus
OX(N=N)1	— —	— —	— —	— —	— —	— —
OX(N=N)2	— —	— —	17	— —	— —	— —
OX(N=N)3	— —	— —	25	— —	— —	— —
OX(I)1	— —	— —	— —	— —	— —	— —
OX(I)2	— —	— —	— —	— —	— —	— —
OX(I)3	— —	— —	— —	— —	— —	— —
$OX(NO_2)1$	— —	— —	— —	— —	— —	— —
OX(NO2)2	— —	— —	— —	— —	— —	— —
OX(NO2)3	— —	— —	— —	— —	— —	— —
OX	— —	— —	17	— —	— —	— —



الشكل-11- ملخص نتائج التفاعلات





الشكل-12- قطر التثبيط للمركبات الناتجة

3- مناقشة النتائج :

لاحظنا في ناتج أملاح الديازو أن هناك فاعلية و هذا ما يدل :

أ- على أن حلقة β-لاكتام لم تتخرب في هذا التفاعل لأن تخربها يفقد المضاد الفاعلية .

ب- فاعلية المركب لم تزداد و هذا ما يدل على أن مجموعة الديازو غير فعالة على البكتيريا و قد تكون لها فاعلية على أمراض أخرى .

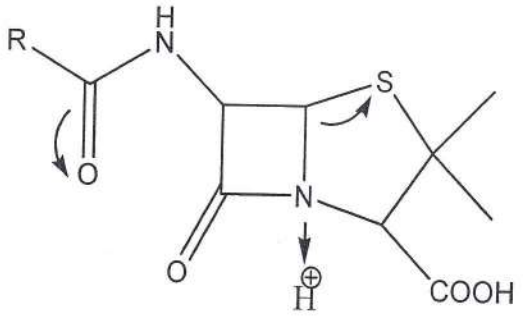
ت-التأثير على البكتيريا بقي نوعي و هذا ما يؤكد عدم فاعلية مجموعة الديازو على البكتيريا .

ث- زيادة التركيز تزيد في قوة الفاعلية .

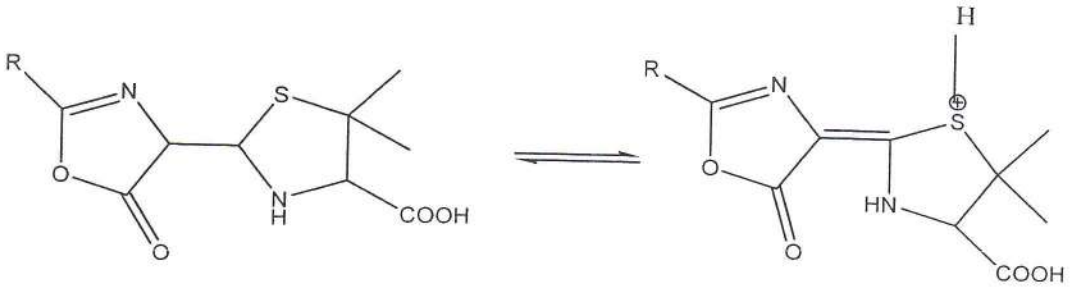
أما فيما يخص ناتجي النيترو و اليود فلاحظنا إنعدام الفاعلية و هذا راجع إلى

أ- تخرب حلقة β-لاكتام وهذا لفعل الحمض في التفاعل (وهي سهلة التخريب بالأحماض والأسس)

ب-المركب الناتج عديم الفاعلية على البكتيريا و التفاعلات التي نتوقع أنها حدثت هي تخرب حلقة β-لاكتام بواسطة الحمض و تم كالتالي .

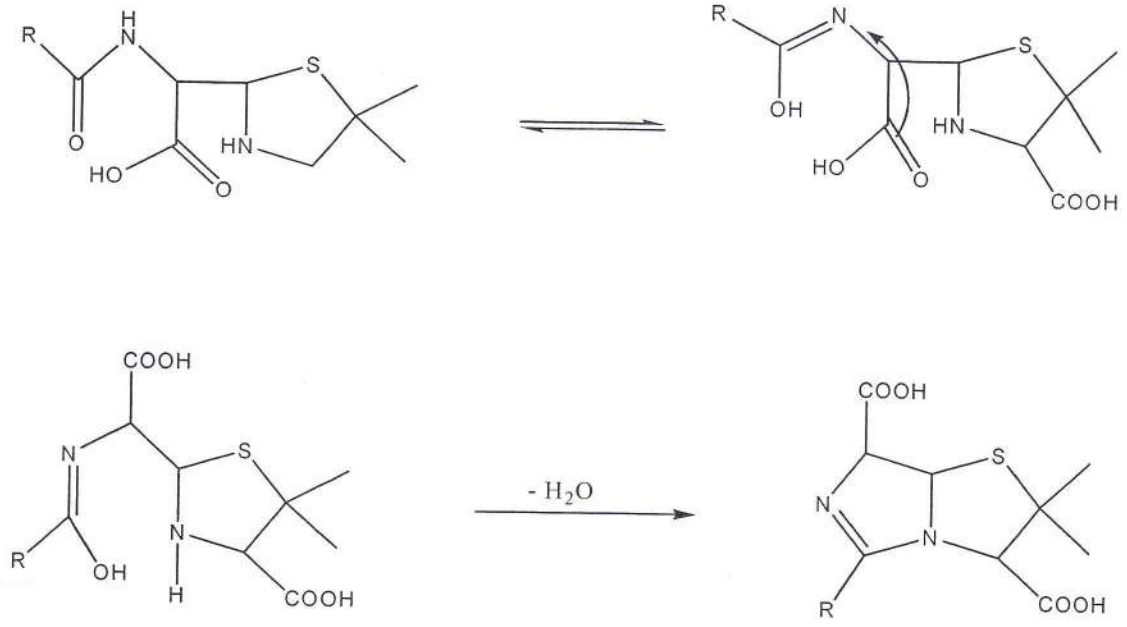


ويؤدي إلـــى تشكـــل نواة الاكزازولون Oxazolone



Acide Pénicillénique

ففي وسط حمضي قوي ونتيجة حدوث توازنات عديدة داخل بنية الجزيء , يمكن أن يتشكل حمض البينيليك AC . Pénillique



Acide Pénicillique

الخلاصة

هـدف عملـنا يتمثل في تمديـد مجال عمـل المضادات الحيويـة و مجال فاعليتـها و ذلك بإدخال مجموعات عليه فمن بين المجموعات التي أدخلناها مجموعة النيترو و مجموعة اليـود و مجموعـة الديازونيوم و ، إن الإستراتيجية التي نحن بصددها إحتوت الخطوات التالية :

- إضافة مجموعات إلى الأوكساسيلين من أجل الحصول إلى مضادات جديدة
- وضع مجموعة حافضة للأوكساسيلين لكي لا يصل إليه إنزيم البنيسيليناز

و إختيار هـذه المجموعات كان لسهولة هذه التفاعـلات ، لكن التفاعليـن الأوليـن لـم ينجحا و تخربت حلقـة β-لاكتام ممـا أدى إلـى نتائـج سلبيـة علـى البكتيريا و غيـاب فاعليـة الأوكساسيليـن حتـى علـى ستافيلوكوك و هي البكتيريا التي يؤثر عليـها ، أمـا في حالة مجموعة الديازونـيوم فإن فاعليـة الأوكساسيلين بقيـت ثابتـة و خاصة و هـذا ما يـدل علـى أن مجموعة الديازونيوم غير فعالة على البكتيريا ، و لكن موضوع البحث مازال مفتوحا لأن لمجموعة الديازونيوم تأثير على أمراض أخرى مثل السرطان و خاصة أن هنـاك إحتمال كبير في تشكـل حلقـة سباعية تحتوي على المجموعة (-N=N-) وهي ذات أهمية كبيرة في الطب .

الأجهزة والتقنيات المستخدمة :

تحليل مختلف المركبات الناتجة والمتفاعلة تمت في الغالب باستخدام الأجهزة والتقنيات المتواجدة في مخبر الكيمياء التحليلية ومخبر التحاليل الفيزيوكميائية التابعين لكلية العلوم وعلوم المهندس لجامعة قاصدي مرباح ورقلة

- **مطيافية تحت الأحمر**

أجريت التحاليل باستخدام بروميد البوتاسيوم الصلب بالنسبة للمواد الصلبة .على الجهاز (Testscam shimadzu FT-IR 8000seris). مابين 500و 4000 سم$^{-1}$.

- **مطيافية الرنين النووي المغناطيسي**

أطياف الرنين النووي المغناطيسي للهيدروجين رسمت بجهاز BRUKER AC 200 NMRS PECTROMETER وباستعمال $CDCl_3$ كمذيب . في مخبر جامعة Remmes كلية الكيمياء بفرنسا.

- **درجة الانصهار حددت باستخدام جهاز** GALLENCHAMP

- **قياس الأوزان**

تم وزن العينات باستخدام ميزان من نوع SARTORIUS AG GOTTINGEN BP 121S

وبالمواصفات التالية : Max = 120 g , d = 0.1 mg

- **إختبارات دراسة الفاعلية البيولوجية**

أجريت في مستشفى سليمان عميرات بتقرت مخبر التحاليل الطبية

المراجع

المراجع

[1] -Rozier. J . Bolnot . F ., Carlier . V .(1985) Bases Microboilogique de L'Hiygiene des Aliments . Maisson Alfort Pairs . P 18 – 115 .

[2] - Baurer . A , W ., Kirry . W . M . M . , Sherris . J . C . A ., Turch . M (1966) . Antibiotic susceptibility testing by a standardized single Disk metod . – Amer . J . Clin . Pathol ., 45 :493-496.

[3] – B.S. Jayashree, A.R.Sahu , M . Srinivasa Murthy and K.N. Venugopala, Asian J Chem , 19 (1), 73 (2007).

[4] – S.Cete,H. Ozkan, F.Arslan, Y. Yildirir and A. Yasar, Asian J.Chem, 19(1),550 (2007) .

[5] – M.Shiradkar, R. Kale ,B. Baviskar and R. Dighe, Asian J. Chem , 19 (1),449 (2007).

[6] – D.T.Tayade, J.S. Waghmare and G. Gulbol, Asian J Chem, 19(4),3085(2007).

[7] – O. Algul, N. Duran and G. Gulbol,Asin J.Chem, 19(4), 3085 (2007).

[8] -J. Figrella , G .Leyral , M . Terret , Microbiologie générale et appliquée , 2001 , LT édition J . Lanore , p 8-130

[9] - H . Leclerc , D . Izard , M . O . Husson , P. Watter , E . Jakbczak , Microbiologie générale , Nouvelle edition , 1983 , Doin édition –Paris. p 45-325

[12]- Abrami L, Leppla SH, van der Goot FG: Receptor palmitoylation and ubiquitination regulate anthrax toxin endocytosis. J Cell Biol 2006, 172:309-320.

[13] - Kussell E, Kishony R, Balaban NQ, Leibler S: Bacterial persistence: a model of survival in changing environments. Genetics 2005, 169:1807-1814 .

[14] -Ericsson . H . M .O . Sherris . J . C . (1971) . Antibiotic Sensitivity Testing . Report of an Intrnational Collaborative Study.- Actes . path . microbial ., scand ., B Suppl . pp . 90 , 217 .

[15]-Guerin-Faublée . V ., Carret . C . (1999) . L'antibiogramme : Principes , méthodologie , intérêt et limites . Journées nationales GTV-INRA . pp . 5-12 .

[16]- GRAHEM. L. PATRICK. Chimie Pharmaceutique De boeck . Bibliothéque Nationle , Paris : Janvier 2003.

[17]- Ph . DOROSZ , Guide pratique des Médicaments . 23e édition Maloine 27, rue de l'Ecole-de-Médecine, 75006 Paris 2003.

[18] – Graham L. Patrick. Chimie Pharmaceutique. 2eme Edition. DEBOECK. 2003, P387-401 .

[19] -Le Minor ,L;Veron,M.Bactériologie médicale .Edition Flammarion(2éméédition) Paris 1989 .

[20] - Larpent . J . P ., Gougaud . M . L (1990) . Mémento Tethnique de microbiologie . 2éme Ed . Tec . Doc .- Lavoisier p75-203 .

[22] -Frankland , E ; Dupper , B . F . J . Chem . Soc . 1864 , 17 31 .

[23]- BÖttger , R . C . Liebigs Ann . Chem . 1859 , 109 , 351 .

[24]- Berthelot , M . C . R . Hebd . Seances Acad . Sci . 1860 , 50 , 805 .

[25] - Kharasch , M . S ; Tawney , P . O . J . Am . Chem . Soc . 1941 , 63 , 2308-2316 .

[26] - House , H O ; Respess . W . L ; Whitesides , G . M . J . Org . Chem . 1996 , 36 , 3128-3141 .

[27]- Jorensen . J . H ., Ferraro . M . J . (1998) . Antimicrobial susceptibility Testing : general principles and contemporary practices . Clin . Infect . Dis . 26: 973-980 .

[28]- Robert-Dernmet . S . (1995) . Antibiotiques et antibiogrammes . Décarie Vigot , Montréal . p.322 .

[29] - Brazilian Journal of Microbiology (2006) 37:108-112 ISSN 1517-8382 .

[30] - Brazilian Journal of Microbiology (2003) 34:147-151 ISSN 1517-8382 .

[31] - Brazilian Journal of Microbiology (2006) 37:101-107
ISSN 1517-8382 .

[32] – Ferron, A.Bactériologie(à l'usage des étudiants en medicine).Edition Gouan et Roques (8éme édition). 1976 .

[33] – Avril, J. L; Dabernat, H; Danis, F; Monteil, H. Bactériologie Clinique. Edition Marketing(1ére édition).Paris. 1992.

[34] – Leclerc, H. Microbiologie générale. Edition DOIN. 1975 .

[35]-Valery F. Traven , Vasiliy V. Suslov, Evgeny N. Gordeev. Novel pyrrolocoumarin derivatives . ARKIVOC. 2000. p 1- 9.

[38] - Furniss , B. S.; Hannaford , A . J .; Rogers , V .; Smith , P .w . G; Tatchell. Vogl's Textbook Practical Organic Chemimstry , Fourth Edition .

[42]- Mojtaba Shamsipur, Zahra Talebpour, Hamid Reza Bijanzadeh, Shamsoddin Tabatabaei , Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 30 (2002) 1075_ 1085 .

[43] – A. Ghassempour, R. Daneshfar, R. Mossevi, M.R. Arshadi, Anal. Sci. 15 (1999) 457.
M. Shamsipur et al. / J. Pharm. Biomed. Anal. 30 (2002) 1075_ 1085 1085.

[44] – K.L. Tyczkowska, R.D.Voyksner,A.L.Aronson,J.Chromatogr.594,195(1991) .

[45] – M.M. Siegel, R.K. Isensee,D. J. Beck, Anal. Chem. 59, 989(1987) .

[46] – Lakhdar Sekhri , Ahmed Abdehafid Bebba , Zineb Hassini , Synthesis, Application and comparison of some phosphine oxides and their salts with the nitrogen containing compounds ,Asian journal of chemistry Vol,17,No.4 2005.

المراجـع

المراجع باللغة العربية

[10] –د– عبد الوهاب ، محمد . ع . ح ، د– محمد . ص . م . مبارك ، د – سعد . ع . ز . م ، الميكروبيولوجيا التطبيقية ، الطبعة الأولى ، 1996 ، المكتبة الأكادمية ، ص42–430 .

[11] – د . عادل نوفل . جامعة دمشق . كتاب الكيمياء الصيدلانية (القسم النظري) . 1980–1981 ص 251–264 .

[36] – ل – ب . بافلوف و. أ . تيرينيتييف كتاب الكيمياء العضوية ، لدار – مير– الإتحاد السوفياتي موسكو 1979 . ص 472-508 .

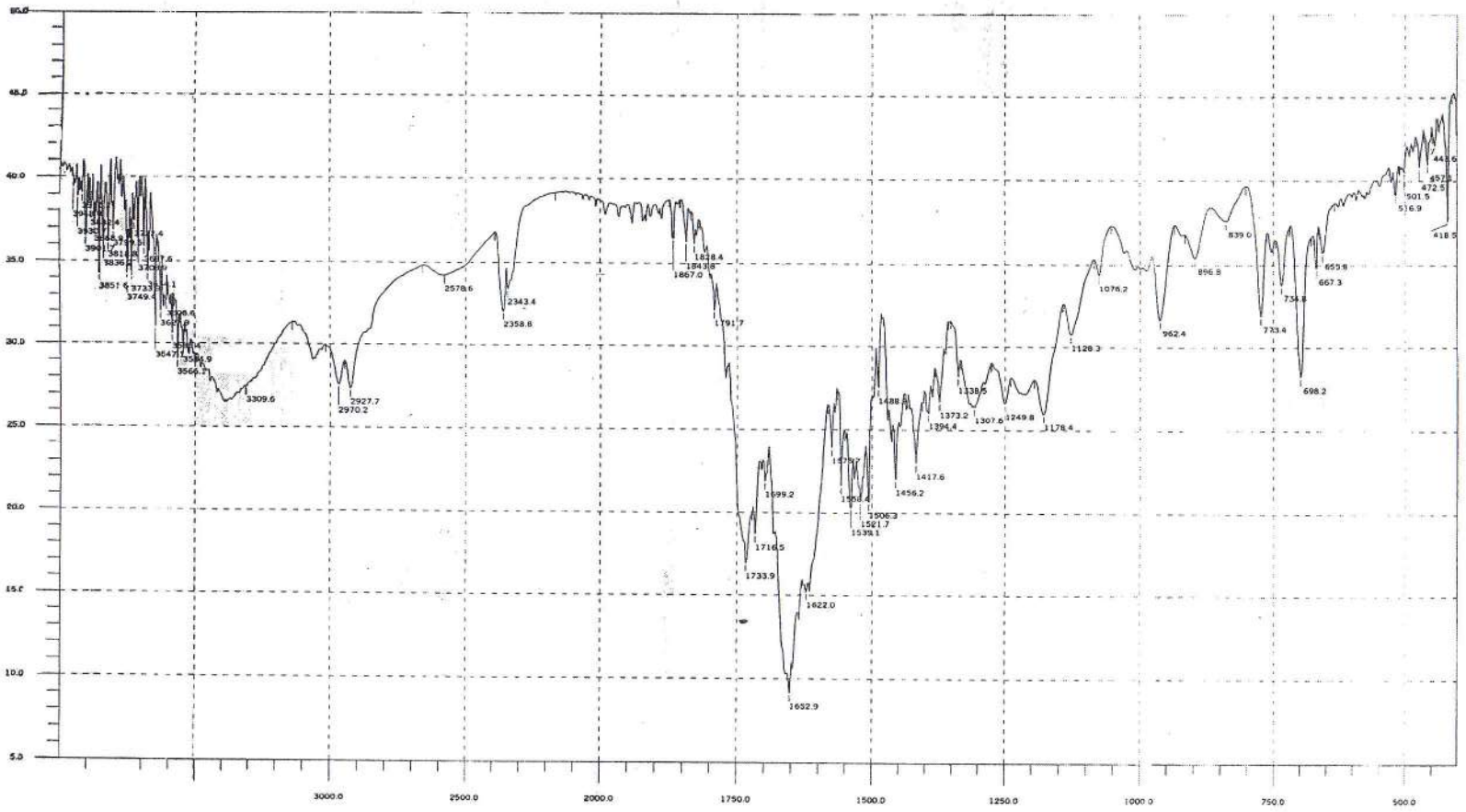
[37]– الكيمياء العضوية (الجزء الثاني) ستايلي . ه . باين ، جيمس . ب . هندريكسون ، دونالد . ج . كرام ، جورج . س . هاموند . دار ماكجروهيل (ISBN-07-066476-5) ص745– 827 .

[39]– الكيمياء العضوية (الجزء الثاني) الدكتور . ت . و . جراهام سولومونز ،ترجمة الدكتورعادل أحمد جرار (الطبعة الثانية)1983. ص453– 482 . (ISBN 0-471-09840-X) نيويورك

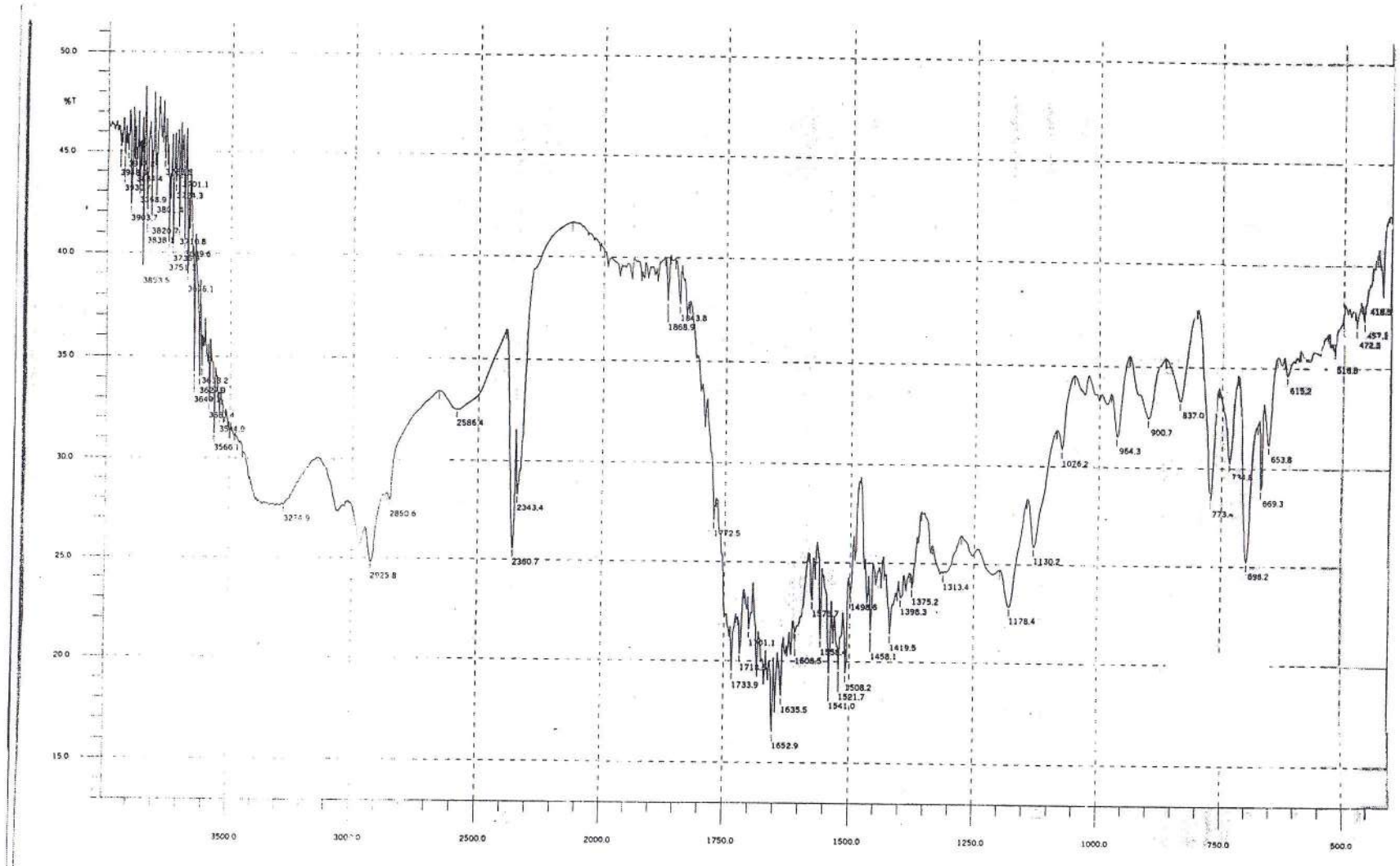
[40]– الكيمياء العضوية (الجزء الأول) الدكتور . ت . و . جراهام سولومونز ،ترجمة الدكتورعادل أحمد جرار (الطبعة الثانية)1983. ص814– 817 .(ISBN 0-471-09840-X) نيويورك

[41]– الكيمياء العضوية (الجزء الأول) ستايلي . ه . باين ، جيمس . ب . هندريكسون ، دونالد . ج . كرام ، جورج . س . هاموند . دار ماكجروهيل (ISBN-07-066476-5) ص 360-363 .

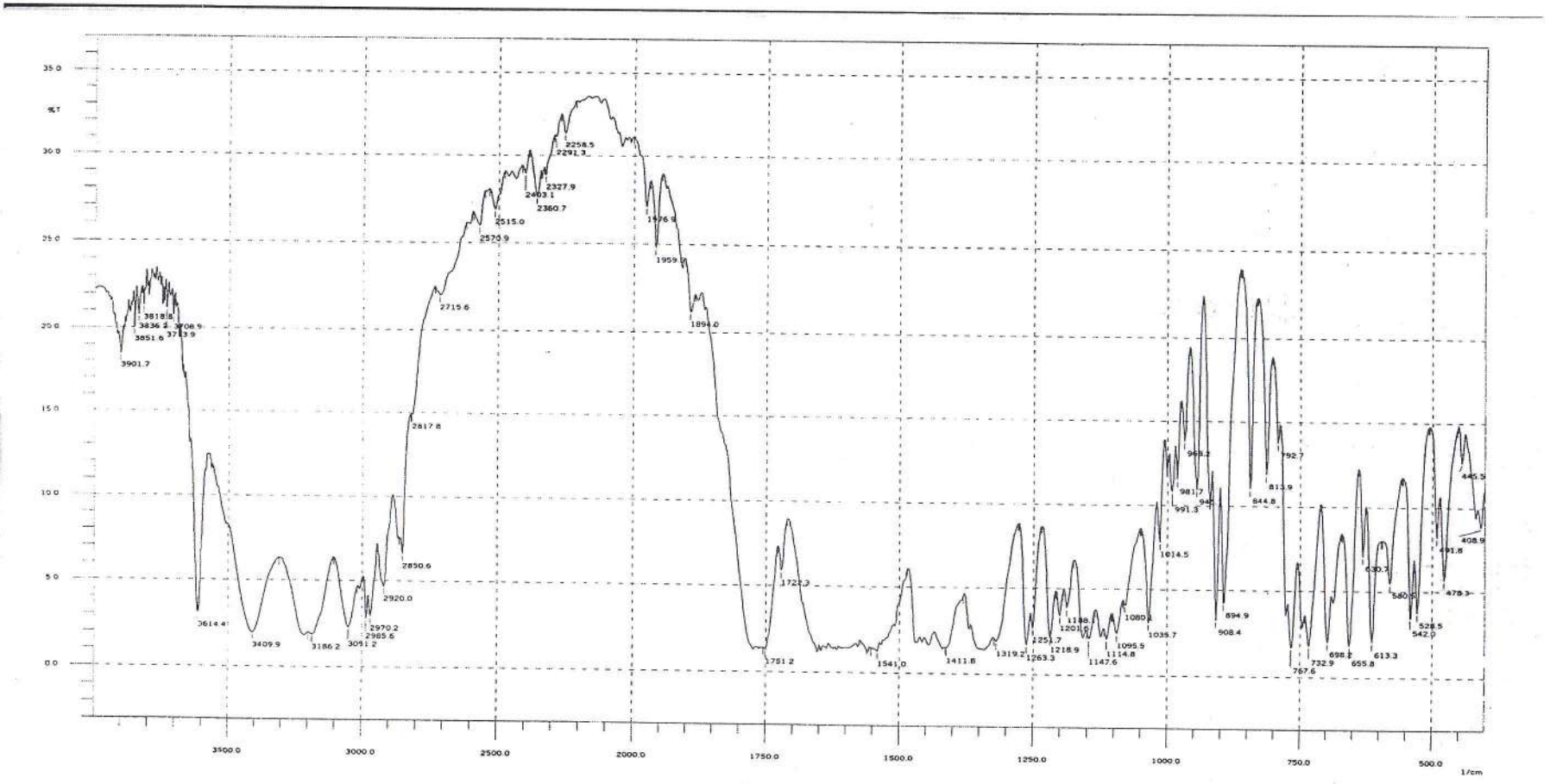
الملحق



طيف IR لمركب يودوأوكساسيلين

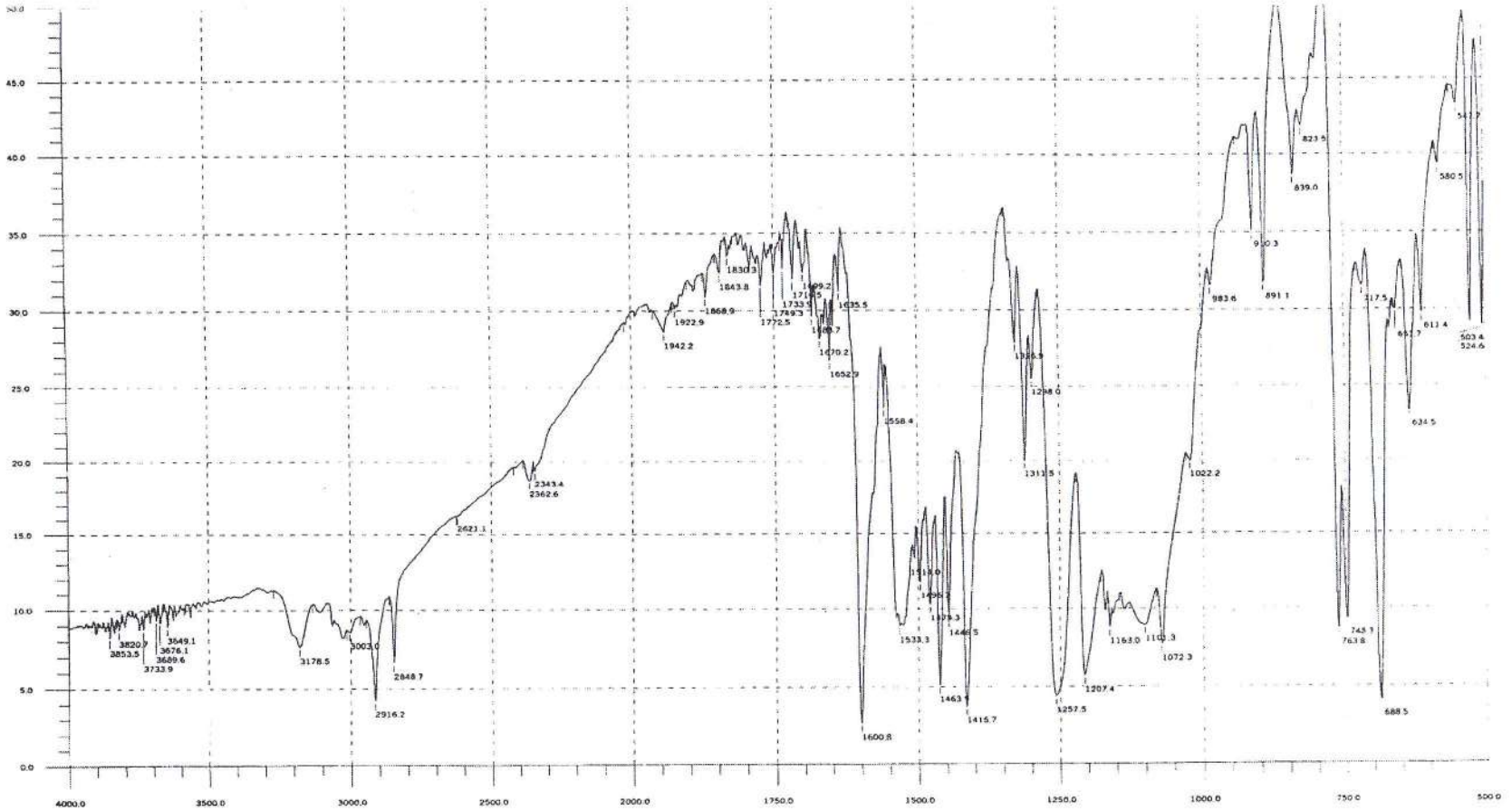


طيف IR لمركب نيتروأوكساسيلين



طيف IR للأوكساسيلين

طيف RMN لمركب دينزو أوكساسيلين



طيف IR لمركب ديزوأوكساسيلين