IQ (19)

مجلس الوزراء

الجهاز المركزي للتقييس والسيطرة النوعية
قسم الملكية الصناعية

براءة أختراع

(12)

(11) رقم البراءة: 2524	(51) التصنيف الدولي A61 K 31/00
(21) رقم الطلب: 92/ 154	C22N 7/06
(22) تاريخ تقديم الطلب: 12 /11 /1991	(52) التصنيف العراقي 4
(30) تاريخ طلب الاسبقية - بلد الاسبقية - رقم طلب الاسبقية	صوره طبق الاصل
(45) تاريخ منح البراءة: 12 / 3 /1994	ع/ مسجل براءات الاختراع والنماذج الصناعية علي حميد حسون

(72) اسم المخترع وعنوانه: د. نجم عبود المسعودي
احسان عيدان عبد الكريم
علي احمد العتوم

(73) اسم صاحب البراءة: جامعة البصره/ كلية العلوم/قسم علوم الحياه

(74) اسم الوكيل:

(54) تسمية الاختراع: تخليق ودراسه الفعاليات البايولوجيه للنيلكيوسيد (1 - (2-1 استيا ميدو 2 - ديوكسي -B- D كلوكوبايرانوسيل) 1-6 زايوراسيل) كمرشح لاستخدامه كمضاد حياتي.

منحت هذه البراءة استنادا لاحكام المادة 21 من قانون براءات الاختراع والنماذج الصناعية رقم 65 لسنة 1970 وعلى مسؤولية المخترع.

موقع
توقيع المسجل
رئيس الجهاز وكاله
غضنفر علي رفيق

بسم الله الرحمن الرحيم

تسمية الاختراع

" تخليق ودراسة الفعالية البايولوجية للنيلكيوسيد

[1 - (2 - استيباميدو - 2 -ديوكسي - β - D - كلوكوبايرانوسيل)

6 - آزايوراسيل] (ازايوراميسين) كمرشح لاستخدامه كمضاد حياتي "

"SYNTHESIS AND BIOLOGICAL ACTIVITY OF [1 - (2 - ACETAMIDO - 2 - Deoxy - β - D - GLUCOPYRANOSYL) 6 - AZAURACIL NUCLEOSIDE] (AZAURAMYCIN) ,, AS ANIIBIOTIC CANDIDATE "

اسماء المخترعين وعناوينهم

نجم عبود المسعودي

جامعة البصرة - كلية العلوم - قسم الكيمياء

احسان عيدان عبد الكريم السيمري

جامعة البصرة - كلية العلوم - قسم علوم الحياة

علي احمد العتوم

جامعة البصرة - كلية العلوم - قسم الكيمياء

بسم الله الرحمن الرحيم

تسمية الاختراع

" تخليق ودراسة الفعالية البايولوجية للنيلكيوسيد

(1- (2- 1 -استياميدو -2 -ديوكسي - β - D -كلوكوبايرانوسيل)

6 - ازايوراسيل) كمرشح لاستخدامه كمضاد حياتي

اولاً : موجز الإختراع

يتضمن الاختراع تحضير مركب نيكليوسيدي جديد من تفاعل القاعدة النايتروجينية (6 -ازايوراسيل السليلية (2) *) مع السكر الاميني (2 -استياميدو -1 , 3 , 4 , 6 - رباعي - o - خلات -2 -ديوكسي – الكلوكوز) (3) بموجب طريقة (هيلبرت – جونسن – بريكوفير (Hilbert - Johnson - Brikofer)" المصدر ٤ " وبوجود العامل المساعد (ثلاثي مثيل سالايل ثلاثي فلوروميثان سلفونات) تحت ظروف التكثيف الارجاعي ليعطي النيكليوسيد (1 - (2 - استياميدو - 3 , 4 , 6 - ثلاثي - o - خلات -2 - ديوكسي - β - D - كلوكوبايرانوسيل) - 6-ازايوراسيل) (4) .

تم تحضير النيلكيوسيد الحر الجديد [1 - (2 - اسيتاميدو -2 -ديوكسي - β - D - كلوكوبايرانوسيل) 6 - ازايوراسيل] (5) وهو المركب المطلوب من ازالة مجاميع الخلات في المركب (4) بوساطة ايون الميثوكسيد .

تم دراسة الفعالية البايولوجية للنيكليوسيد الحر (5) وذلك بقياس التركيز المثبط الادنى (Minimum Inhibition Concentration MIC) على عشرة انواع من البكتريا وتتلخص النتائج بما يلي :-

١ – وجد ان النيلكيوسيد الجديد ذو طيف واسع Broad spectrum في التأثير على الانواع المختلفة من البكتريا – اي انه يؤثر على البكتريا الموجبة والسالبة لصبغة كرام في نفس الوقت .

٢ – وجود اختلافات في تأثير هذا النيلكيوسيد على الانواع البكتيرية . وان اكبر تأثير له لوحظ على بكتريا العنقوديات الذهبية staphylococcus aureus بقطر تثبيطي للنمو قدرة (٢٨) ملم بتركيز ٢٠٠٠ مايكروغرام / مل وبقطر تثبيطي للنمو قدره (٢٥) ملم لبكتريا Klebsiella وبنفس التركيز وان اقل قطر تثبيطي للنمو للتركيز المذكور كان (١٢) ملم لبكتريا المسبحيات البرازية Streptococcus faecalis و (١٠) ملم لبكتريا الزوائف الزنجارية Pseudomonas aeruginosa .

1. The decreased values of haemoglobin (Hb), packed cell volume (P.C.V.) and the total R.B.C.s count, with increasing values of the total W.B.C.s' count together with percentage ratio of *Neutrophiles* and *Eosinophiles*, whereas the *Lymphocytes* did not affected by this nucleosides.

2. An increased the changes of the blood components by increasing the doses of the nucleoside (5). So, the minimum affects was observed with (2000 g/ml), and the maximum affects was seen with the (10000 g/ml) in comparison with the control group.

3. It has been observed that after (4-14) days from the treatment with the nucleoside (5), all the affected blood components of the mices were changed to the normal values.

رابعاً : العناصر الجديدة المراد حمايتها

1 – حُضِّر النيلكيوسيد (4) لاول مرة من تفاعل القاعدة النايتروجينية (6 – أزايوراسيل) والسكر الاميني [2 – أسيتاميدو – 6, 4, 3, 1 – رباعي – O – خلات – 2 – ديؤكسي – D كلوكوز] وبحصيلة ناتج جيدة .

2– حُضِّر النيلكيوسيد (5) من النيلكيوسيد (4) من خلال ازالة مجاميع الخلات في ذرات الكاربون رقم (6, 4, 3) ولاول مرة عالمياً ايضاً – حسب جميع المعلومات المتوفرة لدينا – وبحصيلة ناتج جيدة ونرشح هذا المركب (5) كمضاد حياتي اعتماداً على طبيعته العامة وبناء على نتائج الدراسة الحالية .

3– فعالية المركب الجديد (5) كانت ذات مدى واسع في التأثير على البكتريا (Broad spectrum) حيث تأثرت الانواع المختلفة من البكتريا (الموجبة والسالبة لصبغة كرام) بالتراكيز المختلفة من المركب وامكن معرفة التركيز المثبط الادنى (M.I.C.) لكل نوع بكتيري على حدة ، وهذا ما يشجع على امكانية استخدامه مستقبلاً كمضاد حياتي فعال للقضاء على الانواع البكتيرية المختلفة .

4– حدوث تغيرات بسيطة في قيم المكونات الدموية للفئران المختبرية البيضاء نوع (BALB/C) التي تم تعريضها للمركب النيلكيوسيدي الجديد (5) عن طريق جرعة الفم وخصوصاً في الايام الاولى بعد التعرض ، شملت نقصان قيم الهيموغلوبين ، حجم كريات الدم المرصوصة ، وعدد كريات الدم الحمراء الكلي ، وارتفاع قيم عدد كريات الدم البيضاء الكلي والنسب المئوية للعدلات والحمضات وعدم تأثر النسب المئوية للخلايا اللمفاوية بالتعرض لهذا المركب . وقد اختفت هذه التغيرات بصورة كاملة بعد ٤ – ١٤ يوماً من التعرض للمركب ، واستعاد الجسم وضعه الطبيعي في كافة مجاميع الفئران بالمقارنة مع مجموعة السيطرة ، وهذا يؤكد عدم سمية هذا المركب الجديد وانه ذو تأثيرات جانبية بسيطة تزول في فترة زمنية قصيرة .

" SYNTHESIS AND BIOLOGICAL ACTIVITY OF [1-(2-ACETAMIDO-2-DEOXY-ß-D-GLUCOPYRANOSYL) 6-AZAURACIL] NUCLEOSIDE AS ANTIBIOTIC CANDIDATE"

PATENT ABSTRACT

The Patent is concerned with the synthesis of new nucleosides namely [1-(2-acetamido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-deoxy-ß-D-glucopyranosyl) 6-azauracil] (4) from reaction of the silylated (6-azauracil) derivative (2) with (2-acetamido-1,3,4,6-tetra-O-acetyl-D-glucose) (3), applying Hilbert-Johnson-Brikofer procedure [4], in the prescence of [trimethyl-silyltriflouromethanesulpho-nate] as catalyst under reflux.

The free desired nucleoside, [1-(2-acetamido-2-deoxy-ß-D-glucopyranosyl) 6-azauracil] (5) was obtained from deblocking of compound (4) by treatment with methoxide ion.

The antibacterial activity of the free nucleoside against ten types of bacteria have been studied by measurment of the minimum inhibition concentration (MIC) and the following observations have been recorded:

1. It has been found that the nucleoside (5) has broad spectrum activity against ten types of bacteria of (Gram positive and Gram negative).
2. The nucleoside (5) has the most activity against *staphylococcus aureus* by inhibition zone of (28 mm) with concentration of (2000 g/ml), as well as, against the *klebsiella* by inhibition zone of (25 mm) with the same concentration. It has been found also that the minimum inhibition zone was recorded for the *Streptococcus faecalis* with value of (12 mm) and for the *Pseudomonas aeruginosa* with value of (10 mm).
3. Both plates and tubes methods gave the same results during the measurment of the (MIC) for different studied bacteria.

The effects of the nucleoside (5) on the main blood components of the white mice have been studied exclusively in this patent. The following observations have been recorded:

ب - تأثير المركب النيلكيوسيدي (5) المرشح كمضاد حياتي على المكونات الدموية للفئران .

(نتائج الدراسة موضحة في جدول - ٣ -)

بغية معرفة التأثيرات الجانبية السلبية لهذا المركب النيلكيوسيدي الجديد (5) الذي نقترح استخدامه كمضاد حياتي ، فقد أثرنا القيام بهذه الدراسة للتوصل الى المعايير المتأثرة من التعرض لهذا المركب ومعرفة فترة الشفاء اللازمة لاستعادة الجسم وضعه الطبيعي بعيداً عن تأثيرات المركب المقترح . وقد اجريت الدراسة على الفئران المختبرية البيضاء نوع (BALB/C) .

عرضت الفئران الى التراكيز المختلفة من المركب النيلكيوسيدي الجديد (5) بواسطة التجريع عن طريق الفم ، حيث تأخذ الفئران جرعة (٢٠٠٠ مايكروغرام / مل في اليوم الواحد وحسب تصنيف المجموعة ، حيث قسمت الفئران الى ستة مجاميع وكما يلي :

١ - المجموعة الاولى : ٢٠٠٠ مايكروغرام / مل تأخذ جرعة واحدة فقط

٢ - المجموعة الثانية : ٤٠٠٠ مايكروغرام / مل تأخذ جرعتين ليومين متتاليين (٢٠٠٠ مايكروغرام / مل) كل يوم .

٣- المجموعة الثالثة : ٦٠٠٠ مايكروغرام / مل تأخذ ثلاث جرعات لثلاثة ايام متتالية

٤- المجموعة الرابعة : ٨٠٠٠ ميكروغرام / مل تأخذ اربع جرعات لاربعة ايام متتالية

٥- المجموعة الخامسة : ١٠٠٠٠ ميكروغرام / مل تأخذ خمس جرعات لخمسة ايام متتالية

٦- المجموعة السادسة : مجموعة سيطرة غير متعرضة للنيلكيوسيد الجديد

تضم كل مجموعة (٢٤) فأراً خضعت للتجربة الفعلية - ولا تشمل هذه الاعداد الوفيات الحاصلة خلال فترة الدراسة .

حسبت قيم المكونات الدموية الرئيسية للفئران على فترات زمنية متعاقبة هي (١، ٢ ، ٤، ٦، ٨ ، ١٠ ، ١٤، ٢١) يوماً ، وفي كل فترة زمنية تحسب قيم الهيموغلوبين (Hb) ، حجم كريات الدم المرصوصة (P.C.V.) packed Cell volum عدد كريات الدم الحمراء الكلي Total R.B.C.S ، عدد كريات الدم البيضاء الكلي Total W . B . C . S ، النسب المئوية للخلايا العدلة (العدلات) Neutrophiles (N) ، الخلايا الحمضية (الحمضات) Eosinophiles (E) ، الخلايا اللمفاوية (اللمفية) Lymphocytes .

٢- الفعالية البايولوجية

أ - تاثير النيلكيوسيد (5) على البكتريا

[نتائج الدراسة موضحة في جدول -١- و - ٢ -]

بما ان المركب النيلكيوسيدي الجديد مشروع مقترح لاستخدامه كمضاد حياتي مستقبلاً ، فقد اجريت دراسة لمعرفة تأثير هذا المركب على عشرة انواع بكتيرية مختلفة الصفات والاهمية الطبية لغرض معرفة طبيعة تاثرها بالتراكيز المختلفة من هذا المركب وقياس التركيز المثبط الاخرى (Minimum Inhibition Concentration) (MIC) لكل بكتريا على حدة لتحديد اقل تركيز تتاثر به البكتريا المعينة عند تعرضها للمركب الجديد .

والانواع البكترية المستخدمة في الدراسة هي

I- بكتريا كروية موجبة لصبغة كرام (Gram positive Cocci)

Staphylococcus aureus

Staph. epidermidis

Streptococcus Faecalis

Strept. Viridance

II - بكتريا عصوية موجبة لصبغة كرام (Gr + Ve bacilli)

مكونة للسبورات :

Bacillus subtilis

III - عصيات سالبة لصبغة كرام (Gr - Ve bacilli)

pseudomonas aeruginosa

Escherichia coli

Enterobacter spp .

Klebsiella spp.

proteus spp.

استخدمت عشرة تراكيز مختلفة من النيلكيوسيد الحر (5) وهي

(١٠ ، ٥٠ ، ١٠٠ ، ٢٠٠ ، ٣٠٠ ، ٤٠٠ ، ٥٠٠ ، ١٠٠٠ ، ٢٠٠٠) مايكروغرام / مل لدراسة تأثيرها على البكتريا .

ولقياس التركيز المثبط الادنى MIC استخدمت طريقتي الاطباق والانابيب ففي طريقة الاطباق زرعت البكتريا المعينة على الوسط الزرعي الصلب (Mueller - Hinton agar) بطريقة النشر وتركت لمدة نصف ساعة ثم اضيفت التراكيز المختلفة من النيلكيوسيد باستخدام الماصة الدقيقة Micropipett سعة (5)مايكروليتر ولكل على حدة .

وقورنت النتائج بمجموعة السيطرة (السادسة) . [النتائج موضحة في جدول رقم - ٣ -] حيث لوحظ حدوث نقصان في قيم الهيموغلوبين ، ،حجم كريات الدم المرصوصة ، وعدد كريات الدم الحمراء الكلي ، وارتفاع في قيم عدد كريات الدم البيضاء الكلي ، والنسب المئوية للعدلات والحمضات في الفئران المتعرضة للمركب الجديد ويزداد هذا التأثير حدة بزيادة جرعة المركب المعطاة للفئران ، وان اكثر المجاميع تأثراً هي المجموعة الخامسة المتعرضة لجرعة (١٠٠٠٠ مايكروغرام / مل) وان الفئران (١، ٢، ٤) يوم هي اكثر الفئران التي يمكن فيها ملاحظة التغيرات في المكونات الدموية مقارنة بمجموعة السيطرة .

كما لوحظ عدم تأثر النسب المئوية للخلايا اللمفية للفئران المتعرضة للنيلكوسيد الحر وبقاء نسبها طبيعية في كافة المجاميع .

كما تبين من هذه الدراسة ان زوال كافة هذه التغيرات في القيم الدموية لمجاميع الفئران الخمسة يكون بعد فترة (٤-١٤) يوماً من التعرض لهذا المركب وعودة كافة القيم الى مستواها الطبيعي الذي كانت عليه وذلك بالمقارنة مع مجموعة السيطرة مما يدل على اختفاء تأثير هذا المركب وانتهاء آثاره الجانبية السلبية وقدرة الجسم على اصلاح ذاته بفترة زمنية قياسية .

٣ – وجد ان هناك توافق في النتائج في طريقتي الاطباق والانابيب في حساب التركيز المثبط الادنى لنمو الانواع المختلفة من البكتريا وان التركيز ١٠ مايكروغرام / مل يعتبر التركيز المثبط الادنى للبكتريا Escherichia Coli و Klebsiella واختلفت نتائج بقية الانواع البكتيرية باختلاف انواعها .

كما تم دراسة التغيرات في قيم المكونات الدموية الرئيسية للفئران المختبرية التي يحدثها التعرض للنيكليوسيد الجديد ووجد ما يلي :

١ – حصول نقصان في قيم الهيموغلوبين Hb ، وحجم كريات الدم المرصوصة p . c . v وعدد كريات الدم الحمراء الكلي R . B . C . S وارتفاع قيم عدد كريات الدم البيضاء الكلي W . B . C . S والنسب المئوية للعدلات والحمضات وعدم تاثر النسب المئوية للخلايا اللمفاوية .

٢ – زيادة تاثر المكونات الدموية بزيادة جرعة النيلكيوسيد الجديد التي تعرضت لها الفئران المختبرية حيث اقل تاثير كان في الجرعة ٢٠٠٠ مايكروغرام / مل واكبر تاثير كان في الجرعة ١٠٠٠٠ مايكروغرام / مل بالمقارنة مع مجموعة السيطرة .

٣ – لوحظ اختفاء كافة التغيرات في المكونات الدموية للفئران بعد فترة (٤ – ١٤) يوماً من التعرض للنيلكوسيد الحر ورجوعها الى مستوياتها الطبيعية وحدوث الشفاء التام للجسم .

---

* تراكيب كافة المركبات الكيمياوية المذكورة في الاختراع موجودة في شكل رقم – ١ –

Hz): 4.3 6dd (H - 2 , J2, 3 = 9.)Hz) ; 5.28 pt (H - 3 , J3,4 = 9.5 Hz) ; 4084 t (H - 4 , J4,5 = 9.5 Hz) ; 4.50 m (H - 5 , H - 6) ; 4.5 m (H - 6) ; 2.12 , 1.93 9 3 OAC) ; 1.87 (NHAC) ; 7.50 S (H - 5) .

ملاحظة : العلامات s , d , t , pt و m ترمز الى المصطلحات التالية :

S: singlet , d : doublet , t : triplet ;

pt : pseudo - triplet , m : multiplet

ب - النيلكيوسيد [1- (2 - استياميدو - 2 - ديوكسي - β - D-كلوكوبايرانوسيل) 6-آزايوراسيل] (5)

تم تحضير هذا النيلكيوسيد من معاملة (3.39 مليمول) من النيلكيوسيد (4) مع محلول ميثوكسيد الصوديوم [(7.80 مليمول) من الصوديوم مذاب في 40 مل من الميثانول] ، ثم تم رج المزيج استمرارياً في ظروف درجة حرارة الغرفة ولمدة (١٧) ساعة ، بعدها تم معاملة المحلول مع حامض الخليك حتى درجة الحامضية (pH=5) وتبخيره الى الجفاف ليعطي المركب الخام (5). تم اذابة هذا المركب في مزيج من الكلوروفوم - ميثانول (9:1) وامراره في عمود من السليكاجيل (80) غرام ، واسترداده بواسطة مزيج من الكلوروفورم - ميثانول (8.5:1.5) ليعطي النيلكيوسيد المطلوب (5) بحصيلة (87%) ، درجة الانصهار (184-188)° م بعد ان تمت اعادة بلورته من مزيج من الميثانول - ايثر . حسبت النسب المئوية للعناصر فوجدت مطابقة تقريباً مع احتواء المركب على جزيئي ماء وكما يلي :

1- C11 H16O7. 2H2O (352.30). calcd. : C, 37.50; H, 4.58, N, 15.90. Found: C, 37.71; 4.46; N, 15.78.

كما تم تثبيت تركيب هذا النيلكيوسيد بوساطة اطياف الاشعة فوق البنفسجية والرنين النووي البروتوني وكالاتي :

2- Rf= 0.55 (silicagel CHCL3 - MeOH 2:3).

3- U.V. (λ max nm.) methanol : 205 (logE= 4.30); 255 (log E= 3.87).

4- ^{1}H-N.M.R. (δ in DMSO-d6) : 11.25SS (NH); 7.71d (NHAC); 5.67 (H-1, J1; 2, = 8.5 Hz) ; 4.25-3.00 m (H-2, H-3, H-4, H-5, H-6, H-6, oH group); 1.7 45 (NHAC) ; 7.15 S(H-5).

ثالثاً : مفصل الإختراع والإدعاءات

١ - الجانب الكيمياوي .

تحضير النيلكيوسيدات .

١ - النيلكيوسيد (1 - (2 - استيباميدو - 3 , 4 , 6 - ثلاثي - o - خلات - 2 - ديوكسي - β - D - كلوكو بايرانوسيل) 6 - ازايوراسيل) (4) .

تم تحضير هذا النيلكيوسيد من معاملة (22 . 21 مليمول) للقاعدة 6 -أزايوراسيل (١) ، مع هكسامثيل ثنائي الساليزين (HMDS) (Hexa methyl disilazane) تحت ظروف التكثيف الارجاعي لمدة ٢٠ ساعة بوجود كبريتات الامونيوم كعامل مساعد ، وبعد التبريد تم تبخير المحلول تحت ظروف جافة جداً ليعطي الناتج السليلي (2) . تم اذابة هذا الناتج مباشرة وتحت ظروف جافة ايضاً في ١٠٠ مل من مذيب 1 , 2- ثنائي كلورواثيان الجاف ومن ثم اضيف (22 . 21 مليمول) من سكر (2 - استيباميدو - 1 , 3 , 4 , 6 - رباعي - o - خلات - 2 - ديوكسي - D - كلوكوز) (3) مذاب في ١٠٠ مل من (1 , 2 - ثنائي كلورواثان) مباشرة الى المزيج الاول ، ويليها مباشرة اضافة العامل المساعد بنسبة (22 . 21 مليمول) وهو ثلاثي مثيل سالايل ثلاثي فلورومیثان سلفونات على شكل قطرات وتحت ظروف الرج المستمر وفي درجة حرارة الغرفة .

بعد استكمال هذه الاضافات ، تم تكثيف المزيج ارجاعياً لمدة ساعة ونصف وبعدها تم تبريده وتبخيره حتى الجفاف ، واذيب الراسب المتخلف في (٥٠) مل من الماء ، ومن ثم تم استخلاصه بواسطة مذيب خلات الاثيل (٣ × ١٠٠ مل) تحت ظروف الاستخلاص المستمر .

ادى تبخير خلات الاثيل بعد تجفيفه بواسطة كبريتات الصوديوم وتوشيحه الى تكوين مركب صلب غير نقي . تم اذابة هذا المركب الصلب في كمية قليلة من الكلوروفورم - الميثانول (بنسبة ١٠٠ : ١) ومن ثم ادخاله في عمود من السليكاجيل (٧٠ غم) . ادى استرداد المحلول بواسطة مزيج من الكلوروفورم - الميثانول (بنسبة ٩٥ : ٥) الى اعطاء المركب المطلوب (4) وبحصيلة ناتج ٦٦ . ٦ غم ، ٧١ ٪) .

اعيدت بلورة هذا الناتج في مذيب خلات الاثيل ليعطي المركب (4) بشكل نقي وبرجة انصهار (٢٥٨ - ٢٥٩)° م .

1 . R f = 0. 55 (Silica gel - CHCl3 / Me OH 9 : 1)

2 . C17H22N4O10 (388.35) : Calcd : C 46.16 ; H, 5.01 ; N, 12.67. Found : C, 46.01 ; H, 5.19 ; N, 12.21.

3. U. V. (λ max nm.) methanol : 204 (log E = 4.54) ; 261 (log E = 4.10)

4. ^{1}H - N.M.R. (δ in DMSO - d6) : 12.30 s (NH) ; 7.85d (NHAC , JNH,2 = 9.0 Hz) ; 5.87d (H - 1 , J1,2 = 10.0

	البكتريا	قطر منطقة التثبيط (ملم) Inhibition Zone (mm) عند التركيز المعين (مايكروغرام / مل)								
		٢٠٠٠	١٠٠٠	٥٠٠	٤٠٠	٣٠٠	٢٠٠	١٠٠	٥٠	١٠
١ -	staph . aureus	٢٨	١٦	٨	٦	٤	١	م	م	م
٢ -	staph . epidermidis	١٨	١٠	٦	٥	٣	١	١	م	م
٣ -	strept . faecalis	١٢	٨	٢	١	١	م	م	م	م
٤ -	strept . viridance	١٥	٦	٣	٢	١	م	م	م	م
٥ -	B . Subtilis	١٥	٨	٥	٢	١	م	م	م	م
٦ -	ps . aeruginosa	١٠	٨	٤	١	١	م	م	م	م
٧ -	proteus	١٣	٦	٤	٣	٢	م	م	م	م
٨ -	E . Coli	٢٠	١٢	٨	٧	٥	٤	٢	١	م
٩ -	Klebsiella	٢٥	١٠	٥	٣	٣	٢	١	١	م
١٠ -	Enterobacter	٢١	١٢	٢	١	م	م	م	م	م

م : البكتريا مقاومة للتركيز المعين وتنمو فيه

جدول رقم - ١ -

مقارنة اقطار منطقة تثبيط النمو الناتجة عن تأثير التراكيز المختلفة من المركب النيلكيوسيدي الجديد (5)على الانواع البكتيرية المختلفة بـ ((طريقة الاطباق))

ثانيا : خلفية ومجال الاختراع

تعتبر النيلكيوسيدات من المنتجات الطبيعية حيث توجد في معظم الاجزاء البايولوجية للخلايا الحية ، فهي الجزء المونوميري (Monomers) للحوامض النووية الرئيسية DNA و RNA .

لقد اثبتت بعض هذه النيلكيوسيدات فعالية بايولوجية عالية باستخدامها كمضادات فايروسية سرطانية وبكتيرية ، ومن الامثلة المهمة لهذه النيلكيوسيدات (Moeuomycin) وهو مضاد حيوي فوسفوكلوكولبيدي ويحتوي على جزيئة سكر D - glcosamine وقد اظهر هذا النلكيوسيد فعالية بايلوجية عالية ضد البكتريا .

كما اظهرت الدراسات اهمية هذا السكر باعتباره احد مكونات الغشاء الخلوي الكثير من البكتريا الموجبة لصبغة كرام (المصادر ١ - ٢) .

ولهذا عملنا على تحضير نيلكيوسيد يحتوي على الكلوكوز سامين (D - glucosamine) مرتبطاً بقاعدة نايتروجينية مهمة هي (6 -أزايوراسيل) ويسمى هذا النيلكيوسيد (1- (2- اسيتاميدو - 3 , 4 , 6 - ثلاثي - o- خلات - 2 -ديؤكسي - β - D - كلوكو بايرانوسيل) 6 - أزايوراسيل) (4) ، وبعد ازالة مجاميع الخلات ، يعطي النيلكيوسيد الحر (5) . لقد تمت دراسة فعالية هذا المركب الجديد البايولوجية ضد انواع مختلفة من البكتريا الرئيسية ، وكذلك دراسة تاثيراته الجانبية على مكونات الدم الرئيسية للفئران المختبرية لاستخدامه مستقبلاً كمضاد حياتي مقترح لعلاج العديد من الامراض البكتيرية .

جدول ٣ يوضح التغيرات في القيم الدموية للفئران التي اعطيت البليكوسيد الجديد (5) عن طريق الفم على فترات زمنية مختلفة.

المجموعة	يوم بعد الجرعة	الهيموغلوبين Hb غم/١٠٠ سم٣ دم	حجم كريات الدم المرصوصة P.C.V. %	عدد كريات الدم الحمراء الكلي R.B.C. Count Cell/mm^3 (x10^6)	عدد كريات الدم البيضاء الكلي W.B.C. Count Cell/mm^3 (x10^4)	نسب عدد كريات الدم البيضاء التفريقي (%) المتعادلة Neutrophils N %	الحمضات Eosinophils E %	اللمفية Lymphocytes L %
الأولى 2000 µg/ml one dose	١	١٠٫١*	٣٢٫١	٦٫١٣٤	١٫٢٣١	٦٠٫٢	٢٫٨	٥٤٫٨
	٢	١٠٫٣	٣٢٫٨	٦٫١٥٣	١٫٢٣٤	٥٨٫١	٢٫٣	٥٢٫٦
	٤	١٠٫٨	٣٣٫٦	٦٫١٨٤	١٫١٩٩	٥٤٫٢	١٫٨	٥٣٫٤
	٦	١١٫٣	٣٣٫٤	٦٫١١٩	١٫١٤٢	٥٣٫٨	١٫٢	٥٢٫٨
	٨	١١٫٢	٣٤٫٥	٦٫٢٥١	١٫١٠١	٥٢٫٤	١٫١	٥٦٫٣
	١٠	١١٫٦	٣٥٫٥	٦٫٢١١	١٫٠٩٢	٥١٫٢	٠٫١	٥٢٫٨
	١٤	١١٫٥	٣٥٫٤	٦٫٣١٨	١٫٠٠٣	٥٠٫٦	١٫٠	٥٤٫٨
	٢١	١١٫٧	٣٦٫١	٦٫٣٢٤	٠٫٩٩٩	٥٠٫٣	٠٫١	٥٣٫٦
الثانية 4000 µg/ml 2 doses 2000 ug/ml Daily	١	١٠٫١	٣٠٫٣	٦٫٠٥٩	١٫٣٢٨	٥١٫٤	٣٫٢	٥٠٫٨
	٢	١٠٫٤	٣١٫٢	٦٫٠٢١	١٫٢٤٠	٥٩٫٦	٢٫٨	٥١٫٤
	٤	١٠٫٥	٣١٫٨	٦٫٠٨٤	١٫١٤٩	٥٧٫٦	٢٫٦	٥٢٫٧
	٦	١٠٫٩	٣٢٫٧	٦٫٠١٢	١٫٠٥٢	٥٤٫١	٢٫١	٥٠٫٦
	٨	١١٫٣	٣٣٫٩	٦٫١١١	١٫٠٢٣	٥٢٫٨	١٫٨	٥٤٫٦
	١٠	١١٫١	٣٤٫٦	٩٫١٢٣	٠٫٩٩٢	٥١٫٩	١٫٢	٥٢٫٨
	١٤	١١٫٩	٣٤٫٩	٦٫١٤٨	٠٫٩٨٤	٥٠٫٤	٠٫١	٥١٫٩
	٢١	١٢٫١	٣٦٫٧	٦٫٣٤١	٠٫٩٩٢	٤٩٫١	١٫٠	٥٣٫٤
الثالثة 6000 µg/ml 3 doses 2000 ug/ml in daily	١	٩٫٤	٢٩٫١	٥٫١٤١	١٫٣٦٤	٦٠٫٣	٥٫٤	٥١٫٩
	٢	٩٫٤	٢٩٫٩	٥٫٩٩١	١٫٢٣١	٥٨٫٦	٤٫١	٥٣٫٢
	٤	٩٫٦	٣٠٫٢	٥٫١٨٦	١٫٢٢١	٥٩٫٨	٤٫٦	٥٢٫١
	٦	٩٫٩	٣٠٫٣	٦٫٠٤٣	١٫٢٤١	٥٧٫٤	٣٫٨	٥١٫١
	٨	١٠٫٣	٣٢٫٧	٦٫٠٨٢	١٫١٩٢	٥٣٫٦	٣٫٢	٥٤٫٨
	١٠	١٠٫٩	٣٢٫٨	٦٫١٢٣	١٫١٢٨	٥٢٫١	٢٫٨	٥٥٫٣
	١٤	١٠٫١	٣٣٫٦	٦٫٢٤١	١٫٠٠٣	٥٠٫٤	١٫٦	٥٢٫٤
	٢١	١٢٫١	٣٥٫٧	٦٫٣٤١	٠٫٩٩٢	٤٩٫١	١٫١	٥٣٫٤
الرابعة 8000 µg/ml 4 doses 2000 ug	١	٨٫٩	٢٦٫٤	٥٫٨٣٢	١٫٤٢١	٦٢٫٤	٦٫٢	٥٢٫٣
	٢	٩٫١	٢٦٫٨	٥٫١٢١	١٫٤١٣	٦٠٫١	٦٫١	٥٢٫٤
	٤	٩٫٠	٢٧٫١	٥٫١٨٢	١٫٣٢٨	٥٨٫٤	٥٫٦	٥١٫٣
	٦	٩٫٥	٢٧٫٦	٥٫١٣٢	١٫١٢٣	٥٦٫٢	٤٫٨	٥٢٫٨
	٨	١٠٫٥	٢٩٫٣	٦٫٠٣٢	١٫١٠١	٥٤٫١	٤٫٢	٥٢٫٦
	١٠	١٠٫٩	٣٠٫٣	٦٫١٨٤	١٫٠٨٢	٥٣٫٨	٣٫٧	٥٤٫٦
	١٤	١١٫١	٣٢٫٨	٦٫١٩٤	٠٫٩٩٢	٥٢٫٣	٢٫١	٥٣٫٧
	٢١	١١٫٣	٣٤٫٨	٦٫٢٢١	٠٫٨٩٣	٥١٫٤	١٫٣	٥٢٫٧
الخامسة 10000 µg/ml 5 doses 2000 ug/ml Daily	١	٧٫١	٢٥٫١	٥٫٢١١	١٫٤٣٧	٦٨٫٣	٨٫٣	٥١٫٣
	٢	٧٫٥	٢٦٫٤	٥٫٥٣٠	١٫٤٨١	٦٥٫٢	٨٫١	٥١٫٢
	٤	٨٫٠	٢٧٫٨	٥٫٨٣٢	١٫٢٣١	٦٥٫٣	٧٫٢	٥١٫٣
	٦	٨٫٥	٢٨٫١	٥٫١٣٣	١٫٠٨٩	٦٢٫٣	٥٫٨	٥٤٫١
	٨	٩٫٤	٢٨٫١	٥٫١٨٤	١٫٠٢١	٦٠٫٨	٥٫٣	٥٢٫٨
	١٠	١٠٫١	٣٠٫٢	٦٫٠٣١	٠٫٩٨٩	٥١٫٤	٤٫٣	٥٣٫٤
	١٤	١٠٫٧	٣١٫٨	٦٫٠٣٢	٠٫٩٢١	٥٨٫٦	٢٫٢	٥٢٫١
	٢١	١١٫٠	٣٣٫٨	٦٫١٨٦	٠٫٨٣١	٥٢٫٤	١٫٨	٥٠٫٦
السادسة مسيطرة غير خاضعة للعلاج	١	١١٫٥	٣٥٫١	٦٫٢٣١	١٫٠٤٩	٥٠٫٤	١٫٣	٥١٫٩
	٢	١١٫٤	٣٥٫٨	٦٫٤٢١	١٫١٢٣	٥١٫٣	١٫٤	٥٤٫٩
	٤	١١٫٩	٣٤٫١	٦٫١٣٢	١٫٠٩٢	٥٤٫٦	١٫٥	٥٦٫٢
	٦	١١٫٧	٣٦٫٨	٦٫٤٢١	١٫٠٠٤	٥٢٫٨	١٫٢	٥٢٫٨
	٨	١٢٫٣	٣٥٫٩	٦٫٢٨٩	٠٫٩٨٦	٥٣٫٦	٠٫٨٢	٤١٫١
	١٠	١١٫٨	٣٦٫٢	٦٫١١٨	١٫٠٨٤	٤٩٫٨	١٫٢٣	٥٠٫٨
	١٤	١١٫٩	٣٤٫٩	٦٫٣٤١	٠٫١٩٢	٥٢٫٢	٠٫٩١	٥٢٫٣
	٢١	١٢٫٥	٣٥٫٨	٦٫٣٢٣	١٫٠٨١	٥٤٫٨	٠٫٩٨	٥٤٫٦

* كل قراءة تعني المتوسط الحسابي لثلاثة مكررات من حجم العينة.

** عدد الفئران الكلي الخاضعة للتجربة ١٤٤ فأر من نوع الفئران البيضاء (White mice (BSB/C).

مصادر خلفية الاختراع

1- Levene,P.A.,and Jacobs,W.A. Chem.Rev., 42(1909),2475,
ibid , Ber.Deut.Chem.Ges.,41(1908),2703,42(1909),44(1911)746.

2- Wilter,F.J.,Welzel,P.,Duddek,H.,Hofle,G.,Reiwer,G.,and
Budzikie,H., Tetrahedron Lett .,(1979),3493.

3- Coffey,S.(Rodd's Chemistry of Carbon Compounds). Vol (1),
Part F. Elsevier Pub. Co., Austerdam,(1967),P:483.

4- Brikofer,H., and Ritter,A. Angew. Chem
77.(1965).P:414.

ثم حضنت الاطباق في الحاضنة بدرجة حرارة (٣٧°م ± ٢°م) مدة (٢٤ – ٤٨) ساعة وتم حساب قطر منطقة التثبيط Innhibition Zone بواسطة قياسية بالمسطرة وقدر بالمليميتر .

اما في طريقة الانابيب فلقد استخدم الوسط الزرعي السائل (Brain Heart Infusion broth) وحضرت التراكيز المختلفة من النيلكيوسيد (5) واضيفت الى الوسط الزرعي ليصبح كما هو مذكور اعلاه ، ثم حقنت الاوساط السائلة بالبكتريا المعينة وترك احد الانابيب من كل تركيز بدون تلقيح كسيطرة . حضنت جميع الانابيب في الحاضنة بدرجة حرارة ٣٧°م ± ٢°م مدة ٢٤ – ٤٨ ساعة وتم ملاحظة وتقدير النمو البكتيري في الاوساط الزرعية الملقحة بالبكتريا والحاوية على تركيز معين من النيلكيوسيد ، وتعطى درجة النمو الناتج بالمقارنة مع انابيب السيطرة (انبوبة تحتوي وسط زرعي ملقح بالبكتريا وغير مضاف اليه المركب الجديد وانبوبة تحتوي وسط زرعي معقم غير ملقح بالبكتريا)

اظهرت نتائج الدراسة الموضحة في [جدول رقم – ١ – و – ٢ –] ان هناك تبايناً واضحاً في تاثير النيلكيوسيد (5) على الانواع البكتيرية ، حيث وجد ان اعلى قطر تثبيطي للنمو للتركيز (٢٠٠ مايكروغرام / مل) كان ٢٨ ملم لبكتريا staph . aureus وان التركيز ٣٠٠ مايكروغرام / مل هو التركيز المثبط الادنى لهذه البكتريا و ٢٥ ملم لبكتريا الـ Klebsiella وكان التركيز ١٠٠ مايكروغرام / مل هو الـ MIC لهذه البكتريا ، وان اقل قطر تثبيطي للنمو ولتركيز الـ ٢٠٠ مايكروغرام / مل كان ١٢ ملم لبكتريا strept . faecalis وكان الـ MIC لها في التركيز (٥٠٠ مايكروغرام / مل) و (١٠) ملم لبكتريا ps . aeruginosa والـ MIC لها كان في التركيز (٤٠٠ مايكروغرام / مل)

اظهرت بقية الانواع البكتيرية اقطار متفاوتة لتثبيط النمو للتركيز (٢٠٠٠ مايكروغرام / مل) وهي كما يلي

١٨ ملم لبكتريا staph . epidermidis والـ MIC لها كان في التركيز ٢٠٠ مايكروغرام / مل

١٥ ملم البكتريا strept . viridance والـ MIC لها كان في التركيز ٣٠٠ مايكروغرام / مل

١٥ ملم البكتريا B . subtilis والـ MIC لها كان في التركيز ٤٠٠ مايكروغرام / مل

١٣ ملم لبكتريا proteus والـ MIC لها كان في التركيز ٣٠٠ مايكروغرام / مل

٢٠ ملم لبكتريا E. Coli والـ MIC لها كان في التركيز ١٠٠ مايكروغرام / مل

٢١ لبكتريا Enterobacrer والـ MICلها كان في التركيز ٤٠٠ مايكروغرام / مل

REPUBLIC OF IRAQ IQ(19)

COUNCIL OF MINISTERS

CENTRAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION AND QUALITY CONTROL

INDUSTERIAL PROPERTY DIVISION

(12) IQ PATENT

(11) PATENT NO : 2524

(21) APPLICATION NO : 154/92

(22) DATE OF FILLING : 12/11/1991

(30) PRIORITY DATE :

(45) DATE OF PATENT : 12/3/1994

(51) INT. CL. : A61 K 31/00
C22N 7/06

(52) IQ. CL. : 4

(72) INVENTOR(S) : Dr. NAJIM ABOOD AL_MASUADI
IHSAN EDAN ABDUL_KAREEM
ALI AHMED AL_ATOOM

(73) ASSIGNEE : UNIVERSITY OF BASRAH /COLLEGE OF SCIENCE/
DEPARTMENT OF BIOLOGY

(74) AGENT's NAME :

(54) TITLE : SYNTHESIS AND BIOLOGICAL ACTIVITY OF (1-(2-ACETAMIDO-2-DEOXY-B-D-GLUCOPYRANOSYL)6-AZAURACIL)NUCLEOSIDE AS ANTIBIOTIC CANDIDATE .

REGISTRAR

Acting PRISIDENT OF COSQC.
Ghadhanfar Ali Rafeeq