Scientific Journal of Faculty of Education, Misurata University-Libya, Vol. 3, No. 9, Sep. 2017

Published on Web 01/09/2017

المجلة العلمية لكلية التربية، جامعة مصراتة، ليبيا، المجلد الثالث ـ العدد التاسع، سبتمبر 2017م

دراسة التأثير البيولوجي لمركب الفينول وبعض مشتقاته المهلجنة على تنفس البكتريا كروموبكتيريوم فيولاسيوم من خلال جهاز قياس التدفق الميكروحراري وحسابات الكم

د. مفتاح علي بشير

ملخص البحث:

لقد جاء هذا البحث ليسلط الضوء على مركب الفينول وبعض مشتقاته المهلجنة، لما لهذه المركبات من أهمية كبيرة بسبب نشاطها البيولوجي، لذا كان من الضروري البحث عن علاقة تفسر سلوكها البيولوجي المتباين. لإجراء هذه الدراسة تم استخدام البكتريا C. violaceum لرصد النشاط البيولوجي من خلال متابعة الطاقة المنبعثة اثناء تنفسها بواسطة جهاز Flow microalorimetery، أما حسابات الكم فقد اجريت بهدف الحصول على قيم الخصائص الفيزيوكيميائية لهذه المركبات، ثم تم تطبيق التحليل الكيمومتري لإيجاد العلاقة بين هذه الخصائص والنشاط البيولوجي لهذه المركبات. تبيّن من خلال هذا البحث أنّ النشاط البيولوجي لهذه المركبات يعتمد على كل خصائصها الفيزيوكيميائية، وأنّ أي تغيير يحدث في هذه الخصائص يؤدي إلى تغيّر في نشاطها البيولوجي. لوحظ أيضًا من خلال التحليل الكيمومتري أنّ المركب خماسي بروموفينول كان أبعد ما يكون عن المركب خماسي كلوروفينول وقريب من أحادي كلوروفينول من حيث الخصائص الفيزيوكيميائية، وهذا ما يجعلنا نتوقع أنّ هذا المركب سيكون له نشاط بيولوجي منخفض جدًا، إذا ما أجريت اختبارات النشاط البيولوجي على نفس البكتريا.

الكلمات الرئيسية: التأثير البيولوجي، C. violaceum، فينول ومشتاقاته المهلجنة، Flow microcalorimetry، حسابات الكم، SAR

Abstract:

The aim of this work is to focus on phenol compound and some of its halogenated derivatives. These compounds are of great importance because of their high biological activity. Thus, it is necessary to search the relationship that explains the different biological behaviour on the C. violaceum respiration. To monitor the energy emitted during the respiration process of this bacteria, a flow microalorimetery was used. In order to obtain the physiochemical properties of these compounds, quantum calculations have been employed. Finally, the chemometric analyses have been used to find the relationship between physiochemical properties and biological activity.

This research ends up with that the biological activity of these compounds depends mainly on the physiochemical properties, and any change occurs in this properties leads to a change in their biological activity. It was also observed that penta-bromophenol compound was far from the pentachlorophenol compound; whereas this compound (penta-bromophenol) was closer to the monochlorophenol compound in terms of the physiochemical properties. This result makes the researcher expect that this compound would have a very low biological activity, in case it is exposed to the same bacteria.

Key words: Biological effect; C. violaceum; phenol and its halogenated derivatives; Flow microcalorimetry; Quantum calculations; SAR

1. مقدمة البحث

منذ زمن بعيد والإنسان يجابه الآفات الزراعية بشتى الطرق للقضاء عليها، فكانت المبيدات من بين هذه الطرق التي استخدمت لقتل الحشرات والفطريات والطفيليات والكائنات الدقيقة وغيرها، غير أنّ هناك جدل حاد قائم حول هذه الأنواع من المبيدات حتى وقتنا الحالي، من حيث الفوائد والأضرار، فالكثيرون يعتبرونها ضرورية لتطوير الإنتاج وحمايته وآخرون يعتبرونها عكس ذلك، على أساس أنّ الاستخدام غير المدروس للمبيدات قد يؤدي إلى إتلاف مساحات شاسعة من الأراضي الزراعية وقد يؤدي لوفاة مئات الآلاف من البشر، لهذا السبب، سعت منظمات دولية لتوجيه نداء تحذيري لترشيد استخدام المبيدات والسعي نحو منتج زراعي خال من أي تلوث [1]، حيث يقاس مدى ضرر أي مبيد بفترة بقائه في التربة أو بفترة تواجده في المياه الجوفية، لأنّ بعض هذه المبيدات لا تتحلل بسهوله في المياه ويبقى تأثيرها قائمًا لفترة طويلة من الزمن، مستقرة في التربة أو في المياه الجوفية كما أشرنا سالفًا.

وهكذا فانّ معرفة تفاصيل عن خصائص البنية الكيميائية لأيّ مبيد له دور فعّال في تحديد تأثيره البيولوجي في الطبيعة، وعلى هذا الأساس يمكننا الحصول على مبيدات ذات بنية كيميائية صديقة للبيئة، تؤدي دورها البيولوجي كمبيد ثم تختفي من الوسط البيئي في زمنٍ قصير، لذلك ظهرت العديد من الدراسات والتقنيات التي تهتم بإيجاد العلاقة المحتملة بين بنية المركبات الكيميائية ونشاطها البيولوجي Structure–Activity Relationships (SAR) بهدف اقتراح مبيدات جديدة ذات نشاط بيولوجي منخفض أو عال بأقل مخاطر [3, 2]. من جهة أخرى، فإنّ التنبؤ بالتأثيرات البيولوجية للمبيدات الجديدة المعتمدة على دراسات الـ SAR يزودنا أيضًا بمعلومات غاية في الأهمية عن نشاطية هذه المركبات بتكاليف منخفضة وأقصر زمن وبفوائد كثيرة. لذا سُلّط الضوء في هذا البحث على مركب الفينول وبعض مشتقاته

المهلجنة لما لها من أهمية كبيرة بسبب النشاط البيولوجي العالي الذي تمارسه هذه المركبات على الكائنات الحيّة، خصوصًا أنّها تستخدم على نطاق واسع في المجالات الصناعية، فمركبات الكلوروفينول (ClPhs) مثلًا واسعة الانتشار في العالم كمبيدات biocides مما أدى إلى تواجد هذه المركبات وبقاياها المتحلّلة في الهواء والماء والرواسب وأيضًا داخل الكائنات الحية [5,4].

العديد من الدراسات تشير إلى أنّ هذه المركبات لها نشاط ضد الكائنات الدقيقة بدرجات متفاوتة [6]. ومع هذا، فإنّ هذه المركبات لم تحظى بدراسة كافية من حيث اختلاف درجات سمّيتها وسبب شدة خطورتها على البيئة، فكان من الضروري البحث عن علاقة تفسر هذا السلوك البيولوجي، لذا تم اختيار مجموعة من هذه المركبات بتركيز 0.30 mmol.dm^{-3}، لدراسة تأثيرها البيولوجي على تنفس البكتريا Chromobacterium violaceum، بحيث احتوت هذه المجموعة على الفينـــول phenol ومشتقاتـــه المكلورة كمركب بارا كلوروفينـــول p-MClPh و3،4-ثنائي كلوروفينول 3,4-DClPh و2،4،6-ثلاثي كلوروفينول 2,4,6-TClPh و2،3،4،5-رباعي كلوروفينول 2,3,4,5-T4ClPh ثم خماسي كلوروفينول PClPh. من جهة أخرى، فقد تم في هذا البحث اضافة مجموعة اخرى من المركبات وذلك باستبدال ذرة الكلور على مركبات الفينول المكلورة سالف الذكر، بذرة بروم وذلك بهدف إجراء الدراسات النظرية عليها لمعرفة تأثير البروم على هذه المبيدات.

إنّ متابعـــة تأثير مجموعـــة الفينـــول المكلورة على الطاقـــة المنبعثة أثنـــاء تنفس البكتريـــا كروموبكتيريوم فيولاسيـــوم chromobacterium violaceum (غرام السلبي in vitro) تم باستـــخدام جهـــاز قيـــاس التدفـــق الميكروحـــراري Flow microalorimetery [7-12]، والنتائج التي تم الحصول عليها من خلال هذا الجهاز تم مقارنتها بقيم الخصائص الفيزيوكيميائية المتحصل عليها من الحسابات النظرية ab initio و semi-empirical.

أُقترح استخدام جهاز قياس التدفق الميكروحراري Flow microcalorimetry في هذا البحث ليرصد ويتتبع عملية تنفس ونمو الكائنات الدقيقة [13]، وذلك لقدرة هذا الجهاز الفعّالة لتسجيل الطاقة المنبعثة أثناء تنفس البكتريا في الزمن الحقيقي بالثانية dq/dt (ΔW)، علمًا بأنّ نتيجة هذا التتبع يتم عرضها على جهاز الكمبيوتر في شكل منحنى يمثل عملية الأيض metabolic في الزمن الحقيقي. من جهة أخرى، فإنّ جهاز Flow microcalorimetry يتميز بحساسيته العالية لأدنى طاقة وبإمكانه إعادة نفس النتائج المتحصل عليها سابقًا تحت نفس الظروف. [7, 8, 10, 13, 14] أما بخصوص البكتريا كروموبكتيريوم فيولاسيوم chromobacterium violaceum المستخدمة في هذا البحث، فإنّها تتواجد في مياه وتربة المناطق الاستوائية وشبه الاستوائية في جميع أنحاء العالم وهي من أنواع البكتريا غير الممرضة non-pathogenic [15]،

ففي البرازيل مثلًا فإنّ هذا النوع من البكتريا يتواجد بكميات كبيرة في مياه وتربة ضفاف نهر نيجرو Negro river الأمازوني [16].

من جهة أخرى فإنّه تم اجراء حسابات الكم Semi-empirical method AM1 وأيضًا حسابات ab initio method بهدف تحديد قيم الخصائص الفيزيوكيميائية لمركب الفينول ومشتقاته المهلجنة، في حين استخدم التحليل الكيميومتري Chemometric analysis لإيجاد العلاقة بين الخصائص الفيزيوكيميائية physicochemical properties، والنشاطية البيولوجية لهذه المركبات المختارة.

2. الطرق النظرية

إنّ الخصائص الفيزيوكيميائية للمركبات المختارة في هذا البحث تم الحصول عليها بمحاكاة هذه المركبات في الطور الغازي والسائل، عن طريق حسابات كيمياء الكم (semi-empirical) و(ab initio) حيث تم دراسة التركيب الإلكتروني لهذه المركبات بهدف إيجاد أفضل شكل هندسي ذي طاقة كلية أقل في الحالة المتعادلة لكل مركب من هذه المركبات، وذلك لحساب قيم طاقة التأين (IE) وتأثير المذيب (SE) وحرارة التكوين ($\Delta_f H^o$) وطاقة HOMO وLUMO والفرق بينهما وعزم ثنائي القطب (md).

الجدير بالذكر أنّ طاقة التأين Ionization Energy (IE) قد تمّ حسابها بعد حساب الطاقة الكلية لكل مركب في الحالة الكاتيونية. كل الخصائص سالفة الذكر تم حسابها عن طريق B3LYP/6-31G، في حين أنّه قد تم تحديد قيم حرارة التكوين $\Delta_f H^o$ مباشرة من خلال حسابات AM1 semi-empirical، أما تأثير المذيب SE فقد تم الحصول عليه باستخدام Onsager method [17] عن طريق B3LYP/6-31+G**، مع الأخذ بعين الاعتبار أنّ كل الحسابات سالفة الذكر، تم إجراءها باستخدام برنامج Gaussian/03 [18].

3. التحليل الكيميومتري

نتيجة لقيم الخصائص الفيزيوكيميائية العديدة التي تم الحصول عليها من خلال الحسابات المشار إليها أعلاه، كان من الضروري تصنيف هذه النتائج عن طريق التحليل الكيمومتري Chemometric analysis مستخدمين HCA: HCA: hierarchical cluster analysis و PCA: the principal component analysis PCA [19] محاولين بذلك إيجاد العلاقة المحتملة بين الخصائص

الفيزيوكيميائية والنشاطية البيولوجية لمركب الفينول ومشتقاته المهلجنة التي هي تحت الدراسة.

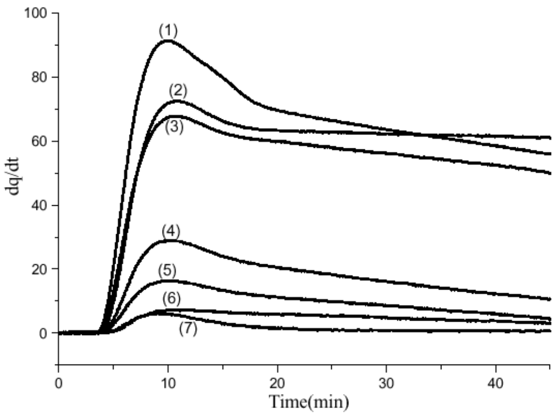
4. النتائج والمناقشة

النشاط البيولوجي التثبيطي للمركبات الخاضعة للدّراسة ($0.3\ mml.dm^{-3}$) على تنفس البكتريا كروموبكتريوم فيولاسيوم، جدول1، شكل 1، يظهران أنّ سمّيت الفينول ومشتقاته المكلورة تزداد من phenol مرورًا بـ 4-chlorophenol (4- MClPh) ثم 3,4-dichlorophenol (3,4-DClPh) يليه المركب 2,4,6-triclorophenol (2,4,6-TClPh) ثم 2,3,4,5tetrachlorophenol (2,3,4,5-T4ClPh) وأخيرًا pentachlorophenol (PClPh) الذي يعتبر الأعلى نشاطية (6.17 µW) ضد هذا النوع من البكتريا، مع الأخذ بعين الاعتبار أنّ الـ Control يشير إلى الطاقة القصوى (92.16 µW) الناتجة من تنفس البكتريا دون إضافة أي مركب من المركبات التي هي تحت الدراسة.

جدول 1. القيم الحرارية المسجلة عن طريق جهاز قياس التدفق الميكروحراري للاستجابة الحرارية لمركبات الكلوروفينول على تنفس البكتريا C. Violaceum

Perc / %	CR_{max} / µW	Molecule
100.00	92.16	Control
78.69	72.52	Phenol
73.60	67.83	4-MClPh
31.45	28.98	3,4-DClPh
17.78	16.39	2,4,6-TClPh
7.90	7.28	2,3,4,5- T4ClPh
6.69	6.17	PClPh

Perc100%: القيم النسبية لتأثير هذه المركبات على تنفس البكتريا بالمقارنة مع قيم الاستجابة الكلوريمترية القصوى CR_{max} لتنفس البكتريا بدون وجود أي مركب كيميائي.



شكل 1. منحنيات الإستجابة الحرارية للبكتريا كرومobكتريوم فيولاسيوم dq/dt بالنسبة للزمن بالدقيقة (min) والمسجلة عن طريق جهاز قياس التدفق الميكروحراري لمشتقات الفينول المكلورة المحتوية على (1) Control (2) الفينول phenol، (3) بارا كلوروفينول 4-MClPh، (4) 3،4-ثنائي كلوروفينول 3,4-DClPh، (5) 2،4،6-ثلاثي كلوروفينول 2,4,6-TClPh، (6) 2،3،4،5-رباعي كلوروفينول 2,3,4,5-T4ClPh، (7) خماسي كلوروفينول PClPh. كل المركبات المستخدمة في دراسة التأثير البيولوجي على تنفس البكتريا C. violaceum كان تركيزها $0.30 mmol\ dm^{-3}$.

بناءً على قيم الاستجابة الحرارية (CR_{max}) المتحصل عليها عن طريق جهاز قياس التدفق الميكروحراري لمركبات الفينول ومشتقاته المكلورة فإنّ هذه المركبات أظهرت تباينًا واضحًا في نشاطها البيولوجي على تنفس البكتريا Chromobacterium violaceum حيث أظهر المركب (7) (خماسي كلوروفينول) أعلى نشاط بيولوجي تثبيطي مقارنة بباقي المركبات، بينما المركب (2) الفينول بدون بديل عليه كان الأقل نشاط، شكل1، جدول 1.

1.4 البيانات النظرية للمركبات المختارة

لقد تم حساب مجموعة من الخصائص الفيزيوكيميائية لمركب الفينول ومشتقاته المكلورة (جدول 2) كحرارة التكوين (ΔH_f^o) وطاقتي HOMO وLUMO وفرق الطاقة بينهما وعزم ثنائي القطب (md) وطاقة التأين (IE) وأيضًا تأثير المذيب (SE)، مع ملاحظة أنّ معظم هذه الحسابات أجريت بمحاكاة هذه المركبات في الطور الغازي والطور السائل المتمثل في الماء كمذيب.

Scientific Journal of Faculty of Education, Misurata University-Libya, Vol. 3, No. 9, Sep. 2017

Published on Web 01/09/2017

المجلة العلمية لكلية التربية، جامعة مصراتة، ليبيا، المجلد الثالث ـ العدد التاسع، سبتمبر 2017م

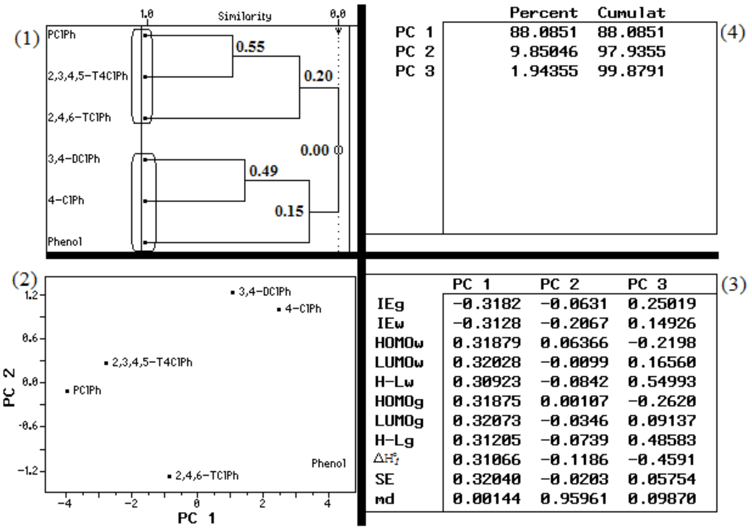
جدول 2. قيم الخصائص الفيزيوكيميائية المحسوبة لمركبات الفينول والكلوروفينول، كحرارة التكوين enthalpy of formation ($\Delta_f H^o$) وطاقتي HOMO وLUMO وطاقة التأين ionization energy (IE) وتأثير المذيب (الماء) SE على مركب الفينول ومشتقاته المكلورة. G وW يمثلان الحالة الغازية والسائلة على التوالي.

L-H	LUMO	HOMO	L-H	LUMO	HOMO			IE			الخصائص الفيزيوكيميائية
W	W	W	G	G	G	md	ΔH^o_f	W	G	SE	المركبات
133.94	-11.72	-145.66	139.73	-0.35	-140.07	1.58	-22.36	194.8	192.23	-66.15	Phenol
128.19	-21.29	-149.49	133.6	-12.31	-145.91	2.76	-29.43	195.24	194.43	-77.57	4-MClPh
128.06	-26.68	-154.74	132.86	-19.98	-152.84	2.95	-34.78	197.99	198.99	-89.63	3,4-DClPh
125.14	-36.76	-161.9	129.41	-30.22	-159.63	1.53	-38.45	204.22	203.87	-100.44	2,4,6-TClPh
115.66	-49.22	-164.87	120.27	-43.57	-163.84	2.37	-43.42	205.56	206.66	-113.59	2,3,4,5-T4ClPh
110.65	-57.11	-167.76	114.49	-52.46	-166.95	2.12	-42.41	207.23	208.13	-126.12	PClPh

قيم كل الخصائص الفيزيوكيميائية بوحدة (Kcal/mol) باستثناء عزم ثنائي القطب بوحدة (debye).

2.4 علاقة البنية الكيميائية بالنشاط البيولوجي

من خلال التحليل الكيمومتري لقيم الخصائص الفيزيوكيميائية، جدول 2، شكل2، لوحظ أنّ المركبات التي تحت الدراسة قد انفصلت إلى مجموعتين، المجموعة الأولى وتحتوي على المركبات (الفينول وأحادي وثنائي كلوروفينول) وهي تتواجد في الجانب الأيمن وهذه إشارة إلى التشابه الكبير بين مركبات هذه المجموعة في الخواص الفيزيوكيميائية, أما المجموعة الثانية المحتوية على المركبات (ثلاثي ورباعي وخماسي كلوروفينول) فهي تتواجد في الجانب الأيسر نتيجةً لتشابهها هي أيضًا في الخواص الفيزيوكيميائية وهذا ما يؤكده الشكل 2 (1)، حيث يعرض التشابه Similarity بين هذه المركبات من خلال تدرج يبدأ من الصفر الذي يعني عدم التشابه إلى الواحد والذي بدوره يعني التشابه 100%، وهكذا نلاحظ أنّ المركبان رباعي وخماسي كلوروفينول متشابهان بقيمة 0.55 أي بنسبة 55%، هذا التشابه يؤكده التقارب الملاحظ بين هذين المركبين في النشاط البيولوجي، جدول 1، الراجع إلى خصائصها الفيزيوكيميائية، أما المركب ثلاثي كلوروفينول فهو يشبه إلى حدٍ ما المركبان رباعي وخماسي كلوروفينول بقيمة تشابه 0.20 (20%) وهذا ما يؤكده أيضًا نشاطهم البيولوجي.



شكل (2): التحليل الكيمومتري (PC و HCA) لبعض الخصائص الفيزيوكيميائية المحسوبة للفينول ومشتقاته المكلورة.

من جهة أخرى فإنّ الخواص الفيزيوكيميائية لمركبات المجموعة (الأولى) لا تشبه خواص المجموعة الثانية، حيث أنَّ التشابه بين هاتين المجموعتين يساوي صفر، شكل 2 (1)، أما التشابه بين مركبات المجموعة الثانية فهو على النحو التالي، المركبان أحادي وثنائي كلوروفينول يتشابهان بقيمة 0.49 أي بنسبة 49 %، أما التشابه بين مركب الفينول ومركبا مجموعته كان بقيمة 0.15 (15%) أي أنَّه لا يتشابه كثيرًا معهما. الجدير بالذكر، أنّ المركبات المتواجدة في الجانب الأيمن تمتلك نشاطية بيولوجية منخفضة جدًا، أما التي في الجانب الأيسر لها نشاطية عالية على تنفس البكتريا C. violaceum، جدول (1).

من جهة أخرى فإنّ الشكل 2 (4) يوضح مساهمة كل مكوّن أساسي Principal Component في عملية الانفصال التي طرأت على المركبات التي هي تحت الدراسة كما أشرنا سابقًا، فالمكوّن الأساسي الأول PC1 وهو المسؤول الأول في مسألة الانفصال المشار إليه أعلاه بنسبة 88,09 %، والذي من خلاله تم تحديد الخصائص الأكثر ثقل أو مساهمة في عملية الانفصال إلى مجموعتين لتصنيف كل مركب في مجموعته المشابهة له، أما المكوّنان الأخران PC2 (9,85 %) وPC3 (1,94 %) فهما يأتيان في المرتبة الثانية والثالثة على التوالي من حيث تحديد البيانات التي من شأنها المساهمة في تعزيز الانفصال الذي أشار له المحتوى الأساسي الأول PC1، مع ملاحظة أنّ أكبر نسبة مساهمة تكون للمحتوى الأول وتتناقص هذه

المساهمة تدريجيًا بحيث يكون مجموع النسب المتراكمة يقترب من الـ 100% كما هو موضح في الشكل 2 (4).

من خلال الشكل 2 (3) فقد لوحظ أنّ المكون الأساسي PC1 (88.09%) يشير إلي أنّ مساهمات الخصائص الفيزيوكيميائية المحسوبة للمركبات الفينولية الستة والمسئولة عن انفصال هذه المركبات إلى مجموعتين كما في الشكل 2 (1) و(2) كانت معظمها متقاربة (0.31-0.32) باستثناء عزم ثنائي القطب (0.00)، هذه الخاصية كانت لها المساهمة الأقل في عملية الانفصال، أما المكوّن الأساسي الثاني PC2 والذي هو مسئول بنسبة 9.85 من المساهمات، يؤكد بوضوح النتيجة التي أظهرها المحتوى الأساسي الأول PC1 عند فصل المركبات التي هي تحت الدراسة إلى مجموعتين، كما هــو ملاحظ، فإنّ الخاصية ذات المساهمـة الأكبـر لهـذا المكـوّن كانت لخاصية عزم ثنائي القطب (md) بمساهمـة 0.96، شكل 2 (3). أما المكوّن الرئيسي الثالث PC3 فهو بدوره يساهم بنسبة 1.94% وهي المساهمة الأقل مقارنة بالمكونين الأخرين كما في شكل 2 (4)، حيث لوحظ من خلال هذا المكوّن أنّ الخصائص الفيزيوكيميائية ذات المساهمة الأكبر كانت لخاصية L-H (w) في الطور السائل والغازي ثم تليها خاصية ΔH^{o}_{f} بمساهمـة 0.55 و0.49 و0.46 على التوالي، شكل2 (3).

استنادًا لنتائج التحليل الكيمومتري PCA المتمثلـة في (PC3, PC2, PC1) والتي تشير إلى انفصال المركبات الستة إلى مجموعتين، الأولى وتحتوي على المركبات (الفينول وأحادي وثنائي كلوروفينول) وهي المركبات التي تملك نشاطية بيولوجية منخفضة، هذه المركبات كما هو معروف فإنّ احداها لا تحتوي على الكلور، أما المركبان الأخران فتحتويان على عدد قليل من ذرات الكلور في بنيتها الكيميائية، أما المجموعة الثانية المحتوية على المركبات (ثلاثي ورباعي وخماسي كلوروفينول) تتضمن عدد أكبر من ذرات الكلور في بنيتها الكيميائية، لذا فهي ذات النشاط الأعلى مقارنة بالمجموعة الأولى، جدول (1).

إنّ النتائج التي أشار اليها PC1 المسئول لوحده عن انفصال المجموعتين بنسبة 88.09% شكل2 (3 و4)، توضح بطريقة جليّة أنّ النشاط البيولوجي لهذه المركبات تعتمد كل الخصائص الفيزيوكيميائية، وهذا يعني أنّ النشاط البيولوجي لهذه المركبات لا يعتمد فقط على خاصية بعينها ولكن في الحقيقة يعتمد على العديد من الخصائص مجتمعة في آنٍ واحد وأنّ أي تغيير يحدث في النشاط البيولوجي لهذه المركبات يرتكز على التغيير في الخصائص الفيزيوكيميائية من خلال بنيتها الكيميائية، وهذا ما حدث عندما طرأ التغيير على بنية المركبات المشار إليها أعلاه، كما سنلاحظ لاحقًا.

Scientific Journal of Faculty of Education, Misurata University-Libya, Vol. 3, No. 9, Sep. 2017

Published on Web 01/09/2017

المجلة العلمية لكلية التربية، جامعة مصراتة، ليبيا، المجلد الثالث ـ العدد التاسع، سبتمبر 2017م

3.4 علاقة التغييرات على بنية المركبات السابقة بالنشاط البيولوجي المتوقع

تم احداث استبدال نظري لذرات الكلور المتواجدة بالمركبات سالفة الذكر بذرات البروم لنحصل على مشتقات الفينول المبرومة 4-bromophenol (4-MBrPh) ثم 3,4-dibromophenol (3,4-DBrPh) ثم 2,4,6-tribromophenol (2,4,6-TBrPh) ثم 2,3,4,5tetrabromophenol (2,3,4,5-T4BrPh) وأخيرًا pentabromophenol (PBrPh) بهدف اجراء دراسة نظرية مقارنة لتأثير ذرات البروم كبديل على النشاط البيولوجي المحتمل لهذه المركبات، وهكذا فقد تم اجراء حسابات الكم لنفس الخصائص الفيزيوكيميائية سالفة الذكر على هذه المركبات (جدول3).

جدول 3. قيم الخصائص الفيزيوكيميائية المحسوبة لمركبات الفينول والبروموفينول، كحرارة التكوين enthalpy of formation ($\Delta_f H^o$) وطاقتي HOMO وLUMO والفرق في الطاقة بينهما وطاقة التأين ionization energy (IE) وتأثير المذيب (الماء) SE على هذه المركبات. G وW يمثلان الحالة الغازية والسائلة على التوالي.

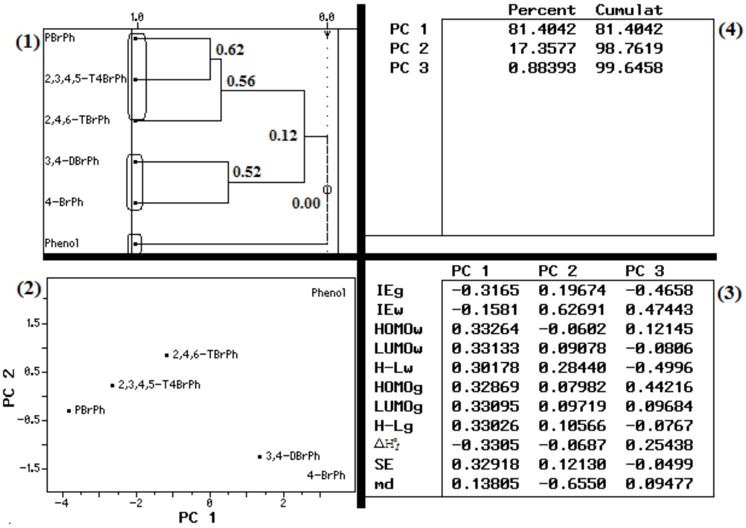
L-H	LUMO	HOMO	L-H	LUMO	HOMO			IE			الخصائص الفيزيوكيميائية
W	W	W	G	G	G	md	ΔH^o_f	W	G	SE	المركبات
133.94	-11.72	-145.66	139.73	-0.35	-140.07	1.58	-22.36	194.8	192.23	-66.15	Phenol
127.47	-17.75	-145.22	132.25	-10.74	-143	2.43	-17.72	188	190.35	-162.12	4-MBrPh
123.46	-24.89	-148.34	126.46	-21.76	-148.22	2.29	-11.81	188.92	192.73	-259.87	3,4-DBrPh
120.27	-33.43	-153.7	117.91	-35.28	-153.19	1.56	-2.34	193.62	195.23	-355.59	2,4,6-TBrPh
114.31	-41.28	-155.6	108.5	-47.54	-156.04	1.72	2.06	193.63	196.68	-454.46	2,3,4,5-T4BrPh
108.68	-48.52	-157.2	102.91	-54.56	-157.46	1.8	12.02	194	196.35	-553.7	PBrPh

قيم الخصائص الفيزيوكيميائية بوحدة (Kcal/mol) باستثناء عزم ثنائي القطب بوحدة (debye).

من خلال التحليل الكيمومتري لقيم الخصائص الفيزيوكيميائية ،أعلاه، جدول 3، شكل3، لوحظ أنّ مركب الفينول ومشتقاته المبرومة قد انفصلت إلى ثلاث مجاميع، المجموعة الأولى وتحتوي فقط على مركب الفينول وهي تتواجد في الجانب العلوي الأيمن وهذه إشارة إلى كونه لا يمتلك تشابه مع باقي المركبات في الخواص الفيزيوكيميائية, أما المجموعة الثانية المحتوية على المركبات (أحادي وثنائي بروموفينول) فهي تتواجد في الجانب الأيمن من الجهة السفلى، شكل 3 (2) بينما المجموعة الثالثة فتحتوي على المركبات (ثلاثي ورباعي وخماسي بروموفينول) وهي تتواجد في الجانب الأيسر. هذه النتيجة يؤكدها الشكل 3 (1)، حيث يعرض أيضًا التشابه Similarity بين هذه المركبات من خلال تدرج يبدأ من الصفر إلى الواحد، وهكذا نلاحظ أنّ المركبان رباعي وخماسي برموفينول متشابهان بقيمة 0.62 أي بنسبة

Scientific Journal of Faculty of Education, Misurata University-Libya, Vol. 3, No. 9, Sep. 2017
Published on Web 01/09/2017
المجلة العلمية لكلية التربية، جامعة مصراتة، ليبيا، المجلد الثالث ـ العدد التاسع، سبتمبر 2017م

62%، هذا التشابه يشير إلى إمكانية تشابه هذان المركبان في النشاط البيولوجي، بسبب خصائصها الفيزيوكيميائية، أما المركب ثلاثي بروموفينول فهو يشبه المركبان رباعي وخماسي بروموفينول بقيمة تشابه 0.56 (56%)، هذا التقارب يزيد من احتمالية تشابه ثلاثي بروموفينول مع باقي افراد مجموعته في النشاط البيولوجي. هذه النتيجة كما هو ملاحظ مختلفة تماماً مع التي تم ملاحظتها في حالة مشتقات الفينول المكلورة، شكل 2 (1).



	Percent	Cumulat
PC 1	81.4042	81.4042
PC 2	17.3577	98.7619
PC 3	0.88393	99.6458

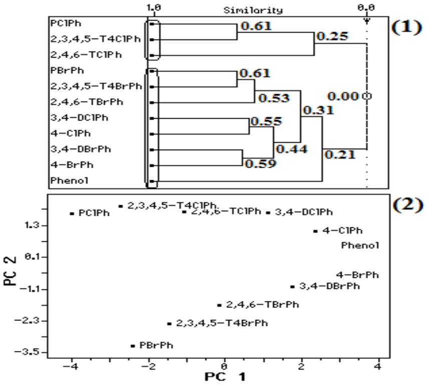
	PC 1	PC 2	PC 3
IEg	-0.3165	0.19674	-0.4658
IEw	-0.1581	0.62691	0.47443
HOMOw	0.33264	-0.0602	0.12145
LUMOw	0.33133	0.09078	-0.0806
H-Lw	0.30178	0.28440	-0.4996
HOMOg	0.32869	0.07982	0.44216
LUMOg	0.33095	0.09719	0.09684
H-Lg	0.33026	0.10566	-0.0767
ΔH_f	-0.3305	-0.0687	0.25438
SE	0.32918	0.12130	-0.0499
md	0.13805	-0.6550	0.09477

شكل (3): التحليل الكيمومتري (PC و HCA) لبعض الخصائص الفيزيوكيميائية المحسوبة للفينول ومشتقاته المبرومة.

من خلال الشكل 3 (3) فقد لوحظ أنّ المكون الأساسي PC1 (81.40%) يشير إلى أنّ مساهمات الخصائص الفيزيوكيميائية المحسوبة لمشتقات الفينول المبرومة والمسئولة عن انفصال هذه المركبات إلى ثلاث مجاميع كما في الشكل 3 (1) و(2) كانت معظمها متقاربة (0.30-0.33) باستثناء عزم ثنائي القطب (md) وطاقة التأين في الطور السائل (IE_w)، (0.14 و0.16) على التوالي، هتان الخاصيتان كانتا لهما المساهمة الأقل في عملية الانفصال المشار إليها أعلاه، أما المكوّن الأساسي الثاني PC2 والذي هو مسئول بنسبة 17.36 من المساهمات، يؤكد وبوضوح النتيجة التي أظهرها المحتوى الأساسي الأول PC1 عند فصل المركبات التي هي تحت الدراسة إلى ثلاثة مجاميع. كما هو ملاحظ فإنّ المساهمة الأكبر لهذا المكوّن كانت لخاصية (md) بمساهمة 0.66 وطاقة التأين في الطور السائل (IE_w) بمساهمة 0.63، شكل 3 (3). أما المكوّن الرئيسي الثالث PC3 فهو بدوره يساهم بنسبة 0.88% وهي

المساهمة الأقل مقارنة بالمكونين الأخرين كما في شكل 3 (4)، حيث لوحظ من خلال هذا المكوّن أنّ الخصائص الفيزيوكيميائية ذات المساهمة الأكبر كانت لخاصية $L\text{-}H_W$ في الطور السائل ثم تليها خاصية (IE_W) و (IE_g) و $HOMO_g$ بمساهمة 0.50 و0.47 و0.47 و0.44 على التوالي، شكل3 (3).

الجدير بالذكر أنه قد تم أجراء التحليل الكيمومتري، شكل 4، على قيم الخصائص الفيزيوكيميائية للفينول ومشتقاته المكلورة والمبرومة معًا، جدول 2 و3 على التوالي، بهدف دراسة سلوك مشتقات الفينول المبرومة من الناحية البيولوجية بمرجعية الفينول ومشتقاته المكلورة معلومة النشاط البيولوجي التثبيطي على تنفس البكتريا كروموبكتريوم فيولاسيوم، جدول 1.



شكل (4): التحليل الكيمومتري (PC وHCA) لبعض الخصائص الفيزيوكيميائية المحسوبة للفينول ومشتقاته المهلجنة.

إنّ ادخال مشتقات الفينول المبرومة في التحليل الكيمومتري مع المشتقات المكلورة، شكل 4 (2)، نتج عنه انفصال هذه المركبات إلى مجموعتين، المجموعة الأولى وتحتوي على مركب ثلاثي ورباعي وخماسي كلوروفينول وهي لا تتشابه مع باقي المركبات في الخواص الفيزيوكيميائية, أما المجموعة الثانية فتحتوي على مركب الفينول وأحادي وثنائي وثلاثي ورباعي وخماسي بروموفينول بالإضافة إلى أحادي وثنائي كلوروفينول. الجدير بالذكر، أنّ هذا التشابه يزداد كلما اتجهنا من اليسار إلى اليمين شكل 4 (2). هذه النتيجة يؤكدها الشكل 4 (1)، حيث يعرض أيضًا التشابه Similarity بين هذه المركبات من خلال تدرج يبدأ من الصفر إلى الواحد، وهكذا نلاحظ أنّ المركبان رباعي وخماسي كلوروفينول متشابهان بقيمة 0.61 أي بنسبة 61%، وهكذا فكلا المركبين يتشابها مع المركب ثلاثي كلوروفينول بقيمة 0.25، هذه المركبات الثلاثة ذات النشاط البيولوجي الأعلى في مجموعته كما أشرنا أعلاه. من جهة أخرى فإنّ هذه المركبات لا تتشابه مع باقي المركبات الثمانية الأخرى، شكل 4.

Scientific Journal of Faculty of Education, Misurata University-Libya, Vol. 3, No. 9, Sep. 2017

Published on Web 01/09/2017

المجلة العلمية لكلية التربية، جامعة مصراتة، ليبيا، المجلد الثالث ـ العدد التاسع، سبتمبر 2017م

لوحظ أيضًا من خلال هذا التحليل الكيمومتري ،شكل 4، أنّ المركبان رباعي وخماسي بروموفينول لا ينتميان إلى المركبات ذات النشاط البيولوجي العالي كما هو منتظر، بل تواجدا مع المركبات التي تمتلك النشاط المنخفض كالفينول وأحادي وثنائي كلوروفينول، هذه النتيجة تجعلنا نتوقع أنّ المركبان رباعي وخماسي بروموفينول سيكون لهما نشاط بيولوجي منخفض جدًا، إذا ما أجريت اختبارات النشاطية البيولوجية على تنفس البكتريا كروموبكتريوم فيولاسيوم.

5. الاستنتاجات

الاستجابة الحرارية (CR_{max}) المتحصل عليها عن طريق جهاز قياس التدفق الميكروحراري لمركبات الفينول ومشتقاته المكلورة على تنفس البكتريا C. violaceum أظهرت أنّ المركب خماسي كلوروفينول أعلى نشاط بيولوجي مقارنة بباقي المركبات في مجموعته، بينما مركب الفينول بدون بديل عليه كان الأقل نشاط. إنّ حسابات الكم والتحليل الكيمومتري كانت فعّالة ومهمّة جدًا في تفسير التباين الملحوظ في النشاط البيولوجي للفينول ومشتقاته المكلورة على تنفس البكتريا كروموبكتريوم فيولاسيوم، فمن خلال حساب الكم تم الحصول على قيم الخصائص الفيزيوكيميائية لهذه المركبات.

استنادًا لنتائج التحليل الكيمومتري PCA على قيم الخصائص الفيزيوكيميائية لهذه المركبات، فقد لوحظ انفصال المركبات الستة إلى مجموعتين، الأولى وتشمل المركبات رباعي وخماسي كلوروفينول، وهي المركبات التي تملك نشاطية بيولوجية عالية على تنفس البكتريا كروموبكتريوم فيولاسيوم. من خلال هذا التحليل أيضًا فقد تبين أنّ هذه النشاطية تعتمد على كل الخصائص مجتمعة في انٍ واحد وأنّ أي تغيير يحدث في الخصائص الفيزيوكيميائية لهذه المركبات يؤدي إلى تغير في نشاطها البيولوجي، فالتغيير الذي طرأ على بنية المركبات الفينولية المكلورة، عندما تم استبدال ذرات الكلور بذرات بروم أدى إلى تغير في خصائصه الفيزيوكيميائية التي تم تحليلها كيمومتريًا حيث لوحظ أنّ هذه المركبات قد انفصلت إلى ثلاث مجاميع، هذا الانفصال أشار إلى أنّ مركب الفينول لا يمتلك أي تشابه مع باقي المركبات في الخواص الفيزيوكيميائية, أما باقي المركبات المبرومة كانت لها قيم تشابه متقاربة مقارنة بالمركبات المكلورة، وهكذا فإنّ هذه النتيجة كانت مختلفة تمامًا مع التي تم ملاحظتها في حالة مشتقات الفينول المكلورة.

بناءً على التحليل الكيمومتري لكلا مشتقات الفينول المكلورة والمبرومة، تبين أنّ المركب خماسي بروموفينول كان أبعد ما يكون من المركب الانشط بيولوجيًا وأقرب للأقل نشاط بيولوجي وهذا ما يجعلنا نتوقع أنّ هذا المركب سيكون له نشاط بيولوجي

منخفض جدًا، إذا ما أجريت اختبارات النشاطية البيولوجية على تنفس البكتريا كروموبكتريوم فيولاسيوم.

6. المراجع

[1] ابشير م. م.، صيدون ع. م.، السويب أ. م.، دراسة حول المبيدات المحرّمة عالميًا وعلاقة البنية الكيميائية لبعض منها بنشاطها البيولوجي، مجلة البحوث الأكاديمية، العدد التاسع، 2017، 314-349.

[2] Basheer, M. M., Oliveira, D. A., Airoldi, C, Journal of thermal Analysis and Calorimetry,95(2009) 3,929-935.

[3] Basheer, M. M., Perles, C. E., volpe, P. L. O, Airoldi, C., Jourual of Solution Chemistry,35,(2006),5,625-637.

[4] Devillers, J., Chambon, P., 1986. Acute toxicity and QSAR of chlorophenols on Daphnia magna. Bull. Environ. Contam. Toxicol.37, 599–605.

[5] International Programme on Chemical Safety (IPCS), 1989. Environmental Health Criteria 93: Chlorophenols Other than Pentachlorophenol. World Health Organization, Geneva.

[6] Gonzalez, J. F., Hu, W., 1991. Effect of glutamate on the degradation of pentachlorophenol by Flavobacterium SP. Appl. Microbiol. Biotechnol. 35, 100-104.

[7] Beezer, A. E., Volpe, P. L. O., Miles, R. J., Hunter, W. H., 1986a. Microcalorimetric measurement of the enthalpies of transfer of a series of m-alkoxyphenols from isotonic aqueous solution to E. coli cells. J. Chem. Soc., Faraday Trans. I 82, 2929–2932.

[8] Beezer, A. E., Volpe, P. L. O., Gooch, C. A., Hunter, W. H., 1986b. Microcalorimetric bioassay and the development of a group additivity scheme for biological response. Anal. Proc. 23, 399–400.

[9] Beezer, A. E., Volpe, P. L. O., Gooch, C. A., Hunter, W. H., Miles, R. J., 1986c. Quantitative structure–activity relationships: microcalorimetric determination of a group additivity scheme for biological response. Int. J. Pharm. 29, 237–242.

[10] Volpe, P. L. O., 1997. Flowmicrocalorimetric measurements of the antibacterial activity of the homologous series of m-alkoxyphenols and p-hydroxybenzoates on Escherichia coli. J. Braz. Chem. Soc. 8, 1–6.

[11] O'Neill, M. A. A., Beezer, A. E., Vine, G. J., Kemp, R. B., Olomolaiye, D., Volpe, P. L. O., Oliveira, D. A., 2004. Practical and theoretical

consideration of flow-through microcalorimetry: determination of "thermal volume" and its flow rate dependence. Thermochim. Acta 413, 193–199.

[12] Critter, S. A. M., Freitas, S. S., Airoldi, C. A., 2004. Comparison of microbial activity in some Brazilian soils by microcalorimetric and respirometric methods. Thermochim. Acta 410, 35–46.

[13] Beezer, A. E., 1980. Biological Microcalorimetry. Academic Press, London.

[14] Koenigbauer, M. J., 1994. Pharmaceutical applications of microcalorimetry. Pharm. Res. 11, 777–783.

[15] Sneath, P. H. A., 1984. In: Krieg, N. R., Holt, J. G. (Eds.), Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, vol. 1.Williams&Williams, Baltimore (pp. 580–582).

[16] Caldas, L. R., 1977. Photochemistry and photobiology in a virgin land. Photochem. Photobiol. 26, 1–2.

[17] Onsager, L., J. Am. Chem. Soc. 1936, 58, 1486.

[18] Gaussian 03, Revision E.01, M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, J. A. Montgomery, Jr., T. Vreven, K. N. Kudin, J. C. Burant, J. M. Millam, S. S. Iyengar, J. Tomasi,V. Barone, B.ennucci, M. Cossi, G. Scalmani, N. Rega, G. A. Petersson,H.Nakatsuji, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, M. Klene, X. Li, J. E. Knox, H. P. Hratchian, J. B. Cross, V. Bakken, C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, R. E. Stratmann, O. Yazyev, A. J. Austin, R. Cammi, C. Pomelli, J. W. Ochterski, P. Y. Ayala, K. Morokuma, G. A. Voth, P. Salvador, J. J. Dannenberg, V. G. Zakrzewski, S. Dapprich, A. D. Daniels, M. C. Strain, O. Farkas, D. K. Malick, A. D. Rabuck, K. Raghavachari, J. B. Foresman, J. V. Ortiz, Q. Cui, A. G. Baboul, S. Clifford, J. Cioslowski, B. B. Stefanov, G. Liu, A. Liashenko, P. Piskorz, I. Komaromi, R. L. Martin, D. J. Fox, T. Keith, M. A. Al-Laham, C. Y. Peng, A. Nanayakkara, M. Challacombe, P. M. W. Gill, B. Johnson, W. Chen, M. W. Wong, C. Gonzalez, and J. A. Pople, Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2004.

[19] Sharaf, M., A. D. L., Kowalski, B., "Chemometrics" .John Wiley & Sons, New york.1986.