

الفعالية التثبيطية لمعقدات الكوبلت الثنائية المشتقة من الهيدرازيدات الحامضية في نمو جرثومة *Staphylococcus aureus* ومحتواها البروتيني

***عصام جرجيس سلومي** *عامرة جهاد شاهين

*صهبا علي احمد

قسم الكيمياء/ كلية التربية للعلوم الصرفة/ جامعة الموصل

قسم الكيمياء/ كلية العلوم/ جامعة الموصل

E-mail:***Sallomi@yahoo.com **a.inorganic@yahoo.com

*Sahbaa.ali@gmail.com

(أستلم 2018/ 7 /29 ؛ قُبل 2018/ 11 /1)

الملخص

تم في هذا البحث تحضير وتشخيص ودراسة لعدد من المعقدات الجديدة للكوبلت (II) مع ثلاث ليكاندات من نوع قواعد شيف ثنائية الهيدرازيد وهي: ثنائي بنزونيليددين مالونويل ثنائي هيدرازيد (L_1H_4) وثنائي بنزونيليددين سكسنايل ثنائي هيدرازيد (L_2H_4) وثنائي بنزونيليددين فثالويل ثنائي هيدرازيد (L_3H_4) شخّصت هذه المعقدات باستخدام التوصيلية الكهربائية المولارية، الاطياف الالكترونية، القياسات المغناطيسية وأطياف الأشعة تحت الحمراء واستنادا إلى ذلك فان الليكاندات الثلاثة تعطي معقدات في الوسط المتعادل ايونية موجبة لها الصيغة العامة $[M(LH_4)]X_2$ وتتكون في الوسط القاعدي معقدات ايونية سالبة لها الصيغة العامة $[M(L)]K_2$ ان لهذه المعقدات سداسية التناسق بنية ثمانية السطوح. وكذلك تضمن البحث دراسة بايولوجية لليكاندات ومعقداتها ضد نوع من البكتريا المرضية (الموجبة لصبغة كرام) وهي *Staphylococcus aureus* وقد اتضح ان لها فعالية تثبيطية بايولوجية متفاوتة إلا أنها أقوى من فعالية الليكاندات المشتقة منها، كما تم تحديد التركيز الأدنى المثبط (MIC) لبعض المعقدات فضلاً عن دراسة تأثير هذه المعقدات على المستوى الجزيئي من حيث المحتوى البروتيني الكلي لجرثومة *Staphylococcus aureus*.

الكلمات الدالة: حامض الهيدرازيد، معقدات قواعد شيف، معقدات الكوبلت الثنائية، عوامل مضادة لبكتريا *Staphylococcus aureus*، المحتوى البروتيني.

Inhibition Activity of Cobalt (II) Complexes Derived from Acid Hydrazide on Growth of *Staphylococcus aureus* and its Protein Contents

Sahbaa A. Ahmed

Department of Chemistry/ College of Science/ University of Mosul

Amira J. Al-Shaheen

Issam J. Sallomi

Department of Chemistry/ College of Education Pure Science/ University of Mosul

ABSTRACT

The work reported deals with the preparation characterization and studies of a number of new complexes of cobalt (II). with three ligands type of Schiff base dihydrazide the ligands are: dibenzoinlidenemalonoyldihydrazide (L_1H_4), dibenzoinlidenesuccinyldihydrazide (L_2H_4) and dibenzoinlidenephthalolyldihydrazide (L_3H_4). The prepared complexes have been characterized the different studies by molar conductance, electronic spectra, and magnetic susceptibility

measurements and infrared spectra. The different studies suggest that in neutral medium the ligands formed cationic complexes of the type $[M(LH_4)]X_2$. While in a basic medium anionic complexes of the general formula $K_2[M(L)]$ were obtained the complexes formed are also hexacoordinated with octahedral structures. Further study was conducted to have an idea about the biological activity of the ligands and their complexes against species of gram positive: *Staphylococcus aureus* It was found that these complexes have certain degree of reactivity, which they are more active in comparison to their ligands. Also the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) was determined for some complexes. In addition to that, the effect of these compounds at the molecular level was studied by measuring the changes of total protein for *Staphylococcus aureus* bacteria.

Keywords: acid hydrazide, Schiff base complexes, cobalt (II) complexes, antibacterial agent *Staphylococcus aureus*, total protein.

المقدمة

تتميز الهيدرازيدات الحامضية بامتلاكها الصيغة العامة $R-CO-NH-NH_2$ وهي ذات فعالية بايولوجية واسعة النطاق (Sallomi *et al.*, 2011 ; Al-Shaheen *et al.*, 2012) مما دعا العلماء والباحثين إلى تحضير ودراسة هذه المركبات وحضرت أعداد كثيرة منها وشخصت كمركبات ذات فعالية مضادة للبكتريا (Savanini *et al.*, 2002 ; Al-Shaheen *et al.*, 2013) كما ان لمعقداتها فعالية ضد عدد من أنواع البكتريا المعروفة وهي (*Staphylococcus aureus* و *Escherichia coli* و *Pseudomonas aeruginosa* (Chohan *et al.*, 2000; Bernhardt *et al.*, 2008)، عرفت الهيدرازيدات بأنها فعالة جداً ضد جرثومة مرض السل إذ لا يزال يستخدم الأيزونيازيد (إيزونيكوتيل هيدرازيد) كمادة كيموعلاجية فعالة (Bavin *et al.*, 1952) ضد مايكوبكتريم تيوبركلوسس (*Mycobacterium tuberculosis*). بينت الدراسات ان المعقدات الفلزية تعمل بآليات مختلفة في تأثيرها على الأحياء المرضية او خلايا الأحياء المسببة للمرض، إذ يكون للمعقد بحالته الأيونية أو المتعادلة (Muhi-Eldeen *et al.*, 1991 ; Al-Shaheen, 2011) القدرة على اختراق جدار الخلية ومنع تكاثر هذه الأحياء.

تتطلب دراسة الفعالية الحياتية للمركبات المحضرة تحديد أنواع مختارة من البكتريا إذ يحتمل أن يكون تأثير هذه المركبات ضد هذه الأحياء معتمداً على أهمية التوازن بين الفته المائية والدهنية مع وجود المتغيرات الأخرى، إن المركب الذي تكون قطبيته واطئة والصفة التساهمية في أواصره عالية تكون الفته الدهنية أعلى من الفته المائي (Schraufstatter, 1950) وقد وجد أن المركبات التي لها صفة قطبية واطئة (Manoussakis *et al.*, 1987) تكون فعاليتها ضد البكتريا أعلى من المركبات التي تكون قطبيتها عالية، ويعزى ذلك إلى قابلية النوع الأول اختراق جدار الخلية الدهني والتأثير في مكوناتها ولاسيما البكتريا الموجبة لصبغة كرام لقد تم التركيز في البحث الحالي على استخدام العناصر الانتقالية التي أثبتت معقداتها تأثيرات حياتية مختلفة ومهمة ويمكن ان يعزى سبب فعالية هذه المركبات إلى عدة أسباب (Laurence and Bennette, 1990) منها ان لمحاليل هذه المركبات القابلية على إذابة جدار الخلية الخارجي مما يؤدي إلى نضوح سوائل هذه الخلية وموتها وتعد المركبات التي تؤثر على الجدار الخلوي من أكثر العوامل انتقائية وذات مؤشر علاجي عالٍ وذلك بسبب اختلاف التركيب بين الجدار الخلوي للمضيف والخلايا الجرثومية.

ولإمكانية إحلال احد العناصر الفلزية الموجودة في الخلية بسبب الفته نحو المشتق محل الفلز ضمن تركيب المعقد وبذلك تحرم الخلية من احد عناصرها الفلزية وتعزى الفعالية أيضاً إلى التأثير الازموزي للخلايا حيث يتأثر الغشاء نصف الناضح مما يوقف نشاط الغشاء الساييتوبلازمي ومن ثم يعرقل مرور المركبات الضرورية للايض (Richards *et al.*, 1993) وقد يسبب وجود المجاميع الالكيلية ضمن تركيب الليكاند الفعال حياتيا الى تكوين معقدات مع العناصر الموجودة في جسم الخلية مثل K^+ ،

Mg^{2+} ، Zn^{2+} ، Fe^{2+} ، Co^{2+} ، Cu^{2+} التي تحتاجها الخلية البكتيرية ويؤدي فقدان هذه العناصر إلى موت الخلية. إن اتحاد الليكاندات أو معدقاتها مع المركبات الحيوية المسؤولة عن سير العمليات الحياتية داخل الخلية يؤثر في سير هذه العمليات، فمثلاً ينتج عن اتحادها مع الحوامض الامينية التأثير في عملية تخليق البروتين، ويؤثر اتحادها مع القواعد النتروجينية في عملية الايض الحياتي للأحماض النووية DNA ، RNA وفي حالة حصول تشابه بين هذه المركبات والمركبات الحيوية الموجودة في الخلية فإنه يؤدي إلى حصول مثبطات تنافسية مع بعض الانزيمات (Marshall and Pidcock 1993) ومن ثم توقف عملية البناء الحيوي في الخلية.

درست فعالية هذه المركبات ضد نوع من البكتريا الموجبة لصبغة كرام ومنها المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* وهي جراثيم كروية تتميز بشكلها الكروي المنتظم ويتراوح قطرها بين (0.5-1.5) مايكروميتر وتعد من الجراثيم الموجبة لصبغة كرام تنتظم بشكل عناقيد العنب واسعة الانتشار في الطبيعة اذ توجد عموماً على سطح الجلد والأغشية المخاطية للإنسان والقناة التنفسية العليا والقناة الهضمية وكذلك تنتشر في الهواء والتربة تسبب جرثومة *Staph. aureus* إصابات واسعة بين الأطفال والبالغين تتراوح في شدتها بين أمراض جلدية بسيطة نسبياً إلى أمراض جهازية خطيرة قد تؤدي بحياة المريض إلى أمراض جهازية خطيرة قد تؤدي بحياة المريض (Novak et al., 2000 ; Prescott and Harley, 1996).

المواد وطرائق العمل

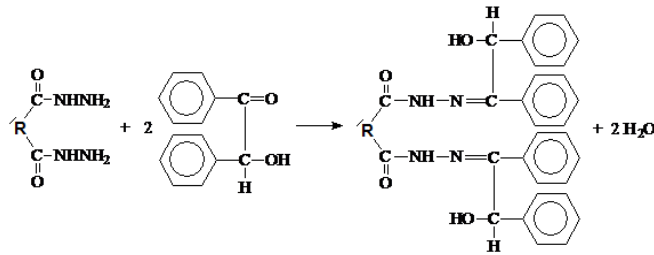
أولاً: الجزء الكيميائي

أ- القياسات الفيزيائية والأجهزة المستخدمة:

قيست درجات الانصهار أو درجات التفكك للمركبات المحضرة باستخدام جهاز Richerk-Jung Heizbank من نوع WME وجهاز Electrothermal، قيست التوصيلية للمعدقات المحضرة باستخدام جهاز نوع Conductivity Meter-Model 4070 (Jenway) LF-42 باستخدام مذيب ثنائي مثيل فورماميد (DMF) وبتركيز 10^{-3} مولاري، قيست أطيف الأشعة فوق البنفسجية والمرئية بجهاز (U.V.) من نوع (Shimadzu U.V.-210) واستعمل المذيب (DMF) واستخدمت خلية من الكوارتز ذات قطر 1 سم ويمدى (200-1000) نانوميتر سجلت قياسات طيف الأشعة تحت الحمراء لليكاندات والمعدقات المحضرة اذ عملت على شكل أقراص بمادة KBr وجهاز Pye-Unicam-SP-1100 Infrared Spectrophotometer في المنطقة المحصورة ما بين (400-4000) سم⁻¹ استخدم جهاز IR 300 Spectrophotometer Thermomattson قيست الحساسية المغناطيسية للمعدقات المحضرة باستخدام طريقة فرادي اما تحليل العناصر فعينت كمية الكوبلت باستخدام طرائق ترسيبية (Vogel, 1971).

ب- الطرائق التحضيرية:

اتبعت الطريقة الموجودة في الأدبيات (Baker et al., 1950) في تحضير الليكاندات المشتقة من الهيدرازيدات الحامضية مع البنزوين وتحضير معدقات هذه الليكاندات مع أملاح الكوبلت حيث حضرت الليكاندات (L_1H_4 ، L_2H_4 ، L_3H_4) بإذابة (10، 12، 15) غم، (0.07، 0.08، 0.07) مول) من مالونيل ثنائي هيدرازيد، سكسنايل ثنائي هيدرازيد، فنالويل ثنائي هيدرازيد على التوالي في 100 سم³ ايثانول ساخن يضاف له محلول مكون من إذابة (32، 34، 32) غم (0.14، 0.16، 0.14) مول) من البنزوين في 150 سم³ ايثانول، بعد مزج المحلولين تجري عملية التصعيد الحراري لمدة ست ساعات على الأقل ثم يبرد المحلول في حمام ثلجي وبالتبريد يتكون راسب وتبين المعادلة الآتية هذا التفاعل:



في حالة الليكاند الأول $R' = \text{CH}_2$ والليكاند الثاني $R' = \text{CH}_2\text{-CH}_2$ والليكاند الثالث $R' = \text{-ph}$

درجة انصهار الليكاند $150^\circ \text{M} = \text{L}_1\text{H}_4$ و الليكاند $190^\circ \text{M} = \text{L}_2\text{H}_4$ و الليكاند $144^\circ \text{M} = \text{L}_3\text{H}_4$

تحضير المعقدات: حضرت معقدات الكوبلت (II) باستخدام أملاح الكلوريد والنترات للفلز في:

1- الوسط المتعادل وذلك بإضافة 10 سم³ من محلول الملح الفلزي الكحولي إلى 25 سم³ من محلول الليكاند الكحولي الساخن مع التحريك المستمر ثم يسخن المزيج بالتصعيد الحراري لمدة ثلاث ساعات على الأقل يبرد المزيج يرشح الراسب ويغسل بالايثانول البارد ويجفف.

2- الوسط القاعدي وذلك بإضافة 10 سم³ من محلول الملح الفلزي الكحولي إلى 25 سم³ من محلول الليكاند الكحولي الساخن مع التحريك المستمر ومن ثم إضافة محلول هيدروكسيد البوتاسيوم الكحولي (1 مولاري) إلى أن تصبح الدالة الحامضية قرابة (9-10) ثم يسخن المزيج بالتصعيد الحراري لمدة ثلاث ساعات على الأقل يبرد المزيج يرشح الراسب ويغسل بالايثانول البارد ويجفف.

ثانيا: الدراسة البيولوجية: استخدمت الطرائق الآتية:

1. طريقة اختبار الحساسية (طريقة الانتشار بالأقراص): اتبعت طريقة (Bauer et al., 1966) وهي طريقة انتشار المادة في الاكار (Agar) من خلال قرص حاوٍ على هذه المادة اذ ينقع كل قرص في محلول المركب تحت الدراسة وبتركيز 200 ملغم/مل في مذيب ثنائي مثيل سلفوكسايد (DMSO) وبعد ذلك تختبر فعالية المركبات المحضرة واستخدمت هذه الطريقة لسهولة وللاقتصاد في الوسط الغذائي المستعمل (Nawas et al., 1994) اذ نقلت (4-5) مستعمرات نقية للبكتريا *Staphylococcus aureus* الى وسط المرق المغذي، وحضن الوسط بدرجة حرارة (37 °م) لمدة 24 ساعة خفف بعد ذلك بالمحلول الملحي (Normal saline) وذلك بالمقارنة مع أنبوب السيطرة القياسي الذي يعادل (10⁸ خلية/سم³) ثم نقل (0.1) سم³ من العالق الجرثومي المخفف إلى وسط الاكار المغذي الاعتيادي (Nutrient-agar) ونشر على سطح الطبق باستخدام مسحة قطنية معقمة (Sterile cotton swabs) تركت الأطباق بدرجة حرارة (37 °م) لمدة (30) دقيقة لحصول عملية التشرب. ولأجل دراسة تأثير المركبات المحضرة على نمو الجرثومة فقد تم تحضير أقراص من ورق الترشيح Whatmann No. (1) بقطر (6) ملم المعقمة والمشبعة بتركيز مختلفة (200 و 100 و 50 و 25 و 12.5) ملغم/مل من محاليل المركبات المراد دراستها وذلك بإضافة (0.5) سم³ من مذيب (DMSO) المذاب فيه وزن معين من المركب قيد الدراسة الى قنينة حاوية على (10) أقراص معقمة وتوزع الأقراص بوساطة ملقط معقم على سطح الاكار وتحضن الأطباق عند درجة حرارة (37 °م) لمدة (24) ساعة. واعتمدت فترة التحضين المثلى للنمو بالاعتماد على منحنى النمو القياسي. استخدمت طريقة (Prescott et al., 1996) لبيان حساسية المركبات المدروسة التي تعتمد على قطر حزم التنشيط. وقد تم استخدام المضاد الحيوي من نوع Vancomycin للجراثيم الموجبة لصبغة كرام أي أنها استخدمت لجرثومة *Staphylococcus aureus* بالاعتماد على ما يستخدم في مختبر الصحة العامة والمعتمد على فحوصات منظمة الصحة العالمية (Vandepitte et al., 1991).

2. تحديد التركيز الأدنى المثبط: **Determination of Minimum Inhibitory Concentration (MIC)**

حددت هذه التراكيز من خلال تحضير المحاليل المخففة بتركيز مختلفة اذ طبقت هذه الطريقة على بعض المعقدات التي ابرزت قدرة تثبيطية جيدة، اذ حضرت المحاليل المخففة بالتراكيز الآتية: (200 و 100 و 50 و 25 و 12.5) ملغم/ مل وحدد التركيز الأدنى المثبط الذي هو أعلى تخفيف يمنع نمو الجراثيم.

3. تحضير مستخلص الخلايا الجرثومية: تم تحضير مستخلص الخلايا الجرثومية باضافة ملغم من الخلايا الجافة الى (10سم³) من محلول ترس المنظم (Tris-HCl Buffer) بتركيز (0.05 مولاري) ودالة حامضية (7.8) والحاوي على Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) بتركيز (1 ملي مول) لإزالة المواد اللاخلوية، ثم حطمت الخلايا الجرثومية باستخدام جهاز الترددات فوق الصوتية (Ultrasound) بتسليط (24000) ذبذبة/ ثانية لمدة (30 ثانية). كررت هذه العملية أربع مرات مع فترات توقف لمدة (15 ثانية) بعد كل مرة ليبرد المحلول للحفاظ على درجة حرارة (4 °م). تم فصل الرائق عن الراسب باستخدام جهاز الطرد المركزي المبرد الفوقي وبسرعة (6000 xg) لمدة (10 دقائق) لغرض ترسيب الخلايا غير المتكسرة. ثم أضيف (0.1 سم³) من العالق الجرثومي الى (5 سم³) من وسط المرق المغذي (Nutrient broth) وحضن الوسط بدرجة حرارة (37 °م) لمدة (24 ساعة) بالنسبة للجراثيم غير المعاملة، اما في حالة الجراثيم المعاملة بالمركبات المحضرة فتمت إضافة (0.1 سم³) من محلول المركب المعقد المحضر الى (0.1 سم³) من العالق الجرثومي المضاف له (5 سم³) من وسط المرق المغذي وحضن الوسط بدرجة حرارة (37 °م) ولمدة (24 ساعة). بعد ذلك تم فصل الرائق عن الراسب باستخدام جهاز الطرد المركزي المبرد الفوقي (Ultracentrifuge) من نوع (Heraeus-Christ, GmbH, D3360, West Germany).

4. تقدير كمية البروتين: استخدمت في هذه الدراسة طريقة لوري (Lowry *et al.*, 1951) لتحديد كمية البروتين للجراثيم المعاملة بالمركبات المحضرة وغير المعاملة.

النتائج والمناقشة

درست الليكاندات والمعقدات الناتجة بالطرائق الكيماوية والفيزيائية والطيفية وكما هو موضح في الآتي:

1. الموصلية الكهربائية المولارية: قيست الموصلية الكهربائية المولارية للمعدقات عند تركيز (10⁻³ M) في محلول ثنائي مثيل فورماميد بعد السماح للمحلول أن يكون في حالة توازن حراري عند درجة حرارة الغرفة وقد تبين من نتائج الموصلية الكهربائية أن المعقدات المحضرة في المحيط المتعادل تكون الكتروليتية في المحلول بنسبة 1:2 في حين تكون المعقدات المحضرة في المحيط القاعدي الكتروليتية بنسبة 2:1 لمعدقات الليكاندات الثلاثة وتتفق هذه مع النتائج التي تم الحصول عليها وكما هو موضح في الجدول (1).

2. القياسات المغناطيسية: قيست العزوم المغناطيسية لمعدقات الكوبلت (II) (Figs and Lewis, 1960) وأعطت المعقدات (9-1) المبينة في الجدول (1) قيمة للعزوم المغناطيسية إذ تشير هذه القيم إلى معدقات الكوبلت الثنائي الموجب ذات بنية ثماني السطوح عالية البرم (Rai *et al.*, 1986; Sallomi and Al-Sabaawi, 2001) وكما هو موضح في (الجدول 1).

3. الأطياف الالكترونية: قيست الاطياف الالكترونية للمعدقات المحضرة باستخدام مذيب ثنائي مثيل فورماميد (DMF) وقد اعطت المعقدات المحضرة اطياف (d-d) فضلاً عن اطياف انتقال الشحنة لمعدقات الكوبلت المحضرة في كل من الوسطين المتعادل والقاعدي، فقد أظهرت نتائج الطيف الالكتروني (الجدول 2) حزم امتصاص ظهرت في المدى (10152-10940) سم⁻¹ تعود الى الحزمة ν_1 ، والحزمة ν_2 ظهرت في المدى (14005-16835) سم⁻¹ اما الحزمة ν_3 فقد ظهرت في المدى (20242-22522) سم⁻¹ من الطيف حزم ν_1 ، ν_2 ، ν_3 في المديات المذكورة في أعلاه يؤكد أن المعقدات هي من نوع ثماني السطوح ذات البرم العالي (Sallomi, 2003; Sallomi and Hadad, 2004) وتم حساب قيمة انقسام المجال البلوري 10Dq ومعامل ركا (β) ومعامل التناظر الالكتروني (β) بالاستناد الى مخطط تاناها-سوكانو (Lever, 1968) للترتيب الالكتروني d⁷ ثماني

السطوح وقد لوحظ ان قيمة $10Dq$ المحسوبة مساوية لقيمة الانتقال ν_1 وتشير قيمة β الواطئة الى زيادة الصفة التساهمية بين الكوبلت والليكاندات وذلك بمقارنة قيم راکا المحسوبة عملياً للمعقدات مع القيم النظرية للايون الفلزي الحر مما يشير الى وجود تمدد قليل للكثافة الالكترونية خلال تكوين المعقد (Nephelauxetic effect) وهذا يتفق مع القيم المحسوبة $\beta = \beta / B_0$ والتي تشير الى نسبة الصفة التساهمية بين الايون الفلزي والليكاند، كذلك تتفق قيم ν_2 / ν_1 للمعقدات مع ما هو منشور في الادبيات للتناسق ثماني السطوح. وعلى هذا الأساس ومع الأخذ بنظر الاعتبار لون المعقد ونتائج قياسات الحساسية المغناطيسية التي أعطت عزمًا تتراوح ما بين (3.91-4.11) B.M. ويمكن اقتراح تناسق ثماني السطوح حول ايون الكوبلت (II) وتطابق هذه الصيغ نتائج التحليل بطيف الأشعة تحت الحمراء كما هو مبين في (الجدول 3) التي بينت ارتباط الفلز بالليكاند عن طريق ذرات الأوكسجين والنتروجين.

الجدول 1: النتائج التحليلية وعدد من الخصائص الفيزيائية لمعقدات ($L_3H_4-L_2H_4-L_1H_4$) وقيم المغناطيسية

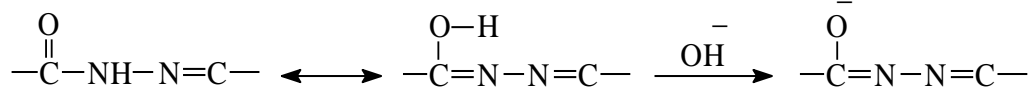
رقم المعقد	الصيغة	اللون	التوصيلية اوم ⁻ 1 سم ² .مول ⁻¹ Λ_M DMF	درجة الانصهار °م	النسبة المئوية للفلز المحسوبة نظريا/ (عمليا)	μ_{eff} B.M.
1	$[Co(L_1H_4)]Cl_2$	اخضر غامق	164	220	9.07 (8.75)	3.99
2	$K_2[Co(L_1)]$	بني	157	206	9.03 (8.51)	4.10
3	$[Co(L_1H_4)](NO_3)_2$	بني غامق	155	253	8.39 (8.15)	3.99
4	$[Co(L_2H_4)]Cl_2$	اخضر غامق	160	250	8.88 (8.75)	3.92
5	$K_2[Co(L_2)]$	اخضر غامق	152	271	8.84 (8.63)	3.96
6	$[Co(L_2H_4)](NO_3)_2$	بني غامق	170	264	8.22 (8.15)	4.02
7	$[Co(L_3H_4)]Cl_2$	اصفر	163	266	8.28 (8.27)	3.91
8	$K_2[Co(L_3)]$	بني فاتح	149	200	8.25 (8.15)	4.04
9	$[Co(L_3H_4)](NO_3)_2$	بيجي	141	224	7.71 (7.55)	4.11

الجدول 2: الأطياف الإلكترونية لمعدقات الكوبلت (II) باستخدام مذيب (DMF) سم¹⁻

رقم المعدد	الصيغة	ν_1	ν_2	ν_3	C.T	ν_2/ν_1	β^{\wedge}	β	10Dq	• البنية
1	[Co(L ₁ H ₄)]Cl ₂	10373	16835	21498	29498	1.62296	484.46	0.4989	10373	OCT
2	K ₂ [Co(L ₁)]	10482	15772	20242	29585	1.50467	304.53	0.3136	10482	OCT
3	[Co(L ₁ H ₄)](NO ₃) ₂	10706	14619	21097	28653	1.36549	239.86	0.2470	10706	OCT
4	[Co(L ₂ H ₄)]Cl ₂	10940	16286	21551	29940	1.48866	334.46	0.3444	10940	OCT
5	K ₂ [Co(L ₂)]	10482	14409	22026	29940	1.37464	332.60	0.3425	10482	OCT
6	[Co(L ₂ H ₄)](NO ₃) ₂	10593	14005	21097	29940	1.32209	221.53	0.2281	10593	OCT
7	[Co(L ₃ H ₄)]Cl ₂	10152	15290	22026	30864	1.50610	457.33	0.4709	10152	OCT
8	K ₂ [Co(L ₃)]	10940	15408	22522	30864	1.40840	340.66	0.3508	10940	OCT
9	[Co(L ₃ H ₄)](NO ₃) ₂	10706	14836	21097	31152	1.38576	254.33	0.2619	10706	OCT

• OCT: Octahedral

4. أطياف الأشعة تحت الحمراء: تم تدقيق أهم حزم الليكاندات الحرة ومعدقاتها المحضرة لمعرفة وجود التناسق مع الفلز ومنها مجموعة الازوميثاين C=N حيث ظهر التردد لليكاندات الثلاث بحدود (1630-1615) سم¹⁻ وعند التناسق مع الفلز إزاحة هذه القيم إلى ترددات أوطأ بسبب الضعف الذي يحدث في خاصية الأصرة المزدوجة لمجموعة (C=N) (Shaheen *et al.*, 2017; (Al- Sallomi and Al-Shaheen, 1994) ان التردد الامتطاطي للكاربونيول لليكاندات ظهر عند (1695 -1675) سم¹⁻ والتردد الواطئ يعزى (Nakamoto, 1978) الى الاصرة الهيدروجينية بين مجموعة الكيتون ومجاميع الهيدروكسيل OH والامين NH في الليكاندات (Sankar *et al.*,2010; Sallomi and Hadad, 2004). وظهرت حزمة تردد مجموعة الكاربونيول للمعدقات في الوسط المتعادل عند ترددات اوطأ بمقدار (25-10) سم¹⁻ ويعود ذلك الى تناسق ذرة الاوكسجين الكاربونيلية مع الايون الفلزي (Nakamoto, 1978) وفي الوسط القاعدي تظهر تردد الكاربونيول وذلك بسبب إزالة البروتون من الليكاندات من خلال تكوين الاينول بسبب امتلاك هذه الليكاندات خاصية التوتومية تظهر حزمة قوية عند (1590-1550) سم¹⁻ تعود الى كروموفور الآزين (-C=N-N=C-) وكالاتي :



وهكذا تتناسق الليكاندات في الوسط القاعدي بشكلها الايوني السالب مع الأيونات الفلزية عن طريق ذرة الاوكسجين الاينولي (Sathyadevi *et al.*, 2012; Al-Shaheen *et al.*, 2012) والتردد الامتطاطي لأصرة C-O في المنطقة المحصورة ما بين (1220-1200) سم¹⁻ وقد أزيح هذا التردد إلى قيم اوطأ مما يدل على تناسق الأيونات الفلزية مع ذرة الاوكسجين الاينولية وكما هو مبين في (الجدول 3) لوحظ التردد الامتطاطي لمجموعة OH في المنطقة الواقعة ما بين (3500-3400) سم¹⁻ بشكل حزمة واسعة لليكاندات اذ تعود هذه الحزمة لأصرة O-H لمجموعة الهيدروكسيل الكحولية في هذه الليكاندات ويعود المدى الواسع لهذه

الحزمة الى وجود الأواصر الهيدروجينية كما ظهرت الحزمة (1275-1255) سم⁻¹ فإنها تعود الى تردد الانحناء لمجموعة OH الكحولية ان التردد الامتطاطي لمجموعة NH ظهرت في المنطقة الواقعة ما بين (3300-3200) سم⁻¹ لليكاندات الثلاثة أما التردد الامتطاطي للأواصر M-O و M-N في المنطقة الواقعة (480-470 و 440-430) سم⁻¹ من طيف المعقدات المحضرة في كلا الوسطين المتعادل والقاعدي (Al- Shaheen *et al.*, 2013 ; Alagesan *et al.*, 2013) ولوحظ ان هذا التردد لا يظهر في طيف الليكاندات، تعيين الحزمة الواقعة في المنطقة (625-570) سم⁻¹ والتي تعود إلى ايونات الكلور المرتبطة أيونياً مع الذرة الفلزية والواقعة ايونياً خارج الكرة التناسقية يظهر ايون النترات الحر ترددين اساسيين منحلين في (720 و 1380) سم⁻¹ ويزاح هذا الانحلال بالتناسق كما هو مبين في (الجدول 3).

الجدول 3: طائفة من الحزم المهمة في طيف الأشعة تحت الحمراء لليكاند الثلاثة ومعقداتهم في الوسطين المتعادل والقاعدي

المركب	v OH	v NH	v C=O	v C=N	δOH	v C-O	v C=N-N=C	v N-N	v M-O	v M-N	v Cl ionic	v NO ₃ ionic
L ₁ H ₄	3400	3250	1685	1630	1255	1200	-	1035	-	-	-	-
1	3300	3245	1675	1610	1225	1180	-	1055	440	480	580	720, 1380
2	-	-	-	1595	-	1175	1550	1050	430	470	-	-
3	3280	3245	1675	1595	1235	1180	-	1050	440	480	585	720, 1380
L ₂ H ₄	3410	3300	1695	1615	1275	1220	-	1030	-	-	-	-
4	3290	3300	1685	1575	1255	1200	-	1040	430	475	600	720, 1380
5	-	-	-	1585	-	1200	1570	1040	440	480	-	-
6	3300	3290	1675	1585	1255	1190	-	1050	435	480	595	720, 1380
L ₃ H ₄	3500	3200	1675	1625	1275	1205	-	1020	-	-	-	-
7	3390	3200	1665	1600	1255	1180	-	1045	440	480	575	720, 1380
8	-	-	-	1585	-	1185	1560	1040	440	480	-	-
9	3400	3195	1650	1605	1250	1185	-	1050	435	470	605	720, 1380

نتائج الفعالية البيولوجية للمركبات المحضرة ضد البكتريا:

في هذه الدراسة تم اختبار الفعالية البيولوجية لليكاندات والمعقدات المحضرة جميعها في الوسطين المتعادل والقاعدي كمضادات للبكتريا وباستخدام المضاد الحيوي Vancomycin تشير النتائج المبينة في (الجدول 4) أن الليكاند (L₁H₄) أظهر فعالية تثبيطية قليلة جداً ضد بكتريا *S. aureus*، وكما هو مبين في الصورة (1)، اما معقداته فقد تميزت المعقدات (1، 2، 3) بفعاليتها التثبيطية العالية ضد البكتريا المستخدمة حتى عند استعمال تراكيز قليلة من المادة ومن ذلك يتضح تأثير الايون الفلزي في زيادة الفعالية الحياتية لليكاند وكما هو مبين في (الجدول 4) أي أن المعقدات أظهرت فعالية حياتية ضد البكتريا في تراكيز اقل من التركيز الأدنى المطلوب للعقار القياسي وكما هو مبين في الصورة (2) إن إدخال الفلز في تركيز الليكاند (L₂H₄) يغير من طبيعة تأثيره الحياتي، إذ يلاحظ تأثير قليل لليكاند ضد البكتريا حتى ضمن التراكيز العالية. وأظهرت معقدات هذا الليكاند فعالية

عالية ضد البكتريا وعند مقارنتها مع نتائج تأثير المضادات الحيوية القياسية المستخدمة لوحظ تفوق المعقدين (4 و 6) عليها بفعالية تثبيطية عالية جداً من خلال قطر دائرة التثبيط لها وللمضاد الحيوي وكما هو مبين في (الجدول 4) والصورة (2)، وفي حالة الليكاند الثالث (L_3H_4) تشير النتائج التي تم الحصول عليها بإظهار الليكاند فعالية قليلة نوعاً ما في التركيز العالي فقط ولم تظهر أية فعالية تجاه البكتريا في جميع التراكيز الأخرى وكما هو مبين في (الجدول 4) والصورة المرفقة (1) أما معقداته المحضرة في الوسطين المتعادل والقاعدي فقد اختبرت فعاليتها ضد البكتريا واطهر المعقدان (7 و 8) فعالية تثبيطية عالية ضد البكتريا حتى عند استعمال تراكيز قليلة من المادة وقد لوحظ ان قطر دائرة التثبيط للمعقدين اكبر من قطر دائرة التثبيط لمضادات المقارنة المستخدمة وفي هذا دلالة على الفعالية العالية لهذين المعقدين ضد نمو البكتريا *S. aureus*.

تتصف معقدات قواعد شيف بكونها ذات فعالية حيائية عالية ضد البكتريا الموجبة وكما هو مبين في (الجدول 4) اذ تكون هذه المعقدات كارهة للماء ولها الفة دهنية عالية تمكنها من اختراق جدار الخلية البكتيرية ويرجع سبب ذلك إلى أن الصفة التساهمية في أواصر هذه المعقدات أعلى من الصفة القطبية (Prescott *et al.*, 1996) وقد بينت حسابات معامل التناظر الالكتروني β للمعدقات (1-9) (الجدول 2) ان الصفة التساهمية في أواصر تلك المعقدات أعلى من الصفة القطبية اذ تراوحت قيمة β ما بين (0.22-0.49) وهي عائدة لمعدقات الكوبلت. لقد كانت فعالية الليكاند (L_3H_4) أعلى من فعالية الليكاندين (L_2H_4 و L_1H_4) ضد البكتريا وقد يرجع سبب ذلك الى ان الليكاند (L_3H_4) يعد مادة مؤثرة ويؤثر محلوله في جدران الخلايا بشكل أسرع وأقوى من الليكاندين السابقين ومن ثم يكون تأثيره الحيائي أعلى من المحتمل إن التراكيز المستخدمة من المعقدات تفقد فعاليتها البيولوجية ضد البكتريا المستخدمة لا مكانية تحول المعقدات الحاوية على ذرتين الكلور او النترات إلى معقدات أخرى حاوية على ذرتين او ذرة واحدة بفعل الانزيمات الخلوية التي تفرزها البكتيريا لمقاومة الفعل الكيمائي للمعقد وضمن التراكيز المستخدمة.

الجدول 4: تأثير الليكاند (L_1H_4 - L_2H_4 - L_3H_4) ومعقداتهم على بكتريا *S. aureus* الموجبة لصبغة كرام

Comp. No.	Compound	Gr ⁺
		<i>S. aureus</i>
Ligand	L_1H_4	4
1	$[Co(L_1H_4)]Cl_2$	18
2	$K_2[Co(L_1)]$	17
3	$[Co(L_1H_4)](NO_3)_2$	17
Vancomycin	Control	14
Ligand	L_2H_4	4
4	$[Co(L_2H_4)]Cl_2$	19
5	$K_2[Co(L_2)]$	18
6	$[Co(L_2H_4)](NO_3)_2$	21
Vancomycin	Control	18
Ligand	L_3H_4	7
7	$[Co(L_3H_4)]Cl_2$	16
8	$K_2[Co(L_3)]$	14
9	$[Co(L_3H_4)](NO_3)_2$	10
Vancomycin	Control	15

◆ قطر دائرة التثبيط مطروح منه قطر القرص.

تحديد التركيز الأدنى المثبط (MIC): تم تحديد التركيز الأدنى المثبط لبعض المعقدات التي أبرزت وأعطت قدرة تثبيطية جيدة من خلال تحضير المحاليل المخففة بالتركيز الآتية (200 و 100 و 50 و 25 و 12.5) ملغم/مل من كل معقد وحدد التركيز الأدنى المثبط وهو أعلى تخفيف يمنع نمو الجراثيم وكما هو مبين في (الجدول 5)، فضلاً عن ذلك تم تحديد قطر المنطقة المثبطة للمعقدات التي أخذت لها التراكيز المخففة ضد نمو البكتريا وقد لوحظ انه بزيادة تركيز المادة المستخدمة يزداد قطر المنطقة الخالية من النمو البكتيري وكما هو موضح في النتائج التي حصلنا عليها والتي بينها (الجدول 6) وأكدتها الصورة المرفقة (3)، إذ تشير الأرقام (1 و 2 و 3 و 4 و 5) في الصور إلى التراكيز المختلفة ابتداء من أعلى تركيز إلى اقل تركيز وحسب الترتيب الآتي: (200 و 100 و 50 و 25 و 12.5) على التوالي.

الجدول 5: مستوى التراكيز الدنيا المثبطة (MIC) ملغم/مل

Comp. No.	Compound	<i>S. aureus</i>
1	[Co(L ₁ H ₄)]Cl ₂	25
2	K ₂ [Co(L ₁)]	12.5
5	K ₂ [Co(L ₂)]	50
6	[Co(L ₂ H ₄)](NO ₃) ₂	50
7	[Co(L ₃ H ₄)]Cl ₂	25
8	K ₂ [Co(L ₃)]	25

الجدول 6: تأثير المعقدات على البكتريا الموجبة لصبغة كرام *S. aureus* باستخدام تراكيز مختلفة

Comp. No.	Compound	Conc. of complex No. (mg/ml)				
		200	100	50	25	12.5
1	[Co(L ₁ H ₄)]Cl ₂	21	17	13	10	4
2	K ₂ [Co(L ₁)]	22	20	15	10	8
5	K ₂ [Co(L ₂)]	15	15	10	2	2
6	[Co(L ₂ H ₄)](NO ₃) ₂	21	19	15	9	4
7	[Co(L ₃ H ₄)]Cl ₂	21	21	16	8	3
8	K ₂ [Co(L ₃)]	14	12	7	5	1

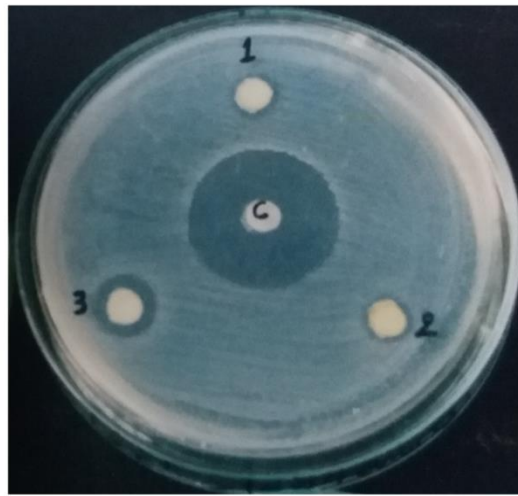
نتائج تقدير كمية البروتين:

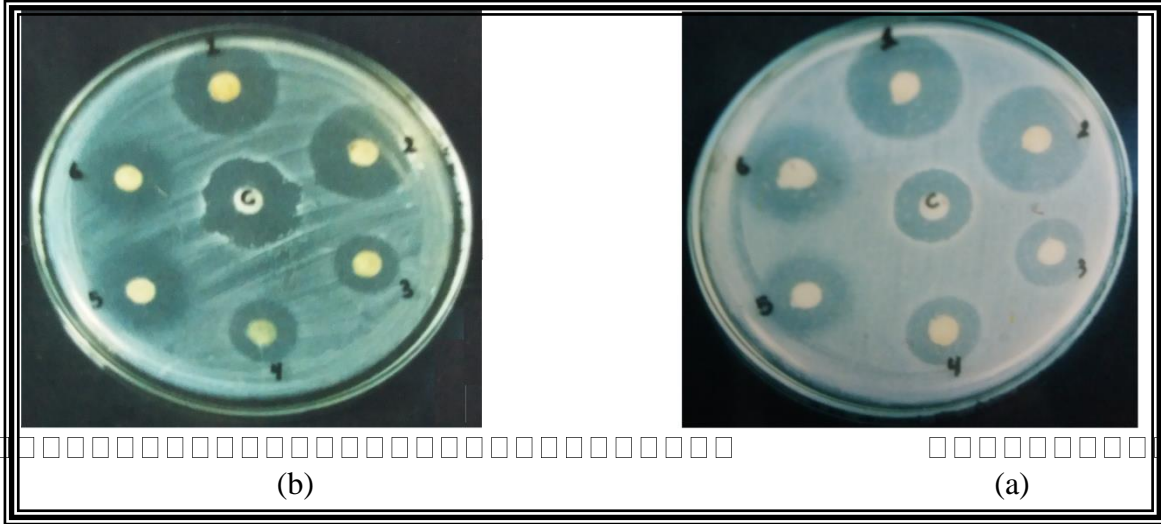
تم تقدير البروتين الكلي بطريقة لاوري كما ذكر سابقا من المواد وطرائق العمل لجرثومة *Staph. aureus* قبل وبعد معاملتها بالمعقدات المحضرة والتي أدت إلى تثبيط نموها وبأقل التراكيز (MIC) كما سبق ذكره في (الجدول 6). أوضح (الجدول 7) التغيير في كمية البروتين الكلي لجرثومة *Staph. aureus* بعد معاملتها بالمعقدات المحضرة. إذ تبين أن المعقدين [Co(L₃H₄)]Cl₂ و K₂[Co(L₃)] أظهرتا انخفاصاً في كمية البروتين الكلي بنسبة (16.30%) و(14.81%) مقارنة مع العينة غير المعاملة لجرثومة *Staph. aureus* ان استخدام المعقدين قد أثر على مسار البروتين فيؤدي إلى تثبيطه وبالتالي نقصان تركيز البروتين، وقد أدى المعقد K₂[Co(L₂)] إلى زيادة قليلة في البروتين (0.74%). ان الزيادة قد أدى إلى زيادة عمليات حث بناء البروتين اما بالنسبة للمعقدات [Co(L₁H₄)]Cl₂ و K₂[Co(L₁)] و [Co(L₂H₄)](NO₃)₂ فقد أظهرت انخفاصاً اقل بنسبة (7.41%) و (9.63%) و (2.22%) على التوالي. تم استخدام اختبار دنكن لتبيان المعنوية للمعقدات المستخدمة حيث تبين أن هنالك فرق غير معنوي وكما وضحته الأحرف المتشابهة عند المقارنة بين الجرثومة الغير معاملة مع الجرثومة المعاملة بالمعقدات المستخدمة.

الجدول 7: كمية البروتين بالمايكروغرام/ملغم وزن جاف لجرثومة *Staphylococcus aureus* المعاملة بالمعدقات المحضرة

النسبة المئوية للتغيير	النسبة المئوية للكمية	المعنوية	كمية البروتين المعدل \pm الخطأ القياسي	المعاملة
-	100	a	1.34 \pm 16.88	الجرثومة غير المعاملة
- 7.41	92.59	a	0.55 \pm 15.63	[Co(L ₁ H ₄)]Cl ₂
- 9.63	90.37	a	0.92 \pm 15.25	K ₂ [Co(L ₁)]
- 2.22	97.78	a	1.77 \pm 16.50	[Co(L ₂ H ₄)](NO ₃) ₂
+ 0.74	100.74	a	0.50 \pm 17.00	K ₂ [Co(L ₂)]
- 16.30	83.70	a	0.31 \pm 14.13	[Co(L ₃ H ₄)]Cl ₂
- 14.81	85.19	a	1.09 \pm 14.38	K ₂ [Co(L ₃)]

المعدل والخطأ القياسي هو لأربع مكررات

صورة (1) تأثير الليكاندات على بكتريا *S. aureus*رقم (1) يشير الى الليكاند L₁H₄ رقم (2) يشير الى الليكاند L₂H₄ رقم (3) يشير الى الليكاند L₃H₄

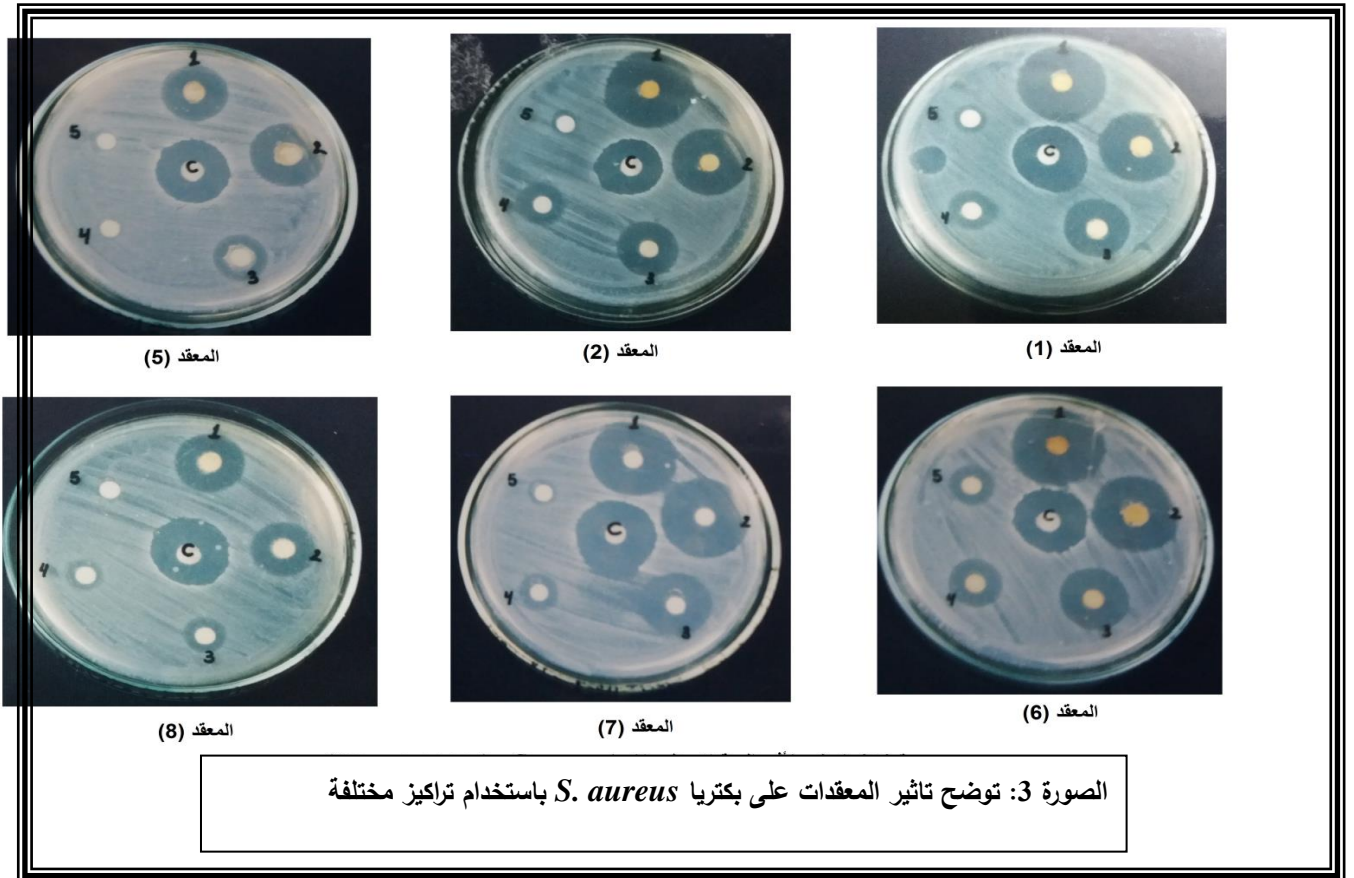


الصورة 2: تأثير معقءاء الوسط المءءاءل لللكاءءاء على بءءريا *S. aureus* اءء تشير الأرقام (1، 2، 3، 4، 5، 6) الى

المعقءاء (4، 6، 1، 3، 7، 9) على ءءوالي

(a) تأثير معقءاء الوسط القاءءل لللكاءءاء على بءءريا *S. aureus* اءء تشير الأرقام (1، 2، 3، 4، 5، 6) الى المعقءاء

(2، 2*، 5، 5*، 6، 6*) على ءءوالي



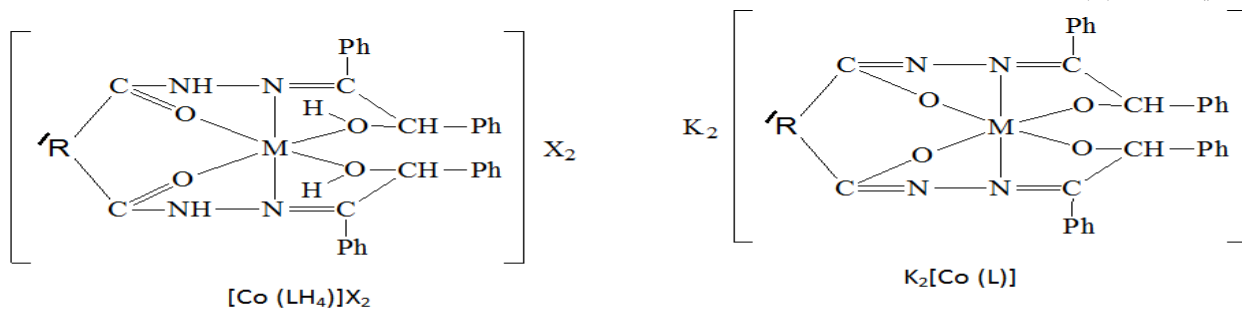
الصورة 3: ءءءء تأثير المعقءاء على بءءريا *S. aureus* باءءءءاء ءراكيز مءءءفة

الاستنتاجات

نستنتج من الدراسات المختلفة الفيزيائية والكيميائية والطيفية التي اجريت على المعقدات الناتجة عن تفاعلات الليكاندات مع الأملاح الفلزية المختلفة أن الليكاندات الثلاثة المحضرة في بحثنا هذا ترتبط بطريقتين مختلفتين:

1. للمعدّات المحضرة في الوسط المتعادل تسلك الليكاندات الثلاثة L_1H_4 و L_2H_4 و L_3H_4 سلوكاً متشابهاً إذ تعمل في هذا الوسط بشكل ليكاندات متعادلة سداسية السن لتتكون معدّات تكون فيها الذرة الفلزية سداسية التناسق، لذلك تكون للمعدّات بنية ثماني السطوح وكما هو مبين في الشكل (1).

2. للمعدّات المحضرة في الوسط القاعدي تسلك الليكاندات الثلاثة L_1H_4 و L_2H_4 و L_3H_4 كليكاندات سداسية السن رباعية القاعدة نتيجة لازاحة البروتونات الكحولية والايونولية ويحدث التناسق من خلال ذرتي الاوكسجين الكحولية بعد التأين وذرتي الاوكسجين الايونولية وذرتي النتروجين لمجموعتي الازوميثان لتتكون معدّات سداسية التناسق لها بنية ثماني السطوح، وكما هو مبين في الشكل (2).



شكل (1)

شكل (2)

3. من الدراسة البايولوجية لليكاندات ومعدّاتها المحضرة في الوسطين المتعادل والقاعدي استنتجنا أن لهذه المركبات فعالية تثبيطية ضد نمو البكتريا المستعملة الموجبة لصبغة كرام، إذ لوحظ أن للمعدّات المحضرة فعالية أكثر من الليكاندات مما يدل على أن ادخال الذرة الفلزية على الليكاندات يزيد من الفعالية المضادة للبكتريا المرضية وهذا يقود مستقبلاً الى التركيز على ايجاد معدّات ذات فعالية عالية بوصفها مضادات للبكتريا وبسمية اقل. كما بينت النتائج التي حصلنا عليها أن بعض المعدّات المحضرة قد أعطت فعالية أعلى من فعالية المضاد الحيوي المستخدم كما لوحظ وجود تفاوت في فعالية هذه المركبات في تثبيط نمو البكتريا.

4. حدد التركيز الأدنى المثبط (MIC) لبعض المعدّات المحضرة والتي أظهرت فعالية عالية في تثبيط نمو البكتريا المرضية وقد دلت النتائج على وجود تأثير لبعض المعدّات على طبيعة البروتينات الكلية للجرثومة قيد الدراسة بنسب متفاوتة حيث أظهرت بعض منها نقصاناً في كمية البروتين في حين اظهر البعض الآخر زيادة في كمية البروتين.

5. تبين من خلال النتائج أن هناك تأثير فعال في حالة التراكيز الواطئة من المعدّات ب 25 ppm مقارنة مع العقار الضابط الليكاندات تزداد فعاليتها عندما تتناسق مع املاح الايونات الفلزية وهذا السلوك للايون الفلزي في المعقد يعتمد على طبيعة التركيب الكيميائي للمعدّد ونوع البكتريا إما قاتلة للبكتريا bactericidal او موقفة لنموها bacteriostatic.

6. تم تقدير المحتوى البروتيني في البكتريا قبل وبعد معاملتها بالمعدّات الفلزية و لمعرفة تأثيرها المعقد على أي جزء من الأقسام الخلوية للبكتريا حيث يمتص المعقد الفلزي عن طريق الجدار الخلوي ويترسب على السطح الداخلي للخلية ومن الدراسات

السابقة بالمجهر الالكتروني اظهر ان المعقد يلتصق على الجدار بالطبقة الخارجية من الداخل على شكل حواجز كثيفة في بعض المناطق وحواجز عرضية (sptum) ويبتعد السئل البلازمي عن الجدار الخلوي اثر امتصاص المعقد الفلزي ويصاحب هذا عطب وكسور على امتداد مستويات مختلفة من الجدار والغشاء البلازمي وانفتاح مكونات السيتوبلازم يتكون بالنهاية حوصلات او فجوات ينصهر الكثير منها في النهاية فتغير من تركيز البروتين.

المصادر

- Al-Shaheen, A.J.; Sallomi, I.J.; Al-Sabaawi, S.A. (2013). Some new Schiff Base Complexes of copper (II) and Their Biological Screening. *Kirkuk Uni. J. Sci. Studies*, **8**(2), 48-58.
- Alagesan, M.; Bhuvanesh, N.S.P.; Dharmaraj, N. (2013). Potentially cytotoxic new copper(II) hydrazone complexes: synthesis, crystal structure and biological properties. *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, **42**, 7210-7223.
- Al-Shaheen, A.J. (2011). Synthesis and fungitoxicity of copper(II) complexes. *Raf. J. Sci.*, **2** Conference in chemistry 22-23 November, 374-388.
- Al-Shaheen, A.J.; Sallomi, I.J.; Al-Sabaawi, S.A. (2012). Preparation, characterization of acid hyrazide Schiff Base complexes of nickel (II) and their biological activity. *Iraqi National J. Chemistry*, **48**.
- Al-Shaheen, A.J.; Al-Bayati, M.R.; Ali, A.M. (2017). Synthesis and characterization some of metal(II) complexes with 2-(6-methoxy naphthalene-2-yl) propionic acid (2-hydroxy benzylidene) hydrazone. *International J. Enhanced-Resear., Technol. and Engm.*, ISSN: 2319-7463, **6**(11).
- Baker, W.; Haksar, C.N.; Mcomie, F.W. (1950). Fluorescent reagents. acyl chlorides and acyl hydrazides. *J. Chem. Soc.*, **170**.
- Bauer, A.W.; Kirby, W.A.M.; Sherris, J.S.; Turk, M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am. J. Clin. Pathol.*, **45**, 493-496.
- Bavin, E.M.; Drain, D.J.; Seilerr, M.; Seymour, D.E. (1952). Some new metal complexes as possible bactericide. *Pharm and Pharmacol.*, **4**, 844.
- Bernhardt, P.V.; Wilson, G.J.; Sharpe, P.C.; Kalinowski, D.S.; Richardson, D.R. (2008). Tuning the antiproliferative activity of biologically active iron chelators: characterization of the coordination chemistry of 2-acetylpyridine and 2-benzoylpyridine hydrazone ligands. *J. Biol. Inorg. Chem.*, **13**, 107-119.
- Chohan, Z.H.; Farooq, M.A.; Iqbal, M.S. (2000). Synthesis, characterization and biological properties of anions on bivalent transition metal Co (II) and Ni (II) complexes with acylhydrazine-derived ONO donor Schiff bases. *Metal-Based Drugs.*, **7**, 133-139.
- Figgs, B.N.; Lewis, J. (1960). "Modern Coordination Chemistry". Inter science, New York, 400 p.
- Laurence, D.R.; Bennette, P.N. (1990). "Clinical Pharmacology". 6th ed., English Language Book Society, pp. 193-197.
- Lever, A.B.P. (1968). Electronic spectra of some transition metal complexes. *J. Chem. Edu.*, **45**(11), 711.
- Lowry, O.H.; Rosebrough, N.J.; Farr A.L.; Randall, R.J. (1951). Protein measurement with the follinphenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**, 265-275
- Manoussakis, G.; Bolos, C.; Ecateriniadou, L.; Sarris, C. (1987). Synthesis, characterization and anti-bacterial studies of mixed-ligand complexes of dithiocarbamato-thiocyanato and iron (III), nickel (II), copper (II) and zinc (II). *Eur. J. Med. Chem.*, **22**, 421-425.
- Marshall, A.J.H.; Piddock, L.J.V. (1993). Effect of cations and EDTA upon the activity 18 quinolones, gentamicin, ceftazidin and polymixin against Gram-negative and Gram-positive bacteria. *Drugs*, **45**(3), 150-151.

- Muhi-Eldeen, Z.; Nadir, M.; Al-Jobori, N.R.; Hussein, F.; Jstohs, S. (1991). Synthesis and study of transition metal compounds with expected biological activity. *Eur. J. Med. Chem.*, **26**, 237.
- Nakamoto, K. (1978). "Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compound". 3rd ed., John Wiley and Sons, New York, pp. 322, 244, 166, 173, 187.
- Nawas, T.E.; Mawajden, S.; Dabned, A.; Al-Omari, A. (1994). Vitro activities of antimicrobial agents against proteusspp. *Clinical Specimens. Br. J. Biomed Sci.*, **51**(20), 95-99.
- Novak, F.R.; Dasilva, A.V.; Hagler, A.N.; Figueiredo, A.M.S. (2000). Contamination of expressed human breast milk with an epidemic, multiresistant *Staphylococcus aureus* clone. *J. Med. Microbiol.*, **49**, 1109-1117.
- Prescott, L.M.; Harley, J.P. (1996). "Laboratory Exercises in Microbiology". 3rd ed., WCB McGraw-Hill, Iowa, USA.
- Prescott, L.M.; Harley, J.P.; Klein, D.A. (1996). "Microbiology". 3rd ed., Wm. C. Brown Publisher, London, Chicago, pp. 436-450.
- Rai, H.C.; Sharma, R.U.; Thakur, R.S. (1986). Complexes of copper (II), nickel (II) and cobalt (II) with bis (1,2-diphenyl-1-hydroxyimino-2-ethylidene)-1,2-diaminobenzene. *J. Indian Chem. Soc.*, **63**, 495.
- Richards, R.M.E.; Xing, J.Z.; Gregory, D.W.; Marshall, D. (1993). An electron-microscope study of the effect of sulphadiazine and trimethoprim on *Enterobacter cloaca*. *J. Med. Microbiol.*, **38**, 64-68.
- Sallomi, I.J.; Al-Shaheen, A.J. (1994). Complexes of hydrazide Schiff bases. *Transition, Met. Chem.*, **19**, 275.
- Sallomi, I.J.; Hadad, R.A.E. (2004). Study of the preparation and biological activity of cobalt (II) and nickel (II) complexes. *J. Edu. Sci.*, **16**(2), 110-124.
- Sallomi, I.J.; Al-Shaheen, A.J.; Al-Sabaawi, S.A. (2011). Acid hydrazide Schiff base complexes of cobalt (II) and their biological activity. *Raf. J. Sci.*, **2**, sci-Conference in chemistry, 22-23 November, 389-400.
- Sallomi, I.J. (2003). Synthesis and physicochemical studies of some cobalt (II), nickel (II) and copper macrocyclic complexes. *J. Edu. Sci.*, **15**(2), 60-66.
- Sallomi, I.J.; Al-Sabaawi, S.A. (2001). Complexes of cobalt, nickel and copper with acetylacetonone derivatives. *J. Edu. Sci.*, **51**, 96-100.
- Sankar, R.; Vijaylakshmi, S.; Rajagopan, S.; kahyapan, T. (2010). Synthesis, spectral, thermal and chelation potential of polymertic hydrazon based on 2,4-dihydroxy benzophenone. *J. Appl. Polym. Sci.*, **117**, 2146-2152
- Sathyadevi, P.; Krishnamoorthy, P.; Algesan, M.; Thanigaimani, K.; Muthiah, P.T.; Dharmaraj, N. (2012). Synthesis crystal structure, electrochemistry and studies on protein binding, antioxidant and biocidal activities of Ni(II) and Co(II) hydrazone complexes. *Polyhedron*, **31**, 294-306.
- Savanini, L.; Chiasserini, L.; Gaeta, A.; Peierano, C. (2002). Synthesis, antitubercular, evaluation of 4-quinolyhydrazoncs. *Bioorg. Med. Chem.*, **10**, 2193-2199
- Schraufstatter, E. (1950). Formation of heavy-metal complexes and antibacterial. *Z. Naturforsch.*, **5B**, 190; *Chem. Abstr.*, (1955), 44, 8999g.
- Vandepitte, J.; Engback, K.; Pito, P.; Heuk, G. (1991). "Basic Laboratory Procedure in Clinical Bacteriology". World Health Organization, Geneva, pp. 78-85.
- Vogel, A.I. (1971). "A Text Book of Quantitative Inorganic Chemistry". 3rd ed., John Wiley, pp. 479, 497, 529.