

تقييم فعالية بعض مشتقات 4 - أمينو أنتي بايرين أزو كمضادات حيائية على بعض انواع البكتريا المرضية

أزهار جواد كاظم
كلية العلوم / جامعة الكوفة

نبراس يحيى عبدالله
كلية العلوم / جامعة الكوفة

عذراء حرجان محسن
كلية العلوم / جامعة الكوفة
الخلاصة

تضمنت هذه الدراسة تحضير بعض مركبات 4 - أمينو أنتي بايرين أزو و لأختبار قدرتها كمضادات حيائية ضد بعض انواع البكتريا وهذه المركبات المحضرة تضمنت 4- أمينو أنتي بايرين أزو ريزورسينول و 4- أمينو أنتي بايرين أزو هيدروكينون و 4- أمينو أنتي بايرين أزو 2- بروموفينول وقد تم اختبار فعالية هذه المركبات ضد بكتريا *Staphylococcus aureus* المعزولة من الاصابات الجلدية وبكتريا *E. coli* المعزولة من اصابات المجاري البولية وبكتريا *Pseudomonas aeruginosa* المعزولة من الحروق. أظهرت نتائج الدراسة أن مركب 4- أمينو أنتي بايرين أزو ريزورسينول اعطى اعلى فعالية ضد بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* أما بكتريا *E. coli* فقد كانت اقل تحسسا للمركب في حين لم تتأثر بكتريا *Staphylococcus aureus* بالمركب اطلاقا، أما بالنسبة للمركب الاخر 4- أمينو أنتي بايرين أزو هيدروكينون فقد اعطى اعلى تأثير على بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* في حين ان بكتريا *Staphylococcus aureus* وبكتريا *E. coli* كانتا اقل تحسسا للمركب، أما بالنسبة للمركب الثالث 4- أمينو أنتي بايرين أزو 2- بروموفينول فقد أظهرت النتائج ان بكتريا *Staphylococcus aureus* كانت اكثر تحسسا للمركب في حين ان النوعين البكتيرين الاخرين (*E. coli* و *Pseudomonas aeruginosa*) كانا اقل تحسسا للمركب .

المقدمة :-

تعد بكتريا *E. coli* عصيات سالبة لصبغة غرام توجد كفلورا طبيعية في امعاء الانسان ولها اثر في الموازنة البيئية المعوية و انتاج الفيتامينات B,E,K2 ومن اهم الامراض التي تسببها هي الاسهال والتهاب المجاري البولية (Roy et al.,2008) وتعتبر بكتريا *E. coli* هي احدى اهم مسببات الرئسية المسببة للامراض في الانسان وهي ايضا المسبب الاكثر شيوعا في احداث التهاب المجاري البولية اذ تشكل حوالي 90% من الاصابة الاولية لالتهاب المجاري البولية عند النساء (Stamm,2002) تمتلك بكتريا *E. coli* عوامل التصاق وهي الاهداب Pili وهي تسهم بشكل رئيس في انشاء الاصابة بنجاح ومن العوامل الاخرى التي تمتلكها البكتريا وتمكنها من احداث التهاب المجاري البولية هي hemolysin, cytotoxic كما تفرز هذه البكتريا مجموعة من السموم والتي يكون لها دور كبير في احداث الاسهال الناجم عن هذه البكتريا مثل heat-labile (exotoxin, heat-stable enterotoxin) (Jawets et al.,2010)، تعد بكتريا *staphylococcus aureus* جراثيم موجبة لصبغة كرام كروية او بيضوية غير متحركة وغير مكونة للابواغ تسبب امراض عديدة بواسطة انتاجها للانزيمات والذيفانات ومن خلال تضاعفها في الانسجة مسببة الالتهاب ومن بين عوامل امراضيتها انتاجها انزيم coagulase الذي يعمل على تحويل مولد الليفين الى الليفين بالاضافة الى ان اغلب سلالات المكورات العنقودية الذهبية تكون محللة للسموم من خلال انتاج انزيم Iapase اذ يساعد هذا الانزيم على اجتياح هذه الجراثيم لانسجة الجلد وماتحت الجلد في حالة داء الجريبات المزمن و كذلك في حالات الحروق كذلك تنتج exofolatin toxin وتسبب هذه الذيفانات تمزق ضمن ادمة الجلد فضلا عن ذلك انه يسبب تخر البشرة وفصل الانسجة داخل البشرة بما يسمى بمتلازمة الجلد السمطية sclbed skin syndrom فضلا عن انتاجها العديد من الانزيمات والسموم مثل (leucocidin, haemolysin toxin, euterotoxin, Dnase, enzymes, ctalasse enzyme) (Jawets and levinson,2002) ون اكثر الاصابات التي تسببها هذه البكتريا هي الاصابات الجلدية وتعد بكتريا *staphylococcus aureus* المسبب الاكثر شيوعا للحصف المتقشر الخشن crusted impetigo والحصف المتضخم bullos impetigo و انتاجها exofolatin والذي يسبب بثرة في الموقع المتضرر من الاصابة ويعد التهاب الجريبات والخراج والدمامل والتهاب الجروح من المظاهر المختلفة على الاصابة الموقعية الجلدية لبكتريا *staphylococcus aureus* والجزء الكبير العميق من الاصابة والمتلى بالقريح يمثل الخراج abscess والجزء الخارجي من الخراج يعرف بالدملة furuncle ويعد السبب الرئيسي لكون معظم الاصابات الناشئة عن *staphylococcus aureus* هي اصابات جلدية لان معظم هذه الكائنات تتواجد دائما بصورة قريبة من سطح الجلد وتحدث الاصابة عندما تغزو هذه الكائنات الجلد من خلال بصيلة الشعرة مسببة التهاب الجريبات (Jacquelyn and laura, 2008) تعد بكتريا *pseudomonas aeruginosa* عصيات سالبة لصبغة كرام متحركة بوايطه اسواط قطبية وغير مكونة للابواغ والكبسولة، تتميز هذه البكتريا بمقاومتها العالية للمواد الكيماوية والعوامل الفيزيائية (الحرارة، الرطوبة، الجفاف)، تقاوم المعقمات والمطهرات الاعتيادية وبعض الاحيان تستطيع ان تنمو وتتكاثر في تخافيف معينة من هذه المحاليل وخاصة القديمة منها والمستعملة لفترات طويلة في المستشفيات والتي عند استعمالها تؤدي الى تلوث الجروح المعقمة بها بالاضافة الى امتلاكها مقاومة عالية لعدد من المضادات الحيوية الشائعة الاستعمال تمتلك هذه البكتريا العديد من



عوامل الضراوة التي تساعدها في احداث امراضيتها منها انزيم lipase والذي يساعد في غزو الجراثيم لانسجة الجسم وذلك بفصل الطبقة الشحمية الموجودة بين الادمه وتحت الادمه حيث تقوم البكتريا بانتاج كميات زائدة من الانزيم مما يسمح للبكتريا باختراق الانسجة الدهنية مع تكوين خراجات كما تنتج Extoxin S الذي يعمل على تثبيط تخليق البروتين في الخلايا الحقيقية النواة كذلك يتلف وظيفة الخلايا البلعمية في مجرى الدم كما ينتج هذا السم على الانسجة المحروقة بالاضافة الى افراز العديد من الانزيمات والسموم مثل elastase, protase, endotoxins, haemolysintoxin وغيرها (Todar, 2004) وتسبب بكتريا *pseudomonas aeruginosa* العديد من الاصابات منها انها تعتبر المسبب الاولي لاصابات الحروق والجروح المهددة لحياة الانسان وفي حالة حدوث الحروق تكون ال eschar وهي الندبة او اثر الحرق والتي تنمو البكتريا فيها او عليها وهذا النمو لا يمثل تهديد عظيم ولكن عندما تنمو البكتريا تحت الندبة فانها تسبب عدد من الاصابات الموقعية المهمة وخاصة عند وصولها الى مجرى الدم ويعد وصول المضادات الحيوية الى ما تحت الندبة صعبا بسبب اقتنار المنطقة للاوعية الدموية ويكن الاستدلال على اصابة الحروق ببكتريا *pseudomonas aeruginosa* من خلال ظهور اللون الاخضر في موقع الحرق وهذه البكتريا تعمل على انتاج السموم القاتلة للنسيج tissue-killing toxins والتي تعمل على تاكل او نحت الجلد (Jacquelyn and lara, 2008). تعد مركبات الازو من المركبات العضوية التي تم استعمالها ككاشف بما امتازت به هذه المركبات من الاستقرار العالية وسرعة التفاعل مع الايونات الفلزية فضلا عن امتلاكها الحساسية و الانتقائية العاليتين ويعزى السبب الى الاستقرار العالية لهذه المركبات الى الاصرة المزدوجة بين ذرتي النتروجين لمجموعة الازو الجسرية (N= N). (Goldstea et al., 1959; Menet et al., 1988). وبسبب هذه المميزات نالت مركبات الازو اهتمام الباحثين لامتلاكها فعالية بايولوجية اذ استعملت في تثبيط انواع مختلفة من الفطريات و البكتريا و استخدمت كعوامل علاجية حيث استعملت المركبات الحاوية على حلقة (1,2,4-triazole) في صناعة الادوية مثل الفلوكانازول fluconazole و Ampohotericin B للسيطرة على بعض الفطريات *Trichophyton spp* و *Histoplasma capsulatum* و *Blastomyces dermatidiis*. (Richard and Palmela, 2006; Glochoubin and Hosseinpoor, 2007). بينما الفوروزول vorozole و اللتروزول letrozole و الانستروزول anastrozole استعملت في معالجة السرطان. (Bekircan and Bektas, 2006). كما استعملت مركبات benzodiazepines و مركبات triazolothiadiazoles المعوضة عند الموقع 6 و 3 كمضادات لفايروس الايدز HIV. (Nagaraja, et al. 2006) ولقلة الدراسات المحلية حول تأثير مركبات 4 - امينو انتي بايرين ازو على البكتريا المرضية تم إجراء هذه الدراسة التي تضمنت:

- 1- تحضير بعض مركبات 4 - امينو انتي بايرين ازو والتي تضمنت 4- امينو انتي بايرين ازو ريزورسينول (A) و 4- امينو انتي بايرين ازو هيدروكينون (B) و 4- امينو انتي بايرين ازو 2- بروموفينول (C)
- 2- اختبار قدرة هذه المركبات على بعض أنواع البكتريا المرضية .

المواد وطرائق العمل

- 1- تحضير المركبات المدروسة ومحاليلها .
A - تحضير المركب 4- امينو انتي بايرين ازو ريزورسينول (A) / تم تحضير هذا المركب حسب طريقة Yaseen, (2008).
B- تحضير المركب 4- امينو انتي بايرين ازو هيدروكينون (B) / اذيب 0.004 مول من 4- امينو انتي بايرين في 25 مل من الايثانول المطلق بعدها تم اضافة 5 مليلتر من حامض HCl المركز مع التحريك وتم تبريد المحلول الى درجة 0-5. م بعدها اضيف 25 مليلتر من نترت الصوديوم وترك المزيج لمدة 5 دقائق لأتمام عملية الديدزة يضاف هذا المزيج الى محلول يتكون من 0.01 مول من الريزورسينول مذاب في 50 مليلتر من الايثانول المطلق و الذي يضاف اليه 35 مليلتر من NaOH ويبرد المحلول الى درجة 0-5 م فنتكون صبغة المركب B ذات لون احمر قان التي تم ترشيحها وتجفف وتم فحص النقاوة بطريقة كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (Thin Layer Chromatography, TLC).
C - تحضير المركب 4- امينو انتي بايرين ازو 2- بروموفينول (C) / تم اتباع نفس الخطوات في الفقرة B فيما عدا بدل استعمال 0.01 مول من الريزورسينول تم استعمال 0.01 مول من 2- بروموفينول .
بعدها تم تحضير محاليل المركبات (4- امينو انتي بايرين ازو ريزورسينول و 4- امينو انتي بايرين ازو هيدروكينون و المركب 4- امينو انتي بايرين ازو 2- بروموفينول) بتركيز 1.5×10^{-3} لكل منها و كالاتي :



- 1- المركب 4- امينو انتي بايرين ازو ريزورسينول (A) / وزن 0.052 غم من المركب المحضر في الفقرة A وانيب في بيكر سعة 5 مليلتر من الايثانول المطلق كمذيب وونقل المحلول كمي الى قنينة حجمية سعة 100 مليلتر و اكمل الحجم الى العلامة .
- 2- المركب 4- امينو انتي بايرين ازو هيدروكينون (B) اتبعت نفس الطريقة اعلاه (A) بالضبط لان الوزن الجزيئي لكلاهما متساو .
- 3- 4- امينو انتي بايرين ازو 2- بروموفينول (C) / اتبعت نفس الطريقة اعلاه عدا الوزن الجزيئي لهذا المركب ليعطي التركيز المطلوب كان 0.059 غم .
- 2- الطرق البايولوجية

1- جمع العينات Specimens collection جمعت العينات من مستشفى الصدر التعليمي وذلك باخذ مسحات من اصابات الحروق والاصابات الجلدية باستخدام sawp معقمة ثم وضعت في انابيب معقمة لغرض نقلها الى المختبر اما اصابات المجاري البولية فقد اخذت عينات من الادرار ووضعت في انابيب معقمة ونقلت الى المختبر وفي المختبر تم زرع العينات على وسطى أكار الدم والماكونكي اكار ثم اجريت الاختبارات الكيمياوية الحيوية لغرض تشخيص البكتريا حسب طريقة (Mac Faddin (2000) .

2- تحضير العالق البكتيري

لغرض تحضير العالق البكتيري تم تنشيط البكتريا بعمل مستنبت جديد على وسط الاكار المغذي Nutrient agar وحضنت لمدة 18 – 24 ساعة بدرجة حرارة 37 م° بعدها نقلت 3 – 4 مستعمرات الى انابيب اختبار تحتوي 5مل من المرق المغذي Nutrient broth وحضنت لمدة 4 – 5 ساعات بدرجة 37 م° بعدها تم معادلة العالق البكتيري بواسطة المحلول الفسيولوجي (Normal saline) للحصول على عكورة مساوية لعكورة انبوبة ماكفرلاند رقم 0.5 المستعملة في اجراء اختبار الحساسية .

3- طريقة الانتشار بالاكار

اتبعت طريقة الانتشار بالاكار بواسطة الحفر well (Egorove,1985) في اختبار حساسية البكتريا للمركبات الكيميائية الثلاثة المحضرة، حيث تم عمل 4 حفر باقطار متساوية في وسط مولر هنتون الصلب وبقطر 6ملم بواسطة الثاقب الفليني (Cork borer) واضيف 0.1مل من المركب (A) لكل حفره سبقها نشر 0.1مل من العالق البكتيري على الوسط وقد تم تحضير ثلاثة أطباق للمركب (A) طبق لكل نوع بكتيري ، كررت نفس الخطوات اعلاه مع المركبين الاخرين (C, B) ومن ثم تركت الاطباق مدة من الزمن للانتشار محاليل المركبات في الوسط الزرعى ثم حضنت بدرجة 37 م° لمدة 24 قرات النتيجة بقياس منطقة التثبيط (Inhibition zone) بواسطة المسطرة .

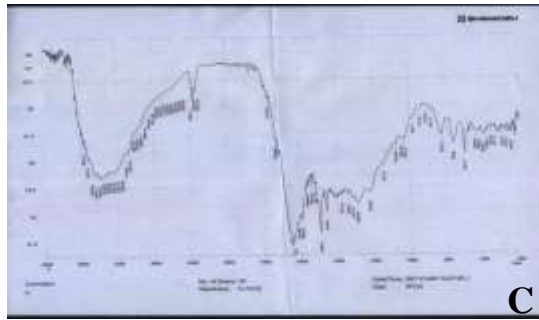
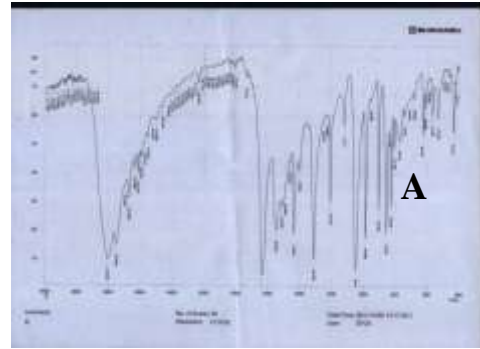
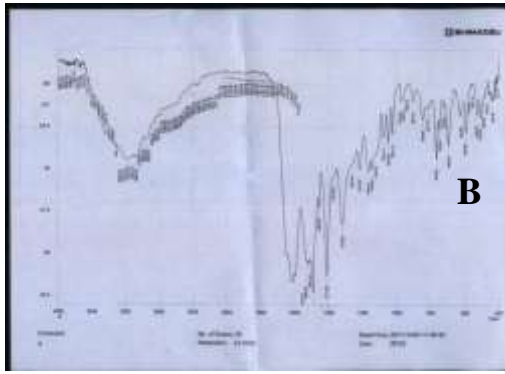
النتائج والمناقشة

1- الاطياف الالكترونية و اطياف ماتحت الحمراء للمركبات المدروسة من المعروف ان تشخيص المركبات العضوية يتضمن تحاليل عديدة منها الاطياف الالكترونية و اطياف ماتحت الحمراء و اطياف الرنين النووي المغناطيسي و اطياف الكتلة ولتعذر وجود جهازي التحليلين الاخيرين في جامعات القطر كافة تم تحليل اطياف المركبات الالكترونية وكذلك اطياف ماتحت الحمراء وهي تعد كافية لاغراض التشخيص فقد اعطت الاطياف الالكترونية مجموعة حزم محصورة ما بين 250-390 نانوميتر و 229-311 نانوميتر و 224-311 نانوميتر للمركبات A و B و C على التوالي . تعود للانتقالات الالكترونية (π^*) π) بينما كانت الانتقالات الخاصة بانتقال الشحنة للمركبات هي 416 نانوميتر ، 331 نانوميتر ، 373 نانوميتر على التوالي ايضا .

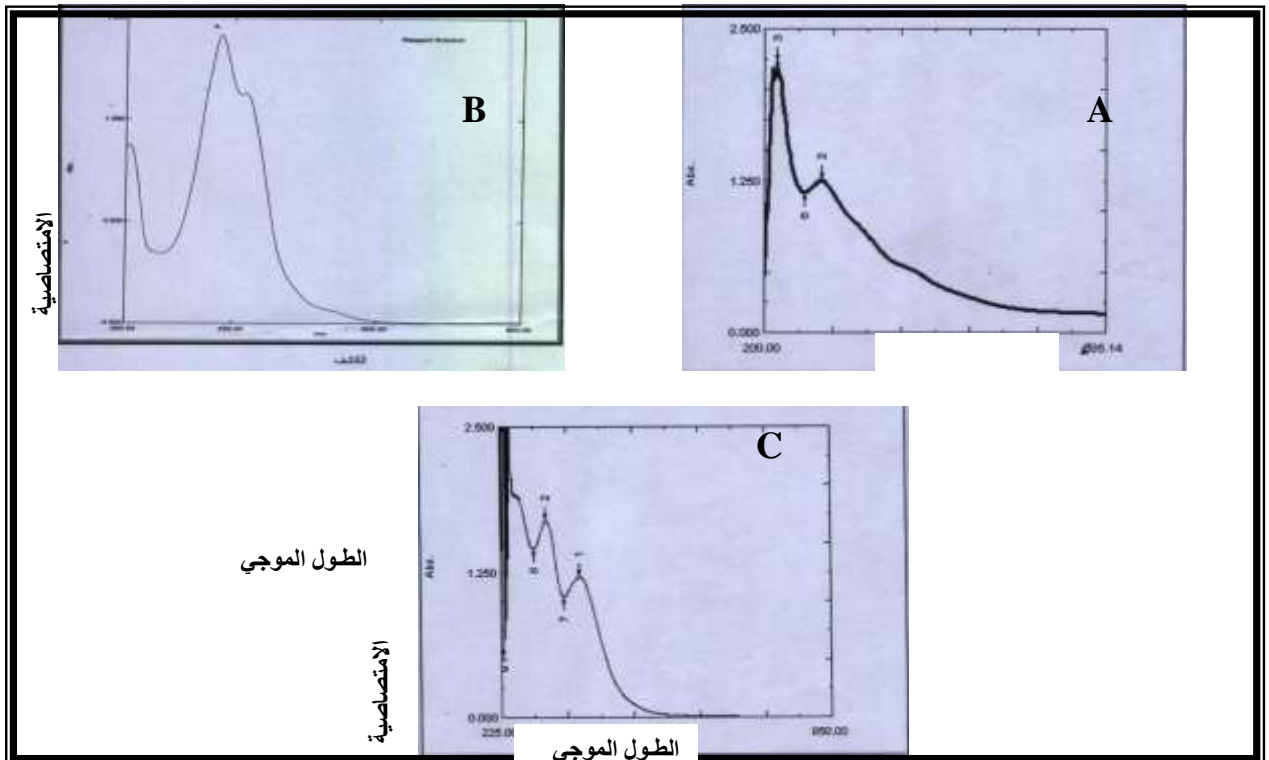
كما سجلت اطياف ماتحت الحمراء للمركبات المدروسة اطياف المجاميع الوظيفية لكل مركب و التي تتمثل بمجاميع V(OH) (Karipcin and Kabalcilar,2007)، الامتطاطية و مجاميع V(N=N) (الأزو الجسرية) (Li et al ,2002) فضلا عن مجاميع (C=N) التي تعتبر من المجاميع المهمة (Sinha and Banerjee, 2007) و الجدول (1) يوضح اهم الاطياف للمركبات المدروسة :

جدول (1) اطياف الاشعة ما تحت الحمراء لمركبات 4 - امينو انتي بايرين آزو

Compound	V (OH)	V(N=N)	V(C=N)	V(C-H)Aromatic
4- امينو انتي بايرين ازو ريزورسينول	3164	1595	1640	3008
4- امينو انتي بايرين ازو هيدروكينون	3205	1544	1650	3095
4- امينو انتي بايرين ازو 2- بروموفينول	3348	1593	1652	3072



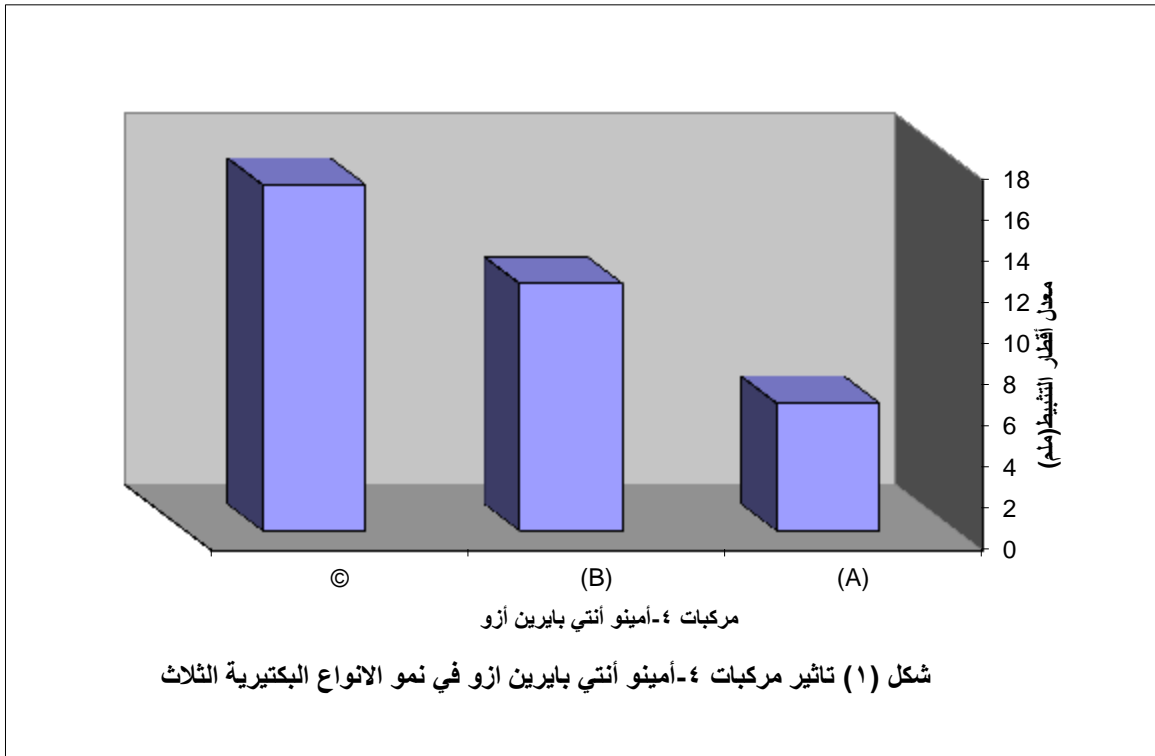
شكل (2) طيف الأشعة تحت الحمراء للمركبات
 4- امينو انتي بايرين ازو ريزورسينول (A) 4- امينو انتي بايرين ازو هيدروكينون (B)
 4- امينو انتي بايرين ازو 2- بروموفينول (C)



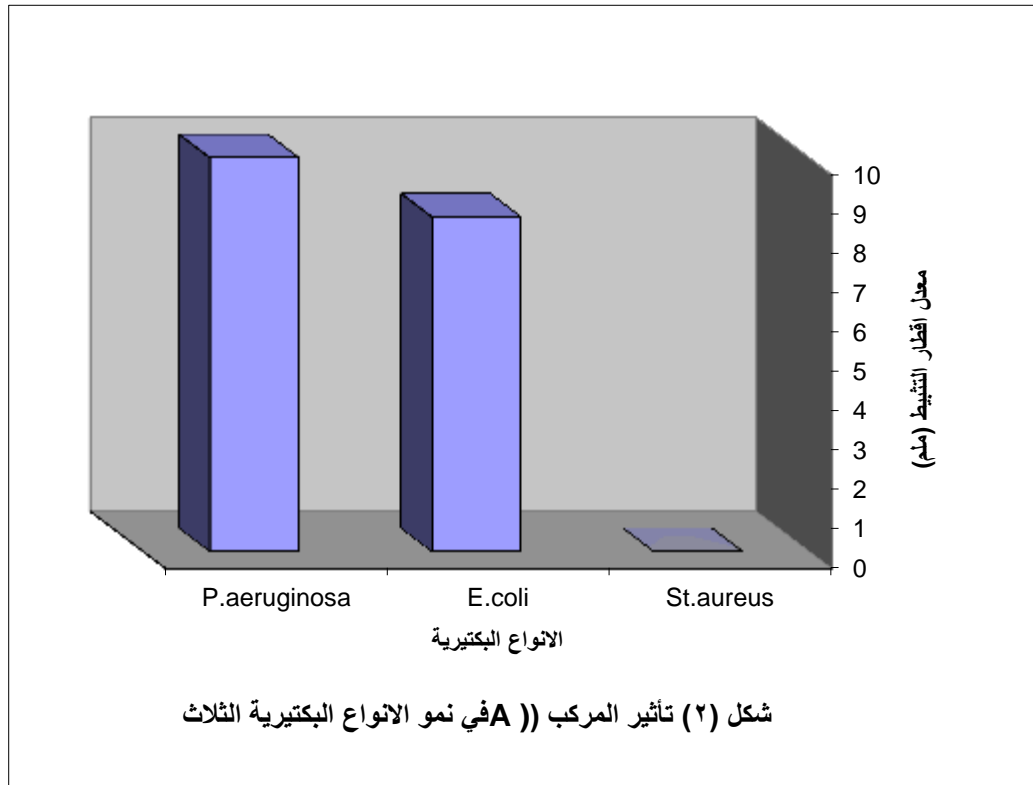
2-تأثير مركبات 4- امينو انتي بايرين ازو ريزورسينول (A) و 4- امينو انتي بايرين ازو هيدروكينون (B) و 4- امينو انتي بايرين ازو 2- بروموفينول (C) في نمو الانواع البكتيرية قيد الدراسة

اظهرت نتائج الاختبارات الكيميائية الحيوية ان البكتريا المعزولة من الادرار كانت *E.coli* والبكتريا المعزولة من الاصابات الجلدية كانت *staphylococcus aureus* والبكتريا المعزولة من الحروق كانت *pseudomonas aeruginosa* وكانت نتائج الاختبار موافقة لما اشار اليه MacFadin (2000).

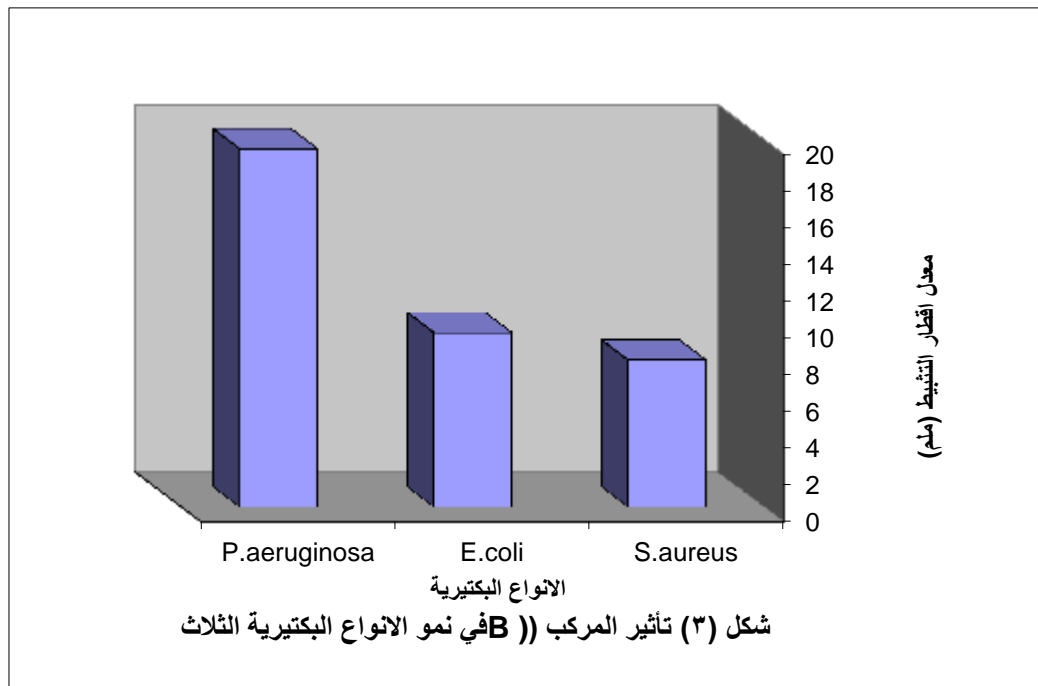
كما اظهرت النتائج وجود فروق معنوية بمستوى احتمالية $p < 0.05$ بين مركبات امينو انتي بايرين ازو اذا ظهر من خلال الدراسة ان المركب 4-امينو انتي بايرين ازو-2-بروموفينول (c) كان اشد تأثيراً في تثبيط نمو البكتريا اذا بلغ معدل التثبيط 16.8 ملم وجاء بعد المركب 4-امينو انتي بايرين اوز هيدروكينون (B) بلغ معدل التثبيط 12 ملم في حين كان المركب الثالث 4-امينو انتي بايرين ازو سينول (A) اقل تأثيراً في النمو الانواع البكتيرية قيد الدراسة وقد بلغ معدل اقطار التثبيط 6.2 ملم كما موضح في الشكل (1) وتعود الفعالية المضادة للمكروبات لمركبات 4-امينو انتي بايرين ازو الى وجود البقايا الاروماتية المتغيرة ووجود مجموعة $C=N$, $N=N$ الذي يشجع الفعالية المضادة للمكروبات حيث تدخل مجاميع الازو في صناعة الادوية وذلك لان سلوك الاكسدة ولاختزال يلعب دوراً مهماً في النظام البيولوجي (Dhara maraj *etal.*,2001)



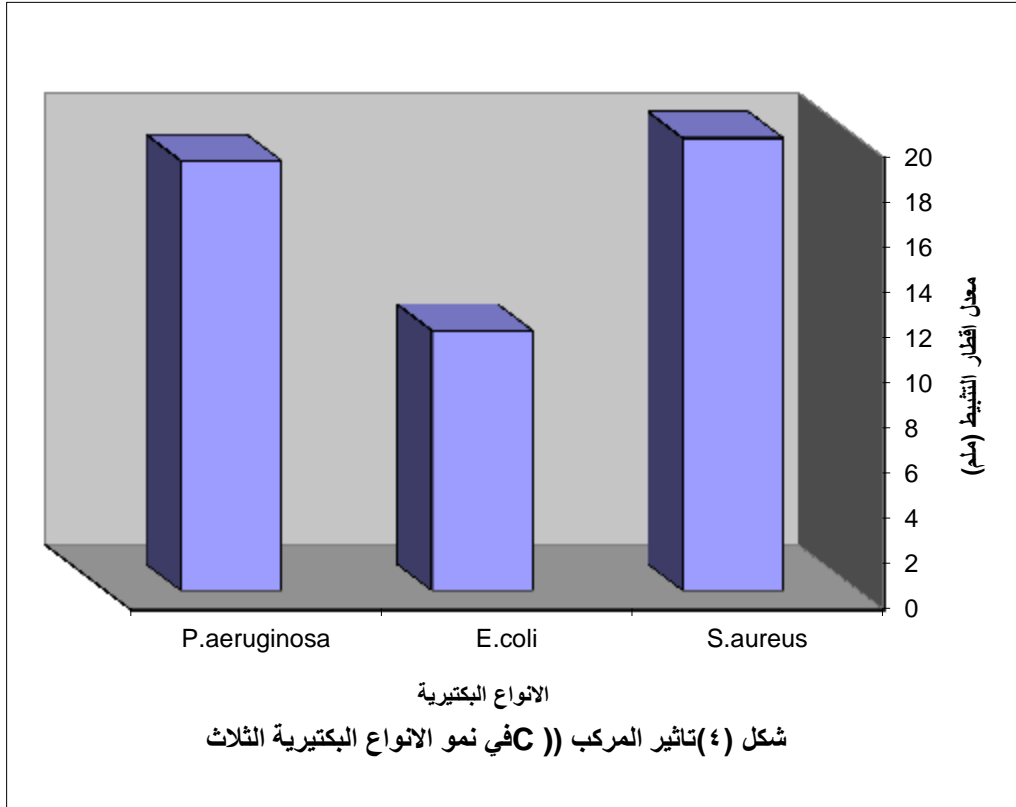
كما ظهر من خلال الدراسة وجود فروق في تحسس الانواع البكتيرية الثلاثة للمركب الاول 4-امينو انتي بايرين ازو ريزور سينول (A) اذا كانت بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* اكثر تحسا للمركب وبلغ معدل اقطار التثبيط 10 ملم ومن ثم بكتريا *E.coil* وبلغ معدل الاقطار التثبيط 8.5 ملم في حين لم يؤثر هذا المركب في النمو بكتريا *staphylococcus aureus* كما موضح الشكل (2) والسبب في ذلك يعود الى اختلاف تركيب جدار الخلية البكتيرية الموجبة عن السالبة لصيغة الكرام حيث ان بكتريا *staphylococcus aureus* الموجبة لصيغة الكرام والتي لم تتحس للمركب لا تحتوي على طبقة السكريات المتعدده الدهنية والموجودة في البكتريا السالبة لصيغة الكرام اي بكتريا *Pseudomonas aeruginosa, E.coli* والتي تأثر نموها بالمركب وطبقاً لمفهوم نفاذية السطوح الدهنية في الخلية البكتيرية فإن الأغشية الدهنية البكتيرية المحيطة بالخلية البكتيرية تفضل مرور فقط المواد الذائبة في الدهون والتي تجعلها ذائبة دهنياً وهذا عامل مهم في السيطرة على الفعالية المضادة للمكروبات ، ولذلك فإن العمليات التي تجري والتي تؤدي إلى جعل هذه المركبات محبة للدهون سوف تزيد من نفاذية المركب إلى الأغشية الدهنية ويعيق المركب من الارتباط بالمواقع في الإنزيمات الخاصة بالبكتريا والتي تؤثر على المركب وبالتالي فإن المركب سوف يؤثر على عملية التنفس للخلية وا سوف يعيق عملية تخليق البروتين والتي تقيد أو تحد نمو البكتريا (gopalakrishnan and joseph,2009)



كما ظهر من خلال الدراسة وجود فروق في مدى تحسس الانواع البكتيرية الثلاث الى المركب الثاني 4- امينو انتي بايرين ازو هيدروكينون (B) اذ كانت بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* أكثر تحسسا للمركب وبلغ معدل اقطار التثبيط 19.5 ملم وجاء بعدها بكتريا *E.coli* وبلغ معدل اقطار التثبيط 9.5 ملم اما بكتريا *Staph.aureus* فقد كانت اقل تحسس وبلغ معدل اقطار التثبيط 8 ملم كما موضح في الشكل (3) ويعود التباير في تأثير المركب على الانواع البكتيرية الثلاث اما على عدم نفاذية المركب للخلية المكروبية او على الاختلاف في رايوسوم الخلية المكروبية (Joseyphus and Nair, 2008).



كما ظهر من خلال الدراسة وجود إختلاف في مدى تأثير المركب الثالث -4 أمينو أنتي بايرين أوزو -2 بروموفينول (c) في أنواع البكتيريا الثلاث إذا كانت بكتيريا *Staph. aureus* أكثر تحسناً للمركب وقد بلغ معدل أقطار التثبيط 20 ملم وجاء بعدها بكتيريا *Pseudomonas aeruginosa* وبلغ معدل أقطار التثبيط 19 ملم و أخيراً بكتيريا *E. coli* وبلغ معدل أقطار التثبيط 11.5 ملم . كما موضح في الشكل (4) وقد تعزى فعالية هذا المركب في التأثير على البكتيريا أما من خلال إيقاف فعالية الإنزيمات الخلوية المختلفة للبكتيريا والتي تلعب دور مهم في المسالك الأيضية في هذه البكتيريا أو من خلال تكوين أو اصر هيدروجينية من خلال مجاميع الأوزو مع المراكز الفعالة للجزء الأساسي أو المقوم الأساسي للخلية والذي ينتج عنه التداخل مع العمليات الطبيعية للخلية



References

- ❖ Bekircan, O & Bektas .H.(2006) . Molecules . 11,469-477.
- ❖ Dharamaraj,N.;Viswanthamurthi,P. and Natarajan,K. (2001).Ruthenium(II)complexes containing bidentate schiff bases and their antifungal activity.Transition Met. Chem. 26:105-109..
- ❖ Egorove,N.S.(1985).Antibiotic Scientific Approach.Mirpublishers.Moscow.
- ❖ Glochoubin. H. & Hosseinpoor. F. (2007). Molecules, 12,304-311.
- ❖ Gopalakrishnan, S.and Joseph ,J.(2009).Antifungal activities of copper(II) with Biosensitive Macrocyclic Schiff Base Ligands Derived from 4-Aminoantipyrine Derivatives. 37(2) :141-146.
- ❖ Goldstein G ., D.L. Manning & O.Menis ; Anal ,(1959). chemistry. 31: 192
- ❖ Jawetz,E. and Levinson ,W.(2002).Examination and broad Review of Medical Microbiology and Immunology.7th ed .Lange Medical Book.McGraw – Hill.pp:91-94.
- ❖ Jacquelyn,G.B. and Laura,J.B.(2008).Microbiology Principles and Explorations .7th ed.John Wiley and Sons,INC. pp 578-581.
- ❖ Joseyphus,R.S.and Nair,M.S.(2008).Antibacterial and antifungal studies on some schiff base complexes of zinc (II) ,Microbiology, 36(2) :93-98.
- ❖ Karipcin , F.& Kabalcilar , (2007).Acta Chim ,Slov,54,242.
- ❖ Li,Y.& Wong ,W.Cood, (2002).Chem,55,727.



- ❖ MacFaddin, J.F. (2000). Biochemical test for identification of Medical Bacteria. 2nd ed. William and Wilkins. Comp. Baltimore, p.490.
- ❖ Menet J.H., B.H. Cordero & J.L. Paron ; (1988) . Talanta ,35: 293.
- ❖ Nagaraja. G.K ; Kumaraswamy.M.N. ; Vaidya.v.p. ; Mahadevan .K.M. (2006) . Arkivoc (x) . 211-219 .
- ❖ Richard .A.Harvey & Palmela.C. Champe. (2006) . Pharmacology . 20: 22-76.
- ❖ Roy,K;Hamilton,D.;Allen,K.P.;Randolph,M.P.and Fleckenstein,J.M.(2008).The Etp A exoprotein of enterotoxigenic Escherichia coli promotes intestinal colonization and is a protective antigen in an experimental model of murine infection. Immun.,76:2106-2112.
- ❖ Sinha,C. & Banerjee ,D.(2007). Proc.Indian Acad .Soc,115,160.
- ❖ Stamm,W.E.(2002).Scientific and clinical challenges in the management of urinary tract infection Amer. J.Med.,113 (suppl.LA),15-45.
- ❖ Todar,K.(2004). TextBook of Bacteriology .University of Wisconsin-Madison ,Department of Bacteriology. U.S.A.
- ❖ Yarovenko,V.N.;Lysenko,O.V. and Krayushkin ,M.M. (1993).Chemistry of heterocyclic compounds : 29 (4) ,452-454.
- ❖ Yaseen .M .(2008).,Msc , Thesis, University of Kufa .