

فعالیت ضد باکتریایی تعدادی از کمپلکس های کبالت (III) شیف باز نامتقارن

پنج کئوردینه جدید در شرایط آزمایشگاهی

یوسف مردانی^۱، شیدا اسمعیل زاده^{۲*}

^۱ گروه شیمی، واحد فیروزآباد، دانشگاه آزاد اسلامی، فیروزآباد، فارس، ایران

^۲ گروه شیمی، واحد داراب، دانشگاه آزاد اسلامی، داراب، فارس، ایران

تاریخ دریافت: ۹۶/۰۵/۱۸ تاریخ تصحیح: ۹۶/۰۷/۰۵ تاریخ پذیرش: ۹۶/۰۷/۱۲

چکیده

چهار کمپلکس پنج کئوردینه جدید کبالت با فرمول کلی $[CoL^{1-4}]ClO_4 \cdot H_2O$ که در آن L لیگاند شیف باز متیل-۲- $\{1\}$ -متیل-۲- $\{2\}$ هیدروکسی فنیل) متیلیدین نیتریلو/اتیل/آمینو-۱-سیکلوپنتین دی تیو کربوکسیلات ($H_2cdsalMeen$)، متیل-۲- $\{1\}$ -متیل-۲- $\{2\}$ هیدروکسی ۵-کلرو فنیل) متیلیدین نیتریلو/اتیل/آمینو-۱-سیکلوپنتین دی تیو کربوکسیلات ($H_2cd5ClsalMeen$)، متیل-۲- $\{1\}$ -متیل-۲- $\{2\}$ هیدروکسی ۵-برمو فنیل) متیلیدین نیتریلو/اتیل/آمینو-۱-سیکلوپنتین دی تیو کربوکسیلات ($H_2cd5BrsalMeen$)، متیل-۲- $\{1\}$ -متیل-۲- $\{2\}$ هیدروکسی ۵-نیترو فنیل) متیلیدین نیتریلو/اتیل/آمینو-۱-سیکلوپنتین دی تیو کربوکسیلات ($H_2cd5NO_2salMeen$) هستند، سنتز شدند و توسط تکنیک های مختلف فیزیکی- شیمیایی شناسایی گردیدند. لیگاند های شیف باز موجود در کمپلکس های سنتز شده یک لیگاند چهار دندانه می باشند که از طریق اکسژن گروه فنولیک، دو نیتروژن از گروه های آزومتین و گوگرد گروه C-S به فلز کبالت کئوردینه شده اند. کئوردینه پنجم اتم فسفر گروه تری بوتیل فسفین می باشد. داده های آنالیز عنصری نسبت استوکیومتری ۱:۱ لیگاند: فلز را تایید می کند. در این مطالعه که به روش آزمایشگاهی انجام شد، فعالیت ضد باکتری ترکیبات سنتز شده به همراه حداقل غلظت مهار کنندگی رشد و حداقل کشندگی باکتری در مقابل دو باکتری استافیلوکوکوس اورئوس و اشریشیاکلی بررسی و مطالعه گردید. هم لیگاندها و هم کمپلکس های سنتز شده دارای خواص ضد باکتری چشمگیری هستند.

کلمات کلیدی: لیگاند شیف باز چهار دندانه، کمپلکس کبالت پنج کئوردینه، فعالیت ضد باکتری، حداقل غلظت مهار کنندگی، حداقل غلظت کشندگی.

۱- مقدمه

یکی از دغدغه ها و نگرانی ها در علوم زیستی و پزشکی، مقاومت باکتریایی و قارچی در موجودات زنده است. تا جایی که میزان مقاومت برخی از این باکتری ها به داروهای شیمیایی کنونی بیش از ۹۰ درصد است. محققین در طی سال های زیادی به دنبال جایگزین کردن ترکیبات جدید با خواص جدید زیستی می باشند. شیف بازها مهمترین دسته از ترکیبات آلی هستند که در زمینه دارویی و دارو درمانی توسعه یافته اند و فعالیت های زیستی گسترده ای از آنها دیده شده است.

*نویسنده مسئول: esmaielzadehsheida@yahoo.com

گروه شیمی معدنی، گروه شیمی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد داراب، فارس، ایران

خواص ضد ویروس، ضد باکتری و ضد میکروبی از خواص شناخته شده این ترکیبات است. همچنین خواص ضد سرطانی و ضد توموری آنها در کنار سایر خواص الکترونی، ساختاری، کاتالیزوری و ... توسط پژوهشگران بررسی شده است [۱-۳]. شیف بازها دسته مهمی از لیگاندها هستند که بر اساس شباهت ساختاری آنها به سیستم های زیستی برای ساخت حاملین اکسیژن سنتزی به کار می روند. بسیاری از شیف بازها عوامل کی لیت شونده مهمی هستند که به یون های فلزی کئوردینه می شوند و کمپلکس هایی با خواص جدید تشکیل می دهند که به نوبه خود در توسعه شیمی کئوردیناسیون نقش بسیار مهمی دارند [۶-۴]. گروهی از کمپلکس های شیف باز نیز دارای خواص زیستی نظیر خواص آنتی اکسیدان، فعالیت های ضد سرطان، ضد قارچ، ضد باکتری، ضد HIV، ضد تومور و مهار کننده های آنزیمی دارند [۷-۹]. در این میان، کمپلکس های شیف باز کبالت (II) و (III) دسته مهمی از کمپلکس های فلزات واسطه شیف باز می باشند که نه تنها به دلیل خواص مغناطیس، خواص طیفی و خواص نوری بلکه به دلیل شباهت ساختاری به ساختار ویتامین B12 و کبالاکسیم مورد توجه و اهمیت می باشند. ویتامین B12 یک کمپلکس کبالت (III) شش کئوردینه است که در آن کبالت در یک درشت حلقه چهار کئوردیناسیونی مسطح قرار دارد و لیگاند های پنجم و ششم بر سطح آن عمود هستند. همچنین کمپلکس های شیف باز کبالت مهمترین دسته از حاملین اکسیژن سنتزی می باشند. حاملین اکسیژن سنتزی به دلیل تشابه به متالوآنزیم ها و اکسیژنازهای حمل کننده اکسیژن نظیر هموگلوبین و سیتوکروم P450 بسیار مورد توجه می باشند [10,11]. در ادامه فعالیت این گروه تحقیقاتی بر کمپلکس های جدید شیف باز [۱۲-۱۵] و با ایده گرفتن از ساختار ویتامین B12 و مشتقات آن، کمپلکس های شیف باز جدید از کبالت (III) با کره کئوردیناسیون NNOS سنتز گردید و صحت سنتز آنها توسط روش های طیف سنجی گوناگون بررسی گردید. سپس برای بررسی خواص زیستی ترکیبات سنتز شده، خواص ضد باکتری آنها با استفاده از موقعیت ششم کئوردیناسیون که خالی می باشد در محیط آزمایشگاهی خارج از بدن موجود زنده^۱ در مقابل باکتری استاندارد گرم منفی اشیشیا کلی^۲ و باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس^۳ بررسی گردیدند. این دو باکتری از طریق بیماری های عفونی و همچنین مسمومیت های غذایی سلامت انسان ها را تهدید می کنند و به سرعت در برابر آنتی بیوتیک ها از خود مقاومت نشان می دهند. به همین دلیل پژوهشگران زیادی در جستجوی یافتن آنتی بیوتیک های جدید با منشا گیاهی یا شیمیایی هستند. بخشی از هدف این تحقیق نیز در همین راستا می باشد.

¹in vitro²Escherichia coli³Staphylococcus aureus

۲- روش تجربی

۲-۱- مواد و وسایل مورد نیاز

تمام مواد شیمیایی و واکنشگرهای تجزیه ای که در این کار استفاده شدند، از شرکت های تجاری مرک^۱ و فلوکا^۲ خریداری شدند و بدون خالص سازی مورد استفاده قرار گرفتند. طیف های رزونانس مغناطیسی هسته هیدروژن در دستگاه Bruker Avance DPX 400 MHz ثبت گردیده اند. طیف های IR توسط دستگاه طیف سنج زیر قرمز Shimadzu FTIR 8300 با استفاده از قرص پتاسیم برمید ثبت شده اند. اندازه گیری طیف های جذبی UV-Vis با دستگاه Perkin Elmer (LAMBDA 2) انجام شد. آنالیز عنصری (C, H, N, S) در دستگاه Termo Fininngan -Flash 1200 انجام شد.

۲-۲- سنتز و شناسایی کمپلکس های کبالت (III) شیف باز

چهار لیگاند های شیف باز ($H_2cdsalMeen$)، ($H_2cd5ClisalMeen$)، ($H_2cd5BrsalMeen$) و ($H_2cd5NO_2salMeen$) بر اساس روش های گزارش شده در مقالات چاپ شده همین گروه تحقیقاتی سنتز شدند [12,13]. برای سنتز کمپلکس های کبالت (III) ابتدا یک سیستم بسته شامل یک بالن سه دهانه در زیر جو نیتروژن آماده شد. ۰/۱ میلی مول از هر یک از لیگاند های سنتز شده در نسبت ۱:۲ از کلروفورم/ متانول حل شد و به بالن اضافه گردید و اجازه داده شد که حدود نیم ساعت در دمای اتاق به هم بخورد. محلولی حاوی ۱ میلی مول از کبالت استات ۴ آبه در ۱۰ میلی لیتر متانول حل شد و در چندین مرحله به آرامی به سیستم اضافه گردید و واکنش بازروانی در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد در مدت زمان کافی (حدود ۱ ساعت) انجام شد تا کمپلکس های کبالت (II) در ظرف واکنش تشکیل شوند (تغییر رنگ واکنش به قرمز-قهوه ای در محلول و تشکیل رسوب). در ادامه 0/1 میلی مول از تری بوتیل فسفین به سیستم در حال بازروانی اضافه گردید و حدود ۵-۶ ساعت واکنش ادامه یافت. سپس واکنش را متوقف کرده سیستم را باز کرده و مخلوط توسط پمپ خلا به سرعت صاف گردید. ۰/۱ میلی مول سدیم پرکلرات به فیلتریت اضافه گردید و حدود ۲ ساعت هوادهی شد تا کمپلکس کبالت (III) تشکیل گردد. ظرف واکنش به مدت ۴۸ ساعت در دمای محیط قرار داده شد و پس از آن کریستال های سبز رنگ کمپلکس کبالت (III) تشکیل شده صاف گردید و با مقدار زیادی آب مقطر شستشو داده شد و در نهایت با مخلوط ۱:۲ آب: متانول ریکریستاله گردید. کمپلکس در دمای اتاق خشک گردید و توسط تکنیک های فیزیکی- شیمیایی به صورت زیر شناسایی شدند:

¹Merck²Fluka

۱. [Co(cdsalMeen)(PBU₃)]ClO₄. H₂O

Yield: 63%; m.p.: 201°C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, r.t., TMS, δ ppm): 0.82 (3H, d, Me), 1.30 (9H, t, P-CH₃), 1.53-1.91 (18H, m, P-(CH₂)₃), 1.95 (2H, m, H⁴), 2.46 (2H, m, H⁵), 2.99 (3H, s, SMe), 3.21 (2H, m, H^{3''}), 3.57 (2H, d, H^{en}), 4.43 (1H, m, H^{en}), 6.83 (1H, t, H³), 7.17 (1H, d, H²), 7.39 (1H, t, H⁵), 7.42 (1H, d, H⁶), 8.57 (1H, s, CH=N); IR(KBr, cm⁻¹): 457 (ν_{Co-N}), 571 (ν_{Co-O}), 740 (ν_{C-S}), 1091 (ν_{ClO₄}), 1226 (ν_{C-O}), 1440 (ν_{C=C aromatic}), 1620,1616 (ν_{C=N}), 2960 (ν_{C-H}), 3340 (ν_{O-H}); UV-Vis (DMF) (λ_{max}/ nm): 4۲۱, 683; Anal. Calcd for: C₂₉H₄₇N₂ClO₅CoS₂P. 1H₂O: C, 48.98, H, 6.94, N, 3.94, S, 9.02. Found: C, 48.72, H, 6.87, N, 4.15, S, 8.86%.

2. [Co(cd5ClisalMeen)(PBU₃)]ClO₄. H₂O

Yield: 70%; m.p.: 278°C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, r.t., TMS, δ ppm): 0.84 (3H, d, Me), 1.33 (9H, t, P-CH₃), 1.56-2.01 (18H, m, P-(CH₂)₃), 2.23 (2H, m, H⁴), 2.67 (2H, m, H⁵), 2.95 (3H, s, SMe), 3.33 (2H, m, H^{3''}), 3.66 (2H, d, H^{en}), 4.85 (1H, m, H^{en}), 7.10 (1H, d, H³), 7.36 (1H, d, H⁴), 7.78 (1H, s, H⁶), 8.63 (1H, s, CH=N); IR(KBr, cm⁻¹): 465 (ν_{Co-N}), 573 (ν_{Co-O}), 732 (ν_{C-S}), 1093(ν_{ClO₄}), 1256 (ν_{C-O}), 1462 (ν_{C=C aromatic}), 1611,1605 (ν_{C=N}), 2976 (ν_{C-H}), 3332 (ν_{O-H}); UV-Vis (DMF) (λ_{max}/ nm): 4۱۹, 688; Anal. Calcd for: C₂₉H₄₆N₂Cl₂O₅CoS₂P. 1H₂O: C, 46.71, H, 6.49, N, 3.76, S, 8.60. Found: C, 46.87, H, 6.53, N, 3.52, S, 8.77%.

3. [Co(cd5BrsalMeen)(PBU₃)]ClO₄. H₂O

Yield: 71%; m.p.: 281°C; ; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, r.t., TMS, δ ppm): 0.84 (3H, d, Me), 1.31 (9H, t, P-CH₃), 1.52-1.95 (18H, m, P-(CH₂)₃), 2.17 (2H, m, H⁴), 2.57 (2H, m, H⁵), 2.95 (3H, s, SMe), 3.23 (2H, m, H^{3''}), 3.54 (2H, d, H^{en}), 4.45 (1H, m, H^{en}), 7.01 (1H, d, H³), 7.40 (1H, d, H⁴), 7.67 (1H, s, H⁶), 8.51 (1H, s, CH=N); IR(KBr, cm⁻¹): 463 (ν_{Co-N}), 575 (ν_{Co-O}), 770 (ν_{C-S}), 1093(ν_{ClO₄}), 1263 (ν_{C-O}), 1459 (ν_{C=C aromatic}), 1618,1609 (ν_{C=N}), 2985 (ν_{C-H}), 3343 (ν_{O-H}); UV-Vis (DMF) (λ_{max}/ nm): 4۱7, 68۱; Anal. Calcd for: C₂₉H₄₆N₂ClO₅CoS₂PBr. 1H₂O: C, 44.09, H, 6.12, N, 3.55, S, 8.12. Found: C, 44.23, H, 6.41, N, 3.67, S, 7.84%.

4. [Co(cd5NO₂salMeen)(PBU₃)]ClO₄. H₂O

Yield: 53%; m.p.: 207°C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, r.t., TMS, δ ppm): 0.84 (3H, d, Me), 1.41 (9H, t, P-CH₃), 1.55-1.68 (18H, m, P-(CH₂)₃), 1.99 (2H, m, H⁴), 2.60 (2H, m, H⁵), 2.63 (3H, s, SMe), 3.31 (2H, m, H^{3''}), 3.47 (2H, d, H^{en}), 4.47 (1H, m, H^{en}), 7.10 (1H, d, H³), 8.16 (1H, d, H⁴), 8.41 (1H, s, H⁶), 8.63 (1H, s, CH=N); IR(KBr, cm⁻¹): 450 (ν_{Co-N}), 565 (ν_{Co-O}), 746 (ν_{C-S}), 1095(ν_{ClO₄}), 1249 (ν_{C-O}), 1463 (ν_{C=C aromatic}), 1332, 1550 (ν_{NO₂}), 1617,1612 (ν_{C=N}), 2951 (ν_{C-H}), 3328 (ν_{O-H}); UV-Vis (DMF) (λ_{max}/ nm): 4۲3, 674; Anal. Calcd for:

$C_{29}H_{46}N_3ClO_7CoS_2P \cdot 1H_2O$: C, 46.06, H, 6.40, N, 5.56, S, 8.48. Found: C, 45.87, H, 6.37, N, 5.64, S, 8.74%.

اخطار: هر چند در انجام این تحقیق، محققین با هیچ حادثه ای مواجه نشدند اما باید توجه داشت که نمک پرکلرات در حضور ترکیبات آلی انفجاری هستند. بنابراین ترکیبات باید در کمترین مقدار سنتز شوند و بیشترین احتیاط در ضمن واکنش صورت پذیرد.

۲-۳- روش کار در فعالیت ضد باکتری

۲-۳-۱- آماده سازی میکروارگانیسم جهت مایه زنی به محیط کشت

در این مطالعه از سویه های استاندارد باکتری اشیریشیا کلی (PTCC 1338) و استافیلوکوکوس اورئوس (PTCC 1431) استفاده شد که از سازمان پژوهش های علمی و صنعتی ایران تهیه گردید. آمپول لیوفیلیزه باکتری ها با احتیاط کامل در شرایط استاندارد شکسته شد و با استفاده از پی پت پاستور سویه استاندارد بر روی پلیت های محیط آگار مغذی مولر هینتون^۱ تلقیح گردید. پلیت های مذکور به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد گرمخانه گذاری گردید. برای انجام هر آزمون جهت بررسی اثرات ضد باکتری، کشت تازه ۲۴ ساعته تهیه گردید. با استفاده از پپیت استریل به مقدار لازم از محیط کشت تازه 24 ساعته، به لوله های محلول نمکی (غلظت نمک ۰/۹ درصد در آب مقطر) انتقال داده و با دور ۳۰۰۰ U/min سانتریفوژ گردید. سپس کدورت سوسپانسیون میکروبی تهیه شده با استفاده از محلول معادل استاندارد نیم مک فارلند (۱۰ میکروارگانیسم در هر میلی لیتر) تنظیم گردید.

۲-۳-۲- روش انتشار در آگار

خواص ضد باکتری لیگاندها و کمپلکس های کبالت (III) سنتز شده در این تحقیق بر اساس آزمون زیست سنجی به روش انتشار در آگار انجام گردید. برای این منظور با استفاده از سواپ استریل میکروارگانیسم تهیه شده در بالا بر روی محیط کشت آگار مغذی کشت داده شد. از هر یک از لیگاندها و کمپلکس های مورد تحقیق، محلولهایی با رقت های 2mg/mL در حلال دی متیل سولفوکسید (DMSO) تهیه گردید. برای اطمینان از تاثیر حلال بر نتایج تحقیق ضد باکتری، تاثیر حلال به صورت جداگانه بررسی گردید و نتایج نشان داد که حلال هیچ گونه تاثیری بر میکروارگانسیم های مورد تحقیق ندارد. پس از خشک شدن سطح محیط روی هر کدام از دیسک های کاغذی استریل به قطر ۵ میلی لیتر (فیلتر واتمن) مقدار ۱۵ میکرولیتر از هر کدام از غلظت های تهیه شده از لیگاند و کمپلکس های آنها ریخته شد. از دیسک آنتی بیوتیک تتراسایکلین ساخت شرکت پادتن طب به عنوان استاندارد استفاده شد. تمامی پلیت های کشت داده شده در دمای ۳۸ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت

^۱Muller Hinton Agar

در گرمخانه قرار داده شدند. بعد از سپری شدن زمان معین، فعالیت باکتری ها بر مبنای قطر هاله مهار رشد [۱۶] مورد سنجش قرار گرفتند.

۲-۳-۳- تعیین حداقل غلظت مهار کنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC)

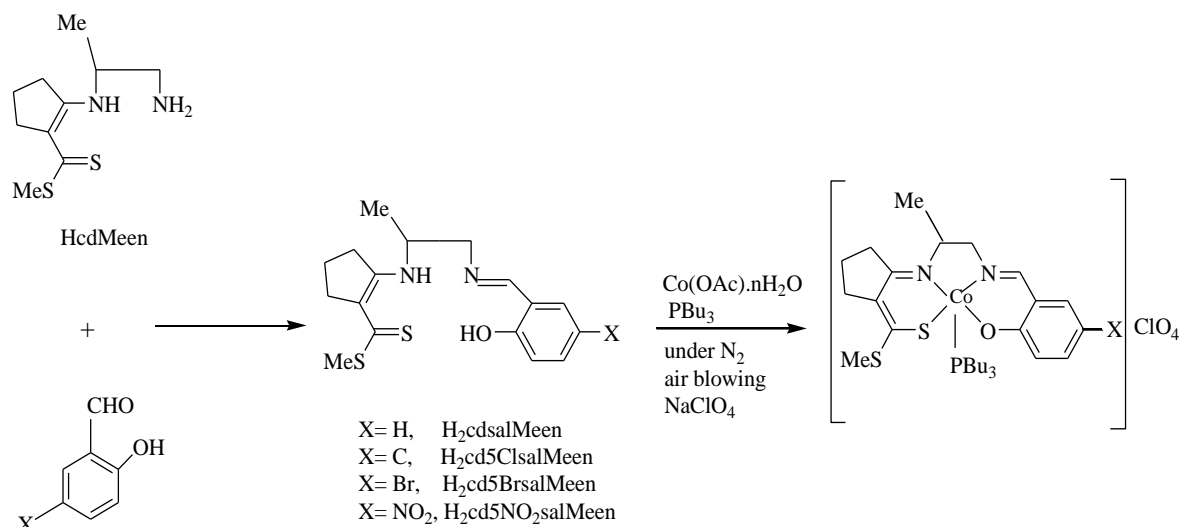
برای تعیین حداقل غلظت مهار کنندگی^۱ ترکیبات سنتز شده از روش سری دو برابر رقت لوله ای^۲ در روش کشت مغذی استفاده شد. یک سری 11 تایی از لوله های استریل حاوی غلظت ۰/۰۰۴ درصد تا ۴ درصد حجمی:حجمی ترکیبات سنتز شده با محیط کشت مایع مولر هینتون تهیه گردید. سپس از باکتری های مورد نظر 10^6 cfu/mL به هر یک از لوله ها تلقیح گردید. تمام آزمایش ها در دو تکرار انجام گرفت. برای هر تکرار یک لوله کنترل فاقد باکتری و یک لوله کنترل فاقد ترکیبات سنتز شده تهیه شد. تمام لوله ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد گرمخانه گذاری شده و پس از سپری شدن این مدت، کدورت حاصل از فعالیت و رشد باکتری هامورد بررسی ماکروسکوپی قرار گرفتند. حداقل غلظت مهار کنندگی رشد برای لوله ای در نظر گرفته شد که حاوی کمترین غلظت از ترکیبات سنتز شده باشد و کدورت قابل ملاحظه ای در آن دیده نشده باشد. برای تعیین حداقل غلظت کشندگی باکتری از لوله هایی که در آنها کدورت قابل توجهی دیده نشد بر روی محیط آگار مغذی مولر هینتون کشت داده شد. تمامی پلیت ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای متناسب یا رشد باکتری های مورد نظر (۳۸ درجه سانتیگراد) گرمخانه گذاری گردید. کمترین غلظتی که هیچگونه رشدی از باکتری در آن مشاهده نشد به عنوان حداقل غلظت کشندگی باکتری در نظر گرفته شد.

۳- نتایج و بحث

کمپلکس های سنتز شده دارای رنگ سبز تیره هستند که در حلال هایی نظیر اتانول، کلروفرم، DMF و DMSO به خوبی محلولند. آنالیز عنصری، راندمان و نقطه ذوب کمپلکس های سنتز شده در بخش تجربی آورده شده اند. نتایج آنالیز عنصری با ساختار مولکولی پیشنهاد شده در شکل ۱ تطابق خوبی دارد. البته ساختار این کمپلکس ها با تکنیک های زیر قرمز، رزونانس مغناطیسی هسته هیدروژن و طیف بینی مرئی- فرابنفش نیز تایید گردید که جزئیات این تکنیک ها در ادامه آورده شده است.

¹Minimum Inhibitory Concentration

²Macrobroth Dilution

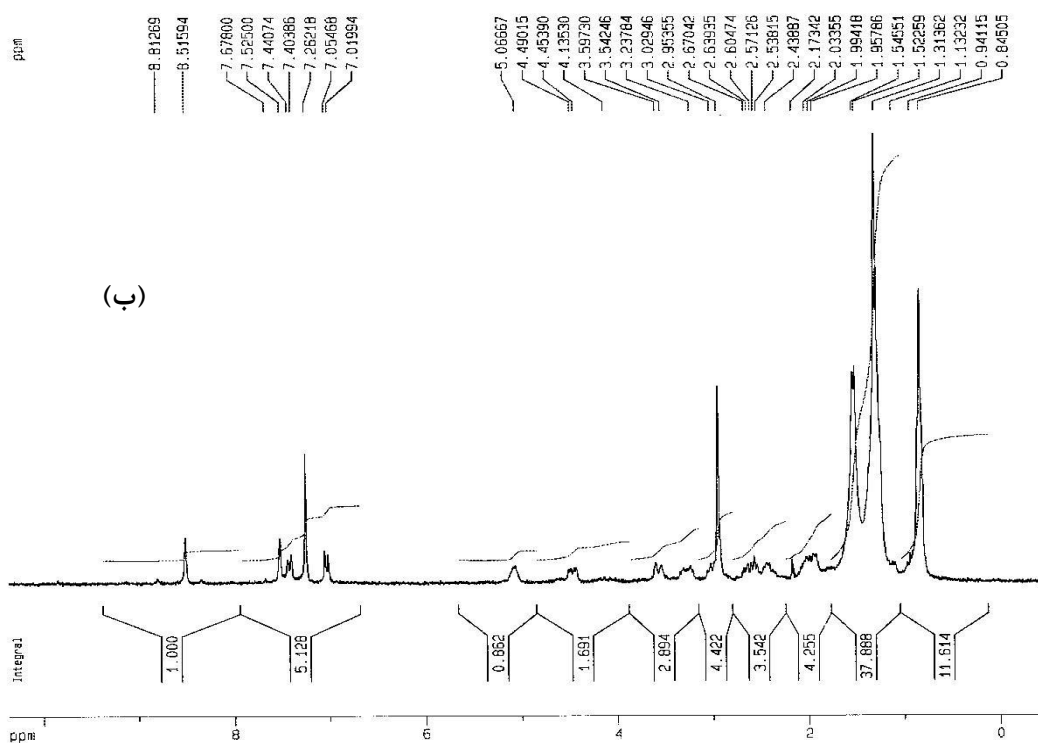
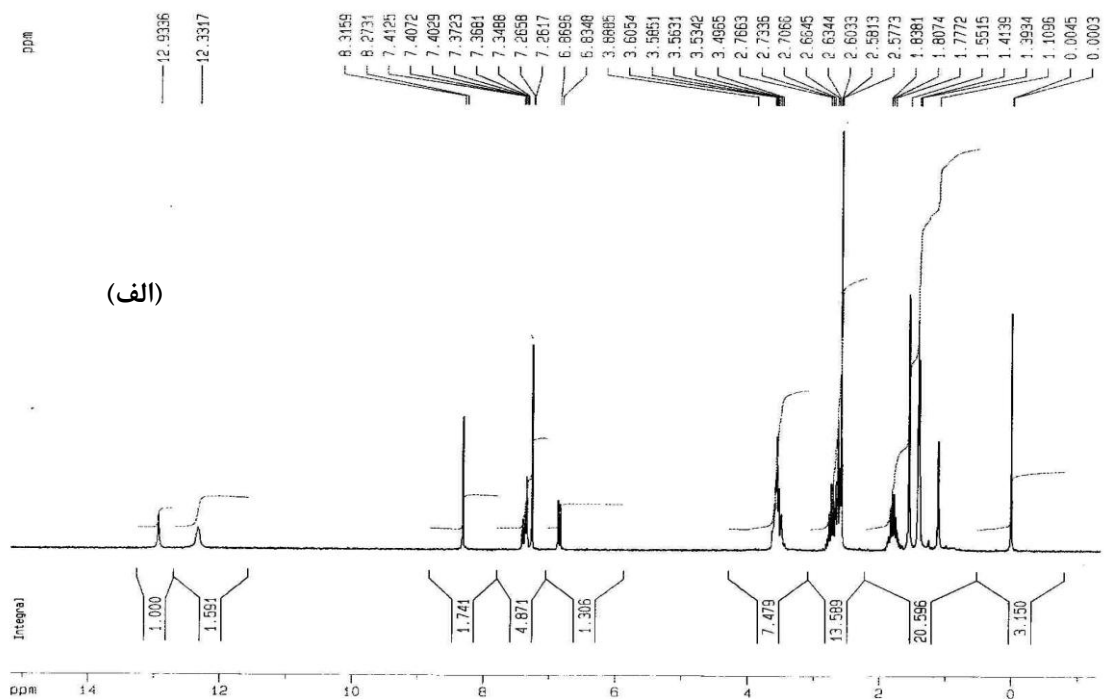


X = H, Cl, Br, NO₂

شکل ۱- شمای کلی تشکیل کمپلکس کبالت (III) شیف باز

۳-۱- مطالعه نتایج طیف های رزونانس مغناطیسی هسته هیدروژن

رزونانس مغناطیسی هسته هیدروژن کمپلکس های کبالت سنتز شده در حلال CDCl₃ با استفاده از تترا متیل سیلان به عنوان استاندارد داخلی اندازه گیری شد. داده های طیفی این کمپلکس ها که بر اساس جابجایی شیمیایی در جدول ۱ آورده شده است تاییدی بر تشکیل کمپلکس های جدید با ساختار پیشنهادی می باشند. مقایسه این داده ها با داده های طیفی لیگاندهای سنتز شده [۱۲] نشان داد که سیگنال های مربوط به NH و OH موجود در لیگاندها که در ناحیه ۱۲/۳۸ ppm - ۱۲/۳۰ ppm و ۱۲/۹۱-۱۴/۰۶ ppm دیده می شود در طیف های کمپلکس وجود ندارند. حذف این پیک ها نشاندهنده کئوردینه شدن اتم اکسیژن گروه فنولیک و اتم نیتروژن ایمینی به فلز مرکزی کبالت می باشد [۱۷]. وجود طیف یکتایی در ناحیه ppm ۸/۵۱-۸/۶۳ به پروتون ایمینی گروه آزومتین (HC=N) تعلق دارد [۱۸]. پروتون های حلقه آروماتیک این کمپلکس ها در ناحیه ppm ۶/۸۳ تا ۸/۴۱ ppm دیده شده اند [۱۹] و به تفکیک شکافتگی در بخش تجربی آورده شده اند. پیک دو تایی تیز پروتون های مربوط به گروه متیل واقع بر پل دی آمینی و پیک یک تایی تیز پروتون های مربوط به متیل گروه SMe در ناحیه ppm ۰/۸۲-۰/۸۴ و ۲/۶۳-۲/۹۹ ppm دیده شده اند. پیک های سه تایی و چند تایی در ناحیه ppm ۱/۳۰-۱/۴۱ و ۱/۵۲-۲/۰۱ ppm به پروتون های گروه PBu₃ نسبت داده شده است [۱۴]. نمونه ای از طیف ¹HNMR لیگاند شیف باز و کمپلکس کبالت سنتز شده آن در شکل ۲ آورده شده است.



شکل ۲- طیف ¹H NMR لیگاند H₂cd₅BrsalMeen (الف) و کمپلکس [Co(cd₅BrsalMeen)(PBU₃)⁺] (ب)

۳-۲- مطالعه نتایج طیف سنجی زیر قرمز

داده های پیک های شاخص طیف سنجی زیر قرمز کمپلکس های سنتز شده در جدول ۲ گزارش شده است. این داده های طیفی با داده های طیفی لیگاندهای شیف باز آزاد آنها مقایسه گردید تا محل های کئوردینه شونده لیگاند به اتم مرکزی کبالت که در تشکیل کمپلکس ها دخیل هستند مشخص گردد. قابل انتظار است که موقعیت و شدت پیک های شاخص موجود در لیگاند در ضمن کی لیت شدن تغییر یابد. ایجاد پیک های جدید در طیف کمپلکس ها نشان دهنده کی لیت شدن لیگاند به فلز کبالت می باشد. به عنوان نمونه طیف لیگاند $H_2cdsalMeen$ و کمپلکس کبالت سنتز شده آن $[Co(cdsalMeen)(PBu_3)]^+$ در شکل ۳ آورده شده است. پیک پهن مشاهده شده در محدوده 3300 cm^{-1} به فرکانس OH نسبت داده می شود. این فرکانس مربوط به حضور مولکول آب در شبکه می باشد [۲۰]. نتایج به دست آمده از آنالیز عنصری گزارش شده در بخش تجربی وجود یک مولکول آب در کمپلکس را تایید می کند. پیک ضعیف در ناحیه 1 cm^{-1} $2863-2967$ در لیگاندها به فرکانس کششی C-H نسبت داده شده است [۱۲]. در کمپلکس های کبالت (III) سنتز شده دارای گروه PBu_3 این باندها از شدت بیشتری برخوردار بوده که به افزایش فرکانس های کششی C-H در کمپلکس نسبت داده می شود. طیف جذبی قوی در ناحیه $1620-1605\text{ cm}^{-1}$ مربوط به فرکانس کششی گروه های آزومتین می باشد. مقایسه این طیف با طیف های لیگاند نشان می دهد که یک جابجایی به فرکانس های پایین تر مشاهده شده است که می توان آن را به کئوردینه شدن اتم نیتروژن گروه های آزومتین به فلز مرکزی کبالت نسبت داد [۲۱]. پیک با شدت زیاد که در محدوده 1400 cm^{-1} مشاهده می شود مربوط به ارتعاش $C=C$ در حلقه آروماتیک است [۲۲]. پیک قوی دیگر با شدت زیاد در فرکانس های $1226-1263\text{ cm}^{-1}$ متعلق به گروه C-O فنولیک می باشد که در مقایسه با لیگاند آزاد به فرکانس های پایین تر جابجا شده اند این جابجایی نشان دهنده کئوردینه شدن لیگاند از طریق اکسیژن این گروه به اتم کبالت می باشد [۲۳]. در طیف کمپلکس های سنتز شده یک پیک قوی ناشی از ارتعاش کششی آنیون ClO_4 در ناحیه $1095-1091\text{ cm}^{-1}$ دیده می شود که نشاندهنده حضور پرکلرات کئوردینه نشده است [۲۴]. فرکانس ارتعاشی C-S را می توان در محدوده 700 cm^{-1} مشاهده کرد که در مقایسه با فرکانس این گروه با لیگاند آزاد یک جابجایی به فرکانس پایین تر داشته است که می توان آن را به دلیل کئوردینه شدن اتم گوگرد به فلز مرکزی دانست [23,25]. در طیف کمپلکس ها وجود دو پیک جدید در محدوده 400 cm^{-1} و 500 cm^{-1} را می توان به فرکانس های Co-N و Co-O نسبت داد که نشان دهنده کئوردینه شدن اتم اکسیژن و اتم های نیتروژن به فلز مرکزی می باشند [۲۶]. پیک پهن در 1337 cm^{-1} و 1550 cm^{-1} که در لیگاند $(H_2cd5NO_2salMeen)$ و کمپلکس $[Co(cd5NO_2salMeen)(PBu_3)]^+$ دیده شده است مربوط به فرکانس ارتعاشی متقارن و نامتقارن گروه NO_2 کئوردینه نشده است [۲۳].

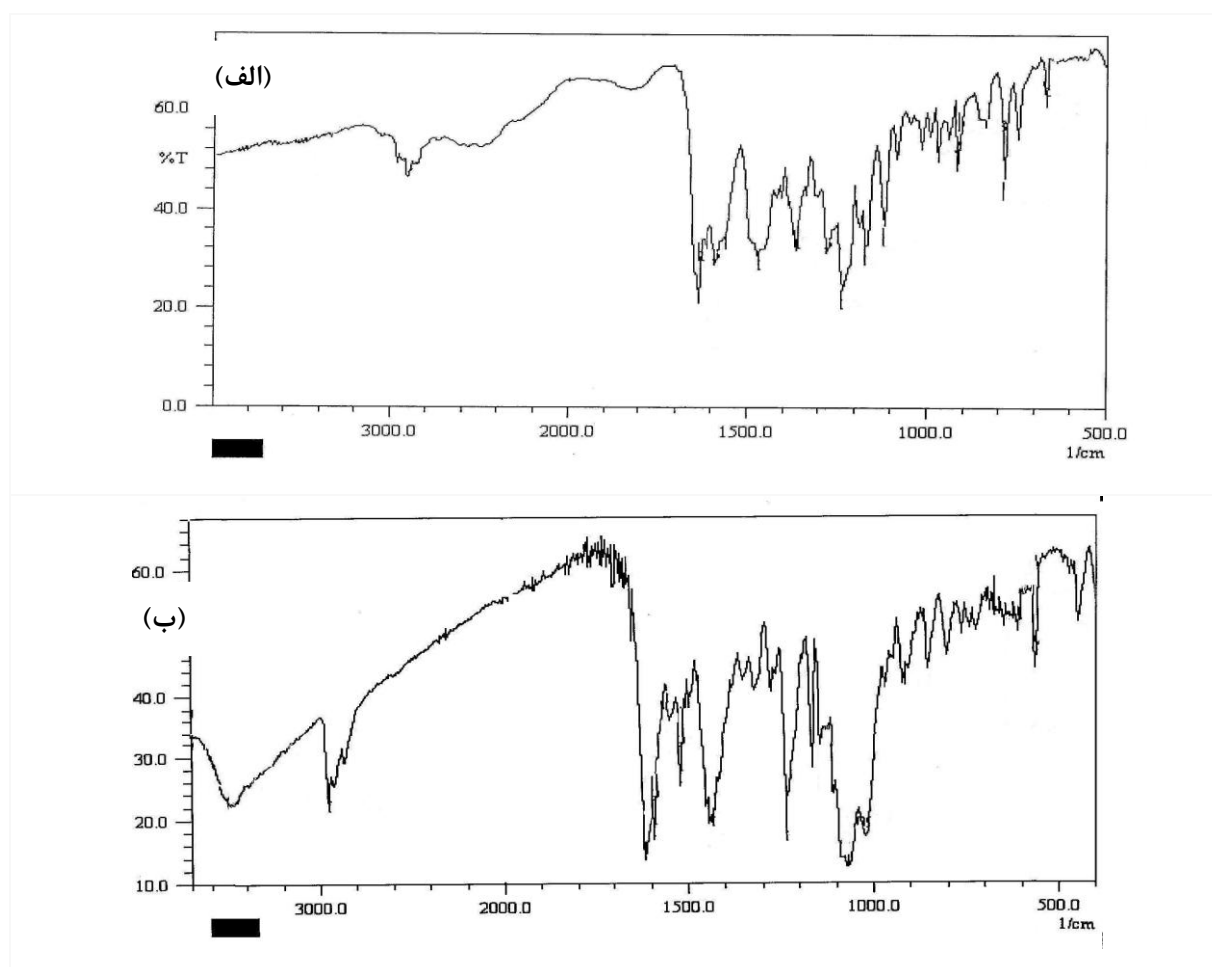
بر اساس داده های طیف های زیر قرمز، می توان نتیجه گرفت که لیگاندهای شیف باز به عنوان یک لیگاند چهار دندانه از طریق اکسیژن گروه فنولیک، نیتروژن های گروه ایمینی و گوگرد C-S به فلز مرکزی اتصال یافته اند.

جدول ۱. پیک های شاخص طیف سنجی IR کمپلکس های سنتز شده کبالت (III) پنج کئوردینه شیف باز (بر حسب Cm^{-1})

کمپلکس	$\nu(\text{OH})$ (پهن)	$\nu(\text{C-H})$ (ضعیف)	$\nu(\text{C=N})$ (بسیار قوی)	$\nu(\text{C=C})$ (قوی)	$\nu(\text{C-O})$ (قوی)	$\nu(\text{ClO}_4)$ (قوی)	$\nu(\text{C-S})$ (ضعیف)	$\nu(\text{Co-O})$ (ضعیف)	$\nu(\text{Co-N})$ (ضعیف)
$[\text{Co}(\text{cdsalMeen})(\text{PBu}_3)]^+$	3340	2951	1619,1616	1440	1233	1091	740	571	457
$[\text{Co}(\text{cd5ClSalMeen})(\text{PBu}_3)]^+$	3332	2976	1611,1605	1462	1256	1093	732	573	465
$[\text{Co}(\text{cd5BrsalMeen})(\text{PBu}_3)]^+$	3343	2985	1618,1609	1459	1263	1093	770	575	463
$[\text{Co}(\text{cd5NO}_2\text{salMeen})(\text{PBu}_3)]^+$	3328	2951	1617,1612	1463	1249	1095	746	565	450

جدول ۲. داده های طیف سنجی $^1\text{H-NMR}$ (۴۰۰ مگاهرتز، دمای اتاق، تترا متیل سیلان، کلروفرم، ppm) کمپلکس های کبالت (III) شیف باز

کمپلکس	پروتون های ا و ۲ پروپان دی آمین	پروتون های تری متیل فسفین	پروتون های گروه SCH_3	پروتون های گروه آروماتیک	پروتون آزومتین
$[\text{Co}(\text{cdsalMeen})(\text{PBu}_3)]^+$	0/82, 3/57, 4/43	1/30, 1/53-1/91	2/99	6/83-7/42	8/57
$[\text{Co}(\text{cd5ClSalMeen})(\text{PBu}_3)]^+$	0/84, 3/66, 4/85	1/33, 1/56-2/01	2/95	7/10-7/78	8/63
$[\text{Co}(\text{cd5BrsalMeen})(\text{PBu}_3)]^+$	0/84, 2/17, 2/57	1/31, 1/52-1/95	2/95	7/01-7/67	8/51
$[\text{Co}(\text{cd5NO}_2\text{salMeen})(\text{PBu}_3)]^+$	0/84, 3/47, 4/47	1/41, 1/55-1/68	2/63	7/10-8/41	8/63



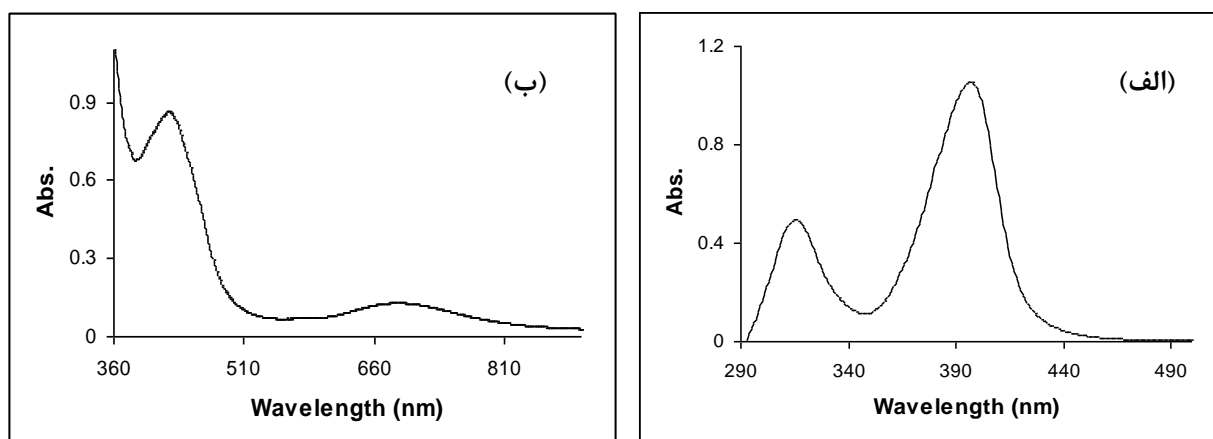
شکل ۲- طیف IR لیگاند $\text{H}_2\text{cdsalMeen}$ (الف) و کمپلکس $[\text{Co}(\text{cdsalMeen})(\text{PBu}_3)]^+$ (ب)

۳-۳- مطالعه نتایج طیف های جذبی ناحیه مرئی-فرابنفش

طیف های جذبی الکترونی می توانند در بررسی و سنجش نتایج به دست آمده از روش های ساختاری مفید باشند. مطالعه طیف الکترونی در ناحیه مرئی و فرابنفش لیگاندهای شیف باز و کمپلکس های کبالت (III) آنها در حلال اتانول 95% انجام شد. در طیف مربوط به لیگاند دو پیک کاملاً مشخص یکی در ناحیه ۳۱۴-۳۱۳ nm و دیگری در ناحیه ۳۹۵-۳۹۸ nm مشاهده گردید. بر اساس گزارشات در مقاله های مختلف پیک مربوط به ناحیه اول مربوط به انتقالات الکترونی $\pi^* \rightarrow \pi$ حلقه های آروماتیک می باشد در حالی که پیک پهن در ناحیه دوم مربوط به انتقالات $n \rightarrow \pi^*$ است که به گروه آزومتین نسبت داده می شود [۱۷]. در طیف کمپلکس ها (جدول ۳) پیک جدید که در محدوده ۴۲۰ nm دیده می شود را می توان به انتقالات LMCT نسبت داد (انتقال بار فنولات- Co^{III}). این انتقال بار در کمپلکس های شیف باز که لیگاند آنها دارای گروه فنولاتی می باشد دیده می شود [۲۷]. پیک پهن مشاهده شده در محدوده ۶۸۰ nm می تواند ترکیبی از دو انتقال بار فلز به لیگاند ($d \rightarrow \pi^*$) و انتقالات d-d ($T_{1g} \rightarrow A_{1g}$ و $T_{2g} \rightarrow A_{1g}$) باشد که در بیشتر موارد انتقال d-d در زیر انتقال MLCT پوشیده می گردد [10, 28] (شکل ۴ را ببینید).

جدول ۳: طیف جذبی UV-Vis (طول موج ماکزیمم، نانومتر، اتانول ۹۸ درصد) کمپلکس های کبالت (III)

کمپلکس	انتقال بار لیگاند به فلز	انتقال بار فلز به لیگاند
$[\text{Co}(\text{cdsalMeen})(\text{PBU}_3)]^+$	۴۲۱	۶۸۳
$[\text{Co}(\text{cd5ClSalMeen})(\text{PBU}_3)]^+$	۴۱۹	۶۸۸
$[\text{Co}(\text{cd5BrsalMeen})(\text{PBU}_3)]^+$	۴۱۷	۶۸۱
$[\text{Co}(\text{cd5NO}_2\text{salMeen})(\text{PBU}_3)]^+$	۴۲۳	۶۷۴

شکل ۴- طیف فرابنفش لیگاند $\text{H}_2\text{cd5BrsalMeen}$ (الف) و کمپلکس $[\text{Co}(\text{cd5BrsalMeen})(\text{PBU}_3)]^+$ (ب)

۳-۴- ارزیابی فعالیت های ضد باکتریایی

نتایج به دست آمده از بررسی فعالیت ضد باکتری لیگاندها و کمپلکس های کبات (III) شیف باز سنتز شده در این تحقیق بر باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس و باکتری گرم منفی اشیریشیا کلی با استفاده از روش انتشار در آگار با استفاده از استاندارد تتراسایکلین در جدول ۴ نشان داده شده است. نتایج حاصل نشان داد کلیه ترکیبات سنتز شده ی مورد مطالعه در ممانعت از رشد باکتری های یاد شده بسیار موثر می باشند. حداقل غلظت مهار کنندگی (MIC) و کشندگی (MBC) باکتری ها در جدول ۵ گردآوری شده است. با توجه به نتایج به دست آمده از این تحقیق در شرایط آزمایشگاهی، اثر ممانعت کنندگی و نیز فعالیت باکتری کشی لیگاندهای سنتز شده بر روی باکتری گرم منفی تحت آزمایش بیشتر از کمپلکس های کبات شیف باز سنتز شده بر روی این میکروارگانیسم ها می باشد.

فعالیت زیستی لیگاندهای شیف باز را به دارا بودن گروه ایمینی (C=N) و گروه گوگردار (C-S) می توان نسبت داد. تشکیل پیوند هیدروژنی بین این دو گروه با گیرنده های بیولوژیکی موجود در باکتری ها، می تواند عامل بازدارندگی فعالیت این میکروارگانیسم ها باشد.

فعالیت ضد باکتری کمپلکس ها را می توان بر اساس تئوری تشکیل کی لیت توجیه کرد [29,30]. با توجه به این تئوری، با تشکیل کی لیت بر اثر همپوشانی اوربیتال های فلز مرکزی با اوربیتال های لیگاند از یک سو و با به اشتراک گذاشتن بار مثبت اتم مرکزی با گروه های الکترون دهنده لیگاند از سوی دیگر قطبیت فلز مرکزی کاهش می یابد و دانسیته الکترونی بر روی کل حلقه کی لیت توزیع و پخش می شود. این امر منجر به افزایش ماهیت چربی دوستی کمپلکس تشکیل شده می گردد. غشا چرب سلول ها فقط اجازه عبور موادی را می دهند که قابلیت انحلال در چربی داشته باشند بنابراین چربی دوستی یک فاکتور مهم در کنترل فعالیت باکتری ها می باشد. افزایش چربی دوستی کمپلکس منجر به نفوذ بیشتر این کمپلکس ها به غشا چرب سلول می گردد و محل های اتصال به آنزیم میکروارگانیسم ها توسط یون فلزی مسدود می گردد. از سوی دیگر این اتصال فرآیند تنفس سلولی میکروارگانیسم را مختل کرده و سنتز پروتئینی که مسئول رشد میکروارگانیسم است را دچار اختلال می کند و به این ترتیب فعالیت میکروارگانیسم از میان می رود.

تفاوت در میزان بازدارندگی فعالیت باکتری ها توسط ترکیبات سنتز شده به نفوذپذیری از غشا سلولی میکروارگانیسم ها یا تفاوت در ساختار ریبوزوم سلولهای این میکروارگانیسم ها بستگی دارد. در این تحقیق، بر اساس نتایج جدول ۴ و ۵ کمپلکس های کبات سنتز شده فعالیت ضد باکتری کمتری نسبت به لیگاندها از خود نشان دادند [31,32].

یافته ها نشان می دهد که اثر بازدارندگی ترکیبات سنتز شده بر باکتری اشیریشیا کلی که یک باکتری گرم منفی می باشد و دیواره سلولی این باکتری بیشتر لیپیدی می باشد (در مقایسه با باکتری استافیلوکوکوس که دیواره آن پپتید و گلیکانی است)

بیشتر است، که می توان آن را به دلیل تخریب دیواره سلولی و به دنبال آن مرگ باکتری نسبت داد، در این صورت قدرت کشندگی در مقایسه با استافیلوکوکوس اورئوس بیشتر شده است.

ایسلر و همکاران [۳۳] اثر ضد باکتریایی یک لیگاند شیف باز گوگردار چهاردندانه و تعدادی از مشتقات استخلاف دار این لیگاند را بر روی استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سوبتیلوس، اشرشیا کلی و سودوموناس آزوجینوزا ارزیابی کرده و دریافتند که تمام لیگاندها مانع از رشد همه میکروارگانیسم های مورد مطالعه هستند. در مقایسه دیده شد که MIC لیگاند اولیه فاقد استخلاف برای تمام باکتری های تحت آزمایش $1/6125 \text{ mg/mL}$ بوده است. مقدار به دست آمده با مقدار MIC داروی استاندارد سفتریکسون^۱ برای سه باکتری باسیلوس سوبتیلوس، اشرشیا کلی و سودوموناس آزوجینوزا کاملاً برابر است و برای باکتری استافیلوکوکوس اورئوس حتی موثرتر از داروی یاد شده ($3/125 \text{ mg/mL}$) است. گملکسیز و همکاران [۳۴] نیز طی مطالعه ای، عملکرد ضد باکتریایی تعدادی از لیگاندها و کمپلکس های شیف باز چهار کثوردینه را بر روی باکتری گرم منفی اشرشیا کلی و باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس ارزیابی کرده و گزارش کردند که بین MIC این لیگاندها و کمپلکس های آنها بر روی این دو باکتری تفاوت زیادی وجود دارد. همچنین آجی باده و همکاران [۳۵] فعالیت ضد باکتری لیگاند شیف باز گوگردار و کمپلکس های مس، کبالت، پلاتین و پالادیم آنها را بر روی باکتری های اشرشیا کلی، سودوموناس آزوجینوزا، باسیلوس سوبتیلوس، استافیلوکوکوس اورئوس، کلیسیلا پنومونیه، شیگلا سونئی و سالمونلا تیفی مطالعه کرده و دریافتند که هم باکتری های گرم مثبت و هم باکتری های گرم منفی مورد آزمایش به ترکیبات سنتز شده مورد مطالعه حساس هستند. ولی باکتری های گرم منفی به ویژه اشرشیا کلی با محدوده MIC در حدود $1/25-0/63 \text{ mg/mL}$ به کمپلکس کبالت حساسیت بیشتری داشته است. سون مز و همکاران [۳۶] نیز خواص ضد میکروبی یک لیگاند شیف باز گوگردار و کمپلکس های نیکل، منگنز، مس و کبالت آنها را بر روی ۵ سویه باکتریایی مورد مطالعه قرار داده و مشاهده نمودند محدوده MIC این ترکیبات سنتزی بر روی باکتری های گرم منفی و مثبت به ترتیب $80-640 \mu\text{g/mL}$ و $40-640 \mu\text{g/mL}$ می باشد. در این میان فعالیت ضد باکتری لیگاند اولیه و کمپلکس کبالت آن بیشتر از سایر ترکیبات مورد مطالعه بوده است.

بر اساس نتایج مطالعه حاضر، خاصیت منحصر به فرد ضد باکتری لیگاندهای شیف باز گوگردار و کمپلکس های کبالت سنتز شده بیانگر این واقعیت است که می توان از آنها در درمان بیماری های عفونی ناشی از دو باکتری نامبرده شده در این تحقیق و مسمومیت های غذایی استفاده کرد. بنابراین با ادامه تحقیقات شاید بتوان یا ساخت داروهایی با منشأ این ترکیبات جدید به درمان بیماری ها و عفونت های ایجاد شده از این باکتری ها در محیط زنده بدن نیز امیدوار بود.

^۱Ceftriaxon

جدول ۴: اثر ضد باکتریایی لیگاندها و کمپلکس های کبالت (III) شیف باز بر روی میکروارگانیسم های مورد مطالعه (mg/mL)

ترکیبات سنتز شده	E. coli	S. aureus
H ₂ cdsalMeen	26	23
H ₂ cd5Cl ₅ salMeen	28	25
H ₂ cd5BrsalMeen	28	25
H ₂ cd5NO ₂ salMeen	24	22
[Co(cdsalMeen)(PBu ₃) ⁺	19	17
[Co(cd5Cl ₅ salMeen)(PBu ₃) ⁺	20	18
[Co(cd5BrsalMeen)(PBu ₃) ⁺	20	18
[Co(cd5NO ₂ salMeen)(PBu ₃) ⁺	22	20
tetracycline	32	34

جدول ۵: حداقل غلظت مهار کنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) ترکیبات سنتز شیف باز بر روی سویه های E. coli و S. aureus (μg/mL)

ترکیبات سنتز شده	E. coli		S. aureus	
	MIC	MBC	MIC	MBC
H ₂ cdsalMeen	۱۱/۲	۷۴/۱	۶۳/۳	۹۰/۵
H ₂ cd5Cl ₅ salMeen	۱۷/۸	۹۱/۴	۸۰/۶	۹۸/۷
H ₂ cd5BrsalMeen	۱۷/۸	۹۱/۴	۸۱/۲	۹۸/۷
H ₂ cd5NO ₂ salMeen	۱۹/۶	۱۰۱/۶	۹۰/۴	۱۱۵/۲
[Co(cdsalMeen)(PBu ₃) ⁺	۱۰۹/۱	۱۷۰/۸	۱۸۲/۸	۲۶۰/۷
[Co(cd5Cl ₅ salMeen)(PBu ₃) ⁺	۱۲۶/۶	۱۹۶/۵	۲۰۴/۳	۲۹۴/۳
[Co(cd5BrsalMeen)(PBu ₃) ⁺	۱۲۶/۶	۱۹۶/۵	۲۰۴/۳	۲۹۴/۳
[Co(cd5NO ₂ salMeen)(PBu ₃) ⁺	۱۴۸/۰	۲۰۷/۲	۲۴۵/۶	۳۰۱/۶
tetracycline	۲/۱۵	۶۰	۰/۳	۳۰

۴- نتیجه گیری

چهار لیگاند نامتقارن شیف باز با کره کئوردیناسیون NNOS در سنتز کمپلکس های جدید پنج کئوردینه کبالت (III) مورد استفاده قرار گرفتند. این لیگاندها دارای مشتقات مختلف سالیسیل آلدهید هستند که بر اساس پژوهش ها، دارای خواص زیستی متنوعی می باشند. کمپلکس های سنتز شده توسط روش های آنالیز عنصری، طیف سنجی زیر قرمز و رزونانس مغناطیسی هسته هیدروژن و طیف بینی جذبی مرئی-فرابنفش شناسایی شدند. داده های طیفی اتصال لیگاند چهاردندانه به اتم کبالت و وجود یک مولکول تری بوتیل فسفین در کئوردینه پنجم را تایید کردند. مطالعه ی زیستی ضد باکتری لیگاندها و کمپلکس های کبالت یاد شده در این تحقیق در مقابل سویه های باکتریایی در حضور استاندارد تتراسایکلین نشان داد که

تمامی ترکیبات از اثر بازدارندگی بسیار خوبی در مقابل رشد باکتری های انتخابی برخوردارند. لیگاندهای شیف باز سنتز شده اثر ضدباکتری بیشتری نسبت به کمپلکس ها از خود نشان داده اند.

۵- تقدیر و تشکر

نویسندگان مقاله از حمایت های مالی معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه های آزاد اسلامی واحد فیروزآباد و داراب صمیمانه تشکر می نمایند. همچنین نویسندگان مراتب تشکر خود را نسبت به سرکار خانم دکتر بنفشه اسمعیل زاده (دانشگاه علوم پزشکی بوشهر) جهت انجام تست های بیولوژیکی تقدیم می دارند.

۶- مراجع

- [1] M. Amara, Z. Fareeha, Z. Sumera, H. Azhar, M. Nawaz, S. Aamer, W. Amir, Kh. Afsar, H. Izhar, I. Jamshed, *Med. Chem.* **13(2)** (2017) 196.
- [2] A. Bezaatpour, F. Sheikh-Hasani, *J. Appli. Chem.* **10(37)** (2016) 11.
- [3] H. Wang, X. Yuan, S. Li, Z. Li, M. Jannig, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **6(3)** (2016) 809.
- [4] L. Kafi-Ahmadi, L. Shirmohammadzadeh, *Polyhedron*, **126** (2017) 159.
- [5] K. Gosh, S. Roy, A. Gosh, A. Banerjee, A. Bauzá, A. Frontera, Sh. Chattopadhyay, *Polyhedron*, **112** (2016) 6.
- [6] B. Jadoo, I. N. Booyesen, M. P. Akerman, *Polyhedron*, **126** (2017) 159.
- [7] S. Saha, A. Sasmal, Ch. R. Choudhury, G. Pilet, A. Bauzá, A. Frontera, Sh. Chakraborty, S. Mitra, *Inorg. Chim. Acta*, **425** (2015) 211.
- [8] A. Singh, S. Malik, A. S. Mirza, *Int. J. Chem. Pharmaceu. Anal.* **4(1)** (2017) 2395.
- [9] A. Mumtaz, T. Mahmud, M. R. Elsegood, G. W. Weaver, *J. Nuc. Med. Radiot. Ther.* **7(6)** (2016) 1.
- [10] X. X. Lu, Sh. Y. Qin, Zh.Y. Zhou, V. W. W. Yam, *Inorg. Chim. Acta*, **346** (2003) 49.
- [11] A. R. Battersby, *Acc. Chem. Res.* **26** (1993) 15.
- [12] M. Asadi, Kh. Mohammadi, Sh. Esmailzadeh, B. Etemadi, H. K. Fun, *Polyhedron*, **28** (2009) 1409.
- [13] Sh. Esmailzadeh, L. Azimian, Kh. Shekoohi, Kh. Mohammadi, *Spectrochim. Acta, Part A. Mol. Biomol. Spect.* **133** (2014) 579.
- [14] Sh. Esmailzadeh, L. Azimian, Z. Zare, *Acta Chim. Slov.* **63** (2016) 351.
- [15] M. Asadi, Kh. Mohammadi, Sh. Esmailzadeh, *Acta Chim. Slov.* **56** (2009) 927.
- [16] M. S. Saadeh, Z. Yasseen, A. F. Sharif, M. H. Abu shawish, *Ecotoical. Environ. Safety*, **72** (2009) 1805.
- [17] S. M. Saadeh, *Arab. J. Chem.* **6** (2013) 191.
- [18] P. Tyagi, S. Chabdra, B. S. Saraswat, D. Yadav, *Spectrochim. Acta, Part A. Mol. Biomol. Spect.* **145** (2015) 155.

- [19] D. Anastasiadou, A. Zianna, M. Gdaniec, M. P. Sigalas, E. Coutouli-Aryyropoulou, A. C. Zopic, M. Lalia-Kantou, *Polyhedron*, **87** (2015) 275.
- [20] D. Sakthilatha, R. Rajavel, *J. Chem. Pharma. Res.* **5**(2013) 57.
- [21] H. Keypour, N. Rahpeyma, M. Rezaeivala, P. Rzhangi, M. Bayat, L. Valenica, Y. Eleman, O. Büyüngör, *Polyhedron*, **51** (2013) 117.
- [22] Gh. Grivani, S. Husseinzadeh Bghan, M. Vakili, A. Dehno-Khalaji, V. Tahmasebi, V. Eigner, M. Dušek, *J. Mol. Struct.* **1082** (2015) 91.
- [23] P. Pattanayak, J. L. Pratihar, D. Patra, Ch. Li, S. Paul, K. Chakraborty, *Polyhedron* **51** (2013) 275.
- [24] M. Layek, M. Ghosh, S. Sain, M. Fleck, P. T. Muthih, S. J. Jeniefer, J. Ribas, D. Bandyopadhyay, *J. Mol. Struct.* **1036** (2013) 422.
- [25] B. K. Rai, P. Sinha, V. Singh, S. N. Vidhyarthi, A. Pandey, Sh. B. Shahi, *Orient. J. Chem.* **30(3)** (2014) 1429.
- [26] S. Y. Ucan, *Russ. J. Gen. Chem.* **84(19)** (2014) 1819.
- [27] C. J. Hipp, W. A. Baker, *J. Am. Chem. Soc.* **92** (1970) 792.
- [28] J. Chakraborty, R. K. Bhubon Singh, B. Samanta, Ch. R. Choudhury, S. K. Dey, P. Talukder, M. J. Borach, S. Mitra, *Z. Naturforsch.* **61b** (2006) 1209.
- [29] L. Dawara, R. V. Singh, *Appl. Organomet. Chem.* **25** (2011) 643.
- [30] B. G. Tweedy, *Phytopathology*, **55** (1946) 910.
- [31] S. Belaid, A. Landreau, S. D. Jebbar, O. Benali-Baitich, G. Bouet, J. P. Bouchara, *J. Inorg. Biochem.* **102** (2008) 63.
- [32] P. Ghosh, A. R. Chowdhury, S. K. Saha, M. Ghosh, M. Pal, N. Chandra Murmu, P. Banrjee, *Inorg. Chim. Acta*, **429** (2015) 99.
- [33] Sh. Malladi, A. M. Isloor, Sh. Isloor, D. S. Akhila, H. K. Fun, *Arab. J. Chem.* **6** (2013) 335.
- [34] M. Gomleksiz, C. Alkan, B. Erdem, *Bull. Chem. Soc. Ethiop.* **27** (2013) 213.
- [35] P. A. Ajibade, O. G. Idemudia, A. I. Okoh, *Bull. Chem. Soc. Ethiop.* **27** (2013) 77.
- [36] H. G. Soğukömeroğullari, T. Taskin Tok, F. Yilmaz, İ. Berber, M. Sönmez, *Turk. J. Chem.* **39** (2015) 497.