

فعالیت آنتی‌رادیکالی و خاصیت آنتی‌میکروبی کمپلکس شیف‌باز مس دار

سهیلا یدامانی، علی نعمتی*، مسعود همایونی تبریزی، سمیرا یدامانی

گروه زیست‌شناسی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران

چکیده

تاریخ دریافت: ۱۹ اردیبهشت ۱۳۹۵
تاریخ پذیرش: ۶ مهر ۱۳۹۵

اهداف شیف‌بازها به دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی، ضدویروسی و ضدباکتریایی در سال‌های اخیر توجهات زیادی را به خود جلب کرده است. آنتی‌اکسیدان‌ها از واکنش رادیکال‌های آزاد جلوگیری می‌کند و به کاهش بیماری‌های قلبی-عروقی، سرطان‌ها جزآن می‌انجامد. باکتری‌ها خود را به سیستم‌های دفاعی مختلفی مجهز کرده‌اند که بتوانند در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها مقاومت کنند. از این‌رو، گسترش فاکتورهای آنتی‌میکروبی با سازوکارهایی که تأثیر بیشتری داشته باشد ضروری است. در این تحقیق به بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌میکروبی کمپلکس شیف‌باز Cu^{2+} N,N'-dipyridoxyl (1,2-diaminobenzene) پرداخته‌ایم.

مواد و روش‌ها پس از سنتز کمپلکس شیف‌باز، ارزیابی فعالیت آنتی‌رادیکالی این کمپلکس با انجام آزمون‌های ۱،۱-دیفنیل-۲-پیکریل-هیدرازیل (DPPH)، ۲،۲-آزینو بیس (۳-اتیل بنزوتیازولین ۶-سلفونیک اسید) (ABTS) و هیدروکسیل و به‌منظور بررسی خواص آنتی‌میکروبی از دو باکتری به روش دیسک دیفیوژن استفاده شد.

یافته‌ها ۱،۱-دیفنیل-۲-پیکریل-هیدرازیل (DPPH) $(\text{IC}_{50} = 0.1 \text{ mg/ml})$ ، ۲،۲-آزینو بیس (۳-اتیل بنزوتیازولین ۶-سلفونیک اسید) $(\text{IC}_{50} = 0.11 \text{ mg/ml})$ (ABTS) و هیدروکسیل $(\text{IC}_{50} = 0.14 \text{ mg/ml})$ (OH^{\cdot}) جذب‌کننده رادیکال عمل کرده است. در غلظت $250 \mu\text{g/ml}$ باکتری خاصیت آنتی‌میکروبی از خود نشان داد.

نتیجه‌گیری نتایج به‌دست‌آمده از این پژوهش نشانگر این است که کمپلکس شیف‌باز مس دار دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی است و در آزمون آنتی‌میکروبی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در مقایسه با اشرشیاکلی حساسیت بیشتری نسبت به شیف‌باز از خود نشان داد (حدود ۱ میلی‌متر).

کلیدواژه‌ها:

آنتی‌رادیکالی، آنتی‌میکروبی، شیف‌باز مس، DPPH

مقدمه

در دو دهه اخیر، شیف‌بازها در شیمی کئوردیناسیون فلزات واسطه و نیز فلزات گروه اصلی نقش کلیدی بازی می‌کند [۱] و این لیگاندها از مسیرهای سنتزی مستقیم با درجه خلوص بالا و بازده مناسب حاصل می‌شود [۳]، به‌راحتی با بیشتر یون‌های فلزات واسطه کمپلکس‌های پایدار ایجاد می‌کند [۴] و دسته حیاتی ترکیبات در شیمی دارویی است که اهمیت شیمی‌درمانی و کاربرد ضدباکتریایی آن به اثبات رسیده است [۵ و ۶]. شیف‌بازها کاربردهای متنوعی در زمینه‌های بسیاری دارد، نظیر علوم بیولوژیکی [۷]، شیمی مواد [۸]، شیمی آلی [۹] و شیمی معدنی [۱۰]. شیف‌بازهای دارای فعالیت زیستی

داروی ضدباکتری [۱۱]، آنتی‌اکسیدانی [۱۲]، ضدسرطان [۱۳]

و ضدالتهاب [۱۴] به کار می‌رود. مس عنصری ضروری با اهمیت اکسایشی و فعالیت زیستی ضروری در سوخت‌وساز انسان است و به شکل یونی در سیستم‌های بیولوژیکی دیده نمی‌شود. بنابراین، اندازه‌گیری مس در بدن به شکل کمپلکس‌های دارای اجزای آلی بررسی شده است [۱۵].

رادیکال‌های آزاد قادر است به مولکول‌های سیستم بیولوژیکی بدن آسیب وارد کند و باعث بروز بیماری‌های زیادی در موجودات زنده، به‌خصوص انسان، شود [۱۶]. طبیعت با فرایندهای دفاعی آنتی‌اکسیدانی این عوامل را خنثی یا آثار مضر آن را کاهش می‌دهد. در شرایط طبیعی، بین انواع فعال

* نویسنده مسئول: علی نعمتی

نشانی: واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی

تلفن: ۰۹۱۵۵۰۴۶۹۴۰

رایانه: aneamati@mshdiau.ac.ir

مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، دوره ۲۴، شماره ۵، آذر و دی ۱۳۹۶، ۳۷۵-۳۸۰.

آدرس سایت: <http://jsums.medsab.ac.ir> رایانامه: journal@medsab.ac.ir

شاپای چاپی: ۱۶۰۶-۷۴۸۷

نانومتر رنگ ارغوانی ایجاد می‌کند. در صورتی که این رادیکال خنثی شود، رنگ ارغوانی کاهش می‌یابد و به رنگ زرد کم‌رنگ تغییر می‌کند. بنابراین، توانایی خنثی‌سازی رادیکال DPPH با کاهش جذب متناسب است؛ به معنای دیگر، قدرت آنتی‌اکسیدانی نمونه مورد نظر است. نتایج به صورت درصد خنثی‌سازی یا مهار رادیکال DPPH در نمونه بیان می‌شود (رابطه ۲) [۲۲].

$$\text{DPPH} = \frac{\text{ADPPH} - \text{ASample}}{\text{ADPPH}} \times 100 \quad (2)$$

قابلیت خنثی‌سازی رادیکال DPPH طبق روش Brand-Eilliams و همکاران بررسی شده است [۲۳].

بررسی قابلیت حذف رادیکال (ABTS)

برای انجام این آزمایش از روش ری و همکاران استفاده شد [۲۴]. رادیکال کاتیون ABTS نسبت به رادیکال DPPH فعال‌تر است و واکنش‌دهندگی آن با آنتی‌اکسیدان حدود ۱ دقیقه طول می‌کشد. به همین دلیل در سنجیدن فعالیت آنتی‌رادیکالی از آن استفاده زیادی می‌کنند. در این آزمایش، نخست رادیکال کاتیون پایدار ABTS با اکسایش ABTS به وسیله پتاسیم پرسولفات، تولید می‌شود. این رادیکال کاتیونی رنگ سبز-آبی و جذب در طول موج ۷۳۴ نانومتر دارد و به واسطه تعیین میزان کاهش جذب می‌توان به کاهش میزان این رادیکال کاتیونی پی برد که شاخصی از فعالیت آنتی‌رادیکالی ترکیبات مورد نظر است [۲۵].

$$\text{جذب واکنش-جذب بلانک} = \frac{\text{جذب بلانک}}{\text{جذب بلانک}} \times 100 \quad (3)$$

اندازه‌گیری اثر گذاری شیف باز در حذف رادیکال های هیدروکسیل

برای فعالیت حذف رادیکال‌های هیدروکسیل از روش لیون و همکاران استفاده شد [۲۶]. نخست، مخلوطی از ۶۰۰ میکرولیتر فنانترویلین (غلظت ۵ میلی‌مولار)، ۶۰۰ میکرولیتر سولفات آهن (غلظت ۵ میلی‌مولار)، ۶۰۰ میکرولیتر EDTA (غلظت ۱۵ میلی‌مولار) و ۴۰۰ میکرولیتر بافر سدیم فسفات (غلظت ۰/۲ مولار) و pH=۷/۴ آماده شد. سپس، ۶۰۰ میکرولیتر از نمونه کمپلکس شیف‌باز (غلظت ۱ میلی‌گرم/میلی‌لیتر) به محلول و در آخر ۸۰۰ میکرولیتر آب اکسیژنه اضافه شد. مخلوط به مدت یک ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه و جذب محلول در محدوده ۵۳۶ نانومتر اندازه‌گیری شد [۲۷].

$$\text{درصد فعالیت حذف رادیکال های هیدروکسیل} = \frac{(AS - A0) \times 100}{(AC - A0)} \quad (4)$$

اکسیژن و ایجاد رادیکال‌های آزاد و سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدان تعادل وجود دارد؛ با اینکه اگر تولید رادیکال‌های آزاد افزایش یابد یا قدرت دفاعی آنتی‌اکسیدان کاهش یابد، زمینه برای ایجاد صدمات به وسیله رادیکال‌های آزاد زیاد می‌شود که به این حالت استرس اکسایشی گفته می‌شود [۱۷].

در چنین شرایطی برای متعادل‌سازی واکنش‌هایی که در آن رادیکال‌های آزاد تولید شده وجود آنتی‌اکسیدان‌ها ضروری است [۱۸]. آنتی‌اکسیدان‌ها داروی ضدسرطانی، درمان بیماری‌های قلبی-عروقی، ضدپیری و بیماری‌های مخرب اعصاب مانند پارکینسون استفاده می‌شود. علاوه بر این، مصرف خوراکی بعضی آنتی‌اکسیدان‌ها مکمل تقویت سیستم ایمنی و افزایش انرژی است [۱۹].

افزایش میزان مرگ مرتبط با بیماری‌های عفونی مستقیماً به باکتری‌ها وابسته است که مقاومت متعددی به آنتی‌بیوتیک‌ها نشان می‌دهند. علت اصلی این مشکل نبود درمان‌های مؤثر است [۲۰]. توسعه عوامل آنتی‌باکتریایی جدید با سازوکارهای عمل مؤثرتر و نو قطعاً نیاز ضروری پزشکی است [۲۱].

مواد و روش‌ها

تهیه کمپلکس شیف‌باز

همان‌طور که در شکل ۱ مشاهده می‌شود، در این پژوهش از شیف‌باز $\text{N,N'-dipyridoxyl(1,2 diaminobenzene)Cu}^{2+}$ با فرمول شیمیایی $\text{C}_{24}\text{H}_{28}\text{CuN}_4\text{O}_6$ ، جرم مولکولی ۵۳۱/۷۵ گرم بر مول استفاده شده است.

روش سنتز شیف‌باز به این صورت است که محلولی از ۱ میلی‌مول نمک فلزی $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ در ۶ ml متانول قطره‌قطره به محلول متانولی از ۱ میلی‌مول لیگاند N و N'-دی‌پیریدوکسیل (۲۰۱- بنزن دی‌آمین) افزوده شد. برای ۶ ساعت، مخلوط در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به هم خورد. رسوبات به دست آمده صاف و با کمی متانول سرد شستشو داده شد. رسوبات را در آن در دمای حدود ۶۰ درجه سانتی‌گراد قراردادیم تا خشک شود.

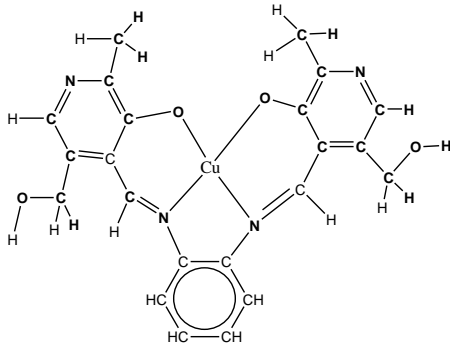
ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی شیف‌باز مس‌دار با روش پاکسازی رادیکال (DPPH)

DPPH رادیکال آزاد ناپایداری است که در وجود آنتی‌اکسیدان‌ها در نمونه‌های زیستی خنثی می‌شود.

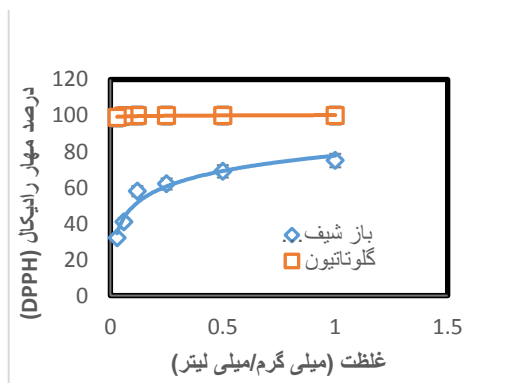


رادیکال آزاد DPPH، در محیط اتانول جذب در ۵۱۷

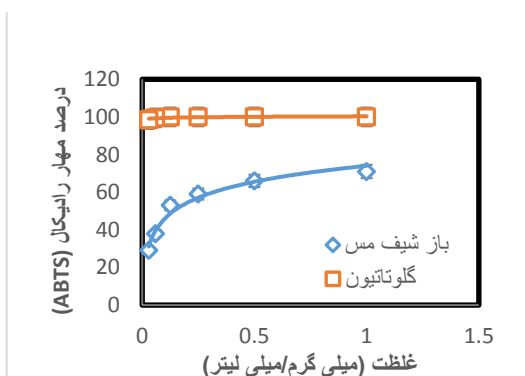
شیف‌باز حساسیت بیشتری دارد. جدول ۱ قطر هالهٔ عدم رشد باکتری با شیف‌باز را بیان می‌کند.



شکل ۱. ساختار کمپلکس شیف‌باز N,N'-dipyridoxyl(1,2) (diaminobenzene) سنتز شده و مورد استفاده در این پژوهش Cu^{2+}



شکل ۲. درصد مهار رادیکال DPPH با شیف‌باز مس‌دار. در این تست از گلوکوتاتیون به‌عنوان کنترل مثبت استفاده شد.



شکل ۳. درصد مهار رادیکال ABTS با شیف‌باز مس‌دار. در این تست از گلوکوتاتیون به‌عنوان کنترل مثبت استفاده شد.

آزمون ضد میکروبی

آزمایش در سه تکرار انجام و از دو باکتری استافیلوکوکوس اورئوس (گرم مثبت (ATCC 1112)) و اشرشیاکلی (گرم منفی (ATCC 1330)) استفاده شد.

برای تهیهٔ دیسک آنتی‌بیوتیکی از دیسک بلانک استفاده شد. دیسک‌ها با سه غلظت ۱۰۰، ۲۰۰، ۲۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تهیه شد. هر طرف دیسک با ۱۵ میکرولیتر از محلول آغشته شد. با کمک سوآبستریلایز سوسپانسیون باکتریایی روی محیط مولر هینتون آگار کشت یکنواخت داده شد. دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی با استفاده از پنس استریل و با فواصل استاندارد (۱/۵ سانتی‌متر از لبهٔ پلیت و ۲/۴ سانتی‌متر فاصلهٔ مرکز دو دیسک مجاور) روی سطح محیط قرار داده شد. پلیت‌ها در انکوباتور ۳۳ درجهٔ سانتی‌گراد در شرایط هوایی به‌مدت ۲۴ ساعت قرار گرفت. بعد از این مدت قطر هالهٔ عدم‌رشد هر آنتی‌بیوتیک بر حسب میلی‌متر با استفاده از خط‌کش اندازه‌گیری شد [۲۸]. برای تأیید آزمایش‌های حساسیت آنتی‌بیوتیکی، آنتی‌بیوگرام روی دیسک آنتی‌بیوتیکی جنتامایسین (به‌عنوان شاهد) انجام شد.

یافته‌ها

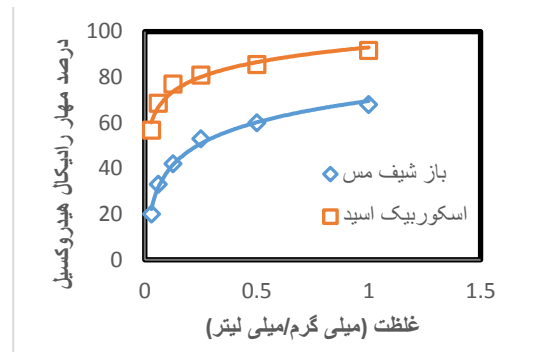
فعالیت آنتی‌اکسیدانته و آنتی‌میکروبی شیف‌باز مس N_1-N_1 دی‌پیریدوکسیل-۱-۲ دی‌آمینوبنزن ارزش‌یابی شد. در این پژوهش، بررسی فعالیت رادیکال‌های DPPH، ABTS و هیدروکسیل بررسی شد. شکل ۲ نشانگر فعالیت حذف رادیکال DPPH است. با افزایش غلظت شیف‌باز، میزان حذف رادیکال‌ها افزایش یافت و IC_{50} (غلظتی که در آن شیف‌باز ۵۰ درصد از رادیکال‌های آزاد را به‌صورت احیا درمی‌آورد) در این تست ۰/۱ mg/ml به‌دست آمد. شکل ۳ فعالیت جذب رادیکال ABTS را نشان می‌دهد. مقدار حذف رادیکال‌ها متناسب با افزایش غلظت شیف‌باز نیز افزایش یافت. در این آزمایش IC_{50} ۰/۱۱ mg/ml محاسبه شد. در هر دو تست از گلوکوتاتیون احیا (GSH) به‌عنوان آنتی‌اکسیدان استاندارد استفاده شد، IC_{50} کمتر از ۰/۱۵ mg/ml است. همچنین، شکل ۴ نشان‌دهندهٔ فعالیت حذف رادیکال به‌روش هیدروکسیل است. هر چه غلظت شیف‌باز افزایش پیدا کرد، حذف رادیکال هم زیاد شد. از اسکوربیک اسید با IC_{50} کمتر از ۰/۱۵ mg/ml به‌عنوان آنتی‌اکسیدان استاندارد استفاده شد. شکل‌های ۵ و ۶ بیانگر آزمون آنتی‌میکروبی است که به‌روش دیسک دیفیوژن انجام شد. همان‌طور که در شکل ۵ و ۶ مشخص است باکتری گرم مثبت (استافیلوکوکوس اورئوس) تأثیر بیشتری نسبت به باکتری گرم منفی (اشرشیاکلی) از خود نشان داد؛ به‌عبارتی، به

بحث و نتیجه گیری

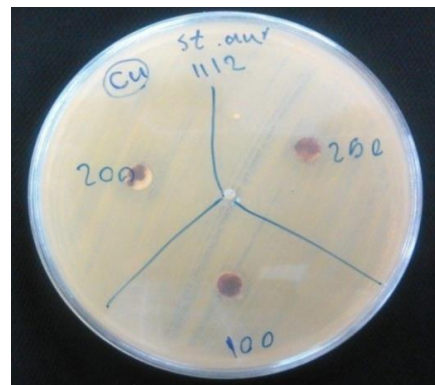
طبق نتایج حاصل از تست‌های آنتی‌اکسیدانتی (ABTS, DPPH) و هیدروکسیل (می‌توان گفت که کمپلکس شیف‌باز مس‌دار Cu^{2+} N,N'-dipyridoxyl (1,2 diaminobenzene) فعالیت آنتی‌اکسیدانی دارد. استرس اکسایشی با بیماری‌هایی نظیر سرطان، نارسایی قلبی، پارکینسون و آلزایمر در ارتباط است. در نتیجه، شنا سایی و تولید آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی و سنتزی برای جلوگیری از استرس اکسایشی و آثار مخرب آن ضروری است.

در مطالعه مشابهی، هاق و همکاران با سنتز فعالیت آنتی‌اکسیدانی، ضدتوموری و حفاظت از DNA ترکیبات شیف‌بازهای آلی حاوی فروسن را ارزیابی کردند. این مطالعه نشان داد که تمام اجزا فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی، ضدتوموری و حفاظت از DNA قوی دارند [۲۹]. لیگاند‌های شیف‌باز از نظر خواص دارویی مانند ضدباکتری، ضدویروس، ضدقارچ و ضدتومور بسیار جالب توجه است [۳۰ و ۳۱]. شیف‌باز نیز به‌طور بالقوه داروی ضدسرطانی است و زمانی که از آن در تهیه کمپلکس‌های فلزی استفاده شود خاصیت ضدسرطانی این کمپلکس‌ها در قیاس با لیگاند آزاد تقویت می‌شود [۳۲]. طیف گسترده کاربرهای طبی این اجزا بررسی شد و در برخی از آن‌ها معلوم شد که به‌صورت عوامل تشخیص بالینی و نیز در شیمی‌درمانی مفید است [۳۳]. شیف‌باز کمپلکس مس (II) پتانسیل زیادی در فعالیت ضدتکثیری و ضدباکتریایی دارد [۳۴].

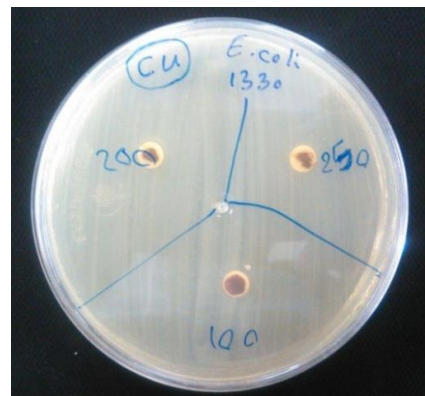
در مطالعه دیگری، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌فلامنتری یک‌سری از ترکیبات دارای مس با روش‌های رادیکال DPPH، هیدروکسیل و سوپر اکسید انجام شد [۳۵]. کمپلکس شیف‌باز Ruthenium(III) S- methyloisothiosemicarbazone از نظر خاصیت آنتی‌اکسیدانی با روش‌های DPPH، هیدروژن پراکسید، رادیکال هیدروکسیل و رادیکال اکسید نیتریک ارزیابی شد و نشان داد خاصیت آنتی‌اکسیدانی عالی دارد [۳۶]. همچنین، در مطالعه حاضر، طبق بررسی با آزمون آنتی‌میکروبی، خاصیت آنتی‌میکروبی شیف‌باز مس‌دار تأیید شد. شیف‌بازها عوامل امیدبخش آنتی‌باکتریایی است. برای مثال، N-(salicylidene)-2- hydroxyaniline علیه مایکوباکتریوم توبرکلوزیس H37RV مؤثر است [۳۷]. اخیراً طی مطالعه‌ای سنتز و فعالیت آنتی‌میکروبی یک رشته از شیف‌بازهای مشتق شده از تغلیظ ۵- کلرو-سالیسیل آلدهید و آمین‌های اولیه گزارش شده است [۳۸]. همچنین، در پژوهشی دیگر شیف‌باز مشتق شده از



شکل ۴. درصد مهار رادیکال هیدروکسیل با شیف‌باز مس‌دار. در این تست از اسکوربیک اسید به‌عنوان کنترل مثبت استفاده شد.



شکل ۵. مهار رشد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس (گرم مثبت) با شیف‌باز مس‌دار که به روش دیسک دیفیوژن بررسی شد.



شکل ۶. مهار رشد باکتری اشرشیاکلی (گرم منفی) با شیف‌باز مس‌دار که به روش دیسک دیفیوژن بررسی شد.

جدول ۱. تأثیر شیف‌باز مس‌دار بر دو باکتری گرم منفی و گرم مثبت به روش دیسک دیفیوژن به‌منظور تعیین میزان مهار رشد باکتری‌ها در شیف‌باز

غلظت شیف‌باز (µg/ml)	میزان خاصیت آنتی‌میکروبی (mm) اشرشیاکلی	میزان خاصیت آنتی‌میکروبی (mm) استافیلوکوکوس اورئوس
۱۰۰	بی‌اثر	بی‌اثر
۲۰۰	۸	۹
۲۵۰	۸	۹

است که در سال ۱۳۹۴ به تصویب رسید و با حمایت دانشگاه آزاد مشهد اجرا شده است. بدین‌وسیله نویسندگان مقاله از کارشناسان آزمایشگاه بیوشیمی و میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی مشهد کمال تشکر و قدردانی را دارند که در فراهم‌آوردن امکانات این تحقیق همکاری لازم را مبذول داشتند.

ایساتین و دارای فعالیت آنتی‌باکتریایی گزارش شده است [۳۹]. امیری و همکاران خواص آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌میکروبی شیف‌باز مشتق‌شده از تیوسمی‌کاربازون را ارزیابی کردند [۴۰].

تشکر و قدردانی

این مقاله، حاصل پایان‌نامه دوره کارشناسی‌ارشد سهیلا یدامانی

- References
- [1] Abdel-Latif S, Hassib H, Issa Y. Studies on some salicylaldehyde Schiff base derivatives and their complexes with Cr (III), Mn (II), Fe (III), Ni (II) and Cu (II). *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2007; 67(3): 950-7.
 - [2] Meghdadi S, Amirnasr M, Mereiter K, Amiri A, Ghodsi V. Synthesis, characterization and electrochemistry of carboxamido Co (III) complexes: The crystal structure of [Co III (Mebpb)(N-MeIm) 2] BPh 4 CH 3 OH. *Inorganica Chimica Acta*, 2010; 363(7): 1587-92.
 - [3] Nayak S, Gamez P, Kozlevčar B, Pevec A, Roubeau O, Dehnen S, et al. Coordination compounds from the planar tridentate Schiff-base ligand 2-methoxy-6-((quinolin-8-ylimino) methyl) phenol (mqmpH) with several transition metal ions: Use of [Fe III (mqmp)(CH 3 OH) Cl 2] in the catalytic oxidation of alkanes and alkenes. *Polyhedron*, 2010; 29(11): 2291-6.
 - [4] Mohamed GG, Zayed M, Abdallah S. Metal complexes of a novel Schiff base derived from sulphametrole and varelaldehyde; Synthesis, spectral, thermal characterization and biological activity. *Journal of Molecular Structure*, 2010; 979(1): 62-71.
 - [5] Tai AW, Lien EJ, Lai MM, Khwaja TA. Novel N-hydroxyguanidine derivatives as anticancer and antiviral agents. *Journal of Medicinal Chemistry*, 1984; 27(2): 236-8.
 - [6] WangPH, Keck JG, Lien EJ, Lai MM. Design, synthesis, testing, and quantitative structure-activity relationship analysis of substituted salicylaldehyde Schiff bases of 1-amino-3-hydroxyguanidine tosylate as new antiviral agents against coronavirus. *Journal of Medicinal Chemistry*, 1990; 33(2): 608-14.
 - [7] Li YF, Liu ZQ. Ferrocenyl Schiff base as novel antioxidant to protect DNA against the oxidation damage. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2011; 44(1): 158-63.
 - [8] Bréfuel N, Vang I, Shova S, Dahan F, Costes JP, Tuchagues JP. Fe II Spin crossover materials based on dissymmetrical N 4 Schiff bases including 2-pyridyl and 2R-imidazol-4-yl rings: Synthesis, crystal structure and magnetic and Mössbauer properties. *Polyhedron*, 2007; 26(8): 1745-57.
 - [9] Praveen C, Kumar KH, Muralidharan D, Perumal P. Oxidative cyclization of thiophenolic and phenolic Schiff's bases promoted by PCC: a new oxidant for 2-substituted benzothiazoles and benzoxazoles. *Tetrahedron*, 2008; 64(10): 2369-74.
 - [10] Nair MS, Arish D, Joseyphus RS. Synthesis, characterization, antifungal, antibacterial and DNA cleavage studies of some heterocyclic Schiff base metal complexes. *Journal of Saudi Chemical Society*, 2012; 16(1): 83-8.
 - [11] Asiri A, Al-Sehemi A, Badahdah K, Al-Amoudi M, Bukhari A, Khan S. Synthesis and electronic spectra of some new N-(2-Hydroxy-1-Naphthylidene) anils derived from substituted 2-aminothiophene. *Org. Chem. Insight*, 2010; 3: 1-8.
 - [12] Jayashree B, Kaur M, Pai A. Synthesis, characterisation, antioxidant and anticancer evaluation of novel schiff's bases of 2-quinolones. *Elixir Online Journal*, 2012; 52: 11317.
 - [13] Singh P, Kaur P, Luxami V, Kaur S, Kumar S. Syntheses and anti-cancer activities of 2-[1-(indol-3-yl)-/pyrimidin-5-yl-/pyridine-2-yl-/quinolin-2-yl]-but-3-enylamino]-2-phenyl-ethanols. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2007; 15(6): 2386-95.
 - [14] Shah TJ, Desai VA. Synthesis of some novel fluorinated 4-thiazolidinones containing amide linkages and their antimicrobial screening. *Arkivoc*, 2007; 14: 218-28.
 - [15] Dollwet H, Sorenson J. Historic uses of copper compounds in medicine. *Trace elements in Medicine*, 1985; 2(2): 80-7.
 - [16] Ou B, Huang D, Hampsch-Woodill M, Flanagan JA, Deemer EK. Analysis of antioxidant activities of common vegetables employing oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays: a comparative study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2002; 50(11): 3122-8.
 - [17] Scheibmeir HD, Christensen K, Whitaker SH, Jegaethesan J, Clancy R, Pierce JD. A review of free radicals and antioxidants for critical care nurses. *Intensive and Critical Care Nursing*, 2005; 21(1): 24-8.
 - [18] Sokmen A, Gulluce M, Akpulat HA, Daferera D, Tepe B, Polissiou M, et al. The in vitro antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts of endemic *Thymus spathulifolius*. *Food Control*, 2004; 15(8): 627-34.
 - [19] Shahab N, Mohd Yazid J, Rabiatal Adawiyah M, Mahayuddin M, Yusnita A, Suhaida M, et al. Production of coenzyme q10 from fungi and actinomycetes.
 - [20] Alekshun MN, Levy SB. Molecular mechanisms of antibacterial multidrug resistance. *Cell*, 2007; 128(6): 1037-50.
 - [21] Rice LB. Unmet medical needs in antibacterial therapy. *Biochemical Pharmacology*, 2006; 71(7): 991-5.
 - [22] Stocks J, Dormandy T. The autoxidation of human red cell lipids induced by hydrogen peroxide. *British Journal of Haematology*, 1971; 20(1): 95-111.
 - [23] Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology*, 1995; 28(1): 25-30.
 - [24] Castro MM, Fandiño RLA, Sanchez MIR, Gonzalez MMR, De Artiñano AA. Bioactive peptides derived from the proteins of egg white by means of enzymatic hydrolysis. *Google Patents*, 2012.

- [25] Miliauskas G, Venskutonis P, Van Beek T. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food Chemistry*, 2004; 85(2): 231-7.
- [26] Hartmann R, Meisel H. Food-derived peptides with biological activity: from research to food applications. *Current Opinion in Biotechnology*, 2007; 18(2): 163-9.
- [27] Saiga A, Tanabe S, Nishimura T. Antioxidant activity of peptides obtained from porcine myofibrillar proteins by protease treatment. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2003; 51(12): 3661-7.
- [28] Pfaller M, Diekema D. Progress in antifungal susceptibility testing of *Candida* spp. by use of Clinical and Laboratory Standards Institute broth microdilution methods, 2010 to 2012. *Journal of Clinical Microbiology*, 2012; 50(9): 2846-56.
- [29] Nawaz H, Akhter Z, Yameen S, Siddiqi HM, Mirza B, Rifat A. Synthesis and biological evaluations of some Schiff-base esters of ferrocenyl aniline and simple aniline. *Journal of Organometallic Chemistry*, 2009; 694(14): 2198-203.
- [30] Bhargavi G, Rajasekharan M, Costes JP, Tuchagues JP. Synthesis, crystal structure and magnetic properties of dimeric Mn III Schiff base complexes including pseudohalide ligands: Ferromagnetic interactions through phenoxo bridges and single molecule magnetism. *Polyhedron*, 2009; 28(7): 1253-60.
- [31] Rosu T, Pahontu E, Maxim C, Georgescu R, Stanica N, Almajan GL, et al. Synthesis, characterization and antibacterial activity of some new complexes of Cu (II), Ni (II), VO (II), Mn (II) with Schiff base derived from 4-amino-2, 3-dimethyl-1-phenyl-3-pyrazolin-5-one. *Polyhedron*, 2010; 29(2): 757-66.
- [32] Basak S, Sen S, Banerjee S, Mitra S, Rosair G, Rodriguez MG. Three new pseudohalide bridged dinuclear Zn (II) Schiff base complexes: Synthesis, crystal structures and fluorescence studies. *Polyhedron*, 2007; 26(17): 5104-12.
- [33] Rajendiran V, Palaniandavar M, Periasamy VS, Akbarsha MA. New [Ru (5, 6-dmp/3, 4, 7, 8-tmp) 2 (diimine)] 2+ complexes: Non-covalent DNA and protein binding, anticancer activity and fluorescent probes for nuclear and protein components. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 2012; 116: 151-62.
- [34] Hajrezaie M, Golbabapour S, Hassandarvish P, Gwaram NS, Hadi AHA, Ali HM, et al. Acute toxicity and gastroprotection studies of a new schiff base derived copper (II) complex against ethanol-induced acute gastric lesions in rats. *PLoS One*, 2012; 7(12): e5.1037
- [35] Pontiki E, Hadjipavlou-Litina D, Chaviara A, Bolos C. Evaluation of anti-inflammatory and antioxidant activities of mixed-ligand Cu (II) complexes of dien and its Schiff dibases with heterocyclic aldehydes and 2-amino-2-thiazoline. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2006; 16(8): 2234-7.
- [36] Prakash G, Manikandan R, Viswanathamurthi P, Velmurugan K, Nandhakumar R. Ruthenium (III) S-methylisothiosemicarbazone Schiff base complexes bearing PPh 3/AsPh 3 coligand: Synthesis, structure and biological investigations, including antioxidant, DNA and protein interaction, and in vitro anticancer activities. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 2014; 138: 63-74.
- [37] Souza AOD, Galetti F, Silva CL, Bicalho B, Parma MM, Fonseca SF, et al. Antimycobacterial and cytotoxicity activity of synthetic and natural compounds. *Química Nova*, 2007; 30(7): 1563-6.
- [38] Shi L, Ge HM, Tan SH, Li HQ, Song YC, Zhu HL, et al. Synthesis and antimicrobial activities of Schiff bases derived from 5-chloro-salicylaldehyde. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2007; 42(4): 558-64.
- [39] Pandeya S, Sriram D, Nath G, De Clercq E. Synthesis and antimicrobial activity of Schiff and Mannich bases of isatin and its derivatives with pyrimidine. *Il Farmaco*, 1999; 54(9): 724-8.
- [40] Al-Amiery AA, Al-Majedy YK, Ibrahim HH, Al-Tamimi AA. Antioxidant, antimicrobial, and theoretical studies of the thiosemicarbazone derivative Schiff base 2-(2-imino-1-methylimidazolidin-4-ylidene) hydrazinocarbothioamide (IMHC). *Organic and Medicinal Chemistry Letters*, 2012; 2(1): 1.