

Bazı Salisiliden Anilin Schiff Bazlarının DMSO ve DMF Çözücülerinde Antibakteriyel Aktiviteleri

Tuğçe D. Karaca¹, Aytaç Kocabaş^{*2}, Mehmet A. Akay³¹Gazi Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Gölbaşı/Ankara, 06830, Türkiye²Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Karaman, 70100, Türkiye³Ankara Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü, Ankara, 06100, Türkiye

Öne Çıkanlar

- DMSO ve DMF bakteriler üzerinde toksik etkiye sahiptir.
- DMF'nin toksik etkisi kimyasalların biyoaktivitelerini perdeleyebilmektedir.
- Salisiliden Anilin Schiff bazları gram negatif bakteriyel etki göstermiştir.

Makale Bilgileri

Geliş: 22/05/2022

Kabul: 09/08/2022

Anahtar Kelimeler

Schiff bazı,
Salisiliden Anilin,
Antibakteriyel etki,
Halogen sübstitüe

Öz

Günümüzde en önemli problemlerden birisi bakterilerde gözlemlenen çoklu antibiyotik dirençliliğidir. Bu sorun ülkelerin hem sağlık sektörünü hem de ekonomisini etkilemektedir. Mevcut antibiyotiklerin etkisiz kalması sağlık harcamalarına ayrılan bütçenin artmasına sebep olmaktadır. Bu soruna çözüm olarak yeni antimikrobiyal etkiye sahip kimyasallar yeni araştırmaların odak noktası olmuştur. Bu araştırmaların odak noktasını doğal bitkisel kaynaklar oluştursa da antibakteriyel etkiye sahip yeni kimyasalların sentezlenmesi de ön plana çıkmaktadır. Bu kimyasallar arasında Schiff bazları önemli bir yer tutmaktadır. Bu çalışmada da salisiliden anilin Schiff bazı ve onun 2-sübstitüe iyot, klor ve brom halojen türevi Schiff bazlarının hem DMSO hem de DMF'de antibakteriyel etkileri gram negatif *Escherichia coli* ve gram pozitif *Staphylococcus aureus*'a karşı ölçülmüştür. DMF'nin aşırı toksik etkisi kimyasalların biyoaktivitesini perdelemiştir. Buna karşılık, DMSO'da çözüdüren kimyasallar antibakteriyel etki göstermişlerdir. Kimyasalların gram negatif *E. coli*'ye karşı daha etkili oldukları gözlemlenmiştir. En düşük MİK değeri 135 µg/mL olarak belirlenmiş ve *E. coli*'ye karşı tüm Schiff bazları bu etkiyi göstermiştir. Dolayısıyla yeni sentezlenen Schiff bazların geleceğin antibiyotik çağına öncülleri olması muhtemeldir.

Antibacterial Activities of Some Salicylidene Aniline Schiff Bases in DMSO and DMF Solvents

Highlights

- DMSO and DMF have toxic effects on bacteria.
- The toxic effect of DMF can mask the bioactivities of chemicals.
- Salicylidene aniline Schiff bases showed more effective antibacterial effect against gram negative bacteria.

Article Info

Received: 22/05/2022

Accepted: 09/08/2022

Keywords

Schiff's bases,
Salicylidene Aniline,
Antibacterial effect,
Halogen substitute

Abstract

One of the most important problems today is the multi-antibiotic resistance observed in bacteria. This problem affects both the health sector and the economy of countries. The ineffectiveness of existing antibiotics causes an increase in the budget allocated to health expenditures. As a solution to this problem, chemicals with new antimicrobial effects have been the focus of new research. Although natural plant sources are the focus of these studies, the synthesis of new chemicals with antibacterial effect is also prominent. Among these chemicals, Schiff bases have an important place. In this study, the antibacterial effects of salicylidene aniline Schiff base and its 2-substituted iodine, chlorine and bromine halogen derivative Schiff's bases were measured in both DMSO and DMF against gram negative *Escherichia coli* and gram positive *Staphylococcus aureus*. The extremely toxic effect of DMF masked the bioactivity of the chemicals. On the other hand, chemicals dissolved in DMSO showed antibacterial effects. It has been observed that the chemicals are more effective against gram negative *E. coli*. The lowest MIC value was determined as 135 µg/mL and all Schiff's bases showed this effect against *E. coli*. Thus, new synthesized Schiff bases are likely to be the precursors of the future antibiotic era.



Makale, Creative Commons 4.0 (CC BY NC SA) uluslararası lisansı altında açık erişim olarak yayımlanmaktadır.

* Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Aytaç Kocabaş, aytackocabas@gmail.com



1. GİRİŞ

Bulaşıcı hastalıklara bağlı ölüm oranındaki artış, antibiyotiklere karşı çoklu direnç gösteren bakterilerle doğrudan ilişkilidir [1]. Son yıllarda, çoklu direnç fenotiplerine sahip olanlar da dâhil olmak üzere çeşitli mikroorganizmalarda antibiyotik dirençleri tanımlanmıştır. Bu durum, Dünya Sağlık Örgütü'nün de belirttiği gibi endişe vericidir [2]. Etkili tedavilerin olmaması bu sorunun ana nedeni olarak belirtilmektedir. Bu nedenle son zamanlarda birçok araştırmalarda yeni terapötik alternatiflerin geliştirilmesine odaklanılmıştır. Özellikle bazı araştırmalarda alternatif olarak, mevcut antibiyotik sınıflarında bulunmayan yeni kimyasal özelliklere sahip yeni antibiyotik sınıflarının geliştirilmesinin önemi vurgulanmıştır [3,4]. Bu bağlamda Schiff bazları yeterince araştırılmamış bir alternatif sunmaktadır.

İlk olarak 1864 yılında Hugo Schiff tarafından önerilen Schiff bazı reaksiyonu [5]; Aldehitler (veya ketonlar) ve amino grupları içeren bileşikler arasında imin gruplarının oluşumuyla sonuçlanan reaksiyonu ifade eder ve yapısal olarak, bir Schiff bazı (imin veya azometin olarak da bilinir), karbonil grubunun (C=O) bir imin veya azometin grubu ile değiştirildiği bir aldehit veya ketonun bir nitrojen analogudur [6-8]. Dolayısıyla, Schiff bazı ligandlarının sentezlenmesi kolay olmakla birlikte hemen hemen tüm metal iyonları ile kompleks oluşturarak Schiff bazı/metal kompleksleri oluşturulabilmektedir [9]. Schiff bazların organik kimyadaki bu istisnai popülaritesi, ucuz malzemeler kullanan basit sentez tekniklerine bağlanmaktadır. Aslında, hâlâ literatürde farklı sentetik yollar tarif edilmeye devam etmektedir [10].

Schiff bazları, gelişmiş nanomalzemeler gibi endüstriyel kullanımlardan kemoterapötiklere ve yeni ilaç geliştirmeye kadar çeşitli alanlardaki geniş uygulamaları nedeniyle çok dikkat çekmiştir. Özellikle amino asitlerden türetilen Schiff baz komplekslerinin, yeni bir tür potansiyel antibakteriyel ve antikanser reaktifleri, anti-inflamatuar, DNA bölünmesi, ateş düşürücü gibi özellikler dahil olmak üzere geniş bir biyolojik aktivite yelpazesi göstermiştir [11].

Yeni antimikrobiyal maddelerin eldesi ile yeni bir soru daha ortaya çıkmıştır. Özellikle bu maddelerin araştırma aşamasında antimikrobiyal etkilerinin ortaya konabilmesi için uygun çözücüye ihtiyaç duyulmuştur. Genellikle bu tür moleküller suda veya sulu çözeltide çözünmezler ve uygun organik çözücülerin araştırılması gereklidir. Dimetil sülfoksit (DMSO) ve dimetil formamid (DMF), geleneksel antibiyotiklerin ve diğer çözülmesi zor anti-enfektif moleküllerin çözündürülmesi için kullanılan köklü çözücülerdir. Ayrıca, Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü kılavuzları gibi iyi kurulmuş antimikrobiyal duyarlılık testi protokolleri, etionami ve rifampin gibi çözünmeyen antibiyotikleri çözmek için bu çözücülerin kullanılmasını önerir. Bu nedenle, bu tür DMSO ve DMF çözücülerinden kaynaklanan herhangi bir potansiyel antimikrobiyal etkininde incelenmesi önemlidir [12].

Bu nedenle, bu çalışmada salisilaldehitten türetilen Schiff bazlarının (Salisiliden-3-iodoanilin, Salisiliden-3-chloroanilin, Salisiliden-3-bromoanilin) hem DMSO hem de DMF'de çözünürlüğüyle antibakteriyel aktivitelerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

2. MATERYAL VE YÖNTEM

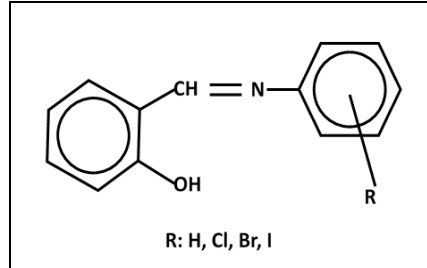
2.1. Materyal

Bu çalışmada kullanılan salisilaldehit, anilin, süstitüe anilinler Merck'ten alınmış ve saflaştırılmadan kullanılmıştır.

2.2. Schiff baz sentezi

Çalışılan Schiff bazları, salisilaldehit ile anilin ve kloro, bromo ve iyodo anilinlerin kondensasyonu sonucunda sentezlendi (Çizelge 1). Her sentezde 0,02 mol salisilaldehit ve 0,02 mol anilin ve anilin türevleri (2-,kloro, bromo ve iyodo anilinler) kullanıldı. 0,02 mol salisiladehit ve 0,02 mol anilin, 50 mL sıcak etanol içinde ayrı ayrı çözdürüldü ve ardından salisilaldehit çözeltisi, anilin çözeltisine ilave edildi. Salisilidenanilin için saat camı ile kaplanmış bir beher içindeki karışım 24 saat dinlenmeye bırakıldı. Schiff bazının kristal çökeltisi filtre kâğıdından süzülde. Schiff bazı etanolden yeniden kristallendirilerek saflaştırıldı [13].

Çizelge 1. Schiff Baz ligandı ve onun halojen türevleri



R	Schiff bazı
H	Salisiliden Anilin (Ligand)
2-I	Salisiliden-2-iodoanilin
2-Cl	Salisiliden-2-kloroanilin
2-Br	Salisiliden-2-bromoanilin

2.3. Antimikrobiyal Aktivitenin Belirlenmesi

Çalışmada kullanılan tüm çözeltiler bekleme sonrası çökme olması sebebiyle çözeltiler taze olarak hazırlanarak kullanılmıştır. Schiff bazı çözeltileri hazırlarken, tüm Schiff bazları için hiç çökeltinin oluşmadığı maksimum kütle olarak 13 mg belirlenmiştir. Tartılan Schiff bazlarının üzerine konsantre ya Dimetil sulfoksit (DMSO, Formül: C₂H₆OS, yoğunluk: 1,1 g/cm³, Ma: 78,13 g/mol) ya da dimetil formamid (DMF, Formül: C₃H₇NO, yoğunluk: 0,948, Ma: 73,09 g/mol) ilave edilerek çözünme sağlanmış ve daha sonra distile su (dH₂O):etanol (EtOh) (4:1 h/h) solüsyonu ile 1:5'e (h/h) seyreltilmiştir. Kontrol olarak Salisiliden Anilin (salisilidin anilin Schiff bazı: SA, Ma: 197 g/mol), ve türevleri olan salisilidin-2-iyodoanilin (S2IA, Ma: 323 g/mol), salisilidin-2-kloroanilin (S2KA, Ma: 231,5 g/mol) ve salisilidin-2-bromoanilin (S2BA, Ma: 276 g/mol) gram pozitif *Staphylococcus aureus* ve gram negatif *Escherichia coli* üzerinde test edilmiş ve eşit oranda seyreltilmiş DMSO ve DMF kullanılmıştır.

Disk Difüzyon Yöntemi

Elde edilen Schiff bazlarının bakterilere karşı antimikrobiyal aktivitelerini değerlendirmek için *E. coli* ile *S. aureus* bakterileri için öncelikle disk difüzyon yöntemi uygulanmıştır. Gece boyunca büyütülen bakteri kültürleri, McFarland 0,5 bulanıklığa ayarlanmış ve 100 µL kültür Mueller-Hinton agar plakalarına aşılmalıdır. 20µL çözülmüş kimyasallar 6 mm'lik steril disklere emdirilmiş ve agar besiyerine yerleştirilmiştir. Standart antibiyotik olarak penisilin G 10 mg/disk, gentamisin 10 mg/disk ve tetrasiklin 30 mg/disk kullanılmıştır. Bakteriler 16-20 saat süreyle 35 °C'de inkübe edilmiş ve tüm inhibisyon bölgelerinin çapları ölçülmüştür [14].

Minimum İnhibitör (MİK) ve Bakterisidal Konsantrasyon (MBK)

Bir gecede yetiştirilen bakteri kültürleri, bulanıklık McFarland 0,5'e ayarlandıktan sonra sıvı besi yeri ile 1:100 oranında seyreltilmiştir. Daha sonra 100µL bakteri kültürü eşit hacimde 1X, 0,5X, 0,25X, 0,125X ve 0,0615X konsantrasyonlarda kimyasal ile 1:1 (h/h) oranında mikropkaya kuyusunda karıştırılmıştır. 35 °C'de gece boyunca inkübasyondan sonra, MİK değeri görsel gözlem ile belirlenmiştir. Daha sonra kimyasalların bakterisidal / bakteriyostatik etkisini değerlendirmek için mikropkaya kuyularından 50 µL inokulum alınmış ve aynı koşullar altında inkübe edilen Mueller-Hinton agar üzerine inoküle edilmiştir. Agar plakta üreme olmayan en düşük kimyasal konsantrasyon MBK [15] olarak belirlenmiştir.

3. BULGULAR VE TARTIŞMA

Çalışmada Schiff bazlarının ve çözücülerin antimikrobiyal etkilerinin belirlenmesinden önce standart antibiyotikler olarak penisilin G (10 mg/disk), gentamisin (10 mg/disk) ve tetrasiklin (30 mg/disk) *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus* karşı test edilmiştir (Çizelge 2). Denenen standart antibiyotikler her iki mikroorganizmaya karşı etkili bulundu. En düşük açıklık *S. aureus* için penisilin tarafından 14 mm olarak gözlemlendi. Tüm karışımlar için de öncelikle disk difüzyon yöntemi kullanıldı. Salisilidin-2-iyodoanilin (S2IA) DMSO karışımında çözünmezken DMF karışımında çözünmüştür. Bu aşamada kimyasal yüklenmiş disklerin sadece çevresinde temiz alan ölçüldü (6mm). Benzer sonuçlar negatif kontrol olarak test edilen DMSO kontrol karışımı (DMSO:EtOH:dH₂O 1:1:4) ve DMF kontrol karışımı (DMF:EtOH:dH₂O 1:1:4) içinde gözlemlendi ve sadece 6mm'lik bir temiz alan ölçüldü.

Çizelge 2. Standard antibiyotiklerin disk difüzyon ile antimikrobiyal etkileri

	Penisilin (mm)	Gentamisin (mm)	Tetrasiklin (mm)
<i>S. aureus</i>	14 - 15	18 -20	27-28
<i>E. coli</i>	19-20	24-24	20-22

Bu tarz çalışmalarda öncelikle bilinmesi ve göz önünde bulundurulması gereken konu çözücünün hem saf hem de sinerjistik etkisinin olabileceğidir. Bu çalışmada kullanılan DMSO'nun 1/10 dilüsyona kadar konsantrasyonda toksik etki gösterebildiği iyi bilinmektedir [16,17]. Disk difüzyon deneyinde 1/6 seyreltik DMSO yüklenen diskler etrafında temiz alan oluştu. Benzer şekilde DMF yüklenen diskler etrafında da temiz alan gözlemlendi. DMF'nin DMSO'ya göre daha toksik olduğu bilindiği için bunlar beklenen sonuçlardı. Ancak tüm kimyasallar içinde benzer sonuçlar elde edildi. Bunun sebebi olarak bu çalışmada kullanılan Schiff bazları hidrofobik bazlardı ve su içerisinde hiçbir şekilde çözülme göstermediler. Hatta DMSO:dH₂O 1:5 (h/h) karışımında dahi çökelmeler gözlemlendi. Bu sebepten maksimum konsantrasyonda Schiff baz çözeltisi elde edebilmek adına karışıma bir birim EtOH eklendi. Buna rağmen S2IA Schiff bazının DMSO çözeltisi elde edilemedi ve sadece DMF çözeltisi ile deneyler devam ettirildi.

Disk difüzyon yöntemini takiben MİK ve MBK antibakteriyel aktivite testleri gerçekleştirildi (Çizelge 3 ve 4). Schiff bazı konsantrasyonları 1,083mg/mL (1X) ila 0,068mg/mL (1/16X) aralığında denendi. Elde edilen veriler ışığında, DMF kontrol karışımının antibakteriyel etkisinin daha yüksek olduğunu ve bu etkinin gram negatif *E. coli* üzerinde daha yüksek olduğu gözlemlendi. DMSO kontrol karışımının MİK değeri 1/2 iken DMF kontrol karışımında *E. coli* için 1/4 ve *S. aureus* için 1/2 bulundu. DMF kontrol için bu değerler aynı zamanda MBK değerleri olarak da tespit edildi. DMSO kontrol karışımı için MBK değerleri en yüksek konsantrasyon değeri (1:5 DMSO:karışım h/h) olarak gözlemlendi. Buna karşılık DMF çözeltileri için Schiff bazların MBK değerleri tespit edilemedi. DMSO çözeltileri için ise MBK değerleri tüm Schiff bazlar için 1/2 (542 µg/mL) olarak belirlendi. Kimyasalların MİK değerleri değerlendirildiğinde *E. coli* için tüm Schiff bazların hem DMSO hem DMF değerleri 1/8 (135 µg/mL) olarak ölçüldü. *S. aureus* için ise S2KA Schiff bazının DMSO çözeltisi hariç diğer Schiff bazlara ait MİK değerleri 1/4 (271 µg/mL) olarak tespit edildi. Bunun yanında Schiff bazların DMSO çözeltilerinde MİK değerleri 1/8'lere kadar düştü ve MBK değerleri kontrolden farklı olarak gözlemlendi.

Çizelge 3. Schiff bazların MİK bulguları*

	DMSO					DMF				
	SA	S2IA	S2KA	S2BA	Cdmso*	SA	S2IA	S2KA	S2BA	Cdmf*
<i>E. coli</i>	1/8	DD	1/8	1/8	1/2	1/8	1/8	1/8	1/8	1/4
<i>S. aureus</i>	1/4	DD	1/2	1/4	1/2	1/4	1/4	1/4	1/4	1/2

*DD: Değerlendirme dışı; Cdmso: DMSO kontrol; Cdmf: DMF kontrol

Çizelge 4. Schiff bazların MBK bulguları*

	DMSO					DMF				
	SA	S2IA	S2KA	S2BA	Cdmso*	SA	S2IA	S2KA	S2BA	Cdmf*
<i>E. coli</i>	1/2	DD	1/2	1/2	1	1/4	1/4	1/4	1/4	1/4
<i>S. aureus</i>	1/2	DD	1/2	1/2	1	1/2	1/2	1/2	1/2	1/2

*DD: Değerlendirme dışı; Cdmso: DMSO kontrol; Cdmf: DMF kontrol

Çalışmanın bulgularını genel olarak ele aldığımızda, Schiff bazların etkisini belirlemede DMSO'nun daha etkin olduğunu gözlemledik. Benzer sonucu Baluja vd. (2015)[18] ve Kirkwood vd. (2018)[12] de çalışmalarında göstermişlerdir. DMF'nin DMSO'dan daha toksik etki göstermesi ve MBK etkilerinin gözlemlenmesini etkilemesi ve aynı şekilde MİK değerlerinde kimyasalların etkin değerlerinin kontrolün etkin konsantrasyonundan 2 kat daha seyreltik olarak elde edilmesi DMF'nin etkisinin Schiff bazların etkisini perdelediğini göstermektedir. Ancak burada DMF kontrol karışımının MİK değerinin 1/4 ve DMSO kontrol karışımının ise 1/2 olduğu göz önüne alınırsa DMF'nin kimyasalların antibakteriyel aktivitelerine sinerjistik bir etkisinin olmadığını da söyleyebiliriz.

Her ne kadar DMF çözeltilerinden elde edilen bulgular Schiff bazların aktivitelerini perdelesede DMSO çözeltilerini göz önünde bulundurduğumuzda Schiff bazların antibakteriyel aktivitelere sahip oldukları gözlemlenmektedir (Çizelge 4). Hatta bulguları değerlendirdiğimizde *E. coli*'nin (gram negatif bakteri) hem salisiliden anilinden hem de türevlerinden daha fazla etkilendiğini söyleyebiliriz. Bu büyük olasılıkla, azalan elektrofiliğe bağlı olarak bakterinin membranı (özellikle gram negatif bakterilerin lipopolisakarit tabakası) ile Schiff bazları arasındaki etkileşimdeki artıştan kaynaklanmaktadır [19]. Çünkü, Mohamed ve diğerleri (2021) [19], salisiliden anilinin (F, Cl ve Br) halojenlerinin orto (o-; 1,2-), meta (m-; 1,3-), ve para (p-; 1,4-) pozisyonlarının reaktivite değişimi üzerindeki etkisi ile ilgili bir çalışma yürütmüştür ve halojenlerin pozisyonlarının metallere karşı yapının reaktivitesini hemen hemen değiştirmemesine rağmen, buldukları konumun yapıda elektrofiliği azalttığını bulmuşlardır.

Bu çalışmada Schiff bazların en düşük ve etkili konsantrasyonu olarak 135 µg/mL bulunmuştur. Literatür verileri incelendiğinde Schiff bazlarının metal komplekslerinin ligandın veya türevlerinin etkisini %50 hatta daha fazla artırdığı belirtilmiştir [20,21]. Hatta yeni yapılan bir çalışmada yeşil kimya yöntemi ile selüloz bazlı üretilen bir Schiff bazın bakır kompleksinin *E. coli* ve *S. aureus*'a karşı antibakteriyel etkinliği, ligandın kendisine kıyasla sırasıyla %472 ve %823 arttığı gösterilmiştir. Dolayısıyla ileride gerçekleştirilecek çalışmalarla farklı metaller denenerek ligandların etkin konsantrasyonları daha düşük seviyelere çekilerek ilaç etken maddesi olarak kullanım potansiyelleri artırılmış olacaktır.

Sonuç olarak, çoklu antibakteriyel dirençlilik bakteriler arasında yayılmaktadır ve ilerde hem sağlık sektöründe hem de ekonomik alanda daha çok zararlar verecektir. Bunun önlenmesi amacıyla yeni antibakteriyel maddelerin bulunması önem arz etmektedir. Yeni tür antibakteriyel maddeler arasında yeni Schiff bazların ve bunların türevlerinin önemi artmaktadır. Ancak endüstriyel üretim açısından ve ilerde sağlık sektöründe kullanımı açısından üretilen bu kimyasalların su bazlı ve hatta yeşil kimya teknolojileri ile üretilmesi kolaylıklar sağlayacaktır. Buna karşılık, moleküler etki mekanizmalarını araştırmak için hâlâ

uzun bir yol var. Bu nedenle, yeni modifikasyonların bulunması ve yeni Schiff bazlarının sentezlenmesi, yeni özelliklere sahip antibakteriyel, antimikrobiyal kimyasallar için yeni bir dönem açabilir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI/ÇAKIŞMASI BİLDİRİMİ

Yazarlar arasında çıkar çatışması/çakışması bulunmamaktadır.

KAYNAKLAR

- [1] Mkpenie, V. N., Essien, E. E., & Mkpenie, I. V. (2015). Antimicrobial Activity Of Azo-Schiff Bases Derived From Salicylaldehyde And Para-Substituted Aniline. *World Journal of Pharmaceutical Research*, 4(12), 52–60.
- [2] Teran, R., Guevara, R., Mora, J., Dobronski, L., Barreiro-Costa, O., Beske, T., Pérez-Barrera, J., Araya-Maturana, R., Rojas-Silva, P., Poveda, A., & Heredia-Moya, J. (2019). Characterization of Antimicrobial, Antioxidant, and Leishmanicidal Activities of Schiff Base Derivatives of 4-Aminoantipyrine. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 24(15), 2696.
- [3] Allend, S. O., Garcia, M. O., da Cunha, K. F., de Albernaz, D. T. F., da Silva, M. E., Ishikame, R. Y., Panagio, L. A., Nakazaro, G., Reis, G. F., Pereira, D. B., & Hartwig, D. D. (2022). Biogenic silver nanoparticle (Bio-AgNP) has an antibacterial effect against carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* with synergism and additivity when combined with polymyxin B. *Journal of Applied Microbiology*, 132(2), 1036–1047.
- [4] Gigante, V., Sati, H., & Beyer, P. (2022). Recent advances and challenges in antibacterial drug development. *ADMET and DMPK*, 10(2), 147–151.
- [5] Schiff, H. (1864). Mittheilungen aus dem Universitätslaboratorium in Pisa: Eine neue Reihe organischer Basen. *Annalen Der Chemie Und Pharmacie*, 131(1), 118–119.
- [6] da Silva, C. M., da Silva, D. L., Modolo, L. V., Alves, R. B., de Resende, M. A., Martins, C. V. B., & de Fátima, A. (2011). Schiff bases: A short review of their antimicrobial activities. *Journal of Advanced Research*, 2(1), 1–8.
- [7] Abu-Dief, A. M., & Mohamed, I. M. A. (2015). A review on versatile applications of transition metal complexes incorporating Schiff bases. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, 4(2), 119–133.
- [8] Pervaiz, M., Sadiq, S., Sadiq, A., Younas, U., Ashraf, A., Saeed, Z., Zuber, M., & Adnan, A. (2021). Azo-Schiff base derivatives of transition metal complexes as antimicrobial agents. *Coordination Chemistry Reviews*, 447, 214128.
- [9] Xu, Y., Shi, Y., Lei, F., & Dai, L. (2020). A novel and green cellulose-based Schiff base-Cu (II) complex and its excellent antibacterial activity. *Carbohydrate Polymers*, 230, 115671.
- [10] Ceramella, J., Iacopetta, D., Catalano, A., Cirillo, F., Lappano, R., & Sinicropi, M. S. (2022). A Review on the Antimicrobial Activity of Schiff Bases: Data Collection and Recent Studies. *Antibiotics*, 11(2), 191.
- [11] Adam, M. S. S., Abdel-Rahman, L. H., Abu-Dief, A. M., & Hashem, N. A. (2020). Synthesis, catalysis, antimicrobial activity, and DNA interactions of new Cu(II)-Schiff base complexes. *Inorganic and Nano-Metal Chemistry*, 50(3), 136–150.
- [12] Kirkwood, Z., Millar, B., Downey, D., & Moore, J. (2018). Antimicrobial effect of dimethyl sulfoxide and N, N-Dimethylformamide on *Mycobacterium abscessus*: Implications for antimicrobial susceptibility testing. *International Journal of Mycobacteriology*, 7(2), 134.
- [13] Kılıç, E., Köseoğlu, F., Canel, E., & Akay, M. A. (1997). Potentiometric studies of copper(II) complexes of some substituted salicylideneanilines. *Indian Journal of Chemistry*, 36(A), 115–117.
- [14] Matuschek, E., Brown, D. F. J. F. J., & Kahlmeter, G. (2014). Development of the EUCAST disk diffusion antimicrobial susceptibility testing method and its implementation in routine microbiology laboratories. *Clinical Microbiology and Infection*, 20(4), O255–O266.
- [15] EUCAST. (2003). Determination of minimum inhibitory concentrations (MICs) of antibacterial agents by broth dilution. *Clinical Microbiology and Infection*, 9(8), 9–15.
- [16] Afrin, T., Tsuzuki, T., Kanwar, R. K., & Wang, X. (2012). The origin of the antibacterial property of bamboo. *The Journal of The Textile Institute*, 103(8), 844–849.
- [17] Hassan, A. S. (2014). The Antibacterial Activity of Dimethyl Sulfoxide (DMSO) with and without of Some Ligand Complexes of the Transitional Metal Ions of Ethyl Coumarin against Bacteria Isolate from Burn and Wound Infection. *Journal of Natural Sciences Research*, 4(19), 106–111.
- [18] Baluja, S., Chanda, S., & Nandha, K. (2015). Antimicrobial Activity of some Pyrimidine Derivatives in DMF and DMSO. *International Letters of Chemistry, Physics and Astronomy*, 56, 131–141.
- [19] Mohamed, S., Djamel, B., & Eddine, H. S. (2021). Assessing the Effects of Substitution and Substituent Position on the Reactivity of Salicylideneaniline Ligands to Coordinate Transition Metal(II) Ions: a DFT Study. *Chemistry & Chemical Technology*, 15(3), 343–351.
- [20] Iqbal, J., Tirmızı, S. A., Wattoo, F. H., & Imran, M. (2006). Biological Properties of Chloro-salicylidene Aniline and Its Complexes with Co(II) and Cu(II). *Turkish Journal of Biology*, 30(1), 1–4.

[21] Patel, V., Trivedi, P., Gohel, H., & Khetani, D. (2014). Synthesis and Characterization of Schiff Base of p - chloro aniline and their Metal Complexes and their evaluation for Antibacterial Activity. *International Journal of Advances in Pharmacy, Biology and Chemistry*, 3(4), 999–1003.