

تحضير وتشخيص بعض من قواعد شيف المشتقة من الكربوكسي مثيل

كايتوسان وتقييم الفعالية البايولوجية لبعض منها

أحمد عبدالحسن أحمد¹، منير كاظم محسن²، مروان أحمد جاسم³

^{1,3} قسم الكيمياء، كلية العلوم، جامعة كركوك، كركوك، العراق.

² وزارة العلوم والتكنولوجيا، بغداد، العراق.

¹dr.ahmed4a@yahoo.com, ²moneer.69nm@yahoo.com, ³marwanjassim90@gmail.com

الملخص

تم في هذه الدراسة تحضير مركب O-كاربوكسي مثيل كاييتوسان الحاوي على مجموعة الأمين المرتبطة مباشرةً بوحدة الكلوكوز من البوليمر الطبيعي المعروف بـ(الكاييتوسان) ومن ثم مفاعله مع بعض الألديهيدات الأروماتية الحاملة لتعويض في المواقع أورثو وبارا على حلقة البنزين لتحضير عدد من قواعد شيف. والألديهيدات المستخدمة هي بارا-برومو بنزالديهيد، أورثو-هيدروكسي بنزالديهيد، أورثو-برومو بنزالديهيد، بارا-كلورو بنزالديهيد، بارا-نايترو بنزالديهيد. شخّصت المركبات المحضرة باستخدام التقنيات الطيفية المختلفة مثل طيف الأشعة تحت الحمراء وطيف الرنين النووي المغناطيسي للبروتون. كذلك تم قياس الثبات الحراري لبعض هذه المركبات باستخدام تقنية التحليل الحراري التفاضلي. وقيست الفعالية البيولوجية لاثنتين من قواعد شيف المحضرة على نوعين من البكتيريا أحدهما سالبة الغرام والمتمثلة ببكتيريا (Escherichia coli) والثانية موجبة الغرام وهي (Staphylococcus aureus) لغرض دراسة تثبيط هذه الأنواع من البكتيريا.

الكلمات الدالة: O -كاربوكسي مثيل كاييتوسان؛ قواعد شيف للكربوكسي مثيل كاييتوسان؛ الكاييتوسان.

DOI: 10.32894/kujss.2021.167518

Synthesis and Characterization of Some Schiff Bases Derived from Carboxymethyl Chitosan and Evaluating The Biological Activity of Some of these Derivatives

Ahmed Abdul-Hassan Ahmed¹, Moneer Khadhim Muhsin², Marwan Ahmed Jasim³

^{1,3} Department of Chemistry, College of Science, Kirkuk University, Kirkuk, Iraq.

² Ministry of Sciences and Technology, Baghdad, Iraq.

¹dr.ahmed4a@yahoo.com, ²moneer.69nm@yahoo.com, ³marwanjassim90@gmail.com

Abstract

This study included the synthesis of *O*-carboxymethyl chitosan which contains amine group attached directly to its glucose unit from the well-known natural polymer (chitosan), which in turn was reacted with some aromatic aldehydes containing *o*- and *p*- substituents to prepare a series of Schiff bases compounds. The used aldehydes were; *p*-boromobenzaldehyde, *o*-hydroxybenzaldehyde, *o*-bromobenzaldehyde, *p*-chlorobenzaldehyde, and *p*-nitrobenzaldehyde. The synthesized compounds were characterized using spectroscopic techniques including FT-IR and ¹H-NMR. The thermal stability of some of the prepared compounds was checked using differential thermaogravimetric analysis DTA. Finally, the biological activity of two Schiff bases was measured against two types of bacteria (*Escherichia coli*) and (*Staphylococcus aureus*) in terms of inhibition rate.

Keywords: *O*-carboxymethyl chitosan; Carboxymethyl chitosan Schiff bases; Chitosan.

DOI: [10.32894/kujss.2021.167518](https://doi.org/10.32894/kujss.2021.167518)

1. المقدمة:

تمتاز البوليمرات الطبيعية بأنها قابلة للتحويل الكيميائي (Chemical modification) وقابلة للتحلل البيولوجي (Biodegradable) وأيضاً متوافقة بيولوجياً (Biocompatible) [1]. ومن الأمثلة على البوليمرات الطبيعية هو السليلوز (Cellulose) الذي تم اكتشافه عام 1838م من قبل الكيميائي الفرنسي (Ansleme Payen)، حيث تمكن من فصله وتخمين صيغته التركيبية. يتكون السليلوز من متعدد السكر العضوي وله الصيغة $(C_6H_{10}O_5)_n$ ، ويتألف من سلسلة خطية من عدة مئات إلى أكثر من عشرة آلاف وحدة كلوكوز D- مرتبطة بأواصر من نوع $\beta(1 \rightarrow 4)$ [2]. يعد السليلوز البوليمر العضوي الطبيعي الأكثر وفرة على وجه الأرض، حيث يشكل معظم جدران الخلايا النباتية للنباتات الكبيرة وتتركب هذه الجدران من خلال تكوين العديد من جزيئات السليلوز المتوازية لتعطي جدار الخلايا النباتية نوعاً من القوة الميكانيكية والمقاومة تجاه الهجوم الأنزيمي. يعد السليلوز مادة غير ذائبة في الماء وغير قابلة للهضم من قبل جسم الإنسان [3].

تعد النشويات نوعاً من البوليمرات التي تتألف من عدد كبير من وحدات الكلوكوز مرتبطة ببعضها عن طريق الأواصر الكلايكوسيدية (Glycosidic bonds). ويعتبر هذا النوع من متعدد السكر كمخزن للطاقة ينتج في كل النباتات الخضراء (خاصة في البذور والأجزاء تحت التربة). وهناك العديد من النشويات التي تم استخدامها في الأدوية ومنها نشأ البطاطا (*Solanum tuberosum*) ونشأ الحنطة (*Triticum aestivum*) ونشأ الرز (*Oryza sativa*) وكذلك نشأ الشعير (*Zea mays*).

تتألف النشويات من نوعين من البوليمرات، الأول هو الأميلوز (Amylose) (وهو بوليمر حلزوني غير متفرع يتألف من وحدات كلوكوز D- مرتبة بأواصر $\alpha(1 \rightarrow 4)$)، والنوع الثاني هو الأميلوبكتين (Amylopectin) (وهو بوليمر عالي التفرع يتألف من وحدات الكلوكوز D- التي ترتبط بنوعين من الأواصر هي $\alpha(1 \rightarrow 4)$ و $\alpha(1 \rightarrow 6)$) [4] وهناك أنواع كثيرة أخرى من البوليمرات الطبيعية مثل الصمغ العربي و جل الألوفيرا (Aloe Vera) والكارجينان (Carrageenans) وصمغ الزانثان (Xanthan gum) والألجينات (Alginates) وصمغ كارايا (Karaya gum) والينولين (Inulin)، بالإضافة إلى الكيتين (Chitin) والكايتوسان (Chitosan) ومشتقاتهما.

يتألف التركيب الكيميائي الأساسي للكايتوسان من وحدات من الكلوكوز - أمين موزعة عشوائياً إضافة الى مركب (N- acetyl-D-glucoseamine) [5، 6] ترتبط هذه الوحدات بروابط من نوع Glycosidic linkages ($\beta(1 \rightarrow 4)$) يمكن الحصول عملياً على الكايتوسان من معاملة الكيتين (Chitin) الموجود في قشور الروبيان [7] مع قاعدة قوية مثل هيدروكسيد الصوديوم (Sodium hydroxide) [8، 9]، وقد أبدى الباحثون اهتمامهم بهذا المركب نظراً لما فيه من خصائص أهمها وجود المجاميع الفعالة وعدم سميته وكما مادة بوليمرية ثنائية قابلة للتحلل لمختلف التطبيقات وخصوصاً الدوائية منها [10]، التطبيقات الغذائية [11]، ومواد التجميل [12] أما في المجال الطبي فقد تم تطوير الكايتوسان ليس فقط بشكل جلد مصطنع و مسرّع لعملية التئام الجروح، بل أيضاً كمادة فسيولوجية نظراً لما يتمتع به كمضاد للأورام السرطانية، ومادة تعمل على تقوية الجهاز المناعي وكذلك كمضاد حيوي [13]. ان معدل الوزن الجزيئي للكايتوسان المحضر تجارياً يكون عادةً بين (20,000-3880 دالتون)، والكايتوسان قابل للذوبان في الحامض وغير ذائب نسبياً في الماء.

ويعد مركب O-carboxymethyl chitosan من مشتقات الكايتوسان الايثرية الأمفيبروتية (Amphiprotic) والتي تحتوي على مجاميع $-NH_2$ و $-COOH$ في تركيبها. وقد حاز هذا المركب على اهتمام الباحثين لامتلاكه خصائص منها عدم سميته وقابليته على التحلل وفعاليته البيولوجية بالإضافة الى كونه متوافقاً بيولوجياً مع أنسجة الكائنات الحية. لهذه الأسباب فقد نال هذا المركب استحسان الباحثين وخاصة في التطبيقات البيولوجية الطبية. وقد أجريت العديد من الدراسات في مجال تطوير هذا المركب وتحويره كيميائياً بالإضافة الى مزجه فيزيائياً مع بوليمرات أخرى للحصول على مواد جديدة ذات خصائص فريدة [14].

وطبقاً لما ورد في الأدبيات [15]، فإن اختيار ظروف تفاعل مناسبة مع كواشف معينة تسمح بتحضير N^- و O^- كاربوكسي مثيل كاييتوسان، فعند اجراء عملية (Carboxymethylation) وذلك بمفاعلة الكايتوسان مع ألفا-كلورو حامض الخليك في الأيزوبروبانول بوجود هيدروكسيد الصوديوم فإن تكوين O^- كاربوكسي مثيل كاييتوسان سيكون الأكثر تفضيلاً عند اجراء التفاعل بدرجة حرارة الغرفة أو بدرجة $40^\circ C$ ، أما تفاعل تكوين N^- كاربوكسي مثيل كاييتوسان فيكون مفضلاً عند درجات الحرارة الأعلى.

تستخدم مركبات الكايتوسان ومشتقاتها في العديد من التطبيقات الطبية، حيث يمتلك الكايتوسان القدرة على التخلص من الجراثيم والميكروبات، ولذلك يصنع منه ضمادات خاصة بالحروق [16] وكذلك يصنع منه الخيوط الخاصة بخياطة الجروح في العمليات الجراحية داخل جسم الانسان، وذلك لأن له القابلية على التحلل ولا يترك بقايا ضارة بالجسم [17]. كما إن مشتقات الكايتوسان تستخدم على نطاق واسع في صناعة الأنسجة الطبية التي تمنع انتقال العدوى، كما يستخدم في تثبيط الإنزيمات حركياً [18]، وكذلك في فصل البروتينات بطريقة الكروماتوغرافيا. ومن استعمالات الكايتوسان الأخرى استعماله للسيطرة على مستوى الكوليسترول في الدم [19] ويستعمل في العدسات اللاصقة [20] ومن الامثلة على تطبيق مركبات الكربوكسي مثل كايتوسان ومشتقاته كمضادات للبكتيريا وجد Liu وجماعته [21] بأن المشتقات من نوع O-carboxymethyl chitosan لها فعالية متقدمة ضد هذا النوع من البكتيريا المعروفة (Escherichia coli) أو E-coli. والفرق بين الأنواع المختلفة التي تتضمن أيضاً النوع الثاني من الكربوكسي مثل كايتوسان (N,O-carboxymethyl chitosan) والتي تمت تجربتها هو كون الأخير يحتوي على محتوى أقل من مجاميع الأمين (-NH₂) وأن التعويض في (O-carboxymethyl chitosan) يحدث فقط على مجموعة الهيدروكسيل (-OH) لذلك لا يتأثر محتوى مجاميع الأمين فيه.

وقد لاحظ الباحث Guo وجماعته [22] بأن قواعد شيف المحضرة من مختلف مشتقات الكربوكسي مثل كايتوسان يمكن أن تظهر قابلية على اقتناص الجذور الحرة عن طريق مجاميع الهيدروكسيل الموجودة في تراكيبها وبنسبة أكبر مما كانت عليه للكايتوسان بعد اختزال مجموعة الأمين الموجودة في قواعد شيف باستخدام NaBH₄. كما أثبتت الدراسات بأنه من الممكن استخدام قواعد شيف للمركب O-carboxymethyl chitosan كراتنجات تبادل أيوني [23]. وأكدت الدراسات بأنه من الممكن زيادة قابلية ذوبان مشتقات الكربوكسي مثل كايتوسان عن طريق مفاعلتها مع مواد أخرى لتكوين قواعد شيف من النوع الذائب في الماء [24].

2. الجزء العملي:

2.1 الأجهزة المستخدمة:

تم تسجيل أطياف الأشعة تحت الحمراء لجميع المركبات العضوية وقواعد شيف المحضرة باستخدام تقنية الأشعة تحت الحمراء (FT-IR Infrared spectrophotometer IR100) والمتوفر في مختبرات قسم الكيمياء - كلية العلوم - جامعة كركوك بالإضافة الى جهاز (FT-IR Shimadzu 8400S) والمتوفر في دائرة بحوث المواد - وزارة العلوم والتكنولوجيا/بغداد، حيث مزجت النماذج مع مادة بروميد البوتاسيوم (KBr) وسحقت ثم تم كبسها على شكل أقراص وتم قياس طيف (IR) لها. واستخدمت تقنية الرنين النووي المغناطيسي للبروتون ($^1\text{H-NMR}$) لبعض المركبات المحضرة باستخدام جهاز (BrukerBiospin GmbH 400 MHz) والمتوفر في جامعة غازي عثمان باشا-توكات-الجمهورية التركية حيث تم استخدام حامض الخليك المديتر (D_4) (Deuterated acetic acid $\text{CD}_3\text{CO}_2\text{D}$) كمذيب للنماذج المحضرة. كما تم تسجيل بيانات التحليل الحراري الوزني التفاضلي باستخدام جهاز Shimadzu DTG-60 Simultaneous DTA-TG Apparatus والموجود في دائرة بحوث المواد - وزارة العلوم والتكنولوجيا/بغداد.

2.2 تحضير المركبات:

2.2.1 تنقية الكايتوسان بإزالة مجموعة الأسيتيل [25]:

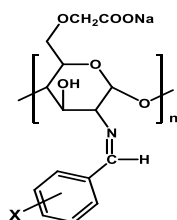
تم تحضير مركب الكايتوسان الخالي من مجموعة الأسيتيل (Deacetylated chitosan) عن طريق مفاعلة الكايتوسان التجاري (5 غم) مع محلول قاعدي من هيدروكسيد الصوديوم (60%، 60 غم والمذاب في 100 مل ماء مقطر) باستخدام عملية التكتيف العكسي (Reflux) واستمر التفاعل لمدة (5 ساعات). برّد المزيج بعدها ثم رشح وغسل الراسب باستخدام الماء الخالي من الأيونات (Deionized water) حتى الوصول الى دالة حامضية متعادلة ($\text{pH}=7$) ثم جفّف الناتج بدرجة حرارة (60°C) ولمدة (48 ساعة). الناتج ذو لون أصفر فاتح ودرجة الانصهار له تساوي (269-271 $^\circ\text{C}$ تقم) وكانت نسبة الناتج الذي تم الحصول عليه تساوي (78%).

2.2.2 تحضير مركب O-كاربوكسي مثيل كابتوسان [26]:

تمت إذابة (1 غم) من الكابتوسان الخالي من مجموعة الأسيتيل في (25 مل) من هيدروكسيد الصوديوم NaOH (5 غم من NaOH والمذاب في 25 مل ماء مقطر) ووضع داخل حمام مائي بدرجة حرارة (40 °م) ولمدة (15 دقيقة)، ثم أضيف ألفا-كلورو حامض الخليك ClCH₂COOH (5 غم) على شكل وجبات صغيرة الى مزيج التفاعل (بصورة تدريجية) وترك التفاعل لمدة ساعتين مع التحريك المستمر بدرجة حرارة (40 °م)، تم بعدها اضافة كمية من حامض الخليك 10% (10 مل حامض 90 مل ماء مقطر)، أضيفت بعدها كمية من الميثانول 70% (70 مل ميثانول و 30 مل ماء مقطر) ليتم بعدها ترشيح الناتج وغسله بالميثانول مرة أخرى لينتج مركب ذو لون أصفر غامق درجة انصهاره (-248 251 °م تفحم).

3.2.2 تحضير قواعد شيف (S₁-S₅) بالطريقة الأولى [27]:

أذيت كمية (0.3 غم) من الكاربوكسي مثيل كابتوسان CMCS في (10 مل) من حامض الخليك المخفف 1% (1 مل حامض الخليك في 100 مل ماء مقطر) وتم التحريك لمدة (6 ساعات). أضيف بعدها محلول من الألددهايد المذاب في (15 مل) من الايثانول (الا في حالة استخدام 4-Nitrobenzaldehyde و 4-Nitroactophenone حيث استعمل ثنائي مثيل فورماميد بدل الايثانول) (والمحافظة على pH حامضي للمحلول بحدود 5) بإضافة قطرات من حامض الخليك (2%، 2 مل والمذاب في 100 مل ماء مقطر) وفحص المحلول باستخدام ورق عبادالشمس (Litmus paper) وبعدها تم اجراء التصعيد العكسي (Reflux) لفترات زمنية تتراوح بين (12-40 ساعة) بدرجة حرارة (60-80 °م)، وبعد اتمام التفاعل تم تبريد المحلول الى درجة حرارة الغرفة واطافة قطرات من محلول NaOH بتركيز (1 مولاري) (4 غم من NaOH مذاب في 100 مل ماء مقطر) لغرض معادلة الدالة الحامضية وترسيب الناتج تم بعدها ترشيح الراسب وغسل بالماء المقطر الخالي من الأيونات لعدة مرات حتى يصبح متعادلاً، غسل الناتج لعدة مرات بالإيثانول قبل أن يتم تجفيفه بفرن التجفيف عند درجة حرارة (40 °م). الجدول 1 يوضح أهم الخصائص الفيزيائية لقواعد شيف المحضرة.

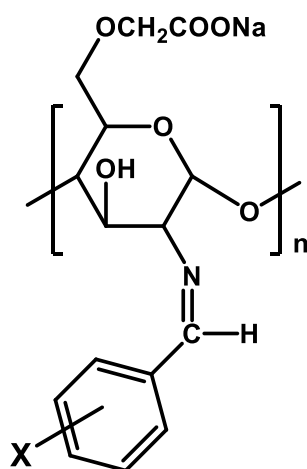


جدول 1: أهم الخصائص الفيزيائية لقواعد شيف (S1-S5).

Compound No.	Benzen Ring Substitution(X)	Chemical formula of repeating unit polymer	Color	M. P.
S ₁	<i>p</i> -Bromo	C ₁₅ H ₁₅ BrNO ₆ Na	White	228-230°C Decomposition
S ₂	<i>o</i> -Hydroxy	C ₁₅ H ₁₆ NO ₇ Na	Deep Yellow	238-240°C Decomposition
S ₃	<i>o</i> -Bromo	C ₁₅ H ₁₅ BrNO ₆ Na	White	230-232°C Decomposition
S ₄	<i>p</i> -Chloro	C ₁₅ H ₁₅ ClNO ₆ Na	Yellow	236-238°C Decomposition
S ₅	<i>p</i> -Nitro	C ₁₅ H ₁₅ N ₂ O ₈ Na	Light Brown	231-234°C Decomposition

2.2.4 تحضير قواعد شيف (S₆-S₇) بالطريقة الثانية [26]:

تمت اذابة (0.5 غم) من الكايتوسان في محلول 2% حامض الخليك (25 مل) في دورق زجاجي، أضيف اليه (20 مل) من الايثانول المطلق. وحرك المزيج لمدة ساعة، ثم ترك المحلول لمدة ساعة أخرى ليتم بعدها اضافة كمية مكافئة من الألددهايد المذاب في (50 مل) من الايثانول المطلق، ثم حرك المزيج عند درجة حرارة (60 °م) لمدة (20 ساعة). تم بعدها اضافة (2.5 غم) من ألفا-كلورو حامض الخليك (α -Chloroacetic acid) والمذاب في (10 مل) من الايثانول المطلق عند درجة حرارة (60 °م) وحرك المزيج لمدة (72 ساعة). برد المزيج بعدها ثم رشح باستخدام ورق الترشيح وجمع الراسب وجفف في فرن التجفيف بدرجة (40 °م). والجدول 2 يوضح أهم الخصائص الفيزيائية لقواعد شيف (S₆-S₇) المحضرة بالطريقة الثانية.



جدول 2 : أهم الخصائص الفيزيائية لقواعد شيف (S₆-S₇).

Compound No.	Benzen Ring Substitution(X)	Chemical formula of repeating unit polymer	Color	M. P.
S ₆	<i>p</i> -N,N-Dimethyl amino	C ₁₉ H ₂₇ N ₂ O ₆ Na	Dark Brown	237-239°C Decomposition
S ₇	<i>p</i> -Bromo	C ₁₅ H ₁₅ BrNO ₆ Na	Yellow	233-235°C Decomposition

2.3 الفعالية البيولوجية :

2.3.1 تحضير عينات البكتيريا لدراسة الفعالية البيولوجية:

تم في هذه الدراسة اختيار نوعين من البكتيريا احدهما سالبة الغرام وهي (*Escherichia coli*) والثانية موجبة الغرام وهي (*Staphylococcus aureus*)، وفي أدناه الطرق العامة لتحضير الأوساط الزرعية لكلا النوعين:

2.3.2 تحضير وسط اكار المولر هنتون:

حضر وسط اكار المولر هنتون حسب تعليمات الشركة المجهزة للأوساط الزرعية وعقم بالمؤصدة عند حرارة 121 م وضغط 15 باوند/انج² لمدة 15 دقيقة.

2.3.3 تحضير وسط المرق المغذي:

حضر وسط المرق المغذي حسب تعليمات الشركة المجهزة للأوساط الزرعية ووضع في انابيب بلاستيكية وعقمت بالمؤصدة عند حرارة 121 م وضغط 15 باوند/انج² لمدة 15 دقيقة.

2.3.4 تنمية العزلات البكتيرية طريقة الانتشار بالحفر (Well diffusion method):

نميت العزلات البكتيرية المرضية قيد الدراسة في الوسط المغذي السائل (Nutrient broth) بدرجة حرارة (37 م) لمدة (18-24) ساعة ثم أجريت عملية تثبيت العدد للبكتيريا قيد الدراسة إلى (10⁸ خلية/ مل)، إذ أجريت سلسلة تخفيفات للبكتيريا المنمأة في الوسط المغذي تراوحت ما بين (10⁻¹ إلى 10⁻¹³) باستعمال أنابيب احتوت على الوسط

المغذي السائل المعقم ومن ثم قورن النمو في الأنابيب مع انابيب حاوية على محلول ماكفرلاند بعد أن ثبت العدد إلى (1.5×10^8) خلية/مل) نقل 100 مايكرو لتر من العالق البكتيري وبحسب طريقة Jin وجماعته [28] إذ تم نشر العالق البكتيري بماسحة قطنية معقمة (swab Cotton) على سطح طبق (Mueller Hinton agar) ثم نقل 100 مايكرو لتر من محلول المركب العضوي المحضر بتركيز (500 جزء من المليون) الى الحفر بقطر 6 ملم بعدها حضنت الأطباق بدرجة 37 م لمدة 24 ساعة، وبعد انتهاء فترة التحضين قيست اقطار التثبيط التي ظهرت حول الحفر بوحدة الملم باستعمال مسطرة، كما تم تكرار التجربة لثلاث مرات [29].

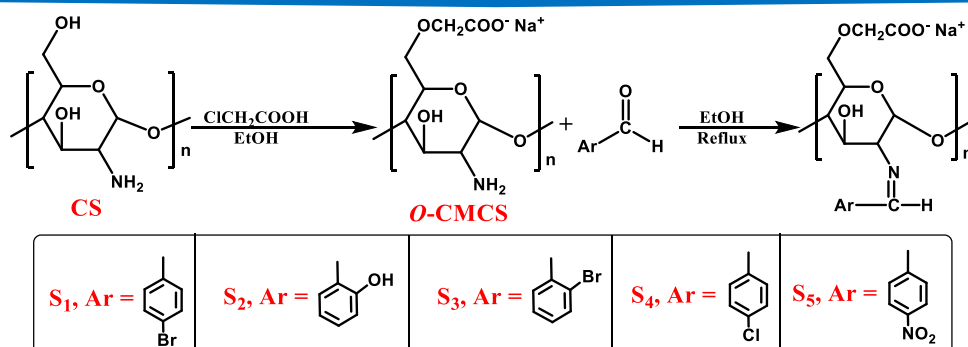
3. النتائج والمناقشة:

تمت تنقية الكايتوسان التجاري المجهز لغرض التأكد من خلوه من مجموعة الأستيل (Deacylated) من خلال مفاعله مع محلول قاعدي من هيدروكسيد الصوديوم (60%) باستخدام التكتيف العكسي ولمدة (5 ساعات). حيث جمع الراسب وغسل بالماء اللاأيوني لحين الوصول الى دالة حامضية متعادلة للحصول على الكايتوسان النقي (CS). تم استخدام الكايتوسان النقي (CS) في الخطوة اللاحقة للحصول على المركب O-كاربوكسي مثيل كايتوسان (O-CMCS). ثم بعد ذلك حضرت قواعد شيف (S₁-S₅) بالطريقة الأولى عن طريق مفاعلة المركب O-كاربوكسي كايتوسان مع الألدهايد الأروماتي المناسب والحامل لتعويض على حلقة البنزين في الموقع أورثو أو بارا، حيث تم استخدام محلول مخفف من حامض الخليك (1%) كعامل مساعد وأذيبت المواد المتفاعلة باستخدام الايثانول المطلق (اما في حالة p-Nitrobenzaldehyde حيث استخدم الـ ثنائي مثيل فورماميد كمذيب بدلاً من الايثانول) واستخدمت طريقة التصعيد لإتمام التفاعل بدرجات حرارية تتراوح بين (60-80°م).

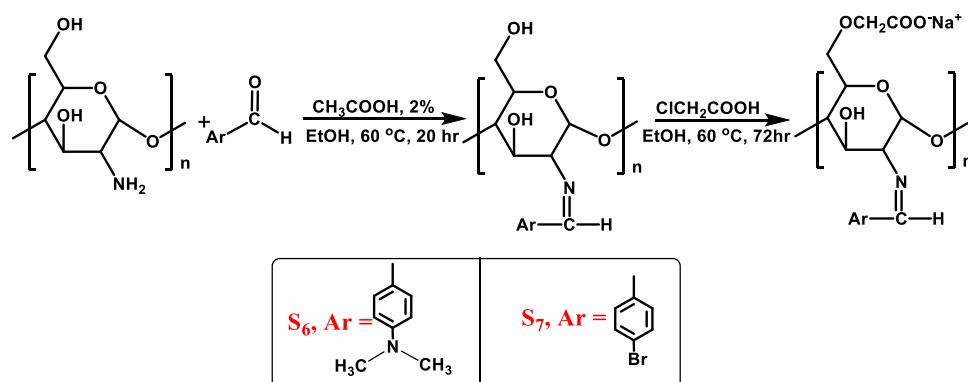
وتختلف قواعد شيف (S₆-S₇) المحضرة بالطريقة الثانية عن الطريقة السابقة كونها تعتمد على مفاعلة الكايتوسان الخالي من مجموعة الأستيل مع محلول حامضي لحامض الخليك (2%) باستخدام الايثانول المطلق كمذيب. ليتم بعدها إضافة كميات مكافئة من الألدهايد والمذاب أيضاً في الايثانول المطلق. ولتجنب تفكك قواعد شيف الناتجة، تمت المحافظة على درجة الحرارة بحدود (60°م). أضيف بعد ذلك ألفا-كلورو حامض الخليك والمذاب ايضاً في الايثانول

المطلق لغرض اضافة مجموعة الكربوكسي مثل الى مجموعة الهيدروكسيل الطرفية وتم تصعيد المزيج لمدة (72 ساعة) تم بعدها تبريد المزيج وترشيحه ثم جمع الراسب وجفف في فرن التجفيف.

تم اتباع الطريقة الثانية في تحضير مركبين من قواعد شيف للكربوكسي مثل كاييتوسان أحدهما المركب (S_6) بسبب عدم الحصول على نتائج منه باستخدام الطريقة الأولى، أما المركب الثاني (S_7) فقد تم تحضيره بهذه الطريقة لغرض المقارنة من خلال نتائج جدول أطياف الأشعة تحت الحمراء (FT-IR) مع المركب (S_1) المحضر بالطريقة الأولى. والسبب الآخر الذي جعلنا نستخدم الطريقة الثانية هو أن الطريقة الأولى قد تم التطرق إليها في الأدبيات مع بعض مركبات الكربونيل الأخرى، حيث تم ملاحظة أن حزم الأشعة تحت الحمراء بالنسبة للمركب (S_7) هي قريبة من حزم المركب (S_1) المحضر بالطريقة الأولى. إذ أظهرت أطياف الأشعة تحت الحمراء للمركب (S_7) حزم امتصاص لمجموعة الملح الكربوكسيلي (COO^-) في المنطقة ($1417cm^{-1}$) وتعود للمط المتناظر لهذه المجموعة و ($1585cm^{-1}$) التي تعود للمط غير المتناظر. وهي قريبة من حزم المركب (S_1) و المحضر بالطريقة الأولى والذي ظهرت فيه حزم امتصاص لمجموعة الملح الكربوكسيلي (COO^-) في المنطقة ($1408cm^{-1}$) وتعود للمط المتناظر لهذه المجموعة و ($1587cm^{-1}$) التي تعود للمط غير المتناظر. أما مجموعة الايمين بالنسبة للمركب (S_7) المحضر بالطريقة الثانية فقد ظهرت في المنطقة ($1651cm^{-1}$) وهي قريبة من حزم المركب (S_1) المحضر بالطريقة الأولى الذي ظهرت فيه مجموعة الايمين في المنطقة ($1637cm^{-1}$). بالنسبة لمجموعة ($C=C$ -) للحلقة الأروماتية في المركب (S_1) المحضر بالطريقة الأولى فقد ظهرت حزمة امتصاص في المنطقة ($1612cm^{-1}$) مقارنة بحزمة الامتصاص للمركب (S_7) الذي ظهرت فيه حزمة ($C=C$ -) في المنطقة ($1560cm^{-1}$). بالنسبة للون المركبات فقد ظهر الناتج النهائي للمركب (S_1) المحضر بالطريقة الأولى بلون أبيض، فيما ظهر الناتج النهائي للمركب (S_7) والمحضر بالطريقة الثانية باللون الأصفر. كما تمت مقارنة درجة الانصهار للمركبين (S_1) و (S_7) و وجد بأن المركب (S_1) يتقحم بدرجة (228-230 °م)، في حين وجد أن درجة التقحم للمركب (S_7) هي (233-235 °م). والمخططات (1) و (2) في أدناه تبين قواعد شيف المحضرة بالطريقتين الأولى والثانية.



مخطط 1: تحضير قواعد شيف (S₁-S₅) المحضرة بالطريقة الأولى من المركب (O-CMCS).



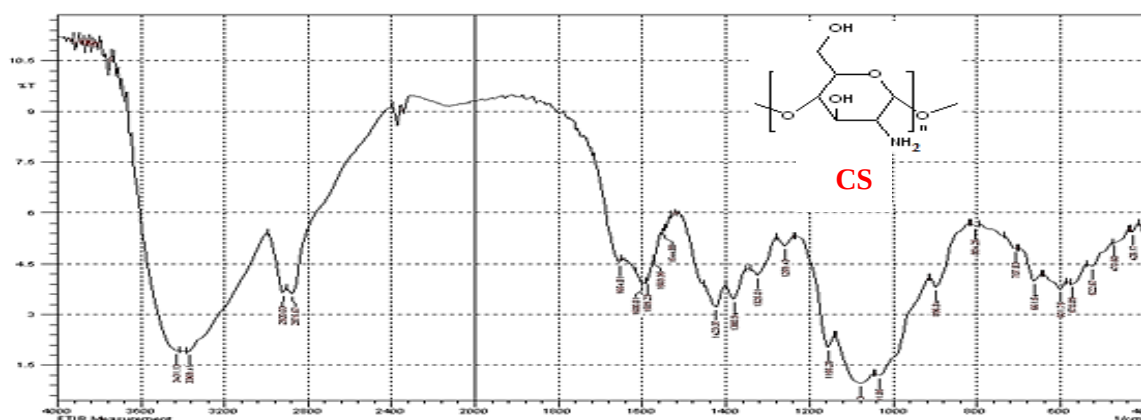
مخطط 2: تحضير قواعد شيف (S₆-S₇) المحضرة بالطريقة الثانية من الكايتوسان (CS).

3.1 تشخيص المركبات المحضرة:

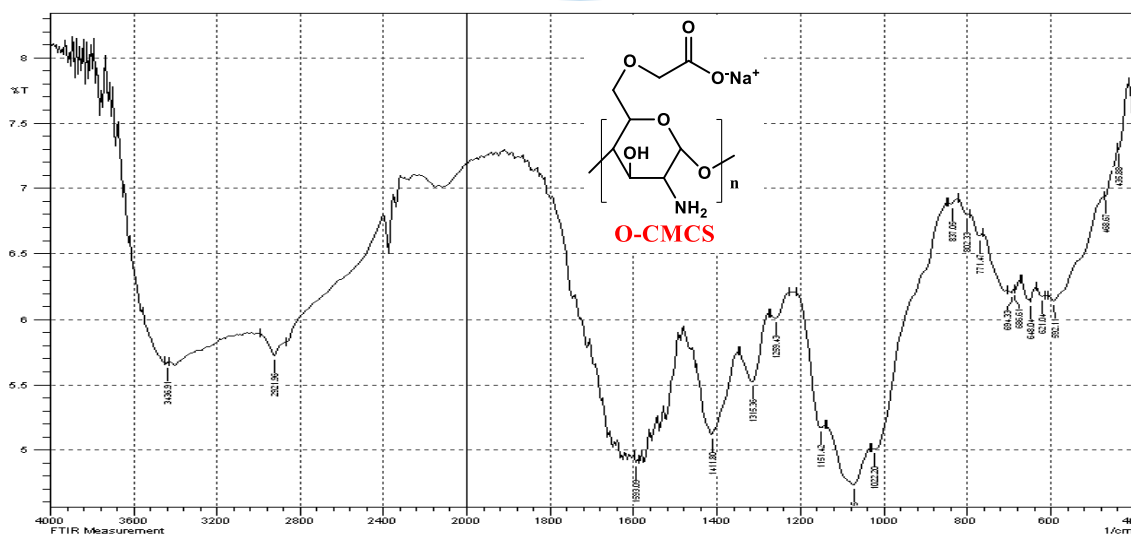
يوضح طيف الأشعة تحت الحمراء لمركب الكايتوسان (CS) في الشكل 1 أن مجاميع (CH₂) الميثيلينية أظهرت حزمة في المنطقة (2930cm⁻¹) والعائدة الى المط غير المتناظر وكذلك وجود الحزمة العريضة في المنطقة (3256cm⁻¹) التي تعود لمجموعة الهيدروكسيل (-OH) المتأصرة هيدروجينياً وكذلك ظهور حزمة عريضة في المنطقة (3417cm⁻¹) والتي تشير الى اهتزاز المط لمجموعة الأمين (NH₂) المتأصرة هيدروجينياً والتي تكون مندمجة مع حزمة (-OH) وسبب التأصر هو الارتباط الهيدروجيني الضمني أو البيني للمجاميع المستقطبة على سلاسل البوليمر. مع ضعف شدة الحزمة التابعة لانحاء مجموعة (CH₃) في المنطقة (1433cm⁻¹) وكذلك حزمة عند المنطقة (1623cm⁻¹) اللتان

تشير إلى نقصان عدد مجاميع الأستيل من سلاسل البوليمر للكايتوسان وظهور حزمة انحناء مجموعة (-NH_2) عند حوالي (1600cm^{-1}) كدلالة على تكوين المركب (CS).

أما طيف الأشعة تحت الحمراء لمركب *O*-كاربوكسي مثيل كاييتوسان (*O*-CMCS) فقد أظهر مجموعة من الحزم الرئيسية وهي حزمة مط مجموعة (-OH) و (-NH_2) في المنطقة ($3400\text{--}3200\text{cm}^{-1}$) كحزمة عريضة وحزمة مط (C-H) في المنطقة (2921cm^{-1})، بالإضافة إلى حزم انحناء مجموعة (N-H) في المنطقة (1593cm^{-1}) وحزمة مط مجموعة (C-N) في المنطقة (1315cm^{-1}) وحزمة (C-O-C) الجسرية في المنطقة (1151cm^{-1}). الطيف أوضح أيضاً مجموعة (COO^-) وعلى شكل حزمتين عند (1593cm^{-1}) تعود إلى المط غير المتناظر والمتداخل مع انحناء مجموعة (-NH_2) عند حوالي (1600cm^{-1})، وحزمة أخرى تعود للمط المتناظر لـ (COO^-) عند (1600cm^{-1}). وقد ظهرت زيادة بتردد الحزم في المنطقة (1315cm^{-1}) التي تعود لمط مجموعة (-C-N) لمركب الكاربوكسي مثيل كاييتوسان (*O*-CMCS) مقارنة بمركب الكاييتوسان (CS) الذي ظهرت فيه هذه الحزمة في المنطقة (1325cm^{-1}) [12, 30].



شكل 1: طيف الأشعة تحت الحمراء للكايتوسان (CS).



شكل 2: طيف الأشعة تحت الحمراء لمركب O-كاربوكسي مثيل كاييتوسان (O-CMCS).

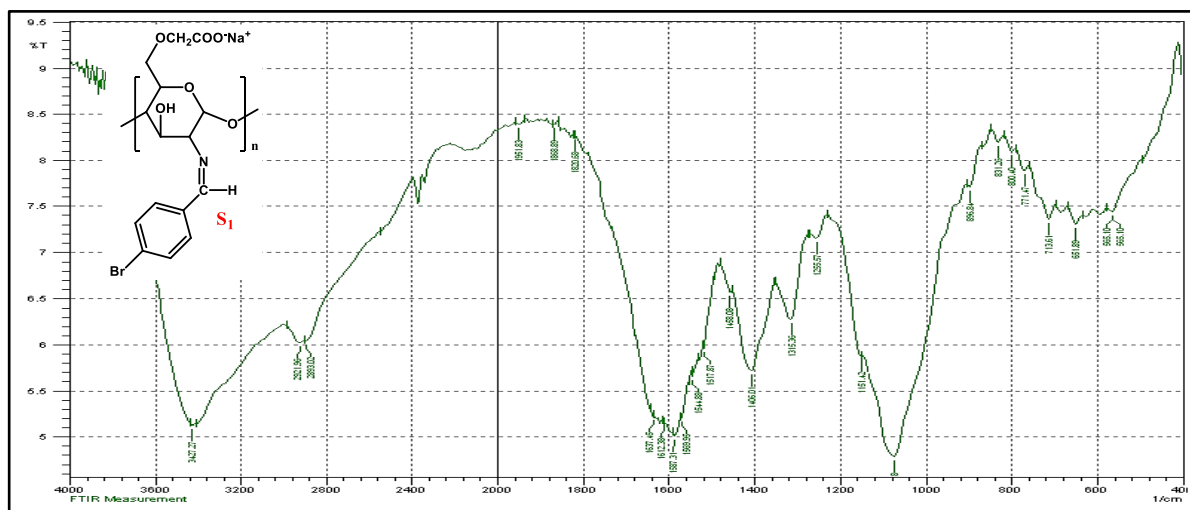
مناقشة أطياف الأشعة تحت الحمراء لقواعد شيف المحضرة تم اختيار المركبات (S₂) و (S₃) لكونهما يحتويان على مجاميع معوضة مختلفة على الحلقة الأروماتية المجاورة لمجموعة الأزوميثين (-CH=N-) على التوالي. حيث أظهر كل من المركبين (S₂) و (S₃) حزم امتصاص لمجموعة الهيدروكسيل (-OH) في الكاييتوسان (CS) ومجموعة (-OH) الفينولية في المركب (S₂) في المنطقة الممتدة بين (3440cm⁻¹) و (3014cm⁻¹) على التوالي، ويعزى هذا الى تكوين الأواصر الهيدروجينية عن طريق مجموعة الكاربوكسيل. بينما أظهرت هذه المركبات حزم المط لـ (C-H) في المنطقة (2825cm⁻¹) و (2921cm⁻¹) بنوعها المتناظر وغير المتناظر على التوالي. وظهرت حزمة المط لمجموعة الأزوميثين (-C=N-) لكلا المركبين في المنطقة (1640 cm⁻¹) و (1676 cm⁻¹) على التوالي. بالنسبة لحزمة (C-O-C) الجسرية فقد ظهرت في المنطقة (1153cm⁻¹) و (1122cm⁻¹) للمركبات (S₂) و (S₃) على التوالي. وأظهر المركب (S₃) لوحده حزمة في المنطقة (837cm⁻¹) والتي تعود لانحناء مجموعة (C-H) لحلقة البنزين المعوضة في المواقع 1 أو 4 [31]. تجدر الملاحظة الى أن الحزمة (2365 cm⁻¹) في المركب (S₆) و الحزمة (2363 cm⁻¹) في المركب (S₇) تعودان لامتصاص مجموعة (CO₂) في جو غرفة القياس، وأظهرت قواعد شيف المتبقية مجموعة من حزم الامتصاص وكما هو موضح في الأشكال 3-9 الجدول 3 يوضح امتصاص الأشعة تحت الحمراء لقواعد شف (S₁-S₇).

جدول 3: حزم امتصاص الأشعة تحت الحمراء لقواعد شيف المحضرة (S₁-S₇).

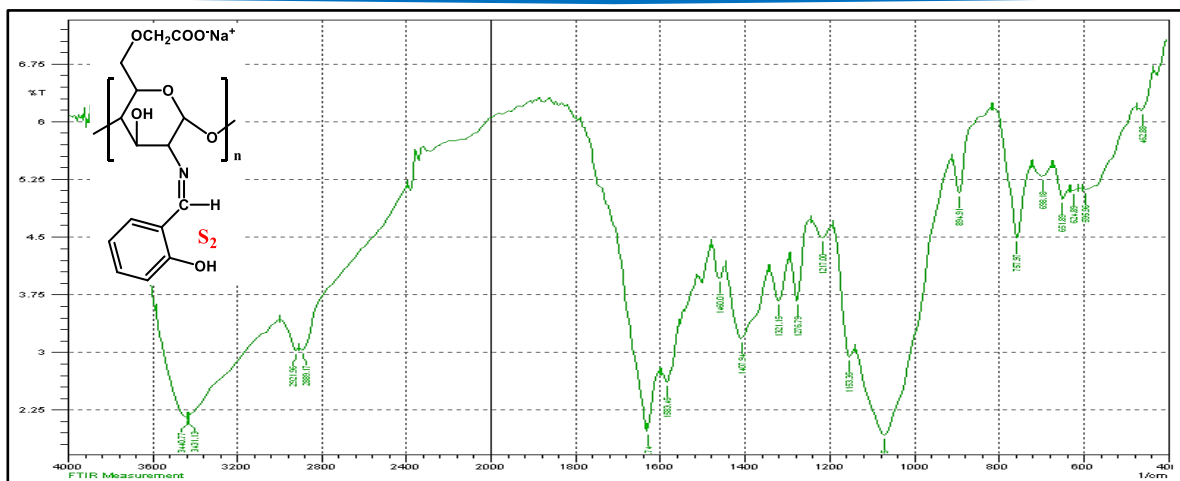
Compound No.	ν (C-H) cm ⁻¹	ν (C=N) cm ⁻¹	ν (COO ⁻) cm ⁻¹	ν (C-O) cm ⁻¹	ν Others cm ⁻¹
S ₁	2921 m	1637 s	1408 m + 1587 s	1075 s,br	Ar. Disub. 1,4- 831
S ₂	2921 m	1640 s	1407 m + 1565 s	1075 s,br	----
S ₃	2825 m	1676 s,br	1413 m + 1582 s	1122 m,sh	Ar. Sub. 1,2- 837
S ₄	2921 m	1641 s	1407 m + 1591 s	1078 s,br	----
S ₅	2923 m	1638 s,sh	1401 m	1072 s,br	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{---N=O} \end{array}$ 1345 sym. + 1552 assym.
S ₆	2921 m	1623 m	1405 m + 1598 s	1070 m	C-N 1247 w
S ₇	2921 m	1651 m	1417 m + 1585 s	1075 m	C-Br 833 m

s=strong band, m=medium band, w=weak band, sh=sharp band, br=broad band. حيث أن:

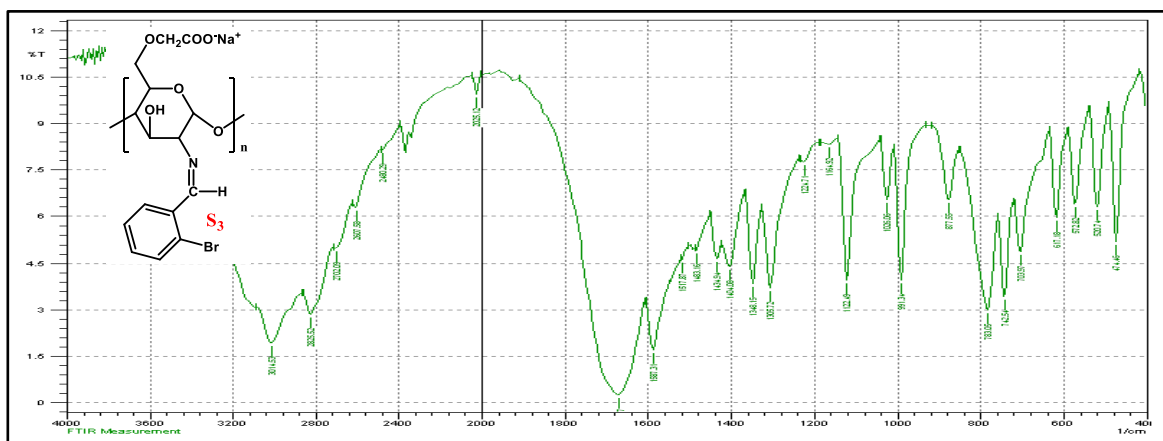
Sym.= symmetric, Assym. = asymmetric, Ar. Sub. = aromatic substitution, Ar. Disub. = aromatic substitution.



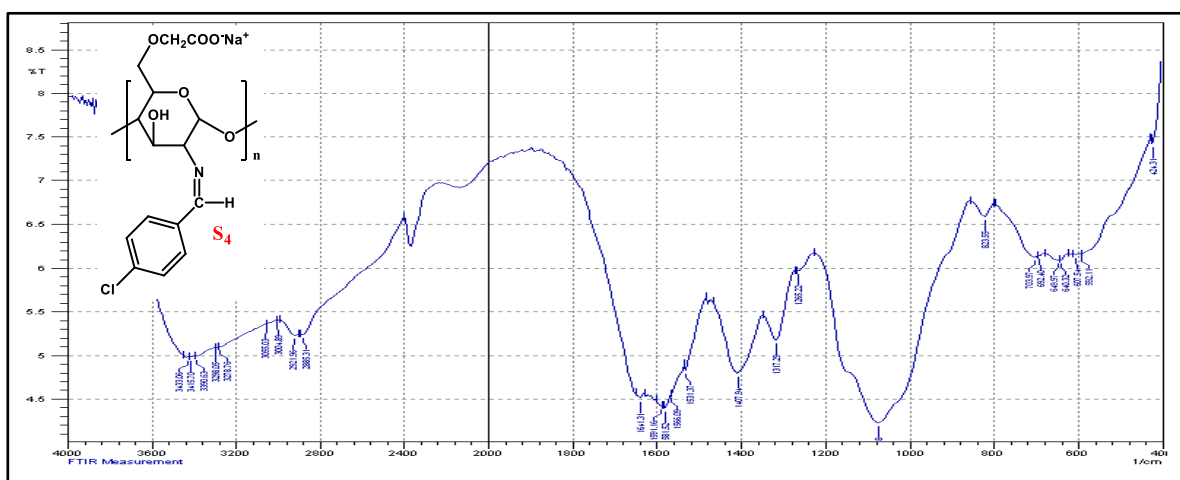
شكل 3: طيف الأشعة تحت الحمراء للمركب (S₁).



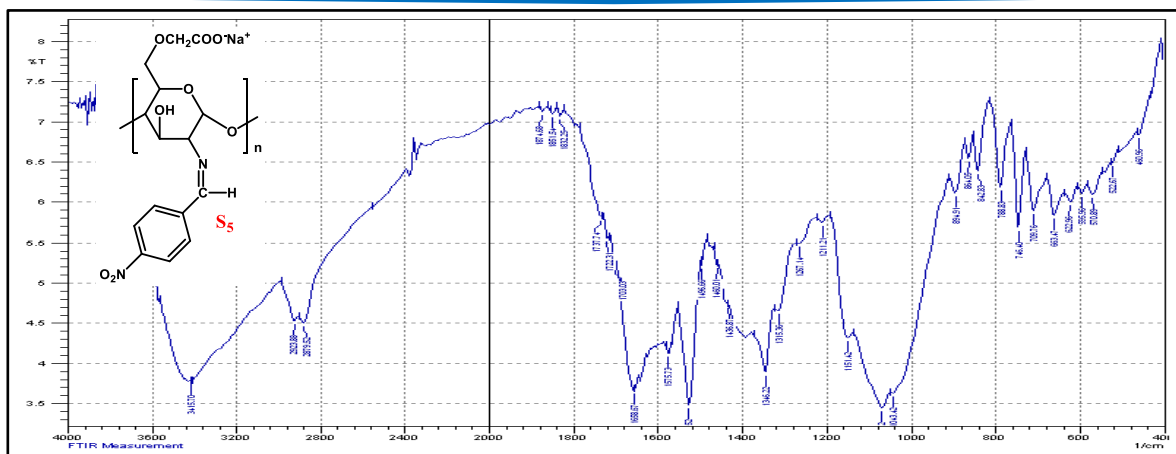
شكل 4: طيف الأشعة تحت الحمراء للمركب (S₂).



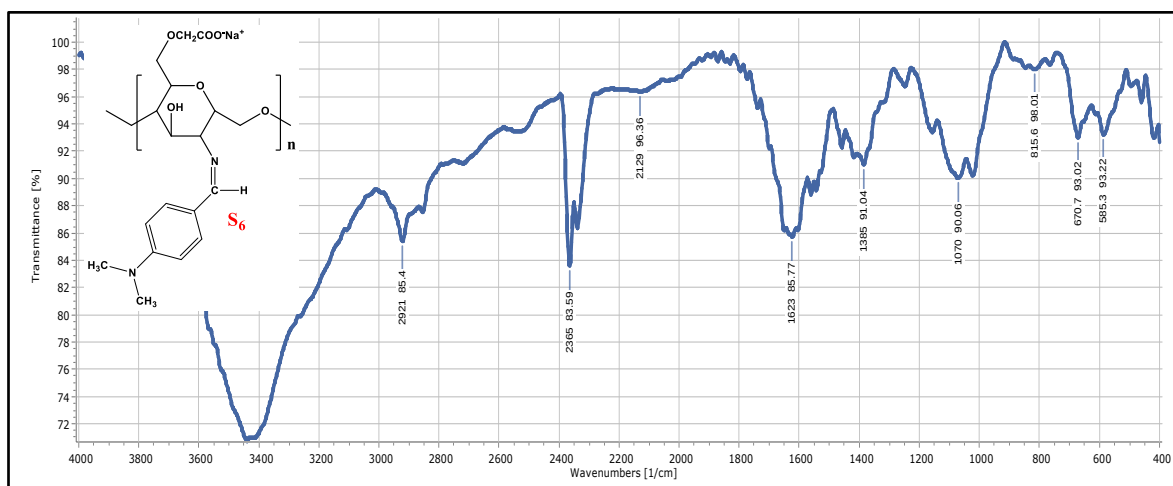
شكل 5: طيف الأشعة تحت الحمراء للمركب (S₃).



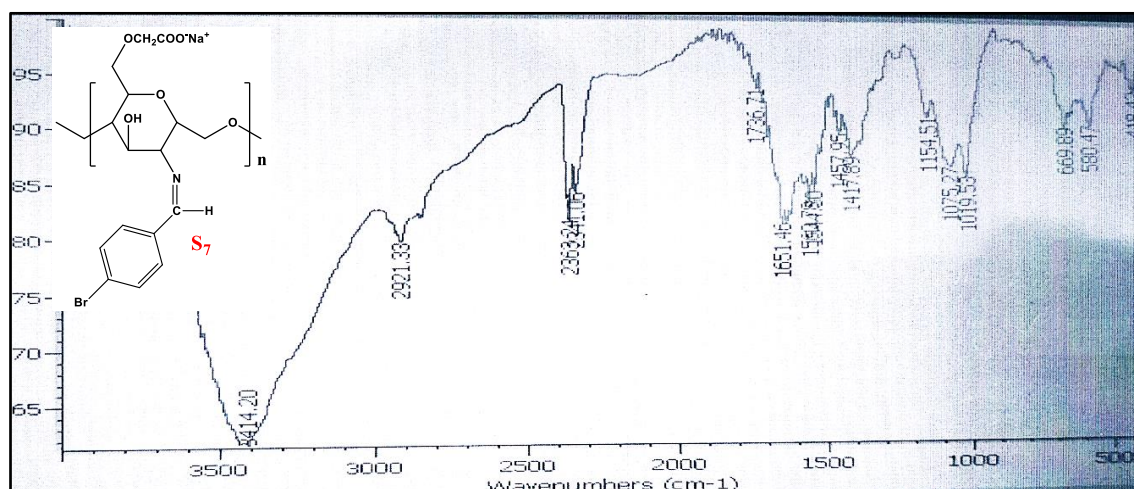
شكل 6: طيف الأشعة تحت الحمراء للمركب (S₄).



شكل 7: طيف الأشعة تحت الحمراء للمركب (S₅).

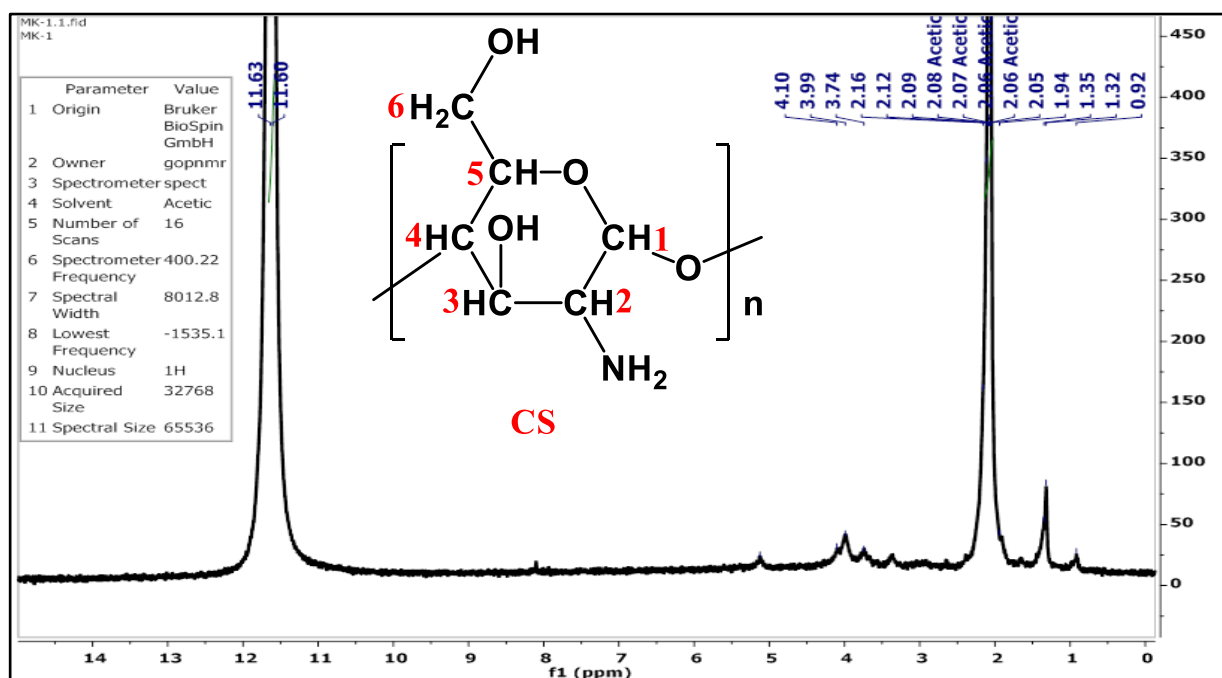


شكل 8: طيف الأشعة تحت الحمراء للمركب (S₆).



شكل 9: طيف الأشعة تحت الحمراء للمركب (S₇).

أظهر طيف الرنين النووي المغناطيسي للكايتوسان (CS) الشكل 10 إشارة عند الازاحة الكيميائية (5.13ppm) والتي تعود الى H^1 وإشارة عند (3.4ppm) والتي تعود الى البروتون (2) وإشارتين متجاورتين عند (3.7ppm) و (4.1ppm) والتي تعود الى البروتونات (3، 4، 5، و 6). ووجد أن الطيف يخلو من حزمة (CH_3) للأمايد والتي تظهر عند (2.5ppm) بسبب التأثير الساحب للأمايد. وأظهر الطيف إشارة عند (1.4ppm) تعود لمجموعة NH_2 [32 ، 33]. تجدر الإشارة الى ظهور إشارة قوية في المنطقة بين (11.3 ppm) و (11.6 ppm) والتي تعود الى بروتونات مجموعتي الهيدروكسيل في الكايتوسان ($-OH$) وبروتون مجموعة الكربوكسيل للمذيب المستخدم (CD_3CO_2D).



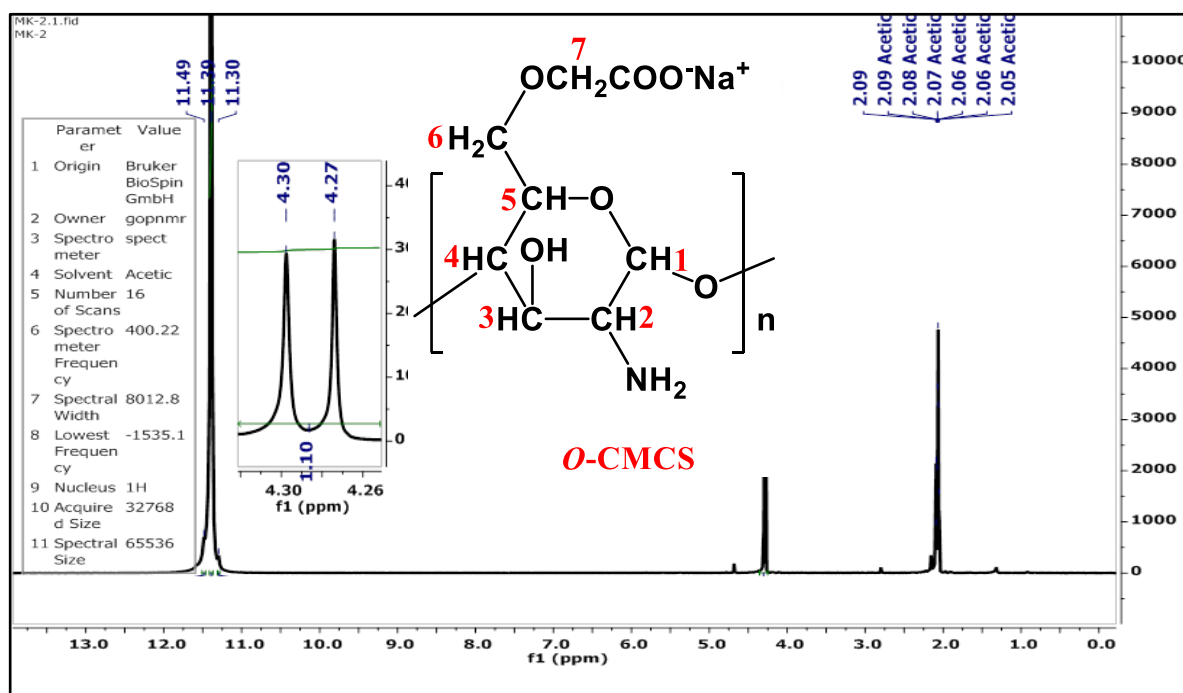
شكل 10: طيف الرنين النووي المغناطيسي للمركب (CS).

كما أظهر طيف الرنين النووي المغناطيسي للكربوكسي مثيل كاييتوسان (O -CMCS) الشكل 11 إشارة عند (4.6ppm) تعود الى البروتون (1) وإشارتين عند (4.27ppm) و (4.30ppm) تعودان الى مجموعتي المثلين المتمثلة بالبروتونات (6 و 7) على التوالي. وهناك إشارتين ضعيفتين عند (2.09ppm) و (2.8ppm) تعود الى بروتونات حلقة الكايتوسان ولم يتم تشخيصها بوضوح وربما يعود الى ذوبانية البوليمر الشحيحة في المذيب.

ومن الجدير بالذكر أن عملية الاستبدال مع المثلث كاربوكسيل قد حدثت عند ذرة الأوكسجين وليس النيتروجين بالنظر

لغياب الإشارة عند (3.2ppm) في الطيف والتي تشير الى ان الاستبدال قد حدث عند ذرة الأوكسجين وليس النيتروجين

[35, 34].



شكل 11: طيف الرنين النووي المغناطيسي للمركب (O-CMCS).

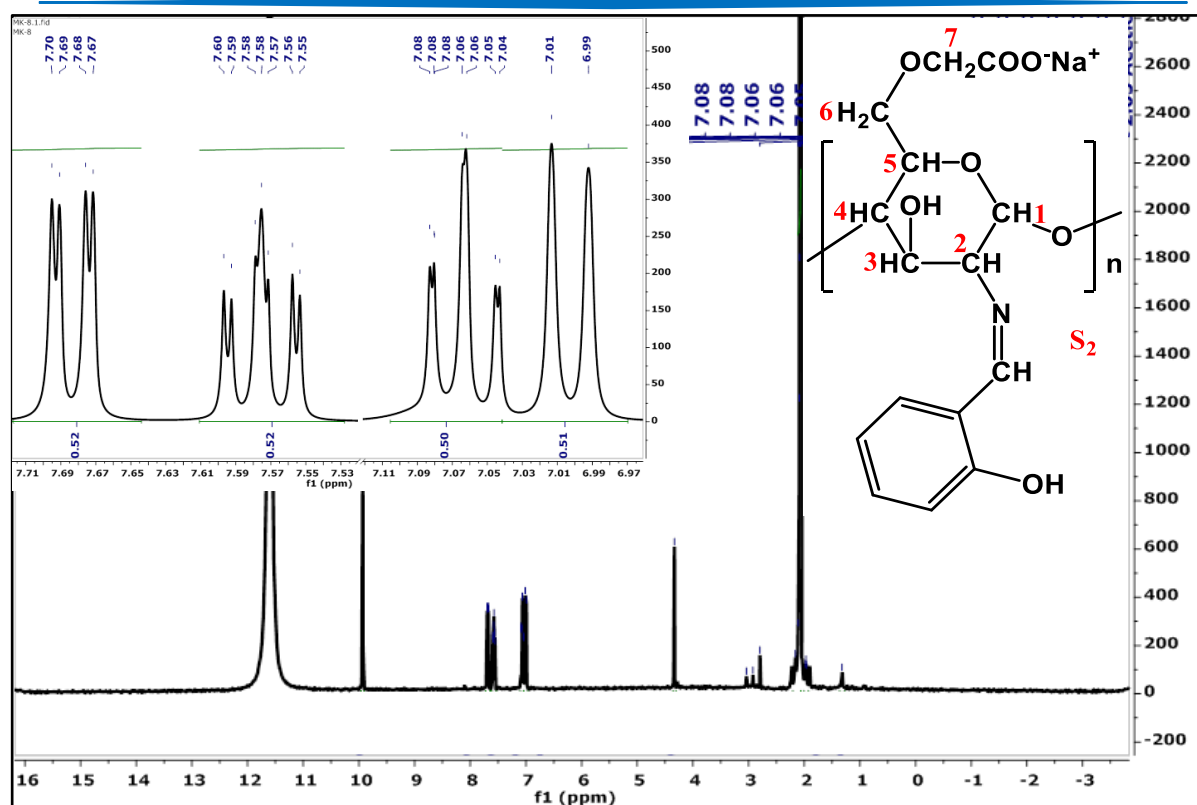
أظهر طيف الرنين النووي المغناطيسي لقاعدة شيف للكاربوكسي مثل كايوتوسان الحاوية على 2-هيدروكسي بنزين

(S₂) الشكل 12 إشارة عند (4.33ppm) تعود الى مجموعتي المثلثين، أما بروتونات حلقة البنزين فقد أوضحت ثلاثيتين

(triplets) وثلاثيتين (doublets) لبروتونات الحلقة محصورة بين (7.01-7.7ppm).

أما الإشارة عند (9.93ppm) فتعود الى C-H لمجموعة الأزوميثين. أما مجموعة (O-H) للفينول فمحتمل انها

اندمجت مع حزمة (CO₂D-) للمذيب [36].

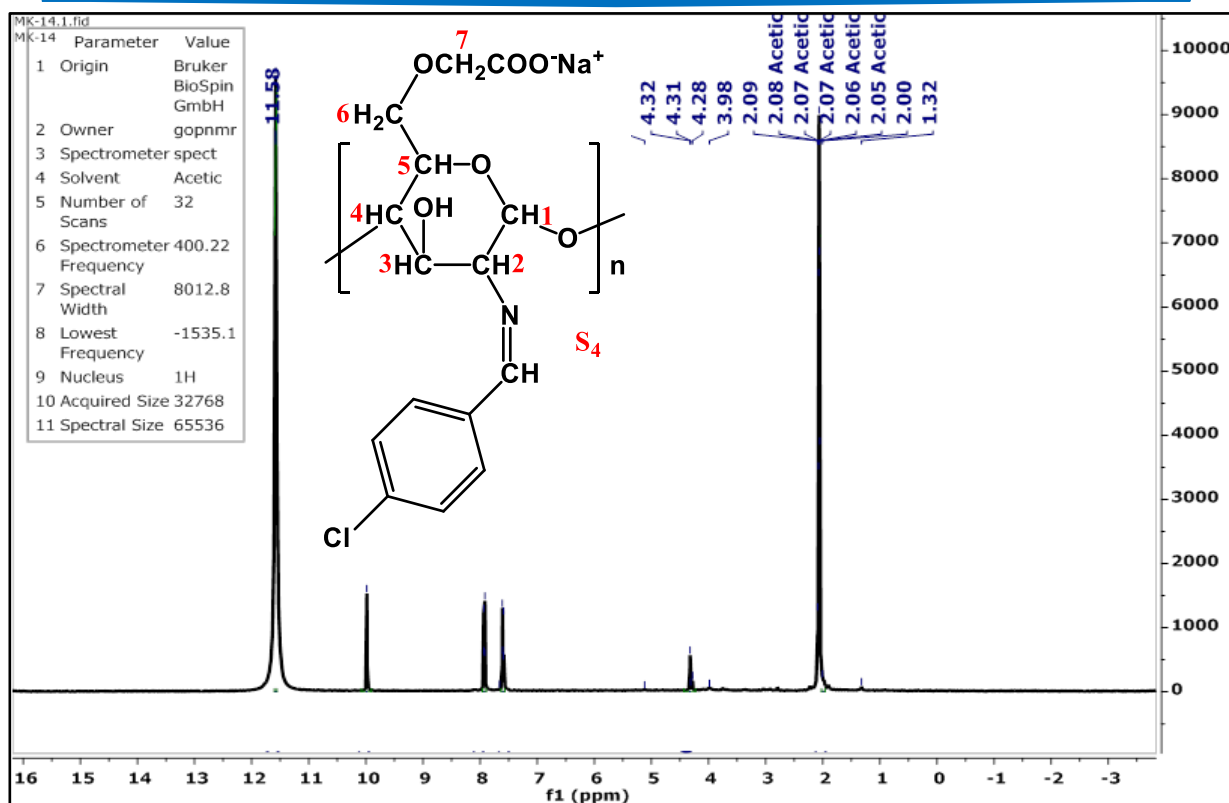


الشكل 12: طيف الرنين النووي المغناطيسي للمركب (S₂).

أظهر طيف الرنين النووي المغناطيسي لقاعدة شيف للكربوكسي مثيل كاييتوسان الحاوية على بارا-كلورو بنزين (S₄) الشكل 13 إشارة عند (5.1ppm) تعود الى البروتون (1) وإشارتين عند (4.31ppm) و (4.32ppm) تعودان الى مجموعتي المثلين. وإشارتين ضعيفتين عند (3.98ppm) و (4.28ppm) تعودان الى بروتونات حلقة الكاييتوسان والتي لم يتمكن من تحليلها بالتفصيل بسبب الذوبانية.

هناك إشارتان ثنائيتان (doublets) عند (7.61ppm) و (7.93ppm) تعودان الى بروتونات حلقة البنزين. أما

الإشارة الأخيرة عند (9.98ppm) فتعود الى بروتون مجموعة الأزوميثين.



شكل 13 : طيف الرنين النووي المغناطيسي للمركب (S₄).

3.2 التحليل الحراري الوزني التفاضلي (DTA) Differential Thermogravimetric Analysis

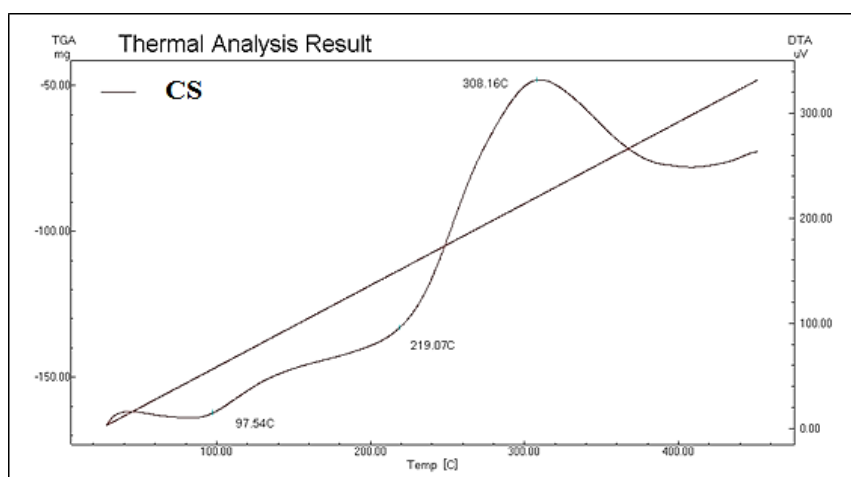
تم قياس التحليل الحراري الوزني التفاضلي للكايتوسان وبعض مشتقات O-كاربوكسي مثيل كايوتوسان المحضرة والمتمثلة بـ (CS) و (O-CMCS) و (S₂) و (S₄) باستخدام تقنية DTA لملاحظة الثبات الحراري لهذه المركبات تجاه زيادة درجات الحرارة وبمعدل (10 °C/min). حيث أظهرت المركبات قيد الدراسة تحللاً حرارياً وعلى مرحلتين (Two-step degradation) تحت تأثير درجات الحرارة كما أظهرت نتائج التحليل الحراري التفاضلي (DTA) ثلاثة حالات مهمة لكل المركبات التي تم اجراء القياس لها الحالتان الأولى والثانية تكونان ماصتين للحرارة (Endothermic)، وتعزى هذه الحالات الى فقدان جزيئات الماء من جزيئات البوليمر أما الحالة الثالثة فهي باعثة للحرارة (Exothermic)، ويعزى سببها الى احتراق السلاسل البوليمرية ويعقبه التحلل (Decomposition). ونتائج التحليل الحراري التفاضلي (DTA) جاءت مطابقة لتلك الموجودة في نتائج التحليل الحراري الوزني التفاضلي (DTA) الموجودة في الأدبيات [33، 37].

والجدول 4 في أدناه يوضح أهم البيانات الواردة في نتائج التحليل الحراري الوزني للمركبات التي تمت دراستها [38].

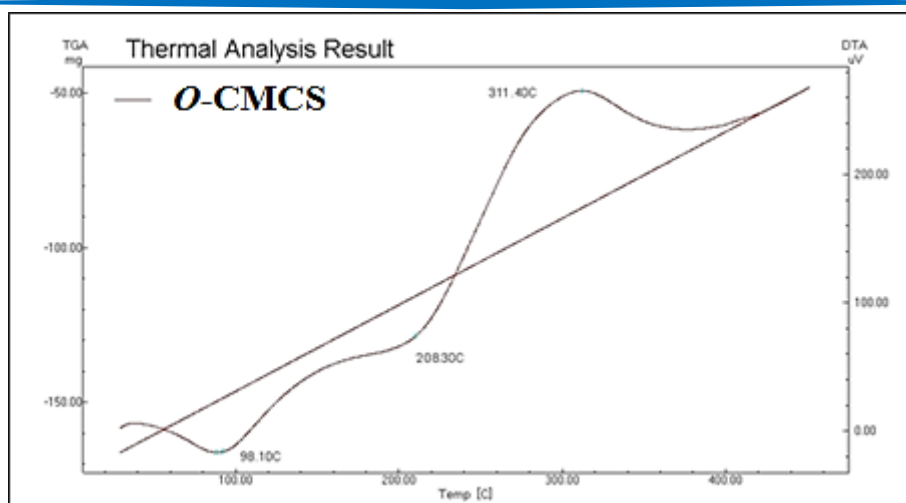
جدول 4 : بيانات التحليل الحراري الوزني للمركبات التي تمت دراستها.

Sample	Process (N ₂ Atmosphere)	DTA
		Temperature Peak (°C)
CS	Dehydration	97.54 (Endo)
	1 st step	219.07 (Endo)
	2 nd step	308.16 (Exo)
O-CMCS	Dehydration	98.10 (Endo)
	1 st step	208.30 (Endo)
	2 nd step	311.40 (Exo)
S ₂	Dehydration	98.81 (Endo)
	1 st step	199.94 (Endo)
	2 nd step	304.92 (Exo)
S ₄	Dehydration	96.90 (Endo)
	1 st step	210.41 (Endo)
	2 nd step	303.18 (Exo)

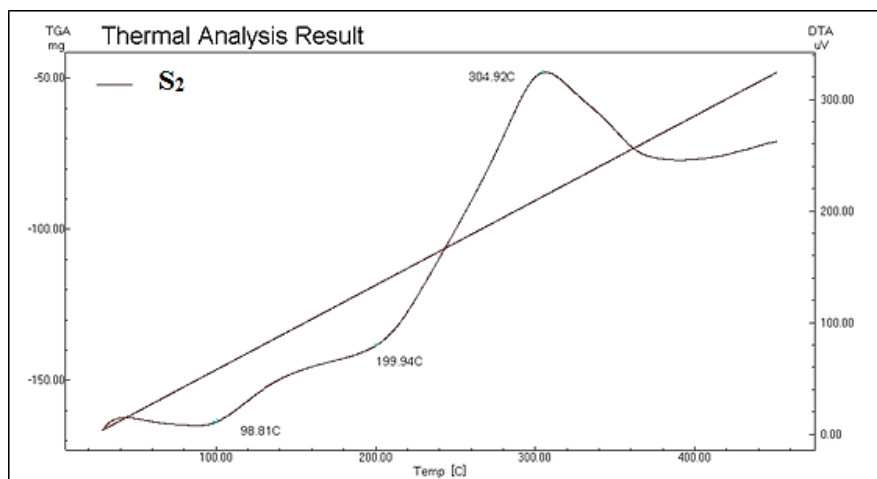
يتضح من الجدول 4 والأشكال 12 الى 15 بأن المركب (O-CMCS) يمتلك ثباتاً حرارياً عالياً بدرجة تفكك بلغت (311.40°م) مقارنة ببقية المركبات التي تم اجراء القياس لها. يليه في ذلك المركب (CS) الذي كانت أعلى درجة تفكك له (308.16°م). أما بقية المركبات فقد تراوحت درجات التفكك فيها من (303.18 الى 304.92°م) قد يعزى ذلك الى نوعية البوليمر المستخدم في هذه العينات كون بعضها حاوي على حلقات أروماتية معوضة أو غير معوضة.



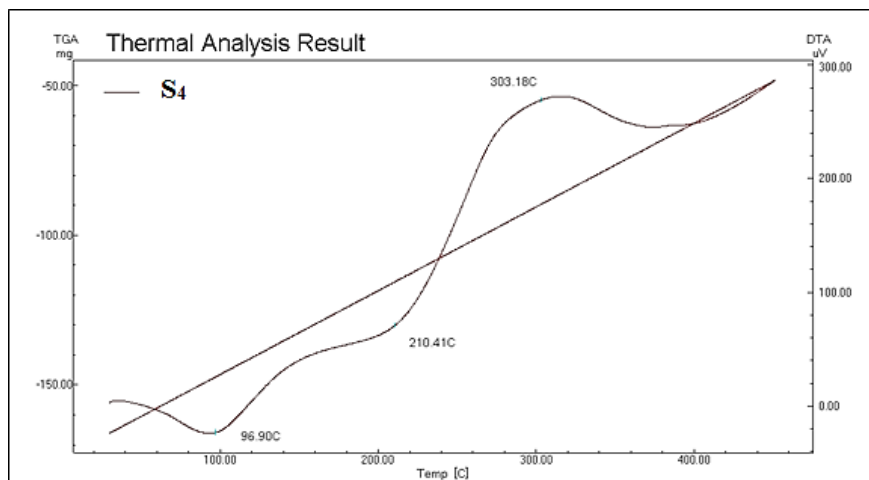
شكل 14: التحليل الحراري التفاضلي للمركب (CS).



شكل 15: التحليل الحراري التفاضلي للمركب (O-CMCS).



شكل 16: التحليل الحراري التفاضلي للمركب (S₂).



شكل 17: التحليل الحراري التفاضلي للمركب (S₄).

3.3 الفعالية البيولوجية Biological Activity

تم تقييم أداء بعض المركبات المحضرة والمتمثلة بـ (CS)، (O-CMCS)، (S₁)، (S₅) تجاه تثبيط نوعين من البكتيريا أحدهما سالبة الغرام وهي (*Escherichia coli*) والثانية موجبة الغرام وهي (*Staphylococcus aureus*)، حيث أكدت الدراسات أن المركبات المشتقة من الكايتوسان والكاربوكسي مثيل كايتوسان لها القدرة على تثبيط نمو بعض أنواع البكتيريا إضافة إلى استخداماتها الحياتية المتعددة [39، 40].

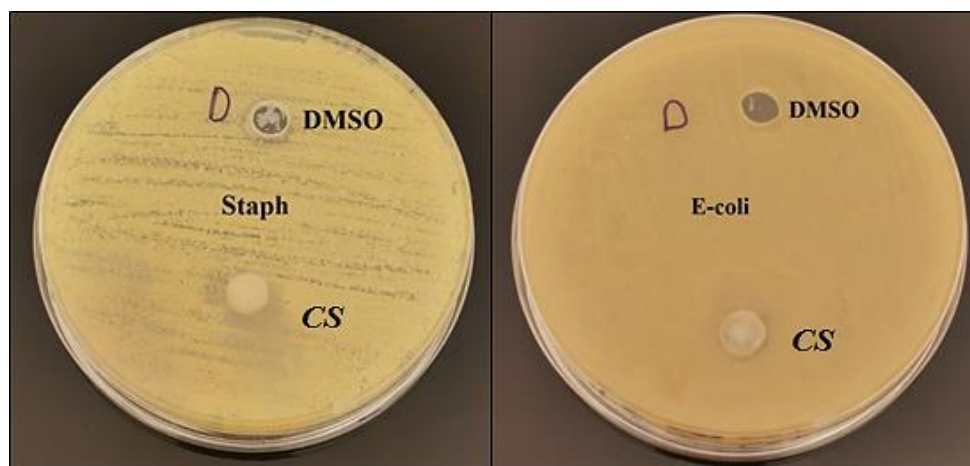
في هذا البحث، تمت دراسة القدرة التثبيطية للمركبات أعلاه على نمو البكتيريا من نوع (*Escherichia coli*) و البكتيريا من نوع (*Staphylococcus aureus*) وبتركيز (500 جزء من المليون). وكما هو موضح في الجدول 5 في أدناه.

جدول 5: نتائج النسبة المئوية لتثبيط البكتيريا باستخدام بعض المركبات المحضرة.

Compound code	Inhibition %	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>
CS in DMSO	11	0
O-CMCS in (1% HCl)	24	13
S ₁ in (1% HCl)	0	18
S ₅ in (1% HCl)	12	16

من الجدول 5 في أعلاه، يمكن ملاحظة أن الفعالية التثبيطية للمركبات (CS)، (O-CMCS)، (S₁)، (S₅) تجاه بكتيريا (*Staphylococcus aureus*) كانت بنسبة (11%) للمركب (CS) والمذاب في (DMSO). وأن نسبة التثبيط للمركب (O-CMCS) والمذاب في (HCl) كانت (24%) وهي الأعلى من بين كل الفعاليات التثبيطية للمركبات. ونسبة التثبيط للمركب (S₅) والمذاب في (HCl) كانت (12%). ولم يظهر المركب (S₁) و أي فعالية تثبيطية تجاه هذا النوع من البكتيريا. أما بالنسبة للفعالية التثبيطية للمركبات (O-CMCS)، (S₁)، (S₅) تجاه بكتيريا (*Escherichia coli*) فقد كانت بنسبة (13%) للمركب (O-CMCS) والمذاب في (DMSO). وأن نسبة التثبيط للمركب (S₁) والمذاب في

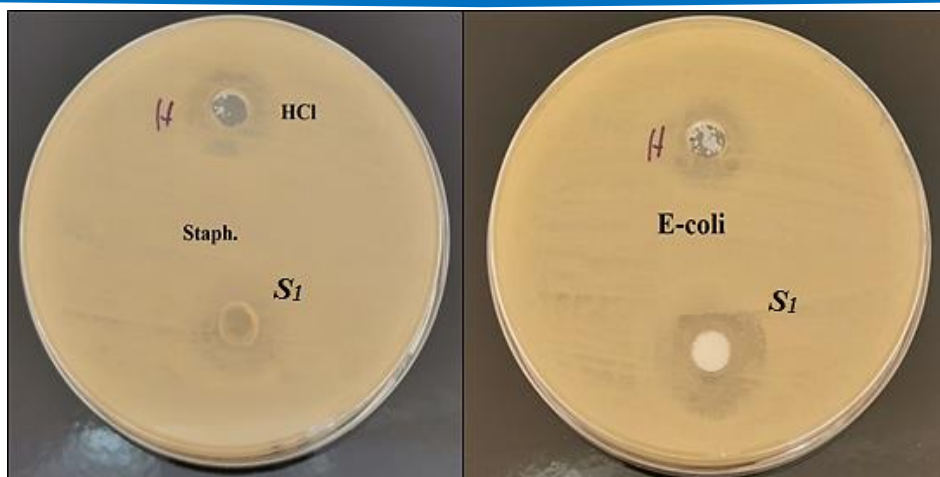
(HCl) كانت (18%). ونسبة التثبيط للمركب (S_5) والمذاب في (HCl) كانت (16%). ولم يظهر المركب (CS) أي فعالية تثبيطية تجاه هذا النوع من البكتيريا. الأشكال الموضحة في أدناه توضح تثبيط انواع البكتيريا المستخدمة.



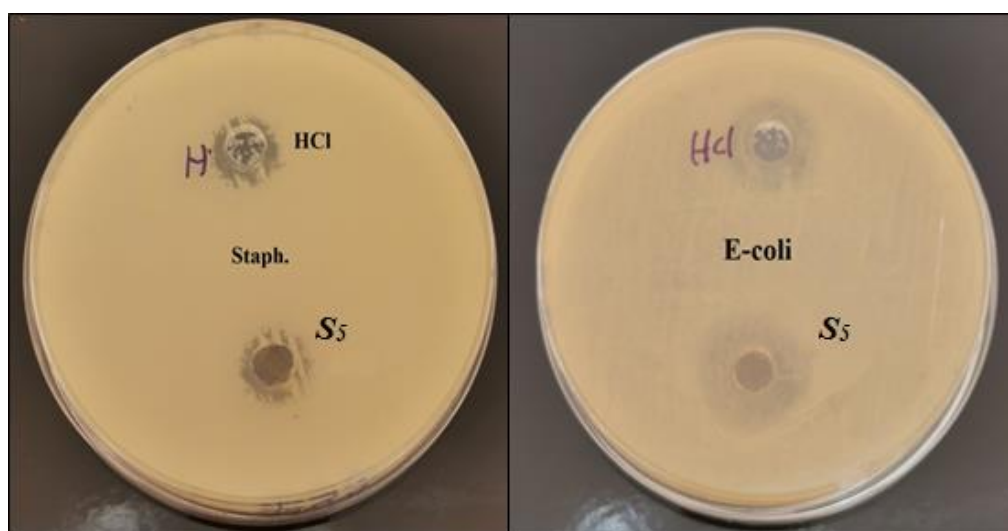
شكل 18: الفعالية التثبيطية للمركب (CS) ضد بكتيريا (*Escherichia coli*) و (*Staphylococcus aureus*).



شكل 19: الفعالية التثبيطية للمركب (O-CMCS) ضد بكتيريا (*Escherichia coli*) و (*Staphylococcus aureus*).



شكل 20: الفعالية التثبيطية للمركب (S₁) ضد بكتيريا (*Escherichia coli*) و (*Staphylococcus aureus*)..



شكل 21: الفعالية التثبيطية للمركب (S₅) ضد بكتيريا (*Escherichia coli*) و (*Staphylococcus aureus*)..

4. الاستنتاجات:

اظهرت المركبات المحضرة ثباتاً حرارياً عالياً مع نسبة تثبيط قليلة للبكتيريا التي تمت دراستها مقارنة بالمركبات الأخرى المحضرة في الأدبيات.

المصادر

- [1] P. Satturwar, S. Fulzele, and A. Dorle, "*Biodegradation and in Vivo Biocompatibility of Rosin: A Natural Film-Forming Polymer*", AAPS PharmSciTech, 4(4), 434 (2003).

-
- [2] S. Kulkarni, D. Butte, and S. Rathod, "***Natural Polymers—A Comprehensive Review***", International journal of research in pharmaceutical and biomedical sciences, 3(4), 1602 (2012).
- [3] R. Hřčka, V. Kučerová, T. Hýrošová, and V. Hönig, "***Cell Wall Saturation Limit and Selected Properties of Thermally Modified Oak Wood and Cellulose***", Forests, 11(6), 640 (2020).
- [4] J. Cosgrove, "***Growth of The Plant Cell Wall***", Nature reviews molecular cell biology, 6(11), 850 (2005).
- [5] R. Kumar, A. Muzzarelli, C. Muzzarelli, H. Sashiwa, and J. Domb, "***Chitosan Chemistry and Pharmaceutical Perspectives***", Chemical reviews, 104(12), 6017 (2004).
- [6] V. Zargar, M. Asghari, and A. Dashti, "***A Review on Chitin and Chitosan Polymers: Structure, Chemistry, Solubility, Derivatives, and Applications***", ChemBioEng Reviews, 2(3), 204 (2015).
- [7] E. Brunner, P. Richthammer, H. Ehrlich, S. Paasch, P. Simon, S. Ueberlein, and H. van Pée, "***Chitin-Based Organic Networks: An Integral Part of Cell Wall Biosilica in The Diatom Thalassiosira Pseudonana***", Angewandte Chemie International Edition, 48(51), 9724 (2009).
- [8] K. No, and P. Meyers, "***Preparation and Characterization of Chitin and Chitosan—A Review***", Journal of aquatic food product technology, 4(2), 27 (1995).
- [9] I. Younes, and M. Rinaudo, "***Chitin and Chitosan Preparation from Marine Sources. Structure, Properties and Applications***", Marine drugs, 13(3), 1133 (2015).
- [10] Z. Shariatnia, "***Carboxymethyl Chitosan: Properties and Biomedical Applications***", International journal of biological macromolecules, 120, 1406 (2018).
-

-
- [11] L. Yan, R. Wang, H. Wang, K. Sheng, C. Liu, H. Qu, and L. Zheng, "**Formulation and Characterization of Chitosan Hydrochloride and Carboxymethyl Chitosan Encapsulated Quercetin Nanoparticles for Controlled Applications in Foods System and Simulated Gastrointestinal Condition**", Food Hydrocolloids, 84, 450 (2018).
- [12] D. Tzaneva, M. Djivoderova, N. Petkova, P. Denev, D. Hadzhikinov, and A. Stoyanova, "**Rheological Properties of The Cosmetic Gel Including Carboxymethyl Chitosan**", Journal of Pharmaceutical Sciences and Research, 9(8), 1383 (2017).
- [13] L. Sun, Y. Du, L. Fan, X. Chen, and J. Yang, "**Preparation, Characterization and Antimicrobial Activity of Quaternized Carboxymethyl Chitosan and Application As Pulp-Cap**", Polymer, 47(6), 1796 (2006).
- [14] L. Fan, Y. Du, B. Zhang, J. Yang, J. Zhou, and F. Kennedy, "**Preparation and Properties of Alginate/Carboxymethyl Chitosan Blend Fibers**", Carbohydrate polymers, 65(4), 447 (2006).
- [15] R. de Abreu, and P. Campana-Filho, "**Characteristics and Properties of Carboxymethylchitosan**", Carbohydrate Polymers, 75(2), 214 (2009).
- [16] W., Huang, Y., Wang, Z., Huang, X., Wang, L., Chen, Y., Zhang, and L., Zhang, "**On-Demand Dissolvable Self-Healing Hydrogel Based on Carboxymethyl Chitosan and Cellulose Nanocrystal for Deep Partial Thickness Burn Wound Healing**", ACS applied materials and interfaces, 10(48), 41076 (2018).
- [17] Bertram G. Katzung, "**Basic and Clinical Pharmacology**", 14th Ed., Mc Graw Hill, 162, (2012).
- [18] D. Huber, A. Grzelak, M. Baumann, N. Borth, G. Schleining, G. Nyanhongo, and G. Guebitz, "**Anti-Inflammatory and Anti-Oxidant Properties of Laccase-Synthesized Phenolic-O-Carboxymethyl Chitosan Hydrogels**", New biotechnology, 40, 236 (2018).
-

-
- [19] F. Karadeniz, and S. Kim, "**Antidiabetic Activities of Chitosan and Its Derivatives: A Mini Review**", In Advances in food and nutrition research. Academic Press. 73, 33 (2014).
- [20] T. Anirudhan, A. Nair, and J. Parvathy, "**Extended Wear Therapeutic Contact Lens Fabricated from Timolol Imprinted Carboxymethyl Chitosan-G-Hydroxy Ethyl Methacrylate-G-Poly Acrylamide As A Onetime Medication for Glaucoma**", European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 109, 61 (2016).
- [21] X. Liu, L. Guan, Z. Yang, Z. Li, and K. Yao, "**Antibacterial Action of Chitosan and Carboxymethylated Chitosan**", Journal of Applied Polymer Science, 79(7), 1324 (2001).
- [22] Z. Guo, R. Xing, S. Liu, Z. Zhong, and P. Li, "**Synthesis and Hydroxyl Radicals Scavenging Activity of Quaternized Carboxymethyl Chitosan**", Carbohydrate Polymers, 73(1), 173 (2008).
- [23] H. Barbosa, M. Attjioui, A. Ferreira, E. Dockal, N. El Gueddari, B. Moerschbacher, and É. Cavalheiro, "**Synthesis, Characterization and Biological Activities of Biopolymeric Schiff Bases Prepared with Chitosan and Salicylaldehydes and Their Pd (II) and Pt (II) Complexes**", Molecules, 22(11), 1987 (2017).
- [24] R. Yao, L. Liu, S. Deng, and W. Ren, "**Preparation of Carboxymethyl Chitosan Nanoparticles with Acid-Sensitive Bond Based on Solid Dispersion of 10-Hydroxycamptothecin**", ISRN pharmaceutics, 2011, 624704 (2011).
- [25] T. Baran, A. Menteş, and H. Arslan, "**Synthesis and Characterization of Water Soluble O-carboxymethyl Chitosan Schiff Bases and Cu (II) Complexes**", International journal of biological macromolecules, 72, 94 (2015).
- [26] A. Anitha, V. Rani, R. Krishna, V. Sreeja, N. Selvamurugan, S. Nair, and R. Jayakumar, "**Synthesis, Characterization, Cytotoxicity and Antibacterial Studies of Chitosan, O-**

-
- Carboxymethyl and N, O-Carboxymethyl Chitosan Nanoparticles*", Carbohydrate polymers, 78(4), 672 (2009).
- [27] X. Yin, J. Chen, W. Yuan, Q. Lin, L. Ji, and F. Liu, "*Preparation and Antibacterial Activity of Schiff Bases from O-carboxymethyl Chitosan and Para-substituted Benzaldehydes*", Polymer bulletin, 68(5), 1215 (2012).
- [28] D. Jin, J. Sun, I. Su, and H. Zhang, "*Quantum Dots Against Listeria Monocytogenes, Salmonella Enteritidis and Escherichia Coli O157:H7*", Journal of Food Science, 74(1), 46 (2009).
- [29] M. Alam, F. Mansur, M. Karim, and A. Haque, "*Antimicrobial Activity of Swietenia Mahagoni (Seed) Against Various Pathogenic*", Indo. Am. J. Pharm. Res. 4(5), 229 (2014).
- [30] R. Farag, and R. Mohamed, "*Synthesis and Characterization of Carboxymethyl Chitosan Nanogels for Swelling Studies and Antimicrobial Activity*", Molecules, 18(1), 190 (2013).
- [31] H. Barbosa, M. Attjioui, A. Ferreira, E. Dockal, N. El Gueddari, B. Moerschbacher, and É. Cavalheiro, "*Synthesis, Characterization and Biological Activities of Biopolymeric Schiff Bases Prepared with Chitosan and Salicylaldehydes and Their Pd (II) and Pt (II) Complexes*", Molecules, 22(11), 1987 (2017).
- [32] S. Yu, J. Du, Y. Zheng, and L. Yan, "*Synthesis and Characterization Chitosan Containing Functional Absorber Substituent of Carboxymethyl Ultraviolet Absorber Substituent*", Journal of Applied Polymer Science, 106(6), 4098 (2007).
- [33] N. Mohamed, M. Sabaa, A. El-Ghandour, M. Abel-Aziz, and O. Abdel-Gawad, "*Preparation, Characterization and Antimicrobial Activity of Carboxymethyl Chitosan*"
-

-
- Schiff Bases with Different Benzaldehyde Derivatives*", Journal of American Science, 9(3), 247 (2013).
- [34] S. Vaghani, M. Patel, and C. Satish, "*Synthesis and Characterization of pH-Sensitive Hydrogel Composed of Carboxymethyl Chitosan For Colon Targeted Delivery of Ornidazole*", Carbohydrate research, 347(1), 76 (2012).
- [35] S.Vaghani, M. Patel, C. Satish, K. Patel, and N. Jivani, "*Synthesis and Characterization of Carboxymethyl Chitosan Hydrogel: Application As Site Specific Delivery For Lercanidipine Hydrochloride*", Bulletin of Materials Science, 35(7), 1133 (2012).
- [36] S.Yang, Q. Dong, H. Yang, X. Liu, S. Gu, Y. Zhou, and W. Xu, "*N-Carboxyethyl Chitosan Fibers Prepared As Potential Use in Tissue Engineering*", International journal of biological macromolecules, 82, 1018 (2016).
- [37] M. Murugaiyan, S. Mani, and M. Sithique, "*Zinc (ii) Centered Biologically Active Novel N, N, O Donor Tridentate Water-Soluble Hydrazide-Based O-Carboxymethyl Chitosan Schiff Base Metal Complexes: Synthesis and Characterization*", New Journal of Chemistry, 43(24), 9540 (2019).
- [38] M. Islam, M. Mondal, and F. Ahmed, "*Study on Prawn Shell Waste into Chitosan and Its Derivatives as Value Added Products For Cellulosic Fibres*", Research Journal of Textile and Apparel, 21(2), (2017).
- [39] S. Shawkat, "*Synthesis, Liquid Crystalline Properties and Biological Evaluation of Some Heterocyclic Compounds Derived From Dapson*", Msc Thesis, Tikrit University, Salahaddin, Iraq (2019).
- [40] G. Qasim, "*Preparation and Identification of Thiazoles and Oxazoles Derived from Chalcones and Evaluating The Biological Activity for Some of Them*", Msc Thesis, Kirkuk University, Iraq (2019).