

2-(p-Sübstitüe-Fenil) Oksazolo(4,5-b) Piridin Türevlerinin Streptococcus faecalis ve Staphylococcus aureus'a Karşı Antibakteriyel Etkileri ve Kantitatif Yapı - Etki İlişkileri

İsmail YALÇIN(*)
Esin ŞENER(*)
Seçkin ÖZDEN(*)
Ahmet AKIN(**)
Sulhiye YILDIZ(**)

Özet : Sentezleri daha önce gerçekleştirilen 2-(p-sübstitüe-fenil)ok-sazolo(4,5-b)piridin türevlerinin (1) gram (+) bakterilere karşı etkileri Tüpte Dilüsyon Yöntemi ile belirlenmiştir. *S. faecalis* ve *Staph. aureus*'a karşı minimum inhibitör konsantrasyonları (MİK) 25 ve 12.5 µg/ml olarak bulunmuştur.

Bileşiklerin kantitatif yapı etki ilişkileri, bazı hidrofobik (π , π^2), elektronik (δ , F , R) ve sterik (MR, MW, P_r) özellikteki parametreler kullanılarak, Hansch Metodu'ndan yararlanılarak saptanmış ve türetilen korrelasyon denklemleri verilmiştir.

Türevlerin, gram (+) bakterilere karşı etkileri ile yapıları arasındaki ilişki incelendiğinde, parametrelerin tek başına kullanılmaları yerine hidrofobik, elektronik ve sterik özellikteki kombinasyonlarının daha dikkate değer sonuçlar verdiği saptanmıştır. Elde edilen ideal denklemler verilmiştir.

(*) A.Ü. Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Kimya Anabilim Dalı,
Tandoğan, ANKARA.

(**) A.Ü. Eczacılık Fakültesi, Mikrobiyoloji Bilim Dalı,
Tandoğan, ANKARA.

**THE ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF 2-(p-SUBSTITUTED-PHENYL)
OXAZOLO(4,5-b) PYRIDINE DERIVATIVES AGAINST
Streptococcus faecalis AND Staphylococcus aureus AND
THE QUANTITATIVE STRUCTURE — ACTIVITY RELATIONSHIPS**

Summary : 2-(p-Substituted-phenyl)oxazolo(4,5-b)pyridine derivatives which had been synthesized in our previous work (1), were tested against some gram (+) bacteria using progressive double dilution technique. The minimum inhibitory concentration (MIC) against *S. faecalis* and *Staph. aureus* were found 25-12.5 µg/ml.

The quantitative structure-activity relationships (QSAR) of the compounds were studied. Some hydrophobic (π, π^2), electronic (δ, F, R) and steric (MR, MW, P_r) physicochemical parameters were used in QSAR studies. The correlation equations of these relationships which were designed according to The Hansch Analysis Method were given.

The correlation of antibacterial activity of oxazolo (4,5-b) pyridines against gram (+) bacteria with hydrophobic, electronic and steric parameters, the combinations of these parameters were found more significant than they were used separately.

Keywords : 2-(p-Substituted-phenyl)oxazolo(4,5-b)pyridines, *Streptococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, $\pi, \mu^2, \delta, F, R, MR, MW, P_r$, QSAR Studies.

GİRİŞ

Benzoksazol yapısı taşıyan bileşiklerin mikrobiyolojik yönden aktif oldukları yapılan çalışmalarla bulunmuştur (2-4). Bu çalışmada, benzoksazol halkasının analogu olan oksazolopiridin yapısının bazı gram (+) bakterilere karşı etkisinin araştırılması planlanmıştır. Oksazol yapısının iki aril halkası ile donatılmış şekli olan 2-fenilbenzoksazol'de, benzen halkası piridin ile yer değiştirdiğinde antibakteriyel etkide olabilecek değişikliklerin gözlenmesi düşünülmüştür. Bunun için sentezi daha önce gerçekleştirilen

2-(p-süstitüefenil)oksazolo (4, 5-b) piridin türevleri ele alınarak (1), *S. faecalis* ve *Staph. aureus*'a karşı mikrobiyolojik etkileri incelenmiştir. Mikrobiyolojik etkileri yönünden ilk defa araştırılan bu bileşiklerin gram (+) bakterilere karşı gösterdikleri aktivite değerleri çeşitli fizikokimyasal özellikleri ile karşılaştırılarak kantitatif yapı-etki ilişkileri bulunmaya çalışılmıştır.

Kantitatif yapı-etki ilişkilerinin araştırılmasında, Hansch Modeli örnek alınarak yaratılan denklemler arasında en uygun olanının or-

taya çıkarılması düşünülmüştür. Bunun için seçilen hidrofobik, elektronik ve sterik özellikteki fiziko-kimyasal parametrelere, istatistiksel yöntemler uygulanarak elde edilen regresyon denklemleri sonucunda, biyolojik etkiyi tanımlayan ideal denkleme ulaşılması planlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Materyal :

Mikrobiyolojik çalışmalarda çözücü olarak susuz etil alkol (Aldrich) kullanılmıştır.

Biyoistatistik çalışmalarda ise korelasyon denklemlerinin hazırlanmasında ve çözümünde IBM-XT Personal Computer'den yararlanılmıştır.

Metod :

Mikrobiyolojik Etkinin Tayini

2-(p-Substitüe-fenil)oksazolo (4,5-b) piridin türevlerinin antibakteriyel etkilerinin saptanmasında Tüpte Dilüsyon Yönteminden yararlanılmıştır. Gram (+) bakteriler olarak ise aşağıdaki mikroorganizmalar seçilmiştir:

- 1) Staphylococcus aureus
ATCC 6538
- 2) Streptococcus faecalis
ATCC 10541

Mikrobiyolojik etki tayininde, belirtilen bakteriler için «Mueller Hinton Broth» besiyeri, distile su içinde ısıtılarak eritildikten sonra pH: 7.4'e ayarlandı. Hazırlanan be-

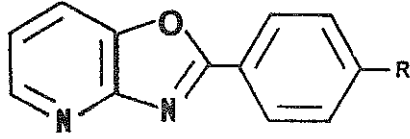
siyeri steril tüplere 5'er ml taksim edildikten sonra 121°C de 15 dakika otoklavda sterilize edildi.

Antibakteriyel aktiviteleri incelenecek olan bileşiklerin susuz etil alkoldeki steril çözeltilerinden, her bakteri için hazırlanmış serinin ilk tüpüne 400 µg/ml olacak şekilde ilave edilip, tüpten tüpe artırımlarla 10 dilüsyon (400, 200, 100, 50, 25, 12.5, 6.2, 3.1, 1.5, 0.7 µg/ml) hazırlandı. Son iki tüp besiyeri ve kontrol tüpleri olarak ayrıldı. Yukarıda belirtilmiş olan bakteriler «Nutrient Broth» besiyerine ekilerek 37°C de 24 saat süreyle inkübe edildi. Sürenin sonunda 1/100 oranında sulandırıldı.

Bu şekilde hazırlanmış olan mikroorganizma süspansiyonlarından besiyeri kontrol tüpleri hariç bütün tüplere 0.2 ml ilave edildi. İyiçe karıştırılıp bakteriler için 37°C de 24 saat inkübasyona bırakıldı. Sürenin sonunda besiyeri ve kontrol tüpleri incelendi. Besiyeri kontrol tüplerinde üremenin bulunmaması, bakteri kontrol tüplerinde ise üremenin mevcut olması halinde, numunelerin Minimal İnhibisyon Konsantrasyonları (MİK) belirlendi. (Tablo 1)

Mikrobiyolojik etkinin araştırıldığı bileşiklerde, aktivitenin numune çözeltilerinin hazırlanmasında kullanılan etil alkolden ileri gelmediğinin ispatı için, çözücünün aynı oranlarda dilüsyonları hazırlanmıştır. Bu dilüsyonlardaki etil alkol çözeltilerinin hiçbirinin antibakteriyel aktivite göstermediği deneysel olarak belirlenmiştir.

Tablo 1: Bileşiklerin Antibakteriyel Etkilerinin MİK (µg/ml) Değerleri. A : Amoksisilin B : Ampisilin



R	Staph. aureus	S. faecalis
CH ₃	25	25
C ₂ H ₅	25	12.5
C(CH ₃) ₃	12.5	12.5
OCH ₃	25	25
OC ₂ H ₅	12.5	12.5
NH ₂	25	25
NO ₂	25	25
Cl	25	25
Br	12.5	25
A	0.3	0.3
B	0.3	0.3

Araştırılan mikroorganizmalara karşı, standart ilaç olarak Amoksisilin ve Ampisilin seçilerek, aynı yöntem ve şartlarda gösterdikleri MİK değerleri bulunmuştur.

Fizikokimyasal Parametrelerin Tespiti :

Kullanılan parametrelerden π (ρ), π^2 (ρ kare), δ (σ), F (alan

etkisi), R (rezonans etkisi), MR (molar refraktivite) ve MW (moleküler ağırlık), Hansch ve ark. nin hazırladığı tablodan yararlanılarak bulunmuştur (5). Sentezlenen bileşiklerin Paracnor (P_r) değerleri ise Quayle'nin verdiği tablodan hesaplanmıştır (6). Türevlerin bulunan fizikokimyasal parametre değerleri Tablo 2 de verilmiştir.

Tablo 2 : 2-(p-Sübstitüefenil) oksazolo (4, 5-b) piritidin Türevlerinin Bulunan Fizikokimyasal Parametre Değerleri.

R	π'	π^2	σ	\mathcal{F}	\mathcal{R}	MR	MW	$P_{\mathcal{F}}$
CH ₃	0.56	0.3136	-0.17	-0.04	-0.13	5.65	15	412.5
C ₂ H ₅	1.02	1.0404	-0.15	-0.05	-0.10	10.30	29.1	452.5
C(CH ₃) ₃	1.98	3.9204	-0.20	-0.07	-0.13	19.62	57.1	532.5
OCH ₃	-0.02	0.0004	-0.27	0.26	-0.51	7.87	31	443.4
OC ₂ H ₅	0.38	0.1444	-0.24	0.22	-0.44	12.47	45.1	483.4
NH ₂	-1.23	1.5129	-0.66	0.02	-0.68	5.42	16	403.2
NO ₂	-0.28	0.0784	0.78	0.67	0.16	7.36	46	417.8
Cl	0.71	0.5041	0.23	0.41	-0.15	6.03	35.4	415.9
Br	0.86	0.7396	0.23	0.44	-0.17	8.88	79.9	428.7

Tablo 3 : 2-(p-Sübstitüefenil) oksazolo (4,5-b) piritidin Türevlerinin Gram (+) Bakteriler İçin Türetilen İdeal Denklemleri. (C, bileşiklerin MİK değerlerinin molar konsantrasyonu. Regresyon denklemlerindeki parantezlerin içerisindeki sayılar, regresyon katsayılarının standart hatalarını göstermektedir. n, bileşik sayısıdır. R², çoklu korelasyon katsayısının karesidir. s, standart eğimdir. F, F testini, P ise F testinin olasılığını göstermektedir.)

Bakteri	Denklem
Staph. aureus	$\log 1/C : -0.029(\pm 0.0331)\pi^2 - 0.1632(\pm 0.0825)\sigma^2 + 0.0149$ $(\pm 0.01)MR + 0.0078(\pm 0.0018)MW + 3.642$ n:9, R ² :0.9197, s:0.07, F:11.46 (P<0.02)
S. faecalis	$\log 1/C : 0.3186(\pm 0.0051)\pi^2 - 0.488(\pm 0.0059)\sigma^2 + 101.2001$ $(\pm 1.4862)\sigma^2 - 94.3996(\pm 1.3828)\mathcal{F} - 101.9923$ $(\pm 1.4976)\mathcal{R} + 0.5392(\pm 0.0068)MR - 0.047(\pm 0.000)P_{\mathcal{F}}$ $+ 20.4157$ n:9, R ² :1.0000, s:0.002, F:5026.04 (P<0.02)

Korrelasyon Denklemlerinin Hesaplanması :

Bileşiklerin yapı-etki çalışmalarında kullanılan çoklu regresyon denklemleri Microstat İstatistik Programı Disketi kullanılarak IBM-XT Personal Computer ile hesaplanmıştır.

SONUÇ VE TARTIŞMA

Sentezleri daha önce gerçekleştirilen (1) 9 adet oksazolopiritidin türevinin ilk defa bazı gram (+) bakterilere karşı antibakteriyel etkileri Tüpte Dilüsyon Yöntemi ile saptanmıştır. Bileşiklerin difüzyonunu etkileyen çeşitli faktörlerin

Denk. No	Denklemler
1	$\log 1/C : 0.06(\pm 0.05)\pi^2 + 4.02$ n:9, $R^2:0.1545$, s:0.18, F:1.28
2	$\log 1/C : 0.68(\pm 0.06)\pi^2 + 0.09(\pm 0.17)\delta + 4.0139$ n:9, $R^2:0.1958$, s:0.19, F:0.73
3	$\log 1/C : -0.04(\pm 0.07)\pi^2 + 0.04(\pm 0.14)\delta + 0.04(\pm 0.02)MR + 3.77$ n:9, $R^2:0.5521$, s:0.15, F:2.05
4	$\log 1/C : -0.03(\pm 0.03)\pi^2 - 0.16(\pm 0.08)\delta + 0.01(\pm 0.01)MR + 0.008$ (± 0.002)MW + 3.64 n:9, $R^2:0.9197$, s:0.07, F:11.46
5	$\log 1/C : 0.01(\pm 0.001)MW + 0.01(\pm 0.01)MR - 0.15(\pm 0.08)\delta + 3.67$ n:9, $R^2:0.9043$, s:0.07, F:15.75
6	$\log 1/C : 0.01(\pm 0.001)MW + 0.02(\pm 0.01)MR + 3.7$ n:9, $R^2:0.8379$, s:0.08, F: 15.50
7	$\log 1/C : 0.01(\pm 0.001)MW + 3.77$ n:9, $R^2:0.7283$, s:0.1, F:18.76

Tablo 4 : 2-(p-Sübstitüefenil) oksazolo (4,5-b) piridin Türevlerinin Staph. aureus İçin Türetilen Regresyon Denklemleri.

varlığı düşünülerek ve özellikle yeni sentezlenen maddeler için daha güvenilir sonuçlar verdiği için bu yöntem seçilmiştir (7, 8).

Tablo 1 de verilen MİK değerleri incelendiğinde, Staph. aureus ve S. faecalis'e karşı bileşiklerin etkilerinin, para konumunda bulunan alkil ve alkoksi gruplarındaki karbon sayısının artması ile yükseldiği görülmektedir.

2-(p-Sübstitüefenil)oksazolo (4,5-b) piridin türevlerinin antibakteriyel aktiviteleri ile yapıları arasındaki kantitatif ilişkileri bulabilmek için bazı hidrofobik (π, π^2), elektronik (δ, F, R) ve sterik (MR, MW, P_r) fizikokimyasal parametreler seçilmiştir. Bu parametrelere karşılık bağımlı değişken olarak bileşiklerin log 1/C değerleri kullanılmıştır. C, bileşiklerin MİK

değerlerinin molar konsantrasyonlarını içermektedir. Aktivite ile yapı arasındaki kantitatif ilişkiyi veren en uygun denklemi bulmak amacıyla, fizikokimyasal parametreler regresyon denklemlerinde bağımsız değişkenler olarak kullanılmışlardır.

Biyostatistik analizler, Microstat Paket Programı aracılığı ile IBM-XT Personal Computer ile yapılmıştır. Sonuçta, 2-(p-sübstitüefenil) oksazolo (4, 5-b) piridin türevleri ile Staph. aureus ve S. faecalis arasındaki kantitatif yapı-etki ilişkilerini en iyi gösteren denklemler Tablo 3 de verilmiştir. Yapı-etki arasındaki kantitatif ilişkiyi veren bu denklemleri basitleştirmek amacıyla ileri ve geri basamakları şeklinde eliminasyon çalışmaları yapılmıştır (9) (Tablo 4 ve

Denk. No	Denklemler
1	$\log 1/C : 0.12(\pm 0.05)\pi + 4.02$ n:9, R ² :0.4168, s:0.13, F:5.0
2	$\log 1/C : 0.09(\pm 0.06)\pi + 0.03(\pm 0.05)\pi^2 + 4.0$ n:9, R ² :0.4552, s:0.14, F:2.5
3	$\log 1/C : 0.11(\pm 0.07)\pi + 0.02(\pm 0.06)\pi^2 - 0.07(\pm 0.14)\sigma + 4.0$ n:9, R ² :0.4811, s:0.15, F:1.55
4	$\log 1/C : 0.12(\pm 0.09)\pi + 0.02(\pm 0.06)\pi^2 - 0.12(\pm 0.32)\sigma + 0.08$ $(\pm 0.52)\pi + 3.98$ n:9, R ² :0.4843, s:0.16, F:0.94
5	$\log 1/C : 0.08(\pm 0.14)\pi + 0.02(\pm 0.07)\pi^2 - 14.11(\pm 33.82)\sigma + 13.02$ $(\pm 31.29)\sigma + 14.02(\pm 33.89)\pi + 3.97$ n:9, R ² :0.5122, s:0.18, F:0.63
6	$\log 1/C : -0.02(\pm 0.11)\pi - 0.06(\pm 0.06)\pi^2 - 2.58(\pm 23.87)\sigma + 2.21$ $(\pm 22.1)\pi + 2.66(\pm 23.89)\pi + 0.04(\pm 0.02)MR + 3.8$ n:9, R ² :0.8467, s:0.13, F:1.84
7	$\log 1/C : 0.32(\pm 0.01)\pi - 0.49(\pm 0.01)\pi^2 + 101.2(\pm 1.49)\sigma - 94.4$ $(\pm 1.38)\pi - 101.99(\pm 1.5)\pi + 0.54(\pm 0.01)MR - 0.05(\pm 0.00)\pi$ $+ 20.42$ n:9, R ² :1.0000, s:0.002, F:5026.04
8	$\log 1/C : -0.01(\pm 0.01)\pi + 0.16(\pm 0.13)MR - 14.7(\pm 24.43)\pi - 13.92$ $(\pm 22.77)\pi + 14.66(\pm 24.41)\sigma - 0.16(\pm 0.12)\pi^2 + 7.49$ n:9, R ² :0.8883, s:0.11, F:2.65
9	$\log 1/C : 0.003(\pm 0.01)\pi - 0.003(\pm 0.06)MR + 8.24(\pm 19.27)\pi + 7.53$ $(\pm 17.89)\pi - 8.19(\pm 19.30)\sigma + 2.63$ n:9, R ² :0.7904, s:0.12, F:2.26
10	$\log 1/C : 0.003(\pm 0.005)\pi + 0.003(\pm 0.05)MR + 0.07(\pm 0.18)\pi$ $- 0.05(\pm 0.17)\pi + 2.79$ n:9, R ² :0.7778, s:0.11, F:3.50
11	$\log 1/C : 0.003(\pm 0.005)\pi + 0.004(\pm 0.04)MR + 0.05(\pm 0.15)\pi + 2.75$ n:9, R ² :0.7721, s:0.1, F:5.65
12	$\log 1/C : 0.002(\pm 0.004)\pi + 0.01(\pm 0.04)MR + 2.97$ n:9, R ² :0.7677, s:0.09, F:9.91
13	$\log 1/C : 0.003(\pm 0.000)\pi + 2.57$ n:9, R ² :0.7642, s:0.08, F:22.69

Tablo 5: 2-(p-Sübtitüefenil) oksazolo (4,5-b) püridin Türevelerinin *S. faecalis* İçin Türetilen Regresyon Denklemleri.

5). Fakat Tablo 4 ve 5 incelendiğinde yapı ile etki arasındaki en uygun korelasyonu sağlayan denklemlerin Tablo 3'de verilenler olduğu görülmektedir.

Tablo 3 incelendiğinde ise, is-

tatistiksel analiz çalışmalarının sonucunda, oksazolopiridin türevlerinin antibakteriyel etkilerinin bu bileşiklerin hidrofobik, elektronik ve sterik özelliklerini içeren kombinasyonlarının fonksiyonu olduğu

Bil. No	Staph. aureus			S. faecalis		
	Bulunan	Hesaplanan	Fark	Bulunan	Hesaplanan	Fark
1	3.93	3.86	0.07	3.93	3.93	0.00
2	3.95	4.02	-0.07	4.25	4.25	0.00
3	4.31	4.30	0.01	4.31	4.31	0.00
4	3.96	4.05	-0.09	3.96	3.96	0.00
5	4.28	4.22	0.06	4.28	4.28	0.00
6	3.93	3.92	0.01	3.93	3.93	0.00
7	3.98	3.98	0.00	3.98	3.98	0.00
8	3.97	3.96	0.01	3.97	3.97	0.00
9	4.34	4.34	0.00	4.04	4.04	0.00

Tablo 6 : 2-(p-Sübstitüefenil) oksazolo (4, 5-b) piridin Türevlerinin Bulunan ve Hesaplanan log 1/C Değerleri.

görülmektedir. Fizikokimyasal parametreler tek tek kullanıldığında aktivite ile anlamlı korelasyonlar vermemektedirler.

Kullanılan fizikokimyasal parametreler arasından bileşiklerin, Staph. aureus'a karşı gösterdikleri etkide hidrofobik parametre (π^2), elektronik parametre (δ) ve sterik parametreler olarak MR ve MW değerleri rol oynamaktadırlar. S. faecalis'e karşı ise hidrofobik olarak π , π^2 , elektronik olarak δ , F , R , ve sterik olarakda MR ve P_r değerlerinin etki için önemli olduğu bulunmuştur. Bu fizikokimyasal parametreleri içeren Tablo 3'de ki denklemler aracılığı ile bileşiklerin log 1/C değerleri hesaplandığında, deneysel olarak bulunan log 1/C değerleri ile arasındaki farkın çok az olduğu Tablo 6'da gösterilmektedir.

LİTERATÜR

- 1) Yalçın, İ., Şener, E., Özden, T., : «2-(p-Substitü-efenil)Oksazolo-(4,5-b)Piridin Türevlerinin Sentez ve Yapı Açıklamaları», Ankara Ecz. Fak. Der., 15(1) 69-78 (1985).
- 2) Şener, E., Özden, S., Yalçın, İ., Özden, T., Akın, A., Yıldız, S., : «2-(p-Sübstitüefenil) benzoksazol Türevlerinin Sentez, Yapı Aydınlatması ve Mikrobiyolojik Etkileri», FABAD Farm. Bil. Der. 11, 190-202 (1986).
- 3) Yalçın, İ., Özden, T., Şener, E., Özden, S., Akın, A., Yıldız, S., : «5-Kloro-2-(p-sübstitüefenil) benzoksazol Türevlerinin Sentez, Yapı Açıklamaları ve Mikrobiyolojik Etkileri», FABAD Farm. Bil. Der. 11, 257-269 (1986).
- 4) Özden, S., Özden, T., Şener, E., Yalçın, İ., Akın, A., Yıldız, S., :

- «5-Nitro-2-(p-süstitüefenil) benzoksazol Türevlerinin Sentez, Yapı Açıklamaları ve Mikrobiyolojik Etkileri», FABAD Farm. Bil. Der. 12, 39-47 (1987).
- 5) Hansch, C., Leo, A., Unger, S.H., Kim, K.H., Nikaitani, D., Lien, E.J., : «Aromatic Substituent Constants for Structure-Activity Correlations», J. Med. Chem., 16 (11), 1207-16, (1973).
- 6) Quayle, O.R., : «The Parachors of Organic Compounds», Chem. Rev., 53, 439 (1953).
- 7) Branch, A., Starkey, D.H., Power, E.E., «Diversification in the Tube Dilution Test for Antibiotic Sensitivity of Microorganisms», Appl. Microbiol., 13, 469-72 (1965).
- 8) Özsan, K., «Antimikrobik Ajanların Kullanılışında Laboratuvarın Yeri», Klinik Farmakoloji, Vol II, 69-93 (1977).
- 9) Wolff, M.E., : «Burger's Medicinal Chemistry», Vol I, John Wiley and Sons Ltd., New York, 406 (1980).