

FABAD Farm. Bil. Der.
14, 79-85, 1989

FABAD J. Pharm. Sci.
14, 79-85, 1989

Bazı (5-Nitro-2-Furil) Vinil Keton Türevleri Üzerinde Antifungal ve Antibakteriyel Etki Çalışmaları

A. Altan BİLGİN (*)
Dilek (Demir) EROL (*)
Nuran YULUĞ (**)
İsmail İSTANBULLU (***)

Özet: 5-Nitrofurfural diasetat ile dietil keton aldol kondenzasyonuna sokularak (5-nitro-2-furil) vinil keton yapısındaki bileşiğin ve bunun oksim, semikarbazon, tiyosemikarbazon ve karboksimidamidohidrazonlarının sentezleri yapılmıştır. (10) Bu çalışmada ise bileşiklerin antifungal ve antibakteriyel etkileri incelenmiştir. Maya benzeri funguslar (*Candida parapsilosis*, *Candida albicans*, *Candida pseudotropicalis*, *Candida stellatoidea*) için yapılan antifungal etki çalışmalarında, 1-(5-nitro-2-furil)-2-metil-pent-1-en-3-on (Bileşik 1) *Candida pseudotropicalis* ve *Candida stellatoidea*'ya karşı (M.I.K = M.F.K. 3.12 µg/ml), [(1-(5-nitro-2-furil)-2-fenilbüt-1-en-3-iliden] hidrazinkarboksimidamid hidroklorür bileşiğinin (Bileşik 6) *Candida pseudotropicalis*'e karşı (M.I.K. = M.F.K. = 0.78 µg/ml) etkilerinin diğer bileşiklere oranla daha yüksek olduğu saptanmıştır. Bakteriler (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Streptococcus faecalis* RSKKI 0541) için yapılan antibakteriyel etki çalışmalarında, 1-(5-nitro-2-furil)-2-metilpent-1-en-3-on bileşiğinin (Bileşik 1) *Escherichia coli*'ye (M.I.K. = M.B.K. = 6.25 µg/ml), [(1-(5-nitro-2-furil)-2-fenilbüt-1-en-3-iliden]hidrazinkarboksimidamid hidroklorürün (Bil. 6) *Staphylococcus aureus*'a (M.I.K. = M.B.K. = 6.25 µg/ml) ve *Streptococcus faecalis*'e karşı (M.I.K = M.B.K. 3.12 µg/ml) etkileri yüksek olarak bulunmuştur.

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

(**) H.Ü. Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, ANKARA.

(***) Arıkol Eczanesi, Selanik Cad. Kızılay/ANKARA.

ANTIFUNGAL and ANTIBACTERIAL STUDIES ON SOME DERIVATIVES OF (5-NITRO-2-FURYL) VINYL KETONE

Summary: *In the previous study, (5-nitro-2-furyl) vinyl ketones have been synthesized by the aldol condensation of 5-nitrofurfural diacetate with diethyl ketone and the oxime, semicarbazone, thiosemicarbazone and carboxyimidamidohydrazone. In this study, antifungal (Candida parapsilosis, Candida albicans, Candida pseudotropicalis, Candida stellatoidea) and antibacterial (Escherichia coli ATCC 25922, Staphylococcus aureus ATCC 25923, Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853, Streptococcus faecalis RSKK 10541) activities of these compounds have been tested. The antifungal studies, 1-(5-nitro-2-furyl)-2-methylpent-1-en-3-on (Compound 1) against Candida pseudotropicalis and Candida stellatoidea (M.I.C. M.F.C. = 3.12 µg/ml), [1-(5-nitro-2-furyl)-2-furyl)-2-phenylbut-1-en-3-ylidene] hydrazincarboxyimidamide hydrochloride (Compound 6) against Candida pseudotropicalis (M.I.C = M.F.C. = 0.78 µg/ml) have been found more active in comparison. The bacterial studies, 1-(5-nitro-2-furyl)-2-methylpent-1-en-3-on (Compound 1) against Escherichia coli (M.I.C. = M.B.C. = 6.25 µg/ml) [1-(5-nitro-2-furyl)-2-phenylbut-1-en-3-ylidene] hydrazinecarboxyimidamide hydrochloride (Compound 6) against Staphylococcus aureus (M.I.C = M.B.C. = 6.25 µg/ml) and Streptococcus faecalis (M.I.C. = M.B.C = 3.12 µg/ml) have been found higher than the other compounds.*

Keywords: *Antifungal and antibacterial studies on 5-nitrofuran derivatives, Microbiological studies on some (5-nitro-2-furyl) vinyl Ketones.*

Başvuru Tarihi: 17.4.1988

Kabul Tarihi: 6.9.1988

GİRİŞ

1922 yılında Mc Guigan'ın furfuralin *Bacillus thypusos* üzerine antibakteriyel aktivitesini gözlemesi (1) ve aynı yıllarda furan-2-karboksilik asitin *Escherichia coli* üzerindeki etkisinin benzoik asit ile eşdeğer olduğunun saptanması (2) sonucunda, furan türevleri üzerinde çalışmaları yoğunlaşmış; ancak 1944 yılına kadar tedaviye sokulabilecek değerde furfural türevi bileşik bulunamamıştır. Dodd ve Stillman'ın furfural-2-karboksilik asit ve bunların 5-nitro türevlerinin antibakteriyel etkilerini belirtmeleri ve özellikle 5-nitrofuran yapısındaki bileşiklerin gram pozitif ve gram negatif bakterilere bakteristatik, yüksek konsantrasyonlarda ise bakterisit etkilerini saptamaları (3) konuya güncellik kazandırmıştır. 1951 yılında 5-nitrofurfuralin aseton ile kondenzasyonu sonucu kazanılan 1,5-bis (5 nitro-2-furil) penta 1,4-dien-3-on ve tiyosemikarbazonun biyolojik kontrolleri yapılarak Japonya'da Panazon ismiyle tedavi girmiştir (4).

1962 yılında bazı (5-nitro-2-furil) vinil ketonların bakterisit etkinliğinin açıklanması ile (5), bu tip bileşiklerde in-vitro antimikrobiyal testler yapılarak, *Staphylococcus aureus*, *Proteus vulgaris*, *Escherichia coli*, *Aerobacter aerogenes*'e karşı bakteristatik, *Tricophyton* ve *Epidermophyton* suşlarına karşı fungustatik aktivite belirtilmiştir (6-9).

Bu verilerin ışığı altında, çalışmamızda (5-nitro-2-furil) vinil keton yapısındaki (10) altı bileşiğin antifungal ve antibakteriyel etkinliklerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Materyel ve Metod

1 - Kimyasal Çalışmalar

A) Sentez Yöntemleri:

Çalışmamızda antifungal ve antibakteriyel etkinlikleri incelenen (5-nitro-2-furil) vinil keton türevlerinin, oksimlerinin, tiyosemikarbazonlarının, semikarbazonlarının ve karboksamidamidohidrazonlarının sentezleri literatür verilerine uygun olarak hazırlanmıştır (10).

2 - Mikrobiyolojik Çalışmalar

Bileşiklerin dört maya benzeri fungusu (* *Candida albicans*, *Candida parapsilosis*, *Candida pseudotropicalis*, *Candida stellatoidea*) ve dört bakteriye (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Streptococcus faecalis* RSKK 10541) karşı antimikrobiyal etkileri tüp dilüsyon yöntemi kullanılarak incelenmiştir.

A. Tüp Dilüsyon Yöntemi

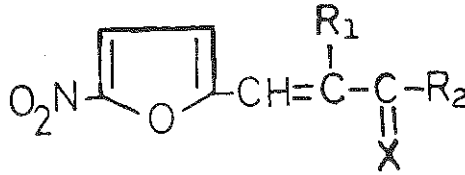
Besiyeri olarak maya benzeri funguslar için Sabouraud Dekstroz Broth besiyeri, bakteriler için Mueller Hinton Broth besiyeri kullanılmıştır. Etkinliği incelenecek bileşiğin asetondaki steril çözeltisi, bileşik konsantrasyonu 100 µg/ml olacak şekilde ilave edilerek, steril besiyeri ile iki kat seyreltme yapılmıştır. Her seri için bir kontrol tüpü çalışılmıştır. Steril deney tüplerine her bir dilüsyondan 0.5 ml konulmuştur. Her tüpe mikroorganizma ile inoküle edilecek 37°C'de 18-24 saat inkübasyona bırakılmış besiyerinin 1/1000

oranında sulandırılmasıyla elde edilen mikroorganizma süspansiyonundan 1.5 ml ilave edilerek tüplerdeki son mikroorganizma inokülesyonu yaklaşık mililitresinde $1.5 \cdot 10^6$ mikroorganizma içerecek şekilde hazırlanmıştır. Tüpler $37^\circ\text{C}'de$ ve 24 saat inkübasyona bırakılarak bu süre sonunda mikroorganizma üremesi sonucu oluşan bulanıklık dikkate alınarak hiç bulanıklık göstermeyen yani üreme olmayan tüpteki dilüsyon, minimum inhibisyon konsantrasyonu (M.I.K.) olarak belirlenmiştir. Bileşiklerin minimum fungisidal (M.F.K.) ve bakterisidal (M.B.K.) konsantrasyonlarının saptanmasında üreme göstermemiş tüplerden, M.F.K. için petri kutularındaki Sabouraud Agar besiyerine, M.B.K için kanlı agar besiyerine öze ile pasajlar yapıldıktan sonra $37^\circ\text{C}'de$ 24 saat inkübe edilerek üremenin olmadığı dilüsyon M.F.K. veya M.B.K. olarak belirlenmiştir.

B. Kağıt Disk Yöntemi

Besiyeri olarak D.S.T. Agar besiyeri kullanılmıştır. Antimikrobik etkisi saptanacak bileşiğin asetondaki steril çözeltisi, standart çaplı steril kağıt disklere bileşik konsantrasyonu $100 \mu\text{g}$ olacak şekilde emdirilmiş ve asetonun uçması sağlanmıştır. Tüpte sıvı dilüsyon yönteminde olduğu gibi hazırlanan mikroorganizma süspansiyonunun $0.2 \text{ ml}'si$, 12.5 ml sterilize edilmiş D.S.T. Agar besiyeri konularak hazırlanmış petri kutularına konarak, besiyeri yüzeyine homojen şekilde yayılması sağlanmıştır. Kağıt diskler inoküle edilmiş besiyeri üzerine, steril şartlarda, petri kutusuna uygun aralıklarla yerleştirilerek mikroorganizmalar $37^\circ\text{C}'de$ 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Bu süre sonunda disklerin etrafında meydana gelen inhibisyon zonlarının çapları kompas ile ölçülerek mm cinsinden değerlendirilmiştir.

Tablo I: Bileşiklerin E.D., Reaksiyon Verimleri ve Kristalizasyon Çözücüleri.



Bileşik No.	R1	R2	X	E.D.	Reak. Verim.	Kıst. Çöz.
1	CH ₃	C ₂ H ₅	O	106-8	62.67	n-Heksan
2	CH ₃	C ₂ H ₅	NH-OH	159-60	70.09	Etanol-su
3	CH ₃	C ₂ H ₅	N-NH-CONH ₂	210-5	85.30	Etanol-su
4	CH ₃	C ₂ H ₅	N-NH-CSNH ₂	196-8	71.70	Etanol-su
5	CH ₃	C ₂ H ₅	N-NHCNHNH ₂ .HCl	265-70	81.33	Benzen
6	C ₆ H ₅	CH ₃	N-NH-CNHNH ₂ .HCl	165	80.93	Benzen

Bulgular**1. Kimyasal Çalışmalar**

Literatürde bildirilen yöntemlere göre sentez edilen (5-nitro-2-furil) vi-

nil keton yapısındaki bileşiklerin E.D., Reaksiyon verimleri, Kristalizasyon çözücüleri Tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo II: Bileşiklerin Tüp Dilüsyon ($\mu\text{g/ml}$) ve Kağıt Disk (mm) Yöntemleriyle Saptanan Antifungal ve Antibakteriyel Etki Sonuçları.

Bil. no.	FUNGUS				BAKTERİ				
	a	b	c	d	e	f	g	h	
1	x	12.5	12.5	3.12	3.12	6.25	100	100	37.5
	xx	++++	++++	+++++	+++++	++++	-	-	++
2		100	100	100	100	100	100	100	37.5
		-	-	-	-	-	-	-	++
3		75	75	6.25	25	100	100	100	100
		+	+	++++	+++	-	-	-	-
4		100	100	100	100	100	100	100	100
		-	-	-	-	-	-	-	-
5		100	100	6.25	25	100	100	100	100
		-	-	++++	+++	-	-	-	-
6		75	75	0.78	25	100	6.25	100	3.12
		+	+	+++++	+++	-	++++	-	+++++

x: Tüp dilüsyon yöntemi ile saptanan minimum inhibisyon konsantrasyonu (M.I.K.)

xx: Kağıt disk yöntemi ile saptanan inhibisyon zonları.

-: İnhibisyon yok, +: 6-8 mm, ++: 9-11 mm, +++: 12-15 mm, ++++: > 15 mm

2. Mikrobiyolojik Çalışmalar

Bileşiklerin antifungal ve antibakteriyel etkinliklerini araştırılmasında kullanılan tüp dilüsyon ve kağıt disk yöntemlerinin sonuçları Tablo 2'de gösterilmiştir.

a: *Candida parapsilosis*, b: *Candida albicans*, c: *Candida pseudotropicalis*, d: *Candida stellatoidea*, e: *Escherichia coli* ATCC 25922, f: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, g: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, h: *Streptococcus faecalis* RSKK 10541.

Tartışma

Bileşiklerin antifungal ve antibakteriyel etkilerinin araştırılmasında, dilüsyon (tüp dilüsyon) ve difüzyon

(kağıt disk) yöntemleri kullanılmıştır. Çalışmamızda, minimum inhibisyon konsantrasyonlarının yanısıra minimum fungisidal ve bakterisidal konsantrasyon değerleri de saptanmıştır.

Difüzyon yöntemleri, mikroorganizma ile inoküle edilmiş katı besiyerine, antimikrobik etkisi saptanacak bileşiğin difüzyonu sonucunda, difüzyon alanında üremenin önlenmesi nedeniyle oluşan inhibisyon zonlarının ölçülmesi esasına dayanır. İnhibisyon zonlarının büyüklüğü, antimikrobik etkinin şiddetini belirlemede yararlıdır (11-14).

Dilüsyon yöntemlerinde ise, antimikrobik etkisi saptanacak bileşiği değişik konsantrasyonlarda içeren sıvı

veya katı besiyerinin mikroorganizma ile inoküle edilip, uygun ısıda belirli bir süre inkübe edilmesi sonucunda üremenin önlenip önlenemediğinin saptanması esastır. Bu yöntemlerin, minimum inhibisyon konsantrasyonu (M.I.K.) saptama güvenilir sonuçlar verdiği bildirilmektedir (12, 15, 16).

Dilüsyon yöntemiyle saptanan minimum inhibisyon konsantrasyonları difüzyon yöntemiyle saptanan inhibisyon zonları ile kıyaslamada iyi bir gösterge olarak kullanılmaktadır (11). Bu nedenle yaptığımız çalışmada farklı yöntemler arasındaki ilişkiyi ortaya çıkarabilmek amacıyla aynı mikroorganizma ve bileşiklere iki ayrı yöntem (difüzyon ve dilüsyon yöntemleri) uygulanmıştır.

Maya benzeri funguslar üzerinde yapılan çalışmalarda, bileşiklerden 1-(5-nitro-2-furil)-2-metilpent-1-en-3-on (Bileşik 1) *Candida pseudotropicalis* ve *Candida stellatoidea*'ya karşı (M.I.K. = M.F.K = 3.12 µg/ml), [(1-(5-nitro-2-furil)-2-fenilbüt-1-en-3-iliden] hidrazin-karboksimidamid hidroklorür (Bileşik 6) *Candida pseudopropicalis*'e karşı (M.I.K. = M.F.K. 0.78 µg/ml) etkileri diğer bileşiklere oranla daha yüksek olarak gözlenmiştir.

Bakteriler üzerinde yapılan çalışmalarda ise, 1-(5-nitro-2-furil)-2-metilpent-1-en-3-on (Bileşik 1) *Escherichia coli*'ye karşı ve [1-(5-nitro-2-furil)-2-fenilbüt-1-en-3-iliden] hidrazin-karboksimidamid hidroklorür (Bileşik 6) *Staphylococcus aureus*(a karşı minimum inhibisyon konsantrasyonu 6.25 µg/ml olarak bulunmuştur. Ayrıca bileşik 6'nın *Streptococcus faecalis*'e karşı antibakteriyel etkisi (M.I.K. = M.B.K. 3.12 µg/ml) dikkate değer bulunmuştur. Çalışmamızda incelediğimiz tüm bileşiklerin sözkonusu

funguslara ve bakterilere karşı saptanan M.F.K. ve M.B.K. değerlerinin M.I.K. değerleri ile aynı olduğu için Tablo 2'de ayrıca fungisidal ve bakterisidal konsantrasyon değerleri gösterilmemiştir.

KAYNAKLAR

1. Mc Guigan, H.: The Action of Furfural; J. Pharmacol. 21, 65 (1923).
2. Kaufmann, H.P.; The Bactericidal Action of Pyromucic Acid; Ber., 55, 289 (1922).
3. Dodd, M.C., Stillman, W.B.; The invitro bacteriostatic action of some simple furan derivatives; J. Pharmacol., 82, 11 (1944).
4. Uota, H., Kuriyama, A.; Bis (5 nitro-2-furfurylidene) acetone; Jap. Pat. 2974 (1952).
5. Sakai, S., et al., 4-(5-nitro-2-furyl)-3-alkly-3-buten-2-one; Jap. Pat. 12. 637 (1964).
6. Ueno, A., Kondo, M., Sakai, S.; Synthesis of 4-(5-nitro-2-furyl)-3-n-alkly-3-buten-2-one compounds and their antimicrobial action; Yakugaku Zasshi., 86, 1030 (1966).
7. Jeney, E., Zsolnai, T.; Die untersuchung der bakteriostatischen und fungistatischen wirkung einiger neuer Nitro-furan-derivative; Zentrabl. Bakteriol. Parasitenk. Infektionskr. Hyg. Abt.I. Orig., 204, 430 (1967).
8. Jeney, E., Zsolnai, T.; Versuvhe zur darstellung antimikrobiell wirksamer wasserlöslicher neuer nitrofuran derivative.; Arch. Exp. Veteriaermed., 21, 259 (1967).
9. Devaux, G., et al. Some nitrofuranlylprorenones and related compounds. Synthesis and study of their antibacterial activity.; Clim, Ther., 12, 21, (1977).
10. Bilgin, A.A., Istanbulu, I., Özer, N.; Bazı (5-nitro-2-furil) vinil keton türevleri üzerinde çalışmalar.; Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi

Dergisi.; 7 (1), 15 (1987).

11. Wick, W.E., Influence of antibiotic stability on results of in-vitro testing procedure; J. Bact., 87, 1163 (1964).

12. Peterdoff, R.G., Sherris, J.G.; Methods and significance of in vitro testing of bacterial sensitivity., Am. J. Med., 39, 1766 (1965).

13. Bauer, W.A., Kirby, M.M.W., Sherris, J.G.; Antibiotic susceptibility, testing by a standardized sinle disc method.; Am. J. Clin. Path., 45, 493 (1966).

14. Dowling, H.F., Disease-a-Month; Garrod, L.P., Weter-worth, P.M., Tests of bacterial sensitivity to drugs.; Year Book Medicinal Publishers Inc., Chicago (1971).

15. Schnelerson, S., Amsterdam, D.; A simplified tube procedure for the routine determination of bacterial sensitivity to antibiotics. J. Clin. Path., 31, 81 (1959).

16. Leven, M., Berghe, D.A.V., Mertens, F.; Screening of higher plants for biological activities I. Antimicrobial Activity.; 36, 311 (1979)

Bilim, bizi bugünkü bilimin dar çerçevesinden çıkarıp, bilimüstüne getirdiği an tam bilim olur.

ISAAC NEWTON