



## Bazı Dioksaborepin Türevlerinin Sentezi ve Antimikrobiyal Aktivite Tayini

### Synthesis of Some Dioxaborepine Derivatives and Determination of Antimicrobial Activity

Meryem Pir <sup>1\*</sup> 

<sup>1</sup> Kocaeli Üniversitesi Kocaeli Meslek Yüksekokulu Kimya ve Kimyasal İşleme Teknolojileri, Kocaeli, TÜRKİYE  
Sorumlu Yazar / Corresponding Author \*: [meryem.pir@kocaeli.edu.tr](mailto:meryem.pir@kocaeli.edu.tr)

Geliş Tarihi / Received: 15.06.2020

Araştırma Makalesi/Research Article

Kabul Tarihi / Accepted: 15.12.2020

DOI:10.21205/deufmd.2021236813

Atıf şekli/ How to cite: PİR M. (2021). Bazı Dioksaborepin Türevlerinin Sentezi ve Antimikrobiyal Aktivite Tayini. DEÜ FMD 23(68), 501-507.

#### Öz

Bu çalışmanın amacı, bazı dioksaborepin bileşiklerini (**2a-c**) sentezlemek ve (**2a**) bileşiği için çeşitli mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktivite sonuçlarını değerlendirmektir. Mikrodilüsyon yöntemi için *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Echerichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) ve *Candida albicans* (ATCC 90028) kullanılmıştır. Dioksaborepin bileşiği (**2a**) özellikle hastane enfeksiyonuna neden olabilen *P. aeruginosa*'ya karşı iyi sonuç vermiştir. Dioksaborepin bileşiği (**2a**) Gram negatif ve Gram pozitif bakteriler ve mantara karşı aktivite göstermiştir. Bu çalışmadaki sonuçlara göre günümüzde, bor içeren yeni bileşiklerin sentezi ve aktivite testleri önemli bir yer tutmaktadır. Bu tür bileşikler geliştirilebilir ve gelecekte daha etkili, yeni antibakteriyel ve antifungal madde tasarımında kullanılabilirler.

**Anahtar Kelimeler:** Antimikrobiyal aktivite, Bor, Dioksaborepin bileşikleri

#### Abstract

The aim of this study, synthesis of some dioxaborepine compounds (**2a-c**) and for compound (**2a**) evaluation of antimicrobial activity results against several microorganisms. *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Echerichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) and *Candida albicans* (ATCC 90028) were used for the microdilution method. Dioxaborepine compound (**2a**) has been good result against particularly *P. aeruginosa* which is causing a nosocomial infection. Dioxaborepine compound (**2a**) showed activity against Gram negative and Gram positive bacteria and fungi. For the results of this study, nowadays, synthesis of boron, including new compounds and their activity tests has an importance. Such compounds can be improved and used for the design of more potent, a new class of antibacterial and antifungal agents in the future.

**Keywords:** Antimicrobial activity, Boron, Dioxaborepine compounds

#### 1. Giriş

Tıbbi cihazlar, hastane malzemelerinin yüzeyleri, ameliyat ekipmanları, sağlık bakım

ürünleri, hijyenik uygulamalar, su arıtma sistemleri, tekstil, gıdaların paketlenmesi ve saklanması gibi pek çok alanda patojenik

mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyonlar ile karşı karşıya kalınmaktadır. Bununla birlikte, gelişmiş ülkelerde yaşanan nüfusla sayısı artan kalp ameliyatları, organ nakilleri, agresif bağışıklık sistemi tedavileri ve kanserde kullanılan enfeksiyon önleme amaçlı antibiyotik tedavileri dünya için bir tehdit oluşturmaktadır [1]. Bu enfeksiyonların etkileri ancak spesifik antimikrobiyal sistemlerin kullanımı ile azaltılabilecektir. Tarihteki en eski sağlık problemleri mikrobiyal enfeksiyon kaynaklı problemler olmuştur. Ancak insanlık tarihinde antibiyotiklerin keşfiyle bu problemler aşılmış olsa da günümüzde antibiyotiklerin uygunsuz, gereksiz ve bilinçsiz kullanımları sonucu gelişen direnç sebebiyle antibiyotikler etkilerini önemli oranda kaybetmişlerdir [2,3]. Son yıllarda da bilimsel araştırmalar yeni antimikrobiyal ajanların keşfine odaklanmıştır. Bu araştırmalarda önemli olan, antimikrobiyal ajanların etkili olmasının yanı sıra daha az toksik ve daha az maliyetli olmalarıdır. Bor bileşikleri ilaç keşfi için yüksek bir potansiyele sahip olsa da ilaç kimyasında sınırlı alanlardaki çalışmalarda kullanılmıştır. Bor içeren bileşikler potansiyel biyolojik aktif moleküller olarak görülmektedir [4-11]. Bu önemli biyolojik özellikler arasında antitüberküloz, antimikrobiyal, antibakteriyel, antifungal ve antiinflamatuvar ajanlar ve HCV NS3 proteaz inhibitörleri olmaları sayılabilir. Özellikle B-O bağı içeren heterosiklik boron bileşikleri literatürde biyolojik aktivite gösteren önemli moleküllerdir [4-12]. Bu nedenle, sentezini gerçekleştirdiğimiz dioksaborepin (**2a-c**) bileşikleri de B-O bağı içerdiği için biyolojik aktiviteye [13] sahip olması beklenen önemli bileşiklerdir. Ayrıca, molekülün oksijen ve bor içeren yedi üyeli heterosiklik dioksaborepin halkası ile beş üyeli heterosiklik isoksazol halkası içermesi yapıyı oldukça ilginç kılmaktadır ve bu bileşiklerin biyolojik aktivitelerine molekülde bağlı olan farklı sübstituentlerin etkilerinin de olabileceği düşünülmektedir. Literatürde daha önce sentezlenmiş [14] bileşiğin yapısında, yedi üyeli heterosiklik dioksaborepin halkası ile aromatik halka yer almaktadır. Bizim sentezlediğimiz (**2a-c**) bileşiklerinde ise iki tane heterosiklik halkanın bulunması moleküle ilginçlik katmaktadır.

Bu çalışmanın amacı; dünyanın en zengin bor madeni yatakları olan ülkemizin orta ve batı bölgelerinde bulunan ve düşük maliyetli yarı

metal olan bor elementinden üretilen dioksaborepinin *in vitro* antibakteriyel ve antifungal aktivitesini incelemektir.

## 2. Materyal ve Metot

### 2.1. Karakterizasyon

Bruker ALPHA Platinum ATR FT-IR cihazı sentezlenen bileşiklerin IR spektrumlarının alınmasında; COSTECH ECS 4010 CHNS-O Elementel analiz cihazı sentezlenen organik bileşiklerdeki hidrojen, karbon ve azot atomlarının kütlece yüzde oranlarının belirlenmesinde; Electrothermal 9200 Erime noktası tayin cihazı sentezlenen bileşiklerin erime noktalarının belirlenmesinde kullanılmıştır. Varian Mercury Plus model 300 MHz'lik FT-NMR cihazı sentezlenen bileşiklerin yapılarının aydınlatılması amacıyla <sup>1</sup>H NMR ve <sup>13</sup>C NMR spektrumlarının belirlenmesinde CDCl<sub>3</sub> çözücüsü ile kullanılmıştır. Başlangıç maddesi olarak kullanılan 3-(*p*-klorofenil)-*cis*-4,5-bis(hidroksimetil)-4,5-dihidroisoksazol (**1**) sentezi literatüre [13] göre gerçekleştirilmiştir (Şekil 1.).

### 2.2. (2a-c) Bileşiklerinin Sentezi ve Spektral Sonuçlar

3-(*p*-klorofenil)-6-(*p*-nitrofenil)-3a,4,8,8a-tetrahidro-[1,3,2]dioksaborepin[5,6-*d*]isoksazol (**2a**) sentezi: 3-(*p*-klorofenil)-*cis*-4,5-bis(hidroksimetil)-4,5-dihidroisoksazol (**1**) (1,24 mmol, 0,30 g) ve 4-nitrofenilboronik asit (1,24 mmol, 0,21 g) 50 mL ksilen içerisinde 18 saat süreyle geri soğutucu altında kaynatıldı. Reaksiyon tamamlandıktan sonra ortamdaki çözücü vakum altında uzaklaştırıldı. Kalıntı diklorometanda kristallendirilerek 3-(4-klorofenil)-6-(4-nitrofenil)-3a,4,8,8a-tetrahidro-[1,3,2]dioksaborepin[5,6-*d*]isoksazol (**2a**) bileşiği elde edildi. Verim: %54, E.N.: 221-223 °C. Spektroskopik analizler: IR (ATR),  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>): 1596 (C=N gerilmesi); 1300 (B-O gerilmesi). <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  (ppm): 8,13 (i, 2H, *J* = 7,79 Hz, B-fenil); 7,85 (i, 2H, *J* = 7,80 Hz, B-fenil); 7,60 (i, 2H, *J* = 8,74 Hz, Cl-fenil); 7,42 (i, 2H, *J* = 8,28 Hz, Cl-fenil); 5,17-5,10 (ç, 1H, OCH); 4,67-4,56 (ç, 2H, OCH<sub>2</sub>, diastereotopik H'ler); 4,44-4,38 (ç, 2H, OCH<sub>2</sub>, diastereotopik H'ler); 4,24-4,18 (ç, 1H, CH). <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  (ppm): 155,9 (C=N); [149,8; 142,3; 136,8; 135,5; 129,6; 128,3; 126,8; 122,4 (Ar-C)]; 82,4 (OCH); 63,0; 61,4 (OCH<sub>2</sub>); 51,9 (CH). Elementel Analiz C<sub>17</sub>H<sub>14</sub>BClN<sub>2</sub>O<sub>5</sub> için Hesaplanan: C: 54,80; H: 3,79; N: 7,52; Bulunan: C: 56,18; H: 2,60; N: 7,84.

3-(*p*-klorofenil)-6-(*p*-(metilsülfolil)fenil)-3a,4,8,8a-tetrahidro-[1,3,2]dioksaborepin[5,6-*d*]isoksazol (**2b**) sentezi: 3-(*p*-klorofenil)-cis-4,5-bis(hidroksimetil)-4,5-dihidroisoksazol (**1**) (1,24 mmol, 0,30 g) ve 4-(metilsülfolil)fenilboronik asit (1,24 mmol, 0,25 g) 50 mL ksilen içerisinde 30 saat süreyle geri soğutucu altında kaynatıldı. Reaksiyon tamamlandıktan sonra ortamdaki çözücü vakum altında uzaklaştırıldı. Kalıntı diklorometanda kristallendirilerek 3-(4-klorofenil)-6-(4-(metilsülfolil)fenil)-3a,4,8,8a-tetrahidro-[1,3,2]dioksaborepin[5,6-*d*]isoksazol (**2b**) bileşiği elde edildi. Verim: %29, E.N.: 150-155 °C. Spektroskopik analizler: IR (ATR),  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>): 2935 (C-H gerilmesi); 1596 (C=N gerilmesi); 1303 (B-O gerilmesi). <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  (ppm): 7,88-7,84 (ç, 4H, *J* = 7,79 Hz, B-fenil); 7,60 (i, 2H, *J* = 8,55 Hz, Cl-fenil); 7,43 (i, 2H, *J* = 8,53 Hz, Cl-fenil); 5,15-5,08 (ç, 1H, OCH); 4,66-4,57 (ç, 2H, OCH<sub>2</sub>, diastereotopik H'ler); 4,41-4,35 (ç, 2H, OCH<sub>2</sub>, diastereotopik H'ler); 4,22-4,16 (ç, 1H, CH); 3,02 (b, 3H, CH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  (ppm): 156,0 (C=N); [142,3; 140,6; 136,8; 135,4; 129,6; 128,3; 126,9; 126,3 (Ar-C)]; 82,4 (OCH); 63,0; 61,4 (OCH<sub>2</sub>); 51,9 (CH); 44,6 (CH<sub>3</sub>). Elementel Analiz C<sub>18</sub>H<sub>17</sub>BClNO<sub>5</sub>S için Hesaplanan: C: 53,29; H: 4,22; N: 3,45; Bulunan: C: 49,01; H: 5,13; N: 3,37.

3-(*p*-klorofenil)-6-(*m*-(*N,N*-dimetilamino)fenil)-3a,4,8,8a-tetrahidro-[1,3,2]dioksaborepin[5,6-*d*]isoksazol (**2c**) sentezi: 3-(*p*-klorofenil)-cis-4,5-bis(hidroksimetil)-4,5-dihidroisoksazol (**1**) (0,83 mmol, 0,20 g) ve 3-(dimetilamino)fenilboronik asit (0,83 mmol, 0,14 g) 50 mL toluen içerisinde 32 saat süreyle geri soğutucu altında kaynatıldı. Reaksiyon tamamlandıktan sonra ortamdaki çözücü vakum altında uzaklaştırıldı. Kalıntı diklorometanda kristallendirilerek 3-(4-klorofenil)-6-(*m*-(*N,N*-dimetilamino)fenil)-3a,4,8,8a-tetrahidro-[1,3,2]dioksaborepin[5,6-*d*]isoksazol (**2c**) bileşiği elde edildi. Verim: %66, E.N.: 156-158 °C. Spektroskopik analizler: IR (ATR),  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>): 2945 (C-H gerilmesi); 1596 (C=N gerilmesi); 1281 (B-O gerilmesi). <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  (ppm): 7,60 (i, 2H, Cl-fenil); 7,40 (i, 2H, Cl-fenil); 7,26-7,13 (ç, 3H, B-fenil); 6,87-6,84 (ii, 1H, B-fenil); 5,13-5,06 (ç, 1H, OCH); 4,59-4,55 (ç, 2H, OCH<sub>2</sub>, diastereotopik H'ler); 4,43-4,39 (ç, 2H, OCH<sub>2</sub>, diastereotopik H'ler); 4,19-4,13 (ç, 1H, CH); 2,93 (b, 6H, N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>). <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  (ppm): 156,0 (C=N); [150,0; 136,5; 129,5; 128,5; 127,1; 123,4; 118,9; 115,9 (Ar-C)]; 82,4 (OCH); 62,6; 61,0 (OCH<sub>2</sub>); 52,1 (CH); 41,2 (CH<sub>3</sub>). Elementel

Analiz C<sub>19</sub>H<sub>20</sub>BClN<sub>2</sub>O<sub>3</sub> için Hesaplanan: C: 61,57; H: 5,44; N: 7,56; Bulunan: C: 59,82; H: 5,61; N: 7,40.

### 2.3. Antimikrobiyal Aktivite Testi

(**2a**) maddesinin antibakteriyel aktivitesi CLSI M7-A7'nin (Clinical and Laboratory Standards Institute) önerileri doğrultusunda mikrodilüsyon yöntemi ile test edilmiştir [15,17]. Mikrodilüsyon yöntemi için *E. faecalis* (ATCC 29212) (Gram pozitif), *S. aureus* (ATCC 25923) (Gram pozitif), *E. coli* (ATCC 25922) (Gram negatif), *P. aeruginosa* (ATCC 27853) (Gram negatif) ve *S. mutans* (ATCC 25175) (Gram pozitif) standart suşları kullanılmıştır. Mikrodilüsyon yönteminde steril, disposabl U tabanlı 96 kuyucuklu plaka kullanılmıştır. Maddenin stok solüsyonu (2000 µg/mL) absolut etanol ile yapılmıştır. Yapılan dilüsyonlarda kullanılan etanolün mikroorganizmalara karşı zararlı bir etkisi yoktur. Maddenin antifungal aktivitesi ise CLSI M27-A2'nin (Clinical and Laboratory Standards Institute) önerileri doğrultusunda mikrodilüsyon yöntemi [16] ile yapılmış ve deneylerde *C. albicans* (ATCC 90028) standart suşu kullanılmıştır. Antibakteriyel aktivite (*E. faecalis*, *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*) testinde (**2a**) maddesinin kuyucuklardaki derişimi 1600, 800, 400, 200, 100, 50, 25, 12,5, 6,25, 3,12, 1,56, 0,78, 0,39, 0,19, 0,09 ve 0,04 µg/mL aralığında olacak şekilde Mueller Hinton Broth ile U tabanlı plaka kuyucuklarında hazırlanmıştır. *S. mutans*'a karşı aktivite testinde ise kuyucuklardaki derişimler 1600-0,04 µg/mL aralığında olacak şekilde, %2-5 liyofilize at kanlı Mueller Hinton Broth ile U tabanlı plaka kuyucuklarında CLSI [17] önerileri doğrultusunda hazırlanmıştır. Ampisilin (Fako, İstanbul, Türkiye) ve siprofloksasin (Fako, İstanbul, Türkiye) antibakteriyel maddeleri referans madde olarak kullanılmıştır ve konsantrasyonları literatürde [15,17] belirtilmektedir. Antifungal aktivite testinde ise (**2a**) maddesinin kuyucuklardaki derişimi 1600-0,04 µg/mL aralığında olacak şekilde, MOPS eklenmiş L-glutaminli RPMI (pH:7) ile U tabanlı plaka kuyucuklarında yapılmıştır. Flukonazol (Pfizer, NY, USA) antifungal maddesi referans madde olarak kullanılmıştır ve konsantrasyonu literatürde [16] belirtilmektedir.

Aktivite tayini çalışmasında her plakanın ilk kuyucukları sadece besiyeri kontrolü ve üreme kontrolü içerecek şekilde (pozitif ve negatif kontrol) hazırlanmıştır. Diğer kuyucuklardan

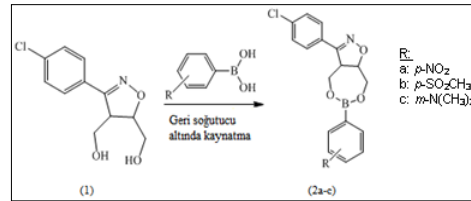
itibaren (2a) madde çözeltileri (100 µL) mikropipet ile konulmuştur. Antibakteriyel aktivite için *S. mutans* standart suşu koyun kanlı agara ekilerek 35°C'de 36-48 saat, %3-5 CO<sub>2</sub>'li mikroaerofil ortamda inkübe edilmiştir. Antibakteriyel aktivite testinde kullanılacak standart bakteri suşlarının inokulumu 0,5 Mc Farland 1x10<sup>8</sup> CFU/mL (koloni forming ünitesi) olarak hazırlanmıştır. Daha sonra bu derişimler *S. mutans* için %2-5 liyofilize at kanlı Mueller Hinton Broth besiyeri kullanılarak, diğer bakteriler için ise Mueller Hinton Broth besiyeri kullanılarak 1/10 oranında sulandırılıp son derişim 10<sup>7</sup> CFU/mL olacak şekilde hazırlanmıştır. Bakteri süspansiyonu, madde derişimlerini içeren bütün kuyucuklara ve üreme kontrolü kuyucuğuna 5x10<sup>5</sup> CFU/mL oranında konulmuştur. Plakalar hafifçe çalkalanarak karışmaları sağlandıktan sonra, *S. mutans* konulan plaka 35°C'de 36-48 saat, %3-5 CO<sub>2</sub>'li mikroaerofil ortamda (anaerobik ortam), diğer bakterileri içeren plakalar ise 35°C'de 16-24 saat aerobik olarak inkübe edilmiştir. Bakteriler için, gözle görölür bir üremenin olmadığı en düşük konsantrasyonu içeren kuyucuktaki derişim, o bileşiğin MİK değeri olarak belirlenmiştir. Antifungal aktivite için *C. albicans* standart suşu SDA'ya ekilerek 35°C'de 24-48 saat aerobik inkübe edilmiştir. Mantar inokulumu 0,5 Mc Farland standart olarak (1-5x10<sup>6</sup>) hazırlanmıştır. Bu derişim ilk önce 1/20 (1-5x10<sup>5</sup> CFU/mL) sonra da 1/50 (0,5-2,5x10<sup>5</sup> CFU/mL) oranında RPMI ile sulandırılarak 100 µL'lik derişimler hazırlanmıştır. Böylece 1x10<sup>3</sup> CFU/mL içeren süspansiyon oluşturulmuştur. Mantar süspansiyonu, madde derişimlerini içeren bütün kuyucuklara ve üreme kontrolü kuyucuğuna 100 µL oranında konulmuştur. Plakalar hafifçe çalkalanarak karışmaları sağlandıktan sonra 37°C'de 48 saat inkübe edilmiştir. Mantar için üreme kontrolü kuyucuğunun bulanıklığı ile karşılaştırma yapılarak bu bulanıklığın %80'inden az veya buna eşit bulanıklık gösteren ilk derişim (MİK-0) MİK olarak kabul edilmiştir.

Deneylerin her aşamasında testler iki kere tekrar edilmiştir.

### 3. Bulgular

Bu çalışmada, 3-(*p*-klorofenil)-cis-4,5-bis(hidroksimetil)-4,5-dihidroisoksazol (1) başlangıç bileşiğinden yola çıkılarak üç tane yeni dioksaborepin bileşiği (2a-c) sentezlenmiştir

(Şekil 1.). Bunun için 3-(*p*-klorofenil)-cis-4,5-bis(hidroksimetil)-4,5-dihidroisoksazol (1) bileşiğinin toluen ya da ksilen içerisinde 3 adet sübstiü fenilboronik asitle reaksiyonu sonucunda 6-(sübstiüfenil)-3-(4-klorofenil)-3a,4,8,8a-tetrahidro-[1,3,2]dioksaborepin[5,6-*d*]isoksazol (2a-c) bileşikler sentezlenmiştir. Elde edilen 3 tane yeni dioksaborepin (2a-c) bileşiği diklorometanda kristallendirilmiş ve erime noktası tayinleri yapılmıştır. Bileşiklerin yapıları IR, <sup>1</sup>H NMR, <sup>13</sup>C NMR ve elementel analiz yöntemleri kullanılarak aydınlatılmıştır. Bu sentezlenen dioksaborepin bileşiklerinden elementel analiz (karbon için) sonucu daha iyi çıkan ve daha saf bileşik olan (2a) bileşiğinin *in vitro* antimikrobiyal aktivite çalışmasının bulguları Tablo 1.'de verilmiştir.



**Şekil 1.** 6-(sübstiüfenil)-3-(4-klorofenil)-3a,4,8,8a-tetrahidro-[1,3,2]dioksaborepin[5,6-*d*]isoksazol (2a-c) bileşiklerinin sentezi ve yapısı

Aktivitede B-O bağının büyük önem taşıdığı düşünülmektedir. Bulgularımıza göre, sentezi yapılan bileşik (2a) Gram negatif ve Gram pozitif bakterilere karşı MİK:25-100 µg/mL aralığında, mantara karşı ise MİK:100 µg/mL değerinde etki göstermiştir (Tablo 1.).

Sentezlenen maddenin (2a) MİK değeri *C. albicans* için 100 µg/mL olarak bulunmuştur. Bu değer flukonazol ile karşılaştırıldığında, maddenin MİK değerinin yüksek olduğu görülmektedir.

Sentezlenen madde (2a) Gram negatif bakteri olarak hastane enfeksiyonlarına yol açan *P. aeruginosa*'ya karşı (MİK:25 µg/mL) ve Gram pozitif bakteri olarak oldukça dirençli enfeksiyonlara yol açabilen *S. aureus*'a (MİK:25 µg/mL) karşı oldukça etkilidir. Gram negatif *E. coli* bakterisinin ve Gram pozitif *E. faecalis* bakterisinin ise sentezlenen maddeye karşı dirençli olduğu bulunmuştur (MİK:100 µg/mL). Bileşikte *para*- konumundaki kuvvetli elektron çekici özelliğe sahip olan NO<sub>2</sub> grubu *E. faecalis* ve *E. coli*'ye karşı olan antibakteriyel aktiviteyi

azaltırken, *S. aureus* ve *P. aeruginosa*'ya karşı olan aktiviteyi ise artırıcı etki yapmıştır. Diş çürüklerine, periodontit enfeksiyonlarına ve tedavi edilmezse pulpitis ve periapikal doku enfeksiyonlarına yol açan *S. mutans*'a karşı ise (**2a**) maddesinin MİK değeri 50 µg/mL olarak bulunmuştur.

**Tablo 1.** (**2a**) bileşiğinin antimikrobiyal aktivitesi.

Bileşik (süstituent) ve Standartlar	Antibakteriyel ve antifungal aktiviteler, µg/mL (MİK)					
	<i>S. aureus</i> ATCC25983 G(+)	<i>E. faecalis</i> ATCC29212 G(+)	<i>P. aeruginosa</i> ATCC27853 G(-)	<i>E. coli</i> ATCC25922 G(-)	<i>S. mutans</i> ATCC25175 G(+)	<i>C. albicans</i> ATCC90028
2a ( <i>p</i> -NO <sub>2</sub> )	25	100	25	100	50	100
Ampisilin	0,78	0,78	-	6,25	≤ 0,25	-
Siprofloksasin	0,25	0,25	0,25	0,04	-	-
Flukonazol	-	-	-	-	-	0,25

#### 4. Tartışma ve Sonuç

Antibiyotiklere karşı direnç kazanmış mikrobiyal patojenleri kontrol altına almak için farmakolojik olarak aktif yeni bileşiklerin bulunması gerekmektedir. Dioksaborepin maddesi yeni bir kimyasal molekül grubudur. Daha önce yaptığımız çalışmadaki yöntemle farklı süstituentler (Şekil 1.) sentezlenmiştir [13].

Mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak, sentezlenen (**2a**) bileşiğinin antimikrobiyal aktivitesi test edilmiştir. Bileşiğin gözlenen antibakteriyel etkileri referans ilaçlar olarak seçilen ampisilin ve siprofloksasin, antifungal etkisi ise flukonazol ile aynı yöntem ve şartlarda test edilmiş ve bileşiğin gösterdiği aktivitelerle karşılaştırılarak incelenmiştir.

Özellikle 1988'lerden bu yana vankomisin dirençli G(+) *E. faecalis*'in (VRE) ortaya çıkışı, metisilin ve vankomisin dirençli *S. aureus* (MRSA/VRSA) suşları, ishal, dirençli bakterilerin sebep olduğu sepsis ve yoğun bakım ünitelerinde gözlenen hastane enfeksiyonları gibi yeni klinik tabloların ortaya çıkması doğal antimikrobiyal ürünlerin önemini tüm dünyada artırmaktadır [18,19].

Günümüzde, yoğun bakımda uzun süre yatan hastalardan izole edilen multidrug dirençli G(-)

*P. aeruginosa* enfeksiyonlarına bağlı tedavide zorluk yaşanmaktadır. Güncel kullanılan antibakteriyel ilaçların dirençli oluşu veya tedavi sırasında direnç gelişmesi en çok zorlandığımız durumdur. Sentezlenen madde (**2a**) G(-) bakteri olan *P. aeruginosa* ATCC 27853 bakterisine duyarlı bulunmuştur (MİK:25 µg/mL). Bu durum gelecekte tedavi seçenekleri için bize ümit vermektedir.

Ağızda normal flora elemanı olan, ağız bakımını iyi yapmayan kişilerde diş çürükleri, periodontal hastalıklar ve periapikal hastalıklara neden olan G(+) *S. mutans* bakterisi klinik ilerleyince mikst (karma) enfeksiyonlara da sebep olmakta ve tedavide zorluk yaşanabilmektedir. Sentezlenen madde (**2a**) için MİK 50 µg/mL olarak bulunmuştur. Bu da bizlere alternatif tedavi seçeneği olarak ümit vermektedir.

Sentezlenen bileşik (**2a**) G(-) bakteri olan *P. aeruginosa*'ya karşı ve G(+) bakteri olan *S. aureus*'a karşı oldukça etkilidir (MİK:25 µg/mL).

Literatürde dioksaborepin bileşiklerinin sentezi ve antimikrobiyal aktivite sonuçları çok fazla bulunmamaktadır. Bu nedenle bu bileşiklere ait gerçekleştirdiğimiz antimikrobiyal aktivite çalışması büyük bir önem taşımaktadır. Yeni dioksaborepin bileşiklerinin daha farklı süstituentler kullanılarak sentezi gerçekleştirilebilir ve bu bileşiklerin ilerleyen zamanlardaki çalışmalarda antibakteriyel ve antifungal aktiviteleri belirlenebilir.

Bor içeren çeşitli bileşikler son yıllarda literatüre biyolojik aktif moleküller olarak girmiştir [4-13, 20-21]. Örneğin; heterosiklik bor bileşiği olan oksadiazaborol bileşiklerinin antimikrobiyal aktivite çalışmasında MİK değerlerinin 12,5-800 µg/mL aralığında olduğu bildirilmiştir [12].

Ayrıca oksaborol halkası içeren florokinolonlar önemli bir antibakteriyel bileşik grubunu oluşturmaktadır (MİK:16-256 µg/mL) [5]. Aril boronat ester bileşiklerinin antibakteriyel aktivitesi incelendiğinde ise 2,34-150 µg/mL aralığında etkili ve geniş bir MİK değeri olduğu bildirilmiştir [11]. Bu bileşiklerin büyük bir kısmında bor-oksijen (B-O) bağı bulunduğu ve dioksaborepin bileşikleri de sahip oldukları halkalı yapıdaki iki tane B-O bağı nedeniyle potansiyel olarak aktif antimikrobiyal moleküllerdir. Literatürdeki bileşiklerin bir kısmında bor içeren halkalı yapı beş üyeli iken bir kısmında da altı üyelidir. Ancak dioksaborepin bileşiminde, bor içeren halkalı yapı yedi üyeli olduğu için bu yeni molekül grubunun sentezi ve aktivite sonuçları literatürdeki benzer çalışmalarla karşılaştırıldığında büyük önem arz etmektedir. Literatürdeki bor bileşiklerine ait araştırmalar antibakteriyel ve antifungal çalışmayı içerdiği için moleküllerin bu yönde iyi bir aktiviteye sahip olduğu sonucu da çıkarılabilir.

#### Kaynakça

- [1] Krauss, H., Weber, A., Appel, M., Enders, B., Graevenitz, A. V., Isenberg, H. D., Schiefer, H. G., Slenczka, W., Zahner, H. 2003. Zoonoses. Infectious diseases transmissible from animals to humans. 3rd edition, 456s. ASM Press. American Society for Microbiology, Washington DC., USA. ISBN 1-55581-236-8.
- [2] Serpi, M., Özdemir, Z. Ö., Salman, Y. 2012. Bazı Bitki Ekstrelerinin *Propionibacterium Acnes* Üzerine Antibakteriyel Etkilerinin Araştırılması. KSÜ Doğa Bilimleri Dergisi, 15(1), 7-12.
- [3] Öztürk, R. 2008. Akılcı Antibiyotik Kullanımı ve Ülkemizde Antimikrobik Maddelere Direnç Sorunu. Toplumdan Edinilmiş Enfeksiyonlara Pratik Yaklaşımla. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri, Sempozyum Dizisi, 7-8 Şubat, İstanbul.
- [4] Ciaravino, V., Plattner, J., Chanda, S. 2013. An Assessment of the Genetic Toxicology of Novel Boron-Containing Therapeutic Agents. Environmental and Molecular Mutagenesis, 54, 338-346.
- [5] Li, X., Zhang, Y. K., Plattner, J. J., Mao, W., Alley, M. R. K., Xia, Yi., Hernandez, V., Zhou, Y., Ding, C. Z., Li, J., Shao, Z., Zhang H., Xu, M. 2013. Synthesis and Antibacterial Evaluation of A Novel Tricyclic Oxaborole-Fused Fluoroquinolone. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 23, 963-966.
- [6] Campbell-Verduyn, L. S., Bowes, E. G., Li, H., Vallee, A. M., Vogels, C. M., Decken, A., Gray, C. A., Westcott, S. A. 2014. Heterocyclic Aminoboron Compounds as Antituberculosis Agents. Heteroatom Chemistry, 25(2), 100-106.
- [7] Baker, S. J., Akama, T., Zhang, Y. K., Sauro, V., Pandit, C., Singh, R., Kully, M., Khan, J., Plattner, J. J., Benkovic, S. J., Lee, V., Maples, K. R. 2006. Discovery of A New Boron-Containing Antifungal Agent, 5-Fluoro-1,3-dihydro-1-hydroxy-2,1-benzoxaborole (AN2690), for the Potential Treatment of Onychomycosis. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 16, 5963-5967.
- [8] McKinney, D. C., Zhou, F., Eyermann, C. J., Ferguson, A. D., Prince, D. B., Breen, J., Giacobbe, R. A., Lahiri, S., Verheijen, J. C. 2015. 4,5-Disubstituted 6-aryloxy-1,3-dihydrobenzo[c][1,2]oxaboroles are Broad-Spectrum Serine  $\beta$ -Lactamase Inhibitors. ACS Infectious Diseases, 1(7), 310-316.
- [9] Hernandez, V., Crepin, T., Palencia, A., Cusack, S., Akama, T., Baker, S. J., Bu, W., Feng, L., Freund, Y. R. 2013. Discovery of A Novel Class of Boron-Based Antibacterials with Activity Against Gram-Negative Bacteria. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 57(3), 1394-1403.
- [10] Hicks, J. W., Kyle, C. B., Vogels, C. M., Wheaton, S. L., Baerlocher, F. J., Decken, A., Westcott, S. A. 2008. Synthesis, Characterization, and Antifungal Activity of Boron-Containing Thiosemicarbazones. Chemistry & Biodiversity, 5, 2415-2422.
- [11] Trivedi, R., Reddy, E. R., Kumar, C. K., Sridhar, B., Kumar, K. P., Rao, M. S. 2011. Efficient Synthesis, Structural Characterization and Antimicrobial Activity of Chiral Aryl Boronate Esters of 1,2-O-isopropylidene- $\alpha$ -D-xylofuranose. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 21, 3890-3893.
- [12] Pir, M., Agirbas, H., Budak, F., Ilter, M. 2016. Synthesis, Characterization, Antimicrobial Activity, and QSAR Studies on Substituted Oxadiazaboroles. Medicinal Chemistry Research, 25(9), 1794-1812.
- [13] Pir, M., Agirbas, H., Budak, F., Sahin, O. 2017. Synthesis, Characterization, Antimicrobial Activity and QSAR Studies of Some New 6-Substituted phenyl 3-(4-chlorophenyl)-3a,4,8,8a-tetrahydro-[1,3,2]dioxaborepino[5,6-d]isoxazoles. Heteroatom Chemistry, 28(2), e21363, 2017.
- [14] De-jun, L., Zi-xing, S., Guo-ping, W., Jin-gui, Q. 2003. Preparation of (R)- and (S)-2-Allyl-1,3,2-Dinaphtho( $\alpha,\beta$ )[d.f]dioxaborepin and Their Reactions with Aldehydes. Wuhan University Journal of Natural Sciences, 8(4), 1138-1142.
- [15] Clinical Laboratory Standarts Institute (CLSI) (formerly NCCLS). 2006. Methods for iluation antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically, Approved Std. M-7, A-7, USA.
- [16] Clinical Laboratory Standarts Institute (CLSI) (formerly NCCLS). 2002. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeast. Approved standard, CLSI document M27 A2, 2nd edition, CLSI, Wayne: PA, USA.
- [17] Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI). 2005. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Fifteenth Informational Supplement LSI-M110-S15, CLSI: Wayne, PA.
- [18] Karaaslan, E. 2013. Çevreden izole edilen suşların antimikrobiyal direnç durumlarının araştırılması ve klinik suşlarla karşılaştırılması. İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul.
- [19] Martinez, A., Kolvek, S. J., Yip, C. L. T., Hopke, J., Brown, K. A., Macneil, I. A., Osburne, M. S. 2004. Genetically Modified Bacterial Strains and Novel

- Bacterial Artificial Chromosome Shuttle Vectors for Constructing Environmental Libraries and Detecting Heterologous Natural Products in Multiple Bacterial Hosts. *Applied and Environmental Microbiology*, 70(4), 2452-2463.
- [20] Yadav, S., Swami, M., Singh, R. V. 2010. In vitro Antibacterial and Antifungal Activities of Some Sulfur-Nitrogen-Oxygen and Oxygen-Nitrogen-Oxygen Donor Bifunctional Tridentate Schiff Bases and Their Boron(III) Complexes. *Phosphorus Sulfur and Silicon*, 185, 394-401.
- [21] Ross, J. E., Scangarella-Oman, N., Jones, R. N. 2013. Determination of Disk Diffusion and MIC Quality Control Guidelines for GSK2251052: A Novel Boron-Containing Antibacterial. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 75, 437-439.