

BAZI MORFOLİNOBENZİMİDAZOL TÜREVLERİNİN ANTİMİKROBİYAL ETKİLERİ ÜZERİNE ÇALIŞMALAR

ANTIMICROBIAL ACTIVITY STUDIES ON SOME MORPHOLINOBENZIMIDAZOLE DERIVATIVES

Canan KUŞ¹, Nurten ALTANLAR²

¹Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Kimya Anabilim Dalı,
06100 Tandoğan, Ankara-TÜRKİYE

²Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı,
06100 Tandoğan, Ankara-TÜRKİYE

ÖZET

Bu çalışmada, 5-fluoro-2-(süstitüefenil)-6-morfolino-1H-benzimidazol türevi bir seri bileşiğin Bacillus subtilis, Staphylococcus aureus, Escherichia coli ve Candida albicansa karşı antimikrobiyal etkileri incelenmiştir. En aktif bileşik, 5-fluoro-2-(4-fluorofenil)-6-morfolino-1H-benzimidazol (7), C. albicansa karşı 17 mm lik inhibisyon zon çapı ile flukonazole (18 mm) oldukça yakın bir etki göstermiştir.

Anahtar kelimeler: Benzimidazol, Antimikrobiyal etki, İnhibisyon zon çapı

ABSTRACT

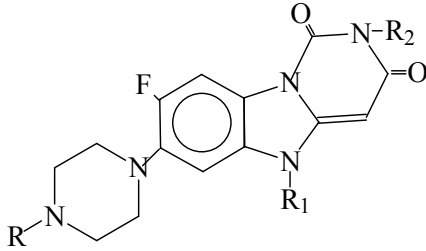
In this research, antimicrobial effects of a series of 5-fluoro-2-(substitutedphenyl)-6-morpholino-1H-benzimidazole derivatives have been evaluated against Bacillus subtilis, Staphylococcus aureus, Escherichia coli and Candida albicans. The most active compound 5-fluoro-2-(4-fluorophenyl)-6-morpholino-1H-benzimidazole (7) exhibits 17 mm inhibition zone diameter against C. albicans which is highly similar to that of fluconazole (18 mm).

Key Words: Benzimidazole, Antimicrobial effect, Inhibition zone diameter

GİRİŞ

Antimikrobiyal etkili ilaçlar ile tedavide karşılaşılan başlıca sorunlar; mikroorganizmaların bu ilaçlara karşı kısa sürede rezistans kazanması, istenmeyen yan ve toksik etkilerdir. AIDS gibi immun sistem hastalıklarına bağlı olarak ortaya çıkan *Pneumocystis carinii* ve diğer fırsatçı enfeksiyonlara karşı yeterli kemoterapötik bileşikler henüz geliştirilememiştir. Yeterli etki potansiyeline sahip, yan etkileri minimum düzeyde yeni antimikrobiyal bileşiklere olan talep, bileşiklerin etki mekanizmasının aydınlatılmasına yönelik çalışmaların artması sonucunda karşılanabilecektir. Örneğin, kinolon grubu antimikrobiyal bileşiklerin, bakteriyal bir topoizomeras olan DNA giraz enzimini inhibe ettiğinin anlaşılması üzerine bu alanda pek çok çalışma yapılmış ve birçok bileşik kliniğe kazandırılmıştır (1,2).

Hubschwerlen ve ark. da pirimido[1,6-a]benzimidazol analoğu bir seri bileşiği [Formül 1], nalidiksik asit ve fluorokinolonlara alternatif olarak sentezlemişlerdir (3). Bu türevler, norfloksasin ya da fleroksasin gibi güçlü DNA giraz inhibitörlerinden daha az potent olarak bildirilmiş olmakla birlikte araştırmacılar, daha potent analogların elde edilebilmesi için ileri çalışmalara ihtiyaç olduğunu belirtmişlerdir.



R= H , Me , BOC (Bütoksikarbonil)

R₁= Etil veya siklopropil

R₂=H, OH, NH₂, NHBOC, NMeBOC, N(Me)₂

[Formül 1]

Henüz günümüzde, antibakteriyal ya da antifungal etkili yeni bir benzimidazol türevi bileşik tedaviye girmemiş olmakla birlikte halen bu konu üzerinde araştırmalar yoğun bir şekilde devam etmektedir.

Genellikle benzimidazol halka sistemi üzerinde bu güne kadar yapılan çalışmalarda, antibakteriyal etki açısından ümit verici sonuçlara ulaşmada 1., 2. ve 5(6). konum süstitüsyonlarının önemi dikkat çekmektedir (4). Bizlerin de 1, 2 ve / veya 5(6)-süstitüe benzimidazol türevleri üzerinde yürütmüş olduğumuz çalışmalarımızda benzer sonuçlar gözlenmiş ve umut vaat eden sonuçlara ulaşılmıştır (5-9).

Bu çalışmada sentezleri daha evvel yayınlanan, 5-fluoro-2-(süstitüefenil)-6-morfolino-1H-benzimidazol türevlerinin (6-15) antibakteriyal ve antifungal aktiviteleri, *B. subtilis*, *S. aureus*, *E. coli* ve *C. albicans* karşı test edilmiş ve etki sonuçları Tablo 1 de verilmiştir.

MATERYAL VE METOD

Sentez Edilen Türevlerin Mikrobiyolojik Etkilerinin Saptanması

Sentezlenen bileşiklerin antibakteriyal ve antifungal aktivite tayini, *in vitro* ortamda ‘Kirby-Bauer

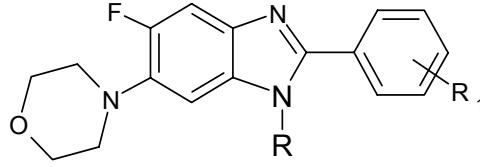
Disk Difüzyon Tekniği ile National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS)’in önerileri doğrultusunda gerçekleştirildi (10-12).

Disk Difüzyon Testi; Duyarlılık testi yapılacak olan bakteri suşları Mueller Hinton Agar (MHA, Difco)’ da *C. albicans* ise Sabouraud Dextrose Agar (SDA, Difco)’ da üretilmiştir. Bakterilerin ve mayanın Tryptic Soy Broth besiyeri ile McFarland 0.5 bulanıklığında hazırlanan 2cc’lik süspansiyonu 4 mm kalınlıkta hazırlanmış olan steril Mueller-Hinton Agar besiyeri üzerine eküviyonla homojen olarak yayıldı. Steril standart disklere sentezlenen bileşiklerin ve standart antibiyotiklerin (flukonazol, ketokonazol, ampisilin) propilen glikoldeki 1 mg/ml lik çözeltileri emdirildi ve etüvde kurutuldu. Besiyerlerinin yüzeyi kuruduktan sonra bu diskler besiyeri üzerine yerleştirildi ve sonra test edilecek bileşiklerin ve standartların jeloza diffüze olabilmesi için, petri kutuları oda ısısında 15 dakika bekletildi ve daha sonra etüve koyuldu. Petri kutuları, fungus için 25 °C de 2-3 gün, bakteriler için ise 35°C de 24 saat etüvde bekletildikten sonra bu disklerin etrafında oluşan inhibisyon zonlarının çapları milimetrik cetvel ile ölçülerek NCCLS’nin önerileri doğrultusunda dirençli, duyarlı ve orta duyarlı olarak değerlendirildi. Antifungal ve antibakteriyal aktivite kontrolleri standartlarla karşılaştırılarak belirlendi. İnhibisyon zon çapları Tablo’da toplu olarak verilmiştir.

Sentezlenen bileşiklerin antibakteriyal ve antifungal aktiviteleri, Refik Saydam Merkez Hıfzıssıha Enstitüsü koleksiyonundan temin edilen aşağıdaki standart suşlardan yararlanılarak incelenmiştir.

<i>Bacillus subtilis</i>	R.S.K.K. 6633
<i>Staphylococcus aureus</i>	R.S.K.K. 250
<i>Escherichia coli</i>	R.S.K.K. 313
<i>Candida albicans</i>	R.S.K.K. 628

Tablo 1 : Sentezlenen bileşiklerin (6-15) bulunan antimikrobiyal aktiviteleri (İnhibisyon zon çapları, mm)



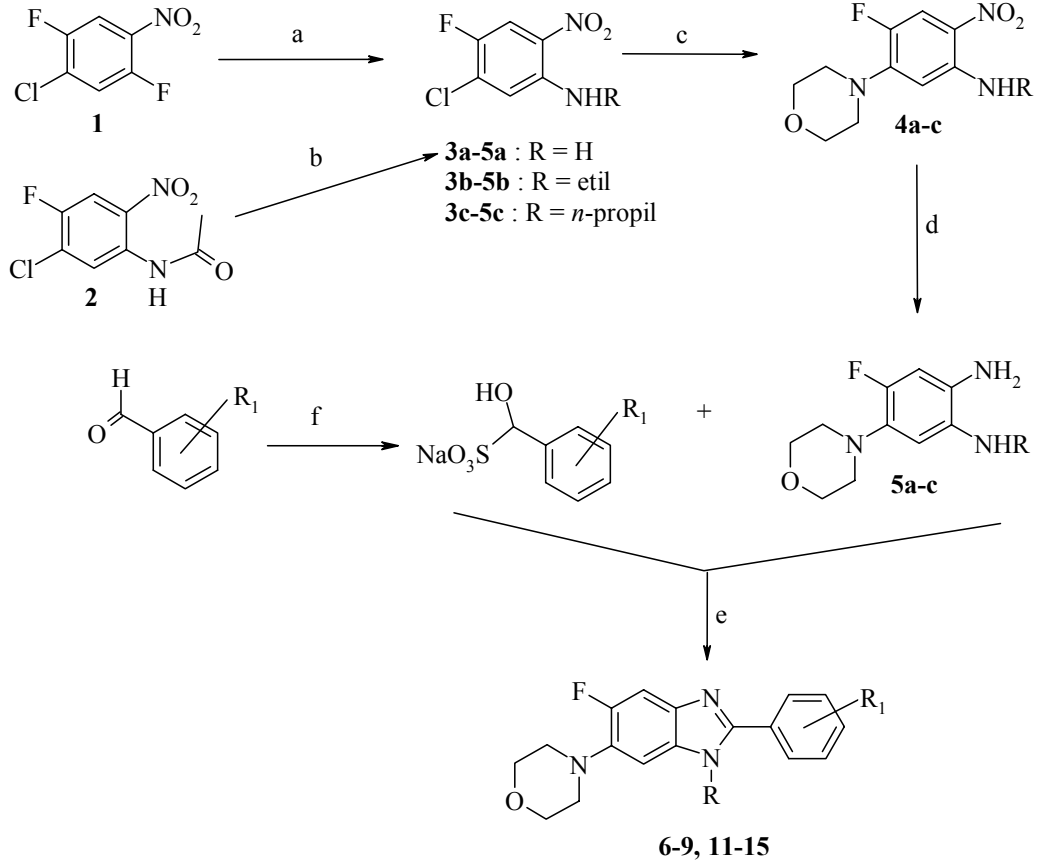
Bileşik no	R	R ₁	<i>B. subtilis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>C. albicans</i>
6	H	4-OCH ₂ -Ø	-	-	-	13
7	H	4-F	-	-	-	17
8	H	3,4-di-F	-	-	-	12
9	H	2,4-di-Cl	-	-	-	12
10	H	4-OH	-	-	-	14
11	H	4-Cl	10	-	-	13
12	H	3,4-di-OCH ₃	12	-	-	14
13	H	2,5-di-F	-	-	-	10
14	C ₃ H ₇	3,4-di-OCH ₃	-	-	-	8
15	C ₂ H ₅	4-F	-	-	-	11
Flukonazol	-	-	-	-	-	18
Ketokonazol	-	-	-	-	-	24
Ampisilin	-	-	13	15	11	-

SONUÇ VE TARTIŞMA

Bu çalışmada, daha önceden sentez ve yapı aydınlatmalarına ait verileri yayınlanmış (13) olan 5-fluoro-2-(süstitüefenil)-6-morfolino-1*H*-benzimidazol türevi bileşiklerin (**6-15**) *B. subtilis*, *S. aureus*, *E. coli* ve *C. albicansa* karşı antimikrobiyal etkileri incelenmiştir.

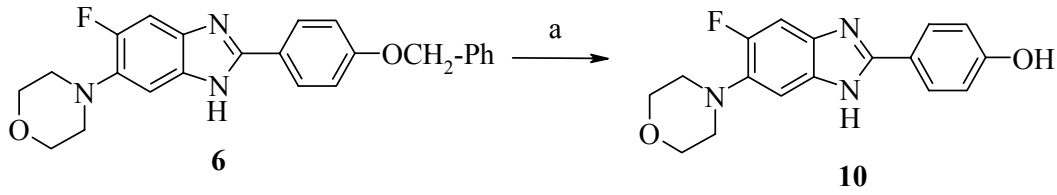
Benzimidazol türevi bu bileşiklerin (**6-15**) sentez yolları şema 1 ve 2 de yer almaktadır. Buna göre; 4-kloro-2,5-difluoronitrobenzen (**1**) mevcut kaynaklardan (14,15) yararlanılarak 2,5-difluoroanilin, N-asetilasyonu, takiben nitrolanması ve hidrolizi sonucu elde edilmiştir. Hidroliz reaksiyonu sonucu elde edilen ürüne Sandmeyer reaksiyonunun uygulanması sonucu amin grubu klor atomu ile süstitüe edilmiştir (14). Bileşik **1** in etil ya da *n*-propilamin ile reaksiyonu sonucu sırası ile N-etil-4-fluoro-5-kloro-2-nitro anilin (**3b**) ve 4-fluoro-5-kloro-2-nitro-N-propilanilin (**3c**) (16) elde edilmiştir. Bileşik **3a** ise 3-kloro-4-fluoroanilinden hareketle literatür (17) verileri esas alınarak sentezlenmiştir. **3a-c** yapısında bulunan klor atomunun morfolin ile süstitüsüyonu **4a-c** yi vermiş ve bu bileşiklerin redüksiyonu ise o-fenilendiamin türevlerinin (**5a-c**) elde edilmesini sağlamıştır. **5a-c** nin Sodyum metabisülfid ile tuzu hazırlanmış olan ilgili aldehitlerle reaksiyonu sonucu sentezi hedeflenmiş bileşiklere (**6-9, 11-15**) ulaşılmıştır (Şema 1). 2-[4-Benziloksifenil-5-fluoro-6-(morfolino-4-il)]-1*H*-benzimidazolün (**6**) H₂ ve Pd/C varlığında benzil grubunun redüksiyonu sonucu iyi bir verim ile 4-[5-fluoro-6-(morfolin-4-il)-1*H*-benzimidazole-2-il]-fenol (**10**) elde edilmiştir (Şema 2).

Bu testler sonucunda bütün türevlerin 8-17 mm lik inhibisyon zon çapları ile *C. albicans*'a karşı etkili olduğu gözlenmiştir. Özellikle, 5-fluoro-2-(4-fluorofenil)-6-morfolino-1*H*-benzimidazolün (**7**), 17 mm lik inhibisyon zon çapı ile flukonazolle kıyaslanabilir derecede antifungal aktiviteye sahip olduğu görülmektedir.



Şema 1. Bileşik **6-9, 11-15** ün sentezi. **a** : etil veya *n*-propilamin / trietilamin, **b** : H₂SO₄/ H₂O, **c** : morfolin, **d** : SnCl₂/HCl, **e** : DMF, **f** : NaHSO₃.

Bunlara ilave olarak 5-fluoro-2-(4-klorofenil)-6-morfolino-1*H*-benzimidazol (**11**) ve 5-fluoro-2-(3,4-dimetoksifenil)-6-morfolino-1*H*-benzimidazol (**12**) ise sırasıyla 10 mm ve 12 mm lik zon çapları ile *B. subtilis*'e karşı, hemen hemen ampisiline yakın inhibisyon zon çapı göstermişlerdir. Diğer bileşiklerde de *B. subtilis*'e karşı etki gözlenmiş ancak rezistans gelişimini gösteren üreme bulguları nedeniyle net bir inhibisyon zon çapı elde edilemediği için sonuçlar verilmemiştir. **12** ile **14** ve **7** ile **15** no' lu bileşikler dikkate alındığında, bileşiğin birinci konumunun sübstütüsyonunun hem bakteriyel hem de antifungal etkiyi azalttığı söylenebilir.



Şema 2: Bileşik 10 in sentezi. a : H₂,Pd/C, EtOH.

Mevcut literatür verileri ve elde edilen sonuçlar doğrultusunda, antibakteriyal ve özellikle de antifungal aktiviteyi artırabilmek için değişik modifikasyonlara ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Egawa, H., Miyamoto, T., Matsumoto, J-I. "A New Synthesis of 7H-Pyrido[1,2,3de][1,4]benzoxazine Derivatives Including an Antibacterial Agent, Ofloxacin" *Chem. Pharm. Bull.*, **34**, 4098-4102 (1986).
2. Ruxer, J.M., Lachoux,C., Ousset, J.B., Torregrosa,L., Mattioda, G. "Synthesis of 1,4-Dihydro-4-oxopyrrolo[1,2-b]pyridazine-3-carboxylic Acids and 1,4-Dihydro-4-oxoimidazo[1,5-b]pyridazine-3-carboxylic Acids as Potential Antibacterial Agents" *J.Heterocyclic Chem.*, **31**, 409-411 (1994).
3. Hubschwerlen, C., Pflieger, P., Speckhn, J. L ., Gubernator, K., Gmünder, H., Angehrn, P., Kompis, I. "Pyrimido[1,6-a]benzimidazoles: A New Class of DNA Gyrase Inhibitors" *J. Med. Chem.*, **35**, 1385-1392 (1992).
4. Sharma, P., Kumar, A., Sharma, M. "Synthesis and QSAR studies on 5-[2-(2-methyl propylenyl)-1H benzimidazol-1yl]-4,6-diphenyl-pyrimidin-2-(5H)-thione derivatives as antibacterial agents" *Eur. J. Med. Chem.*, **41**, 833-840 (2006).
5. Göker, H., Kuş, C., Boykin, D.W., Yıldız, S., Altanlar, N. "Synthesis of some new 2-substituted-Phenyl-1H-benzimidazole-5-carbonitriles and their potent activity against *Candida* species" *Bioorg. Med. Chem.*, **10**, 2589-2596 (2002).
6. Ayhan-Kılıçgil, G., Altanlar, N. "Synthesis and antimicrobial activities of some new benzimidazole derivatives" *Il Farmaco*, **58**, 1345-1350, (2003).

7. **Özden, S., Karataş, H., Yıldız, S., Göker, H.** “Synthesis and Potent Antimicrobial Activity of Some Novel 4-(5,6-Dichloro-1H-benzimidazole-2-yl)-N-substituted Benzamides” *Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem.*, **337**, 556-562, (2004).
8. **Özden, S., Atabey, D., Yıldız, S., Göker, H.** “Synthesis and Potent Antimicrobial activity of Some Novel Methyl or Ethyl 1H-Benzimidazole-5-carboxylates derivatives carrying amide or amidine groups” *Bioorg. Med. Chem.*, **13**, 1587-1597, (2005).
9. **Göker, H., Özden, S., Yıldız, S., Boykin, D.W.** “Synthesis and Potent Antibacterial Activity against MRSA of Some Novel 1,2-Disubstituted-1H-benzimidazole-N-alkylated-5-carboxamidines” *Eur. J. Med. Chem.*, **40**, 1062-1069 (2005).
10. **Bauer, A.W., Kirby, W.M.M., Sherris, J.C., Turck, M.** “Antibiotic Susceptibility Testing by a Standardized Single Disk Method” *The American Journal of Clinical Pathology*, **45** (4), 493-496, (1966).
11. National Committee for Clinical Laboratory Standards: **Performance standards for antimicrobial susceptibility testing.** NCCLS Document M100-S12. 11th Informational Suppl. NCCLS, Wayne. (2002).
12. **Çetin, E.T.** Genel ve Pratik Mikrobiyoloji. İstanbul, Semet matbaası, sf: 444-448 (1973).
13. **Kuş, C.** “Synthesis of New Substituted 6-(morpholin-4-yl)-1H-Benzimidazole Derivatives” *T. J. Chem.*, **26**, 559-564 (2002).
14. **Finger, G.C., Oesterling, R.E.** “Aromatic Fluorine Compounds. VI. Displacement of Aryl Fluorine in Diazonium Salts” *J. Am. Chem. Soc.*, **78**, 2593-2596 (1956).
15. **Swarts, F.** Sur Quelques Derives Aromatiques Fluores. In Bulletins de la Classe des Sciences Bruxelles: Hayez, Imprimeur de l’academie Royale de Belgique. p: 241-278 (1913).
16. **Kuş, C., Göker, H., Altanlar, N.** “Synthesis and antimicrobial activity of 5-fluoro-1,2,6-trisubstituted benzimidazole carboxamide and acetamide derivatives” *Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem.*, **334**, 361-365 (2001).
17. **El-Abadelah, M.M., Nazer, M.Z., El-Abadla, N.S., Meier, H.** “6-Fluoro-7-(1-piperazinyl)-quinoxaline 1,4-dioxides. Part I. 2-(N-2-Hydroxyalkylcarbamoyl) Derivatives” *Heterocycles*, **41**(10) : 2203-2219 (1995).

Received: 13.02.2007

Accapted: 21.05.2007