

Koruyucu Yardımcı Maddeler Olarak Kullanılan Parabenin Yeni Türevlerinin Sentezi Ve Antimikrobiyal Etkilerinin İncelenmesi

Mehmet Fatih HAKİMOĞLU¹ Meltem TAN^{1*}

ÖZET: Bu çalışmada paraben bileşiklerinin zararlı etkilerini en aza indirecek alternatif bileşiklerin sentezlenmesi amaçlanmıştır. Paraben bileşiklerinde yer alan grupların değiştirilmesi sonucu, yeni alternatif bileşiklerin sentezi gerçekleştirilerek yapı karakterizasyonları yapılmıştır. İlaçlarda koruyucu yardımcı maddeler olarak kullanılabilir potansiyele sahip bu sentetik bileşiklerin antimikrobiyal özelliklerinin araştırılması gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla çeşitli gram pozitif ve gram negatif bakterilerden *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883, *Escherichia coli* ATCC 36218, *Bacillus megaterium* DSM-32, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ve ökaryotik maya olan *Candida albicans* ATCC10231 ve *Yarrowia lipolytica* mikroorganizmalarına karşı aktiviteleri incelenmiştir.

Anahtar Kelimeler: paraben, sentetik bileşik, antimikrobiyal özellik

Synthesis and Antimicrobial Effects of New Derivatives of Paraben Used as Protective Excipients

ABSTRACT: In this study, new alternative compounds were synthesized as a result of changing the groups in these compounds with the aim of minimizing the harmful effects of paraben compounds. Due to the investigation of the antimicrobial properties of these synthetic compounds which can be used as protective excipients in pharmaceuticals, gram positive and gram negative bacteria *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883, *Escherichia coli* ATCC 36218, *Bacillus megaterium* DSM-32, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and eukaryotic yeast *Candida albicans* ATCC 10231 and *Yarrowia lipolytica* were used.

Keywords: paraben, synthetic compound, antimicrobial property

¹Mehmet Fatih HAKİMOĞLU (Orcid ID: 0000-0002-1881-2395), Meltem TAN (0000-0003-4190-6047), Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Kimya ABD, Van, Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Meltem TAN, e-mail: meltemtan@yyu.edu.tr

*Bu çalışma Mehmet Fatih HAKİMOĞLU'nun Yüksek Lisans tezinden üretilmiştir.

GİRİŞ

Paraben olarak adlandırılan kimyasal madde gurubu, ilk olarak 1920'lerin ortalarında, farmasötik ürünlerinde antimikrobiyal koruyucu maddeler olarak tanıtılmıştır. Şu anda, yaygın olarak ilaç, kozmetik ve gıda maddeleri için kullanılan koruyuculardır. Literatürdeki raporlara göre bir kişi günlük olarak 76 mg parabenlere maruz kalmaktadır (gıda yaklaşık 1 mg gün⁻¹, ilaç 25 mg gün⁻¹ ve kozmetik ve kişisel bakım ürünleri 50 mg gün⁻¹) (Soni ve ark., 2005). Bununla beraber evlerden, apartmanlardan, ofislerden ve laboratuvarlardan toplanan örneklerde çevresel parabenler bulunmuştur. Bu analizler, 418 ile 2320 ng g⁻¹ arasında değişen paraben konsantrasyonlarını ortaya çıkarmıştır (Wang ve ark., 2012). Yapılan çalışmalarda, parabenlerin kişisel bakım, gıda ve ilaç ürünlerine eklenmesiyle tüm dünyada yaygın bir endüstriyel ürün haline gelmiştir. Kabul edilir antifungal etkiye sahip olsalarda sınırlı noktada antibakteriyel etki göstermektedirler. Antibakteriyel etkinlikleri açısından bakıldığında Gram-negatif bakterilere göre, Gram-pozitif bakteriler üzerinde daha çok etkilidirler (Yıldırım ve ark., 2014). Yeterli konsantrasyonda olmalarının yanısıra önemli olan, koruyucu madde miktarının tüketiciyi mikroorganizmalara karşı yeterli düzeyde korumasıdır. Aynı zamanda tüketicinin epitel hücrelerine, toksik etkide bulunmamasıyla birlikte, alerjik reaksiyonlar gibi önemli sorunlara yol açmamak olmalıdır. Tüketici üzerinde histaminik, toksik ya da irrite edici etkisinin olmaması önemlidir. Üretimi ve ürünün raf ömrü süresince (değişken sıcaklık ve pH değerlerinde) kararlı olmalıdır. Ürünün yapısal özelliklerini değiştirmemesi, mikroorganizmaların bulunduğu ortama adapte olmaması için çok kısa sürede yok etmesi, belirlenen yasa ve yönetmelik prosedürlerine uygun olması gerekmektedir. Ekonomik ve kolay ulaşılabilir özelliklerine sahip olmalıdır (Steinberg, 2006, Lundov ve ark., 2009; Tan ve ark., 2013).

Bu çalışmada parabenler gibi koruyucu yardımcı maddeler yerine kullanılacak ve metil, etil ve propil paraben bileşikleri temel alınarak; çeşitli yeni grupların bağlanmasıyla oluşacak bileşiklerin sentezi ve karakterizasyonu amaçlanmıştır. Koruyucu madde olarak tasarlanan bu bileşiklerin antimikrobiyal özelliklerinin araştırılması nedeniyle gram pozitif ve gram negatif bakterilerden *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883, *Escherichia coli* ATCC 36218, *Bacillus megaterium* DSM-32, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ve ökaryotik maya olan *Candida albicans* ATCC 10231 ve *Yarrowia lipolytica* mikroorganizmaları kullanılarak bunlara karşı aktivitelerinin ölçülmesi hedeflenmiştir.

MATERYAL VE YÖNTEM

Deneylede Kullanılan Materyaller

Nükleer Magnetik Rezonans (¹H-NMR ve ¹³C-NMR) spektrumları Agilent 400 MHz cihazı, Likit Kromatografi-Kütle Spektrometresi (LC/MS) spektrumları ise Thermo Scientific Q Exactive cihazı kullanılarak alınmıştır.

Antimikrobiyal Aktivite Analizi İçin Metod

Sentezlenen paraben gruplarının antimikrobiyal aktivitelerini belirlemek için disk difüzyon yöntemi kullanılmıştır. Bu sebeple *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883, *Escherichia coli* ATCC 36218, *Bacillus megaterium* DSM-32, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, ökaryotik maya olan *Candida albicans* ATCC 10231 ve *Yarrowia lipolytica* mikroorganizmaları kullanıldı. Pozitif kontrol grubu olarak bakterilerde Gentamisin (10 µl), maya suşlarında ise Fluconazole (FCA-25) standart

antibiyotikleri kullanılmıştır. Negatif kontrol grubunda Dimetil Sülfoksit (DMSO) kullanılarak farklı (5µl, 10 µl, 15 µl ve 20µl) dozlar kullanılmıştır. DMSO'nun kullanılan mikroorganizmalar üzerinde herhangi bir aktivitesi bulunmadığı ayrıca tespit edilmiştir.

Mikroorganizmaların gelişmesi için, bakteriler için Nütrient Broth sıvı besiyerine aşılansak 37 °C de 24 saat ve maya suşları ise Malt Extract Broth sıvı besiyerine göre aşılansak 27 °C de 48 saat süre ile aktivasyonu sağlanmıştır. Erlanmayer kaplarında sterilize edilen Nütrient Agar ve Malt Eksrakt Agar kullanılmıştır. Antimikrobiyal aktivite sırasında mikroorganizmaların üremesi için aşılansak olan mikroorganizmalar 30-35 µl besiyeri üzerine damlatılarak diligaski ile homojen bir şekilde yayılması sağlanmıştır. Paraben gruplarında sentezlenen maddelerin her biri 0.02 gr tartılıp 200ul DMSO'da çözülmüştür. Dozlar 4 farklı şekilde seyreltilerek hazırlanmıştır. Daha sonra 6 mm'lik boş steril disklerle hazırlanmış olan dozlardan 5ul emdirilerek besiyerlerine yerleştirilmiştir. Bu şekilde hazırlanan bakteri suşlarını 37 °C de 24 saat ve maya suşlarını ise 27 °C de 48 saat içinde inkübe bırakılmıştır. Süre sonunda besiyeri üzerinde oluşan inhibisyon zonları mm olarak cetvelle ölçülerek not edilmiştir.

Spektral Veriler

Metil 4-hidroksibenzoat (1) Beyaz Katı. E.N: 125-127 °C. (127-128 °C, Zhang ve ark., 2018). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.34 (bs, 1H, OH), 7.83-7.79 (m, 2H, AA'BB' sistem-Ar-H), 6.86-6.83 (m, 2H, AA'BB' sistem-Ar-H), 3.78 (s, 3H, OCH₃). ¹³C NMR (100 MHz, DMSO) δ 166.1, 162.0, 131.4, 120.3, 115.3, 51.6. LC/MS: [M+H] Teorik: 153.0546, Deneysel: 153.0533

Etil 4-hidroksibenzoat (2) Beyaz katı. E.N: 111-113 °C. (113-115 °C, Hou ve ark., 2018). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.32 (bs, 1H, OH), 7.82-7.79 (m, 2H, AA'BB' sistem-Ar-H), 6.86-6.82 (m, 2H, AA'BB' sistem-Ar-H), 4.24 (q, J=7.1 Hz, 2H, OCH₂), 1.28 (t, J=7.1 Hz, 3H, CH₃). ¹³C NMR (100 MHz, DMSO) δ 165.6, 161.9, 131.4, 120.5, 115.3, 60.1, 14.3. LC/MS: [M+Na] Teorik: 189.0522, Deneysel: 189.0539

Propil 4-hidroksibenzoat (3) Beyaz katı. E.N: 92-94 °C. (96-99 °C, Gunnam ve ark., 2016). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.32 (bs, 1H, OH), 7.83-7.79 (m, 2H, AA'BB' sistem-Ar-H), 6.86-6.83 (m, 2H, AA'BB' sistem-Ar-H), 4.15 (t, J=6.6 Hz, 2H, OCH₂), 1.73-1.64 (m, 2H, CH₂), 0.95 (t, J=7.4 Hz, 3H, CH₃). ¹³C NMR (100 MHz, DMSO) δ 165.6, 161.9, 131.4, 120.5, 115.3, 65.5, 21.7, 10.4. LC/MS: [M+H] Teorik: 181.0859, Deneysel: 181.0850

Metil 4- etoksibenzoat (4) Beyaz katı. E.N: 39-41 °C. (35-36 °C, Node ve ark., 1981). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 7.92 – 7.87 (m, 2H, AA'BB' sistem-Ar-H), 7.04 – 6.99 (m, 2H, AA'BB' sistem-Ar-H), 4.10 (q, J = 7.0 Hz, 2H, OCH₂), 3.80 (s, 3H, OCH₃), 1.34 (t, J = 7.0 Hz, 3H, CH₃). LC/MS: [M+Na] Teorik: 203.0678, Deneysel: 203.0693

Etil 4-etoksibenzoat (5) Sarı sıvı. (Barry ve ark., 1985). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.99-7.96 (m, 2H, AA'BB' sistem-Ar-H), 6.90-6.86 (m, 2H, AA'BB' sistem-Ar-H), 4.33 (q, J=7.1 Hz, 2H, OCH₂), 4.06 (q, J=7.0 Hz, 2H, OCH₂), 1.42 (t, J=7.0 Hz, 3H, CH₃), 1.37 (t, J=7.1 Hz, 3H, CH₃). ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 166.4, 162.7, 131.5, 122.7, 114.0, 63.6, 60.6, 14.7, 14.4. LC/MS: [M+H] Teorik: 195.1015, Deneysel: 195.1007

Propil 4- etoksibenzoat (6) Koyu sarı sıvı. (Cavill ve Gibson, 1947). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.00-7.96 (m, 2H, AA'BB' sistem-Ar-H), 6.90-6.87 (m, 2H, AA'BB' sistem-Ar-H), 4.23 (t, J=6.7 Hz, 2H, OCH₂-Pr), 4.07 (q, J=7.0 Hz, 2H, OCH₂-Et), 1.81-1.72 (m, 2H, CH₂-Pr), 1.42 (t, J=7.0 Hz, 3H, CH₃-Et), 1.01 (t, J=7.4 Hz, 3H, CH₃-Pr). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 166.6, 162.8, 131.6, 122.8, 114.1, 66.3, 63.8, 22.3, 14.8, 10.6. LC/MS: [M+H] Teorik: 209.1172, Deneysel: 209.1164

Metil 4- propoksibenzoat (7) Sarı sıvı. (Claesen ve ark., 1954). ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.98-7.95 (m, 2H, AA'BB' sistem-Ar-H), 6.91-6.87 (m, 2H, AA'BB' sistem-Ar-H), 3.94 (t, $J=6.7$ Hz, 2H, OCH_2), 3.86 (s, 3H, OCH_3), 1.85-1.76 (m, 2H, CH_2), 1.03 (t, $J=7.4$ Hz, 3H, CH_3). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 167.0, 163.0, 131.6, 122.4, 114.1, 69.7, 51.9, 22.5, 10.5. LC/MS: $[\text{M}+\text{H}]$ Teorik: 195.1015, Deneysel: 195.1006

Etil 4- propoksibenzoat (8) Açık sarı sıvı. (Cavill ve Gibson, 1947). ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.00-7.96 (m, 2H, AA'BB' sistem-Ar-H), 6.92-6.88 (m, 2H, AA'BB' sistem-Ar-H), 4.34 (q, $J=7.1$ Hz, 2H, $\text{OCH}_2\text{-Et}$), 3.96 (t, $J=6.6$ Hz, 2H, $\text{OCH}_2\text{-Pr}$), 1.87-1.78 (m, 2H, CH_2), 1.37 (t, $J=7.1$ Hz, 3H, $\text{CH}_3\text{-Et}$), 1.04 (t, $J=7.4$ Hz, 3H, $\text{CH}_3\text{-Pr}$). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 166.5, 163.0, 131.6, 122.7, 114.1, 69.7, 60.7, 22.6, 14.5, 10.5. LC/MS: $[\text{M}+\text{H}]$ Teorik: 209.1172, Deneysel: 209.1160

Propil 4-propoksibenzoat (9) Koyu sarı sıvı. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.00-7.97 (m, 2H, AA'BB' sistem-Ar-H), 6.92-6.88 (m, 2H, AA'BB' sistem-Ar-H), 4.24 (t, $J=6.7$ Hz, 2H, OCH_2), 3.96 (t, $J=6.6$ Hz, 2H, OCH_2), 1.86-1.73 (m, 4H, 2 CH_2), 1.06-1.00 (m, 6H, 2 CH_3). ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ 166.6, 163.0, 131.6, 122.8, 114.1, 69.7, 66.3, 22.6, 22.3, 10.6, 10.6. LC/MS: $[\text{M}+\text{Na}]$ Teorik: 245.1148, Deneysel: 245.1165

Metil 4-asetoksibenzoat (10) Beyaz katı. E.N: 74-77 °C. (79-81 °C, Yamamoto, 2010). ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.09-8.05 (m, 2H, AA'BB' sistem-Ar-H), 7.19-7.15 (m, 2H, AA'BB' sistem-Ar-H), 3.91 (s, 3H, OCH_3), 2.32 (s, 3H, CH_3). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 169.00, 166.4, 154.4, 131.3, 127.9, 121.7, 52.3, 21.3. LC/MS: $[\text{M}+\text{Na}]$ Teorik: 195.0651, Deneysel: 195.0659

Etil 4-asetoksibenzoat (11) Sarı sıvı. (Williams ve Naylor, 1971) ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.09-8.06 (m, 2H, AA'BB' sistem-Ar-H), 7.18-7.15 (m, 2H, AA'BB' sistem-Ar-H), 4.37 (q, $J=7.1$ Hz, 2H, $\text{OCH}_2\text{-Et}$), 2.32 (s, 3H, CH_3), 1.39 (t, $J=7.1$ Hz, 3H, $\text{CH}_3\text{-Et}$). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 169.0, 165.9, 154.3, 131.2, 128.2, 121.7, 61.2, 21.3, 14.5. LC/MS: $[\text{M}+\text{H}]$ Teorik: 209.0808, Deneysel: 209.0823

Propil 4-asetoksibenzoat (12) Sarı sıvı. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.10 – 8.04 (m, 2H, AA'BB' sistem-Ar-H), 7.18 – 7.14 (m, 2H, AA'BB' sistem-Ar-H), 4.27 (t, $J = 6.6$ Hz, 2H, OCH_2), 2.31 (s, $J = 1\text{H}$, COCH_3), 1.83 – 1.73 (m, 1H, CH_2), 1.01 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H, CH_3). LC/MS: $[\text{M}+\text{H}]$ Teorik: 223.0964, Deneysel: 223.0982

Metil 4- (benzoiloksi) benzoat (13) Beyaz katı. E.N: 128-129 °C. (126 °C, Khan ve ark., 2002). ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.22-8.19 (m, 2H, Ar-H), 8.15-8.11 (m, 2H, AA'BB' sistem-Ar-H), 7.66 (tt, $J=1.3$ ve 7.4 Hz, 1H, Ar-H), 7.55-7.51 (m, 2H, Ar-H), 7.33-7.29 (m, 2H, AA'BB' sistem-Ar-H), 3.93 (s, 3H, OCH_3). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 166.5, 164.8, 154.7, 134.0, 131.4, 130.4, 129.2, 128.8, 127.9, 121.9, 52.4. LC/MS: $[\text{M}+\text{Na}]$: Teorik: 279.0627, Deneysel: 279.0643

Etil 4- (benzoiloksi) benzoat (14) Beyaz katı. E.N: 85-87 °C. (94 °C, Cohn ve Löwenstein, 1908). ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.22-8.19 (m, 2H, Ar-H), 8.15-8.12 (m, 2H, AA'BB' sistem-Ar-H), 7.66 (tt, $J=1.3$ ve 7.4 Hz, 1H, Ar-H), 7.55-7.51 (m, 2H, Ar-H), 7.32-7.29 (m, 2H, AA'BB' sistem-Ar-H), 4.39 (q, $J=7.1$ Hz, 2H, OCH_2), 1.41 (t, $J=7.1$ Hz, 3H, CH_3). LC/MS: $[\text{M}+\text{Na}]$: Teorik: 293.0784, Deneysel: 293.0805

Propil 4- (benzoiloksi)benzoat (15) Beyaz katı. E.N: 45-48 °C. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.22-8.19 (m, 2H, Ar-H), 8.16-8.12 (m, 2H, AA'BB' sistem-Ar-H), 7.65 (tt, $J=1.3$ ve 7.4 Hz, 1H, Ar-H), 7.55-7.50 (m, 2H, Ar-H), 7.32-7.29 (m, 2H, AA'BB' sistem-Ar-H), 4.30 (t, $J=6.7$ Hz, 2H, OCH_2), 1.85-1.76

(m, 2H, CH₂), 1.04 (t, *J*=7.4 Hz, 3H, CH₃). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 166.0, 164.8, 154.7, 134.0, 131.3, 130.4, 129.2, 128.8, 128.3, 121.8, 66.8, 22.2, 10.6. LC/MS: [M+Na] Teorik: 307.0940, Deneysel: 307.0955

Metil 4-(2-okso-2-feniletoksi) benzoat (16) Beyaz katı. E.N: 90-94 (88-89 °C, Yu ve ark., 2018). °C ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.01-7.97 (m, 4H, AA'BB' sistem-Ar-H ve Ar-H), 7.66 (tt, *J*=1.3 ve 7.4 Hz, 1H, Ar-H), 7.54-7.49 (m, 2H, Ar-H), 6.97-6.93 (m, 2H, AA'BB' sistem-Ar-H), 5.35 (s, 2H, CH₂), 3.88 (s, 3H, OCH₃). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 193.8, 166.8, 161.8, 134.5, 134.3, 131.8, 129.1, 128.2, 123.7, 114.5, 70.6, 52.1. LC/MS: [M+H] Teorik: 271.0964, Deneysel: 271.0982

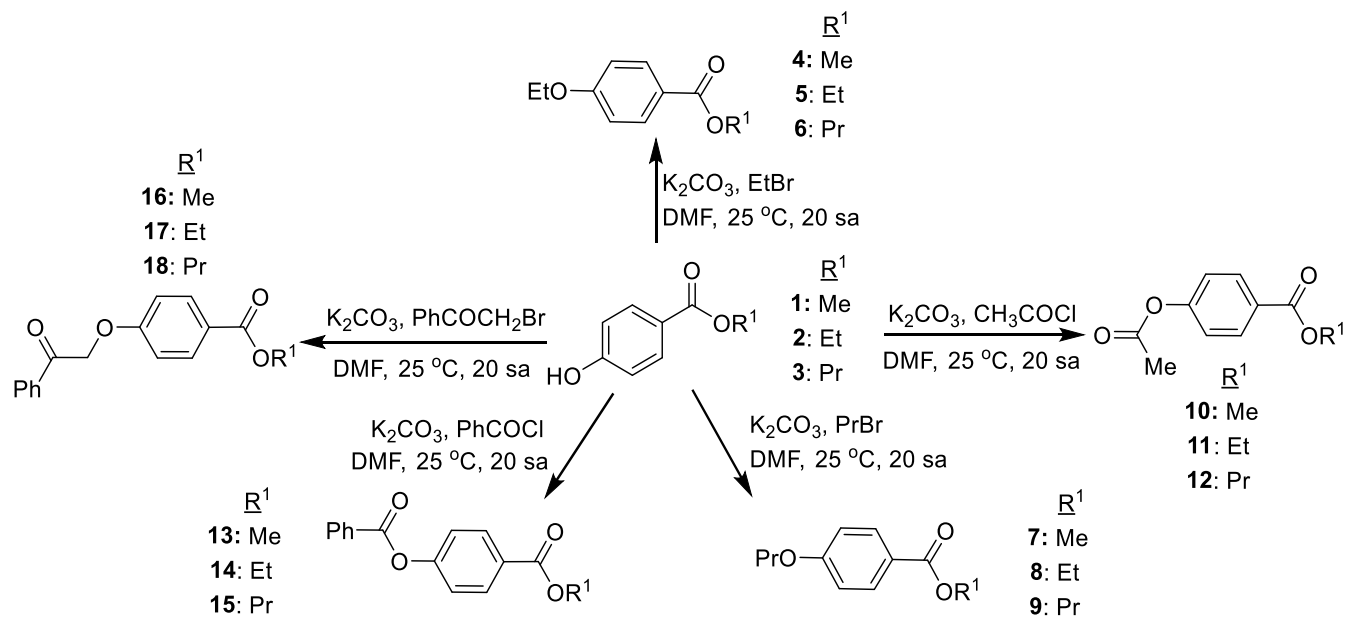
Etil 4-(2-okso-2-feniletoksi) benzoat (17) Beyaz katı. E.N: 111-113 °C. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.01-7.98 (m, 4H, Ar-H), 7.64 (t, *J*=7.4 Hz, 1H, Ar-H), 7.53-7.49 (m, 2H, Ar-H), 6.97-6.93 (m, 2H, Ar-H), 5.35 (s, 2H, CH₂), 4.34 (q, *J*=7.1 Hz, 2H, OCH₂), 1.37 (t, *J*=7.1 Hz, 3H, CH₃). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 193.8, 166.3, 161.7, 134.5, 134.2, 131.7, 129.1, 128.2, 124.0, 114.4, 70.6, 60.9, 14.5. LC/MS: [M+Na] Teorik: 307.0940, Deneysel: 307.0961

Propil-4-(2-okso-2-feniletoksi) benzoat (18) Beyaz katı. EN: 69-78 °C. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.02-7.98 (m, 4H, Ar-H), 7.64 (tt, *J*=1.3 ve 7.4 Hz, 1H, Ar-H), 7.54-7.49 (m, 2H, Ar-H), 6.97-6.93 (m, 2H, Ar-), 5.35 (s, 2H, CH₂), 4.24 (t, *J*=6.7 Hz, 2H, OCH₂), 1.81-1.72 (m, 2H, CH₂), 1.01 (t, *J*=7.4 Hz, 3H, CH₃). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 193.8, 166.4, 161.7, 134.5, 134.2, 131.8, 129.1, 128.2, 124.0, 114.5, 70.6, 66.5, 22.3, 10.7. LC/MS: [M+H] Teorik: 209.1277, Deneysel: 209.1299

BULGULAR VE TARTIŞMA

Paraben Türevi Bileşiklerin Sentezi

Bu çalışmada biyolojik aktivitelerini ve parabenlere karşı üstünlüklerinin varlığını analiz etmek amacıyla *p*-hidroksi benzoik asit bileşiğinden yola çıkılarak bir seri (18 adet) türev hazırlanmıştır. Bu nedenle öncelikle *p*-hidroksi benzoik asitten yola çıkılarak sırasıyla metil, etil ve propil alkol ile Fischer esterleşme reaksiyonları sonrasında aktivite çalışmalarında referans olarak kullanılacak metil, etil ve propil parabenler (**1**, **2**, **3**) sentezlenmiştir (Jee ve Kim, 2015) (Şekil 1).



Şekil 1. Paraben türevi bileşiklerin sentez şeması

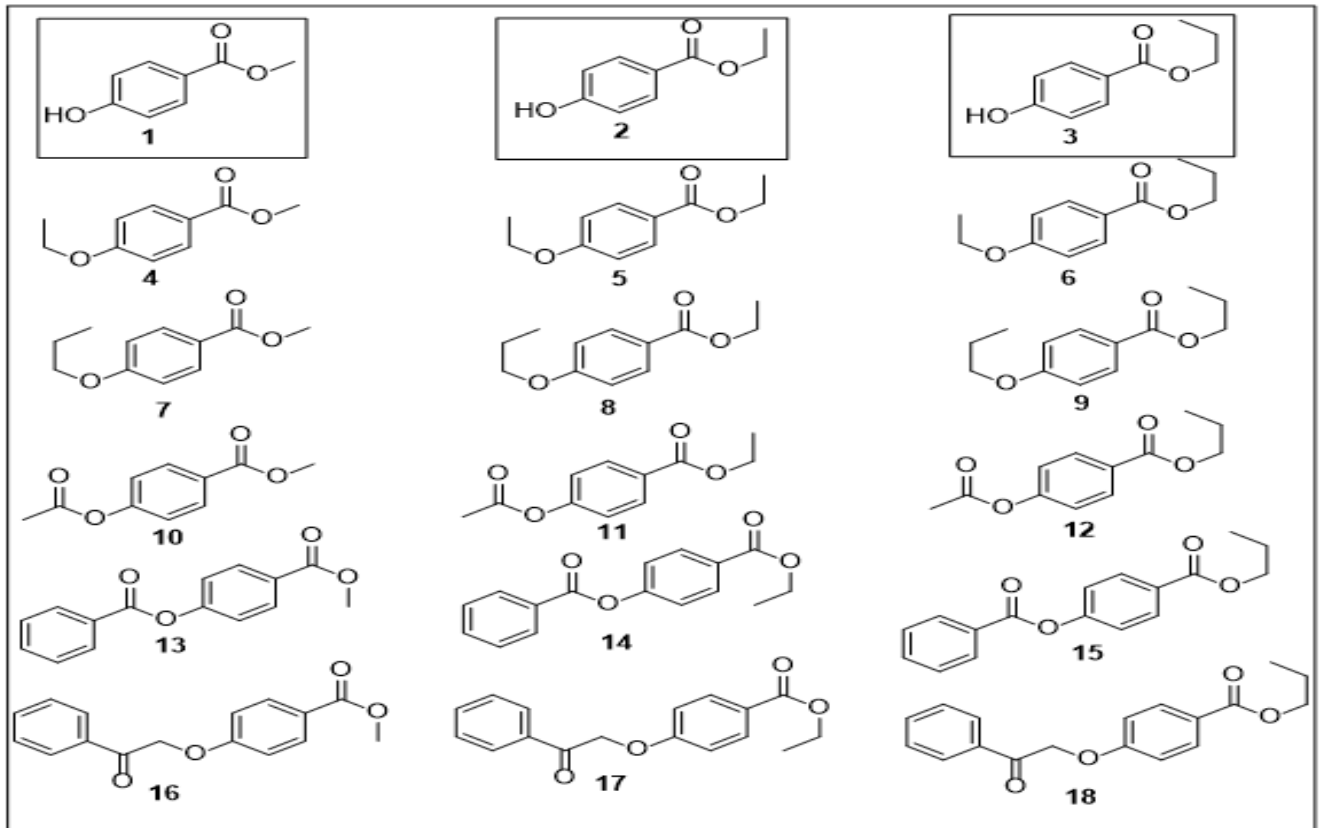
Türevlendirme ile bileşiklerinin lipofilitesini arttırmak için etil bromür ile reaksiyonlarının incelenmesi ile **4**, **5**, **6** elde edilmiştir. Daha uzun bir alkil zincirin aktivite üzerindeki etkisinin araştırılması amacıyla bileşiklerinin propil bromür varlığında reaksiyonu araştırılmıştır. Bu nedenle sırasıyla **7**, **8** ve **9** bileşiklerinin sentezi gerçekleştirilmiştir (Derdau ve ark., 2010) (Şekil 1).

Yapıya ester grubunun girmesiyle aktivite üzerindeki değişikliklerin araştırılması için asetil klorür ile bir seri reaksiyon yapılarak **10**, **11** ve **12** bileşiklerinin sentezi gerçekleştirilmiştir. Aroil klorür ile reaksiyonlarla elde edilecek bileşiklere aromatik grupların katılmasıyla biyolojik aktivite üzerindeki etkinin incelenmesi için sırasıyla **13**, **14** ve **15** türevlerinin sentezi gerçekleştirilmiştir (Şekil 1). Son türevlendirme serisinde, ester karbonili ve paraben oksijeni arasına bir metilen köprüsünün yerleşmesiyle meydana gelecek aktivite değişiminin gözlenmesi sebebiyle **16**, **17** ve **18** nolu bileşikler elde edilmiştir (Şekil 1).

Antimikrobiyal Aktivitelerini Belirlenmesi

Parabenler gibi koruyucu yardımcı maddeler yerine ve de parabenlerin yan etkilerinden kurtulmanın yanısıra bu bileşiklerin kullanım dozunu azaltmak için yeni türevlerin sentezi ardından biyolojik aktivite çalışmalarına başlanmıştır. Bu nedenle, sentezlenen 18 bileşikten ilk üç bileşik (**1-3**) parabenlerin kendileri olduğundan referans olarak seçilmiştir Diğer 15 bileşik (**4-18**) ise bağlı olduğu paraben grubuna göre sınıflandırılmıştır (Çizelge 1). Yeni paraben türevlerinin *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883, *Escherichia coli* ATCC 36218 *Bacillus megaterium* DSM-32, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, ökaryotik maya olan *Candida albicans* ATCC 10231 ve *Yarrowia lipolytica* mikroorganizmalarına karşı davranışları araştırılmıştır.

Çizelge 1: Paraben ve paraben türevlerinin yapılarına göre gruplandırılması



Paraben türevlerinin en etkili dozunun besi yerinde meydana getirdiği minimum inhibisyon çap genişliğine dayalı veriler çizelgede toplanmıştır (Çizelge 2). Buna göre; metil parabenin (1) referans olarak seçildiği grupta metil paraben türevleri (4, 7, 10, 13, 16) yer almaktadır. Etil paraben (2) ve türevleri (5, 8, 11, 14, 17) ile propil paraben (3) ve türevleri (6, 9, 12, 15, 18) ise kendi içlerinde gruplandırılmışlardır.

Çizelge 2: En yüksek aktivite gösteren paraben ve paraben türevi bileşiklerin mikroorganizmalara karşı minimum inhibisyon çapları

Bakteriler ve Maddeler	Minimum İnhibisyon Zon (mm)					
	Gram negatif bakteriler	Gram pozitif bakteriler	Mantar Türleri			
	Klebsiella pneumonia	Esherichia coli	Basillus megatarium	Staphyloccoccus aureus	Candida albicans	Yarrovi tripolitica
1	11 mm	13 mm	11 mm	12 mm	22 mm	9 mm
4	9 mm	8 mm	8 mm	8 mm	18 mm	7 mm
7	10 mm	9 mm	10 mm	10 mm	9 mm	8 mm
10	10 mm	11 mm	9 mm	11 mm	18 mm	9 mm
13	-	-	-	-	-	-
16	9 mm	9 mm	10 mm	9 mm	9 mm	8 mm
2	13 mm	14 mm	13 mm	11 mm	21 mm	10 mm
5	9 mm	9 mm	9 mm	9 mm	14 mm	10 mm
8	9 mm	8 mm	8 mm	8 mm	11 mm	9 mm
11	13 mm	13 mm	12 mm	12 mm	21 mm	8 mm
14	8 mm	8 mm	-	9 mm	8 mm	10 mm
17	7 mm	8 mm	9 mm	8 mm	8 mm	9 mm
3	12 mm	13 mm	11 mm	12 mm	25 mm	12 mm
6	7 mm	9 mm	8 mm	8 mm	16 mm	8 mm
9	10 mm	12 mm	9 mm	10 mm	10 mm	8 mm
12	14 mm	15 mm	14 mm	13 mm	30 mm	10 mm
15	10 mm	9 mm	9 mm	10 mm	15 mm	9 mm
18	-	-	-	-	8 mm	8 mm
Gentamisin	20 mm	20 mm	22 mm	22 mm	-	-
Fluconazole	-	-	-	-	35 mm	22 mm

Çizelgeye göre, ilk grupta yer alan metil parabenin (1) gram negatif bakterilere karşı minimum inhibisyon çapı sırasıyla 11 mm ve 13 mm, gram pozitif bakterilere karşı sırasıyla 11 mm ve 12 mm ve bunların dışında ökaryotik mayalara karşı da 22 mm ve 9 mm'dir. Bu bileşik ile kıyaslandığında ise 10 nolu asetil türevinin referans ile en yakın inhibisyon çapına sahip olduğu görülmektedir. Bu bileşiğin bahsedilen mikroorganizmalara karşı minimum inhibisyon çapları ise sırasıyla 10 mm ve 11 mm, 9 mm

ve 11 mm ile 21 mm ve 10 mm'dir. İkinci grupta yer alan etil paraben (2) bileşiğinin ise inhibisyon çapları sırasıyla 13 mm ve 14 mm, 13 mm ve 11 mm ile 21 mm ve 10 mm iken, 11 nolu asetil türevinin referans ile en yakın inhibisyon çapına sahip olduğu görülmektedir (Çizelge 2). Asetil türevinin bu mikroorganizmalara karşı inhibisyon çapları sırasıyla 13 mm, 12 mm ile 21 mm ve 8 mm'dir. Son gruptaki 3 nolu propil paraben bileşiğinin inhibisyon çapları sırasıyla 12 mm ve 13 mm, 11 mm ve 12 mm ile 25 mm ve 12 mm'dir. En yakın değerlere sahip olan 12 nolu propil parabenin asetil türevi ise mikroorganizmalara karşı sırasıyla 14 mm ve 15 mm, 14 mm ve 13 mm ile 30 mm ve 10 mm minimum inhibisyon çapı oluşturmuştur.

Her grubun kendi referansı ile kıyaslandığında minimum ihhibisyon çapı en büyük olan bileşiklerin 10, 11 ve 12 olduğu belirlenmiştir. Bu üç bileşiğin ortak özelliği ilgili paraben bileşiğinin asetil klorür ile reaksiyonu sonucunda meydana gelen, asetil grubu içeren ve ester özelliğinde olmalarıdır. Bu ortak özellik bileşiklerin yapıları ile aktiviteleri arasında bir ilişkinin olabileceği düşüncesini doğurmuştur. Aynı bileşikler kendi aralarında incelendiğinde ester grubuna bağlı alkil zincirinin uzaması ile aktivitede artış meydana geldiği görülmüştür. En düşük aktiviteye sahip bileşikler kıyaslandığında ise; birinci grup için 13, ikinci grup için 14 ile 17 ve son grup için 18 olduğu tespit edilmiştir. Bu bileşiklerden 13 nolu türevin aktiviteye sahip olmadığı gözlenmiştir. Ayrıca 18 nolu türevin de bakterilere karşı aktivitesinin olmadığı fakat az da olsa mantarlara karşı aktivite gösterdiği tespit edilmiştir.

Metil paraben türevleri içinde aktivitesi en yüksek bileşik olan 10 ile grubun diğer bileşiklerinin gram negatif bakterilere karşı aktiviteleri kıyaslanacak olursa en yakın aktivitenin 7, ikinci grupta ise 11 bileşiğine en çok 8 ve son grupta 12 bileşiğine göre 9 bileşiklerinde gözlendiği fark edilmiştir. Her üç bileşik ise ilgili parabenlerin propiloksi türevleridir. Bu sonuca göre aktivitesi en yüksek bileşikler ile kıyaslandığında lipofilitenin artış ile aktivitede düşüş olduğu söylenebilir.

Gram negatif bakterilere karşı en düşük aktivite gösteren bileşiğin birinci grupta 13, ikinci grupta 14 ile 17 ve son grupta 18 olduğu görülmektedir. 13 nolu bileşik benzoil klorür ile reaksiyon sonrası elde edilen ve benzoil grubu içeren ester yapısında bir bileşiktir. Aynı şekilde 14 nolu bileşikte aynı özelliktedir. Fakat 17 ve 18 bileşikleri incelenecek olursa bu bileşiklerinde yapısında benzoil grubu bulunduğu ve fakat ester karbonili ile oksijen arasında bir $-CH_2-$ grubu içerdikleri görülmektedir. Bu bileşiklerin tamamında ise düşük aktivitesinden bahsi geçen benzoil grubunun sorumlu olduğu düşünülmektedir.

Gram pozitif bakterilere karşı en yüksek aktivite gösteren bileşik ile kıyaslandığında, en yakın aktiviteye sahip türevin 7 ve 16, 5 ve 8 ile 9 ve 15 olduğu gözlenmektedir. Bu bileşiklerden 7, 8 ve 9 için aktivitelerindeki düşüş yine gram negatif bakterilere karşı yapılan yapı ile aktivite arasındaki ilişki ile açıklanabilir. Buna göre lipofilitenin artışı aktivitede düşüşe sebep olmuştur. Gram pozitif bakterilere karşı en düşük aktiviteyi ise 13, 14 ve 18 nolu bileşikler sergilemişlerdir. Bu bileşiklerin yapı ile aktiviteleri arasındaki ilişki incelenecek olursa her üç bileşiğinde benzoil yapısı taşıdıkları gözlenmiştir.

Son olarak ökaryotik mayalara karşı aktivitesi en yüksek olan 10 bileşiğine en yakın aktiviteyi 4, 11 bileşiğine en yakın aktiviteyi 5, 12 bileşiğine ise en yakın aktiviteyi 6 bileşiklerinin sergiledikleri görülecektir.

Ökaryotik mayalara olan aktivitelerine göre yapı ve aktivite arasındaki ilişki incelenecek olursa yine lipofilitenin artışı ile aktivitede düşüş olduğu söylenebilir. Çünkü aktivitesi en fazla olan bileşiklerde ester grubunun varlığı gözlenirken bunlara yakın aktiviteye sahip olan **4**, **5** ve **6** nolu bileşiklerde yapıda eter gruplarının bağlı olduğu görülmüştür. Bileşikler içinde aktivitesi en düşük olanların ise metil paraben türevleri içinde **13**, etil paraben türevlerinde **14** ile **17** ve son grupta ise **18** olduğu gözlenmiştir. Yapı ve aktivite ilişkisi incelenecek olursa en yüksek aktiviteye sahip olan bileşiklerde asetil, bu bileşiklerde ise benzoil grubunun varlığı görülmektedir. En yüksek aktiviteli olanlar ile kıyaslandığında, aktivitedeki düşüşün benzoil grubuyla ilişkili olduğu söylenebilir.

Sentezi yapılan tüm bileşiklerin ilaç endüstrisinde kullanılan bazı fizikokimyasal parametreler olan yağ/su partiyon katsayısı (LogP), molar refraktivite (MR), hidrojen bağı yapabilme özelliği (H bond acceptor/donor) ve polar yüzey alanı (PSA) hesaplanarak biyolojik aktivitedeki ilişkileri değerlendirilmiş ve elde edilen veriler aşağıda çizelgede toplanmıştır (Çizelge 3). Bu parametreler hesaplanırken ChemDraw Professional 15.0 programı ile 2D çizim yapılmış ve sonra 3D çizime dönüştürülerek ilgili hesaplama bölümlerinden komut verilmiştir.

Çizelge 3: Paraben ve paraben türevlerinin hesaplanan LogP, MR, H bağı kapasitesi ve PSA değerleri

Parben türevleri	LogP	MR	H bond acceptor	H bond donor	PSA
1	1.55	39.28	2	1	46.5
4	2.29	48.80	2	0	35.5
7	2.63	53.32	2	0	35.5
10	1.75	48.72	2	0	52.6
13	3.49	68.89	2	0	52.6
16	3.21	73.95	3	0	52.6
2	1.98	44.03	2	1	46.5
5	2.72	53.55	2	0	35.5
8	3.06	58.07	2	0	35.5
11	2.18	53.47	2	0	52.6
14	3.92	73.64	2	0	52.6
17	3.64	78.70	3	0	52.6
3	2.32	48.55	2	1	46.5
6	3.06	58.07	2	0	35.5
9	3.40	62.59	2	0	35.5
12	2.52	57.99	2	0	52.6
15	4.26	78.16	2	0	52.6
18	3.98	83.22	3	0	52.6

Kendi referansı olan metil, etil ve propil paraben (**1**, **2** ve **3**) ile kıyaslandığında en yakın aktiviteye sahip olanların **10**, **11** ve **12** olduğu ve bunların ester yapısında oldukları daha önce belirtilmiştir. Bileşiklerin antimikrobiyal aktiviteleri ile yapıları kıyaslandığında lipofilitedeki artışın aktivitede düşüşe sebep olduğu söylenebilir. Yapılan bilgisayarlı hesaplamalara göre de bu sonuca varılır. Gruplar içinde aktivitesi en yüksek olan **1**, **2** ve **3** bileşiklerinin LogP değerleri sırasıyla 1.55, 1.98 ve 2.32'dir. Bu bileşiklere en yakın aktiviteye sahip olan **10**, **11** ve **12** bileşikleri içinse bu değerler yine sırasıyla 1.75, 2.18 ve 2.52 olarak hesaplanmıştır. **10**, **11** ve **12** bileşikleri kendi aralarında incelendiğinde ise aktivitesi en yüksek olan ve en uzun alkil zincirine sahip **12** bileşiğinin LogP değerinin en yüksek olması yapı-aktivite ilişkisiyle uyumludur.

Gruplar içinde birinci grup için mikroorganizmalara karşı en az aktiviteye sahip olan **13**, ikinci grup için **14** ile **17** ve son grup için **18** nolu bileşiklerin sırasıyla 3.49, 3.92 ile 3.64 ve 3.98 olan en yüksek LogP değerlerine sahip olduğu dikkat çekmektedir. Buna göre lipofilitedeki artışın aktivitede azalmaya yol açtığı söylenebilir.

Aynı grup içinde yapı ve aktivite ilişkisi incelenecek olursa, **10** bileşiğine en yakın aktiviteye sahip olanın **7** olduğu, **11** bileşiğine göre bu yakınlığın en çok **8**'de ve **12** bileşiğine göre **9** bileşiğinde gözlemlendiğine daha önce değinilmiştir. Buna göre daha düşük aktiviteye sahip olanların lipofiliteleri daha fazla olacaktır. Dolayısıyla LogP değerlerinin daha yüksek olması beklenmektedir. Çizelge 3 incelenecek olursa bu bileşiklerin LogP değerlerinin sırasıyla 2.63, 3.06 ve 3.40 olduğu ve aktivitesi daha yüksek olan bileşiklerden (sırasıyla 1.75, 2.18 ve 2.52) daha büyük olduğu görülmüştür.

Yine aynı grup içinde aktivitesi en yüksek olan bileşikler ile kıyaslandığında en düşük aktivite gösteren bileşiğin birinci grupta **13**, ikinci grupta **14** ile **17** ve son grupta **18** olduğu görülmektedir. Bu bileşiklerden **13** ve **14** nolu olanlar da molekül büyümüş ve yapıya benzoil grubu girmiştir. Bu sebeple LogP değerlerinin daha büyük olması beklenir. Bu değerler beklenildiği gibidir (3.49 ve 3.92). Fakat **17** ve **18** bileşiklerinin ester karbonili ile oksijen arasında bir $-CH_2-$ grubu içerdikleri görülmektedir. Buna göre bu bileşiklerinde LogP değerleri yine daha büyük olacaktır. Bu değerler yapıyla uyum içindedir (3.64 ve 3.98). Aktivitedeki azalmanın artan lipofilite ile doğru orantılı olduğu söylenebilir.

Son olarak aynı grup içinde ökaryotik mayalara karşı paraben türevlerinin en çok aktivite gösteren **10**, **11** ve **12** ester bileşiklerinin LogP değerleri (sırasıyla 1.75, 2.18 ve 2.52) ile bu bileşiklere en yakın aktivite gösteren **4**, **5** ve **6** eter bileşiklerinin LogP değerleri kıyaslandığında, eter bileşiklerinin daha lipofilik karaktere sahip olmalarından, bu değerlerinin daha büyük olması beklenir (2.29, 2.72 ve 3.06). En düşük aktiviteye sahip ilk gruptan **13**, ikinci gruptan **14** ile **17** ve son gruptan ise **18** bileşiklerinin yapılarındaki benzoil grubunun varlığı sebebiyle daha lipofilik karakterde olmaları beklenmektedir. Bu bileşiklerin sırasıyla LogP değerleri 3.49, 3.92 ile 3.64, 3.98'dir. Beklenildiği gibi olan sonuçlara göre lipofilitenin artması aktivitede düşüşe sebep olmuştur.

SONUÇ

Yukarıda bahsedilen bilgiler özetlenecek olursa bu çalışmada paraben ve paraben türevi bileşiklerin sentezi yapılmıştır. Bu bileşiklerin gram negatif bakterilerden *Klebsiella pneumoniae* ve *Escherichia coli*, gram pozitif bakterilerden *Bacillus megaterium* ve *Staphylococcus aureus* ve ökaryotik maya olan *Candida albicans* ve *Yarrowia lipolytica* mikroorganizmalarına karşı aktiviteleri ölçülerek gözlenen minimum inhibisyon çapları belirlenmiştir. Buna göre bahsedilen mikroorganizmalara karşı metil, etil ve propil paraben yerine bu bileşiklerden daha lipofilik olan asetilli türevleri tercih edilebilir. Böylece parabenlerden kaynaklı toksik özellikler azaltılmış olabilir. Çizelge 3 incelendiğinde, bu bileşiklerin LogP değerleri parabenlere en yakın olanlardır ve 1.44-2.26 arasındadır. Ayrıca başka bir parametre olan ve toplam kutuplaşmayı belirten molar refraktivite (MR) değerinin 48.72-57.99 arasında olacağı belirlenmiştir. Bunun dışında yüzey kutup alanı olan polar surface area (PSA) değerinin 35.5-52.6 arasında olmasının en uygun olacağı tespit edilmiştir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi BAP birimi (THD-2018-7077) tarafından kısmi olarak desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

- Barry J, Bram G, Decodts G, Loupy A, Orange C, Petit A, Sansoulet J, 1985. Solid-liquid phase-transfer catalysis without added solvent. A simple, efficient, and inexpensive synthesis of aromatic carboxylic esters by alkylation of potassium carboxylates. *Synthesis*, 1: 40-45.
- Cavill GWK, Gibson NA, 1947. The esters of 4-hydroxybenzoic acid and related compounds. Part III. Ethers of 4-hydroxybenzoic acid and their n-alkyl esters. *Journal of the Society of Chemical Industry*, 66(8): 274-274.
- Claesen M, Van Dijck P, Vanderhaeghe H, 1954. A note on the tuberculostatic activity of benzoylhydrazides. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 6(1): 127-128.
- Cohn L, Loewenstein J, 1908. Eine Gesetzmäßigkeit beim Benzoylieren aromatischer Oxysäuren und ihrer Ester. *Chemische Berichte*, 41: 3363-3367.
- Derdau V, Fey T, Atzrodt J, 2010. Synthesis of isotopically labelled SGLT inhibitors and their metabolites. *Tetrahedron*, 66(7): 1472-1482.
- Gunnam A, Suresh K, Ganduri R, Nangia A, 2016. Crystal engineering of a zwitterionic drug to neutral cocrystals: a general solution for floxacins. *Chemical Communications*, 52(85): 12610-12613.
- Hou F, Wang XC, Quan ZJ, 2018. Efficient synthesis of esters through oxone-catalyzed dehydrogenation of carboxylic acids and alcohols. *Organic & Biomolecular Chemistry*, 16(48): 9472-9476.
- Jee JP, Kim HJ, 2015. Development of Hydrogel Lenses with Surface-immobilized PEG Layers to Reduce Protein Adsorption. *Bulletin of the Korean Chemical Society*, 36(11): 2682-2687.
- Khan KM, Rahat S, Choudhary MI, Ghani U, Perveen S, Khatoon S, Dar A, Malik A, 2002. Synthesis and Biological Screening of 2-Substituted 5, 6-Dihydro-5-oxo-4H-1, 3, 4-oxadiazine-4-propanenitriles and of Their Intermediates. *Helvetica Chimica Acta*, 85(2): 559-570.
- Lundov MD, Moesby L, Zachariae C, Johansen JD, 2009. Contamination versus preservation of cosmetics: A review on legislation, usage, infections, and contact allergy, *Contact Dermatitis*, 60(2): p. 70-78.
- Node M, Nishide K, Sai M, Fuji K, Fujita E, 1981. Hard acid and soft nucleophile systems. 3. Dealkylation of esters with aluminum halide-thiol and aluminum halide-sulfide systems. *The Journal of Organic Chemistry*, 46(10): 1991-1993.
- Soni MG, Carabin IG, Burdock GA, 2005. Safety assessment of esters of p-hydroxybenzoic acid (parabens). *Food and Chemical Toxicology*, 43(7): 985-1015.
- Steinberg D, 2006. *Preservatives for Cosmetics*, 2. baskı, s. 1-129, Allured Publishing Co., Illinois, USA.
- Tan AS, Tüysüz M, 2013. Kozmetik Ürünlerde Koruyucu Madde Kullanımı Ve Koruyucu Etkinlik Testleri. *Antibiyotik ve Kemoterapi Derneği Dergisi*, 27(2): 83-91.
- Wang L, Liao C, Liu F, Wu Q, Guo Y, Moon HB, Nakata H, Kannan K, 2012. Occurrence and human exposure of p hydroxybenzoic acid esters (parabens), bisphenol A diglycidyl ether (BADGE), and their hydrolysis products in indoor dust from the United States and three East Asian countries. *Environmental Science & Technology*, 46: 11584-11593.
- Williams A, Naylor RA, 1971. Hydrolysis of phosphinic esters: general-base catalysis by imidazole. *Journal of the Chemical Society B: Physical Organic*, 1967-1972.

- Yamamoto Y, 2010. The First General and Selective Palladium (II)-Catalyzed Alkoxy carbonylation of Arylboronates: Interplay among Benzoquinone-Ligated Palladium (0) Complex, Organoboron, and Alcohol Solvent. *Advanced Synthesis & Catalysis*, 352(2-3): 478-492.
- Yıldırım Z, İlk Y, Yıldırım M. 2014. The Synergist Effect of P-Hydroxybenzoic Acid and Propyl-Paraben on The Antibacterial Activity of Enterocin KP. *Turkish Journal of Agriculture- Food Science and Technology*, 2(1): 1-5.
- Yu W, Yang S, Xiong F, Fan T, Feng Y, Huang Y, Fu J, Wang, T, 2018. Palladium-catalyzed carbonylation of benzylic ammonium salts to amides and esters via C–N bond activation. *Organic & Biomolecular Chemistry*, 16(17): 3099-3103.
- Zhang X, Wu G, Gao W, Ding J, Huang X. Liu M, Wu H, 2018. Synergistic Photo-Copper-Catalyzed Hydroxylation of (Hetero) aryl Halides with Molecular Oxygen. *Organic Letters*, 20(3): 708-711.