







## BAZI 4,5-DİHİDRO-1H-PİRAZOL VE ŞALKON TÜREVLERİNİN ANTİMİKROBİYAL VE ANTİTÜBERKÜLER ETKİLERİ ÜZERİNE ARAŞTIRMALAR

*INVESTIGATIONS ON ANTIMICROBIAL AND ANTITUBERCULAR ACTIVITY OF SOME  
4,5-DIHYDRO-1H-PYRAZOLE AND CHALCONE DERIVATIVES*

Begüm EVRANOS AKSÖZ<sup>1\*</sup> , Fatma KAYNAK ONURDAĞ<sup>2</sup> , Erkan AKSÖZ<sup>3</sup> ,  
Selda ÖZGEN ÖZGACAR<sup>4</sup> 

<sup>1</sup>Süleyman Demirel Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Kimya Anabilim Dalı, 32000, Isparta,  
Türkiye

<sup>2</sup>Trakya Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, 22030 Edirne,  
Türkiye

<sup>3</sup>Süleyman Demirel Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı, 32000, Isparta,  
Türkiye

<sup>4</sup>Sağlık Bakanlığı, Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu, 06520 Ankara, Türkiye

### ÖZ

**Amaç:** Bu çalışmada öncelikle şalkonlar ve bu şalkon türevlerinin hidrazitler ile reaksiyonu sonucu halka kapanması ile oluşan 4,5-dihidro-1H-pirazol yapısındaki bileşikler sentez edilmiş ve sentezlenen tüm bileşiklerin antimikrobiyal ve antitüberküler etkileri araştırılmıştır.

**Gereç ve Yöntem:** Benzaldehit ve asetofenon türevlerinin alkali ortamda metanol içindeki reaksiyonuyla elde edilen şalkonların, hidrazit türevleri ile etanol içindeki reaksiyonu sonucu 4,5-dihidro-1H-pirazol türevleri elde edilmiştir. Sentezlenen bu bileşiklerin antimikrobiyal etkileri mikrodilüsyon yöntemiyle, antitüberküler etkileri ise mikropilaka alamar mavisi deneyi ile saptanmıştır.

**Sonuç ve Tartışma:** *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Pseudomonas aeruginosa* izolat (gentamisine dirençli) ve *Candida albicans*'a karşı 4,5-dihidro-1H-pirazol yapısındaki bileşiklerin şalkonlardan daha etkili olduğu bulunmuştur. *Staphylococcus aureus*'a karşı ise şalkonlar 4,5-dihidro-1H-pirazol türevlerinden daha etkili bulunmuştur. *Staphylococcus aureus* izolat (MRSA)

\* Sorumlu Yazar / Corresponding Author : Begüm Evranos Aksöz  
e-posta / e-mail: begumevranos@gmail.com, begumaksoz@sdu.edu.tr, Tel. / Phone: +902462114303

ve *Mycobacterium tuberculosis*'e karşı hem şalkonlar hem de 4,5-dihidro-1H-pirazol türevleri aynı etkiyi göstermiştir. B21 bileşiği *Candida krusei* üzerinde flukonazole aynı etkiyi göstermiştir. B20 bileşiği ise *Candida krusei* üzerine flukonazolden daha etkili bulunmuştur.

**Anahtar kelimeler:** Antimikrobiyal etki, antitüberküler etki, 4,5-dihidro-1H-pirazol, şalkon

## ABSTRACT

**Objective:** In this study, first of all, chalcones and the compounds in the structure of 4,5-dihydro-1H-pyrazole, which are formed by ring closure as a result of the reaction of the chalcones with hydrazides were synthesized and the antimicrobial and antitubercular effects of all synthesized compounds were investigated.

**Material and Method:** 4,5-Dihydro-1H-pyrazole derivatives were obtained as a result of the reaction of chalcones acquired by the reaction of benzaldehyde and acetophenone derivatives in methanol in alkaline medium, with hydrazide derivatives in methanol. The antimicrobial effects of these synthesized compounds were determined by microdilution method and their antitubercular effects were determined by microplate alamar blue assay.

**Result and Discussion:** Compounds in the structure of 4,5-dihydro-1H-pyrazole were found to be more effective than chalcones against *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Pseudomonas aeruginosa* isolate (gentamicin resistant) and *Candida albicans*. Against the strain of *Staphylococcus aureus*, chalcones were found to be more effective than 4,5-dihydro-1H-pyrazole derivatives. Both chalcones and 4,5-dihydro-1H-pyrazole derivatives showed similar effect against *Staphylococcus aureus* isolate (MRSA) and *Mycobacterium tuberculosis*. Compound B21 had the same activity with fluconazole against *Candida krusei*. Compound B20 was found to be more effective than fluconazole against *Candida krusei*.

**Keywords:** Antimicrobial activity, antitubercular activity, chalcone, 4,5-dihydro-1H-pyrazole

## GİRİŞ

Kandidalar insanın normal mikroflorasında bulunan, bununla birlikte bağışıklık sisteminin zayıflaması ile insan için tehdit oluşturmaya başlayan fırsatçı funguslardır. Bu funguslar, gastrointestinal sistem, vajina ve ağız mukozasının normal florasında mevcut olup, vücudun bu kısımlarında akut veya kronik enfeksiyona yol açabilmektedirler [1,2]. 350'nin üzerinde kandida türü olmasına rağmen bu kandida türlerinden *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida tropicalis*, *Candida krusei*, *Candida parapsilosis*, *Candida dubliniensis*, *Candida guilliermondii* ve *Candida kefir* insanlarda hastalığa neden olabilir [1,3].

*C. krusei*, *C. albicans* ile karşılaştırıldığında epitelyal ve prostetik yüzeylere yapışma özelliği, fosfolipaz üretimi ve proteolitik enzim potansiyeli daha düşük olduğu için daha az virulan bir kandida türüdür. Fakat *C. krusei*'nin patojenitesi gün geçtikçe artmaktadır. *C. krusei* bağışıklığı zayıflamış kişilerde fungemi, endoftalmi, artrit, endokardit gibi hastalıklara neden olabilmektedir [4].

*Candida albicans*, insan mikrobiotasında en sık rastlanılan fungus türüdür. Konakçının bağışıklığında meydana gelen değişiklikler, stres gibi faktörlerin etkisi ile bazen *Candida albicans* kolonisi aşırı büyüyerek yüzeysel mukozal enfeksiyonlardan, hematojen olarak yayılmış kandidiazise kadar pek çok hastalığa neden olabilmektedir [5].

Memelilerin bağırsak florasında yaşayan *Escherichia coli*, bağışıklığın zayıflaması ile birlikte enterit, üriner sistem enfeksiyonu, septisemi, neonatal menenjit gibi hastalıklara yol açabilmektedir [6]. *Pseudomonas aeruginosa*, pnömoni, menenjit ve hastane enfeksiyonları gibi pek çok hastalığa neden olan,

yüksek morbidite ve mortalite oluşturan, pek çok antibiyotiğe karşı direnç geliştirdiği için tedavisi zor olan bir bakteridir [7]. *Staphylococcus aureus*, bakteriyemi, yumuşak doku enfeksiyonları, hastane enfeksiyonları, osteomyelit gibi hastalıklara neden olabilmektedir. *S. aureus* başlangıçta metisilin ile tedavi edilebilirken sonrasında metisiline dirençli suşlar (MRSA), daha sonraları ise çoklu antibiyotik direnci geliştirdiğinden tedavisi oldukça güçtür [8]. *Enterococcus faecalis*, insan florasında doğal olarak bulunan, hastane enfeksiyonlarına neden olabilen ve pek çok antibiyotiğe karşı direnç geliştirmiş bir bakteridir [9]. *Mycobacterium tuberculosis*, verem hastalığına neden olmaktadır. Yavaş çoğalan, organizmada çoğalmadan uzun süre canlı kalabilen bu bakteri, konakçının bağışıklığı zayıfladığında aktif hale gelmektedir [10].

Pirazol halkası, bünyesinde birbirine komşu iki tane azot atomu taşıyan doymamış bir halkadır. Pirazol halkasındaki çifte bağlardan bir tanesinin doyurulması ile elde edilen 4,5-dihidro-1H-pirazol halkası gösterdiği çok çeşitli biyolojik etkileri nedeniyle araştırmacıların ilgisini çekmektedir [11,12]. Bu halka sisteminin sahip olduğu biyolojik etkilerden bazıları antimikrobiyal, antitüberküler, antiinflamatuvar [13,14], antioksidan [14], antidepresan [15] etkidir.

Şalkonlar flavonoid ailesinin önemli bir üyesidir [16]. 1,3-Diaril-2-propen-1-on yapısındaki şalkonlar, doğada sebzeler, meyveler ve diğer pek çok bitkide bulunan renkli bileşiklerdir. Cis ve trans izomerleri mevcut olan bu bileşiklerin, trans izomerleri daha dayanıklı ve kararlı olduğundan, çoğunlukla trans izomer halinde buldukları görülmektedir [17, 18]. Doğada yaygın olarak bulunan bu bileşikler gösterdikleri farmakolojik etkileri ile dikkat çekmektedir. Şalkonlar antiinflamatuvar, antioksidan, antikanser, antiviral [19], antitüberküler [19, 20], antifungal [19, 21-24], antibakteriyel [25, 26], antimalaryal [27] gibi farmakolojik etkiler göstermektedirler. Biz de bu amaçla sentezlediğimiz 4,5-dihidro-1H-pirazol ve şalkon türevi bileşiklerin antifungal, antibakteriyel ve antitüberküler etkilerini araştırdık.

## GEREÇ VE YÖNTEM

### Sentez

Şalkon türevleri potasyum hidroksit varlığında metanol içinde asetofenon ve benzaldehit türevlerinin reaksiyona girmesi ile elde edilmiştir. Elde edilen şalkon türevlerinin hidrazit bileşikleri ile reaksiyona girmesi sonucu 2-pirazolin türevi bileşikler sentez edilmiştir. Sentezlenmiş bileşiklerin sentez detayları, fizikokimyasal ve spektral özellikleri daha önce yayınlanmıştır [28].

### Antibakteriyel ve Antifungal Aktivite Tayini

Bu çalışmada *Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli* ATCC 35218, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Candida albicans* ATCC 10231 ve *Candida krusei* ATCC 6258 standart suşları kullanıldı. Klinik izolatlar olarak da *E. coli* izolatı (ESBL: Genişletilmiş spektrumlu beta laktamaz, tüm beta laktam antibiyotiklerine

dirençli), *P. aeruginosa* izolatı (gentamisine dirençli), *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *S. aureus* izolatı [MRSA (metisiline dirençli), tüm betalaktam antibiyotiklere dirençli], *E. faecalis* izolatı [VRE (vankomisine dirençli)] kullanılmıştır. Bakteriyel ve fungal duyarlılık testleri sırası ile Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) M100-S16 [29] ve M27-A3 [30] önerilerine göre uygulanmıştır.

Bu çalışmadaki kültür ve mikrodilüsyon testleri için Mueller Hinton Agar (MHA) (Merck), Mueller Hinton Broth (MHB) (Merck), Sabouraud Dekstroz Agar (SDA) (Merck), Sabouraud Liquid Medium (SLM) (Merck) ve MOPS (Sigma) ile pH'ı 7'ye ayarlanmış L-glutaminli RPMI-1640 besiyeri (Sigma) kullanılmıştır.

Ampisilin (Mustafa Nevzat İlaç Sanayii), gentamisin (Paninkret Chem.-Pharm.), ofloksasin (Zhejiang Huangyan East Asia Chemical CO. Ltd.), meropenem (Astra Zeneca), vankomisin (Mayne Pharma), ampisilin/sulbaktam (1:1) (Mustafa Nevzat İlaç San.), amoksisilin/klavulanik asit (2:1) (Deva İlaç), flukonazol (Pfizer) ve amfoterisin B (Bristol Myers Squibb) nin standard tozları üreticilerinden temin edilmiştir. Test edilen bileşiklerin stok çözeltileri DMSO'da çözülmüştür. Standart antibiyotik çözeltileri CLSI standartlarında tavsiye edilen uygun çözücülerde çözülmüştür [29, 30].

Test edilen bileşiklerin stok çözeltileri ve standart olarak kullanılan ilaçlar mikropolanın kuyucuklarında çift katlı olarak seyreltilmiştir. Sentezlenmiş bileşikler 1024, 512, 256, 128, 64, 32, 16, 8, 4, 2, 1, 0.5 µg/mL konsantrasyonlarında, standart ilaçlar ise 512, 256, 128, 64, 32, 16, 8, 4, 2, 1, 0.5, 0.25, 0.125, 0.0625, 0.03, 0.015, 0.008, 0.004, 0.002, 0.001 µg/mL konsantrasyonlarda hazırlanmıştır.

Antibakteriyel duyarlılık testi için mikropolanın her bir kuyucuğuna 100 µl Mueller Hinton Broth (MHB) eklenmiştir. İnokülasyon için kullanılan bakteriyel süspansiyonlar McFarland 0.5 yoğunluğunda taze kültürler seyreltilerek 105 CFU/mL konsantrasyonda hazırlanmıştır. Her bir mikropalak kuyucuğuna bu bakteri inokulumundan 10µl eklenmiştir. Mikroplaklar 37°C'de bir gece boyunca inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra, makroskopik olarak üremeyi inhibe eden en düşük madde konsantrasyonları minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) olarak saptanmıştır.

Fungal duyarlılık testi için, mikroplakların her kuyucuğuna, MOPS ile pH 7'ye tamponlanmış L-glutaminli RPMI-1640 besiyeri ilave edilmiştir. İnokülasyon için kullanılan maya süspansiyonları, McFarland 0.5 yoğunluğundan önce 1:100, sonra 1:20 oranında seyreltilerek  $2.5 \times 10^3$  CFU/mL konsantrasyonda hazırlanmıştır. Mikroplakların her bir kuyucuğuna bu inokulumdan 10 µl eklenmiştir. Mikroplaklar 37°C'de 24-48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası, makroskopik üremeyi inhibe eden en düşük madde konsantrasyonları minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) olarak saptanmıştır.

### **Antitüberküler Aktivite Tayini**

*Mycobacterium tuberculosis* H37RV ATCC 27294 suşu Middlebrook 7H11 agar (Becton Dickinson) içinde çoğaltıldı. Kültür süspansiyonları %0.04 (h/h) Tween 80-%0.2 sığır serum albümininde (Sigma), Mac Farland 1 yoğunluğunda hazırlandı. Süspansiyonlar sonra 7H9GC buyyon içinde 4.7 g

Middlebrook 7H9 buyyon (Difco), 20 ml %10'luk (h/h) gliserol, 1 g Bacto Casitone (Difco), 880 ml distile su, 100 ml oleik asit, albümin, dekstroz ve katalaz (Sigma) ile 1:25 oranında seyreltildi.

Bileşikler sonuç konsantrasyonları  $4096 \mu\text{g ml}^{-1}$  olacak şekilde dimetilsülfoksit (DMSO; Merck) içinde çözüldü ve  $0.22 \mu\text{m}$  por çapına sahip filtreler (Millipore) ile süzülerek sterilize edildi ve stok çözelti olarak kullanıldı. Stok çözeltiler sıvı besiyeri ile seyreltildi. İzoniazit (INH) ve etambutol (EMB) Sigma'dan temin edildi. INH ve EMB'nin stok çözeltileri deiyonize suda hazırlandı. Bileşiklerin ve standartların çözeltileri hazırlandı ve mikropkaya kuyucuklarında sıvı besiyeri ile 4096, 2048, 1024, 512, ...0,0625  $\mu\text{g ml}^{-1}$  konsantrasyonlara seyreltildi.

İnkübasyon sırasında ortamın buharlaşmasını en aza indirmek için dış çevre kuyucuklarına iki yüz mikrolitre steril deiyonize su ilave edildi. 3 ile 11 arasındaki sütunlarda B'den G'ye kadar olan sıradaki kuyucuklara 100  $\mu\text{l}$  7H9GC buyyon ilave edildi. 2. ve 3. Sütunlardaki B'den G'ye kadar olan sıradaki kuyucuklara çok kanallı bir pipet kullanılarak 100  $\mu\text{l}$  stok çözelti eklendi. 100  $\mu\text{l}$  3. sütundan 4. sütuna aktarıldı ve kuyucukların içeriği karıştırıldı. Sütun 10 ile çift katlı seri seyreltmeler yapıldı.

2 ile 11 arasındaki sütunlarda B'den G'ye kadar sıradaki kuyucuklara çok kanallı bir pipet kullanılarak 100  $\mu\text{l}$  *M. tuberculosis* inokulumu eklendi. 11. sütundaki kuyucuklar büyüme kontrolü olarak kullanıldı. Plakalar parafilm ile kapatıldı ve 5 gün  $37^\circ\text{C}$ ' de inkübe edildi. 50  $\mu\text{l}$  taze hazırlanmış 1:1 oranında 10X Alamar Blue (AbD Serotec) indikatörü ve %10'luk Tween 80 B11 kuyucuğuna ilave edildi. Plakalar  $37^\circ\text{C}$ 'de 24 saat boyunca inkübe edildi. B11 pembeye döndüğünde mikropkadaki tüm kuyucuklara boya karışımı eklendi. Mikropklar yeniden parafilm ile kapatıldı ve  $37^\circ\text{C}$ 'de 24 saat inkübe edildi ve tüm kuyucukların renkleri kaydedildi. Kuyucuktaki mavi renk üreme olmadığını, pembe renk ise üreme olduğunu göstermektedir. MİK değeri maviden pembeye renk dönüşümünü önleyen en düşük ilaç konsantrasyonu olarak tanımlanmıştır [31].

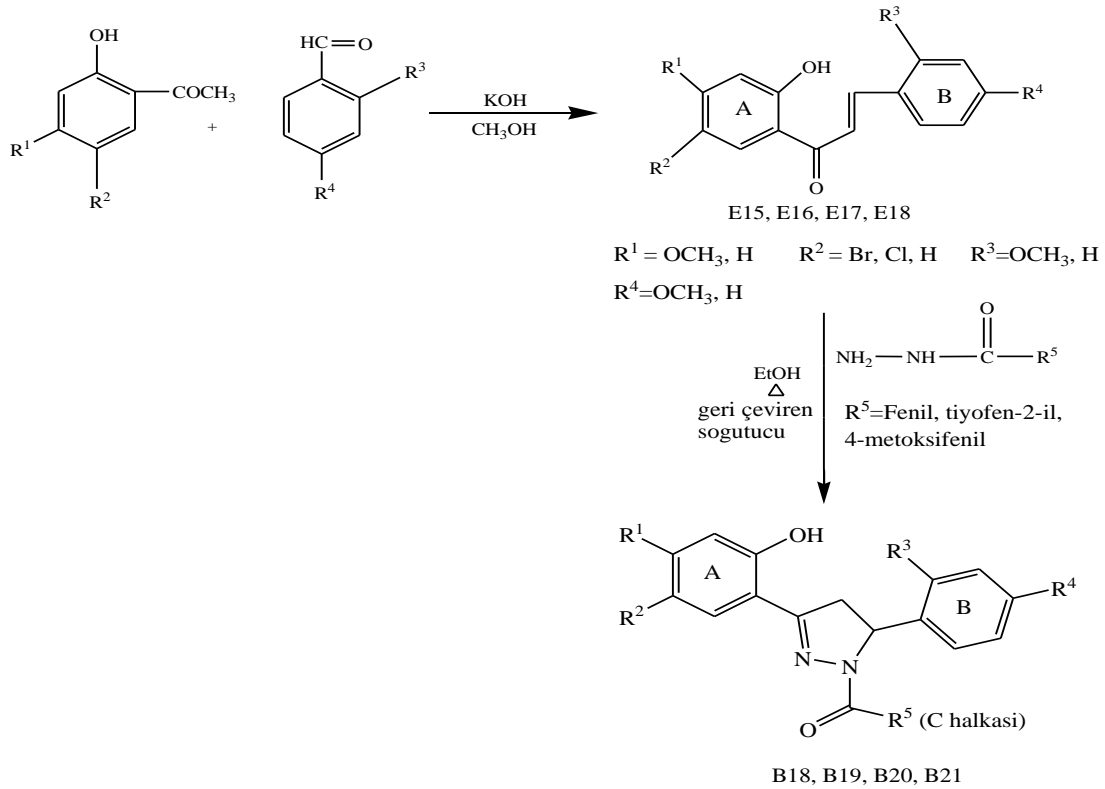
Her bir deneydeki tüm testler 3 kez tekrar edildi. İnokulum hazırlanmadan önce saflığı ve canlılığı sağlamak için, mikroorganizmalar en az iki kez pasajlandı. Kalite kontrol suşları (ATCC) deneyin doğruluğunu göstermek amacıyla kullanıldı ve bütün sonuçlar CLSI standartlarında belirtilen MİK değerlerinde bulundu. Sterilite kontrolü olarak inoküle edilmemiş besiyeri kullanılmıştır. İnoküle edilen ilaçsız besiyeri ise üreme kontrolü olarak kullanılmıştır.

## SONUÇ VE TARTIŞMA

Öncelikle şalkon yapısındaki **E15**, **E16**, **E17** ve **E18** bileşikleri, asetofenon ve benzaldehit türevlerinin reaksiyonu ile elde edilmiştir. Bu şalkonlardan **E15**'in 2-tiyofen karboksilik asit hidrazit ile reaksiyonu ile **B21**, **E16**'nın 4-metoksi benzoik hidrazit ile reaksiyonu ile **B20**, **E17**'nin 4-metoksi benzoik hidrazit ile reaksiyonu ile **B19** ve **E18**'in benzoik hidrazit ile reaksiyonu sonucu **B18** elde edilmiştir (Şekil 1). Sentez edilen bileşiklerin formülleri Tablo 1'de gösterilmiştir.

Sentezi gerçekleştirilen bu bileşiklerin *E. coli*'nin, *P. aeruginosa*'nın, *S. aureus*'un, *E. faecalis*'in farklı suşları üzerinde antimikrobiyal etkileri incelenmiştir. Antifungal etkileri, *C. albicans* ve *C. krusei* suşları üzerinde, antitüberküler etkileri ise *M. tuberculosis* kullanılarak test edilmiştir. Elde edilen MİK değerleri ( $\mu\text{g/mL}$ ) Tablo 2'de gösterilmiştir.

Şalkon yapısının pirazolin yapısına dönüşümü ile *E. coli* ATCC 25922 suşu, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *P. aeruginosa* izolat (gentamisine dirençli) ve *C. albicans*'a karşı etkinin arttığını görmekteyiz. Hem şalkon hem de pirazolinler *E. coli* ATCC 35218 suşu, *E. coli* izolat (ESBL) ve *S. aureus* izolat (MRSA) üzerinde aynı etkiyi göstermiştir. Bu da bu bakteriler üzerine etki söz konusu olduğunda açık zincir yapısı veya kapalı halka yapısı arasında bir fark olmadığını göstermektedir. Oysa *S. aureus* üzerine şalkon bileşiklerinin pirazolinlere göre daha etkili olduğunu görmekteyiz. Bu da açık zincir yapısının *S. aureus* açısından önemli olduğunu ifade eder.



**Şekil 1.** Bileşiklerin sentezi. Asetofenon ve benzaldehit türevlerinin oda sıcaklığında metanol içinde KOH varlığında reaksiyonu ile şalkonlar, şalkonlarında hidrazit türevleri ile etanol içinde ısıtılmasıyla 4,5-dihidro-1H-pirazol türevleri elde edilmiştir.

**Tablo 1.** Sentez edilen bileşiklerin formülleri

Bileşik	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>	R <sup>4</sup>	R <sup>5</sup>
<b>B18</b>	-OCH <sub>3</sub>	-H	-OCH <sub>3</sub>	-H	-Fenil
<b>B19</b>	-OCH <sub>3</sub>	-H	-H	-OCH <sub>3</sub>	4-Metoksi fenil
<b>B20</b>	-H	-Br	-H	-OCH <sub>3</sub>	4-Metoksi fenil
<b>B21</b>	-H	-Cl	-H	-OCH <sub>3</sub>	Tiyofen-2-il
<b>E15</b>	-H	-Cl	-H	-OCH <sub>3</sub>	-
<b>E16</b>	-H	-Br	-H	-OCH <sub>3</sub>	-
<b>E17</b>	-OCH <sub>3</sub>	-H	-H	-OCH <sub>3</sub>	-
<b>E18</b>	-OCH <sub>3</sub>	-H	-OCH <sub>3</sub>	-H	-

**Tablo 2.** Bileşiklerin antimikrobiyal ve antitüberküler etkileri

Bileşikler	MİK değerleri (µg/mL)											
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L
<b>B18</b>	64	128	128	64	64	256	64	128	128	64	64	64
<b>B19</b>	64	128	128	64	64	256	64	64	128	32	64	64
<b>B20</b>	64	128	128	64	64	128	64	64	64	32	16	64
<b>B21</b>	64	128	128	64	64	128	64	64	64	32	32	64
<b>E15</b>	128	128	128	128	128	64	64	128	128	128	64	64
<b>E16</b>	128	128	128	128	128	64	64	128	128	128	64	64
<b>E17</b>	128	128	128	128	128	64	64	128	128	128	64	64
<b>E18</b>	128	128	128	128	128	64	64	128	128	128	64	64
Ampisilin	2	-	>1024	-	-	0.5	-	0.5	0.5	-	-	-
Gentamisin	0.25	-	256	1	64	0.5	128	8	8	-	-	-
Ofloksasin	0.015	-	16	1	1	0.125	0.5	1	4	-	-	-
Meropenem	0.008	-	0.015	0.25	0.015	0.03	-	4	8	-	-	-
Vankomisin	-	-	-	-	-	0.5	1	1	8	-	-	-
Ampisilin/ sulbaktam (1/1)	-	16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Amoksisilin/klavulonik asit (2/1)	-	16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Flukonazol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.0625	32	-
Amfoterisin B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<0.03	0.5	-
Etambutol												4
İzoniazit												0.125

A: *E.coli* ATCC 25922, B: *E.coli* ATCC 35218, C: *E.coli* izolat (ESBL), D: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, E: *P.aeruginosa* izolat (gentamisine dirençli), F: *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, G: *S.aureus* izolat (MRSA), H: *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, I: *E.faecalis* izolat (VRE), J: *Candida albicans* ATCC 10231, K: *C.krusei* ATCC 6258, L: *Mycobacterium tuberculosis* H37RV ATCC 27294.

**B19**, **B20**, **B21** bileşikleri *C. albicans*'a karşı 32 µg/mL MİK değeri ile aynı etkiyi göstermiştir. **B19** ve **B20** bileşiklerinin B ve C halkasında bulundurduğu fonksiyonlu gruplar tamamen aynıdır. Bu iki bileşiğin taşıdığı A halkası birbirinden farklıdır. Bu da *C. albicans* karşısındaki etki için B ve C halkasının belirleyici olduğunu göstermektedir. A halkası *C. albicans* karşısındaki etkide çok önemli olmadığından, **B20** ve **B21** bileşiklerinin B halkası aynı olduğundan C halkasının tiyofen veya 4-metoksi benzen olmasının çok fark oluşturmadığı görülmektedir.

*S. aureus* üzerine pirazolin yapısının A halkasında metoksil grubu yerine klor, brom gibi bir halojen atomunun varlığının aktiviteyi olumlu etkilediği söylenebilir.

**B18** ve **B19** bileşikler karşılaştırıldığında iki bileşiğin de A halkasında 2. konumda hidroksil, 4. konumda ise metoksil grubu bulunmaktadır. **B18** bileşiği B halkasının 2. konumunda bir metoksil grubu taşırken, **B19** bileşiği B halkasının 4. konumunda bir metoksil grubu taşımaktadır. **B18** bileşiği C halkasında benzen halkası taşırken, **B19** bileşiği C halkasında 4-metoksi benzen taşımaktadır. *E. faecalis* ve *C. albicans* üzerine; **B19**, **B18**'e göre daha etkili olduğundan B halkasındaki metoksil grubunun benzen halkasının 4. konumunda olması ve C halkasında benzen yerine metoksi benzen varlığı etkide artışa neden olmaktadır.

*M. tuberculosis* üzerine şalkon ve pirazolin yapısındaki tüm bileşikler 64 µg/mL MİK değeri ile aynı etkiyi göstermiştir. Lin ve arkadaşlarına göre [32], şalkon yapısındaki bileşiklerde antitüberküler etki için, 2-propen-1-on yapısına bağlı halkalardan birinin lipofilik değerinin ise hidrofilik olması gerekmektedir. Bizim şalkon bileşiklerimizde 2-propen-1-on halkasına bağlı her iki halka fenildir ve bu halkalara bağlı süstituentler hidroksil, metoksil, klor ve bromdur. A halkasının 5. konumunda bulunan klor ve brom atomları lipofilitiyi artırıcı etki yapmasına rağmen, aynı halkada 2. konumda hidroksil grubunun varlığı hidrofiliteyi artırmaktadır. Ayrıca Lin ve arkadaşları [32] yapıda bulunan ilave hidroksil ve metoksil gruplarının antitüberküler etkide ciddi düşüşe yol açabileceğini söylemektedir. Bizim şalkon bileşiklerimizde bulunan fonksiyonel grupların hidrofobiditeyi olumsuz etkilediği ve bu nedenle de antitüberküler etkilerinin azalmış olabileceği söylenebilir.

**B20** ve **B21** bileşikler *C. krusei* üzerine sırasıyla 16 µg/mL ve 32 µg/mL MİK değerleri ile en iyi etkiyi göstermişlerdir. **B19** bileşiği A halkasında 2-hidroksi-4-metoksi fenil grubu taşırken, **B20** bileşiği 2-hidroksi-5-bromo fenil grubu taşımaktadır. Bu iki bileşiğin B ve C halkası aynı grupları içermektedir. **B20** bileşiği **B19** bileşiğine göre *C. krusei* üzerine 4 kat daha etkili bulunmuştur. Bu da *C. krusei* üzerine etki söz konusu olduğunda A halkasının etkide önemli rol oynadığını göstermiştir. A halkasında metoksil grubu yerine bir halojen atomunun varlığının etkiyi dikkat çekici bir şekilde artırdığı saptanmıştır. Yine bu halojen atomunun klor yerine brom atomu olması da etkiyi artırmaktadır.

Sonuç olarak, sentez edilen bileşiklerin tüberküloz basili üzerinde çok önemli bir etkinliği görülmemiştir. Bununla birlikte bileşiklerimizin özellikle kandida türleri üzerinde iyi etki gösterdiği bulunmuştur. **B21** bileşiği *C. krusei* üzerine 16 µg/mL MİK değeri ile en etkili bileşik olarak bulunmuştur. **B19**, **B20** ve **B21** bileşikler ise *C. albicans* üzerine en iyi etkiyi gösteren bileşiklerdir.

## YAZAR KATKILARI

Kavram: *B.E.A., F.K.O., E.A., S.Ö.Ö.*; Tasarım: *B.E.A., F.K.O., E.A., S.Ö.Ö.*; Denetim: *B.E.A., F.K.O., E.A., S.Ö.Ö.*; Kaynaklar: *B.E.A., F.K.O.*; Malzemeler: *B.E.A., F.K.O.*; Veri toplama ve/veya



işleme: B.E.A., F.K.O., E.A., S.Ö.Ö.; Analiz ve/veya yorumlama: B.E.A., F.K.O.; Literatür taraması: B.E.A., F.K.O.; Makalenin yazılması: B.E.A.; Kritik inceleme: B.E.A., F.K.O., E.A.; Diğer: -

## ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Yazarlar bu yazı için gerçek, potansiyel veya algılanan çıkar çatışması olmadığını beyan etmişlerdir.

## KAYNAKLAR

1. Tsega, A., Mekonnen, F. (2019). Prevalence, risk factors and antifungal susceptibility pattern of *Candida* species among pregnant women at Debre Markos Referral Hospital, Northwest Ethiopia. *BMC Pregnancy and Childbirth*, 19, 527-534.
2. Vanani, A.R., Mahdavinia, M., Kalantari, H., Khoshnood, S., Shirani, M. (2019). Antifungal effect of the effect of *Securigera securidaca* L. vaginal gel on *Candida* species. *Current Medical Mycology*, 5(3), 31-35.
3. Oyewole, O.A., Okoliegbe, I.N., Alkhalil, S., Isah, P. (2013). Prevalence of vaginal candidiasis among pregnant women attending Federal University of Technology, Minna, Nigeria, Bosso Clinic. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 4(1), 113-120.
4. Samaranayake, Y.H., Samaranayake, L.P. (1994). *Candida krusei*: biology, epidemiology, pathogenicity and clinical manifestations of an emerging pathogen. *Journal of Medical Microbiology*, 41, 295-310.
5. Nobile, C.J., Johnson, A.D. (2015). *Candida albicans* biofilms and human disease. *Annual Review of Microbiology*, 69, 71-92. Allocati, N., Masulli, M., Alexeyev, M.F., Ilio, C.D. (2013). *Escherichia coli* in Europe: an overview. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 10, 6235-6254.
6. Allocati, N., Masulli, M., Alexeyev, M.F., Ilio, C.D. (2013). *Escherichia coli* in Europe: an overview. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 10, 6235-6254.
7. Gül, M., Şensoy, A., Çetin, B., Korkmaz, F., Seber, E. (2004). Hastane infeksiyonu etkeni *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında seftazidime duyarlılığın E-test ve disk diffüzyon yöntemleri ile araştırılması. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 34, 33-36.
8. Güler, İ., Kılıç, H., Atalay, M.A., Perçin, D., Erçal, B.D. (2011). Metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* suşlarının antibiyotiklere in-vitro duyarlılıkları. *Dicle Tıp Dergisi*, 38(4), 466-470.
9. Mert Dinç, B., Aykut Arca, E., Yağcı, S., Karabiber, N. (2009). Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium* suşlarında in-vitro antibiyotik duyarlılığı. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 66(3), 117-121.
10. Evranos Aksöz, B. (2014). Tüberküloz tedavisinde yeni ilaç adayları. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 71(4), 207-220.

11. Kumar, K.A., Jayaroopa, P. (2013). Pyrazoles: synthetic strategies and their pharmaceutical applications-an overview. *International Journal of PharmTech Research*, 5(4), 1473-1486.
12. Naim, M.J., Alam, O., Nawaz, F., Alam, J., Alam, P. (2016). Current status of pyrazole and its biological activities. *Journal of Pharmacy and BioAllied Sciences*, 8(1), 2-17.
13. Kumar, S., Bawa, S., Drabu, S., Kumar, R., Gupta, H. (2009). Biological activities of pyrazoline derivatives -a recent development. *Recent Patents on Anti-Infective Drug Discovery*, 4(3), 154-163.
14. Karrouchi, K., Radi, S., Ramli, Y., Taoufik, J., Mabkhot, Y.N., Al-aizari, F.A., Ansar, M. (2018). Synthesis and pharmacological activities of pyrazole derivatives: a review. *Molecules*, 23, 134-218.
15. Evranos-Aksoz, B., Ucar, G., Tas, S.T., Aksoz, E., Yelekci, K., Erikci, A., Sara, Y., Iskit, A.B. (2017). New human monoamine oxidase A inhibitors with potential antidepressant activity: design, synthesis, biological screening and evaluation of pharmacological activity. *Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening*, 20(6), 461-473.
16. Gomes, M.N., Muratov, E.N., Pereira, M., Peixoto, J.C., Rosseto, L.P., Cravo, P.V.L., Andrade, C. H., Neves, B. J. (2017). Chalcone derivatives: promising starting points for drug design. *Molecules*, 22(8), 1210.
17. Evranos Aksöz, B., Ertan, R. (2011). Chemical and structural properties of chalcones I. *FABAD Journal of Pharmaceutical Sciences*, 36, 223-242.
18. Zhuang, C., Zhang, W., Sheng, C., Zhang, W., Xing, C., Miao, Z. (2017). Chalcone: a privileged structure in medicinal chemistry. *Chemical Reviews*, 117(12), 7762-7810.
19. Sahu, N.K., Balbhadra, S.S., Choudhary, J., Kohli, D.V. (2012). Exploring pharmacological significance of chalcone scaffold: a review. *Current Medicinal Chemistry*, 19, 209-225.
20. Lin, Y.M., Zhou, Y., Flavin, M.T., Zhou, L.M., Nie, W., Chen, F.C. (2002). Chalcones and flavonoids as anti-tuberculosis agents. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 10, 2795-2802.
21. Jayasinghe, L., Balasooriya, B.A., Padmini, W.C., Hara, N., Fujimoto, Y. (2004). Geranyl chalcone derivatives with antifungal and radical scavenging properties from the leaves of *Artocarpus nobilis*. *Phytochemistry*, 65, 1287-1290.
22. Svetaz, L., Tapia, A., López, S.N., Furlán, R.L., Petenatti, E., Pioli, R., Schmeda-Hirschmann, G., Zacchino, S.A. (2004). Antifungal chalcones and new caffeic acid esters from *Zuccagnia punctata* acting against soybean infecting fungi. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 52, 3297-3330.
23. Özdemir, A., Turan-Zitouni, G., Kaplancıklı, Z.A., Revial, G., Demirci, F., İşcan, G. (2010). Preparation of some pyrazoline derivatives and evaluation of their antifungal activities. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 25(4), 565-571.
24. Jimenez, C.M., Sampietro, D.A., Sgariglia, M.A., Soberón, J.R., Vattuone, M.A. (2014). Isolation, identification and usefulness of antifungal compounds from *Zuccagnia punctata* for control of toxigenic ear rot pathogens. *Natural Products Communications*, 9, 1461-1464.
25. Koudokpon, H., Armstrong, N., Dougnon, T.V., Fah, L., Hounsa, E., Bankolé, H.S., Loko, F., Chabrière, E., Rolain, J.M. (2018). Antibacterial activity of chalcone and dihydrochalcone compounds from *Uvaria chamae* roots against multidrug-resistant bacteria. *BioMed Research International*, 2018, 1453173.

26. Xu, M., Wu, P., Shen, F., Ji, J., Rakesh, K.P. Chalcone derivatives and their antibacterial activities: Current development. (2019). *Bioorganic Chemistry*, 91, 103133.
27. Ni, L., Meng, C.Q., Sikorski, J.A. (2004). Recent advances in therapeutic chalcones. *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, 14(12), 1669-1691.
28. Evranos-Aksoz, B., Baysal, I., Yabanoglu-Ciftci, S., Djikic, T., Yelekci, K., Ucar, G., Ertan, R. (2015). Synthesis and screening of human Monoamine oxidase-A inhibitor effect of new 2-pyrazoline and hydrazone derivatives. *Archive Der Pharmazie*, 348, 743-756.
29. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (formerly NCCLS). (2006a). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing 6th informational supplement. CLSI M100-S16, Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Wayne, Pennsylvania, USA.
30. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (formerly NCCLS). (2006b). Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeast approved standard, M27-A, clinical and laboratory standards institute, 940 West Valley Road, Wayne, Pennsylvania, USA.
31. Franzblau, S.G., Witzig, R.S., McLaughlin, J.C., Torres, P., Madico, G., Hernandez, A., Degnan, M.T., Cook, M.B., Quenzer, V.K., Ferguson, R.M., Gilman, R.H. (1998). Rapid, low-technology MIC determination with clinical Mycobacterium tuberculosis isolates by using the microplate alamar blue assay. *Journal of Clinical Microbiology*, 36, 362-366.
32. Lin, Y.M., Zhou, Y., Flavin, M.T., Zhou, L.M., Nie, W., Chen, F.C. (2002). Chalcones and flavonoids as anti-tuberculosis agents. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 10, 2795-2802.