

Atf İçin: Erol M, Çelik İ, Kuyucuklu G, 2021. 2-(*p*-Florofenil)-5-(2-(4-asetilpiperazin-1-il)asetamido)benzoksazol'un Sentezi, Moleküler Doking, DFT ve Antimikrobiyal Aktivite Çalışmaları. İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 11(3): 2122-2132.

To Cite: Erol M, Çelik İ, Kuyucuklu G, 2021. Synthesis, Molecular Docking, DFT and Antimicrobial Activity Studies of 2-(*p*-Fluorophenyl)-5-(2-(4-acetyl piperazin-1-yl)acetamido)benzoxazole. Journal of the Institute of Science and Technology, 11(3): 2122-2132.

2-(*p*-Florofenil)-5-(2-(4-asetilpiperazin-1-il)asetamido)benzoksazol'un Sentezi, Moleküler Doking, DFT ve Antimikrobiyal Aktivite Çalışmaları

Meryem EROL^{1*}, İsmail ÇELİK¹, Gülcan KUYUCUKLU²

ÖZET: Bu çalışmada, yeni 2-(*p*-Florofenil)-5-(2-(4-asetilpiperazin-1-il)asetamido)benzoksazol bileşiği üç aşamada sentezlenmiş ve yapısı ¹H-NMR ve ¹³C-NMR spektroskopisi ile aydınlatılmıştır. Antimikrobiyal aktivite çalışmaları, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Acinetobacter baumannii* NTCC 13304, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Candida albicans* ATCC 10231 ve bunların izolatları izolatları üzerinde gerçekleştirildi. Antimikrobiyal aktivite sonuçlarına göre, referans ilaçlar genel olarak daha iyi antimikrobiyal aktivite göstermesine rağmen sentezlenen bileşik, MİK: 32 µg mL⁻¹ ile ampisilin ile karşılaştırıldığında *E. faecalis* izolatları ve *E. coli* izolatları üzerinde oldukça umut verici aktivite gösterdi. Moleküler doking çalışması DNA giraz subunit B yapısı üzerinde gerçekleştirildi. Teorik ADME (absorbsiyon, dağılım, metabolizma, eliminasyon) özellikleri hesaplandı. Ayrıca DFT/B3LYP yöntemi ve 6-311G (d,p) temel seti kullanılarak HOMO-LUMO enerjileri, moleküler elektrostatik potansiyel analizi ve optimize edilmiş geometrik yapısı belirlendi ve sonuçlar görüntülendi.

Anahtar Kelimeler: Benzoksazol, antimikrobiyal aktivite, moleküler doking, DFT

Synthesis, Molecular Docking, DFT and Antimicrobial Activity Studies of 2-(*p*-Fluorophenyl)-5-(2-(4-acetyl piperazin-1-yl)acetamido)benzoxazole

ABSTRACT: In this study, the new compound 2-(*p*-Fluorophenyl)-5-(2-(4-acetyl piperazine-1-yl)acetamido)benzoxazole was synthesized in three steps and its structure was clarified by ¹H-NMR and ¹³C-NMR spectroscopy. Its antimicrobial activity was studied on *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Acinetobacter baumannii* NTCC 13304, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Candida albicans* ATCC 1023, and their isolates. When the antimicrobial activity results were examined, although the reference drugs showed better antimicrobial activity in general, the synthesized compound showed quite promising activity on *E. faecalis* isolates and *E. coli* isolates compared to ampicillin with MIC: 32 µg mL⁻¹. Molecular docking study was carried out on the DNA gyrase subunit B structure. Theoretical ADME (absorption, distribution, metabolism, elimination) properties were calculated. In addition, HOMO-LUMO energies, molecular electrostatic potential analysis, and optimized geometric structure were determined using the DFT/B3LYP method and the 6-311G (d,p) basis set, and the results were displayed.

Keywords: Benzoxazole, antimicrobial activity, molecular docking, DFT

¹ Meryem EROL ([Orcid ID: 0000-0001-5676-098X](https://orcid.org/0000-0001-5676-098X)), İsmail ÇELİK ([Orcid ID: 0000-0002-8146-1663](https://orcid.org/0000-0002-8146-1663)), Erciyes Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Kimya Anabilim Dalı, Kayseri, Türkiye

² Gülcan KUYUCUKLU ([Orcid ID: 0000-0003-1596-1659](https://orcid.org/0000-0003-1596-1659)), Trakya Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Edirne, Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Meryem EROL, e-mail: eczacimeryem@gmail.com

GİRİŞ

Bulaşıcı hastalıklar, insanlığın varlığından bu yana toplumları etkileyen en önemli sağlık sorunlarından biridir, ancak diğer yandan erken tanı konulduğunda ve akılcı bir antimikrobiyal ajan seçildiğinde tedavide başarılı sonuçlar alındığı görülmektedir. Antimikrobiyal tedavide ki en önemli sorun, mikroorganizmaların bu ilaçlara karşı zamanla direnç gelişimi göstermesidir. Bu durum da, basit bulaşıcı hastalıkların kontrolünde dahi sorunlara neden olmakta ve özellikle hastane enfeksiyonlarında tedaviyi zorlaştırmakta, hastanede kalış süresini uzatmakta, mortaliteyi ve tedavi maliyetlerini artırmaktadır (Yoneyama ve Katsumata 2006, French 2010, Ventola 2015, Klein ve ark., 2018, Arandjelovic ve ark., 2019, Pacios ve ark., 2020). Bu nedenle, özellikle immün sistemi baskılanmış kişilerde bakteriyel ve fungal enfeksiyonların neden olduğu enfeksiyonlarla savaşmak için yüksek antimikrobiyal aktiviteye, geniş spektruma ve gelişmiş farmakokinetik özelliklere sahip antimikrobiyal ajanlara ihtiyaç vardır.

Benzoksazol halkasının 2,5-disüstitüe türevleri şimdiye kadar iyi araştırıldığından dolayısıyla etkileri ile ilgili geniş bilgiler bulunmaktadır. Bu bağlamda, antimikrobiyal (Arisoy ve ark., 2012), antikanser (El-Helby ve ark., 2019), antialzheimer (Celik ve ark., 2020), antiinflamatuvar (Kaur ve ark., 2018), antikonvülsan (Song ve ark., 2019), analjezik (Kaur ve ark., 2018) ve anti-tüberküloz (Klimešová ve ark., 2009) gibi önemli biyolojik ve terapötik aktiviteleri literatürde rapor edilmiştir. Benzoksazol halka sistemi yapısal olarak nükleik asitlerin yapısında ki adenin ve guanin bazlarına benzer olduğu için, bu halka sistemini taşıyan türevlerin mikrobiyolojik aktivite mekanizmalarından biri nükleik asit sentezinin inhibisyonu olduğu düşünülmektedir. Bu bileşikler, DNA ile kompleksler oluşturur ve deoksiganosin kalıntılarına bağlanır. DNA ilaç kompleksleri, mRNA oluşumunu, DNA'ya bağımlı RNA polimerazı inhibe eder (Oehlers ve ark., 2004). Bu nedenle literatürdeki bilgiler dikkate alınarak tasarlanmış bir benzoksazol halkası içeren bileşiklerin, geniş spektrumlu, düşük toksisiteli ve iyi farmakokinetik özelliklerle güçlü bir antimikrobiyal etki göstermesi beklenmektedir.

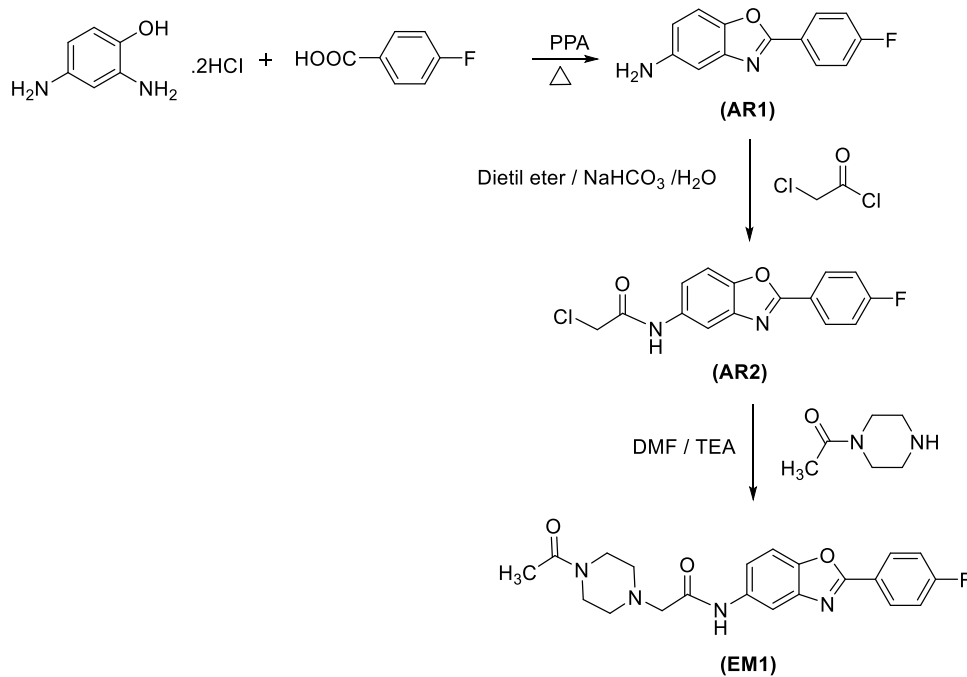
Daha önce yapılan araştırmalarda, 2. konumunda *p*-(süstitüe)benzil/fenil) ve 5. konumunda amid yan zincirine bağlı piperazin ve/veya piperidin türevleri taşıyan bileşikler sentezlenmiş ve antimikrobiyal etkileri incelenerek umut veren sonuçlar alınmıştır (Temiz-Arpacı ve ark., 2005, Arisoy ve ark., 2008, Erol ve ark., 2020). Bu bilgiler ışığında, bu çalışmada 2-(*p*-Florofenil)-5-(2-(4-asetilpiperazin-1-il)asetamido)benzoksazol bileşiğinin sentezi gerçekleştirildi ve yapısı ¹H-NMR ve ¹³C-NMR spektroskopisi yöntemleri ile aydınlatıldı. Antimikrobiyal aktivitesi çeşitli Gram (+) ve Gram (-) bakteri, mantar ve izolatlarına karşı minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değeri olarak belirlendi. Teorik ADME özellikleri hesaplandı. Ayrıca moleküler doking çalışması gerçekleştirildi, DFT/B3LYP yöntemi ve 6-311G (d,p) temel seti kullanılarak kuantum kimyasal hesaplamaları yapıldı ve molekülün yapısal özellikleri, geometrisi, elektronik ve termodinamik özellikleri belirlendi.

MATERYAL VE METOT

Bileşiğin sentezlenmesinde ve saflaştırılmasında kullanılan kimyasallar, Sigma-Aldrich, Acros Organics, Fluka ve Riedel de Haen'den elde edildi ve saflaştırılmadan kullanıldı. Elde edilen bileşiklerin erime noktaları kılcal yöntem kullanılarak Büchi B540 cihazı ile belirlendi. Reaksiyonların ilerlemesini ve saflığını izlemek için ince tabaka kromatografisi (İTK) kullanıldı. İTK için Silica Gel 60 GF254 alüminyum plakalar (Merck) kullanıldı. Plakalar üzerindeki lekeleri görselleştirmek için 254 ve 366 nm dalga boyunda UV ışığı veren Camag UV lambasından yararlanıldı. Sentezlenen bileşiklerin ¹H-NMR ve ¹³C-NMR spektral analizleri Varian Mercury 400 Yüksek Performanslı Dijital FT-NMR Spektrometresi ile yapılmış ve çözücü olarak dimetilsülfoksit-d₆ (DMSO-d₆) kullanılmıştır.

Sentez Prosedürü

2-(*p*-Florofenil)-5-(2-(4-asetilpiperazin-1-il)asetamido)benzoksazol, Şekil 1'de gösterildiği gibi ilgili literatürde verilen prosedür kullanılarak sentezlendi (Erol ve ark, 2020). 2-(*p*-Florofenil)-5-(2-(4-asetilpiperazin-1-il)asetamido)benzoksazol (**EM1**) sentezi için önce 1 mmol *p*-Florobenzoik asit ve 1 mmol 2,4-diaminofenol dihidroklorür polifosforik asit (PPA) katalizörlüğünde, 160-190°C'de yaklaşık 3 saat süreyle kaynatıldı ve böylece benzoksazol halkasının siklizasyonu sağlandı. Reaksiyonun sonunda, reaksiyon içeriği buz üzerine döküldü ve %10'luk NaOH çözeltisi, ortam alkali olana kadar ilave edildi. Çökelek süzüldü, etanol-su karışımında kristallendirildi, kurutuldu ve bileşik **AR1** elde edildi. 2. Basamakta, ilk basamaktan elde edilen 1 mmol ürün 20 ml dietil eter içinde çözülürken, 2 mmol NaHCO₃ 10 ml damıtılmış su içinde çözüldü. Eter ve su fazı, buz banyosu içinde karıştırılırken, 1 mmol 2-kloroasetilklorür yavaşça ilave edildi ve karıştırmaya gece boyunca devam edildi. Reaksiyonun sonunda oluşan çökelek süzüldü, etanol-sudan kristallendirildi, kurutuldu ve bileşik **AR2** elde edildi. Son aşamada, ikinci aşamada elde edilen amid türevinin 1 mmol *N*-asetilpiperazin ile reaksiyonu, 1 mL trietilamin (TEA) ve 5 mL dimetilformamid (DMF) varlığında oda sıcaklığında 24 saatte gerçekleştirildi. Sentez işlemi sırasında, reaksiyon ortamı İTK ile kontrol edildi ve süre sonunda reaksiyon içeriği buza döküldü, oluşan çökelek süzüldü, etanol-su karışımında kristallendirildi ve sonuç bileşik **EM1** elde edildi.



Şekil 1. EM1'in genel sentez yöntemi

Antimikrobiyal Aktivite Çalışmaları

Escherichia coli ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Acinetobacter baumannii* NTCC 13304, *Klebsiella pneumoniae* ve *Candida albicans* ATCC 1023 standart suşları ve klinik izolatları Trakya Üniversitesi Sağlık Tıbbi Araştırma ve Uygulama Merkezi'nden sağlandı. Standart antimikrobiyal ajan olarak ampisilin (Sigma), vankomisin (Mayne Pharma), sefotaksim (Sigma), siprofloksasin (Sigma), gentamisin (Sigma), meropenem (Sigma), flukonazol (Sigma) ve amfoterisin B kullanıldı. Test bileşiklerinin stok çözeltileri DMSO (Merck) içinde hazırlandı. Ampisilin fosfat tampon solüsyonunda hazırlandı ve diğer antibiyotik solüsyonları CLSI M100-S28 ve M27-A3 kılavuzlarına göre steril damıtılmış suda hazırlandı (CLSI 2008, CLSI, 2018). Mueller Hinton Agar (MHA) (Merck), Mueller Hinton Broth (MHB) (Merck), Sabouraud Dekstroz Agar (SDA) (Merck), Sabouraud Liquid Medium

(SLM) (Merck) ve L- ile RPMI-1640 besiyeri (Sigma) 3-[N-morfolino]-propansülfonik asit (MOPS) (Sigma) ile glutamin tamponlu pH 7, mikrobiyal kültürler için kullanıldı. Bakteriyel izolatlar, Mueller Hinton Agar (MHA) plaklarında alt kültürlendi ve gece boyunca 37°C'de inkübe edildi ve *C. albicans*, Sabouraud Dextrose Agar (SDA) plaklarda 24-48 saat 35°C'de alt kültürlendi. Saf koloniler sırasıyla bakteri ve mantarlar için MHB ve SLM'ye aktarıldı. Gece boyunca uygun koşullarda inkübe edildi. İnkübasyondan sonra, aşılama için kullanılan bakteriyel süspansiyonlar, MacFarland 0.5 yoğunlukta (10^8 cfu ml⁻¹) taze kültürler seyreltilerek 10^5 cfu ml⁻¹'de hazırlandı. Mantar süspansiyonları da McFarland 0.5 yoğunluğuna göre hazırlandı ve 1:50 seyreltme ve ardından 1:20 oranında stok süspansiyonu (2.5×10^3 cfu ml⁻¹) ile bir çalışma süspansiyonu yapıldı.

Duyarlılık testi, bakteriler için MHB ile ve mantarlar için 3-[N-morfolino]-propansülfonik asit (MOPS) ile L-glutamin tamponlu pH 7 ile RPMI-1640 ortamı ile gerçekleştirilmiştir. Yeni sentezlenen bileşiklerin ve standart ilaçların çözeltisi 512, 256, 128, 64, 32, 16, 8, 4 µg mL⁻¹'de hazırlandı ve her antimikrobiyal ajan için farklı stok konsantrasyonları, sırasıyla stok konsantrasyonları birçok kanallı pipetli mikrodilüsyon tepsisi. Seyreltmeden sonra, mikrodilüsyon tepsilerinin her bir oyuğuna 10 µL bakteri veya mantar aşısı eklenmiştir. Tepsiler bakteriler için 37°C'de ve mantarlar için 35°C'de nemli bir odada inkübe edilmiş ve 24 saatlik inkübasyondan sonra MİK uç noktaları okunmuştur. Makroskopik büyümeyi tamamen inhibe eden bileşiğin en düşük konsantrasyonu belirlendi ve MİK'ler bildirildi. Tüm organizmalar, deneylerin her seferinde üç kez test edildi. Çözücüler, saf mikroorganizmalar ve saf ortam, kontrol oyukları olarak kullanıldı.

Moleküler Doking

DNA giraz enziminin EM1 ile olan ilişkisini gözlemlemek için *in silico* ortamda moleküler doking çalışması gerçekleştirildi. Çalışmayı gerçekleştirmek için ilk olarak DNA giraz enziminin siprofloksasin içeren kompleks yapısı, protein veri bankasından (<https://www.rcsb.org/>) PDB ID: 2XCT kodu Chimera 1.14'e aktarıldı (Pettersen ve ark., 2004). 2XCT yapısındaki "S, U, V, W, X ve Y" zincirleri seçildi, Mn2000 ile bağlanan 1020 numaralı siprofloksasin (CPF) silindi ve aktif bölge Mn⁺⁺ baz alınarak, x: 28.527, y: 39.443, z: -13.753 koordinatlarında 20x20x20 Å³ grid kutusu oluşturuldu. Protein-DNA kompleksi, AutoDockTools 1.5.6 programı kullanılarak pdbqt dosya formatında hazırlandı (Huey ve Morris 2008). Ligandlar Chem3D 19.0 programı ile çizildi, MM2 yöntemiyle enerji düzeyi minimize edilip pdb formatında kaydedildi ve AutoDockTools 1.5.6 programı ile pdbqt dosya formatına dönüştürüldü. Moleküler doking işlemi en son AutoDock Vina programı ile gerçekleştirildi (Trott ve Olson 2010). Sonuçlar, BIOVIA Discovery Studio 2020 görüntüleme programı ile 2D-3D olarak gösterildi (Biovia 2017).

DFT/B3LYP Hesaplamaları

EM1'in yapısal ve kimyasal özelliklerini teorik yöntemlerle belirlemek için DFT/B3LYP teorisi ve 6-311G (d,p) temel seti kullanıldı. Gaussian 09W programı, molekülün geometrik parametrelerini (bağ uzunluğu ve bağ açısı), HOMO-LUMO orbital enerjilerini, elektronegatifliğini ve toplam enerjiyi teorik olarak belirlemek için kullanıldı (Frisch 2019). Sonuçlar GaussView 6.0 programı ile görüntüledi (GaussView 2016).

Teorik ADME Tahmini

İlaç tasarımında yüksek hedeflenen aktivite ve düşük toksisite önemli olduğu kadar, bileşiklerin farmakokinetik özellikleri ve biyoyararlanımı da önemlidir. Son yıllarda bilgisayar destekli ilaç geliştirme çalışmaları kapsamında ilaç adaylarının emilim, dağılım, metabolizma ve absorpsiyon (ADME) profillerinin tahminleri de yapılabilmektedir. Bu bağlamda, bileşiklerin teorik ADME

özellikleri Molinspiration yazılım programı kullanılarak hesaplandı (Cheminformatics 2018). İlaç benzerliği skoru Molsoft programı kullanılarak hesaplandı (Molsoft 2004).

BULGULAR VE TARTIŞMA

Kimya

EM1 bileşiğinin ¹H ve ¹³C NMR spektroskopisi verileri şu şekildedir: Verim %65, erime noktası: 195-198°C. ¹H-NMR δ ppm (400 MHz, DMSO-d₆): 9.95 (s, 1H, -NH), 8.20-8.02 (m, 2H, Ar-H), 7.82 (d, J = 8.4 Hz, 1H, Ar-H), 7.65 (dd, J = 8.8, 6.4 Hz, 2H, Ar-H), 7.55–7.42 (m, 2H, Ar-H), 3.34 (s, 2H, -CH₂), 2.62 (s, 3H, -CH₃), 2.51 (s, 4H, (2)-CH₂), 2.40 (s, 4H, (2)-CH₂). ¹³C-NMR δ ppm (100 MHz, DMSO-d₆): 166.04, 165.81, 162.57, 161.58, 144.91, 141.02, 135.71, 131.27, 129.35, 125.14, 117.83, 116.05, 110.97, 59.78, 53.35, 52.17, 25.21.

Antimikrobiyal Değerlendirme

EM1 ve referans antimikrobiyallerin gözlenen MİK değerleri Çizelge 1, Çizelge 2 ve Çizelge 3'te verildi. Sonuçlara göre referans antibakteriyel ilaçlar (0.5-16 µg mL⁻¹), *S. aureus* ATCC 29213 ve her iki izolatına karşı EM1'den (64-128 µg mL⁻¹) çok daha iyi bir etkiye sahipti. EM1, referans ilaçlara göre *E. faecalis* ATCC 29212 üzerinde zayıf bir etki gösterirken, iki ayrı izolatı üzerinde 32 µg mL⁻¹ ile ampisiline çok yakın bir aktivite göstermiştir. Bileşiğin *E. coli* ATCC 25922 üzerindeki antibakteriyel aktivitesi ise, referans antibiyotikler kadar iyi değildi. Bununla birlikte, *E. coli* izolatlarında 32 µg mL⁻¹ ile ampisiline (16 µg mL⁻¹) çok yakın bir aktivite sergilemiştir. EM1, *P. aeruginosa* ATCC 27853 üzerinde sefotaksim'e yakın aktivite gösterirken, *P. aeruginosa* izolatları üzerinde 32 µg mL⁻¹ ile gentamisine yakın aktivite göstermiştir. *A. baumannii* NTCC 13304 ve izolatları üzerinde 32 µg mL⁻¹ ile meropeneme (4-8 µg mL⁻¹) yakın aktivite göstermiştir. Ancak, *K. pneumoniae* ATCC 700603 ve izolatları üzerinde, referans ilaçlarla karşılaştırıldığında oldukça zayıf etkili olduğu gözlenmiştir. Ayrıca, *C. albicans* ATCC 10231 ve izolatları üzerinde de flukonazol ve amfoterisin B'ye göre çok zayıf etkilidir. Tüm aktivite sonuçları değerlendirildiğinde, özellikle *E. faecalis* ve *E. coli* izolatları üzerinde görülen bu umut verici sonuçlar, yeni antibakteriyel ajanlar bulmak için yapılan çalışmalara katkıda bulunacaktır.

Çizelge 1. EM1'in Gram (+) bakteriler üzerindeki *in vitro* antimikrobiyal aktivitesi

| Bileşik | <i>S. a.</i> | <i>S. a.*</i> | <i>S.a.**</i> | <i>E.f.</i> | <i>E.f.*</i> | <i>E.f.**</i> |
|----------------|--------------|---------------|---------------|-------------|--------------|---------------|
| EM1 | 64 | 64 | 128 | 64 | 32 | 32 |
| Ampisilin | 0.5 | >16 | >16 | 2 | >16 | >16 |
| Vancomisin | 0.5 | 2 | 2 | 2 | 8 | >8 |
| Gentamisin | 0.25 | >16 | >16 | 4 | >8 | >8 |
| Siprofloksasin | 0.5 | >16 | >16 | 2 | >4 | >4 |
| Sefotaksim | 2 | >16 | 8 | 4 | >8 | >8 |
| Meropenem | - | - | - | - | - | - |

S. a.: *S. aureus* ATCC 29213, *S.a.**: *S. aureus* izolat 1, *S.a.***: *S. aureus* izolat 2, *E. f.*: *E. faecalis* ATCC 29212, *E. f.**: *E. faecalis* izolat 1, *E. f.***: *E. faecalis* izolat 2

Çizelge 2. EM1'in Gram (-) bakteriler üzerindeki *in vitro* antimikrobiyal aktivitesi

| Bileşik | <i>E. c.</i> | <i>E. c.*</i> | <i>E. c.**</i> | <i>P. a.</i> | <i>P.a.*</i> | <i>P.a.**</i> | <i>A. b.</i> | <i>A. b.*</i> | <i>A. b.**</i> | <i>K. p.</i> | <i>K. p.*</i> | <i>K. p.**</i> |
|----------------|--------------|---------------|----------------|--------------|--------------|---------------|--------------|---------------|----------------|--------------|---------------|----------------|
| EM1 | 128 | 32 | 32 | 32 | 32 | 32 | 32 | 32 | 32 | 128 | 128 | 128 |
| Ampisilin | 8 | >16 | >16 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Vancomisin | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Gentamisin | 0.5 | >8 | >8 | 0.5 | 4 | >8 | 2 | 4 | 4 | 2 | >16 | >16 |
| Siprofloksasin | 0.016 | >2 | 0.5 | 0.125 | 1 | >2 | - | - | - | - | - | - |
| Sefotaksim | 0.125 | >8 | 1 | 8 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Meropenem | - | - | - | - | - | - | 4 | >8 | >8 | 2 | >8 | 8 |

E.c.: *E. coli* ATCC 25922, *E.c.**: *E. coli* izolat 1, *E. c.***: *E. coli* izolat 2, *P.a.*: *P. aeruginosa* ATCC 27853, *P.a.**: *P. aeruginosa* izolat 1, *P.a.***: *P. aeruginosa* izolat 2, *A.b.*: *A. baumannii* NTCC 13304, *A.b.**: *A. baumannii* izolat 1 *A.b.***: *A. baumannii* izolat 2, *K.p.*: *K. pneumoniae* ATCC 700603, *K. p.**: *Klebsiella pneumoniae* izolat 1, *K.p.***: *Klebsiella pneumoniae* izolat 2

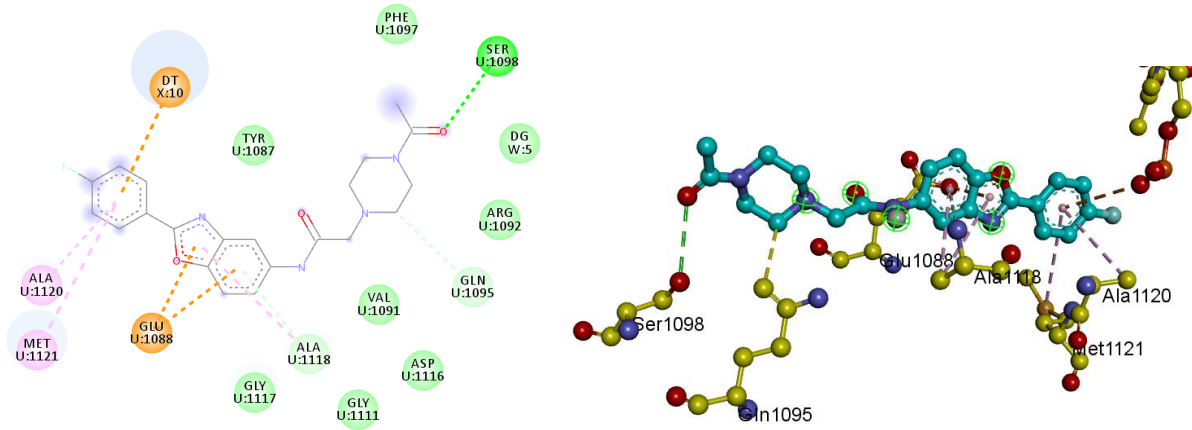
Çizelge 3. EM1'in mantarlar üzerindeki *in vitro* antimikrobiyal aktivitesi

| Bileşik | <i>C. a.</i> | <i>C. a.*</i> | <i>C. a.**</i> |
|---------------|--------------|---------------|----------------|
| EM1 | 64 | 64 | 64 |
| Flukonazol | 0.125 | >4 | >4 |
| Amfoterisin B | 0.5 | 0,5 | 1 |

C.a.: *C. albicans* ATCC 10231, *C.a.**: *C. albicans* izolat 1, *C.a.***: *C. albicans* izolat 2

Moleküler Doking Çalışması

Giriş bölümünde bahsedildiği gibi, benzoksazollerin mekanizmalarından biri DNA giraz enzimini inhibe etmektir. Bu nedenle DNA giraz '2XCT' yapısı ile birlikte siprofloksasinin kompleks yapısı üzerinde moleküler doking çalışmaları yapılmıştır. Siprofloksasin, $-7.4 \text{ kcal mol}^{-1}$ bağlanma enerjisi gösterirken, EM1 $-8.4 \text{ kcal mol}^{-1}$ bağlanma enerjisi gösterdi. Siprofloksasin, SER U: 1084 ile hidrojen bağı oluştururken, EM1, SERU: 1098 ile bir hidrojen bağı oluşturdu. Şekil 2, EM1'in 2D-3D etkileşimlerini göstermektedir.

**Şekil 2.** EM1'in 2D-3D protein-DNA-ligand etkileşimleri

In silico ADME tahmini

Lipinski Kuralları, bir kimyasal bileşiğin oral olarak kullanılması için gerekli fizikokimyasal parametreleri (absorpsiyon, dağıtım, metabolizma ve eliminasyon) gösteren koşulları nicel olarak kapsar. Lipinski kuralı olarak bilinen bu koşullar, çok sayıda ilaç aktif bileşeni kullanılarak formüle edilmiştir. Araştırmalar, bu kurallara uyan moleküllerin daha iyi ilaçlar olma potansiyeline sahip olduğunu göstermiştir. Bu fizikokimyasal parametreler genellikle oral kullanılabilen bir molekülde; hidrojen bağı yapan atomların sayısının 5'ten fazla (kendisine bağlı bir veya daha fazla hidrojen atomu içeren azot ve oksijen atomları) ve moleküldeki hidrojen bağı kabul eden atomların sayısı 10'dan fazla olmaması (azot ve oksijen atomlarının sayısı), molekül ağırlığı 500'ün ve lipofilisite katsayısı (log P)'nin da 5'in altında olması gerektiğini ortaya koymuştur. Bu kuralların birden fazla ihlal edilmemesi gerektiği de belirtilmektedir (Lipinski 2004). Yeni ilaçların geliştirilmesinde aktivite ve seçiciliği artırmak için molekülde yapılan değişikliklerin de bu kurallar çerçevesinde düzenlenmesi gerektiği bildirilmiştir. Bu bilgilere dayanarak, EM1 Lipinski kuralına uymaktadır. % Absorpsiyon=109- (0.345 x TPYA) formülü ile hesaplandı ve %81.85 ile iyi bir absorpsiyon profili gösterdi. Ayrıca, 1.26 ile iyi bir ilaç benzerlik puanı sergiledi. Hesaplanan tahmini ADME parametreleri Çizelge 4'te verilmiştir.

Çizelge 4. EM1'in hesaplanan ADME parametreleri

| | | | |
|-------------------|--------|---------------------------|--------|
| LogP (≤ 5) | 2.62 | nOHNH (≤ 5) | 1 |
| TPYA (-) | 78.68 | İhlal sayısı (≤ 1) | 0 |
| % A (-) | 81.85 | nrotb (-) | 4 |
| MA (≤ 500) | 396.42 | Hacim (-) | 347.45 |
| nON (≤ 10) | 7 | İlaç benzerliği skoru | 1.26 |

MA: Molekül ağırlığı. TPYA: Topolojik polar yüzey alanı. % A: Yüzde absorpsiyon. nrotb: Dönebilen bağı sayısı. nON: Hidrojen alıcısı sayısı. nOHNH: Hidrojen vericilerinin sayısı. LogP: Log oktanol/su katsayısı

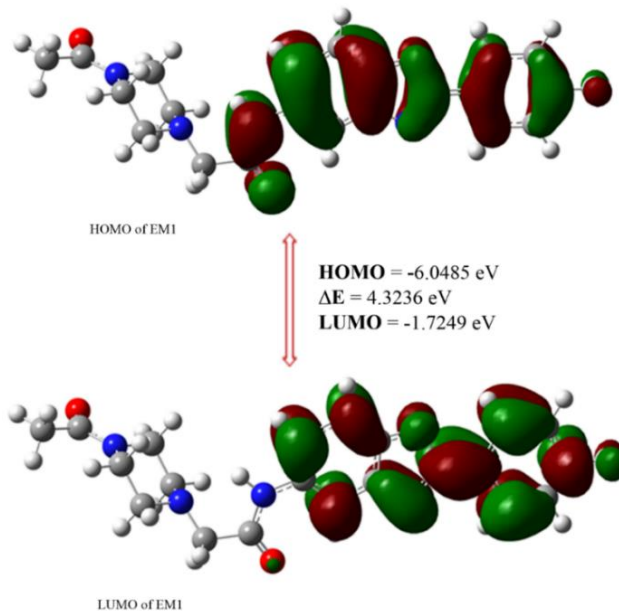
Moleküler Reaktivite Analizleri

Tüm çok elektronlu moleküler sistemlerde diğer moleküller ile etkileşim, HOMO (en yüksek dolu moleküler orbital) ve LUMO (en düşük boş moleküler orbital) olarak adlandırılan sınır moleküler orbitallerle açıklanır. HOMO-LUMO sonucunda elde edilen enerji değerleri ve bu iki orbital arasındaki enerji farkı molekülün kimyasal davranışını açıklamak için kullanılabilir. Bir moleküldeki HOMO-LUMO enerji aralığı ne kadar büyükse, molekül o kadar kararlı ve tepkisizdir. Bu enerji aralığının azaltılması molekülün kimyasal reaksiyonlara duyarlılığını artırır, kararsız hale getirir ve reaksiyon eşiği enerjisini düşürür. HOMO ve LUMO sınır yörünge enerjilerinden yararlanarak; iyonlaşma potansiyeli, elektron afinitesi, kimyasal potansiyel, elektronegatiflik, kimyasal sertlik, kimyasal yumuşaklık, elektrofiliklik indeksi gibi kimyasal özellikler hesaplanabilir (Çizelge 5) (Mary ve ark., 2020, Sheena ve ark., 2019). EM1'in HOMO ve LUMO değerleri sırasıyla -0.22228 a.u (-6.0485 eV) ve -0.06339 (-1.7249 eV) idir. Ayrıca, bu molekül için HOMO ve LUMO orbitalleri arasındaki enerji farkı 4.3657 eV'dir. EM1'in HOMO'su, *N*-asetil piperazin grubu dışında tüm molekül üzerinde delokalizedir ve LUMO'su, amid ve *N*-asetil piperazin grubu hariç tüm molekül üzerinde delokalizedir (Şekil 3).

Çizelge5. EM1'in hesaplanan sınır moleküler yörünge parametreleri

| | | | |
|----------------------------|---------|----------------------------|---------|
| HOMO (eV) | -6.0485 | $\eta = (IP - EA)/2$ | 2.1618 |
| LUMO (eV) | -1.7249 | $\mu = -(IP + EA)/2$ | -3.8867 |
| $\Delta E = (LUMO - HOMO)$ | 4.3236 | $S = 1/2\eta$ | 0.2312 |
| $IP = (-HOMO)$ | 6.0485 | $X = (IP + EA)/2$ | 3.8867 |
| $EA = (-LUMO)$ | 1.7249 | $\omega = (\mu^2 / 2\eta)$ | 1.7470 |

İyonlaşma potansiyeli (İP), elektron afinitesi (EA), elektronegatiflik (X), kimyasal sertlik (η), kimyasal yumuşaklık (S), kimyasal potansiyel (μ) ve elektrofilik indeks (ω)

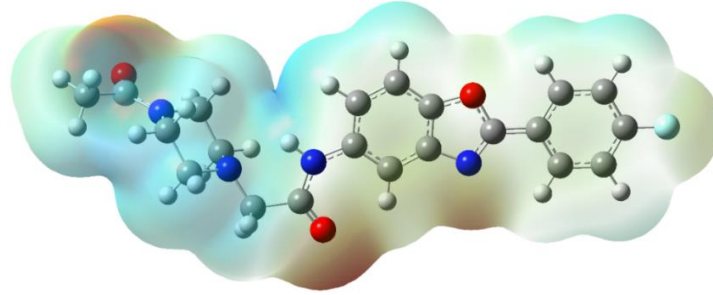


Şekil 3. EM1'in HOMO-LUMO enerji düzeyleri

MEP Analizi

Bir molekülün elektrostatik potansiyeli, elektronegatiflik ve farklı atomlardaki kısmi yüklerle ilgilenen bir analiz türüdür. MEP yüzey analizi çalışması, yük-dipol, dipol-dipol ve kuadropol-dipol etkileşimleri dahil olmak üzere biyolojik moleküllerle bağlanma yeteneğini anlamak için faydalı bir yöntemdir. MEP haritası, molekülün şeklini, boyutunu, dipol momentini, elektrofilik ve nükleofilik reaktif bölgelerini gösterir ve MEP'i tanımlamak için renk kodlama sistemi kullanılır. Yüzey haritası, elektron açısından zengin kısımdan başlayarak daha az zengin bölgelere doğru kırmızıdan maviye değişen renklerle belirlenir (Mary ve ark., 2020). EM1'in MEP haritasında kırmızı bölgelerin ağırlıklı

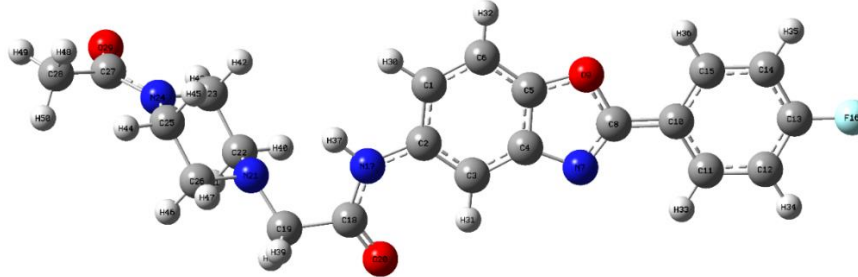
olarak oksijen ve azot atomları üzerinde yoğunlaştığı, mavi bölgelerin ise karbon ve hidrojen atomları etrafında yoğunlaştığı görülmüştür (Şekil 4).



Şekil 4. EM1'in MEP haritası

Geometri Optimizasyonu

Moleküllerde frekans, enerji hesaplamaları ve termodinamik özelliklerin belirlenmesi gibi işlemlerde öncelikle molekülün denge geometrisi belirlenir. Bir molekülün denge geometrisi, o molekülün enerjisinin minimum olduğu ve molekülün bu durumda en kararlı durumda olduğu geometridir. Molekülün denge geometrisini belirleme sürecine geometrik optimizasyon denir. Molekülleri oluşturan atomların dizilişi değiştiğinde molekülün enerjisi de değişir. Moleküler konformasyon ve enerji arasındaki ilişki "potansiyel enerji yüzeyi (PEY)" ile gösterilir. Genel minimum, PEY'in en düşük noktasını temsil eder ve bir molekülün denge geometrisindeki minimumlar, tek molekül durumunda farklı konformasyonlara veya yapısal izomere karşılık gelir (Celik ve ark., 2020). EM1 bileşiğinin tüm atomlarının uzaydaki en kararlı düzeni belirlenmiştir (Şekil 5). Hesaplanan bazı önemli bağ açıları şunlardır: N(7)-C(8)-O(9); 115.7197°, C(14)-C(13)-F(16); 119.9966°; O(29)-C(27)-N(24); 120.0005°; N(17)-C(18)-O(20); 120.0017°. Hesaplanan bazı bağ uzunlukları C(8)-O(9); 1.3635 Å, C(8)-N(7); 1.3156 Å, N(17)-H(37); 1.0119 Å, C(13)-F(16); 1.3201 Å, C(27)-O(29); 1.2081 Å. Bağ uzunlukları (Å) ve bağ açıları (°) Çizelge 6'da sunulmuştur.



Şekil 5. EM1'in optimize edilmiş moleküler yapısı

Çizelge 6. EM1'in hesaplanan bağ uzunlukları (Å) ve bağ açıları (°)

| Bağ uzunluğu | B3LYP | Bağ uzunluğu | B3LYP | Bağ açısı | B3LYP | Bağ açısı | B3LYP | Bağ açısı | B3LYP |
|--------------|--------|--------------|--------|-----------|----------|-------------|----------|-------------|----------|
| C1,C2 | 1.4013 | C19,H38 | 1.113 | C2,C1,C6 | 121.4086 | C13,C12,H34 | 119.9991 | C22,C23,N24 | 112.9652 |
| C1,C6 | 1.4006 | C19,H39 | 1.113 | C2,C1,H30 | 119.2961 | C12,C13,C14 | 120.0038 | C22,C23,H42 | 108.5735 |
| C1,H30 | 1.1001 | N21,C22 | 1.4735 | C6,C1,H30 | 119.2953 | C12,C13,F16 | 119.9995 | C22,C23,H43 | 107.4357 |
| C2,C3 | 1.4037 | N21,C26 | 1.4736 | C1,C2,C3 | 121.1539 | C14,C13,F16 | 119.9966 | N24,C23,H42 | 108.5684 |
| C2,N17 | 1.345 | C22,C23 | 1.5438 | C1,C2,N17 | 119.4214 | C13,C14,C15 | 119.9954 | N24,C23,H43 | 107.44 |
| C3,C4 | 1.4007 | C22,H40 | 1.113 | C3,C2,N17 | 119.4248 | C13,C14,H35 | 120.0012 | H42,C23,H43 | 111.91 |
| C3,H31 | 1.1 | C22,H41 | 1.113 | C2,C3,C4 | 118.1093 | C15,C14,H35 | 120.0034 | C23,N24,C25 | 109.4307 |
| C4,C5 | 1.3865 | C23,N24 | 1.4735 | C2,C3,H31 | 120.9422 | C10,C15,C14 | 120.0013 | C23,N24,C27 | 125.2894 |
| C4,N7 | 1.3727 | C23,H42 | 1.113 | C4,C3,H31 | 120.9485 | C10,C15,H36 | 119.9967 | C25,N24,C27 | 125.2798 |
| C5,C6 | 1.3894 | C23,H43 | 1.1131 | C3,C4,C5 | 118.921 | C14,C15,H36 | 120.0019 | N24,C25,C26 | 112.9661 |
| C5,O9 | 1.3652 | N24,C25 | 1.4735 | C3,C4,N7 | 131.2577 | C2,N17,C18 | 119.9984 | N24,C25,H44 | 108.5766 |
| C6,H32 | 1.1001 | N24,C27 | 1.369 | C5,C4,N7 | 109.8213 | C2,N17,H37 | 120.0025 | N24,C25,H45 | 107.4315 |
| N7,C8 | 1.3156 | C25,C26 | 1.5439 | C4,C5,C6 | 124.7686 | C18,N17,H37 | 119.999 | C26,C25,H44 | 108.5662 |
| C8,O9 | 1.3635 | C25,H44 | 1.113 | C4,C5,O9 | 107.7719 | N17,C18,C19 | 119.9954 | C26,C25,H45 | 107.4298 |
| C8,C10 | 1.337 | C25,H45 | 1.113 | C6,C5,O9 | 127.4595 | N17,C18,C20 | 120.0017 | H44,C25,H45 | 111.923 |
| C10,C11 | 1.3948 | C26,H46 | 1.1129 | C1,C6,C5 | 115.6387 | C19,C18,C20 | 120.0029 | H21,C26,C25 | 112.9659 |

Çizelge 6. EM1'in hesaplanan bağ uzunlukları (Å) ve bağ açıları (°) (devam)

| Bağ uzunluğu | B3LYP | Bağ uzunluğu | B3LYP | Bağ açısı | B3LYP | Bağ açısı | B3LYP | Bağ açısı | B3LYP |
|--------------|--------|--------------|--------|-------------|----------|-------------|----------|-------------|----------|
| C10,C15 | 1.3948 | C26,H47 | 1.113 | C1,C6,H32 | 122.1807 | C18,C19,N21 | 109.5035 | N21,C26,H46 | 108.57 |
| C11,C12 | 1.3948 | C27,C28 | 1.509 | C5,C6,H32 | 122.1806 | C18,C19,H38 | 109.4384 | N21,C26,H47 | 107.4285 |
| C11,H33 | 1.1001 | C27,O29 | 1.2081 | C4,N7,C8 | 103.1808 | C18,C19,H39 | 109.4559 | C25,C26,H46 | 108.5692 |
| C12,H13 | 1.3948 | C28,H48 | 1.1129 | N7,C8,O9 | 115.7197 | C21,C19,H38 | 109.4438 | C25,C26,H47 | 107.4358 |
| C12,H34 | 1.1 | C28,H49 | 1.1131 | N7,C8,C10 | 122.142 | C21,C19,H39 | 109.4662 | H46,C26,H47 | 111.9237 |
| C13,C14 | 1.3948 | C28,H50 | 1.1129 | O9,C8,C10 | 122.1384 | H38,C19,H39 | 109.5195 | N24,C27,C28 | 120.0033 |
| C13,F16 | 1.3201 | | | C5,O9,C8 | 103.5063 | C19,N21,C22 | 106.944 | N24,C27,O29 | 120.0005 |
| C14,C15 | 1.3949 | | | C8,C10,C11 | 119.9977 | C19,N21,C26 | 107.6997 | C28,C27,O29 | 119.9962 |
| C14,H35 | 1.1 | | | C8,C10,C15 | 120.0009 | C22,N21,C26 | 109.4248 | C27,C28,H48 | 109.5013 |
| C15,H36 | 1.1 | | | C11,C10,C15 | 120.0015 | N21,C22,C23 | 112.9659 | C27,C28,H49 | 109.4396 |
| N17,C18 | 1.3691 | | | C10,C11,C12 | 120.0009 | N21,C22,H40 | 108.569 | C27,C28,H50 | 109.4638 |
| N17,H37 | 1.0119 | | | C10,C11,H33 | 120.0 | N21,C22,H41 | 107.4315 | H48,C28,H49 | 109.4385 |
| C18,C19 | 1.509 | | | C12,C11,H33 | 119.9991 | C23,C22,H40 | 108.5726 | H48,C28,H50 | 109.465 |
| C18,O20 | 1.2079 | | | C11,C12,C13 | 119.9971 | C23,C22,H41 | 107.4347 | H49,C28,H50 | 109.5192 |
| C19,C21 | 1.4379 | | | C11,C12,H34 | 120.0038 | H40,C22,H41 | 111.9194 | | |

SONUÇ

Bu çalışmada; 2-(*p*-Florofenil)-5-(2-(4-asetilpiperazin-1-il)asetamido)benzoksazol'ün sentezi 3 aşamada gerçekleştirilmiş ve yapısı ¹H-NMR ve ¹³C-NMR spektroskopisi ile aydınlatılmıştır. Antimikrobiyal aktivitesi çeşitli bakteri, mantar ve bunların klinik izolatlarına karşı incelenmiştir. Bileşik, 32-128 µg ml⁻¹ arasında değişen geniş bir antimikrobiyal aktivite spektrumu gösterdi ve özellikle *E. faecalis* izolatları ve *E. coli* izolatlarına karşı 32 µg ml⁻¹ ile ampisiline kıyasla oldukça umut verici sonuç gösterdi. Moleküler doking çalışması, siprofloksasin ile kompleks oluşturan DNA giraz enziminin 2XCT yapısı üzerinde gerçekleştirildi ve 2D/3D etkileşimleri sunuldu. Siprofloksasin, -7.4 kcal mol⁻¹ bağlanma enerjisi gösterirken, EM1 -8.4 kcal mol⁻¹ bağlanma enerjisi gösterdi. ADME profili incelendi ve Lipinski ve diğer kısıtlayıcı kurallara uygun olduğu görüldü. Ayrıca yapısal özellikleri DFT/B3LYP yöntemi ve 6-311G (d,p) temel seti kullanılarak incelendi. Optimize edilen yapının bağ uzunlukları, bağ açıları ve dihedral açıları teorik olarak belirlendi. Ayrıca HOMO-LUMO orbital enerjileri ve bu enerjilerden elde edilen diğer elektronik parametreler hesaplandı. MEP haritasında elektronca zengin bölgelerin (kırmızı bölge) oksijen ve azot atomları etrafında yoğunlaştığı, nötr bölgelerin ise karbon ve hidrojen atomları (mavi bölge) etrafında yoğunlaştığı görüldü. Bileşik yeni sentezlendiği ve seçilen bakteri, mantar ve klinik izolatlarına karşı ilk kez test edildiği için önemlidir. Özellikle mevcut tedavi yöntemlerine karşı direncin gelişmesi nedeniyle gelecek vaat eden antimikrobiyal aktiviteleri ile yeni veya alternatif ilaçlar geliştirmek için yapılan çalışmalara önemli katkı sağlayacaktır.

Çıkar Çatışması

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

Yazar Katkısı

Yazarlar makaleye eşit katkıda bulduklarını beyan ederler.

KAYNAKLAR

- Arandjelovic P, Doerflinger M, Pellegrini M, 2019. Current and emerging therapies to combat persistent intracellular pathogens. *Current opinion in pharmacology*, 48: 33-39.
- Arisoy M, Temiz-Arpaci O, Yildiz I, Kaynak-Onurdag F, Aki E, Yalcin I, Abbasoglu U, 2008. Synthesis, antimicrobial activity and QSAR studies of 2, 5-disubstituted benzoxazoles. *SAR and QSAR in Environmental Research*, 19(5-6): 589-612.
- Arısoy M, Temiz-Arpaci O, Kaynak-Onurdag F, Ozgen S, 2012. Synthesis and antimicrobial activity of novel benzoxazoles. *Zeitschrift fur Naturforschung. C, Journal of biosciences*, 67(9-10): 466-472.
- Biovia DS, 2017. Discovery studio visualizer. San Diego, CA, USA.

- Celik I, Erol M, Temiz Arpacı O, Sezer Senol F, Erdogan Orhan I, 2020. Evaluation of Activity of Some 2,5-Disubstituted Benzoxazole Derivatives against Acetylcholinesterase, Butyrylcholinesterase and Tyrosinase: ADME Prediction, DFT and Comparative Molecular Docking Studies. *Polycyclic Aromatic Compounds*, 1-12.
- Cheminformatics M, 2018. Calculation of molecular properties and bioactivity score. Computer software. Retrieved from <http://www.molinspiration.com/cgi-bin/properties>.
- CLSI, 2008. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. Approved standard third edition CLSI document M27-A3.
- CLSI, 2018. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Approved Twenty-: Document M100-S28. Wayne, PA, USA.
- El-Helby AGA, Sakr H, Eissa IH, Abulkhair H, Al-Karmalawy AA, El-Adl K, 2019. Design, synthesis, molecular docking, and anticancer activity of benzoxazole derivatives as VEGFR-2 inhibitors. *Archiv der Pharmazie*, 352(10): 1-19.
- Erol M, Celik I, Uzunhisarcikli E, Kuyucuklu G, 2020. Synthesis, Molecular Docking, and DFT Studies of Some New 2, 5-Disubstituted Benzoxazoles as Potential Antimicrobial and Cytotoxic Agents. *Polycyclic Aromatic Compounds*, 1-18.
- French G, 2010. The continuing crisis in antibiotic resistance. *International journal of antimicrobial agents*, 36: S3-S7.
- Frisch M, 2019. Gaussian09. <http://www.gaussian.com>. (Erişim Tarihi:05.01 2021).
- GaussView V, 2016. Roy Dennington, Todd A. Keith, and John M. Millam, Semichem Inc., Shawnee Mission, KS.
- Huey R, Morris GM, 2008. Using AutoDock 4 with AutoDocktools: a tutorial. The Scripps Research Institute, USA, 54-56.
- Kaur A, Pathak DP, Sharma V, Wakode S, 2018. Synthesis, biological evaluation and docking study of a new series of di-substituted benzoxazole derivatives as selective COX-2 inhibitors and anti-inflammatory agents. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 26(4): 891-902.
- Klein EY, Van Boeckel TP, Martinez EM, Pant S, Gandra S, Levin SA, Goossens H, Laxminarayan R, 2018. Global increase and geographic convergence in antibiotic consumption between 2000 and 2015. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 115(15): E3463-E3470.
- Klimešová V, Kočí J, Waisser K, Kaustová J, Möllmann U, 2009. Preparation and in vitro evaluation of benzylsulfanyl benzoxazole derivatives as potential antituberculosis agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 44(5): 2286-2293.
- Lipinski CA, 2004. Lead- and drug-like compounds: the rule-of-five revolution. *Drug Discov Today Technol*, 1(4): 337-341.
- Mary YS, Yalcin G, Mary YS, Resmi K, Thomas R, Önkol T, Kasap EN, Yildiz I, 2020. Spectroscopic, quantum mechanical studies, ligand protein interactions and photovoltaic efficiency modeling of some bioactive benzothiazolinone acetamide analogs. *Chemical Papers*, 1-8.
- Molsoft L. (2004). Retrieved from <https://www.molsoft.com/>.
- Oehlers L, Mazzitelli CL, Brodbelt JS, Rodriguez M, Kerwin S, 2004. Evaluation of complexes of DNA duplexes and novel benzoxazoles or benzimidazoles by electrospray ionization mass spectrometry. *J Am Soc Mass Spectrom*, 15(11): 1593-1603.
- Pacios O, Blasco L, Bleriot I, Fernandez-Garcia L, González Bardanca M, Ambroa A, López M, Bou G, Tomás M, 2020. Strategies to Combat Multidrug-Resistant and Persistent Infectious Diseases. *Antibiotics*, 9(2): 1-20.

- Pettersen EF, Goddard TD, Huang CC, Couch GS, Greenblatt DM, Meng EC, Ferrin TE, 2004. UCSF Chimera—a visualization system for exploratory research and analysis. *Journal of Computational Chemistry*, 25(13): 1605-1612.
- Sheena Mary Y, Ertan-Bolelli T, Thomas R, Krishnan AR, Bolelli K, Kasap EN, Onkol T, Yildiz I, 2019. Quantum Mechanical Studies of Three Aromatic Halogen-Substituted Bioactive Sulfonamidobenzoxazole Compounds with Potential Light Harvesting Properties. *Polycyclic Aromatic Compounds*, 1-17.
- Song MX, Huang Y, Wang S, Wang ZT, Deng XQ, 2019. Design, synthesis, and evaluation of anticonvulsant activities of benzoxazole derivatives containing the 1, 2, 4-triazolone moiety. *Archiv der Pharmazie*, 352(8): 1-8.
- Temiz-Arapacı Ö, Ozdemir A, Yalçın İ, Yıldız İ, Akı-Şener E, Altanlar N, 2005. Synthesis and Antimicrobial Activity of Some 5-[2-(Morpholin-4-yl) acetamido] and/or 5-[2-(4-Substituted piperazin-1-yl) acetamido]-2-(*p*-substituted phenyl) benzoxazoles. *Archiv der Pharmazie: An International Journal Pharmaceutical and Medicinal Chemistry*, 338(2-3): 105-111.
- Trott O, Olson AJ, 2010. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *Journal of computational chemistry*, 31(2): 455-461.
- Ventola CL, 2015. The antibiotic resistance crisis: part 1: causes and threats. *Pharmacy and Therapeutics*, 40(4): 277-283.
- Yoneyama H, Katsumata R, 2006. Antibiotic resistance in bacteria and its future for novel antibiotic development. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 70(5): 1060-1075.