



BAZI BENZOKSAZOL-2(3H)-ON/BENZOTİYAZOL-2(3H)-ON TÜREVLERİNİN SENTEZİ VE ALZHEİMER HASTALIĞINA KARŞI ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

*SYNTHESIS OF SOME BENZOXAZOLE-2(3H)-ONE/BENZOTHIAZOLE-2(3H)-ONE
DERIVATIVES AND INVESTIGATION OF THEIR EFFECTS AGAINST ALZHEIMER'S
DISEASE*

Merve BARDAKKAYA^{1,2*} , Burcu KILIÇ¹ , Deniz Songül DOĞRUER¹ 

¹Gazi Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Kimya Anabilim Dalı, 06330, Ankara, Türkiye
²Biruni Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Kimya Anabilim Dalı, 34015, İstanbul, Türkiye

ÖZ

Amaç: Bu çalışmada benzoksazol/benzotiyazol halkası taşıyan asetamid türevi 28 yeni bileşik sentez edilmiş ve Alzheimer hastalığına karşı etkileri *in vitro* olarak test edilmiştir.

Gereç ve Yöntem: Sonuç bileşiklerin sentezinde kullanılan amin türevleri (5 ve 6), öncelikle ticari olarak mevcut 1,3-benzoksazol-2(3H)-on ve 1,3-benzotiyazol-2(3H)-on halkalarının metillenmesi, nitrik asit ile nitrolanması ve ardından kalay klorürle indirgenmesi ile sentez edilmiştir. Daha sonra, amin türevi 5 ve 6'nın bromoasetil bromür ile açilasyonundan hazırlanan ara ürünlerin (7 ve 8) uygun amin türevleri ile tepkimesinden sonuç bileşikler (9a-n ve 10a-n) elde edilmiştir. Sentezlenen bileşiklerin kimyasal yapıları spektroskopik yöntemler, HRMS ve elementel analiz ile aydınlatılmıştır. Tüm sonuç bileşiklerin modifiye Ellman yöntemiyle kolinesteraz inhibitör aktiviteleri belirlendikten sonra DPPH ve ORAC yöntemiyle antioksidan aktiviteleri ölçülmüştür. Son olarak sonuç bileşiklerin metal şelatör özellikleri tayin edilmiştir.

Sonuç ve Tartışma: Yeni 2-süstitüe-N-(3-metil-2-okso-2,3-dihidro-1,3-benzoksazol/1,3-benzotiyazol-6-il)asetamid türevi bileşikler sentez edilmiştir. Kolinesteraz inhibitör etkileri ve yapı aktivite ilişkileri belirlenmiştir. Asetilkolinesteraz (AKE) inhibisyonu için bileşik 10g'nin (IC₅₀: 52.90 µM), butirilkolinesteraz BKE inhibisyonu için bileşik 10h'nin (IC₅₀: 51.03 µM) en yüksek aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur. ORAC testi ile yapılan antioksidan aktivite tayininde ise yan zincirinde fenilpiperazin türevleri taşıyan bileşiklerin referans trolokstan daha yüksek antioksidan aktivite gösterdikleri bulunmuştur. Ayrıca sonuç bileşiklerin metal şelatör etkileri incelendiğinde büyük çoğunluğunun metal şelatör özellik taşıdığı belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Alzheimer hastalığı, benzoksazol, benzotiyazol, kolinesteraz inhibisyonu, metal şelasyonu

ABSTRACT

Objective: In this study, 28 new acetamide derivatives bearing benzoxazole/benzothiazole rings were synthesized and their effects against Alzheimer's disease were tested *in vitro*.

Material and Method: Amine derivatives (5 and 6) used in the synthesis of final compounds were synthesized by the methylation of commercially available 1,3-benzoxazol-2(3H)-one or 1,3-benzothiazol-2(3H)-one rings with dimethyl sulfate followed by nitration with nitric acid and then

* Sorumlu Yazar / Corresponding Author: Merve Bardakkaya
e-posta / e-mail: mbardakkaya@biruni.edu.tr, Tel. / Phone: +902124164646

reduction with tin chloride. In order to synthesize acetamide derivatives, 5 and 6 was first acylated with bromoacetyl bromide to obtain intermediates 7 and 8. Then, these compounds was reacted with appropriate secondary amines to get the title compounds (9a-n and 10a-n). The structure of the synthesized compounds was elucidated by spectroscopic methods, HRMS and elemental analysis. After the cholinesterase inhibitor activities of all title compounds were determined by the modified Ellman method, their antioxidant activities were measured by the DPPH and ORAC method. Finally, the metal chelator properties of the title compounds were determined.

Result and Discussion: New 2-substituted-N-(3-methyl-2-oxo-2,3-dihydro-1,3-benzoxazol-1,3-benzothiazol-6-yl)acetamide derivative compounds were synthesized. Their cholinesterase inhibitory effects and structure activity relationships were determined. Compound 10g (IC_{50} : 52.90 μM) was identified as the most potent acetylcholinesterase (AChE) inhibitor, and also compound 10h (IC_{50} : 51.03 μM) was determined as the most active derivative for the butyrylcholinesterase (BChE). In the ORAC antioxidant activity test, compounds carrying phenylpiperazine derivatives in their side chains were found to show 3-5 times higher antioxidant activity than the reference trolox. Additionally, the metal chelator activity results of the title compounds showed that the majority of them had metal chelator properties.

Keywords: Alzheimer's disease, benzoxazolone, benzothiazolone, cholinesterase inhibition, metal-chelating

GİRİŞ

Hastanın hafızasının, karar verme yetisinin, öğrenme yeteneğinin ve yaşamsal aktivitelerinin zamanla azaldığı ilerleyici nörodejeneratif bir hastalık olan Alzheimer Hastalığı (AH), 65 yaş üstü nüfusun önemli kısmını etkileyen bir sağlık sorunudur [1].

Uzun yıllardır üzerinde gayretle çalışılmasına rağmen hastalığın nedeni tam olarak belirlenememiştir. Bu nedenle hastalığın tedavisi araştırılırken kolinerjik eksiklik, hücre dışı amiloid beta ($A\beta$) plaklar, hücre içi nörofibriler yumaklar (NFY), nöroenflamasyon, oksidatif stres ve metal dishomeostazisi gibi önemi çeşitli çalışmalarla kanıtlanmış patofizyolojik bulgulardan yola çıkılmaktadır [2,3]. AH'nin tedavisi amacıyla patofizyolojik bulgulardan faydalanılarak geliştirilen hipotezlerden üzerinde en çok çalışılan kolinerjik hipotezdir. Güncel olarak tedavide kullanılan dört bileşikten üçü; donepezil, galantamin ve rivastigmin kolinerjik hipotez temel alınarak geliştirilmiştir. Dördüncü bileşik ise glutamat seviyesindeki artışı düzenleyen N-metil-D-aspartat antagonisti memantindir. Ancak bu dört bileşik sadece hastalığın semptomlarını hafifletmeye yönelik etki gösterdiğinden yeni keşifler hastalığın tedavisi için çok büyük önem arz etmektedir [4,5]. Son yıllarda AH tedavisinde etkili olabilecek moleküllerin geliştirilmesinde çoklu hedefe yönelik ligand (Multiple Target Directed Ligand, MTDL) tasarımı benimsenmiş durumdadır. Bu yaklaşımla hastalığın karmaşık ve çok faktörlü yapısıyla mücadele etmek için hastalığın iki veya daha fazla patolojik hedefi ile etkileşebilecek moleküllerin geliştirilmesinin tedavide etkili olacağı savunulmaktadır [6,7].

Kolinerjik hipotez, merkezi sinir sisteminde öğrenmeden ve hafızadan sorumlu bir nörotransmitter olan asetilkolinin azalan seviyesinin, asetilkolinesteraz (AKE) ve butirilkolinesteraz (BKE) adlı iki kolinerjik enzimin inhibisyonu yoluyla artırılmasının tedavide yararlı olacağını öne sürmektedir [8]. AKE ve BKE, asetilkolini hidroliz ederek kolinerjik iletimi sonlandıran serin hidrolaz ailesine ait enzimlerdir. Her iki enzim de asetilkolini hidroliz etmelerine rağmen aktif bölgelerindeki aminoasit dizilimleri dolayısıyla seçicilikleri ve kinetikleri farklılık göstermektedir. AKE enzim aktif bölgesinde 14 aromatik aminoasit taşırken BKE 8 adet taşımaktadır. Bu durum BKE enzim aktif bölgesinin AKE'den daha büyük olması ile sonuçlanmaktadır. Aktif bölge aminoasitleri farklılık göstermesine rağmen her iki enzim de katalitik aktif bölge (KAB) ve periferik anyonik bölge (PAB) adı verilen iki ana bölüm bulundurmaktadır. KAB, silindirik şeklindeki aktif bölgenin dibinde yer alan ve temel katalitik işlevi gerçekleştiren bölümdür PAB aktif cebin girişinde yer alır ve ligandların yönlendirilmesinden sorumludur [9-11].

Metal iyonlarının organizmaların metabolik süreçlerinde yeri doldurulamaz fizyolojik bir rol oynadığı bilinmektedir. Ancak son yıllarda yapılan çalışmalar, $A\beta$ plaklarda Cu(II), Fe(II) ve Zn(II) gibi metal iyonlarının fazlasının bulunduğunu göstermiştir. Ayrıca Alzheimer hastalarının beyinlerindeki $A\beta$ plaklarda bulunan Cu(II), Fe(II), Zn(II) gibi metal iyonlarının konsantrasyonunun normal beyinlerdeki

metal iyonu konsantrasyonundan daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu metal iyonları A β agregasyonunu indükleyerek serbest radikallerin üretimi yoluyla A β toksisitesini körükler ve A β peptidlerinin oluşumunu arttırır [12,13]. Bu bilgilere ek olarak beyinde yüksek seviyedeki redoks aktif metal iyonları, oksidatif stresin ana nedeni olan reaktif oksijen türlerinin aşırı üretimine katkıda bulunabilir [14]. Bu nedenle metal şelasyonu ve antioksidan maddeler de AH tedavisi için önemli bir terapötik strateji olabilir.

Yukarıdaki literatür bilgilerinden yola çıkarak biz de çalışmamızda hastalığın farklı patolojik hedefleri ile etkileşmesini beklediğimiz asetamid yapısı taşıyan yirmi sekiz yeni bileşik sentez ettik. Çalışmamızda kolinesteraz enzimlerinin enzim aktif bölgesinde yer alan PAB ile etkileşmesini planladığımız elektronca zengin benzoksazolone ve benzotiyazolone halkalarını kullandık. Benzoksazolone/benzotiyazolone halka sistemleri ile ilgili olarak bugüne kadar grubumuz da dahil olmak üzere pek çok çalışma yapılmış ve farklı biyolojik aktiviteler gösterdiği belirlenmiştir [15-22]. Ayrıca günümüzde kullanılmakta bazı olan ilaçlarda bu halka sistemlerini taşımaktadır. Benzoksazolone/benzotiyazolone halka sistemlerinin yanında kolinesteraz inhibitör etki gösteren moleküllerin yapısında yer alan tersiyer amin türevleri de yapıya dahil edilmiştir. Sentezlenen tüm bileşiklerin önce kolinesteraz inhibitör etkileri daha sonra da antioksidan ve metal şelatör etkileri değerlendirilmiştir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Kimyasal Çalışmalar

Kullanılan tüm kimyasal malzemeler Merck'ten satın alınmıştır. Kimyasal tepkimeler 254 nm UV ışığı altında silika jel plakalar kullanılarak ince tabaka kromatografisi ile takip edilmiş ve doğrulanmıştır. Sonuç bileşiklerin NMR spektrumları Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Merkez Laboratuvarındaki Varian Mercury 400 MHz Digital FT-NMR spektrofotometresinden kaydedilmiştir. Bileşiklerin saflığı, Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Merkez Laboratuvarındaki ultraperformanslı yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (UPLC) ile birleştirilmiş yüksek çözünürlüklü kütle spektrometresinde (HRMS), elektron sprey iyonizasyon (ESI) yöntemi kullanılarak tayin edilmiştir. Bileşiklerin erime noktalarının belirlenmesinde Stuart SMP50 erime noktası cihazı kullanılmıştır. Sonuç bileşiklerin kimyasal yapıları, DMSO-d₆ içindeki çözeltilerinden yararlanılarak ¹H-NMR ve ¹³C-NMR spektrumları ile aydınlatılmıştır.

3-Metil-1,3-benzoksazol-2(3H)-on (1): 5 g (0.037 mol) benzoksazolone, 50 ml 1M NaOH çözeltisi içerisinde çözüldü. Üzerine 3.5 ml (0.037 mol) dimetilsülfat ilave edildi ve 30 dakika oda sıcaklığında karıştırıldı. Süre sonunda balon içeriği suya boşaltıldı çöken ürün süzüldü, kurutuldu ve kristalizasyon yapılmaksızın bir sonraki basamak için kullanıldı. Verim: 4.38 g (%80). Erime noktası: 84°C'dir [19,20].

3-Metil-1,3-benzotiyazol-2(3H)-on (2): 2 g (0.013 mol) benzotiyazolone, 20 ml 1M NaOH çözeltisi ve 1.48 ml (0.016 mol) dimetilsülfat kullanılarak yukarıdaki yöntemle göre sentez edilmiştir. Verim:1.98 g (%90). Erime noktası: 76°C'dir [19,20].

3-Metil-6-nitro-1,3-benzoksazol-2(3H)-on (3): 15 ml %65'lik nitrik asit, yağ banyosunda 40°C'ye kadar ısıtıldı ve balon içi sıcaklığın 40-50°C'de olması sağlanarak 3 g (0.02 mol) 3-metil-1,3-benzoksazol-2(3H)-on porsiyonlar halinde ilave edildi. İlave tamamlandıktan sonra yarım saat karıştırıldı. Süre sonunda balon içeriği buzlu suya boşaltılıp 15 dakika daha karıştırıldı ve çöken ürün süzüldü. Kristalizasyon yapılmaksızın bir sonraki basamak için kullanıldı. Verim: 3.32 g (%85). Erime noktası:182°C'dir [19,20].

3-Metil-6-nitro-1,3-benzotiyazol-2(3H)-on (4): 10 ml %65'lik nitrik asit ve 2 g (0.012 mol) 3-metil-1,3-benzotiyazol-2(3H)-on kullanılarak yukarıdaki yöntemle göre yapıldı. Verim:2.31 g (%91). Erime noktası: 164°C'dir [19,20].

6-Amino-3-metil-1,3-benzoksazol-2(3H)-on (5): 2 g (0.01 mol) 3-metil-6-nitro-1,3-benzoksazol-2(3H)-on iki boyunlu balona alındı üzerine 40 ml etanol ve 8 ml 6 N HCl çözeltisinden ilave edilerek geri çeviren soğutucu altında ısıtıldı. Kaynamaya başladıktan sonra 11.8 g (0.05 mol) SnCl₂.2H₂O porsiyonlar halinde 30 dakikada ilave edildi. Süre sonunda etanol uçuruldu ve balon içeriği sodyum hidroksit çözeltisi ile pH 10-11 arasına getirildi. Ardından diklorometan ile ekstraksiyon yapılarak

organik faz alındı ve kuruluğa kadar uçurularak ürün elde edildi. Elde edilen ürün kristalizasyon yapılmaksızın bir sonraki basamak için kullanıldı. Verim: 1.5 g (%87). Erime noktası: 154°C'dir [19,20].

6-Amino-3-metil-1,3-benzotiyazol-2(3*H*)-on (6): 2 g (0.009 mol) 3-metil-6-nitro-1,3-benzotiyazol-2(3*H*)-on, 40 ml etanol, 8 ml 6 N HCl ve 10.74 g (0.048 mol) kalay klorür kullanılarak yukarıdaki yönteme göre yapıldı. Verim: 1.54 g (%90). Erime noktası: 189°C'dir [19,20].

2-Bromo-*N*-(3-metil-2-okso-2,3-dihidro-1,3-benzoksazol-6-il)asetamid (7): 500 mg (0.003 mol) 6-amino-3-metil-1,3-benzoksazol-2(3*H*)-on 6 ml DMF içerisinde çözüldü. Çözeltiye 37 mg (0.0003 mol) 4-dimetilaminopiridin (DMAP) ve 0.31 ml (0.0022 mol) trietilamin (TEA) ilave edilerek 10 dakika karıştırıldı. Daha sonra buz banyosuna alınarak 0.31 ml (0.0036 mol) bromoasetil bromür ilave edildi ve 1 saat oda sıcaklığında karıştırıldı. Süre sonunda balon içeriği buzlu suya boşaltılıp bir süre daha karıştırıldı. Çöken madde vakumdan süzülde, kurutuldu ve kristalizasyon yapılmaksızın bir sonraki basamak için kullanıldı. Verim: 620 mg (%66)'dır. Erime noktası: 234°C (dekompoze)'dir. C₁₀H₉BrN₂O₃ için HRMS (m/z) [M+H]⁺: hesaplanan: 284.9875, bulunan: 284.9868.

2-Bromo-*N*-(3-metil-2-okso-2,3-dihidro-1,3-benzotiyazol-6-il)asetamid (8): 500 mg (0.0028 mol) 6-amino-3-metil-1,3-benzotiyazol-2(3*H*)-on, 8 ml DMF, 34 mg (0.00028 mol) 4-dimetilaminopiridin (DMAP), 0.29 ml (0.002 mol) trietilamin (TEA) ve 0.29 ml (0.0033 mol) bromoasetil bromür kullanılarak yukarıdaki yönteme göre sentez edildi. Verim: 689 mg (%82)'dir. Erime noktası: 212°C(dekompoze)'dir. C₁₀H₉BrN₂O₂S için HRMS (m/z) [M+H]⁺: hesaplanan: 300.9646, bulunan: 300.9640.

2-Sübstitüe-*N*-(3-metil-2-okso-2,3-dihidro-1,3-benzoksazol-6-il)asetamid Türevlerinin Genel Sentez Yöntemi (9a-9n)

285 mg (0.001 mol) 2-bromo-*N*-(3-metil-2-okso-2,3-dihidro-1,3-benzoksazol-6-il)asetamid 6 ml DMF içerisinde çözüldü. Bu çözeltiye 346 mg (0.0025 mol) potasyum karbonat ve 0.002 mol uygun amin türevi ilave edilerek 1 saat oda sıcaklığında karıştırıldı. Süre sonunda balon içeriği buzlu suya boşaltıldı. Çöken katı vakumdan süzülde, kurutuldu ve uygun çözücüden kristallendirildi.

N-(3-Metil-2-okso-2,3-dihidro-1,3-benzoksazol-6-il)-2-(4-fenilpiperazin-1-il)asetamid (9a): Etanolden kristallendirildi. 304 mg elde edildi, verim %83'tür. Erime noktası: 214.2°C. ¹H NMR (DMSO-d₆) δ: 9.83 (s, 1H, N-H), 7.77 (d, 1H, *J*=1.9 Hz, H⁷), 7.42 (dd, 1H, *J*=8.4 Hz, *J*=1.9 Hz, H⁵), 7.21 (t, 2H, *J*=7.4 Hz, H³, H⁵), 7.18 (d, 1H, *J*=8.4 Hz, H⁴), 6.94 (d, 2H, *J*=7.4 Hz, H², H⁶), 6.77 (t, 1H, *J*=7.4 Hz, H⁴), 3.31 (s, 3H, N-CH₃), 3.21 (t, 4H, *J*=4.8 Hz, H³, H⁵-piperazin), 3.19 (s, 2H, -CH₂), 2.67 (t, 4H, *J*=4.8 Hz, H², H⁶-piperazin). ¹³C NMR (DMSO-d₆, 100 MHz) δ: 168.06, 154.10, 150.96, 141.67, 133.69, 128.85, 127.45, 118.74, 115.35, 115.06, 108.64, 101.94, 61.62, 52.66, 48.01, 27.97. C₂₀H₂₂N₄O₃ için HRMS (m/z) [M+H]⁺: hesaplanan: 367.1765, bulunan: 367.1763. C₂₀H₂₂N₄O₃ için elementel analiz: C, 65.56; H, 6.05; N, 15.29. Bulunan: C, 65.60; H, 6.12; N, 15.30.

2-[4-(4-Florofenil)piperazin-1-il]-*N*-(3-metil-2-okso-2,3-dihidro-1,3-benzoksazol-6-il)asetamid (9b): Etanolden kristallendirildi. 342 mg elde edildi, verim %89'dur. Erime noktası: 211.4°C. ¹H NMR (DMSO-d₆) δ: 9.83 (s, 1H, N-H), 7.77 (d, 1H, *J*=2.0 Hz, H⁷), 7.42 (dd, 1H, *J*=8.3 Hz, *J*=2.0 Hz, H⁵), 7.18 (d, 1H, *J*=8.3 Hz, H⁴), 7.06-7.05 (m, 2H, H³, H⁵), 6.97-6.93 (m, 2H, H², H⁶), 3.31 (s, 3H, N-CH₃), 3.19 (s, 2H, -CH₂), 3.15 (t, 4H, *J*=4.8 Hz, H³, H⁵-piperazin), 2.67(t, 4H, *J*=4.8 Hz, H², H⁶-piperazin). ¹³C NMR (DMSO-d₆, 100 MHz) δ: 168.06, 155.93 (d, *J*=234.0 Hz), 154.10, 147.88, 141.68, 133.69, 127.46, 117.08 (d, *J*=6.8 Hz), 115.18 (d, *J*=23.7 Hz), 115.08, 108.65, 101.95, 61.57, 52.65, 48.80, 27.98. C₂₀H₂₁FN₄O₃ için HRMS (m/z) [M+H]⁺: hesaplanan: 385.1670, bulunan: 385.1671. C₂₀H₂₁FN₄O₃ için elementel analiz: C, 62.49; H, 5.51; N, 14.57. Bulunan: C, 62.12; H, 5.60; N, 14.59.

2-[4-(4-Klorofenil)piperazin-1-il]-*N*-(3-metil-2-okso-2,3-dihidro-1,3-benzoksazol-6-il)asetamid (9c): Etanolden kristallendirildi. 340 mg elde edildi, verim %85'dir. Erime noktası: 204.4°C. ¹H NMR (DMSO-d₆) δ: 9.80 (s, 1H, N-H), 7.76 (d, 1H, *J*=2.0 Hz, H⁷), 7.41 (dd, 1H, *J*=8.4 Hz, *J*=2.0 Hz, H⁵), 7.22 (d, 2H, *J*=9.0 Hz, H³, H⁵), 7.17 (d, 1H, *J*=8.4 Hz, H⁴), 6.94 (d, 2H, *J*=9.0 Hz, H², H⁶), 3.27 (s, 3H, N-CH₃), 3.21 (t, 4H, *J*=4.8 Hz, H³, H⁵-piperazin), 3.18 (s, 2H, -CH₂), 2.66 (t, 4H, *J*=4.8 Hz, H², H⁶-piperazin). ¹³C NMR (DMSO-d₆, 100 MHz) δ: 167.96, 154.03, 149.70, 141.64, 133.62, 128.48, 127.42, 122.18, 116.72, 115.04, 108.55, 101.93, 61.46, 52.41, 47.81, 27.91. C₂₀H₂₁ClN₄O₃ için HRMS (m/z) [M+H]⁺: hesaplanan: 401.1375, bulunan: 401.1382. C₂₀H₂₁ClN₄O₃ için elementel analiz: C, 59.92; H,

5.28; N, 13.98. Bulunan: C, 59.52; H, 5.29; N, 14.14.

2-[4-(4-Metilfenil)piperazin-1-il]-N-(3-metil-2-okso-2,3-dihidro-1,3-benzoksazol-6-il)asetamid (9d): Etanolden kristallendirildi. 342 mg elde edildi, verim %90'dır. Erime noktası: 225.5 °C. ¹H NMR (DMSO-d₆) δ: 9.83 (s, 1H, N-H), 7.77 (d, 1H, J=2.0 Hz, H⁷), 7.42 (dd, 1H, J=8.7 Hz, J=2.0 Hz, H⁵), 7.18 (d, 1H, J=8.7 Hz, H⁴), 7.02 (d, 2H, J=8.6 Hz, H³, H⁵), 6.84 (d, 2H, J=8.6 Hz, H², H⁶), 3.32 (s, 3H, N-CH₃), 3.18 (s, 2H, -CH₂), 3.14 (t, 4H, J=5.0 Hz, H³, H⁵-piperazin), 2.65 (t, 4H, J=5.0 Hz, H², H⁶-piperazin), 2.19 (s, 3H, fenil-CH₃). ¹³C NMR (DMSO-d₆, 100 MHz) δ: 168.09, 154.12, 148.91, 141.68, 133.71, 129.32, 127.55, 127.45, 115.64, 115.07, 108.67, 101.96, 61.68, 52.73, 48.51, 28.00, 20.01. C₂₁H₂₄N₄O₃ için HRMS (m/z) [M+H]⁺: hesaplanan: 381.1921, bulunan: 381.1921. C₂₁H₂₄N₄O₃ için elementel analiz: C, 66.30; H, 6.36; N, 14.73. Bulunan: C, 66.34; H, 6.36; N, 14.81.

2-[4-(4-Metoksifenil)piperazin-1-il]-N-(3-metil-2-okso-2,3-dihidro-1,3-benzoksazol-6-il)asetamid (9e): Butanolden kristallendirildi. 333 mg elde edildi, verim %84'tür. Erime noktası: 225 °C. ¹H NMR (DMSO-d₆) δ: 9.83 (s, 1H, N-H), 7.77 (d, 1H, J=1.9 Hz, H⁷), 7.42 (dd, 1H, J=8.7 Hz, J=1.9 Hz, H⁵), 7.18 (d, 1H, J=8.7 Hz, H⁴), 6.89 (d, 2H, J=9.0 Hz, H³, H⁵), 6.81 (d, 2H, J=9.0 Hz, H², H⁶), 3.68 (s, 3H, O-CH₃), 3.32 (s, 3H, N-CH₃), 3.18 (s, 2H, -CH₂), 3.08 (t, 4H, J=4.8 Hz, H³, H⁵-piperazin), 2.66 (t, 4H, J=4.8 Hz, H², H⁶-piperazin). ¹³C NMR (DMSO-d₆, 100 MHz) δ: 168.11, 154.12, 152.85, 145.36, 141.68, 133.71, 127.46, 117.34, 115.06, 114.21, 108.67, 101.95, 61.68, 55.13, 52.82, 49.42, 28.00. C₂₁H₂₄N₄O₄ için HRMS (m/z) [M+H]⁺: hesaplanan: 397.1870, bulunan: 397.1880. C₂₁H₂₄N₄O₄ için elementel analiz: C, 63.62; H, 6.10; N, 14.13. Bulunan: C, 63.66; H, 6.14; N, 14.18.

2-[4-(4-Triflorometilfenil)piperazin-1-il]-N-(3-metil-2-okso-2,3-dihidro-1,3-benzoksazol-6-il)asetamid (9f): Etanolden kristallendirildi. 356 mg elde edildi, verim %82'dir. Erime noktası: 217.6 °C. ¹H NMR (DMSO-d₆) δ: 9.86 (s, 1H, N-H), 7.77 (d, 1H, J=1.9 Hz, H⁷), 7.50 (d, 2H, J=8.8 Hz, H³, H⁵), 7.42 (dd, 1H, J=8.4 Hz, J=1.9 Hz, H⁵), 7.19 (d, 1H, J=8.4 Hz, H⁴), 7.07 (d, 2H, J=8.8 Hz, H², H⁶), 3.36 (t, 4H, J=5.0 Hz, H³, H⁵-piperazin), 3.32 (s, 3H, N-CH₃), 3.20 (s, 2H, -CH₂), 2.67 (t, 4H, J=5.0 Hz, H², H⁶-piperazin). ¹³C NMR (DMSO-d₆, 100 MHz) δ: 167.98, 154.07, 153.15, 141.63, 133.64, 127.42, 126.07 (q, J=3.9 Hz), 124.91 (q, J=268.6 Hz), 117.71 (q, J=31.7 Hz), 115.04, 114.09, 108.62, 101.92, 61.43, 52.27, 46.79, 27.94. C₂₁H₂₁F₃N₄O₃ için HRMS (m/z) [M+H]⁺: hesaplanan: 435.1639, bulunan: 435.1644. C₂₁H₂₁F₃N₄O₃ için elementel analiz: C, 58.06; H, 4.87; N, 12.90. Bulunan: C, 57.81; H, 4.56; N, 12.91.

2-(4-Benzilpiperazin-1-il)-N-(3-metil-2-okso-2,3-dihidro-1,3-benzoksazol-6-il)asetamid (9g): Metanolden kristallendirildi. 350 mg elde edildi, verim %92'dir. Erime noktası: 208.4 °C. ¹H NMR (DMSO-d₆) δ: 9.76 (s, 1H, N-H), 7.75 (d, 1H, J=1.6 Hz, H⁷), 7.39 (dd, 1H, J=8.4 Hz, J=1.6 Hz, H⁵), 7.34-7.22 (m, 5H, fenil protonları), 7.17 (d, 1H, J=8.4 Hz, H⁴), 3.48 (s, 2H, -CH₂-C₆H₅), 3.11 (s, 2H, -CH₂-), 3.32 (s, 3H, N-CH₃), 2.53 (bt, 4H, H², H⁶-piperazin), 2.44 (bt, 4H, H³, H⁵-piperazin). ¹³C NMR (DMSO-d₆, 100 MHz) δ: 168.08, 154.04, 141.61, 138.13, 133.63, 128.69, 128.05, 127.36, 126.79, 114.94, 108.59, 101.84, 61.96, 61.68, 52.73, 52.32, 27.92. C₂₁H₂₄N₄O₃ için HRMS (m/z) [M+H]⁺: hesaplanan: 381.1921, bulunan: 381.1926. C₂₁H₂₄N₄O₃ için elementel analiz: C, 66.30; H, 6.36; N, 14.73. Bulunan: C, 66.13; H, 6.51; N, 14.73.

2-{4-[(4-Florofenil)metil]piperazin-1-il}-N-(3-metil-2-okso-2,3-dihidro-1,3-benzoksazol-6-il)asetamid (9h): Etanolden kristallendirildi. 358 mg elde edildi, verim %90'dır. Erime noktası: 202.9 °C. ¹H NMR (DMSO-d₆) δ: 9.73 (s, 1H, N-H), 7.72 (d, 1H, J=2.0 Hz, H⁷), 7.36 (dd, 1H, J=8.8 Hz, J=2.0 Hz, H⁵), 7.32-7.28 (m, 2H, H², H⁶), 7.16-7.09 (m, 3H, H³, H⁵, H⁴), 3.44 (s, 2H, -CH₂-C₆H₅), 3.29 (s, 3H, N-CH₃), 2.54-2.41 (m, 8H, piperazin). ¹³C NMR (DMSO-d₆, 100 MHz) δ: 168.09, 161.14, 154.05, 141.62, 134.30 (d, J=3.0 Hz), 133.64, 130.50 (d, J=8.3 Hz), 127.37, 114.95, 114.77 (d, J=21.4), 108.60, 101.85, 61.67, 61.07, 52.70, 52.21, 27.94. C₂₁H₂₃FN₄O₃ için HRMS (m/z) [M+H]⁺: hesaplanan: 399.1832, bulunan: 399.1825. C₂₁H₂₃FN₄O₃ için elementel analiz: C, 63.30; H, 5.82; N, 14.06. Bulunan: C, 63.31; H, 5.99; N, 14.06.

2-{4-[(4-Klorofenil)metil]piperazin-1-il}-N-(3-metil-2-okso-2,3-dihidro-1,3-benzoksazol-6-il)asetamid (9i): Etanolden kristallendirildi. 377 mg elde edildi, verim %91'dir. Erime noktası: 283.9 °C. ¹H NMR (DMSO-d₆) δ: 9.71 (s, 1H, N-H), 7.73 (d, 1H, J=2.0 Hz, H⁷), 7.39-7.32 (m, 5H, H⁵, fenil protonları), 7.16 (d, 1H, J=8.4 Hz, H⁴), 3.47 (s, 2H, -CH₂-C₆H₅), 3.31 (s, 3H, N-CH₃), 3.11 (s, 2H, -CH₂-), 2.53-2.43 (m, 8H, piperazin). ¹³C NMR (DMSO-d₆, 100 MHz) δ: 168.11, 154.08, 141.66, 137.28, 133.67, 131.34, 130.48, 128.06, 127.41, 115.00, 108.62, 101.90, 61.68, 61.03, 52.74, 52.28, 27.96.

$C_{21}H_{23}ClN_4O_3$ için HRMS (m/z) $[M+H]^+$: hesaplanan: 415.1537, bulunan: 415.1530. $C_{21}H_{23}ClN_4O_3$ için elementel analiz: C, 60.79; H, 5.59; N, 13.50. Bulunan: C, 60.54; H, 5.67; N, 13.63.

2-{4-[(4-Metoksifenil)metil]piperazin-1-il}-N-(3-metil-2-okso-2,3-dihidro-1,3-benzoksazol-6-il)asetamid (9J): Butanolden kristallendirildi. 357 mg elde edildi, verim %87'dir. Erime noktası: 199.4°C. 1H NMR (DMSO- d_6) δ : 9.68 (s, 1H, N-H), 7.71 (d, 1H, $J=1.7$ Hz, H^7), 7.36 (dd, 1H, $J=8.5$ Hz, $J=1.7$ Hz, H^5), 7.17 (d, 2H, $J=8.4$ Hz, H^2 , H^6), 7.14 (d, 1H, $J=8.5$ Hz, H^4), 6.85 (d, 2H, $J=8.4$ Hz, H^3 , H^5), 3.73 (s, 3H, O- CH_3), 3.40 (s, 2H, - CH_2 - C_6H_5), 3.31 (s, 3H, N- CH_3), 3.10 (s, 2H, - CH_2), 2.51-2.41(m, 8H, piperazin). ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ : 168.12, 158.19, 154.08, 141.66, 133.67, 129.94, 127.41, 15.00, 113.46, 108.62, 101.89, 61.73, 61.40, 54.92, 52.78, 52.23, 27.96. $C_{22}H_{26}N_4O_4$ için HRMS (m/z) $[M+H]^+$: hesaplanan: 411.2032, bulunan: 411.2034. $C_{22}H_{26}N_4O_4$ için elementel analiz: C, 64.37; H, 6.38; N, 13.65. Bulunan: C, 64.47; H, 6.45; N=13.69.

2-{4-[(4-Triflorometilfenil)metil]piperazin-1-il}-N-(3-metil-2-okso-2,3-dihidro-1,3-benzoksazol-6-il)asetamid (9k): Butanolden kristallendirildi. 390 mg elde edildi, verim %87'dir. Erime noktası: 186.3°C. 1H NMR (DMSO- d_6) δ : 9.73 (s, 1H, N-H), 7.74 (d, 1H, $J=1.6$ Hz, H^7), 7.67 (d, 2H, $J=8.4$ Hz, H^3 , H^5), 7.53 (d, 2H, $J=8.4$ Hz, H^2 , H^6), 7.36 (dd, 1H, $J=8.5$ Hz, $J=1.6$ Hz, H^5), 7.17 (d, 1H, $J=8.5$ Hz, H^4), 3.58 (s, 2H, - CH_2 - C_6H_5), 3.28 (s, 3H, N- CH_3), 3.12 (s, 2H, - CH_2), 2.55-2.47 (m, 8H, piperazin). ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ : 168.14, 154.11, 143.34, 141.68, 133.70, 129.32, 127.55 (q, $J=31.4$ Hz), 127.44, 125.01 (q, $J=3.9$ Hz), 124.33 (q, $J=270.0$ Hz), 115.02, 108.67, 101.92, 61.69, 61.26, 52.75, 52.39, 27.99. $C_{22}H_{23}F_3N_4O_3$ için HRMS (m/z) $[M+H]^+$: hesaplanan: 449.1801, bulunan: 449.1802. $C_{22}H_{23}F_3N_4O_3$ için elementel analiz: C, 58.92; H, 5.17; N, 12.71. Bulunan: C, 58.75; H, 5.12; N, 12.61.

2-(4-Fenilpiperidin-1-il)-N-(3-metil-2-okso-2,3-dihidro-1,3-benzoksazol-6-il)asetamid (9l): 2-propanolden kristallendirildi. 325 mg elde edildi, verim %89'tür. Erime noktası: 181°C. 1H NMR (DMSO- d_6) δ : 9.78 (s, 1H, N-H), 7.77 (d, 1H, $J=1.9$ Hz, H^7), 7.43 (dd, 1H, $J=8.4$ Hz, $J=1.9$ Hz, H^5), 7.30-7.15 (m, 6H, H^4 , fenil protonları), 3.30 (s, 3H, N- CH_3), 3.12 (s, 2H, - CH_2), 2.95 (d, 2H, $J=11.2$ Hz, H^{2e} , H^{6e} -piperidin), 2.48 (m, 1H, H^4 -piperidin, DMSO ile birlikte), 2.25 (td, 2H, $J=11.2$ Hz, $J=2.8$ Hz, H^{2a} , H^{6a} -piperidin), 1.81-1.70 (m, 4H, H^3 , H^5 -piperidin). ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ : 168.41, 154.06, 146.13, 141.64, 133.66, 128.22, 127.38, 126.64, 125.91, 115.02, 108.60, 101.89, 62.06, 53.79, 41.25, 32.81, 27.94. $C_{21}H_{23}N_3O_3$ için HRMS (m/z) $[M+H]^+$: hesaplanan: 366.1818, bulunan: 366.1816. $C_{21}H_{23}N_3O_3$ için elementel analiz: C, 69.02; H, 6.34; N, 11.50. Bulunan: C, 69.09; H, 6.33; N, 11.58.

2-(4-Benzilpiperidin-1-il)-N-(3-metil-2-okso-2,3-dihidro-1,3-benzoksazol-6-il)asetamid (9m): Metanolden kristallendirildi. 315 mg elde edildi, verim %83'tür. Erime noktası: 172.8°C. 1H NMR (DMSO- d_6) δ : 9.69 (s, 1H, N-H), 7.74 (d, 1H, $J=1.7$ Hz, H^7), 7.39 (dd, 1H, $J=8.1$ Hz, $J=1.7$ Hz, H^5), 7.26 (t, 2H, $J=7.6$ Hz, H^3 , H^5), 7.17-7.14 (m, 4H, H^2 , H^4 , H^6 , H^4), 3.30 (s, 3H, N- CH_3), 3.05 (s, 2H, - CH_2), 2.82 (d, 2H, $J=11.6$ Hz, H^{2e} , H^{6e} -piperidin), 2.51-2.48 (m, 2H, - CH_2 - C_6H_5 , DMSO ile birlikte), 2.05 (t, 4H, $J=10.8$ Hz, H^{2a} , H^{6a} -piperidin), 1.54-1.29 (m, 5H, H^3 , H^4 , H^5 -piperidin). ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ : 168.41, 154.05, 141.63, 140.24, 133.64, 128.86, 128.03, 127.36, 125.64, 114.96, 108.58, 101.85, 62.12, 53.34, 42.27, 36.84, 31.48, 27.93. $C_{22}H_{25}N_3O_3$ için HRMS (m/z) $[M+H]^+$: hesaplanan: 380.1967, bulunan: 380.1970. $C_{22}H_{25}N_3O_3$ için elementel analiz: C, 69.64; H, 6.64; N, 11.07. Bulunan: C, 69.29; H, 6.62; N, 11.18.

2-[Benzil(metil)amino]-N-(3-metil-2-okso-2,3-dihidro-1,3-benzoksazol-6-il)asetamid (9n): 2-propanolden kristallendirildi. 270 mg elde edildi, verim %83'tür. Erime noktası: 160.3°C. 1H NMR (DMSO- d_6) δ : 9.77 (s, 1H, N-H), 7.75 (d, 1H, $J=2$ Hz, H^7), 7.42-7.23 (m, 6H, H^5 , fenil protonları), 7.17 (d, 1H, $J=8.4$ Hz, H^4), 3.64 (s, 2H, - CH_2 - C_6H_5), 3.32 (s, 3H, N- CH_3), 3.18 (s, 2H, - CH_2 -), 2.27 (s, 3H, N $_2$ - CH_3). ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100 MHz) δ : 168.66, 154.09, 141.66, 138.17, 133.71, 128.88, 128.14, 127.40, 127.03, 115.02, 108.62, 101.92, 60.96, 60.51, 42.16, 27.96. $C_{18}H_{19}N_3O_3$ için HRMS (m/z) $[M+H]^+$: hesaplanan: 326.1505, bulunan: 326.1500. $C_{18}H_{19}N_3O_3$ için elementel analiz: C, 66.45; H, 5.89; N, 12.91. Bulunan: C, 66.06; H, 5.93; N, 12.86.

2-Sübstitüe-N-(3-metil-2-okso-2,3-dihidro-1,3-benzotiyazol-6-il)asetamid Türevlerinin Genel Sentez Yöntemi (10a-10n)

301 mg (0.001 mol) 2-bromo-N-(3-metil-2-okso-2,3-dihidro-1,3-benzotiyazol-6-il)asetamid, 6 ml DMF, 346 mg (0.0025 mol) potasyum karbonat ve 0.002 mol uygun amin türevi kullanılarak 2-

sübstitüe-*N*-(3-metil-2-okso-2,3-dihidro-1,3-benzoksazol-6-il)asetamit türevlerinin genel sentez yöntemine göre hazırlandı.

N-(3-Metil-2-okso-2,3-dihidro-1,3-benzotiyazol-6-il)-2-(4-fenilpiperazin-1-il)asetamit (10a): Butanolden kristallendirildi. 351 mg elde edildi, verim %92'dir. Erime noktası: 217.9°C. ¹H NMR (DMSO-d₆) δ: 9.84 (s, 1H, N-H), 7.99 (d, 1H, *J*=2.0 Hz, H⁷), 7.58 (dd, 1H, *J*=8.7 Hz, *J*=2.0 Hz, H⁵), 7.25 (d, 1H, *J*=8.7 Hz, H⁴), 7.21 (t, 2H, *J*=7.5 Hz, H³, H⁵), 6.93 (d, 2H, *J*=7.5 Hz, H², H⁶), 6.77 (t, 1H, *J*=7.5 Hz, H⁴), 3.38 (s, 3H, N-CH₃), 3.21-3.19 (m, 6H, H³, H⁵-piperazin, -CH₂-), 2.67 (t, 4H, *J*=5.0 Hz, H², H⁶-piperazin). ¹³C NMR (DMSO-d₆, 100 MHz) δ: 168.41, 168.12, 150.98, 134.33, 133.54, 128.89, 121.41, 118.78, 118.52, 115.37, 113.90, 111.21, 61.61, 52.68, 48.07, 28.98. C₂₀H₂₂N₄O₂S için HRMS (m/z) [M+H]⁺: hesaplanan: 383.1542, bulunan: 383.1541. C₂₀H₂₂N₄O₂S için elementel analiz: C, 62.80; H, 5.80; N, 14.65; S, 8.38. Bulunan: C, 63.10; H, 6.09; N, 14.56; S, 8.41.

2-[4-(4-Florofenil)piperazin-1-il]-*N*-(3-metil-2-okso-2,3-dihidro-1,3-benzotiyazol-6-il)asetamit (10b): Metanolden kristallendirildi. 352 mg elde edildi, verim %88'dir. Erime noktası: 189.9°C. ¹H NMR (DMSO-d₆) δ: 9.84 (s, 1H, N-H), 7.99 (d, 1H, *J*=2.0 Hz, H⁷), 7.58 (dd, 1H, *J*=8.5 Hz, *J*=2.0 Hz, H⁵), 7.25 (d, 1H, *J*=8.5 Hz, H⁴), 7.06-7.02 (m, 2H, H³, H⁵), 6.96-6.93 (m, 2H, H², H⁶), 3.38 (s, 3H, N-CH₃), 3.19 (s, 2H, -CH₂-), 3.15 (t, 4H, *J*=4.8 Hz, H³, H⁵-piperazin), 2.67(t, 4H, *J*=4.8 Hz, H², H⁶-piperazin). ¹³C NMR (DMSO-d₆, 100 MHz) δ: 168.42, 168.12, 155.96 (d, *J*=233.9 Hz), 147.89 (d, *J*=2.3 Hz), 134.33, 133.55, 121.41, 118.51, 117.10 (d, *J*=7.6Hz), 115.22 (d, *J*=21.3 Hz), 113.89, 111.22, 61.56, 52.67, 48.84, 28.89. C₂₀H₂₁FN₄O₂S için HRMS (m/z) [M+H]⁺: hesaplanan: 401.1448, bulunan: 401.1456. C₂₀H₂₁FN₄O₂S için elementel analiz: C, 59.98; H, 5.29; N, 13.99; S, 8.01. Bulunan: C, 60.11; H, 5.44; N, 13.91; S, 8.02.

2-[4-(4-Klorofenil)piperazin-1-il]-*N*-(3-metil-2-okso-2,3-dihidro-1,3-benzotiyazol-6-il)asetamit (10c): Butanolden kristallendirildi. 379 mg elde edildi, verim %91'dir. Erime noktası: 213.4°C. ¹H NMR (DMSO-d₆) δ: 9.84 (s, 1H, N-H), 7.99 (d, 1H, *J*=2.0 Hz, H⁷), 7.58 (dd, 1H, *J*=8.5 Hz, *J*=2.0 Hz, H⁵), 7.25 (d, 1H, *J*=8.5 Hz, H⁴), 7.22 (d, 2H, *J*=9.0 Hz, H³, H⁵), 6.94 (d, 2H, *J*=9.0 Hz, H², H⁶), 3.38 (s, 3H, N-CH₃), 3.22-3.19 (m, 6H, H³, H⁵-piperazin, -CH₂-), 2.66 (t, 4H, *J*=4.8 Hz, H², H⁶-piperazin). ¹³C NMR (DMSO-d₆, 100 MHz) δ: 168.41, 168.09, 149.78, 134.33, 133.55, 128.58, 122.27, 121.41, 118.54, 116.81, 113.91, 111.22, 61.53, 52.49, 47.88, 28.99. C₂₀H₂₁ClN₄O₂S için HRMS (m/z) [M+H]⁺: hesaplanan: 417.1152, bulunan: 417.1149. C₂₀H₂₁ClN₄O₂S için elementel analiz: C, 57.62; H, 5.08; N, 13.44; S, 7.69. Bulunan: C, 57.70; H, 5.15; N, 13.34; S, 7.65.

2-[4-(4-Metilfenil)piperazin-1-il]-*N*-(3-metil-2-okso-2,3-dihidro-1,3-benzotiyazol-6-il)asetamit (10d): Etanolden kristallendirildi. 356 mg elde edildi, verim %90'dır. Erime noktası: 194.5°C. ¹H NMR (DMSO-d₆) δ: 9.83 (s, 1H, N-H), 7.99 (d, 1H, *J*=2.0 Hz, H⁷), 7.58 (dd, 1H, *J*=8.7 Hz, *J*=2.0 Hz, H⁵), 7.25 (d, 1H, *J*=8.7 Hz, H⁴), 7.01 (d, 2H, *J*=8.4 Hz, H³, H⁵), 6.83 (d, 2H, *J*=8.4 Hz, H², H⁶), 3.38 (s, 3H, N-CH₃), 3.18 (s, 2H, -CH₂-), 3.14 (t, 4H, *J*=4.8 Hz, H³, H⁵-piperazin), 2.66 (t, 4H, *J*=4.8 Hz, H², H⁶-piperazin), 2.19 (s, 3H, fenil-CH₃). ¹³C NMR (DMSO-d₆, 100 MHz) δ: 168.41, 168.13, 148.91, 134.33, 133.54, 129.33, 127.57, 121.40, 118.52, 115.65, 113.89, 111.21, 61.64, 52.72, 48.54, 28.98, 20.00. C₂₁H₂₄N₄O₂S için HRMS (m/z) [M+H]⁺: hesaplanan: 397.1698, bulunan: 397.1702. C₂₁H₂₄N₄O₂S için elementel analiz: C, 63.61; H, 6.10; N, 14.13; S, 8.09. Bulunan: C, 63.6; H, 6.12; N, 14.05; S, 8.08.

2-[4-(4-Metoksifenil)piperazin-1-il]-*N*-(3-metil-2-okso-2,3-dihidro-1,3-benzotiyazol-6-il)asetamit (10e): 2-propanolden kristallendirildi. 370 mg elde edildi, verim %90'dır. Erime noktası: 183.3°C. ¹H NMR (DMSO-d₆) δ: 9.83 (s, 1H, N-H), 7.99 (d, 1H, *J*=2.0 Hz, H⁷), 7.58 (dd, 1H, *J*=8.4 Hz, *J*=2.0 Hz, H⁵), 7.25 (d, 1H, *J*=8.4 Hz, H⁴), 6.89 (d, 2H, *J*=9.2 Hz, H³, H⁵), 6.81 (d, 2H, *J*=9.2 Hz, H², H⁶), 3.68 (s, 3H, O-CH₃), 3.38 (s, 3H, N-CH₃), 3.18 (s, 2H, -CH₂-), 3.08 (t, 4H, *J*=4.8 Hz, H³, H⁵-piperazin), 2.66 (t, 4H, *J*=4.8 Hz, H², H⁶-piperazin). ¹³C NMR (DMSO-d₆, 100 MHz) δ: 168.48, 168.20, 152.90, 145.41, 134.36, 133.59, 121.46, 118.57, 117.40, 114.25, 113.94, 111.26, 61.67, 55.18, 52.85, 49.49, 29.02. C₂₁H₂₄N₄O₃S için HRMS (m/z) [M+H]⁺: hesaplanan: 413.1647, bulunan: 413.1651. C₂₁H₂₄N₄O₃S için elementel analiz: C, 61.14; H, 5.86; N, 13.58; S, 7.77. Bulunan: C, 61.13; H, 6.05; N, 13.53; S, 7.81.

2-[4-(4-Triflorometilfenil)piperazin-1-il]-*N*-(3-metil-2-okso-2,3-dihidro-1,3-benzotiyazol-6-il)asetamit (10f): 2-propanolden kristallendirildi. 410 mg elde edildi, verim %91'dir. Erime noktası: 194.6°C. ¹H NMR (DMSO-d₆) δ: 9.86 (s, 1H, N-H), 7.99 (d, 1H, *J*=1.7 Hz, H⁷), 7.58 (dd, 1H, *J*=8.4 Hz, *J*=1.7 Hz, H⁵), 7.49 (d, 2H, *J*=9.0 Hz, H³, H⁵), 7.25 (d, 1H, *J*=8.4 Hz, H⁴), 7.06 (d, 2H, *J*=9.0 Hz, H²,

H⁶), 3.38-3.34 (m, 8H, N-CH₃, H³, H⁵-piperazin, DMSO H₂O), 3.20 (s, 2H, -CH₂-), 2.67 (t, 4H, *J*=4.8 Hz, H², H⁶-piperazin). ¹³C NMR (DMSO-d₆, 100 MHz) δ: 168.43, 168.09, 153.22, 134.34, 133.57, 126.14 (q, *J*=3.8 Hz), 124.98 (q, *J*=268.5 Hz), 121.42, 118.56, 117.81 (q, *J*=32.0 Hz), 114.16, 113.94, 111.21, 61.48, 52.34, 46.88, 28.99. C₂₁H₂₁F₃N₄O₂S için HRMS (m/z) [M+H]⁺: hesaplanan: 451.1416, bulunan: 451.1415. C₂₁H₂₁F₃N₄O₂S için elementel analiz: C, 55.99; H, 4.70; N, 12.44; S, 7.12. Bulunan: C, 56.11; H, 4.67; N, 12.40; S, 7.08.

2-(4-Benzilpiperazin-1-il)-*N*-(3-metil-2-okso-2,3-dihidro-1,3-benzotiyazol-6-il)asetamid (10g): 2-propanolden kristallendirildi. 329 mg elde edildi, verim %83'tür. Erime noktası: 136.5 °C. ¹H NMR (DMSO-d₆) δ: 9.76 (s, 1H, N-H), 7.96 (d, 1H, *J*=2.0 Hz, H⁷), 7.55 (dd, 1H, *J*=9.0 Hz, *J*=2.0 Hz, H⁵), 7.34-7.22 (m, 6H, fenil protonları, H⁴), 3.47 (s, 2H, -CH₂-C₆H₅), 3.37 (s, 3H, N-CH₃), 3.11 (s, 2H, -CH₂-), 2.53-2.49 (m, 4H, H², H⁶-piperazin), 2.46-2.43 (m, 4H, H³, H⁵-piperazin). ¹³C NMR (DMSO-d₆, 100 MHz) δ: 168.41, 168.19, 138.19, 134.32, 133.52, 128.79, 128.13, 126.87, 121.40, 118.48, 113.86, 111.21, 62.05, 61.72, 52.79, 52.41, 28.98. C₂₁H₂₄N₄O₂S için HRMS (m/z) [M+H]⁺: hesaplanan: 397.1698, bulunan: 397.1696. C₂₁H₂₄N₄O₂S için elementel analiz: C, 63.61; H, 6.10; N, 14.13; S=8.09. Bulunan: C, 63.32; H, 6.06; N, 14.05; S, 8.06.

2-{4-[(4-Florofenil)metil]piperazin-1-il}-*N*-(3-metil-2-okso-2,3-dihidro-1,3-benzotiyazol-6-il)asetamid (10h): 2-propanolden kristallendirildi. 352 mg elde edildi, verim %85'dir. Erime noktası: 183.8 °C. ¹H NMR (DMSO-d₆) δ: 9.75 (s, 1H, N-H), 7.96 (d, 1H, *J*=2.0 Hz, H⁷), 7.55 (dd, 1H, *J*=8.8 Hz, *J*=2.0 Hz, H⁵), 7.33-7.30 (m, 2H, H², H⁶), 7.24 (d, 1H, *J*=8.8 Hz, H⁴), 7.15-7.10 (m, 2H, H³, H⁵), 3.45 (s, 2H, -CH₂-C₆H₅), 3.37 (s, 3H, N-CH₃), 3.11 (s, 2H, -CH₂-), 2.54-2.41 (m, 8H, piperazin). ¹³C NMR (DMSO-d₆, 100 MHz) δ: 168.42, 168.18, 161.22 (d, *J*=240.8 Hz), 134.36, 134.32, 133.51, 130.58 (d, *J*=7.6 Hz), 121.40, 118.47, 114.84 (d, *J*=21.3 Hz), 113.86, 111.21, 61.69, 61.08, 52.77, 52.29, 28.98. C₂₁H₂₃FN₄O₂S için HRMS (m/z) [M+H]⁺: hesaplanan: 415.1604, bulunan: 415.1602. C₂₁H₂₃FN₄O₂S için elemental analiz: C, 60.85; H, 5.59; N, 13.52; S, 7.74. Bulunan: C, 61.18; H, 5.55; N, 13.39; S, 7.74.

2-{4-[(4-Klorofenil)metil]piperazin-1-il}-*N*-(3-metil-2-okso-2,3-dihidro-1,3-benzotiyazol-6-il)asetamid (10i): Metanolden kristallendirildi. 391 mg elde edildi, verim %91'dir. Erime noktası: 182.2 °C. ¹H NMR (DMSO-d₆) δ: 9.76 (s, 1H, N-H), 7.96 (d, 1H, *J*=2.0 Hz, H⁷), 7.55 (dd, 1H, *J*=8.8 Hz, *J*=2.0 Hz, H⁵), 7.36 (d, 2H, *J*=8.3 Hz, H², H⁶), 7.31 (d, 2H, *J*=8.3 Hz, H³, H⁵), 7.24 (d, 1H, *J*=8.8 Hz, H⁴), 3.46 (s, 2H, -CH₂-C₆H₅), 3.37 (s, 3H, N-CH₃), 3.11 (s, 2H, -CH₂-), 2.52-2.43 (m, 8H, piperazin). ¹³C NMR (DMSO-d₆, 100 MHz) δ: 168.42, 168.17, 137.29, 134.32, 133.52, 131.38, 130.53, 128.11, 121.40, 118.48, 113.86, 111.21, 61.69, 61.06, 52.76, 52.33, 28.98. C₂₁H₂₃ClN₄O₂S için HRMS (m/z) [M+H]⁺: hesaplanan: 431.1309, bulunan: 431.1306. C₂₁H₂₃ClN₄O₂S için elementel analiz: C, 58.53; H, 5.38; N, 13.00; S, 7.44. Bulunan: C, 58.93; H, 5.65; N, 13.03; S, 7.47.

2-{4-[(4-Metoksifenil)metil]piperazin-1-il}-*N*-(3-metil-2-okso-2,3-dihidro-1,3-benzotiyazol-6-il)asetamid (10j): 2-propanolden kristallendirildi. 358 mg elde edildi, verim %84'tür. Erime noktası: 147.5 °C. ¹H NMR (DMSO-d₆) δ: 9.75 (s, 1H, N-H), 7.96 (d, 1H, *J*=2.0 Hz, H⁷), 7.55 (dd, 1H, *J*=8.7 Hz, *J*=2.0 Hz, H⁵), 7.24 (d, 1H, *J*=8.7 Hz, H⁴), 7.19 (d, 2H, *J*=8.8 Hz, H², H⁶), 6.87 (d, 2H, *J*=8.8 Hz, H³, H⁵), 3.73 (s, 3H, O-CH₃), 3.39 (s, 2H, -CH₂-C₆H₅), 3.37 (s, 3H, N-CH₃), 3.10 (s, 2H, -CH₂-), 2.54-2.41 (m, 8H, piperazin). ¹³C NMR (DMSO-d₆, 100 MHz) δ: 168.42, 168.10, 158.23, 134.32, 133.52, 129.99, 129.97, 121.40, 118.47, 113.86, 113.49, 111.21, 61.74, 61.45, 54.95, 52.81, 52.29, 28.98. C₂₂H₂₆N₄O₃S için HRMS (m/z) [M+H]⁺: hesaplanan: 427.1804, bulunan: 427.1803. C₂₂H₂₆N₄O₃S için elementel analiz: C, 61.95; H, 6.14; N, 13.14; S, 7.52. Bulunan: C, 61.81; H, 6.15; N, 13.03; S, 7.50.

2-{4-[(4-Triflorometilfenil)metil]piperazin-1-il}-*N*-(3-metil-2-okso-2,3-dihidro-1,3-benzotiyazol-6-il)asetamid (10k): 2-propanolden kristallendirildi. 372 mg elde edildi, verim %80'dir. Erime noktası: 181.7 °C. ¹H NMR (DMSO-d₆) δ: 9.76 (s, 1H, N-H), 7.96 (d, 1H, *J*=2.0 Hz, H⁷), 7.67 (d, 2H, *J*=8.4 Hz, H³, H⁵), 7.56-7.52 (m, 3H, H², H⁶, H⁵), 7.24 (d, 1H, *J*=8.4 Hz, H⁴), 3.57 (s, 2H, -CH₂-C₆H₅), 3.37 (s, 3H, N-CH₃), 3.12 (s, 2H, -CH₂-), 2.54-2.46 (m, 8H, piperazin). ¹³C NMR (DMSO-d₆, 100 MHz) δ: 168.39, 168.15, 143.33, 134.31, 133.51, 129.31, 127.55 (q, *J*=31.5 Hz), 125.00 (q, *J*=3.8 Hz), 124.32 (q, *J*=270.5 Hz), 121.39, 118.45, 113.84, 111.19, 61.66, 61.26, 52.74, 52.40, 28.96. C₂₂H₂₃F₃N₄O₂S için HRMS (m/z) [M+H]⁺: hesaplanan: 465.1572, bulunan: 465.1575. C₂₂H₂₃F₃N₄O₂S için elementel analiz: C, 56.89; H, 4.99; N, 12.06; S, 6.90. Bulunan: C, 56.79; H, 4.97; N, 11.97; S, 6.90.

2-(4-Fenilpiperidin-1-il)-*N*-(3-metil-2-okso-2,3-dihidro-1,3-benzotiyazol-6-il)asetamid (10l): 2-propanolden kristallendirildi. 350 mg elde edildi, verim %92'dir. Erime noktası: 173.3 °C. ¹H NMR

(DMSO-d₆) δ: 9.80 (s, 1H, N-H), 8.00 (d, 1H, *J*=1.9 Hz, H⁷), 7.61 (dd, 1H, *J*=8.6 Hz, *J*=1.9 Hz, H⁵), 7.32-7.16 (m, 6H, H⁴, fenil protonları), 3.38 (s, 3H, N-CH₃), 3.15 (s, 2H, -CH₂-), 2.93 (d, 2H, *J*=11.2 Hz, H^{2e}, H^{6e}-piperidin), 2.50 (m, 1H, H⁴-piperidin, DMSO ile birlikte), 2.27 (td, 2H, *J*=11.2 Hz, *J*=2.6 Hz, H^{2a}, H^{6a}-piperidin), 1.86-1.70 (m, 4H, H³, H⁵-piperidin). ¹³C NMR (DMSO-d₆, 100 MHz) δ: 168.52, 168.43, 146.21, 134.35, 133.55, 128.31, 126.72, 126.00, 121.42, 118.56, 113.93, 111.23, 62.10, 53.86, 41.32, 32.91, 29.01. C₂₁H₂₃N₃O₂S için HRMS (m/z) [M+H]⁺: hesaplanan: 382.1589, bulunan: 382.1587. C₂₁H₂₃N₃O₂S için elementel analiz: C, 66.12; H, 6.08; N, 11.01; S, 8.41. Bulunan: C, 66.24; H, 5.94; N, 11.03; S, 8.39.

2-(4-Benzilpiperidin-1-il)-*N*-(3-metil-2-okso-2,3-dihidro-1,3-benzotiyazol-6-il)asetamid (10m): Etanolden kristallendirildi. 363 mg elde edildi, verim %92'dir. Erime noktası: 151.6°C. ¹H NMR (DMSO-d₆) δ: 9.72 (s, 1H, N-H), 7.97 (d, 1H, *J*=2 Hz, H⁷), 7.57 (dd, 1H, *J*=8.4 Hz, *J*=2.0 Hz, H⁵), 7.28-7.23 (m, 3H, *J*=7.6 Hz, H³, H⁵, H⁴), 7.18-7.14 (m, 3H, H², H⁴, H⁶), 3.37 (s, 3H, N-CH₃), 3.06 (s, 2H, -CH₂-), 2.83 (d, 2H, *J*=11.1 Hz, H^{2c}, H^{6c}-piperidin), 2.52-2.50 (m, 2H, -CH₂-C₆H₅, DMSO ile birlikte), 2.06 (t, 4H, *J*=11.1 Hz, H^{2a}, H^{6a}-piperidin), 1.53-1.30 (m, 5H, H³, H⁴, H⁵-piperidin). ¹³C NMR (DMSO-d₆, 100 MHz) δ: 168.52, 168.42, 140.31, 134.32, 133.52, 128.94, 128.11, 125.72, 121.39, 118.48, 113.85, 111.21, 62.16, 53.40, 42.36, 36.92, 31.58, 28.98. C₂₂H₂₅N₃O₂S için HRMS (m/z) [M+H]⁺: hesaplanan: 396.1746, bulunan: 396.1750. C₂₂H₂₅N₃O₂S için elementel analiz: C, 66.81, H, 6.37; N, 10.62; S, 8.11. Bulunan: C, 67.18; H, 6.39; N, 10.69; S, 8.13.

2-[Benzil(metil)amino]-*N*-(3-metil-2-okso-2,3-dihidro-1,3-benzotiyazol-6-il)asetamid (10n): Aseton-hekzan solvan sistemi ile kristallendirildi. 256 mg elde edildi, verim %75'dir. Erime noktası: 98.2°C. ¹H NMR (DMSO-d₆) δ: 9.78 (s, 1H, N-H), 7.98 (d, 1H, *J*=2.0 Hz, H⁷), 7.56 (dd, 1H, *J*=8.8 Hz, *J*=2.0 Hz, H⁵), 7.39 (d, 2H, *J*=7.5 Hz, H², H⁶), 7.31 (t, 2H, *J*=7.5 Hz, H³, H⁵), 7.25 (t, 1H, *J*=7.5 Hz, H⁴), 7.24 (d, 1H, *J*=8.8 Hz, H⁴), 3.65 (s, 2H, -CH₂-C₆H₅), 3.38 (s, 3H, N-CH₃), 3.19 (s, 2H, -CH₂-), 2.27 (s, 3H, N₂-CH₃). ¹³C NMR (DMSO-d₆, 100 MHz) δ: 168.63, 168.33, 138.15, 134.29, 133.46, 128.84, 128.10, 126.99, 121.33, 118.45, 113.82, 111.11, 60.93, 60.45, 42.11, 28.90. C₁₈H₁₉N₃O₂S için HRMS (m/z) [M+H]⁺: hesaplanan: 342.1276, bulunan: 342.1275. C₁₈H₁₉N₃O₂S için elementel analiz: C, 63.32; H, 5.61; N, 12.31; S, 9.39. Bulunan: C, 63.51; H, 5.32; N, 12.36; S, 9.37.

Biyolojik Aktivite

Kolinesteraz İnhibitör Aktivite Tayini

Sonuç bileşiklerin asetilkolinesteraz (AKE) ve butirilkolinesteraz (BKE) enzimlerine karşı inhibitör etkileri ilk olarak 100 µM konsantrasyonda, modifiye Ellman testi kullanılarak taranmış ve sonrasında %50'den fazla inhibisyon gösteren bileşiklerin farklı konsantrasyonları çalışılarak elde edilen doz-cevap eğrilerinden IC₅₀ değerleri belirlenmiştir. Deney sonucunda oluşan sarı renk 412 nm'de Molecular Devices Versamax Tunable mikropalak okuyucusu kullanılarak ölçülmüştür. Asetilkolinesteraz enzimi (Electrophorus electricus, tipVI-S, 200-1,000 ünite/mg protein), Butirilkolinesteraz enzimi (At serumu, ≥900 ünite/mg protein), asetiltiyokolin iyodür (ATK), butiriltiyokolin iyodür (BTK), 5,5'-ditiyobis (2-nitrobenzoik asit) (DTNB), galantamin hidrobromür, donepezil hidroklorür monohidrat ve tris HCl Sigma Aldrich'ten satın alınmıştır. Çalışmada test edilecek bileşikler final hacimde 100 µM konsantrasyonlu olacak şekilde DMSO kullanılarak çözülmüştür. Ancak test çözeltilerinin hazırlanmasında AKE aktivitesini etkilememesi için DMSO miktarının final hacmin %1'ini aşmamasına dikkat edilmiştir. Aktivite çalışmasında 96 kuyucuklu mikropalak kullanılmıştır. Her kuyucukta final hacim 200 µl olacak şekilde; 168 µl 50 mM Tris HCl (pH 8.0) tampon çözeltisi, 10 µl 6.8 mM DTNB, 10 µl (0.4 U/ml) AKE ve 2 µl test çözeltisi ilave edilir. İlk üç kuyucuk kör olarak kullanılmak üzere AKE çözeltisi içermeyecek şekilde, sonraki 3 kuyucuk tam aktivite olarak kullanılmak üzere test çözeltisi yerine 2 µl solvan karışımı eklenerek hazırlanmıştır. Referans olarak kullanılmak üzere ise galantamin ve donepezil çözeltisi içeren 3'er kuyucuk daha hazırlanmıştır. Son olarak tüm kuyucuklara 10 µl ATK hızla ilave edilip mikropalak okuyucuya yerleştirilmiş, dakika bir tarama olacak şekilde, 20 dakika boyunca, 412 nm dalga boyunda kinetik ölçüm yapılmıştır. Sonuç bileşiklerin BKE inhibitor aktiviteleri 0.5 U/ml BKE ve substrat olarak 30 mM BTI kullanılarak aynı yöntemle belirlenmiştir. Bileşiklerin IC₅₀ değerleri, GraphPad Prism (GraphPad Software, La Jolla California USA) programında, bileşik derişiminin logaritmasına karşı elde edilen %

inhibisyon verilerinin non-lineer regresyonu ile oluşturulan sigmoid doz-cevap grafikleri kullanılarak hesaplanmıştır [23,24].

Antioksidan Aktivite Tayini

Oksijen Radikali Absorbans Kapasitesi (ORAC-Fluorescein) Testi

Metotta 75 mM fosfat tamponu (pH 7.4) kullanılmıştır ve final çalışma hacmi 200 µl'dir. Test bileşiklerinin 10 mM (aseton ile hazırlanmış) stok çözeltileri %50 aseton-su karışımı ile hedef tarama konsantrasyonlarına seyreltilmiştir. Fluorescein (0.117 µM) ve AAPH çözeltileri (40 mM) fosfat tamponu ile hazırlanmıştır. 96 kuyucuklu siyah mikropalak kullanılmıştır ve her kuyucuğa 20 µl test bileşiği ve 120 µl fluorescein çözeltisi eklendikten sonra 37°C'de 15 dakika inkübe edilmiştir. Süre sonunda her kuyucuğa 60 µl of AAPH çözeltisi eklenmiş ve floresans değerleri (eksitasyon 485 nm, emisyon 535 nm) 37°C'de 90 dakika boyunca Molecular Devices SpectraMax i3x Multi-Mode Detection Platform cihazı ile takip edilmiştir. Standart Troloks kalibrasyon eğrisi oluşturmak üzere her plakta eş zamanlı olarak finalde 0.5–8 µM troloks içeren standart çözeltilerinin (minimum 9 farklı konsantrasyon değeri) floresans değerleri ölçülmüştür. Test bileşikleri (2 µM, 5 µM ve 10 µM) farklı konsantrasyonlarda taranarak uygun AUC (Area Under Curve) değeri elde edilen konsantrasyondaki alan değerlerinin, Troloks kalibrasyon grafiğindeki karşılığı hesaplanmış ve sonuçlar Troloks eşdeğerliği olarak sunulmuştur [25,26].

DPPH (1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil) Antioksidan Aktivite Tayini

DPPH yöntemi antioksidan aktivite tayininde kullanılan spektrofotometrik bir yöntemdir. Öncelikle referans (gallik asit) ve test bileşikleri final konsantrasyonu 100 µM olacak şekilde etanol içerisinde çözüldü. Bu çözeltilerden 20 µl alınıp 180 µl 0.15 mM DPPH çözeltisi ile birleştirildi (DPPH de etanol ile çözülür). Oda sıcaklığında 30 dk inkübe edildikten sonra değişmeyen DPPH miktarı, 96 kuyucuklu mikropalaka ile SpectraMax i3x multi-Mode kullanılarak 517 nm'de ölçüldü. Elde edilen sonuçlar [(A kontrol - A numune)/A kontrol] x 100 formülüne yerleştirilerek test bileşiklerinin DPPH radikal temizleme aktivite yüzdesi belirlenmiştir. A kontrol, test numunesi yokluğunda elde edilen sonuç ve A numune, test bileşiğinin veya referansın varlığında elde edilen sonuçtur. Tüm numuneler için tekrar çalışılmış ve sonuçlar ortalama ± SD olarak hesaplanmıştır [25].

Metal Şelatör Etki Tayini

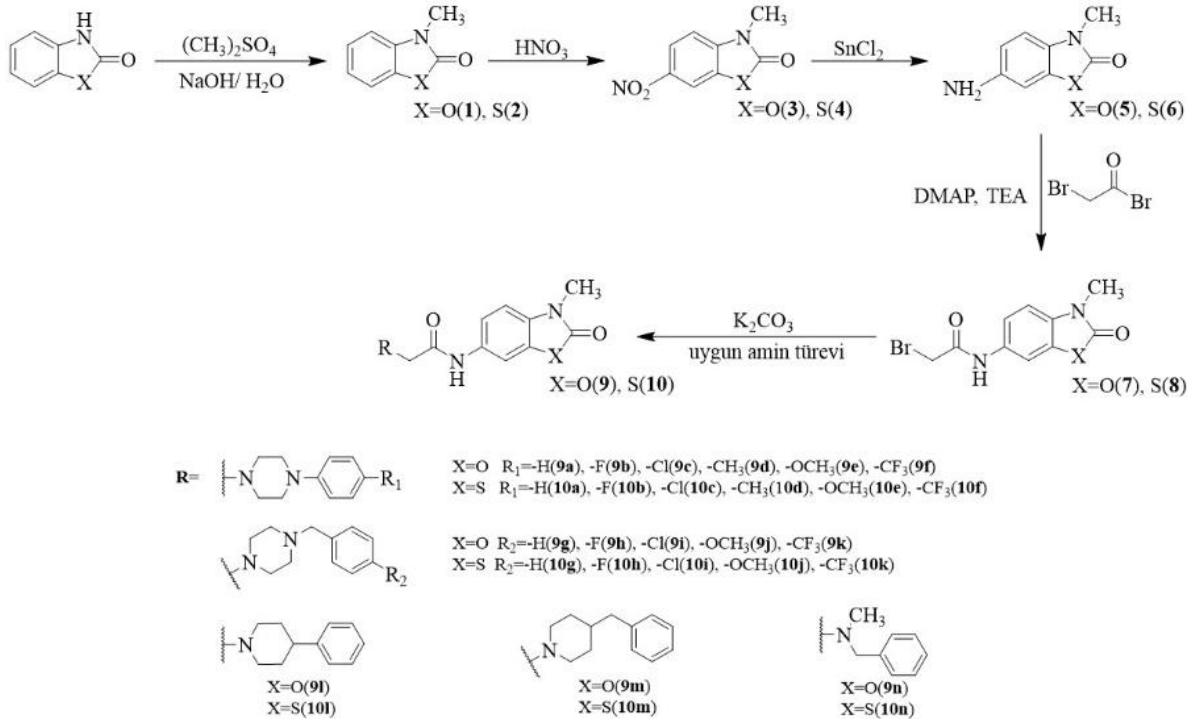
Etanol ile FeSO₄·7H₂O, CuSO₄·5H₂O ve ZnCl₂ için 400 µM'lık stok çözeltiler hazırlanmıştır. Test bileşiklerinin 10 mM'lık DMSO stok çözeltilerinden etanol ile dilüsyon yapılarak 400 µM'lık çalışma çözeltileri hazırlanmıştır. Sonrasında, 800 µl of etanol, 100 µl ilgili metal çözeltisi ve 100 µl test bileşiği karışımı 25°C'de 30 dakika inkübe edilmiştir. Süre sonunda çözeltilerin absorbans değerleri 230–500 nm aralığında, Molecular Devices SpectraMax i3x Multi-Mode Detection Platform cihazı ile ölçülmüştür. 100 µl test bileşik çözeltisi ve 900 µl etanol karışımı kontrol çözeltisi olarak kullanılmıştır. Ölçülen tüm absorbans değerleri ilgili kör çözeltisi değerleri ile düzeltildikten sonra elde edilen spektrumlar hesaplamalar için kullanılmıştır. Değerlendirme amacıyla bileşik-metal karışım çözeltisinin spektrumu, aynı bileşiğin kontrol çözeltisine ait spektrum ile kıyaslandığı, dalgaboyu (nm)/absorbans grafikleri hazırlanmıştır. Ayrıca sonuçların daha iyi değerlendirilebilmesi amacıyla kıyaslanan spektrumların fark/değişim grafikleri çizdirilmiştir [25-27].

SONUÇ VE TARTIŞMA

Çalışmamız kapsamında on dördü benzoksazolun, diğer on dördü benzotiyazolun yapısında toplam yirmi sekiz yeni bileşiğin sentezi yapıldı, yapıları kanıtlandı ve *in vitro* testler ile bileşiklerin kolinesteraz inhibitör aktiviteleri değerlendirildi.

Sentez çalışmalarında öncelikle halkaların 3. konumu bazik ortamda dimetilsülfat ile metillenmiştir. Daha sonra nitrik asit varlığında optimal sıcaklık belirlenerek 6. konumdan nitrolama tepkimesi yapılmıştır. Nitrolanmış türevler kalay klorür ile asit ortamda redüklendikten sonra elde edilen amin türevlerinden, bromoasetil bromür varlığında 2-bromo-*N*-(3-metil-2-okso-2,3-dihidro-1,3-benzoksazol-6-il)asetamit ve 2-bromo-*N*-(3-metil-2-okso-2,3-dihidro-1,3-benzotiyazol-6-il)asetamit

ara ürünleri sentezlenmiştir. Ara ürünlerin bazik ortamda uygun amin türevler ile verdiği yer değiştirme tepkimesi ile de sonuç bileşikler elde edilmiştir (Şekil 1).



Şekil 1. Sonuç bileşiklerin genel sentez şeması

Benzoksazolone türevi asetamid serisinin (9a-n) ¹H-NMR spektrumlarında amit protonu 9.86-9.68 ppm aralığında gözlenmiştir. Benzoksazolone halkasının 3. konumundaki azota bağlı metil grubu protonları 3.32-3.27 ppm aralığında 3H singlet olarak gözlenmiştir. Halkanın 4. konumundaki proton 7.22-7.14 ppm aralığında dublet, 5. konumundaki proton 7.43-7.36 ppm aralığında dubletin dubleti, 7. konumundaki proton ise 7.77-7.71 aralığında dublet olarak gözlenmiştir. Benzotiyazolone türevi asetamid serisinin (10a-n) ¹H-NMR spektrumlarında amit protonu 9.86-9.72 ppm aralığında gözlenmiştir. Benzotiyazolone halkasının 3. konumundaki azota bağlı metil protonları 3.38-3.37 ppm aralığında 3H singlet olarak gözlenmiştir. Halkanın 4. konumundaki proton 7.317.22 ppm aralığında dublet, 5. konumundaki proton 7.61-7.55 ppm aralığında dubletin dubleti, 7. konumundaki proton ise 8.00-7.96 aralığında dublet olarak gözlenmiştir.

Kolinesteraz inhibitör aktivite sonuçları genel olarak değerlendirildiğinde sentezlenen 28 bileşiğin AKE inhibitör aktivitelerinin, BKE inhibitör aktivitelerine göre daha iyi olduğu söylenebilir (Tablo 1). Bileşik 10g AKE inhibitör aktivitesi en yüksek bileşiktir ve IC₅₀ değeri 52.90 µM bulunmuştur. Bileşik 10h ise en yüksek BKE inhibitör aktiviteye sahiptir, IC₅₀ değeri 51.03 µM bulunmuştur. İki bileşik de benzotiyazolone çekirdeğine sahiptir. Yapı etki ilişkileri düşünüldüğünde benzotiyazolone çekirdeği taşıyan bileşikler genel olarak benzoksazolone çekirdeği taşıyanlara göre daha aktiftir. Yan zincire bağlı grupların inhibisyona etkisi incelendiğinde ise AKE inhibisyonu için benzilpiperazin yapısının, BKE inhibisyonu için de 4-florobenzilpiperazin yapısının uygun olduğu belirlenmiştir.

Sonuç bileşiklerin antioksidan özelliklerini değerlendirmek amacıyla DPPH ve ORAC antioksidan testleri uygulanmıştır. Bileşikler DPPH antioksidan testinde referans gallik asite göre düşük antioksidan profil sergilemişlerdir. Bununla birlikte canlı sistemlerde daha doğru sonuçlar verdiği bilinen ORAC antioksidan testinde daha iyi sonuçlar verdikleri görülmektedir. Özellikle yan zincirinde fenilpiperazin türevleri taşıyan bileşikler trolokstan 3-5 kat daha yüksek antioksidan etki göstermiştir.

Kolinesteraz inhibitör aktiviteleri ve antioksidan özellikleri belirlenen bileşiklerin metal şelatör

etkileri incelendiğinde bileşiklerin çoğunun Cu(II), Fe(II) ve Zn(II) iyonları ile etkileştiği ve metal şelatör etki gösterdiği bulunmuştur.

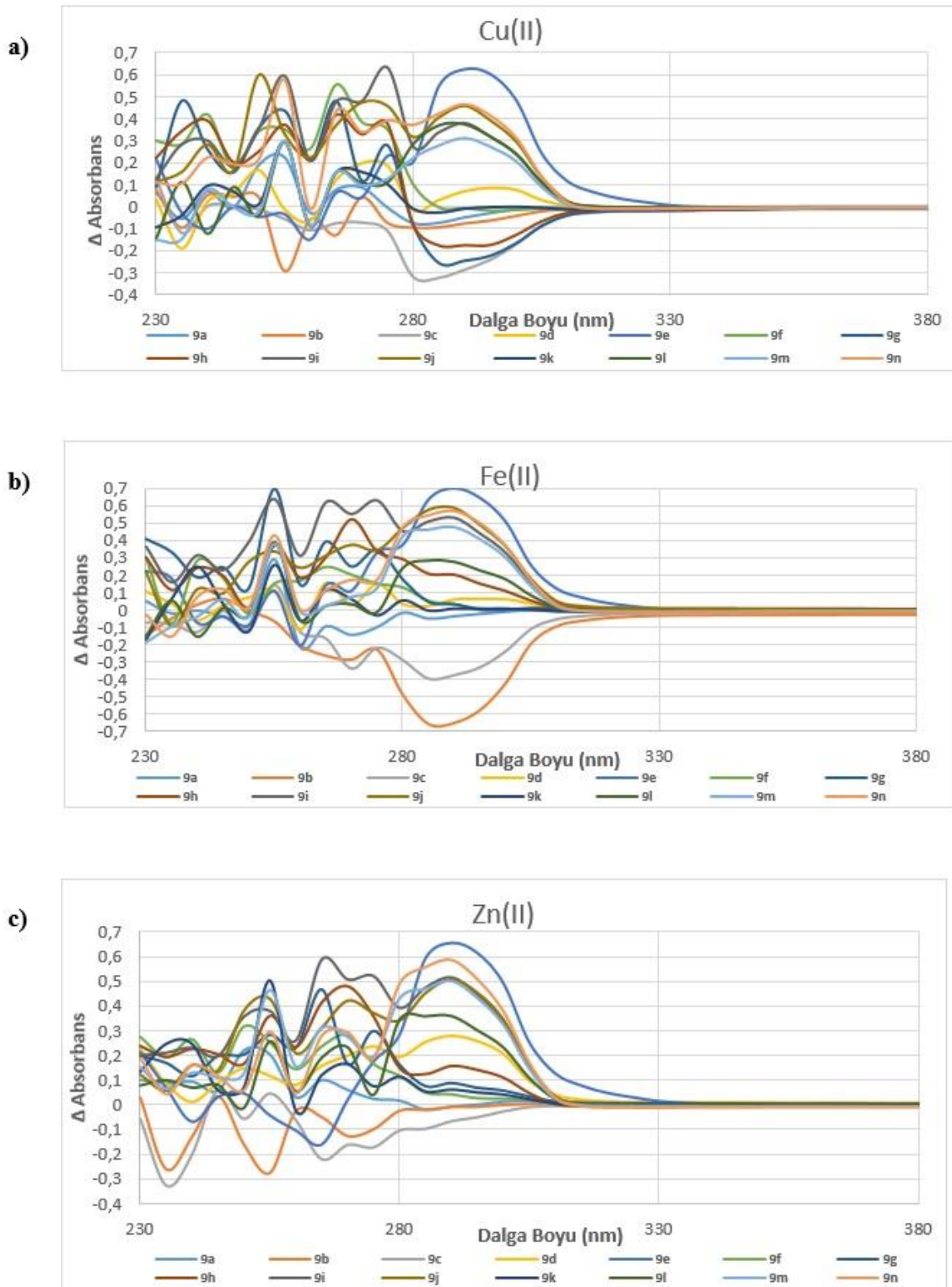
Tablo 1. Sentezlenen bileşiklerin kolinesteraz inhibitör aktiviteleri, DPPH ve ORAC sonuçları

Bileşik	<i>ee</i> AKE için % inhibisyon ± SD (100 µM)	AKE için IC ₅₀ (µM)	<i>eq</i> BKE için % inhibisyon ± SD (100 µM)	BKE için IC ₅₀ (µM)	DPPH** (100 µM)	ORAC***
9a	23 ± 2.9	-	<10	-	≤5	5.77 ± 0.25
9b	21 ± 3.2	-	<10	-	≤5	4.93 ± 0.24
9c	25 ± 3.0	-	<10	-	≤5	4.59 ± 0.07
9d	27 ± 3.5	-	<10	-	≤5	3.63 ± 0.42
9e	23 ± 1.2	-	<10	-	≤5	2.67 ± 0.25
9f	29 ± 3.0	-	<10	-	≤5	0.71 ± 0.10
9g	32 ± 3.1	-	<10	-	≤5	0.52 ± 0.05
9h	29 ± 2.2	-	<10	-	≤5	1.07 ± 0.15
9i	22 ± 3.2	-	<10	-	≤5	0.27 ± 0.01
9j	25 ± 1.5	-	<10	-	≤5	0.30 ± 0.02
9k	35 ± 3.2	-	<10	-	≤5	0.47 ± 0.08
9l	22 ± 2.9	-	<10	-	≤5	0.89 ± 0.13
9m	27 ± 3.1	-	<10	-	≤5	0.27 ± 0.04
9n	31 ± 3.4	-	<10	-	≤5	0.94 ± 0.16
10a	25 ± 2.7	-	<10	-	≤5	5.37 ± 0.38
10b	24 ± 2.4	-	<10	-	≤5	4.64 ± 0.10
10c	29 ± 3.3	-	<10	-	≤5	4.48 ± 0.03
10d	32 ± 1.4	-	<10	-	≤5	3.85 ± 0.07
10e	25 ± 3.3	-	<10	-	≤5	3.43 ± 0.21
10f	31 ± 3.5	-	<10	-	≤5	0.62 ± 0.02
10g	58 ± 1.1	52.90 ± 1.4	38 ± 2.7	-	≤5	0.68 ± 0.05
10h	45 ± 2.4	-	57 ± 1.5	51.03 ± 1.1	≤5	0.30 ± 0.06
10i	25 ± 3.2	-	<10	-	≤5	0.93 ± 0.31
10j	39 ± 2.4	-	<10	-	≤5	1.04 ± 0.08
10k	37 ± 3.4	-	<10	-	≤5	0.60 ± 0.22
10l	24 ± 3.2	-	<10	-	≤5	0.68 ± 0.22
10m	29 ± 2.6	-	<10	-	≤5	0.50 ± 0.04
10n	39 ± 4.2	-	62 ± 0.8	59.89 ± 2.7	≤5	0.55 ± 0.09
Donepezil	100 ± 0.003	0.062 ± 0.02	67 ± 0.003	3.55 ± 0.07	-	-
Gallik asit	-	-	-	-	44.8 ± 1.0	-

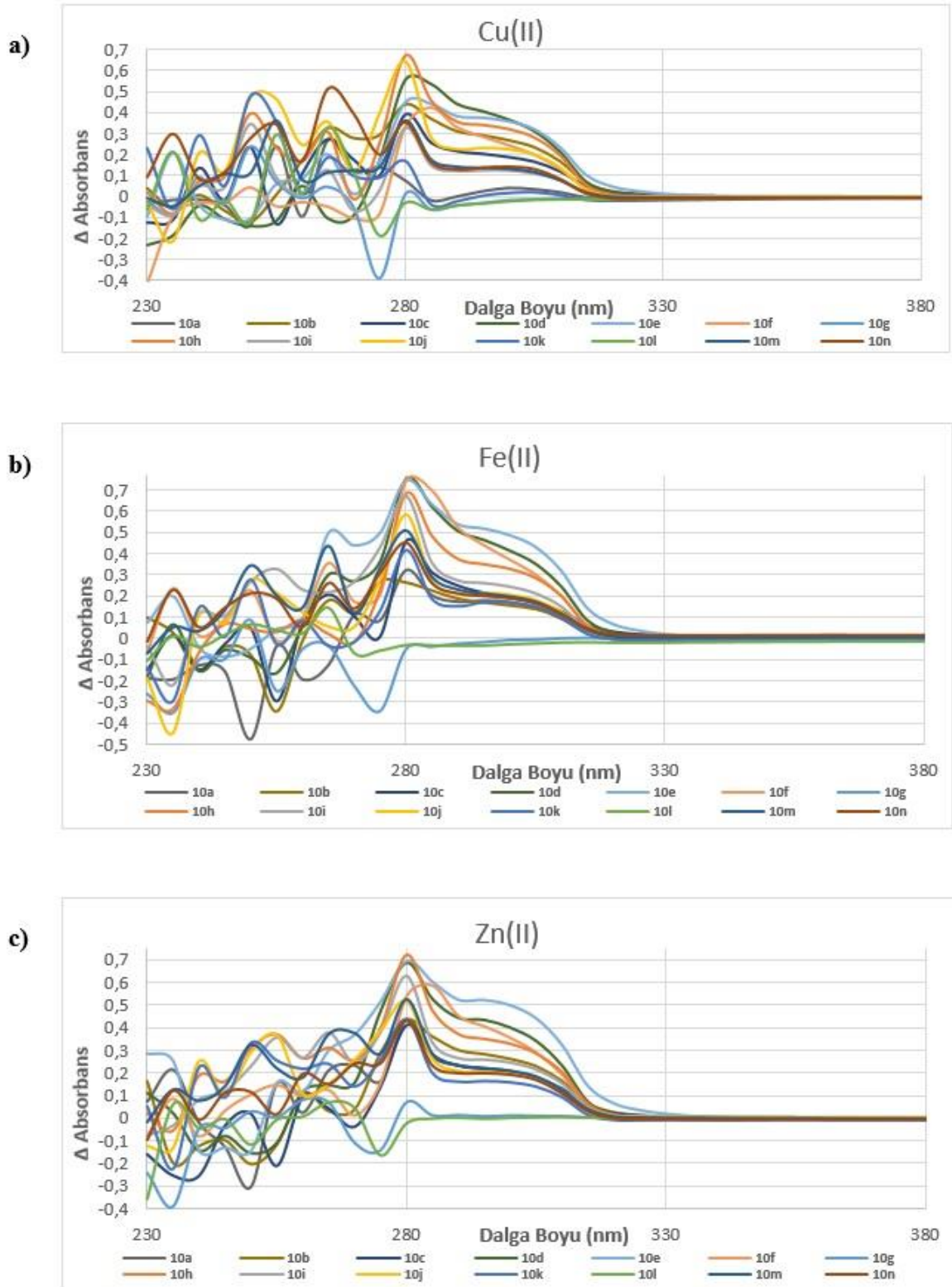
* (-): bileşik %50'nin altında enzim inhibisyonu gösterdiğinden IC₅₀ değeri hesaplanmamıştır.

** Bileşiklerin 100 µM konsantrasyonda DPPH'yi azaltma yüzdesi (%) verilmiştir.

*** Bileşiklerin ORAC antioksidan testi sonuçları tabloda µmol Trolox eşdeğeri/µmol test bileşikleri olarak sunulmuştur.



Şekil 2. Benzoksazolon halkası taşıyan sonuç bileşikler (9a-9n) ile Cu(II) (a), Fe(II) (b), Zn(II) (c) iyonları ile komplekslerinin UV-vis spektrum farkları



Şekil 3. Benzotriazolon halkası taşıyan sonuç bileşikler (10a-10n) ile Cu(II) (a), Fe(II) (b), Zn(II) (c) iyonları ile komplekslerinin UV-vis spektrum farkları

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) tarafından 115S192 kodlu proje ile desteklenmiştir.

YAZAR KATKILARI

Kavram: M.B., B.K., D.S.D.; Tasarım: M.B., B.K., D.S.D.; Denetim: M.B., B.K., D.S.D.; Kaynaklar: M.B., B.K., D.S.D.; Malzemeler: M.B., B.K., D.S.D.; Veri Toplama ve/veya İşleme: M.B., B.K., D.S.D.; Analiz ve/veya Yorumlama: M.B., B.K., D.S.D.; Literatür Taraması: M.B., B.K., D.S.D.; Makalenin Yazılması: M.B., B.K., D.S.D.; Kritik İnceleme: M.B., B.K., D.S.D.; Diğer: -

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Yazarlar bu makale için gerçek, potansiyel veya algılanan çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

ETİK KURUL ONAYI

Yazarlar bu çalışma için etik kurul onayının zorunlu olmadığını beyan etmektedir.

KAYNAKLAR

1. Alzheimer's Association (2016). 2016 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimer's & Dementia*, 12(4), 459-509. [\[CrossRef\]](#)
2. Frozza, R.L., Lourenco, M.V., De Felice, F.G. (2018). Challenges for Alzheimer's disease therapy: Insights from novel mechanisms beyond memory defects. *Frontiers in Neuroscience*, 12, 37. [\[CrossRef\]](#)
3. De Ture, M.A., Dickson, D.W. (2019). The neuropathological diagnosis of Alzheimer's disease. *Molecular Neurodegeneration*, 14(1), 32. [\[CrossRef\]](#)
4. Maria Cecilia Rodrigues, S., Flavia Pereira Dias, V., Marcella Soares, M., Matheus de Freitas, S., Mariana Maximo, R., Patricia Mattos da, R., Maísa Rosa, C., Marcelo Henrique dos, S., Marisi Gomes, S.Claudio, V. (2014). Donepezil: an important prototype to the design of new drug candidates for alzheimer's disease. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 14(1), 2-19. [\[CrossRef\]](#)
5. Zemek, F., Drtinova, L., Nepovimova, E., Sepsova, V., Korabecny, J., Klimes, J., Kuca, K. (2014). Outcomes of Alzheimer's disease therapy with acetylcholinesterase inhibitors and memantine. *Expert Opinion on Drug Safety*, 13(6), 759-774.
6. Sang, Z., Song, Q., Cao, Z., Deng, Y., Tan, Z., Zhang, L. (2021). Design, synthesis and evaluation of novel dimethylamino chalcone-O-alkylamines derivatives as potential multifunctional agents against Alzheimer's disease. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 216, 113310. [\[CrossRef\]](#)
7. Wang, M., Liu, T., Chen, S., Wu, M., Han, J., Li, Z. (2021). Design and synthesis of 3-(4-pyridyl)-5-(4-sulfamido-phenyl)-1,2,4-oxadiazole derivatives as novel GSK-3 β inhibitors and evaluation of their potential as multifunctional anti-Alzheimer agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 209, 112874. [\[CrossRef\]](#)
8. Kandimalla, R., Reddy, P.H. (2017). Therapeutics of neurotransmitters in Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, 57, 1049-1069.
9. Agatonovic-Kustrin, S., Kettle, C., Morton, D.W. (2018). A molecular approach in drug development for Alzheimer's disease. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 106, 553-565. [\[CrossRef\]](#)
10. Bajda, M., Więckowska, A., Hebda, M., Guzior, N., Sotriffer, C.A., Malawska, B. (2013). Structure-based search for new inhibitors of cholinesterases. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(3), 5608-5632. [\[CrossRef\]](#)
11. Fang, L., Pan, Y., Muzyka, J.L., Zhan, C.G. (2011). Active site gating and substrate specificity of butyrylcholinesterase and acetylcholinesterase: insights from molecular dynamics simulations. *The Journal of Physical Chemistry B*, 115(27), 8797-8805. [\[CrossRef\]](#)
12. Bortolami, M., Pandolfi, F., De Vita, D., Carafa, C., Messori, A., Di Santo, R., Feroci, M., Costi, R., Chiarotto, I., Bagetta, D., Alcaro, S., Colone, M., Stringaro, A.Scipione, L. (2020). New deferiprone derivatives as multi-functional cholinesterase inhibitors: Design, synthesis and *in vitro* evaluation. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 198, 112350. [\[CrossRef\]](#)
13. Zhang, Z., Guo, J., Cheng, M., Zhou, W., Wan, Y., Wang, R., Fang, Y., Jin, Y., Liu, J., Xie, S.S. (2021).

- Design, synthesis, and biological evaluation of novel xanthone-alkylbenzylamine hybrids as multifunctional agents for the treatment of Alzheimer's disease. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 213, 113154. [\[CrossRef\]](#)
14. Singh, A., Kukreti, R., Saso, L., Kukreti, S. (2019). Oxidative stress: A key modulator in neurodegenerative diseases. *Molecules*, 24(8), 1583. [\[CrossRef\]](#)
 15. Tariq, S., Kamboj, P., Amir, M. (2019). Therapeutic advancement of benzothiazole derivatives in the last decennial period. *Archiv der Pharmazie*, 352(1), 1800170. [\[CrossRef\]](#)
 16. Doğruer, D.S., Ünlü, S., Şahin, M.F., Yeşilada, E. (1998). Anti-nociceptive and anti-inflammatory activity of some (2-benzoxazolone-3-yl and 2-benzothiazolone-3-yl) acetic acid derivatives. *Il Farmaco*, 53(1), 80-84. [\[CrossRef\]](#)
 17. Doğruer, D.S., Ünlü, S., Yeşilada, E., Şahin, M.F. (1997). N-(2-pyridinyl)-2-[2(3H)-benzazolone-3-yl]acetamides: synthesis, antinociceptive and anti-inflammatory activity. *Farmaco*, 52(12), 745-750.
 18. Önkol, T., Dogruer, D.S., Ito, S., Sahin, M.F. (2000). Synthesis and antinociceptive activity of (5-chloro-2-benzothiazolinon-3-yl)acetamide derivatives. *Archiv der Pharmazie*, 333(10), 337-340. [\[CrossRef\]](#)
 19. Güllök, Y., Biçer, T., Onurdağ, F.K., Özgen, S., Şahin, M.F., Doğruer, D.S. (2012). Synthesis of some new urea and thiourea derivatives and evaluation of their antimicrobial activities. *Turkish Journal of Chemistry*, 36(2), 279-291. [\[CrossRef\]](#)
 20. Ünal, A.S., Onurdağ, F.K., Özgen, S., Doğruer, D., Önkol, T. (2015). Studies on the synthesis of 3-methyl-6-(substituted-urea/-thiourea)-2(3H)-benzothiazolone derivatives and antimicrobial activities. *Indian Journal of Chemistry Section B-Organic Chemistry Including Medicinal Chemistry*, 54(2), 253-259.
 21. Çakir, B., Ulucay, A., Dogruer, D.S., Isimer, A., Sahin, M.F. (1999). Synthesis and antinociceptive activity of some 3-substituted benzothiazolone derivatives. *Il Farmaco*, 54(11), 846-851.
 22. Erdogan, M., Kilic, B., Sagkan, R.I., Aksakal, F., Ercetin, T., Gulcan, H.O., Dogruer, D.S. (2021). Design, synthesis and biological evaluation of new benzoxazolone/benzothiazolone derivatives as multi-target agents against Alzheimer's disease. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 212(113124). [\[CrossRef\]](#)
 23. Kılıç, B., Gülcan, H.O., Aksakal, F., Erçetin, T., Oruklu, N., Ümit Bağriacık, E., Doğruer, D.S. (2018). Design and synthesis of some new carboxamide and propanamide derivatives bearing phenylpyridazine as a core ring and the investigation of their inhibitory potential on *in-vitro* acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase. *Bioorganic Chemistry*, 79, 235-249. [\[CrossRef\]](#)
 24. Kılıç, B., Erdoğan, M., Gülcan, H.O., Aksakal, F., Oruklu, N., Bağriacık, E.U., Doğruer, D.S. (2019). Design, synthesis and investigation of new diphenyl substituted pyridazinone derivatives as both cholinesterase and $\alpha\beta$ -aggregation inhibitors. *Medicinal Chemistry*, 15(1), 59-76. [\[CrossRef\]](#)
 25. Kilic, B., Bardakkaya, M., İlkci Sagkan, R., Aksakal, F., Shakila, S., Dogruer, D.S. (2023). New thiourea and benzamide derivatives of 2-aminothiazole as multi-target agents against Alzheimer's disease: Design, synthesis, and biological evaluation. *Bioorganic Chemistry*, 131, 106322. [\[CrossRef\]](#)
 26. Bardakkaya, M., Kilic, B., Sagkan, R.I., Aksakal, F., Shakila, S., Dogruer, D.S. (2023). Synthesis and evaluation of multitarget new 2-aminothiazole derivatives as potential anti-Alzheimer's agents. *Archiv der Pharmazie*, 356(8), 2300054. [\[CrossRef\]](#)
 27. Mao, F., Huang, L., Luo, Z., Liu, A., Lu, C., Xie, Z., Li, X. (2012). O-Hydroxyl- or o-amino benzylamine-tacrine hybrids: Multifunctional biometals chelators, antioxidants, and inhibitors of cholinesterase activity and amyloid- β aggregation. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 20(19), 5884-5892. [\[CrossRef\]](#)