



Yeni 2-Metoksi-6-[(3-alkil/aryl-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on-4-il)-azometin]fenil Furan-2-karboksilat Türevlerinin Sentezi ve *in vitro* Antioksidan Aktiviteleri

Abdurrahman Gürbüz¹, Muzaffer Alkan², Sevda Manap³, Özlem Gürsoy Kol^{3*}, Gül Özdemir³, Haydar Yüksek³

¹Kafkas University, Atatürk Health Services VC, 36100 Kars, Turkey (ORCID: 0000-0002-6820-6377)

²Kafkas University, Faculty of Education, 36100 Kars, Turkey (ORCID: 0000-0002-8820-4555)

³Kafkas University, Department of Chemistry, 36100Kars, Turkey (ORCID: 0000-0002-5025-9622; 0000-0003-2637-9023; 0000-0001-7823-0920; 0000-0003-1289-1800)

(İlk Geliş Tarihi 16 Aralık 2019 ve Kabul Tarihi 13 Nisan 2020)

(DOI: 10.31590/ejosat.656126)

ATIF/REFERENCE: Gürbüz, A., Alkan, M., Manap, S., Kol, G. Ö., Özdemir, G. & Yüksek, H. (2019). Synthesis and *in vitro* Antioxidant Activities of Novel 2-Methoxy-6-[(3-alkyl/aryl-4,5-dihydro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on-4-yl)-azomethine]phenyl Furan-2-carboxylate Derivatives. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, (18), 1004-1011.

Öz

1,2,4-Triazol ve 4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on halkası taşıyan heterosiklik bileşikler çok geniş bir spektrumda biyolojik aktivite göstermektedir. Schiff bazlarının ise boya, tekstil, kozmetik, analitik reaktifler, su iyileştirme ürünleri, petrol katkı maddeleri, sentetik polimer ürünleri, deri ve kağıt gibi doğal makromoleküler materyallerin iyileştirilmesi gibi çeşitli pratik uygulamaları bulunmaktadır. Ancak Schiff Bazlarının en önemli uygulama alanı ilaç kimyasıdır. Potansiyel biyolojik aktif 1,2,4-triazol halkası içeren Schiff bazlarının birçok hastalığın tedavisinde kullanılabilecek faydalı moleküllerin ve ileride hastalıkların tedavisinde kullanılabilecek ilaçların elde edilmesi ümit edilmektedir. Bu amaçla 3-alkil(aryl)-4-amino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on'ların (1), 2-formil-6-metoksifenil furan-2-karboksilat (2) ile reaksiyonundan 2-metoksi-6-[(3-alkil/aryl-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on-4-il)-azometin]fenil furan-2-karboksilatlar (3) elde edilmiştir. Daha sonra 3 bileşiklerinin asetilasyon reaksiyonları incelenerek 2-metoksi-6-[(1-asetil-3-alkil/aryl-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on-4-il)-azometin]fenil furan-2-karboksilatlar (4) sentezlenmiştir. On dört yeni bileşiğin yapıları IR, ¹H NMR, ¹³C NMR ve UV spektral verileri kullanılarak aydınlatılmıştır. Ayrıca, sentezlenen 3 ve 4 tipi yeni bileşiklerin üç farklı yöntemle (indirgeme gücü, serbest radikal giderme aktivitesi ve metal şelat aktivitesi) *in vitro* antioksidan özellikleri değerlendirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Schiff bazı, 4,5-Dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on, Sentez, Asetilasyon, Antioksidan Aktivitesi.

Synthesis and *in vitro* Antioxidant Activities of Novel 2-Methoxy-6-[(3-alkyl/aryl-4,5-dihydro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on-4-yl)-azomethine]phenyl Furan-2-carboxylate Derivatives

Abstract

Heterocyclic compounds bearing 1,2,4-triazole and 4,5-dihydro-1*H*-1,2,4-triazole-5-one ring show a wide spectrum of biological activity. Schiff bases have various practical applications such as dyes, textile, cosmetics, analytical reagents, water treatment products, petroleum additives, synthetic polymer products, the improvement of natural macromolecular materials like leather and paper. However, the most important application area of Schiff Bases is pharmaceutical chemistry. It is hoped that Schiff bases containing a potentially biologically active 1,2,4-triazole ring will provide useful molecules that can be used in the treatment of many diseases and drugs that can be used in the treatment of future diseases. In this regard, new 2-methoxy-6-[(3-alkyl/aryl-4,5-dihydro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on-4-yl)-azomethine]phenyl furan-2-carboxylates (3) were obtained from the reactions of 3-alkyl(aryl)-4-amino-4,5-dihydro-1*H*-1,2,4-triazol-5-ones (1) with 2-formyl-6-methoxyphenyl furan-2-carboxylate (2). Then, acetylation reactions of 3 compounds were examined and 2-methoxy-6-[(1-acetyl-3-alkyl/aryl-4,5-dihydro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on-4-yl)-azomethine]phenyl furan-2-carboxylates (4) were

* Sorumlu Yazar: Kafkas University, Department of Chemistry, 36100Kars, Turkey, ORCID: 0000-0003-2637-9023, ozlemgursoy@gmail.com

synthesized. The structures of fourteen new compounds were characterized by IR, ¹H NMR, ¹³C NMR and UV spectral data. Besides, *in vitro* antioxidant properties of the newly synthesized **3** and **4** type compounds were evaluated by three different methods (reduction power, free radical removal activity and metal chelate activity).

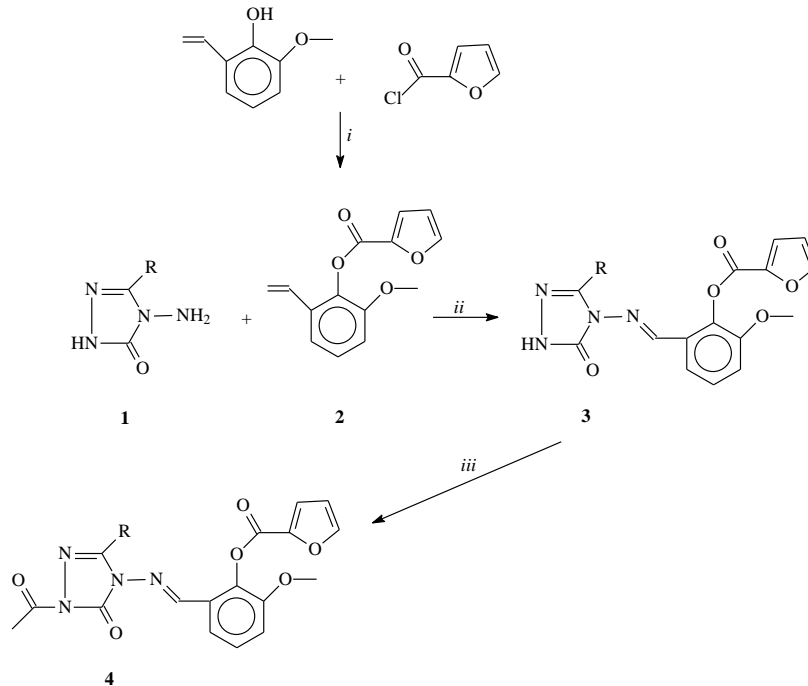
Keywords: Schiff base, 4,5-Dihydro-1*H*-1,2,4-triazol-5-one, Syntheses, Acetylation, Antioxidant Activity.

1. Giriş

Serbest radikaller, biyolojik membranlarda lipid peroksidasyonuna, protein oksidasyonuna ve DNA hasarına sebep olarak hücre metabolizmasını olumsuz yönde etkilerler. Fizyolojik koşullarda, oksidan etkenler ve antioksidan mekanizmalar bir denge halinde bulunmaktadır. Fizyopatolojik şartlarda biyomoleküllerin oksidasyonunu geciktiren veya engelleyen endojen ve eksojen antioksidanlara son yıllarda ilgi giderek artmakta ve organizmaya zarar vermeyen antioksidan özellikteki sentetik bileşiklerin üretimi ve biyolojik sistemlerde oksidan-antioksidan denge üzerine olan etkileri araştırılmaktadır. Eksojen ve metabolik reaksiyonlar sonucu oluşan endojen kimyasallar oldukça reaktif olan serbest radikalleri oluşturabilmektedirler. Özellikle oksijen orijinli radikaller hücre hasarı ve hücre ölümüne sebep olabilecek kadar biyomolekülleri okside edebilme özelliklerine sahiptirler. Oksidatif stres, hastalıkların patolojisinde önemli rol oynar. Reaktif oksijen (ROS) ve azot türlerinin (RNS) aşırı üretimi ve aynı zamanda antioksidan kapasitenin yetersiz olması organizmalarda enflamasyon, diyabet, genotoksisite ve kanser gibi çeşitli fizyopatolojik olaylara sebep olur (Hussain ve ark., 2003; McClements ve Decker, 2000).

1,2,4-Triazol türevlerinin antibakteriyel, antioksidan, antiinflamatuvar, antiparaziter, analjezik, antiviral, antitümör, anti-HIV, antihipertansif ve diüretik özellikleri gibi çok çeşitli farmakolojik aktivitelere sahip oldukları bilinmektedir (Aktaş-Yokuş ve ark., 2017; Ali ve ark., 2011; Chidananda ve ark., 2012; Demirbaş, Uğurluoğlu ve Demirbaş, 2002; Gürsoy-Kol ve Ayazoğlu 2017; Hemen ve ark., 2012; İkizler ve ark., 1999; Li ve ark., 2013; Saadeh ve ark., 2010; Uzgören-Baran ve ark., 2012; Yüksek ve ark., 2013). Ayrıca, yine 1,2,4-triazol halkasını içeren *N*-arilidenamino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on türevlerinin sentezini bildiren bazı makaleler de mevcuttur (Bahçeci ve ark., 2002; Gürsoy-Kol ve Ayazoğlu, 2017; Yüksek ve ark., 2005). 4,5-Dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on türevlerinin asetilasyonu ile ilgili çalışmalar da bildirilmiştir (Alkan ve ark., 2008; İkizler ve ark., 1993; Gürsoy-Kol ve Yüksek, 2010).

Aldehid ve ketonların primer aminler ile reaksiyonlarından oluşan imin tipi Schiff bazları kimyanın birçok alanında, tıpta, sanayide, teknolojiye geniş bir kullanım alanı bulmuştur. Bu çalışmada, trietilamin kullanılarak 2-furoil klorür ile 2-hidroksi-3-metoksibenzaldehidin reaksiyonundan 2-formil-6-metoksifenil furan-2-karboksilat (**2**) sentezlenmiştir. Bir primer amin gibi hareket eden ve N-NH₂ grubu içeren 3-alkil(aril)-4-amino-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on'ların (**1**), **2** tipi aldehid ile reaksiyonları incelenerek heteroaromatik Schiff bazları olan 2-metoksi-6-[(3-alkil/aril-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on-4-il)-azometin]fenil furan-2-karboksilatlar (**3**) elde edilmiştir. Ayrıca, **3** tipi bileşiklerin asetik anhidrit ile reaksiyonları incelenmiş ve **4** tipi bileşikler hazırlanmıştır (Şema 1). Başlangıç bileşikleri (**1**), literatüre uygun olarak (İkizler ve Ün 1979; İkizler ve Yüksek 1993) ilgili ester etoksikarbonilhidrazonların sulu hidrazin hidrat çözeltisi ile reaksiyonlarından hazırlanmıştır. Yeni bileşiklerin yapıları IR, ¹H NMR, ¹³C NMR, UV spektral verileri kullanılarak aydınlatılmıştır. **3** ve **4** Tipi bileşiklerin antioksidan aktiviteleri üç farklı yöntem (indirgeme gücü, serbest radikal giderme aktivitesi ve metal şelatlama aktivitesi) kullanılarak analiz edilmiştir.



- i) Et₃N; ii) AcOH, reflaks, 1h; iii) Ac₂O, reflaks
a) R = CH₃, b) R = CH₂CH₃, c) R = CH₂CH₂CH₃, d) R = CH₂C₆H₅, e) R = CH₂C₆H₄CH₃ (*p*-),
f) R = CH₂C₆H₄Cl (*p*-), g) R = C₆H₅

Şema 1: **2-4** bileşiklerinin sentezi

2. Materyal ve Metot

Bu çalışmada kullanılan kimyasal reaktifler Merck AG, Aldrich ve Fluka'dan satın alınmıştır. Erime noktaları, Stuart SMP30 erime noktası aparatı kullanılarak açık cam kapiler kullanılarak belirlenmiştir. İnfrared spektrum verileri Alpha-P Bruker FT-IR spektrometresi ile kaydedilmiştir. ¹H ve ¹³C NMR spektrumları, dötero dimetil sülfoksit (d₆-DMSO) içerisinde iç standart olarak tetrametilsilan (TMS) kullanılarak, Bruker Avance III spektrofotometresi ile alınmıştır.

2.1. 2-Metoksi-6-[(3-alkil/aril-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on-4-il)-azometin]fenil furan-2 karboksilatların (3) sentezi için genel yöntem

Etil asetat (50 mL) içinde çözülmüş 2-hidroksi-3-metoksi-benzaldehid (0.01 mol), 2-furoil klorür (0.01 mol) ile muamele edilmiş ve bu çözeltiye, yavaş yavaş 0-5 °C'de karıştırılarak 10 mL etil asetat içerisinde trietilamin (0.01 mol) ilave edilmiştir. Karıştırma 2 saat devam etmiş ve sonra karışım 3 saat reflaks yapılarak süzülümüştür. Süzüntü vakum altında buharlaştırılmış, ham ürün suyla yıkanmış ve etanolden yeniden kristallendirilerek 2 bileşiği elde edilmiştir. Verim: 94.4%; m.p. 102°C; IR (cm⁻¹) ν_{max} : 2849 ve 2762 (CHO), 1736, 1696 (C=O), 1250 (COO). ¹H-NMR (200 MHz, DMSO-d₆) (ppm) δ H: 3.87 (s, 3H, OCH₃), 6.85 (dd, 1H, ArH, *J* = 3.60, 2.00 Hz), 7.52-7.58 (m, 3H, ArH), 7.64 (dd, 1H, ArH, *J* = 3.60, 0.80 Hz), 8.15 (m, 1H, ArH), 10.12 (s, 1H, CHO); ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-d₆) (ppm) δ C: 56.39 (OCH₃), [112.82, 118.76, 120.71, 121.69, 127.51, 129.09, 139.24, 142.46, 148.86, 151.59] (ArC), 155.53 (COO), 189.85 (CHO). Daha sonra, **1** bileşiği (0.01 mol) asetik asit ile çözülmüş (20 mL) ve 2-formil-6-metoksifenil furan-2-karboksilat (**2**) (0.01 mol) ile muamele edilmiştir. Karışım 2 saat reflaks yapılmış ve 50-55 °C'de vakumda kurutulmuştur. Katı madde birkaç kez etanol ile kristallendirilerek, renksiz kristaller olan **3** tipi bileşikler elde edilmiştir.

2-Metoksi-6-[(3-metil-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on-4-il)-azometin]fenil furan-2-karboksilat (3a)

Verim: 96.5%, m.p. 226°C. IR (KBr, ν , cm⁻¹): 3148 (NH), 1746, 1696 (C=O), 1607 (C=N), 1286 (COO). ¹H-NMR (200 MHz, DMSO-d₆) (ppm) δ H: 2.07 (s, 3H, CH₃), 3.77 (s, 3H, OCH₃), 6.78 (m, 1H, ArH), 7.31-7.58 (m, 4H, ArH), 8.09 (m, 1H, ArH), 9.81 (s, 1H, N=CH), 11.77 (s, 1H, NH); UV [Etanol, λ_{max} , nm (ϵ , L.mol⁻¹.cm⁻¹): 298 (23.200), 258 (31.500), 214 (22.550).

2-Metoksi-6-[(3-etil-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on-4-il)-azometin]fenil furan-2-karboksilat (3b)

Verim 92.7%, m.p. 202°C. IR (KBr, ν , cm⁻¹): 3185 (NH), 1742, 1696 (C=O), 1607, 1589 (C=N), 1278 (COO). ¹H-NMR (200 MHz, DMSO-d₆) (ppm) δ H: 1.02-1.09 (m, 3H, CH₂CH₃), 2.38-2.45 (m, 3H, CH₂CH₃), 3.76 (s, 3H, OCH₃), 6.77-6.78 (m, 1H, ArH), 7.28-7.54 (m, 4H, ArH), 8.09-8.10 (m, 1H, ArH), 9.80 (s, 1H, N=CH), 11.79 (s, 1H, NH); UV [Etanol, λ_{max} , nm (ϵ , L.mol⁻¹.cm⁻¹): 296 (20.410), 258 (30.260), 216 (22.530).

2-Metoksi-6-[(3-n-propil-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on-4-il)-azometin]fenil furan-2-karboksilat (3c)

Verim 89.2%, m.p. 204°C. IR (KBr, ν , cm⁻¹): 3164 (NH), 1751, 1698 (C=O), 1606, 1589 (C=N), 1282 (COO). ¹H-NMR (200 MHz, DMSO-d₆) (ppm) δ H: 0.83 (t, 3H, CH₂CH₂CH₃, *J* = 7.40 Hz), 1.57 (sext, 3H, CH₂CH₂CH₃, *J* = 7.40 Hz), 2.40 (q, 2H, CH₂CH₂CH₃, *J* = 7.40 Hz), 3.75 (s, 3H, OCH₃), 6.76-6.80 (m, 1H, ArH), 7.27-7.59 (m, 4H, ArH), 8.10 (m, 1H, ArH), 9.79 (s, 1H, N=CH), 11.80 (s, 1H, NH); UV [Etanol, λ_{max} , nm (ϵ , L.mol⁻¹.cm⁻¹): 298 (13.070), 256 (26.630), 226 (50.510), 216 (18.970).

2-Metoksi-6-[(3-benzil-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on-4-il)-azometin]fenil furan-2-karboksilat (3d)

Verim 98.1%, m.p. 209°C. IR (KBr, ν , cm⁻¹): 3136 (NH), 1743, 1715 (C=O), 1588 (C=N), 1280 (COO), 769 ve 705 (monosubstitue benzenoid halka). ¹H-NMR (200 MHz, DMSO-d₆) (ppm) δ H: 3.75 (s, 3H, OCH₃), 3.89 (s, 2H, CH₂Ph), 6.75-6.78 (m, 1H, ArH), 7.16-7.58 (m, 9H, ArH), 8.07-8.08 (m, 1H, ArH), 9.78 (s, 1H, N=CH), 11.91 (s, 1H, NH); UV [Etanol, λ_{max} , nm (ϵ , L.mol⁻¹.cm⁻¹): 298 (17.000), 254 (30.070), 230 (25.220), 214 (22.480).

2-Metoksi-6-[(3-p-metilbenzil-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on-4-il)-azometin]-fenil furan-2-karboksilat (3e)

Verim 98.4%, m.p. 202°C. IR (KBr, ν , cm⁻¹): 3165 (NH), 1757, 1704 (C=O), 1591 (C=N), 1283 (COO), 825 (1,4-disubstitue benzenoid halka). ¹H-NMR (200 MHz, DMSO-d₆) (ppm) δ H: 2.20 (s, 3H, PhCH₃), 3.76 (s, 3H, OCH₃), 3.84 (s, 2H, CH₂Ph), 6.76 (m, 1H, ArH), 7.05-7.10 (m, 4H, ArH), 7.31-7.59 (m, 4H, ArH), 8.05-8.09 (m, 1H, ArH), 9.81 (s, 1H, N=CH), 11.89 (s, 1H, NH); UV [Etanol, λ_{max} , nm (ϵ , L.mol⁻¹.cm⁻¹): 298 (17.030), 256 (30.290), 230 (25.430), 216 (23.210).

2-Metoksi-6-[(3-p-klorobenzil-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on-4-il)-azometin]-fenil furan-2-karboksilat (3f)

Verim 97.3%, m.p. 198°C. IR (KBr, ν , cm⁻¹): 3133 (NH), 1758, 1704 (C=O), 1592 (C=N), 1284 (COO), 822 (1,4-disubstitue benzenoid halka). ¹H-NMR (200 MHz, DMSO-d₆) (ppm) δ H: 3.76 (s, 3H, OCH₃), 3.90 (s, 2H, CH₂Ph), 6.76-6.78 (m, 1H, ArH), 7.23-7.58 (m, 8H, ArH), 8.08 (m, 1H, ArH), 9.78 (s, 1H, N=CH), 11.94 (s, 1H, NH); UV [Etanol, λ_{max} , nm (ϵ , L.mol⁻¹.cm⁻¹): 298 (13.760), 258 (27.090), 226 (23.970), 214 (21.280).

2-Metoksi-6-[(3-fenil-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on-4-il)-azometin]fenil furan-2-karboksilat (3g)

Verim 97.8%, m.p. 218°C. IR (KBr, ν , cm⁻¹): 3213 (NH), 1742, 1708 (C=O), 1612 (C=N), 1278 (COO), 768 ve 696 (monosubstitue benzenoid halka). ¹H-NMR (200 MHz, DMSO-d₆) (ppm) δ H: 3.78 (s, 3H, OCH₃), 6.75-6.77 (m, 1H, ArH), 7.28-7.55 (m, 7H, ArH), 7.78-7.83 (m, 2H, ArH), 8.08 (m, 1H, ArH), 9.78 (s, 1H, N=CH), 12.31 (s, 1H, NH); UV [Etanol, λ_{max} , nm (ϵ , L.mol⁻¹.cm⁻¹): 282 (28.990), 256 (30.210), 216 (22.900).

2.2. 2-Metoksi-6-[(1-asetil-3-alkil/aril-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on-4-il)-azometin]fenil furan-2-karboksilatların (4) sentezi için genel yöntem

3 Bileşiği (0.01 mol), otuz dakika boyunca asetik anhidrit (15 mL) ile reflaks yapılmıştır. Daha sonra mutlak etanolün (50 mL) eklenmesiyle, karışım 1 saat daha reflaks yapılmıştır. Elde edilen çözeltinin 40-45 °C'de vakumda buharlaştırılması ve katının uygun bir çözücünden birkaç kere tekrar kristallendirilmesi ile saflaştırılmış olarak 4 bileşiği elde edilmiştir.

2-Metoksi-6-[(1-asetil-3-metil-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on-4-il)-azometin]-fenil furan-2-karboksilat (4a)

Verim: 71.4%, m.p. 182°C. IR (KBr, ν , cm^{-1}): 1728 (C=O), 1625 (C=N), 1295 (COO). $^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, DMSO- d_6) (ppm) δ H: 2.20 (s, 3H, CH₃), 2.43 (s, 3H, COCH₃), 3.83 (s, 3H, OCH₃), 6.84-6.87 (m, 1H, ArH), 7.37-7.67 (m, 4H, ArH), 8.16-8.18 (m, 1H, ArH), 9.72 (s, 1H, N=CH).

2-Metoksi-6-[(1-asetil-3-etil-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on-4-il)-azometin]-fenil furan-2-karboksilat (4b)

Verim 91.0%, m.p. 168°C. IR (KBr, ν , cm^{-1}): 1747, 1694 (C=O), 1610 (C=N), 1283 (COO). $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) (ppm) δ H: 1.17 (t, 3H, CH₂CH₃, $J=7.20$ Hz), 2.45 (s, 3H, COCH₃), 2.56 (q, 2H, CH₂CH₃, $J=7.20$ Hz), 3.83 (s, 3H, OCH₃), 6.86 (dd, 1H, ArH, $J=3.60, 1.60$ Hz), 7.35-7.41 (m, 1H, ArH), 7.45 (t, 1H, ArH, $J=8.00$ Hz), 7.57 (dd, 1H, ArH, $J=8.00, 1.60$ Hz), 7.66 (dd, 1H, ArH, $J=3.60, 0.80$ Hz), 8.17 (dd, 1H, ArH, $J=2.00, 0.80$ Hz), 9.72 (s, 1H, N=CH); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6) (ppm) δ C: 9.79 (CH₂CH₃), 18.35 (CH₂CH₃), 23.39 (COCH₃), 56.24 (OCH₃), [112.93, 115.86, 118.74, 120.77, 126.74, 127.47, 138.14, 142.37, 149.09, 151.29] (ArC), 148.01 (triazol-C₃), 150.18 (N=CH), 151.55 (triazol-C₅), 155.45 (COO), 165.98 (COCH₃); UV [Etanol, λ_{max} , nm (ϵ , L.mol⁻¹.cm⁻¹): 292 (11.130), 256 (19.170), 216 (14.310).

2-Metoksi-6-[(1-asetil-3-n-propil-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on-4-il)-azometin]-fenil furan-2-karboksilat (4c)

Verim 86.6%, m.p. 140°C. IR (KBr, ν , cm^{-1}): 1734, 1696 (C=O), 1611 (C=N), 1271 (COO). $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6): δ 0.95 (t, 3H, CH₂CH₂CH₃; $J=7.60$ Hz), 1.66 (sext, 2H, CH₂CH₂CH₃; $J=7.20$ Hz), 2.45 (s, 3H, COCH₃), 2.56 (t, 2H, CH₂CH₂CH₃; $J=7.60$ Hz), 3.84 (s, 3H, OCH₃), 6.86 (dd, 1H, ArH, $J=3.60, 1.60$ Hz), 7.39-7.41 (m, 1H, ArH), 7.46 (t, 1H, ArH, $J=8.00$ Hz), 7.58 (dd, 1H, ArH, $J=8.00, 1.60$ Hz), 7.66 (dd, 1H, ArH, $J=3.60, 0.80$ Hz), 8.17 (dd, 1H, ArH, $J=1.60, 0.80$ Hz), 9.72 (s, 1H, N=CH); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6): δ 13.35 (CH₂CH₂CH₃), 18.67 (CH₂CH₂CH₃), 23.41 (COCH₃), 26.43 (CH₂CH₂CH₃), 56.25 (OCH₃), [112.94, 115.88, 118.76, 120.78, 126.74, 127.51, 138.17, 142.34, 149.09, 151.22] (ArC), 147.97 (triazol-C₃), 150.34 (N=CH), 151.55 (triazol-C₅), 155.51 (COO), 166.01 (COCH₃); UV [Etanol, λ_{max} , nm (ϵ , L.mol⁻¹.cm⁻¹): 294 (9.780), 254 (18.535), 218 (14.190).

2-Metoksi-6-[(1-asetil-3-benzil-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on-4-il)-azometin]-fenil furan-2-karboksilat (4d)

Verim 81.8%, m.p. 183°C. IR (KBr, ν , cm^{-1}): 1739, 1715 (C=O), 1609 (C=N), 1251 (COO), 771 ve 705 (monosubstitue benzenoid halka). $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6): δ 2.45 (s, 3H, COCH₃), 3.83 (s, 3H, OCH₃), 4.07 (s, 6H, 3CH₂), 6.85 (dd, 1H, ArH, $J=3.60, 1.60$ Hz), 7.25-7.27 (m, 1H, ArH), 7.28-7.33 (m, 4H, ArH), 7.36-7.40 (m, 1H, ArH), 7.45 (t, 1H, ArH, $J=8.00$ Hz), 7.55 (dd, 1H, ArH, $J=8.00, 1.60$ Hz), 7.66 (dd, 1H, ArH, $J=3.60, 0.80$ Hz), 8.16 (dd, 1H, ArH, $J=1.60, 0.80$ Hz), 9.72 (s, 1H, N=CH); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6): δ 23.47 (COCH₃), 30.79 (CH₂Ph), 56.26 (OCH₃), [112.97, 115.91, 117.89, 121.03, 126.76, 127.49, 138.47, 142.09, 148.06, 149.46] (arom-C), [126.96, 128.48 (2C), 128.95 (2C), 134.52] (C₃'e bağılı arom-C), 147.97 (triazol-C₃), 149.19 (N=CH), 151.46 (triazol-C₅), 155.38 (COO), 165.99 (COCH₃); UV [Etanol, λ_{max} , nm (ϵ , L.mol⁻¹.cm⁻¹): 292 (9.110), 254 (18.070), 226 (15.725).

2-Metoksi-6-[(1-asetil-3-p-metilbenzil-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on-4-il)-azometin]-fenil furan-2-karboksilat (4e)

Verim 78.8%, m.p. 163°C. IR (KBr, ν , cm^{-1}): 1739, 1715 (C=O), 1609 (C=N), 1282 (COO), 819 (1,4-disubstitue benzenoid halka). $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6): δ 2.28 (s, 3H, PhCH₃), 2.44 (s, 3H, COCH₃), 3.83 (s, 3H, OCH₃), 4.00 (s, 2H, CH₂Ph), 6.84 (dd, 1H, ArH, $J=3.60, 1.60$ Hz), 7.14 (d, 2H, ArH; $J=7.60$ Hz), 7.23 (d, 2H, ArH; $J=8.00$ Hz), 7.38-7.40 (m, 1H, ArH), 7.46 (t, 1H, ArH, $J=8.00$ Hz), 7.56 (dd, 1H, ArH, $J=8.00, 1.60$ Hz), 7.65 (dd, 1H, ArH, $J=3.60, 0.80$ Hz), 8.16 (dd, 1H, ArH, $J=2.00, 0.80$ Hz), 9.71 (s, 1H, N=CH); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6): δ 20.62 (PhCH₃), 23.47 (COCH₃), 30.40 (CH₂Ph), 56.26 (OCH₃), [112.96, 115.90, 117.94, 121.02, 126.76, 127.50, 138.46, 142.10, 148.21, 149.46] (arom-C), [128.83 (2C), 129.05 (2C), 131.37, 136.07] (C₃'e bağılı arom-C), 147.97 (triazol-C₃), 149.18 (N=CH), 151.47 (triazol-C₅), 155.38 (COO), 165.99 (COCH₃); UV [Etanol, λ_{max} , nm (ϵ , L.mol⁻¹.cm⁻¹): 292 (13.930), 256 (27.490), 228 (25.030), 216 (23.570).

2-Metoksi-6-[(1-asetil-3-p-klorobenzil-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on-4-il)-azometin]-fenil furan-2-karboksilat (4f)

Verim 91.7%, m.p. 178°C. IR (KBr, ν , cm^{-1}): 1731 (C=O), 1607 (C=N), 1290 (COO), 827 (1,4-disubstitue benzenoid halka). $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6): δ 2.44 (s, 3H, COCH₃), 3.83 (s, 3H, OCH₃), 4.07 (s, 2H, CH₂Ph), 6.84 (dd, 1H, ArH, $J=3.60, 1.60$ Hz), 7.36-7.42 (m, 5H, ArH), 7.45 (t, 1H, ArH, $J=8.00$ Hz), 7.54 (dd, 1H, ArH, $J=8.00, 1.60$ Hz), 7.66 (dd, 1H, ArH, $J=3.60, 0.80$ Hz), 8.16 (dd, 1H, ArH, $J=1.60, 0.80$ Hz), 9.72 (s, 1H, N=CH); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6): δ 23.46 (COCH₃), 30.11 (CH₂Ph), 56.26 (OCH₃), [112.97, 115.94, 117.95, 121.03, 126.72, 127.51, 138.46, 142.09, 147.96, 149.52] (arom-C), [128.41 (2C), 130.90 (2C), 131.69, 133.52] (C₃'e bağılı arom-C), 147.77 (triazol-C₃), 149.19 (N=CH), 151.47 (triazol-C₅), 155.37 (COO), 165.96 (COCH₃); UV [Etanol, λ_{max} , nm (ϵ , L.mol⁻¹.cm⁻¹): 294 (11.030), 256 (22.600), 222 (26.240).

2-Metoksi-6-[(1-asetil-3-fenil-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on-4-il)-azometin]-fenil furan-2-karboksilat (4g)

Verim 72.7%, m.p. 204°C. IR (KBr, ν , cm^{-1}): 1771, 1736 (C=O), 1607 (C=N), 1194 (COO), 764 ve 693 (monosubstitue benzenoid halka). $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6): δ 2.54 (s, 3H, COCH₃), 3.84 (s, 3H, OCH₃), 6.83 (dd, 1H, ArH, $J=3.60, 1.60$ Hz), 7.40-7.42 (m, 1H, ArH), 7.45 (t, 1H, ArH, $J=8.00$ Hz), 7.51-7.61 (m, 5H, ArH), 7.90-7.92 (m, 2H, ArH), 8.15 (dd, 1H, ArH, $J=2.00, 0.80$ Hz), 9.69 (s, 1H, N=CH); $^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6): δ 23.51 (COCH₃), 56.29 (OCH₃), [112.91, 115.59, 117.78, 120.94, 126.67, e-ISSN: 2148-2683

127.48, 138.72, 142.10, 149.10, 141.25] (arom-C), [127.60, 127.98 (2C), 128.65 (2C), 130.09] (C₃'e bağlı arom-C), 145.90 (triazol-C₃), 148.07 (N=CH), 151.51 (triazol-C₅), 155.36 (COO), 166.30 (COCH₃); UV [Etanol, λ_{max}, nm (ε, L.mol⁻¹.cm⁻¹): 256 (20.800), 216 (15.190).

2.3. Yeni bileşiklerin antioksidan özelliklerinin incelenmesi

2.3.1. İndirgeme gücü tayini

İndirgeme gücü tayini Oyaizu metodu kullanılarak yapılmıştır (Oyaizu, 1986). Farklı konsantrasyondaki örneklerin (50-250 µg/mL) dimetilsülfositte (1 mL) hazırlanan çözeltileri, fosfat tamponu (2.5 mL; 0.2 M; pH = 6.6) ve potasyum ferrisiyanür (2.5 mL; 1%) ile karıştırılmıştır. Deney tüpleri iyice karıştırılmış ve 50 °C'de 20 dakika inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun ardından oda sıcaklığına getirilen her bir deney tüpüne %10'luk TCA çözeltisinden 2,5 mL ilave edilmiş ve 3000 rpm'de 10 dakika santrifüjlenmiştir. Süzütüden 2,5 mL alınarak deney tüplerine aktarılmış ve çözeltiye 2,5 mL su, ardından 0,5 mL FeCl₃ çözeltisinden eklenmiştir. Elde edilen renkli komplekslerin, UV spektrofotometresi ile 700 nm'de ölçümü yapılmıştır. Reaksiyon karışımının absorbensında meydana gelen artış ile numunenin indirgeme gücü arasında doğru bir orantı vardır.

2.3.2. Serbest radikal giderme aktivitesi tayini

Yeni sentezi gerçekleştirilen bileşiklerin serbest radikal giderme aktivitelerinin tayini DPPH'ın kullanıldığı Blois metoduna göre yapılmıştır (Blois, 1998). Özetle, DPPH'ın etanoldeki 0.1 mM çözeltisinden (1 mL), DMSO (3 mL) içinde farklı konsantrasyonlarda (50-250 µg/mL) örnek çözeltilere eklenmiştir. Deney tüpleri iyice karıştırılmış ve sonra oda sıcaklığında 30 dakika bekletilerek 517 nm'de UV spektrofotometresinde absorbensları ölçülmüştür. Reaksiyon karışımının absorbensında görülen düşüş, numunenin serbest radikal giderme aktivitesi ile doğru orantılıdır. Reaksiyon ortamındaki DPPH radikalini giderme aktivitesi için hesaplamalar aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır:

% Serbest Radikal Giderme Aktivitesi = $(A_0 - A_1/A_0) \times 100$; A₀ kontrol reaksiyonunun absorbens değeri iken, A₁ numune veya standardın absorbensıdır.

2.3.3. Metal şelatlama aktivitesi tayini

Metal şelat aktivitesi tayini Dinis metodu kullanılarak yapılmıştır (Dinis et al., 1994). Kısaca, deney tüplerine konulan numuneler ve standartlar 15, 30 ve 45 µg/mL konsantrasyonlarını oluşturacak ve toplam hacimleri 200 µL olacak şekilde saf su kullanılarak seyreltilmiştir. Sonra sırasıyla FeCl₂.4H₂O, etil alkol ve ferrozin ilave edilerek karıştırılmış ve oda sıcaklığında 10 dakika bekletilmiştir. Oluşan renk 562 nm'de UV spektrofotometresinde köre (ferrozin dışındakiler) karşı okunmuştur. Reaksiyon karışımının absorbensındaki düşüş, numunenin metal şelatlama aktivitesi ile doğru orantılıdır. Ferrozin-Fe⁺² kompleks oluşumunun inhibisyon yüzdesi aşağıdaki formülü kullanılarak hesaplanmıştır:

Şelat Yüzdesi = $(A_0 - A_1/A_0) \times 100$, A₀ kontrol reaksiyonunun absorbens değeri iken, A₁ numune veya standardın absorbensıdır.

3. Araştırma Sonuçları ve Tartışma

Mevcut çalışmada, 3-alkil(aril)-4-amino-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on'ların (1), 2-formil-6-metoksifenil furan-2-karboksilat (2) ile reaksiyonundan 2-metoksi-6-[(3-alkil/aril-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on-4-il)-azometin]fenil furan-2-karboksilatlar (3) sentezlenmiştir. Daha sonra, 3 bileşiğinin asetilasyon reaksiyonu ile 2-metoksi-6-[(1-asetil-3-alkil/aril-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on-4-il)-azometin]fenil furan-2-karboksilatlar (4) elde edilmiştir. 2-4 Bileşiklerinin yapıları IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR ve UV spektral verileri kullanılarak aydınlatılmıştır.

3.1. Antioksidan aktivite incelemeleri

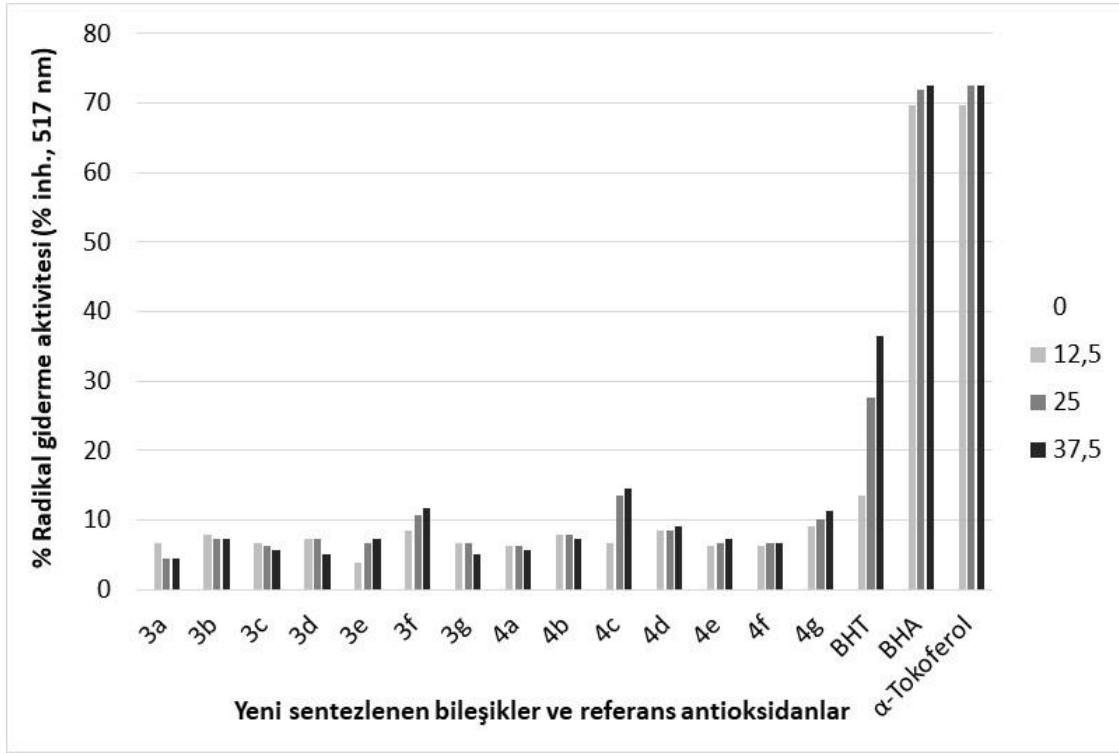
Sentezlenen on dört yeni bileşiğin, 3 ve 4, antioksidan aktivite incelemeleri yapılmıştır ve sonuçlar aşağıda verilmiştir:

3.1.1. İndirgeme gücü

Sentezlenen bileşiklerin 700 nm'de yapılan indirgeme gücü testleri sonucunda elde edilen bulgular, sentezlenen bileşiklerin absorbens değerlerinin, standartlara kıyasla çok daha düşük olması nedeniyle bileşiklerin indirgeyici özelliğe sahip olmadıklarını göstermektedir.

3.1.2. Serbest radikal giderme aktivitesi

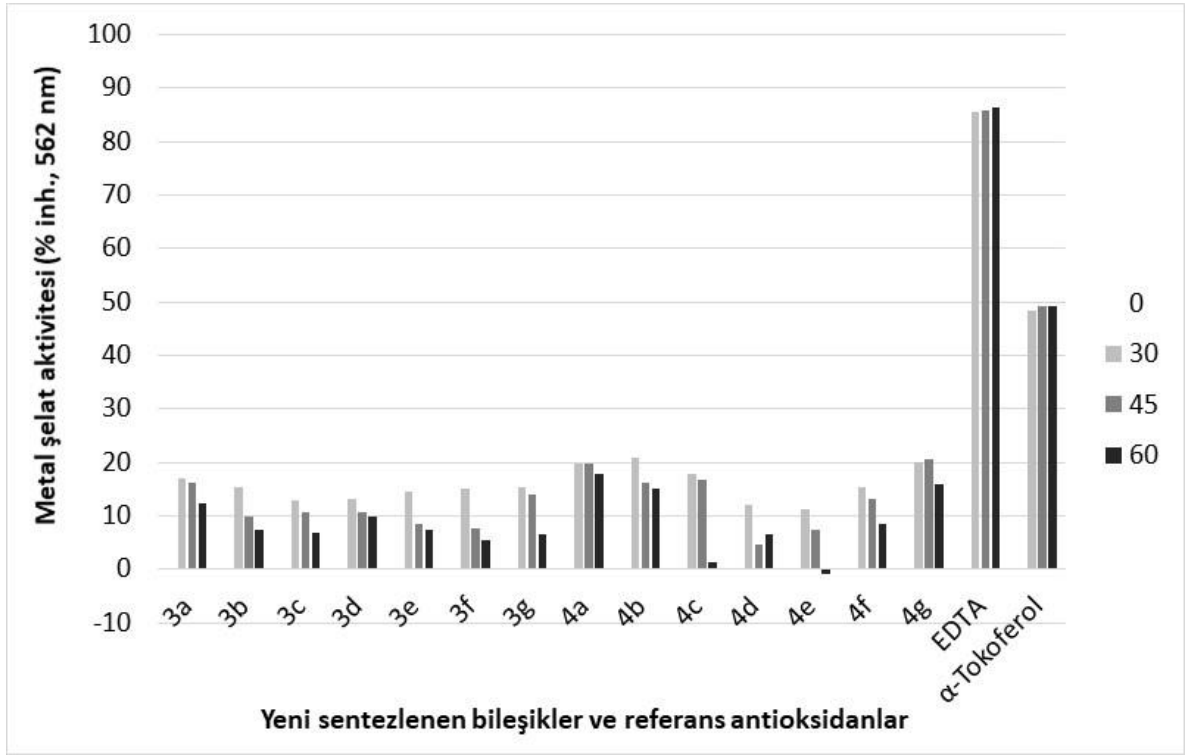
Sentezlenen yeni bileşiklerin (3a-g, 4a-g) ve kullanılan referans antioksidan maddelerin (BHT, BHA ve α-tokoferol), radikal giderme aktivite testleri neticesinde elde edilen veriler aşağıdaki grafiğe (Şekil 1) geçirilmiştir. Grafikte sentezi gerçekleştirilen yeni bileşiklerin 517 nm'de farklı derişimlerde yapılan ölçümlerinde, serbest radikal giderme aktiviteleri % inhibisyon olarak verilmektedir. Elde edilen veriler doğrultusunda; yeni sentezlenen 3e, 3f ve 4c-4g bileşiklerinin konsantrasyona bağlı olarak aktivitelerinde artış olduğu halde, diğer bileşiklerde böyle bir durum olmadığı anlaşılmıştır. Sonuç olarak yine de bahsi geçen bileşikler etkin radikal giderici özelliğe sahip değildir.



Şekil 1. 3, 4 Bileşiklerinin ve referans antioksidanların farklı konsantrasyonlardaki radikal giderme aktiviteleri

3.1.3. Metal şelat aktivitesi

Genellikle, yapısında -OH, -SH, -COOH, -PO₃H₂, C=O, -NR₂, -S-, -O- gibi iki veya daha fazla fonksiyonel grubu uygun bir yapı-işlev konfigürasyonu ile içeren bileşiklerin şelasyon aktivitesi göstereceği bildirilmiştir (Hussain ve ark., 2003; McClements ve Decker, 2000). (Lindsay, 1996; Yuan ve ark., 2005; Gülçin, 2006). Bu açıdan bakıldığında, L-karnitin için demir iyonlarını hidroksil ve karboksilat gruplarıyla şelatladığı düşünülmektedir (Gülçin, 2006). Bu çalışmada; 3 ve 4 tipi bileşikler -O- ve C=O gruplarını içermektedir. Hatta 3 tipi bileşiklerin asetilasyon reaksiyonu ile daha etkili şelatörlere dönüştürülmeleri planlanmıştır. Bu amaçla, 3 ve 4 bileşikleri ile EDTA ve α-tokoferol referans antioksidanlarının metal şelatlama aktiviteleri incelenmiştir. Şekil 2'deki grafikte aktiviteleri % inhibisyon olarak gösterilmektedir. Tüm beklentilere karşın yeni bileşiklerin düşük konsantrasyonda düşük aktiviteye sahip oldukları görülmektedir, yani etkin şelatörler değillerdir.



Şekil 2. 3, 4 Bileşiklerinin ve referans antioksidanların farklı konsantrasyonlardaki metal şelatlama aktiviteleri

4. Sonuç

Bu çalışmada, umut verici bir biyolojik ajan olan 1,2,4-triazol halkasını yapısında içeren yeni 2-metoksi-6-[(3-alkil/aryl-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on-4-il)-azometin]fenil furan-2-karboksilatlar ve asetil türevleri sentezlenmiştir. Sentezlenen bileşiklerin yapıları IR, ¹H NMR, ¹³C NMR ve UV spektral verileri kullanılarak karakterize edilmiştir. Son olarak sentezlenen bileşiklerin üç farklı yöntemle *in vitro* antioksidan özellikleri incelenmiştir. Bileşiklerin antioksidan aktivite sonuçlarına göre umut verici bir aktivite göstermedikleri belirlenmiştir.

Teşekkür

Bu çalışma (107T633) no'lu proje kapsamında TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir.

Kaynakça

- Aktas-Yokus, Ö., Yüksek, H., Manap, S., Aytemiz, F., Alkan, M., Beytur, M., Gürsoy-Kol, Ö. (2017). In-vitro biological activity of some new 1,2,4-triazole derivatives with their potentiometric titrations. *Bulg. Chem. Commun.*, 49: 98-106.
- Ali, K.A., Ragab, E.A., Farghaly, TA, Abdalla, M.M. (2011). Synthesis of new functionalized 3-substituted [1,2,4]triazolo [4,3-a] pyrimidine derivatives: Potential antihypertensive agents. *Acta Pol. Pharm.*, 68(2): 237-247.
- Alkan, M., Yüksek, H., Gürsoy-Kol, Ö., Calapoğlu, M. (2008). Synthesis, acidic and antioxidant properties of some novel 3,4-disubstituted-4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazol-5-one derivatives, *Molecules*, 13: 107-121.
- Bahçeci, Ş., Yüksek, H., Ocak, Z., Köksal, C., Özdemir, M., (2002). Synthesis and non-aqueous medium titrations of some new 4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazol-5-one derivative, *Acta Chem. Slov.*, 49: 783-794.
- Blois, M. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181(4617): 1199-1200.
- Chidananda, N., Poojary, B., Sumangala, V., Kumari, N.S., Shetty, P., Arulmoli, T. (2012). Facile synthesis, characterization and pharmacological activities of 3,6-disubstituted 1,2,4-triazolo[3,4-b][1,3,4]thiadiazoles and 5,6-dihydro-3,6-disubstituted-1,2,4-triazolo[3,4-b][1,3,4]thiadiazoles. *Eur. J. Med. Chem.* 51: 124-136.
- Demirbas, N., Ugurluoglu, R., Demirbas, A. (2002). Synthesis of 3-alkyl(Aryl)-4-alkylidenamino-4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazol-5-ones and 3-alkyl-4-alkylamino-4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazol-5-ones as antitumor agents. *Bioorg. Med. Chem.*, 10(12): 3717-3723.
- Dinis, T.C.P., Madeira, V.M.C., Almeida, L.M. (1994). Action of phenolic derivatives (Acetaminophen, salicylate, and 5-aminosalicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxy radical scavengers. *Arch. Biochem. Biophys.*, 315(1): 161-169.

- Gülçin, I. (2006). Antioxidant and antiradical activities of L-carnitine. *Life Sci.*, 78: 803-811.
- Gürsoy-Kol, Ö., Ayazoglu, E. (2017). Antioxidant activities and acidic properties of some novel 4-[3,4-di-(4-nitrobenzoxy)-benzylidenamino]-4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazol-5-one derivatives. *Arab. J. Chem.*, 10(S2): S2881-S2889.
- Gürsoy Kol, Ö. Yüksek, H. (2010). Synthesis and *in-vitro* antioxidant evaluation of some novel 4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazol-5-one derivatives, *E-J. Chem.*, 7(1): 123-136.
- Henen, M.A., El Bialy, S.A.A., Goda, F.E., Nasr, M.N.A., Eisa, H.M. (2012). [1,2,4]Triazolo[4,3-a]quinoxaline: Synthesis, antiviral, and antimicrobial activities. *Med. Chem. Res.*, 21(9): 2368-2378.
- Hussain, H.H, Babic, G., Durst, T, Wright, J.S., Fluerau, M., Chichirau, A., Chepelev, L.L. (2003). Development of novel antioxidants: Design, synthesis, and reactivity. *J. Org. Chem.*, 68(18): 7023-7032.
- Ikizler, A., Yüksek, H. (1993). Acetylation of 4-amino-4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazol-5-ones. *Org. Prep. Proc. Int.*, 25(1): 99-105.
- Ikizler, A.A., Johansson, C.B., Bekircan, O., Çelik, C. (1999). Synthesis and antibacterial activities of some 1,2,4-triazole derivatives. *Acta Pol. Pharm. - Drug Res.*, 56(4): 283-288.
- Li, Z., Cao, Y., Zhan, P., Pannecouque, C., Balzarini, J., Clercq, E.De. (2013). Synthesis and anti-HIV evaluation of novel 1,2,4-triazole derivatives as potential non-nucleoside HIV-1 reverse transcriptase inhibitors. *Lett. Drug Des. Discov.*, 10(1): 27-34.
- Lindsay, R.C. (1996). Food additives. In: Fennema, O.R. (Ed.), *Food Chemistry*. Marcel Dekker Inc., New York, pp. 778-780 (Chapter 12).
- McClements, D., Decker, E. (2000). Lipid oxidation in oil-in-water emulsions: Impact of molecular environment on chemical reactions in heterogeneous food systems. *J. Food Sci.*, 65(8): 1270-1282.
- Oyaizu, M. (1986). Studies on products of browning reaction. Antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese J. Nutr. Diet.*, 44(17): 307-315.
- Saadeh, H.A., Mosleh, I.M., Al-Bakri, A.G., Mubarak, M.S. (2010). Synthesis and antimicrobial activity of new 1,2,4-triazole-3-thiol metronidazole derivatives. *Monats. Chem.*, 141(4): 471-478.
- Uzgören-Baran, A., Tel, B.C., Sarıgöl, D., Öztürk, E.I., Kazkayası, I., Okay, G., Ertan, M., Tozkoparan, B. (2012). Thiazolo[3,2-b]-1,2,4-triazole-5(6H)-one substituted with ibuprofen: Novel non-steroidal anti-inflammatory agents with favorable gastrointestinal tolerance. *Eur. J. Med. Chem.*, 57: 398-406.
- Yuan, Y.V., Bone, D.E., Carrington, M.F. (2005). Antioxidant activity of dulse (*Palmaria palmata*) extract evaluated *in vitro*. *Food Chem.*, 91: 485-494.
- Yüksek, H., Akyıldırım, O., Yola, M.L., Gürsoy-Kol, Ö., Çelebier, M., Kart, D. (2013). Synthesis, *in vitro* antimicrobial and antioxidant activities of some new 4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazol-5-one derivative, *Arch. Pharm.*, 346(6): 470-480.
- Yüksek, H., Üçüncü, O., Alkan, M., Ocak, Z., Bahçeci, Ş. (2005). Non-aqueous medium titrations of some new 4-benzylidenamino-4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazol-5-one derivatives", *Molecules*, 10: 961-970.