



# BAZI YENİ 3-ALKİL(ARİL)-4-BENZİLİDENAMİNO-4,5-DİHİDRO-1H-1,2,4-TRİAZOL-5-ON BİLEŞİKLERİNİN SENTEZİ VE ANTİOKSİDAN ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

Özlem Gürsoy-Kol<sup>1\*</sup>, Haydar Yüksek<sup>1</sup>, Muzaffer Alkan<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Kafkas Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü-36100, Kars

<sup>2</sup>Kafkas Üniversitesi, Eğitim Fakültesi, İlköğretim Bölümü-36100, Kars

ozlemgursoy@gmail.com

## Abstract

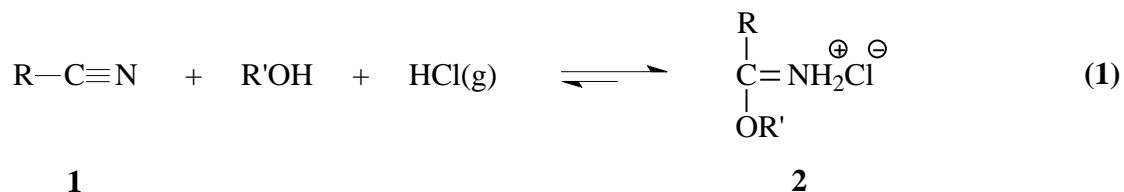
In this study, the reactions of 3-alkyl(aryl)-4-amino-4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazol-5-one compounds with 3-acetoxybenzaldehyde were investigated and corresponding 3-alkyl(aryl)-4-(3-acetoxybenzylidenamino)-4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazol-5-one compounds were obtained. Synthesized compounds were characterized by microanalyze, IR, <sup>1</sup>H-NMR and <sup>13</sup>C-NMR spectra. Furthermore, UV spectrums of these compounds were investigated and  $\lambda_{\max}$  and  $\epsilon$  values were detected. Finally, synthesized compounds were analyzed for their in vitro antioxidant activities in three different methods (reducing power, free radical scavenging and metal chelating activity).

**Keywords:** 4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazol-5-one, Schiff Base, antioxidant activity

## Giriş

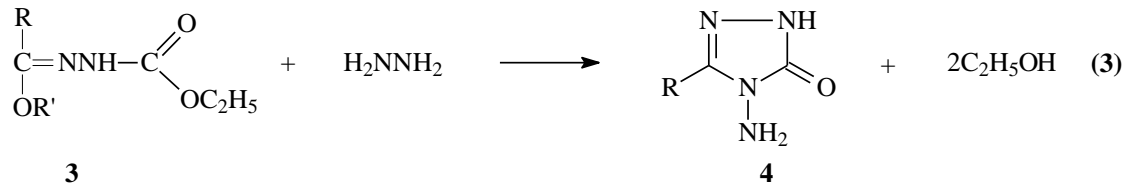
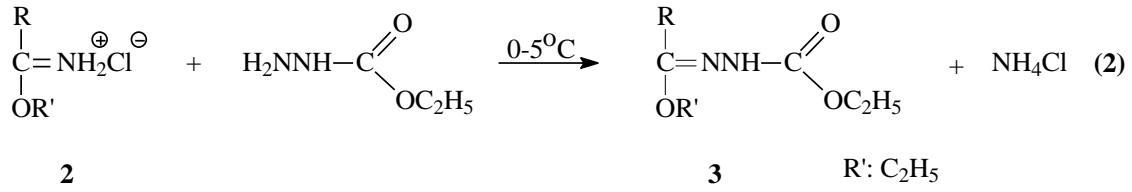
Son zamanlarda sentezi gerçekleştirilen ve bazı reaksiyonları incelenerek pek çok türevi elde edilen 3-alkil(aril)-4-amino-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-5-on (**4**) tipi bileşiklerin biyolojik aktiviteleri incelenerek antibakteriyal, antifungal, antituberkulostatik, antikanser ve anti-HIV etkileri bakımından önemli bileşikler oldukları belirtilmiştir [1-8]. Bu bakımdan önemli hale gelen **4** tipi bileşiklerin bu çalışmada yeni türevlerinin sentezi planlanmıştır.

Bu amaçla, öncelikle karşın olan nitrillerden (**1**) başlanarak Pinner Metodu uyarınca iminoester hidroklorür (**2**) ler sentezlenmiştir (Denklem 1).

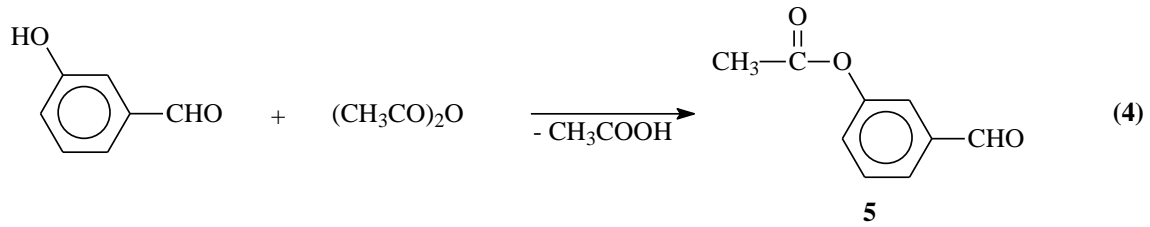


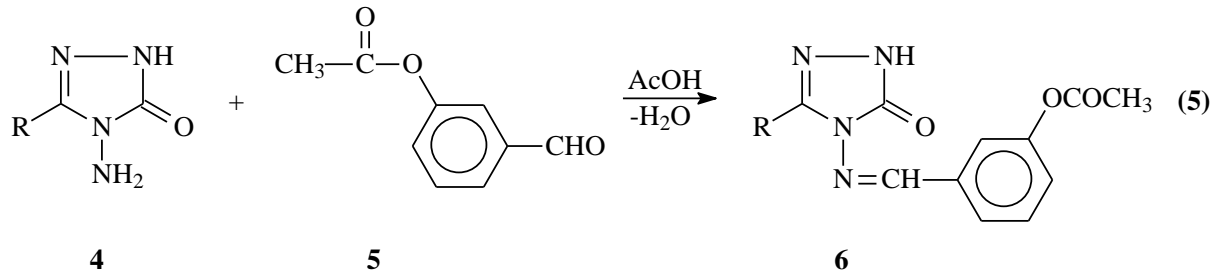
**2** bileşiğinin etil karbazat ile 0-5°C'de ve mutlak etanollü ortamda muamelesi sonucunda elde edilen ester etoksikarbonilhidrazon (**3**) un hidrazin hidrat ile kaynar sulu

ortamda reaksiyonundan çalışmada sentezi planlanan **4** bileşiği sentezlenmiştir (Denklem 2, Denklem 3).



Çalışmanın orijinal kısmında ise 3-hidroksibenzaldehidin asetik anhidrid ile muamelesinden oluşturulan 3-asetoksibenzaldehidin (**5**) **4** tipi bileşiklerle reaksiyonundan **6** tipi 3-alkil(aril)-4-(3-asetoksibenzilidenamino)-4,5-dihidro-1*H*-1,2,4-triazol-5-on bileşikleri sentezlenmiştir (Denklem 4, Denklem 5).





| 1-4,6 | R  |
|-------|--|
| a     | CH <sub>3</sub>  |
| b     | CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>  |
| c     | CH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>                                |
| d     | CH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> .CH <sub>3</sub> ( <i>p</i> -) |
| e     | CH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> .Cl ( <i>p</i> -)              |
| f     | C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>  |
| g     | siklopropil  |

### Deneysel Çalışmalar ve Bulgular

Çalışmada sentezi gerçekleştirilen yeni bileşiklerin yapı aydınlatmaları için elementel analiz, IR, <sup>1</sup>H NMR ve <sup>13</sup>C NMR spektroskopisi yöntemleri kullanılmıştır. Ayrıca sentezlenen yeni bileşiklerin üç farklı yöntemle antioksidan incelemeleri yapılmıştır.

#### 6 Tipi Bileşiklerin Sentezi için Genel Yöntem:

Yuvarlak dipli bir balonda **4** tipi bileşik (0,01mol) ile 3-asetoksibenzaldehid (**5**) (0,01 mol) in 20 mL asetik asit içindeki çözeltisi geri soğutucu altında 1 saat kaynatıldı. Soğutulduktan sonra çözeltiliye saf su ilave edilerek çöktürüldü. Çöken ham ürün süzüldü, soğuk su ile yıkandı, desikatörde CaCl<sub>2</sub> üzerinde kurutuldu ve etanolden kristallendirildi.

Sentezlenen maddelere ait deneysel ve elementel analiz verileri Tablo 1’de, IR verileri Tablo 2’de, UV verileri Tablo 3’te <sup>1</sup>H NMR verileri Tablo 4’te ve <sup>13</sup>C NMR verileri Tablo 5’te verilmiştir.

Tablo 1. Deneysel ve Elementel Analiz Verileri

| Bileşik No | Verim (%) | E.n. (°C) | Elementel Analiz  |
|------------|-----------|-----------|---|
| 6a         | 71.6      | 169       | C <sub>12</sub> H <sub>12</sub> N <sub>4</sub> O <sub>3</sub> (260,25) için, hesaplanan: C: 55.38, H: 4,65, N: 21.53; bulunan: C: 55.87, H: 5,38, N: 21.16. |
| 6b         | 60.6      | 164       |   |
| 6c         | 89.3      | 161       |   |
| 6d         | 89.3      | 182       | C <sub>19</sub> H <sub>18</sub> N <sub>4</sub> O <sub>3</sub> (350,38) için, hesaplanan: C: 65.13, H: 5,18, N: 15.99; bulunan: C: 65.16, H: 5,15, N: 16.04. |
| 6e         | 79.4      | 187       |   |
| 6f         | 80.5      | 173       |   |
| 6g         | 67,6      | 147       | C <sub>14</sub> H <sub>14</sub> N <sub>4</sub> O <sub>3</sub> (286,29) için, hesaplanan: C: 58.74, H: 4,93, N: 19.57; bulunan: C: 58.96, H: 4,82, N: 18.23. |

Tablo 2. IR (KBr, cm<sup>-1</sup>) Verileri

| Bileşik No | $\nu_{\text{NH}}$ | $\nu_{\text{C=O}}$ | $\nu_{\text{C=N}}$ | $\nu_{1,4\text{-disubstitue}}$<br>aromatik halka | $\nu_{1,3\text{-disubstitue}}$<br>aromatik halka | $\nu_{\text{Monosubstitue}}$<br>aromatik halka |
|------------|-------------------|--------------------|--------------------|--|--|--|
| 6a         | 3178              | 1763, 1709         | 1599, 1577         | -  | 802 ve 686                                       | -  |
| 6b         | 3181              | 1771, 1705         | 1595, 1580         | -  | 794 ve 685                                       | -  |
| 6c         | 3170              | 1756, 1716         | 1604, 1583         | -  | 792 ve 703                                       | 770 ve 690                                     |
| 6d         | 3171              | 1758, 1715         | 1606, 1584         | 826  | 792 ve 689                                       | -  |
| 6e         | 3170              | 1755, 1716         | 1585, 1578         | 820  | 790 ve 685                                       | -  |
| 6f         | 3168              | 1759, 1713         | 1577               | -  | 801 ve 722                                       | 759 ve 684                                     |
| 6g         | 3182              | 1763, 1712         | 1585, 1578         | -  | 794 ve 688                                       | -  |

Tablo 3. UV Verileri

| Bileşik No | $\lambda_{\text{max}}$ (nm) | $\epsilon$ (L.mol <sup>-1</sup> .cm <sup>-1</sup> ) |
|------------|-----------------------------|---|
| 6a         | 293, 254, 218               | 10457, 11529, 14614                                 |
| 6b         | 292, 254, 221               | 7600, 8250, 8794                                    |
| 6c         | 293, 257, 209               | 3922, 4644, 10878                                   |
| 6d         | 293, 257, 218               | 10970, 12700, 22800                                 |
| 6e         | 292, 257, 217               | 4463, 4704, 10778                                   |
| 6f         | 258, 223                    | 14080, 13680  |
| 6g         | 293, 258, 217               | 13232, 14679, 19821                                 |

Tablo 4. <sup>1</sup>H NMR Verileri (δ/ppm, DMSO-d<sub>6</sub>)

| Bileşik No | CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> | CH <sub>3</sub> | CH                   | OCOCH <sub>3</sub> | CH <sub>2</sub> | Aromatik H   | N=CH        | NH           |
|------------|---------------------------------|-----------------|----------------------|--------------------|-----------------|--|-------------|--------------|
| 6a         | -                               | 2,25<br>(s)     | -                    | 2,28 (s)           | -               | 7,27 (d, 1H);<br>7,48-7,70 (m, 3H)   | 9,71<br>(s) | 11,84<br>(s) |
| 6b         | -                               | 1,17<br>(t)     | -                    | 2,27 (s)           | 2,65<br>(q)     | 7,26 (d, 1H);<br>7,47-7,57 (m, 2H);<br>7,66 (d, 1H)                        | 9,71<br>(s) | 11,87<br>(s) |
| 6c         | -                               | -               | -                    | 2,29 (s)           | 4,04<br>(s)     | 7,20-7,30 (m, 6H);<br>7,47-7,54 (m, 2H);<br>7,64 (d, 1H)                   | 9,67<br>(s) | 12,02<br>(s) |
| 6d         | -                               | 2,21<br>(s)     | -                    | 2,29 (s)           | 3,97<br>(s)     | 7,07 (d, 1H);<br>7,16-7,27 (m, 4H);<br>7,46-7,54 (m, 2H);<br>7,64 (d, 1H)  | 9,67<br>(s) | 12,00<br>(s) |
| 6e         | -                               | -               | -                    | 2,28 (s)           | 4,04<br>(s)     | 7,24-7,53 (m, 7H);<br>7,63 (d, 1H)   | 9,68<br>(s) | 12,03<br>(s) |
| 6f         | -                               | -               | -                    | 2,26 (s)           | -               | 7,28 (d, 1H);<br>7,48-7,55 (m, 5H);<br>7,68 (d, 1H); 7,84-<br>7,89 (m, 2H) | 9,65<br>(s) | 12,42<br>(s) |
| 6g         | 0,88-<br>0,98 (m)               | -               | 2,06-<br>2,28<br>(m) | 2,27 (s)           | -               | 7,27 (d, 1H);<br>7,52-7,71 (m, 3H)   | 9,72<br>(s) | 11,81<br>(s) |

Tablo 5. <sup>13</sup>C NMR Verileri (δ/ppm, DMSO-d<sub>6</sub>)

| Bileşik No | C=O    | Triazol C <sub>5</sub> | N=CH   | Triazol C <sub>3</sub> | Aromatik C   | Alifatik C   |
|------------|--------|------------------------|--------|------------------------|--|--|
| 6a         | 169,09 | 152,42                 | 150,80 | 144,21                 | 151,08; 134,98; 130,06;<br>125,68; 124,81; 119,96  | 20,75<br>(OCOCH <sub>3</sub> );<br>10,99 (CH <sub>3</sub> )                              |
| 6b         | 169,07 | 152,38                 | 150,80 | 147,93                 | 151,23; 135,02; 130,04;<br>125,56; 124,77; 119,95  | 20,74<br>(OCOCH <sub>3</sub> );<br>18,37 (CH <sub>2</sub> );<br>9,84 (CH <sub>3</sub> )  |
| 6c         | 169,03 | 152,12                 | 150,76 | 146,14                 | 151,05; 135,62; 134,95;<br>130,04; 128,72 (2C);<br>128,33 (2C); 126,62;<br>125,52; 124,71; 120,14    | 30,98 (CH <sub>2</sub> );<br>20,74<br>(OCOCH <sub>3</sub> )                              |
| 6d         | 169,03 | 152,03                 | 150,77 | 146,29                 | 151,06; 135,68; 134,98;<br>132,51; 130,04; 128,89<br>(2C);<br>128,58 (2C); 125,53;<br>124,69; 120,12 | 30,61 (CH <sub>2</sub> );<br>20,74<br>(OCOCH <sub>3</sub> );<br>20,48 (CH <sub>3</sub> ) |
| 6e         | 169,03 | 152,15                 | 150,75 | 145,80                 | 151,04; 134,90; 134,58;<br>131,31; 130,65 (2C);<br>130,05;<br>128,24 (2C); 125,59;<br>124,74; 120,09 | 30,32 (CH <sub>2</sub> );<br>20,74<br>(OCOCH <sub>3</sub> )                              |
| 6f         | 169,03 | 155,45                 | 150,79 | 144,49                 | 151,18; 134,74; 130,15;<br>130,03; 128,42 (2C);<br>127,85 (2C); 126,44;<br>125,39; 124,99; 120,62    | 20,74<br>(OCOCH <sub>3</sub> )   |
| 6g         | 169,06 | 152,81                 | 150,80 | 148,15                 | 151,18; 135,00; 130,05;<br>125,65; 124,81; 120,00  | 20,73<br>(OCOCH <sub>3</sub> );<br>6,49 (2C);<br>5,37                                    |

### Yeni Bileşiklerin Antioksidan Özelliklerinin İncelenmesi:

Çalışmada sentezlenen 6 tipi yedi yeni bileşiğin üç farklı yöntemle (indirgeme gücü, serbest radikal giderme aktivitesi ve metal şelat aktivitesi) antioksidan özellikleri incelenmiş

ve sonuçlar, standart olarak kullanılan bütillenmiş hidroksi toluen (BHT), bütillenmiş hidroksi anisol (BHA) ve  $\alpha$ -tokoferol sonuçları ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir.

İndirgeme gücü Oyaizu metoduna göre yapılmıştır [9]. Bu metodun prensibi antioksidan bileşiklerin, kullanılan reaktifler ile oluşturduğu renkli komplekslerin UV spektrofotometresinde 700 nm'de ölçümüne dayanmaktadır. Reaksiyon karışımının absorbansındaki artış numunenin indirgeme gücü ile doğru orantılıdır.

Bileşiklerin serbest radikal giderme aktivitesi tayini 1,1-difenil-2-pikril-hidrazilin (DPPH) kullanıldığı Blois metoduna göre yapılmıştır [10]. Metodun prensibi serbest radikal toplayıcılarının renkli serbest radikal olan DPPH' ı indirgemesine dayanır. DPPH' kırmızı renkli kararlı bir serbest radikaldir. Serbest radikaller antioksidan bileşikler tarafından giderildiğinde renk kırmızıdan sarıya döner. Reaksiyon karışımının 517 nm'deki absorbansındaki düşüş serbest radikal giderme aktivitesi ile doğru orantılıdır.

Metal şelat aktivitesi tayini Dinis metoduna göre yapılmıştır [11]. Metal şelat aktivitesi tayininin prensibi, ferrozin-Fe<sup>+2</sup> kompleks oluşumunun inhibisyonuna dayanmaktadır. Reaksiyon karışımının 562 nm'deki absorbansındaki düşüş metal şelat aktivitesi ile doğru orantılıdır.

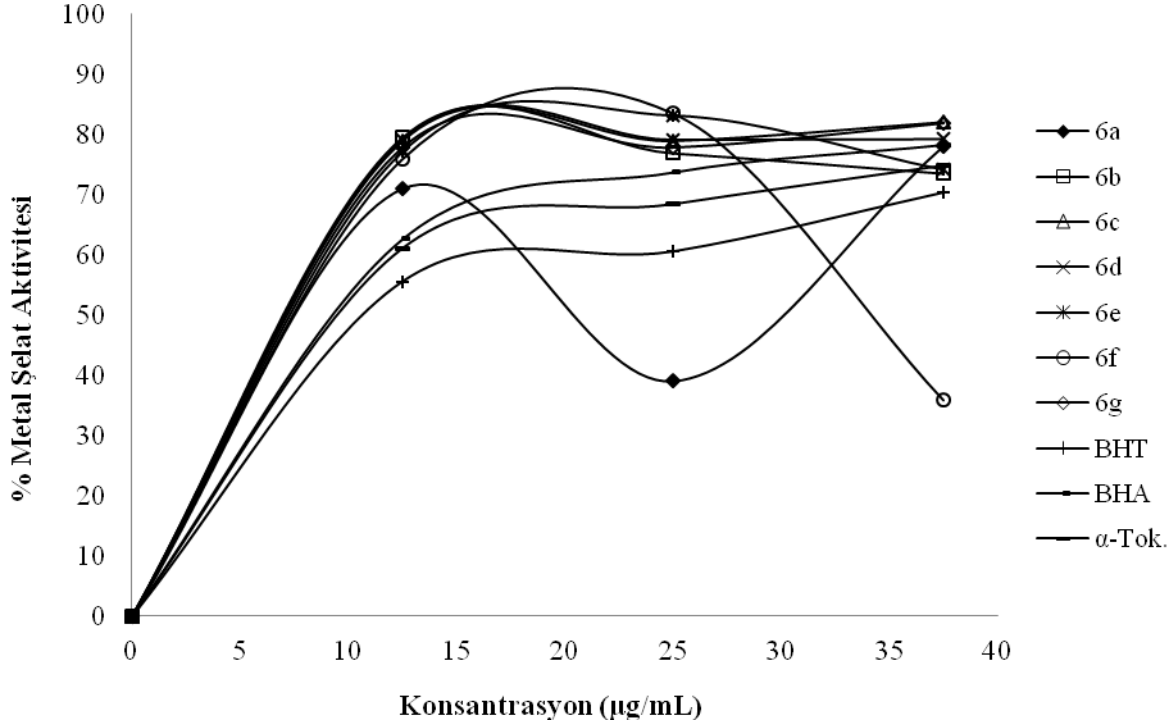
## **Sonuç ve Tartışma**

### **İndirgeme Gücü:**

700 nm'de yapılan ölçümlerde sentezlenen bileşiklerin absorbanslarının, standartlara göre oldukça düşük çıkması bileşiklerin indirgeyici özelliklerinin olmadığını göstermektedir.

### **Serbest Radikal Giderme Aktivitesi:**

Sentezlenen bileşiklerin yapılan serbest radikal giderme aktivite testleri sonucunda ele geçen veriler grafiğe geçirilmiş ve aşağıda verilmiştir. Şekil 1'deki grafikte sentezlenen bileşiklerin 517 nm'de değişen konsantrasyonlarda yapılan ölçümlerde serbest radikal giderme aktiviteleri % inhibisyon olarak görülmektedir. Bu bileşiklerin kontrolden daha düşük, standart antioksidanlardan daha yüksek absorbans göstermeleri orta düzeyde serbest radikal giderme aktivitesine sahip olduklarını göstermektedir.

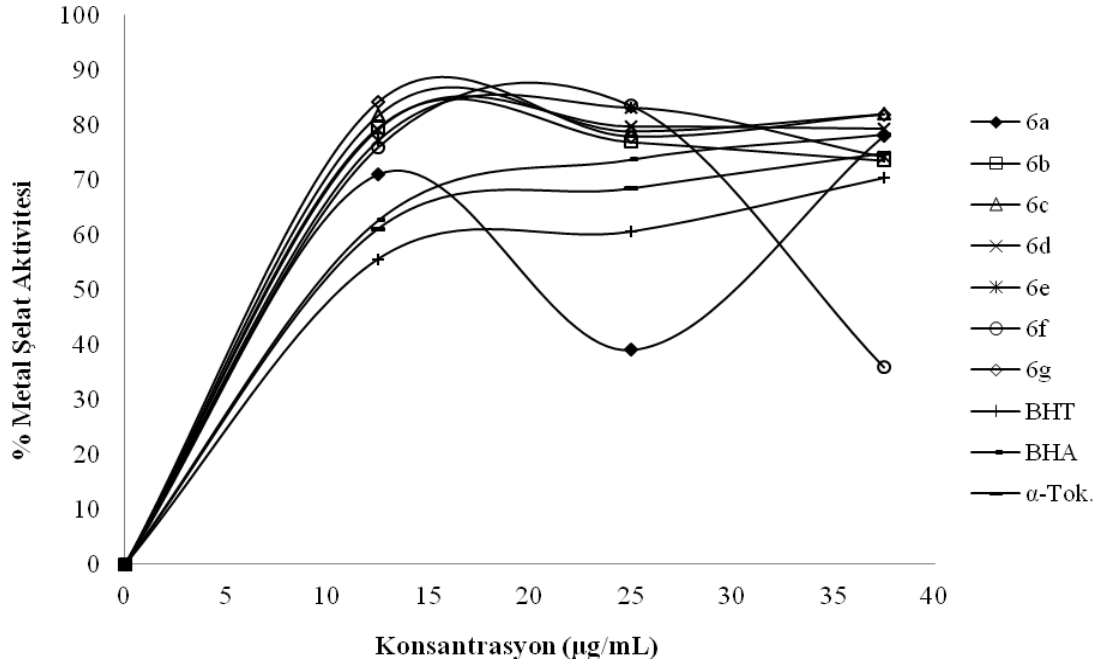


Şekil 1. 6 Tipi Bileşiklerin Konsantrasyona Karşı % Serbest Radikal Giderme Aktiviteleri

#### Metal Şelat Aktivitesi:

Sentezlenen bileşiklerin yapılan metal şelat aktivite testleri sonucunda ele geçen veriler grafiğe geçirilmiş ve aşağıda verilmiştir. Şekil 2'deki grafikte sentezlenen bileşiklerin ve standartların metal şelatlama aktiviteleri % inhibisyon olarak verilmektedir ve yeni bileşiklerin metal şelatlama aktivitesine sahip oldukları görülmektedir. Ancak **6c**, **6d** ve **6g** bileşikleri anlamlı olarak, standart antioksidanlardan daha iyi metal şelatlama aktivitesine sahiptir.





**Şekil 2.** 6 Tipi Bileşiklerin Konsantrasyona Karşı % Metal Şelat Aktiviteleri

### Teşekkür

Bu çalışma Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TUBİTAK-107T247) tarafından desteklenmiştir.

### Kaynaklar

1. Yüksek, H., Demirbaş, A., İkizler, A., Johansson, C. B., Çelik, C., İkizler, A. A., *Arzneimittel-Forsch* 1997, 47, 405-409.
2. Kahveci, B., Özil, M., Menteşe, E., Bekircan, O., Buruk, K., *Russ. J. Org. Chem.* 2008, 44, 1816-1820.
3. Chidananda, N., Poojary, B., Sumangala, V., Kumari, N. S., Shetty, P., Arulmoli, T., *Eur. J. Med. Chem.* 2012, 51, 124-136.
4. Li, Z. Y., Cao, Y., Zhan, P., Pannecouque, C., Balzarini, J., De Clercq, E., Liu, X. Y., *Lett. Drug Des. Discov.* 2013, 10, 27-34.
5. Henen, M. A., El Bialy, S. A. A., Goda, F. E., Nasr, M. N. A., Eisa, H. M., *Med. Chem. Res.* 2012, 21, 2368-2378.
6. Bayrak, H., Demirbaş, A., Karaoğlu, S. A., Demirbaş, N., *Eur. J. Med. Chem.* 2009, 44, 1057-1066.
7. Alkan, M., Yüksek, H., Gürsoy-Kol, Ö., Calapoglu, M., *Molecules* 2008, 13, 107-121.
8. Yüksek, H., Akyıldırım, O., Yola, M. L., Gürsoy-Kol, Ö., Çelebier, M., Kart, D., *Arch. Pharm.*, 2013, 346, 470-480.
9. Oyaizu, M., *Japan. Nutri.* 1986, 44, 307-316.
10. Blois, M. S., *Nature* 1958, 181, 1199-1200.
11. Dinis, T. C. P., Madeira, V. M. C., Almeida, L. M., *Arch. Biochem. Biophys.* 1994, 315, 161-169.