

Araştırma Makalesi

Mersin Univ Sağlık Bilim Derg 2019;12(1):60-71

doi:10.2655/mersinsbd.419125

Aril(alkil)azol türevlerinin sentezi ve biyolojik aktiviteleri

¹Mefküre Durmuş¹,Burak Barut¹,Hasan Erdinç Sellitepe², Arzu Özel¹, İnci Selin Doğan²

¹Karadeniz Teknik Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Eczacılıkta Biyokimya AD, Trabzon

²Karadeniz Teknik Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Eczacılıkta Farmasötik Kimya AD, Trabzon

Öz

Aril(alkil)azol grubu bileşikler antifungal, antikonvülsan, antibakteriyel aktivitelere sahiptir. Hem oksijenaz enzim inhibisyonu, indolamin 2,3-dioksijenaz-1 enzim inhibisyonu, asetilkolinesteraz (AChE) ve bütirikolinesteraz (BChE) enzim inhibisyonu aktivitelerinin değerlendirildiği çalışmalar da mevcuttur. Bu çalışmada, aril (alkil) azol yapısında, 2(1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-1-(2,4-diklorofenil) etanol bileşiği ve bu bileşikten hareketle üç adet yeni aromatik yan zincir içeren ester türevleri sentezlendi. Başka bir çalışmada sentezlenen yapısında triazol yerine izosteri olan imidazol halkası taşıyan, dört adet bileşik ve bu çalışmada sentezlenen bileşiklerin AChE ve BChE enzim inhibisyonu Ellman metodunun modifiye şekli ile değerlendirilirken, antioksidan aktivitesi 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) radikal süpürücü aktivite yöntemi ile değerlendirildi. Sentezlenen yeni bileşiklerin yapıları IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR ve LC-MS spektroskopik yöntemlerle kanıtlandı. 1, 2, 4-Triazol türevlerinde herhangi bir aktivite görülmezken, imidazol türevi bileşiklerde AChE enzim inhibisyonu ve DPPH radikal süpürücü aktivite gözlenmiştir. İmidazol türevlerinde enzim inhibisyonu aktiviteler IC₅₀ (%50 inhibitör derişimi) değeri 1000 µM'dan yüksek derişimlerde iken, standart olan Galantamin bileşiğinde IC₅₀ değeri 21.30 µM ve 37.03 µM'da gözlenmiştir. Antioksidan aktivite, standart olan gallik asit için IC₅₀ 68.83 µM iken, imidazol türevlerinde IC₅₀ 1000 µM'dan yüksek derişimlerde gözlenmiştir. Bileşiklerde aktivite gözlenmemesi, yan zincirdeki aromatik halkanın enzim etkileşiminde sterik engel oluşturduğunu düşündürmüştür. Aril (alkil) azol grubu bileşiklerde, yan zincirde alkil (doymuş, doymamış, halojenli süstitüe vb) grubu taşıyan yeni türevler sentezlenerek bu aktivitelerin değerlendirilmesi planlanmaktadır.

Anahtar sözcükler: Aril (alkil) azol, antioksidan, 1,2,4-triazol, AChE ve BChE enzim inhibisyonu

Yazının geliş tarihi:27.04.2018

Yazının kabul tarihi:15.10.2018

Sorumlu Yazar: Mefküre Durmuş, Karadeniz Teknik Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Eczacılıkta Biyokimya ABD,Trabzon, Tlf: 0 462 230 23 00, e-posta: mefkure19@hotmail.com

Not: Bu çalışma 24. Ulusal Farmakoloji Kongresi, 17-20 Ekim 2017, Trabzon'da poster olarak sunulmuştur.

Bu çalışma '1-(2,4-Diklorofenil)-2-(1*H*-triazol-1-il)etil Alkol ve Bu Alkol Bileşiğinin Ester Türevlerinin Sentezlenmesi ve Biyolojik Aktivite Çalışmalarının Yapılması' isimli Yüksek Lisans tezi olarak KTÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Kurulu'nun 14/11/2017 tarih ve 37 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Synthesis and biological activities of some aryl (alkyl)azole derivatives

Aryl (alkyl) azole group compounds have antifungal, anticonvulsant and antibacterial activities. Inhibition of heme oxygenase, indolamine 2,3-dioxygenase-1, acetylcholinesterase (AChE) and butyrylcholinesterase (BChE) enzymes is evident in the literature. There are also reports that compounds containing this aryl (alkyl) azole group, which are currently used in fungal infections, and activate antioxidant systems in vivo. In this study, 2-(1*H*-1,2,4-triazole-1-yl)-1-(2,4-dichlorophenyl) ethanol and three new aromatic side chain ester derivatives were synthesized based on the aryl (alkyl) azole structure. Four imidazole derivatives based on the aryl (alkyl) azole structure which were synthesized in another study and molecules in this study were evaluated for AChE and BChE enzyme inhibition and antioxidant activities. While enzyme inhibition were evaluated with Ellman's modified method, antioxidant activities were evaluated with DPPH and FRAP methods. In this study synthesized molecules' structure were elucidated with IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR and LC-MS spectral analysis. While no activity was observed in the 1,2,4-triazole derivatives both for enzyme inhibition and antioxidant activity, in the imidazole derivative compounds low activity for enzyme inhibition and DPPH radical scavenging activity was observed. In FRAP method there were no activity in imidazole derivatives. While IC₅₀ was more concentrated than 1000 µM for imidazole, standard Galantamin's IC₅₀ value was 21.30 and 37.03 µM for enzyme inhibition. For antioxidant activity, standard Gallic acid IC₅₀ was 68.83 µM and imidazole derivatives IC₅₀ were more concentrated than 1000 µM. The absence of activity of our compounds suggests that large structures such as the aromatic ring in the side chain may be effective in enzyme interaction. We plan to synthesize new derivatives bearing alkyl (saturated, unsaturated, halogen substituents, etc.) groups in the side chain in the aryl (alkyl) azole group compounds and evaluate AChE and BChE enzyme inhibition and antioxidant activities.

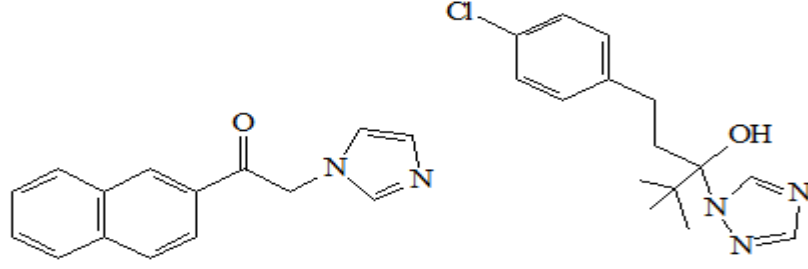
Keywords: Aryl(alkyl)azole, antioxidant, 1,2,4-triazole, AChE and BChE enzyme inhibition

Giriş

İmidazol, 1,2,3-triazol ve 1,2,4-triazol halkalarını içeren moleküllerin tıbbi alandaki geniş etki spektrumları dikkat çekmektedir.^{1,2} Özellikle 1,2,4-triazol halkası çok çeşitli terapötik etkili ilaç adaylarının yapısına eklenmiştir. Günümüzde klinikte kullanılan yapısında 1,2,4-triazol halkası ile birleştirilmiş heterosiklik grup bulunduran ilaçlara örnek olarak; alprozolam, triazolam, estazolam (sedatif-hipnotik, trankilizan), trazodan (antidepresan, anksiyolitik), trapidil (hipotansif), terkonazol (antifungal), heksokenazol (antifungal), etizolam (anksiyolitik, antikonvülzan, sedatif-hipnotik, myorelaksan), rizotriptan (antimigren) verilebilir.²

Aril (alkil) azol yapısını taşıyan bileşiklerin biyolojik önemleri son yıllarda dikkat çekmektedir. Bu grubun öncüleri, antikonvülsan aktivite gösteren nafimidon (Şekil 1a) ve denzimol bileşikleridir.³ Birçok çalışmada bu ana yapıyı içeren moleküller sentezlenmiş ve aktiviteleri denenmiştir. Nafimidon üzerinden yapılan değişiklikler ile naftalen halkası yerine fenil /süstitüefenil; imidazol halkası yerine triazol getirilmesi ve/veya keton grubunun alkole redüklenmesi, alkol gruplarından ester ve eter türevlerinin sentezlenmesi ile elde edilen bileşiklerin anlamlı derecede antikonvülsan, antimikrobiyal ve antifungal aktivite gösterdikleri bildirilmiştir.⁴⁻⁸

ab

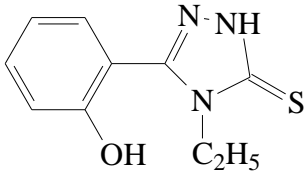


Şekil 1.a. Nafimidon bileşiği b.Tebukonazol bileşiği

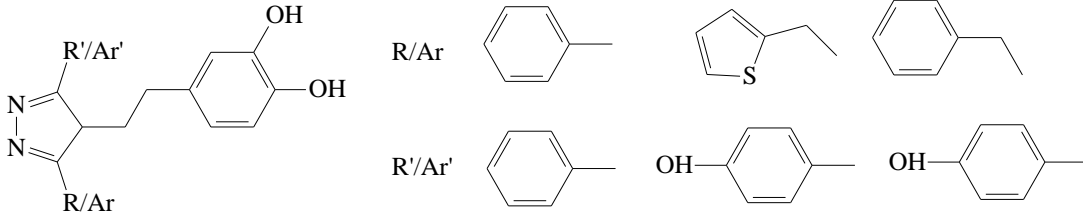
Ayrıca aril (alkil)azol yapısını taşıyan antifungal etkili tebukonazol bileşiğinin (Şekil 1b), güçlü anti-kolinesteraz (anti-ChE) aktivitesi olduğu bildirilmiştir.⁹

Aril (alkil)azol türevlerinin asetilkolinesteraz (AChE) enzim inhibisyonu

ve antioksidan aktiviteleri ile ilgili araştırmalar az sayıdadır. Birkaç çalışmada imidazol ve triazol yapılarını içeren moleküllerin aktiviteleri incelenmiş ve anti-ChE, antioksidan etkiler gözlenmiştir (Şekil 2 ve 3).^{10,11}



Şekil 2. Antioksidan etkili 1,2,4-triazol-2-tiyon türevi bileşik¹⁰

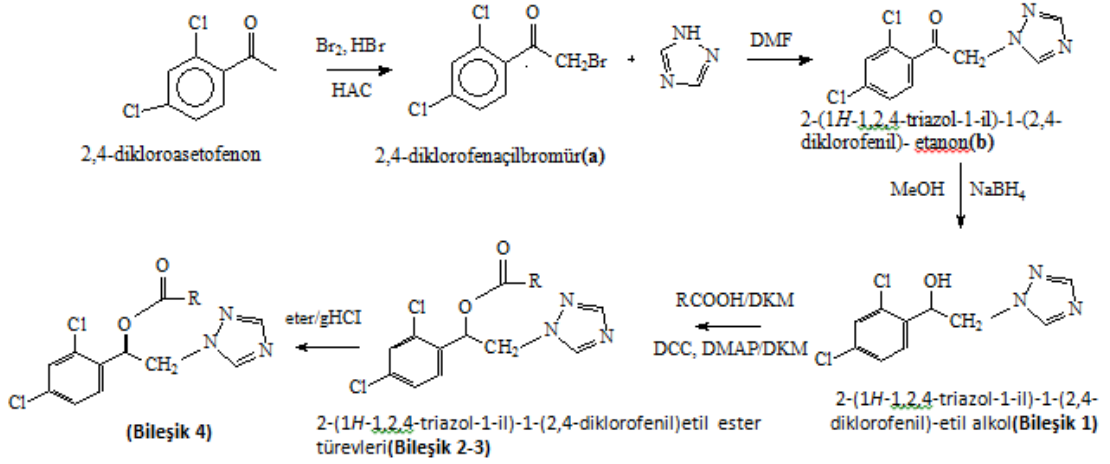


Şekil 3. Antioksidan etkili 1,2,4-triazol türevi bileşikler¹¹

Bu çalışmada, aril (alkil)azol türevlerinin potansiyel biyolojik aktivite göstermelerinden yola çıkılarak; nafimidon yapısının izosterleri, aromatik halka olarak 2,4-diklorofenil halkası, azol grubu yerine 1,2,4-triazol ve bu iki halkanın ara zinciri üzerinde küçük oksijenli fonksiyonel grup taşıyan alkol ve ester yapısı içeren dört adet bileşik sentezlenmiş (Şekil 4) ve bu bileşiklerin anti-ChE ve antioksidan aktiviteleri incelenmiştir. Sentezlenen bileşiklerden, Bileşik 1 alkol türevi; diğer bileşikler (Bileşik 2, 3, 4) ara zincirde

oksijenli fonksiyonel grup olarak ester yapısı olan türevlerdir.

Bu çalışmada sentezlenen ve biyolojik aktiviteleri araştırılan, biri (Bileşik 1) daha önce sentezlenmiş¹², diğerleri yeni toplam dört bileşiğin yapıları Tablo 1'de gösterilmiştir. Tablo 2'de başka bir çalışmada⁸ sentezlenen ve enzim inhibisyon aktivitesi araştırılmamış imidazol türevi bileşikler, yapı aktivite ilişkisi kurmak için bu çalışmaya alınarak biyolojik aktiviteleri değerlendirilmiştir.



Şekil 4.2-(1H-1,2,4-Triazol-1-il)-(2,4-diklorofenil)etanol ve ester türevi bileşiklerinin sentezi (Bileşik 1-4).

Gereç ve Yöntemler

Bileşiklerin sentezi

Başlangıç bileşiklerinin sentezleri

2-Bromo-1-(2,4-diklorofenil) etanon (a) sentezi¹³

0°C'de 0.3 mol 2,4-dikloroasetofenon bileşiği, 100 mL glasiyel asetik asit içinde çözülür; üzerine üç damla hibrobromik asit eklenir. 0.3 mol Br₂ bileşiğinin 25 mL asetik asit içerisindeki çözeltisi damla damla eklenir. Reaksiyon 2 saat karıştırılır. Karışım buzlu suya dökülür. Katılan bileşik süzülür, NaHCO₃ ile yıkanır ve karanlıkta kurutulur. Metanol/ su karışımından kristallendirilerek saflaştırılır. Verim %58, erime noktası 32 °C.

2-(1H-1,2,4-Triazol-1-il)-1-(2,4-diklorofenil) etanon (b) sentezi¹⁴

0°C'de 0.04 mol 1,2,4-triazol bileşiği, 10 mL DMF ile karıştırılır ve üzerine 0.04 mola başlangıç bileşiğimizin (a) DMF içindeki çözeltisi eklenir. Reaksiyon bir gün boyunca oda ısısında karıştırılır. Karışımı buza dökülüp süzülür. Etanol ile kristallendirilerek saflaştırılır. Verim %70, erime noktası 150 °C.

Sonuç Bileşiklerin Sentezleri

2-(1H-1,2,4-Triazol-1-il)-1-(2,4-diklorofenil) etanol Sentezi¹²

0 °C'de, 30 mmol önceki basamakta N-açılasyon reaksiyonu sonucu elde ettiğimiz bileşik 300 mL metanolde çözülür ve 30 mmol NaBH₄ yavaş yavaş eklenir ve reaksiyon bir saat boyunca karışır, redüksiyonun tamamlandığı H₂ gazı çıkışı ile anlaşılır. Evaporatörde reaksiyon kuruluğa kadar uçurulur. Madde katı şekilde elde edilir. Eterde yıkanarak saflaştırılır.

Ester türevi sonuç bileşiklerin sentezi^{8,15}

0 °C'de 2.5 mmol uygun karboksilik asit türevi bileşik ve 2.5 mmol 1-(2,4-diklorofenil)-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il) etanol, kuru DCM içerisinde reaksiyona sokulur. 2.5 mmol DCC ve 0.17 mmol 4-DMAP 'in DCM içerisindeki karışımları, reaksiyon balonuna damla damla eklenir. Oda ısısında altı saat reaksiyon karışır. Reaksiyon ortamında çöken DCU süzülerek uzaklaştırılır. Süzüntü uçurulur ve oluşan madde CHCl₃:MeOH (9:1) ile kolon kromato grafisi ile saflaştırılır. Elüent uçurulur ve artık madde eter/gHCl'li eter ile katılaştırılır.

Biyolojik aktivite çalışmaları

AChE ve BChE enzim inhibitör aktiviteleri Ellman tarafından geliştirilmiş olan spektrofotometrik metodun uygulanmasıyla ölçülmüştür.¹⁶ Enzim olarak elektrik balığından elde edilen AChE ve at serumundan elde edilen BChE enzimleri,

substrat olarak ve bütüriltiyokolin klorür (BTCl) kullanılmıştır. Kontrol olarak DMSO, standart olarak ise Galanthus bitkisinden izole edilen alkaloid tipi ilaç olan Galantamin kullanılmıştır.

Sentezlenen bileşiklerin DPPH radikal süpürme aktivitesi, Blois yöntemine göre yapılmıştır.¹⁷ Bu yöntemde UV/Vıs spektrofotometresinde gözlenen absorpsiyon, radikal süpürücülerin hidrojen atomu veya elektron verebilme yatkınlıkları etkisiyle DPPH'nin metanoldeki çözeltisinin mor renginin açılması ile azalır.

AChE ve BChE enzim inhibisyonu aktivite testi

$$\%I = \left[(A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}) \cdot \frac{100}{A_{\text{kontrol}}} \right] \quad \%I = \text{yüzde inhibisyon } A = \text{absorbans}$$

Formül 1. Yüzde enzim inhibisyonu

Antioksidan aktivite tayin yöntemi

DPPH radikal süpürme aktivitesinin belirlenmesi

0.4 mMDPPH'in metanoldeki çözeltisi üzerine 100, 250, 500 ve 1000 µM derişimlerinde bileşikler ilave edilerek karanlıkta ve oda sıcaklığında 30 dakika inkübasyonun ardından 517 nm'de

50 µL 0.1 M fosfat tampon çözeltisi (pH 8) üzerine 125 µL DTNB, 25 µL farklı derişimlerde (100, 250, 500 ve 1000 µM) DMSO içinde hazırlanmış olan örneklerden ve 25 µL AChE/BChE enzim çözeltisi ilave edilmiştir. Bu solüsyon 15 dk süre ile 25 °C'de inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında 25 µL ATCl/BTCl ilave edilmiştir. Reaksiyon sonucu 412 nm'de ölçülmüştür. Aynı işlemler standart olarak kullanılacak olan Galantamin için de uygulanmıştır. Deney sonucu formül 1'e göre hesaplanmıştır.

absorbans ölçülmüştür. Örnek absorbansı (A örnek) 0.4 mM1mLDPPH'in metanoldeki çözeltisinin 517 nm'deki absorbansı ölçülmüştür. Standart olarak gallik asit kullanılmıştır. DPPH serbest radikal süpürme aktivitesi, DPPH radikallerinin %50 oranında inhibisyonu (IC₅₀) şeklinde farklı derişimleri için Formül2'den hesaplanmıştır.

$$\text{DPPH radikal süpürme aktivitesi (\%)} = \left[\frac{A_0 - A_I}{A_0} \right] \cdot 100$$

$A_0 = \text{Kontrol absorbans değeri}$ $A_I = \text{Örnek veya standartın absorbans değeri}$

Formül 2. % DPPH radikal süpürme aktivitesi tayini

Bulgular

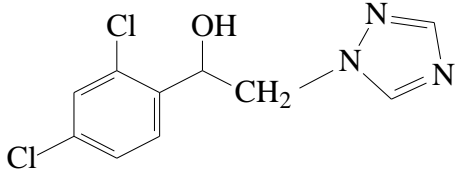
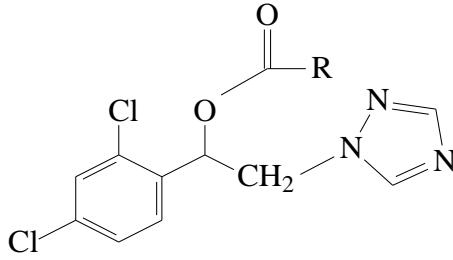
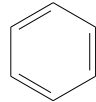
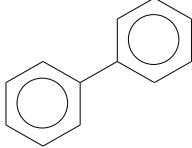
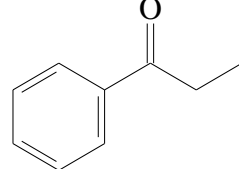
Kimyasal Kısım

Çalışmalarımızda kullanılan tüm kimyasal maddeler Fluka, Aldrich ve Merck firmalarının ürünüdür. Bileşiklerin sentezi şekil 4 'de gösterilmiştir.

2-(1H-1,2,4-Triazol-1-il)-1-(2,4-diklorofenil)etanol (Bileşik 1): 1.241 g (0.0048 mol) 1-(2,4-diklorofenil)-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)-etanon'dan hareketle NaBH₄ varlığında, metanol içerisinde genel redüksiyon sentez yöntemine göre⁸ elde edilir. Eterde yıkanarak saflaştırılır. Beyaz

renkli toz halinde bir maddedir. Verim: 1.02 g (%83). Erime noktası: 180 °C. IR spektrumunda 3344 (O-H gerilimi ve C-H gerilim, aromatik), 2607 (C-H gerilim, alifatik), 1653, 1589, 1544 (C=C ve C=N, gerilim), 1253, 1128, 1076 (C-O eğilim), 991 (C-Cl eğilim), 817 ve 771 cm⁻¹'de (1,4-disübstitüe benzen C-H deformasyon) pikler görülür. ¹H-NMR spektrumunda (DMSO-d₆, 400 MHz); δ (ppm) 4.24-4.25 (1H, dd, CH₂-N, H_A, J_{AX}: 6 Hz), 4.47-4.49 (1H, dd, CH₂-N H_B, J_{BX}: 6 Hz), 5.52 (1H; t; -CH-O H_X), 6.37-7.86 (3H; m; fenil protonları), 7.88 (1H; s; triazol H₅), 8.48 ppm'de (1H; s; triazol H₃) pikler görülür.

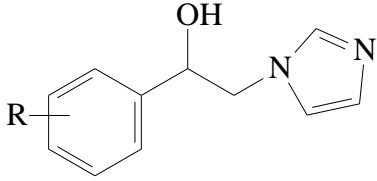
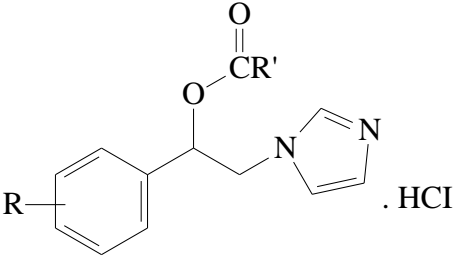
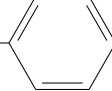
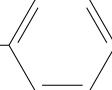
Tablo 1. Sentezi yapılan bileşiklerin yapıları

Bileşik 1 (Alkol türevi)	Bileşik 2-4 (Ester Türevleri)
 <p>Bileşik 1</p>	 <p>Bileşik 2 R=</p>  <p>Bileşik 3 R=</p>  <p>Bileşik 4 R=</p> 

2-(1H-1,2,4-Triazol-1-il)-1-(2,4-diklorofenil)-etil benzoat (Bileşik 2): 0.3839 g (0.00311 mol) benzoik asit ve 0.8 g (0.00311 mol) 2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)-1-2,4-diklorofeniletanol'den hareketle DCC ve DMAP varlığında kuru DCM içerisinde genel sentez yöntemine göre elde edilir.^{8,15} Eterde yıkanarak saflaştırılır. Beyaz katı toz halinde bir maddedir. Verim: 19.3 mg (%1.7). Erime noktası: 154 °C. IR spektrumunda; 3323 (N-H gerilim), 2927 (C-H gerilim, aromatik), 2848(C-H gerilim, alifatik), 1624, 1558, 1541 (C=C ve C=N, gerilim) 1643 (C=O gerilim, ester), 1375, 1346, 1309, 1271 (C-O eğilim), 941 (C-Cl eğilim), 742 ve 719 cm⁻¹'de (1,4-disübstitüe benzen deformasyon) pikler görülür. ¹H-NMR spektrumunda (CH₃OH-d₄, 400 MHz); δ 4.24-4.28 (1H; dd; CH₂-N, H_A, J_{AX}:

4 Hz), 4.42-4.46 (1H, dd, CH₂-N H_B, J_{BX}: 8 Hz), 5.04-5.07 (1H; dd; -CH-O H_X, J_{AX}: 4 Hz, J_{BX}: 8 Hz), 6.95-6.97 (5H, m, CO-C₆H₅ protonları), 7.40-7.47 (4H, m, triazol H₅ ve 2-4-diklorofenil protonları), 8.07 ppm'de (1H, s, triazol H₃) pikler görülür. ¹³C-NMR spektrumunda (CH₃OH-d₄, 400 Mhz); δ 64.83 (CH₂-N), 72.65 (CH-O), 108.2 (CO-C₆H₅, C-1, C-2, C-3, C-4, C-5, C-6), 128.82 (diklorofenil C-1, C-3, C-5, C-6), 129.77 (diklorofenil C-2, C-4), 143.98 ppm'de (triazol C-3, C-5, ester C=O) pikler görülür. Kütle spektrumunda (ESI+), m/e 384 ([M+23]⁺, %3), 362 ([M]⁺, %2.5), 297.08 (%7), 287.69 (%42), 279.08 (%12), 259(%15), 246.67 (%23), 224.83 (%100, temel pik), 222.52 (%5), 174.01 (%3) de pikler görülür.

Tablo 2. Önceki çalışmada sentezlenen bileşikler ⁷

			
Bileşik 5	R=H	Bileşik 7	R=H R'=CH ₂ CH ₂ CO- 
Bileşik 6	R=4-Cl	Bileşik 8	R=4-Cl R'=CH ₂ CH ₂ CO- 

2-(1H-1,2,4-Triazol-1-il)-1-(2,4-diklorofenil)-etil 4-bifenilkarboksilat (Bileşik 3): 1.982 g (0.01 mol) 4-bifenilkarboksilik asit ve 2,58 (0.01 mol) 2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)-1-2,4-diklorofeniletanolden hareketle DCC ve DMAP varlığında kuru DCM içerisinde genel sentez yöntemine göre elde edilir. Suda yıkanarak ve eterde çözülmüş ve çöken kısım atılarak saflaştırılmıştır. Beyaz katı toz olarak elde edilmiştir. Verim: 52,7 mg (%11.8). Erime noktası 151 °C. IR spektrumunda; 3070 (C-H gerilim, aromatik), 2929, 2848 (C-H gerilim, alifatik), 1708 (C=O gerilim, ester), 1286, 1267, 1112, 1047 (C-O gerilim), 856 (C-Cl eğilim), 746 ve 700 cm⁻¹'de (1,4-disübstitüe benzen deformasyon) pikler görülür. ¹H-NMR spektrumunda (CHCl₃-d₁, 400 MHz); δ 3.23 (2H, d, -CH₂-N), 3.99 (1H, t, -CH-O), 7.30-7.69 (13H, m, triazol H₅ ve fenil protonları), 8.15 ppm'de (1H, s, triazol H₃) pikler görülür. ¹³C-NMR spektrumunda (CHCl₃-d₁, 400 MHz); δ 52.88 (CH₂-N), 77.39 (CH-O), 127.10 (bifenil C-2, C-3, C-5 ve C-6), 127.33 (bifenil C-1 ve C-4), 128.97 (2,4-diklorofenil C-1, C-3, C-5 ve C-6), 130.14 (diklorofenil C-2), 140.01 (diklorofenil C-4), 145.67 (triazol C-3 ve C-5) ve 167.07 ppm'de (ester C=O) pikler görülür. Kütle spektrumunda (ESI+), m/e 468.14 ([M+Na]⁺, %35), 426.77 (%45), 392.82,

(%100 temel pik), 368.74 (%47), 345.57 (%57), 317.85 de pikler görülür.

2-(1H-1,2,4-Triazol-1-il)-1-(2,4-diklorofenil)-etil 4-okso-4-fenilbutanoat (Bileşik 4): 0.5541 g (0.00311 mol) 3-benzoil propionik asit ve 0.8 g (0.00311 mol) 2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)-1-2,4-diklorofeniletanolden hareketle DCC ve DMAP varlığında kuru DCM içerisinde genel sentez yöntemine göre elde edilir. Eter/gaz HCl ile HCl tuzuna geçirilerek katılaştırılmıştır. Beyaz katı toz halinde bir maddedir. Verim: 44.1 mg (%3.4). Erime noktası: 153 °C. IR spektrumunda; 3332 (N-H gerilim), 3105, 3043(C-H gerilim, aromatik), 2906, 2812, 2675 (C-H gerilim, alifatik), 1614, 1591, 1556 (C=C ve C=N, gerilim), 1643 (C=O gerilim, ester), 1446, 1404, 1217 (C-O gerilim), 1066, 997, 943 (C-Cl eğilim), 759, 742 cm⁻¹ de (1,4-disübstitüe benzen deformasyon) pikler gözlenmiştir. ¹H-NMR spektrumunda (CHCl₃-d₁, 400 MHz); δ 2.02 (2H, t, -CH₂-CH₂-CO-C₆H₅), 2.98 (2H, t, -CH₂-CH₂-CO-C₆H₅), 3.24-3.41 (2H, m, CH₂-N), 4.54 (1H, t, -CH-O), 6.71-6.83 (5H, m, CO-C₆H₅ protonları), 8.13-8.069 (4H, m, triazol H₅ ve 2-4-diklorofenil protonları), 8.18 ppm'de (1H, s, triazol H₃) pikler görülür. ¹³C-NMR spektrumunda (CHCl₃-d₁, 400 Mhz); δ 40.25 (CH₂-CH₂-CO, C-3 ve C-2) 76.59 (CH₂-N), 77.36 (CH-O), 106.73 (CO-C₆H₅, C-1, C-2, C-3, C-4, C-5, C-6), 138.95 (triazol C-3, C-5 ve

diklorofenil C-1, C-2, C-3, C-4, C-5, C-6), 157.355 ppm'de (keton C=O ve ester C=O), pikler görülür. Kütle spektrumunda (ESI+), m/e 444 ([M+23+2]⁺, %5), 228.9 (%100, temel pik), 168.55 (% 25), 156.79 (%13), 213.7 (%78), 235.62 (%78), 251.58 (%33), 258.79 (%18), 267.82 (%70), 276.57 (%35), 284.76 (%13), 305.97 (%23), 308.91 (%15), 324.87(%10), 336.84 (%7), 355. 53 (%3), 364.57 (%3), 390.61 (%7), 408.11 (%5), 412.94 (%25) de pikler görülür.

Biyolojik Aktivite

AChE ve BChE Enzim İnhibisyonu

Sentezlenen bileşiklerde hiç aktivite gözlenmemiş olup, daha önceki çalışmada⁸ sentezlenen 4 adet imidazol türevi bileşikte çok düşük derecede aktivite gözlenmiştir. Sonuçlar Tablo 3'te verilmiştir.

Tablo 3.ChE enzim inhibisyonu sonuçları

Bileşik	AChE (µM cinsinden IC ₅₀ değeri)	BuChE (µM cinsinden IC ₅₀ değeri)
Bileşik 1	>1000 µM	>1000 µM
Bileşik 2	>1000 µM	>1000 µM
Bileşik 3	>1000 µM	>1000 µM
Bileşik 4	>1000 µM	>1000 µM
Bileşik 5	>1000 µM	>1000 µM
Bileşik 6	>1000 µM	>1000 µM
Bileşik 7	>1000 µM	>1000 µM
Bileşik 8	>1000 µM	>1000 µM
Galantamin	21.30 ± 0.03	37.03 ± 0.05

Antioksidan Aktivite Çalışmaları

Bu çalışmada sentezlenen bileşiklerde (Tablo 1) DPPH metoduna göre antioksidan etki gözlenmemiş, fakat daha

önceki çalışmada⁸ sentezlenen bileşiklerde (Tablo 2) DPPH radikal süpürücü aktivite metodunda çok düşük antioksidan etki gözlenmiştir. Aktivite sonuçları Tablo 4'te verilmiştir.

Tablo 4. Antioksidan aktivite sonuçları.

Bileşik	DPPH (μM cinsinden IC_{50})
Bileşik 1	>1000 μM
Bileşik 2	>1000 μM
Bileşik 3	>1000 μM
Bileşik 4	>1000 μM
Bileşik 5	>1000 μM
Bileşik 6	>1000 μM
Bileşik 7	>1000 μM
Bileşik 8	>1000 μM
Gallik Asit	68.83 \pm 0.02

Tartışma

Bu çalışmada biri alkol türevi, üç tanesi ester türevi yeni aril (alkil)azol grubu bileşik sentezlenmiş ve antioksidan, AChE ve BChE enzim inhibisyonu aktiviteleri değerlendirilmiştir. Bu çalışmada aril alkil)azol grubu bileşiklerin öncüsü olan nafimidon yapısının izosteri olarak imidazol grubu yerine 1,2,4-triazol halkası, aril grubu olarak 2,4-diklorofenil halkası içeren ve ara zincirde oksijenli küçük fonksiyonel grup olarak ester yapısını taşıyan yeni türevler sentezlendi. Önceki çalışmalardan⁸ aromatik yan zincirin aktiviteye katkısı düşünülerek bifenil, benzoil ve 3-benzoil propiyonil ester türevleri sentezlenmiştir.

Bileşiklerimizin sentezinde başlangıç maddesi olarak kullandığımız 2-bromo-1-(2,4-diklorofenil) etanon (a), Immediate ve Day'in¹³ 2-asetilnaftalenin bromlanması için geliştirdiği yöntemle göre, 2,4-dikloroasetofenonun asetik asitli ortamda eser miktarda hidrojen bromür varlığında bromlanmasıyla elde edilmiştir. Reaksiyonun ikinci aşamasında, Godefroi ve arkadaşlarının¹⁴ uyguladığı yöntem kullanılarak, 1-(2,4-diklorofenil)-2-bromo-etanon ve 1,2,4-triazolun DMF içinde N-

alkilasyon reaksiyonu, keton türevi olan 2-(1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-1-(2,4-diklorofenil) etanon (b) elde edilmiştir.

Bileşik 1, 2-(1*H*-1,2,4-triazol-1-il)-1-(2,4-diklorofenil)-etanonun metanol içinde NaBH_4 redüksiyonu ile literatür verilerine göre sentezlenmiştir.^{8,12,18} Bileşik 2-4, karboksilik asitlerin alkollerle DCM varlığında, sterik engel oluşturan ve asite dayanıksız olan substratların kolaylıkla esterlere dönüşümünü sağlayan, *Steglicherleşmesi* yöntemine göre^{8,15} esterleşme reaksiyonu kullanılmıştır. DMAP açıl taşıyıcı katalizör olarak, DCC ortamda oluşan suyu uzaklaştırmak için kullanılmıştır.

Ayrıca, bu çalışmamızda, başka bir çalışmada⁸ antifungal etkileri gözlenen 1-fenil/1-(4-klorofenil)-2-(1*H*-imidazol-1-il) etanol ve 3-benzoilpropionat türevlerinin (Tablo 2) daha önce denenmemiş olan AChE ve BChE enzim inhibisyon aktiviteleri de çalışılmıştır.

Azol grubu antifungal bileşiklerde yapılarında triazol halkası olanların daha güvenli ve daha etkili olması, bu yapının birçok farklı biyolojik aktivite de göstermesi¹⁹ ve günümüzde faz çalışmasında olan moleküllerin olması²⁰ çalışmamız için yol gösterici olmuştur. Heterosiklik azot atomu içeren takrin ve propidyumun AChE'nin periferik anyonik bölgesine bağlandığının bilinmesinden yola çıkarak, bir çalışmada bu iki yapının birbirine 1,2,3-triazol halkası ile bağlanmasının AChE inhibitör etkinliği arttırdığı bildirilmiştir.²¹ 1,2,3-triazol bağlanmış akridon türevleri ile yapılan bir çalışmada anti-AChE ve anti-BuChE aktiviteleri değerlendirilerek elektron çekici grupların etkiyi arttırdığı gözlenmiştir.²²

Bu çalışmada yer alan imidazol grubu taşıyan bileşiklerin antifungal, antimikrobiyal aktivite gösterdikleri⁸ bilinmekle beraber, enzim inhibisyon aktiviteleri değerlendirilmediği ve yapılarımızın izosteri oldukları için değerlendirmeye alınmışlardır. Bu türevler, standart olarak kullanılan Galantamin bileşiğine göre, 1000 μM 'dan daha fazla derişimlerde etki göstermişlerdir.

Sentezlenen moleküllerde ve Doğan ve arkadaşlarının⁸ sentezlediği ester türevlerde; yan zincir olarak hidrofobik grupların enzimin hidrofobik kısımları ile etkileşmesi, triazol halkasının ve/veya serbest -OH grubunun enzimin tirozin ve glisin artıkları ile hidrojen bağları yapması, 2,4-diklorofenil/ 4-klorofenil halkalarının hem hidrofobik hem de elektron çekici özelliklerinden dolayı, etki göstermesi beklenmektedir. Ancak enzim inhibisyon aktiviteleri- kısmen imidazol yapısı taşıyanlarda triazole halkası taşıyanlardan yüksek olsa da- düşük bulunmuştur. Bu sonuçlar, enzimin aktif bölgesinde bulunan Ser203, His447, Glu334 aminoasitleri ve aktif bölgenin girişinde bulunan PAB ile etkileşmemiş olmasından kaynaklanabilmektedir. Ayrıca, bileşiklerdeki iki aromatik halkanın yapıya sterik engel oluşturarak enzimle etkileşimi engellediğini düşündürmüştür.

Bir çalışmada¹⁰ 4-etil-5-(2-hidroksifenil)-2H-1,2,4-triazol-3(4H)-tiyon bileşiğinin (Şekil 2) antioksidan aktivitesi değerlendirilmiş; DPPH radikal süpürücü aktivitesi askorbik asitle kıyaslandığında anlamlı derecede aktif bulunmuştur. Bileşiğin genel yapısında bulunan fenolik hidroksil grubunun hidrojen verici aktivitesi ile mümkün olduğu açıklanmıştır²¹ Başka bir çalışmada 4-(2,3-diaril-4H-1,2,4-triazol-4-il)etil) benzen-1,2-diol bileşiklerinin antioksidan aktivitesi DPPH radikalini süpürme testi ile analiz edilmiş ve üç adet türevin, (Şekil 3), yüksek derecede antioksidan etkili olduğu bildirilmiştir.¹¹

Bu çalışmalardan 1,2,4-triazol halkası içeren bileşiklerin antioksidan etkileri araştırıldığında, yapıdaki 1,2,4-triazol halkasına süstitüe aromatik grupların varlığında ve molekülde fenolik -OH grubunun varlığında antioksidan etkinin daha yüksek olduğu anlaşılmaktadır. Sentezlenen bileşiklerde DPPH göre antioksidan etki gözlenmiştir. Önceki çalışmada sentezlenen ve antimikrobiyal etkili bulunan imidazol türevi bileşiklerde (tablo 2) DPPH metoduna göre aktivite çok düşük gözlenmiştir. Bunun nedeni bileşiklerde 1,2,4-triazol halkası ile diğer aromatik yapıların arasında alkil zinciri bulunması, bununla beraber üç adet alkol

türevinde bulunan -OH grubunun alkil zincirine süstitüe olması ve molekülde hiç fenolik -OH grubu bulunmaması olabilir.

Biri literatürde kayıtlı alkol türevi, diğer üçü ester türevi yeni bileşikler olmak üzere dört bileşik sentezi yapılarak, daha önce değerlendirilmeyen biyolojik aktivitelerine bakılmıştır. Yapılarına baktığımızda triazol halkasının, ara zincirde oksijenli fonksiyonel grubun ve halojenli aromatik halkanın olduğu görülmektedir. Antioksidan aktivite için yapıda hidroksil veya halojenli süstitüe bulunmasının olumlu olduğu bilinmektedir. Ancak bileşiklerimizdeki iki aromatik halkanın yapı için sterik engel oluşturmuş, olabileceği bu yüzden aktif bulunmadığı düşünölmüştür.

Sonuç olarak, literatürde kayıtlı ancak enzim inhibisyonu ve antioksidan aktivitesi incelenmemiş alkol türevi olan 2-(1H-triazol-1-il)-(2,4-diklorofenil) etanol (Bileşik 1) ve bu bileşiğin ester türevleri yeni üç türev (Bileşik 2, 3 ve 4) sentezlenmiş ve yapıları spektral verilerle kanıtlanmıştır. AChE ve BChE enzim inhibisyonu ve antioksidan aktiviteleri gözlenmiştir. Alkol türevlerinin ve daha apolar hale gelen ester türevlerinin hem AChE, BChE enzim inhibisyonları aktivitelerinin olmaması, hem de antioksidan aktivite göstermemeleri yapıların uzaysal konumlarının araştırılması gerektiğini düşündürmüştür.

Kaynaklar

1. Verma A, Joshi S, Singh D. Imidazole: Having versatile biological activities. *Journal of Chemistry*. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/329412>
2. Sahu JK, Ganguly S, Kaushik A. Triazoles: A valuable insight into recent developments and biological activities. *Chinese Journal of Natural Medicines* 2013;11:456-465.
3. Akgün H, Balkan A, Bilgin A.A ve diğerleri. *Farmasötik Kimya*. 2. basım Ankara, Hacettepe Üniversitesi Yayınları, 2004
4. Karakurt A, Dalkara S, Özalp M, Özbey S, Kendi E, Stables JP. Synthesis of some 1-

- (2-naphthyl)-2-(imidazole-1-yl) ethanone oxime and oxime ether derivatives and their anticonvulsant and antimicrobial activities. *European Journal of Medicinal Chemistry* 2001;36:421-433.
5. Calış U, Dalkara S, Ertan M, Sunal R. The significance of the imidazole ring in anticonvulsant activity of (arylalkyl) imidazoles. *Archiv Der Pharmazie* 1988;321:841-846.
 6. Karakurt A, Aytemir MD, Stables JP, Ozalp M, Kaynak FB, Ozbey S, et al. Synthesis of some oxime ether derivatives of 1-(2-naphthyl)-2(1,2,4-triazol-1-yl) ethanone and their anticonvulsant and antimicrobial activities. *Archiv Der Pharmazie* 2006;339: 513-520.
 7. Vita DD, Scipiona L, Tortorella S, Mellini P, Rienzo BD, Simonetti G, et al. Synthesis and antifungal activity of a new series of 2-(1H -imidazol-1-il)-1-phenylethanol derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry* 2012;49:334-342.
 8. Dogan IS, Sarac S, Sari S. et al. New azole derivatives showing antimicrobial effects and their mechanism of antifungal activity by molecular modeling studies. *European Journal of Medicinal Chemistry* 2017;127:124-138.
 9. Kolesarova V, Sinko G, Sivikova K, Dianovsky J. Invitro inhibition of blood cholinesterase activities from cattle by triazole fungicides. *Internatonal Journal of Cytology, Cytosystematic and Cytogenetics* 2013;66:436-350.
 10. Koparir M, Orek C, Koparir P, Sarac K. Synthesis, experimental, theoretical characterization and biological activities of 4-ethyl-5-(2-hydroxyphenyl)-2H-1,2,4-triazole-3(4H)-thione. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 2013;105: 522-531.
 11. Sancak K, Ünver Y, Ünlüer D, Düğdü E, Kör G, Çelik F, Birinci E. Synthesis and characterization, and antioxidant activities of new trisubstituted triazoles. *Turkish Journal of Chemistry* 2012;36:457-466
 12. Wahbi Y, Caujolle R, Tournaire C, Payard M, Linas MD, Seguela JP. Aromatic ethers of 1-aryl 2-(1 H- azolyl) ethanol: study of antifungal activity. *European Journal of Chemistry* 1995;30:955-962.
 13. İmediata T, Day A. Beta- naphthyl derivatives of ethanolamine and N-substitued ethanol amines. Department of Chemistry and Chemical Engineering of the University of Pennsylvania. 1940;512-527.
 14. Godefrol EF, Heeres J, Cutsem JV, Janssen PA. The preparation and antimycotic properties of derivatives of 1-phenethylimidazole. Research laboratoria, Janssen Pharmaceutica, Beerse, Belgium 1969;12:784-791.
 15. Karakurt A, Özalp M, Işık Ş, Stables JP, Dalkara S. Synthesis, Anticonvulsant and Antimicrobial Activities of Some New 2-acetylnaphthelene Derivates. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 2010;18:2902-2911.
 16. Orhan DD, Şenol FS, Hosbas S, Orhan İE. Assesment of cholinesterase and tyrosinase inhibitory and antioxidant properties of Viscum album L. Samples collected from different host plants and its two principal substances. *Industrial Crops and Products* 2014;62:341-349.
 17. Blois MS. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 1958;181:1199-1200.
 18. Höfle G, Steglich W. 4-Dialkylaminopyridines as acylation catalysts. *Synthesis* 1972;619-621.
 19. Acar U, Abumohsen U, Özkay Y, Karaca H, Kaplancıklı ZA. Synthesis and biological screening of some novel triazole derivatives. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences* 2015;12:221-230.
 20. Pasqualotto AC, Denning DW. New and emerging treatments for fungal infections. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2008;1:19-30.
 21. Radic Z, Manetsch R, Krasinski A, et al.

- Molecular basis of interactions of cholinesterases with tight binding inhibitors. *Chemico-Biological Interactions* 2005;157-158:133-141.
22. Mohammadi M, Saeedi M, Zafarghandi NS, Mahdavi M, Sabourian R, Razkenari EK, Alinezhad H, Khanavi M, Foroumadi A, Shafiee A, Akbarzadeh T. Potent acetylcholinesterase inhibitors: Design, synthesis, biological evaluation, and docking study of acridone linked to 1,2,3-triazole derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry* 2015;92:799-806.