

Evaluasi Aktivitas Antioksidan Senyawa 4-[(E)-2-(4-okso-3-fenilkuinazolin-2-il)etenil]-benzensulfonamida dan Analognya

Catur Jatmika¹, Baitha Palanggatan Maggadani¹, Hayun¹

¹Fakultas Farmasi, Universitas Indonesia, Depok 16424

Email: caturjatmika@farmasi.ui.ac.id

Abstrak

Senyawa turunan kuinazolinon diketahui memiliki aktivitas biologi yang luas termasuk sebagai antioksidan. Senyawa turunan kuinazolinon 4-[(E)-2-(4-okso-3-fenilkuinazolin-2-il)etenil]-benzensulfonamida dan analognya (2a-f) telah disintesis dan diketahui memiliki aktivitas sebagai inhibitor siklooksigenase-2 selektif. Penelitian ini bertujuan mengevaluasi aktivitas antioksidan senyawa 4-[(E)-2-(4-okso-3-fenilkuinazolin-2-il)etenil]-benzensulfonamida dan analognya dengan metode *scavenging* radikal DPPH, metode aktivitas potensial reduksi besi, dan metode Fosfomolibdate. Hasil penelitian menunjukkan senyawa 2c, 2e, dan 2f memiliki aktivitas % inhibisi dan antioxidant yang lebih tinggi untuk dibandingkan dengan senyawa 2a, 2b dan 2d. Analisa dengan metode *scavenging* radikal DPPH menunjukkan % inhibisi senyawa 2c, 2e, dan 2f secara berturut-turut adalah 4,8%, 3,46%, dan 3,68% pada konsentrasi larutan senyawa 1000 µg/mL. Sedangkan kapasitas total antioksidan senyawa 2c, 2e, dan 2f secara berturut-turut adalah 37,93, 33,4, dan 46,3 µg ekivalen asam askorbat/mg senyawa. Namun aktivitas antioksidan senyawa (2a-f) masih lebih rendah dibandingkan dengan standar asam askorbat.

Abstract

Quinazolinone derivative compounds exhibit a broad spectrum of biological activity, including antioxidant. Quinazolinone derivative compound 4-[(E)-2-(4-oxo-3-phenyl quinazolin-2-yl)ethenyl]-benzensulfonamida and its analogs (2a-f) have been synthesized and demonstrated its activity as a selective inhibitor of cyclooxygenase-2. The aim of this research was to evaluate the antioxidant activity of compound 4-[(E)-2-(4-oxo-3-fenilkuinazolin-2-yl)ethenyl]-benzensulfonamida and its analogs with DPPH radical *scavenging* method, ferric reducing activity potential (FRAP), and phosphomolybdenum method. The experiment revealed that the % inhibition and antioxidant capacity of compound 2c, 2e and 2f were higher compared to compound 2a, 2b and 2d. The DPPH radical scavenging analysis found that the % inhibition of compound 2c, 2e and 2f at high concentration of compound solution (1000 µg/mL) were 4.8 %, 3.46 %, and 3.68 %, respectively. While the total antioxidant capacity of compound 2c, 2e and 2f were recorded 37.93, 33.4, and 46.3 µg ascorbic acid equivalence/mg of compound, respectively. However the antioxidant activity of all synthesized compounds (2a-f) were lower than the standard ascorbic acid.

Keywords : quinazolinone, scavenging activity, ferric reducing activity potential, phosphomolybdenum

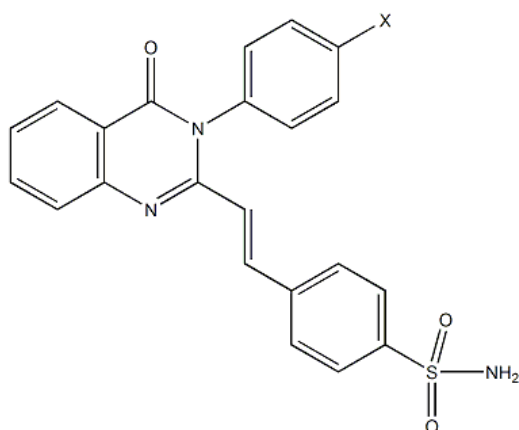
PENDAHULUAN

Antioksidan memiliki peranan penting dalam menjaga kesehatan tubuh. Senyawa antioksidan diperlukan untuk melindungi tubuh dari pengaruh senyawa-senyawa radikal bebas yang dihasilkan dari proses oksidasi yang terjadi pada proses transformasi energi metabolik. Senyawa radikal bebas selain yang dihasilkan tubuh (endogen) juga berasal dari luar tubuh (eksogen). Semakin banyak tubuh terpapar ROS (*reactive oxygen species*), maka akan semakin besar kemungkinan terjadinya oksidasi terutama pada senyawa lipid. Proses ini akan berperan penting terhadap timbulnya penyakit terkait usia seperti kanker, hipertensi, aterosklerosis, alzheimer, dan parkinson (Azima *et al.*, 2004). Untuk melindungi tubuh dari efek radikal bebas tersebut maka diperlukan antioksidan atau radikal scavenger (Stojanovic *et al.*, 2001).

Senyawa turunan kuinazolinon diketahui memiliki aktivitas biologi yang luas seperti antioksidan, antitumor, antibakteri, antifungi, antikonvulsan, dan antiinflamasi (Singh *et al.*, 2013). Beberapa senyawa kuinazolinon dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan. Hasil uji antioksidan senyawa 2-(4-oxo-2-phenylquinazolin-3(4H)-yl) tersubstitusi asam asetat menunjukkan sebagian besar senyawa tersebut memiliki aktivitas antioksidan dan antiinflamasi. Pada hasil penelitian tersebut % inhibisi DPPH tertinggi mencapai 84,9%, sedangkan pada

standar (tokoferol) inhibisi DPPH mencapai 85% (Banu *et al.*, 2012). Senyawa turunan kuinazolinon 4-(3H)-quinazolinon dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan dan antiinflamasi. Aktivitas antioksidan tersebut relatif efektif dibandingkan dengan standar asam askorbat (Priya *et al.*, 2011). Senyawa 4-(3H)-quinazolinon tersubstitusi pada posisi 2,3 dilaporkan memiliki potensi aktivitas antioksidan dan antimikroba cukup baik dibandingkan dengan standar (Rajasekaran *et al.*, 2010). Selain itu, dilaporkan senyawa 4-(3H)-quinazolinon tersubstitusi pada posisi 2,3 dengan substituen yang banyak gugus OH memiliki aktivitas antioksidan yang lebih baik (Kumar *et al.*, 2011).

Senyawa turunan kuinazolinon 4-[(E)-2-(4-okso-3-fenilkuinazolin-2-il)etenil]-benzensulfonamida dan analognya telah disintesis dan diketahui memiliki aktivitas sebagai inhibitor siklooksigenase-2 selektif (Hayun, 2012). Namun, tidak menutup kemungkinan senyawa tersebut memiliki aktivitas biologi lain seperti aktivitas antioksidan. Struktur senyawa tersebut mirip dengan senyawa turunan kuinazolinon lain yang telah diketahui secara *in vitro* memiliki aktivitas antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan senyawa 4-[(E)-2-(4-okso-3-fenilkuinazolin-2-il)etenil]-benzensulfonamida dan analognya dengan metode *scavenging* radikal DPPH, metode aktivitas potensial reduksi besi, dan metode fosfomolibdate.



Gambar 1, Struktur kimia senyawa 4-[(E)-2-(4-okso-3-fenilkuinazolin-2-il)etenil]-benzensulfonamida

METODE

Peralatan yang dipergunakan meliputi Spektrofotometer *UV-Visible* Jasco 530, Microplate Reader Biotek ELx808, kuvet, timbangan analitik, dan alat-alat gelas. Bahan yang digunakan meliputi hasil sintesis senyawa (2a-f), 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), trypridyltriazine (TPTZ), natrium asetat, asam asetat, natrium fosfat, asam klorida, asam sulfat, ammonium molibdat, feri klorida, asam askobat, dimethyl sulfoxide (DMSO), aquades, metanol, etanol, dan Tetrahydrofuran (THF).

Metode *scavenging* radikal DPPH

Senyawa 4-[(E)-2-(4-okso-3-fenilkuinazolin-2-il)etenil]-benzensulfonamida dan analognya (2a-f) dilarutkan dalam DMSO dan diencerkan hingga diperoleh konsentrasi 50, 100, 200, 400, dan 1000 $\mu\text{g/mL}$ larutan uji. Larutan DPPH dibuat dengan cara melarutkan 10 mg DPPH dalam 25

Tabel 1. Substituen senyawa 4-[(E)-2-(4-okso-3-fenilkuinazolin-2-il)etenil]-benzensulfonamida

Senyawa	Substituen (-X)
2a	H
2b	CH ₃
2c	OCH ₃
2d	Cl
2e	Br
2f	COOC ₂ H ₅

mL metanol. Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan cara menambahkan 1200 μL larutan DPPH pada 300 μL larutan uji. Campuran selanjutnya diinkubasi selama 30 menit di ruang gelap pada suhu ruangan, kemudian absorbansi larutan diukur dengan menggunakan spektrofotometer pada λ 517 nm. Asam askorbat digunakan sebagai standar sedangkan DMSO digunakan sebagai blanko. Semakin rendah nilai absorbansi yang diperoleh mengindikasikan semakin tinggi aktivitas *scavenging* radikal bebas pada larutan uji. Aktivitas *scavenging* radikal diukur menggunakan rumus berikut.

$$\% \text{ aktivitas antioksidan} = \frac{A - B}{B} \times 100 \%$$

A = absorbansi larutan control

B = absorbansi larutan uji

Metode DPPH ini dilakukan berdasarkan penelitian Zaranappa *et al.*, 2012 yang telah modifikasi.

Metode aktivitas potensial reduksi besi (*ferric reduction activity potential/FRAP*)

Metode ini melibatkan reaksi reduksi Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} . Proses perubahan kompleks besi (III) sianida menjadi Fe^{2+} dapat diukur menggunakan spektrofotometer pada λ 700 nm. Perubahan dapat dilihat dari terbentuknya warna biru pada larutan. Semakin tinggi absorbansi yang terukur maka semakin tinggi kemampuan reduksinya.

Senyawa 4-[(E)-2-(4-okso-3-fenilkuinazolin-2-il)etenil]-benzensulfonamida dan analognya (2a-f) dilarutkan dalam DMSO dan diencerkan hingga diperoleh konsentrasi 50, 100, 200, 400, dan 1000 $\mu\text{g/mL}$ larutan uji. 20 μL larutan uji dicampurkan dengan 180 μL reagen FRAP dalam pelat mikroplate reader. Diinkubasi selama 6 menit kemudian absorbansi diukur pada panjang gelombang 595 nm dengan mikroplate reader. Reagen FRAP dibuat dengan cara mencampurkan 300 mM buffer asetat pH 3,6, 10 mM TPTZ dalam 40 mM HCl, dan 20 mM $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ dengan perbandingan volum 10:1:1. Asam askorbat digunakan sebagai standar dan sebagai blanko digunakan DMSO. Aktivitas FRAP dinyatakan dalam ferrous equivalent (FE) yaitu konsentrasi senyawa uji yang menghasilkan absorbansi yang sama dengan nilai absorbansi yang dihasilkan larutan uji 1 mM FeSO_4 . Metode ini dilakukan sesuai dengan penelitian Clarke, *et al.* 2013

Metode fosfomolibdate

Senyawa 4-[(E)-2-(4-okso-3-fenilkuinazolin-2-il)etenil]-benzensulfonamida dan

analognya (2a-f) dilarutkan dalam DMSO dan diencerkan hingga diperoleh konsentrasi 50, 100, 200, 400, dan 1000 $\mu\text{g/mL}$ larutan uji. Larutan uji diambil sebanyak 200 μL kemudian dicampurkan dengan 1 mL reagen fosfolibdate (600 mM H_2SO_4 , 28 mM natrium fosfat, 4 mM ammonium molibdate). Tabung berisi campuran ditutup kemudian diinkubasi dalam penangas air bersuhu 95°C selama 90 menit. Setelah didinginkan hingga suhu kamar, larutan diukur menggunakan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 695 nm DMSO digunakan sebagai blanko dan asam askorbat digunakan sebagai standar. Metode ini dilakukan berdasarkan penelitian Vijayakumar *et al.*, 2011 yang telah dimodifikasi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

DMSO merupakan salah satu pelarut yang dapat melarutkan senyawa turunan kuinazolinon sehingga digunakan sebagai pelarut sampel. Asam askorbat digunakan sebagai standar karena diduga mekanisme antioksidan senyawa turunan kuinazolinon ini sama dengan asam askorbat. Senyawa 2,3-dihidro-2-(3,4-dihidroksifenil)pirazolol[5,1-b]kuinazolin-9(1H)-one (**3**) memiliki mekanisme aktivitas antioksidan *scavenging* radikal/peredaman radikal bebas karena adanya sistem delokalisasi elektron (Hussein *et al.*, 2013). Mekanisme senyawa (**3**) ini sama dengan mekanisme antioksidan asam askorbat (Soderberg, 2013). Diketahui struktur senyawa uji 2(a-f) memiliki kemiripan dengan senyawa (**3**), sehingga

diharapkan juga memiliki mekanisme antioksidan yang sama dengan asam askorbat. Penggunaan asam askorbat sebagai standar dalam uji antioksidan senyawa turunan kuinazolinon telah banyak dilakukan. Hal ini memudahkan ketika membandingkan aktivitas antioksidan senyawa uji dengan turunan kuinazolinon lain yang telah diuji sebelumnya.

Metode *scavenging* radikal DPPH

Metode ini mengukur kemampuan suatu senyawa untuk bereaksi dengan senyawa

radikal bebas (dalam satu tahap reaksi radikal bebas) (Tirzitis *et al.*, 2010). Metode DPPH merupakan metode yang paling umum digunakan dalam pengujian aktivitas antioksidan. Larutan DPPH akan bereaksi dengan antioksidan menjadi diphenylpicrylhydrazine. Perubahan senyawa DPPH ini dideteksi dengan melihat turunnya absorbansi larutan DPPH ketika ditambahkan dengan senyawa antioksidan (Molyneux, 2004). Semakin besar penurunan absorbansi maka semakin besar aktivitas antioksidan yang dimiliki oleh larutan uji.

Tabel 2. Nilai absorbansi* uji *scavenging* radikal sampel 2(a-f) pada beberapa konsentrasi

Senyawa	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)				
	50	100	200	400	1000
2a	0,6770	0,6771	0,6764	0,6749	0,6709
2b	0,6627	0,6564	0,6546	0,6692	0,6684
2c	0,6698	0,6704	0,6696	0,6613	0,6450
2d	0,6814	0,6840	0,6821	0,6830	0,6957
2e	0,6788	0,6719	0,6697	0,6684	0,6541
2f	0,6665	0,6646	0,6632	0,6647	0,6526
Kontrol	0,6775	0,6775	0,6775	0,6775	0,6775
	20	40	60	80	100
Asam askorbat	0,6407	0,5603	0,4728	0,3408	0,2431

Keterangan

*) Nilai absorbansi rata-rata dari 3 kali percobaan

Pada Tabel 2 dapat dilihat secara umum keenam senyawa memiliki aktivitas *scavenging* radikal yang kecil. Hal ini dapat dilihat dari penurunan konsentrasi terhadap

kontrol yang kecil dibandingkan dengan standar asam askorbat. Untuk lebih jelas dapat dilihat data % inhibisi peredaman DPPH pada Tabel 3.

Tabel 3. Persen inhibisi sampel dan standar asam askorbat pada berbagai konsentrasi

Senyawa	% Inhibisi				
	50 (µg/mL)	100 (µg/mL)	200 (µg/mL)	400 (µg/mL)	1000 (µg/mL)
2a	0,08	0,06	0,16	0,39	0,97
2b	2,18	3,11	3,38	1,23	1,35
2c	1,14	1,05	1,17	2,39	4,80
2d	-0,58	-0,96	-0,68	-0,81	-2,69
2e	-0,20	0,83	1,15	1,35	3,46
2f	1,62	1,91	2,11	1,89	3,68

	20 (µg/mL)	40 (µg/mL)	60 (µg/mL)	80 (µg/mL)	100 (µg/mL)
asam askorbat	5,43	17,30	30,21	49,70	64,12

Persen inhibisi DPPH menunjukkan aktivitas *scavenging* radikal yang dimiliki setiap sampel. Dapat dilihat, seluruh senyawa memiliki persen inhibisi yang kecil dibandingkan dengan standar. Senyawa 2c, 2e, dan 2f memiliki persen inhibisi yang relatif lebih besar pada konsentrasi 1000 µg/mL dibandingkan dengan senyawa uji lain. Senyawa 2c memiliki persen inhibisi terbesar yaitu 4,8 % pada konsentrasi 1000 µg/mL. Meskipun demikian, persen inhibisi ini masih jauh lebih kecil bila dibandingkan dengan standar asam askorbat pada konsentrasi 100 ppm yang mencapai 64 %.

Metode aktivitas potensial reduksi besi (*ferric reduction activity potential/FRAP*)

Metode ini melibatkan reaksi reduksi Fe³⁺ menjadi Fe²⁺. Spesi Fe³⁺ bersumber dari reagen FRAP yang merupakan campuran dari buffer acetat, TPTZ, dan FeCl₃. Apabila

larutan uji memiliki aktivitas antioksidan (membuat senyawa lain mengalami reduksi) akan terjadi reaksi reduksi Fe³⁺ menjadi Fe²⁺. Reaksi reduksi Fe ini menyebabkan pembentukan senyawa kompleks Fe(II) tripyridyltriazine berwarna biru yang dapat dideteksi secara spektrofometri pada panjang gelombang 595 nm. Terbentuknya warna biru yang semakin pekat mengindikasikan terbentuknya ion Fe²⁺ yang semakin banyak. Oleh sebab itu, Semakin tinggi intensitas warna biru yang terbentuk menunjukkan potensi antioksidan yang semakin tinggi. Aktivitas antioksidan sampel dinyatakan dalam ekivalensi Fe(II), yaitu konsentrasi larutan yang menghasilkan absorbansi yang sama dengan absorbansi yang dihasilkan oleh larutan 1 mM FeSO₄ (Clarke *et al.*, 2013).

Pengujian dilakukan pada beberapa konsentrasi sampel. Persamaan regresi

linier yang diperoleh dari data absorbansi dan konsentrasi sampel digunakan untuk menghitung konsentrasi sampel yang menghasilkan absorbansi yang sama dengan larutan 1 mM FeSO₄. Nilai FRAP sampel dapat dilihat pada Tabel 4.

Semakin kecil nilai FRAP suatu sampel menandakan aktivitas antioksidan sampel tersebut semakin besar. Nilai FRAP yang kecil berarti hanya dibutuhkan konsentrasi sampel yang kecil untuk mencapai absorbansi yang dihasilkan larutan 1 mM FeSO₄ (Untuk

Tabel 4. Nilai FRAP larutan uji

Sampel	2a	2b	2c	2d	2e	2f	Asam Askobat
Nilai FRAP	3650	4821	7430	19745	9137	8584	687

mengubah Fe³⁺ menjadi Fe²⁺). Percobaan ini menggunakan asam askorbat sebagai pembanding. Dapat dilihat nilai FRAP asam askorbat lebih kecil dibandingkan dengan sampel yang diuji. Hal ini menunjukkan aktivitas antioksidan sampel yang rendah dibandingkan dengan aktivitas antioksidan asam askorbat.

Sampel 2a dan 2b memiliki nilai FRAP relatif lebih kecil dibandingkan dengan sampel uji lain yaitu berturut-turut 3650 dan 4821. Sedangkan sampel 2c, 2e, dan 2f yang memiliki aktivitas peredaman DPPH relatif lebih besar dibandingkan dengan sampel uji lain memiliki nilai FRAP berturut-turut sebesar 7430, 9170, dan 8584. Sampel 2d yang memiliki aktivitas peredaman DPPH paling rendah memiliki nilai FRAP terbesar yaitu 19745.

Uji aktivitas antioksidan dengan metode FRAP dapat menjadi pilihan untuk sampel yang memiliki jumlah yang kecil. Waktu

analisis yang relatif cepat karena dilakukan menggunakan *microplate reader* menjadi keunggulan metode ini, namun memang terdapat keterbatasan dalam menentukan waktu reaksi (waktu inkubasi) karena metode ini tidak dapat mengukur kapan reaksi berakhir sehingga perlu dilakukan penyesuaian waktu dalam pengukuran absorbansi pada sampel uji. (Prior *et al.*, 2005). Waktu inkubasi selama 30 menit dilakukan untuk memastikan reaksi pembentukan kompleks berlangsung dan untuk meminimalisasi pengaruh perbedaan waktu dalam penambahan reagen pada plate.

Metode fosfomolibdate

Metode ini mengukur kapasitas total antioksidan. Reaksi antara larutan uji (suatu antioksidan) dengan reagen fosfomolibdate (H₂SO₄, natrium fosfat, dan ammonium molibdate) akan menyebabkan reduksi Mo(VI) menjadi Mo(V). Terbentuknya warna biru pada larutan merupakan indikator adanya senyawa Mo(V) dalam larutan.

Intensitas warna biru larutan diukur dengan spektrofotometri UV pada panjang gelombang 695 nm (Nur Alam *et al.*, 2013). Dari data kurva antara absorbansi dan konsentrasi yang diperoleh pada pengukuran standar asam askorbat diperoleh persamaan regresi linier untuk menghitung Kapasitas total antioksidan senyawa. (Buchari *et al.*, 2013) Kapasitas total antioksidan dinyatakan dalam μg ekuivalen asam askorbat/mg senyawa. Data kapasitas total antioksidan senyawa uji dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Kapasitas total antioksidan dengan metode fosfomolibdate

Senyawa	Kapasitas Total Antioksidan (μg ekuivalen asam askorbat/mg senyawa)
2a	8,53
2b	29
2c	37,93
2d	27,4
2e	33,4
2f	46,3

Dari Tabel 5 dapat dilihat nilai kapasitas total antioksidan senyawa 2c, 2e, dan 2f relatif lebih tinggi dari senyawa lain. Kapasitas total antioksidan senyawa 2c, 2e, dan 2f berturut-turut adalah 37,93, 33,4, dan 46,3 μg ekuivalen asam askorbat/mg senyawa. Namun apabila dibandingkan dengan senyawa antioksidan alami nilai ini masih relatif kecil. Terdapat kesesuaian hasil uji metode *scavenging* radikal DPPH dengan metode fosfomolibdate, dimana senyawa 2c, 2e, dan 2f memiliki hasil yang lebih baik

dibandingkan dengan senyawa uji lain. Hasil penelitian ini berbeda dengan hasil penelitian lain (Banu *et al.*, 2012) dimana pada senyawa turunan kuinazolinon tersebut terdapat korelasi antara aktivitas antiinflamasi dan antioksidannya.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan senyawa 2c, 2e, dan 2f memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan dengan senyawa 2a, 2b, dan 2d. Namun, aktivitas antioksidan tersebut masih lebih rendah dibandingkan dengan standar asam askorbat.

DAFTAR ACUAN

- Azima, F., Muchtadi, D., Zakaria, F.R., & Priosoeryanto, B.P. (2004). Kandungan fitokimia dan aktivitas antioksidan ekstrak cassia vera (*Cinnamomum burmanii*). *Stigma*, 12(2), 232-236
- Banu, B. H., Bharati, K., & Prasad, K. (2012). Synthesis, characterization and evaluation of in vitro antioxidant and anti-inflammatory activity of 2-(4-oxo-2-phenylquinazolin-3(4H)-yl) substituted acetic acids. *IOSR Journal of Pharmacy*, 2(1), 97-104
- Bukhari, S.M., Simic, N., Siddiqui, H.L., & Ahmad, V.U. (2013). Determination of antioxidant activity of *Crambe cordifolia*. *World Applied Sciences Journal*, 22(11), 1561-1565
- Clarke, G., Ting, K.N., Wiart, C., & Fry, J.

- (2013). High correlation of 2,2-diphenyl-1-picryl (DPPH) radical scavenging, ferric reducing activity potential and total phenolic content indicates redundancy in use of all three assays to screen for antioxidant activity of extracts of plants from the Malaysian rainforest. *Antioxidant*, 2(1), 1 – 10
- Hayun. (2012). Synthesis and COX-2 inhibitory activity of 4-[(E)-2-(4-oxo-3-fenilkuinazolin-2-il)etenil]-benzensulfonamida and its analogs. *Pharmaceuticals*, 5, 1282-1290
- Kumar, A., Sharma, P., Kumari, P., & Kalal, B.L. (2011). Exploration of antimicrobial and antioxidant potential of newly synthesized 2,3-disubstituted quinazolin-4(3H)-ones. *Bioorganics and Medicinal Chemistry Letters*, 21, 4353-4357
- Rajasekaran, S., Rao, G., Pai, S., & Sodhi, G.S. (2010). Synthesis, antibacterial and invitro antioxidant activity of 2,3-substituted quinazolin-4(3H)-ones. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 2(1), 482-488
- Singh, L.R., Kumar, M., & Shaharyar, M. (2013). Pharmacological evaluation of quinazolinone derivatives: a review. *Journal of Pharmacy Bioanalytical Science*, 2(3), 35-38
- Nur Alam, M., Bristi, N.J., & Rafiquzzaman, M. (2013). Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 21, 143-152
- Prior, R.L., Wu, X., & Schaich, K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 4290-4320
- Priya, M.G.R., Girija, K., & Ravichandran, N. (2011). Invitro study of anti-inflammatory and antioxidant activity of 4-(3H)-quinazolinone derivatives. *Rasayan Journal of Chemistry*. 4(2), 418-424
- Soderberg, T. (2013). *Organic Chemistry With a Biological Emphasis*, Volume 2, Chapter 17, University of Minnesota, Morris. (open access organic chemistry textbook)
- Stojanovic, H., Sprinz & Brede, O. (2001). Efficiency and mechanism of the antioxidant action of trans-resveratrol and its analogues in the radical liposome oxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 291, 79-89
- Tirzitis, G. and Bartosz, G. (2010). Determination of antiradical and antioxidant activity : basic principles and new insights (review). *Acta Biochimica Polonica*, 57(1), 139-142
- Vijayakumar, B., Kumar, C.P., Sivaprasad, G., Nirosha, K., Rokkam, S., & Mohanambal, E. (2011). Evaluation of in vitro antioxidant activity of 1,2,3,4-tetrahydroquinazolinone derivatives. *International Journal of Novel Trend in Pharmaceutical Sciences*, 1(1), 1-4
- Zaranappa, Vagdevi, H.M., Lokesh, M.R., & Gowdarshivannanavar, B.C. (2012). Synthesis and antioxidant activity of 3-substituted schiff bases of quinazolin-2,4-diones. *International Journal of Chem Tech Research*, 4(4), 1527-1533