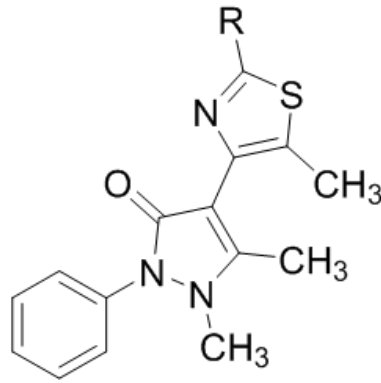


ÖZET**PIRAZOLON TÜREVİ BİLEŞİKLERİN SENTEZİ VE COX ENZİMLERİ ÜZERİNE
ETKİLERİ**

Buluş, Pirazolon türevi 8 bileşiğin sentezi ve COX enzim aktivitesi ile ilgilidir.

İSTEMLER

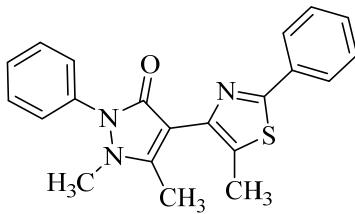
1. Formül (I)'e sahip olan bileşik veya bunların farmasötik açıdan kabul edilebilir tuzu ve/veya solvatu olup,



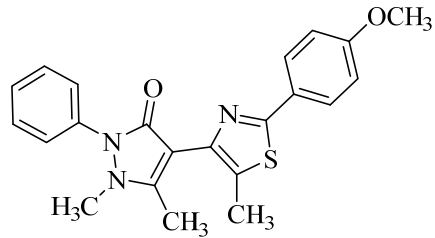
Formül (I)

R sübstitüenti: Fenil, 4-metoksifenil, 4-klorofenil, 2-piridil, 3-piridil, 4-piridil, Pirimidin-2-il veya Pirazin-2-il'dir.

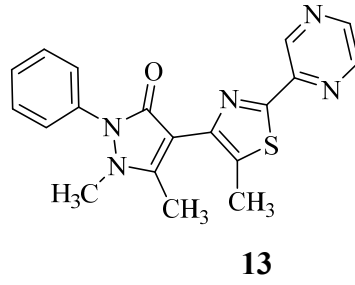
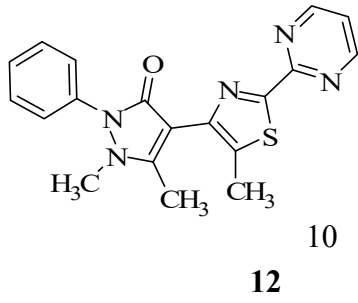
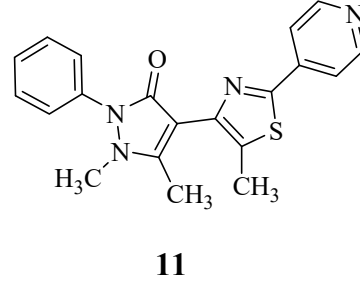
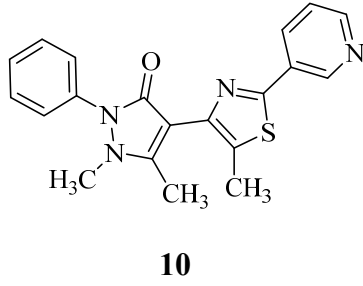
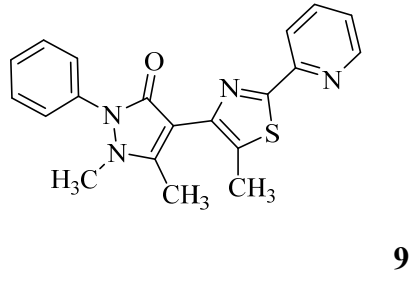
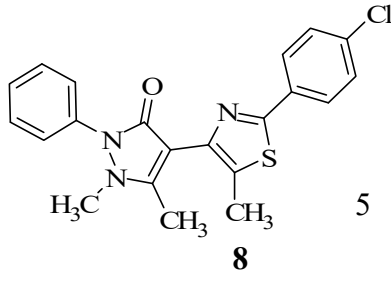
2. İstem 1'e uygun bileşik olup özelliği; söz konusu bileşiğin aşağıdaki gruptan seçilmesidir.



6



7



3. Yukarıdaki istemlerden herhangi birine göre bir bileşik içeren farmasötik kompozisyon.
- 15 4. İstem 4'e uygun farmasötik kompozisyon olup özelliği; kanser tedavisinde kullanılacak ilacın hazırlanmasında kullanılmasıdır.
5. İstem 1'e uygun bileşik veya bunların farmasötik açıdan kabul edilebilir tuzu ve/veya solvatının Siklooksijenaz (COX) enzim inhibitörü olarak kullanımı.
- 20 6. İstem 1'e uygun bileşik veya bunların farmasötik açıdan kabul edilebilir tuzu ve/veya solvatının sentezi için yöntem olup özelliği;
 - j) 1 mol antipirinin benzen içerisinde çözülerek ısıtılması,
 - k) İçerisine damla damla 1.2 mol 2-kloropropiyonil klorür ilave edilmesi,
 - l) Reaksiyonun 48-72 saat boyunca kaynatılması,

- 5 m) Soğutulup çökene kadar 10-20 °C derecedeki soğutucuda bekletilmesi,
- n) Oluşan çökeleğin etanolde kristallendirilmesi,
- o) Elde edilen 4-(2-kloropropanoil)-1,5-dimetil-2-fenil-1,2-dihidro-3H-pirazol-3-on bileşiğinin eşit moldeki tiyobenzamit, 4-metoksitiyobenzamit, 4-klorotiyobenzamit, piridin-2-tiyoamit, piridin-3-tiyoamit, piridin-4-tiyoamit, 10 pirimidin-2-tiyoamit, pirazin-2-tiyoamit arasından seçilen tiyoamit türevi ile etanol içinde kaynatılarak 4 saat ile 48 saat arasında reaksiyona sokulması,
- p) Reaksiyon sonunda çökme olması durumunda çökelek alınıp suyla karıştırıldıktan sonra sodyum asetat ile nötralize edilmesi ve etanol veya etil asetat ile kristallendirilmesi,
- 15 q) Reaksiyon sonunda çökme olmaması durumunda reaksiyon ortamındaki etanolün uçurulması, %10 sodyum hidroksit / etil asetat ekstraksiyonuyla iki kez ekstre edilmesi,
- r) Etil asetat, sodyum sülfat ile kurutulduktan sonra uçurularak elde edilen ürünün etil asetat veya etanolden 2 kez kristallendirilerek temizlenmesi
- 20 işlem adımlarını içermesidir.

25

30

35

TARİFNAME

PİRAZOLON TÜREVİ BİLEŞİKLERİN SENTEZİ VE COX ENZİMLERİ ÜZERİNE ETKİLERİ

Buluşun İlgili Olduğu Teknik Alan

- 5 Buluş, Pirazolon türevi 8 bileşiğin sentezi ve bunların COX enzim aktivitesi ile ilgilidir.

Buluşla İlgili Tekniğin Bilinen Durumu (Önceki Teknik)

İltihaplanma olarak bilinen inflamasyon, insanlarda meydana gelen ve bağışıklık sisteminin vücudu çeşitli hastalık veya yaralanmalara karşı korumak amacıyla oluşturduğu bir tepkidir.

- 10 Akut ve kronik inflamasyon; damar sertliği, kalp hastalığı, kanser, artrit (eklem iltihabı), metabolik sendrom, yüksek tansiyon, Parkinson, Alzheimer hastalığı, astım, iltihaplı bağırsak hastalığı ve diyabet gibi pek çok hastalığa sebep olabilmektedir. İnflamasyonun inhibisyonunda klasik steroid olmayan antiinflamatuvar ilaçlar (NSAİİ) kullanılmaktadır.

- 15 Siklooksijenazlar (COX), 3 izoformdan (COX-1, COX-2, COX-3) oluşan, ağrı giderilmesi ve inflamasyon tedavisinde hedef olan bir enzim grubudur. COX izoformlarından biri olan COX-2 ise, çoklu prokarsinogenik etkilerin modülasyonuna katkıda bulunan prostanooidlerin oluşumundan sorumlu bir prostaglandin endoperoksit sentaz 2 enzimidir. Birçok kanser tipinde bu enzimin aşırı ekspresyonu edildiği ve marker olarak kullanıldığı gösterilmiştir. COX-2'nin aşırı ekspresyonunun karsinogenezi arttırdığı, bunun yanında kanserin nüks etme oranını ve invazyonu arttırdığı, hayatta kalmayı azalttığı, kanser hücrelerini radyoterapi ve kemoterapiye karşı dirençli hale getirdiği gösterilmiştir. COX inhibitörlerine selekoksib, indometazin, metamizol, aminopirin örnek gösterilebilir.

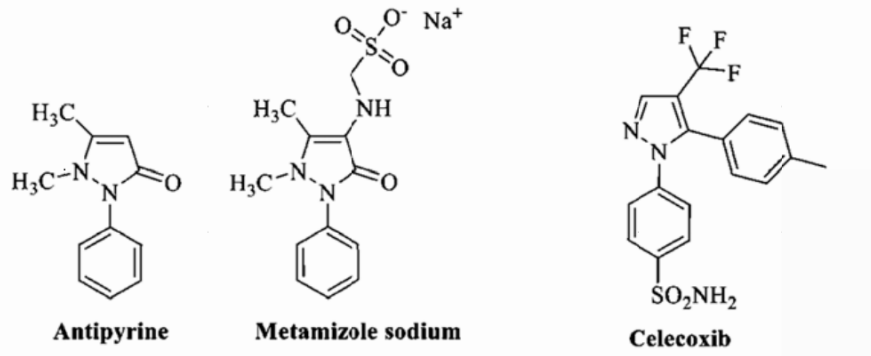
- 25 Yukarıda bahsedilen pek çok hastalığa sebep olan inflamasyonun inhibisyonu özellikle kanser tedavileri için yeni bir umuttur. Bu nedenle yan etkileri daha az ve daha etkili bileşiklere ihtiyaç duyulmaktadır.

Buluşun Kısa Açıklaması ve Amaçları

Buluşun öncelikli amacı, eski aktif bileşikler temel alınarak yan etkileri daha az ve daha etkili orjinal bileşiklerin sentezlenmesidir.

5 Buluşun amacı, pirazolon türevi 8 bileşiğin sentezlenmesi ile yeni kimyasallar ortaya koymak ve COX enzimleri üzerine etkilerini göstermektir.

10 Buluş ile sentezlenen bileşiklerin in-vitro düzeyde COX enzimini inhibe ettiği gösterilmiştir. Bu bileşiklerin, bu nedenden dolayı antikanser etki gösterme potansiyeli bulunmaktadır. Buluş bileşikleri aşağıda belirtilen COX inhibitörleri olan Antipirin ve Novalgine (metamizol sodium) ve ayrıca antikanser bileşiği olarak bilinen celekoksib ile yapısal olarak benzerik göstermektedir.

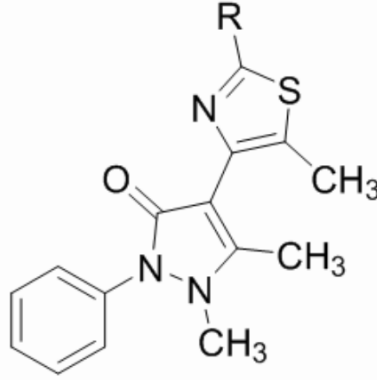


15 Buluşun Ayrıntılı Açıklaması

Buluş, pirazolon türevi bileşiklerin sentezlenmesi, antikanser etkinlikleri değerlendirilip COX enzimi üzerindeki etki mekanizmasının aydınlatılması ve antiinflamatuvar ve antikanser ilaç geliştirilmesi ile ilgilidir. Buluş bileşik veya bunların farmasötik açıdan kabul edilebilir tuzu ve/veya solvatını içeren farmasötik kompozisyon, inflamasyon veya kanser tedavisinde kullanılabilecek ilaçların hazırlanmasında kullanıma potansiyeline sahiptir.

20

Mevcut buluş Formül (I)'e sahip olan bileşik veya bunların farmasötik açıdan kabul edilebilir tuzu ve/veya solvatı olup,



5

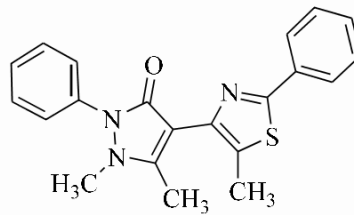
Formül (I)

R süstitüenti: Fenil, 4-metoksifenil, 4-klorofenil, 2-piridil, 3-piridil, 4-piridil, Pirimidin-2-il veya Pirazin-2-il'dir.

10

Buluş ile sentezlenen bileşikler ve karakterizasyon sonuçları aşağıda açıklanmaktadır:

Bileşik 1: 1,5-dimetil-4- (5-metil-2-feniltiyazol-4-il) -2-fenil-1,2-dihidro-3H-pirazol-3-on



6

15 Verim: % 70

E.n.: 182-184 °C

IR ν_{maks} (cm⁻¹): 3060-2920 (C-H gerilmeleri), 1654.04 (C=O gerilmesi), 1585.34 (ikili bağ gerilmeleri)

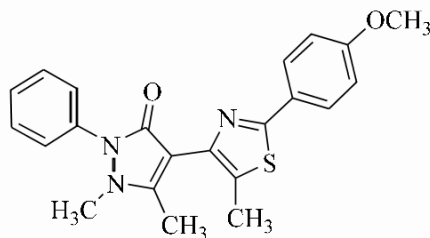
20 **¹H NMR(500MHz)(DMSO-d₆) δ (ppm) :** 2.39 (3H, s, CH₃), 2.45 (3H, s, CH₃), 3.22 (3H, s, N-CH₃), 7.32-7.44 (3H, m, Ar), 7.46-7.51 (3H, m, Ar), 7.52-7.57 (2H, m, Ar), 7.89 (2H, dd, J: 8.86 Hz, j: 1.67 Hz, Ar).

¹³C NMR(125 MHz)(DMSO-d₆) δ(ppm) : 12.25 (Ar-CH₃), 12.62 (Ar-CH₃), 35.69(N-CH₃), 103.26, 124.84, 126.15, 127.05, 129.57, 129.68, 130.32, 131.30, 133.73, 135.63, 144.23, 155.46, 163.05 (C=O), 163.37 (tiyazol C₂).

MS (M+H): 362

5

Bileşik 2: 4- (2- (4-metoksifenil) -4-metiltiazol-5-il) -1,5-dimetil-2-fenil-1,2-dihidro-3H-pirazol-3-on



7

10

Verim: % 78

E.n.: 17-171 °C

IR ν_{maks} (cm⁻¹): 3015.2-2836 (C-H gerilmeleri), 1650.05 (C=O gerilmesi), 1615-1587 (ikili bağ gerilmeleri)

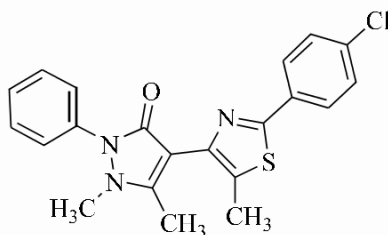
15 ¹H NMR(500MHz)(DMSO-d₆) δ(ppm) : 2.37 (3H, s, CH₃), 2.42 (3H, s, CH₃), 3.20 (3H, s, N-CH₃), 3.81 (3H, s, OCH₃), 7.04 (2H, d, J: 8.73 Hz, Ar), 7.29-7.47 (3H, m, Ar), 7.48-7.60 (2H, m, Ar), 7.89 (2H, d, J: 8.78 Hz, Ar)

¹³C NMR(125 MHz)(DMSO-d₆) δ(ppm) : 12.07(Ar-CH₃), 12.37 (Ar-CH₃), 35.52 (N-CH₃), 55.62 (O-CH₃), 103.30, 114.82, 124.57, 126.43, 126.81, 127.51, 129.37, 129.96, 135.49, 143.61, 155.33, 160.85 (C-OCH₃), 162.85 (C=O), 163.25 (tiyazol C₂)

20

MS (M+H) : 392

Bileşik 3: 4- (2- (4-klorofenil) -5-metiltiyazol-4-il) -1,5-dimetil-2-fenil-1,2-dihidro-3H-pirazol-3-on



25

8

Verim: % 68

E.n.: 184-185 °C

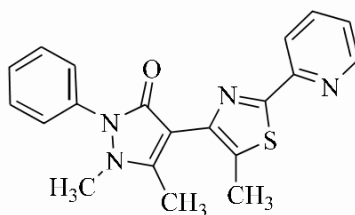
IR ν_{maks} (cm⁻¹): 3044-2842 (C-H gerilmeleri), 1651.94 (C=O gerilmesi), 1622-1499 (C=C, C=N ikili bağ gerilmeleri)

¹H NMR(500MHz)(DMSO-d₆) δ (ppm) : 2.37 (3H, s, CH₃), 2.45 (3H, s, CH₃), 3.21 (3H, s, N-CH₃), 7.43 (3H, m, Ar), 7.48-7.57 (4H, m, Ar), 7.89 (2H, d, J: 8.58 Hz, Ar).

¹³C NMR(125 MHz)(DMSO-d₆) δ (ppm) : 12.24 (Ar-CH₃), 12.64 (Ar-CH₃), 35.66 (N-CH₃), 103.11, 124.84, 127.06, 127.80, 129.56, 129.71, 131.86, 132.54, 134.79, 135.61, 144.45, 155.44, 161.71 (C=O), 163.33 (tiyazol C₂).

MS (M+H) : 396

Bileşik 4: 1,5-dimetil-4- (5-metil-2- (piridin-2-il) tiyazol-4-il) -2-fenil-1,2-dihidro-3H-pirazol-3-on



9

Verim: % 82

E.n.: 258-260 °C

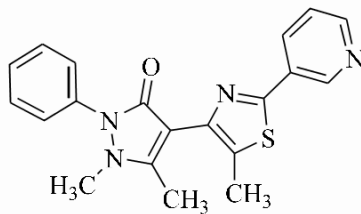
IR ν_{maks} (cm⁻¹): 3100-2865 (C-H gerilmeleri), 1659.95(C=O gerilmesi), 1613-1587.4 (C=C, C=N ikili bağ gerilmeleri)

¹H NMR(500MHz)(DMSO-d₆) δ (ppm) : 2.38 (3H, s, CH₃), 2.46 (3H, s, CH₃), 3.22 (3H, s, N-CH₃), 7.33-7.43 (3H, m, Ar), 7.43-7.50 (1H, m, Ar), 7.50-7.58 (2H, m, Ar), 7.95 (1H, td, J: 7.74 Hz, j: 1.69 Hz Ar), 8.08 (1H, d, J: 7.95 Hz, Ar), 8.62 (1H, d, J: 4.51 Hz, Ar).

¹³C NMR(125 MHz)(DMSO-d₆) δ (ppm) : 12.23 (Ar-CH₃), 12.76 (Ar-CH₃), 35.68, 119.08, 124.85, 125.19, 127.08, 129.58, 133.86, 135.61, 138.12, 144.71, 150.13, 151.18, 155.44, 163.39 (C=O), 164.33 (tiyazol C₂).

MS (M+H) : 363

Bileşik 5: 1,5-dimetil-4- (5-metil-2- (piridin-3-il) tiyazol-4-il) -2-fenil-1,2-dihidro-3H-pirazol-3-on



10

5 Verim: % 80

E.n.: dekompoze $^{\circ}\text{C}$

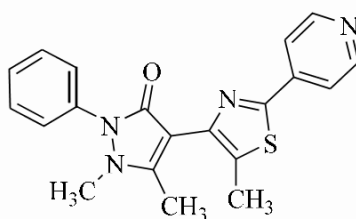
IR ν_{maks} (cm^{-1}): 2989-2901 (C-H gerilmeleri), 1660.60 (C=O gerilmesi), 1616-1527 (C=C, C=N ikili bağ gerilmeleri)

^1H NMR(500MHz)(DMSO- d_6) $\delta(\text{ppm})$: 2.38 (3H, s, CH_3), 2.48 (3H, s, CH_3), 3.23 (3H, s, N- CH_3), 7.31-7.44 (3H, m, Ar), 7.49-7.57 (3H, m, Ar), 7.95 (1H, dt, J: 8.26 Hz, j: 1.96 Hz Ar), 8.65 (1H, dd, J: 4.83 Hz, j: 1.56 Hz, Ar), 9.08 (1H, d, J: 1.82 Hz, Ar).

^{13}C NMR(125 MHz)(DMSO- d_6) $\delta(\text{ppm})$: 12.26 (Ar- CH_3), 12.64 (Ar- CH_3), 35.64, 102.88, 124.73, 124.91, 127.12, 129.59, 132.28, 133.59, 135.56, 144.68, 146.98, 151.00, 155.42, 160.01(C=O), 163.29 (tiyazol C_2).

15 **MS (M+H) :** 363

Bileşik 6: 1,5-dimetil-4- (5-metil-2- (piridin-4-il) tiyazol-4-il) -2-fenil-1,2-dihidro-3H-pirazol-3-on



11

20

Verim: % 84

E.n.: 203-205 $^{\circ}\text{C}$

IR ν_{maks} (cm^{-1}): 3060-2940 (C-H gerilmeleri), 1653.6 (C=O gerilmesi), 1587-1410 (C=C, C=N ikili bağ gerilmeleri)

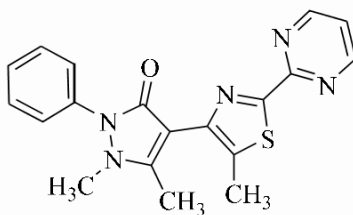
25

¹H NMR(500MHz) (CDCl₃) δ(ppm) : 2.46 (3H, s, CH₃), 2.60 (3H, s, CH₃), 3.24 (3H, s, N-CH₃), 7.32 (1H, t, J: 7.33 Hz, Ar), 7.43 (2H, d, J: 8.16 Hz, Ar), 7.46-7.51 (2H, m, Ar), 7.76 (2H, dd, J: 4.64 Hz, j: 1.44 Hz Ar), 8.67 (2H, dd, J: 4.64 Hz, j: 1.44 Hz, Ar).

¹³C NMR(125 MHz)(CDCl₃) δ(ppm) : 12.24 (Ar-CH₃), 12.85 (Ar-CH₃), 35.45, 104.80, 119.90, 124.68, 126.96, 129.25, 134.36, 135.06, 140.62, 144.48, 150.53, 154.49, 160.70 (C=O), 163.48 (tiyazol C₂).

MS (M+H) : 363

Bileşik 7: 1,5-dimetil-4- (5-metil-2- (pirimidin-2-il) tiyazol-4-il) -2-fenil-1,2-dihidro-3H-pirazol-3-on



12

Verim: % 75

E.n.: 227-228 °C

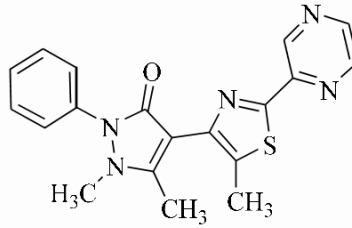
IR ν_{maks} (cm⁻¹): 3100-2916 (C-H gerilmeleri), 1671.62 (C=O gerilmesi), 1651-1488 (C=C, C=N ikili bağ gerilmeleri)

¹H NMR(500MHz)(DMSO-d₆) δ(ppm) : 2.38 (3H, s, CH₃), 2.49 (3H, s, CH₃), 3.22 (3H, s, N-CH₃), 7.35-7.43 (3H, m, Ar), 7.48-7.60 (3H, m, Ar), 8.91 (2H, d, J: 4.88 Hz, Ar).

¹³C NMR(125 MHz)(DMSO-d₆) δ(ppm) :12.24 (Ar-CH₃), 12.75 (Ar-CH₃), 35.68, 103.21, 121.68, 124.85, 125.24, 127.09, 128.01, 129.59, 129.87, 135.65, 135.86, 145.78, 155.59, 158.54, 159.22, 162.11 (C=O), 163.46 (tiyazol C₂).

MS (M+H) : 364

Bileşik 8:1,5-dimetil-4- (5-metil-2- (pirazin-2-il) tiyazol-4-il) -2-fenil-1,2-dihidro-3H-pirazol-3-on



13

Verim: % 80

E.n.: 19-198 °C

- 5 **IR ν_{maks} (cm^{-1}):** 3057-2920 (C-H gerilmeleri), 1659.54 (C=O gerilmesi), 1618.47-1591.85 (C=C, C=N ikili bağ gerilmeleri)

^1H NMR(500MHz)(CDCl_3) δ (ppm) : 2.46(3H, s, CH_3), 2.61 (3H, s, CH_3), 3.24 (3H, s, N- CH_3), 7.32 (1H, t, J: 7.28 Hz, Ar), 7.44 (2H, d, J: 7.21 Hz, Ar), 7.47-7.51 (2H, m, Ar), 8.53-8.55 (2H, m, Ar), 9.40 (1H, s, Ar).

- 10 **^{13}C NMR(125 MHz)(CDCl_3) δ (ppm) :** 12.23, 12.93, 35.48, 76.76, 77.02, 77.27, 104.95, 124.67, 126.93, 129.25, 135.09, 136.11, 141.17, 143.84, 144.43, 144.63, 147.23, 154.50, 161.72 (C=O), 163.52 (tiyazol C_2).

MS (M+H) : 364

Elde edilen bileşiklerin analizi

- 15 **Erime noktası tayini**

Tüm bileşiklerin erime noktaları, toz edilmiş numuneler bir ucu kapalı kapiller borulara yaklaşık 0,5 cm yüksekliğinde konularak Stuart Melting Point Apparatus SMP30 cihazında erimeye başladıkları sıcaklık kaydedilerek ölçülmüştür.

Kromatografik analizler

- 20 Reaksiyonlar sırasında ve sonucunda tüm bileşikler İnce Tabaka Kromatografisi (İTK) ile analiz edilmiştir. İnce tabaka kromatografisinde 20x20 ebatlı, Silikajel 60 F_{254} kaplı Merck alüminyum plaklar kullanılmıştır. Lekelerin belirlenmesinde ise 254 ve 366 nm dalgaboyundaki UV lambalar kullanılmıştır.

Infra-red(IR) spektrumları alınması

- 25 Sentezlenen bileşiklerin IR spektrumları, bileşikler agat havanda ince toz edildikten sonra vakum etüvünde kurutularak direkt ışıltırma yöntemiyle Perkin Elmer Spektrum Two FT-IR Spectrometer cihazında alınmıştır.

^1H -NMR spektrumları alınması

Bileşiklerin ^1H -NMR spektrumları, 20-30 mg maddenin hekzadötöro dimetilsülfoksit (DMSO- d_6) içindeki çözeltisinde TMS'e karşı Bruker 500 MHz UltraShield NMR Spektrofotometre'de alınmıştır.

^{13}C -NMR spektrumları alınması

- 5 Bileşiklerin ^{13}C -NMR spektrumları, Bruker 125 MHz UltraShield NMR Spektrofotometre cihazında hekzadötörodimetilsülfoksit veya dötörokloroform içinde alınmıştır.

Kütle spektrumları alınması

Bileşiklerin kütle spektrumları, maddenin metanol'deki çözeltisi kullanılarak elektron sprey yöntemiyle Shimadzu LC-MS 2040C cihazında alınmıştır.

- 10 Buluş bileşiği veya bunların farmasötik açıdan kabul edilebilir tuzu ve/veya solvatının sentez yöntemi;
- 1 mol antipirinin benzen içerisinde çözülerek ısıtılması,
 - İçerisine damla damla 1.2 mol 2-kloropropionil klorür ilave edilmesi,
 - Reaksiyonun 48-72 saat boyunca kaynatılması,
 - 15 Soğutulup çökene kadar 10-20 °C derecedeki soğutucuda bekletilmesi,
 - Oluşan çökeleğin etanolde kristallendirilmesi,
 - f) Elde edilen 4-(2-kloropropanoil)-1,5-dimetil-2-fenil-1,2-dihidro-3H-pirazol-3-on bileşiğinin eşit moldeki tiyobenzamit, 4-metoksitiyobenzamit, 4-klorotiyobenzamit, piridin-2-tiyoamit, piridin-3-tiyoamit piridin-4-tiyoamit, 20 pirimidin-2-tiyoamit, pirazin-2-tiyoamit arasından seçilen tiyoamit türevi ile etanol içerisinde kaynatılarak 4 saat ile 48 saat arasında reaksiyona sokulması,
 - g) Reaksiyon sonunda çökme olması durumunda çökelek alınıp suyla karıştırıldıktan sonra sodyum asetat ile nötralize edilmesi ve etanol veya etil asetat ile kristallendirilmesi,
 - 25 h) Reaksiyon sonunda çökme olmaması durumunda reaksiyon ortamındaki etanolün uçurulması, %10 sodyum hidroksit / etil asetat ekstraksiyonuyla iki kez ekstre edilmesi,
 - i) Etil asetat, sodyum sülfat ile kurutulduktan sonra uçurularak elde edilen ürünün etil asetat veya etanolden 2 kez kristallendirilerek temizlenmesi
- 30 İşlem adımları içermektedir.

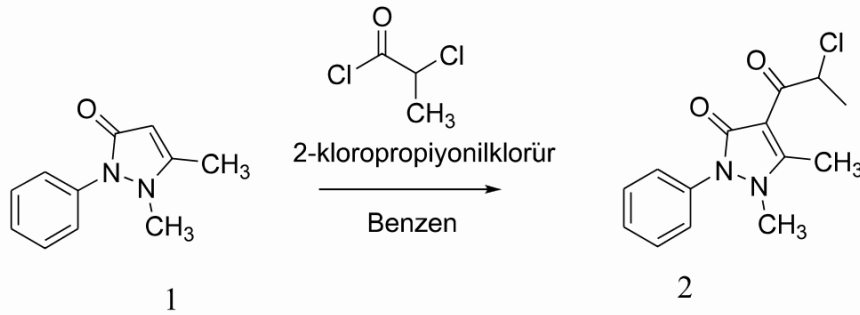
Buluş bileşiklerinin sentez yöntemi adım adım aşağıda ayrıntılı olarak açıklanmaktadır.

Kloropropiyonil antipirin (2) bileşiğinin [4-(2-kloropropanoil)-1,5-dimetil-2-fenil-1,2-dihidro-3H-pirazol-3-on]sentezi

Antipirin (1) (188 g, 1 mol), benzen içinde çözündürülerek 500 ml. Damla damla 1.2 mol 2-kloropropiyonil klorür (1.2 kat, 152.364 g) ilave edilir. Reaksiyon 72 saat boyunca kaynatılır. Soğutulup birkaç gün çökene kadar buzdolabında bekletilir. Oluşan çökelek alümin etanolden kristallendirilir ve 4-(2-kloropropanoil)-1,5-dimetil-2-fenil-1,2-dihidro-3H-pirazol-3-on (2) bileşiği elde edilir.

Şema 1: 4-(2-kloropropanoil)-1,5-dimetil-2-fenil-1,2-dihidro-3H-pirazol-3-on

10 (Kloropropiyonil antipirin) bileşiğinin sentez şeması



Verim: %78

15 Erime derecesi: 165-166 °C

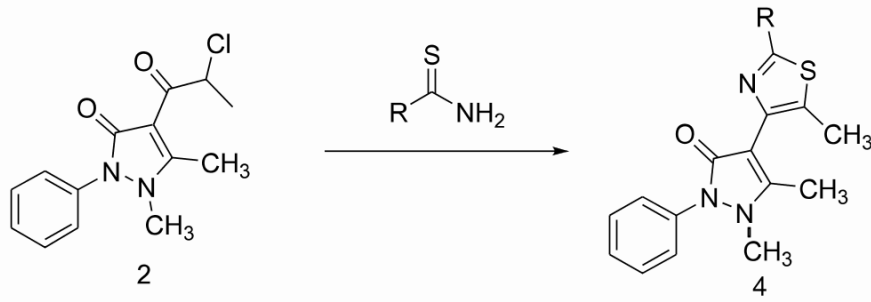
IR ν_{maks} (cm⁻¹): 3055-2900 (C-H gerilmeleri), 1657.6 (C=O gerilmesi), 1637.0 (amit C=O gerilmesi) 1600-1455 (C=C, C=N ikili bağ gerilmeleri)

Buluş Bileşiklerinin (4) Sentezi

Elde edilen 4-(2-kloropropanoil)-1,5-dimetil-2-fenil-1,2-dihidro-3H-pirazol-3-on (2 numaralı) eşit moldeki satın alınan tiyoamit türevleriyle (tiyobenzamit, 4-metoksitiyobenzamit, 4-klorotiyobenzamit, piridin-2-tiyoamit, piridin-3-tiyoamit, piridin-4-tiyoamit, pirimidin-2-tiyoamit, pirazin-2-tiyoamit) etanol içerisindeki reaksiyonuyla elde edilir. 50'şer mmol başlangıç maddesiyle başlanan reaksiyon etanol içerisinde kaynatılarak yapılır. Reaksiyon süresi tiyoamit türevine göre değişkenlik gösterip, 4 saat ile 48 saat arasında değişen sürelerde gerçekleşmiştir. Reaksiyon sonunda çökme olması durumunda çökelek alümin suyla karıştırıldıktan sonra sodyum asetat ile nötralize edilir ve çöken madde süzülerek alümin

kurutulduktan sonra kristallendirilir. Kristallenme çözücüsü bileşik 1, 2, 3, 4, 5 ve 7 için etanol, 6 ve 8 için ise etil asetat'tır. Çökme olmaması durumunda, reaksiyon ortamındaki etanol uçurulur, %10 sodyum hidroksit / etil asetat ekstraksiyonuyla iki kez ekstre edilir. Böylece varsa kalan tiyoamit türevi uzaklaştırılır. Etil asetat, sodyum sülfat ile kurutulduktan sonra uçurularak elde edilen ürün etil asetat veya etanolden 2 kez kristallendirilerek temizlenir. Reaksiyonun tamamlanması ve ürünün ön saflık kontrolü için ince tabaka kromatografisi (İTK) uygulanır. İTK'da solvan sistemi olarak bileşik 1, 2 ve 3 için Etil asetat: Petrol eteri (1:1), bileşik 4, 5, 6, 7 ve 8 için Etil asetat : Petrol eteri : Etanol (1:1:0,2) kullanılır.

Şema 2: Sonuç bileşiklerinin sentezi



R süstitüenti: Fenil, 4-metoksifenil, 4-klorofenil, 2-piridil, 3-piridil, 4-piridil, Pirimidin-2-il veya Pirazin-2-il'dir.

Buluş ile 8 adet pirazolon türevi bileşik sentezlenmiş ve bahsi geçen bileşiklerin COX enzim üzerindeki etkinlikleri kanıtlanmıştır. Tablo 1'de buluş bileşiklerinin COX enzimlerine karşı IC_{50} değerleri verilmektedir.

Tablo 1: Sentezlenen maddelerin ve standart maddelerin (COX-1 ve COX-2) IC_{50} değerleri (μM).

Cpd No.	IC_{50}		SI (COX-2/COX-1)
	COX-1	COX-2	
1	ND	25.66 $\pm$ 1.12	ND
2	42.02 $\pm$ 0.94	24.01 $\pm$ 0.18	0.57
3	37.45 $\pm$ 0.99	28.14 $\pm$ 1.17	0.75
4	31.21 $\pm$ 1.08	11.18 $\pm$ 0.65	0.35
5	24.48 $\pm$ 3.08	8.33 $\pm$ 2.05	0.34
6	25.60 $\pm$ 2.16	4.83 $\pm$ 1.28	0.18
7	17.11 $\pm$ 0.15	0.11 $\pm$ 0.32	0.006
8	13.15 $\pm$ 1.03	0.09 $\pm$ 0.77	0.006

Dup-697	ND	7.14 ± 0.07	ND
SC-560	4.80 ± 2.06	1.40 ± 0.03	0.29
Diklofenak	$55.5 \pm 1.23(\text{nM})$	30.70 ± 3.02	0.55
Ibuprofen	12.01 ± 10	80.02 ± 5.20	6.66
I**	1.03 ± 0.02	7.44 ± 0.12	7.22
C*	8.02 ± 0.11	0.73 ± 0.04	0.09

* Selekoksisib. ** İndometazin; Siklooksijenaz (COX); Selektif İndex SI= $\text{IC}_{50} \text{ COX-2} / \text{IC}_{50} \text{ COX-1}$.

5

10

15