

**YENİ PİRAZOLİN TÜREVİ  
BİLEŞİKLERİN SENTEZİ ve BİYOLOJİK  
AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ**

**Muhammed KARABACAK**

Doktora Tezi

**YENİ PİRAZOLİN TÜREVİ BİLEŞİKLERİN  
SENTEZİ ve BİYOLOJİK  
AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ**

**Muhammed KARABACAK**

Doktora Tezi

ANADOLU ÜNİVERSİTESİ

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Farmasötik Kimya Anabilim Dalı

Eskişehir, Ağustos 2016

**Tez Danışmanı** : Prof. Dr. Ahmet ÖZDEMİR

**İkinci Tez Danışmanı** : Doç. Dr. Mehlika Dilek ALTINTOP

## JÜRİ ve ENSTİTÜ ONAYI

Muhammed KARABACAK'ın “Yeni Pirazolin Türevi Bileşiklerin Sentezi ve Biyolojik Aktivitelerinin İncelenmesi” başlıklı, Farmasötik Kimya Anabilim Dalı'ndaki Doktora tezi, 15.08.2016 tarihinde, aşağıdaki jüri tarafından Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

	Adı-Soyadı	İmza
Üye (Tez Danışmanı)	Prof. Dr. Ahmet ÖZDEMİR Anadolu Üniversitesi	
Üye	Prof. Dr. Z. Asım KAPLANCIKLI Anadolu Üniversitesi	
Üye	Doç. Dr. Gülşen AKALIN ÇİFTÇİ Anadolu Üniversitesi	
Üye	Doç. Dr. Murat DURAN Eskişehir Osmangazi Üniversitesi	
Üye	Yard. Doç. Dr. Kaan KÜÇÜKOĞLU Atatürk Üniversitesi	

Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun  
.26.08.2016 tarih ve .....35..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

  
Prof. Dr. Dilek AK  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

## ÖZGEÇMİŞ

### Bireysel Bilgiler

Adı ve soyadı : Muhammed KARABACAK  
Doğum tarihi ve yeri : 29.01.1976, Lazkiye  
Uyuğu : T.C.  
Medeni durumu : Evli  
İletişim adresleri  
Adres : Esentepe mah. Toki Evleri Y:1 D:8  
Emet-KÜTAHYA  
Tel : 02744615700  
E-mail : rem1596@hotmail.com

### Eğitim Durumu

İlkokul : Lazkiye Yusuf Elazmah İlk Öğretim Okulu, SURIYE  
1982-1988  
Ortaokul/Lise : Lazkiye Joul Jammal Ortaokulu ve Lisesi, SURIYE  
1988-1994  
Lisans : Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, 1995-1999  
Yüksek Lisans : Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü,  
1999-2001  
Yabancı diller :  
Arapça : İleri düzey  
İngilizce : Orta düzey

### Mesleki Deneyim

Mesul Müdür : İstanbul Eczanesi, Emet, 2004-2007  
Eczacı : Anadolu Eczanesi, Emet, 2007-..... (devam ediyor)

### Yayınlar

#### Yüksek Lisans Tezleri

1) "Bazı 2-süstitüe-5,6-dikloro-1H-benzimidazol bileşiklerinin sentezleri, yapı aydınlatmaları, toksisitesi ve antikanser etkisinin incelenmesi üzerinde çalışmalar", 2001

#### Uluslararası Hakemli Dergilerde Yayınlanan Makaleler

1) Karabacak, M., Altıntop, M.D., Çiftçi, H.İ., Koga, R., Otsuka, M., Fujita, M., Özdemir, A., Synthesis and Evaluation of New Pyrazoline Derivatives as Potential Anticancer Agents, Molecules, 20, 19066-19084 (2015).

**Uluslararası Bilimsel Toplantılarda Sunulan ve Bildiri Kitaplarında Basılan Bildiriler**

1) Çiftçi, H.İ., **Karabacak, M.**, Altıntop, M.D., Koga, R., Otsuka, M., Fujita, M., Özdemir, A., Anticancer Activity of Synthesized Pyrazoline Derivatives, BMB2015 Biochemistry and Molecular Biology, 1-4 December, Kobe Port Island-Japan, 1P1020 (2015).



## ÖNSÖZ

Son yıllarda antikanser ilaçların yaygın kullanımı, bu ilaçlara karşı direnç gelişimine neden olmuştur. Buna bağlı olarak yeni antikanser etkili bileşiklerin geliştirilmesi üzerine çalışmalar hız kazanmıştır. Medisinal kimya alanında, antikanser ilaç tasarlama ve geliştirme çalışmalarında pirazolin türevleri önemli bir yer tutmaktadır.

Bu tez çalışmasında, pirazolin halka sistemini taşıyan yeni bileşikler sentezlenmiştir. Elde edilen bileşiklerin spektroskopik yöntemlerle yapıları aydınlatılmış ve antikanser etkileri araştırılmıştır.

Hazırlamış olduğum bu tezin her aşamasında bana yol gösteren, sonsuz anlayış ve hoşgörüsüyle beni her zaman destekleyen tez danışmanım, Sayın Hocam Prof. Dr. Ahmet ÖZDEMİR'e ve ikinci tez danışmanım Sayın Hocam Doç. Dr. Mehlika Dilek ALTINTOP'a,

Tez çalışmam boyunca tecrübe ve bilgisiyle yol gösteren Sayın Hocam Prof. Dr. Zafer Asım KAPLANCIKLI'ya ve Farmasötik Kimya Anabilim Dalındaki tüm hocalarıma ve arkadaşlarıma,

Sentezlediğim bileşiklerin antikanser etki testlerini gerçekleştiren Halil İbrahim ÇİFTÇİ'ye ve Kumamoto Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'ndeki hocalarıma,

Bileşiklerin kütle spektroskopisi analizlerini gerçekleştiren Uzm. Serkan LEVENT'e,

Hayatımın her aşamasında yanımda olan aileme,  
en içten teşekkürlerimi sunarım.

## YENİ PİRAZOLİN TÜREVİ BİLEŞİKLERİN SENTEZİ ve BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ

### ÖZET

Medisinal kimyada, antikanser ilaç tasarlama ve geliştirme çalışmalarında, pirazolin türevi bileşikler büyük önem kazanmıştır.

Bu çalışmada, yeni pirazolin türevleri sentezlendi ve bu bileşiklerin AsPC-1 insan pankreatik adenokarsinoma, U87 ve U251 insan glioblastoma hücre dizileri üzerindeki sitotoksik etkileri değerlendirildi.

Bu bileşikler arasında, 1-[(5-(4-metilfenil)-1,3,4-oksadiazol-2-il)tiyo]asetil]-3-(2-tiyenil)-5-(4-klorofenil)-2-pirazolinin (**11**) AsPC-1 ve U251 hücre dizilerine karşı sırasıyla 16.8  $\mu$ M ve 11.9  $\mu$ M  $IC_{50}$  değerleriyle en etkili antikanser ajan olduğu bulundu. Jurkat insan lösemi T-hücre dizisi ve insan periferik kan mononükleer hücreleri arasında **11** no'lu bileşiğin tümör seçiciliği açıkça görülmektedir. Ümit verici antikanser etkisine bağlı olarak, **11** no'lu bileşik U251 hücrelerinde apoptoz/nekroz değerlendirmesi ve DNA kırılma analizi için seçildi. **11** No'lu bileşik uygulanan U251 hücreleri düşük konsantrasyonda (1.5  $\mu$ M) apoptotik fenotip gösterdi. Bu ligandın DNA-kırma etkinliği cisplatinden daha belirgindi ve bu etkinliği Fe(II)-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-askorbik asit sistemleri ile açıkça artırıldı. Bu sonuç, DNA kırılması ve hücre ölümü arasındaki ilişkiyi gösterdi.

**Anahtar Kelimeler:** Pirazolin, oksadiazol, antikanser etki, apoptoz, DNA kırılması

## THE SYNTHESIS of NEW PYRAZOLINE DERIVATIVES and THE INVESTIGATION of THEIR BIOLOGICAL ACTIVITIES

### ABSTRACT

In medicinal chemistry, pyrazoline derivatives have gained great importance in anticancer drug design and development.

In the present study, new pyrazoline derivatives were synthesized and evaluated for their cytotoxic effects on AsPC-1 human pancreatic adenocarcinoma, U87 and U251 human glioblastoma cell lines.

Among these derivatives, 1-[[[(5-(4-methylphenyl)-1,3,4-oxadiazol-2-yl)thio)acetyl]-3-(2-thienyl)-5-(4-chlorophenyl)-2-pyrazoline (**11**)] was found to be the most effective anticancer agent against AsPC-1 and U251 cell lines with IC<sub>50</sub> values of 16.8  $\mu$ M and 11.9  $\mu$ M, respectively. The tumor selectivity of compound **11** was clearly seen between Jurkat human leukemic T-cell line and human peripheral blood mononuclear cells. Due to its promising anticancer activity, compound **11** was chosen for apoptosis/necrosis evaluation and DNA-cleavage analysis in U251 cells. Compound **11**-treated U251 cells exhibited apoptotic phenotype at low concentration (1.5  $\mu$ M). DNA-cleaving efficiency of this ligand was more significant than cisplatin and was clearly enhanced by Fe(II)-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-ascorbic acid systems. This result pointed out the relationship between DNA cleavage and cell death.

**Key Words:** Pyrazoline, oxadiazole, anticancer activity, apoptosis, DNA cleavage



## İÇİNDEKİLER

	SAYFA
ÖZGEÇMİŞ	i
ÖNSÖZ	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiv
SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ	xvii
GİRİŞ ve AMAÇ	1
KAYNAK BİLGİSİ	12
Pirazolin Halka Sistemi Hakkında Genel Bilgiler	12
Pirazolin Halkasının Sentez Yöntemleri	13
<i>Pirazol, Pirazolon ve Pirazolidinlerden Başlayan Sentezler</i>	13
<i>Hidrazin ve Hidrazin Türevlerinden Hareketle Yapılan Sentezler</i>	14
<i><math>\alpha,\beta</math>-Doymamış Karbonil Bileşikleri ile Kondenzasyon Reaksiyonları</i>	14
<i><math>\alpha,\beta</math>-Doymamış Nitril Bileşikleri ile Katım Reaksiyonları</i>	17
<i><math>\beta</math>-Süstitüe Ketonlarla Kondenzasyon Reaksiyonları</i>	17
<i>Oksiran ve Aziridinlerle Kondenzasyon Reaksiyonları</i>	18
<i>Diğer Hidrazin Reaksiyonları</i>	19
<i>Diazoalkanların Karbon-Karbon Çifte Bağına Katılım Reaksiyonları</i>	21
<i>Diğer Pirazolin Sentez Yöntemleri</i>	22
Pirazolinlerin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri	24
Pirazolinlerin Süstitüsyon Reaksiyonları	24
Pirazolin Halkasının Sahip Olduğu Biyolojik Aktiviteler	30
GEREÇLER	58
Kullanılan Kimyasal Maddeler	58
Kullanılan Cihazlar	59
YÖNTEMLER	61
Başlangıç ve Sonuç Maddelerinin Genel Sentez Yöntemleri	61
<i>Yöntem A: 1-(2-Tiyenil)-3-(4-klorofenil)-2-propen-1-on Bileşiğinin Elde Edilmesi</i>	61

<i>Yöntem B: 3-(2-Tiyenil)-5-(4-klorofenil)-2-pirazolin Bileşiğinin Elde Edilmesi</i>	61
<i>Yöntem C: 1-(2-Kloroasetil)-3-(2-tiyenil)-5-(4-klorofenil)-2-pirazolin Bileşiğinin Elde Edilmesi</i>	62
<i>Yöntem D: 1-[(Heteroaril)tiyoasetil]-3-(2-tiyenil)-5-(4-klorofenil)-2-pirazolin Türevlerinin Elde Edilmesi</i>	62
<b>Elde Edilen Bileşiklerin Analizi</b>	64
<i>Erime noktası (E.N.) Tayini</i>	64
<i>C, H, N Tayini</i>	64
<i>IR Spektrumlarının Alınması</i>	64
<i><sup>1</sup>H-NMR Spektrumlarının Alınması</i>	64
<i><sup>13</sup>C-NMR Spektrumlarının Alınması</i>	64
<i>Kütle Spektrumlarının Alınması</i>	64
<i>İnce Tabaka Kromatografisi (İTK) Çalışmaları</i>	64
<i>Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) Spektrumlarının Alınması</i>	64
<b>Biyolojik Etki Testleri</b>	65
<i>Yöntem E: Hücre Kültürlerinin Hazırlanması ve Test Maddelerinin Uygulanması</i>	65
<i>Yöntem F: Sitotoksosite (MTT) Metodu</i>	65
<i>Yöntem G: Apoptotik ve Nekrotik Hücrelerin Tespit Edilmesi</i>	65
<i>Yöntem H: DNA Kırılma Testi</i>	66
<b>BULGULAR ve TARTIŞMA</b>	67
<b>Sentez Çalışmaları</b>	67
<i>1-(2-Tiyenil)-3-(4-klorofenil)-2-propen-1-on</i>	67
<i>3-(2-Tiyenil)-5-(4-klorofenil)-2-pirazolin</i>	67
<i>1-(2-Kloroasetil)-3-(2-tiyenil)-5-(4-klorofenil)-2-pirazolin</i>	68
<i>1-[(4-Metil-4H-1,2,4-triazol-3-il)tiyoasetil]-3-(2-tiyenil)-5-(4-klorofenil)-2-pirazolin (1)</i>	69
<i>1-[(1-Metil-1H-tetrazol-5-il)tiyoasetil]-3-(2-tiyenil)-5-(4-klorofenil)-2-pirazolin (2)</i>	70
<i>1-[(1-Fenil-1H-tetrazol-5-il)tiyoasetil]-3-(2-tiyenil)-5-(4-klorofenil)-2-pirazolin (3)</i>	71
<i>1-[(1-(4-Hidroksifenil)-1H-tetrazol-5-il)tiyoasetil]-3-(2-tiyenil)-5-(4-klorofenil)-2-pirazolin (4)</i>	72
<i>1-[(1-(2-(Dimetilamino)etil)-1H-tetrazol-5-il)tiyoasetil]-3-(2-tiyenil)-5-(4-klorofenil)-2-pirazolin (5)</i>	73

<i>1-[5-Metil-1,3,4-tiyadiazol-2-il)tiyoasetil]-3-(2-tiyenil)-5-(4-klorofenil)-2-pirazolin (6)</i>	74
<i>1-[Pirimidin-2-il)tiyoasetil]-3-(2-tiyenil)-5-(4-klorofenil)-2-pirazolin (7)</i>	75
<i>1-[5-Fenil-1,3,4-oksadiazol-2-il)tiyoasetil]-3-(2-tiyenil)-5-(4-klorofenil)-2-pirazolin (8)</i>	76
<i>1-[5-(Piridin-3-il)-1,3,4-oksadiazol-2-il)tiyoasetil]-3-(2-tiyenil)-5-(4-klorofenil)-2-pirazolin (9)</i>	77
<i>1-[5-(4-Klorofenil)-1,3,4-oksadiazol-2-il)tiyoasetil]-3-(2-tiyenil)-5-(4-klorofenil)-2-pirazolin (10)</i>	78
<i>1-[5-(4-Metilfenil)-1,3,4-oksadiazol-2-il)tiyoasetil]-3-(2-tiyenil)-5-(4-klorofenil)-2-pirazolin (11)</i>	79
<i>1-[5-(4-Metoksifenil)-1,3,4-oksadiazol-2-il)tiyoasetil]-3-(2-tiyenil)-5-(4-klorofenil)-2-pirazolin (12)</i>	80
<b>Uygulanan Sentez Yöntemlerinin Değerlendirilmesi</b>	81
<i>1-(2-Tiyenil)-3-(4-klorofenil)-2-propen-1-on Bileşiğinin Elde Edilişi</i>	81
<i>3-(2-Tiyenil)-5-(4-klorofenil)-2-pirazolin Bileşiğinin Elde Edilişi</i>	82
<i>1-(2-Kloroasetil)-3-(2-tiyenil)-5-(4-klorofenil)-2-pirazolin Bileşiğinin Elde Edilişi</i>	82
<i>1-[Heteroaril)tiyoasetil]-3-(2-tiyenil)-5-(4-klorofenil)-2-pirazolin Türevlerinin Elde Edilişi</i>	83
<b>Spektral Verilerin Değerlendirilmesi</b>	85
<i>IR Spektrumlarının Değerlendirilmesi</i>	85
<i><sup>1</sup>H-NMR Spektrumlarının Değerlendirilmesi</i>	85
<i><sup>13</sup>C-NMR spektrumlarının değerlendirilmesi</i>	86
<i>Kütle spektrumlarının değerlendirilmesi</i>	88
<b>Biyolojik Etki Testlerinin Sonuçlarının Değerlendirilmesi</b>	88
<b>SONUÇ ve ÖNERİLER</b>	99
<b>KAYNAKLAR</b>	100
<b>EKLER</b>	113
<b>EK 1.</b> Bileşik 1'e ait IR Spektrumu	113
<b>EK 2.</b> Bileşik 1'e ait <sup>1</sup> H-NMR Spektrumu (İntegral Değerleri ile)	114
<b>EK 3.</b> Bileşik 1'e ait <sup>13</sup> C-NMR Spektrumu	115
<b>EK 4.</b> Bileşik 1'e ait Kütle Spektrumu	116
<b>EK 5.</b> Bileşik 1'e ait LC Analiz Raporu	117
<b>EK 6.</b> Bileşik 2'ye ait IR Spektrumu	118
<b>EK 7.</b> Bileşik 2'ye ait <sup>1</sup> H-NMR Spektrumu (İntegral Değerleri ile)	119

<b>EK 8.</b> Bileşik 2'ye ait <sup>13</sup> C-NMR Spektrumu	120
<b>EK 9.</b> Bileşik 2'ye ait Kütle Spektrumu	121
<b>EK 10.</b> Bileşik 2'ye ait LC Analiz Raporu	122
<b>EK 11.</b> Bileşik 3'e ait IR Spektrumu	123
<b>EK 12.</b> Bileşik 3'e ait <sup>1</sup> H-NMR Spektrumu (İntegral Değerleri ile)	124
<b>EK 13.</b> Bileşik 3'e ait <sup>13</sup> C-NMR Spektrumu	125
<b>EK 14.</b> Bileşik 3'e ait Kütle Spektrumu	126
<b>EK 15.</b> Bileşik 3'e ait LC Analiz Raporu	127
<b>EK 16.</b> Bileşik 4'e ait IR Spektrumu	128
<b>EK 17.</b> Bileşik 4'e ait <sup>1</sup> H-NMR Spektrumu (İntegral Değerleri ile)	129
<b>EK 18.</b> Bileşik 4'e ait <sup>13</sup> C-NMR Spektrumu	130
<b>EK 19.</b> Bileşik 4'e ait Kütle Spektrumu	131
<b>EK 20.</b> Bileşik 4'e ait LC Analiz Raporu	132
<b>EK 21.</b> Bileşik 5'e ait IR Spektrumu	133
<b>EK 22.</b> Bileşik 5'e ait <sup>1</sup> H-NMR Spektrumu (İntegral Değerleri ile)	134
<b>EK 23.</b> Bileşik 5'e ait <sup>13</sup> C-NMR Spektrumu	135
<b>EK 24.</b> Bileşik 5'e ait Kütle Spektrumu	136
<b>EK 25.</b> Bileşik 5'e ait LC Analiz Raporu	137
<b>EK 26.</b> Bileşik 6'ya ait IR Spektrumu	138
<b>EK 27.</b> Bileşik 6'ya ait <sup>1</sup> H-NMR Spektrumu (İntegral Değerleri ile)	139
<b>EK 28.</b> Bileşik 6'ya ait <sup>13</sup> C-NMR Spektrumu	140
<b>EK 29.</b> Bileşik 6'ya ait Kütle Spektrumu	141
<b>EK 30.</b> Bileşik 6'ya ait LC Analiz Raporu	142
<b>EK 31.</b> Bileşik 7'ye ait IR Spektrumu	143
<b>EK 32.</b> Bileşik 7'ye ait <sup>1</sup> H-NMR Spektrumu (İntegral Değerleri ile)	144
<b>EK 33.</b> Bileşik 7'ye ait <sup>13</sup> C-NMR Spektrumu	145
<b>EK 34.</b> Bileşik 7'ye ait Kütle Spektrumu	146
<b>EK 35.</b> Bileşik 7'ye ait LC Analiz Raporu	147
<b>EK 36.</b> Bileşik 8'e ait IR Spektrumu	148
<b>EK 37.</b> Bileşik 8'e ait <sup>1</sup> H-NMR Spektrumu (İntegral Değerleri ile)	149
<b>EK 38.</b> Bileşik 8'e ait <sup>13</sup> C-NMR Spektrumu	150
<b>EK 39.</b> Bileşik 8'e ait Kütle Spektrumu	151
<b>EK 40.</b> Bileşik 8'e ait LC Analiz Raporu	152
<b>EK 41.</b> Bileşik 9'a ait IR Spektrumu	153

<b>EK 42.</b> Bileşik 9'a ait <sup>1</sup> H-NMR Spektrumu (İntegral Değerleri ile)	154
<b>EK 43.</b> Bileşik 9'a ait <sup>13</sup> C-NMR Spektrumu	155
<b>EK 44.</b> Bileşik 9'a ait Kütle Spektrumu	156
<b>EK 45.</b> Bileşik 9'a ait LC Analiz Raporu	157
<b>EK 46.</b> Bileşik 10'a ait IR Spektrumu	158
<b>EK 47.</b> Bileşik 10'a ait <sup>1</sup> H-NMR Spektrumu (İntegral Değerleri ile)	159
<b>EK 48.</b> Bileşik 10'a ait <sup>13</sup> C-NMR Spektrumu	160
<b>EK 49.</b> Bileşik 10'a ait Kütle Spektrumu	161
<b>EK 50.</b> Bileşik 10'a ait LC Analiz Raporu	162
<b>EK 51.</b> Bileşik 11'e ait IR Spektrumu	163
<b>EK 52.</b> Bileşik 11'e ait <sup>1</sup> H-NMR Spektrumu (İntegral Değerleri ile)	164
<b>EK 53.</b> Bileşik 11'e ait <sup>13</sup> C-NMR Spektrumu	165
<b>EK 54.</b> Bileşik 11'e ait Kütle Spektrumu	166
<b>EK 55.</b> Bileşik 11'e ait LC Analiz Raporu	167
<b>EK 56.</b> Bileşik 11'e ait HSQC Spektrumu-I	168
<b>EK 57.</b> Bileşik 11'e ait HSQC Spektrumu-II	169
<b>EK 58.</b> Bileşik 11'e ait HSQC Spektrumu-III	170
<b>EK 59.</b> Bileşik 11'e ait HSQC Spektrumu-IV	171
<b>EK 60.</b> Bileşik 11'e ait HSQC Spektrumu-V	172
<b>EK 61.</b> Bileşik 11'e ait HSQC Spektrumu-VI	173
<b>EK 62.</b> Bileşik 12'ye ait IR Spektrumu	174
<b>EK 63.</b> Bileşik 12'ye ait <sup>1</sup> H-NMR Spektrumu (İntegral Değerleri ile)	175
<b>EK 64.</b> Bileşik 12'ye ait <sup>13</sup> C-NMR Spektrumu	176
<b>EK 65.</b> Bileşik 12'ye ait Kütle Spektrumu	177
<b>EK 66.</b> Bileşik 12'ye ait LC Analiz Raporu	178
<b>EK 67.</b> Tez Çalışmasından Üretilen Yayın	179
<b>EK 68.</b> Tez Çalışmasından Üretilen Poster Bildiri	198

## ÇİZELGELER DİZİNİ

ÇİZELGE NO ve ADI	SAYFA
Çizelge 1 Sentezlenen Sonuç Bileşikleri	11
Çizelge 2 Sonuç Bileşiklerinin AsPC-1, U87 ve U251 Hücre Dizilerine Karşı Sitotoksik Etkileri	95



## ŞEKİLLER DİZİNİ

ŞEKİL NO ve ADI	SAYFA	
Şekil 1	Pirimidin Türevi DNA polimeraz Enzimi İnhibitörleri	2
Şekil 2	Timidilat sentetaz Enzimi İnhibitörleri	3
Şekil 3	DNA Sentez İnhibitörü	3
Şekil 4	Pirimidin Türevi Tirozin kinaz İnhibitörleri	4
Şekil 5	Pirimidin Türevi Serin/Treonin protein kinaz B-RAF İnhibitörü	5
Şekil 6	Pirimidin Türevi Multikinaz Anjiyogenez İnhibitörü	5
Şekil 7	Pirimidin Türevi Anaplastik Lenfoma Kinaz İnhibitörü	5
Şekil 8	1,2,4-Triazol Türevi Aromataz İnhibitörleri	6
Şekil 9	Oksadiazol Yapısı Taşıyan Endotelin Reseptör A Antagonisti	6
Şekil 10	Tetrazol Türevi Antineoplastik İlaç Adayı ZD9331	7
Şekil 11	Tiyadiazol Türevi Antineoplastik İlaç Adayı NSC 4728	7
Şekil 12	Tiyadiazol Türevi PDE7 İnhibitörü	7
Şekil 13	Sentezi Gerçekleştirilen Bileşikler	10
Şekil 14	Pirazolinlerin Tautomerik Formları	12
Şekil 15	Knorr ve Blank Pirazolin Sentezi	12
Şekil 16	Fisher ve Knoevenagel Pirazolin Sentezi	13
Şekil 17	Curtius ve Wirsing Pirazolin Sentezi	13
Şekil 18	Pirazol Halkasının Redüksiyonu	13
Şekil 19	Pirazolon Halkasının Redüksiyonu	14
Şekil 20	Pirazolidin Halkasının Oksidasyonu	14
Şekil 21	Hidrazin Türevleriyle $\alpha,\beta$ -Doymamış Karbonil Bileşiklerinin Kondenzasyon Reaksiyonu	14
Şekil 22	1-Açıl-2-pirazolin Türevlerinin Sentezi	15
Şekil 23	Açıl Hidrazinlerden Pirazolin Sentezi	15
Şekil 24	1-Karbamoil/Tiyokarbamoil-2-pirazolin Sentezi	16
Şekil 25	1-Karbamoil ve 1-Tiyokarbamoil-3,5-disübstitüe-2-pirazolin türevleri	16
Şekil 26	2-Pirazolinlerin Aril veya Alkil İzosiyanat/İzotiyosiyanat ile Reaksiyonu	17
Şekil 27	$\alpha,\beta$ -Doymamış Nitrillerin Hidrazinlerle Reaksiyonu	17
Şekil 28	1-Asetil-5-amino-2-pirazolin Sentezi	17
Şekil 29	$\beta$ -Sübstitüe Ketonların Hidrazinlerle Reaksiyonu	18

<b>Şekil 30</b>	<i>β</i> -Dialkilaminoetil Ketonların Hidrazinlerle Reaksiyonu	18
<b>Şekil 31</b>	Ketooksiran Bileşiklerinin Hidrazin ile Reaksiyonu	18
<b>Şekil 32</b>	Ketoaziridin Bileşiklerinin Hidrazin ile Reaksiyonu	19
<b>Şekil 33</b>	<i>α</i> -Klorohidrazonlar ile Sikloalkanların Reaksiyonu	19
<b>Şekil 34</b>	1,3-Aril/alkil Diketonların Hidrazinlerle Reaksiyonu	19
<b>Şekil 35</b>	3-Sübstitüe-1,5-difenil-1,5-pentandionun Fenil Hidrazinle Tepkimesi	20
<b>Şekil 36</b>	3-(Fenilsülfonil)-1,3-diarilpropan-1-on Türevlerinin Fenilhidrazin ile Tepkimesi	20
<b>Şekil 37</b>	1,3-Disübstitüe-2-pirazolin Sentezi	20
<b>Şekil 38</b>	<i>α,β</i> -Doymamış Esterler ve Diazoalkanlar için Önerilen Reaksiyon Mekanizması	21
<b>Şekil 39</b>	<i>α,β</i> -Doymamış Keton Türevleri ile Diazoalkanların Reaksiyonu	21
<b>Şekil 40</b>	<i>α,β</i> -Doymamış Nitril Türevleri ile Diazometanın Reaksiyonu	22
<b>Şekil 41</b>	Aldehit Fenil Hidrazonları ile Konjuge Çift Bağ İçeren Bileşiklerin Tepkimesi	22
<b>Şekil 42</b>	Polimer Yapılı Faz Transfer Katalizörleri Kullanılarak Yapılan Pirazolin Sentezleri	23
<b>Şekil 43</b>	Malonaldehitin Semikarbazit/Tiyosemikarbazit ile Tepkimesi	23
<b>Şekil 44</b>	2-Pirazolinlerin Dekompozisyonu	24
<b>Şekil 45</b>	1-Nonsübstitüe-2-pirazolinlerin Sübstitüsyon Tepkimeleri	24
<b>Şekil 46</b>	2-Pirazolin Türevlerinin Alkil, Aril Halojenürler ve LiAlH <sub>4</sub> ile Reaksiyonları	25
<b>Şekil 47</b>	2-Pirazolinlerin Karbamat Esterleri, Akrilonitril ve Sodyum nitrit ile Tepkimeleri	25
<b>Şekil 48</b>	2-Pirazolinlerin Alkali Siyanat ve Tiyosiyanatla Tepkimesi	26
<b>Şekil 49</b>	2-Pirazolinlerin Sülfonil klorürler, Hidroksilamin-O-sülfonik asit, Benzensülfonilüre Türevleri ile Tepkimeleri	26
<b>Şekil 50</b>	3,5-Disübstitüe-2-pirazolinlerin Formaldehit, Morfolin ve Piperidin ile olan Tepkimesi	27
<b>Şekil 51</b>	1-Sübstitüe-2-pirazolinlerin Elektrofilik Katım Tepkimeleri	28
<b>Şekil 52</b>	3-Sübstitüe-1-fenil-2-pirazolin Türevlerine Benzendiazonyum klorür Katımı	28
<b>Şekil 53</b>	1-Açıl-3,5-diaril-2-pirazolin Türevlerine Benzendiazonyum klorür Katımı	28



<b>Şekil 54</b>	3-Amino-1-fenil-2-pirazolin Bileşiğinin Tepkime Reaksiyonları	29
<b>Şekil 55</b>	3,5-Diaril-1-kloroasetil-2-pirazolinlerin, Tiyoller/ <i>N,N</i> -Disübstitüeditiyokarbamik asit Tuzları ile Tepkimeleri	30
<b>Şekil 56</b>	3-(3,4,5-Trimetoksifenil)-5-(3,4-dimetoksifenil)-1 <i>H</i> -pirazol	31
<b>Şekil 57</b>	1-Asetil-3,5-difenil-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -pirazol ve 1-Asetil-3-fenil-5-(2-metoksifenil)-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -pirazol	31
<b>Şekil 58</b>	4-(3-(4-Klorofenil)-4 <i>H</i> -indeno[1,2- <i>c</i> ]pirazol-2-il) benzensülfonamid	32
<b>Şekil 59</b>	3-(3,4,5-Trimetoksifenil)-5-(3-hidroksi-4-metoksifenil)-2-pirazolin	33
<b>Şekil 60</b>	1-(2-Floro-5-metilfenil)-3-asetil-4-fenil-4-(3-(dimetilamino)propil)-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -pirazol	33
<b>Şekil 61</b>	A549 Hücre Dizisi üzerine Etkili Olan Bileşikler	34
<b>Şekil 62</b>	5-Aril-4,5-dihidro-1-(3,4,5-trihidroksibenzoil)-3-(3,4-dimetoksifenil)-1 <i>H</i> -pirazol türevleri	34
<b>Şekil 63</b>	5-(4-Hidroksi-3,5-dimetoksibenziliden)-2-[5-(2-hidroksifenil)-3-fenil-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -pirazol-1-il]-1,3-tiyazol-4(5 <i>H</i> )-on	35
<b>Şekil 64</b>	HT-29 ve HCT-15 Kolon Kanser Hücre Dizilerine karşı En Aktif Türev	36
<b>Şekil 65</b>	NCI-H460, SR ve MDA-MB-435'e karşı Antiproliferatif Etkinliğe Sahip 1-Asetil-3,5-diaril-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -pirazol Türevleri	37
<b>Şekil 66</b>	1-(4-Klorofenil)-3-[3-(4-nitrofenil)-1-fenil-1 <i>H</i> -pirazol-4-il] prop-2-en-1-on ve 1-Asetil-5-[3-(4-klorofenil)-1-fenil-1 <i>H</i> -pirazol-4-il]-3-(4-metoksifenil)-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -pirazol	37
<b>Şekil 67</b>	3-(3,4-Dimetilfenil)-5-(4-metoksifenil)-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -pirazol-1-karbotiyoamid	38
<b>Şekil 68</b>	2-[5-(3,4-Dimetoksifenil)-1-fenil-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -3-pirazolil]-1 <i>H</i> -benzimidazol	38
<b>Şekil 69</b>	3,5-Diaril-1-(4-sülfamoilfenil)-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -pirazol Türevleri	39
<b>Şekil 70</b>	3-(5'-Kloro-2'-hidroksi-4'-metilfenil)-5-aril-1-( <i>p</i> -sülfamoil fenil)-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -pirazol Türevleri	40
<b>Şekil 71</b>	5-Bromo-1-{2-[5-(4-klorofenil)-3-(4-metoksifenil)-4,5-dihidropirazol-1-il]-2-oksoetil}-1 <i>H</i> -indol-2,3-dion	41
<b>Şekil 72</b>	4,4'-Metilenbis(2-(3-(aril)-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -pirazol-5-il)fenol) Türevleri	41

<b>Şekil 73</b>	3,5-Diaril-, 1-Asetil-3,5-diaril- ve 1-Fenil-3,5-diaril-2-pirazolin Türevleri ve Antikanser Aktiviteleri	42
<b>Şekil 74</b>	1-(5-(3,4-Disübstitüefenil)-3-metil-4-(3,4,5-trimetoksifenil)-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)etanon Türevleri	43
<b>Şekil 75</b>	Benzofuran-2-il-(4,5-dihidro-3,5-sübstitüedifenilpirazol-1-il)metanon türevleri	43
<b>Şekil 76</b>	1-(3',4',5'-Trimetoksibenzoil)-4,5-dihidro-5-(4-metoksi/siyanofenil)-3-(3,4-dimetoksifenil)-1 <i>H</i> -pirazol Bileşikleri	44
<b>Şekil 77</b>	1-Asetil-3-(4-florofenil)-4,5-dihidro-2-pirazolin-5-fenil ursolat	45
<b>Şekil 78</b>	5-(Benzo[1,3][d]dioksol-5-il)-3-(4-metoksifenil)-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -pirazol-1-karbotiyoamit	45
<b>Şekil 79</b>	1-(3,5-Di(naftalen-2-il)-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)etanon	46
<b>Şekil 80</b>	Etkinlik Gösteren Pirazolin Türevlerinin Genel İskeleti	46
<b>Şekil 81</b>	8-[1-(4-Klorofenilsüfonil)-5-fenil-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -pirazol-3-il]-7-metoksi-2 <i>H</i> -kromen-2-on	47
<b>Şekil 82</b>	4,5,6,7-Tetrahidroindazol ve 3,3a,4,5,6,7-Hekzahidroindazol Türevi Pirazolin Bileşikleri	48
<b>Şekil 83</b>	3-[3/4-(7-Klorokinolin-4-ilamino)fenil]-5-aril-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -pirazol-1-karbaldehit Türevleri	48
<b>Şekil 84</b>	2-[3,5-Bis(4-klorofenil)-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -pirazol-1-il]-5-(2-metoksibenziliden)-1,3-tiyazol-4(5 <i>H</i> )-on	49
<b>Şekil 85</b>	Antikanser Etkinliği Olan 1-Asetil-3-(2-tiyenil)-5-aril-2-pirazolin Bileşikleri	50
<b>Şekil 86</b>	1-(5-(2,4-Dimetoksifenil)-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -pirazol-3-il) naftalen-2-ol	50
<b>Şekil 87</b>	<i>N</i> -(Naftalen-1-il)-5-sübstitüefenil-3-(3,4,5-trimetoksifenil)-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -pirazol-1-karbotiyoamit Türevleri	51
<b>Şekil 88</b>	4-Ariloksi-7-klorokinolin Yapısı Taşıyan Antikanser Etkinliği Olan 4,5-Dihidro-1 <i>H</i> -pirazolin Türevleri	51
<b>Şekil 89</b>	<i>N</i> -(Bütilkarbamoil)-4-[3-(2,5-dimetilfenil)-5-(3,4,5-trimetoksifenil)-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -pirazol-1-il]benzensülfonamit	52
<b>Şekil 90</b>	COX-1/COX-2/B-Raf İnhibitörü ve Antiproliferatif Aktivitesi Bulunan Pirazolin Türevleri	53
<b>Şekil 91</b>	Etkin Olan Kumarin-Pirazolin Hibrit Bileşikleri	54
<b>Şekil 92</b>	3-(3-[4-Klorofenil]-5-[4-(triflorometil)fenil]-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)-6-fenilpiridazin	55

<b>Şekil 93</b>	(5-(Benzo[d][1,3]dioksol-5-il)-3-(4-metoksifenil)-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -pirazol-1-il)(3,4,5-trimetoksifenil)metanon	56
<b>Şekil 94</b>	1-Sübstitüetiyo karbamoil-3-(tiyofen-2-il)-5-(1 <i>H</i> -indol-2-il)-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -pirazol Türevleri	56
<b>Şekil 95</b>	3-(1-[2-(Dibütilamino)asetil]-3-fenil-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -pirazol-5-il)-2 <i>H</i> -kromen-2-on	57
<b>Şekil 96</b>	1-(2-Tiyenil)-3-(4-klorofenil)-2-propen-1-on Bileşiğinin Sentezi	61
<b>Şekil 97</b>	3-(2-Tiyenil)-5-(4-klorofenil)-2-pirazolin Bileşiğinin Sentezi	61
<b>Şekil 98</b>	1-(2-Kloroasetil)-3-(2-tiyenil)-5-(4-klorofenil)-2-pirazolin Bileşiğinin Sentezi	62
<b>Şekil 99</b>	1-[(Heteroaril)tiyoasetil]-3-(2-tiyenil)-5-(4-klorofenil)-2-pirazolin Türevlerinin Sentezi	63
<b>Şekil 100</b>	Şalkon Türevinin Eldesi için Önerilen Mekanizma	81
<b>Şekil 101</b>	3,5-Diaril-2-pirazolin Türevinin Eldesi için Önerilen Mekanizma	82
<b>Şekil 102</b>	1-(2-Kloroasetil)-3,5-diaril-2-pirazolin Türevinin Eldesi için Önerilen Mekanizma	83
<b>Şekil 103</b>	Sonuç Bileşiklerinin Eldesi için Önerilen Mekanizma	84
<b>Şekil 104</b>	Pirazolin Halkasındaki ABX Spin Sistemi	85
<b>Şekil 105</b>	<b>11</b> Nolu Bileşiğin HSQC Spektrumundaki C Piklerinin Kimyasal Kayma Değerleri (ppm)	88
<b>Şekil 106</b>	Sonuç Bileşiklerinin ve Cisplatinin (a) AsPC-1, (b) U87 ve (c) U251 Hücrelerine karşı Farklı Konsantrasyonlarda Antikanser Etkileri	96
<b>Şekil 107</b>	<b>11</b> Nolu Bileşiğin (a) AsPC-1, U87, U251 Hücre Dizilerindeki ve (b) PBMC, Jurkat Hücre Dizilerindeki Hücre Canlılığı üzerine Etkileri	96
<b>Şekil 108</b>	U251 Hücrelerinin (a) 24 saat Kontrol; (b) Cisplatin (4.9 µM); (c) 3 saat Kontrol; (d) <b>11</b> nolu Bileşik (11.9 µM); (e) <b>11</b> nolu Bileşik (1.5 µM) IC <sub>50</sub> Konsantrasyonlardaki Hücresel ve Nükleer Morfolojik Değişiklikleri	97
<b>Şekil 109</b>	<b>11</b> Nolu Bileşiğin ve Cisplatinin Fe(II) Komplekslerinin (a) Demir (II) Kompleks Varlığında DNA Kırılma Kapasitesi ve (b) <b>11</b> Nolu Bileşik Kullanılarak FeSO <sub>4</sub> , H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ve Askorbik asit Varlığında ve Yokluğunda Yapılan Kontrol Deneyleri	98

## SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ

A549	: Human Lung Adenocarcinoma Cell Line (İnsan Akciğer Adenokarsinoma, Hücre Dizisi)
AsPC-1	: Human Pancreas Adenocarcinoma Cell Line (İnsan Pankreatik Adenokarsinoma Hücre Dizisi)
B16	: Melanoma Cell Line (Melanom Hücre Dizisi)
C6	: Rat Glioma Cell Line (Sıçan Glioma Hücre Dizisi)
CaCo-2	: Heterogeneous Human Epithelial Colorectal Adenocarcinoma Cell Line (Heterojen İnsan Epitelyal Kolorektal Adenokarsinoma Hücre Dizisi)
COLO 205	: Human Colon Cancer Cell Line (İnsan Kolon Kanser Hücre Dizisi)
COX	: Cyclooxygenase (Siklooksijenaz)
CSA	: Clonogenic cell survival assay (Klonojenik hücre canlılık yöntemi)
DMEM	: Dulbecco's Modified Eagle's Medium
DMF	: Dimetilformamit
DMSO	: Dimetil sülfoksit
DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub>	: Dimetil sülfoksit- <i>d</i> <sub>6</sub>
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DU-145	: Human Prostate Cancer Cell Line (İnsan Prostat Kanser Hücre Dizisi)
EAC	: Ehrlich Ascites Carcinoma (Ehrlich Asit Karsinomu)
EMA	: European Medicines Agency (Avrupa İlaç Ajansı)
EGF	: Epidermal Growth Factor (Epidermal Büyüme Faktörü)
EGFR-TK	: Epidermal Growth Factor Receptor Tyrosine Kinase (Epidermal Büyüme Faktörü Reseptör Tirozin Kinaz)
EKVX	: Non-Small Cell Lung Cancer Cell Line (Küçük Hücreli Olmayan Akciğer Kanseri Hücre Dizisi)
E.N.	: Erime Noktası
ESI	: Electrospray Ionization (Elektrosprey İyonlaştırma)
FAK	: Fokal Adezyon Kinaz
GSK	: Glikojen Sentaz Kinaz-3

HC-29	: Human Colon Cancer Cell Line (İnsan Kolon Kanser Hücre Dizisi)
HCT116	: Human Colon Carcinoma Cell Line (İnsan Kolon Karsinoma Hücre Dizisi)
HCT1299	: Human Colon Cancer Cell Line (İnsan Kolon Kanser Hücre Dizisi)
HCT-15	: Human Colon Cancer Cell Line (İnsan Kolon Kanser Hücre Dizisi)
HDAC	: Histon Deasetilaz
HeLa	: Cervix Adenocarcinoma Cell Line (Servikal Adenokarsinoma Hücre Dizisi)
Hep-2	: Human Epithelial Type 2 Cell Line (İnsan Epitelyal Tip 2 Hücre Dizisi)
HepG2	: Human Hepatocellular Carcinoma Cell Line (İnsan Hepatosellüler Karsinoma Hücre Dizisi)
HOP-62	: Human Lung Adenocarcinoma Cell Line (İnsan Akciğer Adenokarsinoma, Hücre Dizisi)
HOP-92	: Non-Small Cell Lung Cancer Cell Line (Küçük Hücreli Olmayan Akciğer Kanseri Hücre Dizisi)
HPLC	: High Performance Liquid Chromatography (Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi)
HRMS	: High Resolution Mass Spectrometry (Yüksek Çözünürlüklü Kütle Spektrometrisi)
HSQC	: Heteronuclear Single Quantum Coherence (Heteronükleer Korelasyon Spektroskopisi)
HT29	: Human Colorectal Adenocarcinoma Cell Line (İnsan Kolorektal Adenokarsinoma Hücre Dizisi)
GI <sub>50</sub>	: Growth Inhibition (50%) (Büyüme İnhibisyonu (%50))
IARC	: International Agency for Research on Cancer (Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı)
IC <sub>50</sub>	: Inhibitory Concentration (50%) (İnhibe Edici Konsantrasyon (%50))
IMR-32	: Human Neuroblastoma Cell Line (İnsan Nöroblastoma Hücre Dizisi)

IR	: Infrared (Kızılötesi)
İTK	: İnce Tabaka Kromatografisi
K562	: Human Leukemic Cell Line (İnsan Lösemi Hücre Dizisi)
KSP	: Kinesin İğsi Protein
L1210	: Mouse Lymphocytic Leukemia Cell Line (Fare Lenfositik Lösemi Hücre Dizisi)
LC <sub>50</sub>	: Lethal Concentration (50%) (Öldürücü Konsantrasyon (%50))
MAO	: Monoamin oksidaz
MCF-7	: Human Breast Adenocarcinoma Cell Line (İnsan Meme Adenokarsinoma Hücre Dizisi)
MDA-MB-435	: Metastatic Human Breast Cancer Cell Line (Metastatik İnsan Meme Kanseri Hücre Dizisi)
MDR1	: Multidrug Resistance Protein 1 (Çoklu İlaç Direnci Bağlantılı Protein 1)
MetAP	: Metiyonin Aminopeptidaz
MGC-803	: Human Gastric Cancer Cell Line (İnsan Mide Kanseri Hücre Dizisi)
mmol	: Milimol
MOLT-4	: Human Acute Lymphoblastic Leukemia Cell Line (İnsan Akut Lenfoblastik Lösemi Hücre Dizisi)
MS	: Mass spectrometry (Kütle spektrometrisi)
MTT	: 3-(4,5-Dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür
<i>m/z</i>	: Kütle/yük
NCI	: National Cancer Institute (Ulusal Kanseri Enstitüsü)
NCI-H460	: Non-Small Cell Lung Cancer Cell Line (Küçük Hücreli Olmayan Akciğer Kanseri Hücre Dizisi)
NMR	: Nükleer Manyetik Rezonans
NSC 4728	: 2-Amino-1,3,4-tiyadiazol
OVCAR-5	: Human Ovarian Carcinoma Cell Line (İnsan Yumurtalık Kanseri Hücre Dizisi)
P13K	: p110 $\alpha$ /p85 $\alpha$ Enzimi

PBMC	: Peripheral Blood Mononuclear Cell Line (Periferel Kan Mononökleer Hücree Dizisi)
PC-3	: Human Prostate Cancer Cell Line (İnsan Prostat Kanseri Hücree Dizisi)
PDE7	: Fosfodiesteraz 7
RPMI	: Roswell Park Memorial Institute
RPMI 8226	: Human Leukemia Cell Line (İnsan Lösemi Hücree Dizisi)
S180	: Murine Sarcoma Cell Line (Fare Sarkoma Hücree Dizisi )
SiHa	: Human Uterus Carcinoma Cell Line (İnsan Uterus Karsinoma Hücree Dizisi)
SKOV-3	: Human Ovarian Carcinoma Cell Line (İnsan Yumurtalık Kanseri Hücree Dizisi)
SNB-78	: Human Central Nervous System Cancer Cell Line (İnsan Merkezi Sinir Sistemi Kanseri Hücree Dizisi)
SR	: Human Lymphoma Cell Line (İnsan Lenfoma Hücree Dizisi)
SW-620	: Human Colon Cancer Cell Line (İnsan Kolon Kanseri Hücree Dizisi)
TEA	: Trietilamin
TMS	: Tetrametilsilan
TS	: Timidilat Sentaz
TTC	: Trifeniltetrazolyum klorür
U251	: Human Glioblastoma Cell Line (İnsan Glioblastoma Hücree Dizisi)
U87	: Human Glioblastoma Cell Line (İnsan Glioblastoma Hücree Dizisi)
UO-31	: Renal Cancer Cell Line (Böbrek Kanseri Hücree Dizisi)
US NCI60	: American National Cancer Institute (Amerikan Ulusal Kanseri Enstitüsü)
UV	: Ultraviyole (Mor ötesi)
VEGF	: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü

ZD4054  
502713

: Zibotentan  
: İnsan Kolon Kanseri Hücre Dizisi





## GİRİŞ ve AMAC

Kanser, hücrelerin kontrolsüz olarak çoğalması, invaziv özellik kazanması ve metastaz yapması ile ortaya çıkan letal bir hastalıktır. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı'na (IARC) göre, yeryüzündeki ölüm sebepleri arasında kardiyovasküler hastalıklardan sonra kanser, ikinci sırada yer almaktadır. Aynı kurumlar; 2030 yılına kadar kanserin hızla artarak, 24 milyon kişiyi etkileyeceğini ve bu kişilerden 17 milyonunun kanser sebebiyle hayatını kaybedeceğini öngörmektedirler (Tozkoparan ve ark., 2007; Nussbaumer ve ark., 2011; Rebucci ve ark., 2013; Nepali ve ark., 2014; Mathur ve ark., 2015).

Kanser, tüm dünyada olduğu gibi Türkiye'de de en önemli sağlık sorunlarından birisidir. Türkiye'de ölüm nedenleri arasında, kanser erkek ve kadınlarda ikinci sıradadır. Ancak 2002 yılında kansere bağlı ölümlerin %12'lerden, 2013 yılına doğru %20'lere yükselmesine bakıldığında, ülkemizde ölüm nedenleri arasında kanserin gelecek yıllar içerisinde birinci sıraya yükseleceği açıktır. En güncel verilere baktığımız zaman Türkiye'de her yıl tahminen 160 bin kişiye kanser teşhisi konulmaktadır. Kanser ile mücadelede alınan önlemler başarıya ulaşmazsa, bu rakam 2023'lü yıllarda yılda 400 binlere kadar çıkabilecektir (T.C. Sağlık Bakanlığı Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Kanser Daire Başkanlığı).

Kanser, kişide oluşturduğu fiziksel rahatsızlıkların yanında sosyal, maddi ve manevi yönleri ile de savaşılmaya zor bir rahatsızlıktır. Yirmi birinci yüzyılda kanser hakkındaki en önemli kontrol stratejisinin korunma ve erken teşhis olduğu bilinen bir gerçektir. Bu sebeple, kanserojen maddelerin saptanması ve gerekli tedbirlerin zamanında alınması oldukça önemlidir.

Günümüzde kanser hastalığının kesin sebebi bilinmemektedir. Kanserinin %90 oranında çevresel faktörler, %10 oranında ise genetik faktörlere bağlı olarak meydana geldiği vurgulanmaktadır. Çevresel faktörler arasında tütün, alkol, obezite ve çeşitli enfeksiyonlar en önemli olan unsurlardır. Genetik risk faktörleri ise kendiliğinden oluşan mitoz bölünme bozuklukları ve genetik mutasyonlar oluşturmaktadır (T.C. Sağlık Bakanlığı Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Kanser Daire Başkanlığı).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda, özellikle primer organ olarak; akciğer, meme ve ciltte oluşan kanserlerin sekonder organ olarak beyinde gözlemlenen metastazlarının çoğalması beyin tümörlerinin önemini arttırmıştır. Ayrıca, pankreas kanseri gibi hiçbir belirti vermeyen, sinsi bir şekilde ilerleyen kanser tipleri de günümüzde yaygınlaşmıştır.

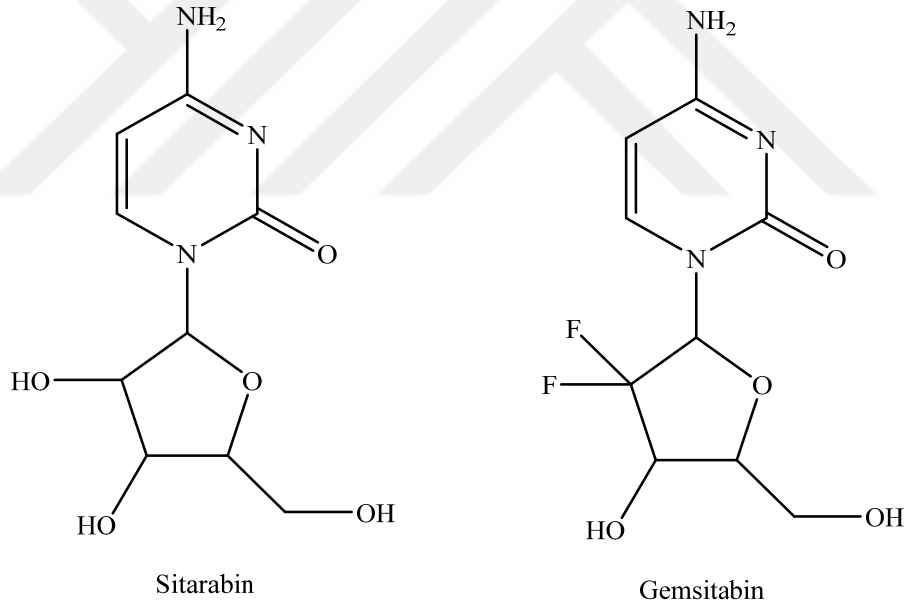
Kanser güç tedavi edilen bir rahatsızlıktır. Tedavi de tümörün lokalizasyonu, büyüklüğü, metastaz yapıp yapmadığı, histolojik ve patolojik özellikleri, hastanın fiziksel ve psikolojik sağlık durumu göz önüne alınarak en uygun tedavi süreci gerçekleştirilmektedir. Uygun tedavideki temel amaç, kişinin sağlıklı hücre ve dokusuna zarar vermeden öncelikle kanser hücrelerinin üreme ve gelişmesini durdurmak, daha sonra bu kanser hücrelerini tamamen temizleyip yok etmektir.

Kanserinin tedavi edilmesi için yararlanılan stratejiler arasında cerrahi operasyon, radyoterapi, immünoterapi ve kemoterapi yer almaktadır. Tedavide, kanserinin çeşidine ve hastalığın tanı anındaki evresine göre yukarıdaki metotlardan biri veya birkaçı kombine edilerek uygulanmaktadır.

Kemoterapötik ajanların kullanımı sonucu en sık karşılaşılan problem; kullanılan ilaç veya ilaçlara karşı direnç gelişmesidir ve bu direnç farklı kanser hücrelerine de taşınabilmektedir. Ayrıca, bu ajanların sağlıklı insan hücrelerini etkilemeden, kanser hücrelerini seçici olarak etkileyip çoğalmalarını durdurması veya bunları yok etmesi mümkün olmamaktadır. Antikanser ilaçların seçicilikleri sınırlıdır (Nussbaumer ve ark., 2011; Rebutti ve ark., 2013; Nepali ve ark., 2014; Mathur ve ark., 2015).

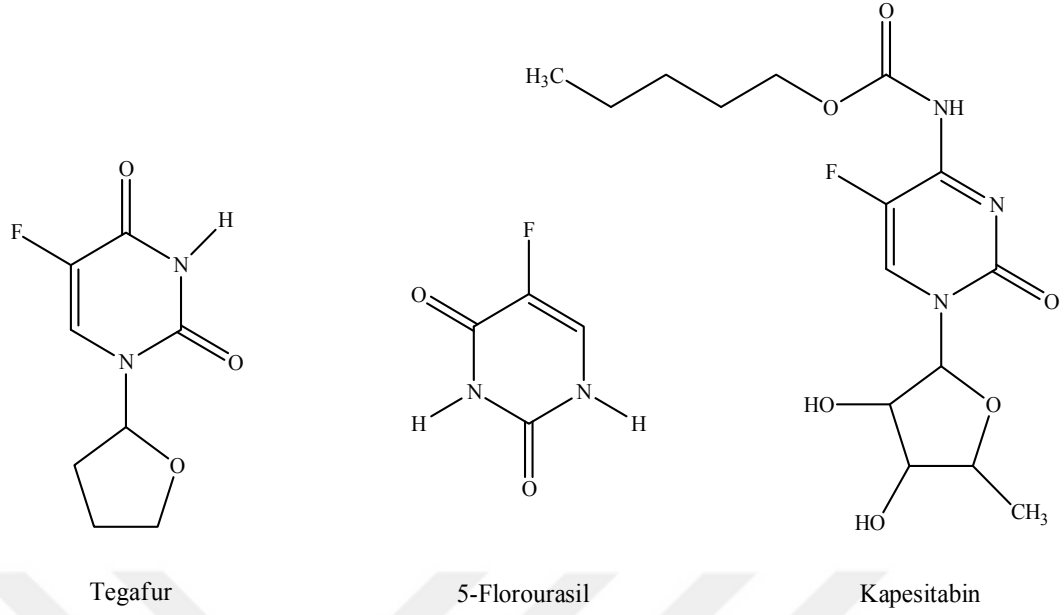
Günümüzde kanser tedavisinde kullanılan ya da klinik geliştirme aşamasında bulunan kimyasal yapılarında pirimidin, triazol, oksadiazol, tetrazol ve tiyadiazol gibi heterosiklik halkalar taşıyan antineoplastik ilaçların kimyasal formülleri ve kullanım alanı bulunduğu kanser tipleri aşağıda verilmiştir.

Sitarabin akut miyelöjen lösemi ve lenfositik lösemi tedavisinde kullanılan DNA zincirinin uzaması için gerekli DNA polimeraz enzimini inhibe ederek DNA sentezini engelleyen pirimidin halka yapısı taşıyan antikanser bir ilaç etkin maddesidir. Gemcitabin, Sitarabin'e kimyasal yapı ve metabolik yolak olarak çok benzer olmasına rağmen antikanser aktivite spektrumu daha geniştir (**Şekil 1**). Küçük hücreli olmayan akciğer kanseri, ilerlemiş meme, over, prostat, küçük hücreli akciğer kanseri, böbrek, pankreas ve mesane kanserlerinde etkili olduğu belirtilmiştir.



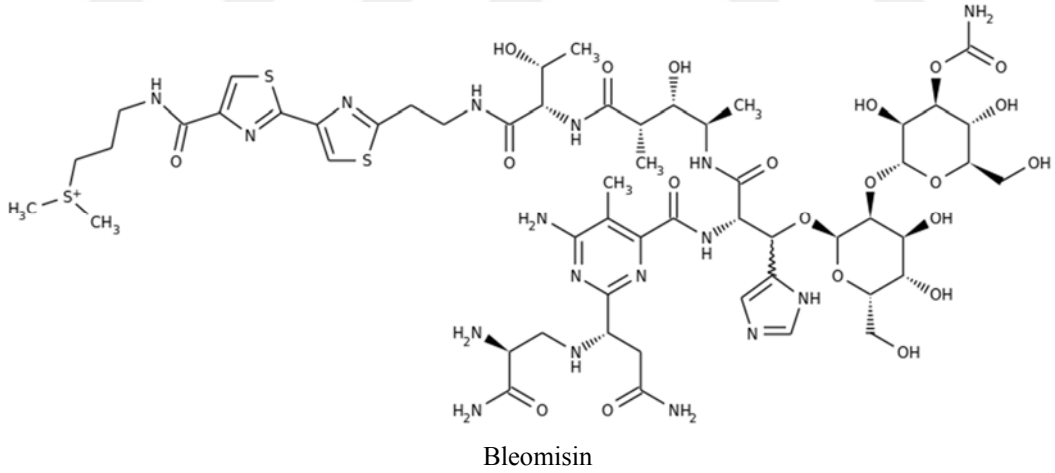
**Şekil 1. Pirimidin Türevi DNA polimeraz Enzimi İnhibitörleri**

Kapesitabin metastatik meme ve kolon kanseri tedavisinde kullanılan 5-Florourasil'in ön ilacıdır. 5-Florourasil timidilat sentetaz enzimini inhibe ederek etkinlik gösteren, florlu pirimidin türevi bir antimetabolittir. Meme, kolorektal, gastrointestinal, baş ve boyun kanserlerine karşı kullanılır. Tegafur'da bir ön ilaç olup vücutta kademeli olarak aktif metaboliti 5-Florourasil'e dönüşür (**Şekil 2**). Tegafur, Kapesitabin etkin maddesinden farklı olarak pankreas, mide, karaciğer, safra kesesi, mesane, serviks, baş ve boyun kanserlerinin tedavisinde kullanılır (Nussbaumer ve ark., 2011; Rx MediaPharma, 2016).



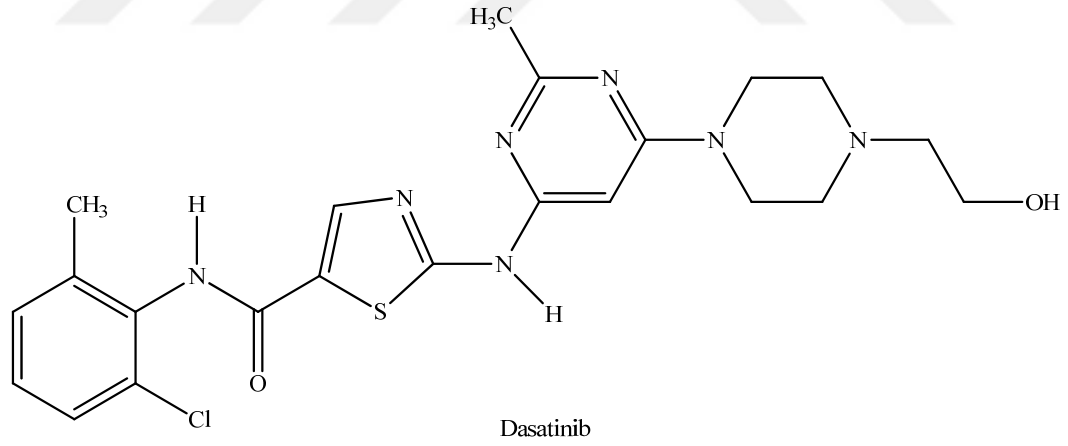
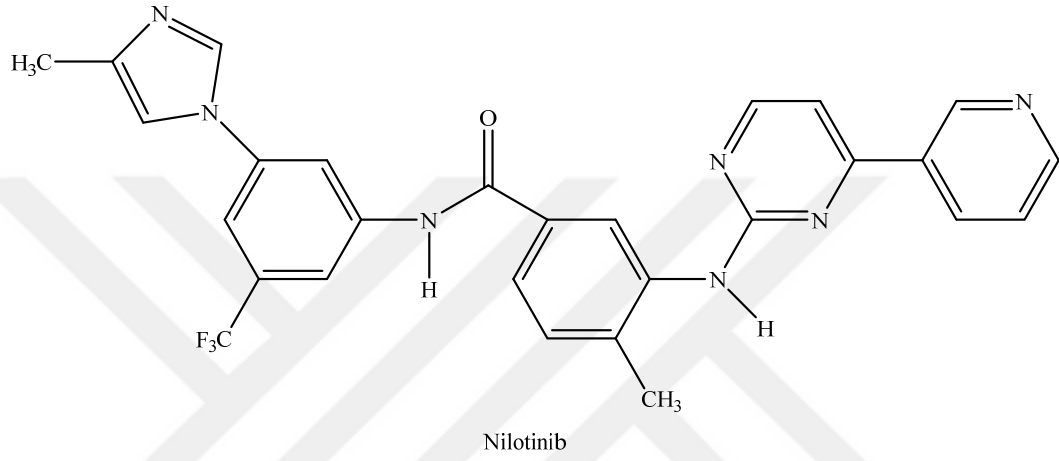
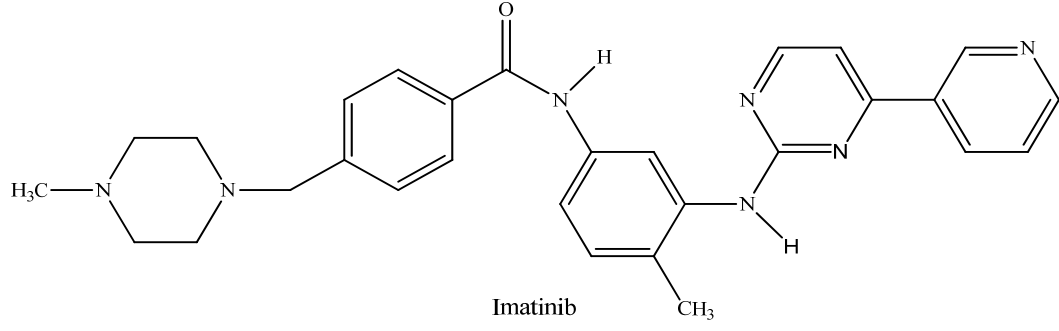
**Şekil 2. Timidilat sentetaz Enzimi İnhibitörleri**

Bleomisin, *Streptomyces verticillus* kültürlerinden fermentasyonla elde edilen pirimidin halkasını yapısında bulunduran 13 ayrı glikopeptit karışımından oluşur (**Şekil 3**). Kemoterapötik etkisini DNA zincirlerinde kırılmalara sebep olarak gösterir. Klinikte Hodgkin hastalığı, non-Hodgkin lenfoma, baş ve boyun, testis, penis, serviks ve vulvada meydana gelen skuamöz hücreli karsinom tedavilerinde kullanılır (Rx MediaPharma, 2016).



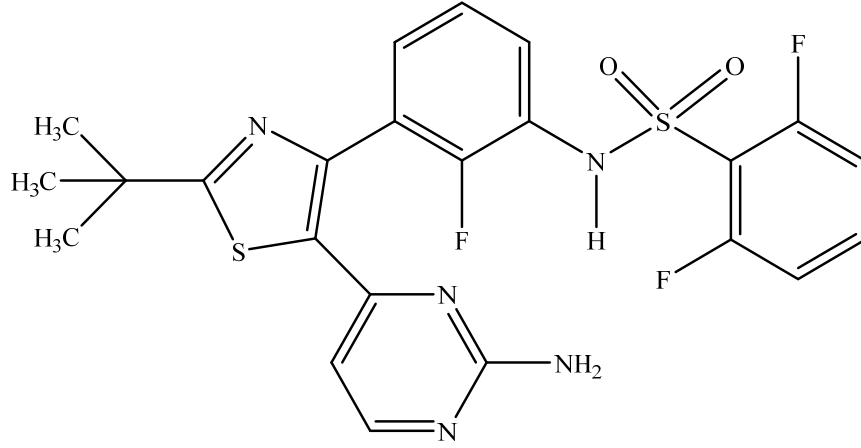
**Şekil 3. DNA Sentez İnhibitörü**

İmatinib, Dasatinib ve Nilotinib, pirimidin halka yapısı taşıyan protein tirozin kinaz inhibitörü antikanser etkin maddelerdir (**Şekil 4**). Klinikte kronik miyeloid lösemi ve akut lenfoblastik lösemi tedavisinde kullanılırlar (Rx MediaPharma, 2016).



**Şekil 4. Pirimidin Türevi Tirozin kinaz İnhibitörleri**

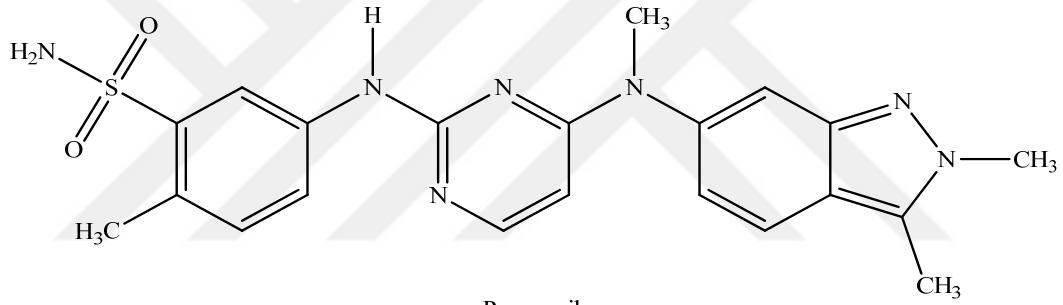
Dabrafenib malign melanomda kullanılır (Şekil 5) (Rx MediaPharma, 2016).



Dabrafenib

**Şekil 5. Pirimidin Türevi Serin/Treonin Protein Kinaz B-RAF İnhibitörü**

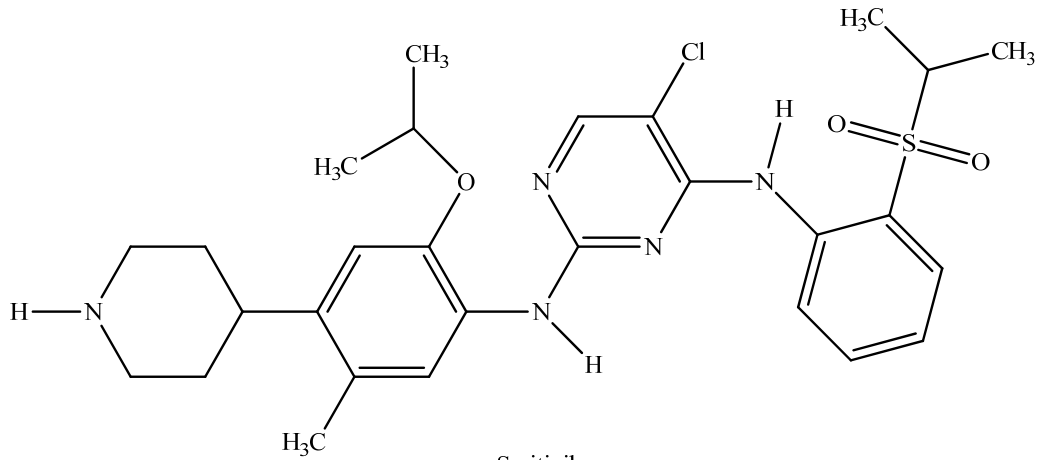
Pazopanib, metastatik renal hücreli kanseri bulunan hastalarda kullanılan multikinaz anjiyogenez inhibitörü etkin maddedir (Şekil 6) (Rx MediaPharma, 2016).



Pazopanib

**Şekil 6. Pirimidin Türevi Multikinaz Anjiyogenez İnhibitörü**

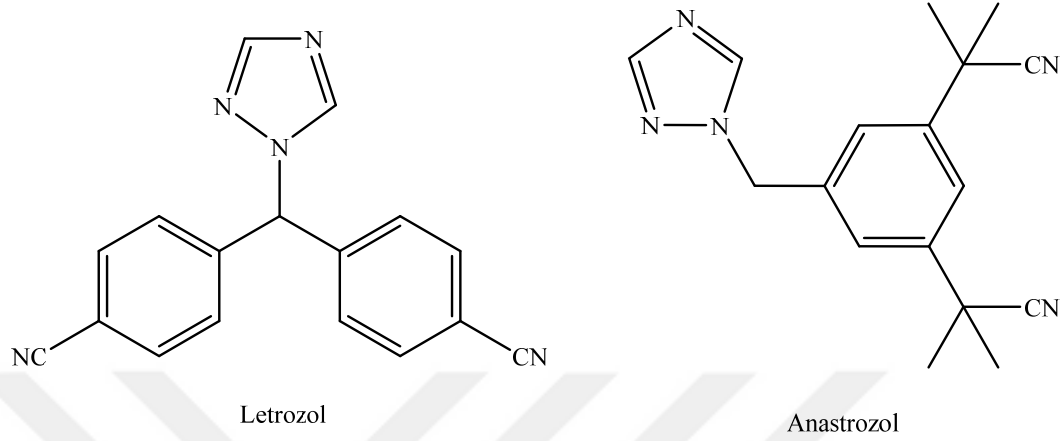
Seritinib, Avrupa İlaç Ajansı (EMA) tarafından küçük hücreli olmayan akciğer kanseri için koşullu olarak Mayıs 2015 tarihinde onaylanmış, ek izlemeye tabi anaplastik lenfoma kinaz inhibitörü bir ilaç etkin maddesidir (Şekil 7) (Rx MediaPharma, 2016).



Seritinib

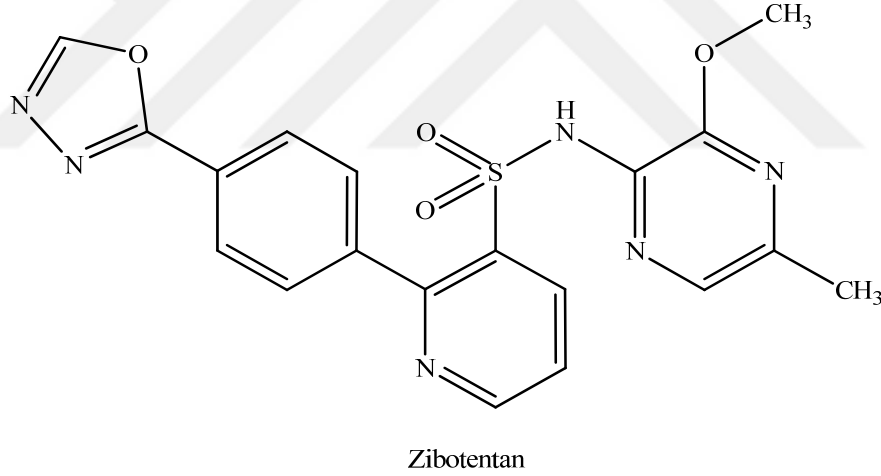
**Şekil 7. Pirimidin Türevi Anaplastik Lenfoma Kinaz İnhibitörü**

Letrozol ve Anastrozol, 1*H*-1,2,4-triazol halka yapısı taşıyan ve etkinliğini aromataz enzimini selektif olarak inhibe ederek gösteren postmenopozal kadınlarda antiestrogen tedaviye rağmen tekrarlayan, ilerleme gösteren meme kanseri vakalarında kullanılan nonsteroidal aromataz inhibitörü etkin maddelerdir (**Şekil 8**) (Küçükgüzel ve ark., 2015; Rx MediaPharma, 2016).



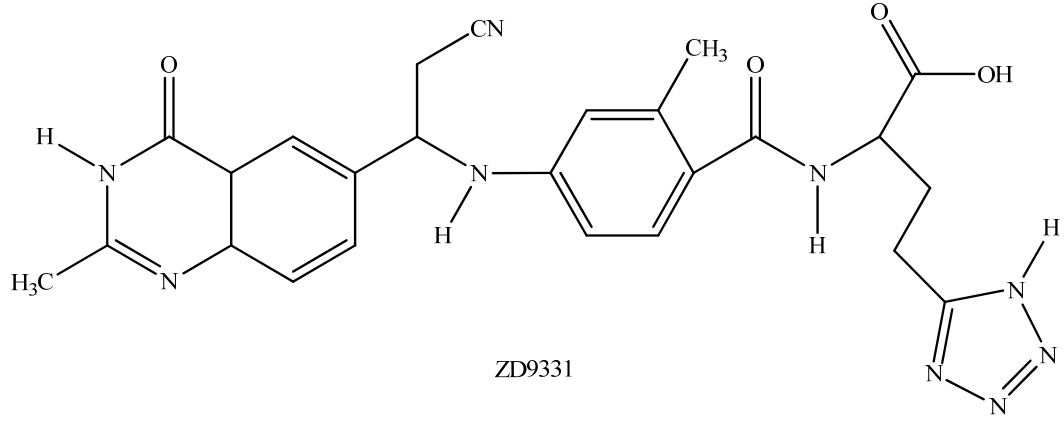
**Şekil 8. 1,2,4-Triazol Türevi Aromataz İnhibitörleri**

Yapısında oksadiazol halkası taşıyan zibotentan (ZD4054) antikanser ilaç adayı olarak klinik deneme aşamasındadır (**Şekil 9**) (Khan ve ark., 2014).



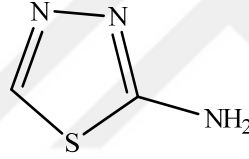
**Şekil 9. Oksadiazol Yapısı Taşıyan Endotelin Reseptör A Antagonisti**

Faz II klinik araştırmalarında; ilerlemiş metastatik kolorektal, over ve pankreas kanserlerine karşı, yapısında tetrazol halkası bulunduran ZD9331 antikanser ilaç adayı olarak denenmiştir (**Şekil 10**) (Matherly ve ark., 2014).



**Şekil 10. Tetrazol Türevi Antineoplastik İlaç Adayı ZD9331**

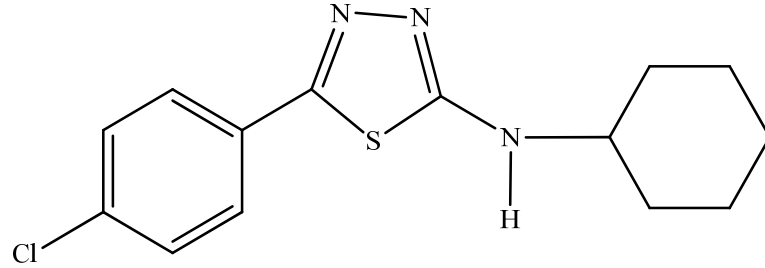
2-Amino-1,3,4-tiyadiazol (NSC 4728) bileşiğinin klinik öncesi çalışmalarda gösterdiği antikanser etki nedeniyle Faz II klinik çalışmalarına geçildiği, bu amaçla çok sayıda çalışma yapıldığı ve yapılmaya devam edildiği gözlenmektedir (**Şekil 11**). Ayrıca bu molekül öncü bileşik olarak alınarak, çok sayıda moleküler optimizasyon çalışmasının yapıldığı ve olumlu veriler elde edildiği gösterilmektedir (Oleson ve ark., 1955; Asbury ve ark., 1986; Asbury ve ark., 1987; Asbury ve ark., 1989; Asbury ve ark., 1990; Asbury ve ark., 1995; Asbury ve ark., 1996).



NSC 4728

**Şekil 11. Tiyadiazol Türevi Antineoplastik İlaç Adayı NSC 4728**

Pfizer ilaç firması Ar-Ge birimi tarafından gerçekleştirilen aktif ilaç molekülü tarama testlerinde; fosfodiesteraz 7 (PDE7) inhibitörü yeni bir antikanser tiyadiazolamin türevi öncü bileşiğe ulaşılmıştır (**Şekil 12**) (Vergne ve ark., 2004).



**Şekil 12. Tiyadiazol Türevi PDE7 İnhibitörü**

Antikanser ilaçların kullanımı toksisite, zayıf etkinlik ve ilaç direnci sebebiyle çok azdır. Bu sebeple son zamanlarda medisinal kimya alanında, piyasada kullanımda olan kemoterapötik ilaçlardan daha etkili, daha az toksik ve yan etkileri en aza indirilmiş yeni kemoterapötik ilaç tasarlama ve geliştirme çabaları büyük önem kazanmıştır (Altıntop ve ark., 2015).

Son yıllarda medisinal kimya ile ilgilenen araştırmacılar için pirimidin, triazol, oksadiazol, tetrazol, tiyadiazol ve pirazol benzeri heterosiklik halkalar, yeni ilaç keşfinde veya biyolojik aktif bileşik tasarımımda en çok kullanılan temel yapılarıdır. Pirazolin yapısı ise; komşu iki azot atomu taşıyan, beş üyeli aromatik karakter taşıyan bir halka olan pirazolün kısmi redüklenmiş halidir. Pirazolin halkası da ilaç etkin maddesi sentezinde çoğunlukla kullanılmaktadır. Literatürde 2-pirazolin halkasının sahip olduğu farklı farmakolojik aktiviteler (antikanser, antimikrobiyal, monoaminoksidaz inhibitörü, antidepresan, nöroprotektif, antikonvülsan, analjezik-antiinflamatuvar, antioksidan, antihipertansif, antihistaminik, antiviral olarak sıralanabilir) üzerine yapılmış çok sayıda araştırma bulunmaktadır.

Yapılan antikanser çalışmalarda pirazolin türevlerinin epidermal büyüme faktörü reseptör tirozin kinaz (EGFR-TK) inhibitörleri (Lv ve ark., 2011), aurora kinaz inhibitörleri (Shin ve ark., 2013), COX-2/B-Raf inhibitörleri (Yu ve ark., 2014), telomeraz inhibitörleri (Amin ve ark., 2015), tubulin polimerizasyon inhibitörleri (Qin ve ark., 2015) olarak etki gösterdikleri gözlemlenmiştir. Pirazolinler; sadece beyin, kemik, ağız, özofagus, mide, karaciğer, safra, pankreas, serviks, akciğer, meme, kolon, rektum ve prostat kanserlerinin önlenmesi amacıyla değil, aynı zamanda bazı pirazolin türevleri kanser kemopreventif ajan olarak kullanılmaktadır (Havrylvuk ve ark., 2009; Kumar ve ark., 2009; Congiu ve ark., 2010; Shaharyar ve ark., 2010; Al-Abdullah ve ark., 2011; Bano ve ark., 2011; Bashir ve ark., 2011; Lv ve ark., 2011; Shaaban ve ark., 2012; Amin ve ark., 2013; Insuasty ve ark., 2013; Marella ve ark., 2013; Shin ve ark., 2013; Alex ve ark., 2014; Montoya ve ark., 2014; Rathore ve ark., 2014; Yu ve ark., 2014; Amin ve ark., 2015; Qin ve ark., 2015).

Bunun yanı sıra; 1,3,4-oksadiazol, metabolik profili ve reseptör bölgesi ile hidrojen bağı yapma yeteneği sayesinde medisinal kimyada önemli bir yapı olarak gösterilmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalar; telomeraz, histon deasetilaz (HDAC), metiyonin aminopeptidaz (MetAP), timidilat sentaz (TS), glikojen sentaz kinaz-3 (GSK), epidermal büyüme faktörü (EGF), vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), fokal adezyon kinaz (FAK) gibi farklı büyüme faktörlerinin, enzimlerin ve kinazların inhibisyonu aracılığıyla 1,3,4-oksadiazol türevlerinin farklı kanser hücre dizilerine potansiyel antikanser etki gösterdiklerini vurgulamaktadır (De Oliveira ve ark., 2012; Khan ve ark., 2014; Bajaj ve ark., 2015). Triazollerin (Küükgüzel ve ark., 2015), tetrazollerin (Kumar ve ark., 2011), tiyadiazollerin (Haider ve ark., 2015) ve pirimidinlerin (Nussbaumer ve ark., 2011) de antikanser aktivite gösterdiği birçok çalışmada belirtilmiştir.

Bu tez çalışması kapsamında;

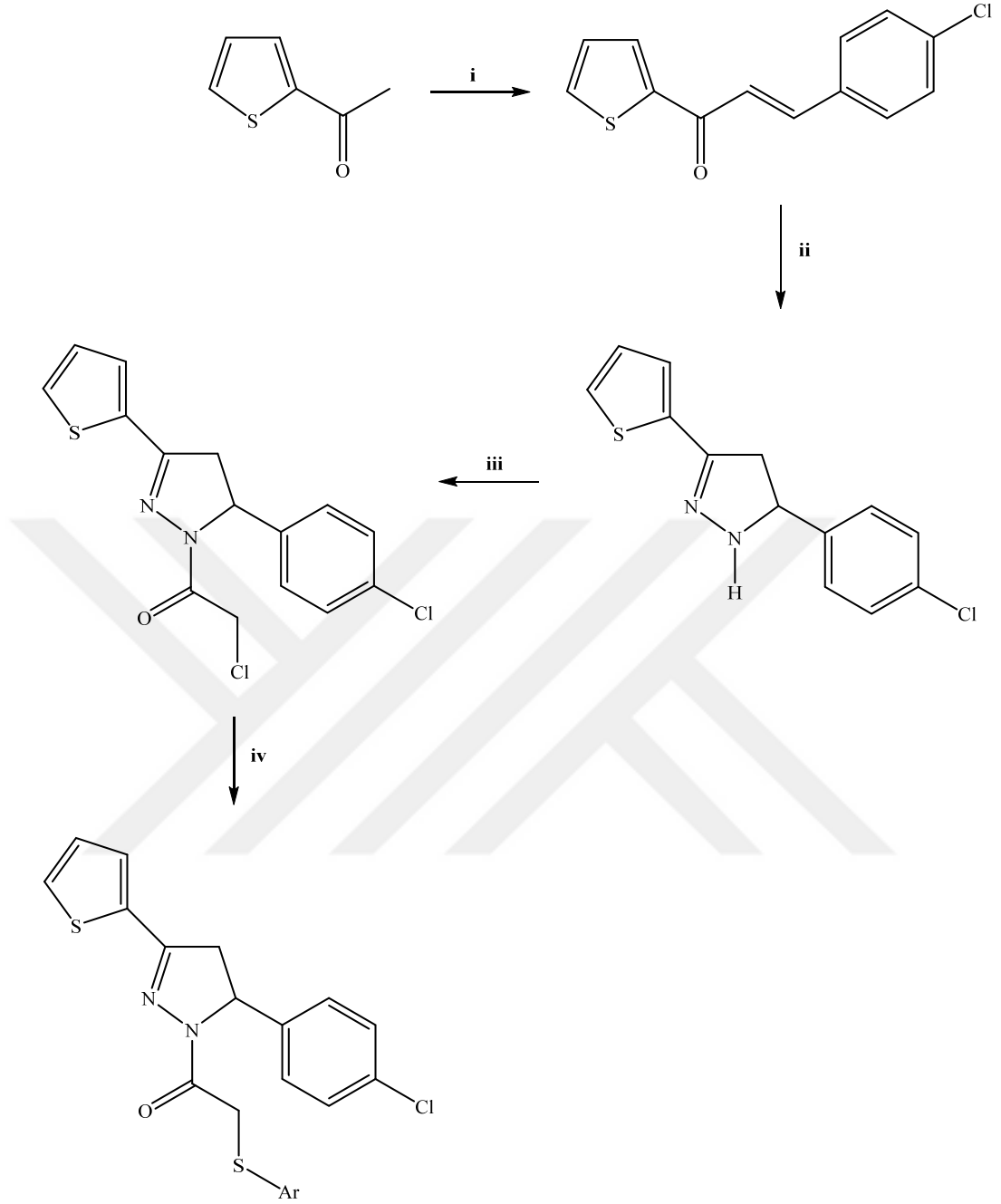
- 2-Pirazolin halkasının bir numaralı konumunda, asetil grubuna bağlı sübtitüe heteroaril tiyol taşıyan on iki adet yeni 1-[(aril)tiyoasetil]-3-(2-tiyenil)-5-(4-klorofenil)-2-pirazolin yapısında bileşiğin sentezlenmesi (**şekil 13**) (**izelge 1**),

- Bileşiıklerin yapılarının; Infrared (IR), <sup>1</sup>H-Nükleer Manyetik Rezonans (<sup>1</sup>H-NMR), <sup>13</sup>C-Nükleer Manyetik Rezonans (<sup>13</sup>C-NMR), Heteronükleer Korelasyon Spektroskopisi (Heteronuclear Single Quantum Coherence, HSQC), Kütle Spektroskopisi ve Elementel Analiz metodu kullanılarak aydınlatılması,



- Sentezlenen bileşiklerin U251 insan glioblastoma, U87 insan glioblastoma ve AsPC-1 insan pankreatik adenokarsinoma hücre dizileri üzerine antikanser etkilerinin MTT yöntemi ile araştırılması,
- En etkili bileşiğin antikanser aktivitesinin seçiciliğinin, normal periferal kan mononükleer hücreleri (PBMC) ve Jurkat T hücreli lösemi hücreleri üzerinde değerlendirilmesi,
- En etkili ve seçici bileşiğin U251 hücreleri üzerindeki apoptotik/nekrotik etkilerinin floresans mikroskobu kullanılarak PromoKine apoptotik/nekrotik hücreleri tespit etme kiti ile belirlenmesi,
- Buna ek olarak, en etkili ve seçici bileşiğin Supercoiled pUC19 DNA kullanılarak Agaroz jel elektroforez yöntemi ile DNA kırılma aktivitesinin araştırılması amaçlanmıştır.



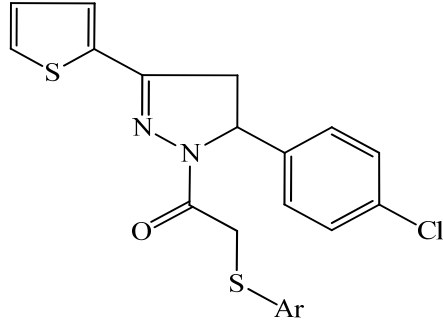


1-12

- (i) 4-Klorobenzaldehit, %10'luk Sodyum hidroksit Çözeltisi, Etanol, Oda Isısı, Reaksiyon süresi 6-8 Saat,
- (ii) %80'lik Hidrazin hidrat, Etanol, Reflaks, Reaksiyon Süresi 5 Saat,
- (iii) Kloroasetil klorür, Trietilamin, Toluen, Buz Banyosu (0-4 °C), Reaksiyon Süresi 1 saat,
- (iv) Ar-SH, Aseton, Oda Isısı, Reaksiyon Süresi 8 Saat.

**Şekil 13. Sentezi Gerçekleştirilen Bileşikler**

**Çizelge 1. Sentezlenen Sonuç Bileşikleri**



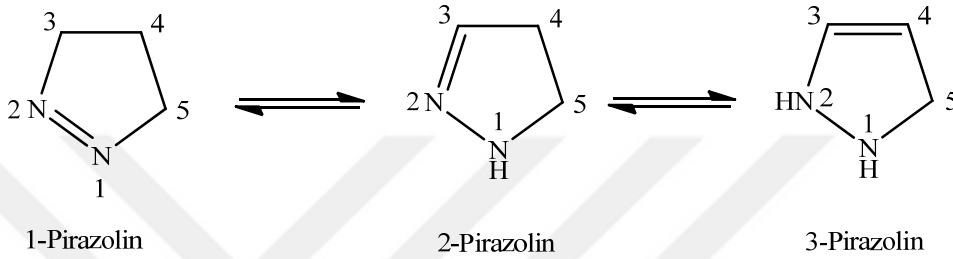
Bileşik	Ar
1	4-Metil-4 <i>H</i> -1,2,4-triazol-3-il
2	1-Metil-1 <i>H</i> -tetrazol-5-il
3	1-Fenil-1 <i>H</i> -tetrazol-5-il
4	1-(4-Hidroksifenil)-1 <i>H</i> -tetrazol-5-il
5	1-[2-(Dimetilamino)etil]-1 <i>H</i> -tetrazol-5-il
6	5-Metil-1,3,4-tiyadiazol-2-il
7	Pirimidin-2-il
8	5-Fenil-1,3,4-oksadiazol-2-il
9	5-(3-Piridil)-1,3,4-oksadiazol-2-il
10	5-(4-Klorofenil)-1,3,4-oksadiazol-2-il
11	5-(4-Metilfenil)-1,3,4-oksadiazol-2-il
12	5-(4-Metoksifenil)-1,3,4-oksadiazol-2-il

## KAYNAK BİLGİSİ

### Pirazolin Halka Sistemi Hakkında Genel Bilgiler

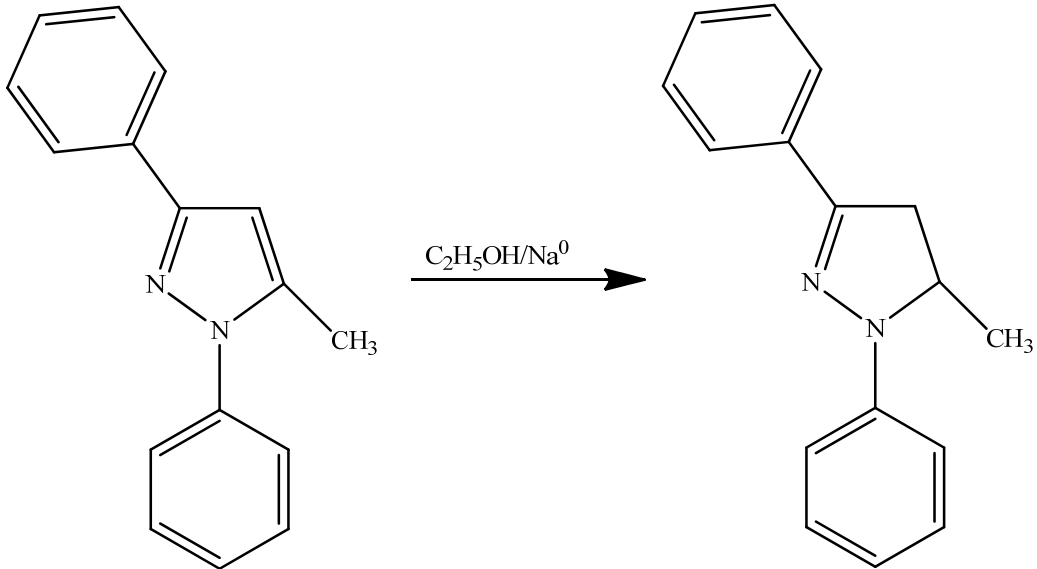
Pirazolinler; yapısında üç karbon atomu ve birbirine komşu iki azot atomu içeren, pirazollerin redüksiyonuyla elde edilen dihidropirazol yapısında olan beş üyeli monosiklik bileşiklerdir.

Pirazolinlerin 3 adet tautomerik yapısı bulunmaktadır. Çifte bağ bulunduğu yer doymamışlığın başladığı atomun numarası ile gösterilir (**Şekil 14**). Tautomerlerden en kararlı olanı 2-pirazolin halkasıdır ve monoimino karakterindedir (Auwers ve ark., 1929; Gupta ve ark., 1998; http-1). 2-Pirazolin halkasının; 4,5-dihidro-1*H*-pirazol ya da  $\Delta^2$ -pirazolin biçiminde yapılan isimlendirmeleri de mevcuttur.



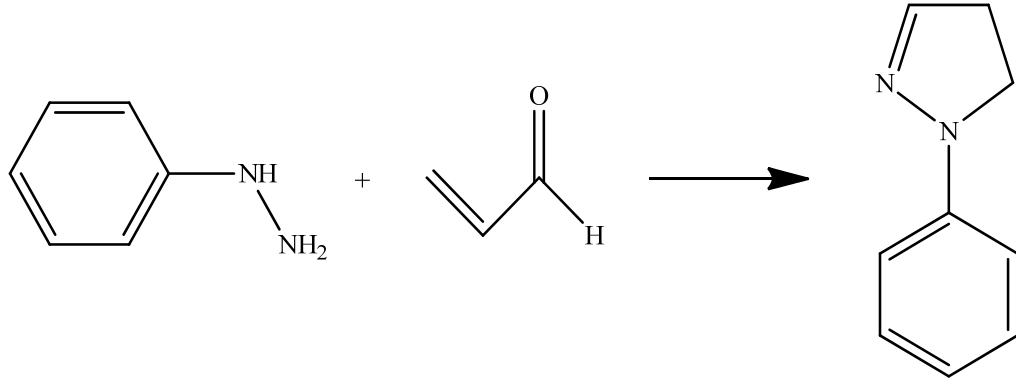
**Şekil 14. Pirazolinlerin Tautomerik Formları**

1885'de Knorr ve Blank pirazolin sentezine ait ilk çalışmayı yayınlamışlardır. Araştırmalarında 1,3-difenil-5-metilpirazolün, çözücü olarak etanol içeren ortamda sodyum metali ile redüksiyonundan bahsetmişlerdir (**Şekil 15**). Redüksiyon ürününü sıcak hidroklorik asit içinde nitroz asit ile tepkimeye soktuklarında mavi-yeşil renk elde etmişlerdir. Bu tepkime, pirazolinlerin teşhis testi olarak günümüzde kullanılmaktadır (Knorr ve ark., 1885).



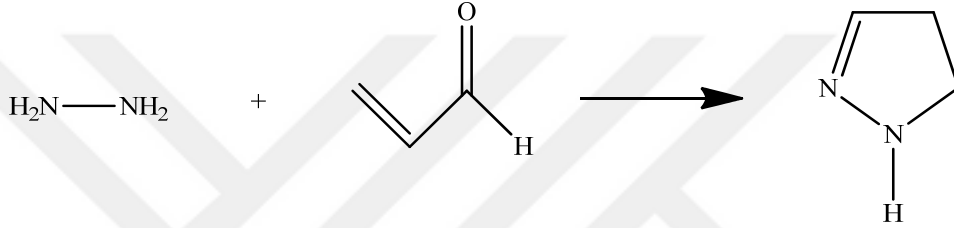
**Şekil 15. Knorr ve Blank Pirazolin Sentezi**

Fisher ve Knoevenagel tarafından ilk kez 1887 yılında fenil hidrazin ile akroleinin tepkimeye sokulması neticesinde 2-pirazolin yapısı elde edilmiştir (**Şekil 16**) (Fisher ve ark., 1887).



**Şekil 16. Fisher ve Knoevenagel Pirazolin Sentezi**

Curtius ve Wirsing, 1894’de ilk kez (Curtius ve ark., 1894) hidrazinle akroleini reaksiyona sokarak 2-pirazolin bileşiğini elde etmişlerdir (Şekil 17).



**Şekil 17. Curtius ve Wirsing Pirazolin Sentezi**

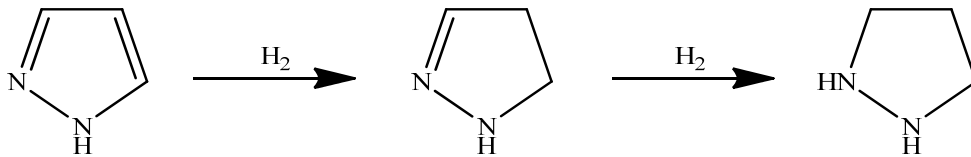
### **Pirazolin Halkasının Sentez Yöntemleri**

Pirazolin türevlerinin sentez yöntemleri şu şekilde sınıflandırılabilir;

- Pirazol, pirazolon ve pirazolidinlerden başlayan sentezler,
- Hidrazin ve hidrazin türevlerinden hareketle yapılan sentezler,
  - $\alpha,\beta$ -Doymamış karbonil bileşikleri ile kondenzasyon reaksiyonları,
  - $\alpha,\beta$ -Doymamış nitril bileşikleri ile katılım reaksiyonları,
  - $\beta$ -Süstitüe ketonlar ile kondenzasyon reaksiyonları,
  - Oksiran ve aziridinler ile kondenzasyon reaksiyonları,
  - Diğer hidrazin reaksiyonları,
- Diazoalkanların karbon-karbon çifte bağına katım reaksiyonları,
- Diğer pirazolin sentez yöntemleri.

### ***Pirazol, Pirazolon ve Pirazolidinlerden Başlayan Sentezler***

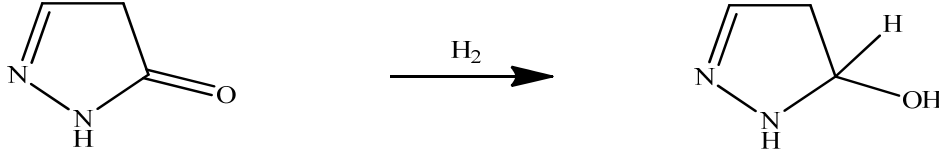
Pirazolinlerin, pirazollerin redüksiyonu ile sentezi pek tercih edilmemektedir. Çünkü pirazolinin yanında pirazolidin de oluşmaktadır. Ayrıca reaksiyon sırasında halka yapısı bozulabilmektedir (Şekil 18).



**Şekil 18. Pirazol Halkasının Redüksiyonu**

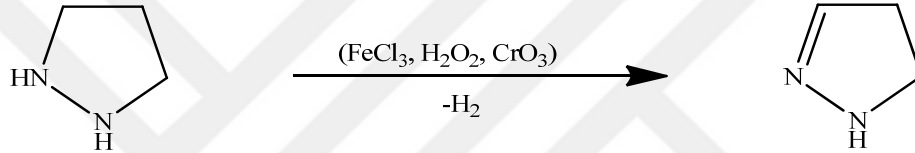
Redüksiyon; palladyum katalizörlüğünde hidrojenle, asetik asit içerisinde çinkoyla veya etanollü ortamda sodyumla yapılmaktadır. Halopirazoller sodyumla redüklenirken dehalojenasyon da meydana gelmektedir.

Pirazolonların redüksiyonuyla hidroksipirazolinlerin oluştuğu, etanol içerisinde sodyumla reaksiyonun düzgün gerçekleştiği, lityum alüminyum hidrür ile reaksiyonunda ise verimin düşük olduğu bildirilmektedir (**Şekil 19**) (Jarboe, 1962).



**Şekil 19. Pirazolon Halkasının Redüksiyonu**

Pirazolin sentezinde nadiren pirazolidinler kullanılır. Pirazolidinlerin dehidrojenasyonu amacıyla ferri klorür, hidrojen peroksit, kromik asit, bakır (II) klorür, civa oksit veya civa asetat gibi oksitleyici ajanlar kullanılır (**Şekil 20**) (Knorr ve ark., 1885; Michaelis ve ark., 1900; Von Thom ve ark., 1923).

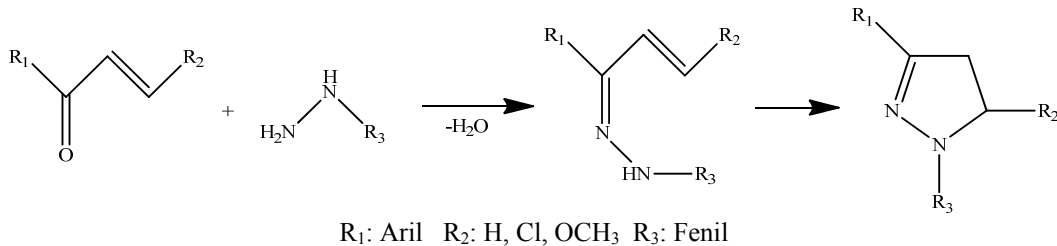


**Şekil 20. Pirazolidin Halkasının Oksidasyonu**

### ***Hidrazin ve Hidrazin Türevlerinden Hareketle Yapılan Sentezler***

#### ***$\alpha,\beta$ -Doymamış Karbonil Bileşikleriyle Kondenzasyon Reaksiyonları***

Pirazolin halkasının oluşturulmasında en yaygın olarak kullanılan yöntemdir. Hidrazin ve türevlerinin,  $\alpha,\beta$ -doymamış karbonil bileşikleriyle reaksiyonu sonucu oluşturduğu kondenzasyon ürünleri 2-pirazolinleri oluşturur. Reaksiyonun ilk aşamasında ara ürün olarak hidrazon bileşikleri oluşur. İkinci aşamasında ise C=C çifte bağına, N-H katılımı sonucu halka siklizasyonu tamamlanır. Bu yöntem, 2-pirazolin türevlerinin oluşturulması için en tanınan yöntemlerden biri olarak güncelliğini korumaktadır. (**Şekil 21**) (Feres ve ark., 1969; Lévai, 1997; Holla ve ark., 2000; Lévai, 2002; Gökhan ve ark., 2003; Pimenov ve ark., 2004).



**Şekil 21. Hidrazin Türevleriyle  $\alpha,\beta$ -Doymamış Karbonil Bileşiklerinin Kondenzasyon Reaksiyonu**

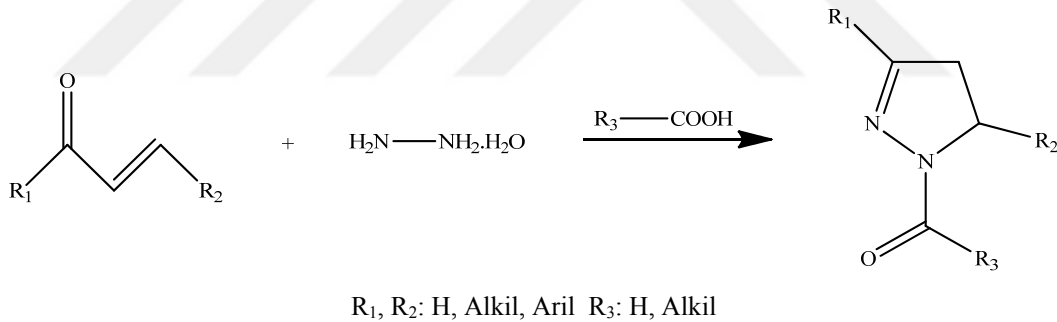
Hidrazin ve türevlerinin  $\alpha,\beta$ -doymamış karbonil bileşikleriyle tepkimesinde ara ürün olarak elde edilen hidrazonlar, kararsız oldukları için elde edilemez ve siklizasyona uğrayarak 2-pirazolinler elde edilir. Ancak hidrazonların değişik yöntemlerle eldesi mümkündür. Benzalasetofenon yapısı bulunan bileşiklerde, aromatik halkada elektron çeken grupların bulunması kondenzasyon sırasında

oluşan hidrazon bileşiğinin kararlılığını arttırdığı belirtilmiştir (El-Rayyes ve ark., 1984; Kobrakov ve ark., 2003; Salgın-Gökşen ve ark., 2015).

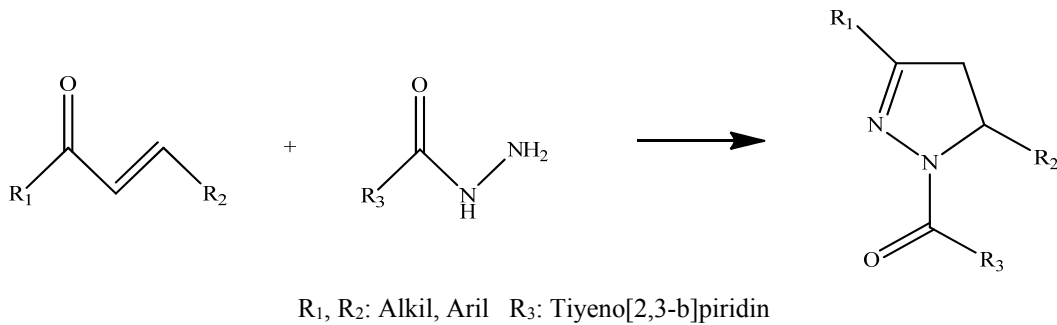
İzole edilen hidrazonların pirazolinlere dönüşümü yüksek sıcaklıkta, hidroklorik asit içerisinde, asetik asitli ortamda, asetik asit-hidrobromik asit karışımında veya sodyum asetat varlığında gerçekleştirilebilmektedir. 2-Pirazolinlerin eldesinde hız belirleyen basamağın, hidrazon N-H'nin mevcut yapıdaki C=C çifte bağına katımının gerçekleştiği varsayılmaktadır. Hidrazonların elektronik yapısı, stereokimyası ve çözünebilirliği, 2-pirazolinlerin eldesinde halka siklizasyonunu etkileyebilir (Chambers ve ark., 1960; Kallay ve ark., 1967; Lóránd ve ark., 1985; Salgın-Gökşen ve ark., 2015).

$\alpha,\beta$ -Doymamış karbonil bileşikleri ile hidrazin hidratın kullanıldığı reaksiyonlarda çözücü olarak genellikle etanol kullanılmaktadır. Reaksiyon ayrıca; çözücü kullanılmadan, metanol ve propanol kullanılarak da yapılabilmektedir. Aril/alkil sübtitüsyonlu hidrazin türevleri ile yapılan reaksiyonlarda ise üst taraftaki çözücülere ek olarak asetik asit, *N,N*-dimetilformamit, piridin de kullanılabilir. Reaksiyon asidik veya bazik ortamda gerçekleştirilebilmektedir (Salgın-Gökşen ve ark., 2015).

$\alpha,\beta$ -Doymamış ketonlar, hidrazin hidrat ile karboksilli asit çözeltisi içerisindeki reaksiyonu sonucu 1-açıl-2-pirazolin türevleri elde edilir. Reaksiyon için asetik, formik, propanoik, butirik ve izobutirik asit gibi asitler kullanılmaktadır. Bu ve benzeri bileşikler  $\alpha,\beta$ -doymamış karbonil bileşiklerinin açıl hidrazinlerle reaksiyonu ile de sentezlenebilmektedir (Şekil 22 ve Şekil 23) (Ho, 1999).



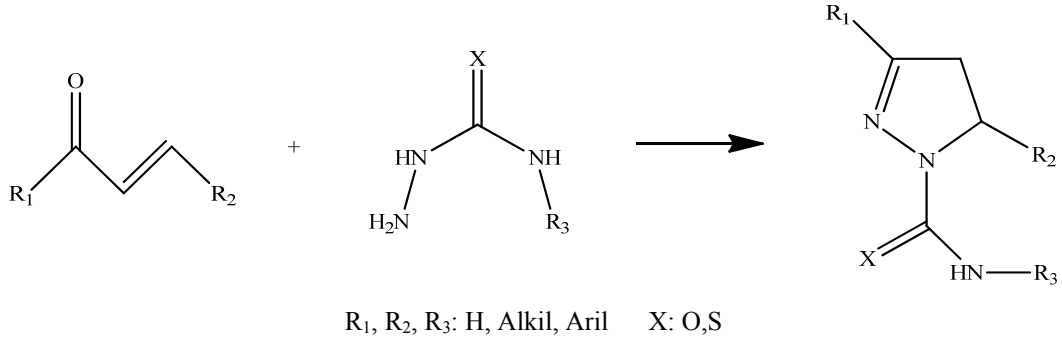
**Şekil 22. 1-Açıl-2-pirazolin Türevlerinin Sentezi**



**Şekil 23. Açıl Hidrazinlerden Pirazolin Sentezi**

$\alpha,\beta$ -Doymamış karbonil bileşikleri ayrıca; semikarbazit/tiyosemikarbazit ve sübtitüe türevleri ile genellikle etanol içerisinde hidroklorik asit veya asetik asit ile asit ortamda, sodyum hidroksit, potasyum hidroksit gibi ajanlarla da bazik ortamda

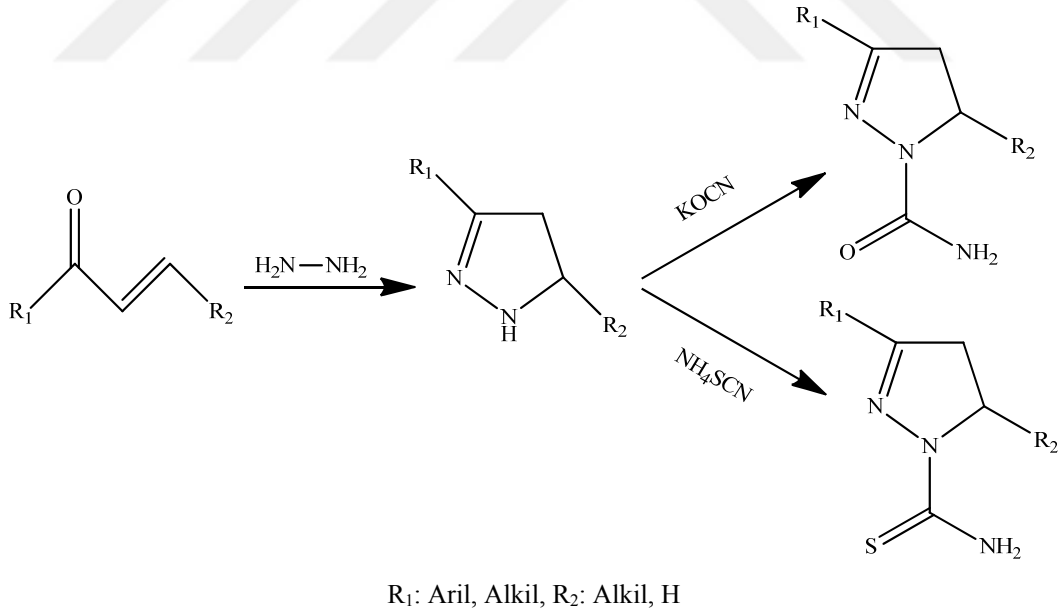
tepkimeye girerek 1-karbamoil veya 1-tiyokarbamoil-2-pirazolinleri meydana getirir (Şekil 24) (Palaska, 1991).



**Şekil 24. 1-Karbamoil/Tiyokarbamoil-2-pirazolin Sentezi**

Asidik ortamda, ara ürün olarak oluşan semikarbazon veya tiyosemikarbazon bileşikleri dayanıklı yapılar olmaları sebebiyle siklizasyonun gerçekleşmediği durumlar olmaktadır. Bunu önlemek için, bu bileşiklerin asetik asit içerisinde ısıtılmaları gerekir. Ancak bu durumda karbamoil grubu kopmakta ve istenmeyen yan ürünler oluşmaktadır. Bu yüzden, semikarbazon ve tiyosemikarbazonlar etanol içerisinde sodyum hidroksit ve sodyum asetat varlığında ısıtılarak 1-karbamoil ve 1-tiyokarbamoil-2-pirazolin türevleri elde edilir (Şahin, 2005).

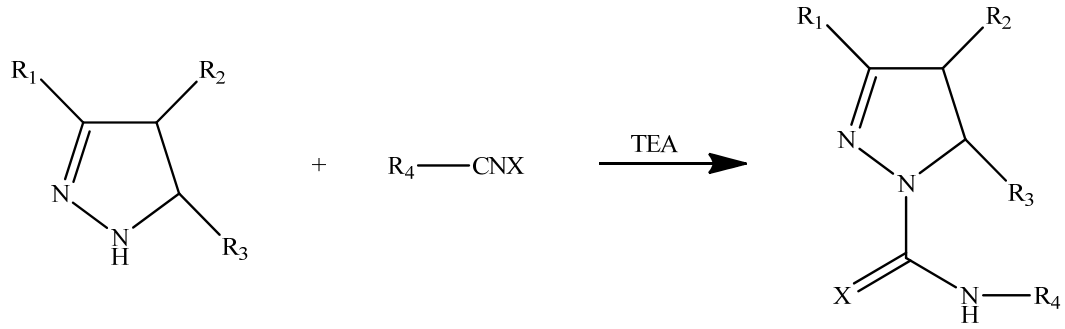
3,5-Disübstitüe-2-pirazolin türevlerinin asidik şartlarda, siyanat veya tiyosiyanatlarla reaksiyonu ile 1-karbamoil/1-tiyokarbamoil-3,5-disübstitüe-2-pirazolin türevi bileşikler elde edilmektedir (Şekil 25) (Palaska, 1991).



**Şekil 25. 1-Karbamoil ve 1-Tiyokarbamoil-3,5-disübstitüe-2-pirazolin türevleri**

Bir numaralı pozisyonlarında sübstitüenti bulunmayan 2-pirazolin türevlerinin, trietilamin (TEA) varlığında sübstitüe izosiyanat/izotiyosiyanatlar ile reaksiyona tabi tutulmasıyla 1-sübstitüekarbamoil/1-sübstitüetiyokarbamoil-2-pirazolin türevleri elde edilir (Şekil 26) (Şahin, 2005).

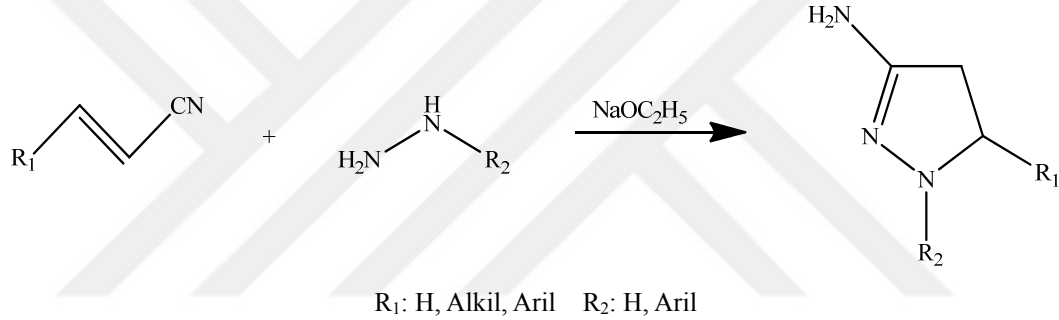




**Şekil 26. 2-Pirazolinlerin Aril veya Alkil İzosiyanat/İzotiyosiyanat ile Reaksiyonu**

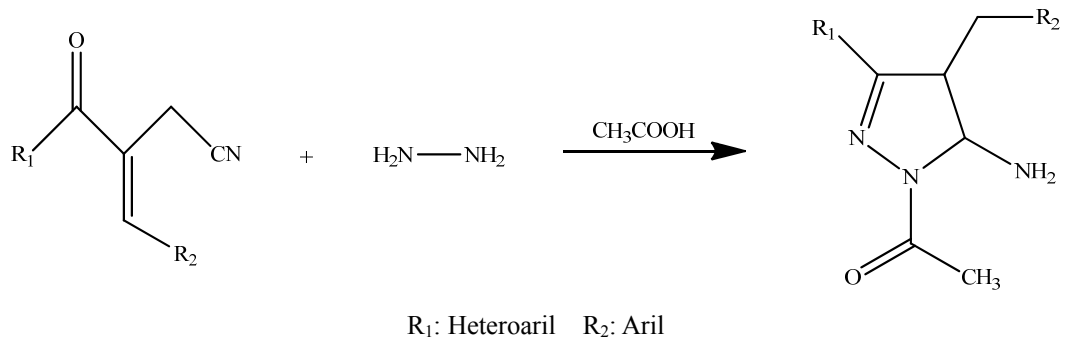
*α,β-Doymamış Nitril Bileşikleri ile Katım Reaksiyonları*

α,β-Doymamış nitriller, hidrazin türevleriyle alkali şartlarda reaksiyona girip 3-amino-2-pirazolin türevlerini meydana getirirler. Tepkime alkali olarak kullanılan alkoksit varlığında nitril grubuna hidrojen katımıyla başlayıp, oluşan imin yapısının C=C çifte bağına katımıyla sonlanır (**Şekil 27**) (Lévai, 2002; Salgın-Gökşen, 2015).



**Şekil 27. α,β-Doymamış Nitrillerin Hidrazinlerle Reaksiyonu**

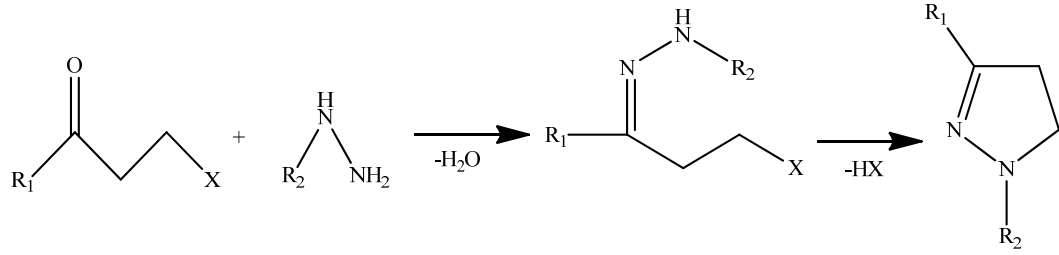
α,β-Doymamış nitrillerin, hidrazin hidratla hidrazon meydana getirmesi ve ardından asetik asit varlığında reaksiyon vermesi ile 1-asetil-5-amino-2-pirazolin türevleri oluşur (**Şekil 28**) (Lévai, 2002; Şahin, 2005).



**Şekil 28. 1-Asetil-5-amino-2-pirazolin Sentezi**

*β-Süstitüe Ketonlarla Kondenzasyon Reaksiyonları*

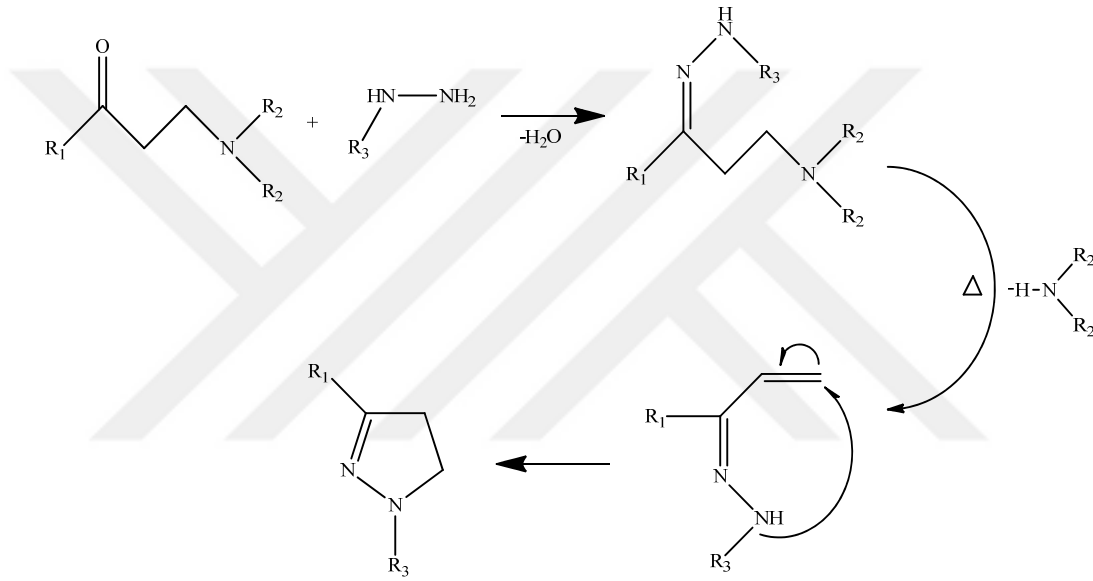
Etilketonların β-konumunda; halojen, hidroksi, arilseleno, alkoksi, aril sülfonil ve dialkilamino süstitüsyonlu türevleri ile hidrazin, alkil/aril hidrazin, semikarbazit/tiyosemikarbazit veya türevlerinin tepkimesi neticesinde 2-pirazolin türevleri oluşmaktadır (**Şekil 29**) (Salgın-Gökşen, 2015).



R<sub>1</sub>: H, Alkil, Aril, CONH<sub>2</sub>, CSNH<sub>2</sub> ; R<sub>2</sub>: Aril ; R<sub>3</sub>: H, CH<sub>3</sub> ; X: Cl, Br, OH, OR, SeAr, NR<sub>2</sub>

### Şekil 29. $\beta$ -Süstitüe Ketonların Hidrazinlerle Reaksiyonu

$\beta$ -Dialkilaminoetil ketonların hidrazin türevleri ile yaptığı reaksiyonlar Mannich reaksiyonu şartları altında gerçekleşir. Karbonil grubundan hidrazon, bunu takiben  $\beta$ -eliminasyonla etilenik yapı meydana gelmektedir. Bunun sonucunda çifte bağa katım gerçekleşmektedir (Şekil 30) (Palaska, 1991).

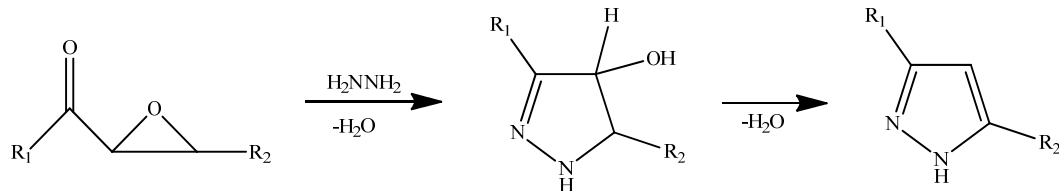


R<sub>1</sub>: H, Alkil, Aril R<sub>2</sub>: CH<sub>3</sub> R<sub>3</sub>: Fenil veya Süstitüe Fenil

### Şekil 30. $\beta$ -Dialkilaminoetil Ketonların Hidrazinlerle Reaksiyonu

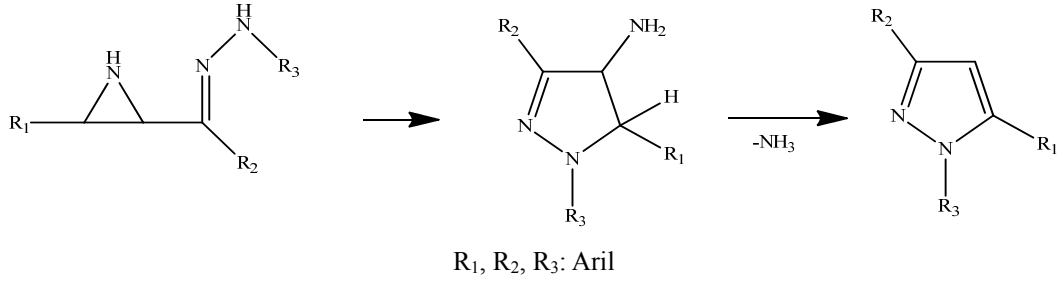
#### Oksiran ve Aziridinlerle Kondenzasyon Reaksiyonları

Ketooksiran/Ketoaziridin türevleri ile hidrazinlerin tepkimesi neticesinde 4-hidroksi/4-alkilamino-2-pirazolin türevi bileşikler oluşmaktadır. Fakat elde edilen 2-pirazolin türevi bileşikler dayanıksız olmalarından dolayı kolaylıkla su/amonyak kaybederek pirazol türevlerine dönüşürler (Şekil 31 ve Şekil 32) (Şahin, 2005).



R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>: Aril

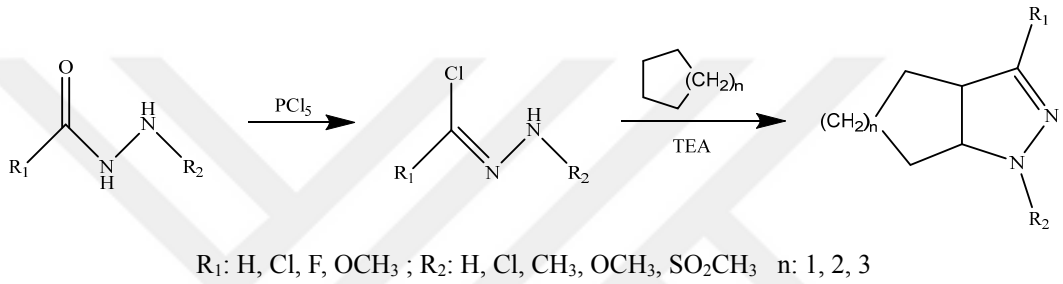
### Şekil 31. Ketooksiran Bileşiklerinin Hidrazin ile Reaksiyonu



**Şekil 32. Ketoaziridin Bileşiklerinin Hidrazin ile Reaksiyonu**

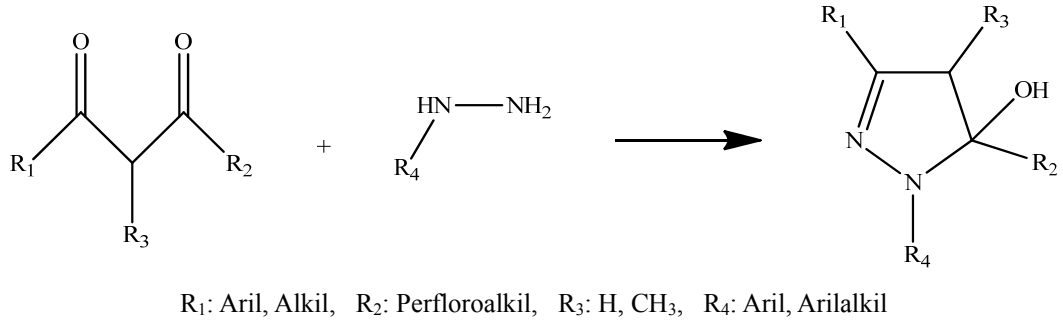
*Diğer Hidrazin Reaksiyonları*

Aroilhidrazinler fosfor pentaklorür ile reaksiyona girerek  $\alpha$ -klorohidrazonları oluşturular.  $\alpha$ -Klorohidrazonlar TEA varlığında sikloalkanlar ile bisiklik 2-pirazolin bileşiklerini verirler (**Şekil 33**) (Sui ve ark., 2000).



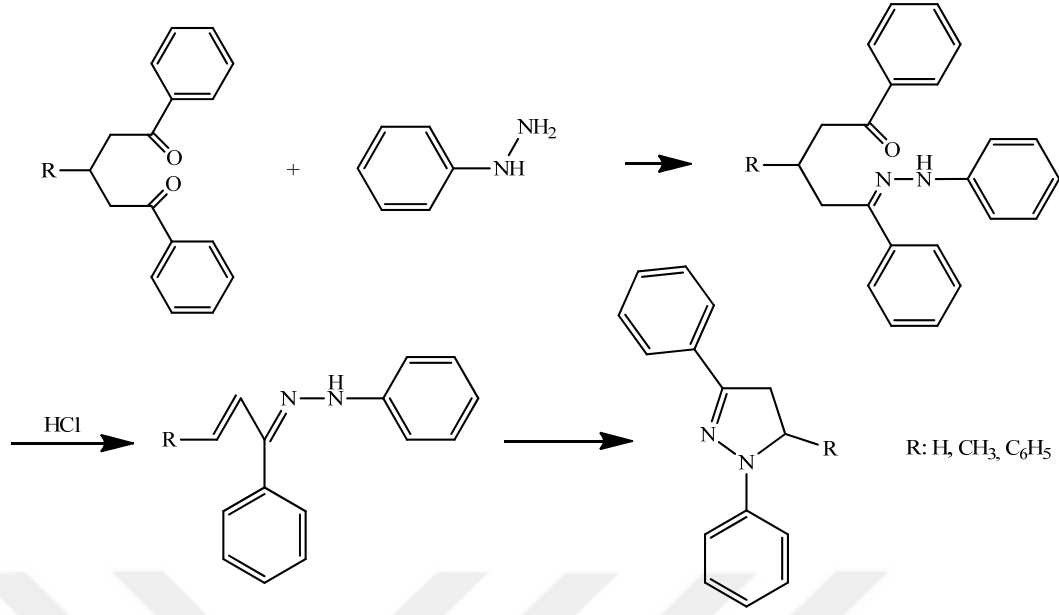
**Şekil 33.  $\alpha$ -Klorohidrazonlar ile Sikloalkanların Reaksiyonu**

1,3-Aril/alkil diketonlar sübtitüe hidrazinlerle 5-hidroksi-2-pirazolinleri verirler. Bu bileşikler, su kaybederek pirazol türevlerine dönüşürler (**Şekil 34**) (Zelenin ve ark., 2002).



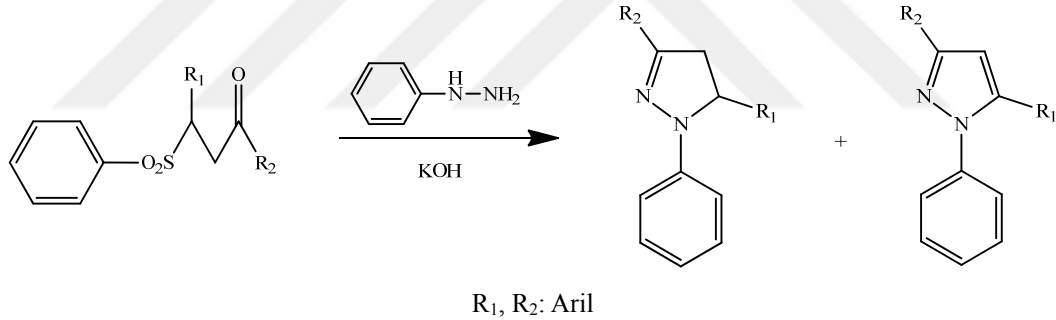
**Şekil 34. 1,3-Aril/alkil Diketonların Hidrazinlerle Reaksiyonu**

1,5-Difenil-1,5-pentandion ve 3-sübtitüe türevlerinin fenil hidrazinlerle tepkimesi sonucu hidrazon bileşikleri meydana gelir. Bunların asit ortamda ısıtılmasıyla 1,3-difenil veya 1,3,5-trifenil-2-pirazolinler elde edilir (**Şekil 35**) (Moskovkina ve ark., 2002).



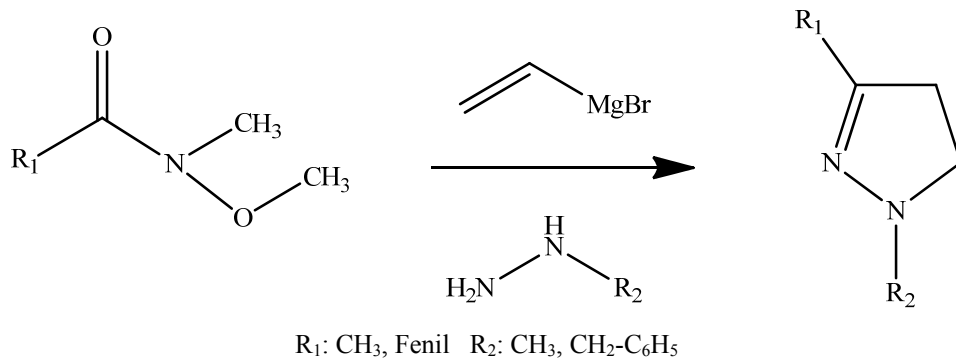
**Şekil 35. 3-Substitüe-1,5-difenil-1,5-pentandionun Fenil hidrazinle Tepkimesi**

3-(Fenilsülfolil)-1,3-diarilpropan-1-on türevlerinin fenil hidrazin ile tepkimesi neticesinde pirazol türevleri oluşmaktadır. Ancak reaksiyon azot gazı ortamında gerçekleştirilirse 1,3,5-triaril-2-pirazolin bileşikleri elde edilmektedir (**Şekil 36**) (Chen ve ark., 2003).



**Şekil 36. 3-(Fenilsülfolil)-1,3-diarilpropan-1-on Türevlerinin Fenilhidrazin ile Tepkimesi**

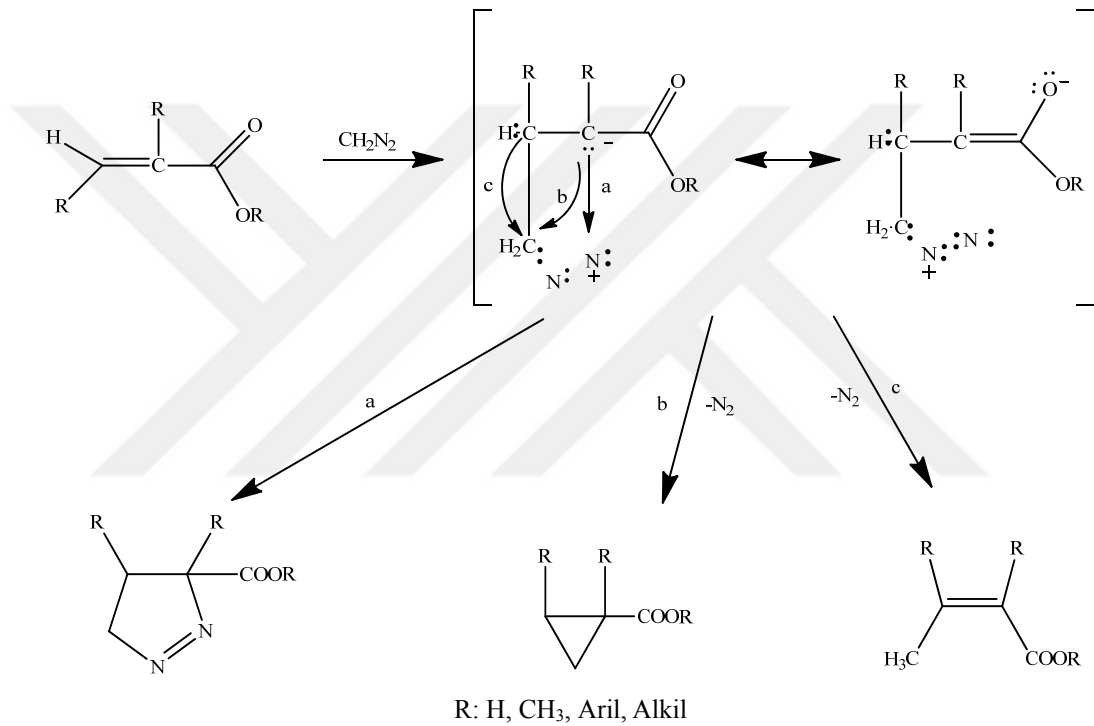
*N*-Metil-*N*-metoksibenzamit ve asetamit türevi bileşiklerin önce vinil magnezyum bromürle, ardından hidrazin türevleri ile tepkimeye girmesiyle 1,3-disubstitüe-2-pirazolin bileşikleri elde edilmektedir (Gomtsyan ve ark., 2001) (**Şekil 37**).



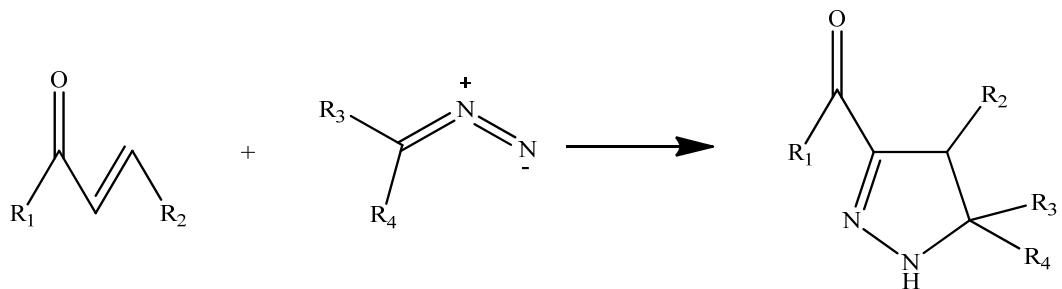
**Şekil 37. 1,3-Disubstitüe-2-pirazolin Sentezi**

### Diazoalkanların Karbon-Karbon Çifte Bağına Katılım Reaksiyonları

Pirazolinler; diazoalkanlar ve  $\alpha,\beta$ -doymamış esterlerin tepkimesi sonucu kolaylıkla sentezlenebilirler (Şekil 38). Bu tepkime neticesinde 1-pirazolin, siklopropan ve metilsüstitüe olefinler de elde edilir. Elde edilen 1-pirazolinler; kendiliğinden, erime derecesinin üstünde ısıtılarak, asit veya baz katalizörlüğünde 2-pirazolinlere dönüşürler.  $\alpha,\beta$ -Doymamış keton veya esterlerin tepkimelerinde diazometan, diazoetan, diazopropan, fenildiazometan gibi diazoalkanlar ile diazoasetat, etil diazoasetat gibi diazoesterler kullanılır. Bu bileşiklerin yanısıra anhidrit, sülfon, lakton, kinonlar da kullanılmıştır.  $\alpha,\beta$ -Doymamış ketonlar; diazometanlarla açilpirazolinleri (Şekil 39), nitrillerle ise siyanopirazolinleri (Şekil 40) verirler. Distilasyon sırasında HCN çıkışı ve pirazol oluşur (Palaska, 1991; Lévai, 1997; Lévai, 2002; Şahin, 2005).

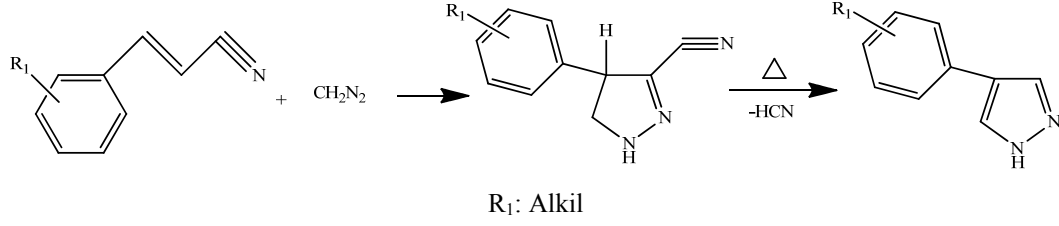


Şekil 38.  $\alpha,\beta$ -Doymamış Esterler ve Diazoalkanlar için Önerilen Reaksiyon Mekanizması



R<sub>1</sub>: Alkil, Aril ; R<sub>2</sub>: Alkiloksikarbonil, Aralkenil, Aril ; R<sub>3</sub> = R<sub>4</sub>: H, Alkil, Aril

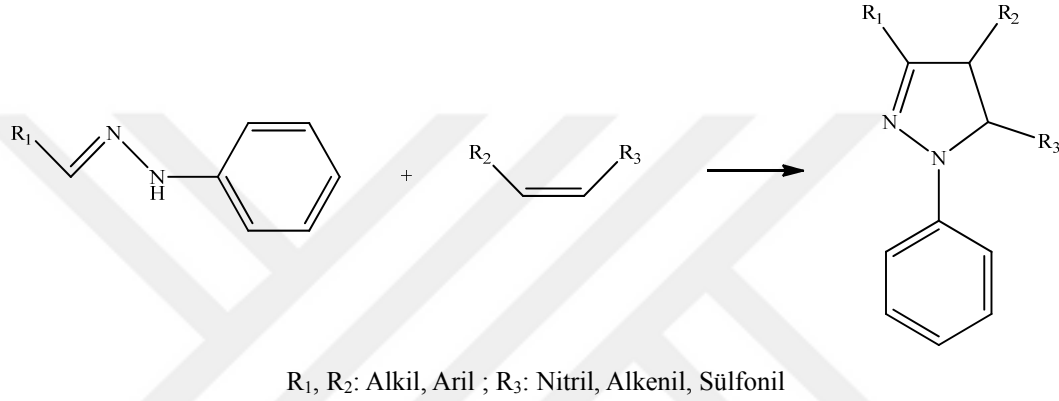
Şekil 39.  $\alpha,\beta$ -Doymamış Keton Türevleri ile Diazoalkanların Reaksiyonu



**Şekil 40.  $\alpha,\beta$ -Doymamış Nitril Türevleri ile Diazometanın Reaksiyonu**

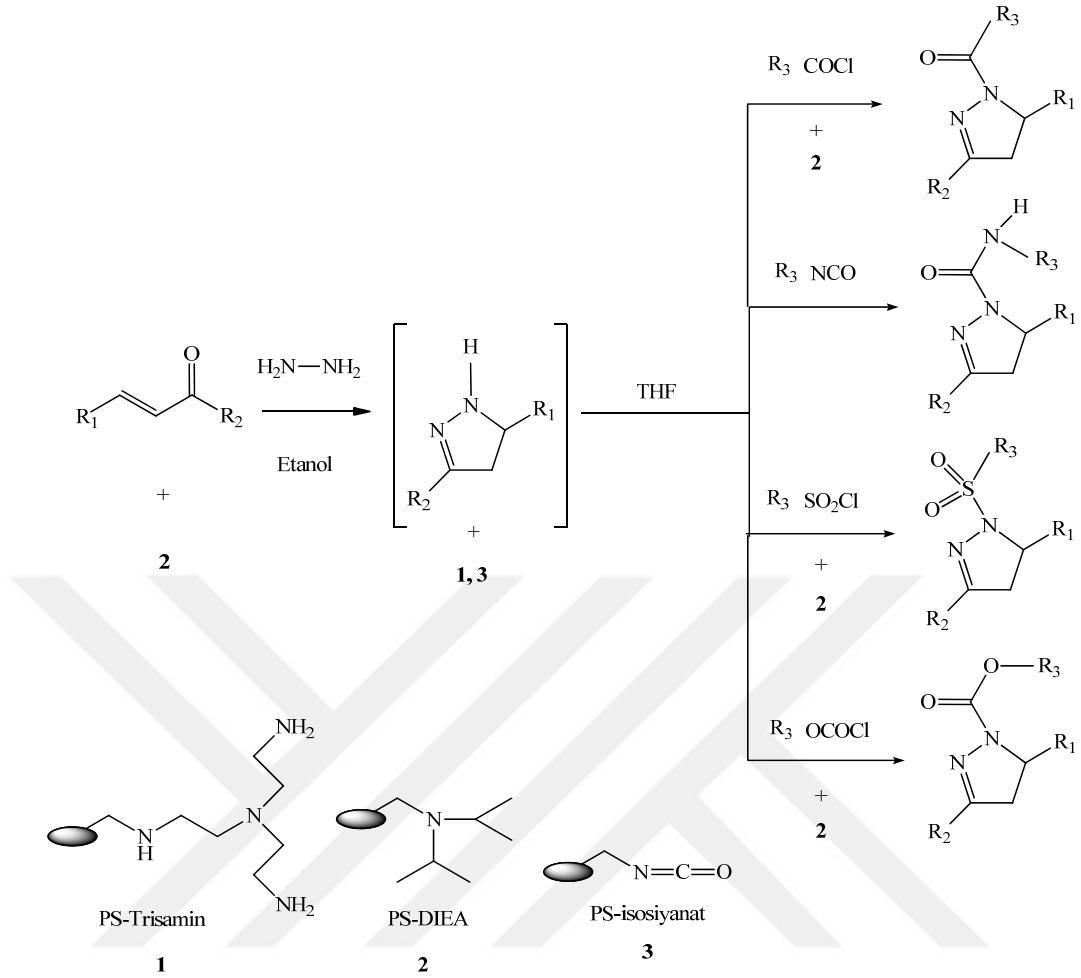
### ***Diğer Pirazolin Sentez Yöntemleri***

Aldehit fenil hidrazonları ile  $\alpha,\beta$ -doymamış keton, nitril, ester, sülfon gibi konjuge çift bağ içeren bileşiklerin tepkimesi neticesinde 2-pirazolin türevleri elde edilmiştir (**Şekil 41**) (Padmatvathi ve ark., 2002; Şahin, 2005).



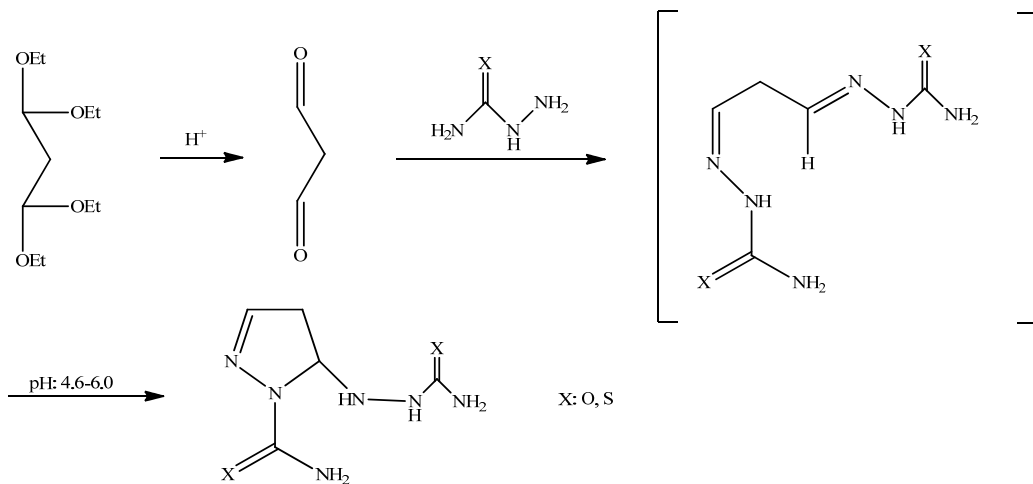
**Şekil 41. Aldehit Fenil Hidrazonları ile Konjuge Çift Bağ İçeren Bileşiklerin Tepkimesi**

Polimer yapılı faz transfer katalizörleri (PS-DIEA, PS-Trisamin, PS-isosiyanat) kullanılarak, daha saf, yüzde verimi arttırılmış birçok *N*-süstitüe-2-pirazolin türevi bileşiğin sentezi gerçekleştirilmiştir (**Şekil 42**) (Lyngso ve ark., 1998; Bauer ve ark., 2000; Özdemir, 2004).



**Şekil 42. Polimer Yapılı Faz Transfer Katalizörleri Kullanılarak Yapılan Pirazolin Sentezleri**

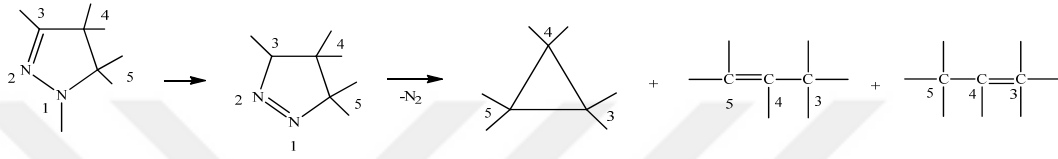
1,1,3,3-Tetraetoksipropan hidroklorik asit ile hidroliz edildiğinde elde edilen malonaldehitin, semikarbazit yada tiyosemikarbazit ile tepkimesi neticesinde 5-semikarbazido/tiyosemikarbazido-1-karbamoil/tiyokarbamoil-2-pirazolin türevleri kazanılır (**Şekil 43**) (Buttkus ve ark., 1971; Şahin, 2005).



**Şekil 43. Malonaldehitin Semikarbazit/Tiyosemikarbazit ile Tepkimesi**

## Pirazolinlerin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

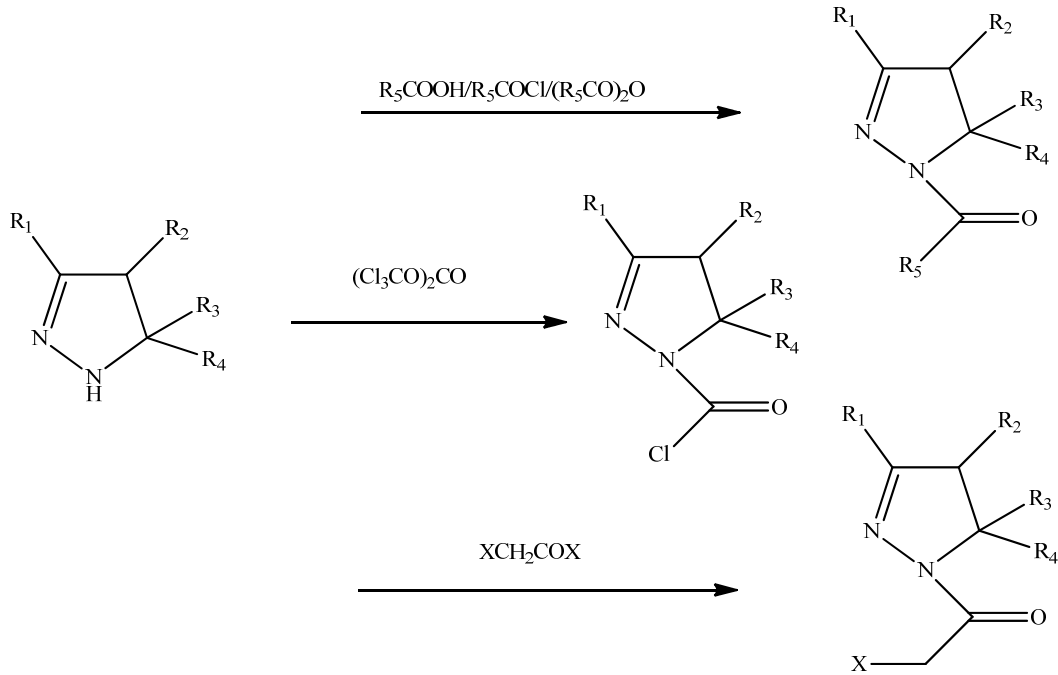
2-Pirazolin; yoğunluğu 1.017 g/cm<sup>3</sup>, kaynama derecesi 144 °C olan renksiz bir sıvıdır. Halkaya bağlı süstitüsyon sayısı arttıkça ve bu süstitüsyonlar büyüdükçe beyaz, açık sarı renkli kristalize bileşikler oluşmaktadır. 2-Pirazolinler zayıf bazik bileşiklerdir. Süstitüent taşımayan pirazolinin pKa'sı 4,62'dir. 2-Pirazolin halkanın üç numaralı pozisyonuna, fenil halkası gibi C=N ikili bağı ile konjugasyon yapan süstitüentlerin gelmesi bileşiğin bazikliğini azaltmaktadır. Sıvı pirazolinler kaynama derecesinde, katı pirazolinler erime derecesinin az üstünde dekompoze olurlar. Sonuçta azot, siklopropan türevleri ve olefinler oluşur. Bir numaralı pozisyonlarında süstitüent bulunmayan pirazolinler, oda sıcaklığında ve güneş ışığına maruz kaldıklarında kısa zamanda dekompoze olurlar (Şekil 44) (Salgın-Gökşen, 2015; Şahin, 2005).



Şekil 44. 2-Pirazolinlerin Dekompozisyonu

## Pirazolinlerin Süstitüsyon Reaksiyonları

2-Pirazolin türevlerinin bir numaralı konumlarında süstitüent yoksa, sekonder aminlere ait süstitüsyon reaksiyonlarını verirler. 1-Nonsüstitüe-2-pirazolinler; karboksilli asit, asit klorür ve anhidritleriyle 1-açıl-2-pirazolinleri, bis(triklorometil)karbonat (trifosgen) ile 1-karbamoil klorür, haloasetilhalojenürler ile 1-haloasetil-2-pirazolin türevlerini verirler (Şekil 45) (Salgın-Gökşen, 2015; Şahin, 2005).

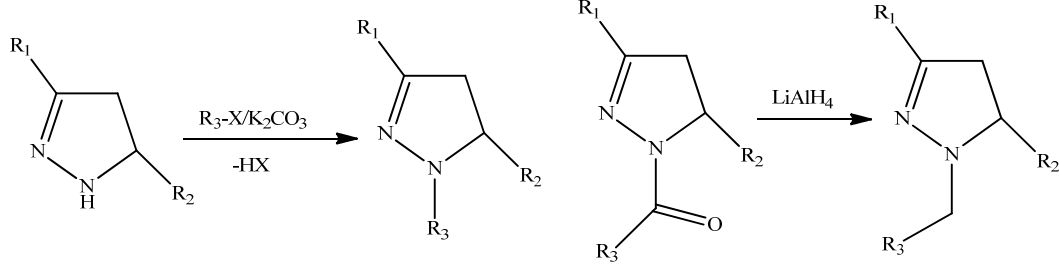


R<sub>1</sub>: H, Alkil, Aril, Açıl ; R<sub>2</sub>: H, Alkil, Aril ; R<sub>3</sub>: H, Alkil ; R<sub>4</sub>: H, Alkil, Aril, Açıl ; R<sub>5</sub>: H, Alkil, Aril, Sikloalkil ; X: Cl, Br

Şekil 45. 1-Nonsüstitüe-2-pirazolinlerin Süstitüsyon Tepkimeleri



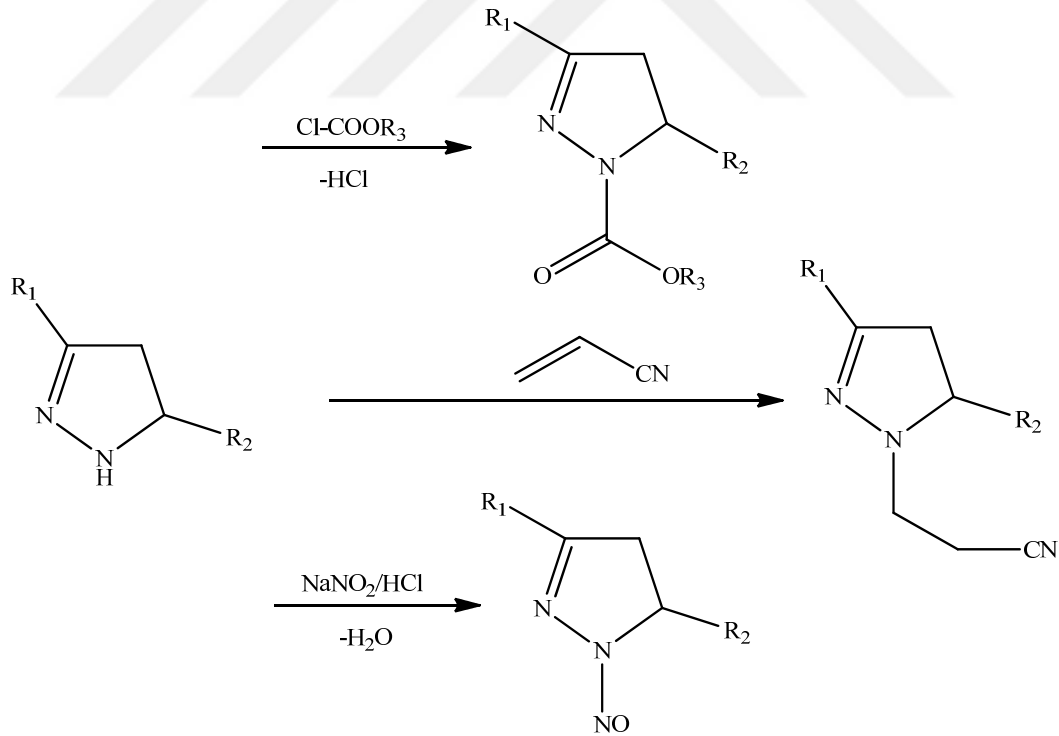
2-Pirazolin türevlerinin sodyum/potasyum karbonat varlığında alkil ya da aril halojenürlerle reaksiyonu neticesinde 1-alkil ya da 1-aril 2-pirazolin türevlerine ulaşılır. 2-Pirazolinlerin açıl türevlerinin redüksiyonuyla da 1-alkil ya da 1-aril 2-pirazolin türevleri elde edilir (Şekil 46) (Şahin, 2005).



R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>: H, Aril ; R<sub>3</sub>: Alkil, Aril ; X: Cl, Br, I

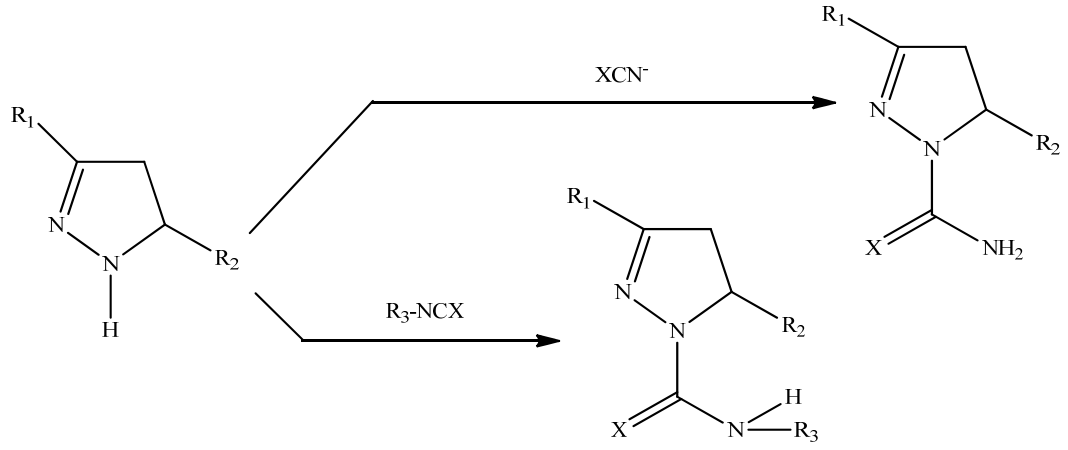
#### Şekil 46. 2-Pirazolin Türevlerinin Alkil, Aril Halojenürler ve LiAlH<sub>4</sub> ile Reaksiyonları

Kloroformik esterler ile alkali ortamda, 2-pirazolinin karbamat esterleri türevlendirilebilir. 2-Pirazolinler, akrilonitril veya  $\beta$ -dimetilaminopropiyonitril bileşikleri ile reaksiyona girerek 1-(2-siyanoetil)-2-pirazolinleri oluştururlar. 2-Pirazolinler, sodyum nitrit ile hidroklorik asitli ortamda 1-nitrozo-2-pirazolinleri oluşturur (Şekil 47). Pirazolinler, alkali siyanatlar ile 1-karbamoil, tiyosiyanatla da 1-tiyokarbamoil türevlerini verirler. Alkil veya arilsiyanat ve izotiyosiyanatlarla ise *N*-süstitüekarbamoil ya da tiyokarbamoil bileşiklerini oluştururlar (Şekil 48) (Şahin, 2005).



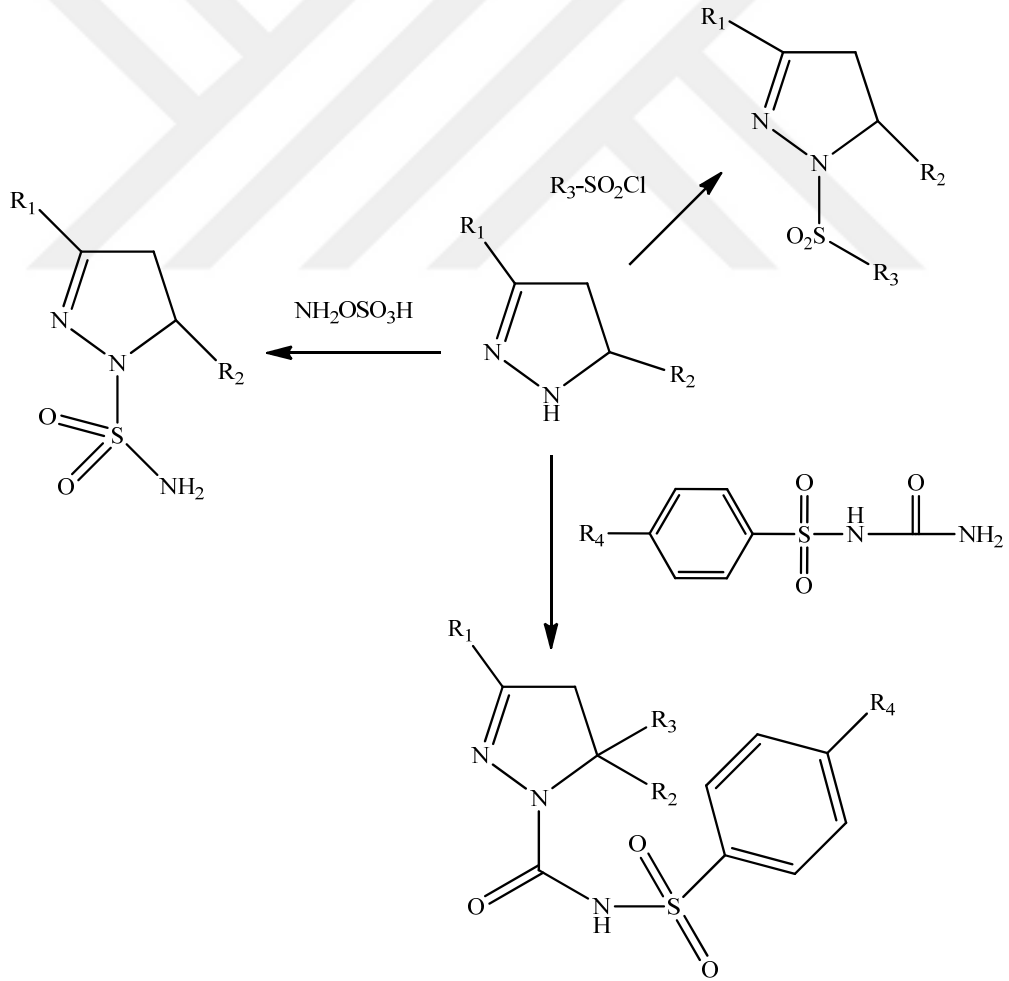
R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>: H, Alkil, Aril, Aralkenil

#### Şekil 47. 2-Pirazolinlerin Karbamat Esterleri, Akrilonitril ve Sodyum nitrit ile Tepkimeleri



**Şekil 48. 2-Pirazolinlerin Alkali Siyanat ve Tiyosiyanatla Tepkimesi**

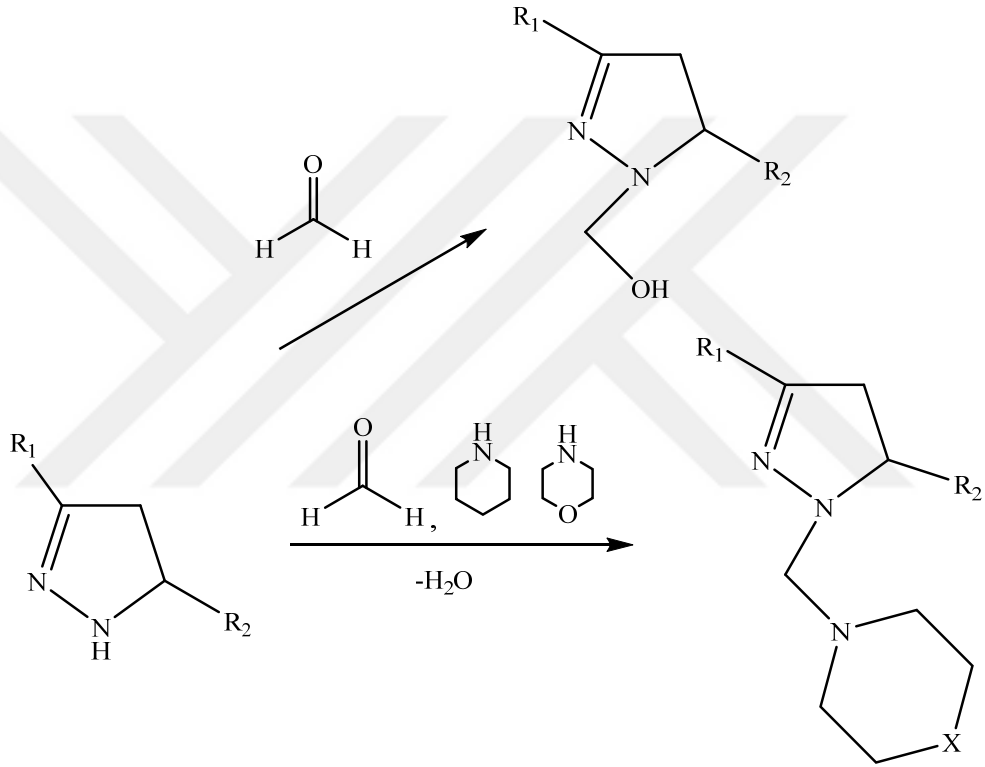
2-Pirazolinler, sülfonil klorürler ile 1-sülfonil, hidroksilamin-*O*-sülfonik asit ile 1-aminosülfonil, benzensülfonilüre türevleriyle *N*-(benzensülfonil)karboksamit-2-pirazolin bileşiklerini oluştururlar (Şekil 49) (Salgın-Gökşen, 2015).



R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>: H, Alkil, Aril ; R<sub>3</sub>: Aril ; R<sub>4</sub>: Cl, Br, NO<sub>2</sub>

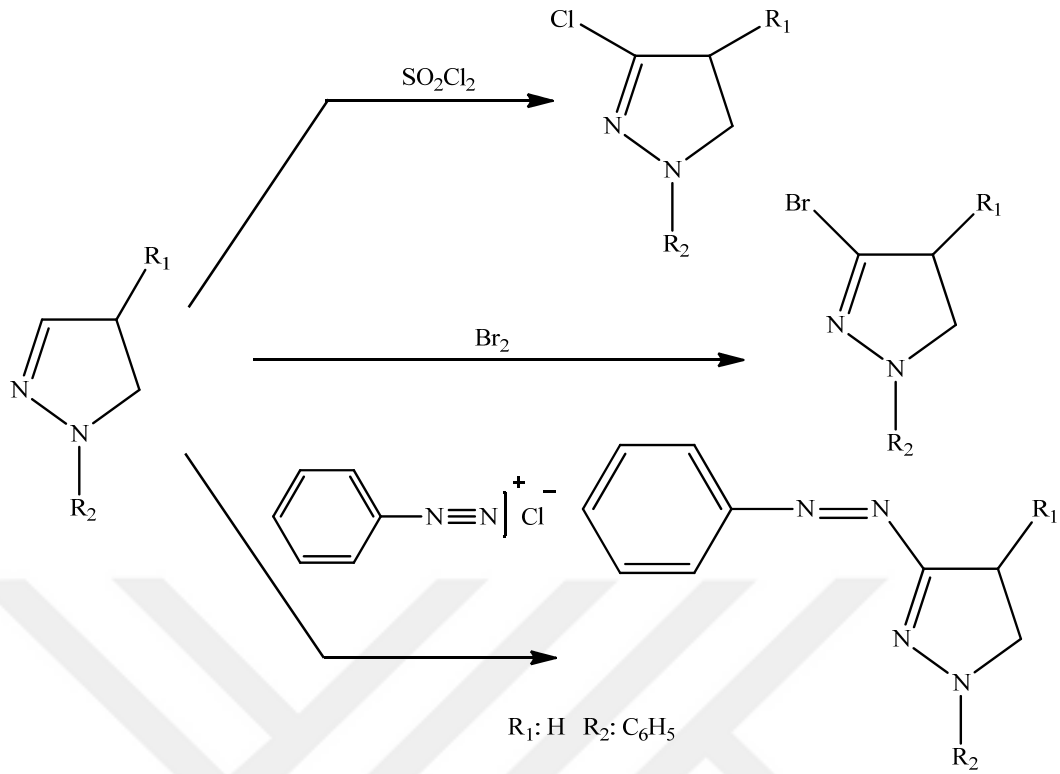
**Şekil 49. 2-Pirazolinlerin Sülfonil klorürler, Hidroksilamin-*O*-sülfonik asit, Benzensülfonilüre Türevleri ile Tepkimeleri**

2-Pirazolinlerin birinci pozisyonunda yer alan azota bağlı hidrojen, formaldehit ile aktif olarak tepkime verip 1-hidroksimetil türevlerini, formaldehitte birlikte morfolin ya da piperidin gibi sekonder aminlerle olan tepkimesiyle Mannich bazlarını verirler (Şekil 50). 2-Pirazolinlerin üçüncü pozisyonunda süstitüsyon yoksa, 1-süstitüe-2-pirazolin türevlerinde elektrofilik katım tepkimeleri üç numaralı konumdan gerçekleşir (Şekil 51). Ancak 2-pirazolin türevlerinin üç numaralı pozisyonunda süstitüsyon varsa ve tepkimeye arildiazonyum tuzları sokulursa, tepkime 2-pirazolin halkası yerine 2-pirazolin halkasının bir numaralı pozisyonunda bulunan fenil halkasının *para* pozisyonundan gerçekleşir (Şekil 52). 1-Açıl-3,5-diaril-2-pirazolinlerin, benzendiazonyum klorür ile tepkimeleri 2-pirazolin halkasının 4 numaralı konumundan gerçekleşmektedir (Şekil 53) (Şahin, 2005).

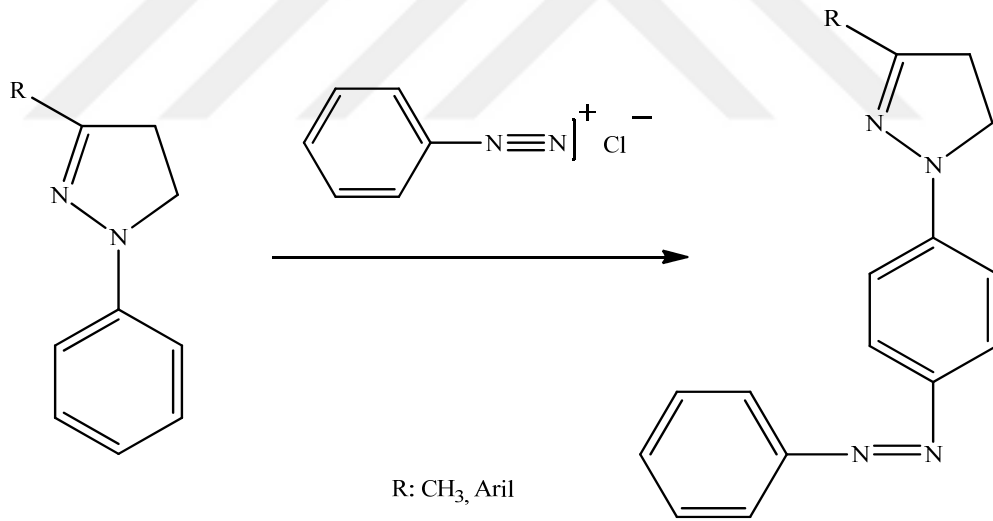


R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>: Aril; X: CH<sub>2</sub>, O

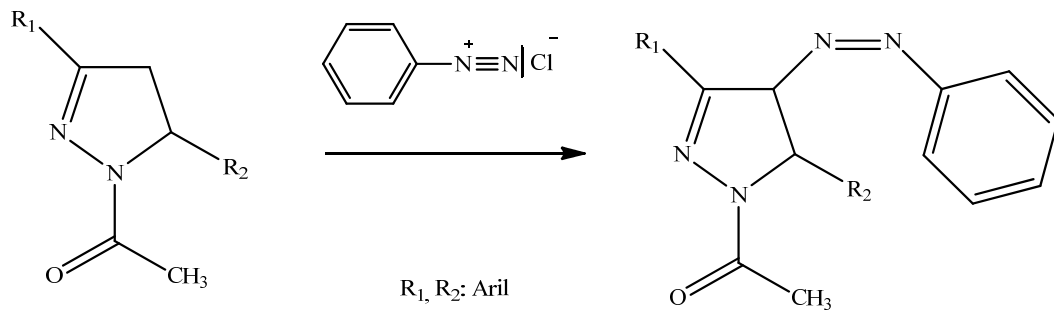
Şekil 50. 3,5-Disüstitüe-2-pirazolinlerin Formaldehit, Morfolin ve Piperidin ile olan Tepkimesi



**Şekil 51. 1-Süstitüe-2-pirazolinlerin Elektrofilik Katım Tepkimeleri**

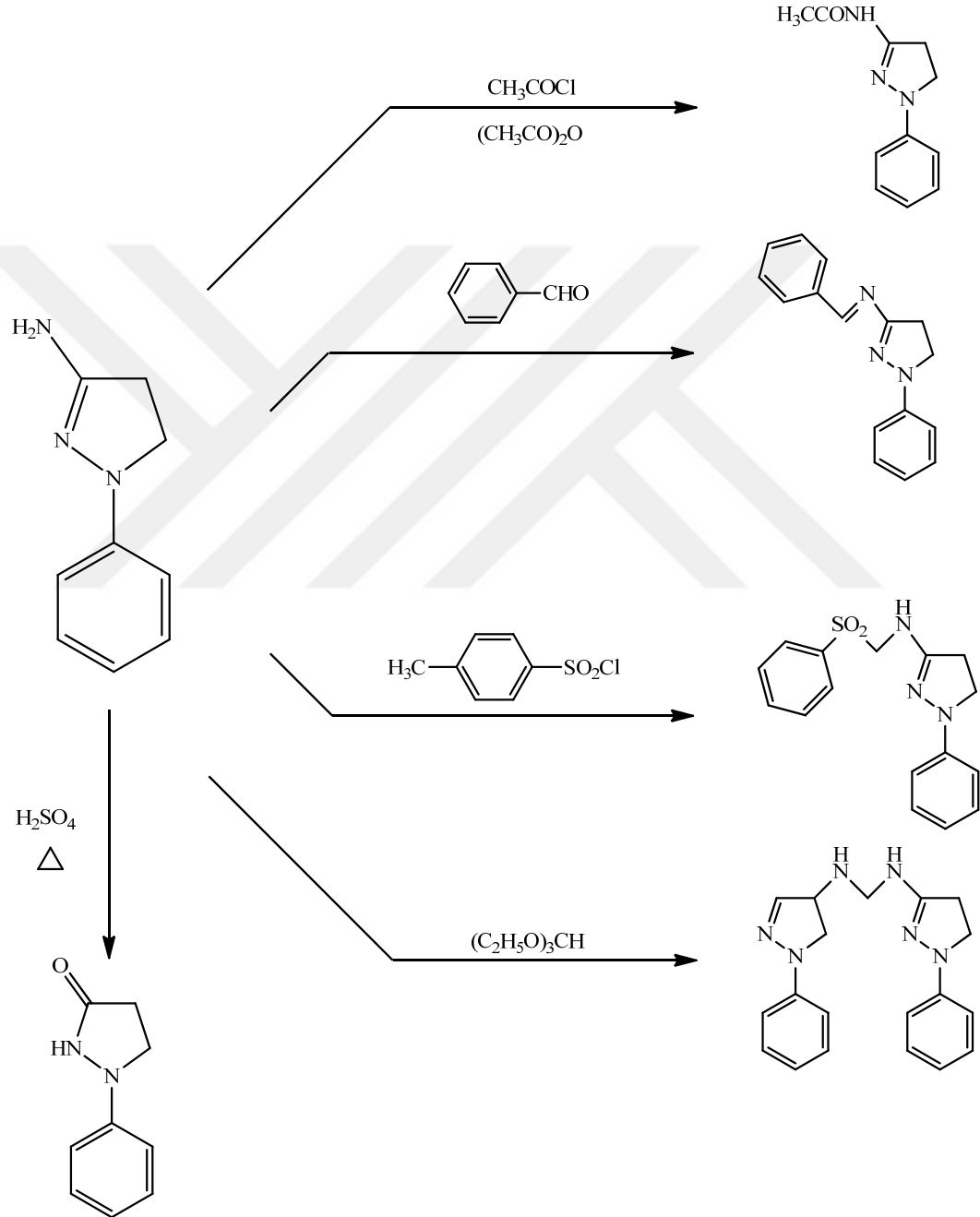


**Şekil 52. 3-Süstitüe-1-fenil-2-pirazolin Türevlerine Benzendiazonyum Klorür Katımı**



**Şekil 53. 1-Açıl-3,5-diaril-2-pirazolin Türevlerine Benzendiazonyum klorür Katımı**

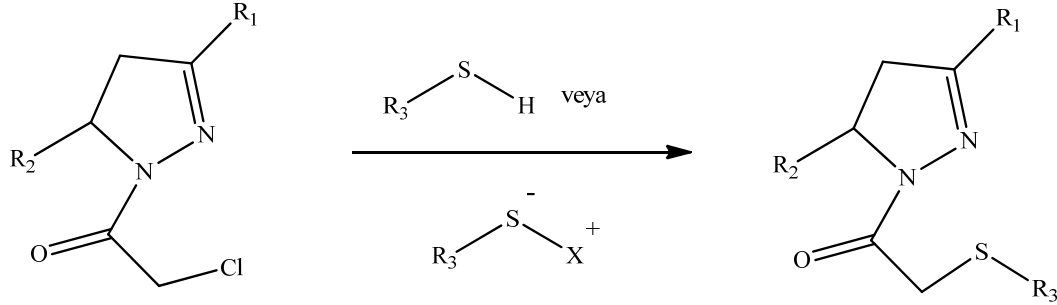
3-Amino-1-fenil-2-pirazolinin; karboksilli asit halojenür ya da anhidritleri ile tepkimesiyle 3-alkil/arilamido-1-fenil-2-pirazolin, etil alkolün çözücü olarak kullanıldığı ortamda benzaldehit ile tepkimesi sonucunda 3-benzilidenamino-1-fenil-2-pirazolin, *p*-toluensülfonil klorür ile tepkimesi neticesinde 3-(4-metilfenil)sülfonil-2-pirazolin, etil *o*-format ile tepkimesiyle *N,N'*-di(1-fenilpirazolin-3-il)formamit, seyreltik sülfürik asit ile ısıtılmasıyla hidroliz olup 1-fenil-3-pirazolidon bileşikleri elde edilmiştir (Şekil 54) (Şahin, 2005; Salgın-Gökşen, 2015).



Şekil 54. 3-Amino-1-fenil-2-pirazolin Bileşiğinin Tepkime Reaksiyonları

3,5-Diaril-1-kloroasetil-2-pirazolin türevleri; tiyoller veya *N,N*-disübtitüeditiyokarbamik asit tuzları ile aseton içerisinde potasyum karbonat ile

tepkimeye girdiklerinde 1-sübstitüetiyoasetil/1-(*N,N*-disübstitüetiyo)karbamoylasetil-3,5-diaril-2-pirazolin türevi bileşikler elde edilir (**Şekil 55**) (Turan-Zitouni ve ark., 2005a; Turan-Zitouni ve ark., 2005b; Özdemir ve ark., 2008; Kaplancıklı ve ark., 2009; Kaplancıklı ve ark., 2010; Gök ve ark., 2010; Özdemir ve ark., 2010; Altıntop ve ark., 2013; Özdemir ve ark., 2014; Karabacak ve ark., 2015).



R<sub>1</sub>: Aril ; R<sub>2</sub>: Aril ; R<sub>3</sub>: Aril, Heteroaril, CS-sikloamino ; X: Na, K

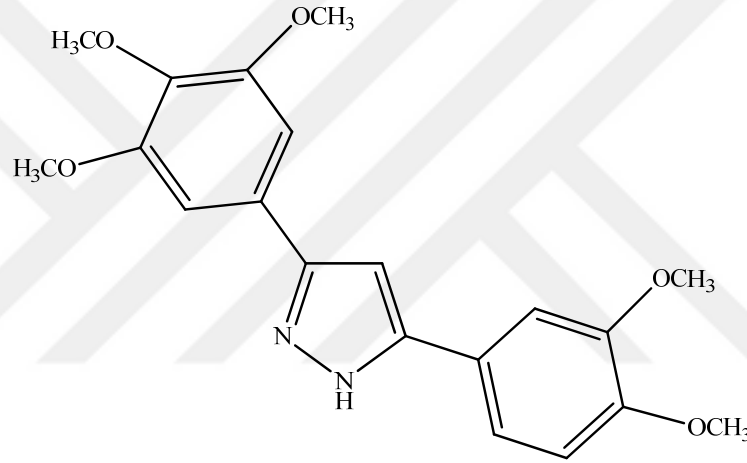
**Şekil 55. 3,5-Diaril-1-kloroasetil-2-pirazolinlerin, Tiyoller/*N,N*-Disübstitüeditiyokarbamik asit Tuzları ile Tepkimeleri**

### **Pirazolin Halkasının Sahip Olduğu Biyolojik Aktiviteler**

Birçok bilim adamı 2-pirazolin türevleri üzerine yaptıkları literatür araştırmalarında, bu halka sisteminin farklı farmakolojik aktivitelere sahip olduğunu gözlemlemişlerdir. En sık rastlanan bu farmakolojik aktiviteler; antikanser (Bhat ve ark., 2005; Manna ve ark., 2005; Rostom ve ark., 2006; Johnson ve ark., 2007; Roecker ve ark., 2007; Yar ve ark., 2007; Abdel-Aziz ve ark., 2009; Havrylyuk ve ark., 2009; Banday ve ark., 2010; Congiu ve ark., 2010; Insuasty ve ark., 2010; Peng-Cheng ve ark., 2010; Shaharyar ve ark., 2010; Bano ve ark., 2011; Bashir ve ark., 2011; Havrylyuk ve ark., 2011; Insuasty ve ark., 2011; Ismaeil ve ark., 2011; Lee ve ark., 2011; Parekh ve ark., 2011; Abdel-Aziz ve ark., 2012; Bai ve ark., 2012; Insuasty ve ark., 2012; Nepali ve ark., 2012; Abdel-Halim ve ark., 2013; Amin ve ark., 2013; Faidallah ve ark., 2013; Insuasty ve ark., 2013; Khalil ve ark., 2013; Özdemir ve ark., 2013; Shin ve ark., 2013; Lu ve ark., 2014; Montoya ve ark., 2014; Nepali ve ark., 2014; Rathore ve ark., 2014; Yu ve ark., 2014; Amin ve ark., 2015; George ve ark., 2016; Karabacak ve ark., 2015; Qin ve ark., 2015; Khan ve ark., 2016; Wang ve ark., 2016) antimikrobiyal (Holla ve ark., 2000; Azarifar ve ark., 2002; Mamolo ve ark., 2003; Turan-Zitouni ve ark., 2005a; Turan-Zitouni ve ark., 2005b; Kaplancıklı ve ark., 2007; Karthikeyan ve ark., 2007; Özdemir ve ark., 2008; Özdemir ve ark., 2010; Revasiddappa ve ark., 2011; Shah ve ark., 2012; Özdemir ve ark., 2013; Altıntop ve ark., 2014; Monga ve ark., 2014; Özdemir ve ark., 2014; Altıntop ve ark., 2015), monoamin oksidaz (MAO) inhibitörü (Manna ve ark., 1998; Gökhan, ve ark., 2003; Chimenti ve ark., 2004; Chimenti ve ark., 2005; Chimenti ve ark., 2006; Chimenti ve ark., 2008; Palaska, E. ve ark., 2008; Gökhan-Kelekçi ve ark., 2009; Şentürk ve ark., 2012), antidepresan (Bilgin, A.A. ve ark., 1994; Palaska ve ark., 1996; Palaska ve ark., 2001; Özdemir ve ark., 2007; Gök ve ark., 2008; Özdemir ve ark., 2008; Kaplancıklı ve ark., 2010; Koçyiğit-Kaymakçıoğlu ve ark., 2013; Özdemir ve ark., 2015), nöroprotektif (Shimada ve ark., 1999), antikonvülsan (Galati ve ark., 2001; Özdemir ve ark., 2007; Özdemir ve ark., 2008; Beyhan ve ark., 2013), analjezik-

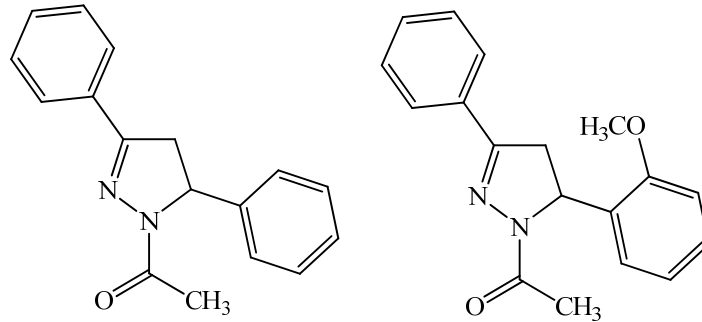
antienflamatuvar (Frigola ve ark., 1989; Bansal ve ark., 2001; Nasr ve ark., 2003; Amir ve ark., 2008; Kaplancıklı ve ark., 2009; Khode ve ark. 2009; Bandgar ve ark., 2012; Abdulla ve ark., 2014), antioksidan (Bandgar ve ark., 2012; Jagadish ve ark., 2013) antihipertansif (Turan-Zitouni ve ark., 2000; Bagheri ve ark., 2004), antihistaminik (Rahaman ve ark., 2010), antiviral (Gomha ve ark., 2016) olarak sıralanabilir.

Bhat ve ekibi (2005), bir seri süstitüe şalkon ve bu şalkonlardan da hareketle pirazol ve pirazolin türevlerini sentezlemişlerdir. Bu bileşiklerin HT-29, HCT-15, SW-620 (kolon); A549, HOP-62 (akciğer); Hep-2 (karaciğer), SiHa (rahim), SKOV-3, OVCAR-5 (yumurtalık); PC-3, DU-145 (prostat) ve SNB-78 (beyin) olmak üzere oniki adet insan kanser hücre dizisine karşı *in vitro* sitotoksik etkileri değerlendirilmiştir. 3-(3,4,5-Trimetoksifenil)-5-(3,4-dimetoksifenil)-1*H*-pirazol bileşiği (Şekil 56) HCT-15 ve SW-620 hücre dizilerine karşı seçici sitotoksik etki göstermiştir. Bu çalışmada, 3,5-diaril-1*H*-pirazol türevlerinin 3,5-diaril-2-pirazolin türevlerinden çok daha aktif oldukları tespit edilmiştir.



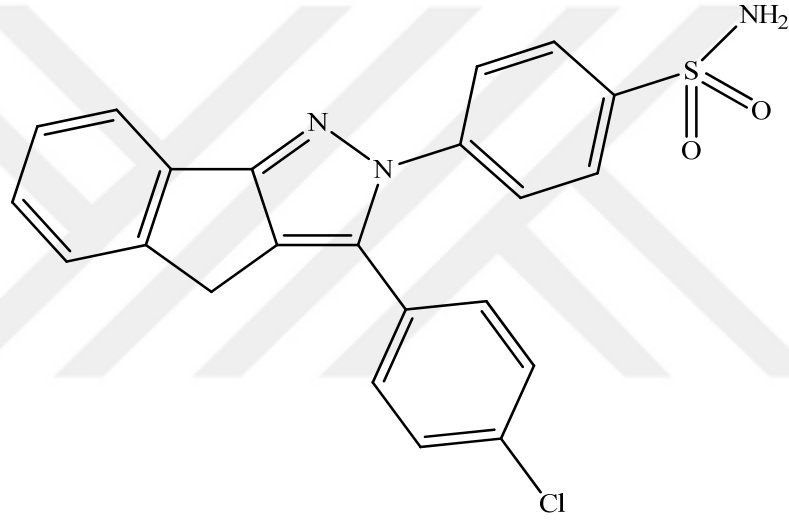
Şekil 56. 3-(3,4,5-Trimetoksifenil)-5-(3,4-dimetoksifenil)-1*H*-pirazol

Manna ve arkadaşları (2005), 1-asetil-3,5-difenil-4,5-dihidro-1*H*-pirazol türevlerini sentezlemişler ve bu bileşiklerin antikanser etkilerini P-glikoproteine bağlanma özelliklerini dikkate alarak değerlendirmişlerdir. Sentezi gerçekleştirilen bileşiklerden; 1-asetil-3,5-difenil-4,5-dihidro-1*H*-pirazol ve 1-asetil-3-fenil-5-(2-metoksifenil)-4,5-dihidro-1*H*-pirazol bileşiklerinin (Şekil 57) P-glikoproteine yüksek afinite ile bağlanma özelliklerine sahip oldukları tespit edilmiştir.



Şekil 57. 1-Asetil-3,5-difenil-4,5-dihidro-1*H*-pirazol ve 1-Asetil-3-fenil-5-(2-metoksifenil)-4,5-dihidro-1*H*-pirazol

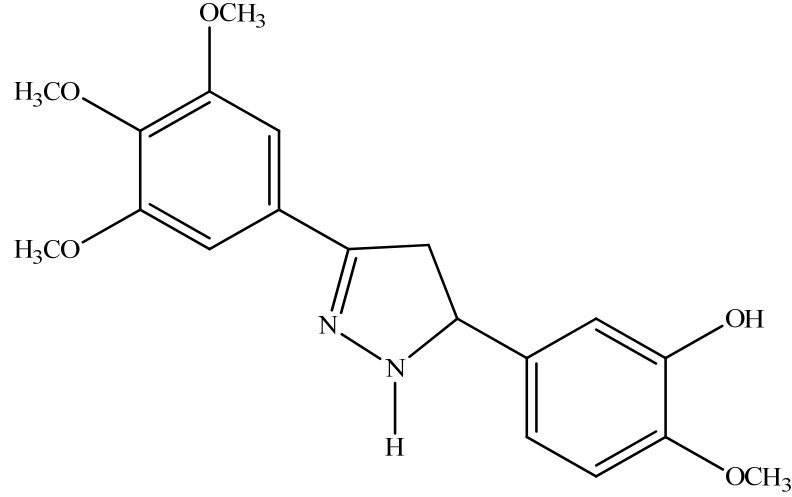
Rostom tarafından gerçekleştirilen çalışmada (2006), bir seri 3-(4-klorofenil)-[1,2-c]pirazol(in)ler; benzensülfonamid,  $N^1,N^3$ -disübtitüesülfonilüre, sülfoniltiyöüre farmakofor gruplarıyla sübtitüe edilmiştir. Elde edilen bu türevlerin bazılarında hareketle tiyazolidinon ve tiyazolin halka sistemleri sentezlenmiştir. Sentezlenen tüm yeni hedef bileşiklerin Amerikan Ulusal Kanser Enstitüsü'nde (NCI) 60 farklı insan kanser hücre dizisi (lösemi, küçük hücreli olmayan akciğer, kolon, beyin, melanom, yumurtalık, böbrek, prostat, göğüs) üzerine *in vitro* antitümör etkileri araştırılmıştır. Taranan bileşikler içerisinde, 4-(3-(4-klorofenil)-4*H*-indeno[1,2-c]pirazol-2-il)-benzenesülfonamid bileşiğinin (**Şekil 58**) en aktif sitostatik ve sitotoksik ajan olduğu belirtilmiştir. Bu çalışma yapı-etki ilişkisi açısından değerlendirildiğinde, oksidasyona uğramış olan pirazollerin, pirazolin analoglarından daha fazla antitümör etkinlik gösterdikleri gözlemlenmiştir. Farmakofor grup olarak benzensülfonamid ve  $N^1,N^3$ -disübtitüesülfonilüre taşıyan bileşiklerin, sülfoniltiyöüre ve sülfoniltiyöüreden oluşan tiyazol analoglarından daha güçlü antitümör etki spektrumuna sahip oldukları saptanmıştır.



**Şekil 58. 4-(3-(4-Klorofenil)-4*H*-indeno[1,2-c]pirazol-2-il)benzensülfonamid**

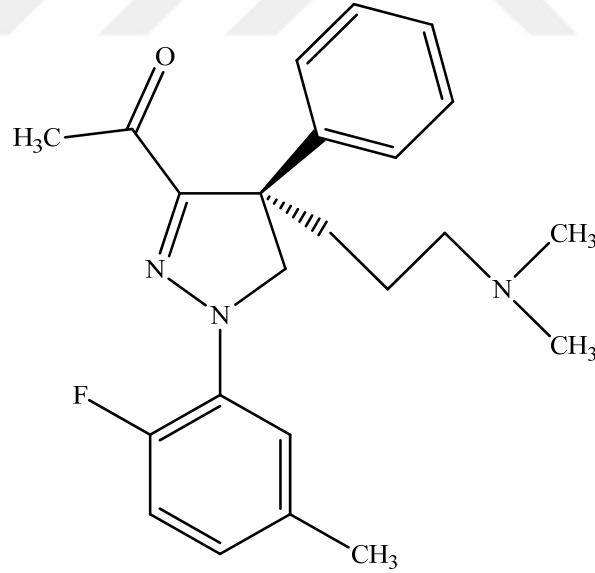
Johnson ve arkadaşları (2007), ondört adet *N*-asetillenmiş ve *N*-asetillenmemiş 3,4,5-trimetoksifenil ya da 2,5-dimetoksifenil 2-pirazolin analogu kombretastatin-A4 türevi bileşikler sentezlemişlerdir. *N*-Asetillenmemiş 3-(3,4,5-trimetoksifenil)-5-(3-hidroksi-4-metoksifenil)-2-pirazolin bileşiğinin (**Şekil 59**) L1210 (fare lösemi) ve B16 (melanom) kanser hücreleri üzerine 0.5 ve 2.1  $\mu\text{M}$   $\text{IC}_{50}$  değeri ile en etkili sitotoksik bileşik olduğu, ancak pirazolin halkasının bir numaralı pozisyonuna asetil yapısı geldiği zaman aktivitenin azaldığı gösterilmiştir.





**Şekil 59. 3-(3,4,5-Trimetoksifenil)-5-(3-hidroksi-4-metoksifenil)-2-pirazolin**

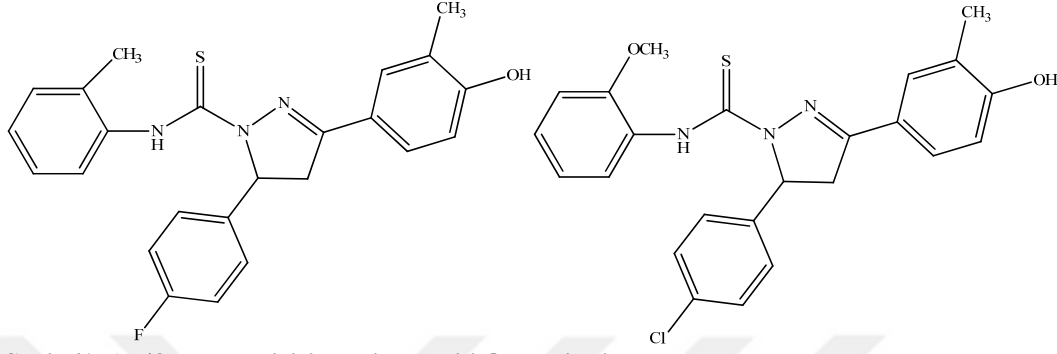
Roecker ve arkadaşları (2007), 1,4-diaril-4,5-dihidro-1*H*-pirazol türevi bileşikler sentezlemişler ve bunların kinesin işi protein (KSP) inhibitörleri olarak nitelendirmişlerdir. KSP, hücre siklusunun sürdürülebilmesi için gerekli olan mikrotübüller üzerinde taşıyacağı maddeyi ileten temel bir proteindir. Birçok kanser türünde aşırı miktarda iş hücreli karsinom şeklinde gözlemlenir. Bu yüzden potansiyel bir antitümör hedef haline gelir (Carter ve ark., 2009). Yapılan çalışmada, 1-(2-floro-5-metilfenil)-3-asetil-4-fenil-4-(3-(dimetilamino)propil)-4,5-dihidro-1*H*-pirazol bileşiği (Şekil 60) 0.2 nM IC<sub>50</sub> değeriyle en etkili KSP inhibitörü olarak bulunmuştur.



**Şekil 60. 1-(2-Floro-5-metilfenil)-3-asetil-4-fenil-4-(3-(dimetilamino)propil)-4,5-dihidro-1*H*-pirazol**

Yar ve ekibi (2007), 5-(4-(süstitüe)fenil)-3-(4-hidroksi-3-metilfenil)-4,5-dihidro-1*H*-1-pirazolil-2-tolidino metan tiyon ve 5-(süstitüe)fenil-3-(4-hidroksi-3-metilfenil)-4,5-dihidro-1*H*-1-pirazolil-2-metoksi anilino metan tiyon bileşiklerini sentezlemişler ve bu bileşiklerin A549 (insan akciğer kanseri) hücre dizisi üzerine *in vitro* antikanser etkilerini MTT metodunu kullanarak değerlendirmişlerdir.

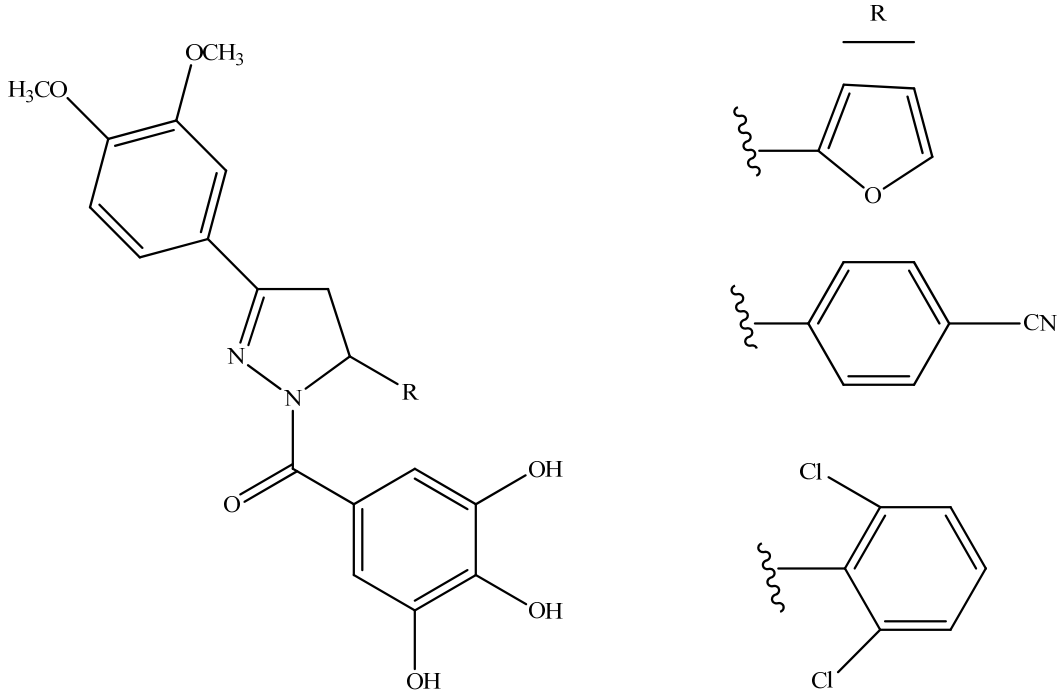
Taranan bileşiklerden 5-(4-florofenil)-3-(4-hidroksi-3-metilfenil)-4,5-dihidro-1*H*-1-pirazolil-2-tolidino metan tiyon ve 5-(4-klorofenil)-3-(4-hidroksi-3-metilfenil)-4,5-dihidro-1*H*-1-pirazolil-2-metoksi anilino metan tiyon bileşikleri (**Şekil 61**), A549 hücrelerine karşı sırasıyla 0.084  $\mu\text{M}/\text{mL}$  ve 0.1902  $\mu\text{M}/\text{mL}$   $\text{IC}_{50}$  değerleriyle sentezi gerçekleştirilen diğer bileşiklerden daha fazla sitotoksik etki göstermişlerdir.



**Şekil 61. A549 Hücre Dizisi üzerine Etkili Olan Bileşikler**

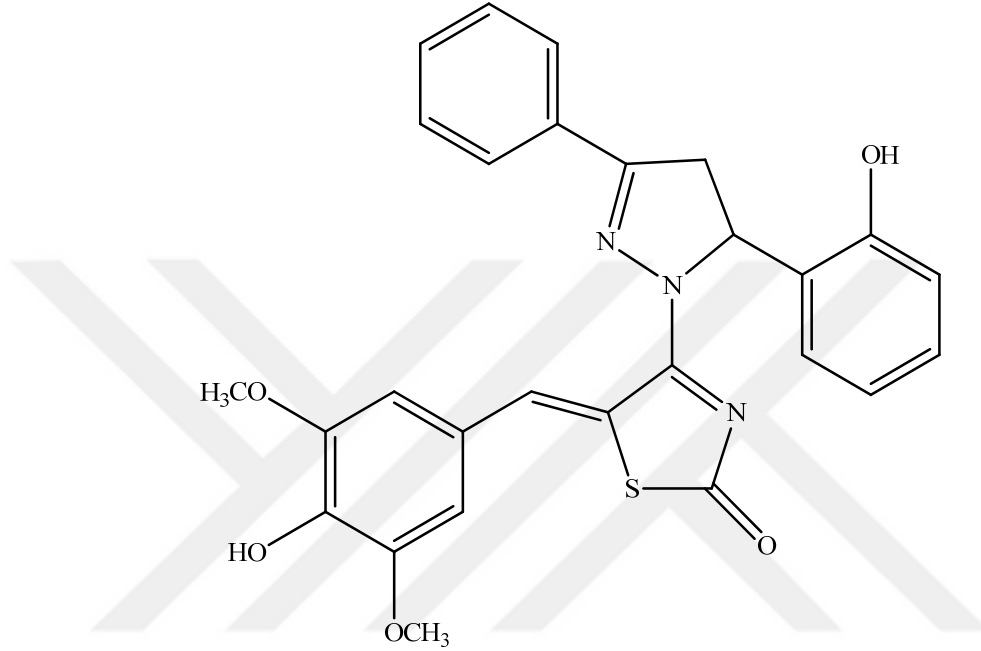
Abdel-Aziz ve Gamal-Eldeen (2009), galloil-2-pirazolin türevlerini sentezlemişler ve bu bileşiklerin HepG2 (karaciğer) ve HCT-116 (kolon) kanser hücrelerine karşı sitotoksik etkilerini MTT yöntemini kullanarak değerlendirmişlerdir. Test edilen bileşiklerden

5-(2-furil)-4,5-dihidro-1-(3,4,5-trihidroksibenzoil)-3-(3,4-dimetoksifenil)-1*H*-pirazol 8.4  $\mu\text{g}/\text{mL}$  ve 18.6  $\mu\text{g}/\text{mL}$   $\text{IC}_{50}$  değerleriyle ve 5-(4-siyanofenil)-4,5-dihidro-1-(3,4,5-trihidroksibenzoil)-3-(3,4-dimetoksifenil)-1*H*-pirazol 15.2  $\mu\text{g}/\text{mL}$  ve 31.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$   $\text{IC}_{50}$  değerleriyle, HepG2 ve HCT-116 kanser hücrelerine karşı sitotoksik etki gösterirken, doza bağlı makrofaj proliferasyonu için sadece 2,6-diklorofenil türevi pirazol bileşiği (**Şekil 62**) kayda değer sonuçlar vermiştir.



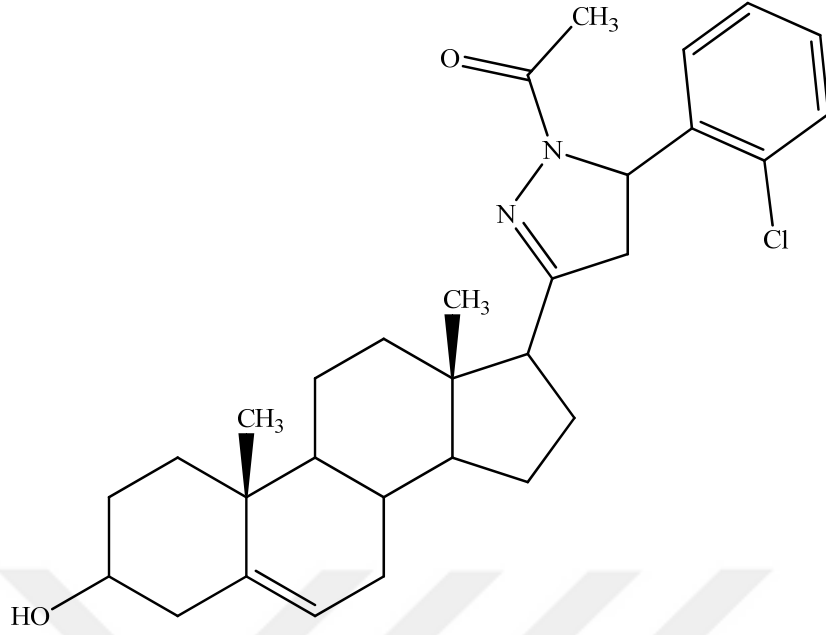
**Şekil 62. 5-Aril-4,5-dihidro-1-(3,4,5-trihidroksibenzoil)-3-(3,4-dimetoksifenil)-1*H*-pirazol türevleri**

Havrylyuk ve ekibi (2009), onsekiz adet tiyazolon yapısı taşıyan 2-pirazolin türevi bileşik sentezlemişler ve bu türevlerden onbir adedinin lösemi, melanom, akciğer, kolon, beyin, yumurtalık, böbrek, prostat ve göğüs kanser hücrelerine karşı *in vitro* olarak etkinlik gösterdiklerini belirtmişlerdir. 5-(4-hidroksi-3,5-dimetoksibenziliden)-2-[5-(2-hidroksifenil)-3-fenil-4,5-dihidro-1*H*-pirazol-1-il]-1,3-tiyazol-4(5*H*)-on bileşiğinin (Şekil 63), kolon kanserine karşı seçici etkisi sebebiyle, antikanser bileşik olabilme potansiyeline sahip olduğunu da vurgulamışlardır.



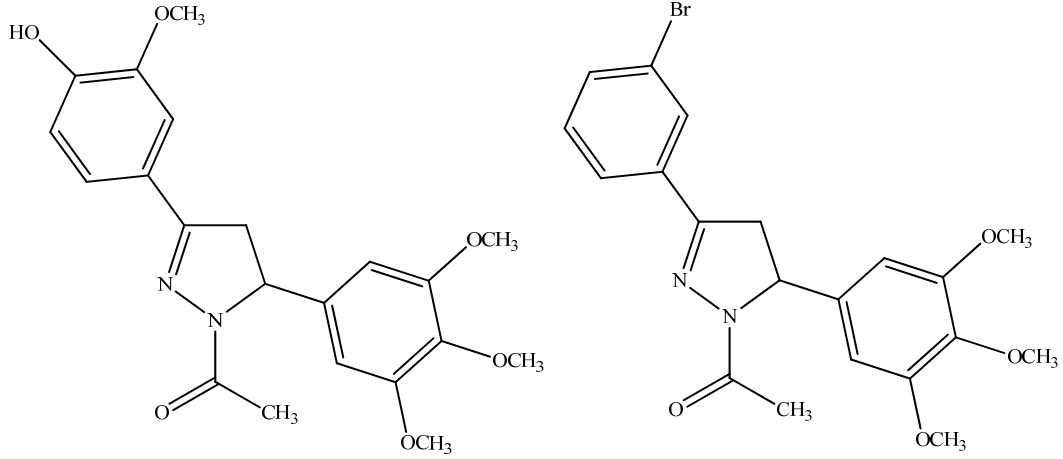
Şekil 63. 5-(4-Hidroksi-3,5-dimetoksibenziliden)-2-[5-(2-hidroksifenil)-3-fenil-4,5-dihidro-1*H*-pirazol-1-il]-1,3-tiyazol-4(5*H*)-on

Banday ve arkadaşları (2010) yaptıkları çalışmada, pregnenolondan türevlendirilen onyeddi adet pirazolin bileşiğini sentezlemişler ve bunların farklı insan kanser hücre hatlarına karşı antikanser etkinliklerini raporlamışlardır. Pirazolin türevi bileşikler HC-29 (kolon), HCT-15 (kolon), 502713 (kolon) kanser hücre hatlarına karşı kuvvetli sitotoksik etkinlik göstermişlerdir. Bu çalışma sonucunda elde edilen 1-(5-(2-klorofenil)-4,5-dihidro-3-((10*R*,13*S*)-2,3,4,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-tetradekahidro-3-hidroksi-10,13-dimetil-1*H*-siklopenta[*a*]fenantren-17-il)pirazol-1-il)etanon bileşiği (Şekil 64), HT-29 ve HCT-15 kanser hücre hatlarına karşı sırasıyla 0.24 ve 0.25  $\mu\text{M}$ 'lık  $\text{IC}_{50}$  değerleriyle etkili bileşik olarak bulunmuştur.



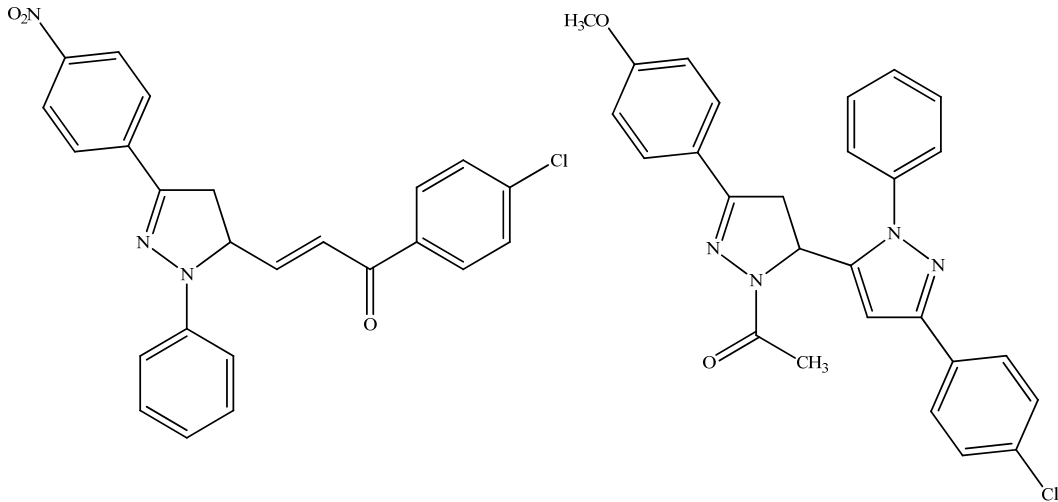
**Şekil 64. HT-29 ve HCT-15 Kolon Kanser Hücre Dizilerine karşı En Aktif Türev**

Congiu ve arkadaşları (2010), 3,5-diaril-4,5-dihidropirazol regioizomerleri ve bir numaralı konumundan asetillenmiş türevlerini sentezleyerek, bu bileşiklerin antikanser etkilerini araştırmışlardır. Kombretastatin-A4 benzeri bu bileşiklerin NCI-H460 (Küçük Hücreli Olmayan Akciğer Karsinoma) hücre hatlarına karşı gerçekleştirilen *in vitro* deneyleri neticesinde, 2-pirazolin iskeletindeki aril halkalarının sübstitüsyonuna ve pozisyonuna bağlı olarak bazı bileşikler mikromolar veya submikromolar seviyelerde sitotoksik etkinlik göstermişlerdir. 3-(3,4,5-Trimetoksifenil)-5-(4-dietilaminofenil)-2-pirazolin ve 1-asetil-3-(3-bromo/3-metoksi-4-hidroksifenil)-5-(3,4,5-trimetoksifenil)-2-pirazolin bileşiklerinin NCI-H460 kanser hücrelerini 0.30, 0.35 ve 0.21  $\mu\text{M}$   $\text{IC}_{50}$  değeri ile inhibe eden en etkili bileşikler oldukları bulunmuştur. Ayrıca 1-asetil-3-(3-bromo/3-metoksi-4-hidroksifenil)-5-(3,4,5-trimetoksifenil)-2-pirazolin bileşiklerinin SR (lösemi) ve MDA-MB-435 (melanom) kanser hücrelerine karşı kuvvetli antiproliferatif etkinliğe sahip oldukları gözlemlenmiştir. Yapı-aktivite ilişkileri değerlendirildiğinde, aktif olmayan bazı 5-(3,4,5-trimetoksifenil)pirazolinlerin N-1 konumuna (hidroksi)asetil grubunun yerleştirilmesinin *in vitro* aktiviteyi arttırdığı tespit edilmiştir. Ayrıca, bu çalışma sonucu elde edilen 1-asetil-3-(3-bromofenil)-5-(3,4,5-trimetoksifenil)-4,5-dihidro-1H-pirazol bileşiğinin ( $\text{IC}_{50}=5.16 \mu\text{M}$ ) referans madde olan kombretastatin-A4 ( $\text{IC}_{50}=4.92 \mu\text{M}$ ) ile kıyaslanabilir nitelikte tubulin polimerizasyonunu inhibe ettiği gözlemlenmiştir (Şekil 65).



**Şekil 65.** NCI-H460, SR ve MDA-MB-435'e karşı Antiproliferatif Etkinliğe Sahip 1-Asetil-3,5-diaril-4,5-dihidro-1*H*-pirazol Türevleri

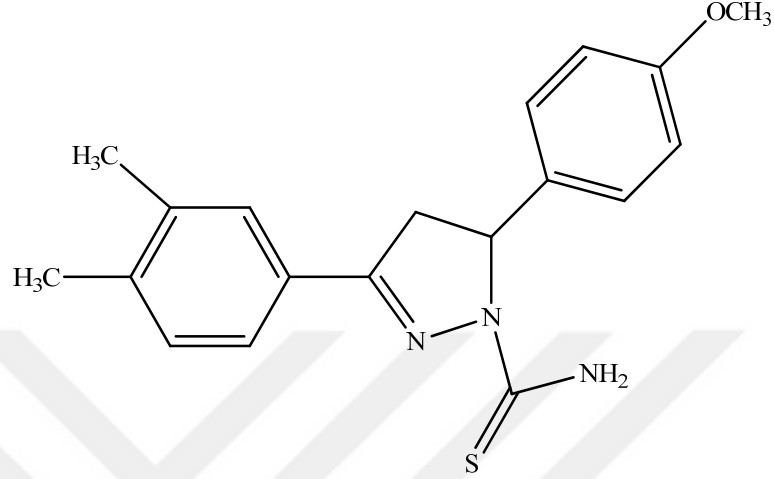
Insuasty ve ekibi (2010), 1-aril-3-(3-aril-1-fenil-1*H*-pirazol-4-il)prop-2-en-1-on bileşiklerinden hareketle mikrodalga sentez yöntemiyle yeni rasemik 3-aril-4-(3-aril-4,5-dihidro-1*H*-pirazol-5-il)-1-fenil-1*H*-pirazol ya da bunların *N*-asetil türevlerini sentezlemişlerdir. Tüm bileşiklerin 60 farklı insan tümör hücre dizisine karşı antikanser etki taramaları, NCI tarafından gerçekleştirilmiştir. Bu çalışma sonucunda elde edilen 1-(4-klorofenil)-3-[3-(4-nitrofenil)-1-fenil-1*H*-pirazol-4-il]prop-2-en-1-on ve 1-asetil-5-[3-(4-klorofenil)-1-fenil-1*H*-pirazol-4-il]-3-(4-metoksifenil)-4,5-dihidro-1*H*-pirazol bileşiklerinin (**Şekil 66**) lösemi (K562 ve SR), böbrek (UO-31) ve küçük hücreli olmayan akciğer (HOP-92) kanser hücrelerine karşı 0.04-1.40  $\mu\text{M}$  aralığındaki GI<sub>50</sub> değerleriyle en etkili bileşikler oldukları bulunmuştur.



**Şekil 66.** 1-(4-Klorofenil)-3-[3-(4-nitrofenil)-1-fenil-1*H*-pirazol-4-il]prop-2-en-1-on ve 1-Asetil-5-[3-(4-klorofenil)-1-fenil-1*H*-pirazol-4-il]-3-(4-metoksifenil)-4,5-dihidro-1*H*-pirazol

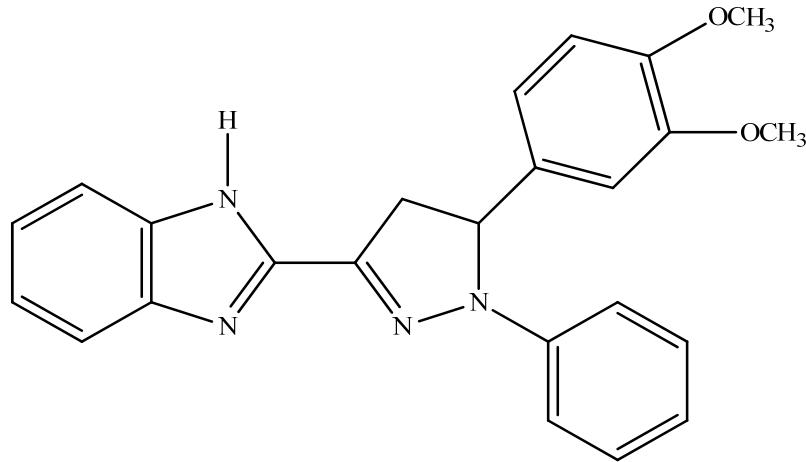
Peng-Cheng ve ekibi (2010), iki seri pirazol türevi tasarlayarak bunların EGFR kinaz inhibitör aktivitelerini araştırmışlardır. Sentezi gerçekleştirilen bileşiklerden bazıları dikkate değer EGFR inhibitör aktivite göstermişlerdir. Bileşiklerden 3-(3,4-dimetilfenil)-5-(4-metoksifenil)-4,5-dihidro-1*H*-pirazol-1-karbotiyoamit (**Şekil 67**), erlotinib ile karşılaştırıldığında 0.07  $\mu\text{M}$  olan IC<sub>50</sub> değeri ile en kuvvetli EGFR kinaz inhibitördür. Aynı zamanda antiproliferatif deney sonuçları bazı pirazol

türevi bileşiklerin MCF-7 kanser hücre dizisine karşı yüksek antiproliferatif etkinliğe sahip olduklarını göstermiştir. 3-(3,4-Dimetilfenil)-5-(4-metoksifenil)-4,5-dihidro-1*H*-pirazol-1-karbotiyoamit bileşiği 0.08  $\mu$ M olan IC<sub>50</sub> değeri ile MCF-7 kanser hücre dizisine karşı kuvvetli antiproliferatif etki göstermiştir. Elde edilen bu veriler bu bileşiğin umut vaat eden bir antikanser ajan olabileceğini göstermektedir.



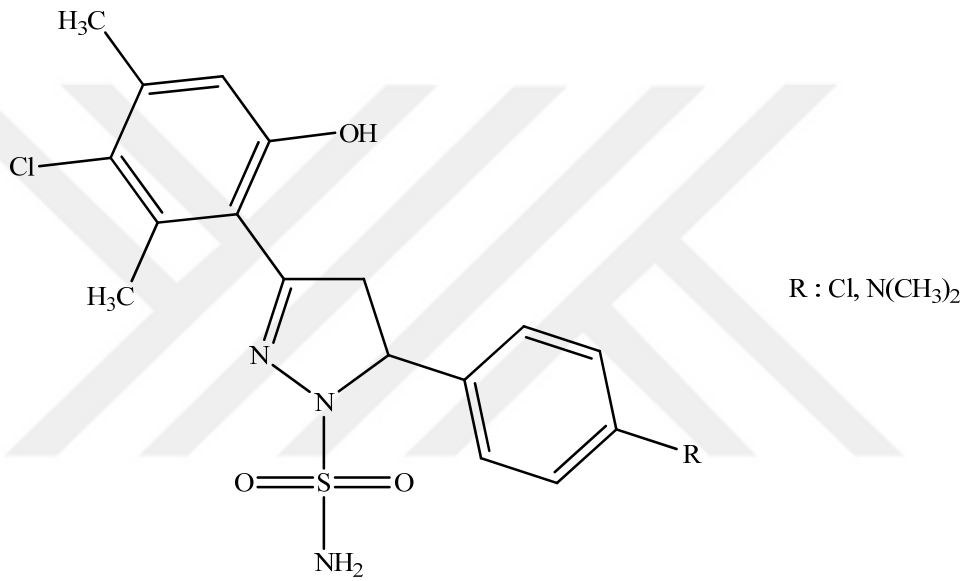
**Şekil 67. 3-(3,4-Dimetilfenil)-5-(4-metoksifenil)-4,5-dihidro-1*H*-pirazol-1-karbotiyoamit**

Shaharyar ve arkadaşları (2010), 2-asetilbenzimidazol ile süstitüe aromatik aldehitleri reaksiyona sokarak ara ürün olan şalkon türevlerini elde etmişlerdir. Bu ara ürünlerin, hidrazin hidrat ve fenil hidrazinlerle ayrı ayrı reaksiyonu sonucunda da iki farklı pirazolin türevi elde etmişlerdir. Sentezlenen tüm bileşikler NCI tarafından, antikanser etkinlik yönünden değerlendirilmiş ve bunlar arasından 2-[5-(3,4-dimetoksifenil)-1-fenil-4,5-dihidro-1*H*-3-pirazolil]-1*H*-benzimidazol bileşiği (**Şekil 68**) en aktif bileşik olarak seçilmiştir. İlgili bileşik yapı-etki yönünden değerlendirilmiş ve pirazolin halkasının beş numaralı pozisyonunda bulunan fenil halkası üzerinde elektron veren grupların (OCH<sub>3</sub>) bulunmasının antikanser aktiviteyi (lösemi, akciğer, kolon, beyin, yumurtalık, böbrek, prostat, göğüs kanseri hücre kültürlerine karşı) büyük oranda etkilediği gözlemlenmiştir.



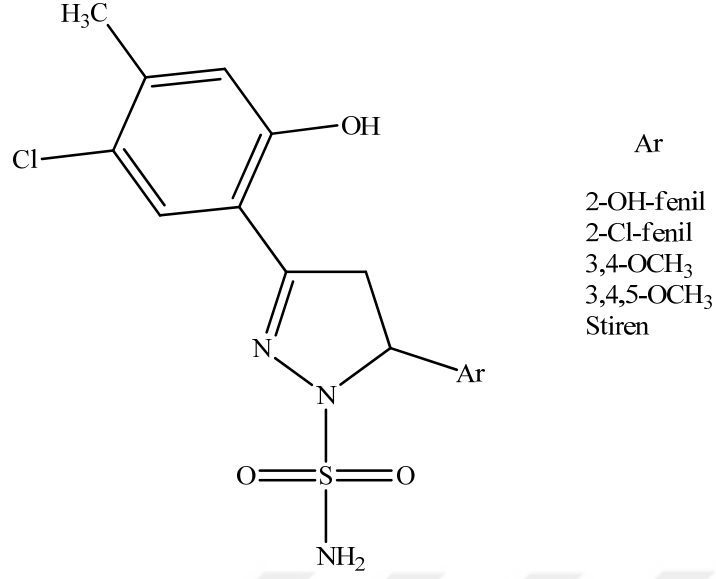
**Şekil 68. 2-[5-(3,4-Dimetoksifenil)-1-fenil-4,5-dihidro-1*H*-3-pirazolil]-1*H*-benzimidazol**

Bano ve arkadaşları (2011), 4-hidrazinobenzensülfonamid hidroklorür ile uygun şalkon/flavanonların tepkimesi sonucu sekiz adet yeni 2-pirazolin türevi bileşik sentezlemişler, bunların antikanser ve antienflamatuvar aktivite çalışmalarını yapmışlardır. Elde edilen bileşiklerden 3-(5'-kloro-2'-hidroksi-4',6'-dimetilfenil)-5-(4-klorofenil)-1-(*p*-sülfamoilfenil)-4,5-dihidro-1*H*-pirazol ve 3-(5'-kloro-2'-hidroksi-4',6'-dimetilfenil)-5-(4-(*N,N*-dimetilamino)fenil)-1-(*p*-sülfamoilfenil)-4,5-dihidro-1*H*-pirazol (**Şekil 69**), altmış adet insan tümör hücre dizisine karşı araştırılmış ve kayda değer antikanser etki gösterdikleri tespit edilmiştir. Özellikle 3-(5'-kloro-2'-hidroksi-4',6'-dimetilfenil)-5-(4-(*N,N*-dimetilamino)fenil)-1-(*p*-sülfamoilfenil)-4,5-dihidro-1*H*-pirazol bileşiği için, MOLT-4 (lenfoblastik lösemi), EKVX (küçük hücreli olmayan akciğer kanseri), COLO 205 (kolon kanseri) hücrelerine karşı antiproliferatif etkinlik açısından umut vaat eden sonuçlar ( $GI_{50} \leq 2 \mu M$ ) elde edilmiştir.



**Şekil 69. 3,5-Diaril-1-(4-sülfamoilfenil)-4,5-dihidro-1*H*-pirazol Türevleri**

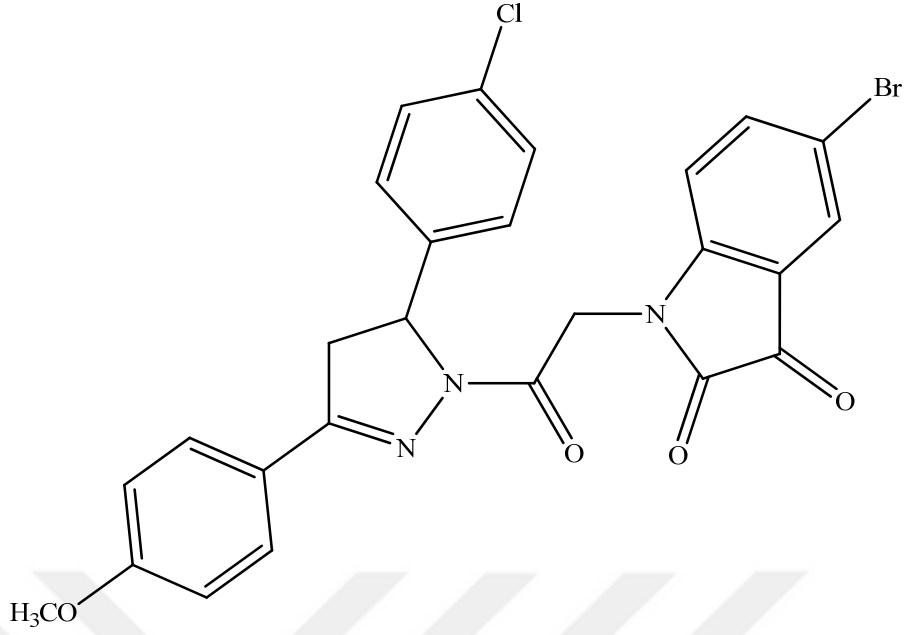
Bashir ve ekibi (2011), 4-hidrazinobenzensülfonamid hidroklorür ile uygun şalkonların reaksiyonu sonucu onüç adet benzensülfonamid yapısı taşıyan yeni 2-pirazolinleri sentezlemişler, bunların antikanser ve antienflamatuvar aktivite yönünden etkinliklerini test etmişlerdir. NCI, bileşiklerin altmış farklı insan kanser hücre dizisi üzerine *in vitro* antikanser etki tarama testlerini gerçekleştirmiştir. Sentezledikleri 3-(5'-kloro-2'-hidroksi-4'-metilfenil)-5-aril-1-(*p*-sülfamoilfenil)-4,5-dihidro-1*H*-pirazol türevi bileşiklerden (**Şekil 70**); 2-hidroksifenil, 2-klorofenil, etilenfenil, 3,4-dimetoksifenil, 3,4,5-trimetoksifenil sübstitüsyonuna sahip olan türevler; denenen tüm kanser hücre kültürleri için umut verici antikanser aktivite göstermişlerdir. Bu türevlerin etkili büyüme inhibisyonu ( $GI_{50}$ ) değerleri sırasıyla 2.63, 2.57, 6.61, 3.31, 2.57  $\mu M$  olarak elde edilmiştir.



**Şekil 70. 3-(5'-Kloro-2'-hidroksi-4'-metilfenil)-5-aril-1-(p-sülfamoilfenil)-4,5-dihidro-1H-pirazol Türevleri**

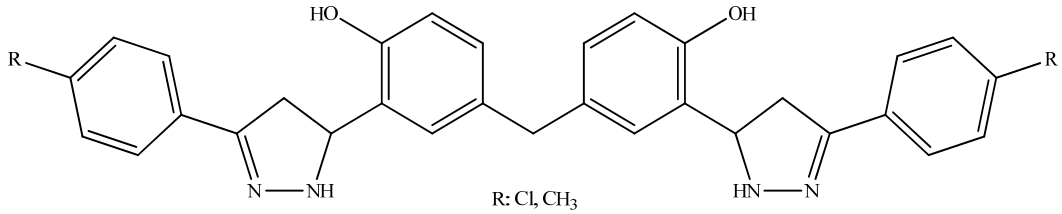
Havrylyuk ve ekibi (2011), tiyazolidin ve pirazolin halkası ile birleştirilmiş yeni isatin temelli bileşikler sentezleyerek bunların antitümör aktivitelerini araştırmışlardır. Ekip, 3,5-diaril-4,5-dihidropirazoller ile kloroasetil klorürü reaksiyona tabi tutarak başlangıç maddesi olan 2-kloro-1-(3,5-diaril-4,5-dihidropirazol-1-il)-etanonları elde etmişlerdir. Bu bileşikleri isatin ve 5-bromoisatinlerle tepkimeye sokarak 1-[2-(3,5-diaril-4,5-dihidropirazol-1-il)-2-oksoetil]-1H-indol-2,3-dionları elde etmişlerdir. 1-[2-(3,5-Diaril-4,5-dihidropirazol-1-il)-2-oksoetil]-1H-indol-2,3-dionlar ile 4-tiyazolidinonlar tepkimeye sokularak sonuç bileşiklerine 5-(1-{2-[3,5-diaril-4,5-dihidropirazol-1-il]-2-oksoetil}-2-okso-1,2-dihidroindol-3-iliden)-4-tiyazolidinonlar ve 2-amino-4-tiyazolonlara ulaşmışlardır. Sentezlenen tüm türevlerin altmış farklı insan kanser hücre dizisi üzerine *in vitro* antikanser etkileri NCI tarafından araştırılmıştır. Test edilen bileşikler arasından 5-bromo-1-{2-[5-(4-klorofenil)-3-(4-metoksifenil)-4,5-dihidropirazol-1-il]-2-oksoetil}-1H-indol-2,3-dion (**Şekil 71**) bileşiği lösemi alt kültürleri üzerinde 0.69-3.35  $\mu\text{M}$  GI<sub>50</sub> değerleriyle en aktif bileşik olarak bulunmuştur.





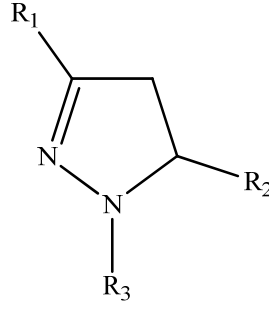
**Şekil 71. 5-Bromo-1-{2-[5-(4-klorofenil)-3-(4-metoksifenil)-4,5-dihidropirazol-1-il]-2-oksoetil}-1H-indol-2,3-dion**

Insuasty ve ekibi (2011), 4,4'-metilenbis[2-(3-(aril)-4,5-dihidro-1H-pirazol-5-il)fenol] ve metilenbis-2-(3-(aril)-4,5-dihidro-1H-pirazol-5-il)-4,1-fenilen diasetat türevlerini mikrodalga sentez yöntemini kullanarak sentezlemiştir. Bu türevlerin altmış farklı insan kanser hücre dizisi üzerine antikanser etki taramaları NCI tarafından gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada, 4,4'-metilenbis[2-(3-(4-klorofenil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-5-il)fenol] ve 4,4'-metilenbis[2-(3-(4-metilfenil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-5-il)fenol] türevleri (**Şekil 72**) test edilen kanser tiplerinin çoğuna karşı aktivite göstermişlerdir.



**Şekil 72. 4,4'-Metilenbis(2-(3-(aril)-4,5-dihidro-1H-pirazol-5-il)fenol) Türevleri**

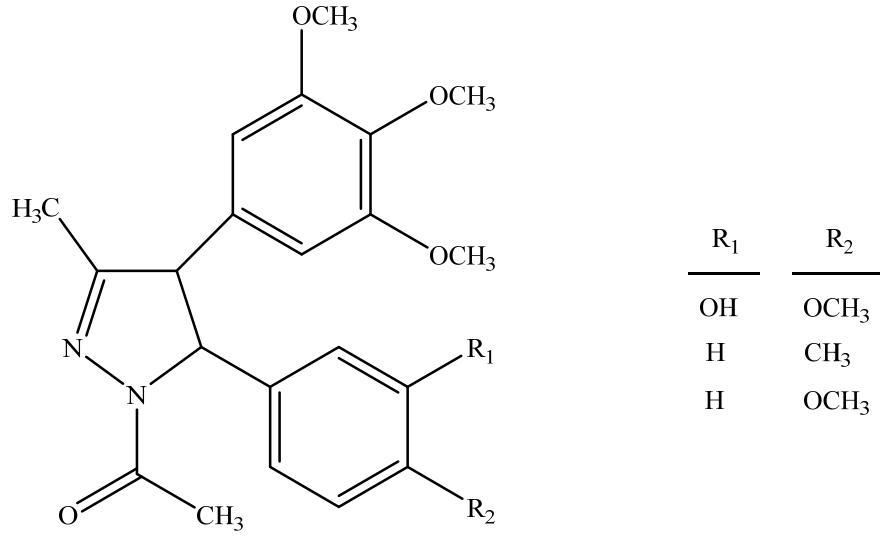
Ismaeil ve arkadaşları (2011), 3,5-diaril-2-pirazolin, 1-asetil-3,5-diaril-2-pirazolin ve 1-fenil-3,5-triaril-2-pirazolin türevlerini sentezlemişler ve bu türevlerin *in vitro* antitümör etkinlik çalışmalarını yürütmüşlerdir. 3-(4-Bromofenil)-5-(4-florofenil)-2-pirazolin bileşiği 3.43 µg/mL ve 3-(4-bromofenil)-5-(4-dimetilaminofenil)-2-pirazolin bileşiği 7.09 µg/mL IC<sub>50</sub> değerleriyle geniş spektrumlu antikanser aktivite göstermişlerdir. 1-Asetil-3-(4-bromofenil)-5-(2-klorofenil)-2-pirazolin bileşiği, 6.8 µg/mL IC<sub>50</sub> değeriyle MCF-7 (göğüs) kanser hücrelerine karşı iyi, 12.5 µg/mL IC<sub>50</sub> değeriyle HCT116 (kolon) kanser hücrelerine karşı orta düzeyde etkinlik göstermiştir. 1-Fenil-3-(4-piridin)-5-(4-nitrofenil)-2-pirazolin türevi, 10.3 µg/mL IC<sub>50</sub> değeriyle MCF-7 hücre dizisine karşı nispeten iyi, 1-fenil-3-(4-bromofenil)-5-(4-florofenil)-2-pirazolin ise 16.5 µg/mL IC<sub>50</sub> değeriyle HCT116 hücre dizisine karşı orta düzeyde etkinlik göstermiştir (**Şekil 73**).



R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	IC <sub>50</sub> (µg/mL)	
			HCT116	MCF7
4-Bromofenil	4-Florofenil	H	-	3.43
4-Bromofenil	4-Dimetilaminofenil	H	7.09	-
4-Bromofenil	2-Klorofenil	Asetil	6.8	12.5
4-Piridin	4-Nitrofenil	Fenil	10.3	-
4-Bromofenil	4-Florofenil	Fenil	-	16.5

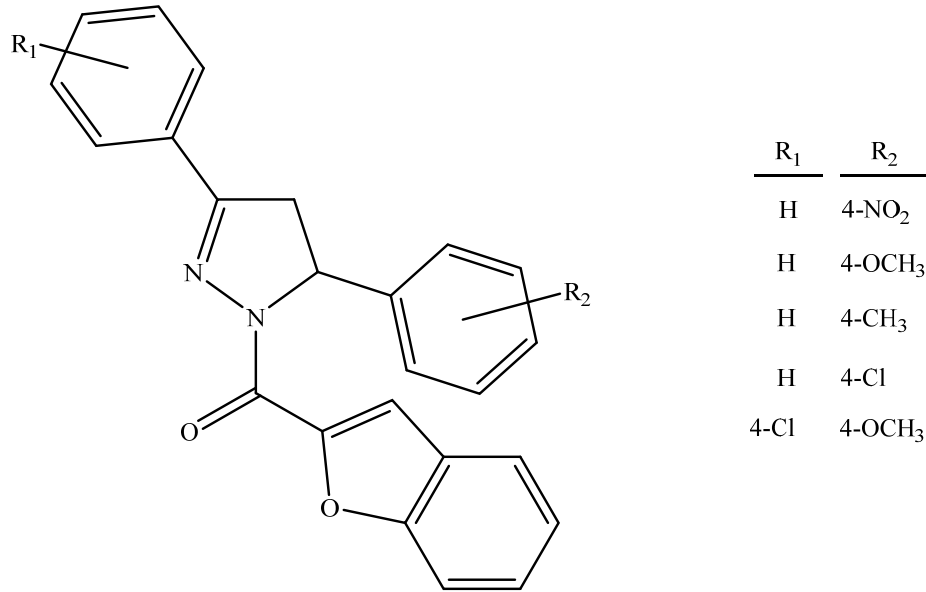
**Şekil 73. 3,5-Diaril-, 1-Asetil-3,5-diaril- ve 1-Fenil-3,5-diaril-2-pirazolin Türevleri ve Antikanser Aktiviteleri**

Lee ve ekibi (2011), kombretastatin bileşiğinin metil pirazolin türevlerini sentezlemişler ve bu bileşiklerin melanom (B16) ve lenfoma (L1210) kanser hücrelerine karşı sitotoksik etkilerini MTT metodu ile değerlendirmişlerdir. Kombretastatin bileşiği ile aynı süstitüsyonlara sahip bulunan 1-(5-(3-hidroksi-4-metoksifenil)-3-metil-4-(3,4,5-trimetoksifenil)-4,5-dihidro-1*H*-pirazol-1-il)etanon bileşiği (**Şekil 74**) L1210 için 3.3 µM ve B16 için 6.8 µM IC<sub>50</sub> değerleriyle en aktif bileşik olarak bulunmuştur. NCI tarafından kullanılan insan kanser hücre dizilerine karşı da bu bileşik taranmış ve onaylanmıştır. 1-(5-(4-Metilfenil)-3-metil-4-(3,4,5-trimetoksifenil)-4,5-dihidro-1*H*-pirazol-1-il)etanon ve 1-(5-(4-metoksifenil)-3-metil-4-(3,4,5-trimetoksifenil)-4,5-dihidro-1*H*-pirazol-1-il)etanon bileşikleri, L1210 kanser hücresi için 6-8 µM aralığındaki IC<sub>50</sub> değerleriyle, diğer aktif bileşikler olarak tespit edilmişlerdir.



**Şekil 74. 1-(5-(3,4-Disübstitüefenil)-3-metil-4-(3,4,5-trimetoksifenil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il)etanon Türevleri**

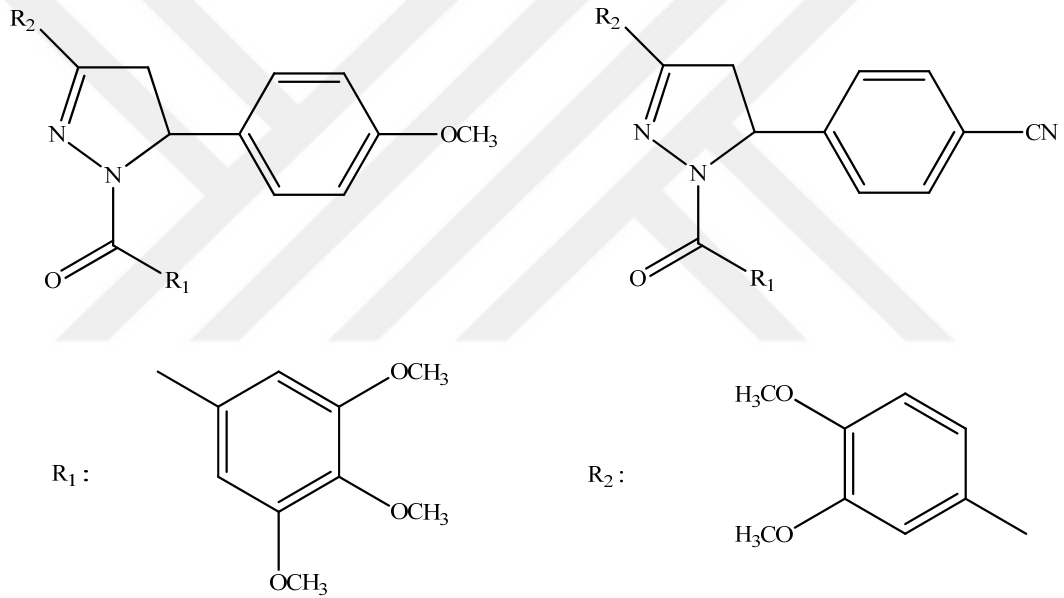
Parekh ve arkadaşları (2011), benzofuran-2-karbohidrazitlerle çeşitli şalkon türevlerinin mikrodalga sentez yöntemi ile reaksiyonuyla yeni benzofuran-2-il-(4,5-dihidro-3,5-sübstitüedifenilpirazol-1-il)metanon türevlerini sentezlemişlerdir. Bu bileşiklerin insan kanser hücrelerine karşı antiproliferatif etkinliklerini ve çoklu ilaç direnci (MDR1) geni transfer edilmiş fare lenfoma hücrelerinde, etkinliklerini araştırmışlardır. Bu bileşikler arasında, (benzofuran-2-il)(4,5-dihidro-5-(4-nitrofenil)-3-fenilpirazol-1-il)metanon ve (benzofuran-2-il)(4,5-dihidro-5-(4-metoksifenil)-3-fenilpirazol-1-il)metanon iyi antiproliferatif aktivite göstermiştir. Ayrıca (benzofuran-2-il)(4,5-dihidro-3-fenil-5-*p*-tolilpirazol-1-il)metanon, (benzofuran-2-il)(5-(4-klorofenil)-4,5-dihidro-3-fenilpirazol-1-il)metanon ve (benzofuran-2-il)(3-(4-klorofenil)-4,5-dihidro-5-(4-metoksifenil)pirazol-1-il)metanon türevi bileşikler (**Şekil 75**) ise iyi anti-MDR etkinlik göstermişlerdir.



**Şekil 75. Benzofuran-2-il-(4,5-dihidro-3,5-sübstitüedifenilpirazol-1-il)metanon türevleri**

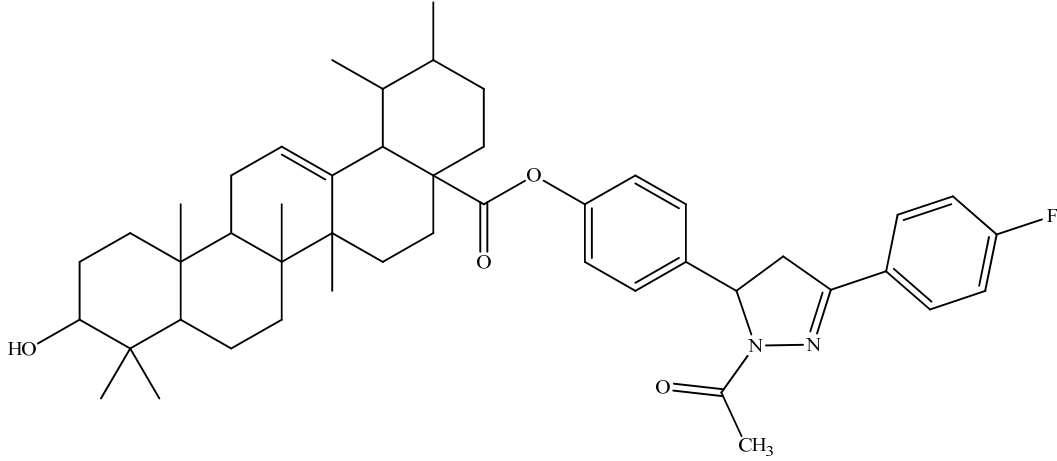
Abdel-Aziz ve arkadaşları (2012), bir seri 1-(3',4',5'-trimetoksibenzoil)-3,5-diaril pirazolin türevini sentezlemişler ve bu türevlerin farklı kanser hücre kültürlerine karşı sitotoksik özellikleriyle tübülün polimerizasyon inhibitör aktivitelerini değerlendirmişlerdir.

1-(3',4',5'-Trimetoksibenzoil)-4,5-dihidro-5-(4-metoksifenil)-3-(3,4-dimetoksifenil)-1*H*-pirazol ve 1-(3',4',5'-trimetoksibenzoil)-4,5-dihidro-5-(4-siyanofenil)-3-(3,4-dimetoksifenil)-1*H*-pirazol bileşikleri iyi tübülün polimerizasyon inhibitör aktiviteleri ile farklı kanser hücre dizilerine karşı dikkate değer sitotoksik aktivite sergilemişlerdir. 1-(3',4',5'-Trimetoksibenzoil)-4,5-dihidro-5-(4-metoksifenil)-3-(3,4-dimetoksifenil)-1*H*-pirazol bileşiği, böbrek ve göğüs kanserlerine ait alt kültürler üzerine sırasıyla 3.06 ve 5.11 seçicilik oranları ile orta düzeyde seçici sitotoksik aktivite özelliği göstermiştir. 1-(3',4',5'-Trimetoksibenzoil)-4,5-dihidro-5-(4-siyanofenil)-3-(3,4-dimetoksifenil)-1*H*-pirazol ve 1-(3',4',5'-trimetoksibenzoil)-4,5-dihidro-5-(4-metoksifenil)-3-(3,4-dimetoksifenil)-1*H*-pirazol bileşiklerinin sırasıyla; 17  $\mu$ M ve 40  $\mu$ M IC<sub>50</sub> değerleri ile iyi bir tübülün polimerizasyonu inhibe edici etkiye sahip oldukları gösterilmiştir (**Şekil 76**).



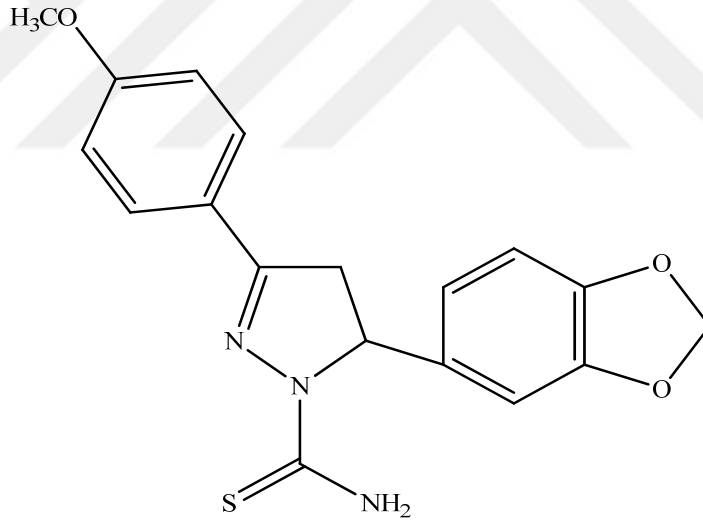
**Şekil 76. 1-(3',4',5'-Trimetoksibenzoil)-4,5-dihidro-5-(4-metoksi/siyanofenil)-3-(3,4-dimetoksifenil)-1*H*-pirazol Bileşikleri**

Bai ve arkadaşları (2012), 1-asetil-3-[4-(non)süstitüefenil]-4,5-dihidro-2-pirazolin-5-fenil ursolat türevlerini sentezlemişler ve bu bileşiklerin A549 (akciğer), SKOV3 (ovaryum), HepG2 (karaciğer) kanser kültürlerine karşı antikanser etkilerini MTT metodunu kullanarak değerlendirmişlerdir. Bu araştırma, 1-asetil-3-(4-florofenil)-4,5-dihidro-2-pirazolin-5-fenil ursolat bileşiğinin (**Şekil 77**) A549 ve SKOV3 kanser kültürlerine karşı ursolik asitten daha etkili olduğunu göstermiştir.



**Şekil 77. 1-Asetil-3-(4-florofenil)-4,5-dihidro-2-pirazolin-5-fenilursolat**

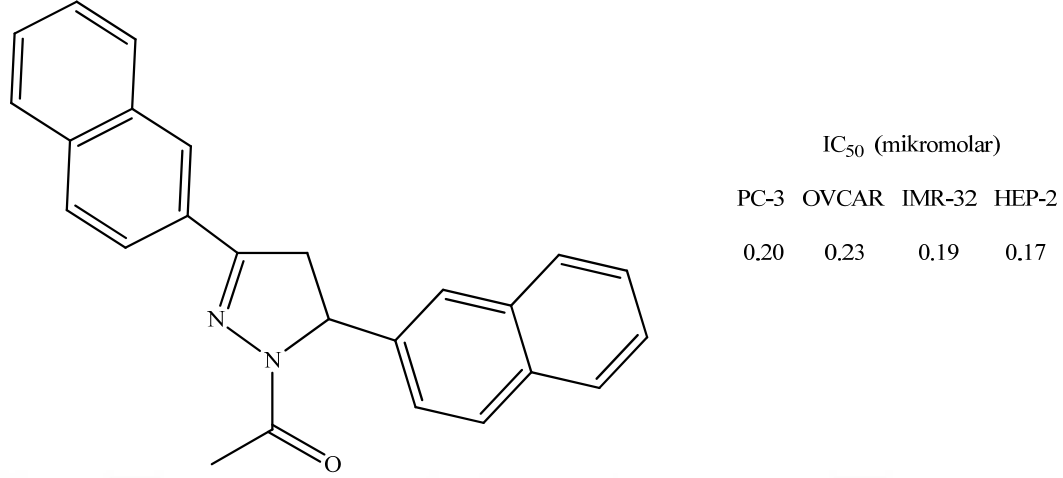
Insuasty ve ekibi (2012), tiyofen ve benzo[*d*][1,3]dioksol süstitüsyonları içeren potansiyel antitümör etkili 1-asetil/formil/tiyokarbamoil-3,5-diaril-2-pirazolin türevlerini sentezlemişlerdir. Yapılan *in vitro* antitümör çalışmaları sonucunda, 5-(benzo[*d*][1,3]dioksol-5-il)-3-(4-metoksifenil)-4,5-dihidro-1*H*-pirazol-1-karbotiyoamit bileşiği (**Şekil 78**), RPMI 8226 (lösemi), UO-31 (böbrek), DU-145 (prostat) kanser hücrelerinin büyüme inhibisyonu üzerine sırasıyla GI<sub>50</sub> 1.88, 1.91, 1.94 µM'lık değerleriyle en aktif bileşik olarak tespit edilmiştir.



**Şekil 78. 5-(Benzo[1,3][d]dioksol-5-il)-3-(4-metoksifenil)-4,5-dihidro-1*H*-pirazol-1-karbotiyoamit**

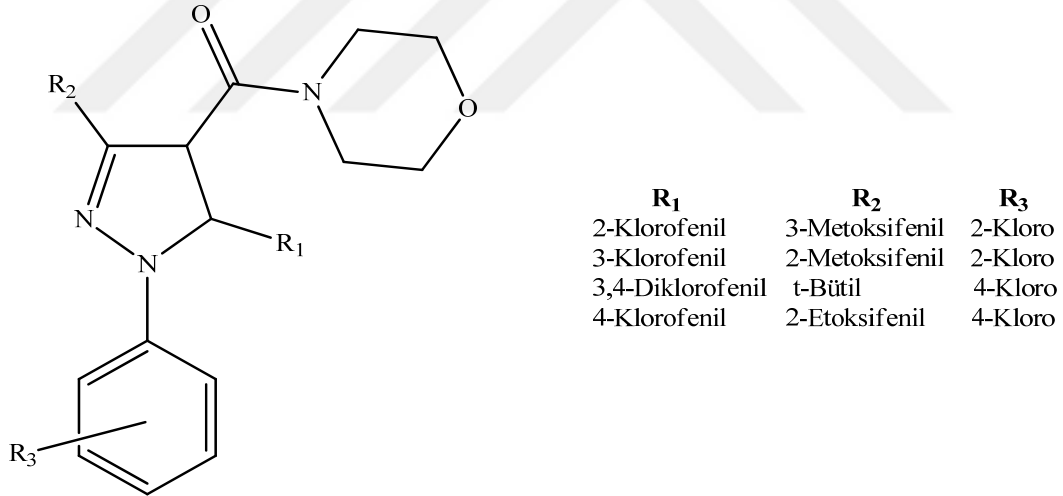
Nepali ve arkadaşları (2012), 2-pirazolin halkasının üç numaralı konumuna furan, naftalen ve süstitüefenil yapıları getirerek elde ettikleri yeni 2-pirazolin bileşiklerinin; PC-3 (prostat), OVCAR (yumurtalık), IMR-32 (nöroblastoma), HEP-2 (karaciğer epitelyal) insan kanser hücre dizileri üzerine *in vitro* sitotoksik etkilerini değerlendirmişlerdir. Bu araştırma yapı-aktivite yönünden incelendiğinde; 2-pirazolin halkasının üç numaralı pozisyonuna naftalen halkası getirildiğinde en etkili sitotoksik bileşikler elde edilmiştir. Pirazolin halkasının üç numaralı konumuna elektron veren (naftil gibi) süstitüsyonlar ile negatif yük yoğunluğu bileşik üzerinde artırılarak antikanser etkinliğin artırılması sağlanmıştır. Bu çalışmanın sonucunda 1-(3,5-di(naftalen-2-il)-4,5-dihidro-1*H*-

pirazol-1-il)etanon bileşiği (**Şekil 79**)  $IC_{50}=0.17-0.23 \mu M$  aralığında en etkili bileşik olarak gözlemlenmiştir.



**Şekil 79. 1-(3,5-Di(naftalen-2-il)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il)etanon**

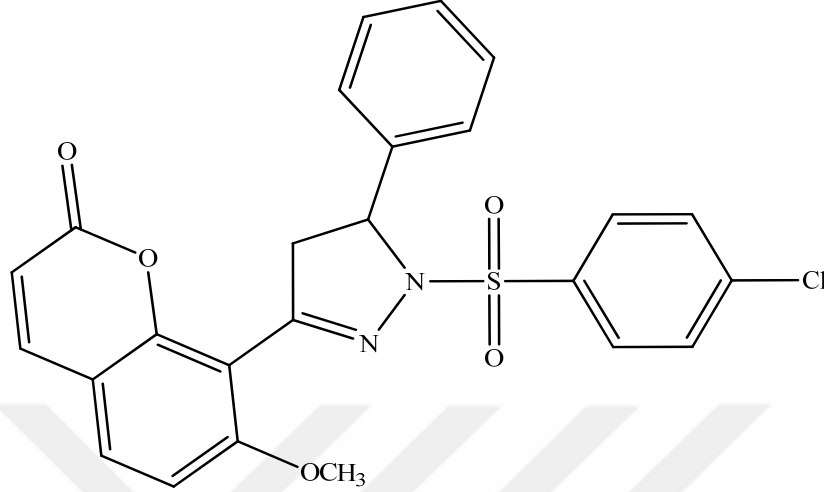
Abdel-Halim ve arkadaşları (2013), 1,3,5-trisüstitüe ve 1,3,4,5-tetrasüstitüe pirazolin türevlerini sentezleyip bunların p53<sup>+/+</sup> HCT116 (kolon) ve p53<sup>-/-</sup> HCT1299 (kolon) kanser hücre dizilerine karşı inhibiör etkilerini araştırmışlardır. Sentezlenen bazı türevlerin (**Şekil 80**) p53<sup>+/+</sup> HCT116 hücre kültürüne karşı düşük mikromolar IC<sub>50</sub> değerlerinde etkili olduğu gösterilmiştir.



**Şekil 80. Etkinlik Gösteren Pirazolin Türevlerinin Genel İskeleti**

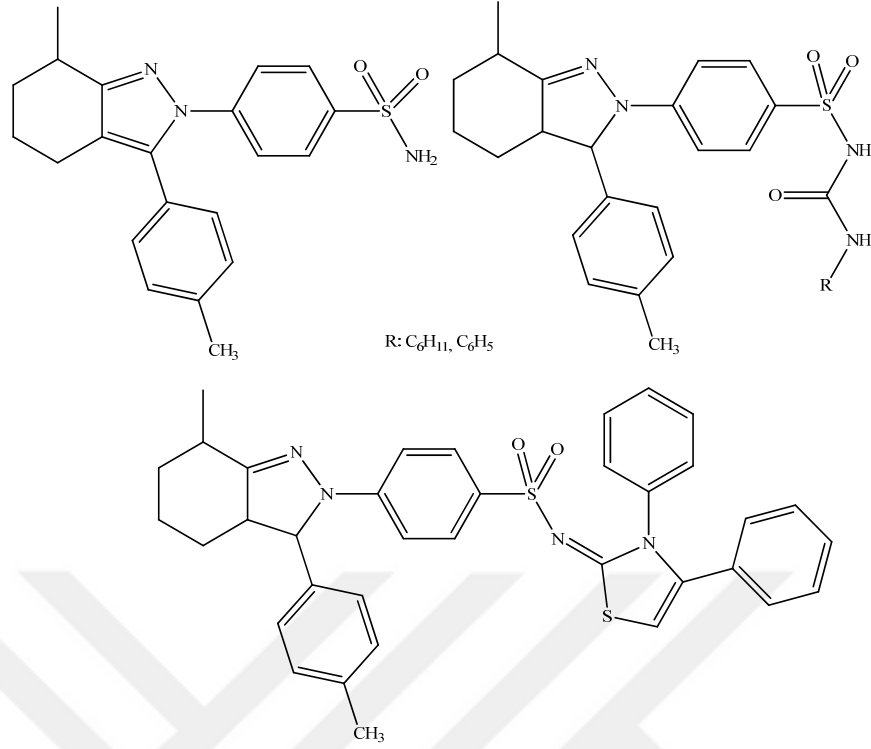
Amin ve ekibi (2013), kumarin şalkon türevlerinin siklizasyonu yoluyla yeni kumarin-pirazolin hibrit bileşikler sentezlemişler ve bu bileşikler içinden seçtikleri türevler için US NCI' nün hazırlamış olduğu 60 farklı insan kanser dizisine karşı antikanser aktivite taraması yapmışlardır. Bu çalışmalar sonucunda; 7-metoksi-8-[1-(fenilsülfonil)-(4-metilfenil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-3-il]-2H-kromen-2-on, 8-[1-(4-metilfenilsülfonil)-5-fenil-4,5-dihidro-1H-pirazol-3-il]-7-metoksi-2H-kromen-2-on, 8-[1-(4-klorofenilsülfonil)-5-fenil-4,5-dihidro-1H-pirazol-3-il]-7-metoksi-2H-kromen-2-on bileşikler MCF-7 (göğüs) ve HCT-116 (kolon) kanser hücre dizilerine karşı en aktif bileşikler olarak tespit edilmiştir. Ayrıca 8-[1-(4-klorofenilsülfonil)-5-fenil-4,5-dihidro-1H-pirazol-3-il]-7-metoksi-2H-kromen-2-on

bileşinin (**Şekil 81**) MCF-7 ve HCT-116 kanser hücre dizilerine karşı 0.49 ve 0.94  $\mu\text{M}$   $\text{GI}_{50}$  değerleriyle en aktif türev olduğu belirtilmiştir. Bu bileşik P13K (p110 $\alpha$ /p85 $\alpha$ ) enzimine karşı zayıf inhibitör etkisi ile en yüksek sitotoksik etkiyi göstermiştir.



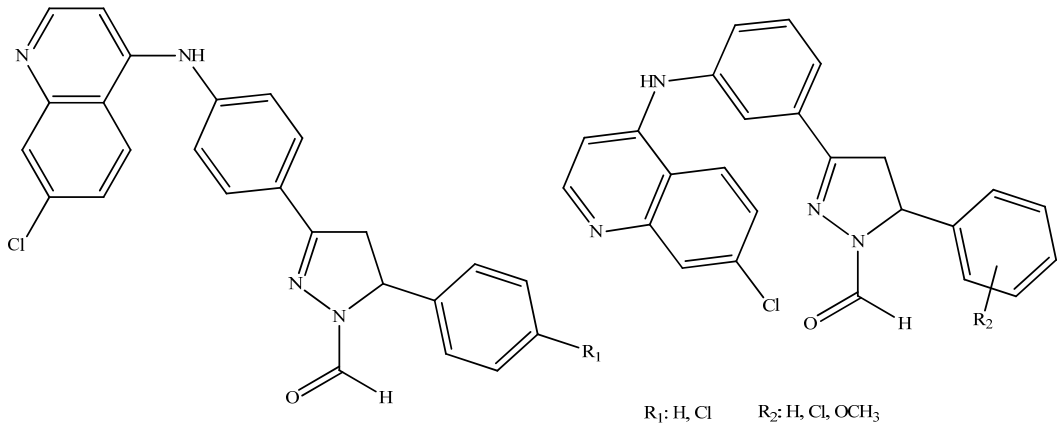
**Şekil 81.** 8-[1-(4-Klorofenilsüfonil)-5-fenil-4,5-dihidro-1H-pirazol-3-il]-7-metoksi-2H-kromen-2-on

Faidallah ve arkadaşları (2013), 2,3-diaril-7-metil-4,5,6,7-tetrahidroindazol ve 3,3a,4,5,6,7-hekzahidroindazol türevi yirmi adet yeni pirazolin bileşiği sentezleyerek, bu türevlerin altmış farklı insan kanser hücre dizisi üzerine antikanser etkilerini değerlendirmişlerdir. Bu bileşikler arasında, 4-[7-metil-3-(4-metilfenil)-4,5,6,7-tetrahidroindazol-2-il]benzensülfonamid,  $N^1$ -[4-(7-metil-3-(4-metilfenil)-3,3a,4,5,6,7-hekzahidroindazol-2-il)benzensülfonil]- $N^3$ -sikloheksil/fenilüre, 2-[4-(7-metil-3-(4-metilfenil)-3,3a,4,5,6,7-hekzahidroindazol-2-il)benzensülfonilimino]-3,4-difeniltiyazolin bileşikleri (**Şekil 82**) için umut vaat eden sonuçlar elde edilmiştir.



**Şekil 82.** 4,5,6,7-Tetrahidroindazol ve 3,3a,4,5,6,7-Hekzahidroindazol Türevi Pirazolin Bileşikleri

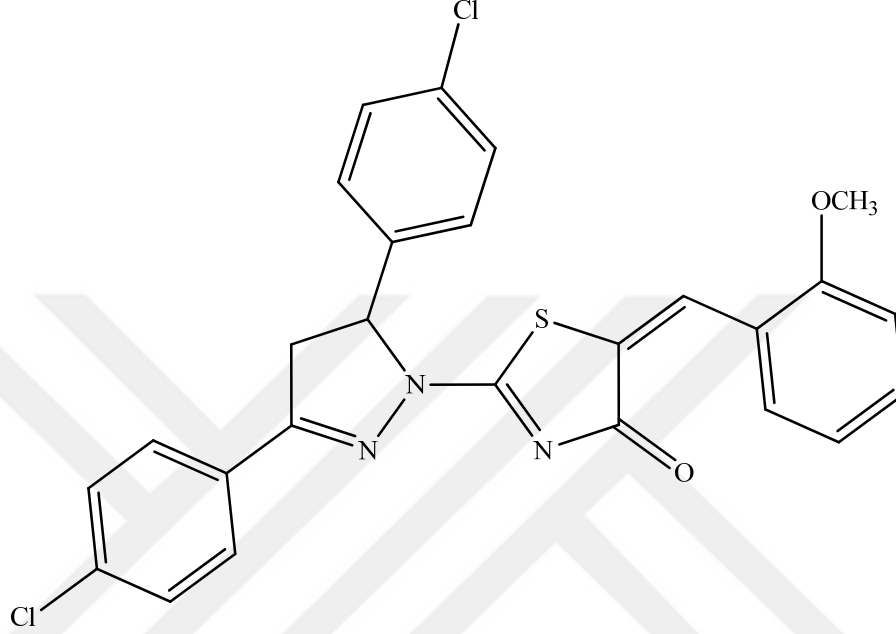
Insuasty ve arkadaşları (2013), [(7-klorokinolin-4-il)amino]şalkon bileşiklerinin asetik asit/formik asit içerisinde hidrazin hidratlarla siklokonenzasyonundan *N*-asetil ve *N*-formil pirazolin türevi bileşikler sentezlemişler ve bu türevlerin antitümör ve antimalaryal etkinliklerini araştırmışlardır. 3-[4-(7-Klorokinolin-4-ilamino)fenil]-5-(4-klorofenil)-4,5-dihidro-1*H*-pirazol-1-karbaldehit, ayrıca 3-[3-(7-klorokinolin-4-ilamino)fenil]-5-aril-4,5-dihidro-1*H*-pirazol-1-karbaldehit türevlerinden nonsüstitüe türevin ve klor, metoksi, 3,4,5-trimetoksifenil taşıyan bileşiklerin (**Şekil 83**) HCT-15 (kolon), OVCAR-3 (ovaryum), MDA-MB-435 (melanoma) kanser hücrelerine karşı 0.13-0.99  $\mu$ M GI<sub>50</sub> aralığındaki dozlarda etkinlik gösterdikleri tespit edilmiştir.



**Şekil 83.** 3-[3/4-(7-Klorokinolin-4-ilamino)fenil]-5-aril-4,5-dihidro-1*H*-pirazol-1-karbaldehit Türevleri

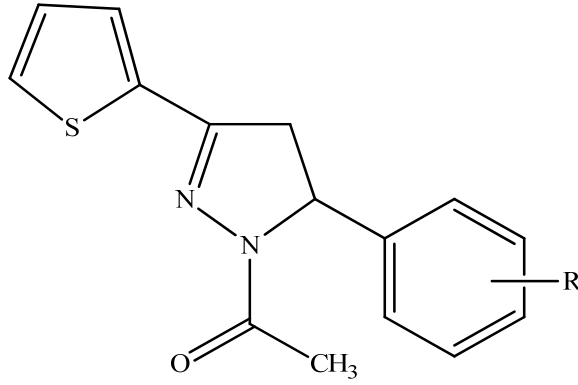


Khalil ve arkadaşları (2013), 5-ariliden-2-(3,5-diaril-4,5-dihidro-1*H*-pirazol-1-il)-1,3-tiyazol-4(5*H*)-on türevlerini sentezlemişler ve bu bileşiklerin MCF-7 (göğüs kanseri) üzerine *in vitro* antitümör etkilerini araştırmışlardır. Referans ilaç olan doksorubisin ( $IC_{50} = 2.9 \mu M$ ) ile kıyaslandığında, 2-[3,5-bis(4-klorofenil)-4,5-dihidro-1*H*-pirazol-1-il]-5-(2-metoksibenziliden)-1,3-tiyazol-4(5*H*)-on bileşiğinin (**Şekil 84**)  $1.4 \mu M$   $IC_{50}$  değeriyle, sentezi gerçekleştirilen türevler içerisinde en etkili bileşik olduğu tespit edilmiştir.



**Şekil 84.** 2-[3,5-Bis(4-klorofenil)-4,5-dihidro-1*H*-pirazol-1-il]-5-(2-metoksibenziliden)-1,3-tiyazol-4(5*H*)-on

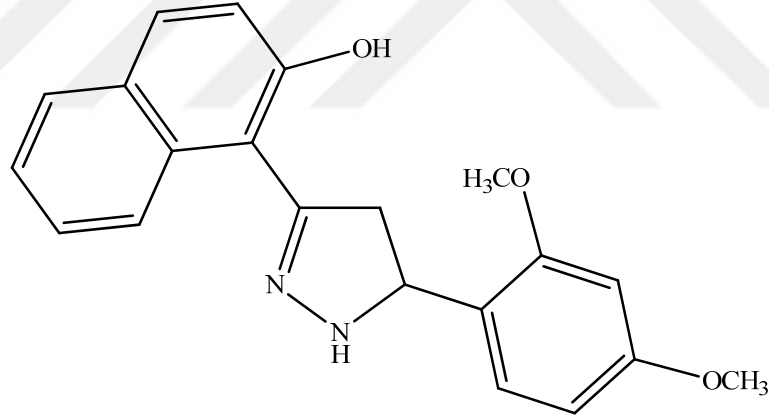
Özdemir ve arkadaşları (2013), 1-(2-tiyenil)-3-aril-2-propen-1-on bileşikleri ile hidrazin hidratı asetik asit içerisinde reaksiyona sokarak 1-asetil-3-(2-tiyenil)-5-aril-2-pirazolin bileşiklerini (**Şekil 85**) elde etmişlerdir. Bileşiklerin A549 (akciğer) ve C6 (sıçan glioma) kanser hücreleri üzerine etkilerini belirlemek amacıyla MTT, DNA sentez inhibisyonu ve kaspaz-3 aktivasyon yöntemleri kullanılmıştır. A549 ve C6 kanser hücreleri üzerine doza bağlı antikanser etki gösteren bileşikler; 2-pirazolin halkasının beş numaralı pozisyonunda fenil halkasına bağlı bulunan 4-metil, 4-bromo ve 3,4-metilendioksi sübstitüsyonlarını taşıyan türevler en etkili bileşikler olarak bulunmuştur. Ancak bu bileşiklerin A549 ve C6 kanser hücrelerine karşı antikanser etkilerinin farklı ölüm mekanizmaları üzerinden yürüyebileceği sonucuna varılmıştır.



R: 4-Br, 4-CH<sub>3</sub>, 3,4-OCH<sub>2</sub>O

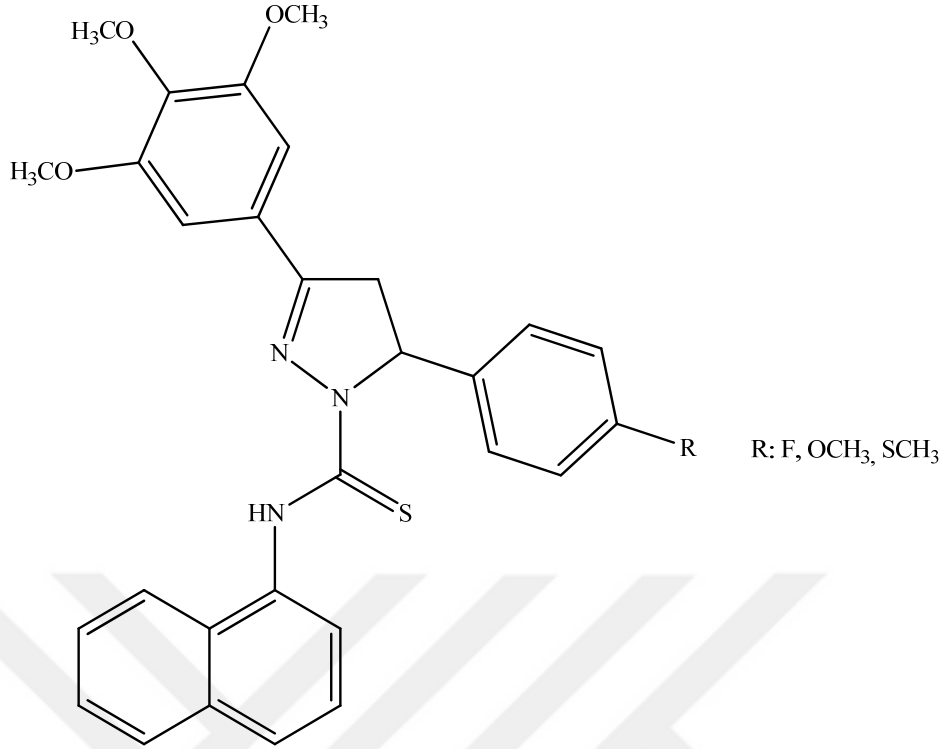
**Şekil 85. Antikanser Etkinliği Olan 1-Asetil-3-(2-tiyenil)-5-aril-2-pirazolin Bileşikleri**

Shin ve ekibi (2013), 1-(1-(4-klorofenil)-5-metoksifenil)-4,5-dihidro-1*H*-pirazol-3-il)naftalen-2-ol, 1-(5-metoksifenil-4,5-dihidro-1*H*-pirazol-3-il)naftalen-2-ol ve 2-(5-metoksifenil-4,5-dihidro-1*H*-pirazol-3-il)naftalen-1-ol türevlerini sentezleyerek her bir türevin antikanser aktivitesini araştırmışlardır. Bu türevlerin antitümör etkilerini değerlendirmek amacıyla, uzun vadeli hücre canlılığını ölçmek için kullanılan klonojenik hücre canlılık yöntemi (CSA) ekip tarafından uygulanmıştır. Bu yöntem sonucunda elde edilen 1-(5-(2,4-dimetoksifenil)-4,5-dihidro-1*H*-pirazol-3-il)naftalen-2-ol bileşiği (**Şekil 86**) (IC<sub>50</sub>= 2.4 µM), HCT116 (insan kolorektal kanseri) üzerinde en etkili bileşik olarak tespit edilmiştir. Bu bileşiğin hücre siklusunu inhibe ettiği ve apoptozu indüklediği tespit edilmiştir.



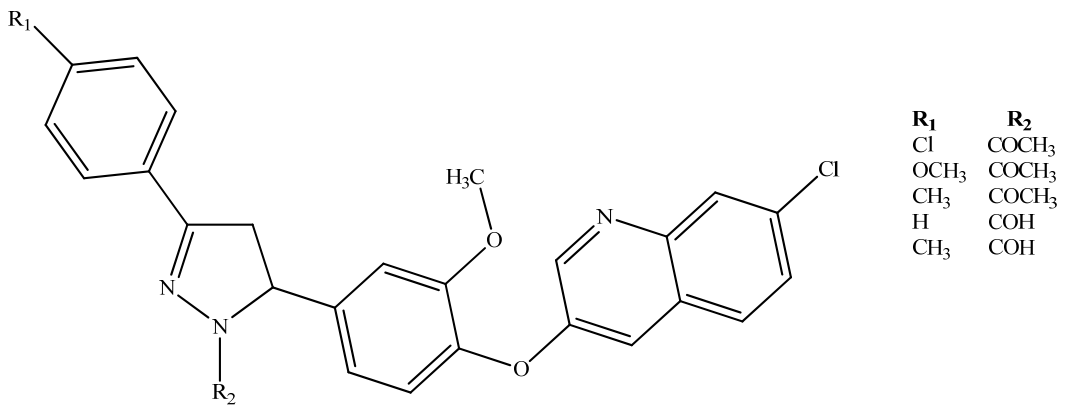
**Şekil 86. 1-(5-(2,4-Dimetoksifenil)-4,5-dihidro-1*H*-pirazol-3-il)naftalen-2-ol**

Lu ve arkadaşları (2014), A549 (akciğer) kanser hücre dizisine karşı antikanser etkinliğini araştırmak için yeni pirazolin türevleri sentezlemişlerdir. Bu çalışmayla elde ettikleri yeni *N*-(naftalen-1-il)-5-süstitüefenil-3-(3,4,5-trimetoksifenil)-4,5-dihidro-1*H*-pirazol-1-karbotiyoamit bileşiklerinden; fenil halkası üzerinde 4-metoksi, 4-floro ve 4-metiltiyo süstitüsyonuna sahip olan türevler (**Şekil 87**), A549 kanser hücre dizisine karşı en fazla etkinlik göstermişlerdir.



**Şekil 87. N-(Naftalen-1-il)-5-sübstitüefenil-3-(3,4,5-trimetoksifenil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-karbotiyoamit Türevleri**

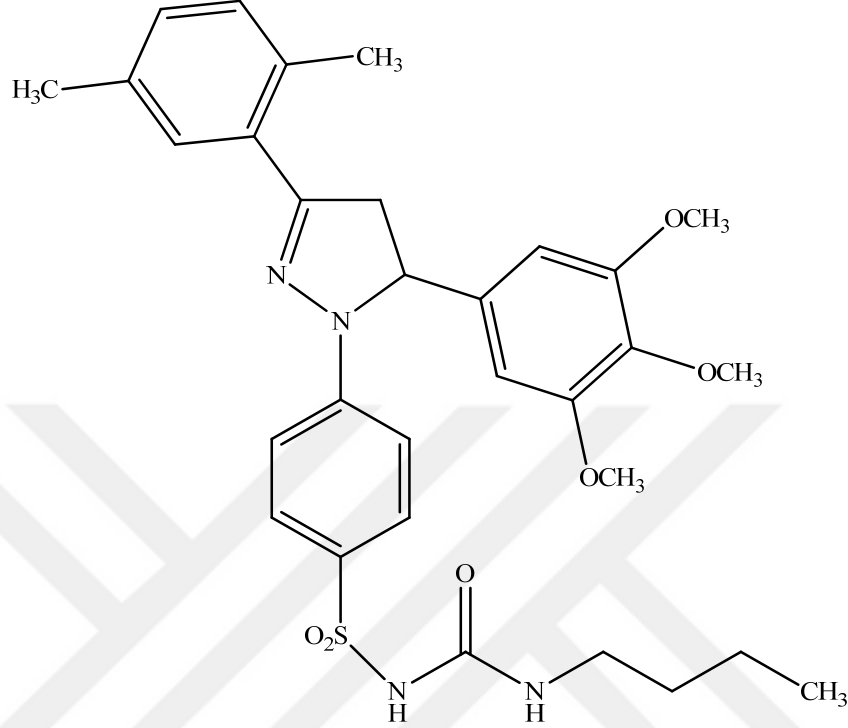
Montoya ve ekibi (2014), [(7-klorokinolin-4-il)oksi]şalkonları hidrazin hidratla tepkimeye sokarak yeni seri *NH*-pirazolin türevi bileşikleri sentezleyerek, bunların US NCI’nde bulunan 60 farklı insan kanser hücre kültürlerine karşı *in vitro* antitümör aktivitelerini değerlendirmişlerdir. Araştırma neticesinde 1-(3-(aril)-5-[4-(7-klorokinolin-4-iloksi)-3-metoksifenil]-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il)etanon ve 3-(aril)-5-[4-(7-klorokinolin-4-iloksi)-3-metoksifenil]-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-karbaldehit türevi bileşiklerin (Şekil 88), 58 adet kanser hücre dizisine karşı GI<sub>50</sub> 0.48-1.66 µM aralığındaki değerleriyle en etkili türevler oldukları tespit edilmiştir.



**Şekil 88. 4-Ariloksi-7-klorokinolin Yapısı Taşıyan Antikanser Etkinliği Olan 4,5-Dihidro-1H-pirazolin Türevleri**

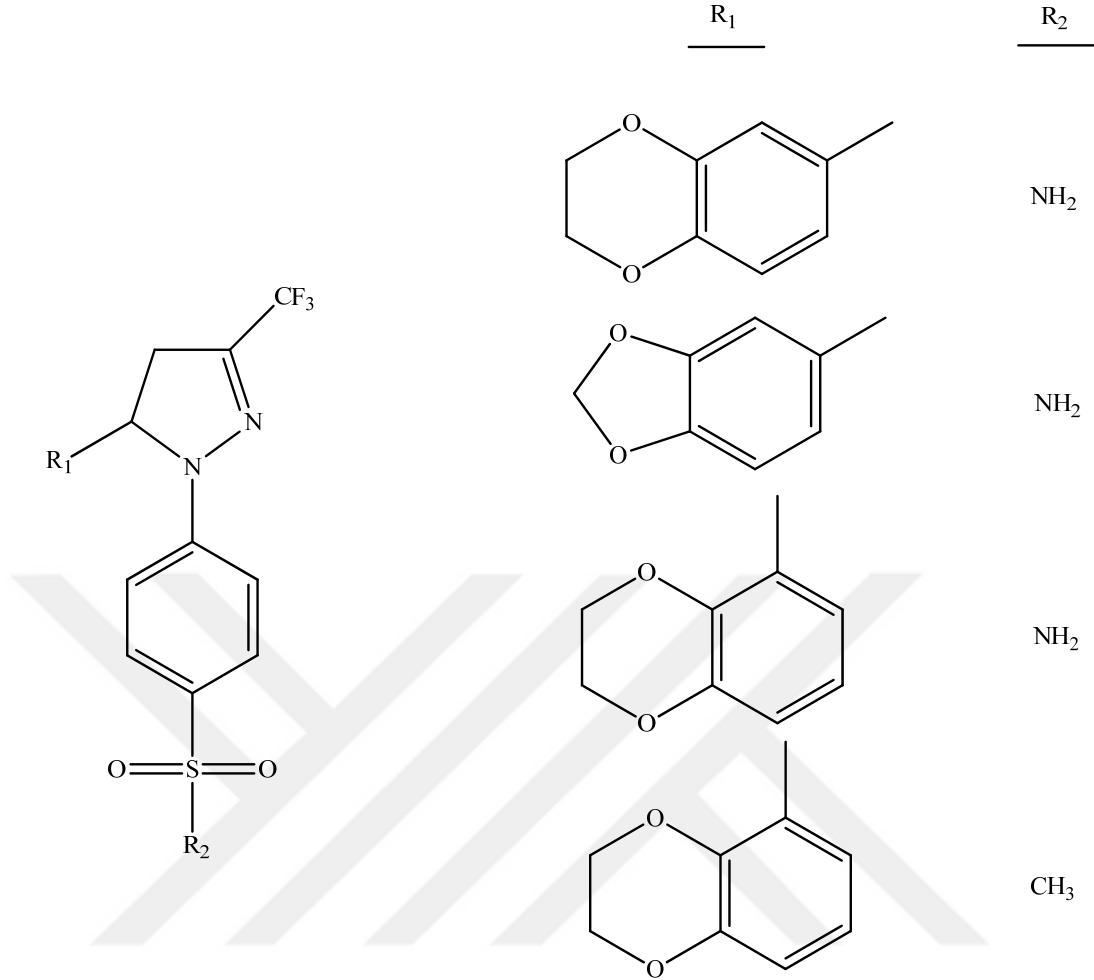
Rathore ve arkadaşları (2014), benzensülfonilüre yapısı taşıyan yirmialtı adet yeni 2-pirazolin türevi bileşik sentezlemişlerdir. Bu bileşiklerin 60 farklı insan kanser hücre dizisine karşı *in vitro* antiproliferatif etkinlik araştırmaları NCI tarafından

yürütülmüştür. Sentezlenen bileşiklerden; *N*-(bütilkarbamoil)-4-[3-(2,5-dimetilfenil)-5-(3,4,5-trimetoksifenil)-4,5-dihidro-1*H*-pirazol-1-il]benzensülfonamid bileşiği (**Şekil 89**) sekiz farklı kanser hücre dizisinde 2 µM altındaki GI<sub>50</sub> değeriyle en etkili antiproliferatif bileşik olarak değerlendirilmiştir.



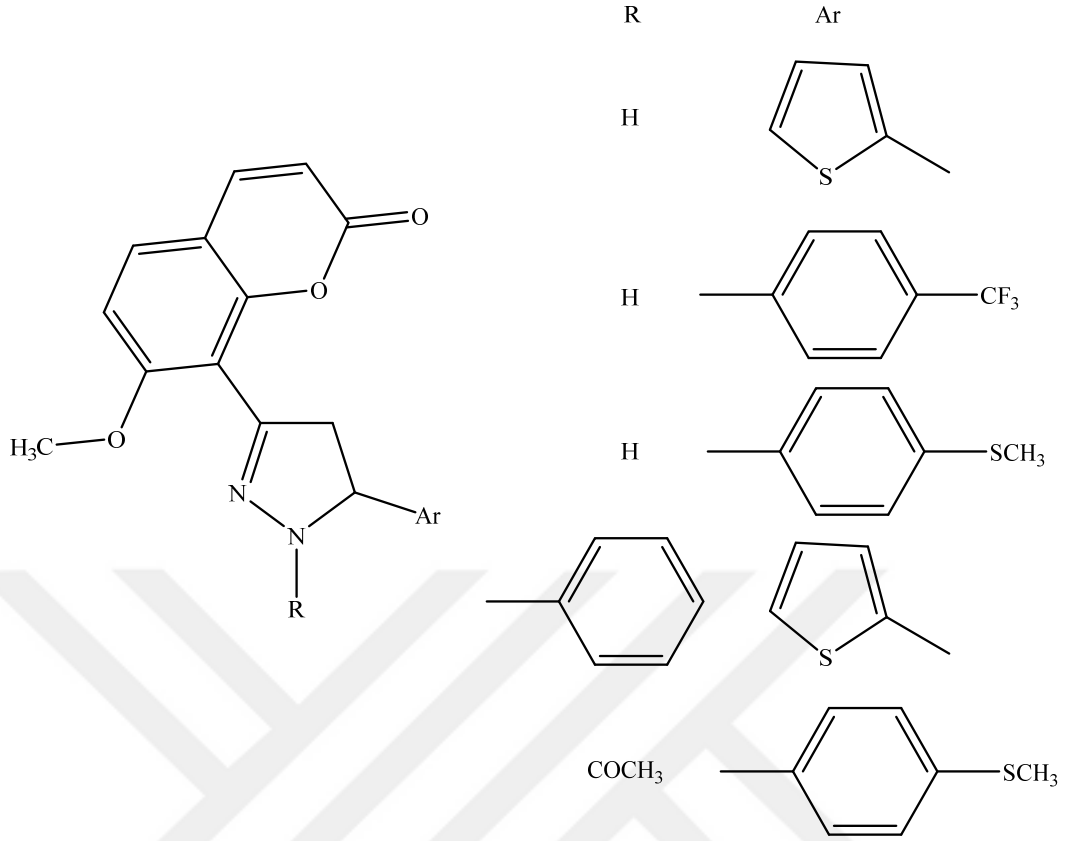
**Şekil 89.** *N*-(Bütilkarbamoil)-4-[3-(2,5-dimetilfenil)-5-(3,4,5-trimetoksifenil)-4,5-dihidro-1*H*-pirazol-1-il]benzensülfonamid

Yu ve arkadaşları (2014), selekoksib bileşiğinden esinlenerek yirmidört adet pirazolin bileşiği sentezleyerek, bunların COX-1/COX-2/B-Raf (proto onkogen) inhibitör etkilerini ve antiproliferatif aktivitelerini değerlendirmişlerdir. 4-(5-(2,3-Dihidrobenzo[b][1,4]dioksin-6-il)-3-(triflorometil)-4,5-dihidro-1*H*-pirazol-1-il) benzensülfonamid bileşiğinin COX-2 ve HeLa (insan serviks kanseri) üzerine kontrol bileşikleri olan selekoksib ve 5-florourasil'den daha etkin olduğu bulunmuştur. Bu bileşik ayrıca COX-1 ve COX-2 için süper seçici özellik göstermiştir. Bununla birlikte, sentezlenen bileşikler arasında 4-(5-(2,3-dihidrobenzo[b][1,4]dioksin-5-il)-3-(triflorometil)-4,5-dihidro-1*H*-pirazol-1-il)benzensülfonamid ve 5-(2,3-dihidrobenzo[b][1,4]dioksin-5-il)-1-(4-(metilsülfonil)fenil)-3-(triflorometil)-4,5-dihidro-1*H*-pirazol bileşikleri en iyi B-Raf inhibitörleri olarak tespit edilmiştir. 4-(5-(Benzo[b][1,3]dioksol-5-il)-3-(triflorometil)-4,5-dihidro-1*H*-pirazol-1-il)benzensülfonamid bileşiğinin COX-2 ve HeLa hücre dizisine karşı süper biyoaktif, B-Raf inhibitör aktivitesinin ise orta düzeyde olduğu bulunmuştur (**Şekil 90**).



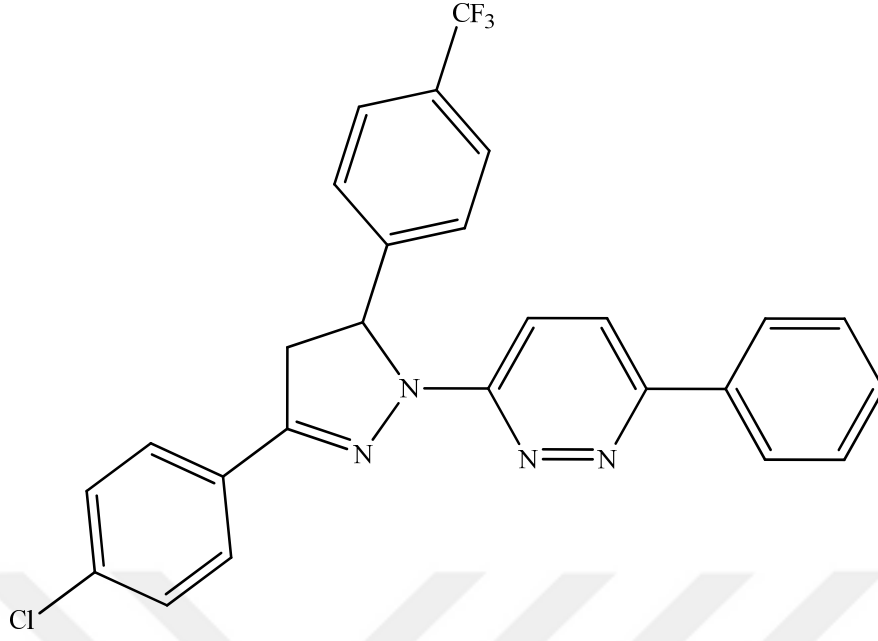
**Şekil 90. COX-1/COX-2/B-Raf İnhibitörü ve Antiproliferatif Aktivitesi Bulunan Pirazolin Türevleri**

Amin ve arkadaşları (2015), sentezledikleri yeni kumarin-pirazolin hibriti bileşiklerin HepG2 (karaciğer hepatoselüler karsinomu) hücreleri üzerinde *in vitro* sitotoksik etkinliklerini araştırmışlardır. Bileşiklerin IC<sub>50</sub> değerlerinin nanomolar düzeyde olduğu gözlemlenmiştir. Pirazolin halka yapısı üzerinde lipofilik yapılar taşıyan ve pirazolin halkasının bir numaralı azotu üzerinde süstituent taşımayan bileşiklerin en etkili olduğu gözlemlenmiştir. Bu aktivitenin altında yatan sebebi bulmak için en aktif bileşikler olan 7-metoksi-8-[5-(tiyen-2-il)/1-fenil-5-(tiyen-2-il)-4,5-dihidro-1*H*-pirazol-3-il]-2*H*-kumarin-2-on, 7-metoksi-8-{5-[4-(triflorometil)/4-(metiltiyo)fenil]-4,5-dihidro-1*H*-pirazol-3-il}-2*H*-kumarin-2-on, 3-(7-metoksi-2-okso-2*H*-kumarin-8-il)-5-[4-(metiltiyo)fenil]-4,5-dihidropirazol-1-karboksamit bileşikleri üzerinde telomeraz enzimini inhibe eden mekanizmanın ne olduğuna dair araştırma yapılmasına gerek duyulmuştur. İlgili enzimin etkinliğini bu bileşikler %61,7'den %78,6'ya kadar değişen oranlarda azaltmışlardır. En aktif bileşik olarak bulunan 7-metoksi-8-{5-[4-(metiltiyo)fenil]-4,5-dihidro-1*H*-pirazol-3-il}-2*H*-kumarin-2-onun (Şekil 91) hücreleri apoptoza götürme nedenlerinin ne olduğu araştırılmıştır. Bu bileşiğin kanser araştırmalarında aday olabileceği değerlendirilmiştir.



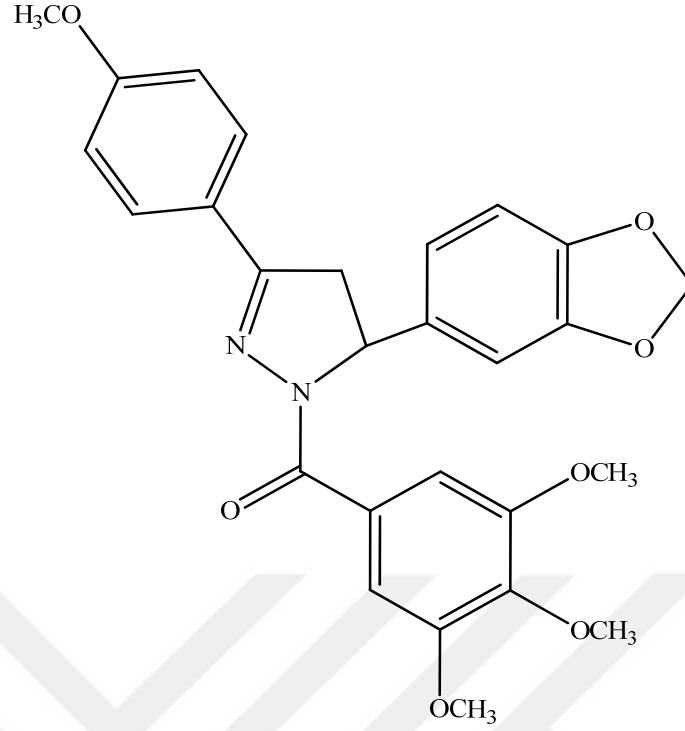
**Şekil 91. Etkin Olan Kumarin-Pirazolin Hibrit Bileşikleri**

George ve arkadaşları (2016), sentezledikleri yeni pirazolinil piridazin türevlerinin A549 (akciğer), HepG2 (karaciğer), MCF-7 (göğüs), CaCo-2 (heterojenik insan epitelyal kolorektal adenokarsinomu) kanser hücre dizilerine karşı antiproliferatif etkinliklerini araştırmışlardır. Sentezlenen bileşiklerin çoğu HepG2 ve MCF-7 kanser hücrelerine orta derecede aktivite göstermişlerdir. Bu bileşiklerden özellikle 3-(3-[4-klorofenil]-5-[4-(triflorometil)fenil]-4,5-dihidro-1*H*-pirazol-1-il)-6-fenilpiridazin bileşiği (**Şekil 92**); HepG2, MCF-7, CaCo-2 hücre dizilerinde, sırasıyla 8.33, 1.67, 10  $\mu\text{M}$ 'lık  $\text{IC}_{50}$  değerleriyle en yüksek antiproliferatif etkinliği göstermiştir. Ayrıca bu bileşik kaspaz-3 aktivasyonu sonucu ilerleyen apoptozda, kaspaz-3 aktivitesini 5 kat arttırmıştır.



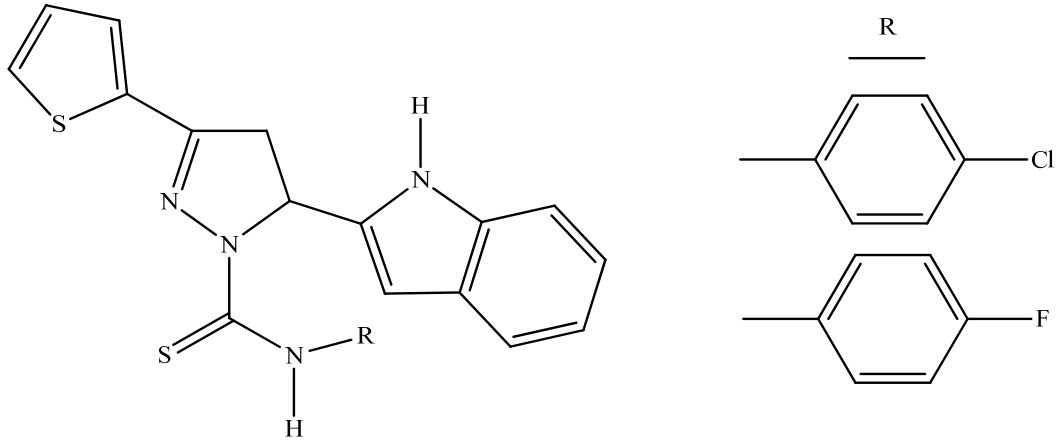
**Şekil 92.** 3-(3-[4-Klorofenil]-5-[4-(triflorometil)fenil]-4,5-dihidro-1*H*-pirazol-1-il)-6-fenilpiridazin

Qin ve arkadaşları (2015), pirazolin yapısı taşıyan yeni türevler tasarlayıp sentezlemişler ve bu bileşiklerin biyolojik aktivitelerini değerlendirmişlerdir. Bu bileşikler arasında, en aktif olan (5-(benzo[d][1,3]dioksol-5-il)-3-(4-metoksifenil)-4,5-dihidro-1*H*-pirazol-1-il)(3,4,5-trimetoksifenil)metanon bileşiğinin (**Şekil 93**) A549 (akciğer), MCF-7 (göğüs) ve HepG2 (karaciğer hepatoselüler karsinomu) hücre dizilerine karşı antiproliferatif etkilerini sırasıyla 0.07, 0.05, 0.03  $\mu\text{M}$   $\text{IC}_{50}$  değerleriyle göstermiştir. Ayrıca bu bileşiğin tübülün polimerizasyon inhibitör aktivitesi için  $\text{IC}_{50}$  değeri 1.88  $\mu\text{M}$  olarak saptanmıştır. Aynı bileşik HepG2 hücre hücrelerini apoptoza uğratarak etkinlik göstermiştir.



Şekil 93. (5-(Benzo[d][1,3]dioksol-5-il)-3-(4-metoksifenil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il)(3,4,5-trimetoksifenil)metanon

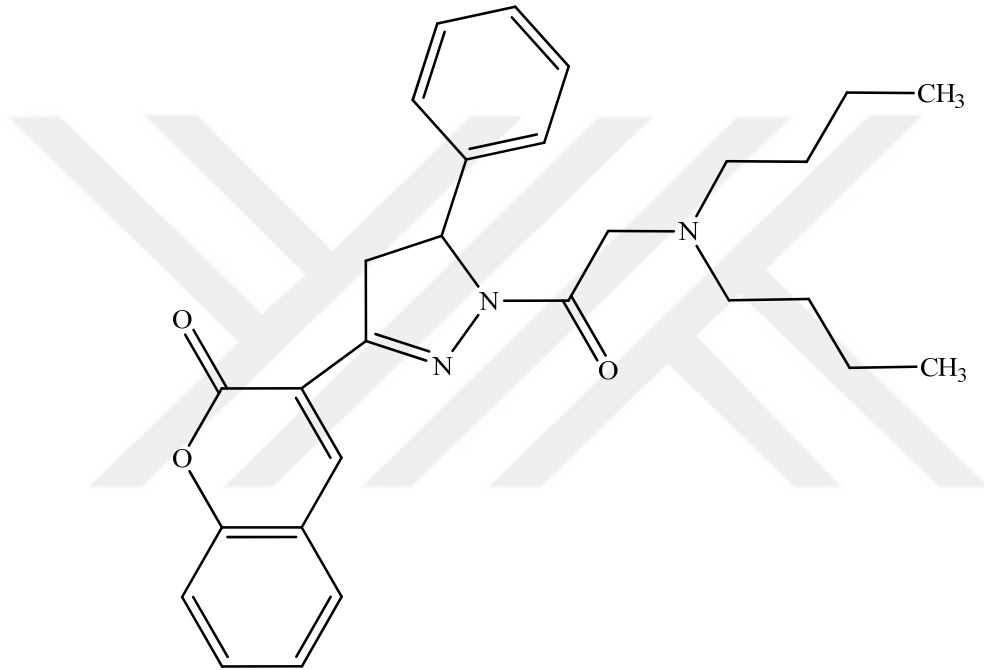
Khan ve arkadaşı (2016), 1-sübstitüe karbamoil ve tiyokarbamoil-4,5-dihidro-1H-pirazol türevi bileşiklerin potansiyel sitotoksik etkilerini araştırmışlardır. 1-Sübstitüetiyoikarbamoil-5-(1H-indol-2-il)-3-(tiyofen-2-il)-4,5-dihidro-1H-pirazol bileşiklerinden; 4-florofenil ve 4-klorofenil türevi bileşiklerin (Şekil 94) HT29 (insan kolon karsinomu) hücre dizisine karşı sırasıyla 11.8 ve 7.5 µg/mL LC<sub>50</sub> değerleriyle, MCF-7 (insan göğüs adenokarsinomu) hücre dizisine karşı sırasıyla 3.4 ve 2.6 µg/mL LC<sub>50</sub> değerleriyle en aktif bileşikler oldukları tespit edilmiştir.



Şekil 94. 1-Sübstitüetiyoikarbamoil-3-(tiyofen-2-il)-5-(1H-indol-2-il)-4,5-dihidro-1H-pirazol Türevleri



Wang ve arkadaşları (2016), kanser tedavisinde telomeraz regülasyonunu sağlamak amacıyla *N*-sübstütedihidropirazol ve dihidropirazol-kumarin türevi yetmişsekiz adet bileşiği tasarlayıp sentezlemişlerdir. Sentezlenen türevlerden bazıları MGC-803 (insan gastrik) kanser hüresine karşı *in vitro* etkili bulunmuştur. *In vivo* çalışmalarında, 3-(1-[2-(dibütilamino)asetil]-3-fenil-4,5-dihidro-1*H*-pirazol-5-il)-2*H*-kromen-2-on bileşiğinin (**Şekil 95**), S180 (sarkoma) ve HepG2 (karaciğer hepatoselüler karsinomu) fare kanser hücre dizilerine karşı güçlü antikanser aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir. Ayrıca bu bileşiğin Ehrlich asit karsinomu (EAC) taşıyan farelerin yaşam sürelerini uzattığı görülmüştür. 3-(1-[2-(Dibütilamino)asetil]-3-fenil-4,5-dihidro-1*H*-pirazol-5-il)-2*H*-kromen-2-on bileşiği,  $0.98 \pm 0.07 \mu\text{M}$ 'lık  $\text{IC}_{50}$  değeriyle en aktif telomeraz inhibitörü olarak tespit edilmiştir.



**Şekil 95.** 3-(1-[2-(Dibütilamino)asetil]-3-fenil-4,5-dihidro-1*H*-pirazol-5-il)-2*H*-kromen-2-on

## GEREÇLER

### Kullanılan Kimyasal Maddeler

2-Asetiltiyofen	: Sigma-Aldrich, Almanya
4-Klorobenzaldehit	: Sigma-Aldrich, Almanya
Sodyum hidroksit	: Sigma-Aldrich, Almanya
Etanol	: Sigma-Aldrich, Almanya
Hidrazin hidrat	: Sigma-Aldrich, Almanya
Kloroasetil klorür	: Merck, Almanya
Trietilamin	: Merck, Almanya
Toluen	: Merck, Almanya
1-(4-Hidroksifenil)-1 <i>H</i> -tetrazol-5-tiyol	: Sigma-Aldrich, Almanya
1-Fenil-1 <i>H</i> -tetrazol-5-tiyol	: Merck, Almanya
1-[2-(Dimetilamino)etil]-1 <i>H</i> -tetrazol-5-tiyol	: Sigma-Aldrich, Almanya
2-Merkapto-5-metil-1,3,4-tiyadiazol	: Sigma-Aldrich, Almanya
2-Merkaptopirimidin	: Acros, Belçika
4-Metil-4 <i>H</i> -1,2,4-triazol-3-tiyol	: Sigma-Aldrich, Almanya
5-(3-Piridil)-1,3,4-oksadiazol-2-tiyol	: Sigma-Aldrich, Almanya
5-(4-Klorofenil)-1,3,4-oksadiazol-2-tiyol	: Sigma-Aldrich, Almanya
5-(4-Metoksifenil)-1,3,4-oksadiazol-2-tiyol	: Sigma-Aldrich, Almanya
5-(4-Metilfenil)-1,3,4-oksadiazol-2-tiyol	: Sigma-Aldrich, Almanya
5-Fenil-1,3,4-oksadiazol-2-tiyol	: Alfa Aesar, Almanya
U87 insan glioblastoma hücreleri	: Kumamoto Üniversitesi Tıp Fakültesi, Japonya
U251 insan glioblastoma hücreleri	: Kumamoto Üniversitesi Tıp Fakültesi, Japonya
AsPC-1 insan pankreas adenokarsinoma hücreleri	: Kumamoto Üniversitesi Kaynak Geliştirme ve Analiz Enstitüsü, Japonya
Jurkat insan lösemi T hücreleri	: Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tokyo Üniversitesi, Japonya
Periferel kan mononükleer hücreleri	: Precision Bioservices, Frederick, USA

Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM)	: Wako Pure Chemical Industries, Japonya
Fetal Bovine Serum (FBS)	: Equitech-Bio, U.S.A.
RPMI 1640 medium	: Wako Pure Chemical Industries, Japonya
Streptomisin	: Meiji Seika Pharma, Japonya
24-well microtiter tissue culture plates	: Iwaki brand Asahi Glass Co., Japonya
Cisplatin	: Sigma-Aldrich, Japonya
Dimetil sülfoksit (DMSO)	: Wako Pure Chemical Industries, Japonya
Dimetil sülfoksit- <i>d</i> <sub>6</sub> (DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> )	: Merck, Almanya
Dimetilformamit (DMF)	: Wako Pure Chemical Industries, Japonya
MTT	: Dojindo Molecular Technologies, Japonya
96-well microtiter plates	: Iwaki brand Asahi Glass Co., Japonya
Apoptotic/necrotic/healthy cells detection kit	: PromoKine, Almanya
Agarose	: Takara, Japonya
Tris	: Nacalai Tesque, Japonya
Borik asit	: Nacalai Tesque, Japonya
Demir (II) sülfat heptahidrat	: Wako Pure Chemical Industries, Japonya
Hidrojen peroksit	: Tokyo Chemical Industry Co., Japonya
Askorbik asit	: Tokyo Chemical Industry Co., Japonya
EDTA	: Dojindo Molecular Technologies, Japonya
Loading buffer	: Takara, Japonya
Etidyum bromür	: Wako Pure Chemical Industries, Japonya
<b>Kullanılan Cihazlar</b>	
Mupid – 2x, Elektroforez	: Advance, Japonya
UV illuminator	: Nippon Genetics Co., Japonya

Elementel analiz cihazı	: Perkin Elmer EAL 240
Erime derecesi tayin cihazı	: Mettler-Toledo MP90, Ohio, ABD
İnfrared spektrometresi	: Shimadzu, Japonya
Varian Mercury-400 FT-NMR spektrometresi	: Agilent, Palo Alto, CA, ABD
Yüksek Çözünürlüklü Kütle spektrometresi	: Shimadzu, Japonya
Infinitive M1000, Microtitre plate spektrofotometre	: Tecan, Groding, Austria
Biorevo Fluorescence BZ-9000 Floresan mikroskop	: Keyence, Osaka, Japonya
Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi	: Shimadzu LC-20A Prominence, Japonya

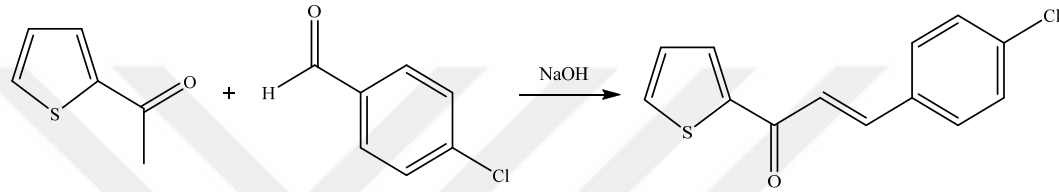


## YÖNTEMLER

### Başlangıç ve Sonuç Maddelerinin Genel Sentez Yöntemleri

#### **Yöntem A: 1-(2-Tiyenil)-3-(4-klorofenil)-2-propen-1-on Bileşiğinin Elde Edilmesi**

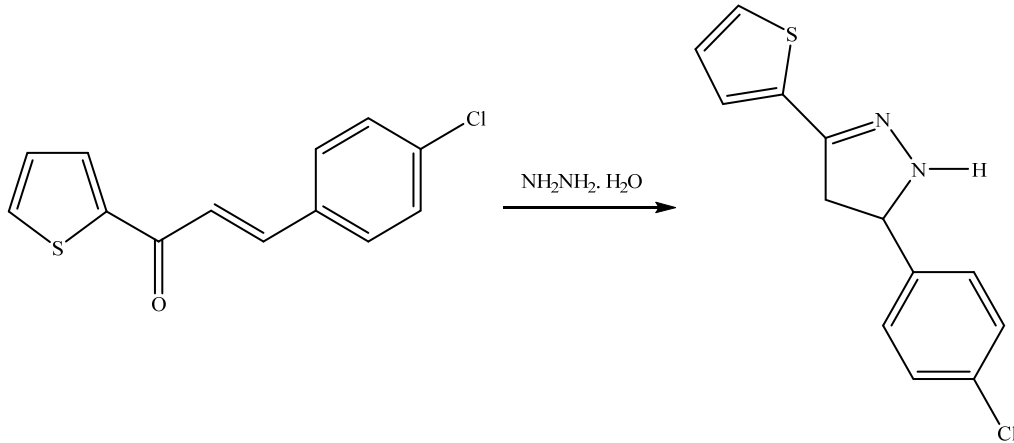
40 mmol 2-Asetiltiyofen ile 40 mmol 4-klorobenzaldehit, absolu etil alkolde çözülür. Bu çözelti üzerine daha önceden hazırlanmış olan %50'lik (a/h) sodyum hidroksit çözeltisinden 4 mL eklenerek, reaksiyon içeriği oda sıcaklığında yaklaşık 10 saat manyetik tabanlı karıştırıcı kullanılarak karıştırılır. Tepkime İTK ile kontroller yapılarak sonlandırılır. Reaksiyon içeriği 24 saat buzdolabında dinlendirilir. Reaksiyon içeriği buzlu su içine dökülür. Oluşan çökelek süzülerek alınır. Çökelek distile su yardımı ile yıkanır ve kurutulur. Elde edilen ürün etil alkol-su karışımından kristallendirilir (Şekil 96) (Özdemir ve ark., 2004).



Şekil 96. 1-(2-Tiyenil)-3-(4-klorofenil)-2-propen-1-on Bileşiğinin Sentezi

#### **Yöntem B: 3-(2-Tiyenil)-5-(4-klorofenil)-2-pirazolin Bileşiğinin Elde Edilmesi**

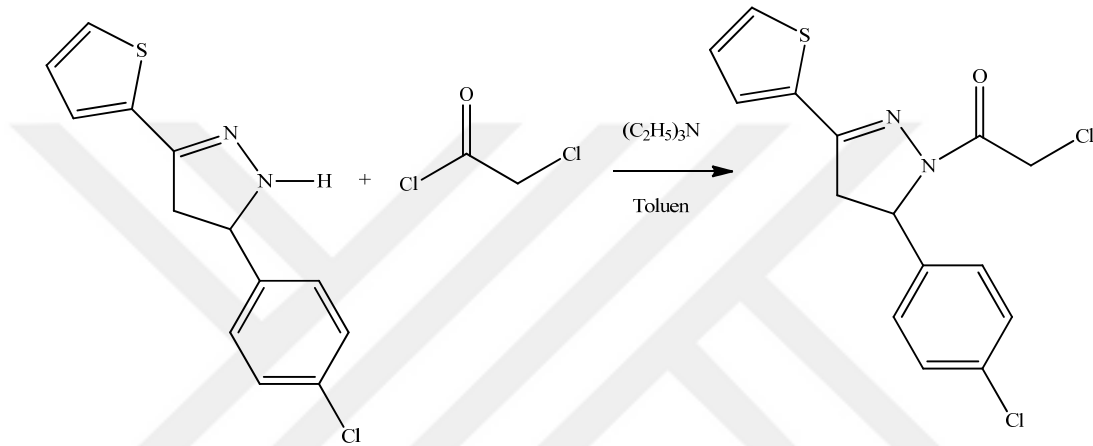
10 mmol 1-(2-Tiyenil)-3-(4-klorofenil)-2-propen-1-on bileşiği, absolu etil alkol içerisinde karıştırılarak çözülür. Bu çözelti üzerine 20 mmol hidrazin hidrat çeker ocak içerisinde damlalıkla ilave edilir. Reaksiyon içeriği, üç saat geri çeviren soğutucu altında, manyetik tabanlı ısıtıcı karıştırıcıda karıştırılarak ısıtılır. Tepkime İTK ile kontroller yapılarak sonlandırılır. Reaksiyon içeriği +4 °C'de 24 saat bekletilir. Katı kısım süzülür. Etil alkol ile yıkanır (Şekil 97) (Özdemir ve ark., 2004).



Şekil 97. 3-(2-Tiyenil)-5-(4-klorofenil)-2-pirazolin Bileşiğinin Sentezi

**Yöntem C: 1-(2-Kloroasetil)-3-(2-tiyenil)-5-(4-klorofenil)-2-pirazolin Bileşiğinin Elde Edilmesi**

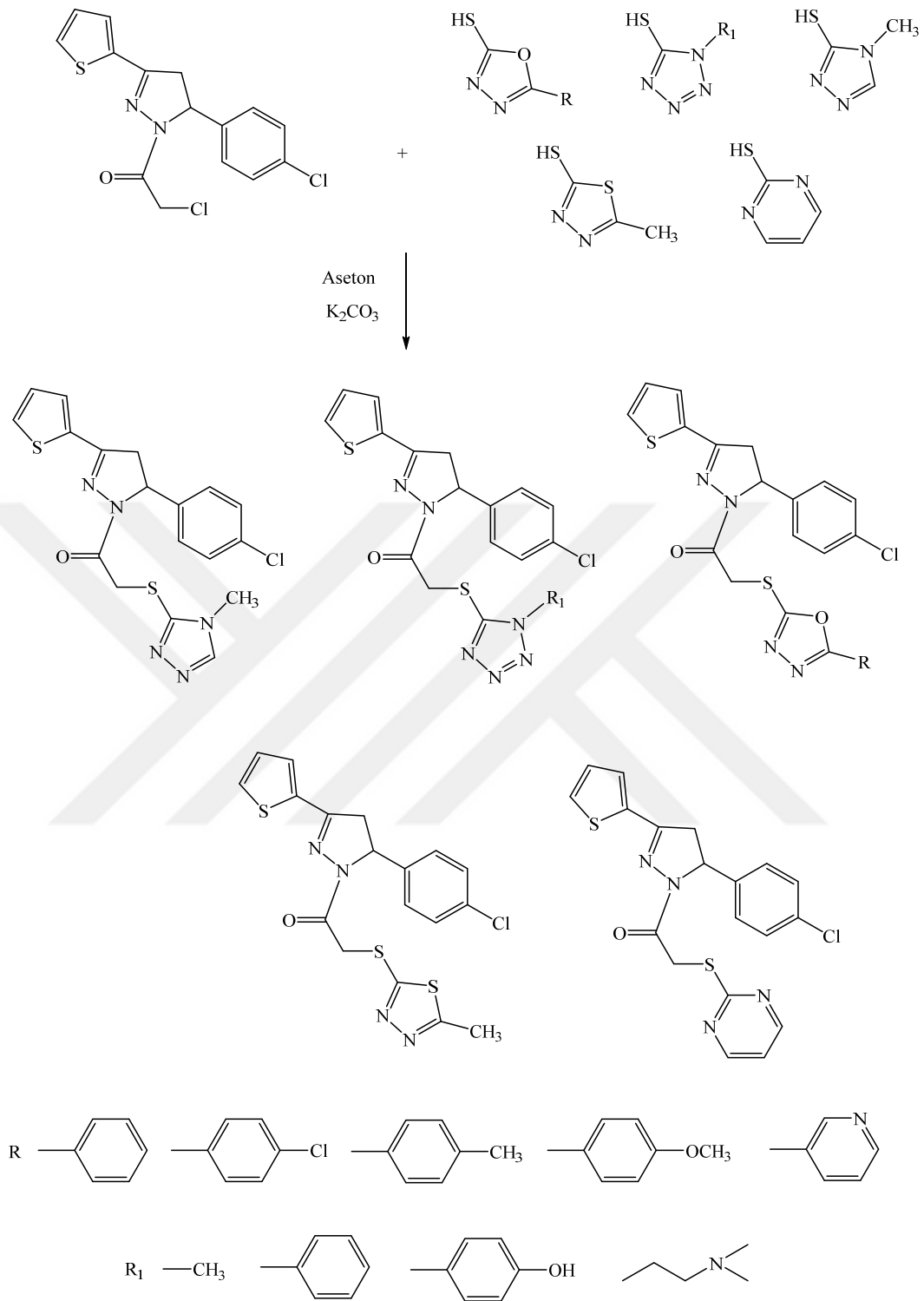
10 mmol 3-(2-Tiyenil)-5-(4-klorofenil)-2-pirazolin bileşiği, susuz toluen içerisinde karıştırılarak çözülür. Bu çözelti üzerine 10 mmol TEA çeker ocak içerisinde eklenir. Reaksiyon içeriği buz banyosuna alınarak soğutulur ve 10 mmol kloroasetil klorür damlalıklarla reaksiyon içeriğine ilave edilir. Reaksiyon içeriği yaklaşık bir saat oda sıcaklığında manyetik tabanlı karıştırıcıda karıştırılır. Tepkime İTK ile kontroller yapılarak sonlandırılır. Toluenli kısım rotavaporda kuruluğa kadar uçurulur. Kalan katı madde distile su ile yıkanır ve kurutulur. Elde edilen ürün etil alkolden kristallendirilir (**Şekil 98**) (Özdemir ve ark., 2004).



**Şekil 98. 1-(2-Kloroasetil)-3-(2-tiyenil)-5-(4-klorofenil)-2-pirazolin Bileşiğinin Sentezi**

**Yöntem D: 1-(Heteroaril)tiyoasetil)-3-(2-tiyenil)-5-(4-klorofenil)-2-pirazolin Türevlerinin Elde Edilmesi**

1 mmol 1-(2-Kloroasetil)-3-(2-tiyenil)-5-(4-klorofenil)-2-pirazolin ve 1 mmol heteroaril-2/3/5-tiyol kuru aseton içerisinde çözülür. Çözelti içerisine 1 mmol potasyum karbonat eklenir. Reaksiyon içeriği oda sıcaklığında manyetik tabanlı karıştırıcıda yaklaşık 8-12 saat karıştırılır. Tepkime İTK ile kontroller yapılarak sonlandırılır. Asetonlu tabaka rotavaporda kuruluğa kadar uçurulur. Kalan katı madde distile su ile yıkanır ve kurutulur. Elde edilen ürün etil alkolden kristallendirilir (**Şekil 99**) (Karabacak ve ark., 2015).



**Şekil 99. 1-[(Heteroaril)tiyoasetil]-3-(2-tienil)-5-(4-klorofenil)-2-pirazolin Türevlerinin Sentezi**

## **Elde Edilen Bileşiklerin Analizi**

### ***Erime noktası (E.N.) Tayini***

Elde edilen bileşiklerin erime noktaları, bir ucu kapalı kılcal tüpler içerisinde erime derecesi tayin cihazı ile saptanmıştır. İşlem 3 kez tekrarlanmıştır.

### ***C, H, N Tayini***

Elde edilen bileşiklerin C, H, N yüzdeleri, elementel analiz aleti kullanılarak saptanmıştır.

### ***IR Spektrumlarının Alınması***

Elde edilen bileşiklerin IR spektrumları, bileşiklerin yaklaşık %1 oranında potasyum bromür içinde karıştırılması ile hazırlanan tabletleri kullanılarak IR spektrometresinde alınmıştır.

### ***<sup>1</sup>H-NMR Spektrumlarının Alınması***

Elde edilen bileşiklerin <sup>1</sup>H-NMR spektrumları, DMSO-*d*<sub>6</sub> içinde çözelti haline getirildikten sonra tetrametilsilana (TMS) karşı 400 MHz NMR spektrometresinde alınmıştır.

### ***<sup>13</sup>C-NMR Spektrumlarının Alınması***

Elde edilen bileşiklerin <sup>13</sup>C-NMR spektrumları, DMSO-*d*<sub>6</sub> içinde çözelti haline getirildikten sonra tetrametilsilana karşı 100 MHz NMR spektrometresinde alınmıştır.

### ***Kütle Spektrumlarının Alınması***

Yüksek Çözünürlüklü Kütle Spektrometrisi (HRMS) analizleri Shimadzu hibrit LC-MS-IT-TOF sistemi ile ESI pozitif ve ESI negatif modunda LCMS solution yazılımı kullanılarak alınmıştır.

### ***İnce Tabaka Kromatografisi (İTK) Çalışmaları***

Gerçekleştirilen sentez çalışmaları boyunca reaksiyonların evreleri ve süresi, son ürün saflığı, İTK ile tespit edilmiştir. Kromatografi çalışmalarında adsorban olarak 0.2 mm kalınlığındaki 20x20 cm hazır silika jel plakları (Merck) ve çözücü sistemi olarak da petrol eteri-etil asetat (75:25, 50:50) çözücü sistemi kullanılmıştır. Kromatografi tanklarında yaklaşık 5 mL çözücü sistemi konulmuştur. Sonra reaksiyon ortamından alınan örnekler veya son ürün ve başlangıç maddeleri, etanolde çözülüp sereltik çözelti olarak plağa uygulanmıştır. Sürüklenme bitince dalga boyu 254 nm olan UV ışık altında lekeler tespit edilmiştir.

### ***Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) Spektrumlarının Alınması***

HPLC analizleri DGU-14A degazör, LC-20A çift pistonlu pompa, CTO-10 ASVP kolon fırını ve SPD-M20A PDA dedektörden oluşan Shimadzu LC-20A Prominence HPLC sisteminde yapılmıştır. Analizlerde Reodyne 7725i enjeksiyon valfi (Reodyne Inc., Cotati, CA, USA) ve GL Sciences inertsil ODS-3 (Tokyo, Japan) 250 × 4.6 mm (boy x iç çap), partikül büyüklüğü 5 µm olan kolon kullanılmıştır. Mobil faz olarak izokratik sistemde asetonitril:su (95:5) kullanılarak 1.0 mL/dk akış hızında analiz yapılmıştır.



## **Biyolojik Etki Testleri**

### ***Yöntem E: Hücre Kültürlerinin Hazırlanması ve Test Maddelerinin Uygulanması***

U251 ve U87 İnsan glioblastoma hücreleri % 10 fetal sığır serumu içeren DMEM besi yerinde inkübe edilmiştir. AsPC1 İnsan pankreas adenokarsinoma hücreleri ve Jurkat insan lösemi T hücreleri, % 10 fetal sığır serumu içeren RPMI 1640 besi yerinde inkübe edilmiştir. Periferik mononükleer kan hücreleri (PBMC) % 10 insan serumu AB (HS) içeren RPMI 1640 vasatında inkübe edilmiştir. Tüm ortamlar, 89 µg/mL streptomisin ile takviye edilmiş ve % 95 hava ve %5 CO<sub>2</sub> içeren atmosfer içerisinde 37 °C'de inkübe edilmiştir. Büyüyen hücreler 1 x 10<sup>5</sup> hücre/mL olacak şekilde 24 gözlü hücre üretme kaplarına aktarılmış ve test maddeleri ilave edilmeden önce (sitotoksiste deneyleri için en uygun hücre sayısı ön deneylerde tespit edilmiştir) 24 saat boyunca inkübe edilmiştir. Test maddeleri ve cisplatin stok solüsyonları (1 mM, 5 mM, 10 mM, 20 mM ve 50 mM) sırasıyla DMSO ve DMF içerisinde hazırlanmış ve taze kültür besiyerine ilave edilmiştir. DMSO ve DMF'in final kültür besiyeri içerisindeki konsantrasyonu % 1'lik olarak hazırlanmıştır.

### ***Yöntem F: Sitotoksiste (MTT) Metodu***

Büyüme fazı % 80'e ulaşmış olan hücreler % 0.25 tripsin/EDTA solüsyonu ile toplanıp hemositometri ile sayılmıştır. 3-(4,5-Dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromürün (MTT) hücresel azalma düzeyi daha önceden literatürde tanımlandığı gibi (Mosmann, 1983), küçük modifikasyonlar yapılarak ölçülmüştür. Test edilecek maddelerin hücrelerle birlikte final konsantrasyonu 10-500 µM aralığında olacak şekilde, 24 saat inkübe edilmiştir. Bu sürenin sonunda, test maddeleri final konsantrasyonu 0.275 mg/mL olacak şekilde MTT ile muamele edilmiş ve 37 °C'de 4 saat daha inkübasyona tabi tutulmuştur. İnkübasyon süresinin sonunda her bir kuyucuktaki besi yeri çekilerek ortamdan uzaklaştırılmış ve formazan kristalleri her bir hücreye 100 µL DMSO ilave edilerek çözüldürülmüştür. Çözüldürülen kristaller 1:10 oranında DMSO ile seyreltildikten sonra, 96 kuyucuklu hücre üretme kaplarının herbirine 100 µL ilave edilmiş ve 550 nm absorbansta mikrotitre plaka spektrofotometresi kullanılarak ölçülmüştür. Her konsantrasyon 3 kere tekrar edilmiştir. IC<sub>50</sub> Değerleri absorbanası % 50 düşüren test maddelerinin konsantrasyonları olarak belirlenmiştir.

### ***Yöntem G: Apoptotik ve Nekrotik Hücrelerin Tespit Edilmesi***

1-[(5-(4-Metilfenil)-1,3,4-oksadiazol-2-il)tiyoasetil]-3-(2-tiyenil)-5-(4-klorofenil)-2-pirazolin bileşiği (**11**) ve pozitif kontrol (cisplatin), MTT metodu ile tespit edilen IC<sub>50</sub> değerlerinde U251 hücreleri ile birlikte 24 saat inkübe edilmiştir. Apoptotik/nekrotik/sağlıklı hücreleri tespit etme kit protokolü, üretici firmanın kullanım kılavuzuna göre uygulanmıştır (Boersma ve ark. 1996; Martin ve ark., 1995). Hücreler iki kez 1 x bağlayıcı tampon çözeltisi ile yıkandıktan sonra, boyama solüsyonu (50 µL 1 x bağlayıcı tampon çözeltisi, 2 µL FITC-Anneksin V solüsyonu, 2 µL etidyum homodimer solüsyonu ve 2 µL of Hoechst 33342 solüsyonu) eklenmiş ve hücreler 15 dakika süresince oda şartlarında, ışıktan korunarak inkübe edilmiştir. Hücreler 1 x bağlayıcı tampon çözeltisi ile yıkanmış ve floresans mikroskopisi ile analiz edilmiştir.

### ***Yöntem H: DNA Kırılma Testi***

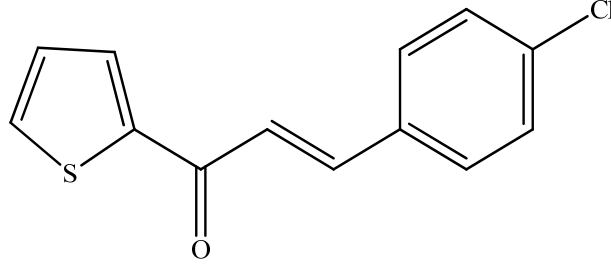
Supercoiled pUC19 DNA kullanılarak, test bileşiklerinin DNA kırılma aktiviteleri incelenmiş ve agaroz jel elektroforez yöntemi kullanılarak analiz edilmiştir. Su ve tris/borik asit tamponu (10 mM, pH= 8.5) içerisinde pUC19 DNA'sı test bileşikleri ile birlikte hem aktivatör olarak kullanılan FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O (30 µM), H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (30 µM) ve askorbik asit (30 µM) varlığında hem de yokluğunda, muamele edilmiştir. 37 °C'de 1,5 saat inkübe edilen reaksiyon karışımına, EDTA ve yükleme tamponu eklenmiştir. pUC 19 DNA için agaroz jel elektroforezi 40 dakika boyunca 100 V'da etidyum bromür ihtiva eden % 1 slab jellerde tris/boronik asit/EDTA tamponu içerisinde uygulanmıştır. DNA, etidyum bromür yardımıyla UV lamba altında floresans renk vermiş ve görüntüleme sağlanmıştır.



## BULGULAR ve TARTIŞMA

### Sentez Çalışmaları

#### 1-(2-Tiyenil)-3-(4-klorofenil)-2-propen-1-on

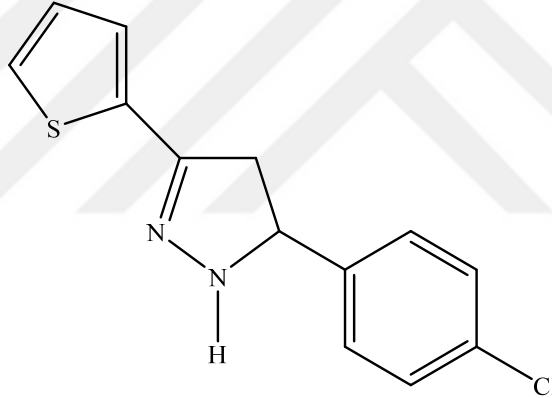


2-Asetiltiyofen (40 mmol; 5.04 g; 4.31 mL) ve 4-klorobenzaldehit (40 mmol; 5.60 g) kullanılarak Yöntem A'ya göre sentezlenmiştir (Turan-Zitouni ve ark., 2005).

Verim: % 85.

Bileşiğin erime derecesi deneysel olarak 136-137 °C, Literatürde 138 °C olarak verilmiştir (Kabli ve ark., 1991).

#### 3-(2-Tiyenil)-5-(4-klorofenil)-2-pirazolin

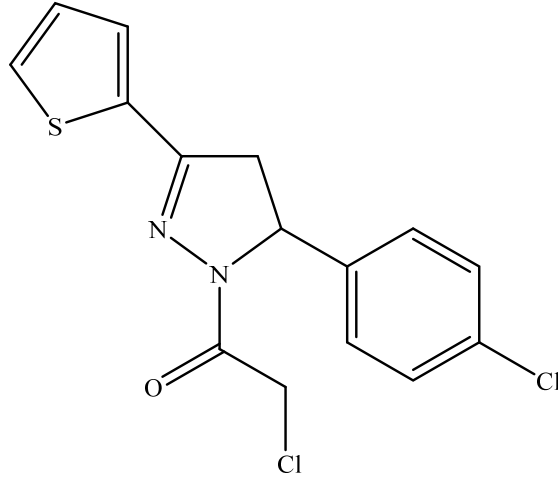


1-(2-Tiyenil)-3-(4-klorofenil)-2-propen-1-on (10 mmol; 2.48 g) ve %80'lik hidrazin hidrat (20mmol; 1 g; 1.24 mL) kullanılarak Yöntem B'ye göre sentezlenmiştir (Turan-Zitouni ve ark., 2005).

Verim: % 73.

Bileşiğin erime derecesi deneysel olarak 108-109 °C, Literatürde 110 °C olarak verilmiştir (Kabli ve ark., 1991).

**1-(2-Kloroasetil)-3-(2-tiyenil)-5-(4-klorofenil)-2-pirazolin**

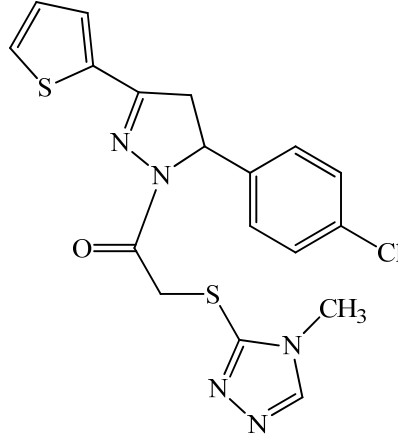


3-(2-Tiyenil)-5-(4-klorofenil)-2-pirazolin (10 mmol; 2.62 g), TEA (10 mmol; 1.01 g; 1.39 mL) ve kloroasetil klorür (10 mmol; 1.13 g; 0.79 mL) kullanılarak Yöntem C'ye göre sentezlenmiştir (Turan-Zitouni ve ark., 2005).

Verim: % 73.

Bileşğin erime derecesi deneysel olarak 118-120 °C, Literatürde 118 °C (Turan-Zitouni ve ark., 2005) ve 148 °C olarak verilmiştir (Khalaf ve ark., 1993).

**1-[(4-Metil-4H-1,2,4-triazol-3-il)tiyoasetil]-3-(2-tiyenil)-5-(4-klorofenil)-2-pirazolin (1)**



1-(2-Kloroasetil)-3-(2-tiyenil)-5-(4-klorofenil)-2-pirazolin (1 mmol; 0.3392 g), 3-merkpto-4-metil-4H-1,2,4-triazol (1 mmol; 0.1152 g), potasyum karbonat (1 mmol; 0.1382 g) ve aseton (20 mL) kullanılarak Yöntem D'ye göre sentezlenmiştir.

Verim : % 83

E.N. : 165.1 °C

Elementel Analiz : C<sub>18</sub>H<sub>16</sub>ClN<sub>5</sub>OS<sub>2</sub> (M.A.= 417.94)

Hesaplanan : C : % 51.73 H : % 3.86 N : % 16.76

Bulunan : C : % 51.66 H : % 3.89 N : % 16.81

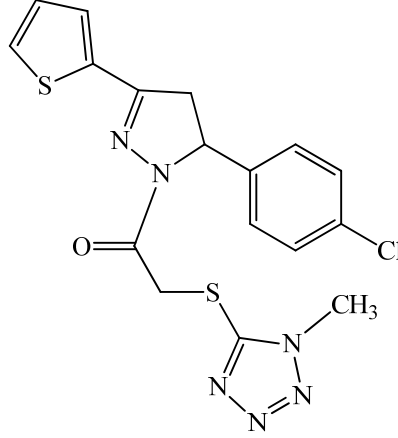
IR (KBr)  $\nu_{\text{maks}}$  (cm<sup>-1</sup>): 3134 (aromatik C-H gerilim bandı), 2922 (alifatik C-H gerilim bandı), 1666 (C=O gerilim bandı), 1490, 1458, 1417 (C=N ve C=C gerilim bandları), 1375, 1203, 1085, 1026 (C-N gerilim bandları), 952, 817 (aromatik C-H düzlem dışı eğilme bandları).

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz,  $\delta$  ppm, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 3.16 (1H, dd,  $J_{AX}$ = 4.40 Hz,  $J_{AB}$ = 17.60 Hz, pirazolin C<sub>4</sub>-H<sub>A</sub>), 3.58 (3H, s, CH<sub>3</sub>), 3.89 (1H, dd,  $J_{BX}$ = 11.60 Hz,  $J_{BA}$ = 18.00 Hz, pirazolin C<sub>4</sub>-H<sub>B</sub>), 4.33 (1H, d,  $J$ = 15.20 Hz, geminal yarıllma, CO-CH), 4.46 (1H, d,  $J$ = 15.60 Hz, geminal yarıllma, CO-CH), 5.57 (1H, dd,  $J_{AX}$ = 4.80 Hz,  $J_{BX}$ = 11.60 Hz, pirazolin C<sub>5</sub>-H<sub>X</sub>), 7.16 (1H, dd,  $J$ = 3.60 Hz, 5.20 Hz, tiyofen C<sub>4</sub>-H), 7.26 (2H, d,  $J$ = 8.80 Hz, aromatik protonlar), 7.38 (2H, d,  $J$ = 8.80 Hz, aromatik protonlar), 7.48 (1H, dd,  $J$ = 1.20 Hz, 4.00 Hz, tiyofen C<sub>3</sub>-H), 7.78 (1H, dd,  $J$ = 1.20 Hz, 5.20 Hz, tiyofen C<sub>5</sub>-H), 8.52 (1H, s, triazol).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 31.49 (CH<sub>3</sub>, triazol), 39.72 (CH<sub>2</sub>, S-CH<sub>2</sub>), 43.36 (CH<sub>2</sub>, pirazolin C<sub>4</sub>), 60.04 (CH, pirazolin C<sub>5</sub>), 128.27 (2CH, aromatik), 128.81 (CH, aromatik), 129.28 (2CH, aromatik), 130.83 (C, aromatik), 131.73 (CH, aromatik), 132.61 (CH, aromatik), 134.23 (C, aromatik), 141.05 (C, aromatik), 146.94 (CH, aromatik), 149.16 (C, aromatik), 151.95 (C, pirazolin C<sub>3</sub>), 164.96 (C, C=O).

MS (ESI) (*m/z*): (M<sup>+</sup>) 418.05, (M<sup>+</sup>+1) 419.05, (M<sup>+</sup>+2) 420.05, (M<sup>+</sup>+3) 421.05

**1-[(1-Metil-1H-tetrazol-5-il)tiyoasetil]-3-(2-tiyenil)-5-(4-klorofenil)-2-pirazolin  
(2)**



1-(2-Kloroasetil)-3-(2-tiyenil)-5-(4-klorofenil)-2-pirazolin (1 mmol; 0.3392 g), 5-merkpto-1-metiltetrazol (1 mmol; 0.1161 g), potasyum karbonat (1 mmol; 0.1382 g) ve aseton (20 mL) kullanılarak Yöntem D'ye göre sentezlenmiştir.

Verim : % 86

E.N. : 108.2 °C

Elementel Analiz : C<sub>17</sub>H<sub>15</sub>ClN<sub>6</sub>OS<sub>2</sub> (M.A.= 418.92)

Hesaplanan : C : % 48.74 H : % 3.61 N : % 20.06

Bulunan : C : % 48.65 H : % 3.68 N : % 19.95

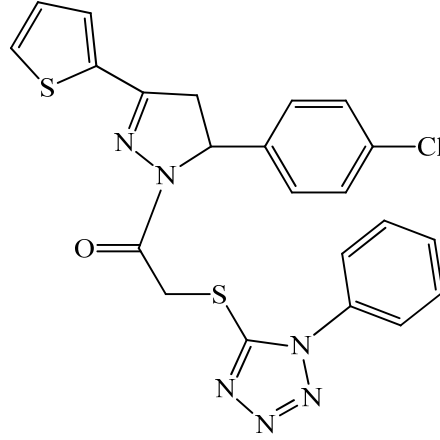
IR (KBr)  $\nu_{\text{maks}}$  (cm<sup>-1</sup>): 3107 (aromatik C-H gerilim bandı), 2941 (alifatik C-H gerilim bandı), 1658 (C=O gerilim bandı), 1463, 1417 (C=N ve C=C gerilim bandları), 1396, 1278, 1219, 1089, 1026 (C-N gerilim bandları), 968, 837, 819 (aromatik C-H düzlem dışı eğilme bandları).

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz,  $\delta$  ppm, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 3.22 (1H, dd,  $J_{AX}$ = 4.80 Hz,  $J_{AB}$ = 18.40 Hz, pirazolin C<sub>4</sub>-H<sub>A</sub>), 3.91 (1H, dd,  $J_{BX}$ = 11.60 Hz,  $J_{BA}$ = 18.00 Hz, pirazolin C<sub>4</sub>-H<sub>B</sub>), 3.95 (3H, s, CH<sub>3</sub>), 4.57 (1H, d,  $J$ = 15.60 Hz, geminal yarıлма, CO-CH), 4.71 (1H, d,  $J$ = 16.00 Hz, geminal yarıлма, CO-CH), 5.59 (1H, dd,  $J_{AX}$ = 4.80 Hz,  $J_{BX}$ = 12.00 Hz, pirazolin C<sub>5</sub>-H<sub>X</sub>), 7.17 (1H, dd,  $J$ = 3.60 Hz, 5.20 Hz, tiyofen C<sub>4</sub>-H), 7.26 (2H, d,  $J$ = 8.40 Hz, aromatik protonlar), 7.38 (2H, d,  $J$ = 8.80 Hz, aromatik protonlar), 7.50 (1H, dd,  $J$ = 1.20 Hz, 3.60 Hz, tiyofen C<sub>3</sub>-H), 7.79 (1H, dd,  $J$ = 0.80 Hz, 5.20 Hz, tiyofen C<sub>5</sub>-H).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 34.32 (CH<sub>3</sub>, tetrazol), 37.15 (CH<sub>2</sub>, S-CH<sub>2</sub>), 43.40 (CH<sub>2</sub>, pirazolin C<sub>4</sub>), 60.16 (CH, pirazolin C<sub>5</sub>), 128.26 (2CH, aromatik), 128.84 (CH, aromatik), 129.29 (2CH, aromatik), 130.96 (C, aromatik), 131.90 (CH, aromatik), 132.66 (CH, aromatik), 134.14 (C, aromatik), 140.96 (C, aromatik), 152.29 (C, pirazolin C<sub>3</sub>), 153.97 (C, aromatik), 164.19 (C, C=O)

MS (ESI) (*m/z*): (M<sup>+</sup>) 419.05, (M<sup>+</sup>+1) 420.05, (M<sup>+</sup>+2) 421.04, (M<sup>+</sup>+3) 422.05

**1-[(1-Fenil-1H-tetrazol-5-il)tiyoasetil]-3-(2-tiyenil)-5-(4-klorofenil)-2-pirazolin (3)**



1-(2-Kloroasetil)-3-(2-tiyenil)-5-(4-klorofenil)-2-pirazolin (1 mmol; 0.3392 g), 5-merkpto-1-feniltetrazol (1 mmol; 0.1782 g), potasyum karbonat (1 mmol; 0.1382 g) ve aseton (20 mL) kullanılarak Yöntem D'ye göre sentezlenmiştir.

Verim : % 84

E.N. : 183.3 °C

Elementel Analiz : C<sub>22</sub>H<sub>17</sub>ClN<sub>6</sub>OS<sub>2</sub> (M.A.= 480.99)

Hesaplanan : C : % 54.94 H : % 3.56 N : % 17.47

Bulunan : C : % 54.99 H : % 3.58 N : % 17.51

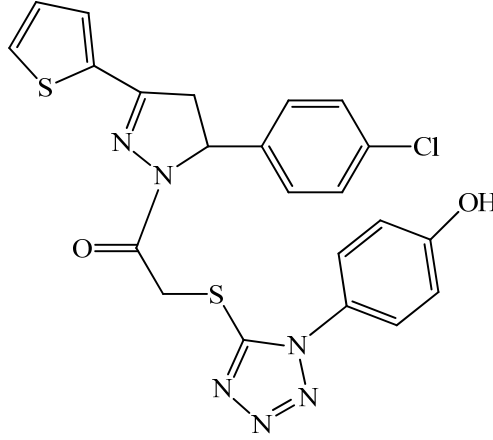
IR (KBr)<sub>v</sub>maks(cm<sup>-1</sup>): 3107 (aromatik C-H gerilim bandı), 2933 (alifatik C-H gerilim bandı), 1656 (C=O gerilim bandı), 1498, 1462, 1423 (C=N ve C=C gerilim bandları), 1388, 1220, 1089, 1012 (C-N gerilim bandları), 831 (aromatik C-H düzlem dışı eğilme bandı).

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, δ ppm, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 3.23 (1H, dd, *J*<sub>AX</sub>= 4.40 Hz, *J*<sub>AB</sub>= 18.00 Hz, pirazolin C<sub>4</sub>-H<sub>A</sub>), 3.94 (1H, dd, *J*<sub>BX</sub>= 11.60 Hz, *J*<sub>BA</sub>= 18.00 Hz, pirazolin C<sub>4</sub>-H<sub>B</sub>), 4.69 (1H, d, *J*= 16.00 Hz, geminal yarıllama, CO-CH), 4.83 (1H, d, *J*= 16.40 Hz, geminal yarıllama, CO-CH), 5.60 (1H, dd, *J*<sub>AX</sub>= 4.00 Hz, *J*<sub>BX</sub>= 11.20 Hz, pirazolin C<sub>5</sub>-H<sub>X</sub>), 7.18 (1H, dd, *J*= 3.20 Hz, 4.80 Hz, tiyofen C<sub>4</sub>-H), 7.27 (2H, d, *J*= 8.40 Hz, aromatik protonlar), 7.38 (2H, d, *J*= 8.80 Hz, aromatik protonlar), 7.51 (1H, dd, *J*= 1.20 Hz, 3.60 Hz, tiyofen C<sub>3</sub>-H), 7.64-7.68 (5H, m, aromatik protonlar), 7.80 (1H, dd, *J*= 1.20 Hz, 4.80 Hz, tiyofen C<sub>5</sub>-H).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ (ppm): 37.35 (CH<sub>2</sub>, S-CH<sub>2</sub>), 43.41 (CH<sub>2</sub>, pirazolin C<sub>4</sub>), 60.21 (CH, pirazolin C<sub>5</sub>), 125.10 (2CH, aromatik), 128.27 (2CH, aromatik), 128.87 (CH, aromatik), 129.29 (2CH, aromatik), 130.75 (2CH, aromatik), 131.01 (CH, aromatik), 131.34 (CH, aromatik), 131.98 (CH, aromatik), 132.65 (C, aromatik), 133.70 (C, aromatik), 134.13 (C, aromatik), 140.96 (C, aromatik), 152.38 (C, pirazolin C<sub>3</sub>), 154.65 (C, aromatik), 163.92 (C, C=O).

MS (ESI) (*m/z*): (M<sup>+</sup>) 481.06, (M<sup>+</sup>+1) 482.06, (M<sup>+</sup>+2) 483.06, (M<sup>+</sup>+3) 484.06

**1-[1-(4-Hidroksifenil)-1H-tetrazol-5-il]tiyoasetil]-3-(2-tiyenil)-5-(4-klorofenil)-2-pirazolin (4)**



1-(2-Kloroasetil)-3-(2-tiyenil)-5-(4-klorofenil)-2-pirazolin (1 mmol; 0.3392 g), 5-merkpto-1-(4-hidroksifenil)tetrazol (1 mmol; 0.1942 g), potasyum karbonat (1 mmol; 0.1382 g) ve aseton (20 mL) kullanılarak Yöntem D'ye göre sentezlenmiştir.

Verim : % 71

E.N. : 145.7 °C

Elementel Analiz : C<sub>22</sub>H<sub>17</sub>ClN<sub>6</sub>O<sub>2</sub>S<sub>2</sub> (M.A.= 476.02)

Hesaplanan : C : % 53.17 H : % 3.45 N : % 16.91

Bulunan : C : % 53.21 H : % 3.54 N : % 16.96

IR (KBr)  $\nu_{\text{maks}}$  (cm<sup>-1</sup>): 3601 (O-H gerilim bandı), 3107 (aromatik C-H gerilim bandı), 2932 (alifatik C-H gerilim bandı), 1641 (C=O gerilim bandı), 1516, 1454, 1415 (C=N ve C=C gerilim bandları), 1278, 1228, 1087 (C-N gerilim bandları), 837, 823 (aromatik C-H düzlem dışı eğilme bandları).

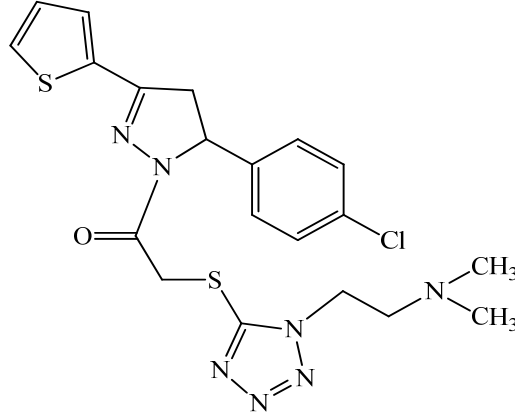
<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz,  $\delta$  ppm, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 3.22 (1H, dd,  $J_{AX}$ = 4.80 Hz,  $J_{AB}$ = 18.00 Hz, pirazolin C<sub>4</sub>-H<sub>A</sub>), 3.93 (1H, dd,  $J_{BX}$ = 11.60 Hz,  $J_{BA}$ = 18.00 Hz, pirazolin C<sub>4</sub>-H<sub>B</sub>), 4.65 (1H, d,  $J$ = 16.00 Hz, geminal yarıllama, CO-CH), 4.77 (1H, d,  $J$ = 16.00 Hz, geminal yarıllama, CO-CH), 5.60 (1H, dd,  $J_{AX}$ = 4.40 Hz,  $J_{BX}$ = 11.60 Hz, pirazolin C<sub>5</sub>-H<sub>X</sub>), 6.87 (2H, d,  $J$ = 8.80 Hz, aromatik protonlar), 7.18 (1H, dd,  $J$ = 4.00 Hz, 5.20 Hz, tiyofen C<sub>4</sub>-H), 7.26-7.33 (4H, m, aromatik protonlar), 7.37 (2H, d,  $J$ = 8.40 Hz, aromatik protonlar), 7.51 (1H, d,  $J$ = 3.60 Hz, tiyofen C<sub>3</sub>-H), 7.79 (1H, d,  $J$ = 5.20 Hz, tiyofen C<sub>5</sub>-H), 9.35 (1H, s, O-H).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 37.04 (CH<sub>2</sub>, S-CH<sub>2</sub>), 43.40 (CH<sub>2</sub>, pirazolin C<sub>4</sub>), 60.20 (CH, pirazolin C<sub>5</sub>), 117.35 (2CH, aromatik), 122.57 (C, aromatik), 126.65 (2CH, aromatik), 128.27 (2CH, aromatik), 128.85 (CH, aromatik), 129.29 (2CH, aromatik), 130.96 (CH, aromatik), 131.90 (CH, aromatik), 132.64 (CH, aromatik), 134.16 (C, aromatik), 140.98 (C, aromatik), 152.28 (C, pirazolin C<sub>3</sub>), 154.65 (C, aromatik), 163.04 (C, aromatik), 164.05 (C, C=O)

MS (ESI) (*m/z*): (M<sup>+</sup>) 497.06, (M<sup>+</sup>+1) 498.06, (M<sup>+</sup>+2) 499.05, (M<sup>+</sup>+3) 500.06



**1-[(1-(2-(Dimetilamino)etil)-1H-tetrazol-5-il)tiyoasetil]-3-(2-tiyenil)-5-(4-klorofenil)-2-pirazolin (5)**



1-(2-Kloroasetil)-3-(2-tiyenil)-5-(4-klorofenil)-2-pirazolin (1 mmol; 0.3392 g), 1-(2-dimetilaminoetil)-5-merkaptotetrazol (1 mmol; 0.1732 g), potasyum karbonat (1 mmol; 0.1382 g) ve aseton (20 mL) kullanılarak Yöntem D'ye göre sentezlenmiştir.

Verim : % 76

E.N. : 112.1 °C

Elementel Analiz : C<sub>20</sub>H<sub>22</sub>ClN<sub>7</sub>OS<sub>2</sub> (M.A.= 476.02)

Hesaplanan : C : % 50.46 H : % 4.66 N : % 20.60

Bulunan : C : % 50.42 H : % 4.69 N : % 20.57

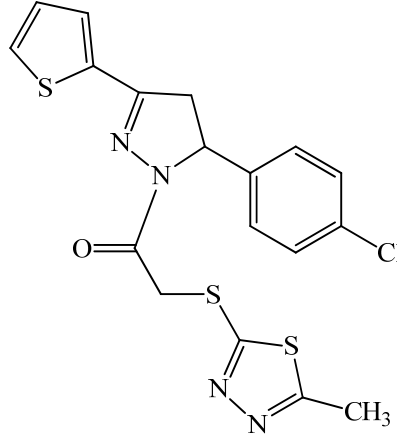
IR (KBr)  $\nu_{\text{maks}}$  (cm<sup>-1</sup>): 3091 (aromatik C-H gerilim bandı), 2943, 2827 (alifatik C-H gerilim bandları), 1654 (C=O gerilim bandı), 1452, 1413 (C=N ve C=C gerilim bandları), 1394, 1220, 1093, 1029 (C-N gerilim bandları), 831, 817 (aromatik C-H düzlem dışı eğilme bandları).

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz,  $\delta$  ppm, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 2.13 (6H, s, N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 2.64 (2H, t, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-N-(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>,  $J= 6.40$  Hz, 12.00 Hz), 3.22 (1H, dd,  $J_{AX}= 4.80$  Hz,  $J_{AB}= 18.00$  Hz, pirazolin C<sub>4</sub>-H<sub>A</sub>), 3.92 (1H, dd,  $J_{BX}= 11.60$  Hz,  $J_{BA}= 17.60$  Hz, pirazolin C<sub>4</sub>-H<sub>B</sub>), 4.38 (2H, t,  $J= 6.00$  Hz, 12.00 Hz, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-N-(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 4.57 (1H, d,  $J= 15.60$  Hz, geminal yarıllama, CO-CH), 4.71 (1H, d,  $J= 16.00$  Hz, geminal yarıllama, CO-CH), 5.59 (1H, dd,  $J_{AX}= 4.80$  Hz,  $J_{BX}= 12.00$  Hz, pirazolin C<sub>5</sub>-H<sub>X</sub>), 7.17 (1H, dd,  $J= 4.00$  Hz, 5.20 Hz, tiyofen C<sub>4</sub>-H), 7.26 (2H, d,  $J= 8.80$  Hz, aromatik protonlar), 7.38 (2H, d,  $J= 8.80$  Hz, aromatik protonlar), 7.49 (1H, dd,  $J= 0.80$ , 3.60 Hz, tiyofen C<sub>3</sub>-H), 7.79 (1H, dd,  $J= 0.80$ , 5.20 Hz, tiyofen C<sub>5</sub>-H).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 37.46 (CH<sub>2</sub>, S-CH<sub>2</sub>), 43.38 (CH<sub>2</sub>, pirazolin C<sub>4</sub>), 45.65 (2CH<sub>3</sub>, H<sub>3</sub>C-N-CH<sub>3</sub>), 45.99 (CH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>-tetrazol), 57.84 (CH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>-N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 60.15 (CH, pirazolin C<sub>5</sub>), 128.25 (2CH, aromatik), 128.84 (CH, aromatik), 129.29 (2CH, aromatik), 130.97 (CH, aromatik), 131.91 (CH, aromatik), 132.64 (C, aromatik), 134.15 (C, aromatik), 140.99 (C, aromatik), 152.25 (C, pirazolin C<sub>3</sub>), 154.19 (C, aromatik), 164.23 (C, C=O).

MS (ESI) (*m/z*): (M<sup>+</sup>) 476.10, (M<sup>+</sup>+1) 477.11, (M<sup>+</sup>+2) 478.10, (M<sup>+</sup>+3) 479.10

**1-[(5-Metil-1,3,4-tiyadiazol-2-il)tiyoasetil]-3-(2-tiyenil)-5-(4-klorofenil)-2-pirazolin (6)**



1-(2-Kloroasetil)-3-(2-tiyenil)-5-(4-klorofenil)-2-pirazolin (1 mmol; 0.3392 g), 2-merkpto-5-metil-1,3,4-tiyadiazol (1 mmol; 0.1322 g), potasyum karbonat (1 mmol; 0.1382 g) ve aseton (20 mL) kullanılarak Yöntem D'ye göre sentezlenmiştir.

Verim : % 82

E.N. : 140.9 °C

Elementel Analiz : C<sub>18</sub>H<sub>15</sub>ClN<sub>4</sub>OS<sub>3</sub> (M.A.= 434.99)

Hesaplanan : C : % 49.70 H : % 3.48 N : % 12.88

Bulunan : C : % 49.72 H : % 3.49 N : % 12.83

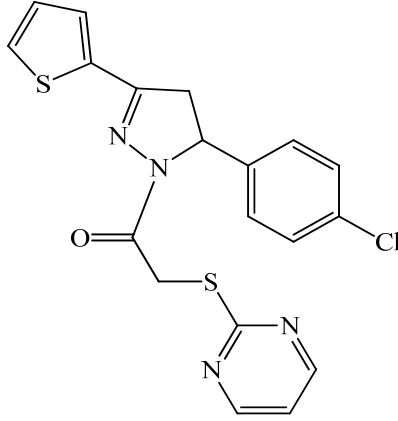
IR (KBr)  $\nu_{\text{maks}}$  (cm<sup>-1</sup>): 3103 (aromatik C-H gerilim bandı), 2920 (alifatik C-H gerilim bandı), 1645 (C=O gerilim bandı), 1456, 1417 (C=N ve C=C gerilim bandları), 1398, 1325, 1219, 1072, 1029 (C-N gerilim bandları), 840, 819 (aromatik C-H düzlem dışı eğilme bandları).

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz,  $\delta$  ppm, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 2.66 (3H, s, CH<sub>3</sub>), 3.22 (1H, dd,  $J_{AX}$ = 4.80 Hz,  $J_{AB}$ = 18.00 Hz, pirazolin C<sub>4</sub>-H<sub>A</sub>), 3.92 (1H, dd,  $J_{BX}$ = 11.60 Hz,  $J_{BA}$ = 17.60 Hz, pirazolin C<sub>4</sub>-H<sub>B</sub>), 4.54 (1H, d,  $J$ = 16.00 Hz, geminal yarıлма, CO-CH), 4.67 (1H, d,  $J$ = 16.00 Hz, geminal yarıлма, CO-CH), 5.60 (1H, dd,  $J_{AX}$ = 4.40 Hz,  $J_{BX}$ = 11.60 Hz, pirazolin C<sub>5</sub>-H<sub>X</sub>), 7.17 (1H, dd,  $J$ = 3.60 Hz, 5.20 Hz, tiyofen C<sub>4</sub>-H), 7.27 (2H, d,  $J$ = 8.40 Hz, aromatik protonlar), 7.38 (2H, d,  $J$ = 8.80 Hz, aromatik protonlar), 7.50 (1H, dd,  $J$ = 0.80 Hz, 3.60 Hz, tiyofen C<sub>3</sub>-H), 7.79 (1H, dd,  $J$ = 1.20 Hz, 5.20 Hz, tiyofen C<sub>5</sub>-H).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 15.85 (CH<sub>3</sub>, tiyadiazol), 37.33 (CH<sub>2</sub>, S-CH<sub>2</sub>), 43.36 (CH<sub>2</sub>, pirazolin C<sub>4</sub>), 60.13 (CH, pirazolin C<sub>5</sub>), 128.29 (2CH, aromatik), 128.83 (CH, aromatik), 129.29 (2CH, aromatik), 130.93 (CH, aromatik), 131.83 (CH, aromatik), 132.63 (C, aromatik), 134.20 (C, aromatik), 141.05 (C, aromatik), 152.08 (C, pirazolin C<sub>3</sub>), 164.40 (C, aromatik), 164.98 (C, aromatik), 166.37 (C, C=O)

MS (ESI) (*m/z*): (M<sup>+</sup>) 435.01, (M<sup>+</sup>+1) 436.01, (M<sup>+</sup>+2) 437.01, (M<sup>+</sup>+3) 438.01

**1-[(Pirimidin-2-il)tiyoasetil]-3-(2-tiyenil)-5-(4-klorofenil)-2-pirazolin (7)**



1-(2-Kloroasetil)-3-(2-tiyenil)-5-(4-klorofenil)-2-pirazolin (1 mmol; 0.3392 g), 2-merkaptopirimidin (1 mmol; 0.1122 g), potasyum karbonat (1 mmol; 0.1382 g) ve aseton (20 mL) kullanılarak Yöntem D'ye göre sentezlenmiştir.

Verim : % 78

E.N. : 126.6 °C

Elementel Analiz : C<sub>19</sub>H<sub>15</sub>ClN<sub>4</sub>OS<sub>2</sub> (M.A.= 414.93)

Hesaplanan : C : % 55.00 H : % 3.64 N : % 13.50

Bulunan : C : % 55.11 H : % 3.51 N : % 13.43

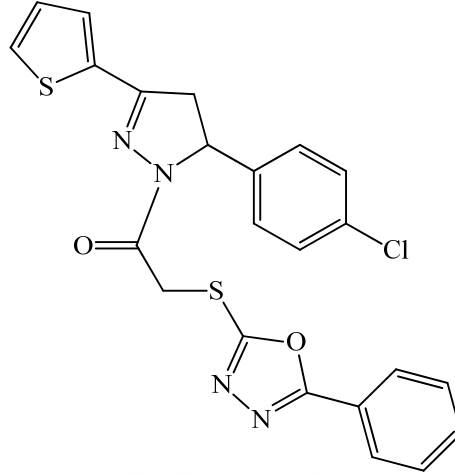
IR (KBr)  $\nu_{\text{maks}}$  (cm<sup>-1</sup>): 3109 (aromatik C-H gerilim bandı), 2929 (alifatik C-H gerilim bandı), 1653 (C=O gerilim bandı), 1548, 1448, 1409 (C=N ve C=C gerilim bandları), 1379, 1201, 1176, 1089, 1016 (C-N gerilim bandları), 821 (aromatik C-H düzlem dışı eğilme bandı).

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz,  $\delta$  ppm, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 3.19 (1H, dd,  $J_{AX}$ = 4.40 Hz,  $J_{AB}$ = 18.00 Hz, pirazolin C<sub>4</sub>-H<sub>A</sub>), 3.92 (1H, dd,  $J_{BX}$ = 12.00 Hz,  $J_{BA}$ = 17.60 Hz, pirazolin C<sub>4</sub>-H<sub>B</sub>), 4.32 (1H, d,  $J$ = 16.40 Hz, geminal yarıllama, CO-CH), 4.60 (1H, d,  $J$ = 16.00 Hz, geminal yarıllama, CO-CH), 5.61 (1H, dd,  $J_{AX}$ = 4.80 Hz,  $J_{BX}$ = 11.60 Hz, pirazolin C<sub>5</sub>-H<sub>X</sub>), 7.17 (1H, dd,  $J$ = 3.60 Hz, 4.80 Hz, tiyofen C<sub>4</sub>-H), 7.22 (1H, t,  $J$ = 4.80 Hz, 5.20 Hz, pirimidin), 7.28 (2H, d,  $J$ = 8.00 Hz, aromatik protonlar), 7.40 (2H, d,  $J$ = 8.00 Hz, aromatik protonlar), 7.47-7.49 (1H, m, tiyofen C<sub>3</sub>-H), 7.77 (1H, dd,  $J$ = 0.80 Hz, 4.40 Hz, tiyofen C<sub>5</sub>-H), 8.63 (2H, d,  $J$ = 4.80 Hz, pirimidin).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 34.30 (CH<sub>2</sub>, S-CH<sub>2</sub>), 43.34 (CH<sub>2</sub>, pirazolin C<sub>4</sub>), 60.09 (CH, pirazolin C<sub>5</sub>), 118.01 (CH, aromatik), 128.13 (2CH, aromatik), 128.81 (CH, aromatik), 129.27 (2CH, aromatik), 130.68 (CH, aromatik), 131.58 (CH, aromatik), 132.54 (C, aromatik), 134.43 (C, aromatik), 141.33 (C, aromatik), 151.47 (C, pirazolin C<sub>3</sub>), 158.42 (2CH, aromatik), 165.28 (C, C=O), 170.99 (C, aromatik).

MS (ESI) (*m/z*): (M<sup>+</sup>) 415.04, (M<sup>+</sup>+1) 416.04, (M<sup>+</sup>+2) 417.04, (M<sup>+</sup>+3) 418.04

**1-[(5-Fenil-1,3,4-oksadiazol-2-il)tiyoasetil]-3-(2-tiyenil)-5-(4-klorofenil)-2-pirazolin (8)**



1-(2-Kloroasetil)-3-(2-tiyenil)-5-(4-klorofenil)-2-pirazolin (1 mmol; 0.3392 g), 2-merkpto-5-fenil-1,3,4-oksadiazol (1 mmol; 0.1782 g), potasyum karbonat (1 mmol; 0.1382 g) ve aseton (20 mL) kullanılarak Yöntem D'ye göre sentezlenmiştir.

Verim : % 74

E.N. : 162.3 °C

Elementel Analiz : C<sub>23</sub>H<sub>17</sub>ClN<sub>4</sub>O<sub>2</sub>S<sub>2</sub> (M.A.= 480.99)

Hesaplanan : C : % 57.43 H : % 3.56 N : % 11.65

Bulunan : C : % 57.47 H : % 3.55 N : % 11.61

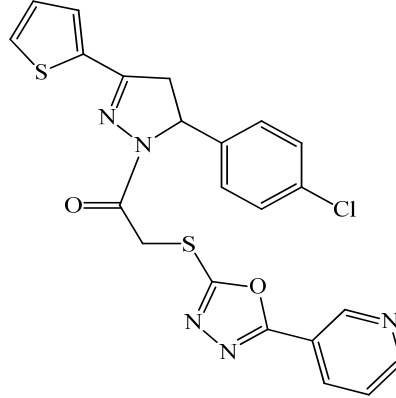
IR (KBr)  $\nu_{\text{maks}}$  (cm<sup>-1</sup>): 3107 (aromatik C-H gerilim bandı), 2983 (alifatik C-H gerilim bandı), 1670 (C=O gerilim bandı), 1465, 1450, 1408 (C=N ve C=C gerilim bandları), 1238, 1197, 1068, 1012 (C-N gerilim bandları), 827 (aromatik C-H düzlem dışı eğilme bandı).

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz,  $\delta$  ppm, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 3.23 (1H, dd,  $J_{AX}$ = 4.40 Hz,  $J_{AB}$ = 18.00 Hz, pirazolin C<sub>4</sub>-H<sub>A</sub>), 3.93 (1H, dd,  $J_{BX}$ = 11.60 Hz,  $J_{BA}$ = 18.00 Hz, pirazolin C<sub>4</sub>-H<sub>B</sub>), 4.63 (1H, d,  $J$ = 16.00 Hz, geminal yarıllma, CO-CH), 4.77 (1H, d,  $J$ = 16.00 Hz, geminal yarıllma, CO-CH), 5.62 (1H, dd,  $J_{AX}$ = 4.80 Hz,  $J_{BX}$ = 11.60 Hz, pirazolin C<sub>5</sub>-H<sub>X</sub>), 7.18 (1H, dd,  $J$ = 3.60 Hz, 4.80 Hz, tiyofen C<sub>4</sub>-H), 7.26 (2H, d,  $J$ = 8.40 Hz, aromatik protonlar), 7.34 (2H, d,  $J$ = 8.80 Hz, aromatik protonlar), 7.51-7.64 (4H, m, aromatik protonlar), 7.78-7.80 (1H, m, tiyofen C<sub>5</sub>-H), 7.92-7.95 (2H, m, aromatik protonlar).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 36.11 (CH<sub>2</sub>, S-CH<sub>2</sub>), 43.40 (CH<sub>2</sub>, pirazolin C<sub>4</sub>), 60.19 (CH, pirazolin C<sub>5</sub>), 123.66 (C, aromatik), 127.03 (2CH, aromatik), 128.24 (2CH, aromatik), 128.85 (CH, aromatik), 129.29 (2CH, aromatik), 130.07 (2CH, aromatik), 131.00 (CH, aromatik), 131.95 (CH, aromatik), 132.66 (C, aromatik), 132.69 (CH, aromatik), 134.12 (C, aromatik), 140.99 (C, aromatik), 152.35 (C, pirazolin C<sub>3</sub>), 164.02 (C, aromatik), 164.13 (C, aromatik), 165.77 (C, C=O).

MS (ESI) (*m/z*): (M<sup>+</sup>) 481.05, (M<sup>+</sup>+1) 482.05, (M<sup>+</sup>+2) 483.05, (M<sup>+</sup>+3) 484.05

**1-[5-(Piridin-3-il)-1,3,4-oksadiazol-2-il]tiyoasetil]-3-(2-tiyenil)-5-(4-klorofenil)-2-pirazolin (9)**



1-(2-Kloroasetil)-3-(2-tiyenil)-5-(4-klorofenil)-2-pirazolin (1 mmol; 0.3392 g), 2-merkupto-5-(piridin-3-il)-1,3,4-oksadiazol (1 mmol; 0.1792 g), potasyum karbonat (1 mmol; 0.1382 g) ve aseton (20 mL) kullanılarak Yöntem D'ye göre sentezlenmiştir.

Verim : % 70

E.N. : 156.9 °C

Elementel Analiz : C<sub>22</sub>H<sub>16</sub>ClN<sub>5</sub>O<sub>2</sub>S<sub>2</sub> (M.A.= 481.98)

Hesaplanan : C : % 54.82 H : % 3.35 N : % 14.53

Bulunan : C : % 54.83 H : % 3.33 N : % 14.60

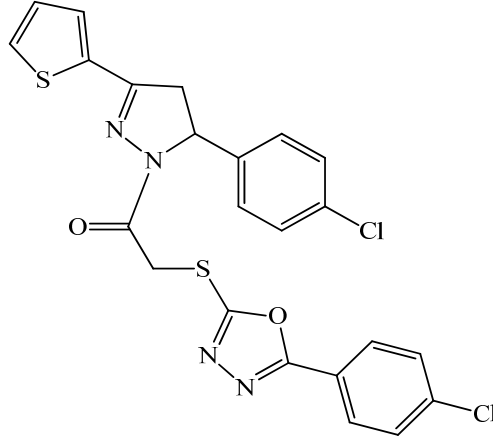
IR (KBr)  $\nu_{\text{maks}}$  (cm<sup>-1</sup>): 3080 (aromatik C-H gerilim bandı), 2981 (alifatik C-H gerilim bandı), 1668 (C=O gerilim bandı), 1456, 1417 (C=N ve C=C gerilim bandları), 1199, 1076, 1016 (C-N gerilim bandları), 833 (aromatik C-H düzlem dışı eğilme bandı).

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz,  $\delta$  ppm, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 3.24 (1H, dd,  $J_{AX}$ = 4.80 Hz,  $J_{AB}$ = 18.00 Hz, pirazolin C<sub>4</sub>-H<sub>A</sub>), 3.94 (1H, dd,  $J_{BX}$ = 11.60 Hz,  $J_{BA}$ = 18.40 Hz, pirazolin C<sub>4</sub>-H<sub>B</sub>), 4.65 (1H, d,  $J$ = 16.00 Hz, geminal yarıllma, CO-C<sub>H</sub>), 4.79 (1H, d,  $J$ = 16.00 Hz, geminal yarıllma, CO-C<sub>H</sub>), 5.63 (1H, dd,  $J_{AX}$ = 4.80 Hz,  $J_{BX}$ = 12.00 Hz, pirazolin C<sub>5</sub>-H<sub>X</sub>), 7.17 (1H, dd,  $J$ = 4.00 Hz, 5.20 Hz, tiyofen C<sub>4</sub>-H), 7.28 (2H, d,  $J$ = 8.40 Hz, aromatik protonlar), 7.35 (2H, d,  $J$ = 8.40 Hz, aromatik protonlar), 7.50 (1H, dd,  $J$ = 1.20 Hz, 4.00 Hz, tiyofen C<sub>3</sub>-H), 7.58-7.62 (1H, m, piridin C<sub>5</sub>-H), 7.78 (1H, dd,  $J$ = 0.80 Hz, 4.80 Hz, tiyofen C<sub>5</sub>-H), 8.29-8.32 (1H, m, piridin), 8.79 (1H, dd,  $J$ = 1.60 Hz, 4.80 Hz, piridin), 9.12 (1H, d,  $J$ = 1.60 Hz, piridin).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 36.28 (CH<sub>2</sub>, S-CH<sub>2</sub>), 43.42 (CH<sub>2</sub>, pirazolin C<sub>4</sub>), 60.23 (CH, pirazolin C<sub>5</sub>), 120.31 (CH, aromatik), 124.98 (C, aromatik), 128.27 (2CH, aromatik), 128.85 (CH, aromatik), 129.31 (2CH, aromatik), 130.99 (CH, aromatik), 131.93 (CH, aromatik), 132.69 (CH, aromatik), 134.12 (C, aromatik), 134.64 (C, aromatik), 140.99 (C, aromatik), 147.74 (CH, aromatik), 152.37 (C, pirazolin C<sub>3</sub>), 153.16 (CH, aromatik), 164.04 (C, aromatik), 164.08 (C, aromatik), 164.76 (C, C=O).

MS (ESI) ( $m/z$ ): (M<sup>+</sup>) 482.05, (M<sup>+</sup>+1) 483.05, (M<sup>+</sup>+2) 484.05, (M<sup>+</sup>+3) 485.05

**1-[5-(4-Klorofenil)-1,3,4-oksadiazol-2-il]tiyoasetil]-3-(2-tiyenil)-5-(4-kloro fenil)-2-pirazolin (10)**



1-(2-Kloroasetil)-3-(2-tiyenil)-5-(4-klorofenil)-2-pirazolin (1 mmol; 0.3392 g), 2-merkpto-5-(4-klorofenil)-1,3,4-oksadiazol (1 mmol; 0.2127 g), potasyum karbonat (1 mmol; 0.1382 g) ve aseton (20 mL) kullanılarak Yöntem D'ye göre sentezlenmiştir.

Verim : % 77

E.N. : 176.5 °C

Elementel Analiz : C<sub>23</sub>H<sub>16</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>S<sub>2</sub> (M.A.= 515.43)

Hesaplanan : C : % 53.59 H : % 3.13 N : % 10.87

Bulunan : C : % 53.48 H : % 3.17 N : % 10.75

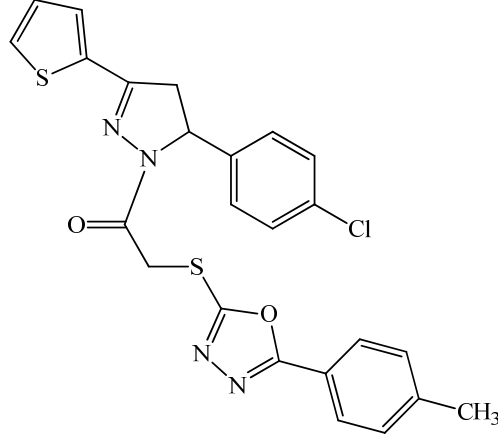
IR (KBr)  $\nu_{\text{maks}}$  (cm<sup>-1</sup>): 3099 (aromatik C-H gerilim bandı), 2981 (alifatik C-H gerilim bandı), 1643 (C=O gerilim bandı), 1463, 1417 (C=N ve C=C gerilim bandları), 1392, 1188, 1174, 1082, 1008 (C-N gerilim bandları), 952, 840, 819 (aromatik C-H düzlem dışı eğilme bandları).

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz,  $\delta$  ppm, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 3.23 (1H, dd,  $J_{AX}$ = 4.80 Hz,  $J_{AB}$ = 18.40 Hz, pirazolin C<sub>4</sub>-H<sub>A</sub>), 3.93 (1H, dd,  $J_{BX}$ = 11.60 Hz,  $J_{BA}$ = 18.00 Hz, pirazolin C<sub>4</sub>-H<sub>B</sub>), 4.62 (1H, d,  $J$ = 16.00 Hz, geminal yarıllma, CO-CH), 4.75 (1H, d,  $J$ = 16.00 Hz, geminal yarıllma, CO-CH), 5.62 (1H, dd,  $J_{AX}$ = 4.80 Hz,  $J_{BX}$ = 11.20 Hz, pirazolin C<sub>5</sub>-H<sub>X</sub>), 7.17 (1H, dd,  $J$ = 3.60 Hz, 5.20 Hz tiyofen C<sub>4</sub>-H), 7.27 (2H, d,  $J$ = 8.40 Hz, aromatik protonlar), 7.35 (2H, d,  $J$ = 8.40 Hz, aromatik protonlar), 7.50 (1H, dd,  $J$ = 0.80 Hz, 3.60 Hz, tiyofen C<sub>3</sub>-H), 7.62 (2H, d,  $J$ = 8.80 Hz, aromatik protonlar), 7.77 (1H, dd,  $J$ = 0.80 Hz, 5.20 Hz, tiyofen C<sub>5</sub>-H), 7.93 (2H, d,  $J$ = 8.40 Hz, aromatik protonlar).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 36.16 (CH<sub>2</sub>, S-CH<sub>2</sub>), 43.41 (CH<sub>2</sub>, pirazolin C<sub>4</sub>), 60.23 (CH, pirazolin C<sub>5</sub>), 122.55 (C, aromatik), 128.25 (2CH, aromatik), 128.81 (3CH, aromatik), 129.29 (2CH, aromatik), 130.21 (2CH, aromatik), 130.93 (CH, aromatik), 131.82 (CH, aromatik), 132.71 (C, aromatik), 134.15 (C, aromatik), 137.42 (C, aromatik), 140.96 (C, aromatik), 152.32 (C, pirazolin C<sub>3</sub>), 164.12 (C, aromatik), 164.30 (C, aromatik), 165.05 (C, C=O).

MS (ESI) (*m/z*): (M<sup>+</sup>) 515.01, (M<sup>+</sup>+1) 516.01, (M<sup>+</sup>+2) 517.01, (M<sup>+</sup>+3) 518.01

**1-[(5-(4-Metilfenil)-1,3,4-oksadiazol-2-il)tiyoasetil]-3-(2-tiyenil)-5-(4-klorofenil)-2-pirazolin (11)**



1-(2-Kloroasetil)-3-(2-tiyenil)-5-(4-klorofenil)-2-pirazolin (1 mmol; 0.3392 g), 2-merkpto-5-(4-metilfenil)-1,3,4-oksadiazol (1 mmol; 0.1922 g), potasyum karbonat (1 mmol; 0.1382 g) ve aseton (20 mL) kullanılarak Yöntem D'ye göre sentezlenmiştir.

Verim : % 79

E.N. : 194.0 °C

Elementel Analiz : C<sub>24</sub>H<sub>19</sub>ClN<sub>4</sub>O<sub>2</sub>S<sub>2</sub> (M.A.= 495.02)

Hesaplanan : C : % 58.23 H : % 3.87 N : % 11.32

Bulunan : C : % 58.19 H : % 3.92 N : % 11.25

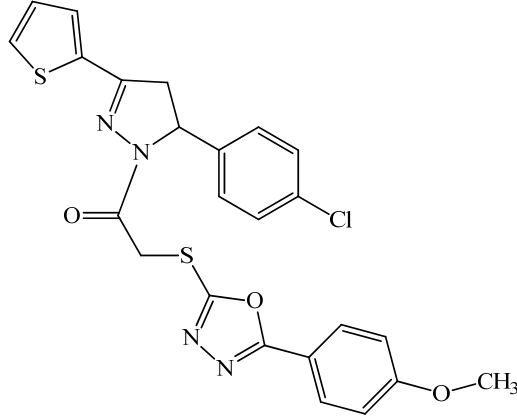
IR (KBr)  $\nu_{\text{maks}}$  (cm<sup>-1</sup>): 3078 (aromatik C-H gerilim bandı), 2926 (alifatik C-H gerilim bandı), 1668 (C=O gerilim bandı), 1469, 1450, 1409 (C=N ve C=C gerilim bandları), 1197, 1072 (C-N gerilim bandları), 829 (aromatik C-H düzlem dışı eğilme bandı).

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz,  $\delta$  ppm, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 2.38 (3H, s, CH<sub>3</sub>), 3.22 (1H, dd,  $J_{AX}$ = 4.80 Hz,  $J_{AB}$ = 18.00 Hz, pirazolin C<sub>4</sub>-H<sub>A</sub>), 3.93 (1H, dd,  $J_{BX}$ = 11.60 Hz,  $J_{BA}$ = 18.00 Hz, pirazolin C<sub>4</sub>-H<sub>B</sub>), 4.60 (1H, d,  $J$ = 15.60 Hz, geminal yarıлма, CO-CH), 4.73 (1H, d,  $J$ = 15.60 Hz, geminal yarıлма, CO-CH), 5.61 (1H, dd,  $J_{AX}$ = 4.80 Hz,  $J_{BX}$ = 11.20 Hz, pirazolin C<sub>5</sub>-H<sub>X</sub>), 7.15 (1H, dd,  $J$ = 3.60 Hz, 5.20 Hz, tiyofen C<sub>4</sub>-H), 7.26 (2H, d,  $J$ = 8.80 Hz, aromatik protonlar), 7.33 (2H, d,  $J$ = 8.80 Hz, aromatik protonlar), 7.36 (2H, d,  $J$ = 8.40 Hz, aromatik protonlar), 7.49 (1H, m, tiyofen C<sub>3</sub>-H), 7.77 (1H, d,  $J$ = 4.80 Hz, tiyofen C<sub>5</sub>-H), 7.81 (2H, d,  $J$ = 8.00 Hz, aromatik protonlar).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 21.80 (CH<sub>3</sub>, fenil), 36.09 (CH<sub>2</sub>, S-CH<sub>2</sub>), 43.41 (CH<sub>2</sub>, pirazolin C<sub>4</sub>), 60.22 (CH, pirazolin C<sub>5</sub>), 120.97 (C, aromatik), 127.00 (2CH, aromatik), 128.24 (2CH, aromatik), 128.81 (CH, aromatik), 129.29 (2CH, aromatik), 130.59 (2CH, aromatik), 130.93 (CH, aromatik), 131.82 (CH, aromatik), 132.69 (C, aromatik), 134.16 (C, aromatik), 140.98 (C, aromatik), 142.84 (C, aromatik), 152.29 (C, pirazolin C<sub>3</sub>), 163.60 (C, aromatik), 164.17 (C, aromatik), 165.91 (C, C=O).

MS (ESI) (*m/z*): (M<sup>+</sup>) 495.07, (M<sup>+</sup>+1) 496.07, (M<sup>+</sup>+2) 497.06, (M<sup>+</sup>+3) 498.07

**1-[(5-(4-Metoksifenil)-1,3,4-oksadiazol-2-il)tiyoasetil]-3-(2-tiyenil)-5-(4-klorofenil)-2-pirazolin (12)**



1-(2-Kloroasetil)-3-(2-tiyenil)-5-(4-klorofenil)-2-pirazolin (1 mmol; 0.3392 g), 2-merkaptto-5-(4-metoksifenil)-1,3,4-oksadiazol (1 mmol; 0.2082 g), potasyum karbonat (1 mmol; 0.1382 g) ve aseton (20 mL) kullanılarak Yöntem D'ye göre sentezlenmiştir.

Verim : % 72

E.N. : 146.8 °C

Elementel Analiz : C<sub>24</sub>H<sub>19</sub>ClN<sub>4</sub>O<sub>3</sub>S<sub>2</sub> (M.A.= 511.02)

Hesaplanan : C : % 56.41 H : % 3.75 N : % 10.96

Bulunan : C : % 56.39 H : % 3.73 N : % 10.98

IR (KBr)  $\nu_{\text{maks}}$  (cm<sup>-1</sup>): 3082 (aromatik C-H gerilim bandı), 2933 (alifatik C-H gerilim bandı), 1670 (C=O gerilim bandı), 1504, 1477, 1452, 1413 (C=N ve C=C gerilim bandları), 1251, 1178, 1026 (C-N gerilim bandları), 840 (aromatik C-H düzlem dışı eğilme bandı).

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz,  $\delta$  ppm, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 3.21 (1H, dd,  $J_{AX}$ = 4.80 Hz,  $J_{AB}$ = 18.00 Hz, pirazolin C<sub>4</sub>-H<sub>A</sub>), 3.84 (3H, s, OCH<sub>3</sub>), 3.92 (1H, dd,  $J_{BX}$ = 11.60 Hz,  $J_{BA}$ = 17.60 Hz, pirazolin C<sub>4</sub>-H<sub>B</sub>), 4.57 (1H, d,  $J$ = 16.00 Hz, geminal yarıllama, CO-CH), 4.71 (1H, d,  $J$ = 15.60 Hz, geminal yarıllama, CO-CH), 5.61 (1H, dd,  $J_{AX}$ = 4.80 Hz,  $J_{BX}$ = 11.60 Hz, pirazolin C<sub>5</sub>-H<sub>X</sub>), 7.08 (2H, d,  $J$ =9.20 Hz, aromatik protonlar), 7.17 (1H,  $J$ =3.60 Hz, 4.80 Hz, tiyofen C<sub>4</sub>-H), 7.25 (2H, d,  $J$ = 8.80 Hz, aromatik protonlar), 7.34 (2H, d,  $J$ = 8.80 Hz, aromatik protonlar), 7.50 (1H, dd,  $J$ = 1.20 Hz, 4.00 Hz, tiyofen C<sub>3</sub>-H), 7.77 (1H, dd,  $J$ = 1.20 Hz, 4.80 Hz, tiyofen C<sub>5</sub>-H), 7.86 (2H, d,  $J$ = 8.80 Hz, aromatik protonlar).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 36.03 (CH<sub>2</sub>, S-CH<sub>2</sub>), 43.42 (CH<sub>2</sub>, pirazolin C<sub>4</sub>), 56.23 (OCH<sub>3</sub>, fenil), 60.24 (CH, pirazolin C<sub>5</sub>), 115.54 (2CH, aromatik), 116.10 (C, aromatik), 128.24 (2CH, aromatik), 128.80 (CH, aromatik), 128.92 (2CH, aromatik), 129.29 (2CH, aromatik), 130.89 (CH, aromatik), 131.74 (CH, aromatik), 132.70 (C, aromatik), 134.19 (C, aromatik), 140.98 (C, aromatik), 152.25 (C, pirazolin C<sub>3</sub>), 162.77 (C, aromatik), 163.11 (C, aromatik), 164.26 (C, aromatik), 165.80 (C, C=O).

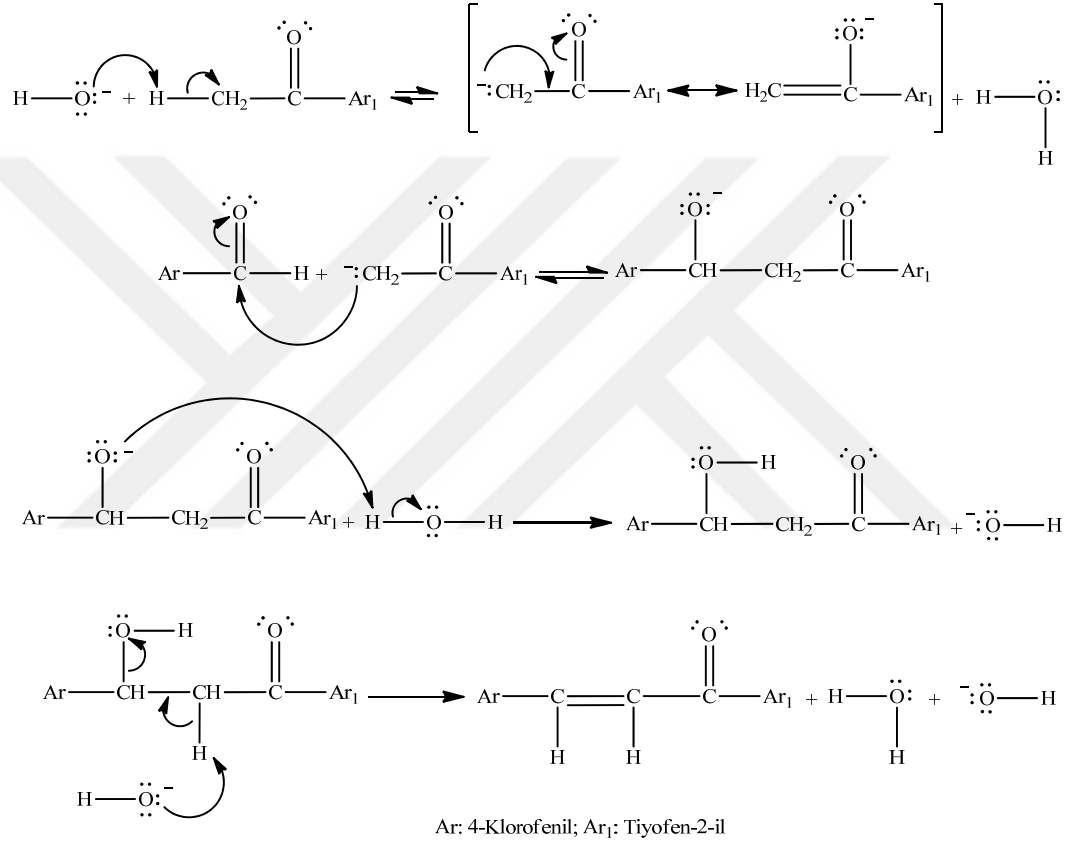
MS (ESI) (*m/z*): (M<sup>+</sup>) 511.06, (M<sup>+</sup>+1) 512.06, (M<sup>+</sup>+2) 513.06, (M<sup>+</sup>+3) 514.06



## Uygulanan Sentez Yöntemlerinin Değerlendirilmesi

### 1-(2-Tiyenil)-3-(4-klorofenil)-2-propen-1-on Bileşiğinin Elde Edilişi

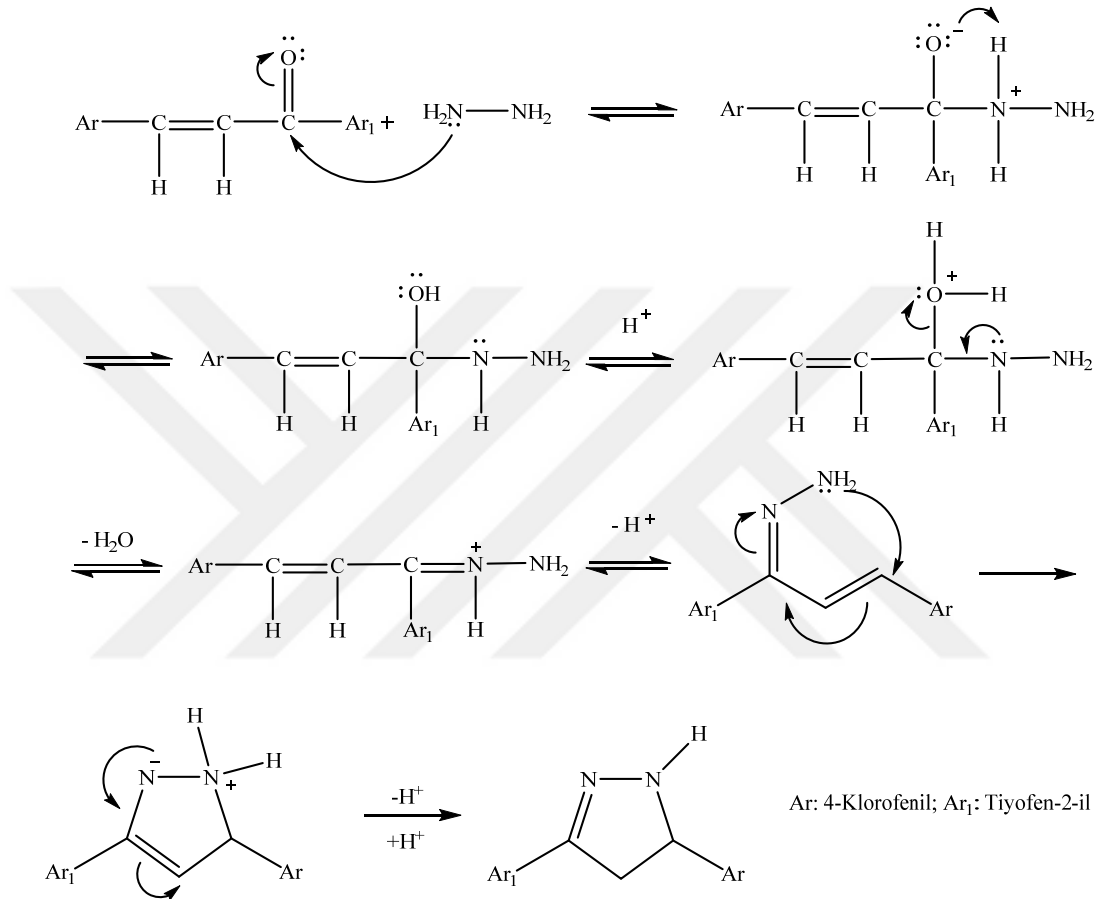
4-Klorobenzaldehit, 2-asetiltiyofen ile bazık ortamda etkileşir (Claisen-Schmidt kondenzasyonu) ve  $\alpha,\beta$ -doymamış ketonları (şalkonları) verir (Şekil 100). Reaksiyon kuvvetli bazık ortamda, 2-asetiltiyofenin alfa pozisyonundaki metil grubundan bir hidrojenin kopartılması sonucu oluşan karbanyonun, aromatik aldehitin karbon atomuna katılması sonucu oluşan aldolden su çıkışı ile tamamlanır. Sentezi gerçekleştirilen şalkonun yapısı erime noktası ile doğrulanmış ve literatür verileriyle uyum içerisinde bulunmuştur (Kabli ve ark., 1991; Turan-Zitouni ve ark., 2005).



Şekil 100. Şalkon Türevinin Eldesi için Önerilen Mekanizma

### 3-(2-Tiyenil)-5-(4-klorofenil)-2-pirazolin Bileşiğinin Elde Edilişi

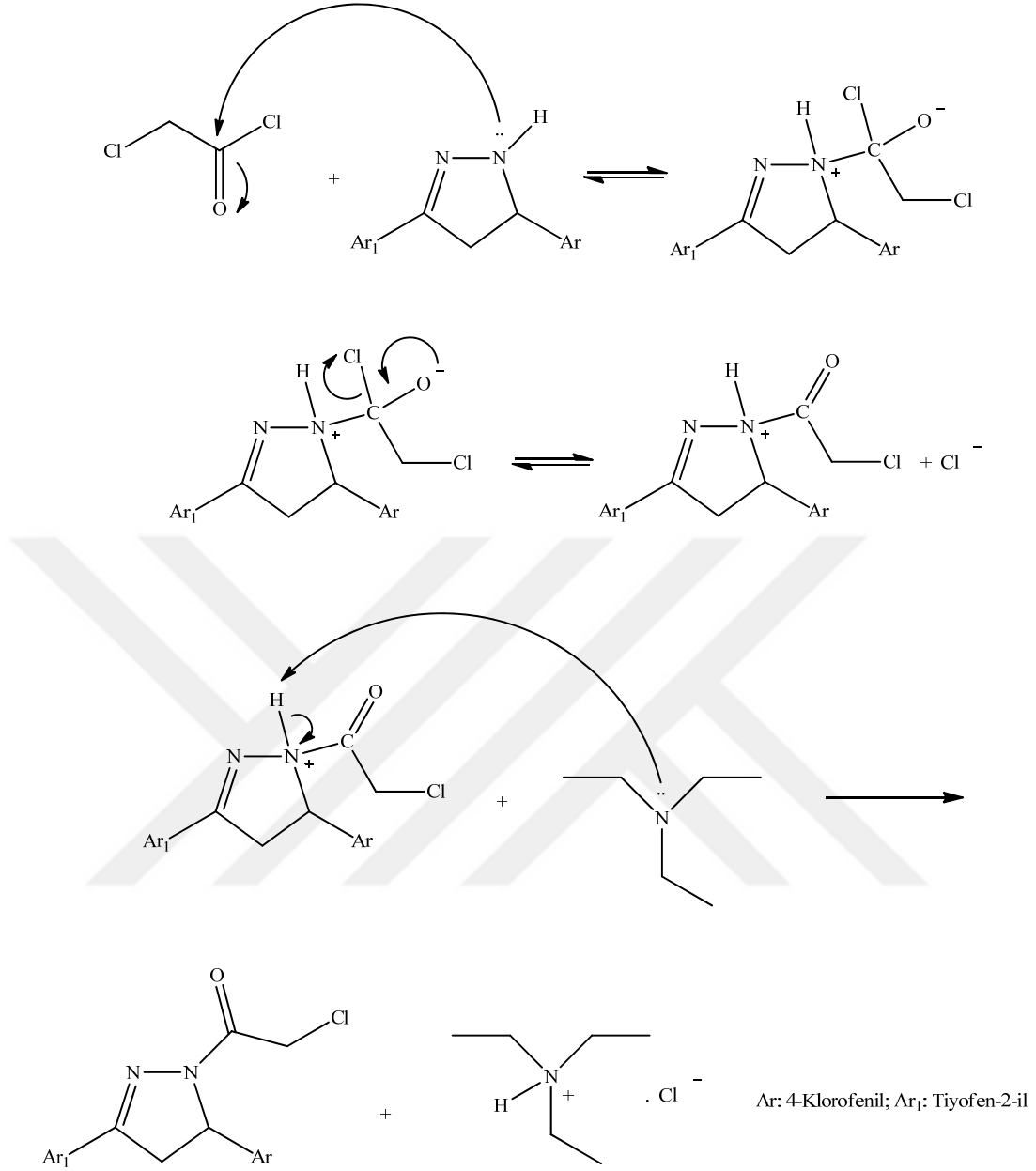
1-(2-Tiyenil)-3-(4-klorofenil)-2-propen-1-onun, hidrazin hidrat ile absolu etil alkol içerisinde üç saat ısıtılması ve ardından soğutulması ile elde edilen katı ürünün, vakum altında süzülmesi ile 3-(2-tiyenil)-5-(4-klorofenil)-2-pirazolin bileşiği elde edilmiştir (**Şekil 101**) (Özdemir ve ark., 2004). Bu bileşik stabil değildir. Oda ısısında kolaylıkla dekompoze olur. Bu yüzden, 3-(2-tiyenil)-5-(4-klorofenil)-2-pirazolin bileşiği saflaştırılmadan sentezin üçüncü aşamasında kullanılmıştır.



**Şekil 101.** 3,5-Diaril-2-pirazolin Türevinin Eldesi için Önerilen Mekanizma

### 1-(2-Kloroasetil)-3-(2-tiyenil)-5-(4-klorofenil)-2-pirazolin Bileşiğinin Elde Edilişi

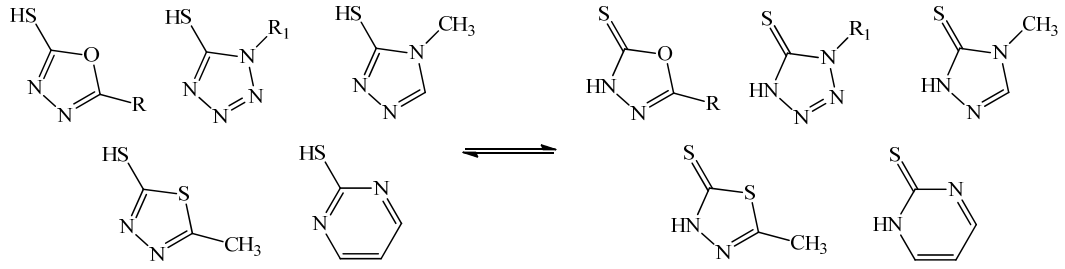
1-(2-Kloroasetil)-3-(2-tiyenil)-5-(4-klorofenil)-2-pirazolin bileşiği, kloroasetil klorür ile 3-(2-tiyenil)-5-(4-klorofenil)-2-pirazolin bileşiğinin, TEA katalizörlüğünde ve kuru toluen içinde S<sub>N</sub>2 nükleofilik yer değiştirme reaksiyonu neticesinde elde edilmiştir (**Şekil 102**) (Özdemir ve ark., 2004). Açılma reaksiyonları ekzotermik reaksiyonlardır. Bu yüzden; ortaya çıkan ısıdan, reaksiyona giren bileşiklerin zarar görmesini engellemek amacıyla, reaksiyon ortamının soğutulması gerekmektedir. Bu ortamı sağlamak için buz banyosu kullanılmıştır.



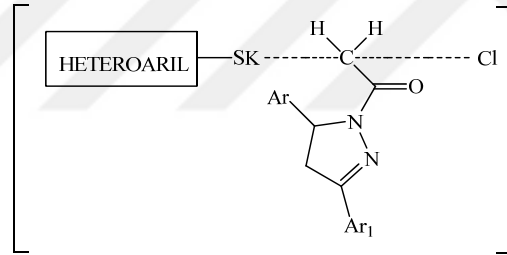
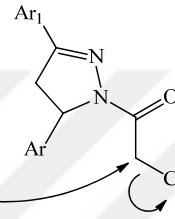
**Şekil 102. 1-(2-Kloroasetil)-3,5-diaril-2-pirazolin Türevinin Eldesi için Önerilen Mekanizma**

### ***1-[(Heteroaril)tiyoasetil]-3-(2-tiyenil)-5-(4-klorofenil)-2-pirazolin Türevlerinin Elde Edilişi***

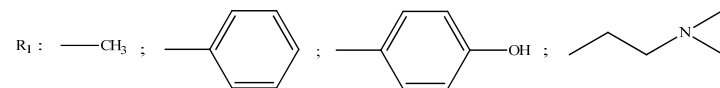
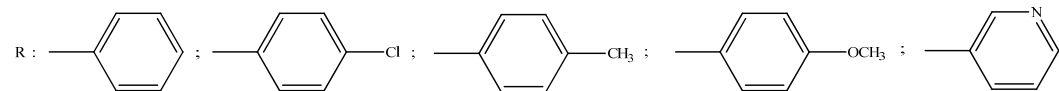
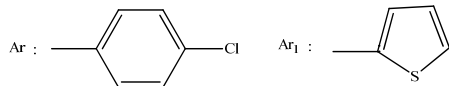
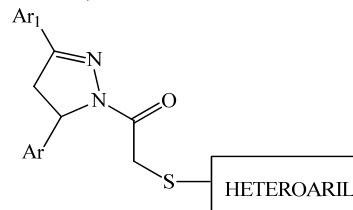
1-(2-Kloroasetil)-3,5-diaril-2-pirazolin ve heteroaril-2/3/5-tiyol bileşiği kuru aseton içerisinde ve ekivalan miktar potasyum karbonat katalizörlüğünde, 8-12 saat oda sıcaklığında karıştırılarak elde edilirler (**Şekil 103**) (Karabacak ve ark., 2015). Bu reaksiyon, organik kimyada kullanılan nükleofilik yerdeğiştirme reaksiyonlarından biridir.



$K_2CO_3$



- KCl



Şekil 103. Sonuç Bileşiklerinin Eldesi için Önerilen Mekanizma

## Spektral Verilerin Değerlendirilmesi

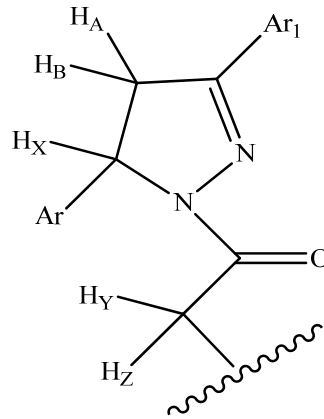
### IR Spektrumlarının Değerlendirilmesi

1-[(Heteroaril)tiyoasetil]-3-(2-tiyenil)-5-(4-klorofenil)-2-pirazolin türevlerinin IR spektrumları, literatürde benzer bileşikler için verilen bant değerleriyle uyumludur (Turan-Zitouni ve ark., 2005; Palaska ve ark., 2008; Özdemir ve ark., 2008; Kaplancıklı ve ark., 2009; Şahin ve ark., 2010; Şentürk ve ark., 2012).

Bileşiklerin IR spektrumlarının incelenmesi sonucu, bileşiklerin ana iskelet yapısı, süstituentler dışında aynıdır. Bu nedenle spektrumlar birbirine benzemektedir. OH gerilim bandı  $3601\text{ cm}^{-1}$ ; aromatik C-H gerilim bantları  $3134\text{-}3078\text{ cm}^{-1}$ ; alifatik C-H gerilim bantları  $2983\text{-}2920\text{ cm}^{-1}$ ; C=O gerilim bantları  $1670\text{-}1641\text{ cm}^{-1}$ ; C=N ve C=C gerilim bantları  $1548\text{-}1408\text{ cm}^{-1}$ ; C-N ve C-O gerilim bantları  $1398\text{-}1008\text{ cm}^{-1}$ ; 1,4-disüstitüe benzen C-H düzlem dışı eğilme bantları  $968\text{-}817\text{ cm}^{-1}$  aralığında görülmüştür.

### <sup>1</sup>H-NMR Spektrumlarının Değerlendirilmesi

Sonuç maddeleri olan 1-[(heteroaril)tiyoasetil]-3-(2-tiyenil)-5-(4-klorofenil)-2-pirazolin türevlerinde (**1-12**), pirazolin halkası ABX spin sistemine uyan bir yapıdır (**Şekil 104**). Bu sistem, kimyasal kayma değerleri birbirine yakın iki ayrı proton (A ve B) ile kimyasal kayma değeri oldukça farklı olan üçüncü bir proton (X) oluşmaktadır. Böyle bir sistem üç farklı kimyasal kayma ile üç farklı etkileşme sabitinden ( $J_{AB}$ ,  $J_{AX}$ ,  $J_{BX}$ ) oluşmaktadır (Vijayabaskar ve ark., 1999; Balcı, 2000). 3.16'dan 3.24 ppm'e kadar değişen bölgede H<sub>A</sub> protonu ( $J_{AB}$ = 17.60-18.40 Hz'e kadar değişen geminal eşleşme sabiti,  $J_{AX}$ = 4.00-4.80 Hz'e kadar değişen visinal eşleşme sabiti) iki dublet şeklinde, 3.89'dan 3.94 ppm'e kadar değişen bölgede H<sub>B</sub> protonu ( $J_{AB}$ = 17.60-18.40 Hz'e kadar değişen geminal eşleşme sabiti,  $J_{BX}$ = 11.20-12.00 Hz'e kadar değişen visinal eşleşme sabiti) iki dublet şeklinde ve 5.57'den 5.63 ppm'e kadar değişen bölgede H<sub>X</sub> protonu ( $J_{AX}$ = 4.00-4.80 Hz'e ve  $J_{BX}$ = 11.20-12.00 Hz'e kadar değişen visinal eşleşme sabiti) iki dublet şeklinde rezonans vermektedir.



**Şekil 104. Pirazolin Halkasındaki ABX Spin Sistemi**

Sonuç maddeleri olan 1-[(heteroaril)tiyoasetil]-3-(2-tiyenil)-5-(4-klorofenil)-2-pirazolin türevlerinde, pirazolin halkasının birinci konumuna bağlı olan asetil yapısının metilen (-CH<sub>2</sub>-) protonları, 4.32'den 4.83 ppm'e kadar değişen bölgede ( $J$ = 15.20-16.40 Hz) iki adet dublet olarak görülmüştür. Bu geminal yarılanmanın

nedeni; molekülün sterik yapısından kaynaklanmaktadır. Protonların hareket serbestliğinin engellenmiş olması sebebiyle oluşan farklı iki olası konformasyondan dolayı bu geminal protonlar iki adet dublet olarak gözlenmiştir.

Pirazolin halkasının 1 nolu konumunda bulunan tiyoasetil grubuna bağlı olan triazol, tetrazol, tiyadiazol ve fenil halkası üzerindeki metil (CH<sub>3</sub>) protonları 2.38-3.95 ppm bölgesinde singlet olarak gözlemlenmişlerdir. Alkil zincirine bağlı bulunan dimetilamino (N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>) grubunun metil protonları 2.13 ppm bölgesinde singlet olarak elde edilmiştir. Fenil halkası üzerindeki metoksi (OCH<sub>3</sub>) protonları ise 3.84 ppm'de singlet olarak görülmüştür. Pirazolin halkasının 3 nolu konumunda bulunan tiyofen halkasının aromatik protonlarından, C<sub>3</sub>-H protonu 7.47-7.51 ppm bölgesinde dublet (*J*= 3.60 Hz), iki adet dublet (*J*= 0.80-1.20 Hz, 3.60-4.00 Hz) veya multiplet olarak, C<sub>4</sub>-H protonu 7.15-7.18 ppm bölgesinde iki adet dublet (*J*= 3.20-4.00 Hz, 4.80-5.20 Hz) olarak, C<sub>5</sub>-H protonu 7.77-7.80 ppm bölgesinde dublet (*J*= 4.80-5.20 Hz), iki adet dublet (*J*= 0.80-1.20 Hz, 4.80-5.20 Hz) veya multiplet olarak elde edilmişlerdir.

1-[(Heteroaril)tiyoasetil]-3-(2-tiyenil)-5-(4-klorofenil)-2-pirazolin türevlerinin <sup>1</sup>H-NMR spektrumlarında, fenil protonları 6.87-7.93 ppm arasında dublet (*J*= 8.00-9.20 Hz) veya multiplet olarak gözlemlenmiştir. Fenil halkası üzerindeki aromatik hidroksil protonu, 9.35 ppm'de singlet olarak kaydedilmiştir. Tüm protonlar uygun integral değerlerine sahip bulunmuştur.

#### **<sup>13</sup>C-NMR Spektrumlarının Değerlendirilmesi**

1-[(Heteroaril)tiyoasetil]-3-(2-tiyenil)-5-(4-klorofenil)-2-pirazolin türevlerinin (1-12) <sup>13</sup>C-NMR spektrumlarında, hedeflenen 2-pirazolin halkasının oluştuğunu, pirazolinin C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub> ve C<sub>5</sub> karbonları ispatlamaktadır. Sentezi gerçekleştirilen bileşiklerin eşleşmemiş (decoupled) <sup>13</sup>C-NMR spektrumlarında, 2-pirazolin halkasına ait C<sub>4</sub> karbonu alifatik karakterinden dolayı 43.36-43.42 ppm'de, C<sub>5</sub> karbon atomu ise azot atomuna ve aromatik fenil halkasına komşuluğu sebebiyle etrafındaki elektron yoğunluğunun artmasından dolayı 60.04-60.24 ppm'de rezonans vermektedir. 2-Pirazolin halkasına ait C<sub>3</sub> karbonu ise sp<sup>2</sup> hibridizasyonu, ayrıca azot atomuna komşu olması ve 2-tiyenil yapısına komşuluğu sebebiyle 151.47-152.38 ppm'de gözlemlenmiştir.

Sonuç bileşiklerinde ortak olarak bulunan S-CH<sub>2</sub> karbonları 34.30-39.72 ppm'de; C=O karbonları 163.92-166.37 ppm'de; aromatik karbonlar 115.54-170.99 ppm'de gözlemlenmiştir.

**1** Nolu bileşikte triazol halkasına 4 nolu konumdan bağlı bulunan CH<sub>3</sub> karbonu 31.49 ppm'de; **2** nolu bileşikte tetrazol halkasına 1 nolu konumdan bağlı bulunan CH<sub>3</sub> karbonu 34.32 ppm'de; **5** nolu bileşikte tetrazol halkasına 1 nolu konumdan bağlı bulunan etil yapısına ait olan metilen (tetrazol-CH<sub>2</sub>) karbonu 45.99 ppm'de ve dimetilamino grubunun bağlı olduğu metilen (CH<sub>2</sub>-N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>) karbonu 57.84 ppm'de; **6** nolu bileşikte tiyadiazol halkasına 5 nolu konumdan bağlı bulunan CH<sub>3</sub> karbonu 15.85 ppm'de; **11** nolu bileşikte oksadiazol halkasına 5 nolu konumdan bağlı bulunan fenil yapısının *para* konumunda bulunan CH<sub>3</sub> karbonu 21.80 ppm'de; **12** nolu bileşikte oksadiazol halkasına 5 nolu konumdan bağlı bulunan fenil yapısının *para* konumunda bulunan OCH<sub>3</sub> karbonu 56.23 ppm'de gözlemlenmiştir.

Sentezleri gerçekleştirilen sonuç bileşiklerinin  $^1\text{H-NMR}$  ve  $^{13}\text{C-NMR}$  spektrum sonuçlarını desteklemek ve tasarlanan 2-pirazolin türevlerinin meydana geldiğini kanıtlamak amacıyla tez kapsamında seçtiğimiz **11** nolu bileşiğin  $\text{DMSO-}d_6$  içerisinde HSQC tekniği kullanılarak iki boyutlu spektrumu alınmış ve hangi protonun hangi karbon ( $^1\text{H} - ^{13}\text{C}$ ) ile etkileştiği gösterilmiştir.

2-Pirazolin yapısında;  $\text{H}_X$  protonunu üzerinde taşıyan  $\text{C}_5$  karbonu 60.22 ppm'de,  $\text{H}_X$  ile 5.61 ppm'de etkileşmektedir (**EK 59**).

2-Pirazolin yapısında;  $\text{H}_A$  ve  $\text{H}_B$  protonlarını üzerinde taşıyan  $\text{C}_4$  karbonu 43.41 ppm'de,  $\text{H}_A$  ile 3.22 ppm'de,  $\text{H}_B$  ile 3.93 ppm'de etkileşmektedir (**EK 60**).

2-Pirazolin yapısına ait  $\text{C}_3$  karbonunda H bulunmadığı için HSQC tekniği ile alınan spektrumda gözlemlenmemiştir.

2-Pirazolin halkasının birinci konumuna bağlı olan karbonil grubuna komşu ( $\text{CH}_2\text{-S}$ ) grubunun, 36.09 ppm'de rezonans veren C atomu üzerindeki iki adet proton ile 4.60 ppm'de  $\text{H}_Y$  ile 4.73 ppm'de ise  $\text{H}_Z$  ile etkileşimde bulunduğu (**Şekil 105**) gözlemlenmiştir (**EK 60**).

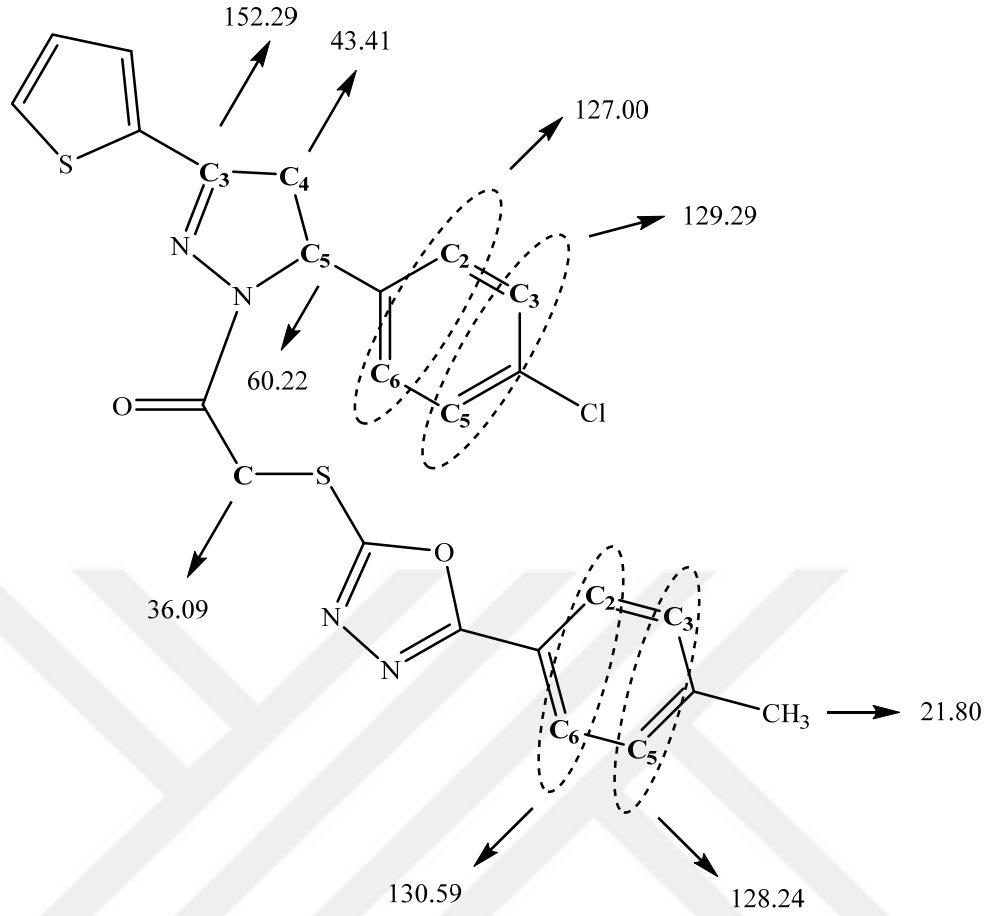
2-Pirazolin yapısının 1 nolu konumunda bulunan tiyoasetil grubuna bağlı olan oksadiazol halkasının, 5 nolu konumundan bağlı olan fenil yapısının *para* konumunda bulunan  $\text{CH}_3$  grubunun 21.80 ppm'de rezonans veren C atomu üzerindeki üç proton ile 2.38 ppm'de etkileşimde bulunduğu gözlemlenmiştir (**EK 61**).

2-Pirazolin yapısının 5 nolu konumunda bulunan 4-klorofenil halkasının 2 ve 6 numaralı C atomları üzerindeki iki proton 7.81 ppm'deki pikleri, 127.00 ppm'deki C atomlarına ait pikle eşleşmektedir. 4-Klorofenil halkasının 3 ve 5 numaralı pozisyonlarında bulunan C atomları ise taşıdıkları iki proton ile 129.29 ppm ve 7.33 ppm'de eşleşmişlerdir (**EK 57**).

4-Metilfenil halkasının 3 ve 5 numaralı C atomları üzerindeki iki proton 7.26 ppm'deki pikleri, 128.24 ppm'deki C atomlarına ait pikle eşleşmektedir. 4-Metilfenil halkasının 2 ve 6 numaralı pozisyonlarında bulunan C atomları ise taşıdıkları iki proton ile 130.59 ppm ve 7.36 ppm'de eşleşmişlerdir (**EK 57**).

**11** numaralı bileşiğin aromatik halkalarına ait C-H etkileşimleri spektrumu verilmiştir (**EK 58**).

**11** numaralı bileşiğin HSQC yöntemine göre alınan spektrumunda gözlemlenen C piklerine ait kimyasal kayma değerleri (ppm), **Şekil 105**'de belirtilen kimyasal formül üzerinde belirtilmiştir.



Şekil 105. 11 Nolu Bileşiğin HSQC Spektrumundaki C Piklerinin Kimyasal Kayma Değerleri (ppm)

### Kütle Spektrumlarının Değerlendirilmesi

Sonuç bileşiklerinin kütle spektrumları, ESI yöntemi ile alınmış ve oluşan yüklü atom veya gruplar kütle/yük ( $m/z$ ) oranına göre saptanmıştır.

1-12 Nolu bileşiklerin kütle spektrumlarında,  $[M+H]^+$ ,  $[M+2H]^+$ ,  $[M+3H]^+$ ,  $[M+4H]^+$  pikleri saptanmıştır.

### Biyolojik Etki Testlerinin Değerlendirilmesi

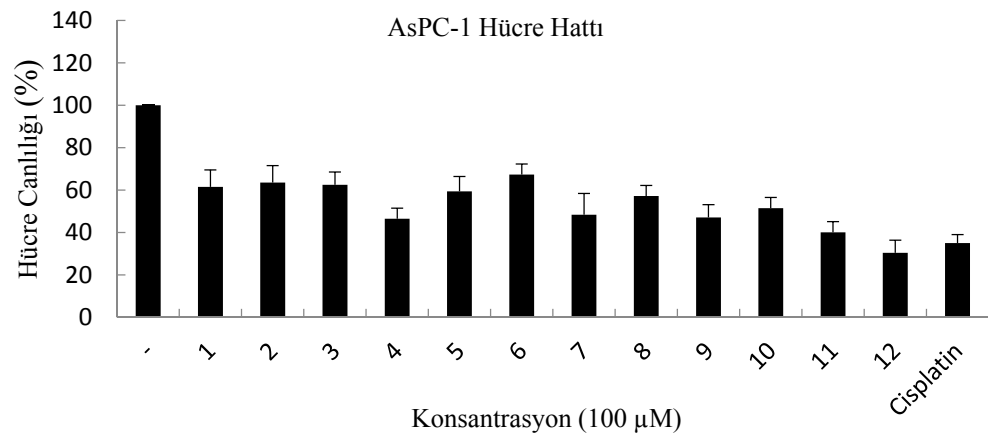
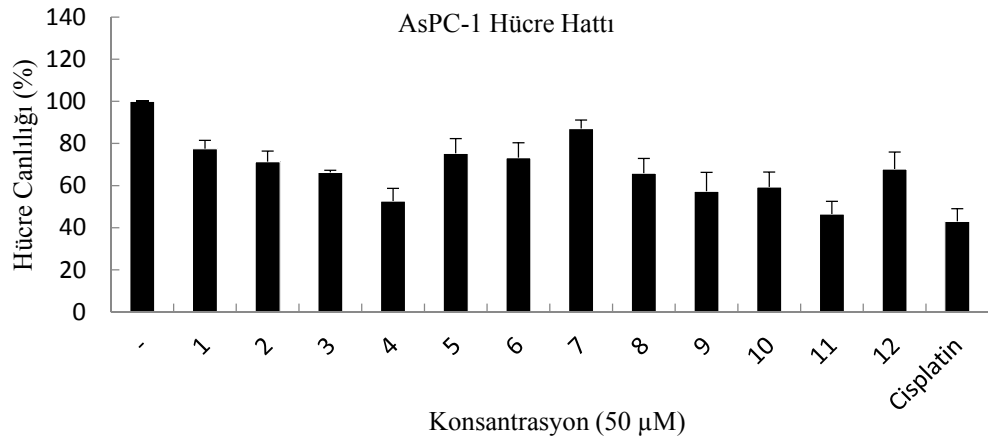
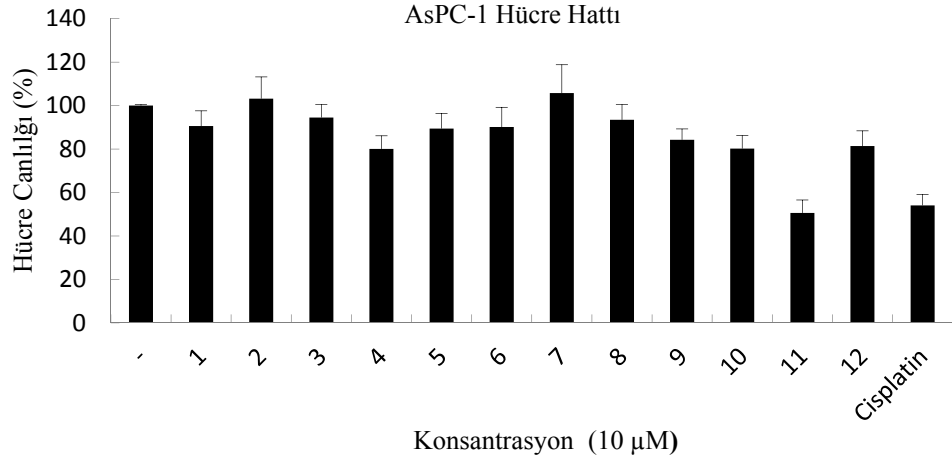
Yeni pirazolin türevlerinin (1-12) ve cisplatinin AsPC-1 insan pankreatik adenokarsinoma, U87 ve U251 glioblastoma hücre dizileri antikanser etkileri 10-500  $\mu\text{M}$  konsantrasyonlarında MTT yöntemi ile belirlenmiştir (Şekil 106 ve Çizelge 2). Cisplatin, birçok insan kanser türünün tedavisinde kullanıldığı için pozitif kontrol olarak seçilmiştir.

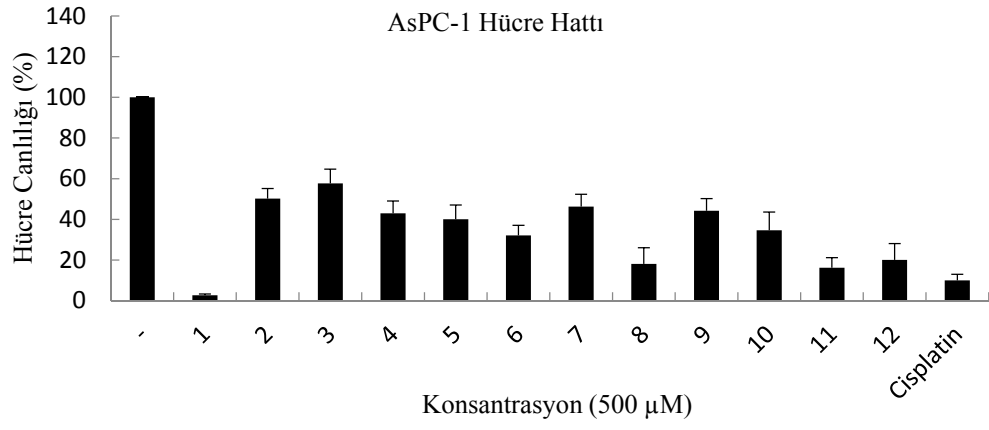
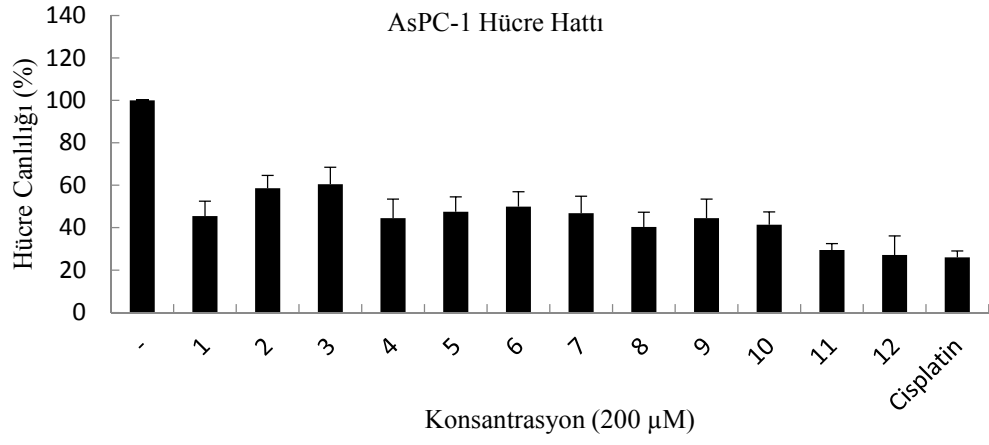
Test edilen bileşiklerin aktivitesi büyük ölçüde aril gruplarının varlığından etkilenmiştir. 1, 10, 11 ve 12 nolu bileşiklerin üç hücre tipine karşı da 500  $\mu\text{M}$ 'dan daha düşük  $\text{IC}_{50}$  değerlerine sahip oldukları görülmektedir. Triazol süstitüe 1 nolu bileşik aktifken, tetrazol süstitüe 2 nolu bileşik ise aktivite göstermemiştir. Genel olarak, oksadiazol süstitüe 10, 11 ve 12 nolu bileşikler iyi aktivite göstermişlerdir. AsPC-1 ve U251 Kanser hücrelerine karşı en sitotoksik bileşik, sırasıyla 16.8  $\mu\text{M}$  ve 11.9  $\mu\text{M}$   $\text{IC}_{50}$  değerleriyle 11 nolu bileşik olarak belirlenmiştir. Bu bileşiği,



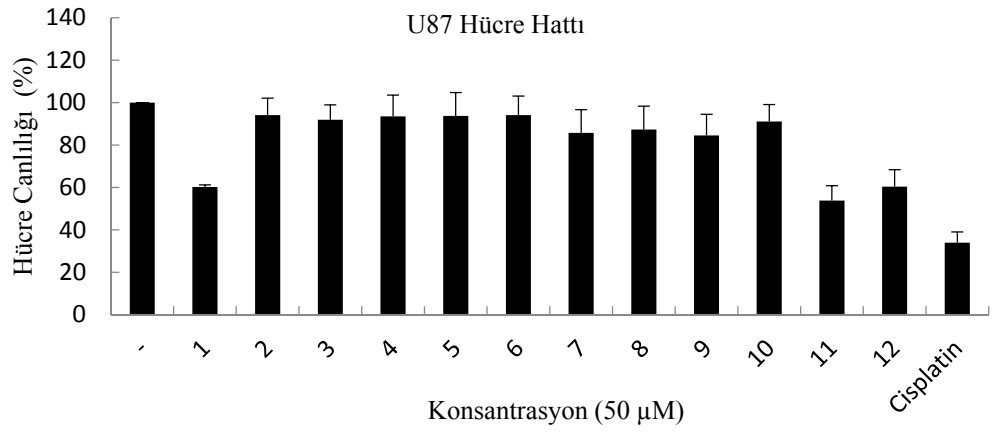
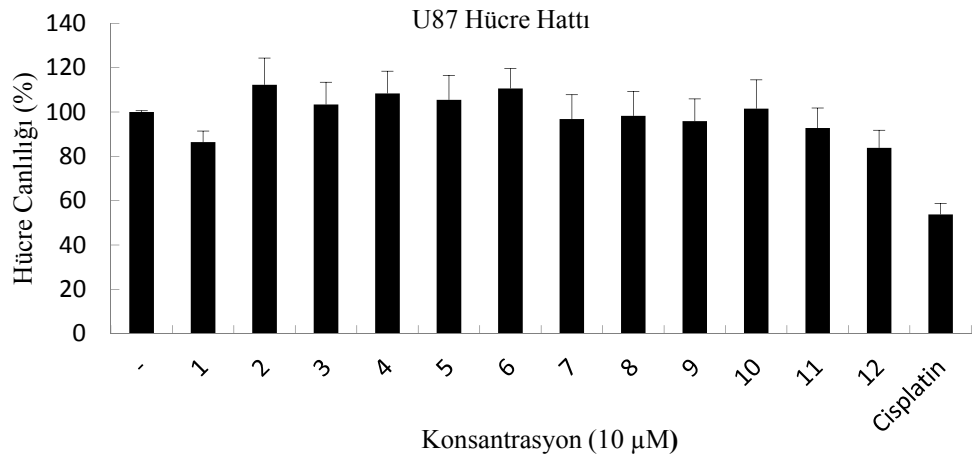
sırasıyla 62.1  $\mu\text{M}$  ve 70.1  $\mu\text{M}$   $\text{IC}_{50}$  değerleriyle **12** nolu bileşik izlemektedir. Bununla birlikte, bu bileşikler U87 hücre dizisine karşı kullanılan konsantrasyonlarda belirgin bir sitotoksite göstermemiştir.

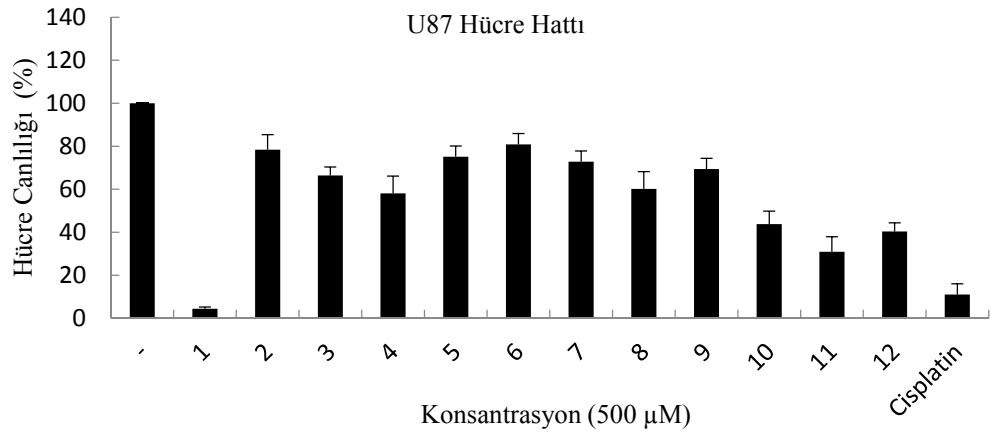
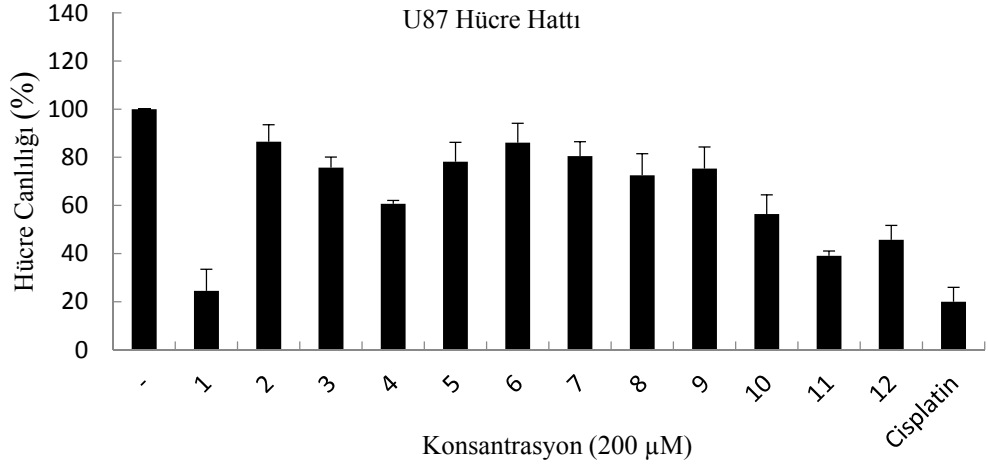
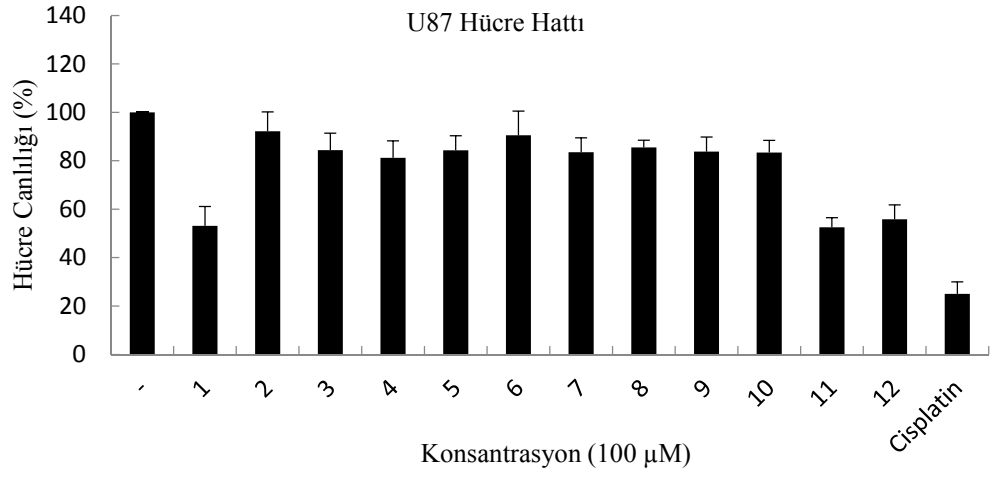
(a)



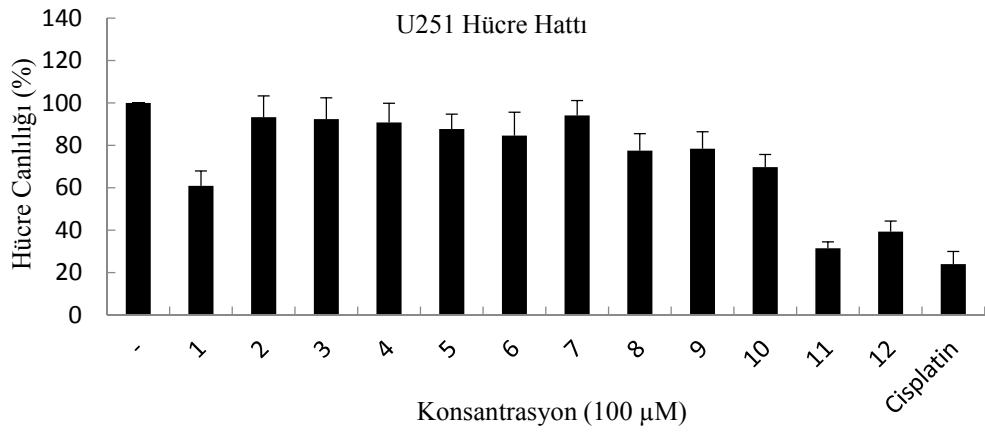
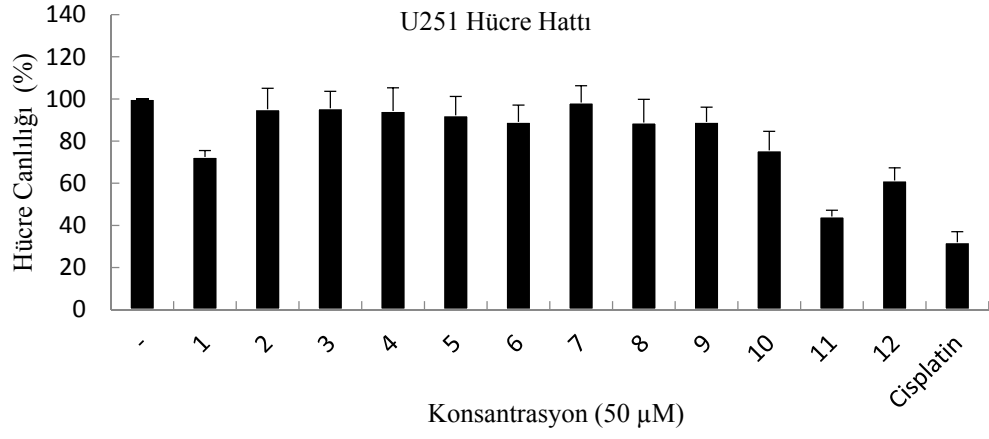
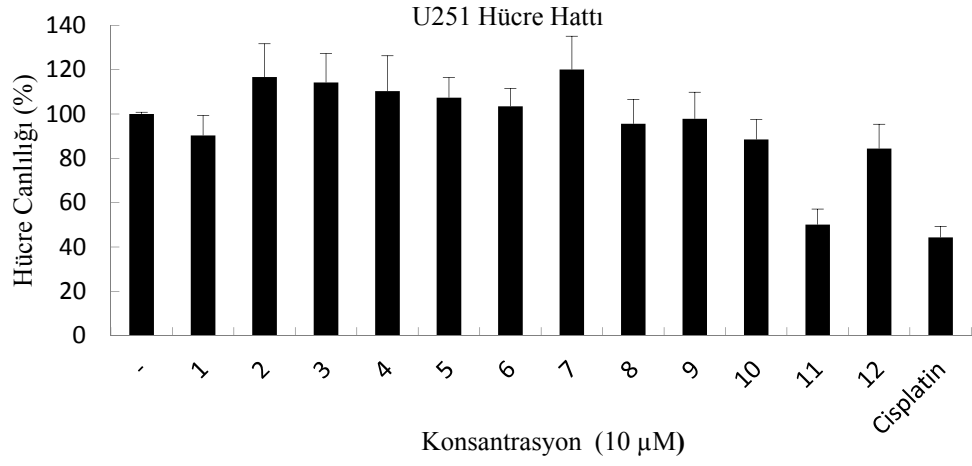


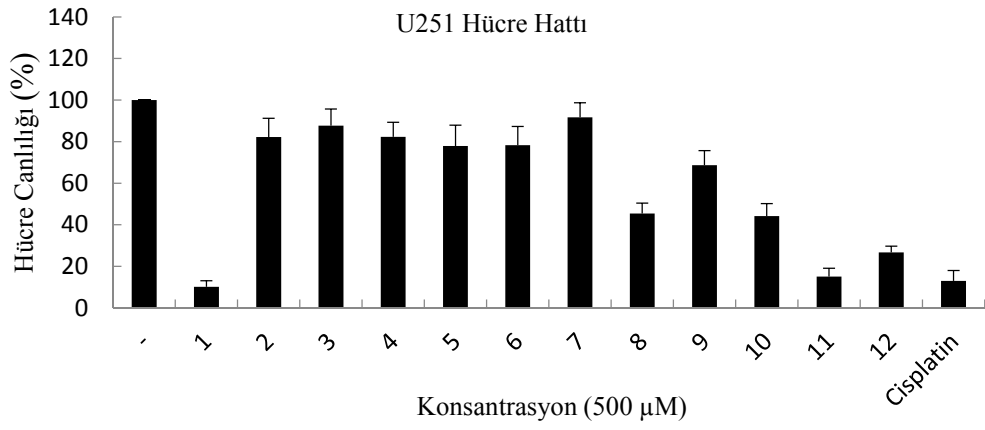
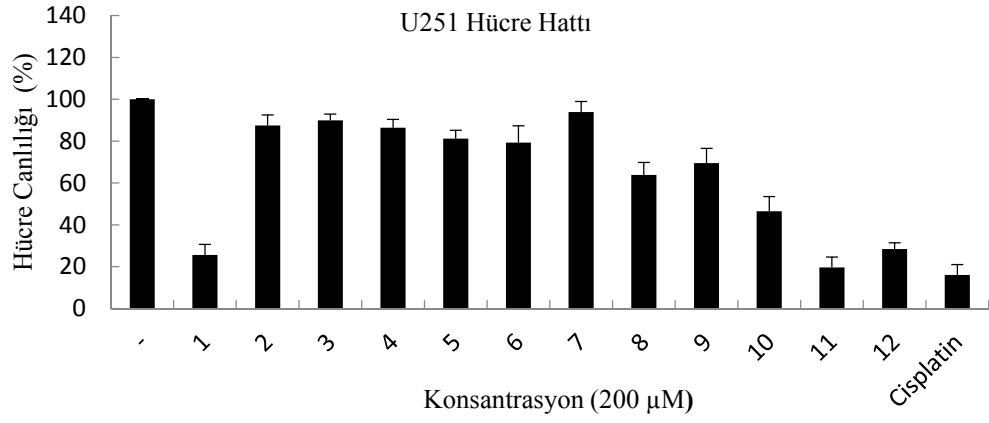
(b)





(c)



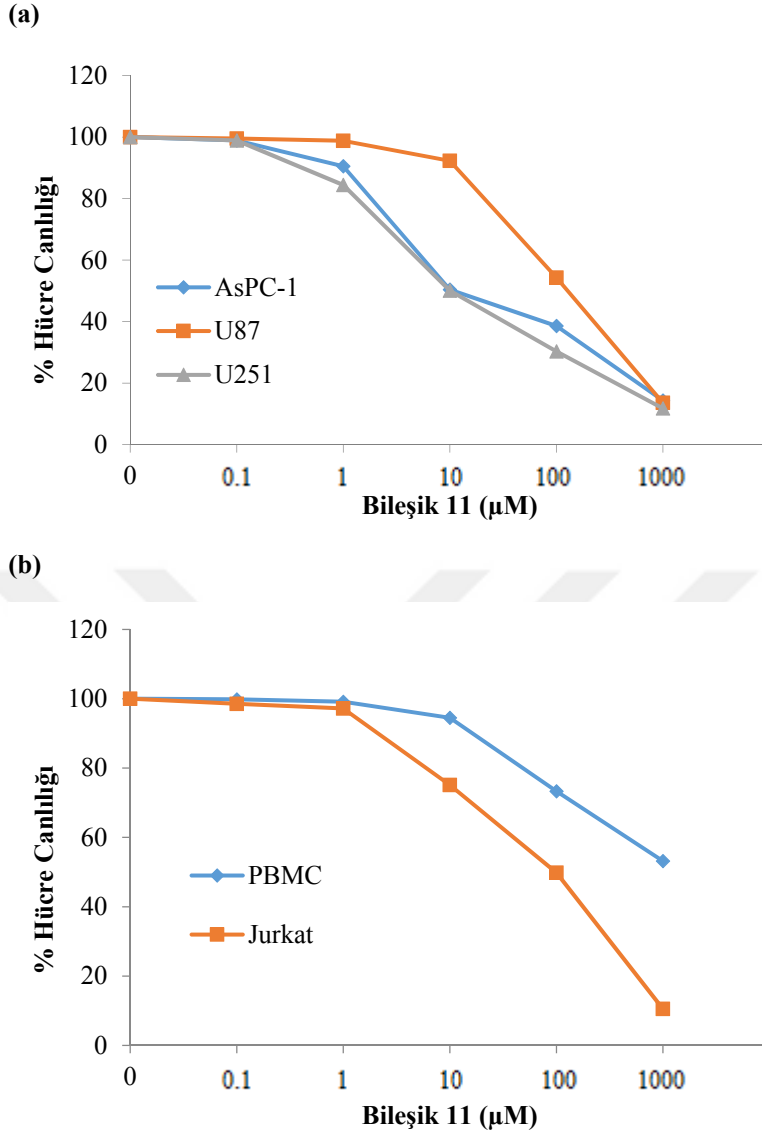


Şekil 107. Sonuç Bileşiklerinin ve Cisplatinin (a) AsPC-1, (b) U87 ve (c) U251 Hücrelerine karşı Farklı Konsantrasyonlarda Antikanser Etkileri

**Çizelge 2. Sonuç Bileşiklerinin AsPC-1, U87 ve U251 Hücre Dizilerine Karşı Sitotoksik Etkileri**

Bileşik	IC <sub>50</sub> (µM)		
	AsPC1 Hücre Dizisi	U87 Hücre Dizisi	U251 Hücre Dizisi
1	166.7 ± 10.6	112.2 ± 8.8	126.9 ± 15.6
2	>500	>500	>500
3	>500	>500	>500
4	65.0 ± 5.4	>500	>500
5	215.7 ± 29.7	>500	>500
6	199.3 ± 32.8	>500	>500
7	236.2 ± 36.4	>500	>500
8	139.3 ± 26.8	>500	393.1 ± 60.4
9	108.1 ± 30.1	>500	>500
10	110.5±20.4	250.6 ± 30.4	166.6 ± 25.1
11	16.8 ± 2.1	127.4 ± 12.8	11.9 ± 1.1
12	62.1 ± 7.8	159.2 ± 20.7	70.1 ± 8.8
<b>Cisplatin</b>	22.5 ± 2.0	14.8 ± 1.4	4.9 ± 1.0

Test edilen 2-pirazolin türevi bileşikler arasından **11** nolu bileşik, en umut vaat eden antikanser ajan olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu bileşiğin konsantrasyon değerleri (0.1 µM-1000 µM), AsPC-1, U87 ve U251 hücre dizilerine karşı çalışılmıştır (**Şekil 107a**). AsPC-1 ve U251 hücre dizilerinin yükselen oran eğrileri, **11** nolu bileşiğin bifazik mekanizmasını belirtmektedir. Bununla beraber; **11** nolu bileşiğin PBMC (IC<sub>50</sub> = ~1000 µM) ve Jurkat insan lösemik T hücrelerine (IC<sub>50</sub>= 90 µM) karşı aktivitesi, **Şekil 107b**'de gösterildiği gibi kan hücrelerindeki belirgin tümör selektivitesini (10 kattan fazla) işaret etmektedir. Bu sonuç, **11** nolu bileşiğin yapısındaki 5-(4-metilfenil)-1,3,4-oksadiazol grubunun antikanser etki için önemini vurgulamaktadır.

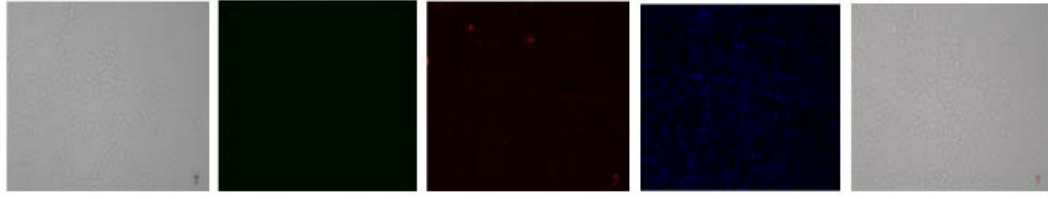


**Şekil 107. 11 Nolu Bileşiğin (a) AsPC-1, U87, U251 Hücre Dizilerindeki ve (b) PBMC, Jurkat Hücre Dizilerindeki Hücre Canlılığı üzerine Etkileri**

MTT testi sonuçlarına göre; en etkili antikanser ajan olan **11** nolu bileşik, U251 hücrelerindeki apoptozun ve nekrozun, annexin V/etidyum homodimer III boyama yöntemi aracılığı ile belirlenmesi için seçilmiştir. U251 hücreleri, **11** nolu bileşik veya cisplatin ile IC<sub>50</sub> konsantrasyonlarında inkübe edilmiştir. U251 hücreleri boyanmıştır ve bu boyanma floresan mikroskopu ile gözlenmiştir (**Şekil 108**). Eğer hücreler, annexin V ile yeşil renk alırsa ve etidyum homodimer III ile kırmızı renk almazsa, hücreler apoptotik olarak değerlendirilir. Diğer taraftan; tamamen ters sonuçlar nekrozu işaret etmektedir. **11** Nolu bileşiğin, apoptotik ve nekrotik etkileri cisplatinin etkileri ile karşılaştırılmıştır. Tersine, **11** nolu bileşik 24 saat muamele edilmiş U251 hücreleri geç dönem apoptotik veya nekrotik etkiler göstermiştir (neredeyse bütün hücreler sarı renk almıştır). Bu nedenle, **11** nolu bileşiğin apoptotik/nekrotik etkileri U251 hücre dizisine karşı erken zamanda (3 saat), IC<sub>50</sub> (11.9 µM) ve düşük (1.5 µM) konsantrasyonlarında test edilmiştir. **11** nolu bileşik yüksek konsantrasyonlarda nekrozu indüklerken (**Şekil 109d**), düşük konsantrasyonlarda apoptozu indüklemektedir (**Şekil 108e**).



**(a) Kontrol (24 saat)**



- Annexin V Etidyum homodimer III Hoechst33342 Çakışma

**(b) Cisplatin (4.9  $\mu$ M – 24 saat)**



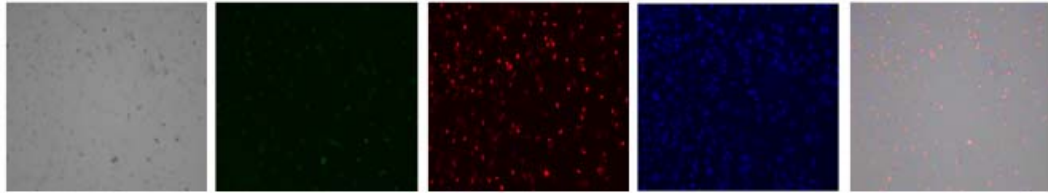
- Annexin V Etidyum homodimer III Hoechst33342 Çakışma

**(c) Kontrol (3 saat)**



- Annexin V Etidyum homodimer III Hoechst33342 Çakışma

**(d) Bileşik 11 (11.9  $\mu$ M – 3 saat)**



- Annexin V Etidyum homodimer III Hoechst33342 Çakışma

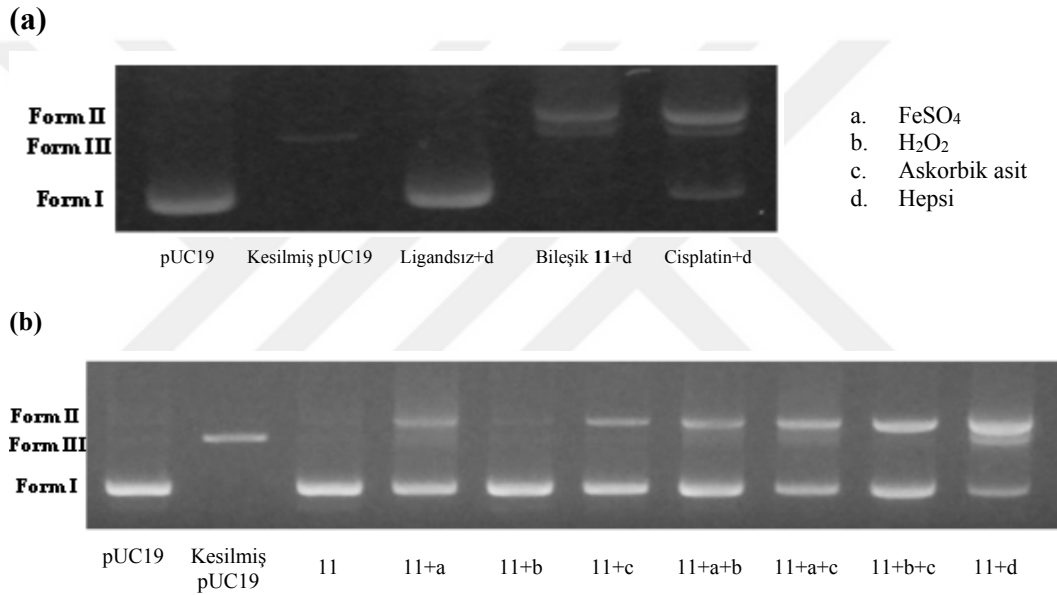
**(e) Bileşik 11 (1.5  $\mu$ M – 3 saat)**



- Annexin V Etidyum homodimer III Hoechst33342 Çakışma

**Şekil 108. U251 Hücrelerinin (a) 24 saat Kontrol; (b) Cisplatin (4.9  $\mu$ M); (c) 3 saat Kontrol; (d) 11 nolu Bileşik (11.9  $\mu$ M); (e) 11 nolu Bileşik (1.5  $\mu$ M) IC<sub>50</sub> Konsantrasyonlardaki Hüresel ve Nükleer Morfolojik Değişiklikleri**

**11** Nolu bileşiğin ve cisplatinin DNA kırılma aktiviteleri, su ve Tris/borik asit tampon içerisinde demir kompleksi varlığında ve yokluğunda, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve askorbik asit aktivatörleri ile süpersarım pUC19 DNA kullanılarak IC<sub>50</sub> konsantrasyonlarında çalışılmıştır (**Şekil 109**). Reaksiyon karışımı 37 °C, 1.5 saat inkübe edilmiştir ve daha sonra agaroz jel elektroforezi 100 V, 40 dakika uygulanmıştır. DNA, UV aydınlatıcısı altında interkalar etidyum bromürün floransının fotoğraflanması ile görselleştirilmiştir. **11** Nolu bileşik kullanılarak FeSO<sub>4</sub>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve askorbik asit varlığında veya yokluğunda yapılan kontrol deneyleri, demir (II) kompleks sistemi varlığında DNA kırılma etkisinin bariz bir şekilde arttığını göstermektedir (**Şekil 109b**). Böylece DNA kırılmasının oksijen aktivasyonu nedeniyle olduğu düşünülmektedir. **11** nolu bileşiğin DNA kırılma etkisi cisplatinden fazladır. **11** Nolu bileşik, pUC 19 DNA yapısını parçalara ayırmıştır. Bu sonuç, DNA kırılması ve hücre ölümü arasındaki ilişkiyi belirtmektedir.



**Şekil 109. 11 Nolu Bileşiğin ve Cisplatinin Fe(II) Komplekslerinin (a) Demir (II) Kompleks Varlığında DNA Kırılma Kapasitesi ve (b) 11 Nolu Bileşik Kullanılarak FeSO<sub>4</sub>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve Askorbik asit Varlığında ve Yokluğunda Yapılan Kontrol Deneyleri**

## SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu tez çalışması kapsamında, 2-pirazolin halkasının bir numaralı konumunda, asetil grubuna bağlı süstitüe heteroaril tiyol taşıyan on iki adet yeni 1-[(aril)tiyoasetil]-3-(2-tiyenil)-5-(4-klorofenil)-2-pirazolin türevi bileşiğin sentezi gerçekleştirilmiştir. Sentezi gerçekleştirilen bu bileşiklerin, saflıkları İTK ile kontrol edilmiştir. Bu bileşiklerin kimyasal yapıları; elementel analiz, IR, <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR, HSQC ve kütle spektroskopisi teknikleri kullanılarak aydınlatılmıştır.

Sentezlenen bileşiklerin AsPC-1 insan pankreatik adenokarsinoma, U87 ve U251 insan glioblastoma hücre dizilerindeki antiproliferatif etkileri MTT yöntemi kullanılarak araştırılmıştır. Bu bileşikler arasında, **11** nolu bileşik AsPC-1 ve U251 kanser hücrelerine karşı en etkili antikanser ajan olarak belirlenmiştir. **11** nolu bileşiğin kan hücreleri (normal PBMC ve Jurkat T hücreli lösemi) üzerindeki tümör selektivitesi de incelenmiş ve belirgin tümör selektivitesi gösterdiği tespit edilmiştir.

En etkili ve seçici bileşik olarak bulunan **11** nolu bileşik, U251 hücrelerine karşı apoptotik/nekrotik etkilerinin belirlenmesi ve ayrıca DNA kırılma analizleri için seçilmiştir. **11** Nolu bileşik ile muamele edilen U251 hücreleri, düşük konsantrasyonlarda (1.5 µM) apoptoz göstermiştir. İlginç bir şekilde, bu bileşiğin DNA kırılma etkisi cisplatinden daha belirgin bulunmuştur. Bu sonuç, DNA kırılması ve hücre ölümü arasındaki ilişkiyi işaret etmektedir. Tüm bu sonuçlar dikkate alındığında, **11** nolu bileşiğin daha ileri testlere tabi tutulması ve **11** nolu bileşiğin farklı hücre dizilerine karşı da antikanser aktivitesinin araştırılması yararlı olabilir.

Sentezi gerçekleştirilen 1-[(heteroaril)tiyoasetil]-3-(2-tiyenil)-5-(4-klorofenil)-2-pirazolin türevleri arasında, heteroaril grubu olarak oksadiazol parçacığı taşıyan bileşiklerin daha etkin antikanser aktivite gösterdikleri tespit edilmiştir. Ayrıca en etkin türevler olarak tespit edilen **11**, **12** ve **10** nolu bileşiklerin ortak özelliklerinin; yapılarında oksadiazol halkası taşımaları ve oksadiazol halkasının 5 nolu konumuna bağlı fenil halkasının *para* konumunda klor, metil, metoksi gruplarının olmasıdır. Daha sonra yapılacak çalışmalarda, *para* konumunda farklı süstitüentler taşıyan türevlerin sentezi gerçekleştirilip bu türevlerin antikanser etkileri araştırılabilir.

## KAYNAKLAR

Abdel-Aziz, M., Gamal-Eldeen, A.M., Synthesis and screening of anticancer, antioxidant, and antiinflammatory activities of novel galloyl pyrazoline derivatives, *Pharm. Bio.*, 47(9), 854-863 (2009).

Abdel-Aziz, M., Aly, O.M., Khan, S.S., Mukherjee, K., Bane, S., Synthesis, Cytotoxic properties and Tubulin Polymerization Inhibitory Activity of Novel 2-Pyrazoline Derivatives, *Arch. Pharm. Chem. Life Sci.*, 345, 535-548 (2012).

Abdel-Halim, M., Keeton, A.B., Gurpinar, E., Gary, B.D., Vagel, S.M., Engel, M., Piazza, G.A., Boeckler, F.M., Hatmann, R.W., Abadi, A.H., Trisubstituted and tetrasubstituted pyrazolines as a novel class of cell-growth inhibitors in tumor cells with wild type p53, *Bioorg. Med. Chem.*, 21(23), 7343-7356 (2013).

Abdulla, M.M., Amr, A.E.E., Al-Omar, M.A., Hussain, A.A., Shalaby, A.F.A., Synthesis and pharmacological activities of some novel 5-chloro-*N*-(4-(1,5-(disubstituted)-4,5-dihydro-1*H*-pyrazol-3-yl)phenyl)-2-methoxybenzamide derivatives, *Med. Chem. Res.*, 23, 2113-2121 (2014).

Al-Abdullah, E.S., Synthesis and Anticancer Activity of Some Novel Tetralin-6-yl-pyrazoline, 2-Thioxopyrimidine, 2-Oxopyridine, 2-Thioxo-pyridine and 2-Iminopyridine Derivatives, *Molecules*, 16, 3410-3419 (2011).

Alex, J.M., Kumar, R., 4,5-Dihydro-1*H*-pyrazole: An indispensable scaffold, *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.*, 29, 427-442 (2014).

Altıntop, M.D, Özdemir, A., Kaplancikli, Z.A., Turan-Zitouni, G., Temel, H.E, Akalin-Ciftci, G., Synthesis and Biological Evaluation of Some Pyrazoline Derivatives Bearing a Dithiocarbamate Moiety as New Cholinesterase Inhibitors, *Arch. Pharm. Chem. Life Sci.*, 346, 189-199 (2013).

Altıntop, M.D., Mohsen, U.A., Karaca, H., Cantürk, Z., Özdemir, A., Synthesis and Evaluation of Bis-pyrazoline Derivatives as Potential Antimicrobial Agents, *Lett. Drug Des. Discov.*, 11(10), 1199-1203 (2014).

Altıntop, M.D., Özdemir, A., Turan-Zitouni, G., Ilgın, S., Atlı, Ö., Demirel, R., Kaplancıklı, Z.A., A Novel Series of Thiazolyl-Pyrazoline Derivatives: Synthesis and Evaluation of Antifungal Activity, Cytotoxicity and Genotoxicity, *Eur. J. Med. Chem.* 92, 342-352 (2015).

Amin, K.M., Eissa, A.A.M., Abou-Seri, S.M., Awadallah, F.M., Hassan, G.S., Synthesis and biological evaluation of novel coumarine-pyrazoline hybrids endowed with phenylsulfonyl moiety as antitumor agents, *Eur. J. Med. Chem.*, 60, 187-198 (2013).

Amin, K.M., Abou-Seri, S.M., Awadallah, F.M., Eissa, A.A.M., Hassan, G.S., Abdulla, M.M., Synthesis and anticancer activity of some 8-substituted-7-methoxy-2*H*-chromen-2-one derivatives toward hepatocellular carcinoma HepG2 cells, *Eur. J. Med. Chem.*, 90, 221-231 (2015).

Amir, M., Kumar, H., Khan, S.A., Synthesis and pharmacological evaluation of pyrazoline derivatives as new anti-inflammatory and analgesic agents, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 18(3), 918-922 (2008).

Asbury, R.F., Wilson, J., Blessing, J.A., Buchsbaum, H.J., DiSaia, P.J., Aminothiadiazole (NSC 4728) in patients with advanced ovarian carcinoma. A phase II study of the Gynecologic Oncology Group, *Am. J. Clin. Oncol.*, 9(4), 334-336 (1986).

Asbury, R.F., Blessing, J.A., Mortel, R., Homesley, H.D., Malfetano, J., Aminothiadiazole (NSC 4728) in patients with advanced cervical carcinoma. A phase II study of the Gynecologic Oncology Group, *Am. J. Clin. Oncol.*, 10(4), 299-301 (1987).

Asbury, R.F., Kramar, A., Haller, D.G., Aminothiadiazole (NSC4728) in patients with advanced colon cancer. A phase II study of the Eastern Cooperative Oncology Group, *Am. J. Clin. Oncol.*, 10(5), 380-382 (1987).

Asbury, R.F., Blessing, J.A., DiSaia, P.J., Malfetano, J., Aminothiadiazole (NSC 4728) in patients with advanced nonsquamous carcinoma of the cervix. A phase II study of the Gynecologic Oncology Group, *Am. J. Clin. Oncol.*, 12(5), 375-377 (1989).

Asbury, R.F., Blessing, J.A., McGuire, W.P., Hanjani, P., Mortel, R., Aminothiadiazole (NSC 4728) in patients with advanced carcinoma of the endometrium. A phase II study of the Gynecologic Oncology group, *Am. J. Clin. Oncol.*, 13(1), 39-41 (1990).

Asbury, R., Blessing, J.A., Smith, D.M., Carson, L.F., Aminothiadiazole in the treatment of advanced leiomyosarcoma of the uterine corpus. A Gynecologic Oncology Group study, *Am. J. Clin. Oncol.*, 18(5), 397-399 (1995).

Asbury, R., Blessing, J.A., Moore, D., A phase II trial of aminothiadiazole in patients with mixed mesodermal tumors of the uterine corpus: a Gynecologic Oncology Group study, *Am. J. Clin. Oncol.*, 19(4), 400-402 (1996).

Auwers, K.V., Cauer, E., Über  $\Delta^1$ - und  $\Delta^2$ -Pyrazoline, *Justus Liebigs Annalen der Chemie*, 470 (1), 284-312 (1929).

Azarifar, D., Shaebanzadeh, M., Synthesis and characterization of new 3,5-dinaphthyl substituted 2-pyrazolines and study of their antimicrobial activity, *Molecules*, 7, 885-895 (2002).

Bagheri, M., Shekarchi, M., Jorjani, M., Ghahremani, M.H., Vosooghi, M., Shafiee, A., Synthesis and antihypertensive activity of 1-(2-thiazolyl)-3,5-disubstituted-2-pyrazolines, *Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem.*, 337(1), 25-34 (2004).

Balcı, M., Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi, *Metu Press*, I. Baskı, Ankara, 191-194, 2000.

Bai, X., Shi, W.Q., Chen, H.F., Zhang, P., Li, Y., Yin, S.W., Synthesis and Antitumor Activity of 1-Acetyl-3-(4-Phenyl)-4,5-Dihydro-2-Pyrazoline-5-Phenylursolate and 4-Chalcone Ursolate Derivatives, *Chem. Nat. Comp.*, 48(1), 60-65 (2012).

Bajaj, S., Asati, V., Singh, J., Roy, P.P., 1,3,4-Oxadiazoles: An emerging scaffold to target growth factors, enzymes and kinases as anticancer agents, *Eur. J. Med. Chem.*, 97, 124-141 (2015).

Banday, A.H., Mir, B.P., Lone, I.H., Suri, K.A., Kumar, H.M.S., Studies on novel D-ring substituted steroidal pyrazolines as potential anticancer agents, *Steroids*, 75(12), 805-809 (2010).

Bandgar, B.P., Adsul, L.K., Chavan, H.V., Jalde, S.S., Shringare, S.N., Shaikh, R., Meshram, R.J., Gacche, R.N., Masand, V., Synthesis, biological evaluation, and docking studies of 3-(substituted)-aryl-5-(9-methyl-3-carbazole)-1H-2-pyrazolines as potent antiinflammatory and antioxidant agents, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 22(18), 5839-5844 (2012).

Bano, S., Javed, K., Ahmad, S., Rathish, I.G., Singh, S., Alam M.S., Synthesis and biological evaluation of some new 2-pyrazolines bearing benzene sulfonamide moiety as potential anti-inflammatory and anti-cancer agents, *Eur. J. Med. Chem.*, 46, 5763-5768 (2011).

Bansal, E., Srivastava, V.K., Kumar, A., Synthesis and anti-inflammatory activity of 1-acetyl-5-(substituearyl)-3-(beta-aminonaphthyl)-2-pyrazolines and beta-(substituted aminoethyl)amidonaphthalenes, *Eur. J. Med. Chem.*, 36(1), 81-92 (2001).

Bashir, R., Ovais, S., Yaseen, S., Hamid, H., Alam, M.S., Samim, M., Singh, S., Javed, K., Synthesis of some new 1,3,5-trisubstituted pyrazolines bearing benzene sulfonamide as anticancer and anti-inflammatory agents, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 21, 4301-4305 (2011).

Bauer, U., Egner, B.J., Nilsson, I., Berghult, M., Parallel solution phase synthesis of N-substituted 2-pyrazoline libraries, *Tetrahedron Lett.*, 41, 2713-2717 (2000).

Beyhan, N., Koçyiğit-Kaymakcioğlu, B., Gümrü, S., Arıcıoğlu, F., Synthesis and anticonvulsant activity of some 2-pyrazolines derived from chalcones, *Arabian J. Chem.*, doi:10.1016/j.arabjc.2013.07.037 (2013).

Bhat, B.A., Dhar, K.L., Puri, S.C., Saxena, A.K., Shanmugave, M., Qazi, G.N., Synthesis and Biological Evaluation of Chalcones and Their Derived Pyrazoles as Potential Cytotoxic Agents, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 15, 3177-3180 (2005).

Bilgin, A.A., Palaska, E., Sunal, R., Gümüsel, B., Some 1,3,5-triphenyl-2-pyrazolines with antidepressant activities, *Pharmazie*, 49(1), 67-69 (1994).

Boersma, A., Nooter, K., Oostrum, R., Stoter, G., Quantification of apoptotic cells with fluorescein isothiocyanate-labeled annexin V in Chinese hamster ovary cell cultures treated with cisplatin, *Cytometry*, 24, 123-130 (1996).

Buttkus, H., Bose, R.J., Contribution to the Cyclization of Hydrazones of  $\alpha,\beta$ -Unsaturated Carbonyl Compounds. The Biscarbamyl- and Bisthiocarbamylhydrazones of Malondialdehyde, *J. Org. Chem.*, 35 (25), 3895-3898 (1971).

Carter, B.Z., Mak, D.H., Woessner, R., Gross, S., Schober, W.D., Estrov, Z., Kantarjian, H., Andreeff, M., Inhibition of KSP by ARRY-520 induces cell cycle block and cell death via the mitochondrial pathway in AML cells, *Leukemia*, 23, 1755-1762 (2009).

- Chambers, W.L., Willard, M.L., The Formation of 1-(2,4-Dinitrophenyl)-Substituted Pyrazolines from  $\alpha,\beta$ -Unsaturated 2,4-Dinitrophenylhydrazones, *J. Am. Chem. Soc.*, 82, 3373-3375 (1960).
- Chen, Y., Lam, Y., Solid-Phase Synthesis of Pyrazolines and Isoxazolines with Sodium Benzenesulfinate as Traceless Linker, *Org. Lett.*, 5(7), 1067-1069 (2003).
- Chimenti, F., Bolasco, A., Manna, F., Secci, D., Chimenti, P., Befani, O., Turini, P., Giovannini, V., Mondovì, B., Cirilli, R., La Torre, F., Synthesis and selective inhibitory activity of 1-acetyl-3,5-diphenyl-4,5-dihydro-(1H)-pyrazole derivatives against monoamine oxidase, *J. Med. Chem.*, 47(8), 2071-2074 (2004).
- Chimenti, F., Maccioni, E., Secci, D., Bolasco, A., Chimenti, P., Granese, A., Befani, O., Turini, P., Alcaro, S., Ortuso, F., Cirilli, R., La Torre, F., Cardia, M.C., Distinto, S., Synthesis, molecular modeling studies, and selective inhibitory activity against monoamine oxidase of 1-thiocarbamoyl-3,5-diaryl-4,5-dihydro-(1H)-pyrazole derivatives, *J. Med. Chem.*, 48(23), 7113-7122 (2005).
- Chimenti, F., Bolasco, A., Manna, F., Secci, D., Chimenti, P., Granese, A., Befani, O., Turini, P., Cirilli, R., La Torre, F., Alcaro, S., Ortuso, F., Langer, T., Synthesis, Biological Evaluation and 3D-QSAR of 1,3,5-Trisubstituted-4,5-Dihydro-(1H)-Pyrazole Derivatives as Potent and Highly Selective Monoamine Oxidase A Inhibitors, *Curr. Med. Chem.*, 13(12), 1411-1428 (2006).
- Chimenti, F., Fioravanti, R., Bolasco, A., Manna, F., Chimenti, P., Secci, D., Rossi, F., Turini, P., Ortuso, F., Alcaro, S., Cardia, M.C., Synthesis, molecular modeling studies and selective inhibitory activity against MAO of *N*1-propanoyl-3,5-diphenyl-4,5-dihydro-(1H)-pyrazole derivatives, *Eur. J. Med. Chem.*, 43(10), 2262-2267 (2008).
- Congiu, C., Onnis, V., Vesce, L., Castorina, M., Pisano, C., Synthesis and in vitro antitumor activity of new 4,5-dihydropyrazole derivatives, *Bioorg. Med. Chem.*, 18(17), 6238-6248 (2010).
- Curtius, T., Wirsing, F., Derivate des diamids mit geschlossener atomgruppierung II. Abhandlung ueber das pyrazolin und einige seiner derivate, *Journal für Praktische Chemie*, 50 (1), 531-554 (1894).
- De Oliveira, C.S., Lira, B.F., Barbosa-Filho, J.M., Lorenzo, J.G.F., De Athayde-Filho, P.F., Synthetic Approaches and Pharmacological Activity of 1,3,4-Oxadiazoles: A Review of the Literature from 2000–2012, *Molecules*, 17, 10192-10231 (2012).
- El-Rayyes, N.R., Hovakeemian, G.H., Hmoud, H.S., Heterocycles. 3. Synthesis and Spectral Data of Some 2-Pyrazolines, *J. Chem. Eng. Data.*, 29, 225-229 (1984).
- Faidallah, H.M., Khan, K.A., Rostom, S.A., Asiri, A.M., Synthesis and *in vitro* antitumor and antimicrobial activity of some 2,3,-diaryl-7-methyl-4,5,6,7-tetrahydroindazole and 3,3a,4,5,6,7-hexahydroindazole derivatives, *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* 28(3), 495-508 (2013).
- Ferres, H., Jackson, W.R., The Kinetics and Stereochemistry of Pyrazoline-ring Formation. Evidence for Stereoselective Enamine-Imine Tautomerism, *Chem. Commun.*, 261 (1969).

Fischer, E., Knoevenagel, O., Ueber die verbindungen des phenylhydrazins mit acrolein, mesityloxyd und allylbromid, Justus Liebigs Annalen der Chemie, 239(2), 194-206 (1887).

Frigola, J., Colombo, A., Pares, J., Martinez, L., Sagarra, R., Roser, R., Synthesis structure and inhibitory effects on cyclooxygenase, lipoxygenase, thromboxane synthetase and platelet aggregation of 3-amino-4,5-dihydro-1H-pyrazole derivatives, Eur. J. Med. Chem., 24(4), 435-445 (1989).

George, R.F., Fouad, M.A., Gomaa, I.E.O., Synthesis and cytotoxic activities of some pyrazoline derivatives bearing phenyl pyridazine core as new apoptosis inducers, Eur. J. Med. Chem., 112, 48-59 (2016).

Gomha, S., Abdallah, M., El-Aziz, M., Serag, N., Ecofriendly one-pot synthesis and antiviral evaluation of novel pyrazolyl pyrazolines of medicinal interest, Turk. J. Chem., 40, 484-498 (2016).

Gök, Ş., Demet, M.M., Özdemir, A., Turan-Zitouni, G., Evaluation of antidepressant-like effect of 2-pyrazoline derivatives, Med. Chem. Res., 19(1), 94-101 (2010).

Gökhan, N., Yeşilada, A., Uçar, G., Erol, K., Bilgin, A.A., 1-N-Substituted Thiocarbamoyl-3-phenyl-5-thienyl-2-pyrazolines, Synthesis and Evaluation as MAO Inhibitors, Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem., 336, 362-371 (2003).

Gökhan-Kelekçi, N., Şimşek, Ö.Ö., Ercan, A., Yelekçi, K., Şahin, Z.S., Işık, Ş., Uçar, G., Bilgin, A.A., Synthesis and molecular modeling of some novel hexahydroindazole derivatives as potent monoamine oxidase inhibitors. Bioorg. Med. Chem., 17(18), 6761-6772 (2009).

Gomtsyan, A., Koenig, R.J., Lee, C.-H., Novel Sequential Process from *N*-Methoxyamides and Vinyl Grignard Reagents: New Synthesis of  $\beta$ -Aminoketones, J. Org. Chem., 66, 3613-3616 (2001).

Gupta, R.R., Kumar, M., Gupta, V., 1,2-Azoles, Heterocyclic Chemistry, Volume II, Five-Membered Heterocycles, Jaipur, India, 435 (1998).

Haider, S., Alam, M.S., Hamid, H., 1,3,4-Thiadiazoles: A potent multi targeted pharmacological scaffold, Eur. J. Med. Chem., 92, 156-177 (2015).

Havrylyuk, D., Zimenkovsky, B., Vasylenko, O., Zaprutko, L., Gzella, A., Lesyk, R., Synthesis of novel thiazolone-based compounds containing pyrazoline moiety and evaluation of their anticancer activity, Eur. J. Med. Chem., 44(4), 1396-1404 (2009).

Havrylyuk, D., Kovach, N., Zimenkovsky, B., Vasylenko, O., Lesyk, R., Synthesis and Anticancer Activity of Isatin-Based Pyrazolines and Thiazolidines Conjugates, Arch. Pharm. Chem. Life Sci., 344, 514-522 (2011).

Ho, Y.W., Synthesis of New 2[(Substituted-pyrazoline-1-yl)carbonyl]-thieno[2,3-b]pyridine Derivatives, J. Chin. Chem. Soc., 46, 91-96 (1999).

Holla, B.S., Akberali, P.M., Shivananda, M.K., Studies on Arylfuran Derivatives Part X. Synthesis and Antibacterial Properties of Arylfuryl- $\Delta^2$ -Pyrazolines, Il Farmaco 55, 256-263 (2000).



Insuasty, B., Tigreros, A., Orozco, F., Quiroga, J., Abonía, R., Nogueros, M., Sanchez, A., Cobo, J., Synthesis of novel pyrazolic analogues of chalcones and their 3-aryl-4-(3-aryl-4,5-dihydro-1*H*-pyrazol-5-yl)-1-phenyl-1*H*-pyrazole derivatives as potential antitumor agents, *Bioorg. Med. Chem.*, 18(14), 4965-4974 (2010).

Insuasty, B., Garcia, A., Quiroga, J., Abonía, R., Ortiz, A., Nogueras, M., Cobo, J., Efficient microwave assisted synthesis and antitumor activity of novel 4,4'-methylenebis[2-(3-aryl-4,5-dihydro-1*H*-pyrazol-5-yl)phenols], *Eur. J. Med. Chem.*, 46, 2436-2440 (2011).

Insuasty, B., Chamizo, L. Muñoz, J., Tigreros, A., Quiroga, J., Abonía, R., Nogueros, M., Cobo, J., Synthesis of 1-Substituted 3-Aryl-5-aryl(hetaryl)-2-pyrazolines and Study of Their Antitumor Activity, *Arch. Pharm. Chem. Life Sci.*, 345, 275-286 (2012).

Insuasty, B., Montoya, A., Becerra, D., Quiroga, J., Abonía, R., Robledo, S., Darío Vélez, I., Upegui, Y., Nogueras, M., Cobo, J., Synthesis of novel analogs of 2-pyrazoline obtained from [(7-chloroquinolin-4-yl)amino]chalcones and hydrazine as potential antitumor and antimalarial agents, *Eur. J. Med. Chem.*, 67, 252-262 (2013).

Ismaeil, Z.H., Soliman, F.M.A., Abd-El Monem, S.H., Synthesis, Antimicrobial and Antitumor Activity of Some 3,5-Diaryl and 1,3,5-Triaryl-2-pyrazolines Derivatives, *J. American. Sci.*, 7(10), 756-767 (2011).

Jarboe, T.L., *Pyrazolines and Pyrazolidines*; Wiley, R.H. (Ed): *The Chemistry of Heterocyclic Compounds, "Pyrazoles, Pyrazolines"*, John Wiley and Sons Inc., New York (1962).

Jagadish, P.C., Soni, N., Verma, A., Design, synthesis, and in vitro antioxidant activity of 1,3,5-trisubstituted-2-pyrazolines derivatives, *J. Chem.*, 2013, 1-6 (2013).

Johnson, M., Younglove, B., Lee, L., LeBlanc, R., Holt, Jr.H., Hills, P., Mackay, H., Brown, T., Mooberry, S.L., Lee, M., Design, synthesis and biological testing of pyrazoline derivatives of combretastatin-A4, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 17(21), 5897-5901 (2007).

Kabli, R.A., Khalaf, A.A., Zimaity, M.T., Khalil, A.M., Kaddah, A.M., Al-Rifaie, H.A., Synthesis of a new series of furyl and thienyl substituted pyrazolines starting with furyl and thienyl chalcones, *J. Indian Chem. Soc.*, 68(11), 47-51 (1991).

Kallay, F., Janzso, G., Koczor, I., The Reaction of Flavanone with Substituted Hydrazine, *Tetrahedron*, 23, 4317-4321 (1967).

Kaplancıklı, Z.A., Turan-Zitouni, G., Özdemir, A., Revial, G., Güven, K., Synthesis and antimicrobial activity of some thiazolyl-pyrazoline derivatives, *Phosphorus, Sulfur Silicon Relat. Elem.*, 182(4), 749-764 (2007).

Kaplancıklı, Z.A., Turan-Zitouni, G., Özdemir, A., Can, Ö.D., Chevallet, P., Synthesis and antinociceptive activities of some pyrazoline derivatives, *Eur. J. Med. Chem.*, 44(6), 2606-2610 (2009).

Kaplancıklı, Z.A., Özdemir, A., Turan-Zitouni, G., Altıntop, M.D., Can, Ö.D., New pyrazoline derivatives and their antidepressant activity, *Eur. J. Med. Chem.*, 45(9), 4383-4387 (2010).

Karabacak, M., Altıntop, M.D., Çiftçi, H.İ., Koga, R., Otsuka, M., Fujita, M., Özdemir, A., Synthesis and Evaluation of New Pyrazoline Derivatives as Potential Anticancer Agents, *Molecules*, 20(10), 19066-19084 (2015).

Karthikeyan, M.S., Holla, B.S., Kumari, N.S., Synthesis and antimicrobial studies on novel chloro-fluorine containing hydroxy pyrazolines, *Eur. J. Med. Chem.*, 42, 30-36 (2007).

Khalaf, A.A., Kabli, R.A., Zimaity, M.T., Khalil, A.M., Kaddah, A.M., Al-Rifaie, H.A., N-Derivatization of some 3-(2-furyl)- and 3-(2-thienyl)-5-aryl-2-pyrazolines, *Indian J. Chem., Sect B*, 32B (11), 1125-1129 (1993).

Khalil, N.A., Ahmed, E.M., El-Nassan, H.B., Synthesis, characterization and biological evaluation of certain 1,3-thiazolone derivatives bearing pyrazoline moiety as potential anti-breast cancer agents, *Med. Chem. Res.*, 22, 1021-1027 (2013).

Khan, I., Ibrar, A., Abbas, N., Oxadiazoles as Privileged Motifs for Promising Anticancer Leads: Recent Advances and Future Prospects, *Arch. Pharm. Chem. Life Sci.*, 347, 1-20 (2014).

Khan, K.A., Faidallah, H.M., 1-Substituted carbamoyl and thiocarbamoyl-4,5-dihydro-1*H*-pyrazoles as possible cytotoxic and antimicrobial agents, *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.*, 31(4), 619-627 (2016).

Khode, S., Msddi, V., Aragade, P., Palkar, M., Ronad, P.K., Mamledesai, S., Thippeswani, A.H.M., Satyanaryane, D., Synthesis and pharmacological evaluation of some novel series of 5-(substituted)aryl-3-(3-coumaryl)-1-phenyl-2-pyrazolines as anti-inflammatory and analgesic agents, *Eur. J. Med. Chem.*, 44, 1682-1688 (2009).

Knorr, L., Blank, A., Ueber die einwirkung des benzoylacetessigesters auf phenylhydrazin, *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*, 18(1), 311-317 (1885).

Kobrakov, K.I., Rybina, I.I., Kelarev, V.I., Korolev, V.K., Halogev Containing Pyridines. 8. Synthesis of 3,5-Dichloropyridines Containing Pyrazolyl and Pyrazolinyl Fragments, *Chem. Heterocyclic Comp.*, 39 (6), 749-755 (2003).

Kumar, S., Bawa, S., Drabu, S., Kumar, R., Gupta, H., Biological Activities of Pyrazoline Derivatives -A Recent Development, *Recent Patents Anti-Infect. Drug Discov.*, 4, 154-163 (2009).

Kumar, C.N.S.S.P., Parida, D.K., Santhoshi, A., Kota, A.K., Sridhar, B., Rao, V.J., Synthesis and biological evaluation of tetrazole containing compounds as possible anticancer agents, *Med. Chem. Commun.*, 2, 486-492 (2011).

Küçükgülzel, Ş.G., Çıkla-Süzgün, P., Recent advances bioactive 1,2,4-triazole-3-thiones, *Eur. J. Med. Chem.*, 97, 830-870 (2015).

Lee, M., Brockwat, O., Dandavati, A., Tzou, S., Sjöholm, R., Satom, V., westbrook, C., Mooberry, S.L., Zeller, M., Babu, B., Lee, M., A novel class of trans-

methylpyrazoline analogs of combretastatins: Synthesis and *in vitro* biological testing, *Eur. J. Med. Chem.*, 46, 3099-3104 (2011).

Lévai, A., Synthesis of pyrazolines by the reactions of  $\alpha,\beta$ -enones with diazomethane and hydrazines (Review), *Chemistry of Heterocyclic Compounds*, 33(6), 647-659 (1997).

Lévai, A., Synthesis of 2-pyrazolines by the reactions of  $\alpha,\beta$ -unsaturated aldehydes, ketones and esters with diazoalkanes, nitrile imines and hydrazines (Review), *J. Heterocyclic Chem.*, 39, 1-13 (2002).

Lóránd, T., Szabó, D., Földesi, A., Párkányi, L., Kálmaán, A., Neszmélyi, A., Synthesis and Stereochemistry of Substituted bi- and tricyclic 4,5-Dihydropyrazoles, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, 481-486 (1985).

Lu, Z.H., Gu, X.J., Shi, K.Z., Li, X., Chen, D.D., Li, C., Accessing anti-human lung tumor cell line (A549) potential of newer 3,5-disubstituted pyrazoline analogs, *Arabian J. Chem.*, doi:10.1016/j.arabjc.2014.11.002 (2014).

Lv, P.-C., Li, D.-D., Li, Q.-S., Lu, X., Xiao, Z.-P., Zhu, H.-L., Synthesis, molecular docking and evaluation of thiazolyl-pyrazoline derivatives as EGFR TK inhibitors and potential anticancer agents, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 21, 5374-5377 (2011).

Lyngso, L.O., Nielsen, J., Solid-Phase synthesis of 3-amino-2-pyrazolines, *Tetrahedron Lett.*, 39, 5845-5848 (1998).

Manna, F., Chimenti, F., Bolasco, A., Bizzarri, B., Befani, O., Pietrangeli, P., Mondovi, B., Turini, P., Inhibitory effect of 1,3,5-triphenyl-4,5-dihydro-(1H)-pyrazole derivatives on activity of amine oxidases, *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.*, 13(3), 207-216 (1998).

Manna, F., Chimenti, F., Fioravanti, R., Bolasco, A., Secci, D., Chimenti, P., Ferlini, C., Scambia, G., Synthesis of some pyrazole derivatives and preliminary investigation of their affinity binding to P-glycoprotein, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 15, 4632-4635 (2005).

Mamolo, M.G., Zampieri, D., Falagiani, V., Vio, L., Banfi, E., Synthesis and antimycobacterial activity of ( $\pm$ )-1-(5-aryl-3-pyridin-2-yl-4,5-dihydro-pyrazol-1-yl)-2-imidazol-1-yl-ethanone derivatives, *Il Farmaco*, 58(4), 315-322 (2003).

Marella, A., Ali, R., Alam, T., Saha, R., Tanwar, O., Akhter, M., Shaquiquzzaman, M., Alam, M.M., Pyrazolines: A biological review, *Mini-Rev. Med. Chem.*, 13, 921-931 (2013).

Martin, S., Reutelingsperger, C., McGahon, A., Rader, J., Vanschrie, R., Laface, D., Green, D., Early redistribution of plasma-membrane phosphatidylserine is a general feature of apoptosis regardless of the initiating stimulus-Inhibition by overexpression of bcl-2 and abl., *J. Exp. Med.*, 182, 1545-1556 (1995).

Matherly, L.H., Wilson, M.R., Hou, Z., The Major Facilitative Folate Transporters Solute Carrier 19A1 and Solute Carrier 46A1: Biology and Role in Antifolate Chemotherapy of Cancer, *Drug Metab. Dispos.*, 42, 632-649 (2014).

Mathur, G., Nain, S., Sharma, P.K., Cancer: An Overview. *Acad. J. Cancer Res.* 8(1), 1-9 (2015).

Michaelis, A., Schwabe, G., Ueber das 1-*p*-Brom-phenyl-3-methyl-5-chlor-pyrazol, Chem. Ber., 33, 2607-2614 (1900).

Monga, V., Goyal, K., Steindel, M., Malhotra, M., Rajani, D.P., Rajani, S.D., Synthesis and evaluation of new chalcones, derived pyrazoline and cyclohexenone derivatives as potent antimicrobial, antitubercular and antileishmanial agents, Med. Chem. Res., 23, 2019-2032 (2014).

Montoya, A., Quiroga, J., Abonia, R., Noguera, M., Cobo, J., Insuasty, B., Synthesis and *in Vitro* Antitumor Activity of a Novel Series of 2-Pyrazoline Derivatives Bearing the 4-Aryloxy-7-chloroquinoline Fragment, Molecules, 19, 18656-18675 (2014).

Moskovkina, T.V., Transformations of Mono And Bisphenyl Hydrazones of Fatty-aromatic 1,5-Diketones under Fischer Feaction Conditions, Chem. Heterocyclic Comp., 38 (10), 1190-1199 (2002).

Mossman, T., Rapid calorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxic assays. J. Immunol. Methods, 65, 55-63 (1983).

Nasr, M.N.A., Said, S.A., Novel 3,3a,4,5,6,7-hexahydroindazole and arylthiazolypyrazoline derivatives as anti-inflammatory agents, Arch. Pharm. Chem. Life Sci., 336(12), 551-559 (2003).

Nayak, B.V., Çiftci-Yabanoğlu, S., Jadav, S.S., Jagrat, M., Sinha, B.N., Ucar, G., Jayaprakash, V., Monoamine oxidase inhibitory activity of 3,5-biaryl-4,5-dihydro-1H-pyrazole-1-carboxylate derivatives, Eur. J. Med. Chem., 69, 762-767 (2013).

Nepali, K., Kadian, K., Ojha, R., Dhirman, R., Garg, A., Singh, G., Buddhiraja, A., Bedi, P.M.S., Dhar, K.L., Effect of ring A and ring B substitution on the cytotoxic potential of pyrazole tethered chalcones, Med. Chem. Res., 21(10), 2990-2997 (2012).

Nepali, K., Sharma, S., Sharma, M., Bedi, P.M.S., Dhar, K.L., Rational approaches, design strategies, structure activity relationship and mechanistic insights for anticancer hybrid, Eur. J. Med. Chem., 77, 422-487 (2014).

Nussbaumer, S., Bonnabry, P., Veuthey, J.-L., Fleury-Souverain, S., Analysis of anticancer drugs: A review, Talanta, 85, 2265-2289 (2011).

Oleson, J.J., Sloboda, A., Troy, W.P., Halliday, S.L., Landes, M.J., Ancier, R.B., Semb, J., Cyr K., Williams, J.H., The Carcinostatic Activity of Some 2-Amino-1,3,4-Thiadiazoles, J. Am. Chem. Soc., 77, 6713-6714 (1955).

Özdemir, A., Bazı 1-[(N,N-disübstitüetiyokarboniltiyo)asetil]-3-(2-tiyenil)-5-aril-2-pirazolin türevlerinin sentezleri ve antifungal, antibakteriyel etkilerinin araştırılması, Doktora Tezi, Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir, Türkiye (2004).

Özdemir, A., Turan-Zitouni, G., Kaplancıklı, Z.A., Novel Analogues of 2-pyrazoline: Synthesis, Characterization and Antimycobacterial Evaluation, Turk. J. Chem., 32(5), 529-538 (2008).

- Özdemir, A., Turan-Zitouni, G., Kaplancıklı, Z.A., Revial, G., Demirci, F., İşcan, G., Preparation of some pyrazoline derivatives and evaluation of their antifungal activities, *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.*, 25(4), 565-571 (2010).
- Özdemir, A., Altıntop, M.D., Kaplancıklı, Z.A., Turan-Zitouni, G., Karaca, H., Tunalı, Y., Synthesis and Biological Evaluation of Pyrazoline Derivatives Bearing an Indole Moiety as New Antimicrobial Agents, *Arch. Pharm. Chem. Life Sci.*, 346, 463-469 (2013).
- Özdemir, A., Altıntop, M.D., Kaplancıklı, Z.A., Turan-Zitouni, Çiftçi, G.A., Yıldırım, Ş.U., Synthesis of 1-acetyl-3-(2-thienyl)-5-aryl-2-pyrazoline derivatives and evaluation of their anticancer activity, *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.*, 28(6), 1221-1227 (2013).
- Özdemir, A., Altıntop, M.D., Kaplancıklı, Z.A., Turan-Zitouni, G., Akalın Çiftçi, G., Demirci F., Synthesis and Biological Evaluation of a New Series of Pyrazolines As New Anticandidal Agents, *Pharm. Chem. J.*, 48(9), 605-614 (2014).
- Özdemir, A., Altıntop, M.D., Kaplancıklı, Z.A., Can, Ö.D., Demir-Özkay, Ü., Turan-Zitouni, G., Synthesis and Evaluation of New 1,5-Diaryl-3-[4-(methylsulfonyl)phenyl]-4,5-dihydro-1H-pyrazole Derivatives as Potential Antidepressant Agents, *Molecules*, 20(2), 2668-2684 (2015).
- Özdemir, Z., Kandilci, H.B., Gümüşel, B., Çalış, Ü., Bilgin, A.A., Synthesis and studies on antidepressant and anticonvulsant activities of some 3-(2-furyl)-pyrazoline derivatives, *Eur. J. Med. Chem.*, 42(3), 373-379 (2007).
- Özdemir, Z., Kandilci, H.B., Gümüşel, B., Çalış, Ü., Bilgin, A.A., Synthesis and studies on antidepressant and anticonvulsant activities of some 3-(2-thienyl)pyrazoline derivatives, *Arch. Pharm. Chem. Life Sci.*, 341(11), 701-707 (2008).
- Padmavathi, V., Reddy, K.V., Balaiah, A., Reddy, T.V.R., Reddy, D.B., 1,3-Dipolar Cycloaddition of Dipolar Reagents to Bis(styryl)sulfones, *Heteroatom Chem.*, 13, 677-682 (2002).
- Palaska, E., Bazı 1-Tiyokarbamoil Pirazolinler Üzerinde Çalışmalar, Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, Türkiye (1991).
- Palaska, E., Erol, D., Demirdamar, R., Synthesis and antidepressant activities of some 1,3,5-triphenyl-2-pyrazolines, *Eur. J. Med. Chem.*, 31, 43-47 (1996).
- Palaska, E., Aytimir, M., Uzbay, I.T., Erol, D., Synthesis and antidepressant activities of some 3,5-diphenyl-2-pyrazolines, *Eur. J. Med. Chem.*, 36(6), 539-543 (2001).
- Palaska, E., Aydın, F., Uçar, G., Erol, D., Synthesis and monoamine oxidase inhibitory activities of 1-thiocarbamoyl-3,5-diphenyl-4,5-dihydro-1H-pyrazole derivatives, *Arch. Pharm. Chem. Life Sci.*, 341(4), 209-215 (2008).
- Parekh, S., Bhavsar, D., Savant, M., Thakar, S., Bavishi, A., Parmar, M., Vala, H., Radadiya, A., Pandya, N., Serly, J., Molnár, J., Shah, A., Synthesis of some novel benzofuran-2-yl(4,5-dihydro-3,5-substituted diphenylpyrazol-1-yl) methanones and studies on the antiproliferative effects and reversal of multidrug resistance of human

MDR1-gene transfected mouse lymphoma cells *in vitro*, Eur. J. Med. Chem., 46, 1942-1948 (2011).

Peng-Cheng L, Huan-Qiu L, Juan S, Yang Z, Hai-Liang Z., Synthesis and biological evaluation of pyrazole derivatives containing thiourea skeleton as anticancer agents, Bioorg. Med. Chem., 18, 4606-4614 (2010).

Pimenov, A.A., Makarova, N.V., Zemstova, M.N., Moiseev, I.K., Zemstova M.N., Interaction of  $\alpha,\beta$ -Unsaturated Ketones of the Adamantane Series with N,N'-Binucleophiles, Chem. Heterocyclic Comp., 40 (5), 575-581 (2004).

Qin, Y.-J., Li, Y.-J., Jiang, A.-Q., Yang, M.-R., Zhu, Q.-Z., Dong, H., Zhu, H.-L., Design, synthesis and biological evaluation of novel pyrazoline-containing derivatives as potential tubulin assembling inhibitors, Eur. J. Med. Chem., 94, 447-457 (2015).

Rahaman, S.A., Prasad, Y.R., Bhuwaneswari, K., Kumar, P., Synthesis and antihistaminic activity of novel pyrazoline derivatives, Int. J. Tech. Res., 1, 16-20 (2010).

Rathore, P., Yaseen, S., Ovais, S., Bashir, R., Yaseen, R., Hameed, A.D., Samim, M., Gupta, R., Hussain, F., Javed, K., Synthesis and evaluation of some new pyrazoline substituted benzenesulfonylureas as potential antiproliferative agents, Bioorg. Med. Chem. Lett., 24, 1685-1691 (2014).

Rebucci, M., Michiels, C., Molecular aspects of cancer cell resistance to chemotherapy, Biochem. Pharmacol., 85, 1219-1226 (2013).

Revanasiddappa, B.C., Subrahmanyam, E.V.S., Lakshmi, T.N., Synthesis and biological evaluation of some novel pyrazolines, Ind. J. Pharm. Edu. Res., 45, 164-167 (2011).

Roecker, A.J., Coleman, P.J., Mercer, S.P., Schereier, J.D., Buser, C.A., Walsh, E.S., Hamilton, K., Lobell, R.B., Tao, W., Diehl, R., South, V.J., Davide, J.P., Kohl, N.E., Yan, Y., Kuo, L.C., Li, C., Fernandez-Metzler, C., Maher, E.A., Prueksaritnant, T., Hartman, G.D., Kinesin spindle protein (KSP) inhibitors. Part 8: Design and synthesis of 1,4-diaryl-4,5-dihydropyrazoles as potent inhibitors of the mitotic kinesin KSP, Bioorg. Med. Chem. Lett., 17, 5677-5682 (2007).

Rostom, S.A.F., Synthesis and *In Vitro* Antitumor Evaluation of Some Indeno[1,2-c]-pyrazol(in)es Substituted with Sulfonamide, Sulfonylurea(-Thiourea) Pharmacophores, and Some Derived Thiazole Ring Systems, Bioorg. Med. Chem., 14, 6475-6485 (2006).

Rx MediaPharma<sup>®</sup>, İnteraktif İlaç Bilgi Kaynağı, 2016.

Salgın-Gökşen, U., Bazı Yeni 2-Pirazolin Türevlerinin Sentezi ve Monoamin Oksidaz (MAO) İnhibitör Aktiviteleri Üzerinde Çalışmalar, Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, Türkiye (2015).

Shaaban, M.R., Mayhoub, A.S., Farag, A.M., Recent advances in the therapeutic applications of pyrazolines, Expert Opin. Ther. Patents, 22, 253-291 (2012).

Shaharyar, M., Abdullah, M.M., Bakht, M.A., Majeed, J., Pyrazoline bearing benzimidazoles: Search for anticancer agent, Eur. J. Med. Chem., 45, 114-119 (2010).

Shah, S., Patel, P.S., Synthesis and biological activity of some novel pyrazoline derivatives, Chem. Sci. Trans., 1, 632-637 (2012).

Shimada, F., Shiga, Y., Morikawa, M., Kawazura, H., Morikawa, O., Matsuoka, T., Nishizaki, T., Saito, N., The neuroprotective agent MS-153 stimulates glutamate uptake, Eur. J. Pharmacol., 336, 263-270 (1999).

Shin, S.Y., Yoon, H., Hwang, D., Ahn, S., Kim, D.-W., Koh, D., Lee, Y.H., Lim, Y., Benzochalcones bearing pyrazoline moieties show anti-colorectal cancer activities and selective inhibitory effects on aurora kinases, Bioorg. Med. Chem., 21, 7018-7024 (2013).

Sui, Z., Guan, J., Ferro, M.P., McCoy, K., Wachter, M.P., Murray, W.V., Singer, M., Steber, M., Ritchie, D.M., Argentieri, D.C., 1,3-Diarylcycloalkopyrazoles and Diphenyl Hydrazides as Selective Inhibitors of Cyclooxygenase-2, Bioorg. Med. Chem. Lett., 10, 61-604 (2000).

Şahin, G., Bazı 1-Tiyokarbamoil Pirazolin Türevleri Üzerinde Çalışmalar, Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, Türkiye (2005).

Şahin, Z.S., Işık, Ş., Salgın-Gökşen, U., Gökhan-Kelekçi, N., Syntheses and structural characterization of 1-(4-phenyl-2-thiazolyl)-3-(4-methylphenyl)-5-(2-furyl)-4,5-dihydro-(1H)-pyrazole and 1-(4-(4-fluoro)phenyl-2-thiazolyl)-3-(4-methylphenyl)-5-(2-furyl)-4,5-dihydro-(1H)-pyrazole, Chin. J. Struct. Chem., 29 (5), 700-705 (2010).

Şentürk, K., Tan, O.U., Çiftçi, S.Y., Uçar, G., Palaska, E., Synthesis and evaluation of human monoamine oxidase inhibitory activities of some 3,5-diaryl-N-substituted-4,5-dihydro-1H-pyrazole-1-carbothioamide derivatives, Arch. Pharm. Chem. Life Sci., 345(9), 695-702 (2012).

T.C. Sağlık Bakanlığı Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Kanser Daire Başkanlığı, Türkiye Kanser Kontrol Programı, 1. Baskı, Sayfa 32-34, 74, Ankara, 2016.

Tozkoparan, B., Aytaç, S.P., Kanser Kemoterapisinde Terapötik Hedef Olarak Glutasyon S-Transferazlar, Hacettepe Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi Dergisi 27(2), 139-164 (2007).

Turan-Zitouni, G., Chevallet, P., Kılıç, F.S., Erol, K., Synthesis of some thiazolyl-pyrazoline derivatives and preliminary investigation of their hypotensive activity, Eur. J. Med. Chem., 35 (6), 635-641 (2000).

Turan-Zitouni, G., Özdemir, A., Kaplancikli, Z.A., Chevallet, P., Tunali, Y., Synthesis and antimicrobial activities of some 1-[(N,N-disubstitutedthiocarbamoylthio)acetyl]-3,5-diaryl-2-pyrazolines, Phosphorus, Sulfur Silicon Relat. Elem., 180(12), 2717-2724 (2005).

Turan-Zitouni, G., Özdemir, A., Güven, K., Synthesis of some 1-[(N,N-disubstitutedthiocarbamoylthio)acetyl]-3-(2-thienyl)-5-aryl-2-pyrazoline derivatives and investigation of their antibacterial and antifungal activities, Arch. Pharm. Chem. Life Sci., 338(2-3), 96-104 (2005).

Vergne, F., Bernardelli, P., Lorthois, E., Pham, N., Proust, E., Oliveira, C., Mafroud, A.-K., Royer, F., Wrigglesworth, R., Schellhaas, J.K., Barvian, M.R., Moreau, F., Idrissi, M., Tertre, A., Bertin, B., Coupe, M., Berna, P., Soulard, P.,

Discovery of thiadiazoles as a novel structural class of potent and selective PDE7 inhibitors. Part 1: Design, synthesis and structure-activity relationship studies, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 14, 4607-4613 (2004).

Vijayabaskar, V., Perumal, S., Selveraj, S., Lycka, A., Murugan, R., Balasubramanian, M., Synthesis and Multinuclear NMR Study of (*E*)-*s-trans*-1-acetyl-5-aryl-3-styryl-2-pyrazolines, *Magn. Reson. Chem.*, 37, 133-139 (1999).

Von Thoms, H., Schnupp, J., Beitrag zur Kenntnis der Konstitution des Antipyrins, *Ann.* 434, 296-312 (1923).

Wang, Y., Cheng, F.X., Yuan, X.L., Tnag, W.J., Shi, J.B., Liao, C.Z., Liu, X.H., Dihydropyrazole derivatives as telomerase inhibitors: Structure-based design, synthesis, SAR, and anticancer evaluation *in vitro* and *in vivo*, *Eur. J. Med. Chem.*, 112, 231-251 (2016).

Yar, M.S., Siddiqui, A.A., Ali, M.A., Murugan, V., Chandrashekar, R., Synthesis and Cytotoxic Activity of Novel pyrazoline Derivatives against human Lung Tumor Cell Line (A549), *J. Chin. Chem. Soc.*, 54, 81-86 (2007).

Yu, M., Yang, H., Wu, K., Ji, Y., Ju, L., Lu, X., Novel pyrazoline derivatives as bi-inhibitor of COX-2 and B-Raf in treating cervical carcinoma, *Bioorg. Med. Chem.*, 22, 4109-4118 (2014).

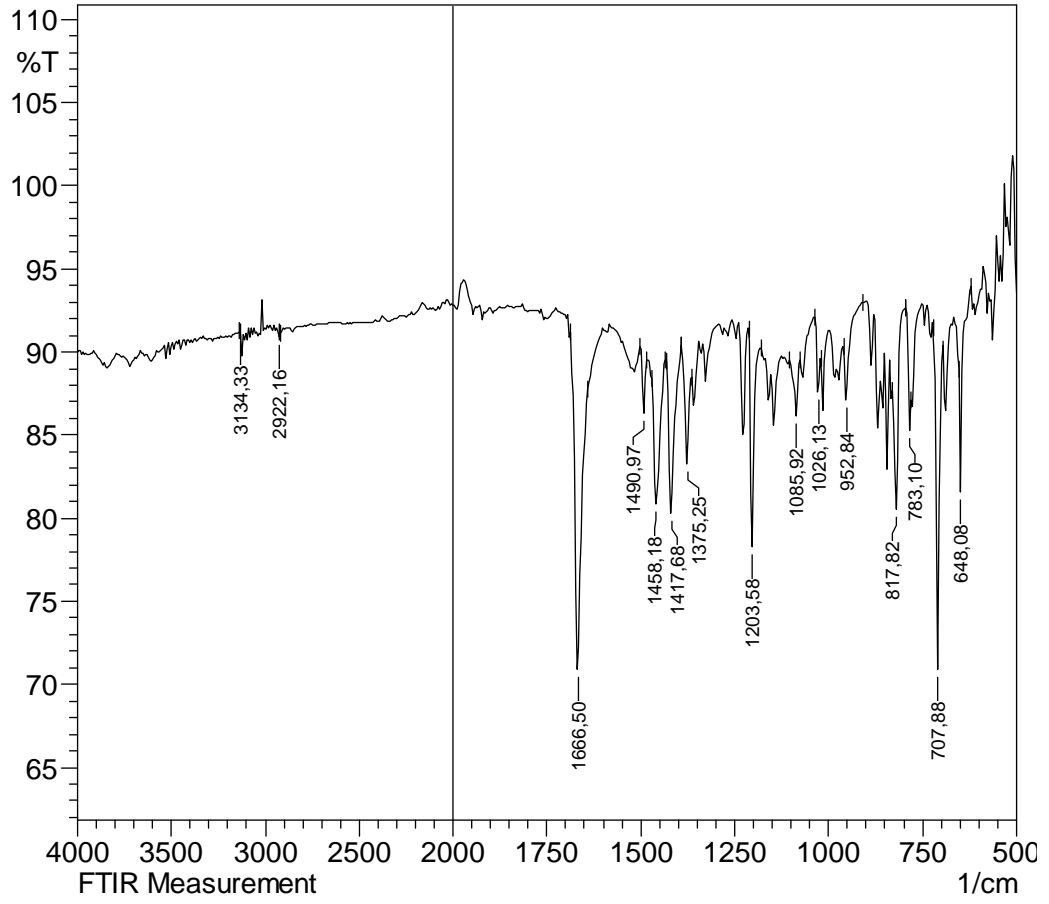
Zelenin, K.N., Tugusheva, A.R., Yakimovitch, S.I., Alekseyev, V.V., Zerova, E.V., 5-Hydroxy-2-pyrazolines and Some of Their 1-Substituted Analogs, *Chem. Heterocyclic Comp.*, 38 (6), 668-676 (2002).

**http-1** 2-Pyrazolines Review of Literature, [http://shodhganga.inflibnet.ac.in:8080/jspui/bitstream/10603/14138/10/10\\_chapter%202.pdf](http://shodhganga.inflibnet.ac.in:8080/jspui/bitstream/10603/14138/10/10_chapter%202.pdf) (07.06.2016).

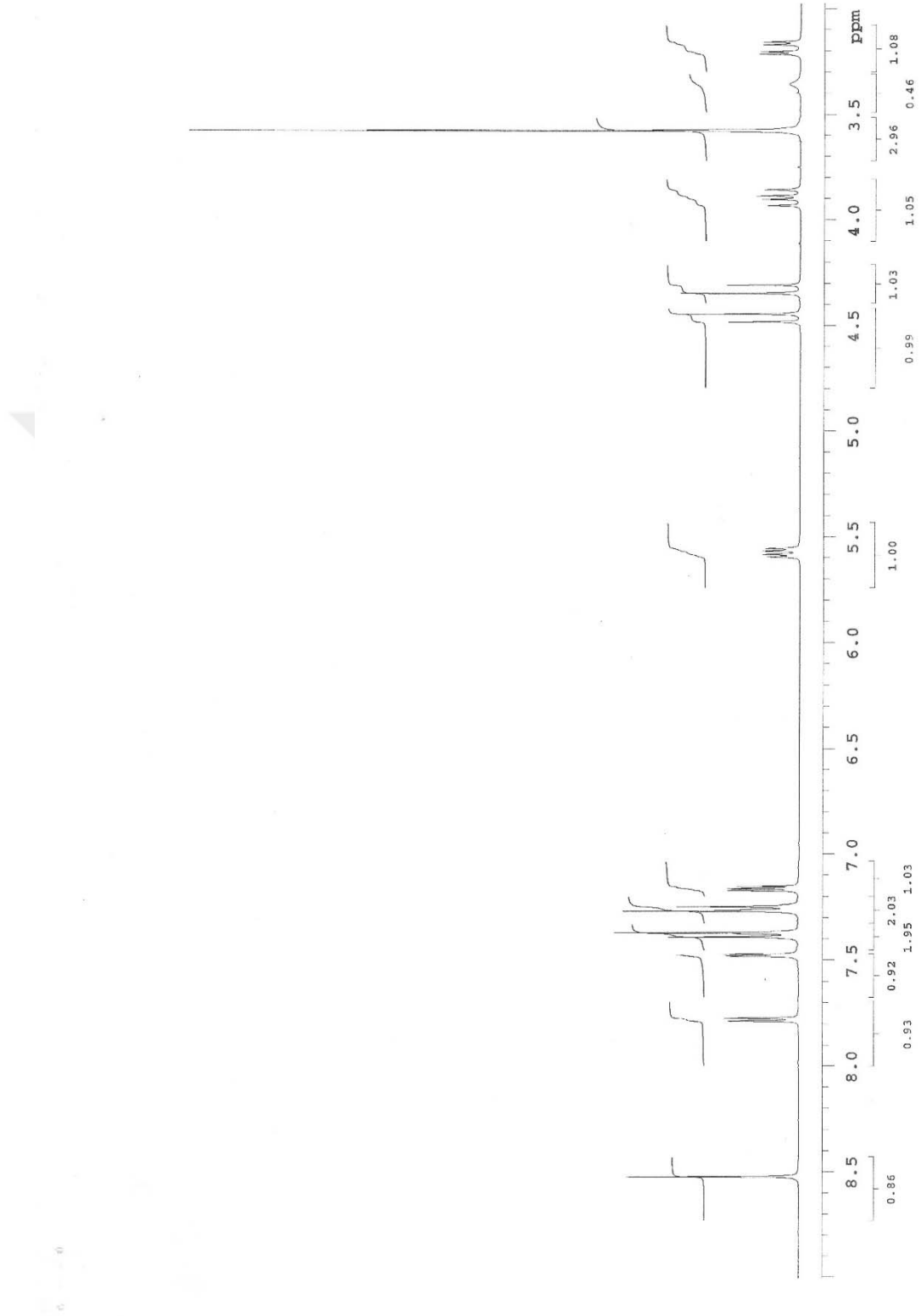


## EKLER

### EK 1. Bileşik 1'e ait IR Spektrumu



**EK 2.** Bileşik 1'e ait  $^1\text{H-NMR}$  Spektrumu (İntegral Değerleri ile)

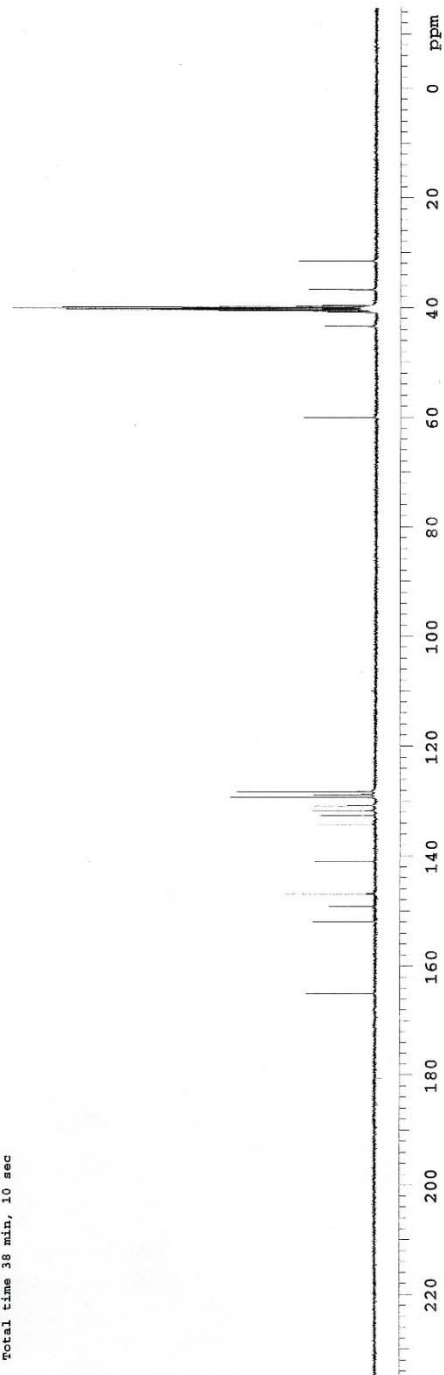


### EK 3. Bileşik 1'e ait $^{13}\text{C}$ -NMR Spektrumu

Archive directory: /export/home/umaxi/nmrsys/data  
Sample directory: YL-1\_29Apr2013-14:18:10  
File: CARBON

Pulse Sequence: s2pul  
Solvent: DMSO  
Temp. 25.0 C / 298.1 K  
Mercury-400BB "mercury400"

Relax. delay 1.000 sec  
Pulse 45.0 degrees  
Acq. time 1.199 sec  
Width 25125.6 Hz  
1000 repetitions  
OBSERVE C13, 100.6243052 MHz  
DECOUPLE H1, 400.1779559 MHz  
Power 39 dB  
continuously on  
WALTZ-16 modulated  
DATA PROCESSING  
Line broadening 1.0 Hz  
Ft size 65536  
Total time 38 min, 10 sec



## EK 4. Bileşik 1'e ait Kütle Spektromu

Formula Predictor Report - YL-1\_1.lcd

Page 1 of 1

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\AOzdemir\YL-1\_1.lcd

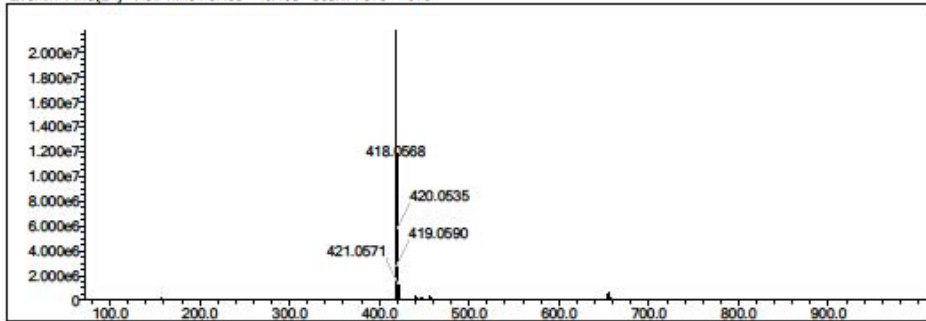
Elmt	Val	Min	Max	Elmt	Val	Min	Max	Elmt	Val	Min	Max	Use Adduct
H	1	16	27	O	2	1	3	Cl	1	1	2	H
C	4	17	24	F	1	0	0	Br	1	0	1	
N	3	4	7	S	2	2	3	I	3	0	0	

Error Margin (ppm): 10  
 HC Ratio: unlimited  
 Max Isotopes: 3  
 MSn Iso RI (%): 10.00

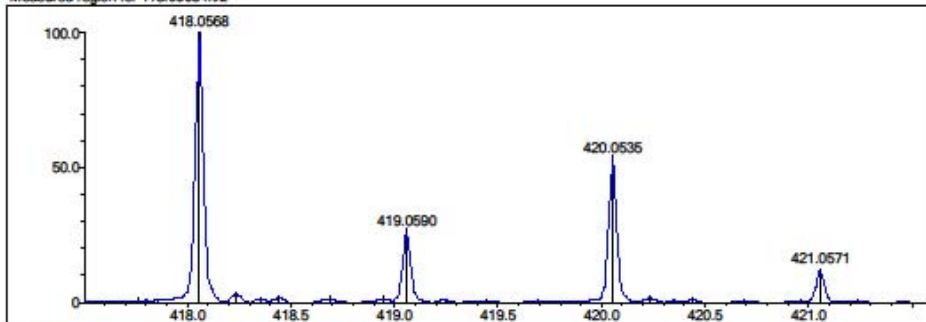
DBE Range: 5.0 - 18.0  
 Apply N Rule: yes  
 Isotope RI (%): 1.00  
 MSn Logic Mode: AND

Electron Ions: both  
 Use MSn Info: no  
 Isotope Res: 10000  
 Max Results: 500

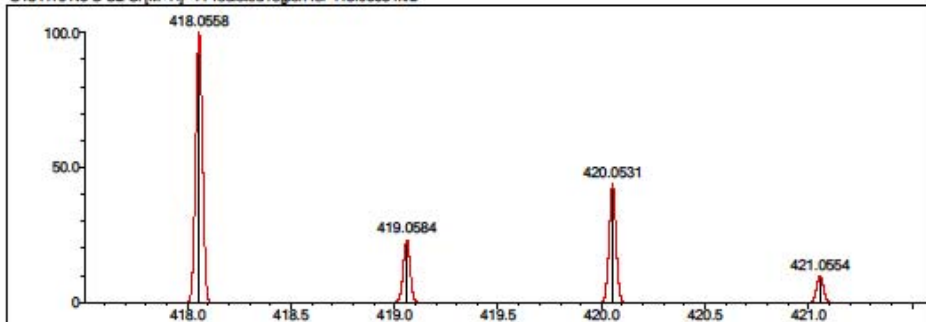
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 6.493 -> 6.493 Scan#: 975 -> 975



Measured region for 418.0568 m/z



C18 H16 N5 O S2 Cl [M+H]<sup>+</sup> : Predicted region for 418.0568 m/z



Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	73.61	C18 H16 N5 O S2 Cl	[M+H] <sup>+</sup>	418.0568	418.0558	1.0	2.39	76.26	13.0

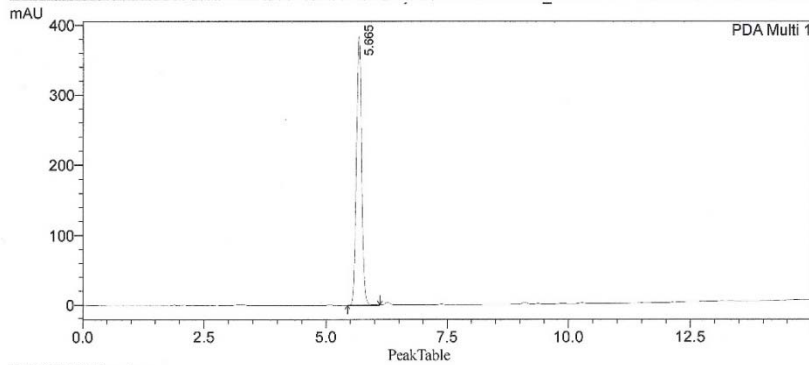
## EK 5. Bileşik 1'e ait LC Analiz Raporu

### ==== Shimadzu LCsolution Analysis Report ====

C:\LabSolutions\Data\Project1\laözdemir\YL-1\_02.lcd

Acquired by : Admin  
 Sample Name : YL-1  
 Sample ID :  
 Tray# : 1  
 Vial # : -1  
 Injection Volume : 20 uL  
 Data File Name : YL-1\_02.lcd  
 Method File Name : yl-1.lcm  
 Batch File Name :  
 Report File Name : Default.lcr  
 Data Acquired : 28.06.2015 13:29:22  
 Data Processed : 29.06.2015 15:48:55

#### <Chromatogram>



1PDA Ch1 254nm 4nm

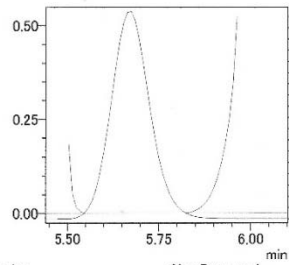
Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	5.665	2869436	384164	100.000	100.000
Total		2869436	384164	100.000	100.000

#### Purity

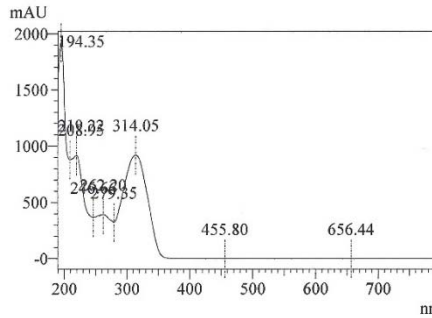
ID# : 2  
 Retention Time : 5.665  
 Compound Name : YL-1

#### Spectrum

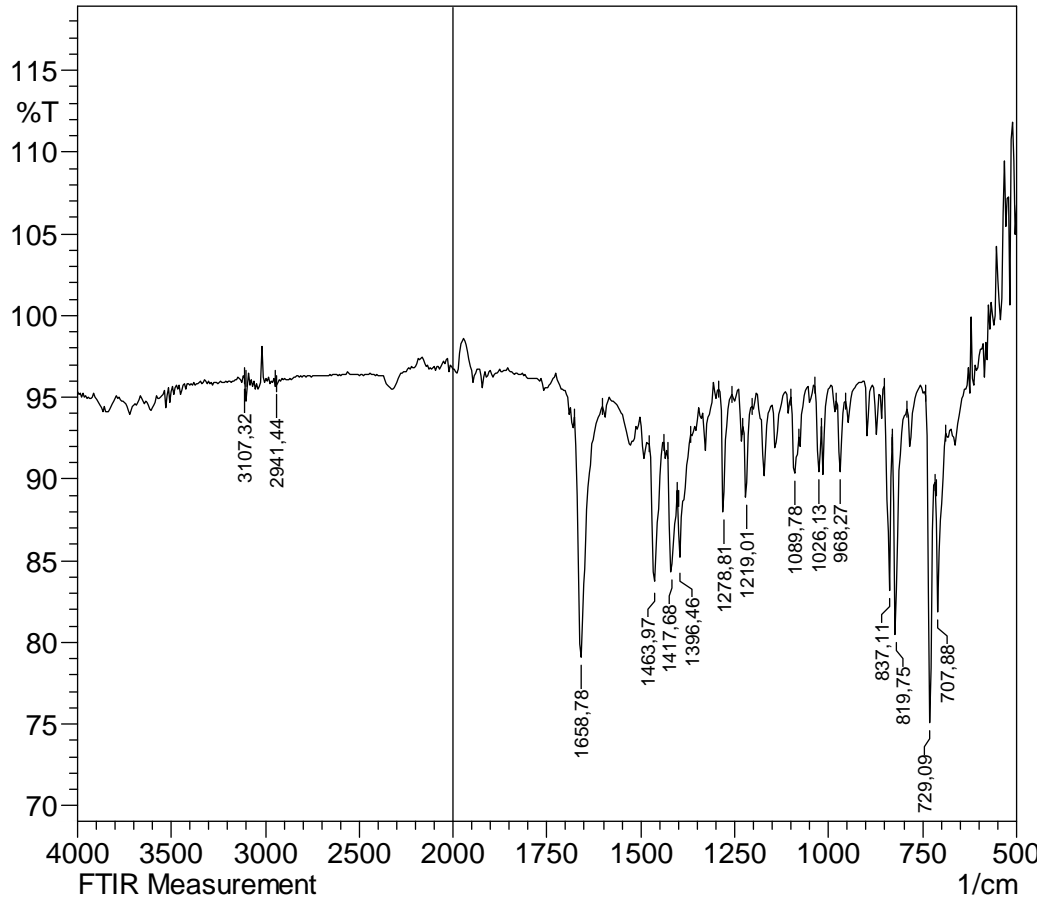
ID# : 2  
 Retention Time : 5.665  
 Compound Name : YL-1  
 Spectrum Operation : None



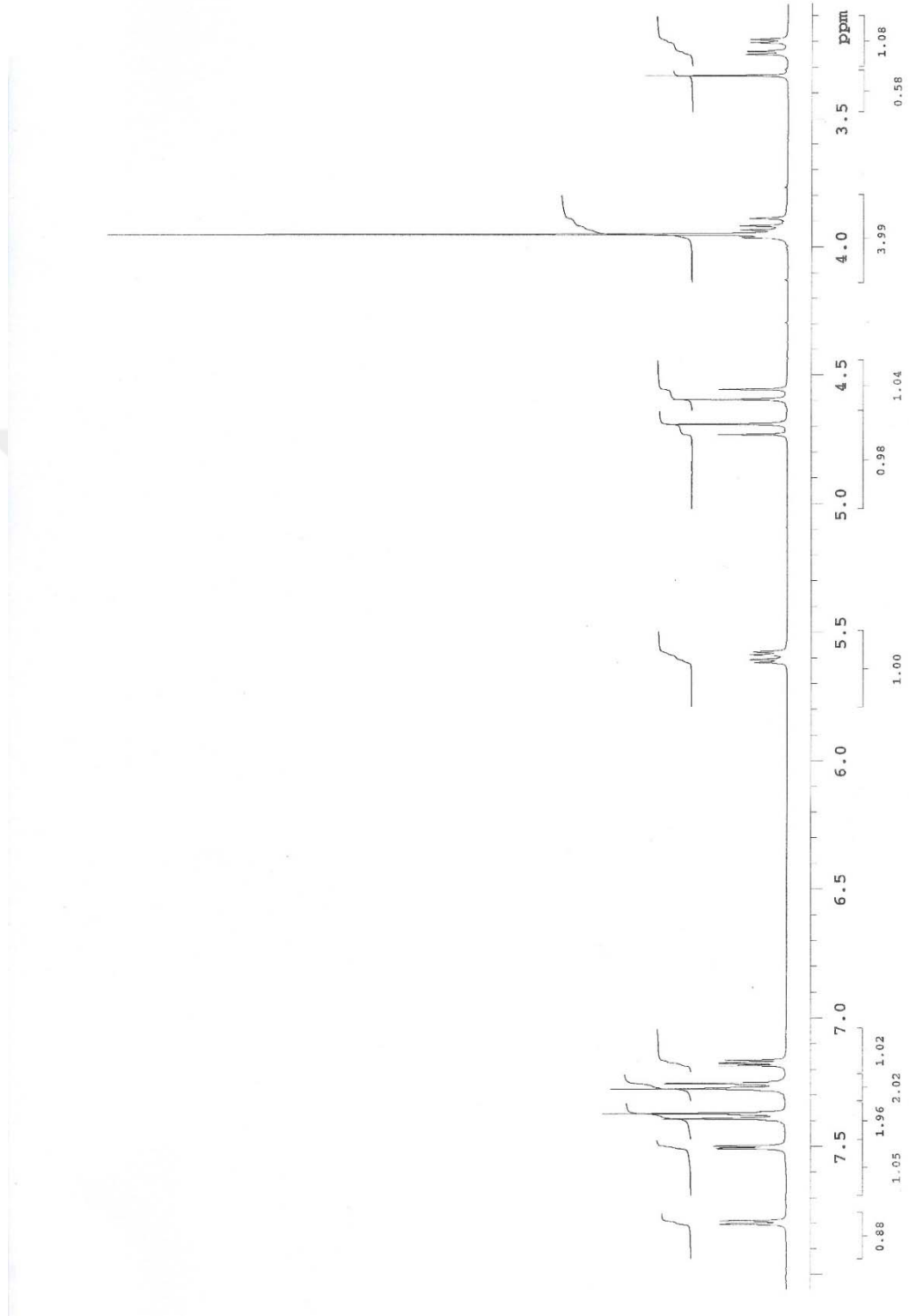
Impurity : Not Detected  
 Peak purity index : 1.000000  
 Single point threshold : 0.999981  
 Minimum peak purity index : 18



## EK 6. Bileşik 2'ye ait IR Spektrumu



**EK 7.** Bileşik 2'ye ait  $^1\text{H}$ -NMR Spektrumu (İntegral Değerleri ile)

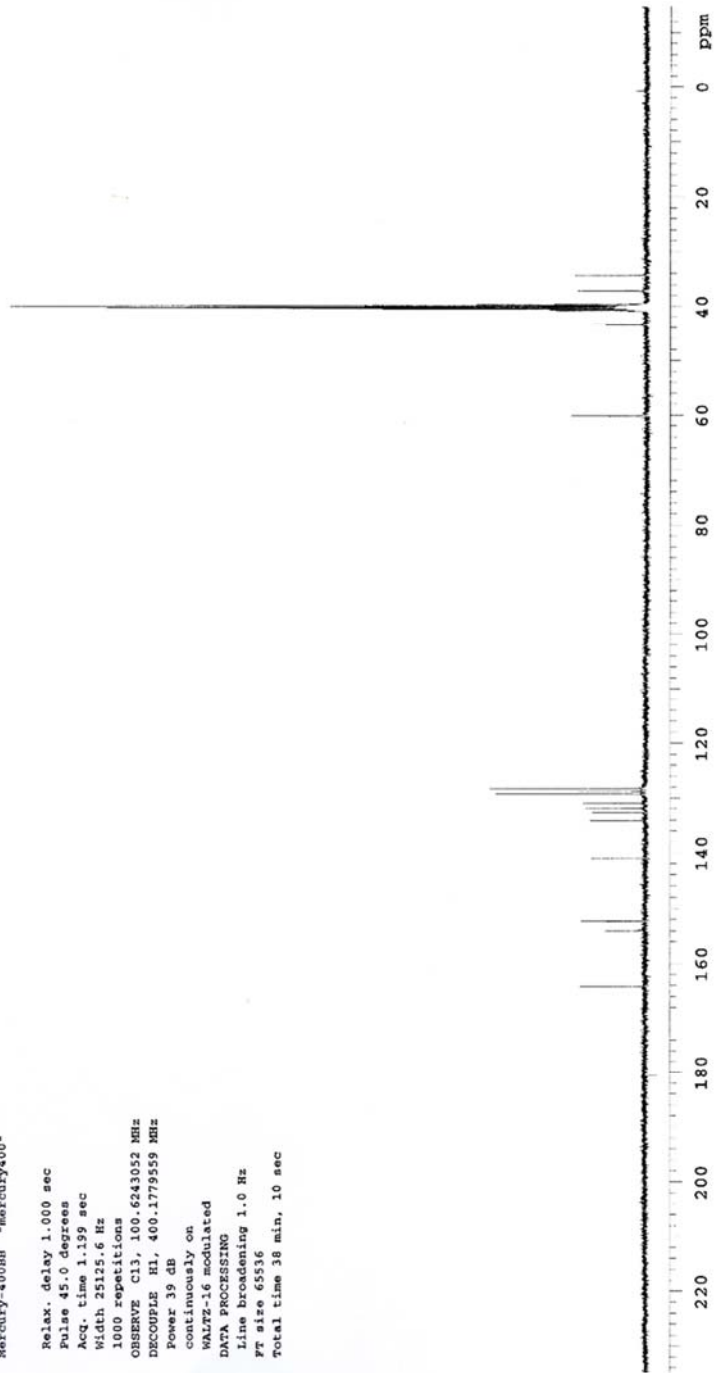


## EK 8. Bileşik 2'ye ait $^{13}\text{C}$ -NMR Spektrumu

Archive directory: /export/home/umari/umariya/data  
Sample directory: YL-2\_29Apr2013-15:29:53  
File: CAMBON

Pulse Sequence: s2pul  
Solvent: DMSO  
Temp. 25.0 C / 298.1 K  
Mercury-400HB "mercury400"

Relax. delay 1.000 sec  
Pulse 45.0 degrees  
Acq. time 1.199 sec  
Width 25125.6 Hz  
1000 repetitions  
OBSERVE C13, 100.6243052 MHz  
DECOUPLE H1, 400.1779559 MHz  
Power 39 dB  
continuously on  
WALTZ-16 modulated  
DATA PROCESSING  
Line broadening 1.0 Hz  
Ft size 65536  
Total time 38 min, 10 sec





## EK 9. Bileşik 2'ye ait Kütle Spektrumu

Formula Predictor Report - YL-2\_2.lcd

Page 1 of 1

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\AOzdemi\YL-2\_2.lcd

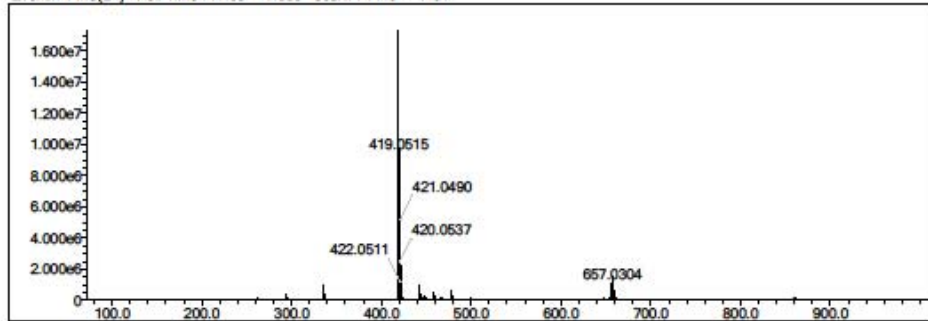
Elmt	Val	Min	Max	Elmt	Val	Min	Max	Elmt	Val	Min	Max	Use Adduct
H	1	15	27	O	2	1	3	Cl	1	1	2	H
C	4	17	24	F	1	0	0	Br	1	0	1	
N	3	4	7	S	2	2	3	I	3	0	0	

Error Margin (ppm): 10  
 HC Ratio: unlimited  
 Max Isotopes: 3  
 MSn Iso RI (%): 10.00

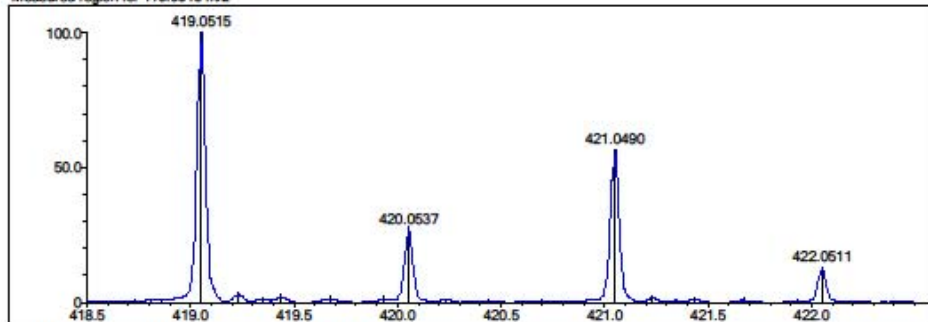
DBE Range: 5.0 - 18.0  
 Apply N Rule: yes  
 Isotope RI (%): 1.00  
 MSn Logic Mode: AND

Electron Ions: both  
 Use MSn Info: no  
 Isotope Res: 10000  
 Max Results: 500

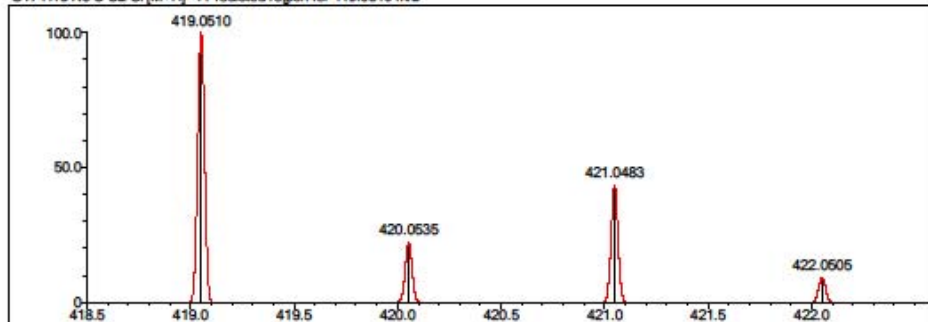
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 7.453 -> 7.533 Scan#: 1119 -> 1131



Measured region for 419.0515 m/z



C17 H15 N6 O S2 Cl [M+H]<sup>+</sup> : Predicted region for 419.0510 m/z



Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	74.78	C17 H15 N6 O S2 Cl	[M+H] <sup>+</sup>	419.0515	419.0510	0.5	1.19	75.14	13.0

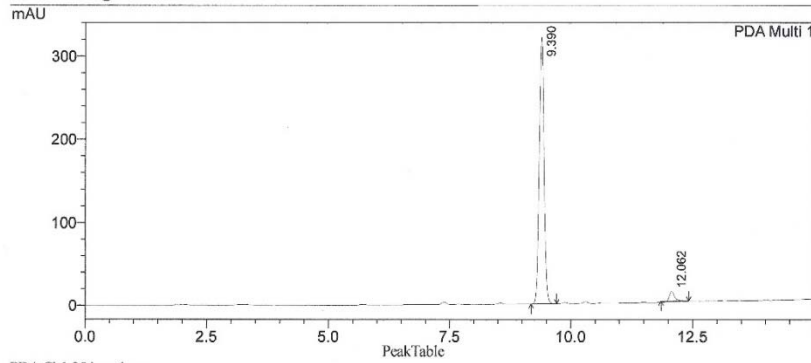
# EK 10. Bileşik 2'ye ait LC Analiz Raporu

## ==== Shimadzu LCsolution Analysis Report ====

C:\LabSolutions\Data\Project1\labzdemir\YL-2\_02.lcd

Acquired by : Admin  
 Sample Name : YL-2  
 Sample ID :  
 Tray# : 1  
 Vial # : -1  
 Injection Volume : 20 uL  
 Data File Name : YL-2\_02.lcd  
 Method File Name : yl-2.lcm  
 Batch File Name :  
 Report File Name : Default.lcr  
 Data Acquired : 29.06.2015 09:28:22  
 Data Processed : 29.06.2015 16:00:15

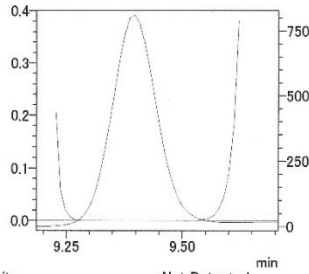
### <Chromatogram>



Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	9.390	2189778	320240	96.333	96.372
2	12.062	83367	12054	3.667	3.628
Total		2273146	332294	100.000	100.000

### Purity

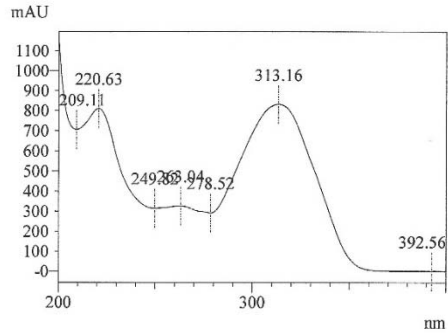
ID# : 1  
 Retention Time : 9.390  
 Compound Name : YL-2



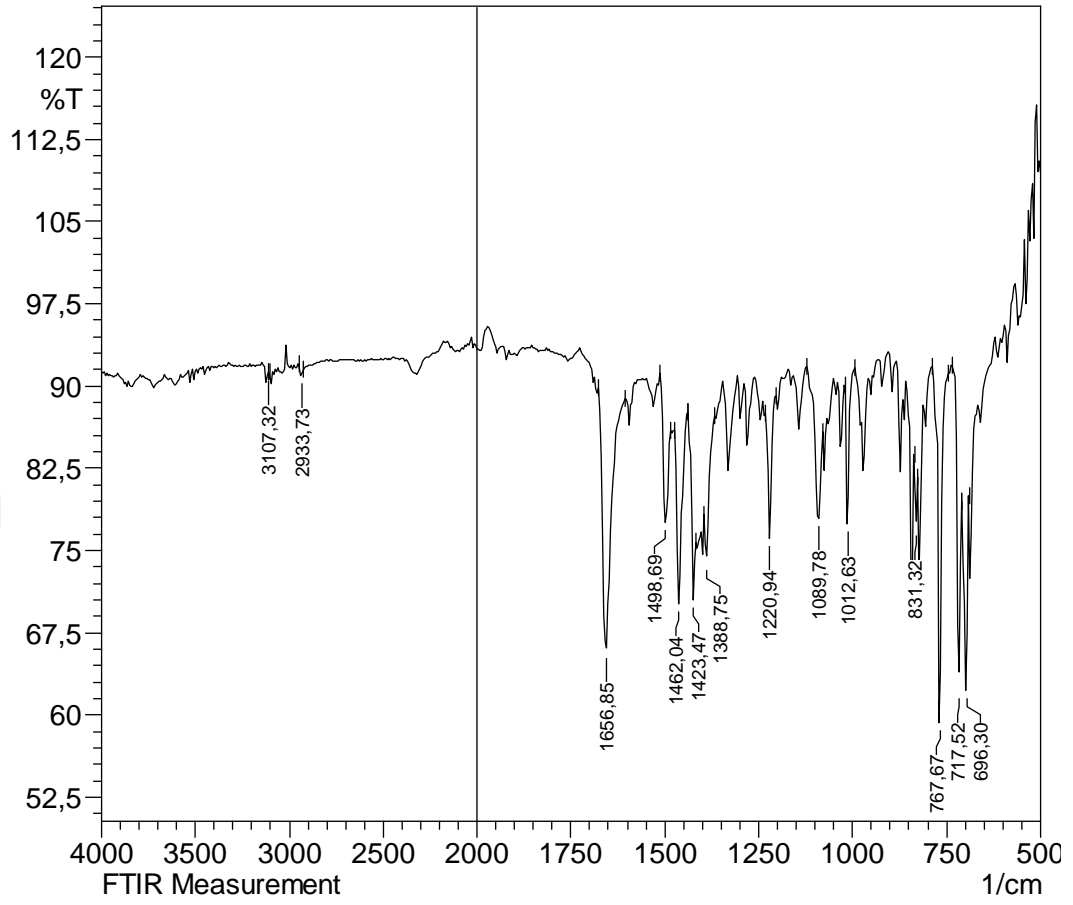
Impurity : Not Detected  
 Peak purity index : 1.000000  
 Single point threshold : 0.999976  
 Minimum peak purity index : 23

### Spectrum

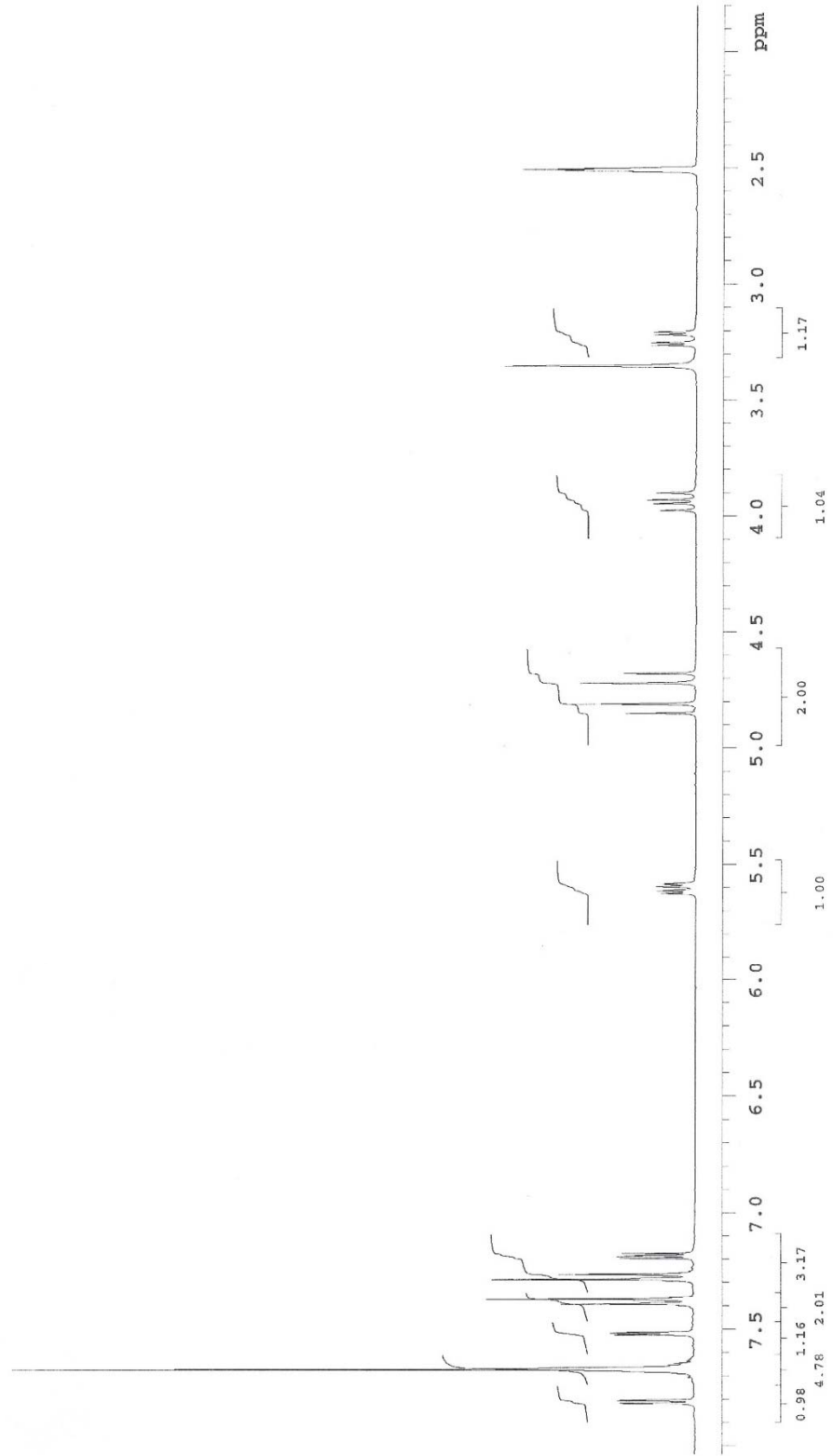
ID# : 1  
 Retention Time : 9.390  
 Compound Name : YL-2  
 Spectrum Operation : None



**EK 11. Bileşik 3'e ait IR Spektrumu**



**EK 12.** Bileşik 3'e ait  $^1\text{H-NMR}$  Spektrumu (İntegral Değerleri ile)

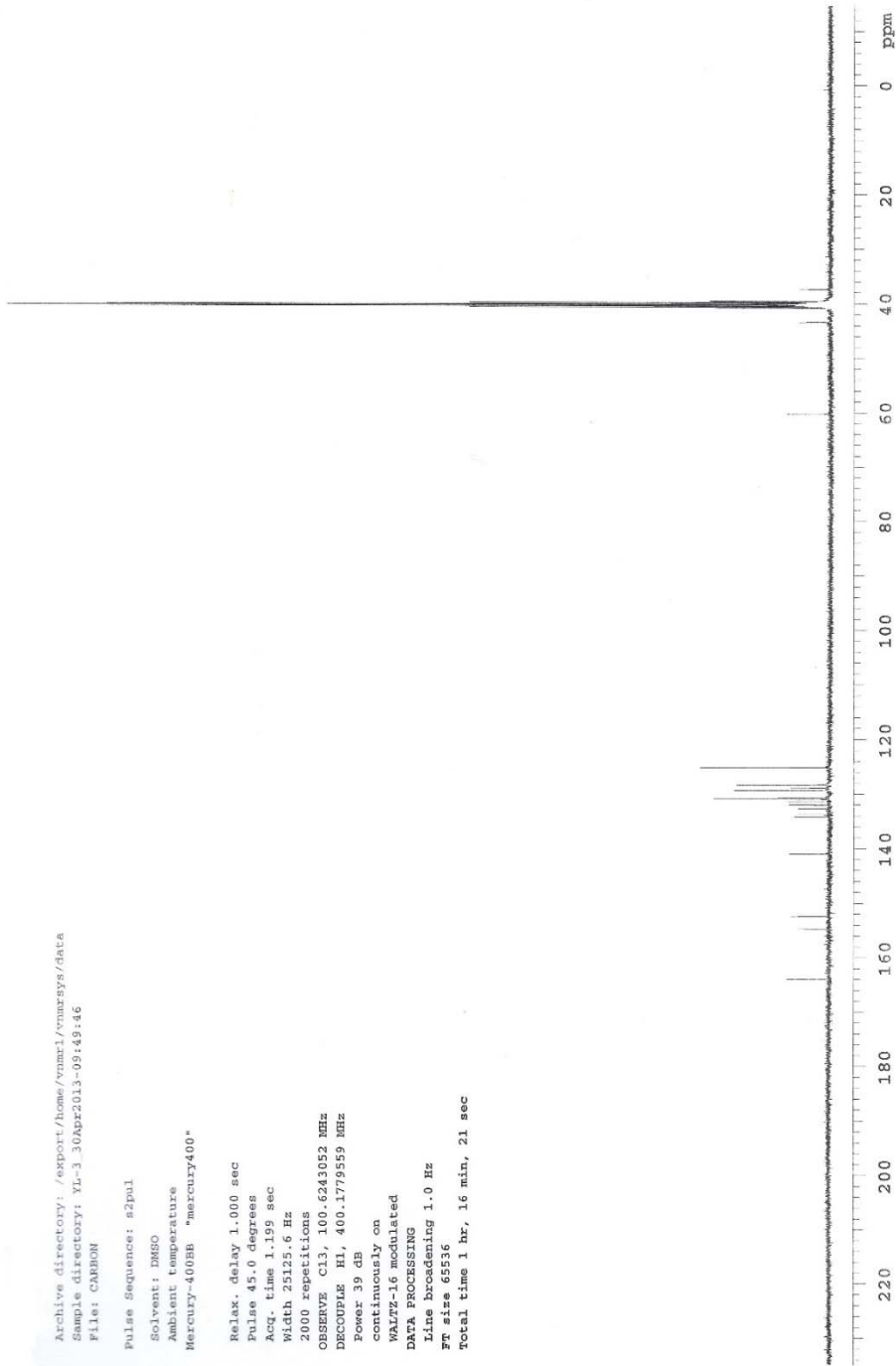


### EK 13. Bileşik 3'e ait <sup>13</sup>C-NMR Spektrumu

Archive directory: /export/home/rmr1/rmr1sys/data  
Sample directory: YL-3\_30Apr2013-09:49:46  
File: CARBON

Pulse Sequence: s2pul  
Solvent: DMSO  
Ambient temperature  
Mercury-400BB "mercury400"

Relax. delay 1.000 sec  
Pulse 45.0 degrees  
Acq. time 1.199 sec  
Width 25125.6 Hz  
2000 repetitions  
OBSERVE C13, 100.6243052 MHz  
DECOUPLE H1, 400.1779559 MHz  
Power 39 dB  
continuously on  
WALTZ-16 modulated  
DATA PROCESSING  
Line broadening 1.0 Hz  
Ft size 65536  
Total time 1 hr, 16 min, 21 sec



# EK 14. Bileşik 3'e ait Kütle Spektrumu

Formula Predictor Report - YL-3\_3.Icd

Page 1 of 1

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\AOzdemi\YL-3\_3.Icd

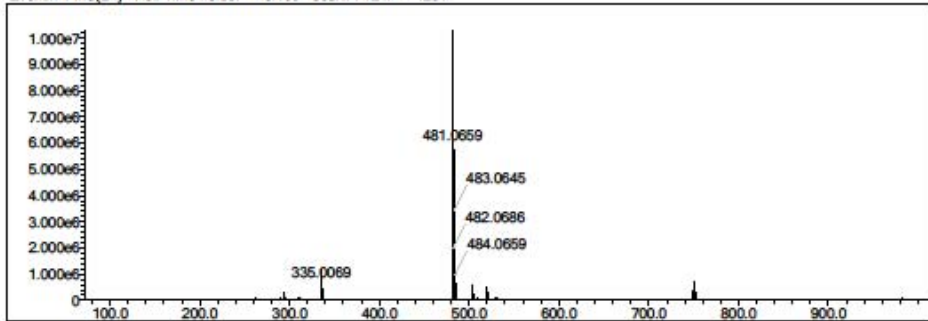
Elmt	Val	Min	Max	Elmt	Val	Min	Max	Elmt	Val	Min	Max	Use Adduct
H	1	15	27	O	2	1	3	Cl	1	1	2	H
C	4	17	24	F	1	0	0	Br	1	0	1	
N	3	4	7	S	2	2	3	I	3	0	0	

Error Margin (ppm): 5  
 HC Ratio: unlimited  
 Max Isotopes: 3  
 MSn Iso RI (%): 10.00

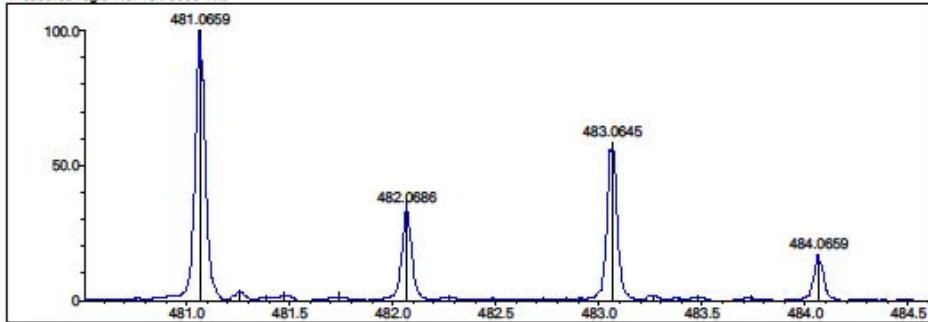
DBE Range: 5.0 - 18.0  
 Apply N Rule: yes  
 Isotope RI (%): 1.00  
 MSn Logic Mode: AND

Electron Ions: both  
 Use MSn Info: no  
 Isotope Res: 10000  
 Max Results: 500

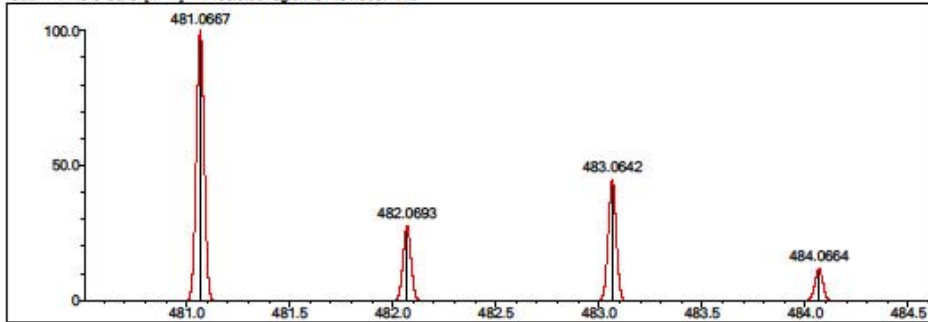
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 8.307 -> 8.400 Scan#: 1247 -> 1261



Measured region for 481.0659 m/z



C22 H17 N6 O S2 Cl [M+H]<sup>+</sup> : Predicted region for 481.0667 m/z



Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	69.79	C22 H17 N6 O S2 Cl	[M+H] <sup>+</sup>	481.0659	481.0667	-0.8	-1.66	70.96	17.0

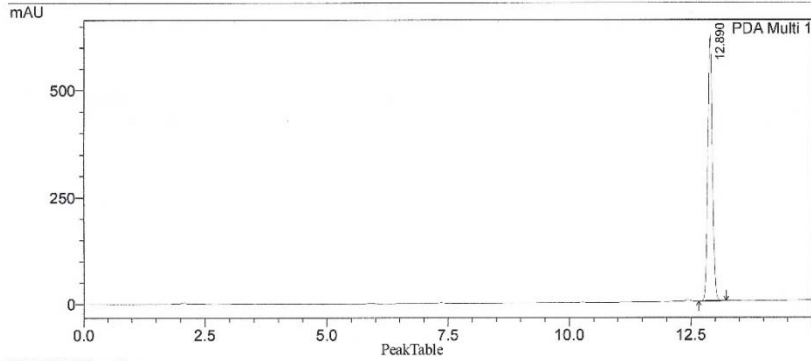
# EK 15. Bileşik 3'e ait LC Analiz Raporu

## ==== Shimadzu LCsolution Analysis Report ====

C:\LabSolutions\Data\Project1\labzdemin\YL-3\_04.lcd

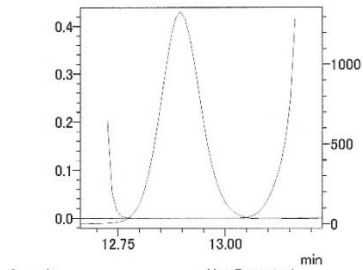
Acquired by : Admin  
 Sample Name : YL-3  
 Sample ID :  
 Tray# : 1  
 Vial # : -1  
 Injection Volume : 20 uL  
 Data File Name : YL-3\_04.lcd  
 Method File Name : test\_GRAD.lcm  
 Batch File Name :  
 Report File Name : Default.lcr  
 Data Acquired : 29.06.2015 09:47:01  
 Data Processed : 29.06.2015 13:32:18

### <Chromatogram>



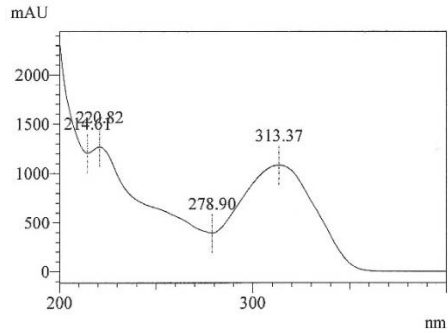
Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	12.890	4174123	623601	100.000	100.000
Total		4174123	623601	100.000	100.000

**Purity**  
 ID# : 1  
 Retention Time : 12.890  
 Compound Name : YL-3

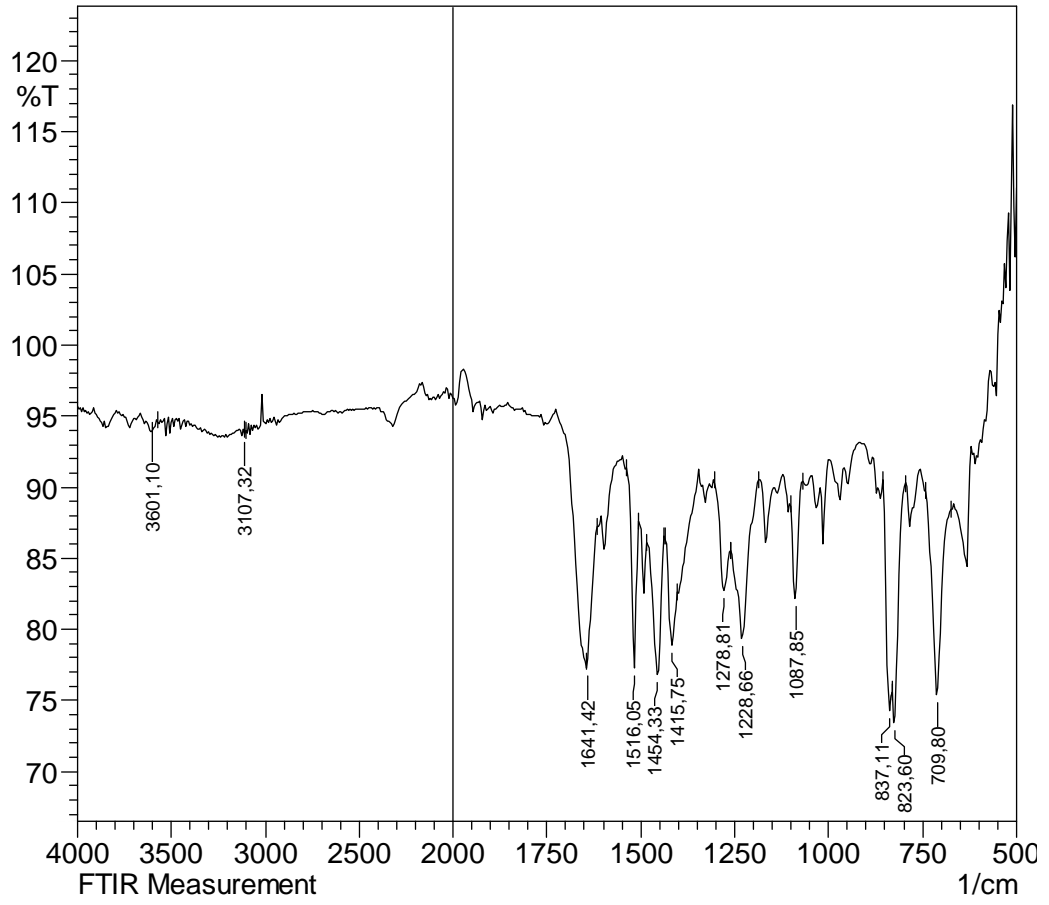


Impurity : Not Detected  
 Peak purity index : 1.000000  
 Single point threshold : 0.999982  
 Minimum peak purity index : 18

**Spectrum**  
 ID# : 1  
 Retention Time : 12.890  
 Compound Name : YL-3  
 Spectrum Operation : None

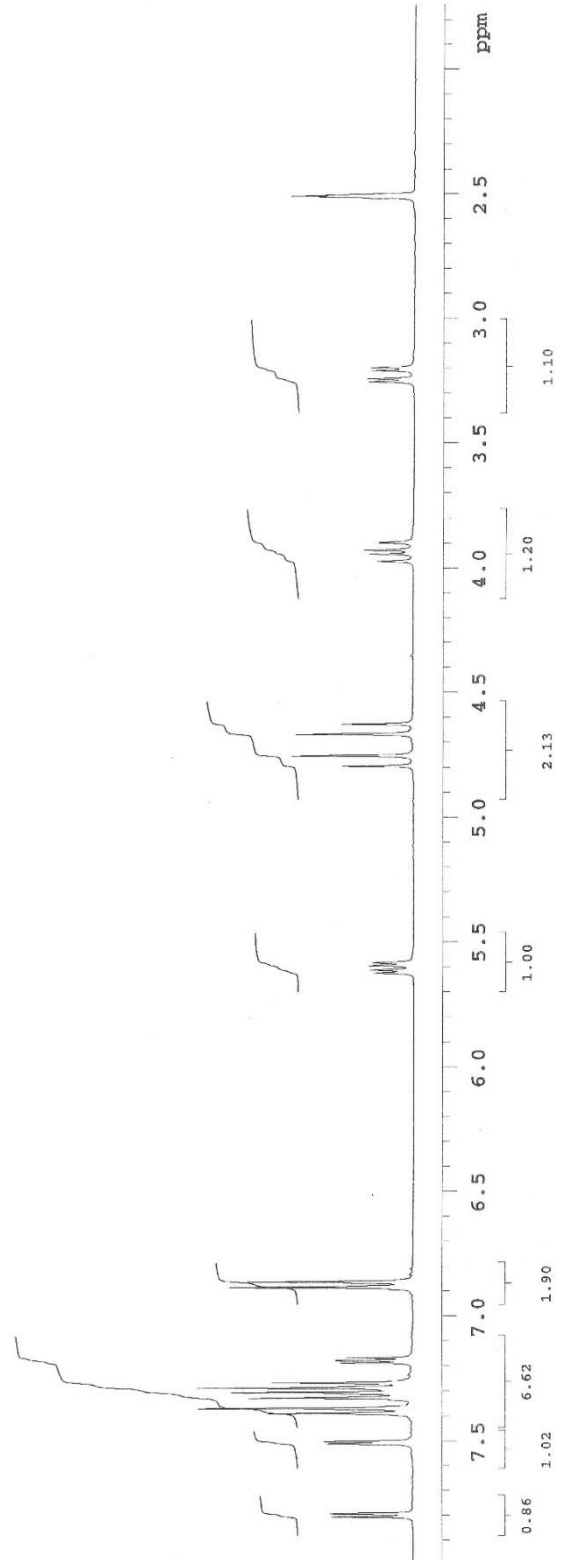


**EK 16.** Bileşik 4'e ait IR Spektrumu

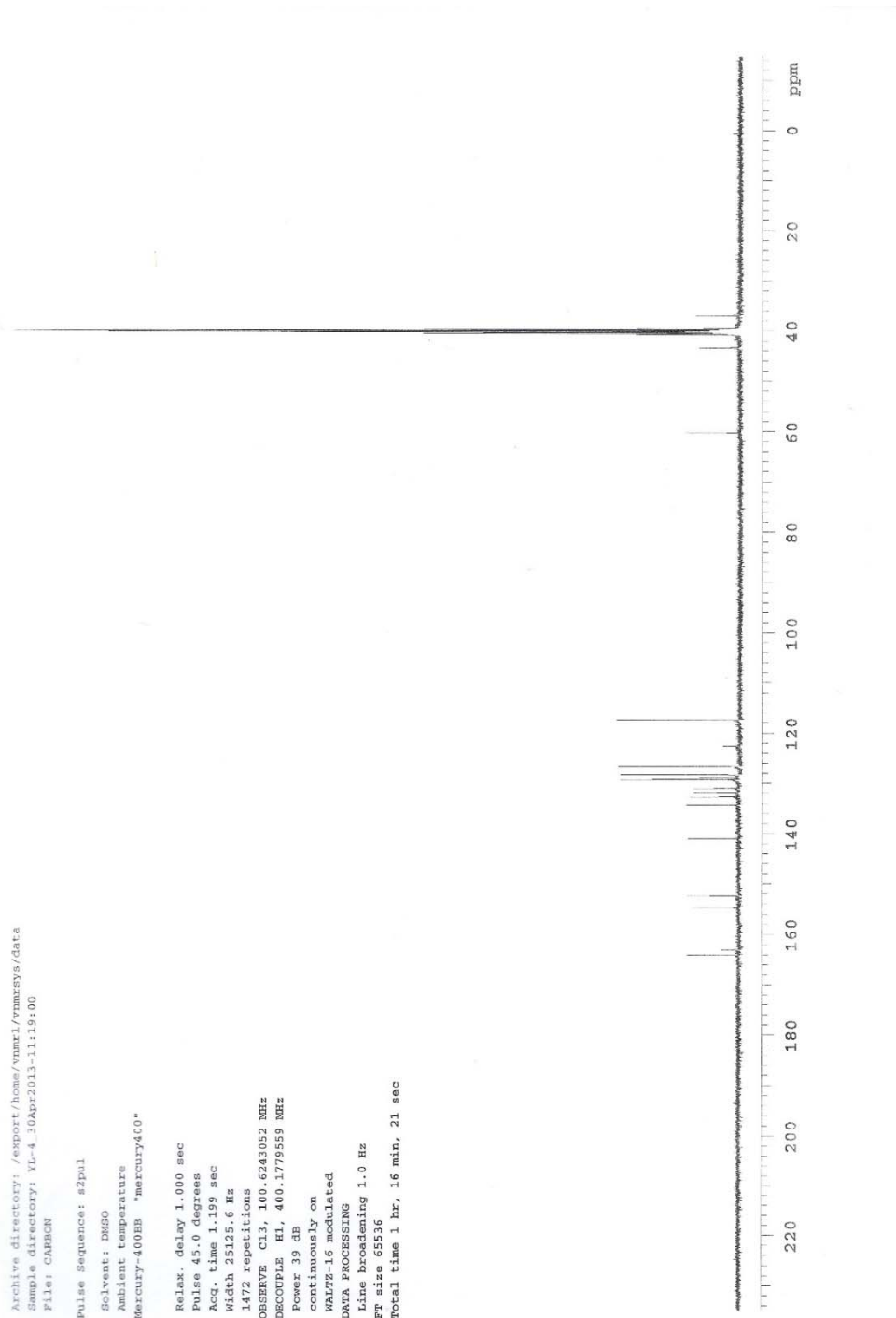




**EK 17.** Bileşik 4'e ait  $^1\text{H-NMR}$  Spektrumu (İntegral Değerleri ile)



# EK 18. Bileşik 4'e ait $^{13}\text{C}$ -NMR Spektrumu



# EK 19. Bileşik 4'e ait Kütle Spektrumu

Formula Predictor Report - YL-4\_4.lcd

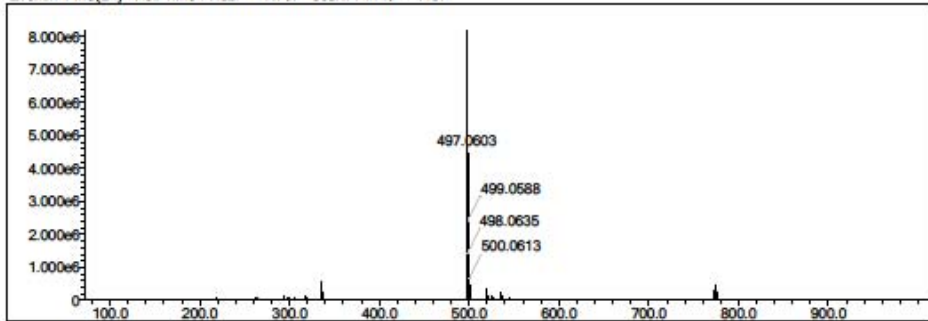
Page 1 of 1

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\AOzdemi\YL-4\_4.lcd

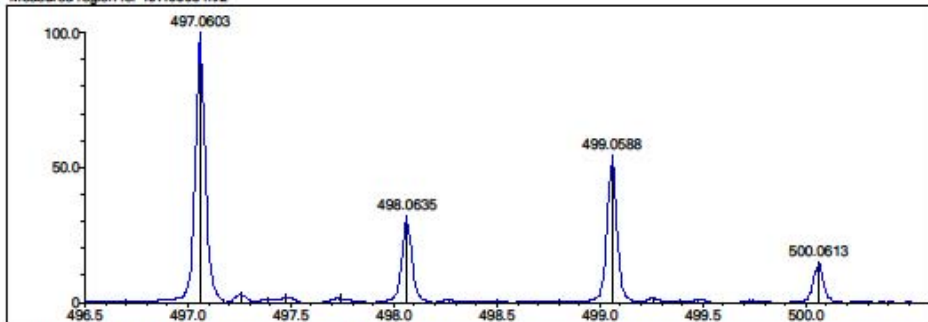
Elmt	Val	Min	Max	Elmt	Val	Min	Max	Elmt	Val	Min	Max	Use Adduct
H	1	16	27	O	2	1	3	Cl	1	1	2	H
C	4	17	24	F	1	0	0	Br	1	0	1	
N	3	4	7	S	2	2	3	I	3	0	0	

Error Margin (ppm): 5  
 DBE Range: 5.0 - 18.0  
 Electron Ions: both  
 HC Ratio: unlimited  
 Apply N Rule: yes  
 Use MSn Info: no  
 Max Isotopes: 3  
 Isotope RI (%): 1.00  
 Isotope Res: 10000  
 MSn Iso RI (%): 10.00  
 MSn Logic Mode: AND  
 Max Results: 500

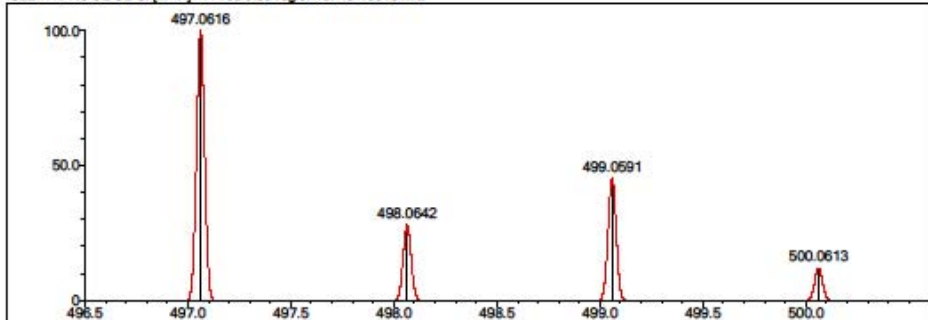
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 7.627 -> 7.707 Scan#: 1145 -> 1157



Measured region for 497.0603 m/z



C22 H17 N6 O2 S2 Cl [M+H]+ : Predicted region for 497.0616 m/z



Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	78.21	C22 H17 N6 O2 S2 Cl	[M+H]+	497.0603	497.0616	-1.3	-2.62	81.51	17.0

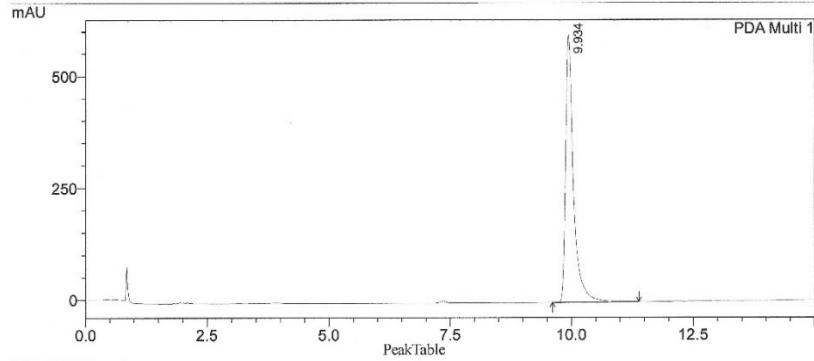
## EK 20. Bileşik 4'e ait LC Analiz Raporu

### ==== Shimadzu LCsolution Analysis Report ====

C:\LabSolutions\Data\Project1\aozdemin\YL-4\_04.lcd

Acquired by : Admin  
 Sample Name : YL-4  
 Sample ID :  
 Tray# : 1  
 Vial # : -1  
 Injection Volume : 20 uL  
 Data File Name : YL-4\_04.lcd  
 Method File Name : test\_GRAD.lcm  
 Batch File Name :  
 Report File Name : Default.lcr  
 Data Acquired : 29.06.2015 10:03:59  
 Data Processed : 29.06.2015 13:36:26

#### <Chromatogram>

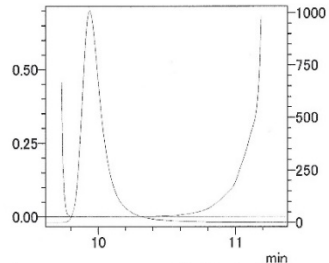


PDA Ch1 254nm 4nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	9.934	6771919	599250	100.000	100.000
Total		6771919	599250	100.000	100.000

#### Purity

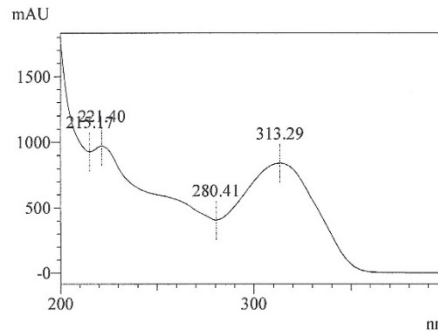
ID# : 1  
 Retention Time : 9.934  
 Compound Name : YL-4



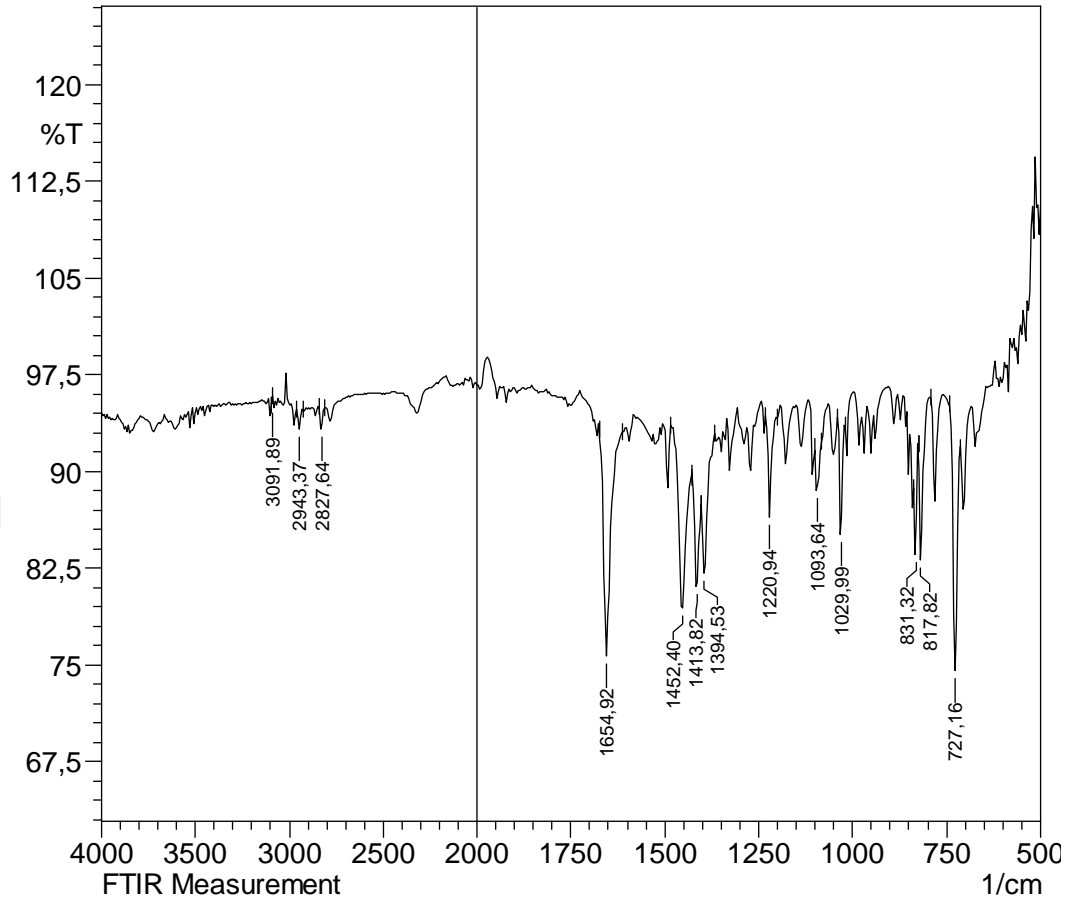
Impurity : Not Detected  
 Peak purity index : 1.000000  
 Single point threshold : 0.999982  
 Minimum peak purity index : 17

#### Spectrum

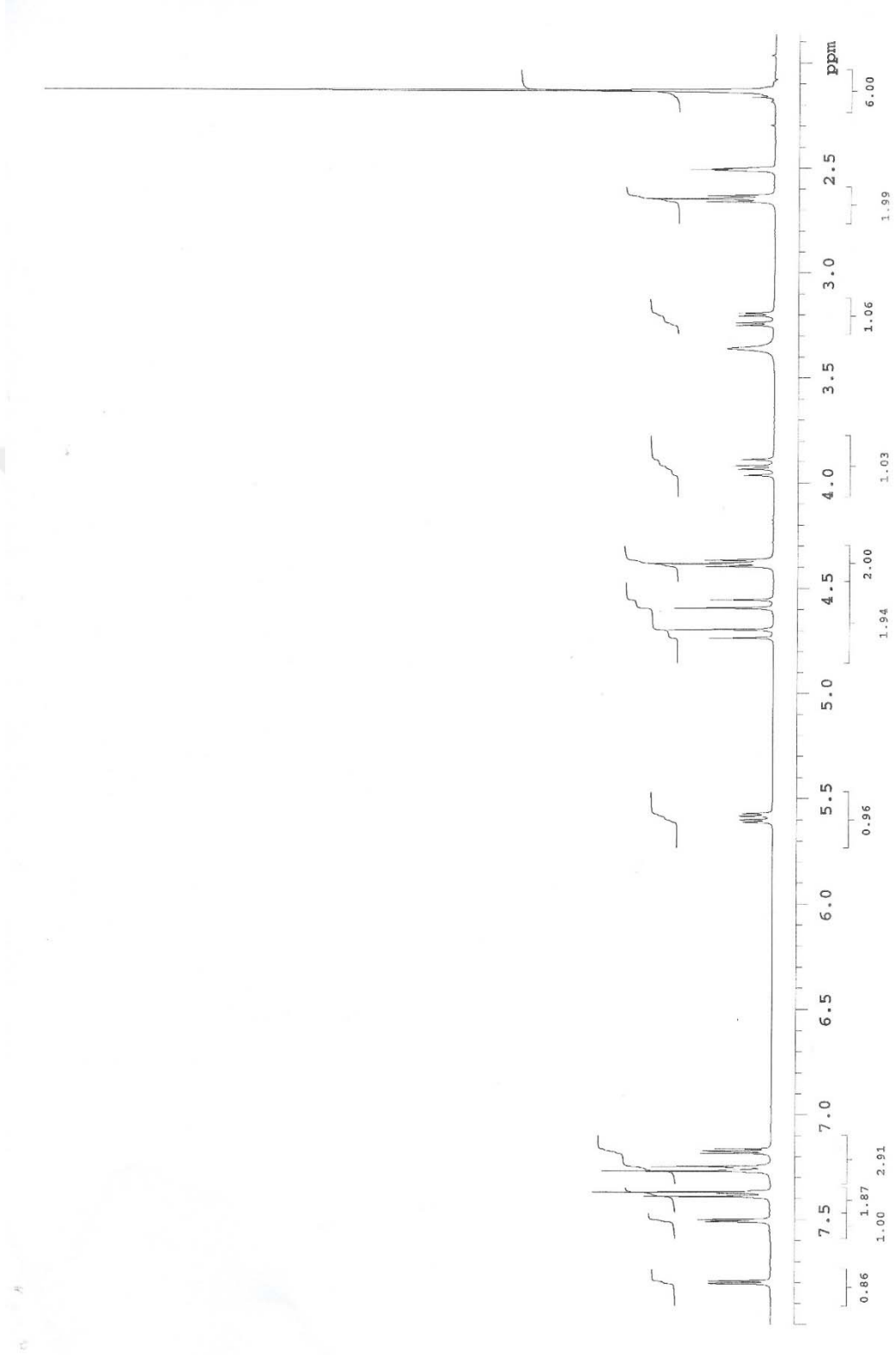
ID# : 1  
 Retention Time : 9.934  
 Compound Name : YL-4  
 Spectrum Operation : None



**EK 21.** Bileşik 5'e ait IR Spektrumu



**EK 22.** Bileşik 5'e ait  $^1\text{H-NMR}$  Spektrumu (İntegral Değerleri ile)



## EK 23. Bileşik 5'e ait $^{13}\text{C}$ -NMR Spektrumu

Archive directory: /export/home/nmr1/nmrays/data  
Sample directory: FL-5\_30Apr2013-16:15:21  
File: CARBON

Pulse Sequence: s2pul  
Solvent: DMSO  
Ambient temperature  
Mercury-400BB "mercury400"

Relax. delay 1.000 sec  
Pulse 45.0 degrees  
Acq. time 1.199 sec  
Width 25125.6 Hz  
1600 repetitions  
OBSERVE CH3, 100.6243052 MHz  
DECOUPLE H1, 400.1779559 MHz  
Power 39 dB  
continuously on  
WALTZ-16 modulated  
DATA PROCESSING  
Line broadening 1.0 Hz  
Ft size 65536  
Total time 1 hr, 16 min, 21 sec



## EK 24. Bileşik 5'e ait Kütle Spektrumu

Formula Predictor Report - YL-5\_5.lcd

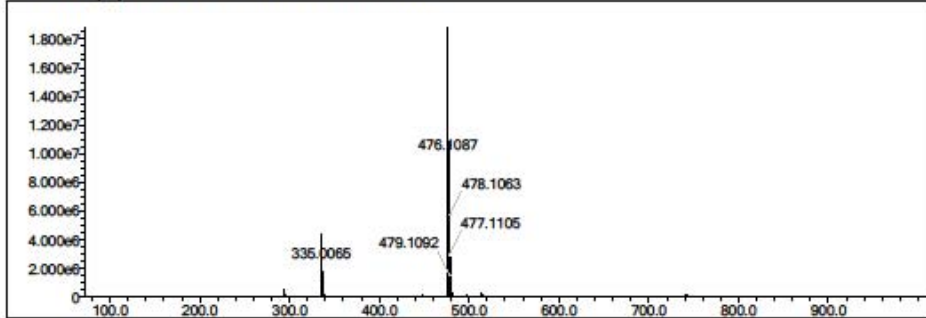
Page 1 of 1

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\AOzdemir\YL-5\_5.lcd

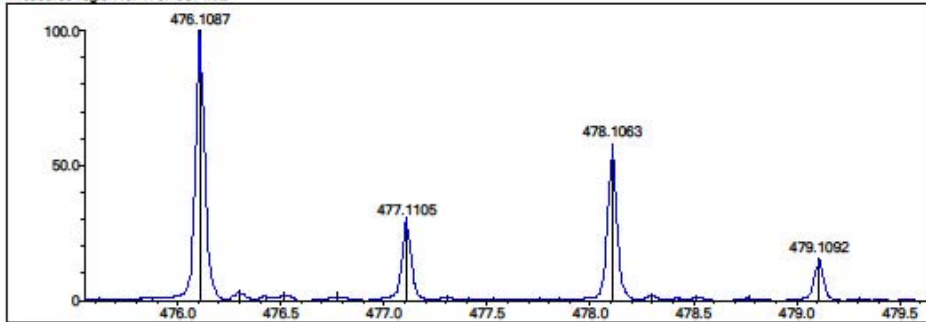
Elmt	Val	Min	Max	Elmt	Val	Min	Max	Elmt	Val	Min	Max	Use Adduct
H	1	16	25	O	2	1	3	Cl	1	1	2	H
C	4	17	24	F	1	0	0	Br	1	0	1	
N	3	4	7	S	2	2	3	I	3	0	0	

Error Margin (ppm): 5  
 DBE Range: 5.0 - 18.0  
 Electron Ions: both  
 HC Ratio: unlimited  
 Apply N Rule: yes  
 Use MSn Info: no  
 Max Isotopes: 3  
 Isotope RI (%): 1.00  
 MSn Iso RI (%): 10.00  
 MSn Logic Mode: AND  
 Isotope Res: 10000  
 Max Results: 500

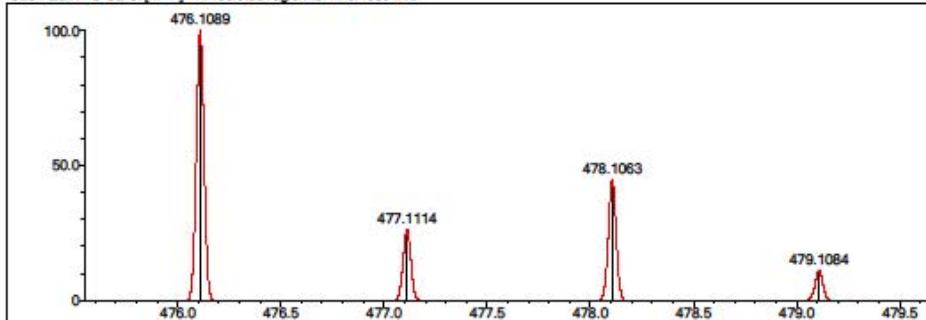
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time: 4.680 -> 4.720 Scan#: 703 -> 709



Measured region for 476.1087 m/z



C20 H22 N7 O S2 Cl [M+H]<sup>+</sup> : Predicted region for 476.1089 m/z



Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	74.53	C20 H22 N7 O S2 Cl	[M+H] <sup>+</sup>	476.1087	476.1089	-0.2	-0.42	74.53	13.0



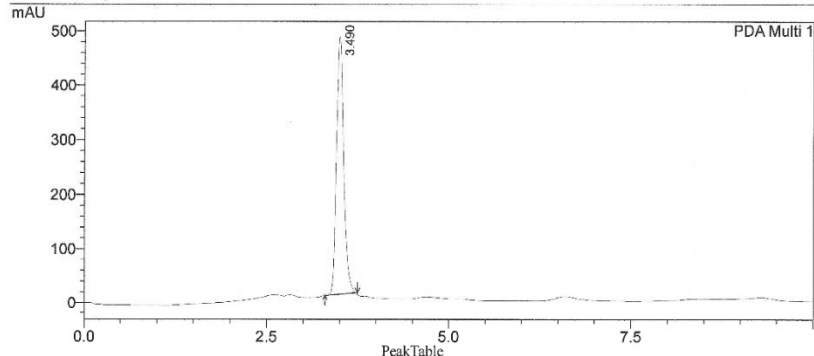
# EK 25. Bileşik 5'e ait LC Analiz Raporu

## ==== Shimadzu LCsolution Analysis Report ====

C:\LabSolutions\Data\Project1\aozdemir\YL-5\_05.lcd

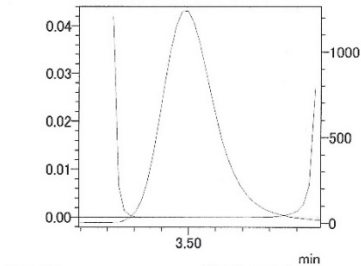
Acquired by : Admin  
 Sample Name : YL-5  
 Sample ID :  
 Tray# : 1  
 Vial # : -1  
 Injection Volume : 20 uL  
 Data File Name : YL-5\_05.lcd  
 Method File Name : test\_GRAD-2.lcm  
 Batch File Name :  
 Report File Name : Default.lcr  
 Data Acquired : 29.06.2015 15:58:03  
 Data Processed : 29.06.2015 16:13:06

### <Chromatogram>



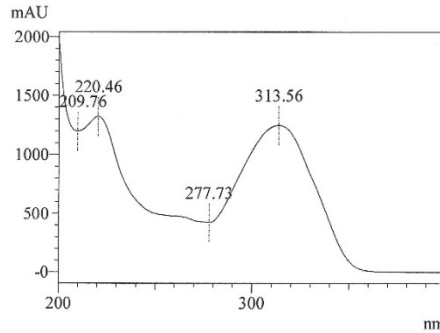
Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	3.490	3267103	419063	100.000	100.000
Total		3267103	419063	100.000	100.000

**Purity**  
 ID# : 1  
 Retention Time : 3.490  
 Compound Name : YL-5

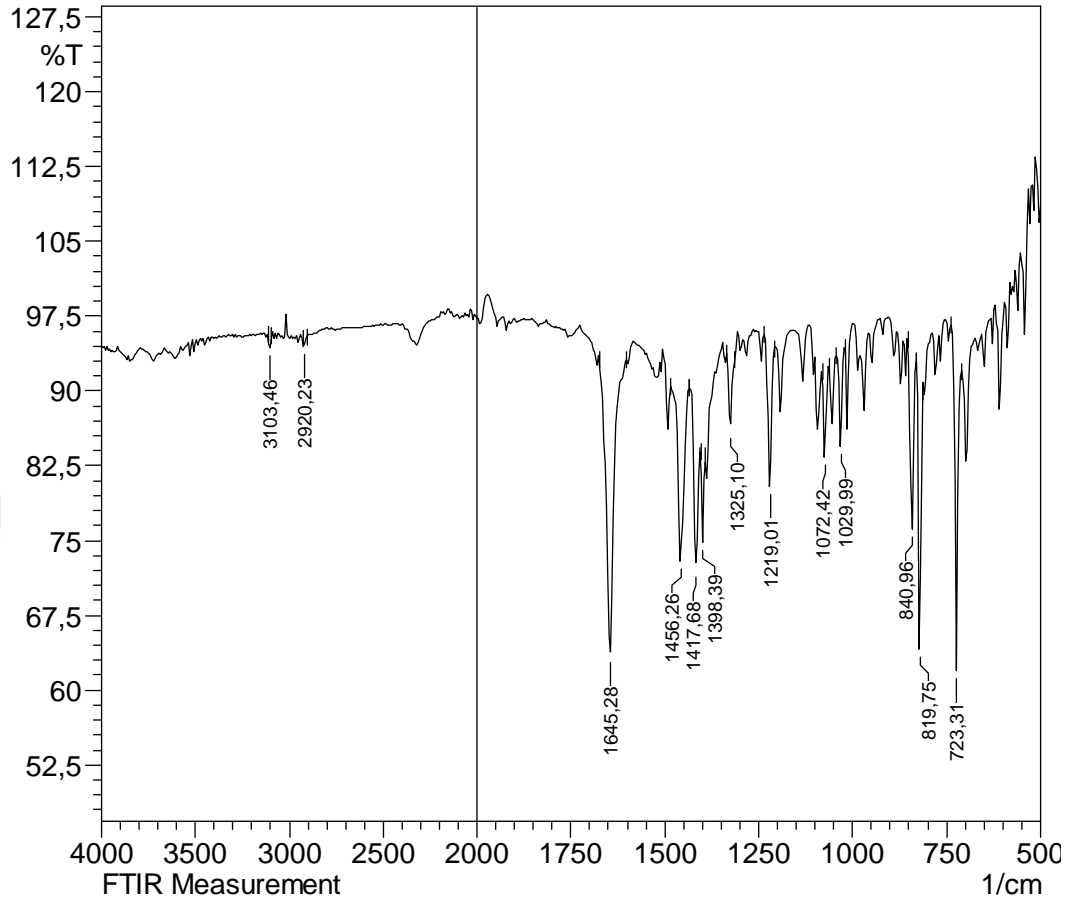


Impurity : Not Detected  
 Peak purity index : 1.000000  
 Single point threshold : 0.999992  
 Minimum peak purity index : 7

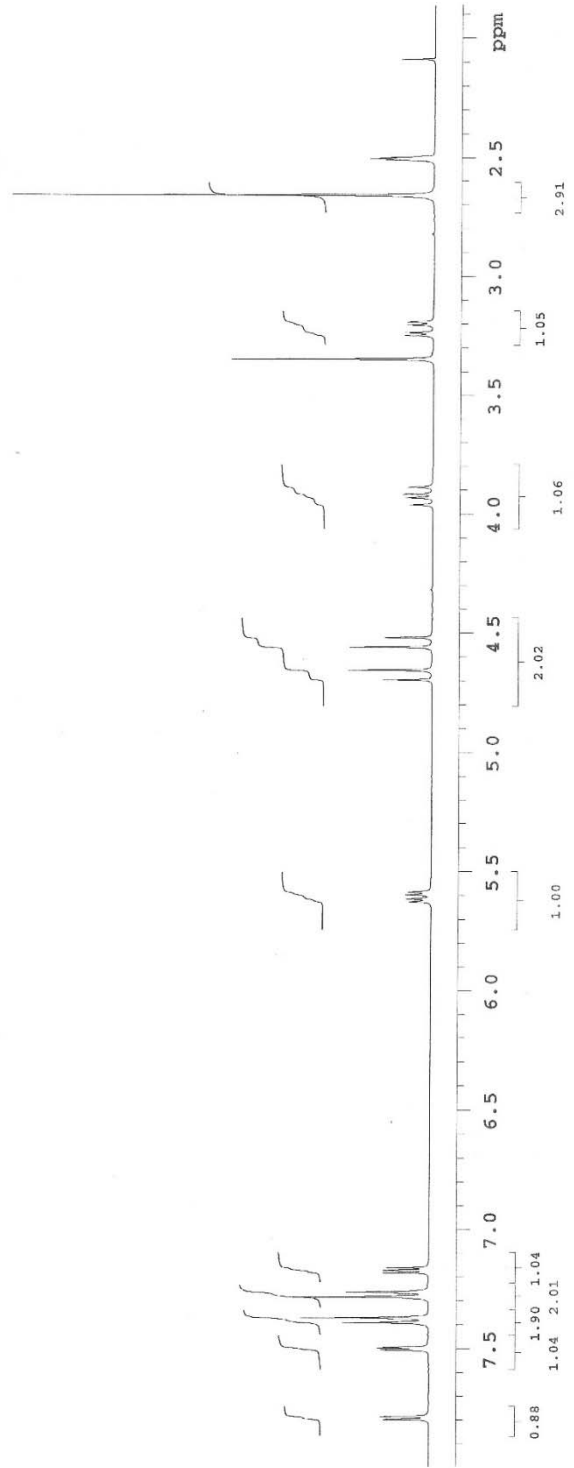
**Spectrum**  
 ID# : 1  
 Retention Time : 3.490  
 Compound Name : YL-5  
 Spectrum Operation : None



**EK 26.** Bileşik 6'ya ait IR Spektrumu



**EK 27.** Bileşik 6'ya ait  $^1\text{H}$ -NMR Spektrumu (İntegral Değerleri ile)

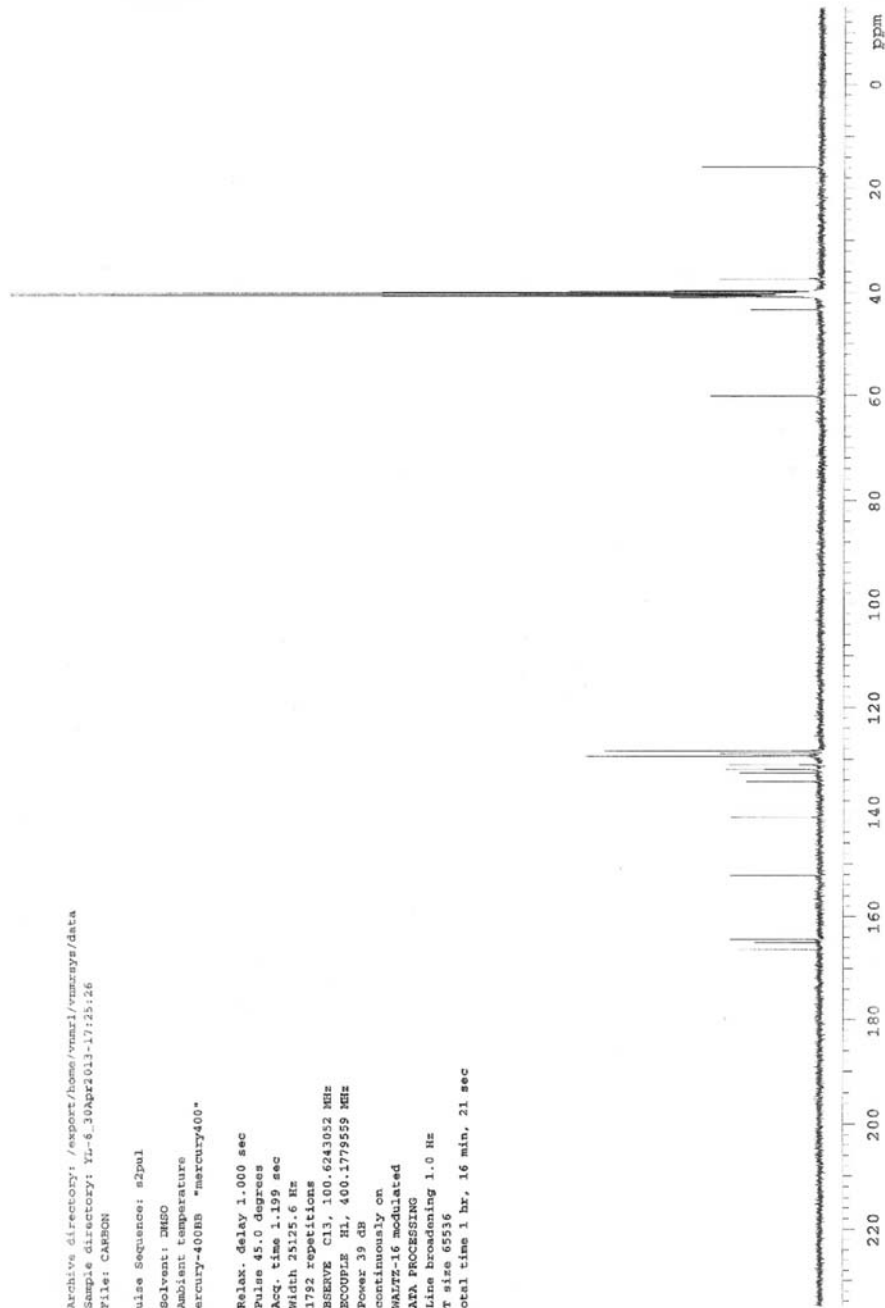


## EK 28. Bileşik 6'ya ait $^{13}\text{C}$ -NMR Spektrumu

Archive directory: /export/home/vnmr1/vnmrxyz/data  
Sample directory: YL-8\_30Apr2013-17:25:26  
File: CARBON

Pulse Sequence: s2pul  
Solvent: DMSO  
Ambient temperature  
Mercury-400BB "mercury400"

Relax. delay 1.000 sec  
Pulse 45.0 degrees  
Acq. time 1.199 sec  
Width 25125.6 Hz  
1782 repetitions  
OBSERVE C13, 100.6243052 MHz  
DECOUPLE H1, 400.1778559 MHz  
Power 39 dB  
continuously on  
WALTZ-16 modulated  
DATA PROCESSING  
Line broadening 1.0 Hz  
FT size 65536  
Total time 1 hr, 16 min, 21 sec



# EK 29. Bileşik 6'ya ait Kütle Spektrumu

Formula Predictor Report - YL-6\_6.Icd

Page 1 of 1

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\AOzdemi\YL-6\_6.Icd

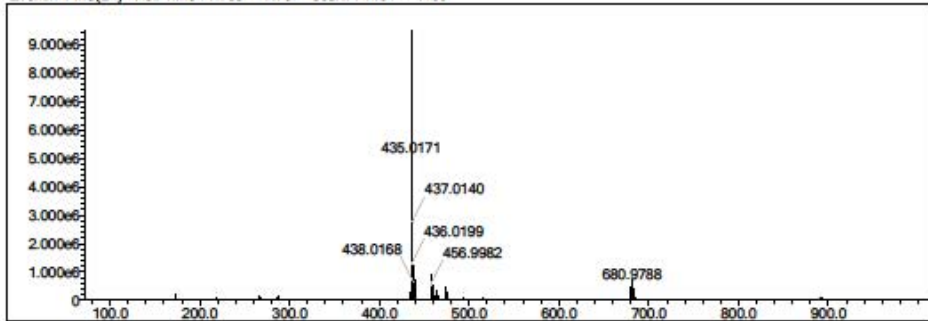
Elmt	Val	Min	Max	Elmt	Val	Min	Max	Elmt	Val	Min	Max	Use Adduct
H	1	16	25	O	2	1	3	Cl	1	1	2	H
C	4	17	24	F	1	0	0	Br	1	0	1	
N	3	4	7	S	2	2	3	I	3	0	0	

Error Margin (ppm): 5  
 HC Ratio: unlimited  
 Max Isotopes: 3  
 MSn Iso RI (%): 10.00

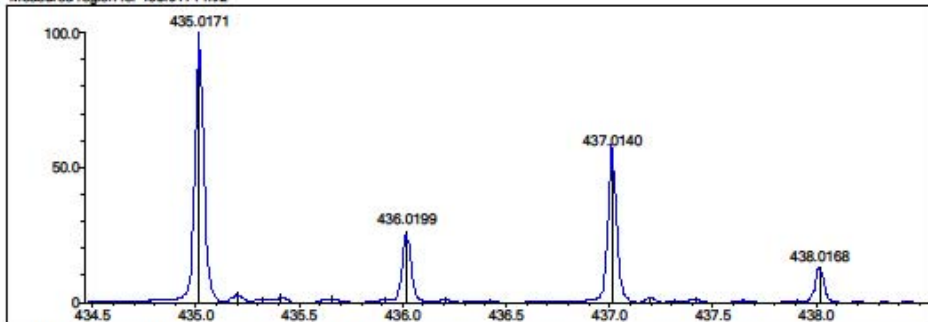
DBE Range: 5.0 - 18.0  
 Apply N Rule: yes  
 Isotope RI (%): 1.00  
 MSn Logic Mode: AND

Electron Ions: both  
 Use MSn Info: no  
 Isotope Res: 10000  
 Max Results: 500

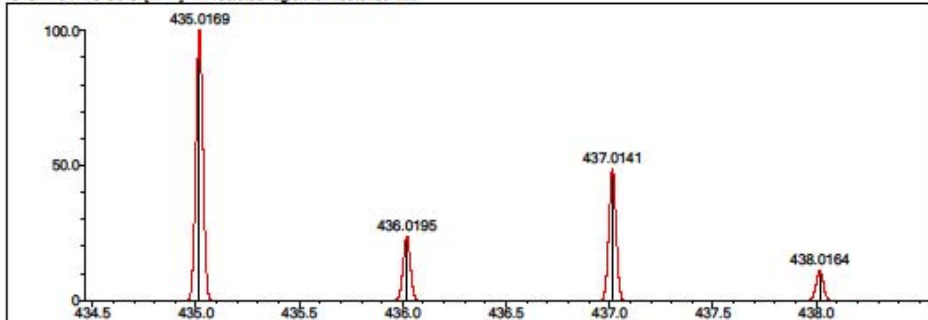
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time: 7.733 -> 7.787 Scan#: 1161 -> 1169



Measured region for 435.0171 m/z



C18 H15 N4 O S3 Cl [M+H]<sup>+</sup> : Predicted region for 435.0169 m/z



Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	86.18	C18 H15 N4 O S3 Cl	[M+H] <sup>+</sup>	435.0171	435.0169	0.2	0.46	86.18	13.0

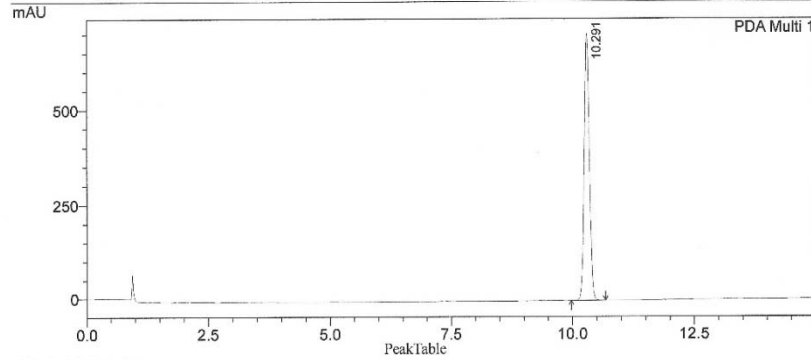
# EK 30. Bileşik 6'ya ait LC Analiz Raporu

## ==== Shimadzu LCsolution Analysis Report ====

C:\LabSolutions\Data\Project1\laözdemi\YL-6\_01.lcd

Acquired by : Admin  
 Sample Name : YL-6  
 Sample ID :  
 Tray# : 1  
 Vial # : -1  
 Injection Volume : 20 uL  
 Data File Name : YL-6\_01.lcd  
 Method File Name : test\_GRAD.lcm  
 Batch File Name :  
 Report File Name : Default.lcr  
 Data Acquired : 29.06.2015 10:57:12  
 Data Processed : 29.06.2015 13:39:59

### <Chromatogram>

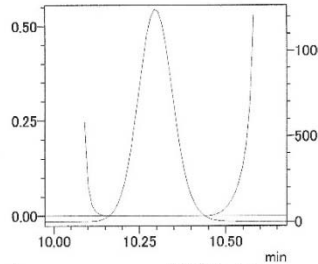


PDA Ch1 254nm 4nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	10.291	5277605	707872	100.000	100.000
Total		5277605	707872	100.000	100.000

### Purity

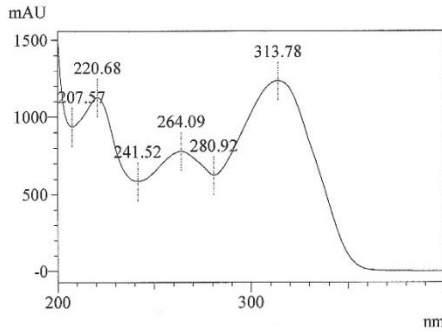
ID# : 1  
 Retention Time : 10.291  
 Compound Name : YL-6



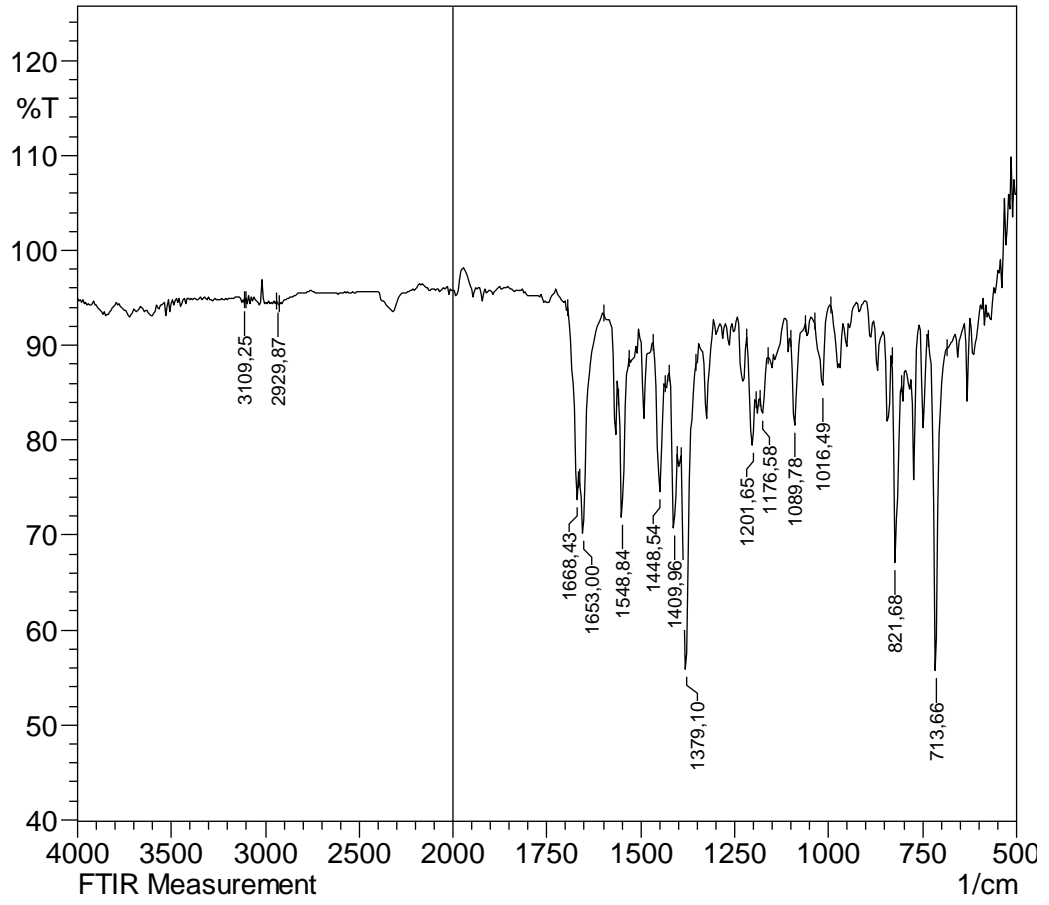
Impurity : Not Detected  
 Peak purity index : 1.000000  
 Single point threshold : 0.999986  
 Minimum peak purity index : 14

### Spectrum

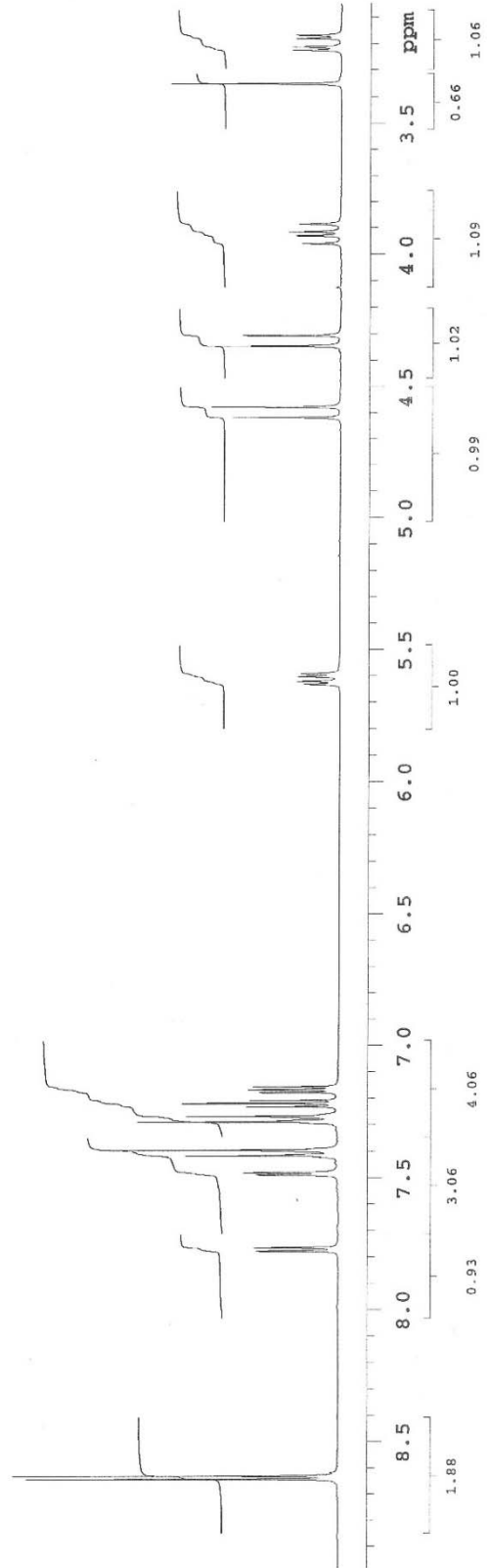
ID# : 1  
 Retention Time : 10.291  
 Compound Name : YL-6  
 Spectrum Operation : None



**EK 31.** Bileşik 7'ye ait IR Spektrumu



**EK 32.** Bileşik 7'ye ait  $^1\text{H}$ -NMR Spektrumu (İntegral Değerleri ile)



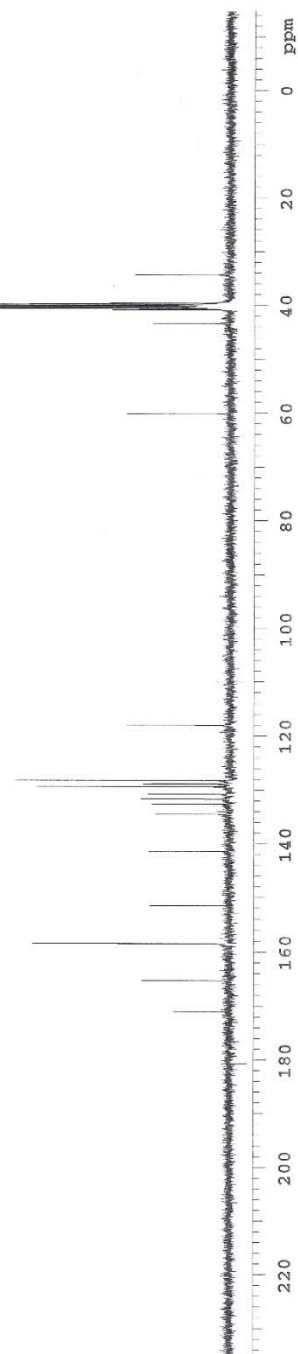


### EK 33. Bileşik 7'ye ait <sup>13</sup>C-NMR Spektrumu

Archive directory: /export/home/vmuel/rmasci/rmasci/data  
Sample directory: YL-7\_29Apr2013-16:25:21  
File: CARBON

Pulse Sequence: s2pul  
Solvent: DMSO  
Ambient temperature  
Mercury-400BB "mercury400"

Relax. delay 1.000 sec  
Pulse 45.0 degrees  
Acq. time 1.199 sec  
Width 25125.6 Hz  
576 repetitions  
OBSERVE C13, 100.6243052 MHz  
DECOUPLE H1, 400.1779559 MHz  
Power 39 dB  
continuously on  
WALTZ-16 modulated  
DATA PROCESSING  
Line broadening 1.0 Hz  
Ft size 65536  
Total time 1 hr, 16 min, 21 sec



# EK 34. Bileşik 7'ye ait Kütle Spektromu

Formula Predictor Report - YL-7\_7.lcd

Page 1 of 1

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\AOzdemir\YL-7\_7.lcd

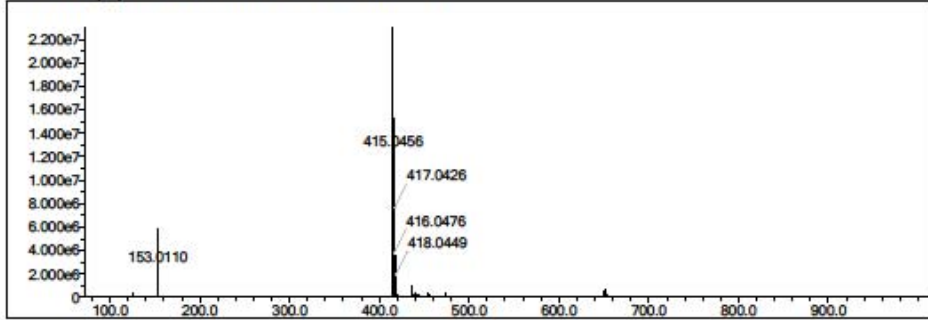
Elmt	Val	Min	Max	Elmt	Val	Min	Max	Elmt	Val	Min	Max	Use Adduct
H	1	15	25	O	2	1	3	Cl	1	1	2	H
C	4	17	24	F	1	0	0	Br	1	0	1	
N	3	4	7	S	2	2	3	I	3	0	0	

Error Margin (ppm): 5  
 HC Ratio: unlimited  
 Max Isotopes: 3  
 MSn Iso RI (%): 10.00

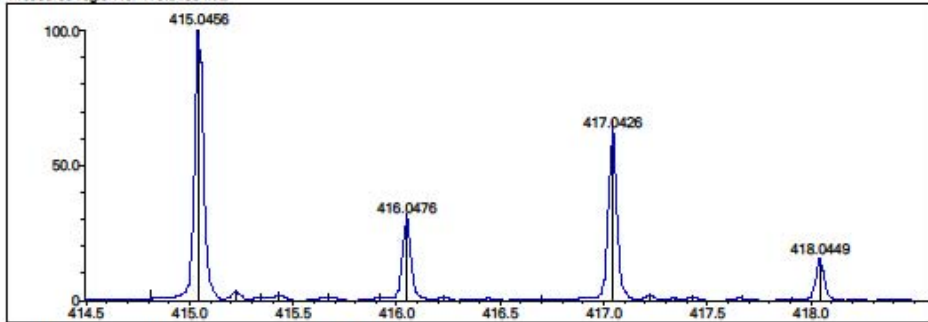
DBE Range: 5.0 - 18.0  
 Apply N Rule: yes  
 Isotope RI (%): 1.00  
 MSn Logic Mode: AND

Electron Ions: both  
 Use MSn Info: no  
 Isotope Res: 10000  
 Max Results: 500

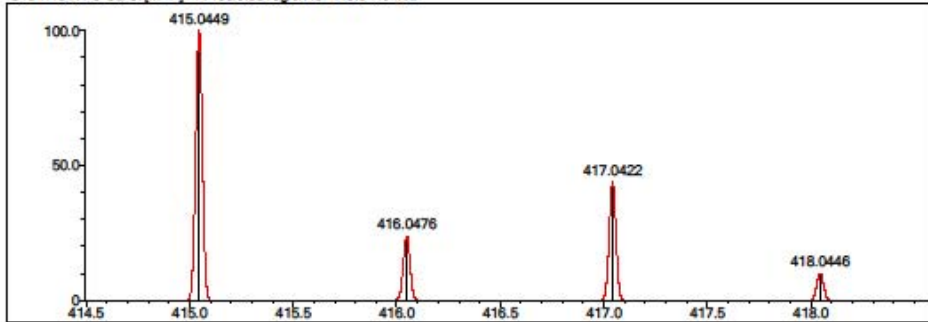
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 7.773 -> 7.867 Scan#: 1167 -> 1181



Measured region for 415.0456 m/z



C19 H15 N4 O S2 Cl [M+H]<sup>+</sup> : Predicted region for 415.0449 m/z



Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	61.88	C19 H15 N4 O S2 Cl	[M+H] <sup>+</sup>	415.0456	415.0449	0.7	1.69	62.96	14.0

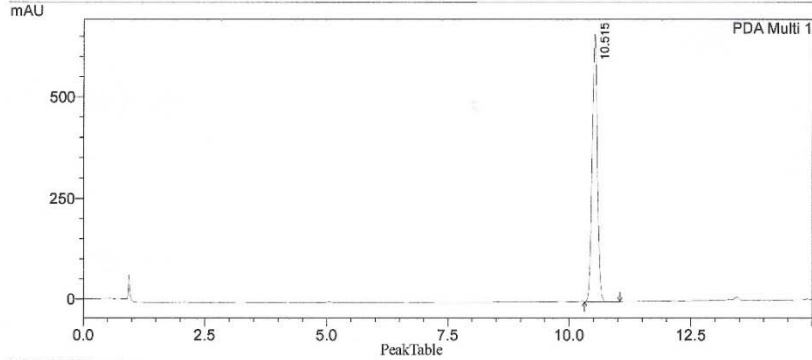
# EK 35. Bileşik 7'ye ait LC Analiz Raporu

## ==== Shimadzu LCsolution Analysis Report ====

C:\LabSolutions\Data\Project1\aozdemi\YL-7\_01.lcd

Acquired by : Admin  
 Sample Name : YL-7  
 Sample ID :  
 Tray# : 1  
 Vial # : -1  
 Injection Volume : 20 uL  
 Data File Name : YL-7\_01.lcd  
 Method File Name : yl-6.lcm  
 Batch File Name :  
 Report File Name : Default.lcr  
 Data Acquired : 29.06.2015 11:14:01  
 Data Processed : 29.06.2015 16:06:53

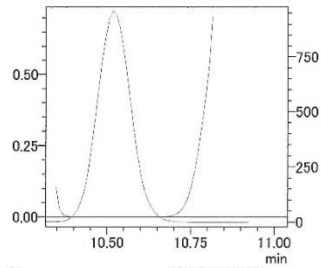
### <Chromatogram>



Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	10.515	4958363	662616	100.000	100.000
Total		4958363	662616		

### Purity

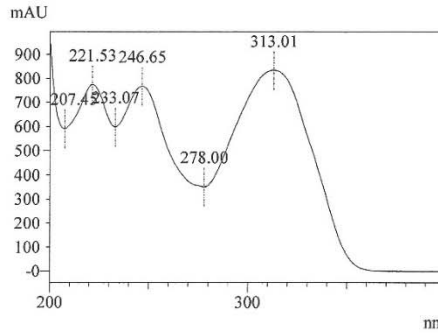
ID# : 1  
 Retention Time : 10.515  
 Compound Name : YL-7



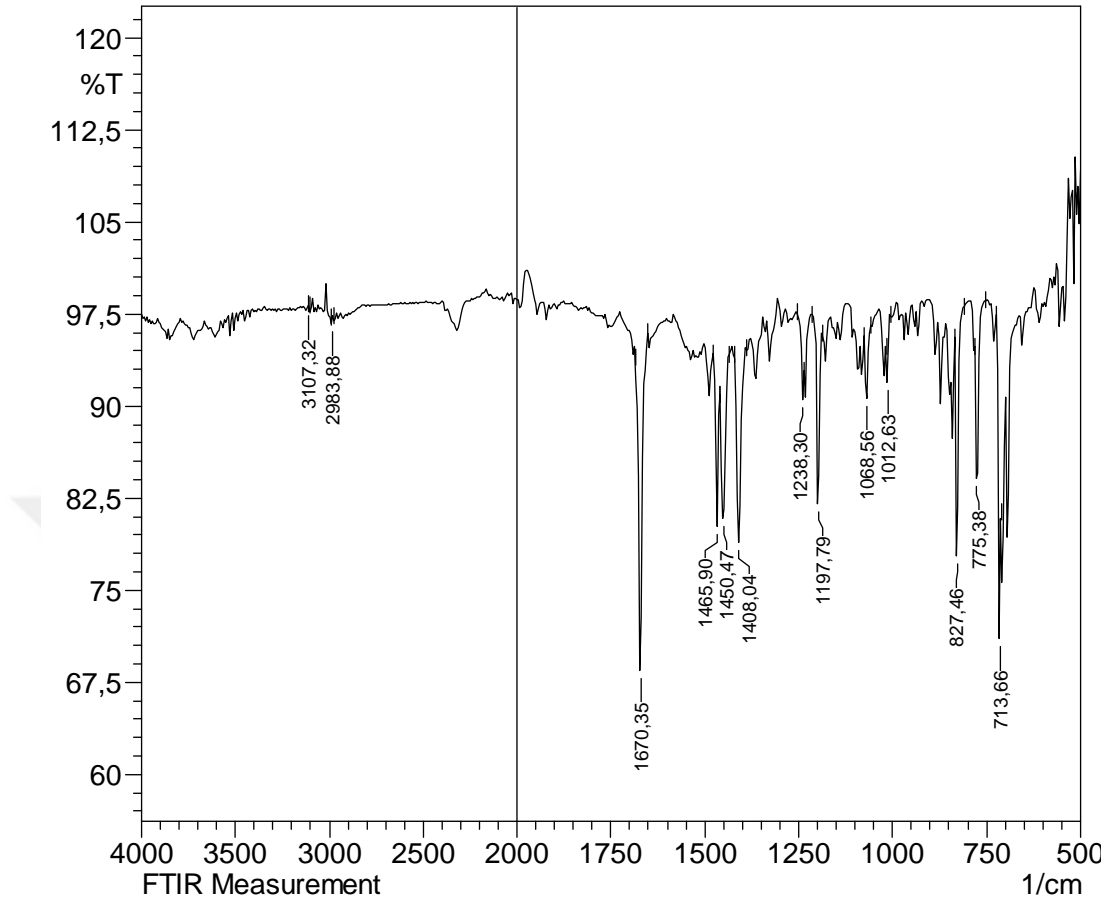
Impurity : Not Detected  
 Peak purity index : 1.000000  
 Single point threshold : 0.999970  
 Minimum peak purity index : 30

### Spectrum

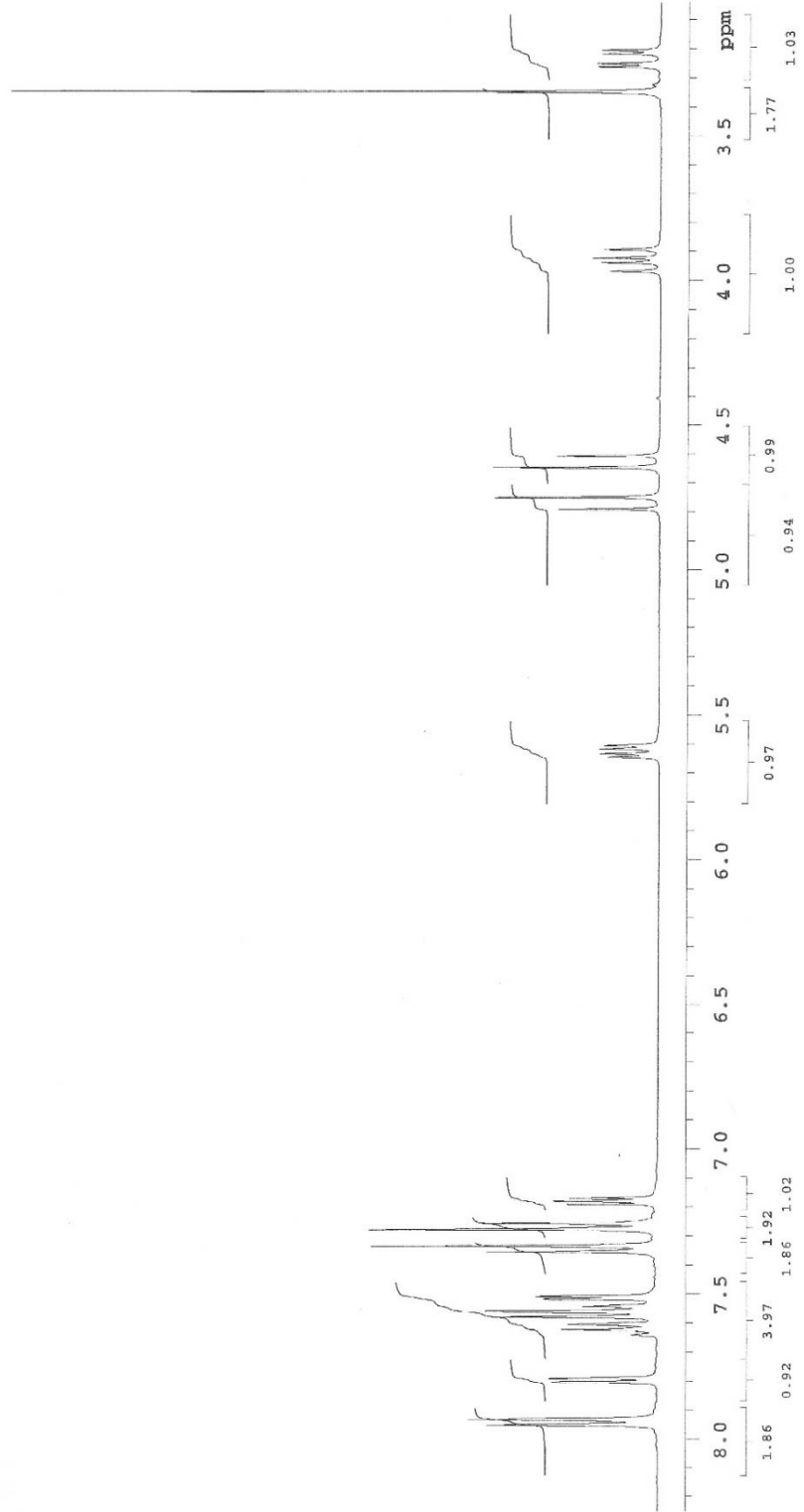
ID# : 1  
 Retention Time : 10.515  
 Compound Name : YL-7  
 Spectrum Operation : None



**EK 36.** Bileşik 8'e ait IR Spektrumu



**EK 37.** Bileşik 8'e ait  $^1\text{H-NMR}$  Spektrumu (İntegral Değerleri ile)

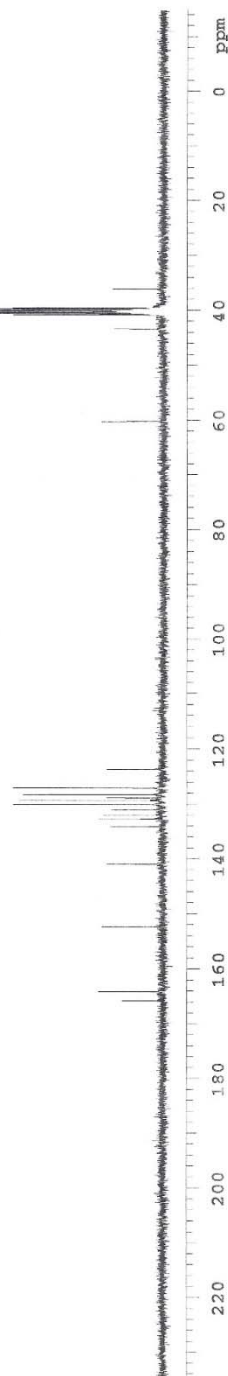


# EK 38. Bileşik 8'e ait $^{13}\text{C}$ -NMR Spektrumu

Archive directory: /export/home/nmr1/nmr1sys/data  
Sample directory: YL-8\_30Apr2013-18:47:45  
File: CHBON

Pulse Sequence: s2pul  
Solvent: DMSO  
Ambient temperature  
Mercury-400EB "mercury400"

Relax. delay 1.000 sec  
Pulse 45.0 degrees  
Acq. time 1.199 sec  
Width 25125.6 Hz  
1000 repetitions  
OBSERVE C13, 100.6243052 MHz  
DECOUPLE H1, 400.1779559 MHz  
Power: 39 dB  
continuously on  
WALTZ-16 modulated  
DATA PROCESSING  
Line broadening 1.0 Hz  
Ft size 65536  
Total time 38 min, 10 sec



# EK 39. Bileşik 8'e ait Kütle Spektrumu

Formula Predictor Report - YL-8\_8.Icd

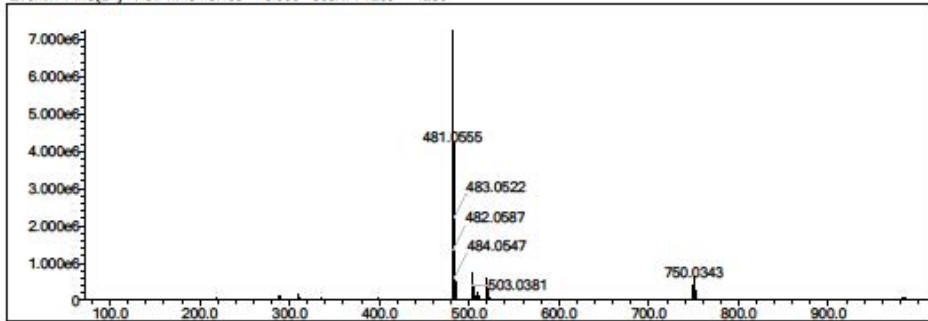
Page 1 of 1

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\AOzdemi\YL-8\_8.Icd

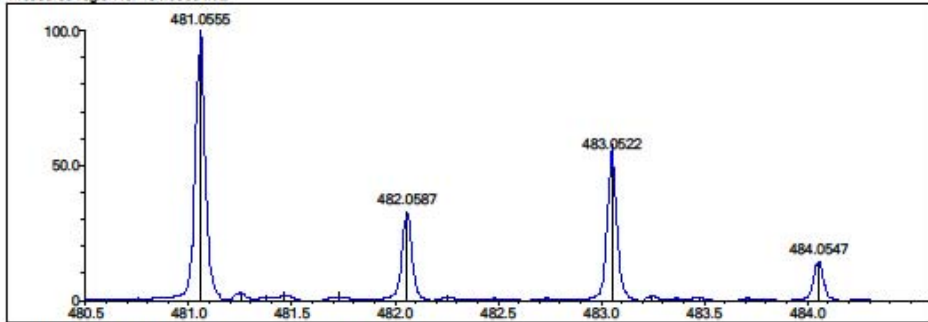
Elmt	Val	Min	Max	Elmt	Val	Min	Max	Elmt	Val	Min	Max	Use Adduct
H	1	16	25	O	2	1	3	Cl	1	1	2	H
C	4	17	24	F	1	0	0	Br	1	0	1	
N	3	4	7	S	2	2	3	I	3	0	0	

Error Margin (ppm): 5  
 DBE Range: 5.0 - 18.0  
 Electron Ions: both  
 HC Ratio: unlimited  
 Apply N Rule: yes  
 Use MSn Info: no  
 Max Isotopes: 3  
 Isotope RI (%): 1.00  
 Isotope Res: 10000  
 MSn Iso RI (%): 10.00  
 MSn Logic Mode: AND  
 Max Results: 500

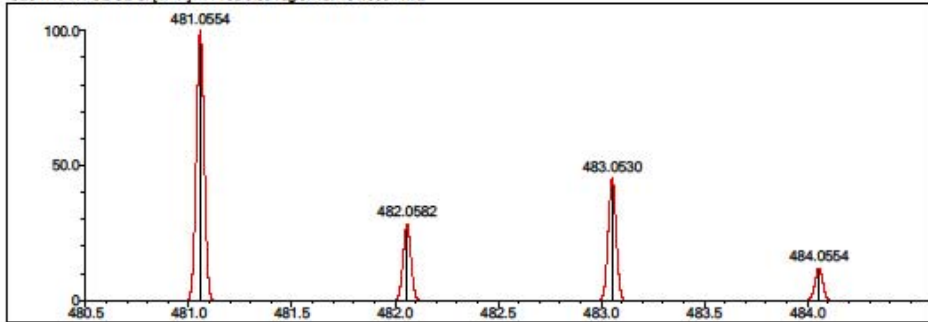
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 8.453 -> 8.560 Scan#: 1269 -> 1285



Measured region for 481.0555 m/z



C23 H17 N4 O2 S2 Cl [M+H]+ : Predicted region for 481.0554 m/z



Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	73.14	C23 H17 N4 O2 S2 Cl	[M+H] <sup>+</sup>	481.0555	481.0554	0.1	0.21	73.14	17.0

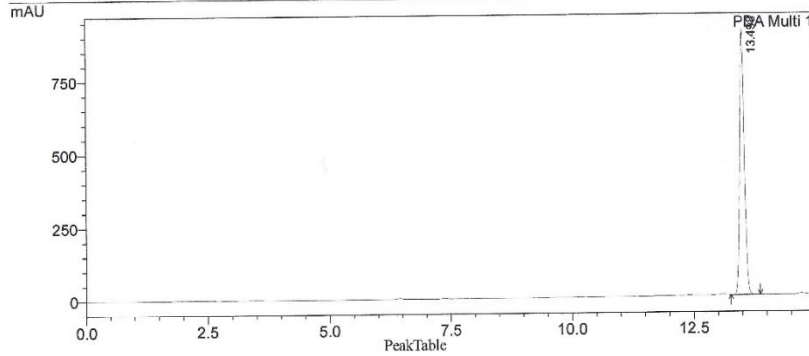
# EK 40. Bileşik 8'e ait LC Analiz Raporu

## ==== Shimadzu LCsolution Analysis Report ====

C:\LabSolutions\Data\Project1\laözdemi\YL-8\_01.lcd

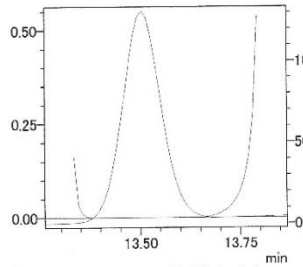
Acquired by : Admin  
 Sample Name : YL-8  
 Sample ID :  
 Tray# : 1  
 Vial # : -1  
 Injection Volume : 20 uL  
 Data File Name : YL-8\_01.lcd  
 Method File Name : test\_GRAD.lcm  
 Batch File Name :  
 Report File Name : Default.lcr  
 Data Acquired : 29.06.2015 11:34:55  
 Data Processed : 29.06.2015 13:44:49

### <Chromatogram>



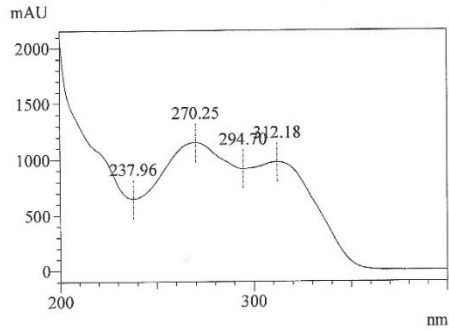
Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	13.498	6204930	912769	100.000	100.000
Total		6204930	912769	100.000	100.000

**Purity**  
 ID# : 1  
 Retention Time : 13.498  
 Compound Name : YL-8



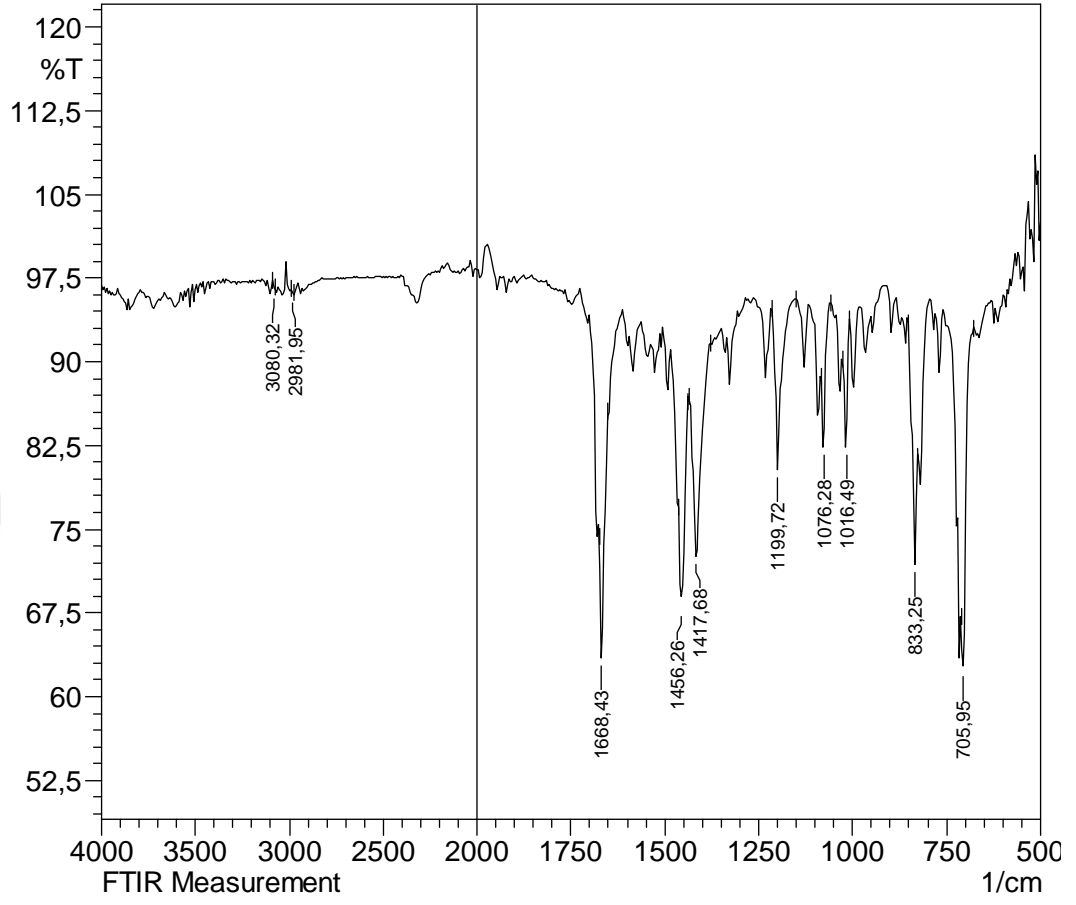
Impurity : Not Detected  
 Peak purity index : 1.000000  
 Single point threshold : 0.999985  
 Minimum peak purity index : 15

**Spectrum**  
 ID# : 1  
 Retention Time : 13.498  
 Compound Name : YL-8  
 Spectrum Operation : None

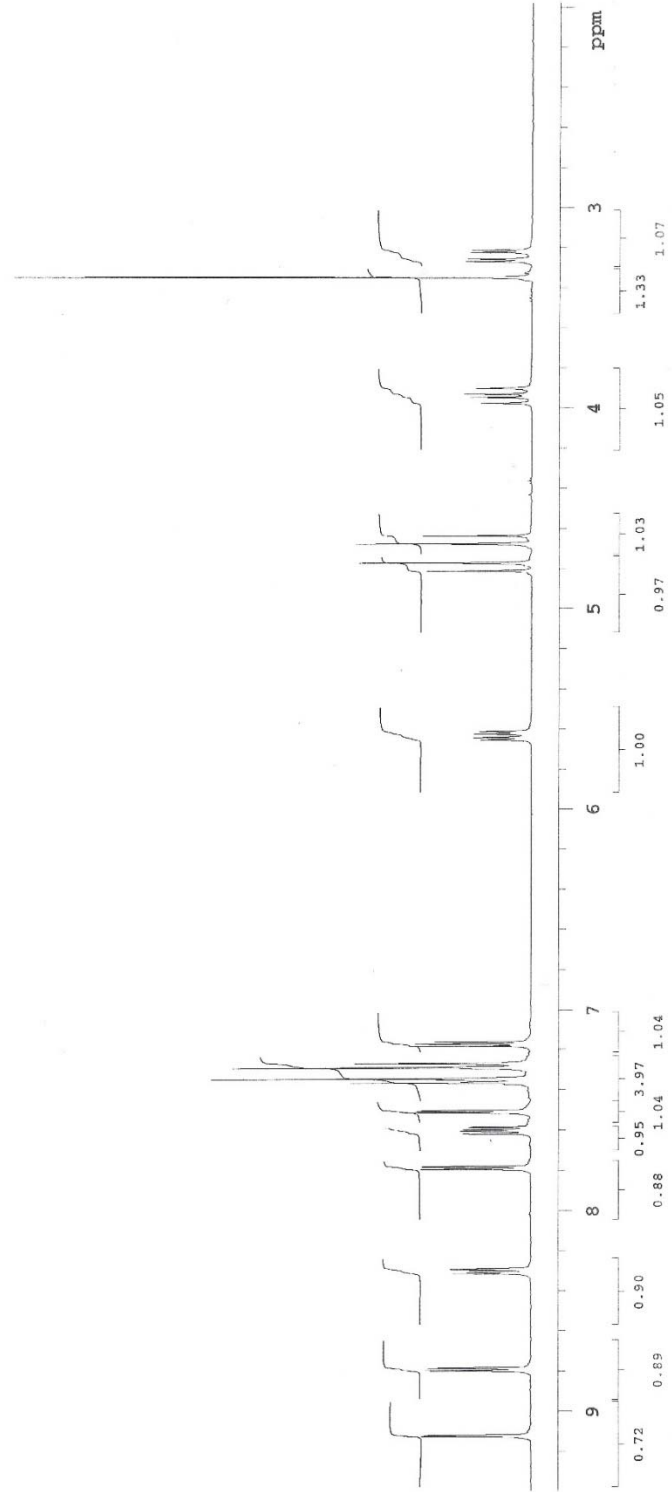




**EK 41.** Bileşik 9'a ait IR Spektrumu



**EK 42.** Bileşik 9'a ait  $^1\text{H-NMR}$  Spektrumu (İntegral Değerleri ile)



# EK 43. Bileşik 9'a ait $^{13}\text{C}$ -NMR Spektrumu

Archive directory: /export/home/vnmr1/vnmrSYS/data  
Sample directory: YL-9\_01May2013-09:05:46  
File: CARBON

Pulse Sequence: s2pul

Solvent: DMSO  
Temp. 25.0 C / 298.1 K  
Mercury-400BB "mercury400"

Relax. delay 1.000 sec  
Pulse 45.0 degrees  
Acq. time 1.199 sec  
Width 25125.6 Hz  
1216 repetitions  
OBSERVE C13, 100.6243052 MHz  
DECOUPLE H1, 400.1779559 MHz  
Power 39 dB

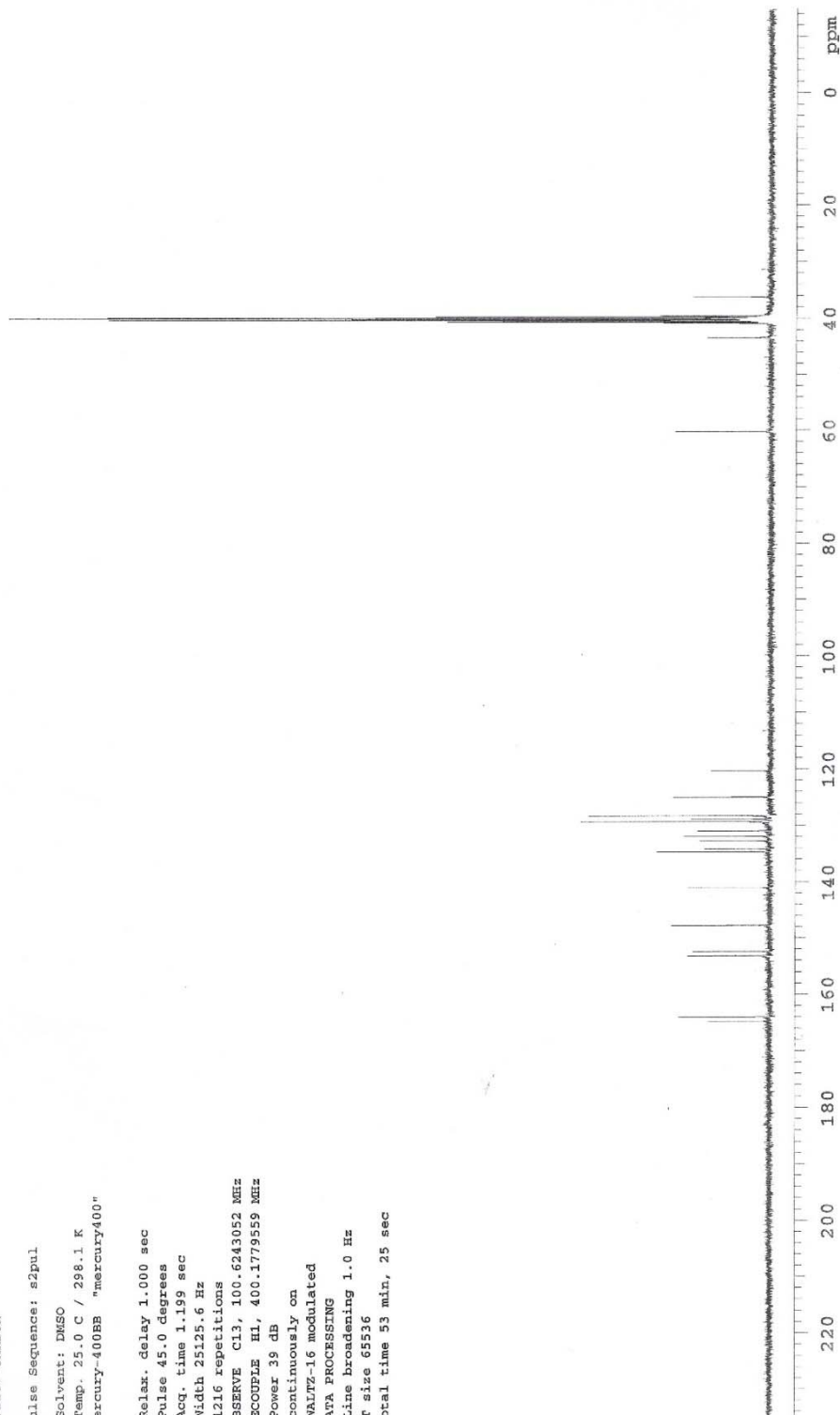
continuously on  
WALTZ-16 modulated

DATA PROCESSING

Line broadening 1.0 Hz

Ft size 65536

Total time 53 min, 25 sec



# EK 44. Bileşik 9'a ait Kütle Spektrumu

Formula Predictor Report - YL-9\_9.Icd

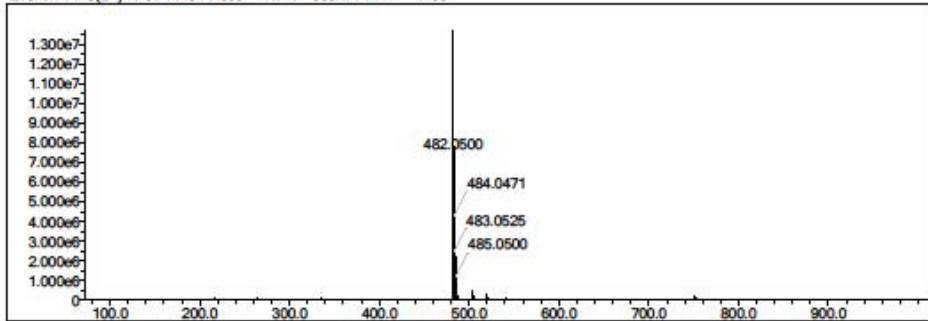
Page 1 of 1

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\AOzdemir\YL-9\_9.Icd

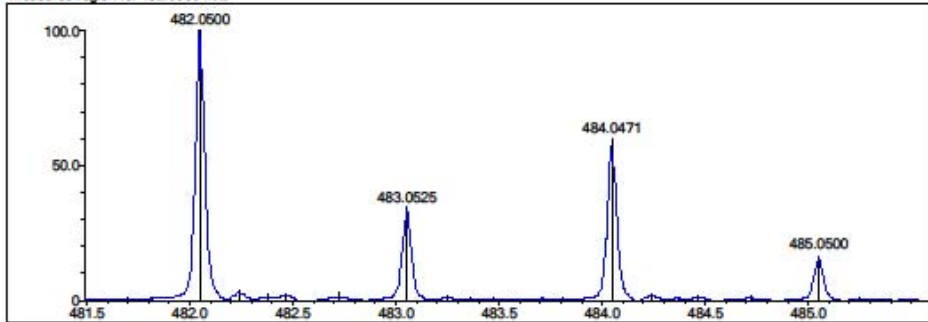
Elmt	Val	Min	Max	Elmt	Val	Min	Max	Elmt	Val	Min	Max	Use Adduct
H	1	16	25	O	2	1	3	Cl	1	1	2	H
C	4	17	24	F	1	0	0	Br	1	0	1	
N	3	4	7	S	2	2	3	I	3	0	0	

Error Margin (ppm): 5  
 DBE Range: 5.0 - 18.0  
 Electron Ions: both  
 HC Ratio: unlimited  
 Apply N Rule: yes  
 Use MSn Info: no  
 Max Isotopes: 3  
 Isotope RI (%): 1.00  
 MSn Iso RI (%): 10.00  
 MSn Logic Mode: AND  
 Isotope Res: 10000  
 Max Results: 500

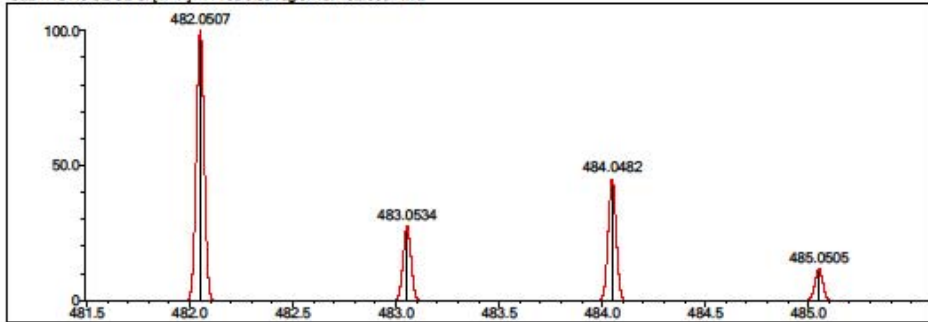
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 7.600 -> 7.747 Scan#: 1141 -> 1163



Measured region for 482.0500 m/z



C22 H16 N5 O2 S2 Cl [M+H]+ : Predicted region for 482.0507 m/z



Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	70.15	C22 H16 N5 O2 S2 Cl	[M+H]+	482.0500	482.0507	-0.7	-1.45	70.95	17.0

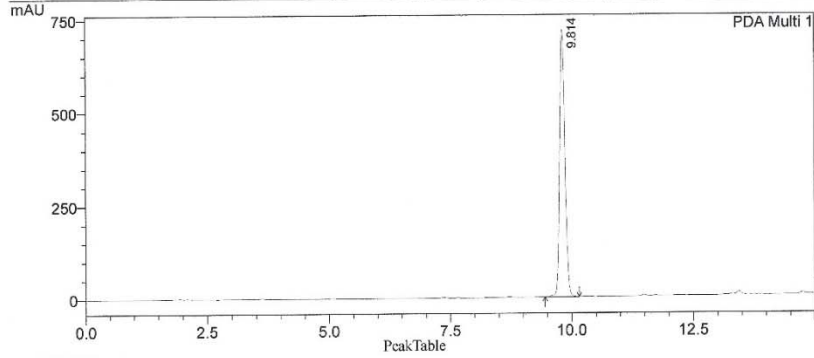
# EK 45. Bileşik 9'a ait LC Analiz Raporu

## ==== Shimadzu LCsolution Analysis Report ====

C:\LabSolutions\Data\Project1\abzdemir\YL-9\_01.lcd

Acquired by : Admin  
 Sample Name : YL-9  
 Sample ID :  
 Tray# : 1  
 Vial # : -1  
 Injection Volume : 20 uL  
 Data File Name : YL-9\_01.lcd  
 Method File Name : test\_GRAD.lcm  
 Batch File Name :  
 Report File Name : Default.lcr  
 Data Acquired : 29.06.2015 11:56:00  
 Data Processed : 29.06.2015 14:02:39

### <Chromatogram>

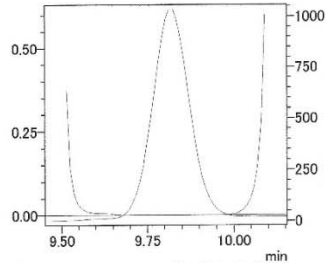


Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	9.814	5449859	717844	100.000	100.000
Total		5449859	717844	100.000	100.000

PDA Ch1 254nm 4nm

Purity

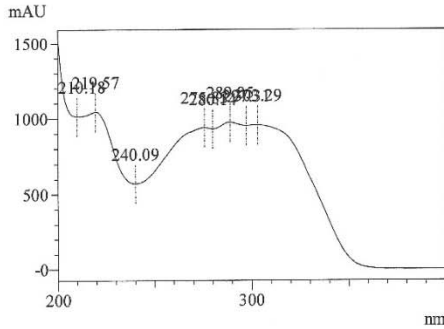
ID# : 1  
 Retention Time : 9.814  
 Compound Name : YL-9



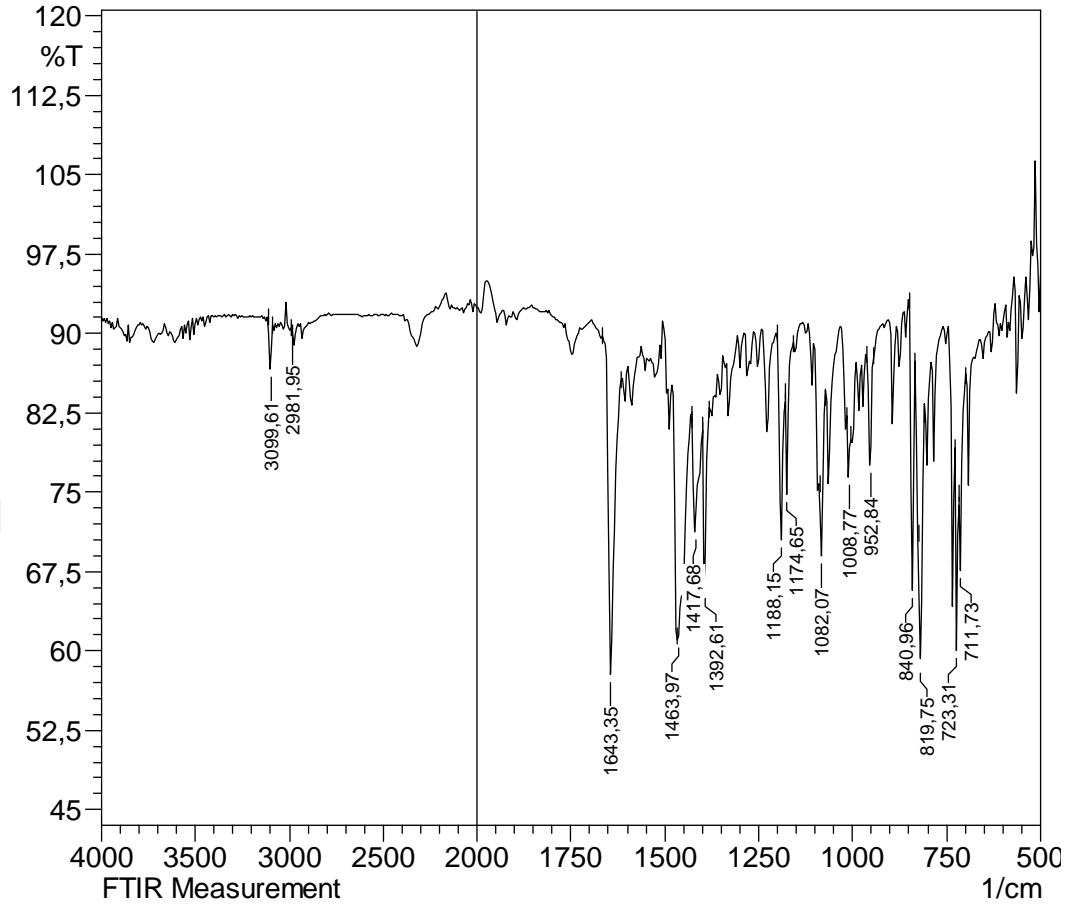
Impurity : Not Detected  
 Peak purity index : 1.000000  
 Single point threshold : 0.999985  
 Minimum peak purity index : 14

Spectrum

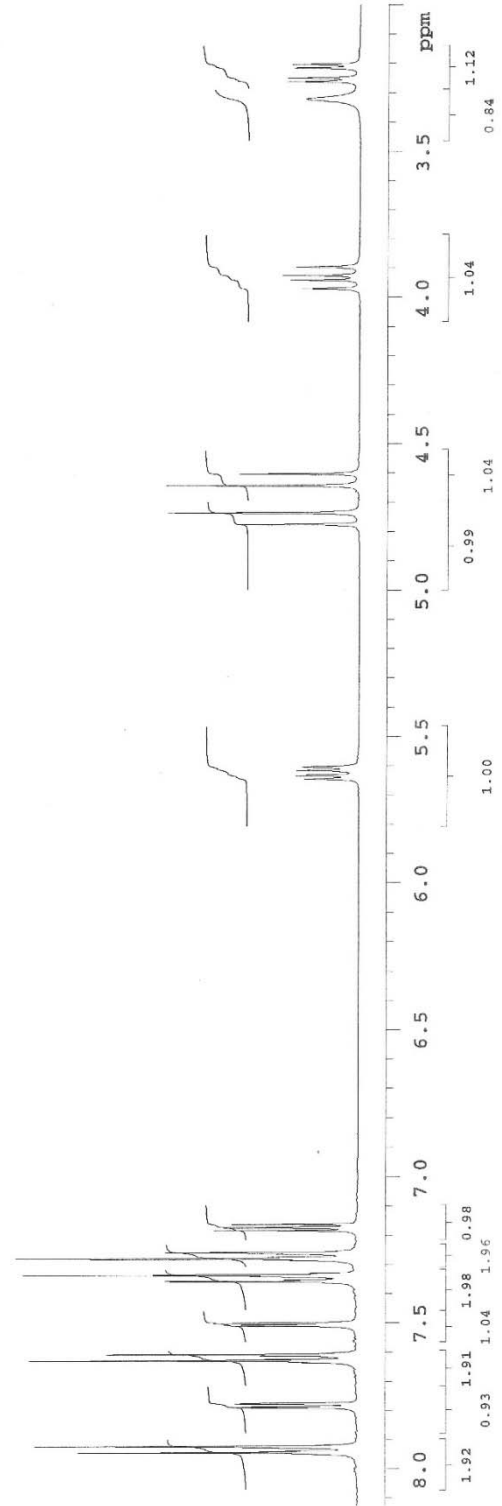
ID# : 1  
 Retention Time : 9.814  
 Compound Name : YL-9  
 Spectrum Operation : None



**EK 46.** Bileşik **10**'a ait IR Spektrumu



**EK 47.** Bileşik **10**'a ait  $^1\text{H}$ -NMR Spektrumu (İntegral Değerleri ile)



# EK 48. Bileşik 10'a ait $^{13}\text{C}$ -NMR Spektrumu

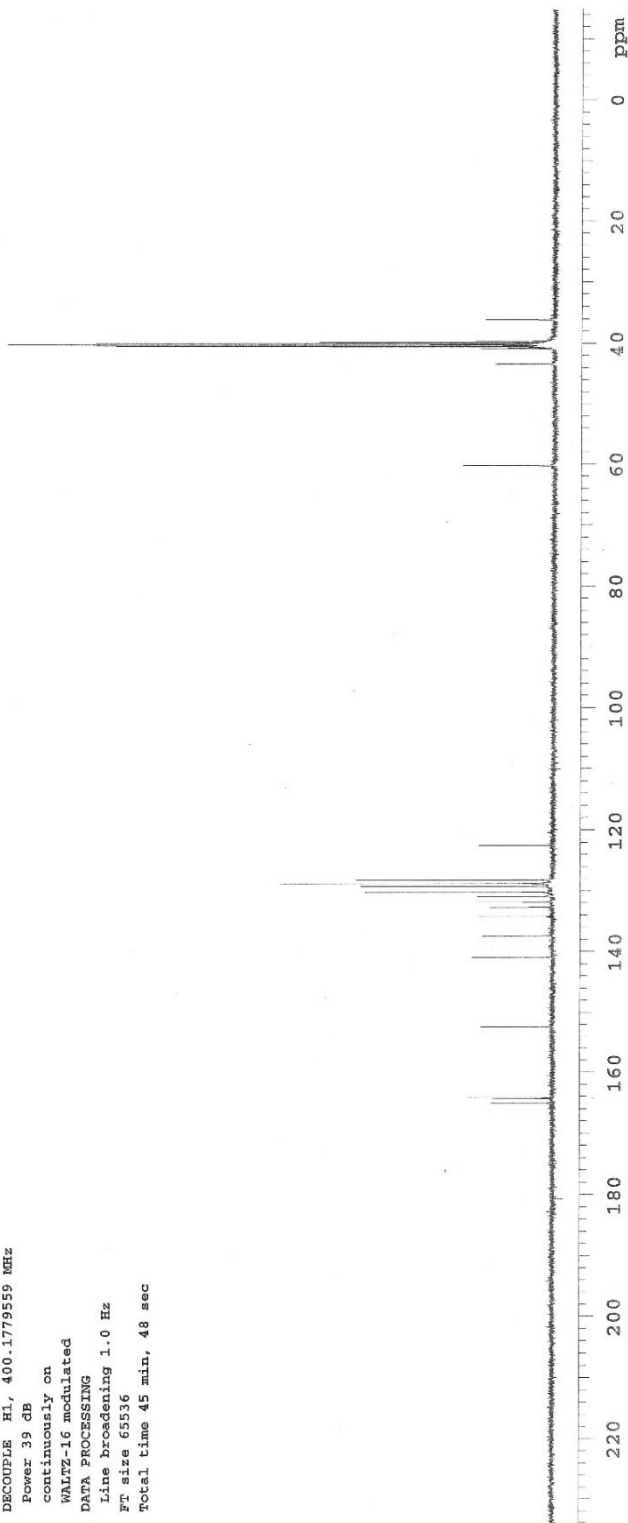
Archive directory: /export/home/vnmr1/vnmrSYS/data  
Sample directory: YL-10 01May2013-10:16:55  
File: CARBON

Pulse Sequence: s2Pul

Solvent: DMSO  
Temp. 35.0 C / 308.1 K  
Mercury-400EB "mercury400"

Relax. delay 1.000 sec  
Pulse 45.0 degrees  
Acq. time 1.199 sec  
Width 25125.6 Hz  
1200 repetitions  
OBSERVE C13, 100.6243052 MHz  
DECOUPLE H1, 400.1779559 MHz  
Power 39 dB

continuously on  
WALTZ-16 modulated  
DATA PROCESSING  
Line broadening 1.0 Hz  
FT size 65536  
Total time 45 min, 48 sec





# EK 49. Bileşik 10'a ait Kütle Spektromu

Formula Predictor Report - YL-10\_10.lcd

Page 1 of 1

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\AOzdemi\YL-10\_10.lcd

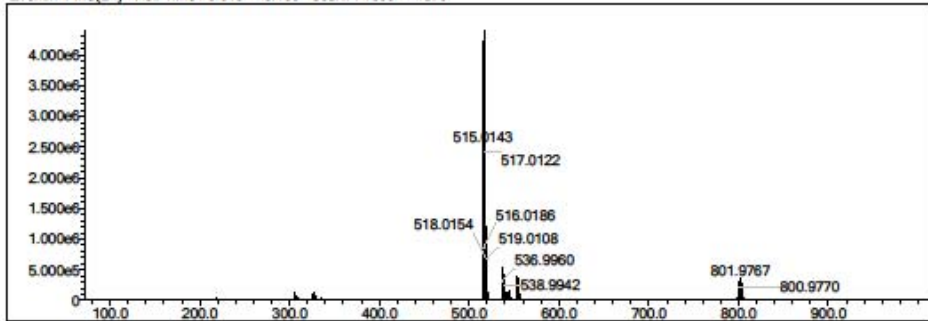
Elmt	Val	Min	Max	Elmt	Val	Min	Max	Elmt	Val	Min	Max	Use Adduct
H	1	16	25	O	2	1	3	Cl	1	1	2	H
C	4	17	24	F	1	0	0	Br	1	0	1	
N	3	4	7	S	2	2	3	I	3	0	0	

Error Margin (ppm): 5  
 HC Ratio: unlimited  
 Max Isotopes: 3  
 MSn Iso RI (%): 10.00

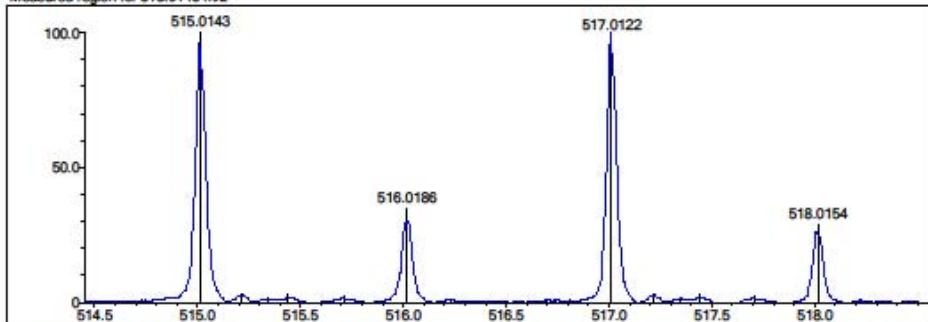
DBE Range: 5.0 - 18.0  
 Apply N Rule: yes  
 Isotope RI (%): 1.00  
 MSn Logic Mode: AND

Electron Ions: both  
 Use MSn Info: no  
 Isotope Res: 10000  
 Max Results: 500

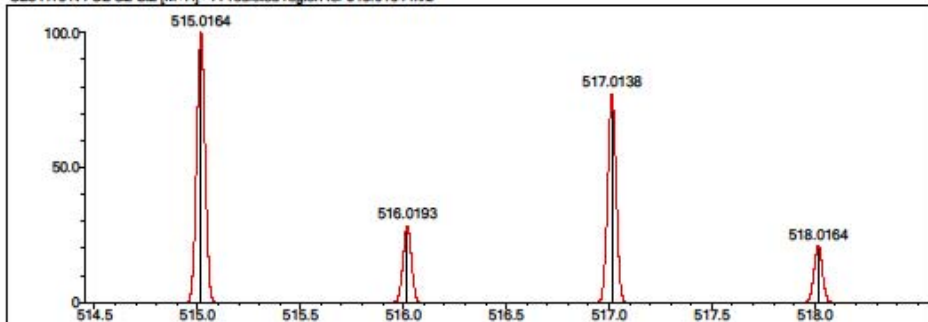
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 9.013 -> 9.160 Scan#: 1353 -> 1375



Measured region for 515.0143 m/z



C23 H16 N4 O2 S2 Cl2 [M+H]<sup>+</sup> : Predicted region for 515.0164 m/z



Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	60.72	C23 H16 N4 O2 S2 Cl2	[M+H] <sup>+</sup>	515.0143	515.0164	-2.1	-4.08	65.78	17.0

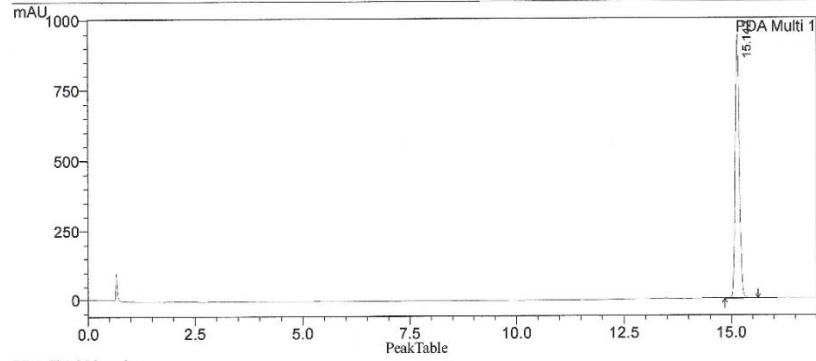
# EK 50. Bileşik 10'a ait LC Analiz Raporu

## ==== Shimadzu LCsolution Analysis Report ====

C:\LabSolutions\Data\Project1\aozdemin\YL-10\_02.lcd

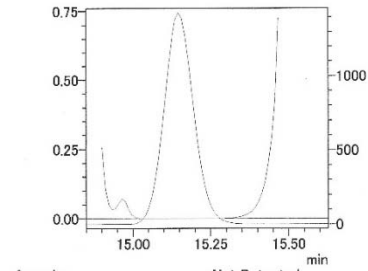
Acquired by : Admin  
 Sample Name : YL-10  
 Sample ID :  
 Tray# : 1  
 Vial # : -1  
 Injection Volume : 20 uL  
 Data File Name : YL-10\_02.lcd  
 Method File Name : test\_GRAD.lcm  
 Batch File Name :  
 Report File Name : Default.lcr  
 Data Acquired : 29.06.2015 13:31:50  
 Data Processed : 29.06.2015 14:05:29

### <Chromatogram>



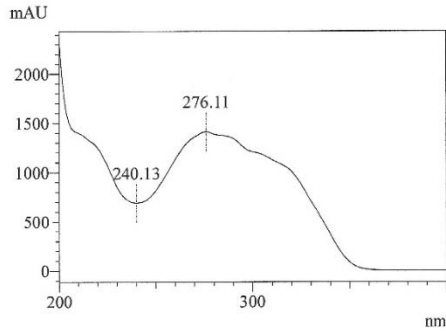
Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	15.142	6341432	950158	100.000	100.000
Total		6341432	950158	100.000	100.000

**Purity**  
 ID# : 1  
 Retention Time : 15.142  
 Compound Name : YL-10

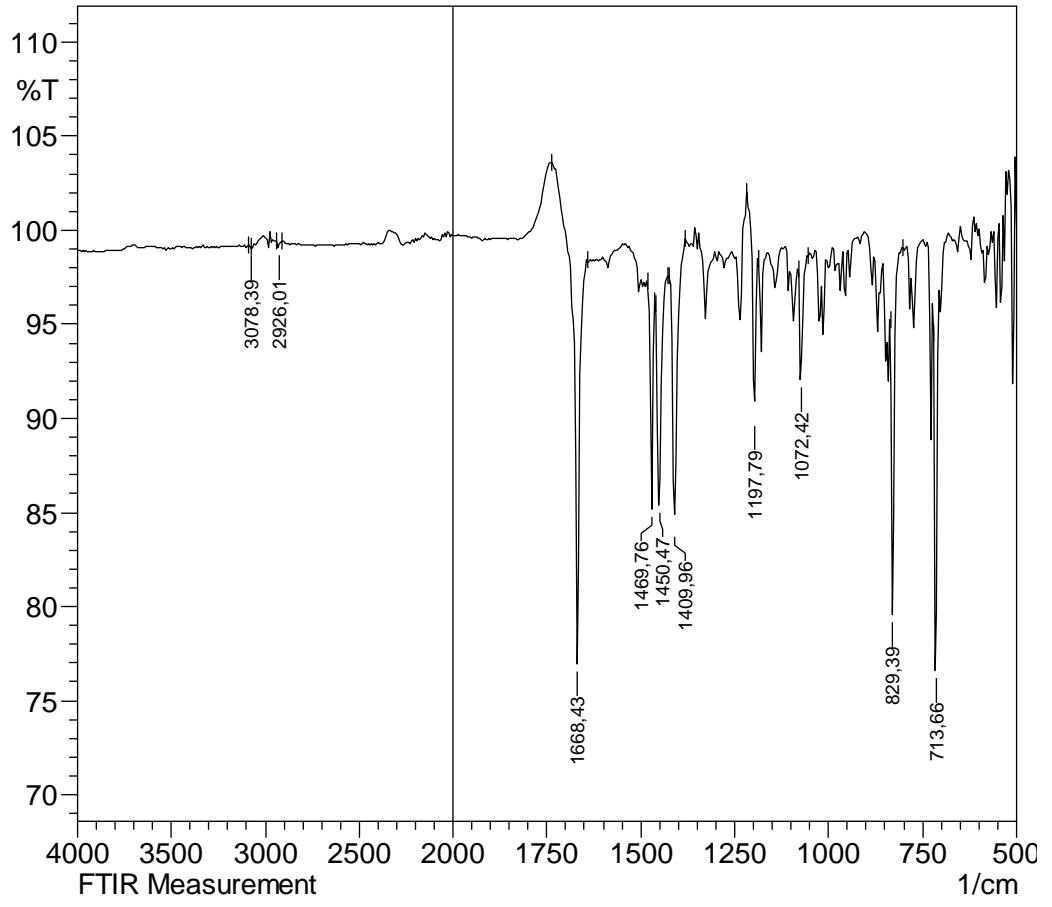


Impurity : Not Detected  
 Peak purity index : 1.000000  
 Single point threshold : 0.999985  
 Minimum peak purity index : 14

**Spectrum**  
 ID# : 1  
 Retention Time : 15.142  
 Compound Name : YL-10  
 Spectrum Operation : None



**EK 51.** Bileşik 11'e ait IR Spektrumu



**EK 52.** Bileşik 11'e ait  $^1\text{H}$ -NMR Spektrumu (İntegral Değerleri ile)



# EK 53. Bileşik 11'e ait <sup>13</sup>C-NMR Spektrumu

Archive directory: /export/home/vnmr1/vnmrsys/data  
Sample directory: YL-11\_01May2013-11:14:26  
File: CARBON

Pulse Sequence: s2pul

Solvent: DMSO  
Temp. 35.0 C / 308.1 K  
Mercury-400BE "mercury400"

Relax. delay 1.000 sec  
Pulse 45.0 degrees  
Acq. time 1.199 sec  
Width 25125.6 Hz  
1500 repetitions  
OBSERVE C13, 100.6243052 MHz  
DECOUPLE H1, 400.1779559 MHz

Power 39 dB  
continuously on

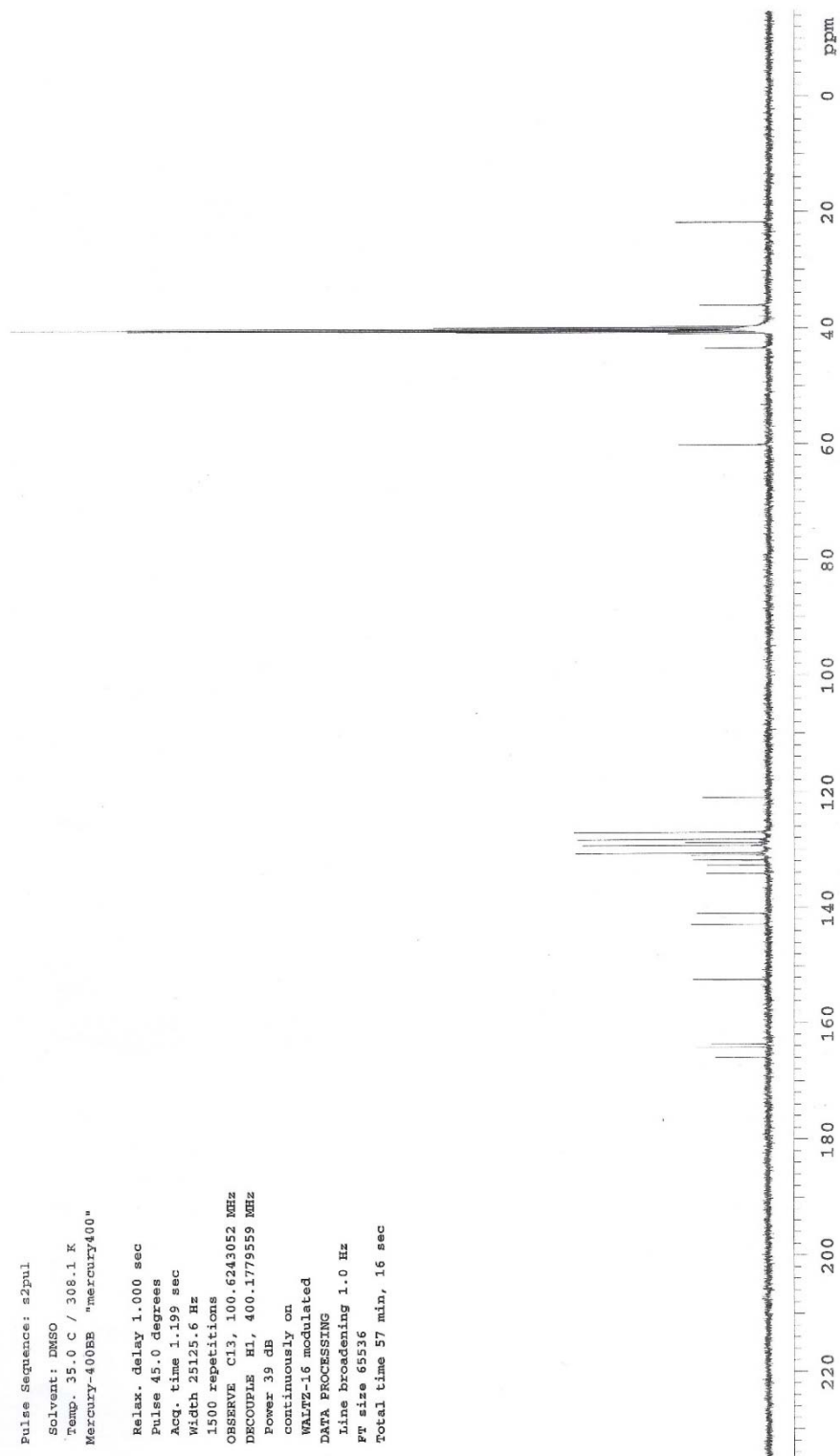
WALTZ-16 modulated

DATA PROCESSING

Line broadening 1.0 Hz

FT size 65536

Total time 57 min, 16 sec



# EK 54. Bileşik 11'e ait Kütle Spektromu

Formula Predictor Report - YL-11\_11.lcd

Page 1 of 1

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\AOzdemi\YL-11\_11.lcd

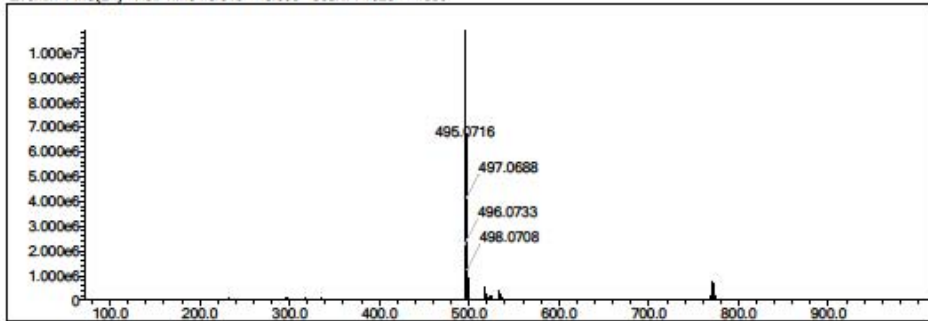
Elmt	Val	Min	Max	Elmt	Val	Min	Max	Elmt	Val	Min	Max	Use Adduct
H	1	16	25	O	2	1	3	Cl	1	1	2	H
C	4	17	24	F	1	0	0	Br	1	0	1	
N	3	4	7	S	2	2	3	I	3	0	0	

Error Margin (ppm): 5  
 HC Ratio: unlimited  
 Max Isotopes: 3  
 MSn Iso RI (%): 10.00

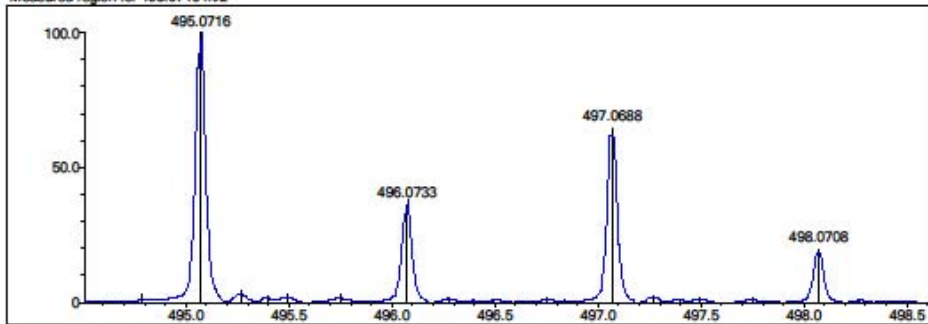
DBE Range: 5.0 - 18.0  
 Apply N Rule: yes  
 Isotope RI (%): 1.00  
 MSn Logic Mode: AND

Electron Ions: both  
 Use MSn Info: no  
 Isotope Res: 10000  
 Max Results: 500

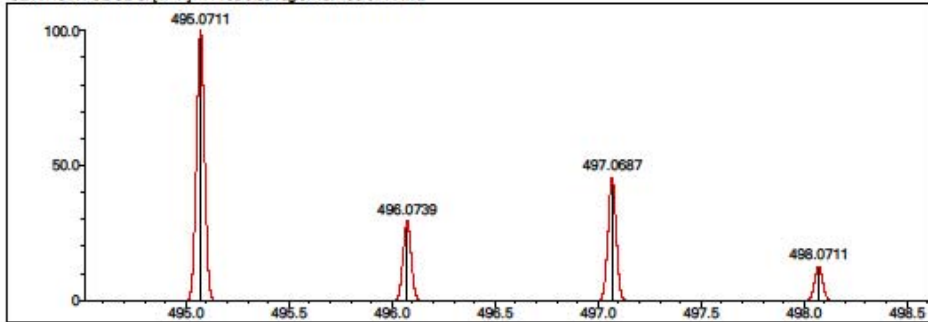
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 8.813 -> 8.893 Scan#: 1323 -> 1335



Measured region for 495.0716 m/z



C24 H19 N4 O2 S2 Cl [M+H]+ : Predicted region for 495.0711 m/z



Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	64.48	C24 H19 N4 O2 S2 Cl	[M+H]+	495.0716	495.0711	0.5	1.01	64.50	17.0

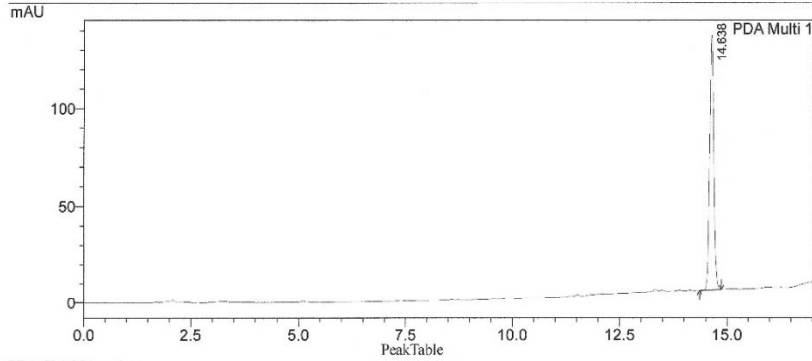
# EK 55. Bileşik 11'e ait LC Analiz Raporu

## ==== Shimadzu LCsolution Analysis Report ====

C:\LabSolutions\Data\Project1\aezdemir\YL-11\_02.lcd

Acquired by : Admin  
Sample Name : YL-11  
Sample ID :  
Tray# : 1  
Vial # : -1  
Injection Volume : 20 uL  
Data File Name : YL-11\_02.lcd  
Method File Name : test\_GRAD.lcm  
Batch File Name :  
Report File Name : Default.lcr  
Data Acquired : 29.06.2015 13:12:41  
Data Processed : 29.06.2015 14:08:55

### <Chromatogram>

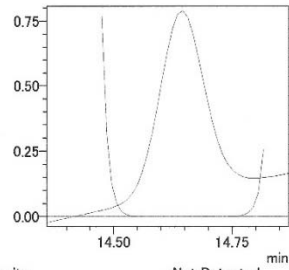


PDA Ch1 254nm 4nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	14.638	888488	130952	100.000	100.000
Total		888488	130952	100.000	100.000

### Purity

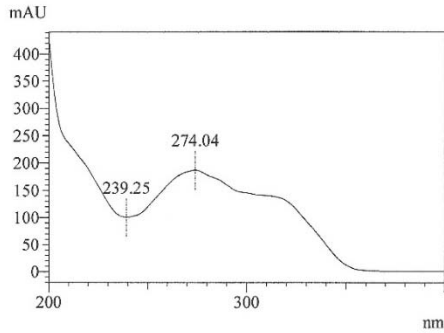
ID# : 1  
Retention Time : 14.638  
Compound Name : YL-11



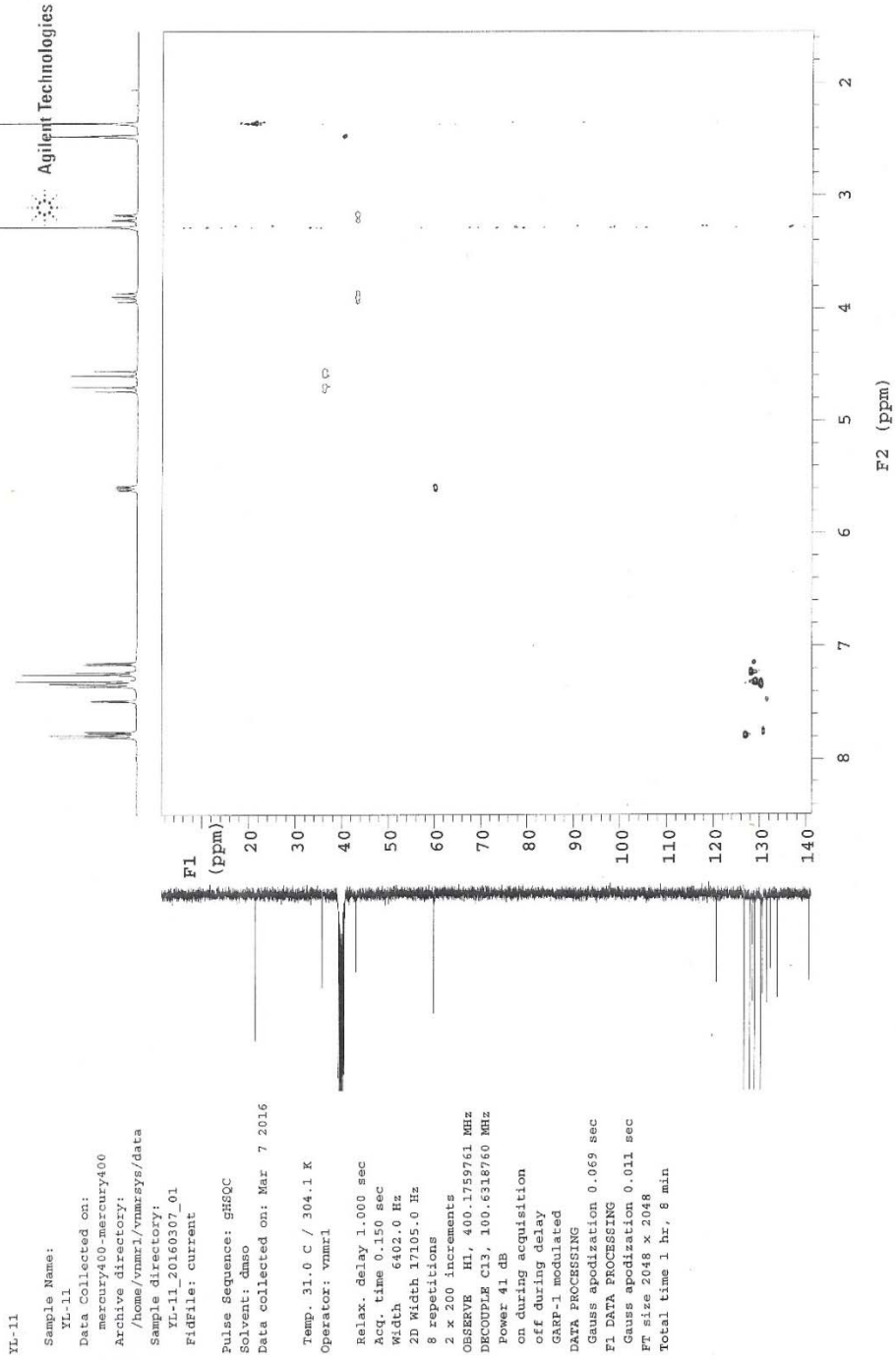
Impurity : Not Detected  
Peak purity index : 1.000000  
Single point threshold : 0.999961  
Minimum peak purity index : 38

### Spectrum

ID# : 1  
Retention Time : 14.638  
Compound Name : YL-11  
Spectrum Operation : None

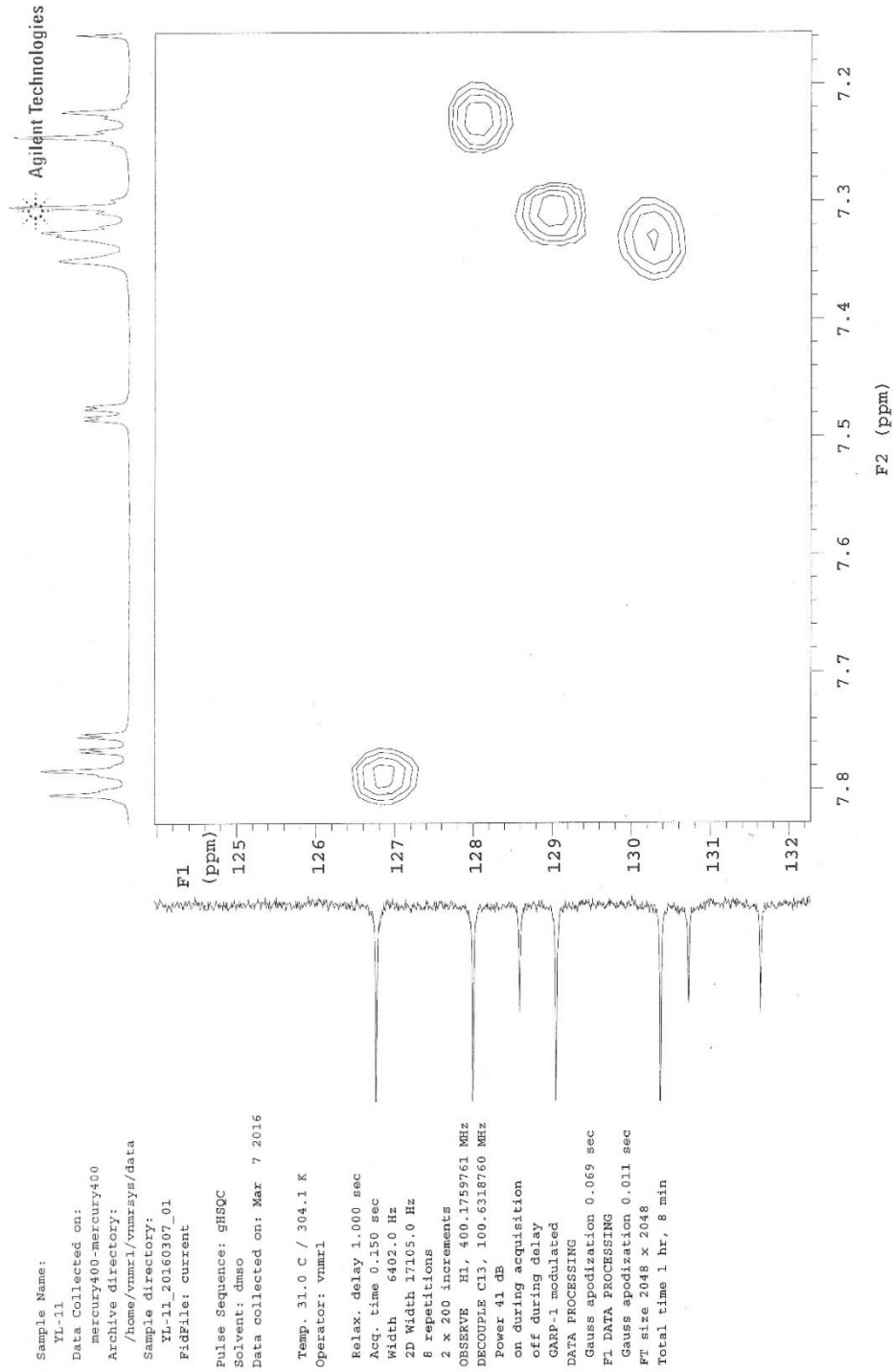


EK 56. Bileşik 11'e ait HSQC Spektrumu-I

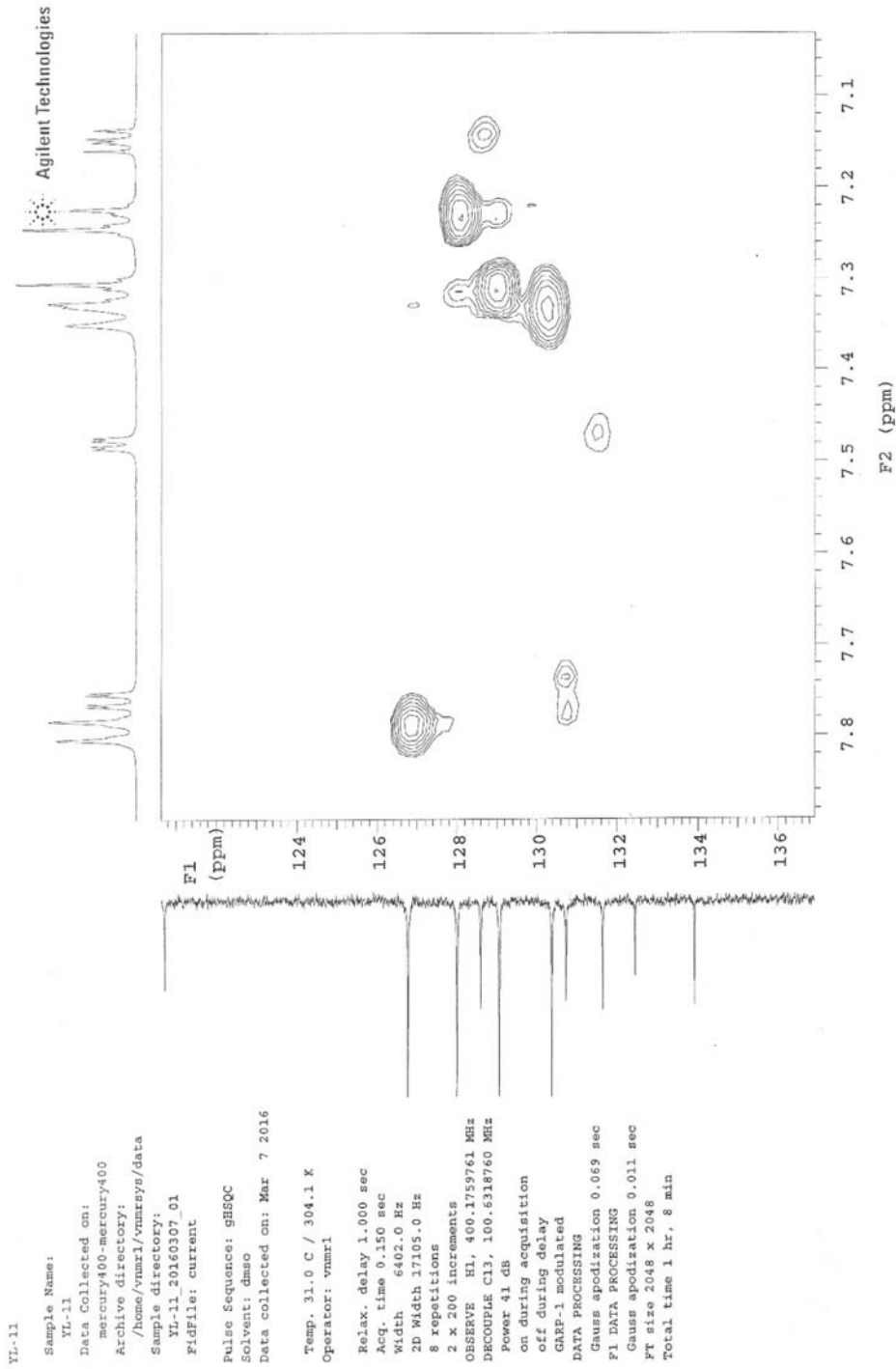




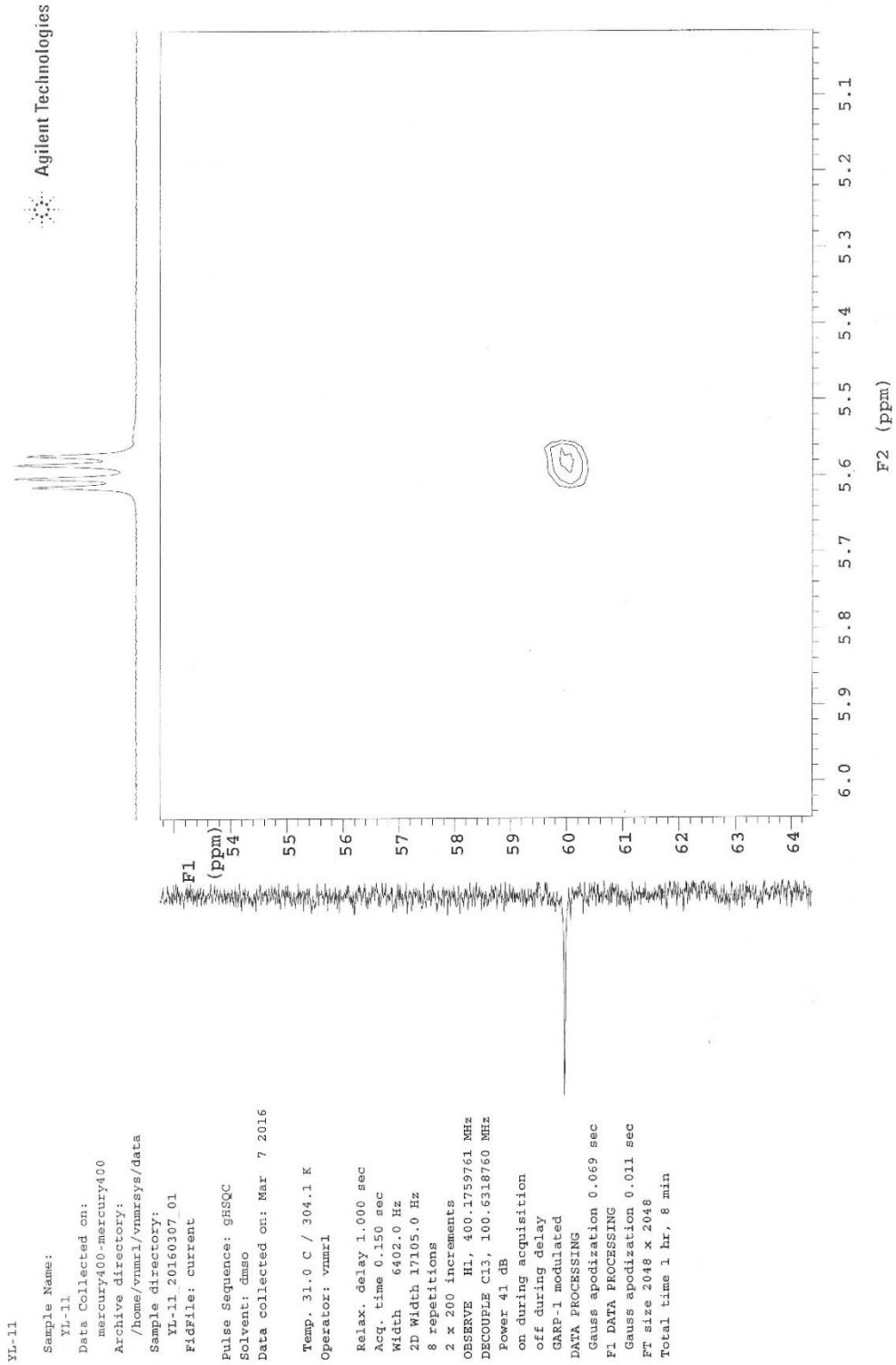
EK 57. Bileşik 11'e ait HSQC Spektrumu-II



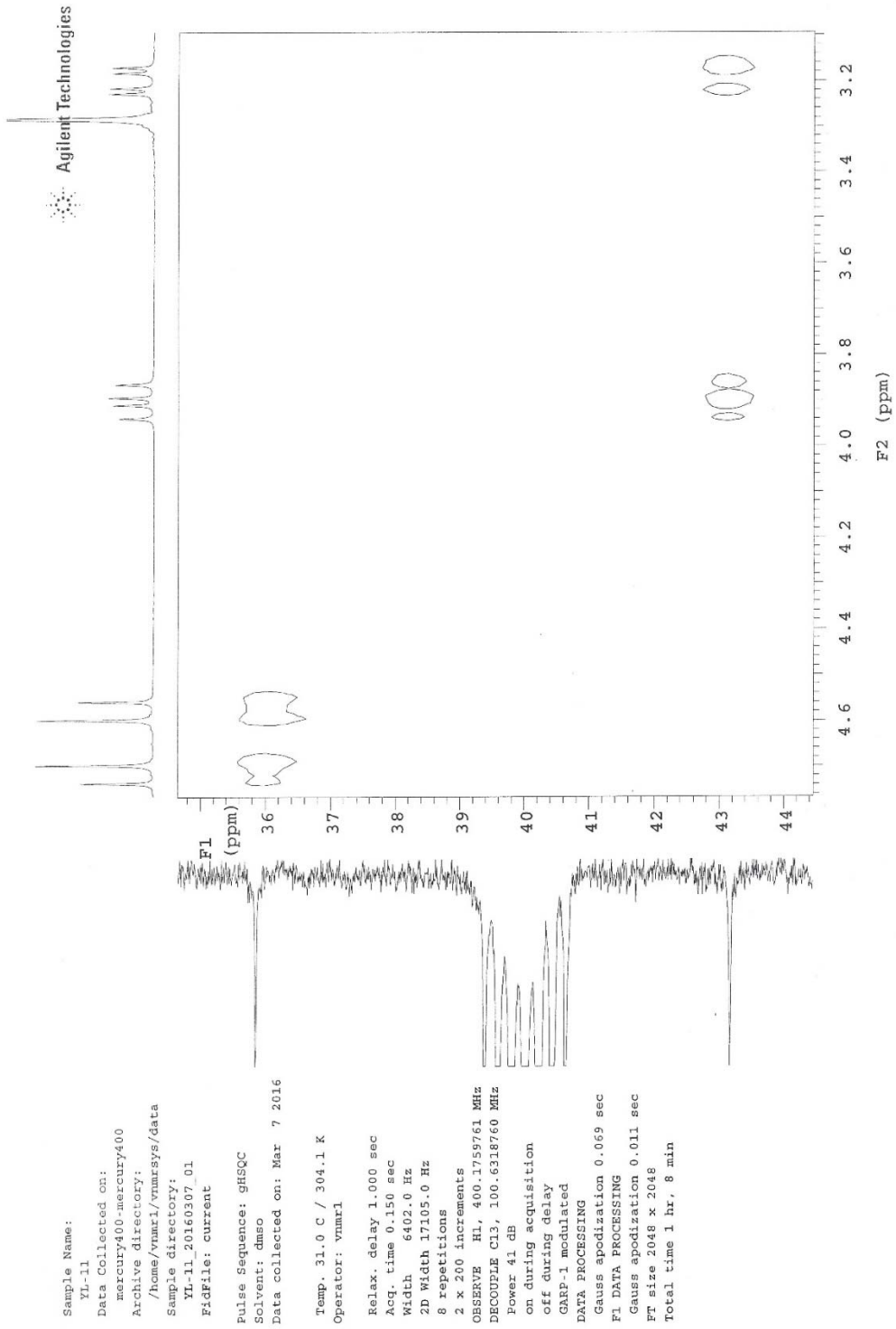
EK 58. Bileşik 11'e ait HSQC Spektrumu-III



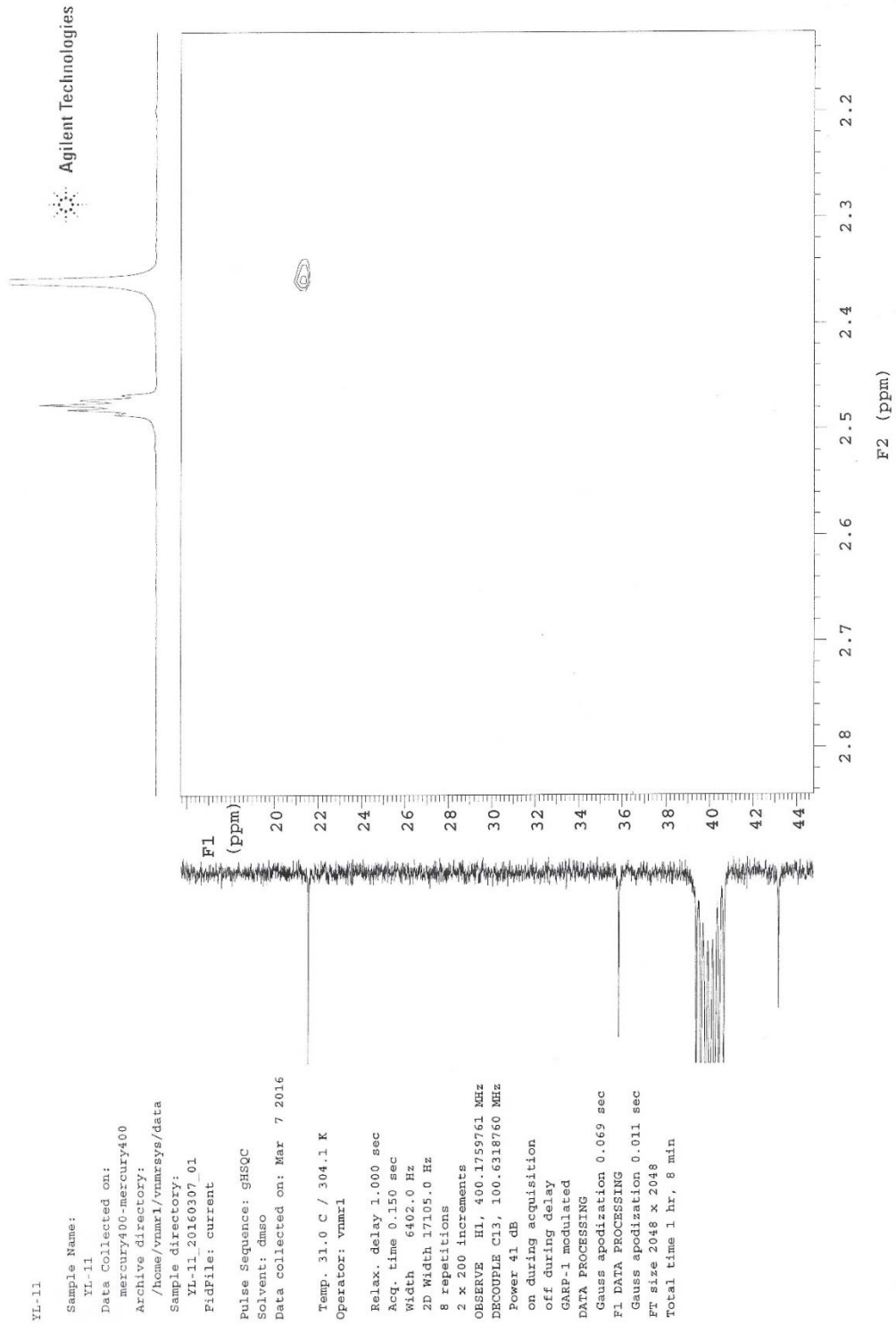
EK 59. Bileşik 11'e ait HSQC Spektrumu-IV



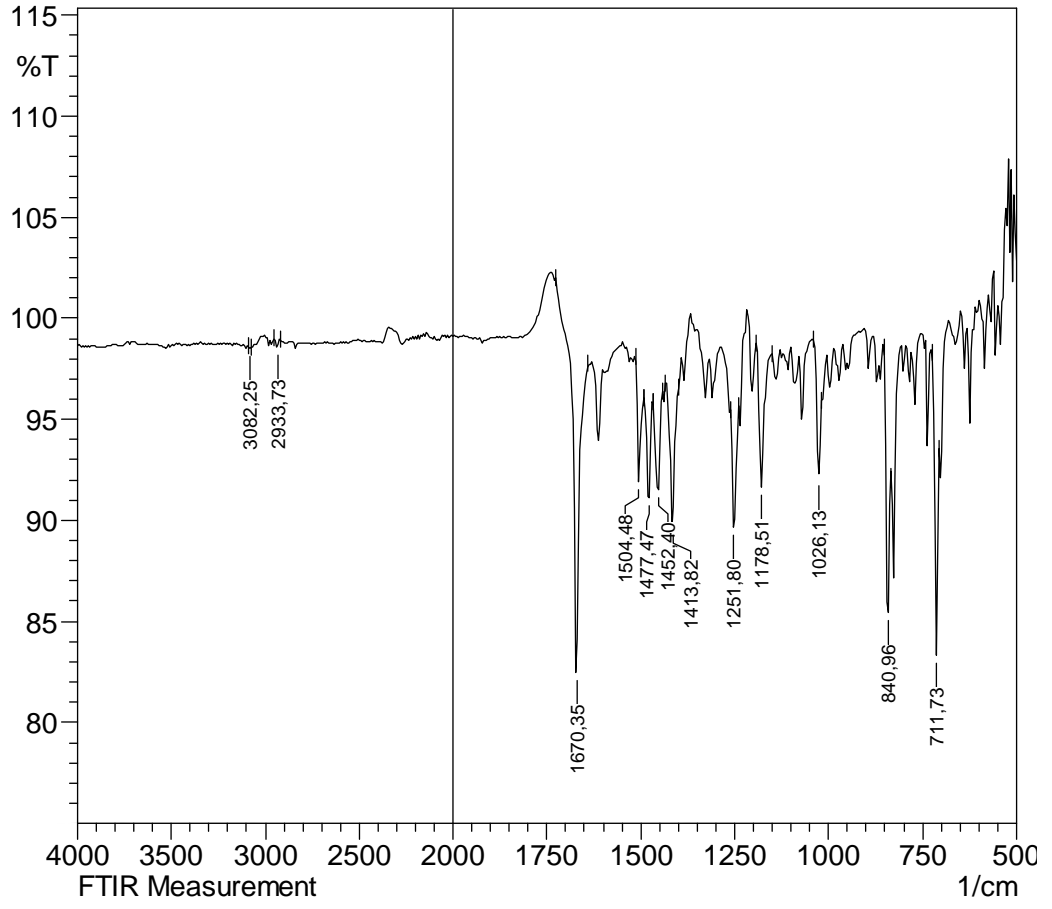
EK 60. Bileşik 11'e ait HSQC Spektrumu-V



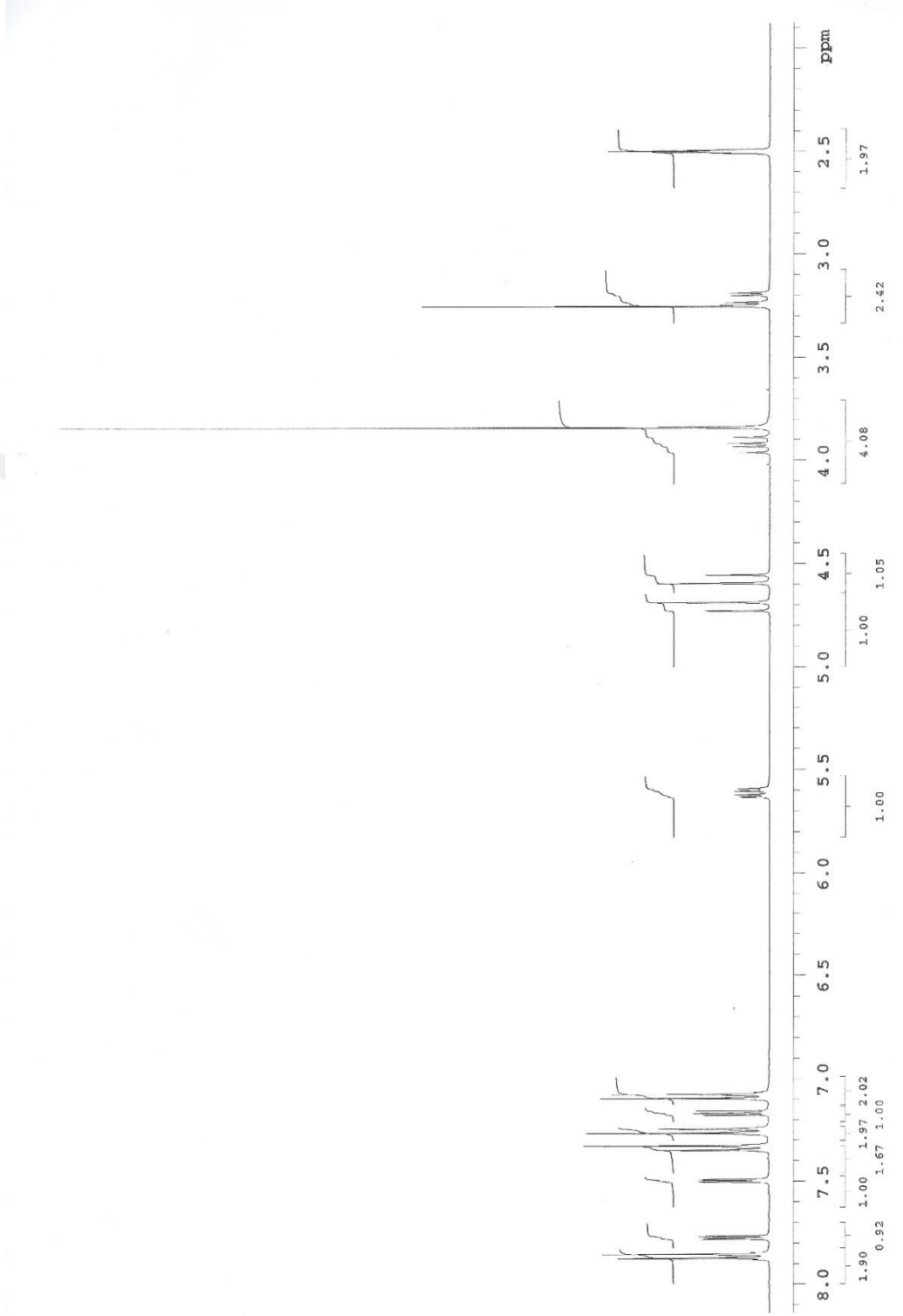
# EK 61. Bileşik 11'e ait HSQC Spektrumu-VI



**EK 62.** Bileşik 12'ye ait IR Spektrumu



**EK 63.** Bileşik 12'ye ait  $^1\text{H}$ -NMR Spektrumu (İntegral Değerleri ile)



# EK 64. Bileşik 12'ye ait <sup>13</sup>C-NMR Spektrumu

Archive directory: /export/home/vnmr1/vnmrsys/data  
Sample directory: YL-12\_29Apr2013  
File: CARBON

Pulse Sequence: s2pul

Solvent: DMSO  
Temp. 44.0 C / 317.1 K  
Mercury-400EB "mercury400"

Relax. delay 1.000 sec  
Pulse 45.0 degrees  
Acq. time 1.199 sec  
Width 25125.6 Hz  
3136 repetitions

OBSERVE C13, 100.6243052 MHz  
DECOUPLE H1, 400.1779559 MHz  
Power 39 dB  
continuously on

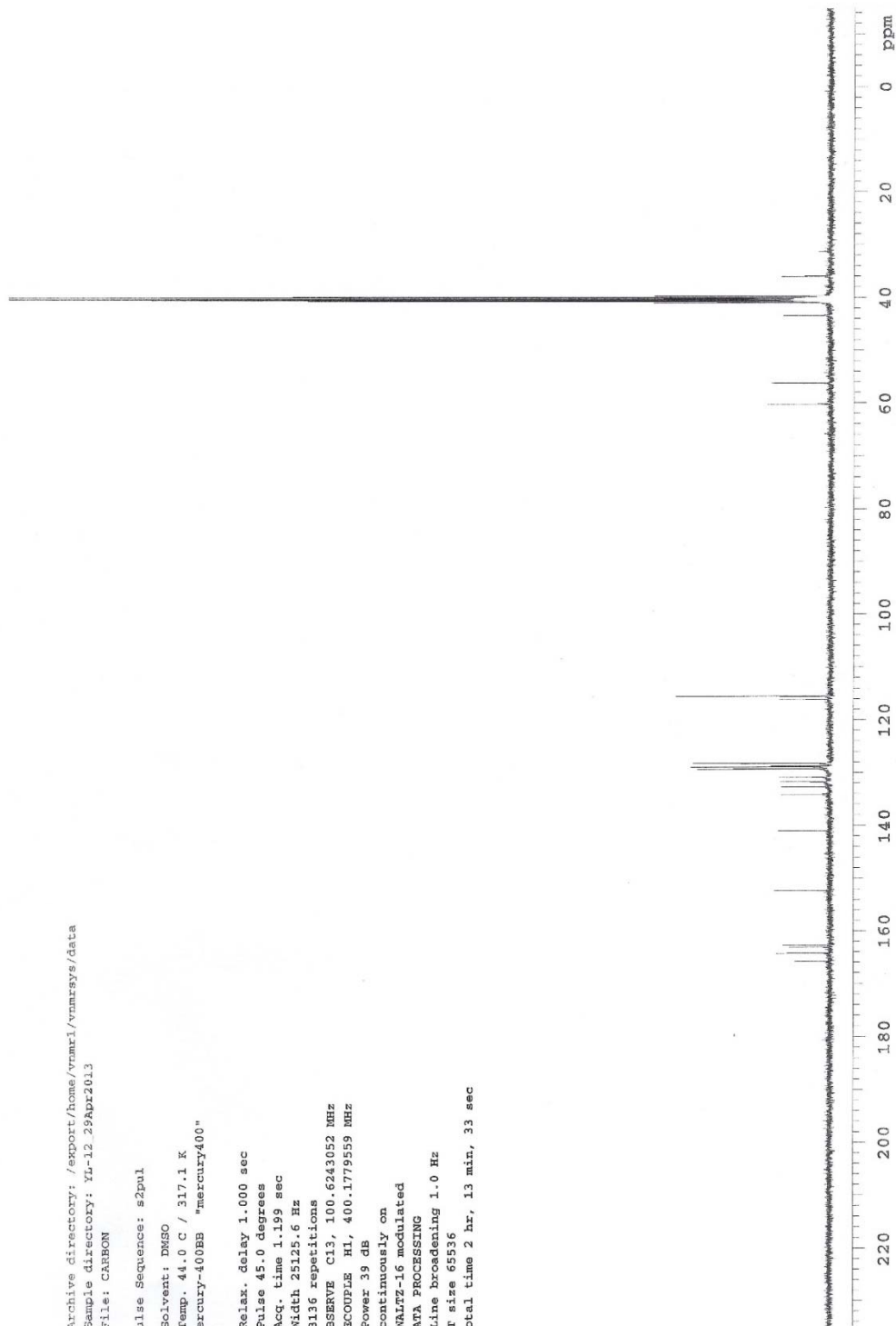
WALTZ-16 modulated

DATA PROCESSING

Line broadening 1.0 Hz

FT size 65536

Total time 2 hr, 13 min, 33 sec





# EK 65. Bileşik 12'ye ait Kütle Spektrumu

Formula Predictor Report - YL-12\_12.lcd

Page 1 of 1

Data File: C:\LabSolutions\Data\Analiz\AOzdemi\YL-12\_12.lcd

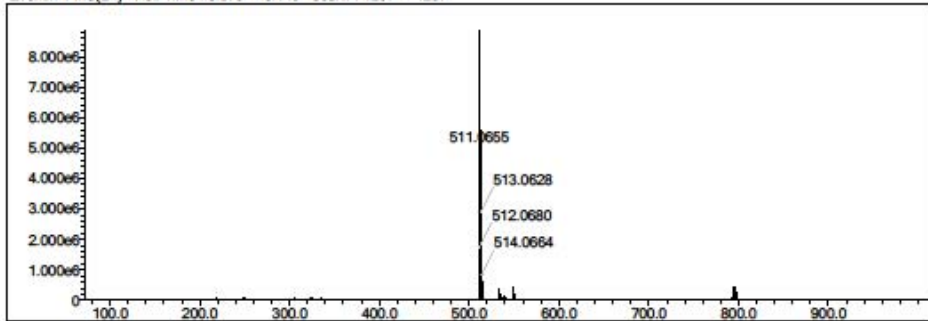
Elmt	Val	Min	Max	Elmt	Val	Min	Max	Elmt	Val	Min	Max	Use Adduct
H	1	15	25	O	2	1	3	Cl	1	1	2	H
C	4	17	24	F	1	0	0	Br	1	0	1	
N	3	4	7	S	2	2	3	I	3	0	0	

Error Margin (ppm): 5  
 HC Ratio: unlimited  
 Max Isotopes: 3  
 MSn Iso RI (%): 10.00

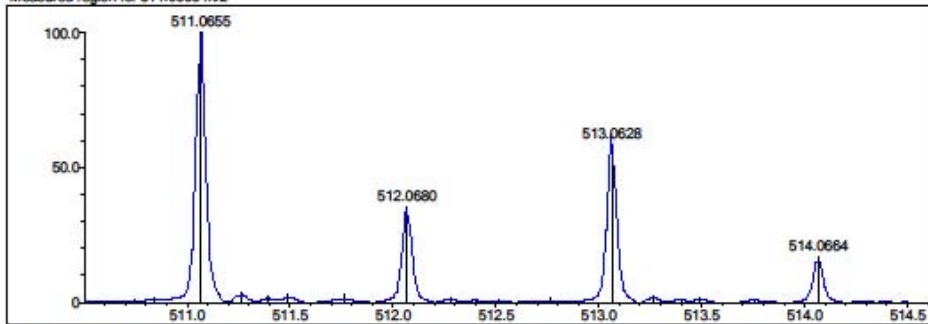
DBE Range: 5.0 - 18.0  
 Apply N Rule: yes  
 Isotope RI (%): 1.00  
 MSn Logic Mode: AND

Electron Ions: both  
 Use MSn Info: no  
 Isotope Res: 10000  
 Max Results: 500

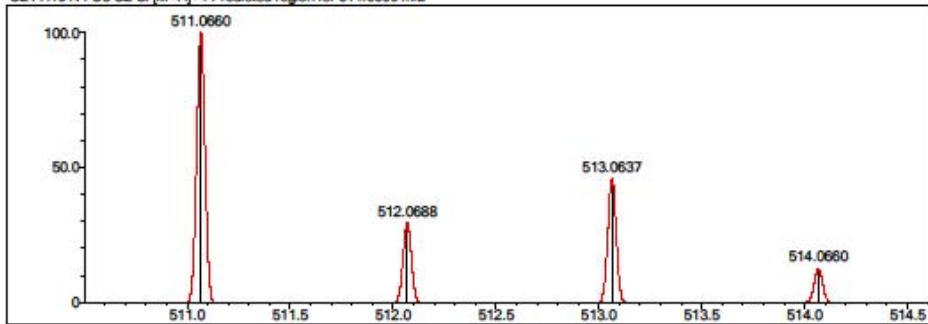
Event#: 1 MS(E+) Ret. Time : 8.373 -> 8.440 Scan#: 1257 -> 1267



Measured region for 511.0655 m/z



C24 H19 N4 O3 S2 Cl [M+H]<sup>+</sup> - Predicted region for 511.0660 m/z



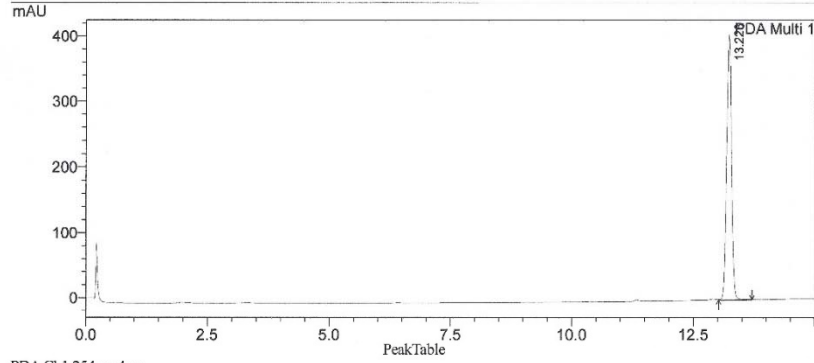
Rank	Score	Formula (M)	Ion	Meas. m/z	Pred. m/z	Df. (mDa)	Df. (ppm)	Iso	DBE
1	74.54	C24 H19 N4 O3 S2 Cl	[M+H] <sup>+</sup>	511.0655	511.0660	-0.5	-0.98	74.54	17.0

# EK 66. Bileşik 12'ye ait LC Analiz Raporu

## ==== Shimadzu LCsolution Analysis Report ====

C:\LabSolutions\Data\Project1\1a6zdemir\YL-12\_01.lcd  
 Acquired by : Admin  
 Sample Name : YL-12  
 Sample ID :  
 Tray# : 1  
 Vial # : -1  
 Injection Volume : 20 uL  
 Data File Name : YL-12\_01.lcd  
 Method File Name : test\_GRAD.lcm  
 Batch File Name :  
 Report File Name : Default.lcr  
 Data Acquired : 29.06.2015 12:51:30  
 Data Processed : 29.06.2015 14:12:40

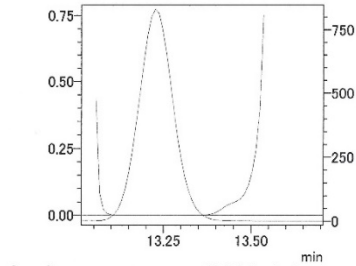
### <Chromatogram>



PDA Ch1 254nm 4nm

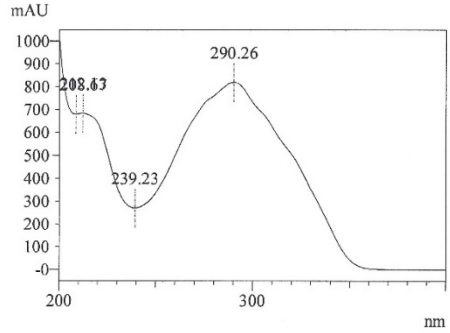
Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	13.223	2835876	405336	100.000	100.000
Total		2835876	405336	100.000	100.000

**Purity**  
 ID# : 1  
 Retention Time : 13.223  
 Compound Name : YL-12



Impurity : Not Detected  
 Peak purity index : 1.000000  
 Single point threshold : 0.999986  
 Minimum peak purity index : 14

**Spectrum**  
 ID# : 1  
 Retention Time : 13.223  
 Compound Name : YL-12  
 Spectrum Operation : None



Article

## Synthesis and Evaluation of New Pyrazoline Derivatives as Potential Anticancer Agents

Muhammed Karabacak <sup>1,†</sup>, Mehlika Dilek Altıntop <sup>1,†</sup>, Halil İbrahim Çiftçi <sup>2,†</sup>, Ryoko Koga <sup>2</sup>, Masami Otsuka <sup>2</sup>, Mikako Fujita <sup>3</sup> and Ahmet Özdemir <sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup> Department of Pharmaceutical Chemistry, Faculty of Pharmacy, Anadolu University, Eskişehir 26470, Turkey; E-Mails: rem1596@hotmail.com (M.K.); mdaltintop@anadolu.edu.tr (M.D.A.)

<sup>2</sup> Department of Bioorganic Medicinal Chemistry, School of Pharmacy, Kumamoto University, Kumamoto 862-0973, Japan; E-Mails: 130y2011@st.kumamoto-u.ac.jp (H.İ.Ç.); kk1205@kumamoto-u.ac.jp (R.K.); motsuka@gpo.kumamoto-u.ac.jp (M.O.)

<sup>3</sup> Research Institute for Drug Discovery, School of Pharmacy, Kumamoto University, Kumamoto 862-0973, Japan; E-Mail: mfujita@kumamoto-u.ac.jp

<sup>†</sup> These authors contributed equally to this work.

\* Author to whom correspondence should be addressed; E-Mail: ahmetefegunes@gmail.com; Tel.: +90-222-3350580 (ext. 3753); Fax: +90-222-3350750.

Academic Editor: Jean Jacques Vanden Eynde

Received: 17 August 2015 / Accepted: 14 October 2015 / Published: 20 October 2015

**Abstract:** New pyrazoline derivatives were synthesized and evaluated for their cytotoxic effects on AsPC-1 human pancreatic adenocarcinoma, U87 and U251 human glioblastoma cell lines. 1-[(5-(4-Methylphenyl)-1,3,4-oxadiazol-2-yl)thio]acetyl]-3-(2-thienyl)-5-(4-chlorophenyl)-2-pyrazoline (**11**) was found to be the most effective anticancer agent against AsPC-1 and U251 cell lines, with IC<sub>50</sub> values of 16.8 μM and 11.9 μM, respectively. Tumor selectivity of compound **11** was clearly seen between Jurkat human leukemic T-cell line and human peripheral blood mononuclear cells (PBMC). Due to its promising anticancer activity, compound **11** was chosen for apoptosis/necrosis evaluation and DNA-cleavage analysis in U251 cells. Compound **11**-treated U251 cells exhibited apoptotic phenotype at low concentration (1.5 μM). DNA-cleaving efficiency of this ligand was more significant than cisplatin and was clearly enhanced by Fe(II)-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-ascorbic acid systems. This result pointed out the relationship between the DNA cleavage and the cell death.

**Keywords:** pyrazoline; oxadiazole; anticancer activity; apoptosis; DNA cleavage

---

## 1. Introduction

Cancer is not a single disease, but a large group of diseases characterized by uncontrolled, rapid, and pathological proliferation of abnormally transformed cells. Despite recent advances in cancer therapy, cancer is still the second leading cause of death after cardiovascular disorders throughout the world [1–4].

Resistance to chemotherapeutic agents remains a key challenge in the fight against cancer. Another challenge for chemotherapy is lack of selectivity. Generally anticancer drugs destroy normal cells as well as cancer cells and often cause serious adverse effects. Therefore, new antineoplastic agents are continually under development to selectively destroy tumour cells or at least limit their proliferation [1–4].

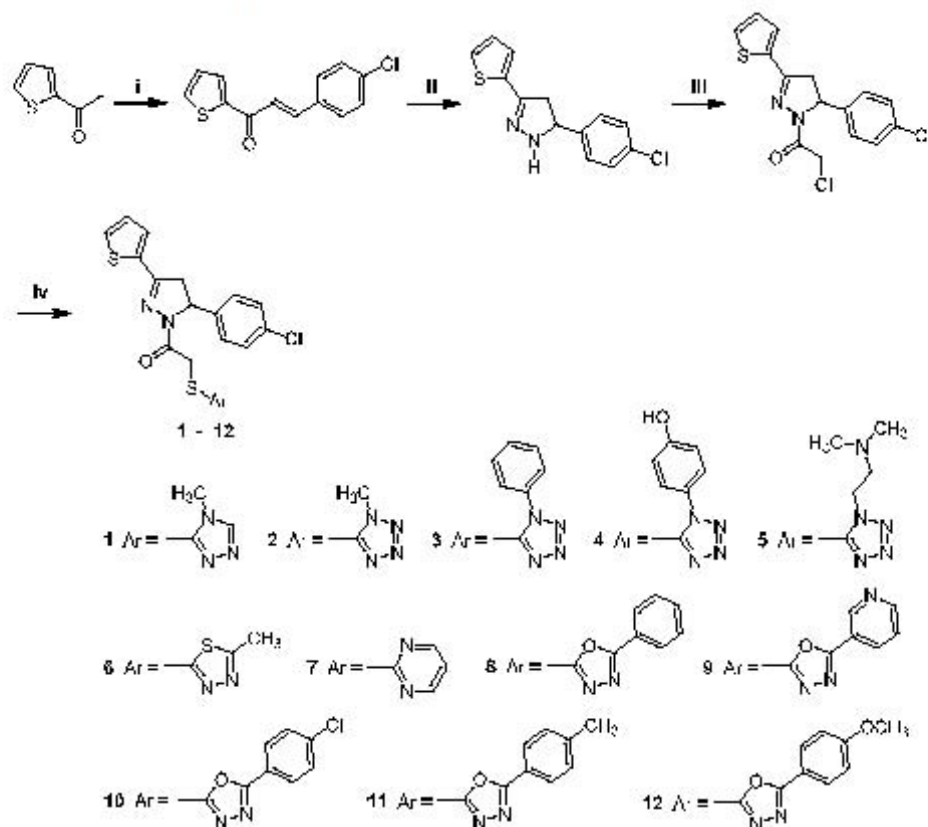
Diversely substituted pyrazolines embedded with a variety of functional groups are found in many important biologically-active compounds and considerable research on this class of agents has been carried out. They exhibit a wide spectrum of biological activities such as antimicrobial, anti-inflammatory, antidepressant, and anticancer effects. Among the reported activities, it is important to note that pyrazolines are not only useful in treatment of various cancer types, including brain, bone, mouth, esophagus, stomach, liver, bladder, pancreas, cervix, lung, breast, colon, rectum, and prostate cancers, but also some of them act as cancer chemopreventive agents [5–23]. In many studies, pyrazoline derivatives were reported as epidermal growth factor receptor tyrosine kinase (EGFR-TK) inhibitors [19], aurora kinase inhibitors [20], COX-2/B-Raf inhibitors [21], telomerase inhibitors [22], tubulin assembling inhibitors [23]. Additionally, 1,3,4-oxadiazole has emerged as an important scaffold owing to its metabolic profile and ability to engage in hydrogen bonding with receptor site. Recent studies have indicated that 1,3,4-oxadiazole derivatives exhibit potent anticancer activity against different cancer cell lines through the inhibition of different growth factors, enzymes and kinases including telomerase, histone deacetylase (HDAC), methionine aminopeptidase (MetAP), thymidylate synthase (TS), glycogen synthase kinase-3 (GSK), epidermal growth factor (EGF), vascular endothelial growth factor (VEGF), and focal adhesion kinase (FAK) [24–26]. Triazoles [27], tetrazoles [28], thiadiazoles [29], and pyrimidines [4] have also been reported to show anticancer activity.

Prompted by the aforementioned findings and in the continuation of our ongoing research in the field of design, synthesis, and biological evaluation of pyrazoline derivatives [30–35], herein we described the synthesis and evaluation of a new series of heteroaryl substituted pyrazolines as potential anticancer agents against AsPC-1 human pancreatic adenocarcinoma and two glioblastoma cell lines, U87 and U251 cell lines. Furthermore, tumor selectivity test on blood cells (PBMC and Jurkat cells) and the apoptotic, necrotic, and DNA-cleavage analysis against U251 cells were carried out using the most effective compound.

## 2. Results and Discussion

The synthesis of new pyrazoline derivatives (**1–12**) was carried out according to the steps shown in Scheme 1. In the initial step, 1-(2-thienyl)-3-(4-chlorophenyl)-2-propen-1-one was synthesized via the base-catalyzed Claisen-Schmidt condensation of 2-acetylthiophene with 4-chlorobenzaldehyde. The ring closure reaction of the chalcone with hydrazine hydrate afforded 5-(4-chlorophenyl)-3-(2-thienyl)-

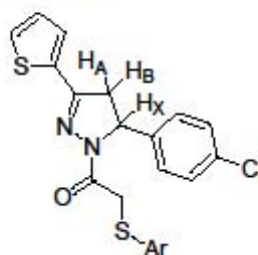
2-pyrazoline. 1-(Chloroacetyl)-3-(2-thienyl)-5-(4-chlorophenyl)-2-pyrazoline was obtained by the reaction of 5-(4-chlorophenyl)-3-(2-thienyl)-2-pyrazoline with chloroacetyl chloride in the presence of triethylamine. The reaction of 1-(chloroacetyl)-3-(2-thienyl)-5-(4-chlorophenyl)-2-pyrazoline with aryl thiols afforded 1-[(aryl)thioacetyl]-3-(2-thienyl)-5-(4-chlorophenyl)-2-pyrazolines (1–12). Thus, the synthetic procedure was shown to be versatile, applicable to the preparation of many derivatives.



**Scheme 1.** The synthesis of compounds 1–12. *Reagents and conditions:* (i) 4-Chlorobenzaldehyde, 10% aqueous sodium hydroxide solution, ethanol, rt, 6–8 h; (ii) 80% hydrazine hydrate, ethanol, reflux, 5 h; (iii) ClCOCH<sub>2</sub>Cl, TEA, toluene, rt, 1 h; (iv) Ar-SH, acetone, rt, 8 h.

The structures of the compounds were elucidated by IR, <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR, mass spectral data, and elemental analyses. In the IR spectra of compounds 1–12, all derivatives had a strong, characteristic band in the region 1670–1641 cm<sup>-1</sup> due to C=O stretching vibration. The asymmetric and symmetric stretching bands for aliphatic C–H group occurred at 2983–2920 cm<sup>-1</sup>. The aromatic C–H stretching vibrations gave rise to a band at 3134–3078 cm<sup>-1</sup>. The C=C, C=N and C–N stretching bands appeared in the region of 1548–1408 and 1398–1012 cm<sup>-1</sup>, respectively.

In the  $^1\text{H-NMR}$  spectra of the compounds, the  $\text{CH}_2$  protons of the pyrazoline ring resonated as a pair of doublets at  $\delta$  3.16–3.24 ppm ( $\text{C-H}_\text{A}$ ), 3.89–3.94 ppm ( $\text{C-H}_\text{B}$ ). The CH proton appeared as a doublet of doublets at  $\delta$  5.57–5.63 ppm ( $\text{H}_\text{x}$ ) due to the vicinal coupling with two magnetically non-equivalent protons of the methylene group at position four of the pyrazoline ring ( $J_{\text{AB}} = 17.60\text{--}18.00$  Hz,  $J_{\text{AX}} = 4.00\text{--}4.80$  Hz,  $J_{\text{BX}} = 11.20\text{--}12.00$  Hz). The  $\text{CH}_2$  protons of the acetyl group at position 1 of the pyrazoline ring were observed at 4.32–4.83 ppm as a doublet ( $J = 15.20\text{--}16.40$  Hz). This geminal coupling resulted from the steric structure of the compound. These geminal protons were observed as a doublet due to two different possible conformations since rigid protons occurred (Figure 1). All the other aromatic and aliphatic protons were observed at expected regions.



**Figure 1.** ABX system of the pyrazoline ring.

In the  $^{13}\text{C-NMR}$  spectra of the compounds, the signal due to the carbonyl carbon appeared at 163.92–166.37 ppm. The  $^{13}\text{C-NMR}$  chemical shift values of the carbon atoms at 43.34–43.42 ppm ( $\text{C}_4$ ), 60.04–60.24 ppm ( $\text{C}_5$ ) and 151.47–152.38 ppm ( $\text{C}_3$ ) corroborate 2-pyrazoline character deduced from the  $^1\text{H-NMR}$  data. The signal due to the  $\text{S-CH}_2$  carbon was observed in the region 34.30–39.72 ppm. The other aromatic and aliphatic carbons were observed at expected regions. The mass spectral data of the synthesized compounds were found in full agreement with the proposed structures. All compounds gave satisfactory elemental analysis.

The anticancer effects of new pyrazoline derivatives (**1–12**) and cisplatin (positive control) in the range of 10–500  $\mu\text{M}$  concentrations were tested. Since only limited choice of drugs are available for pancreatic cancer and glioma, AsPC-1 human pancreatic adenocarcinoma, U87 and U251 glioblastoma cell lines were used (Figure 2). Cisplatin was chosen as a control, considering its wide use in the treatment of several types of human cancer.

Compounds **1–12** were evaluated for their cytotoxic effects on these cell lines by MTT assay (Figure 2 and Table 1), to determine their anticancer potential and selectivity. The activity of the tested compounds was influenced considerably by the nature of the aryl group. Compounds **1**, **10**, **11**, and **12** were found to possess  $\text{IC}_{50}$  values lower than 500  $\mu\text{M}$  against all three cell lines. Tetrazole-substituted compound **2** did not show activity, whereas triazole-substituted compound **1** was active. Generally, oxadiazole-substituted compounds **10**, **11**, and **12** exhibited good activity. The most effective cytotoxic agent against AsPC-1 and U251 cancer cell lines was found to be compound **11** with  $\text{IC}_{50}$  values of 16.8  $\mu\text{M}$ , and 11.9  $\mu\text{M}$  respectively, followed by compound **12** with respective  $\text{IC}_{50}$  values of 62.1  $\mu\text{M}$ , and 70.1  $\mu\text{M}$ . On the other hand, these compounds showed no significant cytotoxicity at the concentrations used for the U87 cell line.

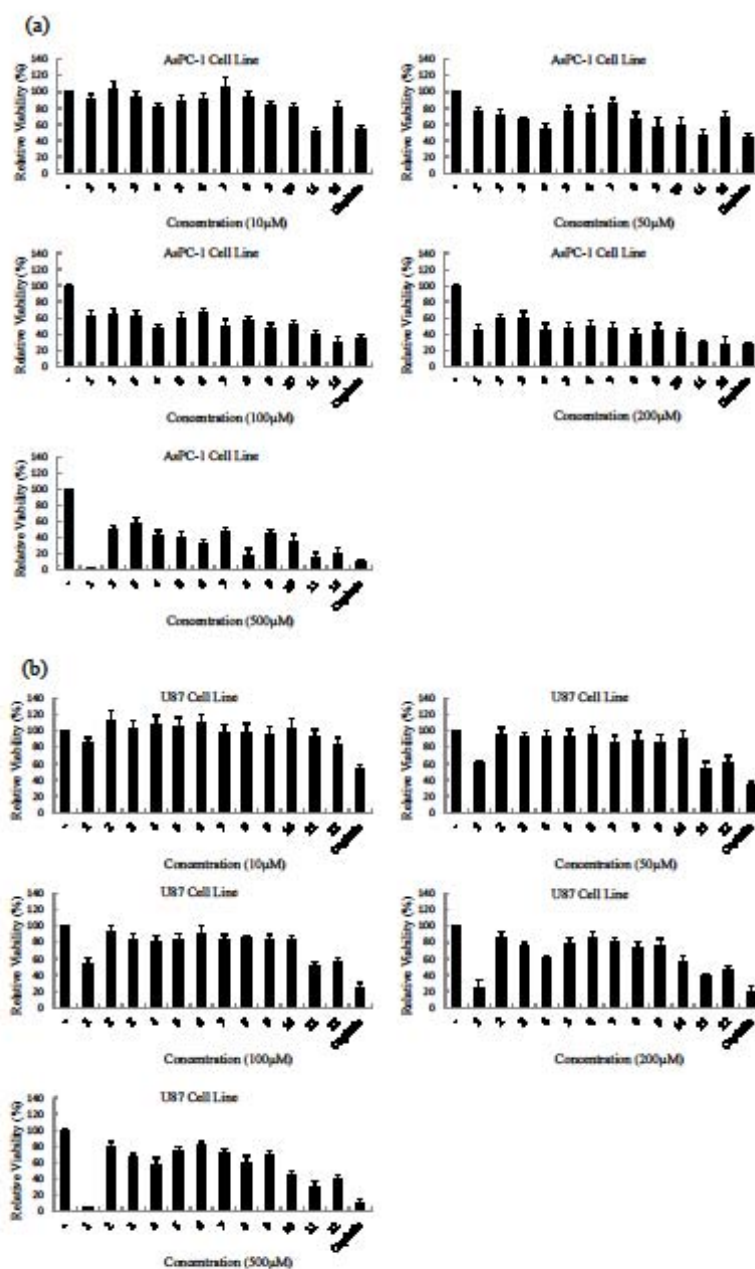
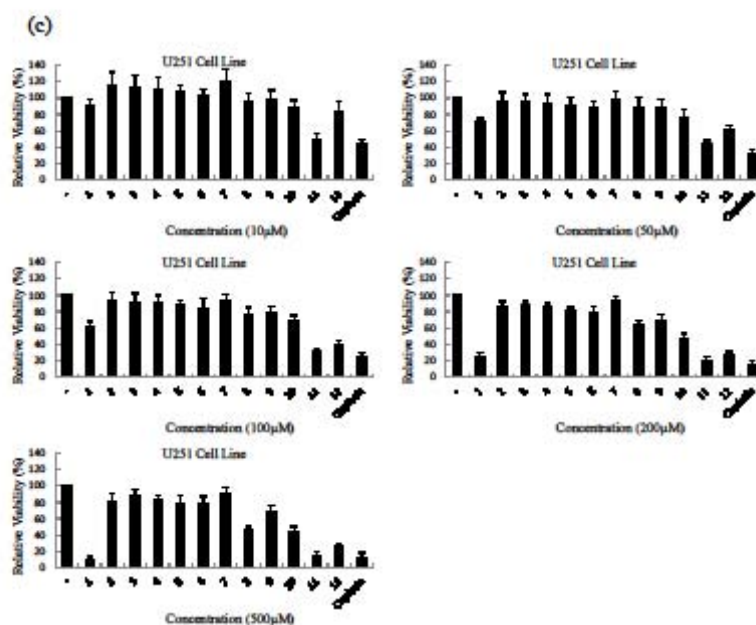


Figure 2. Cont.



**Figure 2.** Anticancer effects of compounds 1–12 and cisplatin at varying concentrations (10  $\mu$ M, 50  $\mu$ M, 100  $\mu$ M, 200  $\mu$ M, and 500  $\mu$ M) against AsPC-1 (a); U87 (b); and U251 (c) cells.

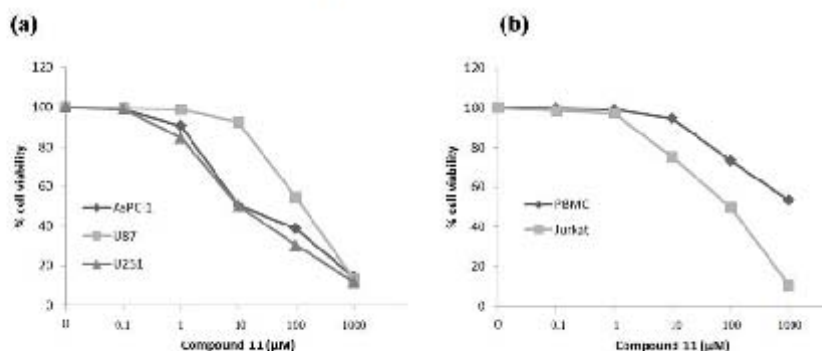
**Table 1.** The cytotoxic effects of the compounds 1–12 on the AsPC-1, U87, and U251 cell lines.

Compound	IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)		
	AsPC1 Cell Line	U87 Cell Line	U251 Cell Line
1	166.7 $\pm$ 10.6	112.2 $\pm$ 8.8	126.9 $\pm$ 15.6
2	>500	>500	>500
3	>500	>500	>500
4	65.0 $\pm$ 5.4	>500	>500
5	215.7 $\pm$ 29.7	>500	>500
6	199.3 $\pm$ 32.8	>500	>500
7	236.2 $\pm$ 36.4	>500	>500
8	139.3 $\pm$ 26.8	>500	393.1 $\pm$ 60.4
9	108.1 $\pm$ 30.1	>500	>500
10	110.5 $\pm$ 20.4	250.6 $\pm$ 30.4	166.6 $\pm$ 25.1
11	16.8 $\pm$ 2.1	127.4 $\pm$ 12.8	11.9 $\pm$ 1.1
12	62.1 $\pm$ 7.8	159.2 $\pm$ 20.7	70.1 $\pm$ 8.8
<b>Cisplatin</b>	22.5 $\pm$ 2.0	14.8 $\pm$ 1.4	4.9 $\pm$ 1.0

Among the tested compounds, compound 11 can be identified as the most promising anticancer agent. Thus, detail of concentration dependency of this compound (0.1  $\mu$ M–1000  $\mu$ M) was examined against

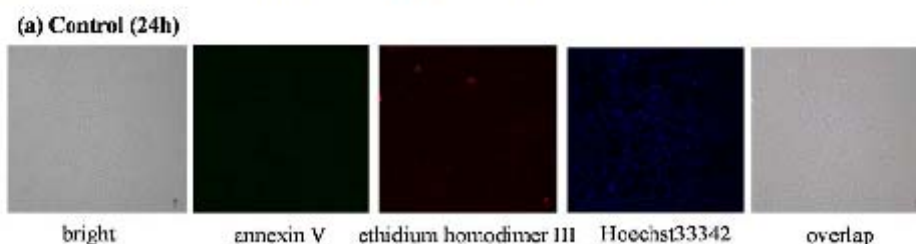


AsPC-1, U87 and U251 cell lines (Figure 3a). Swelling ratio curves of AsPC-1 and U251 cell lines suggested biphasic mechanism of compound 11. Moreover, the activity of compound 11 against peripheral blood mononuclear cells (PBMC) ( $IC_{50} = \sim 1000 \mu M$ ) and Jurkat human leukemic T-cells ( $IC_{50} = 90 \mu M$ ) indicated significant tumor selectivity in blood cells (more than 10 times) as shown in Figure 3b. This outcome pointed out the importance of 5-(4-methylphenyl)-1,3,4-oxadiazol-2-yl moiety for anticancer activity.

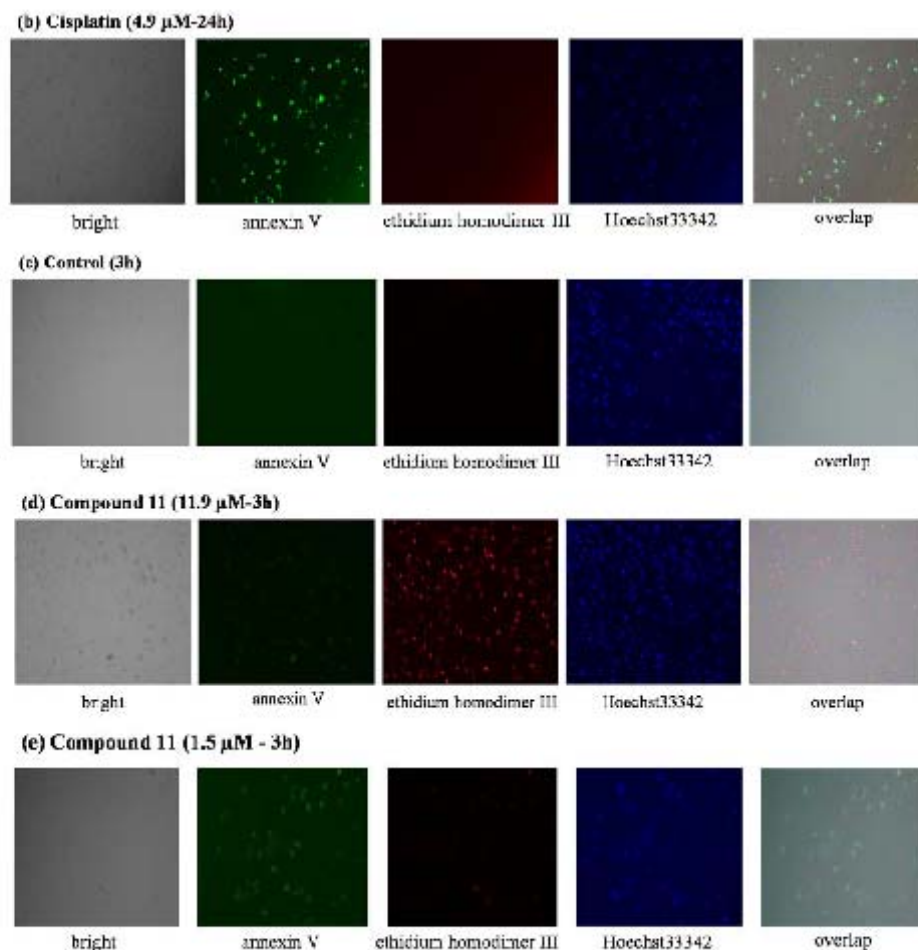


**Figure 3.** Effects of compound 11 on cell viability of AsPC-1, U87, U251 cell lines (a) and PBMC, Jurkat cell lines (b).

According to the MTT assay results, the most active anticancer compound 11 was chosen for the evaluation of apoptosis and necrosis in U251 cells, which was carried out with annexin V/ethidium homodimer III staining method. U251 cell lines were incubated with compound 11 or cisplatin at the  $IC_{50}$  concentrations. U251 cells were stained and observed by fluorescence microscope (Figure 4). If the cells are colored green with annexin V, and not stained red with ethidium homodimer III, the cells are judged to be apoptotic. On the other hand, the completely opposite results indicate necrosis. The apoptotic and necrotic effects of compound 11 were compared with cisplatin. The results indicate that cisplatin has only apoptotic effects at 24 h (Figure 4b). In contrast, U251 cell lines treated with compound 11 at 24 h showed late stage apoptotic or necrotic effect (almost all cells were colored yellow, data not shown). Therefore, the apoptotic/necrotic effects of compound 11 were tested against U251 cell line in earlier time (3h) at  $IC_{50}$  (11.9 μM) and low (1.5 μM) concentrations. While compound 11 mainly induced necrosis at high concentration (Figure 4d), it induced apoptosis at low concentration (Figure 4e).



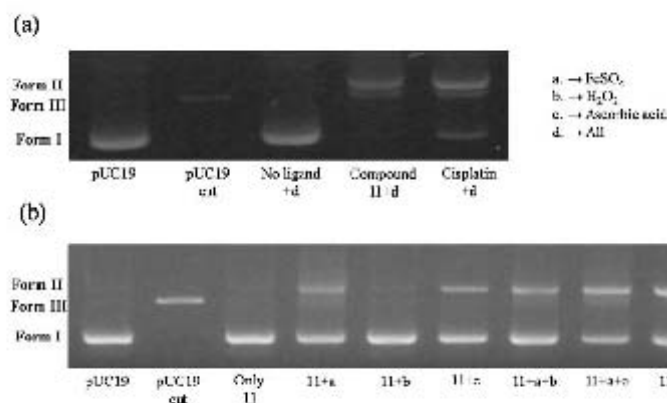
**Figure 4.** Cont.



**Figure 4.** Cellular and nuclear morphological changes of U251 cells following exposure to  $\text{IC}_{50}$  concentrations of control (a); cisplatin (4.9  $\mu\text{M}$ ) (b); for 24 h and control (c); compound 11 (11.9  $\mu\text{M}$ ) (d); and (1.5  $\mu\text{M}$ ) (e) for 3 h.

The DNA cleavage activities of compound 11 and cisplatin at the  $\text{IC}_{50}$  concentrations in water and Tris/boric acid buffer in the presence and absent of the iron complex,  $\text{H}_2\text{O}_2$  and ascorbic acid as an activator were studied using supercoiled pUC19 DNA (Figure 5). The reaction mixture was incubated at 37 °C for 1.5 h and then agarose gel electrophoresis was performed at 100 V for 40 min. DNA was visualized by photographing the fluorescence of intercalated ethidium bromide under a UV illuminator. Control experiments using compound 11 with and without  $\text{FeSO}_4$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$ , and ascorbic acid showed that the DNA cleavage efficiency was clearly enhanced in the case of iron (II) complex system (Figure 5b). Thus, it is considered that DNA-cleavage was caused by oxygen activation. The DNA-cleaving

efficiency of compound **11** was much greater than cisplatin. Compound **11** disintegrated pUC 19 DNA and these results suggest the relationship between the DNA cleavage and the cell death.



**Figure 5.** The DNA cleaving capability of the Fe(II) complexes of compound **11** and cisplatin in the presence of the iron (II) complex (a) and control experiments using compound **11** in the presence and absence of FeSO<sub>4</sub>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, and ascorbic acid (b). It was studied by the relaxation of the supercoiled pUC19 DNA and analyzed by agarose-gel electrophoresis.

### 3. Experimental Section

#### 3.1. Chemistry

All reagents were purchased from commercial suppliers and were used without further purification. Melting points were determined on an Electrothermal 9100 melting point apparatus (Weiss-Gallenkamp, Loughborough, UK) and were uncorrected. IR spectra were recorded on a Shimadzu 8400 FT-IR spectrophotometer (Shimadzu, Tokyo, Japan). <sup>1</sup>H-NMR and <sup>13</sup>C-NMR spectra were recorded on a Varian Mercury-400 FT-NMR spectrometer (Agilent, Palo Alto, CA, USA). Mass spectra were recorded on an Agilent LC-MSD-Trap-SL Mass spectrometer (Agilent Technologies). Elemental analyses were performed on a Perkin Elmer EAL 240 elemental analyzer (Perkin-Elmer, Norwalk, CT, USA). Thin Layer Chromatography (TLC) was performed on TLC silica gel 60 F<sub>254</sub> aluminium sheets (Merck, Darmstadt, Germany) using petroleum ether:ethyl acetate (3:1 v/v) as an eluent.

#### General Procedures for the Synthesis of Compounds

##### 1-(2-Thienyl)-3-(4-chlorophenyl)-2-propen-1-one

A mixture of 2-acetylthiophene (0.04 mol), 4-chlorobenzaldehyde (0.04 mol) and 10% aqueous sodium hydroxide solution (10 mL) in ethanol (30 mL) was stirred at room temperature for 6–8 h. The progress of the reaction was checked by TLC. Upon completion, the reaction mixture was poured into crushed ice. The precipitated solid was filtered, washed with water, and dried. The product was crystallized from ethanol [36].

*5-(4-Chlorophenyl)-3-(2-thienyl)-2-pyrazoline*

A mixture of 1-(2-thienyl)-3-(4-chlorophenyl)-2-propen-1-one (0.01 mol) and hydrazine hydrate (80%) (0.02 mol) in ethanol (30 mL) was refluxed for 5 h. The reaction mixture was cooled and kept at 0 °C overnight. The resulting solid was filtered and dried. The product was crystallized from ethanol [36].

*1-(Chloroacetyl)-3-(2-thienyl)-5-(4-chlorophenyl)-2-pyrazoline*

5-(4-Chlorophenyl)-3-(2-thienyl)-2-pyrazoline (0.01 mol) and triethylamine (0.01 mol) were dissolved in toluene (30 mL). The reaction mixture was cooled in an ice bath, and chloroacetyl chloride (0.01 mol) was added dropwise with constant stirring. The mixture thus obtained was further agitated for 1 h at room temperature. The solvent was evaporated to dryness under reduced pressure. The residue was washed with water, and the product was recrystallized from ethanol [36].

*1-[(Aryl)thioacetyl]-3-(2-thienyl)-5-(4-chlorophenyl)-2-pyrazolines (1–12)*

A mixture of 1-(chloroacetyl)-3-(2-thienyl)-5-(4-chlorophenyl)-2-pyrazoline (0.005 mol) and aryl thiol (0.005 mol) was treated in acetone (30 mL) at room temperature for 8 h. The solvent was evaporated, the residue was washed with water and recrystallized from ethanol [37].

*1-[(4-Methyl-4H-1,2,4-triazol-3-yl)thioacetyl]-3-(2-thienyl)-5-(4-chlorophenyl)-2-pyrazoline (1)*. Yield: 83%; M.p. 165.1 °C. IR (KBr)  $\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>): 3124 (aromatic C-H), 2922 (aliphatic C-H asymmetric), 1666 (C=O), 1490, 1458, 1417 (C=N and C=C), 1375, 1203, 1085, 1026 (C-N), 952, 817 (C-H out of plane deformation). <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz,  $\delta$  ppm, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 3.16 (1H, dd,  $J_{AX} = 4.40$  Hz,  $J_{AB} = 17.60$  Hz, pyrazoline C+Ha), 3.58 (3H, CH<sub>3</sub>), 3.89 (1H, dd,  $J_{BX} = 11.60$  Hz,  $J_{BA} = 18.00$  Hz, pyrazoline C+Hb), 4.33 (1H, d,  $J = 15.20$  Hz, geminal proton, CO-CH), 4.46 (1H, d,  $J = 15.60$  Hz, geminal proton, CO-CH), 5.57 (1H, dd,  $J_{AX} = 4.80$  Hz,  $J_{BX} = 11.60$  Hz, pyrazoline C<sub>5</sub>-Hx), 7.16 (1H, m), 7.26 (2H, d,  $J = 8.80$  Hz), 7.38 (2H, d,  $J = 8.80$  Hz), 7.48 (1H, dd,  $J = 1.20$  Hz, 4.00 Hz, thiophene C<sub>3</sub>-H), 7.78 (1H, dd,  $J = 1.20$  Hz, 5.20 Hz, thiophene C<sub>5</sub>-H), 8.52 (1H, s, triazole). <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 31.49 (CH<sub>3</sub>, triazole), 39.72 (CH<sub>2</sub>, S-CH<sub>2</sub>), 43.36 (CH<sub>2</sub>, pyrazoline C<sub>4</sub>), 60.04 (CH, pyrazoline C<sub>5</sub>), 128.27 (2CH, aromatic), 128.81 (CH, aromatic), 129.28 (2CH, aromatic), 130.83 (C, aromatic), 131.73 (CH, aromatic), 132.61 (CH, aromatic), 134.23 (C, aromatic), 141.05 (C, aromatic), 146.94 (CH, aromatic), 149.16 (C, aromatic), 151.95 (C, pyrazoline C<sub>3</sub>), 164.96 (C, C=O). Anal. Calcd. for C<sub>18</sub>H<sub>16</sub>ClN<sub>5</sub>OS<sub>2</sub>: C, 51.73; H, 3.86; N, 16.76. Found: C, 51.66; H, 3.89; N, 16.81. MS (ESI) (*m/z*): 418 [M + H]<sup>+</sup>.

*1-[(1-Methyl-1H-tetrazol-5-yl)thioacetyl]-3-(2-thienyl)-5-(4-chlorophenyl)-2-pyrazoline (2)*. Yield: 86%; M.p. 108.2 °C. IR (KBr)  $\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>): 3107 (aromatic C-H), 2941 (aliphatic C-H asymmetric), 1658 (C=O), 1463, 1417 (C=N and C=C), 1396, 1278, 1219, 1089, 1026 (C-N), 968, 837, 819 (C-H out of plane deformation). <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz,  $\delta$  ppm, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 3.22 (1H, dd,  $J_{AX} = 4.80$  Hz,  $J_{AB} = 18.40$  Hz, pyrazoline C+Ha), 3.91 (1H, dd,  $J_{BX} = 11.60$  Hz,  $J_{BA} = 18.00$  Hz, pyrazoline C+Hb), 3.95 (3H, CH<sub>3</sub>), 4.57 (1H, d,  $J = 15.60$  Hz, geminal proton, CO-CH), 4.71 (1H, d,  $J = 16.00$  Hz, geminal proton, CO-CH), 5.59 (1H, dd,  $J_{AX} = 4.80$  Hz,  $J_{BX} = 12.00$  Hz, pyrazoline C<sub>5</sub>-Hx), 7.17 (1H, m), 7.26 (2H, d,  $J = 8.40$  Hz), 7.38 (2H, d,  $J = 8.80$  Hz), 7.50 (1H, dd,  $J = 1.20$  Hz, 3.60 Hz, thiophene C<sub>3</sub>-H), 7.79 (1H, dd,  $J = 0.80$  Hz, 5.20 Hz, thiophene C<sub>5</sub>-H). <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 34.32 (CH<sub>3</sub>, tetrazole), 37.15 (CH<sub>2</sub>,

S-CH<sub>2</sub>), 43.40 (CH<sub>2</sub>, pyrazoline C<sub>4</sub>), 60.16 (CH, pyrazoline C<sub>5</sub>), 128.26 (2CH, aromatic), 128.84 (CH, aromatic), 129.29 (2CH, aromatic), 130.96 (C, aromatic), 131.90 (CH, aromatic), 132.66 (CH, aromatic), 134.14 (C, aromatic), 140.96 (C, aromatic), 152.29 (C, pyrazoline C<sub>3</sub>), 153.97 (C, aromatic), 164.19 (C, C=O). Anal. Calcd. for C<sub>17</sub>H<sub>15</sub>ClN<sub>6</sub>O<sub>2</sub>S: C, 48.74; H, 3.61; N, 20.06. Found: C, 48.65; H, 3.68; N, 19.95. MS (ESI) (*m/z*): 419 [M + H]<sup>+</sup>, 420 [M + H]<sup>++</sup>.

*1-[(1-Phenyl-1H-tetrazol-5-yl)thioacetyl]-3-(2-thienyl)-5-(4-chlorophenyl)-2-pyrazoline (3)*. Yield: 84%; M.p. 183.3 °C. IR (KBr)  $\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>): 3107 (aromatic C-H), 2933 (aliphatic C-H asymmetric), 1656 (C=O), 1498, 1462, 1423 (C=N and C=C), 1388, 1220, 1089, 1012 (C-N), 831 (C-H out of plane deformation). <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz,  $\delta$  ppm, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 3.23 (1H, dd,  $J_{AX} = 4.40$  Hz,  $J_{AB} = 18.00$  Hz, pyrazoline C<sub>4</sub>-H<sub>A</sub>), 3.94 (1H, dd,  $J_{BX} = 11.60$  Hz,  $J_{BA} = 18.00$  Hz, pyrazoline C<sub>4</sub>-H<sub>B</sub>), 4.69 (1H, d,  $J = 16.00$  Hz, geminal proton, CO-CH), 4.83 (1H, d,  $J = 16.40$  Hz, geminal proton, CO-CH), 5.60 (1H, dd,  $J_{AX} = 4.00$  Hz,  $J_{BX} = 11.20$  Hz, pyrazoline C<sub>5</sub>-H<sub>x</sub>), 7.18 (1H, m), 7.27 (2H, d,  $J = 8.40$  Hz), 7.38 (2H, d,  $J = 8.80$  Hz), 7.51 (1H, dd,  $J = 1.20$  Hz, 3.60 Hz, thiophene C<sub>3</sub>-H), 7.64–7.68 (5H, m), 7.80 (1H, dd,  $J = 1.20$  Hz, 4.80 Hz, thiophene C<sub>5</sub>-H). <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 37.35 (CH<sub>2</sub>, S-CH<sub>2</sub>), 43.41 (CH<sub>2</sub>, pyrazoline C<sub>4</sub>), 60.21 (CH, pyrazoline C<sub>5</sub>), 125.10 (2CH, aromatic), 128.27 (2CH, aromatic), 128.87 (CH, aromatic), 129.29 (2CH, aromatic), 130.75 (2CH, aromatic), 131.01 (CH, aromatic), 131.34 (CH, aromatic), 131.98 (CH, aromatic), 132.65 (C, aromatic), 133.70 (C, aromatic), 134.13 (C, aromatic), 140.96 (C, aromatic), 152.38 (C, pyrazoline C<sub>3</sub>), 154.65 (C, aromatic), 163.92 (C, C=O). Anal. Calcd. for C<sub>22</sub>H<sub>17</sub>ClN<sub>6</sub>O<sub>2</sub>S: C, 54.94; H, 3.56; N, 17.47. Found: C, 54.99; H, 3.58; N, 17.51. MS (ESI) (*m/z*): 481 [M + H]<sup>+</sup>.

*1-[(1-(4-Hydroxyphenyl)-1H-tetrazol-5-yl)thioacetyl]-3-(2-thienyl)-5-(4-chlorophenyl)-2-pyrazoline (4)*. Yield: 71%; M.p. 145.7 °C. IR (KBr)  $\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>): 3601 (O-H), 3107 (aromatic C-H), 2932 (aliphatic C-H asymmetric), 1641 (C=O), 1516, 1454, 1415 (C=N and C=C), 1278, 1228, 1087 (C-N), 837, 823 (C-H out of plane deformation). <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz,  $\delta$  ppm, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 3.22 (1H, dd,  $J_{AX} = 4.80$  Hz,  $J_{AB} = 18.00$  Hz, pyrazoline C<sub>4</sub>-H<sub>A</sub>), 3.93 (1H, dd,  $J_{BX} = 11.60$  Hz,  $J_{BA} = 18.00$  Hz, pyrazoline C<sub>4</sub>-H<sub>B</sub>), 4.65 (1H, d,  $J = 16.00$  Hz, geminal proton, CO-CH), 4.77 (1H, d,  $J = 16.00$  Hz, geminal proton, CO-CH), 5.60 (1H, dd,  $J_{AX} = 4.40$  Hz,  $J_{BX} = 11.60$  Hz, pyrazoline C<sub>5</sub>-H<sub>x</sub>), 6.87 (2H, d,  $J = 8.80$  Hz), 7.17 (1H, m), 7.26–7.33 (4H, m), 7.37 (2H, d,  $J = 8.40$  Hz), 7.51 (1H, d,  $J = 3.60$  Hz, thiophene C<sub>3</sub>-H), 7.79 (1H, d,  $J = 5.20$  Hz, thiophene C<sub>5</sub>-H), 9.35 (1H, s). <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 37.04 (CH<sub>2</sub>, S-CH<sub>2</sub>), 43.40 (CH<sub>2</sub>, pyrazoline C<sub>4</sub>), 60.20 (CH, pyrazoline C<sub>5</sub>), 117.35 (2CH, aromatic), 122.57 (C, aromatic), 126.65 (2CH, aromatic), 128.27 (2CH, aromatic), 128.85 (CH, aromatic), 129.29 (2CH, aromatic), 130.96 (CH, aromatic), 131.90 (CH, aromatic), 132.64 (CH, aromatic), 134.16 (C, aromatic), 140.98 (C, aromatic), 152.28 (C, pyrazoline C<sub>3</sub>), 154.65 (C, aromatic), 163.04 (C, aromatic), 164.05 (C, C=O). Anal. Calcd. for C<sub>22</sub>H<sub>17</sub>ClN<sub>6</sub>O<sub>2</sub>S<sub>2</sub>: C, 53.17; H, 3.45; N, 16.91. Found: C, 53.21; H, 3.54; N, 16.96. MS (ESI) (*m/z*): 497 [M + H]<sup>+</sup>, 498 [M + H]<sup>++</sup>.

*1-[(1-(2-(Dimethylamino)ethyl)-1H-tetrazol-5-yl)thioacetyl]-3-(2-thienyl)-5-(4-chlorophenyl)-2-pyrazoline (5)*. Yield: 76%; M.p. 112.1 °C. IR (KBr)  $\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>): 3091 (aromatic C-H), 2943, 2827 (aliphatic C-H asymmetric), 1654 (C=O), 1452, 1413 (C=N and C=C), 1394, 1220, 1093, 1029 (C-N), 831, 817 (C-H out of plane deformation). <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz,  $\delta$  ppm, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 2.13 (6H, s), 2.64 (2H, t,  $J = 6.40$  Hz, 12.00 Hz), 3.22 (1H, dd,  $J_{AX} = 4.80$  Hz,  $J_{AB} = 18.00$  Hz, pyrazoline C<sub>4</sub>-H<sub>A</sub>), 3.92 (1H, dd,  $J_{BX} = 11.60$  Hz,

$J_{\text{BA}} = 17.60$  Hz, pyrazoline C4-H<sub>B</sub>), 4.38 (2H, t,  $J = 6.00$  Hz, 12.00 Hz), 4.57 (1H, d,  $J = 15.60$  Hz, geminal proton, CO-CH), 4.71 (1H, d,  $J = 16.00$  Hz, geminal proton, CO-CH), 5.59 (1H, dd,  $J_{\text{AX}} = 4.80$  Hz,  $J_{\text{BX}} = 12.00$  Hz, pyrazoline C5-H<sub>X</sub>), 7.17 (1H, m), 7.26 (2H, d,  $J = 8.80$  Hz), 7.38 (2H, d,  $J = 8.80$  Hz), 7.49 (1H, dd,  $J = 0.80$ , 3.60 Hz, thiophene C3-H), 7.79 (1H, dd,  $J = 5.20$ , 0.80 Hz, thiophene C5-H). <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 37.46 (CH<sub>2</sub>, S-CH<sub>2</sub>), 43.38 (CH<sub>2</sub>, pyrazoline C4), 45.65 (2CH<sub>3</sub>, H<sub>3</sub>C-N-CH<sub>3</sub>), 45.99 (CH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>-tetrazole), 57.84 (CH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>-N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 60.15 (CH, pyrazoline C5), 128.25 (2CH, aromatic), 128.84 (CH, aromatic), 129.29 (2CH, aromatic), 130.97 (CH, aromatic), 131.91 (CH, aromatic), 132.64 (C, aromatic), 134.15 (C, aromatic), 140.99 (C, aromatic), 152.25 (C, pyrazoline C3), 154.19 (C, aromatic), 164.23 (C, C=O). Anal. Calcd. for C<sub>20</sub>H<sub>22</sub>ClN<sub>7</sub>OS<sub>2</sub>: C, 50.46; H, 4.66; N, 20.60. Found: C, 50.42; H, 4.69; N, 20.57. MS (ESI) (*m/z*): 476 [M], 477 [M + H]<sup>+</sup>, 478 [M + H]<sup>++</sup>.

*1-[(5-Methyl-1,3,4-thiadiazol-2-yl)thioacetyl]-3-(2-thienyl)-5-(4-chlorophenyl)-2-pyrazoline (6)*. Yield: 82%; M.p. 140.9 °C. IR (KBr)  $\nu_{\text{max}}$  (cm<sup>-1</sup>): 3103 (aromatic C-H), 2920 (aliphatic C-H asymmetric), 1645 (C=O), 1456, 1417 (C=N and C=C), 1398, 1325, 1219, 1072, 1029 (C-N), 840, 819 (C-H out of plane deformation). <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz,  $\delta$  ppm, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 2.66 (3H, s), 3.22 (1H, dd,  $J_{\text{AX}} = 4.80$  Hz,  $J_{\text{AB}} = 18.00$  Hz, pyrazoline C4-H<sub>A</sub>), 3.92 (1H, dd,  $J_{\text{BX}} = 11.60$  Hz,  $J_{\text{BA}} = 17.60$  Hz, pyrazoline C4-H<sub>B</sub>), 4.54 (1H, d,  $J = 16.00$  Hz, geminal proton, CO-CH), 4.67 (1H, d,  $J = 16.00$  Hz, geminal proton, CO-CH), 5.60 (1H, dd,  $J_{\text{AX}} = 4.40$  Hz,  $J_{\text{BX}} = 11.60$  Hz, pyrazoline C5-H<sub>X</sub>), 7.17 (1H, m), 7.27 (2H, d,  $J = 8.40$  Hz), 7.38 (2H, d,  $J = 8.80$  Hz), 7.50 (1H, dd,  $J = 0.80$  Hz, 3.60 Hz, thiophene C3-H), 7.79 (1H, dd,  $J = 1.20$  Hz, 5.20 Hz, thiophene C5-H). <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 15.85 (CH<sub>3</sub>, thiadiazole), 37.33 (CH<sub>2</sub>, S-CH<sub>2</sub>), 43.36 (CH<sub>2</sub>, pyrazoline C4), 60.13 (CH, pyrazoline C5), 128.29 (2CH, aromatic), 128.83 (CH, aromatic), 129.29 (2CH, aromatic), 130.93 (CH, aromatic), 131.83 (CH, aromatic), 132.63 (C, aromatic), 134.20 (C, aromatic), 141.05 (C, aromatic), 152.08 (C, pyrazoline C3), 164.40 (C, aromatic), 164.98 (C, aromatic), 166.37 (C, C=O). Anal. Calcd. for C<sub>18</sub>H<sub>15</sub>ClN<sub>4</sub>OS<sub>2</sub>: C, 49.70; H, 3.48; N, 12.88. Found: C, 49.72; H, 3.49; N, 12.83. MS (ESI) (*m/z*): 434 [M], 435 [M + H]<sup>+</sup>, 436 [M + H]<sup>++</sup>, 437 [M + H]<sup>+++</sup>.

*1-[(Pyrimidin-2-yl)thioacetyl]-3-(2-thienyl)-5-(4-chlorophenyl)-2-pyrazoline (7)*. Yield: 78%; M.p. 126.6 °C. IR (KBr)  $\nu_{\text{max}}$  (cm<sup>-1</sup>): 3109 (aromatic C-H), 2929 (aliphatic C-H asymmetric), 1653 (C=O), 1548, 1448, 1409 (C=N and C=C), 1379, 1201, 1176, 1089, 1016 (C-N), 821 (C-H out of plane deformation). <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz,  $\delta$  ppm, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 3.19 (1H, dd,  $J_{\text{AX}} = 4.40$  Hz,  $J_{\text{AB}} = 18.00$  Hz, pyrazoline C4-H<sub>A</sub>), 3.92 (1H, dd,  $J_{\text{BX}} = 12.00$  Hz,  $J_{\text{BA}} = 17.60$  Hz, pyrazoline C4-H<sub>B</sub>), 4.32 (1H, d,  $J = 16.40$  Hz, geminal proton, CO-CH), 4.60 (1H, d,  $J = 16.00$  Hz, geminal proton, CO-CH), 5.61 (1H, dd,  $J_{\text{AX}} = 4.80$  Hz,  $J_{\text{BX}} = 11.60$  Hz, pyrazoline C5-H<sub>X</sub>), 7.15–7.18 (1H, m), 7.22 (1H, t,  $J = 4.80$  Hz, 5.20 Hz, pyrimidine), 7.28 (2H, d,  $J = 8.00$  Hz), 7.40 (2H, d,  $J = 8.00$  Hz), 7.47–7.49 (1H, m, thiophene C3-H), 7.77 (1H, dd,  $J = 0.80$  Hz, 4.40 Hz, thiophene C5-H), 8.63 (2H, d,  $J = 4.80$  Hz, pyrimidine). <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 34.30 (CH<sub>2</sub>, S-CH<sub>2</sub>), 43.34 (CH<sub>2</sub>, pyrazoline C4), 60.09 (CH, pyrazoline C5), 118.01 (CH, aromatic), 128.13 (2CH, aromatic), 128.81 (CH, aromatic), 129.27 (2CH, aromatic), 130.68 (CH, aromatic), 131.58 (CH, aromatic), 132.54 (C, aromatic), 134.43 (C, aromatic), 141.33 (C, aromatic), 151.47 (C, pyrazoline C3), 158.42 (2CH, aromatic), 165.28 (C, C=O), 170.99 (C, aromatic). Anal. Calcd. for C<sub>19</sub>H<sub>15</sub>ClN<sub>4</sub>OS<sub>2</sub>: C, 55.00; H, 3.64; N, 13.50. Found: C, 55.11; H, 3.51; N, 13.43. MS (ESI) (*m/z*): 414 [M], 415 [M + H]<sup>+</sup>, 416 [M + H]<sup>++</sup>.

*1-[(5-Phenyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)thioacetyl]-3-(2-thienyl)-5-(4-chlorophenyl)-2-pyrazoline (8)*. Yield: 74%; M.p. 162.3 °C. IR (KBr)  $\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>): 3107 (aromatic C-H), 2983 (aliphatic C-H asymmetric), 1670 (C=O), 1465, 1450, 1408 (C=N and C=C), 1238, 1197, 1068, 1012 (C-N), 827 (C-H out of plane deformation). <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz,  $\delta$  ppm, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 3.23 (1H, dd,  $J_{AX} = 4.40$  Hz,  $J_{AB} = 18.00$  Hz, pyrazoline C4-H<sub>A</sub>), 3.93 (1H, dd,  $J_{BX} = 11.60$  Hz,  $J_{BA} = 18.00$  Hz, pyrazoline C4-H<sub>B</sub>), 4.63 (1H, d,  $J = 16.00$  Hz, geminal proton, CO-C<sub>H</sub>), 4.77 (1H, d,  $J = 16.00$  Hz, geminal proton, CO-C<sub>H</sub>), 5.62 (1H, dd,  $J_{AX} = 4.80$  Hz,  $J_{BX} = 11.60$  Hz, pyrazoline C5-H<sub>x</sub>), 7.16–7.19 (1H, m), 7.26 (2H, d,  $J = 8.40$  Hz), 7.34 (2H, d,  $J = 8.80$  Hz), 7.51–7.64 (4H, m), 7.78–7.80 (1H, m, thiophene C3-H), 7.92–7.95 (2H, m). <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 36.11 (CH<sub>2</sub>, S-CH<sub>2</sub>), 43.40 (CH<sub>2</sub>, pyrazoline C<sub>4</sub>), 60.19 (CH, pyrazoline C<sub>5</sub>), 123.66 (C, aromatic), 127.03 (2CH, aromatic), 128.24 (2CH, aromatic), 128.85 (CH, aromatic), 129.29 (2CH, aromatic), 130.07 (2CH, aromatic), 131.00 (CH, aromatic), 131.95 (CH, aromatic), 132.66 (C, aromatic), 132.69 (CH, aromatic), 134.12 (C, aromatic), 140.99 (C, aromatic), 152.35 (C, pyrazoline C<sub>3</sub>), 164.02 (C, aromatic), 164.13 (C, aromatic), 165.77 (C, C=O). Anal. Calcd. for C<sub>23</sub>H<sub>17</sub>ClN<sub>4</sub>O<sub>2</sub>S<sub>2</sub>: C, 57.43; H, 3.56; N, 11.65. Found: C, 57.47; H, 3.55; N, 11.61. MS (ESI) (*m/z*): 481 [M + H]<sup>+</sup>.

*1-[(5-(Pyridin-3-yl)-1,3,4-oxadiazol-2-yl)thioacetyl]-3-(2-thienyl)-5-(4-chlorophenyl)-2-pyrazoline (9)*. Yield: 70%; M.p. 156.9 °C. IR (KBr)  $\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>): 3080 (aromatic C-H), 2981 (aliphatic C-H asymmetric), 1668 (C=O), 1456, 1417 (C=N and C=C), 1199, 1076, 1016 (C-N), 833 (C-H out of plane deformation). <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz,  $\delta$  ppm, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 3.24 (1H, dd,  $J_{AX} = 4.80$  Hz,  $J_{AB} = 18.00$  Hz, pyrazoline C4-H<sub>A</sub>), 3.94 (1H, dd,  $J_{BX} = 11.60$  Hz,  $J_{BA} = 18.40$  Hz, pyrazoline C4-H<sub>B</sub>), 4.65 (1H, d,  $J = 16.00$  Hz, geminal proton, CO-C<sub>H</sub>), 4.79 (1H, d,  $J = 16.00$  Hz, geminal proton, CO-C<sub>H</sub>), 5.63 (1H, dd,  $J_{AX} = 4.80$  Hz,  $J_{BX} = 12.00$  Hz, pyrazoline C5-H<sub>x</sub>), 7.16–7.18 (1H, m), 7.28 (2H, d,  $J = 8.40$  Hz), 7.35 (2H, d,  $J = 8.40$  Hz), 7.50 (1H, dd,  $J = 1.20$  Hz, 4.00 Hz, thiophene C3-H), 7.58–7.62 (1H, m, pyridine C5-H), 7.78 (1H, dd,  $J = 0.80$  Hz, 4.80 Hz, thiophene C3-H), 8.29–8.32 (1H, m, pyridine), 8.79 (1H, dd,  $J = 1.60$  Hz, 4.80 Hz, pyridine), 9.12 (1H, d,  $J = 1.60$  Hz, pyridine). <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 36.28 (CH<sub>2</sub>, S-CH<sub>2</sub>), 43.42 (CH<sub>2</sub>, pyrazoline C<sub>4</sub>), 60.23 (CH, pyrazoline C<sub>5</sub>), 120.31 (CH, aromatic), 124.98 (C, aromatic), 128.27 (2CH, aromatic), 128.85 (CH, aromatic), 129.31 (2CH, aromatic), 130.99 (CH, aromatic), 131.93 (CH, aromatic), 132.69 (CH, aromatic), 134.12 (C, aromatic), 134.64 (C, aromatic), 140.99 (C, aromatic), 147.74 (CH, aromatic), 152.37 (C, pyrazoline C<sub>3</sub>), 153.16 (CH, aromatic), 164.04 (C, aromatic), 164.08 (C, aromatic), 164.76 (C, C=O). Anal. Calcd. for C<sub>22</sub>H<sub>16</sub>ClN<sub>5</sub>O<sub>2</sub>S<sub>2</sub>: C, 54.82; H, 3.35; N, 14.53. Found: C, 54.83; H, 3.33; N, 14.60. MS (ESI) (*m/z*): 481 [M], 482 [M + H]<sup>+</sup>, 483 [M + H]<sup>++</sup>.

*1-[(5-(4-Chlorophenyl)-1,3,4-oxadiazol-2-yl)thioacetyl]-3-(2-thienyl)-5-(4-chlorophenyl)-2-pyrazoline (10)*. Yield: 77%; M.p. 176.5 °C. IR (KBr)  $\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>): 3099 (aromatic C-H), 2981 (aliphatic C-H asymmetric), 1643 (C=O), 1463, 1417 (C=N and C=C), 1392, 1188, 1174, 1082, 1008 (C-N), 952, 840, 819 (C-H out of plane deformation). <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz,  $\delta$  ppm, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 3.23 (1H, dd,  $J_{AX} = 4.80$  Hz,  $J_{AB} = 18.40$  Hz, pyrazoline C4-H<sub>A</sub>), 3.93 (1H, dd,  $J_{BX} = 11.60$  Hz,  $J_{BA} = 18.00$  Hz, pyrazoline C4-H<sub>B</sub>), 4.62 (1H, d,  $J = 16.00$  Hz, geminal proton, CO-C<sub>H</sub>), 4.75 (1H, d,  $J = 16.00$  Hz, geminal proton, CO-C<sub>H</sub>), 5.62 (1H, dd,  $J_{AX} = 4.80$  Hz,  $J_{BX} = 11.20$  Hz, pyrazoline C5-H<sub>x</sub>), 7.17 (1H, dd,  $J = 3.60$  Hz, 5.20 Hz thiophene C4-H), 7.27 (2H, d,  $J = 8.40$  Hz), 7.35 (2H, d,  $J = 8.40$  Hz), 7.50 (1H, dd,  $J = 0.80$  Hz, 3.60 Hz, thiophene C3-H), 7.62 (2H, d,  $J = 8.80$  Hz), 7.77 (1H, dd,  $J = 0.80$  Hz, 5.20 Hz, thiophene

C<sub>5</sub>-H), 7.93 (2H, d,  $J = 8.40$  Hz). <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 36.16 (CH<sub>2</sub>, S-CH<sub>2</sub>), 43.41 (CH<sub>2</sub>, pyrazoline C<sub>4</sub>), 60.23 (CH, pyrazoline C<sub>5</sub>), 122.55 (C, aromatic), 128.25 (2CH, aromatic), 128.81 (3CH, aromatic), 129.29 (2CH, aromatic), 130.21 (2CH, aromatic), 130.93 (CH, aromatic), 131.82 (CH, aromatic), 132.71 (C, aromatic), 134.15 (C, aromatic), 137.42 (C, aromatic), 140.96 (C, aromatic), 152.32 (C, pyrazoline C<sub>3</sub>), 164.12 (C, aromatic), 164.30 (C, aromatic), 165.05 (C, C=O). Anal. Calcd. for C<sub>23</sub>H<sub>16</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>S<sub>2</sub>: C, 53.59; H, 3.13; N, 10.87. Found: C, 53.48; H, 3.17; N, 10.75. MS (ESI) ( $m/z$ ): 515 [M], 516 [M + H]<sup>+</sup>, 517 [M + H]<sup>++</sup>.

*1-[(5-(4-Methylphenyl)-1,3,4-oxadiazol-2-yl)thioacetyl]-3-(2-thienyl)-5-(4-chlorophenyl)-2-pyrazoline (11)*. Yield: 79%; M.p. 194.0 °C. IR (KBr)  $\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>): 3078 (aromatic C-H), 2926 (aliphatic C-H asymmetric), 1668 (C=O), 1469, 1450, 1409 (C=N and C=C), 1197, 1072 (C-N), 829 (C-H out of plane deformation). <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz,  $\delta$  ppm, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 2.38 (3H, s, CH<sub>3</sub>), 3.22 (1H, dd,  $J_{AX} = 4.80$  Hz,  $J_{AB} = 18.00$  Hz, pyrazoline C<sub>4</sub>-H<sub>A</sub>), 3.93 (1H, dd,  $J_{AX} = 11.60$  Hz,  $J_{BA} = 18.00$  Hz, pyrazoline C<sub>4</sub>-H<sub>B</sub>), 4.60 (1H, d,  $J = 15.60$  Hz, geminal proton, CO-CH), 4.73 (1H, d,  $J = 15.60$  Hz, geminal proton, CO-CH), 5.61 (1H, dd,  $J_{AX} = 4.80$  Hz,  $J_{BX} = 11.20$  Hz, pyrazoline C<sub>5</sub>-H<sub>X</sub>), 7.15–7.18 (1H, m, thiophene C<sub>4</sub>-H), 7.26 (2H, d,  $J = 8.80$  Hz), 7.33 (2H, d,  $J = 8.80$  Hz), 7.36 (2H, d,  $J = 8.40$  Hz), 7.49 (1H, m, thiophene C<sub>3</sub>-H), 7.77 (1H, d,  $J = 4.80$  Hz, thiophene C<sub>5</sub>-H), 7.81 (2H, d,  $J = 8.00$  Hz). <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 21.80 (CH<sub>3</sub>), 36.09 (CH<sub>2</sub>, S-CH<sub>2</sub>), 43.41 (CH<sub>2</sub>, pyrazoline C<sub>4</sub>), 60.22 (CH, pyrazoline C<sub>5</sub>), 120.97 (C, aromatic), 127.00 (2CH, aromatic), 128.24 (2CH, aromatic), 128.81 (CH, aromatic), 129.29 (2CH, aromatic), 130.59 (2CH, aromatic), 130.93 (CH, aromatic), 131.82 (CH, aromatic), 132.69 (C, aromatic), 134.16 (C, aromatic), 140.98 (C, aromatic), 142.84 (C, aromatic), 152.29 (C, pyrazoline C<sub>3</sub>), 163.60 (C, aromatic), 164.17 (C, aromatic), 165.91 (C, C=O). Anal. Calcd. for C<sub>24</sub>H<sub>19</sub>ClN<sub>4</sub>O<sub>2</sub>S<sub>2</sub>: C, 58.23; H, 3.87; N, 11.32. Found: C, 58.19; H, 3.92; N, 11.25. MS (ESI) ( $m/z$ ): 495 [M], 496 [M + H]<sup>+</sup>, 497 [M + H]<sup>++</sup>.

*1-[(5-(4-Methoxyphenyl)-1,3,4-oxadiazol-2-yl)thioacetyl]-3-(2-thienyl)-5-(4-chlorophenyl)-2-pyrazoline (12)*. Yield: 72%; M.p. 146.8 °C. IR (KBr)  $\nu_{\max}$  (cm<sup>-1</sup>): 3082 (aromatic C-H), 2933 (aliphatic C-H asymmetric), 1670 (C=O), 1504, 1477, 1452, 1413 (C=N and C=C), 1251, 1178, 1026 (C-N), 840 (C-H out of plane deformation). <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz,  $\delta$  ppm, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 3.21 (1H, dd,  $J_{AX} = 4.80$  Hz,  $J_{AB} = 18.00$  Hz, pyrazoline C<sub>4</sub>-H<sub>A</sub>), 3.84 (3H, s, OCH<sub>3</sub>), 3.92 (1H, dd,  $J_{BX} = 11.60$  Hz,  $J_{BA} = 17.60$  Hz, pyrazoline C<sub>4</sub>-H<sub>B</sub>), 4.57 (1H, d,  $J = 16.00$  Hz, geminal proton, CO-CH), 4.71 (1H, d,  $J = 15.60$  Hz, geminal proton, CO-CH), 5.61 (1H, dd,  $J_{AX} = 4.80$  Hz,  $J_{BX} = 11.60$  Hz, pyrazoline C<sub>5</sub>-H<sub>X</sub>), 7.08 (2H, d,  $J = 9.20$  Hz), 7.16 (1H,  $J = 3.60$  Hz, 4.80 Hz, thiophene C<sub>4</sub>-H), 7.25 (2H, d,  $J = 8.80$  Hz), 7.34 (2H, d,  $J = 8.80$  Hz), 7.50 (1H, dd,  $J = 1.20$  Hz, 4.00 Hz, thiophene C<sub>3</sub>-H), 7.77 (1H, dd,  $J = 1.20$  Hz, 4.80 Hz, thiophene C<sub>5</sub>-H), 7.86 (2H, d,  $J = 8.80$  Hz). <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 36.03 (CH<sub>2</sub>, S-CH<sub>2</sub>), 43.42 (CH<sub>2</sub>, pyrazoline C<sub>4</sub>), 56.23 (CH<sub>3</sub>, methoxy), 60.24 (CH, pyrazoline C<sub>5</sub>), 115.54 (2CH, aromatic), 116.10 (C, aromatic), 128.24 (2CH, aromatic), 128.80 (CH, aromatic), 128.92 (2CH, aromatic), 129.29 (2CH, aromatic), 130.89 (CH, aromatic), 131.74 (CH, aromatic), 132.70 (C, aromatic), 134.19 (C, aromatic), 140.98 (C, aromatic), 152.25 (C, pyrazoline C<sub>3</sub>), 162.77 (C, aromatic), 163.11 (C, aromatic), 164.26 (C, aromatic), 165.80 (C, C=O). Anal. Calcd. for C<sub>24</sub>H<sub>19</sub>ClN<sub>4</sub>O<sub>3</sub>S<sub>2</sub>: C, 56.41; H, 3.75; N, 10.96. Found: C, 56.39; H, 3.73; N, 10.98. MS (ESI) ( $m/z$ ): 511 [M], 512 [M + H]<sup>+</sup>, 513 [M + H]<sup>++</sup>.



### 3.2. Biochemistry

#### 3.2.1. Cell Culture and Drug Treatment

U251 and U87 human glioblastoma cells were incubated in Dulbecco's-modified Eagle's medium (DMEM) (Wako Pure Chemical Industries, Osaka, Japan) supplemented with 10% fetal bovine serum (FBS) (Equitech-Bio, Kerrville, TX, USA). AsPC-1 human pancreas adenocarcinoma and Jurkat human leukemic T-cells were incubated RPMI 1640 (Wako Pure Chemical Industries), supplemented with 10% FBS. Peripheral blood mononuclear cells (PBMC) (Precision Bioservices, Frederick, MD, USA) were incubated RPMI 1640 and supplemented with 10% human serum AB (HS) (Gemini, Woodland, CA, USA). All media were supplemented with 89 µg/mL streptomycin (Meiji Seika Pharma, Tokyo, Japan) and cells were incubated at 37 °C in a humidified atmosphere of 95% air and 5% CO<sub>2</sub>. Growing cells were plated at  $1 \times 10^5$  cells/mL into 24-well microtiter tissue culture plates (Iwaki brand Asahi Glass Co., Chiba, Japan) and incubated for 24 h before the addition of the drugs (the optimal cell number for cytotoxicity assays was determined in preliminary experiments). Stock solutions (1 mM, 5 mM, 10 mM, 20 mM, and 50 mM) of compounds and cisplatin (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) were prepared in dimethyl sulfoxide (DMSO; Wako Pure Chemical Industries) and in dimethylformamide (DMF; Wako Pure Chemical Industries) respectively, then were added to fresh culture medium. The concentration of DMSO and DMF in the final culture medium was 1%.

#### 3.2.2. MTT Assay for Cytotoxicity of Compounds

The level of cellular reduction of 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) (Dojindo Molecular Technologies, Kumamoto, Japan) was quantified as previously described in the literature with small modifications [38]. The tested compounds were incubated with cells to give a final concentration in the range 50–500 µM for 24 h. At the end of this period, MTT was added to cells in culture to give a final concentration of 0.275 mg/mL and incubated further for 4 h at 37 °C. The medium was removed and the formazan crystals were solubilized by addition of 100 µL DMSO to each well. After the solubilized crystals were diluted (1:10) with DMSO, 100 µL was transferred to wells of 96-well microtiter plates (Iwaki brand Asahi Glass Co.) and the absorbance at 550 nm was measured using a microplate spectrophotometer Infinite M1000 (Tecan, Groding, Austria). Every concentration was repeated in three wells and IC<sub>50</sub> values were defined as the drug concentrations which reduced absorbance to 50 % of control values.

#### 3.2.3. Detection of Apoptotic and Necrotic Cells

U251 cells were incubated with compound 11 at IC<sub>50</sub> concentration for 3 h and 24 h. Then, apoptotic/necrotic/healthy cells detection kit protocol was applied according to the manufacturer's instruction manual (PromoKine, Heidelberg, Germany) [39,40]. After the cells were washed twice with  $1 \times$  binding buffer, a staining solution containing 50 µL of  $1 \times$  binding buffer, 2 µL of FITC-Annexin V solution, 2 µL of ethidium homodimer III solution and 2 µL of Hoechst 33342 solution was added and the cells were incubated for 15 min at RT, protected from light. Cells were washed with  $1 \times$  binding

buffer and analyzed by all-in-one fluorescence microscope Biorevo Fluorescence BZ-9000 (Keyence, Osaka, Japan).

#### 3.2.4. DNA Cleavage Assay

The DNA cleavage activities of the compounds were studied using supercoiled pUC19 DNA and analyzed by agarose (Takara, Kyoto, Japan) gel electrophoresis Mupid-2x (Mupid, Tokyo, Japan). pUC19 DNA (2 µg) was treated with compounds in water and Tris/boric acid (Nacalai Tesque, Kyoto, Japan) buffer (10 mM, pH 8.5) in the presence and absence of iron (II) sulfate heptahydrate ( $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ; 30 µM) (Wako Pure Chemical Industries), hydrogen peroxide ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ; 30 µM) (Tokyo Chemical Industry Co., Tokyo, Japan) and ascorbic acid (30 µM) (Tokyo Chemical Industry Co.) as an activator. The reaction mixture was incubated at 37 °C for 1.5 h before the addition of EDTA (Dojindo Molecular Technologies) and loading buffer (Takara, Kyoto, Japan). Agarose gel electrophoresis of pUC 19 DNA was performed at 100 V for 40 min in 1% slab gels containing ethidium bromide (Wako Pure Chemical Industries) in Tris/Boric acid/EDTA buffer. DNA was visualized by photographing the fluorescence of intercalated ethidium bromide under a UV illuminator (Nippon Genetics Co., Tokyo, Japan).

#### 4. Conclusions

In the present paper, new pyrazoline derivatives were synthesized and investigated for their antiproliferative effects on AsPC-1 human pancreatic adenocarcinoma, U87, and U251 human glioblastoma cell lines. Detailed investigation of compound **11** against AsPC-1, U87, U251 cell lines and tumor selectivity of this compound on blood cells (PBMC and Jurkat cells) were also carried out. Among these compounds, compound **11** was the most effective anticancer agent against AsPC-1 and U251 cancer cell lines and exhibited significant tumor selectivity. Therefore, compound **11** was chosen for apoptosis/necrosis evaluation and DNA-cleavage analysis in U251 cells. Compound **11**-treated U251 cells showed apoptotic activity at low concentration (1.5 µM). Interestingly, DNA-cleaving efficiency of this ligand was more significant than cisplatin. This outcome pointed out the relationship between the DNA cleavage and the cell death.

In the view of this study, further research can be carried out on the development of new effective anticancer agents by the modification of compound **11**.

#### Acknowledgments

This study was supported by Anadolu University Scientific Research Projects Commission under the grant no: 1505S371.

#### Author Contributions

A.Ö., M.D.A. and M.K. designed the research; M.D.A. and M.K. performed the synthetic work, M.O., M.F. and H.İ.Ç. were responsible for the direction of the biological research, H.İ.Ç. and R.K. performed the anticancer activity. A.Ö. was also responsible for the correspondence of the manuscript, whereas M.D.A. and H.İ.Ç. mainly wrote the manuscript. All authors discussed, edited and approved the final version.

### Conflicts of Interest

The authors declare no conflict of interest.

### References

1. Mathur, G.; Nain, S.; Sharma, P.K. Cancer: An Overview. *Acad. J. Cancer Res.* **2015**, *8*, doi:10.5829/idosi.ajcr.2015.8.1.9336.
2. Nepali, K.; Sharma, S.; Sharma, M.; Bedi, P.M.S.; Dhar, K.L. Rational approaches, design strategies, structure activity relationship and mechanistic insights for anticancer hybrids. *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, *77*, 422–487.
3. Rebucci, M.; Michiels, C. Molecular aspects of cancer cell resistance to chemotherapy. *Biochem. Pharmacol.* **2013**, *85*, 1219–1226.
4. Nussbaumer, S.; Bonnabry, P.; Veuthey, J.-L.; Fleury-Souverain, S. Analysis of anticancer drugs: A review. *Talanta* **2011**, *85*, 2265–2289.
5. Kumar, S.; Bawa, S.; Drabu, S.; Kumar, R.; Gupta, H. Biological Activities of Pyrazoline Derivatives—A Recent Development. *Recent Pat. Anti-Infect. Drug Discov.* **2009**, *4*, 154–163.
6. Shaaban, M.R.; Mayhoub, A.S.; Farag, A.M. Recent advances in the therapeutic applications of pyrazolines. *Expert Opin. Ther. Pat.* **2012**, *22*, 253–291.
7. Marella, A.; Ali, R.; Alam, T.; Saha, R.; Tanwar, O.; Akhter, M.; Shaquiquzzaman, M.; Alam, M.M. Pyrazolines: A biological review. *Mini-Rev. Med. Chem.* **2013**, *13*, 921–931.
8. Alex, J.M.; Kumar, R. 4,5-Dihydro-1H-pyrazole: An indispensable scaffold. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* **2014**, *29*, 427–442.
9. Havrylyuk, D.; Zimenkovsky, B.; Vasylenko, O.; Zaprutko, L.; Gzella, A.; Lesyk, R. Synthesis of novel thiazolone-based compounds containing pyrazoline moiety and evaluation of their anticancer activity. *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, *44*, 1396–1404.
10. Shaharyar, M.; Abdullah, M.M.; Bakht, M.A.; Majeed, J. Pyrazoline bearing benzimidazoles: Search for anticancer agent. *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45*, 114–119.
11. Congiu, C.; Onnis, V.; Vesce, L.; Castorina, M.; Pisano, C. Synthesis and in vitro antitumor activity of new 4,5-dihydropyrazole derivatives. *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, *18*, 6238–6248.
12. Al-Abdullah, E.S. Synthesis and Anticancer Activity of Some Novel Tetralin-6-yl-pyrazoline, 2-Thioxopyrimidine, 2-Oxopyridine, 2-Thioxo-pyridine and 2-Iminopyridine Derivatives. *Molecules* **2011**, *16*, 3410–3419.
13. Bano, S.; Javed, K.; Ahmad, S.; Rathish, I.G.; Singh, S.; Alam, M.S. Synthesis and biological evaluation of some new 2-pyrazolines bearing benzene sulfonamide moiety as potential anti-inflammatory and anti-cancer agents. *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, *46*, 5763–5768.
14. Bashir, R.; Ovais, S.; Yaseen, S.; Hamid, H.; Alam, M.S.; Samim, M.; Singh, S.; Javed, K. Synthesis of some new 1,3,5-trisubstituted pyrazolines bearing benzene sulfonamide as anticancer and anti-inflammatory agents. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2011**, *21*, 4301–4305.
15. Amin, K.M.; Eissa, A.A.M.; Abou-Seri, S.M.; Awadallah, F.M.; Hassan, G.S. Synthesis and biological evaluation of novel coumarine-pyrazoline hybrids endowed with phenylsulfonyl moiety as antitumor agents. *Eur. J. Med. Chem.* **2013**, *60*, 187–198.

16. Montoya, A.; Quiroga, J.; Abonia, R.; Noguera, M.; Cobo, J.; Insuasty, B. Synthesis and *in Vitro* Antitumor Activity of a Novel Series of 2-Pyrazoline Derivatives Bearing the 4-Aryloxy-7-chloroquinoline Fragment. *Molecules* **2014**, *19*, 18656–18675.
17. Insuasty, B.; Montoya, A.; Becerra, D.; Quiroga, J.; Abonia, R.; Robledo, S.; Darío Vélez, I.; Upegui, Y.; Noguera, M.; Cobo, J. Synthesis of novel analogs of 2-pyrazoline obtained from [(7-chloroquinolin-4-yl)amino]chalcones and hydrazine as potential antitumor and antimalarial agents. *Eur. J. Med. Chem.* **2013**, *67*, 252–262.
18. Rathore, P.; Yaseen, S.; Ovais, S.; Bashir, R.; Yaseen, R.; Hameed, A.D.; Samim, M.; Gupta, R.; Hussain, F.; Javed, K. Synthesis and evaluation of some new pyrazoline substituted benzenesulfonylureas as potential antiproliferative agents. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2014**, *24*, 1685–1691.
19. Lv, P.-C.; Li, D.-D.; Li, Q.-S.; Lu, X.; Xiao, Z.-P.; Zhu, H.-L. Synthesis, molecular docking and evaluation of thiazolyl-pyrazoline derivatives as EGFR TK inhibitors and potential anticancer agents. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2011**, *21*, 5374–5377.
20. Shin, S.Y.; Yoon, H.; Hwang, D.; Ahn, S.; Kim, D.-W.; Koh, D.; Lee, Y.H.; Lim, Y. Benzochalcones bearing pyrazoline moieties show anti-colorectal cancer activities and selective inhibitory effects on aurora kinases. *Bioorg. Med. Chem.* **2013**, *21*, 7018–7024.
21. Yu, M.; Yang, H.; Wu, K.; Ji, Y.; Ju, L.; Lu, X. Novel pyrazoline derivatives as bi-inhibitor of COX-2 and B-Raf in treating cervical carcinoma. *Bioorg. Med. Chem.* **2014**, *22*, 4109–4118.
22. Amin, K.M.; Abou-Seri, S.M.; Awadallah, F.M.; Eissa, A.A.M.; Hassan, G.S.; Abdulla, M.M. Synthesis and anticancer activity of some 8-substituted-7-methoxy-2H-chromen-2-one derivatives toward hepatocellular carcinoma HepG2 cells. *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, *90*, 221–231.
23. Qin, Y.-J.; Li, Y.-J.; Jiang, A.-Q.; Yang, M.-R.; Zhu, Q.-Z.; Dong, H.; Zhu, H.-L. Design, synthesis and biological evaluation of novel pyrazoline-containing derivatives as potential tubulin assembling inhibitors. *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, *94*, 447–457.
24. De Oliveira, C.S.; Lira, B.F.; Barbosa-Filho, J.M.; Lorenzo, J.G.F.; de Athayde-Filho, P.F. Synthetic Approaches and Pharmacological Activity of 1,3,4-Oxadiazoles: A Review of the Literature from 2000–2012. *Molecules* **2012**, *17*, 10192–10231.
25. Khan, I.; Ibrar, A.; Abbas, N. Oxadiazoles as Privileged Motifs for Promising Anticancer Leads: Recent Advances and Future Prospects. *Arch. Pharm. Chem. Life Sci.* **2014**, *347*, doi:10.1002/ardp.201300231.
26. Bajaj, S.; Asati, V.; Singh, J.; Roy, P.P. 1,3,4-Oxadiazoles: An emerging scaffold to target growth factors, enzymes and kinases as anticancer agents. *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, *97*, 124–141.
27. Küçükgül, Ş.G.; Çikla-Süzgün, P. Recent advances bioactive 1,2,4-triazole-3-thiones. *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, *97*, 830–870.
28. Kumar, C.N.S.S.P.; Parida, D.K.; Santhoshi, A.; Kota, A.K.; Sridhar, B.; Rao, V.J. Synthesis and biological evaluation of tetrazole containing compounds as possible anticancer agents. *Med. Chem. Commun.* **2011**, *2*, 486–492.
29. Haider, S.; Alam, M.S.; Hamid, H. 1,3,4-Thiadiazoles: A potent multi targeted pharmacological scaffold. *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, *92*, 156–177.
30. Kaplancıklı, Z.A.; Özdemir, A.; Turan-Zitouni, G.; Altıntop, M.D.; Can, Ö.D. New pyrazoline derivatives and their antidepressant activity. *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45*, 4383–4387.

31. Altıntop, M.D.; Özdemir, A.; Kaplancıklı, Z.A.; Turan-Zitouni, G.; Temel, H.E.; Çiftçi Gülşen, A. Synthesis and Biological Evaluation of Some Pyrazoline Derivatives Bearing a Dithiocarbamate Moiety as New Cholinesterase Inhibitors. *Arch. Pharm. Chem. Life Sci.* **2013**, *346*, 189–199.
32. Özdemir, A.; Altıntop, M.D.; Kaplancıklı, Z.A.; Turan-Zitouni, G.; Karaca, H.; Tunali, Y. Synthesis and Biological Evaluation of Pyrazoline Derivatives Bearing an Indole Moiety as New Antimicrobial Agents. *Arch. Pharm. Chem. Life Sci.* **2013**, *346*, 463–469.
33. Özdemir, A.; Altıntop, M.D.; Kaplancıklı, Z.A.; Turan-Zitouni, G.; Çiftçi, G.A.; Ulusoylar Yıldırım, Ş. Synthesis of 1-acetyl-3-(2-thienyl)-5-aryl-2-pyrazoline derivatives and evaluation of their anticancer activity. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* **2013**, *28*, 1221–1227.
34. Altıntop, M.D.; Özdemir, A.; Turan-Zitouni, G.; Ilgın, S.; Atlı, Ö.; Demirel, R.; Kaplancıklı, Z.A. A novel series of thiazolyl-pyrazoline derivatives: Synthesis and evaluation of antifungal activity, cytotoxicity and genotoxicity. *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, *92*, 342–352.
35. Özdemir, A.; Altıntop, M.D.; Kaplancıklı, Z.A.; Can, Ö.D.; Demir-Özkay, Ü.; Turan-Zitouni, G. Synthesis and Evaluation of New 1,5-Diaryl-3-[4-(methylsulfonyl)phenyl]-4,5-dihydro-1H-pyrazole Derivatives as Potential Antidepressant Agents. *Molecules* **2015**, *20*, 2668–2684.
36. Turan-Zitouni, G.; Özdemir, A.; Güven, K. Synthesis of some 1-[(N,N-disubstitutedthiocarbamoylthio)acetyl]-3-(2-thienyl)-5-aryl-2-pyrazoline derivatives and investigation of their antibacterial and antifungal activities, *Arch. Pharm. Chem. Life Sci.* **2005**, *338*, 96–104.
37. Özdemir, A.; Turan-Zitouni, G.; Kaplancıklı, Z.A.; Revial, G.; Demirci, F.; İşcan, G. Preparation of some pyrazoline derivatives and evaluation of their antifungal activities. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* **2010**, *25*, 565–571.
38. Mossman, T. Rapid calorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxic assays. *J. Immunol. Methods* **1983**, *65*, 55–63.
39. Boersma, A.; Nooter, K.; Oostrum, R.; Stoter, G. Quantification of apoptotic cells with fluorescein isothiocyanate-labeled annexin V in Chinese hamster ovary cell cultures treated with cisplatin. *Cytometry* **1996**, *24*, 123–130.
40. Martin, S.; Reutelingsperger, C.; McGahon, A.; Rader, J.; Vanschrie, R.; Laface, D.; Green, D. Early redistribution of plasma-membrane phosphatidylserine is a general feature of apoptosis regardless of the initiating stimulus—Inhibition by overexpression of bcl-2 and abl. *J. Exp. Med.* **1995**, *182*, 1545–1556.


*Sample Availability:* Samples of the compounds 1–12 are available from the authors.

© 2015 by the authors; licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

## EK 68. Tez Çalışmasından Üretilen Poster Bildiri

BMB2015(Biochemistry and Molecular Biology)

Sayfa 1 / 1



# BMB2015

## BIOCHEMISTRY AND MOLECULAR BIOLOGY

TECAN

ENGLISH JAPANESE

Organizers

- Professors
  - Ryosuke Kozuyama (Kyoto University)
  - Ischiyo Endo (Kyoto Sangyo University)
- Chairs of Program Committees
  - Kazuhiko Nakayama (Kyoto University)
  - Etsuko Tagami (Tokyo Institute of Technology)
- Chairs of General Affairs
  - Taru Nakano (Osaka University)
  - Tamotsu Yoshimori (Osaka University)
- Program Committee Members (Alphabetical)
  - Hiroaki Arai (The University of Tokyo)
  - Ikuo Hamashi (Kyoto University)
  - Sei Inada (Kyoto University)
  - Kojiro Kato (Gakushuin Institute for Integrative Bioscience)
  - Akiko Kikuchi (Osaka University)
  - Fumio Maruyama (RIKEN)
  - Kohji Miyazawa (The University of Tokyo)
  - Nakao Mizushima (The University of Tokyo)
  - Fumiko Nishida (Kyoto University)
  - Osamu Hata-Ohshiro (Kyoto University)
  - Yoshihiro Ogawa (Tokyo Medical and Dental University)
  - Hitoshi Okamura (Kyoto University)
  - Mitsuo Saitou (Kyoto University)
  - Yoshi Shinkai (RIKEN)
  - Wido C. Siew (The University of Tokyo)
  - Hiroaki Takeda (The University of Tokyo)
  - Nobuyuki Yamamoto (Tohoku University)
  - Toshiaki Yamamoto (Hiroshima University)

Copyright ©2015 BMB2015 Biochemistry and Molecular Biology. All Rights Reserved.

## Related Presentation Table of Contents

Tue, Dec 1, 2015

[1P] Biology of Diseases - Cancer

4:45 PM - 6:45 PM, Poster Session, Poster Room 4 (Kobe International Exhibition Hall No.3 Bldg, 1F)

4:45 PM - 6:45 PM [1P1520] Anticancer Activity of Synthesized Pyrazoline Derivatives

Orhan U. Ciftci<sup>1</sup>, Muhammed Karsacak<sup>1</sup>, Melika U. Altınsoy<sup>2</sup>, Ryoka Koga<sup>3</sup>, Yasumi Onizawa<sup>4</sup>, Mikako Fujita<sup>5</sup>,  
 Ahmet Ozdemir<sup>2</sup> (1)Department of Biorganic Medical Chemistry, School of Pharmacy, Kumamoto University,  
 Kumamoto, Japan, (2)Department of Pharmaceutical Chemistry, Faculty of Pharmacy, Anadolu University, 06470,  
 Eskisehir, Turkey, (3)Research Institute for Drug Discovery, School of Pharmacy, Kumamoto University, Kumamoto,  
 Japan)

Foster Session | 2.Biology of Diseases | 4) Cancer

**[1P] Biology of Diseases - Cancer**

Tue, Dec 1, 2015 4:45 PM - 6:45 PM, Foster Room 4 (Kobe International Exhibition Hall No.3 Bldg, 1F)

4:45 PM - 6:45 PM (Tue, Dec 1, 2015 4:45 PM - 6:45 PM, Poster Room 4)

**[1P1020] Anticancer Activity of Synthesized Pyrazoline Derivatives**

O.Halil I. Ciftci<sup>1</sup>, Muhammed Karabacak<sup>2</sup>, Merve D. Altincop<sup>2</sup>, Ryoko Koga<sup>1</sup>, Masami Otsuka<sup>1</sup>, Mikako Fujita<sup>2</sup>, Ahmet Ozdemir<sup>2</sup> (1.Department of Bioorganic Medicinal Chemistry, School of Pharmacy, Kumamoto University, Kumamoto, Japan, 2.Department of Pharmaceutical Chemistry, Faculty of Pharmacy, Anadolu University, 26470, Eskişehir, Turkey, 3.Research Institute for Drug Discovery, School of Pharmacy, Kumamoto University, Kumamoto, Japan)

Keywords: Anticancer

Nitrogen heterocyclic compounds such as pyrazolines have been found to possess a broad spectrum of biological effectiveness including anticancer activities. The aim of this study is examine the anticancer activities of some pyrazoline derivatives on AsPC-1 human pancreatic adenocarcinoma and two glioblastoma cell lines namely U87 and U251. New pyrazoline derivatives (1-12) were synthesized by the reaction of 1-(chloroacetyl)-3-(2-thienyl)-5-(4-chlorophenyl)-2-pyrazoline with aryl thiols in the presence of potassium carbonate. Cytotoxicity analyses by MTT assay and the detection of apoptosis and necrosis by fluorescence microscope were evaluated to determine the anticancer activity of the compounds on these cell lines. Compound 11 which exhibited significant cytotoxic activity against U251 cancer cell line with IC50 value of 11.8µM was chosen for fluorescence microscopy analysis to determine apoptotic and necrotic cells. The DNA cleavage activities of compound 11 was also studied using supercoiled pUC19 DNA and analyzed by an agarose-gel electrophoresis. The results indicate that compound 11 has a considerable necrotic effect and also causes apoptosis on U251 cell line. Interestingly, the DNA-cleaving efficiency of this ligand is significant and was clearly enhanced by Fe(II)-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-ascorbic acid systems.