

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMASÖTİK KİMYA ANABİLİM DALI

**DİARİLPİRAZOL TÜREVİ
BİLEŞİKLERİN SENTEZİ VE ANTIPLATELET ETKİLERİNİN
İNCELENMESİ ÜZERİNDE ÇALIŞMALAR**

DOKTORA TEZİ

Uzm. Ecz. Murat ÇİFTÇİ

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Erden BANOĞLU

Ankara
Nisan 2011

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMASÖTİK KİMYA ANABİLİM DALI

**DİARİLPİRAZOL TÜREVİ
BİLEŞİKLERİN SENTEZİ VE ANTIPLATELET ETKİLERİNİN
İNCELENMESİ ÜZERİNDE ÇALIŞMALAR**

DOKTORA TEZİ

Uzm. Ecz. Murat ÇİFTÇİ

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Erden BANOĞLU

Bu tez Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 02/2008-21 proje numarası ile desteklenmiştir.

Ankara
Nisan 2011

**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü**

**Farmasötik Kimya Anabilim Dalı Doktora Programı
çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından
Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.**

Tez Savunma Tarihi : .../.../2011

**Prof. Dr. Salih Tuncel ÖZDEN
Gazi Üniversitesi
Jüri Başkanı**

**Prof. Dr. Erden BANOĞLU
Gazi Üniversitesi**

**Prof. Dr. Mehtap GÖKÇE
Gazi Üniversitesi**

**Prof. Dr. Gülgün AYHAN KILCIGİL
Ankara Üniversitesi**

**Doç. Dr. Yeşim ÖZKAN
Gazi Üniversitesi**

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	i
İçindekiler	ii
Şekiller, Tablolar	v
Semboller, Kısaltmalar	vi
Önsöz	vii
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Antiplatelet İlaçlar	6
2.1.1. Tromboksan A ₂ Sentezi İnhibitörleri	6
2.1.2. ADP Reseptör Antagonistleri	8
2.1.3. Trombin Reseptör Antagonistleri	11
2.1.4. Glikoprotein II _b /III _a İnhibitörleri	13
2.1.5. Fosfodiesteraz İnhibitörleri	15
2.1.6. EP ₃ Reseptör Antagonistleri	16
2.1.7. Serotonin Reseptör Antagonistleri	17
2.2. Antiplatelet Etkili Yeni İlaç Geliştirme Çalışmaları	17
3. GEREÇ ve YÖNTEM	39
3.1. Kimyasal Çalışmalar	39
3.1.1. Gereçler	39
3.1.2. Genel Sentez Yöntemleri	39
3.1.2.1. Metil 4-(4-klorofenil)-2,4-dioksobütanoat	39
3.1.2.2. 3-Kloro-6-hidrazinopiridazin	40
3.1.2.3. Amit Türevlerinin Sentezi	40
3.1.2.4. Ester Türevlerin Sentezi	40
3.2. Analitik Çalışmalar	41
3.2.1. Erime Derecesi Tayini	41
3.2.2. İnce Tabaka Kromatografisi ile Yapılan Kontroller	41
3.2.3. Flash Kromatografi	41
3.2.4. Elementel Analizler	42

3.2.5. IR Spektrumları	42
3.2.6. NMR Spektrumları	42
3.2.7. HRMS Spektrumları	43
3.2.8. X-Işını Kırınımı Analizleri	43
3.3. Biyolojik Çalışmalar	44
3.3.1. Gereçler	44
3.3.2. Yöntem	45
4. BULGULAR	47
4.1. Kimyasal Bulgular	47
4.1.1. Metil 5-(4-klorofenil)-1-(6-kloropiridazin-3-il)-1 <i>H</i> -pirazol -3-karboksilat (Bileşik 1)	47
4.1.2. 5-(4-Klorofenil)-1-(6-metoksipiridazin-3-il)-1 <i>H</i> -pirazol -3-karboksilik asit (Bileşik 2)	48
4.1.3. 1-[[1-(6-Metoksipiridazin-3-il)-5-(4-klorofenil)-1 <i>H</i> -pirazol -3-il]karbonil]-4-(4-florofenil)piperazin (Bileşik 3)	49
4.1.4. 5-(4-Klorofenil)- <i>N</i> -(4-metoksifenil)-1-(6-metoksipiridazin-3-il) -1 <i>H</i> -pirazol-3-karboksamit (Bileşik 4)	50
4.1.5. 1-[[1-(6-Metoksipiridazin-3-il)-5-(4-klorofenil)-1 <i>H</i> -pirazol-3-il] karbonil]-4-(4-metilfenil)piperazin (Bileşik 5)	51
4.1.6. 1-[[1-(6-Metoksipiridazin-3-il)-5-(4-klorofenil)-1 <i>H</i> -pirazol-3-il] karbonil]-4-(pirimidin-2-il)piperazin (Bileşik 6)	52
4.1.7. <i>N</i> ,5-bis(4-Klorofenil)-1-(6-metoksipiridazin-3-il)-1 <i>H</i> -pirazol -3-karboksamit (Bileşik 7)	53
4.1.8. 1-[[1-(6-Metoksipiridazin-3-il)-5-(4-klorofenil)-1 <i>H</i> -pirazol -3-il]karbonil]piperidin (Bileşik 8)	54
4.1.9. 4-[[1-(6-Metoksipiridazin-3-il)-5-(4-klorofenil)-1 <i>H</i> -pirazol -3-il]karbonil]morfolin (Bileşik 9)	55
4.1.10. 1-[[1-(6-Metoksipiridazin-3-il)-5-(4-klorofenil)-1 <i>H</i> -pirazol -3-il]karbonil] 4-(5-triflorometilpiridin-2-il)piperazin (Bileşik 10)	56
4.1.11. 5-(4-Klorofenil)-1-(6-metoksipiridazin-3-il)- <i>N</i> -piridin-4-il -1 <i>H</i> -pirazol-3-karboksamit (Bileşik 11)	57

4.1.12. 4-Propoksifenil 5-(4-klorofenil)-1-(6-metoksipiridazin-3-il) -1 <i>H</i> -pirazol-3-karboksilat (Bileşik 12)	58
4.1.13. 2-Naftil 5-(4-klorofenil)-1-(6-metoksipiridazin-3-il) -1 <i>H</i> -pirazol-3-karboksilat (Bileşik 13)	59
4.1.14. 4-Metilfenil 5-(4-klorofenil)-1-(6-metoksipiridazin-3-il) -1 <i>H</i> -pirazol-3-karboksilat (Bileşik 14)	60
4.1.15. 3-İzopropilfenil 5-(4-klorofenil)-1-(6-metoksipiridazin-3-il) -1 <i>H</i> -pirazol-3-karboksilat (Bileşik 15)	61
4.1.16. 2-Kloropiridin-3-il 5-(4-klorofenil)-1-(6-metoksipiridazin-3-il) -1 <i>H</i> -pirazol-3-karboksilat (Bileşik 16)	62
4.1.17. 4-(1 <i>H</i> -İmidazol-1-il)fenil 5-(4-klorofenil)-1-(6-metoksipiridazin-3-il) -1 <i>H</i> -pirazol-3-karboksilat (Bileşik 17)	63
4.1.18. 4-Metoksifenil 5-(4-klorofenil)-1-(6-metoksipiridazin-3-il) -1 <i>H</i> -pirazol-3-karboksilat (Bileşik 18)	64
4.1.19. 4-Siklopentilfenil 5-(4-klorofenil)-1-(6-metoksipiridazin-3-il) -1 <i>H</i> -pirazol-3-karboksilat (Bileşik 19)	65
4.1.20. 3-Metilbütil 5-(4-klorofenil)-1-(6-metoksipiridazin-3-il) -1 <i>H</i> -pirazol-3-karboksilat (Bileşik 20)	66
4.2. Biyolojik Bulgular	67
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	69
6. ÖZET	79
7. SUMMARY	81
8. KAYNAKLAR	83
9. ÖZGEÇMİŞ	102

ŞEKİLLER, TABLOLAR

Şekil 1: Sentezlenen bileşiklerin genel yapıları	2
Şekil 2: Plateletlerin tromboz oluşumundaki rolü	4
Şekil 3: Antiplatelet ilaçların sınıflandırılması	6
Şekil 4: Aspirinin antiplatelet etki mekanizması	7
Şekil 5: Tiyenopiridinlerin etki mekanizması	9
Şekil 6: Tiklopidin, klopidogrel ve prasugrel'in metabolizasyonu	10
Şekil 7: Bileşik 2 için genel sentez şeması	68
Şekil 8: Amit ve ester türevlerinin genel sentez şeması	69
Şekil 9: Bileşik 1 için HMBC etkileşimleri	73
Şekil 10: Bileşik 2'nin kristal konformasyonları	75
Tablo 1: Bileşik 2'nin X-ışını kırınım verileri	43
Tablo 2: Sentezlenen bileşiklerin insan PRP'sinde AA ile indüklenen platelet agregasyonunu inhibe edici etkileri	66

SEMBOLLER VE KISALTMALAR

5-HT	5-Hidroksitriptamin
AA	Araşidonik asit
ADP	Adenozin difosfat
ATP	Adenozin trifosfat
cAMP	Siklik adenozin monofosfat
COX	Siklooksijenaz
CYP	Sitokrom
DCC	N,N'-disikloheksilkarbodiimid
DMAP	4-Dimetilamino piridin
DMSO	Dimetil sülfoksit
EDC	N-(3-dimetilaminopropil)-N'-etilkarbodiimid hidroklorür
EPN	Epinefrin
GPIIb/IIIa	İntegrin α IIb β 3
hERG	Human Ether-à-go-go Related Gene
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HRMS	High Resolution Mass Spectrometry
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Coherence
IC₅₀	% 50 İnhibisyon için gerekli inhibitör konsantrasyonu
MI	Miyokardiyal Enfarktüs
PAF	Platelet aktive edici faktör
PAR	Proteaz ile aktive edilen reseptör
PDE	Fosfodiesteraz
PPP	Platelet-fakir plazma
PRP	Platelet-zengin plazma
TEA	Trietilamin
TRAP	Trombin reseptör aktive edici peptid
Tx	Tromboksan

ÖNSÖZ

Tez çalışmalarımın her aşamasında sürekli motive eden, kimi zaman öğretmenlik kimi zaman ağabeylik yapan tez danışmanım Prof. Dr. Erden BANOĞLU'na, bilgisine sürekli başvurduğum ve desteğini hiç esirgemeyen Dr. Burcu ÇALIŞKAN'a, ihtiyacım olduğunda her zaman yanımda olan Dr. Gökçen EREN'e, arkadaşlığına her zaman güvendiğim Yrd. Doç. Dr. Yasemin DÜNDAR'a, biyolojik çalışmalardaki yardımları için Doç. Dr. Yeşim ÖZKAN'a, IR analizleri için Dr. Ebubekir SEPTİOĞLU'na, NMR ve elementel analizler için Prof. Dr. Hakan GÖKER'e, X-ışını kırınımı analizleri için Prof. Dr. Hüseyin ÜNVER'e, doktora eğitimim süresince anabilim dalı olanaklarını kullanmama izin veren Farmasötik Kimya Anabilim Dalı eski Başkanı Prof. Dr. Ningur NOYANALPAN'a, Farmasötik Kimya Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Salih Tuncel ÖZDEN'e, anabilim dalımızın tüm öğretim üyeleri ve araştırma görevlilerine, laboratuvar arkadaşlarıma tüm katkılarından dolayı teşekkür ederim.

Bu tezi beni her konuda destekleyen anneme, babama, kardeşime, sevgili eşime ve bana tezi bitirme azmi veren doğacak oğluma adıyorum.

Murat ÇİFTÇİ

1. GİRİŞ ve AMAÇ

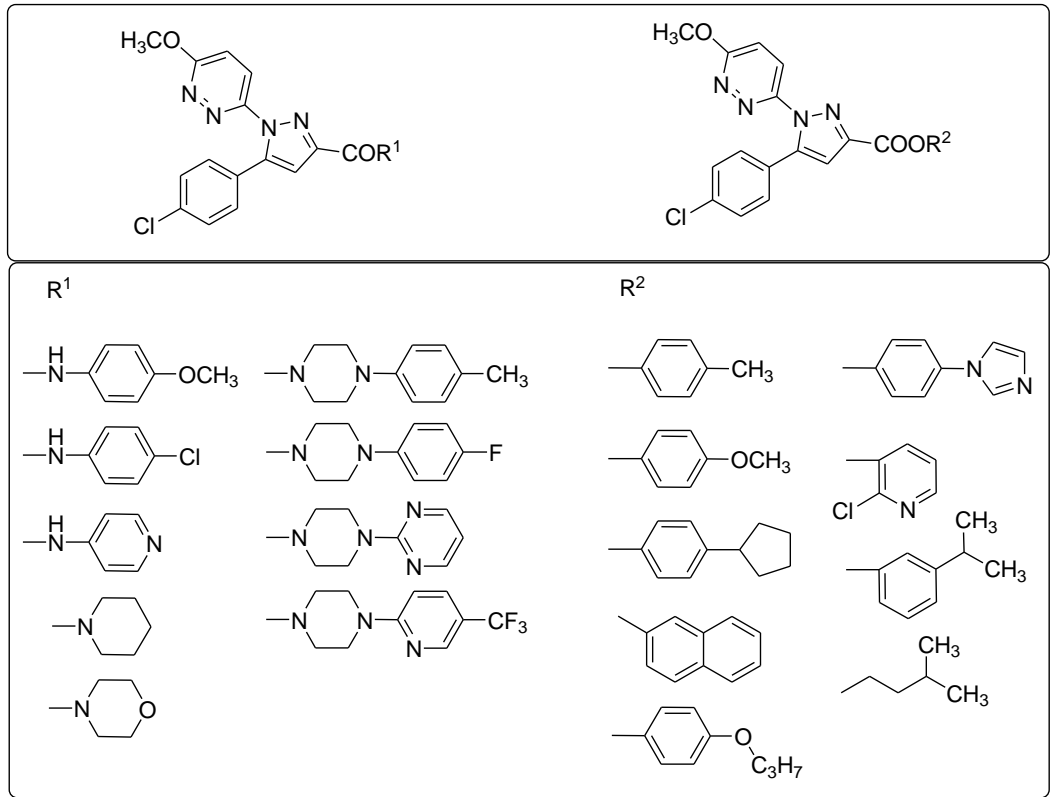
Dünyadaki en yaygın ölüm nedenlerinden birisi koroner arteriyel trombozun neden olduğu akut miyokardiyal enfarktüstür (MI)¹. Arteriyel trombozun oluşmasında ise plateletler (trombositler) önemli rol oynamaktadır. Plateletlerin endotel hasarını takiben adezyona uğrayıp aşırı aktivasyonları sonucu agregasyon olmaları hasarlı damarda pıhtı oluşumuna neden olarak vasküler tıkanıklığa yol açmaktadır². Plateletlerin özellikle koroner ve serebral arter tıkanıklıklarında rol aldığı bilinmektedir. Bu sebeple, platelet agregasyonunu engelleyen tedaviler aterosklerozla ilişkili gelişen akut koroner sendrom, MI ve felç vakalarının önlenmesinde ve tedavisinde çok önemlidir³. Klinikte güncel antiplatelet tedavide en yaygın kullanılan ilaçlar tromboksan sentezi inhibitörü aspirin, adenosin difosfat (ADP) P2Y₁₂ reseptör antagonisti tiyepiridin türevleri (örn; klopidogrel), GPIIb/IIIa (integrin α IIb β 3) antagonistleri (örn; tirofiban) ve fosfodiesteraz (PDE) inhibitörleri dipiridamol ve silostazol'dur^{4,5}.

Kanama riski, günümüzde kalp krizi ve felçin önlenmesinde kullanılan antiplatelet ilaçların yararlarını kısıtlamaktadır⁶. En fazla kullanılan antiplatelet ilaçlardan aspirin siklooksijenaz-1 (COX-1)'i, klopidogrel ise P2Y₁₂'yi kovalent ve geri dönüşümsüz olarak inhibe eder. Bu nedenle aspirin ve klopidogrel alan hastalar, acil operasyon gereken durumda kanama açısından daha fazla risk taşımaktadır⁶⁻⁸.

Klopidogrel ön ilaç olması nedeniyle *in vitro* olarak inaktiftir, *in vivo* olarak hepatik sitokrom (CYP) P450 enzimatik yolağı ile aktif metabolitine metabolize olması gerekmektedir⁹. Bu nedenle CYP2C19 enzim eksikliği olan hastalarda ilacın terapötik yararı olmamaktadır. Tiyepiridin yapısında ön ilaç olan ikinci nesil prasugrel, klinik yararı kanıtlanmış olmasına ve CYP genetik polimorfizminden etkilenmemesine

rağmen artmış kanama riski taşımaktadır⁶. Şu an kullanılan tedavi yöntemleri içinde GPIIb/IIIa antagonistleri absiksimab, eptifibatid ve tirofiban ise oral olarak uygulanamamaktadır ve şu ana dek oral GPIIb/IIIa antagonistleri geliştirme çalışmaları başarısız olmuştur^{5,6}.

Doktora tez çalışmamız kapsamında 5-(4-klorofenil)-1-(6-metoksipiridazin-3-il)-1*H*-pirazol-3-karboksilik asit ana yapısından hareketle bir seri ester ve amit türevi bileşik sentezlenmesi planlanmıştır (**Şekil 1**). Bu bileşiklerin sentezlenmesinden sonra araşidonik asitle (AA) indüklenen platelet agregasyonu üzerindeki inhibitör etkilerinin incelenmesi planlanmıştır. Elde edilecek veriler ışığında yapı-aktivite ilişkileri incelenerek ileri çalışmalarımızın temelini oluşturacaktır.

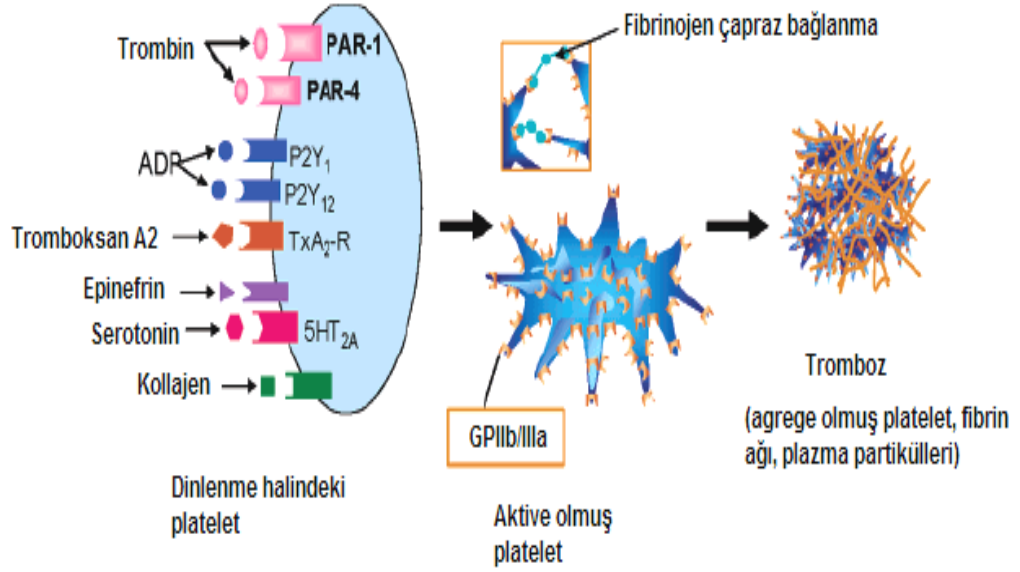


Şekil 1. Sentezlenen bileşiklerin genel yapıları

2. GENEL BİLGİLER

Damar bütünlüğünü bozan bir zedelenmeden sonra organizmanın kan akımını sürdürebilme yeteneği yaşamsal önemdedir. Kanın bu durumda pıhtılaşabilmesi ve daha sonra da pıhtının ortadan kaldırılarak tekrar kan akımının sürdürülebilmesi ve zedelenmiş dokunun tamiri sürecine hemostaz adı verilir. Plateletler kemik iliğinde üretilen çekirdeksiz hücreler olup hemostazda önemli rol oynarlar¹⁰.

Platelet aktivasyonu, plateletin sağlam endotel ile etkileşmesiyle başlayan birçok basamaktan oluşmaktadır. Plateletlerin endotel ile temasında ve sub-endotelde yerleşmesinde von Willebrand faktör ve endotel yüzey molekülü P-selektin rol oynamaktadır. Von Willebrand faktörün GPIb reseptörüne bağlanması adezyonda kritik noktayı oluşturur^{11,12}. Bu geri dönüşlü etkileşim, plateletlerden ADP, tromboksan A₂ (TxA₂) gibi otoaktivatör ve adrenalin (epinefrin-EPN), serotonin gibi vazoaaktif maddelerin salınmasını sağlar. Böylece, plateletlerin preaktivasyonu başlar. Hasarlı endotel çevresinde, kollajen içeren matriks, platelet üzerinde bulunan GPIIb/IIIa ve GPVI reseptörleri ile etkileşerek plateletlerde şekil değişikliğine, hücre içi kalsiyum artışına, platelet granüllerinin salınımına neden olur¹⁰. Daha sonra endotelden salınan ADP ve TxA₂ gibi araçlarla aktive edilen plateletlerin agregasyonu ve pıhtı oluşumu başlar (**Şekil 2**).



Şekil 2. Plateletlerin tromboz oluşumundaki rolü ref.¹³den alınmıştır.

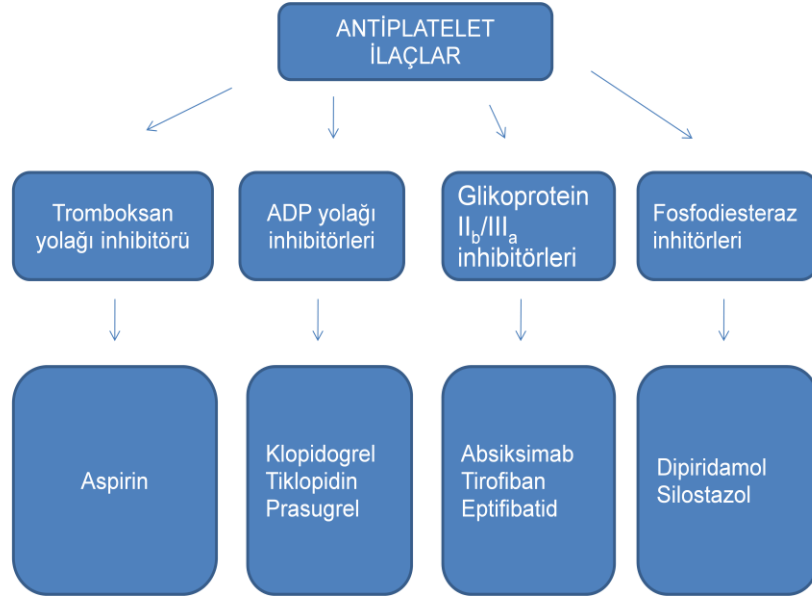
Hemostazı bozan ve kanamaya eğilim yaratan koşullarda yaşamsal tehlikeye neden olabilecek patolojik olaylar gelişebilir. Damar içinde bir kan pıhtısının oluşması ve böylece kan akışının engellenmesi durumuna tromboz denir². Arter veya venlerde oluşan tromboz kitlesinden kopan bir parçanın dolaşım yolu ile başka bir bölge damarında tıkanmaya sebep olmasına tromboembolizm denmektedir. Enfarktüs, oluşan pıhtının ilgili organa giden arterin tıkanmasına neden olması ve organın oksijen almamasından dolayı hasarına neden olma durumudur. Kalp enfarktüsü kalbi besleyen bir veya birden fazla kalp atardamarının tıkanmasından dolayı meydana gelir. Beyne giden atardamarlardan birinin tıkanması durumuna, beyin enfarktüsü denir. Embolinin büyüklüğüne göre ve tıkanmanın yerine bağlı olarak şuur kaybı, felç, konuşma bozukluğu gibi durumlar meydana gelir.

Venöz sistemde düşük kan akış hızı, plateletlerden bağımsız olarak aktive olmuş koagülasyon faktörlerinin birikimine ve bölgesel trombin oluşumuna izin vermektedir. Her ne kadar venöz tromboz

plateletleri içerse de, ana hüresel bileşeni eritrositlerdir. Bununla beraber, arteriyel sistemde yüksek kan akışı, çözüner koagölasyon faktörlerinin bölgeden uzaklaştırılmasına neden olarak fibrin oluşumunu sınırlandırmaktadır. Bu nedenle arteriyel hemostazda trombin oluşumunu hızlandırmak, fibrin birikimini kolaylaştırmak ve fiziksel bir bariyer oluşturmak için plateletlere ihtiyaç duyulmaktadır⁵.

Arteriyel trombozda plateletlerin merkezi rol oynaması nedeniyle, kardiyovasküler hastalıklara bağlı arteriyel trombozun önlenmesi ve tedavisinde antiplatelet ilaçların önemi yadsınamaz¹⁴. Antiplatelet ilaçlar, plateletlerin aktivasyonu engelleyen, onların birbiri ile (agregasyon) ve damar endoteline yapışmalarını (adezyon) önleyen ilaçlardır³.

Antiplatelet ilaçlara örnek olarak; en yaygın kullanılan TxA_2 yolağı inhibitörü aspirin, ADP $P2Y_{12}$ reseptör antagonisti tiyepiridin türevi tiklopidin, klopidogrel ve onun daha güçlü analoğu prasugrel, GPIIb/IIIa antagonisti antikor yapısında absiksimab, oligopeptid eptifibatid ve nonpeptid tirofiban, PDE inhibitörleri dipiridamol ve silostazol verilebilir **(Şekil 3)**¹⁵.

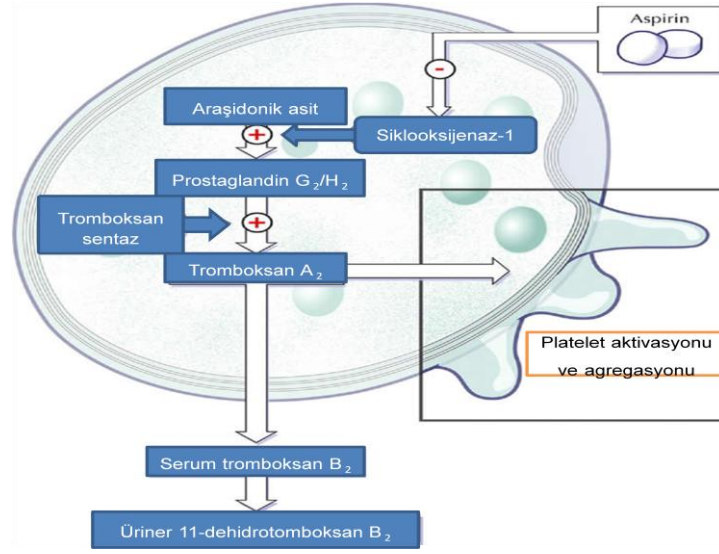


Şekil 3. Antiplatelet ilaçların sınıflandırılması

2.1. ANTIPLATELET İLAÇLAR

2.1.1. Tromboksan A₂ Sentezi İnhibitörleri

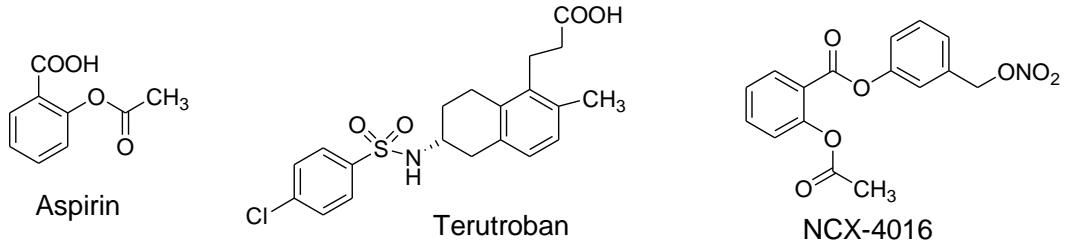
En çok kullanılan antiplatelet ilaç olan aspirin etkisini plateletlerde baskın izoform olan COX-1 enziminin geri dönüşümsüz asetilasyonu sonucu TxA₂ sentezini azaltarak göstermektedir (**Şekil 4**)^{16,17}. COX enzimleri AA'nın PGH₂'ye dönüşümünü gerçekleştirir ve tromboksan sentaz aracılığıyla hem vazokonstriktör hem de agregatör etkili TxA₂ oluşur. Platelet agregasyonu TxA₂ ile stimüle olurken, PGI₂ ve PGD₂ ile inaktive olmaktadır. Plateletlerde çekirdek olmadığı için yeni COX enzimi oluşamaz ve aspirinin etkisi kısa plazma yarı ömrüne rağmen plateletlerin yaşam süreci (8-10 gün) boyunca devam eder¹⁸. Bununla beraber, aspirin her ne kadar primer kardiyovasküler olayları önlemede yararlı ise de bu etkisi çok kuvvetli değildir ve gastrointestinal yan etkileri vardır. Düşük maliyeti en büyük avantajı olsa da bazı hastalar aspirine dirençli olmaktadır^{5,19}.



Şekil 4. Aspirinin antiplatelet etki mekanizması (Ref. ²⁰den alınmıştır).

COX üzerinden endotel prostasiklin (PGI₂) sentezi inhibisyonunun dezavantajı ve bazı COX-2 enzim inhibitörlerinin kardiyovasküler yan etkileri nedeniyle²¹ TxA₂ sentaz inhibitörleri veya TxA₂ reseptör antagonistleri gibi daha selektif TxA₂ inhibitörlerine ihtiyaç duyulmuştur. TxA₂ sentaz inhibitörleri her ne kadar endotel prostasiklini engellemeden TxA₂ oluşumunu engellese bile PGG₂ ve PGH₂ birikimine neden oldukları ve her ikisinin de TP reseptörlerinde agonist etkileri olması nedeniyle sınırlı etki göstermektedir²². Bu nedenle hem PGH₂'yi hem de TxA₂'yi ortak reseptörlerinde antagonize edecek bileşikler araştırılmıştır. Tromboksan reseptör (TP reseptörleri) ligandları TxA₂, PGH₂ ve isoprostanları kapsamaktadır. Bu ligandların TP ye bağlanması platelet agregasyonu, endotel disfonksiyonu, vazokonstrüksiyon ve damar duvarında düz kas hücre proliferasyonuna neden olmaktadır²³. Bu nedenle spesifik TP inhibitörleri sadece TxA₂'yi bloke etmeyip aynı zamanda endoperoksitler ve isoprostanların etkisini de inhibe ettikleri için aspirine kıyasla farmakolojik avantaja sahiptirler²⁴⁻²⁶. TxA₂ reseptör antagonisti olarak Faz III klinik deneme aşamasında olan terutroban platelet

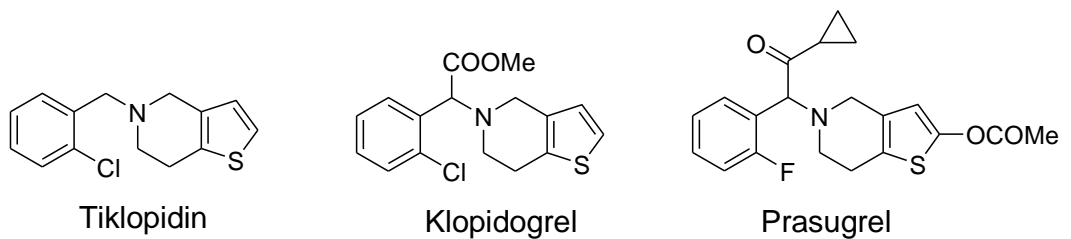
agregasyon inhibisyonu ve TxA_2 ile indüklenen vazokonstriksiyon inhibisyonu göstermektedir²⁶.

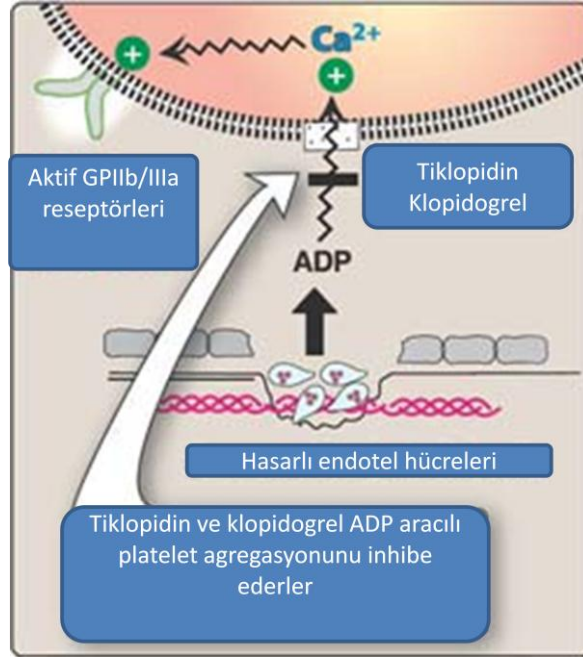


NCX-4016, nitrik oksit (NO) salıcı aspirin türevi ise aspirinin yararlı etkisi yanında, NO'nun gastroprotektif, antitrombotik, antiaterojenik ve vazodilatör etkilerini taşımaktadır²⁷. Bu ilacın etkilerinin araştırılması için daha geniş klinik denemelere ihtiyaç duyulmaktadır^{5,24}.

2.1.2. ADP Reseptör Antagonistleri

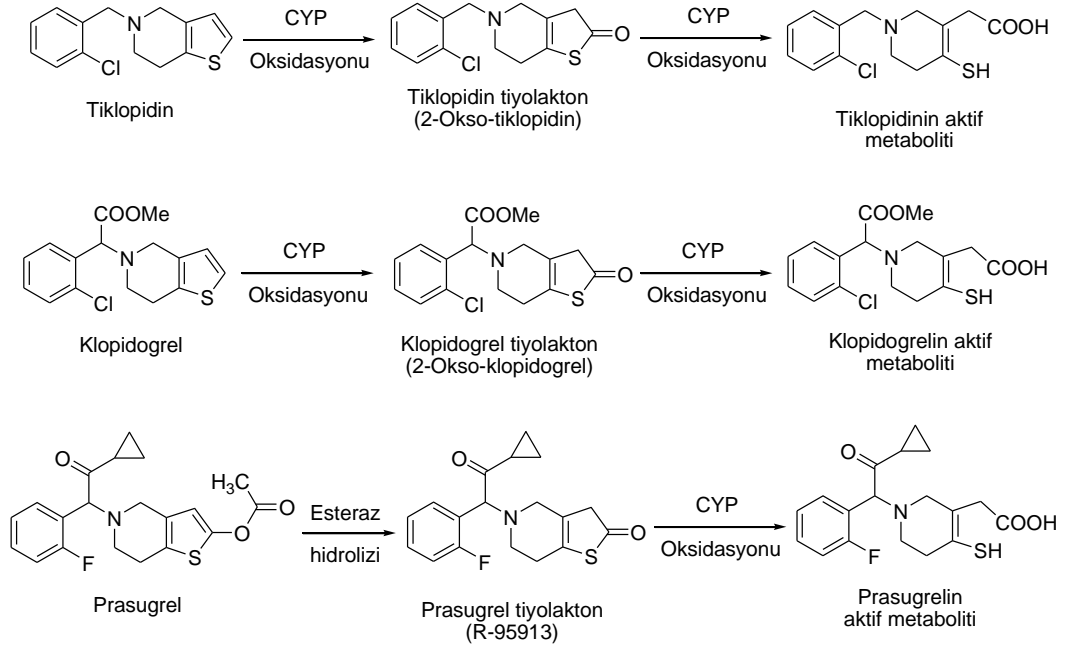
Plateletlerde, ADP reseptörleri $P2Y_1$, $P2Y_{12}$ ve adenosin trifosfat (ATP) reseptörü $P2X_1$ olmak üzere üç tip pürinerjik reseptör bulunmaktadır²⁸. $P2Y_1$, platelet şekil değişikliği ve geri dönüşümlü agregasyondan sorumlu, $P2Y_{12}$ ise platelet agregasyonundan sorumludur. ATP her iki reseptörü de antagonize etmektedir. $P2Y_{12}$ sadece plateletlerde ve beyinde bulunduğu için diğerlerine göre daha selektif doku dağılımına sahiptir ve daha ilgi çekici hedef olmuştur²⁴. Tiyenopiridin türevi tiklopidin, klopidogrel ve prasugrel $P2Y_{12}$ 'yi bloke ederek aktivite göstermektedir (**Şekil 5**)^{28,29}.





Şekil 5. Tiyenopiridinlerin etki mekanizması (Ref. ³⁰dan alınmıştır).

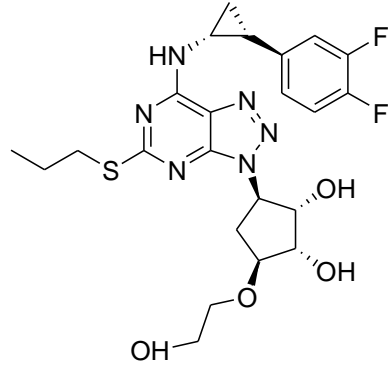
Tiyenopiridin türevleri tiklopidin, klopidogrel ve prasugrel ön ilaç formunda olup hepatik CYP P450 enzimatik yolağı ile aktif metabolitlerine metabolize olması gerekmektedir^{31,32}. Kısa ömürlü aktif bileşikler tiyol grubu içerir ve P2Y₁₂ sistein kalıntıları ile disülfid bağı yaparak geri dönüşümsüz inhibitör etki gösterirler²⁴. Tiklopidin, klopidogrel ve prasugrelin aktif metabolitlerine metabolizasyonu aşağıda gösterilmiştir³³.



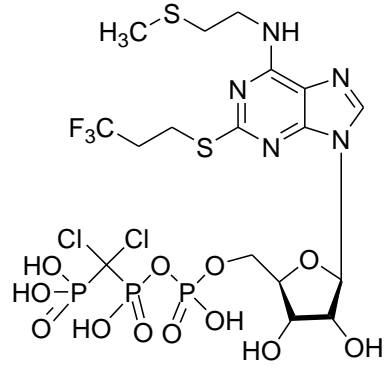
Şekil 6. Tiklopidin, klopidogrel ve prasugrelin aktif metabolitlerine metabolizasyonu

Bununla beraber, polimorfik CYP2C19 izoformu eksikliği olan hastalarda ilaç antiplatelet etki gösterememektedir. İkinci nesil tiyenopiridin türevi prasugrel de ön ilaç formunda olup CYP genetik polimorfizminden etkilenmemesine rağmen artmış kanama riski taşımaktadır³⁴.

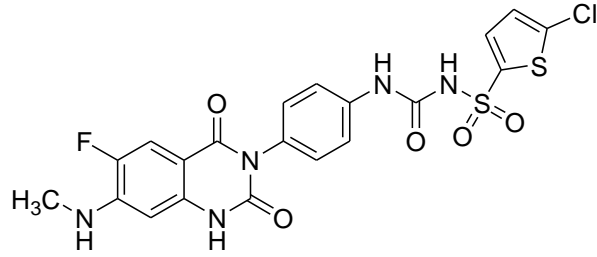
Geri dönüşümlü inhibitörlerden Faz III klinik denemelerdeki kangrelor ve tikagrelor antagonist ATP'nin yapısal türevleridir³⁵. Elinogrel ise Faz II denemelerde sülfonilüre taşıyan yeni bir P2Y₁₂ antagonisti bileşiktir⁵.



Tikagrelor



Kangrelor



Elinogrel

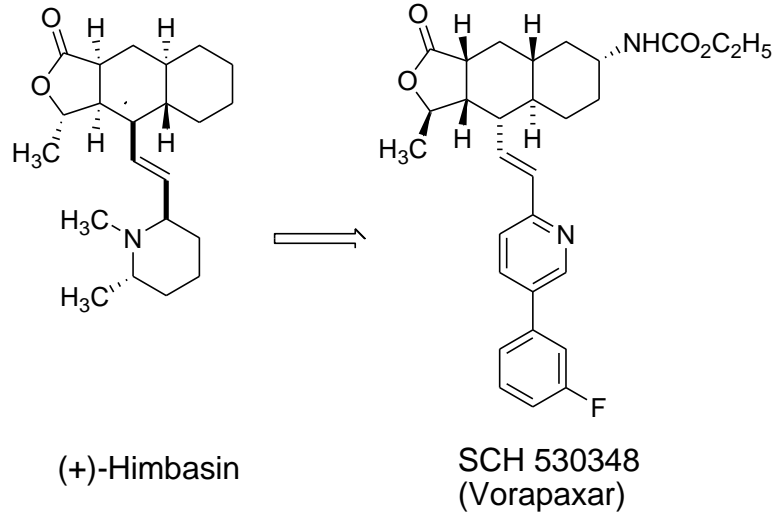
2.1.3. Trombin Reseptör Antagonistleri

Trombin serin proteaz yapısında olan etkili bir platelet aktivatörüdür³⁶. Trombinin protrombotik etkilerinden platelet aktivasyonu, hızlı ve düşük trombin konsantrasyonunda (~0.5 nM) gerçekleşirken³⁷, ADP gibi diğer platelet aktivatörlerinin *ex vivo* deneylerde platelet aktivasyonu için mikromolar konsantrasyona ihtiyaç duyduğu gösterilmiştir. Ayrıca trombin, diğer trombin reseptör aktive edici peptidlerden (TRAP) daha etkili bir agonisttir³⁸. Trombin ile platelet agregasyonu, trombin reseptörü veya proteaz ile aktive edilen reseptörler (PAR) olarak bilinen spesifik hücre yüzey reseptörlerinin proteolitik aktivasyonu aracılığıyla gerçekleşmektedir. Bugüne kadar insanda dört farklı PAR (PAR 1-4) tanımlanmıştır³⁹. PAR-1, PAR-3 ve PAR-4 trombinle aktive olurken, PAR-2

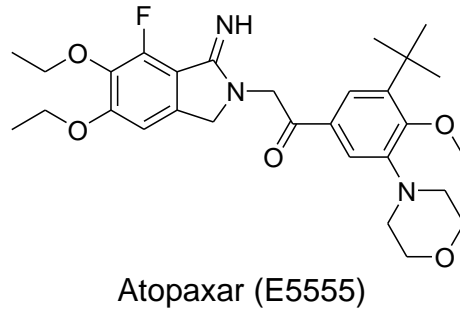
tripsin ve tripsin benzeri proteazlarla aktive olmaktadır. İnsanda trombinin oluşturduğu platelet aktivasyonu PAR-1 ve PAR-4 reseptörleri aracılığıyla gerçekleşmektedir. Plateletlerde bu etkiyi gösteren ana reseptör PAR-1'dir ve düşük nM trombin konsantrasyonu ile plateletleri aktive etmektedir. PAR-4 ise daha yüksek trombin konsantrasyonuna ihtiyaç duymaktadır⁴⁰.

ADP ve TxA₂ platelet aktivasyon yolları hem hemostaz hem de patolojik tromboz için önemliyken, PAR-1 üzerinden yürüyen platelet aktivasyonu patolojik tromboza katkıda bulunur ancak koruyucu hemostaz için gerekli değildir. Klinik çalışmalardan elde edilen sonuçlar hemostazda trombin aracılığıyla fibrinojenden fibrin oluşumunun yine trombin ile indüklenen platelet aktivasyonundan daha önemli olduğunu ortaya koymaktadır³⁶. Bu nedenle PAR-1 selektif antagonistler trombin aracılığıyla oluşan platelet aktivasyonunu bloke ederlerken hemostaz için gerekli fibrin oluşumunu etkilemediklerinden kanamaya neden olmazlar⁴⁰.

Oral olarak aktif bir PAR-1 antagonisti olan vorapaxar himbasinin sentetik trisiklik 3-fenilpiridin analogu olup⁴¹ kanama riski olmadan akut koroner sendrom ile kardiyovasküler olayların önlenmeleri için Faz III klinik denemelerdedir⁴²⁻⁴⁴.



Bir diğ er oral aktif PAR-1 antagonisti olan atopaxar¹³, Faz II klinik denemelerde olan bir bileşiktir. Kanama zamanını uzatmadan *in vivo* platelet agregasyonunu inhibe etmektedir⁴⁵.

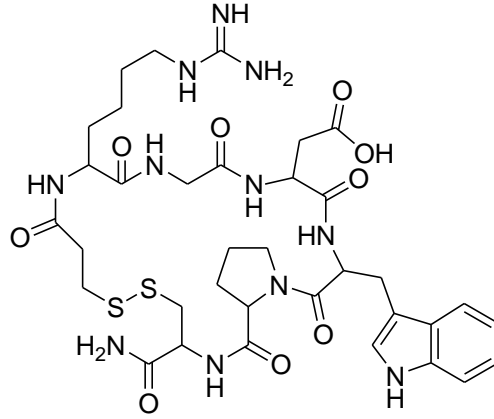


2.1.4. Glikoprotein II_b/III_a İnhibitörleri

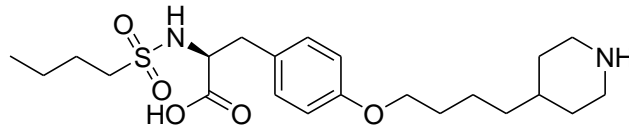
GPII_b/III_a reseptörü integrin reseptör ailesinin bir üyesi olup platelet yüzeyi üzerinde en çok bulunan proteindir⁴⁶. Endotel hasarı sonucu subendotelial matriksin açığa çıkmasıyla plateletler aktive olur. Plateletler aktive olunca yüzeyinde bulunan GPIIb/IIIa reseptörlerinde şekil ve yapı değişikliği olur. Değişiklik sonucu reseptörler fibrinojene bağlanmaya hazır hale gelir. Aktif hale gelen reseptörler fibrinojen

üzerinden diğer plateletler ve subendotelial matriks ile bağlantı kurarlar. GPII_b/III_a reseptör inhibitörleri plateletlerin GPII_b/III_a reseptörlerini inhibe ederek agregasyonun oluşmasını engellerler^{47,48}.

Absiksimab, antikor yapısında bir ilaç olup akut koroner sendrom vakalarının tedavisinde önemli bir yer tutar^{49,50}. Absiksimab plateletler üzerindeki GPII_b/III_a reseptörüne bağlanarak platelet agregasyonunu inhibe eder. Plateletlere bağlanan absiksimab 30 dakika gibi kısa bir yarılanma ömrüne sahiptir⁵¹. Piyasada bulunan tek yarışmalı olmayan inhibitördür. Absiksimab geri dönüşsüz olarak reseptörü bloke ederek platelet ömrü boyunca agregasyonu önler⁵². Herhangi bir yan etki veya kanama durumunda etkinin geri çevrilmesi ancak yeni platelet verilmesiyle sağlanabilir.



Eptifibatid



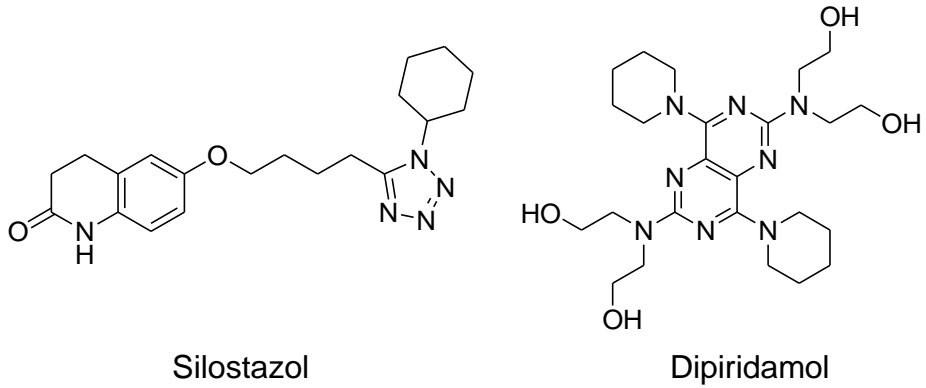
Tirofiban

GPII_b/III_a integrin reseptör antagonistleri içinde Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA-Food and Drug Administration) onayı bulunan

peptid yapısındaki eptifibatid ve peptid yapısında olmayan tirofiban yarışmalı tipte inhibisyon yaparlar^{53,54}. İntegrin reseptörüne bağlanmaları konsantrasyon bağımlı ve geri dönüşümlü olarak gerçekleşir. Bu nedenle antiplatelet etkileri infüzyonun süresine bağlıdır ve infüzyon kesildiğinde etkileri nispeten kısa sürede çevrilebilir. Oral GPII_b/III_a reseptör inhibitörü geliştirme denemeleri şimdilik başarısız olmuştur⁵⁵.

2.1.5. Fosfodiesteraz İnhibitörleri

Platelet aktivasyonu siklik adenzin monofosfat (cAMP) ile inhibe edilirken, cAMP seviyeleri ise adenilat siklaz (cAMP sentezi) ve PDE (cAMP hidrolizi) enzimleri ile kontrol edilmektedir⁵⁶. Plateletlerde en fazla bulunan PDE, PDE₃'tür ve cAMP için en düşük K_m değerine sahiptir. Bu nedenle antiplatelet ilaç geliştirilmesinde PDE₃ enzim inhibitörleri ile ilgili çalışmalar da devam etmektedir.

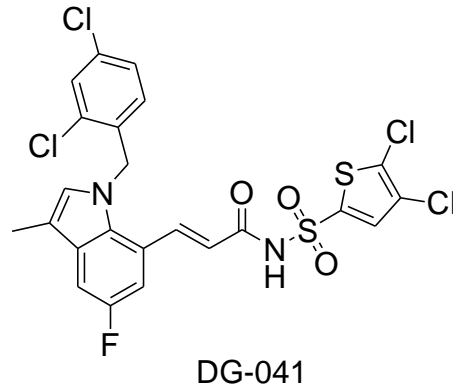


Dipiridamol antiplatelet ve vazodilatör etkili bir ilaçtır⁵⁷. Etkisini siklik nükleotid fosfodiesteraz inhibisyonu ve adenzin geri alımının blokajı da dahil olan birkaç mekanizma ile gösterir. Bunun sonucunda plateletlerde cAMP seviyesi artar ve sonucunda sinyal iletimi inhibe edilir⁵⁷.

Silostazol oral olarak alınan selektif, siklik nükleotid PDE₃ enzim inhibitörüdür. Aynı dipiridamolde olduğu gibi antiplatelet ve vazodilatör etkileri vardır⁵⁸.

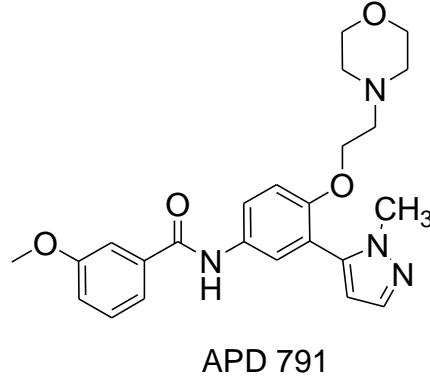
2.1.6. EP₃ Reseptör Antagonistleri

EP₃ prostanoid reseptör ailesine ait G protein bağlı sekiz reseptörden bir tanesidir⁵⁹. Kronik enflamasyonda aterosklerotik plaklarda COX-2 ve mikrozomal PGE₂ sentaz (mPGES-1) aracılığı ile PGE₂ üretimi artmaktadır. PGE₂, EP₁₋₄ adı verilen dört farklı G protein bağlı reseptör üzerinden etkisini göstermekte ve bunlardan EP₁, EP₃ ve EP₄'ün plateletlerde bulunduğu bilinmektedir. Bununla beraber, özellikle EP₃ reseptörlerinin aktivasyonu sonucunda hücre içi cAMP seviyesinin azalarak plateletlerin kollajen veya ADP gibi agonistlere olan duyarlılığının arttığı ve platelet aktivasyonu ve agregasyonuna neden olduğu anlaşılmıştır^{60,61}. Plateletler ve sağlıklı arteriyel damar duvarı yüksek oranda PGE₂ oluşturmadığı için PGE₂-EP₃ sinyalinin engellenmesi kanama riskini artırmadan aterotromboz riskini azaltmak için potansiyel taşımaktadır^{60,62}. EP₃ antagonisti DG-041 deCODE genetics firması tarafından Faz II çalışmaları yürütülen bir bileşiktir^{63,64}.



2.1.7. Serotonin Reseptör Antagonistleri

5-Hidroksitriptaminin (5-HT) kendisi platelet agregasyonunun zayıf aktivatörü olup diğer agonistlerin indüklediği agregasyonu güçlendirmektedir. Platelet ve düz kasların 5-HT'ye cevabı 5-HT_{2A} reseptörü aracılığı ile olması nedeniyle 5-HT_{2A} antagonistlerinin kardiyovasküler hastalarda yararlı olacağı düşünülmüştür⁶⁵.

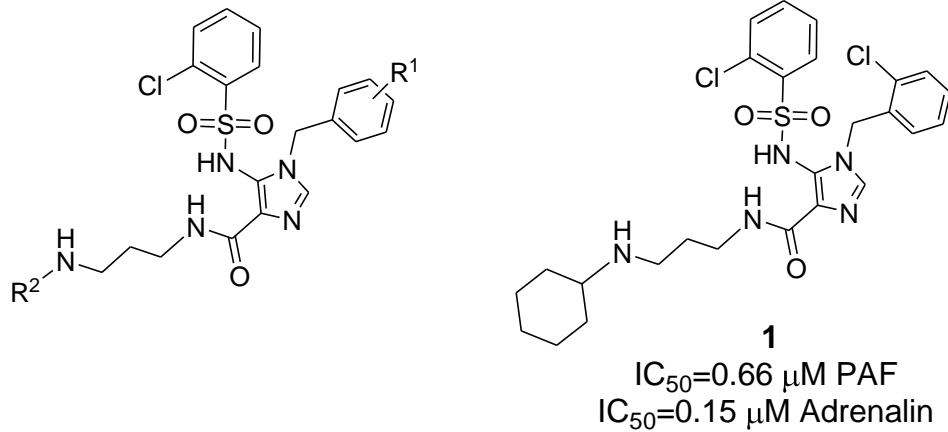


APD 791 5-HT_{2A} reseptörlerine 5-HT_{2B} ve 5-HT_{2C} reseptörlerine kıyasla 2000 kez daha selektif, oral olarak aktif antiplatelet etkili bir moleküldür⁶⁶. APD 791 insan ve köpeklerde ADP ile indüklenen platelet agregasyonunu şiddetlendiren 5-HT cevabını sırasıyla 8.7 ve 23.1 nM IC₅₀ değerlerinde inhibe etmektedir⁶⁶.

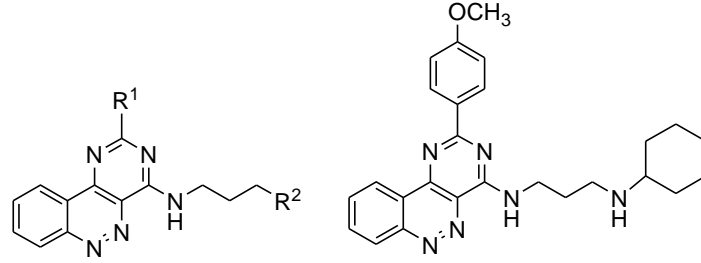
2.2. ANTİPLATELET ETKİLİ YENİ İLAÇ GELİŞTİRME ÇALIŞMALARI

Yeni mekanizmalarla etki gösteren bileşiklerin araştırılması, ilaç olarak kullanılma olasılıklarının yanı sıra, plateletlerin fonksiyonu ile ilgili geniş bilgi sağlaması açısından da farmakolojik önem taşımaktadır. Son beş yılda antiplatelet ilaç geliştirme çalışmalarında elde edilen önemli bileşikler ve kimyasal yapıları aşağıda özetlenmiştir.

Rehse ve ekibi tarafından yapılan çalışmalar incelendiğinde genellikle azotça zengin heterosiklik yapıda bileşikler üzerinde yoğunlaştıkları görülmektedir. Azotça zengin aromatik heterosiklik bir yapı etrafında uygun ara zincir ile bağlı bir bazik sübstitüent ve sulfonamid/amit köprüsüyle bağlı bir aromatik sübstitüsyonun varlığı yaptıkları çalışmalarda göze çarpmaktadır. Bu bileşikler ADP, adrenalin, PAF (Platelet aktive edici faktör) ve kollajen gibi platelet aktivasyonunu sağlayan indükleyiciler varlığında test edilmiş ve farklı indükleyiciler varlığında düşük mikromolar IC_{50} değerlerinde antiplatelet etkileri bildirilmiştir⁶⁷⁻⁷¹. Bu türevlerde, halkaya ya doğrudan ya da amit bağı ile bağlı üç karbon ara zincirli bazik yan grubun ve ayrıca halkaya sülfonamid köprüsüyle bağlı fenil grubu üzerinde elektron çekici grupların varlığının aktivite üzerinde olumlu etkileri rapor edilmiştir⁷⁰. İmidazol-4-karboksamidlerle yaptıkları bir çalışmada⁷¹, R^1 olarak 2-kloro ve R^2 olarak sikloheksil kullandıkları bileşik diğer bileşiklerden daha düşük IC_{50} değerlerine sahip bulunmuştur.



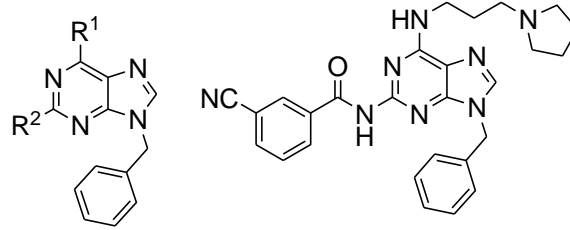
Sinnolin türevleriyle yaptıkları bir başka çalışmada⁶⁹ sentezledikleri pirimidossinnolin yapısındaki bileşiklerden R^1 olarak 4-metoksifenil, R^2 olarak NH-sikloheksil olan türevde hem ADP hem de PAF ile indüklenmiş platelet agregasyonunun inhibisyonu için düşük IC_{50} değerleri saptanmıştır.



2

IC₅₀=0.8 μM PAF
IC₅₀=0.8 μM ADP

Rehse ve arkadaşlarının pürin türevleriyle yaptıkları bir başka çalışmada daha önceki deneylerden elde edilen verilere dayanılarak pürin halkasının 6 numaralı konumuna sübstitüsyonlar yapılmıştır. 6 Numaralı konumda 3-(pirolidinil)propilamino ve 2 numaralı konumda 3-siyanobenzenkarboksamit ADP ile indüklenen platelet agregasyonunda etkili türev olarak bulunmuştur.

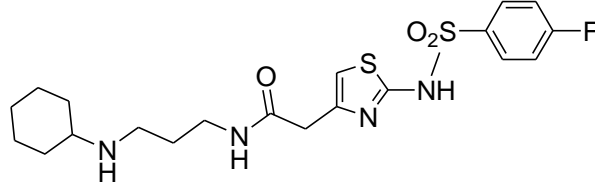


3

IC₅₀=0.035 μM PAF
IC₅₀=0.45 nM ADP

2007 Yılında tiyazol türevleriyle yapılan bir diğer çalışmada sentezlenen bileşiklerde sülfonil yerine karbonil, fenil yerine sikloheksil, flor yerine klor, fenil, brom, iyot sübstitüsyonu denenmiş ve bunların konumları değiştirilmiş, ara zincir 2 karbondan 6 karbona kadar uzatılmıştır. Sonuçta hem kollajen hem de adrenalin ile indüklenmiş agregasyonun

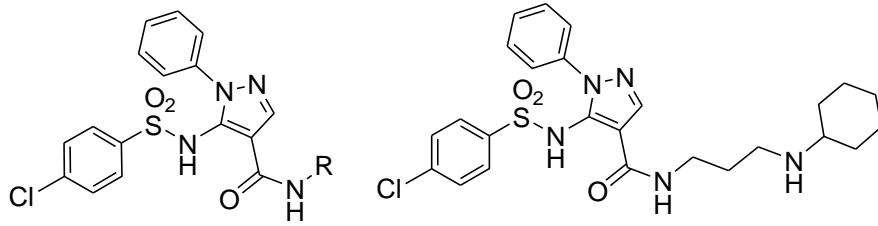
önlenmesinde bu grup içinde aşağıda formülü verilen türev en etkili bileşik olarak bulunmuştur.



4

$IC_{50}=1 \mu M$ Kollajen
 $IC_{50}=2.7 nM$ Adrenalin

Rehse ve arkadaşlarının çalıştıkları bir diğer grup bileşik pirazol-4-karboksamit yapısındadır. Bu grup bileşikler içinde R süstitüenti olarak sikloheksilaminopropil kullanılan bileşik 4 PAF ile indüklenmiş agregasyonu önlemede grup içindeki diğer bileşiklerden çok daha üstün bulunmuştur.

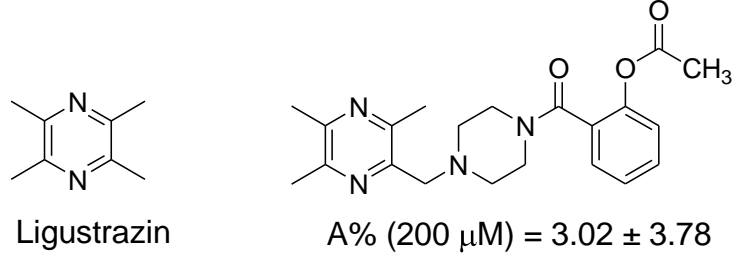


4

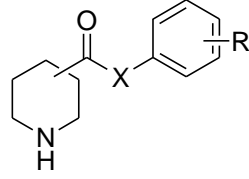
$IC_{50}=0.45 nM$ PAF

Çin bitkisel tıbbında aterosklerotik kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde kullanılan ligustrazinden hareketle hazırlanan piperazin türevlerinin hem hidrojen peroksit ile oluşturulan vasküler endotel hasarı önlediği hem de ADP ile indüklenen platelet agregasyonunu inhibe ettiği bildirilmiştir^{72,73}. Cheng ve arkadaşları bu türevlerde ligustrazine piperazin halkası ekleyerek piperazin üzerinden süstitüsyonlar yapmışlardır. Bu süstitüsyonlar sonucunda ADP ile

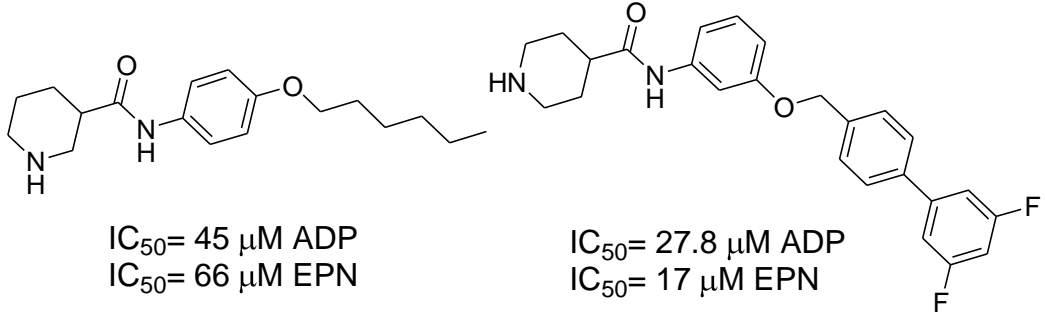
indüklenen platelet agregasyonunu en fazla inhibe eden bileşiğin asetilsalisilolil sübstitüenti taşıyan bileşik olduğu bulunmuştur.



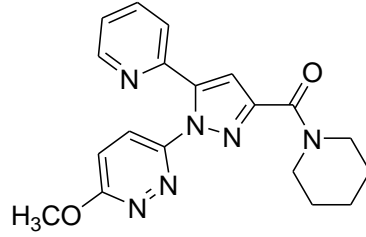
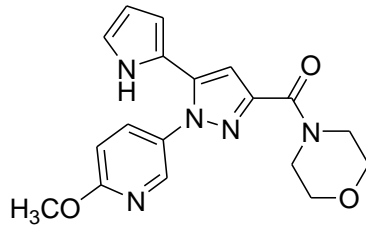
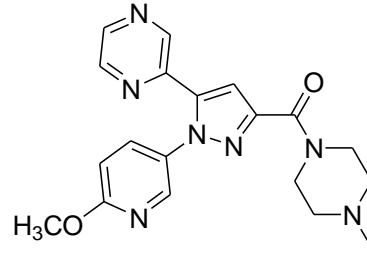
Nipekotik (piperidin-3-karboksilik asit) ve izonipekotik asit (piperidin-4-karboksilik asit) ester ve amit türevleri ile yapılan çalışmalarda da elde edilen bileşiklerin ADP ve EPN ile indüklenen platelet agregasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir⁷⁴⁻⁷⁶. Bu bileşiklerin lipofilisite ve yüzey aktivitelerine bağlı olarak anyonik fosfolipitlerle etkileşim göstererek fosfolipitleri fosfolipaz C ile hidrolize dirençli hale getirdiği düşünülmektedir. IP₃ ve diaçilgliserol gibi ikincil mesajcılar oluşmadığı için IP₃ ve sitozolik Ca²⁺ konsantrasyonu azalmaktadır. Bu bileşikler üzerinde yapılan ileri modifikasyonlar sonucunda faktör Xa ve platelet agregasyonu inhibitörü dual fonksiyonlu antitrombotik bileşiklere ulaşılmıştır⁷⁴⁻⁷⁶. Sentezlenen bileşiklerden en yüksek antiplatelet aktivite gösteren iki türev aşağıda verilmiştir. Altı karbonlu heksiloksi yan zincirine sahip türev bu çalışmada en yüksek aktivite göstermiştir. Bifenil türevlerinde florlu bileşiklerin tümü non-sübstitüe bileşikten yüksek antiplatelet aktivite göstermiştir. En aktif bileşik ise aşağıda formülü bulunan 3',5'-difloro türevi bileşiktir.



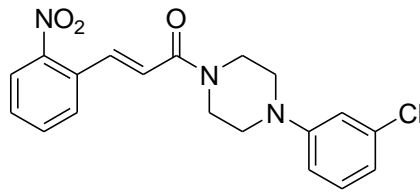
X= NH, O



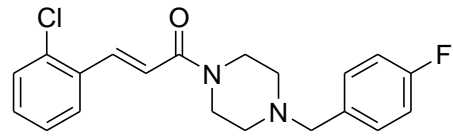
Daiichi Pharmaceuticals tarafından difenilpirazol türevleri ile yapılan çalışmalarda COX enzim inhibisyonu yapmadan kollajen ile indüklenen platelet agregasyonunu inhibe eden potent bileşikler geliştirilmiştir^{77,78}. Aşağıdaki şekilde görüldüğü üzere difenilpirazol yapısında COX-2 selektif aktiviteden sorumlu karakteristik süstitüentler (örn; sülfonilmetil ya da sülfonamid) taşıyan fenil grupları yerine heterosiklik aril gruplarının getirilmesinin ve pirazol halkasının 3. konumunda küçük bir bazik grubun (örn; piperazin, piperidin veya morfolin) varlığı potent antiplatelet aktiviteyi sağlamıştır.



Perez ve ekibi, sinnamoilpiperazin yapısındaki bileşiklerin PAR-1 antagonist etkilerini araştırmış, bileşiklerin antitrombotik aktivite ve farmakokinetik profillerinin umut verici olduğunu, iv ve oral verildiğinde rat tromboz modelinde kanama zamanında önemli bir değişiklik yaratmadığını bildirmişlerdir. Bileşiklerin diğer himbasin türevi PAR-1 antagonistleri (örn: SCH530348-Faz III) ile kıyaslandığında daha kolay sentezlenebilir olması da bir avantaj olarak görülmektedir⁷⁹.



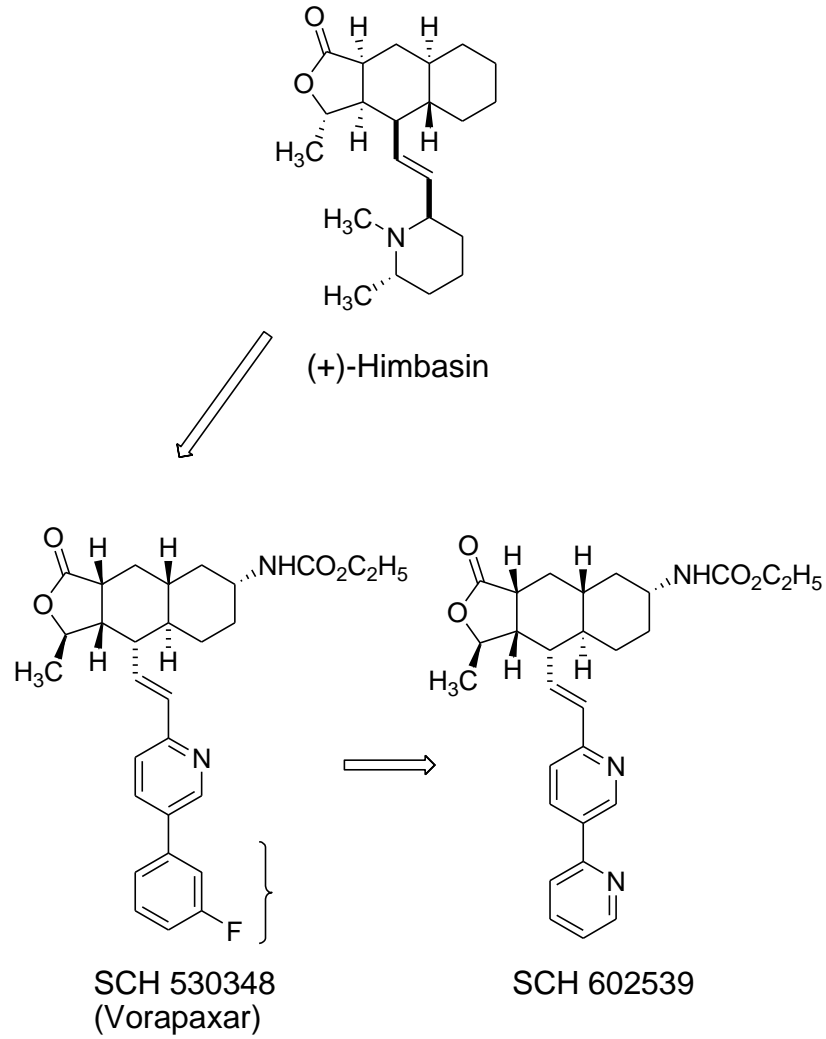
%97 inh at 10 μ M



%93 inh at 10 μ M

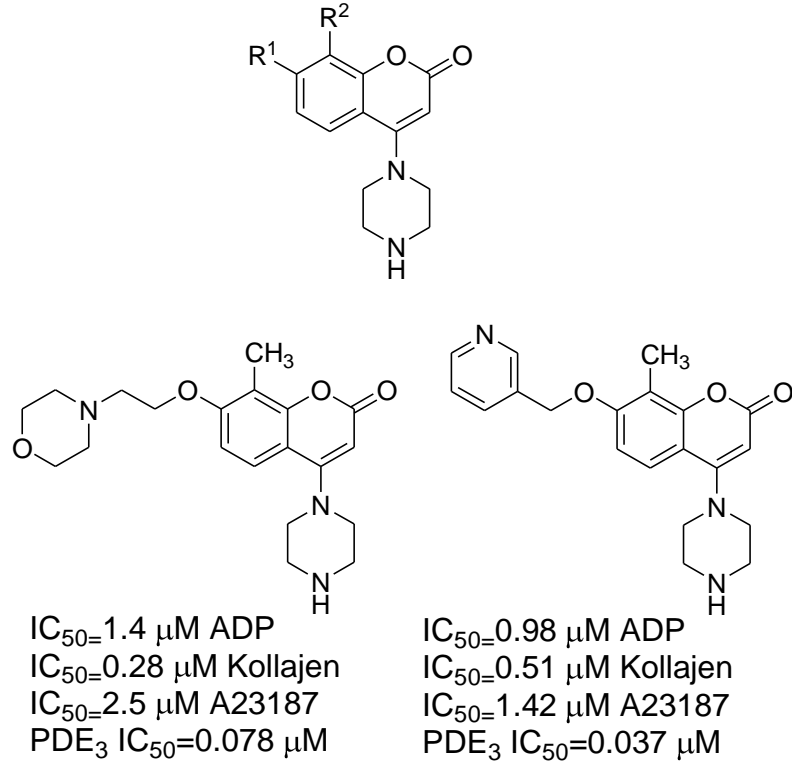
Faz III klinik denemelerde olan ve doğal bileşik himbasin yapısını temel alan PAR-1 antagonisti vorapaxar'ın (SCH530348) sudaki çözünürlüğünün sınırlı olması intravenöz formülasyonu zorlaştırmaktadır. Bu sorunu çözmek amacıyla Merck Araştırma Laboratuvarlarında yapılan çalışmada, piridin halkasının 5. konumuna polar heteroaril gruplarının

getirilmesi ile vorapaxarla eşit etkili ancak 20 kat daha fazla suda çözünürlüğe sahip SCH602539 kodlu türev elde edilmiştir. Bileşiğin PAR-1 afinitesi ve Cynomolgus türü maymun modelinde *in vivo* antiplatelet etki gösterdiği bildirilmiştir. Ayrıca bileşiğin farmakokinetik özelliklerinin çok iyi olduğu ve CYP P450 inhibisyonu veya indüksiyonu yapmadığı belirtilmiştir⁸⁰.

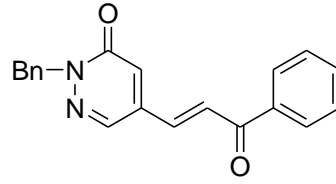


2007 Yılında Roma ve ekibi tarafından PDE₃ inhibisyonu gösteren antiplatelet etkili piperazinil kumarin türevleri rapor edilmiştir⁵⁶. Ana yapıda iki numaralı konuma metil süstitüsüyonu aktiviteyi oldukça

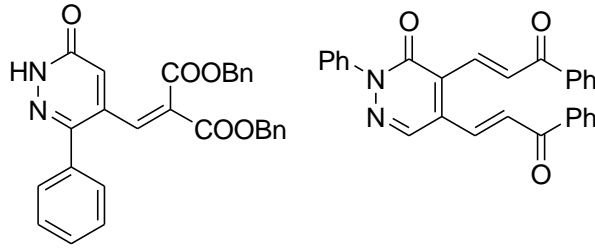
yükseltmiştir. Bir numaralı konuma da piridilmetoksi ve morfolinoetoksi sübstitüsyonu ile bu grup içinde en yüksek etkiye ulaşılmıştır.



Bunun yanında, Coelho ve ekibi, 3(2H)-piridazinon genel yapısındaki bileşikler üzerinde yaptıkları çalışmalar sonucunda trombinle indüklenmiş platelet agregasyonunu inhibe eden türevlere ulaşımlardır. Bu bileşiklerin antiplatelet etkilerini en az üç farklı mekanizma, PDE₃ inhibisyonu, sitozolik Ca²⁺ değişimi ve/veya platelet protein fosforilasyonundaki değişikliklerle gösterdikleri bildirilmiştir⁸¹⁻⁸³.

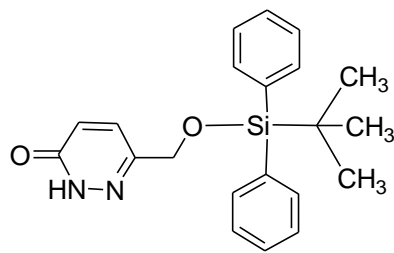


$IC_{50}=4.2\mu M$ Trombin

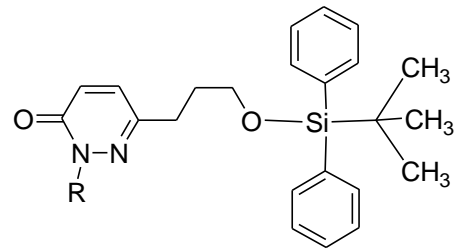


$IC_{50}=1.80\mu M$ Trombin $IC_{50}=1.98\mu M$ Trombin

Costas ve ekibinin 2010 yılında yayınladıkları çalışmada bazı yeni piridazinon türevlerinin platelelerde trombin ve kollajen ile indüklenmiş agregasyonu inhibe etme etkileri incelenmiştir. Bileşiklerin trombinle indüklenen agregasyona $100\ \mu M$ 'ın altında etki etmedikleri, ancak bileşiklerin bir çoğunun kollajenle indüklenen agregasyonu $IC_{50}=1.80-69.9\ \mu M$ ile inhibe ettikleri bildirilmiştir. Serideki en aktif bileşiklerin kimyasal yapıları aşağıda belirtilmiştir⁸⁴.



4a

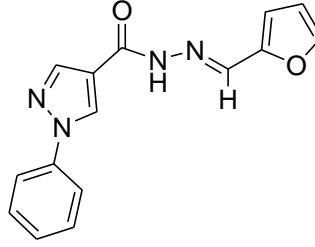


4c R:H

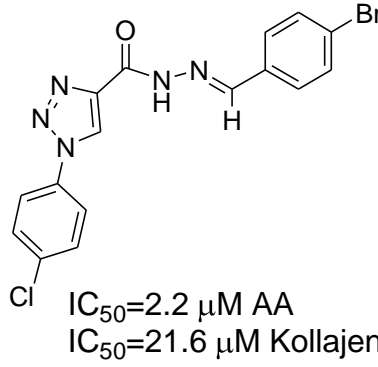
4f R:CH₃

Cunha ve ekibinin pirazol ve triazolkarbohidrazit hidrazonlarla yaptıkları çalışmalar sonucunda AA, kollajen ve adrenalin ile

indüklenen platelet agregasyonunu inhibe eden aşağıdaki türevlere ulaşılmıştır^{85,86}.

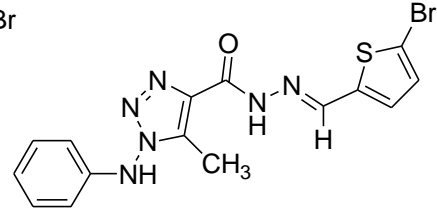


IC₅₀=24 µM AA



IC₅₀=2.2 µM AA

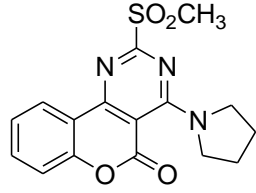
IC₅₀=21.6 µM Kollajen



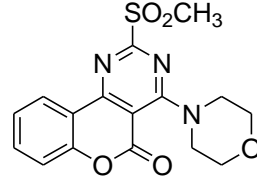
IC₅₀=9.1 µM AA

IC₅₀=13.4 µM Adrenalin

Bruno ve ekibinin benzopiranimidin halkası ile yaptıkları çalışmada halkada metilsülfonil grubu ile birlikte piroldin ve morfolin taşıyan iki türevin U46619 ile indüklenen platelet agregasyonunu inhibe ettikleri, farelerde yapılan testlerde tromboembolik paralizasyon karşı koruma sağladıkları ve kontrol gruplarıyla karşılaştırıldıklarında yan etki yaratmadıkları görülmüştür⁸⁷.

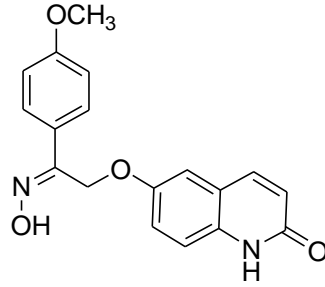


5a
IC₅₀=13 µM ADP
IC₅₀=15 µM AA
IC₅₀=4 µM U46619

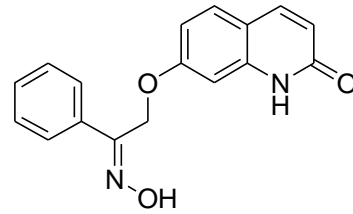


5c
IC₅₀=16 µM ADP
IC₅₀=21 µM AA
IC₅₀=3 µM U46619

2007 yılında Chen ve ekibinin oksim ve amit içeren kinolinon türevleriyle yaptıkları çalışmada, en aktif türevin AA indüklenen platelet agregasyonunu IC₅₀=0.58 µM ile inhibe ettiği, kollajenle indüklenen agregasyonunu ise IC₅₀=36.3 µM ile inhibe ettiği bildirilmiştir. Ayrıca TxA₂ reseptör agonisti U46619 ile indüklenen agregasyonu IC₅₀=0.54-0.74 µM değerleri arasında inhibe eden etkin bileşiklere ulaşılmıştır⁸⁸.

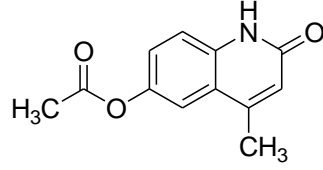


7c
IC₅₀=0.58 µM AA
IC₅₀=36.3 µM Kollajen
IC₅₀=5.37 µM U46619



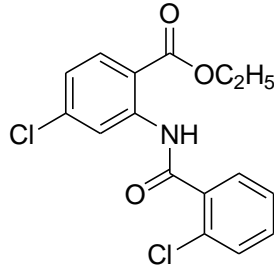
8a
IC₅₀=6.85 µM AA
IC₅₀=3.53 µM Kollajen
IC₅₀=0.58 µM U46619

Priya ve ekibinin 2010 yılında yayınladıkları çalışmada, dihidrokinolinon türevlerinden 6AQ kodlu bileşiğin ADP ve AA ile indüklenmiş platelet agregasyonunu *in vitro* ve *in vivo* inhibe ettiği ve ayrıca COX-1 inhibisyonu gösterdiği bulunmuştur⁸⁹.



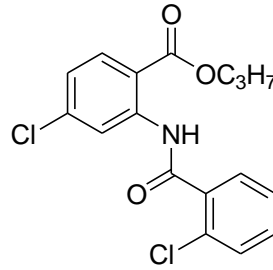
6AQ

2-Benzoilaminobenzoik asit esterleri ve analoglarının antiplatelet etkileri araştırılmış, bu bileşiklerden ikisinin AA ile indüklenen platelet agregasyonunu inhibe ettiği gözlenmiştir⁹⁰.



6b

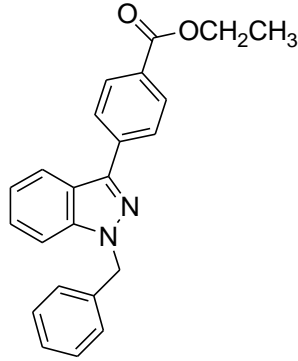
IC₅₀=0.8 µM AA



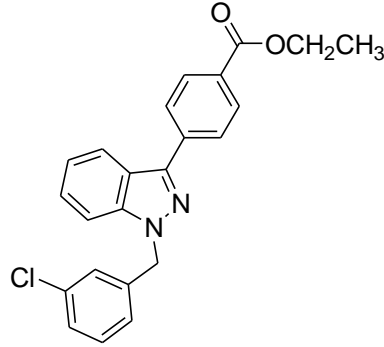
7b

IC₅₀=0.7 µM AA

YD-3 kodlu bileşiğin peptid olmayan ilk selektif PAR-4 antagonisti olduğu ve PAR-4 agonist peptidlerin neden olduğu platelet agregasyonunu IC₅₀=0.13 µM ile inhibe ettiği bildirilmiştir. YD-3 trombinle indüklenen platelet agregasyonunu tek başına etkilemezken, PAR-1 antagonistleri ile sinerjik etki gösterebilmektedir. Daha sonra YD-3 türevleri ile yapılan çalışmalarda 33 numaralı bileşiğin PAR-4 üzerinden oluşan platelet agregasyonunu ve ATP salınımını inhibe ettiği rapor edilmiştir. Ayrıca 83 numaralı bileşiğin hem PAR-4 hem de AA'dan Tx oluşumunu dual olarak inhibe ettiği bildirilmiştir⁹¹.

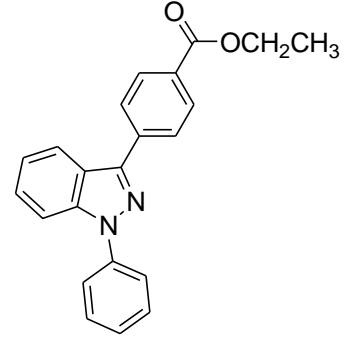


YD-3



33

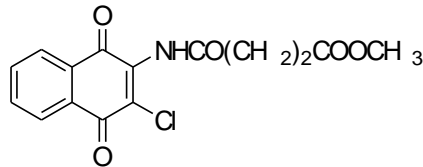
$IC_{50}=0.08 \mu M$



83

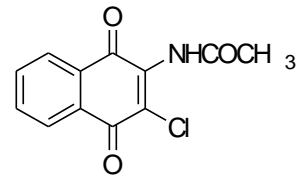
$IC_{50}=2.64 \mu M$
 $IC_{50}=4.81 \mu M$ Kollajen

1,4-Naftokinonlarla yapılan çalışmalarda 2,3-disübstitüe türevlerden bileşik 2 ve NP-313'ün AA ile indüklenen platelet agregasyonunu inhibe ettiği gözlenmiştir. Klor grubunun arilamino gruplarıyla yer değiştirmesi aktiviteyi oldukça azaltmıştır. Ayrıca NP-313 bileşiğinin plateletlerde cPLA₂ inhibitör aktivitesi için IC_{50} değeri $1.8 \mu M$ olarak bulunmuştur⁹². Kuo ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada NP-313 kodlu bileşiğin hem TxA₂ sentezini hem de kalsiyum girişini engelleyerek antiplatelet etki gösterdiği bulunmuştur. Ayrıca *in vivo* tromboz oluşumuna karşı koruma sağladığı ve hemostazı etkilemediği bildirilmiştir⁹³.



2

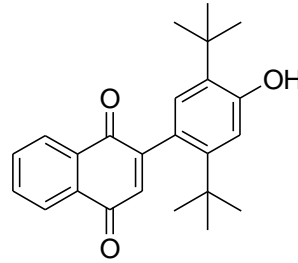
$IC_{50}=24 \text{ mM}$ Trombin
 $IC_{50}=2.6 \text{ mM}$ AA
 $IC_{50}=2.7 \text{ mM}$ Kollajen
 $IC_{50}=4.4 \text{ mM}$ PAF



NP-313

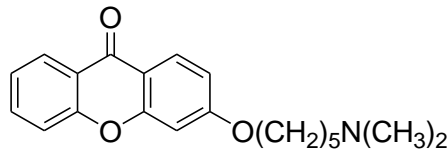
$IC_{50}=88.8 \mu M$ Trombin
 $IC_{50}=1.4 \mu M$ AA
 $IC_{50}=59.3 \mu M$ Kollajen
 $IC_{50}=10.4 \mu M$ PAF

1,4-Naftakinon yapısında aşağıda formülü verilen CP201 kodlu bileşiğin kollajen ve trombin ile indüklenen platelet agregasyonunu sırasıyla 4.1 ve 4.3 μM IC_{50} değerlerinde konsantrasyon bağımlı olarak engellediği bildirilmiştir⁹⁴. Bunun yanında bu bileşiğin trombin aracılığı ile sitozolik kalsiyum miktarı artışını inhibe etmesi sonucu hücre içi kalsiyum mobilizasyonunu engellediği de bildirilmiştir.

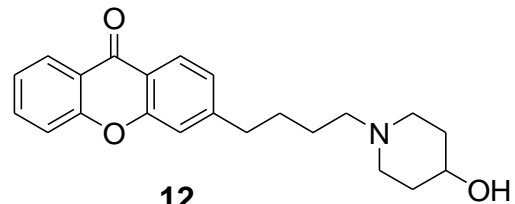


CP201

Lin ve ekibinin ksanton türevleri ile yaptıkları çalışmada bileşiklerin 300 μM konsantrasyonda AA, kollajen ve PAF ile indüklenen platelet agregasyonunu % 100 inhibe ettikleri ve IC_{50} değerlerinin ise yaklaşık 50 μM olduğu bildirilmiştir⁹⁵.

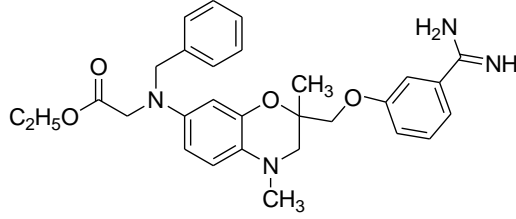


4



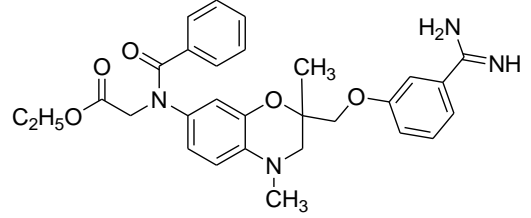
12

1,4-Benzoksazin türevleri ile yapılan çalışmalarda hem trombin inhibitörü hem de $\text{GPII}_b/\text{III}_a$ reseptör antagonisti dual etkili bileşiklere ulaşılmıştır⁹⁶.



17a

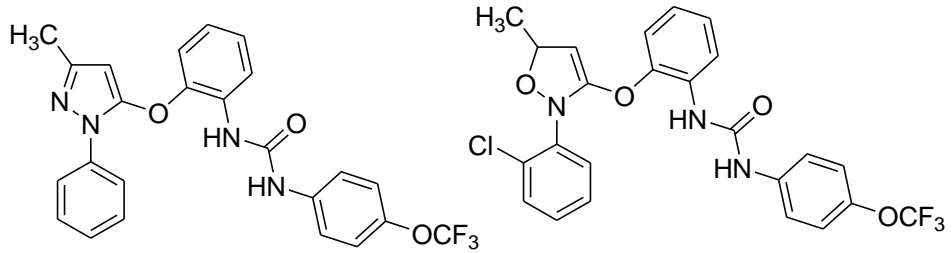
$IC_{50}=1.45$ mM GPIIb/IIIa
 $K_i=0.38$ mM Trombin



17h

$IC_{50}=1.78$ mM GPIIb/IIIa
 $K_i=0.156$ mM Trombin

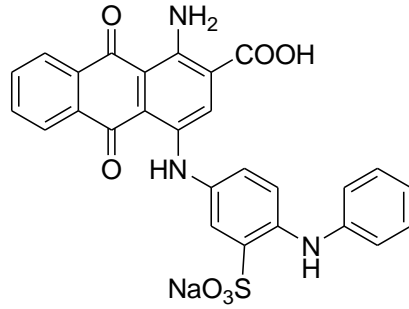
P2Y₁ reseptörü P2Y₁₂ reseptörü ile sinerjik etki gösterdiği için Pfizer tarafından yapılan çalışmalarda ariloksipirazol üre türevi öncü bileşikten hareketle nükleotid olmayan, oral olarak etkin P2Y₁ reseptör antagonistleri hazırlanmıştır. Bileşik 47'nin P2Y₁ reseptörü için K_i değeri 0.09 μ M, ADP ile indüklenmiş platelet agregasyonunun inhibisyonu için IC_{50} değerinin 3.85 μ M olarak bulunduğu bildirilmiştir. Bileşiğin iyi farmakokinetik parametrelere sahip olduğu bulunmuştur⁹⁷.



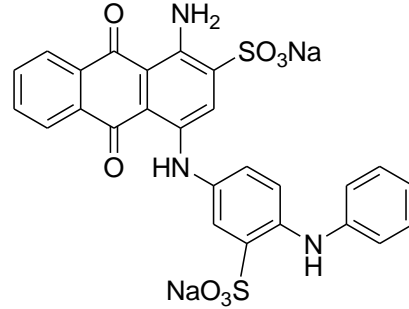
5

47

Bu alanda devam eden çalışmalarda antrasen türevi reseptör antagonistleri sentezlenmiştir⁹⁸. Bu çalışmalar sonucunda PSB-0739 ve PSB-0702 kodlu bileşiklerin P2Y₁₂ reseptör antagonistik etkisi için K_i değerleri sırasıyla 25 ve 21 nM olarak bulunmuştur.

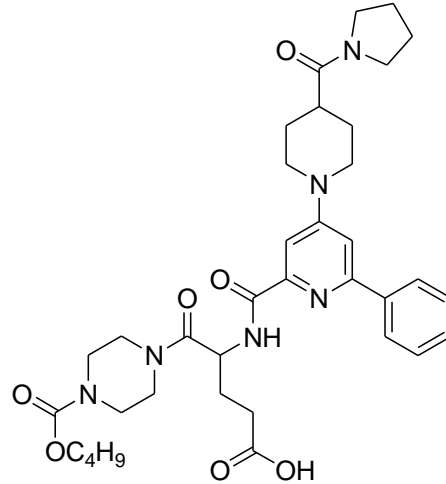


PSB-0702
P2Y₁₂ K_i=21 nM



PSB-0739
P2Y₁₂ K_i=25 nM

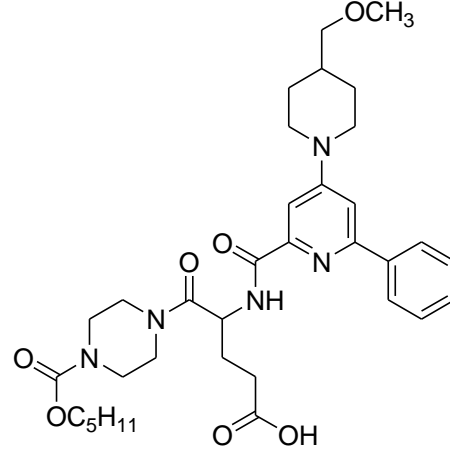
Diğer bir çalışmada piperazinil glutamat piridin türevlerinin P2Y₁₂ antagonistik etkilerinden dolayı oral antiplatelet etkileri bildirilmiştir. Sentezlenen türevlerden özellikle aşağıda formülü verilen 4t bileşiğinin rat ve köpekte iyi bir farmakokinetik profil oluşturması ve ADP ile indüklenen platelet agregasyonunu 0.25 µM IC₅₀ değerinde inhibe etmesi bu tür moleküllerin antiplatelet bileşik olarak önemini vurgulamaktadır⁹⁹.



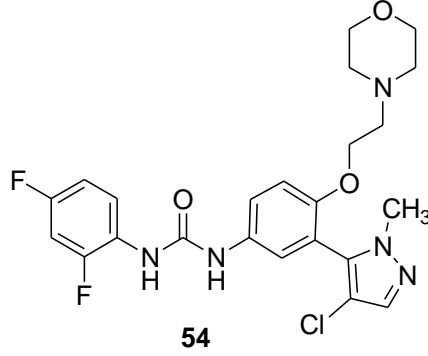
4t

Aynı araştırmacılar daha ileri çalışmalarında bu türevlerden hareketle farmakokinetik ve fizikokimyasal özellikleri, *in vivo* etkinlik, selektivite ve oral biyoyararlanımı geliştirmek amacıyla piperazin

halkasının terminal azotu ve piridin halkasının 4. konumundaki değişikliklerle insan P2Y₁₂ reseptörü için K_i değeri 15 nM ve IC₅₀ değeri 3.9 nM ile en etkin türev olarak aşağıdaki bileşiğe ulaşmışlardır¹⁰⁰.

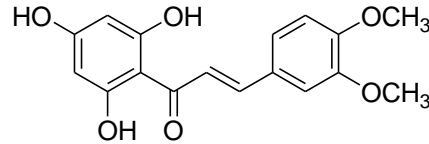


Arena Pharmaceuticals tarafından fenilpirazol üre türevleri potent 5-HT_{2A} antagonisti olarak bulunmuş, bu bileşiklerin ADP ile stimüle edilen platelet agregasyonunun 5-HT ile indüklenen amplifikasyonunu inhibe ettikleri gösterilmiştir. Bu çalışmadaki 54 numaralı bileşiğin 5-HT_{2A}/5-HT_{2c} (K_i 5-HT_{2A}=0.15 nM, K_i 5-HT_{2c}=405 nM) selektivitesinin çok yüksek olduğu görülmüştür. ADP ile stimüle edilmiş platelet agregasyonunu 34 nM ile inhibe ettiği, ayrıca 1 µM konsantrasyonda % 7 hERG kanal inhibisyonu gösterdiği ve asidik koşullarda çözünür olduğu bulunmuştur. Aynı firma tarafından geliştirilen ADP 791 Faz Ib klinik denemelerdedir^{101,102}.

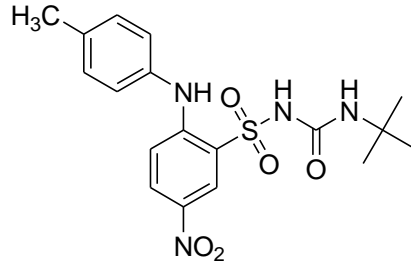


54
 $IC_{50}=34$ nM 5HT-ADP
5HT_{2A} $K_i=0.15$ nM

Trihidroksi şalkon türevleriyle yapılan çalışmalarda AA ve kollajen ile indüklenmiş platelet agregasyonunu sırasıyla 15.2 ve 27.4 μ M IC_{50} değerlerinde inhibe eden en etkili türev aşağıda gösterilmiştir. Aktivite için özellikle üzerinde metoksi veya dimetoksi grupları bulunan aromatik halkanın gerekliliği yapılan yapı-aktivite çalışmaları sonucunda tespit edilmiştir¹⁰³.

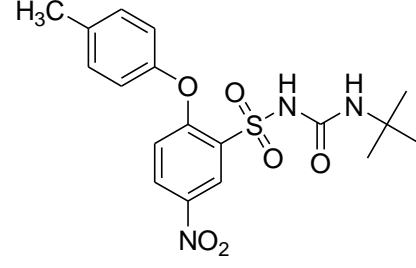


Spesifik TP inhibitörleri aspirine kıyasla farmakolojik avantaja sahip olup sadece TxA₂ yi bloke etmez aynı zamanda endoperoksitler ve izoprostanların etkisini de inhibe ederler²⁴⁻²⁶. Hanson ve arkadaşlarının yaptığı çalışmalarda nitrobenzen sulfonil üre türevlerinde insan TP reseptörlerinde antagonist etkili antiplatelet bileşikler geliştirilmiştir^{104,105}.



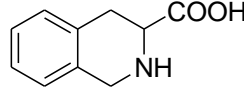
BM-573

$IC_{50} = 0.24 \mu\text{M}$ U46619



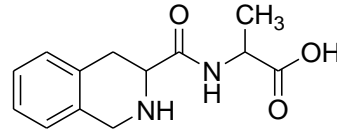
$IC_{50} = 0.3 \mu\text{M}$ U46619

Yeni antitrombotik moleküllerin geliştirilmesi amacıyla önceden antitrombotik etkisi tespit edilmiş 3S-tetrahydroizokinolin-3-karboksilik asitten (THIQA) hareketle bu bileşiğin farklı amino asit türevleriyle amit türevleri hazırlanmış ve ADP, AA, PAF ve trombin ile indüklenen platelet agregasyonunu inhibe edici etkilerinin (özellikle alanin türevinin) THIQA'dan yüksek olduğu bildirilmiştir¹⁰⁶.



2

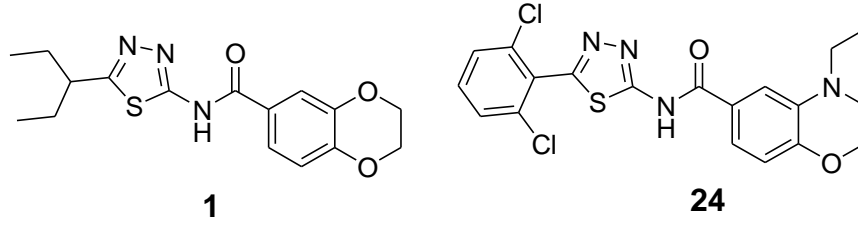
$IC_{50} = 0.55 \mu\text{M}$ ADP
 $IC_{50} = 0.45 \mu\text{M}$ AA
 $IC_{50} = 0.96 \mu\text{M}$ PAF
 $IC_{50} = 0.88 \mu\text{M}$ TH



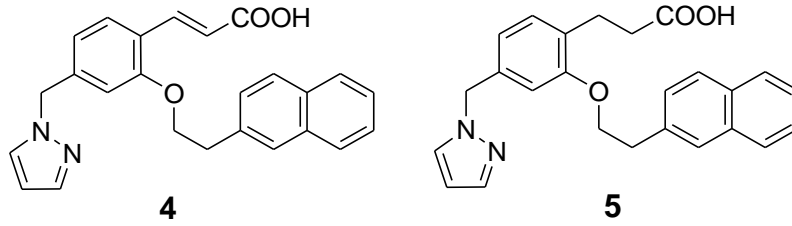
6a

$IC_{50} = 0.35 \mu\text{M}$ ADP
 $IC_{50} = 0.10 \mu\text{M}$ AA
 $IC_{50} = 0.35 \mu\text{M}$ PAF
 $IC_{50} = 0.48 \mu\text{M}$ TH

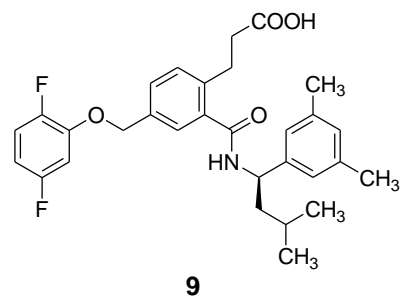
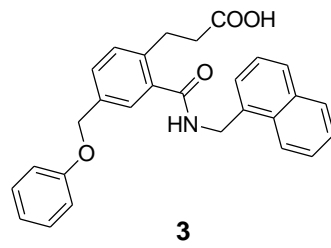
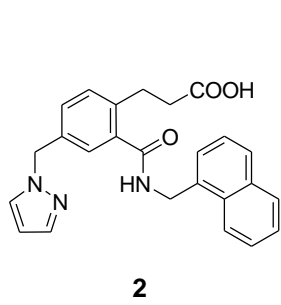
GlaxoSmithKline Pharmaceuticals araştırmacıları selektif EP_3 antagonistleri üzerine yaptıkları çalışmalarda aminotiyadiazol amit türevleriyle çalışmışlardır. İnsan EP_3 K_i değeri 100 nM olan 1 numaralı öncü bileşiği temel alarak hazırladıkları 24 numaralı bileşik çok iyi farmakokinetik özellikler göstermiştir. Bu bileşiğin EP_3 K_i değeri 8.9 nM bulunmuřtur¹⁰⁷.



Ono Pharmaceuticals firması tarafından yapılan çalışma sonucunda bileşik 4 ve 5 selektif EP₃ reseptör antagonisti olarak bulunmuşlardır. EP₃ K_i değerleri her ikisi için de 12 nM, EP₃ antagonist IC₅₀ değerleri ise sırasıyla 73 ve 22 nM olarak bulunmuştur. Ayrıca yapılan çalışmalarda 5 numaralı bileşiğin daha iyi farmakokinetik özellikler gösterdiği belirlenmiştir¹⁰⁸.



Aynı firmanın devam eden araştırmalarında önceki çalışmalarından¹⁰⁸ elde edilen 5 numaralı öncü bileşikten hareketle hazırlanan karboksamit analogları 2 ve 3 numaralı bileşiklerin sığır serum albümininden daha az etkilendikleri bulunmuştur. İleri optimizasyon çalışmaları sonucunda EP₃ K_i değeri 0.068 nM ve EP₃ antagonist IC₅₀ değeri 1.6 nM olan 9 numaralı bileşik elde edilmiştir¹⁰⁹⁻¹¹¹.



3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Kimyasal Çalışmalar

3.1.1. Gereçler

Çalışmada kullanılan çözücüler analitik niteliktedir. Bileşiklerin sentezinde kullanılan 1-(4-florofenil)piperazin, p-anisidin, 1-(4-metilfenil)piperazin, 1-(2-pirimidinil)piperazin, 4-propoksifenol, 2-naftol, 4-metilfenol, 3-izopropilfenol, 2-kloro-3-piridinol, 4-(1-imidazolil)fenol, 4-metoksifenol, 4-siklopentilfenol, izoamilalkol, 4-kloroanilin, piperidin, morfolin, 1-(5-triflorometilpiridin-2-il)piperazin, piridin-4-amin, 4-kloroasetofenon, dimetilokzalat, etil kloroformat Sigma-Aldrich, metalik sodyum Fluka, trietilamin (TEA), sodyum bikarbonat, sodyum sülfat, 4-(dimetilamino)piridin (DMAP), N,N'-disikloheksilkarbodiimid (DCC), N-(3-dimetilaminopropil)-N'-etilkarbodiimid hidroklorür (EDC), hidroklorik asit Merck firmasından temin edildi.

3.1.2. Genel Sentez Yöntemleri

3.1.2.1. Metil 4-(4-klorofenil)-2,4-dioksobütanoat (Bileşik A)

4-Kloroasetofenon (50 mmol) ile dimetilokzalat (50 mmol) 30 mL eter içinde çözüldü. Sodyum (60 mmol) ve susuz metanol ile hazırlanan sodyum metoksit çözeltisi eter çözeltisine yavaş yavaş eklendi. Beyaz renkte çökelek oluştu. Gece boyunca karıştırıldı. Çökelek süzüldü ve metanol ile yıkandı. Elde edilen sodyum tuzu küçük parçalar haline getirilerek suda çözüldü. Sulu çözelti asetik asitle asitlendirildi (pH=3-4).

Oluşan beyaz çökelek süzüldü. Kuruduktan sonra tartıldı. Verim: % 54. Erime derecesi 103-104 °C (Lit: 106 °C)¹¹².

3.1.2.2. 3-Kloro-6-hidrazinopiridazin (Bileşik B)

3,6-Dikloropiridazin (40 g, 0.27 mol) üzerine hidrazin hidrat (30 ml, 0.6 mol) 0°C'de azot atmosferi altında eklenerek karıştırılır. Balon içeriği bir gece bekletilerek oluşan beyaz çökelek sudan kristallendirilir, süzülür, kurutulur Erime derecesi 137°C.¹¹³

3.1.2.3. Amit Türevlerinin Sentezi

5-(4-Klorofenil)-1-(6-metoksipiridazin-3-il)-1*H*-pirazol-3-karboksilik asit (1 mmol) ve TEA'nın (2.2 mmol) buz banyosunda soğutulan 10 mL CH₂Cl₂ içindeki çözeltisine, etil kloroformat (1.1 mmol) eklendi ve 0 °C'de argon atmosferi altında 30 dakika karıştırıldı. Reaksiyon ortamına tercih edilen amin türevinin (1.1 mmol) 5 mL CH₂Cl₂ içindeki çözeltisi eklendi. Reaksiyon oda ısısında gece boyunca karıştırıldı. Reaksiyon ortamına 15 mL CH₂Cl₂ eklendi ve 1N HCl (3 x 30 mL), % 5 NaHCO₃ (3 x 30 mL) ve su (2 x 30 mL) ile ekstre edildi. Organik faz susuz sodyum sülfat ile kurutuldu, süzüldü ve alçak basınç altında kuruluğa kadar uçuruldu. Elde edilen katı uygun çözücünden kristallendirildi veya flash kromatografi işlemi ile saflaştırıldı.

3.1.2.4. Ester Türevlerin Sentezi

5-(4-Klorofenil)-1-(6-metoksipiridazin-3-il)-1*H*-pirazol-3-karboksilik asit (1 mmol), DCC (1.1 mmol) veya EDC (1.1 mmol) ve tercih edilen alkol veya fenol türevi (1.1 mmol) 30 mL CH₂Cl₂ içinde çözüldü.

Oda ısısında 10 dakika karıştırılan reaksiyon ortamına DMAP (0.2 mmol) eklendi ve oda ısısında gece boyunca karıştırıldı. Reaksiyon ortamı 0.5 N HCl (2 x 30 mL), % 1 NaOH (2 x 30 mL) ve su (2 x 30 mL) ile ekstre edildi (DCC kullanılan reaksiyonlarda reaksiyon ortamında oluşan disikloheksilüre çökeleği süzöldükten sonra ekstraksiyon işlemine devam edildi). Organik faz susuz sodyum sülfat ile kurutuldu, süzöldü ve alçak basınç altında kuruluğa kadar uçuruldu. Elde edilen katı uygun çözücüden kristallendirildi veya flash kromatografi işlemi ile saflaştırıldı.

3.2. Analitik Çalışmalar

3.2.1. Erime Derecesi Tayini

Bileşiklerin erime dereceleri, Electrothermal 9300 erime derecesi cihazı ile tayin edildi ve değerler düzeltilmeden verildi.

3.2.2. İnce Tabaka Kromatografisi ile Yapılan Kontroller

Kimyasal sentez çalışmalarında ve bileşiklerin saflık kontrollerinde Silikajel 60 F₂₅₄ (Merck) hazır alüminyum plaklar kullanıldı. Çözücü sistemi olarak diklorometan:metanol (90:10), hekzan:etil asetat (50:50) kullanıldı. Lekelerin belirlenmesinde UV ışığından (254 ve 366 nm) ve demir (III) klorür, Dragendorf ve brom krezol belirteçlerinden yararlanıldı.

3.2.3. Flash Kromatografi

Sentezlenen bileşiklerin organik saflaştırma işlemleri UV dedektörlü Teledyne ISCO Combiflash® Rf Otomatik Flash Kromatografi

Sistemi ile yapıldı. Sabit faz olarak hazır RediSep Silika kolonları (12g - 24g), hareketli faz olarak diklorometan:metanol veya hekzan:etil asetat gradient sistemi kullanıldı. Bileşiklerin saflıkları İTK ve UPLC/MS-TOF analizleri ile kontrol edildi.

3.2.4. Elementel Analizler

Sentezlenen bileşiklerin elementel analizleri (C, H, N, S) Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Merkez Laboratuvarı'nda CHNS-932 (LECO) Elementel Analiz Cihazı kullanılarak yapıldı.

3.2.5. IR Spektrumları

Sentezlenen bileşiklerin IR spektrumları Hacettepe Üniversitesi Farmasötik Kimya Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda Perkin Elmer FT-IR System, Spectrum BX Spektrometresi'nde "Azaltılmış Toplam Yansıma (Attenuated Total Reflectance – ATR)" aparatı kullanılarak alındı ve dalga sayısı (cm^{-1}) cinsinden değerlendirildi.

3.2.6. NMR Spektrumları

Sentezlenen bileşiklerin ^1H , ^{13}C , NMR, HMBC, HSQC spektrumları, DMSO- d_6 veya CDCl_3 içindeki çözeltileri ile Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Merkez Laboratuvarı'nda Varian Mercury 400, 400 MHz High Performance Digital FT-NMR Spektrometresi'nde

alınıp kayma değerleri δ (ppm) skalasında değerlendirildi. Eşleşme sabitleri Hz (Hertz) olarak verildi.

3.2.7. HRMS Spektrumları

Sentezlenen bileşiklerin HRMS spektrumları metanol içerisindeki çözeltilerinden pozitif iyon (ESI+) ve negatif iyon (ESI-) elektrosprey iyonizasyon teknikleri ile, Waters LCT Premier XE UPLC/MS-TOF sistemi ile MassLynx 4.1 yazılımı kullanılarak alındı.

3.2.8. X-Işını Kırınımı Analizleri

Bileşik 2 ($C_{15}H_{11}ClN_4O_3$) molekülünün kristalografik verileri, STOE IPDS II tek kristal difraktometresinde $MoK\alpha$ ($\lambda=0,71073\text{\AA}$) x-ışınları kullanılarak elde edilmiştir. Şiddet verileri ölçülen kristalin triklinik P-1 uzay grubunda olduğu saptanmıştır. Toplam 20090 yansıma gözlenmiş ve bunların 5832 tanesinin bağımsız yansıma olduğu görülmüştür. $I>2\sigma(I)$ koşulunu sağlayan 2850 yansıma gözlenen yansıma olarak alınıp, SHELXS-90 ve SHELXL-97 yapı çözümüleme programı ile direkt yöntemler kullanılarak yapı çözümlenmiş ve arıtılma yapılarak atomlara ait koordinatlar bulunmuştur^{114,115}. Bileşik 2 molekülü ile ilgili, kristalografik bilgiler **Tablo 1** de verilmiştir. Bileşik 2 kristalinin atom numaralarını da gösteren moleküler yapısı **Şekil 10**'da verilmiştir¹¹⁶.

Tablo 1. Bileşik 2'nin X-ışını kırınım verileri

Kapalı Formülü	$C_{15} H_{11} Cl N_4 O_3$
Mol. ağırlığı ($g.mol^{-1}$)	330.73

Uzay grubu	Triklinik P-1
a(Å), α	9.6122(6), 90.213(5)
b(Å), β (°)	9.8941(7), 104.987(5)
c(Å), γ	17.3798(11), 111.072(5)
Hacım(Å ³)	13 1481.30(17)
Z	4
Yoğunluk _{hes.} (g.cm ⁻³)	1.483
μ [mm ⁻¹]	0.279
F(000)	680
h	-11 ≤ h ≤ 11
k	-12 ≤ k ≤ 12
l	-21 ≤ l ≤ 21
R[$I > 2\sigma$ (I)]	0.048
wR[$I > 2\sigma$ (I)]	0.099
($\Delta\rho$) _{max}	0.269 e. Å ⁻³
($\Delta\rho$) _{min}	0.295 e. Å ⁻³

3.3. Biyolojik Çalışmalar

3.3.1. Gereçler

Platelet izolasyonu için insan kanı sitratlı Vacutainer™ tüpler içine toplandı ve 3 saat içinde kullanıldı. Platelet agregasyonu Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hematoloji Anabilim Dalında bulunan agregometre cihazında (Whole Blood Optical/Lumi Aggregometer Model

700-2 Chrono-Log Corporation, PA, USA) turbidimetrik yönteme göre tayin edildi.

Bütün bileŖikler 100 µM final konsantrasyonda test edildi. TaŖıyıcı olarak %1'lik DMSO kullanıldı. Referans bileŖik olarak aspirin 100 µM konsantrasyonda kullanıldı.

3.3.2. Yöntem

Sentezlenen bileŖiklerin platelet agregasyonu üzerinde inhibitör etkileri Born ve arkadaŖları tarafından tanımlanan turbidimetrik metoda göre yapıldı¹¹⁷. Son 10 günde antiplatelet aktivitesi olan ila almamıŖ sağlıklı gönüllüden taze olarak sitratlı tüpe (sodyum sitrat 3.8%, 1.9 h/h) alınan venöz kan 800 x g de 10 dak. santrifüj edilerek platelete zengin plazma (PRP) ayrıldıktan sonra platelete fakir plazma (PPP) iin 1500 x g de 10 dak. santrifüj edildi. Platelet sayısı PRP'nin PPP ile dile edilmesi sonucu $3.0 \times 10^5 / \mu\text{L}$ olarak standardize edildi.

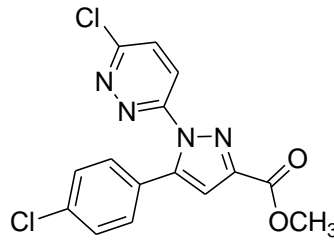
Test bileŖiđi (veya referans asetil salisilik asit) DMSO'da zld. DMSO'nun test kvetindeki final konsantrasyonu %1'e sabitlendi. Silikonize küvetlere alınan 392 µl PRP rneği zerine 100 µM final konsantrasyonda 4 µl test bileŖiđi ilave edilerek agregometre lm haznesine yerleŖtirilip küvetlere konulan teflon kaplı karıŖtırcılar ile 1100 rpm hızda karıŖtırılarak 5 dak. 37 °C sıcaklıkta inkübe edildi. Inkübasyon sonunda örnek zerine 500 µM final konsantrasyonda olacak Ŗekilde 4 µl AA ilave edilerek platelet indüksiyonu baŖlatıldı. Platelet agregasyonuna

bağlı olarak transmisyondaki değişiklik 5 dakika boyunca kaydedildi ve % agregasyon değerleri cihazın yazılımını kullanarak hesaplandı.

4. BULGULAR

4.1. Kimyasal Bulgular

4.1.1. Metil 5-(4-klorofenil)-1-(6-kloropiridazin-3-il)-1*H*-pirazol-3-karboksilat (Bileşik 1)



Metil 4-(4-klorofenil)-2,4-dioksobütanoat (4.8 mmol) ve 6-kloro-3-hidrazinopiridazin (5.04 mmol) 25 mL metanol içinde çözüldü. Hidroklorik asit (2.4 mmol) eklendikten sonra 5 saat oda ısısında karıştırıldı. Oluşan çökelek süzüldü, metanol ile yıkandı ve kurutulup tartıldı. Verim: %75. Erime derecesi: 162-163 °C.

IR Spektrumu (ATR) cm^{-1} : 3129 ve 3084 (Aromatik =C-H gerilim), 2977 (Alifatik C-H gerilim), 1726 (C=O gerilim), 1094 (C-O gerilim).

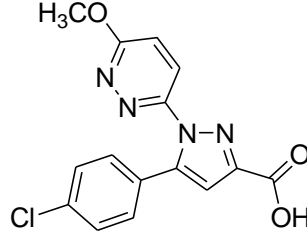
$^1\text{H-NMR}$ Spektrumu (DMSO- d_6) δ ppm: 3.87 (3H, s, OCH_3), 7.25 (1H, s, pirazol H-4), 7.37 (2H, d, $J=8.4$ Hz, fenil H-2, 6), 7.43 (2H, d, $J=8.4$, fenil H-3, 5), 8.18 (1H, d, $J=8.8$ Hz, piridazin H-5), 8.23 (1H, d, $J=9.6$ Hz, piridazin H-4).

$^{13}\text{C-NMR}$ Spektrumu (DMSO- d_6) δ ppm: 52.86, 112.11, 127.68, 128.67, 129.22, 131.19, 132.58, 134.50, 145.21, 145.88, 155.72, 156.56, 162.12

$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}_2$ için;

HRMS (m/z) $[\text{M}+\text{H}]^+$ Hesaplanan: 349.0259; Bulunan: 349.0257

4.1.2. 5-(4-Klorofenil)-1-(6-metoksipiridazin-3-il)-1-*H*-pirazol-3-karboksilik asit (Bileşik 2)



Bileşik 1 (15.1 mmol) ve sodyum metoksit (45.3 mmol) geri çeviren soğutucu altında 2.5 saat karıştırıldı. Reaksiyon ortamına 40 mL su eklendi ve geri çeviren soğutucu altında 1 saat daha karıştırıldıktan sonra suya boşaltıldı. Karışım asitlendirildi. Çöken madde suyla yıkandı, etanol-su karışımından kristallendirildi ve kurutuldu. Verim: % 82. Erime derecesi: 225-226 °C.

IR Spektrumu (ATR) cm^{-1} : 3381-2600 (O-H gerilim), 2976 (Alifatik C-H gerilim), 1694 (C=O gerilim), 1089 (C-O gerilim).

$^1\text{H-NMR}$ Spektrumu (DMSO- d_6) δ ppm: 4.04 (3H, s, OCH_3), 7.16 (1H, s, pirazol H-4), 7.34 (2H, d, $J=8.8$ Hz, fenil H-2, 6), 7.45 (2H, d, $J=8.8$, fenil H-3, 5), 7.52 (1H, d, $J=9.2$ Hz, piridazin H-5), 8.35 (1H, d, $J=9.6$ Hz, piridazin H-4), 13.23 (1H, s, yayvan, COOH).

$^{13}\text{C-NMR}$ Spektrumu (DMSO- d_6) δ ppm: 55.74, 111.31, 120.92, 128.44, 128.94, 129.25, 131.03, 134.19, 144.65, 146.30, 152.79, 163.33, 165.36

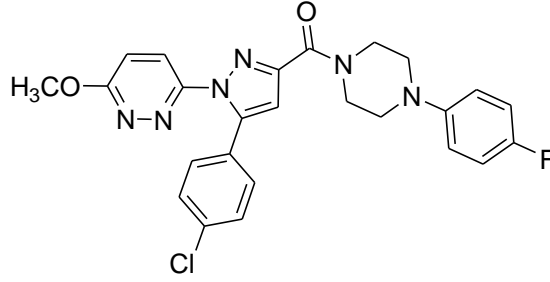
$\text{C}_{15}\text{H}_{11}\text{ClN}_4\text{O}_3$ için;

HRMS (m/z) $[\text{M}+\text{H}]^+$ Hesaplanan: 331.0598; Bulunan: 331.0602

Elementel analiz Hesaplanan % C: 54.47 H: 3.35 N: 16.94

Bulunan % C: 54.04 H: 3.31 N: 16.85

4.1.3. 1-[[1-(6-Metoksipiridazin-3-il)-5-(4-klorofenil)-1*H*-pirazol-3-il]karbonil]-4-(4-florofenil)piperazin (Bileşik 3)



Bileşik 2 ve 1-(4-florofenil)piperazinden hareketle genel sentez yöntemine göre elde edildi. Hekzan:etil asetat (40:60) solvan sistemi kullanılarak flash kromatografi ile saflaştırıldı. Verim: % 47. Erime derecesi: 193-194 °C.

IR Spektrumu (ATR) cm^{-1} : 2977 (Alifatik C-H gerilim), 1618 (C=O gerilim), 1090 (C-O gerilim).

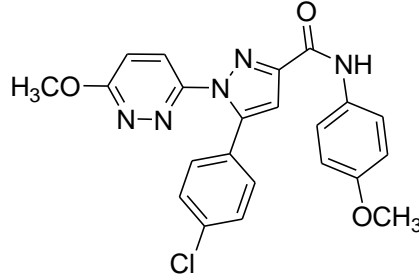
$^1\text{H-NMR}$ Spektrumu (CDCl_3) δ ppm: 3.15 (2H, t, piperazin), 3.20 (2H, t, piperazin), 3.99 (2H, t, piperazin), 4.13 (3H, s, OCH_3), 4.22 (2H, t, piperazin), 6.89-7.01 (5H, m, pirazol H-4, florofenil), 7.12 (1H, d, $J=9.6$ Hz piridazin H-5), 7.25-7.27 (2H, m, klorofenil H-2, 6), 7.32-7.34 (2H, m, klorofenil H-3, 5) 7.70 (1H, d, $J=9.6$ Hz, piridazin H-4).

$\text{C}_{25}\text{H}_{22}\text{ClFN}_6\text{O}_2$ için;

HRMS (m/z) $[\text{M}+\text{H}]^+$ Hesaplanan: 493.1555; Bulunan: 493.1560

Elementel analiz Hesaplanan % C: 60.91 H: 4.50 N: 17.05
Bulunan % C: 60.63 H: 4.62 N: 16.65

4.1.4. 5-(4-Klorofenil)-N-(4-metoksifenil)-1-(6-metokspiridazin-3-il)-1H-pirazol-3-karboksamit (Bileşik 4)



Bileşik 2 ve p-anisidinden hareketle genel sentez yöntemine göre elde edildi. Metanolden kristallendirilerek saflaştırıldı. Verim: % 42. Erime derecesi: 209-210 °C.

IR Spektrumu (ATR) cm^{-1} : 3360 (N-H gerilim), 3136 ve 3061 (Aromatik =C-H gerilim), 2975 (Alifatik C-H gerilim), 1675 (C=O gerilim), 1091 (C-O gerilim).

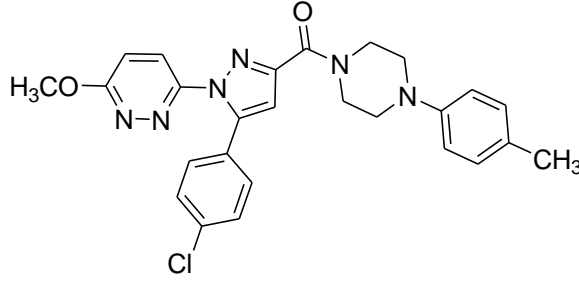
$^1\text{H-NMR}$ Spektrumu (CDCl_3) δ ppm: 3.82 (3H, s, OCH_3), 4.16 (3H, s, OCH_3), 6.91 (2H, d, $J=9.2$ Hz, metoksifenil H-3, 5), 7.13 (1H, s, pirazol H-4), 7.14 (1H, d, $J=9.2$ Hz, piridazin H-5), 7.25 (2H, d, $J=8.8$ Hz, klorofenil H-2, 6), 7.34 (2H, d, $J=8.8$ Hz, klorofenil H-3, 5), 7.61 (2H, d, $J=8.8$ Hz, metoksifenil H-2, 6), 7.68 (1H, d, $J=9.2$ Hz, piridazin H-4), 8.65 (1H, s, NH).

$\text{C}_{22}\text{H}_{18}\text{ClN}_5\text{O}_3$ için;

HRMS (m/z) $[\text{M}+\text{H}]^+$ Hesaplanan: 436.1176; Bulunan: 436.1183

Elementel analiz Hesaplanan % C: 60.62 H: 4.16 N: 16.07
Bulunan % C: 60.36 H: 4.17 N: 15.99

4.1.5. 1-[[1-(6-Metoksipiridazin-3-il)-5-(4-klorofenil)-1H-pirazol-3-il]karbonil]-4-(4-metilfenil)piperazin (Bileşik 5)



Bileşik 2 ve 1-(4-metilfenil)piperazinden hareketle genel sentez yöntemine göre elde edildi. Hekzan:etil asetat (40:60) solvan sistemi kullanılarak flash kromatografi ile saflaştırıldı. Etil asetat ve petrol eteri karışımından kristallendirildi. Verim: % 59. Erime derecesi: 193-194 °C.

IR Spektrumu (ATR) cm^{-1} : 3069 (Aromatik =C-H gerilim), 2977 (Alifatik C-H gerilim), 1639 (C=O gerilim), 1090 (C-O gerilim).

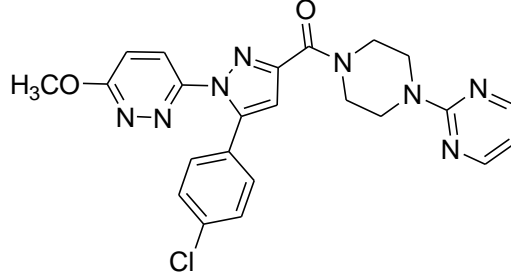
$^1\text{H-NMR}$ Spektrumu (CDCl_3) δ ppm: 2.28 (3H, s, CH_3), 3.17 (2H, t, piperazin), 3.23 (2H, t, piperazin), 3.98 (2H, t, piperazin), 4.13 (3H, s, OCH_3), 4.21 (2H, t, piperazin), 6.87 (2H, d, $J=8.0$ Hz, 4-metilfenil H-3, 5), 6.92 (1H, s, pirazol H-4), 7.09-7.13 (3H, m, piridazin H-5, 4-metilfenil H-2, 6), 7.27 (2H, d, $J=8.8$ Hz, 4-klorofenil H-2, 6), 7.33 (2H, d, $J=8.8$ Hz, 4-klorofenil H-3, 5), 7.72 (1H, d, $J=9.2$ Hz, piridazin H-4).

$\text{C}_{26}\text{H}_{25}\text{ClN}_6\text{O}_2$ için;

HRMS (m/z) $[\text{M}+\text{H}]^+$ Hesaplanan: 489.1806; Bulunan: 489.1788

Elementel analiz Hesaplanan % C: 63.86 H: 5.15 N: 17.19
Bulunan % C: 63.61 H: 5.17 N: 17.02

4.1.6. 1-[[1-(6-Metoksipiridazin-3-il)-5-(4-klorofenil)-1*H*-pirazol-3-il]karbonil]-4-(pirimidin-2-il)piperazin (Bileşik 6)



Bileşik 2 ve 1-(2-pirimidinil)piperazinden hareketle genel sentez yöntemine göre elde edildi. Diklorometan:metanol (95:5) kullanılarak flash kromatografi ile saflaştırıldı. Metanolden kristallendirildi. Verim: % 63. Erime derecesi: 241-242 °C

IR Spektrumu (ATR) cm^{-1} : 3056 (Aromatik =C-H gerilim), 2976 (Alifatik C-H gerilim), 1628 (C=O gerilim), 1092 (C-O gerilim).

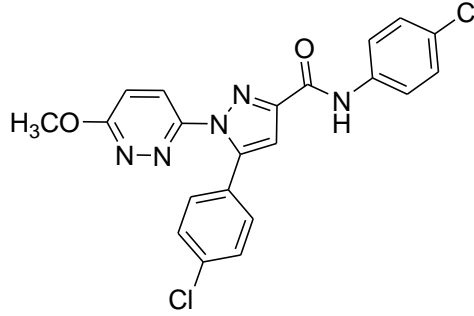
$^1\text{H-NMR}$ Spektrumu (CDCl_3) δ ppm: 3.91-3.97 (8H, m, piperazin), 4.14 (3H, s, OCH_3), 6.55 (1H, t, $J=4.8$ Hz, pirimidin H-5), 6.94 (1H, s, pirazol H-4), 7.13 (1H, d, $J=9.6$ Hz, piridazin H-5), 7.26-7.28 (2H, m, klorofenil H-2, 6), 7.32-7.35 (2H, m, klorofenil H-3, 5), 7.75 (1H, d, $J=9.6$ Hz, piridazin H-4), 8.34 (2H, d, $J=4.8$ Hz, pirimidin H-4, 6).

$\text{C}_{23}\text{H}_{21}\text{ClN}_8\text{O}_2$ için;

HRMS (m/z) $[\text{M}+\text{H}]^+$ Hesaplanan: 477.1554; Bulunan: 477.1534

Elementel analiz Hesaplanan % C: 57.92 H: 4.44 N: 23.50
Bulunan % C: 58.16 H: 4.57 N: 22.96

4.1.7. N,5-bis(4-Klorofenil)-1-(6-metokspiridazin-3-il)-1H-pirazol-3-karboksamit (Bileşik 7)



Bileşik 2 ve p-kloroanilinden hareketle genel sentez yöntemine göre elde edildi. Eter ve petrol eteri karışımından kristallendirildi Verim: % 61. Erime derecesi: 254-255 °C.

IR Spektrumu (ATR) cm^{-1} : 3258 (N-H gerilim), 3120 ve 3070 (Aromatik =C-H gerilim), 2977 (Alifatik C-H gerilim), 1671 (C=O gerilim), 1090 (C-O gerilim).

$^1\text{H-NMR}$ Spektrumu (DMSO- d_6) δ ppm: 4.02 (3H, s, OCH_3), 7.23 (1H, s, pirazol H-4), 7.35 (2H, d, $J=8.8$ Hz, p-klorofenil H-2, 6), 7.39 (2H, d, $J=8.8$ Hz, N-klorofenil H-2, 6), 7.44 (2H, d, $J=8.8$ Hz, klorofenil H-3, 5), 7.54 (1H, d, $J=9.6$ Hz, piridazin H-5), 7.85 (2H, d, $J=8.8$ Hz, N-klorofenil H-3, 5), 8.12 (1H, d, $J=9.2$ Hz, piridazin H-4), 10.45 (1H, s, NH).

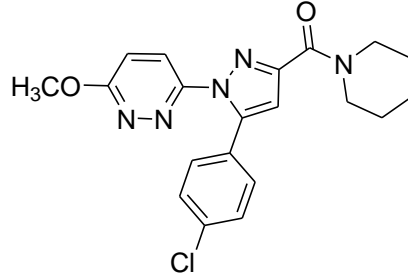
$^{13}\text{C-NMR}$ Spektrumu (DMSO- d_6) δ ppm: 55.77, 109.94, 120.84, 122.65, 128.16, 128.66, 128.92, 129.25, 129.28, 131.08, 134.29, 138.19, 144.99, 148.66, 152.77, 160.14, 165.39.

$\text{C}_{21}\text{H}_{15}\text{Cl}_2\text{N}_5\text{O}_2$ için;

HRMS (m/z) $[\text{M}+\text{H}]^+$ Hesaplanan: 440.0681; Bulunan: 440.0663

Elementel analiz Hesaplanan % C: 57.29 H: 3.43 N: 15.91
Bulunan % C: 56.77 H: 3.48 N: 15.78

4.1.8. 1-[[1-(6-Metoksipiridazin-3-il)-5-(4-klorofenil)-1*H*-pirazol-3-il]karbonil]piperidin (Bileşik 8)



Bileşik 2 ve piperidinden hareketle genel sentez yöntemine göre elde edildi. Hekzan:etil asetat (40:60) solvan sistemi kullanılarak flash kromatografi ile saflaştırıldı. Verim: % 77. Erime derecesi: 154-155 °C.

IR Spektrumu (ATR) cm^{-1} : 2976 (Alifatik C-H gerilim), 1614 (C=O gerilim), 1092 (C-O gerilim).

$^1\text{H-NMR}$ Spektrumu (DMSO- d_6) δ ppm: 1.51-1.61 (6H, m, piperidin), 3.59 (2H, s, piperidin), 3.75 (2H, s, piperidin), 3.99 (3H, s, OCH_3), 6.95 (1H, s, pirazol H-4), 7.30-7.32 (2H, m, klorofenil H-2, 6), 7.41-7.43 (2H, m, klorofenil H-3, 5), 7.47 (1H, d, $J=8.8$ Hz, piridazin H-5), 7.98 (1H, d, $J=9.6$ Hz, piridazin H-4).

$^{13}\text{C-NMR}$ Spektrumu (DMSO- d_6) δ ppm: 24.75, 26.09, 27.05, 43.37, 48.17, 55.69, 110.80, 120.91, 128.27, 129.12, 129.21, 131.00, 134.08, 143.76, 149.21, 152.77, 161.87, 165.19.

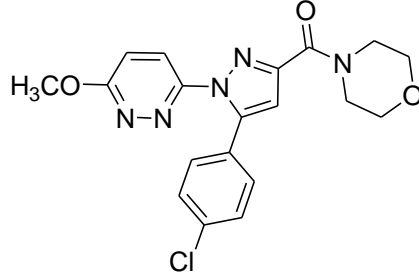
$\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{ClN}_5\text{O}_2$ için;

HRMS (m/z) $[\text{M}+\text{H}]^+$ Hesaplanan: 398.1384; Bulunan: 398.1371

Elementel analiz Hesaplanan % C: 60.38 H: 5.07 N: 17.60

Bulunan % C: 59.51 H: 4.86 N: 17.11

4.1.9. 4-[[1-(6-Metoksipiridazin-3-il)-5-(4-klorofenil)-1H-pirazol-3-il]karbonil]morfolin (Bileşik 9)



Bileşik 2 ve morfolinden hareketle genel sentez yöntemine göre elde edildi. Hekzan:etil asetat (40:60) solvan sistemi kullanılarak flash kromatografi ile saflaştırıldı. Verim: % 67. Erime derecesi: 208-209 °C.

IR Spektrumu (ATR) cm^{-1} : 2976 (Alifatik C-H gerilim), 1622 (C=O gerilim), 1088 (C-O gerilim).

$^1\text{H-NMR}$ Spektrumu (DMSO- d_6) δ ppm: 3.60-3.64 (6H, m, morfolin), 3.90-3.93 (2H, m, morfolin), 3.99 (3H, s, OCH_3), 7.01 (1H, s, pirazol H-4), 7.31 (2H, d, $J=8.4$ Hz, klorofenil H-2, 6), 7.42 (2H, d, $J=8.4$ Hz, klorofenil H-3, 5), 7.48 (1H, d, $J=9.2$ Hz, piridazin H-5), 8.00 (1H, d, $J=9.2$ Hz, piridazin H-4).

$^{13}\text{C-NMR}$ Spektrumu (DMSO- d_6) δ ppm: 43.01, 47.86, 55.71, 66.80, 67.16, 111.30, 120.93, 128.36, 129.01, 129.25, 131.01, 134.14, 143.88, 148.62, 152.72, 161.86, 165.25.

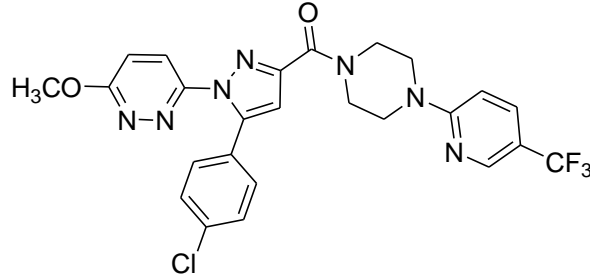
$\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{ClN}_5\text{O}_3$ için;

HRMS (m/z) $[\text{M}+\text{H}]^+$ Hesaplanan: 400.1176; Bulunan: 400.1129

Elementel analiz Hesaplanan % C: 57.07 H: 4.54 N: 17.52

Bulunan % C: 56.67 H: 4.37 N: 17.33

4.1.10. 1-[[1-(6-Metokspiridazin-3-il)-5-(4-klorofenil)-1H-pirazol-3-il]karbonil] 4-(5-triflorometilpiridin-2-il)piperazin (Bileşik 10)



Bileşik 2 ve 1-(5-triflorometilpiridin-2-il)piperazinden hareketle genel sentez yöntemine göre elde edildi. Hekzan:etil asetat (40:60) solvan sistemi kullanılarak flash kromatografi ile saflaştırıldı. Verim: % 71. Erime derecesi: 198-199 °C.

IR Spektrumu (ATR) cm^{-1} : 3129 (Aromatik =C-H gerilim), 2978 (Alifatik C-H gerilim), 1612 (C=O gerilim), 1079 (C-O gerilim).

$^1\text{H-NMR}$ Spektrumu (DMSO- d_6) δ ppm: 3.71-3.76 (6H, m, piperazin), 4.00 (3H, s, OCH_3), 4.05 (2H, m, piperazin), 6.95 (1H, d, $J=8.8$ Hz, piridin H-3), 7.04 (1H, s, pirazol H-4), 7.33 (2H, d, $J=8.4$ Hz, klorofenil H-2, 6), 7.44 (2H, d, $J=8.4$ Hz, klorofenil H-3, 5), 7.49 (1H, d, $J=9.6$ Hz, piridazin H-5), 7.82 (1H, dd, $J_1=8.8$ Hz, $J_2=2.4$ Hz, piridin H-4), 8.04 (1H, d, $J=8.8$ Hz, piridazin H-4), 8.42 (1H, s, piridin H-6).

$^{13}\text{C-NMR}$ Spektrumu (DMSO- d_6) δ ppm: 42.33, 44.45, 45.31, 46.64, 55.73, 107.09, 111.38, 120.95, 128.34, 129.02, 129.25, 131.03, 134.16, 135.33, 143.91, 145.91, 148.74, 152.75, 160.68, 161.97, 165.27.

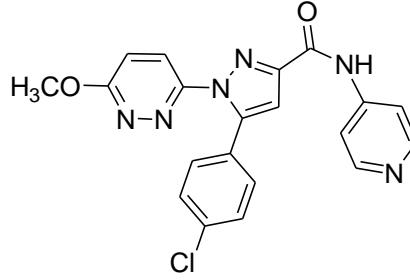
$\text{C}_{25}\text{H}_{21}\text{ClF}_3\text{N}_7\text{O}_2$ için;

HRMS (m/z) $[\text{M}+\text{H}]^+$ Hesaplanan: 544.1476; Bulunan: 544.1464

Elementel analiz Hesaplanan % C: 55.20 H: 3.89 N: 18.03

Bulunan % C: 55.04 H: 3.97 N: 17.76

4.1.11. 5-(4-Klorofenil)-1-(6-metokspiridazin-3-il)-*N*-piridin-4-il-1*H*-pirazol-3-karboksamit (Bileşik 11)



Bileşik 2 ve piridin-4-aminden hareketle genel sentez yöntemine göre elde edildi. Diklorometan:metanol (95:5) kullanılarak flash kromatografi ile saflaştırıldı. Verim: % 37. Erime derecesi: 247-248 °C.

IR Spektrumu (ATR) cm^{-1} : 3382 (N-H gerilim), 3130 (Aromatik =C-H gerilim), 2976 (Alifatik C-H gerilim), 1694 (C=O gerilim), 1091 (C-O gerilim).

$^1\text{H-NMR}$ Spektrumu (DMSO- d_6) δ ppm: 4.02 (3H, s, OCH_3), 7.27 (1H, s, pirazol H-4), 7.35 (2H, d, $J=8.4$ Hz, klorofenil H-2, 6), 7.45 (2H, d, $J=8.8$ Hz, klorofenil H-3, 5), 7.55 (1H, d, $J=9.2$ Hz, piridazin H-5), 7.84 (2H, d, $J=6.4$ Hz, piridin H-3, 5), 8.12 (1H, d, $J=9.2$ Hz, piridazin H-4), 8.46 (2H, d, piridin H-2, 6), 10.68 (1H, s, NH).

$^{13}\text{C-NMR}$ Spektrumu (DMSO- d_6) δ ppm: 55.79, 110.08, 114.83, 120.85, 128.75, 129.31, 131.10, 134.37, 145.18, 146.04, 148.23, 151.01, 152.72, 160.91, 165.45.

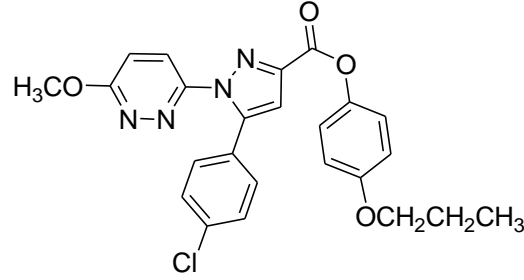
$\text{C}_{20}\text{H}_{15}\text{ClN}_6\text{O}_2$ için;

HRMS (m/z) $[\text{M}+\text{H}]^+$ Hesaplanan:407.1023; Bulunan: 407.1035

Elementel analiz Hesaplanan % C: 59.05 H: 3.72 N: 20.66

Bulunan % C: 58.89 H: 3.66 N: 20.57

4.1.12. 4-Propoksifenil 5-(4-klorofenil)-1-(6-metokspiridazin-3-il)-1H-pirazol-3-karboksilat (Bileşik 12)



Bileşik 2 ve 4-propoksifenolden hareketle genel sentez yöntemine göre elde edildi. Diklorometan:metanol (95:5) kullanılarak flash kromatografi ile saflaştırıldı. Metanolden kristallendirildi. Verim: % 26. Erime derecesi: 197-198 °C.

IR Spektrumu (ATR) cm^{-1} : 3133 ve 3072 (Aromatik =C-H gerilim), 2974 (Alifatik C-H gerilim), 1727 (C=O gerilim), 1091 (C-O gerilim).

$^1\text{H-NMR}$ Spektrumu (CDCl_3) δ ppm: 1.04 (3H, t, $J=7.4$ Hz, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 1.79-1.84 (2H, m, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 3.93 (2H, t, $J=6.6$ Hz, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 4.13 (3H, s, OCH_3), 6.93 (2H, d, propoksifenil H-3, 5), 7.14-7.16 (4H, m, pirazol H-4, propoksifenil H-2, 6, piridazin H-5), 7.28 (2H, d, $J=8.4$ Hz, klorofenil H-2, 6), 7.35 (2H, d, $J=8.4$ Hz, klorofenil H-3, 5), 7.93 (1H, d, $J=9.2$ Hz, piridazin H-4).

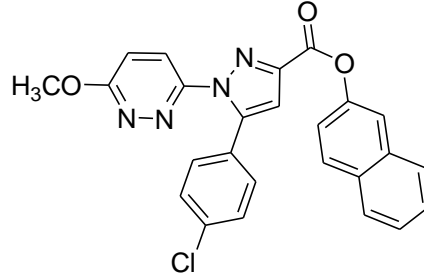
$\text{C}_{24}\text{H}_{21}\text{ClN}_4\text{O}_4$ için;

HRMS (m/z) $[\text{M}+\text{H}]^+$ Hesaplanan: 465.1330; Bulunan: 465.1318

Elementel analiz Hesaplanan % C: 62.00 H: 4.55 N: 12.05

Bulunan % C: 61.58 H: 4.58 N: 11.99

4.1.13. 2-Naftil 5-(4-klorofenil)-1-(6-metokspiridazin-3-il)-1*H*-pirazol-3-karboksilat (Bileşik 13)



Bileşik 2 ve 2-naftolden hareketle genel sentez yöntemine göre elde edildi. Diklorometan:metanol (95:5) kullanılarak flash kromatografi ile saflaştırıldı. Verim: % 44. Erime derecesi: 216-217 °C.

IR Spektrumu (ATR) cm^{-1} : 3152 ve 3058 (Aromatik =C-H gerilim), 2977 (Alifatik C-H gerilim), 1729 (C=O gerilim), 1091 (C-O gerilim).

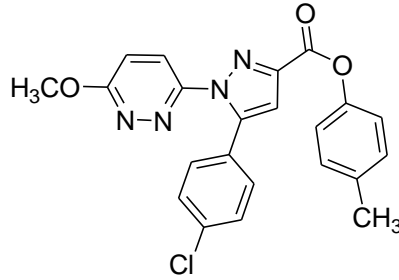
$^1\text{H-NMR}$ Spektrumu (CDCl_3) δ ppm: 4.14 (3H, s, OCH_3), 7.17 (1H, d, $J=9.6$ Hz, piridazin H-5), 7.22 (1H, s, pirazol H-4), 7.34-7.36 (2H, m, klorofenil H-2, 6), 7.37-7.39 (2H, m, klorofenil H-3, 5), 7.40 (1H, dd, $J_1=8.8$ Hz, $J_2=2.4$ Hz, naftil H-8), 7.47-7.54 (2H, m, naftil H-4, H-5), 7.74 (1H, d, $J=2.4$ Hz, naftil H-1), 7.84-7.93 (3H, m, naftil H-3, H-6, H-7), 7.95 (1H, d, $J=9.6$ Hz, piridazin H-4).

$\text{C}_{25}\text{H}_{17}\text{ClN}_4\text{O}_3$ için;

HRMS (m/z) $[\text{M}+\text{H}]^+$ Hesaplanan: 457.1067; Bulunan: 457.1060

Elementel analiz Hesaplanan % C: 65.72 H: 3.75 N: 12.26
Bulunan % C: 65.22 H: 3.73 N: 12.15

4.1.14. 4-Metilfenil 5-(4-klorofenil)-1-(6-metokspiridazin-3-il)-1H-pirazol-3-karboksilat (Bileşik 14)



Bileşik 2 ve 4-metilfenolden genel sentez yöntemine göre elde edildi. Diklorometan:metanol (97:3) kullanılarak flash kromatografi ile saflaştırıldı. Etil asetatın kristallendirildi. Verim: % 38. Erime derecesi: 245-246 °C.

IR Spektrumu (ATR) cm^{-1} : 3141 ve 3054 (Aromatik =C-H gerilim), 2977 (Alifatik C-H gerilim), 1731 (C=O gerilim), 1091 (C-O gerilim).

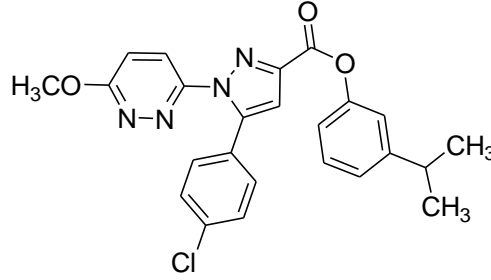
$^1\text{H-NMR}$ Spektrumu (CDCl_3) δ ppm: 2.37 (3H, s, CH_3), 4.13 (3H, s, OCH_3), 7.12-7.17 (4H, m, pirazol H-4, metilfenil H-3, 5, piridazin H-5), 7.23 (2H, d, $J=8.4$ Hz, metilfenil H-2, 6), 7.28 (2H, d, $J=8.4$ Hz, klorofenil H-2, 6), 7.35 (2H, d, $J=8.4$ Hz, klorofenil H-3, 5), 7.93 (1H, d, $J=9.2$ Hz, piridazin H-4).

$\text{C}_{22}\text{H}_{17}\text{ClN}_4\text{O}_3$ için;

HRMS (m/z) $[\text{M}+\text{H}]^+$ Hesaplanan: 421.1067; Bulunan: 421.1074

Elementel analiz Hesaplanan % C: 62.79 H: 4.07 N: 13.31
Bulunan % C: 62.65 H: 4.17 N: 13.26

4.1.15. 3-İzopropilfenil 5-(4-klorofenil)-1-(6-metokspiridazin-3-il)-1H-pirazol-3-karboksilat (Bileşik 15)



Bileşik 2 ve 3-izopropilfenolden hareketle genel sentez yöntemine göre elde edildi. Diklorometan:metanol (97:3) kullanılarak flash kromatografi ile saflaştırıldı. Verim: % 24. Erime derecesi: 167-168 °C.

IR Spektrumu (ATR) cm^{-1} : 3146 ve 3076 (Aromatik =C-H gerilim), 2974 (Alifatik C-H gerilim), 1732 (C=O gerilim), 1092 (C-O gerilim).

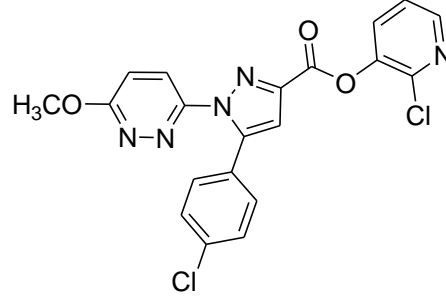
$^1\text{H-NMR}$ Spektrumu (CDCl_3) δ ppm: 1.27 (6H, d, $J=6.4$ Hz, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 2.95 (1H, m, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 4.13 (3H, s, OCH_3), 7.07-7.37 (10H, m, pirazol H-4, piridazin H-5, izopropilfenil, klorofenil), 7.94 (1H, d, $J=8.8$ Hz. piridazin H-4).

$\text{C}_{24}\text{H}_{21}\text{ClN}_4\text{O}_3$ için;

HRMS (m/z) $[\text{M}+\text{H}]^+$ Hesaplanan: 449.1380; Bulunan: 449.1384

Elementel analiz Hesaplanan % C: 64.21 H: 4.72 N: 12.48
Bulunan % C: 63.94 H: 4.78 N: 12.38

**4.1.16. 2-Kloropiridin-3-il 5-(4-klorofenil)-1-(6-metokspiridazin-3-il)-
1H-pirazol-3-karboksilat (Bileşik 16)**



Bileşik 2 ve 2-kloro-3-piridinolden hareketle genel sentez yöntemine göre elde edildi. Diklorometan:metanol (97:3) kullanılarak flash kromatografi ile saflaştırıldı. Etanolden kristallendirildi. Verim: % 16. Erime derecesi: 187-188 °C.

IR Spektrumu (ATR) cm^{-1} : 1746 (C=O gerilim), 1091 (C-O gerilim).

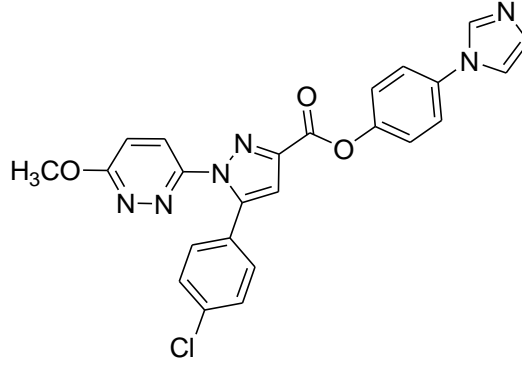
$^1\text{H-NMR}$ Spektrumu (CDCl_3) δ ppm: 4.14 (3H, s, OCH_3), 7.17, (1H, d, $J=9.6$ Hz, piridazin H-5), 7.22 (1H, s, pirazol H-4), 7.28 (2H, d, $J=8.8$ Hz, klorofenil H-2, 6), 7.35-7.38 (3H, m, piridin H-4, klorofenil H-3, 5), 7.70 (1H, m, piridin H-5), 7.93 (1H, d, $J=9.2$ Hz, piridazin H-4), 8.35-8.37 (1H, m, piridin H-6).

$\text{C}_{20}\text{H}_{13}\text{Cl}_2\text{N}_5\text{O}_3$ için;

HRMS (m/z) $[\text{M}+\text{H}]^+$ Hesaplanan: 442.0474; Bulunan: 442.0463

Elementel analiz Hesaplanan % C: 54.32 H: 2.96 N: 15.84
Bulunan % C: 54.07 H: 2.92 N: 15.67

4.1.17. 4-(1*H*-İmidazol-1-il)fenil 5-(4-klorofenil)-1-(6-metokspiridazin-3-il)-1*H*-pirazol-3-karboksilat (Bileşik 17)



Bileşik 2 ve 4-(1-imidazolil)fenolden (1.3 mmol) hareketle genel sentez yöntemine göre elde edildi. Diklorometan:metanol (97:3) kullanılarak flash kromatografi ile saflaştırıldı. Etanolden kristallendirildi. Verim: % 31. Erime derecesi: 207-208 °C.

IR Spektrumu (ATR) cm^{-1} : 2976 (Alifatik C-H gerilim), 1728 (C=O gerilim), 1093 (C-O gerilim).

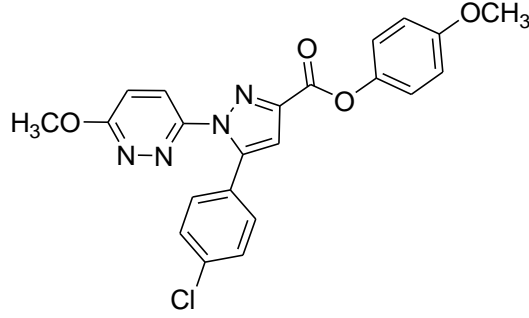
$^1\text{H-NMR}$ Spektrumu (CDCl_3) δ ppm: 4.15 (3H, s, OCH_3), 7.17 (1H, s, $J=9.6$ Hz, piridazin H-5), 7.20 (1H, s, pirazol H-4), 7.23 (1H, m, imidazol H-4), 7.28-7.30 (klorofenil H-2, 6, imidazol H-5), 7.36 (2H, d, $J=8.0$ Hz, klorofenil H-3, 5), 7.40 (2H, d, $J=8.4$ Hz, imidazolilfenil H-2, 6), 7.47 (2H, d, $J=8.4$ Hz, imidazolilfenil H-3, 5), 7.86 (1H, s, imidazol H-2), 7.91 (1H, d, $J=9.2$ Hz, piridazin H-4).

$\text{C}_{24}\text{H}_{17}\text{ClN}_6\text{O}_3$ için;

HRMS (m/z) $[\text{M}+\text{H}]^+$ Hesaplanan: 473.1129; Bulunan: 473.1107

Elementel analiz Hesaplanan % C: 60.96 H: 3.62 N: 17.77

Bulunan % C: 60.42 H: 3.73 N: 17.50
4.1.18. 4-Metoksifenil 5-(4-klorofenil)-1-(6-metoksipiridazin-3-il)-1H-pirazol-3-karboksilat (Bileşik 18)



Bileşik 2 ve 4-metoksifenolden hareketle genel sentez yöntemine göre elde edildi. Metanol ile kaynatıldı, süzüldü ve kurutuldu. Verim: % 82. Erime derecesi: 221-222 °C.

IR Spektrumu (ATR) cm^{-1} : 2976 (Alifatik C-H gerilim), 1730 (C=O gerilim), 1092 (C-O gerilim).

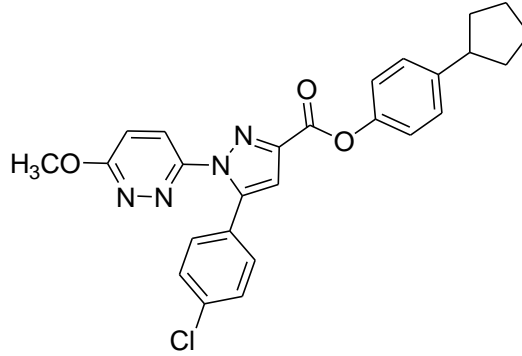
$^1\text{H-NMR}$ Spektrumu (CDCl_3) δ ppm: 3.83 (3H, s, OCH_3), 4.13 (3H, s, OCH_3), 6.94 (2H, d, $J=8.8$ Hz, metoksifenil H-3, 5), 7.15-7.19 (4H, m, pirazol H-4, metoksifenil H-2, 6, piridazin H-5), 7.28 (2H, d, $J=8.4$ Hz, klorofenil H-2, 6), 7.35 (2H, d, $J=8.4$ Hz, klorofenil H-3, 5), 7.93 (1H, d, $J=9.2$ Hz, piridazin H-4).

$\text{C}_{22}\text{H}_{17}\text{ClN}_4\text{O}_4$ için;

HRMS (m/z) $[\text{M}+\text{H}]^+$ Hesaplanan: 437.1017; Bulunan: 437.0997

Elementel analiz Hesaplanan % C: 60.49 H: 3.92 N: 12.83
Bulunan % C: 60.16 H: 4.03 N: 12.67

4.1.19. 4-Siklopentilfenil 5-(4-klorofenil)-1-(6-metokspiridazin-3-il)-1H-pirazol-3-karboksilat (Bileşik 19)



Bileşik 2 ve 4-siklopentilfenolden hareketle genel sentez yöntemine göre elde edildi. Diklorometan:metanol (97:3) kullanılarak flash kromatografi ile saflaştırıldı. Verim: % 81. Erime derecesi: 212-213 °C.

IR Spektrumu (ATR) cm^{-1} : 3141 ve 3063 (Aromatik =C-H gerilim), 2974 (Alifatik C-H gerilim), 1733 (C=O gerilim), 1090 (C-O gerilim).

$^1\text{H-NMR}$ Spektrumu (CDCl_3) δ ppm: 1.55-1.85 (6H, m, siklopentil), 2.09 (2H, m, siklopentil), 3.01 (1H, m, siklopentil), 4.13 (3H, s, OCH_3), 7.15-7.19 (4H, m, pirazol H-4, piridazin H-5, siklopentilfenil H-2, 6), 7.26-7.30 (4H, m, siklopentilfenil H-3, 5, klorofenil H-2, 6), 7.35 (2H, d, $J=8.4$ Hz, klorofenil H-3, 5), 7.93 (1H, d, $J=9.2$ Hz, piridazin H-4).

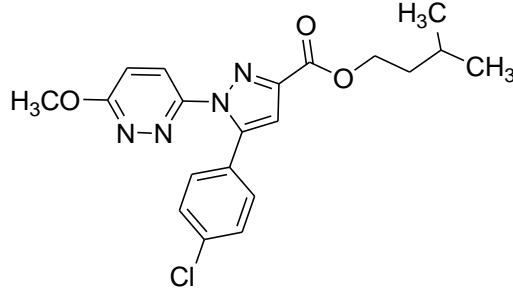
$\text{C}_{26}\text{H}_{23}\text{ClN}_4\text{O}_3$ için;

HRMS (m/z) $[\text{M}+\text{H}]^+$ Hesaplanan: 475.1537; Bulunan: 475.1520

Elementel analiz Hesaplanan % C: 65.75 H: 4.88 N: 11.80

Bulunan % C: 65.60 H: 4.84 N: 11.64

4.1.20. 3-Metilbütül 5-(4-klorofenil)-1-(6-metokspiridazin-3-il)-1H-pirazol-3-karboksilat (Bileşik 20)



Bileşik 2 ve izoamilalkolden hareketle genel sentez yöntemine göre elde edildi. Diklorometan:metanol (97:3) kullanılarak flash kromatografi ile saflaştırıldı. Verim: % 79. Erime derecesi: 149-150 °C.

IR Spektrumu (ATR) cm^{-1} : 3131 ve 3072 (Aromatik =C-H gerilim), 2971 (Alifatik C-H gerilim), 1706 (C=O gerilim), 1090 (C-O gerilim).

$^1\text{H-NMR}$ Spektrumu (DMSO- d_6) δ ppm: 0.97 (6H, d, $J=6.4$ Hz, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1.51-1.91 (3H, m, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 4.12 (3H, s, OCH₃), 4.43 (2H, t, $J=6.8$ Hz, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 7.01 (1H, s, pirazol H-4), 7.14 (1H, d, $J=9.6$ Hz, piridazin H-5), 7.25 (2H, d, $J=8.4$ Hz, klorofenil H-2, 6), 7.33 (2H, d, $J=8.4$ Hz, klorofenil H-3, 5), 7.91 (1H, d, $J=9.2$ Hz, piridazin H-4).

$\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{ClN}_4\text{O}_3$ için;

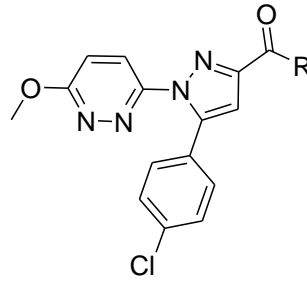
HRMS (m/z) $[\text{M}+\text{H}]^+$ Hesaplanan: 401.1380; Bulunan: 401.1380

Elementel analiz Hesaplanan % C: 59.92 H: 5.28 N: 13.98
Bulunan % C: 59.25 H: 5.46 N: 13.70

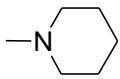
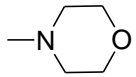
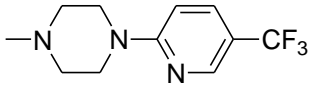
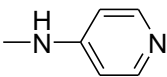
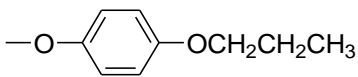
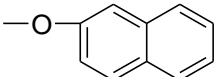
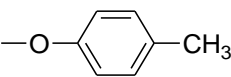
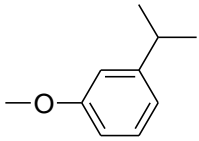
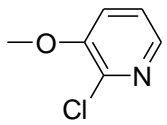
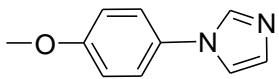
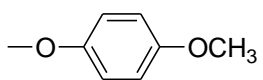
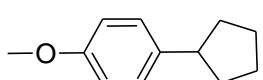
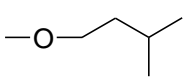
4.2. Biyolojik Bulgular

Bileşiklerin antiplatelet etkileri 100 µM final konsantrasyonda test edildi (Bileşik 14 çözünürlük problemi nedeniyle 50 µM final konsantrasyonda test edilmiştir). Referans olarak asetil salisilik asit yine 100 µM final konsantrasyonda kullanılmıştır. AA ile indüklenen platelet agregasyonun % inhibisyon değerleri Tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 2. Sentezlenen bileşiklerin insan PRP preparasyonlarında AA ile indüklenen platelet agregasyonunu inhibe edici etkileri



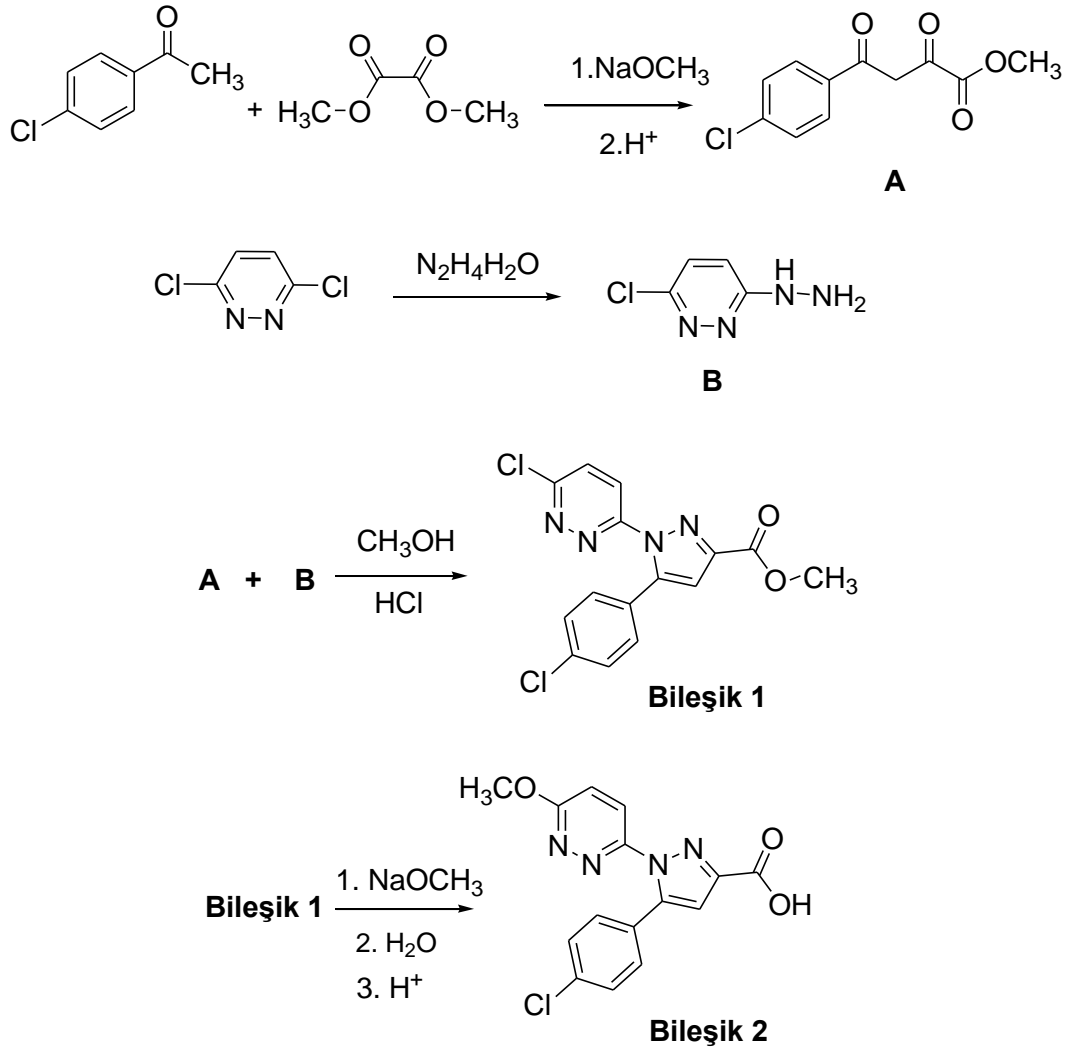
Bileşik No	R	% İnhibisyon ^a
1	OCH ₃	100
2	OH	0
3		97
4		96.3
5		97
6		100
7		97

8		100
9 ^b		97.7
10		98.5
11		99.2
12		97.7
13		98.5
14 ^c		100
15		97
16		97.8
17		98.5
18		97.7
19		97.8
20		99.2
ASA		98.5

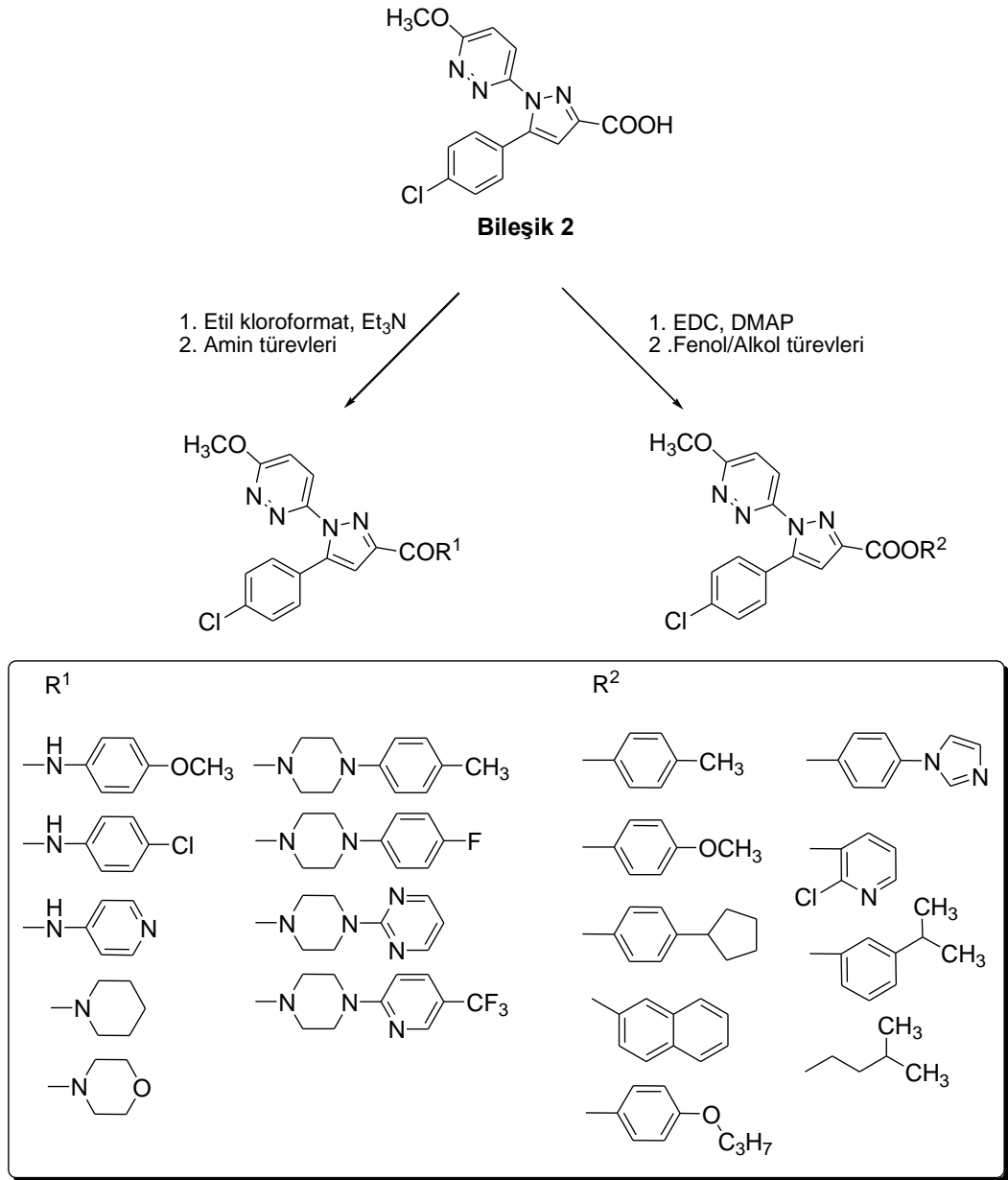
^aBileşikler 100 μ M konsantrasyonda test edilmiştir. ^bBileşik 9 ayrıca kollajen ile indüklenen platelet agregasyonunu inhibe edici etkisi için test edilmiş ve % 67 oranında inhibe etmiştir. ^cBileşik 14, çözünürlük problemi nedeniyle 50 μ M konsantrasyonda test edilmiştir.

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu çalışmada 1,5-diarilpirazol-3-karboksilik asit genel yapısına sahip bileşiklerin sentezi ve antiplatelet etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Bileşiklerin genel sentez şeması Şekil 7 ve 8'de görülmektedir



Şekil 7. Bileşik 2 için genel sentez şeması

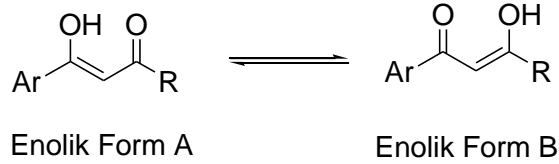


Şekil 8. Amit ve ester türevlerinin genel sentez şeması

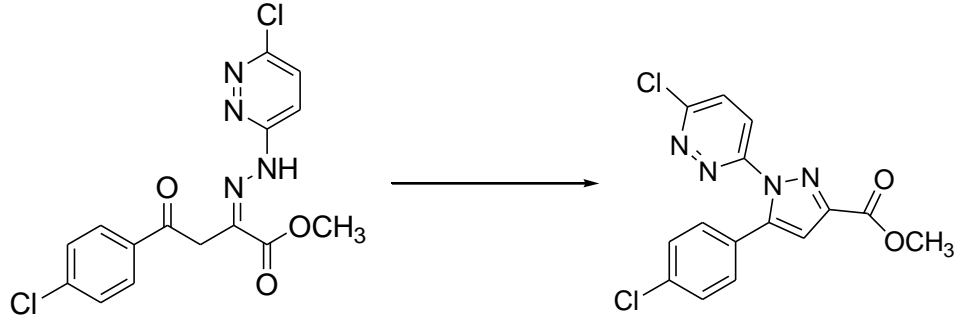
Bileşiklerin sentezinde başlangıç maddesi olan metil 4-(4-klorofenil)-2,4-dioksobütanoat (**A**) literatürde kayıtlı yöntemle göre 4-kloroasetofenon ve dimetiloksalatın sodyum metoksitli ortamda reaksiyonu sonucu elde edilmiştir¹¹².

3-kloro-6-hidrazinopiridazin (Bileşik B) 3,6 dikloropiridazinden hareketle metanol içinde hidrazin hidrat kullanılarak elde edilmiştir¹¹⁸.

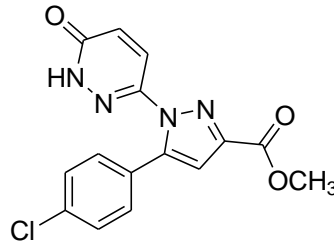
Pirazoller β -dikarbonil bileşikleri ile hidrazinin reaksiyonuyla elde edilmektedir. Hidrazin türevinin süstitüent taşıdığı durumlarda farklı iki izomer oluşumu söz konusudur. Regioselektif 1,5-diarilpirazol sentezinin ilk basamağının 1-aril-1,3-diketon bileşiğinin 3. konumdaki karbonil grubu üzerinden hidrazon oluşumu olduğu literatürde kayıtlıdır. Singh ve ekibi tarafından yapılan çalışmada elektron çekici gruplar ($R=CF_3$, piridin) içeren 1-aril-1,3-diketon bileşiklerinin asidik veya nötral koşullarda çoğunlukla enolik form A şeklinde bulunduğu, elektron salıcı gruplar ($R=CH_3$, $n-C_3H_7$) içeren bileşiklerde ise bu formun ancak nötral veya bazik tepkime koşullarında bulunduğu ve bu koşullarda 1,5-diarilpirazollerini oluşturdukları bildirilmiştir¹¹⁹.



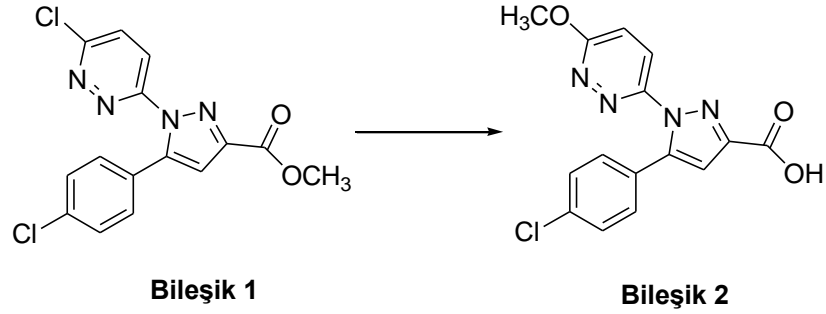
Tez çalışmasında kullanılan 1,3-diketon bileşiğinin 3. konumunda ester grubu taşıması nedeniyle halka kapama reaksiyonu önce nötral ortamda başlangıç maddelerinin metanol içinde kaynatılması ile denenmiştir¹²⁰. Bununla beraber, geri çeviren soğutucu altında 8 saat kaynatma sonunda LC/MS ile takip edilen reaksiyonda beklenen ürün olduğu ancak oldukça fazla miktarda hidrazon ara ürünü kaldığı belirlenmiştir. Ara ürünün ürüne dönüşerek reaksiyonun sonlanmasının ise oldukça uzun sürdüğü belirlenmiştir.



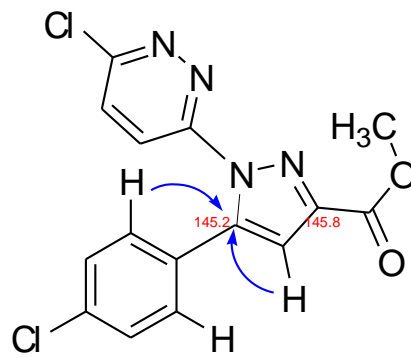
Reaksiyonun asit katalizli koşullarda daha kolay yürüyeceği düşünülerek 3-kloro-6-hidrazinopiridazin hidroklorür tuzu kullanılarak reaksiyon denenmiştir. Bu reaksiyon şartlarında ise 8 saatlik ısıtma sonucunda halka kapanmasının gerçekleştiği ancak kloropiridazin halkasının piradizinon türevine dönüştüğü tespit edilmiştir. Kloropiridazinin sulu asidik veya bazik ortamda piridazinon yapısına dönüştüğü literatürde kayıtlıdır¹²¹.



Ara ürün basamağında kalan reaksiyon ortamına 0.5 ekivalan derişik HCl ilavesi ve 30 dakika kaynatma sonunda reaksiyon LC/MS ile takip edilmiş ve reaksiyonun tamamlandığı ancak kloropiridazin türevi yanında çok az miktarda metoksipiridazin türevi oluştuğu gözlenmiştir.



Bileşiklerin 1,5-regioizomerik yapıda olduklarının tespiti için Bileşik 1'in HSQC ve HMBC spektrumları alınmıştır. HSQC spektrumu ile ^1H - ^{13}C tek bağ etkileşimleri saptanmaktadır. Böylece ilgili protonların bağlı oldukları karbonlar tespit edilmektedir. HMBC spektrumu ile ise uzun mesafe ^1H - ^{13}C etkileşimleri saptanmaktadır. 1,5-regioizomerik yapıda fenil H2 ve H6 protonlarının pirazol C5 ile etkileşmesi beklenmektedir. Elde edilen spektrum sonuçları incelendiğinde fenil H2 ve H6 protonlarının pirazol C5 ile etkileşmesi gözlenmekle beraber C3 ve C5 piklerinin birbirine çok yakın çıkması nedeniyle bu protonların C5 ile etkileşimlerinden kesin olarak emin olunamamıştır (**Şekil 9**).

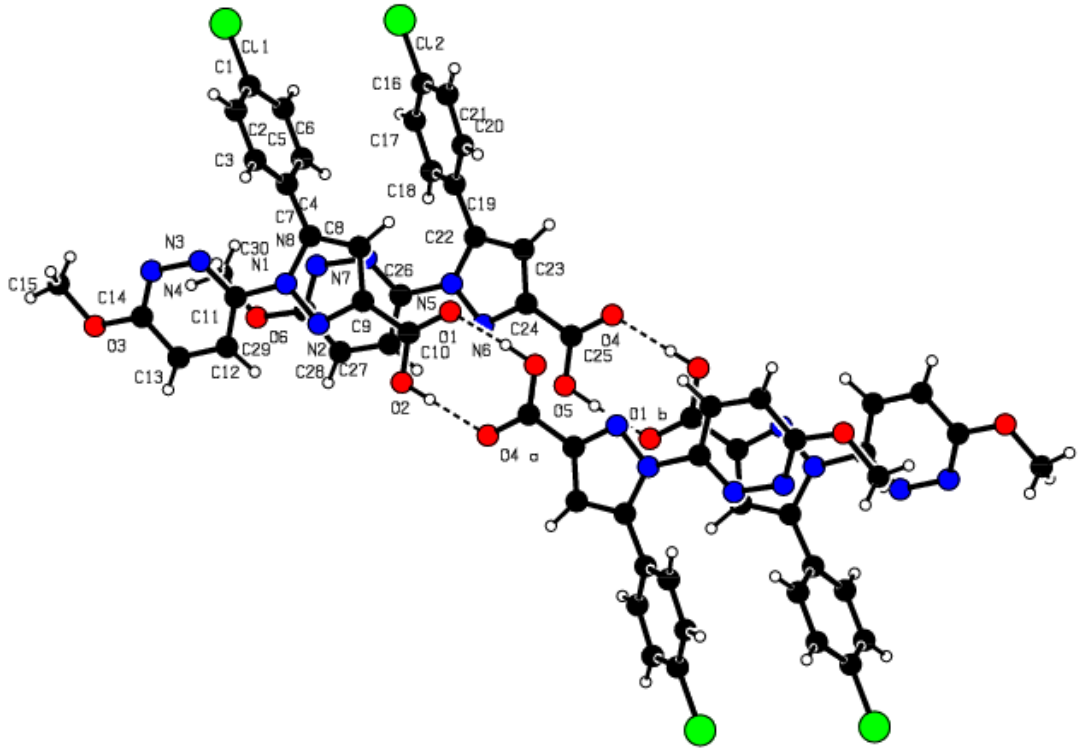


Şekil 9. Bileşik 1 için HMBC etkileşimleri

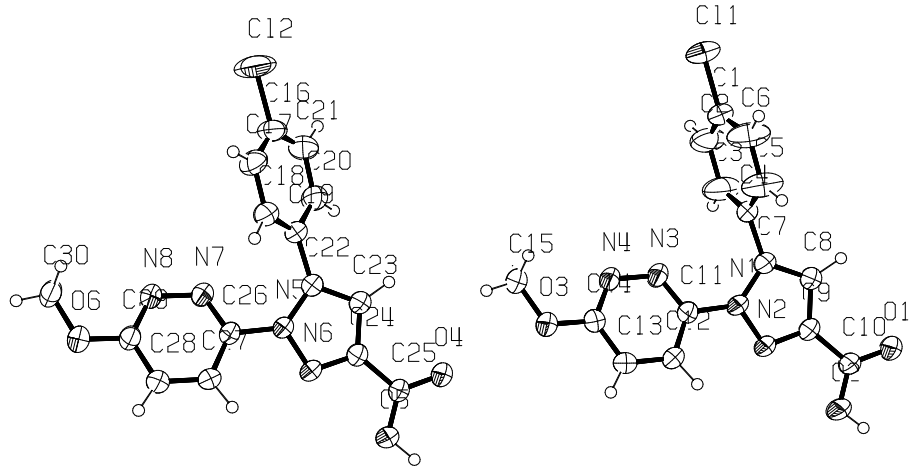
Bu nedenle 1,5-regioizomerik yapı Bileşik 2'den elde edilen kristaller ile X-ışını kırınımı yöntemi kullanılarak kanıtlanmıştır. Bileşiğin

kristal yapısından halka kapanmasının pirazol halkasının N1 konumunda metokspiridazin ve C5 konumunda fenil grubu olacak şekilde kesin olarak 1,5-regioizomer yapıda gerçekleştiği görülmüştür. Bileşik 2 kristalinin atom numaralarını da gösteren moleküler yapısı ise **Şekil 10A** ve **B**'de verilmiştir. Şekilde verildiği gibi, Bileşik 2 tek kristalde birbirine hidrojen bağlı iki farklı konformasyonda gözlenmiştir (**Şekil 10A**). İki konformasyon arasındaki tek önemli fark C5 konumundaki fenil halkasının pirazol halkasına göre konformasyonundaki farklılıktır.

A



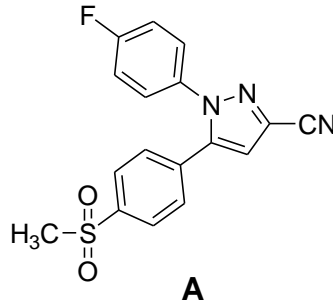
B



Şekil 10A-B. Bileşik 2'nin kristal konformasyonları

Elde edilen 1-(6-metokspiridazin-3-il)-5-(4-klorofenil)-1*H*-pirazol-3-karboksilik asitten (Bileşik 2) hareketle dokuz adet amit ve dokuz adet ester türevi sentezlenmiştir. Amit türevlerinin (Bileşik 3-11) sentezinde birinci basamakta, karboksilik asit aktivatörü olarak etil kloroformat kullanılmış ve karışık anhidrit elde edilmiştir. Bu bileşik izole edilmeden reaksiyon ortamına amin türevinin eklenmesiyle amit türevlerine geçilmiştir. Ester türevlerinin (Bileşik 12-20) sentezinde karboksilik asit aktivatörü olarak DCC veya EDC kullanılmış ve uygun fenol veya alkol türevi ile reaksiyon sonucu hedeflenen ester türevleri elde edilmiştir (**Şekil 8**). Bileşiklerin yapıları ¹H-NMR, IR, HRMS ve elementel analiz sonuçlarıyla kanıtlanmıştır.

Literatür verileri değerlendirildiğinde, COX-2 enzim inhibitörü etkiden sorumlu metil sülfonil sübstitüentini taşıyan bazı diarilpirazol türevi bileşiklerin (A) aynı zamanda kollajen ile indüklenen platelet agregasyonunu da inhibe ettikleri görülmektedir. Bu bileşiklerin antiplatelet etkileri COX-2 enzim inhibitör etkileri kadar potent bulunmamıştır^{77,78}.

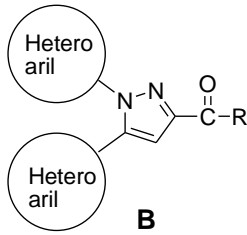


A

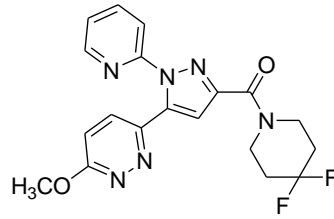
IC₅₀=5.3 µM Kollajen

IC₅₀=0.2 µM COX-2

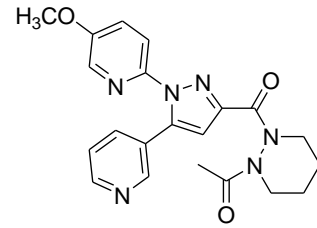
Bununla beraber, diarilpirazol türevleriyle yapılan ileri çalışmalar sonucu COX-1 ve COX-2 enzimlerini inhibe etmeden kollajen ile indüklenen platelet agregasyonunu potent olarak inhibe eden yeni türevlere ulaşılmıştır^{77,78}.



B



IC₅₀=0.04 µM Kollajen
50 µM konsantrasyonda
COX-1 ve COX-2 inhibisyonu
sırasıyla 7.3 ve 3.4'tür.



IC₅₀=0.09 µM Kollajen
50 µM konsantrasyonda
COX-1 ve COX-2 inhibisyonu
göstermemiştir.

Bu çalışmalarda sentezlenen türevlerin genel yapısı incelendiğinde (B), pirazol halkasının visinal konumlarda heteroaril

grupları taşıdığı ve üçüncü konumunda bazik merkez içeren karboksamit yapısında küçük sübstitüentler bulunduğu görülmektedir. Bu tez çalışması kapsamında sentezlenen bileşikler de bu yaklaşımla tasarlanmış ve üçüncü konumda çeşitli ester türevleri kullanılmıştır. Ayrıca pirazolün C5-heteroaril grubu 4-klorofenil ile değiştirilmiş ve N1-heteroaril grubu olarak 6-metoksipiridazin seçilmiştir. Sentezlenen 20 adet bileşiğin 100 µM konsantrasyonda insan kanından elde edilen PRP'de AA ile indüklenen agregasyon üzerinde inhibe edici etkileri test edilmiştir. Tablo 2'de görüldüğü üzere serbest karboksil grubu taşıyan Bileşik 2 hariç bütün ester ve amit türevleri platelet agregasyonunu % 96-100 oranında inhibe etmişlerdir. Bunun yanında, Bileşik 9 aynı konsantrasyonda kollajen ile indüklenen platelet agregasyonu için test edilmiş ve kollajen ile indüklenen platelet agregasyonunu % 67 oranında inhibe etmiştir.

Sonuç olarak bu tez çalışmasında elde edilen aktivite sonuçlarına göre seçilen genel yapının antiplatelet etki profili için uygun olduğu görülmektedir.

Bu tez çalışmasında daha ileri çalışmaların temelini oluşturacak sonuçlara ulaşılmıştır. Özellikle bu bileşikler ile yapılacak biyolojik deneylerde IC₅₀ değerlerinin belirlenmesi ile kurulacak yapı-etki ilişkileri sonucunda daha ileri optimizasyon çalışmaları planlanabilecektir.

6. ÖZET

DİARİLPİRAZOL TÜREVİ BİLEŞİKLERİN SENTEZİ VE ANTIPLATELET ETKİLERİNİN İNCELENMESİ ÜZERİNDE ÇALIŞMALAR

Dünyadaki en yaygın ölüm nedenlerinden biri koroner arteriyel trombozun neden olduğu akut miyokardiyal enfarktüstür (MI). Arteriyel trombozun oluşmasında ise plateletler (trombositler) önemli rol oynamaktadır. Plateletlerin endotel hasarını takiben adezyona uğrayıp aşırı aktivasyonları sonucu agregate olmaları hasarlı damarda pıhtı oluşumuna neden olarak vasküler tıkanıklığa yol açmaktadır. Plateletlerin özellikle koroner ve serebral arter tıkanmalarda rol aldığı bilinmektedir. Bu sebeple, platelet agregasyonunu engelleyen tedaviler aterotromboza bağlı gelişen akut koroner sendrom, MI ve felç vakalarının önlenmesinde ve tedavisinde çok önemlidir. Klinikte güncel antiplatelet tedavide en yaygın kullanılan ilaçlar aspirin, ADP P2Y₁₂ reseptör antagonisti tiyepiridin türevleri (örn; klopidogrel), αIIbβ3 integrin (GPIIb/IIIa) antagonistleri (örn; tirofiban) ve fosfodiesteraz inhibitörleri dipiridamol ve silostazoldur.

Antiplatelet etkili yeni molekül bulma çalışmalarında farklı kimyasal yapıda birçok bileşiğe rastlanmaktadır. Bununla beraber bu bileşiklerin yapısal özellikleri ile antiplatelet etkileri arasındaki ilişkiyi gösteren yapı-aktivite çalışması sınırlı sayıdadır. Bu sebeple, geliştirilen bileşiklerin farmakoforik özelliklerinin belirlenmesi ve bu çalışma sonuçlarından faydalanarak etkin inhibitörlerin tasarlanabilmesi için önem taşımaktadır. Bu amaçla başlattığımız tez çalışmalarımızda 5-(4-klorofenil)-1-(6-metoksipiridazin-3-il)-1H-pirazol-3-karboksilik asit (**Bileşik 2**) ana yapısından hareketle bir seri ester ve amit türevi bileşik sentezlenmiştir. Bu bileşiklerin araşidonik asitle indüklenen platelet agregasyonu üzerindeki inhibitör etkileri 100 µM tek dozda test edilmiş ve

agregasyonu %96-100 oranında inhibe ettikleri bulunmuştur. Bileşiklerden sadece Bileşik 9 kollajen ile indüklenen platelet agregasyonuna karşı test edilmiş ve % 67 oranında inhibitör etkisi tespit edilmiştir. Bu verilerin ışığında, bu tez çalışmasında seçilen ana yapının antiplatelet etki için uygunluğu kanıtlanmış ve bu yapı üzerinde yapı-aktivite çalışmaları için daha ileri çalışmaların gerekliliği ortaya konmuştur.

Anahtar Kelimeler: Platelet, Trombosit, Pirazol, Agregasyon

7. SUMMARY

STUDIES ON THE SYNTHESIS AND ANTIPLATELET ACTIVITY OF DIARYLPYRAZOLE DERIVATIVES

Myocardial infarction (MI) may occur as a result of coronary atherothrombotic vascular disease is a leading cause of morbidity and mortality in many countries around the world. Platelets play a pivotal role in the pathogenesis of cardiovascular thrombosis. Following endothelial damage platelets adhere with the collagen in the subendothelium and aggregate upon their activation with different agonists and form a thrombus leading to a vascular blockage. Therefore, antiplatelet drugs are very important for prevention and treatment of recurrent acute coronary syndrome (ACS), MI and stroke. Current clinical antiplatelet therapies include aspirin, ADP P2Y₁₂ receptor antagonists thienopyridine derivatives (i.e., clopidogrel), α IIb β 3 integrin (GPIIb/IIIa) antagonists (antibody abciximab, oligopeptid eptifibatide and nonpeptide tirofiban) and phosphodiesterase inhibitors dipyridamole and cilostazole.

Many compounds owing to different chemical classes as antiplatelet agents have been developed. However, a limited number of SAR studies are available to explain the relationship between chemical structure and antiplatelet activity. Therefore, understanding the structural properties of developed compounds is very critical for coherent evaluation these studies and for developing better inhibitors. With this encouragement, we have synthesized a series of ester and amide derivatives starting from 5-(4-chlorophenyl)-1-(6-methoxypyridazin-3-yl)-1H-pyrazol-3-carboxylic acid (**Compound 2**). We tested the inhibitory activities of these compounds on AA-induced platelet aggregation at 100 μ M screening dose and found that these compounds inhibited AA-induced platelet aggregation (96-100%). One of the compounds is also tested

against collagen-induced platelet aggregation and found that the inhibitory activity was 67%.

Key Words: Platelet, Thrombocyte, Pyrazol, Aggregation

8. KAYNAKLAR

1. Lloyd-Jones D, Adams R, Carnethon M, De Simone G, Ferguson TB, Flegal K, et al. Heart disease and stroke statistics--2009 update: a report from the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. *Circulation* 2009; 119: 480-6.
2. Davi G, Patrono C. Platelet activation and atherothrombosis. *N Engl J Med* 2007; 357: 2482-94.
3. Born G, Patrono C. Antiplatelet drugs. *Br J Pharmacol* 2006; 147 Suppl 1: S241-51.
4. Kei AA, Florentin M, Mikhailidis DP, Elisaf MS, Liberopoulos EN. Review: Antiplatelet drugs: what comes next? *Clinical and applied thrombosis/hemostasis : official journal of the International Academy of Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis* 2011; 17: 9-26.
5. Michelson AD. Antiplatelet therapies for the treatment of cardiovascular disease. *Nat Rev Drug Discov* 2010; 9: 154-69.
6. Fabre JE, Gurney ME. Limitations of current therapies to prevent thrombosis: a need for novel strategies. *Mol Biosyst* 2010; 6: 305-15.
7. Cattaneo M. New P2Y12 blockers. *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH* 2009; 7 Suppl 1: 262-5.

8. Franchini M, Mannucci PM. New antiplatelet agents: why they are needed. *European journal of internal medicine* 2009; 20: 733-8.
9. Cattaneo M. Advances in antiplatelet therapy: overview of new P2Y₁₂ receptor antagonists in development. *European Heart Journal Supplements* 2008; 10 (Supplement I): 133-7.
10. Brass L. Understanding and evaluating platelet function. *Hematology / the Education Program of the American Society of Hematology. American Society of Hematology. Education Program* 2010; 2010: 387-96.
11. Jackson SP, Nesbitt WS, Kulkarni S. Signaling events underlying thrombus formation. *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH* 2003; 1: 1602-12.
12. Ruggeri ZM. Von Willebrand factor, platelets and endothelial cell interactions. *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH* 2003; 1: 1335-42.
13. Chackalamannil S. Thrombin receptor (protease activated receptor-1) antagonists as potent antithrombotic agents with strong antiplatelet effects. *J Med Chem* 2006; 49: 5389-403.
14. Moser M, Bode C. Antiplatelet therapy for atherothrombotic disease: how can we improve the outcomes? *Journal of thrombosis and thrombolysis* 2010; 30: 240-9.

15. Freson K, Thys C, Wittevrongel C, Van Geet C. Mechanisms of action and targets for actual and future antiplatelet drugs. *Mini Rev Med Chem* 2006; 6: 719-26.
16. Loll PJ, Picot D, Garavito RM. The structural basis of aspirin activity inferred from the crystal structure of inactivated prostaglandin H2 synthase. *Nature structural biology* 1995; 2: 637-43.
17. Roth GJ, Stanford N, Majerus PW. Acetylation of prostaglandin synthase by aspirin. *P Natl Acad Sci USA* 1975; 72: 3073-6.
18. Patrono C, Baigent C, Hirsh J, Roth G. Antiplatelet drugs: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines (8th Edition). *Chest* 2008; 133: 199S-233S.
19. Patrono C, Rocca B. Aspirin: promise and resistance in the new millennium. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology* 2008; 28: s25-32.
20. Gasparyan AY, Watson T, Lip GY. The role of aspirin in cardiovascular prevention: implications of aspirin resistance. *Journal of the American College of Cardiology* 2008; 51: 1829-43.
21. Funk CD, FitzGerald GA. COX-2 inhibitors and cardiovascular risk. *Journal of cardiovascular pharmacology* 2007; 50: 470-9.
22. Hornby EJ, Skidmore IF. Evidence that prostaglandin endoperoxides can induce platelet aggregation in the absence of thromboxane A2 production. *Biochemical pharmacology* 1982; 31: 1158-60.

23. Hirata M, Hayashi Y, Ushikubi F, Yokota Y, Kageyama R, Nakanishi S, et al. Cloning and expression of cDNA for a human thromboxane A2 receptor. *Nature* 1991; 349: 617-20.
24. De Meyer SF, Vanhoorelbeke K, Broos K, Salles, II, Deckmyn H. Antiplatelet drugs. *British journal of haematology* 2008; 142: 515-28.
25. Dogne JM, de Leval X, Neven P, Rolin S, Wauters J, David JL, et al. Effects of a novel non-carboxylic thromboxane A2 receptor antagonist (BM-531) derived from torasemide on platelet function. *Prostaglandins, leukotrienes, and essential fatty acids* 2000; 62: 311-7.
26. Gaussem P, Reny JL, Thalamas C, Chatelain N, Kroumova M, Jude B, et al. The specific thromboxane receptor antagonist S18886: pharmacokinetic and pharmacodynamic studies. *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH* 2005; 3: 1437-45.
27. Wallace JL, Muscara MN, McKnight W, Dicay M, Del Soldato P, Cirino G. In vivo antithrombotic effects of a nitric oxide-releasing aspirin derivative, NCX-4016. *Thrombosis research* 1999; 93: 43-50.
28. Cattaneo M. Platelet P2 receptors: old and new targets for antithrombotic drugs. *Expert review of cardiovascular therapy* 2007; 5: 45-55.
29. Wiviott SD, Trenk D, Frelinger AL, O'Donoghue M, Neumann FJ, Michelson AD, et al. Prasugrel compared with high loading- and maintenance-dose clopidogrel in patients with planned percutaneous coronary intervention: the Prasugrel in Comparison to

Clopidogrel for Inhibition of Platelet Activation and Aggregation-Thrombolysis in Myocardial Infarction 44 trial. *Circulation* 2007; 116: 2923-32.

30. Mycek MJ, Harvey AR, Champe PC. *Lippincott's Illustrated Reviews: Pharmacology: Special Millennium Update*: Lippincott Williams & Wilkins, 2009.
31. Jakubowski JA, Winters KJ, Naganuma H, Wallentin L. Prasugrel: a novel thienopyridine antiplatelet agent. A review of preclinical and clinical studies and the mechanistic basis for its distinct antiplatelet profile. *Cardiovascular drug reviews* 2007; 25: 357-74.
32. Michelson AD. P2Y₁₂ antagonism: promises and challenges. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology* 2008; 28: s33-8.
33. Nishiya Y, Hagihara K, Ito T, Tajima M, Miura S, Kurihara A, et al. Mechanism-based inhibition of human cytochrome P450 2B6 by ticlopidine, clopidogrel, and the thiolactone metabolite of prasugrel. *Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals* 2009; 37: 589-93.
34. Jernberg T, Payne CD, Winters KJ, Darstein C, Brandt JT, Jakubowski JA, et al. Prasugrel achieves greater inhibition of platelet aggregation and a lower rate of non-responders compared with clopidogrel in aspirin-treated patients with stable coronary artery disease. *European heart journal* 2006; 27: 1166-73.
35. van Giezen JJ, Humphries RG. Preclinical and clinical studies with selective reversible direct P2Y₁₂ antagonists. *Seminars in thrombosis and hemostasis* 2005; 31: 195-204.

36. Coughlin SR. Protease-activated receptors in hemostasis, thrombosis and vascular biology. *Journal of thrombosis and haemostasis* : JTH 2005; 3: 1800-14.
37. Brummel KE, Paradis SG, Butenas S, Mann KG. Thrombin functions during tissue factor-induced blood coagulation. *Blood* 2002; 100: 148-52.
38. Chung AW, Jurasz P, Hollenberg MD, Radomski MW. Mechanisms of action of proteinase-activated receptor agonists on human platelets. *British journal of pharmacology* 2002; 135: 1123-32.
39. Ossovskaya VS, Bunnett NW. Protease-activated receptors: contribution to physiology and disease. *Physiological reviews* 2004; 84: 579-621.
40. Angiolillo DJ, Capodanno D, Goto S. Platelet thrombin receptor antagonism and atherothrombosis. *European heart journal* 2010; 31: 17-28.
41. Chackalamannil S, Wang Y, Greenlee WJ, Hu Z, Xia Y, Ahn HS, et al. Discovery of a novel, orally active himbacine-based thrombin receptor antagonist (SCH 530348) with potent antiplatelet activity. *J Med Chem* 2008; 51: 3061-4.
42. Becker RC, Moliterno DJ, Jennings LK, Pieper KS, Pei J, Niederman A, et al. Safety and tolerability of SCH 530348 in patients undergoing non-urgent percutaneous coronary intervention: a randomised, double-blind, placebo-controlled phase II study. *Lancet* 2009; 373: 919-28.

43. Chintala M, Vemulapalli S, Kurowski S, Sabin C, Reynolds D, Prevete K, et al. SCH 530348, a novel oral antiplatelet agent, demonstrated no bleeding risk alone or in combination with aspirin and clopidogrel in cynomolgus monkeys. *Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology* 2008; 28: E138-E9.
44. Goto S, Yamaguchi T, Ikeda Y, Kato K, Yamaguchi H, Jensen P. Safety and exploratory efficacy of the novel thrombin receptor (PAR-1) antagonist SCH530348 for non-ST-segment elevation acute coronary syndrome. *Journal of atherosclerosis and thrombosis* 2010; 17: 156-64.
45. Goto S, Ogawa H, Takeuchi M, Flather MD, Bhatt DL. Double-blind, placebo-controlled Phase II studies of the protease-activated receptor 1 antagonist E5555 (atopaxar) in Japanese patients with acute coronary syndrome or high-risk coronary artery disease. *European heart journal* 2010; 31: 2601-13.
46. Hynes RO. Integrins: a family of cell surface receptors. *Cell* 1987; 48: 549-54.
47. Hagemeyer CE, Peter K. Targeting the platelet integrin GPIIb/IIIa. *Current pharmaceutical design* 2010; 16: 4119-33.
48. Tuncer M. Akut koroner sendromlerin tedavisinde glikoprotein IIB/IIIA reseptör blokörlerinin yeri. *Türk Girişimsel Kardiyoloji Dergisi* 2008; 12: 82-90.
49. Coller BS. A new murine monoclonal antibody reports an activation-dependent change in the conformation and/or microenvironment of

the platelet glycoprotein IIb/IIIa complex. *The Journal of clinical investigation* 1985; 76: 101-8.

50. Parikh D, Juergens CP. Abciximab as an adjunctive therapy for patients undergoing percutaneous coronary interventions. *Expert opinion on biological therapy* 2011; 11: 235-46.
51. Faulds D, Sorkin EM. Abciximab (c7E3 Fab). A review of its pharmacology and therapeutic potential in ischaemic heart disease. *Drugs* 1994; 48: 583-98.
52. Collier BS, Folts JD, Scudder LE, Smith SR. Antithrombotic effect of a monoclonal antibody to the platelet glycoprotein IIb/IIIa receptor in an experimental animal model. *Blood* 1986; 68: 783-6.
53. Kereiakes DJ, Kleiman NS, Ambrose J, Cohen M, Rodriguez S, Palabrica T, et al. Randomized, double-blind, placebo-controlled dose-ranging study of tirofiban (MK-383) platelet IIb/IIIa blockade in high risk patients undergoing coronary angioplasty. *Journal of the American College of Cardiology* 1996; 27: 536-42.
54. Tcheng JE, Harrington RA, Kottke-Marchant K, Kleiman NS, Ellis SG, Kereiakes DJ, et al. Multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled trial of the platelet integrin glycoprotein IIb/IIIa blocker Integrelin in elective coronary intervention. IMPACT Investigators. *Circulation* 1995; 91: 2151-7.
55. Chew DP, Bhatt DL, Sapp S, Topol EJ. Increased mortality with oral platelet glycoprotein IIb/IIIa antagonists: a meta-analysis of phase III multicenter randomized trials. *Circulation* 2001; 103: 201-6.

56. Roma G, Di Braccio M, Grossi G, Piras D, Leoncini G, Bruzzese D, et al. Synthesis and in vitro antiplatelet activity of new 4-(1-piperazinyl)coumarin derivatives. Human platelet phosphodiesterase 3 inhibitory properties of the two most effective compounds described and molecular modeling study on their interactions with phosphodiesterase 3A catalytic site. *J Med Chem* 2007; 50: 2886-95.
57. Eisert WG. in *Platelets* 2nd edn (ed. Michelson, A.D.). Elsevier/Academic Press, San Diego 2007: 1165-79
58. Ikeda Y, Sudo, T. & Kimura, Y. in *Platelets* 2nd edn (ed. Michelson, A.D.). (Elsevier/Academic Press, San Diego 2007: 1181-91.
59. Narumiya S, FitzGerald GA. Genetic and pharmacological analysis of prostanoid receptor function. *The Journal of clinical investigation* 2001; 108: 25-30.
60. Fabre JE, Nguyen M, Athirakul K, Coggins K, McNeish JD, Austin S, et al. Activation of the murine EP3 receptor for PGE2 inhibits cAMP production and promotes platelet aggregation. *J Clin Invest* 2001; 107: 603-10.
61. Ma H, Hara A, Xiao CY, Okada Y, Takahata O, Nakaya K, et al. Increased bleeding tendency and decreased susceptibility to thromboembolism in mice lacking the prostaglandin E receptor subtype EP(3). *Circulation* 2001; 104: 1176-80.
62. Gross S, Tilly P, Hentsch D, Vonesch JL, Fabre JE. Vascular wall-produced prostaglandin E2 exacerbates arterial thrombosis and

atherothrombosis through platelet EP3 receptors. *The Journal of experimental medicine* 2007; 204: 311-20.

63. Singh J, Zeller W, Zhou N, Hategan G, Mishra RK, Polozov A, et al. Structure-activity relationship studies leading to the identification of (2E)-3-[1-[(2,4-dichlorophenyl)methyl]-5-fluoro-3-methyl-1H-indol-7-yl]-N-[(4,5-dichloro-2-thienyl)sulfonyl]-2-propenamide (DG-041), a potent and selective prostanoid EP3 receptor antagonist, as a novel antiplatelet agent that does not prolong bleeding. *J Med Chem* 2010; 53: 18-36.
64. Singh J, Zeller W, Zhou N, Hategan G, Mishra R, Polozov A, et al. Antagonists of the EP(3) Receptor for Prostaglandin E(2) Are Novel Antiplatelet Agents That Do Not Prolong Bleeding. *ACS Chem Biol* 2009; 4: 115-26.
65. Przyklenk K, Frelinger AL, 3rd, Linden MD, Whittaker P, Li Y, Barnard MR, et al. Targeted inhibition of the serotonin 5HT2A receptor improves coronary patency in an in vivo model of recurrent thrombosis. *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH* 2010; 8: 331-40.
66. Xiong Y, Teegarden BR, Choi JS, Strah-Pleyne S, Decaire M, Jayakumar H, et al. Discovery and structure-activity relationship of 3-methoxy-N-(3-(1-methyl-1H-pyrazol-5-yl)-4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)benzamide (APD791): a highly selective 5-hydroxytryptamine2A receptor inverse agonist for the treatment of arterial thrombosis. *J Med Chem* 2010; 53: 4412-21.
67. Marschenz K, Rehse K. New purines with antiplatelet activity. *Arch Pharm (Weinheim)* 2006; 339: 115-22.

68. Rehse K, Baselt T. New 2-amino-thiazole-4-acetamides with antiplatelet activity. Arch Pharm (Weinheim) 2008; 341: 645-54.
69. Rehse K, Gonska H. New pyrimido[5,4-c]cinnolines with antiplatelet activities. Arch Pharm (Weinheim) 2005; 338: 590-7.
70. Rehse K, Kotthaus J, Khadembashi L. New 1H-pyrazole-4-carboxamides with antiplatelet activity. Arch Pharm (Weinheim) 2009; 342: 27-33.
71. Rehse K, Steege J. Synthesis and antiplatelet activity of new imidazole-4-carboxylic acid derivatives. Arch Pharm (Weinheim) 2005; 338: 539-47.
72. Cheng XC, Liu XY, Xu WF, Guo XL, Ou Y. Design, synthesis, and biological activities of novel Ligustrazine derivatives. Bioorg Med Chem 2007; 15: 3315-20.
73. Cheng XC, Liu XY, Xu WF, Guo XL, Zhang N, Song YN. Ligustrazine derivatives. Part 3: Design, synthesis and evaluation of novel acylpiperazinyl derivatives as potential cerebrocardiac vascular agents. Bioorg Med Chem 2009; 17: 3018-24.
74. de Candia M, Liantonio F, Carotti A, De Cristofaro R, Altomare C. Fluorinated benzyloxyphenyl piperidine-4-carboxamides with dual function against thrombosis: inhibitors of factor Xa and platelet aggregation. J Med Chem 2009; 52: 1018-28.
75. de Candia M, Summo L, Carrieri A, Altomare C, Nardecchia A, Cellamare S, et al. Investigation of platelet aggregation inhibitory

activity by phenyl amides and esters of piperidinecarboxylic acids. *Bioorg Med Chem* 2003; 11: 1439-50.

76. De Marco A, De Candia M, Carotti A, Cellamare S, De Candia E, Altomare C. Lipophilicity-related inhibition of blood platelet aggregation by nipecotic acid anilides. *Eur J Pharm Sci* 2004; 22: 153-64.
77. Kanaya N, H. Ishiara. Pyrazole Derivative. US0128685 2006.
78. Sato K, S. Yoshida. Antiplatelet Agent and Process for Producing the Same. US0137600 2009.
79. Perez M, Lamothe M, Maraval C, Mirabel E, Loubat C, Planty B, et al. Discovery of novel protease activated receptors 1 antagonists with potent antithrombotic activity in vivo. *J Med Chem* 2009; 52: 5826-36.
80. Xia Y, Chackalamannil S, Greenlee WJ, Wang Y, Hu Z, Root Y, et al. Discovery of a vorapaxar analog with increased aqueous solubility. *Bioorg Med Chem Lett* 2010; 20: 6676-9.
81. Coelho A, Ravina E, Fraiz N, Yanez M, Laguna R, Cano E, et al. Design, synthesis, and structure-activity relationships of a novel series of 5-alkylidenepyridazin-3(2H)-ones with a non-cAMP-based antiplatelet activity. *J Med Chem* 2007; 50: 6476-84.
82. Coelho A, Sotelo E, Fraiz N, Yanez M, Laguna R, Cano E, et al. Pyridazines. Part 36: Synthesis and antiplatelet activity of 5-substituted-6-phenyl-3(2H)-pyridazinones. *Bioorg Med Chem Lett* 2004; 14: 321-4.

83. Meyers C, Yanez M, Elmaatougi A, Verhelst T, Coelho A, Fraiz N, et al. 2-Substituted 4-, 5-, and 6-[(1E)-3-oxo-3-phenylprop-1-en-1-yl]pyridazin-3(2H)-ones and 2-substituted 4,5-bis[(1E)-3-oxo-3-phenylprop-1-en-1-yl]pyridazin-3(2H)-ones as potent platelet aggregation inhibitors: design, synthesis, and SAR studies. *Bioorg Med Chem Lett* 2008; 18: 793-7.
84. Costas T, Besada P, Piras A, Acevedo L, Yanez M, Orallo F, et al. New pyridazinone derivatives with vasorelaxant and platelet antiaggregatory activities. *Bioorg Med Chem Lett* 2010; 20: 6624-7.
85. Cunha AC, Figueiredo JM, Tributino JL, Miranda AL, Castro HC, Zingali RB, et al. Antiplatelet properties of novel N-substituted-phenyl-1,2,3-triazole-4-acylhydrazone derivatives. *Bioorg Med Chem* 2003; 11: 2051-9.
86. Jordao AK, Ferreira VF, Lima ES, de Souza MC, Carlos EC, Castro HC, et al. Synthesis, antiplatelet and in silico evaluations of novel N-substituted-phenylamino-5-methyl-1H-1,2,3-triazole-4-carbohydrazides. *Bioorg Med Chem* 2009; 17: 3713-9.
87. Bruno O, Brullo C, Schenone S, Bondavalli F, Ranise A, Tognolini M, et al. Synthesis, antiplatelet and antithrombotic activities of new 2-substituted benzopyrano[4,3-d]pyrimidin-4-cycloamines and 4-amino/cycloamino-benzopyrano[4,3-d]pyrimidin-5-ones. *Bioorg Med Chem* 2006; 14: 121-30.
88. Chen IL, Chang KM, Miaw CL, Liao CH, Chen JJ, Wang TC. Synthesis, antiproliferative, and antiplatelet activities of oxime- and amide-containing quinolin-2(1H)-one derivatives. *Bioorg Med Chem* 2007; 15: 6527-34.

89. Priya N, Gupta A, Chand K, Singh P, Kathuria A, Raj HG, et al. Characterization of 4-methyl-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-6-yl acetate as an effective antiplatelet agent. *Bioorg Med Chem* 2010; 18: 4085-94.
90. Hsieh PW, Hwang TL, Wu CC, Chiang SZ, Wu CI, Wu YC. The evaluation and structure-activity relationships of 2-benzoylamino benzoic esters and their analogues as anti-inflammatory and anti-platelet aggregation agents. *Bioorg Med Chem Lett* 2007; 17: 1812-7.
91. Chen HS, Kuo SC, Teng CM, Lee FY, Wang JP, Lee YC, et al. Synthesis and antiplatelet activity of ethyl 4-(1-benzyl-1H-indazol-3-yl)benzoate (YD-3) derivatives. *Bioorg Med Chem* 2008; 16: 1262-78.
92. Lien JC, Wu CR, Hour MJ, Huang LJ, Huang TF, Kuo SC. Synthesis of 2,3-disubstituted 1,4-naphthoquinones as antiplatelet agents. *Archiv der Pharmazie* 2008; 341: 639-44.
93. Kuo HL, Lien JC, Chang CH, Chung CH, Kuo SC, Hsu CC, et al. NP- 313, 2-acetylamino-3-chloro- 1,4-naphthoquinone, a novel antithrombotic agent with dual inhibition of thromboxane A(2) synthesis and calcium entry. *British journal of pharmacology* 2011.
94. Jin YR, Hwang KA, Cho MR, Kim SY, Kim JH, Ryu CK, et al. Antiplatelet and antithrombotic activities of CP201, a newly synthesized 1,4-naphthoquinone derivative. *Vascular pharmacology* 2004; 41: 35-41.

95. Lin KW, Fang SC, Hung CF, Shieh BJ, Yang SC, Teng CM, et al. Synthesis, antiplatelet and vasorelaxing activities of xanthone derivatives. *Archiv der Pharmazie* 2009; 342: 19-26.
96. Ilas J, Jakopin Z, Borstnar T, Stegnar M, Kikelj D. 3,4-Dihydro-2H-1,4-benzoxazine derivatives combining thrombin inhibitory and glycoprotein IIb/IIIa receptor antagonistic activity as a novel class of antithrombotic compounds with dual function. *J Med Chem* 2008; 51: 5617-29.
97. Pfefferkorn JA, Choi C, Winters T, Kennedy R, Chi L, Perrin LA, et al. P2Y1 receptor antagonists as novel antithrombotic agents. *Bioorg Med Chem Lett* 2008; 18: 3338-43.
98. Baqi Y, Atzler K, Kose M, Glanzel M, Muller CE. High-affinity, non-nucleotide-derived competitive antagonists of platelet P2Y12 receptors. *J Med Chem* 2009; 52: 3784-93.
99. Parlow JJ, Burney MW, Case BL, Girard TJ, Hall KA, Harris PK, et al. Part II: piperazinyl-glutamate-pyridines as potent orally bioavailable P2Y12 antagonists for inhibition of platelet aggregation. *Bioorg Med Chem Lett* 2010; 20: 1388-94.
100. Parlow JJ, Burney MW, Case BL, Girard TJ, Hall KA, Harris PK, et al. Piperazinyl glutamate pyridines as potent orally bioavailable P2Y12 antagonists for inhibition of platelet aggregation. *J Med Chem* 2010; 53: 2010-37.
101. Adams JW, Ramirez J, Shi Y, Thomsen W, Frazer J, Morgan M, et al. APD791, 3-methoxy-n-(3-(1-methyl-1h-pyrazol-5-yl)-4-(2-morpholinoethoxy)phenyl)benzamide, a novel 5-hydroxytryptamine

2A receptor antagonist: pharmacological profile, pharmacokinetics, platelet activity and vascular biology. *J Pharmacol Exp Ther* 2009; 331: 96-103.

102. Dosa PI, Strah-Pleyne S, Jayakumar H, Casper M, Decaire M, Xiong Y, et al. Solubilized phenyl-pyrazole ureas as potent, selective 5-HT(2A) inverse-agonists and their application as antiplatelet agents. *Bioorg Med Chem Lett* 2009; 19: 5486-9.
103. Zhao LM, Jin HS, Sun LP, Piao HR, Quan ZS. Synthesis and evaluation of antiplatelet activity of trihydroxychalcone derivatives. *Bioorg Med Chem Lett* 2005; 15: 5027-9.
104. Hanson J, Dogne JM, Ghiotto J, Moray AL, Kinsella BT, Pirotte B. Design, synthesis, and SAR study of a series of N-alkyl-N'-[2-(aryloxy)-5-nitrobenzenesulfonyl]ureas and -cyanoguanidine as selective antagonists of the TPalpha and TPbeta isoforms of the human thromboxane A2 receptor. *J Med Chem* 2007; 50: 3928-36.
105. Hanson J, Reynaud D, Qiao N, Devel P, Moray AL, Renard JF, et al. Synthesis and pharmacological evaluation of novel nitrobenzenic thromboxane modulators as antiplatelet agents acting on both the alpha and beta isoforms of the human thromboxane receptor. *J Med Chem* 2006; 49: 3701-9.
106. Cheng S, Zhang X, Wang W, Zhao M, Zheng M, Chang HW, et al. A class of novel N-(3S-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-3-carbonyl)-L-amino acid derivatives: their synthesis, anti-thrombotic activity evaluation, and 3D QSAR analysis. *European journal of medicinal chemistry* 2009; 44: 4904-19.

107. Hilfiker MA, Wang N, Hou X, Du Z, Pullen MA, Nord M, et al. Discovery of novel aminothiadiazole amides as selective EP(3) receptor antagonists. *Bioorg Med Chem Lett* 2009; 19: 4292-5.
108. Asada M, Obitsu T, Nagase T, Sugimoto I, Yamaura Y, Sato K, et al. Discovery of a series of acrylic acids and their derivatives as chemical leads for selective EP3 receptor antagonists. *Bioorg Med Chem* 2009; 17: 6567-82.
109. Asada M, Iwahashi M, Obitsu T, Kinoshita A, Nakai Y, Onoda T, et al. 3-(2-Aminocarbonylphenyl)propanoic acid analogs as potent and selective EP3 receptor antagonists. part 2: optimization of the side chains to improve in vitro and in vivo potencies. *Bioorg Med Chem* 2010; 18: 1641-58.
110. Asada M, Obitsu T, Kinoshita A, Nagase T, Yoshida T, Yamaura Y, et al. 3-(2-Aminocarbonylphenyl)propanoic acid analogs as potent and selective EP3 receptor antagonists. Part 3: Synthesis, metabolic stability, and biological evaluation of optically active analogs. *Bioorg Med Chem* 2010; 18: 3212-23.
111. Asada M, Obitsu T, Nagase T, Tanaka M, Yamaura Y, Takizawa H, et al. 3-(2-Aminocarbonylphenyl)propanoic acid analogs as potent and selective EP3 receptor antagonists. Part 1: discovery and exploration of the carboxamide side chain. *Bioorg Med Chem* 2010; 18: 80-90.
112. Maurin C, Bailly F, Cotelle P. Improved preparation and structural investigation of 4-aryl-4-oxo-2-hydroxy-2-butenic acids and methyl esters. *Tetrahedron* 2004; 60: 6479-86.

113. Druey JM, K., Eichenberger, K. . Chemotherapeutic studies in the heterocyclic series. IV. Pyridazines. 1. Cyclic maleic and citraconic hydrazides. *Helv Chim Acta* 1954; 37: 121-33.
114. Sheldrick GM. Phase Annealing in Shelx-90 -Direct Methods for Larger Structures. *Acta Crystallographica A* 1990; 46: 467-73.
115. Sheldrick GM, Schneider TR. SHELXL: high-resolution refinement. *Methods Enzymol* 1997; 277: 319-43.
116. Barnes CL. ORTEP-3 for Windows - a version of ORTEP-III with a Graphical User Interface (GUI). . *Journal of Applied Crystallography* 1997; 30: 568.
117. Born GV. Aggregation of blood platelets by adenosine diphosphate and its reversal. *Nature* 1962; 194: 927-9.
118. Banoglu E, Akoglu C, Unlu S, Ergun BC, Kupeli E, Yesilada E, et al. Synthesis of amide derivatives of [6-(3,5-dimethylpyrazol-1-yl)-3(2H)-pyridazinone-2-yl] acetic acid and their analgesic and anti-inflammatory properties. *Arzneimittelforschung* 2005; 55: 520-7.
119. Singh SK, Reddy MS, Shivaramakrishna S, Kavitha D, Vasudev R, Babu JM, et al. Modified reaction conditions to achieve high regioselectivity in the two component synthesis of 1,5-diarylpyrazoles. *Tetrahedron Lett* 2004; 45: 7679-82.
120. Pommery N, Taverne T, Telliez A, Goossens L, Charlier C, Pommery J, et al. New COX-2/5-LOX inhibitors: apoptosis-inducing agents potentially useful in prostate cancer chemotherapy. *J Med Chem* 2004; 47: 6195-206.

121. Castle RN. Ed. Pyridazines: John Wiley & Sons, 1973.

9. ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Murat ÇİFTÇİ

Doğum Yeri ve Tarihi: Ankara, 1977

Eğitim: *Yüksek Lisans*
Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
Farmasötik Kimya Anabilim Dalı (2004)
Lisans
Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
(2001)

İş Tecrübesi: Serbest eczacı (Ağustos 2001- devam ediyor)
Damla Eczanesi
Keçiören-Ankara

Yabancı Dili: İngilizce