

**ONKOLİTİK İLAÇ AKTİF
MADDESİ İBRUTİNİB İÇİN YENİ
SENTEZ YÖNTEMİ GELİŞTİRİLMESİ**

Büşra ÖZTÜRK AYDIN

Doktora Tezi

Kimya Anabilim Dalı

Organik Kimya Bilim Dalı

Prof. Dr. Ramazan ALTUNDAŞ

2019

Her hakkı saklıdır

**ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

DOKTORA TEZİ

**ONKOLİTİK İLAÇ AKTİF MADDESİ İBRUTİNİB İÇİN YENİ
SENTEZ YÖNTEMİ GELİŞTİRİLMESİ**

Büşra ÖZTÜRK AYDIN

**KİMYA ANABİLİM DALI
Organik Kimya Bilim Dalı**

**ERZURUM
2019**

Her hakkı saklıdır



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



TEZ ONAY FORMU

ONKOLİTİK İLAÇ AKTİF MADDESİ İBRUTİNİB İÇİN YENİ SENTEZ YÖNTEMİ
GELİŞTİRİLMESİ

Prof. Dr. Ramazan ALTUNDAŞ danışmanlığında, Büşra ÖZTÜRK AYDIN tarafından hazırlanan bu çalışma 01/02/2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Kimya Anabilim Dalı – Organik Kimya Bilim Dalı’nda Doktora tezi olarak ~~oybirliği/oy çokluğu~~ (.../...) ile kabul edilmiştir.

Başkan: Prof. Dr. Hasan SEÇEN

İmza : 

Üye : Prof. Dr. Ramazan ALTUNDAŞ

İmza : 


Üye : Doç. Dr. Serdar BURMAOĞLU

İmza : 

Üye : Doç. Dr. Melda ŞİŞECİOĞLU

İmza : 

Üye : Dr. Öğr. Üyesi M. Fatih POLAT

İmza : 

Yukarıdaki sonuç;

Enstitü Yönetim Kurulu 28.02.2019 tarih ve 10.109 nolu kararı ile onaylanmıştır.


Prof. Dr. Mehmet KARAKAN
Enstitü Müdürü

Bu çalışma SANTEZ projeleri kapsamında desteklenmiştir.
Proje No: 0992.STZ.2015

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaklardan yapılan bildiriş, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZET

Doktora Tezi

ONKOLİTİK İLAÇ AKTİF MADDESİ İBRUTİNİB İÇİN YENİ SENTEZ YÖNTEMİ GELİŞTİRİLMESİ

Büşra ÖZTÜRK AYDIN

Atatürk Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı
Organik Kimya Bilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Ramazan ALTUNDAŞ

Aktif maddesi ibrutinib olan Imbruvica®, MCL (mantle cell lymphoma), CLL (chronic lymphocytic leukemia) ve WM (Waldenström's macroglobulinemia) kanser türleri için geliştirilmiş ve FDA tarafından onaylanmıştır. İbrutinib ülkemize ithalatla tedarik edilmektedir. Bu tezin amacı İbrutinib için mevcut patentleri ihlal etmeyen yeni bir sentez yönteminin geliştirilmesi ve makro ölçüğe uygulanabilirlik açısından metodun optimizasyonudur. Bu amaçla ilk olarak 4-fenoksibenzoik asit ve malononitrilin kondenzasyonu ile 2-(hidroksi(4-fenoksifenil))metilen malononitril elde edildi ve takiben elde edilen ürün MsCl ile muamele edilerek ilgili mesilat esterine dönüştürüldü. Mesilat esterinin $\text{NH}_2\text{NH}_2 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ ile muamelesi ile 5-amino-3-(4-fenoksifenil)-1H-pirazol-4-karbonitril elde edildi ve bu bileşiğin de formamit ile kondenzasyonu ile 3-(4-fenoksifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amin sentezlendi. Pirazolopirimidin'in (S)-1-Boc-piperidin-3-ol metansülfonat ile süstitüsüyonu ile (R)-1-(1-Boc-piperidin-3-il)-3-(4-fenoksifenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amin elde edildi. Bu üründen Boc grubunun HCl/dioksan ile uzaklaştırılması ile elde edilen amin hidroklorür, DİPEA ve akrilolil klorür ile reaksiyona sokularak hedef bileşik olan İbrutinib'e ulaşıldı. Ayrıca, heterojen katalizör olarak G-Ni/Pd kullanılarak gerçekleştirilen Suzuki kenetleme reaksiyonlarıyla ibrutinib sentezlerinin iki ara kademe ürünü için kısa ve yüksek verimli sentez yöntemleri geliştirildi.

2019, 122 sayfa

Anahtar Kelimeler: İbrutinib, Lenfoma, BTK, heterojen katalizör

ABSTRACT

PhD Thesis

DEVELOPMENT OF NEW SYNTHETIC METHOD FOR ONCOLITIC ACTIVE PHARMACEUTICAL INGREDIENT IBRUTINIB

Büşra ÖZTÜRK AYDIN

Atatürk University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Chemistry
Organic Chemistry Division

Supervisor: Prof. Dr. Ramazan ALTUNDAŞ

Imbruvica®, containing ibrutinib as an active substance, was developed for the cancer types MCL (mantle cell lymphoma), CLL (chronic lymphocytic leukemia) and WM (Waldenström's macroglobulinemia) and approved by the FDA. Ibrutinib is supplied with imports in our country. The aim of this PhD thesis is to develop a new synthetic method which does not violate existing patents for Ibrutinib and to optimize the method in terms of applicability to the macro scale. For this purpose, firstly 2-(hydroxy(4-phenoxyphenyl)methylene malononitrile was obtained from the condensation of 4-phenoxybenzoic acid and malononitrile and then was converted to the corresponding mesylate ester by treatment with MsCl. Treatment of the mesylate ester with $\text{NH}_2\text{NH}_2 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ gave 3-(4-phenoxyphenyl)-1H-pyrazolo-4-carbonitrile which was converted to 3-(4-phenoxyphenyl)-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidine-4-amine by condensation with formamide. Substitution of the pyrazolopyrimidine with (S)-1-Boc-piperidin-3-ol methanesulfonate afforded (R)-1-(1-Boc-piperidin-3-yl)-3-(4-phenoxyphenyl)-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidine-4-amine. The amine hydrochloride obtained by removal of the Boc group with HCl/ dioxane was reacted with DIPEA and acryloyl chloride to give the target compound, Ibrutinib. Furthermore, a short and efficient preparation method was performed for two key intermediate products of ibrutinib synthesis by Suzuki coupling reactions using G-Ni / Pd as heterogeneous catalysts.

2019, 122 pages

Keywords: Ibrutinib, Lymphoma, BTK, heterogeneous catalyst

TEŞEKKÜR

Doktora tezi olarak sunduğum bu çalışma SAN-TEZ (Proje No: 0992.STZ.2015) tarafından desteklenmiş olup Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü'nde Sayın Prof. Dr. Ramazan ALTUNDAŞ danışmanlığında gerçekleştirilmiştir. Çalışmalarım boyunca kararlılığı ve çalışma azmiyle her türlü desteği vererek beni bu yolda yalnız bırakmayan Sayın Prof. Dr. Ramazan ALTUNDAŞ'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Tez çalışmalarım boyunca sürekli yardımlarını gördüğüm, bizlerden güler yüzü ve desteklerini esirgemeyen saygıdeğer hocam Sayın Prof. Dr. Hasan SEÇEN'e teşekkürlerimi sunarım.

Laboratuvarda aile sıcaklığıyla çalışmamızı sağlayan ve destekleriyle çalışmalarımı yürütmemde büyük rolü olan değerli hocam Sayın Doç. Dr. Serdar BURMAOĞLU'na teşekkür ederim. Çalışma disipliniyle bana her zaman örnek olan değerli hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Yakup GÜNEŞ'e, laboratuvarda hep desteğini gördüğüm Sayın Dr. Öğr. Üyesi Fatih POLAT'a çok teşekkür ederim. Aralarında çalışmaktan mutluluk duyduğum ve her anlamda yardımlarını gördüğüm kıymetli arkadaşlarım Sayın Dr. Öğr. Üyesi Derya AKTAŞ ANIL'a, Dr. Emine YURTOĞLU'na, Nejat ARÇELİK'e, Sakine BAYSAL'a, Ali Osman YILMAZ'a, Büşra Nur AYDIN'a, Arzu GÖBEK'e, Ülkü ÇAYKÖYLÜ'ye, Gökçen AKINALP'e ve Şeyda ÖZCAN'a teşekkür ederim. Ayrıca aralarında çalışmaktan mutluluk duyduğum Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü elemanlarına ve NMR spektrumlarının alınmasında ve yorumlanmasında göstermiş oldukları özverili çalışmalardan dolayı Sayın Prof. Dr. Cavit KAZAZ ve Sayın Uzman Barış ANIL'a teşekkür ederim.

Hayatım boyunca en büyük destekçilerim olan ve beni hiç yalnız bırakmayan canım annem ve babama; her daim yanımda olan canım kardeşlerim Fatih, Melike, Sevda ve Muhammet Emin'e sonsuz teşekkür ederim. Çalışmalarım boyunca her zaman yanımda olan ve desteğini hep hissettiğim kıymetli eşim Dursun AYDIN'a ve ailesine teşekkür ederim.

Büşra ÖZTÜRK AYDIN

Şubat, 2019

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	9
2.1. Amaç	36
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	38
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	72
5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	89
5.1. Sonuç	98
KAYNAKLAR	101
EKLER	104
ÖZGEÇMİŞ	123

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

CDI	: 1,1'-Carbonyldiimidazole
COCl ₂	: Okzalil klorür
DBU	: 1,8-diazabisiklo[5.4.0]undeka-7-en
DCC	: N,N'-Disikloloheksilkarbodiimit
DEAD	: Dietilazodikarboksilat
DIAD	: Diizopropilazodikarboksilat
DIPEA	: Diizopropiletilamin
DMAP	: 4-Dimetil amino piridin
EDCI	: N-Etil-N'-(3-dimetilaminopropil)karbodiimit hidroklorür
G-Ni/Pd	: Grafene tutturulmuş Nikel/Palladyum nanokatalizörü
HATU	: 1-[Bis(dimetillamino)metilen]-1H-1,2,3-triazolo[4,5-b]piridinyum 3-oksit heksaflorofosfat
MsCl	: Mesitilklorür
NH ₂ NH ₂ .xH ₂ O	: Hidrazin hidrat
NIS	: N-iyodo süksinimid
Ph ₃ PO	: Trifenilfosfinoksit
POCl ₃	: Fosforil klorür
PPh ₃	: Trifenilfosfin
SOCl ₂	: Tiyonil klorür
TFA	: Trifloro asetik asit
TsCl	: Tosil klorür

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. BTK'nın tersinir inhibitörleri	6
Şekil 1.2. BTK'ya kovalent bağlanan inhibitörler	7
Şekil 2.1. Antipirin'in yapısı.....	10
Şekil 2.2. Pirazol (10)'un yapısı	10
Şekil 2.3. 1,3 dion bileşiklerinden pirazol sentezi	11
Şekil 2.4. α,β -Doymamış karbonil bileşiklerden sübtitüye pirazol sentezi	11
Şekil 2.5. [3 + 2] siklokatılma reaksiyonu ile sübtitüye pirazol sentezi.....	11
Şekil 2.6. Flavonlardan pirazol sentezi	12
Şekil 2.7. Tiyoamidlerden pirazol sentezi	12
Şekil 2.8. Pirazol birimi içeren ilaçlar	13
Şekil 2.9. Amino pirazolün genel sentezi	13
Şekil 2.10. Aril halojenürlerden çıkılarak 5-amino-4-siyano-1-arilpirazollerin sentezi.	14
Şekil 2.11. Pürin bazlarının genel yapısı	15
Şekil 2.12. Adenin'in yapısı.....	15
Şekil 2.13. Pirazolopirimidin'in yapısı	15
Şekil 2.14. PP1 ve PP2'nin yapısı.....	16
Şekil 2.15. BTK kovalent inhibitörleri	18
Şekil 2.16. 4-Fenoksi benzoil klorürden çıkılarak ibrutinib (6)'in sentezi.....	19
Şekil 2.17. İyodopirazolopirimidin'den çıkılarak ibrutinib'in sentezi.....	20
Şekil 2.18. Pirazolopirimidin'den çıkılarak ibrutinib'in sentezi.....	21
Şekil 2.19. İbrutinib (6) molekülünün genel birimleri.....	22
Şekil 2.20. Amit grubu içeren pirazolopirimidin türevlerinin genel sentezi.....	26
Şekil 2.21. Amit grubu içeren pirazolopirimidin türevlerinin R ₁ grubu değiştirilerek sentezi.....	26
Şekil 2.22. Bakır katalizörlüğünde sentezlenen bazı pirazolopirimidin türevleri.....	28
Şekil 2.23. Trisiklik yapıda sentezlenen bazı pirazolopirimidin türevleri.....	29
Şekil 2.24. BTK'ya karşı test edilen trisiklik yapılar.....	29
Şekil 2.25. R ¹ grubu değiştirilen türevlerin genel yapısı.....	30

Şekil 2.26. BTK'ya karşı test edilen R ² grubu değiştirilerek S enantiyomerin genel yapısı	32
Şekil 2.27. Flor içeren bazı pirazolopirimidin türevleri ve BTK için nm seviyede IC ₅₀ değerleri.....	35
Şekil 2.28. İbrutinib'in yapısı	36
Şekil 2.29. 6'nın sentezi.....	37
Şekil 3.1. 43'ün sentezi.....	38
Şekil 3.2. 43'ün sentezi.....	39
Şekil 3.3. 43'ün sentezi.....	41
Şekil 3.4. 46'nın reaksiyon mekanizması	42
Şekil 3.5. 46'nın sentezi.....	43
Şekil 3.6. 46'nın sentezi.....	44
Şekil 3.7. 46'nın sentezi.....	45
Şekil 3.8. 166'dan çıkılarak 46'nın sentezi.....	46
Şekil 3.9. 181'den 182'nin sentezi.....	47
Şekil 3.9. 181'den 183'ün sentezi.....	48
Şekil 3.11. 46'dan 183'ün sentezi.....	49
Şekil 3.12. 49'un sentezi.....	50
Şekil 3.13. 51'in sentezi.....	51
Şekil 3.14. 51'in sentezi.....	53
Şekil 3.15. 55'in sentezi.....	55
Şekil 3.16. 6'nın sentezi.....	56
Şekil 3.17. 6'nın sentezi.....	57
Şekil 3.18. 6'nın sentezi.....	58
Şekil 3.19. 187'nin sentezi.....	59
Şekil 3.20. 6'nın sentezi.....	60
Şekil 3.21. 6'nın sentezi.....	61
Şekil 3.22. 6'nın sentezi.....	62
Şekil 3.23. 6'nın sentezi.....	63
Şekil 3.24. 187'nin sentezi.....	64
Şekil 3.25. 6'nın sentezi.....	65
Şekil 3.26. 6'nın sentezi.....	66

Şekil 3.27. 188'in sentezi.....	67
Şekil 3.28. 49'un sentezi.....	68
Şekil 3.29. 54'ün sentezi.....	69
Şekil 3.30. 51'in sentezi.....	70
Şekil 3.31. 190, 192, 194, 196'nın sentezi.....	71
Şekil 5.1. 43'ün sentezi.....	89
Şekil 5.2. 46'nın oluşum mekanizması.....	90
Şekil 5.3. 46'nın sentezi.....	91
Şekil 5.4. 49'un sentezi.....	92
Şekil 5.5. 49'un sentezi.....	93
Şekil 5.6. 51'in sentezi.....	94
Şekil 5.7. 6'nın sentezi.....	95
Şekil 5.8. 49'un sentezi.....	96
Şekil 5.9. 54'ün sentezi.....	96
Şekil 5.10. 190, 192, 194 ve 196'nın sentezi.....	97

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. R ¹ ve R ² grubu değiştirilerek sentezlenen moleküller	22
Çizelge 2.2. R ¹ grubu değiştirilerek sentezlenen moleküller	24
Çizelge 2.3. R ¹ ve R ³ grubu değiştirilerek sentezlenen moleküller	24
Çizelge 2.4. Amit grubu içeren pirazolopirimidin türevlerinin ITK'ya karşı IC ₅₀ değerleri.....	27
Çizelge 2.5. Trisiklik yapıda sentezlenen R ¹ grubu değiştirilen türevleri ve BTK inhibisyon değerleri.....	30
Çizelge 2.6. Trisiklik yapıda konfigürasyonu değiştirilen türevleri ve BTK inhibisyon değerleri.....	31
Çizelge 2.7. R ² grubu değiştirilen türevler ve BTK inhibisyon değerleri	32
Çizelge 3.1. 43'ün sentezinde kullanılan reaksiyon şartları	40
Çizelge 3.2. 43'ün sentezinde kullanılan reaksiyon şartları	41
Çizelge 3.3. 46'nın sentezinde kullanılan reaksiyon şartları	43
Çizelge 3.4. 46'nın sentezinde kullanılan reaksiyon şartları	44
Çizelge 3.5. 46'nın sentezinde kullanılan reaksiyon şartları	45
Çizelge 3.6. 46'nın yüksek ölçekli sentezinde kullanılan reaksiyon şartları	46
Çizelge 3.7. 185'in sentezinde uygulanan reaksiyon şartları.....	49
Çizelge 3.8. 49'un yüksek ölçekli sentezinde kullanılan reaksiyon şartları	50
Çizelge 3.9. 51'in sentezinde kullanılan reaksiyon şartları	52
Çizelge 3.10. 51'in sentezinde kullanılan reaksiyon şartları	53
Çizelge 3.11. 55'in sentezinde kullanılan reaksiyon şartları	55
Çizelge 3.12. 6'nın sentezinde kullanılan reaksiyon şartları	56
Çizelge 3.13. 6'nın sentezinde kullanılan reaksiyon şartları	57
Çizelge 3.14. 6'nın sentezinde kullanılan reaksiyon şartları	58
Çizelge 3.17. 6'nın sentezinde kullanılan reaksiyon şartları	61
Çizelge 3.18. 6'nın sentezinde kullanılan reaksiyon şartları	62
Çizelge 3.19. 6'nın sentezinde kullanılan reaksiyon şartları	63
Çizelge 3.20. 187'nin sentezinde kullanılan reaksiyon şartları	64

Çizelge 3.21. 6' nın sentezinde kullanılan reaksiyon şartları	65
Çizelge 3.22. 6' nın sentezinde kullanılan reaksiyon şartları	66
Çizelge 3.23. 188'in sentezinde kullanılan reaksiyon şartları	68
Çizelge 3.24. 49'un sentezinde kullanılan reaksiyon şartları	68
Çizelge 3.25. 54'ün sentezinde kullanılan reaksiyon şartları	69
Çizelge 3.26. 51'in sentezinde kullanılan reaksiyon şartları	70

1. GİRİŞ

Kanser, dünya genelinde ölümlerin en önemli sebeplerinin başında gelmektedir. 2015 yılında 8,8 milyon kişi kanser sebebiyle hayatını kaybetmiştir. Dünya çapında yaklaşık 6 ölümden 1'ine kanser sebep olmaktadır. Kanserden ölümlerin yaklaşık %70'i düşük ve orta gelirli ülkelerde görülür (Anonymous 2019a)

Kanser, vücut hücrelerinin kontrolsüz şekilde bölünmesiyle ortaya çıkar. Tüm kanser türlerinde, vücudun bazı hücreleri durmadan ve çevreleyen dokulara yayılarak bölünmeye başlar. Kanser, trilyonlarca hücreden oluşan insan vücudunda hemen hemen her yerde başlayabilir. Normal olarak, insan hücreleri vücudun ihtiyaç duyduğu zaman yeni hücreler oluşturmak için büyür ve bölünür. Hücreler yaşlandıkça veya hasar gördüklerinde ölür ve yeni hücreler yerini alır. Ancak kanser geliştiğinde, bu düzenli süreç bozulur. Yaşlı veya hasarlı hücreler ölmeleri gerektiğinde hayatta kalır ve ihtiyaç duyulmadığında hücreler bölünür. Bu hücreler durmadan bölünebilir ve tümör olarak adlandırılan kitleler oluşturur. Birçok kanser türü, doku kitlesi olan katı tümörleri oluşturur. Lenfoma gibi kan kanseri türleri genellikle katı tümörler oluşturmaz (Anonymous 2019b).

100'den fazla kanser türü vardır. Kanser türleri genellikle kanserlerin olduğu organ veya dokular için adlandırılır. Örneğin, akciğer kanseri, akciğer hücrelerinde başlar veya beyin kanseri, beyin hücrelerinde başlar.

Kanser tedavisinde hastalığın ilerleme boyutuna göre ilaçla tedavi oldukça sık kullanılır. Bu tezin konusu kapsamında sentezlenen ilaç aktif maddesi (API) İbrutinib, son yıllarda kanser hastalığının tedavisi için kullanıma girmiş en yeni protein kinaz inhibitörlerinden birisidir.

İbrutinib 2013 yılında ABD’de MCL (Mantle Hücreli Lenfoma) ve CLL (Kronik Lenfositik Lenfoma) için 2015 başında ise WM (Waldenström’s Makroglobulinemi) için FDA tarafından onaylanmıştır. Lenfoma, lenfosit denen beyaz kan hücresinden ortaya çıkan birçok kanser tipinin genel adıdır. Bu kanser tipi katı tümörler oluşturmaz. Bunun yerine kanda anormal sayıda beyaz kan hücresi (kemik iliğinde) yapılır ve bu normal kan hücrelerini sıkıştırıp dışlar. Normal kan hücrelerinin kandaki seviyesinin düşmesi ise dokulara oksijen götürmeyi, kanamaları kontrol etmeyi, enfeksiyonlarla savaşmayı zorlaştırır (Anonymous 2019c).

Lösemi ne kadar hızlı geliştiği ve hangi tipte hücrede bulunduğu (miyeloid ve lenfoid) göre iki şekilde gruplandırılmıştır.

1) Akut lenfoblastik lösemi olarak da adlandırılan akut lenfositik lenfoma (ALL), kemik iliğinde lenfositler denilen beyaz kan hücrelerinin henüz olgunlaşmamış döneminde (immatür) başlayan bir kanserdir. “Akut” terimi, lösemnin hızla ilerleyebileceği ve tedavi edilmediği takdirde birkaç ay içinde muhtemelen ölümcül olabileceği anlamına gelir.

Lösemi hücreleri genellikle kanı oldukça hızlı bir şekilde istila eder. Daha sonra lenf düğümleri, karaciğer, dalak, merkezi sinir sistemi (beyin ve omurilik) ve testisler (erkeklerde) dahil olmak üzere vücudun diğer bölgelerine yayılabilirler. Diğer kanser türleri de bu organlarda başlayabilir ve daha sonra kemik iliğine yayılabilir, ancak bu kanser türleri lösemi değildir (Anonymous 2019d).

2) Kronik lösemi anormal beyaz kan hücrelerinin artmasıdır. Kronik lösemi yavaş yavaş gelişir. Erken belirtiler hafif olabilir ve fark edilmeyebilir. Akut lösemi hızla gelişir. Bunun nedeni kanserli hücrelerin hızlı çoğalmasıdır. Kronik lenfoma rutin bir kan testinden sonra teşhis edilir. Akut lösemiden farklıdır ve miyeloid veya lenfositik olarak sınıflandırılır.

Kronik miyeloid lösemi (KML) ayrıca kronik miyelojenöz lösemi olarak da bilinir. KML, kemik iliğinin belirli kan hücrelerinde başlayan bir tür kanserdir. KML'de, miyeloid hücrelerin erken (olgunlaşmamış) bir versiyonunda, kırmızı kan hücrelerini, trombositleri ve çoğu tipte beyaz kan hücrelerini (lenfositler hariç) yapan hücrelerde bir genetik modifikasyon gerçekleşir. Bu değişiklik, hücreyi bir KML hücresine dönüştüren BCR-ABL denilen anormal bir gen oluşturur. Lösemi hücreleri büyür ve bölünür, kemik iliğinde birikerek kan içine dökülür. Zamanla, hücreler dalak da dahil olmak üzere vücudun diğer kısımlarına yerleşebilir. KML oldukça yavaş büyüyen bir lösemidir, ancak tedavi edilmesi zor olan hızlı büyüyen akut lösemiye dönüşebilir. KML çoğunlukla erişkinlerde görülür, ancak çok nadiren de çocuklarda görülür. Genel olarak, tedavi yetişkinler için aynıdır (Anonymous 2019e).

Kronik lenfositik lösemi (CLL), kemik iliğinin çok fazla lenfosit (bir tür beyaz kan hücresi) oluşturduğu bir kanser türüdür. Kanser hücreleri kemik iliğinde başlar ve daha sonra kana karışır. Kronik lenfositik lösemide kanser hücreleri diğer kanser türlerinde olduğu gibi hızla bölünerek yayılmaz. Kanser hücreleri çoğu zaman yavaş yavaş çoğalır ve birçok insanda en az birkaç yıl hiçbir belirtisi gözlenmez. Daha sonra lenf düğümlerinde ağrılı olmayan şişlik, yorgun hissetme, ateş veya kilo kaybı net bir nedenden dolayı ortaya çıkabilir. Lenfoma üç tip lenfositin herhangi birinde ortaya çıkabilir: B lenfositleri (B hücreleri), T lenfositleri (T hücreleri) ve doğal öldürücü (NK) hücreler. B lenfositleri enfeksiyonlarla savaşmak için antikolar yapar; T lenfositleri enfeksiyonlarla savaşmaya ve erken teşhis edilen kanser hücrelerine saldırmaya yardım eder. Ayrıca kanser hücrelerine saldıran ve virüsleri yok eden doğal öldürücü hücrelerdir. B hücreli lenfomalar, T hücreli lenfomalardan daha yaygındır. Örneğin lenf düğümleri (vücudun her yerinde bulunan küçük fasülye şeklindeki yapılar), dalak ve bademcikler gibi lenfatik sistem içerisinde lenfositler bulunur (Anonymous 2019f).

Lenfoma; Hodgkin lenfoma (HL) ve non-Hodgkin lenfoma (NHL) olmak üzere ikiye ayrılır. Mantle hücre lenfoması (MCL) NHL'nin yaklaşık 70 farklı alt tipinden biridir. Hastalığa "manto hücreli lenfoma" denir. Çünkü kanser hücreleri lenfin "manto bölgesi" denilen bölümünde görülür. Mantle hücre lenfoması, vücudun bağışıklık sisteminin bir

parçası olan lenfositler adı verilen beyaz kan hücrelerinde başlayan bir kanser türüdür. Lenfositler lenf düğümlerinde ve diğer lenfoid dokularda bulunur. B lenfosit kontrolsüz bir şekilde büyür ve birikir. Sonuçta lenfoma hücrelerinin birikiminde lenf düğümlerinin genişlemesine neden olur. Bazen, bu lenfler çok büyük olur. MCL hücreleri vücudun farklı bölgelerine (lenfatik kanallar, kan, kemik iliği, karaciğer ve diğer lenf düğümleri) doğru yayılırlar. Mantle hücresi lenfoması, tanı konulduğunda genellikle ilerlemiş olur ve çoğu zaman tedaviye iyi cevap vermez. Bunu tedavi etmek için ilaç önemlidir, çünkü şu anda mevcut olan birkaç etkili tedavi vardır. Hastalık çoğunlukla 60 ila 70 yaşlarındaki erkeklerde görülmektedir (Vose 2017).

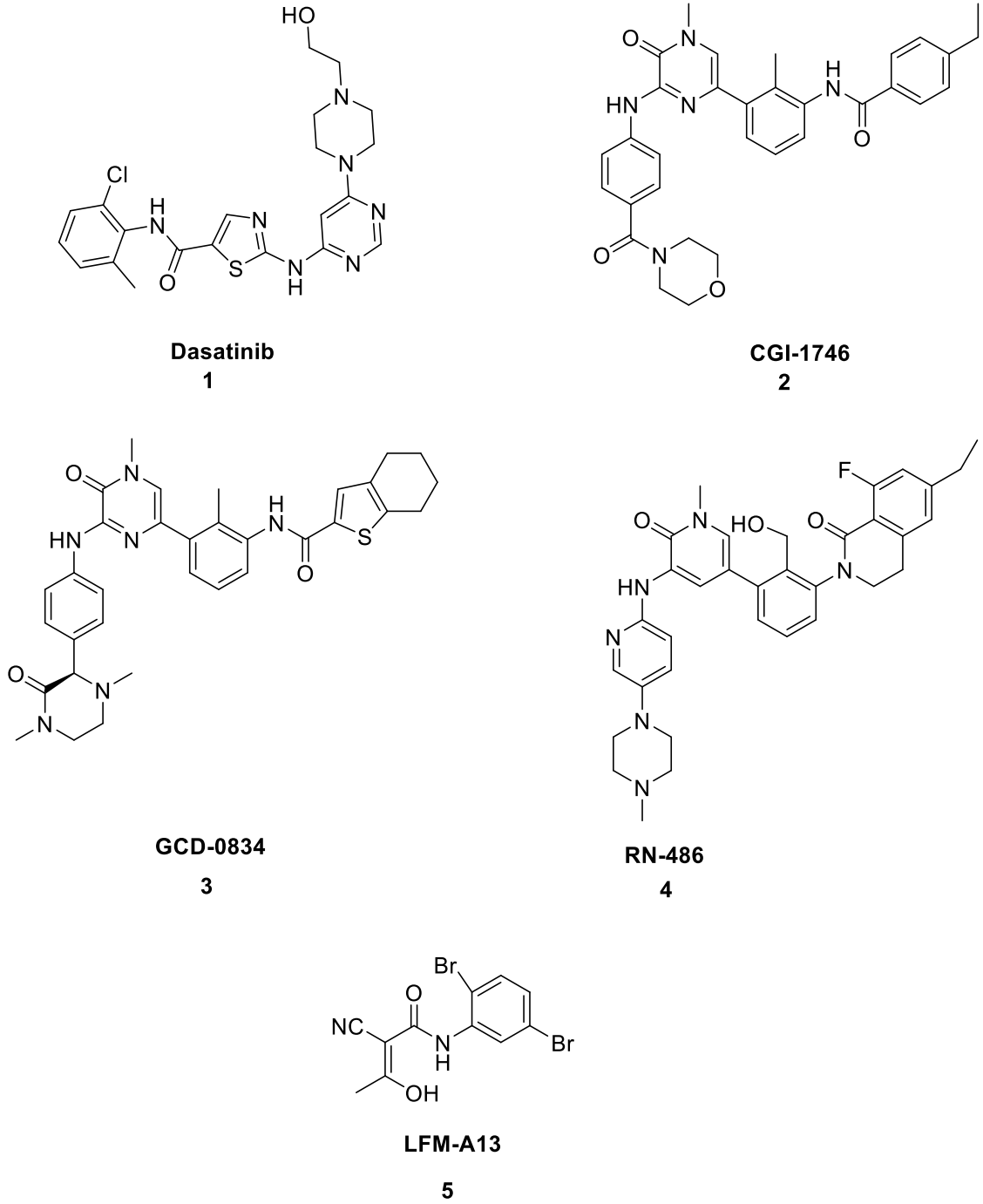
Waldenstrom makroglobulinemi (WM), non-Hodgkin lenfoma tipidir (NHL). Kanser hücreleri büyük miktarlarda anormal bir protein (makroglobulin) yapar. WM için başka bir isim de lenfoplazmatiktoid lenfomadır. WM, B hücrelerinde başlayan bir kanserdir. WM hücreleri tarafından yapılan her antikor (protein) aynıdır, bu yüzden bir monoklonal protein veya sadece bir M proteini olarak adlandırılır. Bu M proteininin vücutta birikmesi aşırı kanama, görme sorunları ve sinir sistemi sorunlarına neden olabilir. WM hücreleri, farklı kan hücrelerini yapan normal hücreleri birbirine bağlayarak kemik iliğinde büyür. Bu, insanları yorgun ve zayıf hissettiren kırmızı kan hücresinin seviyesinin azalmasına (anemi) yol açar. Aynı zamanda, normal beyaz kan hücresinin oluşumun azalmasına sebep olur ve vücudun enfeksiyonlarla savaşını zorlaştırır. Kandaki trombosit sayısı da düşer kanama ve morarmalara sebep olur. Lenfoma hücreleri aynı zamanda karaciğer ve dalak gibi organlarda büyüyebilir, bu organların şişmesinin ardından karın ağrısı görülür. WM'li kişilerdeki kanser hücreleri çoklu miyelom ve non-Hodgkin lenfomadaki iki kanser türüne benzer.

Proteinlerin tersinir fosforilasyonu prokaryot ve ökaryotlarda görülen önemli bir düzenleyici mekanizmadır. Protein kinaz ve fosfataz denen enzimler bu düzenleme sürecinin fosforilasyon ve defosforilasyon kısımlarında rol oynarlar. Fosforilasyon ve defosforilasyon sonucu çoğu enzim ve reseptörün yapısında konformasyon değişimi olur, bunun sonucu bunlar ya aktifleşir veya inaktifleşir. Protein kinazlar, sinyal iletimi sırasında protein fosforilasyonunu/aktivasyonunu sağlarlar. Protein kinazların sürekli

aktivasyonları ve onkojenik sinyal iletimi; transformasyon, tümör büyümesi, motilite ve invazyon artışı ile anjiyogenez gibi malign fenotipe özgü hücrel olayları hızlandırmaktadır. Bu nedenle protein kinaz inhibitörleri kanser türlerinin tedavisinde önemli birer terapötik (tedavi edici) hedef haline gelmiştir (Taylor and Kornev 2011).

Vücutta hücrelerin gelişim kontrolü, göçü ve mutasyonlarından sorumlu olan enzim protein kinaz ailesinden bir tirozin kinaz olan Bruton tirozin kinaz tarafından gerçekleştirilir. Bruton tirozin kinaz (BTK) Tec kinaz ailesine bağlı reseptör olmayan bir tirozin kinazdır ve B hücresi reseptörü (BCR) sinyallemede merkezi bir rol oynar. BCR aktivasyonu, BTK Lyn ve Spleen Tirozin Kinaz (SYK) gibi diğer tirozin kinazlar (B-hücrelerinin farklılaşma ve çoğalması için gerekli transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonuna sebep olan) aktive olur. BTK, T hücreleri veya normal plazma hücreleri dışındaki hematopoietik hücrelerde özellikle B hücrelerinde ifade edilir. BTK, B hücre gelişimi için kritik öneme sahiptir. B hücre gelişimi ve fonksiyonundaki önemli rolü nedeniyle BTK, küçük molekülü inhibitörler ve çeşitli hastalıklarda uygulama ile ilaç geliştirme hedefi olmuştur (Burger and Buggy 2013).

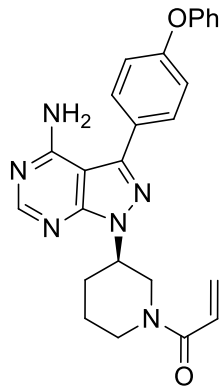
1990'larda BTK'nın keşfinden bu yana, birçok BTK inhibitörü geliştirilmiştir. Bu inhibitörler tersinir inhibitörler ve kovalent bağlı inhibitörler olmak üzere 2 ana sınıfa ayrılmaktadır (Li, Zuo *et al.* 2014).



Şekil 1.1. BTK'nın tersinir inhibitörleri

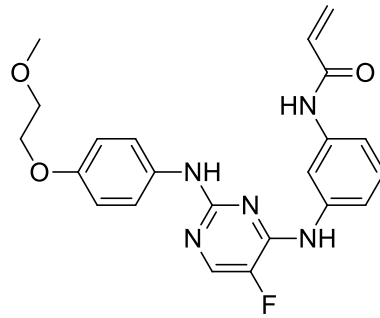
LFM-A13, dasatinib, CGI-1746, GDC-0834 ve RN-4869 BTK'nın tersinir inhibitörleridir. Bu inhibitörler, çoklu hayvan modellerinde uygulanmış ve bağışıklık bozuklukları için güçlü etkiler göstermiştir (Şekil 1.1).

Hem tersinir hemde tersinir olmayan inhibitörler, BTK'nın ATP-bağlama bölgesinde bulunan bir sistein kalıntısı (Cys481) ile etkileşime girer. Fakat BTK tersinmez inhibitörler tersinir inhibitörlerden farklı olarak uzun bir ilaç-hedef kalma süresi, farmakokinetik ve farmakodinamik özelliklerin ayrıştırılması gibi benzersiz özelliklere sahiptir.



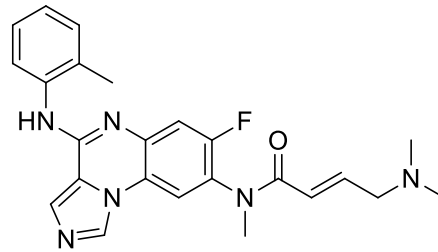
Ibrutinib

6



CC-292

7



Imidazoquinoxaline

8

Şekil 1.2. BTK'ya kovalent bağlanan inhibitörler

İbrutinib, CC-292 ve imidazoquinoxaline tersinmez kovalent bağlanan BTK inhibitörlerinin ilk örnekleridir (Li, Zuo *et al.* 2014).

2007'de Celera Genomics firması tarafından, BTK'nın ATP'ye bağlanmasıyla (Cys-481'e geri dönüşümsüz kovalent bağlanma yoluyla) BTK'yı etkisiz hale getiren bir dizi küçük molekülün oluşturulması için yapıya dayalı çalışma rapor edildi. Bu bileşik

dizisinin araştırılması, BTK'ya geri dönüşümlü bağlanan 1-siklopentil-4-aminopirazolo [3,4-d] pirimidin çekirdek yapısı ile başladı ve Src ailesi kinazlarına karşı yüksek aktivite sağlayan difenil eter ile desteklendi. Siklopentil, 3-piperidil ile değiştirildi, daha sonra bir akrilamid ile süstitüe edildi. Bu da BTK'daki hedef Cys-481'e kovalent bağlanma için bir Michael akseptörü olarak işlev görmesine sebep oldu (Burger and Buggy 2013).

İbrutinib son yıllarda kanser hastalığının tedavisi için kullanıma girmiş en yeni protein kinaz inhibitörlerinden biridir (Li, Zuo, *et al.* 2014). Lenf kanserinin çoğalmasını ve yayılmasını kontrol eden ve lenfomaların %80-85'inin kaynağı olan BTK'yı bloke etmektedir. İbrutinib BTK'ya kovalent olarak kalıcı bir şekilde bağlanarak inhibisyon sağlamaktadır. Bu özelliği ile sınıfında ilktir. İbrutinib, kanserin büyümesi için ihtiyaç duyulan hücresel değişikliklerin ve sinyallerin belirli kısımlarını keserek çalışan bir tür hedefli tedavidir. Şu ana kadar oluşan yan etkiler, çoğu standart kemoterapi ilacından daha az şiddetli olmuştur.

İbrutinib, aktif madde ya da bitmiş ürün olarak ülkemizde üretilmemekte; İbrutinib içeren nihai ürün "Imbruvica (140 mg kapsül)" ülkemize ithal olarak tedarik edilmektedir. Tez sonucunda elde edilen ürün, ülkemize ekonomik ve stratejik üstünlük ile rekabet avantajı sağlayacaktır. Ayrıca, ürünün projenin ülkemizin ilaç aktif maddeleri açısından dışa bağımlılığını azaltıcı yönde etkileri olacaktır. Ülkemize ithal edilen ilaçlar ve ilaç aktif maddeleri, sağlık harcamalarında önemli derecede artışa neden olmaktadır. Bu nedenle, ilaç aktif maddelerinin Türkiye'de üretimi çok önemlidir. İbrutinib şu ana kadar sadece iki farklı yöntemle sentezlenmiştir (Honigberg *et al.* 2009). Bu tez kapsamında, İbrutinib'in literatürde verilen yöntemlerden farklı ve etkin bir yöntemle sentezi geliştirilecektir.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

İlaç keşif endüstrisi, doğal ürünleri her zaman değerli biyoaktif moleküllerin kaynağı olarak görmektedir. 1981 ile 2002 yılları arasında ilaç endüstrisinde keşfedilen yeni kimyasal bileşiklerin %33'ünün ya doğal ürün olması ya da doğal ürünlerle ilişkili olduğu dikkat çekicidir. Bununla birlikte, ilaç keşfi programı doğal ürün esaslı kimyayı kullanmaya odaklandığında, medisinal kimyacılar sentetik anlamda ciddi zorluklarla karşılaşmaktadırlar. Biyologlar da karmaşık biyolojik aktivite tarama prosedürü ile uğraşmak zorunda kalmaktadırlar. Doğal ürünlerle çalışmanın zorlukları nedeniyle, çoğu ilaç şirketi 1980'lerden bu yana bu alandaki çabalarını azaltmıştır. Sentetik kombinatoryal kimyanın gelişimi bu azalmaya katkıda bulunmuştur (Kombarov *et al.* 2010).

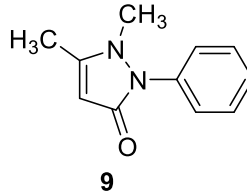
İlaç kimyası tarihi boyunca, heterosiklik bileşikler ilaç keşfi için bir kemotip havuzu olarak yerini almıştır. Kolay sentezlenmesi, ilaç adayı molekülleri yapılandırmak için uygun şekilde kısıtlanmış olması ve biyolojik hedeflere iyi bağlanması aromatik heterosikliklerin araştırılmasını oldukça önemli bir hale getirmiştir (Shevchuk *et al.* 2012).

Heterosiklik bileşikler son yıllarda zirai ve beşeri ilaçların geliştirilmesinde çok önemli rol oynamıştır ve bu da heterosiklik bileşik sentezlerini oldukça önemli bir hale getirmiştir. Pirazol ve türevleri azot içeren heterosiklik bileşiklerdir ve sentezleri için çeşitli prosedürler geliştirilmiştir. Ayrıca pirazol türevleri antimikrobiyal, anti-kanser, antikonvülsan, antihistaminik, anti-inflamatuar, antipiretik, anti-enfektif, anti-virüs, anti-anksiyete, ağrı kesici, vb. gibi potansiyel, biyolojik ve farmakolojik aktiviteye sahiptir. (Li, Xu, *et al.* 2014).

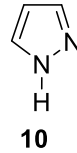
Pirazol çekirdeğini taşıyan bileşikler geniş bir spektrumda terapötik uygulama sergilemişlerdir. Çok sayıda ilaç (Lonazolac, Fipronil, Viagra, Selekoksib) tedavide sıklıkla kullanılmaktadır. Pirazoller aynı zamanda geçiş metalleri, supra moleküller ve

sıvı kristaller için temel yapı taşlarıdır. Bu özelliklerinden dolayı pirazol çekirdeklerinin sentezi ve türevlendirilmesi için çevresel olarak iyi, verimli ve pratik yaklaşımların keşfi ve bölge seçici bir şekilde uygulanması sentetik kimyada aktif bir araştırma alanı olmuştur (Zhang *et al.* 2016).

Pirazoller ve türevleri, 1884'den beri bilinmektedir. Farmasötikler ve zirai kimyasallar olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır. Bu sınıf heterosiklik bileşiklere en eski örnek antipirindir (Hanefeld *et al.* 1996). Antipirin 1884 yılında, Ludwig Knorr tarafından sentezlenmiştir. Antipirin diğer adıyla Fenazon analjezik ve antipiretikdir.



Şekil 2.1. Antipirin'in yapısı

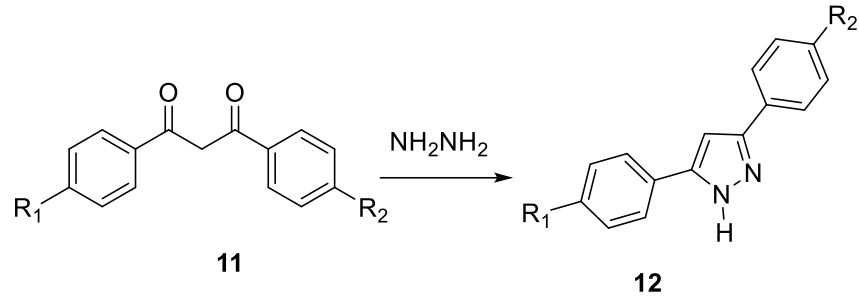


Şekil 2.2. Pirazol (10)'un yapısı

Pirazol, $C_3H_3N_2H$ formülüne sahip organik bir bileşiktir. Üç karbon atomlu ve iki bitişik azot atomuna sahip 5 üyeli bir halkadan oluşan heteroaromatik bir bileşiktir. Pirazol, pKa'sı 2.5 olan zayıf bir bazdır (Şekil 2.2).

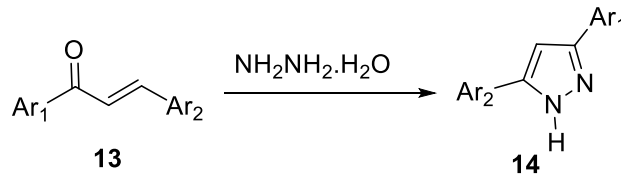
Pirazollerin elde edilmesi için en yaygın olarak kullanılan yaklaşımlar şunlardır:

1) 1,3-dionların NH_2NH_2 ile reaksiyonuyla pirazoller elde edilir (Sanchez-Carmona *et al.* 2011).



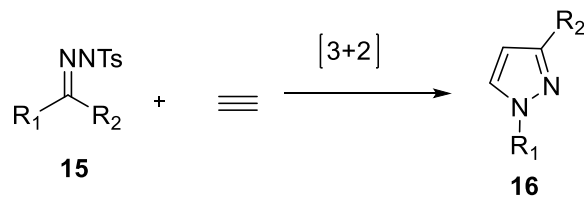
Şekil 2.3. 1,3 dion bileşiklerinden pirazol sentezi

2) 1,3-dikarbonil bileşikleri veya α,β -doymamış karbonil bileşiklerinin hidrazinlerle reaksiyona girmesiyle pirazoller elde edilir (Zhang *et al.* 2016).



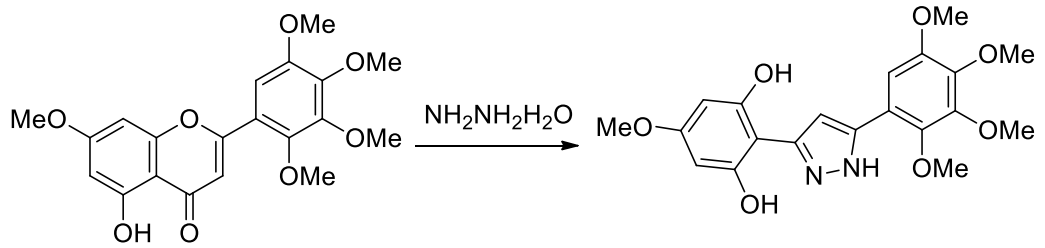
Şekil 2.4. α,β -Doymamış karbonil bileşiklerden süstitüye pirazol sentezi

3) [3 + 2] siklokatalıma reaksiyonu (1,3-dipollerin alkenlere ve alkinlere siklokatalılması) ile pirazoller elde edilir (Shao *et al.* 2014).



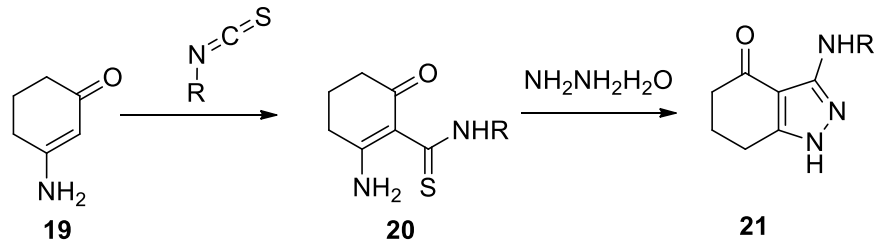
Şekil 2.5. [3 + 2] siklokatalıma reaksiyonu ile süstitüye pirazol sentezi

4) Hidrazinlerin flavonlar, kromonlar veya izoksazollere nükleofilik atakları ile pirazoller elde edilir (Kenanda and Omosa 2017).



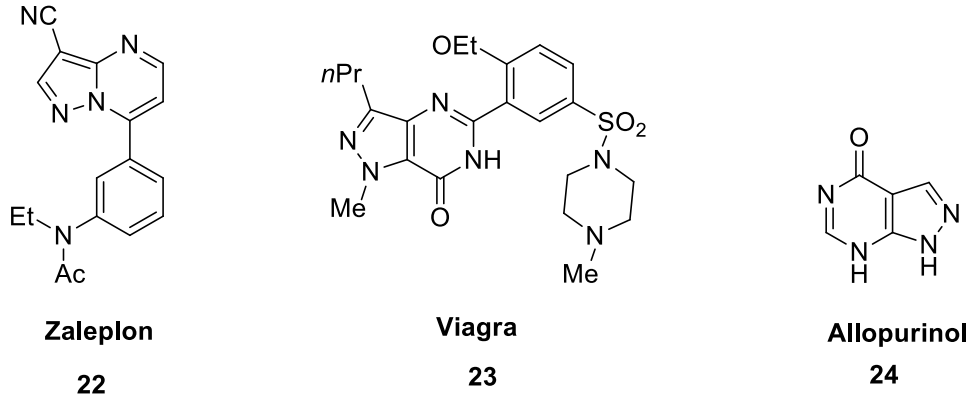
Şekil 2.6. Flavonlardan pirazol sentezi

5) Ayrıca, asidik metilen bileşiklerinin izotiyosiyanatlarla reaksiyona girmesiyle, ardından oluşan tiyoamitlerin hidrazin ile muamele edilmesiyle pirazol sentezi yapılabilmektedir (Papageorgiou *et al.* 1998).



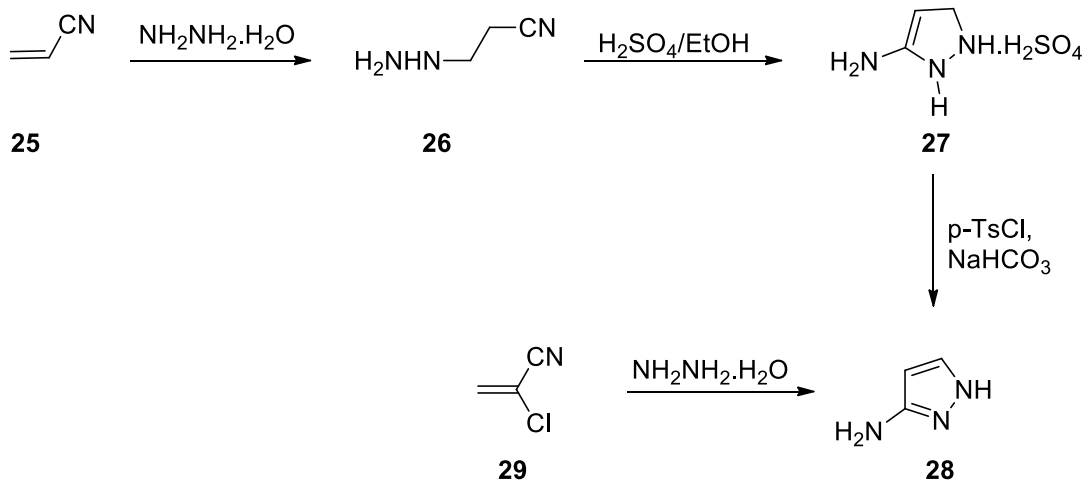
Şekil 2.7. Tiyoamitlerden pirazol sentezi

Aminopirazollerin kimyası geçmişte kapsamlı bir şekilde araştırılmıştır. Aminopirazollerin öncüleri olan pirazollerin ve azolopirazollerin önemli biyolojik aktivite göstermeleri bu araştırmaları teşvik etmiştir. Aminopirazol sentezine ve kimyaya olan ilgi yakın zamanda yeniden canlandırılmıştır. Zaleplon, Viagra ve Allopurinol'un gibi ilaçların yapılarında aminopirazol birimlerinin bulunması bu heterosiklik halkaya ilgiyi artırmaktadır (Anwar and Elnagdi 2009).



Şekil 2.8. Pirazol birimi içeren ilaçlar

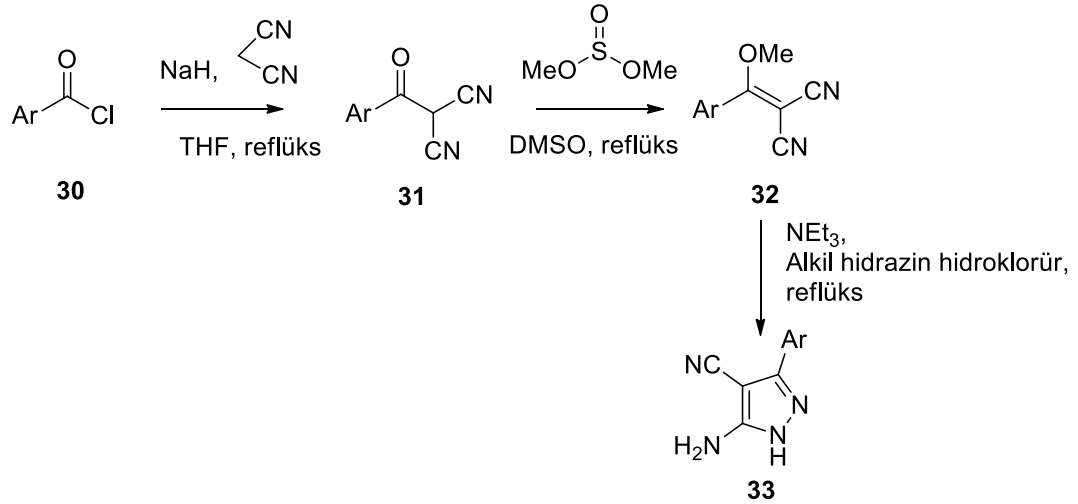
Aminopirazoller, genellikle hidrazinin α,β -doymamış nitrille reaksiyonu ve sonrasında asidik şartlarda bir dizi reaksiyon sonucunda elde edilir. Aminopirazol, akrilonitrilin **25** hidrazin hidrat ile reaksiyonundan oluşan **26**'nın asit katalizörlüğünde **27**'ye dönüştürülmesinin ardından bu bileşiğin aromataşması ile **28** sentezlenmektedir. Kloroalken nitril bileşiklerinin $\text{NH}_2\text{NH}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ile reaksiyonu ise tek kademede 3-aminopirazol (**28**) elde edilmektedir (Anwar and Elnagdi 2009) (Şekil 2.9).



Şekil 2.9. Amino pirazolün genel sentezi

5-amino-4-siyano-1-alkilpirazollerin ilk sentezinde, Claisen ve Haase tarafından geliştirilen yöntemler karşımıza çıkmaktadır. Genel olarak, 5-amino-4-

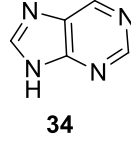
siyanopirazollerin sentezi bazı toksik kimyasallar kullanılarak üç basamakta yapılmaktadır. 3-aril-5-amino-4-siyano-1-pirazol ticari olarak temin edilebilen ariloil klorüre malononitrilin katılması ve **32**'nin daha sonra alkilhidrazinhidrathidroklorür ile reaksiyonu sonucu elde edilmiştir (Hanefeld *et al.* 1996) (Şekil 2.10).



Şekil 2.10. Aril halojenürlerden çıkılarak 5-amino-4-siyano-1-arilpirazollerin sentezi

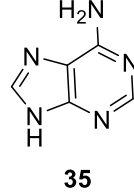
Pek çok pirazol türevi, HIV-1, pestisit, fungusit, antihipertansif ve antikanser inhibitörleri gibi organik ve biyolojik önemi nedeniyle olağanüstü bir önem kazanmış ve birçok heterosiklik sistem için değerli başlangıç maddeleri olarak kullanılmaktadır. Ayrıca, pirimidin ile kaynaşmış pirazoller olarak bilinen pirazolopirimidinler organik öneme sahiptir ve antimikrobiyal, antikanser, antiviral, anti-inflamatuar ve antihipertansif ajanlar olarak kullanılmıştır. Pirimidinler, insan vücudunda hemen her yerde bulunan moleküllerdir. Bu moleküller başta DNA ve RNA'nın yapısına katılarak çeşitli rollere hizmet eder (El Sayed *et al.* 2018).

Pirazolo [1,5-a] pirimidinler, pürin analoglarıdır ve biyokimyasal reaksiyonlarda pürin antimetabolitleri olarak yararlı özelliklere sahiptir. Pürin (**34**), heterosiklik, aromatik bir organik bileşiktir. Birbiriyle kaynaşmış imidazol ve pirimidin halkalarından oluşur. Pürin türevleri genel olarak "pürinler" olarak adlandırılır. Pürinler ve pirimidinler azotlu bazlar arasında yer alan iki gruptur (Frizzo *et al.* 2009) (Şekil 2.4).



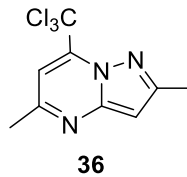
Şekil 2.11. Pürin bazlarının genel yapısı

Adenin **35** pürin türevidir bir nükleobazdır. G-C-A-T harfleriyle temsil edilen DNA'nın nükleik asidindeki dört nükleobazdan biridir. Diğer üçü guanin, sitozin ve timindir. Pürin türevleri, enerji açısından zengin adenosin trifosfat (ATP) yapısına katılır. Ayrıca kofaktörler nikotinamid adenin dinükleotid (NAD) ve flavin adenin dinükleotid (FAD)'ın yapısına katılarak, hücresel solunum da dahil olmak üzere çeşitli rollere hizmet ederler. Ayrıca protein sentezinde ve DNA ve RNA'nın kimyasal bir bileşeni olarak fonksiyonları vardır. Adenin, DNA'daki timin veya RNA'daki urasil için tamamlayıcı nükleobazdır.



Şekil 2.12. Adenin'in yapısı

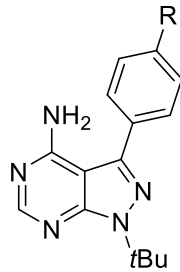
DNA bazlarından adenine benzerliğiyle dikkatleri üzerine çeken pirazolopirimidin halkası üzerinde de oldukça çok araştırma yapılmıştır. Pirazolopirimidin iskeletine sahip bir dizi bileşik sentezlenmiş, karakterize edilmiş ve biyolojik aktiviteleri incelenmiştir (Kobayashi 1973).



Şekil 2.13. Pirazolopirimidin'in yapısı

Pirazolopirimidin türevleri, anti-inflamatuar, anti-tümör, antibakteriyel, antifungal ve antiviral aktivitelere sahip olmasından dolayı geniş uygulama alanları bulmuştur. Son yıllarda yapılan çalışmalar, birçok pirimidin türevinin, çeşitli insan kanser hücrelerine karşı güçlü sitotoksositeye sahip olduğunu göstermiştir. Pirazolo [4,3-d] pirimidin analogu ve pirazolo [1, 5-a] pirimidin türevlerinin, mutajenik sinyallerin iletilmesine aracılık eden tirozin kinaz ve sikline bağlı kinazların (CDK) inhibitörleri (Hücre çoğalması, göç, farklılaşma, metabolizma ve bağışıklık yanıtı dahil olmak üzere hücrel olaylardan sorumlu enzimler) olduğu bildirilmiştir. Ayrıca, bu türevlerin çoğunun çeşitli kanser hücre hatlarında proliferasyonu bloke edebildiği de bulunmuştur. Pirazolopirimidin, anti-tümör ilaç tasarımında önemli bir yapı bloğu ve farmakofor olarak kullanılmaktadır. Bu da bu tür bileşiklerin fizyolojik ve biyolojik özellikleri üzerinde (*in vitro* stabilite, *in vivo* dağılım, metabolizma ve eliminasyon dahil olmak üzere) daha fazla çalışma yapılmasına sebep olmuştur (Xu *et al.* 2011).

ICK, esas olarak T lenfositlerde ifade edilen bir Src-ailesine bağlı tirozin kinazdır ve bağışıklık sisteminde önemli bir rol oynar. Bir ICK selektif inhibitörü, T hücre aktivasyonunu seçici olarak inhibe etmeli ve otoimmün ve inflamatuvar hastalıkların yanı sıra organ nakli tedavisinde kullanılmalıdır. PP1 (**37**) ve PP2 (**38**)'in ICK'nın nanomolar seviyede inhibitörleri olduğu belirlenmiştir. Bu bileşikler reseptör olmayan tirozin kinaz ZAP70 ve reseptör tirozin kinazları JAK2 ve EGFR üzerinde seçici olduğu belirlenmiştir (Burchat *et al.* 2002).



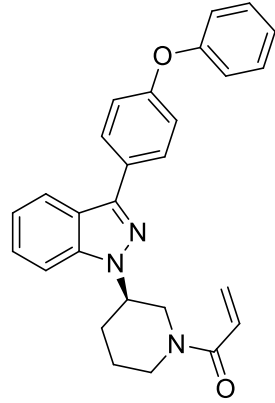
37 R=Me **PP1**
38 R=Cl **PP2**

Şekil 2.14. PP1 ve PP2'nin yapısı

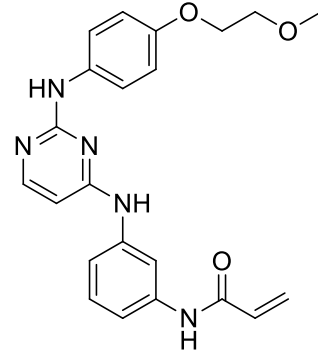
Bu nedenle bu yapı üzerine yoğunlaşmış ve tirozin kinazlar ile ilgili bir dizi aktivite çalışması yapılmıştır. Kinazlardaki ATP bağlama bölgeleri yüksek oranda korunmuş olduğundan, seçici ATP kinaz inhibitörlerinin geliştirilmesi oldukça zordur. Bu anlamda çeşitli yaklaşımlar arasında, elektrofilik inhibitörlerin kullanımı seçici ATP kinaz inhibitörü elde etmek için uygun bir yöntem olarak gösterilmiştir.

Bruton tirozin kinaz (Btk veya BTK) insanlarda BTK geni tarafından kodlanan bir enzimdir. Bruton tirozin kinaz (BTK) proteini, Tec kinaz ailesine ait olmayan bir reseptör tirozin kinazdır (diğer üyeler BMX, ITK, TEC ve TXK'dır). B hücresi reseptörü (BCR) sinyalizasyonunda kritik bir rol oynar. B hücresi gelişimine ve işlevine aracılık eder. Bu nedenle BTK'nın düzensizliği genellikle lösemi ve B hücresi ile ilişkili kanser tiplerine neden olur. BTK'nın BCR sinyalleme yolundaki temel rolü ve sınırlı ifade şekli, B hücresi malignitelerinin tedavisi için uygun ve çekici bir terapötik hedef olduğunu garanti etmektedir (Crawford *et al.* 2018). BTK'nın aktivitesi göz önüne alındığında, bu kinaz için güçlü ve seçici bir bileşiği keşfetmek çok önemlidir. Seçici, geri dönüşümsüz bir BTK inhibitörünün keşfi için gerekli çalışmalar yapılmış ve uygulanan hayvan modellerinde İbrutinib'in oldukça etkili olduğu görülmüştür (Pan *et al.* 2007).

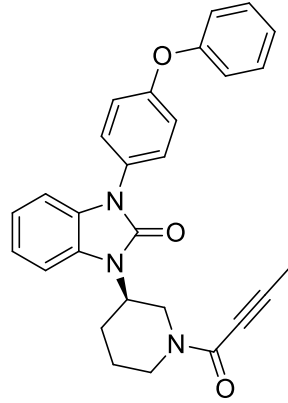
BTK inhibitörlerine önemli bir ilgi vardır. Önde gelen kovalent inhibitörler: ibrutinib (**6**), spebrutinib (**39**), tirabrutinib (**40**) ve acalabrutinibdir. (**41**). Bu bileşiklerin hepsi, BTK'nın ATP bağlanma bölgesinde sistein-481 ile kovalent ve geri dönüşümsüz olarak reaksiyona girer. (Crawford *et al.* 2018).



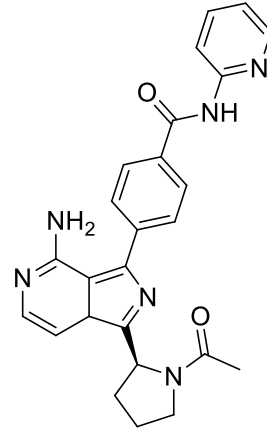
Ibrutinib
6



Sbeprutinib
39



Tirabrutinib
40

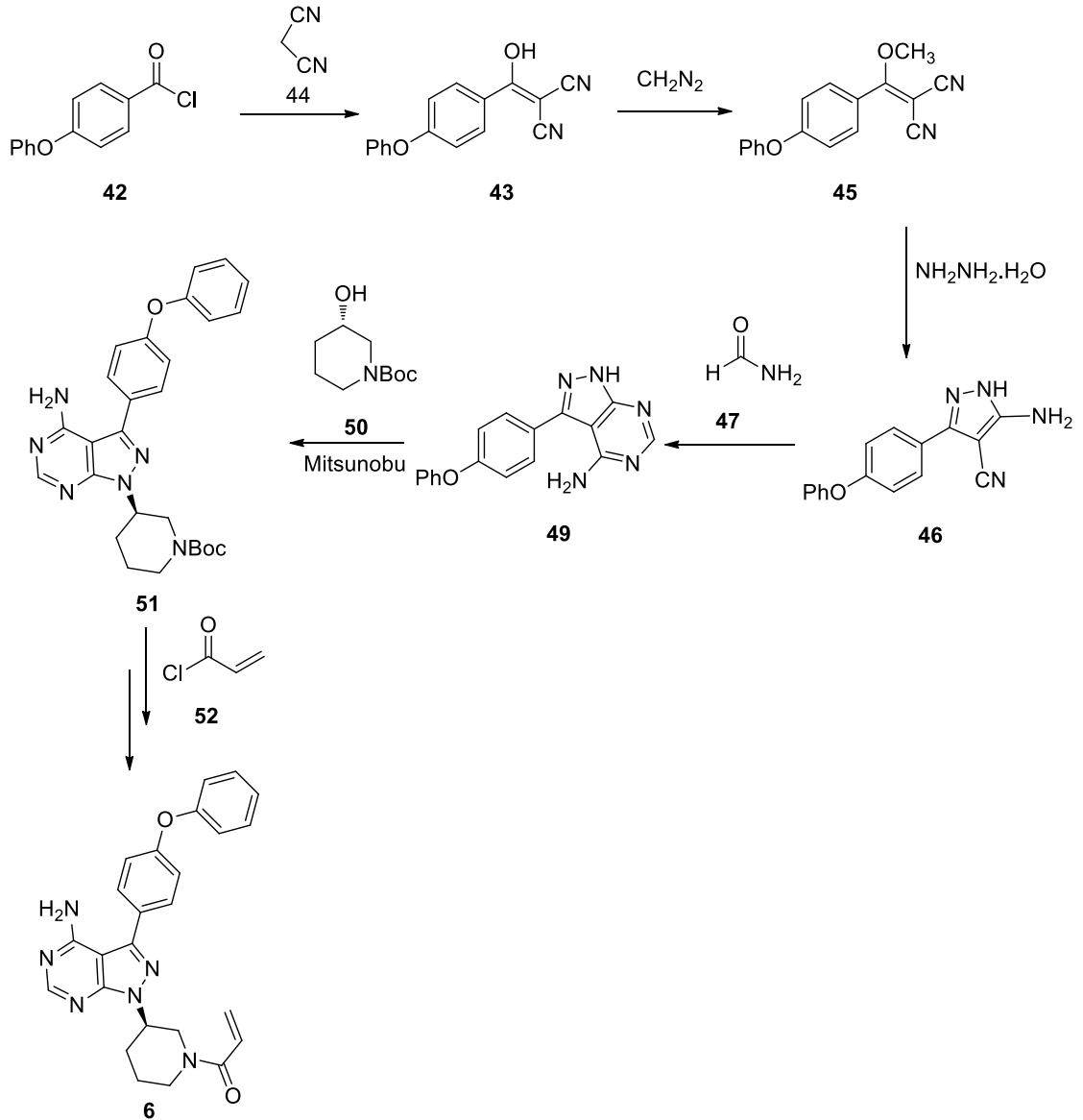


Acalabrutinib
41

Şekil 2.15. BTK kovalent inhibitörleri

Hirst *et al.* benzoil klorürden başlayarak ibrutinib'i sentezlemiş ve BTK üzerinde biyolojik aktivite çalışmaları yapmışlardır. Öncelikle pirazol halkasının oluşumu için 4-fenoksi benzoil klorür **42** ve baz eşliğinde malononitril **44** ile muamele ederek enol eter **43**'ü sentezlenmiştir. Hidroksi grubunu diazometan kullanarak kolay ayrılabilen metoksi grubuna dönüştürmüşlerdir. **45** oluşuktan sonra NH₂NH₂.H₂O ile reaksiyonu sonucu pirazol ve daha sonra formamit ile reaksiyonundan **49** sentezlenmiştir. **49**'un sentezinin ardından *S* konfigürasyondaki 3-hidroksi piperidin Mitsunobu reaksiyonu şartlarında takılmış ve molekül böylece bir asimetrik merkez kazanmıştır. Bunun ardından hedef bileşik **6**'ya kovalent bağlanma özelliği sağlayan doymamış sistem, baz

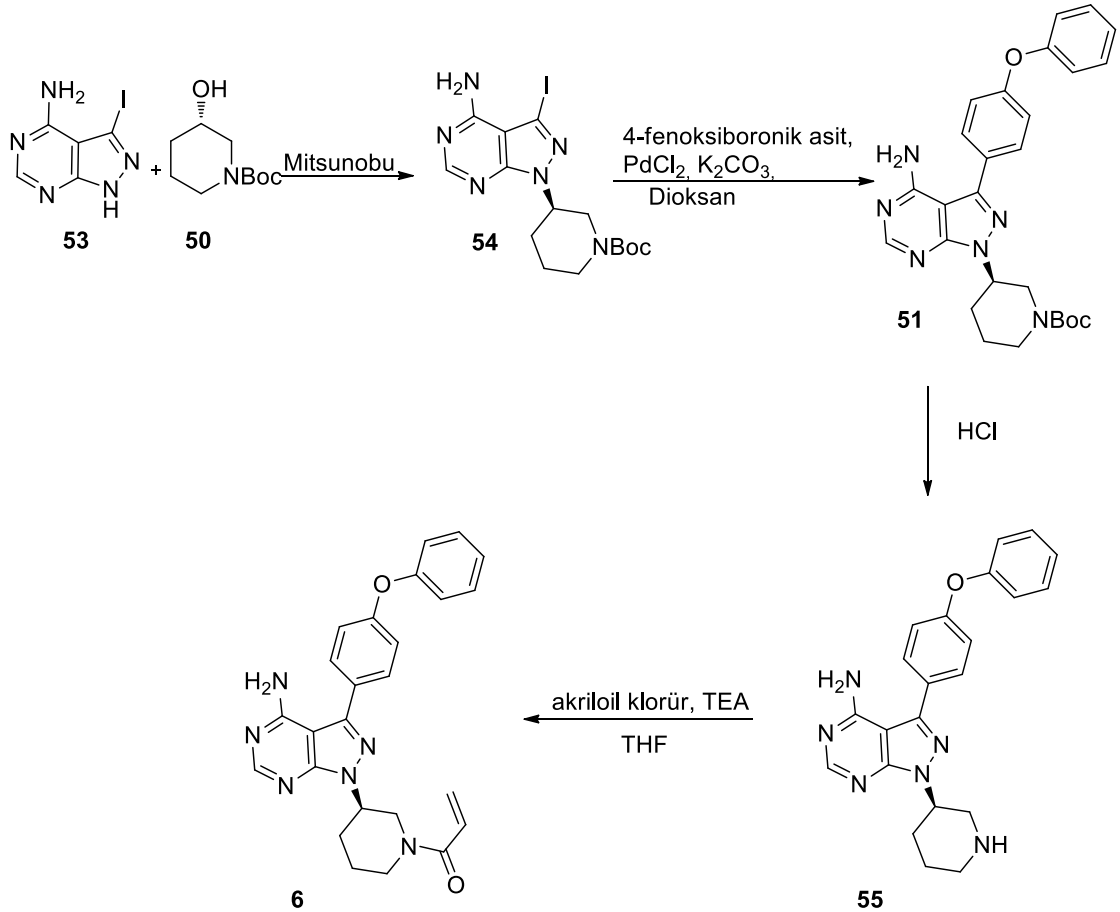
eşliğinde akriloil klorür ile reaksiyonu sonucu yerleştirilmiştir (Hirst *et al.* 2004) (Şekil 2.16).



Şekil 2.16. 4-Fenoksi benzoil klorürden çıkılarak ibuprofen (6)'in sentezi

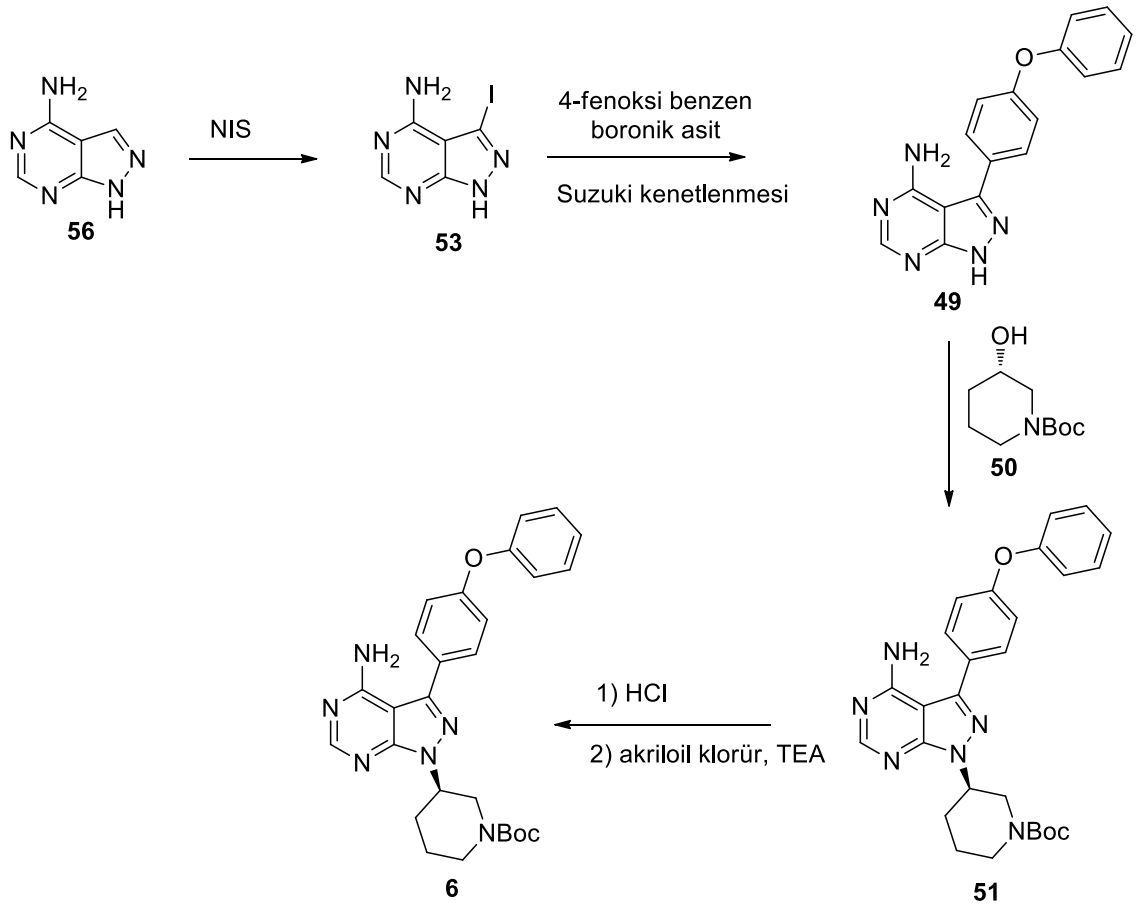
Zapf *et al.* ise ibuprofen (6) sentezini iyodopirazolopirimidin'den (53) başlayarak gerçekleştirmişlerdir. Mitsunobu reaksiyonuyla piperidinol biriminin 53'e yerleştirilmesinin ardından PdCl_2 katalizörlüğünde 4-fenoksifenil boronik asit 54'e bağlanarak 51'in sentezi yapılmıştır. 51 molekülünden Boc grubunun hidrolizi ve

ardından amidleşme reaksiyonu ile **6**'nın sentezi tamamlanmıştır (Zapf *et al.* 2012) (Şekil 2.17).



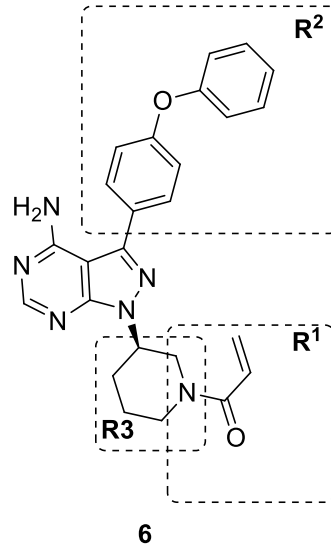
Şekil 2.17. İyodopirazolopirimidin'den çıkılarak ibrutinib'in sentezi

Liu *et al.* tarafından pirazolopirimidin **56**'dan başlayarak önce NIS ile reaksiyonu sonucu pirazol halkasına iyot molekülü yerleştirildi. Daha sonra 4-fenoksi fenil boronik asit ile Suzuki Kenetlenme reaksiyonunun ardından piperidinol halkası Mitsunobu reaksiyonu ile moleküle takıldı. Boc grubunun hidrolizi sonrasında baz eşliğinde akriloil klorür ile sonuç molekülü İbrutinib (**6**) sentezlendi (Liu *et al.* 2015) (Şekil 2.17).



Şekil 2.18. Pirazolopirimidin'den çıkılarak ibrotinib'in sentezi

Li ve grubu tarafından ibrotinib üzerinde işaretlenmiş R^1 , R^2 , R^3 gruplarında çeşitli değişiklikler yaparak bir seri molekül sentezlenmiştir. R^1 ve R^2 grubunu değiştirerek **57**, **58**, **59**, **60**, **61**, **62**, **63**, **64**, **65**, **66**, **67**, **68**, **69**, **70** ve **71** elde edilmiştir. R^1 grubunu değiştirerek **72**, **73**, **74**, **75**, **76**, **77**, **78**, **79** ve **80** sentezlenmiştir. R^1 ve R^3 grubunu değiştirerek **81**, **82**, **83**, **84**, **85**, **86**, **87** ve **88** sentezlenmiştir. Bu moleküllerin Akut Miyeloid Lösemi hastalığına sebep olan FTLT3-ITD enzimi üzerinde biyolojik aktivite çalışmaları yapmışlardır. Bu hastalıkla ilgili kanser hücresi hattı olan MV4-11 ile çalışarak GI_{50} değerlerini belirlemişlerdir. (GI_{50} , kanser hücrelerinin büyümesini %50 oranında önleyen anti-kanser ilacının konsantrasyonudur. Başka bir deyişle, ilacı verdikten sonra, kanser hücresi çoğalmasında %50'lik bir azalma vardır). (Li *et al.* 2015) (Çizelge 2.1, Çizelge 2.2 ve Çizelge 2.3).

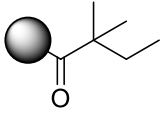
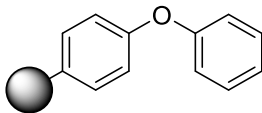
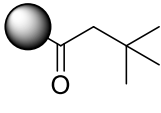
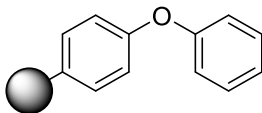
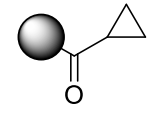
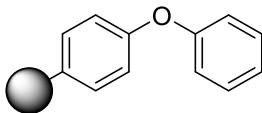
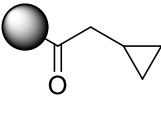
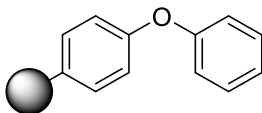
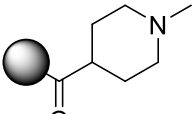
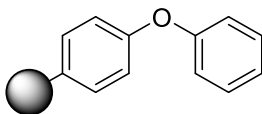
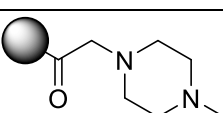
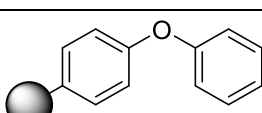
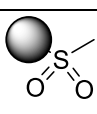
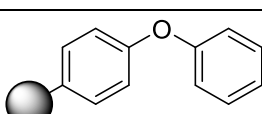
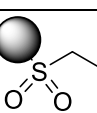
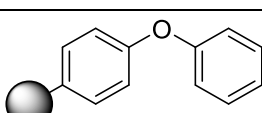
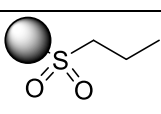
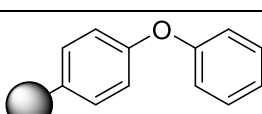


Şekil 2.19. İbuprofen (6) molekülünün genel birimleri

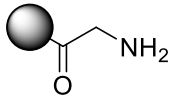
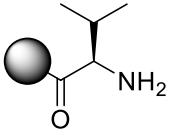
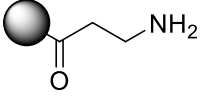
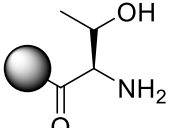
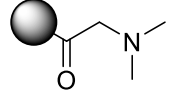
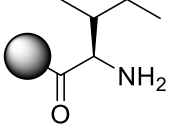
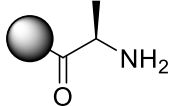
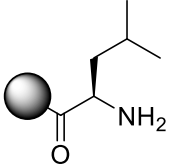
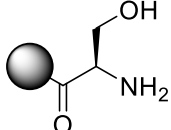
Çizelge 2.1. R¹ ve R² grubu değiştirilerek sentezlenen moleküller

Molekül	R ¹	R ²	MV4-11 kanser hücresi hattı (GI ₅₀ ; Um)
57			0.33
58			>10
59			0.13
60			0.35
61			1.2
62			>10

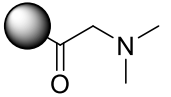
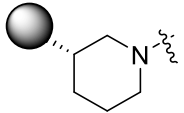
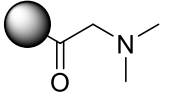
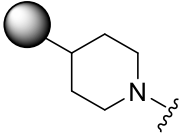
Çizelge 2.1. (devam)

63			2.4
64			2.4
65			6.5
66			0.41
67			0.16
68			0.23
69			0.17
70			0.57
71			0.76

Çizelge 2.2. R¹ grubu değiştirilerek sentezlenen moleküller

Molekül	R ¹	MV4-11 kanser hüresi hattı (GI ₅₀ ; Um)	Molekül	R ¹	MV4-11 kanser hüresi hattı (GI ₅₀ ; Um)
72		0.022	77		0.027
73		0.75	78		0.064
74		0.022	79		0.12
75		0.054	80		0.032
76		0.061			

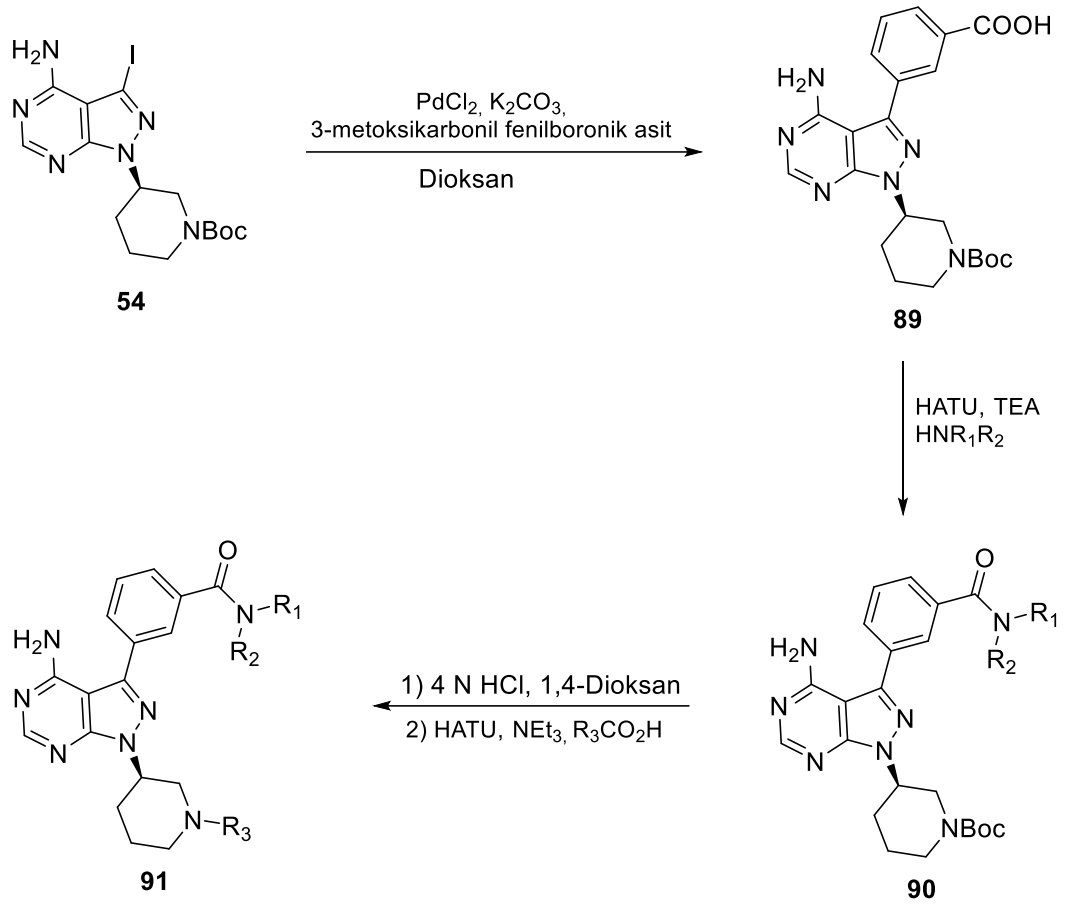
Çizelge 2.3. R¹ ve R³ grubu değiştirilerek sentezlenen moleküller

Molekül	R ¹	R ³	MV4-11 kanser hüresi hattu (GI ₅₀ ; Um)
81			0.28
82			0.11

Çizelge 2.3. (devam)

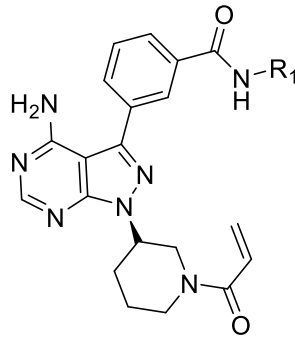
83			0.63
84			0.21
85			0.18
86			0.083
87			0.12
88			0.42

Pfizer yakın bir zamanda, kovalent olarak BTK'yı inhibe eden bir inhibitör açıklamıştır. Kronik lenfositik lösemi ve B hücreli lenfoma tedavisi için klinik çalışmalara ilerletilen bilinen kovalent BTK inhibitörü ibrutinib'in ITK'nın da güçlü bir inhibitörü olma potansiyeli olduğu bildirilmiştir. Zapf *et al.* pirazol halkasına bağlı R grubunu değiştirerek ve amid süstitüye pirazolopirimidin üzerinde değişiklikler yaparak ITK (Interleukin-2 Inducible T cell Kinase) enzimi üzerinde çeşitli inhibisyon çalışmaları gerçekleştirmişlerdir. Amit grubu içeren pirazolopirimidinlerin **90** ve **91**'in sentezi için öncelikle iyodopirazolopirimidin'in 3-boronbenzoik asit ile Suzuki kenetlenme reaksiyonu ile benzoik asit **89** sentezlenmiştir. **89**'un HATU ile reaksiyonuyla amid sentezi iyi verimlerle gerçekleştirilmiştir. **90** molekülü Dioksan/HCl ile Boc grubu uzaklaştırılmıştır ve daha sonra baz eşliğinde akrilolil klorür ile muamele edilerek hedef bileşik **6**'ya ulaşılmıştır (Zapf *et al.* 2012) (Şekil 2.19).



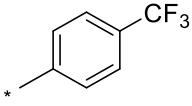
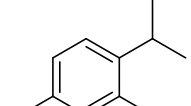
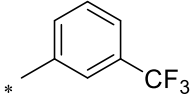
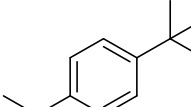
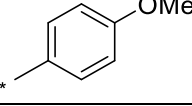
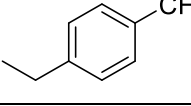
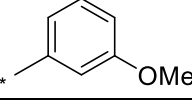
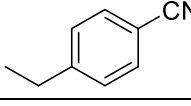
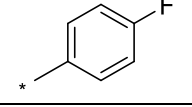
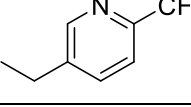
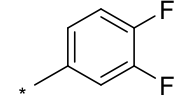
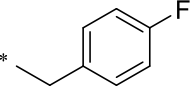
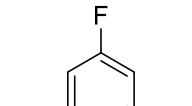
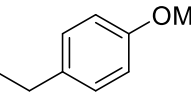
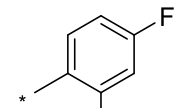
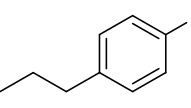
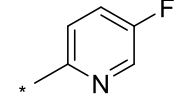
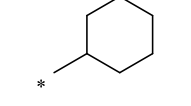
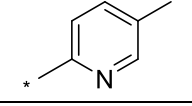
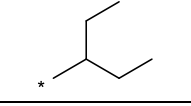
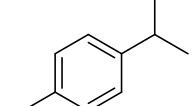
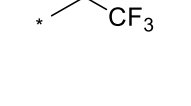
Şekil 2.20. Amit grubu içeren pirazolopirimidin türevlerinin genel sentezi

Zapf *et al.* geliştirdikleri reaksiyon şartlarında R_1 grubunu değiştirerek bir seri molekül sentezlemişlerdir. Amit grubu içeren pirazolopirimidin türevlerinin ITK'ya karşı IC_{50} değerlerini belirlemişlerdir (Zapf *et al.* 2012). (Çizelge 2.4, Şekil 2.21).

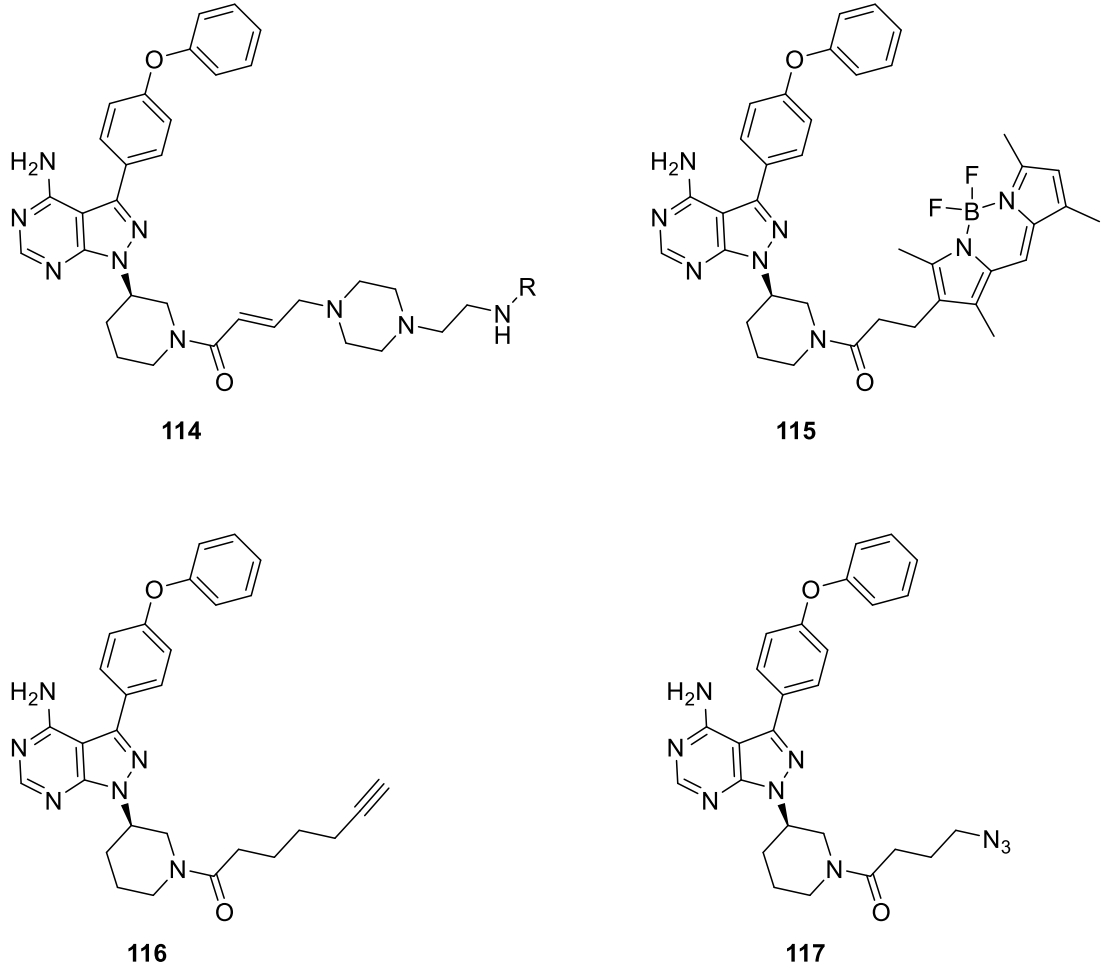


Şekil 2.21. Amit grubu içeren pirazolopirimidin türevlerinin R_1 grubu değiştirilerek sentezi

Çizelge 2.4. Amit grubu içeren pirazolopirimidin türevlerinin ITK'ya karşı IC₅₀ değerleri

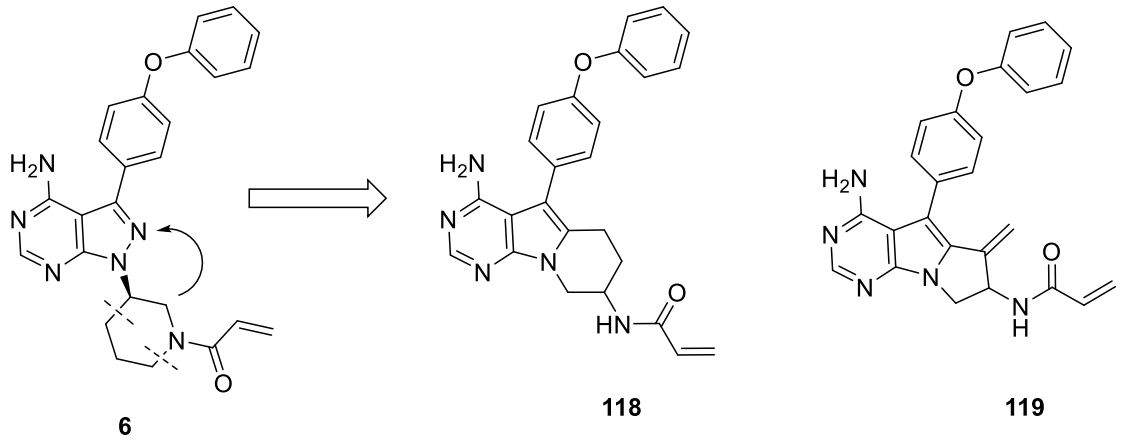
Molekül	R ₁	IC ₅₀ [µm] 1 mM ATP	Molekül	R ₁	IC ₅₀ [µm] 1 mM ATP
92		0.13	103		0.002
93		0.19	104		0.01
94		0.18	105		0.20
95		0.20	106		4.08
96		0.72	107		1.52
97		1.41	108		2.46
98		0.21	109		6.47
99		0.52	110		1.75
100		1.02	111		10.88
101		0.72	112		>100
102		0.01	113		36.22

Liu *et al.* bakır katalizörlüğünde bir seri pirazolopirimidin türevi sentezlemişlerdir. Bu bileşikler üzerinde biyoortogonal yapının inhibisyonadaki önemini literatürde bilinen aktivite prob esasına dayanan yöntemlerle kıyaslamışlardır (Liu *et al.* 2015).



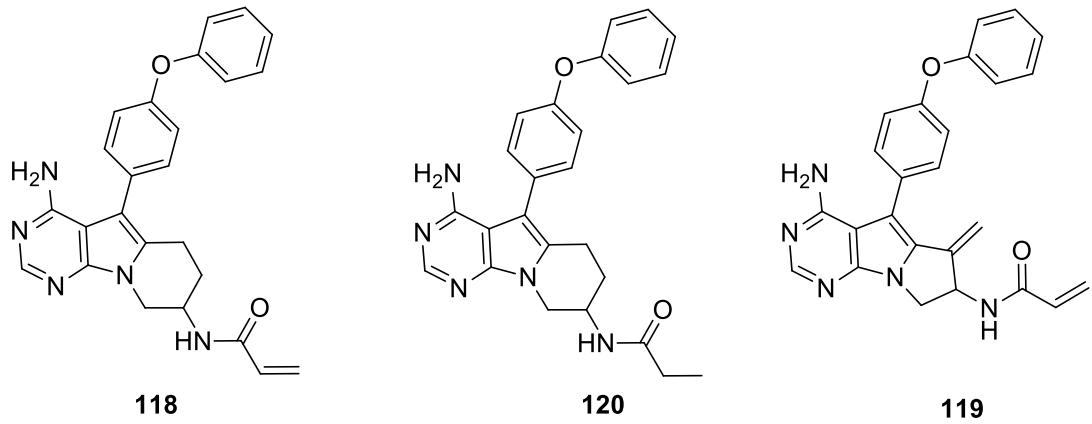
Şekil 2.22. Bakır katalizörlüğünde sentezlenen bazı pirazoloprimidin türevleri

Yu *et al.* farklı bir yaklaşım izleyerek piperidin halkasını pirazol ile kaynaşmış olarak sentezleyip 5 ve 6 üyeli halkaların aktivitesini incelediler. Her iki bileşik **118** ve **119** diğer terapötik ilaç kategorilerinde nadiren görülen yepyeni trisiklik çekirdek yapıları içerir. Bu çalışmada hem yeni bileşiklerin hem de yeni BTK inhibitörü bileşiklerin tasarım, sentez ve farmakolojik değerlendirmeleri yapılmıştır (Crawford *et al.* 2018).



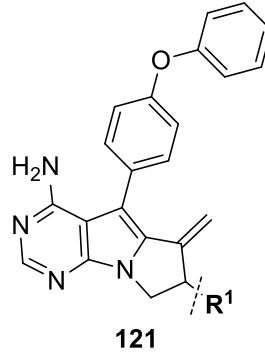
Şekil 2.23. Trisiklik yapıda sentezlenen bazı pirazolopirimidin türevleri

118, **119** ve **120** molekülleri BTK'ya karşı test edildi ve gösterdikleri inhibisyon değerleri sebebiyle potansiyel BTK inhibitörleri olabileceği düşünüldü. Her iki bileşik de, 1 uM konsantrasyonda 468 kinaz ve mutanttan oluşan bir deney grubuna karşı test edildi. **119**'un daha iyi bir seçiciliğe sahip olduğu bulundu (Crawford *et al.* 2018).



Şekil 2.24. BTK'ya karşı test edilen trisiklik yapılar

Yu ve arkadaşları sentezledikleri moleküllerde yaptıkları aktivite çalışmaları sonucunda α,β doymamış sistemin Micheal akseptörü olduğu için daha etkili olduğunu belirlemişlerdir. Ayrıca **119**'da yer alan ekzosiklik çift bağın BTK ile etkileşebileceği tespit edildi. Bunun üzerine R_1 grubu değiştirilerek sentezlenen **122**, **123**, **124**, **125**, **126**, **127**, **128** ve **129** moleküllerinde BTK'nın inhibisyon değerleri incelendi.



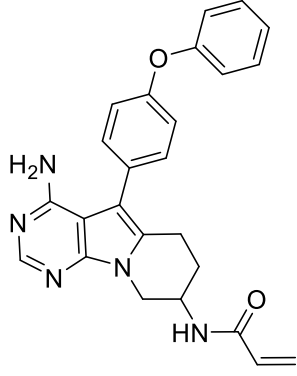
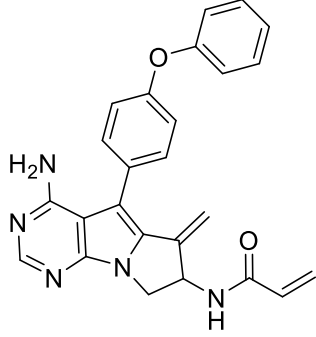
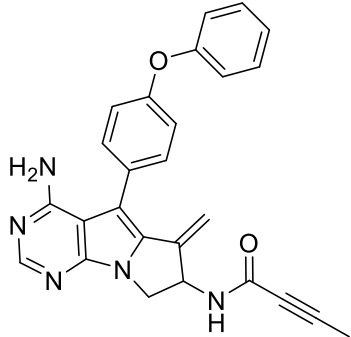
Şekil 2.25. R¹ grubu değiştirilen türevlerin genel yapısı

Çizelge 2.5. Trisiklik yapıda sentezlenen R¹ grubu değiştirilen türevleri ve BTK inhibisyon değerleri

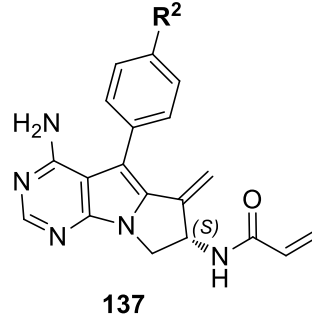
Molekül	R ¹	Btk IC ₅₀ (Nm)	Molekül	R ¹	Btk IC ₅₀ (Nm)
122		2.8 ± 1.1	126		4.3 ± 0.7
123		23.6 ± 4.5	127		2.1 ± 0.2
124		40.1 ± 4.7	128		>1000
125		23.8 ± 5.0	129		62.6 ± 13.4

Bunun yanı sıra aynı bileşiklerde konfigürasyonun etkisi incelenerek hangi molekülün BTK'yı daha iyi inhibe ettiği bulundu.

Çizelge 2.6. Trisiklik yapıda konfigürasyonu değiştirilen türevleri ve BTK inhibisyon değerleri

Molekül	Konfigürasyon	Btk IC ₅₀ (Nm)
	Rasemat (118)	5.3 ± 0.2
	R enantiyomer (130)	3.0 ± 1.9
	S enantiyomer (131)	2.8 ± 0.3
	Rasemat (120)	2.8 ± 1.1
	R enantiyomer (132)	6.1 ± 1.4
	S enantiyomer (133)	0.4 ± 0.1
	Rasemat (134)	2.1 ± 0.2
	R enantiyomer (135)	3.3 ± 1.1
	S enantiyomer (136)	0.4 ± 0.1

Bu çalışmalar sonucu en iyi inhibisyon değeri **133** için bulundu. **133** üzerinde R² grupları değiştirilerek en iyi inhibisyona sahip molekül belirlendi.



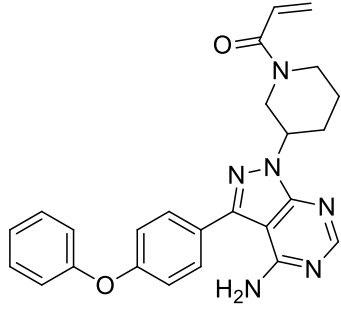
Şekil 2.26. BTK'ya karşı test edilen R² grubu değiştirilerek S enantiyomerin genel yapısı

Çizelge 2.7. R² grubu değiştirilen türevler ve BTK inhibisyon değerleri

Molekül	R ²	Btk IC ₅₀ (Nm)	Molekül	R ²	Btk IC ₅₀ (Nm)
138		0.4±0.1	143		0.5±0.1
139		3.7±0.9	144		0.8±0.1
140		2.2±1.5	145		50.4±9.4
141		7.4±2.5	146		3.1±1.0
142		3.5±1.7	147		4.3 ±1.7

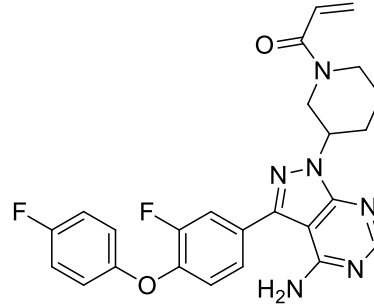
Hei ve grubu pirazolopirimidin iskeleti üzerinde Suzuki kenetlenme ve Mitsunobu reaksiyonu sonucu flor içeren pirazolopirimidin türevleri ve İbrutinibdeki piperidin yerine pirolidin takarak bir seri molekül sentezlemişlerdir. Bu bileşiklerle BTK enzim inhibisyonu çalışmaları gerçekleştirmişlerdir. Sonuç olarak söz konusu bileşiklere flor

atomu takıldığında, enzimin %50'sini inhibe etmek için kullanılan madde konsantrasyonunun yaklaşık 100 kat azaldığı gözlenmiştir (Hei *et al.* 0016) (Şekil 2.27).



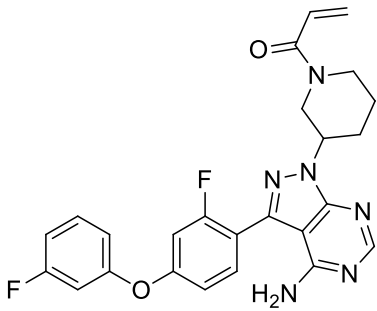
IC₅₀: 0.72

148



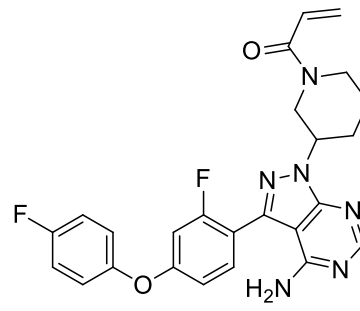
IC₅₀: 0.066

151



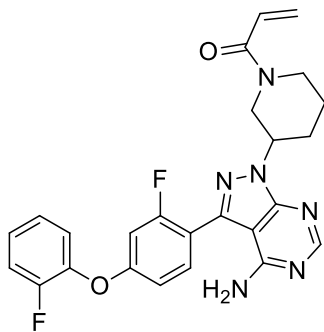
IC₅₀: 0.002

149



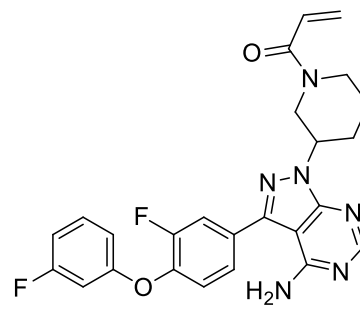
IC₅₀: 0.005

152



IC₅₀: 0.002

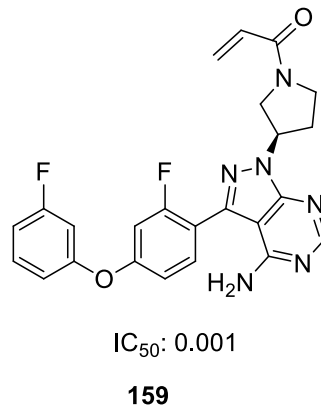
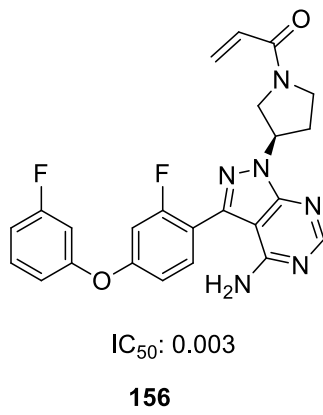
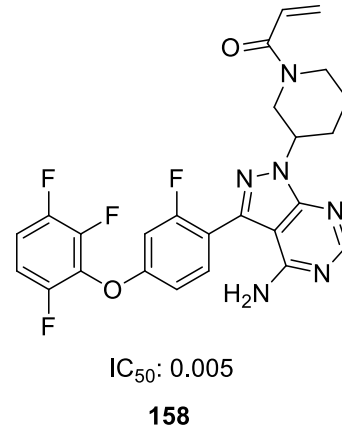
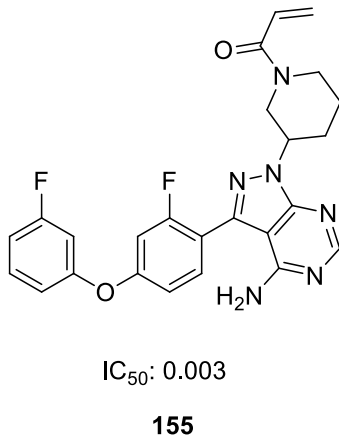
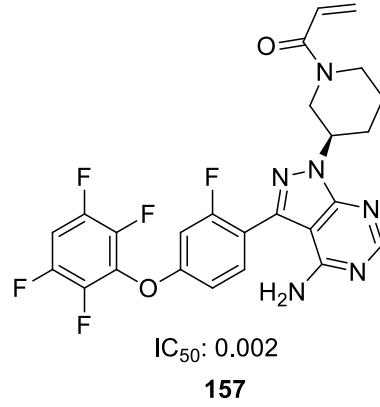
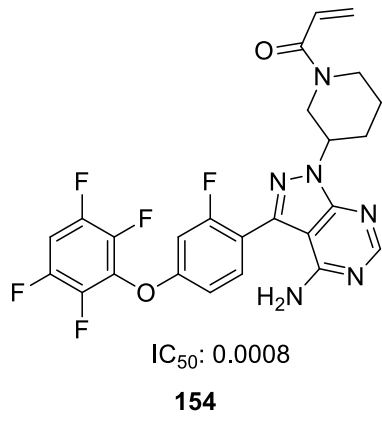
150



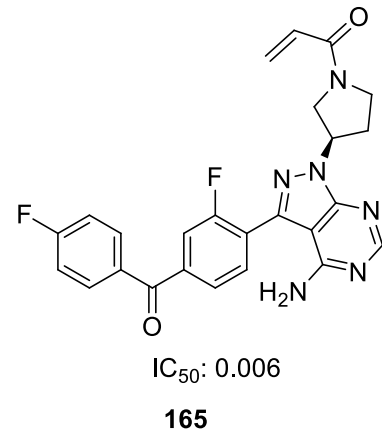
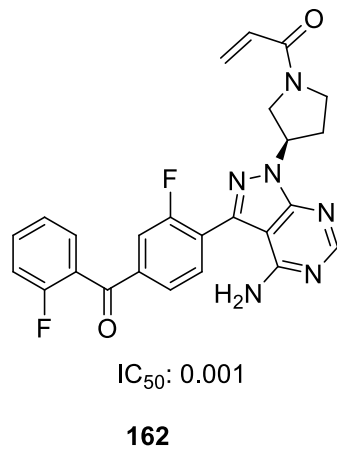
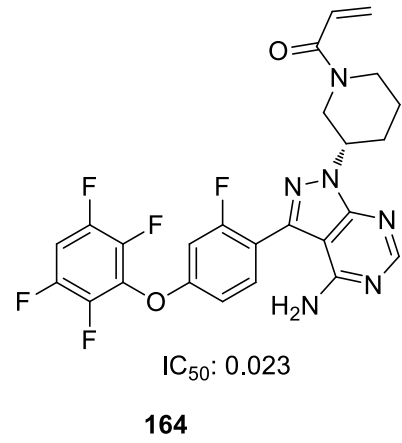
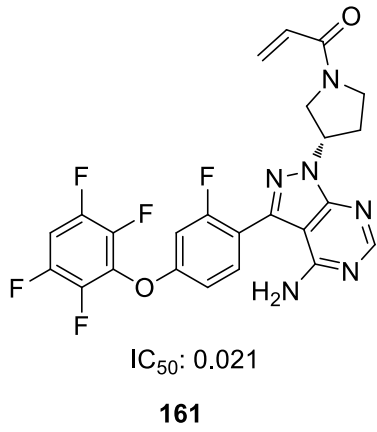
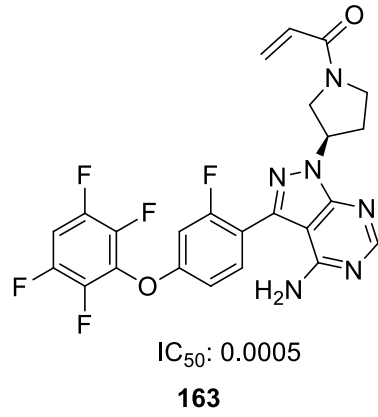
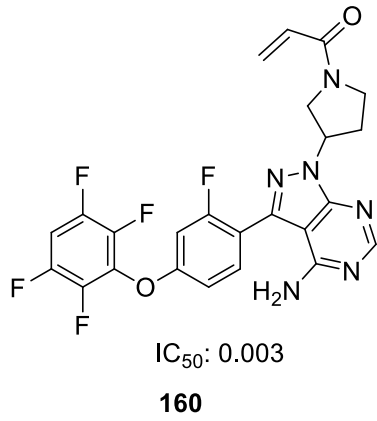
IC₅₀: 0.01

153

Şekil 2.27. (devam)



Şekil 2.27. (devam)

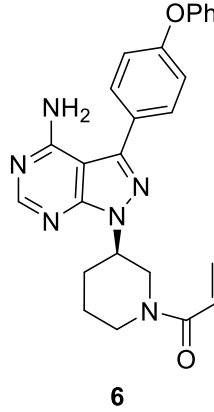


Şekil 2.27. Flor içeren bazı pirazolopirimidin türevleri ve BTK için nm seviyede IC₅₀ değerleri

2.1. Amaç

İbrutinib, “Imbruvica (140 mg kapsül)” ülkemize ithal edilmektedir. Imbruvica’nın 90 kapsülü 6.181 Euro’dur. Tez kapsamında elde edilecek ürünün, ülkemize ekonomik ve stratejik üstünlük ile rekabet avantajı sağlaması amaçlanmıştır. Ayrıca, bu aktif maddenin ülkemizde üretilmesi için yeni yöntemin geliştirilmesi amaçlanmaktadır. Geliştirilen yöntem ile bu aktif maddede dışa bağımlılığın azalması hedeflenmektedir.

Kanserden ölümlerin yaklaşık %70’i düşük ve orta gelirli ülkelerde görülür. Ülkemize ithalat yolu ile getirilen ilaçlar ve ilaç aktif maddeleri, sağlık harcamalarında önemli derecede artışa neden olmaktadır. Bu nedenle, ilaç aktif maddelerinin Türkiye’de üretimi çok önemlidir. İbrutinib literatürde bilinen iki farklı yöntemle sentezlenmektedir. Bu tez kapsamında, İbrutinib’in literatürde verilen yöntemlerden farklı ve etkin bir yöntemle sentezi geliştirilmesi amaçlanmıştır.

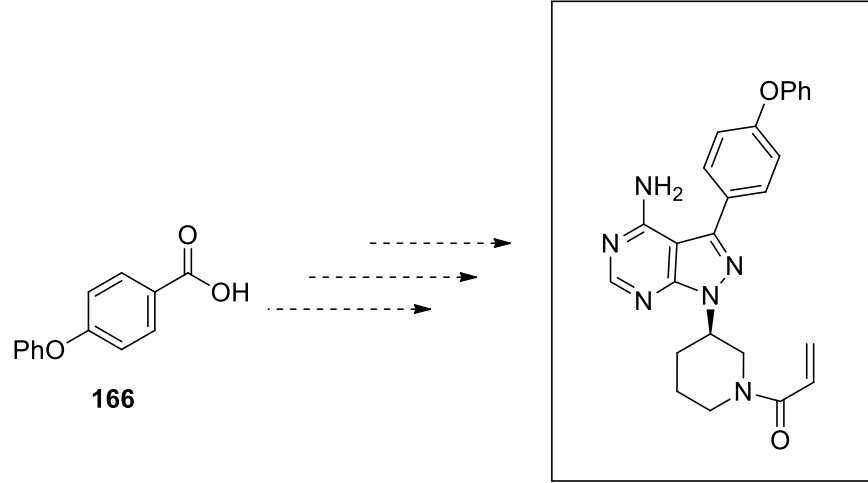


Şekil 2.28. İbrutinib’in yapısı

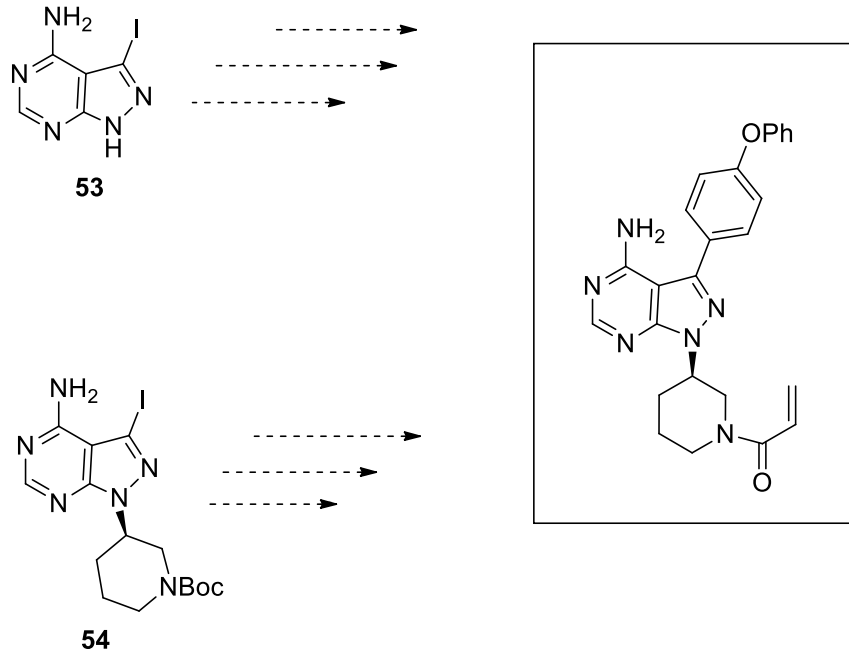
İlk yöntemde İbrutinib (**6**)’nın sentezinin 4-fenoksi benzoik asitten (**168**) başlanarak yapılması hedeflenmektedir. İkinci yöntemde ise heterojen katalizör yardımıyla literatürdekenden farklı, ucuz ve etkili bir şekilde İbrutinib’in sentezlenmesi hedeflenmektedir. Çevre, maliyet, zaman ve iş gücü kavramlarının endüstri açısından önemi göz önünde bulundurularak ucuz çıkış bileşikleri ve reaktifler kullanılacaktır.

Seçilen reaksiyon şartlarının endüstriyel ölçüğe uygulanabilir olması da çalışmanın önemli bir amacıdır.

1. YÖNTEM



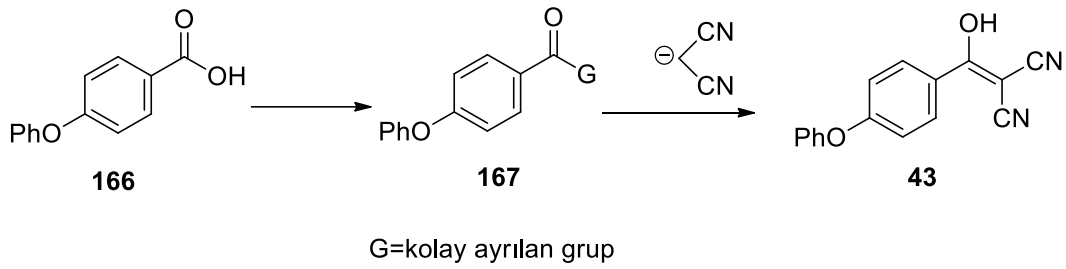
2. YÖNTEM



Şekil 2.29. 6'nın sentezi

3. MATERYAL ve YÖNTEM

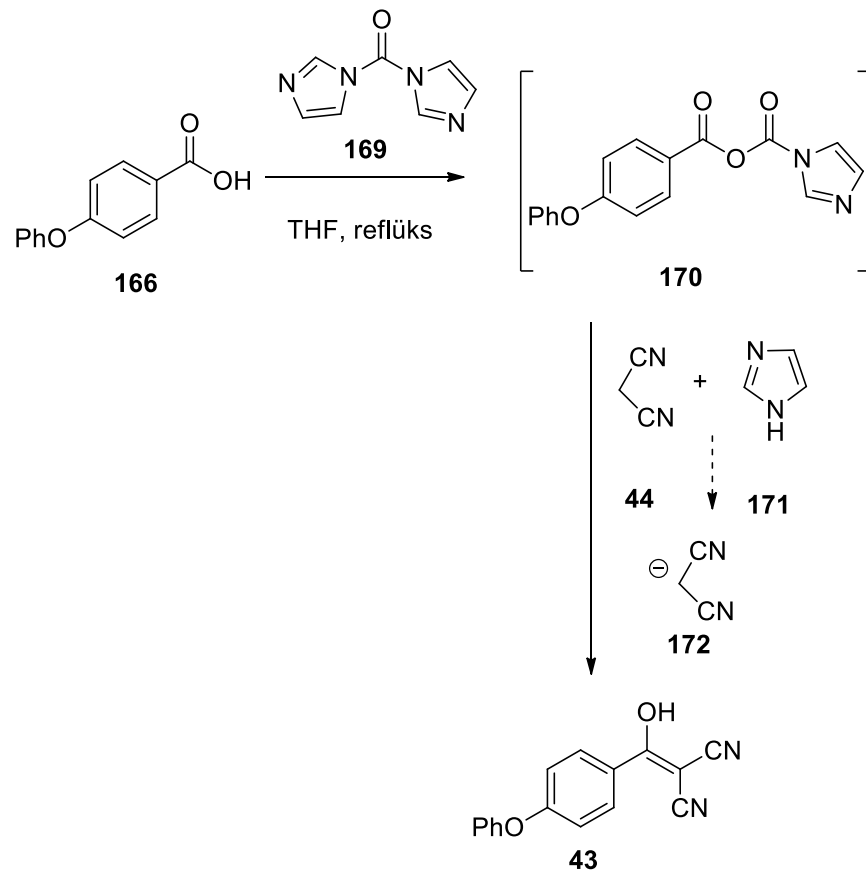
İbrutinib'in çok adımlı sentezinin ilk kademesi **166**'dan **43**'ün hazırlanmasıdır. **43**'ün hazırlanması için 4-fenoksi benzoik asitten çıkılarak öncelikle karboksilli asitteki karbonil grubunun aktifleştirilmesi kararlaştırıldı. Aktifleştirme işlemi ilk olarak karışık anhidrit sentezi ile gerçekleştirildi. Karışık anhidrit yapılarak aktifleşen karbonil grubuna malononitril anyonunun atak etmesi sağlandı ve böylece enol eter sentezi gerçekleştirildi.



Şekil 3.1. **43**'ün sentezi

Değişik tepkime şartlarında yapılan sentezde, 4-fenoksi benzoik asit (**166**)'nın karbonil grubunun aktifleştirilmesi için ilk olarak CDI (**169**) kullanıldı. 4-fenoksi benzoik asit, CDI ile aktifleştirilerek karışık anhidrit elde edilip aynı reaksiyon ortamında malononitril ile reaksiyona sokularak enol basamağına ulaşıldı. Bu amaçla ilk denemede N₂ atmosferinde 4-fenoksi benzoik asit (**166**), CDI ve NEt₃'in THF'de çözülüp sonrasında reaksiyon ortamında çıkış bileşiğinin bitmesinin ardından malononitril THF'de çözülerek eklendi. Ancak bu şartlarda, çok düşük verimlerle ürün elde edildi.

Bunun üzerine ekivalent ve reaksiyon süresi değiştirilerek ürünün veriminin artırılmasına yönelik çalışmalar yapıldı. Fakat verimin artmadığı görüldü. NEt_3 'in reaksiyon ortamına çıkış bileşiğiyle birlikte verilmesinin reaksiyon ortamında **170**'e katılarak yapıyı bozduğu sonucuna varıldı. NEt_3 reaksiyon ortamına çıkış bileşiği ortamda bittikten sonra malononitrille birlikte verildi. Bu şartlar altında %65 verimle **43** elde edildi.



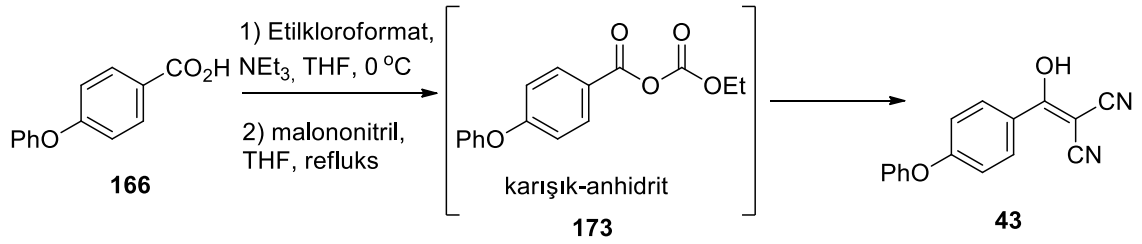
Şekil 3.2. **43**'ün sentezi

Çizelge 3.1. 43'ün sentezinde kullanılan reaksiyon şartları

Miktar	Çözücü	CDI (ekv)	NEt ₃ (ekv)	Malononitrile (ekv)	Süre	Sıcaklık	Verim
200 mg	THF	1.2	1.3	1.2	2 saat	0 °C -25 °C	%30
200 mg	DCM	1.2	1.3	1.2	1 gün	0 °C -25 °C	-
200 mg	THF	1.2	2.5	1.2	1 gün	reflüks	-
500 mg	THF	3	1.3	1.2	2 gün	reflüks	%65

Literatürde DCC, CDI, EDCI, kloroformatlar (etil kloroformat veya isopropil kloroformat), COCl₂ vs. karbonil grubu aktifleştiricileri olarak bilinir. CDI ile verimin istenildiği kadar artırılamaması üzerine etil kloroformat kullanılarak karışık anhidrit yapılması planlandı.

43'ün sentezi için 166, DCM içerisinde 0 °C'de NEt₃ ile muamale edildikten sonra reaksiyon ortamına etilkloroformat ilave edildi. İTK ile 4-fenoksi benzoik asit (166)'nın reaksiyon ortamında bitişi ve karışık anhidrit (173)'ün oluşumu takip edildi. Bu aşamadan sonra reaksiyon ortamına malononitril ilave edildi. Ham ürün kolon kromatografisi ile saflaştırıldı ve reaksiyon veriminin %10 olduğu gözlemlendi. Aynı reaksiyon THF içerisinde tekrarlandığında ise verimin yine düşük olduğu gözlemlendi. Reaksiyon veriminin düşük olmasının sebebinin malononitril kondenzasyonunun yavaş olması düşünüldü. Reaksiyonun daha yüksek sıcaklıklarda yapılması ile bu problemin çözülebileceği öngörüldü. Bu maksatla reaksiyon THF içerisinde reflüks edilerek tekrarlandı. Ham ürünün saflaştırılma yapılmaksızın reaksiyon veriminin %60 civarında olduğu bulundu. Bu bilgiler ışığında reaksiyon şartlarının iyileştirilmesi ve daha büyük ölçeklere uygun hale getirilmesi için denemeler yapıldı. En yüksek reaksiyon veriminin %98 olduğu gözlemlendi (Çizelge 3.2). Saflaştırılma yapılmaksızın ürün diğer kademelerde kullanıldı.

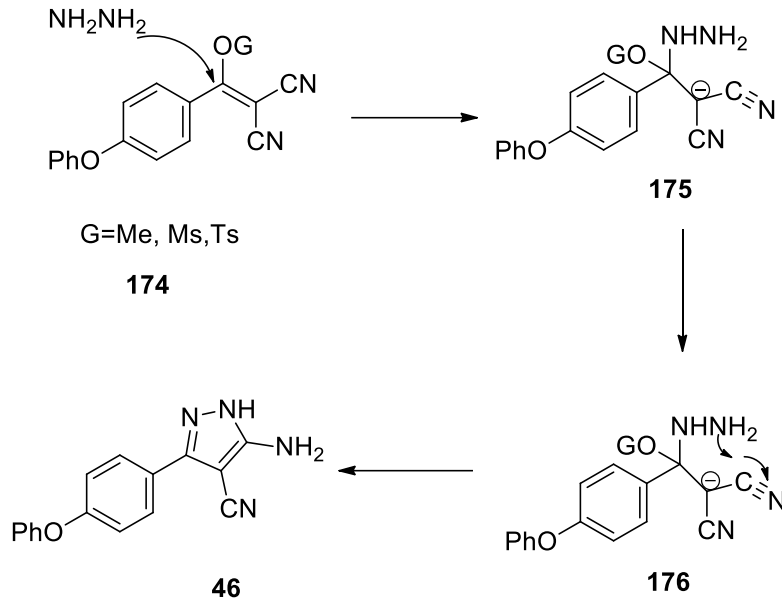


Şekil 3.3. 43'ün sentezi

Çizelge 3.2. 43'ün sentezinde kullanılan reaksiyon şartları

Miktar	Çözücü	Etilkloroformat (ekv)	NEt ₃ (ekv)	Malononitrile (ekv)	Süre	Sıcaklık	Verim (%)
200 mg	DCM	1.2	5	1.2	1 gün	0 °C-25 °C	10
200 mg	THF	1.2	5	1.2	2 gün	0 °C-25 °C	45
500 mg	THF	1.2	2.5	2.2	1 gün	reflüks	60
2.5 g	THF	1.2	1.3	1.2	1 gün	reflüks	73
2.5 g	THF	1.8	7.6	2.7	1 gün	reflüks	82
5.0 g	THF	1.8	7.5	2.7	1 gün	reflüks	98

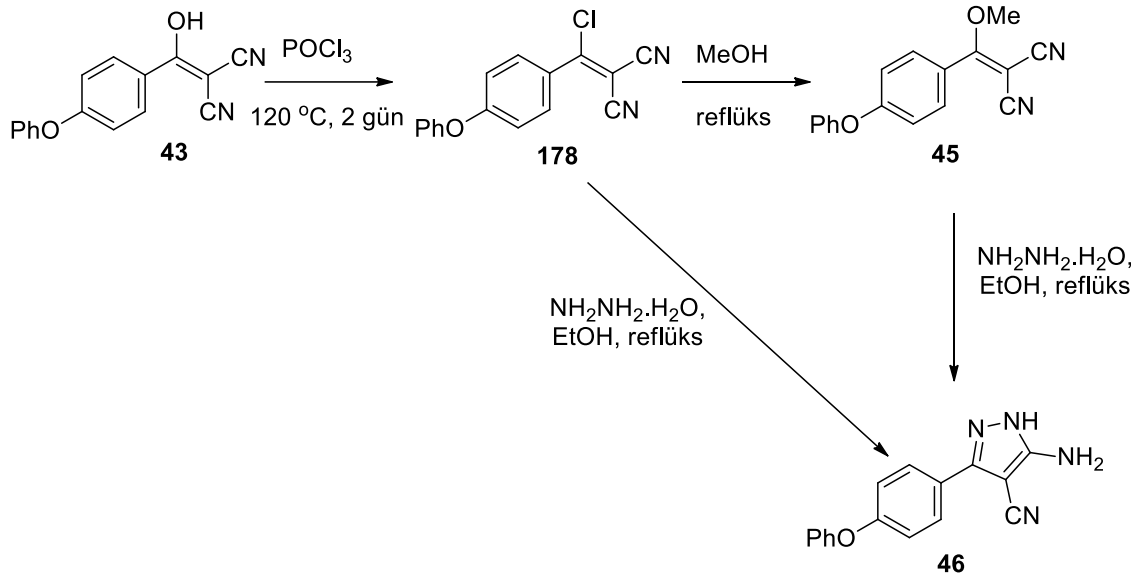
Enol sentezi kademesinde istenilen verime ulaşılması üzerine enol 43'ün 46'ya dönüştürülmesi denemelerine geçildi. Pirazol halkasının oluşabilmesi için enol grubunun kolay ayrılan gruba dönüştürülmesi gerekir. Bu maksatla en uygun gruplar OTs, OMs, Cl, OMe grupları olup yalnızca OMe grubu üzerinden 46'nın sentezi gerçekleştirilmektedir.



Şekil 3.4. 46'nın reaksiyon mekanizması

43'den **46**'nın yeni bir yöntemle sentezi için ilk olarak enol **43**, POCl_3 ile kapalı tüp içerisinde oda sıcaklığında 1 saat karıştırıldı ve daha sonra da $120\text{ }^\circ\text{C}$ 'de ısıtıldı. Reaksiyon karışımı oda sıcaklığına getirildikten sonra MeOH ile $0\text{ }^\circ\text{C}$ 'de muamele edildi. MeOH evaporatörde uzaklaştırıldı ve DCM/hekzan ile ham ürün çöktürüldü. Ham ürün hidrazinhidrat ile etanol içerisinde 3 gün ısıtıldı. Ham ürünün DCM/hekzan çözücü sistemi içerisinde çöktürülmesi sonucu **43**'ten **46**'ya geçişteki üç kademenin toplam reaksiyon veriminin %30 olduğu belirlendi.

POCl_3 'ün imhasında çok miktarda HCl açığa çıkmaktadır. HCl'in tamamen üründen tamamen uzaklaştırılamamasından dolayı da $\text{NH}_2\text{NH}_2 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ reaksiyonunun veriminin azalabileceği düşünüldü. Bu maksatla kloroalken nitril **178**'in MeOH ile reflüks edilmesiyle enoleter **45** elde edildi. Enoleter **45** $\text{NH}_2\text{NH}_2 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ ile etanol içerisinde 3 gün reflüks edildi. Ham ürünün DCM/hekzan çözücü sistemi içerisinde çöktürülmesi sonucu toplam %66 reaksiyon verim ile hedeflenen pirazol **46**'nın oluştuğu görüldü.



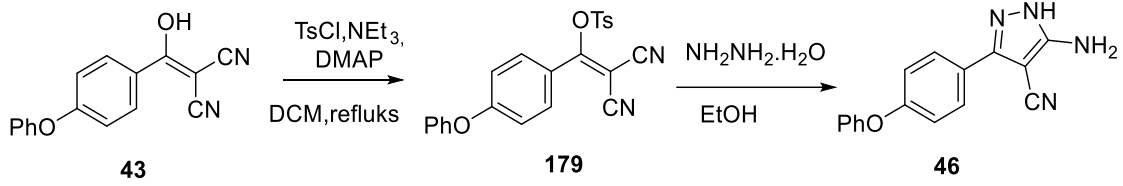
Şekil 3.5. 46'nın sentezi

Bu reaksiyon 5 g ölçekte de denendi. Bu işlem sırasında reaksiyonun -15°C 'ye soğutulması gerekmektedir. Fakat miktar artırılınca reaksiyonun durdurulması için daha düşük sıcaklıklara inildi. POCl₃ nin fazlasının MeOH ile uzaklaştırılması sırasında oluşan fosfat esteri ve HCl ortamın sıcaklığını artırmaktadır. Oluşan sıçramaların önüne geçebilmek için uygun sıcaklık düşük miktarlarda 0°C iken 5 g ölçekte -15°C 'dir. Her ne kadar istenilen ürün bu yöntemle sentezlense bile bu reaksiyon şartlarının büyük ölçüklere uygulanmasının zor olduğu görüldü.

Çizelge 3.3. 46'nın sentezinde kullanılan reaksiyon şartları

Miktar	POCl ₃ (ekv)	MeOH (mL)	Süre	Verim
100 mg	3	6	4 saat	%50
500 mg	3	12	1 gün	%38
600 mg	3	36	1 gün	%60
1 g	3	20	2 gün	%66
5 g	3	100	3gün	%62

Tekrar enol **43**'e geri dönülerek tosilat esteri **179** veya mesilat esteri **180** üzerinden **46**'nın sentezi düşünüldü. Büyük ölçekli reaksiyonlarda katı reaktiflerin kullanılması reaksiyon ortamına ilave açısından önemli bir avantajdır. Bu nedenle TsCl ile denemelere başlandı. DCM içerisinde enol **43**, TsCl ve DMAP'ın reaksiyon balonuna konulup DCM içerisinde çözüldü. Oda sıcaklığında karıştırılan reaksiyon sonucunda alınan ¹H NMR spektrumunda reaksiyonun gerçekleşmediği görüldü. Sıcaklık ve baz miktarı değiştirilerek yapılan reaksiyondan **179** elde edildi. Ham ürün hidrazin hidrat ile etanol içerisinde reflüks edildi. Ham ürünün DCM/hekzan çözücü sistemi içerisinde çöktürülmesi sonucu pirazol **46** elde edildi. Her iki kademenin toplam veriminin %46 olduğu görüldü. Verimin istenilen düzeyde olmaması sebebiyle MsCl ile denemelere geçildi (Çizelge 3.4).



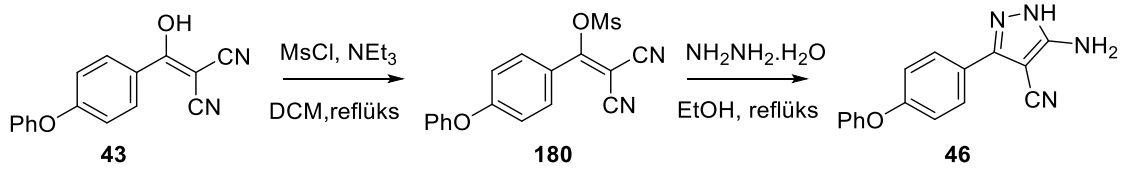
Şekil 3.6. 46'nın sentezi

Çizelge 3.4. 46'nın sentezinde kullanılan reaksiyon şartları

Miktar (Çıkış bileşiği)	Çözücü	NEt ₃ (ekv)	TsCl (ek)	Süre	Sıcaklık	Verim (%)
100 mg	THF	1.5+ DMAP (0.1 ek)	2.2	1 gün	0°C -25°C	-
100 mg	DCM	2.5+ DMAP (0.1 ek)	2.5	1 gün	0°C -25°C	-
3.02 g	DCM	2.5+ DMAP (0.5 ek)	2.5	1 gün	25°C-reflüks	46

MsCl ile denemelere geçildi. Enol **43** DCM içerisinde NEt₃ ve MsCl ile reaksiyona sokuldu. İTK ile reaksiyon takip edildi ve enol **43**'ün reaksiyon ortamında bitmesinin ardından reaksiyon durduruldu. Ham ürün saflaştırılmaksızın NH₂NH₂.xH₂O ile reaksiyona sokuldu ve reaksiyon karışımı etanol içerisinde 4 gün reflüks edildi. Ham

ürün DCM/hekzan çözücü sistemi ile çöktürülerek saflaştırıldı. Bu başarının ardından reaksiyon değişik ölçeklerde ve şartlarda tekrarlandı. Bu denemeler sonucunda **43**'den **46**'ya %86 verimle geçilebilmektedir.



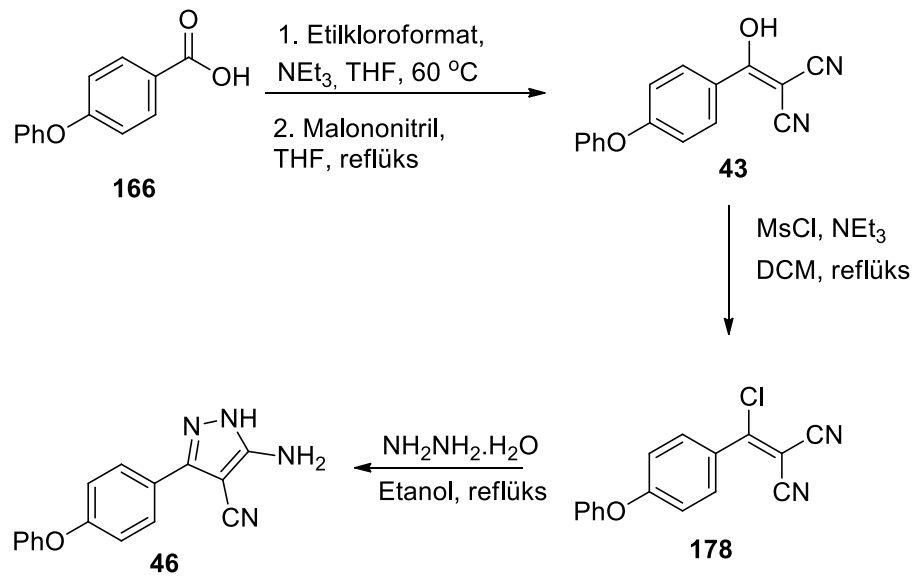
Şekil 3.7. **46**'nın sentezi

Çizelge 3.5. **46**'nın sentezinde kullanılan reaksiyon şartları

Miktar (çıkış bileşiği)	NEt ₃ (ekv)	MsCl (ekv)	Süre	Sıcaklık	Verim (%)
100 mg	2.5	2.0	1 gün	0 °C -25 °C	62
250 mg	2.5	2.0	1 gün	0 °C -25 °C	65
1 g	2.5	2.5	1 gün	0 °C -25 °C	73
262 mg	3.5	3.5	1 gün	0 °C -25 °C	79
525 mg	3.5	3.5	1 gün	0 °C -reflüks	84
2.09 g	3.5	3.5	1 gün	0 °C -reflüks	86

166'dan **46**'ya dönüşümde her basamakta oluşan ürünleri ayırdıktan sonra daha sonraki basamağa geçme yerine ürünleri saflaştırmadan **46**'nın sentezi de araştırıldı. İlk olarak 5 g ölçüğünde reaksiyon denendi. Ham ürün herhangi bir saflaştırılma uygulanmadan sonraki kademelerde kullanıldı. Reaksiyonun %82-98 toplam verimle ilerlediği bulundu. Bu başarının ardından ölçek büyütme ve reaktiflerin miktarlarında iyileştirilme çalışmaları yapıldı. 500 mg ölçüğüne geriye dönülerek reaksiyonda kullanılan reaktiflerin miktarları yeniden gözden geçirildi ve miktarların azaltılabileceği öngörüldü. Yapılan denemelerde %82 toplam verime ulaşıldı. Fakat reaksiyon 10 g

ölçekte aynı miktarlarla tekrarlandığında enol **43**'ün reaksiyon ortamında bitmediği görüldü. Reaksiyon ortamına yeniden MsCl ve NEt₃ ilave edildi. Bu denemeden elde edilen sonuç ışığında 20 g ile reaksiyon tekrarlandı ve %62 toplam verimle **46** sentezlendi. Buradan elde edilen bilgiler sonucunda aynı reaksiyon yeniden tekrarlandı ve yine %62 toplam verimle **46** elde edildi. Bu sonuç bizim şartlarımızın daha büyük ölçeklere uygulanabileceğini göstermektedir.



Şekil 3.8. 166'dan çıkılarak 46'nın sentezi

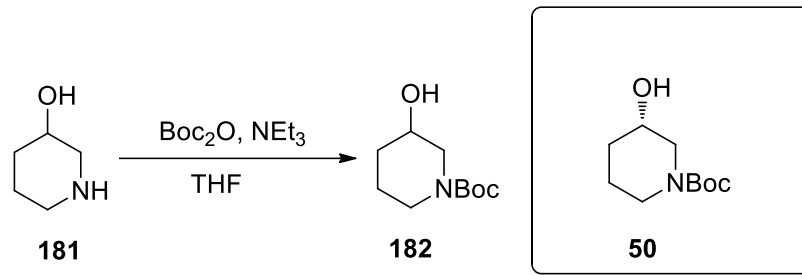
Çizelge 3.6. 46'nın yüksek ölçekli sentezinde kullanılan reaksiyon şartları

Miktar (çıkış bileşiği)	Etilkloro format, (ekv)	Malono nitril, (ekv)	NEt ₃ , (ekv)	MsCl, (ekv)	NEt ₃ , (ekv)	Verim (%)
5 g	1.8	2.7	7.5	3.5	3.5	65
7 g	1.8	2.7	7.5	3.5	3.5	67
10 g	1.8	2.7	7.5	3.5	3.5	51
12 g	1.8	2.7	7.5	3.5	3.5	51
500 mg	1.3	1.5	3	1.7	2	83
10 g	1.3	1.5	3	3.5	3.5	62
20 g	1.3	1.5	3	3.5	3.5	62

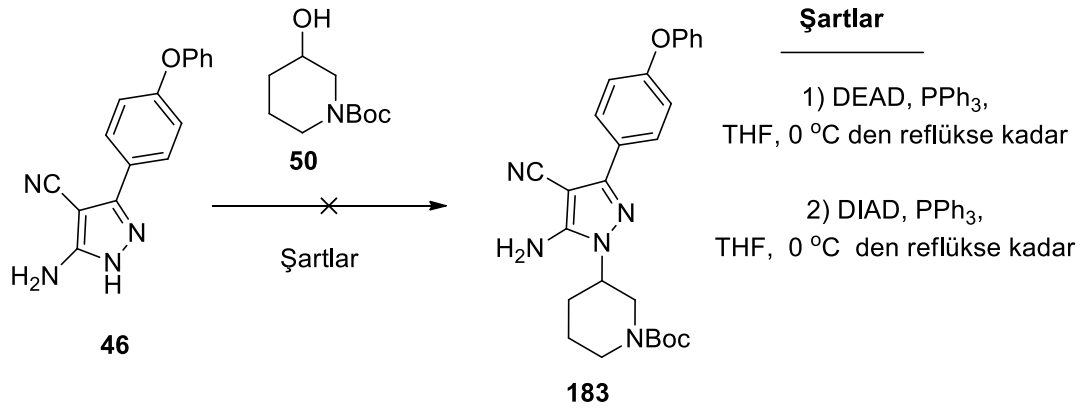
43 bileşiğinin başarıyla sentezinin ardından **186**'nın sentezi için denemelere başlandı. (S)-3-piperidinol çok yaygın olmamakla beraber bazı firmalar tarafından ticari olarak satılmaktadır. Fakat oldukça pahalıdır. Pahalı bir ara maddeyi direkt olarak kullanmak yerine bu zaman diliminde rasemik piperidinol ile denemeler yapılması planlandı.

Literatürde **49**'un (S)-3-hidroksi piperidin ile Mitsunobu reaksiyonu sonucu sentezlendiği bilinmektedir. İlk olarak 3-hidroksipiperidinol (500 mg, 3 g, 5 g, 10 g) THF içerisinde Boc_2O ile muamele edilerek korundu (Kovackova *et al.* 2011). Aynı reaksiyon 20 g (S)-piperidinol ile de tekrarlandı. Bu reaksiyon yüksek verimle problemsiz bir şekilde başarılıydı (Hirst *et al.* 2004).

46'nın sentezinin ardından pirazol birimi üzerine piperidinin yerleştirilmesi düşünüldü. DEAD, PPh_3 ve DIAD, PPh_3 ile Mitsunobu reaksiyonları değişik sıcaklık aralıklarında denendi. İlk denemelere DEAD ile başlandı. Bu reaksiyonlar THF içerisinde kolaylıkla yapılmaktadır. Bizim denemelerimiz 0°C ile THF'nin reflüks sıcaklığı aralığında tekrarlandı. Ham ürünlerden alınan ^1H NMR spektrumlarında ürüne rastlanmadı.

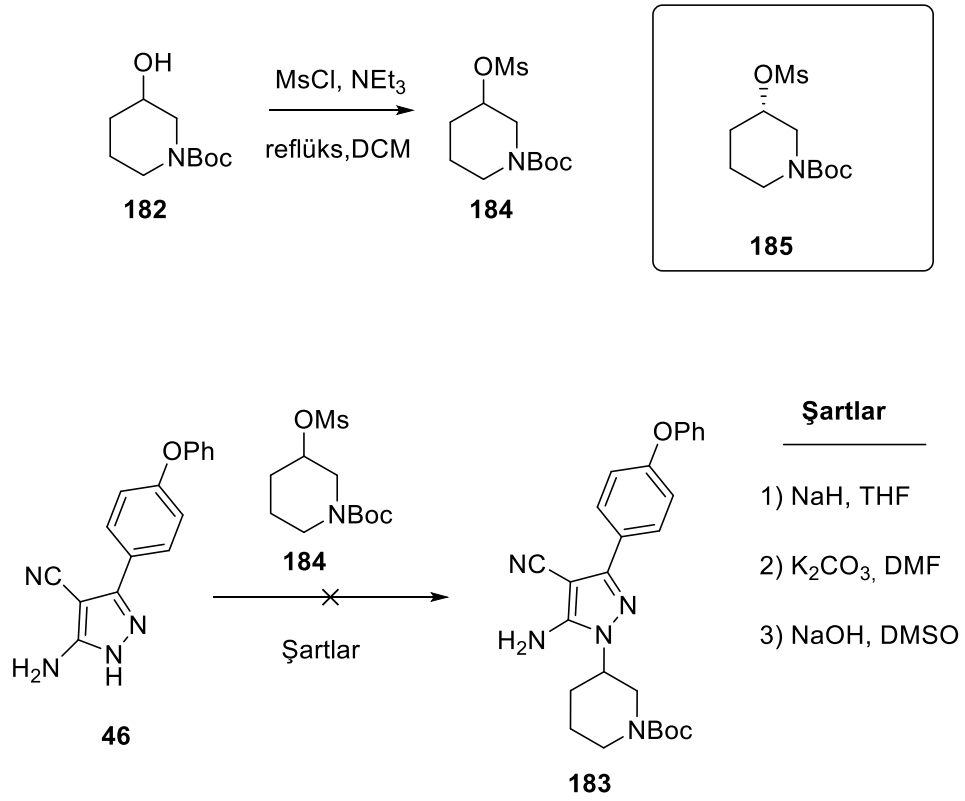


Şekil 3.9. **181**'den **182**'nin sentezi



Şekil 3.9. 181'den 183'ün sentezi

Mitsunobu reaksiyonunda başarılı sonuç elde edilememesi üzerine nükleofilik süstitüsyonla pirazol **46**'ya piperidin yerleştirilmeye çalışıldı. Bu amaçla **182**'nin hidroksil grubu MsCl ile kolay çıkan bir grup olarak mesilat esteri **184**'e dönüştürüldükten sonra S_N2 reaksiyonu ile **46**'ya pirazol birimi yerleştirilmesi düşünüldü. MsCl ile yapılan esterleştirme değişik ölçeklerde rasemik ve enantiyosaf molekülde (452 mg- 40 g) tekrarlandı (Kovackova *et al.* 2011). Ham ürün saflaştırılmaksızın bir sonraki kademede kullanıldı. Mesilat **184**'ün pirazol **46**'ya takılması için pirazol **46**, NaH ile muamele edildi. Bunun ardından mesilat **184** reaksiyon ortamına ilave edildi ve değişik sıcaklık aralıklarında (0 °C'den kaynama sıcaklığına kadar) denendi. Fakat bu çalışmalar başarısızlıkla sonuçlandı. Bu yüzden reaksiyonlar daha zayıf baz olan K₂CO₃ ile DMF içerisinde tekrarlandı. İTK ile takip edilen reaksiyonda çıkış bileşiğinden başka spot gözlenmedi. Ayrı bir deneme olarak reaksiyon DMSO içerisinde NaOH ile de denendi. Fakat bu çalışma da başarısızlıkla sonuçlandı.



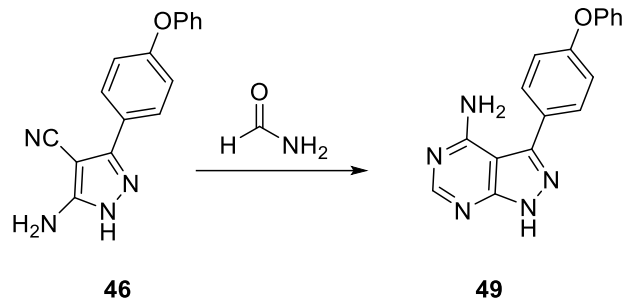
Şekil 3.11. 46'dan 183'ün sentezi

Çizelge 3.7. 185'in sentezinde uygulanan reaksiyon şartları

Miktar (çıkış bileşiği)	NEt ₃ ekv.	MsCl ekv.	Verim (%)
452 mg	3.5	3.5	87
1.05 g	3.5	3.5	97
2.34 g	3.5	3.5	95
20 g	3.5	3.5	95
30 g	3.5	3.5	92
30 g	3.5	3.5	94
40 g	3.5	3.5	95

Bu denemelerin başarısızlıkla sonuçlanmasının ardından pirimidin halkası oluşturulduktan sonra piperidin halkasının yerleştirilmesine karar verildi. 10 g ölçeğinde **46**'nın sentezi başarılı bir şekilde gerçekleştirildikten sonra pirimidin **49**'un sentezi için

en uygun reaksiyon şartlarının bulunması için denemeler yapıldı (Şekil 3.11). İlk olarak 200 mg pirazol, formamid (1.5 mL) içerisinde 150 °C’de 6 saat ısıtıldı. Ham ürün **49** %85 verimle elde edildi. Bu başarının ardından periyodik bir şekilde miktar artırma çalışmaları gerçekleştirildi ve sonuç olarak 10 g pirazolden çıkılarak pirimidin **49** sentezi %91 verimle başarı bir şekilde gerçekleştirildi (Çizelge 3.9).



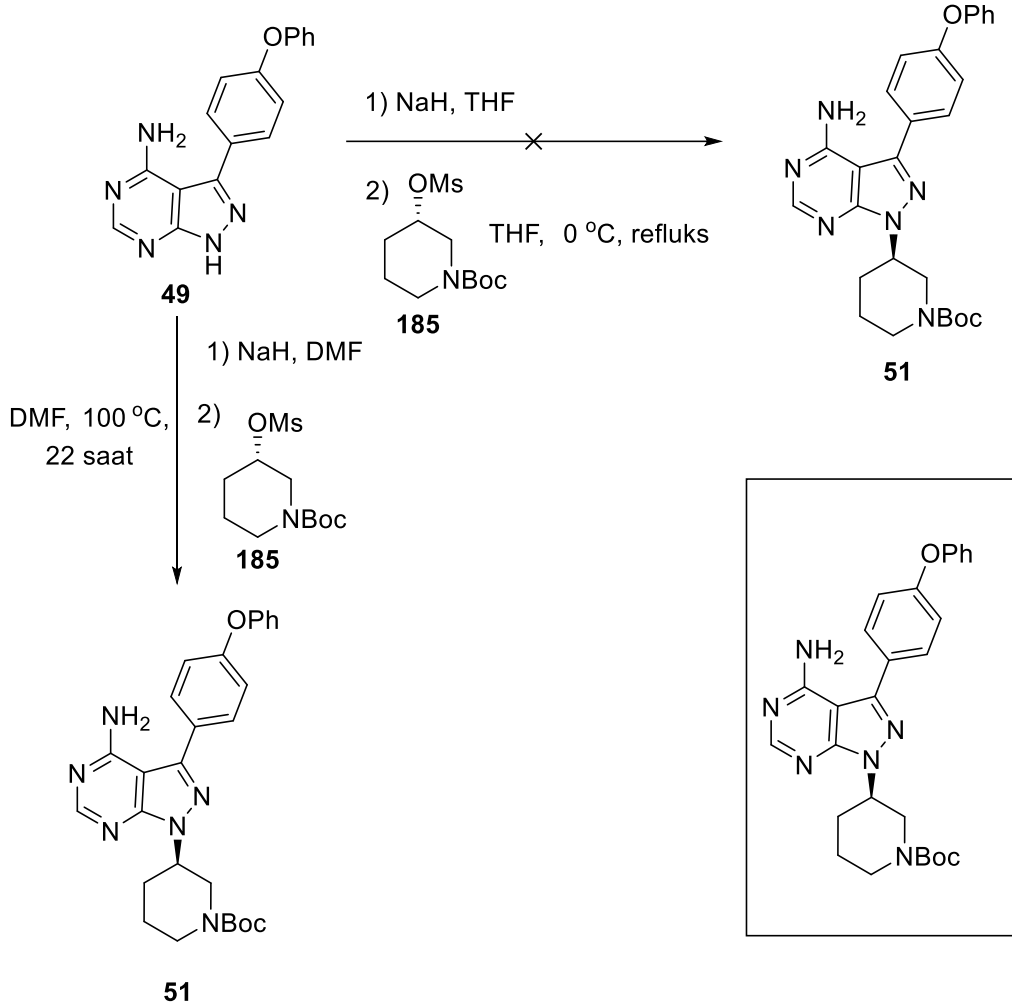
Şekil 3.12. **49**'un sentezi

Çizelge 3.8. **49**'un yüksek ölçekli sentezinde kullanılan reaksiyon şartları

Miktar (çıkış bileşiği)	Formamid, (mL)	Sıcaklık. (°C)	Süre	% Verim
200 mg	1.5	150	6 saat	85
270 mg	2	120	3 saat	64
320 mg	2	120	3 saat	86
500 mg	2	140	6 saat	51
1 g	4	120	4 saat	70
1 g	4	160	7 saat	91
2 g	8	120	24 saat	91
3 g	10	160	24 saat	91
4.8 g	20	180	4 gün	66
10 g	60	120	4 gün	91

100 mg ölçeğinde **49**'dan **51**'in sentezi için THF içerisinde NaH kullanarak pirazol anyonu oluşturup daha sonra mesitil grubunun süstitüsüyonu denendi. Reaksiyon

değişik sıcaklık aralıklarında (0 °C'den kaynama sıcaklığına kadar) tekrarlandı. Fakat bu deneme başarısızlıkla sonuçlandı. Problemin çıkış bileşiğinin çözünürlüğünden kaynaklandığı düşünülerek reaksiyonun kuru DMF içerisinde denenmesi gerektiği düşünüldü.



Şekil 3.13. **51**'in sentezi

N₂ atmosferinde NaH'ün (394 mg) DMF (8 mL) içerisindeki süspansiyonuna 1 g **49** DMF içerisindeki çözeltisi 0 °C'de ilave edilip 1 saat karıştırıldı ve ardından **185** DMF içerisinde çözülüp ilave edildi. Oda sıcaklığına kadar kendiliğinden ısınan reaksiyon karışımı yağ banyosu yardımıyla 100 °C'ye ısıtıldı. Bu reaksiyon İTK ile takip edildi. Çıkış bileşiği tamamen bittikten sonra (22 saat) reaksiyon durduruldu.

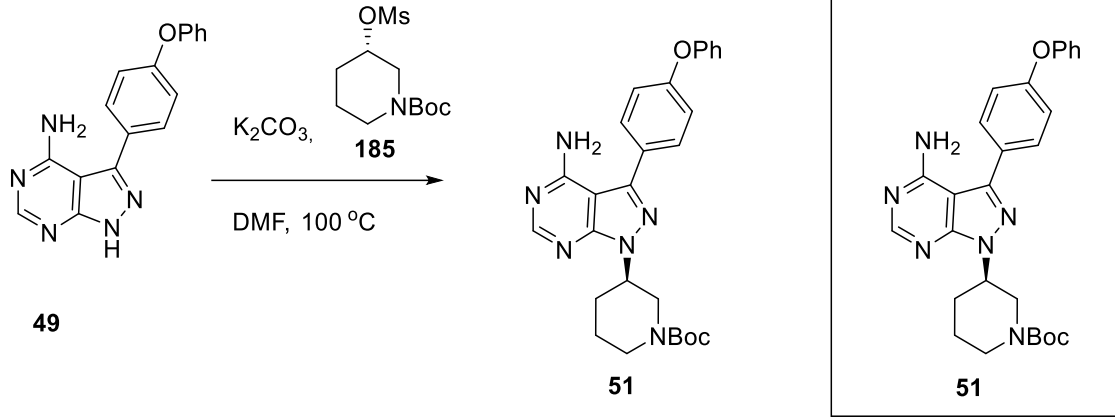
Ham ürünün saflaştırılmasının ardından alınan ^1H NMR reaksiyonun başarı ile yürüdüğünü gösterdi. Bu başarının ardından reaksiyon ölçeğinin büyütülmesi denemelerine geçildi (Çizelge 3.9).

Çizelge 3.9. **51**'in sentezinde kullanılan reaksiyon şartları

Miktar (Çıkış bileşiği)	Mspiperidin (ekv)	0 °C'de bekleme süresi	NaH (ekv)	100°C'de bekleme süresi	Verim (%)
100 mg	2.0	1 saat	2.0	22 saat	40
200 mg	2.0	1 saat	3.0	24 saat	48
200 mg	1.5	1 saat	1.5	22 saat	42
870 mg	1.5	2 saat	1.5	22 saat	45
1 g	1.3	2 saat	3.0	3 gün	59
3 g	1.8	1 saat	1.8	22 saat	57

Görüldüğü gibi piperidin birimi kolaylıkla pirazol halkasına DMF/NaH sisteminde bağlanabilmektedir. Fakat NaH ile çalışma dikkatli olmayı gerektirmektedir. NaH yanıcı bir maddedir (suyla yavaş reaksiyona girdiği bilinir fakat sentezi sırasında ortamda metalik sodyumda kalmaktadır. Reaksiyonun durdurulması sırasında bazen yangınlarla karşılaşılabilir). Daha büyük ölçeklerde (200 g, 500 g) daha ucuz ve güvenli reaksiyonlar yapabilmek amacıyla denemelerin $\text{K}_2\text{CO}_3/\text{DMF}$ ile yapılması planlandı. Ayrıca böyle bir reaksiyonu kurmak da çok kolay ve ilave tedbirlere gerek duyulmamaktadır. Pirazolopirimidin **49** (1 g) ve K_2CO_3 (3.64 g) karışımına inert atmosferde DMF (18 mL) ilave edildikten sonra 100 °C'de 22 saat ısıtıldı. Reaksiyon İTK ile takip edildi. Ham ürün kolon kromatografisi ile ayrıldı. %70 verimle **51** elde edildi. Bu başarının ardından değişik ölçeklerde (100 mg- 22 g) reaksiyon rasemik **182** ile tekrarlandı (Çizelge 3.11). 10 g ölçekte enantiyosaf **185** ile de aynı şartlarda süstitüsyon denendi ve %69 verimle **51**'in sentezi başarılıydı. Saflaştırılmanın yüksek miktarlarda çöktürülerek yapılması planlandı. Reaksiyon bitiminde yapılan ekstraksiyon işlemi sırasında az miktarda da olsa kalan DMF ürünün çökmesini engellemektedir.

Ham ürün silika gel'den EtOAc ile süzildükten sonra ürün kolaylıkla çöktürülebilmektedir. Geliştirilen bu tekniğin büyük ölçeklerde yapılacak reaksiyonların saflaştırılmasında araştırmacılara kolaylık sağlayacağı düşünülmektedir.



Şekil 3.14. 51'in sentezi

Çizelge 3.10. 51'in sentezinde kullanılan reaksiyon şartları

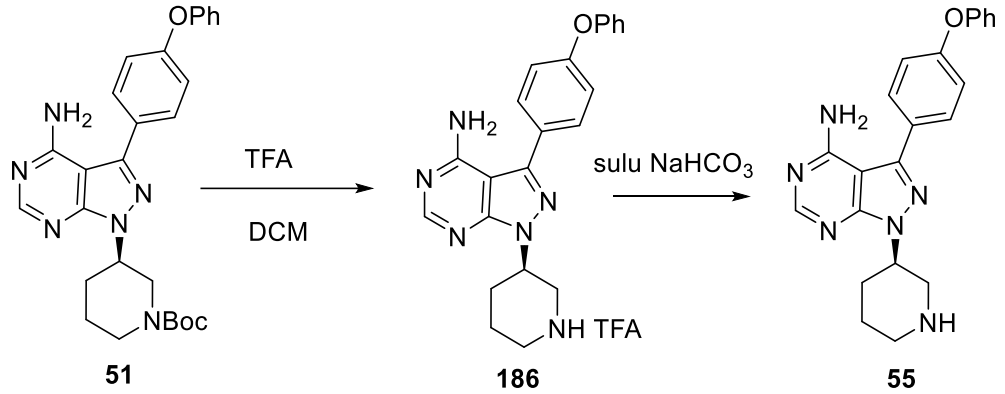
Çıkış bileşiği	Mspiperidin (ekv)	K_2CO_3 (ekv.)	Süre	Verim (%)
100 mg	2.0	5.0	23 saat	40
200 mg	2.0	6.0	2 gün	45
500 mg	2.0	6.0	2 gün	50
500 mg	2.0	6.0	3 gün	50
1 g	2.0	8.0	3 gün	72
1.63 g	2.0	8.0	4 gün	73
3 g	2.0	8.0	4 gün	71
5 g	2.0	8.0	5 gün	69
10 g	2.0	8.0	7 gün	69
10 g	2.0	8.0	8 gün	73
18 g	2.0	8.0	10 gün	73
22 g	2.0	8.0	9 gün	69

Çizelge 3.10 (devam)

6.5 g	2.0	8.0	3 gün	69
6.6 g	2.0	8.0	3 gün	70
10 g	2.0	8.0	3 gün	72
12.76 g	2.0	8.0	4 gün	70
18 g	2.0	8.0	4 gün	74

51'e piperidin biriminin başarı ile yerleştirilmesinin ardından piperidin halkasında bulunan Boc grubunun hidrolizine geçildi. Bu aşamada artık rasemik ürünle değil enantiyosaf ürünle çalışıldı. Literatürde Boc grubu aynı molekül için 1,4-Dioksan/HCl ile yapılmaktadır. Fakat bu maddenin ülkemize girişi özel izinle sağlanmaktadır. Proje akışında gecikmeye yol açmamak için Boc grubunun uzaklaştırılmasında TFA kullanımını tercih edildi. 100 mg- 15.2 g arasında denemeler yapıldı ve tüm reaksiyonların kantitatif verimle gerçekleşti. Fakat yüksek miktarlara çıkıldığında reaksiyon süresinin uzadığı görüldü. Genellikle bu reaksiyonlar 0 °C ile oda sıcaklığı arasında yapılır. Reaksiyon sıcaklığının DCM'nin reflüks sıcaklığına getirilmesiyle de reaksiyon ortamına aşırı TFA ilavesine gerek kalmaksızın Boc grubunun uzaklaştırılması başarılıdır. Çözücü uzaklaştırılarak TFA tuzu **186** elde edildi.

Çıkış bileşiğinin miktarı arttıkça TFA miktarının artırılmasıyla reaksiyonda sorunlar yaşanmaya başladı. Ham ürünün çöktürülerek ayrılması denendi. Fakat TFA'nın tamamen uzaklaştırılmamasından dolayı bu mümkün olmadı. Bu karışıma toluen (çok defa) ilave edilerek TFA evaporatörde uzaklaştırmaya çalışıldı fakat TFA'nın fazlasından kurtulmak mümkün olmadı. Ham ürün DCM ile çözülüp üzerine kontrollü bir şekilde doygun NaHCO₃ çözeltisi ilave edildi. Böylelikle asit serbest karboksilat formuna geçirilerek sulu faza alındı. Serbest amin **55** ise organik fazda kaldı. Organik faz kurutulup evaporatörde konsantre edilerek **55** elde edildi. Değişik ölçeklerde denemeler Çizelge 3.11'de verildi.

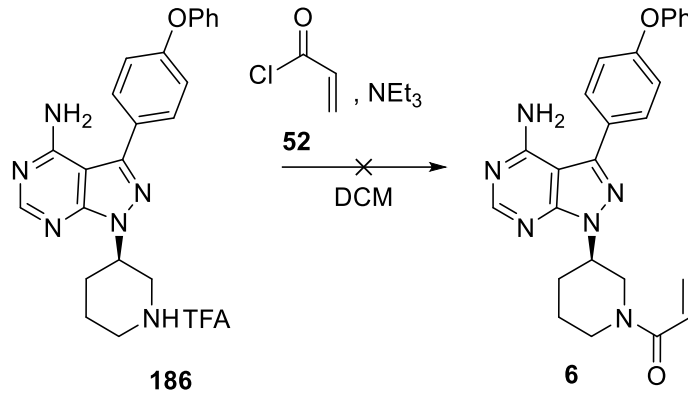


Şekil 3.15. 55'in sentezi

Çizelge 3.11. 55'in sentezinde kullanılan reaksiyon şartları

Çıkış bileşiği	TFA (ekv)	Süre	Verim(%)
100 mg	2.0	2 saat	95
500 mg	2.0	3 gün	96
1.2 g	3.0	4 gün	94
5.15 g	5.0	7 gün	95
5.85 g	5.0	7 gün	94
10 g	5.0	8 gün	97
15.2 g	5.0	8 gün	96

Daha sonra hedef bileşik 6'nın sentezi için denemelere geçildi. İlk olarak literatürde bilinen şartlar kullanılarak reaksiyon kuruldu. Kuru DCM içerisinde çözülen çıkış bileşiğinin üzerine NEt_3 ilave edildi. Sonrasında akriloyl klorür eklenerek reaksiyon İTK ile takip edildi. Ancak reaksiyonun gerçekleşmediği görüldü. Bunun ardından reaksiyon yardımcı bazlar kullanılarak tekrarlandı ancak yine dönüşüm gözlenmedi.

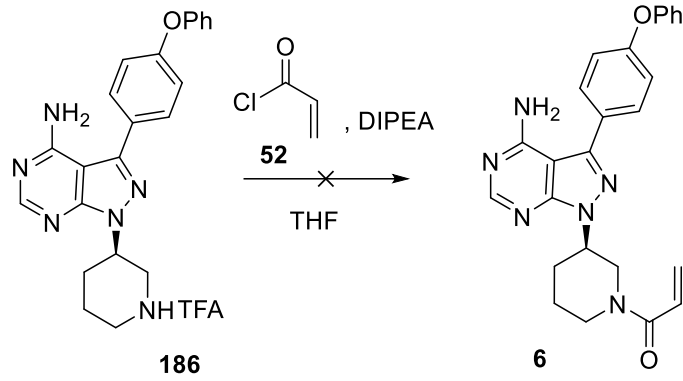


Şekil 3.16. 6'nın sentezi

Çizelge 3.12. 6'nın sentezinde kullanılan reaksiyon şartları

Çıkış bileşiği	52'nin ekv.	NEt ₃ ekv.	Çözücü	Sıcaklık
80 mg	1.3	3	DCM	0 °C
100 mg	1.3	3	DCM	25 °C
500 mg	1.5	5	DCM	25 °C
122 mg	1.5	5	DCM	reflüks
200 mg	1.3	3	THF	0 °C
122 mg	1.3	3	THF	25 °C
200 mg	1.3	3	THF	reflüks
500 mg	1.5	3 + DMAP (1,5 ekv.)	THF	reflüks
200 mg	1.5	3 + DBU (1,5 ekv.)	DCM	25 °C

Reaksiyon DIPEA ile de aynı şartlarda tekrarlandı. Ancak bu reaksiyondan da herhangi bir sonuç alınamadı.

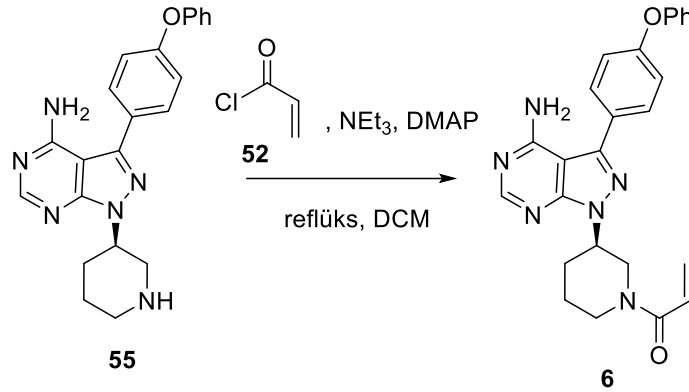


Şekil 3.17. 6'nın sentezi

Çizelge 3.13. 6'nın sentezinde kullanılan reaksiyon şartları

Miktar (Çıkış Bileşiği)	52'nin (ekv)	DIPEA (ekv)	Çözücü	Sıcaklık
972 mg	1.5	3.5	DCM	-20 °C
500 mg	1.1	2.5	DCM	0 °C
500 mg	1.1	2.5	THF	25 °C

Bu başarısızlığın ardından reaksiyon serbest amin formundan gerçekleştirilmeye çalışıldı. Yardımcı baz olarak kullanılan DMAP'in ekivalent miktarı azaltıldı. Reaksiyon bu şartlar altında tekrarlandı. Sonuç olarak az da olsa ürün sinyalleri gözlemlendi. Bunun ardından optimizasyon ve ölçek artırma çalışmalarına geçildi. Bu aşamada ise saflaştırma sırasında problemler yaşandı ve verimin çok düşük olduğu belirlendi.

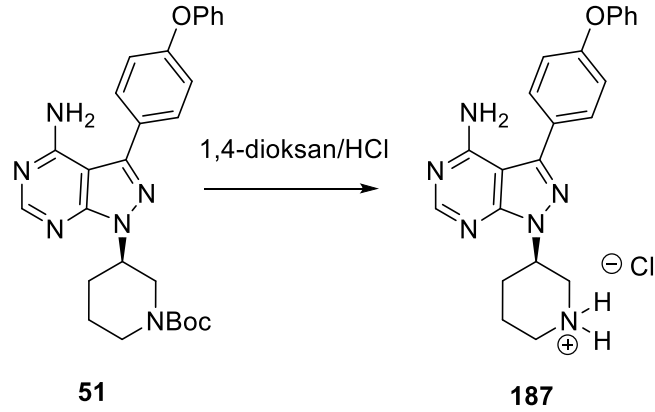


Şekil 3.18. 6'nın sentezi

Çizelge 3.14. 6'nın sentezinde kullanılan reaksiyon şartları

Miktar (Çıkış bileşiği)	52'nin (ekv)	NEt ₃ (ekv)
200 mg	1.5	3.0+DMAP (0.5 ekv.)
500 mg	1.5	3.0+DMAP (0.5 ekv.)
1 g	1.5	3.0+DMAP (0.5 ekv.)
3 g	1.5	3.0+DMAP (0.5 ekv.)
5.8 g	1.5	3.0+DMAP (0.5 ekv.)

Yaşanan problemlerin ardından 6'nın literatürdekine benzer şekilde 1,4-dioksan/HCl ile hidroliz edildikten sonra HCl tuzu halinde çöktürülmesi planlandı. Böylelikle 6 molekülünün kolaylıkla saflaştırılabileceği öngörüldü. Literatürde kullanılan 4 M 1,4-dioksan/HCl'in ülkemize satışı Sağlık Bakanlığı izni olmadan yapılamamaktadır. Bu tür prosedürlerin işleyişi uzun bir zaman alacağından ilk çalışmalar 1,4-dioksan içerisinde HCl gazı geçirilerek gerçekleştirildi. Çıkış bileşiğinin ortamda bitip bitmediği ise İTK ve ¹H NMR ile kontrol edildi. ¹H NMR'da Boc grubuna ait olan sinyalin kaybolduğu gözlemlendi. Çözücü iyice evaporatörde uzaklaştırıldı ve oluşan tuz (187) EtOAc ile çöktürülerek kolaylıkla saflaştırıldı.

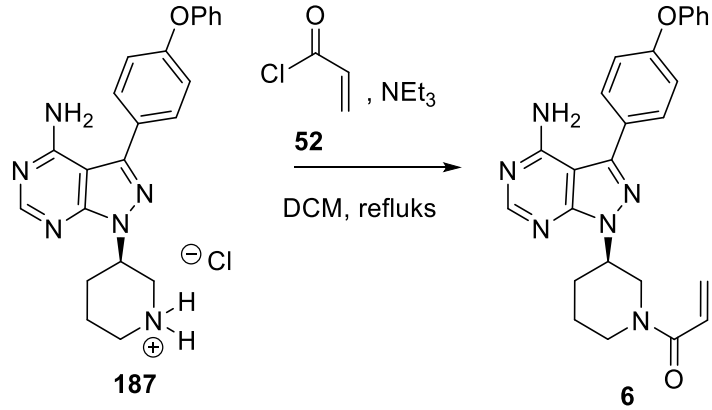


Şekil 3.19. 187'nin sentezi

Çizelge 3.15. 187'nin sentezinde kullanılan reaksiyon şartları

Miktar (Çıkış bileşiği)	1,4-dioksan/HCl	Süre
350 mg	10 mL	1 gün
860 mg	40 mL	2 gün
2.8 g	140 mL	2 gün
15 g	180 mL	2 gün

188'in sentezinin ardından hedef bileşiği **6**'nın sentezi için çalışmalara geçildi. İlk olarak literatürde kullanılan yöntem denendi. Oda sıcaklığında kuru DCM ile çözülen çıkış bileşiğinin üzerine inert atmosferde NEt_3 ardından akriloil klorür eklendi. Çıkış bileşiğinin ortamda bitmesi sonucunda reaksiyon durduruldu. EtOAc/ MeOH çözücü sistemi kullanılarak yapılan ayırım neticesinde verimin düşük olduğu (%22) görüldü (Liu *et al.* 2015).

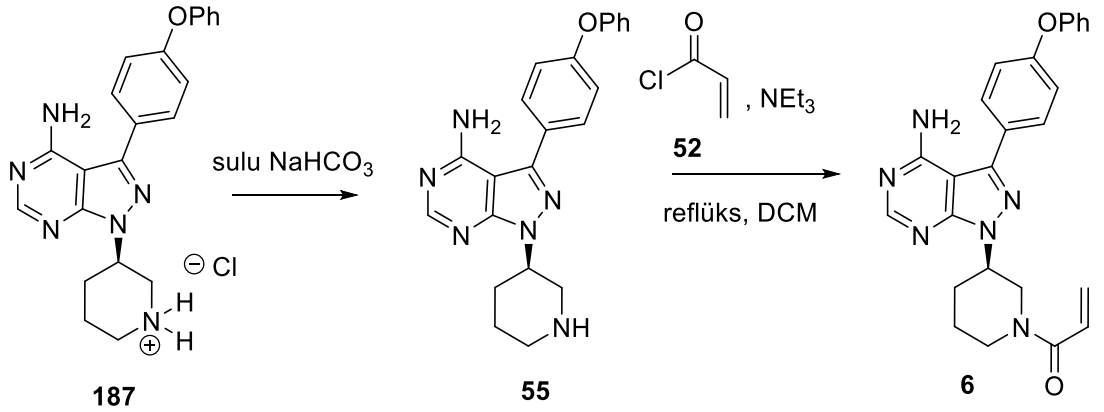


Şekil 3.20. 6'nın sentezi

Çizelge 3.16. 6'nın sentezinde kullanılan reaksiyon şartları

Miktar (Çıkış bileşiği)	52'nin (ekv)	NEt ₃ (ekv)	Sıcaklık	Verim (%)
350 mg	1.3	3.0	25 °C	22
860 mg	1.3	3.0	25 °C	16
365 mg	1.3	3.0+DMAP (0.5 ekv)	reflüks	10

Reaksiyon verimini artırmak amacıyla, nötrleştirme sonucu oluşan serbest aminin daha iyi reaksiyon verebileceği düşünülerek amin tuzu **187** NaHCO₃ ile muamele edilerek serbest amin **55** sentezlendi. NEt₃ ve DİPEA bazları ile denemeler yapıldı. Ancak yapılan reaksiyonlarda verimin yine düşük olduğu belirlendi.

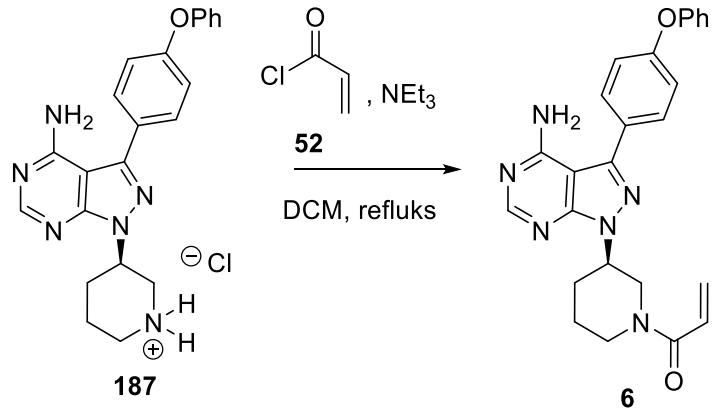


Şekil 3.21. 6'nın sentezi

Çizelge 3.17. 6'nın sentezinde kullanılan reaksiyon şartları

Çıkış bileşiği	52'nin ekv.	Baz	Verim(%)
205 mg	1.3	3.0 (NEt ₃ ekv)	26
221 mg	1.3	3.0 (DIPEA ekv)	14

Reaksiyon sonucunda düşük verim elde edilmesinin ardından reaksiyon şartları değiştirildi. Bazla karışma süresi artırıldı ve daha sonra akriloil klorür eklenerek 1 gün reflüks edildi. Bu şartlar altında tuz formunda bulunan (187) ile gerçekleştirilen reaksiyon sonucunda verimin %50'ye kadar yükseldiği gözlemlendi. Şartlar optimize edildikten sonra 1.1 g ölçeğine kadar çıkıldı ve reaksiyonun problemsiz bir şekilde gerçekleştiği belirlendi.



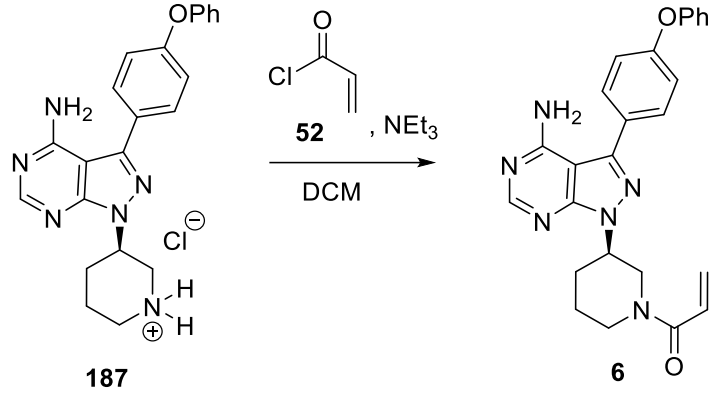
Şekil 3.22. 6'nın sentezi

Çizelge 3.18. 6'nın sentezinde kullanılan reaksiyon şartları

Miktar (çıkış bileşiği)	52'nin (ekv)	NEt ₃ (ekv)	Çözücü	Sıcaklık	Verim (%)
350 mg	1.3	3.0	DCM	25 °C	22
860 mg	1.3	3.0	DCM	25 °C	16
365 mg	1.3	3.0+DMAP (0.5 ek)	DCM	reflüks	10
250 mg	1.3	3.0	DCM	reflüks	49
1.1 g	1.3	3.0	DCM	reflüks	50
3.3 g	1.3	3.0	DCM	reflüks	45
3.0 g	1.3	3.0	DCM	reflüks	42
10 g	1.3	3.0	DCM	reflüks	20

6'nın sentezinde yapılan ölçek artırma çalışmalarında 3 g'dan 10 g'a geçilirken çeşitli saflaştırma problemleri yaşandı. Oluşan safsızlıklar ve ürün aynı çözücü sisteminde çöktüğü için bu teknikle sonuca varılamadı. Safsızlıklar ürünle aynı yerde yürüdüğü için kromatografik yöntemlerle de ayrılması mümkün olmadı. Bu problem reaksiyon şartlarını yeniden gözden geçirmemize sebep oldu.

Reaksiyon şartları soğukta (0 °C), akriloil klorür ve NEt₃ miktarı azaltılarak gözden geçirildi. Fakat safsızlıkların oluşması engellenemedi. Akriloil klorür çok reaktif olduğundan DCM içerisinde çözülerek reaksiyon ortamına damla damla kontrollü bir şekilde verildi. Fakat verimde ve ürün dağılımında herhangi bir değişiklik gözlenmedi.



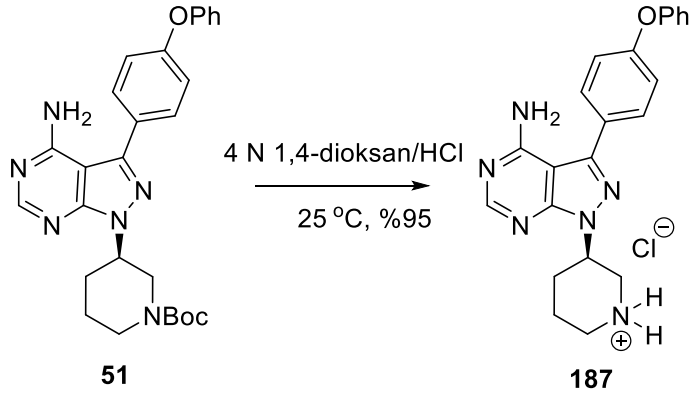
Şekil 3.23. 6'nın sentezi

Çizelge 3.19. 6'nın sentezinde kullanılan reaksiyon şartları

Miktar (çıkış bileşiği)	NEt ₃ (ekv)	Akriloil klorür (ekv)	Verim (%)
300 mg	4.0	0.8	45
150 mg	2.0	0.5	46
158 mg	2.0	0.8	44
560 mg	5.0	0.4	45
190 mg	4.0	0.6	42

Hidroliz çalışmalarında laboratuvarında yaptığımız 1,4-dioksan HCl kullanılmaktaydı. Literatürde genellikle 4 M 1,4-dioksan/HCl kullanılması ve "homemade" hazırlanan çözeltinin istenilen konsantrasyona ulaşmadığı görüldü. Bu durum hem reaksiyon süresinin uzamasına hem ölçek artırırken sürekli çok fazla miktarda (15 g- 180 mL) 1,4-dioksan/HCl kullanmamıza sebep oldu.

Sonrasında 4 M 1,4-dioksan/HCl gelmesiyle birlikte yapılan ölçek büyütme çalışmaları Çizelge 3.20’de verilmiştir.



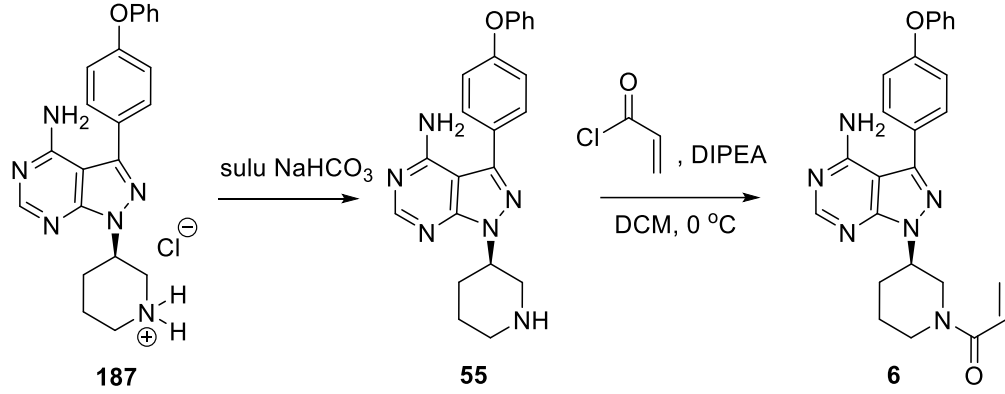
Şekil 3.24. 187’nin sentezi

Çizelge 3.20. 187’nin sentezinde kullanılan reaksiyon şartları

Miktar (çıkış bileşiği)	4 M 1,4-dioksan/HCl	Süre
1.1 g	2 mL	2 saat
3 g	6 mL	2 saat
3.3 g	7 mL	2 saat
9.6 g	22 mL	3 saat
12.2 g	30 mL	3 saat

Literatürde daha hacimli bir baz olan DİPEA’nın kullanıldığı görüldü. Reaksiyon şartları değiştirilerek literatürdeki bu yöntem kullanılmaktadır (Li *et al.* 2015). NaHCO₃ ile nötürleştirilerek serbest amin haline getirilen çıkış bileşiği (55) kurutuldu. 0°C’de kuru DCM içerisinde çözülen çıkış bileşiğinin üzerine DİPEA eklendi. Daha sonra ayrı bir balonda N₂ atmosferinde, kuru DCM içerisinde çözülen akriloil klorür 0 °C’ye soğutulduktan sonra damla damla reaksiyon ortamına ilave edildi. Reaksiyon 1 saat karıştırıldıktan sonra İTK ile kontrol edildi ve reaksiyon ortamında çıkış bileşiğinin bittiği görüldü. Bunun üzerine MeOH eklendi ve çözücü uzaklaştırıldı. Alınan ¹H NMR sonucu yan ürünlerin oluşmadığı görüldü. Yapılan süzme işlemi sonucunda %55

verimle arzu edilen ürüne ulaşıldı. Farklı bir literatürde daha fazla DIPEA kullanılarak yapılan çalışma denendi fakat herhangi bir verim farkı görülmedi (Smith *et al.* 2017) .

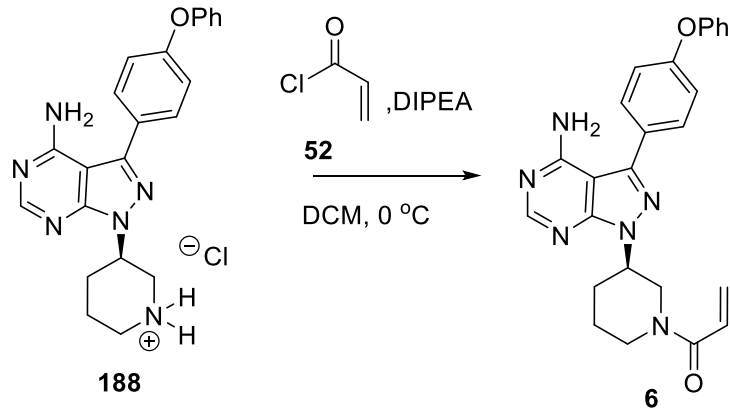


Şekil 3.25. 6'nın sentezi

Çizelge 3.21. 6'nın sentezinde kullanılan reaksiyon şartları

Miktar (çıkış bileşiği)	DIPEA (ekv)	Akriloyl klorür (ekv)	Verim (%)
135 mg	1.0	1.0	55
170 mg	1.2	1.0	56
100 mg	1.0	1.0	54
100 mg	1.0	1.0	55
160 mg	1.0	6.0	50

Bu başarının ardından aynı reaksiyon tuz formu **188** ile denendi. Tuz formu **188** ile gerçekleştirilen reaksiyonda verimlerin daha yüksek olduğu görüldü. Fazladan kimyasal harcanmasına ve ekstraksiyona gerek kalmayan bu yöntemde ölçek büyütme çalışmalarına geçildi. Ölçek büyütmede (11.02 g) sorun yaşanmadı ve istenilen ürün süzme sonucu rahatlıkla elde edildi. Sonrasında gerçekleştirilen çöktürme sonucunda da herhangi bir safsızlıkla karşılaşılmadı.



Şekil 3.26. 6'nın sentezi

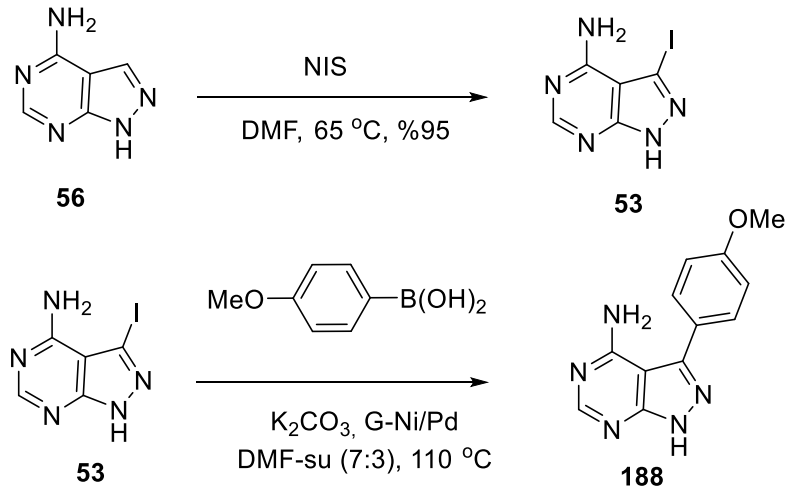
Çizelge 3.22. 6'nın sentezinde kullanılan reaksiyon şartları

Miktar (çıkış bileşiği)	DIPEA (ekv)	Akriloyl klorür (ekv)	Verim (%)
200 mg	3.0	1.0	59
196 mg	3.0	1.0	58
225 mg	3.0	1.0	58
262 mg	3.0	1.0	56
410 mg	3.0	1.0	62
500 mg	3.0	1.0	62
1 g	3.0	1.0	59
2.82 g	3.0	1.0	60
3 g	3.0	1.0	62
9.27 g	3.0	1.0	62
11.02 g	3.0	1.0	60

Literatürde İbrutinib'in sentezinde homojen katalizör yardımıyla gerçekleştirilen Suzuki Kenetlenmesi reaksiyonu da kullanılmaktadır (Liu *et al.* 2015). Bu yöntemde kullanılan **53** oldukça pahalı bir bileşiktir. Bunun yerine **56** kullanılarak NIS ile DMF içerisinde iyotlanması sonucunda **53** elde edildi. G-Ni/Pd heterojen katalizörü kullanılarak kenetlenme reaksiyonu literatüre yakın verimlerle sentezlendi (Metin *et al.* 2013). Bu katalizörün daha ucuz ve ülkemizde sentezlenebiliyor olması, yanısıra heterojen olması

sebebiyle reaksiyon ortamından kolaylıkla uzaklaştırılabiliyor olması ve katalizörün geri kazanabilir olması büyük bir avantaj olarak görülmektedir.

Bu kapsamda yapılan çalışmalarda ilk olarak 4-aminopirazolo[3,4-d]pirimidin molekülü NIS ile DMF içerisinde 3-iyodo-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amin molekülüne dönüştürüldü. Literatürle aynı yöntem kullanılarak yapılan sentez sonucu **53**'e ulaşıldı (Liu *et al.* 2015). Yüksek verimlerle gerçekleştirilen reaksiyon sonucunda kenetlenme kademesine geçildi. İlk olarak elimizde mevcut olan bizim yapmak istediğimiz moleküle oldukça benzer 4-metoksi fenil boronik asit ile çalışıldı. Reaksiyon ekivalent ve süre değiştirilerek yapıldı ve şartlar optimize edildi (Metin *et al.* 2013).

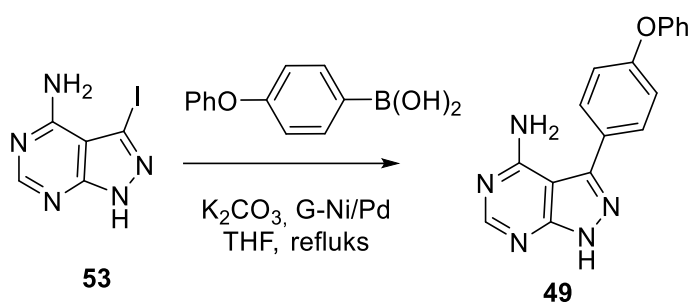


Şekil 3.27. **188**'in sentezi

Çizelge 3.23. 188'in sentezinde kullanılan reaksiyon şartları

Çıkış bileşiği (ekv)	p-metoksi fenil boronik asit ek.	K ₂ CO ₃ ek.	Süre	Verim (%)
2.43	1.0	2.0	1 saat	-
2.43	1.0	2.0	1 gün	5
2.43	2.0	2.0	3 gün	20
2.43	2.0	2.0	4 gün	30
2.5	1.5	2.0	4 gün	49
1.5	1.0	1.5	3 gün	70

Şartların optimize edilmesinin ardından 4-fenoksi fenil boronik asitle Suzuki kenetlenme çalışmalarına devam edildi.

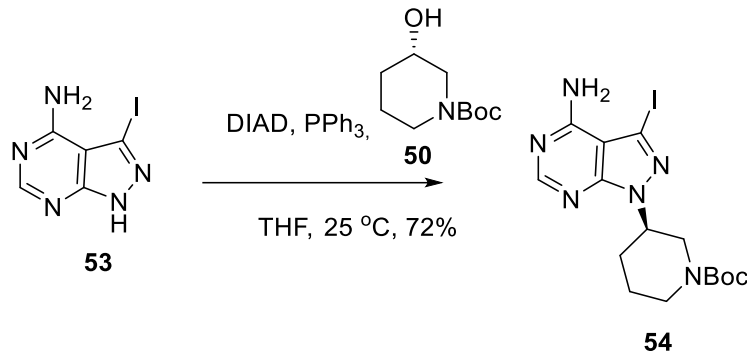


Şekil 3.28. 49'un sentezi

Çizelge 3.24. 49'un sentezinde kullanılan reaksiyon şartları

Iodopirazolo pirimidin (53)	p-fenoksi fenil boronik asit (ekv)	K ₂ CO ₃ (ekv)	Süre	Çözücü	Verim (%)
250 mg	2.0	3.0	4 gün	THF	71
400 mg	2.0	3.0	4 gün	1,4-dioksan	69
940 mg	2.0	3.0	6 gün	THF	72
975 mg	2.0	3.0	7 gün	THF	73
1.03 g	2.0	3.0	7 gün	THF	72

Bu başarılı sentezin ardından ibrutinib'in ara kademe moleküllerinin sentezine farklı bir reaksiyonla ulaşılması planlandı. İyodopirazolopirimidin türevi **53**'e Mitsunobu reaksiyonu ile Boc ile korunmuş piperidin (**50**) takıldı. %72 verimle gerçekleşen bu reaksiyon sonucu elde edilen iyot bileşiği **54** bir sonraki kademedeki Suzuki kenetlenme reaksiyonu için kullanıldı.

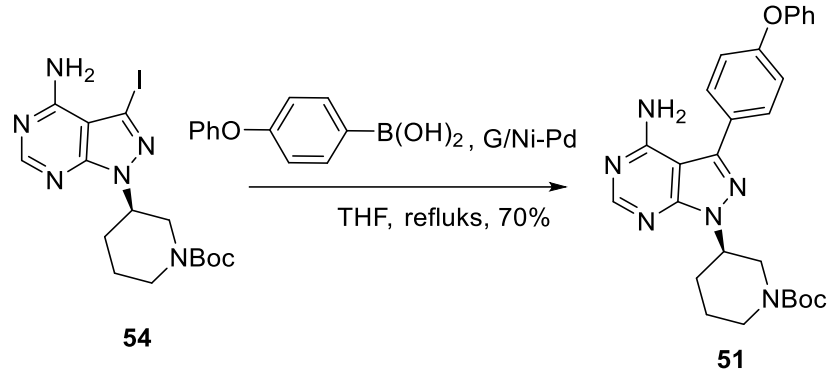


Şekil 3.29. **54**'ün sentezi

Çizelge 3.25. **54**'ün sentezinde kullanılan reaksiyon şartları

Miktar (çıkış bileşiği)	DIAD (ekv)	PPh ₃ (ekv)	Süre	Verim (%)
1 g	1.9	1.9	1 gün	66
2.33 g	1.9	1.9	2 gün	70
5.3 g	1.9	1.9	2 gün	72

54 bileşiğinin 4-fenoksifenil boronik asit ile gerçekleştirilen Suzuki kenetlenmesi reaksiyonu sonucu **51** başarıyla sentezlendi. Bu reaksiyonla birlikte daha önce 5 kademe sentezlenen **51** bileşiği üç kademe yüksek verimlerle sentezlenebilir duruma geldi.

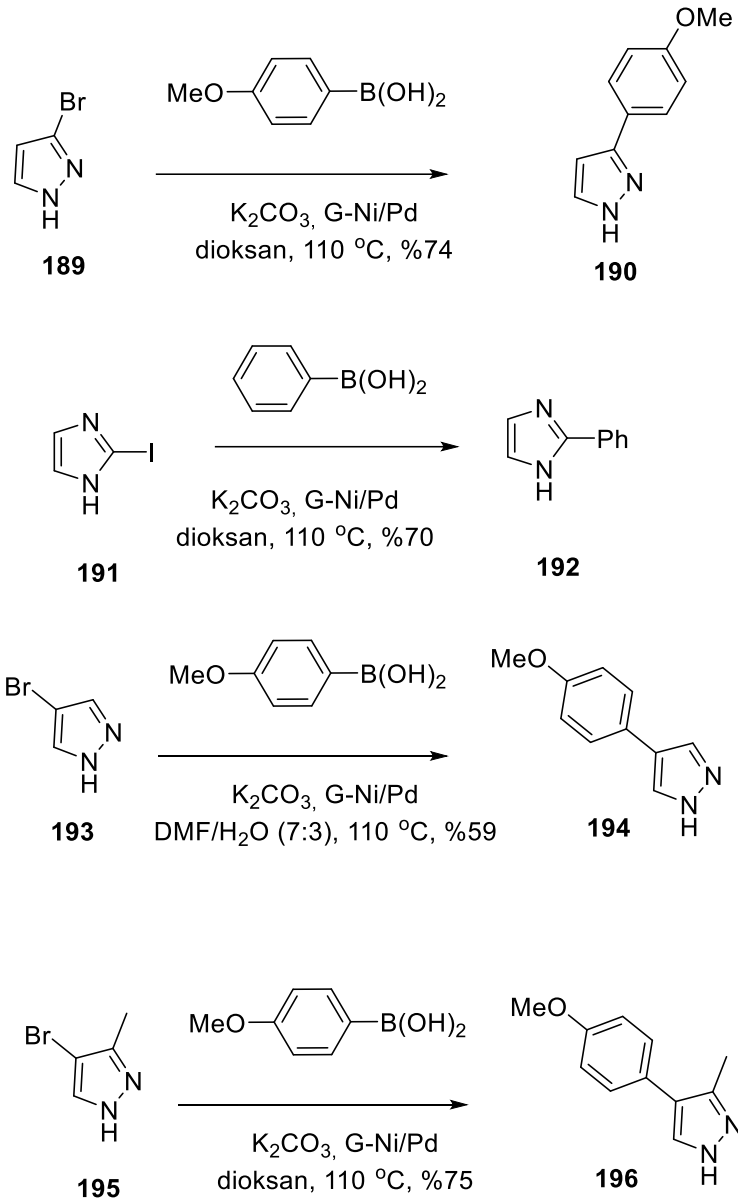


Şekil 3.30. 51'in sentezi

Çizelge 3.26. 51'in sentezinde kullanılan reaksiyon şartları

Miktar (çıkış bileşiği)	p-fenoksi fenil boronik asit (ekv)	K ₂ CO ₃ (ekv)	Süre	Verim (%)
120 mg	2.0	3.0	3 gün	65
633 mg	2.0	3.0	3 gün	66
875 mg	2.0	3.0	4 gün	70
1.175 g	2.0	3.0	4 gün	71
5.2 g	2.0	3.0	5 gün	75
9.8 g	2.0	3.0	5 gün	75

Aynı katalizör sistemi halopirazol bileşikleri **189**, **193** ve **195** ile iyodoimidazol **191**'in Suzuki kenetlenme tepkimeleri için kullanıldı. 4-metoksifenilboronik asit ve fenilboronik asit ile gerçekleştirilen reaksiyonlar sonucu orta ve iyi düzeydeki verimlerle **190**, **192**, **194** ve **196** bileşikleri elde edildi.



Şekil 3.31. 190, 192, 194, 196'nın sentezi

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Çözücü saflaştırma

Diklorometan

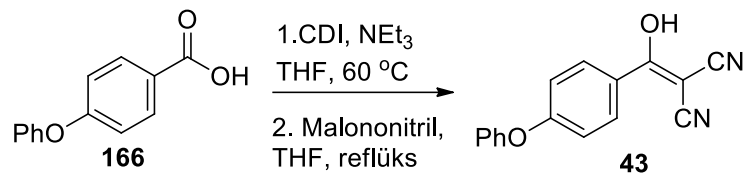
4A molecular sieves üzerinden kurutulularak, N₂ atmosferinde 1 gece bekletilerek kullanıldı.

Tetrahidrofur

Az miktarda metalik Na küçük parçalara kesilerek, yağını uzaklaştırmak için minimum miktarda hekzan ile yıkandı ve sodyum parçacıkları damıtma balonundaki çözücüye eklendi. Benzofenon eklenen çözelti için N₂ atmosferiyle inert atmosfer oluşturuldu ve Na metalinin çözücüyü kurutması beklenildi. Çözelti birkaç saat geri akışa bırakıldı. Kurduğunda koyu mavi renge ulaşan çözelti toplama haznesinde biriktirilerek N₂ atmosferi altında kullanıldı.

4.2. Deneyler

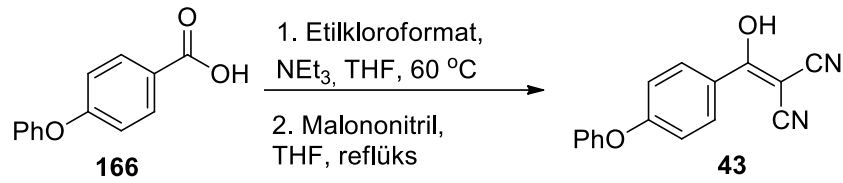
43'ün Sentezi için 1. Genel yöntem



4-fenoksi benzoik asit **166** (500 mg, 2.33 mmol) ve 1,1-carbonyldiimidazole CDI (**170**) (1.135 g, 7.0 mmol) bulunan balon içerisine (azot atmosferinde 0 °C' de) 20 mL destile THF ilave edildi. Reaksiyon karışımı yaklaşık 24 saat N₂ atmosferinde karıştırıldı. Karışım çıkış bileşiğine karşı ince tabaka kromatografisiyle kontrol edildi. Çıkış bileşiğinin bitmesinin ardından malononitril (**44**) (4.16 g, 63.0 mmol) NEt₃ (0.42 mL, 3.03 mmol) de çözümlenerek N₂ atmosferinde oda sıcaklığında damla damla ilave edildi.

Reaksiyon karışımı 18 saat boyunca azot atmosferinde reflüks edildi. Reaksiyon soğutularak süzülür katı kısım atıldı. Sıvı kısmın çözücüsü evaporatörde uzaklaştırıldı. Kalıntı EtOAc'de çözülerek ekstraksiyon yapıldı. Birleştirilen organik fazlar Na₂SO₄ üzerinden kurutularak süzülür. Çözücü evaporatörde uzaklaştırıldıktan sonra kahverengi sıvı **43** (397 mg, %65 verim) elde edildi.

43'ün Sentezi için 2. Yöntem

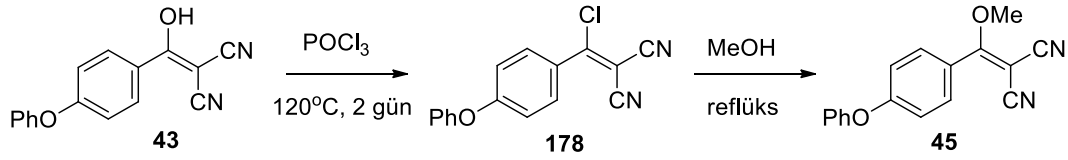


4-Fenoksi benzoik asit **166** (5.00 g, 23.3 mmol) bulunan balon içerisine (azot atmosferinde 0 °C' de) 80 mL THF, NEt₃ (24.36 mL, 175 mmol) ve ardından etilkloroformat (4.03 mL, 42.01 mmol) ilave edildi. Reaksiyon karışımı yaklaşık 2 saat N₂ atmosferinde reflüks edildi. Karışım çıkış bileşiğine karşı ince tabaka kromatografisiyle kontrol edildi. Çıkış bileşiğinin bitmesinin ardından malononitril (**44**) (4.16 g, 63.0 mmol) 10 mL N₂ atmosferinde THF'de çözülerek oda sıcaklığında damla damla ilave edildi. Reaksiyon karışımı 17 saat boyunca oda sıcaklığında azot atmosferinde reflüks edildi. Reaksiyon soğutularak süzülür katı kısım atıldı. Sıvı kısmın çözücüsü evaporatörde uzaklaştırıldı. Kalıntı EtOAc'de çözülerek ekstraksiyon yapıldı. Birleştirilen organik fazlar Na₂SO₄ üzerinden kurutularak süzülür. Çözücü evaporatörde uzaklaştırıldıktan sonra kahverengi sıvı **43** (6.02 g, %98 verim) elde edildi. C₁₆H₁₀N₂O₂ Hesaplanan: C, 73.27; H, 3.84; N, 10.68, bulunan: C, 73.57; H, 3.64; N, 10.58,

¹H NMR (DMSO, 400MHz) δ 8.85 (brs, 1H), 7.62 (d, J = 8.3 Hz, 2H), 7.42 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 7.18 (t, J = 7.3 Hz, 1H), 7.07 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 6.94 (d, J = 8.5 Hz, 2H).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO) δ 166.0, 163.0, 160.0, 156.2, 130.9, 130.8, 129.8, 128.6, 125.0, 120.2, 118.0.

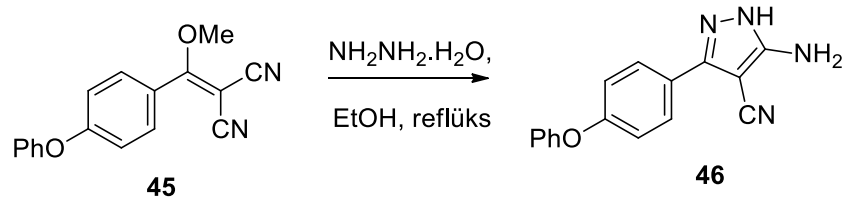
46'nın Sentezi için 1. Genel Yöntem



43 (1.00 g, 3.81 mmol) POCl₃ (1.06 mL, 11.43 mmol) içerisinde 48 saat 120 °C'de ısıtıldı. Reaksiyon karışımı soğutulduktan sonra tepkime 0 °C'de MeOH (20 mL) eklenerek durduruldu. Karışım 24 saat MeOH içerisinde reflüks edildi. Çözücü uzaklaştırıldıktan sonra DCM/hekzan (1:10, 50 mL) içerisinde çöktürüldü. Katı süzülüp atıldı. Sıvı kısım **178** olarak elde edildi. Ardından MeOH ile 24 saat reflüks edildi. Çözücünün uzaklaştırılma sonucu turuncu renkli sıvı **45** (807 mg) elde edildi.

¹H NMR (DMSO, 400MHz) 7.64 (d, 2H), 7.51-7.38 (m, 2H), 7.24 (dd, 1H), 7.16 (m, 4H), 3.90 (s, 3H).

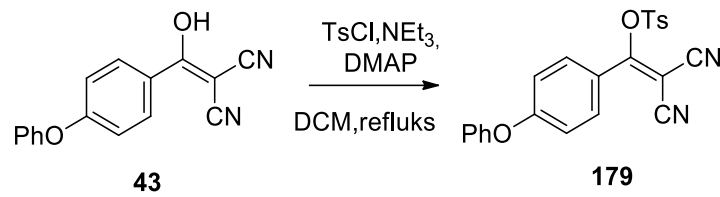
¹³C NMR (100 MHz, DMSO) δ 186.4, 161.7, 155.2, 132.2, 131.1, 125.8, 122.5, 121.0, 118.1, 114.6, 113.2, 65.8.



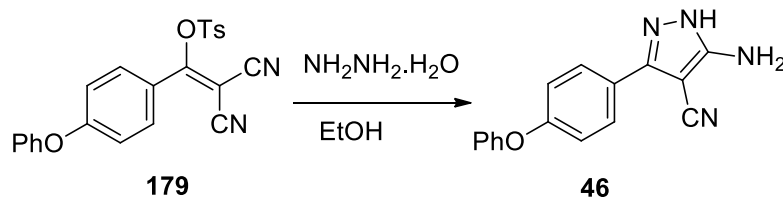
Enol eter **45** (807 mg), EtOH (16 mL) içerisinde çözüldü ve N₂H₄.H₂O (8 mL) ilave edildi. Reaksiyon karışımı 2 gün reflüks edildi. Soğutulan karışımın çözücüsü uzaklaştırıldı. EtOAc/doygun NaCl çözeltisi ile muameleden sonra organik faz ekstrakte edilip birleştirilen organik fazlar Na₂SO₄ üzerinden kurutularak süzüldü. Çözücü evaporatörde uzaklaştırıldıktan sonra ham ürün **46** (872 mg) elde edildi. DCM/hekzan (1:10; 50 mL) içerisinde çöktürüldü. Sıvı süzülüp atıldı. Beyaz katı **46** (702 mg, 66%) elde edildi. E.n: 186- 188 °C. MS (HRMS (CI, M+H⁺): Hesaplanan 277.1089 (C₁₆H₁₃N₄O), bulunan 277.1099.

^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 12.12 (brs, 1H), 7.80 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 7.43 (t, $J = 7.7$ Hz, 2H), 7.19 (t, $J = 7.4$ Hz, 1H), 7.09 (t, $J = 7.6$ Hz, 3H), 6.31 (brs, 2H).

46'nın Sentezi için 2. Genel yöntem

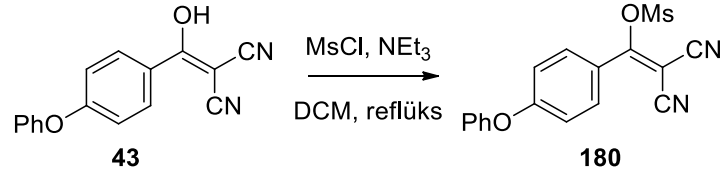


Enol **43** (3.02 g, 11.52 mmol), DMAP (703 mg, 5.76 mmol) ve TsCl (5.617 g, 28.8 mmol) N_2 atmosferinde 0°C 'de DCM (50 mL) içerisinde çözüldü. NEt_3 (4 mL, 28.8 mmol) ilave edilen karışım 18 saat reflüks edildi. Reaksiyon karışımı soğutulduktan sonra doygun NaHCO_3 ile durduruldu. DCM ile ekstraksiyon yapıldıktan sonra birleştirilen organik fazlar Na_2SO_4 üzerinden kurutularak süzülde. Çözücü evaporatörde uzaklaştırıldıktan sonra ham ürün **179** (2.81 g, 6.74 mmol) elde edildi.

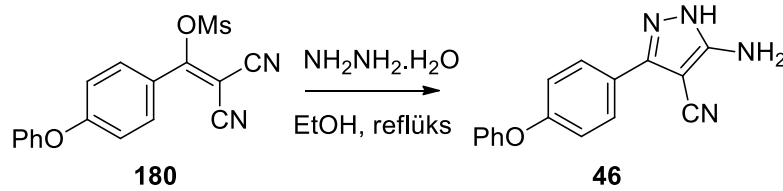


179 (2.81 g, 6.74 mmol) EtOH (40 mL) içerisinde çözüldü ve $\text{N}_2\text{H}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (10 mL) ilave edildi. Reaksiyon karışımı 2 gün reflüks edildi. Soğutulan karışımın çözücüsü uzaklaştırıldı. EtOAc/ doygun NaCl çözeltisi ile ekstraksiyon yapılan karışımın birleştirilen organik fazları Na_2SO_4 üzerinden kurutularak süzülde. Çözücü evaporatörde uzaklaştırıldıktan sonra ham ürün **46** (1.96 g) elde edildi. DCM/hekzan (1:10; 50 mL) içerisinde çöktürüldü. Sıvı süzülüp atıldı. Katı kısım **46** (1.49 g, %46) elde edildi.

46'nın Sentezi için 3. Genel yöntem

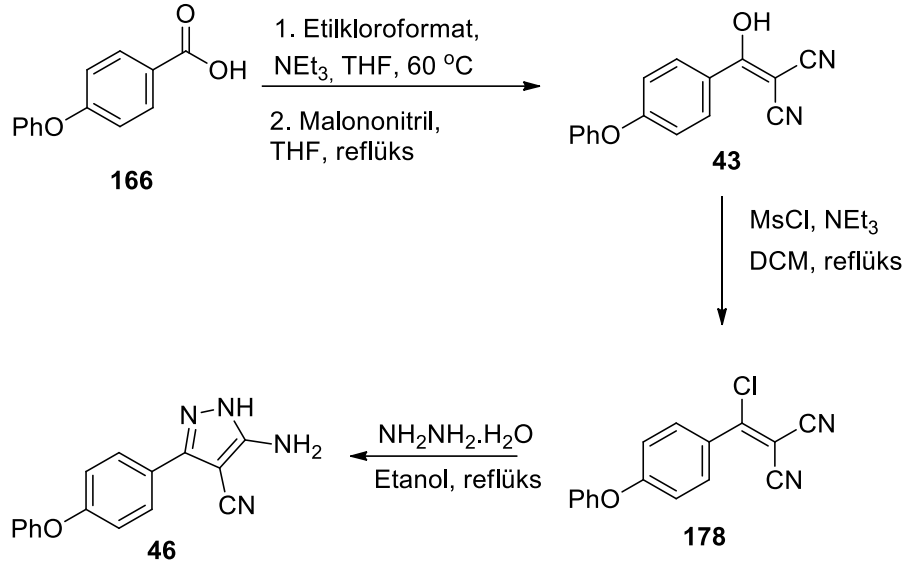


Enol **43** (525 mg, 2 mmol) N₂ atmosferinde DCM (50 mL) içerisinde çözüldü. NEt₃ (0.97 mL, 7 mmol) ve MsCl (0.54 mL, 7 mmol) N₂ atmosferinde 0 °C'de ilave edilerek elde edilen karışım 18 saat reflüks edildi. Reaksiyon karışımı soğutulduktan sonra doygun NaHCO₃ ile durduruldu. DCM ile ekstraksiyon yapıldıktan sonra birleştirilen organik fazlar Na₂SO₄ üzerinden kurutularak süzüldü. Çözücü evaporatörde uzaklaştırıldıktan sonra ham ürün **180** (592 mg) elde edildi.



Mesilat **180** (592 mg, 6.74 mmol) EtOH (20 mL) içerisinde çözüldü ve N₂H₄.H₂O (5 mL) ilave edildi. Reaksiyon karışımı 2 gün reflüks edildi. Soğutulan karışımın çözücüsü uzaklaştırıldı. EtOAc/doygun NaCl çözeltisi ile ekstraksiyon yapılan karışımın birleştirilen organik fazları Na₂SO₄ üzerinden kurutularak süzüldü. Çözücü evaporatörde uzaklaştırıldıktan sonra ham ürün **46** (586 mg) elde edildi. DCM/hekzan (1:10, 50 mL) içerisinde çöktürüldü. Sıvı süzülüp atıldı. Katı kısım **46** (446 mg, %84) elde edildi.

46'nın büyük ölçekte sentezi için Genel Yöntem

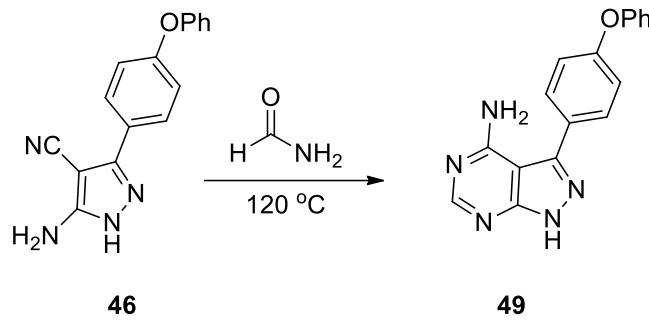


4-fenoksi benzoik asit **166** (12 g, 55.9 mmol) N₂ atmosferinde, 0 °C' de kuru THF'de (130 mL) çözüldü. Bu çözeltiye NEt₃ (419 mmol, 58.4 mL) ve etil kloroformat (100 mmol, 9.7 mL) 0 °C'de ilave edildi ve ilavenin ardından karışım reflüks edildi. 1 saat aralıklarla reaksiyon ortamından örnek alınarak çıkış bileşiğinin bitip bitmediği İTK ile kontrol edildi. Çıkış bileşiğinin bittiği gözlemlendikten sonra, malononitril (**44**) (9.97 g, 150 mmol) N₂ atmosferinde kuru THF'de (20 mL) çözüldü ve reaksiyon ortamına ilave edildi. Reaksiyon karışımı 24 saat reflüks edildi. İTK ile takip edilen reaksiyon 24 saat sonra durduruldu ve çözücü evaporatörde uzaklaştırıldı. Reaksiyon karışımı EtOAc ve H₂O ile ekstrakte edildi. Birleştirilen organik fazlar Na₂SO₄ üzerinden kurutuldu ve çözücü evaporatörde uzaklaştırıldı. Ham ürün saflaştırılmaksızın bir sonraki kademedeki kullanıldı.

Ham ürün **43**, N₂ atmosferinde 0 °C'de kuru DCM içerisinde (150 mL) çözüldü. Bu çözeltiye NEt₃ (373.3 mmol, 52 mL) ve MsCl (373.3 mmol, 29 mL) yavaş yavaş ilave edildi. Reaksiyon karışımı 24 saat reflüks edildi. İTK ile kontrol edilen reaksiyon durduruldu. Reaksiyon karışımı DCM ve NaHCO₃ ile ekstrakte edildi. Birleştirilen organik fazlar Na₂SO₄ üzerinden kurutuldu ve çözücü evaporatörde uzaklaştırıldı. Ham ürün çok az silika gel üzerinden EtOAc/Hekzan kullanılarak süzülme ve başka herhangi bir saflaştırma yapılmaksızın bir sonraki kademedeki kullanıldı.

Ham ürün **180**, oda sıcaklığında EtOH (60 mL) içerisinde çözüldü. Bu çözeltiye $\text{NH}_2\text{NH}_2\cdot\text{H}_2\text{O}$ (20 mL) ilave edildi. Reaksiyon karışımı 4 gün reflüks edildi. İTK ile monitör edilen reaksiyon durduruldu ve çözücü evaporatörde uzaklaştırıldı. Reaksiyon karışımı EtOAc ve H_2O ile ekstrakte edildi. Birleştirilen organik fazlar Na_2SO_4 üzerinden kurutuldu ve çözücü evaporatörde uzaklaştırıldı. Ham ürün DCM/Hekzan çözücü sistemiyle çöktürüldü. %51 toplam verimle **46** elde edildi.

49'un sentezi için 1. Genel yöntem

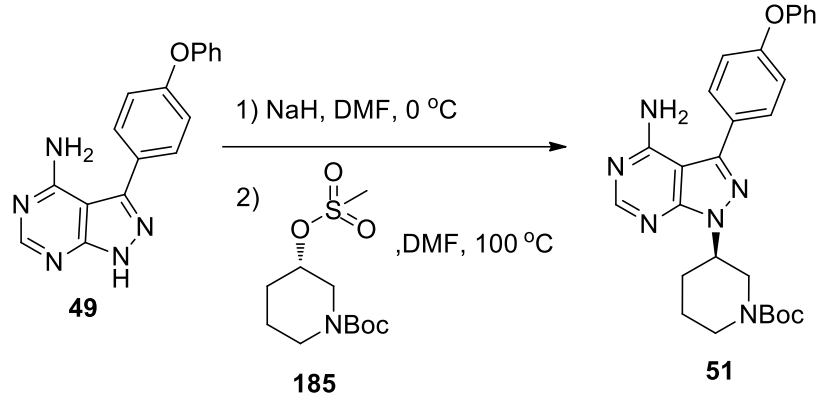


Pirazol **46** (10 g) oda sıcaklığında formamit (60 mL) içinde çözüldü. Reaksiyon karışımı 4 gün boyunca 120 °C'de karıştırıldı. 1 gün aralıklarla reaksiyon ortamından örnek alınarak çıkış bileşiğinin bitip bitmediği İTK ile kontrol edildi. 4 gün sonra reaksiyonun tamamlandığı İTK ve ^1H NMR sonuçları ile belirlendi. Reaksiyon karışımı oda sıcaklığına soğutuldu ve H_2O (100 mL) eklenerek bir süre manyetik bar yardımıyla karıştırıldı. Bu şekilde formamidin fazlasının üründen uzaklaşması sağlandı. Bunun ardından reaksiyon karışımı adi süzgeç kağıdı kullanılarak süzüldü. Elde edilen katı, sıcak EtOH ile yıkandı ve çözücü evaporatörde uzaklaştırıldı. %91 verimle **49** elde edildi. Beyaz renkli katı. E.n: 267-269 °C. MS (HRMS (CI, $\text{M}+\text{H}^+$): Hesaplanan 304.1198 ($\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{N}_5\text{O}$), bulunan 304.1176.

^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 13.55 (s, 1H), 8.20 (s, 1H), 7.65 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 7.41 (t, $J = 7.9$ Hz, 2H), 7.20 – 7.02 (m, 4H).

^{13}C NMR (100 MHz, DMSO) δ 158.8, 157.7, 157.0, 156.5, 144.6, 130.7, 129.1, 124.5, 119.6, 97.6.

51'in sentezi için 1. Genel yöntem

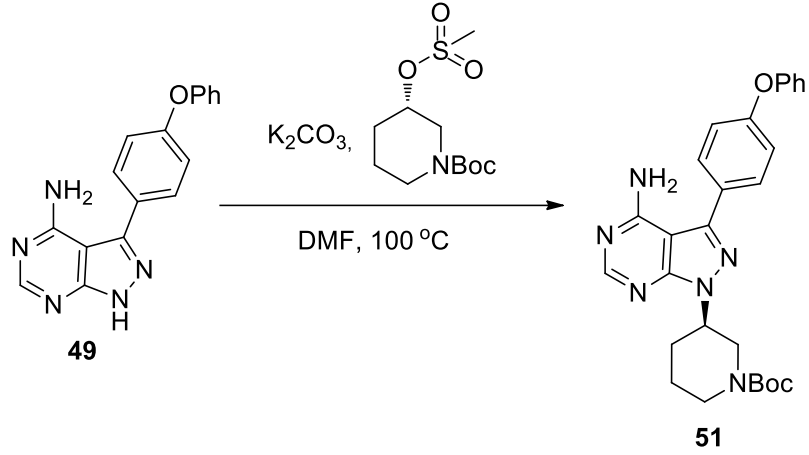


İnert atmosferde 0 °C'de NaH'ün (432 mg, 18 mmol) 12 mL DMF içerisindeki süspansiyonuna **49** (3.03, 10 mmol) DMF (12 mL) içerisinde çözülerek damla damla eklendi. Reaksiyon karışımı 2 saat N₂ atmosferinde karıştırıldı. Karışım içerisinde **185** (5.028 g, 4.32 mmol) DMF (12 mL) içerisinde çözülerek damla damla ilave edildi. Reaksiyon karışımı 3 gün boyunca 100 °C'de ısıtıldı. Oda sıcaklığına soğutulan reaksiyon karışımı doymuş NH₄Cl (20 mL) ile karıştırıldı. Reaksiyon karışımı EtOAc (3×180 mL)/ H₂O (150 mL) ile ekstraksiyon yapıldı. Birleştirilen organik fazlar doymuş NaCl çözeltisi (120 mL) ile yıkanarak Na₂SO₄ üzerinden kurutulularak süzüldü. Çözücü evaporatörde uzaklaştırıldı. Silika gel kolon ile EtOAc/hekzan çözücü sistemiyle saflaştırma yapıldıktan sonra **51** beyaz katı (2.8 g, %57 verim) elde edildi. E.n: 289-291 °C.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.34 (s, 1H), 7.65 (d, J = 8.4Hz, 2H, 2 × CH), 7.35 (t, J = 8.0 Hz, 2H, 2 × CH), 7.15–7.12, (m, 3H, 3 × CH), 7.16 (d, J = 8.0 Hz, 2H, 2 × CH), 4.90–4.81(m, 1H, CH), 4.36–4.19 (m, 1H), 4.12–4.06 (m, 1H), 3.50–3.34(m, 1H), 2.86 (t, J = 10.8 Hz, 1H), 2.31–2.16 (m, 2H), 1.93–1.88(m, 1H), 1.72–1.67 (m, 1H), 1.49 (s, 9H).

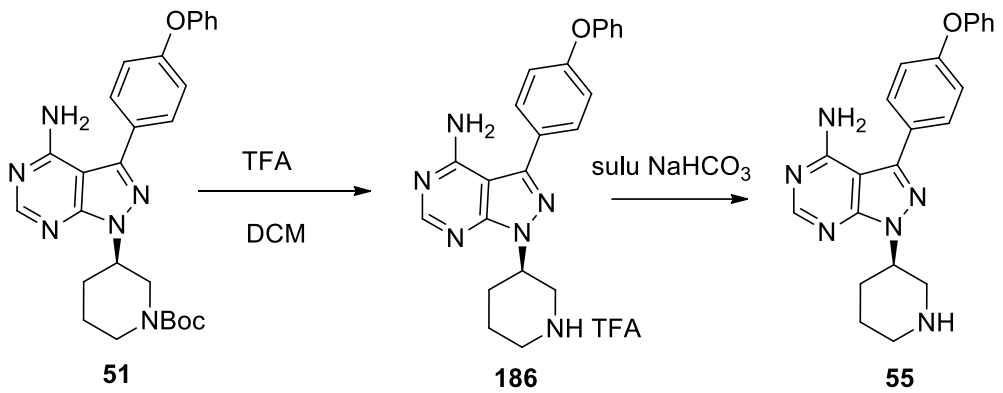
¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 158.7, 158.4, 156.6, 155.8, 154.8, 154.4, 144.0, 130.2, 130.2, 128.1, 124.2, 119.7, 119.3, 98.7, 80.0, 53.1, 48.4, 43.5, 30.4, 28.6, 24.8

51'in sentezi için 2. Genel yöntem



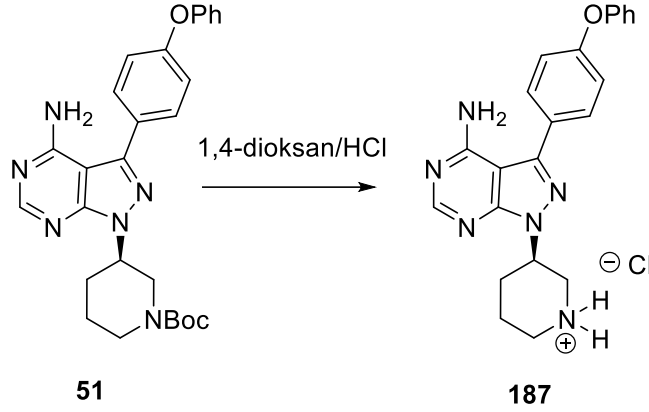
İnert atmosferde pirazolopirimidin **49** (10 g, 32.9 mmol), K_2CO_3 (36.47, 263.7 mmol) ve **185** (18.42 g, 65.93 mmol) 100 mL DMF eklenerek oda sıcaklığında çözüldü. Reaksiyon karışımı N_2 atmosferinde 7 gün boyunca 100 °C'de ısıtıldı. Reaksiyon karışımı oda sıcaklığına soğutuldu. Reaksiyon karışımı EtOAc (3×300 mL)/ H_2O (450 mL) ile ekstraksiyon yapıldı. Birleştirilen organik fazlar doymun NaCl çözeltisi (150 mL) ile yıkanarak Na_2SO_4 üzerinden kurularak süzülde. Çözücü evaporatörde uzaklaştırıldı. Silika jel ile EtOAc çözücüsüyle Gauche huniden süzülüp çözücüsü uzaklaştırıldı. **51** (15.4 g, %69 verim) elde edildi.

55'in sentezi



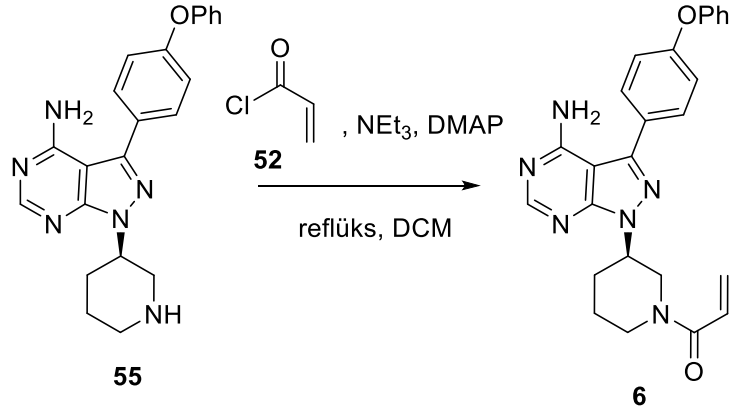
51 (10.9 g, 22.4 mmol) DCM (200 mL) içerisinde çözüldü. TFA (8.57 mL, 112.0 mmol) 0 °C'de ilave edildi. Reaksiyon karışımı 8 gün karıştırıldı. Çözücü uzaklaştırıldıktan sonra oluşan kalıntı 200 mL EtOAc de çözülerek doygun NaHCO₃ ile yıkandı. Birleştirilen organik fazlar Na₂SO₄ üzerinden kurutularak süzüldü. Çözücü evaporatörde uzaklaştırıldıktan sonra sarı renkli katı **55** (8.2 g, %95 verim) elde edildi. E.n: 269-271 °C. MS (HRMS (CI, M+H⁺): hesaplanan 387.1933 (C₂₂H₂₃N₆O), bulunan 387.1916.)

187'nin sentezi



51 (9.6 g, 5.75mmol) 22 mL 4 N 1,4-dioksan/HCl içerisinde çözüldü. Reaksiyon karışımı 3 saat gün karıştırıldı. Çözücü uzaklaştırıldıktan sonra **187** (7.92 g, %95 verim) elde edildi. E.n: 275-277 °C.

6'nın Sentezi için 1. Genel yöntem

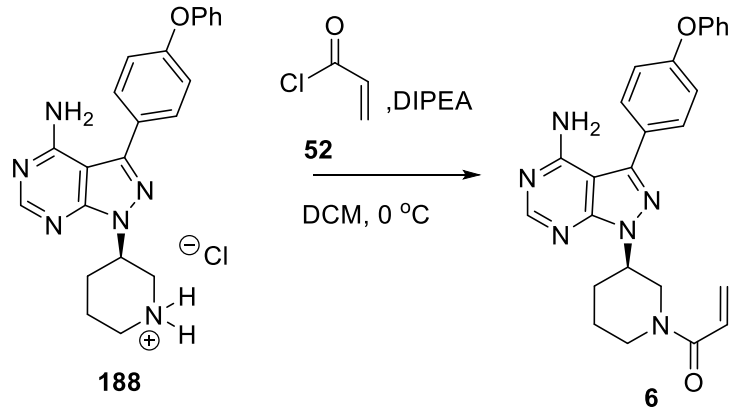


55 (1.1 g, 2.6 mmol) N₂ atmosferinde DCM (100 mL) içerisinde çözüldü. NEt₃ (1.084 mL, 7.8 mmol) eklendi. 30 dakika karıştırıldıktan sonra akriloilklorür (0.54 mL, 3.38 mmol) N₂ atmosferinde oda sıcaklığında ilave edildi. Elde edilen karışım 1 gün reflüks edildi. Reaksiyon karışımı soğutulduktan sonra çözücü evaporatörde uzaklaştırıldı. Silika gel kolon ile EtOAc/MeOH çözücü sistemiyle saflaştırma yapıldıktan sonra **6** (575 mg, %50 verim) elde edildi. Rf: 0.2 (%10 MeOH/EtOAc). Sarı renkli katı. E.n 154-156 °C. MS (HRMS (CI, M+H⁺): hesaplanan 441.2039 (C₂₅H₂₅N₆O₂), bulunan 441.2055.

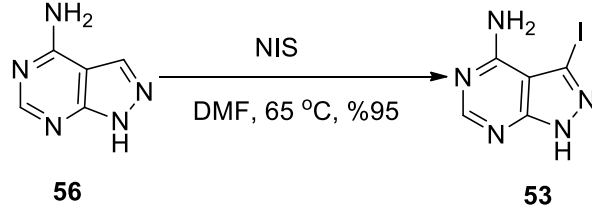
¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 8.36 (s, 1H), 7.68 (d, J = 7.2 Hz, 2H), 7.44 (t, J = 7.2 Hz, 2H), 7.29 (t, J = 7.2 Hz, 1H), 7.16 (d, J = 9.0 Hz, 2H), 7.13 (d, J = 9.0 Hz, 2H), 6.85 (t, J = 13.2, 0.5 H), 6.69 (t, J = 15.6 Hz, 0.5 H), 6.13 (d, J = 16.2 Hz, 0.5H), 6.06 (d, J = 16.8 Hz, 0.5H), 5.70 (d, J = 10.2 Hz, 0.5H), 5.59 (d, J = 9.6 Hz, 0.5H), 4.79–4.71 (m, 1H), 4.56 (d, J = 10.8 Hz, 1H), 4.19 (br s, 1H), 4.06 (d, J = 13.2 Hz, 0.5H), 3.71 (t, J = 10.8 Hz, 0.5H), 3.26–3.19 (m, 1H), 3.04 (t, J = 12.0 Hz, 0.5H), 2.30–2.23 (m, 1H), 2.15–2.13 (m, 1H), 1.95–1.92 (m, 1H), 1.66–1.54 (m, 1H).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-d₆): δ 164.6, 157.5, 156.2, 153.1, 144.7, 130.1, 128.3, 127.6, 127.2, 127.1, 126.1, 123.9, 119.0, 115.8, 97.6, 53.0, 52.4, 49.2, 45.8, 45.2, 41.5, 29.5, 29.3, 24.7, 23.1.

6'nın Sentezi için 2. Genel yöntem



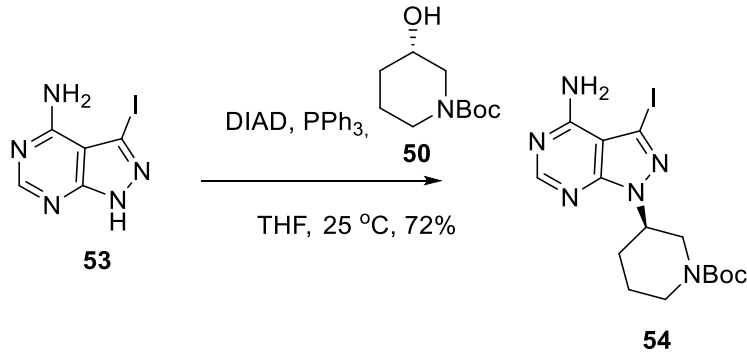
188 (11.02 g, 26.05 mmol) N₂ atmosferinde DCM (200 mL) içerisinde çözüldü. DIPEA (13.6 mL, 78.15 mmol) eklendi. 10 dakika karıştırıldıktan sonra akriloilklorür (4.534 mL, 26.05 mmol) kuru DCM'de çözülerek (50 mL) N₂ atmosferinde 0 °C'de damla damla reaksiyon karışımına ilave edildi. Elde edilen karışım 2 saat karıştırıldı. Reaksiyon MeOH ile durduruldu ve çözücü evaporatörde uzaklaştırıldı. EtOAc ile çözülen kalıntı %5 sitrik asitle (200 mL) yıkandı. Silika jelden EtOAc/MeOH çözücü sistemiyle süzöldükten sonra **6** (6.88 g, %60 verim) elde edildi. Rf: 0.2 (%10 MeOH/EtOAc).

53'ün sentezi

56 (3 g; 22.2 mmol), NIS (7.49 g, 33.3 mmol) reaksiyon balonuna konuldu. 50 mL kuru DMF eklenerek oda sıcaklığında N₂ atmosferinde çözüldü. Reaksiyon karışımı 24 saat boyunca 65 °C'de ısıtıldı. Reaksiyon karışımı oda sıcaklığına soğutulduktan sonra reaksiyon H₂O (150 mL) eklenerek durduruldu. 0 °C'de 1 saat karıştırıldıktan sonra süzülde. Katı kısım (bileşik **53**) sırasıyla EtOH, Et₂O ve EtOAc ile yıkandı. Sarı renkli katı **53** (5.5 g, %95) elde edildi. E.n: 248-250 °C.

¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 13.82 (s, 1H), 8.12 (s, 1H).

¹³C NMR(100 MHz, DMSO) δ 157.5, 155.9, 155.0, 102.5, 89.9

54'in sentezi

53 (5.3 g, 20.3 mmol) ve **182** (7.35 g, 36.54 mmol) N₂ atmosferinde destillenmiş THF (60 mL) içerisinde çözüldü. Ardından PPh₃ (10.15 g, 38.57 mmol) destillenmiş THF (40 mL) içerisinde çözümlenerek reaksiyon karışımına eklendi. 0 °C'ya soğutulan reaksiyon karışımına DIAD (7.59 mL, 38.57 mmol) eklendi. Reaksiyon karışımı 2 gün karıştırıldı. Reaksiyonun çözücüsü uzaklaştırılarak elde edilen ham ürün kolon kromatografisinde ayrıldı. DCM/Petrol Eteri çözücü sisteminde çöktürme sonucu **54** sarı katı (6.52 g, %72

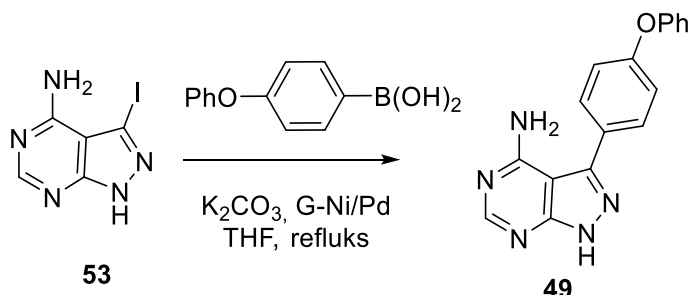
verim) elde edildi. E.n: 165-168 °C.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.31 (s, 1H), 6.54 (s, 2H), 4.76 (ddd, *J* = 14.9, 10.3, 4.3 Hz, 1H), 4.12 (m, 1H), 3.36 (m, 1H), 2.84 (m, 1H), 2.28 – 2.03 (m, 2H), 1.88 (m, 1H), 1.66 (m, 2H), 1.47 (s, 9H).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 157.7, 155.8, 154.6, 153.5, 103.96, 86.2, 79.9, 53.4, 46.2, 44.8, 30.2, 28.4, 24.4.

Heterojen katalizör için deneysel bulgular

49'un sentezi



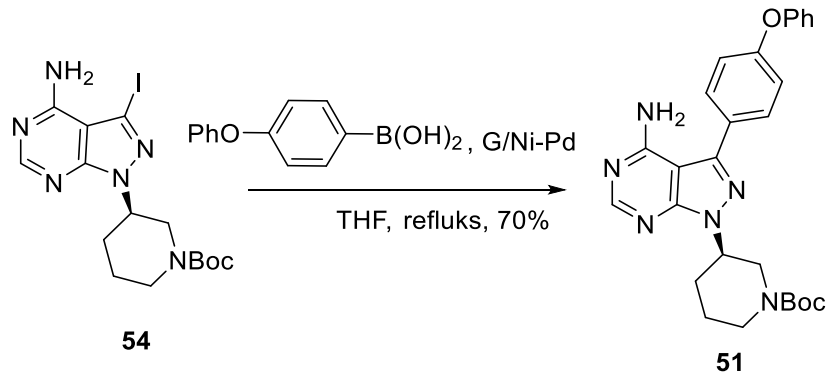
Oda sıcaklığında **53** (400 mg, 1.53 mmol). G-Ni/Pd (80 mg) ve 40 mL 1,4-dioksan reaksiyon balonuna konuldu. Üzerine K₂CO₃ (634 mg, 4.59 mmol) ve 4-fenoksi fenil boronik asit (654.9 mg, 3.06 mmol) eklendi. Reaksiyon karışımı 4 gün 110 °C'de ısıtıldı. Oda sıcaklığına soğutulan karışım ortamından katalizör adi süzgeç kağıdıyla süzülerek ayrıldı. Süzüntü EtOAc (2×50 mL)/ H₂O (50 mL) ile ekstrakte edildi. Organik fazlar doygun NaCl çözeltisi (60 mL) ile yıkanarak Na₂SO₄ üzerinden kurutuldu. Çözücü uzaklaştırıldıktan sonra kalıntı silika jel kolon kromatografisi kullanılarak saflaştırılarak **49** beyaz bir katı (320 mg, %69) elde edildi. MS (HRMS (CI, M+H⁺): Hesaplanan 304.1198 (C₁₇H₁₄N₅O), bulunan 304.1159.

¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 13.55 (s, 1H), 8.20 (s, 1H), 7.65 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H),

7.41 (t, J = 7.9 Hz, 2H), 7.20 – 7.02 (m, 4H).

^{13}C NMR (100 MHz, DMSO) δ 158.8, 157.7, 157.0, 156.5, 144.6, 130.7, 129.1, 124.5, 119.6, 97.6.

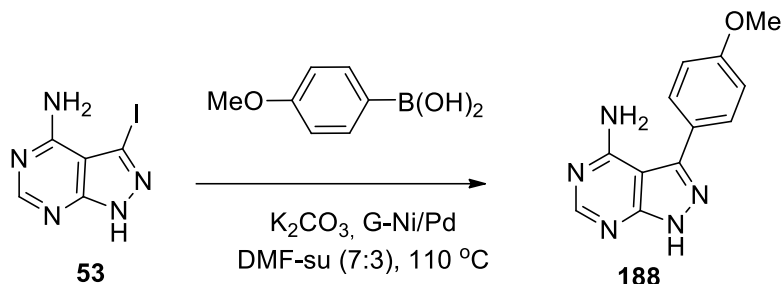
51'in sentezi



Oda sıcaklığında **54** (9.8 g, 22.05 mmol). G-Ni/Pd (1.47 g) ve 250 mL THF reaksiyon balonuna konuldu. Üzerine K_2CO_3 (9.128 g, 66.2 mmol) ve 4-fenoksi fenil boronik asit (9.43 g, 44.1 mmol) eklendi. Reaksiyon karışımı 4 gün reflüks edildi. Oda sıcaklığına soğutulan karışımdan katalizör adi süzgeç kağıdıyla süzülerek ayrıldı. Süzüntünün çözücüsü evaporatörde uzaklaştırıldı. EtOAc (2×250 mL)/ H_2O (250 mL) ile muamele edilerek EtOAc fazı ayrıldı. Organik fazlar doygun NaCl çözeltisi (300 mL) ile yıkanarak Na_2SO_4 üzerinden kurutuldu. Kalıntı silika jel kolon kolon ile EtOAc/DCM çözücü sistemi kullanılarak saflaştırıldı. **51** beyaz renkli katı (8.05 g, %75 verim) elde edildi. MS (HRMS (CI, $\text{M}+\text{H}^+$): Hesaplanan 487.2457 ($\text{C}_{27}\text{H}_{31}\text{N}_6\text{O}_3$), bulunan 487.2445

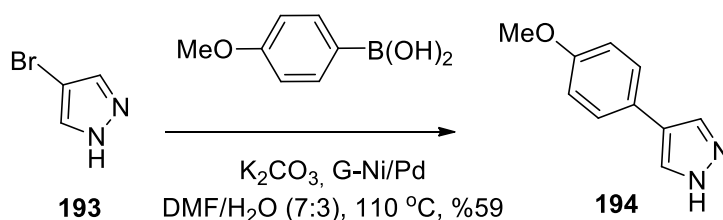
^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.34 (s, 1H), 7.65 (d, J = 8.4Hz, 2H, 2 × CH), 7.35 (t, J = 8.0 Hz, 2H, 2 × CH), 7.15–7.12, (m, 3H, 3 × CH), 7.16 (d, J = 8.0 Hz, 2H, 2 × CH), 4.90–4.81(m, 1H, CH), 4.36–4.19 (m, 1H), 4.12–4.06 (m, 1H), 3.50–3.34(m, 1H), 2.86 (t, J = 10.8 Hz, 1H), 2.31–2.16 (m, 2H), 1.93–1.88(m, 1H), 1.72–1.67 (m, 1H), 1.49 (s, 9H).

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 158.7, 158.4, 156.6, 155.8, 154.8, 154.4, 144.0, 130.2, 130.2, 128.1, 124.2, 119.7, 119.3, 98.7, 80.0, 53.1, 48.4, 43.5, 30.4, 28.6, 24.8.

188'in sentezi

Oda sıcaklığında **53** (80 mg, 0.30 mmol) G-Ni/Pd (16 mg) ve 4 mL DMF/su (7:3) karışımı reaksiyon balonuna konuldu. Üzerine K_2CO_3 (34.67 mg, 0.25 mmol) ve 4-metoksi fenil boronik asit (38.3 mg, 0.25 mmol) eklendi. Reaksiyon karışımı 3 gün 110 °C'de ısıtıldı. Oda sıcaklığına soğutulmuş karışımdan katalizör adi süzgeç kağıdıyla süzülerek ayrıldı. Süzüntü Et_2O (2×20 mL) / H_2O (30 mL) ile ekstrakte edildi. Organik fazlar doymuş NaCl çözeltisi (30 mL) ile yıkanarak Na_2SO_4 üzerinden kurutuldu. Kalıntı silika jel kolon kromatografisi kullanılarak saflaştırılarak sarı katı **188** (52 mg, %70) elde edildi. E.n: 275-278 °C. MS HRMS (CI, $\text{M}+\text{H}^+$): hesaplanan 242.1041 ($\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{N}_5\text{O}$), bulunan 242.1025.

^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.88 (s, 1H), 6.71 (dd, $J = 28.1, 9.0$ Hz, 4H), 3.65 (s, 3H).

194'ün sentezi

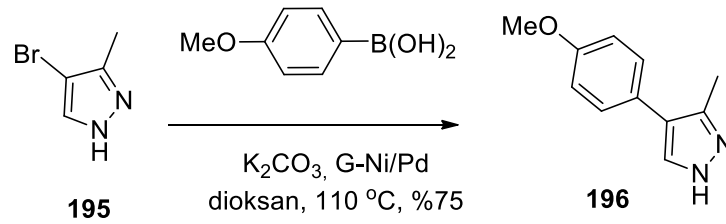
Oda sıcaklığında **193** (200 mg; 1.4 mmol). G-Ni/Pd (40 mg) ve 15 mL DMF/ H_2O (7:3) karışımı reaksiyon balonuna konuldu. Üzerine K_2CO_3 (193.63 mg, 1.4 mmol) ve 4-metoksi fenil boronik asit (136.8 mg, 0.9 mmol) eklendi. Reaksiyon karışımı 4 gün 110

$^{\circ}\text{C}$ 'de ısıtıldı. Oda sıcaklığına soğutulan karışımdan katalizör adi süzgeç kağıdıyla süzülerek ayrıldı. Süzüntü Et_2O ($2 \times 250\text{mL}$) / H_2O (30 mL) ile ekstrakte edildi. Organik fazlar doygun NaCl çözeltisi (30 mL) ile yıkanarak Na_2SO_4 üzerinden kurutuldu. Kalıntı silika jel kolon kromatografisi kullanılarak saflaştırılarak **193** beyaz renkli katı (145 mg, %59) elde edildi. E.n: 169-171 $^{\circ}\text{C}$. MS (HRMS (CI, $\text{M}+\text{H}^+$): Hesaplanan 175.0871 ($\text{C}_{10}\text{H}_{11}\text{N}_2\text{O}$), bulunan 175.0868

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 6.92 – 6.69 (m, 6H), 5.81 (s, 1H), 3.85 – 3.68 (s, 3H).

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 153.8, 149.8, 117.1, 116.4, 115.2, 114.5, 56.2.

196'nın sentezi



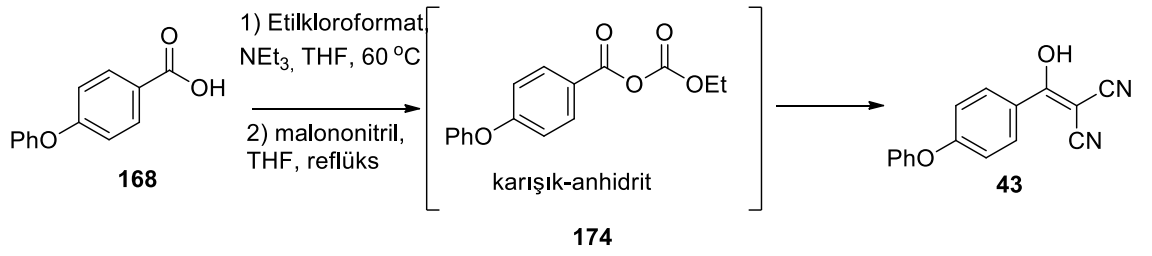
Oda sıcaklığında **195** (450 mg, 2.79 mmol). G-Ni/Pd (90 mg) ve 25 mL 1,4 dioksan karışımı reaksiyon balonuna konuldu. Üzerine K_2CO_3 (1.157 g, 8.37 mmol) ve 4-metoksi fenil boronik asit (847.88 mg, 5.58 mmol) eklendi. Reaksiyon karışımı 4 gün 110 $^{\circ}\text{C}$ 'de ısıtıldı. Oda sıcaklığına soğutulan karışımdan katalizör adi süzgeç kağıdıyla süzülerek ayrıldı. Süzüntü EtOAc ($2 \times 40\text{ mL}$) / H_2O (40 mL) ile ekstrakte edildi. Organik fazlar doygun NaCl çözeltisi (40 mL) ile yıkanarak Na_2SO_4 üzerinden kurutuldu. Kalıntı silika jel kolon kromatografisi kullanılarak saflaştırılarak **196** beyaz renkli katı (393 mg, %75) elde edildi. E.n: 189-192 $^{\circ}\text{C}$.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 12.07 (s, 1H), 7.86 (d, $J = 22.5\text{ Hz}$, 2H), 7.51 (s, 1H), 6.97 (t, $J = 12.3\text{ Hz}$, 2H), 3.85 (s, Hz, 3H), 2.27 (s, 3H).

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 161.3, 141.7, 135.7, 113.2, 93.8, 55.1, 10.4.

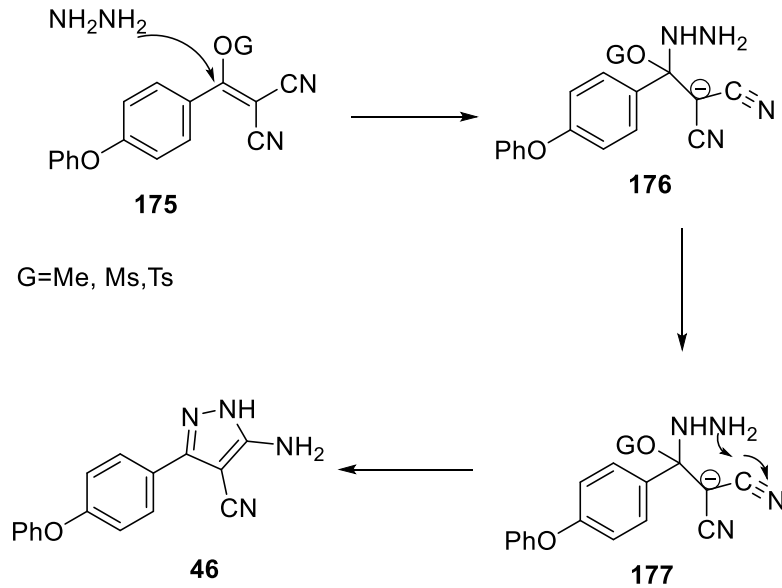
5. TARTIŞMA ve SONUÇ

İbrutinib sentezinin ilk kademesinde 4-fenoksi benzoik asitin klorürleştirilmesi için büyük ölçekteki reaksiyonlarda SOCl_2 kullanılmaktadır. Özellikle büyük ölçekte yapılan çalışmalarda SOCl_2 , SO_2 ve HCl 'in insan sağlığını rahatsız edici özelliklerine ilave olarak reaktörlerin de korozyona dayanıklı malzemeden seçilmesi gerekmektedir. Tez kapsamında geliştirilen bu yöntemde kullanılan etilkloroformat bu açıdan zararlı bir kimyasal olmayıp karışık-anhidrit oluşumu İTK ile takip edilmekte ve enol kademesine kadar tek bir reaksiyon düzeneği kullanılmaktadır. Ayrıca bu kademedeki diğer kademeye geçişte herhangi bir ilave saflaştırma yapılmamaktadır.



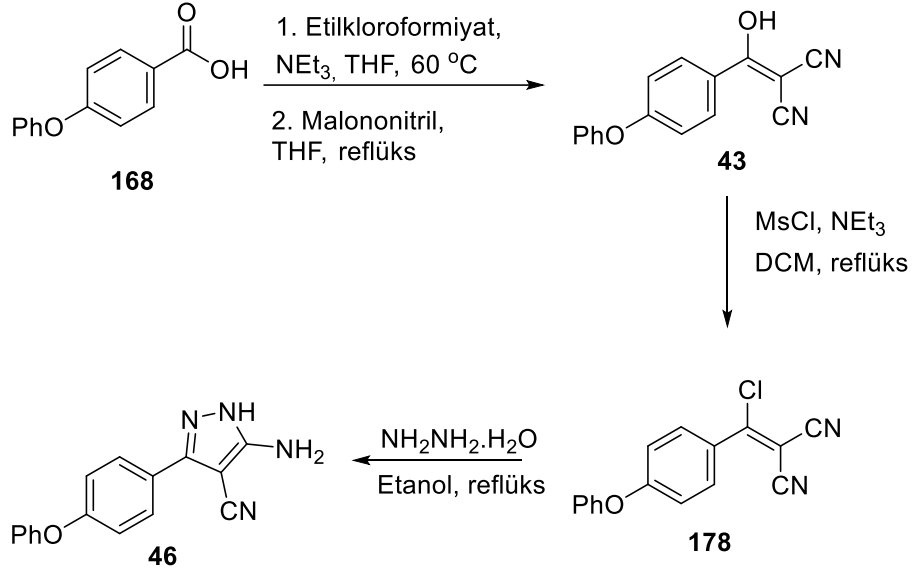
Şekil 5.1. 43'ün sentezi

Metil enoleter oluşumu için literatürde CH_2N_2 kullanılmaktadır ve bu madde patlayıcıdır. Büyük ölçeğe uygulanabilirlik açısından güvenilir kimyasalların kullanımı oldukça önemlidir. Pirazol halkasının oluşabilmesi için Şekil 5.2'de verilen mekanizmada sadece bağlı grubun kolay çıkabilme özelliğinin olması yeterli olduğu görüldü. Bu maksatla OTs, OMs, Cl, OMe gibi gruplarla da sentezin aynı mekanizma üzerinden farklı verimlerle yürüdüğü varsayılarak bu sentezlerinde literatüre kazandırılması için çalışıldı.



Şekil 5.2. **46**'nın oluşum mekanizması

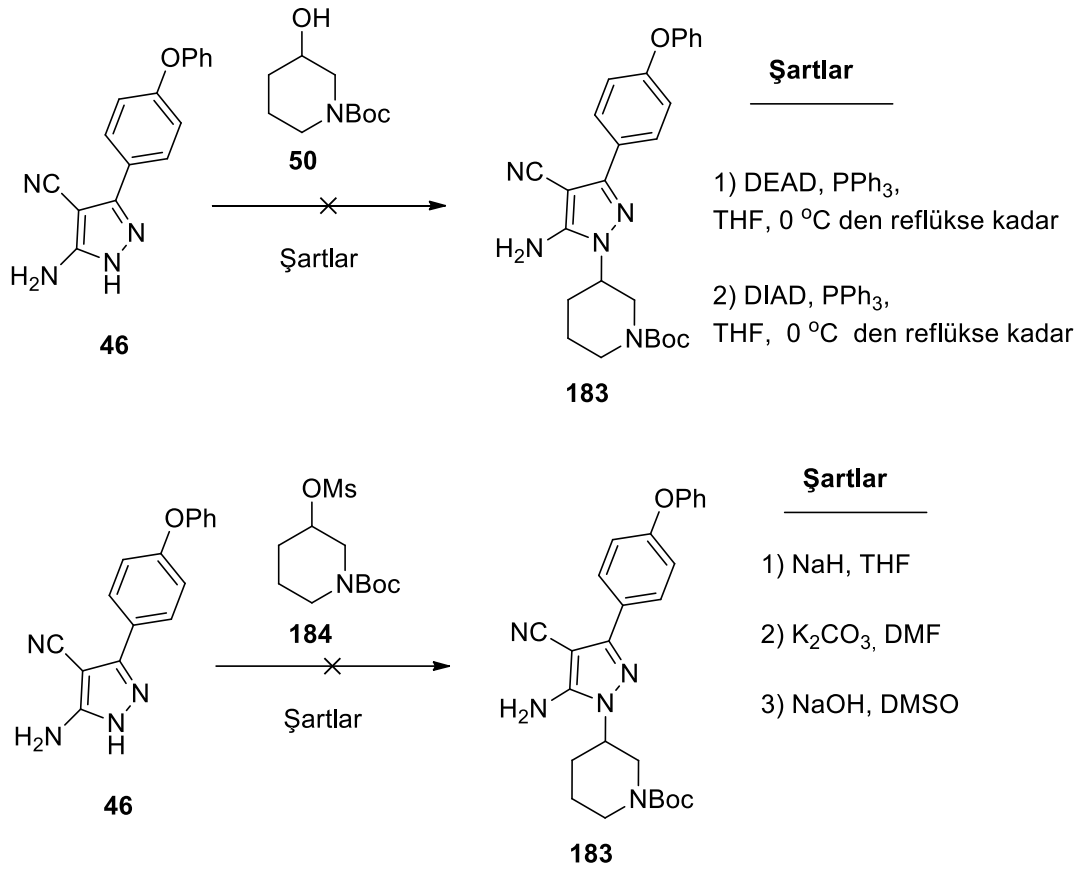
POCl_3 , MsCl , TsCl reaktifleri kullanılarak üç yöntemle de arzu edilen ürün **46**'ya ulaşılabildi. POCl_3 'ün imhası ekzotermik bir reaksiyondur ve HCl açığa çıkmaktadır. Bu yöntemle istenilen ürünün sentezinin gerçekleştirilmesine rağmen oluşan HCl 'in reaktörler için sorun oluşturması önemli bir dezavantajdır. Ayrıca ekzotermik reaksiyon sonucu aşırı ısınmanın yaşanma ihtimali yüzünden bu reaksiyonun büyük ölçeklere uygulanmasında zorluk yaşanacaktır. TsCl reaktifi ise verimin düşük olması sebebiyle kullanılmadı. Bu nedenle kullanılma potansiyeli en yüksek reaktifin verim ve yüksek miktara uygulanabilirlik açısından MsCl olduğuna karar verildi. Pirazol **46**'nın sentezine kadar şartların optimizasyonu gerçekleştirildi.



Şekil 5.3. 46'nın sentezi

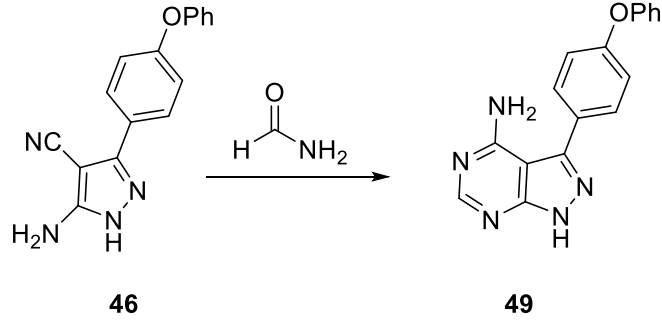
Şartların optimizasyonunun ardından ölçek artırma çalışmalarına geçildi. 20 g ölçeğe kadar herhangi bir problem yaşanmadan sentez gerçekleştirildi. Toplamda 168'den 46'ya geçişte elde edilen verim %62 oldu. Elde edilen tüm kademelerde çöktürme ve süzme haricinde herhangi bir saflaştırma işlemi kullanılmadı. Bu da geliştirilen yöntemin yüksek ölçeğe uygulanabilir olduğunu göstermektedir.

Pirazol 46'nın sentezi başarıyla gerçekleştirildikten sonra 46'ya piperidin halkasının takılması çalışmalarına geçildi. Fakat hem Mitsunobu reaksiyonu şartlarında hem de kolay çıkan grup vasıtasıyla gerçekleştirilen reaksiyonlarda herhangi bir sonuç alınamadı.



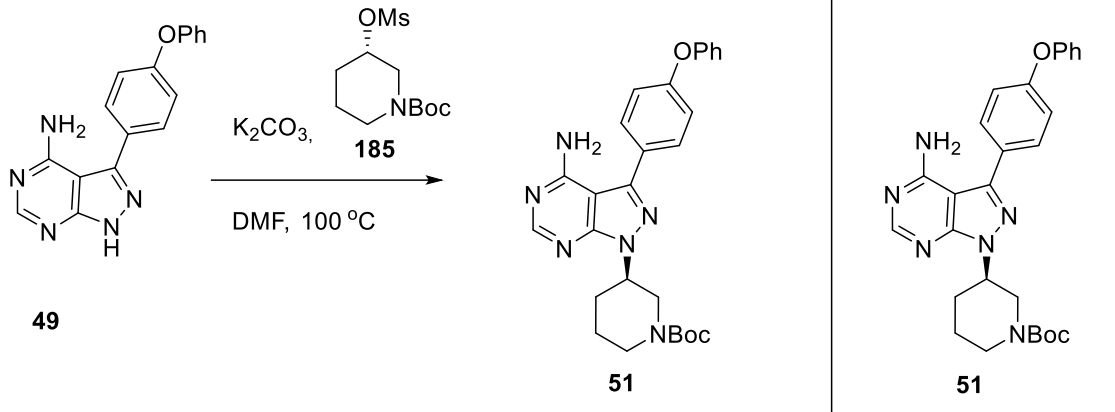
Şekil 5.4. 49'un sentezi

Bunun ardından pirimidin **49**'un sentezi gerçekleştirilip sonrasında piperidin halkasının takılması planlandı. Reaksiyonun küçük ölçekte başarıyla gerçekleştirilmesinin ardından periyodik bir şekilde miktar artırma çalışmaları gerçekleştirildi ve sonuç olarak 10 g pirazolden çıkılarak pirimidin sentezi %91 verimle başarı bir şekilde gerçekleştirildi.



Şekil 5.5. 49'un sentezi

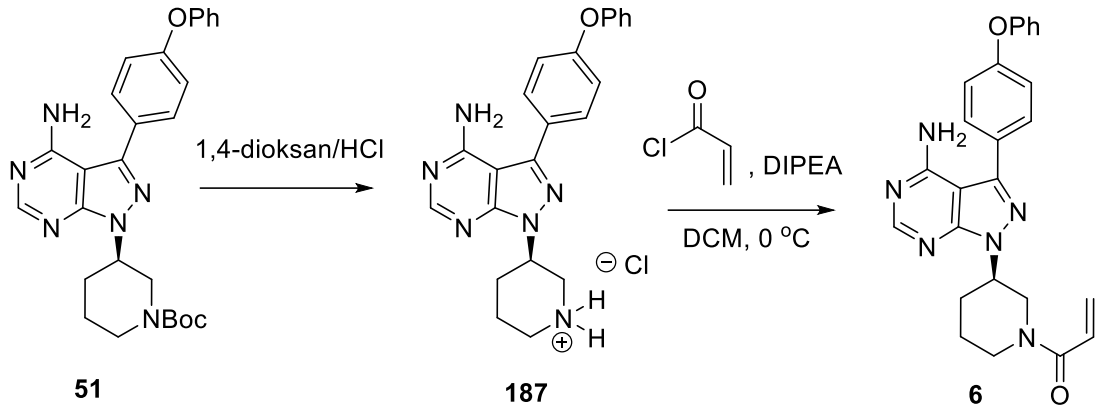
Pirimidin **49**'un başarıyla sentezinin ardından bu halkaya piperidin halkasının yerleştirilebilmesi için çalışmalara geçildi. **49**'dan **51**'in sentezi için THF içerisinde NaH kullanarak pirazol anyonu oluşturup daha sonra mesitil grubunun süstitüsüyonu denendi. Reaksiyon değişik sıcaklık aralıklarında (0 °C'den kaynama sıcaklığına kadar) tekrarlandı. Fakat bu deneme başarısızlıkla sonuçlandı. Problemin çözünürlükten kaynaklandığı düşünülerek reaksiyonun kuru DMF içerisinde denenmesi gerektiği düşünüldü. Reaksiyon DMF içerisinde gerçekleştirildi. Piperidin birimi kolaylıkla pirazol halkasına DMF/NaH sisteminde bağlanabilmektedir. Fakat NaH ile çalışma dikkatli çalışmayı gerektirmektedir. NaH yanıcı bir maddedir (suyla yavaş reaksiyona girdiği bilinir fakat sentezi sırasında ortamda metalik sodyumda kalmaktadır. Reaksiyonun durdurulması sırasında bazen yangınlarla karşılaşılabilir). Daha büyük ölçeklerde (200 g, 500 g) daha ucuz ve güvenli reaksiyonlar yapabilmek amacıyla denemelerin K₂CO₃/DMF içerisinde yapılması planlandı. Ayrıca böyle bir reaksiyonu kurmak da çok kolaydır. İlave tedbirlere gerek duyulmamaktadır.



Şekil 5.6. **51**'in sentezi

100 mg- 22 g aralığında **51**'in sentezi %73 verimle gerçekleştirildi ve herhangi bir problemle karşılaşılmadı. **51**'den Boc grubunun uzaklaştırılması TFA ile başarılı. Fakat hedef bileşiğin sentezi istenilen verim ve saflıkta yapılamadı.

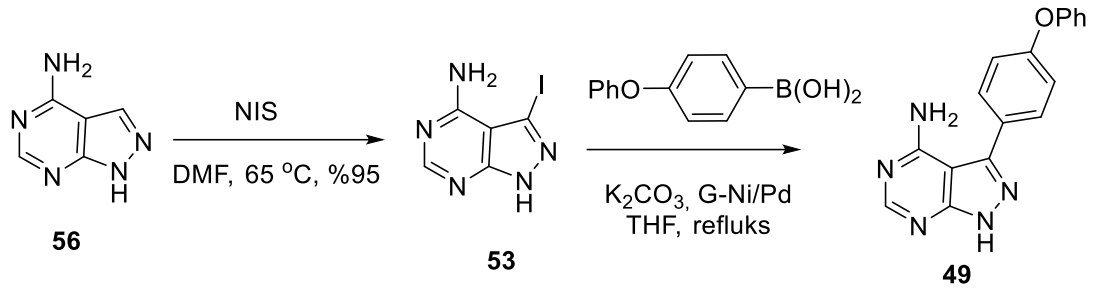
Bunun ardından literatürdeki yöntem, takip edilerek 4 M 1,4-dioksan/HCl kullanılarak Boc uzaklaştırıldı. Boc hidrolizi reaksiyonunda 12 g ölçüğe kadar çıkıldı. Ardından hedef bileşiğin sentezi için denemeler yapıldı. Yapılan reaksiyonlarda NEt₃ bazı kullanıldığında istenilen verim elde edilemedi. Ayrıca ekivalent, sıcaklık, miktar parametreleri kullanılarak gerçekleştirilen reaksiyonlar çeşitli safsızlıklar oluşmasına sebep oldu. Oluşan safsızlıklar yan ürün herhangi bir yöntemle (çöktürme, kromatografik yöntemler) ayrılamadı. Bunun üzerine baz değiştirilerek hedef bileşiğin sentezi için reaksiyon denendi. DİPEA kullanılarak gerçekleştirilen reaksiyon sonucu **6** %62 verimle elde edildi. 11.02 g ölçüğe kadar problemsiz bir şekilde hedef bileşik elde edildi.



Şekil 5.7. 6'nın sentezi

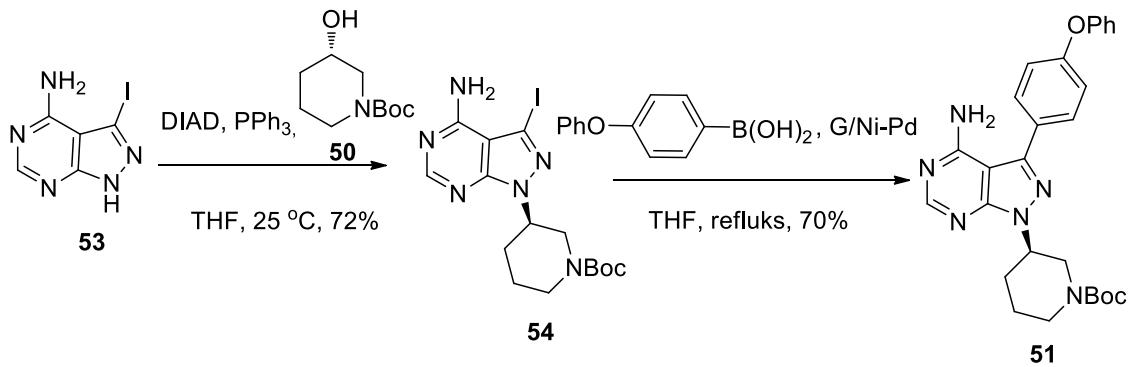
Bu çalışmaların yanısıra İbrutinib'in ara kademe bileşiklerinin sentezi için bir taraftan da heterojen katalizör yardımıyla yapılan çalışmalar sonuçlandırıldı. Bu yöntemde kullanılan **53** oldukça pahalıdır. Bunun yerine **56** kullanılarak NIS ile DMF içerisinde iyotlanması sonucunda **53** elde edildi. G-Ni/Pd heterojen katalizörü kullanılarak kenetlenme reaksiyonu literatüre yakın verimlerle sentezlendi. Bu yöntemde kullanılan katalizörün daha ucuz ve ülkemizde sentezlenebiliyor olması, heterojen olması sebebiyle reaksiyon ortamından kolaylıkla uzaklaştırılabilmesi ve katalizörün geri kazanabilir olması büyük bir avantajdır.

Bu amaçla ilk olarak 4-aminopirazalo[3,4-d]pirimidin molekülü NIS ile DMF içerisinde 3-iyodo-1H-pirazalo[3,4-d]pirimidin-4-amin molekülüne dönüştürüldü. Literatürle aynı yöntem kullanılarak yapılan sentez sonucu **53**'ye ulaşıldı. Yüksek verimlerle gerçekleştirilen reaksiyon sonucunda kenetlenme kademesine geçildi. **49**, %73 verimle elde edildi.



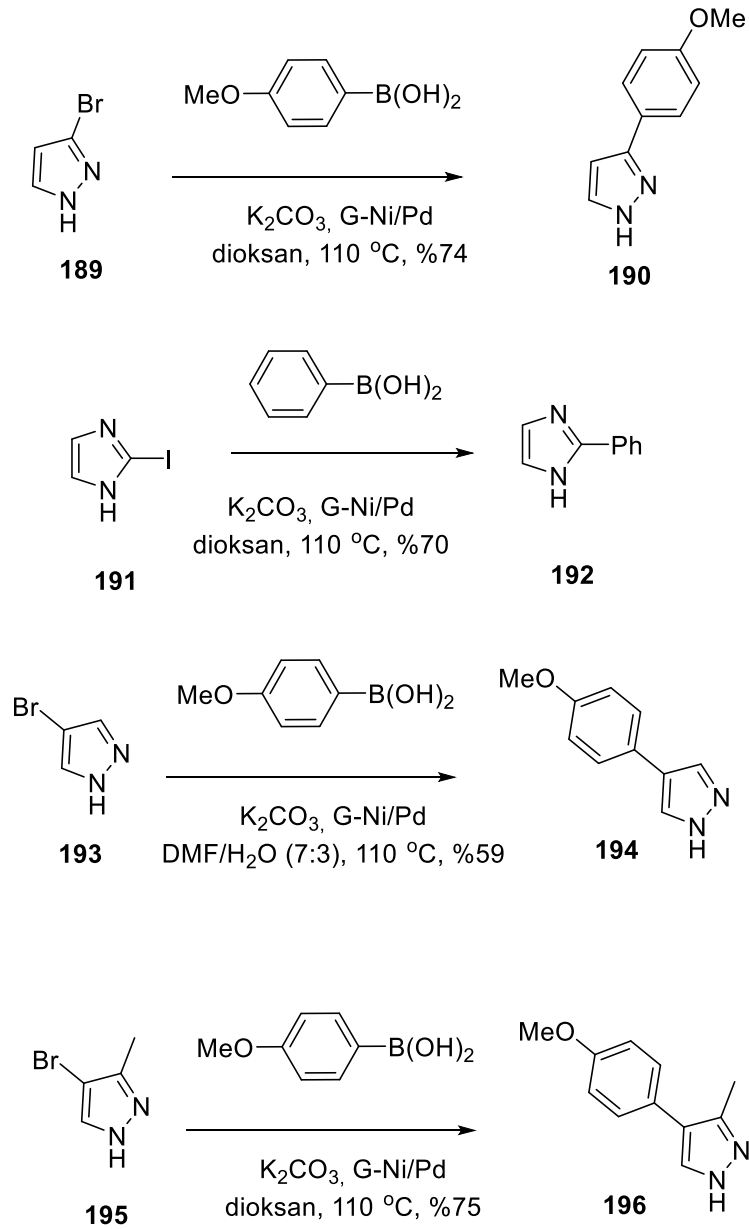
Şekil 5.8. **49**'un sentezi

49'un başarıyla sentezinin ardından farklı bir reaksiyonla sonuca ulaşılması planlandı. İyodopirazolopirimidin türevine Mitsunobu reaksiyonu ile Boc ile korunmuş enantiyosaf piperidinol (**50**) takıldı. %72 verimle gerçekleşen bu reaksiyon sonucu elde edilen **54** kenetlenme reaksiyonu için kullanıldı. 5.2 g **54** ile gerçekleştirilen reaksiyon sonucu %72 verimle **51** elde edildi.



Şekil 5.9. **54**'ün sentezi

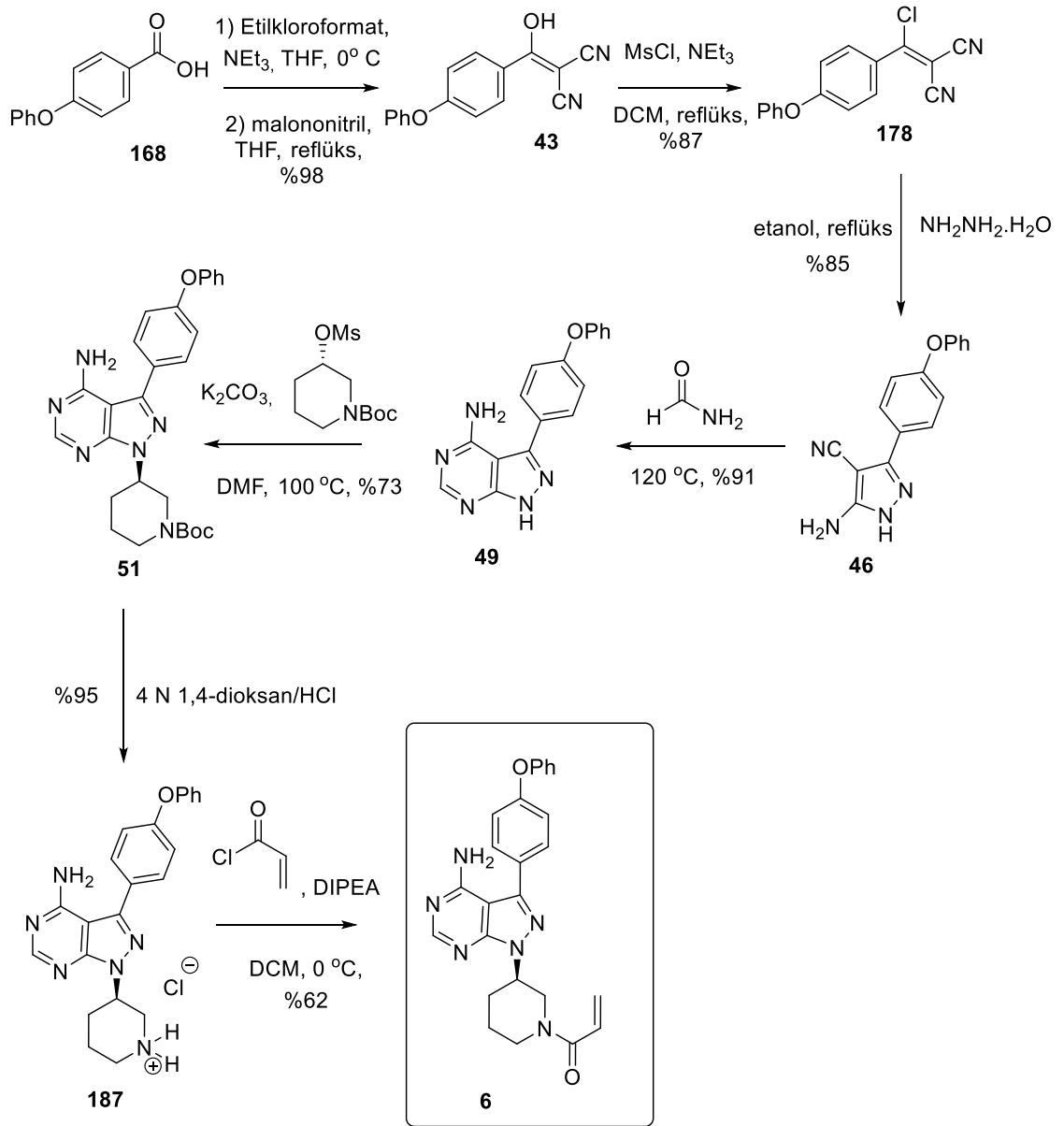
İbrutinib'in ara kademelerinin başarıyla sentezinin ardından **190**, **192**, **194** ve **196** molekülleri aynı katalizör sistemiyle sentezlendi.



Şekil 5.10. **190**, **192**, **194** ve **196**'nın sentezi

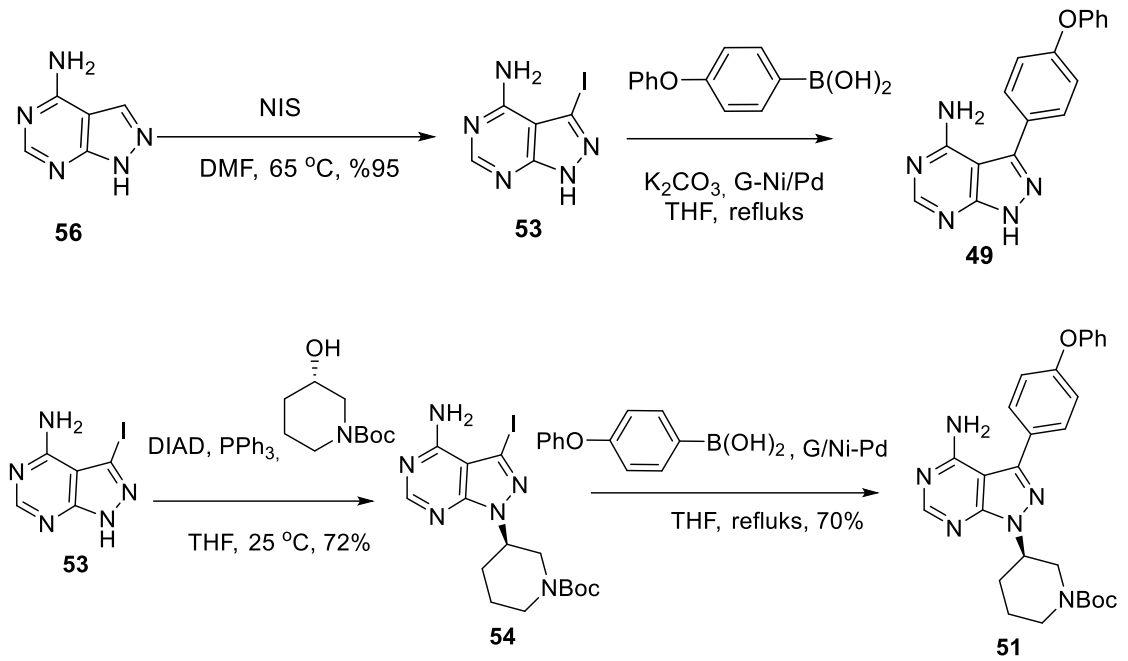
5.1. Sonuç

Tez kapsamında ibrutinib için mevcut patentleri ihlal etmeyen yeni bir sentez yöntemi geliştirilmiş ve üretim ölçeğine uygulanabilirlik açısından metodun optimizasyonu yapılmıştır. Bu bağlamda literatürdeki yöntemlerden farklı olarak İbrutinib'in sentezi gerçekleştirilmiştir. Ucuz çıkış bileşiği, büyük ölçeğe uygulanabilir çözücü ve reaktiflerin kullanımı ve daha güvenli kimyasallarla yapılan sentez kademeleri geliştirilen yöntemin bilinen yöntemlerden üstün taraflarıdır. Ürünlerin saflaştırılması süzme ve çöktürme dışında herhangi işlem gerektirmediğinden yöntem reaksiyonları büyük ölçeklere uygulanabilir hale getirmektedir.



Şekil 5.11. İbrutinib sentezi

Bu proje kapsamında geliştirilen ikinci yöntemde kullanılan G-Ni/Pd nanokatalizörü heterojen katalizör olduğu için reaksiyon sonucunda kolaylıkla süzülerek uzaklaştırılması önemli bir avantajdır. Ayrıca katalizörün tekrar tekrar kullanılabilir olması, ülkemizde üretiliyor olması bu yöntemi de diğer yöntemlere göre üstün hale getirmektedir. Ayrıca daha kısa kademede reaksiyon ile hedef bileşiğe ulaşılabilir olması daha az kimyasal kullanılması da ekonomik olarak önemli bir avantaj olarak görülmektedir.



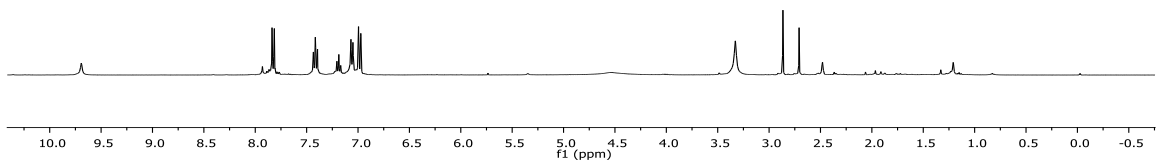
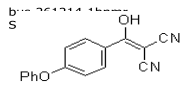
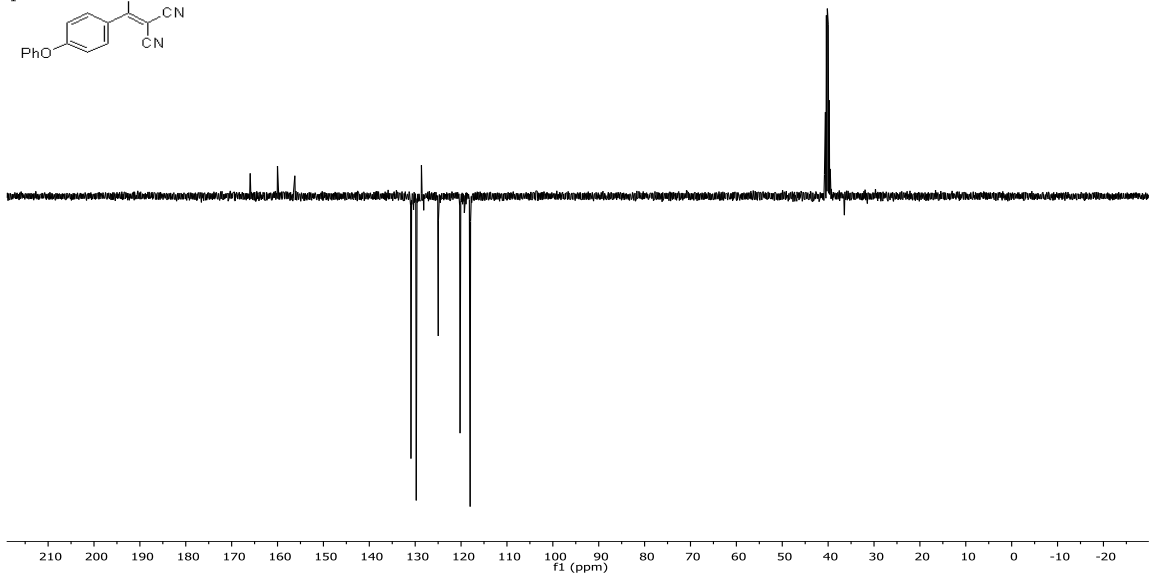
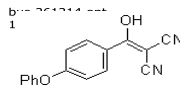
Şekil 5.11. Heterojen katalizörle ibrutinib ara kademelerinin sentezi

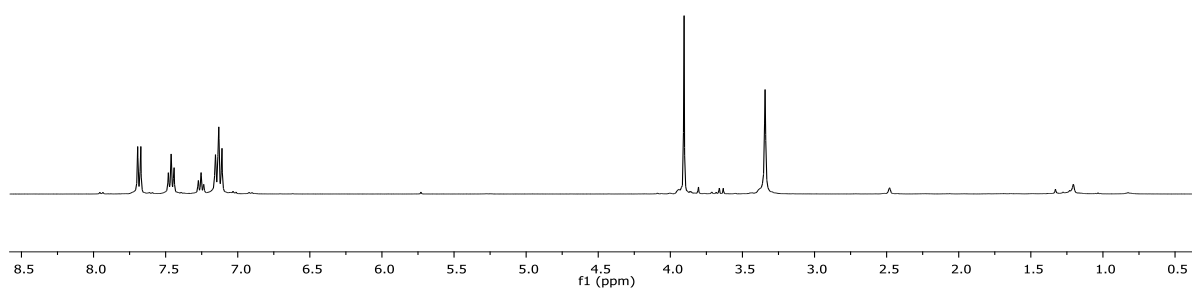
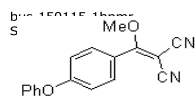
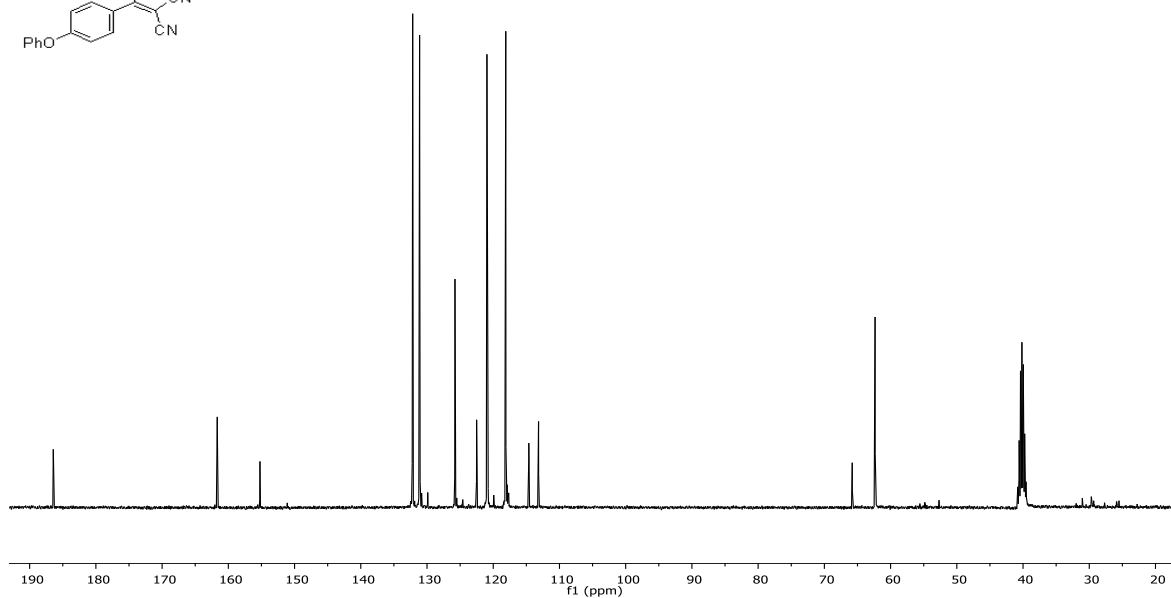
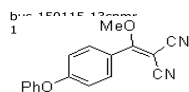
KAYNAKLAR

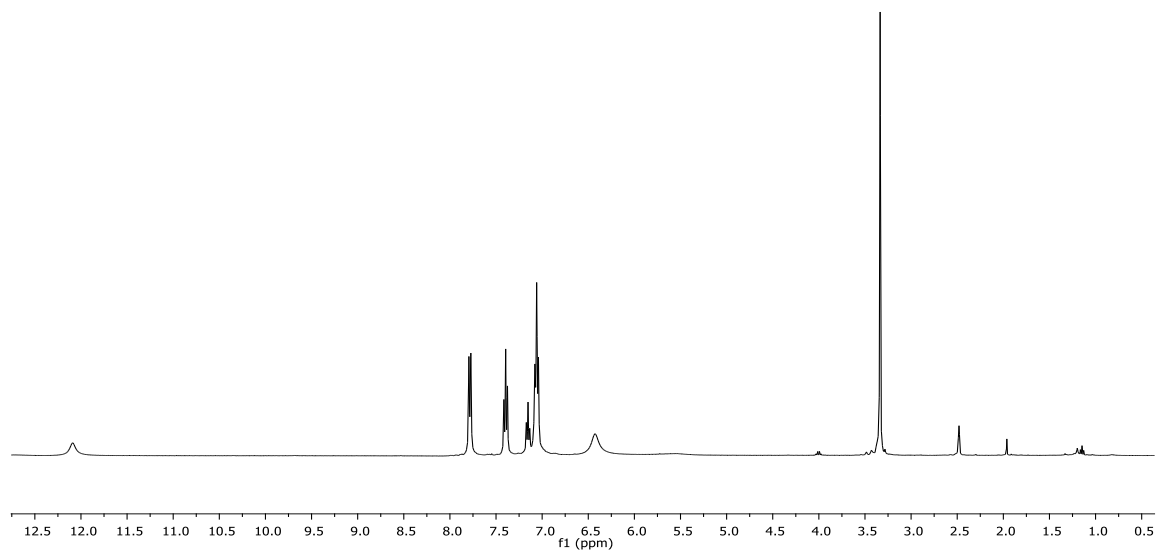
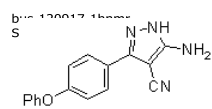
- Anonymous, 2019a. <http://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/cancer>.
- Anonymous, 2019c. <http://www.cancer.gov/about-cancer/what-is-cancer#ui-id-4>.
- Anonymous, 2019d. <https://www.cancer.org/cancer/acute-lymphocytic-leukemia/about/what-is-all.html>.
- Anonymous, 2019e. <https://www.cancer.org/cancer/chronic-myeloid-leukemia/about/what-is-cml.html>
- Anonymous, 2019f. <https://www.lymphoma.org/aboutlymphoma/nhl/tcell/>
- Anonymous, 201b. <https://www.cancer.gov/about-cancer/understanding/what-is-cancer>.
- Anwar, H. F., and M. H. Elnagdi. 2009. 'Recent developments in aminopyrazole chemistry', *Arkivoc*: 198-250.
- Burchat, A. F., D. J. Calderwood, M. M. Friedman, G. C. Hirst, B. Q. Li, P. Rafferty, K. Ritter, and B. S. Skinner. 2002. 'Pyrazolo[3,4-d]pyrimidines containing an extended 3-substituent as potent inhibitors of Lck - a selectivity insight', *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 12: 1687-90.
- Burger, J. A., and J. J. Buggy. 2013. 'Bcr tyrosine kinase inhibitor ibrutinib (PCI-32765)', *Leuk Lymphoma*, 54: 2385-91.
- Crawford, J. J., A. R. Johnson, D. L. Misner, L. D. Belmont, G. Castanedo, R. Choy, M. Coraggio, L. M. Doug, C. Eigenbrot, R. Erickson, N. Ghilardi, J. Hau, A. Katewa, P. B. Kohli, W. Lee, J. W. Lubach, B. S. McKenzie, D. F. Ortwine, L. Schutt, S. Tay, B. Q. Wei, K. Reif, L. C. Liu, H. Wong, and W. B. Young. 2018. 'Discovery of GDC-0853: A Potent, Selective, and Noncovalent Bruton's Tyrosine Kinase Inhibitor in Early Clinical Development', *Journal of Medicinal Chemistry*, 61: 2227-45.
- El Sayed, M. T., H. A. R. Hussein, N. M. Elebiary, G. S. Hassan, S. M. Elmessery, A. R. Elsheakh, M. Nayel, and H. A. Abdel-Aziz. 2018. 'Tyrosine kinase inhibition effects of novel Pyrazolo[1,5-a]pyrimidines and Pyrido[2,3-d]pyrimidines ligand: Synthesis, biological screening and molecular modeling studies', *Bioorg Chem*, 78: 312-23.
- Frizzo, C. P., E. Scapin, P. T. Campos, D. N. Moreira, and M. A. P. Martins. 2009. 'Molecular structure of pyrazolo[1,5-a]pyrimidines: X-ray diffractometry and theoretical study', *Journal of Molecular Structure*, 933: 142-47.
- Hanefeld, U., C. W. Rees, A. J. P. White, and D. J. Williams. 1996. 'One-pot synthesis of tetrasubstituted pyrazoles - Proof of regiochemistry', *Journal of the Chemical Society-Perkin Transactions 1*: 1545-52.
- Hirst G.C., Rafferty P., Ritter K., Calderwood D., Arnold L.D., Friedman M. M. 2004. Pyrazolopyrimidines As Therapeutic Agents, US 2004/0006083 A1.
- Kenanda, Evans Okemwa, and Leonidah Kerubo %J Pharmacognosy Communications Omosa. 2017. 'Pyrazole, Isoxazoline and Bypyrimidine Derivatives from Polygonum senegalense and Psiadia punctulata Flavonoids and their Anti-Microbial Activities', 7.
- Kobayashi, S. 1973. 'The synthesis and xanthine oxidase inhibitory activity of pyrazolo(3,4-d)pyrimidines', *Chem Pharm Bull (Tokyo)*, 21: 941-51.

- Kombarov, R., A. Altieri, D. Genis, M. Kirpichenok, V. Kochubey, N. Rakitina, and Z. Titarenko. 2010. 'BioCores: identification of a drug/natural product-based privileged structural motif for small-molecule lead discovery', *Molecular Diversity*, 14: 193-200.
- Kovackova S., Dracínsky M., Rejman D. 2011. 'The synthesis of piperidine nucleoside analogs - a comparison of several methods to access the introduction of nucleobases', *Tetrahedron* 67: 1485-1500.
- Li, S. H., S. J. Xu, S. Ding, J. C. Zhang, S. X. Wang, and X. L. Li. 2014. 'Synthesis and biological evaluation of some novel N-arylpyrazole derivatives as cytotoxic agents', *Research on Chemical Intermediates*, 40: 1459-68.
- Li, X. T., Y. Y. Zuo, G. H. Tang, Y. Wang, Y. Q. Zhou, X. Y. Wang, T. L. Guo, M. Y. Xia, N. Ding, and Z. Y. Pan. 2014. 'Discovery of a Series of 2,5-Diaminopyrimidine Covalent Irreversible Inhibitors of Bruton's Tyrosine Kinase with in Vivo Antitumor Activity', *Journal of Medicinal Chemistry*, 57: 5112-28.
- Li, X. X., A. L. Wang, K. L. Yu, Z. P. Qi, C. Chen, W. C. Wang, C. Hu, H. Wu, J. X. Wu, Z. Zhao, J. Liu, F. M. Zou, L. Wang, B. L. Wang, W. Wang, S. C. Zhang, J. Liu, and Q. S. Liu. 2015. 'Discovery of (R)-1-(3-(4-Amino-3-(4-phenoxyphenyl)-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-1-yl)piperidin-1-yl)-2-(dimethylamino)ethanone (CHMFL-FLT3-122) as a Potent and Orally Available FLT3 Kinase Inhibitor for FLT3-ITD Positive Acute Myeloid Leukemia', *Journal of Medicinal Chemistry*, 58: 9625-38.
- Liu, N., S. Hoogendoorn, B. van de Kar, A. Kaptein, T. Barf, C. Driessen, D. V. Filippov, G. A. van der Marel, M. van der Stelt, and H. S. Overkleeft. 2015. 'Direct and two-step bioorthogonal probes for Bruton's tyrosine kinase based on ibrutinib: a comparative study', *Organic & Biomolecular Chemistry*, 13: 5147-57.
- Metin, O., S. F. Ho, C. Alp, H. Can, M. N. Mankin, M. S. Gultekin, M. F. Chi, and S. H. Sun. 2013. 'Ni/Pd core/shell nanoparticles supported on graphene as a highly active and reusable catalyst for Suzuki-Miyaura cross-coupling reaction', *Nano Research*, 6: 10-18.
- Pan, Z. Y., H. Scheerens, S. J. Li, B. E. Schultz, P. A. Sprengeler, L. C. Burrill, R. V. Mendonca, M. D. Sweeney, K. C. K. Scott, P. G. Grothaus, D. A. Jeffery, J. M. Spoerke, L. A. Honigberg, P. R. Young, S. A. Dalrymple, and J. T. Palmer. 2007. 'Discovery of selective irreversible inhibitors for Bruton's tyrosine kinase', *Chemmedchem*, 2: 58-61.
- Papageorgiou, C., R. Albert, P. Floersheim, M. Lemaire, F. Bitch, H. P. Weber, E. Andersen, V. Hungerford, and M. H. Schreier. 1998. 'Pyrazole bioisosteres of leflunomide as B-cell immunosuppressants for xenotransplantation and chronic rejection: Scope and limitations', *Journal of Medicinal Chemistry*, 41: 3530-38.
- Sanchez-Carmona, M. A., D. A. Contreras-Cruz, and L. D. Miranda. 2011. 'Base-free two-step synthesis of 1,3-diketones and beta-ketoesters from alpha-diazocarbonyl compounds, trialkylboranes, and aromatic aldehydes', *Organic & Biomolecular Chemistry*, 9: 6506-08.
- Shao, N. N., T. Chen, T. T. Zhang, H. J. Zhu, Q. X. Zheng, and H. B. Zou. 2014. 'Cascade regioselective synthesis of pyrazoles from nitroallylic acetates and N-tosyl hydrazine', *Tetrahedron*, 70: 795-99.

- Shevchuk, N. V., K. Liubchak, K. G. Nazarenko, A. A. Yurchenko, D. M. Volochnyuk, O. O. Grygorenko, and A. A. Tolmachev. 2012. 'A Convenient Synthesis of (1H-Azol-1-yl)piperidines', *Synthesis-Stuttgart*, 44: 2041-48.
- Smith, S., M. Keul, J. Engel, D. Basu, S. Eppmann, and D. Rauh. 2017. 'Characterization of Covalent-Reversible EGFR Inhibitors', *Acs Omega*, 2: 1563-75.
- Taylor, S. S., and A. P. Kornev. 2011. 'Protein kinases: evolution of dynamic regulatory proteins', *Trends Biochem Sci*, 36: 65-77.
- Vose, J. M. 2017. 'Mantle cell lymphoma: 2017 update on diagnosis, risk-stratification, and clinical management', *American Journal of Hematology*, 92: 806-13.
- Xu, J. L., H. Liu, G. X. Li, Y. He, R. Ding, X. Wang, M. Feng, S. T. Zhang, Y. R. Chen, S. L. Li, M. X. Zhao, C. M. Qi, and Y. H. Dang. 2011. 'Synthesis and biological evaluation of novel F-18 labeled pyrazolo[1,5-a] pyrimidine derivatives: Potential PET imaging agents for tumor detection', *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 21: 4736-41.
- Zapf, C. W., B. S. Gerstenberger, L. Xing, D. C. Limburg, D. R. Anderson, N. Caspers, S. Han, A. Aulabaugh, R. Kurumbail, S. Shakya, X. Li, V. Spaulding, R. M. Czerwinski, N. Seth, and Q. G. Medley. 2012. 'Covalent Inhibitors of Interleukin-2 Inducible T Cell Kinase (Itk) with Nanomolar Potency in a Whole-Blood Assay', *Journal of Medicinal Chemistry*, 55: 10047-63.
- Zhang, H. L., Q. Wei, G. D. Zhu, J. P. Qu, and B. M. Wang. 2016. 'A facile and expeditious approach to substituted 1H-pyrazoles catalyzed by iodine', *Tetrahedron Letters*, 57: 2633-37.

EKLER**EK****NMR SPEKTRUMLARI****43'ün ¹H NMR spektrumu****43'ün APT spektrumu**

45' in ¹H NMR spektrumu45' in ¹³C NMR spektrumu

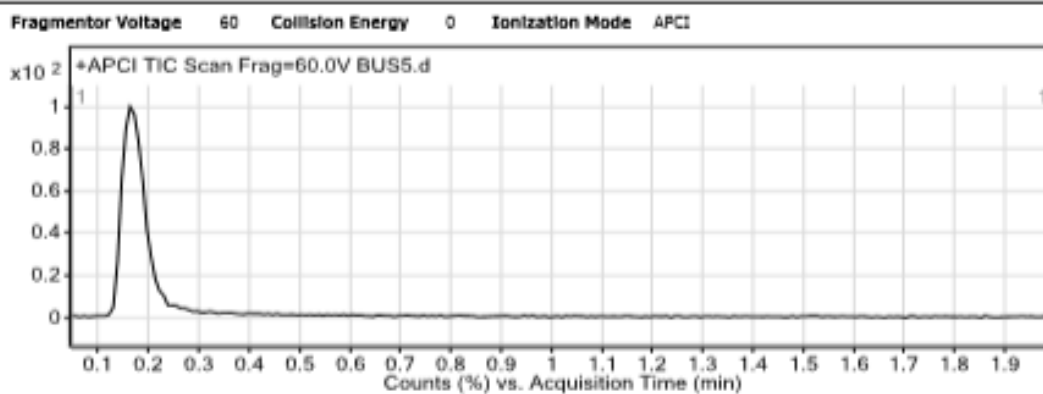


46' nin ^1H NMR spektrumu

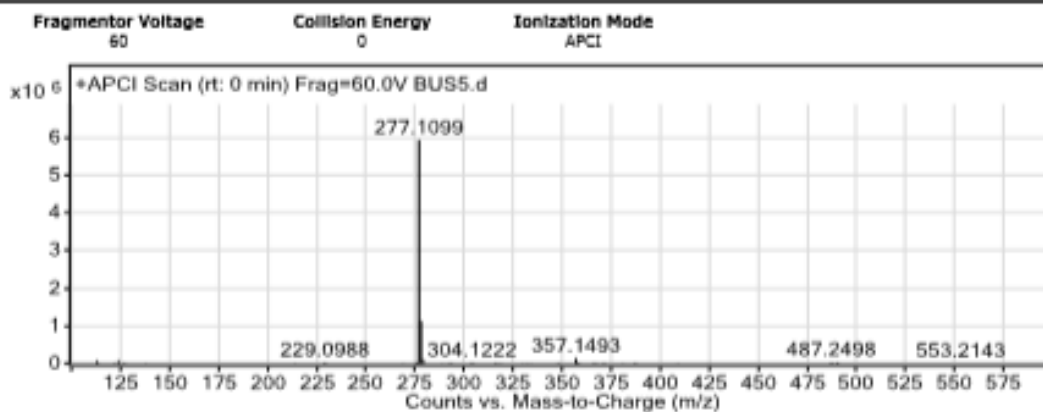
Qualitative Analysis Report

Data Filename	BUS5.d	Sample Name	BUS6
Sample Type	Sample	Position	P1-B1
Instrument Name	Instrument 1	User Name	
Acq Method	MS_APCI_POS.m	Acquired Time	11/14/2017 1:48:17 PM
IRM Calibration Status	Success	DA Method	QualDAMethod.m
Comment			
Sample Group			
Stream Name	LC 1	Info.	
		Acquisition SW	6200 series TOF/6500 series
		Version	Q-TOF B.06.01 (B6157)

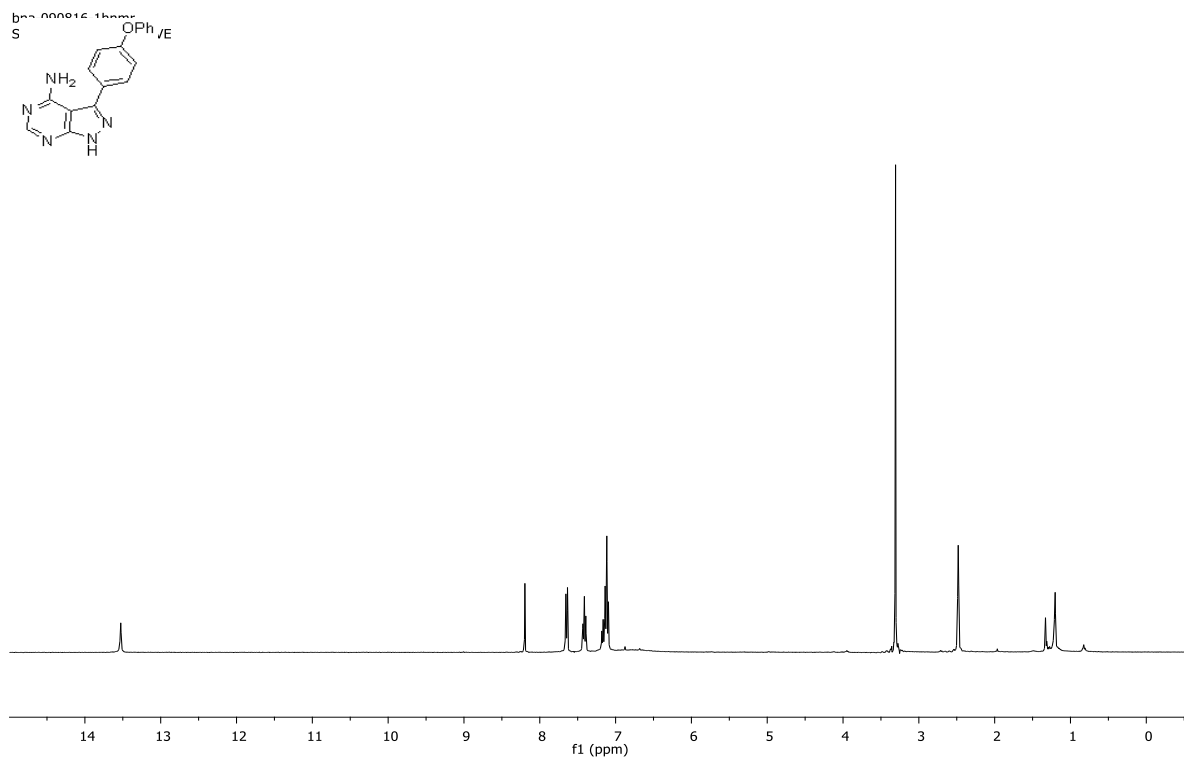
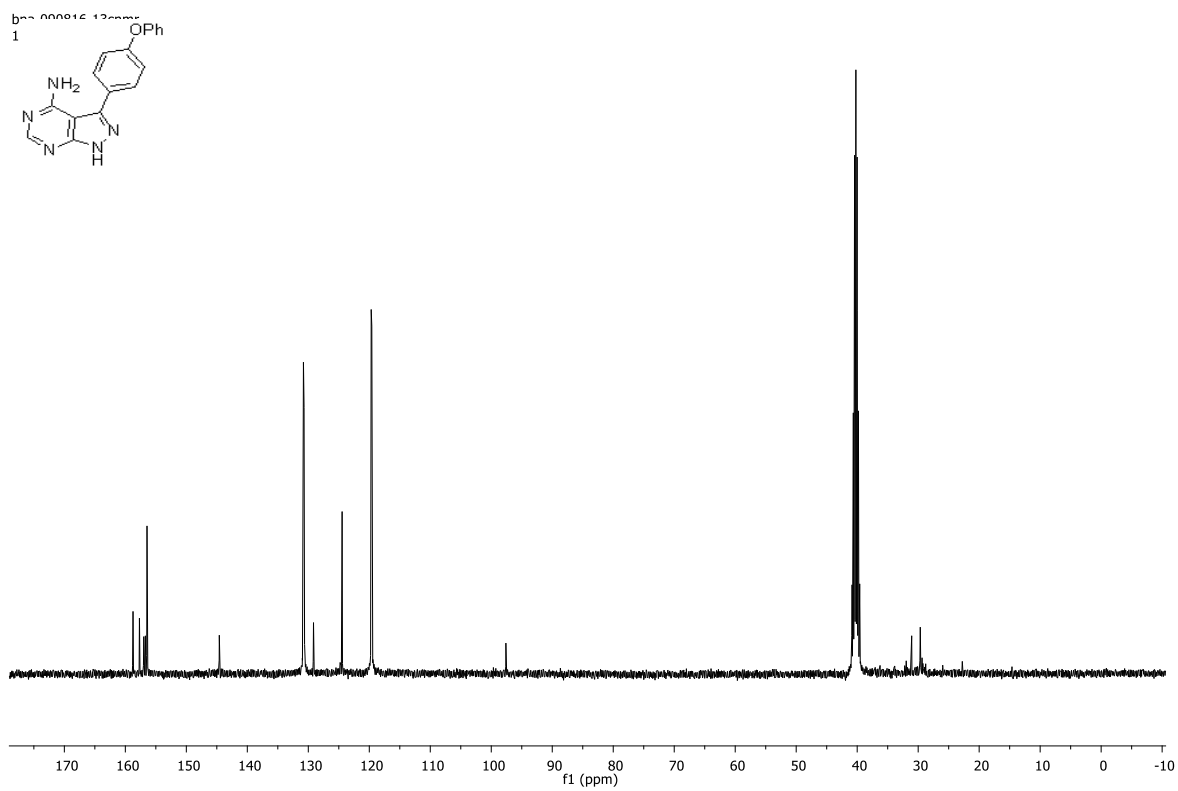
User Chromatograms



User Spectra



46'nin HRMS spektrumu

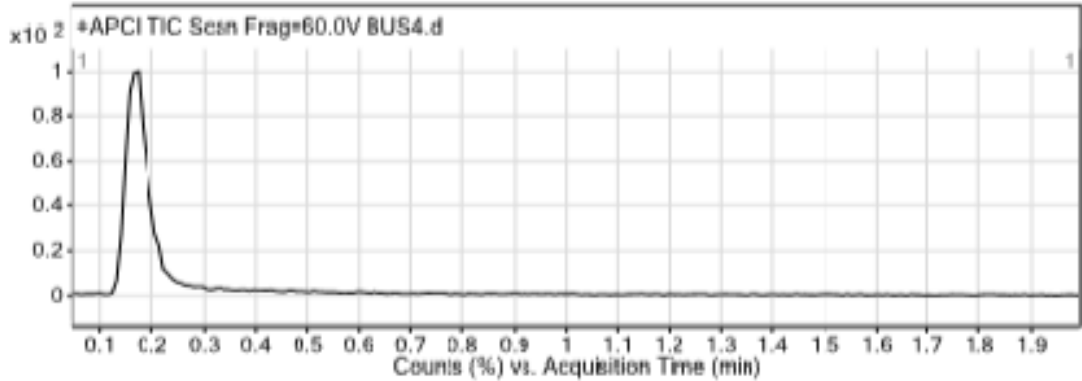
**49**'un ¹H NMR spektrumu**49**'un ¹³C NMR spektrumu

Qualitative Analysis Report

Data Filename	BUS4.d	Sample Name	BUS4
Sample Type	Sample	Position	P1-A9
Instrument Name	Instrument 1	User Name	
Acq Method	MS_APCI_POS.m	Acquired Time	11/14/2017 1:45:37 PM
IRM Calibration Status	Success	DA Method	QualDA/Method.m
Comment			
Sample Group		Info.	
Stream Name	LC 1	Acquisition SW	6200 series TOF/6500 series
		Version	Q-TOF B.06.01 (B6157)

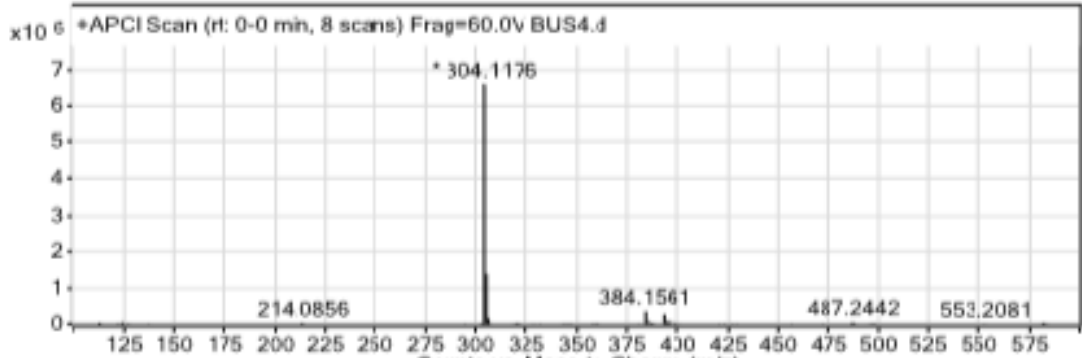
User Chromatograms

Fragmentor Voltage 60 Collision Energy 0 Ionization Mode APCI

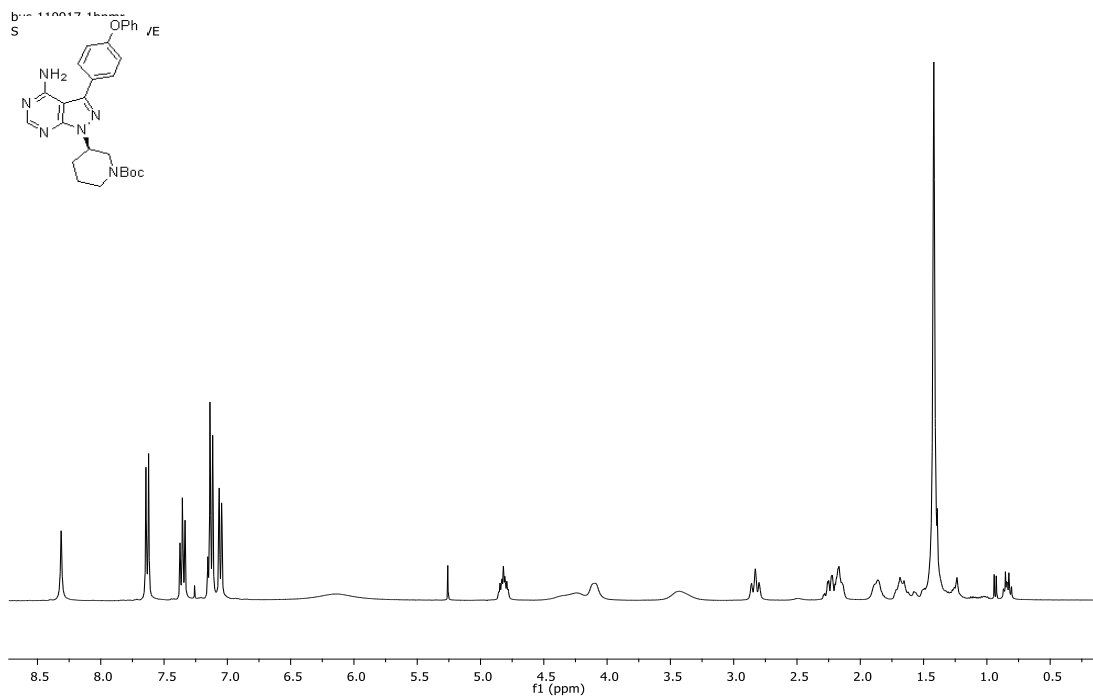
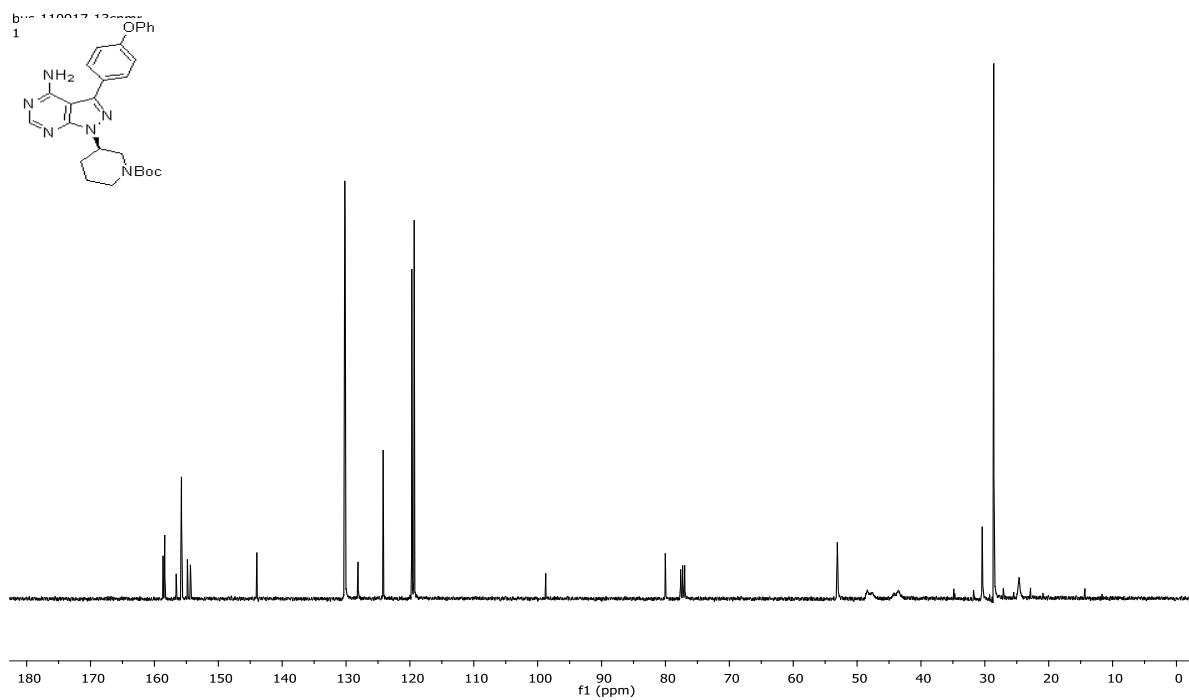


User Spectra

Fragmentor Voltage 60 Collision Energy 0 Ionization Mode APCI



49'un HRMS spektrumu

**51'**in ¹H NMR spektrumu**51'**in ¹³C NMR spektrumu

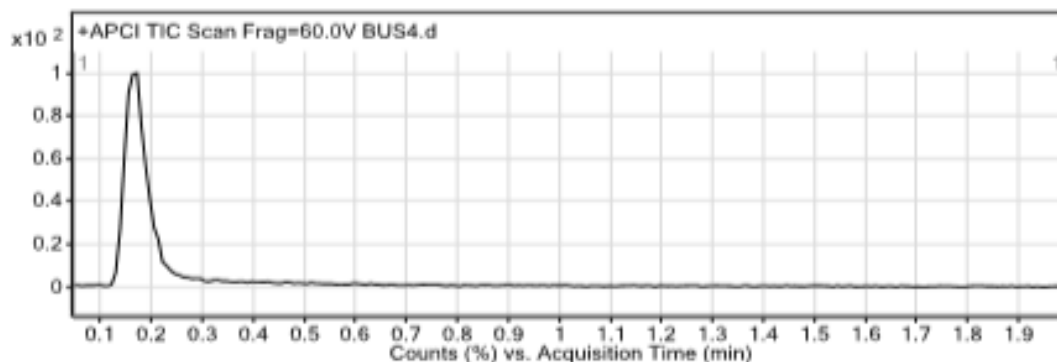
Qualitative Analysis Report

Data Filename	BUS4.d	Sample Name	BUS4
Sample Type	Sample	Position	P1-A9
Instrument Name	Instrument 1	User Name	
Acq Method	MS_APCI_POS.m	Acquired Time	11/14/2017 1:45:37 PM
IRM Calibration Status	Success	DA Method	QualDAMethod.m
Comment			

Sample Group		Info.	
Stream Name	LC 1	Acquisition SW	6200 series TOF/6500 series
		Version	Q-TOF B.06.01 (B6157)

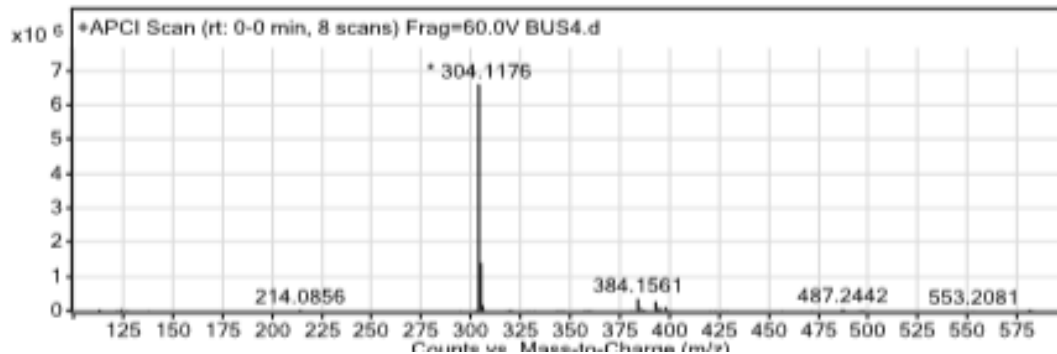
User Chromatograms

Fragmentor Voltage 60 Collision Energy 0 Ionization Mode APCI

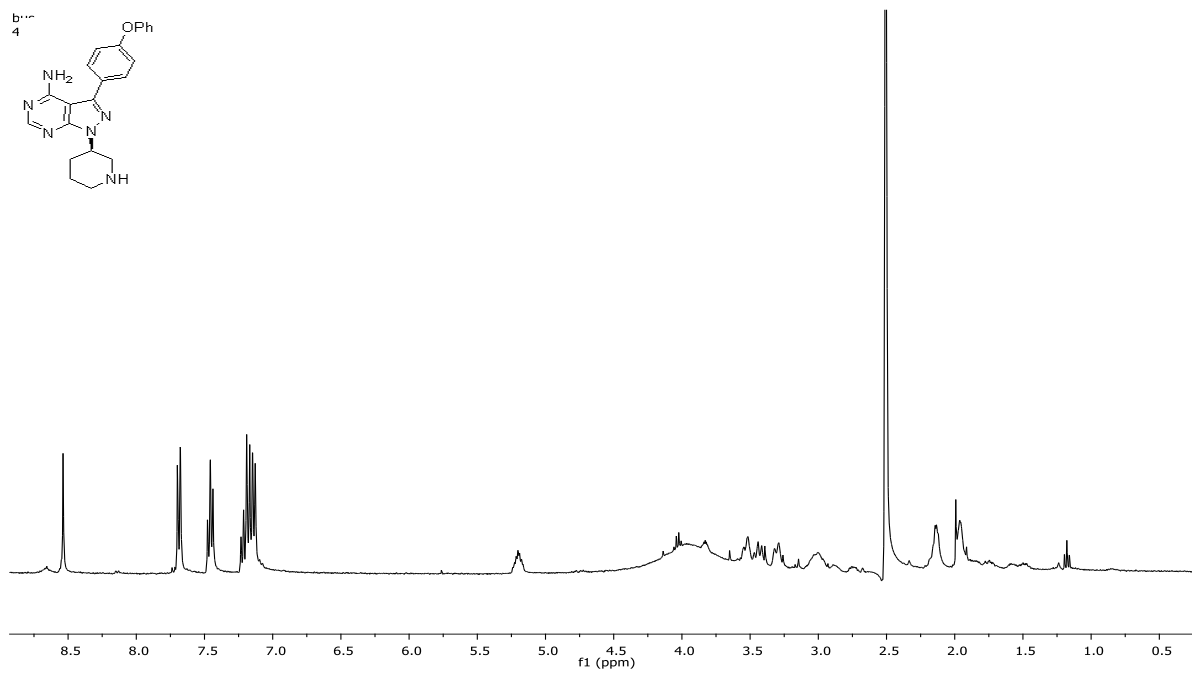


User Spectra

Fragmentor Voltage 60 Collision Energy 0 Ionization Mode APCI



51'in HRMS spektrumu



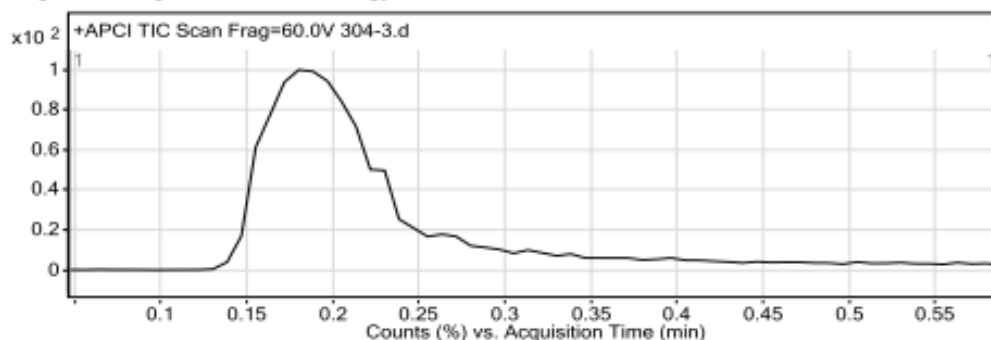
55'in ¹H NMR spektrumu

Qualitative Analysis Report

Data Filename	304-3.d	Sample Name	304-3
Sample Type	Sample	Position	P1D1
Instrument Name	Instrument 1	User Name	QTOF-HP\admin
Acq Method	MS_APCI_POS.m	Acquired Time	9/26/2017 2:58:50 PM
IRM Calibration Status	Success	DA Method	QualDAMethod.m
Comment			
Stream Name	LC 1	Acquisition SW Version	6200 series TOF/6500 series Q-TOF B.06.01 (B6157)

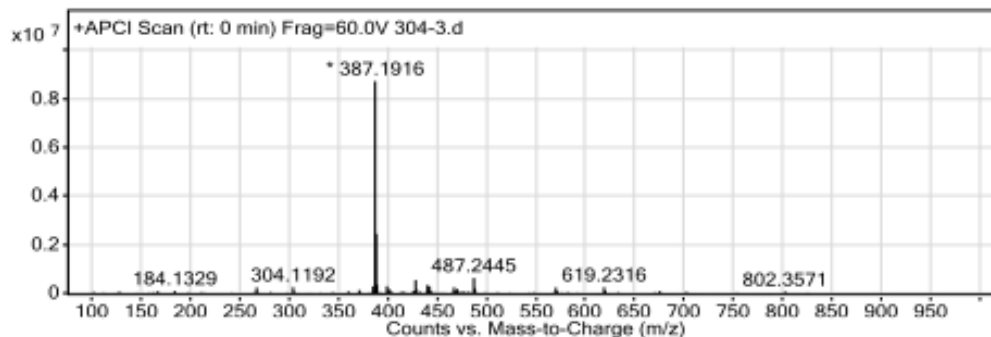
User Chromatograms

Fragmentor Voltage 60 Collision Energy 0 Ionization Mode APCI

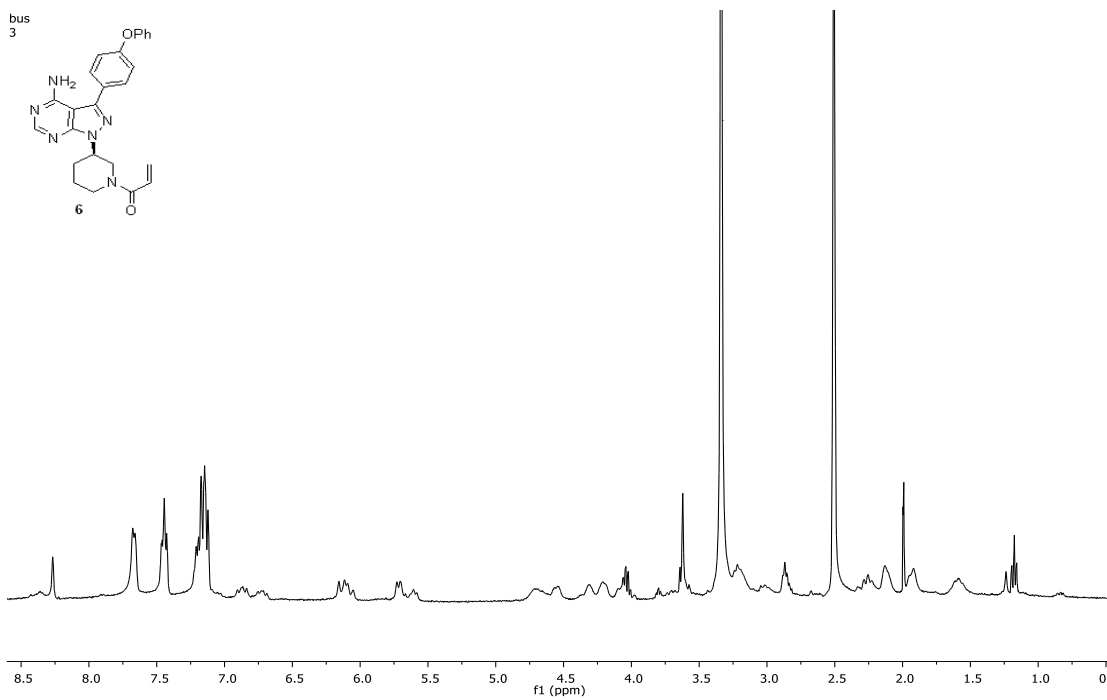


User Spectra

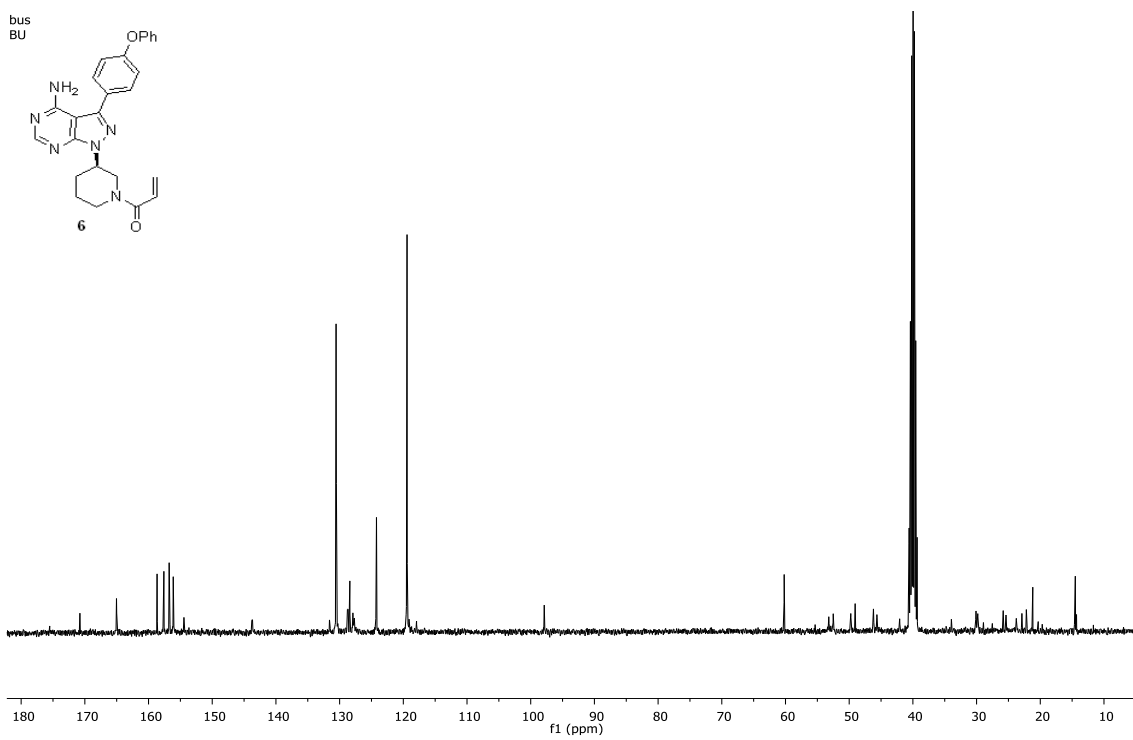
Fragmentor Voltage 60 Collision Energy 0 Ionization Mode APCI



55'in HRMS spektrum



6'nin ^1H NMR spektrumu



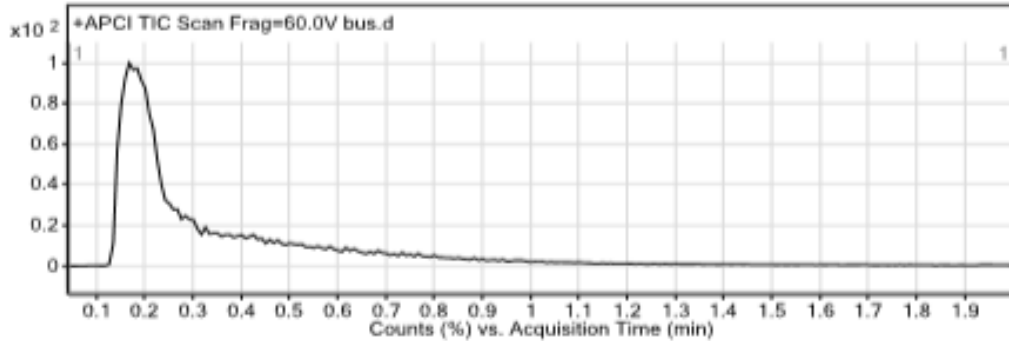
6'nin ^{13}C NMR spektrumu

Qualitative Analysis Report

Data Filename	bus.d	Sample Name	bus
Sample Type	Sample	Position	P1-A7
Instrument Name	Instrument 1	User Name	
Acq Method	MS_APCI_POS.m	Acquired Time	10/17/2017 3:23:50 PM
IRM Calibration Status	Success	DA Method	QualDAMethod.m
Comment			
Sample Group		Info.	
Stream Name	LC 1	Acquisition SW	6200 series TOF/6500 series
		Version	Q-TOF B.06.01 (B6157)

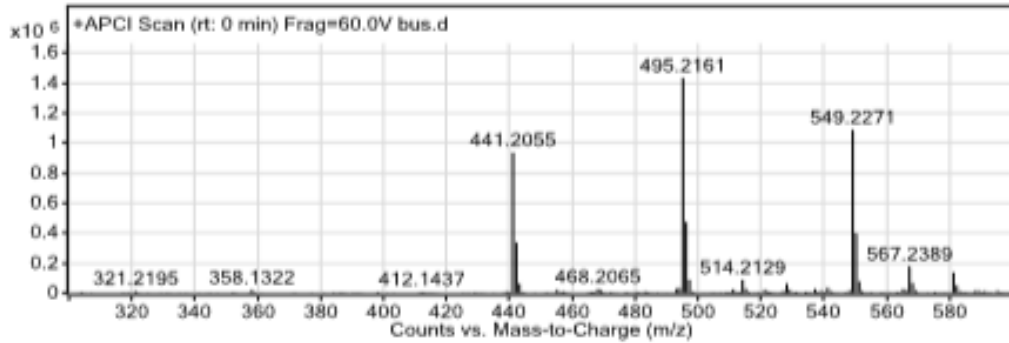
User Chromatograms

Fragmentor Voltage 60 Collision Energy 0 Ionization Mode APCI

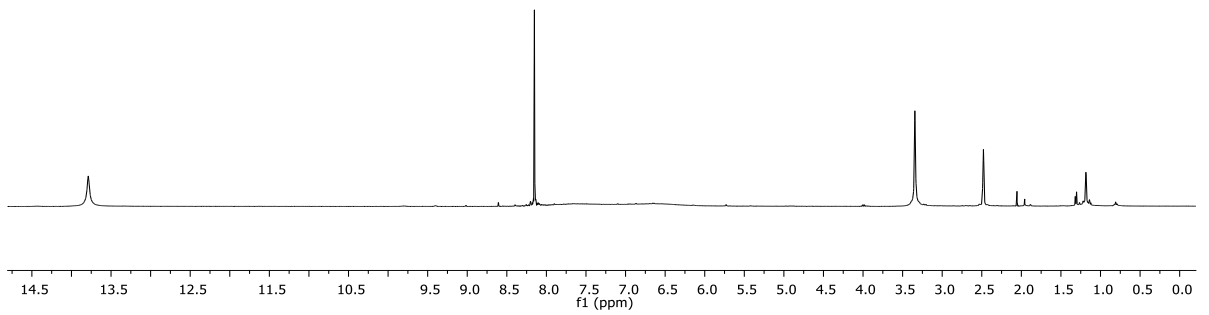
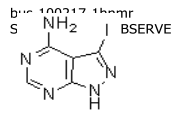


User Spectra

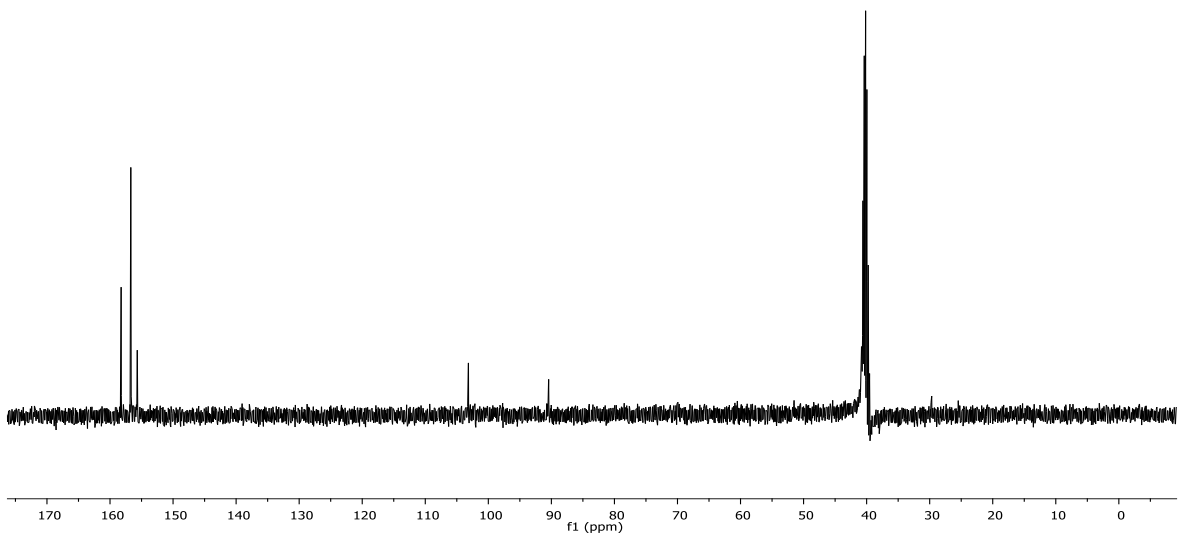
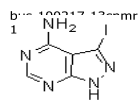
Fragmentor Voltage 60 Collision Energy 0 Ionization Mode APCI



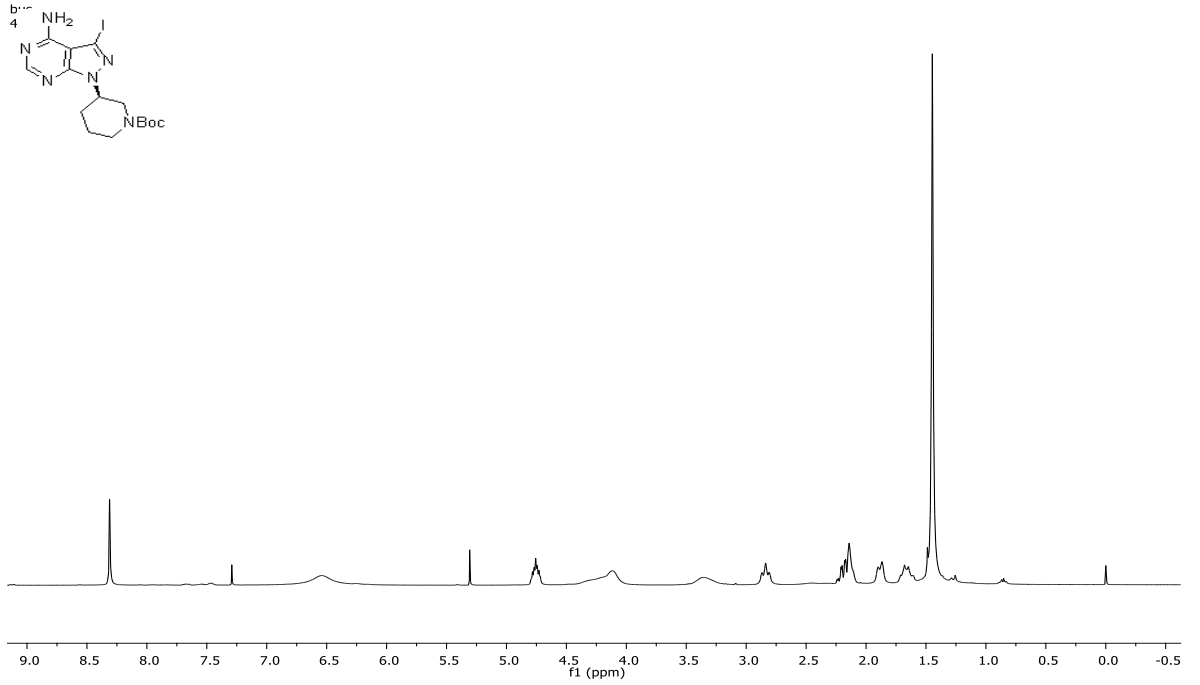
6'nn HRMS spektrumu



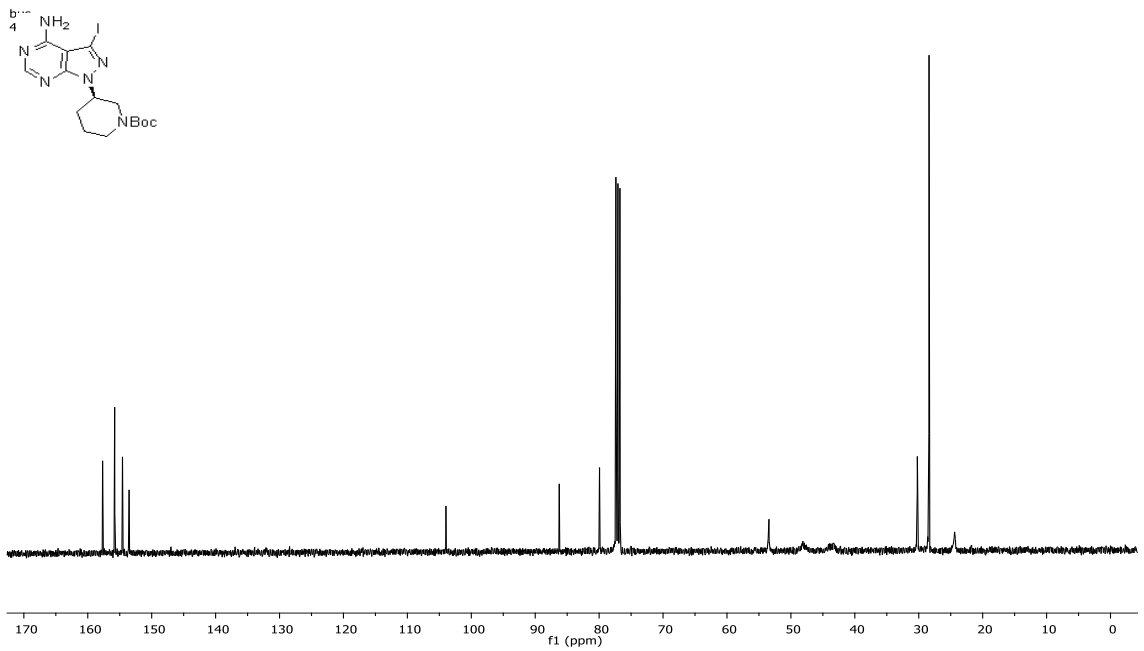
53'ün ¹H NMR spektrumu



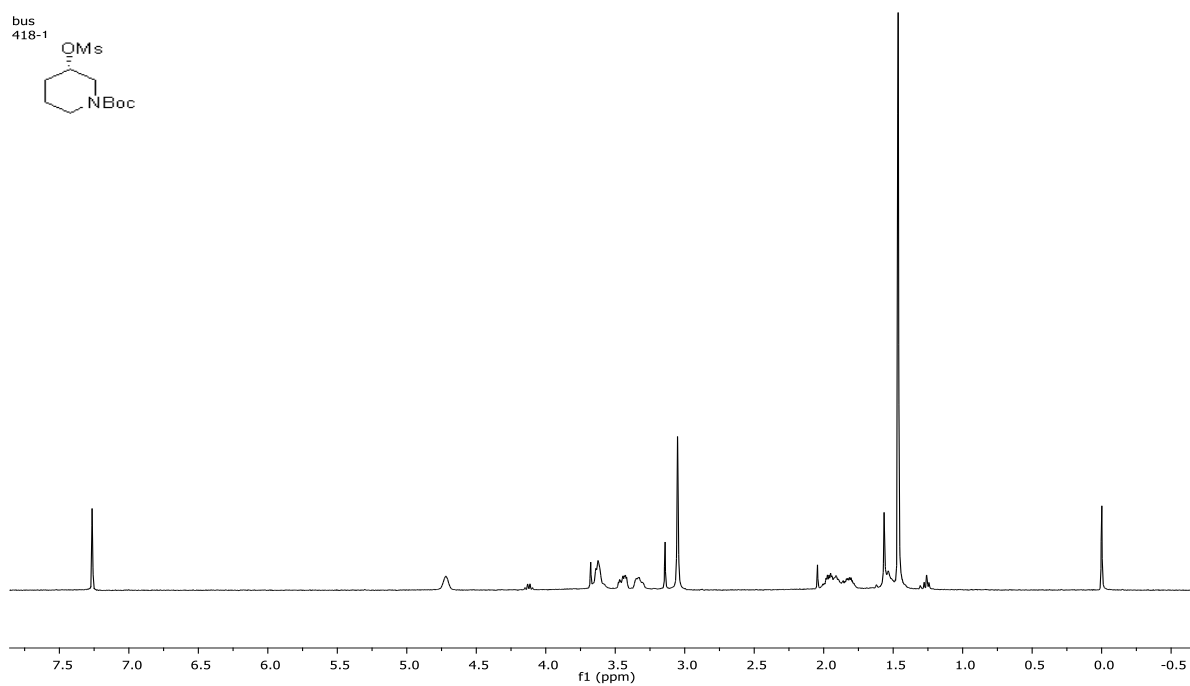
53'ün ¹³C NMR spektrumu



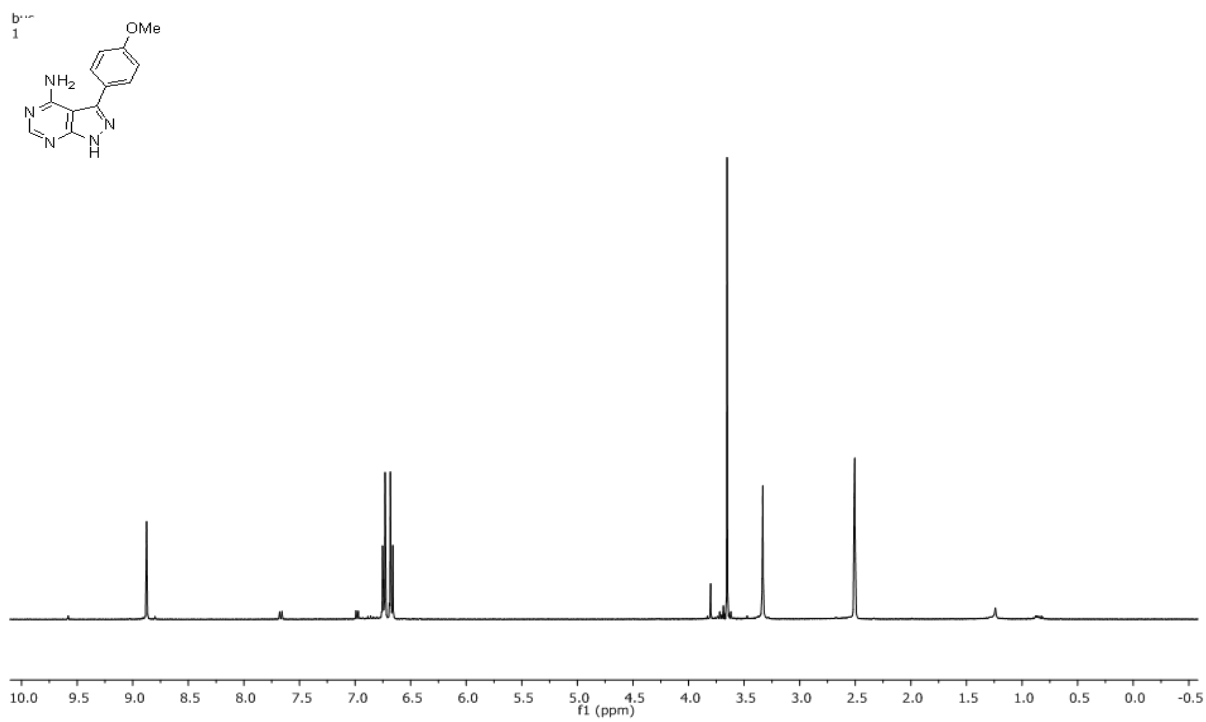
54'ün ^1H NMR spektrumu



54'ün ^{13}C NMR spektrumu



185'in ¹H NMR spektrumu



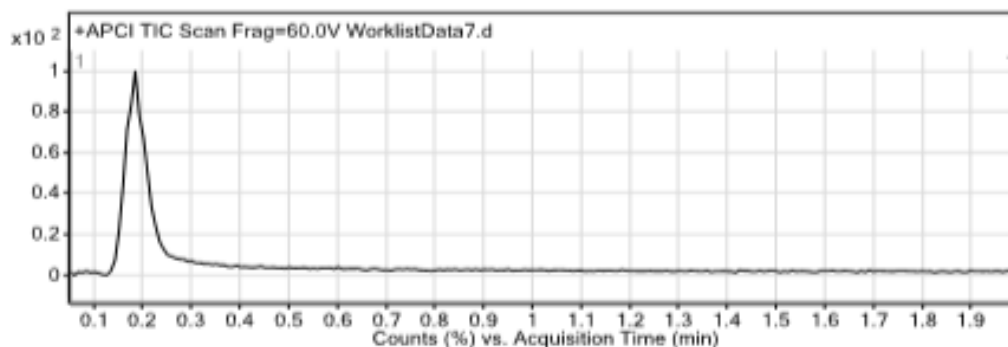
188'in ¹H NMR spektrumu

Qualitative Analysis Report

Data Filename	WorklistData7.d	Sample Name	Sample7
Sample Type	Sample	Position	P1-07
Instrument Name	Instrument 1	User Name	
Acq Method	MS_APCI_POS.m	Acquired Time	9/26/2017 3:17:25 PM
IRM Calibration Status	Success	DA Method	QualDAMethod.m
Comment			
Sample Group		Info.	
Stream Name	LC 1	Acquisition SW	6200 series TOF/6500 series
		Version	Q-TOF B.06.01 (B6157)

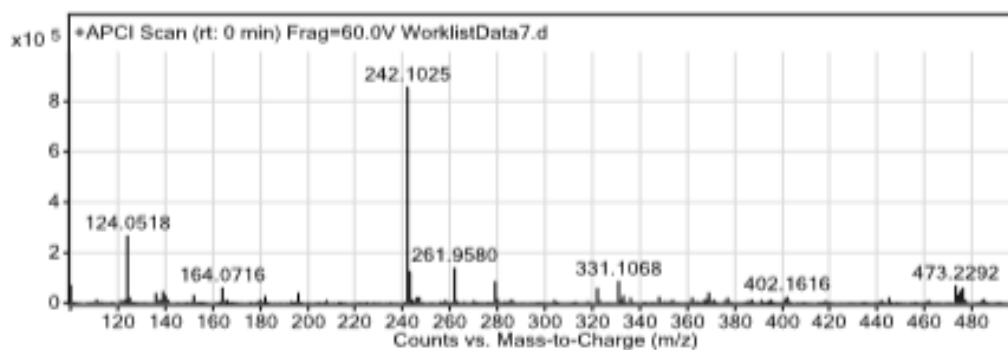
User Chromatograms

Fragmentor Voltage 60 Collision Energy 0 Ionization Mode APCI

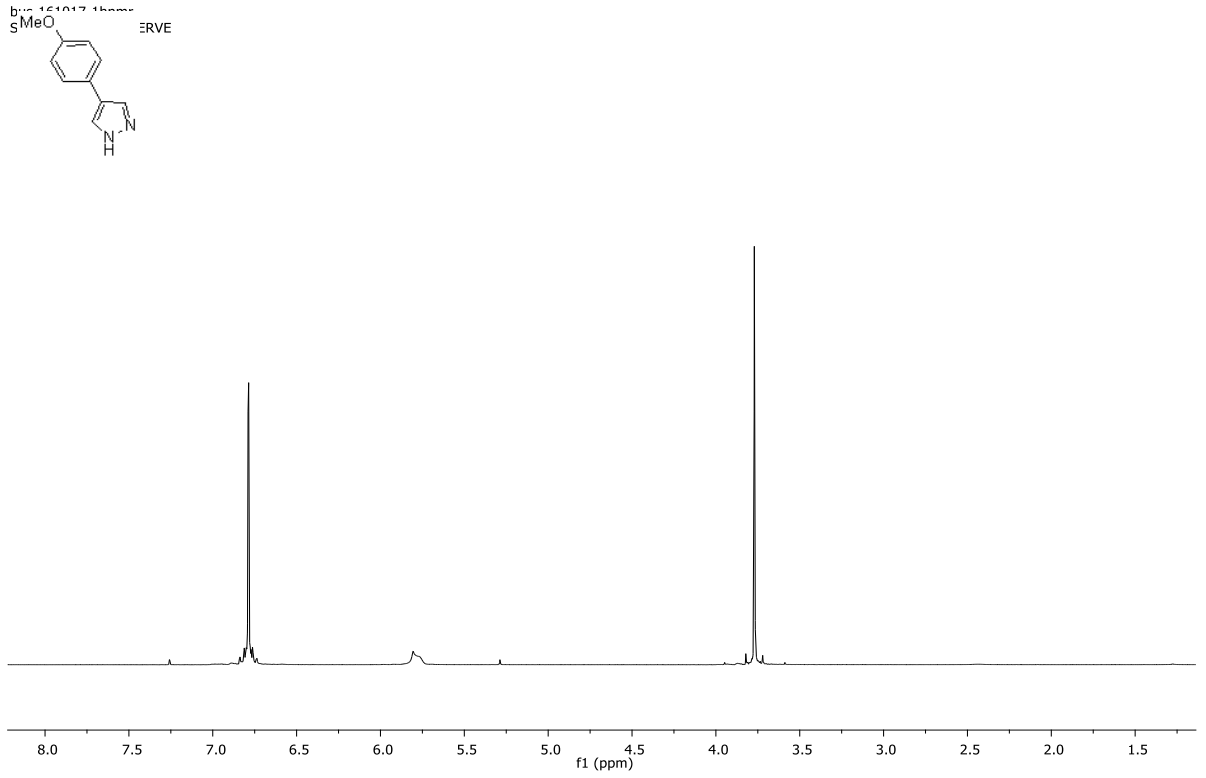


User Spectra

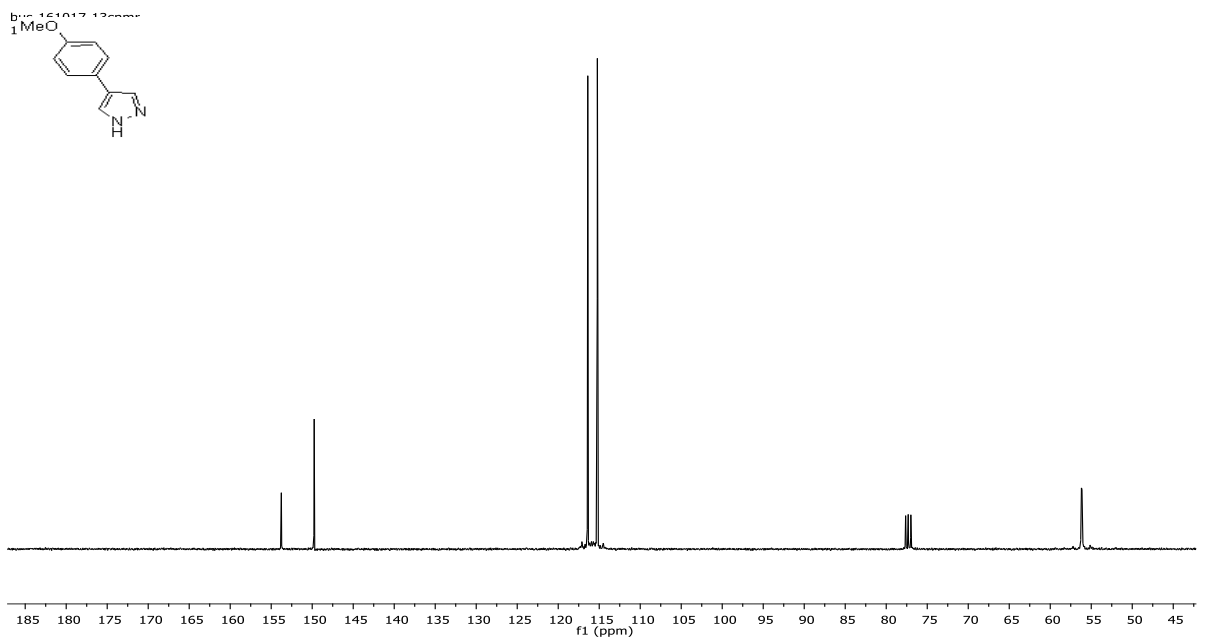
Fragmentor Voltage 60 Collision Energy 0 Ionization Mode APCI



188'in HRMS spektrumu



194'ün ¹H NMR spektrumu



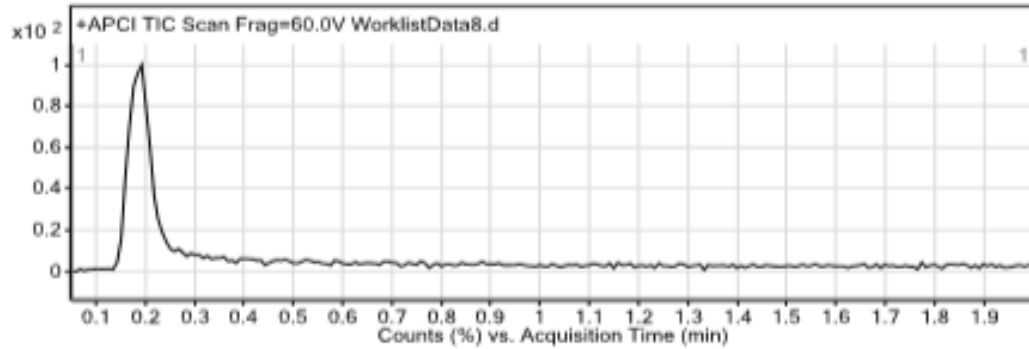
194'ün ¹³C NMR spektrumu

Qualitative Analysis Report

Data Filename	WorklistData8.d	Sample Name	Sample8
Sample Type	Sample	Position	P1-DB
Instrument Name	Instrument 1	User Name	
Acq Method	MS_APCI_POS.m	Acquired Time	9/26/2017 3:20:05 PM
IRM Calibration Status	Success	DA Method	QualDAMethod.m
Comment			
Sample Group		Info.	
Stream Name	LC 1	Acquisition SW	6200 series TOF/6500 series
		Version	Q-TOF B.06.01 (B6157)

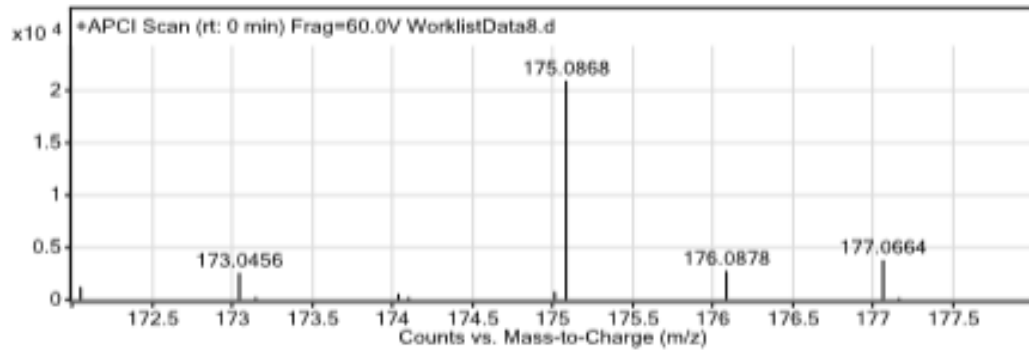
User Chromatograms

Fragmentor Voltage 60 Collision Energy 0 Ionization Mode APCI

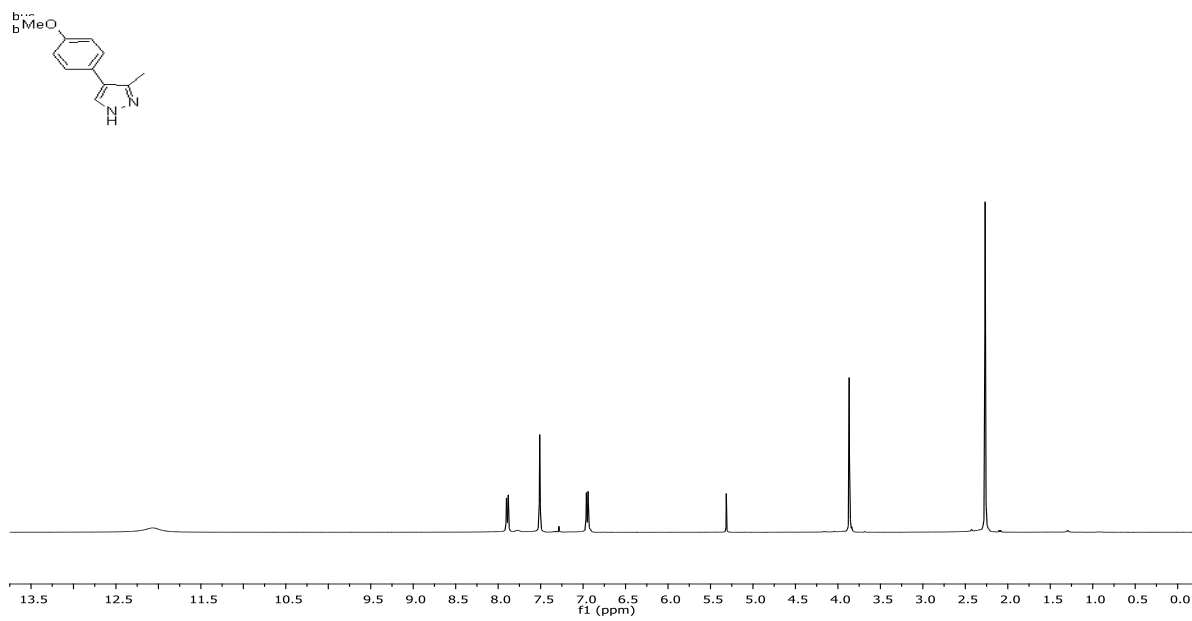


User Spectra

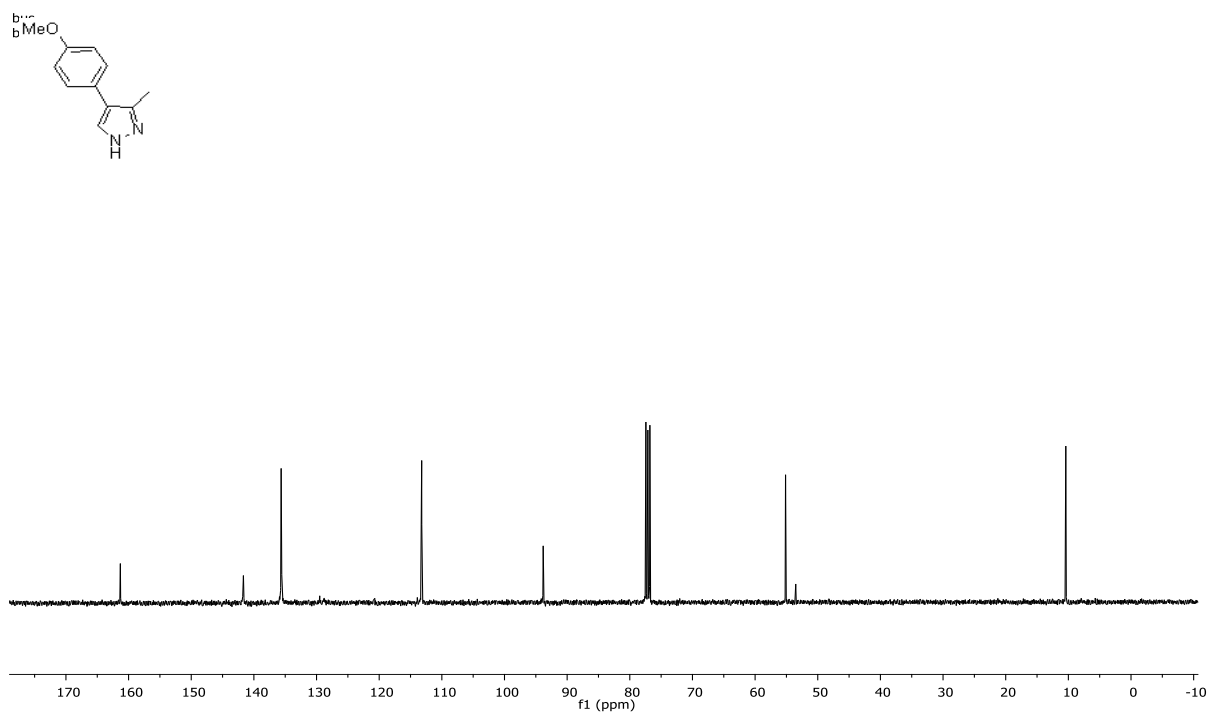
Fragmentor Voltage 60 Collision Energy 0 Ionization Mode APCI



194'ün HRMS spektrumu



196'nin ¹H NMR spektrumu



196'nin ¹³C NMR spektrumu

ÖZGEÇMİŞ

1 Temmuz 1988 tarihinde Manisa’da doğdu. İlköğretim, lise ve üniversite öğrenimini Erzurum’da tamamladı. 2007-2012 yılları arasında Atatürk Üniversitesi Kazım Karabekir Eğitim Fakültesi, Kimya Öğretmenliği Lisans programından (yüksek lisans ile birleştirilmiş) mezun oldu. 2012 yılında Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalında Yüksek Lisans’a başladı. 2013-2014 yılları arasında Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü’nde lisans eğitimi aldı. 2014 yılından beri Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalında doktora çalışmalarını sürdürmektedir.