



5-AMİNO-3-FENOKSİFENİL PİRAZOL SENTEZİ

Büşra Nur AYDIN

Yüksek Lisans Tezi

Kimya Anabilim Dalı

Organik Kimya Bilim Dalı

Prof. Dr. Ramazan ALTUNDAŞ

2017

Her hakkı saklıdır

**ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

5-AMİNO-3-FENOKSİFENİL PİRAZOL SENTEZİ

Büşra Nur AYDIN

**KİMYA ANABİLİM DALI
Organik Kimya Bilim Dalı**

**ERZURUM
2017**

Her hakkı saklıdır



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü



TEZ ONAY FORMU

5-AMİNO-3-FENOKSİFENİL PİRAZOL SENTEZİ

Prof. Dr. Ramazan ALTUNDAŞ danışmanlığında, Büşra Nur AYDIN tarafından hazırlanan bu çalışma, 04/07/2017 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Kimya Anabilim Dalı Organik Kimya Bilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak **oybirliği** ile kabul edilmiştir.

Başkan: Prof. Dr. M. Serdar GÜLTEKİN

Üye : Prof. Dr. Ramazan ALTUNDAŞ

Üye : Prof. Dr. Aliye ALTUNDAŞ

İmza :

İmza :

İmza :

Yukarıdaki sonuç;

Enstitü Yönetim Kurulu'nun 04.07/2017 tarih ve ..27.../..42..... nolu kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Cavit KAZAZ
Enstitü Müdürü

Bu çalışma SANTEZ projesi 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

Yüksek Lisans Tezi

5-AMİNO-3-FENOKSİFENİL PİRAZOL SENTEZİ

Büşra Nur AYDIN

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

Danışman: Prof. Dr. Ramazan ALTUNDAŞ

Onkolitik ilaç aktif maddesi İbrutinib'in ana iskeleti olan 5-amino-3-fenoksifenil pirazol, 4-fenoksi benzoik asitten çıkılarak sentezlendi. 4-fenoksibenzoik asitin karbonil karbonu etil kloroformiyat yardımıyla aktifleştirildikten sonra malononitrilin katılması sonucu enol eter **24** sentezlendi. Enol eter **24**'deki hidroksil grubu pirazol oluşturmak amacıyla MsCl ile muamele edilerek kolay ayrılabilen bir grup olan klora dönüştürüldü (**86**). Elde edilen **86**'nın hidrazin hidrat ile reaksiyonu sonucunda 5-amino-3-fenoksifenil pirazol'un sentezi üç basamakta gerçekleştirildi. Reaksiyon şartlarının optimize edilmesinin ardından, reaksiyonda elde edilen her bir ham ürün saflaştırılmaksızın bir sonraki kademede kullanılarak hedef ürün **28** sentezlendi. Ayrıca bu çalışmada **28**'in 2 gram ölçekte "tek-kap" sentezi de başarıyla gerçekleştirildi.

2017, 46 sayfa

Anahtar Kelimeler: BTK, İbrutinib, kanser, pirazol, pirazolopirimidin

ABSTRACT

Master Thesis

5-AMİNO-3-PHENOXYPHENYL PYRAZOLE SYNTHESIS

Büşra Nur AYDIN

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

Supervisor: Prof. Dr. Ramazan ALTUNDAŞ

The active ingredient, 5-amino-3-phenoxyphenyl pyrazole, of the oncolytic drug ibrutinib was synthesized starting from 4-phenoxy benzoic acid. Enol ether **24** was synthesized via activation of the carbonyl carbon of 4-phenoxy benzoic acid with ethyl chloroformate followed by addition of malononitrile. The hydroxyl group of the enol ether **24** was treated with MsCl and transformed to the facile chloro leaving group in order to form the pyrazole. The synthesis of 5-amino-3-phenoxyphenyl pyrazole was achieved in 3 steps via the reaction of **86** with hydrazine hydrate. After optimization of the reaction conditions, the obtained crude product was carried on to the next step without purification to synthesize the targeted product **28**. Furthermore, in this work the “one-pot” synthesis of **28** was achieved on a 2 gram scale.

2017, 46 pages

Keywords: BTK, cancer, İbrutinib, pyrazole, pyrazolopyrimidine

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans Tez çalışması olarak yürütülen bu çalışma, Sayın Prof. Dr. Ramazan ALTUNDAŞ yönetiminde, Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Organik Kimya Anabilim Dalı'nda gerçekleştirilmiştir.

Bu tez çalışması SANTEZ tarafından desteklenen ve yürütücülüğünü Sayın Prof. Dr. Ramazan ALTUNDAŞ'ın yaptığı 0992.STZ.2015 nolu proje kapsamında çalışılmıştır. Bu vesile ile bursiyer olarak görev aldığım projeden ötürü SANTEZ'e ve ülkemiz adına vicdani sorumluluk taşıdığımız bu projede çalışmama vesile olan hocam Sayın Prof. Dr. Ramazan ALTUNDAŞ'a teşekkürü borç bilirim.

Projemizde yardımcı yürütücü olarak görev alan Prof. Dr. Hasan SEÇEN'e teşekkür ederim. Laboratuvar çalışmalarında yardım ve desteklerini gördüğüm hocalarım ve çalışma arkadaşlarım; Büşra ÖZTÜRK AYDIN, Emine YURTOĞLU, Öğr. Gör. Derya AKTAŞ ANIL, Nejat ARÇELİK, Sakine BAYSAL, Arzu GÖBEK ve Ali Osman YILMAZ'a teşekkür ederim. 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 teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca benim ve kardeşlerimin geleceği için zor şartlar altında çalışarak mutlu bir yaşam sürmemizi sağlayan sevgili babama, vatanımıza ve milletimize faydalı evlatlar olabilmemiz için bizi özenle yetiştiren, başarı öykümüzün mimarı sevgili anneme, her zaman yanımda olan ablam Fatma Nur, abilerim Alp Eren ve Muhsin'e, yeğenlerim Alptuğ Enes ve Alp Ensar'a, çıktığım bu yolda motivasyon ve başarıma büyük katkısı olan sevgili arkadaşım Melih UMUTLU'ya teşekkür ederim.

Büşra Nur AYDIN

Haziran, 2017

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	v
ŞEKİLER DİZİNİ.....	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	viii
1. GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL TEMELLER.....	8
2.1. Amaç.....	22
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	24
4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	35
4.1. 28 'in 12 g Ölçeğinde Sentezi.....	35
4.2. 28 'in Büyük Ölçekte Sentezi İçin Optimize Edilen Yöntem.....	37
4.2.1. 28 'in 20 g ölçeğinde sentezi.....	37
4.3. 28 'in Tek-Kap Sentezi.....	38
5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	40
KAYNAKLAR.....	45
ÖZGEÇMİŞ.....	47

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Boc ₂ O	Di- <i>tert</i> -butil dikarbonat
CDCl ₃	Kloroform-d ₁
DCM	Diklorometan
dd	Dubletin dubleti
ddd	Dubletin dubletinin dubleti
EA	Etil asetat
Ekv	Ekivalent
Hek	Hekzan
IR	Infrared spectroscopy
ITK	İnce tabaka kromatografisi
MsCl	Mesitil klorür
NEt ₃	Trietilamin
NIS	<i>N</i> -iyodosüksinimid
NMR	Nükleer manyetik rezonans
rt	Oda sıcaklığı
s	Singlet
t	Triplet
THF	Tetrahidrofur
α	Alfa
β	Beta

ŞEKİLER DİZİNİ

Şekil 1.1. BTK'nın tersinir inhibitörleri	5
Şekil 1.2. BTK'ya kovalent bağlanan inhibitörler	6
Şekil 2.3. Antripirin'in yapısı	8
Şekil 2.4. Pürin bazlarının genel yapısı	9
Şekil 2.5. Adenin'in yapısı	9
Şekil 2.6. Pirazol'ün yapısı	10
Şekil 2.7. Amino pirazolün genel sentezi	11
Şekil 2.8. Aril halojenürlerden çıkılarak 5-amino-4-siyano-1-arilpirazollerin sentezi... 12	
Şekil 2.9. 4-fenoksi benzoil klorürden çıkılarak İbrutinib'in sentezi	13
Şekil 2.10. İyodopirazolopirimidin'den çıkılarak İbrutinib'in sentezi	14
Şekil 2.11. Pirazolopirimidin'den çıkılarak İbrutinib'in sentezi	15
Şekil 2.12. Pirazolopirimidin iskeleti içeren moleküllerin sentezi	16
Şekil 2.13. Pirazolopirimidin iskeleti içeren moleküllerin sentezi	17
Şekil 2.14. İbrutinib molekülünün genel birimleri	17
Şekil 2.15. R ₁ , R ₂ ve R ₃ grupları değiştirilerek sentezlenen moleküller	18
Şekil 2.16. Amit grubu içeren pirazolopirimidinlerin sentezi.....	19
Şekil 2.17. Amit grubu içeren pirazolopirimidin türevleri	20
Şekil 2.18. Bakır katalizörlüğünde sentezlenen bazı pirazolopirimidin türevleri.....	21
Şekil 2.19. Flor süstitüye bazı pirazolopirimidin türevleri	22
Şekil 3.1. 79'un sentezi.....	25
Şekil 3.2. 81'in sentezi.....	26
Şekil 3.3. 82'nin sentezi.....	26
Şekil 3.4. 24'ün sentezi.....	27
Şekil 3.5. 85'in sentezi.....	28
Şekil 3.6. 28'in sentezi.....	28
Şekil 3.7. 28'in sentez mekanizması.....	30
Şekil 3.8. 28'in sentezi.....	33
Şekil 3.9. 24'ün sentezi.....	34
Şekil 4.1. 24 molekülünün 400 MHz ¹ H-NMR Spektrumu	36

Şekil 4.2. 28 molekülünün 400 MHz ¹ H-NMR Spektrumu	37
Şekil 5.1. 79 'un sentezi.....	40
Şekil 5.2. 79 'un sentezi.....	40
Şekil 5.3. 81 'in sentezi.....	41
Şekil 5.4. 82 'nin sentezi.....	41
Şekil 5.5. 28 'in sentezi.....	42
Şekil 5.6. 28 'in sentezi.....	44



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. 28 molekülünün reaksiyon şartları.....	28
Çizelge 3.2. 28 molekülünün reaksiyon şartları.....	30
Çizelge 3.3. 28 molekülünün reaksiyon şartları.....	33



1. GİRİŞ

Kanser, vücut hücrelerinin düzensiz olarak bölünüp çoğalması sonucu herhangi bir dokuya yayılmasıdır. Hücrelerin bu şekilde çoğalması sonucu ortaya çıkan yüzden fazla kanser türü vardır. Bu türlerin tamamı farklı kanser tipleri olarak adlandırılrsa da hepsi hücrelerin kontrolsüz çoğalması kökenine dayanır. Bu çoğalma zamanında kontrol altına alınmadığı takdirde hastalık ölümlerle sonuçlanabilmektedir.

Kanser tiplerinin tümü normal hücrelerden gelişir. Kas ve sinir hücreleri hariç, vücuttaki sağlıklı hücrelerin tamamı bölünebilme özelliğine sahiptir. Hücreler bu özelliklerini yaşam süresi dolan hücrelerin yenilenmesinde ve hasar gören hücreleri onarılmasında kullanırlar. Ancak hücrelerin bu özellikleri sınırlıdır, yani sonsuz bölünemezler. Her hücre yaşam süresince belirli bir bölünme sayısına sahiptir ve ne zaman bölünüp ne zaman ölmesi gerektiği programlıdır. Normal bir vücudun sağlıklı bir şekilde çalışabilmesi için hücrelerin gelişmesi, bölünmesi ve yeni hücrelerin üretilmesine ihtiyaç vardır. Bazen süreç değişir ve yeni hücre gereksinimi olmadan hücreler hızla bölünür. Bilincini kaybetmiş hücreler (kanser hücreleri) kontrolsüzce bölünerek çoğalır ve tümör oluşturur. Kanserli hücreler her hücrede bulunan hücre çekirdeğindeki DNA sarmalındaki hasar nedeniyle hücre fonksiyonlarını yerine getirememesi sonucu meydana gelir. Hücrelerin normal yaşam döngüsünde hasarlı DNA ya sahip hücreler onarılır veya ölür ancak kanserli hücrelerde bu durum kontrolsüz çoğalmayla sonuçlanır.

DNA, kimyasallar ve güneş ışıklarına aşırı maruz kalmak gibi dış etkenlerden hasar görebileceği gibi insan vücudunda hormonlar ve metabolizmada meydana gelen mutasyonlar nedeniyle de hasar görebilir.

DNA'nın hasar görmesi sonucu biriken hücreler tümörleri oluşturur. Tümörler iyi ve kötü huylu olarak 2 sınıfa ayrılır ve iyi huylu tümörler kontrolsüz bir şekilde yayılmaya devam etmediği için kanser sınıfına girmez. Kötü huylu tümörler kanserdir ve kanser

hücreleri oluşturdukları tümörden ayrılarak lenf ya da kan dolaşımı aracılığıyla vücudun farklı bölgelerine yayılıp normal dokuları sıkıştırarak doku içine sızabilir ve orada yeni koloniler oluşturabilirler.

100'den fazla kanser türü vardır ve bu kanser tipleri genellikle kanserlerin oluştuğu organlar ya da dokularla isimlendirilir. Örneğin, akciğerde oluşan kanser akciğer kanseri olarak isimlendirilirken, beyinde oluşan kanser beyin kanseri olarak isimlendirilir (Anonymous 2017a).

Tez kapsamında kan kanseri tedavisi için geliştirilen bileşiğin sentezi yapılacağından kısaca bu kanser türleri hakkında bilgi verilecektir. Kemik iliğinin kan oluşturan hücrelerinde başlayan kansere lösemi denir. Bu kanser türü katı tümör oluşturmaz. Bunun yerine, lösemi hücresi hızla bölünmeye başlar ve kemik iliğinden ayrılarak kan dolaşımına dökülür. Bu durum kandaki anormal beyaz kan hücrelerinin sayısının artmasına ve normal kan hücrelerinin seviyesinin düşmesine neden olur. Bunun sonucunda normal kan hücrelerinin düşük seviyesi, oksijenin vücut dokularına taşınmasını, kanamaların kontrol altına alınmasını ve bağışıklık sisteminin enfeksiyonlarla savaşmasını engeller (Anonymous 2017b).

Lenfoma en yaygın kan kanseridir. Lenfositlerin iki ana türü olan B-lenfositler ve T-lenfositlerden başlayan bir kanser türüdür. Bu iki lenfosit vücudun enfeksiyonlarla savaşmasını sağlayan beyaz kan hücrelerindedir. Lenfoma, oluşan anormal lenfositlerin lenf nodlarında ve lenf damarlarında birikmesi sonucu meydana gelir. Lenfomanın iki temel formu vardır. Bunlardan biri Hodgkin lenfoma, diğeryse Non-Hodgkin lenfoma'dır. Hodgkin lenfoma genellikle Reed-Sternberg hücreleri denilen anormal lenfositleri bulunduran B hücrelerinden oluşurken, Non-Hodgkin lenfoma B hücrelerinden de T hücrelerinden de oluşabilir (Anonymous 2017c).

Miyelom, beyaz kan hücresi türü olan plazma hücrelerinde oluşan bir kanser türüdür. Çoklu miyelom, sadece miyelom olarak da adlandırılır ve kemik iliğinde bulunan plazma hücrelerinden kaynaklanır. Plazma hücreleri bağışıklık sisteminde büyük role

sahiptir. Normal kan hücreleri enfeksiyonlara karşı antikor üretirken, miyelom “paraprotein” olarak adlandırılan enfeksiyonlara karşı bir işlevi olmayan bir antikor üretir. Miyelom da birçok kanserin aksine tümör oluşturmeyen kanser türlerindedir. Tümör oluşturmayıp kemik iliğinde anormal şekilde bölünür ve çoğalır. Miyelom, kemik iliğinin bulunduğu omurga, göğüs kafesi, leğen kemiği, kafatası, omuz ve kalça bölgelerinde oluşur. Bu nedenle çoklu miyelom olarak adlandırılır.

Mantle hücreli lenfoma (MCL), nadir görülen B hücreli bir Non-Hodgkin lenfoma'dır. Hastalığa "manto hücreli lenfoma" denir. Çünkü kanser hücreleri lenf nodunun "manto bölgesinde" oluşur. MCL genellikle gastrointestinal yol ve kemik iliğine yayılmış bir geç evre hastalığı olarak teşhis edilir. Hastalık çoğunlukla 60 yaş üzerindeki erkeklerde görülmektedir.

Kronik lenfositik lösemi (CCL), fonksiyonel olarak yetersiz lenfositlerin kanda birikmesi sonucu oluşan 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. Hücreler zamanla lenf nodları, karaciğer ve dalak da dahil olmak üzere vücudun diğer bölgelerine yayılabilir (Anonymous 2017d).

Waldenstrom's Makroglobulinemia (WM), B hücrelerinden başlayan bir kanserdir. WM'li insanlardaki kanser hücreleri, 2 farklı kanser tipine benzer: çoklu miyelom ve non-Hodgkin lenfoma. Çoklu miyelom plazma hücrelerinin bir kanseri olarak düşünülür ve non-Hodgkin lenfoma lenfositlerin bir kanseridir. WM hücreleri hem plazma hücreleri hem de lenfositlerin özelliklerine sahiptir ve buna lenfoplazmatiktoid denir.

WM hücreleri, makroglobulin olarak bilinen belli miktarda bir antikor üretirler. 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 sorunları da dahil olmak üzere

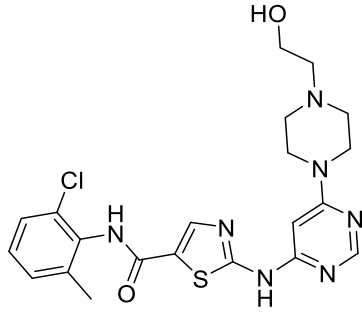
WM semptomlarının çoğuna neden olabilir. WM hücreleri, farklı kan hücrelerini yapan normal hücreleri birbirine bağlayarak kemik iliğinde büyür. Bu, insanları yorgun ve zayıf hissettiren kırmızı kan hücresinin seviyesinin düşmesine (anemi) yol açabilir. Aynı zamanda, normal beyaz kan hücresinin oluşumun azalmasına sebep olur ve vücudun enfeksiyonlarla savaşmasını zorlaştırır. Kandaki trombosit sayısı da düşebilir ve kanama ve morarmaların artmasına neden olabilir. Lenfoma hücreleri aynı zamanda karaciğer ve dalak gibi organlarda büyüyebilir, bu organların şişmesine neden olur ve bunun sonucunda karın ağrısına neden olur.

Vücutta hücrelerin gelişim kontrolü, göçü ve mutasyonlarından sorumlu olan enzim protein kinaz ailesinden bir tirozin kinaz olan Bruton's tirozin kinaz tarafından gerçekleştirilir. Tirozin kinazların TEC ailesinin bir üyesi olan Bruton's Tirozin Kinaz'ın yeni B-hücrelerinin oluşumu, gelişimi, olgun B-hücrelerinin aktivasyonu ve sağ kalımında önemli bir düzenleyici olduğu bilinmektedir (Han *et al.* 20014).

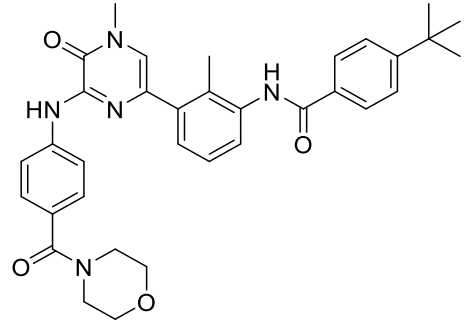
B-hücresi sinyali, B-hücresi reseptörü (BCR) aracılığıyla, B-hücresinin gelişim aşamasına bağlı geniş bir biyolojik faaliyet yelpazesine sahiptir. Bu nedenle BCR sinyallerinin büyüklüğü ve süresi tam olarak düzenlenmelidir. Anormal BCR aracılı sinyal iletimi, düzensiz B hücresi aktivasyonuna ve çoklu otoimmün ve inflamatuvar hastalıklara yol açan patojenik otoantikorların oluşumuna neden olabilir (Han *et al.* 2014).

Ayrıca, BTK'nın tümör ile etkileştiği ve kronik lenfositik lösemnin hayatta kalmasını ve proliferasyonunu arttırdığı ve BTK'nın anormal şekilde aktive edilmesini teşvik ettiği B hücresi lenfomalarının patogeneğinde önemli rol oynadığı bildirilmektedir (Davis *et al.* 2010). Bu bilgiler ışığında BTK'nın inhibisyonunun hematolojik malignitelerin tedavisinde önemli role sahip olduğu söylenebilir.

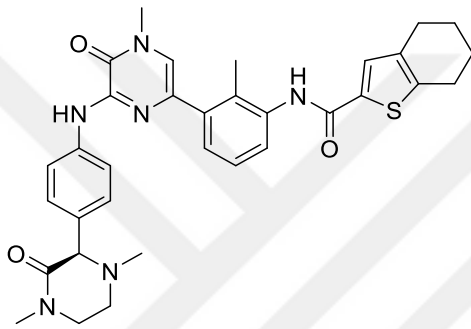
1990'lar da BTK'nın keşfinden bu yana, birkaç BTK inhibitörü geliştirilmiştir. Bu inhibitörler tersinir inhibitörler ve kalıcı bir şekilde kovalent bağlı inhibitörler olmak üzere 2 ana sınıfa ayrılmaktadır (Li *et al.* 2014).



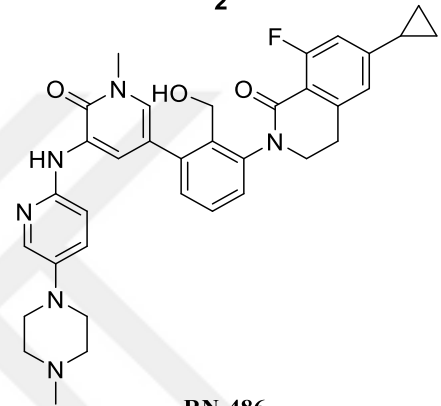
Dasatinib
1



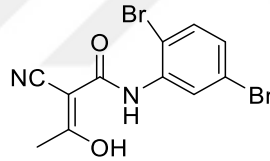
CGI-1746
2



GCD-0834
3



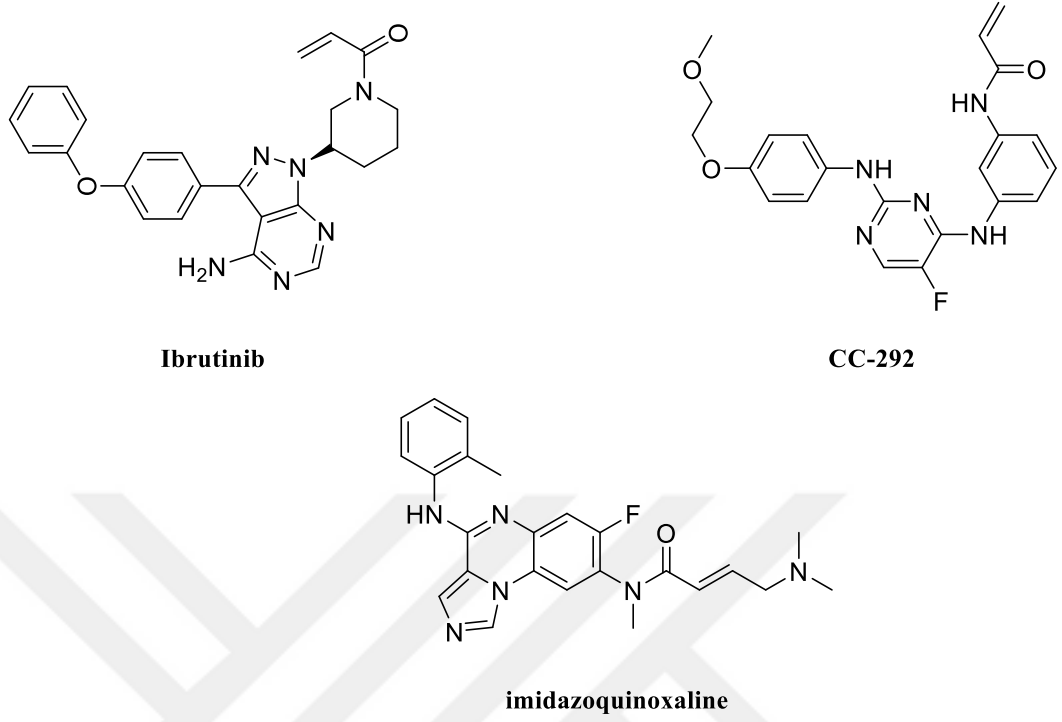
RN-486
4



LFM-A13
5

Şekil 1.1. BTK'nın tersinir inhibitörleri

LFM-A13, dasatinib, CGI-1746, GDC-0834 ve RN-4869 tersinir BTK inhibitörleridir. Bu inhibitörler ilk olarak birkaç hayvan modelinde bağışıklık bozuklukları için denenmiş ve güçlü etki göstermesi sonucunda çalışmalar büyük klinik çalışmalara dönüştürülmüştür (Şekil 1.1).



Şekil 1.2. BTK'ya kovalent bağlanan inhibitörler

İbrutinib, CC-292 ve imidazoquinoxaline tersinmez kovalent bağlanan BTK inhibitörlerinin ilk örnekleridir.

İBRUTİNİB son yıllarda kanser hastalığının tedavisi için kullanıma girmiş en yeni protein kinaz inhibitörlerinden biridir (Li *et al.* 2014) (Şekil 1.2).

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'i diğer sınıftan ayıran ve onu sınıfının ilki yapan kovalent bağlanma özelliği molekül üzerindeki doymamış sistemin BTK'nın yapısındaki kükürt içeren Sistein amino asidine bağlanmasıyla gerçekleşmektedir.

Aktif maddesi İbrutinib olan Imbruvica (Pharmacyclics / Janssen- Johnson&Johnson) 2013 yılında ABD’de MCL (mantle cell lymphoma) ve CLL (chronic lymphocytic leukemia) için 2015 başında ise WM (Waldenström’s macroglobulinemia) için FDA(U.S. Food and Drug Administration) tarafından onaylanmıştır.



2. KURAMSAL TEMELLER

İlaç kimyasının tüm geçmişi boyunca, heterosiklik bileşikler, ilaç keşfi için yeni kemotiplerin önemli bir havuzu olarak bilinmektedir.

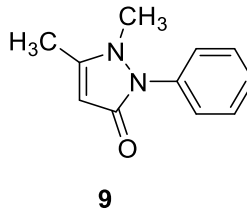
Aromatik heterosiklik bileşiklerin keşfedilmesine, sentezlenmesinin kolay olması, potansiyel ilaç adaylarının moleküllerinin oluşturulması için konformasyonel olarak kısıtlanmış şablonlar sağlanması ve biyolojik hedeflere verimli bir şekilde bağlanabilmeleri için önemli katkılar sağlamıştır.

Sp^2 hibritleşmesi yapan karbonların fazla bulunduğu halka sistemleri tarafından sağlanan iki boyutlu iskeletlerden uzaklaşma eğilimi, kimyagerlerin dikkatini alifatik gruplara çevirmiştir.

Bu bağlamda, hem aromatik hem de alifatik heterosikliklerin avantajları, özellikle de tek bir C-C bağıyla bağlantıları birleştiren şablonlar umut verici olmuştur (Shevchuk *et al.* 2012).

Pirazoller ve türevleri 1883'ten itibaren farmasötik maddeler ve zirai ilaçlar olarak yaygın olarak kullanıma başlanmıştır. İlk örneği antiprin'dir (Hanefeld *et al.* 1996).

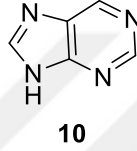
Antipirin (Fenazon) (9), 1883'te Knorr tarafından keşfedilmiş bir ağrı kesicidir (Şekil 2.3).



Şekil 2.3. Antipirin'in yapısı

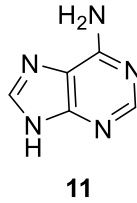
Yapısal olarak pürine benzerliği nedeniyle, pirazolopirimidin ve türevleri yıllarca büyük ilgi çekmiştir.

Pürin (**10**), 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 (Şekil 2.4).



Şekil 2.4. Pürin bazlarının genel yapısı

6-Amino pürin yapısına sahip DNA bazlarından adenin (**11**) de araştırmacıları pirazole yönelten bileşiklerden biridir. Adenin, iki pürin bazından biridir. DNA ve RNA nükleik asitlerinin nükleotidlerinde bulunur. Adenin, DNA'da timine, RNA'da ise urasile hidrojen bağlarıyla bağlanarak içinde bulunduğu nükleik asidin yapısını sabitleştirir (Şekil 2.5).



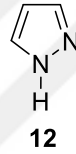
Şekil 2.5. Adenin'in yapısı

1895 yılında Claisen ve Haase tarafından spesifik hidrazinler ve pirazol adına yenilikçi adımlar atılmaya başlanmıştır (Hanefeld *et al.* 1996).

Pirazol heterohalkası, farmosötik, agrokimyasal maddeler ve materyallerin yanı sıra doğal oluşuma dahil olması nedeniyle her yerde bulunan bir motif haline gelmiştir.

Knorr pirazol sentezi ve Claisen ve Haase tarafından alkoksümetilen malonatlar ile ilgili hidrazin kondenzasyonundan bu yana, pirazol çekirdeğinin sentezine yönelik sayısız yaklaşım geliştirilmiştir (Fandrick *et al.* 2015).

Pirazol, $C_3H_4N_2$ formülüne sahip organik bir bileşiktir. Üç karbon atomlu ve iki bitişik azot atomuna sahip 5 üyeli bir halka ile karakterize edilen heteroaraomatik bir bileşiktir. Pirazol, pK_b 'si 11.5 ($25^\circ C$ 'de konjuge asitin pK_a 'sı 2.49) olan zayıf bir bazdır (Şekil 2.6).



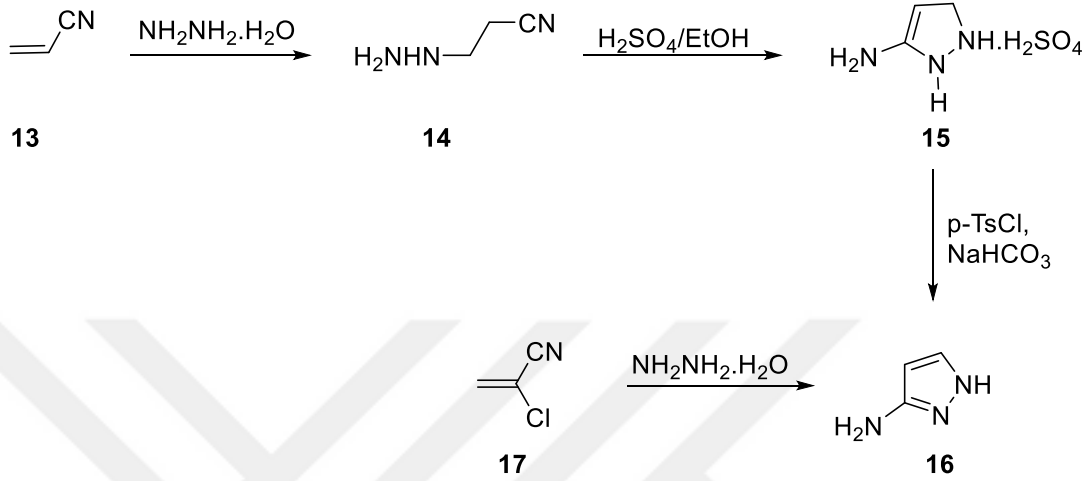
Şekil 2.6. Pirazol'un yapısı

Pirazollerin sentezi, asidik metilen bileşiklerinin izotiyosiyanatlarla reaksiyona girmesine, ardından oluşan tiyoamitlerin hidrazin ile muamele edilmesine dayanmaktadır.

Aminopirazollerin kimyası geçmişte kapsamlı olarak araştırılmıştır. Pirazollerin önemli biyolojik ve tıbbi etkinlikleri tercih edilmekte olup bu araştırmaları tetiklemiştir. Son zamanlarda aminopirazol sentezi ve kimyasına ilgi hayli artmıştır.

Aminopirazoller genellikle hidrazinin, α,β -doymamış nitril, 3-oksoalkenonitriller ve hidrazinler ile reaksiyona girmesi veya hidrazonoil halidlerin aktif metilen nitrillerle reaksiyonundan elde edilir. Dolayısıyla aminopirazol, akrilonitrilin **13** hidrazin hidrat ile reaksiyonundan oluşan **14**'ün asit katalizörlüğünde **15**'e dönüştürülmesinin ardından bu bileşiğin aromatisasyonu ile sentezlenmektedir. Kloroalken nitril bileşiklerinin hidrazin

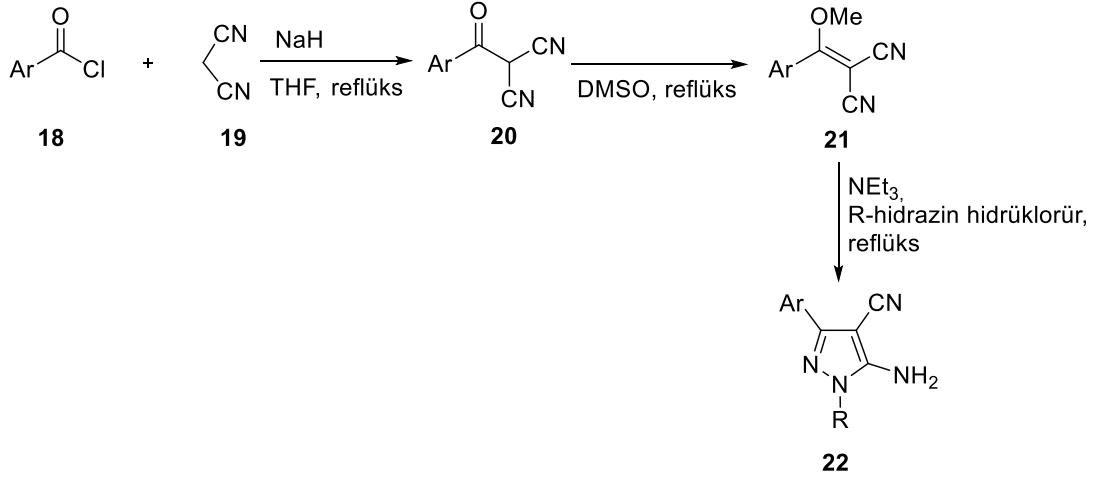
hidrat ile reaksiyonu ise tek kademedeki 3-aminopirazolü (**16**) vermektedir (Anwar and Elnagdi 2009) (Şekil 2.7).



Şekil 2.7. Amino pirazolün genel sentezi

5-amino-4-siyano-1-alkilpirazollerin ilk sentezi tarif edildiğinde, Claisen ve Haase tarafından gerçekleştirilen stereo kimyaya dikkat çeken, kaynaşmış heterosiklik sistemler sentezlenebilmesi için geliştirilen yöntemler karşımıza çıkmaktadır (Hanefeld *et al.* 1996).

Genel olarak, 5-amino-4-siyanopirazollerin sentezi, bazıları toksik kimyasalların kullanıldığı üç basamakta yapılmaktadır. Örnek olarak 3-aril-5-amino-4-siyanopirazollerin kolayca temin edilebilen ariloil klorüre malononitrilin katılması ve daha sonra hidrazinhidrathidroklorür ile reaksiyonun elde edilmiştir (Hanefeld *et al.* 1996) (Şekil 2.8).



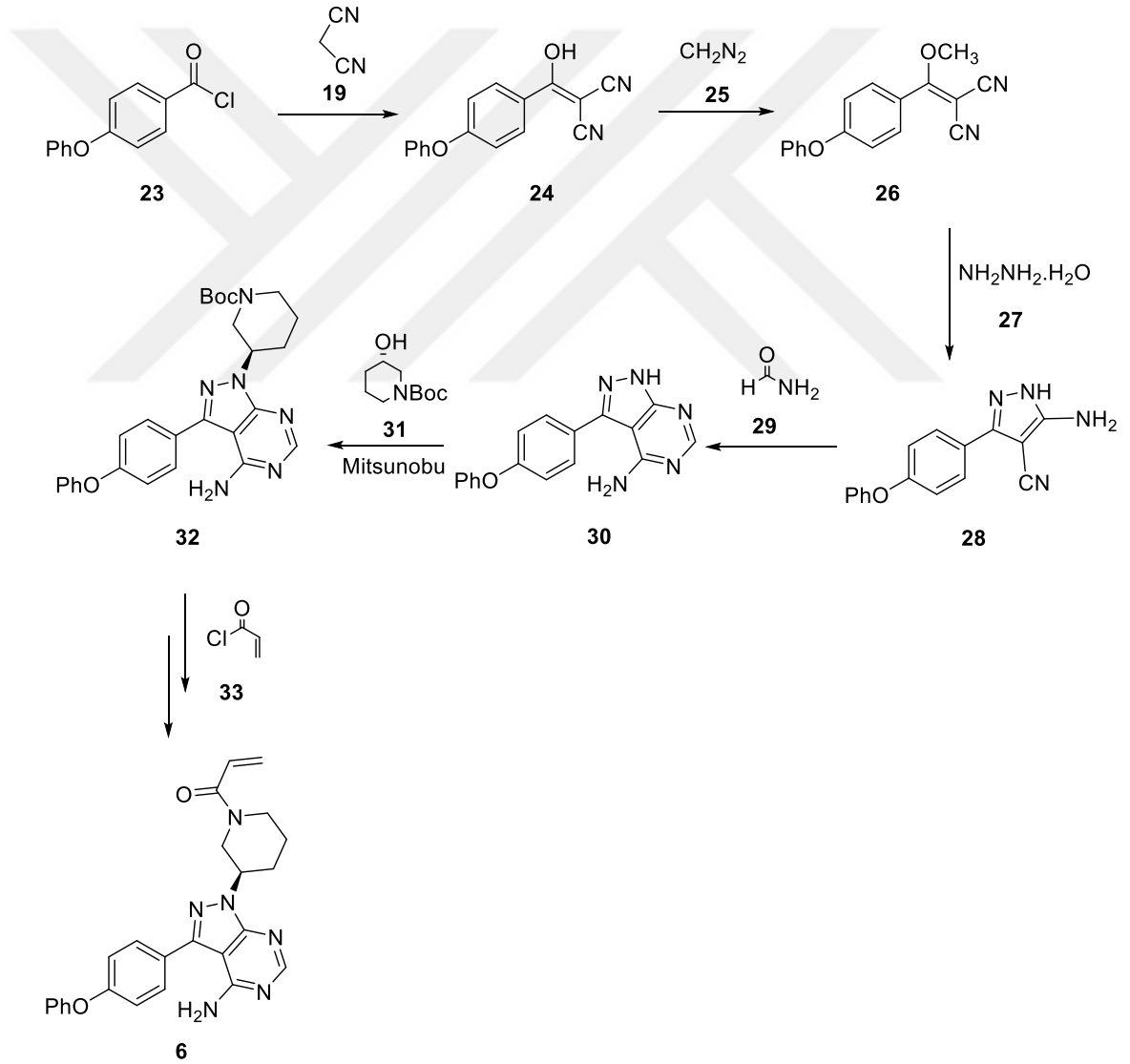
Şekil 2.8. Aril halojenürlerden çıkılarak 5-amino-4-siyano-1-arilpirazollerin sentezi

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). Pirazolopirimidin en genel sentezi öncelikle aktif bir aromatik karbonil grubuna sahip molekülün malononitril ile kondenzasyonu ile enol eter oluşumu ile başlamaktadır. Ardından hidrazin hidrat vasıtasıyla ilk olarak pirazol halkası oluşturulup, daha sonra formamid ile muamele edilerek gerçekleştirilmektedir.

Çoğu pirazolopirimidin türevinin çeşitli kanser hücresi soylarının çoğalmasını bloke ettiği ve pirazolopirimidinlerin, anti-inflamatuar, anti-tümör, anti-bakteriyel ve anti-viral gibi çoklu farmakolojik aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur. Sonuç olarak, pirazolopirimidin, anti-tümör ilaç tasarımında önemli bir farmakofor veya yapı bloğu olarak kullanıma geçmiştir (Xu *et al.* 2011).

Hirst ve grubu benzoil klorürden çıkarak farmakofor bölgesi pirazolopirimidin olan İbrutinib'i sentezlemiş ve Bruton's Tirozin kinaz enzimi üzerinde biyolojik aktivite çalışmaları gerçekleştirmişlerdir. Öncelikle pirazol halkasının oluşumu için 4-fenoksi benzoil klorür **23** ve baz eşliğinde malononitril **19** ile muamele ederek enol eter **24**'ü sentezledikten sonra hidroksi grubunu diazometan kullanarak kolay ayrılabilen metoksi

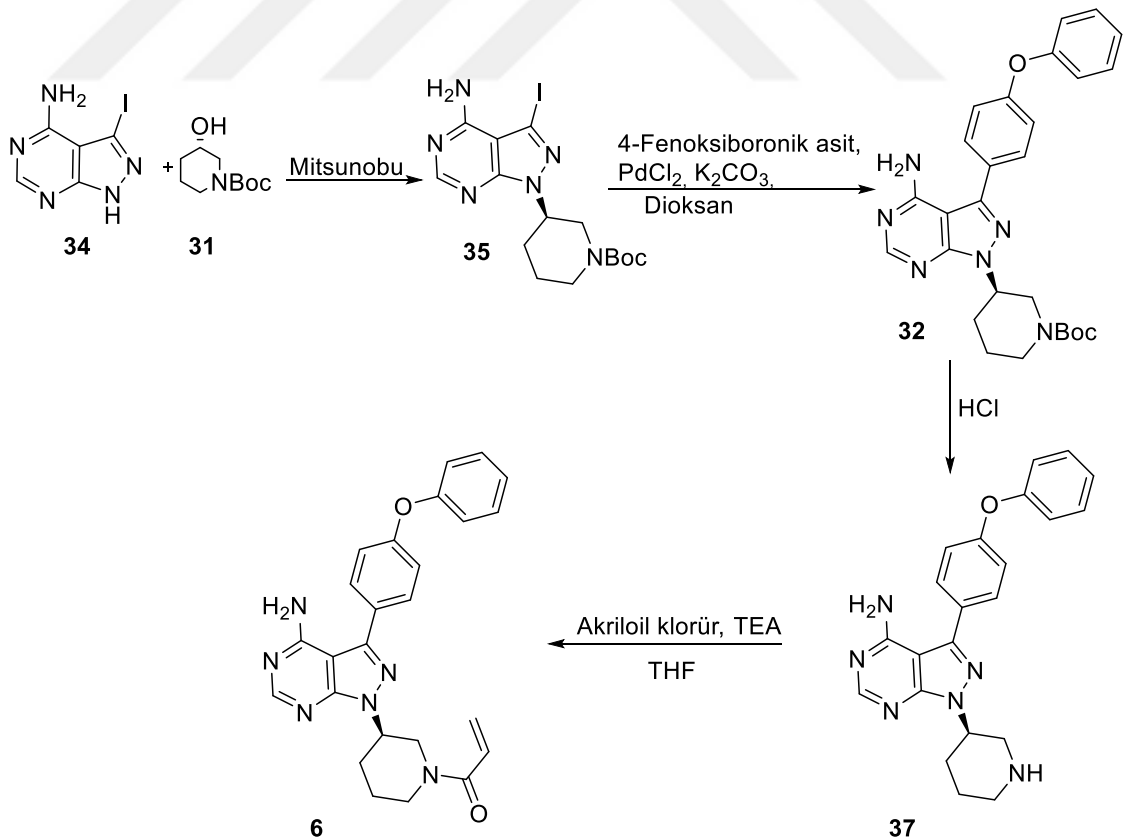
grubuna dönüştürmüşlerdir. **26** oluştuktan sonra $\text{NH}_2\text{NH}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ile reaksiyona sokularak pirazol ve daha sonra formamid ile reaksiyona sokulara **30**'u sentezlemişlerdir. Molekülün farmakofor bölgesi oluşturulduktan sonra *S* formundaki 3-hidroksi piperidin mitsunobu reaksiyonu şartlarında moleküle eklenmiş ve molekül böylece bir asimetric merkez kazanmıştır. Bunun ardından sonuç ürün **6**'ya kovalent bağlanma özelliği sağlayan doymamış sistem, baz eşliğinde akrilol klorür ile reaksiyona sokularak oluşturulmuştur (Hirst *et al.* 2002) (Şekil 2.9).



Şekil 2.9. 4-Fenoksi benzoil klorürden çıkılarak İbuprofen (**6**)'in sentezi

Zapf ve arkadaşları ise İbrutinib (**6**) sentezi için başka bir yöntem kullanmaktadır. Bu metotla **6**, iyodopirazolopirimidin halkasına öncelikle moleküle (**6**) asimetrik merkez kazandıran piperidin halkasını takıp, daha sonra ilgili boronik asit ile Suzuki kenetlenmesi üzerinden kolaylıkla sentezlenmişlerdir.

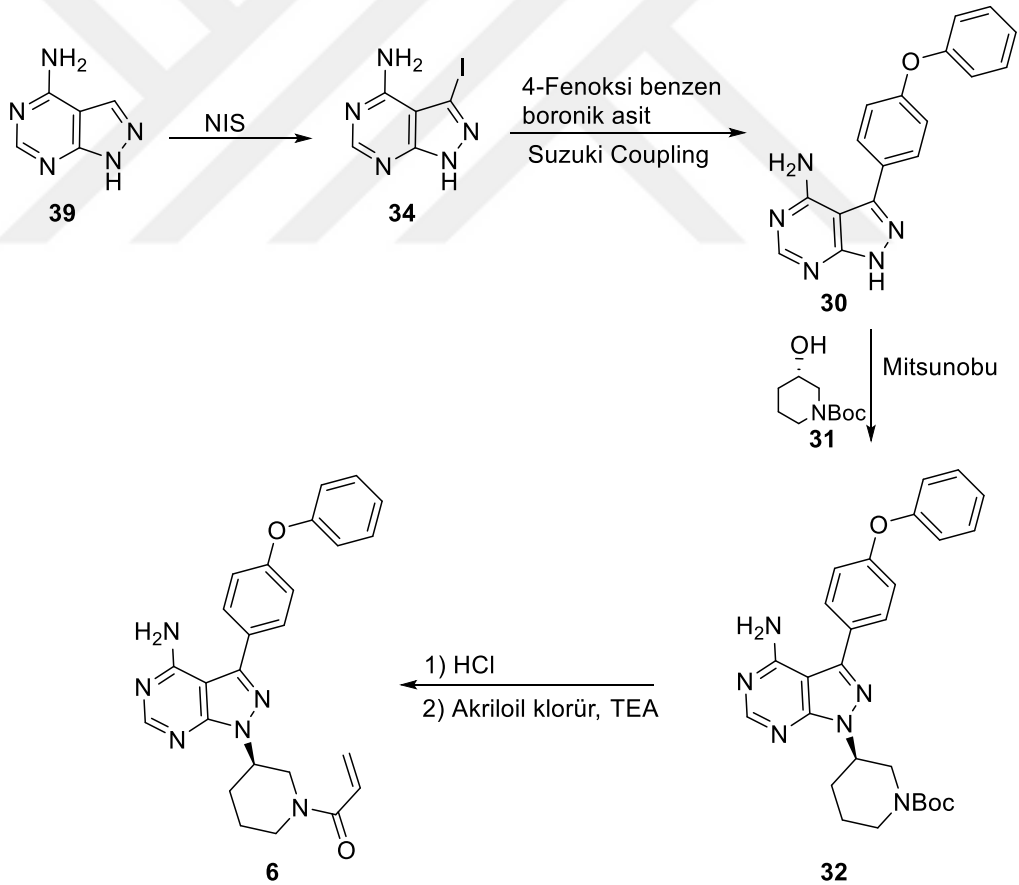
Öncelikle iyot süstitüye pirazolopirimidinden **34**'ten çıkarak *S* formundaki Boc₂O ile korunmuş 3-hidroksi piperidin (**31**) ile Mitsunobu reaksiyonu sonucu kiral iyodoprazolopirimidin **35**'in sentezini gerçekleştirmişlerdir. Daha sonra Suzuki kenetlenme reaksiyonuyla PdCl₂ katalizörlüğünde 4-fenoksi boronik asit ile kenetlenmesi reaksiyonunu gerçekleştirerek **32** molekülünü elde etmişlerdir. Bundan sonra HCl kullanılarak azot üzerindeki Boc grubu hidrolizinin ardından baz eşliğinde akriloil klorür ile reaksiyona sokularak İbrutinib **6** elde edilmiştir (Zapf *et al.* 2012) (Şekil 2.10).



Şekil 2.10. İyodopirazolopirimidin'den çıkılarak İbrutinib'in sentezi

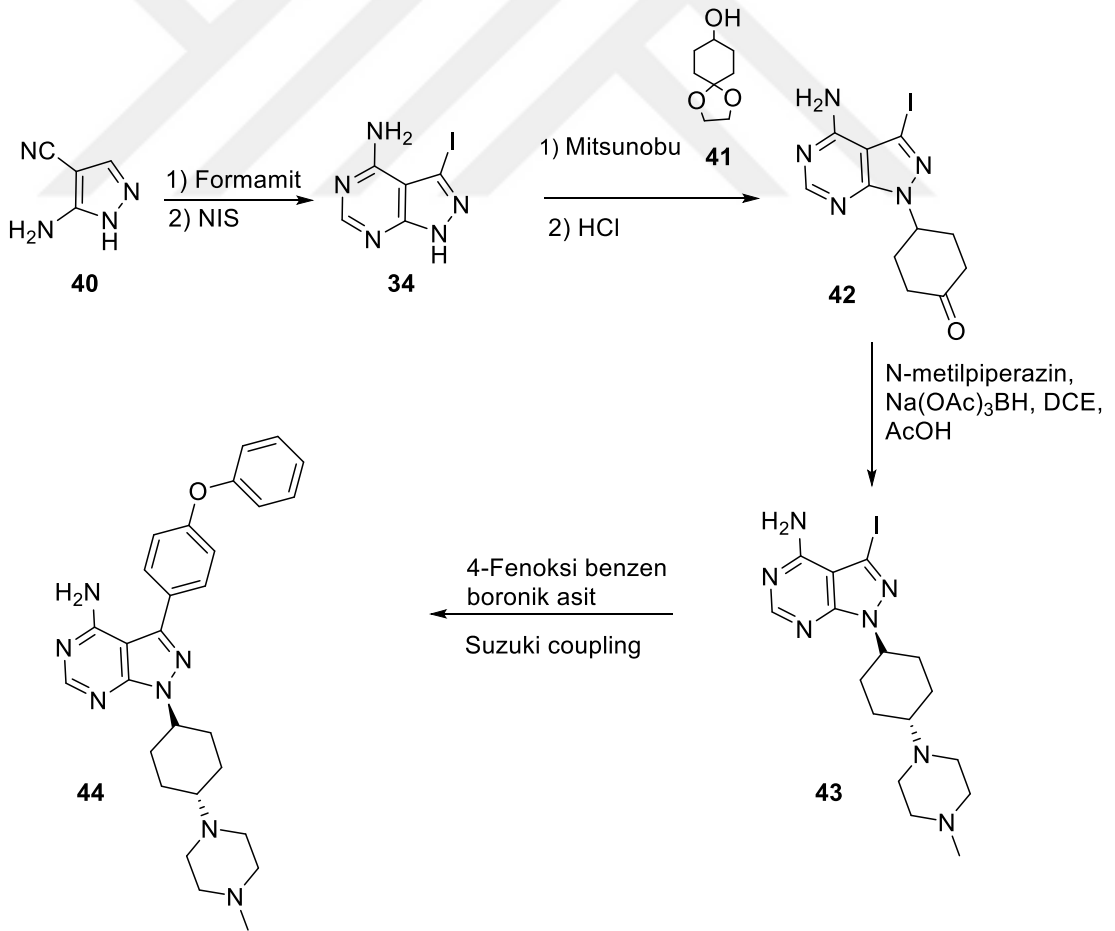
Liu ve grubu ise pirazolopirimidin (39) çıkararak önce NIS ile reaksiyonu sonucu pirazol halkasına iyot molekülünün yerleştirilmesinden sonra Suzuki kenetleme reaksiyonu sonucu 30'ü sentezlemişlerdir. Daha sonra moleküle asimetrik merkez kazandıran piperidin halkasını Mitsunobu reaksiyonu ile moleküle yerleştirmişlerdir.

Öncelikle pirazolopirimidin halkasına N-iyodo süksinimid ile muamele edilerek iyodopirazolopirimidin (34) sentezlenmiş. Daha sonra 4-fenoksi boronik asit ile Suzuki Kenetlenme reaksiyonunun ardından piperidin halkası Mitsunobu reaksiyonu şartlarında moleküle takılmıştır. Son olarak baz eşliğinde akriloil klorür ile sonuç molekülü *R* formundaki İbrutinib (6) sentezlenmiştir (Liu *et al.* 2015) (Şekil 2.11).

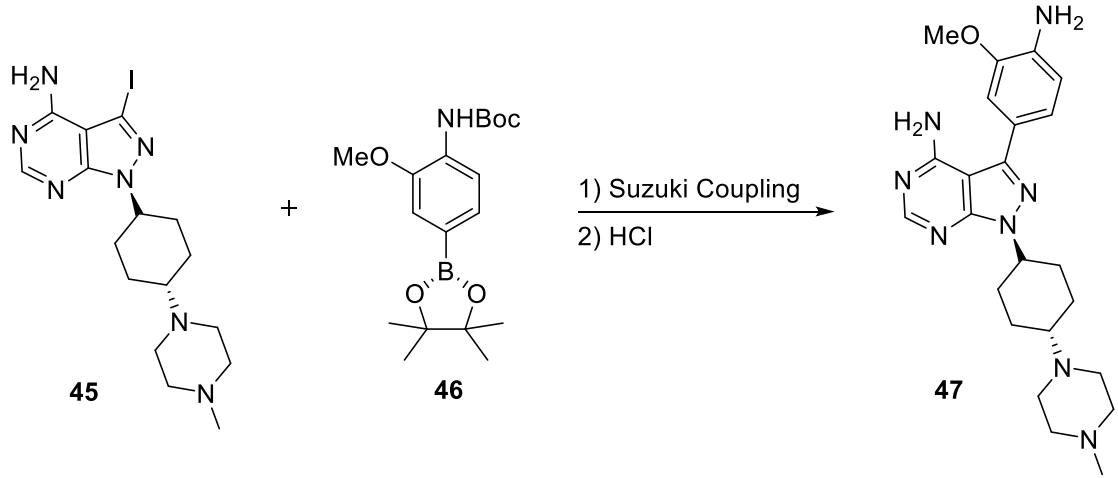


Şekil 2.11. Pirazoloprimidin'den çıkılarak İbrutinib'in sentezi

Burchat ve grubu para-sübstitüye pirazolopirimidin halkasına farklı R grupları takarak LCK (lymphocyte-specific protein tyrosine kinase) enzimi üzerine aktivite çalışmaları gerçekleştirmişlerdir. Öncelikle amino-pirazol (**40**)'a formamid ile muamele ederek pirazolopirimidin elde etmişlerdir. Sonra NIS ile reaksiyona sokarak iyodopirazolopirimidin **34**'ün sentezini gerçekleştirmişlerdir. Bunun ardından ketalle korunmuş alkol (**41**) ile mitsunobu reaksiyonu gerçekleştirildikten sonra HCl ile koruma kaldırılarak keton formundaki molekül **42** elde edilmiştir. Daha sonra N-metil piperazin muamelesi ile **43** sentezlenmiştir ve uygun boronat ester ile suzuki kenetlenme reaksiyonu gerçekleştirilmiştir. Son olarak karbamat koruması kaldırılmıştır ve daha fazla işlevselliğe olanak tanıyan provital amin **44**'ün oluşmasını sağlamıştır (Burchat *et al.* 2002) (Şekil 2.12, Şekil 2.13).

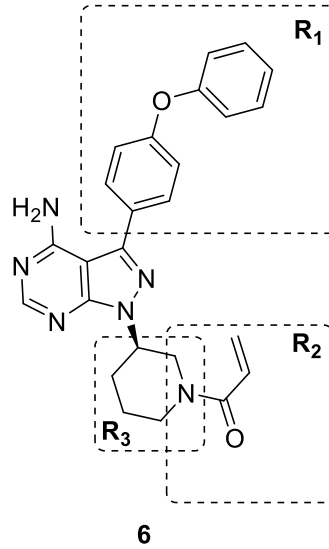


Şekil 2.12. Pirazoloprimidin iskeleti içeren moleküllerin sentezi

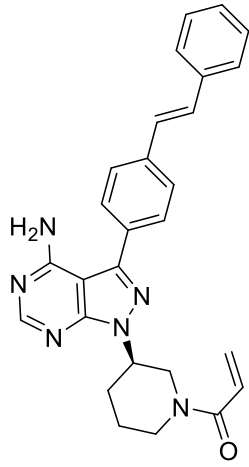


Şekil 2.13. Pirazolopirimidin iskeleti içeren moleküllerin sentezi

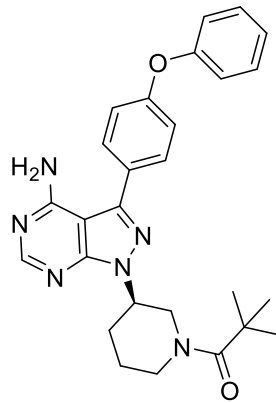
Li ve grubu İbrutinib üzerinde işaretlenmiş **R₁**, **R₂**, **R₃** gruplarında çeşitli değişiklikler yaparak **48**, **49**, **50**, **51**, **52**, **53**, **54**, **55** ve **56**'yı sentezlemişlerdir. Bu bileşiklerin Akut Miyeloid Lösemi hastalığına sebebiyet veren FTLT3-ITD enzimi üzerinde biyolojik aktivite çalışmaları gerçekleştirmişlerdir (Li *et al.* 2015) (Şekil 2.14, Şekil 2.15).



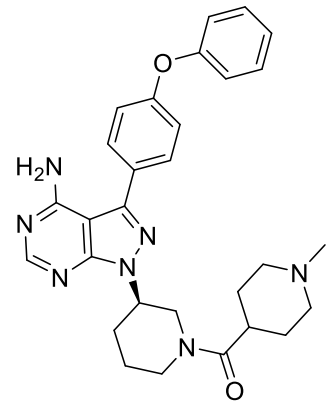
Şekil 2.14. İbrutinib (6) molekülünün genel birimleri



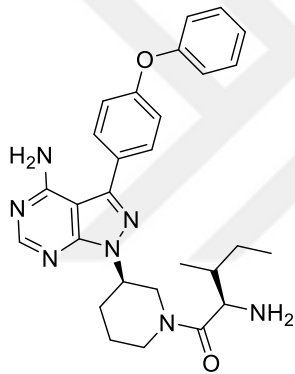
48



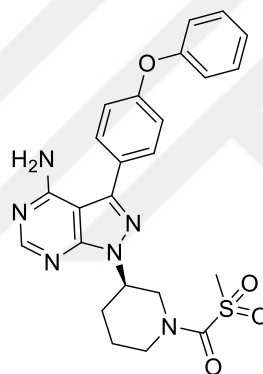
49



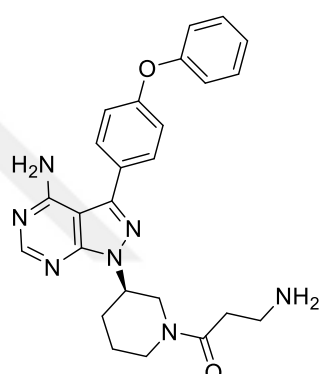
50



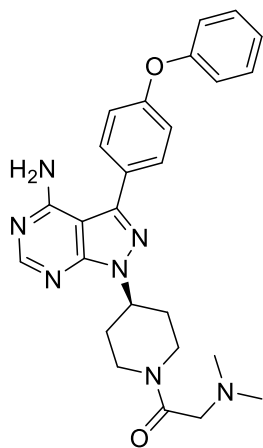
51



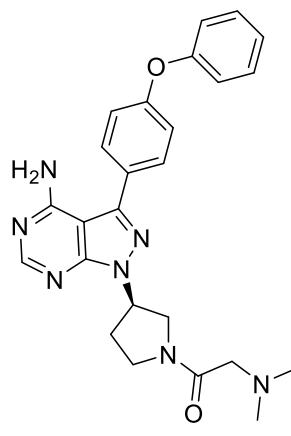
52



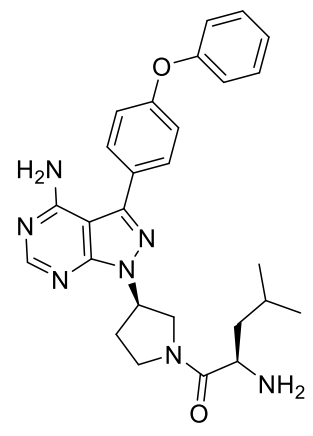
53



54



55

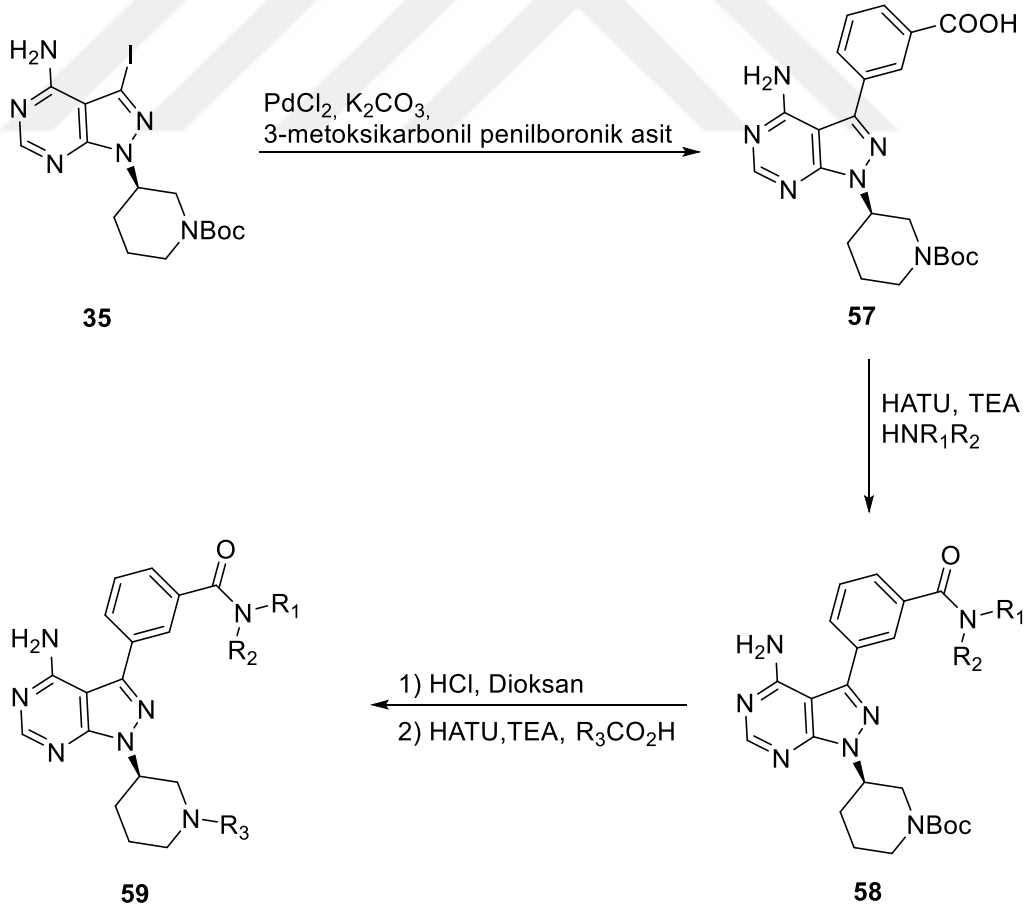


56

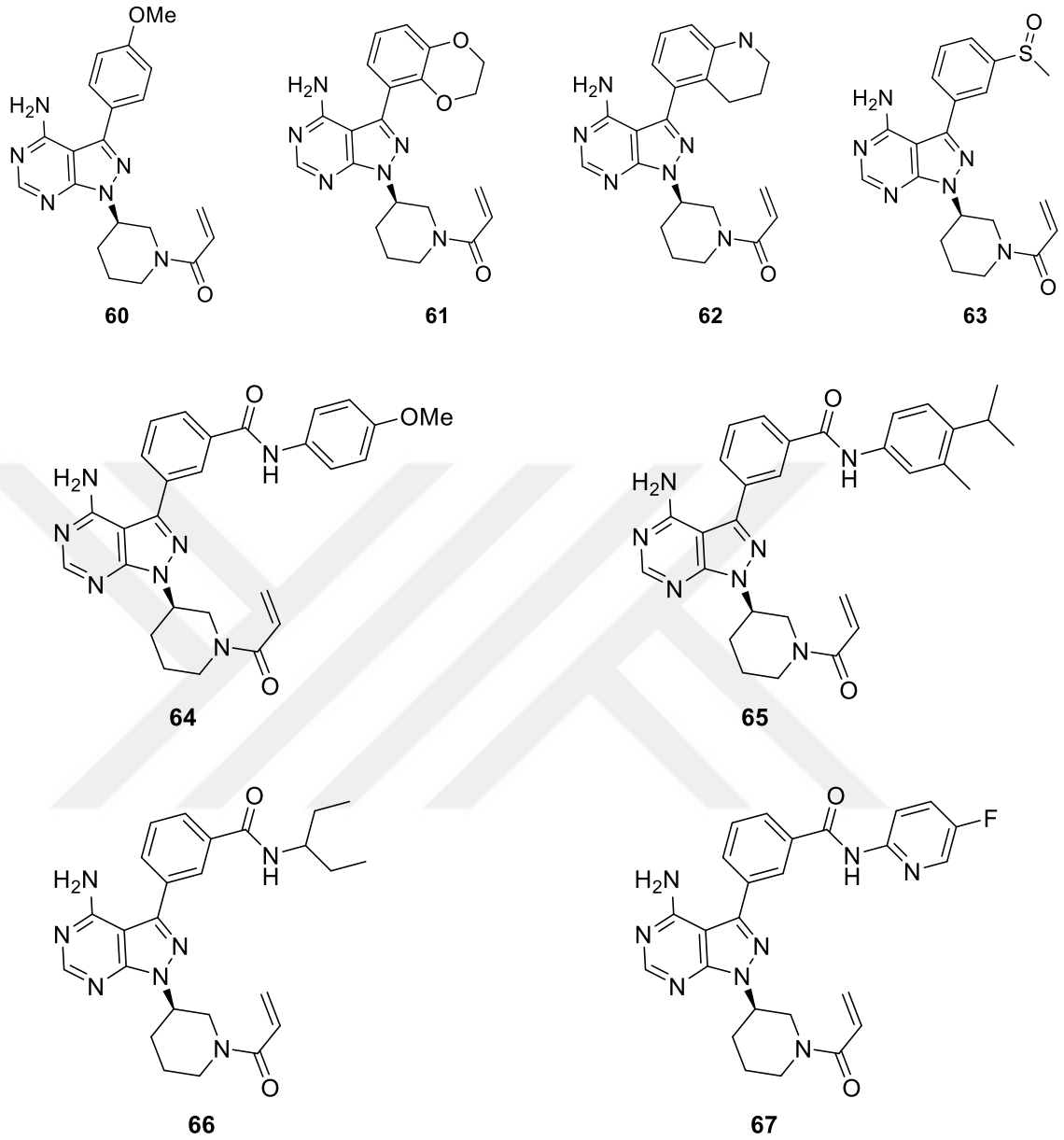
Şekil 2.15. R_1 , R_2 ve R_3 grupları değiştirilerek sentezlenen moleküller

Zapf ve arkadaşları pirazol halkasına bağlı R grubunu değiştirerek ve amid süstitüye pirazolopirimidin üzerinde değişiklikler yaparak ITK (Interleukin-2 Inducible T cell Kinase) enzimi üzerinde çeşitli aktivite çalışmaları gerçekleştirmişlerdir.

Amit grubu içeren pirazolopirimidinlerin **58** ve **59**'un sentezi için öncelikle iyodopirazolopirimidin'in 3-boronobenzoik asit ile Suzuki Kenetlenme reaksiyonu vasıtasıyla benzoik asit **57**'ye doğrudan erişim sağlamıştır. Daha sonra Standart HATU (1-[Bis(dimethylamino)methylene]-1H-1,2,3-triazolo[4,5-b]pyridinium 3-oxid hexafluorophosphate) ile amid sentezi iyi verimlerle gerçekleştirilmiştir. Dioksan içinde HCl kullanılarak **58**'in Boc₂O koruması kaldırılmıştır ve daha sonra baz eşliğinde akriloil klürür ile muamele edilerek sonuç moleküle ulaşılmıştır (Zapf *et al.* 2012) (Şekil 2.16, Şekil 2.17).

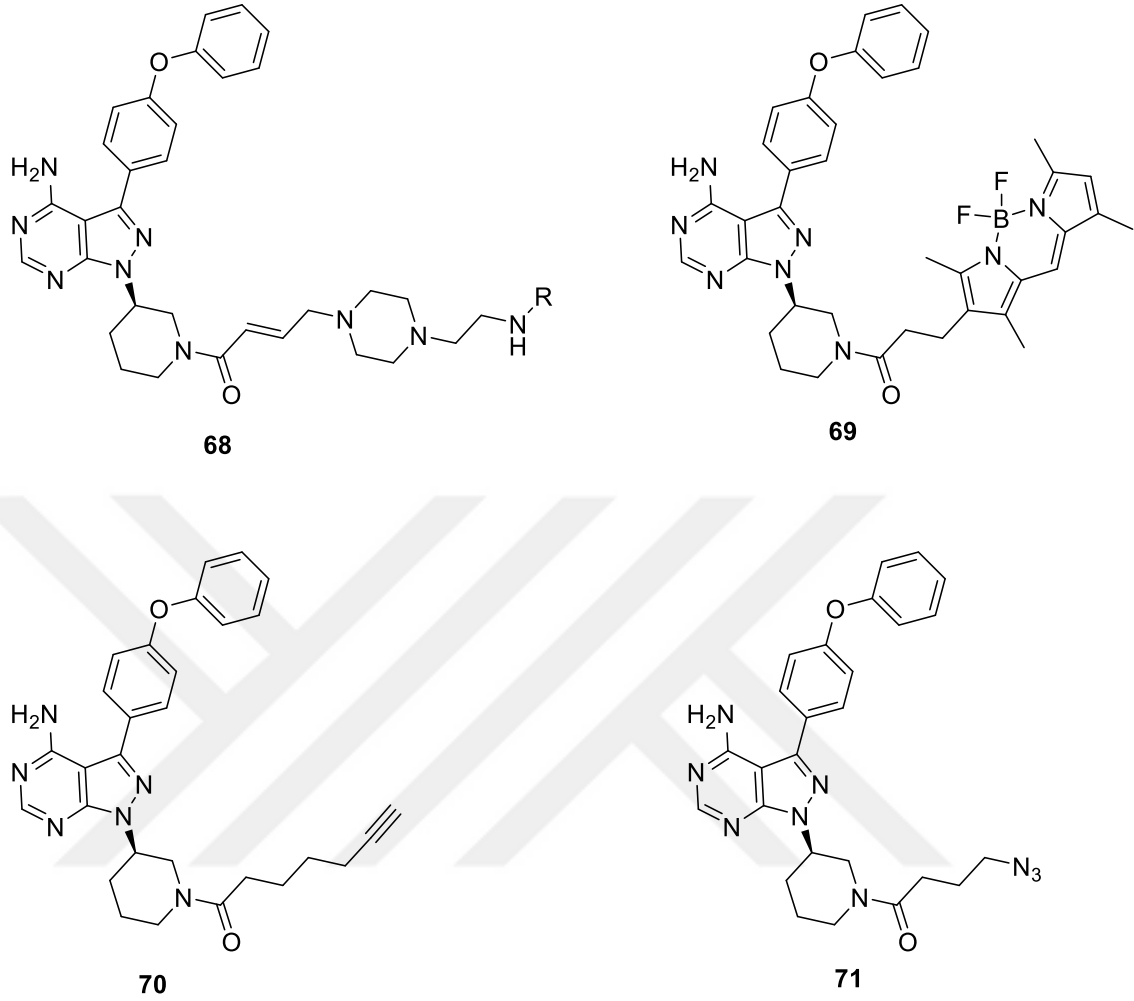


Şekil 2.16. Amit grubu içeren pirazolopirimidinlerin sentezi



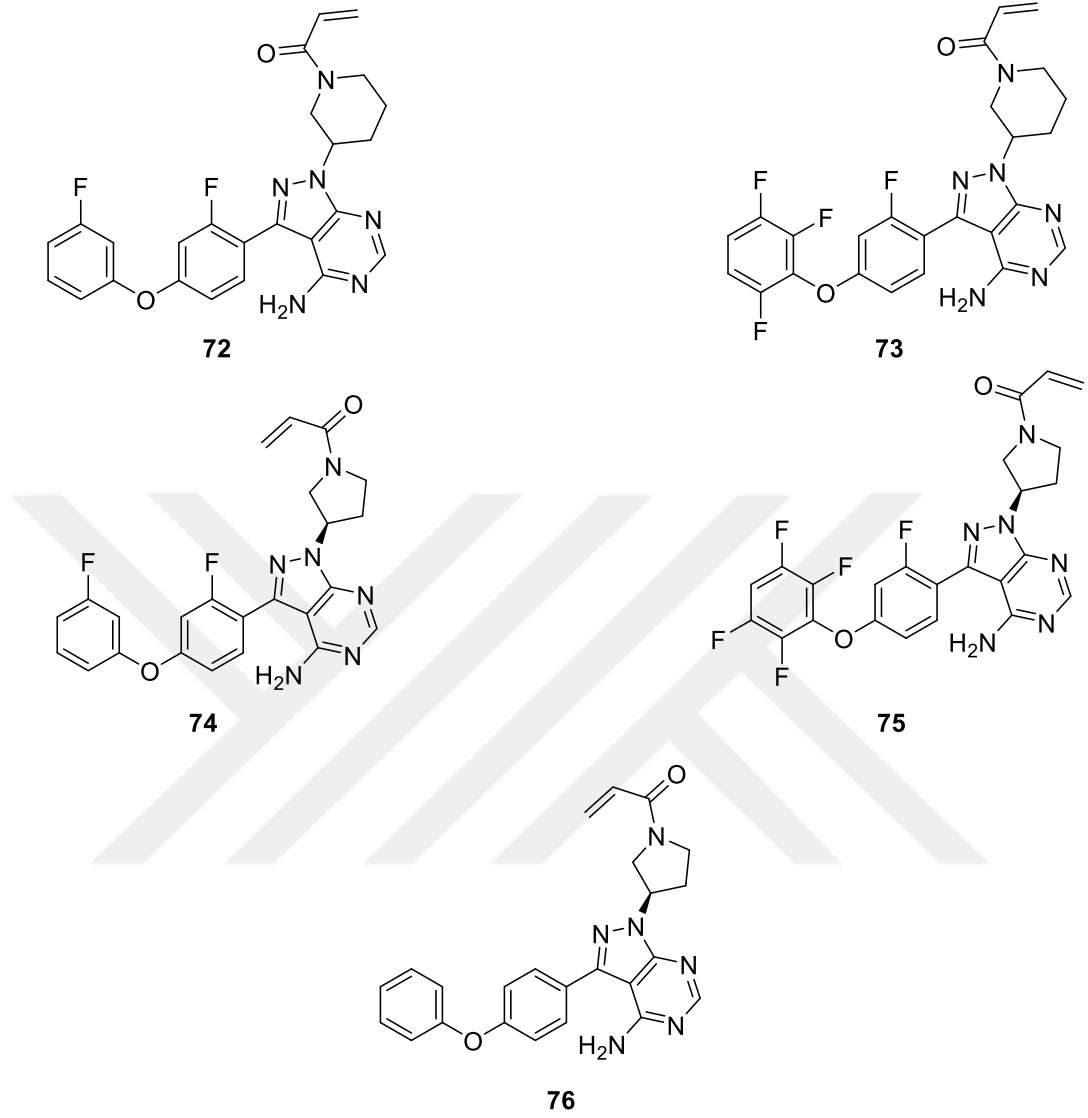
Şekil 2.17. Amit grubu içeren pirazolopirimidin türevleri

Liu ve grubu bakır katalizörlüğünde bir seri pirazolopirimidin türevi sentezlemişlerdir. Bu bileşikler üzerinde biyoortogonal kimyanın etkinliğini, literatürde bilinen aktivite prob esasına dayanan yöntemlerle kıyaslamışlardır (Liu *et al.* 2015) (Şekil 2.18).



Şekil 2.18. Bakır katalizörlüğünde sentezlenen bazı pirazolopyrimidin türevleri

Hei ve grubu pirazolopyrimidin iskeleti üzerinde Suzuki kenetlenme ve mitsunobu reaksiyonu sonucu flor içeren pirazolopyrimidin bileşikleri ve İbrutinib'deki piperidin yerine pirolidin takarak bir seri molekül sentezlemiştirler. Bu bileşiklerle BTK enzimi üzerinde biyolojik aktivite 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.* 20016), (Şekil 2.19).

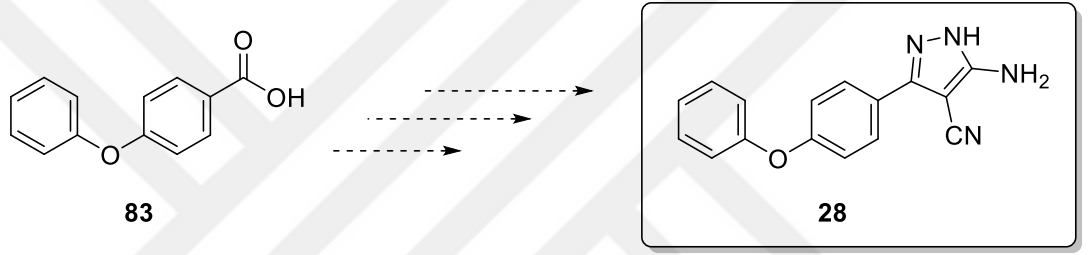


Şekil 2.19. Flor süstitüye bazı pirazolopirimidin türevleri

2.1. Amaç

Çalışma konumuz olan onkolitik ilaç aktif maddesi İbrutinib, her kapsülde 140 mg İbrutinib aktif maddesi içeren Imbruvica, ülkemize ithal edilmekte olup 90 kapsülü 6.181 Euro'dur.

Projemizin amacı, İbrutinib ilaç aktif maddesinin sentezinde ara ürün olarak kullanılan pirazolün (**28**) sentezi için patent ihlal etmeyen yeni yöntemin geliştirilmesi ve metodun optimizasyonunun yapılarak üretim ölçeğine uygulanabilirliğinin sağlanmasıdır. Bu amaçla 3-amino-4-siyano-5-(4-fenoksifenil) pirazol (**28**)'ün sentezi benzoikasitten (**83**) başlanarak “tek-kap”ta yapılması hedeflenmektedir. Çevre, maliyet, zaman ve iş gücü kavramlarının endüstri açısından önemi göz önünde bulundurularak ucuz çıkış bileşikleri ve reaktifler kullanacaktır. Seçilen reaksiyon şartlarının endüstriyel ölçüğe uygulanabilir olmasına dikkat edilecektir.



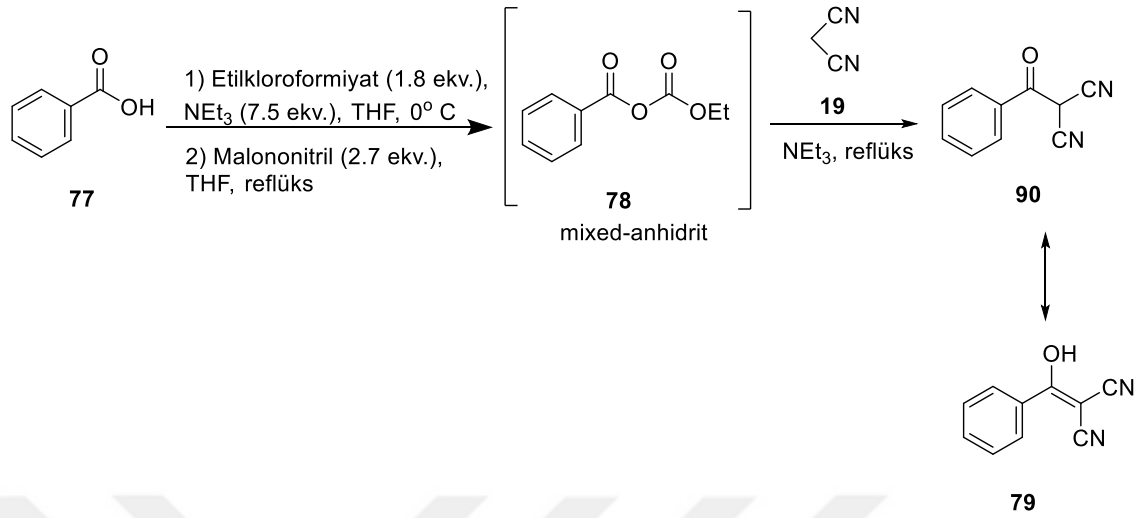
Şekil 2.20. **28**'in sentezi

3. MATERYAL ve YÖNTEM

4-Fenoksi benzoik asitten (**83**) çıkılarak onkolitik ilaç aktif maddesi İbrutinib için maliyet, verim, ürün saflık parametreleri göz önünde bulundurularak büyük ölçeklerde uygulanabilir daha etkili yöntemler geliştirilmesi üzerine çalışıldı. İlk olarak ticari olarak satın alınan 4-fenoksi benzoik asitin (**83**) karbonil grubu, malononitrilin (**19**) kolayca katılabilmesi için aktifleştirilmesi gerektiği düşünüldü.

Aktifleştirici grup olarak literatürde birçok yöntem bilinmektedir. DCC, DCI, EDCI, okzalil klorür ve kloroformiyatlar (etil kloroformiyat veya izopropil kloroformiyat) bu amaçla kullanılan aktifleştiricilerden bazılarıdır. Daha önce grubumuzda bu aktifleştiricilerden birkaçı (CDI, DCC) üzerinde çalışıldı fakat iyi verim elde edilemedi. Bu nedenle aktifleştirici grup olarak etil kloroformiyat kullanmaya karar verildi.

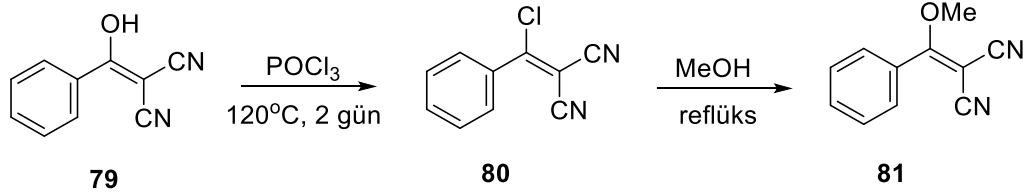
4-Fenoksi benzoik asit (**83**) pahalı olduğu için reaksiyon şartlarını belirlemek amacıyla ilk olarak daha ucuz ve bizim çıkış bileşiğimize çok yakın olan benzoik asit (**77**) ile denemeler yapılmaya karar verildi. Benzoik asit (**77**) THF içerisinde 0 °C NEt_3 ile muamale edildikten sonra reaksiyon ortamına etil kloroformiyat ilave edildi. Bu reaksiyonda ilk olarak baz asidik protonu kopararak karboksilat oluşmakta ve bu anyon etil kloroformiyatın karbonil grubuna saldırarak mixed-anhidrit **78** oluşmaktadır. Bu reaksiyon İTK ile takip edilebildiği gibi reaksiyon sonunda ekstraksiyon yapılarak ara ürünün NMR'ı da alınabilmektedir. Denememizde reaksiyon hem İTK hem de $^1\text{H-NMR}$ ile takip edildi. Benzoik asitin tamamen bittiği gözlemlendikten sonra reaksiyon ortamına malononitril (**19**) ilave edildi. Reaksiyon İTK ve $^1\text{H-NMR}$ ile kontrol edildi ve ürün oluşumu gözlemlendikten sonra reaksiyon durduruldu. Saflaştırılma yapılmaksızın reaksiyon veriminin %58 olduğu belirlendi. Bu reaksiyonda baz tarafından malononitrilden bazın proton koparmasıyla oluşan anyon mixed-anhidritin en reaktif karbonil grubuna saldırmasıyla **79** oluşmaktadır. Görüldüğü gibi nitril ve ketona komşu olan proton oldukça asidiktir ve sistem kolaylıkla enol formuna dönüşmektedir. Enol **79** ayrıca konjugasyonla da kararlı kılınmaktadır (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Enol **79**'un sentezi

Pirazol birimin moleküle yerleştirilebilmesi için hidrazinin doymamış sisteme katılması ve ardından hidroksil grubun molekülden uzaklaşması gerekmektedir. **79**'da her iki nitril grubu çift bağın elektron yoğunluğunu azaltarak karbonile konjuge katılmayı kolaylaştırırsa bile katılmanın ardından hidroksil grubunun ayrılması gerekmektedir. Fakat hidroksil grubu kolay ayrılan bir grup değildir ve kolay çıkan hale getirilmesi gerekmektedir. Bu maksatla hidroksil grubunun yerine daha kolay çıkabilen bir grubun yerleştirilmesi için denemeler yapılmaya karar verildi. İlk olarak POCl_3 ile kapalı tüp içerisinde 120°C 'de reaksiyona sokuldu. Bu reaksiyonda hidroksil grubu klor ile yer değiştirmektedir. Böylelikle konjuge katılmanın ardından klor molekülden kolaylıkla ayrılacaktır. Bu reaksiyonda solvent kullanılmamaktadır. POCl_3 hem reaktant hem de solvent olarak görev yapmaktadır. Reaksiyon sonunda aşırı POCl_3 ortamdan uzaklaştırılması gerekmektedir. Grubumuzda benzer bir çalışmada POCl_3 'ün evaporatörde uzaklaştırılıp elde edilen ham ürünün hidrazin hidrat ile muamesiyle tek kademede pirazol sentezi denenmiş fakat başarılı bir sonuç elde edilememiştir. Bu tez de ise iki kademede pirazole ulaşmak için denemeler yapılmaya karar verildi. Bu maksatla reaksiyon karışımı oda sıcaklığına soğutulduktan sonra MeOH ile muamele edilerek POCl_3 'ün fazlası uzaklaştırılırken MeOH konjuge katılma vererek **81** oluşturuldu. Literatürde **81**'in pirazol verdiği bilinmektedir. Bu metotla hedefe ulaşmada bir problem olmayacağı görülmektedir. Reaksiyon sonunda aşırı miktarda

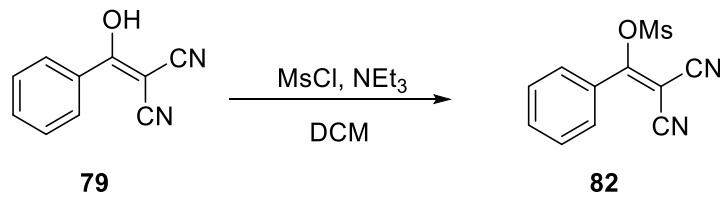
HCl çıkışı olması ve kapalı tüp kullanılmasından dolayı yöntemin büyük ölçeklere uygulanmasını zorlaştırmaktadır (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. 81'in sentezi

Bu bilgiler ışığında reaksiyon veriminin yüksek olmasına rağmen hidroksi grubunun daha güvenli ve kolay şartlarda ayrılabilen grup haline getirilmesi üzerine çalışıldı.

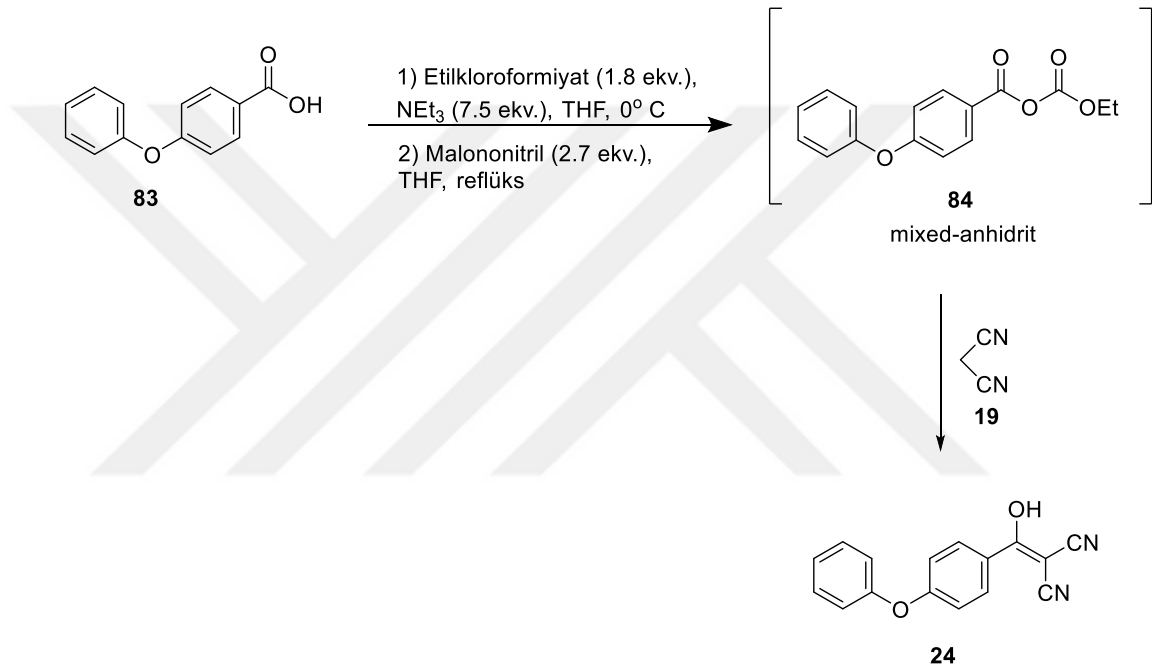
Bu maksatla 79'a geri dönülerek hidroksi grubu, tosil veya mesitil klorür ile kolay ayrılabilen grup haline getirilmek için denemeler yapılmasına karar verildi. İlk olarak enol 79'un mesitil enol 82'ye dönüştürülmesi planlandı. 79 DCM içerisinde NEt_3 ve MsCl ile reaksiyona sokuldu. İTK ile kontrol edilen reaksiyon enol eter 79'un reaksiyon ortamında bitmesinin ardından durduruldu. Ham ürünün %50 EtOAc/hekzan çözücü sistemi ile silika gel kolon da süzülmesi sonucu toplam reaksiyon veriminin %82 olduğu görüldü (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. 82'nin sentezi

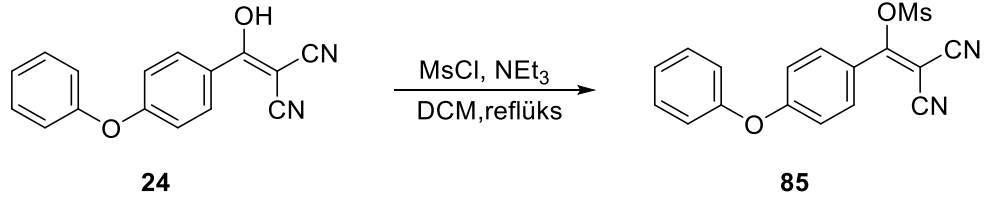
Bu ön çalışmalarda elde edilen bulgular ışığında 4-fenoksi benzoik asit ile çalışmalara geçildi. İlk olarak 5 g ölçekte 4-fenoksi benzoik asit (83), THF içerisinde 0°C NEt_3 ile muamale edildikten sonra reaksiyon ortamına etil kloroformiyat ilave edildi. İTK ile 4-fenoksi benzoik asitin reaksiyon ortamında bitişi ve mixed-anhidrit oluşumu takip

edildi. 4-Fenoksi benzoik asitin tamamen bittiği gözlemlendikten sonra reaksiyon ortamına malononitril ilave edildi ve reaksiyon 1 gün reflüks edildi. Reaksiyon İTK ve ¹H-NMR ile kontrol edildi ve ürün oluşumu gözlemlendikten sonra reaksiyon durduruldu. Saflaştırma yapılmadan reaksiyon veriminin %80 civarında olduğu belirlendi. Sistemik olarak ölçek büyütmesi yapıldı ve 12 g ölçeğe kadar çalışıldı. Ham ürün saflaştırma yapılmaksızın bir sonraki kademede kullanıldı (Şekil 3.4).



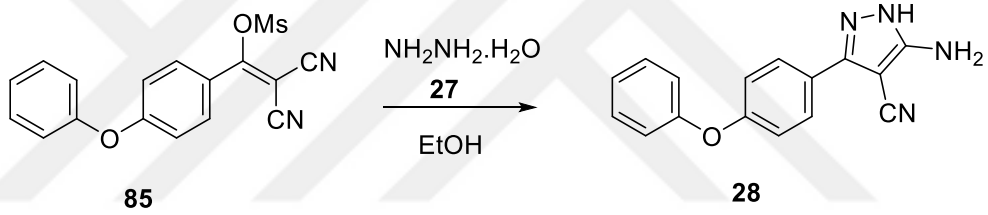
Şekil 3.4. 24'ün sentezi

Yine ilk olarak 5 g ölçekte enoleter 24 DCM içerisinde NEt₃ ve MsCl ile reaksiyona sokuldu. İTK ile kontrol edilen reaksiyon ve enol eter 24'ün reaksiyon ortamında bitmesinin ardından durduruldu. Ham ürünün %50 EtOAc/hekzan çözücü sistemi ile silika gel kolon da süzülmesi sonucu toplam reaksiyon veriminin yaklaşık %80 olduğu belirlendi (Şekil 3.5).



Şekil 3.5. 85'in sentezi

Burada da ham ürün **85** saflaştırılmaksızın hidrazinhidrat ile reaksiyona sokuldu ve reaksiyon karışımı etanol içerisinde 4 gün reflüks edildi. Ham ürün DCM/hekzan çözücü sistemi ile çöktürülerek saflaştırıldı. Bu başarının ardından reaksiyonlar değişik ölçeklerde ve şartlarda tekrarlandı (Şekil 3.6, Çizelge 3.1).



Şekil 3.6. 28'in sentezi

Çizelge 3.1. 28 Molekülünün reaksiyon şartları

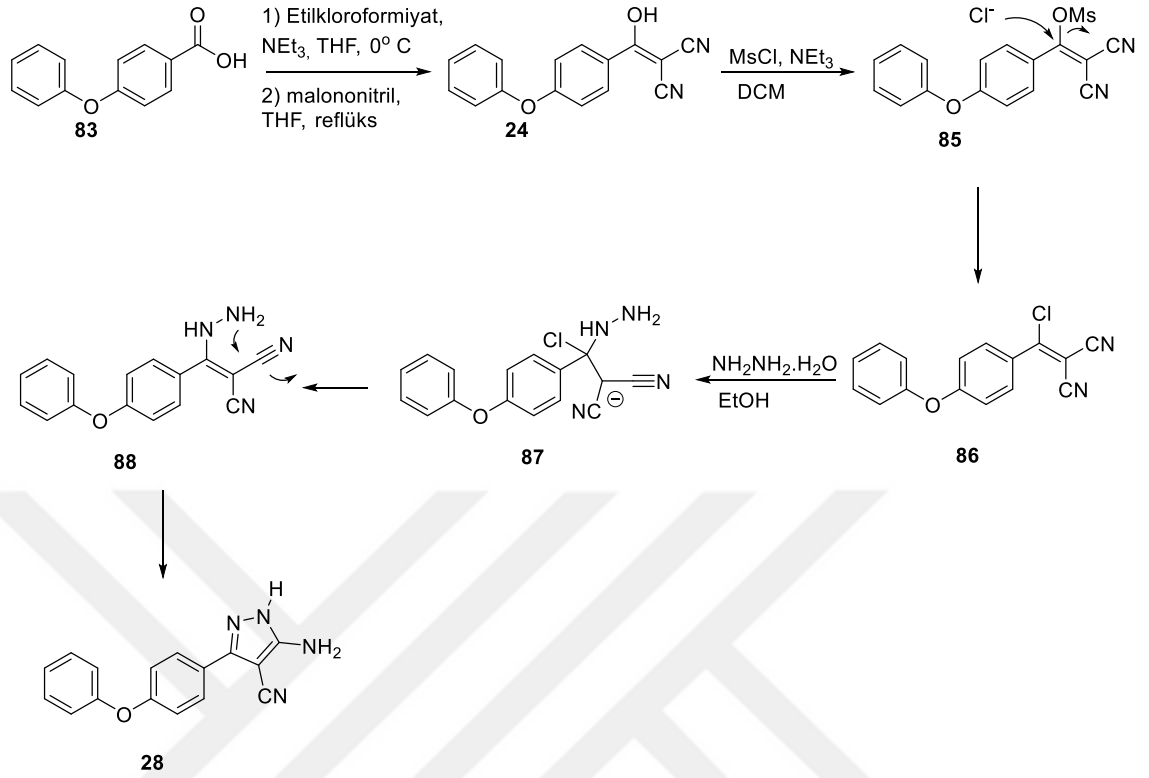
Sıra	83	Etilkloro formiyat (ekv.)	Malononitril (ekv.)	NEt ₃ (ekv.)	MsCl (ekv.)	NEt ₃ (ekv.)	NH ₂ NH ₂ .H ₂ O (mL)	% Toplam Verim
1	5 g	1.8	2.7	7.5	3.5	3.5	15	65
2	5 g	1.8	2.7	7.5	3.5	3.5	10	69
3	7 g	1.8	2.7	7.5	3.5	3.5	15	67
4	7 g	1.8	2.7	7.5	3.5	3.5	20	65
5	10 g	1.8	2.7	7.5	3.5	3.5	20	51
6	12 g	1.8	2.7	7.5	3.5	3.5	25	51

Çizelge 3.1'de de görüldüğü üzere madde miktarı arttıkça toplam verimde bir azalma söz konusudur. Bu sorunun saflaştırma yapılmadan bir sonraki kademeye geçilmesinden kaynaklanan toplam kirliliğin son kademede giderildiği için saflaştırma yapılırken madde kaybının olduğu düşünülmektedir. Bu bağlamda reaksiyonun ilk kademesine tekrar dönülüp kullanılan reaktiflerin ve bazın ekivalent miktarlarında değişiklikler yapılarak kirliliğin en aza indirilmesi ve sonuç ürününün daha kolay saflaştırılabilir halde sentezlenmesi üzerine çalışıldı.

İlk kademede elde edilen 4-fenoksi enol eter sentezi için yapılan ekivalent değişikliği 500 mg ölçeğine denendi ve toplam verimin %93'e yükseldiği belirlendi. Mesitilasyon kademesinde madde miktarları azaltılarak tekrarlandı. Bu denemede de %88 toplam verime ulaşıldı (Çizelge 3.2, sıra no 1).

Bu başarının ardından miktar artırma çalışmaları yapıldı. Reaksiyon 10 g ölçekte aynı ekivalentlerle tekrarlandığında enol oluşumun yüksek verimle gerçekleştiği görülürken bir sonraki kademede enol 74'ün reaksiyon ortamında bitmediği görüldü. Reaksiyon ortamına yeniden $MsCl$ ve NEt_3 ilave edilerek reaksiyon kontrol edildi ve reaksiyonun tamamlandığı gözlemlendi. Bu aşamada ham üründen alınan ^1H-NMR da mesitil grubunun metil sinyaline rastlanmamaktadır. ^1H-NMR çıkış bileşiğinden tamamen farklı olduğu açıkça görülmektedir. Bu sonuç bize mesitilasyon sırasında açığa çıkan klorürün doymamış sistemin β karbonuna katıldığı ve mesitil grubunun elimine olduğunu göstermektedir.

Bu bilgiler ışığında reaksiyon 20 g ile tekrarlandı ve %62 toplam verimle 28 sentezlendi. 25 g ile de reaksiyonlar tekrarlandı ve yine %62 toplam verimle 28 elde edildi (Çizelge 3.2, sıra no 2,3). Bu sonuç bizim şartlarımızın daha büyük ölçeklere uygulanabileceğini göstermektedir (Şekil 3.7).



Şekil 3.7. 28'in sentez mekanizması

Çizelge 3.2. 28 molekülünün reaksiyon şartları

Sıra	83	EKF (ekv.)	MN (ekv.)	NEt_3 (ekv.)	MsCl (ekv.)	NEt_3 (ekv.)	$\text{NH}_2\text{NH}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (mL)	% Verim
1	500 mg	1.3	1.5	3	1.7	2	-	88
2	10 g	1.3	1.5	3	3.5	3.5	37	62
3	20 g	1.3	1.5	3	3.5	3.5	74	62

Bu çalışmaların tamamında ürün, reaksiyon ortamından ekstraksiyon yöntemi ile alınmıştır. Aynı zamanda söz konusu her kademedeki reaksiyon farklı çözücü sisteminde kurulmuştur (1. Kademe THF, 2. Kademe DCM, 3. Kademe EtOH).

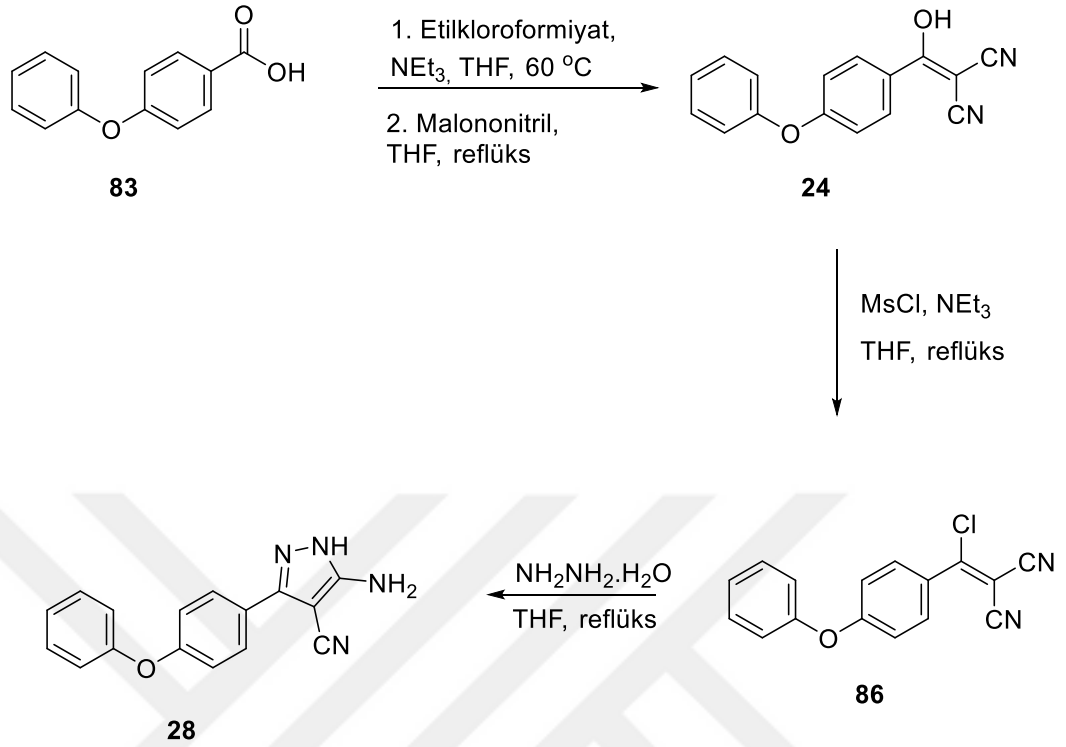
Reaksiyonun her kademesinde farklı çözücü kullanmak ve ekstraksiyon yöntemi ile maddeyi izole etmek mg düzeyinde kurulan reaksiyonlar için kullanılan çözücü miktarı dikkate değer miktarlarda olmasa da madde miktarı artırılarak endüstriyel düzeyde üretime geçildiğinde çözücü miktarının çarpıcı düzeye ulaşacağı görülmektedir. Her kademe maddelerin ekstraksiyonları, solventlerin uzaklaştırılması vs. ekstra iş gücü gerektirmektedir. Bu durum üretim maliyetlerini artıracak ortadadır. Oysaki bizim yaklaşımımız kısa zamanda az kimyasal kullanarak etkili bir sentez yöntemi geliştirmektir. Bu maksatla yukarıda geliştirdiğimiz yönteme bağlı kalmak şartı ile 4-fenoksibenzoikten başlayarak ara kademelerde herhangi bir işlem yapmaksızın “tek kapta” sonuç ürünün **28** sentezi amaçlandı. Bunun için yeniden reaksiyon şartlarının, kullanılan reaktantların ve solventlerin gözden geçirilmesi gerekmektedir.

Sentez planımızın ilk kademesinde THF ikinci kademesinde DCM üçüncü kademesinde ise EtOH solvent olarak kullanılmaktadır. Bizim analizimizde bütün reaksiyonların tek bir solvent içerisinde yapılabileceği ve bu amaca uygun en iyi solventin THF olacağı düşünüldü.

Bu bilgiler ışığında reaksiyon ilk olarak 500 mg ile tekrarlandı. Daha önceki denemelerimizde mixed-anhidrit **84**'ün sentezi 0°C'de yapılmakta ve reaksiyon 5 saat kadar sürmekteydi. Oysaki reaksiyon sıcaklığının yükseltilmesiyle reaksiyon süresinin kısaltılabileceği düşünüldü. Reaksiyon oda sıcaklığında başlatıldıktan hemen sonra 60°C'ye ısıtılarak İTK ile kontrol edildi. Bunun sonucunda mixed-anhidrit 84 oluşum süresinin neredeyse yarıya düştüğü gözlemlendi. Mixed-anhidritin oluşumundan sonra malononitril (**19**) eklendi ve reaksiyon 1 gün boyunca reflüks edildi. Reaksiyon ortamından alınan numunenin ¹H-NMR'ına göre reaksiyonun yüksek verimle tamamlandığına karar verildi. Reaksiyon oda sıcaklığına soğutulduktan sonra reaksiyon ortamına ikinci basamak için daha önce optimize edilen şartlara göre NEt₃ ve MsCl ilave edildi. Reaksiyon daha önce DCM şartlarında reflüks edilirken, THF içerisinde 1 gün reflüks edildi. Ancak İTK ve ¹H-NMR ile kontrol edildiğinde reaksiyonun gerçekleşmediği gözlemlendi. Bunun üzerine reaksiyona yeniden NEt₃ ve MsCl ilave edildi ve yine 1 gün boyunca reflüks edildi. ¹H-NMR ile kontrol edilen reaksiyonun bu kez

sorunsuzca tamamlandığı anlaşıldı. Daha öncede tartışıldığı gibi fazla miktarda kullanılan maddelerin sonuç ürünün **28** saflaştırılmasını zorlaştırdığı ve reaksiyon verimini düşürdüğü için “tek-kap” reaksiyon şartlarında da yeniden reaksiyonda kullanılan reaktantların miktarlarının azaltılması için denemeler yapıldı. Bu çalışmada reaksiyonun ikinci basamakta yani hidroksil grubunun mesitilasyon üzerinden klor ile yer değiştirilmesi kademesinde problemlili olduğu anlaşıldı.

500 mg ile tekrarlanan çalışmada reaksiyonun ikinci basamağında kullanılan MsCl ve NEt_3 iki aşamada eşit miktarlarda ilave edildi. Bu denemede reaksiyonun şekilde yüksek verimle gerçekleştiği reaksiyon ortamından alınan numunenin $^1\text{H-NMR}$ 'ın dan anlaşılmaktadır. Ayrıca ham ürününün $^1\text{H-NMR}$ 'ı bu maddenin bir sonraki basamakta kullanılmak için yeteri kadar temiz olduğunu göstermektedir. Reaksiyon ortamına hidrazin hidrat ilave edildi. Daha önceki optimize edilen şartlara göre EtOH içerisinde reflüks edilmesi gereken reaksiyon bu denemede THF içerisinde reflüks edildi. İlk başta reaksiyon sıcaklığının azalması reaksiyon süresinin uzayacağını düşündürse de reaksiyon mekanizması göz önünde bulundurulduğunda etanolün reaksiyona girmek için NH_2NH_2 ile yarışacağı görülecektir. Bu durum göz önünde bulundurulduğunda, reaksiyonun THF şartlarında daha kısa sürede gerçekleşeceği öngörüldü. Bu bağlamda yapılan birçok deneme sonucunda, EtOH şartlarında 4 günde biten reaksiyonun THF de 3 günde bitmesi öngörülerimizin doğruluğunu gösterdi. Reaksiyon tamamlandıktan sonra ham ürün EtOAc ile ekstrakte edildi ve EtOAc/hekzan sistemi ile kolon kromatografisi ile saflaştırıldı. Sonuç ürünü %58 toplam verimle elde edildi (Çizelge 3.3, Şekil 3.8).



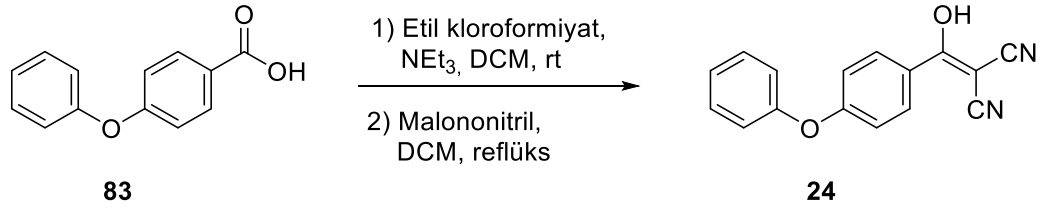
Şekil 3.8. 28'in sentezi

Çizelge 3.3. 28 molekülünün reaksiyon şartları

Sıra	ÇKB (mmol)	MsCl, (ekv.)	NEt ₃ , (ekv.)
1	4.66	3.5	3.5
2	9.33	4.25	3.5
3	9.33	4	4
4	9.33	4	4
5	9.33	6	6
5	9.33	4.5	6.5
6	9.33	4.5	6.5
7	9.33	2 x 1.75	2 x 1.75

Yukarıdaki çalışmayla aynı zamanda DCM'in solvent olarak kullanılma potansiyeli de araştırıldı. Reaksiyonun ilk kademesi yani mixed-anhidrit oluşumu ve malononitrilin (19) katılma basamağı süresi araştırıldı. DCM reflüks sıcaklığında gerçekleştirilen bu

reaksiyon süresinin iki güne uzadığı görüldü. Bu yüzden DCM kullanılarak pirazol **28**'in sentezinin yukarıdaki yöntemle kıyaslandığında pek de etkili olmadığı görüldü (Şekil 3.9).



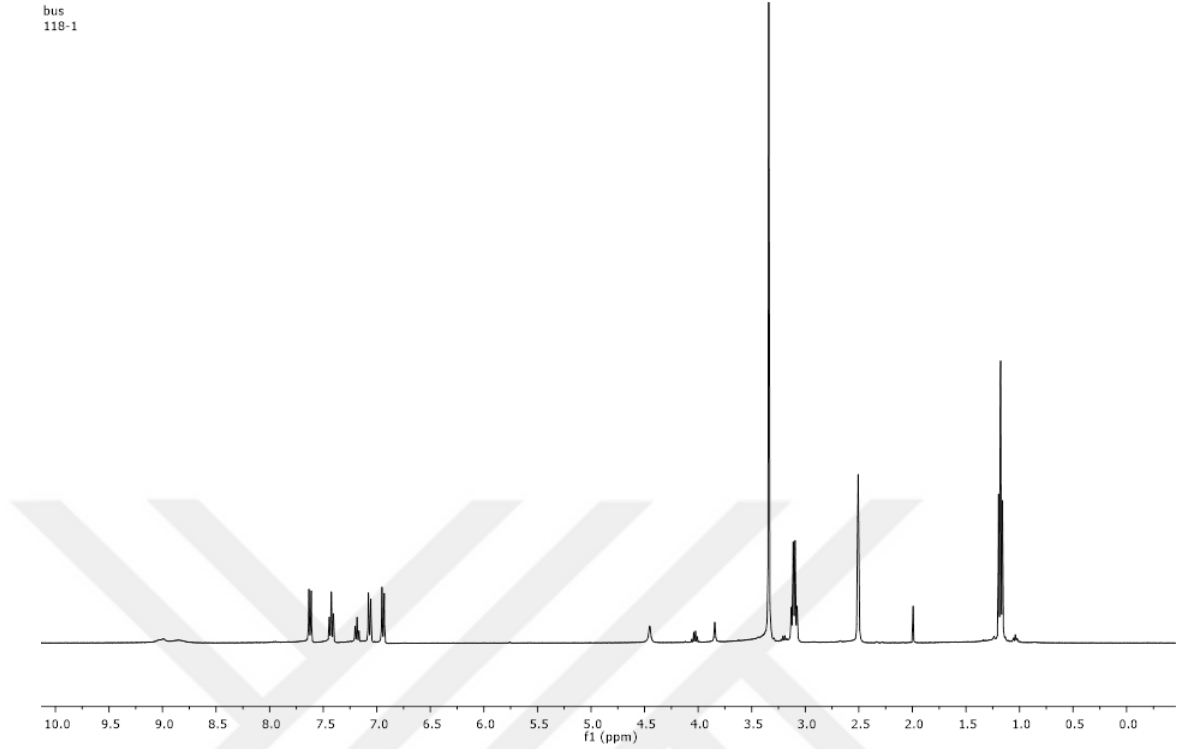
Şekil 3.9. **24**'ün sentezi

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. 28'in 12 g Ölçeğinde Sentezi

83 (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 kloroformiyat (100 mmol, 9.7 mL) ilave edildi ve 0°C'de karıştırıldı. 1 saat aralıklarla reaksiyon ortamından örnek alınarak çıkış bileşiğinin bitip bitmediği İTK ile kontrol edildi. Çıkış bileşiğinin bittiği gözlemlendikten sonra, malononitril **19** (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 kontrol edilen reaksiyon 24 saat sonra durduruldu ve solvent evaporatörde uzaklaştırıldı. Reaksiyon karışımı EA ve H₂O ile ekstrakte edildi. Birleştirilen organik fazlar Na₂SO₄ üzerinden kurutuldu ve solvent evaporatörde uzaklaştırıldı. Ham ürün saflaştırılmaksızın bir sonraki kademede kullanıldı.

¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) 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).

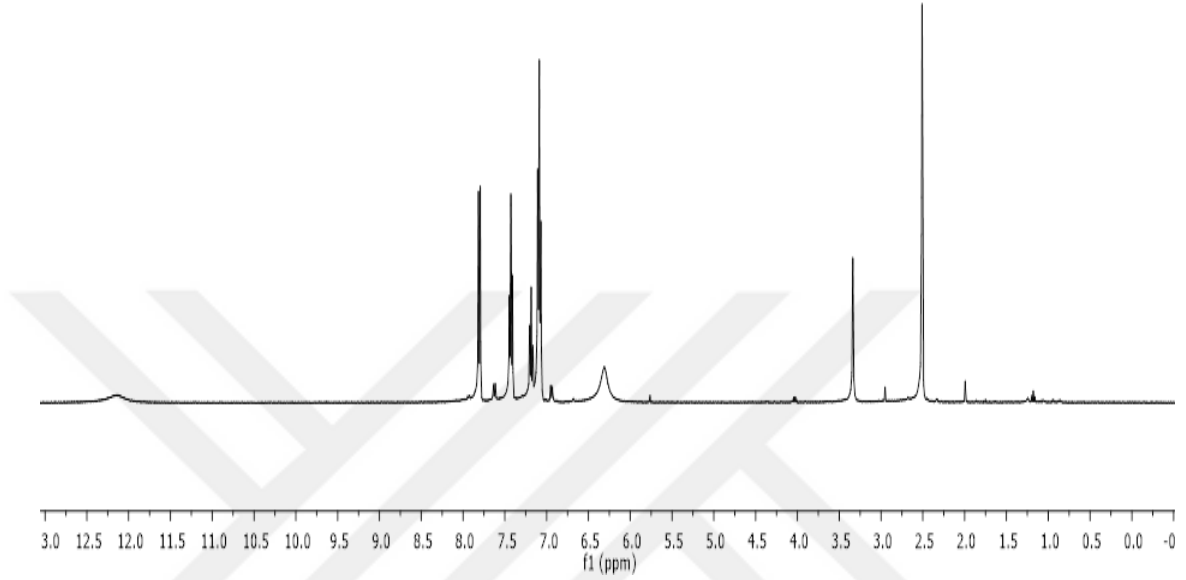


Şekil 4.1. 24 Molekülünün 400 MHz ¹H-NMR Spektrumu (DMSO-d₆)

Ham ürün **24**, 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 solvent evaporatörde uzaklaştırıldı. Ham ürün çok az silika gel üzerinden EA/Hekzan kullanılarak süzülde ve başka herhangi bir saflaştırma yapılmaksızın bir sonraki kademede kullanıldı.

Ham ürün **85**, oda sıcaklığında EtOH (60 mL) içerisinde çözüldü. Bu çözeltiye NH₂NH₂·H₂O (20 mL) ilave edildi. Reaksiyon karışımı 4 gün reflüks edildi. İTK ile kontrol edilen reaksiyon durduruldu ve solvent evaporatörde uzaklaştırıldı. Reaksiyon karışımı EA ve H₂O ile ekstrakte edildi. Birleştirilen organik fazlar Na₂SO₄ üzerinden kurutuldu ve solvent evaporatörde uzaklaştırıldı. Ham ürün DCM/Hekzan’dan çöktürüldü. %51 toplam verimle **28** elde edildi. Beyaz renkli katı.

^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) 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).



Şekil 4.2. 28 Molekülünün 400 MHz ^1H -NMR Spektrumu (DMSO- d_6)

4.2. 28'in Büyük Ölçekte Sentezi İçin Optimize Edilen Yöntem

4.2.1. 28'in 20 g Ölçeğinde Sentezi

83 (20 g, 93.36 mmol) N_2 atmosferinde, oda sıcaklığında kuru THF'de (500 mL) çözüldü. Bu çözeltiye NEt_3 (280 mmol, 38 mL, 3 ek.) ve etil kloroformiyat (121 mmol, 12 mL, 1.3 ek.) ilave edildi ve 60°C 'de karıştırıldı. 1 saat aralıklarla reaksiyon ortamından örnek alınarak çıkış bileşiğinin bitip bitmediği İTK ile kontrol edildi. Çıkış bileşiğinin bittiği gözlemlendikten sonra, malononitril **19** (9.25 g, 140 mmol, 1.5 ek) N_2 atmosferinde kuru THF'de (20 mL) çözüldü ve reaksiyon ortamına ilave edildi. Reaksiyon karışımı 24 saat reflüks edildi. İTK ile kontrol edilen reaksiyon 24 saat sonra durduruldu ve solvent evaporatörde uzaklaştırıldı. Reaksiyon karışımı EA ve H_2O ile ekstrakte edildi. Birleştirilen organik fazlar Na_2SO_4 üzerinden kurutuldu ve solvent

evaporatörde uzaklaştırıldı. Ham ürün saflaştırılmaksızın bir sonraki kademedede kullanıldı.

24 Numaralı bileşik N₂ atmosferinde, 0°C'de kuru DCM'de (500 mL) çözüldü. Bu çözeltiye NEt₃ (326.8 mmol, 45.5 mL) ve MsCl (326.8 mmol, 25 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 solvent evaporatörde uzaklaştırıldı. Ham ürün çok az silika gel üzerinden EA/Hekzan kullanılarak süzülde ve başka herhangi bir saflaştırma yapılmaksızın bir sonraki kademedede kullanıldı.

86 Numaralı bileşik oda sıcaklığında EtOH'de (224 mL) çözüldü. Bu çözeltiye NH₂NH₂.H₂O (74 mL) ilave edildi. Reaksiyon karışımı 4 gün reflüks edildi. İTK ile kontrol edilen reaksiyon durduruldu ve solvent evaporatörde uzaklaştırıldı. Reaksiyon karışımı EA ve H₂O ile ekstrakte edildi. Birleştirilen organik fazlar Na₂SO₄ üzerinden kurutuldu ve solvent evaporatörde uzaklaştırıldı. Ham ürün DCM/Hekzan'dan çöktürüldü. %62 Toplam verimle **28** elde edildi. Beyaz renkli katı.

4.3. 28'in Tek-Kap Sentezi

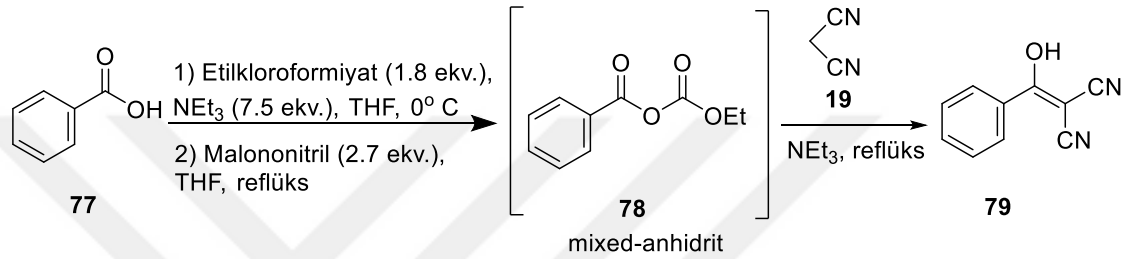
83 (2 g, 0.933 mmol) N₂ atmosferinde, oda sıcaklığında kuru THF'de (30 mL) çözüldü. Bu çözeltiye NEt₃ (28 mmol, 3.8 mL, 3 ek.) ve etil kloroformiyat (12.1 mmol, 1.2 mL, 1.3 ek.) ilave edildi ve 60°C'de karıştırıldı. 1 saat aralıklarla reaksiyon ortamından örnek alınarak çıkış bileşiğinin bitip bitmediği İTK ile kontrol edildi. Çıkış bileşiğinin bittiği gözlendikten sonra, malononitril **19** (925 mg, 14 mmol, 1.5 ek) N₂ atmosferinde kuru THF'de (5 mL) çözüldü ve reaksiyon ortamına ilave edildi. Reaksiyon karışımı 24 saat reflüks edildi. 24 Saat sonra reaksiyon ¹H-NMR ile kontrol edildi ve reaksiyonun gerçekleştiği gözlendikten sonra reaksiyon oda sıcaklığına soğutuldu.

Bu çözeltiye NEt₃ (16.33 mmol, 2.3 mL) ve MsCl (16.33 mmol, 1.5 mL) yavaş yavaş ilave edildi. Reaksiyon karışımı 24 saat reflüks edildi. 1 Gün sonra reaksiyon tekrar oda

sıcaklığına soğutuldu ve NEt_3 (16.33 mmol, 2.3 mL) ve MsCl (16.33 mmol, 1.5 mL) yavaş yavaş ilave edildi. Reaksiyon karışımı 24 saat reflüks edildi. İTK ile kontrol edilen reaksiyondan 24 saat sonra örnek alındı ve $^1\text{H-NMR}$ ile kontrol edildi. Reaksiyonun tamamlandığına karar verildikten sonra reaksiyon oda sıcaklığına soğutulduktan sonra $\text{NH}_2\text{NH}_2\cdot\text{H}_2\text{O}$ (10 mL) ilave edildi. Reaksiyon karışımı 3 gün reflüks edildi. İTK ile kontrol edilen reaksiyon ürünün oluşumu gözlemlendikten sonra durduruldu ve solvent evaporatörde uzaklaştırıldı. Reaksiyon karışımı EA ve H_2O ile ekstrakte edildi. Birleştirilen organik fazlar Na_2SO_4 üzerinden kurutuldu ve solvent evaporatörde uzaklaştırıldı. Ham ürün kolon kromatografisi ile EtOAc/Hekzan sistemi ile saflaştırıldı %68 toplam verimle **28** elde edildi. Beyaz renkli katı.

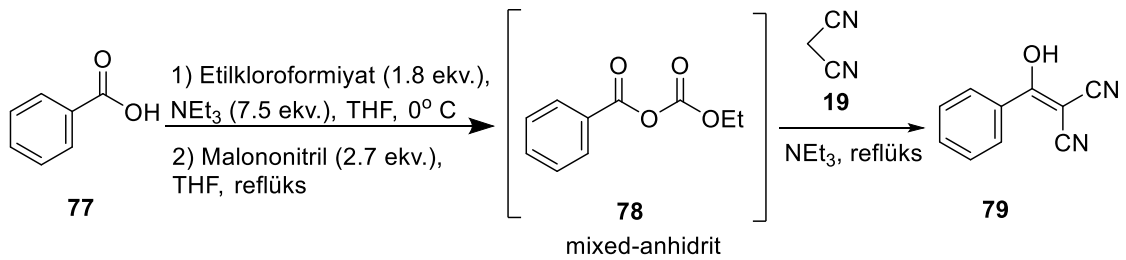
5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Ön denemeler benzoik asit (**77**) üzerinde gerçekleştirildi. Öncelikle ilk kademede karbonil grubu aktifleştirildikten sonra malononitrilin katılması ardından oluşan enol **79**'den hidroksil grubu kolay ayrılabilen grup haline getirildi (Şekil 5.1).

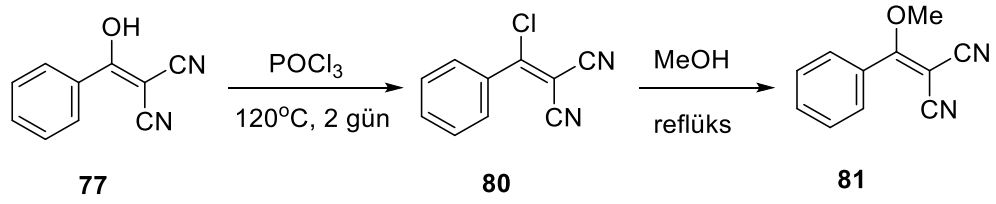


Şekil 5.1. **79**'un sentezi

Bu amaç için ilk olarak POCl_3 ve MeOH kullanıldı. Hidroksil grubunun klor ile yer değiştirmesinin ardından reaksiyon ortamında bulunan POCl_3 'ün uzaklaştırılması ve MeOH ile reaksiyon sırasında çok fazla HCl açığa çıkmaktadır. Her ne kadar enoleter **79** iyi verimlerle oluşsa bile reaksiyonda çok miktarda HCl açığa çıkması büyük ölçekli reaksiyonlarda bunun büyük bir problem olacağı öngörüsüyle hidroksil grubunun uzaklaştırılması için yeni yöntem arayışına girildi (Şekil 5.2, Şekil 5.3).

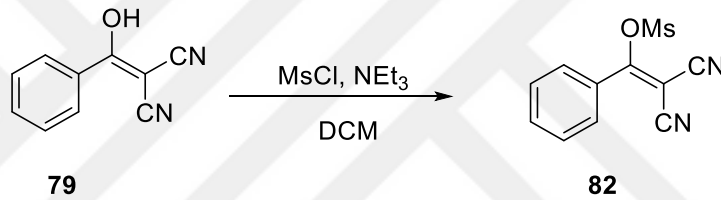


Şekil 5.2. **79**'un sentezi



Şekil 5.3. 81'in sentezi

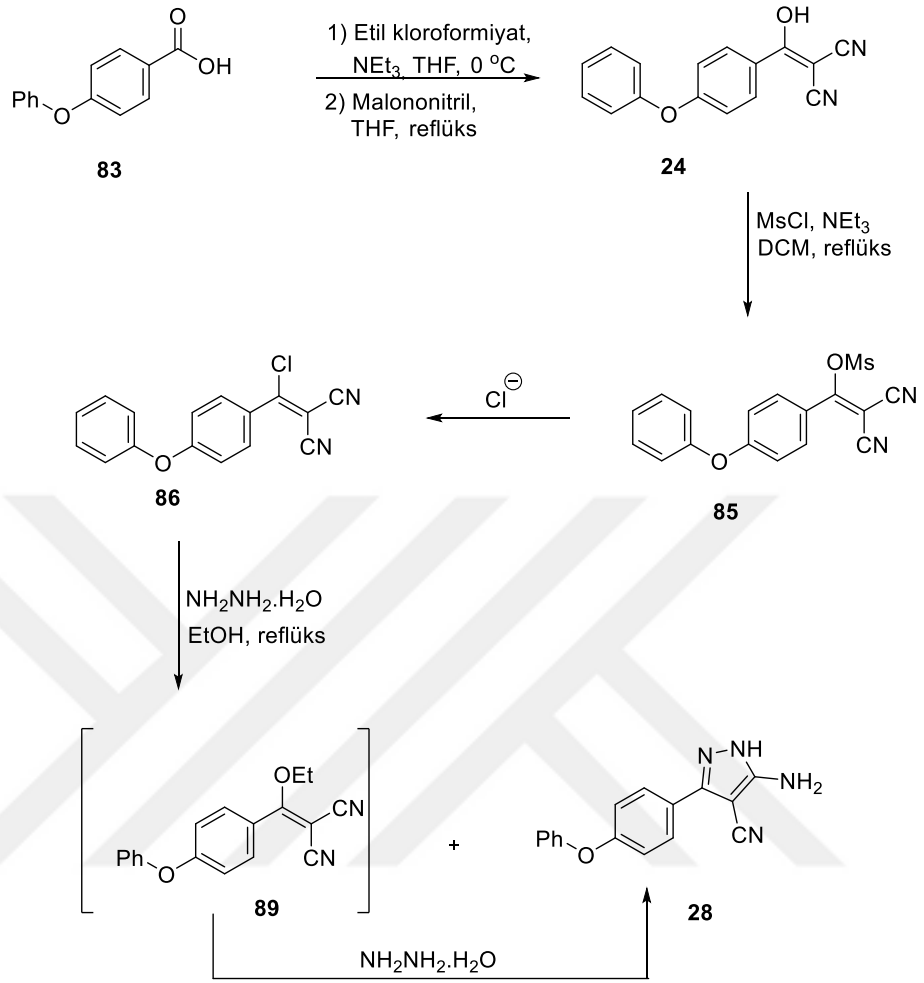
Bu amaçla hem reaksiyon kurum aşaması nispeten kolay ve daha kontrollü bir hem de reaksiyon sonunda reaksiyonu daha güvenli kılan metan sülfonil klorür ile çalışmalar gerçekleştirildi ve ürün yüksek verimlerle sentezlendi (Şekil 5.4).



Şekil 5.4. 82'nin sentezi

Bu başarının ardından çalışmalar hedef molekül İbrutinib'in sentezi için çalışmalar 4-fenoksi benzoik asit (**83**) üzerinde tekrarlandı. İlk kademe olan enol eter (**24**) sentezi yüksek verimlerle gerçekleştirildi ve ardından bir sonraki aşama olan hidroksi grubunu kolay ayrılan gruba dönüştürme çalışmaları metan sülfonil klorür kullanılarak gerçekleştirildi.

İlk etapta MsCl ile enol (**24**)'in reaksiyonundan **85**'in oluşması beklenmektedir. Oysaki bizim ham üründen aldığımız ^1H NMR'da metil sinyali gözlenmemektedir. Bu bilgiler doğrultusunda ara ürün olarak oluşan enoleter (**24**)'e reaksiyonda açığa çıkan klorürün E_1Cb mekanizmasına göre katıldığı ve daha sonra mesitil grubunun kolaylıkla ayrıldığı söylenebilir (Şekil 5.5).



Şekil 5.5. 28'in sentezi

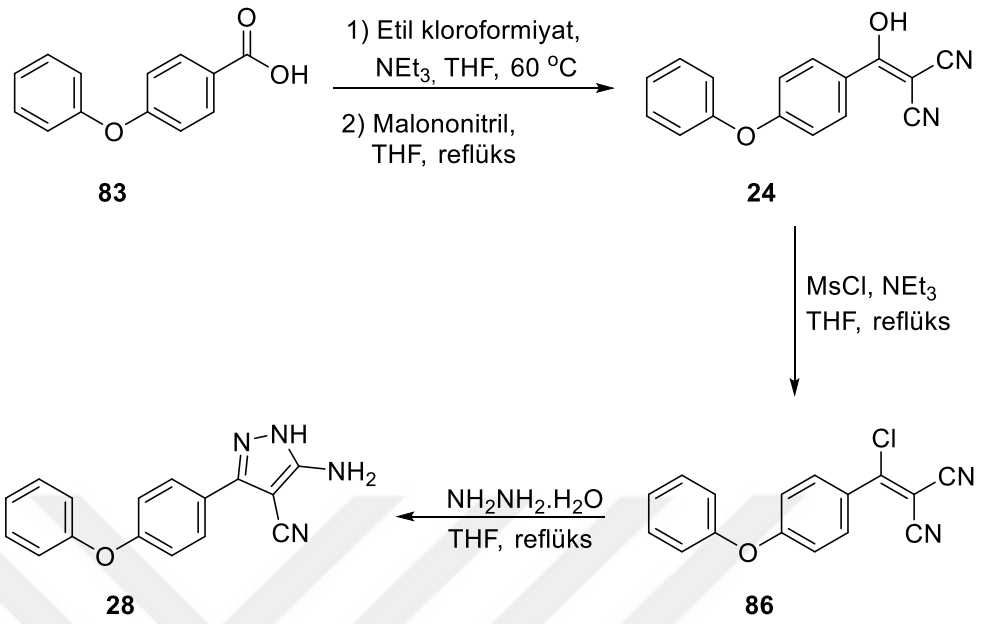
86 Hidrazin hidrat ile etanol içerisinde reaksiyona sokularak hedef ürün **28** kolaylıkla sentezlendi. Bu yöntem ile 12 g ölçeğinde kolaylıkla reaksiyonlar yapılabilmektedir.

Daha sonra endüstri ortaklı projemiz için endüstriyel üretim adına önemli kriterler olan maliyet, zaman ve iş gücünü azaltmak üzere "tek-kap" reaksiyon çalışmaları gerçekleştirildi.

İlk olarak reaksiyon daha önce optimize edilen şartlara göre ilk kademe çözücü sistemi olan THF ile gerçekleştirildi ve ilk kademenin sorunsuz gerçekleştiği gözlemlendi. Reaksiyon durdurulmaksızın bir sonraki kademedede optimize edilen şartların aksine

reaksiyonun THF reflüks sıcaklığında daha kısa sürede gerçekleşmesi beklenirken reaksiyon süresinin uzadığı görüldü. Bunun üzerine MsCl reaksiyon ortamına bir kere de değil iki değişik zaman aralığında ilave edilerek **86**'nın sentezi başarıldı. Daha önce optimize edilen şartlarda hidrazin hidrat katılması etanol içerisinde yapılmaktaydı. Bu reaksiyonda etanol ve hidrazin **86**'ya bağlanmaktadır. Elbette hidrazin çok daha nükleofiliktir. Fakat bu reaksiyonda da etanol solvent olarak kullanılmaktadır. Her iki madde de nükleofilik karakterde olduklarından enol eter ile reaksiyona girmektedirler. Oluşan etilenoleter tekrar hidrazin ile reaksiyona girerek ürüne dönüşmektedir. Kloroalkene nitril oluşumu ¹H-NMR ile belirlendikten sonra reaksiyon ortamına hidrazin hidrat ilave edilerek **28**'in tek kap sentezi başarı ile gerçekleştirildi. Bu yöntemde ürünün saflaştırılması sırasında probleme karşılaşıldı. Reaksiyon ortamında gerek fazla kullanılan reaktiflerin olması gerekse de reaksiyonda oluşan diğer ürünlerin (reaktiflerden gelen) olması hedef ürün **28**'in kristallendirilmesini zorlaştırmaktadır. Bu problemin reaksiyonda kullanılan reaktiflerin azaltılarak yeniden reaksiyon şartlarının iyileştirilmesi çözülebileceği düşünüldü. Geriye dönülerek reaksiyon kullanılan reaktiflerin miktarları azaltılarak (NEt₃ ek. 7.5→3.0, etil kloro formiyat ek. 1.8→1.3, malononitril ek. 2.7→1.5) tekrarlandı. İlk kademede reaktifler neredeyse yarıya düşürülerek başlatıldı ve reaksiyonda itici kuvvet olması için 0°C'de gerçekleştirilen reaksiyonun 60°C'de daha kısa sürede, daha yüksek verimlerle gerçekleştirildi. Bu başarının ardından bir sonraki aşama olan mesitilasyon kademesinde de kullanılan reaktiflerin miktarları da azaltıldı. İlk olarak 500 mg düzeyinde kurulan reaksiyonda yüksek verimlerle ürüne ulaşılsa da büyük ölçekte (5 g'da) çalışıldığında ekivalentlerin yetersiz olduğu görülmesi dolayısıyla ekivalentler daha önce optimize edilen şartlara çıkarıldı. Ancak toplamda verilmek istenen reaktif miktarı bir gün arayla iki kere reaksiyona verilerek hem reaksiyonun tamamlanması hem de kirliliğin en aza indirilmesi açısından avantaj sağladı.

Geliştirdiğimiz yöntem ile **28** tek kapta çok kolay bir şekilde sentezlenebilmektedir. Görüldüğü gibi bu yöntem daha büyük ölçekte denemeler için uygundur. Doktora çalışmalarımın bir kısmında bu yöntemin 250-500 g ölçeğinde sentezlere uygulanması denenecektir (Şekil 5.6).



Şekil 5.6. 28'in sentezi

KAYNAKLAR

- Anonymous, 2017a. View All Cancer Types. <https://www.cancer.org/cancer/all-cancer-types.html>. 30 Mayıs 2017).
- Anonymous, 2017b. A to Z List of Cancer Types - National Cancer Institute. <https://www.cancer.gov/types>. 30 Mayıs 2017
- Anonymous, 2017c. Leukemia—Patient Version - National Cancer Institute. <https://www.cancer.gov/types/leukemia>. 30 Mayıs 2017
- Anonymous, 2017d. Chronic Lymphocytic Leukemia (CLL). <https://www.cancer.org/cancer/chronic-lymphocytic-leukemia.html>. 30 Mayıs 2017
- Anwar, H. F., & Elnagdi, M. H. (2009). Recent developments in aminopyrazole chemistry. *Arkivoc*, 198-250.
- Burchat, A. F., Calderwood, D. J., Friedman, M. M., Hirst, G. C., Li, B. Q., Rafferty, P., . . . Skinner, B. S. (2002). Pyrazolo[3,4-d]pyrimidines containing an extended 3-substituent as potent inhibitors of Lck - a selectivity insight. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 12(12), 1687-1690.
- Davis, R. E., Ngo, V. N., Lenz, G., Tolar, P., Young, R. M., Romesser, P. B., . . . Staudt, L. M. (2010). Chronic active B-cell-receptor signalling in diffuse large B-cell lymphoma. *Nature*, 463(7277), 88-92. doi:10.1038/nature08638
- Fandrick, D. R., Sanyal, S., Kaloko, J., Mulder, J. A., Wang, Y. W., Wu, L., . . . Senanayake, C. H. (2015). A Michael Equilibration Model To Control Site Selectivity in the Condensation toward Aminopyrazoles. *Organic Letters*, 17(12), 2964-2967.
- Han Y., Yu R., Wang Z., Liang Z., Hu Q., Zhu L., . . . Hu Y. (2014). Worldwide Patent. WO 2014082598
- Hanefeld, U., Rees, C. W., White, A. J. P., & Williams, D. J. (1996). One-pot synthesis of tetrasubstituted pyrazoles - Proof of regiochemistry. *Journal of the Chemical Society-Perkin Transactions 1*(13), 1545-1552.
- He W. (2016) Polyfluorinated Compounds Acting As Bruton Tyrosine Kinase Inhibitors. Worldwide Patent. US2016200730 (A1).
- Hirst G. C., Rafferty P., Ritter K., Calderwood D., Wishart N., Arnold L. D., Friedman M. M. (2002) Pyrazolopyrimidines As Therapeutic Agents. Worldwide Patent.
- Kobayashi, S. (1973). Synthesis and Xanthine-Oxidase Inhibitory Activity of Pyrazolo[3,4-D]Pyrimidines. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 21(5), 941-951.
- Li, X. T., Zuo, Y. Y., Tang, G. H., Wang, Y., Zhou, Y. Q., Wang, X. Y., . . . Pan, Z. Y. (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(12), 5112-5128.
- Li, X. X., Wang, A. L., Yu, K. L., Qi, Z. P., Chen, C., Wang, W. C., . . . Liu, Q. S. (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(24), 9625-9638.
- Liu, N., Hoogendoorn, S., van de Kar, B., Kaptein, A., Barf, T., Driessen, C., . . . Overkleeft, H. S. (2015). Direct and two-step bioorthogonal probes for Bruton's tyrosine kinase based on Ibrutinib: a comparative study. *Organic & Biomolecular Chemistry*, 13(18), 5147-5157.
- Shevchuk, N. V., Liubchak, K., Nazarenko, K. G., Yurchenko, A. A., Volochnyuk, D. M., Grygorenko, O. O., & Tolmachev, A. A. (2012). A Convenient Synthesis of (1H-Azol-1-yl)piperidines. *Synthesis-Stuttgart*, 44(13), 2041-2048.
- Xu, J. L., Liu, H., Li, G. X., He, Y., Ding, R., Wang, X., . . . Dang, Y. H. (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(16), 4736-4741.
- Zapf, C. W., Gerstenberger, B. S., Xing, L., Limburg, D. C., Anderson, D. R., Caspers, N., . . . Medley, Q. G. (2012). Covalent Inhibitors of Interleukin-2 Inducible T Cell Kinase (Itk) with Nanomolar Potency in a Whole-Blood Assay. *Journal of Medicinal Chemistry*, 55(22), 10047-10063.

ÖZGEÇMİŞ

4 Aralık 1992 tarihinde İstanbul'da doğdu. İlköğretim ve lise öğrenimini İstanbul'da tamamladı. 2010-2014 yılları arasında Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümünde lisans eğitimini tamamladı. 2014 yılından beri Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı bünyesinde yüksek lisans çalışmalarını sürdürmektedir.

