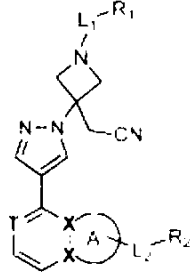


ÖZET**JANUS KİNAZ (JAK) İNHİBİTÖRLERİ**

Bu buluş JAK inhibitörlerinin bir serisi ile, özellikle de Formül (I) bileşikleri veya bunların farmasötik olarak kabul edilebilir tuzları ile ilgilidir. Bu buluşun bir amacı, Formül (I) 'in bir bileşimini veya 5 bunun farmasötik olarak kabul edilebilir bir tuzunu sağlamak olup, bu formülde R_i, H'den veya şunlardan seçilir: C₁₋₆ alkil, C₁₋₆ heteroalkil, C₃₋₇ sikloalkil, 3-7 elemanlı heterosikloalkil, 5-6 elemanlı aril, 5-6 elemanlı heteroaril. Buluşun bir uygulamasında R_i; H, halojen, OH, NH₂, CN'den bağımsız olarak seçilir veya C₁₋₃ alkil, C₁₋₃ alkoksi, C₁₋₃ alkilamino'dan seçilebilir, bunlar isteğe bağlı olarak 1, 2, 3, veya 4 R'ile ikame edilir.

İstemler

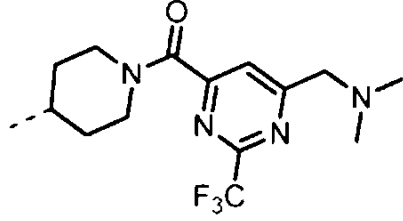
1. Formül (I) 'in bir bileşiği veya bunun farmasötik olarak kabul edilebilir bir tuzu,



(I)

5 burada,

R₁; H'den seçilir, veya şunlardan seçilir: C₁₋₆ alkil, C₁₋₆ heteroalkil, C₃₋₇ sikloalkil, 3-7 elemanlı heterosikloalkil, 5-6 elemanlı aril, 5-6 elemanlı heteroaril, ve



bunlar isteğe bağlı olarak 1, 2, 3, veya 4 R ile ikame edilir;

10 L₁, L₂ tek bir bağdan, -S (=O)₂-, -S (=O)-, -C (=O)-, -NHC (=O)-, bağımsız olarak seçilir;

R₂ şundan seçilir: H, veya şundan seçilir: NH₂, C₁₋₆ alkil, C₁₋₆ heteroalkil, C₃₋₇ sikloalkil, 3-7 elemanlı heterosikloalkil, 5-6 elemanlı aril, 5-6 elemanlı heteroaril, bunlar isteğe bağlı olarak 1, 2, 3, veya 4 R ile ikame edilir;

A halkası 5-6 elemanlı heteroaril'den seçilir;

15 X bağımsız olarak N, C'den seçilir;

T; N veya C (R)'den seçilir;

R; H, halojen, NH₂, CN, OH'den seçilir, veya şundan seçilir: C₁₋₃ alkil, C₁₋₃ heteroalkil, C₃₋₆ sikloalkil, 3-6 elemanlı heterosikloalkil, 5-6 elemanlı aril, 5-6 elemanlı heteroaril, bunlar isteğe bağlı olarak 1, 2, 3, veya 4 R' ile ikame edilir;

20 R' ; halojen, OH, CN, NH₂'den seçilir;

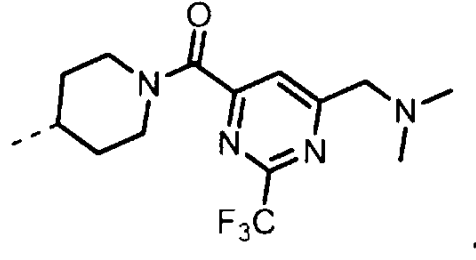
"hetero"; heteroatomları veya heterogrupları temsil eder ve bağımsız olarak, S, N, C (=O), S (=O) veya S (=O)₂'den seçilir;

heteroatomların veya heterogrupların sayısı bağımsız olarak 0, 1, 2, 3, veya 4'den seçilir.

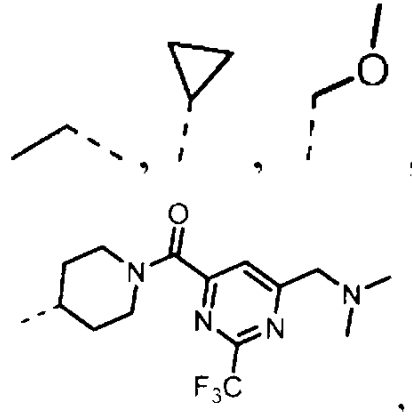
25 2. R'nin bağımsız olarak H, halojen, OH, NH₂, CN'den seçildiği veya C₁₋₃ alkil, C₁₋₃ alkoksi, C₁₋₃ alkilamino'dan seçildiği, bunların isteğe bağlı olarak 1, 2, 3, veya 4 R' ile ikame edildiği;

özellikle R'nin H, F, Cl, Br, I, OH, CN, NH₂, Me, Et, N (CH₃)₂, NH (CH₃)'den seçildiği istem 1'e göre bileşik veya bunun farmasötik olarak kabul edilebilir tuzu.

3. R_1 'in H'den seçildiği, veya C_{1-3} alkil, C_{3-6} sikloalkil, C_{3-6} heterosikloalkil, C_{1-3} alkil-O- C_{1-3} alkil-, C_{1-3} alkil-S- C_{1-3} alkil-, C_{1-3} alkil-NH- C_{1-3} alkil-, C_{1-6} alkoksi, C_{1-3} alkilamino'dan seçildiği, istem 1'e göre bileşik veya bunun farmasötik olarak kabul edilebilir tuzu,

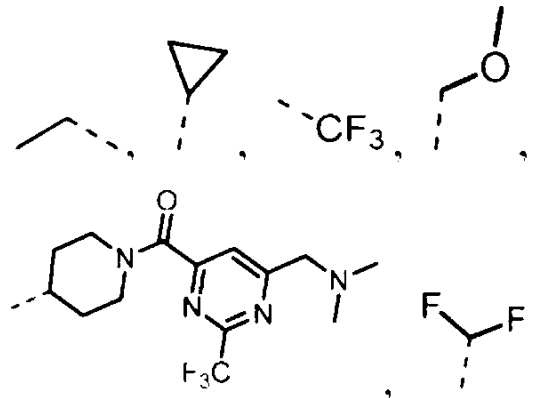


5 bunlar isteğe bağlı olarak 1, 2, 3, veya 4 R ile ikame edilir;
özellikle R_1 ; H'den seçilir, veya Me'den seçilir,

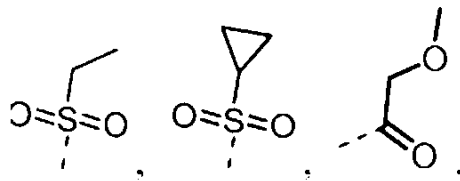


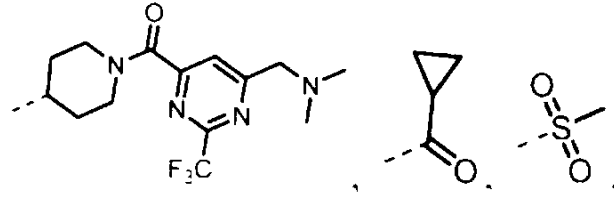
bunlar isteğe bağlı olarak 1, 2, 3, veya 4 R ile ikame edilir;

10 daha özel, R_1 şunlardan seçilir: H, Me,



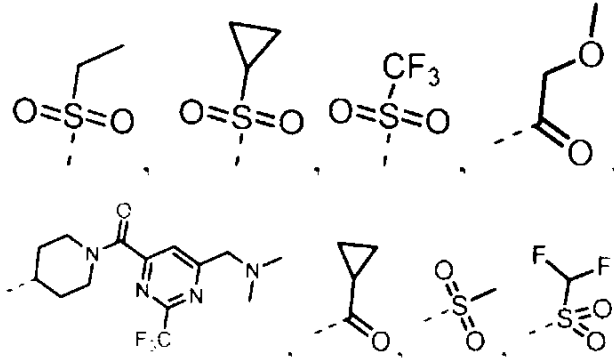
4. R_1-L_1 'nin H'den seçildiği, veya şundan seçildiği istem 1'e göre bileşik veya bunun farmasötik olarak kabul edilebilir tuzu:





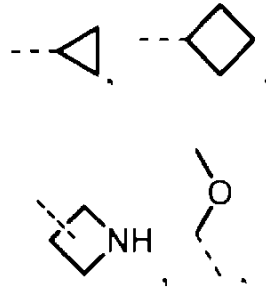
bu isteğe bağlı olarak R ile ikame edilir;

özellikle, R₁-L₁-; H'den seçilir,



5

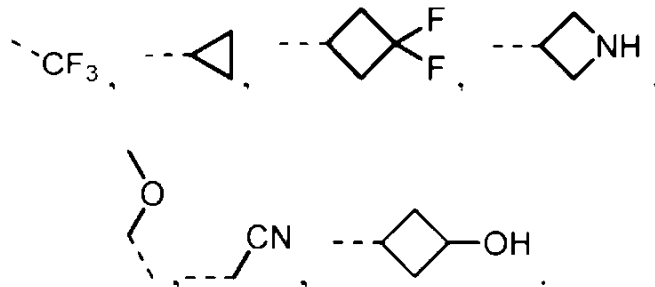
5. R₂'nin H, NH₂'den seçildiği veya C₁₋₃ alkil, C₃₋₆ sikloalkil, 3-6 elemanlı heterosikloalkil, C₁₋₃ alkil-O-C₁₋₃ alkil-, C₁₋₃ alkil-S-C₁₋₃ alkil-, C₁₋₃ alkil-NH-C₁₋₃ alkil-, C₁₋₆ alkoksi, C1-6 alkilamino'dan seçildiği, bunların isteğe bağlı olarak R ile ikame edildiği; özellikle, R₂'nin H, NH₂'den seçildiği, veya Me'den seçildiği, istem 1'e göre bileşik veya bunun farmasötik olarak kabul edilebilir tuzu,



10

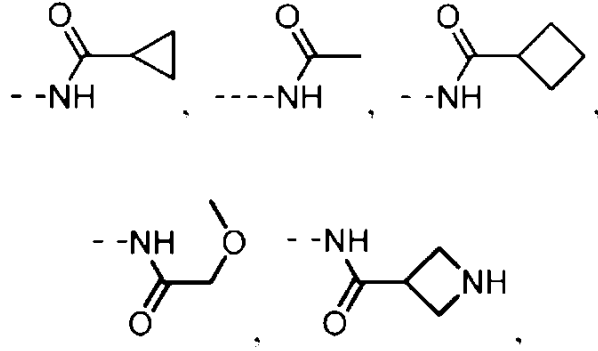
bunlar isteğe bağlı olarak R ile ikame edilir;

daha özel olarak, R₂ şunlardan seçilir: H, NH₂,



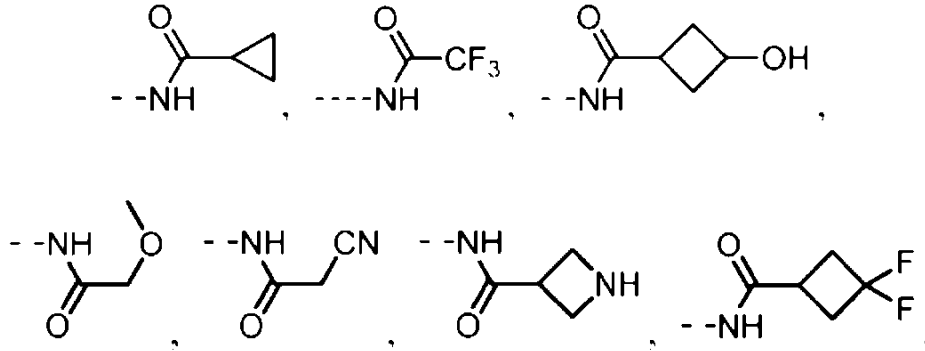
15

6. R₂-L₂'nin H'den seçildiği, veya şundan seçildiği: NH₂, istem 1'e göre bileşik veya bunun farmasötik olarak kabul edilebilir tuzu,



bunlar isteğe bağlı olarak R' ile ikame edilir;

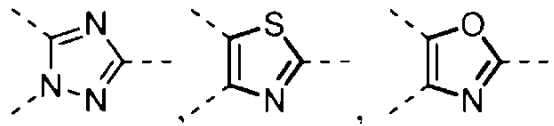
özellikle, R₂-L₂- şunlardan seçilir: H, NH₂,



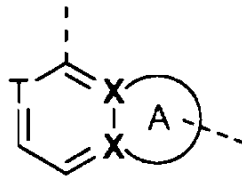
5

7. A halkasının 1, 3, 4-triazolil, imidazolil, oksazolil, tiyazolil'den seçildiği;

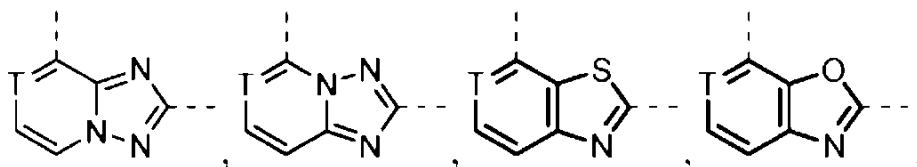
özellikle, A halkasının şundan seçildiği istem 1'e göre bileşik veya bunun farmasötik olarak kabul edilebilir tuzu,



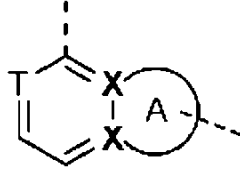
10 8. Yapısal birimin



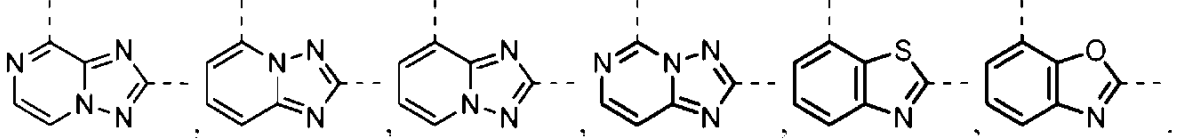
şundan seçildiği:



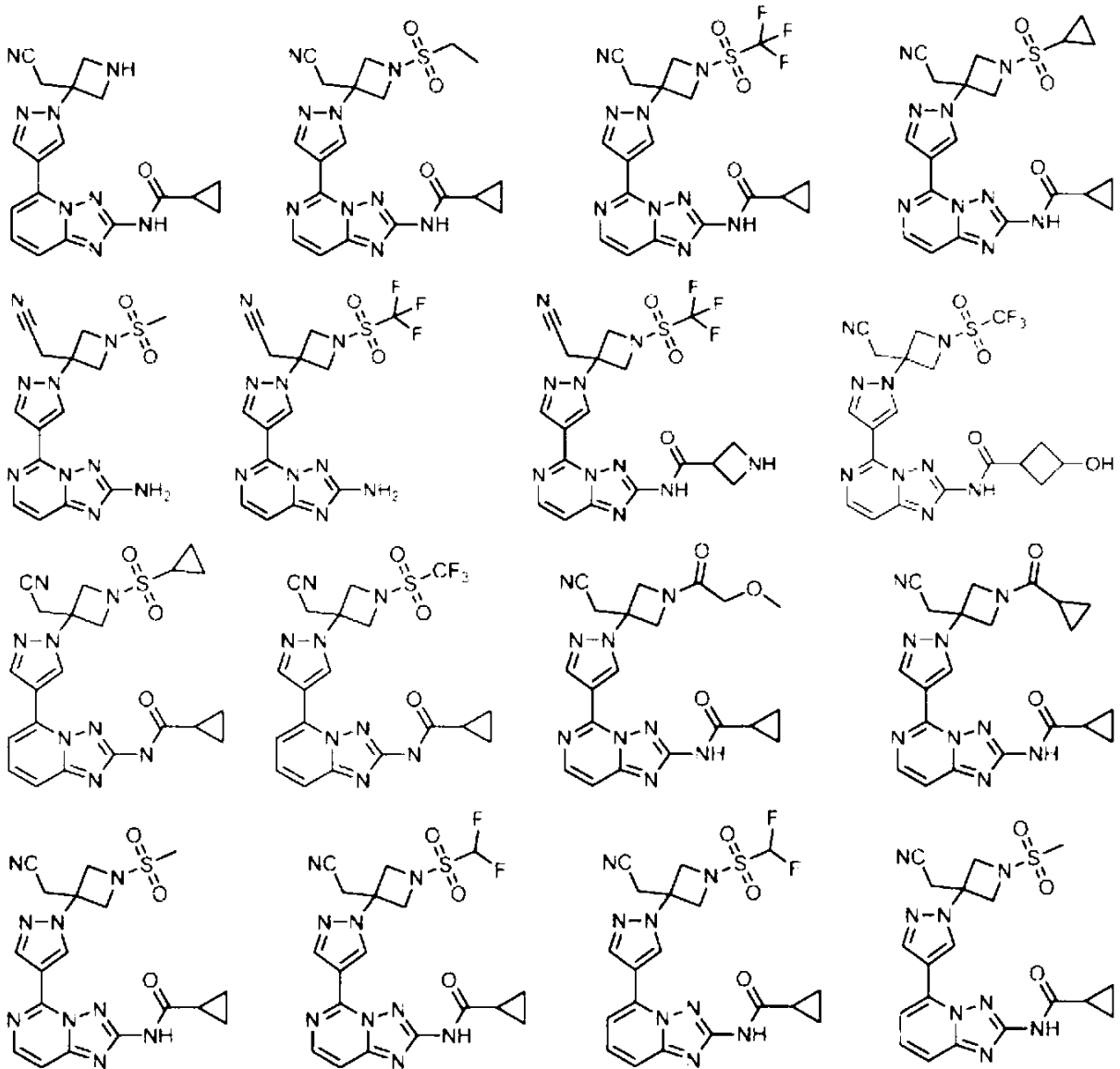
özellekle, yapısal birimin

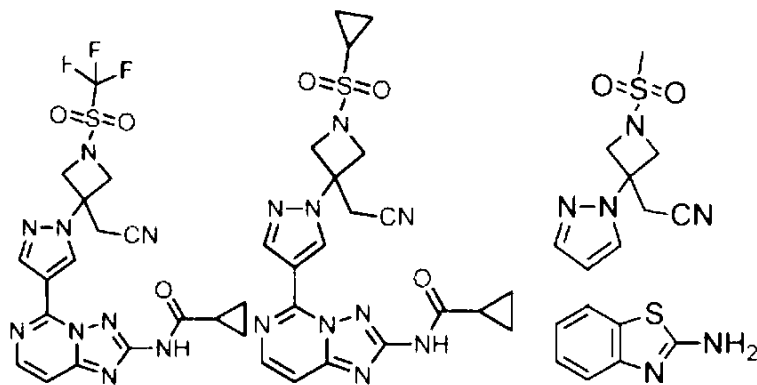
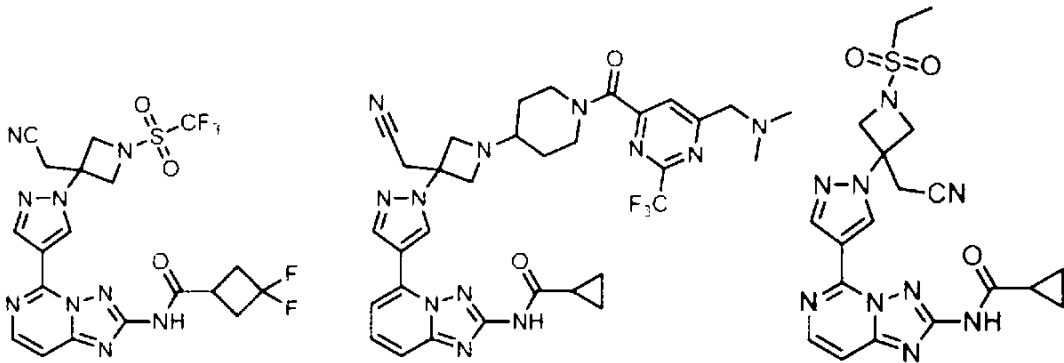
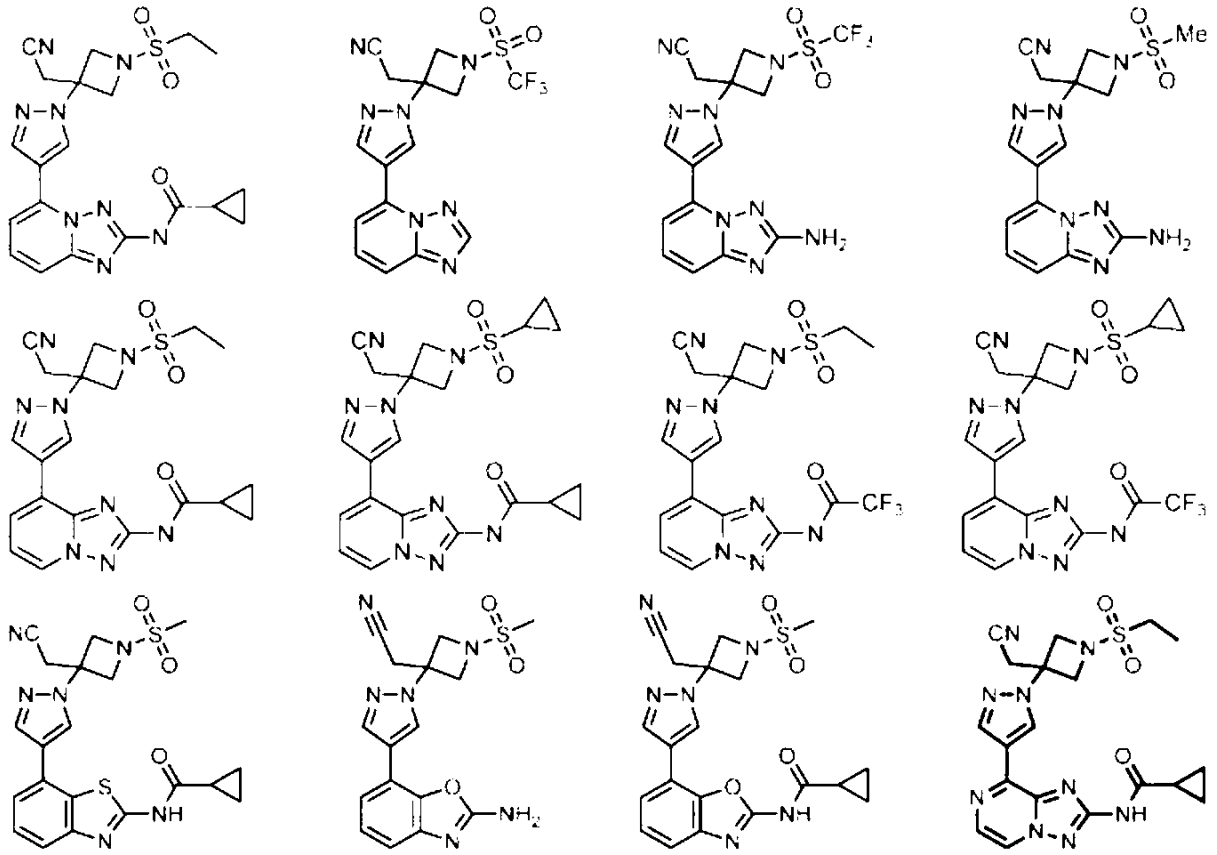


şundan seçildiği istem 1 veya 7'ye göre bileşik veya bunun farmasötik olarak kabul edilebilir tuzu,



5 9. Şunlardan seçilmiş istem 1'in bileşiği:





JANUS KİNAZ (JAK) İNHİBİTÖRLERİ

Tarifname

BULUŞUN ALANI

5 Bu buluş JAK inhibitörlerinin bir serisi ile, özellikle de Formül (I) bileşikleri veya bunların farmasötik olarak kabul edilebilir tuzları ile ilgilidir.

BULUŞUN GEÇMİŞİ

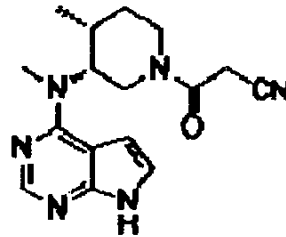
JAK, iltihaplanma, otoimmün hastalıklar, proliferatif hastalıklar, transplant reddi, kıkırdak döngüsünün bozulmasını içeren hastalıklar, konjenital kıkırdak malformasyonları ve/veya IL6'nın hipersekresyonu ile bağlantılı hastalıklarda yer alan tirozin kinazlar ailesine aittir. Bu buluş ayrıca, 10 bileşiklerin, bileşikleri içeren farmasötik bileşimlerin üretilmesi için yöntemler, iltihaplanmayı, otoimmün hastalıkları, proliferatif hastalıkları, transplant reddini içeren hastalıkları, kıkırdak döngüsünün bozulmasını, konjenital kıkırdak malformasyonları içeren hastalıkları ve/veya bu buluşun bir bileşiğinin uygulanması ile hipersekresyonu ile bağlantılı hastalıkların profilaksisi ve/veya tedavisi için yöntemlerde sağlar.

15 Januz kinazlar (JAK), membran reseptörlerden STST transkripsiyon faktörlerine sitokin sinyalini aktaran sitoplazmik tirozin kinazlardır. Buluş öncesi teknikte durumda dört JAK ailesi üyesi açıklanır: JAK1, JAK2, JAK3 ve TYK2. Sitokin, reseptörüne bağlandığında, JAK aile üyeleri birbirlerini oto ve/veya trans fosforlarlar; arkasından STAT'ların fosforilasyonu gelir ve sonra transkripsiyonu modüle etmek için nukleusa taşıma gerçekleşir. JAK-STAT hücre içi sinyal transdüksiyonu, 20 interferonlar, çoğu interlökinler ve ayrıca EPO, TPO, GH, OSM, LIF, CNTF, GM-CSF ve PRL gibi çok çeşitli sitokinler ve endokrin faktörleri için uygundur (Vainchenker W. ve arkadaşları (2008)).

Genetik modellerin ve küçük moleküllü JAK inhibitörünün araştırma kombinasyonu, birkaç JAK'ın terapötik potansiyelini açığa çıkardı. JAK2 gen mutasyonu araştırması, son yıllarda hematolojik araştırmanın dönüm noktası ilerlemesinden biridir. Bir grup hematopoietik kök hücre lezyonunun 25 lezyonlarının neden olduğu malign hastalıklar olan polisitemi vela (PV), esansiyel trombositemi (ET) ve idiyopatik miyelofibrozu (IMF) dahil olmak üzere miyeloproliferatif hastalıklar (MPD) buluş öncesi teknikte durumda açıklanır. Bu hastalıklar grubundaki bir JAK2 nokta mutasyonu (JAK2V617F), 2005 yılında araştırmacılar tarafından keşfedilmiş, bu MPD tanısı ve tedavisinde yeni bir çağa yol açmıştır. JAK2V617, ekson 14'te ekson v617'de meydana gelen bir nokta mutasyonudur ve valin (V), 30 fenilalanin (F) ile ikame edilir. JAK2'nin yapısında, JH1 kinaz alanıdır; ve Val617, bir psödokinaz alan olan JH1'e komşu olan JH2'de yer alır, JH1'e bağlanır ve bunun aktivasyonunu engeller. V617F mutasyonları, JH2'nin JH1 kinaz aktivitesi üzerindeki engelleyici etkisini kaybetmesine neden olarak, JAK2'nin sürekli aktivasyonuna yol açarak, geliştirilmiş hücre çoğalmasına neden olur [Kilpivaara O, Levine RL. JAK2 and MPL mutations in myeloproliferative neoplasms: discovery and science. 35 Leukemia. 2008; 22 (10):1813-7]. Polisitemik vera, esansiyel trombositemi ve idiyopatik miyelofibrozu hastalarında yüksek JAK2V617F mutasyonu insidansı vardır. Allel-Özel PCR ile polisitemik veralı hastalarda JAK2V617F mutasyon insidansının %90 olduğu; esansiyel trombositemi ve idiyopatik

miyelofibrozu hastalarda %50-%60 olduğu belirlendi [Baxter EJ, Scott LM, Campbell PJ, ve arkadaşları Lancet. 2005; 365 (9464): 1054-61]. V617F mutasyonu olmayan hastalarda JAK2 mutasyonu bulunmadan bu hastalıkların moleküler temeli belirsizdir. 2007'de JAK2V617F-negatif MPD hastalarında bir ekson 12 mutasyonu bulundu. Bu mutasyon aynı zamanda JH2'nin, miyeloproliferatif hastalıkları olan JAK2V617F-negatif hastalar için moleküler markörler ve genetik mekanizmalar sağlayan JH kinaz aktivitesi üzerindeki önleyici etkisini kaybetmesine neden olabilir [Scott LM, Tong W, Levine RL, ve arkadaşları JAK2 exon 12 mutations in polycythemia vera and idiopathic erythrocytosis. NEngl J Med 2007;356:459-68]. Normal fizyolojik koşullarda, JAK2, eritropoietin (EPO), trombopoietin (TPO), granülosit-makrofaj koloni uyarıcı faktör, interlökin-3 ve büyüme faktörü dahil olmak üzere çeşitli sitokinlerin sinyal transdüksiyonuna aracılık eder ve hücre proliferasyonunu düzenler ve destekler. JAK2 geni, hematopoetik'in ayarlanmasında önemli bir rol oynar ve bunun aşağı akım STAT ailesi DNA'ya bağlanan bir protein ailesidir. STAT ailesi JAK fosforlanmış sinyal yolu (JAK-STAT sinyal yolu) ile eşlenir ve transkripsiyonun düzenlenmesinde bir rol oynar. JAK-STAT, hücre dışı sinyalleri gen ifadesinin düzenlenmesi ile doğrudan ilişkilendirebilir, yanıt veren genlerin transkripsiyonunu ve ekspresyonunu başlatabilir, eritropoietin reseptörü (EPOR) ve trombopoietin reseptörü (MPL/TPOR) gibi sitokin reseptörlerinin sinyal transdüksiyon işlemini tamamlayabilir ve hücre çoğalması etkileriyle sonuçlanabilir.

Tofacitinib, bir pan jak inhibitörüdür, oldukça spesifik olmayan bir JAK2 inhibitörüdür, bunun yapısal formülü aşağıdaki gibidir:

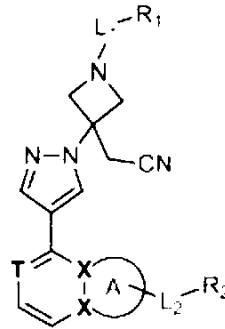


Tofacitinib

20

BULUŞUN KISA ÖZETİ

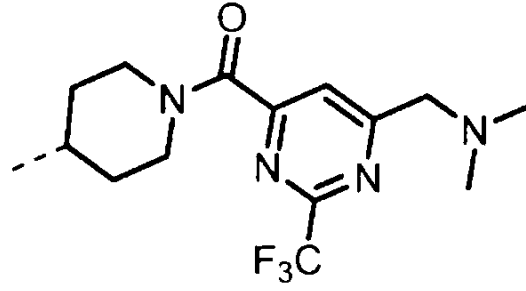
Bu buluşun bir amacı, Formül (I) 'in bir bileşimini veya bunun farmasötik olarak kabul edilebilir bir tuzunu sağlamaktır,



(I)

25 burada,

Ri, H'den veya şunlardan seçilir: C₁₋₆ alkil, C₁₋₆ heteroalkil, C₃₋₇ sikloalkil, 3-7 elemanlı heterosikloalkil, 5-6 elemanlı aril, 5-6 elemanlı heteroaril,



bu 1, 2, 3, veya 4 R ile isteğe bağlı olarak ikame edilebilir;

5 L₁, L₂ tek bir zincirden bağımsız olarak seçilir, -S(=O)₂-, -S(=O)-, -C(=O)-, -NHC(=O)-;

R₂, H'den veya NH₂, C₁₋₆ alkil, C₁₋₆ heteroalkil, C₃₋₇ sikloalkil, 3-7 elemanlı heterosikloalkil, 5-6 elemanlı aril, 5-6 elemanlı heteroaril'den seçilir, ki bunlar isteğe bağlı olarak 1, 2, 3, veya 4 R ile ikame edilebilecektir;

halka A, 5-6 elemanlı heteroaril'den seçilir;

10 X; N, C'den bağımsız olarak seçilir;

T; N veya C (R)'den seçilir;

R; H, halojen, NH₂, CN, OH'den seçilir veya C₁₋₃ alkil, C₁₋₃ heteroalkil, C₃₋₆ sikloalkil, 3-6 elemanlı heterosikloalkil, 5-6 elemanlı aril, 5-6 elemanlı heteroaril'den seçilir, ki bunlar isteğe bağlı olarak 1, 2, 3, veya 4 R ile ikame edilebilecektir;

15 R'; halojen, OH, CN, NH₂'den seçilir;

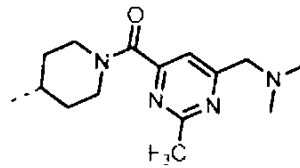
“hetero”, heteroatomları veya heterogrupları temsil eder ve O, S, N, C(=O), S(=O) veya S(=O)₂'den bağımsız olarak seçilir;

Heteroatomlar veya heterogrup atomlarının birkaçı, 0, 1, 2, 3, veya 4'den bağımsız olarak seçilir.

Buluşun bir uygulamasında R; H, halojen, OH, NH₂, CN'den bağımsız olarak seçilir veya C₁₋₃ alkil, C₁₋₃ alkoksi, C₁₋₃ alkilamino'dan seçilebilir, ki bunlar isteğe bağlı olarak 1, 2, 3, veya 4 R'ile ikame edilir.

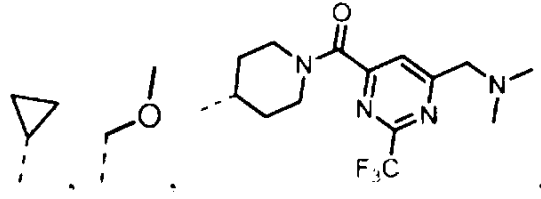
Buluşun bir uygulamasında R; H, F, Cl, Br, I, OH, CN, NH₂, Me, Et, N(CH₃)₂, NH(CH₃)'den seçilir.

Buluşun bir uygulamasında Ri, H'den seçilir veya C₁₋₃ alkil, C₃₋₆ sikloalkil, C₃₋₆ heterosikloalkil, C₁₋₃ alkil-O-C₁₋₃ alkil-, C₁₋₃ alkil-S-C₁₋₃ alkil-, C₁₋₃ alkil-NH-C₁₋₃ alkil-, C₁₋₆ alkoksi, C₁₋₃ alkilamino'dan seçilir,



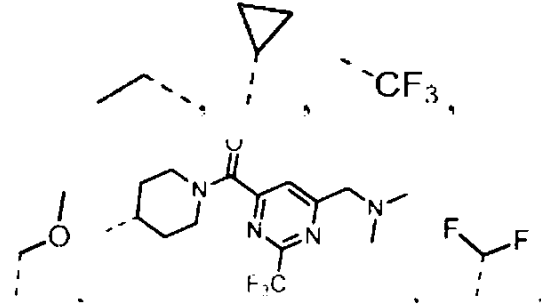
Buluşun bir uygulamasında, Ri, H,'den seçilir veya Me'den seçilir,





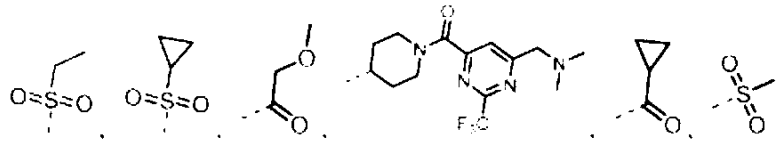
ki bu isteğe bağlı olarak 1, 2, 3, veya 4 R ile ikame edilir.

Buluşun bir uygulamasında R_i ; H, Me'den seçilir,



5

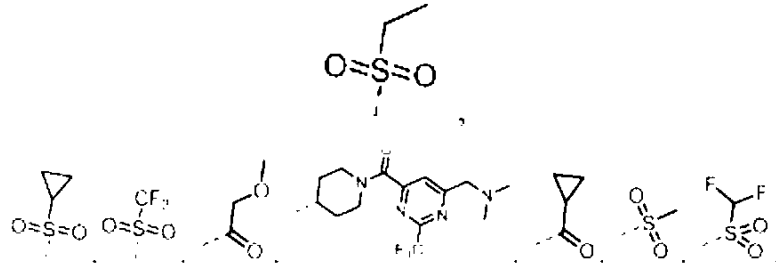
Buluşun bir uygulamasında, R_1-L_1-H 'den seçilir, veya şundan seçilir



bu isteğe bağlı olarak R ile ikame edilebilir.

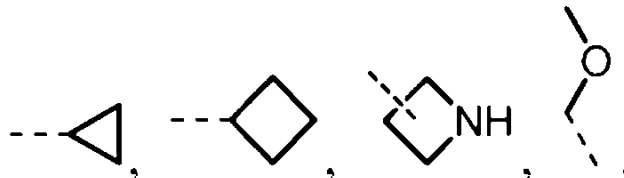
Buluşun bir uygulamasında, R_1-L_1-H 'den seçilir,

10



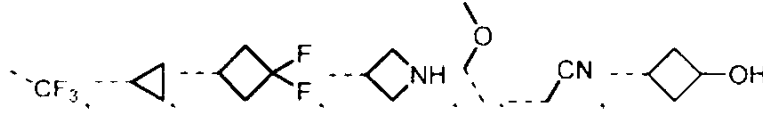
Buluşun bir uygulamasında, R_2 , H, NH_2 'den seçilir, veya C_{1-3} alkil, C_{3-6} sikloalkil, 3-6 elemanlı heterosikloalkil, C_{1-3} alkil-O- C_{1-3} alkil-, C_{1-3} alkil-S- C_{1-3} alkil-, C_{1-3} alkil-NH- C_{1-3} alkil-, C_{1-6} alkoksi, C_{1-6} alkilamino'da seçilebilir, bu isteğe bağlı olarak R ile ikame edilebilir.

15 Buluşun bir uygulamasında, R_2 ; H, NH_2 'den seçilir, veya Me'den seçilir,

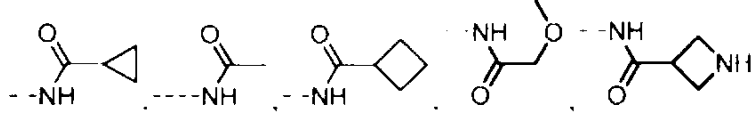


bu isteğe bağlı olarak R ile ikame edilebilir.

Buluşun bir uygulamasında , R_2 , H, NH_2 'den seçilir,

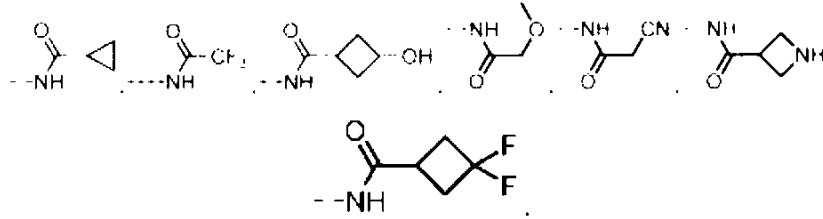


Buluşun bir uygulamasında , R_2-L_2 , H'den seçilir, veya NH_2 'den seçilir,



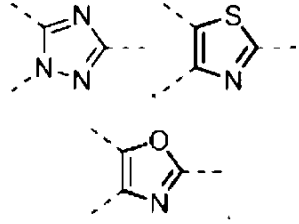
5 bu isteğe bağlı olarak R' ile ikame edilebilir.

Buluşun bir uygulamasında , R_2-L_2 ; H, NH_2 'den seçilir

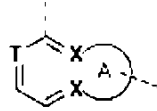


Buluşun bir uygulamasında , A halkası, 1, 3, 4-triazolil, imidazolil, oksazolil, tiyazolil'den seçilir.

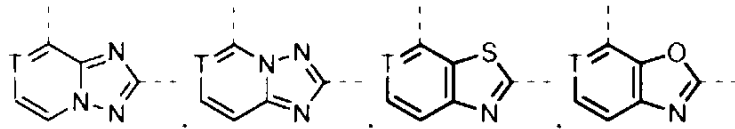
10 Buluşun bir uygulamasında , A halkası şundan seçilir:



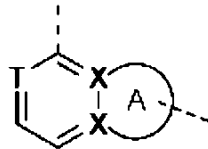
Buluşun bir uygulamasında , yapısal birim



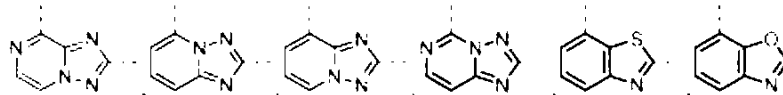
15 şundan seçilir:



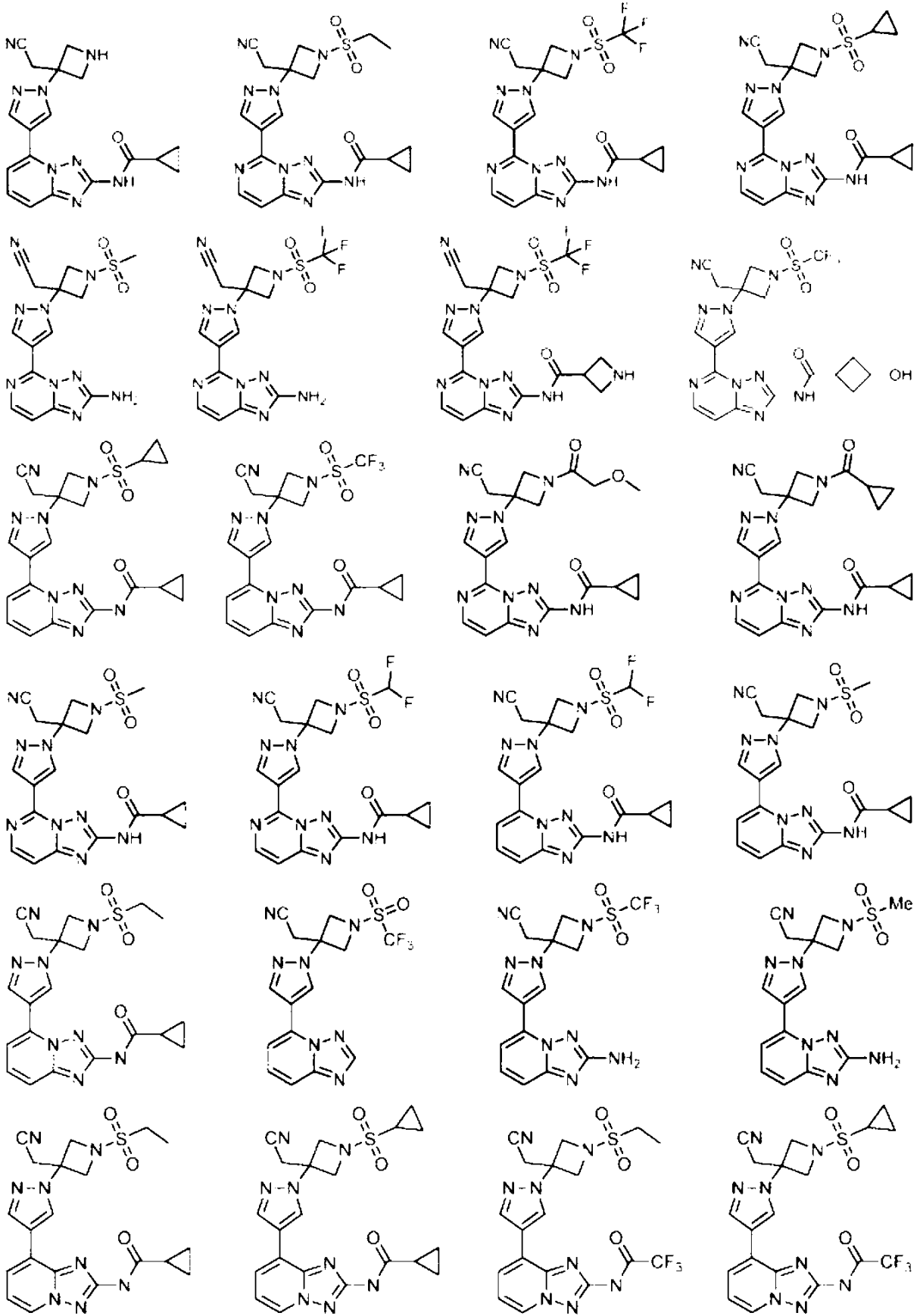
Buluşun bir uygulamasında , yapısal birim

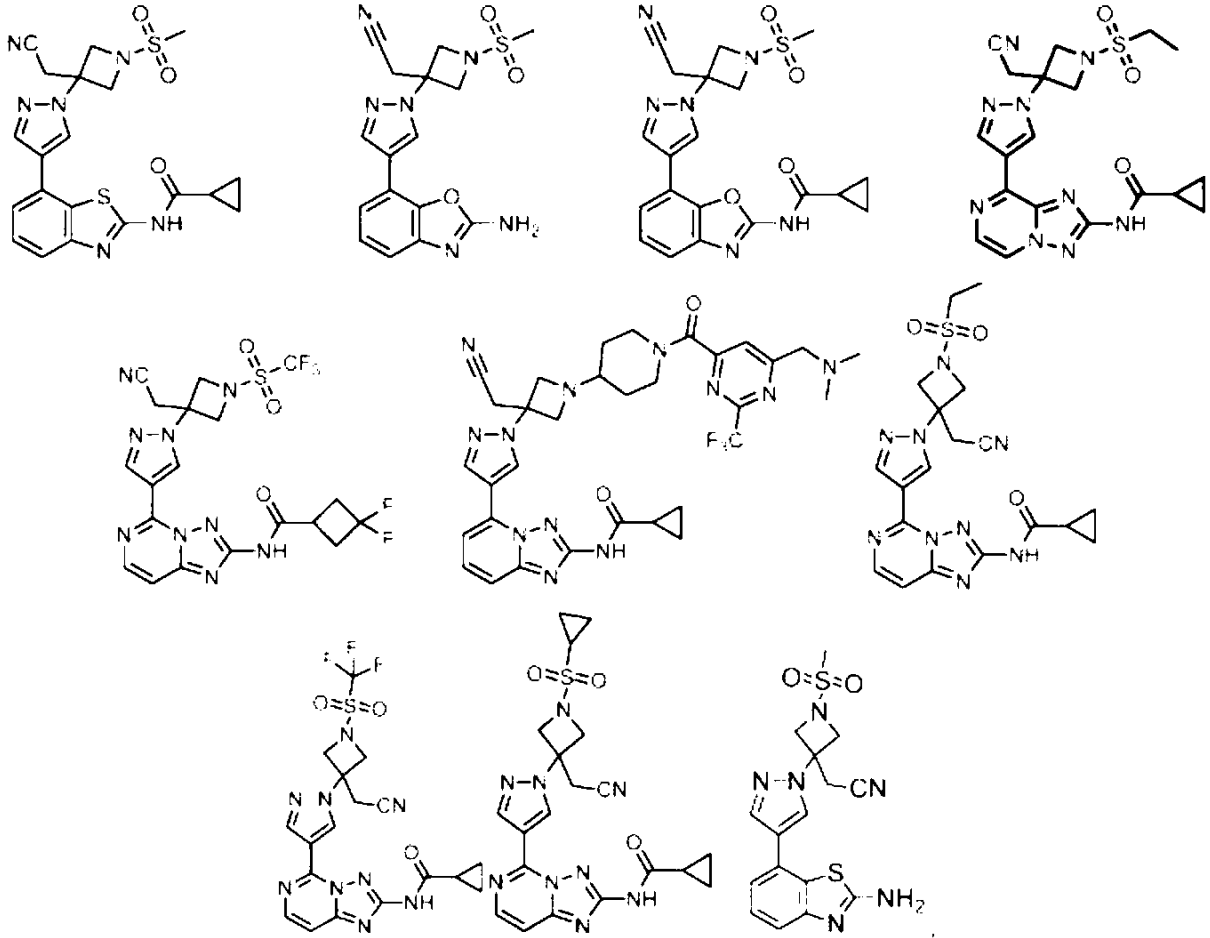


şundan seçilir:



Buluşun bileşiği şunlardan seçilir:





Tanımlar

- 5 Aksi belirtilmediği sürece burada kullanılan aşağıdaki terimler ve cümleler şu anlamlara sahiptir. Belirli bir terim veya cümlenin, belirli bir tanım olmadan belirsiz veya net olmadığı düşünülmemeli, ancak genel anlamıyla anlaşılmalıdır. Burada bir marka görüntülediğinde, ilgili ürün veya aktif bileşenine atıfta bulunulması amaçlanır.
- C_{1-6} ; C_1 , C_2 , C_3 , C_4 , C_5 , ve C_6 'dan seçilir; ' C_{3-7} '; C_3 , C_4 , C_5 , C_6 , ve C_7 'den seçilir; 3-7 elemanlı ise 3-elemanlıdan, 4-elemanlıdan, 5-elemanlıdan, 6-elemanlıdan, ve 7-elemanlıdan seçilir.
- Burada kullanıldığı, "farmasötik olarak kabul edilebilir" terimi, güvenilir tıbbi karar kapsamında, aşırı toksisite, tahriş, alerjik tepki veya diğer problem veya komplikasyonlar olmadan, makul bir fayda/risk oranı ile oranlı, insan ve hayvan dokuları ile temas halinde kullanım için uygun olan bileşikler, malzemeler, bileşimler ve/veya dozaj şekillerini belirtmek için kullanılır.
- 15 "Farmasötik olarak kabul edilebilir tuzlar" terimi, bu buluşun bileşik tuzlarını ifade eder, bunlar, bu buluşta bulunan nispeten toksik olmayan asitler veya bazlar ile belirli ikameleri içeren bileşiklerden hazırlanır. Bu buluşun bileşikleri nispeten asit özellikler içerdiğinde, baz ilaveli tuzları, bu bileşiklerin nötr biçimi ile ya saf bir solüsyonda ya da uygun bir etkisiz çözücüde, yeterli miktarda bir baz ile temas ederek elde edilebilir. Farmasötik olarak kabul edilebilir baz ilaveli tuzları, sodyum, lityum,
- 20 kalsiyum, amonyum, organik amonyum, magnezyum ve benzerini içerir. Bu buluşun bileşikleri nispeten temel özellikler içerdiğinde, asit ilaveli tuzları, yeterli miktarda asidi, ya saf bir solüsyonda

ya da uygun bir etkisiz çözücüde bu bileşiğin nötr biçimi ile temas ettirerek elde edilebilir. Farmasötik olarak kabul edilebilir asit ilaveli tuzların örnekleri, hidroklorik, hidrobromik, nitrik, karbonik, monohidrojenkarbonik, fosforik, monohidrofosforik, dihidrojenfosforik, sülfürik, monohidrojen sülfürik, hidriodik veya fosforik asitler ve benzeri gibi inorganik asitlerden türetilenleri ve ayrıca asetik, propiyonik, izobütirik, maleik, malonik, benzoik, süksinik, suberik, fumarik, laktik, mandelik, ftalik, benzensülfonik, p-toluensül fonik, sitrik, tartarik, metansülfonik ve benzerleri gibi organik asitlerden türetilmiş tuzları içerir. Ayrıca, arjinat ve benzerleri gibi amino asit tuzları ve glukuronik asitler ve benzerleri gibi organik asit tuzları da içerilir (bakınız, Berge ve arkadaşları, "Pharmaceutical Salts", Journal of Pharmaceutical Science 66: 1-19 (1977)). Bu buluşun bazı özel bileşikler, bileşiklerin ya baz ya da asit ilaveli tuzlara döndürülmesine izin veren hem bazik hem de asidik özellikleri içerir.

Tercihen, bileşiklerin nötr biçimleri, tuzun bir baz veya asit ile temas ettirilmesi ve ana bileşiğin geleneksel bir şekilde izole edilmesi ile yeniden üretilir. Bileşiğin ana biçimi, polar çözücüler içinde çözünürlük gibi belirli fiziksel özelliklerde çeşitli tuz biçimlerinden farklıdır.

Burada kullanıldığı gibi, "farmasötik olarak kabul edilebilir tuzlar", açıklanan bileşiğin türevlerine aittir, burada ana bileşik, mevcut bir asit veya bazın, tuz formuna dönüştürülmesiyle değiştirilir. Farmasötik olarak kabul edilebilir tuzların örnekleri, bunlarla sınırlı olmamak üzere, aminler gibi bazik kalıntıların inorganik veya organik asit tuzları; karboksilik asitler ve benzerleri gibi asidik kalıntıların alkali veya organik tuzlarını içerir. Farmasötik olarak kabul edilebilir tuzlar, örneğin toksik olmayan inorganik veya organik asitlerden oluşturulan ana bileşiklerin geleneksel toksik olmayan tuzlarını veya kuaterner amonyum tuzlarını içerir. Örneğin, bu tür geleneksel toksik olmayan tuzlar, bunlarla sınırlı olmamak üzere, 2-asetoksibenzoik, 2-hidroksietan sülfonik, asetik, askorbik, benzensülfonik, benzoik, bikarbonik, karbonik, sitrik, edetik, etan disülfonik, etan sülfonik, fumarik, glukohheptonik, glukonik, glutamik, glikolik, hidrobromik, hidroklorik, hidroiyodik, hidroksi, hidrosinaftoik, izetiyonik, laktik, laktobiyonik, laurik sülfonik, maleik, malik, mandelik, metan sülfonik, nitrik, oksalik, pamoik, pantotenik, fenilasetik, fosforik, poligalakturonik, propionik, salisilik, stearik, subasetik, süksinik, sülfamik, sülfanilik, sülfürik, tannik, tartarik, and p-tolüensülfonik asitlerden seçilmiş inorganik veya organik tuzlardan türetilmiş olanları içerir.

Bu buluşun farmasötik olarak kabul edilebilir tuzları, geleneksel kimyasal yöntemlerle bir asitik veya bazik parçasını içeren ana bileşikten sentezlenebilir. Genel olarak, bu tür tuzlar, bu bileşiklerin serbest asit veya baz biçimlerini, uygun baz veya asidin stoikiometrik bir miktarını, suda veya organik bir çözücüde veya ikisinin bir karışımı içinde reaksiyona sokulması suretiyle hazırlanabilir. Genel olarak, eter, etil asetat, etanol, izo-propanol veya asetonitril gibi sulu olmayan ortamlar tercih edilir.

Tuz formlarına ek olarak, bu buluş tarafından sağlanan bileşikler ayrıca ön ilaçlar biçimindedir. Burada tarif edilen bileşiklerin ön ilaçları, bu buluşun bileşiklerine dönüşmek için fizyolojik koşullar altında kolayca kimyasal değişikliklere uğrayan bileşiklerdir. İlave olarak ön ilaçlar canlı içi ortamda kimyasal veya biyokimyasal yöntemlerle bu buluşun bileşiklerine dönüştürülebilir.

Bu buluşun bileşikleri çözünmemiş biçimlerde ve ayrıca hidratlaştırılmış biçimleri içeren çözülmüş biçimlerde de mevcut olabilir. Genel olarak, çözülmüş biçimler çözülmemiş biçimlere eşdeğerdir ve bu buluşun kapsamında olması amaçlanır.

Bu buluşun bazı bileşikleri asimetrik karbon atomlarına (optik merkezler) veya çift bağlara sahiptir.

- 5 Rasemik karışımların, diastereomerlerin, geometrik izomerlerin ve tek tek izomerlerin hepsinin bu buluşun kapsamı dahilinde olması amaçlanır.

Burada kullanılan rasemik, ambiskalemik, skalemik veya enantiyomerik olarak saf bileşiklerin grafik gösterimi şuradan alınmıştır: Maehr, J. Chem. Ed. 1985, 62: 114-120. Aksi belirtilmedikçe, kamalar ve kesik çizgiler, bir stereo merkezin mutlak konfigürasyonunu belirtmek için kullanılır. Burada tarif edilen bileşikler, olefinik çift bağlar veya diğer geometrik asimetri merkezleri içerdiğinde ve aksi belirtilmediği sürece, hem E hem de Z'nin geometrik izomerleri içermesi amaçlanmıştır. Tüm totomerler de bu buluşun kapsamında yer alır.

- 10 Bu buluşun bileşikleri özellikle geometrik veya izometrik biçimlerde mevcut olabilir. Bu buluş, cis- ve trans izomerler, (-) - ve (+) - çift enantiyomerler, R- ve S- enantiyomerler, diastereomerler, (D) - izomerler, (L) -izomerler, bu buluşun kapsamında olan enantiyomerlerin veya diastereomerlerin zenginleştirilmiş karışımı gibi bunların rasemik karışımını içeren bu bileşiklerin tümünü dikkate alır. İlave asimetrik karbon atomlar, bir alkil grup gibi bir ikamede mevcut olabilir. Bu izomerlerin tümünün ve ayrıca bunları karışımlarının bu buluşta içerilmesi amaçlanır.

- 20 Optik olarak-aktif R-ve S- enantiyomerler ve (D)- ve (L)-izomerler, kiral sentez ile veya kiral belirteçler ile veya başka diğer geleneksel tekniklerle hazırlanabilir. Bu buluşun belli bir bileşiğinin bir enantiyomeri istenirse, bu asimetrik sentez ile veya bir kiral yardımcı ile üretmeyle hazırlanabilir, burada elde edilen diastereomerik karışım ayrılır ve yardımcı grup, istenen saf enantiyonmerleri sağlamak için bölünür. Alternatif olarak molekülün amino gibi temel bir fonksiyonel grubu veya karboksil gibi bir asitik fonksiyonel grubu içerdiği durumda, diastereomerik tuzlar uygun bir optik olarak-aktif asit veya baz ile oluşturulur; bunu teknikte iyi bilinen çözünürlük araçları ile bu şekilde oluşturulmuş diastereomerlerin çözünürlüğü ve saf enantiyonmerlerin takip eden geri kazanılması takip eder. İlave olarak enantiyonmerlerin ve diastereomerlerin ayrımı genel olarak, kiral durgun fazı kullanan kromatografiyi kullanarak ve isteğe bağlı olarak kimyasal türetme yöntemi ile birlikte gerçekleştirilebilir (örn. aminler'den karbamatların oluşumu).

- 30 Bu buluşun bileşikleri, bu bileşikleri meydana getiren bir veya daha fazla atomlarda atomik izotopların doğal olmayan kısımlarını da içerebilir. Örneğin bileşikler trityum (^3H), iyon-125 (^{125}I), veya karbon-14 (^{14}C) gibi radyoaktif izotopları kullanılarak etiketlenebilir. İster radyoaktif olsun veya ister olmasın, bu buluşun bileşiklerinin tüm izotopik çeşitliliklerinin bu buluşun kapsamında olması amaçlanır.

- 35 "Farmasötik olarak kabul edilebilir taşıyıcılar" terimi, aktif maddenin biyolojik aktivitesine müdahale etmeden ve konakçıya veya hastaya toksik yan etkisi olmayan, bu buluşun aktif maddesinin etkili bir miktarını verebilen herhangi bir formülasyon veya taşıyıcı ortam anlamına gelir.

Temsilci taşıyıcılar arasında su, yağlar, sebzeler ve mineraller, krem baz, losyon matrisi, merhem matrisi ve benzerleri bulunur. Bu matrisler, formülasyonları kozmetik veya yerel ilaçlar alanında uzman kişilerce iyi bilinen süspansiyon ajanlarını, yapıştırıcıları, transdermal güçlendiricileri ve benzerlerini içerir. Taşıyıcılar hakkında ilave bilgiler ile ilgili olarak, buraya referans olarak dahil edilmiş olan Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21st Ed., Lippincott, Williams & Wilkins (2005)" içeriğine başvurunuz.

"Eksipiyan" terimi genellikle etkili bir farmasötik kompozisyonun hazırlanması için gereken taşıyıcı, seyreltici ve/veya ortamı ifade eder.

İlaç veya farmakolojik olarak aktif madde için, "etkili miktar" veya "terapötik olarak etkili miktar" terimi, istenen etkiyi sağlamak için toksik olmayan, ancak yeterli miktarda ilacı veya ajanı ifade eder.

Bu buluştaki oral dozaj için, bileşimdeki bir aktif maddenin "etkili miktarı", bileşimdeki başka bir aktif madde ile kombinasyon halinde kullanıldığında istenen etkiyi elde etmek için gereken miktarı ifade eder. Etkili miktar, belirli aktif maddeye de bağlı olarak, bireyin yaşına ve genel durumuna bağlı olarak denekten deneğe değişecektir. Bu nedenle kesin bir "etkili miktarı" tanımlamak her zaman mümkün değildir. Bununla birlikte, herhangi bir bireysel durumda uygun bir "etkili" miktar, geleneksel deneylere uygun olarak teknikte sıradan uzmanlığa sahip biri tarafından belirlenebilir.

"Aktif bileşen", "terapötik madde", "aktif madde" veya "aktif madde" terimleri, bir hedef bozukluğu, hastalık veya durumun tedavisinde etkili olan kimyasal bir varlık anlamına gelir.

"İkame edilmiş" terimi, belirtilen atomun değerliğinin normal olması ve ikamenin kararlı bir bileşik ile sonuçlanması şartıyla, belirtilen atomdaki herhangi bir veya daha fazla hidrojen atomunun, ikame edici ile değiştirildiği anlamına gelir. İkame keto (yani, =O) olduğunda daha sonra iki hidrojen atomu ikame edilir. Keto ikameleri aromatik kısımlarda mevcut değildir. "İsteğe bağlı olarak ikame edilmiş" terimi, ikame edilebileceği veya ikame edilemeyeceği anlamına gelir, aksi belirtilmedikçe ikame edicilerin tipi ve sayısı, isteğe bağlı olarak kimyasal olarak elde edilebilir bazda olabilir.

Herhangi bir değişken (örneğin, R) bir bileşik için bileşen veya formülde bir kereden daha fazla meydana geldiğinde, bunun her oluşumdaki tanımı bağımsızdır. Böylece, örneğin, bir grubun 0-2 R ile ikame edildiği gösterilirse, sonra anılan grup isteğe bağlı olarak iki R grubuyla ikame edilebilir ve her seferinde R, R tanımından bağımsız olarak seçilir.

Ayrıca, ikame edicilerin ve/veya değişkenlerin kombinasyonlarına yalnızca bu kombinasyonların kararlı bileşiklerle sonuçlanması durumunda izin verilir.

Değişkenlerden biri tek bir bağdan seçildiğinde, bağlı oldukları iki grubun doğrudan bağlandığını gösterir, örneğin, A-L-Z'deki L tek bir bağı temsil ettiğinde, yapı aslında A-Z'dir.

Bir ikame için olan bir bağın, bir halkadaki iki atomu bağlayan bir bağı geçtiği gösterildiğinde, bu ikame, halka üzerindeki herhangi bir atoma bağlanabilir. Bir ikame, böyle bir ikamenin belirli bir formülün kalan kısmına bağlandığı atom belirtilmeden listelendiğinde, o zaman bu ikame, bu tür ikamedeki herhangi bir atom aracılığıyla bağlanabilir. İkamelerin ve/veya değişkenlerin bileşimlerine, sadece bu bileşimler sabit bileşikler ile sonuçlandığında izin verilir. Örneğin, yapısal birim



veya



sikloheksil grup veya sikloheksadien grup üstündeki herhangi bir konumda bunun ikame edilebileceğini gösterir.

5

Alkil ve heteroalkil radikaller için ikameler genel olarak "alkil ikameleri" olarak adlandırılır ve şunlardan seçilen gruplardan biri veya daha fazlası olabilir, ama bunlarla sınırlı değildir: -R', -OR', =O, =NR', =N-OR', -NR'R", -SR', halojen, -SiR'R"R"', OC(O)R', -C(O)R', -CO₂R', -CONR'R", -OC(O)NR'R", -NR"C(O)R', NR'C(O)NR"R"', -NR"C(O)₂R', -NR''''-C(NR'R"R'')=NR''', NR''''C(NR'R'')=NR''', -S(O)R', -S(O)₂R', -S(O)₂NR'R", NR"SO₂R', -CN, -NO₂, -N₃, -CH(Ph)₂, ve sıfır ila (2m'+1) arasında bir sayıda floro (C₁-C₄) alkil, burada m' bu radikallerdeki karbon atomlarının toplam sayısıdır. R', R", R"', R'''' ve R''''''nin her biri tercihen bağımsız olarak hidrojeni, ikame edilmiş veya ikame edilmemiş heteroalkili, ikame edilmiş veya ikame edilmemiş arili, örneğin 1-3 halojen ile ikame edilmiş arili, ikame edilmiş veya ikame edilmemiş alkili, alkoksi veya tioalkoksi grupları veya aryalkil grupları ifade eder. Bu buluşun bir bileşiği birden fazla R grubunu içerdiğinde, örneğin, R gruplarının her biri, bu grupların birden fazlası mevcut olduğunda, her bir R', R", R"', R'''' ve R'''''' grupları olarak bağımsız olarak seçilir. R' ve R" aynı nitrojen atomuna bağlandığında, bunlar bir 5-, 6-, veya 7- elemanlı halka meydana getirmek için nitrojen atomu ile birleştirilebilir. Örneğin -NR'R"nin 1-pirolidinil ve 4-morfolinil içerdiği ama bunlarla sınırlı olmadığı anlamına gelir. İkamelerin yukarıdaki tartışmasından, teknikte bilgili biri "alkil" teriminin, hidrojen grupları, örneğin haloalkil (örn., -CF₃ ve -CH₂CF₃) ve asil (örn., -C(O)CH₃, -C(O)CF₃, -C(O)CH₂OCH₃, ve benzeri) dışındaki gruplara bağlı karbon atomlarını içeren grupları kapsadığını anlayacaktır.

10

15

20

25

30

Alkil radikal için tanımlanan ikamelere benzer şekilde, aril ikameler ve heteroaril ikameler genel olarak "aril ikameleri" olarak adlandırılır ve örneğin şunlardan seçilir: aromatik halka sistemindeki sıfır ila toplam kalem değerleri sayısı arasında olan -R', -OR', -NR'R", -SR', -halojen, -SiR'R"R"', OC(O)R', -C(O)R', -CO₂R', -CONR'R", -OC(O)NR'R", -NR"C(O)R', NR'C(O)NR"R"', -NR"C(O)₂R', -NR''''-C(NR'R"R'')=NR''', NR''''C(NR'R'')=NR''', -S(O)R', -S(O)₂R', -S(O)₂NR'R", NR"SO₂R', -CN, -NO₂, -N₃, -CH(Ph)₂, floro (C₁-C₄)alkoksi, ve floro (C₁-C₄)alkil; ve burada R', R", R"', R'''' ve R''''''', tercihen hidrojen, ikame edilmiş veya ikame edilmemiş akilden, ikame edilmiş veya ikame edilmemiş heteroalkilden, ikame edilmiş veya ikame edilmemiş arilden ve ikame edilmiş veya edilmemiş heteroarilden bağımsız olarak seçilir. Bu buluşun bir bileşiği birden fazla R grubu içerdiğinde, örneğin, R gruplarının her biri bağımsız olarak, bu grupların birden fazlası mevcut olduğunda her R', R", R"', R'''' ve R'''''' grubu olarak seçilir.

35

Aksi belirtilmediği sürece, aril veya heteroaril halkasının komşu atomları üstündeki aril ikamelerinin ikisi, -T-C(O)-(CRR')_q-U- formülünün bir ikamesi ile isteğe bağlı olarak değiştirilebilir, burada T ve

U; -NR-, -O-, CRR'-den veya tek bir bağdan bağımsız olarak seçilir ve q, 0'dan 3'e kadar bir tam sayıdır. Alternatif olarak aril veya heteroaril halkasının komşu atomları üstündeki ikamelerinin ikisi, -A- (CH₂)-B- formülünün bir ikamesi ile isteğe bağlı olarak değiştirilebilir, burada A ve B; -CRR'-, -O-, -NR-, -S-, -S(O)-, -S(O)₂-, -S(O)₂NR'-den veya tek bir bağdan bağımsızdır ve r, 1'den 4'e kadar bir tam sayıdır. İsteğe bağlı olarak, oluşturulan yeni halkanın tekli bağlarından biri, bir çift bağ ile değiştirilebilir. Alternatif olarak aril veya heteroaril halkasının iki komşu atomu üzerindeki ikamelerin ikisi, isteğe bağlı olarak - (CRR')_s-X- (CR''R''')_d- formülünün bir ikamesi ile değiştirilebilir, burada s ve d 0 ila 3 arasındaki bağımsız tam sayıdır ve X; O-, NR'-, -S-, -S(O)-, -S(O)₂-, veya -S(O)₂NR'-dir. İkame R, R', R'' ve R''' tercihen hidrojenen veya ikame edilmiş veya ikame edilmemiş (C₁-C₆) alkilden bağımsız olarak seçilir.

"halo" veya "halojen" terimleri başka bir ikamenin parçası olarak, aksi belirtilmedikçe, bir florin, klor, bromin, veya iyon atomunu ifade eder. İlave olarak "haloalkil" gibi terimlerin monohaloalkil ve polihaloalkil içermesi ifade edilir. Örneğin "halo (C₁-C₄)alkil" teriminin triflorometil, 2,2,2-trifloroetil, 4-klorobütül, 3-bromopropil, ve benzerini içermesini ama bununla sınırlı olmamasını ifade eder.

Haloalkil örnekleri, triflorometil, triklorometil, pentafloroetil, ve pentakloroetil'i içerir ama bununla sınırlı değildir. "Alkoksi", bir oksijen köprüsüne boyunca eklenmiş, gösterilen sayıda karbon atomuyla yukarıda tanımlandığı gibi bir alkil grubunu temsil eder. C₁₋₆ alkoksi; C₁, C₂, C₃, C₄, C₅ ve C₆'nın alkoksisini içerir. Alkoksi örnekleri metoksi, etoksi, n-propoksi, i-propoksi, n-bütoksi, s-bütoksi, t-bütoksi, n-pentoksi, ve spentoksi'yi içerir ama bunlarla sınırlı değildir. "Sikloalkil"; siklopropil, siklobütül, veya siklopentil gibi doymuş halka gruplarını içermek için amaçlanır. C₃₋₇ sikloalkil; C₃, C₄, C₅, C₆ ve C₇'nin sikloalkil'ini içerir. "Alkenil" düz veya dallanmış bir yapılandırmaya sahip hidrokarbon zincirleri ve etenil ve profenil gibi zincir boyunca herhangi bir sabit noktada meydana gelebilecek bir veya daha fazla karbon-karbon çift bağ içermesi amaçlanmaktadır.

Burada kullanıldığı gibi "halo" veya "halojen" terimleri, floro, kloro, bromo, ve iyotu ifade eder. Aksi belirtilmedikçe, "hetero" terimi karbon (C) ve hidrojen (H) dışındaki atomlarını içeren bir heteroatomu veya heteroatom radikalini (yani bir heteroatomu içeren bir atomik radikal) ve örneğin oksijen (O), nitrojen (N), sülfür (S), silikon (Si), germanyum (Ge), alüminyum (Al), boron (B), -O-, -S-, =O, =S, -C(=O)O-, -C(C=O)-, -S(=O), -S(=O)₂-, 'yi içeren ve isteğe bağlı olarak -C(=O)N(H)-, -N(H)-, -C(=NH)-, -S(=O)₂N(H)- veya -S(=O)N(H)- ikame edilen bu heteroatomları içeren atomik radikal anlamına gelir.

Aksi belirtilmedikçe, "siklo"; bir ikame edilmiş veya ikame edilmemiş, heterosikloalkil, sikloalkenil, heterosikloalkenil, sikloalkinil, heterosikloalkinil, aril veya heteroarili ifade eder. Halka; monosiklik halkayı, bisiklik halkayı, spiro halkayı veya köprülü halkayı içerir. Halkadaki atomların sayısı genellikle eleman halkaların sayısı olarak tanımlanır, örneğin "5- ila 7-elemanlı halka"; 5 ila 7 atomlarının çevre düzenlemesini ifade eder. Aksi belirtilmedikçe, halka isteğe bağlı olarak 1 ila 3 heteroatomlarını içerir. Böylece "5- ila 7-elemanlı halka" terimi örneğin fenil, pridil ve piperidinil

içerir. Diğer taraftan "5- ila 7-elemanlı heterosikloalkil halkası" terimi pridil ve piperidinil'i içerir ama fenil'i içermez. "siklo" terimi ayrıca en az bir halkayı içeren siklik sistemi de içerir, burada her bir "siklo" bağımsız olarak yukarıdaki tanımlamayı karşılar.

- Aksi belirtilmedikçe, "heterosikl" veya "heterosiklik grup" terimi, doymuş, kısmi olarak doymamış veya tamamen doymamış (aromatik) olan ve karbon atomlarından ve N, O ve S'den oluşan gruptan bağımsız olarak seçilmiş 1, 2, 3 veya 4 siklik heteroatomlarından oluşan; ve yukarıda tanımlanan heterosiklik halkaların herhangi birinin bir benzen halkasına kaynaşık olduğu herhangi bir bisiklik grubu içeren, heteroatom veya heteroatom radikali içeren sabit bir monosiklik veya bisiklik veya trisiklik halkayı ifade etmek için amaçlanır. Nitrojen ve sülfür heteroatomları isteğe bağlı olarak oksitlenebilir (NO, ve S (O)p). Nitrojen atomu ikame edilebilir veya ikame edilmeyebilir (yani, N veya NR, burada R; H veya hâlihazırda burada tanımlanmış diğer ikameler olabilir). Heterosiklik halka, sabit bir yapıya yol açan herhangi bir heteroatom veya karbon atomunda pendant grubuna bağlanabilir. Eğer oluşan bileşik sabitse, burada tanımlanan heterosiklik halka, karbon veya bir nitrojen atomu üstünde ikame edilebilir. Heterosikldeki bir nitrojen isteğe bağlı olarak kuaternize edilebilir.
- Heterosikldeki toplam S ve O atomlarının sayısı 1'i aştığında, bu heteroatomların birbirine bitişik olmaması tercih edilir. Heterosikldeki toplam S ve O atom sayısının 1'den fazla olmaması tercih edilir. Burada kullanıldığı gibi, "aromatik heterosiklik sistem" veya "heteroaril grup" teriminin sabit bir 5, 6, 7-elemanlı monosiklik veya bisiklik veya 10-elemanlı bisiklik heterosiklik aromatik halkayı ifadesi etmesi amaçlanır ve bu; karbon atomlarından ve N, O ve S'den oluşan gruptan bağımsız olarak seçilmiş 1, 2, 3 veya 4 siklik heteroatomlardan oluşur. Nitrojen atomu ikame edilmiş veya ikame edilmemiş olabilir (yani, N veya NR, burada R; H veya burada hâlihazırda tanımlanmış olan diğer ikamelerdir). Nitrojen ve sülfür heteroatomları isteğe bağlı olarak oksitlenebilir (NO, ve S (O)p). Aromatik heterosikldeki toplam S ve O atom sayısının 1'den fazla olmadığı belirtilmiştir.
- Köprülü halkalar da heterosikl tanımına dahil edilmiştir. Bir veya daha fazla atom (yani, C, O, N veya S) bitişik olmayan iki karbon veya nitrojen atomunu bağladığında köprülü bir halka meydana gelir. Tercih edilen köprüler bunlarla sınırlı olmamak üzere bir karbon atomu, iki karbon atomu, bir nitrojen atomu, iki nitrojen atomu ve bir karbonnitrojen grubu içerir. Bir köprünün her zaman bir monosiklik halkasını bir trisiklik halkasına dönüştürdüğü belirtilmektedir. Köprülü halkada halka için anlatılan ikameler köprü üstünde de mevcut olabilir. Heterosiklik bileşiklerin örnekleri bunlarla sınırlı olmamak üzere akridinil, azosinil, benzimidazolil, benzofuranil, benzotiyofuranil, benzotiyofenil, benzoksazolil, benzoksazolilil, benztiyazolil, benztriazolil, benztetrazolil, benzisoksazolil, benzisotiyazolil, benzimidazonil, karbazolil, 4aH-karbazolil, karbolinil, kromanil, kromenil, sinolinil, dekahidrokinolinil, 2H, 6H-1,5,2-ditiyazinil, dihidrofuro[2,3-b]tetrahidrofuran, furanil, furazanil, imidazolidinil, imidazolilil, imidazolil, 1H-indazolil, indolenil, indolinil, indolizininil, indolil, 3H-indolil, izatinoil, izobenzofuranil, piranil, izoindolil, izoindolinil, indolil, izokinolinil, izotiyazolil, izoksazolil, metilenedioksifenil, morfolinil, naftiridinil, oktahidroizokinolinil, oksadiazolil, 1,2,3-oksadiazolil, 1,2,4-oksadiazolil, 1,2,5-oksadiazolil, 1,3,4-oksadiazolil, oksazolidinil, oksazolil,

izooksazolil, hidroksiindolil, pirimidil, fenantridinil, fenantrolinil, fenazinil, fenotiyazinil, fenoksazinil, benzoksanthinil, ftalazinil, piperazinil, piperidinil, piperidonil, 4-piperidonil, piperonil, pteridinil, purinil, piranil, pirazinil, pirazolidinil, pirazolinil, pirazolil, piridazinil, piridooksazol, piridoimidazol, piridotiyazol, piridinil, pirimidinil, pirolidinil, pirolinil, 2H-pirolil, pirolil, pirazolil, kinazolinil, kinolinil, 4H-kinolizinil, kinoksalinil, kinuklidinil, tetrahidrofuranil, tetrahidroisokinolinil, tetrahidrokinolinil, tetrazolil, 6H-1,2,5-tiyadiazinil, 1,2,3-tiyadiazolil, 1,2,4-tiyadiazolil, 1,2,5-tiyadiazolil, 1,3,4-tiyadiazolil, tiyantrenil, tiyazolil, izotiyazolotienil, tienil, tienotiyazolil, tienooksazolil, tienoimidazolil, tiyofenil, triazinil, 1,2,3-triazolil, 1,2,4-triazolil, 1,2,5-triazolil, 1,3,4-triazolil, ve ksanthenil'i içerir. Ayrıca kaynaşmış halka ve spiro bileşikleri de dahil edilmiştir.

10 "hidrokarbil" terimi veya bunun özel terimi (örneğin alkil, alkenil, alkinil, fenil, ve benzeri), kendisi veya başka bir ikamenin parçası olarak aksi belirtilmedikçe düz veya dallı bir zinciri, veya siklik hidrokarbon radikali veya bunların kombinasyonu ifade eder, bu tamamen doymuş, mono veya poli doymamış olabilir ve tek-, iki- veya çok-ikameli olabilir ve tek değerlikli (metil gibi), iki değerlikli (metilen gibi) veya çok değerlikli (metenil gibi) olabilir ve belirlenmiş karbon atomlarının sayısına

15 sahip olan iki- ve çok değerlikli radikalleri içerebilir (yani C_1-C_{10} , bir ila on karbon anlamına gelir). "Hidrokarbil", alifatik ve aromatik hidrokarbonu içerir ama bununla sınırlı değildir. Alifatik hidrokarbon; lineer ve siklik hidrokarbonu içerir, bu özel olarak alkil, alkenil, alkinil içerir ama bununla sınırlı değildir. Aromatik hidrokarbon, bununla sınırlı olmamak üzere fenil, naftil ve benzerleri gibi 6-12 elemanlı aromatik hidrokarbonu içerir. Bazı uygulamalarda "hidrokarbil" terimi,

20 tamamen doymuş, tekli veya çoklu doymamış ve iki- ve çok değerlikli radikalleri içerebilen bir düz veya dallanmış zincir radikalini veya bunların kombinasyonunu ifade eder. Doymuş hidrokarbon radikallerinin örnekleri bunlarla sınırlı olmamak üzere metil, etil, npropil, izopropil, n-bütül, t-bütül, izobütül, sek-bütül, izobütül, sikloheksil, (sikloheksil)metil, siklopropilmetil, homologlar ve n-pentil, n-heksil, n-heptil, n-oktil, ve benzerinin izomerleri gibi grupları içerir. Bir doymamış alkil grubu, bir

25 veya daha fazla çift bağa veya üçlü bağa sahiptir. Doymamış alkil grubunun örnekleri bunlarla sınırlı olmamak üzere vinil, 2-propenil, butenil, krotil, 2-izopentenil, 2- (butadienil), 2,4-pentadienil, 3- (1,4-pentadienil), etinil, 1- and 3-propinil, 3-butenil, ve daha yüksek homologları ve izomerleri içerir.

Aksi belirtilmedikçe, "heterohidrokarbil" terimi veya bunun özel terimi (örneğin heteroalkil, heteroalkenil, heteroalkinil, heterofenil, ve benzeri), kendi başına veya başka bir terim ile birlikte,

30 sabit bir düz veya dallanmış zinciri veya birkaç karbon atomu ve en az bir heteroatomdan oluşan siklik hidrokarbon radikalini veya bunların kombinasyonlarını ifade eder. Bazı uygulamalarda, "heteroalkil" terimi, kendi başına veya başka bir terim ile birlikte, sabit bir düz veya dallanmış zinciri veya bir dizi karbon atomu ve en az bir heteroatomdan oluşan siklik hidrokarbon radikali veya bunların kombinasyonlarından anlamına gelir. Temsili bir uygulamada, heteroatom; B, O, N, ve S'den

35 oluşan gruptan seçilir ve burada nitrojen ve sülfür atomları isteğe bağlı olarak oksitlenebilir ve nitrojen heteroatomu isteğe bağlı olarak kuaternize edilir. Heteroatom veya heteroatom radikali; heteroalkil grubun bir iç kısmında yer alabilir (hidrokarbil grubunun molekülün geri kalanına bağlı olduğu

pozisyonda dahil). Örnek şunları içermekle birlikte bunlarla sınırlı değildir, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2$, $-\text{S}(\text{O})-\text{CH}_3$, $-\text{CHZ}-\text{CHZ}-\text{S}(\text{O})_2-\text{CH}_3$, $-\text{CH}=\text{CH}-\text{O}-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{N}-\text{OCH}_3$ ve $-\text{CH}=\text{CH}-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{CH}_3$. İki heteroatom ardışık olabilir, örneğin $-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{OCH}_3$.

5 Aksi belirtilmedikçe, "alkoksi", "alkilamino" ve "alkiltiyo" (veya tiyoalkoksi) terimleri kendi geleneksel anlamlarında kullanılır ve molekülün geri kalanına sırasıyla bir oksijen atomu, bir amino grup veya bir sülfür atomu yoluyla bağlanan alkil gruplarını ifade eder.

Aksi belirtilmedikçe, "siklohidrokarbil" and "heterosiklohidrokarbil" terimleri veya bunların özel terimi (örneğin aril, heteroaril, sikloalkil, heterosikloalkil, sikloalkenil, heterosikloalkenil, sikloalkinil, heterosikloalkinil, ve benzeri), kendi başlarına veya diğer terimlerle birlikte, sırasıyla "hidrokarbil" ve "heterohidrokarbil" in siklik versiyonları temsil eder. İlave olarak heterohidrokarbil veya heterosiklohidrokarbil (heteroalkil, heterosikloalkil gibi) için bir heteroatom, heterosiklin molekülün geri kalanına bağlı olduğu pozisyonda kalabilir. Sikloalkilin örnekleri bunlarla sınırlı olmamak üzere siklopentil, sikloheksil, 1-sikloheksenil, 3-sikloheksenil, sikloheptil, ve benzerini içerir. Heterosiklik radikallerinin sınırlayıcı olmayan örnekleri 1- (1,2,5,6-tetrahidropiridil), 1-piperidinil, 2-piperidinil, 3-piperidinil, 4-morfolinil, 3-morfolinil, tetrahidrofuran-2-yl, tetrahidrofuran indol-3-yl, tetrahidrotien-2-yl, tetrahidrotien-3-yl, 1-piperazinil, 2-piperazinil, ve benzerlerini içerir.

"Aril" terimi ile, aksi belirtilmedikçe, tekli, ikili- veya çoklu-ikame edilmiş olabilen ve tek değerli, iki değerli veya çok değerli olabilen ve birlikte kaynaşık veya eşdeğerli bir şekilde bağlanmış tek bir halka veya çoklu halka olabilen (örneğin 1 ila 3 halkaları; burada en az bir halka aromatiktir) çoklu doymamış, aromatik, hidrokarbon bir ikame ifade edilir. "Heteroaril" terimi bir ila dört heteroatom içeren aril grupları (veya halkaları) ifade eder. Örnek bir uygulamada, heteroatom B, N, O ve S'den seçilir, burada nitrojen ve sülfür atomları isteğe bağlı olarak oksitlenir ve nitrojen atomu (atomları) isteğe bağlı olarak kuaternize edilir. Bir heteroaril grubu, molekülün geri kalanına bir heteroatom vasıtasıyla bağlanabilir. Aril veya heteroaril gruplarının sınırlayıcı olmayan örnekleri fenil, 1-naftil, 2-naftil, 4-bifenil, 1-pirolil, 2-pirolil, 3-pirolil, 3-pirazolil, 2-imidazolil, 4-imidazolil, pirazinil, 2-oksazolil, 4-oksazolil, 2-fenil-4-oksazolil, 5-oksazolil, 3-izoksazolil, 4-isoksazolil, 5-isoksazolil, 2-tiyazolil, 4-tiyazolil, 5-tiyazolil, 2-füril, 3-füril, 2-tienil, 3-tienil, 2-pridil, 3-pridil, 4-pridil, 2-pirimidil, 4-pirimidil, 5-benzotiyazolil, purinil, 2-benzimidazolil, 5-indolil, 1-izokinolil, 5-izokinolil, 2-kinoksalinil, 5-kinoksalinil, 3-kinolil, ve 6-kinolil'i içerir.

"Aril" terimi, diğer terimlerle (örneğin, ariloksi, ariltiyoksi, arilalkil) birlikte kullanıldığında, yukarıda tanımlandığı gibi hem aril hem de heteroaril halkaları içerir. Böylece, "arilalkil" terimleri, bir karbon atomunun (örneğin bir metilen grup) örneğin bir oksijen atomu ile (örneğin fenoksimetil, 2-pridiloksimetil, 3- (1-naftiloksi) propil, ve benzeri) ile değiştirildiği alkil gruplarını içeren bir alkil gruba (örn., benzil, fenetil, piridilmetil ve benzeri) bağlanmış içinde bir aril grubunun olduğu radikalleri içermesi ifade edilir.

"Ayrılan grup" terimi, bir nükleofilik ikame reaksiyonu gibi bir ikame reaksiyonu yoluyla anter fonksiyonel grup veya atomla yer değiştirebilen fonksiyonel bir grup veya atom anlamına gelir.

Örnek olarak, temsili ayrılan gruplar triflorometansülfonatı; kloro, bromo ve iyot gruplarını; mezilat, tosilat, brosilat, p-tolüensülfonat ve benzerleri gibi sülfonik ester gruplarını; ve asetoksi, trifloroasetoksi ve benzerleri gibi asiloksi gruplarını içerir.

"Koruyucu gruplar" bunlarla sınırlı olmamak üzere "amino-koruyucu grubu", "hidroksil- koruyucu grubu", ve "tiyol- koruyucu grubu" içerir. "Amino koruyucu grubu" terimi, bir amino grubunun N konumundaki anılan reaksiyonların önlenmesi için uygun bir koruyucu grubu ifade eder.

Temsili amino-koruyucu gruplar, bunlarla sınırlı olmamak üzere formili; asili, örneğin asetil, trikloroasetil veya trifloroasetil gibi alkan asili; tert-bütoksikarbonil (Boc) gibi alkoksikarbonili; benziloksikarbonil (Cbz), 9-fluorenilmetoksikarbonil (Fmoc) gibi aril metoksikarbonili, benzil (Bn), tritil (Tr), 1,1-iki (4'-metoksifenil) metil gibi aril metili; trimetilsilil (TMS), tert-bütildimetilsilil (TBS) ve benzeri gibi silili içerir. "Hidroksil koruyucu grup" terimi, bir karboksil grubunda anılan reaksiyonların önlenmesi için uygun bir koruyucu grup anlamına gelir. Temsili hidroksil-koruyucu gruplar bunlarla sınırlı olmamak üzere metil, etil, ve tert-bütül gibi alkili; asili, örneğin, asetil gibi alkan asil; benzil (Bn), p-metoksibenzil (PMB), 9-fluorenilmetil (Fm), benzhidril (difenil-metil, DPM) gibi aril metili; trimetilsilil (TMS), tert-bütildimetilsilil (TBS), ve benzeri gibi silili içerir.

Bu buluşun bileşikleri, teknikte bilgili bir kişi tarafından iyi bilinen bir dizi sentetik yöntemde hazırlanabilir. Metotlar aşağıda tarif edilen spesifik uygulamaları içerir; Aşağıdaki uygulamalarla birlikte oluşturulan uygulamalar ve diğer kimyasal sentez yöntemleri; ve teknikte bilgili kişilerce iyi bilinen aynı yöntemlere ikame. Tercih edilen uygulamalar, bunlarla sınırlı olmamak üzere, bu buluşun örneklerini içerir.

Bu buluşta kullanılan solventler ticari olarak mevcuttur. Ve şu kısaltmalar bu buluşta kullanılır: aq; suyu temsil eder; HATU, O- (7-azabenzotriazol-1-yl) -N, N, N', N'-tetrametiluronyum hekzafloro fosfatı temsil eder, EDC; N- (3-dimetilaminopropil) -N'-etilkarbodiimid hidroklorit'i temsil eder; eq ise eşdeğerliği, eşit miktarı temsil eder; CDI ise karbonil diimidazole'ü temsil eder; DCM ise diklorometilen'i temsil eder; PE petrol eteri temsil eder; DIAD diizopropil azodikarboksilatı temsil eder; DMF ise N, N-dimetilformamiti temsil eder; DMSO ise dimetil sülfoksiti temsil eder; EtOAc ise etil asetatı temsil eder; EtOH ise etanolü temsil eder; MeOH ise metanolü temsil eder; CBz ise benziloksikarbonili temsil eder ve bir amin-koruyucu gruptur; BOC ise tert-bütoksikarbonili temsil eder ve bir amin-koruyucu gruptur; HOAc ise asetik asiti temsil eder; NaCNBH₃ ise Sodyum siyanoborohidriti temsil eder; r.t. ise oda sıcaklığını temsil eder; O/N ise geceyi temsil eder; THF ise tetrahidrofuranı temsil eder; Boc₂O iki-t- bütildikarbonatı temsil eder; TFA ise trifloroasetik asiti temsil eder; DIPEA ise diizopropiletilamini temsil eder; TsOH ise p-tolüensülfonik asiti temsil eder; NFSI ise N-floro-N- (benzensülfonil) benzensülfonamiti temsil eder; NCS ise 1-kloropirolidin-2,5-dionu temsil eder; n-Bu₄NF ise tetrabütülamonyum florürü temsil eder; iPrOH ise 2-propanolü temsil eder; mp ise erime noktasını temsil eder; LDA ise Lityum diizopropilamidi temsil eder, MsCl ise

metilsülfonyl kloridi temsil eder; THF ise tetrahidrofuran'ı temsil eder; Pd (dppf)Cl₂ ise [1,1'-iki (difenilfosfino)ferrosen] dikloropaladyumu (II) temsil eder; DBU ise 1.8-diazabisiklo-undec-7-ene'yi temsil eder; TFA ise trifloroasetik asiti temsil eder; EtOAc veya EA ise etil asetatı temsil eder; EDCI ise N-(3-dimetilaminopropil)-N'-etil karbodiimid hidroklorürü temsil eder; DMAP ise 4-dimetilaminopiridini temsil eder; DIEA ise diizopropilamini temsil eder; MTBE ise metil tert-bütül eteri temsil eder; BnBr ise benzil bromidi temsil eder; DAST ise dietilaminosülfürtrifloriti temsil eder. Bileşikler elle veya ChemDraw®software tarafından adlandırılır ve ticari olarak mevcut bileşikler tedarikçi katalog adı ile kullanılır.

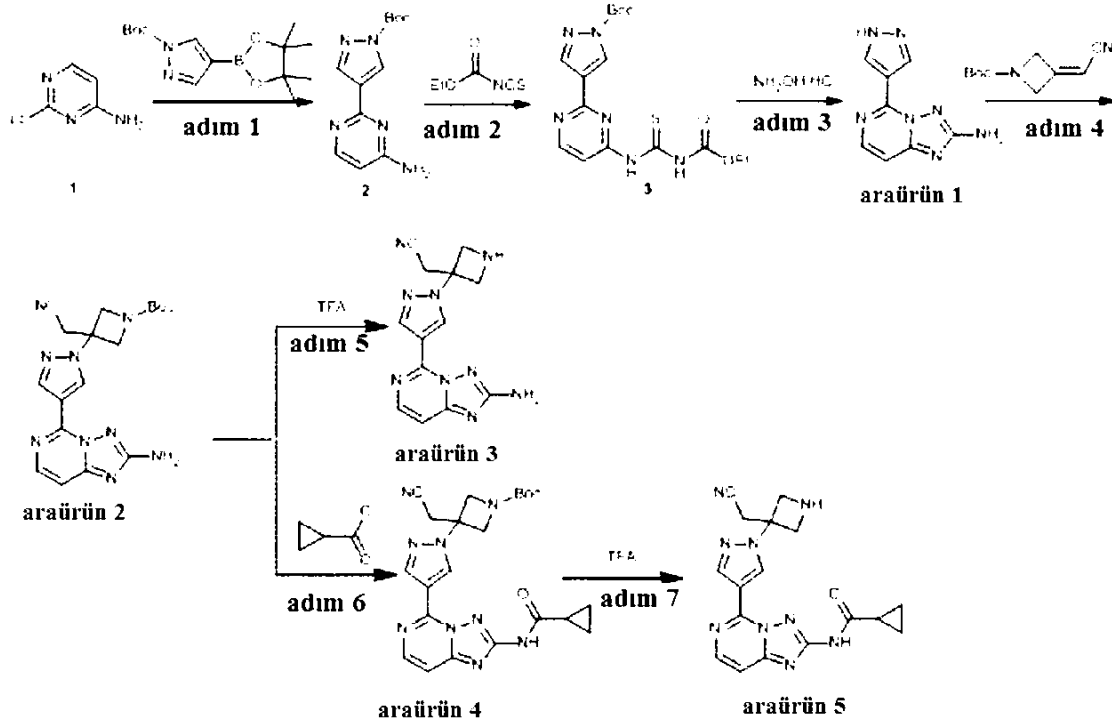
AVANTAJLAR

- 10 JAK2 için bu buluşun bileşiklerinin seçiciliği Tofacitinib'ininkinden üstündür.

UYGULAMALARIN DETAYLI AÇIKLAMASI

Ara bileşiklerin hazırlanması

1-5 Ara Ürünlerinin Hazırlanması



- 15 *Adım 1: Tert-bütül 4- (4-amidopirimidinil-2-yl) pirazol-1-karboksilat (2) 'nin hazırlanması*
2-kloro-4-aminopirimidin (3.0 g, 23.2 mmol), tert-bütül 4- (4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioksaborolan-2-yl)pirazol-1-karboksilik ester (8.2 g, 27.8 mmol), ve potasyum karbonat (9.6 g, 69.5 mmol), dioksan (30 mL) ve suyun (5 mL) karıştırılmış solventinde çözüldü. Sonra Pd (dppf)Cl₂ (1.7 g, 2.3 mmol) eklendi. Bu boşaltıldı ve nitrojen ile değiştirildi. Reaksiyon karışımı, 80 ° C'de bir yağ banyosunda 2
20 saat süreyle nitrojen koruması altında karıştırıldı ve reaksiyonun tamamı TLC ile izlendi ve belirlendi. Soğutulduktan sonra karışım, diatomlu topraktan süzüldü ve filtre çamuru, etil asetat (100 mL) ve tetrahidrofuran (100 mL) ile yıkandı. Filtrat susuz sodyum sülfat ile kurutuldu, süzüldü ve azaltılmış

basınç altında konsantre edildi. Tortu, ayva sarısı bir yağ olarak, tert-bütül 4- (4-amidopirimidinil-2-yl) pirazol-1-karboksilat (4.50 g, % 59.49 verim) verecek şekilde silis jel kolon kromatografisi kullanılarak (petrol eteri / etil asetat = 2/1~1/1) ile yıkanarak arıtıldı. ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ = 8.50 (s, 1H), 8.17 (s, 1H), 8.07 (d, J=5.8 Hz, 1H), 6.92 (br. s., 2H), 6.30 (d, J=5.8 Hz, 1H), 1.58 (s, 9H). MS (ESI). MS (ESI), C₁₂H₁₅N₅O₂ [M + H]⁺ 262 için hesaplandı; bulunan 262.

Adım 2: Tert-bütül 4- (4- (3- (etoksikarbonil)tiyoüre)pirimidin -2-yl)-1H-pirazol-1 - karboksilat (3)'ün hazırlanması

Tetrahidrofuran (40 mL) ve diklorometan (40 mL) solüsyonunda çözülmüş tert-bütüle 4- (4-aminopirimidinil-2-yl) pirazol-1-karboksilat (4.0 g, 15.3 mmol), etoksikarbonil izotiyosiyanata (4.0 g, 30.6 mmol) eklendi. Reaksiyon karışımı 70 °C'ye kadar ısıtıldı ve 16 saat karıştırıldı. TLC, reaksiyonun tamamlandığını gösterdikten sonra, karışım, indirgenmiş basınç altında konsantre edildi ve silis jeli kolon kromatografisiyle (petrol eter/etil asetat=10:1~2:1 ile ayrıştırma), ayva sarısı bir yağ olarak, tert-bütül 4- (4- (3- (etoksikarbonil)tiyoüre)pirimidinil-2-yl)-1H-pirazol-1-karboksilat (4.00 g, % 63.25 verim) verecek şekilde saflaştırıldı. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ= 12.49 (br. s., 1H), 12.16 (br. s., 1H), 8.78 (d, J=5.8 Hz, 1H), 8.72 (s, 1H), 8.32 (s, 1H), 8.22 (br. s., 1H), 4.27 (q, J=7.1 Hz, 2H), 1.62 (s, 9H), 1.30 (t, J=7.2 Hz, 3H). MS (ESI), C₁₆H₂₀N₆O₄S [M + H]⁺393 için hesaplandı; bulunan 393.

Adım 3: 5- (1H-pirazol-4-yl)-[1,2,4]triazol[1,5-c] pirimidin-2-aminin (Araürün 1) hazırlanması

Metanol (50 mL) ve etanol (50 mL) bir solüsyonunda çözülmüş hidroksilamin hidroklorite (3.5 g, 50.9 mmol), DIEA (4.0g, 30.6mmol) eklendi. Oluşan çamurlu çözelti 26 ° C'de 1 saat karıştırıldıktan sonra tert-bütül 4- (4- (3- (etoksikarbonil) tiyoüre) pirimidin-2-yl) -1 H-pirazol-1-karboksilat eklendi.

Daha sonra reaksiyon karışımı, 3 saat boyunca geri akış için 90 ° C'ye kadar ısıtıldı ve TLC, reaksiyonun tamamlandığını gösterdi. Reaksiyon karışımı, indirgenmiş basınç altında konsantre edildi ve su (20 mL) ilave edildi. Elde edilen çökelti beyaz bir katı madde halinde 5- (1H-pirazol-4-yl) - [1,2,4] triazol [1,5-c] pirimidin-2-amin (1.7 g, % 82.9 verim) vermek için filtrelendi, toplandı ve kurutuldu. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ= 13.53 (br. s., 1H), 8.87 (br. s., 1H), 8.47 (br. s., 1H), 8.10 (d, J=6.0 Hz, 1H), 7.23 (d, J=6.0 Hz, 1H), 6.50 (s, 2H). MS (ESI), C₈H₇N₇ [M + H]⁺ 202 için hesaplandı; bulunan 202.

Adım4: Tert-bütül 3-[4- (2-amino-[1,2,4]triazol[1,5-c]pirimidin-5-yl) pirazol-1-yl]-3-siyanometil)azetidin-1-karboksilatın (Araürün 2) hazırlanması

Bir asetonitril süspansiyonunda (10 mL) hafifçe çözülmüş araürüne 1 (500 mg, 2.5 mmol) tert-bütül 3- (siyanometilen)azetidin-1-karboksilat (600 mg, 3.1 mmol) ve DBU (756 mg, 4.97 mmol) eklendi. Reaksiyon karışımı 26°C'de 16 saat boyunca karıştırıldı. TLC reaksiyonun tamamlandığını gösterdikten sonra karışım, beyaz bir katı madde olarak tert-bütül 3-[4- (2-amino-[1,2,4]triazol[1,5-c]pirimidin-5-yl)pirazol-lil]-3- (siyanometil) azetidin-1-karboksilat (800 mg, % 81.3 verim) vermek için indirgenmiş basınç altında konsantre edildi ve silis jeli kolon kromatografisiyle saflaştırıldı (petrol eter/etil asetat=1:1~1:3 ile ayrıştırarak). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ= 9.03 (s, 1H), 8.64 (s, 1H),

8.17 (d, J=6.0 Hz, 1H), 7.24 (d, J=6.0 Hz, 1H), 4.83 (s, 2H), 4.57 (d, J=9.8 Hz, 2H), 4.33 (d, J=9.8 Hz, 2H), 3.36 (s, 2H), 1.49 (s, 9H). MS (ESI), $C_{18}H_{21}N_9O_2$ $[M + H]^+$ 396 için hesaplandı; bulunan 396.

Adım 5: 2-[3-[4- (2-amino-[1,2,4]triazol[1,5-c]pirimidin-5-yl) pirazol-1-yl]siklobütülamın-3-yl]asetonitrilin (Araürün 3) hazırlanması

- 5 DCM'deki (10 mL) araürüne 2 (500 mL, 1.3 mmol) 15°C'de TFA (4 mL) eklendi ve bu sıcaklıkta karışım 3 saat boyunca karıştırıldı ve reaksiyona sokuldu. Reaksiyon tamamlandıktan sonra, indirgenmiş basınç altında reaksiyon karışımı kahverengi bir katı olarak 2-[3-[4- (2-amino-[1,2,4]triazol[1,5-c]pirimidin-5-yl) pirazol-1-yl]siklobütülamın-3-yl]asetonitril (515 mg, %99.9 verim, TFA tuzu) vermek için konsantre edildi. MS (ESI), $C_{13}H_{13}N_9$ $[M+H]^+$ 296 için hesaplandı; bulunan
- 10 296.

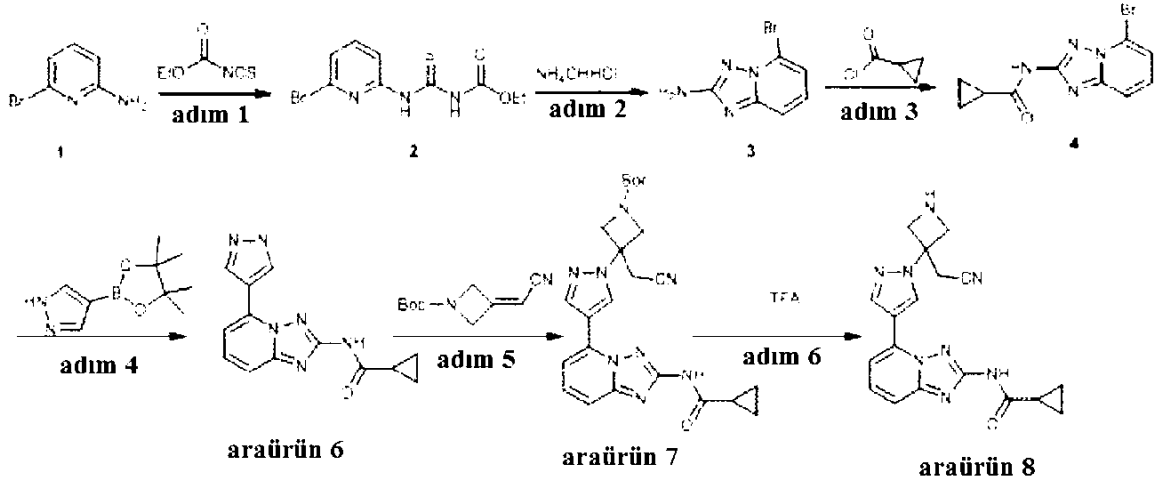
Adım 6: Tert-bütül 3- (siyanometil)-3-[4-2- (siklopropilkarbonilamino)-[1,2,4]triazol[1,5-c]pirimidin-5-yl]pirazol-1-yl] azetidin-1-karboksilatın (Araürün 4) hazırlanması

- Asetonitrilin (8 mL) çamurlu solüsyonunda hafifçe çözülmüş tert-bütül 3-[4- (2-amino-[1,2,4]triazol[1,5-c]pirimidin-5-yl)pirazol-1-yl]-3- (siyanometil)azetidin-1-karboksilata (400 mg, 1.0
- 15 mmol), siklopropankarboksilik asit klorür (317 mg, 3.0 mmol) ve trietilamin (307 mg, 3.0 mmol) eklendi. Reaksiyon karışımı 26°C'de 16 saat boyunca karıştırıldı. TLC, reaksiyonun tamamlandığını gösterdikten sonra, LC-MS ekranından bir iki-ikamelı ürün oluşturuldu. Reaksiyon karışımı, indirgenmiş basınç altında konsantre edildi, daha sonra etanol solüsyonundaki metilamin (%27~%22, 3 mL) eklendi, Reaksiyon karışımı. Tek ikamelı bir hedef ürün LC-MS ekranından oluşturuldu.
- 20 Reaksiyon karışımı indirgenmiş basınç altında beyaz bir katı olarak tert-bütül 3- (siyanometil)-3-[4-2- (siklopropilkarbonilamino)-[1,2,4]triazol[1,5-c]pirimidin-5-yl] pirazole-1-yl]azetidin-1-karboksilatı (420 mg, % 89.7 verim) vermek için konsantre edildi ve silis jeli kolon kromatografisiyle saflaştırıldı (petrol eteri / etil asetat= 1: 1~1: 3 ile ayrıştırılarak). 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ = 9.31 (s, 1H), 9.11 (s, 1H), 8.67 (s, 1H), 8.28 (d, J=6.0 Hz, 1H), 7.42 (d, J=6.0 Hz, 1H), 4.58 (d, J=9.5 Hz, 2H), 4.34
- 25 (d, J=9.5 Hz, 2H), 3.37 (s, 2H), 1.50 (s, 9H), 1.31 - 1.22 (m, 3H), 1.03 (qd, J=3.7, 7.4 Hz, 2H). MS (ESI), $C_{22}H_{25}N_9O_3$ $[M + H]^+$ 464 için hesaplandı; bulunan 464.

Adım 7: N-[5-[1-[3- (siyanometil)azetidin-3-yl]pirazol-4-yl]-[1,2,4] triazol[1,5-c]pirimidin-2-yl]siklopropanekarboksamidin (Araürün 5) hazırlanması

- Diklorometanda (8 mL) çözülmüş 3- (siyanometil)-3-[4-2- (siklopropilkarbonilamino)-
- 30 [1,2,4]triazol[1,5-c] pirimidin-5-yl]pirazol-1-yl]azetidin-1-karboksilata (220 mg, 474.7 umol), trifloroasetik asit (2 mL) eklendi. Reaksiyon karışımı 26°C'de 2 saat boyunca karıştırıldı. TLC, reaksiyonun tamamlandığını gösterdikten sonra, reaksiyon karışımı indirgenmiş basınç altında ayva sarısı bir katı olarak N-[5-[1-[3- (siyanometil)azetidin-3-yl]pirazol-4-yl]-[1,2,4]triazol[1,5-c]pirimidin-2-yl]siklopropanekarboksamid (280 mg, ham ürün doğrudan sonraki adımda kullanılır) vermek için
- 35 konsantre edildi. MS (ESI), $C_{17}H_{17}N_9O$ $[M + H]^+$ 364 için hesaplandı; bulunan 364.

6-8 araürünlerinin hazırlanması



Adım 1: Etil-N-[(6-bromo-2-piridil)tiyokarbamoil]karbamik asitin (2) hazırlanması

Diklorometanda (400 mL) çözülmüş 6-bromopiridin-2-amine (30 mg, 173.4 mmol), damla damla etil izotiyosiyanat (25.0 g, 190.7 mmol) eklendi ve reaksiyon 25°C'de 16 saat boyunca gerçekleştirildi.

- 5 TLC, reaksiyonun tamamlandığını gösterdikten sonra, reaksiyon karışımı indirgenmiş basınç altında damıtıldı. Oluşan tortu, 30 dakika boyunca 200 mL petrol eteri kullanılarak karıştırıldı, daha sonra süzüldü. Filtre çamuru, soluk kırmızı bir katı olarak etil-N-[(6-bromo-2-piridil)tiyokarbamoil]karbamik asit (51 g, %96.7 verim) vermek için toplandı ve kurutuldu. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ= 12.17 (s, 1 H), 11.66 (br. s., 1 H), 8.65 (d, J=7.54 Hz, 1 H), 7.82 (t, J=7.92 Hz, 1 H), 7.49 (d, J=7.78 Hz, 1 H), 4.22 (q, J=7.18 Hz, 2 H), 1.25 (t, J=7.16 Hz, 3 H). MS (ESI), C₉H₁₀BrN₃O₂S [M + H]⁺ 304 için hesaplandı; bulunan 304.

Adım 2: 5-bromo-[1,2,4]triazol[1,5-a]piridin-2-aminin (3) hazırlanması

Hidroksilamin hidroklorür (35.2 g, 503.1 mmol), diizopropiletilamin (54.1 g, 419.3 mmol), etanol (500 mL) ve metanolün (500 mL) bir karışım solventinde çözüldü. 25°C'de 1 saat karıştırmadan sonra,

- 15 etil-N-[(6-bromo-2- piridil)tiyokarbamoil] karbamik asit (51.0 g, 167.7 mmol) eklendi ve içerdeki hava nitrojen ile değiştirildi. Reaksiyon karışımı, 3 saat boyunca reaksiyon için 80 ° C'ye kadar ısıtıldı ve daha sonra soğutuldu. Reaksiyon TLC izleme ekranından tamamlandıktan sonra, reaksiyon karışımı indirgenmiş basınç altında damıtıldı. Oluşan tortu, 10 dakika boyunca 500 mL su kullanılarak karıştırıldı, daha sonra süzüldü. Filtre çamuru, beyaz bir katı olarak 5-bromo-[1,2,4]triazol[1,5-a]piridin-2-amin (32 g, % 85.1 verim) vermek için toplandı ve kurutuldu. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) 7.30 - 7.39 (m, 1 H), 7.20 (dd, J=6.78, 1.76 Hz, 1 H), 6.27 (s, 2 H). MS (ESI), C₆H₅BrN₄ [M + H]⁺ 215 için hesaplandı; bulunan 215.

Adım 3: N- (5-bromo-[1,2,4]triazol[1,5-a]piridin-2-yl)siklopropil karboksamidin (4) hazırlanması

Asetonitrilde (150 mL) çözülmüş -bromo-[1,2,4]triazol[1,5-a]piridin-2-amin (15.00 g, 70.41 mmol) and trietilamine (21.4 g, 211.2 mmol) 0°C'de damla damla siklopropankarboksilik asit klorür (8.8 g, 84.5 mmol) eklendi. Eklemeden sonra karışım, reaksiyon için 16 saat boyunca oda sıcaklığına kadar ısıtıldı. TLC, izleme ile reaksiyonun tamamlandığını gösterdikten sonra, reaksiyon karışımı

indirgenmiş basınç altında damıtıldı. Oluşan tortu, metilamin (150 mL) bir alkolik çözeltisi içerisinde çözündürüldü, reaksiyon için 1 saat boyunca 80 ° C'ye kadar ısıtıldı, soğutuldu, indirgenmiş basınç altında damıtıldı. Oluşan tortu, su (100 mL) ve etil asetat (200 mL) karışım solüsyonunda çözündürüldü ve katmanlar ayrıldı ve özütlendi. Birleştirilen organik faz, susuz sodyum sülfat ile kurutuldu ve süzüldü ve filtrat, indirgenmiş basınç altında damıtıldı. Oluşan ham ürün, ayva sarısı bir katı olarak N- (5-bromo-[1,2,4]triazol[1,5-a] piridin-2-yl)siklopropil karboksamid (7.2 g, %56.64 verim) vermek için silika jel kolon kromatografisi (etil asetat/petrol eter =%0~70 ile ayrıştırılmış) ile saflaştırıldı. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ = 11.20 (br. s., 1 H), 7.68 - 7.73 (m, 1 H), 7.52 - 7.58 (m, 1 H), 7.46 - 7.51 (m, 1 H), 1.96 - 2.09 (m, 1 H), 0.82 (d, J=6.28 Hz, 4 H). MS (ESI), C₁₀H₉BrN₄O [M + H]⁺ 282 için hesaplandı; bulunan 282.

Adım 4: N-[5- (1H-pirazol-4-yl)-[1,2,4]triazol[1,5-a]piridin-2-yl] siklopropan karboksamidin (Araürün 6) hazırlanması

Dioksan (30 mL) ve su (5 mL) karışım solüsyonunda çözülmüş N- (5-bromo-[1,2,4]triazol[1,5-a] piridin-2-yl)siklopropan karboksamid (3.0 mg, 10.67 mmol), 4- (4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioksaborolan-2-yl)-1H-pirazol (2.4 g, 12.9 mmol) ve potasyum karbonata (3.7 g, 26.7 mmol) nitrojen atmosferinde Pd (dppf)Cl₂ (260 mg)'e eklendi. Oluşan karışım, reaksiyon için 3 saat boyunca 110 ° C'ye kadar ısıtıldı, daha sonra oda sıcaklığına kadar soğutuldu. TLC, ham maddenin tamamen reaksiyona girdiğini gösterdikten sonra, reaksiyon karışımı süzüldü. Filtrat, su (150mL) ile yıkandı ve etil asetat (150 mLx3) özütlendi. Birleştirilmiş organik faz, susuz sodyum sülfat ile kurutuldu ve süzüldü ve filtrat, indirgenmiş basınç altında damıtıldı. Oluşan ham ürün, gri bir katı olarak N-[5- (1Hpirazol-4-yl)-[1,2,4]triazol[1,5-a]piridin-2-yl] siklopropan karboksamidi (2.1 g, %62.4 verim) vermek için silika jel kolon kromatografisi (etil asetat/petrol eter =%50~100 ile ayrıştırarak) ile saflaştırıldı. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ = 13.37 (br. s., 1H), 11.15 (br. s., 1H), 8.96 (s, 1H), 8.53 (s, 1H), 7.57-7.72 (m, 2H), 7.51 (d, J=8.28 Hz, 1H), 2.06 (br. s., 1H), 0.78-0.91 (m, 4H). MS (ESI), C₁₃H₁₂N₆O [M + H]⁺ 269 için hesaplandı; bulunan 269.

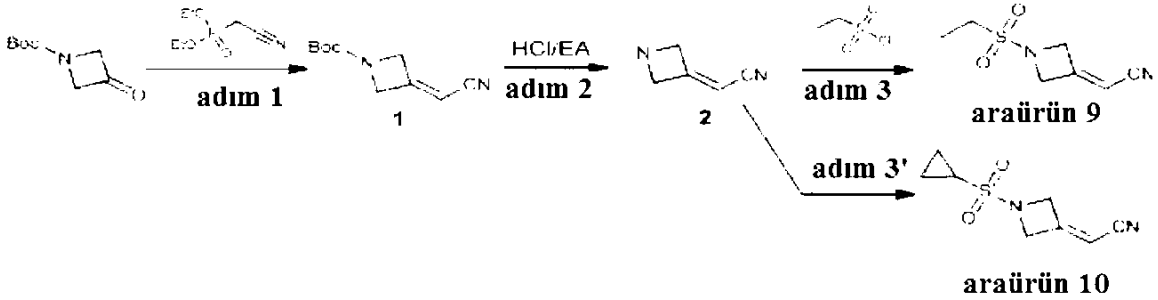
Adım 5: Tert-bütül 3- (siyanometil)-3-[4-[2- (siklopropilkarbonilamino) -[1,2,4]triazol[1,5-a]piridin-5-yl]pirazol-1-yl]azetid-1-karboksilatın (Araürün 7) hazırlanması

Asetonitrilde (5 mL) çözülmüş N-[5- (1H-pirazol-4-yl)-[1,2,4]triazol[1,5-a]piridin-2-yl] siklopropan karboksamid (200 mg, 745.5 umol), tert-bütül 3- (siyanometilen)azetid-1-karboksilata (144.8 mg, 745.5 umol), DBU (340.49 mg, 2.3mmol) eklendi ve 16 saat boyunca oda sıcaklığında reaksiyona sokuldu. LCMS, ham maddenin tamamen reaksiyona girdiğini gösterdikten sonra, reaksiyon karışımı indirgenmiş basınç altında damıtıldı. Oluşan tortu, su (20 mL) ve etil asetat (20 mL) karışım çözeltisinde çözündürüldü ve katmanlar ayrıldı ve özütlendi. Birleştirilmiş organik faz, susuz sodyum sülfat ile kurutuldu ve süzüldü ve filtrat, indirgenmiş basınç altında damıtıldı. Oluşan ham ürün, ayva sarısı bir katı olarak tert-bütül 3- (siyanometil)-3-[4-[2- (siklopropilkarbonilamino)-[1,2,4]triazol[1,5-a]piridin-5-yl]pirazol-1-yl]azetid-1-karboksilatı (170 mg, %44.4 verim) vermek için hazırlayıcı TLC ile saflaştırıldı. MS (ESI), C₂₃H₂₆N₈O₃ [M + H]⁺ 463 için hesaplandı; bulunan 463.

Adım 6: N-[5-[1-[3- (siyanometil)azetid-3-yl]pirazol-4-yl]-[1,2,4] triazol[1,5-a]piridin-2-yl]siklopropan karboksamidin (Araürün 8) (WX00) hazırlanması

5 mL'lik diklorometanta (5 mL) çözülmüş tert-bütül 3- (siyanometil)-3-[4-2-(siklopropilkarbonilamino)-[1,2,4]triazol[1,5-a] piridin-5-yl] pirazol-1-yl]azetid-1-karboksilata (150 mg, 324.3 umol) 2 saat boyunca reaksiyon için oda sıcaklığında trifloroasetik asit (1 mL) eklendi. LCMS, reaksiyonun tamamen reaksiyona girdiğini gösterdikten sonra, reaksiyon karışımı, sonraki adımda doğrudan kullanılmış olan sarı bir yağ olarak N-[5-[1-[3- (siyanometil)azetid-3-yl]pirazol-4-yl]-[1,2,4] triazol[1,5-a]piridin-2-yl] siklopropan karboksamidin (100 mg) ham ürününü vermek için indirgenmiş basınç altında damıtıldı. ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ = 11.16 (br. s., 1H), 9.18 (s, 1H), 8.71 (s, 1H), 7.75 - 7.63 (m, 2H), 7.61 - 7.50 (m, 1H), 4.00 (d, J=9.0 Hz, 2H), 3.71 (d, J=9.0 Hz, 2H), 3.57 (s, 2H), 2.13 (br. s., 1H), 0.95 - 0.81 (m, 4H). MS (ESI), C₁₈H₁₈N₈O [M + H]⁺ 363 için hesaplandı; bulunan 363.

Araürün 9'un hazırlanması



15

Adım 1: Tert-bütül 3- (siyanometil)azetine-1-karbonatın (1) hazırlanması

Buz banyosunda soğutma altında, tetrahidrofuran (50 mL) içindeki sodyum-hidrojene (1.2 g, 30.7 mmol) tetrahidrofuranda (50 mL) siyanometil dietil fosfit (5.7 g, 32.1 mmol) damla damla eklendi. Damla damla ekledikten sonra, karışım 25°C'de 1 saat boyunca karıştırıldı, sonra 0°C'ye kadar soğutuldu. Daha sonra tetrahidrofurandaki (50 mL) tert-bütül 3-azetidionon-1-karbonat (5.0 g, 29.2 mmol), 1 saat içinde damla damla ilave edildi. Karışım, reaksiyon için 25 ° C'de 16 saat boyunca karıştırılır. Reaksiyon tamamlandıktan sonra, reaksiyon karışımı, suyla (80 mL) sertleştirildi ve etil asetat (80 mLx3) ile özütlendi. Birleştirilmiş organik faz, sarı bir katı olarak, tert-bütül 3- (siyanometil) azetin-1-karbonatın (5.2 g, %78.0 verim) ham ürününü vermek için doymuş tuzlu su ile yıkandı ve susuz sodyum sülfat ile kurutuldu, ham ürün daha fazla saflaştırma olmadan sonraki adımda doğrudan kullanıldı. ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ = 5.38 (t, J=2.5 Hz, 1H), 4.73 - 4.68 (m, 2H), 4.61 (td, J=2.4, 4.3 Hz, 2H), 1.45 (s, 9H). MS (ESI), C₁₀H₁₄N₂O₂ [M + H]⁺ 195 için hesaplandı; bulunan 195.

25

Adım 2: 2- (azetin-3-yl)metil siyanürün (2) hazırlanması

Tert-bütül 3- (siyanometil) azetin-1-karbonat (5.2 g, 26.8 mmol), az miktarda etil asetat (5 mL) ile ıslatıldı. İyice karıştırdıktan sonra, 0 ° C'de hidroklorür etil asetat (150 mL) eklendi ve 0 ° C'de 1 saat boyunca karıştırıldı. TLC, reaksiyonun tamamlandığını gösterdikten sonra (petrol eter/etil asetat =5:1), oluşan sarı süspansiyon filtrelendi. Oluşan katı, beyaz bir katı olarak 2- (azetin-3-yl) metil siyanür (2.8 g, % 80.0 verim) vermek için az miktarda soğuk etil asetatla (5 mLx2) yıkandı ve vakum altında kurutuldu. ¹H NMR (400MHz, D₂O) δ = 5.69 - 5.65 (m, 1H), 4.95 (d, J=2.5 Hz, 2H), 4.88 (br. s., 2H). MS (ESI), C₅H₆N₂ [M + H]⁺ 95 için hesaplandı; bulunan 95.

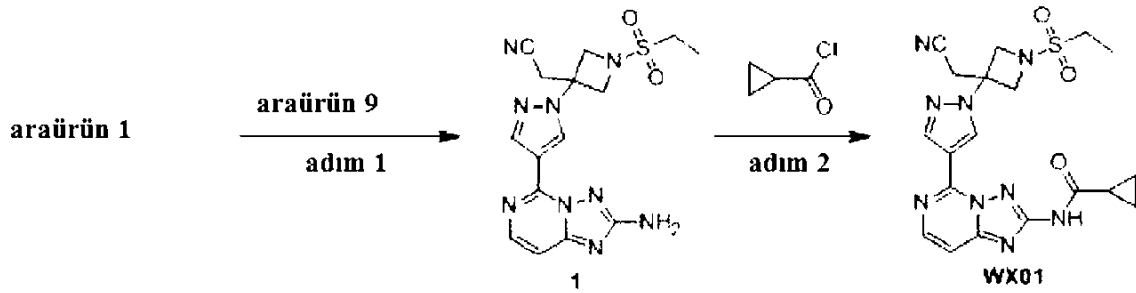
Adım 3: 2- (1- (etilsülfolil)azetin-3-yl)metil siyanürün (araürün 9) hazırlanması

Diklorometanda (30 mL) 2- (azetin-3-yl) metil siyanür (2.8 g, 21.4 mmol) ve DIPEA (8.3 g, 64.3 mmol) solüsyonuna, nitrojenin koruması altında 0 ° C'de damla damla etansülfolil klorür (4.1 g, 32.1 mmol) eklendi ve sıcaklık düşürülürken 2 ° C'nin altında tutuldu. Reaksiyon karışımı, 25 ° C'de 16 saat boyunca reaksiyona sokulması için karıştırıldı. TLC reaksiyonun tamamlanmış olduğunu gösterdi (petrol eter/etil asetat =1:1). Reaksiyon karışımı su ile sertleştirildi, diklorometan (30 mLx2) ile özütlendi. Birleştirilmiş organik faz, doymuş tuzlu su (20 mLx2) ile yıkandı, susuz sodyum sülfat ile kurutuldu, süzüldü ve santrifüjlü kurutuldu. Tortu, bir ayva sarısı katı olarak 2- (1- (etilsülfolil)azetin-3-yl)metil siyanürü (1.4 g, %33.0 verim) vermek için kolon kromatografisi ile saflaştırıldı (diklorometan/etil asetat =3/1). ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ = 5.50 - 5.41 (m, 1H), 4.79 (d, J=3.0 Hz, 2H), 4.71 (d, J=2.5 Hz, 2H), 3.06 (q, J=7.4 Hz, 2H), 1.40 (t, J=7.4 Hz, 3H). MS (ESI), C₇H₁₀N₂O₂S [M + H]⁺ 187 için hesaplandı; bulunan 187.

Adım 3': 2- (1-siklopropilsülfolilazetididin-3-Alkenil) asetonitrilin (araürün 10) hazırlanması

Araürün 10, araürün 9 ile aynı yöntemle hazırlandı. 2- (1-siklopropilsülfolilazetididin-3-Alkenil)asetonitril (1.5 g) bir ayva sarısı katı idi, MS (ESI), C₇H₁₀N₂O₂S [M + H]⁺ 199 için hesaplandı; bulunan 199.

Örnek 1



25

Adım 1: 2-[3-[4- (2-amino-[1,2,4]triazol[1,5-c]pirimidin-5-yl) pirazol-1-yl]-1-etilsülfolilazetididin-3-yl]asetonitrilin (1) hazırlanması

Asetonitril (4 mL) ve DMF (2 mL)'de hafifçe çözülmüş araürünün 1 (150 mg, 745.6 umol) bir süspansiyonuna, araürün 9 (208 mg, 1.1mmol) ve DBU (227mg, 1.5 mmol) eklendi. Reaksiyon karışımı, 26 ° C'de 16 saat karıştırıldı. LC-MS, reaksiyonun tamamlandığını gösterdi. Çökelmiş katı, beyaz bir katı olarak, 2-[3-[4- (2-amino-[1,2,4]triazol[1,5-c]pirimidin-5-yl) pirazol-yl]-1-

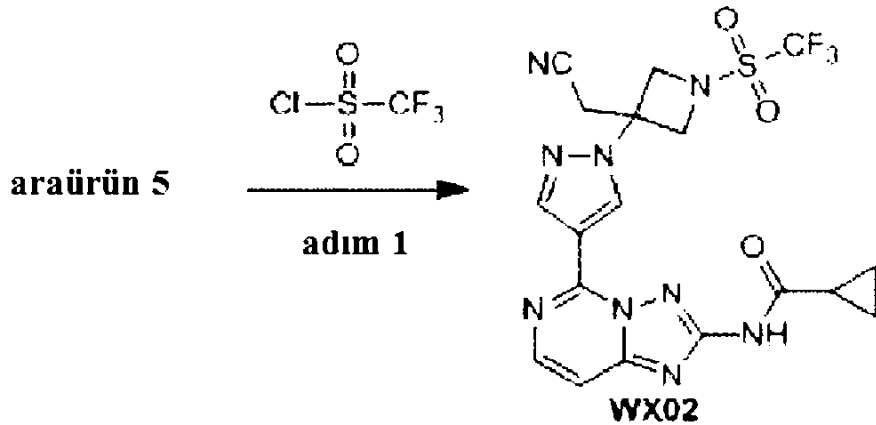
30

etilsülfonilazetidin-3-yl] asetonitrili (200 mg, %69.2 verim) vermek için süzüldü, toplandı, soğuk asetonitril (5 mL) ile yıkandı ve indirgenmiş basınç altında kurutuldu. ¹H NMR (400 MHz, DMSO_d₆) δ = 9.16 (s, 1H), 8.69 (s, 1H), 8.16 (d, J=6.3 Hz, 1H), 7.31 (d, J=6.0 Hz, 1H), 6.56 (s, 2H), 4.53 (d, J=9.0 Hz, 2H), 4.28 (d, J=9.0 Hz, 2H), 3.70 (s, 2H), 3.25 (q, J=7.4 Hz, 2H), 1.25 (t, J=7.4 Hz, 3H).
5 MS (ESI), C₁₅H₁₇N₉O₂S [M + H]⁺ 388 için hesaplandı; bulunan 388.

Adım 2: N-[5-[1-[3- (siyanometil)-1-etilsülfonilazetidin-3-yl] pirazol-4-yl]-[1,2,4]triazol[1,5-c]pirimidin-2-yl]siklopropankarboksamid (WX01)'nın hazırlanması

Asetonitril (2 mL) ve tetrahidrofuranda (1 mL) hafifçe çözünmüş 2-[3-[4- (2-amino-[1,2,4]triazol[1,5-c]pirimidin-5-yl) pirazol-yl]-1-etilsülfonil azetidin-3-yl] asetonitril (100 mg, 258.1 umol)
10 süspansiyonuna, siklopropankarboksilik asit klorür (80.9 mg, 774.4 umol) ve trietilamin (78 mg, 774.4 mmol) eklendi. Reaksiyon karışımı, 26 ° C'de 16 saat boyunca karıştırıldı. TLC, reaksiyonun tamamlandığını gösterdi ve LC-MS, hepsinin iki-ikameli bir ürün olarak üretildiğini gösterdi. İndirgenmiş basınç altında reaksiyon karışımı konsantre edildikten sonra, etanol solüsyonundaki
15 (%27-%32, 3 mL) metilamin eklendi ve 0.5 saat boyunca 26°C'de karıştırıldı. LC-MS, hepsinin tek-ikameli bir ürün olarak üretildiğini gösterdi. Reaksiyon karışımı, N-[5-[1-[3- (siyanometil)-1-etilsülfonilazetidin-3-yl]pirazol-4-yl]-[1,2,4]triazol[1,5-c]pirimidin-2-yl]siklopropankarboksamid (25 mg, % 21.1verim) vermek için indirgenmiş basınç altında konsantre edildi ve hazırlayıcı HPLC (alkalin durumu) ile saflaştırıldı. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ = 11.43 (br. s., 1H), 9.25 (s, 1H), 8.82 (s, 1H), 8.32 (d, J=6.0 Hz, 1H), 7.60 (d, J=6.3 Hz, 1H), 4.50 (d, J=9.0 Hz, 2H), 4.28 (d, J=9.0 Hz,
20 2H), 3.70 (s, 2H), 3.24 (q, J=7.3 Hz, 2H), 2.18 - 2.02 (m, 1H), 1.23 (t, J=7.3 Hz, 3H), 0.95 - 0.80 (m,4H). MS (ESI), C₁₉H₂₁N₉O₃S [M + H]⁺ 456 için hesaplandı; bulunan 456.

Örnek 2

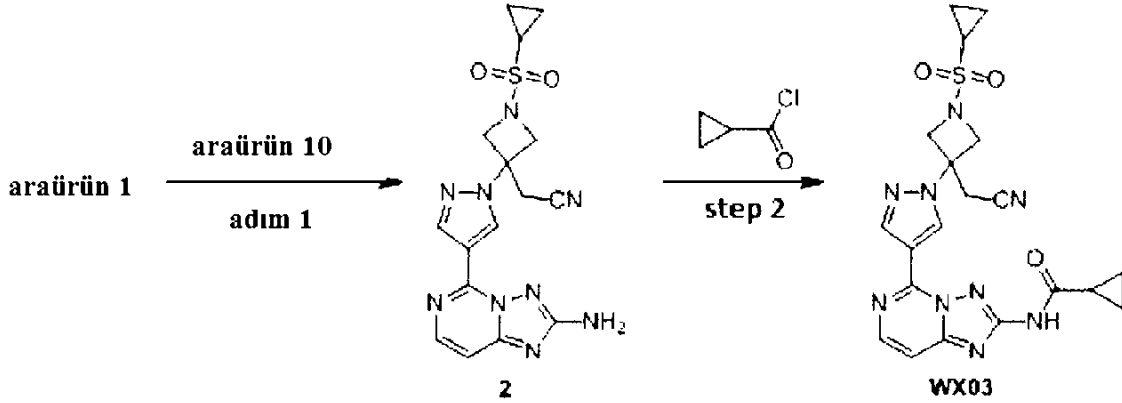


Adım 1: N-[5-[1-[3- (siyanometil)-1- (triflorometilsülfonil) azetidin-3-yl]pirazol-4-yl]-
25 [1,2,4]triazol[1,5-c]pirimidin-2-yl] siklopropan karboksamidin (WX02) hazırlanması

Diklorometanda (3 mL) hafifçe çözünmüş bir araürün 5 (100 mg, 209.5 umol) süspansiyonuna, triflorometansülfonil klorür (53 mg, 314.2 umol) ve trietilamin (106 mg, 1.1mmol) eklendi. Reaksiyon karışımı, 26 ° C'de 16 saat boyunca karıştırıldı. LC-MS, reaksiyonun tamamlandığını gösterdi.

Reaksiyon karışımı, N-[5-[1-[3- (siyanometil)-1- (triflorometilsülfonil) azetid-3-yl]pirazol-4-yl]-[1,2,4]triazol[1,5-c]pirimidin-2-yl] siklopropankarboksamidi (25 mg, %24.1 verim) vermek için indirgenmiş basınç altında konsantre edildi ve hazırlayıcı HPLC (alkalin durumu) ile saflaştırıldı. ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ = 11.45 (br. s., 1H), 9.27 (s, 1H), 8.90 (s, 1H), 8.35 (d, J=6.0 Hz, 1H), 7.63 (d, J=6.3 Hz, 1H), 4.90 (d, J=9.0 Hz, 2H), 4.72 (d, J=9.0 Hz, 2H), 3.85 (s, 2H), 1.30 - 1.23 (m, 1H), 0.97 - 0.87 (m, 4H). MS (ESI), C₁₈H₁₆F₃N₉O₃S [M + H]⁺ 496 için hesaplandı; bulunan 496.

Örnek 3



Adım 1: 2-[3-[4- (2-amino-[1,2,4]triazol[1,5-c]pirimidin-5-yl) pirazol-1-yl]-1-siklopropilsülfonil-azetid-3-yl]asetonitrilin (2) hazırlanması

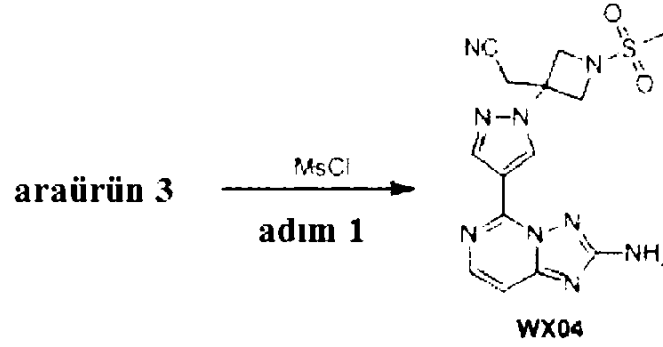
Asetonitrilde (4 mL) çözünmüş bir araürün 1 (150 mg, 745.6 umol) süspansiyonuna, araürün 10 (192 mg, 969.2 umol) ve DBU (227mg, 1.5 mmol) eklendi. Reaksiyon karışımı, 26 ° C'de 16 saat boyunca karıştırıldı. TLC, reaksiyonun tamamlandığını gösterdi. Çökelmiş katı madde, beyaz bir katı olarak 2-[3-[4- (2-amino-[1,2,4]triazol[1,5-c]pirimidin-5-yl)pirazol-1-yl]-1-siklopropilsülfonil-azetid-3-yl]asetonitril (200 mg, %67.2 verim) vermek için süzüldü, toplandı, soğuk asetonitril (5 mL) ile yıkandı ve indirgenmiş basınç altında kurutuldu. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ = 9.18 (s,1H), 8.70 (s, 1H), 8.15 (d, J=6.3 Hz, 1H), 7.30 (d, J=6.0 Hz, 1H), 6.56 (s, 2H), 4.59 (d, J=9.3 Hz, 2H), 4.33 (d, J=9.3 Hz, 2H), 3.70 (s, 2H), 2.90 - 2.82 (m, 1H), 1.09 - 1.03 (m, 2H), 1.03 - 0.96 (m, 2H). MS (ESI), C₁₆H₁₇N₉O₂S [M +H]⁺ 400 için hesaplandı; bulunan 400.

Adım 2: N-[5-[1-[3- (siyanometil)-1-siklopropilsülfonil-azetid-3-yl]pirazol-4-yl]-[1,2,4]triazol[1,5-c]pirimidin-2-yl]siklopropankarboksamidinin (WX03) hazırlanması

Asetonitrilde (2 mL) hafifçe çözünmüş bir -[3-[4- (2-amino-[1,2,4]triazol[1,5-c]pirimidin-5-yl)pirazol-1-yl]-1-siklopropilsülfonilazetid- 3-yl]asetonitril (80 mg, 200.3 umol) süspansiyonuna, siklopropankarboksilik asit klorür (63 mg, 600.9 umol) ve trietilamin (61 mg, 600.9 umol) eklendi. Reaksiyon karışımı 16 saat boyunca 26°C'de ve 3 saat boyunca 80°C'de karıştırıldı. LC-MS, tümünün tek- ve iki-ikamelı ürünün bir karışımı olarak üretildiğini gösterdi. Reaksiyon karışımı indirgenmiş basınç altında yoğunlaştırıldıktan sonra, etanol çözeltisindeki metilamin (% 27 -% 32, 3 mL) eklendi ve 26 ° C'de 0.5 saat karıştırıldı. LC-MS, tümünün bir tek-ikamelı ürün olarak üretildiğini gösterdi.

Reaksiyon karışımı, N-[5-[1-[3- (siyanometil)-1-siklopropilsülfonil-azetidin-3-yl]pirazol-4-yl]-[1,2,4]triazol[1,5-c]pirimidin-2-yl]siklopropankarboksamid (60 mg, %64.1 verim) vermek için indirgenmiş basınç altında konsantre edildi ve hazırlayıcı HPLC (alkalin durumu) ile saflaştırıldı. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ = 11.43 (s, 1H), 9.27 (s, 1H), 8.81 (s, 1H), 8.32 (d, J=6.0 Hz, 1H), 7.60 (d, J=6.0 Hz, 1H), 4.57 (d, J=9.3 Hz, 2H), 4.32 (d, J=9.3 Hz, 2H), 3.70 (s, 2H), 2.92 - 2.79 (m, 1H), 2.07 (d, J=13.6 Hz, 1H), 1.07 - 0.96 (m, 4H), 0.91 - 0.83 (m, 4H). MS (ESI), C₂₀H₂₁N₉O₃S [M+H]⁺ 468 için hesaplandı; bulunan 468.

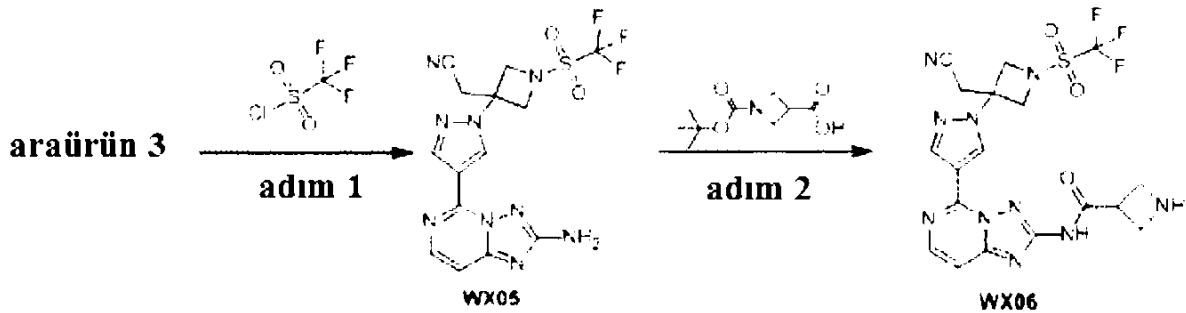
Örnek 4



10 Adım 1: 2-[3-[4- (2-amino-[1,2,4]triazol[1,5-c]pirimidin-5-yl) pirazol-1-yl]-1-metilsülfonil-siklobütülamın-3-yl]asetonitrilin (WX04) hazırlanması

DCM (50 mL) solüsyonunda çözünmüş araürün 3 (1.0 g, 2.4 mmol, TFA tuz) ve trietilamine (617 mg, 6.1 mmol), 15°C'de damla damla MsCl'yı (307 mg, 2.7 mmol) ekledi. Damlattıktan sonra, reaksiyon karışımı 15°C'de 2 saat karıştırıldı. Reaksiyon tamamlandıktan sonra, reaksiyon karışımı kuruması için konsantre edildi. Oluşan katı, 2-[3-[4- (2-amino-[1,2,4]triazol[1,5-c]pirimidin-5-yl)pirazol-1-yl]-1-metilsülfonil-siklobütülamın-3-yl]asetonitrili (800 mg, %87.8 verim) vermek için ayrıldı ve hazırlayıcı HPLC ile saflaştırıldı. ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ= 9.17 (s, 1H), 8.70 (s, 1H), 8.15 (d, J = 6.0 Hz, 1H), 7.30 (d, J = 6.0 Hz, 1H), 6.56 (brs, 2H), 4.55 (d, J = 9.2 Hz, 2H), 4.31 (d, J = 9.2 Hz, 2H), 3.69 (s, 2H), 3.14 (s, 3H). MS (ESI), C₁₄H₁₂F₃N₉O₂S [M+H]⁺428 için hesaplandı; bulunan 428.

Örnek 5



Adım 1: 2-[3-[4-(2-amino-[1,2,4]triazol[1,5-c]pirimidin-5-yl)pirazol-1-yl]-1-(triflorometilsülfolil)siklobütülamın-3-yl]asetonitrilin (WX05) hazırlanması

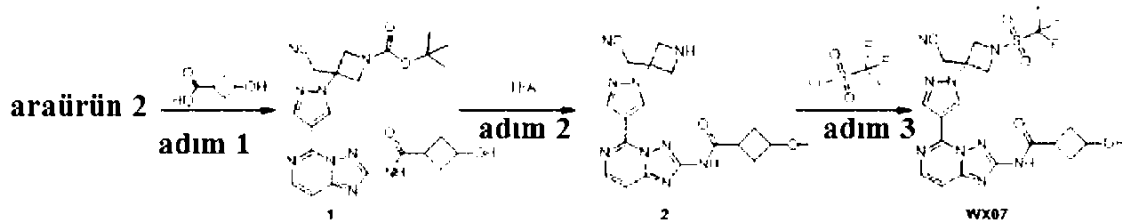
DCM'de (10 mL) çözünmüş bir araürün 3 (515 mg, 1.7 mmol) ve TEA (264 mg, 2.6 mmol) solüsyonuna, nitrojen koruması altında 15°C'de damla damla triflorometansülfolil klorür (323 mg, 1.9 mmol) eklendi. Damlamadan sonra reaksiyon karışımı 15°C'de 3 saat boyunca karıştırıldı.

Reaksiyon tamamlandıktan sonra, karışım kuruması için konsantre edildi. Oluşan katı su ile dövüldü ve süzüldü ve beyaz bir katı olarak 2-[3-[4-(2-amino-[1,2,4]triazol[1,5-c]pirimidin-5-yl)pirazol-1-yl]-1-(trifloro metilsülfolil)siklobütülamın-3-yl]asetonitrili (700 mg, % 94.1 verim) vermek için filtre çamuru kurutuldu. ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ = 9.18 (s, 1H), 8.74 (s, 1H), 8.15 (d, J = 6.0 Hz, 1H), 7.30 (d, J = 6.0 Hz, 1H), 6.55 (brs, 2H), 4.91 (d, J = 9.2 Hz, 2H), 4.70 (d, J = 9.2 Hz, 2H), 3.82 (s, 2H). MS (ESI), C₁₄H₁₂F₃N₉O₂S [M+H]⁺ 428 için hesaplandı; bulunan 428.

Adım 2: N-[5-[1-[3-(siyanometil)-1-(triflorometilsülfolil) siklobütülamın-3-yl]pirazol-4-yl]-[1,2,4]triazol[1,5-c]pirimidin-2-yl] siklobütülamın-3-formamidin (WX06) hazırlanması

N-tert-bütül-formilsiklobütülamın-3-karboksilik asit (198 mg, 982.8 umol) ve DMF'nin (100 uL) DCM (10 mL) solüsyonuna, nitrojen koruması altında 0°C'de DCM'de (2 mL) damla damla oksalil klorür (156 mg, 1.23 mmol) eklendi. Damlama sonrasında, reaksiyon karışımı 0°C'de 2 saat boyunca karıştırıldı. Sonra reaksiyon karışımı, indirgenmiş basınç altında kuruması için konsantre edildi. Oluşan sıvı DCM'de (2 mL) çözüldü ve bir enjektör ile, nitrojen koruması altında 0°C'de DCM'de (10 mL) 2-[3-[4-(2-amino-[1,2,4] triazol [1,5 -c]pirimidin-5 -yl)pirazol-1 -yl] -1 - (triflorometilsülfolil) siklobütülamın-3-yl]asetonitrile (350 mg, 818.9 umol) damla damla eklendi. Damlamadan sonra, reaksiyon karışımı, 0°C'de 2 saat boyunca karıştırıldı. Reaksiyon karışımı, Boc korumalı ürünü (10 mg) vermek için hazırlayıcı ince katman kromatografi ile (DCM/MeOH = 10/1) doğrudan saflaştırıldı. Ürün DCM (2 mL) çözüldü, ki buna 15°C'de TFA (2 mL) eklendi. Oluşan karışım 15°C'de 1 saat boyunca karıştırıldı. Reaksiyon tamamlandıktan sonra karışım konsantre edildi ve kurutuldu. Oluşan katı, N-[5-[1-[3-(siyanometil)-1-(triflorometilsülfolil)siklobütülamın-3-yl]pirazol-4-yl]-[1,2,4]triazol[1,5-c]pirimidin-2-yl]siklobütülamın-3-formamid (2 mg, %0.42 verim) vermek için hazırlayıcı HPLC (alkalin yöntemi) ile ayrıştırıldı ve saflaştırıldı. MS (ESI), C₁₈H₁₇F₃N₁₀O₃S [M+H]⁺ 511 için hesaplandı; bulunan 511.

Örnek 6



Adım 1: Tert-bütül-3- (siyanometil)-3-[4-[2-[(3-hidroksisiklobütan formoksil)amino]-[1,2,4]triazol[1,5-c]pirimidin-5-yl]pirazol-1-yl]siklobütan-1-formatin (1) hazırlanması

Piridin (10 mL), araürün (300 mg, 758.7 umol), 3-hidroksisiklobütan formik asit (106 mg, 910.4 umol) ve EDCI (218 mg, 1.1 mmol) karışımı ilave edildi ve elde edilen karışım, nitrojen koruması altında 16 saat boyunca geri akışa kadar ısıtıldı. Kuruması için konsantre edildikten sonra, kalan katı, beyaz bir katı olarak tert-bütül-3- (siyanometil)-3-[4-[2-[(3-hidroksisiklobütanformoksil) amino]-[1,2,4] triazol[1,5-c]pirimidin-5-yl]pirazol-1-yl]siklobütan-1-formatı (36 mg, % 9.61 verim) vermek için hazırlayıcı ince katman kromatografi ile (DCM/MeOH = 10/1) saflaştırıldı. MS (ESI), $C_{23}H_{27}N_9O_4$ $[M+H]^+$ 494 için hesaplandı; bulunan 494.

Adım 2 N-[5-[1-[3- (siyanometil)siklobütütilamin-3-yl]pirazol-4-yl] -[1,2,4]triazol[1,5-c]pirimidin-2-yl]-3-hidroksi-siklobütan formamidin (2) hazırlanması

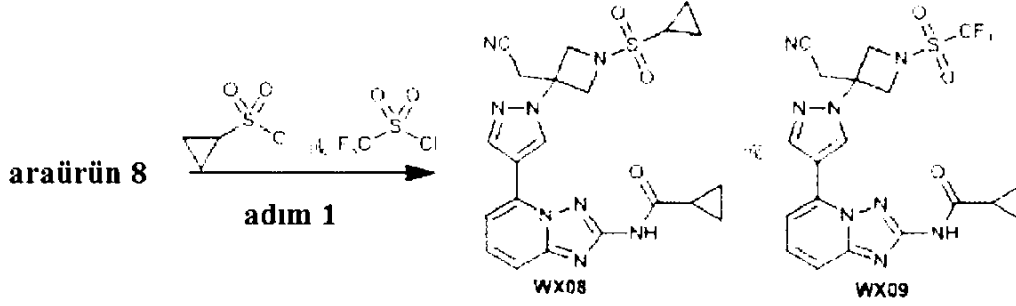
Diklorometandaki (2.00 mL) bir tert-bütül-3- (siyanometil)-3-[4-[2-[(3-hidroksisiklobütanformoksil) amino]-[1,2,4]triazol[1,5-c]pirimidin-5-yl]pirazol-1-yl]siklobütan-1-format (36 mg, 72.9 umol) solüsyonuna 15°C'de damla damla TFA (1 mL) eklendi. Oluşan karışım 15°C'de 30 dakika boyunca karıştırıldı. LCMS, reaksiyonun tamamlandığını gösterdi. Reaksiyon karışımı, sarı bir katı olarak N-[5-[1-[3-(siyanometil)siklobütütilamin-3-yl]pirazol-4-yl]-[1,2,4]triazol [1,5-c]pirimidin-2-yl]-3-hidroksi-siklobütan formamidi (37 mg, %99.9 verim, TFA tuz) vermek için 30°C'de kuruyuncaya kadar konsantre edildi. MS (ESI), $C_{18}H_{19}N_9O_2$ $[M+H]^+$ 394 için hesaplandı; bulunan 394.

Adım 3: N-[5-[1-[3- (siyanometil)-1- (triflorometilsülfonil) siklobütütilamin-3-yl]pirazol-4-yl]-[1,2,4]triazol[1,5-c]pirimidin-2-yl]-3-hidroksi-siklobütan formamidin (WX07)hazırlanması

DCM'deki (5.00 mL) bir N-[5-[1-[3- (siyanometil)siklobütütilamin-3-yl]pirazol-4-yl]-[1,2,4]triazol[1,5-c]pirimidin-2-yl]-3-hidroksi-siklobütan formamid (15mg, 29.6 umol) ve trietilamin (9 mg, 88.7 umol) solüsyonuna, nitrojen koruması altında 20°C'de DCM'de damla damla bir triflorometansülfonil klorür (7 mg, 44.34 umol) solüsyonu eklendi. Eklemeden sonra, karışım 1 saat 20 ° C'de karıştırıldı.

Reaksiyon tamamlandıktan sonra, reaksiyon karışımı kuruması için konsantre edildi. Oluşan katı, N-[5-[1-[3- (siyanometil)-1- (triflorometilsülfonil)siklobütütilamin-3-yl]pirazol-4-yl]-[1,2,4]triazol[1,5-c]pirimidin- 2-yl]-3-hidroksi-siklobütan formamidi (8 mg, % 51.50 verim) vermek için hazırlayıcı HPLC (NH₄OH'un % 0.1'i bir katkı olarak kullanıldı) ile ayrıldı ve saflaştırıldı. ¹H-NMR (400 MHz, MeOD-d₄) δ = 9.29 (s, 1H), 8.73 (s, 1H), 8.32 (d, J = 6.4 Hz, 1H), 7.49 (d, J = 6.0 Hz, 1H), 5.00 (d, J = 9.6 Hz, 2H), 4.70 (d, J = 9.2 Hz, 2H), 4.05-4.13 (m, 1H), 3.70 (s, 2H), 2.90 (brs, 1H), 2.50-2.66 (m, 2H), 2.20-2.35 (m, 2H). MS (ESI), $C_{19}H_{18}F_3N_9O_4S$ $[M+H]^+$ 526 için hesaplandı; bulunan 526.

Örnek 7

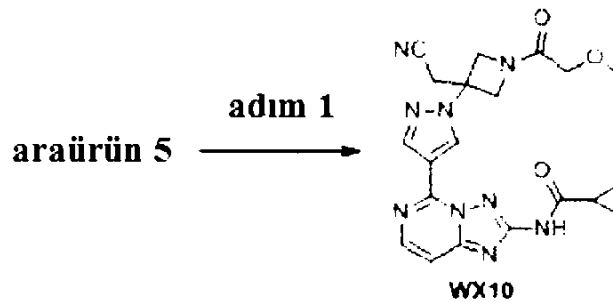


Adım 1: N- (5- (1- (3- (Siyanometil)-1- (triflorometilsülfolil)azetid in -3-yl)-1H-pirazol-4-yl)-[1,2,4]triazol[1,5-a]piridin-2-yl)siklopropan formamidin hazırlanması

Diklorometanda (5 mL) çözülmüş araürüne 8 (100mg, 275.9 umol) ve trietilamine (84 mg, 827.9 umol), 0°C'de triflorometansülfolil klorür (56 mg, 331.4 umol) damla damla yavaşça eklendi. Eklemeden sonra karışım 16 saat boyunca reaksiyona girmesi için oda sıcaklığına kadar ısıtıldı. LCMS, reaksiyonun tamamlanmış olduğunu gösterdikten sonra reaksiyon karışımı su (20 mL) ile seyreltildi, diklorometan (20 mLx3) ile özütlendi. Birleştirilmiş organik faz susuz sodyum sülfat ile kurutuldu ve filtrelendi ve filtrat indirgenmiş basınç altında damıtıldı. Oluşan tortu, N- (5- (1- (3- (siyanometil)-1- (triflorometilsülfolil) azetid in-3-yl)-1H-pirazol-4-yl)-[1,2,4]triazol[1,5-a] piridin-2-yl)siklopropan formamidi (WX09, 45 mg, %31.33 verim) vermek için ince katman kromatografi (etil asetat) ile saflaştırıldı. ¹H NMR (400 MHz, METHANOL-d₄) δ = 9.21 (s, 1 H), 8.59 (s, 1 H), 7.71 - 7.77 (m, 1H), 7.60 (dd, J=14.44, 8.16 Hz, 2 H), 5.00 (d, J=9.04 Hz, 2 H), 4.70 (d, J=9.04 Hz, 2 H), 3.68 (s, 2 H), 1.28 - 1.39 (m, 1 H), 1.11 (quin, J=3.84 Hz, 2 H) 0.97 - 1.04 (m, 2 H). MS (ESI), C₁₉H₁₇N₈O₃F₃S [M+H]⁺ 495 için hesaplandı; bulunan 495.

WX08'in hazırlanması: N- (5- (1- (3- (siyanometil)-1- (siklopropilsülfolil)azetid in -3-yl)-1H-pirazol-4-yl)-[1,2,4]triazol[1,5-a]piridin-2-yl)siklopropan formamid (WX08), WX09'a (Adım 1) benzer hazırlama yöntemini kullanarak hazırlandı. ¹H NMR (400 MHz, METANOL-d₄) δ = 9.23 (s, 1 H), 8.58 (s, 1 H), 7.71 - 7.76 (m, 1 H), 7.58 - 7.65 (m, 2 H), 4.70 (d, J=9.28 Hz, 2 H), 4.39 (d, J=9.04 Hz, 2 H), 3.64 (s, 2 H), 2.72 (dt, J=12.74, 6.31 Hz, 1 H), 1.78 (d, J=7.04 Hz, 1 H), 1.08 - 1.14 (m, 6 H), 1.00 (dd, J=7.28, 3.26 Hz, 2 H). MS (ESI), C₂₁H₂₂N₈O₃S [M+H]⁺ 467 için hesaplandı; bulunan 467.

Örnek 8

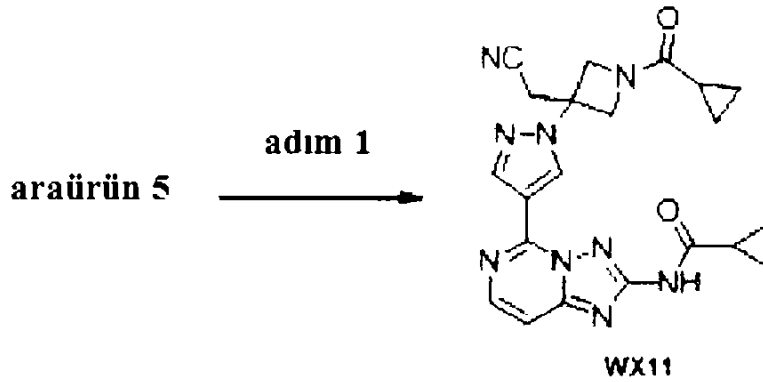


Adım 1: N-[5-[1-[3- (siyanometil)-1- (2-metoksiasetil)azetidin-3-] pirazol-4-]-[1,2,4]triazol[1,5-c]pirimidin2-]siklopropil karboksamid 2-Metoksiasetle asitin (11 mg, 128.4 umol) preparatı, DCM/DMF'nin (6 mL, 5:1) karışımında çözüldü. Karışıma sırasıyla HOBt (35 mg, 256.9 umol) ve EDCI (49 mg, 256.9 umol) eklendi. Elde edilen karışım 1 saat süreyle reaksiyon için karıştırıldı.

5 Araürün 5 (70 mg, 192.6 umol) ve DIEA (50 mg, 385.3umol) eklendi ve reaksiyon için 15°C'de 12 saat karıştırıldı. LC-MS, hammaddenin hedef ürüne tamamen reaksiyona girdiğini gösterdi. Reaksiyon karışımı, N-[5-[1-[3- (siyanometil)-1- (2-metoksiasetil)azetidin-3-] pirazol-4-]-[1,2,4]triazol[1,5-c]pirimidin2-]siklopropil karboksamidi (30 mg, %53.7 verim) vermek için DCM ve DMF'yi çıkarmak için indirgenmiş basınç altında konsantre edildi ve hazırlayıcı HPLC (alkalinite) ile ayrıldı. ¹H NMR

10 (400MHz, DMSO-d₆) δ = 9.26 (s, 1H), 8.80 (s, 1H), 8.34 (d, J=6.0 Hz, 1H), 7.61 (d, J=6.3 Hz, 1H), 4.81 (d, J=10.0 Hz, 1H), 4.61 (d, J=10.0 Hz, 1H), 4.46 (d, J=10.5 Hz, 1H), 4.33 (d, J=10.3 Hz, 1H), 4.01 (s, 2H), 3.72 (s, 2H), 3.32 (s, 3H), 2.12 (br. s., 1H), 0.98 - 0.84 (m, 4H). MS (ESI), C₂₀H₂₁N₉O₃ [M+H]⁺ 436 için hesaplandı; bulunan 436.

Örnek 9



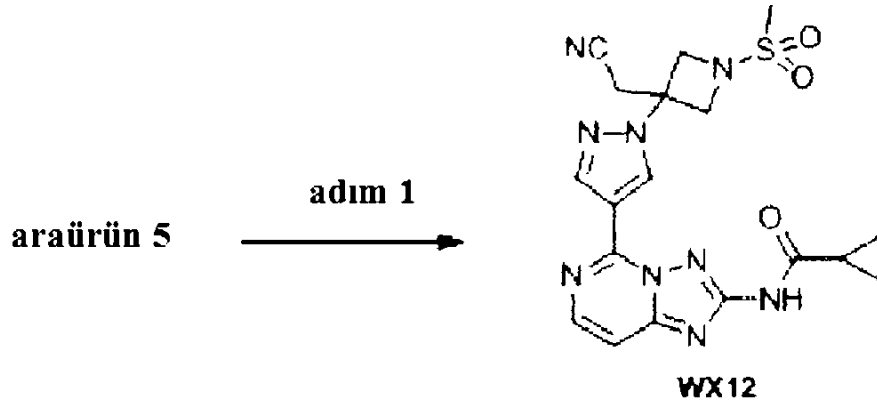
15

Adım 1: N-[5-[1-[3- (siyanometil)-1- (siklopropilkarbonil)azetidin-3-] pirazol-4-]-[1,2,4]triazol[1,5-c]pirimidin2-]siklopropil karboksamidin hazırlanması

Diklorometanda (3 mL), araürün 5 (79 mg, 216.3 umol) çözüldü ve DIEA (84 mg, 648.9 umol) eklendi. Daha sonra 5 dakika içinde bir şırınga ile siklopropionil klorür (27 mg, 259.6 umol) ilave edildi ve reaksiyon karışımı, 3 saat boyunca reaksiyon için 15 ° C'de karıştırıldı. LC-MS, hammaddenin hedef ürünle tamamen reaksiyona girdiğini gösterdi. Reaksiyon karışımı, N-[5-[1-[3- (siyanometil)-1- (siklopropilkarbonil) azetidin-3-]pirazol-4-]-[1,2,4]triazol[1,5-c]pirimidin2-]siklopropil karboksamidi (50 mg, %53.6 verim) vermek için DCM ve DMF'yi çıkarmak için indirgenmiş basınç altında konsantre edildi ve hazırlayıcı HPLC (alkalinite) ile ayrıldı. ¹H NMR

25 (400MHz, DMSO-d₆) δ = 9.25 (s, 1H), 8.83 - 8.78 (m, 1H), 8.32 (dd, J=3.8, 6.0 Hz, 1H), 7.60 - 7.52 (m, 1H), 4.88 (d, J=9.3 Hz, 1H), 4.68 (d, J=9.5 Hz, 1H), 4.44 (d, J=10.5 Hz, 1H), 4.29 (d, J=10.3 Hz, 1H), 3.72 (d, J=5.5 Hz, 2H), 3.13 (br. s., 1H), 1.69 - 1.55 (m, 1H), 0.98 - 0.85 (m, 4H), 0.77 (br. s., 4H). MS (ESI), C₂₁H₂₁N₉O₂ [M+H]⁺ 432 için hesaplandı; bulunan 432.

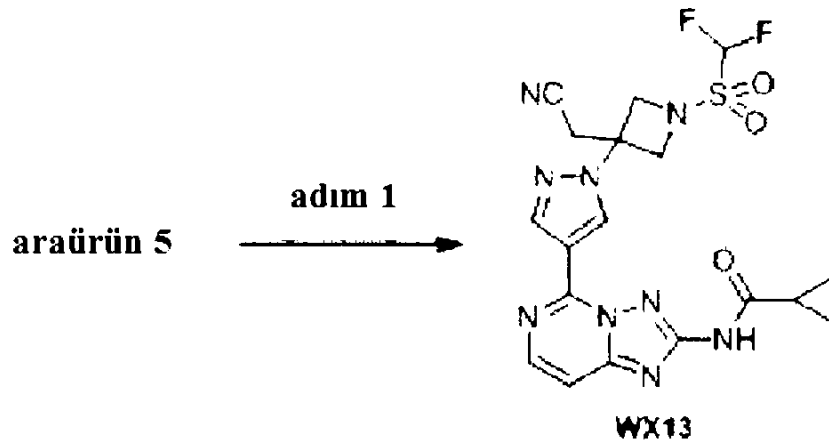
Örnek 10



Adım 1: N-[5-[1-[3- (siyanometil)-1-metansülfonil-azetidin-3-] pirazol-4-]-[1,2,4]triazol[1,5-c]pirimidin2-]siklopropil karboksamidin (WX12) hazırlanması

- 5 Araürün 5 (100 mg, 275.2 umol), diklorometan (8 mL) içinde süspansiyon edildi. Sırayla DIEA (107 mg, 825.6 umol) ve MsCl (140 mg, 1.2 mmol) eklendi. Reaksiyon karışımı, 2 saat süreyle reaksiyon için 15 ° C'de karıştırıldı. LCMS, hammaddenin tamamen reaksiyona girdiğini ve hedef ürünün tespit edildiğini gösterdi. Reaksiyon karışımı, -[5-[1-[3- (siyanometil)-1-metansülfonil-azetidin-3-]pirazol-4-]-[1,2,4]triazol[1,5-c]pirimidin2-] siklopropil karboksamidi (39 mg, %31.1 verim) vermek için
- 10 DCM'yi çıkarmak amacıyla indirgenmiş basınç altında konsantre edildi ve hazırlayıcı HPLC'den (alkalinite) ayrıldı. ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ = 9.28 (s, 1H), 8.86 (s, 1H), 8.35 (d, J=6.3 Hz, 1H), 7.63 (d, J=6.3 Hz, 1H), 6.08 (br. s., 1H), 4.55 (d, J=9.5 Hz, 2H), 4.33 (d, J=9.3 Hz, 2H), 3.72 (s, 2H), 3.16 (s, 3H), 2.10 (d, J=14.8 Hz, 1H), 1.01- 0.79 (m, 4H). MS (ESI), C₁₈H₁₉N₉O₃S [M+H]⁺ 442 için hesaplandı; bulunan 442.

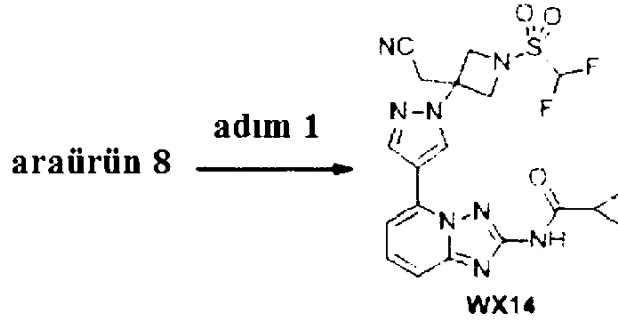
- 15 Örnek 11



Adım 1: N-[5-[1-[3- (siyanometil)-1- (diflorometilsülfonil)-azetidin-3-]pirazol-4-]-[1,2,4]triazol[1,5-c]pirimidin2-]siklopropil karboksamidin (WX13) hazırlanması

Araürün 5 (100 mg, 275.2 umol), diklorometanda (8 mL) süspansiyon halinde tutuldu. Sırasıyla DIEA (178 mg, 1.4 mmol) ve diflorometilsülfolil klorür (62 mg, 412.8 mmol) eklendi. Reaksiyon karışımı 12 saat boyunca 15°C'de karıştırıldı. LC-MS, hammaddenin tamamen reaksiyona girdiğini ve hedef ürünün tespit edildiğini gösterdi. Reaksiyon karışımı, DCM'yi çıkarmak için indirgenmiş basınç altında konsantre edildi. Tortu, N-[5-[1-[3- (siyanometil) -1- (diflorometilsülfolil)-azetidin-3-]pirazol-4-]-[1,2,4]triazol[1,5-c]pirimidin-2-] siklopropil karboksamidi (8 mg, %6.1 verim) vermek için DMF ve MeOH ile bir çözeltiye (5 mL) seyreltildi ve hazırlayıcı HPLC'den (alkaliliklik) ayrıldı. ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ = 11.46 (br. s., 1H), 9.27 (s, 1H), 8.87 (s, 1H), 8.34 (d, J=6.3 Hz, 1H), 7.63 (d, J=6.0 Hz, 1H), 7.42 - 7.06 (m, 1H), 4.79 (d, J=9.0 Hz, 2H), 4.67 - 4.49 (m, 2H), 3.78 (s, 2H), 2.26 - 1.96 (m, 1H), 0.97 - 0.84 (m, 4H). MS (ESI), C₁₈H₁₇F₂N₉O₃S [M+H]⁺ 478 için hesaplandı; bulunan 478.

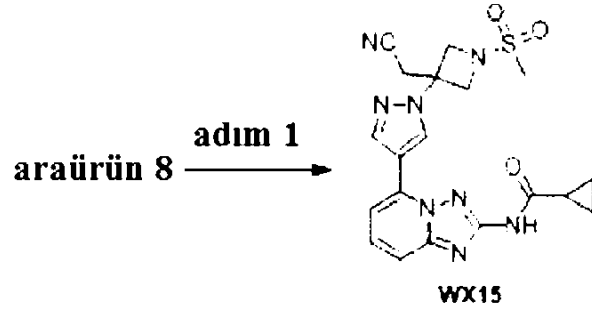
Örnek 12



Adım 1: N-[5-[1-[3- (siyanometil)-1- (diflorometilsülfolil) azetidin-3-]pirazol-4-]-[1,2,4]triazol[1,5-c]piridin-2-]siklopropil karboksamidin (WX14) hazırlanması

Araürün 8 (300 mg, 629.7 umol, trifloroasetat), DCM (4 mL)'de süspansiyon halinde tutuldu. DMAP (8 mg, 63 umol), DIEA (407 mg, 3.2 mmol) ve diflorometilsülfolil klorür (142 mg, 944.6 umol) sırasıyla eklendi. Reaksiyon karışımı 12 saat boyunca 15°C'de karıştırıldı. LC-MS, hammaddenin tamamen reaksiyona girdiğini ve hedef ürünün tespit edildiğini gösterdi. Reaksiyon karışımı, DCM'yi çıkarmak için indirgenmiş basınç altında konsantre edildi. Tortu, -[5-[1-[3- (siyanometil)-1- (diflorometilsülfolil)azetidin-3-]pirazol-4-]-1,2,4]triazol[1,5-c]piridin-2-]siklopropil karboksamidi (8 mg, 2.7 verim) vermek için DMF ve MeOH ile bir çözeltiye (5 mL) seyreltildi ve hazırlayıcı HPLC (alkaliliklik) ile ayrıldı. ¹H NMR (400MHz, METHANOL-d₄) δ = 9.99 (s, 1H), 9.57 - 9.44 (m, 1H), 8.52 - 8.44 (m, 1H), 8.39 (d, J=7.3 Hz, 1H), 8.33 (d, J=8.3 Hz, 1H), 8.01 - 7.68 (m, 1H), 5.57 (d, J=8.8 Hz, 2H), 5.36 (d, J=9.0 Hz, 2H), 4.47 (s, 2H), 1.81 - 1.61 (m, 4H). MS (ESI), C₁₉H₁₈F₂N₈O₃S [M+H]⁺ 477 için hesaplandı; bulunan 477.

Örnek 13

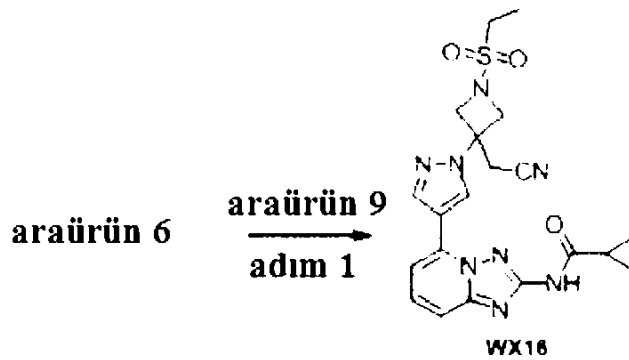


Adım 1: N-[5-[1-[3- (siyanometil)-1-metilsülfini-azetidin-3-] pirazol-4-]-[1,2,4]triazol[1,5-a]pirimidin2-]siklopropil karboksamidin hazırlanması

Araürün 8 (150 mg, 314.9 umol, trifloroasetat), diklorometanda (2 mL) süspansiyon halinde tutuldu.

- 5 DIEA (203 mg, 1.6 mmol), DMAP (11 mg, 94.5 mmol) ve MsCl (180 mg, 1.6 mmol) sırasıyla eklendi. Reaksiyon karışımı 12 saat boyunca 15°C'de karıştırıldı. LC-MS, hammaddenin tamamen reaksiyona girdiğini ve hedef ürünün tespit edildiğini gösterdi. Reaksiyon karışımı, DCM'yi çıkarmak için indirgenmiş basınç altında konsantre edildi. Tortu, N-[5-[1-[3- (siyanometil)-1-metilsülfini-azetidin-3-]pirazol-4-]-[1,2,4]triazol [1,5-a]pirimidin2-]siklopropil karboksamidi (10 mg, 7.15%
- 10 verim) vermek için MeOH ile bir çözeltiye (5 mL) seyreltildi ve hazırlayıcı HPLC (alkaliliklik) ile ayrıldı. ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ = 11.17 (br. s., 1H), 9.27 (s, 1H), 8.79 (s, 1H), 7.83 - 7.68 (m, 1H), 7.62 (dd, J=7.8, 17.6 Hz, 2H), 4.51 (d, J=9.0 Hz, 2H), 4.34 (d, J=9.0 Hz, 2H), 3.69 (s, 2H), 3.16 (s, 3H), 2.25 - 2.00 (m, 1H), 0.95 - 0.80 (m, 4H). MS (ESI), C₁₉H₂₀N₈O₃S [M+H]⁺ 441 için hesaplandı; bulunan 441.

- 15 Örnek 14

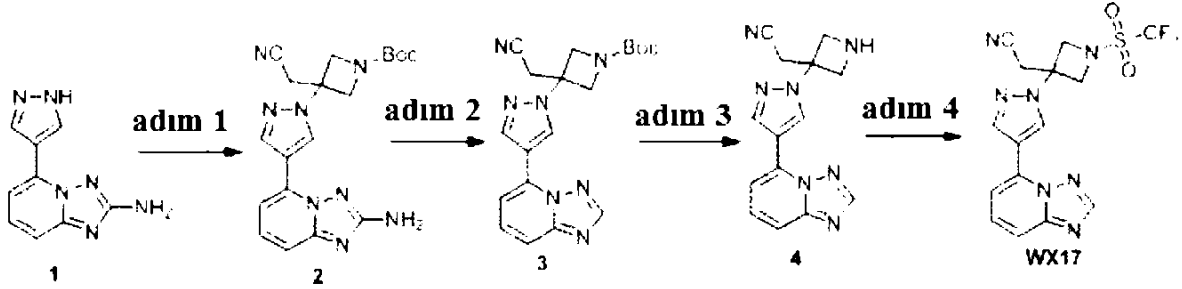


Adım 1: N- (5- (1- (3- (siyanometil)-1- (etilsülfini)azetidin-3-yl)-1H-pirazol-4-yl)-[1,2,4]triazol[1,5-a]piridin-2-yl)siklopropil karboksamidin (WX16) hazırlanması

- Asetonitrildeki (15 mL) bir araürün 6 (1.5 g, 5.6 mmol) ve araürün 9 (1.5 g, 7.8 mmol) solüsyonuna, nitrojen koruması altında damla damla DBU (1.7 g, 11.2 mmol) eklendi. Reaksiyon karışımı 16 saat boyunca 25°C'de karıştırıldı. TLC (petrol eter/etil asetat=0:1), reaksiyonun tamamlanmış olduğunu tespit etti. Reaksiyon karışımı, 0 ° C'de metanol (200 mL) içerisine döküldü, hemen çok sayıda katı

çökteldi, 10 dakika karıştırıldı ve daha sonra süzöldü. Oluşan katı, bir ürün olarak N- (5- (1- (3- (siyanometil)-1- (etilsülfoni)azetid-3-yl)-1H-pirazol-4-yl)-[1,2,4] triazol[1,5-a]piridin-2-yl)siklopropil karboksamidi (1.60 g, %60 verim) vermek için metanol (5 mL) ile yıkandı ve vakum altında kurutuldu. ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ = 9.25 (s, 1H), 8.79 (s, 1H), 7.76 - 7.70 (m, 1H), 7.64 (d, J=7.0 Hz, 1H), 7.60 (d, J=8.5 Hz, 1H), 4.49 (d, J=9.0 Hz, 2H), 4.32 (d, J=9.0 Hz, 2H), 3.68 (s, 2H), 1.26 (t, J=7.3 Hz, 3H), 0.91 - 0.85 (m, 4H). MS (ESI), C₂₀H₂₂N₈O₃S [M+H]⁺ 455 için hesaplandı; bulunan 455.

Örnek 15



10 *Adım 1:* Tert-bütül 3-[4- (2-amino-[1,2,4]triazol[1,5-a]piridin-1-)-3- (siyanoetil) azetid-1-formatın hazırlanması

Asetonitrilde (20.00 mL) çözünmüş - (1H-pirazol-4-)-[1,2,4]triazol[1,5-a]piridin-2-amin (700 mg, 3.5 mmol) and tert-bütül 3- (siyanometil) azetid-1-formatı (747 mg, 3.9 mmol), DBU (1.6 g, 10.5 mmol) eklendi. Karışım 40 ° C'de 3 saat süreyle reaksiyona sokuldu. LC-MS, hammaddenin tamamen reaksiyona girdiğini ve hedef ürünün tespit edildiğini gösterdi. Reaksiyon karışımı suya (30 mL) döküldü, 30 dakika boyunca karıştırıldı. Su fazının etil asetat (20 mLx3) ile özütlendi. Organik faz, kahverengi bir katı olarak, tert-bütül 3-[4- (2-amino-[1,2,4]triazol[1,5-a]piridin-1-)-3- (siyanoetil)azetid-1-formatı (1.33 g, ham ürün) vermek için birleştirildi, doymuş tuzlu su (20 mLx2) ile yıkandı, susuz sodyum sülfat ile kurutuldu, filtrelendi ve indirgenmiş basınç altında damıtıldı. MS (ESI), C₁₉H₂₂N₈O₂ [M+H]⁺ 395 için hesaplandı; bulunan 395.

20 *Adım 2:* Tert-bütül 3- (siyanometil-3-[4- ([1,2,4]triazol[1,5-a]piridin-5-) pirazol-1-]azetid-1-formatın hazırlanması

Tetrahidrofuranda (2 mL) çözünmüş 3-[4- (2-amino-[1,2,4]triazol[1,5-a]piridin-1-)-3- (siyanoetil)azetid-1-formatı (150 mg, 380.3 umol), t-BuONO (59 mg, 570.5 umol) eklendi ve 15°C'de 3 saat boyunca karıştırıldı. LC-MS, hammaddenin tamamen reaksiyona girdiğini ve hedef ürünün tespit edildiğini gösterdi. Reaksiyon karışımı, tert-bütül 3- (siyanometil-3-[4- ([1,2,4]triazol[1,5-a]piridin-5-)pirazol-1-]azetid-1-format (80 mg, % 55.4 verim) vermek için indirgenmiş basınç altında konsantre edildi, DCM (4 mL) ile seyreltildi ve hazırlayıcı TLC (DCM: MeOH = 10: 1) ile ayrıldı. MS (ESI), C₁₉H₂₁N₇O₂ [M+H]⁺ 380 için hesaplandı; bulunan 380.

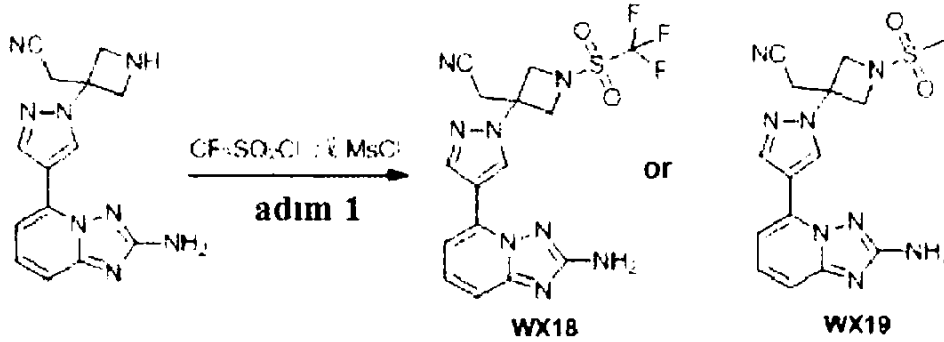
30 *Adım 3:* 2-[3-[4- ([1,2,4]triazol[1,5-a]piridin-5-)pirazol-1-] azetid-3-]asetonitrilin hazırlanması

Tert-bütül 3- (siyanometri-3-[4- ([1,2,4]triazol[1,5-a]piridin-5-)pirazol-1-] azetidini-1-format (80 mg, 210.9 umol), DCM'de (1.5 mL) süspansiyon halinde tutuldu. Trifloroasetik asit (857 mg, 7.5 mmol) eklendi ve 3 saat boyunca 15°C'de karıştırıldı. LC-MS, reaksiyonun tamamlandığını ve hedef ürünün MS tespit edildiğini gösterdi. Reaksiyon karışımı solventi ve trifloroasetik asitin kalanını çıkarmak için azaltılmış basınç altında kahverengi katkı olarak 2-[3-[4- ([1,2,4]triazol[1,5-a]piridin-5-)pirazol-1-]azetidini-3-]asetonitril (129 mg, ham ürün) şeklinde konsantre edildi. MS (ESI), C₁₄H₁₃N₇[M+H]⁺ 280 için hesaplandı; bulunan 280.

Adım 4: 2-[3-[4- ([1,2,4]triazol[1,5-a]piridin-5-)pirazol-1-] -1-triflorometilsülfonyl)azetidini-3-]asetonitrilin hesaplanması

2-[3-[4- ([1,2,4]triazol[1,5-a]piridin-5-)pirazol-1-]azetidini-3-]asetonitril (60 mg, 214.8 umol), DCM'de (2 mL) çözüldü, DMAP (13 mg, 107.4 umol) ve Et₃N (109 mg, 1.1 mmol) eklendi, sonra triflorometansülfonyl klorür (47 mg, 279.3 umol), 15°C'de damla damla eklendi. Reaksiyon karışımı 15°C'de 4 saat boyunca karıştırıldı. LC-MS, hammaddenin tamamen reaksiyona girdiğini ve hedef ürünün MS tespit edildiğini gösterdi. Reaksiyon karışımı, çözücüye uzaklaştırmak ve hazırlayıcı HPLC (alkalilik) ile (2-[3-[4- ([1,2,4]triazol[1,5-a]piridin-5-)pirazol-1-] -1-(triflorometilsülfonyl)azetidini-3-]asetonitrili (25 mg, %28.3 verim) vermek için indirgenmiş basınç altında konsantre edildi. ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ = 9.28 (br. s., 1H), 8.73 (d, J=17.8 Hz, 2H), 7.82 (br. s., 3H), 5.22 - 4.50 (m, 4H), 3.86 (br. s., 2H). MS (ESI), C₁₅H₁₂F₃N₇O₂S [M+H]⁺ 412 için hesaplandı; bulunan 412.

Örnek 16

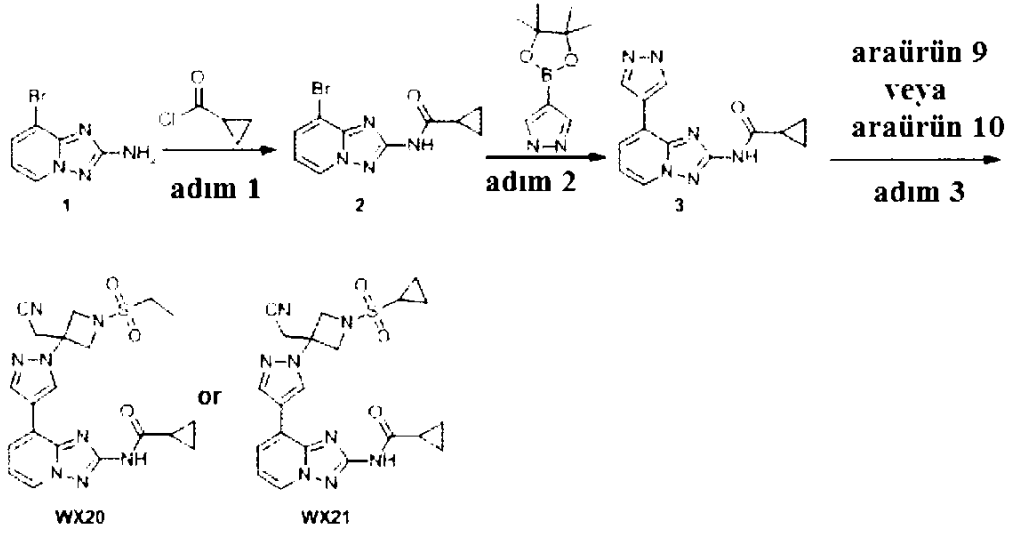


Adım 1: 2- (3- (4- (2-amino-[1,2,4]triazol[1,5-a]piridinil)-1H-pirazolil)-1- (triflorometilsülfonyl) siklobütan)asetonitril (WX18) 2- (3- (4- (2-amino-[1,2,4]triazol[1,5-a]piridinil)-1H-pirazolil)siklobütan-3)asetonitril (200 mg, 489.8 umol) preparasyonu DCM'de (10 mL) çözüldü ve TEA (198 mg, 2 mmol) eklendi. Oluşan karışım 0°C'ye kadar soğutuldu, sonra triflorometansülfonyl klorür (107 mg, 636 umol) yavaşça damla damla eklendi. Damla damla ekleden sonra, reaksiyon oda sıcaklığına kadar ısıtıldı ve reaksiyon oda sıcaklığında 12 saat boyunca gerçekleştirildi. LC-MS, reaksiyonun tamamlanmış olduğunu gösterdi. Çözücü, indirgenmiş basınç altında santrifüjli kurutuldu. Tortu, 2- (3- (4- (2-amino-[1,2,4]triazol[1,5-a]piridinil)-1H-pirazolil)-1- (triflorometilsülfonyl)siklobütan)asetonitrili vermek için DMF ile çözüldü, daha fazla saflaştırıldı ve

hazırlayıcı HPLC (HCl) ile dondurularak kurutuldu. ¹H-NMR (400 MHz, MeOD-d₄) δ = 9.14 (s, 1H), 8.56 (s, 1H), 7.5 8 (t, J = 7.8, 1H), 7.41 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 7.30 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 4.98 (d, J = 9.3 Hz, 2H), 4.68 (d, J = 9.0 Hz, 2H), 3.67 (s, 2H). MS (ESI), C₁₅H₁₃F₃N₈O₂S [M+H]⁺ 427 için hesaplandı; bulunan 427.

- 5 WX19'un hazırlanması: WX19, WX18'in (Adım 1) hazırlanması ile aynı yöntemle hazırlandı. Bu, 2-(3-(4-(2-amino-[1,2,4]triazol[1,5-a]piridinil)-1Hpirazolil)-1-(metilsülfonyl) siklobütan)asetonitrili vermek için hazırlayıcı HPLC (HCl) ile saflaştırıldı ve dondurularak kurutuldu. ¹H-NMR (400 MHz, MeOD-d₄) δ = 9.13 (s, 1H), 8.53 (s, 1H), 7.57 (m, 1H), 7.41 (d, J = 6.8 Hz, 1H), 7.30 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 4.64 (d, J = 9.3 Hz, 2H), 4.35 (d, J = 9.3 Hz, 2H), 3.62 (s, 2H), 3.08 (s, 3H). MS (ESI), C₁₅H₁₆N₈O₂S[M+H]⁺373 için hesaplandı; bulunan 373.

Örnek 17



Adım 1: N-(8-bromo-[1,2,4]triazol[1,5-a]piridin-2-yl) siklopropankarboksamidin hazırlanması

- 15 Asetonitrilde (15.0 mL) çözünmüş 8-bromo-[1,2,4]triazol[1,5-a]piridin-2-amin (1.0 g, 4.7 mmol) ve trietilamine (1.4 g, 14.1 mmol), damla damla siklopropankarboksilik asit klorür (1.5 g, 14.1 mmol) eklendi. Sonra karışım reaksiyon için 26°C'de 12 saat boyunca karıştırılır. LC-MS, reaksiyonun tamamlanmış olduğunu gösterdi. Reaksiyon karışımı, asetonitrilin çıkarılması için indirgenmiş basınç altında damıtıldı. Tortu H₂O'ye (5 mL) eklendi ve su katmanının DCM (15 mLx3) ile özütlendi çıkarıldı. Organik faz birleştirildi, doymuş tuzlu su (15 mL) ile yıkandı, susuz sodyum sülfat ile
- 20 kurutuldu, filtrelendi ve filtratı çıkarmak için indirgenmiş basınç altında damıtıldı. Tortu, sarı bir katıyı (700 mg, % 47.8 verim) vermek için silika jel kolon kromatografisi (DCM/MeOH= 20/1) ile saflaştırıldı. MS (ESI), C₁₀H₉N₄OBr [M+H]⁻ 282 için hesaplandı; bulunan 282.

Adım 2: N-[8-(1H-pirazol-4-yl)-[1,2,4]triazol[1,5-a]piridin-2-yl) siklopropankarboksamidin hazırlanması

Dioksan (25 mL) ve suda (6 mL) çözülmüş N- (8-bromo-[1,2,4]triazol[1,5-a]piridin-2-yl) siklopropankarboksamid (700 mg, 2.5 mmol) ve 4- (4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioksaborolan-2-yl)-1H-pirazole (579 mg, 3.0 mmol) sırasıyla potasyum karbonat (1.0 g, 7.5 mmol) ve Pd (dppf)Cl₂ (182 mg, 249 umol) eklendi. Sistem vakumlandı ve nitrojen ile dolduruldu. Daha sonra karışım 1 saat geri akış için ısıtıldı. LC-MC, reaksiyonun tamamlanmış olduğunu gösterdi. Reaksiyon karışımı, çözücüyü çıkarmak için indirgenmiş basınç altında damıtıldı. Tortu, DCM (50 mL) ve suda (10 mL) çözüldü. Organik katman ayrıldı ve su katmanı DCM (2x50 mL) ile iki kez özütlendi. Organik faz birleştirildi, doymuş tuzlu su (10 mL) ile yıkandı, susuz sodyum sülfat ile kurutuldu, süzüldü ve filtratı çıkarmak için indirgenmiş basınç altında damıtıldı. Tortu, sarı bir katıyı (300 mg, %40.4 verim) vermek için silika jel kolon kromatografisi (EA/PE= 3/1 ila 1/1) saflaştırdı. MS (ESI), C₁₃H₁₂N₆O [M+H]⁺ 269 için hesaplandı; bulunan 269.

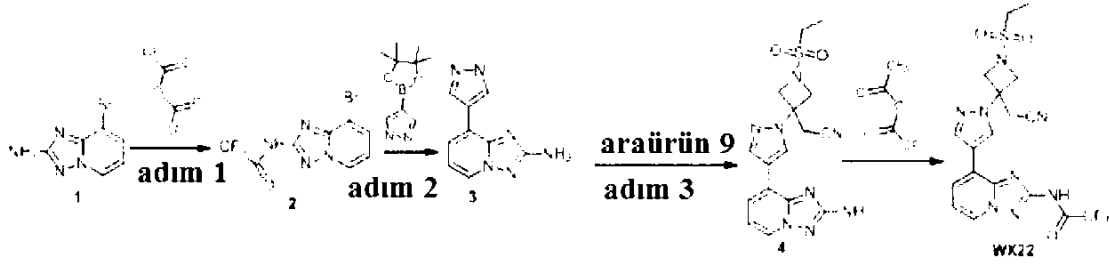
Adım 3: N- (8- (1- (3- (siyanometil)-1- (etilsülfolil) azetidin-3-yl)-1H-pirazol-4-yl)-[1,2,4]triazol[1,5-a]piridin-2-yl) siklopropankarboksamidin (WX20) bileşiğinin hazırlanması

Asetonitrilde (15 mL) çözülmüş N-[8- (1H-pirazol-4-yl)-[1,2,4]triazol[1,5-a]piridin-2-yl) siklopropankarboksamid (100 mg, 372.8 umol) ve 2- (1-etilsülfolil azetidin-3-yl) asetonitrile (83 mg, 447.3 umol), damla damla DBU (68 mg, 447.3 umol) eklendi. Oluşturulmuş karışım, reaksiyon için 12 saat boyunca 26°C'de karıştırıldı. TLC, reaksiyonun tamamlandığını gösterdikten sonra, reaksiyon karışımı, indirgenmiş basınç altında damıtılarak çözücünün çıkarılması sağlandı. Tortu, DCM (15 mL) ve suda (10 mL) çözüldü. Organik katman ayrıldı ve su katmanı iki kez DCM (15 mLx2) ile özütlendi.

Organik faz birleştirildi, doymuş tuzlu su (10 mL) ile yıkandı, susuz sodyum sülfat ile kurutuldu, filtrelendi ve filtratı çıkarmak için indirgenmiş basınç altında damıtıldı. Tortu, (WX20) (65 mg, % 37.98 verim) vermek için hazırlayıcı HPLC (alkalin yöntemi) ile saflaştırıldı: ¹H NMR (400MHz, METHANOL-d₄) δ = 8.72 (s, 1H), 8.37 (d, J=6.8 Hz, 1H), 8.28 (s, 1H), 7.71 (d, J=7.3 Hz, 1H), 6.98 (t, J=7.0 Hz, 1H), 4.63 (d, J=9.0 Hz, 2H), 4.28 (d, J=9.0 Hz, 2H), 3.58 (s, 2H), 3.20 (q, J=7.3 Hz, 2H), 1.44 - 1.31 (m, 3H), 1.07 (quin, J=3.8 Hz, 2H), 0.96 (qd, J=3.7, 7.3 Hz, 2H). MS (ESI), C₂₀H₂₂N₈O₃S [M+H]⁺ 455 için hesaplandı; bulunan 455.

WX21'in hazırlanması: WX21, WX20'nin (Adım 3) hazırlanması ile aynı yöntemde hazırlandı. ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ = 8.93 - 8.82 (m, 1H), 8.67 (s, 1H), 8.42 (d, J=6.3 Hz, 1H), 8.15 (s, 1H), 7.63 (d, J=7.3 Hz, 1H), 6.96 (t, J=7.2 Hz, 1H), 4.62 (d, J=9.3 Hz, 2H), 4.25 (d, J=9.3 Hz, 2H), 3.42 (s, 2H), 2.54 - 2.42 (m, 1H), 1.87 (br. s., 1H), 1.25 - 1.17 (m, 4H), 1.13 - 1.06 (m, 2H), 0.94 (dd, J=3.0, 7.5 Hz, 2H). MS (ESI), C₂₁H₂₂N₈O₃S [M+H]⁺ 467 için hesaplandı; bulunan 467.

Örnek 18



Adım 1: N- (8-bromo-[1,2,4]triazol[1,5-a]piridin-2-yl)-2,2,2-trifloroasetamidin hazırlanması

Diklorometanda (25.00 mL) çözülmüş bir 8-bromo-[1,2,4]triazol[1,5-a]piridin-2-amin (1.0 g, 4.7 mmol) and trietilamin (1.4 g, 14.1 mmol) solüsyonuna damla damla trifloroasetik asit (3.0 g, 14.1 mmol) eklendi. Oluşturulmuş reaksiyon karışımı reaksiyon için 12 saat boyunca 26°C'de karıştırıldı. LC-MS, reaksiyonun tamamlandığını gösterdikten sonra, reaksiyon karışımı, çözücüyü çıkarmak için indirgenmiş basınç altında damıtıldı. Tortu, DCM (50 mL) ve doymuş suda (10 mL) çözüldü. Organik katman ayrıldı ve su katmanı DCM (50 mLx2) ile iki kez özütlendi. Organik faz, saflaştırma olmadan doğrudan kullanılmış olan bir ham ürün olarak, N- (8-bromo-[1,2,4]triazol[1,5-a]piridin-2-yl)-2,2,2-trifloro-asetamidi (1.1 g) vermek için birleştirildi, doymuş tuzlu su (10 mL) ile yıkandı, susuz sodyum sülfat ile kurutuldu, filtrelendi ve filtratı çıkarmak için indirgenmiş basınç altında damıtıldı. MS (ESI), $C_8H_4N_4OBrF_3$ $[M+H]^+$ 310 için hesaplandı; bulunan 310.

Adım 2: 8- (1H-pirazol-4-yl)-[1,2,4]triazol[1,5-a]piridin-2-aminin hazırlanması

Dioksan (25 mL) ve suda (6 mL) çözülmüş, N- (8-bromo-[1,2,4]triazol[1,5-a]piridin-2-yl)-2,2,2-trifloro-asetamid (1.1 g, 3.6 mmol) ve 4- (4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioksaborolan-2-yl)-1H-pirazole (1.0 g, 356 umol), sırasıyla potasyum karbonat (492 mg, 3.6 mmol) ve Pd (dppf)Cl₂ (260 mg, 356 umol) eklendi. Sistem vakumlandı ve nitrojen ile dolduruldu. Sonra karışım geri akış için 1 saat boyunca ısıtıldı. LC-MC reaksiyonun tamamlanmış olduğunu gösterdikten sonra, reaksiyon karışımı filtrelendi, ve filtrat, su (10 mL) ile yıkandı ve sonra EA (30 mLx3) ile özütlendi. Organik faz birleştirildi, doymuş tuzlu su (10 mL) ile yıkandı, susuz sodyum sülfat ile kurutuldu, süzüldü ve filtratı çıkarmak için indirgenmiş basınç altında damıtıldı. Tortu, sarı bir katı olarak (430 mg, %57.3 verim) vermek için silika jel kolon kromatografisi (DCM/MeOH=DCM ila 20/1) saflaştırıldı. MS (ESI), $C_9H_8N_6$ $[M+H]^+$ 201 için hesaplandı; bulunan 201.

Adım 3: 2-[3-[4- (2-amino-[1,2,4]triazol[1,5-a]piridin-8-yl)pirazol-1 -yl]-1-etilsülfonil-azetidin-3-yl]asetonitrilin hazırlanması

Asetonitrilde (8 mL) çözülmüş 8- (1H-pirazol-4-yl)-[1,2,4]triazol[1,5-a]piridin-2-amin (50 mg, 249.7 umol) ve 2- (1-etilsülfonil-azetidin-3-ylene) asetonitrile (56 mg, 299.7 umol), damla damla DBU (46 mg, 299.7 umol) eklendi. Reaksiyon karışımı, reaksiyon için 12 saat boyunca 26°C'de karıştırıldı. LC-MS, reaksiyonun tamamlandığını gösterdikten sonra, reaksiyon karışımı asetonitrili çıkarmak için indirgenmiş basınç altında damıtıldı. Tortuya su (10 mL) eklendi ve sonra EA (10 mLx3) ile özütlendi.

Organik faz birleştirildi, doymuş tuzlu su (10 mL) ile yıkandı, susuz sodyum sülfat ile kurutuldu, süzüldü ve filtratı çıkarmak için indirgenmiş basınç altında damıtıldı. Tortu, beyaz bir katı olarak 2-[3-[4- (2-amino-[1,2,4]triazol [1,5-a]piridin-8-yl)pirazol-1-yl]-1-etilsülfonil- azetidin-3-yl]asetonitrili (50 mg, %49.22 verim) vermek için silika jel kolon kromatografisi (DCM/MeOH=20/1) ile saflaştırıldı.

5 MS (ESI), $C_{16}H_{18}N_8SO_2[M+H]^+$ 387 için hesaplandı; bulunan 387.

Adım 4: N- (8- (1- (3- (siyanometil)-1- (etilsülfonil)azetidin-3-yl)-1H-pirazol-4-yl)-[1,2,4]triazol[1,5-a]piridin-2-yl)-2,2,2- trifloroasetamidin (WX22) hazırlanması

Diklorometanda (5 mL) çözünmüş bir 2-[3-[4- (2-amino-[1,2,4]triazol[1,5-a]piridin-8-yl)pirazol-1 -yl]-1-etilsülfonil-azetidin-3-yl]asetonitril (50 mg, 129.4 umol) ve trietilamin (39.28 g, 388.2 umol)

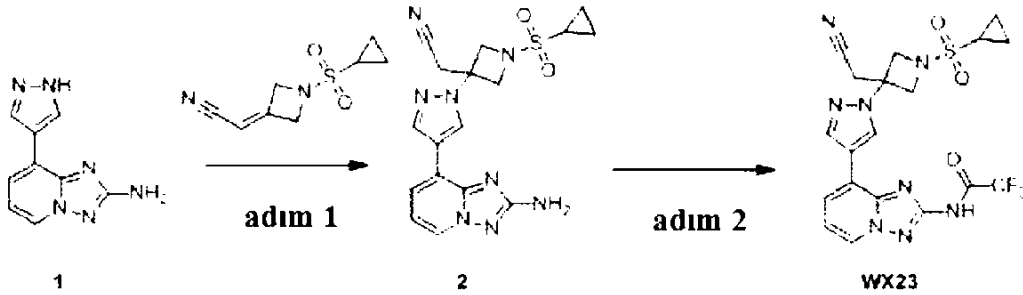
10 solüsyonuna damla damla trifloroasetik anhidrit (81.5 mg, 388.2 umol) eklendi. Reaksiyon karışımı reaksiyon için 12 saat boyunca $26^{\circ}C$ 'de karıştırıldı. TLC, reaksiyonun tamamlandığını gösterdikten sonra, H_2O (5 mL) eklendi ve organik katman ayrıldı, su katmanı iki kez DCM (15 mLx3) ile özütlendi.

Organik faz birleştirildi, doymuş tuzlu su (10 mL) ile yıkandı ve doymuş tuzlu su (10 mL) ile yıkandı, susuz sodyum sülfat ile kurutuldu, süzüldü ve filtratı çıkarmak için indirgenmiş basınç altında damıtıldı. Tortu, (WX22)'yi (29 mg, %46.5 verim) vermek için hazırlayıcı ince katman kromatografisi (DMC:MeOH=20:1) ile saflaştırıldı. 1H NMR (400MHz, METHANOL- d_4) δ = 8.93 - 8.89 (m, 1H), 8.63 - 8.59 (m, 1H), 8.48 (s, 1H), 8.02 (dd, $J=1.0, 7.3$ Hz, 1H), 7.28 - 7.21 (m, 1H), 4.68 - 4.58 (m, 4H), 4.32 (s, 2H), 3.60 (s, 2H), 3.19 (q, $J=7.4$ Hz, 2H), 1.38 (t, $J=7.3$ Hz, 3H). MS (ESI), $C_{18}H_{17}N_8SO_3F_3 [M+H]^+$ 483 için hesaplandı; bulunan 483.

15

Örnek 19

20



Adım 1: 2-[3-[4- (2-amino-[1,2,4]triazol[1,5-a]piridin-8-yl)pirazol-1 -yl]-1-siklopropilsülfonil-azetidin-3-yl]asetonitrilin hazırlanması

Asetonitrilde (25.00 mL) çözünmüş 8- (1H-pirazol-4-yl)-[1,2,4]triazol[1,5-a]piridin-2-amin (250 mg, 1.3 mmol) ve 2- (1-siklopropilsülfonilazetidin- 3-yline)asetonitrile (297 mg, 1.5 mmol) damla damla

25 DBU (228 mg, 1.5 mmol) eklendi. Reaksiyon karışımı 12 saat boyunca reaksiyon için $26^{\circ}C$ 'de karıştırıldı. LC-MS, reaksiyonun tamamlandığını gösterdikten sonra, H_2O (5 mL) eklendi ve organik katman ayrıldı, su katmanı iki kez DCM (2x15 mL) ile özütlendi.

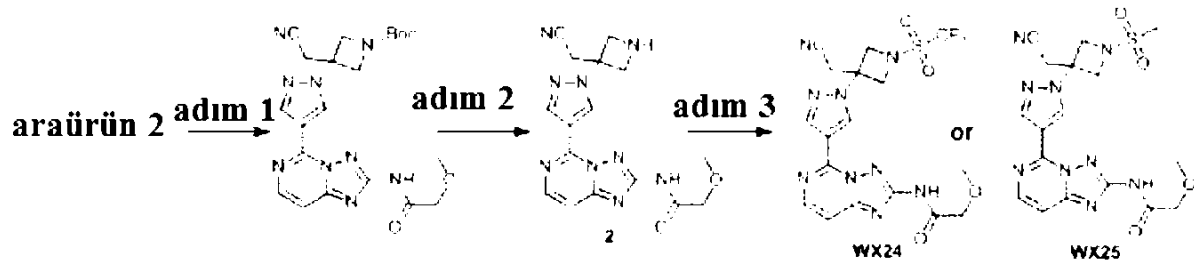
Organik faz birleştirildi, doymuş tuzlu su (15 mL) ile yıkandı, susuz sodyum sülfat ile kurutuldu, filtrelendi ve filtratı çıkarmak için

indirgenmiş basınç altında damıtıldı. Tortu, sarı bir katı olarak -[3-[4- (2-amino-[1,2,4]triazol[1,5-a]piridin-8-yl) pirazol-1-yl]-1-siklopropilsülfonil-azetidin-3-yl]asetonitrili (250mg, %45.2 verim) vermek için silika jel kolon kromatografisi (DCM/MeOH=20/1) ile saflaştırıldı. MS (ESI), $C_{17}H_{18}N_8SO_2[M+H]^+$ 399 için hesaplandı; bulunan 399.

5 **Adım 2:** WX23'ün hesaplanması

DCM'de (5 mL) çözülmüş 2-[3-[4- (2-amino-[1,2,4]triazol[1,5-a]piridin-8-yl)pirazol-1-yl]-1-siklopropilsülfonil-azetidin-3-yl]asetonitril (50 mg, 125.5 umol) ve trietilamine (38 g, 376.5 umol) damla damla trifloroasetik anhidrit (79 mg, 376.5 umol) eklendi. Reaksiyon karışımı 12 saat boyunca reaksiyon için 26°C'de karıştırıldı. LC-MS, reaksiyonun tamamlandığını gösterdikten sonra H₂O (5 mL) eklendi ve organik katman ayrıldı, su katmanını iki kez DCM (2x15 mL) ile özütlendi. Organik faz birleştirildi, doymuş tuzlu su (15 mL) ile yıkandı, susuz sodyum sülfat ile kurutuldu, filtrelendi ve filtratı çıkarmak için indirgenmiş basınç altında damıtıldı. Tortu, (WX23)'ü (17 mg, %27.4 verim) vermek için hazırlayıcı HPLC (alkalilik, 0-60) ile saflaştırıldı. ¹H NMR ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ = 9.09 - 9.04 (m, 1H), 8.74 (s, 1H), 8.55 - 8.52 (m, 1H), 8.19 (s, 1H), 7.79 - 7.74 (m, 1H), 7.12 (t, J=7.0 Hz, 1H), 4.64 (d, J=9.3 Hz, 2H), 4.27 (d, J=9.3 Hz, 2H), 3.44 (s, 2H), 2.50 - 2.43 (m, 1H), 1.25 - 1.21 (m, 2H), 1.15 - 1.08 (m, 2H). MS (ESI), $C_{19}H_{17}N_8SO_3 [M+H]^+$ 495 için hesaplandı; bulunan 495.

15 **Örnek 20**



20 **Adım 1:** Tert-bütül 3- (siyanometil)-3- (4- (2- (2-metoksiasetamid)-[1,2,4] triazol[1,5-c]piridin-5-yl)-1Hpirazol-1-yl)azetidin-1-karboksilatın (1) hazırlanması

DMF (10.00 mL)'de çözülmüş araürün 2 (0.1g, 0.25 mmol) ve trietilamine (0.15 mL, 1.2mmol), 2-metoksiasetil klorür (65 mg, 0.5 mmol) eklendi. LC-MS reaksiyonun tamamlandığını gösterinceye kadar oluşan karışım reaksiyon için 60 ° C'de 16 saat boyunca karıştırıldı. Karışım, 10 ml su içerisine döküldü ve etil asetat (10 mlx3) ile özütlendi. Organik faz birleştirildi, doymuş tuzlu su (20 mL) ile yıkandı, susuz sodyum sülfat ile kurutuldu ve sonraki adımda doğrudan kullanılan bir ham ürün (120 mg) verecek şekilde konsantre edildi. MS (ESI), $C_{21}H_{25}N_9O_4[M+H]^+$ 468 için hesaplandı; bulunan 468.

25

Adım 2: N- (5- (1- (3- (siyanometil)azetidin-3-yl)-1H-pirazol-4-yl)-[1,2,4]triazol[1,5-c]piridin-2-yl)-2-metoksiasetamidin (2) hazırlanması

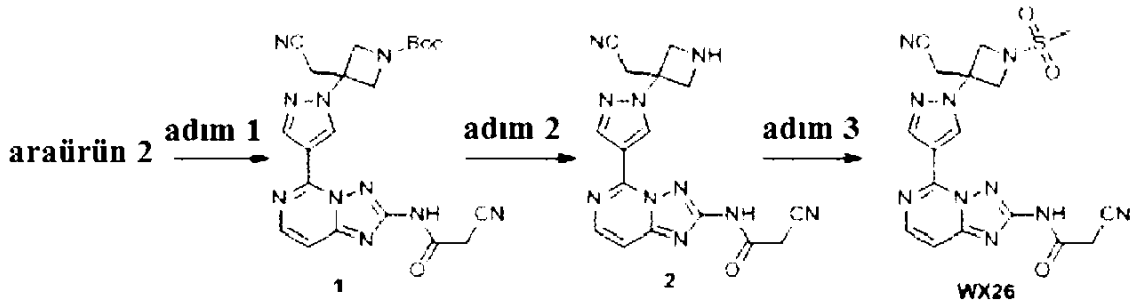
Tert-bütül 3- (siyanometil)-3- (4- (2- (2-metoksiasetamid)-[1,2,4]triazol[1,5-c] piridin-5-yl)-1H-pirazol-1-yl)azetidin-1-karboksilat (100 mg, 0.2 mmol), diklorometanda (5 mL) çözüldü ve sonra TFA (5 ml) eklendi. Oluşan karışım, reaksiyon için 1 saat süreyle 10 ° C'de karıştırıldı. LC-MS, reaksiyonun tamamlanmış olduğunu ve sonraki adımda doğrudan kullanılan 100 mg'lik ham ürünü vermek için çözücünün konsantre edildiğini gösterdi. MS (ESI), $C_{16}H_{17}N_9O_2[M+H]^+$ 482 için hesaplandı; bulunan 482.

Adım 3: N- (5- (1- (3- (siyanometil)-1- ((triflorometil)sülfolil) azetidin-3-yl)-1H-pirazol-4-yl)-[1,2,4]triazol[1,5-c]piridin-2-yl)-2-metoksiasetamidin (WX24) hazırlanması

N- (5- (1- (3- (siyanometil)azetidin-3-yl)-1H-pirazol-4-yl)-[1,2,4]triazol[1,5-c] piridin-2-yl)-2-metoksiasetamid (50 mg, 0.14 mmol), diklorometanda (5 mL) çözüldü, trietilamin (42 mg, 0.4 mmol) ve sonra triflorometansülfolil klorür (47 mg, 0.28 mmol) eklendi. Oluşan karışım, reaksiyon için 10°C'de 1 saat boyunca karıştırıldı. LC-MS, reaksiyonun tamamlandığını ve çözücünün, ham bir ürün (50 mg) verecek şekilde konsantre edildiğini gösterdi. Ham ürün, beyaz bir katı olarak, N- (5- (1- (3- (siyanometil)-1- ((triflorometil) sülfolil)azetidin-3-yl)-1H-pirazol-4-yl)-[1,2,4]triazol[1,5-c]piridin-2-yl)-2-metoksiasetamidi (WX24, 10 mg) vermek için hazırlayıcı HPLC (alkalilik) ile ayrıldı. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) 9.30 (s, 1 H), 8.89 (s, 1 H), 8.36 (d, J=6.27 Hz, 1 H), 7.66 (d, J=6.02 Hz, 1 H), 4.74 (s, 2 H), 3.86 (s, 2 H), 3.40 (s, 4 H). MS (ESI), $C_{17}H_{16}F_3N_9O_4S [M+H]^+$ 495 için hesaplandı; bulunan 495.

WX25'in hazırlanması : N- (5- (1- (3- (siyanometil)-1- ((metilsülfolil)azetidin-3-yl) -1H-pirazol-4-yl)-[1,2,4]triazol[1,5-c]piridin-2-yl)-2-metoksiasetamid (WX25), WX24'ün (Adım 3)hazırlanma yöntemi ile aynı şekilde hazırlandı. 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ = 9.29 - 9.32 (m, 1 H), 8.67 - 8.71 (m, 1 H), 8.28 - 8.33 (m, 1 H), 7.44 - 7.48 (m, 1 H), 4.60 - 4.68 (m, 1 H), 4.30 - 4.36 (m, 2 H), 4.13 - 4.19 (m, 1 H), 3.58 (s, 2 H), 3.41 - 3.48 (m, 1 H), 3.04 (s, 3 H), 1.45 (s, 3 H). MS (ESI), $C_{17}H_{19}N_9O_4S [M+H]^+$ 446 için hesaplandı; bulunan 446.

25 Örnek 21



Adım 1: Tert-bütül 3- (4- (2- (2-siyanoasetamid)-[1,2,4]triazol [1,-yl)-1H-pirazol-1 -yl)-3- (siyanometil) azetidin-1 -karboksilatın (1) hazırlanması

DMF'de (10 mL) çözünmüş araürün 2 (0.1 g, 0.3 mmol) and trietilamine (0.17 ml, 1.3 mmol), 2-siyanoasetil klorür (131 mg, 1.3 mmol) eklendi. LCMS reaksiyonun tamamlandığını gösterinceye kadar oluşan karışım 60 ° C'de 2 saat süreyle reaksiyon için karıştırıldı. Karışım suya (10 mL) döküldü ve etil asetat (10 mLx3) ile özütlendi. Organik faz, sonraki adımda doğrudan kullanılmış olan tert-bütül 3- (4- (2- (2-siyanoasetamid)-[1,2,4]triazol[1,5-c]piridin-5-yl)-1H-pirazol-1-yl)-3-

(siyanometil)azetid-1-karboksilatı (100 mg, ham ürün) vermek için birleştirildi, susuz sodyum sülfat ile kurutuldu ve konsantre edildi. MS (ESI), $C_{21}H_{22}N_{10}O_3$ $[M+H]^+$ 463 için hesaplandı; bulunan 463.

Adım 2: 2-siyano-N- (5- (1- (3- (siyanometil)azetid-3-yl)-1H-pirazol-4-yl)-[1,2,4]triazol[1,5-c]piridin-2-yl)asetamidin (2) hazırlanması

10 Tert-bütül 3- (4- (2- (2-siyanoasetamid)-[1,2,4]triazol[1,5-c]piridin-5-yl)-1H-pirazol-1-yl)-3- (siyanometil) azetid-1-karboksilat (1) (100 mg, 0.2 mmol), diklorometanda (5 mL) çözündü ve TFA (5 mL) eklendi. Oluşan karışım, reaksiyon için 10°C'de 1 saat boyunca karıştırıldı, LC-MS, reaksiyonun tamamlandığını gösterdi. Çözücü, sonraki adımda doğrudan kullanılmış olan 2-siyano-N- (5- (1- (3- (siyanometil)azetid-3-yl)-1H-pirazol-4-yl)-[1,2,4]triazol[1,5-c] piridin-2-yl)asetamidi (2)

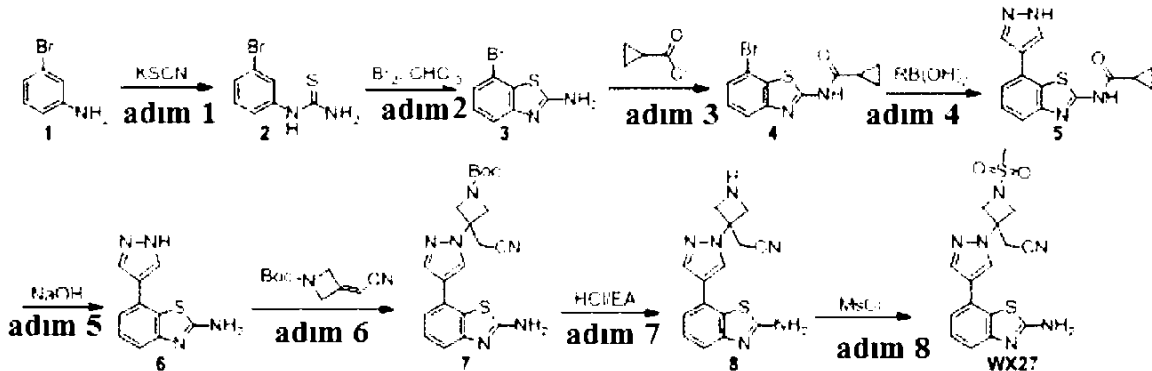
15 (100 mg, ham ürün) vermek için konsantre edildi. MS (ESI), $C_{16}H_{14}N_{10}O$ $[M+H]^+$ 463 için hesaplandı; bulunan 463.

Adım 3: 2-siyano-N- (5- (1- (3- (siyanometil)-1- (metansulfonamide) azetid-3-yl)-1H-pirazol-4-yl)-[1,2,4]triazol[1,5-c]piridin-2-yl)asetamidin (WX26) hazırlanması

2-siyano-N- (5- (1- (3- (siyanometil)azetid-3-yl)-1H-pirazol-4-yl)-[1,2,4]triazol[1,5-c] piridin-2-yl)asetamid (50 mg, 0.14 mmol); diklorometan (5 mL), trietilamin (42 mg, 0.4mmol) ve metansülfonyl klorürde (47 mg, 0.28 mmol) çözündü. Oluşan karışım reaksiyon için 10 ° C'de 1 saat karıştırıldı, LC-MS reaksiyonun tamamlandığını gösterdi. Çözücü, 50 mg ham ürün verecek şekilde konsantre edildi. Ham ürün, 2-siyano-N- (5- (1- (3- (siyanometil)-1- (metansülfonyl) azetid-3-yl)-1H-pirazol-4-yl)-[1,2,4]triazol[1,5-c]piridin-2-yl)asetamidi (WX26 10 mg) vermek için hazırlayıcı HPLC (alkalilik) ile

25 ayırdı. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) 9.27 (s, 1 H), 8.83 (s, 1 H), 8.25 - 8.52 (m, 1 H), 7.67 (d, J=6.27 Hz, 1 H), 4.56 (d, J=9.29 Hz, 4 H), 4.34 (d, J=9.29 Hz, 4 H), 3.73 (s, 3 H). MS (ESI), $C_{17}H_{16}N_{10}O_3S$ $[M+H]^+$ 441 için hesaplandı; bulunan 441.

Örnek 22



Adım 1: 1- (3-bromofenil)tiyoürenin (2) hazırlanması

3-bromanilin (30.0 g, 174 mmol) seyreltik hidroklorik asit solüsyonuna (1M, 50 mL), oda sıcaklığında potasyum tiyosiyanat (20.0 g, 205.8 mmol) eklendi. Karışım, reaksiyon için 100 ° C'de 12 saat süreyle karıştırıldı. TLC (PE:EA=1:1), 3-bromanilin bir kısmının (yaklaşık% 20) kaldığını tespit etti. Reaksiyon karışımı 0 ° C'ye soğutuldu, sonra amonyum hidroksit ile pH = 10'a alkalize edildi. Oluşan koyu mor emülsiyon yarım saat boyunca sürekli karıştırıldı ve daha sonra etil asetat (200 mLx4) ile özütlendi. Organik faz birleştirildi, doymuş tuzlu su (30 mL) ile yıkandı, susuz sodyum sülfat ile kurutuldu ve filtrelendi ve koyu mor süspansiyonu verecek şekilde santrifüjlü kurutuldu. Biraz soğuyuncaya kadar diklorometan (50 mL) ilave edildi ve sonra buz banyosunda 0 ° C'ye soğutuldu. Çözünmeyen eflatun katının emme filtrasyonundan sonra, 1- (3-bromofenil) tiyoüreyi (25 g, %55.8 verim) vermek için az miktarda diklorometan (10 mLx2) ile yıkandı ve vakum altında kurutuldu. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) □ 7.46 (s, 1H), 7.39-7.44 (m, 1H), 7.28 -7.32 (m, 1H), 7.25 (s, 1H). MS (ESI), C₇H₇BrN₂S [M+H]⁺ 230 için hesaplandı; bulunan 230.

Adım 2: 7-bromobenzo[d]tiyazole-2-aminin (3) hazırlanması

Asetik asitte (50 mL) 1- (3-bromofenil)tiyoüreye (5.0 g, 21.6 mmol) 0°C'de kloroformdaki (5 mL) bir sıvı bromin solüsyonu (4.7 g, 29.2 mmol) damla damla eklendi. Karışım, reaksiyon için 85 ° C'de 3 saat süreyle karıştırıldı. TLC (PE: EA = 1: 1), hammaddenin tamamen reaksiyona girdiğini gösterdi ve iki nokta elde edildi. Reaksiyon karışımı, sıcakken süzüldü. Çözünmeyen katı, bir ürünü sarı bir katı (4.2 g, % 50verim) olarak vermek için az miktarda diklorometan (10 mLx2) ile yıkandı ve kurutuldu. Filtrat, sarı süspansiyonu vermek için santrifüjlü kurutuldu ve tortu diklorometan (20 mL) ile dövüldü. Çözünmeyen maddenin emme filtrasyonundan sonra, ürünü sarı bir katı (1.2 g, %13 verim) olarak vermek için DCM (5 mLx2) ile yıkandı ve vakum altında kurutuldu. P1 ve P2 ürünün bir parçası sırasıyla suda (1 mL) çözüldü, amonyum hidroksit ile pH=10'a alkalifiye edildi ve sonra etil asetat (0.2 mL) ile özütlendi. İki ekstrakt nitrojen ile üfleme ile kurutuldu ve doğrudan NMR tespiti için kullanıldı. NMR, P1'de temel olarak 5-bromür izomerlerinin bir yan ürünü ve esas olarak 7-bromür ürününün olduğunu gösterdi. Oluşan ham ürün, bir daha arıtılmadan sonraki aşamada doğrudan kullanıldı. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) □ 7.13 - 7.16 (m, 1 H), 7.16 - 7.22 (m, 2 H), 7.32 (dd, J=7.28, 1.51 Hz, 1 H), 7.48 (d, J=1.76 Hz, 1 H), 7.62 (d, J=8.53 Hz, 1 H), 7.71 (br. s., 1 H), 7.73 (s, 2 H). MS (ESI), C₇H₅BrN₂S[M+H]⁺ 228 için hesaplandı; bulunan 228.

Adım 3: N- (7-bromobenzo[d]tiyazole-2-yl)siklopropil karboksamidin (4) hazırlanması

Asetonitrilde (50 mL) 7-bromobenzo[d]tiyazol-2-amin (1.2 g, 3.9 mmol, HBr tuz) ve trietilamine (1.6 g, 15.5 mmol), nitrojen koruması altında 0°C'de damla damla siklopropankarbonil klorür (1.2 g, 11.6 mmol) eklendi. Karış reaksiyon için 30°C'de 12 saat boyunca karıştırıldı. TLC (PE:EA=1:1), ana noktanın istenilen tekli-ikame ürün olduğunu tespit etti ve gösterdi. Reaksiyon karışımı su ile (60 mL) ile sertleştirildi ve etil asetat (30 mLx3) ile özütlendi. Organik faz birleştirildi, doymuş tuzlu su (5 mL) ile yıkandı, susuz sodyum sülfat ile kurutuldu ve süzüldü ve santrifüjlü kurutuldu. Tortu, sarı bir katı olarak, N- (7-bromobenzo[d]tiyazole-2-yl) siklopropil karboksamidi (580 mg, %40 verim) vermek için

sütun kromatografisi (PE:EA=5:1) ile saflaştırıldı. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ = 12.85 (s, 1 H), 7.75 (d, J=8.03 Hz, 1 H), 7.52 (d, J=7.78 Hz, 1 H), 7.38 - 7.43 (m, 1 H), 1.98 - 2.05 (m, 1 H), 0.95 - 1.02 (m, 4 H). MS (ESI), C₁₁H₉BrN₂OS [M+H]⁺296 için hesaplandı; bulunan 296.

Adım 4: N- (7- (1H-pirazol-4-yl)benzo[d]tiyazole-2-yl) siklopropanekarboksamidin (5) hazırlanması

5 Dioksandaki (15 mL), N- (7-bromobenzo[d]tiyazol-2-yl) siklopropanekarboksamid (480 mg, 1.6 mmol) ve 1H-pirazol-4-boronik asit pinakol estere (317 mg, 1.6 mmol), nitrojen koruması altında Pd (dppf)Cl₂ (119 mg, 162 umol), K₂CO₃ (672 mg, 4.9 mmol) ve H₂O (2.5 mL) eklendi. Karışım, reaksiyon için 90 ° C'de 12 saat süreyle karıştırıldı. TLC (PE:EA=1:1), yeni bir noktayı tespit etti ve gösterdi. LC-MS, hedef ürünü tespit etti. Reaksiyon karışımı su (100 mL) ile seyreltildi ve sonra etil asetat (30 mLx3) ile özütlendi. Organik faz birleştirildi, doymuş tuzlu su (5 mL) ile yıkandı, susuz sodyum sülfat ile kurutuldu ve süzüldü ve santrifüjlü kurutuldu. Tortu, sarı bir katı olarak N- (7- (1H-pirazol-4-yl)benzo[d]tiyazol-2-yl)siklopropan karboksamidi (80 mg, %15.63 verim) vermek için sütun kromatografisi (PE:EA=1:1) ile saflaştırıldı. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ = 13.22 (br. s., 1 H), 12.70 (s, 1 H), 8.23 (s, 1 H), 7.99 (s, 1 H), 7.64 (d, J=8.03 Hz, 1 H), 7.52 - 7.55 (m, 1 H), 7.45 - 7.50 (m, 1 H), 2.03 (t, J=4.52 Hz, 1 H), 0.95 - 1.00 (m, 4 H). MS (ESI), C₁₄H₁₂N₄OS [M+H]⁺285 için hesaplandı, bulunan 285.

Adım 5: 7- (1H-pirazol-4-yl)benzo[d]tiyazol-2-aminin (6) hazırlanması

20 Metanoldeki (3 mL) bir N- (7- (1H-pirazol-4-yl)benzo[d]tiyazol-2-yl)siklopropil karboksamid (120 mg, 422.1 ummol) solüsyonuna, sulu bir solüsyondaki (1 mL) NaOH (240 mg, 6 mmol) damla damla eklendi. Karışım, reaksiyon için 80 ° C'de 12 saat süreyle karıştırıldı. LCMS, reaksiyonun tamamlandığını tespit etti ve gösterdi. Reaksiyon karışımı su (50 mL) ile seyreltildi, HCl ile pH=7'nin 1M'si ile nötrleştirildi ve etil asetat (15 mLx4) ile özütlendi. Organik faz, ilave saflaştırma olmadan sonraki adımda doğrudan kullanılmış olan bir ham ürün olarak 7- (1H-pirazol-4-yl)benzo[d]tiyazol-2-aminin (100 mg, %87.7 verim) tortusunu vermek için birleştirildi, doymuş tuzlu su (5 mL) ile yıkandı, susuz sodyum sülfat ile kurutuldu ve süzüldü ve santrifüjlü kurutuldu. MS (ESI), C₁₀H₈N₄S[M+H]⁺216 için hesaplandı; bulunan 216.8.

Adım 6: Tert-bütül 3- (4- (2-aminobenzo[d]tiyazol-7-yl)-1H-pirazol-1-yl)-3- (siyanometil)azetidin-1-karbonatın (7) hesaplanması

30 Asetonitrilde (3 mL) bir 7- (1H-pirazol-4-yl)benzo[d]tiyazol-2-amin (100 mg, 462.4 umol) ve tert-bütül 3- (siyanometil) azetidin-1-karbonat (90 mg, 463.4 umol) solüsyonuna, nitrojen koruması altında DBU'u (140.8 mg, 924.8 umol) damla damla eklendi. Karışım, reaksiyon için 30 ° C'de, 12 saat boyunca karıştırıldı. LC-MS, reaksiyonun tamamlanmış olduğunu tespit etti ve gösterdi. Reaksiyon karışımı su (50 mL) ile seyreltildi ve etil asetat (20 mLx3) ile özütlendi.

35 Organik faz ilave saflaştırma olmadan sonraki adımda doğrudan kullanılmış olan bir ham ürün olarak tert-bütül 3- (4- (2-aminobenzo[d]tiyazol-7-yl)-1H-pirazol-1-yl)-3- (siyanometil)azetidin-1-karbonatın (190 mg, %80 verim) tortusunu vermek için birleştirildi, doymuş tuzlu su (30 mL) ile yıkandı, susuz

sodyum sülfat ile kurutuldu ve süzüldü ve santrifüjlü kurutuldu. MS (ESI), $C_{20}H_{22}N_6O_2S[M+H]^+$ 410 için hesaplandı; bulunan 411.

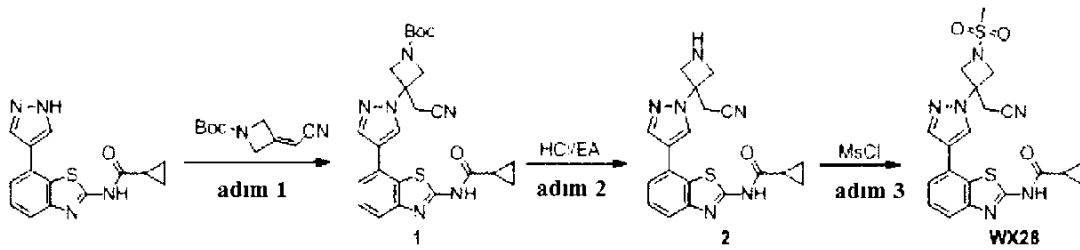
Adım 7: 2- (3- (4- (2-aminobenzo[d]tiyazole-7-yl)-1H-pirazol-1-yl)-azetidin-3-yl) metil siyanürün (8) hesaplanması

- 5 Tert-bütül 3- (4- (2-aminobenzo[d]tiyazol-7-yl)-1H-pirazol-1-yl)-3- (siyanometil) azetidin-1-karbonat (180 mg, 438.5 umol) ve hidroklorür etil asetatın (30 mL) Tht karışımı, reaksiyon için $25^{\circ}C$ 'de 1 saat boyunca karıştırıldı. LCMS, reaksiyonun tamamlanmış olduğunu tespit etti. Reaksiyon karışımı, ilave saflaştırma olmadan sonraki adımda doğrudan kullanılmış olan bir ham ürün olarak 2- (3- (4- (2-aminobenzo[d]tiyazol-7-yl)-1H-pirazol-1-yl)-azetidin-3-yl) metil siyanürün (150 mg, %78.9 verim, HCl tuz) sarı bir katınsı vermek için doğrudan santrifüjlü kurutuldu. MS (ESI), $C_{15}H_{14}N_6S$ $[M+H]^+$ 310 için hesaplandı; bulunan 310.

Adım 8: 2- (3- (4- (2-aminobenzo[d]tiyazole-7-yl)-1H-pirazol-1-yl)- (metilsülfolil)azetidin-3-yl) metil siyanürün (WX27) hazırlanması

- 15 Diklorometandaki (3 mL), 2- (3- (4- (2-aminobenzo[d]tiyazole-7-yl)-1H-pirazol-1-yl)-azetidin-3-yl) metil siyanür (150 mg, 345.9 umol, HCl tuz) ve Et_3N 'ye (140 mg, 1.4 mmol), nitrojen koruması altında $0^{\circ}C$ 'de damla damla $MsCl$ (80 mg, 698.9 umol) eklendi. Karışım, reaksiyon için $0^{\circ}C$ 'de 1 saat süreyle karıştırıldı. LC-MS, reaksiyonun tamamlanmış olduğunu gösterdi. Reaksiyon karışımı su (50 mL) ile sertleştirildi ve diklorometan (15 mLx3) ile özütlendi. Organik faz birleştirildi, doymuş tuzlu su (5 mL) ile yıkandı, susuz sodyum sülfat ile kurutuldu ve süzüldü ve santrifüjlü kurutuldu.
- 20 Tortu, sarı bir katı olarak 3- (4- (2-aminobenzo[d]tiyazol-7-yl)-1H-pirazol-1-yl)- (metilsülfolil)azetidin-3-yl) metil siyanürünü (30 mg, %20.1 verim) vermek için hazırlayıcı ince tabaka kromatografisi (DMC: MeOH = 10: 1) ile saflaştırıldı. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ = 8.55 (s, 1 H), 8.07 (s, 1 H), 7.56 (s, 2 H), 7.28 - 7.31 (m, 2 H), 7.25 - 7.28 (m, 1 H), 4.54 (d, J=9.29 Hz, 2 H), 4.27 (d, J=9.29 Hz, 2 H), 3.66 (s, 2 H), 3.14 (s, 3 H). MS (ESI), $C_{16}H_{16}N_6O_2S_2$ $[M+H]^+$ 389 için hesaplandı; bulunan 389.

Örnek 23



Adım 1: Tert-bütül 3- (siyanometil)- 3- (4- (2- (siklopropanekarboksamido) benzo[d]tiyazole-7-yl)-1H-pirazol-1-yl)azetidin-1-karbonatın hazırlanması

- 30 Asetonitrildeki (3 mL) N-[7- (1H-pirazol-4-yl)-1,3-benzotiyazol-2-yl]siklopropanekarboksamid (100 mg, 351.7 umol) ve tert-bütül 3- (siyanometilene) azetidin-karbonata (100 mg, 513.5 umol) nitrojen

koruması altında damla damla DBU (107 mg, 703.4 umol) eklendi. Karışım, reaksiyon için 25 ° C'de 12 saat süreyle karıştırıldı. TLC (PE:EA=1:1), reaksiyonun tamamlandığını tespit etti ve gösterdi. Reaksiyon karışımı su (50 mL) ile seyreltildi ve etil asetat (20 mLx3) ile özütlendi.

Organik faz birleştirildi, doymuş tuzlu su (5 mL) ile yıkandı, susuz sodyum sülfat ile kurutuldu ve süzüldü ve santrifüjlü kurutuldu. Tortu, sarı bir katı olarak, tert-bütül 3- (siyanometil)-3- (4- (2- (siklopropanekarboksamido)benzo[d]tiyazol-7-yl)-1H-pirazol-1-yl) azetidid-1-karbonatı (80 mg, %47.5 verim) vermek için ayrıldı ve hazırlayıcı TLC (PE:EA=1:1) ile saflaştırıldı. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ = 11.30 (br. s., 1 H), 8.05 (d, J=12.05 Hz, 2 H), 7.75 (d, J=7.78 Hz, 1 H), 7.48 - 7.53 (m, 1 H), 7.43 - 7.47 (m, 1 H), 4.58 (d, J=9.79 Hz, 2 H), 4.32 (d, J=9.54 Hz, 2 H), 3.31 (s, 2 H), 1.74 (dq, J=7.97, 3.95 Hz, 1 H), 1.51 (s, 9 H), 1.27 - 1.31 (m, 2 H), 1.01 - 1.09 (m, 2 H). MS (ESI), C₂₄H₂₆N₆O₃S [M+H]⁻ 479 için hesaplandı; bulunan 479.

Adım 2: N- (7- (1- (3- (siyanometil)azetidid-3-yl)-1H-pirazol-4-yl) benzo[d]tiyazole-2-yl) siklopropanekarboksamidin hazırlanması

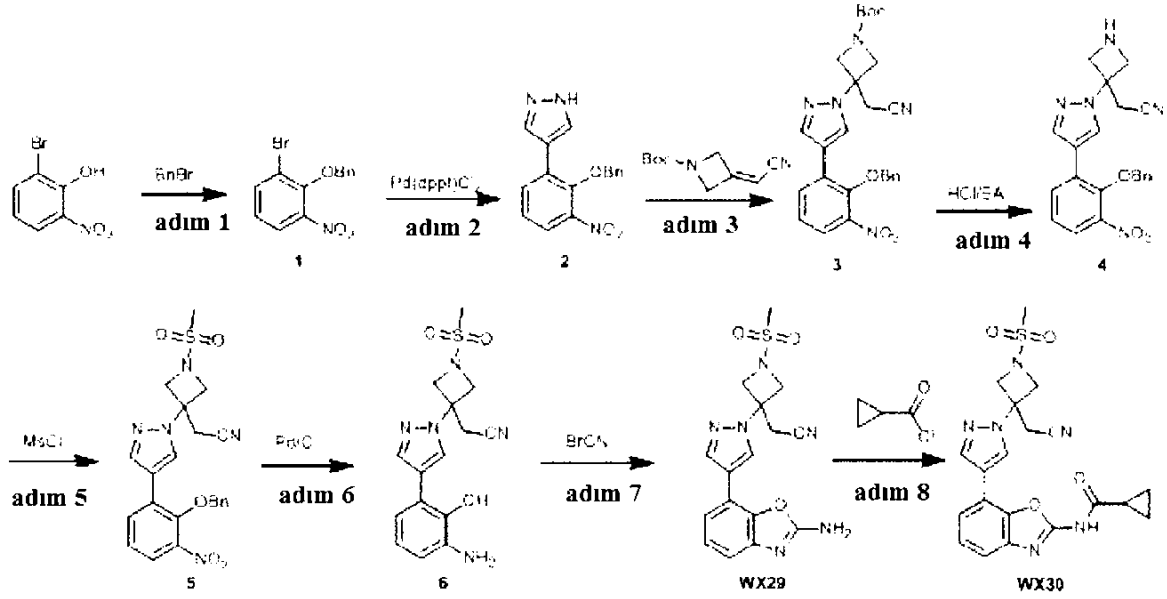
Tert-bütül 3- (siyanometil)- 3- (4- (2- (siklopropanekarboksamido) benzo[d]tiyazol-7-yl)-1H-pirazol-1-yl)azetidid-1-karbonat (80 mg, 167.2 umol) ve hidroklorür etil asetatın (30 mL) Tht karışımı reaksiyon için 1 saat boyunca 25°C'de karıştırıldı. LCMS, reaksiyonun tamamlandığını tespit etti. Reaksiyon karışımı, doğrudan santrifüjlü kurutuldu. Tortu su (50 mL) içinde çözüldü, sulu doymuş NaHCO₃ çözeltisi ile zayıf alkaline (pH> 7) ayarlandı ve sonra etil asetat (15 mLx3) ile özütlendi. Organik faz, ilave saflaştırma olmadan sonraki adımda doğrudan kullanılan bir ham ürün olarak N- (7- (1- (3- (siyanometil)azetidid-3-yl)-1H-pirazol-4-yl)benzo[d]tiyazol-2-yl) siklopropanekarboksamidin (60 mg, %85.4 verim, %90 saflık) sarı bir katı vermek için birleştirildi, doymuş tuzlu su (5 mL) ile yıkandı, susuz sodyum sülfat ile kurutuldu ve süzüldü ve santrifüjlü kurutuldu. MS (ESI), C₁₉H₁₈N₆OS[M+H]⁺37 için hesaplandı; bulunan 378.

Adım 3: N- (7- (1- (3- (siyanometil)-1- (metilsülfonil)azetidid-3-yl) -1H-pirazol-4-yl)benzo[d]tiyazol-2-yl)siklopropanekarboksamidin hazırlanması

Diklorometandaki (5 mL) bir N- (7- (1- (3- (siyanometil)azetidid-3-yl)-1H-pirazol-4-yl)benzo[d]tiyazol-2-yl) siklopropanekarboksamid (60 mg, 158.54 umol) ve trietilamin (50 mg, 494.6 umol) solüsyonuna damla damla metilsülfonil klorür (50 mg, 436.5 umol) eklendi. Karışım 0 ° C'de 0.5 saat boyunca karıştırıldı ve sürekli olarak 25 ° C'de 1 saat boyunca karıştırıldı. Hem LC-MS ve TLC, reaksiyonun tamamlandığını tespit etti ve gösterdi. Reaksiyon karışımı, su (50 mL) ile sertleştirildi ve asetat (15 mLx3) ile özetlendi. Organik faz birleştirildi, doymuş tuzlu su (5 mL) ile yıkandı, susuz sodyum sülfat ile kurutuldu ve süzüldü ve santrifüjlü kurutuldu. Tortu, beyaz bir katı olarak N- (7- (1- (3- (siyanometil)-1- (metilsülfonil)azetidid-3-yl) -1H-pirazol-4-yl)benzo[d]tiyazol-2-yl)siklopropanekarboksamidi (45 mg, %62 verim) vermek için hazırlayıcı TLC (PE:EA=1:1) ile ayrıldı ve saflaştırıldı. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ = 12.26 (br. s., 1 H), 8.07 (s, 2 H), 7.74 (d, J=7.78 Hz, 1 H), 7.46 - 7.52 (m, 1 H), 7.39 - 7.45 (m, 1 H), 4.63 (d, J=9.03 Hz, 2 H), 4.30 (d, J=9.03

Hz, 2 H), 3.41 (s, 2 H), 3.04 (s, 3 H), 1.72 - 1.80 (m, 1 H), 1.26 (d, J=3.26 Hz, 2 H), 1.01 (dd, J=7.40, 2.89 Hz, 2 H). MS (ESI), $C_{20}H_{20}N_6O_3S_2$ $[M+H]^+$ 457 için hesaplandı; bulunan 457.

Örnek 24



5 Adım 1: 2- (benziloksi)-1-bromo-3-nitrobenzenin hazırlanması

Asetonitrildeki (100 mL) 2-bromo-6-nitrofenol (5.2 g, 23.9 mmol) ve K_2CO_3 'e (3.6 g, 26.3 mmol), benzil bromid (4.3 g, 25.3 mmol) eklendi. Karışım $100^\circ C$ 'de 3 saat boyunca karıştırıldı. TLC (PE:EA=10:1), reaksiyonun tamamlandığını tespit etti ve gösterdi. Reaksiyon karışımı filtrelendi ve katı ise etil asetat (10 mLx3) ile ayrıştırıldı. Filtrat santrifüjlü kurutulduktan sonra tortu, etil asetat içerisinde çözündürüldü ve suyla (20 mL) ve doymuş tuzlu suyla (20 mL) yıkandı. Organik faz ilave saflaştırma olmadan sonraki adımda doğrudan kullanılmış olan ham bir ürün olarak 2- (benziloksi)-1-bromo-3-nitrobenzenin (7.50 g, %91.51 verim) sarı bir katı vermek için susuz sodyum sülfat ile kurutuldu, süzüldü ve santrifüjlü kurutuldu. 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.84 (d, J=8.03 Hz, 1 H), 7.79 (d, J=8.03 Hz, 1 H), 7.56 (d, J=6.53 Hz, 2 H), 7.37 - 7.45 (m, 3 H), 7.16 (t, J=8.28 Hz, 1 H), 5.21 (s, 2 H). MS (ESI), $C_{13}H_{10}BrNO_3$ $[M+H]^+$ 308 için hesaplandı; bulunan 308.

Adım 2: 4- (2- (benziloksi)-3-nitrofenil)-1H-pirazolün hazırlanması

Dioksandaki (30 mL) 2- (benziloksi)-1-bromo-3-nitrobenzen (1.0 g, 3.3 mmol) ve ter-bütül 1H-pirazol-4-boronik asit pinakol ester-1-karbonata (1.0 g, 3.4 mmol), nitrogen koruması altında Pd (dppf) Cl_2 (250 mg, 341.7 μ mol), K_2CO_3 (1.4 g, 9.8 mmol) and H_2O 'i (2.5 mL) eklendi. Karışım, reaksiyon için $100^\circ C$ 'de 12 saat süreyle karıştırıldı. Hem TLC (PE:EA=1:1) hem de LC-MS, reaksiyonun tamamlanmış olduğunu tespit etti ve gösterdi. Reaksiyon karışımı, su (20 mL) ile seyreltildi ve etil asetat (20 mLx3) ile özütlendi. Organik faz birleştirildi, doymuş tuzlu su (5 mL) ile yıkandı, susuz sodyum sülfat ile kurutuldu ve süzüldü ve santrifüjlü kurutuldu. Tortu, sarı bir yağlı ürün olarak 4- (2- (benziloksi)-3-nitrofenil)-1H-pirazoli (900 mg, %89.1 verim) vermek için ayrıldı ve kolon kromatografisi (PE:EA=1:1)ile saflaştırıldı. 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ = 8.03 (s, 2 H), 7.70 - 7.78

(m, 2 H), 7.33 - 7.39 (m, 5 H), 7.28 - 7.32 (m, 1 H), 4.87 (s, 2 H). MS (ESI), $C_{16}H_{13}N_3O_3$ $[M+H]^+$ 296 için hesaplandı; bulunan 296.

Adım 3: Ter-bütül 3- (4- (2- (benziloksi)-3-nitrofenil)-1H-pirazol-1-yl)-3 - (siyanometil) azetidin-1 – karbonatın hazırlanması

- 5 Asetonitrildeki (20 mL) 4- (2- (benziloksi)-3-nitrofenil)-1H-pirazol (900 mg, 3.1 mmol) ve ter-bütül 3- (siyanometilen) azetidin-1-karbonata (900 mg, 4.6 mmol), nitrojen koruması altında 0°C'de damla damla DBU (928 mg, 6.1 mmol) eklendi. Karışım, reaksiyon için 3 saat süreyle 25 ° C'de karıştırıldı. TLC (PE:EA=1:1), reaksiyonun tamamlandığını tespit etti ve gösterdi. Reaksiyon karışımı, su (60 mL) ile sertleştirildi ve etil asetat (20 mLx3) ile özütlendi. Organik faz birleştirildi, doymuş tuzlu su (5 mL)
- 10 ile yıkandı, susuz sodyum sülfat ile kurutuldu ve süzüldü ve santrifüjlü kurutuldu. Tortu, sarı bir yağlı ürün olarak ter-bütül 3- (4- (2- (benziloksi)-3-nitrofenil)-1H-pirazol-1-yl)-3- (siyanometil)azetidin-1-karbonatı (1.00 g, %60.3 verim) vermek için ayrıldı ve kolon kromatografisi (PE:EA=1:1) ile saflaştırıldı. 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ = 7.96 (d, J=9.03 Hz, 2 H), 7.71 - 7.76 (m, 2 H), 7.32 - 7.40 (m, 5 H), 7.27 - 7.31 (m, 1 H), 4.90 (s, 2 H), 4.24 (d, J=9.54 Hz, 2 H), 4.12 (d, J=9.03 Hz, 2 H),
- 15 3.16 (s, 2 H), 1.48 (s, 9 H). MS (ESI), $C_{26}H_{27}N_5O_5$ $[M+H]^+$ 490 için hesaplandı; bulunan 490.

Adım 4: 2- (3- (4-2- (benziloksi)-3-nitrofenil)-1H-pirazol-1-yl) azetidin-3-yl) asetonitrilin hazırlanması 3- (4- (2- (benziloksi)-3- nitrofenil)-1H-pirazol-1-yl)-3- (siyanometil)azetidin-1-karbonat (1.0 g, 2.04 mmol) ve hidroklorür etil asetat (50 mL) karışımı reaksiyon için 3 saat boyunca 25°C'de karıştırıldı. LC-MS, reaksiyonun tamamlanmış olduğunu tespit etti ve gösterdi. Reaksiyon karışımı santrifüjlü

20 kurutulduktan sonra, tortu su (50 mL) içinde çözüldü, doymuş $NaHCO_3$ çözeltisi ile nötralite pH = 7 olacak şekilde ayarlandı ve sonra etil asetat (15 mLx4) ile özütlendi. Organik faz ilave saflaştırma olmadan sonraki adımda doğrudan kullanılabilir ham bir ürün olarak 2- (3- (4-2- (benziloksi)-3-nitrofenil)-1H-pirazol-1-yl)azetidin-3-yl)asetonitrilin (900 mg, %90.6 verim) oranj bir yağını vermek için birleştirildi, doymuş tuzlu su (2 mL) ile yıkandı, susuz sodyum sülfat ile kurutuldu ve süzüldü ve

25 santrifüjlü kurutuldu. MS (ESI), $C_{21}H_{19}N_5O_3$ $[M+H]^+$ 390 için hesaplandı; bulunan 390.

Adım 5: 2- (3- (4-2- (benziloksi)-3-nitrofenil)-1H-pirazol-1-yl) -1- (metilsülfonil)azetidin-3-yl)asetonitrilin hazırlanması

- Diklorometandaki (10 mL), 2- (3- (4-2- (benziloksi)-3-nitrofenil)-1H-pirazol-1-yl)azetidin-3-yl)asetonitril (900 mg, 2.3 mmol) ve trietilamine (730 mg, 7.2 mmol), nitrojen koruması altında
- 30 0°C'de damla damla metansülfonil klorür (529 mg, 4.6 mmol) eklendi. Karışım, reaksiyon için 0 ° C'de 1 saat süreyle karıştırıldı. LC-MS, reaksiyonun tamamlanmış olduğunu tespit etti ve gösterdi. Reaksiyon karışımı su (50 mL) ile sertleştirildi ve sonra etil asetat (20 mLx3) ile özütlendi. Organik faz birleştirildi, doymuş tuzlu su (5 mL) ile yıkandı, susuz sodyum sülfat ile kurutuldu ve süzüldü ve santrifüjlü kurutuldu. Tortu, sarı bir yağ olarak 2- (3- (4-2- (benziloksi)-3-nitrofenil)-1H-pirazol-1-yl)-
- 35 1- (metilsülfonil)azetidin-3-yl)asetonitrili (450 mg, %37.5 verim) vermek için ayrıldı ve kolon kromatografisi (PE:EA=1:1 (%0.5 Et_3N)) ile saflaştırıldı. 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ = 7.98 (d, J=12.55 Hz, 2 H), 7.71 - 7.78 (m, 2 H), 7.34 - 7.41 (m, 5 H), 7.30 (t, J=8.03 Hz, 1 H), 4.88 - 4.93 (m,

2 H), 4.33 (d, J=9.03 Hz, 2 H), 4.09 (d, J=9.54 Hz, 2 H), 3.21 (s, 2 H), 2.95 (s, 3 H). MS (ESI), $C_{22}H_{21}N_5O_5S$ $[M+H]^+$ 468 için hesaplandı; bulunan 468.

Adım 6: 2- (3- (4- (3-amino-2-hidroksifenil)-1H-pirazol-1-yl)-1- (metilsülfonil)azetid-3-yl)asetonitrilin hazırlanması

- 5 Etil asetat (10 mL), 2- (3- (4-2- (benziloksi)-3-nitrofenil-1H-pirazol-1-yl)-1- (metilsülfonil)azetid-3-yl)asetonitrile (400 mg, 855.6 umol), nitrojen koruması altında Pd/C (200 mg, 1.9 mmol) eklendi. Karışım, reaksiyon için 1.5 saat süreyle 25 ° C'de karıştırıldı. LC-MS, reaksiyonun tamamlandığını tespit etti ve gösterdi. Reaksiyon karışımı, ilave saflaştırma olmadan sonraki adımda doğrudan kullanılabilir bir ayva sarısı olarak 2- (3- (4- (3-amino-2-hidroksifenil)-1H-pirazol-1-yl)-1- (metilsülfonil)azetid-3-yl)asetonitrili (300 mg, %80.75) vermek için Pd/C'yi çıkarmak için filtre edildi, sonra buharlaştırıldı ve hafifçe konsantre edildi. MS (ESI), $C_{15}H_{17}N_5O_3S$ $[M+H]^+$ 348 için hesaplandı; bulunan 348.

Adım 7: 2- (3- (4- (2-aminobenzo[d]oksazol-7-yl)-1H-pirazol-1-yl)-1- (metilsülfonil)azetid-3-yl)asetonitrilin hazırlanması

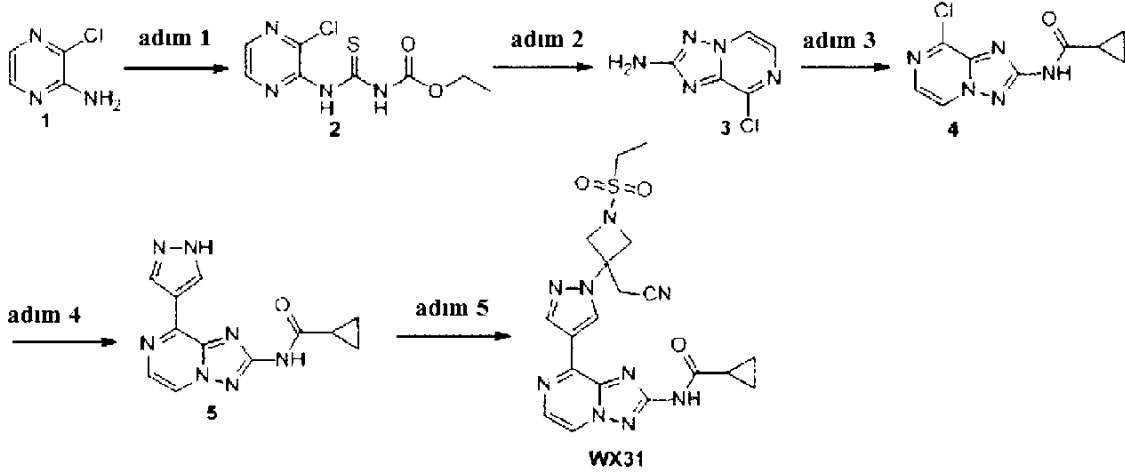
- 15 Etil asetat (10 mL) solüsyonundaki 2- (3- (4- (3-amino-2-hidroksifenil)-1H-pirazol-1-yl)-1- (metilsülfonil)azetid-3-yl)asetonitrile (300 mg, 863.58 umol), nitrojen koruması altında siyanojen bromid (100 mg, 944.1 umol) eklendi. Karışım, reaksiyon için 50 ° C'de 12 saat süreyle karıştırıldı. LC-MS ve TLC (DCM:MeOH=10:1), reaksiyonun tamamlanmış olduğunu tespit etti ve gösterdi. Reaksiyon karışımı doğrudan santrifüjlü kurutulduktan sonra, sarı bir katı olarak 2- (3- (4- (2-aminobenzo[d] oksazol-7-yl)-1H-pirazol-1-yl)-1- (metilsülfonil)azetid-3-yl)asetonitrili (200 mg, %56.0 verim) vermek için DCM:MeOH=10:1'de (3 mL) çözüldü, hazırlayıcı TLC (DCM:MeOH=10:1) ile ayrıldı ve saflaştırıldı. 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ = 8.26 (br. s., 1 H), 8.10 (s, 1 H), 7.26 - 7.28 (m, 2 H), 7.24 (d, J=7.28 Hz, 1 H), 4.65 (d, J=9.03 Hz, 2 H), 4.28 (d, J=9.29 Hz, 2 H), 3.45 (s, 2 H), 3.04 (s, 3 H). MS (ESI), $C_{16}H_{16}N_6O_3S$ $[M+H]^+$ 373 için hesaplandı; bulunan 25 373.

Adım 8: N- (7- (1- (3- (siyanometil)-1- (metilsülfonil)azetid-3-yl) -1H-pirazol-4-yl)benzo[d]oksazol-2-yl)siklopropanekarboksamidin (WX30) hazırlanması

- Asetonitrildeki (3 mL), 2- (3- (4- (2-aminobenzo[d]oksazol-7-yl)-1H-pirazol-1-yl)-1- (metilsülfonil)azetid-3-yl)asetonitril (100 mg, 268.5 umol) ve trietilamine (54 mg, 537.1 umol), nitrojen koruması altında damla damla siklopropankarboksilik asit klorür (30 mg, 287.3 umol) eklendi. Karışım, reaksiyon için 30 ° C'de, 12 saat boyunca karıştırıldı. Reaksiyon için düşük verim tespit edildi ve LCMS'den gösterildi. Reaksiyon karışımı doğrudan santrifüjlü kurutuldu ve tortu, sarı bir katı olarak, N- (7- (1- (3- (siyanometil)-1- (metilsülfonil)azetid-3-yl)-1H-pirazol-4-yl)benzo[d]oksazol-2-yl)siklopropanekarboksamidi (10 mg, %8.45 verim) vermek için ayrıldı ve hazırlayıcı TLC (DCM: MeOH = 10: 1) ile saflaştırıldı. 1H NMR (400 MHz, $DMSO-d_6$) δ = 12.05 (br. s., 1 H), 8.77 (s, 1 H), 8.34 (s, 1 H), 7.60 (d, J=7.53 Hz, 1 H), 7.44 (d, J=7.53 Hz, 1 H), 7.31 - 7.38 (m, 1 H), 4.52 (d, J=9.29

Hz, 2 H), 4.30 (d, J=9.03 Hz, 2 H), 3.66 (s, 2 H), 3.15 (s, 3 H), 2.14 (br. s., 1 H), 0.96 (d, J=5.52 Hz, 4 H). MS (ESI), $C_{20}H_{20}N_6O_4S$ [M+H]⁺ 441 için hesaplandı; bulunan 441.

Örnek 25



5 *Adım 1:* Etil N-[(3-kloropyrazin-2-yl)tiyokarbamoil]karbamatin hazırlanması

THF'de (100 mL) çözülmüş 3-kloropirazin-2-amine (8.7 g, 67.2 mmol), etil izotiyosiyanat (9.7 g, 73.9 mmol) eklendi. LC-MS tam reaksiyon gösterene kadar, oluşan karışım reaksiyon için 27 ° C'de 48 saat süreyle karıştırıldı. Reaksiyon karışımı çözücü THF, tert-bütül metil eter ile yıkanmış, kurutulmuş ve ilave saflaştırma olmadan (yeterli saflık) sonraki adımda doğrudan kullanılmış olan etil N-[(3-kloropirazin-2-yl)tiyokarbamoil] karbamatin ham bir ürününü vermek için indirgenmiş basınç altında santrifüjlü kurutuldu. MS (ESI), $C_8H_9ClN_4O_2S$ [M+H]⁻ 261 için hesaplandı; bulunan 261.

Adım 2: 8-kloro-[1,2,4]triazol[1,5-a]pirazin-2-aminin hazırlanması

Hidroksilamin hidroklorür (20.0 g, 287.7 mmol), 100 mL'lik etanol ve metanol (1:1) karışımında süspansiyon halindeydi ve sonra DIEA (22.3 g, 172.6 mmol) eklendi. Oluşan karışım, reaksiyon için 1 saat boyunca 27°C'de karıştırdıktan sonra, etil N-[(3-kloropyrazin-2-yl)tiyokarbamoil]karbamat (15.0 g, 57.54 mmol) bu sisteme eklendi ve 3 saat boyunca yavaşça geri çekildi (70°C). LC-MS, reaksiyonun tamamlandığını gösterdi, reaksiyon karışımı sarı bir katı olarak 8-kloro-[1,2,4]triazol[1,5-a]pirazin-2-amini (6.50 g, %64.62 verim) vermek için oda sıcaklığına soğutuldu, süzüldü, suyla ve MTBE ile yıkandı ve daha sonra vakum altında kurutuldu (60 ° C). MS (ESI), $C_5H_4ClN_5$ [M+H]⁺ 170 için hesaplandı; bulunan 170.

Adım 3: N- (8-kloro-[1,2,4]triazol[1,5-a]pirazin-2-yl) siklopropanekarboksamidin hazırlanması

Susuz CH_3CN 'de (30 mL) çözülmüş 8-kloro-[1,2,4]triazol[1,5-a]pirazin-2-amine (2.0 g, 11.8 mmol), 5 ° C'de Et_3N (3 g, 29,5 mmol) ilave edildikten sonra siklopropankarboksilik asit klorür (3.1 g, 29.5 mmol) ilave edildi. Eklemeden sonra reaksiyon karışımı, 28 ° C'ye kadar ısıtıldı ve LC-MS, bütün hammaddelerin tükendiğini gösterene kadar karıştırıldı. Gerekirse Et_3N (7.1 mmol) ve siklopropankarboksilik asit klorür (7.1 mmol) de tam reaksiyonu sağlamak için eklendi. Çözücü, tortu verecek şekilde indirgenmiş basınç altında santrifüjlü kurutuldu. Tortu, sarı bir katı olarak N- (8-kloro-

[1,2,4]triazol[1,5-a]pirazin-2-yl)siklopropanekarboksamidi (1.2 g) vermek için Et₂O (50 mL) ile dövüldü, filtrasyon ile katı toplandı, H₂O (2x50 mL), aseton (50 mL) ve Et₂O (50 mL) ile yıkandı ve sonra vakum altında kurutuldu. MS (ESI), C₉H₈ClN₅O[M+H]⁺ 237 için hesaplandı; bulunan 237.

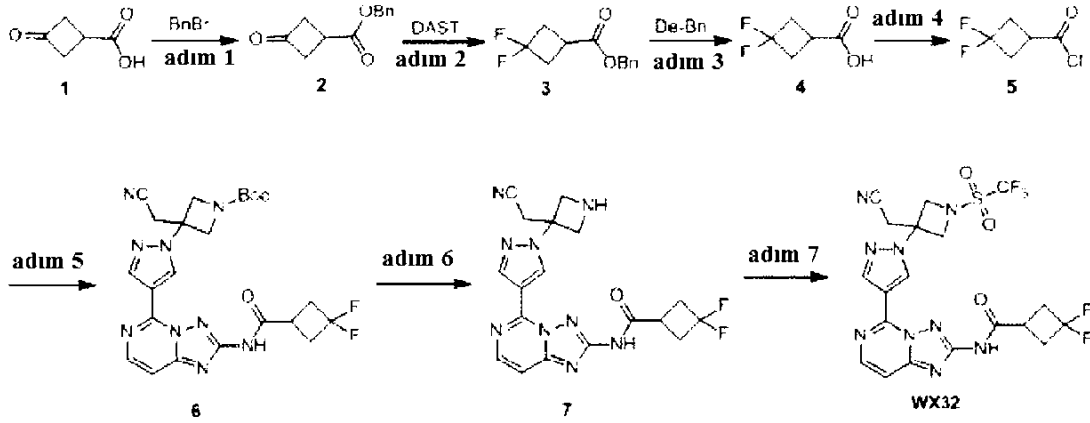
Adım 4: N-[8- (1H-pirazol-4-yl)-[1,2,4]triazol[1,5-a]pirazin-2-yl] siklopropankarboksamidin hazırlanması

H₂O (1 mL)/dioksan (4 mL) karışım çözücüsünde çözülmüş N- (8-kloro-[1,2,4]triazol[1,5-a]pirazin-2-yl)siklopropanekarboksamid (100 mg, 420.8 umol), 4- (4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioksaborolan-2-yl)-1H-pirazol (122.5 mg, 631.2 umol) ve K₂CO₃'e (175 mg, 1.3 mmol), Pd (dppf)Cl₂.CH₂Cl₂ (34 mg, 42.08 umol) eklendi. Vakumlama ve nitrojen ile doldurulduktan sonra karışım, reaksiyon için 3 saat süreyle 100 ° C'de karıştırıldı. LC-MS, reaksiyonun tamamlanmış olduğunu gösterdikten sonra karışım oda sıcaklığına kadar soğutuldu. Karışım, diyatomit yatağı ile filtrelendi ve diyatomit, DCM (30 mL) ile yıkandı. Organik katman ayrıldı ve su katmanı, DCM (3x50 mL) ile özütlendi. Organik faz birleştirildi, doymuş tuzlu su ile yıkandı, susuz Na₂SO₄ ile kurutuldu. Çözücü, indirgenmiş basınç altında santrifüjlü kurutuldu ve ham ürün, ayva sarısı bir katı olarak N-[8- (1H-pirazol-4-yl)-[1,2,4]triazol[1,5-a]pirazin-2-yl]siklopropankarboksamidi (70 mg, %8.1 verim) vermek için ince katman kromatografisiyle(DCM/MeoH=10:1) arıtıldı. MS (ESI), C₁₂H₁₁N₇O[M+H]⁺270 için hesaplandı; bulunan 270.

Adım 5: N-[8-[1-[3- (siyanometil)-1-etilsülfonilazetidin-3-yl] pirazol-4-yl)-[1,2,4]triazol[1,5-a]pirazin-2-yl]siklopropankarboksamidin (WX31) hazırlanması

DMF'de (10 mL) çözülmüş N-[8- (1H-pirazol-4-yl)-[1,2,4]triazol[1,5-a]pirazin-2-yl] siklopropankarboksamid (120 mg, 445.7 umol) ve 2- (1-etilsülfonilazetidin-3-iliden) asetonitrile (125 mg, 668.5 umol), DBU (136 mg, 891 umol) eklendi. Oluşan karışım, reaksiyon için 40 ° C'de 16 saat boyunca karıştırıldı. LC-MS, reaksiyonun tamamlanmış olduğunu gösterdikten sonra, çözücü indirgenmiş basınç altında santrifüjlü kurutuldu ve tortu EtOAc'de (50 mL) çözüldü. Oluşan çözelti, HCl'in IN'si (10 mL) ve tuzlu su (20 mL) ile yıkandı, organik faz susuz Na₂SO₄ ile kurutuldu ve çözücü santrifüjlü kurutuldu. Tortu, beyaz bir katı olarak N-[8-[1-[3- (siyanometil)-1-etilsülfonilazetidin-3-yl] pirazol-4-yl)-[1,2,4]triazol[1,5-a]pirazin-2-yl]siklopropanekarboksamidi vermek için hazırlayıcı HPLC (HCl) ile saflaştırılmış ve soğuk-dondurulmuş olan bir ham bileşiği vermek için hazırlayıcı ince tabaka kromatografisiyle (PE/EA=1:4) saflaştırıldı. ¹H-NMR (400 MHz, MeOD-d₄) δ = 8.07 (d, J = 8 Hz, 2H), 7.86 (dd, J = 7.2, 13.2 Hz, 2H), 7.67 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.44-7.42 (m, 1H), 4.19 (s, 2H), 3.44 (d, J = 4.8 Hz, 4H), 3.26 (d, J = 4.8 Hz, 4H), 2.95 (m, 1H), 0.87 (m, 2H), 0.74 (m, 2H). MS (ESI), C₁₉H₂₁N₉O₃S [M+H]⁺456 için hesaplandı; bulunan 456.

Örnek 26



Adım 1: Benzil 3-oksosiklobütan-karboksilatın hazırlanması

3-Oksosiklobütan karboksilik asit (3.0 g, 26.3 mmol), benzil bromid (6.7 g, 39.4 mmol) ve potasyum karbonat (7.3 g, 52.6 mmol), asetonda (30 mL) çözüldü ve sonra geri akış için 10 saat boyunca ısıtıldı.

- 5 TLC, reaksiyonun tamamlandığını gösterdikten sonra, reaksiyon karışımı çözücüyü çıkarmak için indirgenmiş basınç altında konsantre edildi, su (20 mL) ilave edildi ve etil asetat (150 mLx2) ile özütlendi. Birleştirilmiş organik faz, doymuş tuzlu su (50 mL) ile yıkandı, susuz sodyum sülfat ile kurutuldu, süzüldü ve vakum altında konsantre edildi. Tortu, renksiz sıvı olarak benzil 3-oksosiklobütan karboksilatı (2.5 g, % 41.9 verim) vermek için silika jel kolon kromatografisi (petrol eter/etil asetat=10:1) ile saflaştırıldı. MS (ESI), $C_{12}H_{12}O_3$ $[M+H]^+$ 205 için hesaplandı; bulunan 205.

Adım 2: Benzil 3,3-diflorosiklobütan karboksilatın hazırlanması

Diklorometandaki (35 mL) benzil 3-oksosiklobütan-karboksilata (1.0 g, 4.9 mmol), $-60^{\circ}C$ 'de damla damla DAST (1.6 g, 9.8 mmol) eklendi. Eklemeden sonra reaksiyon karışımı yavaş yavaş $15^{\circ}C$ 'ye ısıtıldı ve 10 saat boyunca karıştırıldı. TLC, reaksiyonun tamamlandığını gösterdikten sonra, reaksiyon

- 15 karışımı $0^{\circ}C$ 'ye kadar soğutuldu. Su verme reaksiyonu için sodyum bikarbonat solüsyonu satüre edilerek, su fazı diklorometan (30 mLx2) ile çıkarıldı. Organik faz birleştirildi, doymuş tuzlu su (10 mL) ile yıkandı, susuz sodyum sülfat ile kurutuldu, süzüldü ve vakum altında konsantre edildi. Tortu, renksiz yağ olarak, benzil 3,3-diflorosiklobütan karboksilatı (450 mg, %36.54 verim) vermek için silika jel kolon kromatografisi (petrol eter/etil asetat=20:1~10:1) ile saflaştırıldı. MS (ESI), $C_{12}H_{12}F_2O_2$ $[M+H]^+$ 227 için hesaplandı; bulunan 227.

Adım 3: 3,3-diflorosiklobütan karboksilik asitin hazırlanması

Etanolde (10 mL) çözülmüş benzil 3,3-diflorosiklobütan karboksilat (450 mg, 2.0 mmol) solüsyonuna Pd/C (%10, 40 mg) eklendi. Reaksiyon karışımı, hidrojen atmosferinde (15 psi) 10 saat boyunca oda sıcaklığında karıştırıldı. TLC, reaksiyonun tamamlandığını gösterdikten sonra, katı filtrelendi, filtrat

25 katı bir beyaz olarak 3,3-diflorosiklobütan karboksilik asiti (250 mg, %83.1 verim) vermek için vakum altında konsantre edildi. MS (ESI), $C_5H_6F_2O_2$ $[M+H]^+$ 137 için hesaplandı; bulunan 137.

Adım 4: 3,3-diflorosiklobütan karbonil klorürün hazırlanması

Diklorometanda (5 mL) çözülmüş bir 3,3-diflorosiklobütan karboksilik asit (230 mg, 1.69 mmol) ve DMF (13 mg, 169.0 umol) solüsyonuna 0°C'de damla damla oksalil klorür (322 mg, 2.5 mmol) eklendi. Eklemeden sonra reaksiyon karışımı, oda sıcaklığında 3 saat karıştırıldı. TLC, reaksiyonun tamamlandığını gösterdikten sonra, reaksiyon karışımı sarı bir katı olarak 3,3-diflorosiklobütan karbonil klorürü (300 mg, bir ham ürün) vermek için vakum altında konsantre edildi. Bu ürün ilave saflaştırma olmadan sonraki adımda doğrudan kullanıldı. MS (ESI), $C_5H_5ClF_2O$ $[M+H]^+$ 155 için hesaplandı; bulunan 155.

Adım 5: Ter-bütül 3- (siyanometil)-3-[4-[2-[(3,3-diflorosiklobütan karboksilik asit)amino]-[1,2,4]triazol[1,5-c]pirimidin-5-yl]pirazol-1-yl]azetid-1-karboksilik asitin hazırlanması

10 Diklorometanda (8 mL) çözülmüş bir ter-bütül 3-[4- (2-amino-[1,2,4]triazol[1,5-c]pirimidin-5-yl)pirazol-1-yl]-3- (siyanometil)-azetid-1-karboksilik asit (395 mg, 1.0 mmol), DMAP (13 mg, 110 umol) ve piridin (396 mg, 5 mmol) solüsyonuna 0°C'de 3,3-diflorosiklobütan karbonil klorür (294 mg, 1.9 mmol) eklendi. Karışım 40°C'ye kadar ısıtıldı ve 10 saat boyunca karıştırıldı. Reaksiyon LCMS'den gösterildiği gibi tamamlandı. Reaksiyon karışımı suya (5 mL) döküldü ve su 15 fazı diklorometan (15 mLx2) ile özütlendi. Birleştirilen organik faz, doymuş tuzlu su (10 mL) ile yıkandı, susuz sodyum sülfat ile kurutuldu, süzüldü ve vakum altında konsantre edildi. Tortu, beyaz bir katı olarak ter-bütül 3- (siyanometil)-3-[4-[2-[(3,3-diflorosiklobütan karboksilik asit)amino] - [1,2,4]triazol[1,5-c]pirimidin-5-yl]pirazol-1-yl]azetid-1-karboksilik asiti (80 mg, %12.00 verim) 20 vermek için hazırlayıcı TLC (etil asetat/petrol eter =1:0) ile saflaştırıldı. MS (ESI), $C_{23}H_{25}F_2N_9O_3$ $[M+H]^+$ 514 için hesaplandı; bulunan 514.

Adım 6: N-[5-[1-[3- (siyanometil)azetid-3-yl]pirazol-4-yl]-[1,2,4]triazol[1,5-c]pirimidin-2-yl]-3,3-difloro-siklobütan karboksamidin hazırlanması

Diklorometanda (5 mL) çözülmüş bir ter-bütül 3- (siyanometil)-3-[4-[2-[(3,3-diflorosiklobütan karboksilik asit)amino]-[1,2,4]triazol[1,5-c]pirimidin-5-yl]pirazol-1-yl]azetid-1-karboksilik asit (80 25 mg) solüsyonuna damla damla trifloroasetik asit (765 mg, 6.7 mmol) eklendi. Reaksiyon karışımı oda sıcaklığında 2 saat karıştırıldı. Reaksiyon LCMS'den gösterildiği gibi tamamlandı. Reaksiyon karışımı, kahverengi bir katı olarak N-[5-[1-[3- (siyanometil) azetid-3-yl]pirazol-4-yl]-[1,2,4]triazol[1,5-c]pirimidin-2-yl]-3,3-difloro-siklobütan karboksamidi (100 mg, ham ürün, TFA tuz) vermek için vakum altında konsantre edildi. Bu ürün saflaştırma olmadan sonraki adımda doğrudan kullanıldı. MS 30 (ESI), $C_{18}H_{17}F_2N_9O$ $[M+H]^+$ 414 için hesaplandı; bulunan 414.

Adım 7: N-[5-[1-[3- (siyanometil)-1- (triflorometilsülfonil) azetid-3-yl]pirazol-4-yl]-[1,2,4]triazol[1,5-c]pirimidin-2-yl]-3,3-difloro-siklobütan karboksamidin (WX3 2) hazırlanması

Diklorometandaki (5 mL), N-[5-[1-[3- (siyanometil)azetid-3-yl]pirazol-4-yl]-[1,2,4]triazol[1,5-c] 35 pirimidin-2-yl]-3,3-difloro-siklobütan karboksamide (100 mg, 189.61 umol, TFA tuz), triflorometansülfonil klorür (38 mg, 227.5 mmol) eklendi ve sonra trietilamin (96 mg, 948.1 umol) eklendi. Reaksiyon karışımı oda sıcaklığında 10 saat karıştırıldı. Reaksiyon LCMS'den gösterildiği

Diklorometanda (5 mL) çözülmüş tert-bütül tert-bütül 4-[3- (siyanometil)-3-[4-[2- (siklopropilkarbonil)amino-[1,2,4]triazol[1,5-a]piridin-5-yl]pridilbütan-1-yl]azetidid-1-yl]piperidin-1- karboksilata (143 mg, 262.1 umol) damla damla trifloroasetik asit (2 mL) eklendi. Sonra reaksiyon karışımı reaksiyon için 3 saat boyunca 26°C'de karıştırıldı. LC-MS, reaksiyonun tamamlandığını gösterdikten sonra, karışım, sarı bir katıyı (56 mg, ham ürün) vermek için çözücüyü çıkarmak için indirgenmiş basınç altında damıtıldı. Bu ürün saflaştırma olmadan sonraki adımda doğrudan kullanıldı. MS ESI, C₂₃H₂₇N₉O [M+H]⁺ 446 için hesaplandı; bulunan 446.

Adım 3: Etil etil 6- (bromometil)-2- (triflorometil)pirimidin-4-karboksilatın (3) hazırlanması

Asetik asitte (12 mL) çözülmüş etil 6-metil-2- (triflorometil)pirimidin- 4-karboksilata (2.0 g, 8.5 mmol) damla damla Br₂ (1.4 g, 8.5 mmol) eklendi. Reaksiyon karışımı, reaksiyon için 80 ° C'de 30 dakika boyunca karıştırıldı. LC-MS, reaksiyonun tamamlandığını gösterdikten sonra, çözücüyü çıkarmak için karışım, indirgenmiş basınç altında damıtıldı. Tortu sarı bir yağlı sıvıyı (610 mg, %12.3 verim) vermek için hazırlayıcı (PE/EA=3/1) prepsasyonu ile ayrıldı. MS ESI, C₉H₈BrF₃N₂O₂[M+H]⁺ 313 için hesaplandı; bulunan 313.

Adım 4: Etil etil 6- [(dimetilamino)metil]-2- (triflorometil) pirimidin- 4-karboksilatın hazırlanması (4)

Diklorometanda (20 mL) çözülmüş etil etil 6- (bromometil)-2- (triflorometil)pirimidin- 4-karboksilat (610 mg, 2.0 mmol) ve N-dimetilmetanamine (318 mg, 3.9 mmol), damla damla trietilamin (592 mg, 5.9 mmol) eklendi. Reaksiyon karışımı 26 ° C'de 0.5 saat karıştırıldı. LC-MS, reaksiyonun tamamlandığını gösterdikten sonra filtrat, suyla (20 mL) yıkandı ve daha sonra EA (20 mLx3) ile özütlendi. Organik faz birleştirildi, doymuş tuzlu su (20 mL) ile yıkandı, susuz sodyum sülfat ile kurutuldu, süzüldü ve filtratı çıkarmak için indirgenmiş basınç altında damıtıldı. Tortu, sarı bir sıvıyı (310 mg, %51.6 verim) vermek için (PE/EA= 3/1) prepsasyonu ile ayrıldı ve saflaştırıldı. MS ESI, C₁₁H₁₄F₃N₃O₂ [M+H]⁺ 278 için hesaplandı; bulunan 278.

Adım 5: 6- [(dimetilamino)metil]-2- (triflorometil) pirimidin-4-karboksilik asitin (5) hazırlanması

Tetrahidrofuran (8 mL) ve suda (2 mL) çözülmüş etil etil 6- [(dimetilamino)metil]-2- (triflorometil) pirimidin-4-karboksilata (310 mg, 1.1 mmol), lityum hidroksit (54 mg, 2.3 mmol) eklendi. Reaksiyon karışımı 26°C'de 0.5 saat boyunca karıştırıldı. LC-MS, reaksiyonun tamamlandığını gösterdikten sonra, karışım, saflaştırma olmadan doğrudan kullanılmış olan sarı bir yağ sıvısını (314 mg) vermek için çözücüyü çıkarmak için, indirgenmiş basınç altında damıtıldı. MS ESI, C₉H₁₀F₃N₃O₂ [M+H]⁻ 250 için hesaplandı; bulunan 250.

Adım 6: N- (5- (1- (3- (siyanometil)-1- (1- (6- ((dimetilamino)metil)-2- (triflorometil)pirimidin-4-karbonil) piperidin-4-yl)azetidid-3 -yl)-1H-pirazol-4-yl) -[1,2,4]triazol[1,5-a]siklopropankarboksamidin (WX33) hazırlanması

DMF'de (3 mL) çözülmüş bir N-[5-[1-[3- (siyanometil)-1- (4-piperidin)azetidid-3-yl]pirazol-4-yl]- [1,2,4]triazol[1,5-]piridin-2-yl]siklopropankarboksamid (48 mg, 107.7 umol) solüsyonuna, bileşik 2 (27 mg, 107.7 umol), EDCI (52 mg, 269.4 umol) ve HOBt'ye (36 mg, 269.4 umol), TEA (55 mg, 538.7 umol) eklendi. Reaksiyon karışımı, reaksiyon için 12 saat boyunca 26°C'de karıştırıldı. LC-MS,

reaksiyonun tamamlandığını gösterdikten sonra, reaksiyon karışımı EA (10 mL) ve su (10 mL) içinde çözüldü. Organik katman ayrıldı ve su katmanı, iki kez EA (2x15 mL) ile özütlendi. Organik faz, beyaz bir katıyı (WX33) (5 mg, %6.9 verim) vermek için preperasyon ile birleştirildi, doymuş tuzlu su (5 mL) ile yıkandı, susuz sodyum sülfat ile kurutuldu, süzüldü, filtratı çıkarmak için indirgenmiş basınç altında damıtıldı, ayrıldı. ¹H NMR (400MHz, METHANOL-d₄) δ = 9.18 (s, 1H), 8.54 (s, 1H), 7.94 (s, 1H), 7.75 - 7.69 (m, 1H), 7.57 (ddd, J=1.1, 8.1, 18.9 Hz, 2H), 3.87 - 3.73 (m, 6H), 3.53 (s, 2H), 3.43 - 3.35 (m, 1H), 3.30 - 3.21 (m, 1H), 2.74 - 2.66 (m, 1H), 2.37 (s, 6H), 2.06 - 1.93 (m, 2H), 1.50 (d, J=10.3 Hz, 1H), 1.38 - 1.28 (m, 4H), 1.11 - 1.05 (m, 2H), 1.01 - 0.95 (m, 2H). MS ESI, C₃₃H₃₅F₃N₁₂O₂ [M+H]⁺ 677 için hesaplandı; bulunan 677.

10 **Jak1, Jak2, ve Jak3 Kinazın canlı dışı aktivitesi için test**

Deneyisel materyaller

JAK1, JAK2 ve JAK3'ün rekombinan insan proteazı, Life teknolojiden satın alındı. LANCE Ultra ULight™-JAK-1 (Tyr1023) peptit ve LANCE Eu-W1024 Anti-fosfotirozin (PT66), PerkinElmer'den satın alındı. Multimode ELISA, Envision (PerkinElmer) okuyucu kullanıldı.

15 **Deneyisel yöntem**

Test bileşiği, üç kez konsantrasyon gradyanına göre, 11 konsantrasyonda toplam olarak 10 uM ila 0.17 nM'lik bir nihai konsantrasyon ile seyreltildi, her bir konsantrasyon iki karmaşık delikli ve tespit içindeki DMSO içeriği % 1 idi.

JAK1'in enzim reaksiyonu

20 **[0197]** JAK1 Protein kinazın 2 nM'si, LANCE Ultra ULight™-JAK-1 (Tyr1023) peptitin 50 nM'si, ATP'nin 38 uM'si, HEPES'in (pH 7.5) 50 mM'si, MgCl₂'nin 10 mM'si EGTA'nın 1 mM'si, DTT'nin 2 mM'si, %0.01 BRIJ-35. Dama tahtası, Beyaz Proksiplat 384-Plus plate'dir (PerkinElmer). Reaksiyon oda sıcaklığında 90 dakika boyunca gerçekleştirildi ve reaksiyon sistemi 10 ul'diydi.

JAK2'nin enzim reaksiyonu

25 **[0198]** JAK2 Protein kinazın 0.02 nM'si, LANCE Ultra ULight™-JAK-1 (Tyr1023) peptitin 50 nM'si, ATP'nin 12 uM'si, HEPES'in (pH 7.5) 50 mM'si, MgCl₂'nin 10 mM'si, EGTA'nın 1 mM'si, DTT'nin 2 mM'si, % 0.01 BRIJ-35. Dama tahtası, Beyaz Proksiplat 384-Plus plate'dir (PerkinElmer). Reaksiyon oda sıcaklığında 60 dakika boyunca gerçekleştirildi ve reaksiyon sistemi 10 ul'diydi.

JAK3'ün enzim reaksiyonu

30 **[0199]** JAK2 Protein kinazın 0.05 nM'si, LANCE Ultra ULight™-JAK-1 (Tyr1023) peptitin 50 nM'si, ATP'nin 4 uM'si, HEPES'in (pH 7.5) 50 mM'si MgCl₂'nin, 10 mM'si, EGTA'nın 1 mM'si, DTT'nin 2 mM'si, % 0.01 BRIJ-35. Dama tahtası, Beyaz Proksiplat 384-Plus plate'dir (PerkinElmer). Reaksiyon oda sıcaklığında 90 dakika boyunca gerçekleştirildi ve reaksiyon sistemi 10 ul'diydi.

Reaksiyonun belirlenmesi

35 10 ul tespit belirteci reaksiyon plakasına eklendi, burada LANCE Eu-W1024 Antifosfotirozin (PT66) 2nM'idi, oda sıcaklığında 60 dakika boyunca Envision okuyucu ile inkübe edilmiş son EDTA konsantrasyonu 10 nM idi.

Veri analizi

Okuma řu formül ile inhibisyon oranına (%) dönüştürüldü: inhibisyon oranı (%)= (Min-Oran)/ (Maks-Min) x %100. Tablo 1'de gösterildiği gibi dört parametre eğrisi (XLFIT5, iDBS'de Model 205) ile IC50 verileri ölçüldü.

Tablo 1

Bileşik	JAK2 (nM)	JAK1/JAK2 (kez)	JAK3/JAK2 (kez)
Tofacitinib	4	0.5	0.075
WX00	B	F1	F4
WX01	B	F2	F3
WX02	A	F1	F3
WX03	B	F2	F3
WX04	B	F1	F3
WX05	B	F1	F3
WX06	B	F1	F3
WX07	B	F2	F4
WX08	A	F1	F4
WX09	A	F1	F4

(devamı)

Bileşik	JAK2 (nM)	JAK1/JAK2 (kez)	JAK3/JAK2 (kez)
WX10	C	F1	F1
WX11	C	F2	F3
WX12	B	F2	F3
WX13	A	F3	F4
WX14	A	F2	F4
WX15	A	F1	F4
WX16	A	F1	F3
WX17	B	F1	F3
WX18	A	F1	F3
WX19	B	F1	F3
WX20	A	F1	F4
WX21	A	F1	F4
WX22	C	F1	F3
WX23	C	F1	F3
WX24	B	F3	F4
WX25	C	F3	F2
WX26	C	F3	F3
WX27	A	F3	F2
WX28	A	F3	F4
WX29	A	F3	F4
WX30	A	F2	F4
WX31	C	F2	F3
WX32	C	F2	F3
WX33	B	F1	F3

A ≤ 10nM; 10 < B ≤ 100 nM; 100 < C ≤ 1000 nM; 1 ≤ F1 ≤ 5; 5 < F2 ≤ 10; 10 < F3 ≤ 25; 25 < F4 ≤ 100

Sonuç: Bu buluşun bileşiklerin, JAK2'ye seçiciliği, Tofacitinib'den üstündür.