

**T.C**  
**DICLE ÜNİVERSİTESİ**  
**FENBİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**MANYETİK NANOPARÇACIKLAR İÇEREN KİRAL REÇİNE İLE**  
**MANDELİK ASİT'İN REZOLÜSYONU**

**Tuba TARHAN**

**YÜKSEKLİSANS TEZİ**  
**KİMYA ANABİLİM DALI**

**DIYARBAKIR**

**Haziran-2012**

## TEŞEKKÜR

Bu çalışmada bana her zaman yardımcı olan ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen danıőmanlarım Dicle Ünięersitesi Eğitim Fakóltesi Kimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi sayın Prof.Dr. Giray TOPAL ve Dicle Ünięersitesi Eğitim Fakóltesi Kimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi sayın Doç.Dr. Bilsen TURAL'a, Dicle Ünięersitesi Eğitim Fakóltesi Kimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi sayın Doç.Dr. Servet TURAL'a, bilgi ve tecrübelerini ve laboratuvar imkanlarını bizden esirgemeyen Ortadoğu Teknik Ünięersitesi Kimya Bölümü Öğretim Üyesi çok değerli hocamız sayın Prof.Dr. Ayhan Sıtkı DEMİR ve ekibine, değerli çalışma arkadaőlarım Sedat ATEŐ ve Mahmut Evren YETKİN'e, tez yazımında yardımlarını esirgemeyen Batman Ünięersitesi Kimya Bölümü Araştırma Görevlisi değerli arkadaőım Reőt ÇAKMAK'a ve her zaman yanımda olup bana destek veren canımdan çok sevdiğim ailemin her bir ferdine teşekkür ve őükranlarımı bir borç bilirim.

## İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	I
İÇİNDEKİLER.....	II
ÖZET.....	V
ABSTRACT.....	VII
ŞEKİL LİSTESİ.....	VIII
EKLER LİSTESİ.....	X
KISALTMA VE SİMGELER.....	XIII
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Kiralite.....	3
1.1.1. Kiralite nedir?.....	3
1.1.2. Prokirallik.....	5
1.1.3. İzomeri: Yapı izomeri ve Stereoizomeri.....	6
1.2. Polarimetre.....	8
1.3. Özgül Çevirme.....	9
1.4. Rasemik Karışımlar.....	9
1.5. Enantiyomerik Fazlalık.....	10
1.6. Mezo Bileşikler.....	11
1.7. Kiral Bileşiklerin Adlandırılması: R ve S Sistemi(Cahn-Ingold-Prelog gösterimi)..	11
1.8. Kiral Ayırma Yapmanın Gerekliliği ve Önemi.....	14
1.9. Kiral Ayırma Yapmanın Yöntemleri.....	16
1.9.1. Enantiyoselektif HPLC Analizi.....	17
1.9.2. Kapiler Elektforez ve Enantiyomerik Ayırma.....	17
1.9.3. Kiral İlaçların Ayrılması için Hareketli yatak.....	18
1.9.4. Kiral-Nanoteknoloji ve Enantiyomerik Ayırma.....	18

1.9.5. Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrumu Metodu ve Enantiyomerik Ayırma.....	18
1.9.6. Kiral ve Akiral İyonik Sıvı ve Enantiyomerik Ayırma.....	19
1.9.7. Kinetik Rezolüsyonun Enzim Tarafından Katalizlenmesi.....	19
1.10. Nanoteknoloji.....	20
1.10.1. Nanoteknolojinin Tanımı ve Amaçları.....	20
1.10.2. Nanoteknolojinin Tarihçesi.....	21
1.10.3. Nanoteknolojinin Uygulama Alanları.....	23
1.10.4. Türkiyede Nanoteknoloji.....	27
1.10.5. Nanoteknolojinin Gelecekteki Durumu.....	27
1.10.6. Nanoteknoloji Hayatı Nasıl Değiştirecek?.....	29
<b>2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....</b>	<b>31</b>
<b>3. MATERYAL ve METOT.....</b>	<b>43</b>
3.1. Materyal.....	43
3.1.1. Kullanılan Araç ve Gereçler.....	43
3.1.2. Kullanılan Kimyasallar.....	44
3.2. Metot.....	44
3.2.1. Fosfat Çözeltisinin Hazırlanması.....	45
3.2.2. Rasemik Mandelik Asit Karışımından Değişik Konsantrasyonda Stok Çözeltilerin Hazırlanması.....	45
3.2.3. Kalibrasyon Eğrileri için Standartların Hazırlanması.....	46
3.2.4. pH 6, pH 7 ve pH 8’de Yapılan Rezolüsyon Çalışmaları.....	47
3.2.5. pH 8 ve pH 9’da Yapılan Rezolüsyon Çalışmaları.....	48
3.2.6. pH 9 ve Deiyonize Su ile Yapılan Rezolüsyon Çalışmaları.....	49
3.2.7. Organik Çözücü’de Yapılan Rezolüsyon Çalışmaları.....	50
3.2.8. pH 5’te Yapılan Rezolüsyon Çalışmaları.....	51
3.2.9. pH 4.4’te Yapılan Rezolüsyon Çalışmaları.....	51
3.2.10. pH 4’te Yapılan Rezolüsyon Çalışmaları.....	52

3.2.11. pH 2.2’de Yapılan Rezolüsyon Çalışmaları.....	52
3.2.12. pH 3.5’te Yapılan Rezolüsyon Çalışmaları.....	53
3.3. 25mM Fosfat Çözeltisi ile 15mM Rasemik Mandelik Asit Kullanılarak Yapılan Rezolüsyon Çalışmaları .....	54
3.4. 50mM Fosfat Çözeltisi ile 20mM Rasemik Mandelik Asit Kullanılarak Yapılan Rezolüsyon Çalışmaları.....	54
3.5. 65mM Fosfat Çözeltisi ile 40mM Rasemik Mandelik Asit Kullanılarak Yapılan Rezolüsyon Çalışmaları.....	55
3.6. 50Mm Fosfat Çözeltisi ile 60mM Rasemik Mandelik Asit Kullanılarak Yapılan Rezolüsyon Çalışmaları.....	56
3.6.1. Manyetik Alanın Rezolüsyon Üzerine Etkisini İnceleyen Çalışmalar.....	57
3.7. Deneyde Kullanılmış Olan Silika Kaplı Manyetik Nanoparçacıklar İçeren Reçinenin Sentez Basamakları.....	57
3.8. Deneyin Şematik Gösterimi.....	60
3.9. HPLC ile Çalışma Koşulları.....	61
<b>4. BULGULAR ve TARTIŞMA.....</b>	<b>63</b>
4.1. Rasemik Mandelik Asit’in Farklı Konsantrasyonlarının Rezolüsyona Etkisi.....	63
4.2. Çözücünün Rezolüsyona Etkisi.....	64
4.3. pH’ın Rezolüsyona Etkisi.....	65
4.4.Fosfat Çözeltisinin Konsantrasyon Değerinin Rezolüsyona Etkisi.....	66
4.4. Reçine Miktarının Rezolüsyona Etkisi.....	67
4.5. Sürenin Rezolüsyona Etkisi.....	67
4.6. Manyetik Alanın Rezolüsyona Etkisi.....	68
<b>5. SONUÇ ve ÖNERİLER.....</b>	<b>69</b>
<b>6. KAYNAKLAR.....</b>	<b>71</b>
<b>EKLER.....</b>	<b>75</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>112</b>

## ÖZET

### MANYETİK NANOPARÇACIKLAR İÇEREN KİRAL REÇİNE İLE MANDELİK ASİT'İN REZOLÜSYONU

#### YÜKSEK LİSANS TEZİ

Tuba TARHAN

DİCLE ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
KİMYA ANABİLİM DALI

Danışman: Prof.Dr. Giray TOPAL

Danışman: Doç.Dr. Bilsen TURAL

2012

Bu çalışmada, bir meyve asidi olup acı bademden elde edilen ve farmakolojik öneme sahip olan (R)- ve (S)- mandelik asidin rezolüsyonu sağlandı. (R)-mandelik asit uzun yıllar boyunca tıpta, anti bakteriyel olarak özellikle idrar yolu enfeksiyonları tedavisinde, cilt hastalıkları tedavisinde, cilt bakım ürünlerinde, yetişkinlerde akne sorunlarını gidermede, rosacea (gül hastalığı ) hastalığı tedavisinde, iltihaplanma ve kızarıklıkları gidermede kullanılmaktadır. Ayrıca yarı sentetik sefalosprinler ve penisilinlerin üretiminde anahtar bir ara madde özelliği göstermektedir. Üstelik anti-tümör ve anti-obezite ajanlarının sentezi için kiral sinton ve kiral bir ayırma ajanı olarak kullanılmaktadır. Ayrıca antibiyotik olan ilacın aktivitesini geliştirmede yaygın olarak kullanılır. (S)- mandelik asit ise daha çok hayvan sağlığında ve hayvan bakım ilaçlarında kullanılmaktadır. Farmakolojik olarak farklı etkilere sahip bu iki enantiyomerin rezolüsyonunu sağlamak tıpta ve ilaç sanayisinde önem arz etmektedir.

Bu çalışmada manyetik özellik gösteren nano parçacıklar( $Fe_3O_4$ ) silika ile kaplandı. Daha sonra kiral ayırmada etkinliği olan bazı fonksiyonel gruplar silika üzerine kovalent bağlanarak amaca uygun bir reçine sentezlendi. Sonrasında rasemik mandelik asit karışımı hazırlanıp değişik pH' lardaki (pH 2.2; 3.5;4.0; 4.4...) fosfat çözeltisinde çözüldü. Elde edilen rasemik karışım daha önce sentezlenmiş olan manyetik nanoparçacıklar içeren reçineyle, mekanik bir karıştırıcı yardımı ile etkileştirildi. Değişik zaman aralıklarında (1 dk, 5 dk, 10 dk, 20 dk ...) alınan eluatlar eter (dietileter) ile ekstrakte edilip eter fazı evapore edildi ve geriye kalan beyaz katı n-heksan-isopropanol karışımına alınıp HPLC de analiz edilerek enantiyomerik fazlalık(e,f) hesaplandı.

Manyetik nanoparçacıklar kullanılarak yapılan enantiyomerik ayırmalarla ilgili çalışmalar literatürde çok az rastlanmaktadır. Bu tür çalışmaların literatürde 2010 ve sonraki yıllarda

yayınlanmaya başladığını görüyoruz. Amacımız henüz yeni kullanılacak olan bu yöntem ile gelecekte yapılacak olan bu tür çalışmalara yeni bir umut ışığı olmak ve katkıda bulunmaktır.

**Anahtar Kelimeler:** Silika kaplı magnetik nano parçacıklar, Kiral mandelik asit rezolüsyonu, Enantiyomerik fazlalık, HPLC ile analiz

## ABSTRACT

### THE RESOLUTION OF RACEMIC MANDELIC ACID BY CHIRAL RESIN CONTAINING MAGNETIC NANOPARTICLES MSc Thesis

Tuba TARHAN

DEPARTMENT OF CHEMISTRY  
INSTITUTE OF SCIENCE  
UNIVERSITY OF DİCLE

2012

In this study, the resolution of (R)- and (S)-mandelic acid, which is pharmacologically important, was provided. For many years, (R)-mandelic acid has widely been used antibacterial infections, especially treatment of urinary tract in the medicine, treatment of skin diseases, skin care products, to resolve the problems of acne in adults, for rosacea (rose-disease), to relieving inflammation and rashes. Importantly (R)-mandelic acid is a key intermediate for the production of semi-synthetic cephalosporins and penicillins. It is also used as a chiral resolving agent and chiral synthon for the synthesis of anti-tumor and anti-obesity agents and also to increasing the activity of the drug antibiotic. (S)-mandelic acid is mostly used for animal health and in animal care medicine. It is important to ensure the resolution of these two enantiomers having different pharmacological effects.

In this study a resin was synthesized, which contain for separating suitable chiral groups then it was bound to covalent on silica-coated magnetic nanoparticles ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ). And then racemic mixture of mandelic acid was prepared and dissolved in phosphate solution of different pH levels ( pH 2.2; 3.5; 4.0; 4.4 ...). The racemic mixture obtained was interacted with contain magnetic nanoparticles resin via a mechanic mixer. In different periods of time eluats obtained was extracted together with the ether(diethylether) and ether phase was evaporated. Then remaining white solid material was in n-hexane-isopropanol mixture analyzed by HPLC and calculated enantiomeric excess (e,e).

The studies enantiomeric separation made using magnetic nanoparticles very rarely encountered in the literature, which were published in 2010 and in the following years. Our goal, with this method is to contribute this kind of studies, which may be a new glimmer of hope in the future.

**Key Words:** Silica- coated magnetic nanoparticles, chiral mandelic acid resolution, Enantiomeric excess, analyzing through HPLC



## ŞEKİL LİSTESİ

<u>Şekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil.1.1. Kiral nesnelere ve ayna görüntülerinin gösterimi.....	4
Şekil.1.2. Enantiyomerler ve üst üste çakışmayan ayna görüntüleri.....	5
Şekil.1.3. İzomerlerin sınıflandırılması.....	7
Şekil.1.4. Enantiyomer ve diastereomer ilişkisi.....	8
Şekil.1.5. Polarimetre.....	9
Şekil.1.6. Mezo-2,3-dibromobütan ın simetri düzlemi.....	11
Şekil.1.7. Saat yönünde dönme.....	13
Şekil.1.8. R ve S gösteriminin belirlenmesi.....	13
Şekil.1.9. Saat yönünde dönmenin direksiyon örneği.....	14
Şekil.1.10. Kiral ilaçların tek bir enantiyomer ve rasemat şeklinde gösterimi.....	15
Şekil.1.11. Nanoteknolojinin kullanım alanları.....	24
Şekil.1.12. Yıllara göre güncellenen envanter kayıtlarına göre istenilen toplam ürün sayısının regretasyon analizi ile gösterimi.....	25
Şekil.1.13. Kategorilere göre ürün sayısı dağılımı.....	25
Şekil.1.14. Ürün yerine göre ürün sayısı.....	26
Şekil.1.15. Malzeme türüne göre ürün sayısı.....	26
Şekil.2.1. (S)-amino alkol-MCM-41(CSP1) oluşumu.....	31
Şekil.2.2. $\alpha$ -Hidroksi asit(A) ve amino alkol(B) gösterimi.....	33
Şekil.2.3. Kolon dolgu maddesinin hazırlanması.....	34
Şekil.2.4. Rasemik 1-fenil 1-propanol ün esterleşme tepkimesi ile kinetik rezolüsyonu.....	35
Şekil.2.5. $\beta$ -Siklodekstrinin yapısı.....	36
Şekil.2.6. Pirkle tip CSP.....	37
Şekil.2.7. Manyetik özellik gösteren ve manyetik özellik göstermeyen nanoparçacıklar ile enantiyomerik ayırma.....	39
Şekil.2.8. MSNPs/(S)-CS ve NMSPs/(R)-CS ile enantiyomerik ayırma.....	39

<b>Şekil.2.9.</b> Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> nanoparçacıklara modifiye edilmiş β-siklodekstrin' in hazırlanma prosüdüğü ve amino asit izomerlerinin ayrılma mekanizması.....	41
<b>Şekil.3.1.</b> S enantiyomerinin kalibrasyon eğrisi.....	46
<b>Şekil.3.2.</b> R enantiyomerinin kalibrasyon eğrisi.....	47
<b>Şekil.3.3.</b> Manyetik reçinenin manyetik alan ile etkileşimi.....	48
<b>Şekil.3.4.</b> GPTMS ile kiral aromatik amin in etkileşmesi.....	58
<b>Şekil.3.5.</b> Silika kaplı manyetik nanoparçacıklar içeren reçinenin sentez reaksiyonu.....	59
<b>Şekil.3.6.</b> Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> @SiO <sub>2</sub> manyetik nanoparçacıklarının SEM görüntüleri.....	59
<b>Şekil.3.7.</b> Silika kaplı manyetik nanoparçacık içeren reçinenin rasemik madelik asit ile etkileşimi....	60
<b>Şekil.3.8.</b> Sarı renkli küreler S enantiyomeri, kırmızı renkli dikdörtgenler R enantiyomeri gösterir...	61
<b>Şekil.4.1.</b> Konsantrasyonun % rezolüsyona karşı grafiği.....	64
<b>Şekil.4.2.</b> Deiyonize suyun % rezolüsyona karşı grafiği.....	65
<b>Şekil.4.3.</b> Organik çözücünün % rezolüsyona karşı grafiği.....	65
<b>Şekil.4.4.</b> pH in % rezolüsyona etkisi.....	66
<b>Şekil.4.5.</b> Zamanın % rezolüsyona karşı grafiği.....	68

## EKLER LİSTESİ

### Ek No

### Sayfa No

<b>Ek.1.</b> (R)-Mandelik asit'in alıkonma süresi.....	75
<b>Ek.2.</b> (S)-Mandelik asit'in alıkonma süresi.....	75
<b>Ek.3.</b> Rasemik Mandelik asit'in alıkonma süresi.....	76
<b>Ek.4.</b> Standart 1 30mM.....	76
<b>Ek.5.</b> Standart 2 20mM.....	77
<b>Ek.6.</b> Standart 3 10mM.....	77
<b>Ek.7.</b> Standart 4 5mM.....	78
<b>Ek.8.</b> pH 6 1 saat 30mM.....	78
<b>Ek.9.</b> pH 6 1.5 saat 30mM.....	79
<b>Ek.10.</b> pH 6 2 saat 30mM.....	79
<b>Ek.11.</b> pH 7 1 saat 30mM.....	80
<b>Ek.12.</b> pH 7 1.5 saat 30mM.....	80
<b>Ek.13.</b> pH 7 2 saat 30mM.....	81
<b>Ek.14.</b> pH 8 1 saat 30mM.....	81
<b>Ek.15.</b> pH 8 1.5 saat 30mM.....	82
<b>Ek.16.</b> pH 8 2 saat 30mM.....	82
<b>Ek.17.</b> pH 9 1 saat 30mM.....	83
<b>Ek.18.</b> Deiyonize su ile yapılan çalışmanın grafiği.....	83
<b>Ek.19.</b> n-heksan/isopropanol karışımı (50:50) 5dk.....	84
<b>Ek.20.</b> n-heksan/isopropanol karışımı (50:50) 20 dk.....	84
<b>Ek.21.</b> n-heksan/isopropanol karışımı (50:50) 45 dk.....	85
<b>Ek.22.</b> n-heksan/isopropanol karışımı (50:50) 60 dk.....	85
<b>Ek.23.</b> n-heksan/isopropanol karışımı (50:50) 90 dk.....	86

<b>Ek.24.</b> n-heksan/isopropanol karışımı (50:50) 120 dk.....	86
<b>Ek.25.</b> pH 5 1 dk 30mM.....	87
<b>Ek.26.</b> pH 5 5 dk 30mM.....	87
<b>Ek.27.</b> pH 5 20 dk 30mM.....	88
<b>Ek.28.</b> pH 5 45 dk 30mM.....	88
<b>Ek.29.</b> pH 5 60 dk 30mM.....	89
<b>Ek.30.</b> pH 4.4 1 dk 30mM.....	89
<b>Ek.31.</b> pH 4.4 5 dk 30mM.....	90
<b>Ek.32.</b> pH 4.4 20 dk 30mM.....	90
<b>Ek.33.</b> pH 4.4 45 dk 30mM.....	91
<b>Ek.34.</b> pH 4.4 60 dk 30mM.....	91
<b>Ek.35.</b> pH 4 1 dk 30mM.....	92
<b>Ek.36.</b> pH 4 5 dk 30mM.....	92
<b>Ek.37.</b> pH 4 20 dk 30mM.....	93
<b>Ek.38.</b> pH 4 45 dk 30mM.....	93
<b>Ek.39.</b> pH 4 60 dk 30mM.....	94
<b>Ek.40.</b> pH 2.2 1 dk 30mM.....	94
<b>Ek.41.</b> pH 2.2 5 dk 30mM.....	95
<b>Ek.42.</b> pH 2.2 20 dk 30mM.....	95
<b>Ek.43.</b> pH 2.2 45 dk 30mM.....	96
<b>Ek.44.</b> pH 2.2 60 dk 30mM.....	96
<b>Ek.45.</b> pH 3.5 1 dk 30mM.....	97
<b>Ek.46.</b> pH 3.5 5 dk 30mM.....	97
<b>Ek.47.</b> pH 3.5 20 dk 30mM.....	98
<b>Ek.48.</b> pH 3.5 45 dk 30mM.....	98
<b>Ek.49.</b> pH 3.5 60 dk 30mM.....	99
<b>Ek.50.</b> pH 4 1 dk 15mM.....	99

<b>Ek.51.</b> pH 4 5 dk 15mM.....	100
<b>Ek.52.</b> pH 4 20 dk 15mM.....	100
<b>Ek.53.</b> pH 4 45 dk 15mM.....	101
<b>Ek.54.</b> pH 4 60 dk 15mM.....	101
<b>Ek.55.</b> pH 4 1dk 20mM.....	102
<b>Ek.56.</b> pH 4 5 dk 20mM.....	102
<b>Ek.57.</b> pH 4 20 dk 20mM.....	103
<b>Ek.58.</b> pH 4 45 dk 20mM.....	103
<b>Ek.59.</b> pH 4 60 dk 20mM.....	104
<b>Ek.60.</b> pH 4 1 dk 40mM.....	104
<b>Ek.61.</b> pH 4 5 dk 40mM.....	105
<b>Ek.62.</b> pH 4 20 dk 40mM.....	105
<b>Ek.63.</b> pH 4 45 dk 40mM.....	106
<b>Ek.64.</b> pH 4 60 dk 40mM.....	106
<b>Ek.65.</b> pH 4 1 dk 60mM.....	107
<b>Ek.66.</b> pH 4 5 dk 60mM.....	107
<b>Ek.67.</b> pH 4 20 dk 60mM.....	108
<b>Ek.68.</b> pH 4 45 dk 60mM.....	108
<b>Ek.69.</b> pH 4 60 dk 60mM.....	109
<b>Ek.70.</b> pH 4 5 dk manyetik alan etkisi.....	109
<b>Ek.71.</b> pH 4 20 dk manyetik alan etkisi.....	110
<b>Ek.72.</b> pH 4 45 dk manyetik alan etkisi.....	110
<b>Ek.73.</b> pH 4 60 dk manyetik alan etkisi.....	111

## KISALTMA VE SİMGELER

AKM	:Atomik Kuvvet Mikroskobu
$\beta$ -CD	:Beta-Siklodekstrin
CE	:Kapilar Elektroforez
CSP	:Kiral Sabit Faz
GC	:Gaz Kromatografisi
GC-MS	:Gaz Kromatografisi-Kütle Spektroskopisi
GPTMS	:3-Glikosidoksipropiltrimetoksisilan
GYTE	:Gebze Yüksek Teknolojileri Enstitüsü
HPLC	:Yüksek Performans Sıvı Kromatografisi
IBM	:Uluslararası İş Makineleri
MCM-41	:Orta Gözenekli Yarı Kristal Materyal
MSNPs	:Manyetik Silika Kaplı Nanoparçacıklar
NMSPs	:Manyetik Olmayan Silika Kaplı Nanoparçacıklar
ODTÜ	:Ortadoğu Teknik Üniversitesi
RMBA	:R-( $\alpha$ )-Metilbenzilamin
SEM	:Taramalı Elektron Mikroskobu
SFC	:Süper Kritik Akışkan
SMB	:Hareketli Yatak
TEM	:Geçirimli Elektron Mikroskobu
TFA	:Trifloro Asetik asit
TİM	:Tarayıcı İğne Mikroskobu
TLC	:İnce Tabaka Kromatografisi
TTM	:Taramalı Tünelleme Mikroskobu
TÜBİTAK-MAM	:Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu-Marmara Araştırma Merkezi

UNAM :Ulusal Nanoteknoloji Araştırma Merkezi  
Uv :Ultra Viyole Işınlar  
YİTAL :Yarıiletken Teknolojileri Araştırma Laboratuarları





## 1.GİRİŞ

**Çalışmanın Amacı:** İnsan metabolizmasında yer alan biyolojik moleküllerin çoğu kiral özellik göstermektedir. Örneğin proteinler, yağlar, şekerler, enzimler ve daha birçok molekül kiraldır. Bunlar arasında canlıların yapıtaşını oluşturan aminoasitlerin D- ve L- formları da farklı biyolojik özellikler göstermektedir. Bu durum kiral moleküllerin çoğu için geçerlidir. Proteinlerin yapı taşı olan aminoasitlerin doğal olanları L-enantiyomerleridir ve canlı organizmalarda daima L-aminoasitler kullanılır. Yani bitkisel ve hayvansal proteinlerin yapımında sadece L-aminoasitler kullanılır. D-aminoasitler ise genellikle bakterilerin hücre duvarlarında, bazı antibiyotiklerde ve bir kısım bitkisel peptitlerde bulunurlar. Bunlardan birkaçına örnek verilecek olursa; L-Alanin vücutta glikoz metabolizmasında kullanılan aminoasit olup karbonhidratların yanarak vücut enerjisini üretmesine yardımcı olur. Oysa D-Alanin bazı böcek larvalarında bulunur. L-Serin yağ ve yağ asidi metabolizması, kas gelişimi ve immün sistemi için gereklidir. D-Serin ise toprak solucanlarının yapısında bulunur. Aynı şekilde L-Glutamik asit kişilik bozukluklarının düzeltilmesinde yardımcı olup, glikozun yanında beynin aktiviteleri için yakıt olarak kullanılan tek maddedir. Beyin, glutamik asidi beynin hücre aktivitelerini düzenleyen bir maddeye dönüştürür. D-Glutamik asit ise antibiyotiklerin yapısında ve bakteri hücre duvarlarında bulunur.

Benzer durumlar tıpta ve ilaç sanayisinde kullanılan kiral ilaç hammaddeleri için de geçerlidir. Kiral ilaç etken maddelerinden birisi vücutta değişiklik meydana getirirken diğer enantiyomer ya etkili olmaz ya da ciddi fizyolojik zararlara neden olur. Örneğin zıt etki gösteren ilaç hammaddesindeki enantiyomerlerden bir kaçışunlardır:

(S)-(-)- Propranolol 1960'larda kalp hastalığı tedavisinde  $\beta$ -bloker olarak etki etmekteyken (R)-(+)-Propranolol gebelik önleyici olarak kullanılmaktaydı. (R)-Softenon yatıştırıcı özelliği varken (S)- Softenon embriyoda bozukluklara neden olmaktadır.

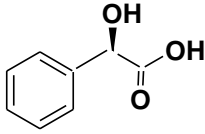
Enantiyomerlerden biri aktifken diğeri inaktif özellik gösterebilmektedir:  
Kiral bir bileşik olan Kloroamfenikol buna en güzel örneği teşkil etmektedir. (R,R)-

# 1. GİRİŞ

---

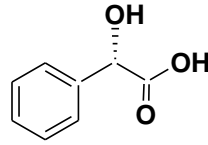
Kloroamfenikol antibakteriyel özellik gösterirken (S,S)-Kloroamfenikol inaktif özellik göstermektedir. Bu tür ilaçlar rasemik olarak vücuda alındığı zaman, alınması gereken etken maddeyi karşılamak için iki katı kadar madde vücuda alınmaktadır. Ayrıca başlangıç maddesi ve kaynaklarında boşa harcandığı düşünülürse ekonomik açıdan istenmeyen bir durum ortaya çıkar. Dolayısıyla vücut için gerekli olan tek bir enantiyomerin, enantiyomerik fazlılığı yüksek olan kolay, ekonomik ve basit bir yöntemle başarılı bir rezolüsyon uygulanarak ayrılması oldukça önemlidir.

Bu çalışmada basit ve ekonomik bir yöntem kullanılarak mandelik asit'in rezolüsyonu amaçlandı. Rezolüsyonda mandelik asit seçilmesinin nedeni; tıpta ve ilaç sanayisinde ilaç hammaddesi olarak uzun yıllardan beri yaygın bir kullanım alanı bulması ve (R)- ve (S)-enantiyomerlerinin farklı farmakolojik özellik göstermesi mandelik asidin rezolüsyonunu önemli kılmaktadır. Bunların yanı sıra mandelik asit dermatolojide geniş bir kullanım alanına sahip olup, ışığa bağlı yaşlanma olgularında, leke tedavisinde, akne ve izlerin giderilmesinde etkin bir şekilde kullanılmaktadır. Dolayısıyla dermatolojik bakımdan da mandelik asidin rezolüsyonu oldukça önemlidir.



**(R)-(-)-Mandelik asit**

**(R)- $\alpha$ -Hidroksifenilasetikasit**



**(S)-(+)-Mandelik asit**

**(S)- $\alpha$ -Hidroksifenilasetikasit**

Günümüzde rezolüsyon çalışmalarında başarılı bir şekilde kullanılan yöntemler şunlardır:

- Kapilarelektroforez yöntemi
- Kromatografik yöntemler
- Kristalizasyon yöntemi

- Membran kullanılarak yapılan ayırma yöntemleri
- Ekstraksiyon yöntemleri
- Enzimatik kinetik rezolüsyon yöntemi

Bu çalışmanın amacı manyetik nanoparçacıklar kullanılarak yapılan ayırma yöntemlerinin yukarıda sıralanan klasik ayırma yöntemlerine göre daha avantajlı ve üstün olduğunu araştırmaya çalışmaktır. Öncelikle nanoparçacıkların küçük ebatla olması yüzey alanlarının büyümesine dolayısıyla birim yüzey başına adsorplayaabilecekleri madde miktarının artmasını sağlamaktadır. Bu yöntem ile az miktarda madde ile daha çok iş yapılabilmesinin ortaya konulması hedeflenmiştir. Yani klasik yöntemlere göre daha ekonomik olduğu düşünülüp madde sarfiyatının en aza indirilmesi amaçlanmıştır. Ayrıca zamandan kazanç sağlayıp sağlamadığı araştırılmak istenmiştir. Manyetik özellik göstermeleri dolayısıyla heterojen ortamdan kolay bir şekilde uzaklaştırılmaları amaçlanmıştır.

Son yıllarda organik reaksiyonlarda kullanılan katalizörlerin geri kazanımı ile ilgili  $Fe_3O_4$  manyetik nanoparçacıkların direk kullanımını içeren yöntemler geliştirilmiştir. Bu yöntemlerle daha çok çevre dostu olan hem ekonomik hem de ekolojik yararlar sağlayan pratik ve etkili ayırmaları gerçekleştiren katalizörler geliştirilmiştir. Reaksiyon ortamından manyetik alan uygulanarak kolaylıkla ayrılabilmesi manyetik nanoparçacıkların kullanımının verdiği avantajlardan biridir. Ayrıca katalizör kaybını önlediği için filtrasyon ve santrifüjden çok daha etkili bir yöntemdir. Manyetik nanoparçacıklar kullanılarak yapılan ayırma yöntemlerinin, ileride basit, ekonomik ve endüstriyel açıdan umut verici ayırma yöntemlerine örnek teşkil edecekleri beklenmektedir.

## **1.1. Kiralite**

### **1.1.1.Kiralite nedir?**

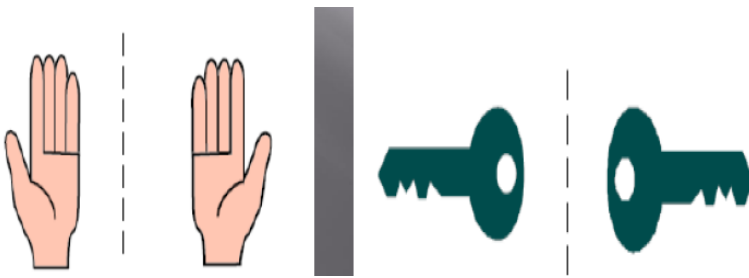
## 1. GİRİŞ

---

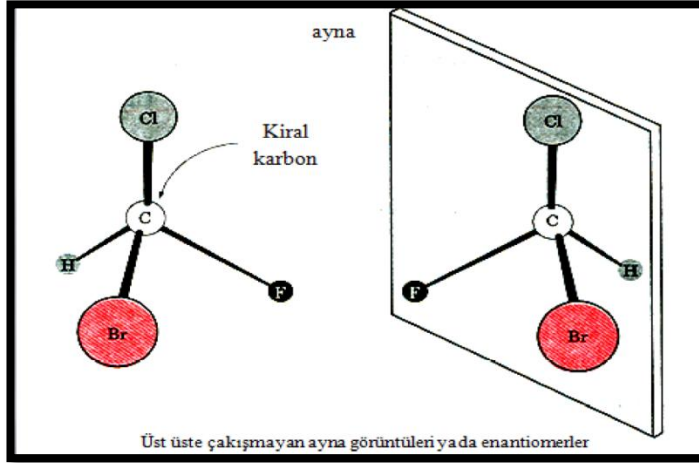
Kiralite geometrik bir özelliktir. Moleküllerin uzaydaki düzenlemeleri ile ayna görüntüsü üst üste çakışmıyorsa molekül kiraldır( Çakmak 2008). Kısaca bir obje ayna görüntüsü ile üst üste çakışmıyorsa kiral, ayna görüntüsü ile çakışmıyorsa akiraldir.

Kiral bir nesne ile onun ayna görüntüsü kesinlikle üst üste çakışmaz. Örnek olarak el, vida, pervane ve anahtar kiral nesnelere arasında sayılabilir. Kiral olmayan nesnelere ayna görüntüleri ile üst üste çakışırlar. Çünkü kiral olmayan nesnelere bir düzlem, merkez veya alternatif simetri eksenine vardır. Örneğin top, kova, çivi, bardak akiral nesnelere arasında sayılabilir.

$sp^3$  hibritleşmesi yapmış bir karbon atomuna birbirinden farklı 4 atom veya grup bağlı ise böyle bir molekül kiraldır. Bu karbon atomuna " kiral karbon atomu", "sterojenik karbon atomu" ve böyle merkeze "kiral merkez", "sterojenik merkez" ya da "asimetrik merkez" adı verilir. Şekil.1.1 ve şekil.1.2'de kiral nesnelere ve ayna görüntüleri görülmektedir.



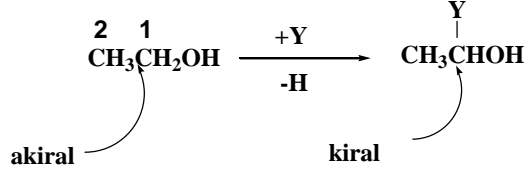
Şekil.1.1. Kiral nesnelere ve ayna görüntülerinin gösterimi



**Şekil.1.2.** Tek bir karbon atomuna dört değişik grubun bağlanmış olduğu bir molekül kiral ve kendi ayna görüntüsü ile çakışmaz

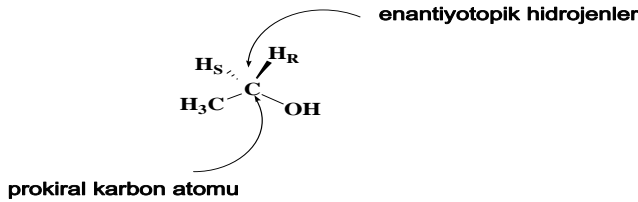
**1.1.2. Prokirallik:** *Prokiral* demek, bir yer değiştirme ile kiral molekül verebilen bileşik demektir. Ancak bu bileşik kiral demek değildir. Bileşikte tek bir grubun yer değiştirmesiyle kiral bileşik haline dönüşebileceği anlamına gelir. Kiralliğin oluşabilmesi için tek bir atom ya da grubun yer değiştirmesinin yeterli olduğu atoma *prokiral atom* adı verilir. Etanol kiral bir bileşik değildir. Her iki karbonu da birbirinin aynı olan en az iki grup (hidrojen ) taşır. Bu nedenle her iki karbon atomu da kiral değildir. Bununla birlikte, etanolun iki karbonu, bu açıdan bakıldığında farklılık gösterir. Karbon 1 prokiral, karbon 2 ise prokiral değildir. Karbon 1'in prokiral, karbon 2'nin ise prokiral olmadığını göstermek için etanolun her iki karbonu üzerindeki hidrojenlerden biri yerine bir Y grubunun geçtiğini varsayalım.

# 1. GİRİŞ



prokiral karbon atomunda hidrojen atomunun yerdeğişmesi

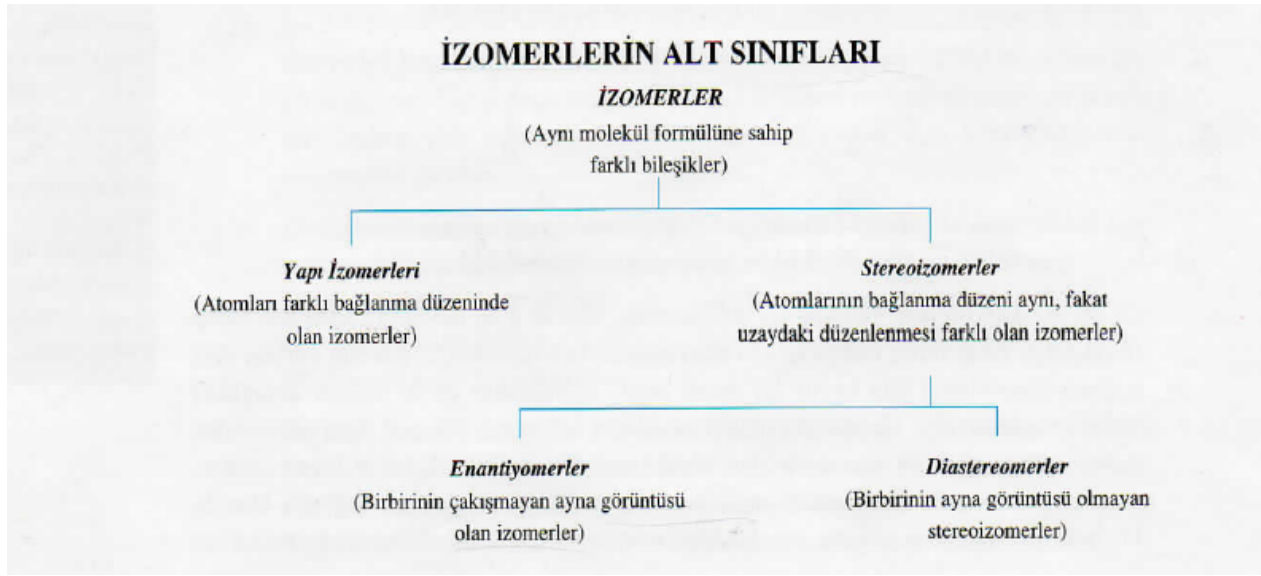
Karbon 1 de hidrojenlerden herhangi biri Y grubu ile yer değiştirirse bir kiral karbon oluşur. Ancak aynı yer değiştirme karbon 2 de olursa kiral karbon oluşmaz. Prokiral karbon üzerindeki hidrojenlere *enantiyotopik hidrojenler* denir. Bunun anlamı, bu hidrojenlerin yer değiştirme ile enantiyomerler oluşturabileceklerini ifade eder. Buna göre etanol iki enantiyotopik hidrojen içeren prokiral bir bileşiktir.



## 1.1.3. İzomeri: Yapı izomeri ve Stereoizomeri

*İzomerler* aynı molekül formülüne sahip farklı bileşiklerdir. *Yapı izomerleri* atomların bağlanma şekillerinin farklı olmasıyla oluşan izomerlerdir. *Stereoizomerler* yapı izomeri değildir, yapılarındaki atomlar aynı şekilde bağlanmışlardır. *Stereoizomerler* yalnızca atomlarının uzaydaki düzenlemeleri ile farklılaşırlar. Alkenlerin cis ve trans izomerleri de stereoizomerlerdir. *Stereoizomerler* iki genel sınıfa ayrılabilir: Enantiyomerler ve

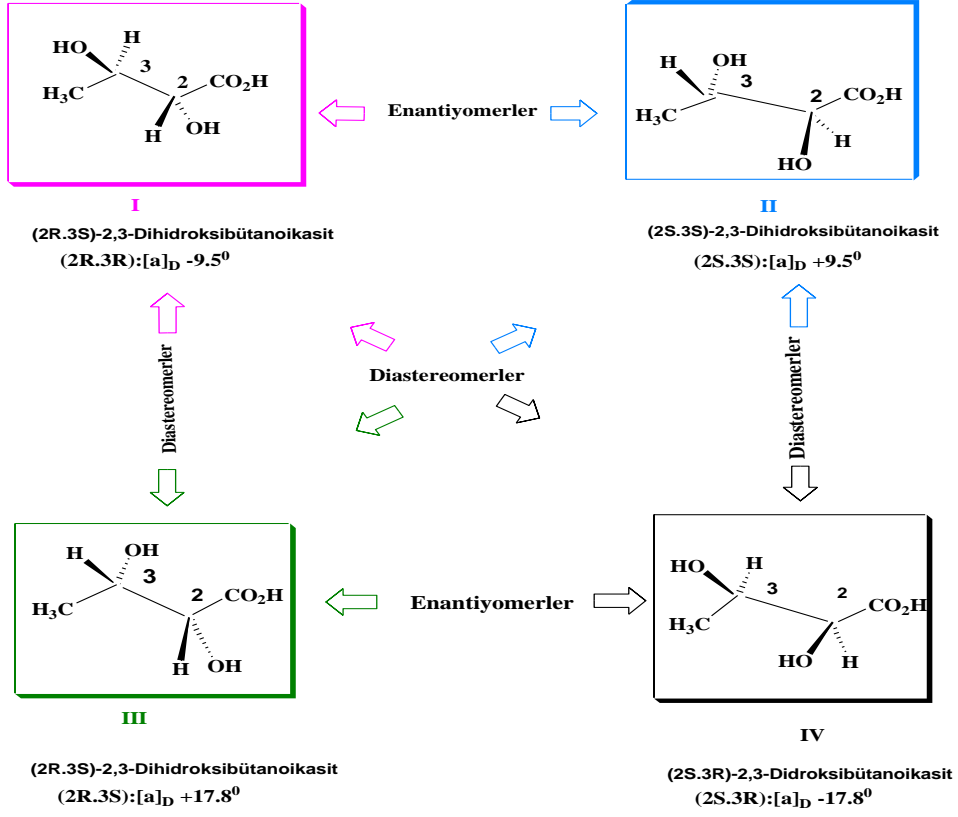
Diastereomerler. *Enantiyomerler* molekülleri birbirinin ayna görüntüsü olan fakat birbiri ile çakışmayan stereoizomerlerdir. *Diastereomerler* ise molekülleri birbirinin ayna görüntüsü olmayan stereoizomerlerdir (Solomons ve Fryhle 2002). Şekil.1.3'te izomerlerin sınıflandırılmasını gösteren şema verilmiştir.



Şekil.1.3. İzomerlerin sınıflandırılması

*Enantiomerlerin* hem kimyasal hem de fiziksel özellikleri (erime noktası, çözünürlük, yoğunluk gibi...) benzerdir, ancak stereojenik merkez içeren bileşiklerle tepkimeye girme isteği ve düzlem polarize ışığın yönünü değiştirme bakımından farklılık gösterirler. *Diastereomerlerde* ise hem fiziksel hem de kimyasal özellikler farklıdır. Enantiyomerler ve diastereomerler arasındaki ilişki şekil.1.4'te gösterilmiştir.

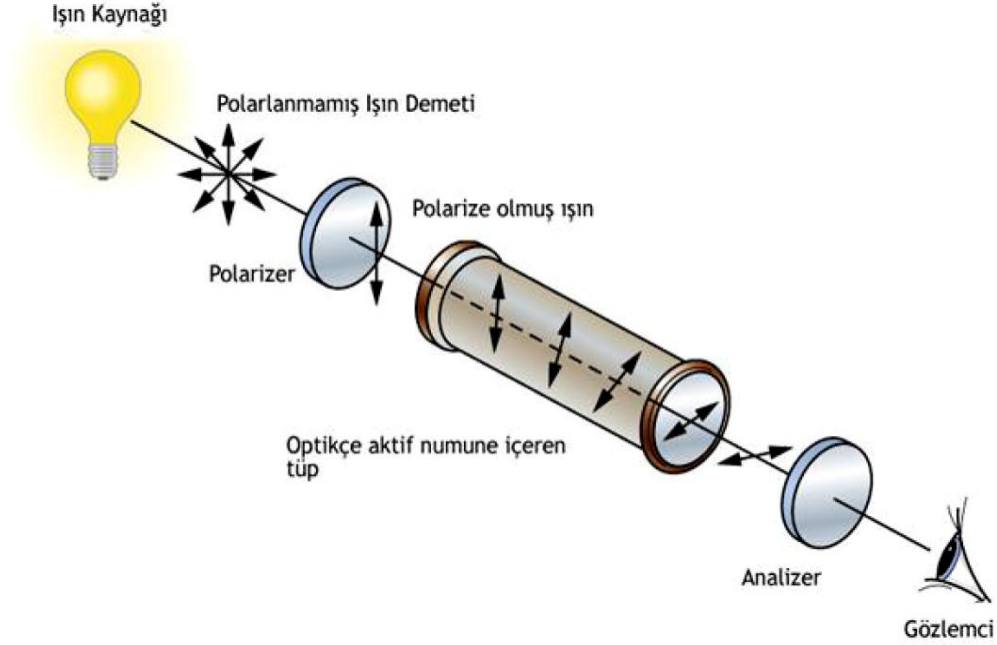
# 1. GİRİŞ



Şekil.1.4. Enantiyomer ve Diastereomer ilişkisi

**1.2. Polarimetre:** Düzlem-polarize ışığın optikçe aktif (sterojenik merkez içeren) bileşikler üzerindeki etkisini ölçmek için kullanılan aygıtta *polarimetre* denir. Bir polarimetre taslağı şekil.1.5'te verilmiştir.





Şekil.1.5. Polarimetre

**1.3. Özgül çevirme:** Bir enantiyomer çözeltisi içinden ışık geçirilirse polarlanma düzleminin çevrilme derecesi, karşılaştığı kiral moleküllerin sayısına bağlıdır. Bu da tüpün uzunluğu ve enantiyomerin derişimine bağlıdır. Ölçülen çevrilmeleri, standart temele dayalı olarak vermek için kimyacılar aşağıda verilen *özümlü çevirme*,  $[\alpha]$ , formülünü kullanmaktadırlar.

$$[\alpha] = \frac{\alpha}{l \cdot c}$$

#### 1.4. Rasemik Karışımlar

Enantiyomerlerin eşit orandaki (50:50 ) karışımına *rasemik karışım* ya da *rasem şekli* denir. Adlandırmada rasemik karışımlar (±) işareti ile belirtilirler (Eski kaynaklarda dl

## 1. GİRİŞ

şeklinde gösterilir ). Buna göre, rasemik gliseraldehit ( $\pm$ )-gliseraldehit şeklinde yazılır (Rasemik terimi Latince racemis, "üzüm salkımı "demektir. Bunun nedeni, rasemik tartarik asidin, şarap yapımında yan ürün olarak elde edilmesidir). Rasemik karışımlar düzlem polarize ışığın yayılma düzlemine etki etmez. Çünkü her bir enantiyomerin çevirmesi bir birine eşit ve zıt yönlüdür. Hem rasemik karışımların hem de kiral olmayan bileşiklerin çözeltileri *optikçe aktif* değildir.



%50(+)-gliseraldehit + %50(-)-gliseraldehit = ( $\pm$ )-gliseraldehit

$$[\alpha]_{D}^{20} = +8,7^{\circ}$$

$$[\alpha]_{D}^{20} = -8,7^{\circ}$$

$$[\alpha]_{D}^{20} = 0$$

Rasemik karışım

### 1.5.Enantiyomerik Fazlalık

Yalnızca bir tek enantiyomer içeren optikçe aktif madde, *enantiyomerik olarak saf* veya % 100 *enantiyomerik fazlalığa sahip* olarak adlandırılır. *Enantiyomerik fazlalık* (*ef*) (ing. ee) aşağıdaki gibi tanımlanır:

$$\% \text{Enantiyomerik fazlalık} = \frac{\text{Bir enantiyomerin molsayısı} - \text{diğer enantiyomerin mol sayısı}}{\text{İki enantiyomerin toplam mol sayısı}} \cdot 100$$

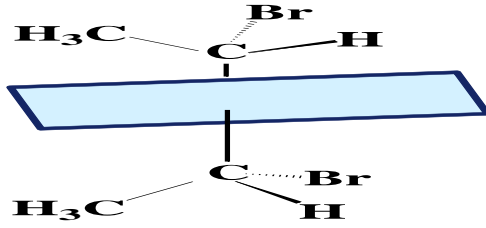
Enantiyomerik fazlalık optik çevirme açısından da hesaplanabilir:

$$\% \text{ Enantiyomerik fazlalık} = \frac{\text{Gözlenen çevrilme açısı}}{\text{Saf enantiyomerin çevrilme açısı}} \cdot 100$$

Bu hesaplama yalnızca tek bir enantiyomere veya enantiyomerlerin karışımına uygulanabilir. Karışımda başka bileşiklerin olması durumunda uygulanmamalıdır.

### 1.6. Mezo Bileşikler

İki stereomerkez içeren bir yapı, daima dört stereoizomere sahip olamaz. Bazen yalnızca üç izomeri vardır. Bu durum bazı moleküllerin kiral merkez içermesine rağmen akiral olmalarından kaynaklanır. Mezo bileşiklerde bu durum söz konusudur. Şekil.1.6'da mezo-2,3-dibromobütan'ın simetri eksenini görmektedir.



Şekil.1.6. mezo-2,3-dibromobütanın simetri düzlemi. Bu düzlem molekülü, birbirinin ayna görüntüsü olan iki eşit parçaya böler

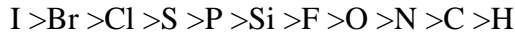
### 1.7. Kiral Bileşiklerin Adlandırılması: R ve S Sistemi (Cahn-Ingold-Prelog Gösterimi)

## 1. GİRİŞ

---

Bu sistem mutlak konfigürasyonu belirlemek için 1956 yılında ikisi İngiliz (kimyacı R.S. Cahn ve Sir Christoper Ingold) biri İsviçreli (Vladimir Prelog) olmak üzere üç meslektaş tarafından geliştirilmiştir. Bir kiral bileşiğin mutlak konfigürasyonu o bileşiğin R ve S olarak gösterilebilmesidir. Bu adlandırmanın en önemli özelliği moleküldeki stereojenik karbona bağlı olan grupların atom numaralarına ve kütlelerine göre öncelikli olarak sıralanmasıdır. S Latince *sinister* 'sol' demek ve saat yönünün tersini ifade etmektedir. R ise Latince *rectus* 'sağ' demek olup saat yönünü ifade etmektedir. Mutlak konfigürasyonda grupların öncelikli sıralanması aşağıdaki kurallara göre belirlenir;

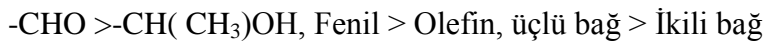
- 1- Doğrudan stereojenik merkeze bağlı olup atom numarası en büyük olan yüksek öncelik sırasına sahiptir. Örneğin;



- 2- Aynı atom numarasına sahip iki ya da daha fazla grup stereojenik merkeze bağlı ise bu gruplar içinde atom numarası en büyük olan atoma göre sıralama yapılır.

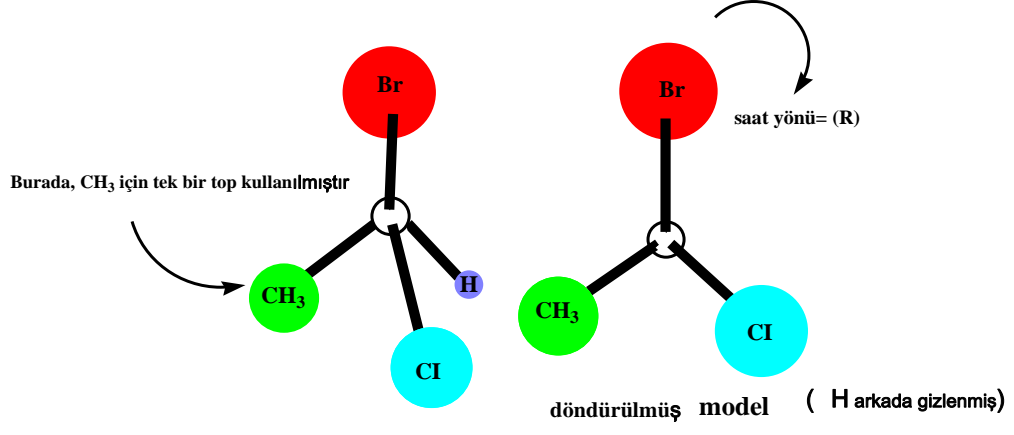


- 3- Bazı grupların öncelik sırası şu şekildedir;

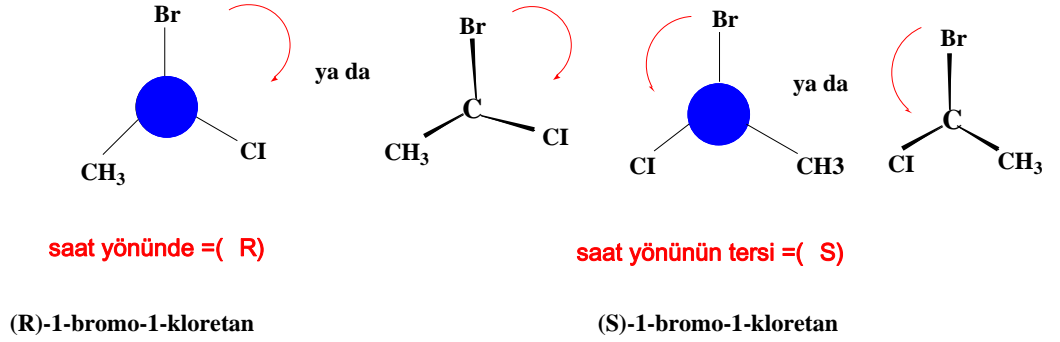


- 4- Benzer çiftler [(S,S) ya da (R,R)] benzer olmayan çiftlerden [(S,R) ya da (R,S)] daha önceliklidir.

- 5- En az öncelikli atom ya da grup sayfa düzleminin arkasında kalacak şekilde molekül döndürülür. En öncelikli olan gruptan azalan önceliğe göre gidildiğinde saat ibresinin yönde gidilmişse mutlak konfigürasyon 'R' olarak adlandırılır, saat ibresinin tersi yönünde gidilmişse mutlak konfigürasyon 'S' olarak tanımlanır (Nejem 2004).

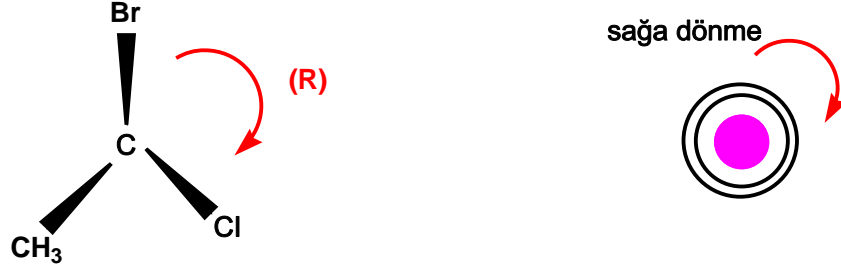


Şekil 1.7. Saat yönünde dönme



Şekil.1.8. R ve S gösteriminin belirlenmesi

## 1. GİRİŞ



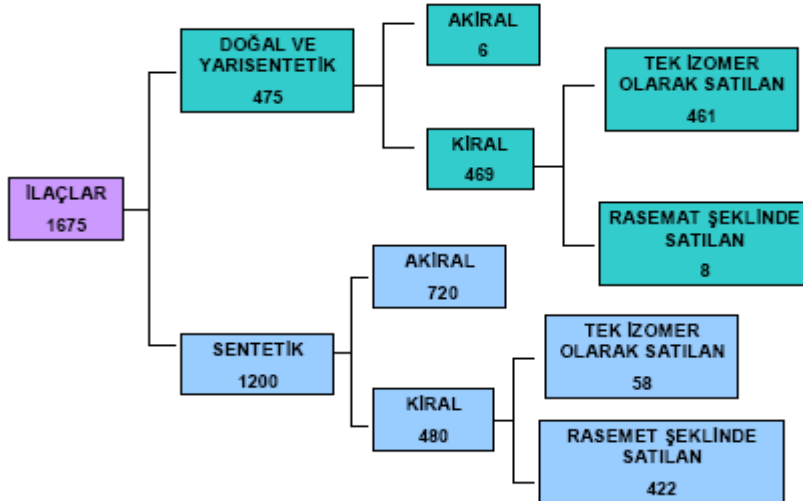
Şekil.1.9. Saat yönünde dönmenin direksiyon örneği

Hangi enantiyomerin (R) hangisinin (S) olduğunu hatırlamada kolay bir yol, kavisli oku otomobilin direksiyonu ile karşılaştırmaktır. Direksiyonu sağa döndürmek (R)'ye sola döndürmek ise (S)'ye eşdeğerlidir (Stereokimyatım 2010-II).

### 1.8. Kiral Ayırma Yapmanın Gerekliliği ve Önemi

Biyolojik moleküllerin çoğu, örneğin enzimler, proteinler, hormonlar, besinler, şekerler, yağlar ve diğer birçok molekül kiraldır. Doğada ki bir molekülün kiralitesi en az onun kimyasal oluşumu kadar önemlidir. Dahası bizim vücudumuz da kiraliteyi tanımaktadır. Geçen 30 yıllık süreçte tıbbi ilaçlar, tarımsal ilaçlar, besin katkı maddeleri gibi yararlı kimyasal maddelere, sıvı kristallere ve polimerler gibi materyal bilimi için gerekli olan enantiyomerik saf bileşiklere olan ihtiyaç, her geçen gün artmaktadır. Yukarıda bahsedilen biyolojik etken maddelerinin yapı ve aktivite ilişkileri incelendiğinde tek izomeri hedef seçmelerinden dolayı tek enantiyomerlerin rasemik karışımlara göre çok daha etken olmalarından kaynaklanmaktadır. Ayrıca tek enantiyomerden oluşan ilaçların ya çok az ya da hiç yan etkilerinin bulunmaması etken maddelerin tek enantiyomerlerden elde edilmesine olan ilgiyi arttırmaktadır (Sheldon1993 ).Tek bir saf enantiyomerin rasemata göre daha

güvenli ve çok daha etkili alternatifler sağlaması bakımından, ilaç üretiminde tek izomerlerin geliştirilmesi ve yenilenmesi üzerine büyük bir uğraş verilmektedir(Sekhon2010). Kiral ilaç etken maddesinin enantiyomerlerinden birisi vücutta fizyolojik olarak değişiklik yaparken diğer enantiyomeri ya etkili olmaz ya da ciddi fizyolojik zararlara yol açabilir. Bunun sonucu olarak biyolojik sistemler ve ilaçlar arasındaki kiral tanıma oldukça önemlidir. Örneğin softenon'un (R)-enantiyomeri yatıştırıcı özelliği gösterirken (S)- enantiyomeri embriyoda bozukluğa yol açar, benzer bir örnekte R –Talidomit'in yatıştırıcı özelliği varken S -Talidomit yüksek teratojenik etkisinden dolayı doğum anormalliklerine neden olur. Diğer bir örnekte ise, bir terpen türevi olan ve turunçgillerin kabuklarında bulunan limonenin (S)-enantiyomeri limon kokusu verirken (R)-enantiyomeri portakal kokusu vermektedir (Karaküçük 2006). Buna benzer ilaç örneklerini arttırmak mümkündür. Kiral ayırma bu denli önem arz ettiğinden kiral ayırma yöntemleri üzerinde durulmakta ve bu yöntemler geliştirilmektedir. Şekil.1.10'da doğal, sentetik ve yarı sentetik ilaçların dağılımı görülmektedir (Sheldon 1993).



Şekil.1.10. Kiral ilaçların tek bir enantiyomer ve rasemat şeklinde kullanımı

## 1.9. Kiral Ayırma Yöntemleri

Enantiyomerleri ayırmada kullanılan başlıca teknikler:

- Kapılar elektroforez
- Kristalizasyon
- Membranlar
- Kromatografi
- Sıvı-Sıvı ekstraksiyonu
- Süper kritik akıcı ekstraksiyonu
- Enzimatik kinetik rezolüsyon

Kiral ilaçlar ve kiral ayırma tekniklerinin hayatımızdaki yeri ve önemi düşünüldükçe dünya çapında saf enantiyomerleri içeren ilaçların, ekonomik olarak üretilmesi yönündeki çabaları şaşkırtıcı bulmamak gerekir. Buna karşın rasemik bileşiklerdeki optik izomerlerin geleneksel yöntemlerle ayrılması her zaman için zor ve pahalıdır. Kiral ayırma tekniği aynı anda iki enantiyomeri ya da tek bir enantiyomeri ayırmada kullanılabilir.

Kromatografi, enantiyomerik ayırma için çok tanınmış bir metottur. Kromatografik tekniklerde kiral absorbantlar kullanılır (CSPs) ve bu mekanizma anahtar- kilit modeli gibi çalışır. Kiral kromatografiler aracılığı ile enantiyomerik ayırmalar kolay bir şekilde gerçekleştirilmektedir. Kiral kromatografiler gaz kromatografisi (GC), süper kritik akışkan (SFC), kapiler elektroforez (CE) ve yüksek performans sıvı kromatografisi



(HPLC) 'nin kullanımını içerir. Bunlar arasında HPLC çok yaygın kullanılan metotlardan biridir. Enantiyomerler çözünürlük, erime noktası, kaynama noktası gibi benzer özellikler gösterdiğinden kristallendirme ya da fraksiyonlu destilasyon gibi geleneksel yöntemlerle kolayca ayrılamamaktadır. Bu yüzden iki enantiyomerin rezolüsyonunu gerçekleştirmek için özel yöntemler kullanılmalıdır.

### **1.9.1. Enantiyoselektif HPLC Analizi**

Kiral HPLC analizleri için direk ve indirek olarak adlandırılan temel iki yaklaşım vardır. Direk kiral HPLC tekniği enantiyo seçici ilaçları analiz etmek için uygulandığı tespit edilmiştir. İndirek yaklaşımda, enantiyomerik ilaçlar enantiyo saf kiral reaktant ile bir diastereomer çifti oluşturmak üzere türevlendirilir. Diastereomerler farklı fizikokimyasal özellikler gösterdiği için daha sonra geleneksel kromatografik kolonla ayrılabilirler. Direk yaklaşım teknikleri kiral sabit faza (CSP) üzerinden rezolüsyon temeline dayanır ve spesifik avantajlardan ötürü indirek metotlara göre tercih edilir.

### **1.9.2. Kapiler Elektroferez ve Enantiyomerik Ayırma**

Kristalizasyon, biyokataliz, kromatografik metotlar (HPLC, GC, TLC ), elektroferez gibi çeşitli metotlar biyolojik materyallerdeki (idrar, serum ) beta-bloker'ların enantiyomerik ayrılmaları için klinik uygulamalarda (propanol, etanol, metanol gibi) kullanıldıkları tespit edilmiştir. Çok yakın zamanda elektrogöç teknikleri kapiler elektroferez ve kapiler elektrokromatografi gibi kromatografik metotlar rezolüsyon için güçlü

alternatifler olarak gösterilebilecektir. Bilim adamları kapiler elektroforezi farmasötik analizleri tanımlamak için uygulamaktadırlar.

### **1.9.3. Kiral İlaçların Ayrılması için Hareketli Yatak**

Kromatografide hareketli yatak (SMB) tekniği HPLC 'nin farklı bir tekniğidir. Kiral HPLC standart bir teknikle başlamasına rağmen bu proses sürekli devam etmez, bununla beraber yüksek solvent tüketimi ve düşük bir verimlilik gösterir. Bu problemlerin üstesinden gelebilmek için SMB teknolojisi, özellikle enantiyomerik ayırma yapabilmek için ilaç kimyasallarında kullanılmaktadır.

### **1.9.4. Kiral-Nanoteknoloji ve Enantiyomerik Ayırma**

Kiral nanoskala bilimi ve teknolojisi, asimetrik sentez, kiral ayırma ve analiz işlemlerinin nanoteknoloji ile olan ilişkisini yorumlar. Kiral-nanoteknoloji, kiral ayırma, teşhis etme ve enantiyomerik analiz gibi kiral teknolojiye nanoskalada yaklaşmayı belirler. Son zamanlarda bu yöntem ile yapılmış çalışmalara literatürde rastlamak mümkündür.

### **1.9.5. Gaz Kromatografisi-Kütle Spektromu Metodu ve Enantiyomerik Ayırma**

Kiral kapiler kolon üzerinden seçili iyon iyonizasyonu ve tandem kütle spektroskopisi kullanılarak, ibuprofen'i enantiyomerlerine ayırma işlemi, gaz kromatografi-kütle spektroskopisi (GC-MS) metoduyla gerçekleştirildiği bilinmektedir. İlaç testinde, idrarda var olan methafetamin genellikle gaz kromatografi-kütle spektroskopisi ile tespit edilmektedir.

#### **1.9.6. Kiral ve Akiral İyonik Sıvı ve Enantiyomerik Ayırma**

Kiral bir iyonik sıvı S-[3-(kloro-2-hidroksipropil)trimetil amonyum] [bis((triflorometil)sülfonil) amid] CE( kapiler elektroforez) ile kiral ayırma yapmak için hem ortak bir elektrolit hemde kiral selektör olarak başarılı bir şekilde kullanılabilir. Etanol, propanol, wafarin, indoprofen, ketoprofen, ibuprofen ve flurbiprofen içeren farmasötik ürünlerinden biri elektrolitik olarak, bahsedilen kiral iyonik sıvılarla kullanılıp baseline başarılı bir şekilde ayrılabilir. Bunun dışında ek olarak bazı kiral ayırmalar için kiral selektörlerin üç noktada etkileşmelerini sağlamada da bu yöntem ihtiyacı duyulur.

#### **1.9.7. Kinetik Rezolüsyonun Enzim Tarafından Katalizlenmesi**

Enzimler, rezolüsyon işlemi için kimyasal metotlarla iyi yarışır. Kinetik rezolüsyon lipaz tarafından katalizlenir. Reaksiyon aktif bir şekilde yürüyebilmesi için kiral reaktantların tek bir enantiyomer için uygun olması gerekir. Böylelikle diğer enantiyomer reaksiyona girmez ve enantiyomerik olarak tek bir form oluşur (Sekhon2010).

## 1.10. Nanoteknoloji

### 1.10.1. Nanoteknolojinin Tanımı ve Amaçları

"Nano" Yunanca ve Latince bir sözcük olup cüce anlamına gelmektedir. Nanoteknoloji ise atom ve moleküllerle ilgilenen ve bunların yerini değiştiren bir teknolojidir. Atom ve molekülleri tek tek manipüle ederek istenilen yapının elde edilmesi ilkesine dayanır. Atomlar ayrı ayrı işleme tabii tutulur. Yaklaşık 100-1000 atom bir araya gelerek nano ölçeklerde bir nesneyi oluşturmaktadır. Nanoteknoloji de bu bağlamda "çok küçük maddelerin teknolojisi" olmaktadır (Özdoğan ve ark,2006b; Balcı,2006). 1 nanometre, hidrojen atomunun çapının yaklaşık 10 katıdır. Nanoteknoloji kapsamına giren malzemeler için 100 ile 1 nanometre (nm ) (1/10 milyon metre ile 1/1 milyar metre) arasındaki herhangi bir büyüklük (uzunluk, genişlik veya kalınlık) ifade edilmektedir. Sadece bir tek boyutu nanometre mertebesinde olsa da, ultra incelikteki kaplamalar da nanoteknoloji kapsamı içinde yer almaktadır.

Nanoteknoloji; ucuz, güvenilir, temiz ve finansal karşılığı oldukça yüksek olduğundan önemlidir (Naschie2006). Günümüzde maddeyi nanometre seviyesinde işleyerek ve ortaya çıkan değişik özellikleri kullanıp, yeni teknolojik nano-ölçekte aygıtlar ve malzemeler yapmak mümkündür. Örneğin, tarama ve atomik kuvvet mikroskoplarını kullanıp yüzey üzerindeki atomları iterek birbirinden ayırmak ve istenilen şekilde dizmek mümkün olmaktadır. Nanoteknoloji, her alanda daha dayanıklı, daha hafif ve doğaya daha az zarar verecek şekilde üretim yapılmasını sağlayan bir teknolojidir. Nanoteknolojinin sağlayacağı imkanlar kısaca şöyle sıralanabilir ([www.geleceginindunyasi.com](http://www.geleceginindunyasi.com),2007 ).

» Her atomu tam istenilen yere yerleştirme imkanı

» Fizik ve kimya kurallarının mümkün kıldığı hemen hemen her şeyi atom seviyesinde üretebilme imkanı

» Üretim maliyetlerinin ham madde maliyetlerini geçmeyecek şekilde ekonomik üretim imkanı

### **1.10.2. Nanoteknolojinin Tarihçesi**

Bilim insanları genellikle nano-ölçeğin öneminin ilk kabul edilmesini, Nobel ödüllü fizikçi Richard Feynman'ın (1918-1988) 29 Aralık 1959'da Amerikan Fizik Topluluğu'nun Kaliforniya Teknoloji Enstitüsünde (Caltech ) gerçekleştirilen yıllık toplantısında verdiği konuşmaya dayandırır (Feynman, R.P.1959). Özetle bu tarihi konuşmasında Feynman şunları öngörmüştür:

\* 24 ciltlik Brittanica Ansiklopedisini bir toplu iğne başına neden yazmayalım?

\* Küçük ölçekte bilgi

\* Daha iyi elektron mikroskobu

## 1. GİRİŞ

---

- \* Fevkalade biyolojik yapılar
- \* Bilgisayarı minyatürleştirme
- \* Buharlaştırma yolu ile minyatürleştirme
- \* Sürtünme sorunları
- \* Yüzlerce minik el
- \* Atomları aniden organize etme
- \* Küçük bir dünyada atomlar (Erkoç2007).

"Nanoteknoloji" terimini 1974 yılında Japon Norio Taniguchi ilk kez kullanmıştır. 1980'lerde, moleküler düzeyde imalata ait temel fikirler, K. Eric Drexler'in "Moleküler İmalata Yönelik Protein Tasarımı" adlı makalesinde ortaya konulmuştur. 1981'de " taramalı tünelleme mikroskobu"nun icat edilmesi bilim insanlarına, yapıları nano-ölçekte manipüle etme ve bunların görüntülerini alma olanağı sağlamıştır. Bundan sonra, 1985'de "fullerenlerin" keşfi ve 1986'da da " atomik kuvvet mikroskobunun" icat edilmesi, nanobilim ile nanoteknolojide asıl dönüm noktaları olmuş ve bunlar, bilimle teknolojinin en fazla gelecek vadeden dallarını oluşturmak üzere evrimleşmelerin önünü açmıştır.

Nanoteknoloji alanındaki asıl gelişme, IBM'deki Gerd Binnig ve Heinrich Röhrer'in (1986 Nobel ödülü ) 1981'de, hem malzemeleri atomik düzeyde incelemeye hem de bunları atomik ölçekte manipüle etmeye yarayan ilk aygıt olan "taramalı tünelleme mikroskopunu" ( TTM) icat etmeleri ile kendini göstermiştir. "Tarayıcı iğne mikroskobu" (TİM), " atomik kuvvet mikroskobu" (AKM), "yakın alan mikroskopisi" ya da "taramalı elektron mikroskopisi" (SEM) gibi aygıtlar sayesinde moleküllerin kendiliğinden bir araya gelmeleri ve malzemelerin en küçük ölçekteki yapılarının işleyişiyle ve atomik bağlanmayla ilgili görüntülerin alınması başarılabilmiştir. Atomik manipülasyon ile kimyayı ' beherle yapılan dar kapsamlı deney ' anlayışından çıkarıp mühendislik dünyasına taşımışlardır (Sharifzadeh2006).

Nanoteknoloji tarihindeki bir diğer dönüm noktası, Curl Kroto ve Smalley'in 1985'teki çalışmalarının sonucu ürettikleri, yeni nano-yapılı karbon modifikasyonu olan, 'Buckyball' olarak adlandırılan, futbol topu biçimindeki "fullerenlerin" keşfidir. 1991'de ise, fullerenlerle ilgili çalışmaların sonucunda, temelde kenarları silindir oluşturacak şekilde yuvarlanmış grafit tabakalardan oluşan ve olağanüstü özellikleri nedeniyle elektronik malzeme mühendisliğinde muazzam uygulama potansiyeli olduğu öngörülen, karbon atomlarının tüpe benzer yapılarının keşfi gerçekleştirilmiştir (Çelebi2010).

### **1.10.3. Nanoteknolojinin Uygulama Alanları**

Nanoteknoloji yavaş da olsa hayatımıza girmektedir. Şu anda nanoteknolojinin 3. devrindeyiz. 2020 yılı itibari ile de 4. nesil nanoteknoloji ürünlerinin çıkması bekleniyor.

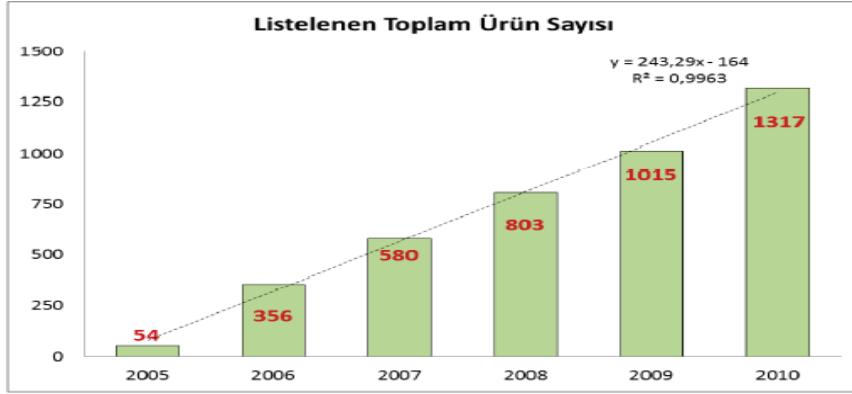
## 1. GİRİŞ

ABD 'de bulunan "Project On Emerging Nanotechnologies "adlı kurumun internette yayınladığı listede Ocak 2009 itibari ile 803 nanoteknolojik ürün bulunmaktadır (Rodgers2006). Listede sağlık, tekstil, elektronik, otomotiv, gıda ürünlerinden örnekler bulunmaktadır. Ayrıca "Gelişen Nanoteknolojiler projesi" kapsamında Mart 2010 itibari ile piyasada ticari olarak satılan 1317 farklı nano ürün bulunmaktadır. (Şekil 12, 13, 14 ve 15'te bu ürünler hakkında ayrıntılı bilgi verilmiştir). Günümüzdeki nano ürünlerin çoğu var olan bir malzemeye nano yapılarla suyu itme, güzel koku salma gibi yeni özellikler eklenmiş halidir. Nanoteknoloji çeşitli alanlarda uygulanmaktadır. Şekil.1.11.de nanoteknolojinin uygulama alanları gösterilmektedir.

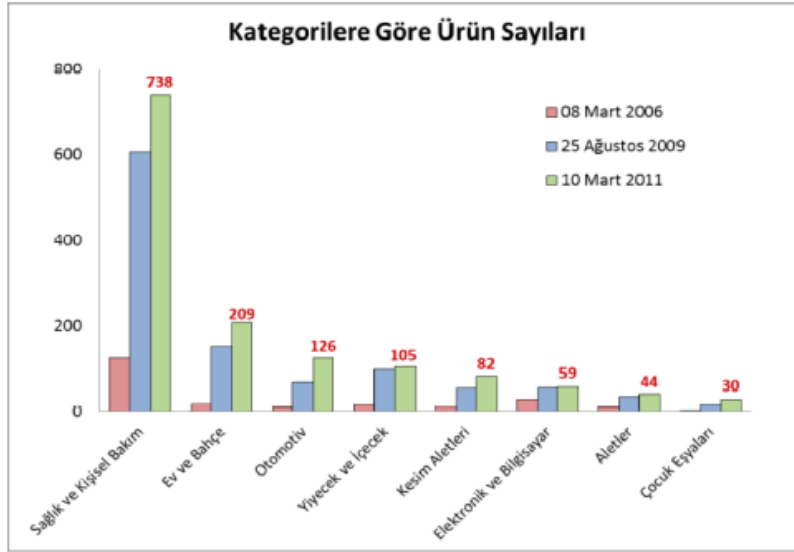


Şekil.1.11. (Çelebi2010) Nanoteknolojinin uygulama alanları



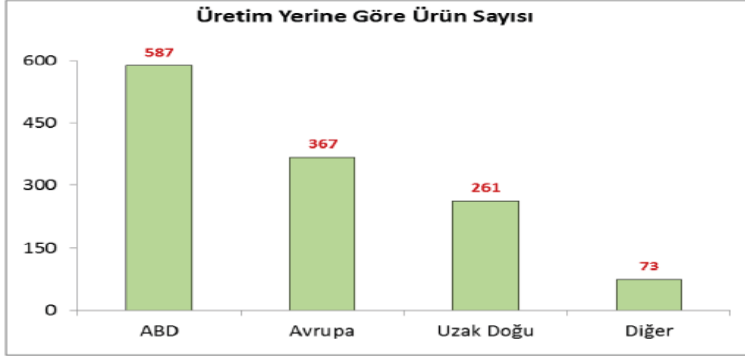


**Şekil.1.12.** Yıllara göre güncellenen envanter kayıtlarına göre listelenen toplam ürün sayısının regretasyon analizi ile gösterimi

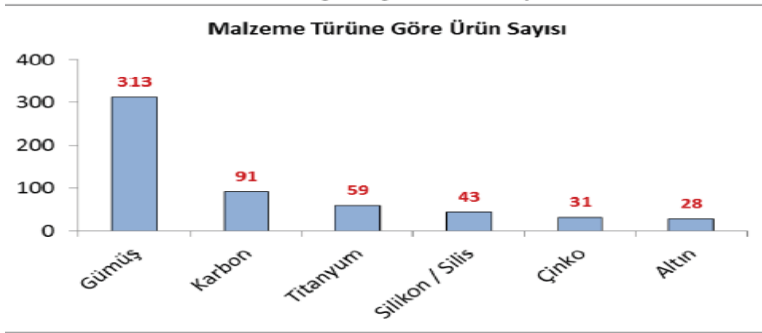


**Şekil.1.13.** Kategorilere göre ürün sayısı dağılımı

# 1. GİRİŞ



Şekil.1.14. Üretim yerine göre ürün sayısı



Şekil.1.15. Malzeme türüne göre ürün sayıları  
(n@nobülten 15 Aylık Nanoteknoloji ve Nanotıp Bilim Dergisi-Sayı Ocak 2012-  
www.nanott.hacettepe.edu.tr)

Envanter 30 farklı ülkede üretilen ürünleri kapsamaktadır. Şekil.1.14’de üretim yerlerine göre ürün sayıları gösterilmiştir. ABD toplam 587 ürünle ilk sırada yer alırken, onu 367 ürün ile Avrupa (İngiltere, Fransa, Almanya, Fillandiya, İsviçre, İtalya, İsveç, Danimarka ve Hollanda) ve 261 ürünle Uzak Doğu (Çin, Tayvan, Kore, Japonya) izlemektedir. Diğer ülkelerde (Avusturya, Kanada, Meksika, İsrail, Yeni Zelanda, Malezya, Tayland, Singapur, Filipinler) ise 73 nanoürünle pazarda yer almaktadır. Nanoürün yapımında kullanılan ana malzemeler arasında en çok kullanılan gümüş nanopartikülleridir. Bunun başlıca sebebi gümüş iyonlarının doğal antimikrobiyal ve

antifungal özellik göstermesidir. Gümüş kullanılarak üretilen başlıca nanoürünler: bandaj, giyim ürünleri, buzdolabı ve çamaşır makinesi gibi beyaz eşya ürünleri, kesme tahtası ve yiyecek saklama kaplarıdır.

#### **1.10.4. Türkiye’de Nanoteknoloji**

Türkiye’de bazı üniversitelerde daha çok kişisel çabalarla nano ve mikro ölçekli malzeme, yapı ve cihazlar ile çalışmalar yapılmaktadır. Doğrudan nanoteknoloji adı altında olmasa bile bu konularda çalışma yapan başlıca üniversiteler arasında ODTÜ (Ortadoğu Teknik Üniversitesi), Bilkent, Sabancı, Balıkesir, GYTE (Gebze Yüksek teknoloji Enstitüsü) sayılabilir. Ayrıca TÜBİTAK-MAM’daki( Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu-Marmara Araştırma Merkezi )YİTAL’da (Yarıiletken Teknolojileri Araştırma Laboratuvarları) henüz mikro düzeyde cip üretimi yapılmakla birlikte nanometre seviyesindeki üretime yönelik çalışmalar sürdürülmektedir. Bunun yanı sıra UNAM(Ulusal Nanoteknoloji Araştırma Merkezi) kuruluşuyla nanoteknoloji alanında büyük bir gelişme sağlanmıştır.

#### **1.10.5. Nanoteknolojinin Gelecekteki Durumu**

Nanoteknolojinin öncelikle malzeme ve biyoteknoloji alanlarında gelişeceği, ancak 10-15 yıl sonra elektronik spintronikte özellikle moleküler elektronikte ağırlığını hissettireceği beklenmektedir. Nanomalzemelerin hemen hemen her alanda; savunma sanayiinde, tekstilde, otomotiv sanayiinde, inşaat sektöründe, yeni tedavi yöntemlerinde ve ilaç sanayiinde devrim yaratacaktır. Sürtünmesiz yüzeyler sayesinde taşıtlarda motor yağı değiştirme sorunu ortadan kalkabilecek, kir tutmayan tekstil ürünleri ile belki de çamaşır makinesine ihtiyaç olmayacaktır. Binalardaki betonarme

## 1. GİRİŞ

---

kolonların kesitleri küçülüp elastik özellikler kazanacaktır. Naoelektronik alanda milyonlarca aygıtı içeren bütünleşik devre yapımında ve bu aygıtların iletkenlerle birbirine bağlanmasında sorunlar yaşanmaktadır. Kendi kendine yapılan moleküllerle bu sorunun çözülmesi biraz zaman alacağına benzemektedir. Üzeri metal ile kaplanarak DNA'dan yapılan transistörlerin DNA replikasyonu yöntemi ile bütünleşik devreye dönüştürülmesi, bilim adamlarının üzerinde çalıştıkları konular arasında yer almaktadır. İnsan vücudu ve beyniyle ilgili çalışmalar nanoteknoloji, biyoteknoloji, bilişim teknolojileri ve bilişsel bilimler alanındaki araştırmalarda belkide en çok ses getirecek olan konulardır. Bu konular algısal kapasiteyi, biyohibrid sistemi ve metabolik değişimleri denetlemek ve gerekli müdahalelerle iyileştirmek, insan performansını geliştirmek için öncelikle dikkate alınması gerekli olan konulardan biridir. Hücrelerdeki denetim mekanizmalarının, yapılan çalışmalar sonucunda özel dokulara, organlara yada tüm vücuda uygulanması mümkün olabilecektir. Dayanıklılığa ve uykusuzluğa karşı direnci arttıran ya da metabolizma tıbbi anlamda kritik bir durumdayken, kanın oksijenini en iyi biçimde kullanmasını sağlayacak kimi uygulamalar geliştirilebilecektir. Bilim adamları benzer şekilde, hastaların ilaç toleranslarını ölçmeye yönelik gerçek zamanlı genetik testler ile vücuda hormon salınımını düzenleyen ve izleyen, pankreas görevi gören aletlerle ilgili projelerin de geliştirilebileceğini belirtmektedirler. İnsan beyninin yapısı, işlevi ve fonksiyonel bozuklukları hakkında artan bilgiler, bilişsel kapasiteyi arttırma konusunda yeni olanaklar sağlayabilecektir. Yapay bir beyin özellikle de bilgisayarlar, gerçek beynin işleyişine çok yakın simülasyonlar gerçekleştirebilirse belki bu tür keşifler konusunda bir araç olarak kullanılabilir.

Bugün hayal gibi görünse de, kullandıklarımızdan binlerce kat hızlı bilgisayarlar, damarların içinde ilerleyerek hastalıkları tedavi edecek nanoaygıtlar, organların içinde

ameliyat yapabilecek robotlar, betondan daha dayanıklı plastik binalar, hareketleri şarj edilmiş elektrikle sağlanan yapay kaslar, çok daha hafif ve gelişmiş silah sistemleri gelecekte karşımıza çıkacaktır. Enerji konusundaki temel sıkıntı olan enerji sarfıyatı sifira inebilecek ve zararlı her türlü atıktan kurtulmak mümkün olacaktır.

Nanoteknolojinin insan hayatında ne tür gelişmelere katkı sağladığı düşünülürse, aşağıdaki gibi bir tasarım yapılabilir;

Mesela paranın hiç kullanılmadığı bir sistem ve bu sistemde kredi kartı yerine nanoteknoloji sayesinde geliştirilmiş ve içinde hemen her türlü bilginin bulunduğu bir kart düşünülün, çalışanın maaşı ve birikimi bu kartta yer alsın, hatta biraz daha ileriye gidip kimlik, ehliyet, pasaport, okul kimlikleri gibi bir çok belge nanoteknoloji sayesinde tek bir kartta toplansın. Ayrıca bu kartta kişinin sağlık bilgileri, doktor kontrolleri, geçirdiği ameliyatlar, aile bireyleri ile ilgili bilgiler ve aile bireylerinin geçirmiş oldukları rahatsızlıklar gibi gerekli bilgiler de bulunsun. Bunlar size sadece güzel bir hayal gibi görünse de, yakında nanoteknolojinin hayatın merkezine oturması ile insanoğlunun bu ve benzeri hayalleri gerçekleştirilmiş olacaktır. Ekonomistler nanoteknolojinin yeni sanayi devrimi olarak 21. yüzyıla damgasını vuracağına inanmaktadırlar. Yakın bir gelecekte bir ülkenin nanoteknolojide elde etmiş olduğu başarılar o ülkenin gücünün bir göstergesi olacaktır.

#### **1.10.6. Nanoteknoloji Hayatı Nasıl Değiştirecek?**

Arabanız değişik ihtiyaçlarınız için şekil değiştirebilecek; görünmez bir el buzdolabından meşrubat şişenizi size getirebilecek; tıpkı faks cihazının bu gün bir belgeyi basması gibi her çeşit tüketim maddesini üreten "madde faksı" cihazınız

## 1. GİRİŞ

---

olabilecek; mikrodalga fırınınız leziz yemekler yapabilecek; tabağınız, elbiseniz ve eviniz kendi kendini temizleyebilecek; medikalde nanoteknoloji alanında sanal olarak hastalıkların önüne geçilebilecek; moleküler seviyede hücreleriniz tamir edilecek ve yaşlanma yavaşlatılacak, 50 yaşındayken kendinizi 25 yaşında hissedeceksiniz; bir süper bilgisayar tarafından kontrol edilen ve vücudunuzun yapay bağışıklık sistemini oluşturan nanorobot orduları sayesinde AIDS, EBOLA hatta nezle virüsleri size etki edemeyecek; ana arterlerinizde ve daha küçük damarlarınızda gezinen mini robotlar vücudunuza bir kere zerk edildikten sonra çalışmaya programlanıp kan dolaşımı ile (damarları otoyol kanı taşıt olarak kullanıp) istenilen bölgelere giderek orada hasar görmüş organ veya dokuyu tamir edebilecektir. Bunlar sayesinde insanoğlu kalp krizi riskinden tutun da enfeksiyona bağlı hastalıklara kadar birçok rahatsızlıktan kurtulmuş olacaktır([NANOTEKNOJİ kimya.uzerine.com/index.jsp?objid=1078](http://kimya.uzerine.com/index.jsp?objid=1078)).



# 1. GİRİŞ

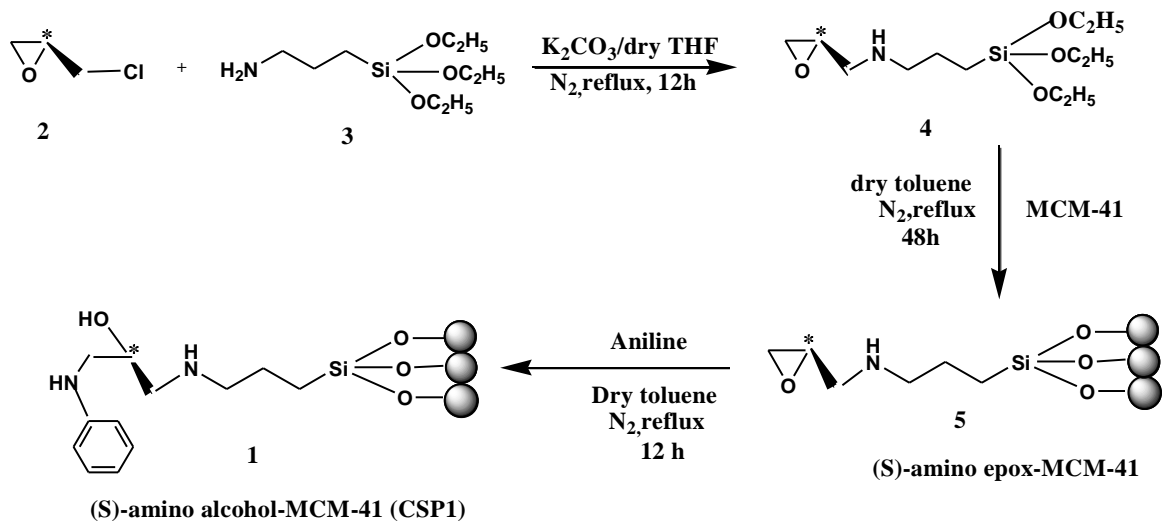
---



## 2.ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Yapmış olduğumuz literatür taramasında benzeri bir rezolüsyon çalışmasına rastlanılmamıştır fakat rasemik mandelik asitin rezolüsyonu, daha önce farklı kolon kromatografisi yöntemleri ile oldukça fazla sayıda çalışılmıştır.

Vishal ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada kolon dolgun maddesi olarak orta gözenekli yarı kristal yapıdaki bir materyal olan (MCM-41) kullandılar. Öncelikle immobilize kiral amino alkol (CSP) ve onun öncü maddeleri sentezlendi, epoklorohidrin ve 3-aminopropil trietoksisilan reaksiyona sokulduktan sonra MCM-41 kalsin ile tutturularak (S)-amino epoksi-MCM-41 elde edildi ve son olarak epoksi halkası anilin ile açılarak kiral sabit faz hazırlandı. Reaksiyon basamakları şekil.2.1’de gösterilmiştir. Bu şekilde silika üzerine immobilize edilerek hazırlanmış olan kiral amino alkol ile; mandelik asit, 2,2’-dihidroksi-1,1’-binaftalin, dietil tartarat, siyano kromin oksit ve 2-fenil propiyonik asit gibi rasemik karışımların ayrılması sağlandı. Mandelik asidin bu CSP ile rezolüsyonundan elde edilen enantiyomerik fazlalık  $\geq 99\%$  olarak hesaplandı (Vishal ve ark.2006).

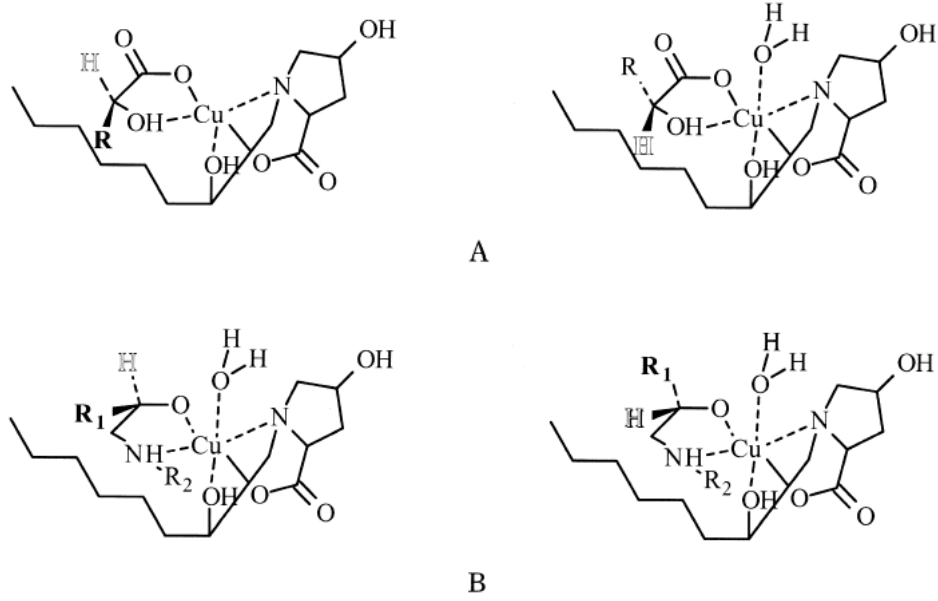


Şekil.2.1. (S)-amino alkol-MCM-41 (CSP1) oluşumu

Bu çalışmanın ve buna benzer kolon dolgu maddesi (CSP) kullanılarak yapılan çalışmaların en büyük dezavantajı rezolüsyon süresinin çok uzun bir zamana yayılmış olmasıdır. Fakat bizim yapmış olduğumuz çalışmada avantajlarımızdan bir tanesi de rezolüsyonun kısa sürede gerçekleşmesidir.

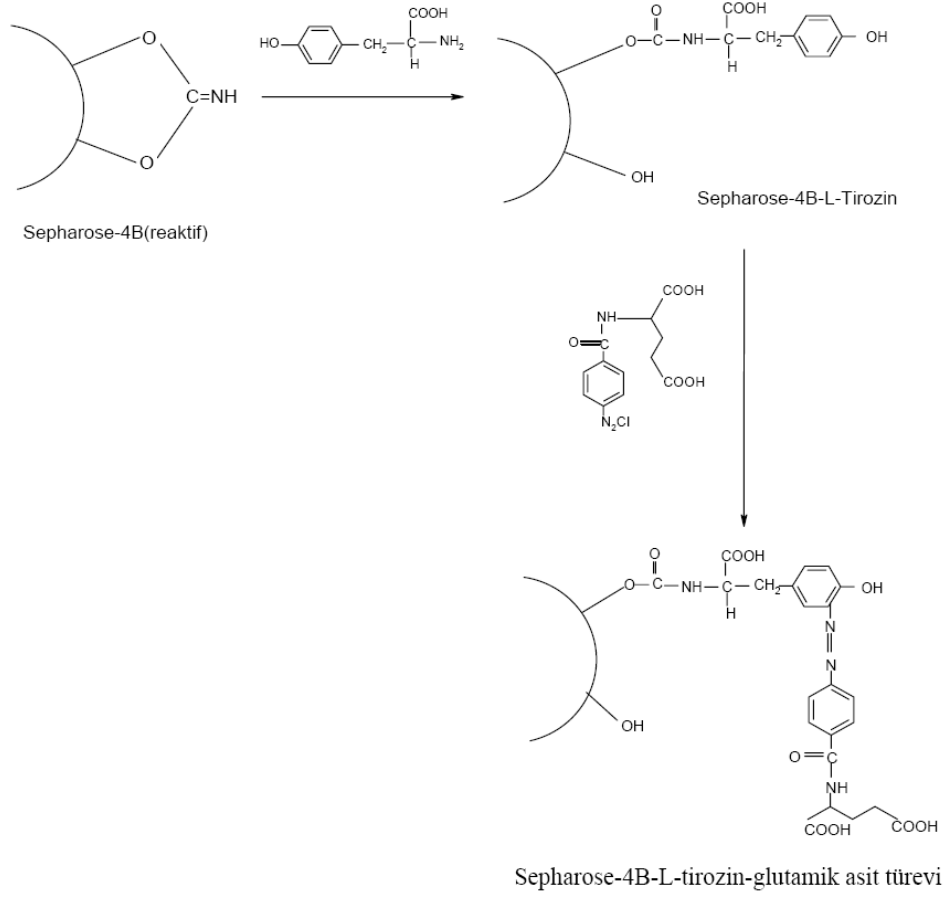
Chao ve arkadaşları selüloz membranı kullanarak rasemik mandelik asit karışımını ayırmayı başardılar. Bu çalışma için selüloz membran seçilmesinin nedeni moleküler yapı biriminde multi kiral karbon atomları içermesidir. Membran ağırlıkça %8.1 selüloz ve ağırlıkça %8.1 LiCl içerir, akışkan ve seçici özelliğe sahip olan bu membran, rasemik mandelik asidin doymuş sulu çözeltisi ile etkileştirilir ve sonuç olarak membranın morfolojik üst yüzeyi ve çapraz kesitleri elektron görüntüleme mikroskobu tarafından görüntülenir. Bu çalışma ile %90' nın üzerinde enantiyomerik fazlalık elde edilmiştir (Chao ve ark. 2011).

Schmid ve arkadaşları ligand değişim prensipli kapiler elektroforez yöntemini kiral rezolüsyon işleminde kullandılar. Bunun için, kiral selektör olarak N-(2-hidroksi oktil)-L-4-hidroksi prolin –bakır(II) kompleksini seçtiler. Bu prensiple amino alkol yapısı içeren  $\beta$ -bloker gibi ilaçların ve  $\alpha$ -hidroksi asitlerin kiral ayırmasını gerçekleştirdiler. Bu tür enantiyo selektif ayırmalarda her bir yapı için kompleks oluşturma koşullarının önemli ölçüde pH değerine bağlı olduğu bulunmuştur. Şekil2.2'de görüldüğü üzere bakır(II) kompleksini içeren (A)  $\alpha$ -hidroksi asidi ve (B), aminoalkolü ifade eden iki enantiyomer çiftini göstermektedir (Schmid ve ark. 2000).



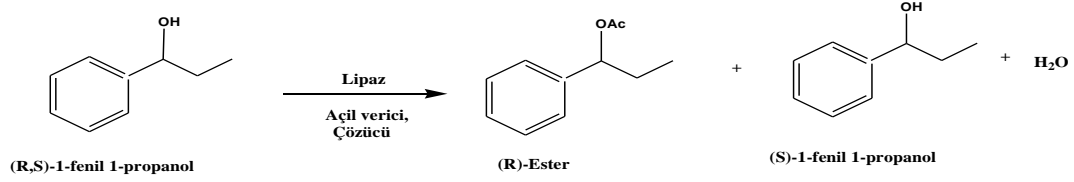
**Şekil.2.2.**  $\alpha$ -hidroksi asit (A) ve amino alkolün (B) gösterimi

Yılmaz ve arkadaşları Pirkle-tip kiral sabit faz oluşturarak kolon kromatografisi yöntemi ile biyolojik öneme sahip olan  $\beta$ -metilfeniletülin enantiyomerlerinin rezolüsyonunu sağladılar. Bu amaçla dolgu maddesi olarak sepharose-4B, uzatma kolu olarak da L-tirozin kullandılar. Ayrıca uzatma koluna doğal amino asitlerden olan L-glutamik asidin aromatik amin türevini diazolama yolu ile ligand olarak bağladılar. Deneyle ilgili reaksiyonlar şekil.2.3’de gösterilmiştir. Sonrasında ayrılması istenilen biyolojik öneme sahip kiral amin ( $\beta$ -metilfeniletülin) rasemik karışım olarak kolona tatbik edildi ve hareketli faz olarak değişik pH’larda (pH: 6, 7 ve 8) tampon çözeltiler kullanmak suretiyle rezolüsyon sağlandı. Elüatın akış hızı peristaltik pompa ile ayarlanıp, kolondan alınan elüatlar organik faza (dietyl eter) alındıktan sonra HPLC ile enantiyomerik fazlalık (e,f) hesaplandı (Yılmaz ve ark. 2010).



Şekil.2.3. Kolon dolgu maddesininin hazırlanması

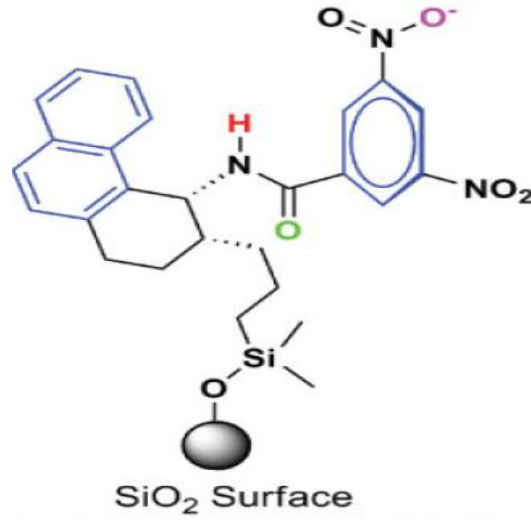
Karadeniz ve arkadaşları ilaç etken maddesi üretiminde geniş yer tutan rasemik 1-fenil 1-propanol'ün lipaz enzimi biyokatalizörlüğünde enantiyoseçimli esterleşme tepkimesi ile kinetik rezolüsyonunu gerçekleştirdiler. 1-fenil 1-propanol kanser tedavisinde kullanıldığı gibi diğer bir türevi olan (-)-Efedrin HCl, solunum açıcı olarak bilinen ilaç grupları arasında yer almaktadır. Şekil.2.4'de rasemik 1-fenil 1-propanol'ün enantiyoseçimli esterleşme tepkimesi görülmektedir. Bu çalışmada rasemik 1-fenil 1-propanol'ün kinetik rezolüsyonuna, enzim, açıl verici, çözücü türü, açıl verici/alkol mol oranı, moleküler elek miktarı, sıcaklık ve enzim miktarlarının etkisi incelenmiştir (Karadeniz ve ark.2007).



**Şekil.2.4.** Rasemik 1-fenil 1-propanolün esterleşme tepkimesiyle kinetik rezolüyonu

Hinze ve arkadaşları bir kirial sabit fazı  $\beta$ -siklodekstrin ( $\beta$ -CD) molekülleri ile kimyasal olarak bağlayıp dansilsülfonamid,  $\beta$ -naftamid, yada amino asitlerin  $\beta$ -naftilester türevleri, barbituratlar, substitüe fenilasetik asit ve dloksolanes enantiyomerlerini ayırmada kullandılar. Bu ayırma işleminde  $\beta$ -siklodekstrin ve ayrılacak olan enantiyomerler arasında üç noktadaki etkileşim dikkate alındı. Bunlar mobil faz oluşumu, sıcaklık ve akış hızıdır.  $\beta$ -siklodekstrin'in yapısı şekil.2.5'te görülmektedir (Hinze ve ark.1985).





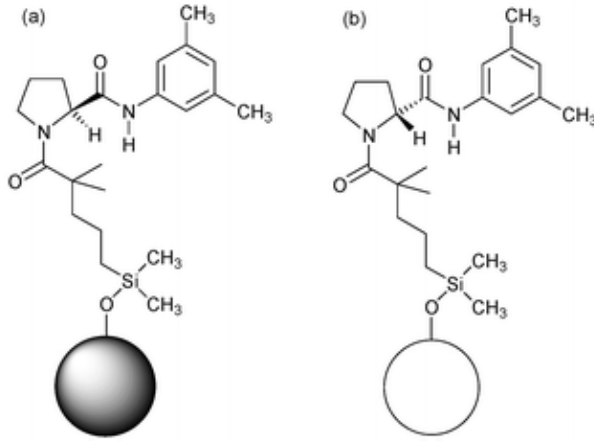
Şekil.2.6. Pirkle tip CSP, -(3,5-dinitrobenzamido) tetrahidrofenantren

(3R,4S) Whelk-O1 Kiral Sabit Faz. Şekil üzerinde mavi ile gösterilenler  $\pi$ - $\pi$  etkileşimini; kırmızı, yeşil ve pembe ile gösterilenler hidrojen bağı donör akseptör etkileşimlerini göstermektedir.

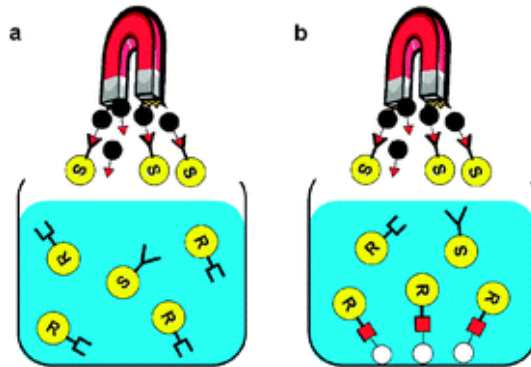
Choi H.J. ve arkadaşları biri manyetik özellik gösteren, manyetik silika kaplı nano parçacıklar (MSNPs) ve diğeri manyetik özellik göstermeyen, manyetik olmayan silika kaplı nanoparçacıklar (NMSPs) içeren reçineler sentezleyip bu reçineleri kiral selektörlerle modifiye ederek enantiyomerik ayırmalarda kullandılar. Kiral selektör olarak manyetik olan reçine için (S)-N-(2,2-dimetil-5-etoksidimetilsililpentanol)-prolin-3,5-dimetilanilid, manyetik özellik göstermeyen reçine için ise (R)-N-(2,2-dimetil-5-etoksidimetilsililpentanol)-prolin-3,5-dimetilanilid kullandılar. Kullanılan kiral selektörler şekil.2.7’de görülmektedir. Şekil.2.8’de ise manyetik ayırmanın nasıl gerçekleştiği şematize edilmiştir. Enantiyomerik ayırmalarda rasemik N-(3,5-dinitrobenzoil)alanin, valin ve leusin  $\alpha$ -amino asitlerinin N-propil amid türevleri kullanılmıştır. Rasemik karışımlar değişik oranlarda hazırlanmış (10:90, 30:70, 50:50, ya da 80:20) olan 2- propanol-heksan karışımı organik çözücülerde çözüldü, önceden sentezlenmiş ve kiral selektör ile modifiye edilmiş reçineler üzerine tatbik edilerek oda sıcaklığında 5 dakika vorteks çalkalayıcısı ile karıştırıldı. Sonrasında manyetik olan reçine bir mıknatıs yardımıyla toplanıp etanolde yıkanarak elde edilen süzöntü HPLC de analiz edildi. Manyetik olmayan reçine ise santrifüj ile çöktürülerek etanol ile yıkanıp elde edilen süzöntü HPLC de analiz edildi. Bu çalışmada manyetik olan reçine tek başına kullanıldığı zaman elde edilen maksimum enantiyomerik fazlalık %63.8 iken iki reçine aynı anda kullanıldığı zaman elde edilen maksimum enantiyomerik fazlalık %80.1 olarak hesaplandı. Sonuçlar [(R,R)-Whelk-O-] kiral kolunu ile okundu. Organik çözücü oranınının 30:70 (v/v) 2-propanol-heksan, konsantrasyonun ise 2.0 mg /mL olduğu durumda hesaplanan enantiyomerik fazlalığın en yüksek değer olduğu görüldü (Choi ve ark.2009).

Bu çalışmanın mantığı bizim yapmış olduğumuz çalışmaya benzemekle birlikte, bizim çalışmamızda organik çözücü yerine su kullanılması çalışmamızı daha avantajlı kılmaktadır.



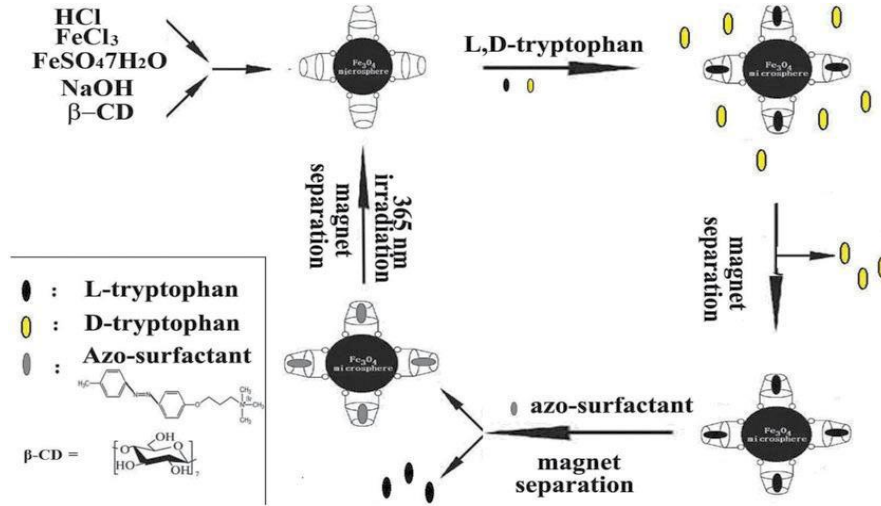


**Şekil.2.7.** Manyetik özellik gösteren ve manyetik özellik gösteremeyen nanoparçacıklarla enantiyomerik ayırma



**Şekil.2.8.** Yukarıdaki şekil enantiyomerik ayırmaı göstermektedir. a'da içi dolu siyah küreler MSNPs'yi(manyetik olan silika kaplı nanoparçacıkları) ve b'de içi dolu beyaz küreler NMSPs'yi(manyetik olmayan silika kaplı nanoparçacıkları) göstermektedir

Chen ve arkadaşları yapmış oldukları bir çalışma ile  $\beta$ -CD( beta-siklo dekstrin)'i manyetik özellik gösteren  $Fe_3O_4$  nanokürelere modifiye ederek biyokimya ve farmasötik alanda önemi tartışılmaz bazı amino asitlerin enantiyomerik olarak ayrılmasını sağladılar. Bu yöntem ile enantiyomerik ayırma oldukça etkili ve ekonomik olarak gerçekleştirilmiştir. Burada  $Fe_3O_4$  nanokürelere modifiye edilmiş  $\beta$ -CD, amino asit enantiyomerleri için bir kiral selektör görevi görmekte olup amino asitlerin L formunu adsorplarken D formunu çözeltide bırakır. İlk olarak  $Fe_3O_4$  nanokürelere modifiye edilmiş  $\beta$ -CD sentezlenir daha sonra alanin, tirozin ve triptofan gibi önemli amino asitlerin rasemik karışımları (1:1 oranında) hazırlayıp  $Fe_3O_4$  nanokürelere modifiye edilmiş  $\beta$ -CD üzerine ilave edilerek 2 saat bekletilir. Daha sonra manyetik bir ayırma uygulanarak amino asitlerin D ve L formları ayrılmış olur. Adsorplanmış olan L formunu,  $Fe_3O_4$  nanokürelere modifiye edilmiş  $\beta$ -CD den ayırmak ve adsorbantın tekrar kullanılabilirliğini sağlamak için önceden sentezlenmiş olan azobenzen(AzoTAB) türevleri kullanılır. Aminoasitlerin L formunu adsorplayan  $Fe_3O_4$  nanokürelere modifiye edilmiş  $\beta$ -CD, azobenzenin trans formundan elue edilir ve manyetik bir ayırma uygulanarak, amino asitlerin L formu  $\beta$ -CD den uzaklaştırılır. Sonrasında trans azobenzen  $Fe_3O_4$  nanokürelere modifiye edilmiş  $\beta$ -CD den ayırmak için 365nm dalga boyundaki UV ışınına maruz bırakılır. Bu esnada trans azobenzen cis azobenzene dönüşür ve serbest kalan  $\beta$ -CD bu amaç için tekrar kullanılır. Beş defa arka arkaya kullanılmasına rağmen amino asitlerin enantiyomerik ayırma işleminde iyi sonuçlar verdiği gözlenmiştir. Yöntem, her üç amino asit için de iyi sonuç vermesine rağmen en iyi sonucu triptofan için verdiği, çözeltinin adsorpsiyon katsayısı hesaplanarak ortaya konmuştur. Şekil.2.9'da reaksiyonların şematize edilmiş hali görülmektedir (Chen ve ark.2011).



**Şekil.2.9.**  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  nanoparçacıklarına modifiye edilmiş  $\beta\text{-CD}$ 'ni hazırlama prosedürü ve amino asit izomerlerin ayrılma mekanizması





## 2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

---

### 3. MATERYAL ve METOT

#### 3.1. Materyal

##### 3.1.1. Kullanılan Araç ve Gereçler

- Deneyleerde kullanılan kimyasal maddeler Fluka, Aldrich ve Merck marka olup ayrıca saflaştırma işlemine gerek duyulmamıştır.

- Silika kaplı manyetik nanopartiküller Sonics Vibracell marka Vc 505 model sonikatör cihazında 20 dakika muamele edilmek suretiyle elde edilmiştir.

Epoksi bileşiği silika kaplı manyetik nanopartiküllere kovalent olarak bağlanmış ve TELSTAR marka freze dyer da bir gün süreyle vakumda kurutulduktan sonra ele geçen kiral adsorplayıcı yüzey JEOL marka 2100 F model TEM ve CARL ZEISS marka EP 40 model SEM cihazlarıyla görüntülenmiş ve bağlanmanın gerçekleştiği gerek spektroskopik bulgular gerekse de TEM sonuçları göz önüne alınarak ispatlanmıştır. Çalışmada rezolüsyon sonrası enantiyomerik fazlalık tayinleri Kiralpak® AD-H Coloumn kullanılmak suretiyle Thermo marka Finnigan™ Surveyor™ PDA Plus Detector HPLC cihazında yapılmıştır. Rezolüsyon öncesi pH ayarlamaları WTW marka 526 model pH metre ile yapılmıştır. Adsorplayıcı yüzeyin hazırlanması sırasında çalkalama işlemleri, BS101133 marka ES-20/60 model Biosan çalkalamalı inkübatör kullanılarak yapılmıştır. pH ayarlamaları sırasındaki asit ve baz çözeltilerinin ilave edilmesi işlemleri otomatik pipet kullanılarak, karıştırma işlemleri ise Heidolph marka 4001 model magnetik karıştırıcı kullanılarak yapılmıştır.

- Cam malzeme; çeşitli hacimlerde balon jojeler, yine çeşitli hacimlerde beherler, çok sayıda deney tüpü, değişik hacimlerde rodajlı yuvarlak dipli balonlar, değişik hacimlerde büretler, ayırma hunileri ve kılcal borular.

### 3. MATERYAL VE METOT

---

#### 3.1.2. Kullanılan Kimyasallar

- R(-)Mandelik asit 98% aldrich
- S(+ )Mandelik asit 99% aldrich
- Heksan HPLC için 99% sigma aldrich
- Isopropanol HPLC için sigma aldrich
- Fosfat çözeltisi için  $K_2HPO_4$  ve  $KH_2PO_4$
- Dietil eter (analitik analizler için)
- Deiyonize su
- pH ayarlamak için 1N NaOH ve 1N HCl

#### 3.2. Metot

Silika kaplı manyetik nanopartiküller, metoksi grupları içeren epoksi reçinenin(glikosidoksipropil trimetoksi silan) epoksi halkasının bazik ortamda açılma tepkimesine uğratılarak Nükleofilik Sübstitüsyon mekanizmasıyla (R)-metilbenzilamin bileşiği azot üzerinden bağlanması ve eter oksijeninin hidroliz yoluyla bir sekonder alkole dönüşmesi sonucu hazırlanmış ve silika uçlu bir amino bileşiği elde edilmiştir. Daha sonra bu bileşik manyetik nanoparçacıkların yüzeyine metoksi gruplar üzerinden bir silisyum esteri oluşturacak şekilde kovalent olarak bağlanmak suretiyle tutturulmuştur.

Daha sonra rasemik mandelik asit karışımı hazırlanan reçineyle etkileştirilerek belirli sürelerde ve belirli pH'larda karıştırılmak suretiyle optimum adsorpsiyon şartları



belirlenmiş, rasemik karışımdan yalnızca tek bir enantiyomerin kiral yüzeyle farklı etkileşmesi sonucu daha fazla adsorplandığı bir metot geliştirilmek suretiyle manyetik nanopartiküller içeren reçine güçlü bir mıknatısla(mıknatıslanma yoluyla) çözelti ortamından uzaklaştırılmış, diğer enantiyomer yalnız bırakılmıştır. Bu kısımda öncelikle kiral etkileşime dayalı adsorpsiyon daha sonra da manyetik özelliklerden yararlanılarak rezolüsyon gerçekleştirilmiştir. Daha sonra ekstraksiyon metodu kullanılarak tayini yapılacak mandelik asit organik faza alınmış ve önce spektroskopik yöntemle sonra da HPLC de okunarak enantiyomerik fazlalık tayinleri yapılmıştır.

### 3.2.1. Fosfat Çözeltisinin Hazırlanışı

Önce, 1M  $K_2HPO_4$  ile yine 1M  $KH_2PO_4$  çözeltilerinden iki ayrı stok çözelti hazırlandı. Bunun için molağırlığı 174.18 olan  $K_2HPO_4$ 'ten 87.09 gr alınıp 0.5L'lik bir balon jodede çözülüp hacim deiyonize su ile 0.5L'ye tamamlandı. Aynı şekilde molağırlığı 136.09 olan  $KH_2PO_4$ 'ten 68.045 gr alınıp 0.5L'lik bir balon jodede çözüldü ve hacim deiyonize su ile 0.5L'ye tamamlandı.

İlk hazırlanan stok çözeltiler yardımı ile yeni bir stok çözelti hazırlandı. Bunun için 1M  $K_2HPO_4$ 'ten 8.5mL ve yine 1M  $KH_2PO_4$ 'ten 91.5mL alınarak bir balon jodede karıştırıldı. Derişimi 0.1M ve hacmi 100mL olan yeni bir stok çözelti elde edildi. pH metre ile pH'ı 5.8 olarak ölçüldü. Hazırlanan bu iki stok çözelti, deneysel aşamalar boyunca konsantrasyon ve pH değerleri değiştirilerek kullanıldı.

### 3.2.2. Rasemik Mandelik Asit Karışımından Değişik Konsantrasyonda Stok Çözeltilerin Hazırlanışı

Önce, rasemik mandelik asit karışımından 300mM konsantrasyonda stok bir karışım

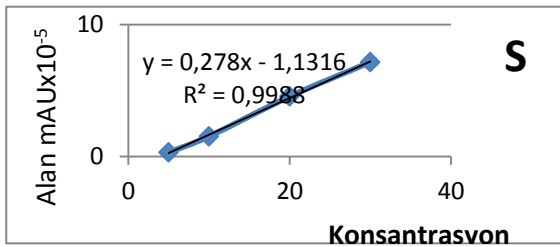
### 3. MATERYAL VE METOT

hazırlandı. Bunun için 150mM (R)-mandelik asit ve 150mM (S)-mandelik asit için hesaplamalar yapıldı. (R) ve (S)- mandelik asitten eşit miktarlarda(115mg'şar) alınıp 10mL'lik balon jofede çözüldü ve deiyonize su ile hacim 10mL'ye tamamlandı. Böylece 300mM'lık stok bir rasemik mandelik asit çözeltisi hazırlanmış oldu. Deneysel çalışmalarda rasemik mandelik asit karışımının 124mM'lık stok çözeltisi de kullanıldı. Bu durumda (62mM (R)- mandelik asit ve 62mM (S)-mandelik asit) (R) ve (S)-mandelik asitten eşit miktarda (95.2mg'şar) alınıp deiyonize suda çözülerek hacim 10mL'ye tamamlandı. Böylece 124mM'lık ikinci stok rasemik mandelik asit çözeltisi hazırlanmış oldu.

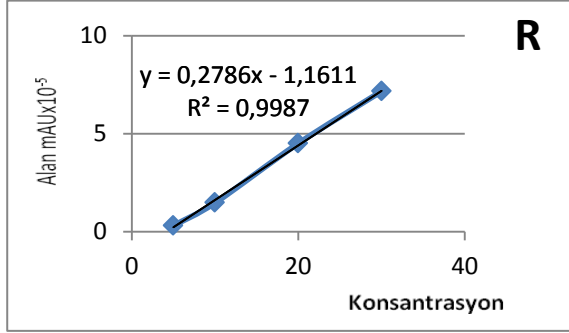
#### 3.2.3.Kalibrasyon Eğrisi İçin Standartların Hazırlanması

Kalibrasyon eğrisi için dört farklı konsantrasyonda standart rasemik mandelik asit çözeltisi hazırlandı. Standartların genel hazırlanma prosedürü şu şekildedir:

Deiyonize su ile hazırlanmış 300mM stok rasemik mandelik asit çözeltisinden her bir standart için farklı hacimlerde alınıp her seferinde deiyonize su ile toplam hacim 5mL'ye tamamlanır. Değişik konsantrasyonlara seyreltilmiş olan rasemik mandelik asit çözeltisi ayırma hunisine alınıp her seferinde 10mL dietileter ile iki defa ekstrakte edildi. Eter fazı uçurulduktan sonra geriye kalan katı 1/1 oranında hazırlanmış olan n-heksan/isopropanol karışımına alınıp HPLC'de analiz edildi(Sonuçlar Ek 4-7'de gösterilmiştir).



Şekil.3.1. S enantiyomerinin kalibrasyon eğrisi



Şekil.3.2. R enantiyomerinin kalibrasyon eğrisi

<b>STANDARTLAR</b>	<b>30mM STOK RASEMİK MANDELİK ASİT ÇÖZELTİSİNDEN ALINAN HACİM mL</b>
<b>Standart 1</b>	<b>0.5</b>
<b>Standart 2</b>	<b>0.333</b>
<b>Standart 3</b>	<b>0.166</b>
<b>Standart 4</b>	<b>0.083</b>

### 3.2.4. pH 6, pH 7 ve pH 8'de Yapılan Rezolüsyon Çalışmaları

Daha önce hazırlanmış ve pH'ı 5.8 olan 100mM'lık stok fosfat çözeltisinden 10'ar mL alınıp üç ayrı behere konuldu. pH metre yardımıyla derişik NaOH ve derişik HCl çözeltileri ile pH'ları sırasıyla 6, 7 ve 8'e ayarlandı (pH ayarlamaları tüm çalışma boyunca bu şekilde yapıldı). Önceden sentezlenmiş olan reçineden 90'ar mg tartılarak yuvarlak dipli ve rodajlı üç ayrı balona alındı ve her biri ayrı ayrı etiketlendi. Tartılıp

### 3. MATERYAL VE METOT

---

hazırlanan reçinelerden biri pH'ı 6, diğeri pH'ı 7 ve bir diğeri de pH'ı 8 olan fosfat çözeltileri ile 2-3 kez yıkanarak aktif hale getirildi. Önceden pH değerleri ayarlanmış olan çözeltilerden 5'er mL alınarak üç ayrı behere konuldu. Her bir behere (R) ve (S)-mandelik asitten eşit miktarda (95.2mg'şar) alınıp tamamen çözüldükten sonra aktive edilmiş reçine üzerine aktarılıp her biri ayrı bir manyetik karıştırıcıda karıştırılmaya bırakıldı. Her biri sırasıyla 1 saat, 1.5 saat ve 2 saat süre ile karıştırıldıktan sonra manyetik karıştırıcılar kapatılarak reçine mıknatıs üzerinde çöktürülüp her bir balondan 0.5mL'lik nünuneler alındı. Nünunelerin her biri 20mL'lik dietil eter ile iki defa ekstrakte edildi. Mandelik asit eter fazına alındıktan sonra, eter su banyosunda uçuruldu. Geriye kalan katı önceden hazırlanmış olan 1/1 oranında n-heksan/isopropanol (HPLC grade) karışımına alınarak HPLC de analiz edildi (Sonuçlar ile ilgili grafikler Ek8-16'da gösterilmiştir).



Şekil.3.3. Manyetik reçinenin manyetik alan ile etkileşimi

#### 3.2.5. pH 8 ve pH 9 da Yapılan Rezolüsyon Çalışmaları

100mM'lık stok fosfat çözeltilisinden 10'ar mL'lik alınıp derişik NaOH ve derişik HCl çözeltileri kullanılarak pH'ları sırasıyla 8 ve 9'a ayarlandı. 300mM'lık stok

mandelik asit çözeltisinden 0.5mL'lik iki örnek alınıp toplam hacim 5mL olacak şekilde pH'ları yukarıda ayarlanmış olan çözeltilerle tamamlandı. Yeni çözeltinin konsantrasyonu 30mM oldu. Daha sonra 100'er mg'lık iki reçine örneği tartılıp yukarıda yeni hazırladığımız ve pH'ları 8 ve 9'a ayarlanmış fosfat çözeltileri ile 2-3 kez yıkanarak aktif hale getirildi ve önceden hazırlanmış olan 30mM'lık rasemik karışım üzerine aktarılarak manyetik karıştırıcıda karışmaya bırakıldı. Bu esnada kronometre çalıştırılıp 1 saat süre ile karışmaya bırakıldı. 1saat sürenin sonunda manyetik karıştırıcı kapatılıp reçineler mıknatıs üzerinde çöktürülerek 5mL'lik kısmın tamamı alınıp dietil eter ile ekstrakte edildi. Eter su banyosunda uçuruldu. Geriye kalan katı 1/1 oranında hazırlanmış olan n-heksan/isopropanol karışımına alınıp HPLC de analiz edildi (Sonuçlar ile ilgili grafikler Ek14 ve Ek17'de gösterilmiştir).

Bazik ortam ve bazik ortama yakın pH'lar yapılmış olan çalışmaların sonuçları yorumlandığında pH 9'da daha iyi sonuçlar elde edildiği görüldü. Dolayısıyla pH 9'da farklı deneysel koşullarda çalışılarak sonuçlar değerlendirildi.

### **3.2.6. pH 9 ve Deiyonize Su ile Yapılan Rezolüsyon Çalışmaları**

100mM'lık stok fosfat çözeltisinden 10mL alınıp pH 'ı derişik NaOH ve HCl çözeltileri ile 9'a ayarlandı. 50'şer mg'lık iki ayrı reçine örneği tartılıp 25mL'lik yuvarlak dipli iki balona alındı. Bu reçinelerden biri pH'ı 9 olan fosfat çözeltisi ile diğeri ise deiyonize su ile 2-3 defa yıkanarak aktif hale getirildi. Önceden hazırlanmış olan 300mM'lık rasemik mandelik asit karışımından 0.5'şer mL'lik iki örnek alınıp biri yine pH'ı 9'a ayarlı fosfat çözeltisi ile diğeri ise deiyonize su ile hacimleri 5'er mL'ye tamamlandı. Böylece mandelik asit konsantrasyonu 30mM'a düşürülmüş oldu. Önceden aktive edilmiş reçine üzerine rasemik karışım ilave edilip çalkalamaya bırakıldı( Çalkalama hızı 120rpm/dk). 1 saatlik süre sonunda çalkalayıcı kapatılarak balonlar

mıknatis üzerine alınıp reçineler çöktürüldü (Çalışmanın tümünde çalkalama işlemleri 120rpm/dk çalkalama hızında yapılmıştır). 5 mL'lik nünunelerin tamamı bir ayırma hunisine alınıp 5'er mL'lik dietil eter ile üç kez ekstrakte edildi (toplamda her bir nünune için 15mL dietil eter harcandı). Daha sonra eter fazı su banyosunda uçurulup elde edilen katı 1/1 oranında n-heksan/isopropanol karışımına alınarak HPLC de analiz edildi (Sonuçlar ile ilgili grafikler Ek17-18'de gösterilmiştir).

Yapılan analizler sonucunda pH'ı 9'a ayarlı fosfat çözeltisi ile rasemik karışımın etkileştiği fakat deiyonize su ile rasemik karışımın etkileşmediği gözlemlendi, dolayısıyla deiyonize suyun rezolüsyon için uygun olmadığı anlaşıldı.

#### 3.2.7. Organik Çözücüde Yapılan Rezolüsyon Çalışmaları

Kullanılan organik çözücülerin rezolüsyona olan etkisinin anlaşılabilmesi için deneyler bir kez de fosfat çözeltisi kullanılmadan organik çözücüler ile yapıldı. Çalışma HPLC analizleri için kullanılan 1/1 oranındaki n-heksan/isopropanol (HPLC grade) karışımı ile yapıldı. 90mg reçine tartılarak 1/1 oranında hazırlanan organik çözücü karışımı ile 2-3 defa yıkandı ve reçine aktive edildi. Sonrasın da (R) ve (S)- mandelik asitten eşit miktarlarda(95.2 mg'şar) alınıp 10mL'lik bir balonjojede 1/1 oranında hazırlanan organik çözücü karışımında tamamen çözüldü. Böylelikle 124mM'lık stok rasemik mandelik asit karışımı hazırlandı. Hazırlanan stok rasemik mandelik asit karışımından 1mL alınıp 1/1 oranındaki n-heksan/isopropanol karışımı ile toplam hacim 10mL'ye tamamlandı. Konsantrasyon 12.4mM'a düşürülmüş oldu. 12.4mM'lık rasemik karışım önceden aktive edilmiş olan reçine üzerine ilave edilerek çalkalanmaya bırakıldı. Bu sırada kronometre açık tutularak sırası ile 5dk, 20dk, 45dk, 60dk, 90dk ve 120dk sürelerinde çalkalayıcı kapatılıp reçine mıknatis üzerinde çöktürüldü ve berrak kısımdan her seferinde 0.5mL'lik örnekler alındı. Alınmış olan bu örnekler HPLC de

analiz edildi (Sonuçlar ile ilgili grafikler Ek19-24'te gösterilmiştir). Sonuçlar değerlendirildiğinde organik çözücünün rezolüsyon üzerine herhangi bir etkisinin olmadığı görüldü.

### **3.2.8. pH 5'te Yapılan Rezolüsyon Çalışmaları**

100mM'lık stok fosfat çözeltinin konsantrasyon değeri 50mM'a, pH'ı derişik HCl ve NaOH çözeltileri kullanılarak 5'e ayarlandı. 90mg reçine bir behere alınarak hazırlanmış olan bu çözelti ile 2-3 defa yıkanıp aktif hale getirildi. Önceden deiyonize su ile hazırlanmış olan 300mM'lık rasemik stok çözeltiden 0.5mL alınıp pH'ı 5 olan fosfat çözeltisi ile hacim 5mL'ye tamamlandı. Böylece rasemik karışımın konsantrasyonu 30mM'a düşürülmüş oldu. Hazırlanmış olan rasemik karışım aktive edilmiş reçine üzerine ilave edilerek çalkalanmaya bırakıldı. Bu esnada kronometre açık tutulup sırası ile 1dk, 5dk, 20dk, 45dk ve 60dk'lık çalkalama işlemleri sonrasında çalkalayıcı kapatılıp reçine mıknaş üzerinde çöktürülerek berrak kısımdan her seferinde 0.5mL'lik örnekler alındı. Bu örneklerin her biri her defasında 1mL'lik dietil eter ile 5 defa ekstrakte edilip mandelik asit eter fazına alındı. Son olarak eter su banyosunda uçuruldu, geriye kalan katı 1/1 oranında hazırlanmış olan n-heksan/isopropanol karışımına alınıp HPLC de analiz edildi (Sonuçlar ile ilgili grafikler Ek25-29'da gösterilmiştir).

### **3.2.9. pH 4.4'te Yapılan Rezolüsyon Çalışmaları**

100mM stok fosfat çözeltisinden 10mL alınıp konsantrasyonu 50mM'a, pH değeri 4.4'e ayarlandı ve 90mg reçine alınıp pH'ı 4.4 olan fosfat çözeltisi ile 2-3 kez yıkanıp aktive edildi. Daha önce deiyonize suda çözümlenerek hazırlanan 300mM'lık rasemik mandelik asit karışımından 0.5mL alınarak pH 4.4 olan fosfat çözeltisi ile hacim

### 3. MATERYAL VE METOT

---

5mL'ye tamamlandı. Daha sonra aktif hale getirilmiş reçine üzerine ilave edilerek çalkalanmaya bırakıldı. Kronometre ile süre tutularak sırasıyla 1dk, 5dk, 20dk, 45dk ve 60dk'larda çalkalayıcı kapatılıp 0.5'er mL'lik örnekler alındı. Alınmış olan bu örneklerin her biri her defasında 1mL'lik dietil eter ile beş defa ekstrakte edildi (toplamda her bir örnek için 5 mL'lik eter harcandı). Ekstrakte işleminden sonra eter fazı su banyosunda uçurularak geriye kalan beyaz katı 1/1 oranında hazırlanmış olan n-heksan/isopropanol karışımına alındı ve HPLC de analiz edildi (Sonuçlar ile ilgili grafikler Ek30-34'te görülmektedir).

#### 3.2.10. pH 4'te Yapılan Rezolüsyon Çalışmaları

100mM stok fosfat çözeltisinden 10mL alınıp konsantrasyon değeri 50mM'a ve derişik HCl ve NaOH çözeltileri kullanılarak pH'ı 4'e ayarlandı. 90mg reçine tartılıp pH'ı 4'e ayarlı fosfat çözeltisi ile 2-3 kez yıkanıp aktif hale getirildi. Önceden deiyonize suda çözümlenerek hazırlanmış olan 300mM stok rasemik çözeltiden 0.5mL alınıp pH'ı ayarlanmış fosfat çözeltisi ile hacim 5mL'ye tamamlandı. Aktive edilmiş reçine üzerine ilave edilip çalkalanmaya bırakıldı. Bu esnada kronometre çalıştırılarak sırası ile 1dk, 5dk, 20dk, 45dk ve 60dk'lık çalkalama süreleri sonrasında çalkalayıcı kapatılıp karışım miknatis üzerine alındı ve reçine çöktürüldü. Berrak kısmından her seferinde 0.5mL'lik örnekler alındı. Örneklerin her biri her defasında 1'er mL'lik dietil eter ile 5'er defa ekstrakte edilerek mandelik asidin eter fazına geçmesi sağlandı. Daha sonra eter fazı su banyosunda uçurularak geriye kalan katı 1/1 oranında hazırlanmış olan n-heksan/isopropanol karışımına alınıp HPLC de analiz edildi (Sonuçlar ile ilgili grafikler Ek35-39'da gösterilmiştir).

#### 3.2.11. pH 2.2 'de Yapılan Rezolüsyon Çalışmaları



100mM stok fosfat çözeltiden 10mL alınıp konsantrasyonu 50mM'a seyreltildi ve pH'ı HCl ve NaOH çözeltileri kullanılarak 2.2'ye ayarlandı. 90mg reçine tartılıp pH'ı önceden 2.2'ye ayarlanmış olan fosfat çözeltisi ile 2-3 kez yıkandı. Deiyonize su ile hazırlanmış olan stok mandelik asit çözeltisinden 0.5mL alınıp pH değeri ayarlanmış olan fosfat çözeltisi ile toplam hacim 5mL'ye tamamlandı. Böylece yeni konsantrasyon 30mM'a düşürüldü. Hazırlanmış olan rasemik mandelik asit karışımı önceden yıkayıp aktive edilmiş reçine üzerine ilave edilerek çalkalanmaya bırakıldı. Bu esnada kronometre çalıştırılarak sırası ile 1dk, 5dk, 20dk, 45dk ve 60dk'lık çalkalanma süreleri sonunda çalkalayıcı kapatılıp karışım mıknatıs üzerinde çöktürülerek berrak kısmından her süre için 0.5mL'lik örnekler alındı. Alınmış olan bu örneklerin her biri her defasında 1mL dietil eter ile 5 defa ekstrakte edildi. Mandelik asit eter fazına alındıktan sonra küçük bir balonda evapore edildi. Balonda kalan beyaz katı 1/1 oranında hazırlanmış olan n-heksan/isopropanol karışımına alınarak HPLC de analiz edildi (Sonuçlar ile ilgili grafikler Ek40-44'te gösterilmiştir).

### 3.2.12. pH 3.5'teYapılan Rezolüsyon Çalışmaları

Stok 100mM fosfat çözeltisinden rezolüsyonda kullanılan miktar kadar alınıp konsantrasyon değeri 50mM'a, pH'ı pH metre yardımıyla derişik HCl ve NaOH çözeltileri kullanılarak 3.5'a ayarlandı. 90mg reçine tartılıp pH'ı ayarlanmış fosfat ile 2-3 defa yıkanarak aktif hale getirildi. Deiyonize su ile hazırlanan 300mM stok rasemik mandelik asit karışımından 0.5mL alınıp pH değeri ayarlanmış olan fosfat çözeltisi ile toplam hacim 5mL'ye tamamlandı. Daha sonra aktif hale getirilmiş olan reçine üzerine ilave edilerek çalkalanmaya bırakıldı. Kronometreden süre ayarı yapılip sırasıyla 1dk, 5dk, 20dk, 45dk ve 60dk'lık sürelerle çalkalama işlemleri sonrasında çalkalayıcı kapatılıp reçine bir mıknatıs yardımı ile çöktürüldü ve berrak kısımdan 0.5mL'lik örnekler alındı. Alınmış olan örneklerin her biri beş ayrı defa her seferinde 1mL'lik

### 3. MATERYAL VE METOT

---

dietil eter ile ekstrakte edildi ve mandelik asit eter fazına alındı. Eter fazı evapore edilerek balonda kalan katı 1/1 oranında hazırlanmış olan n-heksan/isopropanol karışımına alınıp HPLC de analiz edildi (Sonuçlar ile ilgili grafikler Ek45-49'da gösterilmiştir).

#### **3.3. 25mM Fosfat Çözeltisi ile 15mM Rasemik Mandelik Asit Kullanılarak Yapılan Rezolüsyon Çalışmaları**

100mM'lık stok fosfat çözeltisinin konsantrasyon değeri seyreltmeyle 25mM'a düşürüldü ve pH'ı derişik HCl ve NaOH çözeltileri ile 4'e ayarlandı. 180mg reçine tartılıp pH'ı 4'e ayarlanmış fosfat çözeltisi ile 2-3 kez yıkanıp aktif hale getirildi. 300mM rasemik mandelik asidin stok çözeltisinden 0.5mL alınıp pH'ı 4'e ayarlanmış fosfat çözeltisi ile hacmi 10mL'ye tamamlandı. Böylece yeni konsantrasyon 15mM'a düşürüldü. Hazırlanmış olan rasemik mandelik asidin 15mM'lık karışımı önceden aktive edilmiş reçine üzerine ilave edilerek bir çalkalayıcıda çalkalanmaya bırakıldı. Bu sırada kronometre çalıştırılıp sırası ile 1dk, 5dk, 20dk, 45dk ve 60dk'lık çalkalama süreleri sonrası, karışım çalkalayıcıdan çıkarılıp reçine çöktürüldü. Karışımın berrak kısmından 1mL'lik örnekler alındı. Alınan her bir örnek her defasında 1mL'lik dietil eter ile beş defa ekstrakte edildi ve mandelik asit eter fazına alındı. Daha sonra eter fazı evapore edilip geriye kalan katı 1/1 oranında hazırlanmış olan n-heksan/isopropanol karışımına alınıp HPLC de analiz edildi (Analiz sonuçları ile ilgili grafikler Ek50-54'te gösterilmiştir).

#### **3.4. 50mM Fosfat Çözeltisi ile 20mM Rasemik Mandelik Asit Kullanılarak Yapılan Rezolüsyon Çalışmaları**

Önceden hazırlanmış olan 100mM'lık stok fosfat çözeltisinden rezolüsyonda kullanılacak miktar kadar alınıp konsantrasyon değeri 50mM'a, pH'ı ise derişik HCl ve NaOH çözeltileri ile 4'e ayarlandı. 135mg reçine tartılıp ayarlanmış olan fosfat çözeltisi ile 2-3 kez yıkanarak aktive edildi. 300mM'lık stok rasemik asit çözeltisinden 0.5mL alınıp pH değeri ayarlanmış fosfat çözeltisi ile hacim 7.5mL'ye tamamlandı. Böylece yeni konsantrasyon değeri 20mM'a düşürüldü. Konsantrasyonu ayarlanmış rasemik asit çözeltisi aktive edilmiş reçine üzerine ilave edilerek çalkalanmaya bırakıldı. Bu sırada kronometreden zaman ayarı yapıp sırası ile 1dk, 5dk, 20dk, 45dk ve 60dk'lilik çalkalanma süreleri sonrası, reçine mıknatıs ile çöktürüldü ve berrak kısmından her bir süre için 0.5'er mL'lik örnekler alındı. Alınan örneklerin her biri her defasında 1mL'lik dietil eter ile ekstrakte edildi ve mandelik asit eter fazına alındı. Daha sonra eter evapore edilerek geriye kalan katı 1/1 oranında hazırlanmış olan n-heksan/isopropanol karışımına alınıp HPLC de analiz edildi (Analiz sonuçları ile ilgili grafikler Ek55-59'da gösterilmiştir).

### **3.5. 65mM Fosfat Çözeltisi ile 40mM Rasemik Mandelik Asit Kullanılarak Yapılan Rezolüsyon Çalışmaları**

100mM'lık stok fosfat çözeltisinden rezolüsyonda kullanılacak miktar kadar alınıp konsantrasyon değeri 65mM'a ve pH'ı derişik HCl ve NaOH çözeltileri ile 4'e ayarlandı. 90mg reçine tartılıp ayarlanmış olan fosfat çözeltisi ile 2-3 kez yıkanarak aktive edildi. 300mM stok rasemik mandelik asit çözeltisinden 0,667mL alınıp pH ve konsantrasyonu ayarlanmış fosfat çözeltisi ile toplam hacim 5mL'ye tamamlandı. Böylece yeni konsantrasyon değeri 40mM'a düşürülmüş oldu. Konsantrasyonu ayarlanmış rasemik mandelik asit karışımı, pH 4 olan fosfat çözeltisi ile aktif hale

### 3. MATERYAL VE METOT

---

getirilmiş reçine üzerine ilave edilerek sırası ile 1dk, 5dk, 20dk, 45dk ve 60dk'lık sürelerde karıştırıldı. Karıştırma sonrası her bir süre için 0.5mL'lik örnekler alındı. Her bir örnek her defasında 1mL'lik dietil eter ile beş defa ekstrakte edildi ve mandelik asit eter fazına alındı. Daha sonra eter evapore edilip geriye kalan katı 1/1 oranında hazırlanmış olan n-heksan/isopropanol karışımına alınıp HPLC de analiz edildi (Analiz sonuçları ile ilgili grafikler Ek60-64'te gösterilmiştir).

#### **3.6. 50mM Fosfat Çözeltisi ile 60mM Rasemik Mandelik Asit Kullanılarak Yapılan Rezolüsyon Çalışmaları**

100mM stok fosfat çözeltisinden rezolüsyonda kullanılacak miktar kadar alıp, konsantrasyonu 50mM'a seyreltildi, pH'ı ise derişik HCl ve NaOH çözeltileri ile 4'e ayarlandı. 90mg reçine tartılıp pH değeri ayarlanmış olan çözelti ile 2-3 defa yıkanıp aktive edildi. 300mM'lık stok rasemik mandelik asit karışımından 0.5mL alınıp pH'ı ayarlanmış fosfat çözeltisi ile toplam hacmi 2.5mL'ye tamamlandı. Böylece rasemik mandelik asit karışımının yeni konsantrasyonu 60mM oldu. Konsantrasyonu ayarlanmış rasemik mandelik asit karışımı, pH'ı 4'e ayarlı fosfat çözeltisi ile yıkanıp aktive edilmiş reçine üzerine ilave edilerek çalkalanmaya bırakıldı ve kronometreden zaman ayarı yapıldı. Sırası ile 1dk, 5dk, 20dk, 45dk ve 60dk'lık çalkalama işlemleri sonrası çalkalayıcı kapatılarak, reçine mıknatıs ile çöktürüldü. Her bir süre için 0.25'er mL'lik örnekler alındı. Örneklerin her biri her defasında 1mL'lik dietil eter ile beş defa ekstrakte edildi ve mandelik asit eter fazına alındı. Daha sonra eter evapore edilerek geriye kalan katı 1/1 oranında hazırlanmış olan n-heksan/isopropanol karışımına alınarak HPLC de analiz edildi (Analiz sonuçları ile ilgili grafikler Ek65-69'da gösterilmiştir).

### 3.6.1. Manyetik Alanın Rezolüsyon Üzerine Etkisini İnceleyen Çalışmalar

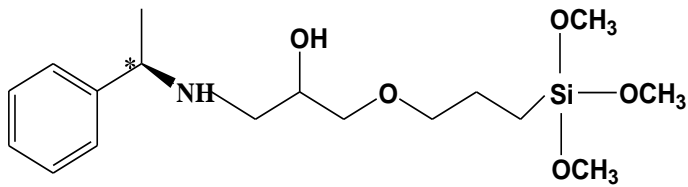
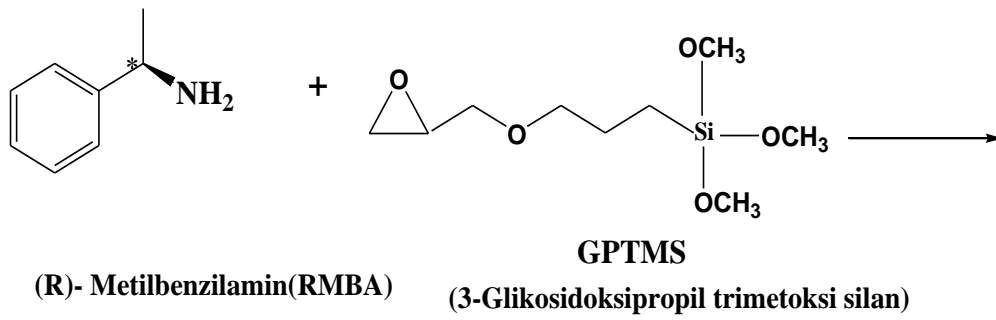
Yapılmış olan deneysel çalışmalar göz önüne alındığında en iyi sonucun pH 4'te elde edildiği görüldü. Bundan ötürü, bu pH'ta farklı deneysel koşullar denenerek elde edilebilecek verimin artırılması hedeflendi. Bu amaçla manyetik alanın rezolüsyon üzerine olan etkisi bir deney ile araştırıldı. Daha önce hazırlanmış olan 100mM'lık stok fosfat çözeltisinden bir miktar alınıp konsantrasyonu 50mM'a ve pH'ı 4'e ayarlandı. 5dk, 20dk, 45dk ve 60dk'lardaki her bir süre için ayrı ayrı 90 mg'lık reçineler tartılıp her reçine 2-3 defa belli pH'daki fosfat çözeltisi ile yıkanıp aktif hale getirildi. 300mM'lık stok rasemik mandelik asit karışımından yukarıda belirtilen her bir süre için 0.5'er mL'lik örnekler alınıp pH'ı ayarlanmış fosfat çözeltisi ile hacim 5mL'ye tamamlandı. Böylece yeni konsantrasyon değeri 30mM'a düşürüldü. Bu konsantrasyondaki rasemik mandelik asit karışımları aktive edilmiş reçineler üzerine tatbik edilerek çalkalayıcıya alındı. Kronometre ile zaman ayarı yapıldı. Süresi dolan her bir karışım çalkalayıcıdan çıkarılıp mıknatıs üzerinde çöktürülerek berrak kısmından 0.5'er mL'lik örnekler alındı. Alınmış olan örneklerin her biri her defasında 1mL'lik dietil eter ile beş defa ekstrakte edildi ve mandelik asit eter fazına alındı. Daha sonradan eter fazı evapore edilip geriye kalan katı 1/1 oranında hazırlanmış olan n-heksan/isopropanol karışımına alınıp HPLC de analiz edildi (Sonuçlar ile ilgili grafikler Ek70-73'te gösterilmiştir).

### 3.7. Deneyde Kullanılmış Olan Silika Kaplı Manyetik Nanoparçacıklar İçeren Reçinenin Sentez Basamakları

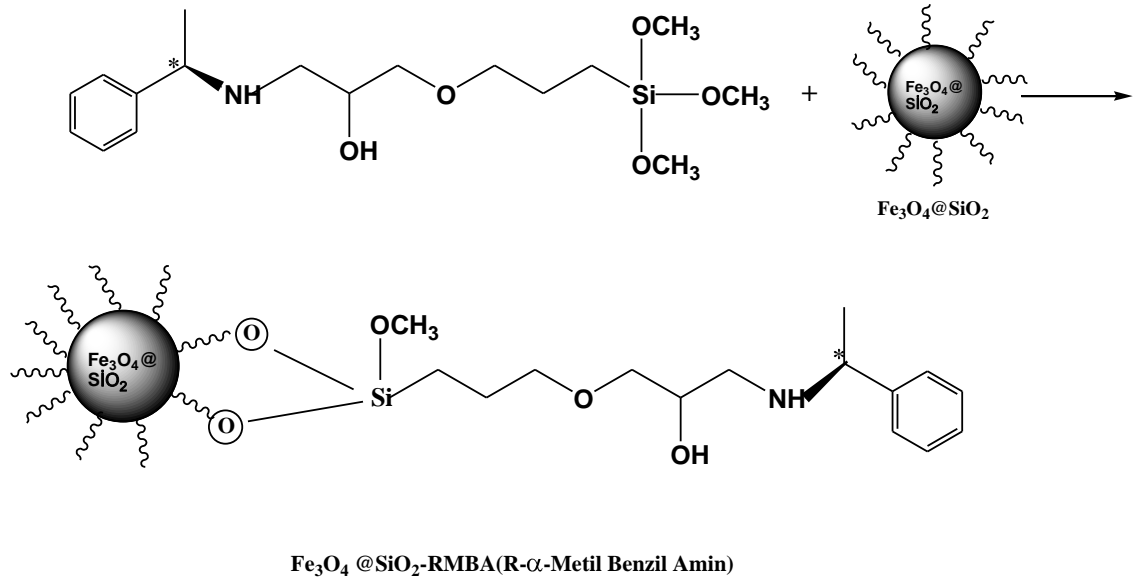
Sentezlenmiş olan  $Fe_3O_4@SiO_2$  manyetik nanoparçacıklarının SEM görüntüleri şekil.3.6'da gösterilmiştir.

### 3. MATERYAL VE METOT

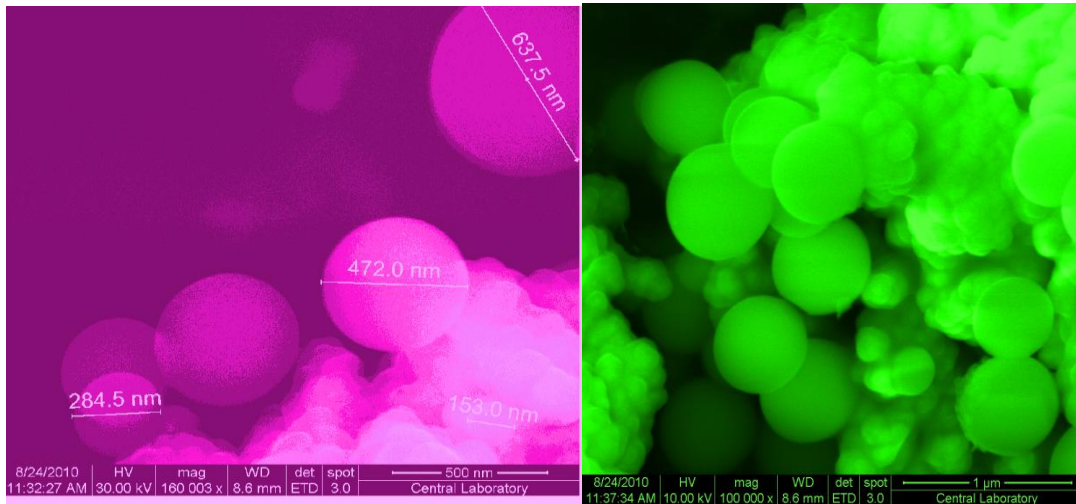
---



Şekil.3.4. GPTMS ile kiral aromatik aminin etkileşimi

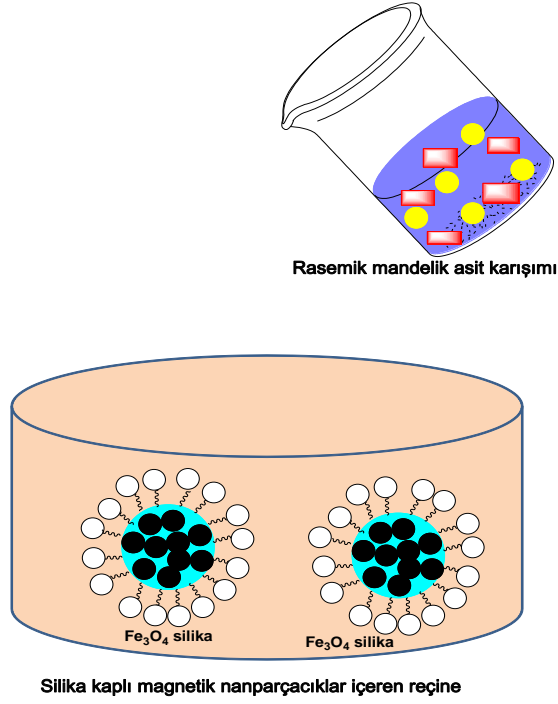


Şekil.3.5. Silika kaplı manyetik nanoparçacık içeren reçinenin sentez reaksiyonu



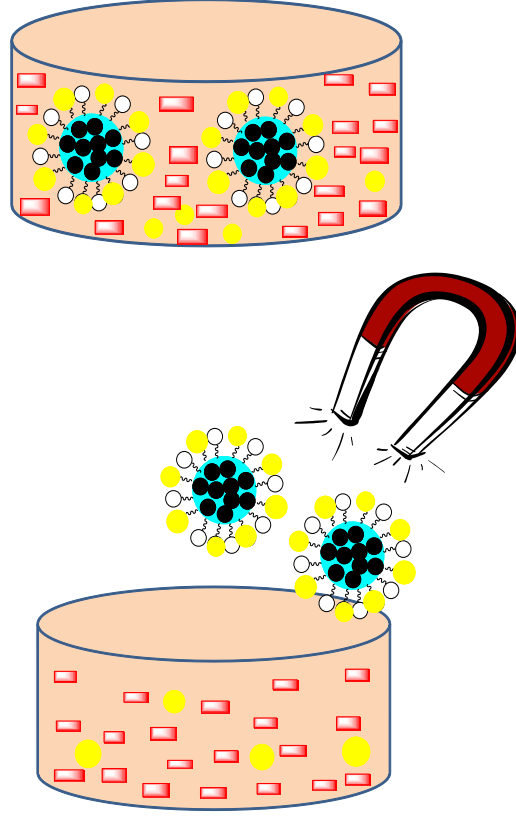
Şekil.3.6.  $\text{Fe}_3\text{O}_4 @ \text{SiO}_2$  manyetik nanoparçacıklarının SEM görüntüleri

#### 3.8. Deneyin Şematik Gösterimi



Şekil.3.7. Silika kaplı manyetik nanoparçacıklar içeren reçine ile rasemik mandelik asit etkileşimi





**Şekil.3.8.** Sarı renkli küreler S enantiyomeri, kırmızı renkli dikdörtgenler ise R enantiyomeri göstermektedir.

### 3.9. HPLC ile Çalışma Koşulları

Kullanılan HPLC Thermo Elektro corporation, Thermo Finnigan LC pump Surveyor, Auto sampler Surveyor, Finnigan Surveyor ve PDA Plus Detector

### 3. MATERYAL VE METOT

---

özelliklerine sahiptir. Kullanılan HPLC kolon, AD-H kiral kolon olup yürütücü faz olarak n-heksan/isopropanol/trifloro asetik asit(TFA) karışımı 80/20/0.1 oranlarında karıştırılarak kullanıldı. Akış hızı 0.8mL/min  $\lambda=230\text{nm}$  olarak ayarlandı. İnjesiyon hacmi 20 $\mu\text{L}$  olarak belirlendi. S enantiyomerinin alıkonma süresi: 8.5-9.2 dakikaları arasında, R enantiyomerinin alıkonma süresi: 9.3-9.7 dakikaları arasında gözlemlendi. Rasemik karışım halinde kolona verildiğinde ise S enantiyomeri 8.5'inci dakikada, R enantiyomeri sinyali ise 9.7 dakikada gözlemlendi. Çalışmalarda kullanılan çözücüler HPLC grade olarak ticari yolla temin edildi.



#### 4. BULGULAR ve TARTIŞMA

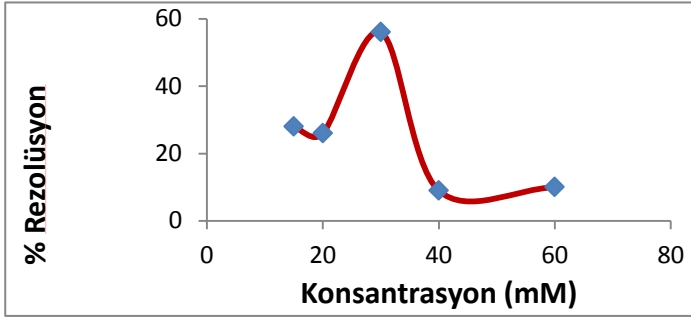
Çalışmamızda, mandelik asidin kiral nanomanyetik yüzey kullanılarak rezolüsyonu amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda farklı koşullar denenerek, çalışmanın verimi arttırılmak istendi. Deneysel çalışmalarda farklı konsantrasyonlarda mandelik asitin rasemik karışımları hazırlandı ve bu farklı konsantrasyondaki karışımlardan hangisinin optimum koşulları sağladığı araştırıldı. Rezolüsyon çalışmaları farklı çözücü ortamlarında gerçekleştirildi ve  $K_2HPO_4$  veya  $KH_2PO_4$ 'ün sulu çözeltilerinin çalışma ortamı için en uygun çözeltiler oldukları belirlendi. Çalışma için en elverişli çözelti ortamı tespit edildikten sonra, hangi pH'da maksimum verimin elde edilebileceği üzerine çeşitli çalışmalar yapıldı. Aynı zamanda farklı konsantrasyonlarda fosfat çözeltileri hazırlanıp çalışma koşulları için optimum pH ve optimum konsantrasyon tespit edildi. Bunun yanı sıra çalışmada kullanılan silika kaplı manyetik nanoparçacıklar içeren reçineden farklı miktarlarda alınıp çalışma için en uygun miktarın belirlenmesi sağlandı. Manyetik alanın çalışma ortamı üzerine etkisi olup olmadığı 3.6.1'deki deney ile test edildi. Bunun dışında zamana karşı çalışılarak, verimin maksimum olduğu zaman aralığı tespit edildi.

##### 4.1. Rasemik Mandelik Asit'in Farklı Konsantrasyonlarının Rezolüsyona Etkisi

Deneysel çalışmada rasemik mandelik asit için farklı konsantrasyonlarda stok çözeltiler hazırlandı. Bu konsantrasyon değerleri daha sonra ihtiyaç duyulduğunda

## 4. BULGULAR VE TARTIŞMA

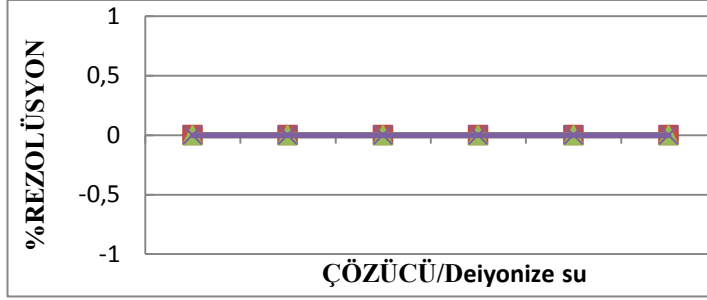
farklı konsantrasyon değerlerine seyreltildi. İlk olarak 300mM ve 124mM stok çözeltiler hazırlandı. Yapılan teorik hesaplamalarla stok çözeltilerin konsantrasyon değerlerinin çalışma için yüksek olduğu görüldü ve bu konsantrasyon değerleri sırasıyla 60mM, 40mM, 30mM, 20mM, 15mM ve 12,4mM değerlerine seyreltilerek çalışıldı. Şekil.4.1'deki grafikten de anlaşıldığı üzere en yüksek rezolüsyon verimi 30mM'da elde edildi ve deneylerin çoğu bu konsantrasyona sahip rasemik mandelik asit karışımı ile yapıldı.



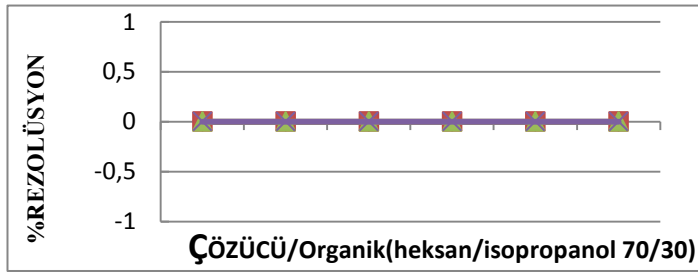
Şekil.4.1. Konsantrasyonunu % rezolüsyona karşı grafiği

### 4.2. Çözücünün Rezolüsyona Etkisi

Deneylerin yürütülmesinde en uygun çözücü ortamının tespit edilebilmesi için bir dizi deneysel çalışmalar yapıldı. Deneysel işlemlerde kullanılan çözücüler; deiyonize su, fosfat çözeltisi ve n-heksan ve isopropanolün değişik oranlardaki karışımlarıdır (90:10, 80:20, 70:30, 85:15, 50:50 n-heksan:isopropanol). Fosfat çözeltisi içinde çalışıldığında yüksek rezolüsyon değerlerine ulaşılmasına rağmen, organik çözücü karışımında ve deiyonize su içerisinde çalışıldığında herhangi bir rezolüsyon gözlenmedi. Çalışma ile ilgili grafikler şekil.4.2 ve şekil.4.3'te gösterilmiştir.



Şekil.4.2. Deiyonize suyun % rezolüsyona karşı grafiği



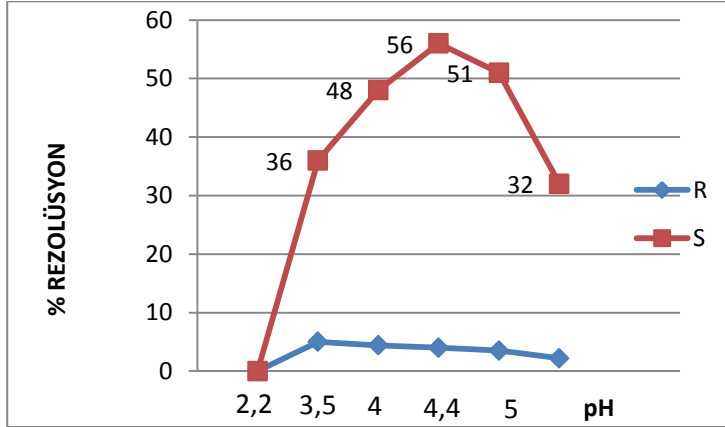
Şekil.4.3. Organik çözücünün % rezolüsyona karşı grafiği

### 4.3. pH'ın Rezolüsyona Etkisi

Önceki çalışmalarda fosfat çözeltisinin deneysel çalışmalar için en uygun ortam olduğu tespit edildi. Bu aşamada belirlenmesi gereken, çalışma için optimum pH değeridir. Öncelikle nötr ortam ve nötr ortama yakın pH'larda çalışıldı. pH 6, pH 7 ve pH 8 ile yapılan çalışmalarda pH 8'in en uygun pH olduğu gözlemlendi. Bu durumda yapılacak olan çalışmaların bazik ortamda olması gerektiği

#### 4. BULGULAR VE TARTIŞMA

düşünüldü ve sonraki çalışmada pH 8 ve pH 9 değeri kıyaslandı. pH 9’da daha iyi sonuçlar elde edildiği ancak HPLC sonucundaki pikler incelendiğinde grafiklerin beklendiği gibi olmadığı ve bunu nedeni olarak bu pH’ta kullandığımız fosfat çözeltisi ile rasemik mandelik asit karışımının asit-baz etkileşiminden dolayı reaksiyona girmiş olma ihtimali ağırlık kazandı. Bundan sonraki çalışmalar asidik ortam üzerinden yürütüldü. Sırası ile pH 5, pH 4.4, pH 4, pH 2.2 ve pH 3.5 pH değerlerine sahip fosfat çözeltileri ile çalışmalar yürütüldü. HPLC grafik sonuçları göz önünde bulundurularak Şekil.4.4’te olduğu gibi en iyi sonucun pH 4’te alındığı görüldü.



Şekil.4.4. pH’in % rezolüsyona etkisi

#### 4.4. Fosfat Çözeltisinin Konsantrasyon Değerinin Rezolüsyona Etkisi

Fosfat çözeltisi için uygun pH’ın 4 olarak belirlenmesinden sonra, fosfat çözeltisi için optimum konsantrasyon değeri belirlendi. İlk hazırlanan stok fosfat çözeltisi 100mM’lıktı. Fakat deneysel hesaplamalar bu değerin, çalışmalar için gereğinde fazla

derişik olduğunu gösterdi. Stok çözelti, değişik konsantrasyonlara seyreltilip (65mM, 50mM, ve 25mM) rezolüsyon çalışmaları yapıldı. Sonuçlar göz önüne alınarak değerlendirildiğinde, rezolüsyon için en uygun konsantrasyon değerinin 50mM olduğu tespit edildi.

#### **4.5. Reçine Miktarının Rezolüsyona Etkisi**

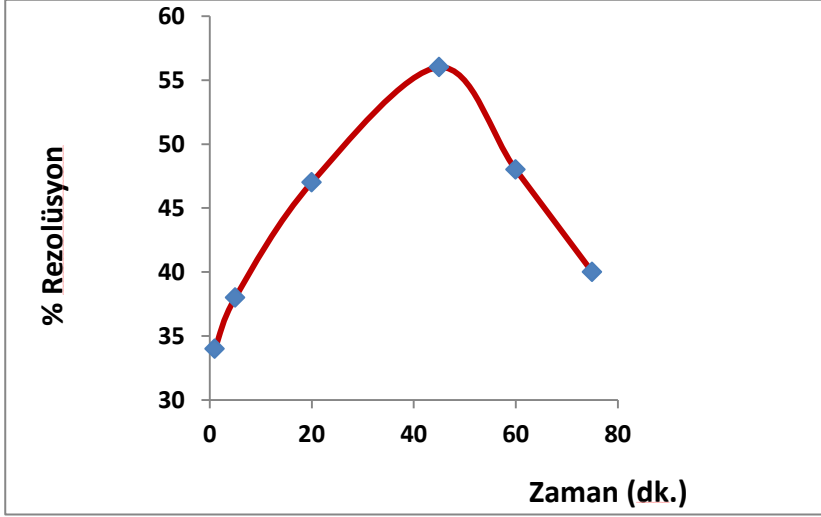
Kullanılan silika kaplı manyetik nanoparçacıklar içeren reçineden az miktarda veya çok miktarda alınmasının, reçinenin rezolüsyon kapasitesini etkileyebileceği düşünöldü. Bu düşünce ile farklı miktarlarda reçineler tartılarak çalışmaları yapıldı ve sonuçlar dikkate alınıp en uygun reçine miktarı tespit edildi. Kullanılan reçine miktarları; 200mg, 180mg, 135mg, 100mg, 90mg ve 50mg'dı. En iyi sonuçlar 90mg'lık reçine ile yapılan çalışmalarda alındı.

#### **4.6. Sürenin Rezolüsyona Etkisi**

Değişik zaman aralıklarında çalışılarak reçinenin maksimum rezolüsyonu yapabildiği zaman aralığı tespit edildi. Çalışılan zaman aralıkları: 0dk, 1dk, 5dk, 20dk, 30dk, 45dk, 60dk, 90dk ve 120dk'dır. En yüksek verimin, belirli pH ve farklı konsantrasyonlardaki rasemik mandelik asit çözeltilerinin bazılarında 5dk, bazılarında 20dk ve bazılarında ise 45dk olduğu tespit edildi. Ancak çalışmanın geneline bakıldığında, deneylerin çoğunda 45 dakikalık sürenin rezolüsyon için uygun olduğu göröldü. Şekil.4.5'teki grafikte süre çalışmasının sonuçları görölmektedir.



## 4. BULGULAR VE TARTIŞMA



Şekil.4.5. Zamanın %rezolüsyona karşı grafiği

### 4.7. Manyetik Alanın Rezolüsyona Etkisi

Bu çalışmada silika kaplı manyetik nanoparçacıklar kullanılması ve bu parçacıkları çöktürmek için dışarıdan bir manyetik alan uygulanması, yapılan çalışmalardaki verimin manyetik alandan etkilenip etkilenmeyeceği sorusunu akla getirdi. Bu amaçla manyetik alan etkisi 3.6.1’de belirtilen deneysel çalışma ile araştırıldı. Deney sonucunda manyetik alanın rezolüsyon üzerinde pozitif veya negatif bir etkisinin olmadığı görüldü.



## 5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Yapılmış olan bu çalışma ile mandelik asidin rezolüsyonu, çeşitli koşullar değiştirilerek ve silika kaplı manyetik nanoparçacıklar içeren reçine kullanılarak enantiyomerik fazlalığı hesaplanıp, rezolüsyon çalışmalarına farklı bir yöntem ve farklı bir bakış açısı kazandırılmak istendi. Bu tür çalışmalarda reaksiyonun gerçekleştiği çözücü ortamı ve çözücü konsantrasyonu, rezolüsyonu sağlanacak olan rasemik karışımın konsantrasyonu, ortamın pH'ı, kullanılacak olan reçinenin miktarı ve çalışılan zaman aralığının çok önemli hususlar olduğu ortaya konuldu. Bunların haricinde ayırmada kullanılan reçinenin, rezolüsyonu yapılacak olan madde ile yapabileceği etkileşimler(hidrojen bağı etkileşimi, sterik etki,  $\pi$ - $\pi$  etkileşimi gibi...) çok önemli olup, kullanılacak reçinede bu özelliklerin bulundurulmasına dikkat edildi. Yapılan çalışmada ilk etapta pH 9'da bir ayırmanın olduğu sanılsa da HPLC sonucunda pikler ve baseline dikkate alındığında bu pH'da fosfat çözeltisi ile mandelik asit arasında bir asit-baz reaksiyonu gerçekleştiği ve sanıldığı gibi bir ayırmanın olmadığı anlaşıldı. Bu durumda asit-baz etkileşiminin önlenmesi için asidik ortam çalışılması gerektiği düşünüldü. pH 9 öncesinde pH 6, pH 7 ve pH 8 ile çalışılıp ve bu pH değerlerinden bir sonuç alınmadığından çalışmaların daha asidik ortamlarda sürdürülmesi gerektiği anlaşıldı. pH 5 ile yapılmış olan çalışmadan çok az da olsa sonuç alındığından pH'ın daha düşük olduğu ortamlarda çalışmaların yürütülmesi gerektiği öngörüldü. pH 4.4 ile elde edilmiş olan sonuçların pH 5'e göre daha iyi olması umut verici olduğundan, sonraki çalışmalar pH 4'te yürütüldü ve elde edilen sonuçların olumlu olduğu gözlemlendi. Dolayısıyla daha düşük pH'larda da çalışılması gerektiği düşünüldü. pH 2.2'de yapılan çalışmalar pH 4'te yapılan çalışmalar kadar verimli olmadığı gözlemlendi. İki pH değeri aralığında bulunana pH 3.5 ile de bir

çalışma yapıp ara pH'ta da enantiyomerik fazlalık ölçülerek ayırma işlemi için en uygun pH değeri tespit edilmek istendi. Çalışmanın yürütülmüş olduğu bütün pH değerleri dikkate alındığında elde edilen enantiyomerik fazlalığın en yüksek olduğu değer (%56 ef S) pH 4 olduğu görüldü. Tabii ki bu durum sürpriz değildir. Çünkü mandelik asidin pKa değerinin 3.41 olduğu düşünülürse, bu tür çalışmalarda pKa değerine yakın olan pH'da rezolüsyon veriminin daha yüksek olması beklenen bir durumdur. Literatürde kiral rezolüsyon ile ilgili olan çalışmalara bakıldığında bu çalışmaların çoğunun kolon dolgu maddesi (CSP) hazırlanmasına dayanan çalışmalar olduğu görülmektedir. Silika kaplı manyetik nanoparçacıklar kullanılarak yapılan bu tür rezolüsyon çalışmalarının literatürde çok az sayıda olması ve son zamanlarda bu tür çalışmaların öneminin artması, bu çalışmanın başarılı bir çalışma olduğunun ve literatürdeki yerinin önemli olduğunun göstergesidir. Aynı zamanda bu çalışma, klasik enantiyomerik rezolüsyon yöntemlerine üstünlük sağlamaktadır. Çünkü klasik yöntemlerde öncelikle bir kolon dolgu maddesi yani CSP'nin sentezlenmesi bunun kolona doldurulması, yürütücü bir fazın seçilmesi ve uzun süren işlemler sonucunda rezolüsyonun yapılması oldukça zaman alıcıdır. Fakat kullanılan bu yöntem ile herhangi bir kolon dolgu maddesi ve yürütücü faza gerek kalmadan, rezolüsyonu yapılacak madde ile buna uygun manyetik nanopartiküllü yüzeylere tutturulmuş ve kiral grup içeren bir reçine ile su fazı içerisinde belli bir süre etkileştirilerek, sonrasında bir çökelme ve santrifüj işlemine gerek kalmadan dışarıdan uygulanan güçlü bir manyetik alanla rezolüsyon gerçekleştirilebilmektedir. Ayrıca alınan örnekler uygun çözücü ortamına alınıp kısa sürede analize hazır hale getirilmektedir. Kısacası bu yöntemin klasik ayırma yöntemlerinden her bakımdan daha üstün ve daha avantajlı olduğu açıktır.



## KAYNAKLAR

Aneja, R., Luthra, P.M., Ahuja, S. 2009.High-performance liquid chromatography separation of enantiomers of mandelic acid and its analogs on chiral stationary phase. Chirality.2010 May 15;22(5):479-85.

Anonim ([www.gelecegindunyasi.com,2007](http://www.gelecegindunyasi.com,2007) ) Erişim yılı 09/10/2012

Anonim [www.ahmettutar.com/all\\_upload/image/stereokimyat2010-II.pdf](http://www.ahmettutar.com/all_upload/image/stereokimyat2010-II.pdf) Erişim yılı 09/01/2012

Balcı, H. 2006. Akıllı(Fonksiyonel) Tekstiller, Seçilmiş Kumaşlarda Antibakteriyel Apre ve Performans Özellikleri. Çukurova Üniversitesi, Yüksek lisans tezi, Adana,251s.

Chao, M. 2011. Chiral separation of D,L-mandelic acid through cellulose membranes. Chirality. 05/2011; 23(5): 379-382.

Chen, X. 2011. A facile enantioseparation for amino acids enantiomers using  $\beta$ -cyclodextrins functionalized Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanospheres. Chem. Commun.,2011,47,10317-10319

Choi, H.J., Hyun, M.H. 2009.Separation of enantiomers with magnetic silica nanoparticles modified by a chiral selector: Enantioselective fising. Journals Chemical Commuications Advence Articles DOI:10.1039/b908349a

Çakmak, R. 2008. Preparative resolution of chiral ( $\pm$ )- $\beta$ -methylphenylethylamine have biological activity a by Pirkle-type chiral column chromatography. Yüksek lisans tezi, Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Şanlıurfa, 80s.

## 6. KAYNAKLAR

---

Çelebi, B. 2010. Benzaldehid Liyaz (BAL) Safılaştırılmasında Kullanılması için Epoksi Grupları Bağlanmış Silica Kaplı Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> Manyetik Nanoparçacıkların Hazırlanması ve Karakterizasyonu. Yüksek lisans tezi, Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Diyarbakır, 59s.

Erkoç, Ş. 2007. Nanobilim ve Nanoteknolojide Gelişmeler ve Uygulamalar, Nanobilim ve Nanoteknoloji, ODTÜ Geliştirme Vakfı Yayıncılık ve İletişim A.Ş., Ankara, 2.7-27.

Feynman, R.P. 1959. There is Plenty of Room at the Bottom: An Invitation to Enter a New Field of Physics, Adres: <http://www.zyvex.com/nanotech/feynman.html>.

Hinze, W.L. 1984. Liquid Chromatographic Separation of Enantiomers using a Chiral Beta-Cyclodextrin Bonded Stationary phase and Conventional Aqueous Organic mobile phase. Anal. Chem. 1985, 57(1), pp237-242

Karadeniz, F. 2007. Kinetic resolution of 1-phenyl 1-propanol by enantioselective esterification with lipase catalyzed. Yüksek lisans tezi, Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü, Ankara,101s.

Karküçük, A. 2006. Synthesis of Chiral Compounds Using Chemical and Biotechnological Methods. Doktora tezi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya, 231s.

[NANOTEKNOJİ kimya.uzerine.com/index.jsp?objid=1078](http://kimya.uzerine.com/index.jsp?objid=1078)

n@nobülten 15 Aylık Nanoteknoloji ve Nanotıp Bilim Dergisi-Sayı Ocak 2012-  
www.nanott.hacettepe.edu.tr

Naschie, M.S.E. 2006. Nanotechnology for the Developing World. Chaos soliton& Fractals, 30(4): 769-773.

Nejem, R.M. 2004. Enantioselective Sensors and biosensors for clinical analysis. Doctor Thesis, University of Pretoria Faculty of Natural and Agricultural Sciences, Pretoria.

Özdoğan, E. Demir, A. Seventekin, N. 2006b. Nanoteknoloji ve Tekstil Uygulamaları. Tekstil ve Konfeksiyon 16(3):159-163

Rodgers, P. 2006. "Nanoelectronics: Single file". Nature Nanotechnology doi:10.1038/nano.2006.5

Sekhon, B.S. 2010. Enantioseparation of Chiral Drugs-An Overview. International Journal of Pharm Tech Research. Vol.2, No.2, pp 1584-1594

Schmid, G.M. 2000. Application of ligand-exchange capillary electrophoresis to the chiral separation of  $\alpha$ -hydroxy acids and  $\beta$ -blockers.

Sharifzadeh, M. 2006. Nanotechnology sector Report, Cronus Capital Markets, 1st Quarter.

Sheldon, R.A. 1993. Chirotechnology. Marcel Dekker, inc, 47-83 New York.

Solomons, G., and Fryhle, C.B.2002. Organic Chemistry. John Willey & Sons. Inc. Seventh Edition. 7. Basım

Vishal, J. 2006. Synthesis and Characterization of (S)-Aminoalcohol Modified M41S as Effective Material for the Enantioseparation of Racemic Compounds. Journal of Chromatography A, 1135 (2006) 186-193.



## 6. KAYNAKLAR

---

Yalınkılıç, İ. 2011. Cu-IDA Grupları Bağlanmış Silika Kaplı Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> Manyetik Nanoparçacıklarının Hazırlanması ve Histidin Etiketli Benzaldehid Liyaz (BAL) Enziminin Saflaştırılmasında Kullanılması. Yüksek lisans tezi, Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Diyarbakır, 73s.

Yılmaz, H. 2010. Resolution of (±)-β-Methylphenylethylamine by a Novel Chiral Stationary Phase for Pirkle-Type Column Chromatography. *Chirality* 22:252-257.

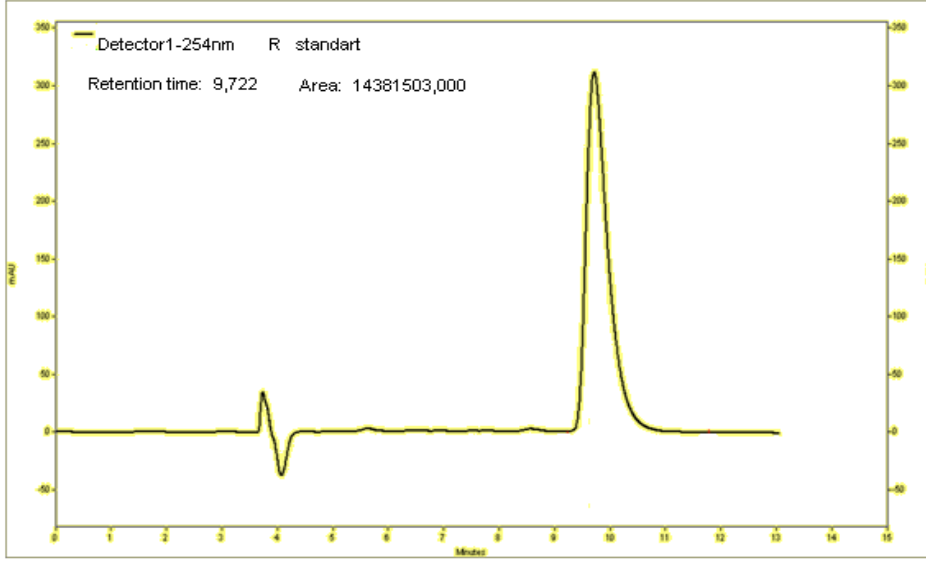


## 6. KAYNAKLAR

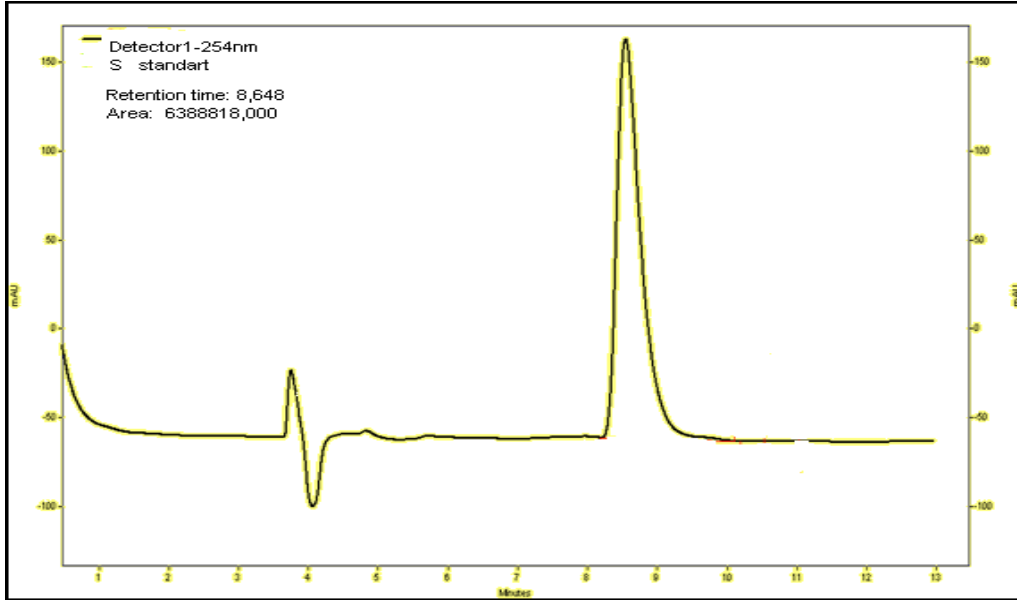
---



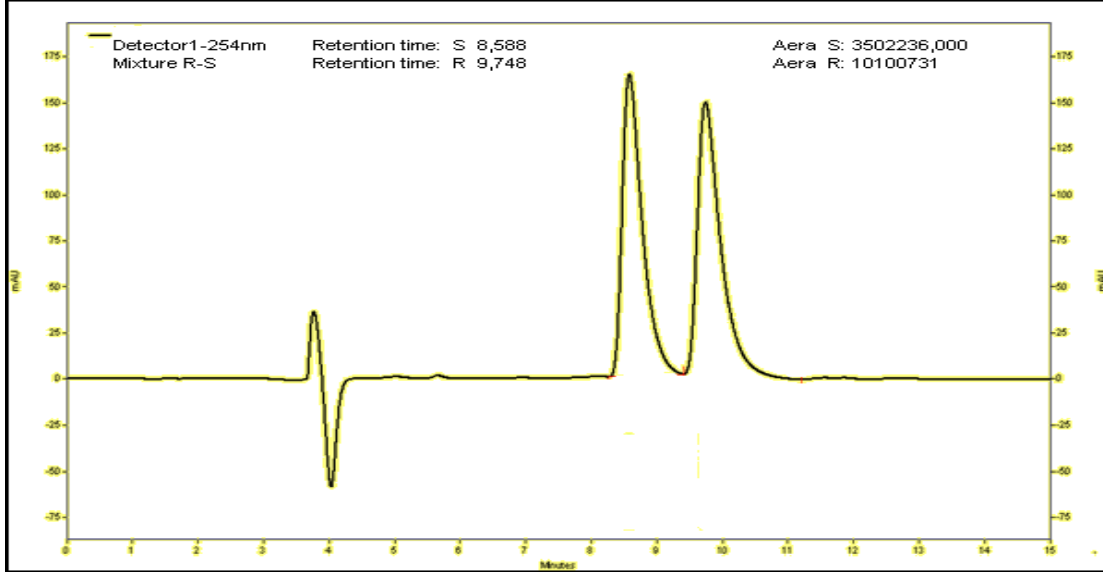
# EKLER



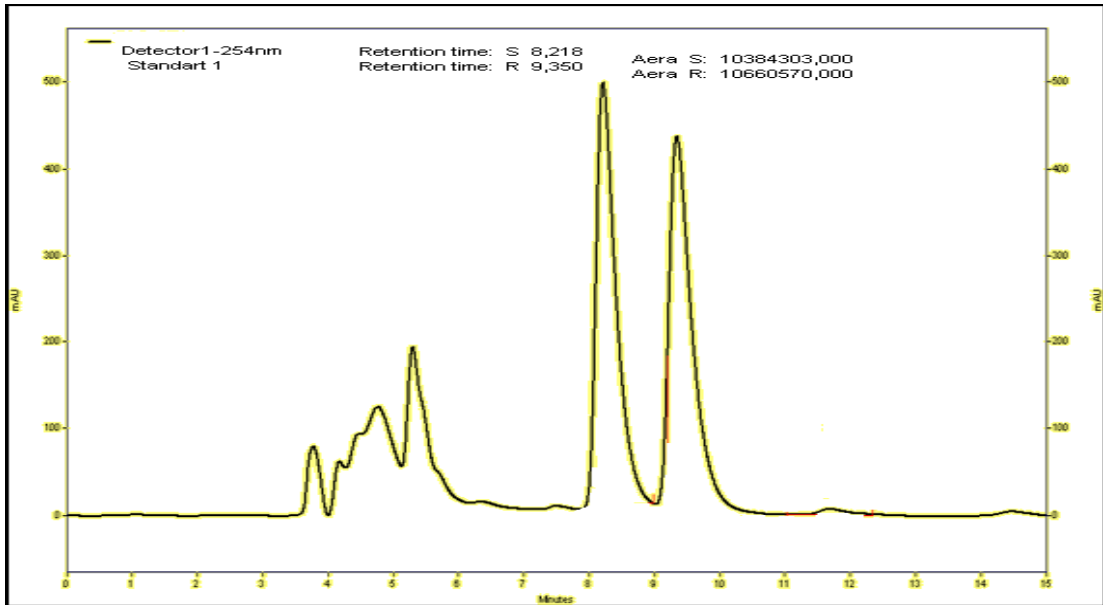
Ek.1. (R)-Mandelik asit'in alıkonma süresi



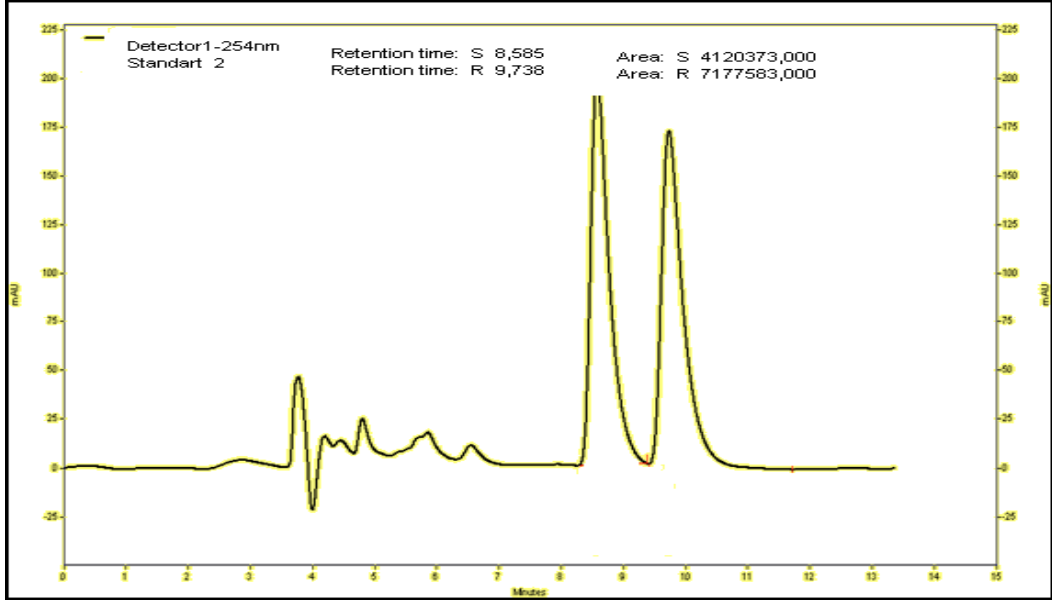
Ek.2. (S)-Mandelik asit'in alıkonma süresi



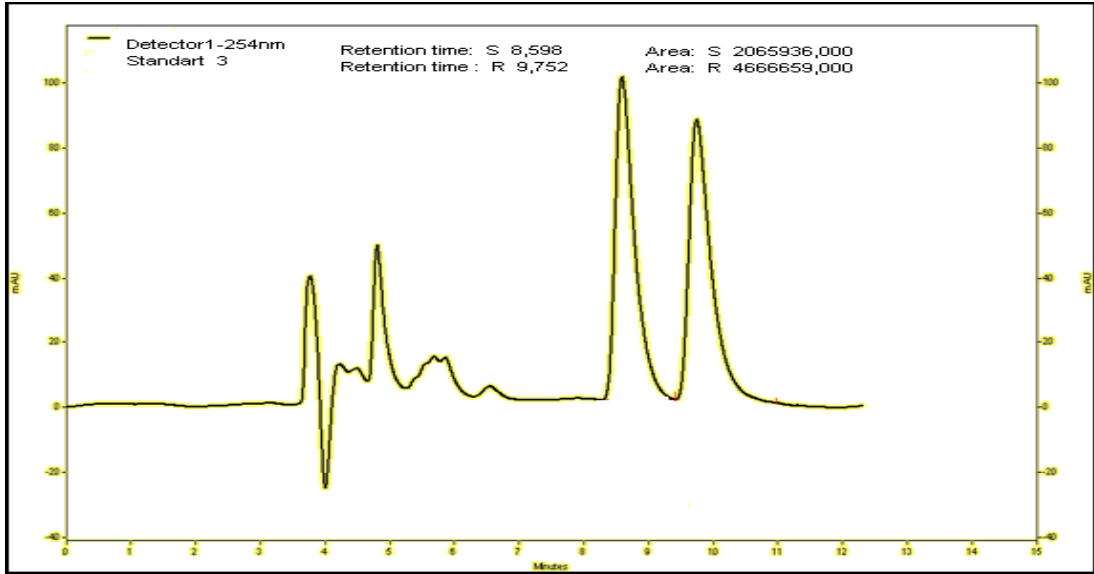
Ek.3. Rasemik Mandelik asit'in alıkonma süresi



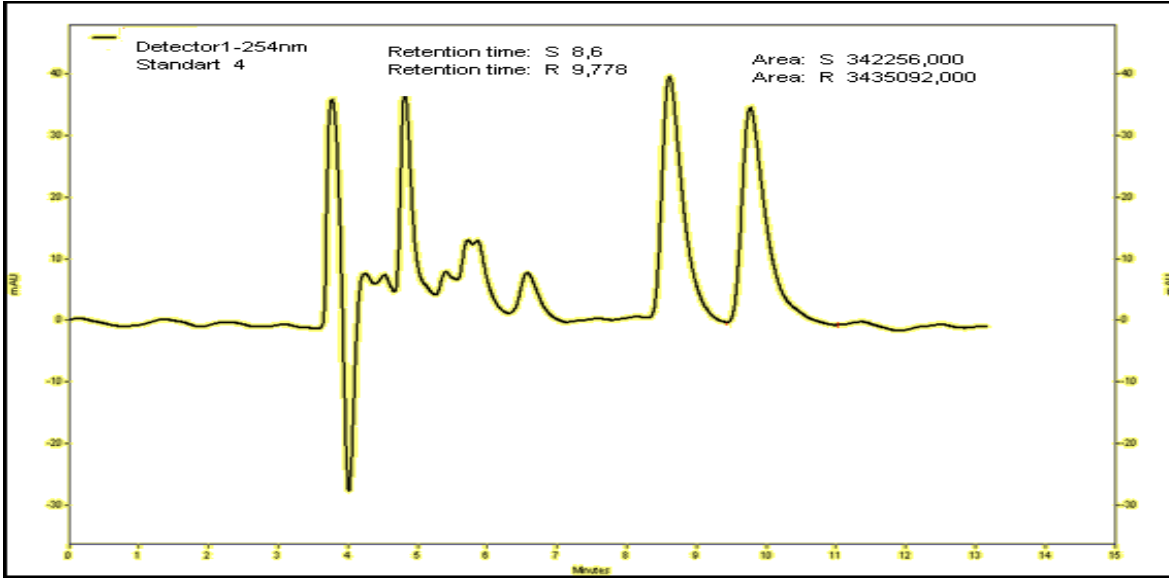
Ek.4. 30mM'lık rasemik Mandelik asit çözeltisinin HPLC grafiği(1.standart)



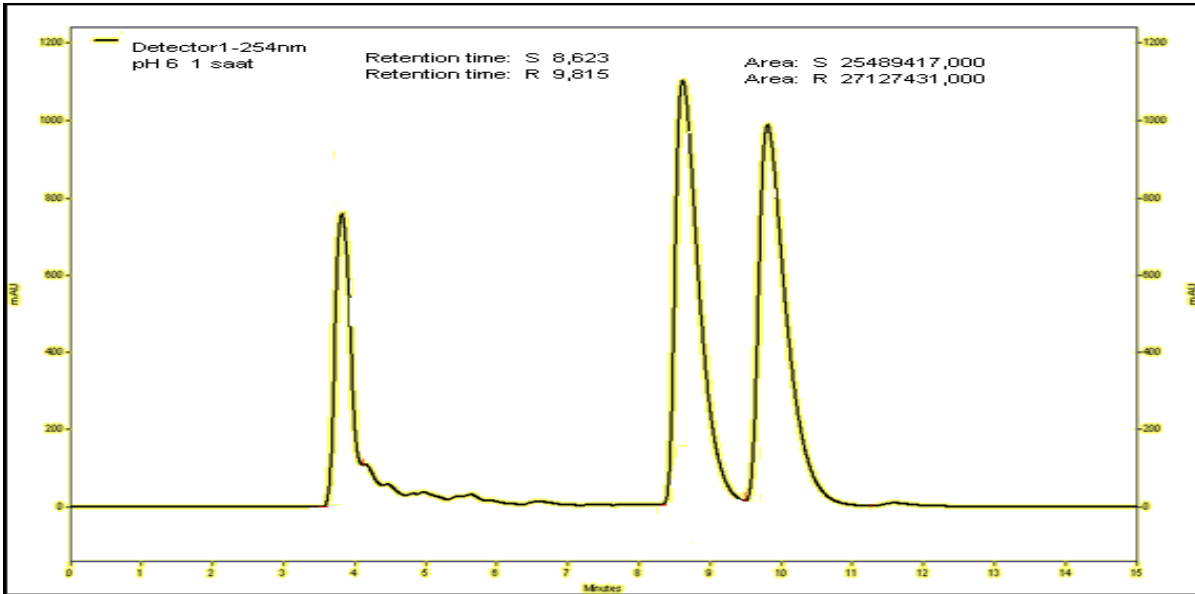
Ek.5. 20mM'lık rasemik Mandelik asit çözeltisinin HPLC grafiği(2.standart)



Ek.6. 10mM'lık rasemik Mandelik asit çözeltisinin HPLC grafiği(3.standart)

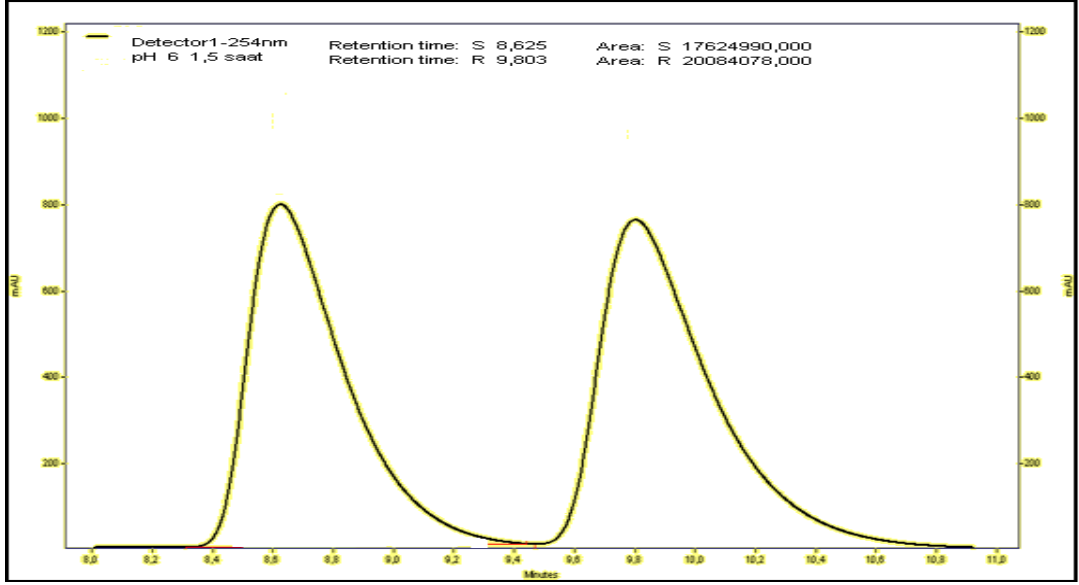


Ek.7. 5mM'lık rasemik Mandelik asit çözeltisinin HPLC grafiği(4.standart)

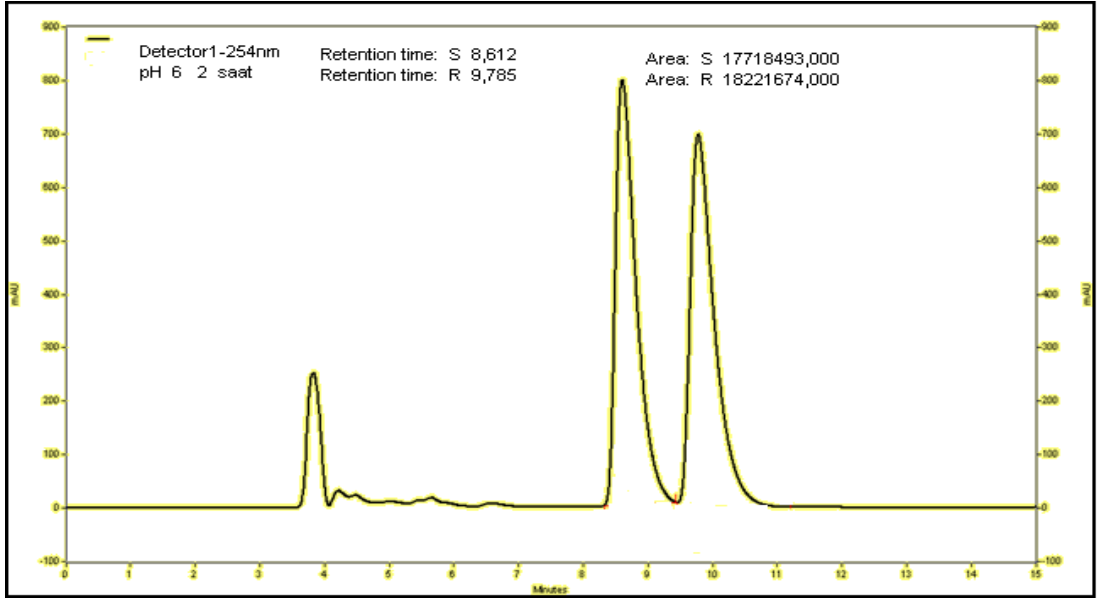


Ek.8. pH 6 1saat karıştırma süresi sonunda 30mM'lık rasemik Mandelik asit karışımının rezolüsyon sonrası (R) ve (S) Mandelik asitlerinin % miktarlarını veren HPLC grafiği

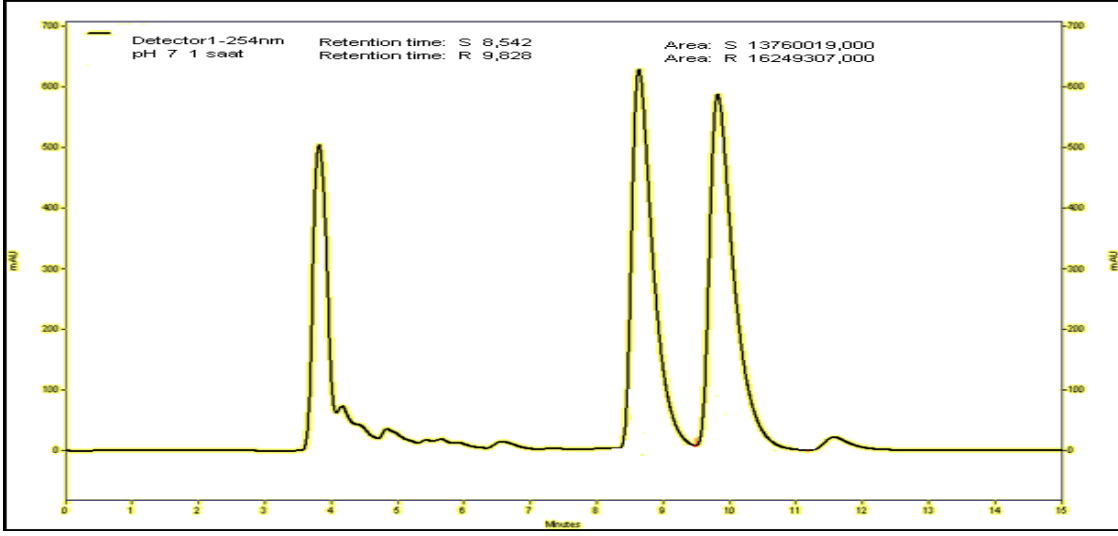




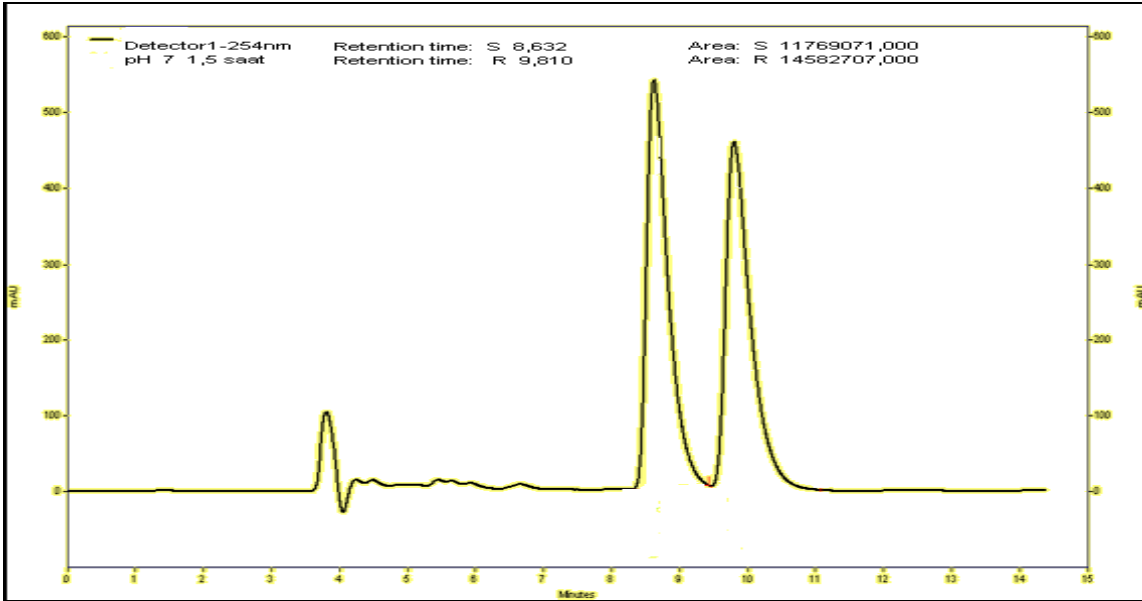
**Ek.9.** pH 6'da 1,5 saat karıştırma süresi sonunda 30mM'lık rasemik mandelik asit karışımının rezolüsyon sonrası (R) ve (S) Mandelik asitlerinin % miktarını veren HPLC grafiği



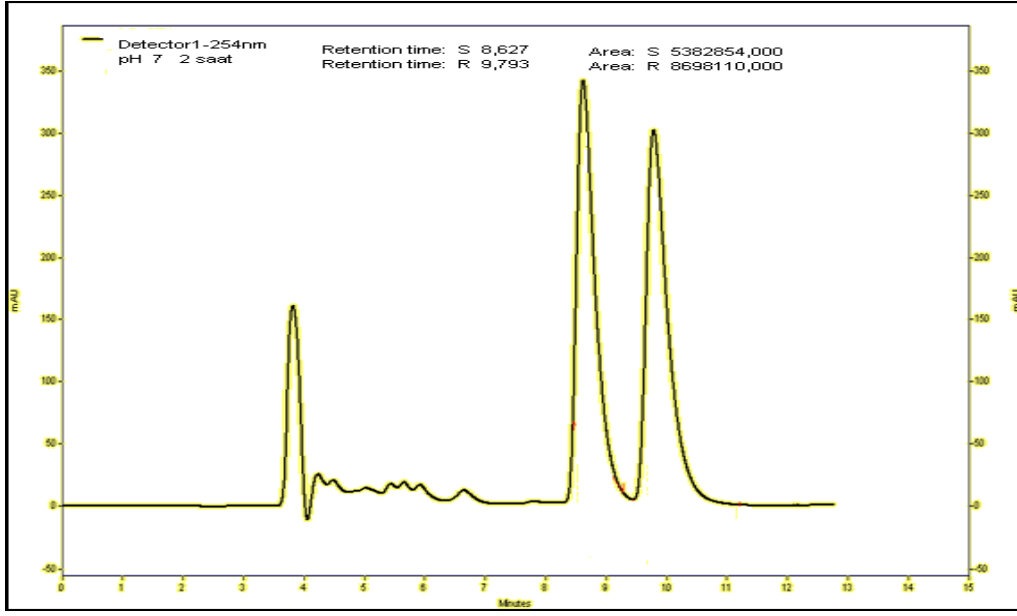
**Ek.10.** pH 6'da 2 saat karıştırma süresi sonunda 30mM'lık rasemik Mandelik asit karışımının rezolüsyon sonrası (R) ve (S) Mandelik asitlerinin % miktarlarını veren HPLC grafiği



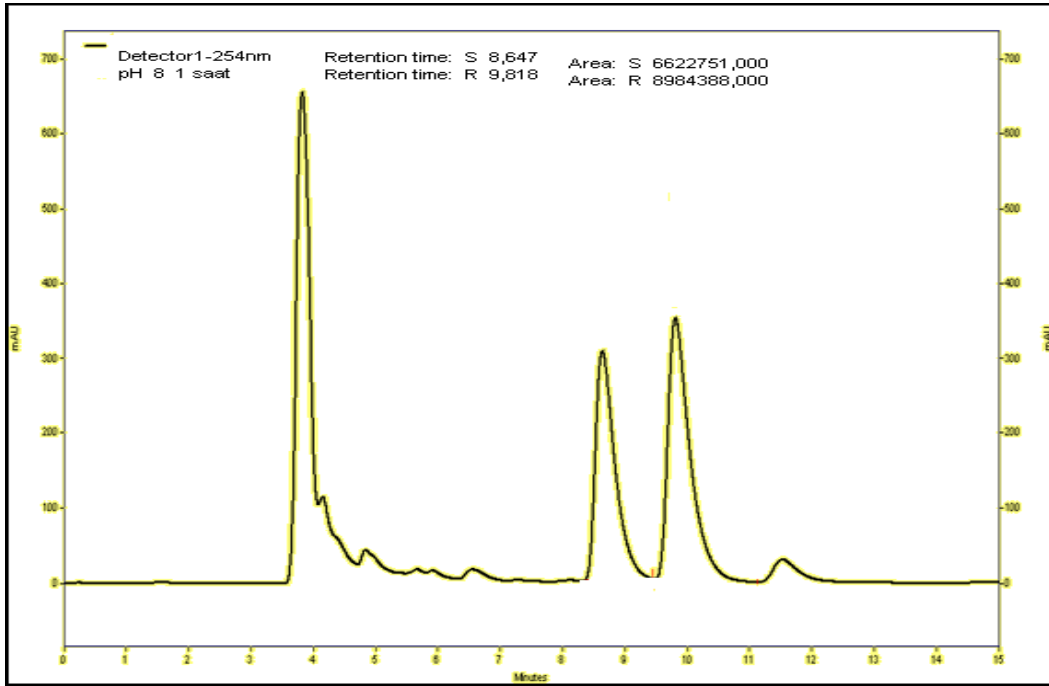
**Ek.11.** pH 7’de 1 saat karıştırma süresi sonunda 30mM’lık rasemik Mandelik asit karışımının rezolüsyon sonrası (R) ve (S) Mandelik asitlerinin % miktarlarını veren HPLC grafiği



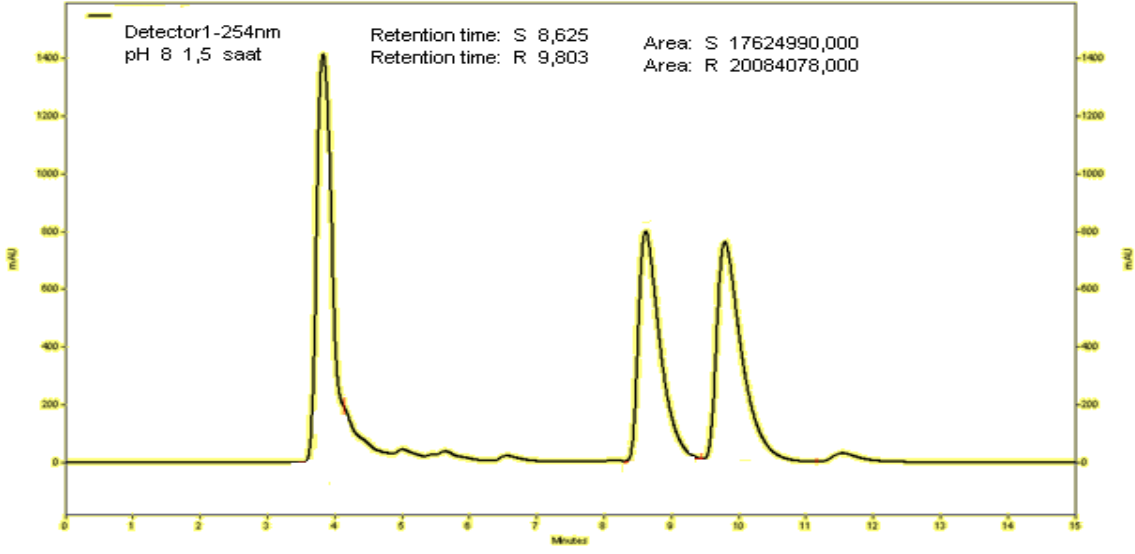
**Ek.12.** pH 7’de 1,5 saat karıştırma süresi sonunda 30mM’lık rasemik Mandelik asit karışımını rezolüsyon sonrası (R) ve (S) Mandelik asitlerinin % miktarlarını veren HPLC grafiği



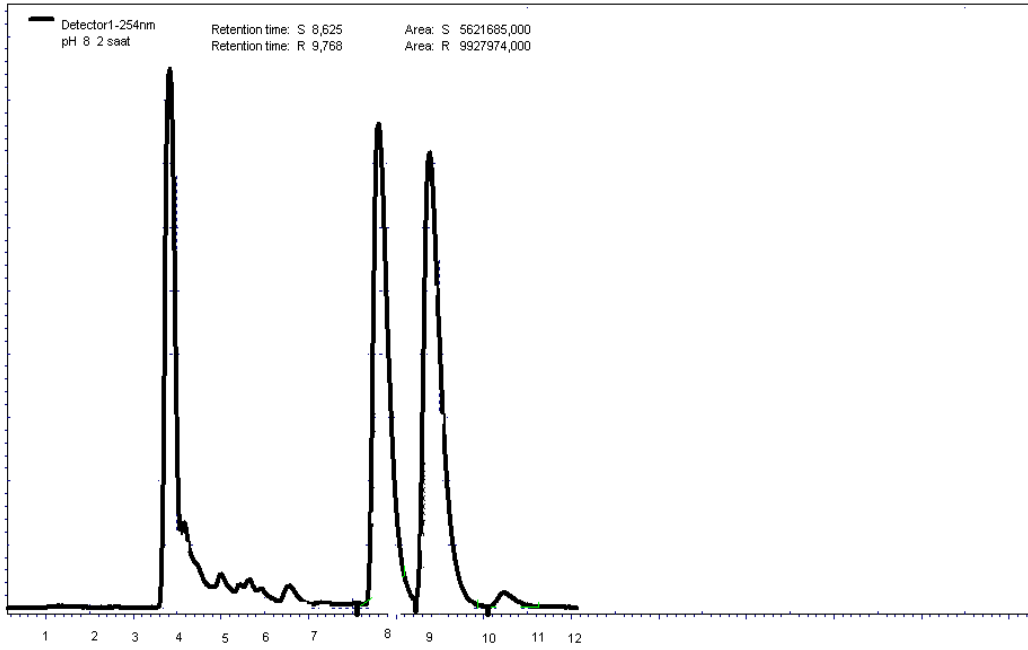
**Ek.13.** pH 7'de 2 saat karıştırma süresi sonunda 30mM'lık rasemik Mandelik asit karışımını rezolüsyon sonrası (R) ve (S) Mandelik asitlerinin % miktarlarını veren HPLC grafiği



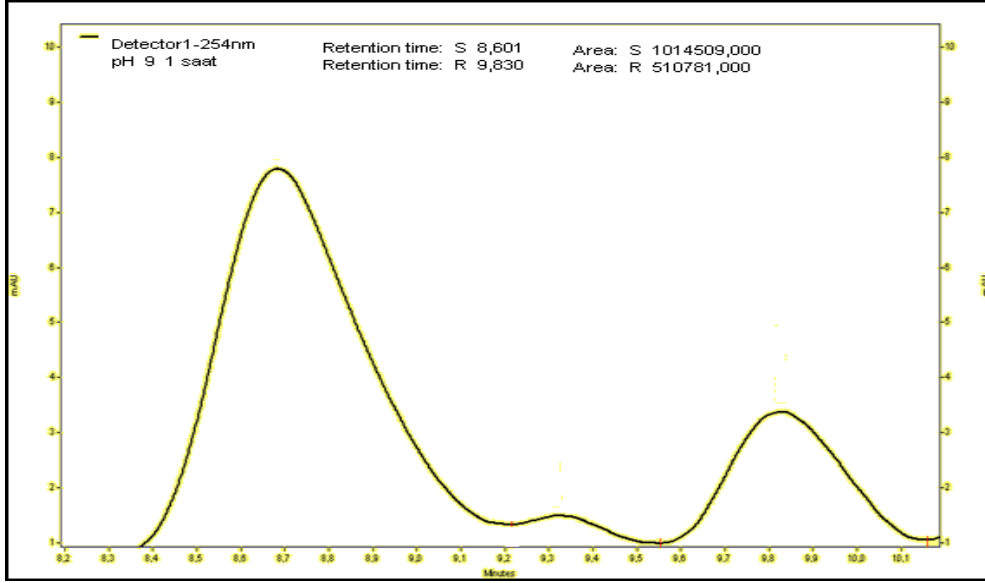
**Ek.14.** pH 8'de 1 saat karıştırma süresi sonunda 30mM'lık rasemik Mandelik asit karışımını rezolüsyon sonrası (R) ve (S) Mandelik asitlerinin % miktarlarını veren HPLC grafiği



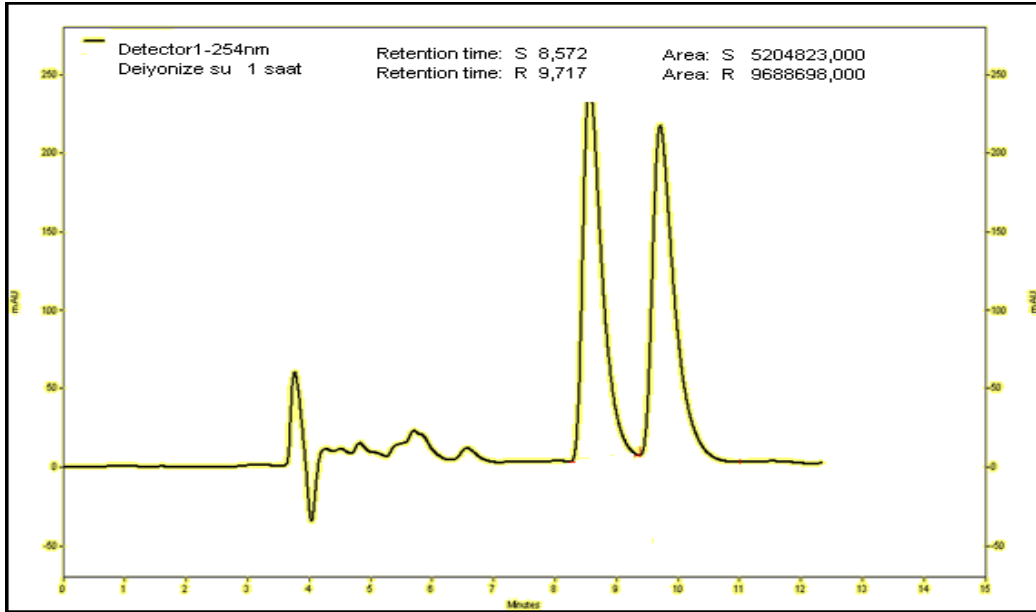
**Ek.15.** pH 8'de 1,5 saat karıştırma süresi sonunda 30mM'lık rasemik Mandelik asit karışımını rezolüsyon sonrası (R) ve (S) Mandelik asitlerinin % miktarlarını veren HPLC grafiği



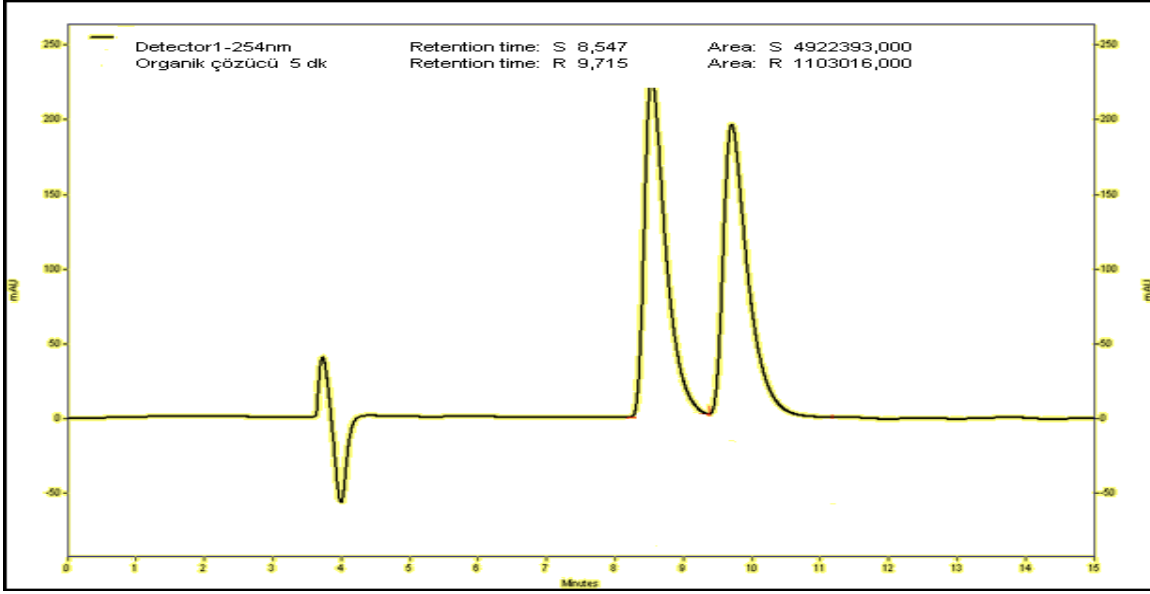
**Ek.16.** pH 8'de 2 saat karıştırma süresi sonunda 30mM'lık rasemik Mandelik asit karışımını rezolüsyon sonrası (R) ve (S) Mandelik asitlerinin % miktarlarını veren HPLC grafiği



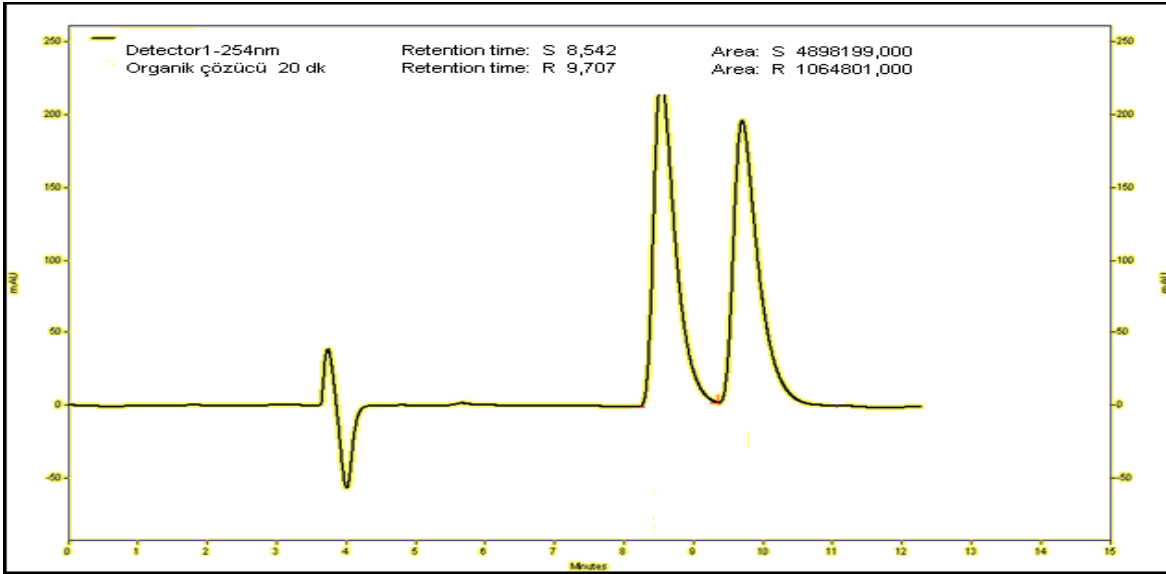
**Ek.17.** pH 9'da 1saat karıştırma süresi sonunda 30mM'lık rasemik Mandelik asit karışımını rezolüsyon sonrası (R) ve (S) Mandelik asitlerinin % miktarlarını veren HPLC grafiği



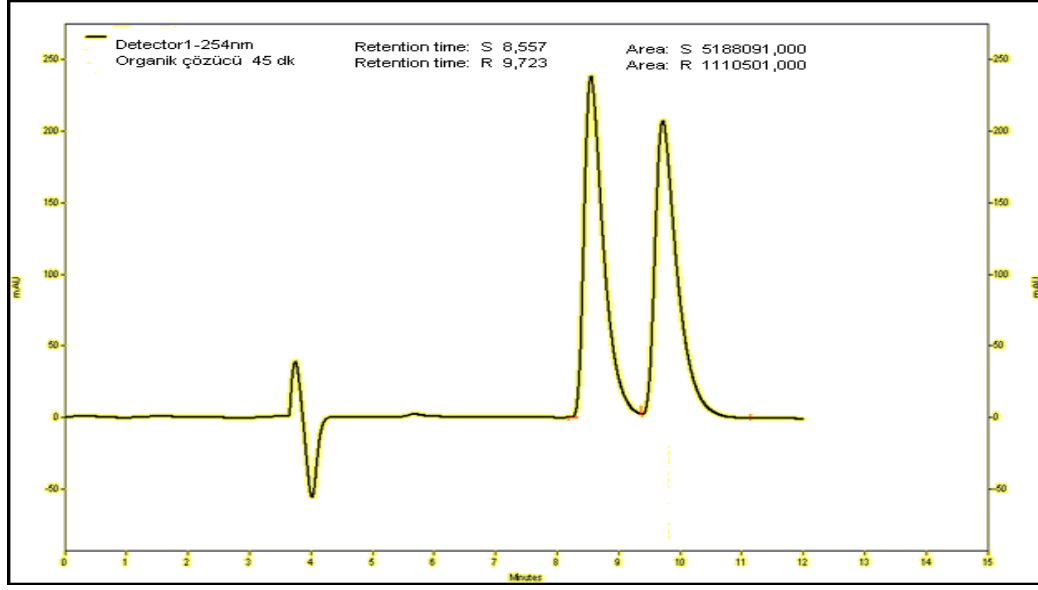
**Ek.18.** Deiyonize su ile yapılmış olan çalışmanın HPLC grafiği



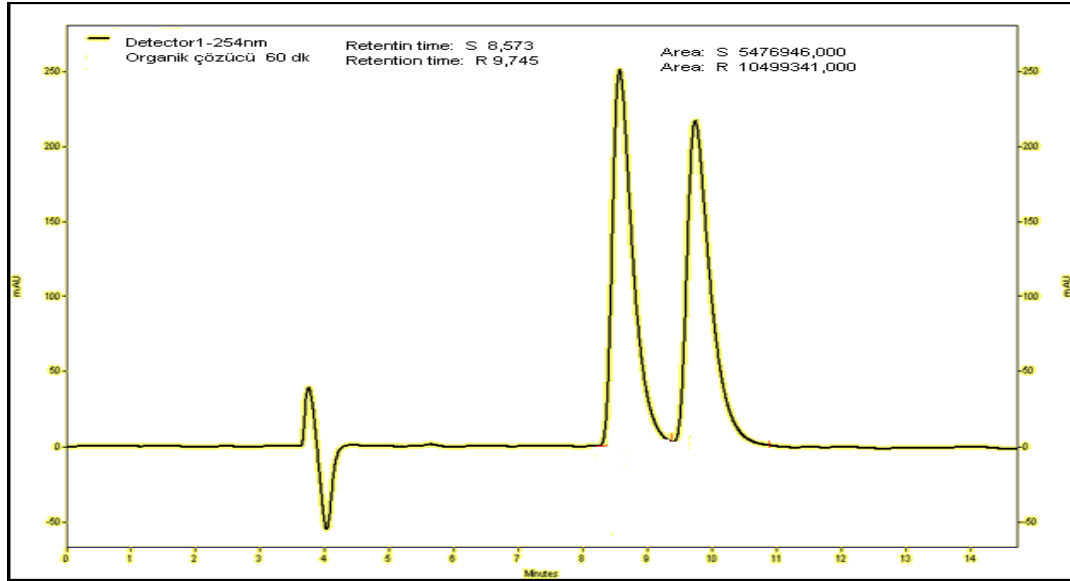
**Ek.19.** n-hekzan:isopropanol(50:50) karışımında 5 dakika karıştırmayla gerçekleşen rezolüsyon sonrası (R) ve (S) Mandelik asitlerin % miktarlarını veren HPLC grafiği



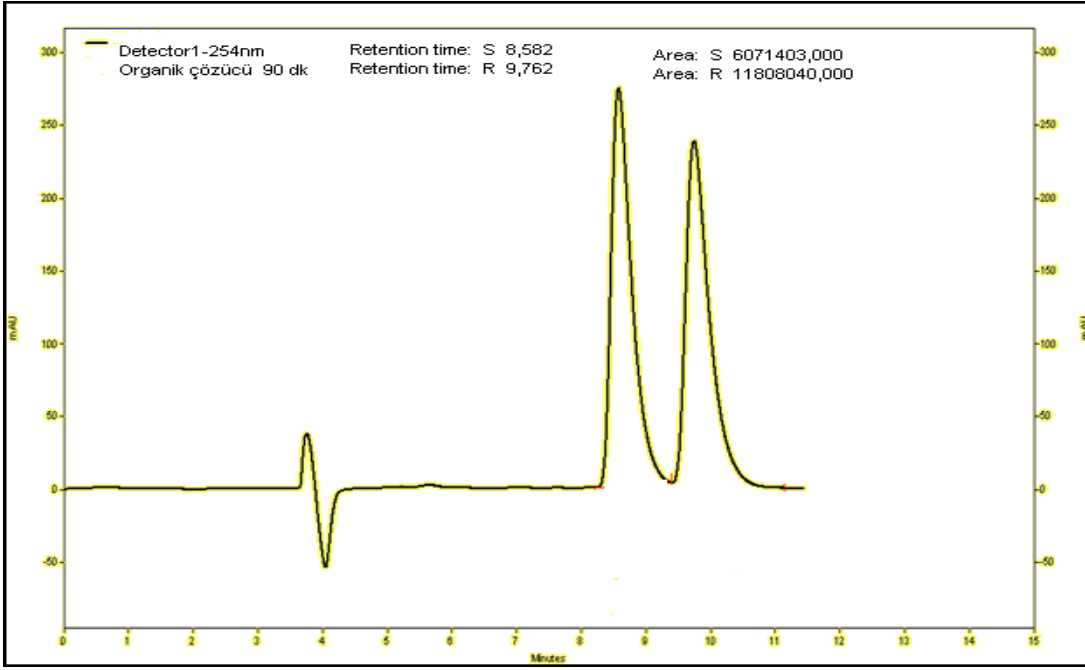
**Ek.20.** . n-hekzan:isopropanol(50:50) karışımında 20 dakika karıştırmayla gerçekleşen rezolüsyon sonrası (R) ve (S) Mandelik asitlerin % miktarlarını veren HPLC grafiği



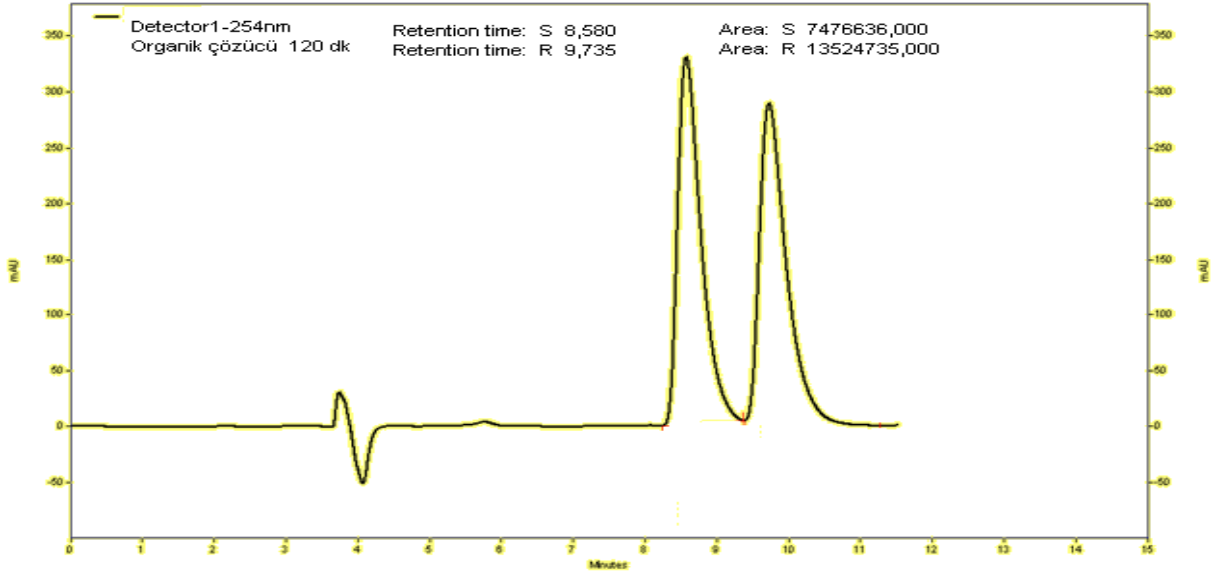
**Ek.21.** . n-hekzan:isopropanol(50:50) karışımında 45 dakika karıştırmayla gerçekleşen rezolüsyon sonrası (R) ve (S) Mandelik asitlerin % miktarlarını veren HPLC grafiği



**Ek.22.** n-hekzan:isopropanol(50:50) karışımında 60 dakika karıştırmayla gerçekleşen rezolüsyon sonrası (R) ve (S) Mandelik asitlerin % miktarlarını veren HPLC grafiği

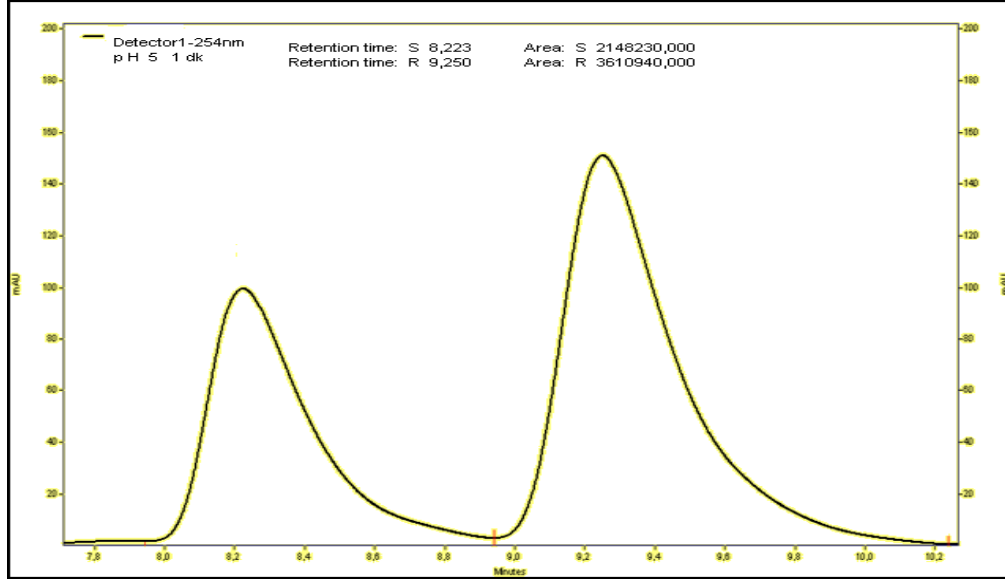


**Ek.23.** n-hekzan:isopropanol(50:50) karışımında 90 dakika karıştırmayla gerçekleşen rezolüsyon sonrası (R) ve (S) Mandelik asitlerin % miktarlarını veren HPLC grafiği

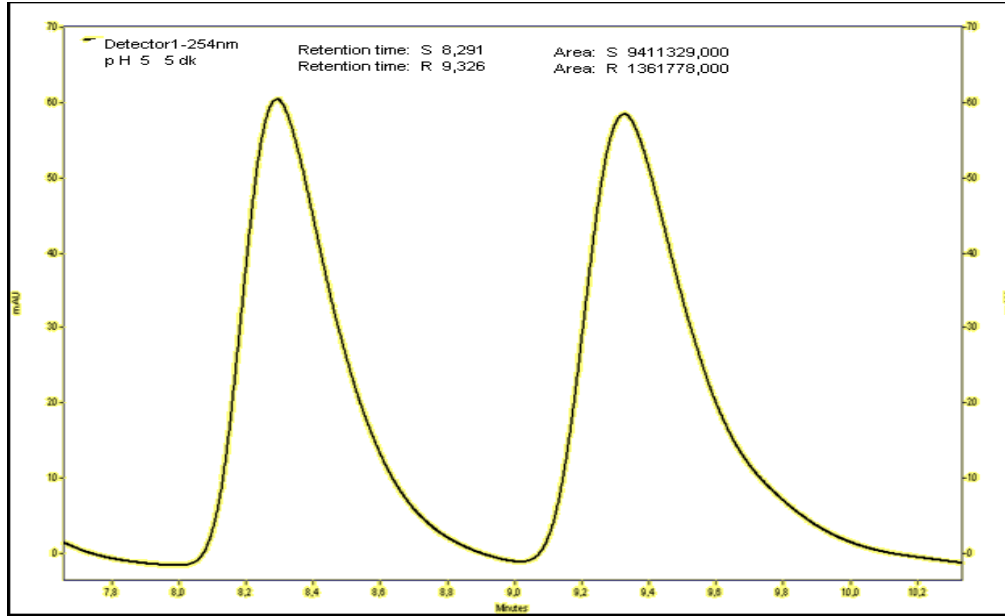


**Ek.24.** n-hekzan:isopropanol(50:50) karışımında 120 dakika karıştırmayla gerçekleşen rezolüsyon sonrası (R) ve (S) Mandelik asitlerin % miktarlarını veren HPLC grafiği

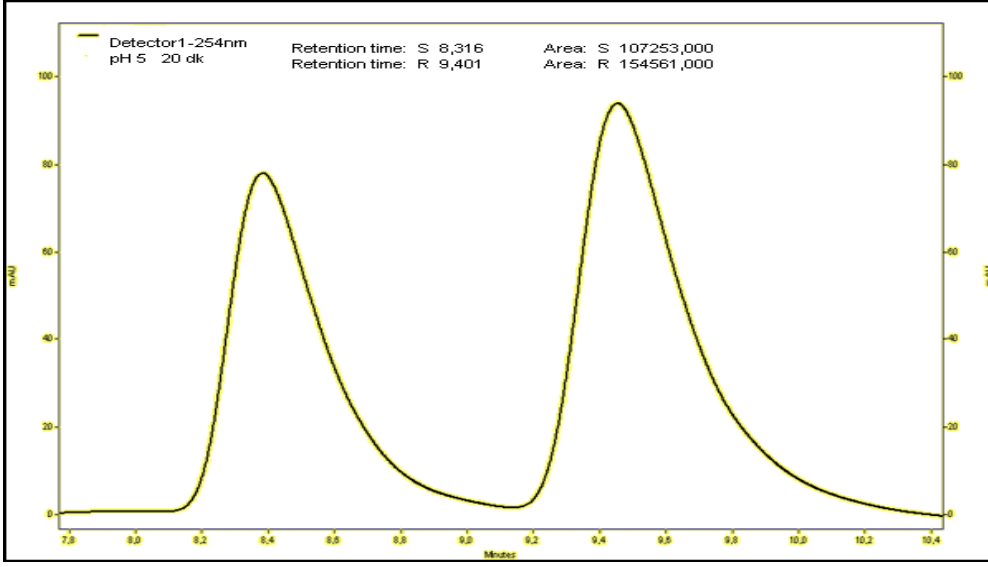




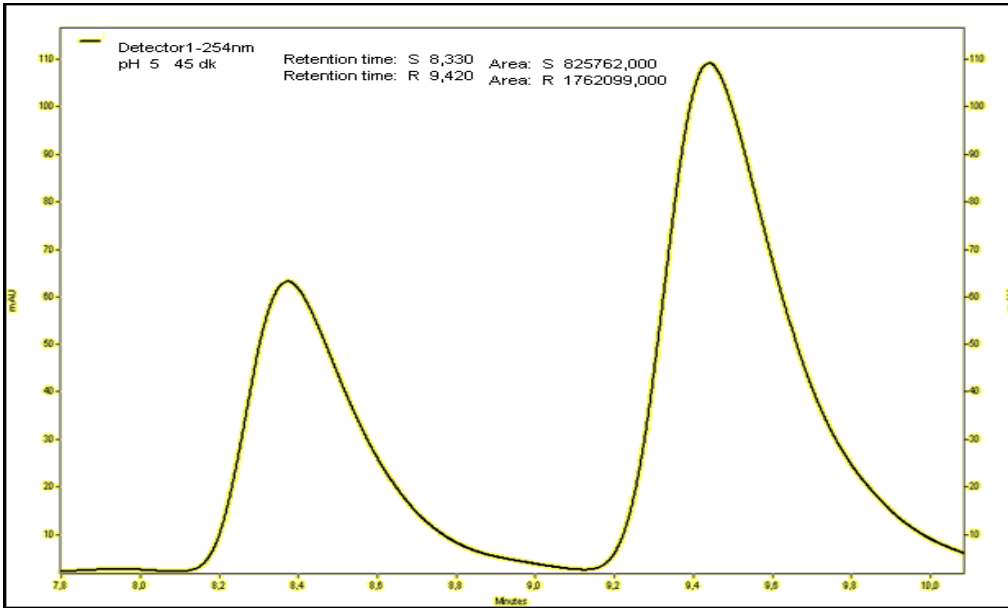
**Ek.25.** pH 5 'de 1dakika karıştırma süresi sonunda 30mM'lık rasemik Mandelik asit karışımının rezolüsyon sonrası (R) ve (S) Mandelik asitlerinin % miktarlarını veren HPLC grafiği



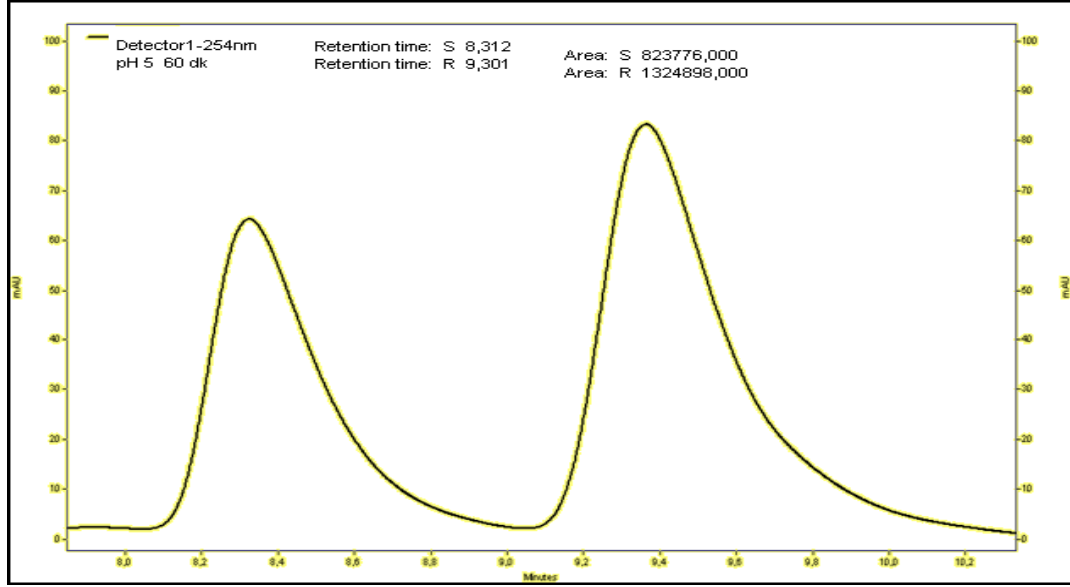
**Ek.26.** pH 5 'de 5 dakika karıştırma süresi sonunda 30mM'lık rasemik Mandelik asit karışımının rezolüsyon sonrası (R) ve (S) Mandelik asitlerinin % miktarlarını veren HPLC grafiği



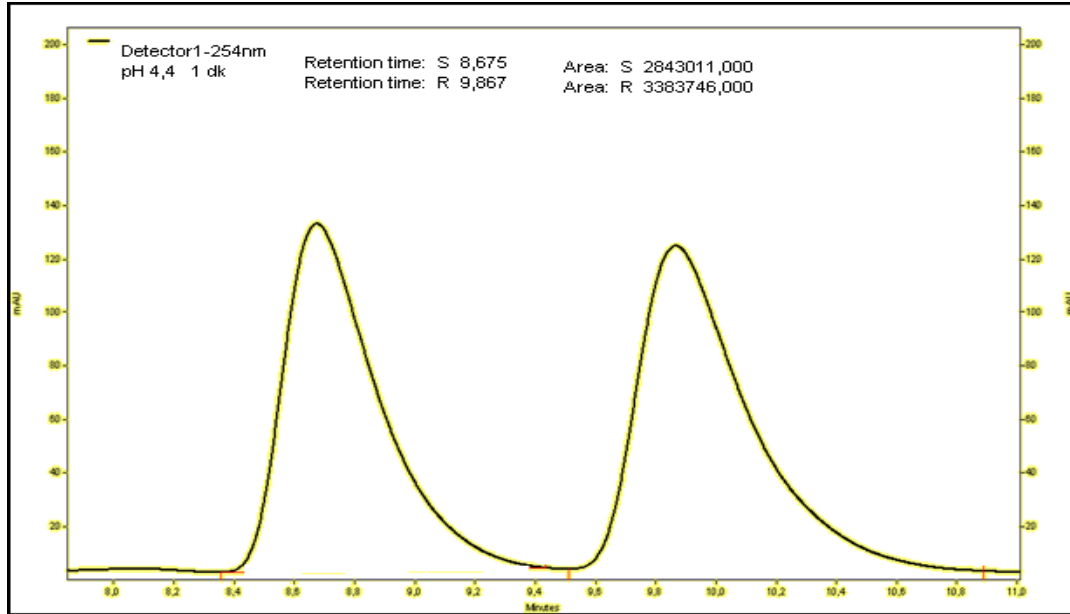
**Ek.27.** pH 5'de 20 dakika karıştırma süresi sonunda 30mM'lık rasemik Mandelik asit karışımının rezolüsyon sonrası (R) ve (S) Mandelik asitlerinin % miktarlarını veren HPLC grafiği



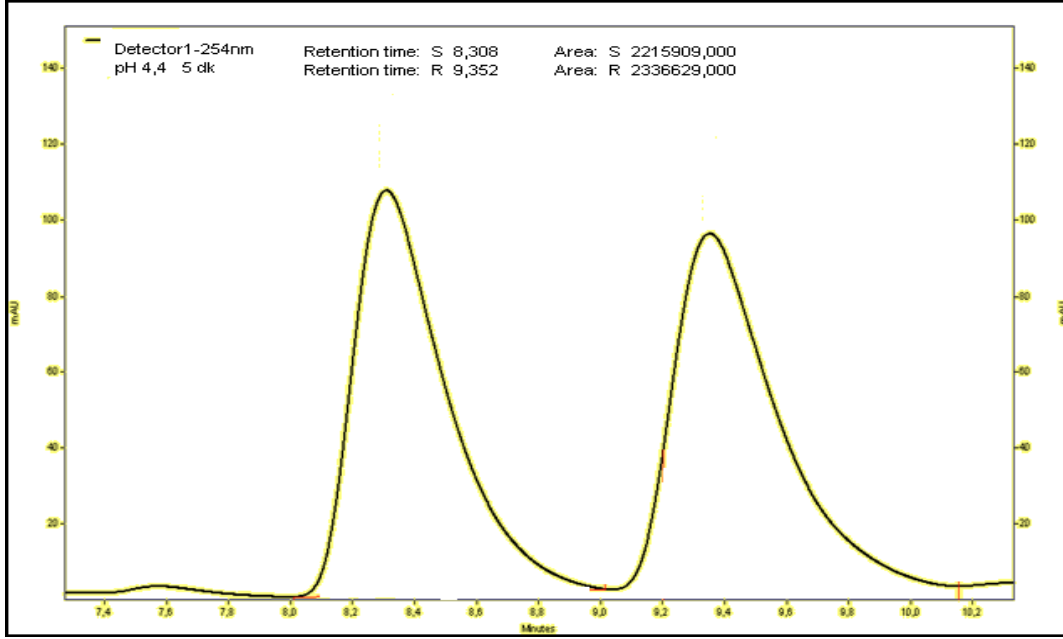
**Ek.28.** pH 5'de 45 dakika karıştırma süresi sonunda 30mM'lık rasemik Mandelik asit karışımının rezolüsyon sonrası (R) ve (S) Mandelik asitlerinin % miktarlarını veren HPLC grafiği



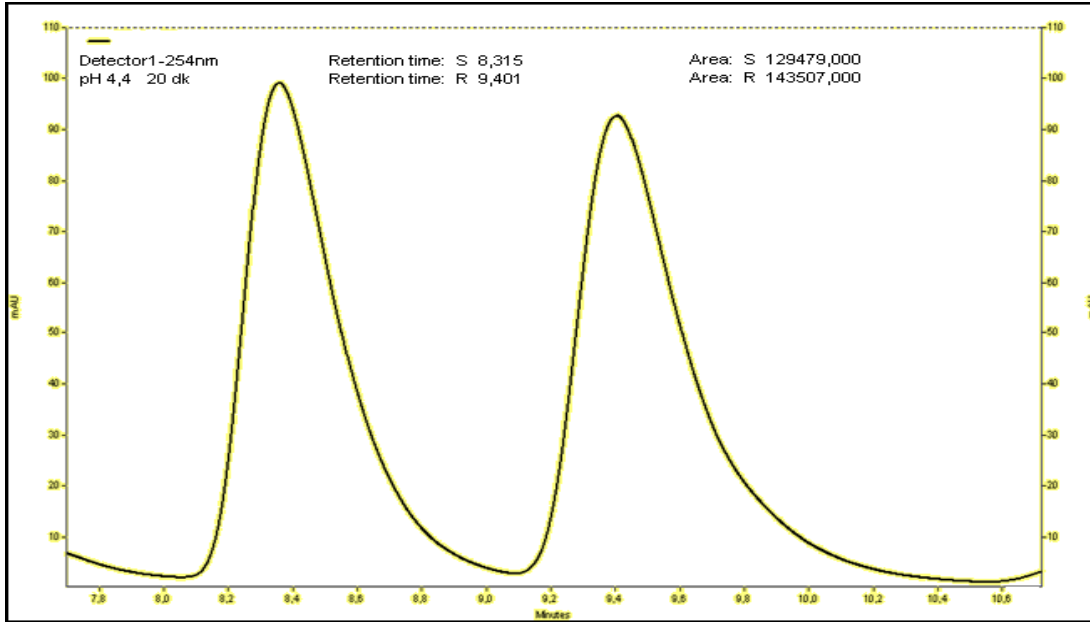
**Ek.29.** pH 5’de 60 dakika karıştırma süresi sonunda 30mM’lık rasemik Mandelik asit karışımının rezolüsyon sonrası (R) ve (S) Mandelik asitlerinin % miktarlarını veren HPLC grafiği



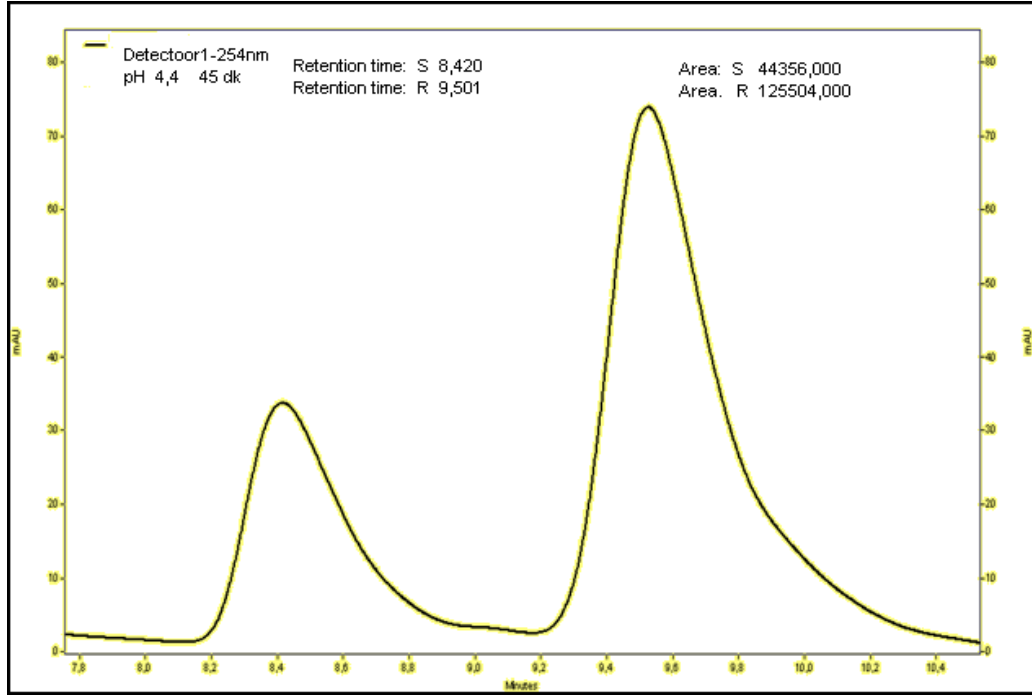
**Ek.30.** pH 4.4’te 1 dakika karıştırma süresi sonunda 30mM’lık rasemik Mandelik asit karışımının rezolüsyon sonrası (R) ve (S) Mandelik asitlerinin % miktarlarını veren HPLC grafiği



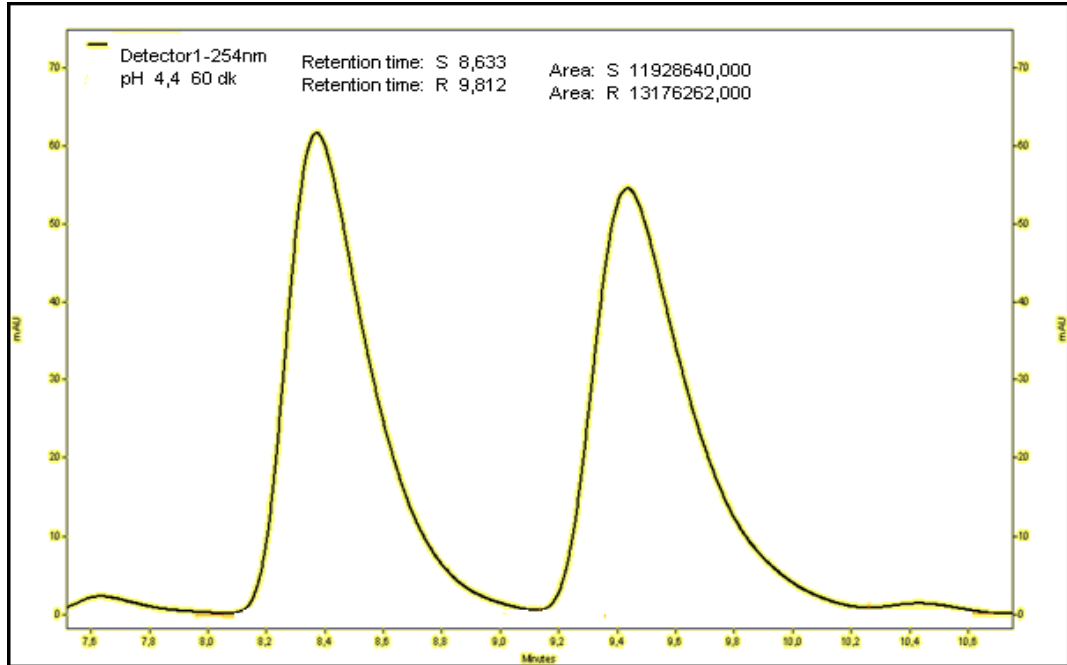
**Ek.31.** pH 4.4'te 5 dakika karıştırma süresi sonunda 30mM'lık rasemik Mandelik asit karışımının rezolüsyon sonrası (R) ve (S) Mandelik asitlerinin % miktarlarını veren HPLC grafiği



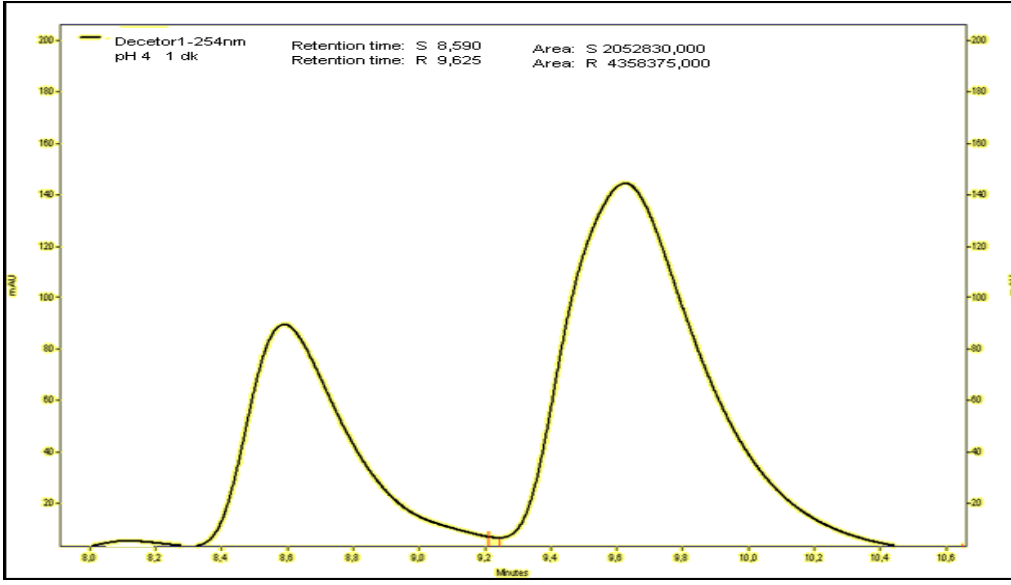
**Ek.32.** pH 4.4'te 20 dakika karıştırma süresi sonunda 30mM'lık rasemik Mandelik asit karışımının rezolüsyon sonrası (R) ve (S) Mandelik asitlerinin % miktarlarını veren HPLC grafiği



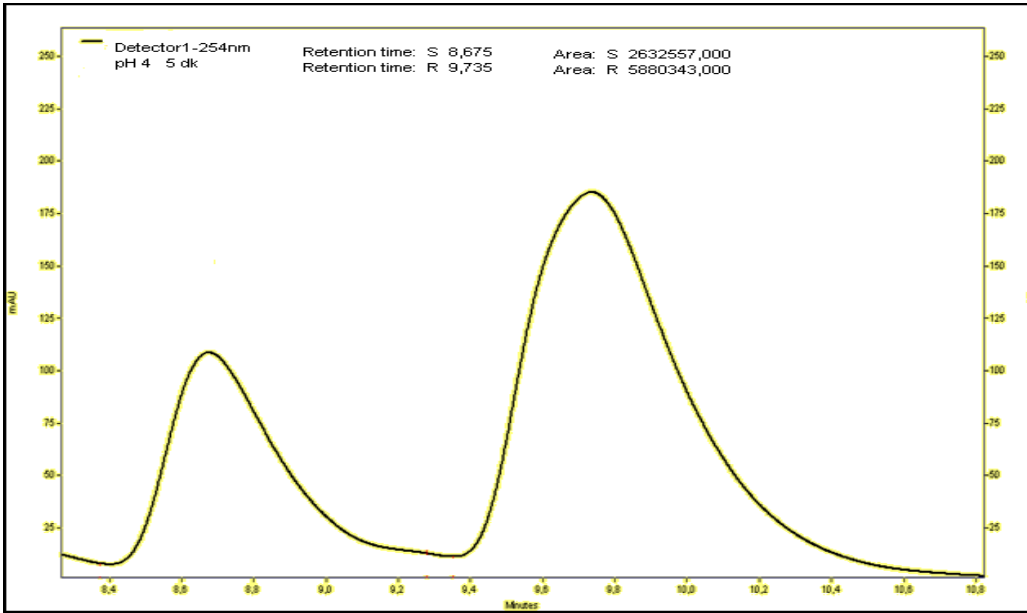
**Ek.33.** pH 4.4'te 45 dakika karıştırma süresi sonunda 30mM'lık rasemik Mandelik asit karışımının rezolüsyon sonrası (R) ve (S) Mandelik asitlerinin % miktarlarını veren HPLC grafiği



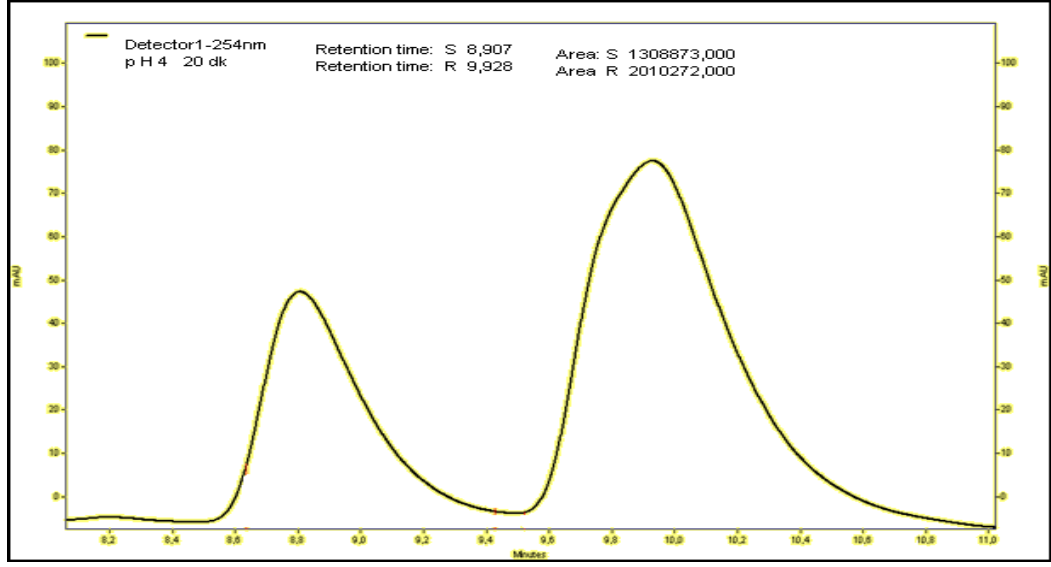
**Ek.34.** pH 4.4'te 60 dakika karıştırma süresi sonunda 30mM'lık rasemik Mandelik asit karışımının rezolüsyon sonrası (R) ve (S) Mandelik asitlerinin % miktarlarını veren HPLC grafiği



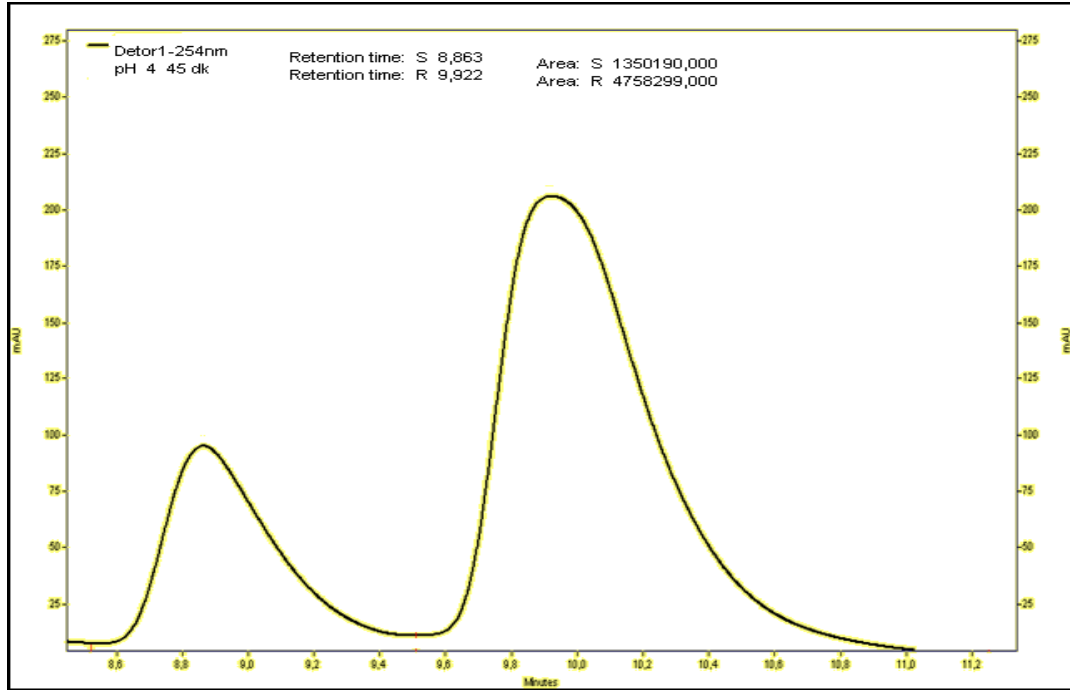
**Ek.35.** pH 4'te 1 dakika karıştırma süresi sonunda 30mM'lık rasemik Mandelik asit karışımının rezolüsyon sonrası (R) ve (S) Mandelik asitlerinin % miktarlarını veren HPLC grafiği



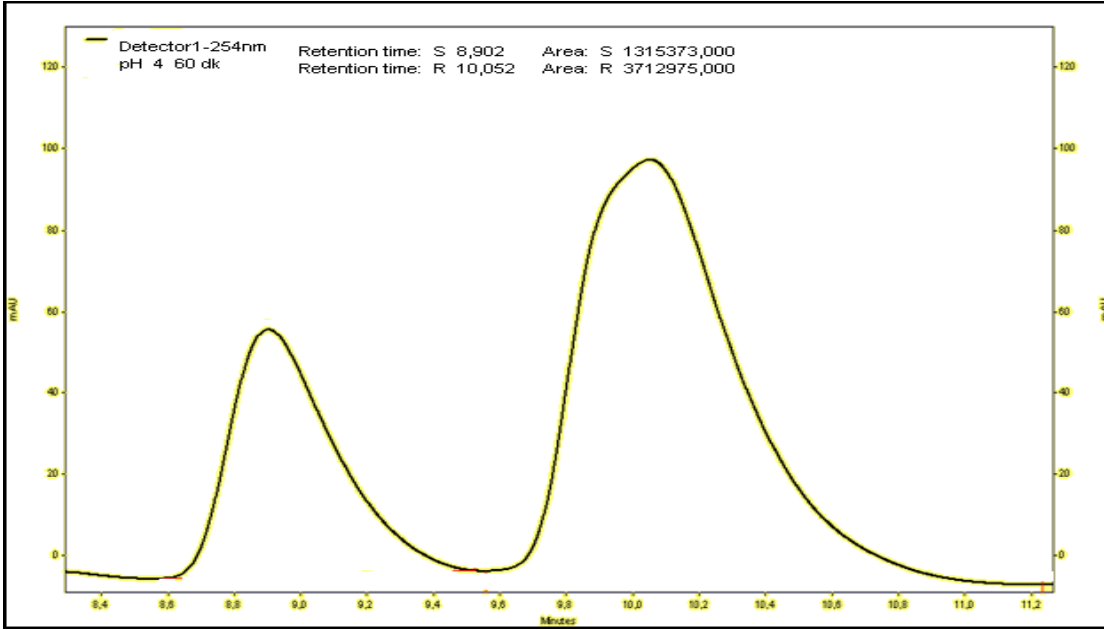
**Ek.36.** pH 4'te 5 dakika karıştırma süresi sonunda 30mM'lık rasemik Mandelik asit karışımının rezolüsyon sonrası (R) ve (S) Mandelik asitlerinin % miktarlarını veren HPLC grafiği



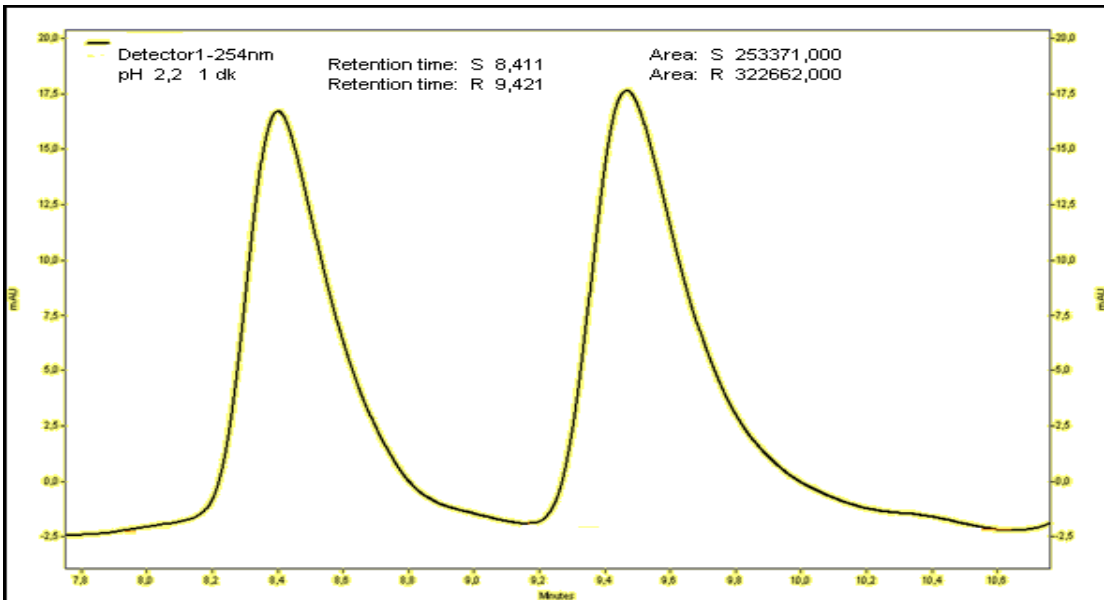
**Ek.37.** pH 4'te 20 dakika karıştırma süresi sonunda 30mM'lık rasemik Mandelik asit karışımının rezolüsyon sonrası (R) ve (S) Mandelik asitlerinin % miktarlarını veren HPLC grafiği



**Ek.38.** pH 4'te 45 dakika karıştırma süresi sonunda 30mM'lık rasemik Mandelik asit karışımının rezolüsyon sonrası (R) ve (S) Mandelik asitlerinin % miktarlarını veren HPLC grafiği

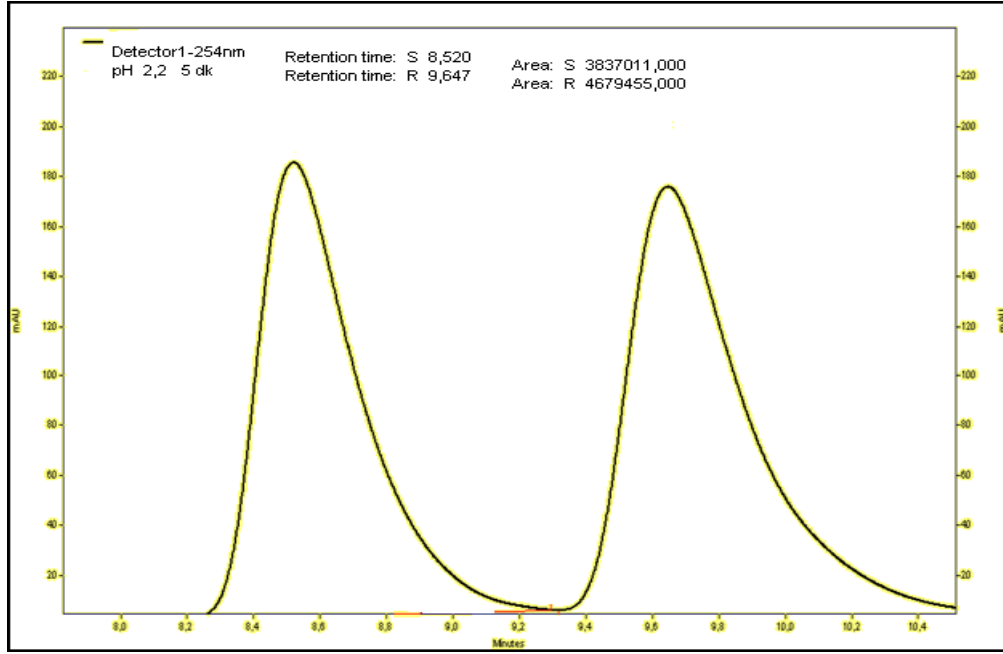


**Ek.39.** pH 4'te 60 dakika karıştırma süresi sonunda 30mM'lık rasemik Mandelik asit karışımının rezolüsyon sonrası (R) ve (S) Mandelik asitlerinin % miktarlarını veren HPLC grafiği

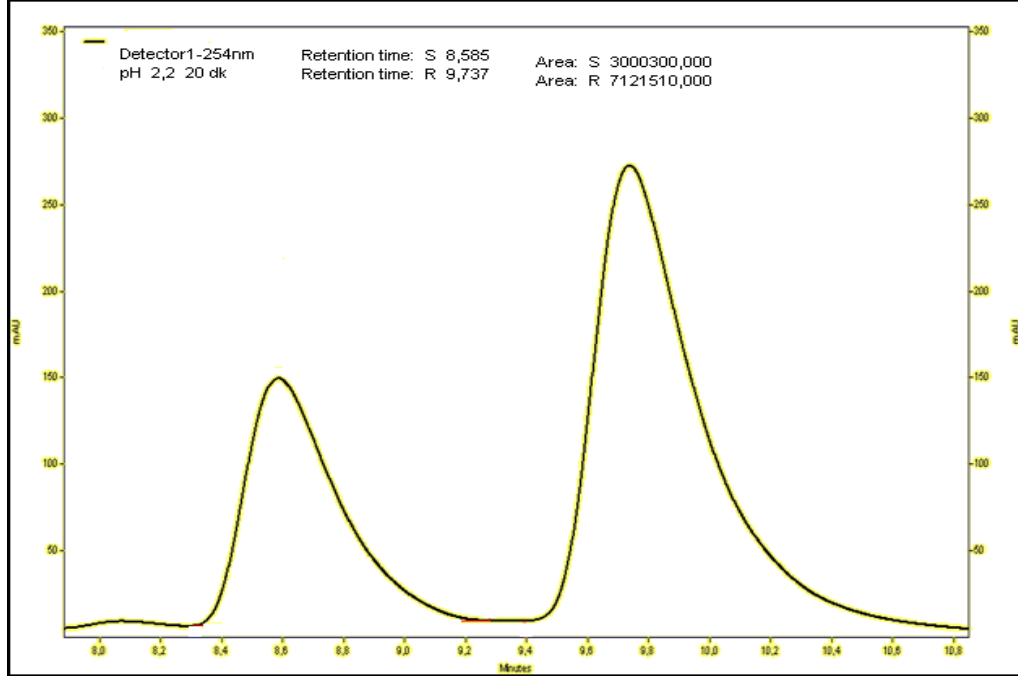


**Ek.40.** pH 2.2'de 1 dakika karıştırma süresi sonunda 30mM'lık rasemik Mandelik asit karışımının rezolüsyon sonrası (R) ve (S) Mandelik asitlerinin % miktarlarını veren HPLC grafiği

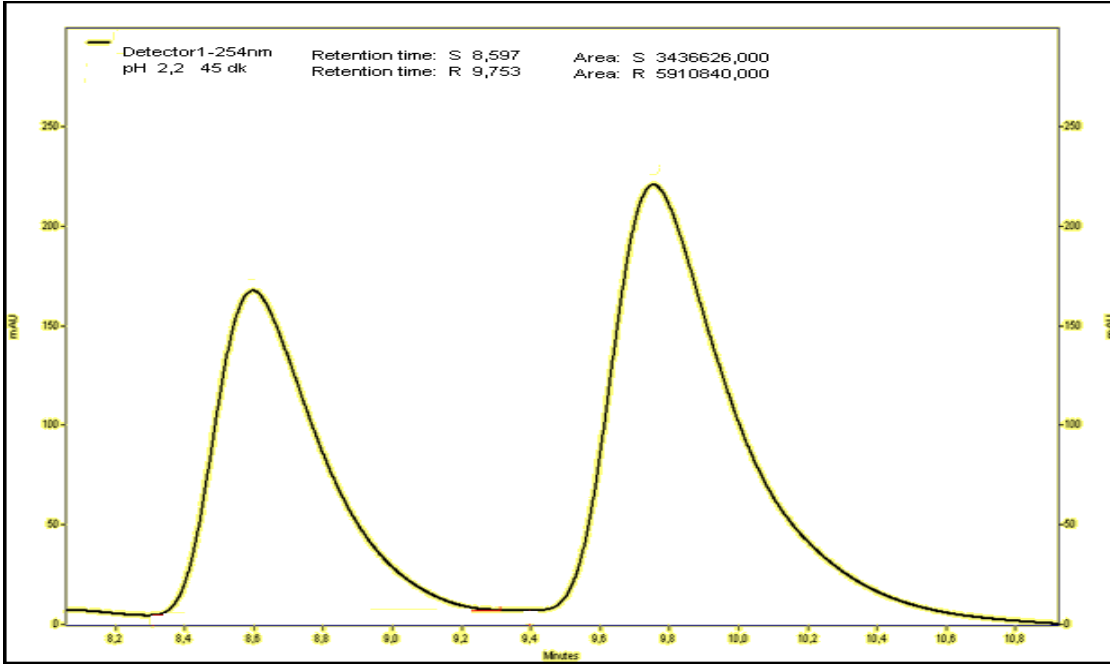




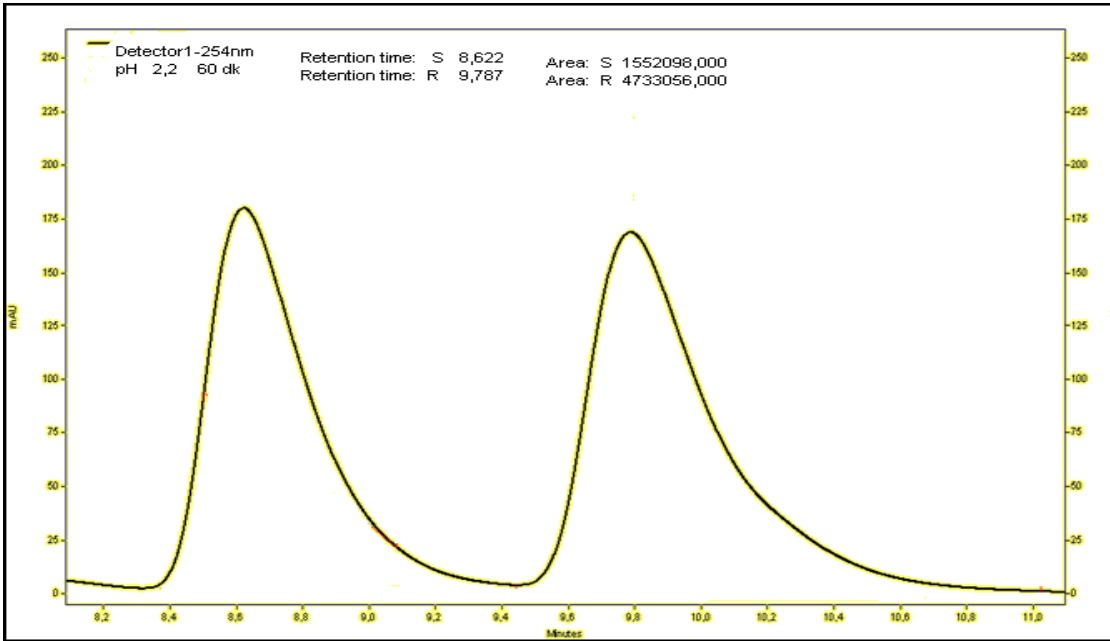
**Ek.41.** pH 2.2’de 5 dakika karıştırma süresi sonunda 30mM’lık rasemik Mandelik asit karışımının rezolüsyon sonrası (R) ve (S) Mandelik asitlerinin % miktarlarını veren HPLC grafiği



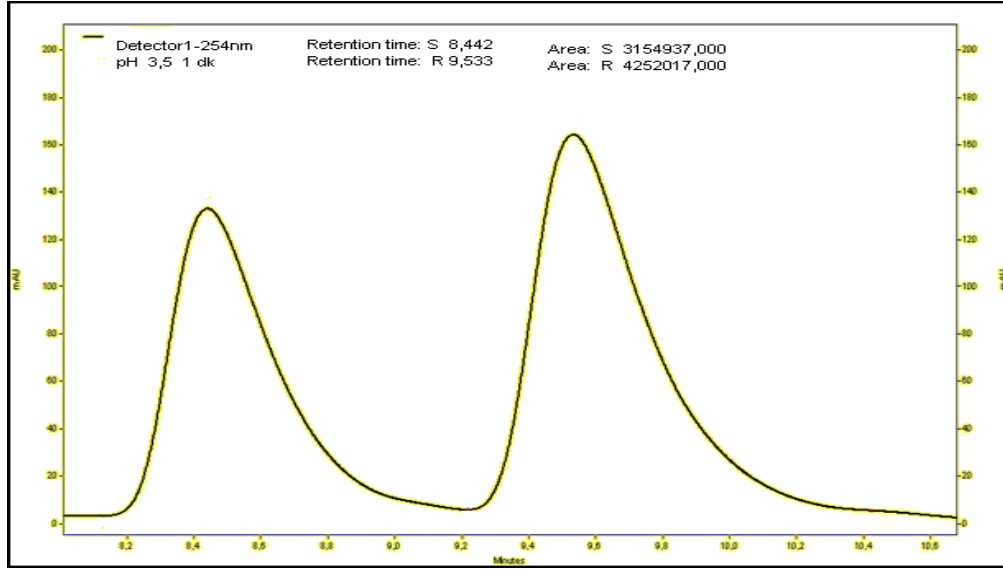
**Ek.42.** pH 2.2’de 20 dakika karıştırma süresi sonunda 30mM’lık rasemik Mandelik asit karışımının rezolüsyon sonrası (R) ve (S) Mandelik asitlerinin % miktarlarını veren HPLC grafiği



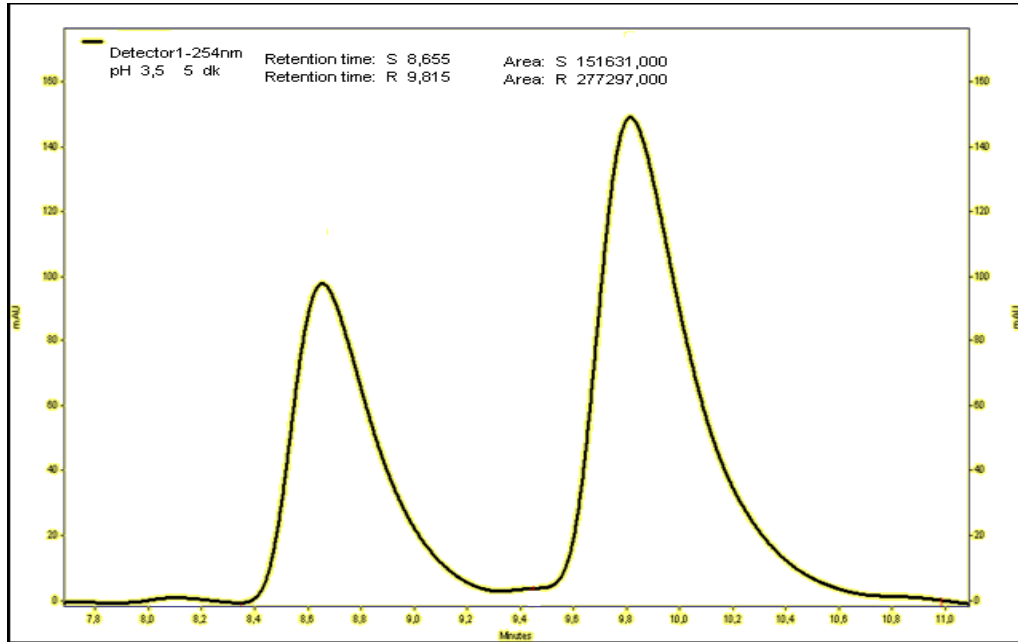
**Ek.43.** pH 2.2'de 45 dakika karıştırma süresi sonunda 30mM'lık rasemik Mandelik asit karışımının rezolüsyon sonrası (R) ve (S) Mandelik asitlerinin % miktarlarını veren HPLC grafiği



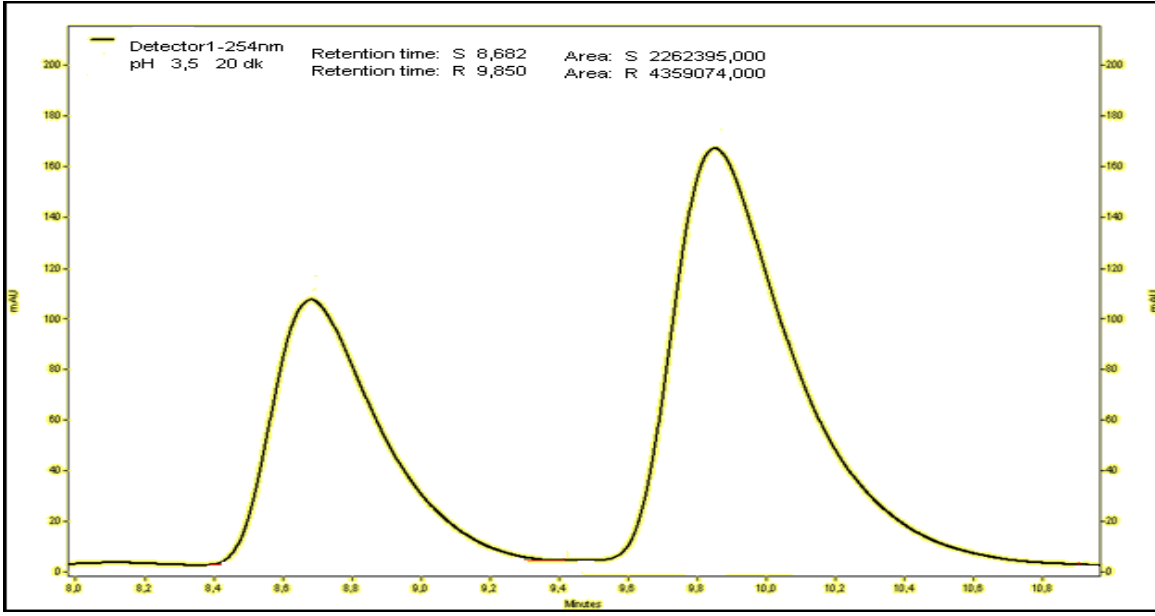
**Ek.44.** pH 2.2'de 60 dakika karıştırma süresi sonunda 30mM'lık rasemik Mandelik asit karışımının rezolüsyon sonrası (R) ve (S) Mandelik asitlerinin % miktarlarını veren HPLC grafiği



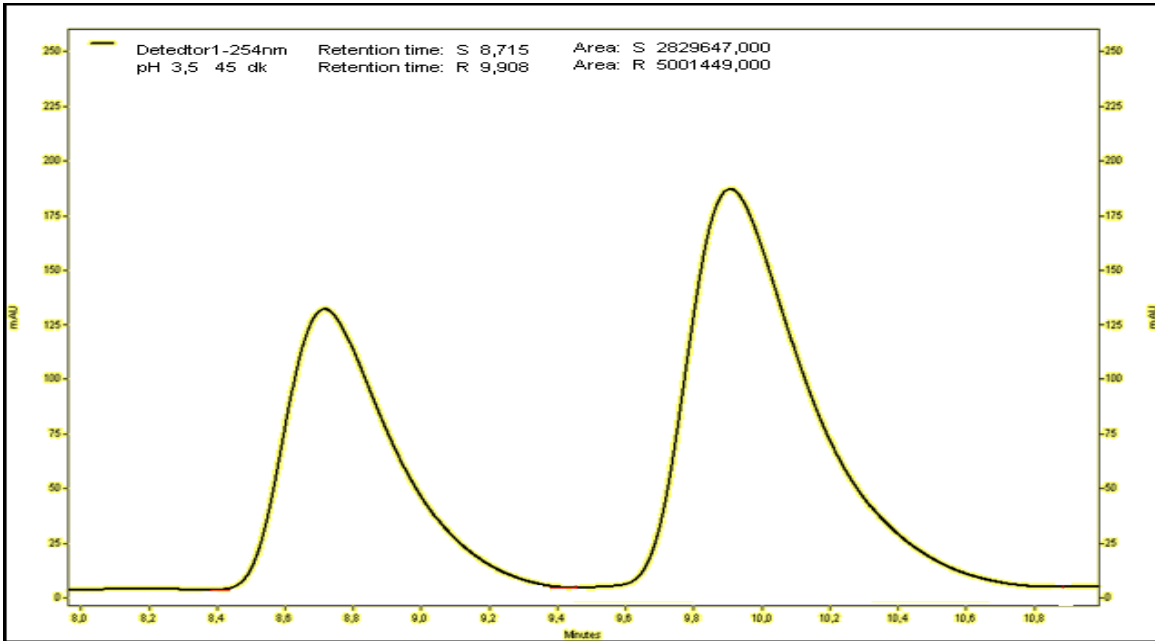
**Ek.45.** pH 3.5'ta 1 dakika karıştırma süresi sonunda 30mM'lık rasemik Mandelik asit karışımının rezolüsyon sonrası (R) ve (S) Mandelik asitlerinin % miktarlarını veren HPLC grafiği



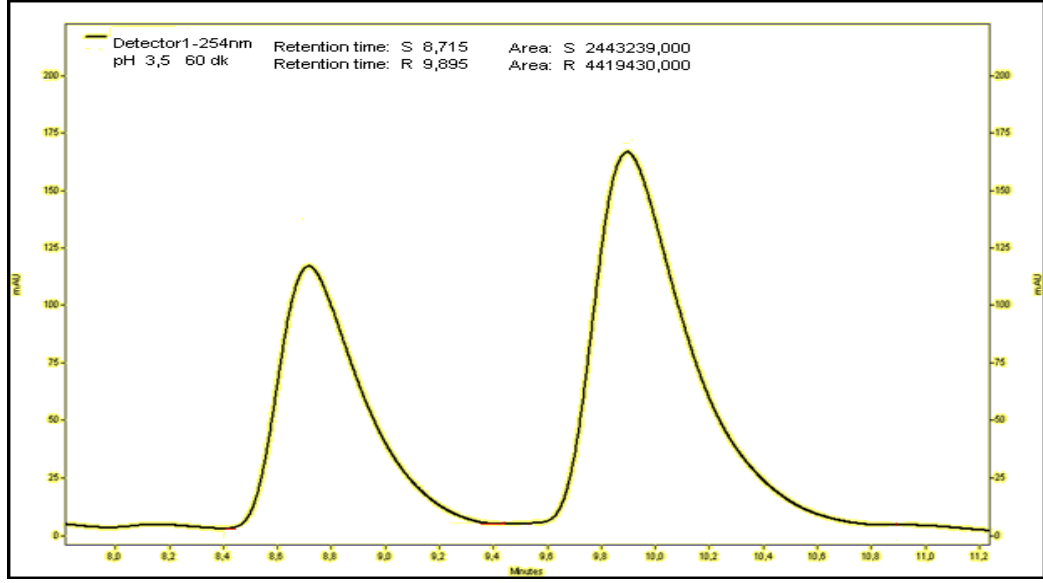
**Ek.46.** pH 3.5'ta 5 dakika karıştırma süresi sonunda 30mM'lık rasemik Mandelik asit karışımının rezolüsyon sonrası (R) ve (S) Mandelik asitlerinin % miktarlarını veren HPLC grafiği



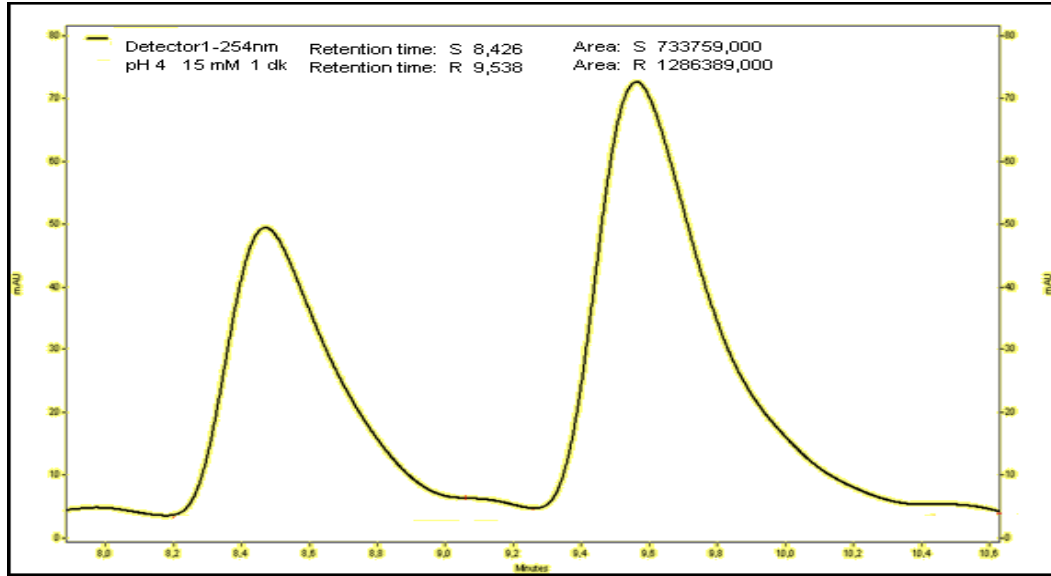
**Ek.47.** pH 3.5'ta 20 dakika karıştırma süresi sonunda 30mM'lık rasemik Mandelik asit karışımının rezolüsyon sonrası (R) ve (S) Mandelik asitlerinin % miktarlarını veren HPLC grafiği



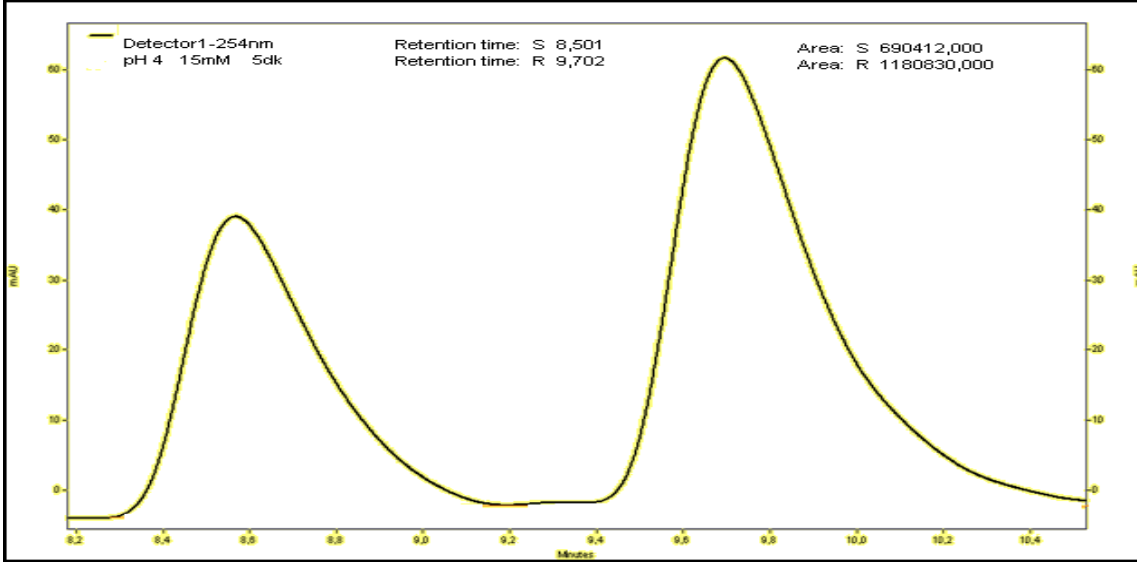
**Ek.48.** pH 3.5'ta 45 dakika karıştırma süresi sonunda 30mM'lık rasemik Mandelik asit karışımının rezolüsyon sonrası (R) ve (S) Mandelik asitlerinin % miktarlarını veren HPLC grafiği



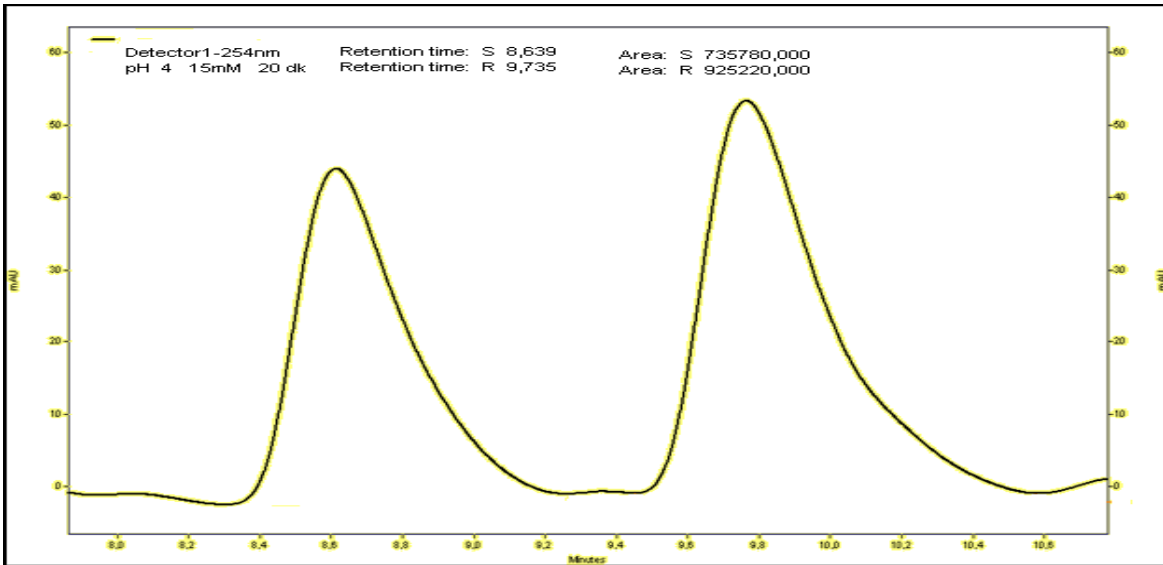
**Ek.49.** pH 3.5'ta 60 dakika karıştırma süresi sonunda 30mM'lık rasemik Mandelik asit karışımının rezolüsyon sonrası (R) ve (S) Mandelik asitlerinin % miktarlarını veren HPLC grafiği



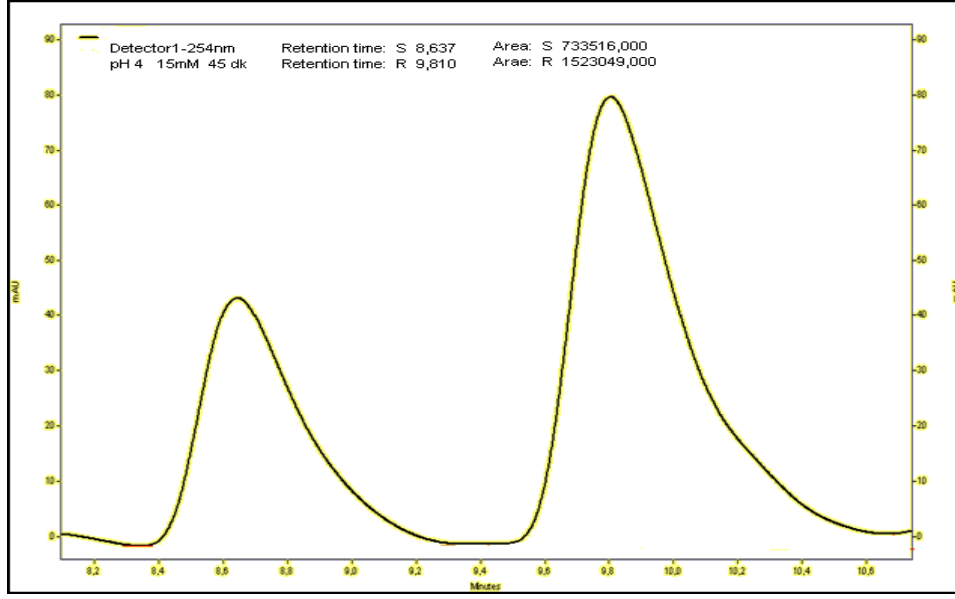
**Ek.50.** pH 4'te 1 dakika karıştırma süresi sonunda 15mM'lık rasemik Mandelik asit karışımının rezolüsyon sonrası (R) ve (S) Mandelik asitlerinin % miktarlarını veren HPLC grafiği



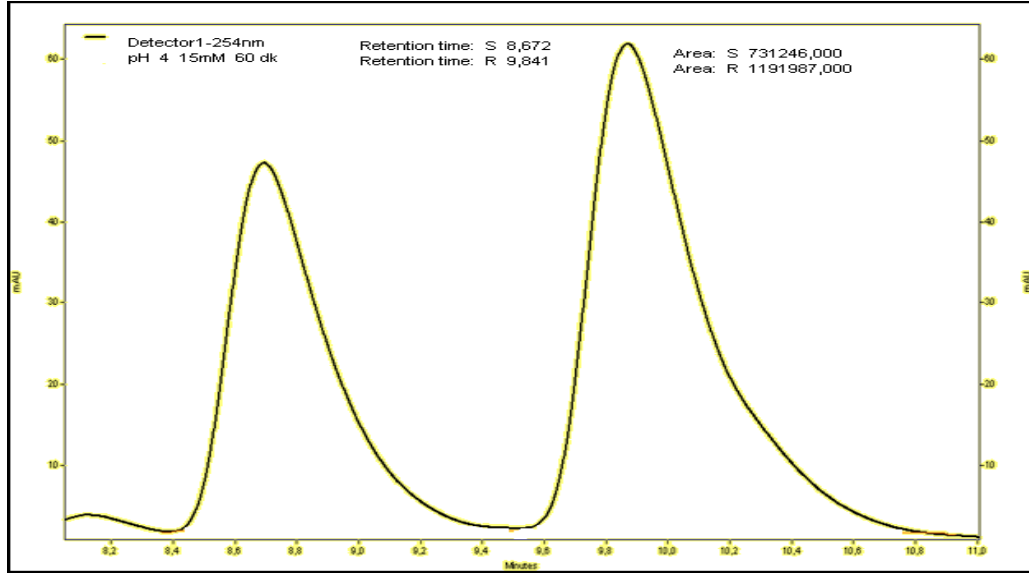
**Ek.51.** pH 4'te 5 dakika karıştırma süresi sonunda 15mM'lık rasemik Mandelik asit karışımının rezolüsyon sonrası (R) ve (S) Mandelik asitlerinin % miktarlarını veren HPLC grafiği



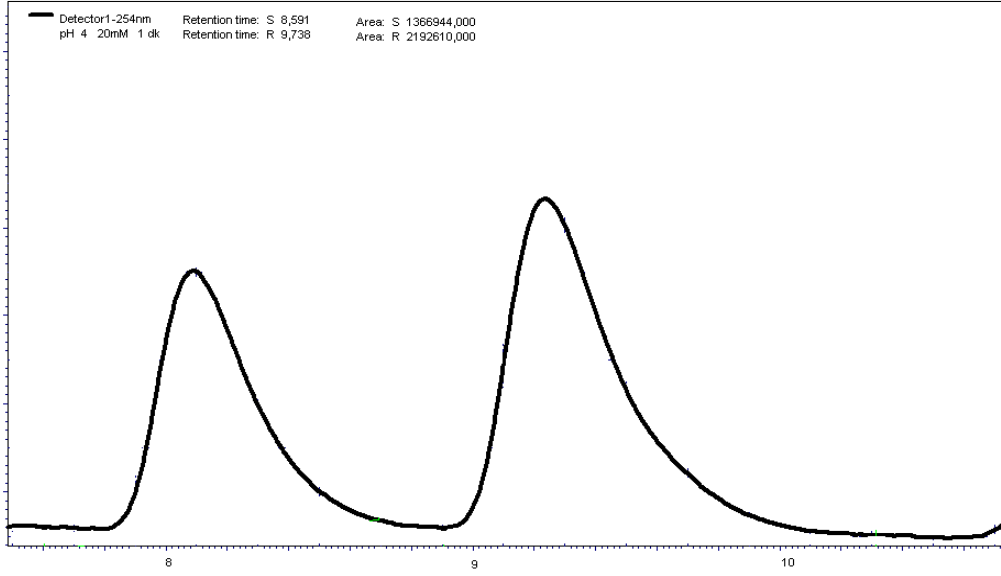
**Ek.52.** pH 4'te 20 dakika karıştırma süresi sonunda 15mM'lık rasemik Mandelik asit karışımının rezolüsyon sonrası (R) ve (S) Mandelik asitlerinin % miktarlarını veren HPLC grafiği



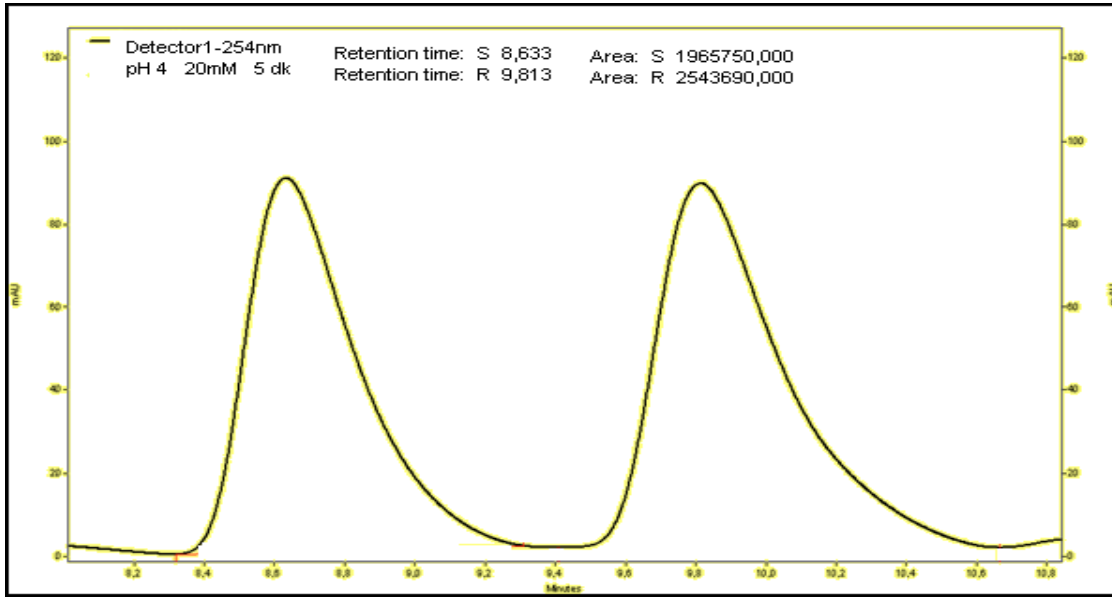
**Ek.53.** pH 4'te 45 dakika karıştırma süresi sonunda 15mM'lık rasemik Mandelik asit karışımının rezolüsyon sonrası (R) ve (S) Mandelik asitlerinin % miktarlarını veren HPLC grafiği



**Ek.54.** pH 4'te 60 dakika karıştırma süresi sonunda 15mM'lık rasemik Mandelik asit karışımının rezolüsyon sonrası (R) ve (S) Mandelik asitlerinin % miktarlarını veren HPLC grafiği

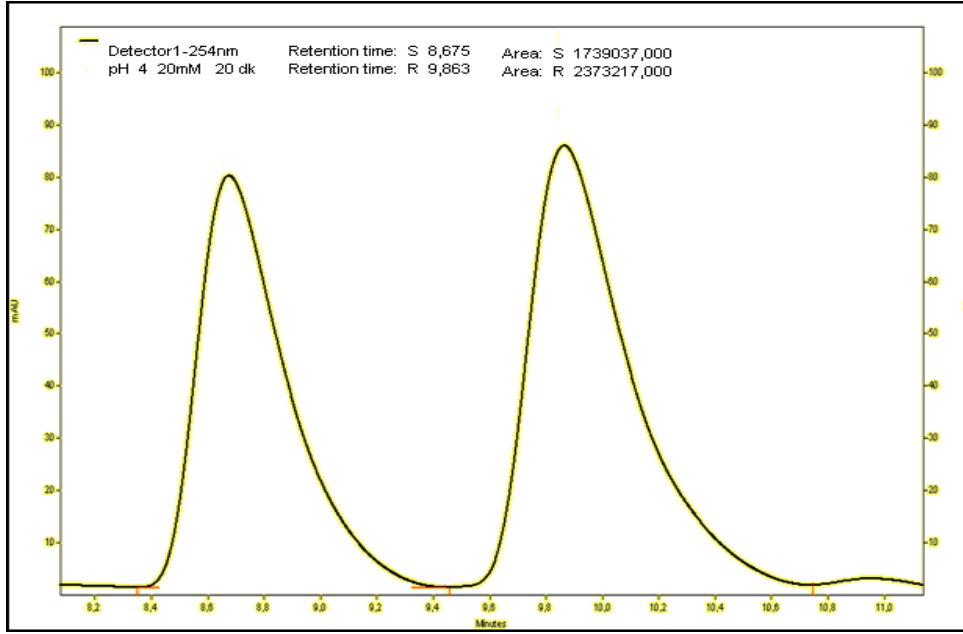


**Ek.55.** pH 4'te 1 dakika karıştırma süresi sonunda 20mM'lık rasemik Mandelik asit karışımının rezolüsyon sonrası (R) ve (S) Mandelik asitlerinin % miktarlarını veren HPLC grafiği

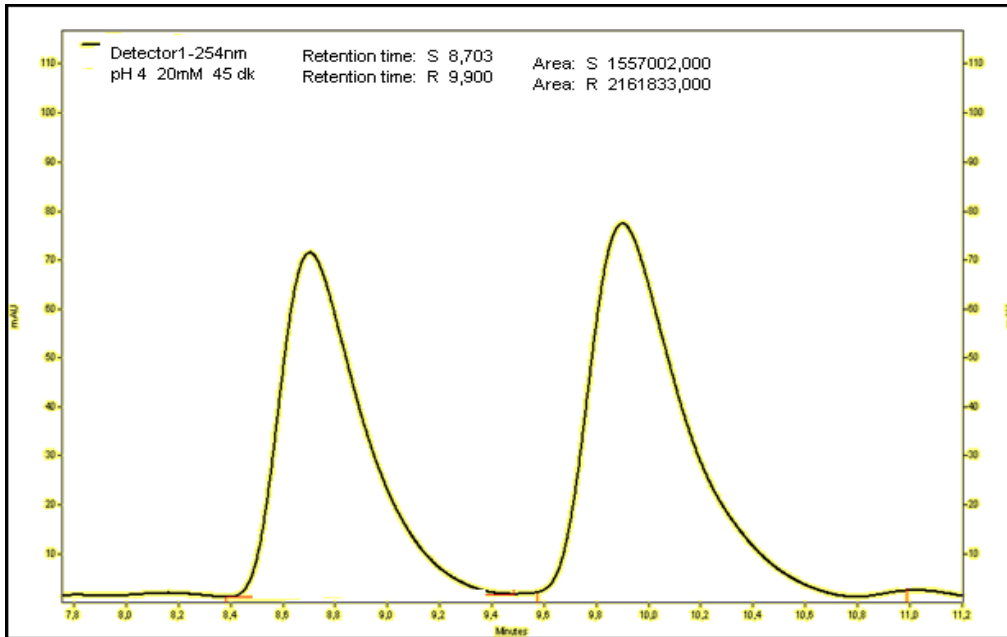


**Ek.56.** pH 4'te 5 dakika karıştırma süresi sonunda 20mM'lık rasemik Mandelik asit karışımının rezolüsyon sonrası (R) ve (S) Mandelik asitlerinin % miktarlarını veren HPLC grafiği

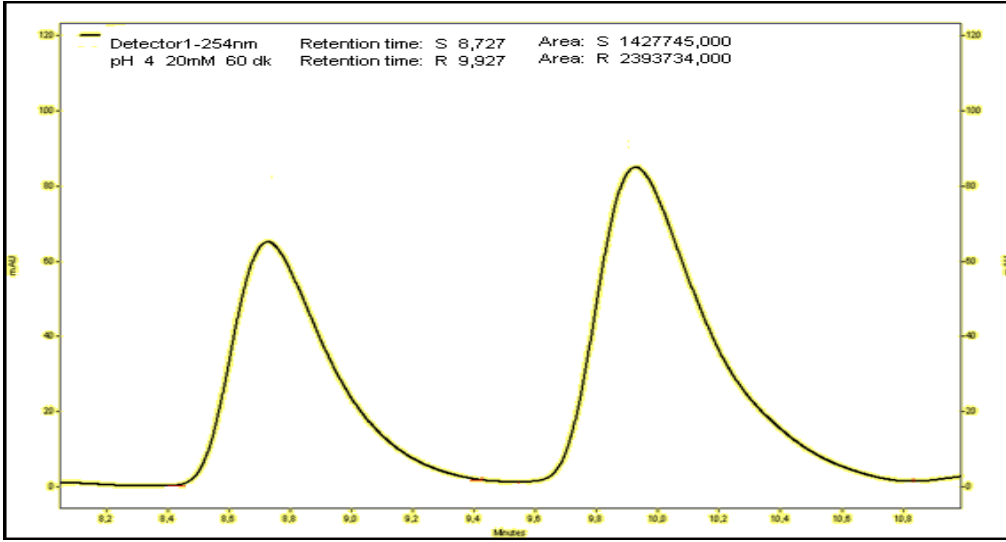




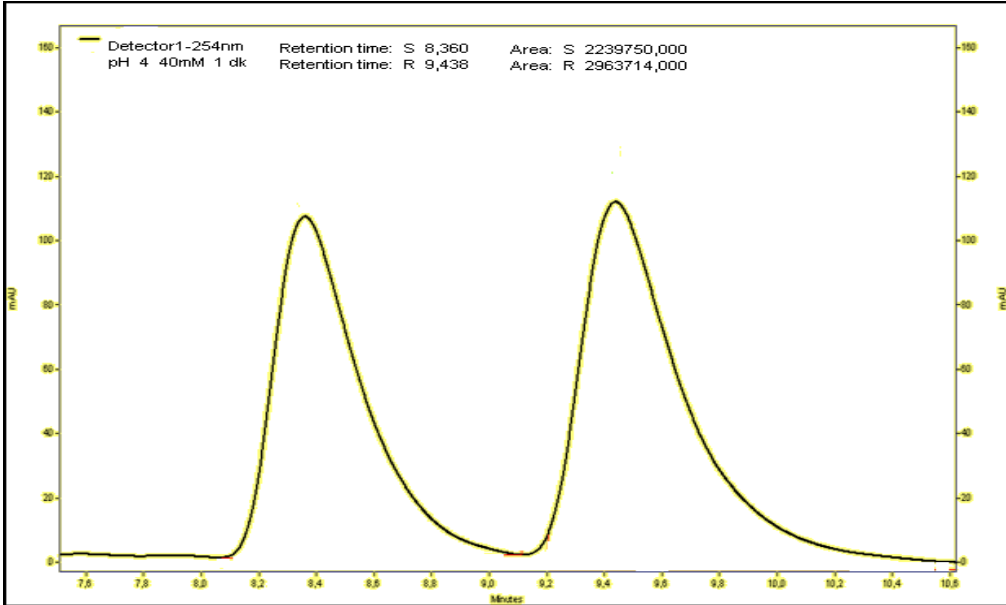
**Ek.57.** pH 4'te 20 dakika karıştırma süresi sonunda 20mM'lık rasemik Mandelik asit karışımının rezolüsyon sonrası (R) ve (S) Mandelik asitlerinin % miktarlarını veren HPLC grafiği



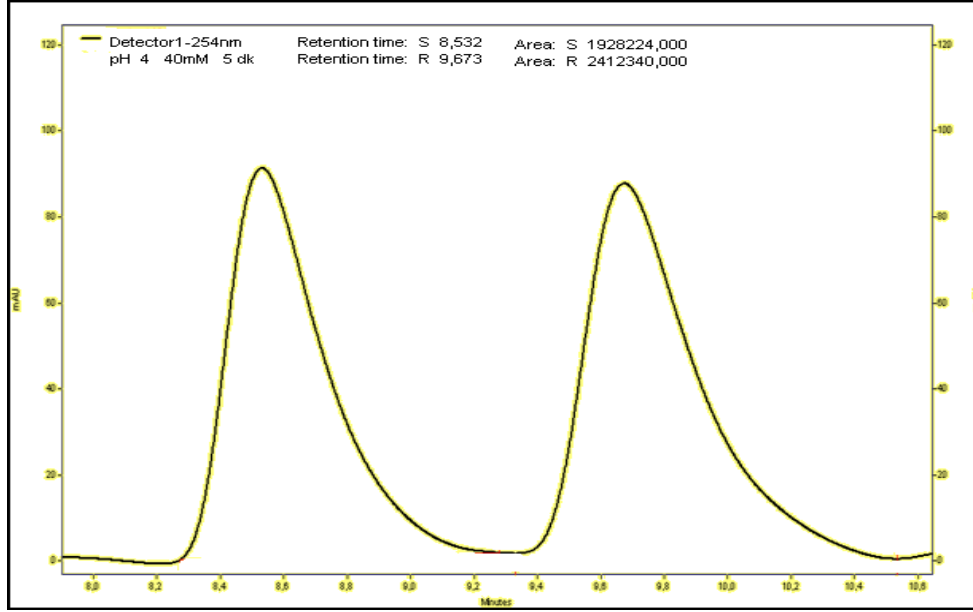
**Ek.58.** pH 4'te 45 dakika karıştırma süresi sonunda 20mM'lık rasemik Mandelik asit karışımının rezolüsyon sonrası (R) ve (S) Mandelik asitlerinin % miktarlarını veren HPLC grafiği



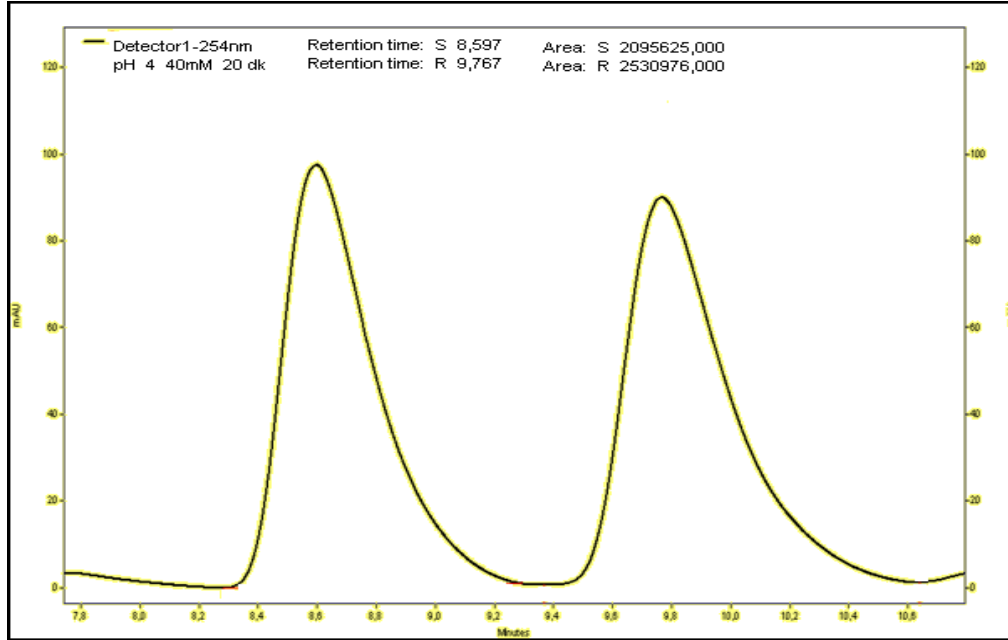
**Ek.59.** pH 4'te 60 dakika karıştırma süresi sonunda 20mM'lık rasemik Mandelik asit karışımının rezolüsyon sonrası (R) ve (S) Mandelik asitlerinin % miktarlarını veren HPLC grafiği



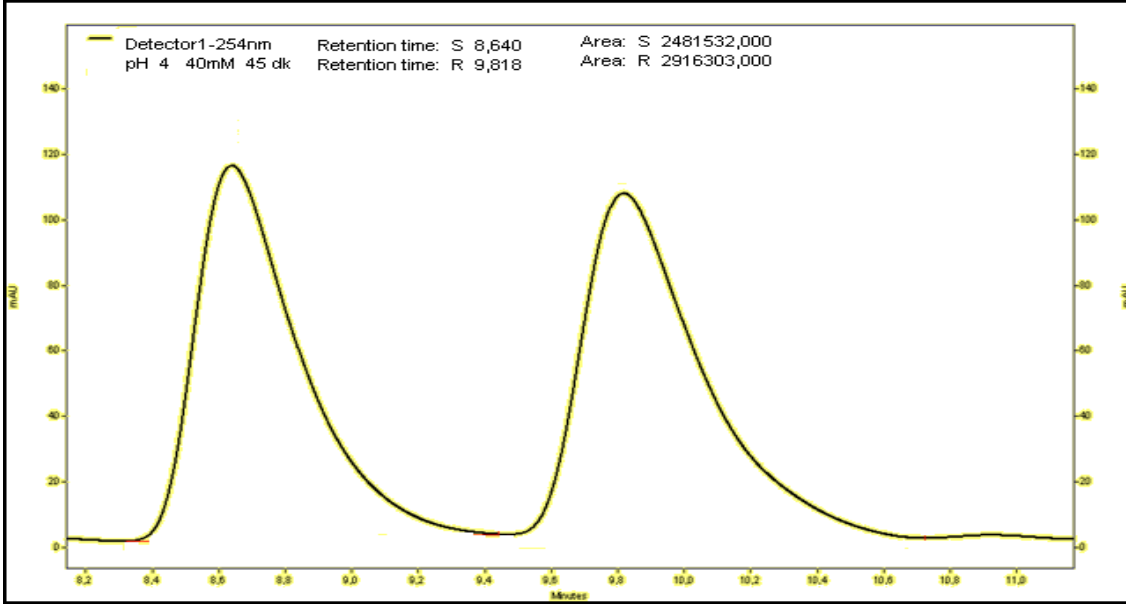
**Ek.60.** pH 4'te 1 dakika karıştırma süresi sonunda 40mM'lık rasemik Mandelik asit karışımının rezolüsyon sonrası (R) ve (S) Mandelik asitlerinin % miktarlarını veren HPLC grafiği



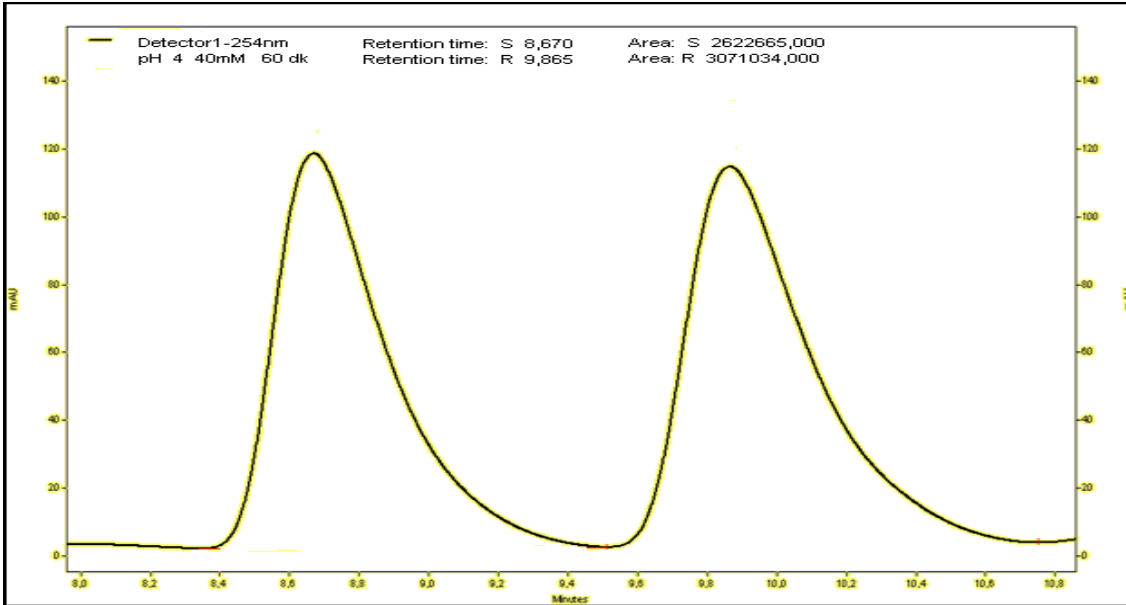
**Ek.61.** pH 4'te 5 dakika karıştırma süresi sonunda 40mM'lık rasemik Mandelik asit karışımının rezolüsyon sonrası (R) ve (S) Mandelik asitlerinin % miktarlarını veren HPLC grafiği



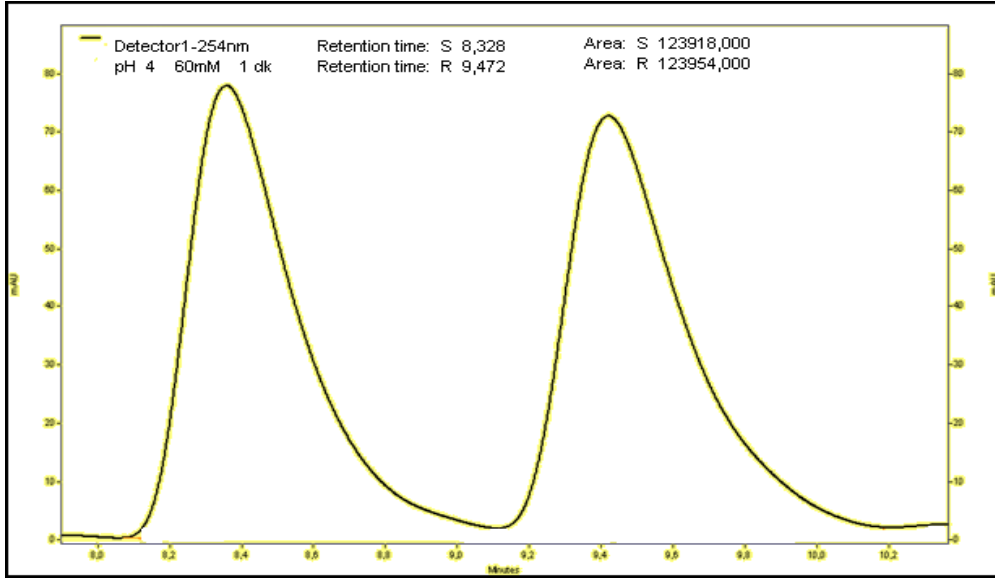
**Ek.62.** pH 4'te 20 dakika karıştırma süresi sonunda 40mM'lık rasemik Mandelik asit karışımının rezolüsyon sonrası (R) ve (S) Mandelik asitlerinin % miktarlarını veren HPLC grafiği



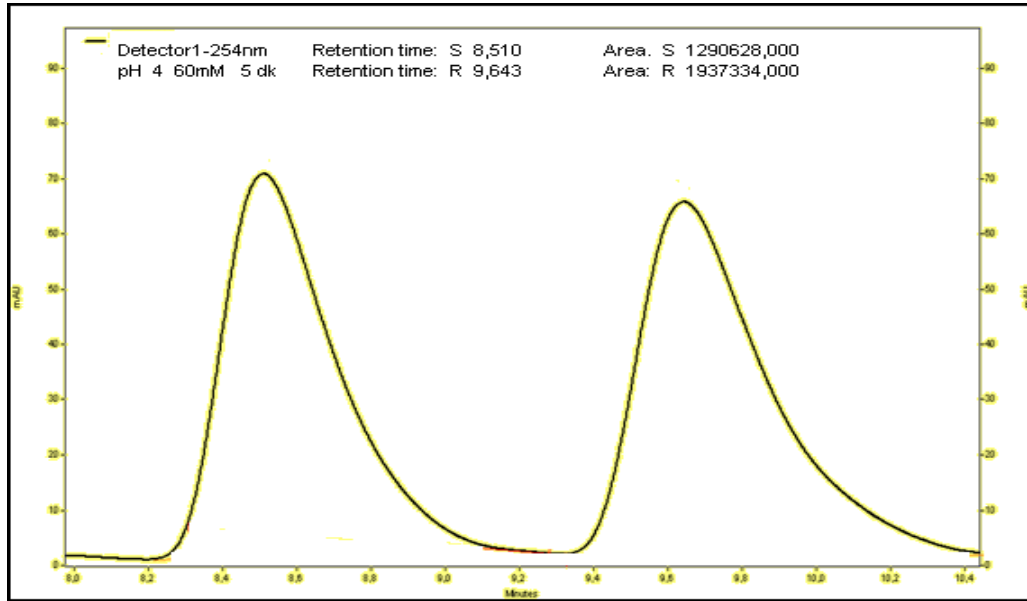
**Ek.63.** pH 4'te 45 dakika karıştırma süresi sonunda 40mM'lık rasemik Mandelik asit karışımının rezolüsyon sonrası (R) ve (S) Mandelik asitlerinin % miktarlarını veren HPLC grafiği



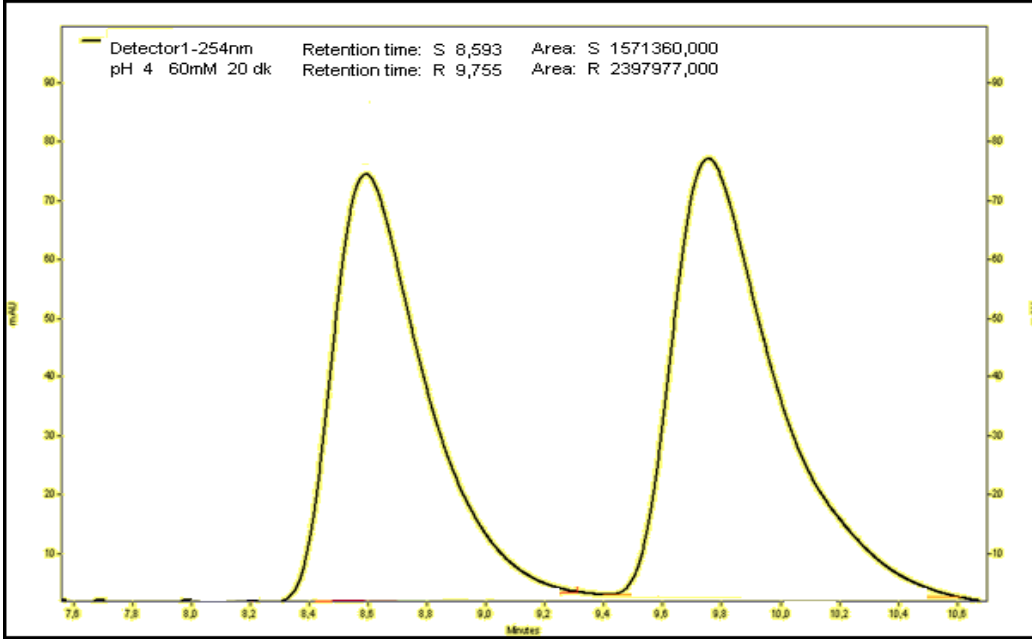
**Ek.64.** pH 4'te 60 dakika karıştırma süresi sonunda 40mM'lık rasemik Mandelik asit karışımının rezolüsyon sonrası (R) ve (S) Mandelik asitlerinin % miktarlarını veren HPLC grafiği



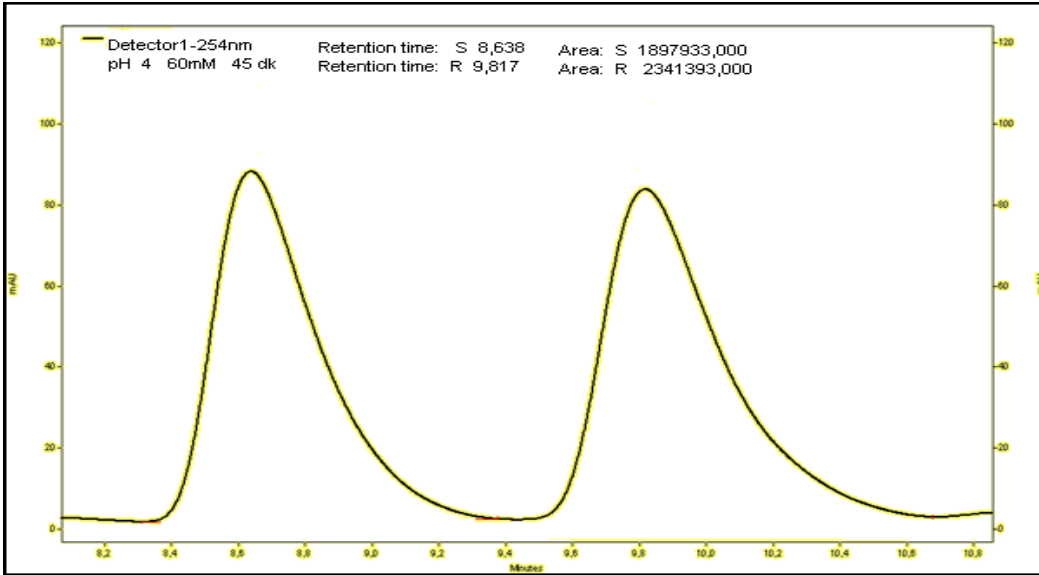
**Ek.65.** pH 4'te 1 dakika karıştırma süresi sonunda 60mM'lık rasemik Mandelik asit karışımının rezolüsyon sonrası (R) ve (S) Mandelik asitlerinin % miktarlarını veren HPLC grafiği



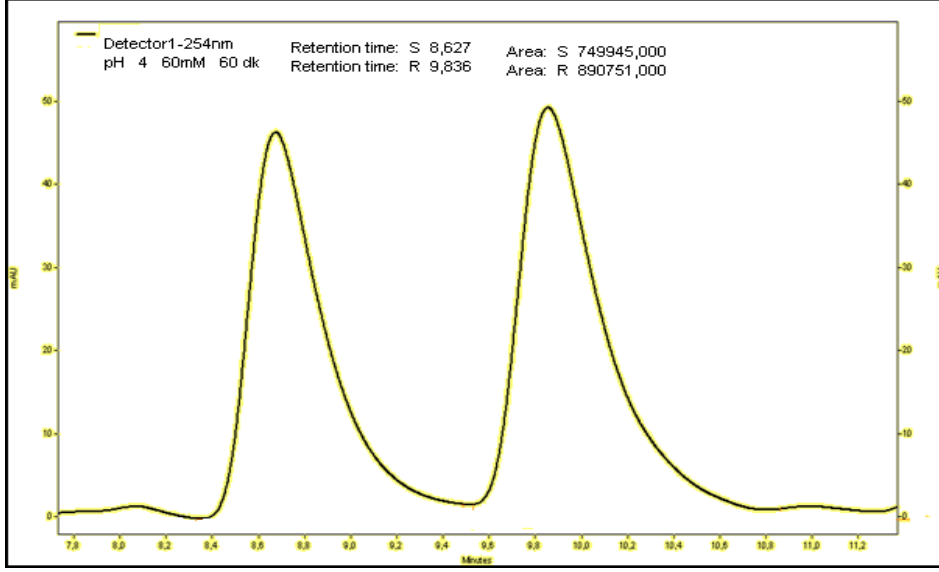
**Ek.66.** pH 4'te 5 dakika karıştırma süresi sonunda 60mM'lık rasemik Mandelik asit karışımının rezolüsyon sonrası (R) ve (S) Mandelik asitlerinin % miktarlarını veren HPLC grafiği



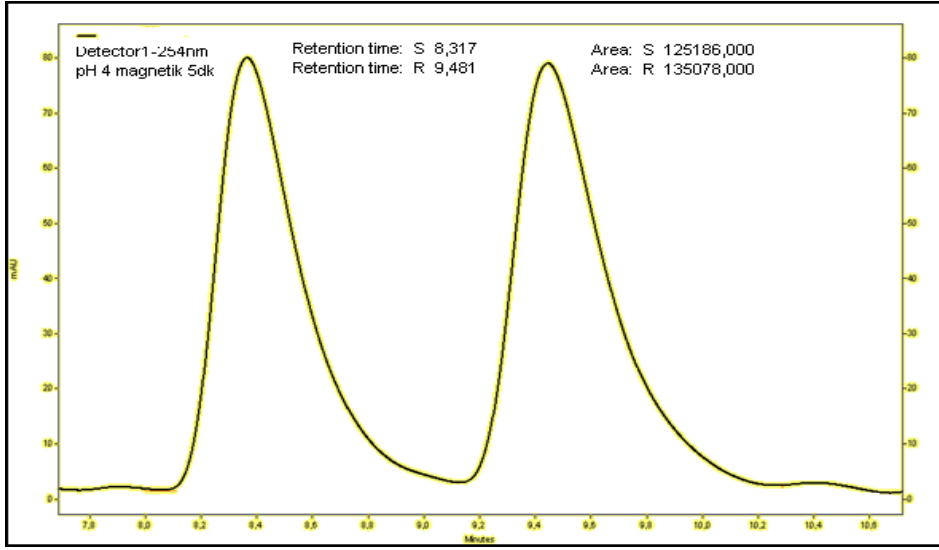
**Ek.67.** pH 4'te 20 dakika karıştırma süresi sonunda 60mM'lık rasemik Mandelik asit karışımının rezolüsyon sonrası (R) ve (S) Mandelik asitlerinin % miktarlarını veren HPLC grafiği



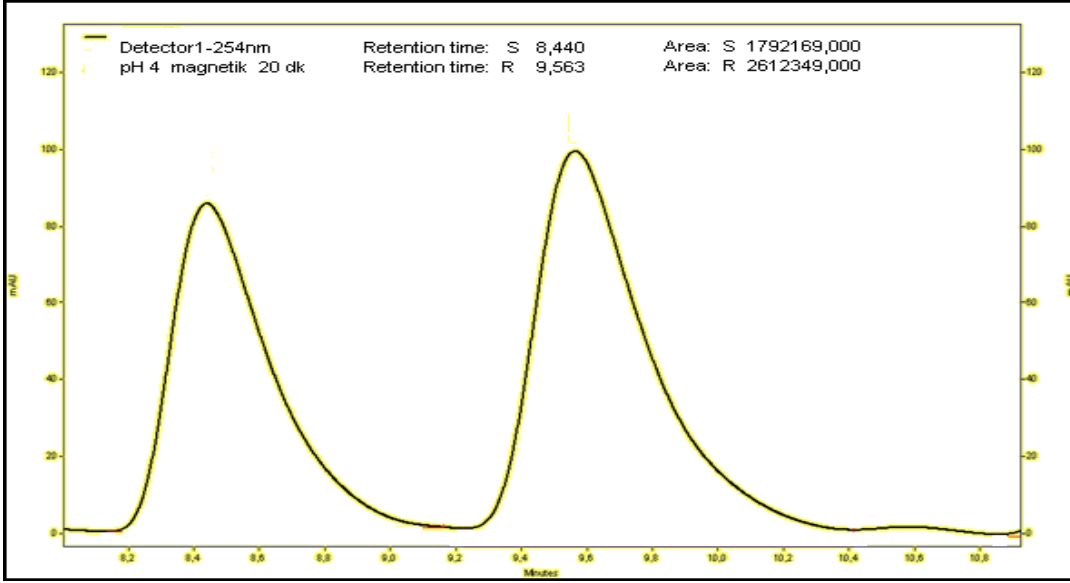
**Ek.68.** pH 4'te 45 dakika karıştırma süresi sonunda 60mM'lık rasemik Mandelik asit karışımının rezolüsyon sonrası (R) ve (S) Mandelik asitlerinin % miktarlarını veren HPLC grafiği



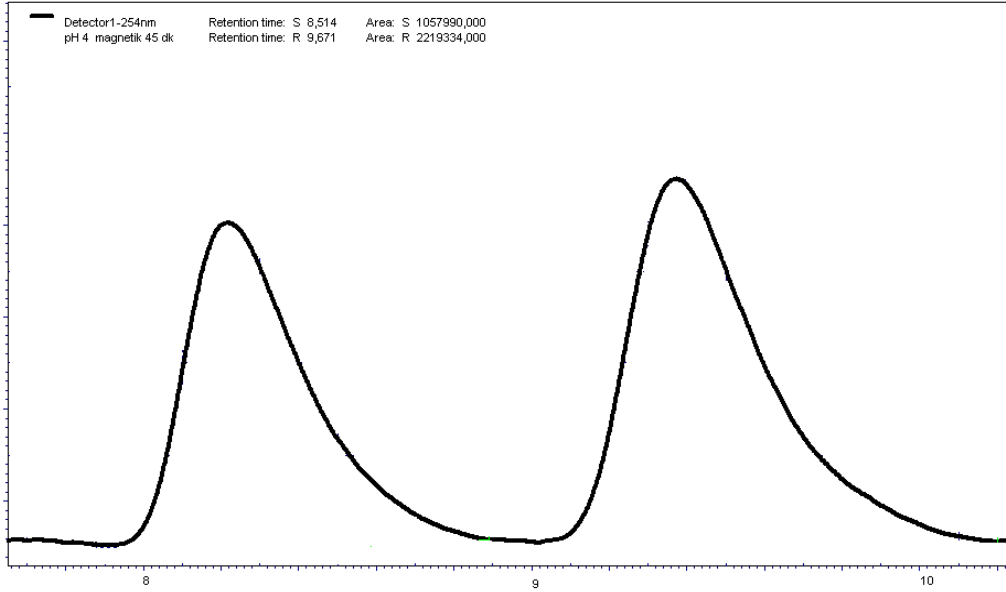
**Ek.69.** pH 4'te 60 dakika karıştırma süresi sonunda 60mM'lık rasemik Mandelik asit karışımının rezolüsyon sonrası (R) ve (S) Mandelik asitlerinin % miktarlarını veren HPLC grafiği



**Ek.70.** pH 4'te 5 dakika karıştırma süresi sonunda manyetik alan varlığında rasemik Mandelik asit karışımının rezolüsyonu sonrası (R) ve (S) Mandelik asitlerinin % miktarlarını veren HPLC grafiği

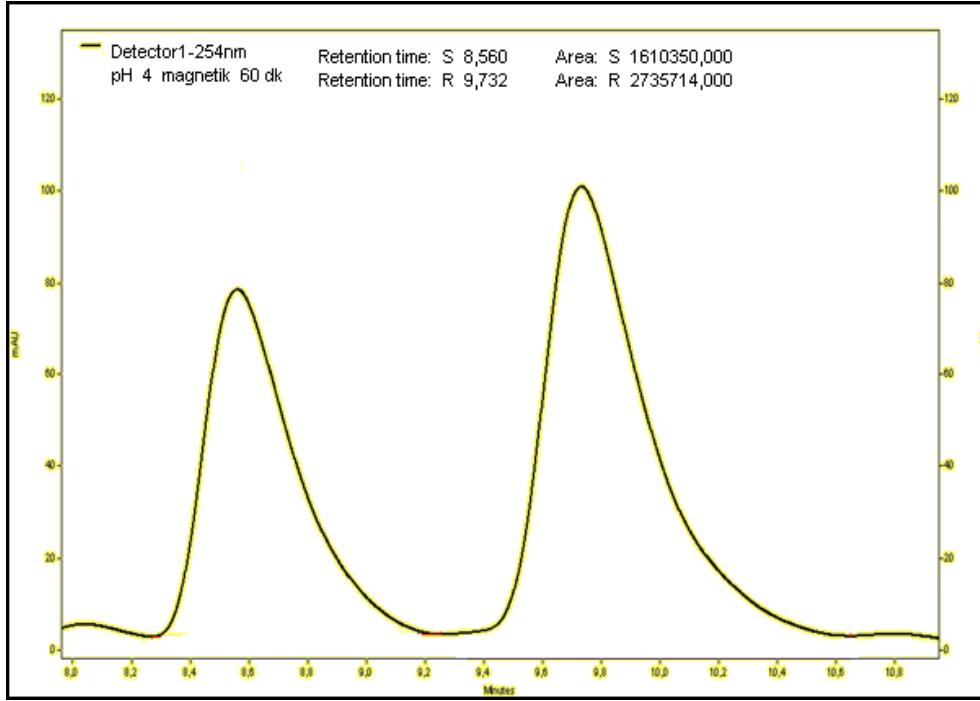


**Ek.71.** pH 4'te 20 dakika karıştırma süresi sonunda manyetik alan varlığında rasemik Mandelik asit karışımının rezolüsyonu sonrası (R) ve (S) Mandelik asitlerinin % miktarlarını veren HPLC grafiği



**Ek.72.** pH 4'te 45 dakika karıştırma süresi sonunda manyetik alan varlığında rasemik Mandelik asit karışımının rezolüsyonu sonrası (R) ve (S) Mandelik asitlerinin % miktarlarını veren HPLC grafiği





**Ek.73.** pH 4'te 60 dakika karıştırma süresi sonunda manyetik alan varlığında rasemik Mandelik asit karışımının rezolüsyonu sonrası (R) ve (S) Mandelik asitlerinin % miktarlarını veren HPLC grafiği

## ÖZGEÇMİŞ

1981 yılında Diyarbakır'ın merkeze bağılı Diken Tepe Köyü'nde doğan Tuba TARHAN, 1992 yılında Dikentepe Köyü İlköğretim Okulu'ndan mezun olduktan sonra ortaokul ve lise öğrenimini Diyarbakır'da tamamladı. 1999'da Dicle Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünü kazanıp iki yıl devam ettikten sonra dikey geçişle Dicle Üniversitesi Eğitim Fakültesi Kimya Öğretmenliği'ne geçti ve 2005 yılında bu bölümden mezun oldu. 2006'da çeşitli özel eğitim kurumları ile Milli Eğitim Bakanlığı'nda kimya öğretmenliği yaptı. 2010 yılında Yüksek Lisans'a başladı. 2011 yılında Mardin Artuklu Üniversitesi'nde Öğretim Görevlisi olarak göreve başladı ve halen Mardin Artuklu Üniversitesi'nde Öğretim Görevlisi olarak çalışmaktadır.

