

T.C.
İstanbul Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü

HİNT YAĞINDAN AZELAİK ASİD SENTEZİ ve
BU ASİD'İN DİOKTİL- ve DİNONİL- ESTERLERİNİN
LİPAZ İLE İNVİTRO ORTAMDA ETKİLEŞİMİ

Yüksek Lisans Tezi
(Kimya, Biokimya Programı)

Gülen TÜRKER

Danışman :
Prof.Dr.Ayfer BAPÇUM

Haziran - 1989

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖZET	
GENEL BÖLÜM	1
I.1. Dikarboksilli Asidlerin Genel Özellikleri	1
I.2. Azelaik Asidin Bulunuşu	2
I.3. Fiziksel Özellikleri	4
I.4. Kimyasal Özellikleri	5
I.5. Azelaik Asidin Kullanıldığı Yerler	6
I.6. Azelaik Asidin Sentez Metodları	6
I.7. Dikarboksilli Asid Esterlerinin Sentezi	9
II. DENEL BÖLÜM	10
II.1. Kullanılan Araç ve Gereçler	10
II.2. Yöntem	11
II.3. Azelaik Asid Diesterlerinin Hazırlanması	12
II.4. Diesterlerin Saflaştırılması	13
II.5. Diesterlerin Saflık Kontrolü ve Yapılarının Aydınlatılması	14
II.6. Dioktil- ve Dinonil Azeleatların İnvitro Olarak Etkileşimi	19
II.6.1 Lipaz Hakkında Genel Bilgi	19
II.6.2 Dioktil- ve Dinonil- Azeleatların Lipaz İle Etkileşimi	20
SONUÇ	23

TEŐEKKÜR

Yüksek Lisans çalışmamda teorik ve pratik olarak bana yol gösteren, gerekli laboratuvar imkanlarını sağlayan, ilgi ve yardımlarını esirgemeyen Sayın Hocam Prof.Dr. Ayfer BAPÇUM'a ve laboratuvar çalışmalarımnda bana yardımcı olan Sayın Dr. Refiye YANARDAĒ'a teőekkürü borç bilirim.

Haziran, 1989

Gülen TÜRKER

SUMMARY

In this study azelaic acid was obtained from castrol oil and then it was purified and determined it's physical properties. After that, azelaic acids diesters were synthesized. Dioctyl - and dinonyl - azeleats which obtained in this study, made pure controls with helping of TLC, meltiug point and Infra red spectra. Also, by studying the interaction of azelaic acid diesters with lipase in invitro condition has been studied that this enzyme whether effects the breaking down of the ester bonds.

ÖZET

Bu çalışmada Hint yağından Azelaik asid elde edilerek saflaştırılmış, fiziksel özellikleri saptanarak bu asidin diesterleri sentez edilmiştir. Çalışmada sentez edilen dioktil- ve dinonil- azeleatların saflık kontrolleri ince tabaka kromatografisi, E.N. ve IR spektrumları yardımı ile yapılmıştır. Ayrıca azelaik asid diesterlerinin invitro ortamda Lipaz ile etkileşimi incelenerek ester bağının parçalanmasında bu enzimin etkili olup olmadığı araştırılmıştır.

I. GENEL BÖLÜM

I.1. DİKARBOKSİLLİ ASİDLERİN GENEL ÖZELLİKLERİ

Doymuş alifatik dikarboksilli asid serisi oksalik asid ile başlar. Genel formülleri $C_nH_{2n}(COOH)_2$ dir. Tek ve çift karbon sayılı dikarboksilli asidlerin fiziksel özellikleri kendi aralarında farklılıklar gösterir. Buna göre, tek karbon sayılı asidlerin erime noktaları kendilerinden bir önce gelen çift karbon sayılı asidlerden daha düşüktür. Örneğin; dokuz karbon atomuna sahip azelaik asidin erime noktası sekiz karbon atomuna sahip suberik asidden daha düşüktür. Benzer şekilde tek karbon sayılı diasidlerin sudaki çözünürlükleri kendilerinden bir önce gelen çift karbon sayılı diasidlerden daha fazladır. Bu tezat yüksek molekül ağırlıklı dikarboksilli asidlerde daha az belli olmaktadır. Dikarboksilli asidlerin sudaki çözünürlükleri ve erime noktaları aynı karbon sayılı monokarboksilli asidlere nazaran daha yüksektir(1).

Eskiden beri bilinen dikarboksilli asidler ticarete yaygın adları ile, yeni asidler ise sistematik adları ile kullanılır. Son isimlendirmeye göre dikarboksilli asidlerin adları; hidrokarbon sayısına -dioik son eki getirilerek türetilir. Buna göre oksalik asid etandioik asid; azelaik asid ise nonandioik asid olarak isimlendirilir.

Küçük karbon sayılı dikarboksilli asidler bazı bitkilerin yeşil yapraklarında ve köklerinde potasyum, kalsiyum tuzu veya serbest şekilde bulunur. Bu asidlerin orta ve yüksek karbon sayılı üyelerine ise doğal vakslarda veya recinelerde rastlanmaktadır.

Dikarboksilli asidler yağların yapılarına girmemekle beraber bu maddelerin önemli metabolik ürünleridir. Bu asidler yağların ve yağ asidlerinin oksidasyonu ile yıkılmaları sonucu meydana gelirler. Küçük karbon sayılı dikarboksilli asidlerin çoğu hayvansal organizmalar tarafından sentez edilmektedir. C_4 dikarboksilli asidler hayvansal organizmalarda redoks katalizatörü görevi yaparlar. Dikarboksilli asidlerin bir kısmının Trikarboksilli Asid Siklusu içinde önemli görevleri vardır. (C_8-C_{13}) orta zincir uzunluğuna sahip dikarboksilli asidler antimitokondrial etkiye sahiptir (2).

Dikarboksilli asidler, moleküllerindeki iki karboksil gruplarından biri veya her ikisi ile reaksiyona girerek iki çeşit türev oluştururlar. Bu asidler aktivitelerinden dolayı çeşitli yağ türevlerinin hazırlanmasında kullanılırlar. Bu asidlerin polifonksiyonel alkoller ve aminlerle reaksiyonlarından kondensasyon ürünleri, lineer polimerler meydana gelir. Dikarboksilli asidlerin gliserol gibi trifonksiyonel alkollerle reaksiyonundan termosettin plastikleri, etilen glikol ile reaksiyonları yüksek mol ağırlıklı poliesterleri, diaminlerle reaksiyonları ise yüksek molekül ağırlıklı poliamidleri verirler. Polikondenzasyon ürünlerinin plastik, kauçuk, lastik, sentetik iplik yapımı ve dolayısıyla tekstil endüstrisi gibi çok geniş kullanım alanları vardır.

I.2. AZELAİK ASİD'İN BULUNUŞU

Formülü $HOOC-(CH_2)_7-COOH$ olan azelaik asidin sistematik adı nonandioik asiddir. Normal yağ bileşenlerine girmeyen, yüksek molekül ağırlıklı alkandioik asiddir. Azelaik asid, oleik asidin nitrik asid ile oksidasyonundan da elde edilebildiği için, adındaki "az" ekini azotik (nitrik) asid ve Yunanca'da zeytin yağı anlamına gelen "elaidik" ten alır. Azelaik asid doğada, sadece doğal ürünlerdeki doymamış

yağların havanın etkisi ile oksitlenerek bozunması sonucunda oluşmaktadır (3).

Azelaik asid ilk defa Gantter ve Hell tarafından 1881 de (4) ve Saytzeff tarafından 1885'de (5) oleik asidin potasyum permanganat ile oksidasyonundan elde edilmiştir.

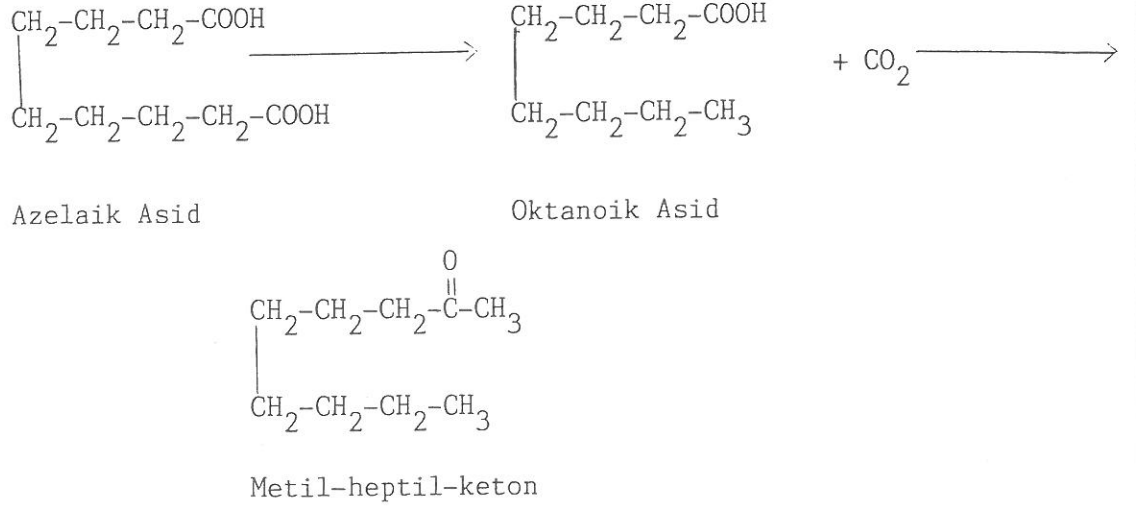
I.3. FİZİKSEL ÖZELLİKLERİ :

Tablo I'de görülmektedir.

Tablo I :

Görünüşü	Beyaz,parlak,tabak şeklinde kristaller(6).
Mol Ağırlığı	188,21 (6)
Erime Noktası	105°C (6)
Kaynama Noktası	360°C'nin üzerinde (6). $K_{P50}^{265^{\circ}}$; $K_{P15}^{237^{\circ}}$; $K_{P10}^{226^{\circ}}$; $K_{P100}^{287^{\circ}}$
Sudaki % Çözünürlük	
0°C	0,10 g (7)
10°C	0,257 g (8)
12°C	0,108 g (8)
15°C	0,212 g (9)
20°C	0,24 g (7)
50°C	0,82 g (7)
55°C	1,648 g (9)
65°C	2,2 g (7)
Eterdeki % Çözünürlüğü	
11°C	1,88 g (8)
15°C	2,68 g (8)
Alkoldeki Çözünürlüğü	Çok az (8)
Kırılma İndisi	$n^{107,3} = 1,42808$; $n^{107,3} = 1,43554$ (10)
Optikçe Aktiflik	1,0287 (10)
İletkenlik	$2,85 \cdot 10^{-6}$ (11); $4,3 \cdot 10^{-6}$ (12)
Sabit Hacimde Moleküler Yanma Isısı	1140,1 Kal (10)
25°C'deki Dissosiyasyon Sabiti	$K_1 = 2,96 \cdot 10^{-5}$ (13) $K_2 = 2,8 \cdot 10^{-6}$ (14)

3- Benzer şekilde azelaik asidin dekarboksilasyonu ile oktanoik asid üzerinden metil-heptil keton elde edilir (15).



Azelaik asidin hint yağı ile olan kombinasyonu ise doğal kauçuğa benzeyen elastik ürünler verir (16).

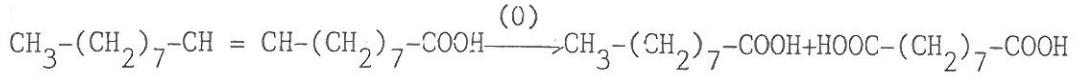
I.5. AZELAİK ASİD'İN KULLANILDIĞI YERLER

Azelaik asid akne tedavisinde kullanılan kozmetik kremlerde parafin vaksı ile birlikte kullanılmaktadır (17), ayrıca intravenöz olarak uygulanmasında göz melanomu tedavisinde etkili olabildiği belirtilmektedir (18). Endüstride ise daha ziyade basit, dallanmış ve polihidrik alkollü esterleri kullanılmaktadır. Basit esterleri plastik sanayiinde özellikle vinilklorür reçineleri yapımında, dallanmış esterleri ise yağlama yağlarında kayganlaştırıcı olarak (19) ve diğer askeri alanlarda (jet uçaklarında yağlama yağlarında) kullanılmaktadır.

I.6. AZELAİK ASİD'İN SENTEZ METODLARI

1- 1881'de Gantter ve Hell (4), 1885'de de Saytzeff (5) oleik asidin potasyum permanganat ile oksidasyonundan azelaik asidi elde etmişlerdir. Oleik asidin oksidatif

parçalanması sonucu oldukça yüksek bir verimle azelaik asid elde edilmekte, ancak reaksiyon kontrol edilemediğinden oleik asidin tam olarak oksidatif parçalanması sonucu kısa zincirli asidler de meydana gelmektedir (1).

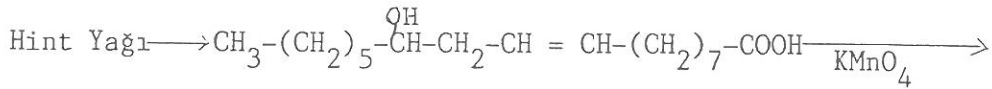


Oleik Asid

Nonanoik Asid

Azelaik Asid

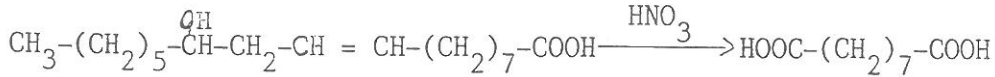
2- Ticarete azelaik asid, hint yağının KOH ile kademeli olarak sabunlaştırılmasından % 30-35 verimle elde edilmektedir (20). Hint yağının KOH ile sabunlaşması sonucu oluşan risinoleik asidin ya derişik sülfirik asidli ortamda potasyum permanganat ile veya doğrudan doğruya nitrik asid (21, 22,23) ile oksidasyonundan azelaik asid oluşmaktadır.



Risinoleik Asid



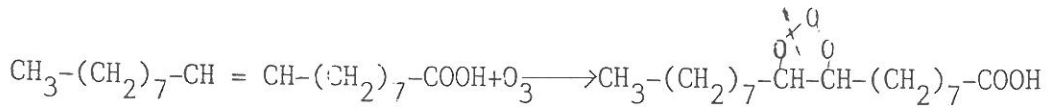
Azelaik Asid



Risinoleik Asid

Azelaik Asid

3- Azelaik asid, oleik asidin ozonizasyonu sonucu oluşan ozonitin dekompozisyonundan da elde edilebilir(21)



Oleik Asid

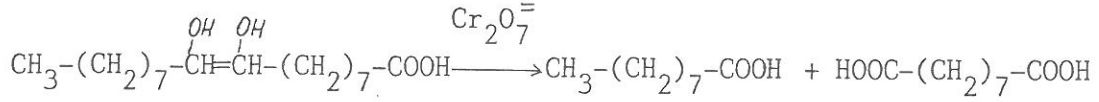
Ozonit



Nonanoik Asid

Azelaik Asid

4- Dihidroksi stearik asidin sülfirik asidli ortamda dikromat ile oksidasyonundan, monokarboksilli asid yanında azelaik asid elde edilir (24).



Dihidroksi Stearik Asid

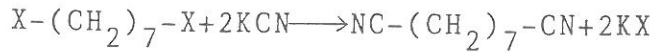
Nonanoik Asid

Azelaik Asid

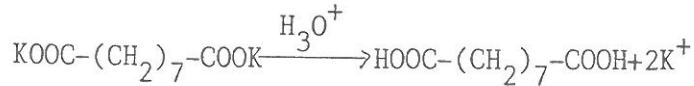
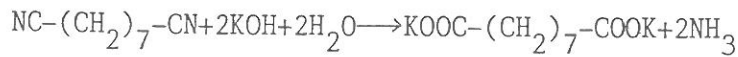
5- Diasidlerin genel sentez yöntemi olan siyanür sentezinden yararlanarak da azelaik asid elde edilebilir. Uygun olarak seçilen dihalojenür (25) veya ω -halojen (26) asid KCN ile geri soğutucu altında kaynatılır. Oluşan dinitril veya mononitrillerin asid ile hidrolizinden azelaik asid, kalevi hidrolizinden ise azelaik asid lkali tuzu oluşur.

X : Cl⁻, Br⁻, I⁻ (halojenür)

a- Polimetilen dihalojenür üzerinden :

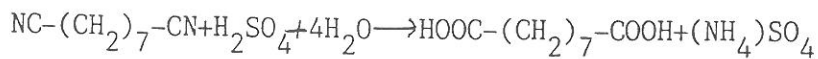


Alkali ile hidroliz :



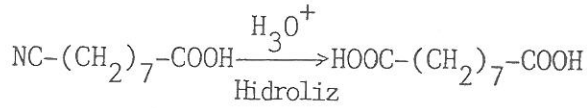
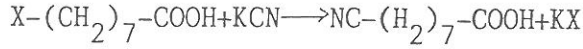
Azelaik Asid

Asid ile hidroliz :



Azelaik Asid

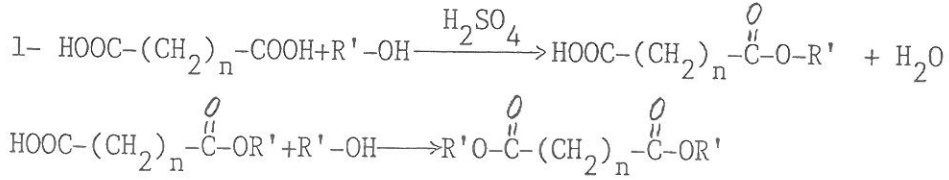
b- w-Halojen asidler üzerinden



Azelaik Asid

İ.7. DİKARBOKSİLLİ ASİD DİESTERLERİNİN SENTEZİ

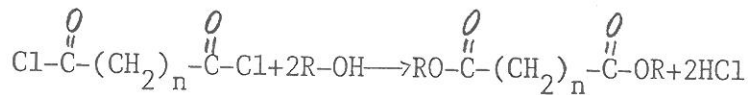
Dikarboksilli asidler mono alkollerle iki tip ester yapabilirler. Esterleşme alkolün fazlası ile asid katalizatorler eşliğinde iki basamakta gerçekleşir. Birinci kademedede bir monoester, ikincisinde ise diester meydana gelir(27,28).



2- Diasid ile sodyum alkolattan



3- Diasid klorür ile alkollerden



II. DENEL BÖLÜM

Azelaik asidin sentezi I.6.2'de belirtilen yöntemle göre yapılmıştır.

İlkel madde olarak kullanılan Hint yağı önce sabunlaştırılarak risinoleik asid elde edilmiş, bu asidin saflaştırılmasından sonra KMnO_4 ile oksidasyonu yapılarak azelaik asid elde edilmiştir.

II.1. KULLANILAN ARAÇ ve GEREÇLER

Hint Yağı

1,8 M alkollü KOH çözeltisi (% 95 Etanol)

2,35 N H_2SO_4

Susuz MgSO_4

0,5 M KMnO_4

0,7 M KOH

250 ml'lik dibi yuvarlak balon

Gerisoğutucu

Ayırma hunisi

250 ml'lik kapaklı erlen

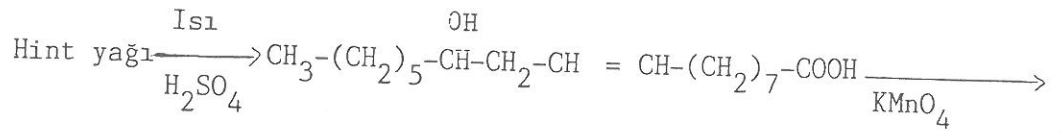
Bühner hunisi

Su trompu

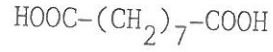
2 l'lik dibi düz balon

Porselen kapsül

II.2. YÖNTEM



Risinoleik Asid



Azelaik Asid

1,8 M alkollü KOH çözeltisinin 200 ml'sine 100 g Hint yağı ilâve edilir. Karışım 250 ml'lik balona konarak geri-soğutucu altında 3 saat kaynatılır. Çözelti 600 ml suya dökülür ve 80 ml 2,35 N H₂SO₄ ile asidlendirilecek ayırma hunisine alınır. Üst fazı oluşturan risinoleik asid iki kez ılık su ile yıkanır. Alınan üst faz kapaklı erlende bir saat susuz MgSO₄ ile aralıklı olarak çalkalanarak kurutulur ve süzülerek ayrılır.

Elde edilen 48 g kuru risinoleik asid 320 ml 0,7 M KOH çözeltisinde çözülür. Daha sonra risinoleik asidin alkali çözeltisi 1500 ml 0,5 M KMnO₄ çözeltisine şiddetli bir karıştırma ile bir kerede ilâve edilir. Isı 75°C'ye hızla yükselir. Karıştırmaya yarım saat veya su ilâve edilmiş bir test örneğinde permanganatın rengi görülmeyinceye kadar devam edilir. Büyük hacimle çalışma zorluğu nedeniyle oksidasyon karışımı iki eşit parçaya bölünür ve örnek şu şekilde işlem görür :

Toplam karışıma 160 ml 2,35 N H_2SO_4 çözeltisi ilâve edilerek MnO_2 'nin pıhtılaşmaması için 15 dakika su banyosunda ısıtılır, süzülür ve süzüntüler ayrı bir kapta toplanır. MnO_2 ayrı bir kaserole alınarak bağlanmış olabilecek Azelaik asidin çözünmesi için 400 ml su ilâve edilir ve kaynatılır. Karışım sıcak iken süzülür ve sıcak su ile yıkanır. Birleştirilen tüm süzüntüler buharlaştırılarak buzda soğutulur. Oluşturulan kristaller tromptan süzülerek ayrılır. Bir kez soğuk su ile yıkanır ve kurutulur. Elde edilen azelaik asid bir kaç defa sudan kristallendirilerek saflaştırılır. E.N. $105^{\circ}C$.

Aynı metod kullanılarak toplam 600 ml hint yağı ile çalışıldı ve sonuçta % 10,62'lik bir verim ile 63,7 g azelaik asid elde edildi.

II.3. AZELAİK ASİD DİESTERLERİNİN HAZIRLANMASI

Çalışmada azelaik asidin dioktil- ve dinonil- esterleri I.7.1.'de belirtilen yönteme göre yapılmıştır.

KULLANILAN MADDE ve ARAÇLAR

Azelaik asid

Oktil alkol

Nonil alkol

Benzen

d. H_2SO_4

doymuş $NaHCO_3$ çözeltisi

Susuz $MgSO_4$

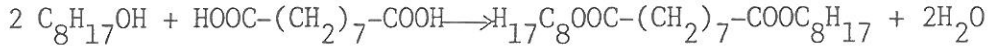
Aseton

100 ml'lik dibi yuvarlak balon

Gerisoğutucu

Ayrırma hunisi

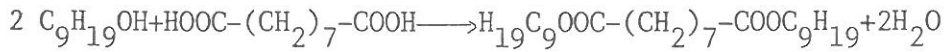
YÖNTEM



Oktil Alkol Azelaik Asid Dioktil Azeleat

100 ml'lik dibi yuvarlak balona 0,05 mol Azelaik asid ve sırası ile 0,1 mol oktil alkol, 17 ml benzen ve $9,3 \cdot 10^{-3}$ mol derişik H_2SO_4 konur. Gerisoğutucu altında 12 saat kaynatılır. Kaynatma işleminden sonra karışım ayırma hunisine alınarak kendi hacminin 2-3 katı hacminde su ilâve edilir ve çalkalanır. Ayrılan benzenli faz önce doymuş NaHCO_3 çözeltisi ile köpürme bitinceye kadar, daha sonra su ile nötralleşinceye kadar yıkanır. Nötralleşme 1-10 PH kağıdı ile kontrol edilir. Çözelti susuz MgSO_4 ile kurutulur. Benzen normal basınç altında destillenir. Kalan ürün asetondan kristallendirilir. Kristallendirme işlemi $-16,5^\circ\text{C}$ 'de yapılır.

Dinonil azeleat da aynı yöntem ile sentez edilmiştir.



II.4. DİESTERLERİN SAFLAŞTIRILMASI

Çalışmada, sentez edilen diesterler fraksiyonlu kristalizasyon ve ince tabaka kromatografisi ile saflaştırıldı. Kristalizasyonda en uygun çözücünün aseton olduğu denemelerle saptandı. Elde edilen beyaz, parlak, hafif ve yapışkan plak şeklindeki dinonil azeleat kristalleri vakum desikatöründe P_2O_5 üzerinden kurutuldu.

Dioktil azeleat oda temperaturünde sıvı olduğu için erime noktası tayin edilemedi.

Saflaştırılan dioktil- ve dinonil- azeleatın erime noktası ile kırılma indisleri Tablo II'de görülmektedir.

Tablo II. Dioktil- ve dinonil- azeleatların erime noktası ve kırılma indisleri :

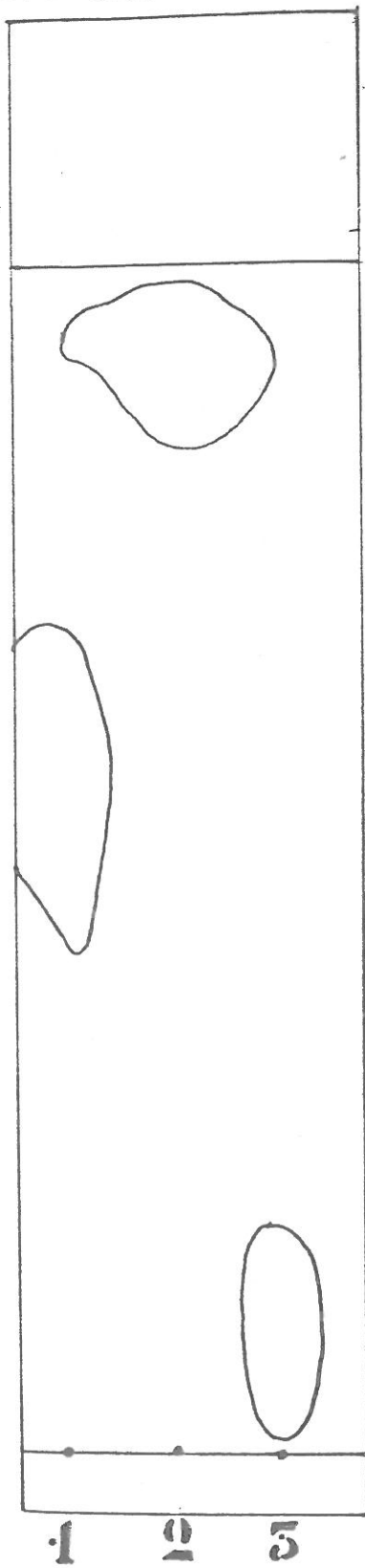
Esterin Adı	Esterin Formülü	Mol Tartısı	Erime Noktası	ⁿ ₂₆ Kırılma İndisi
Dioktil Azeleat	C ₂₅ H ₄₈ O ₄	412	-	1,44490
Dinonil Azeleat	C ₂₇ H ₅₂ O ₄	440	23°C	1,44625

II.5. DİESTERLERİN SAFLIK KONTROLÜ ve YAPILARININ AYDINLATILMASI

Sentez edilen diesterlerin saflığı ve yapılarının aydınlatılması ince tabaka kromatografisi ve IR spektrumlarının diagramları ile belirlendi.

a) İnce Tabaka Kromatografisi

Dioktil azeleat ve dinonil azeleatın saflık kontrolü 5x20 cm plaklarda ince tabaka ile yapılmıştır. Şekil 1 ve 2 de görülen kromatogramlara göre R_f değerleri hesaplanmıştır.



front

R_f : 0.89
diester

R_f : 0.56
oktil alkol

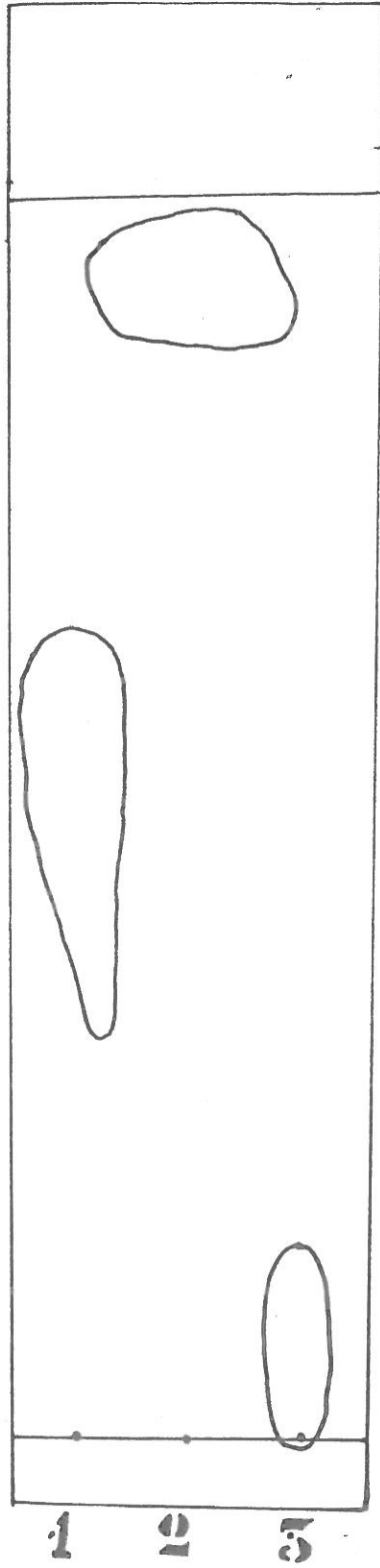
start

1 2 3

Şekil 1. Dioktil Azeleat

Tabaka : Kieselgel G (Nach Stahl) 0,25 mm
Yürütücü: Petrol eteri (70-90⁰)-Eter (1:1)
Yürütme Zamanı : 45 dakika
Yürütme Sınırı : 17 cm
Reaktif : İyod buharı

1- Oktil alkol, 2- Dioktil azeleat, 3- Azelaik asid



front

R_f : diester 0.93

R_f : nonil alkohol 0.56

start

1 2 3

Şekil 2. Dinonil Azeleat

Tabaka : Kieselgel G (Nach Stahl) 0,25 mm
Yürütücü : Petrol Eteri (70-90°)-Eter (1:1)
Yürütme Zamanı : 45 dakika
Yürütme Sınırı : 17 cm.
Reaktif : İyod buharı

1- Nonil Alkol, 2- Dinonil azeleat, 3- Azelaik asid

b- IR Spektrumu :

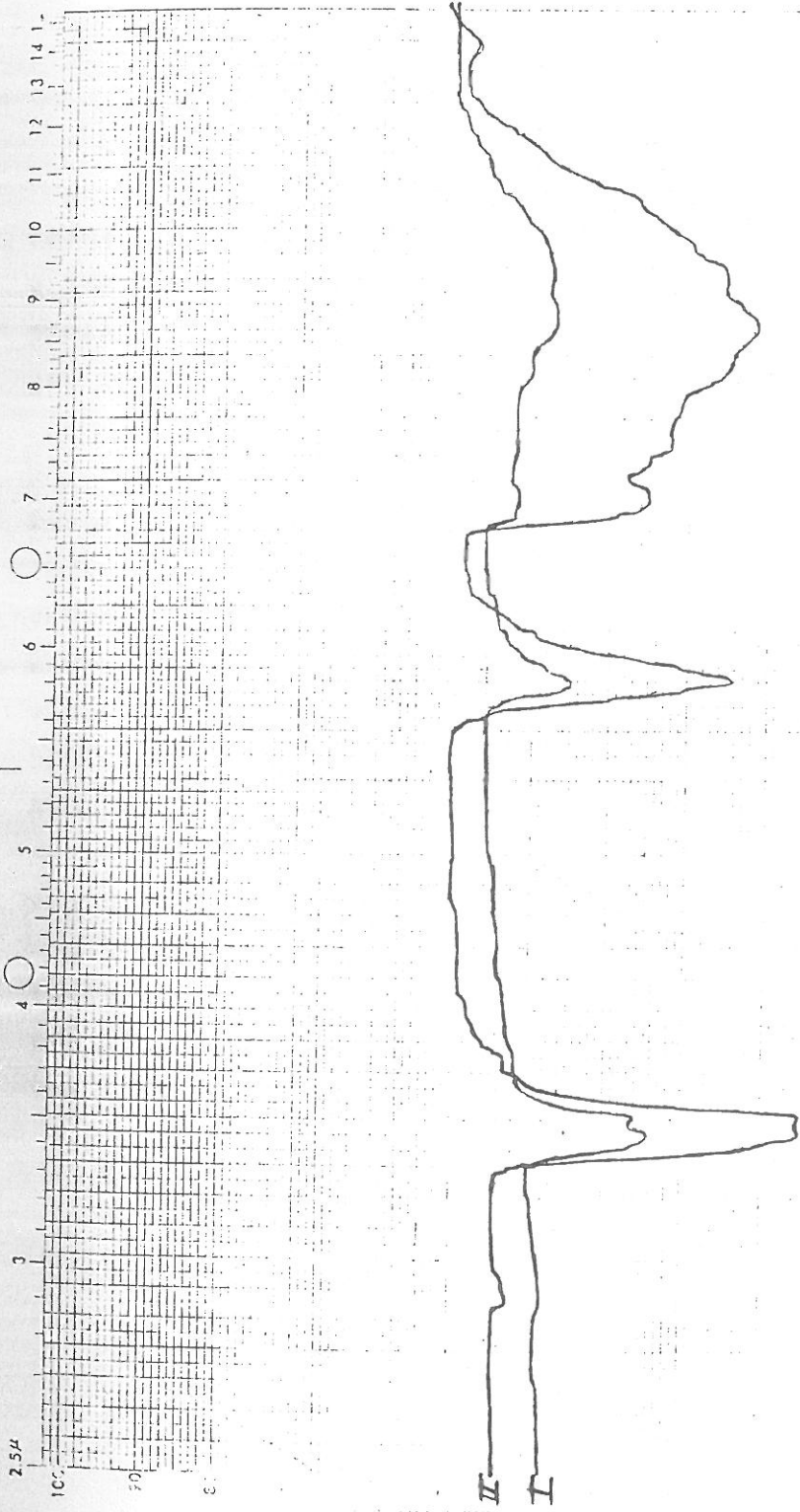
Dioktil azeleat ve dinonil azeleatların IR spektrumları sodyum klorür diskleri kullanılarak alındı. Diagramlar Şekil 3'de görülmektedir. Her iki örnek de, esterler için karakteristik olan C=O, C-O ve C-H pikini vermektedir. Tablo 3 (29)

Tablo 3.

Bileşik Sınıfı	Bağ	Frekans Aralığı (cm ⁻¹)
Alkanlar	C-H	2850 - 2960
Karboksilli Asidler ve Esterler	C-O	1080 - 1300
Karboksilli Asidler ve Esterler	C=O	1650 - 1760

Bir IR spektrumunun yorumlanması sırasında karakteristik bir banttan elde edilen sonuç, spektrumun diğer bölgelerindeki aynı gruba ait diğer piklerle desteklenmektedir (29). Şekil 3'de görülmektedir.

IR spektrumları İ.T.Ü.Fen Fakültesi Kimya Bölümü'nde Shimadzu cihazında çekilmiştir.



Şekil 3. Dioktil -ve dinomil- azeleatın IR spektrumları
I- Dinoil Azeleat
II- Dioktil Azeleat

II.6. DİOKTİL ve DİNONİL AZELEATLARIN İNVİTRO OLARAK LİPAZ İLE ETKİLEŞİMİ

II.6.1. LİPAZ HAKKINDA GENEL BİLGİ

Lipaz, pankreasın güçlü yağ sindirici enzimidir. Esteraz tipi enzim sınıfına girer ve inaktif bir şekilde salgılanır. Ca^{++} , sabunlar, safra asidlerinin tuzları, bazı proteinler ve amino asidler gibi maddeler lipazı aktif hale geçirir (30).

Pankreatik lipaz sulu olarak salgılandığı halde, suya karşı dayanıksızdır, bu yüzden gliserolde saklanır. Proteinlerle zayıf reaksiyon verir, karbonhidratlar ile reaksiyon vermez. Yapısının büyük bir kısmı kül, % 10 kadarlık bir kısmı ise azot içerir. $40^{\circ}C$ de optimum, $0^{\circ}C$ de ise az aktivite gösterir. $45^{\circ}C$ de 10 dakika zayıf aktivite gösterir, $55^{\circ}C$ de ise bozunur. En iyi etki ettiği PH, sindirilecek yağın bileşimindeki yağ asidlerinin uzunluğuna göre artmak üzere, PH 7-8,8 arasında değişebilir. Hidrin içeren bütün yağları hidroliz eder. En çok trigliseridleri, daha sonra digliseridleri, en az da monogliseridleri hidroliz eder. En fazla parçaladığı doğal yağlar trilaurin ve trioleindir. Lipazın trioleini parçalama yüzdesi 68-83 arasında bulunmuştur (30).

II.6.2. DİOKTİL- ve DİNONİL- AZELEATLARIN LİPAZ İLE ETKİLEŞİMİ

Adı geçen diesterlerin invitro olarak lipaz ile etkileşiminin incelenmesi için trigliseridlerin lipaz ile parçalanması yönteminden yararlanılmıştır (31). Yapılan incelemeler sırasında, trigliseridlerin 3 ester bağı içerdiği gözönünde bulundurulurken kullanılan reaktiflerin miktarları ayarlanmıştır. Ayrıca yapılan denemeler sırasında lipaz enziminin diester bağını parçalayıp parçalamadığını anlamak ve aktivitesini kontrol etmek maksadı ile tripalmitin ile de mukayese denemeleri yapılmıştır.

KULLANILAN REAKTİF ve ALETLER

Tampon çözelti : Sitrik asid - Na_2HPO_4 ($\text{P}_H-7,6$)

Emilgator : OG-300 (Oryak Kimya Sanayii)

Lipaz süspansiyonu : 1g Lipaz, 15 ml destile su ve 3 damla emülgator.

0,1 N NaOH

Fenolftalein

25 ml'lik erlen mayer

Kontakt termometreli, çalkalama işlemi yapabilen su banyosu

Mikrobüret

YAPILIŞI :

Diester bağlarının lipaz ile invitro olarak parçalanmaları Tablo 4'de görülen şekilde kontrol ve deney grupları ile çalışılarak incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar Tablo 5'de görülmektedir.

Tablo 4

Tampon ml	Su ml	Lipaz Süspansiyonu ml	Emülgatör damla	Dioktil azeleat mg	Dinonil azeleat mg	Tripalmitin
Kontrol Grubu 6,7	0,67	0,67	3	-	-	-
<u>Deneysel Grubu</u>						
I 6,7	0,67	0,67	3	100	-	-
II 6,7	0,67	0,67	3	-	100	-
III 10	1	1	3	-	-	100

Tablo 5. Tripalmitin ve diesterlerin lipaz ile etkileşimi sonucu elde edilen bulgular

1/10 N NaOH Sarfiyatı (ml)					
	Kör	Dioktil Azeleat	Dinonil Azeleat	Tripalmitin	
1 g Lipaz	2,08	2,09	2,08	-	
% Parçalanma	2,23	2,23	2,23	3,69(Alkon-eter)	
		0,2	-	39,3	
4 g Lipaz	3,85	3,85	3,85	-	
% Parçalanma	3,93	3,93	3,93	6,28(Alkol-eter)	
		-	-	65,5	

SONUÇ

Bölüm II.1.de açıklanan şekilde hint yağından azelaik asid % 10,62 ve bu asidin diesterleri de % 40 bir verimle sentez edildi.

Çalışmanın ikinci aşamasında diesterlerin in vitro olarak lipaz ile etkileşimi ve bu enzimin diasid ester bağlarını parçalama yüzdeleri araştırıldı. Sağlıklı bir sonuca varabilmek için elimizde mevcut olan lipazın aktivitesini kontrol etmek amacı ile aynı denemeler gerek lipaz miktarlarını arttırarak gerekse Tripalmitin ile çalışılarak tekrarlandı. Tablo 5'de görülen bulgular ve Tripalmitin ile yapılan kontrol deneylerinden anlaşılacağı gibi kullanılan lipaz enzimi aktivitesinde % 20'ye yakın bir azalma görülmektedir. 1 g lipaz ile yapılan dioktil azeleatın bir örneğinde % 0,2 kadar bir parçalanma görülmekle beraber, lipaz miktarının arttırıldığı diğer diester örneklerinde herhangi bir parçalanma tespit edilememiştir. Az miktarda lipazda görülen fakat 4 g'lık lipaz denemesinde görülmeyen bu parçalanmanın bir deneme hatasından kaynaklandığı kabul edilebilir. Bu bulguların ışığı altında, yağlardaki ester bağlarını kolaylıkla parçalayan lipazın dikarboksilli asidlerin diester bağlarını parçalamada etkili olmadığı sonucuna varılmıştır.

LITERATÜR

1. Klare S.Markley, Fatty Acids, I, 101,102,103.
2. Passi, Siro; Picardo, Mauro; Nazzaro-Porro, Marcella; Breathnach, Aodan; Confaloni, Anna Maria; Serlupi Crescenzi, Giovanni (Ist.Dermatol.San Gallicano, Rome, Italy) Biochem.Pharmacol. 33(1), 103-8, 1984.
3. Nicolet, B.H., and Liddle, L.M., J.Ind.Eng.Chem., 8, 416 (1916).
4. P.E.Verdake and J.van der Lee, Rec.Trav.Chim, 55, 267-277 (1936); P.E.Verdake, Fette Seifen, 45, 457-465 (1938).
5. T.Malkin and T.H.Bevan, Progr.in Chem.Fats Lipids, 4, 64-67 (1957).
5. T.Malkin and T.H.Bevan, Progr.in Chem.Fats Lipids, 4, 64-67 (1957).
6. Encyclopedia of Chemical Technology 1, 155.
7. Lamouroux, Cr., 128, 999.
8. Grote, A. 130, 209.
9. Molinari, Fenaroli, Anm 1, B.41, 2790.
10. Eiskman, R.12, 275.
11. Chander, Am. Soc. 30, 713.
12. Wegscheder, M.23, 635.
13. Bethamann, Ph.Ch. 5, 401.

14. Smith, Ph.Ch. 25, 221.
15. Ruzika, Burger, Helv. Chim. Acta 9, 345 (1926).
16. Ellis, C., The Chemistry of Synthetic Resins, Reinhold, N.Y., II, 892 (1935).
17. Durrant, James Alan; Lowry, Michael Richard (Unilever PLC; Unilever N.V.) Eur.Pat.Appl.E.P.117,080 (Cl.61K7/48). 29 Aug.1984, GB Appl.8312, 683, 01 Feb 1983.
18. Mingrone, G., Greco, A.V.; Gardiello, A., Passo, S., Nazzaro-Porro, M.(Inst.Clin.Physiol., Univ.Pisa, I-56100 Pisa, Italy). Exp.Pathol.1984.
19. Esso Research and Engineering Co.Brit., 823, 008, Nov. 4, 1959.
20. Hill, J.W., and Mc Ewen, W.L., in Blatt, Organic Syntheses, Coll.Vol.II, 53, Willey N.Y.(1943).
21. A.Rieche, Ger.Pat. 565, 158 (March 20, 1931).
22. Armstrong, E.E., and Hilditch, T.P., J.Soc.Chem.Ind., 44, 43-47 (1925).
23. Day, J.N.E., Kon., G.A.R., and Stevenson, A., J.Chem. Soc., 117, 639 (1920).
24. Bennet, G.M., and Gudgeon, H., J.Chem, Soc., 1769 (1938)
25. Blatt, Organic Syntheses, Coll.Vol.II, 282, Willey N.Y. (1948).
26. A.I.Vogel, Prac.Org.Chem., Chap.III, 407 (1961).
27. Klare S.Markley, Fatty Acids, II, 783 (1961).
28. A.I.Vogel, Prac.Org.Chem., Chap.III, 386 (1961).

29. A.A.İkizler, Moleküler Spektroskopi, Spektroskopi 88. Yaz Okulu - Seminer, Organik Kimyada Spektroskopik Yöntemler, 20, 5-16 Eylül 1988.
30. Biochemistry Of The Fatty Acids, 62-78.
31. F.L.Breusch, und Y.Pelister, Retro Fette, Fette Seifen Anstrichmittel, 74, 321-324, 1972.