

KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KİMYA ANABİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ

2-BROMO-6-HİDROKSİ-3-METOKSİ-2-SİKLOHEKSEN-1-ON'UN  
KEMOENZİMATİK YÖNTEMLERLE ENANTİYOSEÇİMLİ SENTEZİ

YASEMİN TOKA

EYLÜL 2005

Fen Bilimleri Enstitü Müdürünün onayı.

  
Prof. Dr. M. Yakup ARICA  
Müdür



Bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak Kimya Anabilim Dalı standartlarına uygun olduğunu onaylarım.



Prof. Dr. Mustafa YİĞİTOĞLU

Anabilim Dalı Başkanı

Bu tezi okuduğumuzu ve Yüksek Lisans tezi olarak bütün gerekliliklerini yerine getirdiğini onaylarız.



Yrd.Doç.Dr. Emine ÖZGÜL KARAASLAN

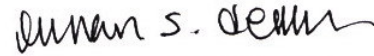
Danışman

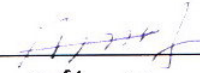
Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Ayhan S.DEMİR

Yrd. Doç. Dr. Adnan BULUT

Yrd.Doç.Dr. Emine ÖZGÜL KARAASLAN







## ÖZET

### 2-BROMO-6-HİDROKSİ-3-METOKSİ-2-SİKLOHEKSEN-1-ON'UN KEMOENZİMATİK YÖNTEMLERLE ENANTİYOSEÇİMLİ SENTEZİ

TOKA, Yasemin

Kırıkkale Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi

Danışman : Yrd. Doç. Dr. Emine ÖZGÜL KARAASLAN

Eylül 2005, 67 sayfa

Kiral siklik poliookso sikloheksenonlar biyolojik aktiviteye sahip bir çok maddenin sentezinde kullanılan çok değerli ara ürünlerdir.

Bu çalışmada, sikloheksan-1,3-dion'dan başlanarak 2-bromo-6-hidroksi-3-metoksi-2-sikloheksen-1-on'un sentezi gerçekleştirilmiştir. İlk önce, sikloheksan-1,3-dion,  $TiCl_4$  ve metanol ile tepkimeye sokulmuş ve 3-metoksi-2-sikloheksen-1-on elde edilmiştir. Sonra, metoksi enon, NBS ile  $\alpha$ -konumundan bromlanmış ve 2-bromo-3-metoksi-2-sikloheksen-1-on sentezlenmiştir. Daha sonra, 2-bromo-3-metoksi-2-sikloheksen-1-on, Mangan(III) asetat ile benzen içinde tepkimeye

sokulmuş ve  $\alpha'$ -asetoksi-2-bromo-3-metoksi-2-siklohesen-1-on elde edilmiştir.  $\alpha'$ -asetoksi-2-bromo-3-metoksi-2-siklohesen-1-on, Mangan(III) asetat ile sikloheksan içinde tepkimeye girdiğinde  $\gamma$ -konumundan asetoksillendiği gözlenmiştir. Mangan(III) asetat ile asetoksillemenin ardından,  $\alpha'$ -asetoksi enonun enzimatik hidrolizi kiral asetoksi ve hidroksi enonları vermiştir.

**Anahtar Kelimeler :** Mangan(III) asetat, kiral siklo poliokso sikloheksenonlar, asetoksilasyon, kemoenzimatik sentezler.

## ABSTRACT

### CHEMOENZYMATIC SYNTHESIS OF 2-BROMO-6-HYDROXY-3-METHOXY- 2-CYCLOHEXENE-1-ONE

TOKA, Yasemin

Kırıkkale University

Graduate School Of Natural and Applied Sciences

Department of Chemistry, M. Sc. Thesis

Supervisor : Asst. Prof. Dr. Emine ÖZGÜL KARAASLAN

September 2005, 67 pages

Chiral cyclic polyoxo cyclohexenones are valuable intermediates used in the synthesis of many biologically active compounds.

In this work, the synthesis of 2-bromo-6-hydroxy-3-methoxy-2-cyclohexene-1-one starting from cyclohexane-1,3-dione is described. Firstly, cyclohexane-1,3-dione was reacted with  $\text{TiCl}_4$  and methanol, and 3-methoxy-2-cyclohexene-1-one was obtained. Then, methoxy enone was brominated at  $\alpha$ -position via NBS and 2-bromo-3-methoxy-2-cyclohexene-1-one was synthesized. After that, bromo methoxy enone was treated with Mangan(III) acetate in benzene and 2-bromo-6-hydroxy-3-methoxy-

2-cyclohexene-1-one was achieved. When bromo methoxy enone was treated with Mangan(III) acetate in cyclohexane,  $\gamma$ -acetoxylation was observed. Manganese(III) acetate-mediated acetoxylation followed by the enzyme-mediated hydrolysis of  $\alpha'$ -acetoxo enone provides chiral acetoxo and hydroxy enones.

**Key Words :** Mangan(III) acetate, chiral cyclic polyoxo cyclohexenones, acetoxylation, chemoenzymatic synthesis.

## TEŞEKKÜR

Tezimin hazırlanması esnasında her türlü yardımını esirgemeyen, tez yöneticisi hocam, Sayın Yrd. Doç. Dr. Emine Özgöl KARAASLAN'a, tez çalışmalarım esnasında, bilimsel konularda daima yardımını gördüğüm hocam sayın Prof. Dr. Ayhan S. DEMİR'e, büyük fedakarlıklarla bana destek olan aileme, tezimin birçok aşamasında yardım gördüğüm O.D.T.Ü.'deki araştırma görevlisi arkadaşlarıma, hocalarıma teşekkür ederim.

## KISALTMALAR

NMR	Nükleer Manyetik Rezonans
TLC	İnce Tabaka Kromatografisi
NBS	N-bromosüksinimit
EtOAc	Etil Asetat
Mn(OAc) <sub>3</sub>	Mangan(III) Asetat
TiCl <sub>4</sub>	Titanyum(IV) Klorür
MeOH	Metil Alkol
HPLC	Yüksek Basınç Sıvı Kromatografisi
ee	Enantiyomerik Fazlalık
GS/MS	Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrofotometresi
DMSO	Dimetilsülfoksit



## ŞEKİLLER DİZİNİ

### ŞEKİL

1.1. Kiral Moleküllerde El Seçiciliği .....	1
1.2. Limonen Bileşiğinin Enantiyomerleri .....	3
1.3. Karvon Bileşiğinin Enantiyomerleri .....	3
1.4. Talidomit Bileşiğinin Enantiyomerleri .....	4
1.5. İbuprofen Bileşiği.....	8
1.6. Metildopa ve Penisilamin Bileşikleri .....	9
1.7. $\alpha,\beta$ -Doymamış Ketonların $\alpha'$ -Asetoksillenmesi .....	13
1.8. Mangan(III) Asetatın Dolaylı Oksidasyon Mekanizması .....	14
1.9. Kiral Siklo Poliokso Sikloheksenon'lar .....	16
1.10. Kiral Siklo Poliokso Sikloheksenon'lardan Sentezlenen Biyolojik Aktiviteye Sahip Bileşikler .....	17
1.11. (R)-4-Hidroksi-2-metil-2-sikloheksen-1-on'un Sentezi .....	19
1.12. $\alpha'$ -Asetoksi- $\alpha$ -metil ve $\alpha'$ -Hidroksi- $\alpha$ -metil Siklik Enon'ların Sentezi .....	20
1.13. $\alpha'$ -Asetoksi-3-metoksi-2-bromo-2-sikloheksen-1-on'un ve $\alpha'$ -Hidroksi-3- metoksi-2-bromo-2-sikloheksen-1-on'un Sentezi .....	21
3.1. Mangan(III) Asetat Oksidasyonu İle $\alpha'$ -Asetoksi ve $\alpha'$ -Hidroksi Enon'un Elde Edilmesi .....	29
3.2. Mangan(III) Asetat Oksidasyonu İle $\gamma'$ -Asetoksi Enon'un Elde Edilmesi .....	30
3.3. Titanyum(IV) Klorürün Metanol İçerisindeki Tepkimesi .....	32
3.4. Sikloheksan-1,3-dion'un $TiCl_4$ Varlığında Korunması .....	33
3.5. Sikloheksan-1,3-dion'un $TiCl_4$ Varlığında Korunmasında Olası Mekanizma ...	34

3.6. $\beta$ -Alkoksi Enon'ların Bromlanması .....	35
3.7. $\beta$ -Alkoksi Enon'ların Asetoksillenmesi .....	36
3.8. $\alpha$ -Alkil- $\beta$ -keto Esterleri Oksidasyonu .....	38
3.9. $\alpha$ -Doymamış- $\beta$ -keto Esterlerin Radikalik Oksidasyonu .....	38
3.10. Mangan(III) Asetat ile Aromatik Ketonun Enolatının Oluşumu .....	40
3.11. Mangan(III) Asetat İle Aromatik Ketonun Radikalik Yoldan Enolatının Oluşumu.....	41
3.12. $\alpha'$ -Asetoksi-2-bromo-3-metoksi-2-sikloheksen-1-on'un Sentezi.....	42
3.13. $\alpha'$ -Asetoksi-2-bromo-3-metoksi-2-sikloheksen-1-on'un Radikalik Mekanizması.....	43
3.14. $\alpha'$ -Asetoksi-2-bromo-3-metoksi-2-sikloheksen-1-on'un Sentezi.....	44
3.15. Rasemik $\alpha'$ -Asetoksi-2-bromo-3-metoksi-2-sikloheksen-1-on'un HPLC Analizi.....	46
3.16. $\alpha'$ -Asetoksi-2-bromo-3-metoksi-2-sikloheksen-1-on'un HPLC Analizi.....	47
3.17. $\alpha'$ -Hidroksi-2-bromo-3-metoksi-2-sikloheksen-1-on'un HPLC Analizi.....	47
4.1. $\alpha'$ ve $\gamma'$ -Asetoksi-3metoksi-2-bromo-2-sikloheksen-1-on .....	49
4.2. Sikloheksan-1,3-dion'dan $\alpha'$ -Asetoksi Enon'un Sentezi .....	49
4.3. 3-Metoksi-2-sikloheksen-1-on'un $^1\text{H-NMR}$ Spektrumu.....	50
4.4. 3-Metoksi-2-sikloheksen-1-on'un $^{13}\text{C-NMR}$ Spektrumu .....	51
4.5. 2-Bromo-3-metoksi-2-sikloheksen-1-on'un $^1\text{H-NMR}$ Spektrumu .....	52
4.6. 2-Bromo-3-metoksi-2-sikloheksen-1-on'un $^{13}\text{C-NMR}$ Spektrumu .....	53
4.7. $\alpha'$ -Asetoksi-2-bromo-3-metoksi-2-sikloheksen-1-on'un $^1\text{H-NMR}$ Spektrumu..	54
4.8. $\alpha'$ -Asetoksi-2-bromo-3-metoksi-2-sikloheksen-1-on'un $^{13}\text{C-NMR}$ Spektrumu.	55
4.9. $\alpha'$ -Asetoksi-2-bromo-3-metoksi-2-sikloheksen-1-on'un DEPT-90 Spektrumu .	56

4.10. $\alpha'$ -Asetoksi-2-bromo-3-metoksi-2-sikloheksen-1-on'un DEPT-135 Spektrumu	57
4.11. $\alpha'$ -Asetoksi-2-bromo-3-metoksi-2-sikloheksen-1-on'un COSY Spektrumu	58
4.12. $\alpha'$ -Asetoksi-2-bromo-3-metoksi-2-sikloheksen-1-on'un HMQC Spektrumu	59
4.13. $\gamma'$ -Asetoksi-2-bromo-3-metoksi-2-sikloheksen-1-on'un $^1\text{H-NMR}$ Spektrumu	60
4.14. $\gamma'$ -Asetoksi-2-bromo-3-metoksi-2-sikloheksen-1-on'un $^{13}\text{C-NMR}$ Spektrumu	61
4.15. 6-Hidroksi-2-bromo-3-metoksi-2-sikloheksen-1-on'un $^1\text{H-NMR}$ Spektrumu	62
4.16. 6-Hidroksi-2-bromo-3-metoksi-2-sikloheksen-1-on'un $^{13}\text{C-NMR}$ Spektrumu	63
4.17. 6-Hidroksi-2-bromo-3-metoksi-2-sikloheksen-1-on'un GC/MS Spektrumu	64

## İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	iii
TEŞEKKÜR.....	v
SİMGELER DİZİNİ.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
İÇİNDEKİLER .....	x
1. GİRİŞ .....	1
1.1. Enantiyomerler ve Kiral Moleküller .....	1
1.2. Kirallığın Biyolojik Önemi .....	2
1.3. Kiral Moleküllerin Sentezleri.....	4
1.3.1. Rasemik Yapılar .....	4
1.3.2. Enantiyoseçimli Sentezler .....	5
1.3.3. Enantiyomerlerin Ayrılması .....	5
1.4. Enzimler .....	6
1.5. Kiral İlaçlar .....	8
1.6. $\alpha$ - Hidroksi Ketonlar .....	9
1.7. Mangan(III) Asetatın Önemi.....	11
1.8. Mangan(III) Asetat Ortamında Enonların Asetoksillenmesi .....	11
1.9. Kiral Siklo Poliokso Ketonların Önemi ve Sentezi.....	15
1.10. Çalışmanın Amacı.....	20
2. MATERYAL VE METOTLAR .....	22
2.1. Kullanılan Metotlar .....	22

2.2. Mn(OAc) <sub>3</sub> .2H <sub>2</sub> O'nun Hazırlanması .....	22
2.3. 3-metoksi-2-sikloheksen-1-on'un Sentezi .....	23
2.4. 3 metoksi-2-bromo-2-sikloheksen-1-on'un Sentezi.....	23
2.5. α'-asetoksi-3-metoksi-2-bromo-2-sikloheksen-1-on'un Sentezi .....	24
2.6. γ'-asetoksi-3-metoksi-2-bromo-2-sikloheksen-1-on'un Sentezi.....	25
2.7. Kiral 6-hidroksi-3-metoksi-2-bromo-2-sikloheksen-1-on'un Sentezi .....	26
3. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA .....	28
3.1. Çalışmanın Yönü.....	28
3.2. Asetoksi Enonların Sentezi .....	31
3.2.1. Siklik 1,3-Diketonların Korunması .....	31
3.2.2. β-Alkoksi Enonların Bromlanması.....	34
3.2.3. Mangan(III) asetat Ortamında β-alkoksi Enonların Asetoksillenmesi .....	35
3.2.4. Mangan(III) asetat ile Oksidasyonun Mekanizması.....	37
3.2.5. Benzende α'-oksidasyonu Mekanizması .....	41
3.2.6. Enzim Ortamında Asetoksi Ketonların Hidrolizi .....	43
4. SONUÇ .....	48
KAYNAKLAR .....	65

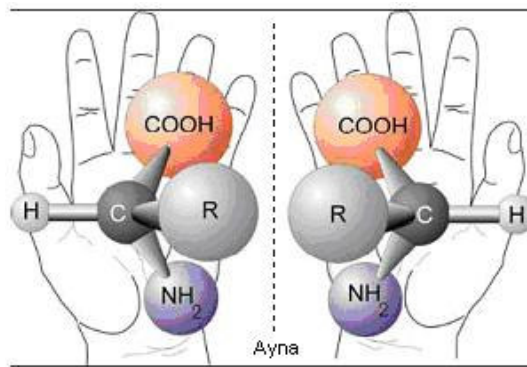
# 1. GİRİŞ

## 1.1. Enantiyomerler ve Kiral Moleküller

Enantiyomerler, molekülleri birbirinin ayna görüntüsü olan, fakat birbiriyle çakışmayan stereoizomerlerdir.

Enantiyomerler, yalnızca molekülleri kiral olan bileşiklerle meydana gelir. Bir kiral molekül, ayna görüntüsü ile aynı olmayan bir molekül olarak tanımlanır. Kiral molekül ve onun ayna görüntüsü enantiyomerlerdir.

Kiral kelimesi, “el” anlamındaki Yunanca “cheir” kelimesinden gelir. Moleküller de dahil, kiral nesnelere “el seçiciliğe” sahip olduğu söylenir. Kiral terimi enantiyomer molekülleri tanımlamak için kullanılır, çünkü bu moleküller sol elin sağ elle olan ilişkisiyle aynı şekilde birbiriyle ilişkilidir. Sol elinizi aynada gördüğünüzde, sol elinizin aynadaki görüntüsü bir sağ eldir. Sol el ile sağ el aynı değildir ve üst üste çakışmazlar (Şekil 1.1).



Şekil 1.1. Kiral Moleküllerde El Seçiciliği

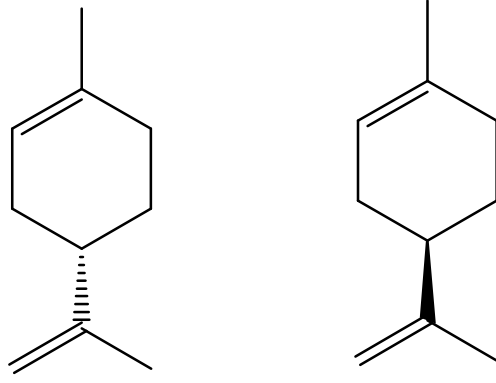
Kiral bir molekülün en önemli yapısal özelliği,  $sp^3$  melezleşmesi yapmış bir karbon atomunun dört farklı gruba bağlanmış olmasıdır. Böyle bir molekül kiraldır ve iki enantiyomeri vardır.

Enantiyomerler aynı fiziksel özelliklere sahiptirler. Sadece düzlem-polarize ışığa karşı davranışları farklıdır. Enantiyomerlerin düzlem-polarize ışık üzerindeki etkilerinden dolayı, ayrı enantiyomerlere, optikçe aktif bileşikler, denir.

## 1.2. Kirallığın Biyolojik Önemi

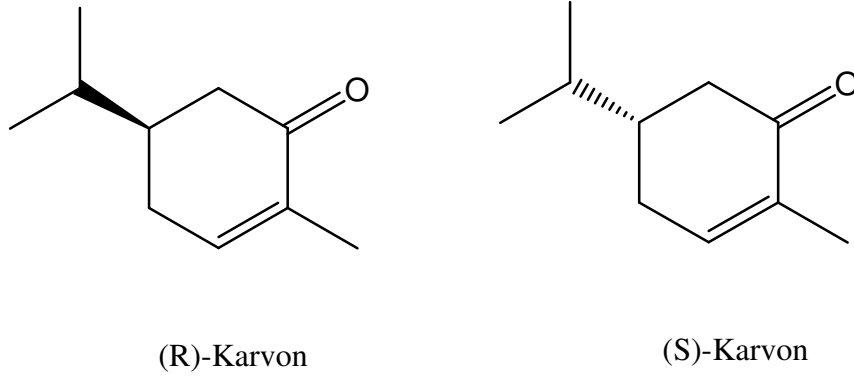
Kirallik evreni kaplayan bir olgudur. Merkezin soluna yerleşen kalp ve sağına yerleşen karaciğer ile insan vücudu yapısal olarak kiraldır. İnsanların çoğu sağ elini kullanır. Sarmal deniz kabukluları kiraldır ve çoğu sağa doğru dönen bir vida gibi spiraldir. *Lonicera sempervirens* familyasından hanımeli, sola doğru dönen bir sarmal yapar. *Convolvulus sepium* familyasından çit sarmaşığı ise sağa doğru dönen bir sarmal yapar. Bitki ve hayvanları meydana getiren moleküllerin çoğu kiraldır ve verilen bir türde, kiral molekülün genellikle sadece bir türü vardır. Doğal proteinleri oluşturan 20 amino asidin biri hariç hepsi kiraldır ve solak olarak sınıflandırılırlar. DNA'da bulunan şeker de dahil, doğal şekerlerin hepsi sağlak olarak sınıflandırılırlar.

Kiral moleküller, pek çok yolla farklı el seçicilik gösterebilirler. Limonen olarak adlandırılan bir bileşiğin bir enantiyomerik şekli portakalların kokusundan sorumluyken, diğer enantiyomer, limonların kokusundan sorumludur.



**Şekil 1.2.** Limonen Bileşiğinin Enantiyomerleri

Karvon olarak adlandırılan bir bileşiğın bir enantiyomeri, keraviye (karaman kimyonu) esansı iken, diğeri nane esansıdır.

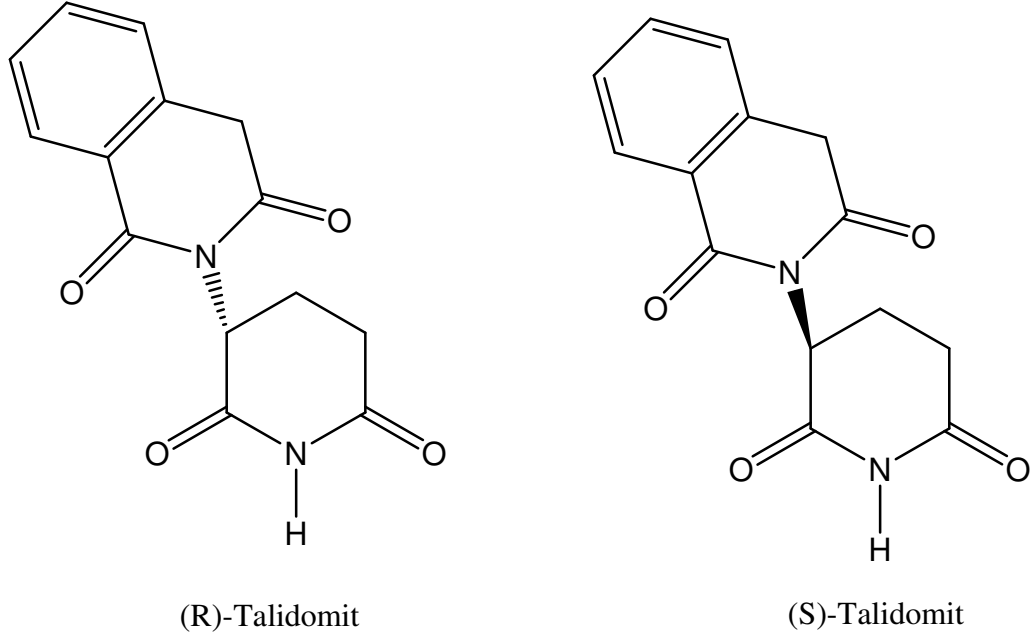


**Şekil 1.3.** Karvon Bileşiğinin Enantiyomerleri

Talidomit olarak adlandırılan bir ilaç, 1963'ten önce, uzun yıllar hamile kadınlarda sabah bulantılarını yatıştırmak için kullanıldı. 1963'te, bu ilacın kullanımını takiben doğan pek çok çocukta korkunç doğum kusurlarına neden olduğu



keşfedildi. Daha sonraları, talidomidin enantiyomerlerinden birinin sabah bulantılarını tedavi ederken, ilaçta eşit miktarda var olan diğer enantiyomerin doğum kusurlarına neden olduğu bulunmuştur<sup>(1)</sup>.



Şekil 1.4. Talidomit Bileşiğinin Enantiyomerleri

### 1.3. Kiral Moleküllerin Sentezleri

#### 1.3.1. Rasemik Yapılar

Organik kimyada çoğu zaman, molekülleri kiral olmayan reaktantlarla gerçekleştirilen tepkimeler, molekülleri kiral olan ürünlerin oluşumuyla sonuçlanır. Herhangi bir kiral etkinin olmaması durumunda, böyle bir tepkimenin sonucu, bir

rasemik yapının oluşumudur. Yani, ürünün kiral molekülleri, enantiyomerlerin 50:50'lik bir karışımı olarak elde edilir. Bir rasemik yapı, düzlem-polarize ışığı çevirmez; genellikle ( $\pm$ ) işaretiyle gösterilir.

### **1.3.2. Enantiyoseçimli Sentezler**

Bir tepkime, bir enantiyomeri, onun ayna görüntüsünden daha fazla oluşturursa, bu tepkimeye enantiyoseçimli denir. Bir tepkimenin enantiyoseçimli olabilmesi için kiral bir reaktif, çözücü veya katalizör, tepkime üzerinde etkili olmalıdır.

Organik kimyacılar, enantiyoseçimli tepkimeler gerçekleştirmek için pek çok enzim kullanmaktadırlar.

### **1.3.3. Enantiyomerlerin Ayrılması**

Enantiyomerleri ayırmak için en yararlı işlemlerden biri, rasemik yapıyı, diğer bir bileşiğin tek enantiyomeriyle tepkimeye sokmaktır. Bu işlem, bir rasemik yapıyı, bir diastereomerler karışımına çevirir. Diastereomerler, farklı fiziksel özelliklere sahip oldukları için geleneksel yollarla ayrılabilirler.

Diğer bir yöntem enzimlerle ayırmadır. Bu şekilde, enzim, rasemik yapıdaki enantiyomerlerden birini seçimli olarak başka bir bileşiğe dönüştürür ve daha sonra da tepkimeye girmemiş enantiyomer ve yeni bileşik ayrılır<sup>(1)</sup>.

#### 1.4. Enzimler

Enzimler, protein yapısında olan, olağanüstü etkiye sahip, biyokimyasal katalizörlerdir. Enzimlerin temel özellikleri aşağıda verilmiştir<sup>(2)</sup>:

Çok yüksek katalitik etkinlik : Enzimlerin katalitik etkinliği kimyasal katalizörlerinkinden binlerce kat daha çoktur.

Etki alanları dar : Enzimlerin optimum etkinlikleri ortam koşullarının (pH, iyon şiddeti, sıcaklık, basınç, vb.) dar sınırları içindedir.

Yan ürün meydana gelmez : Enzim reaksiyonlarında yan ürün meydana gelmez, substratın tamamı ürünlere dönüştürülür (substrat, biyokimyasal reaksiyonlarda reaksiyona giren molekül); oysa kimyasal reaksiyonlarda az veya çok her zaman yan ürün meydana gelir.

Özgüllük (spesifiklik) ve enzim türünün çokluğu : Özgüllük, her substrat veya substrat grubunun özel bir enzimi olması demektir. Hücre içinde çok sayıda biyokimyasal reaksiyon meydana geldiği için buna çok sayıda enzim karşılık gelir. Oysa çok sayıda kimyasal reaksiyonun, oldukça az sayıda kimyasal katalizörü vardır.

Enzim ve substrat moleküllerinin büyüklükleri : Enzimler substrata göre binlerce kat daha büyük moleküllerdir. Bu durum, kimyasal katalizörlerde tamamen tersinedir. Kimyasal katalizörler, örneğin proton, hidroksi iyonu gibi katalizörler, etkilediği organik moleküllere göre çok daha küçük yapıdadırlar.

Aktif merkez ve bağlanma yeri : Enzim çok büyük bir molekül olmakla birlikte, aktif merkezi, yani asıl reaksiyonu yürüten yeri oldukça küçük bir bölgedir. Bu substratın bağlanma yerine bağlanarak reaksiyon meydana gelir. Aktif merkez ve

bağlanma yerinin durumu, anahtarın kilide uymasına benzer bir olaydır. Her kilidin belirli bir anahtarı vardır ve her anahtar her kilide uymaz.

Modern sentetik organik kimya için, enzimlerin kullanım, çok yüksek oranda seçici dönüşümleri sağlamaktadır. Geçtiğimiz 20 yıldan beri bu metot, önceden var olan yöntemleri tamamlayıcı bir metot olarak kabul edilmektedir.

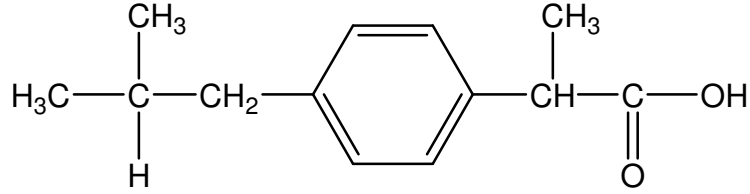
Enzimlerin adlandırılmaları ve enzim sınıfları : İlk bulduklarında enzimlere kökenlerine ait adlar verilmiştir; pepsin, tripsin, papain, vb. gibi. Bunların diğer bileşiklerden ayrı olduğu ve enzim olduğunu belirtmek için sonlarına “az” eki getirilmiştir; katalaz, karboksipeptidaz, vb. gibi. 1970 yılına kadar bulunan binlerce enzim bu son eke göre adlandırılmıştır. Enzimlerin kökenlerine göre sınıflandırılmaları düzenli olmadığından, Uluslar arası Enzim Komisyonu (IEC), enzimleri fonksiyonlarına göre adlandırmak için bir numara dizgesi geliştirmiştir. Buna göre enzimler 6 sınıfa ayrılmıştır<sup>(2)</sup>:

1. Oksido – redüktazlar (İndirgeyen ve yükseltgeyen enzimler)
2. Transferazlar (Grup aktaran enzimler)
3. Hidrolazlar (Esterleri, amitleri, peptitleri, vb. hidroliz eden enzimler)
4. Liyazlar (Bölücü enzimler)
5. İzomerazlar (Cis – trans dönüşümünü veya D – L dönüşümünü yapanlar)
6. Ligazlar (Birleştiren enzimler)

Organik kimyada en çok kullanılan enzimler hidrolaz tipi enzimlerdir.

## 1.5. Kiral İlaçlar

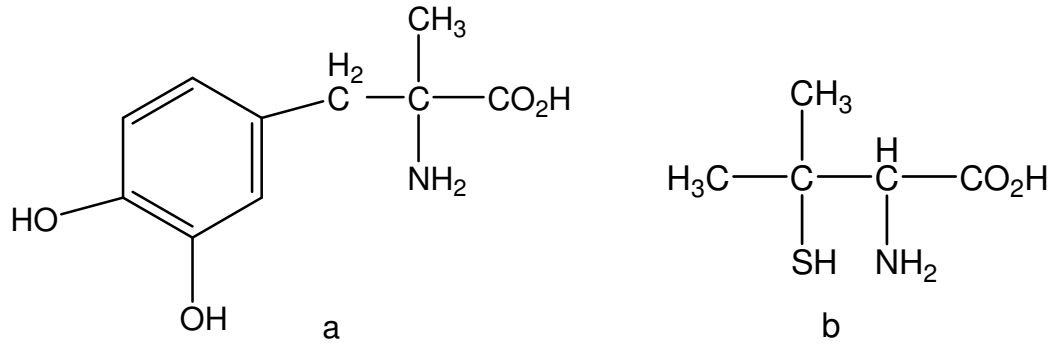
İlaç endüstrisinin ve ABD Gıda ve İlaç Yönetiminin en çok ilgi duyduğu konulardan biri kirale ilaçların, yani bir rasemat yerine tek bir enantiyomer içeren ilaçların, üretim ve satışlarıdır. Bazı ilaçlar, yalnızca bir enantiyomer etkin madde olmasına rağmen yıllardan beri rasemat olarak pazarlanmaktadır. İltihap giderici bir madde olan ibuprofen (Advil, Motrin, Nuprin) böyle bir örnektir. İbuprofenin yalnızca (S) izomeri etkindir<sup>(1)</sup>.



İbuprofen

Şekil 1.5. İbuprofen Bileşiği

Yüksek tansiyona karşı kullanılan bir ilaç olan metildopa (Aldomet) da bu etkisini yalnızca (S) izomeriyle gösterir (Şekil 1.6.a).



**Şekil 1.6.** Metildopa ve Penisilamin Bileşikleri

Penisilaminin (S) izomeri primer kronik eklem iltihapları için etkili tedavi edici bir madde olmasına rağmen, bileşiğin (R) izomerinin herhangi bir tedavi edici etkisi yoktur, üstelik son derece zehirlidir (Şekil 1.6.b).

Bunlara benzer, enantiyomerleri oldukça farklı etkilere sahip çok sayıda diğer ilaç örnekleri vardır. Bu yüzden, enantiyomerik olarak saf ilaçların hazırlanması, enantiyoseçimli sentezleri ve rasemik ilaçların ayrımı konuları, günümüzün en önemli araştırma konularıdır<sup>(1)</sup>.

## 1.6. $\alpha$ -Hidroksi Ketonlar

Optikçe aktif  $\alpha$ -hidroksi karbonil bileşiklerinin, özellikle de ketonların sentezi, biyolojik aktiviteye sahip bileşiklerin asimetric sentezinde yapı taşları olarak, çok yaygın kullanıldıklarından, çok büyük önem arz etmektedir<sup>(3,4)</sup>. Örneğin, optikçe aktif enolatların stereoseçici oksidasyonu, dikkat çekici bir çalışma olarak literatürde yer almıştır.<sup>(5)</sup> Sözü edilen bileşiklerin sentezi için hem kimyasal, hem de biyoteknolojik metotlar bulunmaktadır.

Son yıllarda,  $\text{MoO}_5\cdot\text{Py}\cdot\text{HMPA}^{(6)}$  ve  $\text{CrO}_2\text{Cl}_2^{(7)}$  gibi ağır metal içeren oksidantlarla klasik metotlar tamamlanmıştır. Fakat bu tür maddelerin kullanımını, kuvvetli kirletici oldukları için, kimyacılar mümkün olduğu kadar en aza indirmeye çalışmaktadırlar.

Bir başka çalışmada,  $\alpha$ -hidroksi ketonları sentezlemek için flor ve sulu asetonitrilden yapılan bir kompleks olan  $\text{HOF}\cdot\text{MeCN}$  kullanılmıştır<sup>(8)</sup>.

Bir diğer çalışmada, (kamforsülfonil) oksaziridin kullanılarak ester ve amit lityum enolatların  $\alpha$ -hidroksi karbonil bileşiklerine asimetric oksidasyonu gerçekleştirilmiştir<sup>(9)</sup>.

Yapılan başka bir çalışmada da, kiral faz transfer katalizörleri kullanılarak, akiral ketonlardan  $\alpha$ -hidroksi ketonlar elde edilmiştir<sup>(10)</sup>.

Kimyasal metotlara alternatif olarak, optikçe aktif  $\alpha$ -hidroksi ketonlar enzimatik yollarla da hazırlanabilirler. Nakamura ve arkadaşları<sup>(11)</sup> tarafından yapılan çalışmada  $\alpha$ -diketonlar maya ile indirgenerek  $\alpha$ -hidroksi ketonlar elde edilmiştir. Fakat, bu metot, diketonun visinal diol'e indirgenmesi ve düşük kimyasal verim gibi dezavantajlara sahiptir.

Gala ve diğerleri,<sup>(12)</sup> lipaz kullanarak karşılık gelen asetatların hidrolizi ile  $\alpha$ -hidroksi aril ketonların enantiyoseçimli olarak sentezini rapor etmişlerdir.

Adam ve çalışma arkadaşları<sup>(13)</sup> rasemik  $\alpha$ -hidroksi ketonların lipaz katalizörlüğünde, izopropenil asetat ve *t*-bütil metil eter kullanarak kinetik ayrılmasını rapor etmişlerdir.

Demir ve çalışma arkadaşları, *Rhizopus oryzae*<sup>(14)</sup> ve çeşitli lipazları<sup>(15-17)</sup> kullanarak  $\alpha$ -hidroksi ketonların enantiyoseçimli sentezlerini gerçekleştirmişlerdir.

### 1.7. Mangan(III) Asetatın Önemi

Mangan çeşitli yükseltgenme basamaklarına sahiptir. Ancak +3 yükseltgenme basamağındaki bileşikleri son derece kararsızdır. Bu nedenle, çok az sayıda kararlı bileşikleri elde edilebilmiştir. Bunlardan biri de Mangan(III) asetattır. Mangan(III) iyonunun kullanılması gereken birçok çalışmada çıkış maddesi olarak bu bileşikten yararlanılmaktadır. Ayrıca Mangan(III) iyonunun susuz ortamlarda iyi bir yükseltgen olarak kullanılması bu bileşiğin önemini arttırmaktadır<sup>(18)</sup>.

Mangan(III) asetat, tersiyer radikalleri hızla katyonlara yükseltgemekte ve bu katyonlar da, ya bir proton kaybederek alken, ya da asetik asitle reaksiyona girerek asetat esterlerini vermektedir<sup>(19)</sup>.

$\alpha,\beta$ -Doymamış ketonların asetoksillenmesi reaksiyonlarında Mangan(III) asetat yaygın olarak kullanılan bir maddedir.

### 1.8. Mangan(III) Asetat Ortamında Enonların Asetoksillenmesi

Seçici  $\alpha,\beta$ -doymamış ketonların,  $\alpha'$ -asetoksillenmesi ilaç sektöründe ve faydalı kiral ligandların hazırlanması için bir anahtardır<sup>(20)</sup>. Kompleks doğal ürünlerin sentezinde genel fonksiyonel grupların merkez pozisyonlarında bulunan seçicilik oksidasyonu için bazı prosedürler geliştirilmiştir<sup>(17)</sup>. Enonların seçici olarak oksidasyonu için Kurşun(IV) asetat, MoOPH, TPPO, MCPBA ve Mn(III) asetat'ın kullanılması geniş bir uygulanabilirliğe sahip olmuştur<sup>(21,22)</sup>. Williams ve Hunter<sup>(23)</sup>,



$\alpha'$ -asetoksi enonların  $Mn(OAc)_3$  ile oksidasyonunun Kurşun(IV) asetat ile oksidasyonuna kıyaslandığında düşük verim ile gerçekleştiğini belirtmişlerdir. Bu düşük verim oranının da reaktantın yararını azalttığını vurgulamışlardır. Watt ve çalışma arkadaşları<sup>(24)</sup> ise kurutulmuş  $Mn(OAc)_3$  kullanmışlar ve bunun sonucunda verimin büyük oranda arttığını tespit etmişlerdir.

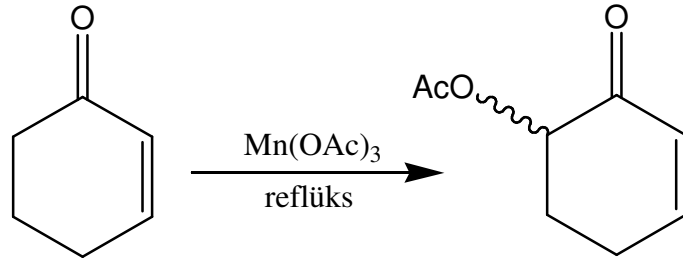
Asetat grubu  $\alpha$ -hidroksi ketonların hidroksi fonksiyonları için uygun birer koruyucu olarak kullanılırlar.  $\alpha$ -Asetoksi ketonlar çeşitli yollarla hazırlanabilirler. Karboksilat iyonları ile  $\alpha$ -bromo ketonların reaksiyonundan, Talyum(III)-asetat ile morfolinin yükseltgenmesinden, asetik asit içinde enon asetatların anodik yükseltgenmesinden, karboksilik asitlerle  $\alpha$ -diaz ketonların  $Cu(acac)_2$  katalizli reaksiyonlarından ve formik asit veya asetik asit içinde  $\alpha$ -keto triflatat reaksiyonlarından hazırlanabilirler<sup>(22)</sup>.

1,3-diketonlar sentetik organik kimyada merkez pozisyona sahip olduklarından, doğal ürünlerin sentezinde başlangıç maddesi olarak kullanılırlar. Siklik diketonların enol eterleri  $\beta$ -alkoksi  $\alpha,\beta$ -doymamış ketonlar olarak isimlendirilir.  $\beta$ -alkoksi  $\alpha,\beta$ -doymamış ketonlar, antibiyotikler gibi çeşitli biyolojik aktif maddelerin sentezlenmesinde kullanılan çok değerli ara ürünlerdir<sup>(25)</sup>.

Literatürde yer alan  $\alpha'$ -asetoksillenmesi hakkındaki metotların hepsi içinde en çok kullanılan iki tanesi kurşun(IV) asetat ve mangan(III) asetat ile oksidasyon metotlarıdır. Bunlardan kurşun(IV) asetat yüksek derecede zehirli olduğundan daha çok mangan(III) asetat ile oksidasyon yapılmaya başlanmıştır. Mangan(III) asetat genel olarak yüksek kimyasal verime ve  $\alpha'$ -asetoksillenmesi için yüksek bölge seçiciliğine sahiptir.

Mevcut metotların, bir enonun  $\alpha'$ -asetoksi enona oksidasyonu için çok tatmin edici sonuçlar vermemesi üzerine Demir ve çalışma arkadaşları Mangan(III) asetatı kullanarak  $\alpha,\beta$ -doymamış Enonların oksidasyonu üzerinde çalışmışlar ve  $\alpha'$ -asetoksi enonların hazırlanmasında tatmin edici sonuçlara ulaşmışlardır<sup>(26-28)</sup>.

Günümüzde  $\alpha'$ -asetoksi  $\alpha,\beta$ -doymamış ketonların sentezi için en çok kullanılan metotlardan biri  $Mn(OAc)_3$  ile asetillemedir.(Şekil 1.7)



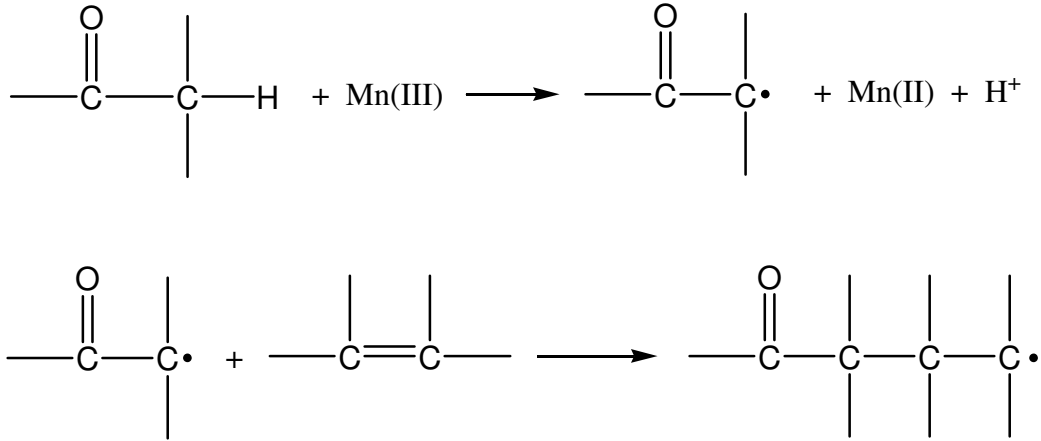
**Şekil 1.7.**  $\alpha,\beta$ -Doymamış Ketonların  $\alpha'$ -Asetoksillenmesi

Mangan(III) asetatlı oksidasyonlar genel olarak ikiye ayrılır;

1. Doğrudan Oksidasyon : Substratın, doğrudan iç veya dış tabaka bir elektron oksidasyonu; bu oksidasyonla, çoğunlukla Mangan(III) kompleksi oluşuktan sonra, ara ürün radikalinin oksidasyonu ürün belirleyicidir. Alkollerin, amino ve kükürtlü bileşiklerin, karboksilik asit ve bazı aromatik bileşiklerin oksidasyonu gibi bir çok örnek bulunabilir.

2. Dolaylı Oksidasyon : Substratın indirek oksidasyonu; Mangan(III) asetat ve enolleşebilen bileşiğin etkileşiminden ara ürün serbest radikali oluşuktan sonra, bu radikalın substrata eklenmesi veya yer değiştirmesi ile gerçekleşir. Mangan(III)

asetat, karbonil grubuna göre  $\alpha$ -hidrojen atomu taşıyan bileşiklerin olefinik ve aromatik doymamış sistemlere katılma reaksiyonları ile ilgilendir. Ara ürün serbest radikali Mangan(III) asetatın moleküller arası etkileşimi ile oluşur. Substratın dolaylı oksidasyonu ise bu basamaktan sonra gerçekleşir. Sonuç enola dönüşebilen bileşikler veya bir sonraki oksidasyon/yer değiştirme ve doymamış sistemlere, enola dönüşebilen bileşiklerin oksidatif ilavesidir. Mangan(III) asetat olefinik ve aromatik doymamış sistemlerin karbonil gruplarının  $\alpha$ -H atomlarına eklenme reaksiyonları ile ilgilidir.(Şekil 1.8)

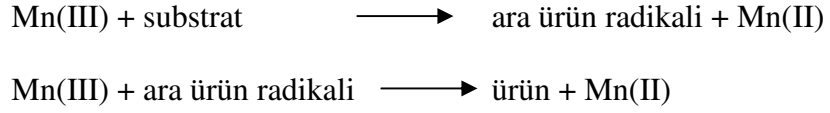


**Şekil 1.8.** Mangan(III) Asetatın Dolaylı Oksidasyon Mekanizması

Primer radikal ürünün açığa çıkması, reaksiyon şartlarına ve substratın türüne önemli ölçüde bağlıdır. Eğer substratlar yaygın olarak kullanılan oksidant maddelere karşı daha az reaktif ise, Mangan(III) asetat serbest radikal üretici olarak kullanılabilir. Co(III), Ce(IV) gibi bir elektron yükseltgeyicileri ve Tl(III), Pb(IV) gibi iki elektron yükseltgeyicileri Mangan(III) asetat ile benzer özellikler gösterirler.

Buna rağmen düşük reaktivite ve yüksek seçicilik açısından diğer yükseltgeyici maddelerle karşılaştırıldığında Mn(III) asetat daha iyi sonuç verir.

Bu reaksiyonların çoğu aşağıda gösterildiği gibi ilerler.

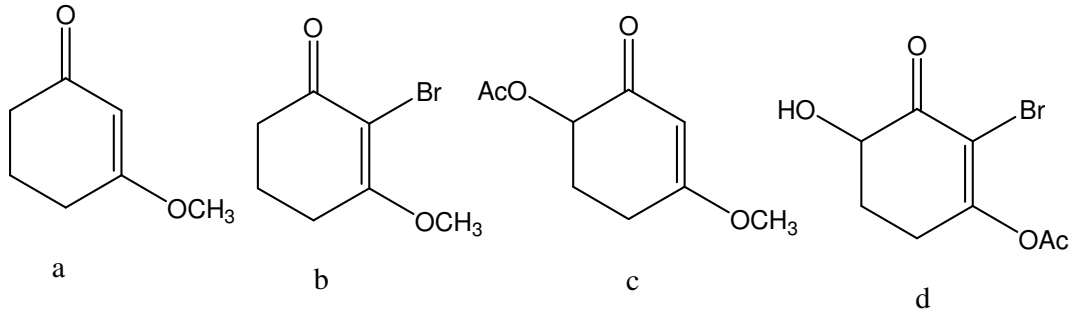


Suyun varlığında komplikasyonlar gelişebilir. Su, trivalent manganın Mn(IV) ve Mn(II)'ye disproporsiyonuna yol açar ve alternatif 2-elektron oksidasyonlar Mn(IV) tarafından meydana gelebilir.

### **1.9. Kiral Siklo Poliokso Ketonların Önemi ve Sentezi**

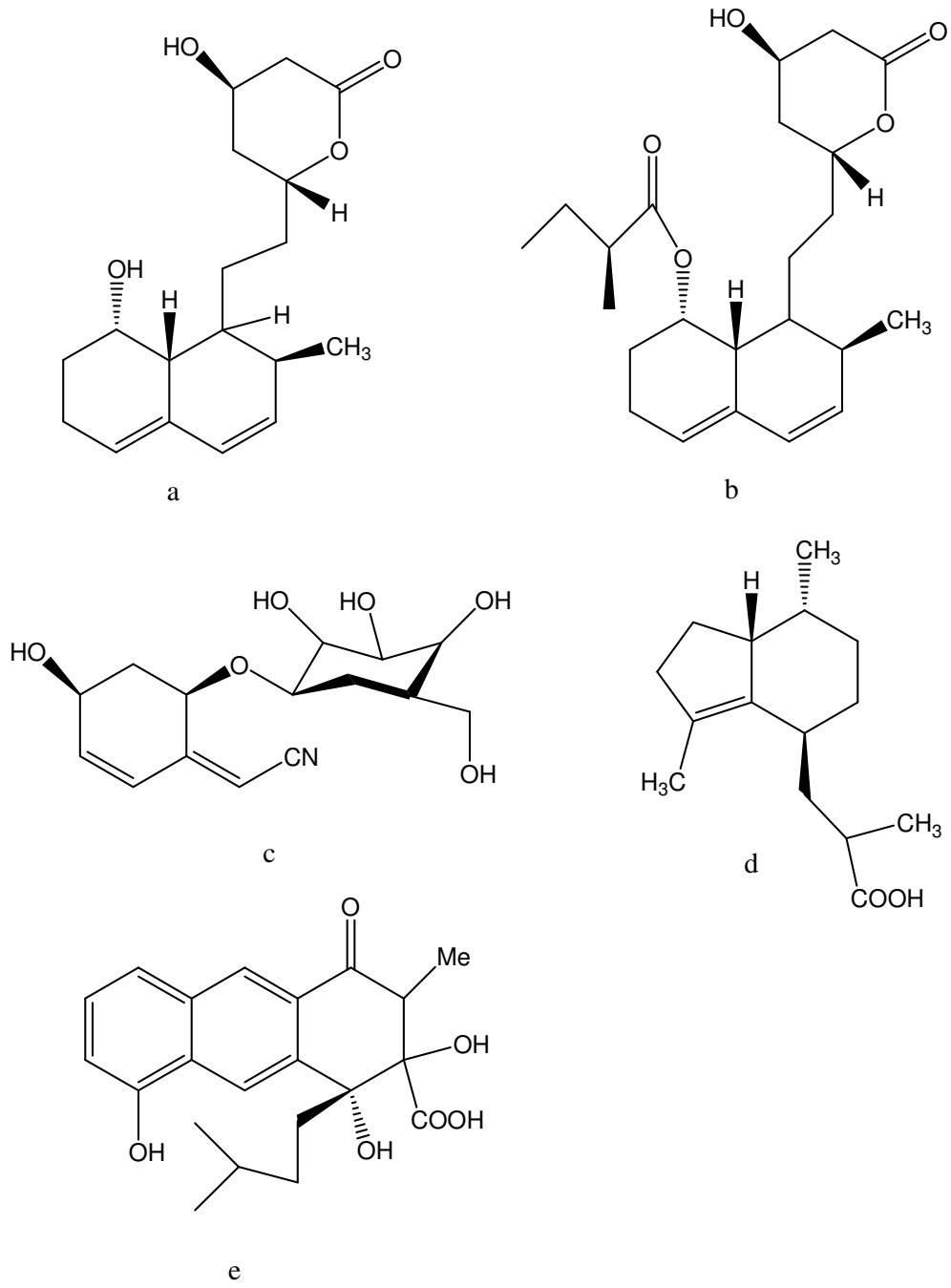
Kiral siklo poliokso ketonlar (Şekil 1.9), biyolojik aktivite gösteren bir çok bileşiğin önemli yapısal birimleri ve doğal ürünlerin asimetrik sentezi için çok önemli başlangıç maddeleridir. Bu yüzden, bu bileşikleri enantiyomerik olarak saf formda hazırlamak için yeni metotlar geliştirmek, çok dikkate değer bir çalışmadır.

Poliokso sikloheksenonlar küçük yapılarına rağmen bir çok fonksiyonel gruba sahip olduklarından kimyasal sentezler için çok önemli yapıtaşlarıdır.



**Şekil 1.9.** Kiral Siklo Poliokso Sikloheksenon'lar

Bünyelerindeki fonksiyonel gruplar, başka fonksiyonel gruplarla değiştirilebilirler. Bu özelliklerinden yararlanılarak organik kimyada bir çok sentetik uygulamada kullanılabilirler. Biyolojik aktiviteye sahip bir çok maddenin sentezi poliokso sikloheksenonlardan (Şekil 1.9.c) yola çıkılarak gerçekleştirilir. Bu şekilde elde edilmiş biyolojik aktiviteye sahip önemli bileşiklere bazı örnekler Şekil 1.10'de gösterilmiştir.

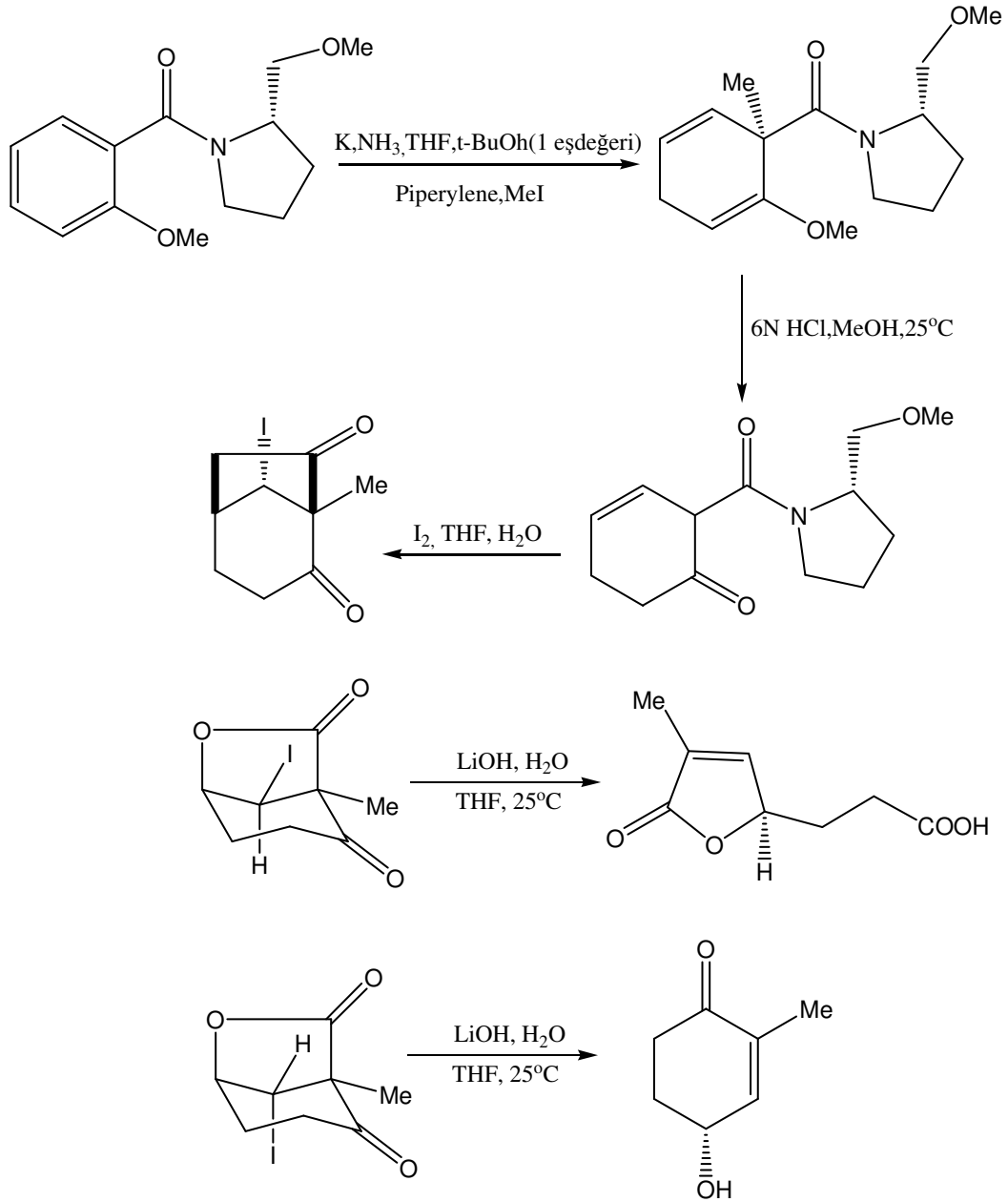


**Şekil 1.10.** Kiral Siklo Poliokso Sikloheksenon'lardan Sentezlenen Biyolojik Aktiviteye Sahip Bileşikler

ML-236A<sup>(29)</sup> (Şekil 1.10.a) iyi kolesterol düşürücü bir maddedir. Kompaktin<sup>(30)</sup> (Şekil 1.10.b) yeni nesil kolesterol düşürücü maddelerden biridir.

Menisdaurin<sup>(31)</sup> (Şekil 1.10.c) HIV-I'in çoğalmasını engelleyici bir maddedir. Valerenik asit<sup>(32)</sup> (Şekil 1.10.d) sinir sistemini yatıştırıcı, uyku kalitesini arttıran bir maddedir. Rişirilid B<sup>(33)</sup> (Şekil 1.10.e) S-glutation transferaz enzimini inhibe eden bir antibiyotik olarak kullanılmaktadır.

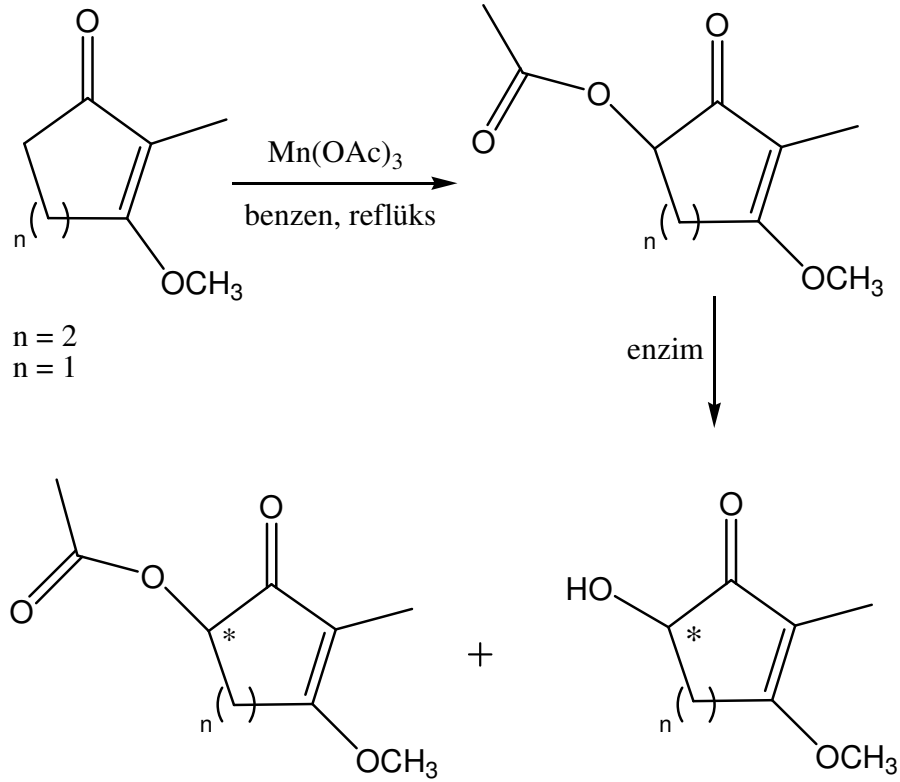
$\alpha'$ -Asetoksi-2-metil-3-metoksi-2-sikloheksen-1-on ve 4-hidroksi-2-metil-2-sikloheksen-1-on'un sentezi son yıllarda yapılmaya başlanmıştır. Bu konuda daha önce yapılan rasemik sentez Ochoa ve arkadaşları<sup>(34)</sup> tarafından tanımlanmıştır. 4-hidroksi-2-metil-2-sikloheksen-1-on'un (R) formu ise Schultz ve arkadaşları<sup>(35)</sup> tarafından yapılmıştır (Şekil 1.11).



**Şekil 1.11.** (R)-4-Hidroksi-2-metil-2-sikloheksen-1-on'un Sentezi

Demir ve arkadaşları<sup>(36)</sup>  $\alpha$ -metil- $\beta$ -metoksi siklik enonlardan başlayarak  $\alpha'$ -asetoksi- $\alpha$ -metil ve  $\alpha'$ -hidroksi- $\alpha$ -metil siklik enonların her iki enantiyomerlerini sentezlemişlerdir. (Şekil 1.12)





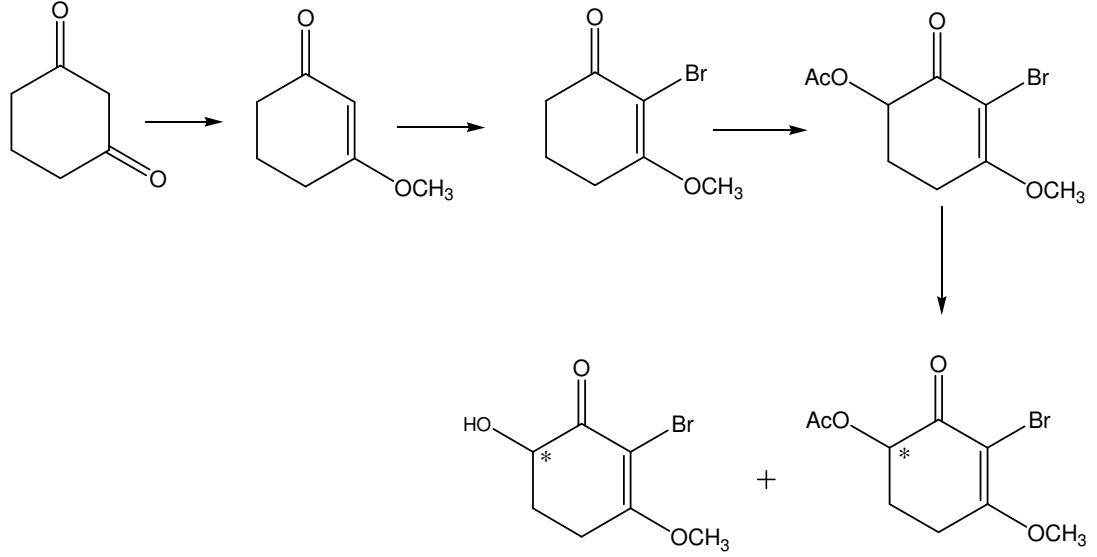
**Şekil 1.12.**  $\alpha'$ -Asetoksi- $\alpha$ -metil ve  $\alpha'$ -Hidroksi- $\alpha$ -metil Siklik Enonların Sentezi

### 1.10. Çalışmanın Amacı

Bu çalışmanın amacı sikloheksan-1,3-dion'dan başlayarak birçok biyolojik aktif bileşiğin sentezinde önemli ara ürünler olan poliokso sikloheksenonların sentezi için seçici, basit ve kullanılabilir bir metot geliştirmektir. Poliokso sikloheksenon türevleri olarak  $\alpha'$ -asetoksi-2-bromo-3-metoksi-2-sikloheksen-1-on ve 6-hidroksi-2-bromo-3-metoksi-2-sikloheksen-1-on seçilmiştir. Literatürde, hedef maddenin sentezine yönelik uygun bir metot bulunmamaktadır.

Bu çalışmada ilk olarak sikloheksan-1,3-dionun karbonil gruplarından birisinin korunması, sonra, oluşan  $\alpha,\beta$ -doymamış metoksi enon'un bromlanması,

daha sonra, Mangan(III) asetat kullanarak  $\alpha'$ -asetoksilasyon ve en sonunda asetoksi grubunun çeşitli lipazlarla enzimatik hidrolizi hedeflenmiştir. (Şekil 1.13)



**Şekil 1.13.**  $\alpha'$ -Asetoksi-3-metoksi-2-bromo-2-sikloheksen-1-on ve  $\alpha'$ -Hidroksi-3-metoksi-2-bromo-2-sikloheksen-1-on'un Sentezi

## 2. MATERYAL VE METOTLAR

### 2.1. Kullanılan Metotlar

Çalışmamızda, tüm ürünler Nükleer Manyetik Rezonans Spektrometresi (NMR) (Bruker DPX 400 MHz) kullanılarak tanımlanmış, NMR'da çözücü olarak dötöro-kloroform ve Uluslararası standart olarak da tetrametilsilan (TMS) kullanılmıştır.

Elde edilen ürünlerin saflaştırılması kolon kromatografisi ile yapılmıştır. Kolon kromatografisinde Merck Silikajel 60 (partikül büyüklüğü 40-63 µm) ve çözücü olarak etil asetat ve heksanın değişik oranlardaki karışımları kullanılmıştır.

Kiral HPLC analizleri, kiral kolon takılı Thermo Quest (TSP) ile yapılmıştır.

GC/MS analizleri Thermo Quest (TSP) ile yapılmıştır.

### 2.2. Mn(OAc)<sub>3</sub>.2H<sub>2</sub>O'nun Hazırlanması

19,6 gr toz haline getirilmiş Mn(OAc)<sub>2</sub>.4H<sub>2</sub>O'nun üzerine 200 ml asetik asit ilave edildi ve karıştırıldı. Karışıma 3,1 gr KMnO<sub>4</sub> küçük parçalar halinde eklendi ve 1 saat karıştırıldı. Karışım oda sıcaklığına soğutulduktan sonra oda sıcaklığındaki karışımın üzerine 3 ml su ilave edildi ve çökmesi için 2 gün bekletildi. Cam sinter kullanılarak vakumlu süzme işlemi yapıldıktan sonra asetik asit ile yıkandı. Elde edilen Mn(OAc)<sub>3</sub>.2H<sub>2</sub>O hazırlanan kurutma düzeneğinde tam olarak kuruyana kadar kurutuldu<sup>(20)</sup>.

### 2.3. 3-Metoksi-2-sikloheksen-1-on'un Sentezi

Sikloheksan-1,3-dion (2 gr ; 17,84 mmol) ve metil alkol'ün (35 ml) üzerine 1M TiCl<sub>4</sub> çözeltisi (0,5 ml) şırınga ile oda sıcaklığında yavaş yavaş ilave edildi. TiCl<sub>4</sub> ilave edilirken sistemden Ar gazı geçirildi. Karıştırma oda sıcaklığında 3 saatte yapıldı. Reaksiyon TLC ile izlendi. Vakumlu süzme işlemi yapıldı ve süzüntü buharlaştırıldı. Saflaştırma işlemi için kolon kromatografisi kullanıldı (3:1 , EtOAc:Heksan). Kolon kromatografisinden sonra ürün (sarı yağimsı sıvı) % 85 verim ile elde edildi.

<sup>1</sup>H – NMR (CDCl<sub>3</sub> + CCl<sub>4</sub>) :

δ(ppm):	1,97	( p , j = 6,39 Hz , 2H , CH <sub>2</sub> )
	2,31	( t , j = 6,47 Hz , 2H , CH <sub>2</sub> )
	2,39	( t , j = 6,22 Hz , 2H , CH <sub>2</sub> )
	3,68	( s , 3H , OCH <sub>3</sub> )
	5,33	( s , 1H , CH )

<sup>13</sup>C – NMR (CDCl<sub>3</sub> + CCl<sub>4</sub>) :

δ(ppm) : 198,9 ; 178,2 ; 102,2 ; 55,4 ; 36,6 ; 28,7 ; 21,2

### 2.4. 3-Metoksi-2-bromo-2-sikloheksen-1-on'un Sentezi

3-metoksi-2-sikloheksen-1-on (1,9 gr ; 15,16 mmol) ve dikloroetan (8,4 ml) 5-10 °C'ye buz ile ayarlanmış düzenekte karıştırılırken üzerine aynı sıcaklıkta 2,7 gr (15,16 mmol) NBS (N-bromosüksinimit) yavaş yavaş parçalar halinde ilave edildi. Sıcaklık kontrollü olarak 30 dk karıştırıldı (Reaksiyon ekzotermik). Karışım 30 dk karıştırıldıktan sonra vakum sistemi ile süzme işlemi yapıldı. Konsantre edildikten

sonra toluende (42 ml) çözüldü ve hızlı bir şekilde soğuk su (2\*20 ml) ile yıkandı. Ekstraksiyon ile üstteki organik faz ile alttaki su fazı ayrıldı. Organik faz alınıp MgSO<sub>4</sub> üzerinde kurutuldu ve süzüldü. Süzüntü 5 ml kalıncaya kadar konsantre edildi ve 0 °C'de buz banyosuna konularak kristallenmesi için 24 saat bekletildi. Kristaller (brom bileşiği) toluen ile yıkandı ve konsantre edildi. % 80 verim ile elde edilen beyaz katı olarak elde edildi.

<sup>1</sup>H – NMR (CDCl<sub>3</sub> + CCl<sub>4</sub>) :

δ(ppm):	2,06	( p , j = 6,43 Hz , 2H , CH <sub>2</sub> )
	2,52	( t , j = 6,42 Hz , 2H , CH <sub>2</sub> )
	2,71	( t , j = 5,97 Hz , 2H , CH <sub>2</sub> )
	3,95	( s , 3H , OCH <sub>3</sub> )

<sup>13</sup>C – NMR (CDCl<sub>3</sub> + CCl<sub>4</sub>) :

δ(ppm) : 190,6 ; 172,3 ; 102,9 ; 56,3 ; 36,6 ; 26,7 ; 20,4

## 2.5. α'-Asetoksi-3-metoksi-2-bromo-2-sikloheksen-1-on'un Sentezi

Mn(OAc)<sub>3</sub>, Demir ve çalışma arkadaşları tarafından belirtilmiş olan prosedür ile hazırlanıp kurutuldu<sup>(20)</sup>. 3-Metoksi-2-bromo-2-sikloheksen-1-on (2,47 gr ; 12,05 mmol), Mn(OAc)<sub>3</sub> (9,69 gr ; 36,15 mmol) ve asetik asit (9ml) benzen (108 ml) içinde 100-105 °C arasında 52 saat reflüks edildi. Reaksiyon TLC ile izlendi. Reaksiyon karışımı soğutulduktan sonra süzüldü, doymuş NaHCO<sub>3</sub> çözeltisi ve doymuş NaCl çözeltisi ile yıkandı, MgSO<sub>4</sub> üzerinde kurutuldu, konsantre edildi, α'-asetoksi-3-metoksi-2-bromo-2-sikloheksen-1-on'u vermek üzere kolon kromatografisi ile

saflaştırıldı. Ürün kolon kromatografisinden (1:1 , EtOAc:Heksan) sonra kırmızı yağimsı sıvı olarak % 74 verim ile elde edildi.

$^1\text{H}$  – NMR ( $\text{CDCl}_3 + \text{CCl}_4$ ) :

$\delta(\text{ppm})$ :	2,01 – 2,13	( m , 1H )
	2,20 – 2,28	( m , 1H )
	2,10	( s , 3H , $\text{CH}_3$ )
	2,63 – 2,73	( m , 1H )
	2,77 – 2,86	( m , 1H )
	3,90	( s , 3H , $\text{OCH}_3$ )
	5,25	( dd , $J=4,97$ Hz ve $7,58$ Hz , 1H , CH )

$^{13}\text{C}$  – NMR ( $\text{CDCl}_3 + \text{CCl}_4$ ) :

$\delta(\text{ppm})$  : 185,5 ; 171,3 ; 169,5 ; 101,2 ; 71,7 ; 56,4 ; 25,9 ; 24,8 ; 20,7

## 2.6. $\gamma'$ -Asetoksi-3-metoksi-2-bromo-2-sikloheksen-1-on'un Sentezi

3-Metoksi-2-bromo-2-sikloheksen-1-on (0,164 gr ; 0,8 mmol), hazırlanıp kurutulmuş  $\text{Mn}(\text{OAc})_3^{(20)}$  (0,64 gr ; 2,4 mmol) ve asetik asit (0,5 ml) sikloheksen (5 ml) içinde 100-105 °C arasında 48 saat reflüks edildi. Reaksiyon TLC ile kontrol edildi. Reaksiyon karışımı soğutulduktan sonra süzüldü. Eter ve doymuş NaCl çözeltisi ile yıkandı,  $\text{MgSO}_4$  üzerinde kurutuldu, konsantre edildi,  $\gamma'$ -asetoksi-3-metoksi-2-bromo-2-sikloheksen-1-on'u vermek üzere kolon kromatografisi ile saflaştırıldı. Ürün kolon kromatografisinden (1:1 , EtOAc:Heksan) sonra sarı-turuncu yağimsı sıvı olarak % 45 verim ile elde edildi.

$^1\text{H}$  – NMR ( $\text{CDCl}_3 + \text{CCl}_4$ ) :

$\delta(\text{ppm})$ :	2,09	( s , 3H , $\text{CH}_3$ )
	2,10 – 2,17	( m , 2H , $\text{CH}_2$ )
	2,50	( dt , J = 9,22 ; 3,79 Hz , 1H , CH )
	3,86	( s , 3H , $\text{OCH}_3$ )
	5,82	( t , J = 3,32 Hz , 1H , CH )

$^{13}\text{C}$  – NMR ( $\text{CDCl}_3 + \text{CCl}_4$ ) :

$\delta(\text{ppm})$  : 189,6 ; 169,3 ; 165,9 ; 108,3 ; 64,4 ; 56,8 ; 32,0 ; 26,3 ; 20,8

## 2.7. Kiral 6-hidroksi-3-metoksi-2-bromo-2-sikloheksen-1-on'un Sentezi

Lipaz (200-300mg) potasyum fosfat tampon çözeltisinde (20 mM, pH=7, 30 ml) çözüldü ve 3 ml DMSO'da çözülmüş olan 200 mg saf maddenin çözeltisine ilave edilerek oda sıcaklığında reaksiyon karışımı karıştırıldı. Reaksiyon TLC ile izlendi, %50 dönüşüm olduğunda reaksiyon, madde hacmi kadar kloroform konulup karıştırmak suretiyle durduruldu, bekletildi. Oluşan iki fazdan organik faz alınıp  $\text{MgSO}_4$  üzerinde kurutulduktan sonra süzülde ve konsantre edildi. Reaksiyona girmeyen  $\alpha'$ -asetoksi bileşiği ve  $\alpha'$ -hidroksi bileşiği kolon kromatografisi ile ayrıldı. 6-hidroksi-3-metoksi-2-bromo-2-sikloheksen-1-on kolon kromatografisinden (2:1 , EtOAc : Heksan) sonra beyaz katı olarak % 41 verim ile elde edildi.

$^1\text{H}$ -NMR( $\text{CDCl}_3 + \text{CCl}_4$ ) :

$\delta(\text{ppm})$ :	1,82	( dddd , J = 5,24 ; 5,42 ve 5,36 Hz , 1H , CH )
	2,36 – 2,42	( m , 1H , CH )
	2,57 – 2,66	( m , 1H , CH )
	2,77 – 2,84	( m , 1H , CH )

3,63	( s , 1H , OH )
3,92	( s , 3H , OCH <sub>3</sub> )
4,03	( dd , J = 5,45 ; 5,06 Hz , 1H , CH )

<sup>13</sup>C – NMR (CDCl<sub>3</sub> + CCl<sub>4</sub>) :

δ(ppm) : 192,1 ; 172,5 ; 99,2 ; 71,3 ; 56,3 ; 28,4 ; 25,2

GC / MS : 222(M<sup>+</sup>) , 220 , 179 , 178 , 175 , 149 , 97 , 81 , 67

Ester ve alkolün ee değeri, kiral kolon takılı HPLC cihazı ile belirlenmiştir.

HPLC : Kiral Ob kolon, UV:254 nm, 60:40 Heksan:2-propanol, akış hızı 0,5 ml/dakika



### 3. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

#### 3.1. Çalışmanın Yönü

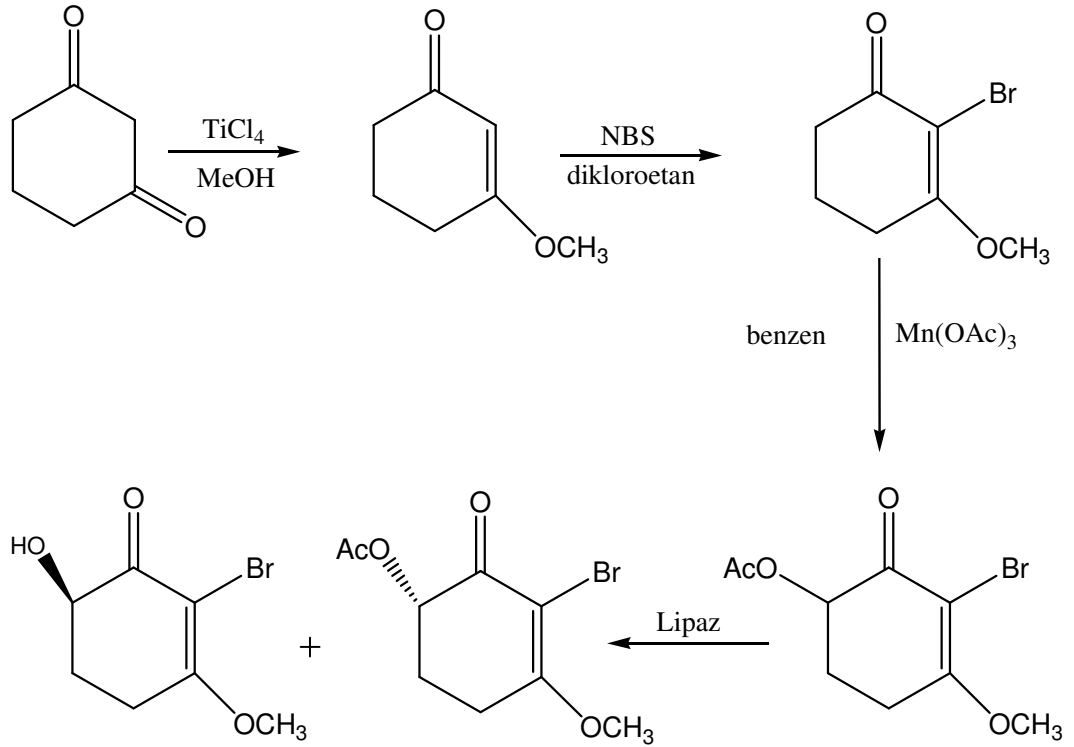
Poliokso sikloheksenonlar reaktif fonksiyonel gruplarından dolayı kiral organik bileşiklerin eldesi için çok yönlü kiral yapıtaşlarıdır. Bu bileşiklerin reaktif fonksiyonel grupları, yani, metoksi, asetoksi, çift bağ, karbonil ve hidroksil grupları visinal-diollere,  $\alpha$ -amino ketonlara ve diğer fonksiyonel gruplara kolaylıkla çevrilebilirler.

Poliokso sikloheksenonlar  $\gamma$ -hidroksi enonlara çevrilebilir ki,  $\gamma$ -hidroksi enonlar da farklı biyolojik aktivitelerle birçok doğal bileşikte bulunur. Bu bileşikten hazırlanan doğal bileşik örnekleri kompaktin tipi kolesterol düşürücü ajanlar ve menisdaurin tipi HIV-I transkriptaz inhibitörleridir.

Ne yazık ki günümüze kadar kiral 2-bromo poliokso sikloheksenonlar için genel bir metot geliştirilmemiştir. Demir ve çalışma arkadaşları<sup>(36)</sup> benzer yapıların sentezini gerçekleştirmişlerdir. Fakat o bileşikler brom süstitüentini içermemektedir.

Bu sentez, 1,3-sikloheksandion'dan başlayarak verimli bir şekilde ve enantiyoseçimli olarak 4 basamakta başarılmıştır. 1,3-sikloheksandion asit katalizasyonunda korunmuş ve 3-metoksi-2-sikloheksen-1-on'a çevrilmiştir. Sonra, bu ürün NBS ile muamele edilmiş ve 2-bromo-3-metoksi-2-sikloheksen-1-on elde edilmiştir<sup>(37)</sup>. Daha sonra, Mangan(III) asetat oksidasyonu ile  $\alpha$ '-asetoksi-2-bromo-3-metoksi-2-sikloheksen-1-on sentezlenmiştir. Ondan sonra, bu ürünün lipazlarla hidrolizi neticesinde 2-bromo-6-hidroksi-3-metoksi-2-sikloheksen-1-on ve 6-

asetoksi-2-bromo-3-metoksi-2-sikloheksen-1-on elde edilmiştir. Kolay bulunabilirlikleri ve organik çözücülerdeki reaktivitelerinden dolayı enantiyoseçimli hidroliz için lipazlar seçilmiştir. (Şekil 3.1)

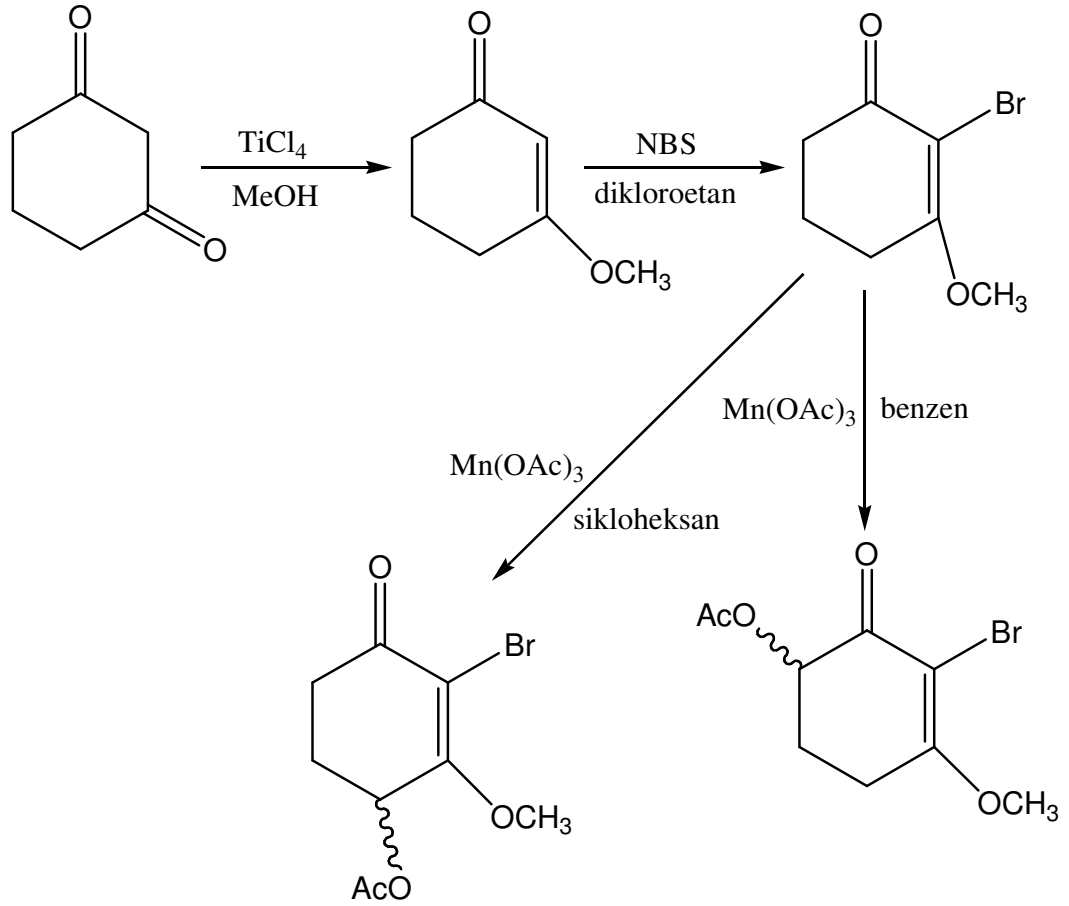


**Şekil 3.1.** Mangan(III)Asetat Oksidasyonu ile  $\alpha'$ -Asetoksi ve  $\alpha'$ -Hidroksi Enon'un Elde Edilmesi

Bu çalışma ile, literatürde ilk defa, 2-bromo-poliokso sikloheksenonların sentezi gösterilmiştir.

Sonuç olarak, 1,3-diketonların korunmasından başlanarak elde edilen  $\alpha,\beta$  doymamış metoksi enon,  $\alpha$ -bromo-metoksi enona çevrilmiş ve daha sonra da Mangan(III) asetat ile  $\alpha'$  asetoksillenmesi yapılmıştır. Mangan(III) asetat ile

oksidasyonda çözücü olarak benzen kullanıldığında asetoksillemenin bölge seçici olarak  $\alpha'$ -pozisyonunda gerçekleştiği gözlenmiş ve  $\alpha'$ -asetoksi-2-bromo-3-metoksi-2-sikloheksen-1-on ürün olarak elde edilmiştir. Mangan(III) asetat ile oksidasyonda çözücü olarak sikloheksan kullanıldığında ise asetoksillemenin bölge seçici olarak  $\gamma'$ -pozisyonunda gerçekleştiği gözlenmiş ve  $\gamma'$ -asetoksi-2-bromo-3-metoksi-2-sikloheksen-1-on ürün olarak elde edilmiştir.(Şekil 3.2)



**Şekil 3.2.** Mangan(III) Asetat Oksidasyonu İle  $\alpha'$  ve  $\gamma'$ -Asetoksi Enon'un Elde Edilmesi

Reaksiyonların kontrolü TLC ile izlenmiştir. Saflaştırma işlemleri kolon kromatografisi ile yapılmıştır. Ürünler ise NMR ve GC-MS ile incelenmiştir.

## **3.2. Asetoksi Enonların Sentezi**

### **3.2.1. Siklik 1,3-Diketonların Korunması**

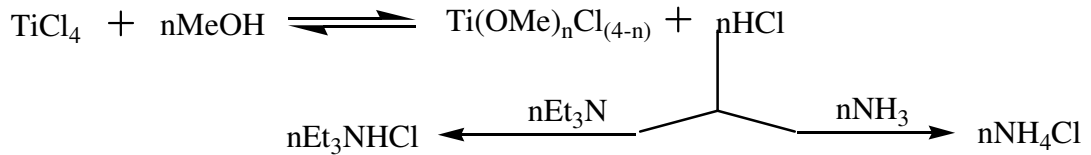
Asetaller, karbonil bileşikleri için koruyucu grup olarak çok geniş kullanım alanına sahiptirler. Aynı zamanda enantiyomerik saf bileşiklerin sentezinde gittikçe artan bir şekilde kullanılmaktadırlar. Son yıllarda bir çok geçiş metal kompleksi, genel Bronsted asit katalizlerine göre büyük avantajlar göstermişlerdir. Uygun koşullar altında asetal meydana getirmek için kullanılan Lewis asit katalizörleri araştırması da hâlâ sürdürülmektedir<sup>(38)</sup>.

Aldehit ve ketonlar için, asetallerin koruyucu gruplar olarak kullanılması, asetallerin geniş kullanım alanlarının en önemlilerinden biridir. Asetallerin oluşumunda genel olarak protonlar kullanılsa da, bir çok Lewis asitinin içerdiği geçiş metal komplekslerinin sayısı, asetilleme reaksiyonları için aktif katalizör olarak yayınlanmıştır<sup>(39)</sup>.

Asetalizasyon katalizörü olarak  $TiCl_4$ 'ün kullanımı son yıllarda oldukça önem kazanmıştır.  $TiCl_4$ 'ün geniş kullanım alanı, yüksek verimliliği, asetalizasyon reaksiyonu için kimyasal seçici katalizörlüğü  $TiCl_4$ 'ün önemini arttırmaktadır.

Siklik 1,3-diketonların korunmasında özel asetalizasyon katalizörü olarak  $TiCl_4$  kullanıldığında,  $TiCl_4$  karbonil grubunu seçici olarak korur ve sterik olarak diğer karbonil grubunun reaksiyona girmesini engeller.

Asetalizasyon, aldehit ve ketonların korunması için organik kimyada genellikle kullanılan bir metottur. Asetal oluşturma metotlarının hepsinin ortak göze çarpan yanı asit katalizörlerinin kullanılmasıdır. Aslında bu reaksiyonlar tersinirdir ve dengenin ürünler lehine döndürülmesi gereklidir. Asetaller, asitler ile kolayca hidroliz olmasına rağmen, bazik ortamda sınırsız kararlılığa sahiptir. Bazik ortamda asetalizasyon için geliştirilmiş birkaç metot vardır. Bu metotlardan bir tanesi de Clerici ve arkadaşları<sup>(40)</sup> tarafından geliştirilmiştir. Clerici ve arkadaşları alifatik ve aromatik aldehitlerin MeOH içinde Ti(IV) klorür kullanarak NH<sub>3</sub> veya Et<sub>3</sub>N'in varlığında, bazik ortamda asetalizasyonunu yayınlamışlardır. TiCl<sub>4</sub>'ün metanolik çözeltisine baz eklenmesi ile (NH<sub>3</sub> veya Et<sub>3</sub>N) kloro-titanyum metoksit Ti(OCH<sub>3</sub>)<sub>n</sub>Cl<sub>4-n</sub> oluştuğunu ve bunun da aktif katalizör olduğunu belirtmişlerdir (Şekil 3.3).

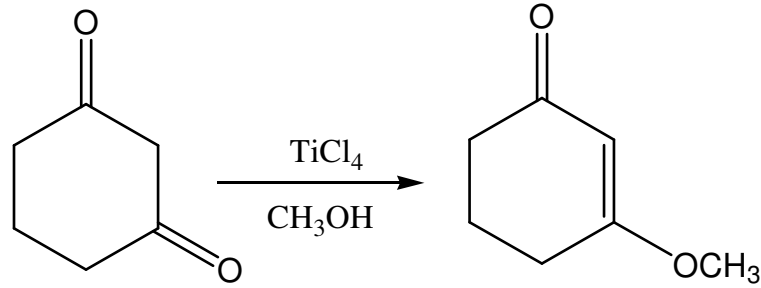


**Şekil 3.3.** Titanyum (IV) Klorürün Metanol İçerisindeki Tepkimesi

Bazik ortamda, yalnızca aldehitler, karbonil gruplarında kuvvetli elektron eksikliği ile asetalizasyon geçirebilir. Ortamın asidik veya bazik olmasına göre TiCl<sub>4</sub>, aldehit ve ketonlar arasındaki keskin zıtlığı vurgulamak için de kullanılmaktadır.

Hedef maddeler kiral α'-asetoksi ve α'-hidroksi enonların sentezi için ilk basamak siklik 1,3-diketonların korunmasıdır. 1,3-diketonların korunması

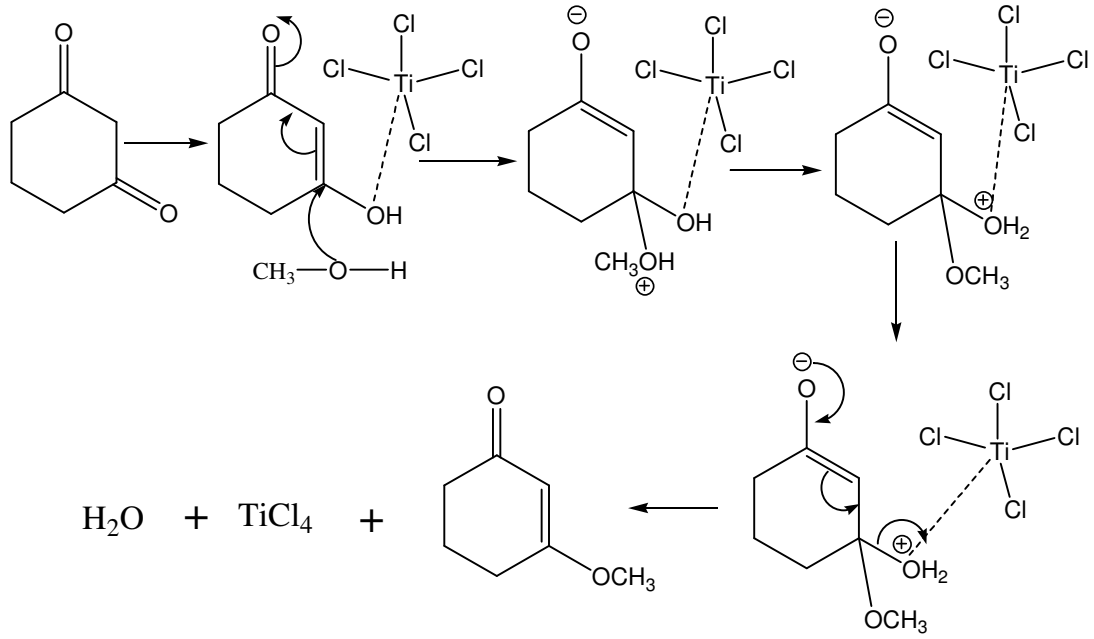
literatürde<sup>(38)</sup> belirtildiği gibi  $TiCl_4$  ile sağlanmıştır. 1,3-sikloheksandion, diklorometan içindeki  $TiCl_4$  çözeltisinin katalizörlüğünde, argon altında, metanol ile reaksiyona sokulmuş ve TLC ile takip edilmiştir (Silikajel, EtOAc/Heksan 3:1). Reaksiyon karışımı konsantre edildikten sonra ürün kolon kromatografisi ile saflaştırılmıştır. İstenilen ürün, 3-metoksi-2-sikloheksen-1-on, sarı yağimsı sıvı olarak % 85 verim ile elde edilmiştir (Şekil 3.4).



**Şekil 3.4.** Sikloheksan-1,3-dion'un  $TiCl_4$  Varlığında Korunması

Ürün NMR spektroskopisi kullanılarak tanımlanmıştır.  $^1H$ -NMR spektrumunda (Şekil 4.3) 3,5 ppm'de  $-OCH_3$  grubu için singlet,  $^{13}C$ -NMR spektrumunda (Şekil 4.4)  $-OCH_3$  grubunun karbonu için 55,4 ppm'de singlet gözlemlenmiştir.

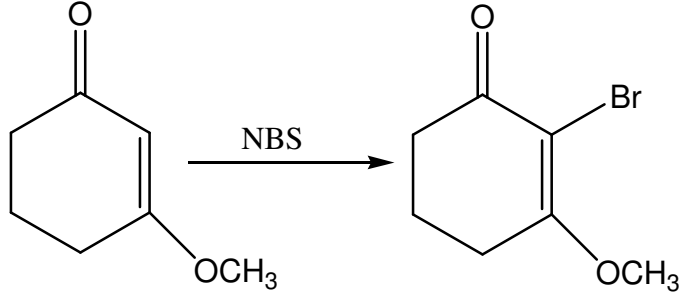
Sikloheksan 1,3-dion'dan, 3-metoksi-2-sikloheksen-1-on'un elde edilmesinde, reaksiyon mekanizmasının aşağıdaki şekilde yürüdüğü düşünülmektedir (Şekil 3.5).



**Şekil 3.5.** Sikloheksan-1,3-dion'un  $\text{TiCl}_4$  Varlığında Korunmasında Olası Mekanizma

### 3.2.2. $\beta$ -Alkoksi Enonların Bromlanması

3-Metoksi-2-sikloheksen-1-on NBS (N-bromosüksinimit) ile dikloroetan içinde reaksiyona sokulmuş ve 2-bromo-3-metoksi-2-sikloheksen-1-on %80 verimle beyaz katı olarak elde edilmiştir (Şekil3.6).



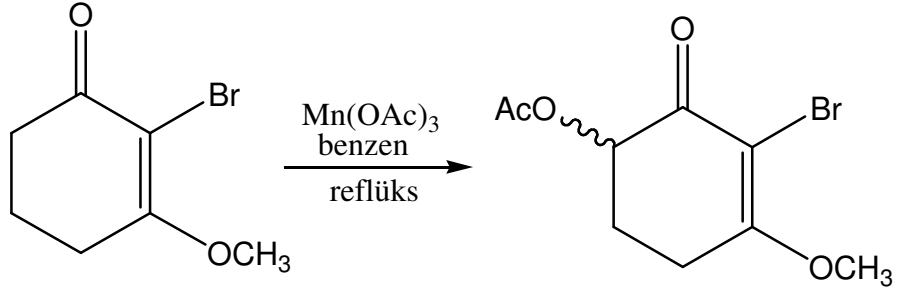
**Şekil 3.6.**  $\beta$ -Alkoksi Enon'ların Bromlanması

Ürün, NMR spektroskopisi ile aydınlatılmıştır.  $^1\text{H}$  – NMR spektrumundan (Şekil 4.5), bromsuz enonun  $\text{C}_2$  protonuna ait olan 5,30 ppm'deki pikin kaybolmasından bileşiğin bromlandığı anlaşılmıştır.

### 3.2.3. Mangan(III) Asetat Ortamında $\beta$ -Alkoksi Enonların Asetoksillenmesi

2-Bromo-3-metoksi-2-sikloheksen-1-on ve 3 ekivalent  $\text{Mn}(\text{OAc})_3$ , Dean Stark Trap altında, benzenin reflüks sıcaklığında tepkimeye sokulmuş ve asetoksi türevi rasemik formda elde edilmiştir (Şekil 3.7).





**Şekil 3.7.**  $\beta$ -Alkoksi Enon'ların Asetoksillenmesi

Reaksiyon TLC ile takip edilmiş, bu işlemten sonra elde edilen ham ürün kolon kromatografisi ile (1:1 , EtOAc/Heksan) saflaştırılmıştır. Beklenen ürün, yani  $\alpha'$ -asetoksi-2-bromo-3-metoksi -2-sikloheksen-1-on kırmızı yağimsı sıvı olarak % 74 verim ile elde edilmiştir.

Bileşik, detaylı bir NMR çalışması ile karakterize edilmiştir. Bu amaçla,  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , DEPT-90, DEPT-135, COSY ve HMQC spektrumları alınmıştır. Spektrumlar sırasıyla Şekil 4.7 , 4.8 , 4.9 , 4.10 , 4.11 , 4.12'de gösterilmiştir.

$\alpha'$ -Asetoksi-2-bromo-3-metoksi-2-sikloheksen-1-on'un  $^1\text{H}$ -NMR spektrumu 2,01 – 2,13 ppm ve 2,20 – 2,28 ppm'de C-5 protonları için iki multipler, 2,63 – 2,73 ppm ve 2,77 – 2,86 ppm'de C-4 protonları için iki multipler ve 5,27 ppm'de C-6 protonu için dubletin dubletini ( $J=4,97$  Hz ve 4,98 Hz) göstermektedir. Ayrıca, 2,10 ppm'de asetil grubunun metil protonları için bir singlet ve 3,90 ppm'de metoksi grubunun protonları için yine bir singlet gözlenmektedir.

$^{13}\text{C}$ -NMR spektrumunda; C-6 karbonu için 71,74 ppm'de bir sinyal, ester grubunun karbonil karbonu için 171,4 ppm'de bir sinyal gözlenmiştir.

COSY spektrumundaki çapraz pikler, C-5 protonlarının C-4 ve C-6 protonlarıyla etkileştiğini göstermektedir.

HMQC spektrumundan 71,74 ppm'deki sinyalle, 5,27 ppm'deki sinyalin korelasyonu sayesinde C-6 karbonunun ve protonunun yeri tam olarak belirlenmiştir.

DEPT-135 spektrumundan, asetoksi grubunun metil karbonunun yeri 20,7 ppm olarak belirlenmiştir.

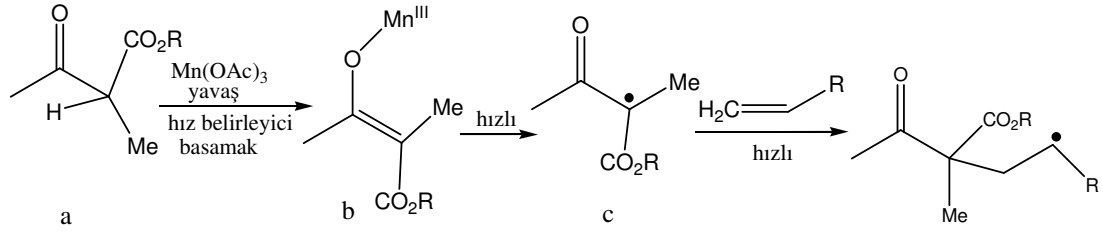
2-Bromo-3-metoksi-2-sikloheksen-1-on ve 3 ekivalent  $Mn(OAc)_3$  ile Dean Stark Trap altında sikloheksanın reflüks sıcaklığında reaksiyona sokulmuş ve  $\gamma$ -asetoksi türevi elde edilmiştir.

Reaksiyon TLC ile izlenmiş, elde edilen ham ürün kolon kromatografisi ile (1:1 EtOAc/Heksan) saflaştırılmıştır.  $\gamma$ -Asetoksi-2-bromo-3-metoksi-2-sikloheksen-1-on kırmızı yağimsı sıvı olarak %45 verimle elde edilmiştir.

Ürün NMR spektroskopisi ile aydınlatılmıştır.  $^1H$ -NMR spektrumunda 2,09 ppm'de  $CH_3CO$  grubu için singlet, 3,86 ppm'de  $-OCH_3$  grubu için singlet ve 5,82 ppm'de  $\gamma$ -protonu için triplet ( $J=3,32$  Hz) gözlenmiştir.

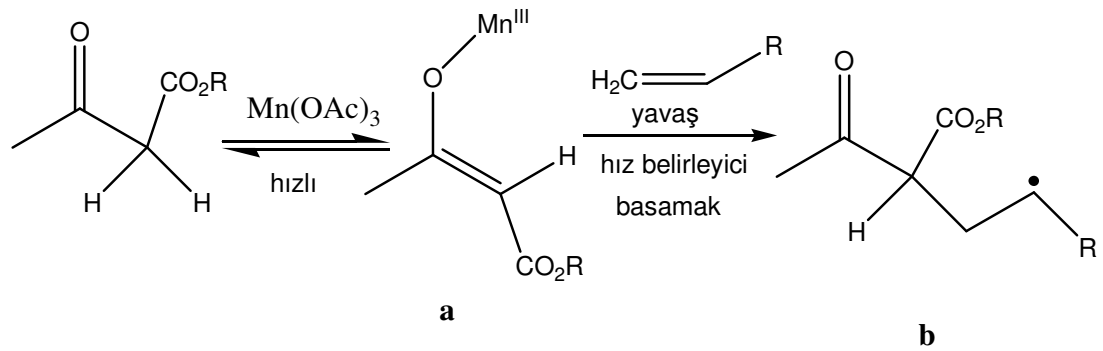
#### **3.2.4. Mangan(III) Asetat ile Oksidasyonun Mekanizması**

Monokarbonil substratların  $Mn(OAc)_3 \cdot 2H_2O$  ile oksidasyon mekanizması yaygın bir çalışmadır. Snider<sup>(41)</sup>,  $\alpha$ -alkil- $\beta$ -keto esterlerin oksidasyonu için aşağıdaki mekanizmayı öne sürmüştür. (Şekil 3.8)



**Şekil 3.8.**  $\alpha$ -Alkil- $\beta$ -keto Esterleri Oksidasyonu

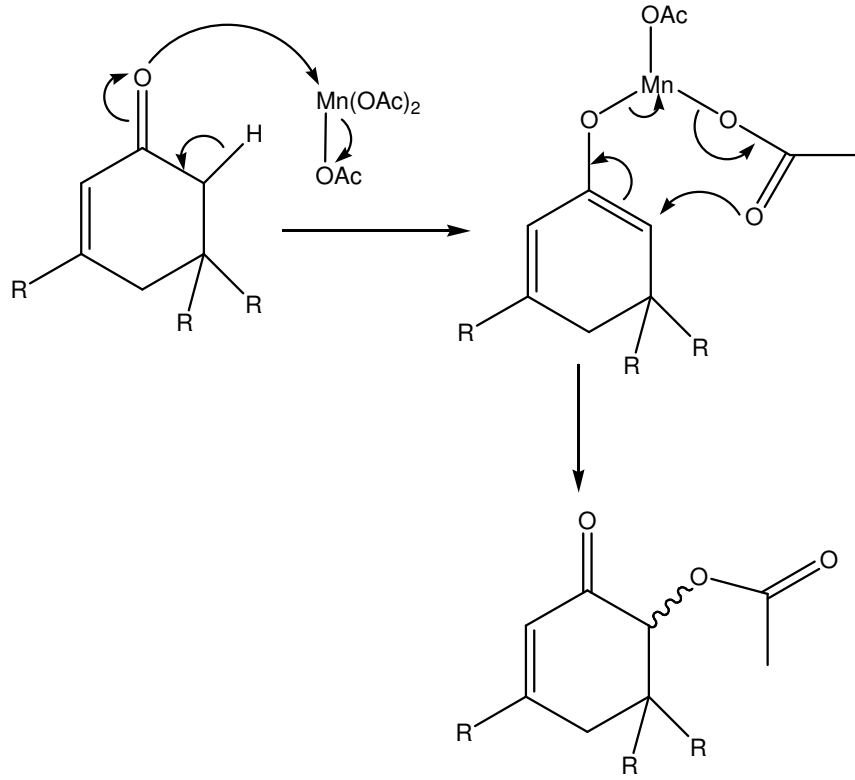
Enolizasyon Şekil 3.8.b'deki maddeyi yavaş verir. Şekil 3.8.c'deki maddeyi vermek için Mn(II)'nin kaybı ile elektron transferi hızlıdır. Bu yüzden, reaksiyon hızı alken konsantrasyonundan bağımsızdır. Bu, Mn(III)-ortamlı oksidasyonlarda, Şekil 3.8.c'de gösterilen serbest radikalın bulunduğunu göstermektedir. Diğer yandan Snider ve arkadaşları  $\alpha$ -süstitüe olmayan  $\beta$ -keto esterlerin enolizasyonunun hızlı ve tersinir olduğunu ve radikal oluşumu için elektron transferinin çok yavaş olduğunu bulmuşlardır (Şekil 3.9).



**Şekil 3.9.**  $\alpha$ -Doymamış- $\beta$ -keto Esterlerin Radikalik Oksidasyonu

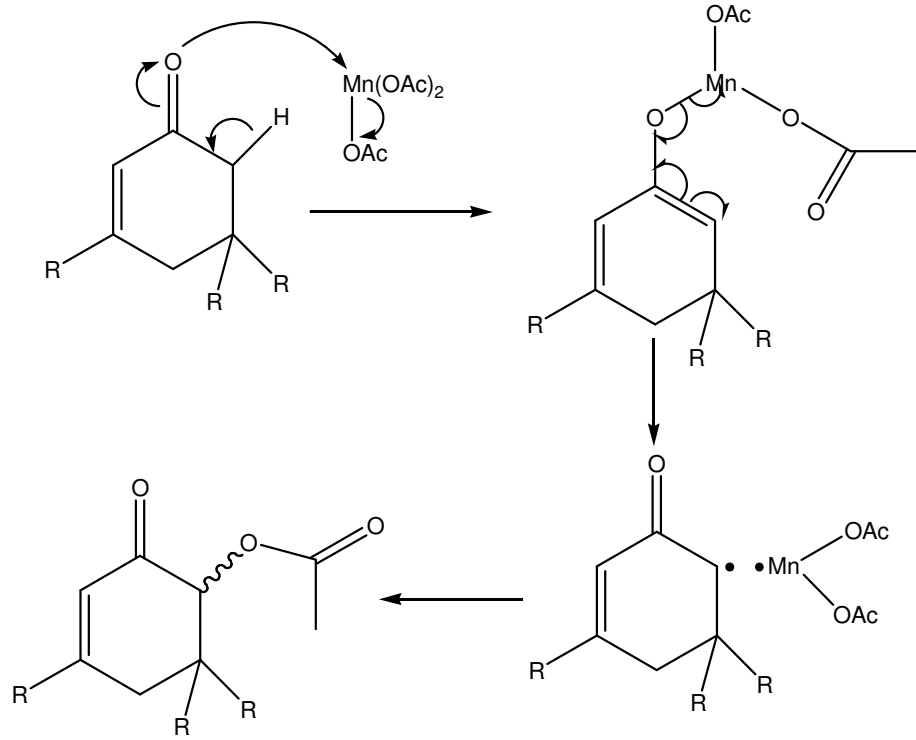
Hız belirleyici basamak, alken konsantrasyonuna ve Mn(II)'nin kaybı ile Şekil 3.9.b'de gösterilen radikali vermek üzere, alkenle Şekil 3.9.a'da gösterilen Mn(III) enolatın reaksiyonuna bağlıdır.  $\beta$ -Keto ester radikalleri Şekil 3.9.a'daki maddeye benzer ve  $\beta$ -keto ester radikalleri bu reaksiyonlarda ara ürün olarak görünmez. Sonuç olarak, Snider, reaksiyonun doğasının iki değişkene bağlı olduğunu belirtmiştir: pKa'ya karşılık gelen Mn(III) enolatın oluşum hızı ve serbest radikal vermek için enolatın oksidasyon kolaylığı.

Mangan(III) asetat'ın benzen içerisindeki oksidasyon mekanizması kesin değildir fakat kurşun(IV) asetat ile yapılan benzer oksidasyonlarla ilişkilendirilebilir<sup>(42)</sup>. Aromatik ketonların enol veya enolatları ile Mn(III) asetatın etkileşimi asetat transferi ile sonuçlanacaktır (Şekil 3.10).



**Şekil 3.10.** Mangan(III) Asetat İle Aromatik Ketonun Enolatının Oluşumu

Diğer bir mekanizma önerisi de enol veya enolat anyonlarının Mn(III) ile oksidasyonundan meydana gelen  $\alpha$ -keto radikalinin oluşumunu içermektedir (Şekil 3.11)



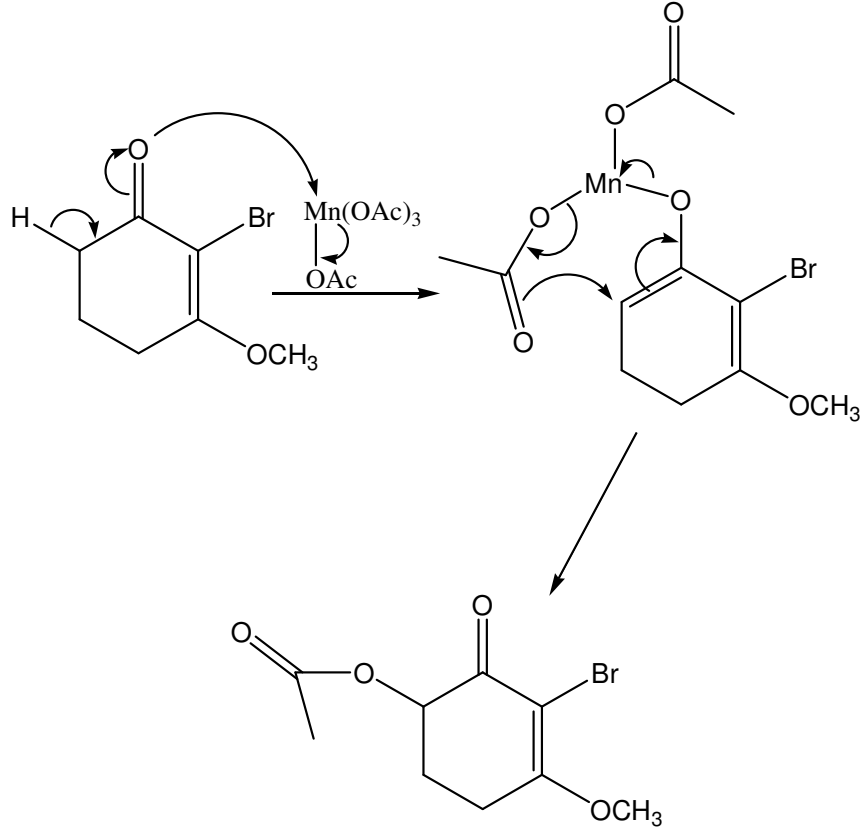
**Şekil 3.11.** Mangan(III) Asetat İle Aromatik Ketonun Radikalik Yoldan Enolatının Oluşumu

Mangan(III) asetat sikloheksan içinde reaksiyona sokulduğunda, ana ürün olarak  $\gamma'$ -asetoksi-2-bromo-3-metoksi-2-sikloheksen-1-on elde edilmiştir.

### 3.2.5. Benzende $\alpha'$ -Oksidasyonu Mekanizması

Mangan(III) asetat ile  $\alpha'$ -asetoksilleme mekanizması hakkında daha önce bir çok mekanizma önerilmiştir. Mangan(III) asetat ile  $\alpha'$ -asetoksilleme için önerilen mekanizmalardan iki tanesi genel olarak kabul görmüştür. Reaksiyonun bahsedilen bu iki mekanizmadan biri üzerinden yürüdüğü düşünülmektedir. Bunlardan birincisinde önce metal enolatın oluştuğu ve bu metal enolat üzerinden asetat

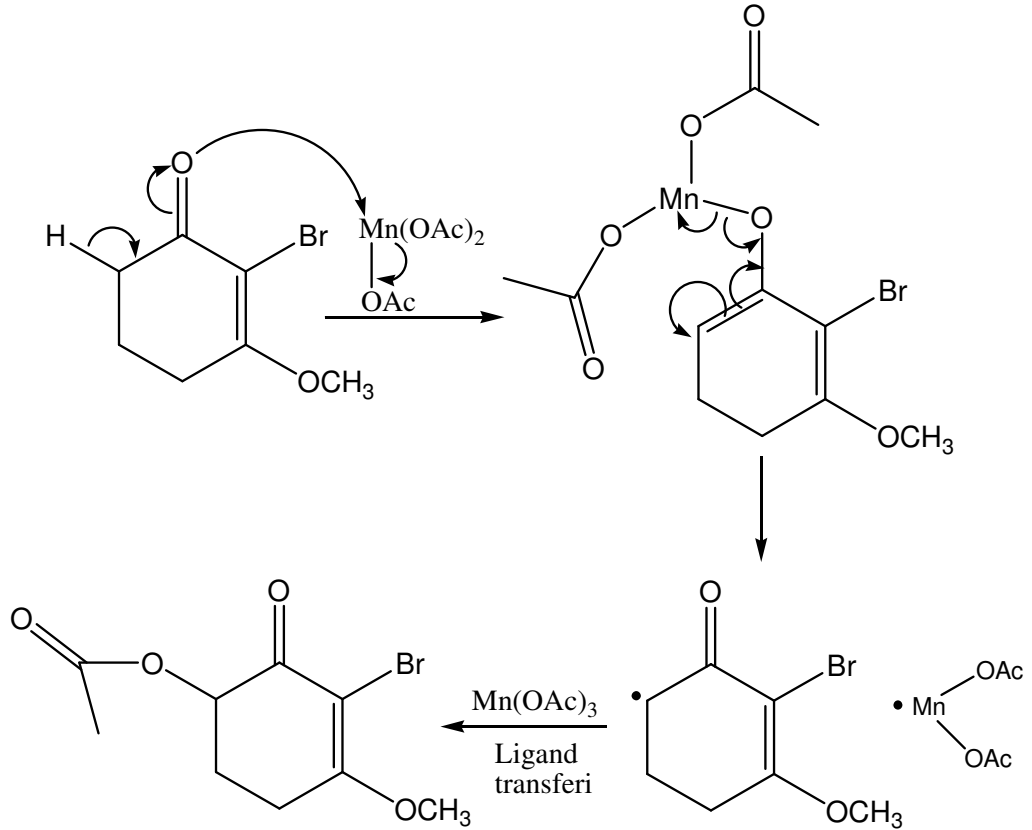
transferinin gerçekleştiği düşünülmektedir. Buna göre 3-metoksi-2-bromo-2-sikloheksen-1-on'dan  $\alpha'$ -asetoksi-3-metoksi-2-bromo-2-sikloheksen-1-on'un oluşumu aşağıdaki gibi gerçekleştiği düşünülmektedir (Şekil 3.12)



**Şekil 3.12.**  $\alpha'$ -Asetoksi-2-bromo-3-metoksi-2-sikloheksen-1-on'un Sentezi

Önerilen ikinci mekanizmaya göre reaksiyon  $\alpha$ -okso radikalinin oluşumu yolu ile gerçekleşmektedir. Karbonil bileşiğini Mangan(III) asetat ile oksidasyonundan itibaren  $\alpha$ -okso radikalini içerdiği düşünülmektedir. Diğer bir deyişle Mn(III) tarafından enol veya enolat anyonlarının oksidasyonu sonucu  $\alpha$ -okso radikalinin oluşumu üzerinden mekanizmanın yürüdüğü öngörülmektedir. Buna göre

3-metoksi-2-bromo-2-sikloheksen-1-on'dan  $\alpha'$ -asetoksi-3-metoksi-2-bromo-2-sikloheksen-1-on'un oluşumunun aşağıdaki gibi gerçekleştiği düşünülmektedir (Şekil 3.13)



**Şekil 3.13.**  $\alpha'$ -Asetoksi-2-bromo-3-metoksi-2-sikloheksen-1-on'un Radikalik Mekanizması

### 3.2.6. Enzim Ortamında Asetoksi Ketonların Hidrolizi

Hidrolitik enzimler, organik sentezlerde en fazla kullanılan biyokatalizörlerdir. Hidrolitik enzimler arasında amidazlar, proteazlar, esterazlar ve lipazlara özel bir ilgi vardır. Çünkü bu enzimler, ester ve amit bağlarının hem hidrolizini, hem de

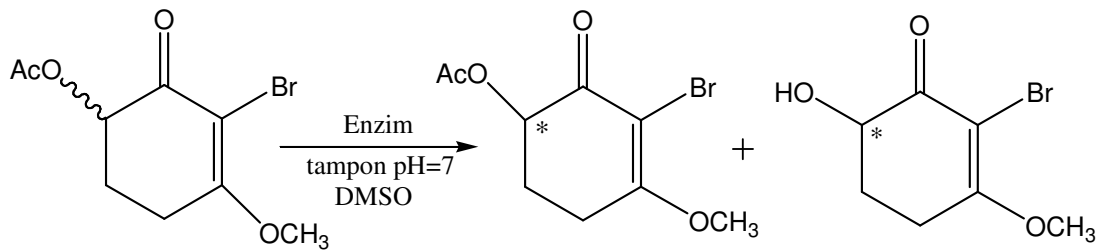


oluşumunu katalizlerler. Bunlar arasında lipazlar, ucuz ve kolay bulunabilir olmaları, çok geniş bir substrat aralığı için yüksek enantiyoseçiciliğe sahip olmaları ve organik çözücülerde yüksek dayanıklılık gösterebilmelerinden dolayı çok yaygın olarak kullanılmaktadırlar.

Hidrolitik enzimlerde, seçiciliği arttırmak için metanol, ter-bütanol, aseton, dioksan, asetonitril, dimetilformamit, dimetilsülfoksit (DMSO) gibi suyla karışabilen organik çözücülerin eklenmesiyle çeşitli çözücü sistemleri kullanılmaktadır.

Hidrolitik enzimlerle yapılan reaksiyonlar, genellikle enzimin optimum pH'ına yakın pH'a sahip sulu tampon çözeltilerinde gerçekleştirilmektedir<sup>(43)</sup>.

Bu çalışmada,  $\alpha'$ -asetoksi enonun enantiyoseçimli hidrolizi için dört farklı lipaz kullanılmıştır. (Şekil 3.14) Bunlar; Amano PS, Porcine Pancreatic Lipase (PPL; En ucuz ve bu nedenle en yaygın olarak kullanılan lipazdır. Domuz pankreasından elde edilmiştir.), *Candida Cylindracea* Lipase (CCL ; *Candida Rugosa* adlı mayadan elde edilmiştir.) ve Pig Liver Esterase'dir (PLE ; Esterazlar içinde en çok kullanılandır. Domuz karaciğerinden elde edilmiştir.)



**Şekil 3.14.**  $\alpha'$ -Asetoksi-2-bromo-3-metoksi-2-sikloheksen-1-on'un Enzimlerle Hidrolizi

Bu çalışmadaki bütün enzim reaksiyonları fosfat tampon çözeltisinde (pH = 7) ve oda sıcaklığında karıştırılarak yapılmıştır. Substratın sulu ortamdaki zayıf çözünürlüğü yüzünden birkaç mililitre DMSO organik çözücü olarak kullanılmıştır. Reaksiyon TLC ile takip edilmiş ve yaklaşık %50 dönüşüme ulaşıldığında reaksiyon durdurulmuş ve ham ürün kolon kromatografisi ile ayrılmıştır. Ayırma sonucunda kiral 6-asetoksi-2-bromo-3-metoksi-2-sikloheksen-1-on ve 6-hidroksi-2-bromo-3-metoksi-2-sikloheksen-1-on saf olarak elde edilmişlerdir. Ürünler NMR spektroskopisi ile aydınlatılmıştır. 2-Bromo-6-hidroksi-3-metoksi-2-sikloheksen-1-on'un <sup>1</sup>H-NMR spektrumunda (Şekil 4.15) –OCH<sub>3</sub> grubu için 3,92 ppm'de singlet, OH grubu için 3,63 ppm'de singlet, C4 protonu için dubletin dubleti (J=5,45 Hz ve 5,06 Hz) gözlenmiştir. <sup>13</sup>C-NMR spektrumunda (Şekil 4.16) C-4 karbonu için 71,3 ppm'de bir sinyal gözlenmiştir.

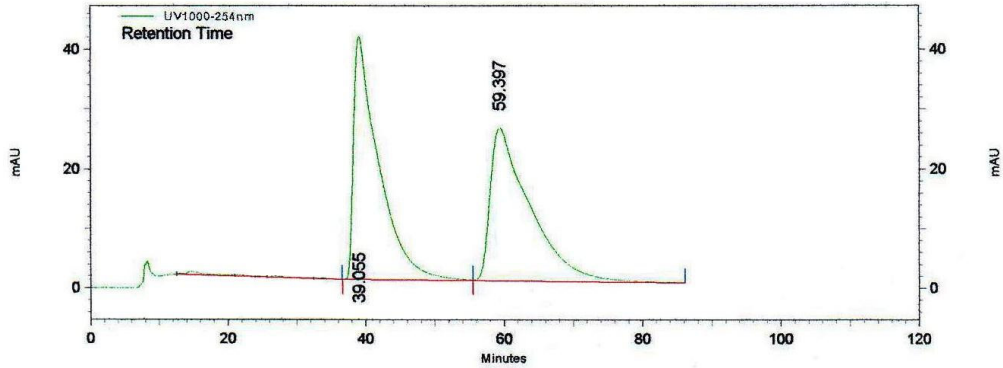
2-Bromo-6-hidroksi-3-metoksi-2-sikloheksen-1-on'un GC/MS spektrumu (Şekil 4.17) 222'de M<sup>+</sup> piki göstermektedir.

Asetoksi enon'un enzimatik hidrolizi için dört çeşit enzim kullanılmıştır. CCL (*Candida Cylindracea Lipase*) ve PPL (*Porcine Pancreatik Lipase*) ile sonuç alınamamıştır. PLE (*Pig Liver Esterase*) ile dönüşümün az olduğu ve sürenin çok uzun olduğu görülmüştür. Amano PS ile 4 saat içinde %50 dönüşüm gerçekleşmiştir.

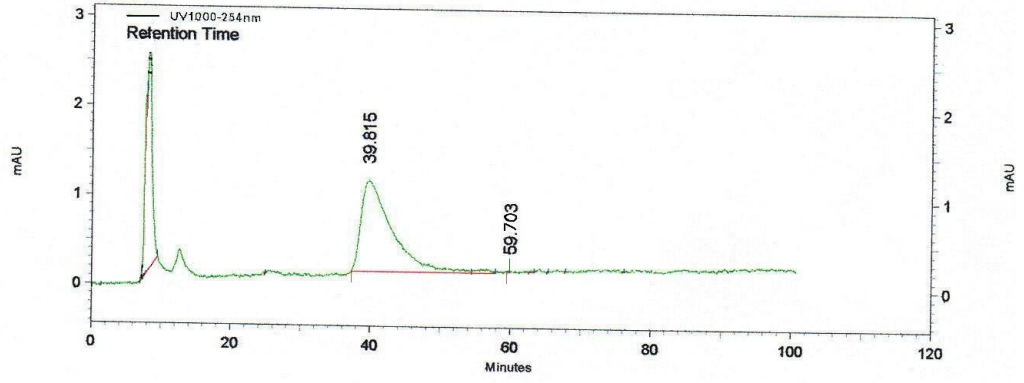
Enantiyomerlerin en iyi şekilde ayrılmasını sağlamak için çeşitli kiral HPLC kolonları denenmiştir. Chiralpak AD ve Chiralcel OJ kolonları kullanıldığında, enantiyomerlerin kromatogramda çok geç geldiği ve ayrılmadıkları gözlenmiştir. Chiralcel OB kolonu (heksan/2-propanol=60:40) kullanıldığında ise en iyi sonuç alınmış ve α'-asetoksi ve α'-hidroksi enonların enantiyomerlerinin ayrımı gerçekleştirilmiştir. Şekil 3.15'de α'-asetoksi-2-bromo-3-metoksi-2-sikloheksen-1-

on'un enzime konulmadan önce rasemik formunun HPLC kromatogramı, Şekil 3.16'da kiral  $\alpha'$ -asetoksi-2-bromo-3-metoksi-2-sikloheksen-1-on'un HPLC kromatogramı, Şekil 3.17'de kiral  $\alpha'$ -hidroksi-2-bromo-3-metoksi-2-sikloheksen-1-on'un HPLC kromatogramı görülmektedir. Kiral  $\alpha'$ -asetoksi-2-bromo-3-metoksi-2-sikloheksen-1-on'un HPLC analizinden, enantiyomerik fazlalık (ee) değeri %99 ee ve %45 verim ile elde edilmiştir.

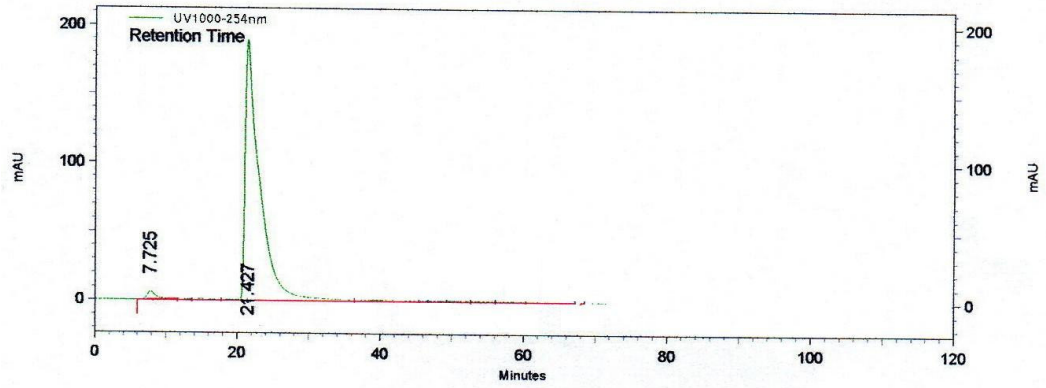
Asetoksi enon'un enzimatik hidrolizinde Amono PS kullanıldığında reaksiyon %49 dönüşüm ile 4 saatte tamamlanmıştır. Enzimatik hidroliz sonucu 6-hidroksi-2-bromo-3-metoksi-2-sikloheksen-1-on %41 verim ve %96 ee ile elde edilmiştir.



**Şekil 3.15.** Rasemik  $\alpha'$ -Asetoksi-2-bromo-3-metoksi-2-sikloheksen-1-on'un HPLC Analizi



Şekil 3.16.  $\alpha'$ -Asetoksi-2-bromo-3-metoksi-2-sikloheksen-1-on'un HPLC Analizi



Şekil 3.17.  $\alpha'$ -Hidroksi-2-bromo-3-metoksi-2-sikloheksen-1-on'un HPLC Analiz

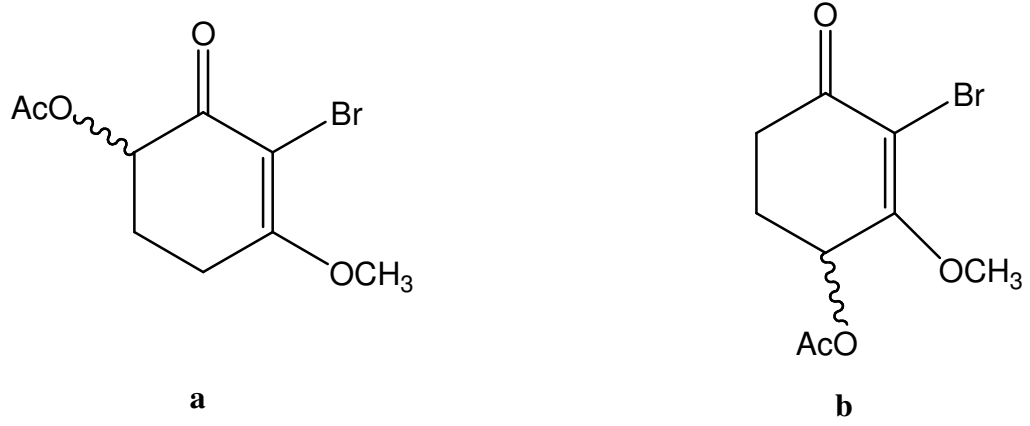
Asetoksi enon'un enzimatik hidroliz reaksiyonunun analizleri Chiralcel OB kolonu takılı HPLC cihazında, 0,5 ml/dakika akış hızında 60:40 Heksan:2-propanol çözücü sisteminde UV 254 nm'de yapılmıştır.

#### 4. SONUÇ

$\alpha'$ -Hidroksi ve asetoksi enonlar biyolojik olarak aktif bileşiklerin sentezinde kullanılabilen bir çok fonksiyonel grup içerdikleri için çok önemli ara ürün molekülleridir.

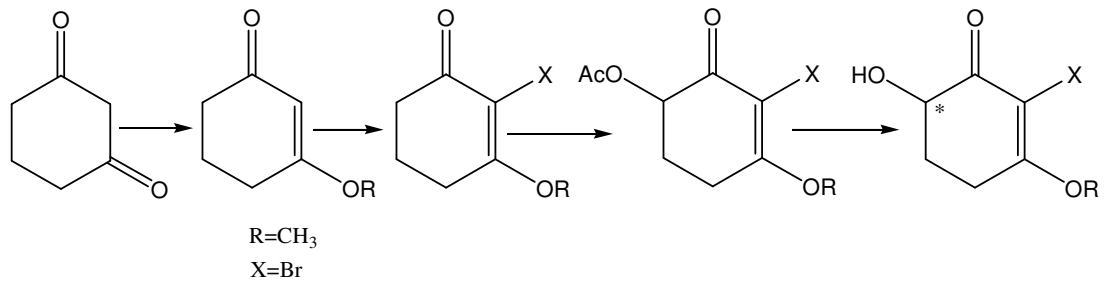
Bu çalışmada 1,3-diketon'dan başlanarak  $\alpha'$ -hidroksi ve asetoksi enon elde edilmiştir. 1,3-diketon'daki karbonil gruplarından birisi asit katalizi ile korunarak  $\alpha,\beta$ -doymamış metoksi enon sentezlenmiştir.  $\alpha,\beta$ -Doymamış metoksi enon  $\alpha$  konumundan bromlandıktan sonra Mangan(III) asetat kullanılarak yüksek verimle  $\alpha'$ -enon'a çevrilmiştir. Mangan(III) asetat ile oksidasyon işleminde kullanılan çözücü değiştirilerek çözücünün ürünlere olan etkisi incelenmiştir. Bu aşamada çözücü olarak benzen kullanıldığında ana ürün olarak  $\alpha'$ -asetoksi enon elde edilirken, çözücü olarak sikloheksan kullanıldığında ana ürünün  $\gamma'$ -asetoksi enon olduğu görülmüştür (Şekil 4.1). Mangan(III) asetat ile oksidasyon işleminde reaksiyon süresinin ürün oluşumunda çok etkili olduğu görülmüştür. Mangan(III) asetat ile oksidasyon işleminde en uygun reaksiyon süresi tespit edilerek deneyler buna göre yapılmış ve Mangan(III) asetat, bölüm 2.2'de belirtilen prosedür ile hazırlanıp kurutulduktan sonra kullanılmıştır.

En sonunda, asetoksi enon biyokatalizör olarak kullanılan çeşitli lipazlarla kiral  $\alpha$ -hidroksi enon'a çevrilmiştir. En iyi sonuç, kullanılan dört lipazdan biri olan Amano PS enzimi ile elde edilmiştir.

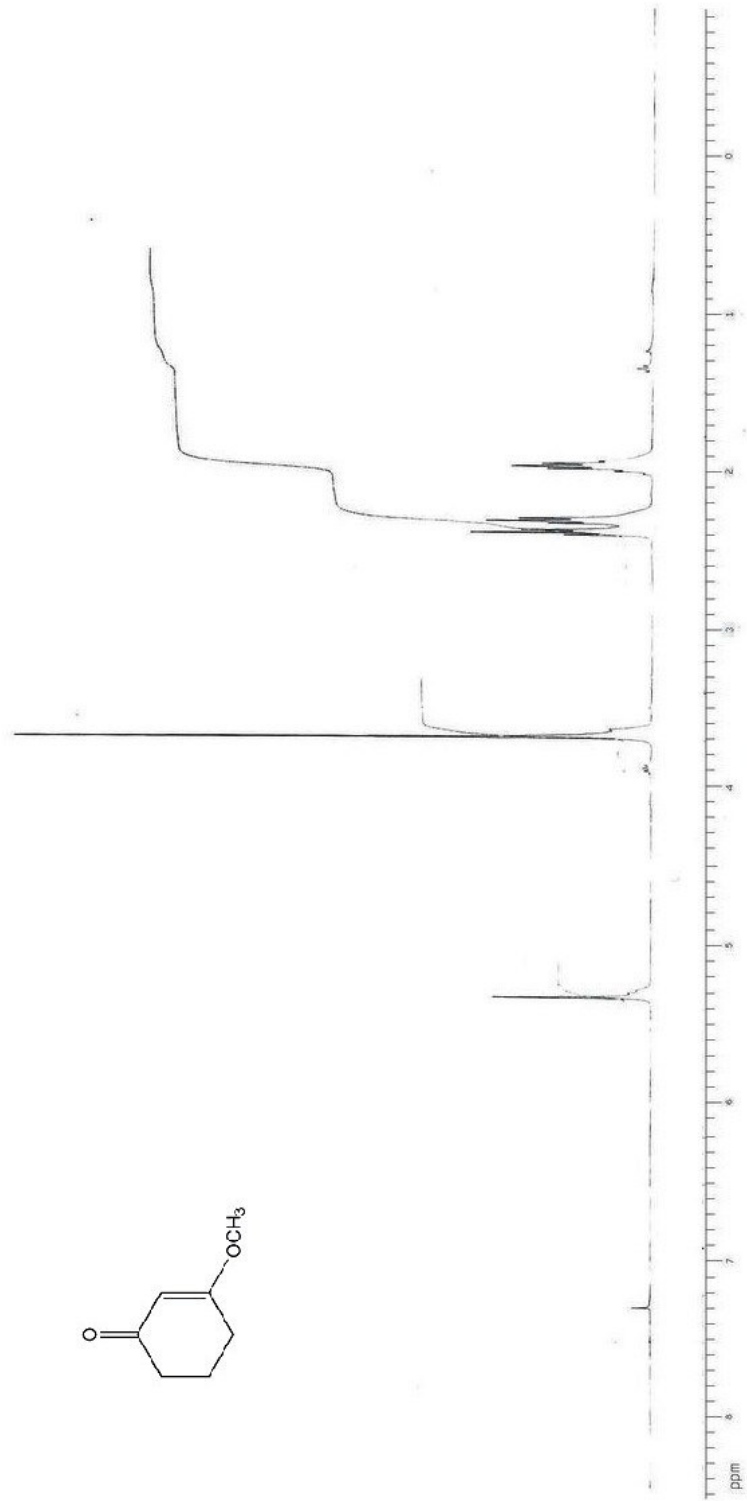


**Şekil 4.1.**  $\alpha'$  ve  $\gamma'$ -Asetoksi-2-bromo-3metoksi-2-sikloheksen-1-on

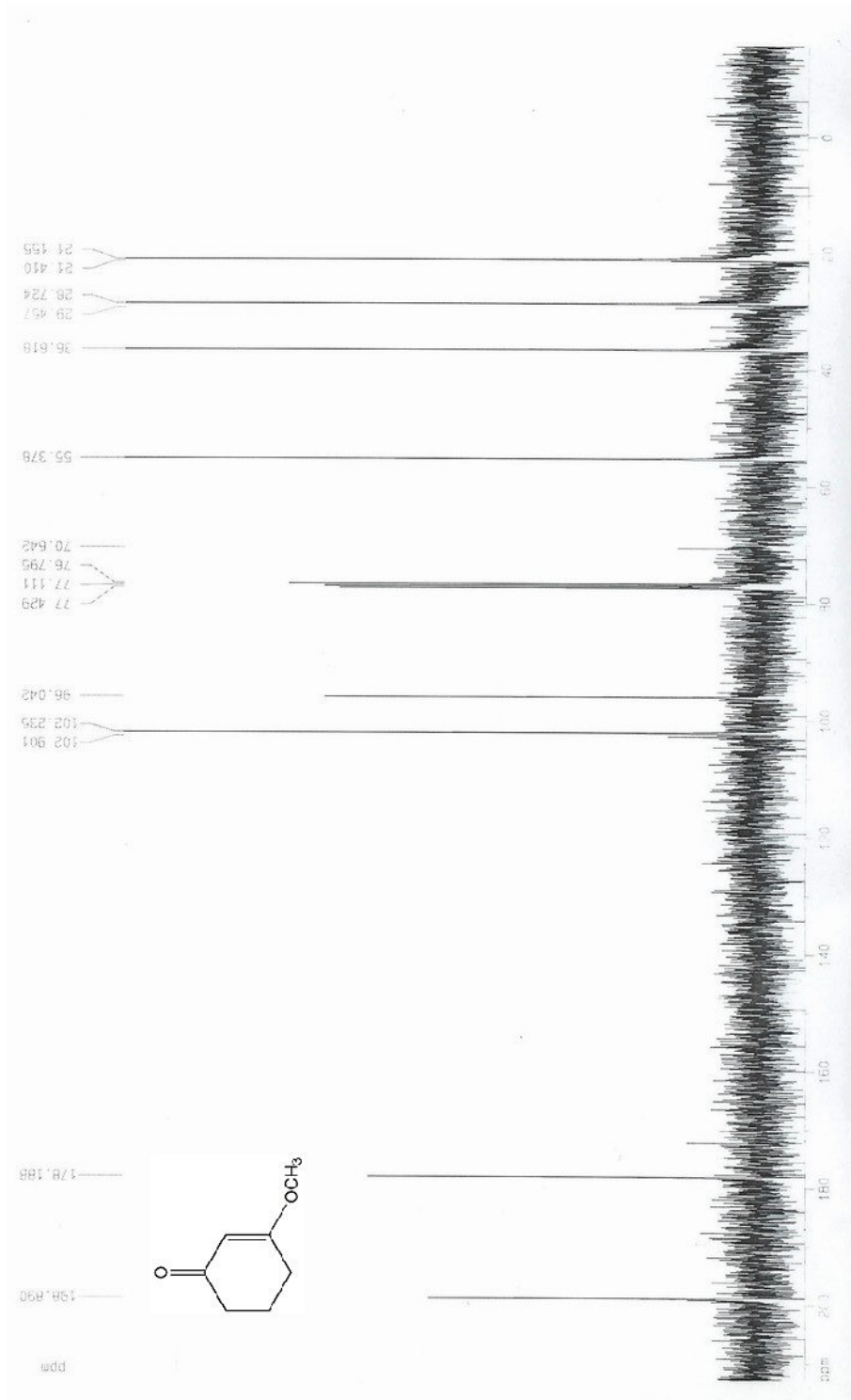
Bu çalışma ile, literatürde ilk defa, 2-bromo-6-hidroksi-3-metoksi-2-sikloheksen-1-on'un kemoenzimatik sentezi gerçekleştirilmiştir. çalışmada kullanılan metot yeni ve yeterli bir metottur. Bu metot biyolojik olarak aktif bir çok bileşiğin sentezinde ara ürün olarak kullanılabilen diğer bir çok poliokso sikloheksenonlar için de uygundur (Şekil 4.2).



**Şekil 4.2.** Sikloheksan-1,3-dion'dan  $\alpha'$ -Asetoksi Enon'un Sentezi

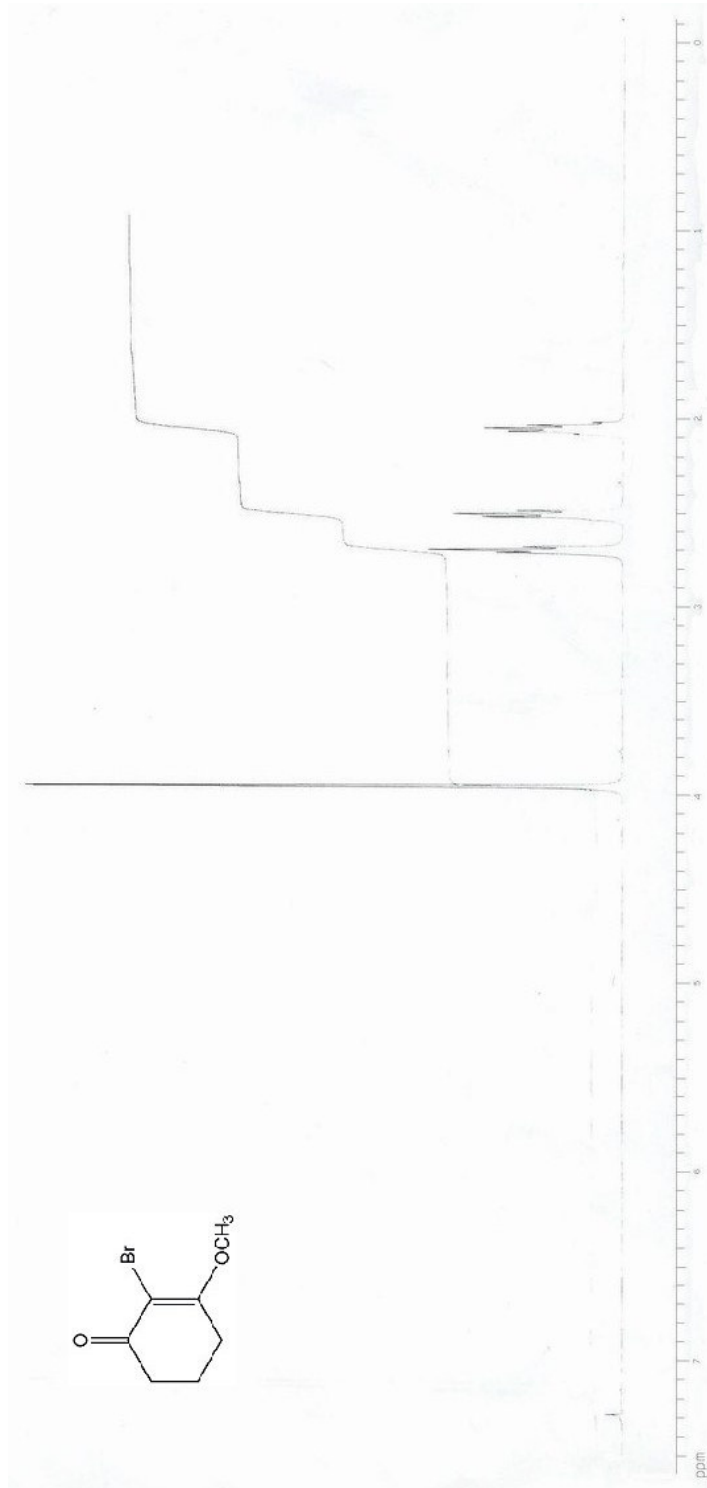


**Şekil 4.3.** 3-Metoksi-2-sikloheksen-1-on'un <sup>1</sup>H-NMR Spektrumu

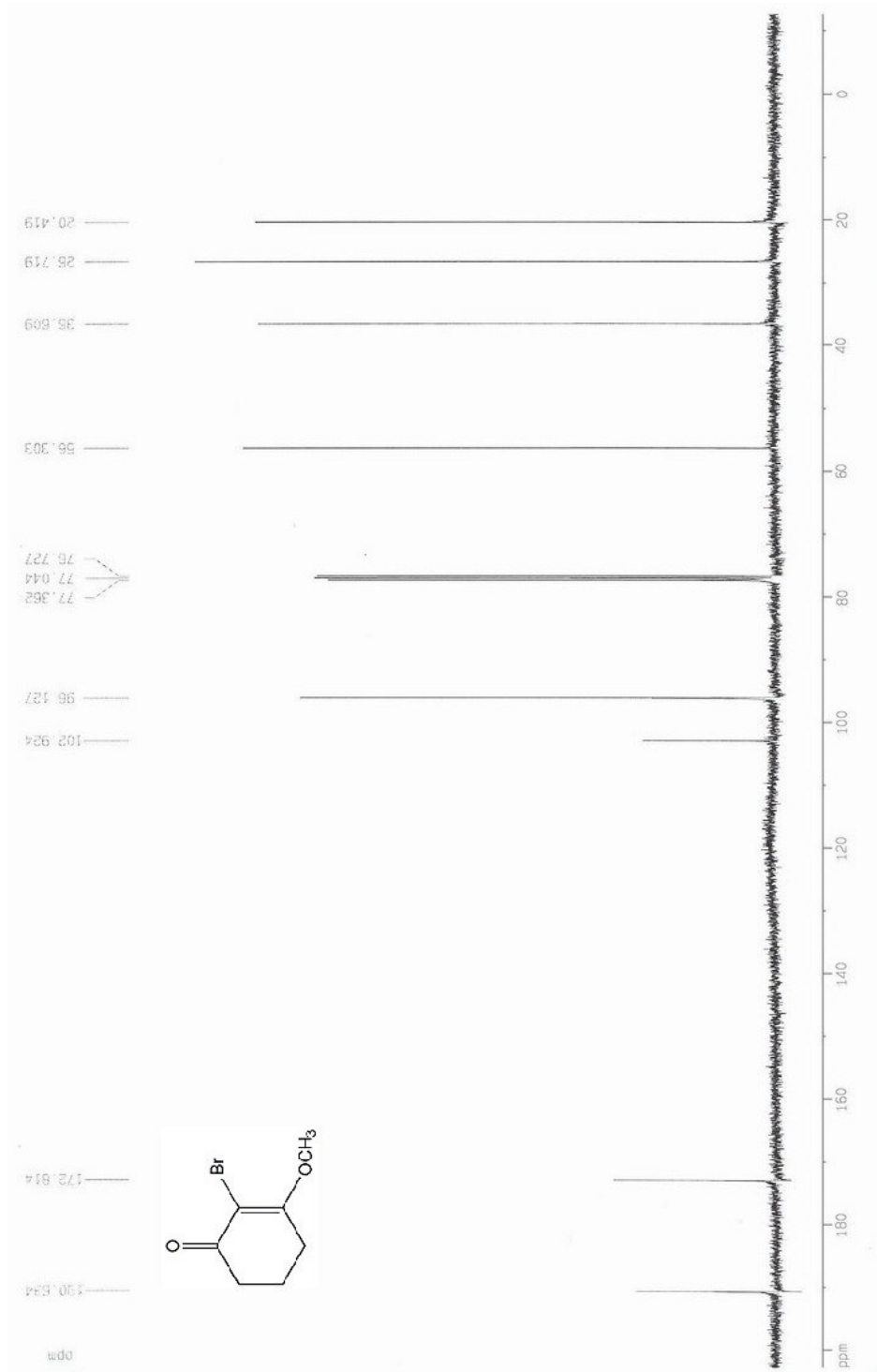


Şekil 4.4. 3-Metoksi-2-sikloheksen-1-on'un  $^{13}\text{C}$ -NMR Spektrumu

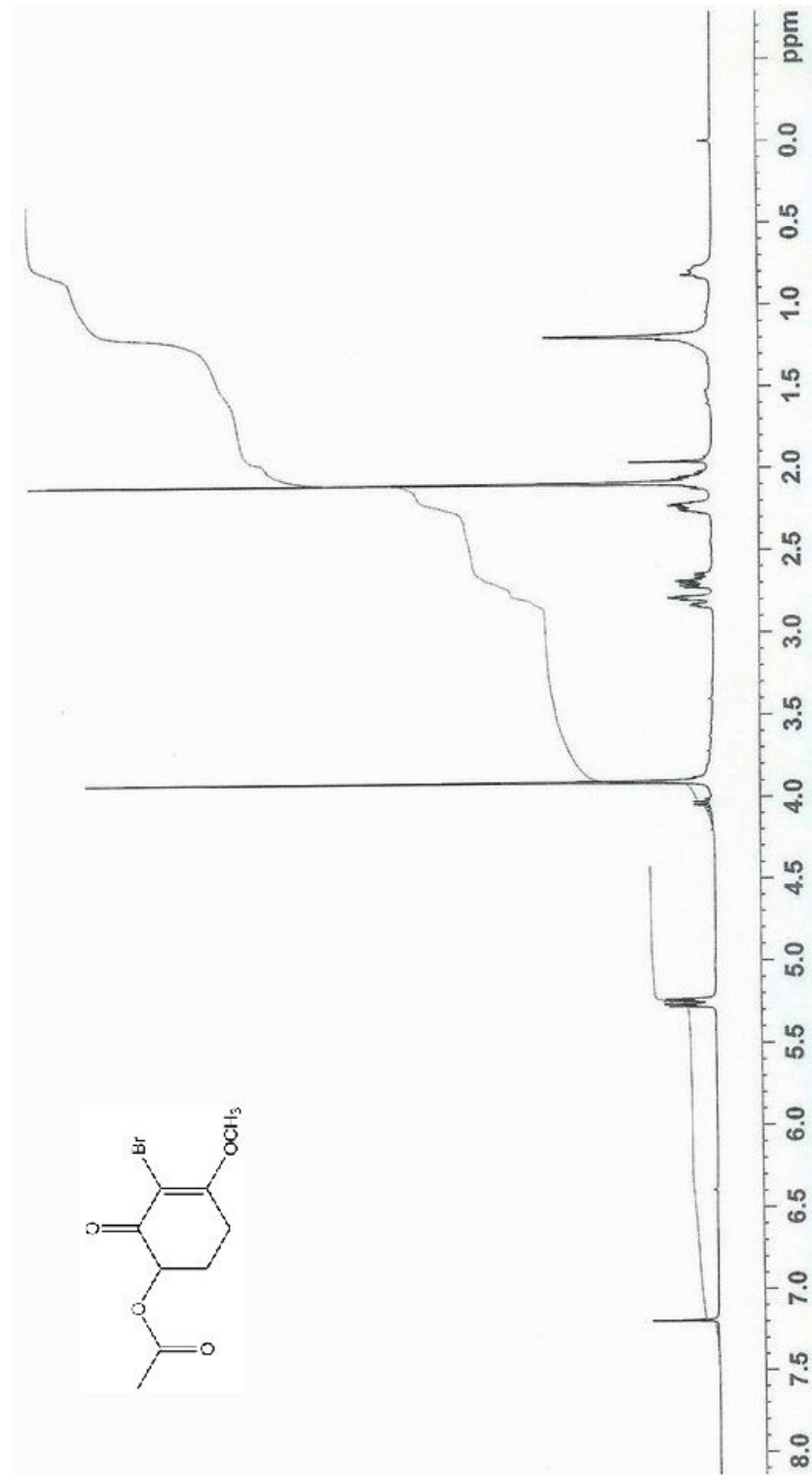




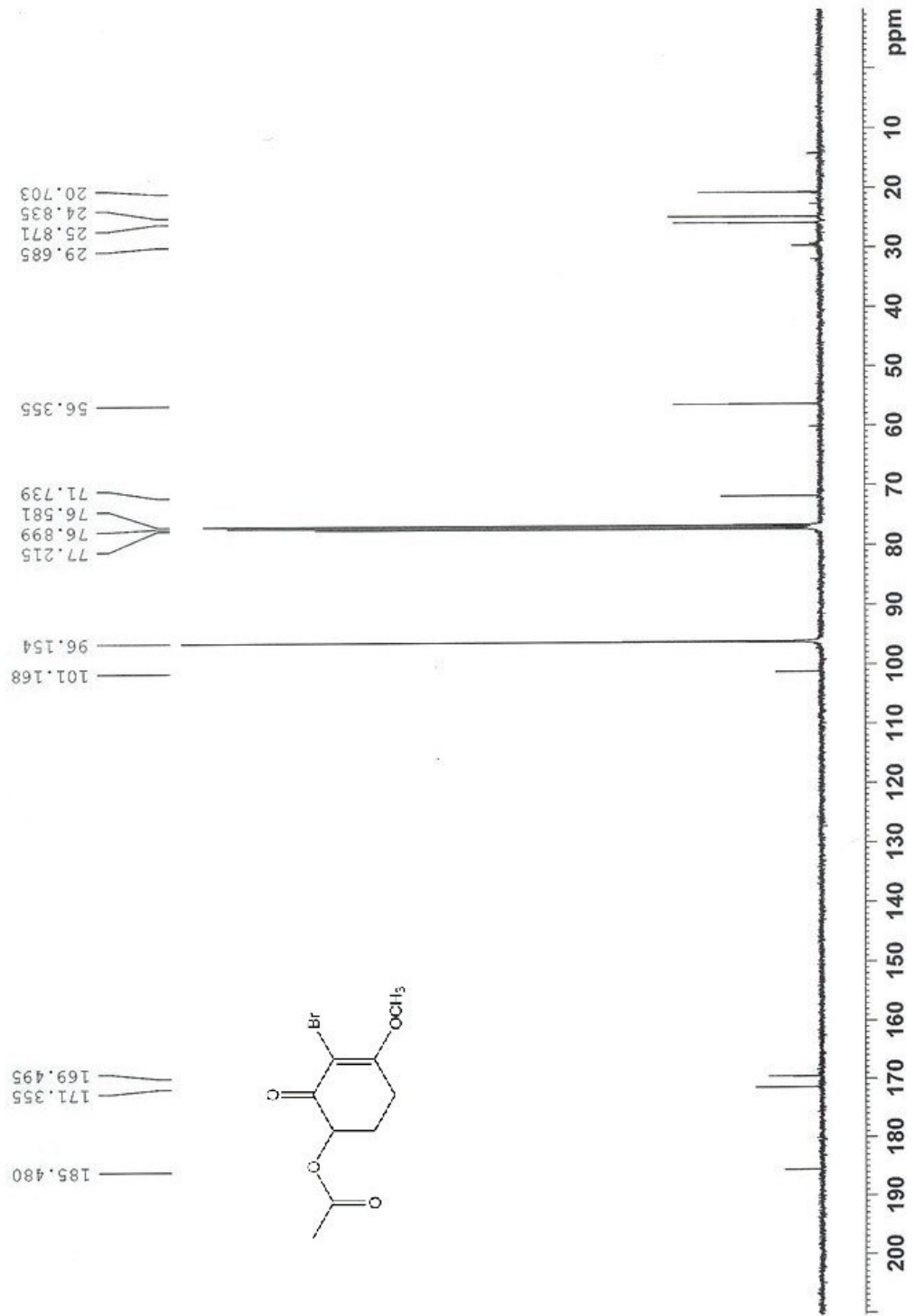
Şekil 4.5. 2-Bromo-3-metoksi-2-sikloheksen-1-on'un  $^1\text{H-NMR}$  Spektrumu



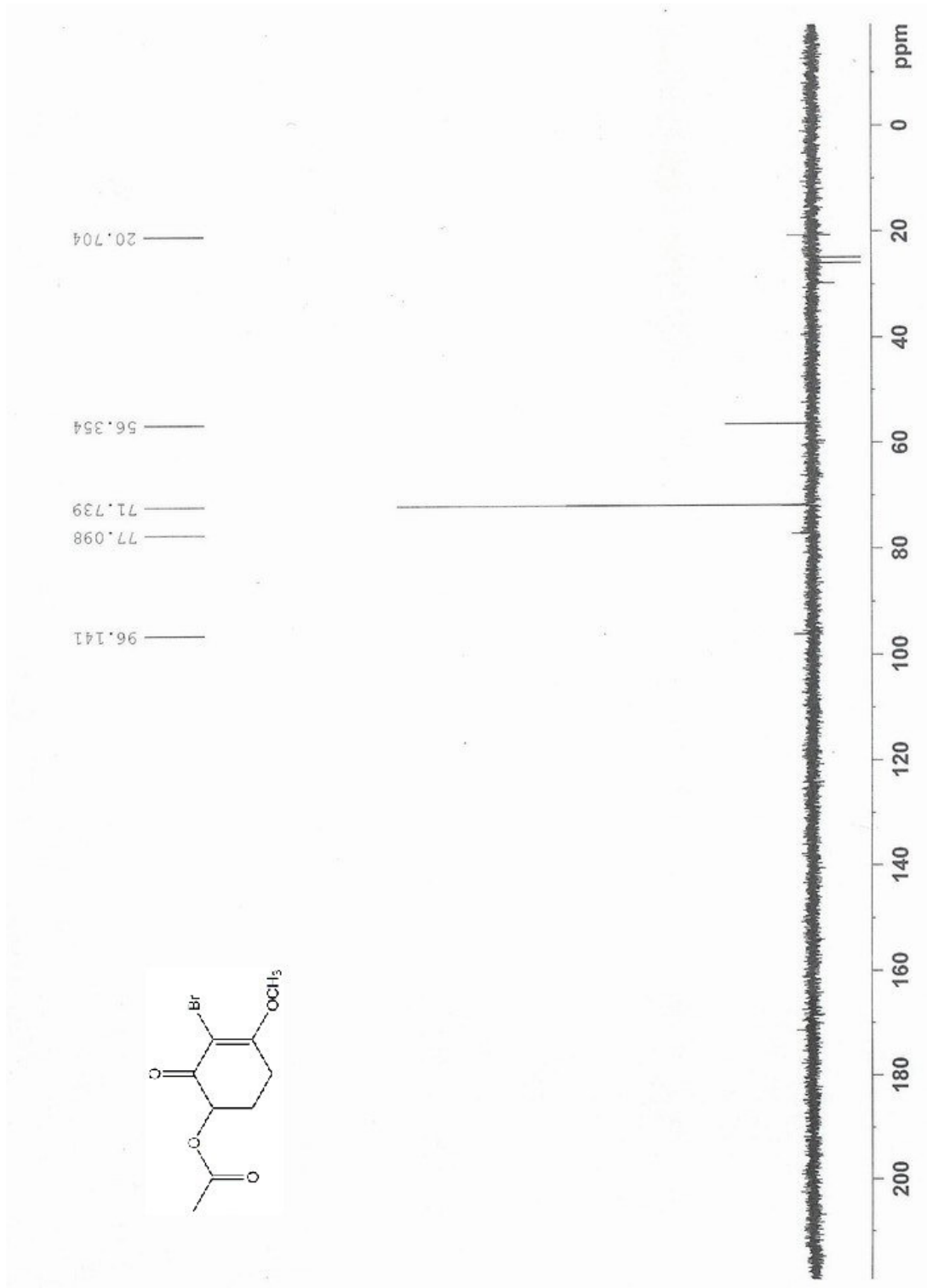
**Şekil 4.6.** 2-Bromo-3-metoksi-2-sikloheksen-1-on'un  $^{13}\text{C}$ -NMR Spektrumu



**Şekil 4.7.**  $\alpha'$ -Asetoksi-2-bromo-3-metoksi-2-sikloheksen-1-on'un  $^1\text{H-NMR}$  Spektrumu

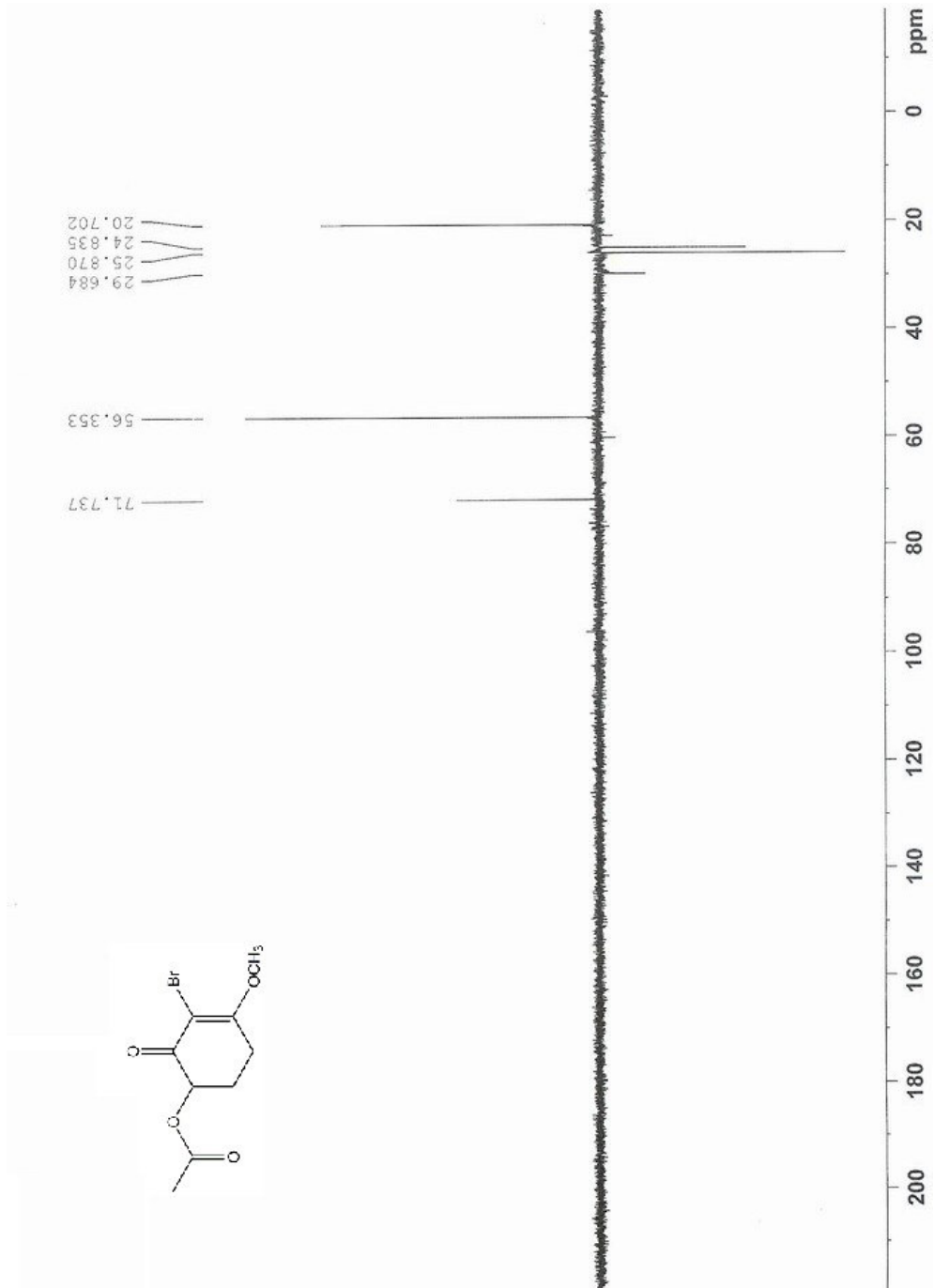


**Şekil 4.8.**  $\alpha'$ -Asetoksi-2-bromo-3-metoksi-2-sikloheksen-1-on'un  $^{13}\text{C}$ -NMR Spektrumu

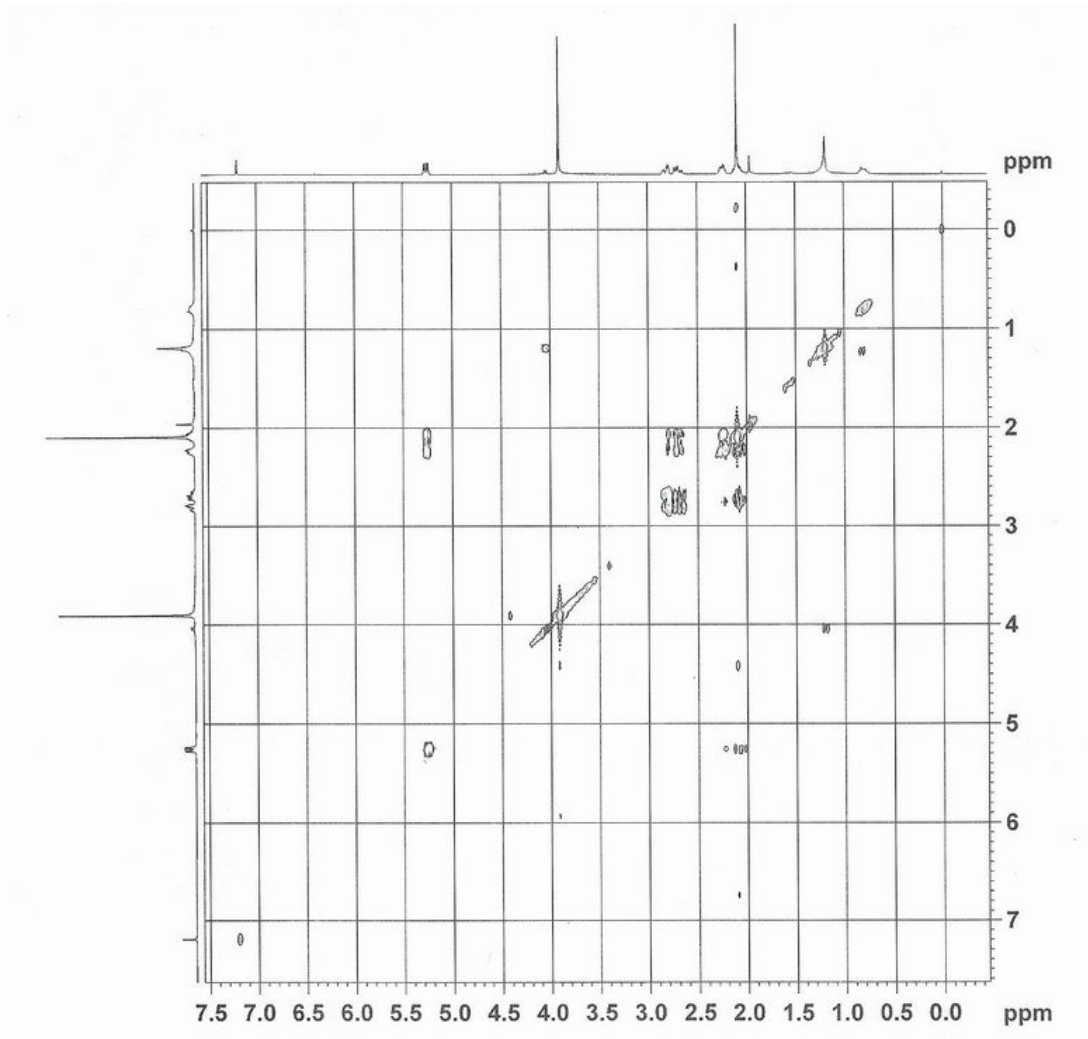


**Şekil 4.9.**  $\alpha'$ -Asetoksi-2-bromo-3-metoksi-2-sikloheksen-1-on'un DEPT-90

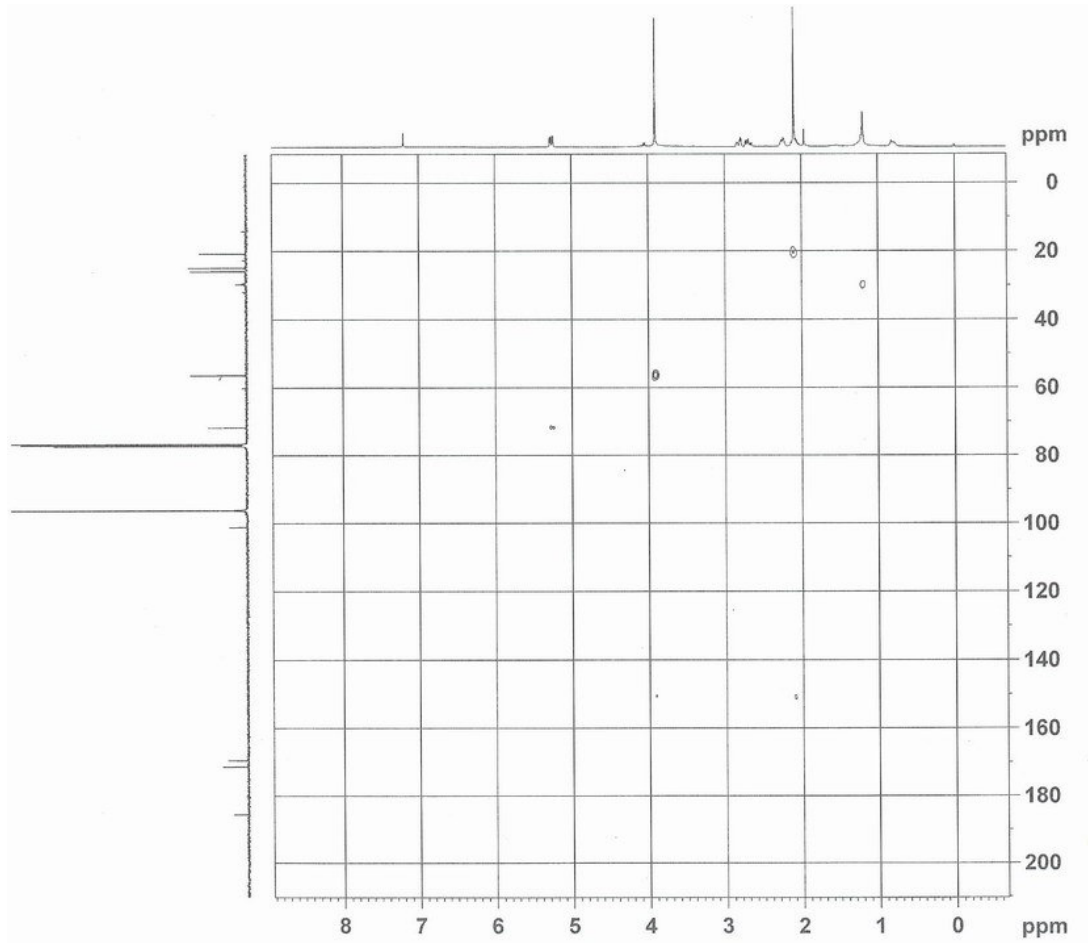
Spektrumu



**Şekil 4.10.**  $\alpha'$ -Asetoksi-2-bromo-3-metoksi-2-sikloheksen-1-on'un DEPT-135 Spektrumu



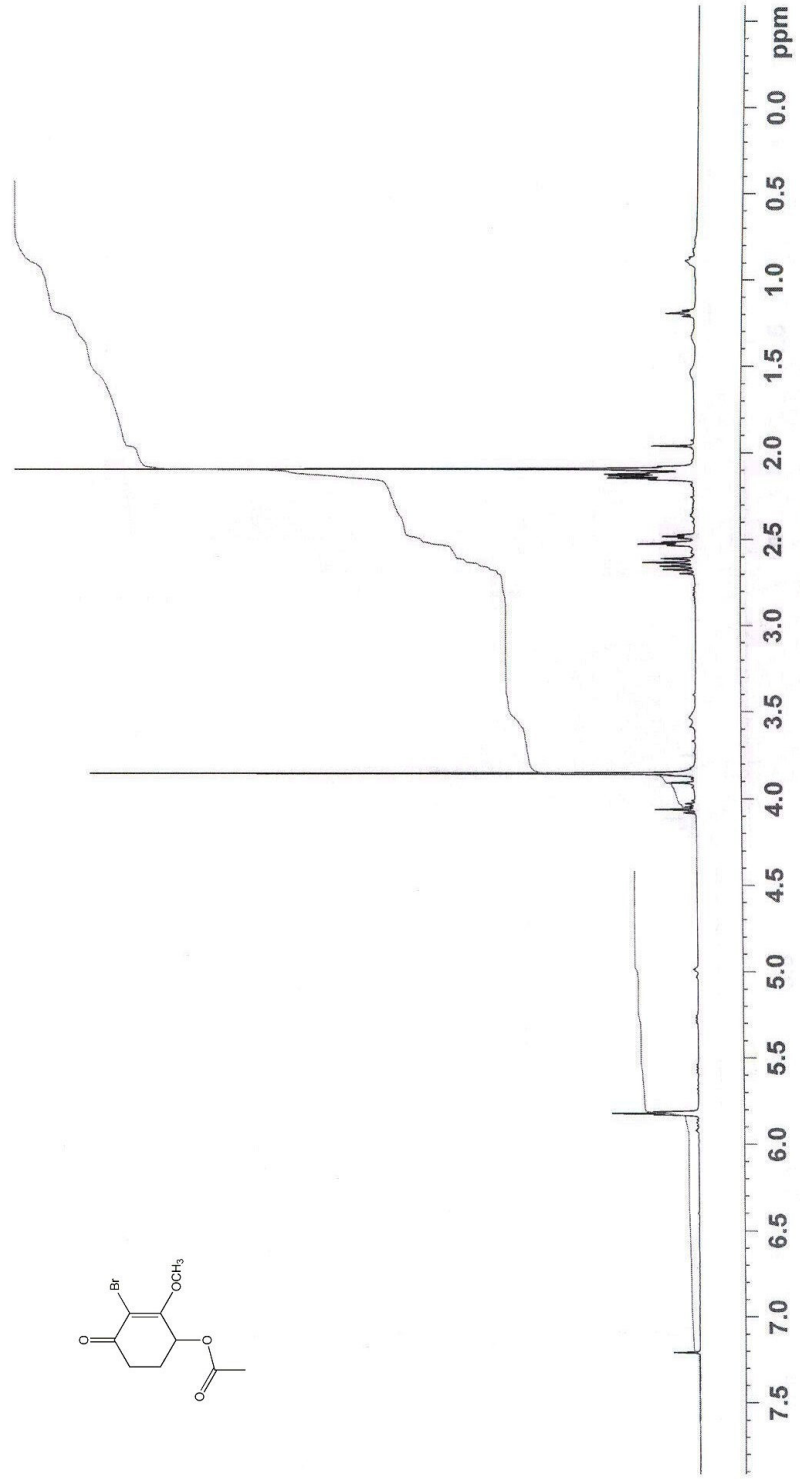
**Şekil 4.11.**  $\alpha'$ -Asetoksi-2-bromo-3-metoksi-2-sikloheksen-1-on'un COSY Spektrumu



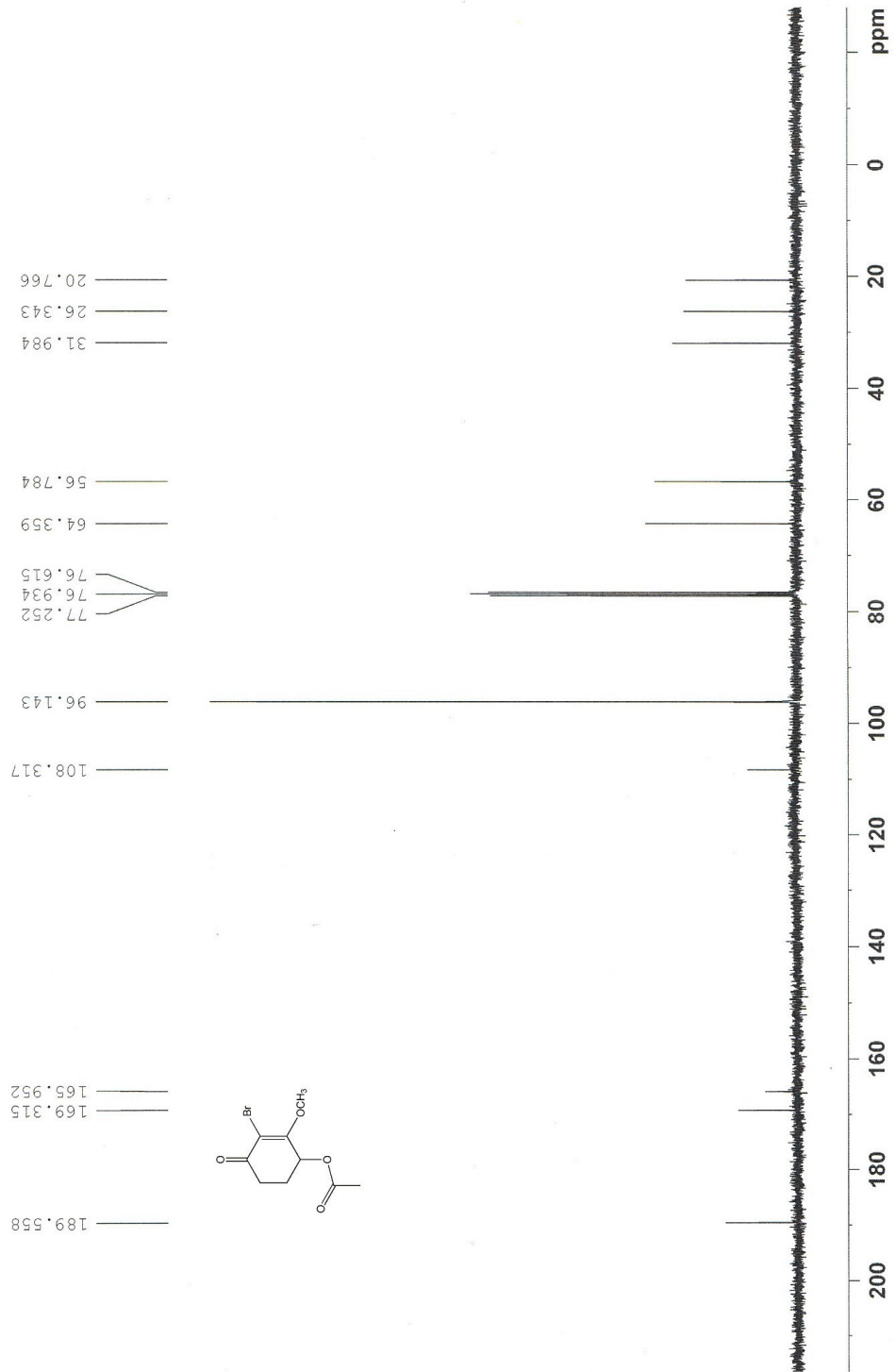
**Şekil 4.12.**  $\alpha'$ -Asetoksi-2-bromo-3-metoksi-2-sikloheksen-1-on'un HMQC

Spektrumu



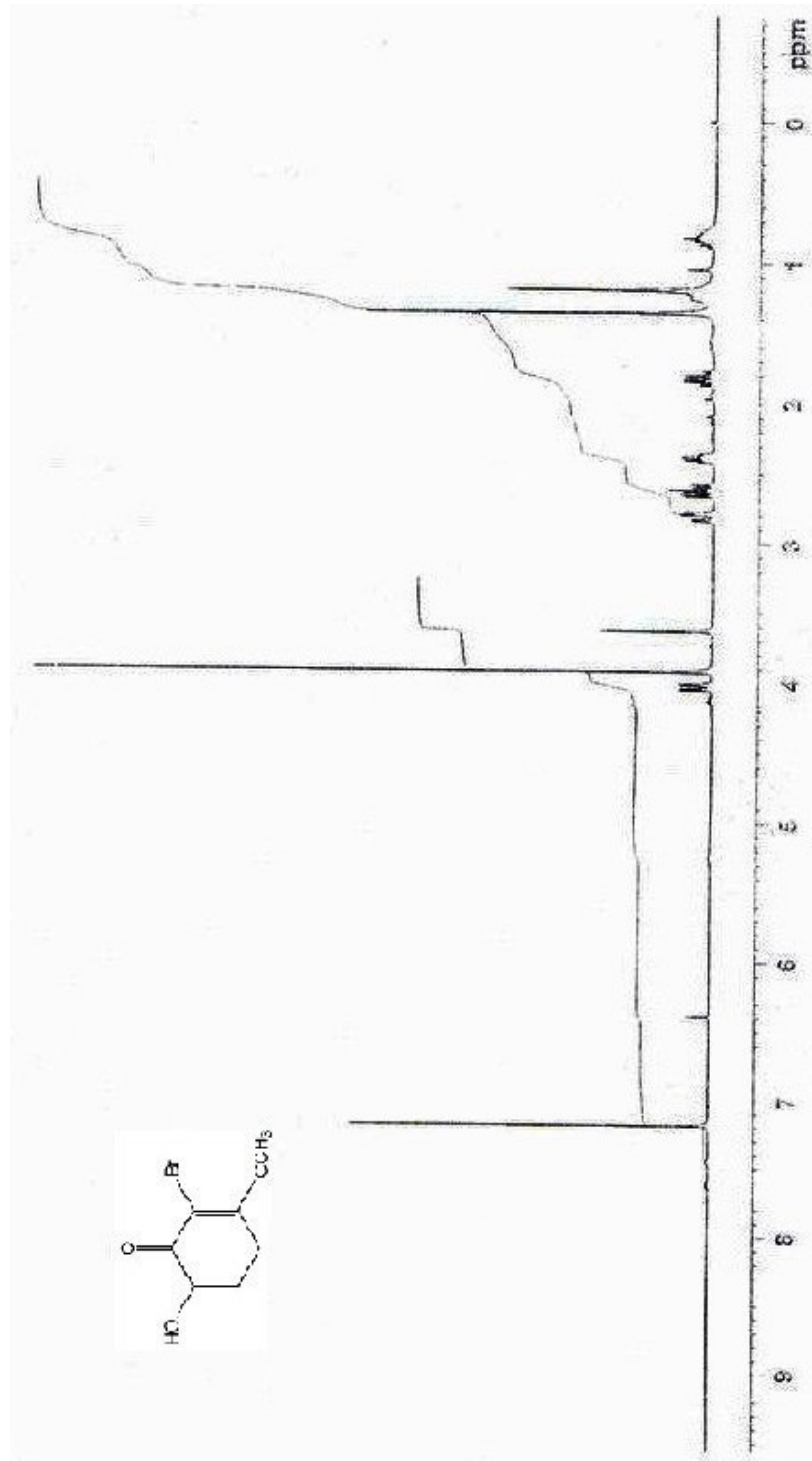


**Şekil 4.13.**  $\gamma'$ -Asetoksi-2-bromo-3-metoksi-2-sikloheksen-1-on'un  $^1\text{H-NMR}$  Spektrumu

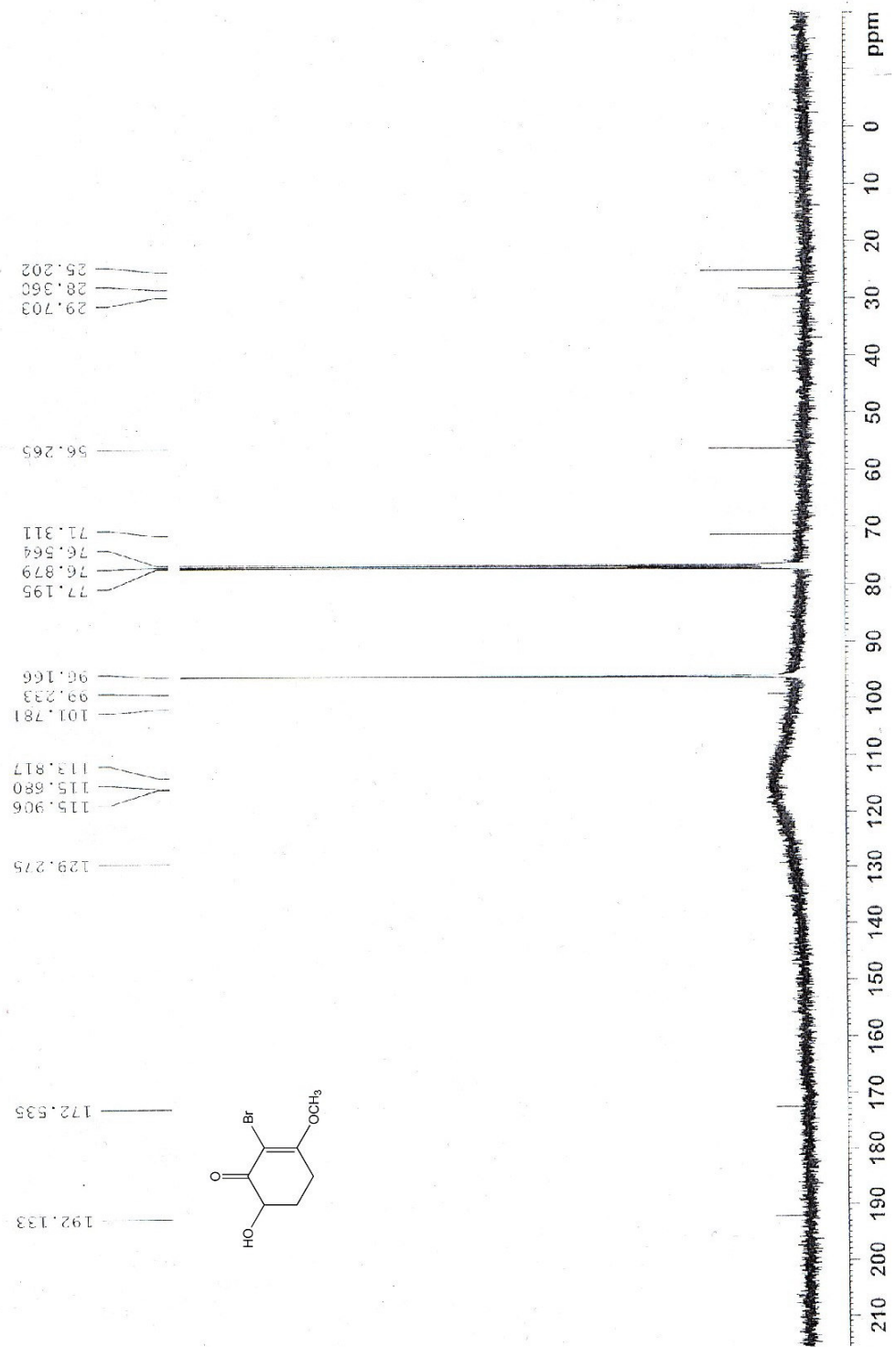


**Şekil 4.14.**  $\gamma'$ -Asetoksi-2-bromo-3-metoksi-2-sikloheksen-1-on'un  $^{13}\text{C}$ -NMR

Spektrumu

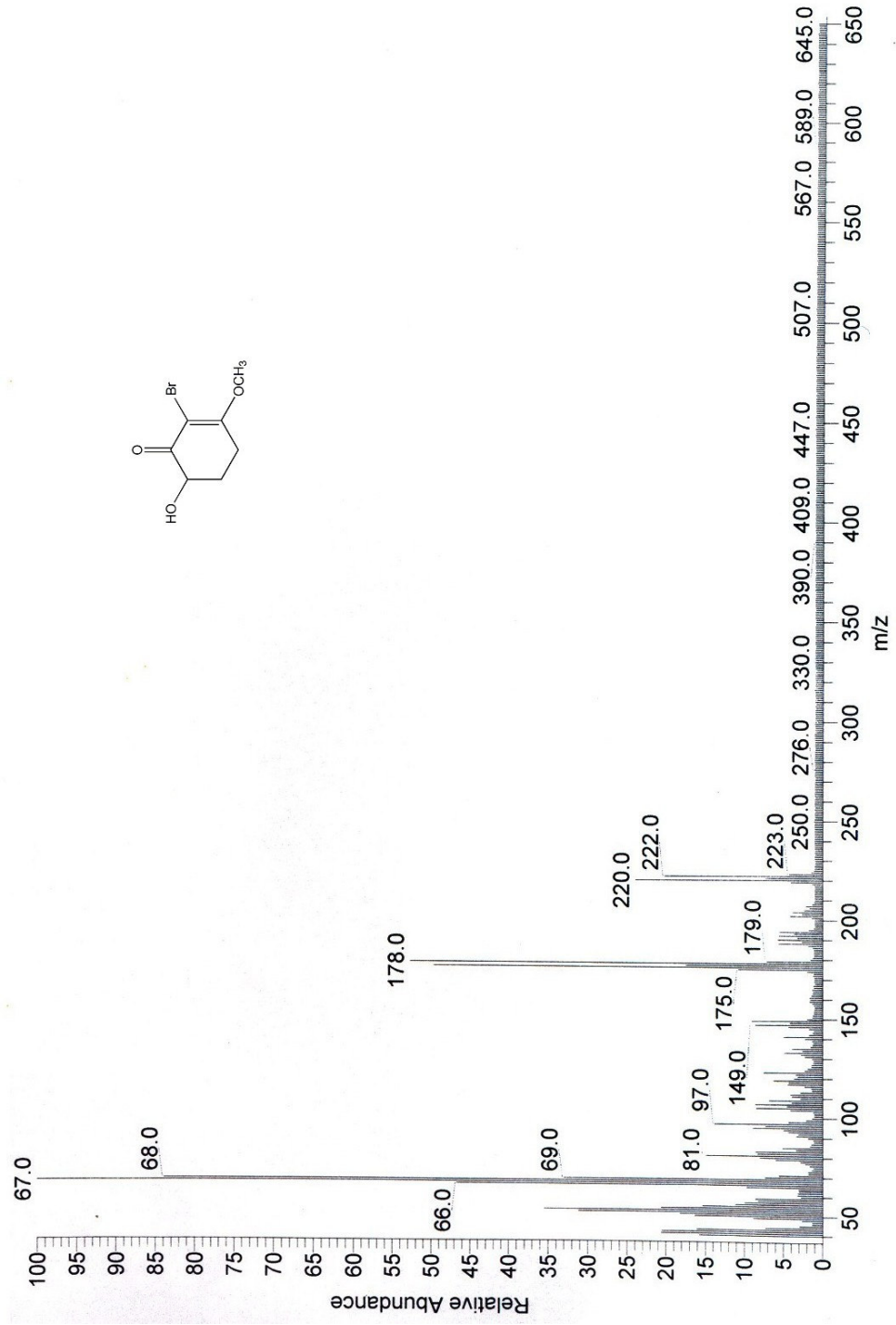


**Şekil 4.15.** 6-Hidroksi-2-bromo-3-metoksi-2-sikloheksen-1-on'un  $^1\text{H-NMR}$  Spektrumu



**Şekil 4.16.** 6-Hidroksi-2-bromo-3-metoksi-2-sikloheksen-1-on'un  $^{13}\text{C}$ -NMR

Spektrumu



Şekil 4.17. 6-Hidroksi-2-bromo-3-metoksi-2-sikloheksen-1-on'un GC/MS Spektrumu

## KAYNAKLAR

1. T. W. G. Solomons, C. B. Fryhle, Organik Kimya, Literatür: Yayıncılık, İstanbul, 2002
2. C. Tüzün, Biyokimya, Palme Yayıncılık, Ankara, 2002
3. J. C. Sheehan, R. C. O'Neill, M. A. White, J. Am. Chem. Soc. **72**, 3376(1950)
4. C. L. Bumgardner, J. E. Bunch, M. J. Whangho, Org. Chem. **51**, 4083(1986)
5. F. A. Davis, M. S. Haque, J. Org. Chem. **51**, 4083(1986)
6. E. Vedejs, D. A. Engler, J. E. Telschow, J. Org. Chem. **43**, 188(1978)
7. T. V. Lee, J. Toczek, Tetrahedron Lett. **23**, 2917(1982)
8. S. Rozen, Y. Bareket, Chem. Commun. 627(1996)
9. F. A. Davis, M. S. Haque, T. G. Ulatowski, J. C. Towson, J. Org. Chem. **51**, 2402(1986)
10. M. Masui, A. Ando, T. Shioiri, Tetrahedron Lett. **29**, 2835(1988)
11. K. Nakamura, S. L. Kondo, Y. Kawai, K. Hida, K. Kinato, A. Ohno, Tetrahedron Asymmetry **7**, 409(1996)
12. D. Gala, D. J. Dibenedetto, J. E. Clark, B. L. Murphy, D. P. Schumacher, M. Steinman, Tetrahedron Lett. **37**, 611(1996)
13. W. Adam, C. R. Saha-Möller, C. Zhao, J. Org. Chem. **64**, 7492(1999)
14. A. S. Demir, H. Hamamcı, C. Tanyeli, I. M. Akhmedov, F. Doğanel, Tetrahedron Asymmetry **9**, 1673(1998)
15. A. S. Demir, A. Aybey, Ö. Şeşenoğlu, F. Polat, Tetrahedron Asymmetry **14**, 1489(2003)
16. A. S. Demir, Ö. Şeşenoğlu, Tetrahedron Asymmetry **13**, 667(2002)

17. A. S. Demir, Ö. Şeşenoğlu, *Organic Letters*, **4**, 2021(2002)
18. İ. Şakıyan, Mangan(III) Asetatın Yeni Bir Yöntemle Hazırlanması, Saflığının ve Kullanılabilirliğinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Ankara, 1992
19. M. K. Gümüş, Aril-Substitue Heteroçiklik Bileşiklerin Sentezi ve Türevleri, Yüksek Lisans Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi, İstanbul, 2002
20. A. S. Demir, Ö. Reis, Ç. İğdir, *Tetrahedron*, **60**, 3427(2004)
21. C. Tanyeli, A. Tosun, E. Turkut, B. Sezen, *Tetrahedron*, **59**, 1055(2003)
22. C. Tanyeli, E. Turkut, İ. M. Akhmedov, *Tetrahedron:Asym.*, **15**, 1729(2004)
23. G. J. Williams, N. R. Hunter, *Con. J. Chem.*, **54**, 3830(1976)
24. K. N. Dunlop, M. R. Sabol, D. S. Watt, *Tetrahedron Lett.*, **25**, 5839(1984)
25. C. Tanyeli, B. Sezen, *Tetrahedron Lett.*, **41**, 7973(2000)
26. A. S. Demir, H. Hamamcı, C. Tanyeli, F. Doğanel, İ. A. Mecidoğlu, *Tetrahedron:Asymmetry* **7**, 2207(1996)
27. A. S. Demir, N. Cankurtaran, Z. Gerçek, N. Duygu, Ö. Reis, E. Arıkan, *Tetrahedron*, **55**, 2441(1999)
28. A. S. Demir, A. Aybey, F. Polat, Ö. Şeşenoğlu, *Tetrahedron: Asymmetry*, **7**, 2207(1996)
29. A. S. Demir, A. Jeganathan, *Synthesis*, 235(1992).
30. A. S. Demir, J. Alwarsamy, D. S. Watt, *J. Org. Chem.*, **54**, 4020(1989)
31. T. L. Gower, B. S. Graham, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **45**, 1231(2001)
32. F. Baltassat, *Plant Med. Phytother.*, **18(4)**, 194(1985)
33. Wong ve Pettus, *Tetrahedron Lett.*, **45**, 5895(2004)
34. G. Audran, K. Mori, *Eur. J. Org. Chem.*, 57(1998)

35. R. Bos, H. J. Woerdenbag, F. M. Van Putten, H. Hendriks, J. J. Scheffer, *Planta Med.*, **64**(2), 143(1998)
36. A. S. Demir, H. Findık, E. Köse, *Tetrahedron:Asym.*, **15**, 777(2004)
37. R. G. Shepherd, A. C. White, *J. Chem. Soc. Perkin. Trans.*, **1**, 2153(1987)
38. A. Clerici, N. Pastori, O. Porta, *Tetrahedron*, **57**, 217(2001)
39. J. Ott, G. M. Ramos Tombo, B. Schmid, L. M. Venanzi, G. Wang, T. R. Ward, *Tetrahedron Lett.*, **30**, 6151(1989)
40. A. Clerici, N. Pastori, O. Porta, *Tetrahedron*, **54**, 15679(1998)
41. B. B. Snider, E. Y. Kiselgof, *Tetrahedron*, **52**, 6073(1996)
42. W. Adam, F. Prechtel, *Chem. Ber.*, **127**, 667(1994)
43. K. Faber, *Biotransformations In Organic Chemistry*, Springer-Verlag, Berlin, 1997