

**T.C.  
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BİYOTEKNOLOJİK YÖNTEMLERLE KİRAL 4-OKSO-TETRAHİDROİNDOL  
TÜREVLERİNİN SENTEZLERİ**

**MEDİHA SÜLEYMANOĞLU ERSEZ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ  
BİYOLOJİ BÖLÜMÜ**

**DANIŞMAN  
YRD. DOÇ. DR. ZERRİN ZERENLER ÇALIŞKAN**

**İSTANBUL, 2011**

T.C.  
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOTEKNOLOJİK YÖNTEMLERLE KİRAL 4-OKSO-TETRAHİDROİNDOL  
TÜREVLERİNİN SENTEZLERİ

MEDİHA SÜLEYMANOĞLU ERSEZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ  
BİYOLOJİ BÖLÜMÜ

DANIŞMAN  
YRD. DOÇ. DR. ZERRİN ZERENLER ÇALIŞKAN

İSTANBUL, 2011

**T.C.**  
**YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BİYOTEKNOLOJİK YÖNTEMLERLE KİRAL 4-OKSO-TETRAHİDROİNDOL**  
**TÜREVLERİNİN SENTEZLERİ**

Mediha SÜLEYMANOĞLU ERSEZ tarafından hazırlanan tez çalışması 05.05.2011 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Bölümü'nde **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

**Tez Danışmanı**

Yrd. Doç. Dr. Zerrin ZERENLER ÇALIŞKAN  
Yıldız Teknik Üniversitesi

**Jüri Üyeleri**

Yrd. Doç. Dr. Zerrin ZERENLER ÇALIŞKAN  
Yıldız Teknik Üniversitesi

Prof. Dr. Zühal TURGUT  
Yıldız Teknik Üniversitesi

Doç. Dr. Ayşegül PEKSEL  
Yıldız Teknik Üniversitesi

---

---

---

Bu alışma, Yıldız Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü' nün 2010-01-07-YL01 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

## ÖNSÖZ

---

Bu tez çalışmasının hazırlanmasında bilgisinden ve tecrübesinden daima yararlandığım, sabrına, disiplinine ve anlayışına her zaman hayran olduğum, her konuda ilgisini benden esirgemeyen ve bana güveni olan ve tüm zorluklara karşı beni cesaretlendiren değerli hocam tez danışmanım Sayın Yrd. Doç. Dr. Zerrin ZERENLER ÇALIŞKAN'a;

Yüksek lisans tezime başlamadan önce, O.D.T.Ü. Organik Kimya laboratuvarını bana açan ve orada laboratuvar deneyimi kazanmamı sağlayan Sayın Prof. Dr. Ayhan S. DEMİR'e;

Tezimin hazırlanmasında laboratuvar olanaklarını kullanabilme fırsatını veren Yıldız Teknik Üniversitesi Biyoloji Bölümü öğretim üyesi Sayın Prof. Dr. Nezhun GÖREN'e;

Tez çalışmalarım boyunca her zaman yanımda olan, NMR spektral analizlerini yapan, yardımlarını ve dostluğunu esirgemeyen sevgili çalışma arkadaşım Uzm. F.Pınar ÇAĞLAR'a, tezimin tamamlanmasında önemli katkıları olan Tuğba DAYIOĞLU, Tuğba GÜLBAY ve Semra ÇETİNKAYA'ya;

Deneylerimizde kullandığımız seal tüplerimizin kapatılmasında yardımcı olan İstanbul Cam Sanayi A.Ş. çalışanlarından Sayın Jan FIALA Beye ve gereken kolaylıkları gösteren diğer personele;

X-Ray ölçümlerimizi yapan, Atatürk Üniversitesi, Kimya Bölümünden Sayın Doç. Dr. Ertan ŞAHİN'e;

Hayatımın her döneminde olduğu gibi tezimin hazırlanma aşamasındaki bu zorlu süreçte de ilgi ve desteklerini esirgemeyen, maddi ve manevi olarak hep yanımda olan sevgili aileme,

Sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Mayıs, 2011

Mediha SÜLEYMANOĞLU ERSEZ

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa
SİMGE LİSTESİ.....	ix
KISALTMA LİSTESİ.....	x
ŞEKİL LİSTESİ.....	xi
ÇİZELGE LİSTESİ .....	xiv
ÖZET .....	xvi
ABSTRACT.....	xviii
BÖLÜM 1	
GİRİŞ.....	1
1.1 Literatür Özeti .....	1
1.2 Tezin Amacı .....	3
1.3 Orjinal Katkı.....	3
BÖLÜM 2	
STEREOİZOMERLER .....	4
BÖLÜM 3	
KİRALİTE VE ENANTİYOMERLER .....	6
3.1 Enantiyomerler .....	7
3.2 Optikçe Aktifliğin Biyolojik Önemi .....	7
3.3 Kiral Moleküllerin Sentezleri ve Rezolüsyonu.....	8
3.3.1 Enantiyomerleri Kristallendirerek Ayırma .....	9
3.3.2 Enantiyomerleri Diastereomerlere Dönüştürme.....	9
3.3.3 Asimetrik Sentez .....	9
3.3.4 Kinetik Rezolüsyon .....	10
3.3.5 Dinamik Kinetik Rezolüsyon.....	11

3.3.6 Kromatografik yöntemle ayırıştırma.....	11
3.4 Kiral ilaçlar.....	11
3.5 Enantiyoseçimli sentezler .....	15
<b>BÖLÜM 4</b>	
<b>ENZİMLER.....</b>	<b>17</b>
4.1 Biyoteknolojide enzimler .....	18
4.2 Enzimlerin sınıflandırılması ve adlandırılması.....	19
4.3 Enzimlerin çalışma mekanizması .....	20
4.4 Enzim kinetiği.....	21
4.5 Lipazlar (3.1.1.3).....	23
4.5.1 Lipazların 3 boyutlu yapısı ve lipolizin mekanizması .....	25
4.5.2 Lipazların organik sentezlerdeki uygulamaları .....	27
4.5.3 Lipaz enziminin aktivitesi .....	30
4.6 Biyokatalitik uygulamalar.....	31
4.6.1 Hidrolitik reaksiyonlar .....	31
4.7 Organik çözücülerde enzimler .....	33
4.7.1 Lipaz enziminin organik çözücülerdeki uygulanabilirliği.....	34
4.7.2 Monofazik bir organik çözeltide süspanse enzimler.....	35
4.8 Enzimlerin avantaj ve dezavantajları .....	37
4.8.1 Enzimlerin avantajları .....	37
4.8.2 Enzimlerin dezavantajları.....	38
4.9 İzole enzimler ve tek hücre enzim sistemleri.....	39
<b>BÖLÜM 5</b>	
<b><math>\alpha</math>-HİDROKSİ KETONLAR.....</b>	<b>41</b>
<b>BÖLÜM 6</b>	
<b>MANGAN (III) ASETATLI REAKSİYONLAR.....</b>	<b>43</b>
6.1 Mangan (III) Asetatın Önemi.....	44
6.2 Mangan(III) asetat ortamında enonların asetoksillenmesi.....	45
<b>BÖLÜM 7</b>	
<b>MİKRODALGA DESTEKLİ REAKSİYONLAR .....</b>	<b>46</b>
<b>BÖLÜM 8</b>	
<b>İNDOL TÜREVLERİNİN ÖNEMİ.....</b>	<b>52</b>
<b>BÖLÜM 9</b>	
<b>MATERYAL VE METOD .....</b>	<b>65</b>

9.1 Kullanılan Kimyasallar .....	65
9.2 4,5,6,7-Tetrahidro-6,6-dimetil-4-oksobenzofuran-5-il asetat Sentezi .....	67
9.2.1 Mangan (III) Asetat ile 4,5,6,7-Tetrahidro-6,6-dimetil-4-oksobenzofuran-5-il asetat Sentezi.....	67
9.2.2 Mangan (II) Asetat ile 4,5,6,7-Tetrahidro-6,6-dimetil-4-oksobenzofuran-5-il asetat Sentezi.....	67
9.2.3 KMnO <sub>4</sub> ile 4,5,6,7-Tetrahidro-6,6-dimetil-4-oksobenzofuran-5-il asetat Sentezi.....	68
9.3 1-benzil-6,7-dihidro-5-hidroksi-6,6-dimetil-1 <i>H</i> -indol-4(5 <i>H</i> )-one ve 1-benzil-6,7-dihidro-7-hidroksi-6,6-dimetil-1 <i>H</i> -indol-4(5 <i>H</i> )-one Sentezi.....	69
9.3.1 Mikrodalga ile 1-benzil-6,7-dihidro-5-hidroksi-6,6-dimetil-1 <i>H</i> -indol-4(5 <i>H</i> )-one ve 1-benzil-6,7-dihidro-7-hidroksi-6,6-dimetil-1 <i>H</i> -indol-4(5 <i>H</i> )-one Sentezi.....	69
9.4 1-benzil-6,7-dihidro-6,6-dimetil-1 <i>H</i> -indol-4(5 <i>H</i> )-one Sentezi .....	71
9.4.1 Mikrodalga ile 1-benzil-6,7-dihidro-6,6-dimetil-1 <i>H</i> -indol-4(5 <i>H</i> )-one Sentezi.....	72
9.5 1-benzil-4,5,6,7-tetrahidro-6,6-dimetil-4-okso-1 <i>H</i> -indol-7-il asetat Sentezi 73	
9.5.1 KMnO <sub>4</sub> ile 1-benzil-4,5,6,7-tetrahidro-6,6-dimetil-4-okso-1 <i>H</i> -indol-7-il asetat Sentezi .....	73
9.5.2 Mn(II) Asetat ile 1-benzil-4,5,6,7-tetrahidro-6,6-dimetil-4-okso-1 <i>H</i> -indol-7-il Sentezi.....	74
9.5.3 Mn(III) Asetat ile 1-benzil-4,5,6,7-tetrahidro-6,6-dimetil-4-okso-1 <i>H</i> -indol-7-il Sentezi.....	75
9.6 Lipaz Katalizli Reaksiyonlar .....	75
9.6.1 1-benzil-6,7-dihidro-5-hidroksi-6,6-dimetil-1 <i>H</i> -indol-4(5 <i>H</i> )-one ve 1-benzil-6,7-dihidro-7-hidroksi-6,6-dimetil-1 <i>H</i> -indol-4(5 <i>H</i> )-one Bileşiklerinin Lipaz Katalizli Reaksiyonları .....	75
9.6.2 1-benzil-4,5,6,7-tetrahidro-6,6-dimetil-4-okso-1 <i>H</i> -indol-7-il asetat Bileşiğinin Lipaz Katalizli Reaksiyonu.....	77

## BÖLÜM 10

SONUÇ VE ÖNERİLER .....	78
10.1 Çalışmanın Yönü.....	78
10.1.1 Enzim Ortamında Asetoksi Ketonların Hidrolizi.....	88
10.1.2 Enantiyoseçimli Sentezleri Etkileyen Parametreler .....	89
10.1.3 1-Benzil-6,7-dihidro-6,6-dimetil-1 <i>H</i> -indol-4(5 <i>H</i> )-one Sentezi .....	90
10.1.4 1-Benzil-4,5,6,7-tetrahidro-6,6-dimetil-4-okso-1 <i>H</i> -indol-7-il asetat bileşiğinin Sentezi .....	92
10.1.5 1-benzil-6,7-dihidro-5-hidroksi-6,6-dimetil-1 <i>H</i> -indol-4(5 <i>H</i> )-one ve 1-benzil-6,7-dihidro-7-hidroksi-6,6-dimetil-1 <i>H</i> -indol-4(5 <i>H</i> )-one bileşiklerinin Sentezleri .....	94
10.2 Lipaz Katalizli Reaksiyonlar .....	95
10.2.1 1-benzil-6,7-dihidro-5-hidroksi-6,6-dimetil-1 <i>H</i> -indol-4(5 <i>H</i> )-one ve 1-benzil-6,7-dihidro-7-hidroksi-6,6-dimetil-1 <i>H</i> -indol-4(5 <i>H</i> )-one bileşiklerinin Lipaz Katalizli Reaksiyonları .....	95



10.2.2 1-Benzil-4,5,6,7-tetrahidro-6,6-dimetil-4-okso-1 <i>H</i> -indol-7-il asetat bileşğinin Lipaz Katalizli Reaksiyonları.....	97
10.3 Sonuç.....	98
KAYNAKLAR .....	101
EK-A NMR- IR SPEKTRUMLARI ve X-RAY VERİLERİ .....	106
ÖZGEÇMİŞ .....	135

## SİMGE LİSTESİ

---

$\alpha$	Alfa
g	Gram
C	Konsantrasyon
L	Litre
$\mu$	Mikro
$\mu$ l	Mikrolitre
$\mu$ mol	Mikromol
mg	Miligram
ml	Mililitre
M	Molar
nm	Nanometre
$^{\circ}$ C	Santigrat derece

## KISALTMA LİSTESİ

---

AOL	<i>Aspergillus oryzae</i> lipazı
CAL	<i>Candida antarctica</i> lipazı
CCL	<i>Candida cylindracea</i> lipazı
ee	Enantiomeric excess
ES	Enzim substrat kompleksi
D	Dekstro
DMSO	Dimetilsülfoksit
HPL	Hog pancreas lipazı
İTK	İnce Tabaka Kromatografisi (TLC)
L	Levorotary
Mn	Mangan
MgSO <sub>4</sub>	Magnezyum sülfat
MJL	<i>Mucor javanicus</i> lipazı
MML	<i>Mucor miehei</i> lipazı
PRL	<i>Penicillium roqueforti</i> lipazı
PFL	<i>Pseudomonas fluorescens</i> lipazı
KMnO <sub>4</sub>	Potasyum permanganat
R	Rektus
RAL	<i>Rhizopus arrhizus</i> lipazı
S	Sinister
NaHCO <sub>3</sub>	Sodyum bikarbonat
THF	Tetrahidrofuran

## ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 2.1	İzomerlerin Sınıflandırılması.....4
Şekil 3.1	Kiral Moleküllerde El Seçiciliği.....6
Şekil 3.2	Diastereomerlere dönüştürerek ayırma.....9
Şekil 3.3	Kinetik resolüsyon.....10
Şekil 3.4	Dinamik kinetik rezolüsyon.....11
Şekil 3.5	Kiral ilaçların yıllara göre satış oranları.....13
Şekil 3.6	Talidomit Bileşiğinin Enantiyomerleri.....14
Şekil 3.7	D-L Penisilamin.....14
Şekil 3.8	Metildopa'nın (S) enantiyomeri.....15
Şekil 3.9	Chloroamphenicol.....15
Şekil 4.1	Anahtar-kilit modeli.....21
Şekil 4.2	Sonradan uyumluluk modeli.....21
Şekil 4.3	Michealis-Menten eşitliği.....22
Şekil 4.4	Lipazların katalitik aktivasyonu.....23
Şekil 4.5	Biyoteknolojide kullanılan mikrobiyal lipazlar.....24
Şekil 4.6	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 'dan lipazın yapısı.....26
Şekil 4.7	Lipaz-katalizli enantiyoseçimli reaksiyon örnekleri.....28
Şekil 4.8	Lipaz enziminin katalizlediği reaksiyonlar.....29
Şekil 4.9	Lipaz ve esteraz aktivite grafiği.....30
Şekil 4.10	Serin hidrolaz mekanizması.....32
Şekil 6.1	Mangan(III) asetatın dolaylı oksidasyon mekanizması.....44
Şekil 6.2	$\alpha,\beta$ -Doymamış ketonların $\alpha'$ -asetoksillenmesi.....45
Şekil 7.1	Elektromanyetik spektrumda mikrodalga radyasyon alanının yeri.....46
Şekil 7.2	Mikrodalga destekli reaksiyonlar ile ilgili yayınların yıllara göre artışı.....47
Şekil 7.3	Elektrik alanla uyumlaşmaya çalışan dipolar moleküller.....48
Şekil 7.4	Yüklü parçacıkların çözeltideki hareketleri.....48
Şekil 7.5	Danks'in mikrodalga ile pirol sentezi.....49
Şekil 7.6	Diketondan pirol sentezi.....49
Şekil 7.7	Furandan pirol sentezi.....50
Şekil 7.8	Mikrodalgada indol sentezleri.....50
Şekil 7.9	Mikrodalga irradyasyonu ile bazı pirollerin sentezleri.....50
Şekil 7.10	Mikrodalga ile benzofuran türevlerinden indol eldesi.....51
Şekil 8.1	Benzen, pirol, naftalin ve indol bileşiklerinin moleküler yapıları.....52

Şekil 8.2	Triptofan.....	53
Şekil 8.3	Serotonin.....	53
Şekil 8.4	Melatonin.....	54
Şekil 8.5	Reserpin.....	54
Şekil 8.6	Liserjik asit dietilamid.....	55
Şekil 8.7	Ziprasidon.....	55
Şekil 8.8	İndol içerikli ilaçlar.....	57
Şekil 8.9	Oksin.....	57
Şekil 8.10	İndol-3-karbinol.....	57
Şekil 8.11	Canlılar tarafından üretilen indol içerikli bazı metabolitler.....	58
Şekil 8.12	Sitotoksik ve Antiviral indol alkaloidleri.....	61
Şekil 8.13	Antioksidant aktivite gösteren bazı indol türevleri.....	62
Şekil 8.14	Fisher indol sentezi.....	63
Şekil 8.15	Mitomycin.....	64
Şekil 8.16	Pindalol.....	64
Şekil 9.1	Mn(III) asetat ile yapılmış reaksiyonun İTK sonucu.....	67
Şekil 9.2	Mn(II) asetat ile yapılmış reaksiyonun İTK sonucu.....	68
Şekil 9.3	KMnO <sub>4</sub> ile yapılmış reaksiyonun İTK sonucu.....	68
Şekil 9.4	Seal tüp ile 1-benzil-6,7-dihidro-5-hidroksi-6,6-dimetil-1 <i>H</i> -indol-4(5 <i>H</i> )-one ve 1-benzil-6,7-dihidro-7-hidroksi-6,6-dimetil-1 <i>H</i> -indol-4(5 <i>H</i> )-one sentezinin İTK sonucu.....	69
Şekil 9.5	Mikrodalga ile 1-benzil-6,7-dihidro-5-hidroksi-6,6-dimetil-1 <i>H</i> -indol-4(5 <i>H</i> )-one ve 1-benzil-6,7-dihidro-7-hidroksi-6,6-dimetil-1 <i>H</i> -indol-4(5 <i>H</i> )-one sentezinin İTK sonucu.....	70
Şekil 9.6	Seal tüp ile 1-benzil-6,7-dihidro-6,6-dimetil-1 <i>H</i> -indol-4(5 <i>H</i> )-one sentezinin İTK sonucu.....	72
Şekil 9.7	Mikrodalga ile sentezlenen maddenin zaman-verim karşılaştırılması.....	73
Şekil 9.8	Mikrodalga ile 1-benzil-6,7-dihidro-6,6-dimetil-1 <i>H</i> -indol-4(5 <i>H</i> )-one sentezinin İTK sonucu.....	73
Şekil 9.9	KMnO <sub>4</sub> ile 1-benzil-4,5,6,7-tetrahidro-6,6-dimetil-4-okso-1 <i>H</i> -indol-5-il asetat sentezinin İTK sonucu.....	74
Şekil 9.10	1-benzil-6,7-dihidro-5-hidroksi-6,6-dimetil-1 <i>H</i> -indol-4(5 <i>H</i> )-one ve 1-benzil-6,7-dihidro-7-hidroksi-6,6-dimetil-1 <i>H</i> -indol-4(5 <i>H</i> )-one Bileşiklerinin Lipaz Katalizli Reaksiyon İTK sonuçları.....	76
Şekil 9.11	1-benzil-4,5,6,7-tetrahidro-6,6-dimetil-4-okso-1 <i>H</i> -indol-7-il asetat bileşiğinin Lipaz Katalizli Reaksiyon İTK sonucu.....	77
Şekil 10.1.	C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> NO <sub>4</sub> bileşiğinin ORTEPIII çizimleri.....	80
Şekil 10.2	1-benzil-6,7-dihidro-7-hidroksi-6,6-dimetil-1 <i>H</i> -indol-4(5 <i>H</i> )-one (C <sub>17</sub> H <sub>19</sub> NO <sub>2</sub> ) bileşiğinin ORTEPIII çizimleri.....	82
Şekil 10.3	C <sub>17</sub> H <sub>19</sub> NO bileşiğinin ORTEPIII çizimleri.....	85
Şekil 10.4	Genel reaksiyon şeması.....	87
Şekil 10.5	Mikrodalga ile sentezlenen 1-benzil-6,7-dihidro-6,6-dimetil-1 <i>H</i> -indol-4(5 <i>H</i> )-one bileşiğinin % verim-zaman grafiği.....	91
Şekil 10.6	Reaksiyon şeması.....	92
Şekil 10.7	Lipaz katalizli reaksiyon şeması.....	96

Şekil 10.8	Lipaz katalizli reaksiyon şeması.....	97
Şekil Ek 1.1	1-Benzil-6,7-dihidro-6,6-dimetil-1H-indol-4(5H)-on bileşiğinin <sup>1</sup> H-NMR spektrumu.....	107
Şekil Ek 1.2	1-Benzil-6,7-dihidro-6,6-dimetil-1H-indol-4(5H)-on bileşiğinin <sup>13</sup> C-NMR spektrumu.....	108
Şekil Ek 1.3	1-Benzil-6,7-dihidro-6,6-dimetil-1H-indol-4(5H)-on bileşiğinin IR spektrumu.....	109
Şekil Ek 1.4	1-benzil-4,5,6,7-tetrahidro-6,6-dimetil-4-oxo-1H-indol-7-yl asetat bileşiğinin <sup>1</sup> H NMR spektrumu.....	110
Şekil Ek 1.5	1-benzil-4,5,6,7-tetrahidro-6,6-dimetil-4-oxo-1H-indol-7-yl asetat bileşiğinin <sup>13</sup> C-NMR spektrumu.....	111
Şekil Ek 1.6	1-benzil-6,7-dihidro-5-hidroksi-6,6-dimetil-1H-indol-4(5H)-one bileşiğinin <sup>1</sup> H-NMR spektrumu.....	112
Şekil Ek 1.7	1-benzil-6,7-dihidro-5-hidroksi-6,6-dimetil-1H-indol-4(5H)-one bileşiğinin <sup>13</sup> C-NMR spektrumu.....	113
Şekil Ek 1.8	1-benzil-6,7-dihidro-5-hidroksi-6,6-dimetil-1H-indol-4(5H)-one bileşiğinin IR spektrumu.....	114
Şekil Ek 1.9	1-benzil-6,7-dihidro-7-hidroksi-6,6-dimetil-1H-indol-4(5H)-one bileşiğinin <sup>1</sup> H-NMR spektrumu.....	115
Şekil Ek 1.10	1-benzil-6,7-dihidro-7-hidroksi-6,6-dimetil-1H-indol-4(5H)-one bileşiğinin <sup>13</sup> C-NMR spektrumu.....	116
Şekil Ek 1.11	1-benzil-6,7-dihidro-7-hidroksi-6,6-dimetil-1H-indol-4(5H)-one bileşiğinin IR spektrumu.....	117
Şekil Ek 1.12	Lipaz katalizli reaksiyon sonucu oluşan 1-benzil-4,5,6,7-tetrahidro-6,6-dimetil-4-okso-1H-indol-7-yl asetat bileşiğinin <sup>1</sup> H-NMR spektrumu.....	118
Şekil Ek 1.13	Lipaz katalizli reaksiyon sonucu oluşan 1-benzil-6,7-dihidro-7-hidroksi-6,6-dimetil-1H-indol-4(5H)-one bileşiğinin <sup>1</sup> H-NMR spektrumu.....	119
Şekil Ek 1.14	C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> NO <sub>4</sub> bileşiğinin birim hücre örgüsü.....	120
Şekil Ek 1.15	1-benzil-6,7-dihidro-7-hidroksi-6,6-dimetil-1H-indol-4(5H)-one (C <sub>17</sub> H <sub>19</sub> NO <sub>2</sub> ) bileşiğinin birim hücre örgüsü.....	121
Şekil Ek 1.16	C <sub>17</sub> H <sub>19</sub> NO bileşiğinin birim hücre örgüsü.....	122

## ÇİZELGE LİSTESİ

	Sayfa
Çizelge 3.1	Kiral ilaç satışlarının yıllık dağılım.....12
Çizelge 4.1	Enzimlerin sınıflandırılması.....20
Çizelge 4.2	Çözücülerin enzimatik aktivite ile uygunluğu.....35
Çizelge 4.3	Yaygın kullanılan organik çözücülerin log P değerleri.....36
Çizelge 4.4	İzole enzimlerin ve tek hücre sistemlerinin avantaj ve dezavantajları.....40
Çizelge 9.1	Kullanılan Kimyasallar.....66
Çizelge 9.2	Mikrodalga ile sentezlenen maddelerin % verimleri.....70
Çizelge 9.3	Farklı enzim-çözücü sistemlerinde enantiyoseçimli sentezlerin biyodönüşümleri.....76
Çizelge 9.4	Farklı enzim-çözücü sistemlerinde enantiyoseçimli sentezlerin biyodönüşümleri.....77
Çizelge 10.1.	$C_{12}H_{14}NO_4$ bileşiğinin kristal parametreleri, şiddet verilerinin toplanması ve yapının arıtılmasına ilişkin veriler.....80
Çizelge 10.2	1-benzil-6,7-dihidro-7-hidroksi-6,6-dimetil-1H-indol-4(5H)-one ( $C_{17}H_{19}NO_2$ ) bileşiğinin kristal parametreleri, şiddet verilerinin toplanması ve yapının arıtılmasına ilişkin veriler.....82
Çizelge 10.3	Mikrodalga ile sentezlenen maddelerin % verimleri.....84
Çizelge 10.4	$C_{17}H_{19}NO$ bileşiğinin kristal parametreleri, şiddet verilerinin toplanması ve yapının arıtılmasına ilişkin veriler.....85
Çizelge 10.5	Mikrodalga ile sentezlenen maddenin zaman-verim karşılaştırılması.....91
Çizelge Ek 1.1	1-benzil-6,7-dihidro-7-hidroksi-6,6-dimetil-1H-indol-4(5H)-one ( $C_{17}H_{19}NO_2$ ) bileşiğine ait kesirsel atomik koordinatlar ve eşdeğer izotropik yerdeğiştirme parametreleri.....122
Çizelge Ek 1.2	1-benzil-6,7-dihidro-7-hidroksi-6,6-dimetil-1H-indol-4(5H)-one ( $C_{17}H_{19}NO_2$ ) bileşiği için hidrojen atomu dışındaki atomlara ait bağ uzunlukları (Å).....123
Çizelge Ek 1.3	1-benzil-6,7-dihidro-7-hidroksi-6,6-dimetil-1H-indol-4(5H)-one ( $C_{17}H_{19}NO_2$ ) bileşiği için hidrojen atomu dışındaki atomlara ait bağ açıları (°).....123
Çizelge Ek 1.4	1-benzil-6,7-dihidro-6,6-dimetil-1H-indol-4(5)-one ( $C_{17}H_{19}NO$ ) bileşiğine ait kesirsel atomik koordinatlar ve eşdeğer izotropik yerdeğiştirme parametreleri.....125

Çizelge Ek 1.5	1-benzil-6,7-dihidro-6,6-dimetil-1H-indol-4(5)-one (C <sub>17</sub> H <sub>19</sub> NO) bileşiği için hidrojen atomu dışındaki atomlara ait bağ uzunlukları (Å).....	126
Çizelge Ek 1.6	1-benzil-6,7-dihidro-6,6-dimetil-1H-indol-4(5)-one (C <sub>17</sub> H <sub>19</sub> NO) bileşiği için hidrojen atomu dışındaki atomlara ait bağ açıları (°).....	126
Çizelge Ek 1.7	4,5,6,7-tetrahidro-6,6-dimetil-4-oksobenzofuran-5-il asetat (C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> NO <sub>4</sub> ) bileşiğine ait kesirsel atomik koordinatlar ve eşdeğer izotropik yerdeğiştirme parametreleri.....	130
Çizelge Ek 1.8	4,5,6,7-tetrahidro-6,6-dimetil-4-oksobenzofuran-5-il asetat (C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> NO <sub>4</sub> ) bileşiği için hidrojen atomu dışındaki atomlara ait bağ uzunlukları (Å).....	131
Çizelge Ek 1.9	4,5,6,7-tetrahidro-6,6-dimetil-4-oksobenzofuran-5-il asetat (C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> NO <sub>4</sub> ) bileşiği için hidrojen atomu dışındaki atomlara ait bağ açıları (°).....	132



**BİYOTEKNOLOJİK YÖNTEMLERLE KİRAL 4-OKSO-TETRAHİDROİNDOL  
TÜREVLERİNİN SENTEZLERİ**

Mediha SÜLEYMANOĞLU ERSEZ

Biyoloji Bölümü

Yüksek Lisans Tezi

Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Zerrin ZERENLER ÇALIŞKAN

İlaç endüstrisinde önemli bir yere sahip olan indol türevleri, biyolojik aktivitesi yüksek bileşik sınıflarından biridir.

Biyolojik aktiviteleri ve indollerle olan yapısal ilişkisi, oksoindol türevlerini ilaç ve sentetik organik kimya alanında önemli hale getirmiştir.

Bilindiği gibi enantiomerikçe saf olan  $\alpha$ -hidroksi ketonlar da doğal birçok üründe yapı taşı olarak kullanıldığından oldukça önemli maddelerdir.

Çalışmamızda öncelikle 4-okso tetrahidroindol türevleri sentezlenerek, daha sonra mangan asetat oksidasyonu yoluyla optikçe saf  $\alpha$ '-asetoksi ve  $\alpha$ '-hidroksi türevlerinin yüksek ee değerleri ile kemoenzimatik eldesi hedeflenmiştir.

İlaç sentezlerinde kullanılan yapı taşlarının steriyoseçici dönüşümünde artık kompleks kiral yapılarından dolayı optikçe aktif, saf stereoizomerlerin sentezlenmesinde yaygın olarak kullanılan enzimlerden yararlanılmaktadır. Çalışmamızda kinetik ayırıştırma

enantio seçici ürün eldesinde çeşitli lipaz enzimleri değişik çözücü sistemleri ile denenecek ve en yüksek ee'yi veren enzim ve çözücü sistemi bulunacaktır.

**Anahtar Kelimeler:** indol, lipaz, enantiyoseçimli sentez, mikrodalga destekli reaksiyonlar

**ENANTIOSELECTIVE SYNTHESIS OF 4-OXO-TETRAHYDROINDOL  
DERIVATIVES BY USING BIOTECHNOLOGICAL METHODS**

Mediha SÜLEYMANOĞLU ERSEZ

Department of Biology

MSc. Thesis

Advisor: Assoc. Prof. Dr. Zerrin ZERENLER ÇALIŞKAN

The indol type derivatives are important compound for the drug industry, since their biological activity. The wide range of biological activity of oxoindole derivatives and their structural relationship to indoles make these compounds important targets in medicinal and synthetic organic chemistry.

Optically pure  $\alpha$ -hydroxy carbonyl derivatives are also important intermediates in the synthesis of pharmaceuticals.

We will firstly synthesize of oxoindole derivatives and then oxidize the resulting enones with manganese triacetate to obtain acetoxy enones which will be followed by kinetic resolution. Therefore optically active  $\alpha'$ -acetoxy and  $\alpha'$ -hydroxy derivatives will be obtained as high enantiomerically pure compound. The production of single enantiomers of chiral intermediates has become increasingly important in the pharmaceutical industry.

The target of this project is to develop a general applicable chemo-enzymatic method for the highly enantio selective and regioselective synthesis of 4-oxoindol derivatives by using several kinds of enzymes.

**Keywords:** indoles, lipases, enantioselective synthesis, microwave-assisted reactions

#### 1.1 Literatür Özeti

Bitki, hayvan veya mikroorganizmaların tamamı ya da bir parçası kullanılarak yeni bir organizma (bitki, hayvan ya da mikroorganizma) elde etmek veya var olan bir organizmanın genetik yapısında arzu edilen yönde değişiklikler meydana getirmek amacı ile kullanılan yöntemler “Biyoteknoloji” olarak adlandırılmaktadır.

Biyoteknoloji, insan, hayvan ve bitki hücrelerinin fonksiyonlarını anlamak ve değiştirmek amacıyla uygulanan çeşitli teknikleri ve işlemleri tanımlamak için kullanılan bir terimdir. Canlıların iyileştirilmesi ya da endüstriyel kullanımına yönelik ürünler geliştirilmesini, modern teknolojinin doğa bilimlerine uygulanmasını kapsar.

Biyotransformasyon, biyolojik sistemlerin veya enzimlerin katalizör olarak kullanılmasıyla gerçekleştirilen, kimyasal dönüşüm reaksiyonlarıyla endüstriyel öneme sahip bileşiklerin elde edilmesi olarak tanımlanır. Biyotransformasyon yöntemi, doğal substratı olmayan bileşikler üzerinde kimyasal değişiklikler oluşturmak için kullanılan bir yöntemdir ve biyolojik sistemler için kullanılır. Biyokatalizörler, optikçe aktif bileşiklerin en önemli stereoseçici ayırıcılarından biridir. Enzimler, canlı dokuların bileşiminde az miktarda bulunan, fakat çok önemli rolleri olan organik katalizörlerdir. Yapılarını esas olarak proteinler oluşturduğu için, enzimlere metabolik proteinler de denilmektedir. Canlı hücrenin bütün fonksiyonları enzimlerle sağlandığından yaşama, bir anlamda birbirini izleyen enzimatik tepkimeler bütünü de denilebilir. O halde,

enzimler olmasaydı biyokimyasal değişmelerin hemen hepsi yaşam hızına ayak uyduramaz, başka bir değişle canlılık olmazdı. Enzimatik reaksiyonlarda, ürünü reaksiyon ortamından ayırmak hem kolaydır hem de enzimler genellikle tek bir ürün verirler. Ayrıca, enzimler reaksiyon ortamından filtrasyonla geri kazanılarak başka reaksiyonlar için kullanılabilme avantajını da sağlarlar.

Enzimler ılıman reaksiyon ortamlarında reaksiyona girmeleri, yüksek seçiciliğe sahip olmaları gibi nedenlerle sentetik organik kimyada ve ilaç endüstrisi başta olmak üzere son yıllarda birçok alanda yaygın olarak kullanılmaktadırlar.

Son yıllarda oldukça önemli hale gelen enantiomerikçe saf olan bileşiklerin sentezi, enzim reaksiyonları kullanılarak biyotransformasyon reaksiyonları ile gerçekleştirilmektedir. Bu yöntem hem çevresel hem de ticari açıdan en uygun yöntemlerden biridir. Biyotransformasyon yönteminde biyolojik sistem olarak organizma ya da bundan izole edilmiş enzimler kullanılmaktadır. Organik çözücüler içerisinde de aktivite gösteren enzimler oldukça yaygın olarak kullanılmaktadırlar.

Biyotransformasyonlar 3 nedenden dolayı önemlidirler:

- 1) Kimyasal sentez yöntemleri gerekli regio- ve stereoseçiciliğe sahip değildirler.
- 2) Toksik kimyasal reaksiyonların tersine enzimler kolaylıkla ve çevreye zarar vermeden kullanırlar.
- 3) Biyolojik aktiviteye sahip doğal ürünlerin düzenlenmesinde veya kiral yapı taşlarının ve farmasötik ara ürünlerin hazırlanmasında kullanılabilirler [1].

Ticari uygulamalarda enzim katalizörlerinin kullanılmaya başlanması, biyoteknoloji endüstrisi açısından çok önemli bir gelişmedir. En önemli uygulama alanlarından biri asimetrik organik sentezlerde enzimlerin kullanılmasıdır. Enzimler ılıman şartlarda yüksek etkili çalıştıkları ve enantiyoseçici oldukları için rasemik karışım halinde bulunan kimyasalların optikçe aktif bileşiklerine dönüştürülmesinde kullanılmaktadırlar. Özellikle ilaç endüstrisinde, rasemik karışım halindeki ilaçların yerine tek stereoizomer ilaçların tercih edilmesi organik sentezlerde enzim kullanımının önemini arttırmıştır [2], [3].

Alzheimer, hipertansiyon, kanser gibi birçok hastalığın tedavisinde kullanılan ilaçların yapı taşlarının sentezlerindeki stereoseçici dönüşümlerde artık enzimlerden yararlanılmaktadır [4].

## 1.2 Tezin Amacı

Endüstriyel ve akademik çalışmalarda önemli bir yere sahip olan indol türevleri, biyolojik aktivitesi yüksek, heterohalkalı bileşik sınıflarından biridir. Doğal ürünlerin ve sentetik olarak elde edilen ilaç öncü maddelerinin, büyük bir kısmında indol çekirdeğine rastlamak mümkündür. Amacımız zor metodlarla sentezlenebilen ilaç hammaddelerini yüksek seçicilikte ve yüksek verimde yeni biyoteknolojik ve kimyasal yöntemlerle sentezlemektir. Bu amaçla optikçe aktif 4-okso-tetrahidroindol türevlerinin basit ve seçici metodlar kullanarak sentezlenmesinin ardından  $Mn(OAc)_3$  aracılığı ile asetoksillenmesi daha sonra elde edilen  $\alpha$ -asetoksi tetrahidroindol bileşiğinin çeşitli lipaz enzimleri kullanılarak enantioseçilimli sentezlerinin yapılması hedeflenmiştir.

## 1.3 Orjinal Katkı

Asimetrik sentez ilaç sanayiinde güncelliğini sürdüren endüstriyel araştırmalarda oldukça önem taşıyan bir konudur. İlaç endüstrisinde enantiomerik olarak saf ilaçların eldesi günümüzde oldukça önemli bir hale gelmiştir. Aktif madde sentezinde biyoteknolojik ve kimyasal yöntemlerin ortak kullanılması, bu yöntemlerin kolay uygulanabilirliği ve yüksek verim eldesi açısından ilaç endüstrisinde giderek daha büyük bir öneme sahip olmaktadır.

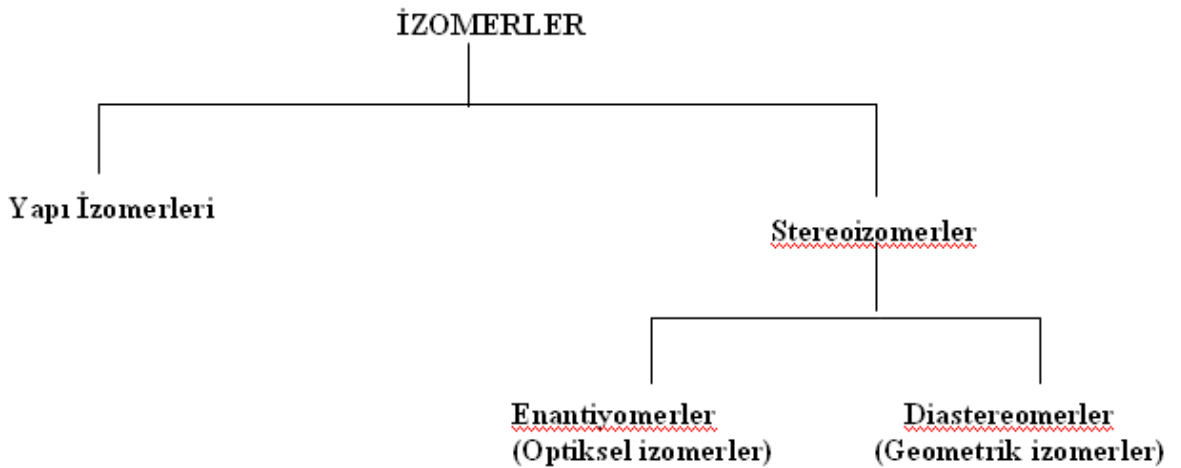
Tez çalışmasında sentezlenmesi hedeflenen indol türevleri pindalolün anahtar ara ürünü olmasının yanı sıra, antikanser, antibakteriyel, antimikotik, antienflamatori ve leukotin gibi önemli biyolojik aktiviteler göstermektedirler. Sentezlenmesi hedeflenen maddelerin biyolojik aktivite göstermeleri nedeni ile bu türevlerin etkin sentezi ticari açıdan büyük önem taşımaktadır.

### STEREOİZOMERLER

Organik moleküllerin 3 boyutlu yapılarını ve özelliklerini inceleyen kimya dalı stereokimya olarak adlandırılmaktadır. Bu dalın en önemli kısmı stereoizomerler olup, bunlar molekül atomlarının uzaydaki dizilişlerine göre birbirlerinden farklılandırılmaktadırlar.

Aynı element atomlarından aynı sayıda atom içeren, molekül ağırlıkları aynı olan fakat özellikleri açısından farklı olan bileşiklere izomer bileşikler ve bunların gösterdiği özelliklere de izomerlik adı verilmektedir.

İzomerler şu şekilde sınıflandırılabilir:



Şekil 2.1 İzomerlerin Sınıflandırılması



Yapısal izomerler, 2-boyutlu izomerlerdir ve düzlem içinde farklılandırılabilirler. Stereoizomerler ise düzlem içinde farklılandırılmazlar. 3-boyutlu bir izomerliktir. Moleküldeki atomların dizilişleri aynı fakat uzaydaki düzenleri farklıdır.

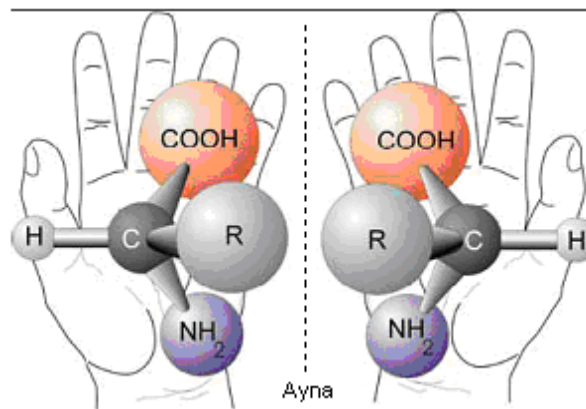
Ayna görüntülerinin olup olmamasına göre stereoizomerler ikiye ayrılır. Diastereomerler, birbirlerinin ayna görüntüsü olmayan stereoizomerlerdir. Diastereomerlere geometrik izomerler adı da verilmektedir. Cis-Trans izomerleri bunlara en iyi örnektir. Enantiyomerler ise birbirlerinin ayna görüntüsü olan fakat üst üste çakışmayan optikçe aktif izomerlerdir. Kiral bileşiklerde görülmektedir.

### KİRALİTE VE ENANTİYOMERLER

Kiral sözcüğü yunanca cheir, el sözcüğünden gelmektedir ve elimsi anlamındadır. Moleküller de dahil, kiral nesnelerin “el seçiciliğe” sahip olduğu söylenir. Kiral bir molekülün en önemli yapısal özelliği,  $sp^3$  melezleşmesi yapmış bir karbon atomunun dört farklı gruba bağlanmış olmasıdır. Kiral moleküller düzlem polarize ışığı sağa ya da sola döndürebilen optikçe aktif moleküllerdir.

Kiral molekül, ayna görüntüsü ile aynı olmayan moleküldür. Kiral bileşikler molekül içi simetri düzlemi içermediğinden asimetric moleküller olup birbiriyle çakışmayan iki konfigürasyon izomerine sahiptirler.

Bu iki konfigürasyon izomeri birbirine simetrikdir ve bunlar enantiomerler olarak adlandırılırlar.



Şekil 3.1 Kiral moleküllerde el seçiciliği

### 3.1 Enantiyomerler

Enantiyomerler, molekülleri birbirinin ayna görüntüsü olan, fakat birbiriyle çakışmayan stereoizomerlerdir. Enantiyomerler, yalnızca molekülleri kiral olan bileşiklerde meydana gelir. Bir kiral molekül, ayna görüntüsü ile aynı olmayan bir molekül olarak tanımlanır. Enantiyomerlerin tüm fiziksel (erime ve kaynama noktaları, yoğunlukları ) ve kimyasal özellikleri birbirinin aynıdır. Onların sadece, düzlem-polarize ışığa karşı olan davranışları farklıdır. Aynı molekülün enantiyomerleri, düzlem-polarize ışık düzlemini eşit miktarlarda, fakat farklı yönlerde çevirirler. Eğer enantiyomer polarize ışığı saat yönünde çevirirse dekstrotatori (+), saat yönünün tersi yönde çevirirse levorotatori (-) olarak adlandırılır. Cahn-Ingold-Prelog (CIP) adlandırma sisteminde ise, kiral moleküllerin konfigürasyonları saat yönünde R (rektus), saat yönünün tersi S (sinister) olarak tanımlanır.

Enantiyomerlerin 50:50 karışımı rasemik karışım adını alır ve optikçe aktif değildir. Çünkü birbirlerinin çevirmelerini yok ederler. Bu sebeple ( $\pm$ ) şeklinde gösterilirler. Rasemik karışımı oluşturan her bir enantiyomerin erime ve kaynama noktaları, yoğunlukları ve prokiral (kiral özellik göstermeyen) ortamlardaki kimyasal özellikleri aynıdır.

### 3.2 Optikçe Aktifliğin Biyolojik Önemi

Kiralite canlılar için çok önemlidir. Örneğin, kalp ve karaciğerin yerleşim biçimi ile insan vücudu yapısal olarak kiraldır. İnsanların çoğu sağ elini kullanır. Sarmal deniz kabukları kiraldır ve çoğu sağa dönen bir vida gibi spiraldir. Destekleyici yapıların etrafını sarmak suretiyle pek çok bitki de kiraldır. *Lonicera sempervirens* familyasından hanımeli, sola doğru dönen bir sarmal yapar; *Convolvulus sepium* familyasından çit sarmaşığı ise sağa dönen bir yolla sarmal yapar. Bitki ve hayvanları meydana getiren moleküllerin çoğu kiraldır ve verilen bir türde, kiral molekülün yalnızca bir formu vardır. Doğal proteinleri oluşturan 20 amino asidin sadece biri hariç (glisin), hepsi kiraldır ve L-aminoasit olarak sınıflandırılırlar [5].

DNA, RNA, karbohidratlar ve biyopolimerlerde de tek bir enantiyomer vardır. DNA'da bulunan şeker de dahil, doğal şekerlerin hemen hepsi D formundadır. DNA'nın kendisi de sarmal bir yapıdadır ve doğal olarak oluşan DNA'ların hepsi sağa doğru döner.

Doğal ürünlerde de kiralitenin önemi büyüktür. Örneğin; limon ve portakalda, her ikisinde de limonen bulunmasına rağmen; bunun farklı iki enantiomeri, bu meyvelere farklı aromalar vermektedir. Aynı şekilde, R ve S carvone farklı tatlara sahiptir; biri nane tadındayken, diğeri kimyon tadındadır.

Kana salgılanan kimyasal düzenleyicilerden olan hormonlar da etkilerini, sadece tek bir enantiyomeri tanıyarak gösterirler. Molekül ya da biyolojik alıcı yanlış enantiyomere sahipse doğal fizyolojik cevap meydana gelmeyecektir. Enzimler için de aynı uyum söz konusudur. Enzimlerin üç boyutlu aktif bölgesi sadece tek bir enantiyomer için spesifiktir.

### **3.3 Kiral Moleküllerin Sentezleri ve Rezolüsyonu**

Organik kimyasal reaksiyonlarda, çoğu zaman, molekülleri kiral olmayan reaktantlarla gerçekleştirilen tepkimeler, molekülleri kiral olan ürünlerin oluşumuyla sonuçlanır. Böyle bir tepkimenin sonucunda rasemik yapılar oluşur. Yani, ürünün kiral molekülleri, herhangi bir kiral etkinin (çözücüden veya katalizörden gelen) olmaması durumunda, enantiyomerlerin 50:50'lik bir karışımı olarak elde edilir. Optikçe aktif bir çözücü veya enzim gibi bir kiral etkinin varlığında ise böyle bir sonuçla karşılaşılmayacaktır.

İki enantiyomeri içeren karışımdan istenen enantiyomerin ayrılmasına "rezolüsyon" denilmektedir. Rezolüsyon yöntemleri aşağıdaki şekilde sınıflandırılabilir:

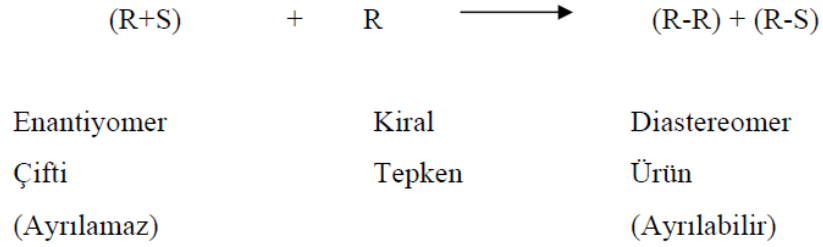
1. Enantiyomerleri Kristallendirerek Ayırma
2. Enantiyomerleri Diastereomerlere Dönüştürme
3. Asimetrik Sentez
4. Kinetik Rezolüsyon
5. Dinamik Kinetik Rezolüsyon
6. Kromatografik Yöntemle Ayrıştırma

### 3.3.1 Enantiyomerleri Kristallendirerek Ayırma

Katı kristallere uygulanabilen bir yöntemdir. Enantiyomerlerden birinin kristallenmesi, diğerinin kristallenmemesi için katkı maddeleri eklenerek tercihi kristallenmesi sağlanmaktadır [6].

### 3.3.2 Enantiyomerleri Diastereomerlere Dönüştürme

Rasemik bileşik optikçe aktif bir madde ile reaksiyona sokularak diastereomerlerine dönüştürülür. Elde edilen diastereomerler çözünürlük farkından dolayı fraksiyonlu kristalizasyon ile birbirinden ayrıştırılabilirler. Diastereomerler ayrıştırıldıktan sonra uygun bir yöntemle her iki enantiomer ayrı ayrı geri kazanılır [7].



Şekil 3.2 Diastereomerlere dönüştürerek ayrıştırma

### 3.3.3 Asimetrik Sentez

Optikçe aktif bileşiklerin elde edilmesinde kullanılan en önemli yöntemlerden biri de asimetrik sentezdir. Uygun şartlar sağlandığında asimetrik sentez, yüksek verim ve yüksek enantiomerik saflık (e.e.) elde edildiği için tercih edilmektedir. Asimetrik sentezin öneminin anlaşılmasıyla ve son yıllarda kiral bileşiklerin kullanım alanının artmasıyla birlikte çeşitli kimyasal ve biyoteknolojik yöntemler geliştirilmiştir.

Asimetrik sentezde kullanılacak olan kiral grup, kiral çevre ve kiral başlangıç maddesinin seçimi çok önemlidir. Bu üç ana unsurun seçiminde aşağıdaki şartlar sağlanmalıdır:

- i. Yüksek enantioseçici olmalı.
- ii. Kullanılan grup reaksiyon sırasında yeni bir kiral merkez oluşturmalı.
- iii. Reaksiyon bittikten sonra hiçbir rasemizasyona neden olmamalı ve ortamdan kolayca uzaklaştırılabilmeli.
- iv. Kullanılan kiral grubun enantiyomerik saflığında hiçbir değişiklik olmadan yüksek verimle geri kazanılabilmeli.
- v. Kiral grubun elde edilmesi ucuz ve hızlı olmalıdır.

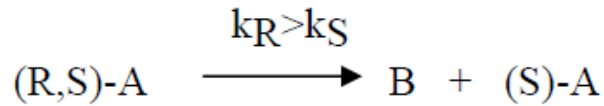
### 3.3.4 Kinetik Rezolüsyon

Rasemik karışımdaki enantiomerlerin kiral katalizörler yardımıyla başka bir kiral bileşiğe dönüşümü sırasında enantiomerlerin biri diğerine göre daha hızlı hareket etmektedir. Bu özellikten yararlanılarak enantiomerlerin ayrıştırılması, kinetik rezolüsyon olarak adlandırılmaktadır. Kinetik rezolüsyon;

i. Kimyasal kinetik rezolüsyon

ii. Enzimatik kinetik rezolüsyon

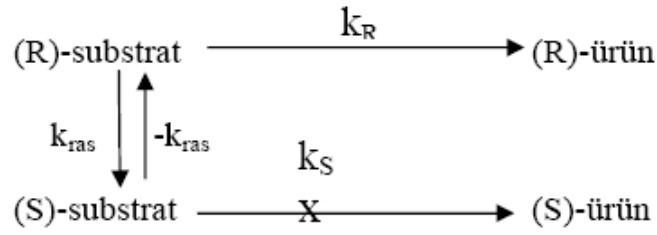
olarak iki farklı şekilde yapılır. Enantiomerlerin ürüne dönüşümü sırasında oluşturdukları geçiş komplekslerinin aktivasyon enerjileri kullanılan kiral katalizörden dolayı farklı olur. Düşük aktivasyon enerjisine sahip geçiş kompleksini oluşturan enantiomer daha hızlı ürüne dönüşür (Şekil 3.3). Aktivasyon enerjileri arasındaki fark arttıkça düşük enerjili olan enantiomerin dönüşüm hızı diğerine göre daha fazla olacağından % ee (enantiyomerik saflık) değeri de artacaktır [8].



Şekil 3.3 Kinetik rezolüsyon

### 3.3.5 Dinamik Kinetik Rezolüsyon

Kinetik ve dinamik kinetik rezolüsyonda, (R)-enantiyomer, (S)-enantiyomerden daha hızlı tepkimeye girdiğinden (R)-enantiyomer (R)-ürüne dönüşmektedir. Kinetik ve dinamik kinetik rezolüsyon arasındaki fark, kinetik rezolüsyonda (S)-enantiyomer reaksiyona girmeden kalırken, dinamik kinetik rezolüsyonda (S)-enantiyomer proses süresince izomerleşir ve başlangıç (R,S)-substratının tamamı (R)-ürüne dönüşmektedir (Şekil 3.4). Böylece teorik olarak %100 verime ulaşılabilmektedir [9].



Şekil 3.4 Dinamik kinetik rezolüsyon

### 3.3.6 Kromatografik yöntemle ayrıştırma

Enantiomerlerin kiral bir bileşikle olan etkileşimleri farklı olduğundan rasemik karışımların kiral maddelerle yüklü kolonlarda ayrıştırılması mümkündür. Her bir enantiomer kiral maddelerle farklı etkileşeceğinden  $R_f$  değerleri de farklı olacaktır. Ayrım için kullanılan kromatografik yöntemler ince tabaka kromatografisi, kolon kromatografisi, gaz kromatografisi ve sıvı kromatografisidir [7].

### 3.4 Kiral ilaçlar

İlaç endüstrisinin ve ABD Gıda ve İlaç Yönetiminin en çok ilgi duyduğu konulardan biri kiral ilaçların üretim ve satışlarıdır [10].

Kiral bileşiklerin enantioseçimli sentezleri kimya endüstrisinde gittikçe artan bir öneme sahiptir. Kiral ilaçlardan, amoxicillin (antibiyotik), captopril (angiotensin-dönüştürücü-enzim inhibitörü) ve erithropoetin (hematopoetik büyüme faktörü) satış oranları US\$1 milyarı geçmiştir [11].

Enantiyomerlerin kiral ortamlardaki farklı davranışları anlaşılmadan önce yanlış enantiyomerin önemsiz olduğu kabul edilerek kiral ilaçlar sentez aşamasında rasemik

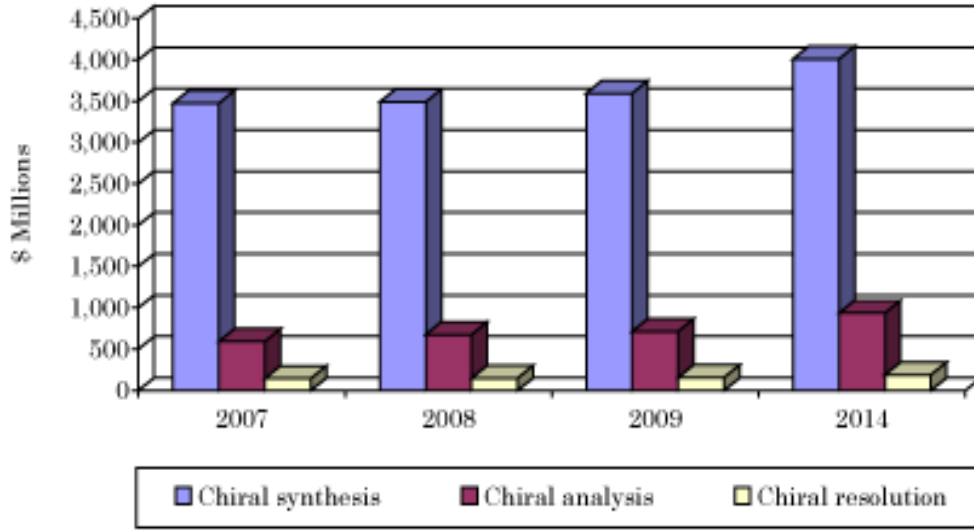
olarak üretilmişlerdir. İki enantiomer arasındaki kimyasal farklar zamanla anlaşıldıkça bunlar üzerine olan çalışmalar da yoğunlaşmıştır. Günümüzde enantiomerlerin farklı davranışlar sergilediği keşfedilince kiral ilaçların sadece bir enantiomerin üretilmesi üzerine ağırlık verilmeye başlanmıştır [12]. Bu durum kiral ilaçların ilaç endüstrisindeki satışlarının yıllara göre dağılımından açıkça görülmektedir (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1 Kiral ilaç satışlarının yıllık dağılımı

\$ Milyon	Bütün ilaçlar		Kiral ilaçlar		
	1999	2000	1999	2000	2005
Ağrı kesici	\$21,500	\$23,000	\$1,173	\$1,291	\$1,395
Antibiyotik	29,3	31,7	24,918	26,14	29,747
Antiviral	17,7	19,1	6,717	8,82	12,201
Kanser	13,7	15,6	8,891	10,69	13,605
Kalp-damar	42,7	46,6	24,895	27,65	34,627
Merkezi sinir sistemleri	47,7	53,9	8,439	9,094	14,7
Deri hastalıkları	17,9	18,4	16,202	1,272	1,54
Hormon	20	22	14,51	15,384	19,79
Göz hastalıkları	7,1	7,4	1,27	2,265	2,705
Solunum sistemleri	36,5	40,5	5,696	6,615	9,62
Diğer	45,5	49,2	8,751	10,381	14,05
<b>Toplam</b>	<b>\$360,000</b>	<b>\$390,000</b>	<b>\$117,763</b>	<b>\$132,514</b>	<b>\$171,865</b>

Şekil 3.5'de 2007 ve 2014 yılları arasında kiral ilaçların yıllık satış miktarlarındaki artış görülmektedir. 2009'da \$ 3,6 milyara ulaşan satış oranlarının %2,2 büyüme ile 2014 yılında \$ 4 milyarı bulması beklenmektedir [13].





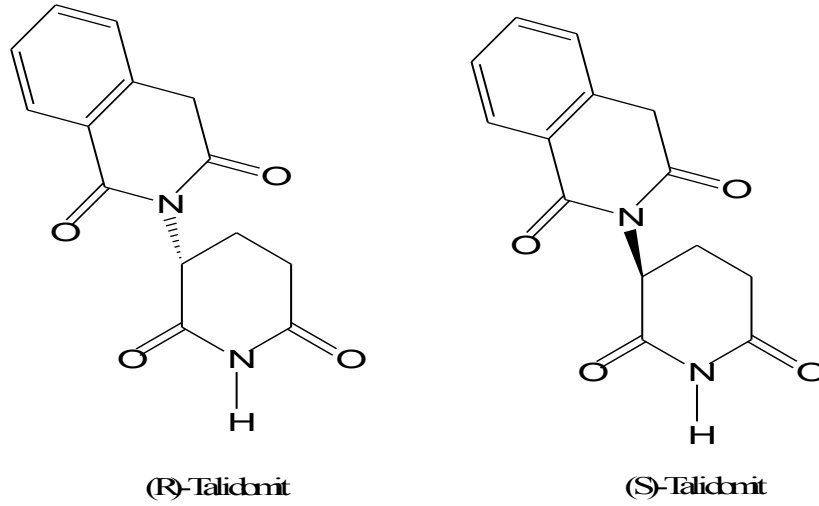
Şekil 3.5 Kiral ilaçların yıllara göre satış oranları

Yüksek aktiviteye sahip enantiomer “eutomer”, aktif olmayan ya da tersi bir aktivite gösteren enantiomer ise “distomer” olarak adlandırılmaktadır. Rasemik karışım halindeki kirial ilaçların enantiyomer çiftlerinden biri aktif iken diğeri inaktif olabilir. Her iki enantiyomer de aynı terapotik veya toksik etkiye sahip olabilir. Veya her iki enantiyomer de aktiftir fakat farklı terapotik veya toksik etki gösterebilirler.

i.Enantiomerler birbirinin tam tersi bir etki gösterebilirler;

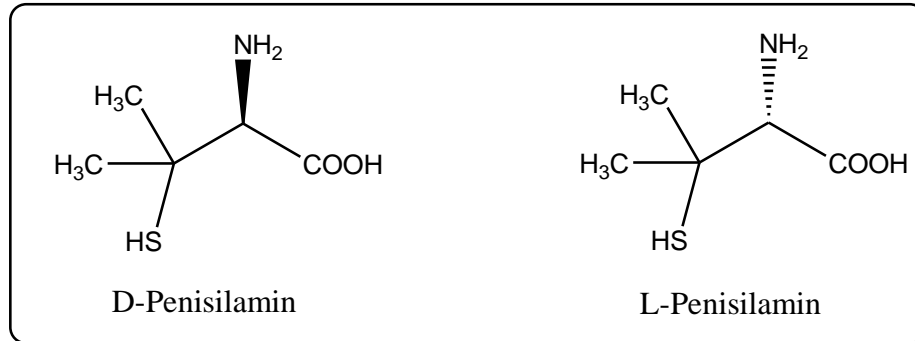
Kiral ilaçlardaki enantiyomerlerin bu etkisi ilk defa thalidomit ile ortaya çıkmıştır.

Talidomit olarak adlandırılan bir ilaç, 1963’ten önce, uzun yıllar hamile kadınlarda sabah bulantılarını yatıştırmak için kullanılmıştır. 1963’te, bu ilacın kullanımını takiben doğan pek çok çocukta korkunç doğum kusurlarına neden olduğu keşfedilmiştir. Daha sonraları, talidomidin enantiyomerlerinden birinin sabah bulantılarını tedavi ederken, ilaçta eşit miktarda var olan diğeri enantiyomerin doğum kusurlarına neden olduğu bulunmuştur [5].



Şekil 3.6 Talidomit bileşğinin enantiyomerleri

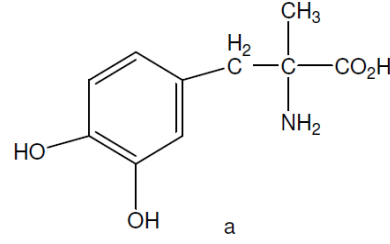
Vücutun ağır metal zehirlenmesinde antipod olarak kullanılan ve bir  $\alpha$ -amino asit olan penisilaminin D ve L enantiyomerleri farklı etki göstermektedirler. D-penisilamin ağır metallerin vücuttan atılmasına yardımcı olurken L-penisilamin körlüğe neden olmaktadır.



Şekil 3.7 D-L Penisilamin

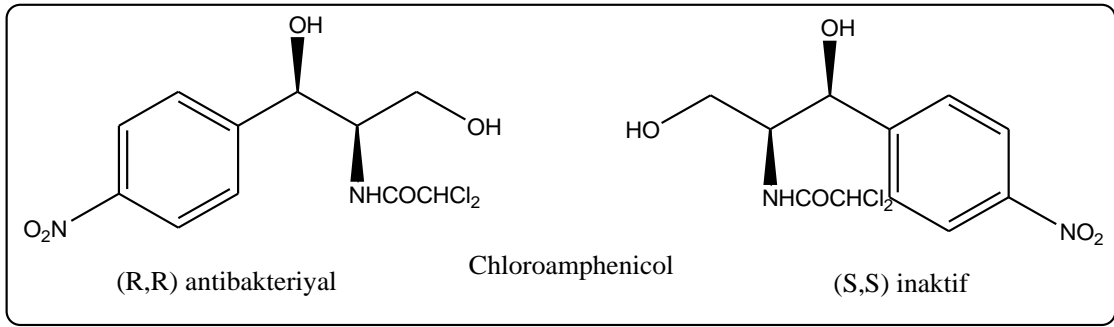
ii.Enantiyomerlerden biri aktif diğeri inaktif özellik gösterebilir;

İltihap giderici bir madde olan ibuprofenin yalnızca (S) izomeri etkindir. (R) izomeri böyle bir etkiye sahip değildir. Dolayısıyla sadece (S) izomerinden oluşmuş bir ilaç rasemata göre çok daha hızlı bir etki gösterir. Yüksek tansiyona karşı kullanılan bir ilaç olan metildopa da bu etkisini sadece (S) izomeri ile gösterir (Şekil 3.4).



Şekil 3.8 Metildopa'nın (S) enantiyomeri

Kiral bir bileşik olan (*R,R*)-Chloroamphenicol antibakteriyal özellik gösterirken, (*S,S*)-Chloroamphenicol inaktif özellik göstermektedir.



Şekil 3.9 Chloroamphenicol

İlaçların rasemik olarak kullanılmasında, vücuda alınması gereken birim miktardaki etken maddeyi karşılamak için iki kat rasemik karışım almak gerekmektedir. Bu şekilde kaynakların ve ürünün yarısının boşa harcanması ekonomik açıdan istenmeyen bir durumdur. Bu sebeple tek bir enantiomer her zaman için rasemik karışıma göre daha fazla tercih edilir.

İstenmeyen toksik etkili enantiyomerin uzaklaştırılması; kullanılan ilaç dozunun yarıya indirilmesi ve stereokimyasal olarak saf aktif enantiyomerlerin farmakokinetik/farmakodinamik etkinliğinin ve toksikliğinin değerlendirilmesinin sağlanması gibi nedenlerden dolayı enantiyosaf ilaçların kullanımı rasemik ilaçlara göre artış göstermektedir [14], [15].

### 3.5 Enantiyoseçimli sentezler

Bir tepkime, bir enantiyomeri, onun ayna görüntüsünden daha fazla oluşturacak şekilde enantiyomer oluşumuna yol açarsa, bu tepkime enantiyoseçimli olarak

adlandırılır. Bir tepkimenin enantiyoseçimli olabilmesi için kiral bir reaktif, çözücü veya katalizör, tepkime üzerinde etkili olmalıdır [5].

Doğadaki enantiyoseçimli tepkimelerin pek çoğunda, kiral etki, enzim denilen protein molekülleri tarafından gerçekleştirilir. Enzimler olağanüstü etkiye sahip biyolojik katalizörlerdir. Reaksiyonları sadece hızlandırmakla kalmayıp, tepkime üzerinde kiral bir etki de oluştururlar. Bunu da, kiral olmalarına ve moleküllerin geçici olarak bağlandıkları aktif bölgeye sahip olmalarına borçludurlar. Kiral reaktant enantiyomerlerinden sadece biri, enzimin kiral olan aktif bölgesine tam olarak uyar ve tepkimeye girebilir [5].

Enantiyoseçimli tepkimelerde, özelliklerinden yararlanan pek çok enzim vardır. Bunlardan biri de lipaz enzimidir. Lipaz, esterlerin bir molekül suyla tepkimeye girerek bir karboksilik asit ve bir alkole dönüştüğü, hidroliz denilen tepkimeyi katalizler [5].

## BÖLÜM 4

---

### ENZİMLER

Enzimler, hücrelerde biyokimyasal reaksiyonları katalizleyen protein yapısındaki organik moleküllerdir. Hücrelerde çok önemli metabolik görevleri olan bu biyokatalizörler çeşitli amaçlarla kullanılmak üzere günlük ve ekonomik hayata girmiştir.

Yüksek spesifiteli, enzim katalizli kimyasal reaksiyonlar gittikçe yükselen bir değere sahiptir. Tüm yaşayan organizmaların metabolizmalarının temeli olan bu reaksiyonlar, etkili ve ekonomik biyokatalitik dönüşümlerin, endüstrideki uygulanabilirliğini sağlarlar. Enzim teknolojisinin uygulama alanları tarımdan ilaç sektörüne kadar çok geniş bir alana yayılmıştır.

Enzimler protein yapısında olup onlarla aynı fiziksel ve kimyasal özelliklere sahiptirler. Metabolizma esnasında devam eden kimyasal olaylarda reaksiyonlara katılırlar, fakat sarf edilmezler ve sonunda yine ortamda kalırlar. Her enzim özgül bir kimyasal tepkimeyi katalize eder ve yalnız bir madde (substrat) üzerine etkili olarak onunla madde enzim bileşiği yapacak şekilde birleşir. Bir kısım enzimler işlevleri esnasında protein olmayan organik moleküllere ihtiyaç duyarlar. Enzimleri aktive eden bu moleküllere prostetik grup=koenzim adı verilir. Enzimatik çalışmada koenzimler kimyaca değişebilirler fakat tepkime sonunda tekrar orijinal şekillerine dönerler. Enzimlerin protein kısmına apoenzim (esas enzim), apo ve koenzimden oluşan total enzime ise holoenzim denir. Apoenzimler ve koenzimler tek başlarına etkin olamazlar. Apoenzimlerin özgül olmalarına karşılık koenzimler, çeşitli apoenzimlere bağlanarak çeşitli kimyasal tepkimelerde rol alabilirler. Enzimlerin kendi substratlarına enzim

molekülünde bulunan ve substratlarına özgül, kovalent olmayan bağlarla (Vander Waals, iyonik hidrojen bağları ile) bağlandıkları bilinmektedir. Bazı enzimler aktif hale gelebilmeleri için, koenzimler dışında kofaktör denilen bazı aktivatör maddelere gereksinim duyarlar. Bu enzimler, kofaktörler olmadıkça inaktif durumdadırlar. Kofaktörler çoğunlukla  $Fe^{++}$ ,  $Mg^{++}$ ,  $Ca^{++}$ ,  $Zn^{++}$ ,  $Cu^{++}$  gibi iyonlardır [16].

Enzimlerin çalışmasını etkileyen faktörler; enzim konsantrasyonu, substrat konsantrasyonu, sıcaklık, ortam pH'sı, ortamdaki su miktarı, inhibitörler ve aktivatörler olarak sıralanabilir.

#### **4.1 Biyoteknolojide enzimler**

Enzimler, canlı organizmalarda substratların kimyasal değişimini katalizleyen kompleks moleküllerdir. Enzimler in vitro koşullarda da katalitik aktivite gösterdiklerinden, mikroorganizmalardan izole edilerek çeşitli endüstriyel alanlarda kullanılabilirler.

Günümüzde enzimler; süt ürünlerinin üretiminde, biracılıkta, etlerin işlenmesinde, meyve sularının berraklaştırılmasında, früktoz şurubu üretiminde, deterjan endüstrisinde, deri ve dokuma ipliklerinin işlenmesini kolaylaştırarak tekstilde, teşhis ve tedavi amacıyla da tıpta kullanılmaktadırlar.

Enzimlerin bu şekilde endüstriyel süreçlerde kullanılmaları işlemleri "enzim teknolojisi" olarak adlandırılır. Enzim teknolojisi, mikrobiyal işlemler (üretici suşların seçimi, geliştirilmesi vb.), enzimlerin fermentasyon yoluyla üretimleri (büyük ölçekte üretimi için yapılan besiyeri, ortam koşulları vb. düzeylerdeki optimizasyonlar), katalitik etkinliğin arttırılması için enzimlerin üç boyutlu yapılarının değiştirilmesi (protein mühendisliği), izolasyonları ve immobilizasyonları (enzimlerin çözünmeyen destek materyaller yardımıyla suda çözünmeyen hale getirilmesi) çalışmalarını kapsar [17].

Enzimler bitkisel, hayvansal veya mikrobiyal kaynaklardan üretilmektedir. Bazı özel uygulamalar için bitkisel ve hayvansal kaynaklı enzimler özel önemlerini korumakla birlikte son 30 yıldan beri teknik uygulamalar için mikrobiyal kaynaklar ağırlık kazanmaya başlamıştır. Enzimlerin mikrobiyolojik yolla üretilmesinde genellikle derin kültür tekniği ve aerobik karıştırmalı tank tipi biyoreaktörler kullanılır [17].

Mikroorganizmalar yardımı ile enzim üretimi birçok faktör tarafından etkilenir. Besi ortamının kompleks kimyasal bileşimi, indüksiyon ve represyon gibi iç faktörler yanında pH ve oksijen temini gibi dış faktörler de enzim verimi için önemlidir. Mikroorganizma seçimi bir başka önemli konudur. Seçilen mikroorganizma kısa sürede yüksek verimle enzim üretebilmeli, toksik madde ve antibiyotik üretmemeli, ucuz besi ortamında rahatlıkla çoğalabilmeli, gerek enzim üretimi sırasında gerekse izolasyon ve saflaştırma işlemleri sırasında problem olabilecek yan ürünler oluşturmamalıdır [17].

Bazı uygulamalar için enzim veya bir kofaktör immobilize edilmek istenebilir. Kimyasal olarak modifiye edilen enzimler, yarı sentetik enzimler, hibrid enzimler ve katalitik antikorların biyotransformasyonda kullanımı her geçen gün yaygınlaşmakta ve büyük bir önem kazanmaktadır [17].

#### **4.2 Enzimlerin sınıflandırılması ve adlandırılması**

Uluslararası Biyokimya ve Moleküler Biyoloji Birliği, EC numaraları (Enzim komisyonu numarası) denen, enzimler için bir adlandırma sistemi geliştirmiştir; her enzim başında da "EC" olan ve dört sayıdan oluşan bir dizi ile betimlenir.

Enzimler katalizledikleri reaksiyon tipine göre 6 kategoriye ayrılırlar. Organik sentezlerdeki uygulamalarına göre enzim sınıfları Çizelge 4.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.1 Enzimlerin sınıflandırılması [18]

Enzim Sınıfı	Mevcut olan	Kullanıla bilir olan	Reaksiyon tipi	Yararlılığı <sup>1</sup>
EC 1 Oksidoredüktazlar	650	90	Oksidasyon redüksiyon, C-H, C-C, C=C bağlarının oksijenasyonu veya hidrojen atomu ekivalentlerinin katılması	+++ %25
EC 2 Transferazlar	720	90	Aldehid, keton, açıl, şeker, fosforil veya metil gruplarının transferi	+ < %5
EC 3 Hidrolazlar	636	125	Ester, amid, lakton, laktam, epoksit, nitril, anhidrit ve glikozitlerin hidrolizi	+++ %65
EC 4 Liyazlar	255	35	C=C, C=N, C=O bağlarına küçük moleküllerin katılma ve eliminasyonu	++ %5
EC 5 İzomerazlar	120	6	Rasemizasyon, epimerizasyon gibi izomerizasyonlar	± < %5
EC 6 Ligazlar	80	5	Trifosfat kırılmasıyla C-O, C-S, C-N, C-C bağlarının kırılması	± < %5

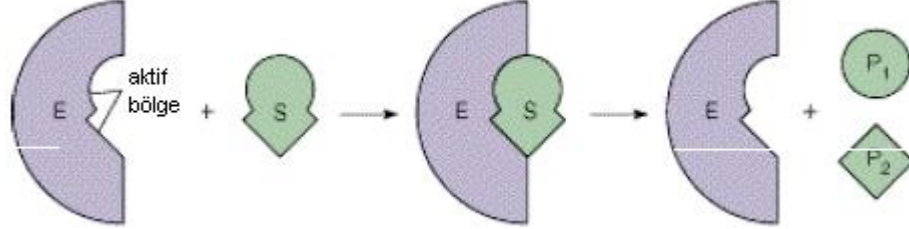
<sup>1</sup> Enzim yararlılığı, +++(çok yararlı) dan, ± (az yararlı) ya doğrudur. % oranlar enzim sınıfları hakkında yapılan araştırmaları göstermektedir.

### 4.3 Enzimlerin çalışma mekanizması

Enzimler üç boyutlu yapıya sahip aktif bölgeler içerirler. Aktif bölgeler substratın bağlandığı ve reaksiyonun gerçekleştiği yerlerdir. Aktif bölgenin substratla olan etkileşimini açıklamak için anahtar-kilit modeli ve sonradan uyumluluk modeli olmak üzere iki model geliştirilmiştir.

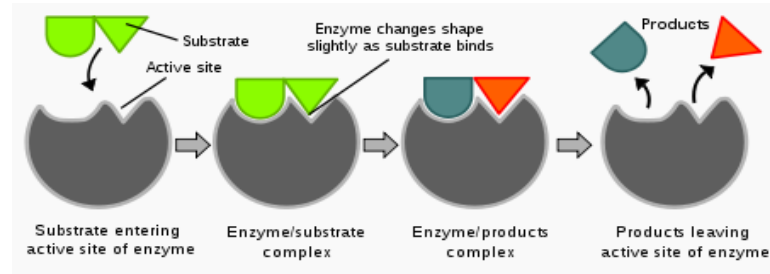


**Anahtar-kilit modeli:** 1894'te E.Fischer tarafından geliştirilmiştir ve enzimin yapısını sabit olarak kabul etmiştir. Anahtar-kilit modeli enzimin stereospesifikliğini çok iyi açıklar. Bu modele göre substratın enzime bağlanabilmesi için üç boyutlu aktif bölgeye uygun yapıya sahip olması gerekir (Şekil 4.1).



Şekil 4.1 Anahtar-kilit modeli

**Sonradan uyumluluk modeli:** 1960 yılında Koshland tarafından geliştirilmiştir. Modele göre enzimin aktif bölgeleri sabit değildir. Substratın enzim ile etkileşmesinden sonra enzimin aktif bölgesi değişikliğe uğrayarak substrata uygun bir yapı kazanmaktadır (Şekil 4.2).



Şekil 4.2 Sonradan uyumluluk modeli

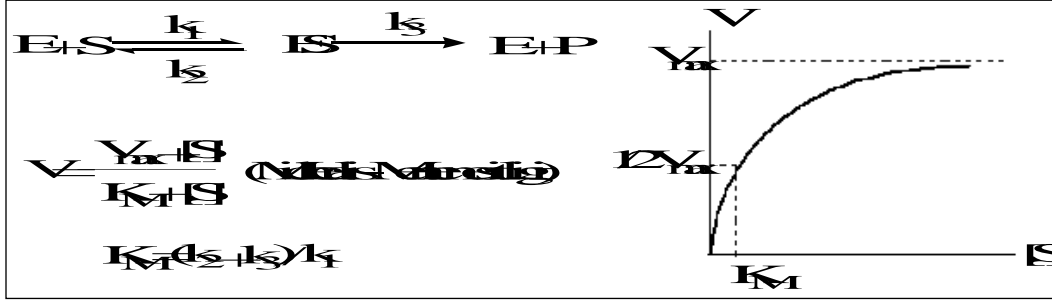
#### 4.4 Enzim kinetiği

Enzimatik reaksiyonların hızlarının deneysel parametrelerdeki değişmelerle nasıl etkileştiklerinin incelenmesi, enzim kinetiği olarak bilinir. Bir enzimatik reaksiyonun hızı, enzim etkisiyle zaman birimi başına (1 dakikada veya 1 saniyede) oluşan ürünün veya ürüne dönüşen substratın miktarına göre ifade edilir. Bir enzimin aktivitesi, o

enzim tarafından katalizlenen enzimatik reaksiyonun hızının, enzim etkisiyle optimal koşullarda belirli sürede ürüne dönüştürülen substrat miktarına göre ifadesidir.

Michealis ve Menten enzimle katalizlenen reaksiyonların birçoğunu kapsayan basit bir model öne sürmüşlerdir. Michaelis Menten denklemi reaksiyon hızının substrat konsantrasyonu ile nasıl değiştiğini göstermektedir (Şekil 4.3).

$V_0$  = ilk hız,  $V_{max}$  = maksimum hız,  $K_m$  = Michaelis sabiti,  $S$  = Substrat konsantrasyonu



Şekil 4.3 Michealis-Menten eşitliği

Bu eşitliğe göre;

- E ve S nin göreceli konsantrasyonları: Substrat konsantrasyonu enzim konsantrasyonundan çok daha fazladır. Böylece herhangi bir zamanda enzim tarafından bağlanan substrat miktarı küçüktür.
- Denge durumu varsayımı: (ES) zamanla değişmez. Yani ES nin oluşum hızı ES nin yıkım hızına eşittir.
- İlk hız: Enzim reaksiyonlarında genel olarak ilk hız kullanılmaktadır.

Bu eşitliğin sonuçları;

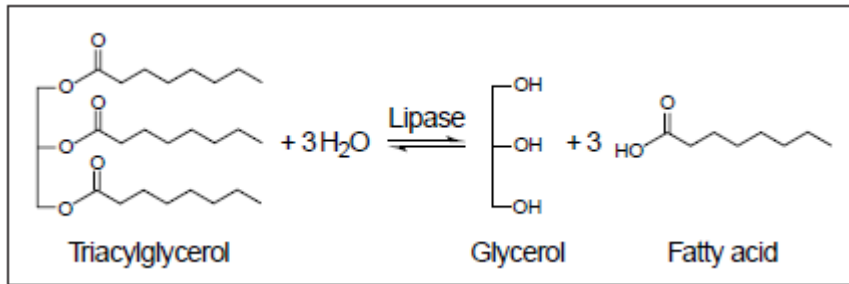
$K_m$ 'nin özellikleri: Michealis sabiti bir enzim belli bir substrata özgüdür ve o enzimin söz konusu substrata ilgisini yansıtır.  $K_m$  sayısal olarak  $\frac{1}{2} V_{max}$ 'a eşit olduğu esnadaki substrat konsantrasyonudur.  $K_m$  enzim konsantrasyonu ile değişmez.

Hız ile enzim konsantrasyonu arasındaki ilişki: Bütün substrat konsantrasyonlarında reaksiyonun hızı enzim konsantrasyonu ile doğru orantılıdır. Örneğin enzim konsantrasyonu yarıya indirildiğinde reaksiyonun hızı orijinalin yarısına düşer.

Reaksiyon basamağı: (S)  $K_m$  den çok küçük ise reaksiyonun hızı substrat konsantrasyonuyla kabaca orantılıdır. (S)  $K_m$  den çok büyükse hız sabit ve  $V_{max}$ 'a eşittir. Bu durumda reaksiyon hızı substrat konsantrasyonlarından bağımsızdır [19].

#### 4.5 Lipazlar (3.1.1.3)

Hidrolaz (EC 3) grubundan olan lipazlar, pek çok bakteri ve mantar hücresi tarafından salgılanmaktadır. Sadece hidrolizi katalizlemezler, ayrıca uzun-zincirli açilgliserol sentezini de gerçekleştirirler [11].



Şekil 4.4 Lipazların katalitik aktivasyonu [11]

Lipazların biyoteknolojide önemli kullanım alanları vardır. Deterjan sektöründe, gıda sektöründe, kâğıt endüstrisinde, biyomedikal uygulamalarda, biyosensörler ve pestisitlerin yapımında, deri sanayinde, çevre yönetiminde, kozmetik ve parfüm sanayinde ve stereoseçici transformasyonlarda biyokatalizör olarak kullanılmaktadırlar. Bu da onların organik kimyada en çok kullanılan enzim sınıfından olmalarını sağlamaktadır [11].

Lipazlar hidrolizin yanında uzun zincirli yağ asitleri ve gliserolden oluşan esterlerin sentezini de katalizlerler. Bu reaksiyonlar genellikle yüksek regio ve enantio seçicilikle sonuçlanır. Bu yüzden lipazlar organik kimyada çok önemli biyokatalizörlerdir. Mikrobiyal lipazlar şu nedenlerden dolayı biyoteknolojide önemlidirler:

1. Organik çözücülerde kararlı bir yapıdadırlar.
2. Kofaktörlere ihtiyaç duymazlar.
3. Geniş bir substrat seçiciliğine sahiptirler.
4. Yüksek bir enantiyoseçicilik gösterirler.

Ticari lipazların büyük çoğunluğu bakteri ve mantar kökenlidir. Şekil 4.5'teki tabloda biyoteknolojide genişçe kullanılan mikrobiyel lipazlar listelenmiştir.

Origin	Organism producing lipase applications	Biotechnological	Commercialized by
Fungal	<i>Candida rugosa</i> <sup>a</sup>	Organic synthesis	Amano, Biocatalysts, Boehringer Mannheim, Fluka, Genzyme, Sigma
	<i>Candida antarctica</i> A/B	Organic synthesis	Boehringer Mannheim, Novo Nordisk
	<i>Thermomyces lanuginosus</i> <sup>b</sup>	Detergent additive	Novo Nordisk, Boehringer Mannheim
	<i>Rhizomucor miehei</i>	Food processing	Novo Nordisk, Biocatalysts, Amano
Bacterial	<i>Burkholderia cepacia</i> <sup>c</sup>	Organic synthesis	Amano, Fluka, Boehringer Mannheim
	<i>Pseudomonas alcaligenes</i>	Detergent additive	Genencor
	<i>Pseudomonas mendocina</i>	Detergent additive	Genencor
	<i>Chromobacterium viscosum</i> <sup>d</sup>	Organic synthesis	Asahi, Biocatalysts

<sup>a</sup>Organism was formerly named *Candida cylindracea*  
<sup>b</sup>Organism was formerly named *Humicola lanuginosa*  
<sup>c</sup>Organism was formerly named *Pseudomonas cepacia*  
<sup>d</sup>The lipase from *C. viscosum* is identical to the lipase from *Burkholderia glumae*

Şekil 4.5 Biyoteknolojide genişçe kullanılan mikrobiyel lipazlar [11]

Enzim katalizli esterifikasyon ve hidroliz reaksiyonlarında yaygın olarak kullanılan lipazlar Porcine Pancreatic Lipazı (PPL), *Mucor* türü lipazlar, *Pseudomonas* türü lipazlar ve *Candida* türü lipazlardır [11].

**Candida türü lipazlar:** *Candida lipolytica*, *Candida antarctica* ve eskiden *Candida cylindracea* olarak bilinen *Candida rugosa* mayalarından elde edilir. Bu tür enzimler sekonder alkollerin esterlerinin rezolüsyonunda ve  $\alpha$ -substitüye karboksilatların rezolüsyonunda yaygın olarak kullanılırlar. *C.cylindracea* lipazları substrat olarak büyük grup içeren esterleri tercih ettiklerinden halkalı yapıya sahip alkollerin esterlerinin hidrolizinde yaygın olarak kullanılmaktadırlar.

**Pseudomonas türü lipazlar:** *P.fluorescens*, *P.aeruginosa*, *P.cepacia* ve *P.glumae*'den izole edilmiş bakteriyel lipazlar çok seçicidirler. Aktif bölgeleri X-ray analiziyle aydınlatıldığından aktif bölgelerinin *Candida cylindracea*'ya göre daha dar olduğu belirlenmiştir. Bu tür lipazlar büyük substratlarla etkileşimde başarısızdırlar fakat substrattaki çok küçük dallanmalarla çok yüksek seçiciliğe ulaşmışlardır. Sekonder alkollerin "R" esterlerinin hidrolizi için stereokimyasal olarak tercih edilmektedirler.

**Mucor türü lipazlar:** *Mucor miehei*, *Mucor javanicus* son zamanlarda biyotransformasyon için yaygın olarak kullanılmaktadırlar. Bu enzimlerin katalizlediği substratın yapısı ve hidrolitik seçicilikleri dikkate alındığında *Pseudomonas* türü

lipazlara benzemektedirler. Bu tür lipazların aktif bölgelerinin üç boyutlu yapısında da “Asp-His-Ser” üçlününün (triad) bulunduğu tespit edilmiştir.

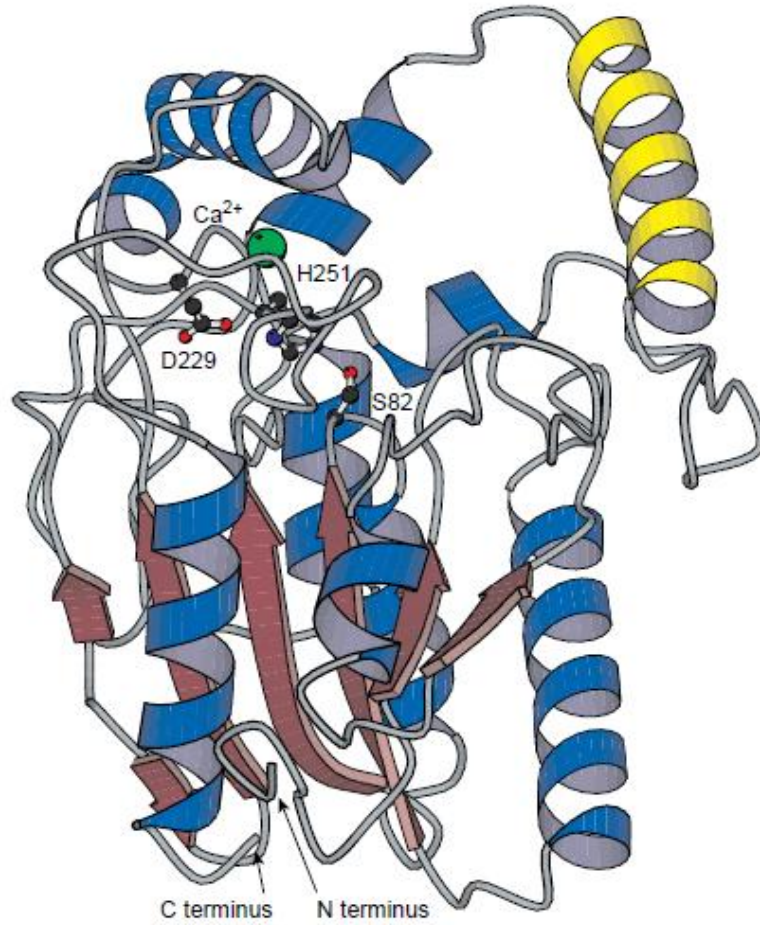
**Porcine Pancreatic Lipaz (PPL):** ucuz olduğu için yaygın olarak kullanılan bir enzimdir. Saf olarak izole edilmeyen karışımları doğru PPL'nin yanında birçok hidrolaz enzimi içerir. Safsızlık olarak nitelendirilen hidrolazların başlıcaları; kolesterolesteraz, fosfo lipazlar, karboksipeptidaz B ve diğer bilinmeyen hadrolazlardır. PPL enzimi primer alkollerin esterlerinin hidrolizinde kullanılmaktadır.

#### 4.5.1 Lipazların 3 boyutlu yapısı ve lipolizin mekanizması

1990'da insan pankreatik lipazının ve *Rhizomucor miehei* den fungal lipazın 3 boyutlu yapısı aydınlatılmıştır. Daha sonra, 11 lipazın yapısı çözülmüştür. Bunlardan pankreatik lipaz hariç hepsi mikrobiyel kökenlidir. Bu enzimlerin moleküler ağırlıkları 19-60 kDa arasındadır ve  $\alpha$ \-hidrolaz katlanmaları yaparlar. Lipazın merkezi, 8 farklı  $\beta$  ipliğinden ( $\beta$ 1- $\beta$ 8) oluşan merkezî bir  $\beta$  katmanından ve bunlara bağlı 6  $\alpha$  heliksinden (A-F) oluşur. Aktif bölge ise, serin, aspartik (veya glutamik) asit ve histidin amino asitlerinden oluşan bir katalitik triad tarafından şekillendirilir. Nükleofilik Ser amino asiti,  $\beta$ 5 ipliğinin C-terminal ucunda yer alır ve “nükleofilik dirsek” denilen karakteristik  $\beta$ -dönüşlü- $\alpha$  motifini şekillendirir. Substrat hidrolizi, katalitik bölgenin nükleofilik saldırısı ile başlar. Bir alkol serbest kalır, bir açıl-lipaz kompleksinin arkasından ayrılır ve sonuçta yağ asitinin serbest kalmasıyla hidroliz gerçekleşir. Lipolitik reaksiyonlar lipit-su yüzeyleri arasında gerçekleşir ki bunun kinetiği Michaelis-Menten eşitliği ile izah edilemez. Çünkü bu eşitlik sadece tek bir homojen fazda gerçekleşen katalitik reaksiyonlar için geçerlidir. Lipolitik substratlar genellikle, monomerik, miselli ve emülsiyonlu durumlar arasında bir denge formu oluştururlar. Lipolitik reaksiyonların kinetik çalışmaları “yüzeyler arası aktivasyon” olarak adlandırılır ve bir emülsiyonu şekillendiren çözünmeyen substratlar üzerine lipazların aktivitesini tanımlar. Esterazların aksine lipazlar, emülsiyonlu substratlar üzerinde aktivite gösteren karboksilesterazlar olarak tarif edilirler [11].

Üç boyutlu yapıları yüzeyler arası aktivasyonu güzel bir şekilde açıklar. Lipazların aktif bölgesi, kapak veya kanat denilen bir yüzey ilmiği tarafından kaplanır. Yüzeyler arasına bağlanıldığında bu kapak açılır, enzimin “kapalı” formu “açık” form haline gelir, aktif

bölge çözücüye erişebilir duruma gelir. Aynı zamanda, lipazın yüzeyler arasına bağlanmasını kolaylaştıran büyük bir hidrofobik yüzey oluşur. Yüzeyler arası aktivasyon için bu kapak modeli şart değildir. *Pseudomonas aeruginosa*, *B.glumae*, *Candida antarctica* B, ve pankreatik lipaz enzimleri yüzeyler arası aktivasyon göstermezler. Ancak, aktif bölgelerini kaplayan amfililik (çift yönlü) bir kapak vardır. Bu da şunu göstermektedir ki, bir enzimi lipaz olarak sınıflandırmak için, kapak oluşumu ve yüzeyler arası aktivasyon uygun bir kriter değildir. Kısacası, lipaz uzun zincirli açilgliserollerin hidrolizini katalizleyen bir karboksilesterazdır [11].



Şekil 4.6 *Pseudomonas aeruginosa*'dan lipazın yapısı.  $\beta$  ipliği koyu kırmızı oklarla gösterilmiştir,  $\alpha$  heliksleri mavi ve sarı sarmallar şeklindedir. Sarı heliks aktif bölgenin üzerinde bir "kapak" şekillendirebilir. Aktif bölge amino asitleri Ser82, Asp229, His251 işaretlenmiş ve  $\text{Ca}^{+2}$  iyonunun olası pozisyonu yeşil yuvarlak şeklinde gösterilmiştir [11]

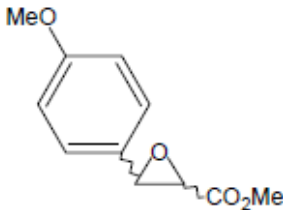
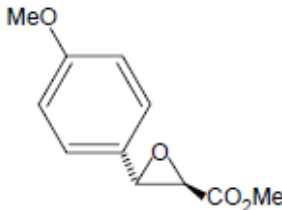
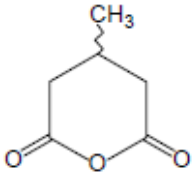
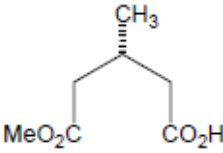
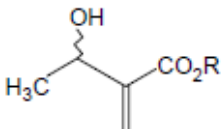
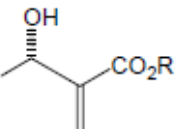

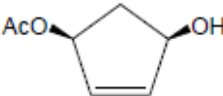
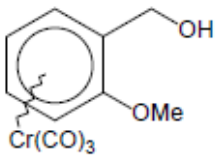
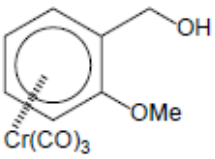
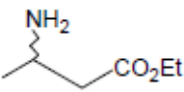
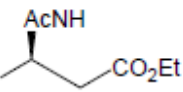
#### 4.5.2 Lipazların organik sentezlerdeki uygulamaları

Uzun zamandır kemo-, regio- ve stereoseçimli transformasyonlarda kullanılan lipazlar organik kimyada katalizör olarak da kullanılmaktadır ve bunların büyük çoğunluğu mikrobiyal kökenlidir. Lipazların endüstrideki enantiyoseçimli sentezlerde katalizör olarak kullanılması bu alandaki en heyecan verici gelişmedir. Enantiyoseçimli organik dönüşümlerde lipaz katalizörlerinin iki temel kullanımı söz konusudur:

1- Prokiral substratların reaksiyonu ve

2- Rasematların kinetik resolusyonu [11].

Geleneksel olarak, prokiral veya kiral alkoller ve karboksilik asit esterleri substratların iki ana sınıfı olarak kullanılırken, zamanla bu bileşik aralığı, diolleri içeren,  $\alpha$ -ve  $\beta$ -hidroksi asitler, siyanohidrinler, klorohidrinler, diesterler, laktonlar, aminler, daiminler, amino-alkoller ve  $\alpha$ -ve  $\beta$ -amino asit türevlerine genişlemiştir (Şekil 4.7). Enantiyoseçimli lipaz katalizörleri, bakterilerden *P.aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens* ve diğer *Pseudomonas* türleri ile *B.cepacia*, *C.viscosum*, *Bacillus subtilis*, *Achromobacter* sp. *Alcaligenes* sp. ve *Serratia marcescens*, ve mantarlardan *C.antartctica* B, *C.rugosa* lipazlarından hazırlanmaktadır [11].

Substrate	Source	Product	Yield	%ee
	<i>Serratia marcescens</i>		45%	>98%
	<i>Pseudomonas</i> sp.		92%	87%
	<i>Pseudomonas</i> sp.		41%	>95%
	<i>Candida antarctica</i>		48%	>99%
	<i>Pseudomonas</i> sp.		47%	97%
	<i>Candida antarctica</i>		38%	95%

Şekil 4.7 Lipaz-katalizli enantiyoseçimli reaksiyon örnekleri [11]

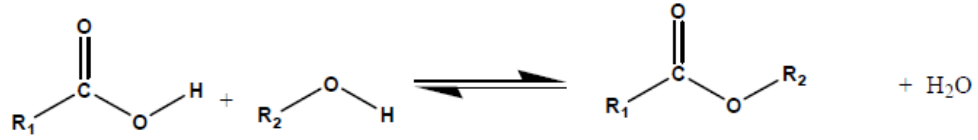
Lipazlar, hidroliz, esterleşme ve transesterleşme tepkimelerini katalizlerler (Şekil 4.8). Transesterleşme tepkimeleri, esterdeki açıl grubu değişimi, bir asit ile yapılıyorsa asidoliziz, alkol kullanılıyorsa alkoliziz, bir başka ester kullanılıyorsa interesterleşme ve bir amin kullanılıyorsa aminoliziz adını almaktadır [20].



### 1. Hidroliz



### 2. Esterleşme



### 3. Transesterleşme

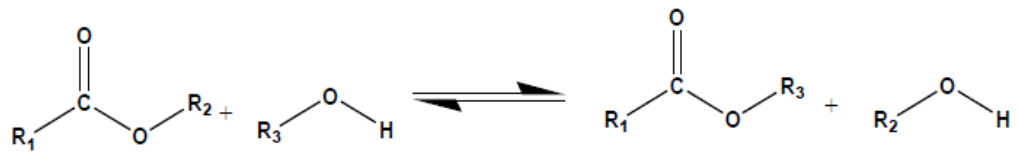
#### A. Asidoliziz



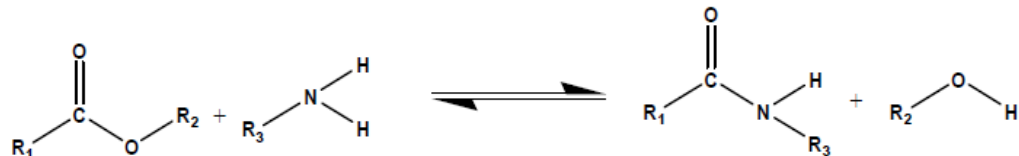
#### B. İnteresterleşme



#### C. Alkoliz



#### D. Aminoliziz

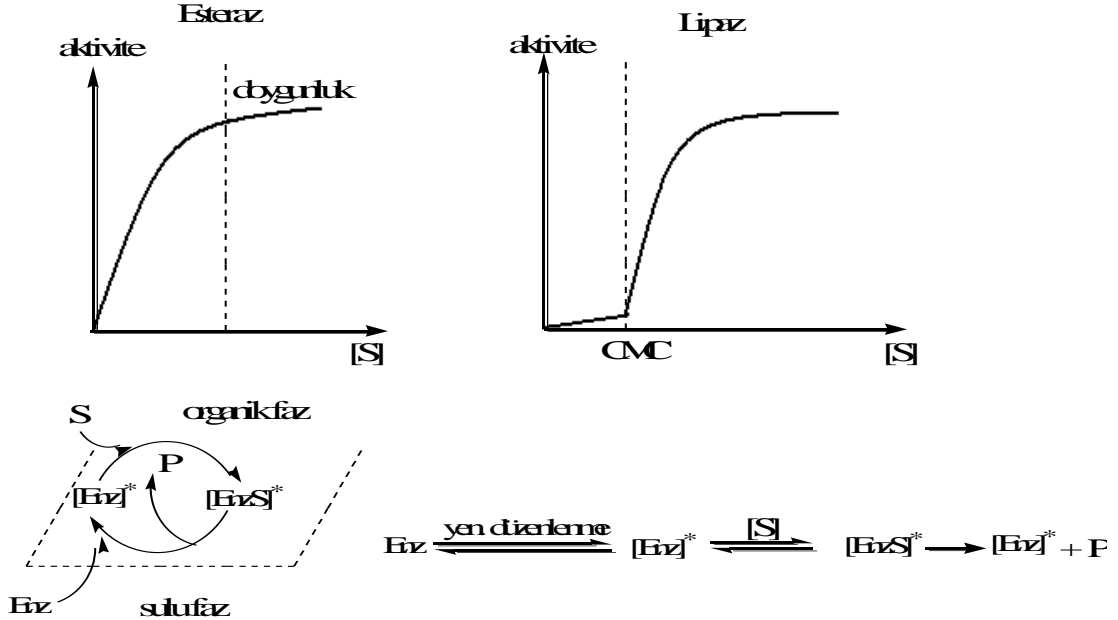


Şekil 4.8 Lipaz enziminin katalizlediği reaksiyonlar

#### 4.5.3 Lipaz enziminin aktivitesi

Lipazlar yüzey aktif enzimler olup sadece uzun zincirli yağ asitlerinin ve suyun temas yüzeyine bağlanmasıyla aktiflik kazanırlar. Bu, lipazı esteraz enziminden ayıran en önemli özelliktir. Lipazlar bu özellikleriyle diğer enzimlerin gösterdikleri “Michealis-Menten” aktivitesini göstermezler [11].

Substrat konsantrasyonunun artışıyla birlikte, esteraz enziminin aktivasyonunda da keskin bir artış gözlenmektedir. Lipazlar ise kritik konsantrasyonun (CMC: critical micellar concentration) altındaki değerlerde hiçbir aktivite göstermezler. CMC noktasının üstündeki değerlerde substrat konsantrasyonunun artışıyla beraber enzimin aktivitesinde de keskin bir yükseliş gözlenir (Şekil 4.9). Su-yağ ortamının yokluğunda lipazın aktif bölgesi kısa bir  $\alpha$ -heliks zinciri tarafından kapatılır ve inaktif durumda bulunur. Su-yağ ortamı oluştuğunda enzim yüzeyinin su ve yağ ile etkileşmesiyle enzimin aktif bölgesini kapatan  $\alpha$ -heliks kapağı geri katlanarak aktif bölge açılır. Bu yeniden düzenlenmeyle enzim aktif hale gelir. Bu nedenle lipaz katalizli hidroliz reaksiyonları bifazik ortamlarda gerçekleştirilir.



Şekil 4.9 Lipaz ve esteraz aktivite grafiği

Enzim reaksiyonunun hızı, oluşan yüzey alanına bağlıdır. Lipazlar yağ asitlerinin zincir uzunluğu, doyma derecesi, yağ asidinin pozisyonu ve substratın fiziksel durumuna

uygun spesifiklik gösterirler. 4-10 karbon (C) atomlu yağ asitleri daha uzun karbon (C) zincirli yağ asitlerinden daha hızlı bir şekilde hidroliz olarak yağın yapısından ayrılır ve serbest hale geçerler [21].

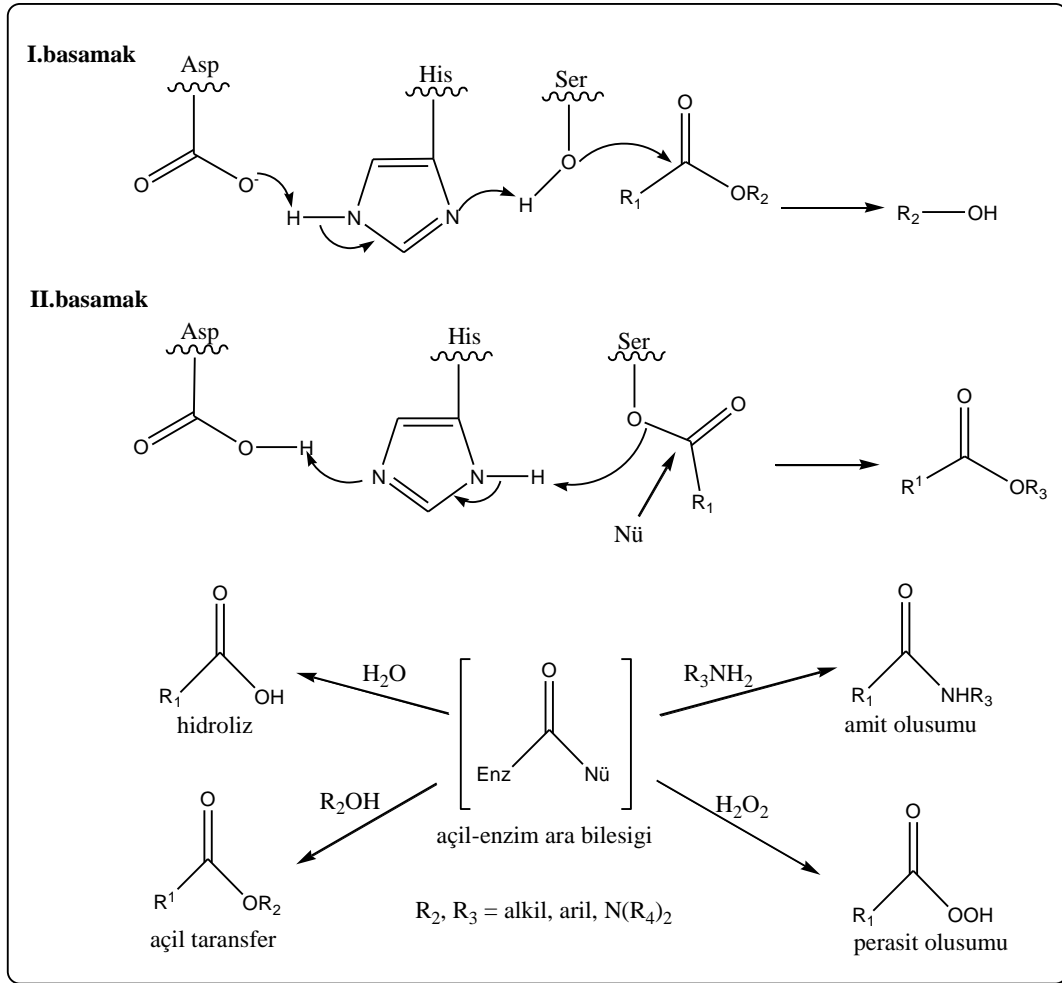
## **4.6 Biyokatalitik uygulamalar**

### **4.6.1 Hidrolitik reaksiyonlar**

Enzim katalizli reaksiyonların hepsinde hidrolitik transformasyonlardaki amid ve ester bağlarının oluşumu proteaz, esteraz veya lipaz kullanımı ile çok daha kolaydır.

Son yıllarda organik kimyacılar tarafından en çok tercih edilen enzim sınıfı hidrolazlardır. Özellikle düşük su konsantrasyonlu çözücü sistemlerinde enzimlerin kullanımı iyi bilinmektedir [18].

Amid ve ester hidrolizini yapan enzimlerin mekanizması baz katalizli kimyasal hidrolize çok benzerdir. Enzimin aktif bölgesinden nükleofilik bir grup ester veya amidin karbonil grubuna saldırır. Bu nükleofilik kimyasal operatör serinin (örneğin domuz karaciğer esteraz, subtilisin veya mikrobiyal lipazların çoğu) hidroksi grubu veya aspartik asidin (örneğin pepsin) bir karboksil grubu veya bir sisteinin (örneğin papain) tiyol fonksiyonu olabilir [18]. Bu mekanizma serin hidrolazında detaylı gösterilmiştir (Şekil 4.9).



Şekil 4.10 Serin hidrolaz mekanizması

İki katılma grubu (Asp ve his) katalitik triad olarak adlandırılan aktif bölgede serin ile birlikte yer alır. Bu üç grubun özel düzenlenmesi, serin hidroksi grubunun pK değerindeki azalma ile sonuçlanır. Böylece  $R_1-CO-OR_2$ 'nin karbonil grubu üzerinde nükleofilik bir saldırı gerçekleşir (I. Basamak). Substratın açıl grubu enzime kovalent bir şekilde bağlanır, açıl-enzim ara ürünü,  $R_2-OH$  grubunun ayrılmasıyla oluşur. Sonra bir nükleofil (Nu) genellikle su, açıl-enzim ara ürününe hücum eder, enzim tekrar oluşur ve bir karboksilik asit ( $R_1-CO-OH$ ) açığa çıkar (II. Basamak) (Şekil 4.9). Enzim düşük su aktivitesinin çevresinde iş görürken, diğer nükleofil, açıl-enzim ara ürünü için su ile rekabete girebilir, böylece birçok transformasyonun oluşması sağlanır [18].

#### 4.7 Organik çözücülerde enzimler

Su organik bileşikler için zayıf bir çözücüdür. Yüksek kaynama noktasına ve yüksek buharlaşma ısısına sahip olması bir dezavantajdır. Hidroliz, rasemizasyon, polimerizasyon ve dekompozisyon gibi istenmeyen yan reaksiyonlar sulu ortamda sık sık ortaya çıkar. Organik sentezlerde organik çözücülerin kullanımı ortaya çıkan bu problemlerin çoğunu önler. Enzimler suda çok daha aktiftirler fakat ilaç endüstrisinde ve organik kimyada kullanılan maddelerin özelliklerinden dolayı birçok reaksiyon organik çözücü içinde yapılır. Enzimlerin protein yapısında olmalarından dolayı organik çözücüler, enzimlerin katalitik güçlerine zarar verebilir. Bazı organik çözücülerde enzimler katalitik olarak aktif kalabilirler [18].

Enzimler kovalent olmayan etkileşimlerin büyük çoğunluğu için suya bağımlıdır. Su, katalitik olarak aktif konformasyonun sürdürülmesine yardımcı olmakla beraber denatürasyona sebep olan reaksiyonların çoğuna da katılır. Bu nedenle, bazı durumlarda su bir organik çözücü ile enzimatik aktiviteyi destekleyemez [18].

Biyolojik sistemlerde bulunan su çeşitli kategorilere ayrılabilir. Suyun büyük çoğunluğu (> %98) gerçek çözücü olarak, geri kalan kısmı ise enzim yüzeyine sıkıca bağlanmış olarak bulunur (bağlı su). Bağlı su enzim yapısı için kritiktir [18].

Biyokatalitik transformasyonlar organik aracıda şu avantajları içerir:

- Apoler substratlar, artan çözünürlükleri sebebiyle daha yüksek oranlarda dönüştürülürler.
- Organik aracıda canlı hücrelerin iyi üreyememesi, mikrobiyal kontaminasyonu önleyici bir etki oluşturmaktadır. Bu özellikle endüstriyel ölçekli reaksiyonlar için önemlidir. Çünkü, sterilliğin sürdürülmesi ciddi bir problem olabilir.
- Lipofilik substratlar veya ürünlerin sebep olduğu enzim deaktivasyonu veya inhibisyonu, bunların organik aracıdaki çözünürlüklerinden dolayı en aza indirilir.
- Asit anhidritleri gibi grupların hidrolizi, kinon polimerizasyonu, siyanohidrin rasemizasyonu veya açıl göçü gibi yan reaksiyonlar suya bağımlıdır. Organik çözücüde, bu istenmeyen reaksiyonların büyük bir kısmı önlenir.

- Enzimlerin immobilizasyonu çoğunlukla gereksizdir. Çünkü organik çözücülerde çözünürlüğü olmamalarından dolayı reaksiyondan sonra basit filtrasyon yolu ile geri kazanılabilirler.
- Enzimlerin denatürasyonuna yol açan reaksiyonlar suya ihtiyaç duyar; enzimler düşük su içerikli ortamlarda daha kararlı olabilir.
- Termodinamik dengeyi, hidroliz lehine değiştirmesinin mümkün olması en önemli avantajdır [18].

Lipaz ve proteaz başta olmak üzere hidrolaz enzimlerinin kullanımı ile ester, poliester, lakton, amid ve peptidler kemo-, regio-, ve enantiyoseçici olarak sentezlenebilirler [18].

Organik aracı içeren enzim katalizli reaksiyonlarda yaygın olarak kullanılan çözücü sistemleri 3 farklı kategoriye ayrılabilir:

1. Monofazik bir sulu-organik çözücüde çözünen enzimler
2. Bifazik sulu-organik çözücülerde çözünen enzimler
3. Monofazik bir organik çözücüde süspansiyon olarak kalabilen enzimler [18].

#### **4.7.1 Lipaz enziminin organik çözücülerdeki uygulanabilirliği**

Lipazların en iyi avantajlarından biri de organik çözücülerde de aktivite göstermeleridir. Lipazın bu avantajı sulu ortamda çözünmeyen bileşiklere uygulanmasını sağlamıştır. Enzimler genellikle ince bir su tabakasıyla (hidrat kabuğu) kaplıdır. Hidrat kabuğu sayesinde lipazlar organik çözücülerde kararlılığını koruyarak aktivitesini yitirmezler. Örneğin, "Parain Pankreatik" lipazı toluen ya da dekanol içerisinde 100°C'de birkaç saat kararlı kalabilir. Lipaz katalizli reaksiyonlar organik çözücü içinde yapılacaksa enzimin aktivitesi için çözücü seçimi çok önemlidir. Seçilen organik çözücü enzimin hidrat kabuğuna zarar vermemelidir. Bu nedenle lipaz enzimi için en çok kullanılan organik çözücüler; benzen, toluen, n-hekzan, siklohekzan, heptan, oktan, izo-oktan, nonan, petrol eteri, triasetin, karbontetraklorür, kloroform ve etil asetatdır. Organik çözücü kullanımı, reaksiyon tamamlandıktan sonra filtrasyonla enzimin geri kazanılıp tekrar kullanılmasına imkân vermektedir.

#### 4.7.2 Monofazik bir organik çözeltilerde süspansiyon enzimler

Suda çözünmeyen organik çözücüler monofazik bir organik çözeltilerde katı enzimin süspansiyonuna sebep olur. Makroskopik olarak biyokatalizörün kuru görünmesine karşın katalitik olarak aktif kalması için suyla bağlı olması gerekir. Bu tür sistemlerin güvenilirliği fazladır ve kullanımı kolaydır [18].

pH'nın reaksiyon ortamına etkisi önemlidir. Organik çözücülerde, bir başka sulu fazın olmayışı durumlarında pH kolayca ölçülemez. pH'nın bir fonksiyonu olan iyonlaşma durumu, enzimin konformasyonunu, aktivitesini ve seçiciliğini sınırlar [18].

Yüksek enzim aktivitesi ile organik bir çözücünün uygunluğunun bir ölçüsünü oluşturmak için bir çözücünün hidrofobikliği genellikle çözücünün 1-oktanol ve su arasındaki bölme katsayısının logaritması ( $\log P$ ) olarak hesaplanır (Çizelge 4.3) [18].

Çizelge 4.2 Çözücülerin enzimatik aktivite ile uygunluğu

Log P	Suyla Karışabilirliği	Enzim Aktivitesine Etkisi
-2,5 – 0	Tamamen karışır	Enzimi deaktif etmeden %20-50 oranında çözünebilir lipofilik substratlar kullanılabilir
0 – 2	Kısmen karışır	Enzimin hızlı deaktifleşmesine bağlı olarak sınırlı kullanılabilir
2 – 4	Düşük oranda karışır	Enzim bozulmasına neden olabilir, bazı durumlarda dikkatle kullanılabilir
>4	Karışmaz	Enzim bozulmasına neden olmaz, yüksek aktivite sağlar

Çizelge 4.3 Yaygın kullanılan organik çözücülerin Log P değerleri

<u>Çözücü</u>	<u>Log P</u>	<u>Çözücü</u>	<u>Log P</u>
Dimetilsülfoksit	-1,3	Pentil asetat	2,2
N,N-dimetilformamit	-1,0	Toluen	2,5
Etanol	-0,24	Dibütil eter	2,9
Aseton	-0,23	Karbon tetraklorid	3,0
Tetrahidrofuran	0,49	Sikloheksan	3,2
Etil asetat	0,68	Hekzan	3,5
Propil asetat	1,2	Oktan	4,5
Bütil asetat	1,7	Dodecan	6,6
Kloroform	2,0		

Suda çözünen hidrofilik çözücülerden DMSO, DMF, aseton ve düşük molekül ağırlıklı alkoller genellikle uygun değildirler (Çizelge 4.3). Suda çözünmeyen alkan, eter, aromatik ve haloalkanlar gibi lipofilik çözücüler ise bir enzimin yüksek katalitik aktivitesini korurlar. Bunu sağlamak için çözücüler, kuru bir enzim ile temas etmeden önce su ile muamele edilmelidirler [18].

Az miktarda su içeren organik ortamda kuru (katı) enzimlerin uygulanmasında takip edilen temel kurallar aşağıdaki gibidir:

- Hidrofobik çözücüler hidrofilik olanlardan daha uygundur (log P, 3 veya 4'ten daha büyük olmalı).
- Enzime bağlı su tabakası sürdürülmelidir, bu da suyla doyurulmuş organik çözücülerin kullanımı ile başarılır.
- Mikro-pH, sudaki enzimin optimum pH'sı olmalıdır. Bunun için enzim, uygun pH'da sulu bir çözücünden izole edilir.
- Çalkalamak, sallamak veya sonikasyon katalizörlerin yüzeyine substratın difüzyonunu artırmak için gereklidir.



-Polialkoller (karbohidratlar, şeker alkolleri, gliserol), inaktif proteinler (bovin serum albümini), polimerler (polietilen glikol, polivinil alkol) veya tuzların (KCl) katılması ile enzimin kararlılığı geliştirilir [18].

Organik çözücülerdeki enzimler ester, lakton, amid ve peptidlerin sentezinde yaygın olarak kullanılır.

#### **4.8 Enzimlerin avantaj ve dezavantajları**

Biyokatalizör olarak adlandırılan enzimlerin çeşitli avantaj ve dezavantajları vardır.

##### **4.8.1 Enzimlerin avantajları**

Enzimler çok verimli katalizörlerdir. Enzim aracılı işlemler enzimatik olmayan reaksiyonlara göre  $10^8$  -  $10^{10}$  kat daha hızlıdır. Hızlandırma oranının  $10^{12}$  değerini aştığı durumlar da olabilir. Genellikle kimyasal katalizörler 0,1 -1 % mol kesri konsantrasyonunda çalışır, oysa enzimatik reaksiyonların çoğu  $10^{-3}$  –  $10^{-4}$  % mol kesri konsantrasyonunda çalışırlar.

Enzimlerin kendi doğal çevrelerinde çalıştığı kabul edilebilir. Ağır metal katalizörlerinden farklı olarak bu biyokatalizörler çevre dostudur [18].

Enzimler ılımlı reaksiyon koşulları altında çalışır. Fonksiyonları pH 5-8 ve 20 – 40°C aralığındadır, optimum pH=7dir ve tercih edilen sıcaklık ise 30°C' dir. Ilıman reaksiyon koşulları, reaksiyonlarda ortaya çıkabilecek olan dekompozisyon, izomerizasyon, rasemizasyon ve yeniden düzenlenme gibi istenilmeyen yan reaksiyonları azaltır [18].

Enzimler yüksek bir substrat toleransı gösterirler. Organik çözücülerdeki düşük aktivitelere rağmen, birçok avantajları vardır. Bazı durumlarda sulu ortam organik çözücü ile değiştirilebilir [18].

Enzimler reaksiyonların geniş bir spektrumunu katalizler. Bütün katalizörler gibi enzimler sadece bir reaksiyonu hızlandırır, fakat reaksiyonun termodinamik dengesinin pozisyonu üzerinde etkileri yoktur. Böylece prensipte bazı enzim katalizli reaksiyonlar her iki yönde gerçekleşir. Her çeşit organik reaksiyona denk enzim katalizli işlem vardır. Örneğin

- Ester, amid, lakton, laktam, eter, asit anhidrit, epoksit ve nitril sentezi / hidrolizi
- Alkan, alken, aromatikler, alkol, aldehit ve keton, sülfid ve sülfoksit oksidasyon / redüksiyonu
- Su, amonyum, hidrojensiyamid katılma / eliminasyonu
- Halojenasyon / dehalojenasyon, alkilasyon / dealkilasyon, izomerizasyon, açiloin ve indol reaksiyonları [18].

Bazı biyokatalizörler organik kimyada imkânsız gibi görünen, organik molekülde aktif olmayan fonksiyonel grupların seçici fonksiyonelleşmesi gibi reaksiyonları gerçekleştirirler. Enzimler başlıca 3 tip büyük seçicilik gösterir: kemo-, regio- ve diastereo- seçicilik. Buna ek olarak enantiyoseçicilik de gösterirler [18].

Kompleks 3 boyutlu yapıları sebebiyle enzimler aynı substratın farklı bölgelerindeki fonksiyonel grupları birbirinden ayırabilirler.

Enzimler L-aminoasitlerden oluşan kiral katalizörlerdir. Sonuçta substrattaki her tip kiralite enzim-substrat kompleksi oluşumunu tanır. Böylece bir prokiral substrat optikçe aktif ürüne dönüşebilir ve rasemik bir substratın her iki enantiyomeri kinetik resolüsyon ile farklı oranlarda oluşturulabilir.

#### **4.8.2 Enzimlerin dezavantajları**

Enzimlerin doğal olarak sadece tek bir enantiyomerik formdan (L-aminoasitlerinden) oluşması dezavantajlarından biridir.

Enzimler dar bir pH ve sıcaklık aralığında çalışırlar. İlimli reaksiyon koşulları altında çalışmalarının avantajı bazen bir engele dönüşebilir. Eğer bir reaksiyon sadece verilen sıcaklık veya pH parametreleri altında yavaşça ilerliyorsa, değişiklik için sadece dar bir alan vardır. Aşırı pH değerleri, yüksek tuz konsantrasyonu veya sıcaklığın yükseltilmesi proteinlerin deaktivasyonuna neden olur. Enzimatik transformasyonların sınırlı kullanımı ile seçiciliği artırmak için organik sentezlerde reaksiyon sıcaklığını düşürmek kullanılan yaygın bir tekniktir. Dar sıcaklık aralığı enzim çalışmasında normalde radikal değişikliklere izin vermez. [18].

Enzimler suda en yüksek katalitik aktivitelerini gösterirler. Fakat yüksek kaynama noktası ve yüksek buharlaşma ısıları yüzünden su genellikle organik reaksiyonlar için en az kullanılan çözücüdür. Ayrıca organik bileşiklerin büyük çoğunluğu sadece sulu ortamda çok az çözünür. Sulu ortamdaki organik çözücü daha çok tercih edilir. Fakat bu da aktivasyon kayıplarına neden olabilmektedir [18].

Enzimler inhibisyon gösterebilirler. Birçok enzimatik reaksiyon substrat veya ürün inhibisyonuna eğilimlidir. Bunların daha yüksek substrat veya ürün konsantrasyonunda çalışması enzimlerin inhibisyonuna neden olur. Bu da, verimliliği sınırlayan bir faktördür. Substrat inhibisyonu, düşük bir seviyede substratın devamlı eklenmesi yoluyla kolayca aşılabilmektedir [18].

#### **4.9 İzole enzimler ve tek hücre enzim sistemleri**

Biyotransformasyonda kullanılan biyokatalizörlerin fiziksel durumu çeşitli olabilir. Saflaştırılarak izole edilmiş tek bir enzim veya mikroorganizmanın tamamındaki enzimlerin serbest veya immobilize edilmiş formu kullanılabilir. Bunlar birçok faktöre bağlıdır:

- Reaksiyon tipi
- Varsa biyokatalizörlerin geri dönüşümlü olması
- Biyotransformasyonun iş gördüğü skala

Bu durumların genel avantaj ve dezavantajları ana hatlarıyla Çizelge 4.4'de belirtilmiştir.

Çizelge 4.4 İzole enzimlerin ve tek hücre sistemlerinin avantaj ve dezavantajları [18]

Sistem	Formu	Avantajı	Dezavantajı
İzole enzim	Tümü	Basit cihaz, basit work-up, yüksek konsantrasyon toleransı sebebiyle daha iyi verimlilik	Kofaktör geri dönüşümü gerekli
	Çözünmüş	Yüksek enzim aktiviteleri	Yan reaksiyonlar mümkün, çözünmeyen lipofilik substratlar, work-up ta ekstraksiyon gerekli
	Organik çözücülerde süspansiyon	Kolay iş yapma, kolay work-up, çözünen lipofilik substratlar, enzim geri dönüşümü kolay	Düşük aktivite
	İmmobilize	Enzimin tekrar kazanılması kolay	İmmobilizasyon sırasında sık sık aktivite kaybı
Tek hücreler	Tümü	Kofaktör geri dönüşümü yok	Pahalı ekipman, fazla hacim yüzünden zor work-up, düşük konsantrasyon yüzünden düşük verimlilik, organik çözücülerin düşük toleransı, kontrolsüz metabolizma yüzünden yan reaksiyonlar oluşur
	Büyüyen kültür	Yüksek aktivite	Büyük biyokütle, fazla yan-ürün
	Hareketsiz hücreler	Kolay work-up	Düşük aktivite
	İmmobilize hücreler	Hücrenin tekrar kullanılması mümkün	Düşük aktivite

### $\alpha$ -HİDROKSİ KETONLAR

Optikçe aktif  $\alpha$ -hidroksi karbonil bileşiklerinin, özellikle ketonların sentezi, biyolojik aktiviteye sahip bileşiklerin asimetric sentezinde yapı taşları olarak, yaygın olarak kullanıldıklarından, çok büyük önem arz etmektedirler [22]. Örneğin, optikçe aktif enolatların stereoseçici oksidasyonu, dikkat çekici bir çalışma olarak literatürde yer almıştır [23]. Sözü edilen bileşiklerin sentezi için hem kimyasal, hem de biyoteknolojik metotlar bulunmaktadır.

Son yıllarda,  $\text{MoO}_5 \cdot \text{Py} \cdot \text{HMPA}$  [24] ve  $\text{CrO}_2\text{Cl}_2$  [25] gibi ağır metal içeren oksidantlarla klasik metotlar tamamlanmıştır. Fakat bu tür maddelerin kullanımını, kuvvetli kirletici oldukları için, mümkün olduğu kadar en aza indirgenmeye çalışılmaktadır.

Rozen ve Bareket,  $\alpha$ -hidroksi ketonları sentezlemek için flor ve sulu asetonitrilden yapılan bir kompleks olan  $\text{HOF} \cdot \text{MeCN}$  kullanmışlardır [26].

Davis ve arkadaşları, (kamforsülfonil) oksaziridin kullanılarak ester ve amit lityum enolatların  $\alpha$ -hidroksi karbonil bileşiklerine asimetric oksidasyonunu gerçekleştirmişlerdir [27].

Masui ve arkadaşları, kiral faz transfer katalizörleri kullanarak, akiral ketonlardan  $\alpha$ -hidroksi ketonlar elde etmişlerdir [28].

Kimyasal metotlara alternatif olarak, optikçe aktif  $\alpha$ -hidroksi ketonlar enzimatik yollarla da hazırlanabilirler. Nakamura ve arkadaşları [29] 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 diğeri [30], lipaz kullanarak karşılık gelen asetatların hidrolizi ile  $\alpha$ -hidroksi aril ketonların enantioseçimli olarak sentezini yapmışlardır.

Adam ve çalışma arkadaşları [31] rasemik  $\alpha$ -hidroksi ketonların lipaz katalizörlüğünde, izopropenil asetat ve t-bütil metil eter kullanarak kinetik yarılmalarını başarmışlardır.

Demir ve çalışma arkadaşları, *Rhizopus oryzae* [32] ve çeşitli lipazları [33], [34] kullanarak  $\alpha$ -hidroksi ketonların enantioseçimli sentezlerini gerçekleştirmişlerdir.

### MANGAN (III) ASETATLI REAKSİYONLAR

Mangan çeşitli yükseltgenme basamaklarına sahiptir. Ancak +3 yükseltgenme basamağındaki bileşikler son derece kararsızdır. Bu nedenle, çok az sayıda kararlı bileşikler elde edilebilmiştir. Bunlardan biri de Mangan(III) asetatıdır. Mangan(III) iyonunun susuz ortamlarda iyi bir yükseltgen olarak kullanılması bu bileşiğin önemini arttırmaktadır [35].

Mangan(III) asetat, üçüncül radikalleri hızla katyonlara yükseltgemekte ve bu katyonlar da, ya bir proton kaybederek alken, ya da asetik asitle reaksiyona girerek asetat esterlerini vermektedir [36].

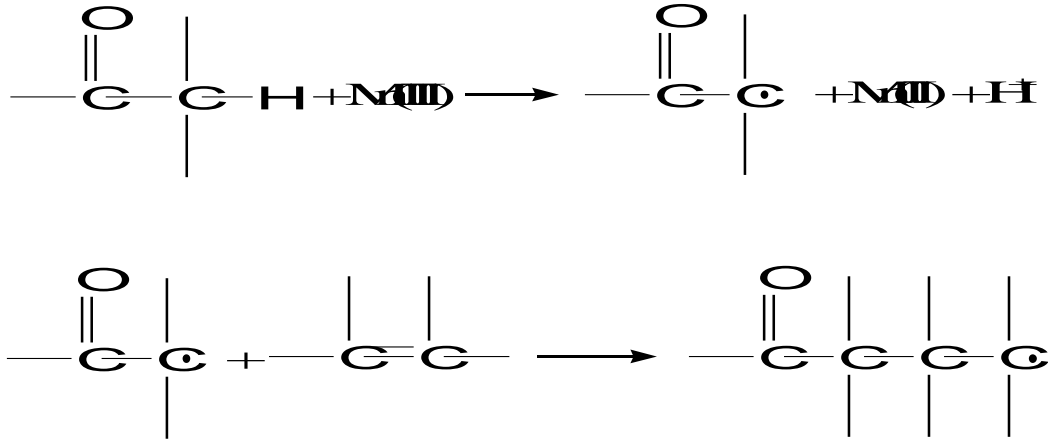
$\alpha,\beta$ -Doymamış ketonların asetoksillenmesi reaksiyonlarında Mangan(III) asetat yaygın olarak kullanılan bir maddedir.

Mangan(III) asetatlı oksidasyonlar genel olarak ikiye ayrılır;

Doğrudan Oksidasyon: Substratın, doğrudan iç veya dış tabakadan bir elektron oksidasyonudur. Bu oksidasyonla, çoğunlukla Mangan(III) kompleksi oluşumundan sonra, ara ürün radikalinin oksidasyonu ürün belirleyici olmaktadır. Alkollerin oksidasyonu, amino ve kükürtlü bileşiklerin, karboksilik asit ve bazı aromatik bileşiklerin oksidasyonu gibi bir çok örnek verilebilmektedir.

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 grubuyla birlikte  $\alpha$ -hidrojen atomu taşıyan bileşiklerin olefinik ve aromatik doymamış

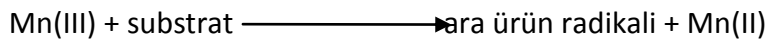
sistemlere katılma reaksiyonlarını sağlamaktadır. Ara ürün serbest radikali Mangan(III) asetatın moleküller arası etkileşimi ile oluşur. Substratın dolaylı oksidasyonu bu basamaktan sonra gerçekleşir (Şekil 6.1).



Şekil 6.1 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. Düşük reaktivite ve yüksek seçicilik açısından diğer yükseltgeyici maddelerle karşılaştırıldığında Mn(III) asetat daha iyi sonuç vermektedir.

Bu reaksiyonların çoğu aşağıda gösterildiği gibi ilerler.



Suyun varlığı, trivalent manganın Mn(IV) ve Mn(II)'ye oranının bozulmasına yol açar. Alternatif 2-elektron oksidasyonlar Mn(IV) tarafından meydana gelebilir.

### 6.1 Mangan (III) Asetatın Önemi

- Düşük toksisiteye sahiptir.
- Yüksek bölgesel seçiciliği vardır.
- Reaksiyon ılıman koşullarda gerçekleşir.



- Yüksek kimyasal verim sağlanmaktadır.

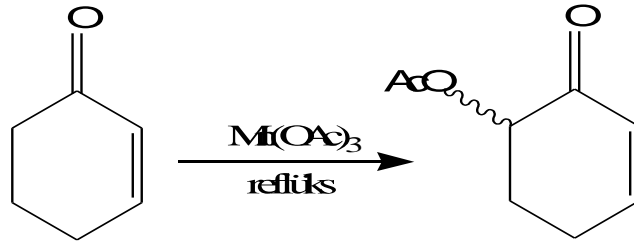
## 6.2 Mangan(III) asetat ortamında enonların asetoksillenmesi

Seçici  $\alpha,\beta$ -doymamış ketonların,  $\alpha'$ -asetoksillenmesi ilaç sektöründe ve kiral ligandların hazırlanması için bir anahtardır [37]. Kompleks doğal ürünlerin sentezinde genel fonksiyonel grupların merkez pozisyonlarında bulunan seçicilik oksidasyonu için bazı prosedürler geliştirilmiştir [34]. Enonların seçici olarak oksidasyonu için Kurşun(IV) asetat, MoOPH, TPPO, MCPBA ve Mn(III) asetat'ın kullanılması geniş bir uygulama alanına sahiptir [38], [39]. Williams ve Hunter [40],  $\alpha'$ -asetoksi enonların Mn(OAc)<sub>3</sub> ile oksidasyonunun Kurşun(IV) asetat ile oksidasyonuna kıyaslandığında daha yüksek bir verim ile ve daha ılımlı reaksiyon koşullarında gerçekleştiğini belirtmişlerdir. Watt ve çalışma arkadaşları [41] kurutulmuş Mn(OAc)<sub>3</sub> kullanmışlar ve bunun sonucunda verimin büyük oranda arttığını tespit etmişlerdir.

$\beta$ -alkoksi  $\alpha,\beta$ -doymamış ketonlar, antibiyotikler gibi çeşitli biyolojik aktif maddelerin sentezlenmesinde kullanılan çok değerli ara ürünlerdir [42].

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

Günümüzde  $\alpha'$ -asetoksi  $\alpha,\beta$ -doymamış ketonların sentezi için en çok kullanılan metotlardan biri Mn(OAc)<sub>3</sub> ile asetillemedir (Şekil 6.2).

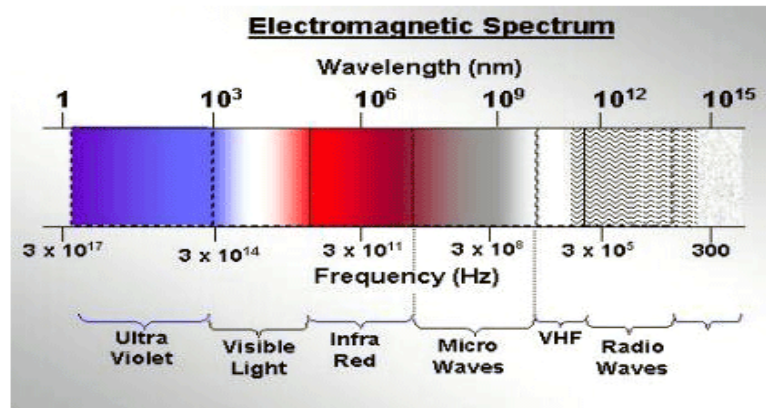


Şekil 6.2  $\alpha,\beta$ -Doymamış ketonların  $\alpha'$ -asetoksillenmesi

### MİKRODALGA DESTEKLİ REAKSİYONLAR

Mikrodalga, nükleer olmayan ve iyonize olmayan bir ışın şekli olup, TV ve FM radyo dalgaları gibi elektromanyetik dalgalar şeklinde yayılan enerjidir. Mikrodalgalar, maddenin içinden, ışığın renkli camdan geçtiği gibi geçerler. Bu nedenle maddede kalıcı etki bırakmazlar.

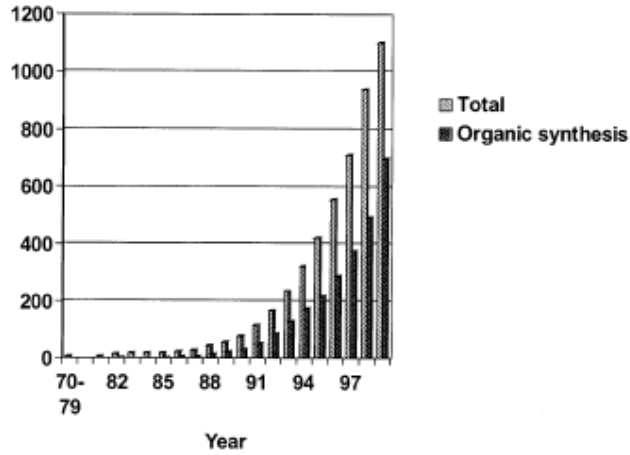
Mikrodalga radyasyon alanı, elektromanyetik spektrumda, kızılötesi radyasyonu ve radyo dalgaları arasında yer alır. Mikrodalga ışınması, 0,3 ve 300 GHz aralığındaki frekanslara karşılık gelen, 1mm-1m'lik dalga uzunluğuna sahiptir. Karışımı engellemek için, endüstriyel ve ev tipi mikrodalga cihazlarının dalga boyları 2,450(±0,050) GHz frekansa karşılık gelen, 12,2 cm'ye ayarlanmıştır [43].



Şekil 7.1 Elektromanyetik spektrumda mikrodalga radyasyon alanının yeri

Mikrodalga fırınlar, 50 yıldan fazla bir süredir yiyecekleri ısıtmak için kullanılmaktadır. 1970'lerde mikrodalga jeneratörü olan magnetronun geliştirilmesi ile daha da

yaygınlaşmıştır. Özellikle, 1990'ların ortalarından bu yana, mikrodalga reaksiyonları ile ilgili yapılan yayın sayısında ciddi bir artış olmuştur [43].



Şekil 7.2 Mikrodalga destekli reaksiyonlar ile ilgili yayınların yıllara göre artışı [43]

Kısa reaksiyon zamanı ve geniş kullanım alanı, mikrodalga reaksiyonlarının yaygınlaşmasına sebep olmuştur. Özellikle, ilaç endüstrisinde bu talep daha da yoğundur.

Mikrodalga destekli reaksiyon mekanizmaları iki şekilde açıklanabilmektedir;

#### 1. İki kutuplu polarizasyon mekanizması

İki kutuplu polarizasyon mekanizmasında olay, maddelerin dipol momentleri ile açıklanır. Mikrodalga ile ısıtmada, herhangi bir alan uygulamadan önce, maddede serbest halde bulunan elektronlar, alan uygulaması ile, düzenli bir yapıya geçip dipolleri oluştururlar. Bu dipol, dış elektrik alanlara duyarlıdır ve rotasyon ile kendini alanla uyumlaştırmaya çalışır. Alanın çok hızlı bir şekilde değiştirilmesi, düzenli bir hale geçen dipollerin bu alanı takip edememesine neden olur ve dolayısıyla ısınma olayı meydana gelir. Dipollerin ve alanın oryantasyonu arasında bir faz farkı meydana gelir. Bu faz farkı, dielektrik ısının yükselmesine neden olur. Bu mekanizma gazların neden mikrodalga ışıını altında ısınmadığını da açıklar [43]. Madde içinde bu dipoller her yerde bulunduğundan, ürün bir anda ısınmaya başlar. Bu olay ürün içinde gerçekleştiğinden, dış ortam, üründen ısının yayılması ile ısınır. Oluşan ısı, yaygın sistemin tersine, ürünün içinde daha sıcak olup dış yüzeyde gerek buharlaşma gerekse ısının ışıını nedeni ile daha ılıktır. İçerde sıcaklığın daha fazla oluşu, madde içindeki

basıncı arttırdığından, ürün içindeki nem, basıncın itmesi ile çok daha hızlı bir şekilde maddenin dış çeperine taşınır. Dolayısıyla yaygın sistemlerde olduğu gibi ürünün dış çeperini ürünün içi kurumadan kuruması mümkün değildir.



Şekil 7.3 Elektrik alanla uyumlaşmaya çalışan dipolar moleküller [43]

## 2.İletim mekanizması

İletkenlik mekanizması, ısı-üretim kapasitesi bakımından dipolar mekanizmaya göre daha güçlü bir etkileşimdir. İyon içeren bir çözeltide iyonlar, elektrik alanının etkisi altında çözelti boyunca hareket ederek, çarpışma nedeniyle kinetik enerjiyi ısıya dönüştürmektedirler. Bu nedenle son sıcaklık daha yüksek olmaktadır [43].



Şekil 7.4 Yüklü parçacıkların çözeltideki hareketleri [43]

Mikrodalga ışınımının kimyasal reaksiyonları hızlandırması, “spesifik mikrodalga etki” ile açıklanmaya çalışılmıştır. Bu etki, moleküler mobiliteye ve moleküler titreşim frekanslarına bağlıdır [43].

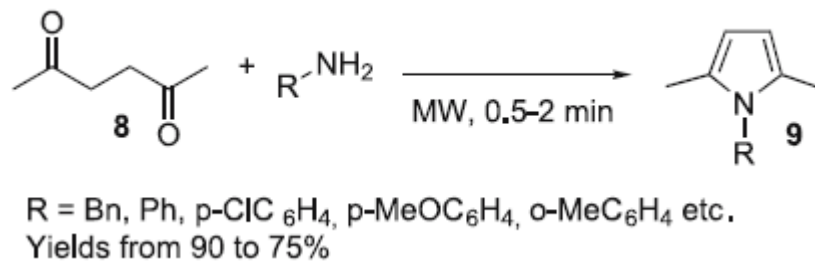
Bir maddeye mikrodalga uygulanabilmesi için maddenin dielektrik kaybına sahip olması gerekmektedir. Yani değişken bir elektromagnetik alan uygulandığında, madde içinde dipolar elektrik yüklerinin oluşması gerekmektedir. Su molekülleri kolaylıkla dipolar elektrik yükleri oluşturabildiğinden, su içeren her madde mikrodalga ile ısıtılmaya uygundur.

Genelde, birçok organik reaksiyonda, yağ banyoları, kum banyoları ve ısı ceketleri gibi geleneksel ısı transfer ekipmanları kullanılır. Bu ısı teknikleri oldukça yavaştır ve bir sıcaklık gradienti oluşturur. Ayrıca, lokal ısı artışı, ürün, substrat ve ayıraç bozulmasına neden olabilir.

Mikrodalga dielektrik ısıtmada ise sadece reaktantlar ve çözücü etkilenir. Eğer cihaz uygun bir şekilde tasarlanmışsa, sıcaklık artışı numune boyunca tek-düze olacaktır ve en az yan ürün veya bozunma ürünü oluşacaktır. Basınçla sıkıştırılmış sistemlerde ise, kullanılan çözücünün kaynama noktasındaki artış, hızlı olabilmektedir [43].

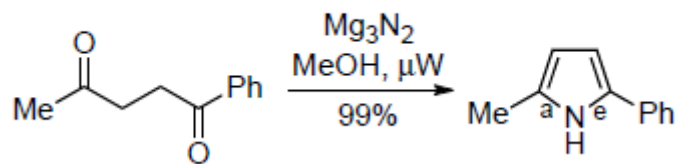
Bu tekniğin kullanımı ile önceki tüm geleneksel ısıtmalı reaksiyonların yapılabileceği düşünülebilir.

1999'da Danks ilk defa pirolerin sentezini ev tipi mikrodalga fırın ile yapmayı başarmıştır [44].



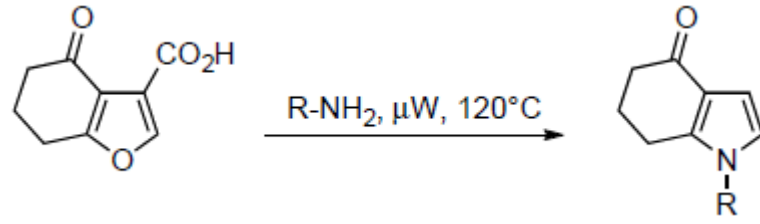
Şekil 7.5 Danks'in mikrodalga ile pirol sentezi [44]

Mikrodalga ışınımı ile Paal-Knorr siklokondensasyon reaksiyonları da yapılabilmektedir. Aşağıdaki gibi diketonun pirole dönüşümü %99'luk verimle sağlanmıştır [45].



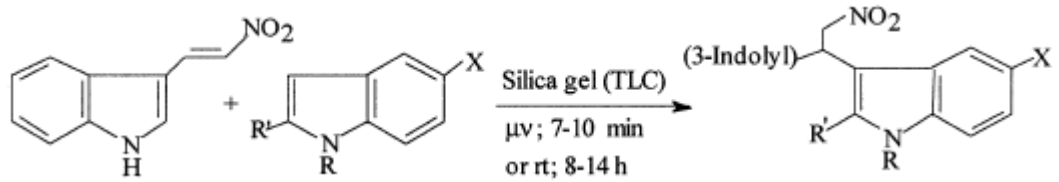
Şekil 7.6 Diketondan pirol sentezi [45]

Ayrıca seal tüpte 150°C ve 12 saatte olan furanların pirollere dönüşümü, mikrodalgada yüksek verimle ve birkaç dakikada gerçekleştirilmiştir [46].



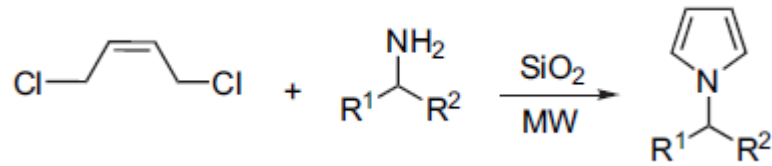
Şekil 7.7 Furandan pirol sentezi [46]

İndollerin, mikrodalga reaksiyonlarında silika jele adsorblanarak da elde edildiği gözlenmiştir [47]. Aynı ürün mikrodalgasız koşullarda 8-14 saatte ve %69-84 verimle sentezlenirken mikrodalgada 7-10 dakika, %70-86 verimle elde edilmiştir.



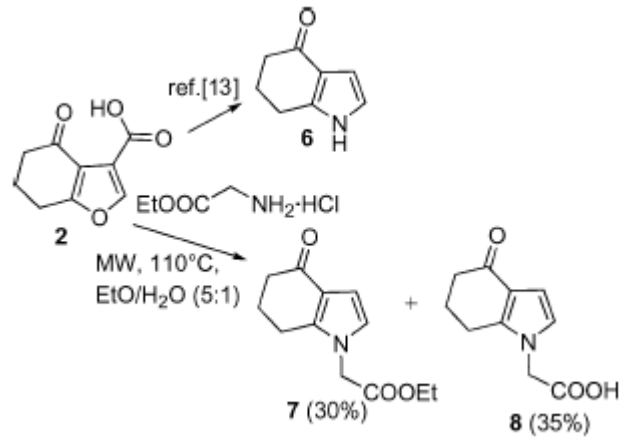
Şekil 7.8 Mikrodalgada indol sentezleri [47]

*N*-Substitue homokiral pirol türevleri yüksek verimde, kısa zamanda ve çözücü kullanılmadan mikrodalga ışıınımlı ile sentezlenmiştir [48].



Şekil 7.9 Mikrodalga irradyasyonu ile bazı pirolerin sentezleri [48]

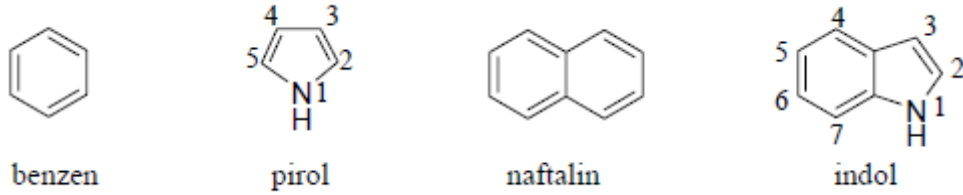
Bazı benzofuran türevlerinin indole dönüşümleri mikrodalga ışıınımlı altında kısa zamanda ve solusyon fazında gerçekleştirilmiştir [49].



Şekil 7.10 Mikrodalga ile benzofuran türevlerinden indol eldesi [49]

### İNDOL TÜREVLERİNİN ÖNEMİ

Heterohalkalı aromatik bileşiklerden biri olan indollerin oldukça önemli biyolojik aktiviteleri vardır. Benzen ve pirol halkalarının birleşimiyle oluşan indol, her ikisinden de farklı aromatik karakter göstermektedir. Yapısındaki azot atomu üzerindeki ortaklanmamış elektronlarının, halkadaki  $\pi$ -elektronlarına dahil olmasıyla indol, naftalin gibi 10  $\pi$ -elektronuna sahip aromatik özellik göstermektedir (Şekil 8.1). Biyolojik olarak aktif olan pek çok indol türevi bulunmaktadır [50].

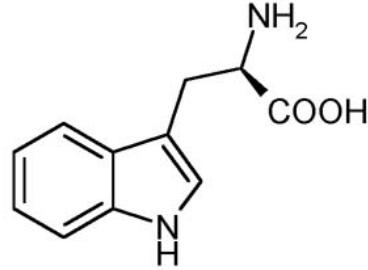


Şekil 8.1 Benzen, pirol, naftalin ve indol bileşiklerinin moleküler yapıları

İndol halkası taşıdığı terapötik özellik nedeniyle ilaç sanayinde oldukça önemlidir. İndol halkasının 3. konumu her zaman reaksiyonlara açık bir durumdadır. Bu konumun bir elektrofil ile yer değiştirmesi, benzenin aromatisasyonunu bozmadan kararlı bir ara ürün oluşmasını sağlar. İndol halkasındaki 2. ve 3. karbonlar arasında yer alan  $\pi$  bağı halka katılması reaksiyonlarına imkân sağlar. Molekül içi halka katılma reaksiyonları, moleküller arası halka katılma tepkimelerine göre daha kolay oluşmaktadır. İndol halkasının bu özelliklerinden faydalanılarak sentezlenen birçok bileşikte antioksidan aktivite gözlenmiştir [51].

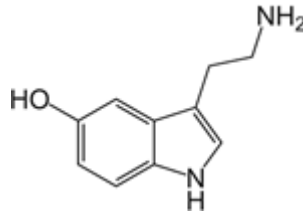


Birçok önemli doğal bileşimin yapısında bulunan indol halka sistemi, genellikle proteinlerin yapı taşlarından biri olan triptofan amino asidinin bir biyosentez ürünüdür. Protein bozunması sırasında indolün kendisi ve onun 3-metil türevi olan skatol oluşmaktadır [52].



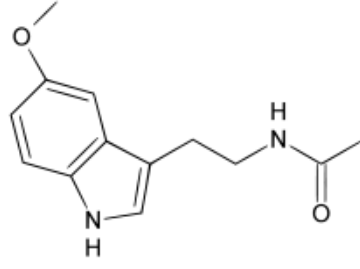
Şekil 8.2 Triptofan

Triptofanın dekarboksilasyonu triptamini verir. Bu iskelete sahip bileşikler beyin ve sinir sistemi üzerinde çok derin bir etkiye sahiptirler. Böyle bileşiklere, merkezi sinir sisteminde bir nörotransmitter ve vazokonstriktör olarak etkin olan serotonin (5-hidroksitriptamin) örnek olarak verilebilir [52].



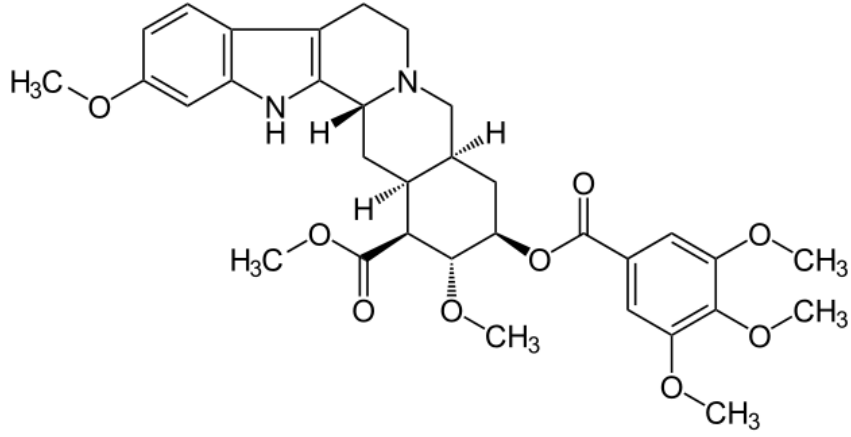
Şekil 8.3 Serotonin

İndol halkası içeren bir başka hormon da, epifiz bezinden salgılanan ve biyoritmi düzenleyen melatonindir. Çeşitli bitki ve hayvanlarda bulunan melatonin güçlü bir antioksidanttır. Bunun haricinde hormonun, kansere karşı koruyucu ve yaşlanmayı geciktirici etkileri de vardır.



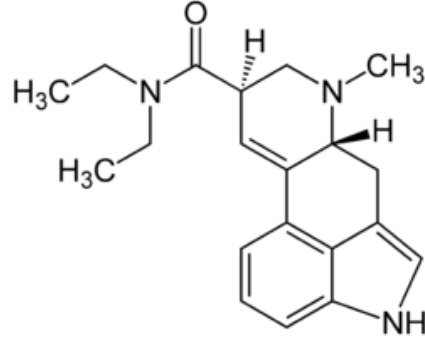
Şekil 8.4 Melatonin

Triptamin iskeleti kompleks moleküllerin yapısında bulunur. Reserpin, Himalaya’larda yabani olarak yetişen yılan kökü (*Ravwolfia serpentina*) adında bir bitkide bulunmakta olup, tıbbi olarak yüzyıllardan beri kullanılmaktadır. Reserpin kan basıncını düşürür. Şizofreni tedavisinde kullanılmaktadır [52].



Şekil 8.5 Reserpin

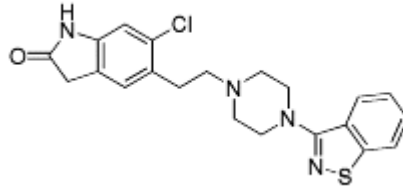
Yapısında indol çekirdeği bulunduran bir başka bileşik, liserjik asittir. Liserjik asit, çavdar ve diğer hububat tanelerinin üzerinde yetişen çavdarmahmuzu mantarında bulunur. Karboksil grubunun dietilamidine dönüştürülmesi çok etkin bir hallusinojen olan LSD’yi (liserjik asit dietilamid) vermektedir [52].



Şekil 8.6 Liserjik asit dietilamid

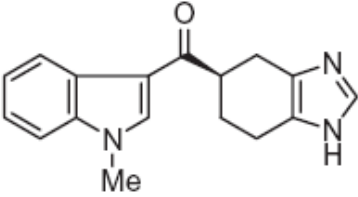
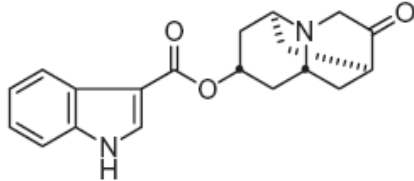
İndol halkası içeren bileşiklerin farklı aktivitelere ve özellikle de antikanser aktiviteye sahip oldukları bulunmuştur. Son on yılda, bazı indol türevlerinin tümör büyümesi, metastaz ve anjiyogenezise karşı inhibitör olarak görev yaptıkları tespit edilmiştir [53].

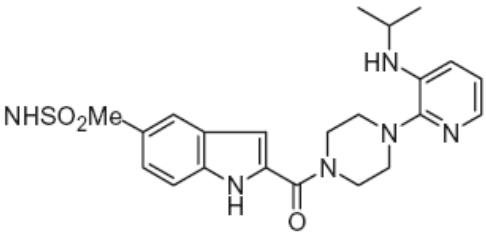
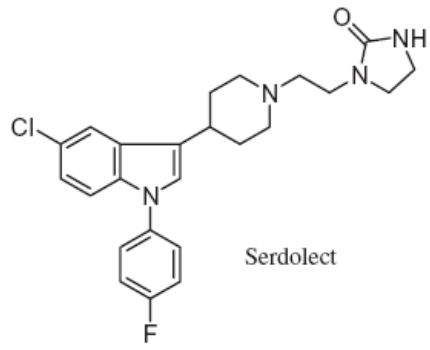
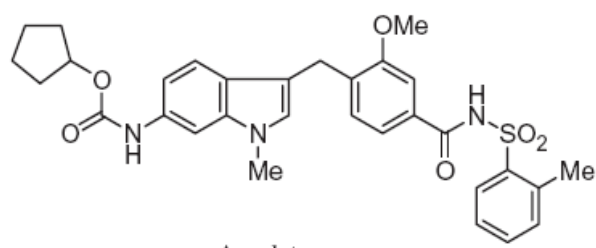
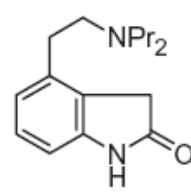
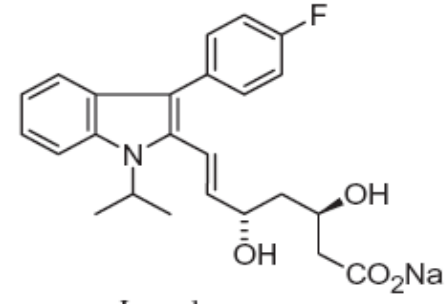
Antipsikotik ilaçların etkin maddelerinden biri olan ziprasidon şizofreni ile ilgili psikozların tedavisinde kullanılmaktadır.

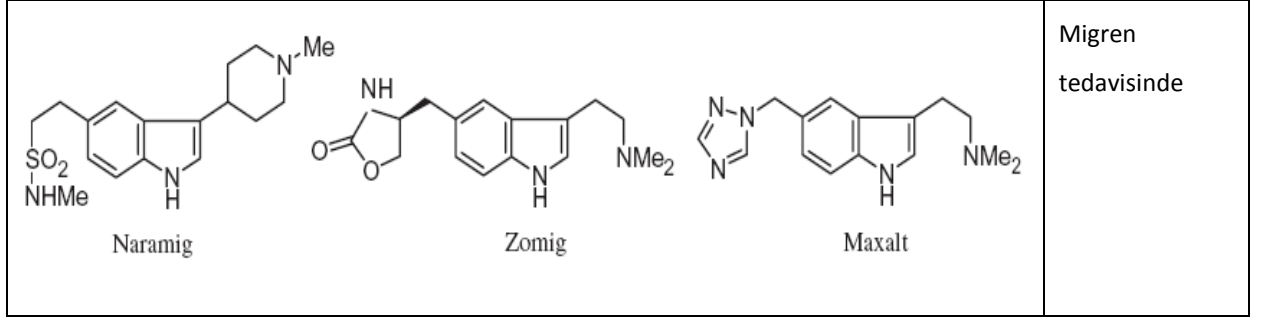


Şekil 8.7 Ziprasidon

İndol içerikli bazı ilaçlar ve farmasötik etkinlikleri Şekil 8.8'de gösterilmiştir [54].

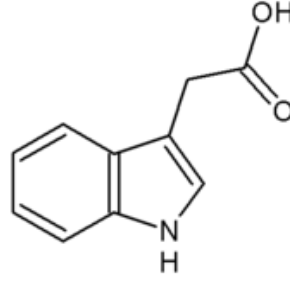
İndol içerikli ilaçlar	Etkinlik
<div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="text-align: center;">  <p>Nausea</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>Anzemet</p> </div> </div> <p style="text-align: center;">ve</p>	<p>5-HT<sub>3</sub> reseptör antagonisti; kusma ve mide bulantısına karşı etkin</p>

 <p>Rescriptor</p>	<p>HIV-1 reverse transkriptaz enzim inhibitörü; AIDS hastalarının tedavisinde</p>
 <p>Serdolect</p>	<p>Nöroleptik; akut ve kronik şizofreni tedavisinde</p>
 <p>Accolate</p>	<p>Astım tedavisinde</p>
 <p>ReQuip</p>	<p>Parkinson hastalığının erken devrelerinde</p>
 <p>Lescol</p>	<p>HMG-CoA redüktaz inhibitörü; kolesterol seviyesini düşürerek kalp hastalığı riskini azaltmada</p>



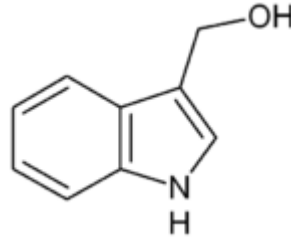
Şekil 8.8 İndol içerikli ilaçlar [54]

Bitkilerde büyüme ve gelişmeyi etkileyen en önemli hormonlardan biri olan oksinin kimyasal yapısında da indol çekirdeği vardır (Şekil 8.9). Ayrıca yohimbine, strychnine, ellipticine, lysergic asid, physostigmine iyi bilinen diğer bitkisel indol alkaloidleridir.



Şekil 8.9 Oksin

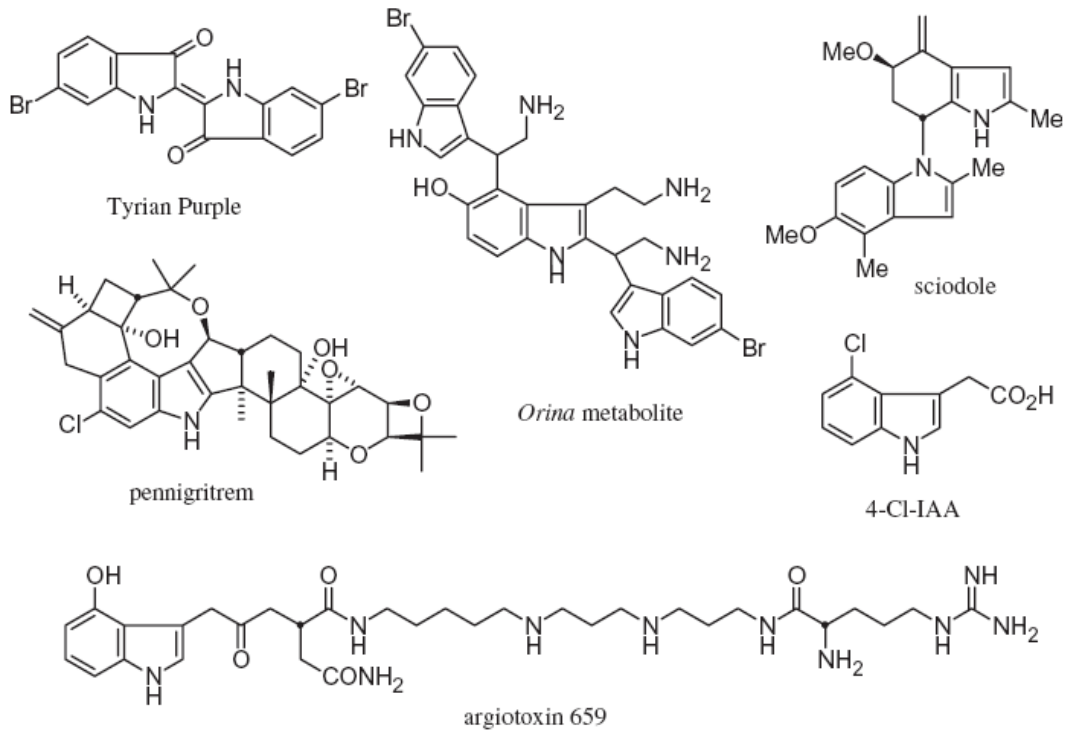
Cruciferae familyasından lahana ve brokoli gibi sebzelerde bulunan indol-3-karbinol bileşiği, meme ve prostat kanserine karşı koruyucudur.



Şekil 8.10 İndol-3-karbinol

Eski Mısırlıların kumaş boyası olarak kullandıkları Tyrian Moru bir indigo analogu olup Akdeniz yumuşakçaları tarafından üretilmektedir. Orina süngeri de brom içerikli triindol bileşiği sentezlemektedir. Sciodole bir *Tricholoma* mantarı ürünüdür ve 4-kloroindol-3-asetik asit (4-Cl-IAA) bezelye, fasulye, mercimek gibi baklagillerin bitkisel büyüme hormonudur. Pennigritrem, *Penicillium nigricans* tarafından üretilen klor

içerikli bir mantar metabolitidir. Ayrıca bir örümcek türü, bir çeşit zehir olan argiotoxin 659'u kimyasal savunmasında kullanmaktadır (Şekil 8.11) [54].



Şekil 8.11 Canlılar tarafından üretilen indol içerikli bazı metabolitler [54]

Ayrıca yasemin bitkisinin esansiyel yağlarında da indol bulunmaktadır ve parfüm sektöründe oldukça önemli bir yere sahiptir.

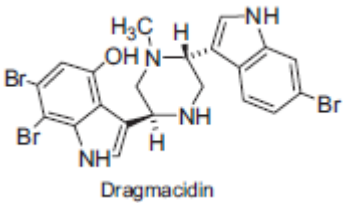
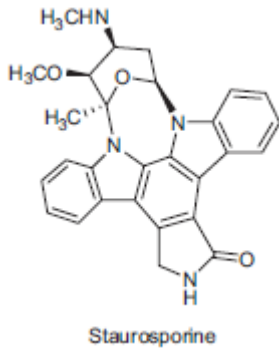
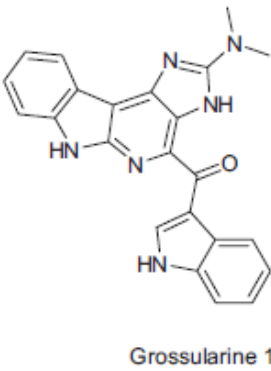
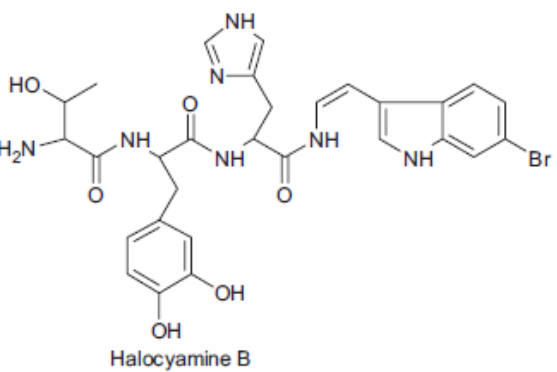
Çeşitli deniz omurgasızları, algler, bakteri, mantar, protozoa gibi mikroorganizmalar tıbbi öneme sahip çeşitli doğal metabolitler sentezlerler. Süngerler, tunikatlar, kırmızı algler, kancasız kurtlar ve simbiotik bakteriler deniz alkaloidlerinin ¼'ünü oluşturan indol alkaloidlerini üretirler [55]. Biyoaktif alkaloidler, en fazla indol çekirdeğine bağlı olarak bulunmaktadır [56]. Doğal deniz ürünlerindeki indol alkaloidlerinin farmakolojik aktiviteleri şöyle sıralanabilir [55]:

- Sitotoksik etki
- Antiviral aktivite
- Antimikrobiyal ve antiparazitik aktivite
- Anti-inflamatuar etki (iltihap giderici etki)
- Antiserotonin aktivite

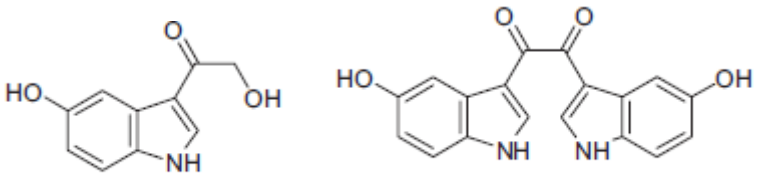
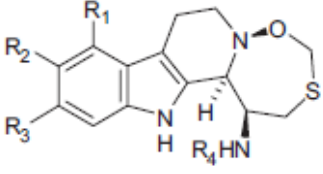
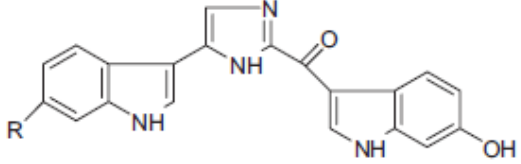
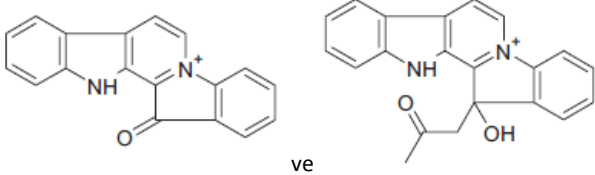
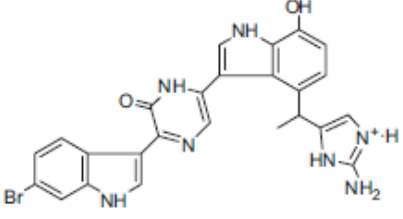
- $\text{Ca}^{+2}$  indirgeyici aktivite
- Calmodulin-antagonistik aktivite
- Anti-topoizomeraz-I aktivite

Şekil 8.12’de çeşitli deniz canlılarından izole edilen, sitotoksik ve antiviral aktiviteleri olan bazı doğal indol alkaloidleri listelenmiştir.

## Sitotoksik İndol Alkaloidleri

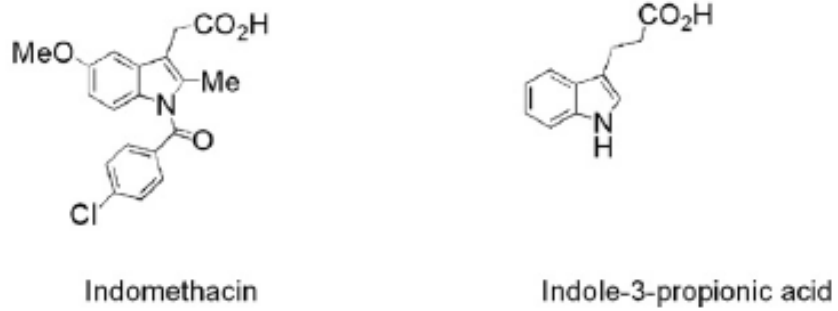
Madde	İzole edildiği canlı	Biyolojik aktivite
 <p style="text-align: center;">Dragmacidin</p>	<i>Dragmacidin</i> sp. (deniz süngeri)	Akciğer, kolon ve meme kanserine karşı etkin
 <p style="text-align: center;">Staurosporine</p>	<i>Streptomyces</i> sp. (Actinomycetes bakteri türleri)	Anti tümör
 <p style="text-align: center;">Grossularine 1</p>	<i>Dendrodoa grossularia</i> (tunikat-deniz omurgasız)	Kolon ve göğüs kanserine karşı etkin
 <p style="text-align: center;">Halocyamine B</p>	<i>Halocynthia roretzi</i> (deniz omurgasız)	Nöral hücrelere karşı sitotoksik



 <p style="text-align: center;">Hyrtiosin A      ve      Hyrtiosin B</p>	<p><i>Hyrtios erecta</i> (deniz süngeri)</p>	<p>Epidermal karsinoma hücrelerine karşı etkin</p>
<b>Anti-viral İndol Alkaloidleri</b>		
<p><b>Madde</b></p>	<p><b>İzole edildiği canlı</b></p>	<p><b>Biyolojik Aktivite</b></p>
 <p>i] Eudistomin C: R<sub>1</sub> = H, R<sub>2</sub> = OH, R<sub>3</sub> = Br, R<sub>4</sub> = H  ii] Eudistomin E: R<sub>1</sub> = Br, R<sub>2</sub> = OH, R<sub>3</sub> = H, R<sub>4</sub> = H  iii] Eudistomin F: R<sub>1</sub> = H, R<sub>2</sub> = OH, R<sub>3</sub> = Br, R<sub>4</sub> = C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>O<sub>2</sub>  iv] Eudistomin K: R<sub>1</sub> = H, R<sub>2</sub> = H, R<sub>3</sub> = Br, R<sub>4</sub> = H  v] Eudistomin L: R<sub>1</sub> = H, R<sub>2</sub> = Br, R<sub>3</sub> = H, R<sub>4</sub> = H</p>	<p><i>E. olivaceum</i> ve <i>Ritterella siyillinoidea</i> (deniz omurgasızları)</p>	<p>HSV-1, HSV-2 inhibitörü, RNA virüsleri, Coxsackie A-21, rhinovirus, DNA virüsleri, Vaccinia virus, Herpes simplex Type1 (uçuk virüsü), Polio vaccine Type1 (çocuk felci virüsü) lerine karşı etkin</p>
 <p>Topsentin: R=H Bromotopsentin: R=Br</p>	<p><i>S. ruetzleri</i> (deniz süngeri)</p>	<p>HSV-1, VSV, corona virus A-59 inhibitörü</p>
 <p style="text-align: center;">Fascaplysin Homofascaplysin A</p>	<p><i>Fascaplysinopsis reticulata</i> (deniz süngeri)</p>	<p>Reverse transkriptaz enzimi inhibitörü</p>
 <p style="text-align: center;">Dragmacidin D</p>	<p><i>Spongosorites</i> sp. (deniz süngeri)</p>	<p>Feline lösemi virüsü inhibitörü</p>

Şekil 8.12 Sitotoksik ve antiviral indol alkaloidleri [55]

Doğal ürünlerden elde edilen indol türevlerinin yanında sentetik olarak üretilen ve tedavi edici etkileri olan çeşitli indol türevleri de vardır. Indomethacin, acemetacin ve etodolac gibi steroid olmayan iltihap giderici ilaçların antioksidant aktiviteleri vardır. Bitkisel bir hormon olan indol-3-asetik asit de benzer biyolojik aktiviteye sahiptir (Şekil 8.13). Triptofan, serotonin, 5-methoxytryptamine, 6-chloromelatonin, indol-3-propionik asit, indol-2-one ve indol-2-thione türevleri, stobadine ve 2-fenilindol türevlerinin süperoksit radikallerine karşı gösterdikleri antioksidant etki, onların elektronca zengin aromatik halka sistemlerinden kaynaklanmaktadır [57].



Şekil 8.13 Antioksidant aktivite gösteren bazı indol türevleri [57]

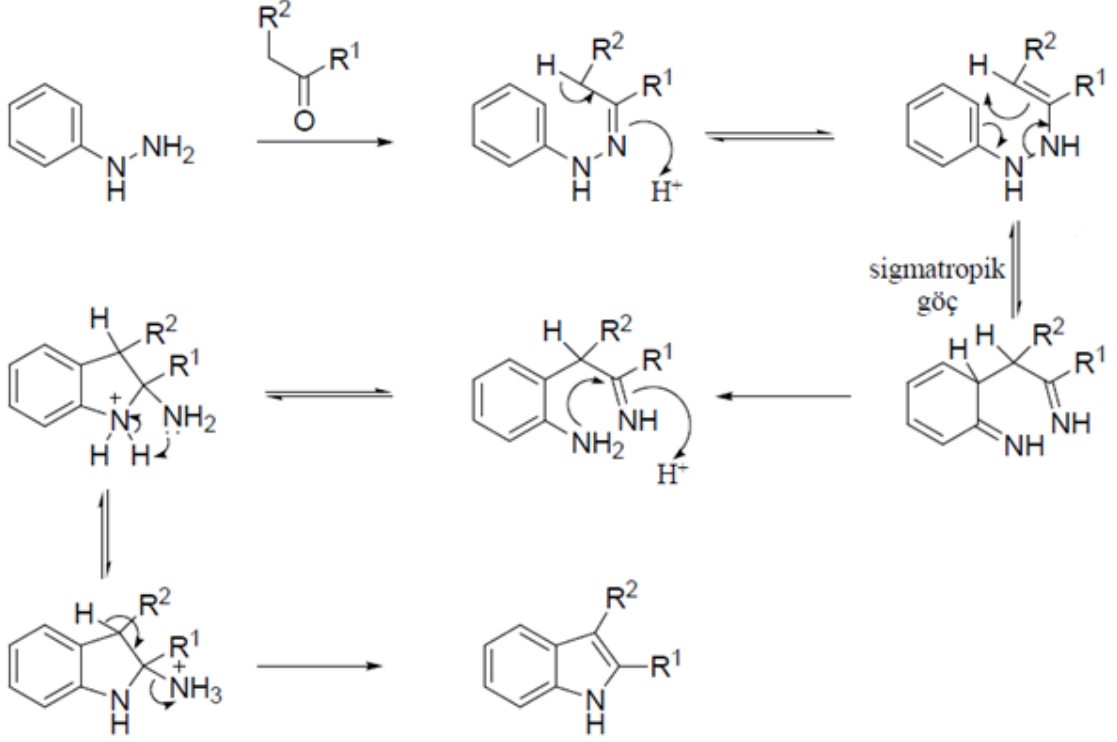
Sentetik olarak indol elde etme reaksiyonları şu şekilde sıralanabilir:

- Fisher indol sentezi
- Reissert indol sentezi
- Leimgruber-Batcho indol sentezi
- Madelung indol sentezi
- Bischler indol sentezi
- Bartoli indol sentezi
- Gassman indol sentezi
- Fukuyama indol sentezi
- Sugasawa indol sentezi
- Nitrenlerin halkalaşmasıyla indol sentezi

•Nenitzescu indol sentezi

Bunlardan en yaygın olanı Fisher indol sentezidir.

Bu yöntem genel olarak, arilhidrazonların bir asit katalizörlüğünde ısıtılması ve yapıdan amonyak ayrılmasını içeren bir halkalaşma reaksiyonudur (şekil 8.14).



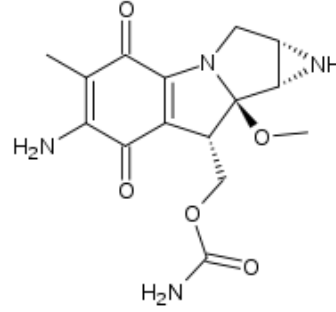
Şekil 8.14 Fisher indol sentezi

Fenil hidrazinin ve çeşitli aldehit veya ketonların Lewis asitleri veya proton verebilen asidik çözücüler eşliğinde birçok reaksiyon gerçekleştirilmiştir. Reaksiyon genel olarak iki aşamada incelenebilmektedir. Birinci aşamada fenil hidrazin türevleri aldehit veya ketonlar ile kolayca kondanzasyon reaksiyonu vererek arilhidrazonları oluşturmakta, ikinci aşamada ise oluşan arilhidrazonun bir asit veya bir Lewis asidi ile yüksek sıcaklıklara ulaştırılarak zorlayıcı koşullarda yapıdan amonyanın uzaklaştırılması ile halkalı indol yapısı elde edilmektedir [50].

Biyolojik olarak aktif birçok bileşiğin yapısında bulunan 4,5,6,7- tetrahidroindol türevleri, endüstri ve akademik çalışmalarda çok büyük bir öneme sahiptir. Pek çok antibiyotik, antipsikotik, antikanser ilaçlarının yapı maddesidirler. 4-okso-4,5,6,7-

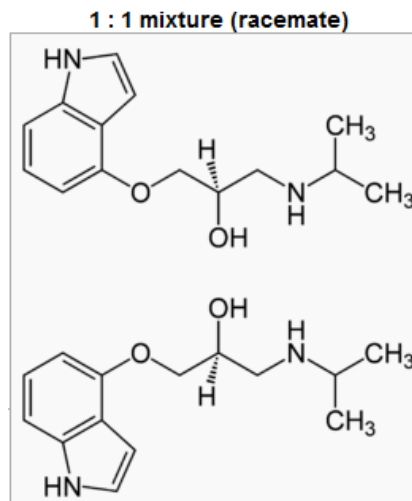
tetrahidroindoller, 4-sübstitüye indollerin sentezinde, kolay aromatize olmalarından dolayı aracı molekül olarak kullanılmaktadırlar.

Oksoindol türevlerinin biyolojik aktiviteleri ve indollerle olan yapısal ilişkisi, bu bileşik sınıflarını ilaç ve sentetik organik kimya alanında önemli bir yere getirmiştir. 4-okso-tetrahidroindoller, indol kuinon analogu olan, mitomisin antibiyotiğinin (Şekil 8.15) sentezi için oldukça önemli bileşiklerdir [58].



Şekil 8.15 Mitomycin

Benzofuran halka yapısı, furokumarin ve furanokuinolin doğal alkaloidlerini oluşturmaktadır. Benzofuran türevleri, ilaç sentezlerinde önemli aracı moleküllerdir. Bir aritmik ajan olan pindalolun (Şekil 8.16) sentezinde anahtar aracı olan 4-hidroksiindolün sentezinde benzofuran türevleri öncü bileşik olarak kullanılmaktadır. Endosiklik oksijen atomunun, azot atomuna 4-okso-4,5,6,7-tetrahydrobenzofuran iskeletinde transformasyonu ile 4-okso-4,5,6,7-tetrahydroindol elde edilmektedir [59].



Şekil 8.16 Pindalol

### MATERYAL VE METOD

Bu çalışmada bütün bileşikler Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisiyle (NMR) (Bruker Avance III 500 Mhz) standart çözücü olarak  $CDCl_3$  (dötörökloroform) ve uluslar arası standart olarak da TMS(tetrametilsilan) kullanılarak belirlendi. IR spektrumları Perkin Elmer Spectrum 100 FT-IR Spectrometer ile yapıldı. X-Ray ölçümleri Rigaku R-AXIS RAPID-S diffractometer cihazı ile belirlendi.

Bütün saflaştırmalar kolon kromatografisi Merck silika jel 60 (40-63 $\mu$ m mesh büyüklüğünde) kullanılarak yapıldı. İnce tabaka kromatografisi (İTK) Merck silika jel 60 GF<sub>254</sub> ile kontrol edilerek, camag UV (254nm) ile belirlendi. Erime noktası tayini Büchi Melting Point B-540 cihazıyla yapıldı.

Kemosentez reaksiyonlarında kullanılan lipazlar; CCL (*Candida cylindracea* Lipaz) BioChemika (62316), PFL (*Pseudomonas fluorescens* Lipaz) BioChemika (95608), CAL (*Candida antarctica* Lipaz) BioChemika (62299), HPL (Hog pancreas Lipaz) BioChemika (62300), MML (*Mucor miehei* Lipaz) BioChemika (62298), RAL (*Rhizopus arrhizus* Lipaz) BioChemika (62305), AOL (*Aspergillus oryzae* Lipaz) BioChemika (62285), PRL (*Penicillium roqueforti* Lipaz) BioChemika (62308), MJL (*Mucor javanicus* Lipaz) BioChemika (62304), PCL (*Pseudomonas cepacia* Lipaz) (62309) lipaz basic ve extension kit olmak üzere Fluka'dan, Amano Lipase PS Aldrich'den temin edilmiştir.

#### 9.1 Kullanılan Kimyasallar

Kullanılan kimyasal maddeler çizelge 9.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 9.1 Kullanılan Kimyasallar

KİMYASAL	FİRMA/NO
Benzen	Merck 101782
Dietil eter	Merck 100092
Kloroform	Merck 102431
Asetik asit	Merck 100056
Etanol	Merck 100986
Sikloheksan	Merck 102832
Fosfor pentoksit	Merck 21-470-1
Silikajel	Merck 107734
Sodyum hidroksit	Merck 106482
Magnezyum sülfat	Teknik
Dipotasyum hidrojen fosfat	Merck 105102
Potasyum dihidrojen fosfat	Merck 104873
Mangan II Asetat	Fluka 63537
Potasyum permanganat	Merck 105080
Mangan III asetat	Aldrich 215880
5,5-dimetil-1,3-sikloheksandion	Aldrich D15,330-3
p-anisaldehyd	Aldrich 88107
Kloroasetaldehyd	Aldrich 31,727-6
Diklorometan	Merck 106049
Benzilamin	Aldrich 185701

## 9.2 4,5,6,7-Tetrahidro-6,6-dimetil-4-oksobenzofuran-5-il asetat Sentezi

### 9.2.1 Mangan (III) Asetat ile 4,5,6,7-Tetrahidro-6,6-dimetil-4-oksobenzofuran-5-il asetat Sentezi

Mangan (III) asetat (7,5 mmol), 50 ml benzen ve 5 ml asetik asit karışımında çözülerek, Dean-Stark tuzağı ile reaksiyon ortamı kahverengi oluncaya kadar reflux edildikten sonra, 6,7-dihidro-6,6-dihydrobenzofuran-4(5H)-one (1,8 mmol) bileşiği ilave edilerek, İTK ile kontrol edilmiş ve başlangıç maddesi tamamen ürüne dönüşüncüye kadar reaksiyona 37 saat devam edilmiştir. Reaksiyon karışımı, eter ile seyreltilip, doymuş tuz çözeltisi ile ekstrakte edilmiştir. Organik faz, MgSO<sub>4</sub> ile kurutulup çözücü vakum altında uzaklaştırılmıştır. Ürünün saflaştırılması, kolon kromatografisinde 1:6 (EtOAc:Hexan) sistemi ile yapılmış ve %86 verimle 4,5,6,7-Tetrahidro-6,6-dimetil-4-oksobenzofuran-5-il asetat bileşiği elde edilmiştir.



Şekil 9.1 Mn(III) asetat ile yapılmış reaksiyonun İTK sonucu

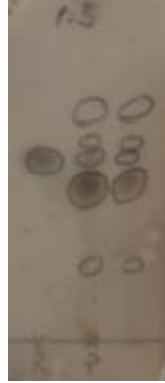
Erime sıcaklığı: 52,5°C

R<sub>f</sub>: 0,44 (silika jel, 1:3 EtOAc:Hekzan)

### 9.2.2 Mangan (II) Asetat ile 4,5,6,7-Tetrahidro-6,6-dimetil-4-oksobenzofuran-5-il asetat Sentezi

Mangan (II) asetat (7,4 mmol), KMnO<sub>4</sub> (1,7 mmol), 45 ml benzen ve 12 ml asetik asit karışımında çözülerek, Dean-Stark tuzağı ile reaksiyon ortamı kahverengi oluncaya kadar reflux edilmiştir. Daha sonra, 6,7-dihidro-6,6-dimetilbenzofuran-4(5H)-one

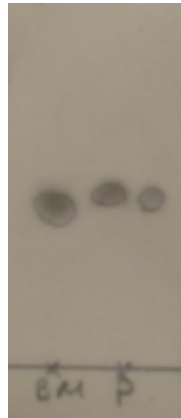
(0,665 mmol) bileşiği ilave edilmiş, İTK ile kontrol edilerek, başlangıç maddesi tamamen ürüne dönüşüne kadar reaksiyona 35 saat devam edilmiştir. Reaksiyon karışımı, kloroform ile seyreltilip, doymuş NaHCO<sub>3</sub> ile ekstrakte edilmiştir. Organik faz, MgSO<sub>4</sub> ile kurutulup çözücü vakum altında uzaklaştırılmıştır. Ürünün saflaştırılması, kolon kromatografisinde 1:3 (EtOAc:Hexan) sistemi ile yapılmış ve %44 verimle 4,5,6,7-Tetrahidro-6,6-dimetil-4-oksobenzofuran-5-il asetat bileşiği elde edilmiştir.



şekil 9.2 Mn(II) asetat ile yapılmış reaksiyonun İTK sonucu

### 9.2.3 KMnO<sub>4</sub> ile 4,5,6,7-Tetrahidro-6,6-dimetil-4-oksobenzofuran-5-il asetat Sentezi

Potasyum permanganat (1,7 mmol), 45 ml benzen ve 12 ml asetik asit ile çözümlenerek, Dean-Stark tuzağı ile reaksiyon ortamı kahverengi oluncaya kadar reflux edilmiştir. Daha sonra, 6,7-dihidro-6,6-dimetilbenzofuran-4(5H)-one (0,665 mmol) bileşiği ilave edilerek, İTK ile kontrol edilip, 35 saat reaksiyona devam edilmiştir. İstenilen ürün elde edilememiştir.

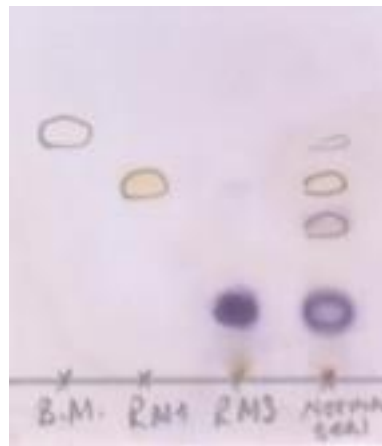


şekil 9.3 KMnO<sub>4</sub> ile yapılmış reaksiyonun İTK sonucu



### 9.3 1-benzil-6,7-dihidro-5-hidroksi-6,6-dimetil-1H-indol-4(5H)-one ve 1-benzil-6,7-dihidro-7-hidroksi-6,6-dimetil-1H-indol-4(5H)-one Sentezi

4,5,6,7-Tetrahidro-6,6-dimetil-4-oksobenzofuran-5-il asetat (6,25 mmol), benzil amin (18,7 mmol) ve 5 ml %20'lik etanol karışımı seal tüpe konularak, reaksiyon 12 saatte 145-150°C'de gerçekleştirilmiştir. Reaksiyon karışımı suya dökülerek diklorometan ile ekstrakte edildikten sonra MgSO<sub>4</sub> ile kurutularak çözücü vakum altında uzaklaştırılmıştır. 1-benzil-6,7-dihidro-5-hidroksi-6,6-dimetil-1H-indol-4(5H)-one bileşiğinin verimi %26,2 ve 1-benzil-6,7-dihidro-7-hidroksi-6,6-dimetil-1H-indol-4(5H)-one bileşiğinin verimi ise %51,7 olarak saptanmıştır.



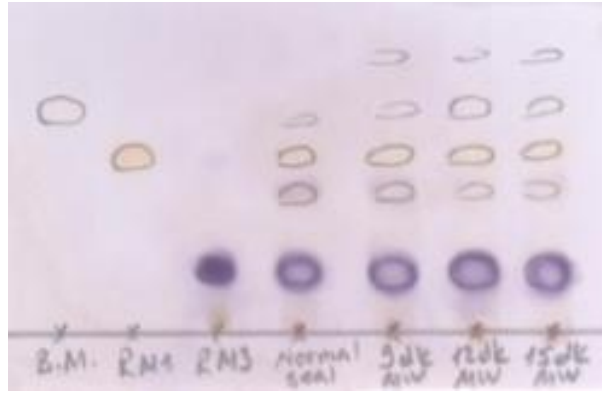
Şekil 9.4 Seal tüp ile 1-benzil-6,7-dihidro-5-hidroksi-6,6-dimetil-1H-indol-4(5H)-one ve 1-benzil-6,7-dihidro-7-hidroksi-6,6-dimetil-1H-indol-4(5H)-one sentezinin İTK sonucu

#### 9.3.1 Mikrodalga ile 1-benzil-6,7-dihidro-5-hidroksi-6,6-dimetil-1H-indol-4(5H)-one ve 1-benzil-6,7-dihidro-7-hidroksi-6,6-dimetil-1H-indol-4(5H)-one Sentezi

4,5,6,7-Tetrahidro-6,6-dimetil-4-oksobenzofuran-5-il asetat (6,25 mmol), benzil amin (18,7 mmol) ve 5 ml %20'lik etanol karışımı seal tüp içerisinde sırasıyla 9, 12 ve 15 dakikada, mikrodalgada 360 Watta reaksiyon gerçekleştirilmiştir. Reaksiyon karışımı suya dökülerek diklorometan ile ekstrakte edilerek MgSO<sub>4</sub> ile kurutulmuş ve çözücü vakum altında uzaklaştırılmıştır. Oluşan maddelerin % verimleri Çizelge 9.2'de gösterilmiştir.

Çizelge 9.2 Mikrodalga ile sentezlenen maddelerin % verimleri

Madde	Zaman ( dk)	% Verim
1-benzil-6,7-dihidro-5-hidroksi-6,6-dimetil-1 <i>H</i> -indol-4(5 <i>H</i> )-one	9	18,84
	12	14,62
	15	16,77
1-benzil-6,7-dihidro-7-hidroksi-6,6-dimetil-1 <i>H</i> -indol-4(5 <i>H</i> )-one	9	17,7
	12	17,44
	15	19,42



Şekil 9.5 Mikrodalga ile 1-benzil-6,7-dihidro-5-hidroksi-6,6-dimetil-1*H*-indol-4(5*H*)-one ve 1-benzil-6,7-dihidro-7-hidroksi-6,6-dimetil-1*H*-indol-4(5*H*)-one sentezinin İTK sonucu

1-benzil-6,7-dihidro-5-hidroksi-6,6-dimetil-1*H*-indol-4(5*H*)-one bileşiği için:

Erime sıcaklığı: 129,5°C

R<sub>f</sub>: 0,46 (silika jel, 1:2 EtOAc:Hekzan)

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub> + CCl<sub>4</sub>) δ (ppm) : 0.85 (s, 3H, -CH<sub>3</sub>), 1.30 (s, 3H, -CH<sub>3</sub>), 2.55 (d, J=16.355 Hz, 1H, -CH<sub>2</sub>), 2.70 (d, J=16.354 Hz, 1H, -CH<sub>2</sub>), 4.09 (s, 1H, H-5), 5.09 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-Ph), 6.51 (d, J=3.05 Hz, 1H, H-3), 6.68 (d, J=3.05 Hz, 1H, H-2), 7.2-7.4 (m, 5H, Ph)

<sup>13</sup>C-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub> + CCl<sub>4</sub>) δ (ppm) : 18.66; 27.87; 35.78; 41.32; 50.46; 79.93; 105.94; 117.72; 124.03; 126.38; 128.07; 128.85; 129.06; 129.38; 136.32; 142.01; 193.21

IR (CHCl<sub>3</sub>) γ(max) : 1638, 2961, 3447 cm<sup>-1</sup>

1-benzil-6,7-dihidro-7-hidroksi-6,6-dimetil-1H-indol-4(5H)-one bileşiği için:

Erime sıcaklığı: 156,6°C

R<sub>f</sub>: 0,16 (silika jel, 1:2 EtOAc:Hekzan)

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub> + CCl<sub>4</sub>) δ (ppm) : 0.90 (s, 3H, -CH<sub>3</sub>), 1.10 (s, 3H, -CH<sub>3</sub>), 2.12 (d, J=16.51 Hz, 1H, -CH<sub>2</sub>), 2.62 (d, J=16.55 Hz, 1H, -CH<sub>2</sub>), 4.25 (s, 1H, H-7), 5.11 (d, J=15.90 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>-Ph), 5.20 (d, J=15.95 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>-Ph), 6.55 (d, J=3.00 Hz, 1H, H-3), 6.62 (d, J=3.05 Hz, 1H, H-2), 6.99-7.3 (m, 5H, Ph)

<sup>13</sup>C-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub> + CCl<sub>4</sub>) δ (ppm) : 25.25; 26.15; 39.64; 47.19; 50.56; 69.06; 69.09; 105.55; 119.83; 124.48; 126.66; 127.96; 128.95; 129.27; 137.06; 142.43; 194.52

IR (CHCl<sub>3</sub>) γ(max) : 1644, 2961, 3312 cm<sup>-1</sup>

#### **9.4 1-benzil-6,7-dihidro-6,6-dimetil-1H-indol-4(5H)-one Sentezi**

6,7-dihidro-6,6-dimetilbenzofuran-4(5H)-one (6,25 mmol), benzil amin (18,7 mmol) ve 5 ml %20'lik etanol karışımı seal tüp içersinde, 12 saat boyunca 145-150°C'de ısıtılarak reaksiyon gerçekleştirilmiştir. Reaksiyon karışımı suya dökülerek diklorometan ile ekstrakte edildikten sonra MgSO<sub>4</sub> ile kurutularak çözücü vakum altında uzaklaştırılmıştır. Ürün saflaştırılması, kolon kromatografisinde 1:2 (EtOAc:Hexan) sistemi ile yapılmış ve %56,2 verimle 1-benzil-6,7-dihidro-6,6-dimetil-1H-indol-4(5H)-one bileşiği elde edilmiştir.



Şekil 9.6 Seal tüp ile 1-benzil-6,7-dihidro-6,6-dimetil-1*H*-indol-4(5*H*)-one sentezinin İTK sonucu

Erime sıcaklığı: 81 °C

R<sub>f</sub>: 0,2 (silika jel, 1:3 EtOAc:Hekzan)

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub> + CCl<sub>4</sub>) δ (ppm) : 1.05 (s, 3H, -CH<sub>3</sub>), 2.29 (s, 2H, -CH<sub>2</sub>), 2.43 (s, 2H, C-7), 4.98 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-Ph), 6.55 (d, J=3.00 Hz, 1H, H-3), 6.60 (d, J=3.00 Hz, 1H, H-2)

<sup>13</sup>C-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub> + CCl<sub>4</sub>) δ (ppm) : 28.64; 35.57; 35.75; 50.45; 51.77; 105.64; 120.04; 123.24; 126.35; 127.91; 128.07; 128.78; 128.98; 136.70; 142.70; 193.76

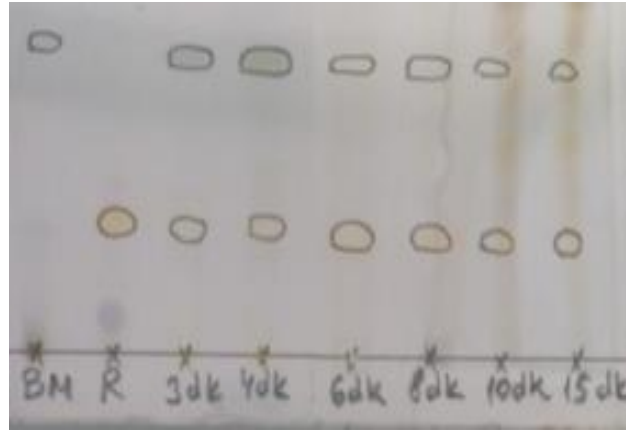
IR (CHCl<sub>3</sub>) γ(max) : 1647, 2926 cm<sup>-1</sup>

#### 9.4.1 Mikrodalga ile 1-benzil-6,7-dihidro-6,6-dimetil-1*H*-indol-4(5*H*)-one Sentezi

6,7-dihidro-6,6-dimetilbenzofuran-4(5*H*)-one (6,25 mmol), benzil amin (18,7 mmol) ve 5 ml %20'lik etanol karışımı, oda sıcaklığında silika jel (3 gr) yüzeyine, homojen olarak beher içinde adsorlandıktan sonra karışım mikrodalga fırın içersine konularak sırasıyla 3, 4, 6, 8, 10 ve 15 dakika 360 Watta ışınlanmıştır. Reaksiyon İTK ile kontrol edilerek diklorometan ile extre edildikten sonra MgSO<sub>4</sub> ile kurutulup, çözücü vakum altında uzaklaştırılmıştır. Ürün saflaştırılması, kolon kromatografisinde 1:3 (EtOAc:Hexan) sistemi ile yapılmış ve 1-benzil-6,7-dihidro-6,6-dimetil-1*H*-indol-4(5*H*)-one bileşiği elde edilmiştir. % Verimler sırasıyla şöyledir: 3.dk'da %12,82, 4.dk'da %13,56, 6.dk'da %14,63, 8.dk'da %20,21, 10.dk'da %15,57 ve 15.dk'da %12,92.

Süre	Verim
3 dk.	% 12,82
4 dk.	% 13,56
6 dk.	% 14,63
8 dk.	% 20,21
10 dk.	% 15,57
15 dk.	% 12,92

Şekil 9.7 Mikrodalga ile sentezlenen maddenin zaman-verim karşılaştırılması



Şekil 9.8 Mikrodalga ile 1-benzil-6,7-dihidro-6,6-dimetil-1H-indol-4(5H)-one sentezinin İTK sonucu

## 9.5 1-benzil-4,5,6,7-tetrahidro-6,6-dimetil-4-okso-1H-indol-7-il asetat Sentezi

### 9.5.1 KMnO<sub>4</sub> ile 1-benzil-4,5,6,7-tetrahidro-6,6-dimetil-4-okso-1H-indol-7-il asetat Sentezi

Potasyum permanganat (2,28 mmol), 60 ml benzen ve 16 ml asetik asit ile çözülerek, Dean-Stark tuzacağı ile reaksiyon ortamı kahverengi oluncaya kadar reflux edildikten sonra, 1-benzil-6,7-dihidro-6,6-dimetil-1H-indol-4(5H)-one (1 mmol) bileşiği ilave edilerek, İTK kontrolü ile 3,5 saat reaksiyona devam edilmiştir. Reaksiyon karışımı, eter

ile seyreltilip, doymuş tuz çözeltisi ile ekstrakte edilmiş ve organik faz, MgSO<sub>4</sub> ile kurutularak çözücü vakum altında uzaklaştırılmıştır. Ürünün saflaştırılması, kolon kromatografisinde 1:6 (EtOAc:Hexan) sistemi ile yapılmış ve %17 verimle 1-benzil-4,5,6,7-tetrahidro-6,6-dimetil-4-okso-1*H*-indol-7-il asetat bileşiği elde edilmiştir.



Şekil 9.9 KMnO<sub>4</sub> ile 1-benzil-4,5,6,7-tetrahidro-6,6-dimetil-4-okso-1*H*-indol-7-il asetat sentezinin İTK sonucu

R<sub>f</sub>: 0,4 (silika jel, 1:3 EtOAc:Hekzan)

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub> + CCl<sub>4</sub>) δ (ppm) : 0.98 (s, 3H, -CH<sub>3</sub>), 1.07 (s, 3H, -CH<sub>3</sub>), 1.83 (s, 3H, COCH<sub>3</sub>), 2.20 (d, J=16.65 Hz, 1H, -CH<sub>2</sub>), 2.81 (d, J=16.65 Hz, 1H, -CH<sub>2</sub>), 5.13 (d, J=16.254 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>-Ph), 5.24 (d, J=16.254 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>-Ph), 5.83 (s, 1H, H-7), 6.65 (d, J=3.001 Hz, 1H, H-3), 6.75 (d, J=2.951 Hz, 1H, H-2), 6.95-7.35 (m, 5H, Ph)

<sup>13</sup>C-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub> + CCl<sub>4</sub>) δ (ppm) : 20.45; 25.66; 25.79; 38.80; 47.79; 50.59; 68.52; 106.02; 121.79; 125.15; 126.16; 127.79; 128.84; 137.03; 138.27; 170.55; 193.34

### 9.5.2 Mn(II) Asetat ile 1-benzil-4,5,6,7-tetrahidro-6,6-dimetil-4-okso-1*H*-indol-7-il Sentezi

Mangan (II) asetat (9,8 mmol), KMnO<sub>4</sub> (2,28 mmol), 60 ml benzen ve 16 ml asetik asit karışımında çözülerek, Dean-Stark tuzağı ile reaksiyon ortamı kahverengi oluncaya kadar reflux edilmiştir. Daha sonra, 1-benzil-6,7-dihidro-6,6-dimetil-1*H*-indol-4(5*H*)-one (1 mmol) bileşiği ilave edilmiştir. İTK ile ürün oluşumu kontrol edilmiş ve 48 saat reaksiyona devam edilmiştir. Reaksiyon karışımı, eter ile seyreltilip, doymuş tuz çözeltisi ile ekstrakte edilmiş ve organik faz, MgSO<sub>4</sub> ile kurutularak çözücü vakum altında uzaklaştırılmıştır. Ürünün saflaştırılması, kolon kromatografisinde 1:6 (EtOAc:Hexan)

sistemi ile yapılmış ve %5 verimle 1-benzil-4,5,6,7-tetrahidro-6,6-dimetil-4-okso-1H-indol-7-il asetat bileşiği elde edilmiştir.

### **9.5.3 Mn(III) Asetat ile 1-benzil-4,5,6,7-tetrahidro-6,6-dimetil-4-okso-1H-indol-7-il Sentezi**

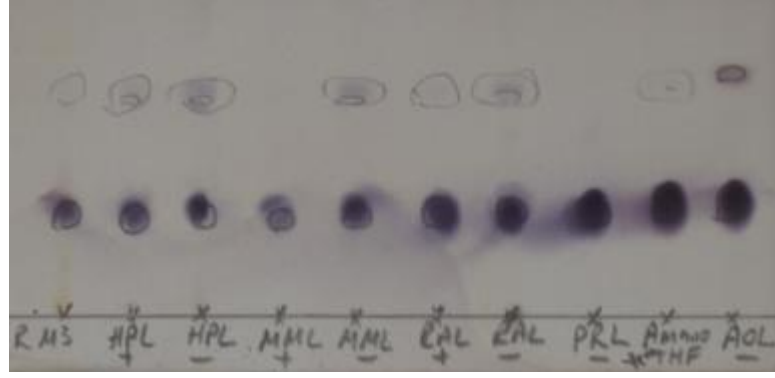
Mangan (III) asetat (7,5 mmol), 50 ml benzen ve 5 ml asetik asit karışımında çözülerek, Dean-Stark tuzağı ile reaksiyon ortamı kahverengi oluncaya kadar reflux edilmiştir. Daha sonra, 1-benzil-6,7-dihidro-6,6-dimetil-1H-indol-4(5H)-one (1,8 mmol) bileşiği ilave edilerek, İTK ile kontrol edilmiş ve 15 saat reaksiyona devam edilmiştir. Ürün oluşumu gerçekleşmemiştir.

## **9.6 Lipaz Katalizli Reaksiyonlar**

### **9.6.1 1-benzil-6,7-dihidro-5-hidroksi-6,6-dimetil-1H-indol-4(5H)-one ve 1-benzil-6,7-dihidro-7-hidroksi-6,6-dimetil-1H-indol-4(5H)-one Bileşiklerinin Lipaz Katalizli Reaksiyonları**

Saf rasemik 1-benzil-6,7-dihidro-5-hidroksi-6,6-dimetil-1H-indol-4(5H)-one ve 1-benzil-6,7-dihidro-7-hidroksi-6,6-dimetil-1H-indol-4(5H)-one (0,2mmol) bileşiklerine organik çözücü (0,4 ml) ve vinil asetat (3,4 ml) eklenerek lipaz enzimi (100 mg) ilave edilerek, 37°C sıcaklıkta inkübatörde karıştırılmıştır. Substratın dönüşümü belirli aralıklarla İTK ile takip edilerek dönüşüm %50 olduğunda reaksiyon sonlandırılmıştır.

Farklı çözücü ve farklı lipaz kaynakları kullanılarak gerçekleştirilen, enantiyoseçimli sentezlerin biyodönüşümleri ve İTK sonuçları Çizelge 9.3 ve Şekil 9.10'de gösterilmiştir.



Şekil 9.10 1-benzil-6,7-dihidro-5-hidroksi-6,6-dimetil-1*H*-indol-4(5*H*)-one ve 1-benzil-6,7-dihidro-7-hidroksi-6,6-dimetil-1*H*-indol-4(5*H*)-one Bileşiklerinin Lipaz Katalizli Reaksiyon İTK sonuçları

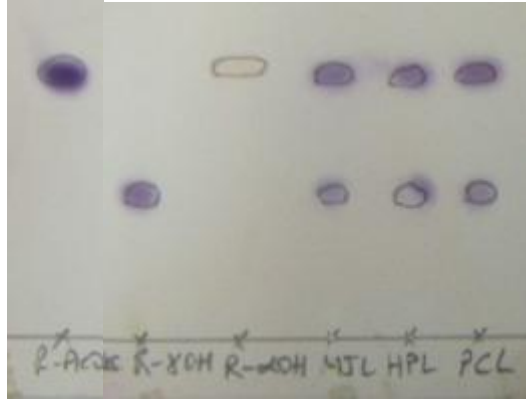
Çizelge 9.3 Farklı enzim-çözücü sistemlerinde enantiyoseçimli sentezlerin biyodönüşümleri

Madde	Enzim	Çözücü	Biyodönüşüm
1-benzil-6,7-dihidro-5-hidroksi-6,6-dimetil-1 <i>H</i> -indol-4(5)-on	AOL	Asetonitril	-
	PRL	Asetonitril	-
	MJL	Asetonitril	-
	Amano PS	Asetonitril	-
	PFL	DMSO	-
1-benzil-6,7-dihidro-7-hidroksi-6,6-dimetil-1 <i>H</i> -indol-4(5)-on	HPL	DMSO	+
	MML	DMSO	+
	RAL	DMSO	+
	PRL	Asetonitril	-
	AOL	Asetonitril	+
	Amano PS	THF	+



### 9.6.2 1-benzil-4,5,6,7-tetrahidro-6,6-dimetil-4-okso-1*H*-indol-7-il asetat Bileşiğinin Lipaz Katalizli Reaksiyonu

Saf rasemik 1-benzil-4,5,6,7-tetrahidro-6,6-dimetil-4-okso-1*H*-indol-7-il asetat bileşiğine, organik çözücü (0,2 ml) ve fosfat tamponu (300 µl) eklenerek lipaz enzimi (100 mg) ilave edilerek 37°C sıcaklıkta inkübatörde karıştırılmıştır. Substratın dönüşüm oranı belirli aralıklarla İTK ile takip edilerek dönüşüm %50 olduğunda reaksiyon durdurulmuştur. Farklı çözücü ve farklı lipaz kaynakları kullanılarak gerçekleştirilen, enantioseçimli sentezlerin biyodönüşümleri ve İTK sonuçları Çizelge 9.4 ve Şekil 9.11’de gösterilmiştir.



Şekil 9.11 1-benzil-4,5,6,7-tetrahidro-6,6-dimetil-4-okso-1*H*-indol-7-il asetat bileşiğinin Lipaz Katalizli Reaksiyon İTK sonucu

Çizelge 9.4 Farklı enzim-çözücü sistemlerinde enantioseçimli sentezlerin biyodönüşümleri

Madde	Enzim	Çözücü	Biyodönüşüm
1-benzil-4,5,6,7-tetrahidro-6,6-dimetil-4-okso-1 <i>H</i> -indol-7-il asetat	MJL	DMSO	+
	HPL	DMSO	+
	PCL	DMSO	+
	CCL	DMSO	+
	PFL	DMSO	+

### SONUÇ VE ÖNERİLER

#### 10.1 Çalışmanın Yönü

Endüstriyel ve akademik çalışmalarda önemli bir yere sahip olan indol türevleri, biyolojik aktivitesi yüksek, heterohalkalı bileşik sınıflarından biridir. Doğal ürünlerin ve sentetik olarak elde edilen ilaç öncü maddelerinin, büyük bir kısmında indol çekirdeğine rastlamak mümkündür. Canlı organizmaların, bazı temel yapıtaşlarında da indol halkası bulunmaktadır. Doğal kaynaklardan elde edilen, birçok oksoindol türevleri, önemli biyolojik aktivitelere sahiptir. Ayrıca indol türevleri içeren doğal bileşikler stereomerkez taşıdıkları için asimetric sentezde oldukça önemlidirler.

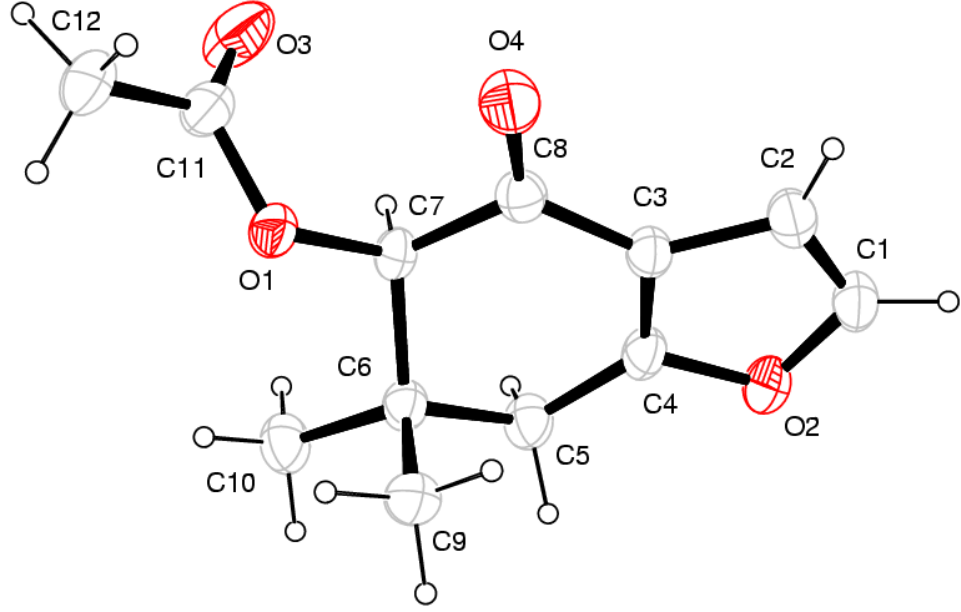
Kolay aromatize olmaları sayesinde 4,5,6,7-tetrahidroindoller'in indol sentezinde iyi aracı moleküller olarak kullanılması ve fonksiyonel indollerin hazırlanması için uygun başlatıcı materyaller olması bu yapıların önemini arttırmaktadır. Bunlar farmakolojik açıdan önemli vindolin, vindorosin, elliptisin gibi geniş bir alkaloidler grubu için öncü maddelerdir. İndoller pek çok antibiyotik, antipsikotik, antikanser ilaçlarının yapı maddesidirler. İndol halkası içeren çok iyi bilinen ilaçlar arasında, iltihap giderici özellik gösteren indometazin ve etodolak yer almaktadır. Ayrıca sumatriptan, avitriptan ve stobadin indol yapısı içeren ilaç yapılarındandır.

4-Okso-4,5,6,7-tetrahidroindoller, aritmik ajan olan pindalolün ve mitosenes, murraykuinon gibi biyolojik olarak çok büyük bir öneme sahip olan alkaloid ve kuinonların yapıtaşları olan 4-substütu indollerin sentezinde aracı olarak görev yapmaktadırlar.

Son yıllarda gelişen biyoteknoloji yöntemleriyle birlikte biyokatalizörler olarak kullanılan enzimlerle de asimetrik sentez yapılmaktadır. Kimyasal yöntemlere göre enzimler spesifitesi, kolaylığı ve ucuzluğu gibi birçok sebep dolayısıyla daha çok tercih edilmektedir. Enzimler, biyokimyasal olayları katalizleyen makromolekül yapısında bulunan kimyasal ajanlardır. Enzimleri proteinlerden ayıran en önemli özellik katalitik aktivite göstermeleridir. Enzimler ılıman şartlarda yüksek etkili çalıştıkları ve enantioseçici oldukları için rasemik karışım halinde bulunan kimyasalların optikçe aktif bileşiklerine dönüştürülmesinde kullanılmaktadırlar. Özellikle ilaç endüstrisinde, rasemik karışım halindeki ilaçların yerine tek stereoizomer ilaçların tercih edilmesi enzim kullanımının önemini artırmıştır.

Bu çalışmada zor metodlarla sentezlenebilen ilaç hammaddelerinin yüksek seçicilikte ve yüksek verimde yeni biyoteknolojik ve kimyasal yöntemlerle sentezlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla 5,5-dimetilsikloheksan-1,3-dion bileşiğinden başlanarak, 6,7-dihidro-6,6-dimetilbenzofuran-4(5*H*)-on bileşiği literatürden araştırılarak [60] sentezlenmiş reaksiyonu takiben  $\alpha$  seçimli asetoksilasyonlarında etkili bir katalizör olduğu belirlenen Mn (III) asetat aracılığı ile elde edilen 4,5,6,7-tetrahidro-6,6-dimetil-4-oksobenzofuran-5-yl asetat elde edilmiştir [59].

Çizelge 10.1' de 4,5,6,7-tetrahidro-6,6-dimetil-4-oksobenzofuran-5-yl asetat ( $C_{12}H_{14}NO_4$ ) bileşiğinin kristal parametreleri, şiddet verilerinin toplanması ve yapının artırılmasına ilişkin veriler ile hidrojen bağı geometrisi verilmektedir. Şekil 10.1'de X-ışını verisinden elde edilen moleküler yapısı görülmektedir.



Şekil 10.1.  $C_{12}H_{14}NO_4$  bileşiğinin ORTEPIII çizimleri. Sıcaklık titreşim elipsoidleri %40 olasılıkla verilmiştir.

Çizelge 10.1.  $C_{12}H_{14}NO_4$  bileşiğinin kristal parametreleri, şiddet verilerinin toplanması ve yapının arıtılmasına ilişkin veriler

Kristal bilgileri	
Formül ağırlığı / F(000)	222.2 / 236
Kristal sistemi / uzay grubu	triklinik / P-1
$a=6.0574(2)$ Å	$\alpha=79.29(3)^\circ$
$b=7.8357(3)$ Å	$\beta=80.70(4)^\circ$
$c=13.8656(5)$ Å	$\gamma=65.71(4)^\circ$
Birim hücre hacmi / molekül sayısı	$V=586.72(9)$ Å <sup>3</sup> / 2
$D_x$ (Mg/m <sup>3</sup> ) / $\mu$ (mm <sup>-1</sup> )	1.26 / 0.094
Renk / biçim	renksiz / blok
Kristal boyutları (mm)	0.22 x 0.13 x 0.10
Veri toplama	
Rigaku R-Rapid-S Kırınım metre	w/2 $\theta$ taraması
$\theta_{min} - \theta_{max}$	2.9 - 26.4°
Soğurma düzeltmesi	multiscan
Ölçülen yansıma sayısı	12626
Bağımsız yansıma sayısı	2407

$h, k, l$ aralığı	$-6 \leq h \leq 7, -9 \leq k \leq 9, -17 \leq l \leq 17$
Geçirgenlik faktörü $T_{\min}, T_{\max}$ (%)	0.920, 0.968
$R_{\text{int}}$	0.072

Aritım parametreleri

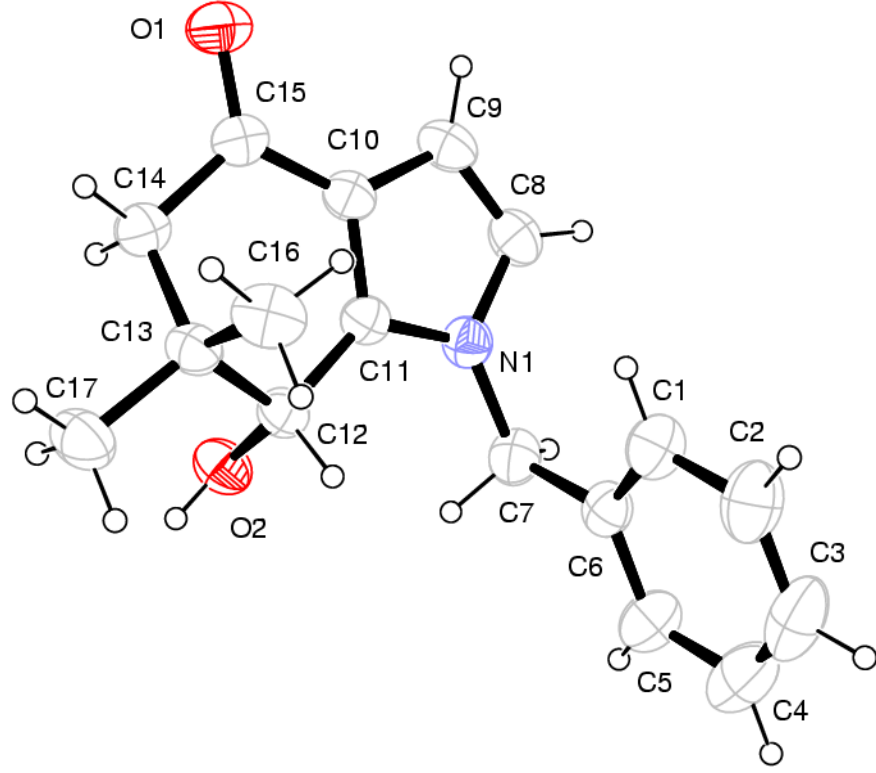
Aritımda kullanılan yansıma sayısı [ $I \geq 2\sigma(I)$ ]	1231
Aritılan parametre sayısı	149
$R_1$ ve $wR_2$ değerleri	0.052, 0.113
$w = 1/[\sigma^2(F_o^2) + (0.0384P)^2]$	$P = (F_o^2 + 2F_c^2)/3$
$S, (\Delta/\sigma)_{\text{max}}$	1.066, 0.001
$\Delta\rho_{\text{max}}, \Delta\rho_{\text{min}}$ ( $e \text{ \AA}^{-3}$ )	0.169, -0.135

$C_{12}H_{14}NO_4$  bileşiğine ait hidrojen bağı geometrisi ( $\text{\AA}, ^\circ$ )

$D-H \cdots A$	$D-H$	$H \cdots A$	$D \cdots A$	$\angle (D-H \cdots A)$
$C(2) \cdots H(2) \cdots O(4)$	0.93	2.56	3.413(4)	152

Simetri kodları: (i)  $-x, -y, 1-z$

Bilindiği gibi 4-okso-4,5,6,7-tetrahidroindol elde etmek için bilinen en pratik metod endosiklik oksijen atomunun azot atomunda 4-okso-4,5,6,7-tetrahidrobenzofuran iskeletine transformasyonudur. Bu amaçla ilk olarak elde ettiğimiz 4,5,6,7-tetrahidro-6,6-dimetil-4-oksobenzofuran-5-yl asetat, benzil amin ile yüksek sıcaklıkta (150°C) seal tüp ile reaksiyona sokularak literatürde ilk kez 1-benzil-6,7-dihidro-5-hidroksi-6,6-dimetil-1*H*-indol-4(5*H*)-one ve 1-benzil-6,7-dihidro-7-hidroksi-6,6-dimetil-1*H*-indol-4(5*H*)-one bileşikleri başarılı bir şekilde elde edilmiştir (Şekil 10.4). Single kristal halinde elde edilen 1-benzil-6,7-dihidro-7-hidroksi-6,6-dimetil-1*H*-indol-4(5*H*)-one bileşiğinin X-Ray verileri Şekil 10.2 ve Çizelge 10.2'de belirtildiği gibidir.



Şekil 10.2 1-benzil-6,7-dihidro-7-hidroksi-6,6-dimetil-1*H*-indol-4(5*H*)-one (C<sub>17</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>2</sub>) bileşiğinin ORTEPIII çizimleri. Sıcaklık titreşim elipsoidleri %40 olasılıkla verilmiştir

Çizelge 10.2 1-benzil-6,7-dihidro-7-hidroksi-6,6-dimetil-1*H*-indol-4(5*H*)-one (C<sub>17</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>2</sub>) bileşiğinin kristal parametreleri, şiddet verilerinin toplanması ve yapının arıtılmasına ilişkin veriler

Kristal bilgileri	
Formül ağırlığı / F(000)	269.3 / 576
Kristal sistemi / uzay grubu	monoklinik / P2 <sub>1</sub> /c
$a=12.287(4)$ Å	$\alpha=90^\circ$
$b=7.324(3)$ Å	$\beta=93.05(5)^\circ$
$c=16.540(5)$ Å	$\gamma=90^\circ$
Birim hücre hacmi / molekül sayısı	$V=1486.33(5)$ Å <sup>3</sup> / 4
$D_x$ (Mg/m <sup>3</sup> ) / $\mu$ (mm <sup>-1</sup> )	1.20 / 0.079
Renk / biçim	renksiz / blok
Kristal boyutları (mm)	0.23 x 0.14 x 0.10
Veri toplama	
Rigaku R-Rapid-S Kırınım metre	w/2 $\theta$ taraması
$\theta_{\min}$ - $\theta_{\max}$	2.1 - 30.5°

Soğurma düzeltmesi	multiscan
Ölçülen yansıma sayısı	30607
Bağımsız yansıma sayısı	4546
$h, k, l$ aralığı	$-17 \leq h \leq 17, -7 \leq k \leq 10, -23 \leq l \leq 23$
Geçirgenlik faktörü $T_{\min}, T_{\max}$ (%)	0.896, 0.920
$R_{\text{int}}$	0.143

#### Aritim parametreleri

Aritimde kullanılan yansıma sayısı [ $I \geq 2\sigma(I)$ ]	1557
Aritılan parametre sayısı	184
$R_1$ ve $wR_2$ değerleri	0.076, 0.171
$w=1/[\sigma^2(F_o^2)+(0.0494P)^2]$	$P=(F_o^2+2F_c^2)/3$
$S, (\Delta/\sigma)_{\text{max}}$	1.016, 0.000
$\Delta\rho_{\text{max}}, \Delta\rho_{\text{min}}$ ( $e \text{ \AA}^{-3}$ )	0.178, -0.195

1-benzil-6,7-dihidro-7-hidroksi-6,6-dimetil-1*H*-indol-4(5*H*)-one ( $C_{17}H_{19}NO_2$ ) bileşiğine ait hidrojen bağı geometrisi ( $\text{\AA}, ^\circ$ )

$D-H \cdots A$	$D-H$	$H \cdots A$	$D \cdots A$	$\angle (D-H \cdots A)$
O(2) --H(2A) ..O(1)	0.82	2.04	2.815(4)	159

Simetri kodları: (i)  $x, 1+y, z$

Aynı reaksiyon mikrodalga ışınımı altında 9, 12 ve 15'er dakikalarda denenmiş ve 1-benzil-6,7-dihidro-5-hidroksi-6,6-dimetil-1*H*-indol-4(5*H*)-one ve 1-benzil-6,7-dihidro-7-hidroksi-6,6-dimetil-1*H*-indol-4(5*H*)-one bileşikleri başarılı bir şekilde elde edilmiştir. Çizelge 10.3'te görüldüğü gibi zaman artışı ile birlikte % verimlerde de artış gözlenmiştir. Mikrodalgada yöntem geliştirme çalışmaları devam etmektedir.

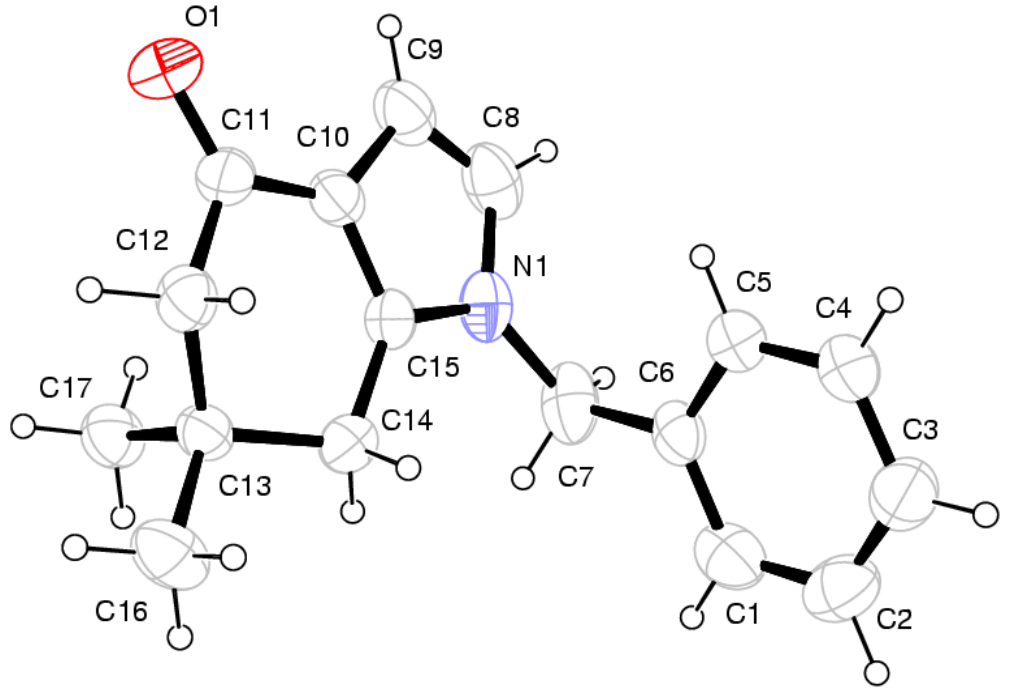
Çizelge 10.3 Mikrodalga ile sentezlenen maddelerin % verimleri

Madde	Zaman	% Verim
1-benzil-6,7-dihidro-5-hidroksi-6,6-dimetil-1 <i>H</i> -indol-4(5 <i>H</i> )-one	9 dakika	18,84
	12 dakika	14,62
	15 dakika	16,77
1-benzil-6,7-dihidro-7-hidroksi-6,6-dimetil-1 <i>H</i> -indol-4(5 <i>H</i> )-one	9 dakika	17,7
	12 dakika	17,44
	15 dakika	19,42

İkinci olarak, 6,7-dihidro-6,6-dimetilbenzofuran-4(5*H*)-on bileşiği benzil amin ile yüksek sıcaklıkta (150°C) seal tüp ile reaksiyona sokularak 1-benzil-6,7-dihidro-6,6-dimetil-1*H*-indol-4(5*H*)-on bileşiği elde edilmiştir (Şekil 10.4). Bileşiğin single kristali X-Ray cihazı ile ölçülmüş ve yapı aydınlatılmıştır (Şekil 10.3).

Çizelge 10.4'de 1-benzil-6,7-dihidro-6,6-dimetil-1*H*-indol-4(5*H*)-on (C<sub>17</sub>H<sub>19</sub>NO) bileşiğinin kristal parametreleri, şiddet verilerinin toplanması ve yapının artırılmasına ilişkin veriler görülmektedir. Şekil 10.3'de X-ışını verisinden elde edilen moleküler yapı gösterilmiştir.





Şekil 10.3 C<sub>17</sub>H<sub>19</sub>NO bileşiğinin ORTEPIII çizimleri. Sıcaklık titreşim elipsoidleri %40 olasılıkla verilmiştir.

Çizelge 10.4 C<sub>17</sub>H<sub>19</sub>NO bileşiğinin kristal parametreleri, şiddet verilerinin toplanması ve yapının arıtılmasına ilişkin veriler

Kristal bilgileri	
Formül ağırlığı / F(000)	253.3 / 175
Kristal sistemi / uzay grubu	monoklinik / P2 <sub>1</sub> /n
$a=6.3605(2)$ Å	$\alpha=90^\circ$
$b=24.8456(7)$ Å	$\beta=93.08(4)^\circ$
$c=9.0033(3)$ Å	$\gamma=90^\circ$
Birim hücre hacmi / molekül sayısı	$V=1420.73(2)$ Å <sup>3</sup> / 4
$D_x$ (Mg/m <sup>3</sup> ) / $\mu$ (mm <sup>-1</sup> )	1.18 / 0.073
Renk / biçim	renksiz / blok
Kristal boyutları (mm)	0.12 x 0.13 x 0.10
Veri toplama	
Rigaku R-Rapid-S Kırınım metre	w/2 $\theta$ taraması
$\theta_{\min} - \theta_{\max}$	2.4 - 26.4°
Soğurma düzeltmesi	multiscan
Ölçülen yansıma sayısı	29414

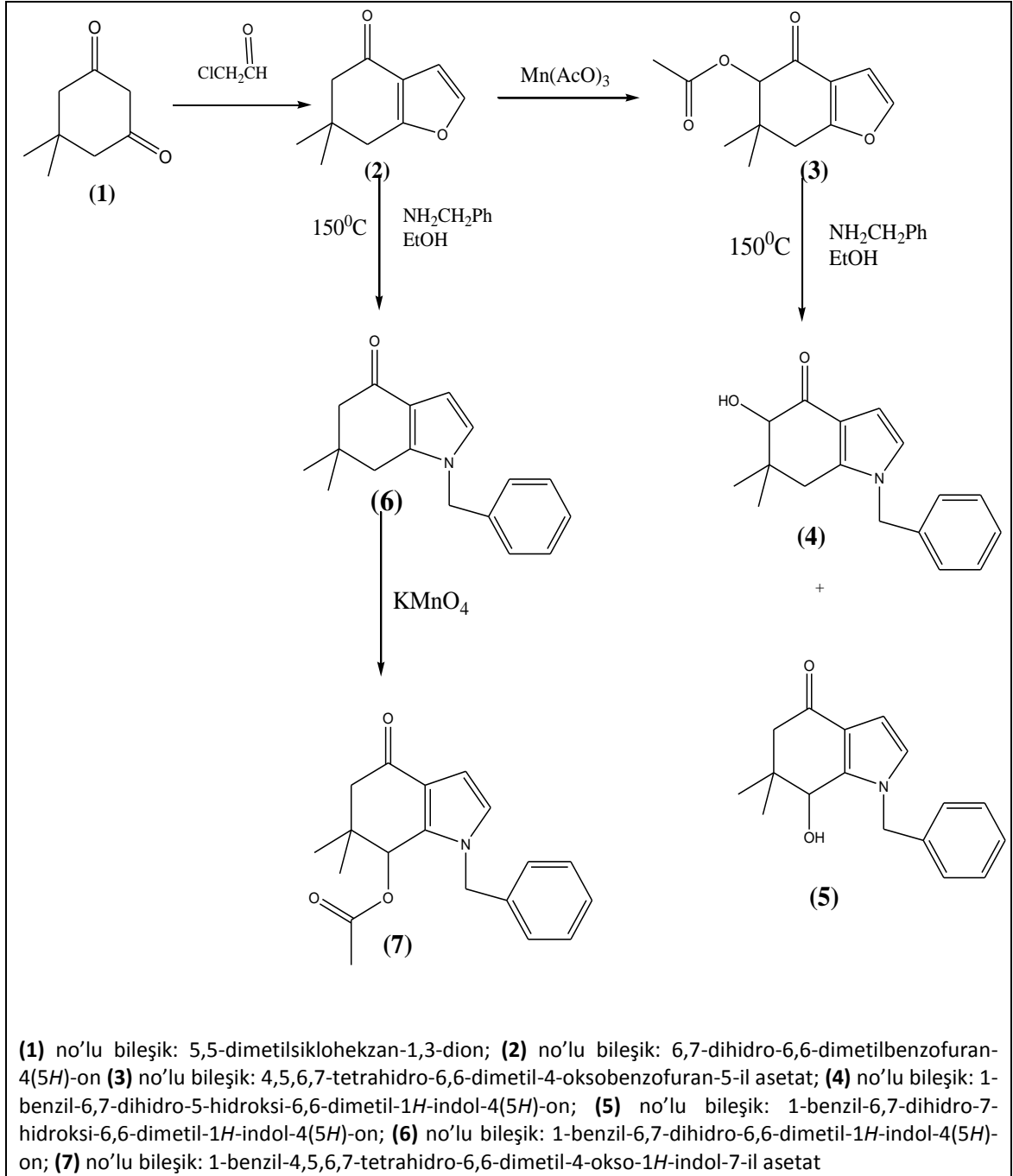
Bağımsız yansıma sayısı	2902
$h, k, l$ aralığı	$-7 \leq h \leq 7, -31 \leq k \leq 31, -11 \leq l \leq 11$
Geçirgenlik faktörü $T_{\min}, T_{\max}$ (%)	0.915, 0.970
$R_{\text{int}}$	0.1387

#### Aritim parametreleri

Aritimde kullanılan yansıma sayısı [ $I \geq 2\sigma(I)$ ]	1231
Aritılan parametre sayısı	175
$R_1$ ve $wR_2$ değerleri	0.056, 0.137
$w=1/[\sigma^2(F_0^2)+(0.0274P)^2]$	$P=(F_0^2+2F_c^2)/3$
$S, (\Delta/\sigma)_{\max}$	1.011, 0.001
$\Delta\rho_{\max}, \Delta\rho_{\min}$ ( $e \text{ \AA}^{-3}$ )	0.135, -0.128

1-benzil-6,7-dihidro-6,6-dimetil-1H-indol-4(5H)-on bileşiğinin sentezi mikrodalga ışıması ile de başarılı bir şekilde yapılmıştır. Sırasıyla denenen 3, 4, 6, 8, 10 ve 15. dakikadaki verimler karşılaştırılmış ve 8. dakikadaki verimin en yüksek olduğu ve yan ürünlerin daha az olduğu saptanmıştır (Şekil 10.5 ve Çizelge 10.5).

Çalışmamızın bu aşamasından sonra  $\text{KMnO}_4$  katalizörlüğünde elde edilmiş olan 1-benzil-4,5,6,7-tetrahidro-6,6-dimetil-4-okso-1H-indol-7-yl asetat bileşiği çoğaltılarak her iki enantiyomeri kemoenzimatik yöntemlerle sentezlenmiş ve enantiyoseçicilik için en uygun koşullar sağlanmıştır. Kullanılan enzim ve çözücü sistemlerindeki biyodönüşümler başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiştir.



Şekil 10.4 Genel reaksiyon şeması

Reaksiyonların kontrolü İTK ile izlenmiştir. Safaştırma işlemleri kolon kromatografisi ve kristalizasyon yöntemi ile yapılmıştır. Ürünlerin yapı tayini ve karakterizasyonu NMR ve IR kullanılarak yapılmıştır.

Sentezlenmesi hedeflenen maddelerin gösterdikleri biyolojik aktivite nedeniyle  $\alpha$  ve  $\gamma$ -hidroksi indol yapısındaki kiral ürünlerin yanı sıra, doğal birçok üründe yapı taşı olarak kullanılan kiral siklik ketonlardan başlanarak sentezlenen farmakolojik olarak önem

taşıyan  $\alpha$  ve  $\gamma$ -asetoksi indollerin stereoseçici eldesinde enzimler, biyokatalizörler olarak kullanılmış ve sentezlenmesi başarı ile gerçekleştirilmiştir.

Bilindiği gibi  $\alpha$ -hidroksi ketonlar, biyolojik olarak aktif doğal ürünlerin asimetric sentezlerinde yapı birimleri olmaları sebebiyle, endüstri ve akademik çalışmalar açısından çok büyük bir önem taşımaktadırlar. Optikçe aktif maddelerin elde edilmesinde kullanılan en önemli yöntemlerden biri asimetric sentezdir. Asimetric sentez ilaç sanayinde güncelliğini sürdüren endüstriyel araştırmalarda oldukça önem taşıyan bir konudur. İlaç endüstrisinde enantiomerik olarak saf ilaçların eldesi günümüzde oldukça önemli bir hale gelmiştir. Aktif madde sentezinde biyoteknolojik ve kimyasal yöntemlerin ortak kullanılması, bu yöntemlerin kolay uygulanabilirliği ve yüksek verim eldesi açısından ilaç endüstrisinde giderek daha büyük bir öneme sahip olmaktadır.

Asetoksi ve hidroksi tetrahydroindol bileşiklerinin çeşitli lipaz enzimleri kullanılarak enantioseçimli sentezleri yapılmıştır. Enzim olarak lipazlardan yararlanılmıştır. Lipazlar hem sulu ortamlarda hem de organik çözücülerde aktivite gösteren enzimlerdir. Organik çözücülerde aktivite göstermeleri, enantioseçimli sentezler açısından oldukça önemlidir. Özellikle kemo, regio, ve enantioseçimli reaksiyonlar göstermesi bu enzimlerin ilaç sanayiinde kullanımını yaygınlaştırmaktadır.

Lipazlar doğada çok yaygın olarak tüm canlılarda bulunmaktadır. Endüstride kullanılan lipaz enzimi genellikle, ekstrasellüler olarak çok çeşitli lipaz ürünü veren mikroorganizmalardan izole edilerek kullanılmaktadır.

### **10.1.1 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. 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 enantioseçiciliğe sahip olmaları ve organik çözücülerde yüksek dayanıklılık gösterebilmelerinden dolayı çok yaygın olarak kullanılmaktadırlar. Kimyasal seçicilik, regioseçicilik ve enantioseçicilik göstermesi enzim katalizli reaksiyonların önemini

arttırmaktadır. 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.

### **10.1.2 Enantioseçimli Sentezleri Etkileyen Parametreler**

Lipaz katalizli enantioseçimli tepkimelerde enzim kaynağı, çözücü türü ve sıcaklık enantioseçimliliği artırmada önemli parametrelerdir.

Enzim kaynaklarının enantioseçimli sentezler üzerine etkisini incelemek amacıyla, farmakolojik olarak önemli bileşiklerden olan 4,5,6,7-tetrahidro-4-okso-benzofuran-5-asetatın farklı lipazlar kullanılarak kemoenzimatik sentezi yapılmıştır. Aynı çözücü kullanılarak sekiz farklı lipaz çeşidi denenmiştir. Yapılan çalışma sonucunda en yüksek enantioseçimlilik; Amona PS ve *Pseudomonas fluoresces* lipazında elde edildiği görülmüştür. Aynı şekilde 3-metoksi-4-metil-2-oxosiklohek-3-enil asetatın enzimatik hidrolizi 11 farklı lipaz enzimi denenmiştir. En yüksek enantioseçimlilik *Candida cylindracea* lipazında elde edilmiştir [59].

Ortam sıcaklığı lipaz enziminin aktivitesini etkileyen çok önemli bir faktördür. Yapılan çalışmalar lipaz katalizörlüğünde gerçekleştirilen enantioseçimli sentezler için optimum ortam sıcaklığının 20-60°C derece arasında olması gerektiğini göstermektedir [61].

Lipazlar hem sulu ortamlarda hem de organik çözücülerde aktivite gösteren enzimlerdir. Organik çözücülerde aktivite göstermeleri, enantioseçimli sentezler açısından oldukça önemlidir. Bu sentezlerde dikkat edilmesi gereken en önemli unsur; kullanılan organik çözücünün, enzimin hidrat kabuğuna zarar vermeyecek şekilde seçilmiş olmasıdır. Genel olarak lipaz enzimi ile yapılan biyokataliz reaksiyonlarında; hidrofobik çözücülerde yüksek aktivite, hidrofilik çözücülerde ise düşük aktivite görülmektedir. Bu nedenle lipaz enzimi için en çok kullanılan organik çözücüler; THF, DMSO, benzen, toluen, asetonitril, n-hekzan, siklohekzan, heptan, oktan, izo-oktan,

nonan, petrol eter, triasetin, karbontetraklorür, kloroform ve etil asetatır [62], [63], [64].

### **10.1.3 1-Benzil-6,7-dihidro-6,6-dimetil-1*H*-indol-4(5*H*)-one Sentezi**

1-Benzil-6,7-dihidro-6,6-dimetil-1*H*-indol-4(5*H*)-on bileşiğinin eldesi için uyguladığımız seal tüp yöntemine alternatif olarak mikrodalga ışımasından da yararlanılmıştır.

#### **a.Seal tüp yöntemi ile 1-Benzil-6,7-dihidro-6,6-dimetil-1*H*-indol-4(5*H*)-one Sentezi**

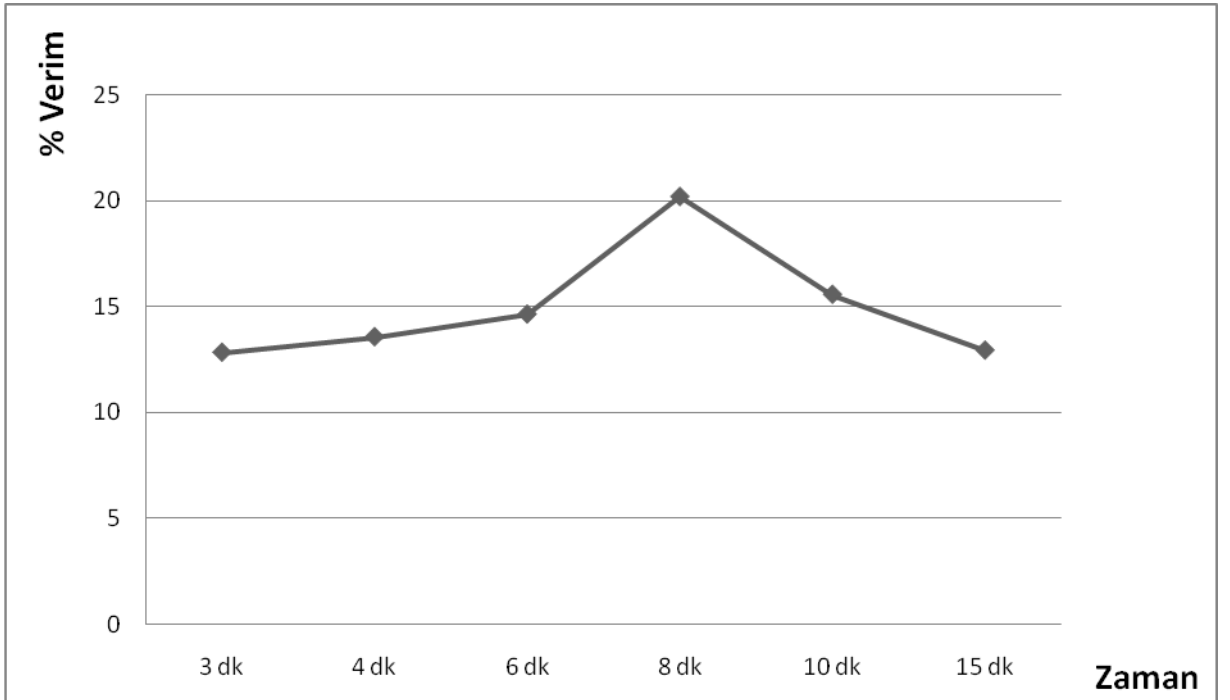
6,7-dihidro-6,6-dimetilbenzofuran-4(5*H*)-one (6,25 mmol), benzil amin (18,7 mmol) ve 5 ml %20'lik etanol karışımı seal tüp içersinde, 12 saat boyunca 145-150°C'de ısıtılarak reaksiyon gerçekleştirilmiştir. Reaksiyon karışımı suya dökülerek diklorometan ile ekstrakte edildikten sonra MgSO<sub>4</sub> ile kurutularak çözücü vakum altında uzaklaştırılmıştır. Ürün saflaştırılması, kolon kromatografisinde 1:2 (EtOAc:Hexan) sistemi ile yapılmış ve %56,2 verimle 1-benzil-6,7-dihidro-6,6-dimetil-1*H*-indol-4(5*H*)-one bileşiği elde edilmiştir (Şekil 10.4).

#### **b. Mikrodalga ile 1-benzil-6,7-dihidro-6,6-dimetil-1*H*-indol-4(5*H*)-one Sentezi**

6,7-dihidro-6,6-dimetilbenzofuran-4(5*H*)-one (6,25 mmol), benzil amin (18,7 mmol) ve 5 ml %20'lik etanol karışımı, oda sıcaklığında silika jel (3 gr) yüzeyine, homojen olarak beher içinde adsorblandıktan sonra karışım mikrodalga fırın içersine konularak sırasıyla 3, 4, 6, 8, 10 ve 15 dakika 360 Watta ışınlanmıştır. Reaksiyon İTK ile kontrol edilerek diklorometan ile extre edildikten sonra MgSO<sub>4</sub> ile kurutulup, çözücü vakum altında uzaklaştırılmıştır. Ürün saflaştırılması, kolon kromatografisinde 1:3 (EtOAc:Hexan) sistemi ile yapılmış ve 1-benzil-6,7-dihidro-6,6-dimetil-1*H*-indol-4(5*H*)-one bileşiği elde edilmiştir. % Verimler karşılaştırıldığında en iyi sonucun 8. dakikada elde edildiği görülmüştür (Çizelge 10.5).

Çizelge 10.5 Mikrodalga ile sentezlenen maddenin zaman-verim karşılaştırılması

Süre	Verim
3 dk.	% 12,82
4 dk.	% 13,56
6 dk.	% 14,63
8 dk.	% 20,21
10 dk.	% 15,57
15 dk.	% 12,92



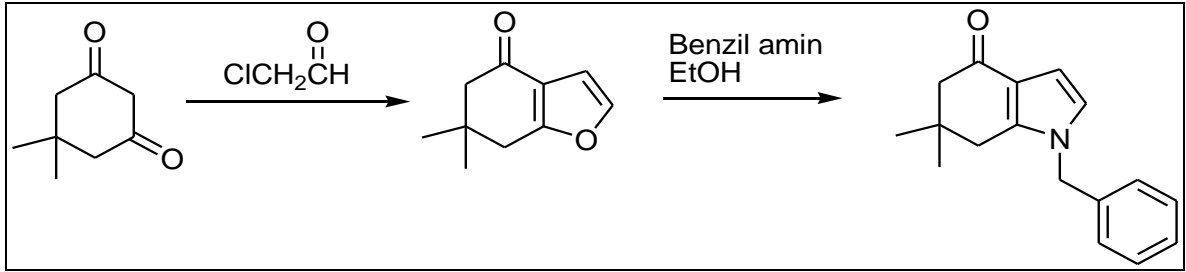
Şekil 10.5 Mikrodalga ile sentezlenen 1-benzil-6,7-dihidro-6,6-dimetil-1H-indol-4(5H)-one bileşiğinin % verim-zaman grafiği

1-Benzil-6,7-dihidro-6,6-dimetil-1H-indol-4(5H)-on bileşiğinin  $^1\text{H-NMR}$  spektrumunda, 1.05 ppm'de 6 numaralı karbona ait metil protonları üst üste gelerek singlet olarak gözlenmiştir, C-5 ve C-7 protonları sırasıyla 2.29 ppm'de ve 2.43 ppm'de birer singlet,

4.98 ppm'de benzil protonları için singlet ve C-3 ve C-2 protonu için sırasıyla 6.55 ppm'de ( $J=3.00$  Hz ) ve 6.60 ppm'de ( $J= 3.00$  Hz ) birer dublet olarak tanımlanmıştır (Şekil Ek 1.1).

$^{13}\text{C}$ -NMR spektrumunda C-4'teki karbonil karbonu için 193 ppm'de bir sinyal, C-3 ve C-2 karbonu için sırasıyla 105 ve 120 ppm'de birer sinyal ve 123 ve 128 ppm aralığında benzen halkasına ait sinyaller karakteristik olarak gözlenmiştir (Şekil Ek 1.2).

IR spektrumunda: indol halkasındaki N-H grubu için  $2926\text{ cm}^{-1}$  de ve C-4'teki karbonil grubu için  $1647\text{ cm}^{-1}$  de karakteristik sinyaller gözlenmiştir (Şekil Ek 1.3).



Şekil 10.6 Reaksiyon şeması

#### 10.1.4 1-Benzil-4,5,6,7-tetrahidro-6,6-dimetil-4-okso-1H-indol-7-il asetat bileşiğinin Sentezi

##### a. Mn(OAc)<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O kullanılarak yapılan 1-Benzil-4,5,6,7-tetrahidro-6,6-dimetil-4-okso-1H-indol-7-il asetat bileşiğinin Sentezi

Mangan (II) asetat (9,8 mmol), KMnO<sub>4</sub> (2,28 mmol), 60 ml benzen ve 16 ml asetik asit karışımında çözülerek, Dean-Stark tuzacağı ile reaksiyon ortamı kahverengi oluncaya kadar reflux edilmiştir. Daha sonra, 1-benzil-6,7-dihidro-6,6-dimetil-1H-indol-4(5H)-one (1 mmol) bileşiği ilave edilmiştir. İTK ile ürün oluşumu kontrol edilmiş ve 48 saat reaksiyona devam edilmiştir. Reaksiyon karışımı, eter ile seyreltilip, doymuş tuz çözeltisi ile ekstrakte edilmiş ve organik faz, MgSO<sub>4</sub> ile kurutularak çözücü vakum altında uzaklaştırılmıştır. Ürünün saflaştırılması, kolon kromatografisinde 1:6 (EtOAc:Hexan) sistemi ile yapılmış ve %5 verimle 1-benzil-4,5,6,7-tetrahidro-6,6-dimetil-4-okso-1H-indol-7-il asetat bileşiği elde edilmiştir.



**b. KMnO<sub>4</sub> kullanılarak yapılan 1-Benzil-4,5,6,7-tetrahidro-6,6-dimetil-4-okso-1H-indol-7-il asetat Bileşiğinin Sentezi**

Potasyum permanganat (2,28 mmol), 60 ml benzen ve 16 ml asetik asit ile çözülerek, Dean-Stark tuzağı ile reaksiyon ortamı kahverengi oluncaya kadar reflux edildikten sonra, 1-benzil-6,7-dihidro-6,6-dimetil-1H-indol-4(5H)-one (1 mmol) bileşiği ilave edilerek, İTK kontrolü ile 3,5 saat reaksiyona devam edilmiştir. Reaksiyon karışımı, eter ile seyreltilip, doymuş tuz çözeltisi ile ekstrakte edilmiş ve organik faz, MgSO<sub>4</sub> ile kurutularak çözücü vakum altında uzaklaştırılmıştır. Ürünün saflaştırılması, kolon kromatografisinde 1:6 (EtOAc:Hexan) sistemi ile yapılmış ve %17 verimle 1-benzil-4,5,6,7-tetrahidro-6,6-dimetil-4-okso-1H-indol-7-il asetat bileşiği elde edilmiştir.

Mn(OAc)<sub>3</sub> ile yapılan reaksiyonlarda ürün elde edilememiştir. Yapılan verim analizleri sonucunda, en yüksek verimin KMnO<sub>4</sub> ile yapılan sentezler sonucunda gerçekleştiği görülmüştür. KMnO<sub>4</sub>, yüksek seçiciliği, ucuzluğu ve kolay uygulanır yöntemleriyle enonların asetoksilasyonlarında çok önemli bir yere sahiptir [65].

1-Benzil-4,5,6,7-tetrahidro-6,6-dimetil-4-okso-1H-indol-7-il asetat bileşiğinin <sup>1</sup>H-NMR spektrumunda, 6 numaralı karbona ait metil protonları sırasıyla 0.98ppm ve 1.07ppm'de birer singlet olarak gözlenmiştir, C-7 protonları sırasıyla 2.20 ppm'de (J=16.65 Hz) ve 2.81 ppm'de (J=16.65 Hz) birer dublet, C-3 ve C-2 protonu için sırasıyla 6.65ppm'de (J=3.00 Hz) ve 6.75 ppm'de (J=2.95 Hz ) birer dublet olarak gözlenmiştir. Fenil grubuna ait pikler 6.95 ppm ile 7.35 ppm arasında multipler olarak gözlenmiştir. (Şekil Ek 1.4)

<sup>13</sup>C-NMR spektrumunda C-4'teki karbonil karbonu için 193,34 ppm'de bir sinyal, C-3 ve C-2 karbonu için sırasıyla 122 ve 138 ppm'de birer sinyal ve 125,15 ve 128,84 ppm aralığında benzen halkasına ait sinyaller karakteristik olarak gözlenmiştir. (Şekil Ek 1.5)

**10.1.5 1-benzil-6,7-dihidro-5-hidroksi-6,6-dimetil-1H-indol-4(5H)-one ve 1-benzil-6,7-dihidro-7-hidroksi-6,6-dimetil-1H-indol-4(5H)-one bileşiklerinin Sentezleri**

**a. Seal tüp ile 1-benzil-6,7-dihidro-5-hidroksi-6,6-dimetil-1H-indol-4(5H)-one ve 1-benzil-6,7-dihidro-7-hidroksi-6,6-dimetil-1H-indol-4(5H)-one bileşiklerinin Sentezleri**

4,5,6,7-Tetrahidro-6,6-dimetil-4-oksobenzofuran-5-il asetat bileşiği, 3 equivalent benzil amin ve 5 ml %20'lik etanol karışımı seal tüpe konularak, 145-150°C'de 12 saat boyunca reaksiyon gerçekleştirildi. Reaksiyon karışımı suya dökülerek diklorometan ile ekstrakte edildi. Ürünün saflaştırılması, kolon kromatografisinde 1:2 (EtOAc:Hexan) sistemi ile yapıldı ve verimin 1-benzil-6,7-dihidro-5-hidroksi-6,6-dimetil-1H-indol-4(5H)-one bileşiği için %26,2 ve 1-benzil-6,7-dihidro-7-hidroksi-6,6-dimetil-1H-indol-4(5H)-one bileşiği için de %51,7 olduğu gözlenmiştir (Şekil 10.4).

1-benzil-6,7-dihidro-5-hidroksi-6,6-dimetil-1H-indol-4(5H)-one bileşiğinin <sup>1</sup>H-NMR spektrumunda, 6 numaralı karbona ait metil protonları sırasıyla 0.85ppm ve 1.30ppm'de birer singlet olarak gözlenmiştir, C-7 protonları sırasıyla 2.55 ppm'de (J=16.355 Hz) ve 2.70 ppm'de (J=16.354 Hz) birer dublet, C-3 ve C-2 protonu için sırasıyla 6.51ppm'de (J=3.05 Hz) ve 6.68 ppm'de (J=3.05 Hz ) birer dublet olarak gözlenmiştir. Fenil grubuna ait pikler 7.2 ppm ile 7.4 ppm arasında multiplet olarak gözlenmiştir (Şekil Ek 1.6).

<sup>13</sup>C-NMR spektrumunda C-4'teki karbonil karbonu için 193,21 ppm'de bir sinyal, C-3 ve C-2 karbonu için sırasıyla 118 ve 128 ppm'de birer sinyal ve 124 ve 129 ppm aralığında benzen halkasına ait sinyaller karakteristik olarak gözlenmiştir (Şekil Ek 1.7)

IR spektrumunda: indol halkasındaki N-H grubu için 2961 cm<sup>-1</sup> de, C-4'teki karbonil grubu için 1638 cm<sup>-1</sup>'de ve ester grubuna ait karbonil grubu için 3447 cm<sup>-1</sup>'de karakteristik sinyaller gözlenmiştir (Şekil Ek 1.8).

1-benzil-6,7-dihidro-7-hidroksi-6,6-dimetil-1H-indol-4(5H)-one bileşiğinin <sup>1</sup>H-NMR spektrumunda, 6 numaralı karbona ait metil protonları sırasıyla 0.90ppm ve 1.10ppm'de birer singlet olarak gözlenmiştir, C-7 protonları sırasıyla 2.12 ppm'de

( $J=16.51$  Hz) ve 2.62 ppm'de ( $J=16.55$  Hz) birer dublet, C-3 ve C-2 protonu için sırasıyla 6.55ppm'de ( $J=3.00$  Hz) ve 6.62 ppm'de ( $J=3.05$  Hz ) birer dublet olarak gözlenmiştir. Fenil grubuna ait pikler 6.99 ppm ile 7.3 ppm arasında multiplet olarak gözlenmiştir (Şekil Ek 1.9).

$^{13}\text{C}$ -NMR spektrumunda C-4'teki karbonil karbonu için 194.52 ppm'de bir sinyal, C-3 ve C-2 karbonu için sırasıyla 120 ve 128 ppm'de birer sinyal ve 124 ve 129 ppm aralığında benzen halkasına ait sinyaller karakteristik olarak gözlenmiştir (Şekil Ek 1.10).

IR spektrumunda: indol halkasındaki N-H grubu için  $2961\text{ cm}^{-1}$  de, C-4'teki karbonil grubu için  $1644\text{ cm}^{-1}$ 'de ve ester grubuna ait karbonil grubu için  $3312\text{ cm}^{-1}$ 'de karakteristik sinyaller gözlenmiştir (Şekil Ek 1.11).

### **b. Mikrodalga ile 1-benzil-6,7-dihidro-5-hidroksi-6,6-dimetil-1H-indol-4(5H)-one ve 1-benzil-6,7-dihidro-7-hidroksi-6,6-dimetil-1H-indol-4(5H)-one bileşiklerinin Sentezleri**

4,5,6,7-Tetrahidro-6,6-dimetil-4-oksobenzofuran-5-il asetat (6,25 mmol), benzil amin (18,7 mmol) ve 5 ml %20'lik etanol karışımı seal tüp içersinde sırasıyla 9, 12 ve 15 dakikada, mikrodalgada 360 Watta reaksiyon gerçekleştirilmiştir. Reaksiyon karışımı suya dökülerek diklorometan ile ekstrakte edilerek  $\text{MgSO}_4$  ile kurutulmuş ve çözücü vakum altında uzaklaştırılmıştır. Oluşan maddelerin % verimleri zamana paralel olarak artmıştır.

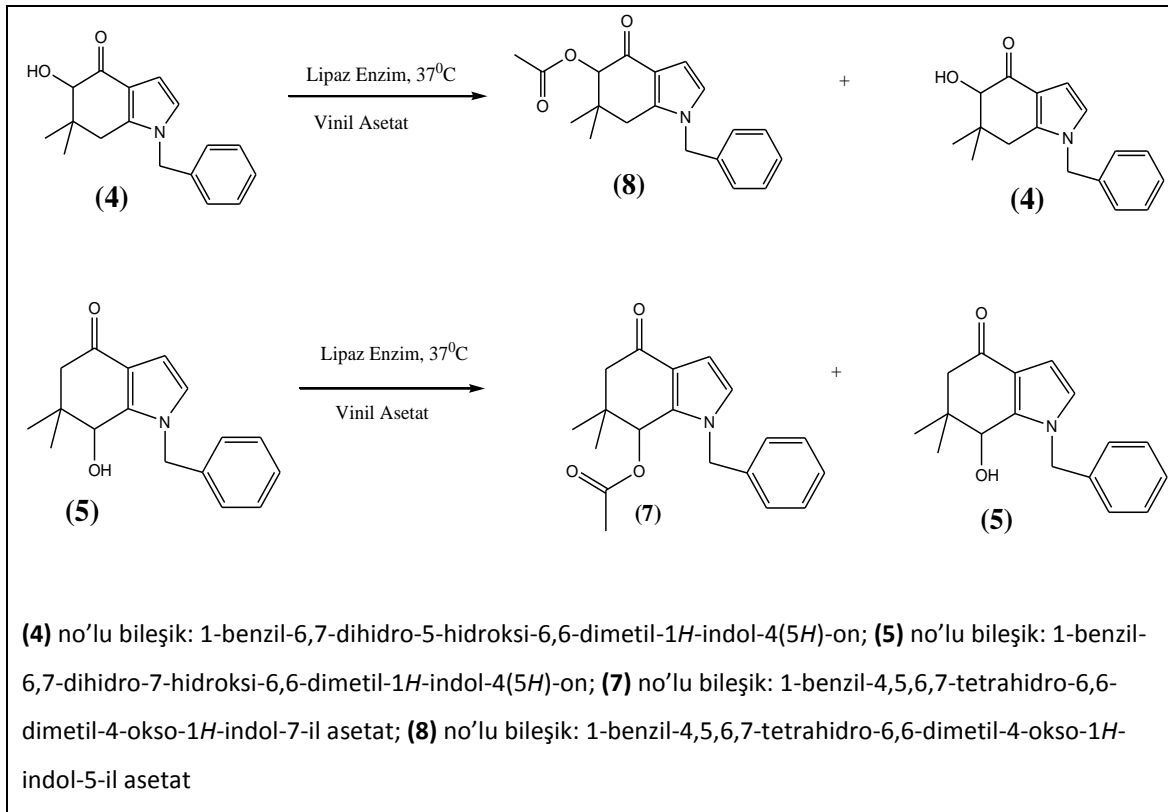
## **10.2 Lipaz Katalizli Reaksiyonlar**

### **10.2.1 1-benzil-6,7-dihidro-5-hidroksi-6,6-dimetil-1H-indol-4(5H)-one ve 1-benzil-6,7-dihidro-7-hidroksi-6,6-dimetil-1H-indol-4(5H)-one bileşiklerinin Lipaz Katalizli Reaksiyonları**

1-benzil-6,7-dihidro-5-hidroksi-6,6-dimetil-1H-indol-4(5H)-one ve 1-benzil-6,7-dihidro-7-hidroksi-6,6-dimetil-1H-indol-4(5H)-one bileşiklerinin biyodönüşümleri için farklı organik çözücüler ve lipaz enzim çeşitleri denenmiştir. Bütün enzimatik reaksiyonlar lipaz enzimi için en uygun sıcaklık olan  $37^\circ\text{C}$ 'de yapılmıştır. Katalizörün yüzeyine substratın difüzyonunu sağlamak amacı ile reaksiyon çalkalayıcı inkübatör varlığında gerçekleştirilmiştir. Reaksiyonlarda açıl kaynağı olarak vinilasetat kullanılmıştır. Vinil asetat kullanılmasının sebebi, vinil asetatın asetil transferi sonrasında oluşan alkolün

daha kararlı olan asetaldehite dönüşmesidir. Enzimatik reaksiyonlar geri dönüşümlü reaksiyonlar oldukları için asetil kaynağı olarak vinil grubu içermeyen açıl kaynakları kullanılması durumunda (asetik asit gibi) asetil transferi sonrasında açığa çıkan alkol veya su, reaksiyonun geri dönmesine neden olur. Bu nedenle açıl kaynağı olarak vinil grubu içeren esterler tercih edilmektedir.

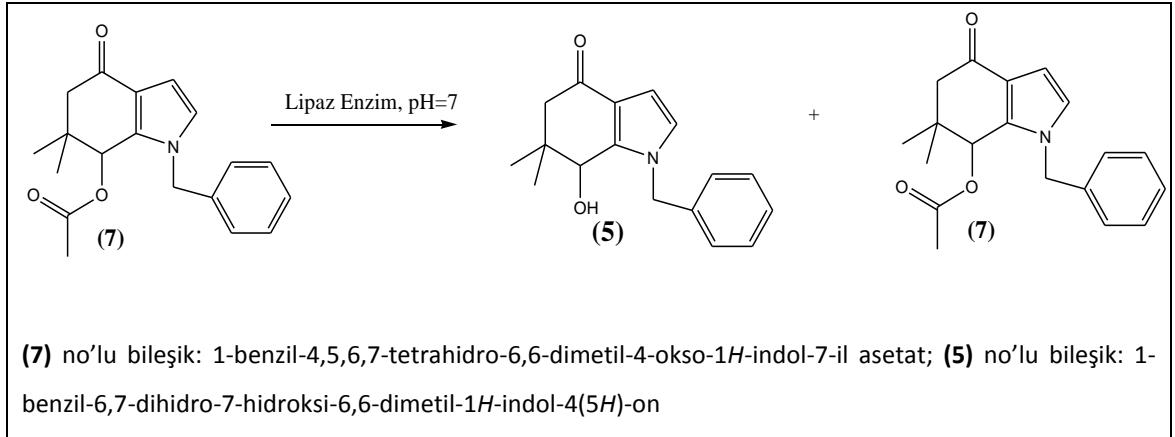
Lipaz enzimlerinin organik çözücülerde de aktivite göstermesi, biyokataliz reaksiyonlarında yaygın olarak kullanılmasının önemli sebeplerindendir. Bu çalışmada, 1-benzil-6,7-dihidro-5-hidroksi-6,6-dimetil-1*H*-indol-4(5*H*)-one ve 1-benzil-6,7-dihidro-7-hidroksi-6,6-dimetil-1*H*-indol-4(5*H*)-one bileşiklerinin kemoenzimatik reaksiyonları için biyokataliz reaksiyonlarında yaygın olarak kullanılan ve organik çözücülerde de aktivite gösteren lipaz enzimleri kullanılmıştır. Bu amaçla, AOL (*Aspergillus oryzae* Lipaz), PRL (*Penicillium roqueforti* Lipaz), MJL (*Mucor javanicus* Lipaz), Amano PS, PFL (*Pseudomonas fluorescens* Lipaz), HPL (Hog pancreas Lipaz), MML (*Mucor miehei* Lipaz), RAL (*Rhizopus arrhizus* Lipaz) enzimleri asetonitril, DMSO, THF olmak üzere 3 farklı çözücüde ve çözücsüz ortamlarda reaksiyona sokulmuşlardır. Reaksiyon belirli aralıklarla İTK ile takip edilerek %50 dönüşüme ulaşıldığında sonlandırılmıştır.



Şekil 10.7 Lipaz katalizli reaksiyon şeması

## 10.2.2 1-Benzil-4,5,6,7-tetrahidro-6,6-dimetil-4-okso-1H-indol-7-il asetat bileşiğinin Lipaz Katalizli Reaksiyonları

1-Benzil-4,5,6,7-tetrahidro-6,6-dimetil-4-okso-1H-indol-7-il asetat bileşiğinin kemoenzimatik reaksiyonları için organik çözücülerde de aktivite gösteren lipaz enzimleri kullanılmıştır. Bu amaçla, organik çözücü olarak DMSO ve MJL (*Mucor javanicus* Lipaz), HPL (Hog pancreas Lipaz), PCL (*Pseudomonas cepacia* Lipaz), CCL (*Candida cylindracea* Lipaz), PFL (*Pseudomonas fluorescens* Lipaz) olmak üzere 5 farklı lipaz enzimi kullanılmıştır. Bu çalışmadaki bütün enzim reaksiyonları fosfat tampon çözeltisinde (pH=7), 37°C sıcaklıkta ve çalkalayıcı inkübatör varlığında yapılmıştır. İTK kontrolü ile reaksiyonlar takip edilmiş ve yaklaşık %50 dönüşüme ulaşıldığında sonlandırılmıştır. Buna göre, MJL (*Mucor javanicus* Lipaz) enzimi ve HPL (Hog pancreas Lipaz) enzimi 30,5 saatte; PCL (*Pseudomonas cepacia* Lipaz) enzimi 48 saatte durdurulmuştur. Kolon kromatografisi ile yapılan ayırma sonucunda, kiral 1-Benzil-4,5,6,7-tetrahidro-6,6-dimetil-4-okso-1H-indol-7-il asetoksi ve 1-benzil-6,7-dihidro-7-hidroksi-6,6-dimetil-1H-indol-4(5H)-on bileşiği saf olarak elde edilmiştir. Ürünler NMR spektroskopisi ile aydınlatılmıştır (Şekil Ek 1.12 ve 1.13).



Şekil 10.8 Lipaz katalizli reaksiyon şeması

### 10.3 Sonuç

$\alpha$ -Hidroksi ketonlar biyolojik aktivite gösteren pek çok doğal üründe önemli yapı birimleridir ve doğal ürünlerin asimetrik sentezleri için oldukça önemli maddelerdir.

Farmakolojik açıdan önemli ara ürünlerden biri olan indoller ve türevleri gösterdikleri biyolojik aktivite nedeni ile ilaç sanayiinde büyük önem taşımaktadırlar. İndoller, canlı organizmaların bazı temel yapı taşlarında ve ilaç öncü maddelerinin büyük bir kısmında bulunan heterohalkalı bileşiklerdir. İndol kimyası, heterohalkalı kimya alanında en aktif gruptur. 4,5,6,7-Tetrahidroindoller kolay aromatzize olmaları nedeniyle indol sentezinde iyi aracı molekülledir. 4,5,6,7-Tetrahidroindoller, fonksiyonel indollerin hazırlanması için uygun başlatıcı materyallerdir. Bunlar farmasötik açıdan önemli vindolin, vindorosin, elliptisin gibi geniş bir alkaloidler grubu için prekürsör maddelerdir. Ayrıca indol grubuna sahip polifonksiyonel kompleks moleküllerin total sentezinde kullanılabilirler. Sübstitüye indoller büyük indol türevlerinin oluşmasında görev yaparlar. En çok bilinen alkaloidlerin indol çekirdeklerine dayandığı bilinmektedir. İndol alkaloidler ve dihidroindol içeren doğal yapılar, çeşitli biyolojik aktivitelerinden dolayı ilgi çekici hedef moleküller haline gelmiştir. Ayrıca indol türevleri içeren doğal bileşikler stereomerkez taşıdıkları için asimetrik sentezde oldukça önemlidirler.

Bu sebeple zor metodlarla sentezlenen indol türevlerinin biyoteknolojik ve kimyasal yöntemlerle yüksek verim ve seçicilikte eldesi çalışmamızın ana hedefini oluşturmuştur.

Son yıllarda, ılıman reaksiyon koşulları, kolay uygulanabilir yöntemleri ve yüksek enantiyo, regio spesifiteleri dolayısıyla biyokatalizörler, asimetrik organik sentezlere alternatif oluşturmaktadırlar.

Kompleks kiral yapılarından dolayı optikçe aktif, saf stereoizomerlerin sentezlenmesinde yaygın olarak kullanılan enzimler, kimya sektöründe gittikçe daha da ağırlık kazanan özellikli kimyasal (fine chemicals) üretiminde geçmişte tercih edilmeyen biyokatalizörler olarak bugün sıklıkla kullanılan üretim araçları olmuşlardır [66], [67].

Çalışmanın birinci aşamasında 5,5-dimetilsikloheksan-1,3-dion bileşiğinden başlanarak, 6,7-dihidro-6,6-dimetilbenzofuran-4(5H)-on bileşiği literatürden araştırılarak [60] sentezlenmiş reaksiyonu takiben  $\alpha$  seçimli asetoksilasyonlarında etkili bir katalizör olduğu belirlenen Mn (III) asetat aracılığı ile elde edilen 4,5,6,7-tetrahidro-6,6-dimetil-4-oksobenzofuran-5-yl asetat elde edilmiştir [59]. Seal tüp yöntemi ile 4,5,6,7-Tetrahidro-6,6-dimetil-4-oksobenzofuran-5-yl asetat benzil amin ile reaksiyona sokulmuş ve reaksiyon ortamında oluşan  $\alpha$  ve  $\gamma$  asetoksi indol türevlerinin yüksek sıcaklıklarda parçalanarak  $\alpha$  ve  $\gamma$  hidroksi indol türevlerine dönüştüğü saptanmıştır. Reaksiyon sonucunda literatürde ilk kez 1-benzil-6,7-dihidro-5-hidroksi-6,6-dimetil-1H-indol-4(5H)-one ve 1-benzil-6,7-dihidro-7-hidroksi-6,6-dimetil-1H-indol-4(5H)-one bileşikler sentezlenmiştir. Bileşikler yeni bir yöntem olan mikrodalga ışınımı ile de daha kısa sürelerde elde edilmişlerdir. Yöntem geliştirme çalışmaları devam etmektedir.

İlimli reaksiyon koşulları, çözücü miktarının az kullanılması, yan ürünlerin az olması sebebi ile reaksiyonların daha temiz olması gibi nedenlerden dolayı günümüzde mikrodalga ile yapılan deneyler yaygınlaşmaktadır. Genel olarak mikrodalga destekli reaksiyonlar çok hızlı ve temizdir.

Çalışmamız reaksiyon şemasında (Şekil 10.4) belirtildiği gibi iki yönlü olup, çalışmamızda ikinci olarak 6,7-dihidro-6,6-dimetilbenzofuran-4(5H)-on bileşiği benzil amin ile reaksiyona sokularak literatürde, bu yöntemle, ilk kez 1-benzil-6,7-dihidro-6,6-dimetil-1H-indol-4(5H)-on bileşiği elde edilmiştir (Şekil 10.6). Reaksiyon sırası ile Mn (III) asetat, Mn (II) asetat ve  $KMnO_4$  katalizörlüğünde gerçekleştirilmiş [Mn (III) asetat ile ürün oluşmamış] ve literatürde ilk kez 1-Benzil-4,5,6,7-tetrahidro-6,6-dimetil-4-okso-1H-indol-7-il asetat bileşiği elde edilmiştir. Verim analizi sonucu en yüksek verimi gösteren  $KMnO_4$  katalizörlüğünde madde çoğaltılmıştır (Şekil 10.4).

Bu çalışmada, 1-benzil-6,7-dihidro-6,6-dimetil-1H-indol-4(5H)-on eldesi için uyguladığımız seal tüp yöntemine alternatif olarak mikrodalga ışımasından yararlanılmış ve bu tür çalışmalarda literatürde daha önce yapılmayan yeni bir yöntem önerilmiştir. Yöntem geliştirme çalışmaları devam etmektedir.

Bilindiği gibi kinetik ayrıştırma başlangıç maddesi reaksiyon koşullarında rasemize olurken ürünün yine aynı koşulda rasemize olması gerekmektedir. Bu nedenle çalışmamızın ilk aşamasında elde etmek istediğimiz hedef maddemiz rasemik formda sentezlenmiş, daha sonra optikçe aktif formuna dönüştürülmüştür. Elde edilen 1-benzil-4,5,6,7-tetrahidro-6,6-dimetil-4-okso-1*H*-indol-7-yl asetat bileşiği enzimle seçici hidroliz yapılarak kiral hidroksi türevlerine dönüştürülmüş (Şekil 10.8) ve spektral yöntemlerle yapı tayini yapılmıştır (Şekil Ek 1.12 ve 1.13).

Kinetik ayrıştırma yoluyla optikçe saf  $\gamma$  ve  $\alpha$ -asetoksi ile  $\gamma$  ve  $\alpha$ -hidroksi türevlerinin yüksek ee değeri ile eldesi devam etmekte olup, daha sonra kiral asetoksi ve hidroksi türevlerinin HPLC analizleri yapılarak ee değerleri saptanacaktır. Kinetik ayrıştırma enantio seçici ürün eldesinde çeşitli lipaz enzimler değişik çözücü sistemleri ile denenecek ve en yüksek ee'yi veren enzim-çözücü sistemi bulunacaktır.

Bu çalışma ile, literatürde ilk defa 1-benzil-6,7-dihidro-5-hidroksi-6,6-dimetil-1*H*-indol-4(5*H*)-one ve 1-benzil-6,7-dihidro-7-hidroksi-6,6-dimetil-1*H*-indol-4(5*H*)-one bileşikleri ile 1-benzil-4,5,6,7-tetrahidro-6,6-dimetil-4-okso-1*H*-indol-7-yl asetat bileşiğinin sentezleri gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada kullanılan yöntemler, biyolojik olarak aktif birçok bileşiğin sentezinde kullanılan diğer 4-okso 4,5,6,7 tetrahidroindol türevleri için uygundur.



## KAYNAKLAR

---

- [1] Raadt, A., Griengl, H. ve Witholt, B., (2002). "Oxidative Biotransformations Using Oxygenases", *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 6: 136-144.
- [2] Bugg, T., (2002). *An Introduction to Enzyme and Coenzyme Chemistry*, Blackwell Science.
- [3] Biocatalysis, [www.icis.com-assets-getasset](http://www.icis.com-assets-getasset), 11 Aralık 2009.
- [4] Garcia-Junceda, E., Garcia-Garcia, J. F., Bastida, A. ve Fernandez-Mayoralas, A. (2004). "Enzymes In The Synthesis Of Bioactive Compounds: The Predigious Decades", *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 12: 1817-1834.
- [5] Solomons, T.W.G. ve Fryhle, C.B., (2002). *Organik Kimya, Literatür Yayınları*, İstanbul.
- [6] Soyer, A., (2007). *Lipaz Enzimi Biyokatalizörlüğünde Kinetik Rezolüsyon İle Enantiyomerik Safılıkta 1-Fenil-1-Propanolün Üretimi*, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı, Ankara.
- [7] Blaschke, G., (1980). "Chromatographic Resolution of Racemates. New analytical methods", *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 19: 13-24.
- [8] Strauss, U., Felfer, U. ve Faber, K., (1998). "Biocatalytic Transformation of Racemates into Chiral Building Blocks in 100% Chemical Yield and 100% Enantiomeric Excess", *Tetrahedron: Asymmetry*, 10: 107-117.
- [9] Ghanem, A. ve Aboul-einen, H. Y., (2004). "Lipase mediated chiral resolution of resemates in organic solvents", *Tetrahedron: Asymetry Report*, 78(15): 3331-3351.
- [10] Counting on Chiral Drugs, (1998). *Chem. Eng. News*, 76: 83-104.
- [11] Jaeger, K.E. ve Reetz, M.T., (1998). "Microbial lipases form versatile tools for biotechnology", *TIBTECH*, 16.
- [12] Chiral Pharmaceuticals, Technology Catalysts International, <http://www.technology-catalysts.com/>, 11 Kasım 2005.
- [13] BCC Research, <http://www.bccresearch.com/report/chiral-technology-bio012e.html>, 20 Mart 2011.
- [14] Agranat, I. ve Caner H., (1999). "Intellectual Property and Chirality of Drugs", *StrategicFocus*, 4:313-321.

- [15] Davies, M. Neal ve Teng, W., (2003). "Importance of Chirality in Drug Therapy and Pharmacy Practice: Implications for Psychiatry", *Advances in Pharmacy*, 1: 242-252
- [16] Bilgehan, H., (1996). *Temel Mikrobiyoloji ve Bağışıklık Bilimi*, Barış Yayınları Fakülteler Kitabevi, İzmir.
- [17] Beilen, J.B. ve Li, Z., (2002). "Enzyme Technology:an overview", *Current Opinion in Biotechnology*, 13:338-344.
- [18] Gieger, O., (1997). *Enzymes In Organic Synthesis*, Institute of Biotechnology, Technical University Berlin, Germany.
- [19] Champe, P., Harvey, R. ve Ferrier, D., (2000). *Biyokimya (E.Ulukaya)*, Nobel Tıp Kitabevi.
- [20] Bakış, P., (2007). *Enantiyomerik Safılıkta 1-Fenil-1-Propanolün Transesterleşme Tepkimesiyle Biyoreaktörde Kinetik Rezolüsyonu, Yüksek Lisans Tezi*, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı, Ankara.
- [21] Abbas, H., Hiol, A., Deyris, V., Comeau, L., (2002). "Isolation and characterization of an extracellular lipase from *Mucor* sp strain isolated from palm fruit", *Enzyme and Microbial Technology*, 31: 968-975.
- [22] Sheehan, J.C., O'Neil, R.C. ve White, M.A., (1950). "Formation of Five- and Six-membered Rings by the Acyloin Condensation. Cyclization of Glutaric and Adipic Esters", *J. Am. Chem.*, 72: 3376-3378.
- [23] Davis, F.A. ve Haque, M.S., (1986). "Stereochemistry of the Asymmetric Oxidation of Ketone Enolates Using (camphorylsulfonyl)oxaziridines", *J. Org. Chem.*, 51: 4083-4085.
- [24] Vedejs, E., Engler, D.A., ve Telschow, J.E., (1978). "Transition-metal Peroxide Reactions: Synthesis of  $\alpha$ -hydroxycarbonyl Compounds From Enolates", *J. Org. Chem.*, 43: 188-196.
- [25] Lee, T.V. ve Toczek, J., (1982). "The Reaction of Chromyl Chloride and O-silylated Enolates: A New Regiospecific Route to  $\alpha$ -hydroxy Ketones", *Tetrahedron Lett.*, 23: 2917-2920.
- [26] Rozen, S., ve Bareket, Y., (1996). "Synthesis of  $\alpha$ -hydroxy Ketones Using a HOF-MeCN Complex", *Chem. Commun.*, 5: 627-628.
- [27] Davis, F.A., Haque, M.S., Ulatowski, T.G. ve Towson, J.C., (1986). "Asymmetric Oxidation of Ester and Amide Enolates Using New(camphorylsulfonyl)oxaziridines", *J. Org. Chem.*, 51: 2402-2404.
- [28] Masui, M., Ando, A. ve Shioiri, T., (1988). "New Method and Reagents in Organic Synthesis. 75. Asymmetric Sythesis of  $\alpha$ -hydroxy ketones Using Chiral Phase Transfer Catalysts", *Tetrahedron Lett.*, 29: 2835-2838.
- [29] Nakamura, K., Kondo, S.L., Kawai, K., Hida, K., Kitano, K. ve Ohno, A., (1996). "Enantio-and Regioselective Reduction of  $\alpha$ -diketones by Baker's Yeast", *Tetrahedron Asymmetry*, 7: 409-412.

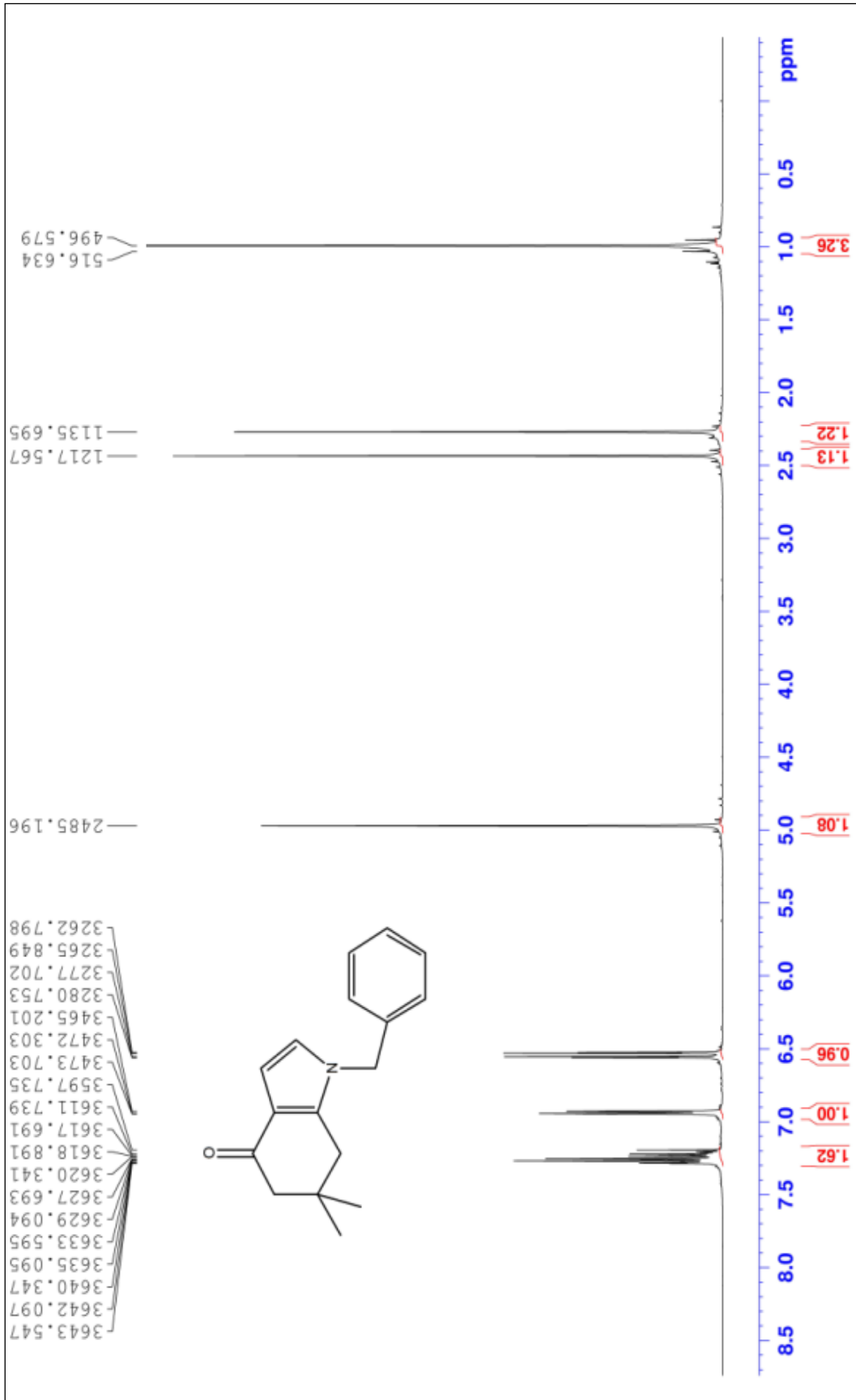
- [30] Gala, D., Dibenedetto, D.J., Clark, J.E., Murphy, B.L., Schumacher, D.P. ve Steinman, M., (1996). "Preparations of Antifungal Sch 42427 MS 9164: Preparative Chromatographic resolution and Total Asymmetric Synthesis Via Enzymic Preparation of Chiral  $\alpha$ -hydroxy Arylketones", *Tetrahedron Lett.* 37: 611-614.
- [31] Adam, W., Saha-Möllner, C.R. ve Zhao, C., (1999). "Asymmetric C-H Oxidation of vic-Diols to  $\alpha$ -hydroxy Ketones by a Fructose-Derived Dioxirane: Electronic Effects on the Enantioselectivity of Oxygen Transfer", *J. Org. Chem.*, 64: 7492-7497.
- [32] Demir, A.S., Hamamcı, H., Tanyeli, C., Akhmedov, İ.M. ve Doğanel, F., (1998). "Synthesis and *Rhizopus oryzae* Mediated Enantioselective Hydrolysis of  $\alpha$ -Acetoxy Aryl Ketones", *Tetrahedron Asymmetry*, 9: 1673-1677.
- [33] Demir, A.S., Aybey, A., Şeşenoğlu, Ö. ve Polat, F., (2003). "Chemoenzymatic Synthesis of both Enantiomers of 3-hydroxy-2,3-dihydro-4*H*-chromen-4-one", *Tetrahedron Asymmetry*, 14: 1489-1493.
- [34] Demir, A.S. ve Şeşenoğlu, Ö., (2002). "A New and Efficient Chemoenzymatic Route to Both Enantiomers of 4-hydroxycyclohex-2-en-1-one", *Organic Letters*, 4: 2021-2023.
- [35] Şakiyan, İ., (1992). Mangan (III) Asetatın Yeni Bir Yöntemle Hazırlanması, Saflığının ve Kullanılabilirliğinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniv. Ankara.
- [36] Gümüş, M.K., (2002). Aril-Substitue Heteroçiklik Bileşiklerin Sentezi ve Türevleri, Yüksek Lisans Tezi, Yıldız Teknik Üniv. İstanbul.
- [37] Demir, A.S., Reis, Ö. ve Iğdır, Ç., (2004). "Reinvestigation of the Synthetic and Mechanistic Aspects of Mn(III) Acetate Mediated Oxidation of Enones", *Tetrahedron*, 60: 3427-3432.
- [38] Tanyeli, C., Tosun, A., Turkut, E. ve Sezen, B., (2003). "Manganese (III) Acetate Promoted Acetoxylation of Various  $\alpha,\beta$ -unsaturated Cyclopentanones", *Tetrahedron*, 59: 1055-1058.
- [39] Tanyeli, C., Turkut, E. ve Akhmedov, İ.M., (2004). "Chemoenzymatic Synthesis of  $\alpha$ -and  $\alpha$ -acetoxyated cyclic Ketones". *Tetrahedron Asym.* 15: 1729-1733.
- [40] Williams, G.J. Hunter, N.R. ve Norman, R., (1976). "Site selective  $\alpha$ -acetoxylation of Some  $\alpha$ ,  $\beta$ -enones by Manganic Acetate Oxidation", *Canadian Journal of Chemistry*, 54: 3830-3832.
- [41] Dunlop, K.N., Sabol, M.R. ve Watt, D.S., (1984). "Synthesis of Quassinoids. 3. Oxidation of Enones to  $\alpha$ -acetoxyenones Using Manganese Triacetate", *Tetrahedron Lett.*, 25: 5839-5842.
- [42] Tanyeli, C. ve Sezen, B., (2000). "Manganese (III) Acetate Based Tandem Oxidation of Various Cyclic  $\beta$ -alkoxy  $\alpha,\beta$ -unsaturated Ketones", *Tetrahedron Lett.*, 41: 7973-7976.
- [43] Lidström, P., Tierney, J., Wathey, B. ve Westman, J., (2001). "Microwave assisted organic synthesis-a review", *Tetrahedron*, 57: 9225-9283.

- [44] Danks, T.N., (1999). "Microwave assisted sythesis of pyrroles", Tetrahedron Letters, 40: 3957-3960.
- [45] Yin, G., Wang, Z., Chen, A., Gao, M., Wu, A. ve Pan, Y., (2008). "A New Facile Approach to the Synthesis of 3-methylthio-substituted Furans, Pyrroles, Thiophenes and Related Derivatives", J. Org. Chem., 73: 3377-3383.
- [46] Piras, L., Ghiron, C., Minetto, G. ve Taddei, M., (2008). "Microwave-assisted synthesis of tetrahydroindoles", Tetrahedron Letters, 49: 459-462.
- [47] Chakrabarty, M., Basak, R. ve Ghosh, N., (2001). "Microwave-assisted Michael reactions of 3-(2'-nitrovinyl)indole with indoles on TLC-grade silica gel. A new, facile synthesis of 2,2-bis(3'-indolyl)nitroethanes", Tetrahedron Letters, 42: 3913-3915.
- [48] Aydoğan, F., Başarır, M., Yolaçan, Ç. ve Demir, A.S., (2007). "New and clean sythesis of *N*-substituted pyrroles under microwave irradiation", Tetrahedron, 63: 9746-9750.
- [49] Piras, L., Genesio, E., Ghiron, C. ve Taddei, M., (2008). "Scaffold Preparation and Paralel Sythesis of Arrays of 5,6,7,8-Tetrahydropyrrolo-azepinones in the Solution Phase", Eur. J. Chem., 2789-2800.
- [50] Avan, İ., (2006). "Bazı İndol Bileşikleri Üzerine Kimyasal Çalışmalar", Proje No:051053, Anadolu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim dalı, Eskişehir.
- [51] Gürkök, A.G., (2007). Biyolojik Önemi Olan İndol Türevi Bileşiklerin Sentezleri, Yapı Aydınlatmaları Ve Aktivitelerinin Değerlendirilmesi, Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Kimya Anabilim Dalı, Ankara.
- [52] Hart, H., Craine, L.E. ve Hart, D.J., (1998). Organik Kimya, (T., Uyar), 9. Basımdan Çeviri, Palme Yayıncılık, Ankara.
- [53] Zhou, W. S.; Lu, Z. H.; Xu, Y. M.; Liao, L. Y. ve Wang, Z. M. (1999). "Synthesis of Optically Active  $\alpha$ -Furfuryl Amine Derivatives and Application to the Asymmetric Syntheses" Tetrahedron, 55: 11959.
- [54] Gribble, G.W., (2007). "Chapter 3: Indoles", Tetrahedron Organic Chemistry Series, 26: 81-188.
- [55] Gul, W. ve Hamann, M.T., (2005). "Indole alkaloid marine products: An established source of cancer drug leads with considerable promise for the control of parasitic, neurological and other diseases", Life Sciences, 78: 442-453.
- [56] Çavdar, H. ve Saraçoğlu, N., (2005). "A New Approach for The Synthesis of 2-Substituted Indole Derivatives via Michael Type Adducts", Tetrahedron, 61: 2401-2405.
- [57] Estevao, M.S., Crvalho, L. C., Ribeiro, D., Couto, D., Freitas, M., Gomes, A., Ferreira, L.M., Fernandes, E. ve Marques, M.B., (2010). "Antioxidant activity of unexplored indole derrivatives: Synthesis and screening", European Journal of Medicinal Chemistry, 45: 4869-4878.

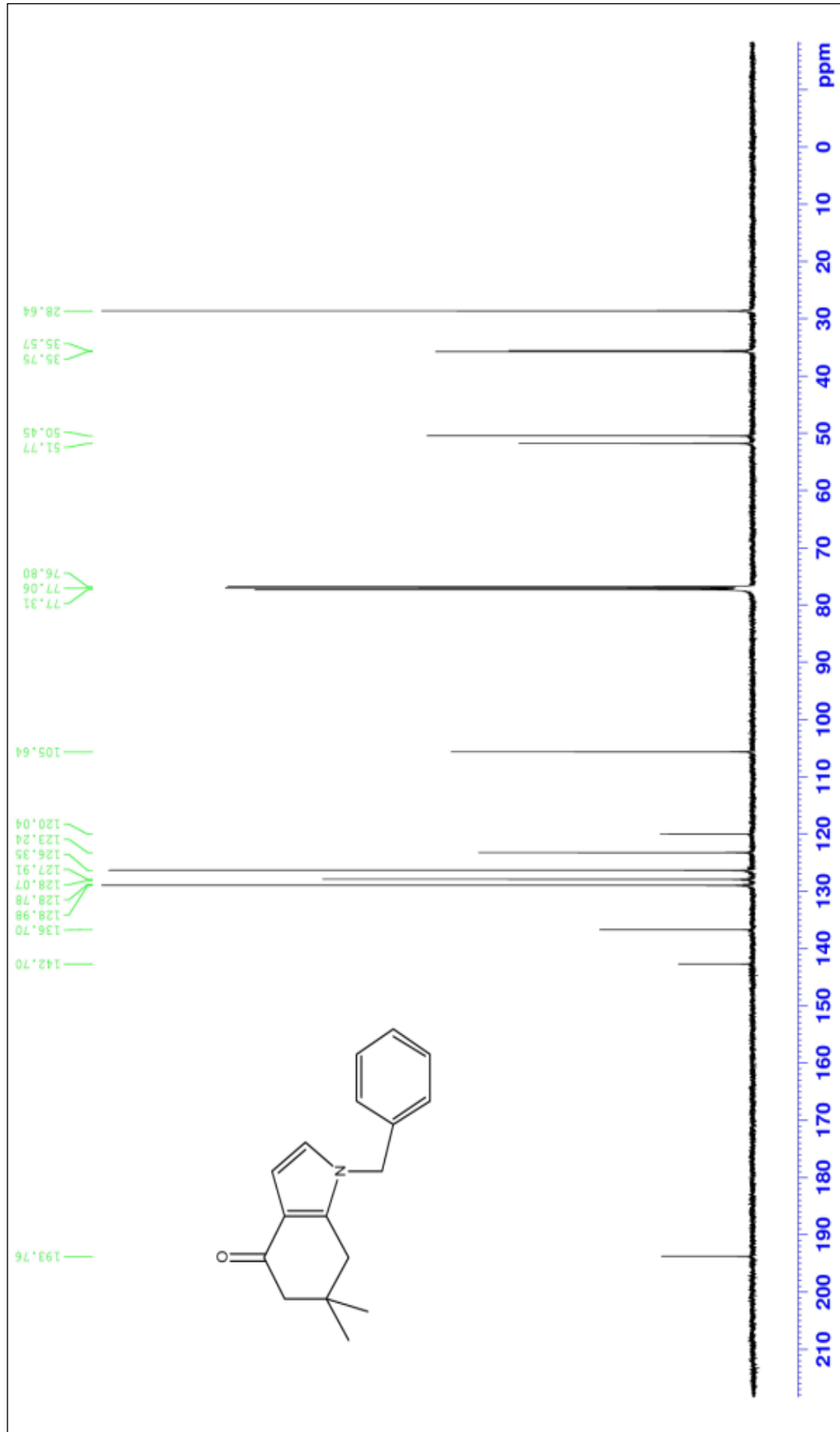
- [58] Wang, Z. ve Jimenez, L., (1994). "Synthesis of The Tetracyclic Mitomycin Skeleton via A Dialkylvinylsulfonium Salt", *J. Org. Chem.*, 116: 4977-4978.
- [59] Demir, A.S; Çalışkan, Z. ve Şahin E., (2007). "Enantioselective synthesis of 4,5,6,7-tetrahydro-4-oxo-benzofuran-5-yl acetate and 1-benzyl-4,5,6,7-tetrahydro-4-oxo-1(H)-indol-5-yl acetate using chemoenzymatic methods", *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 44: 87-92.
- [60] Matsumoto, M. ve Watanabe, N., (1984). "A Facile Synthesis of 4-Oxo-4,5,6,7-Tetrahydroindoles", *Heterocycles*, 22: 2313.
- [61] Manfred, R., (2002). "Lipases as Biocatalyst", *Current Opinion in Chemical Biology*, 6: 145-150.
- [62] Castro, H., (1995). "Fine Chemicals by Biotransformation Using Lipases", *Quimica*, 18: 6.
- [63] Faber, K., (1999). *Biotransformations in Organic Chemistry*. Springer, 1:26.
- [64] Per, Berglund, (2001). "Controlling lipase enantioselectivity for organic synthesis", *Biomolecular engineering*, 18: 13-22.
- [65] Demir, A.S. ve Fındık, H., (2008). "Potassium permanganate/carboxylic acid/organic solvent: a powerful reagent for enone oxidation and aryl coupling reactions", *Tetrahedron*, 64: 6196-6202.
- [66] Panke, S., Held, M. ve Wubbolts, M., (2004). "Trends and Innovations in Industrial Biocatalysis for the Production of Fine Chemicals", *Current Opinion in Biotechnology*, 15: 272-279.
- [67] Liese, A. ve Filho, M.V., (1999). "Production of Fine Chemicals Using Biocatalysis", *Current Opinion in Biotechnology*, 10:595-603.

## **EK-A NMR-IR SPEKTRUMLARI ve X-RAY VERİLERİ**

---

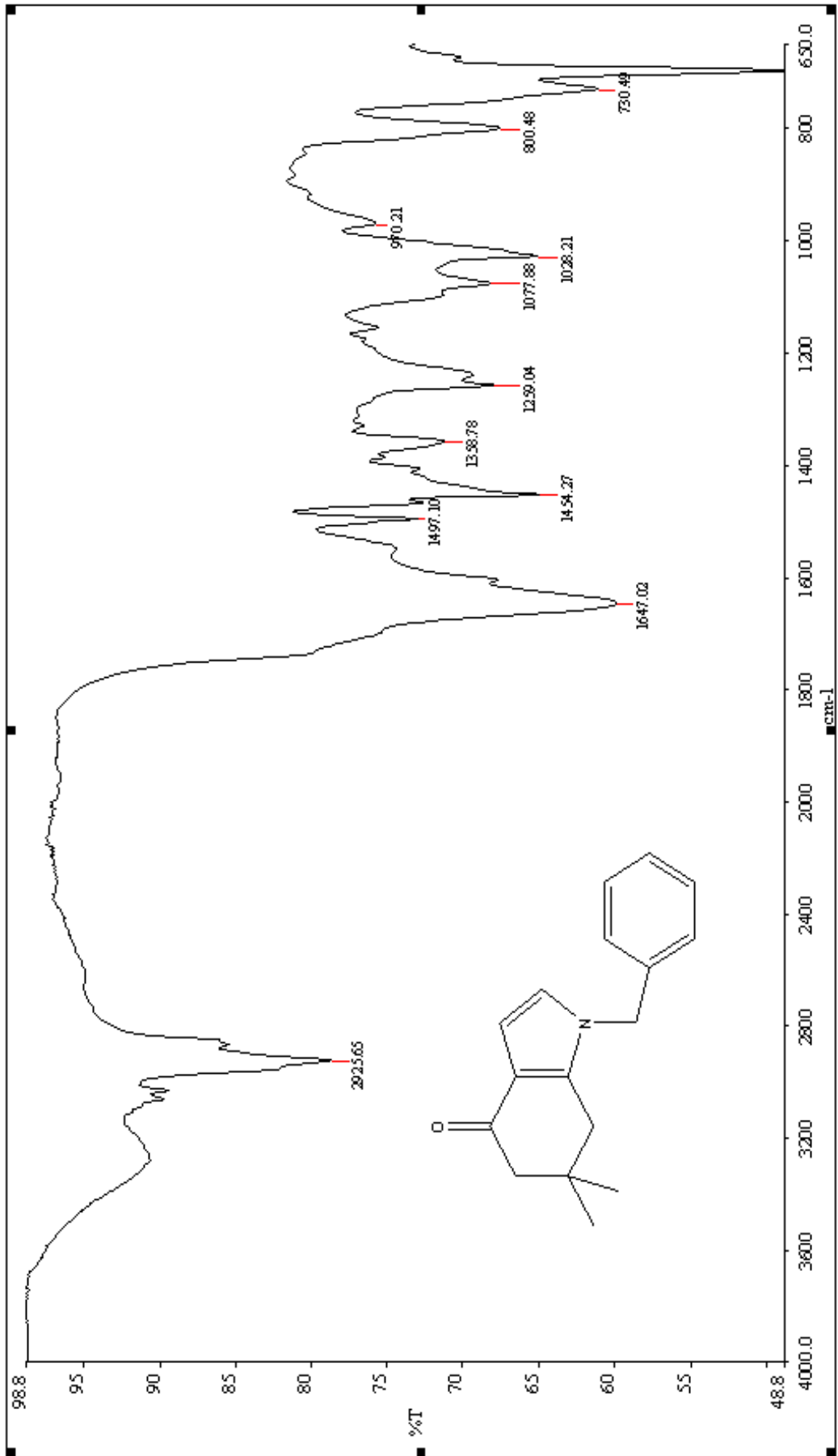


Şekil Ek 1.1 1-Benzil-6,7-dihidro-6,6-dimetil-1H-indol-4(5H)-on bileşiğinin <sup>1</sup>H-NMR spektrumu

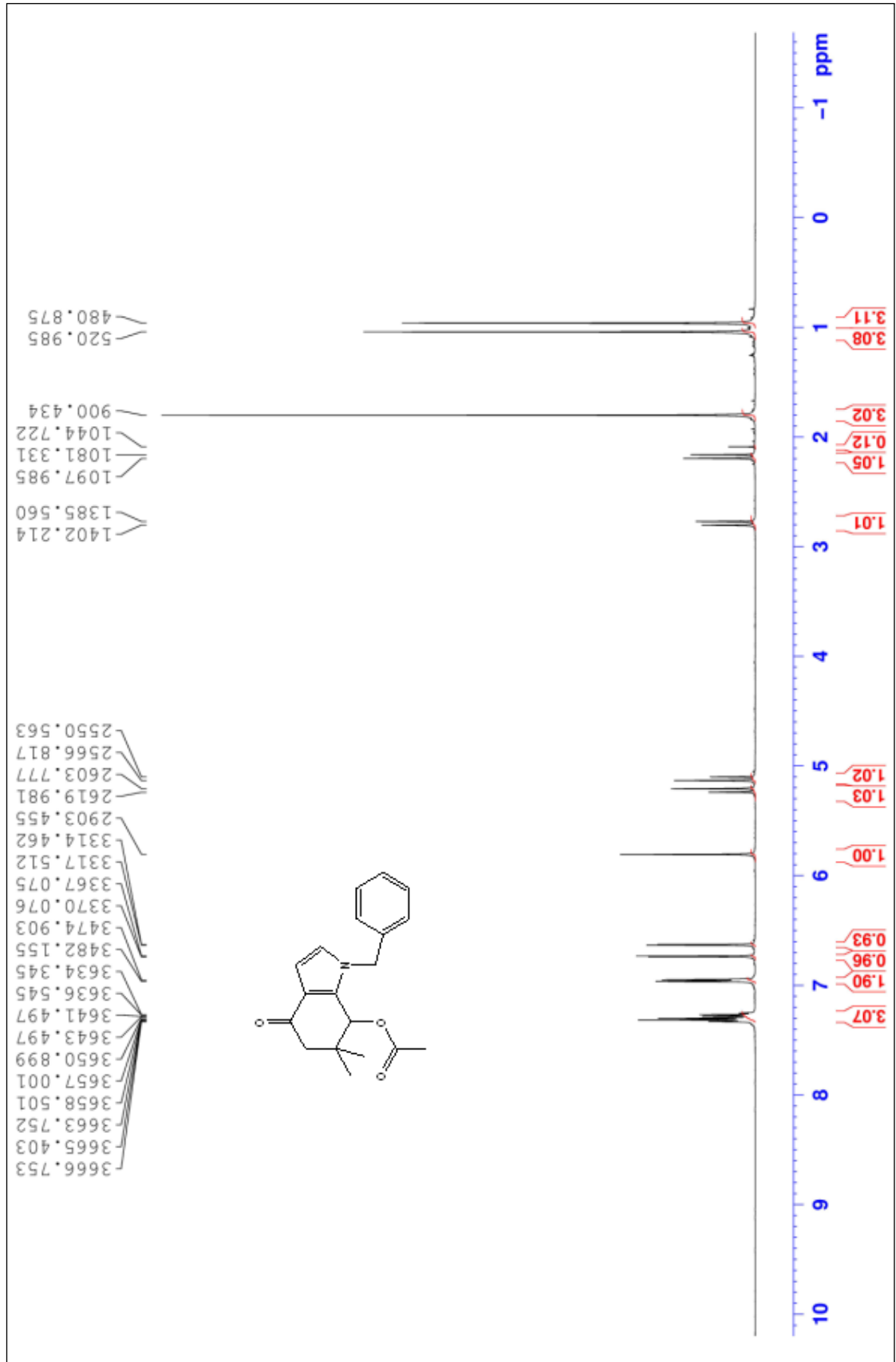


Şekil Ek 1.2 1-Benzil-6,7-dihidro-6,6-dimetil-1H-indol-4(5H)-on bileşiğinin  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumu

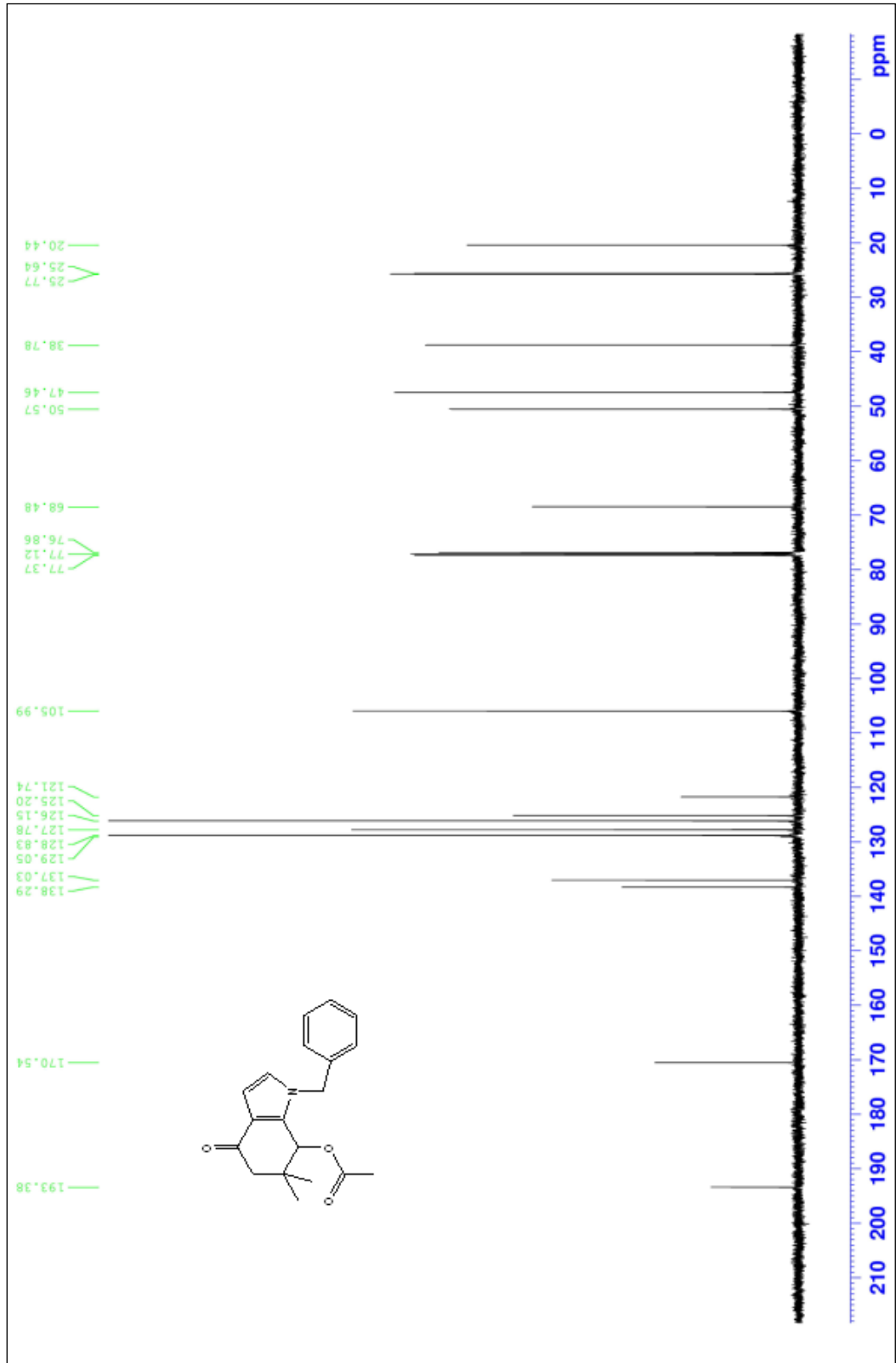




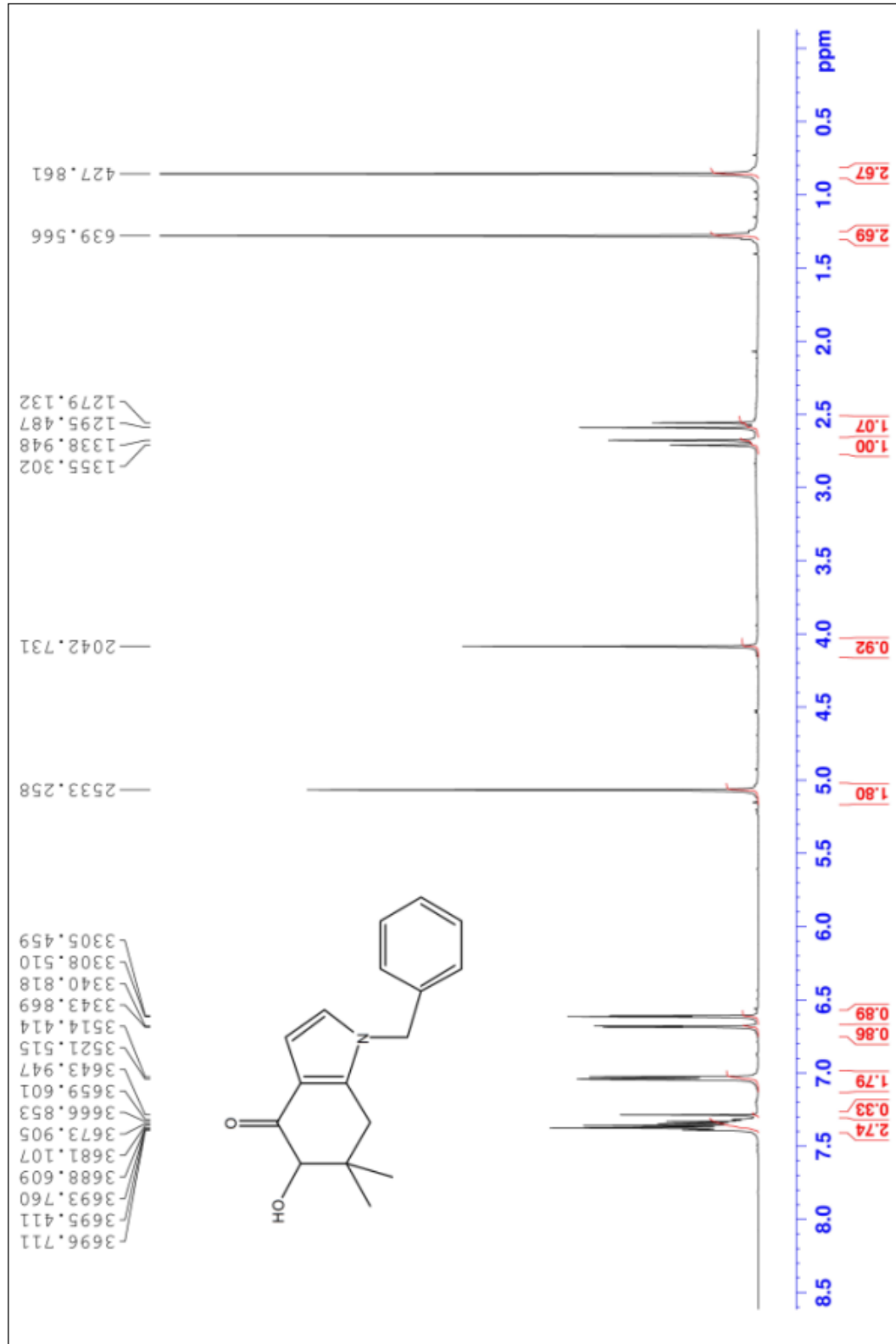
Şekil Ek 1.3 1-Benzil-6,7-dihidro-6,6-dimetil-1H-indol-4(5H)-on bileşiğinin IR spektrumu



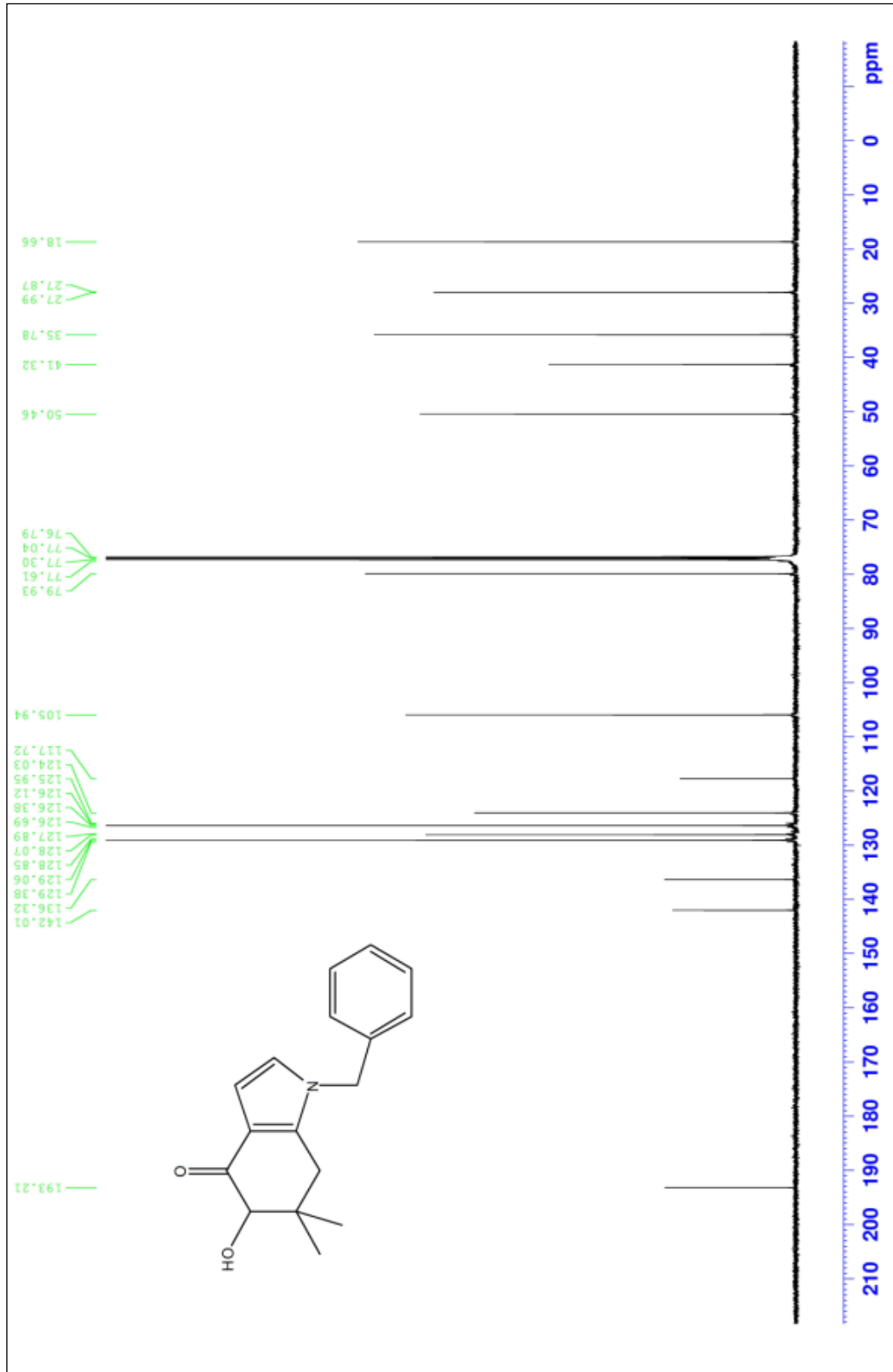
Şekil Ek 1.4 1-benzil-4,5,6,7-tetrahidro-6,6-dimetil-4-oxo-1H-indol-7-yl asetat bileşiğinin  $^1\text{H}$ -NMR spektrumu



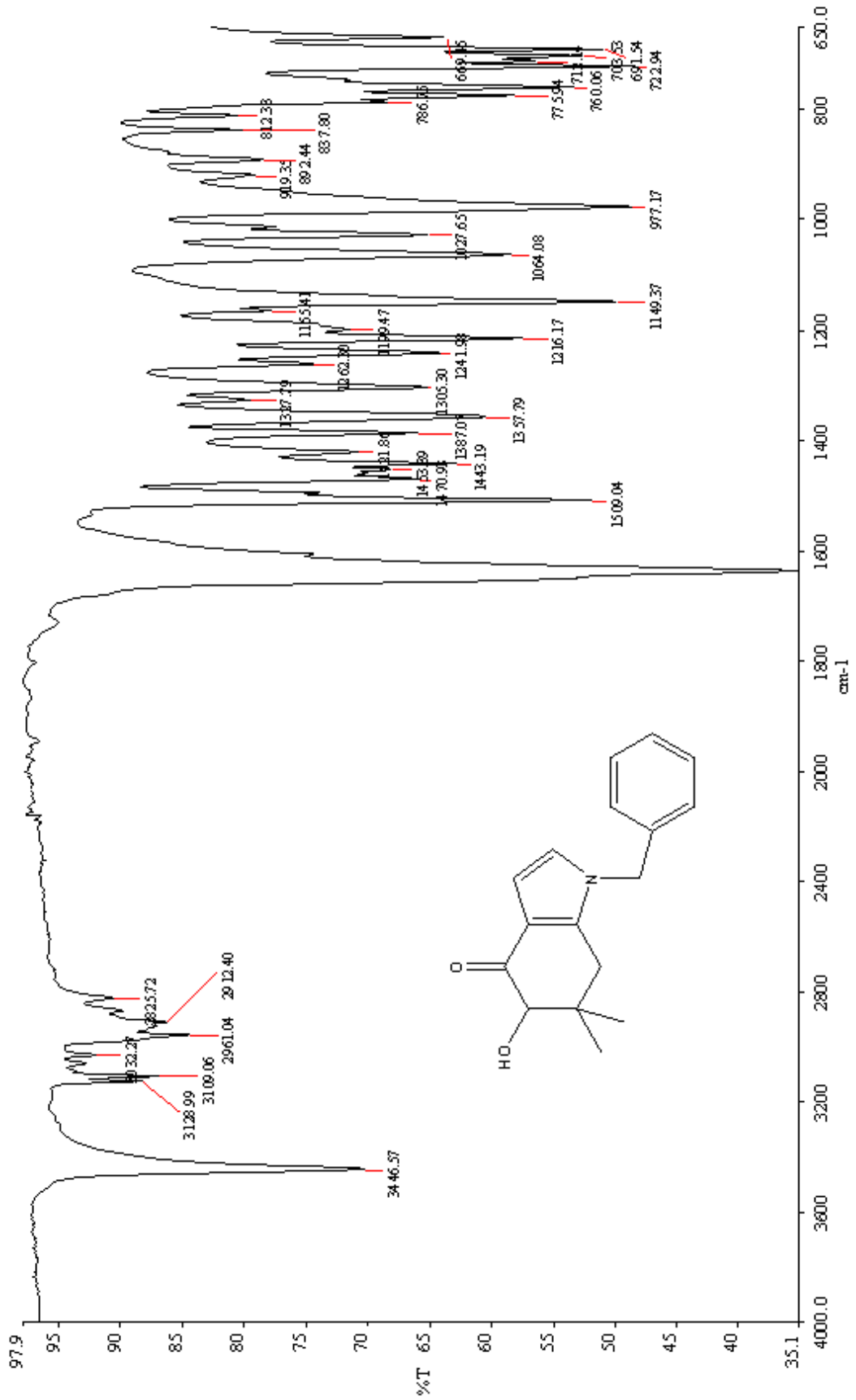
Şekil Ek 1.5 1-benzil-4,5,6,7-tetrahidro-6,6-dimetil-4-oxo-1H-indol-7-yl asetat bileşiğinin  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumu



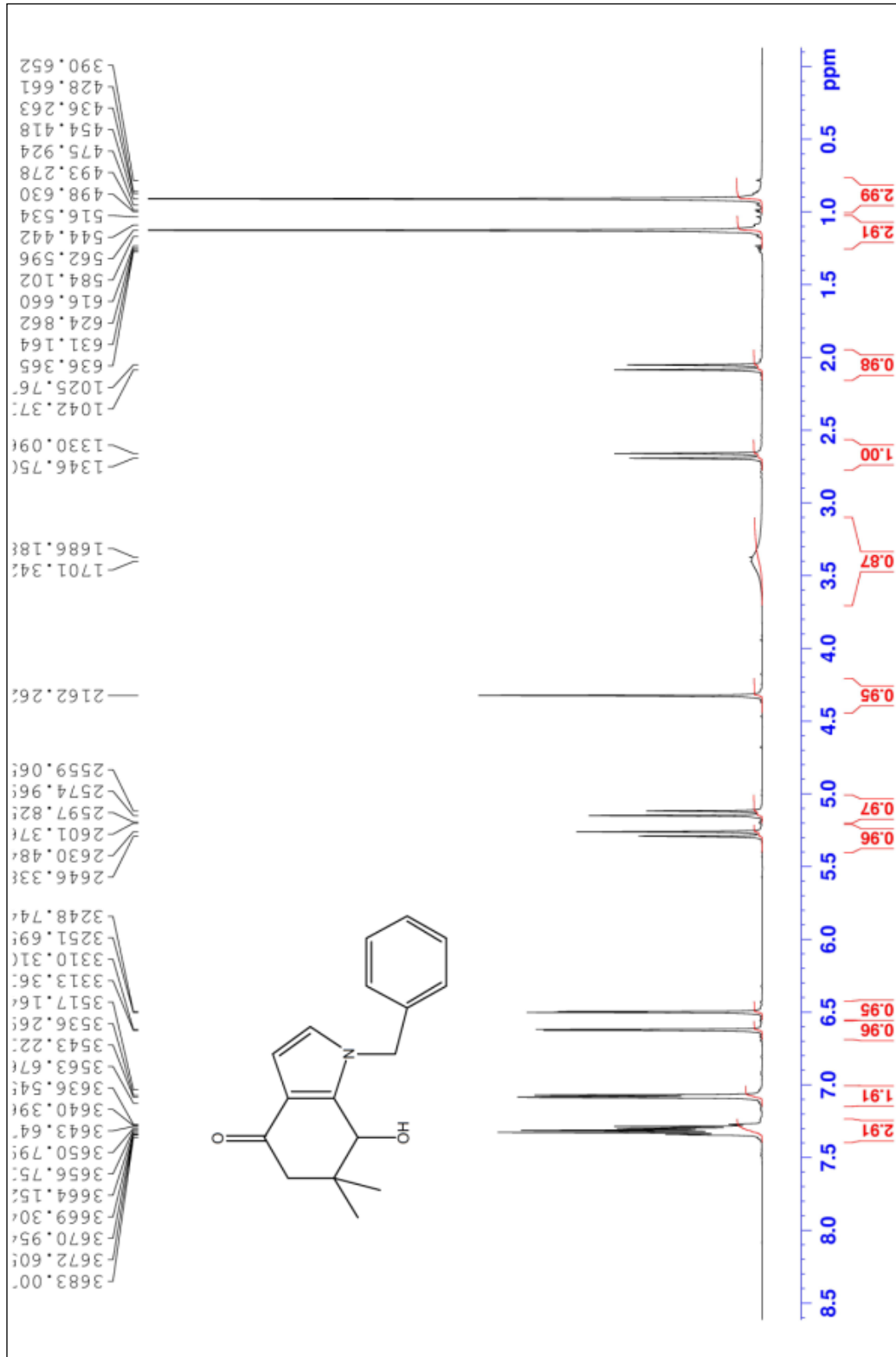
Şekil Ek 1.6 1-benzil-6,7-dihidro-5-hidroksi-6,6-dimetil-1*H*-indol-4(5*H*)-one bileşiğinin <sup>1</sup>H-NMR spektrumu



Şekil Ek 1.7 1-benzil-6,7-dihidro-5-hidroksi-6,6-dimetil-1H-indol-4(5H)-one bileşiğinin  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumu



Şekil Ek 1.8 1-benzil-6,7-dihidro-5-hidroksi-6,6-dimetil-1H-indol-4(5H)-one bileşiğinin IR spektrumu

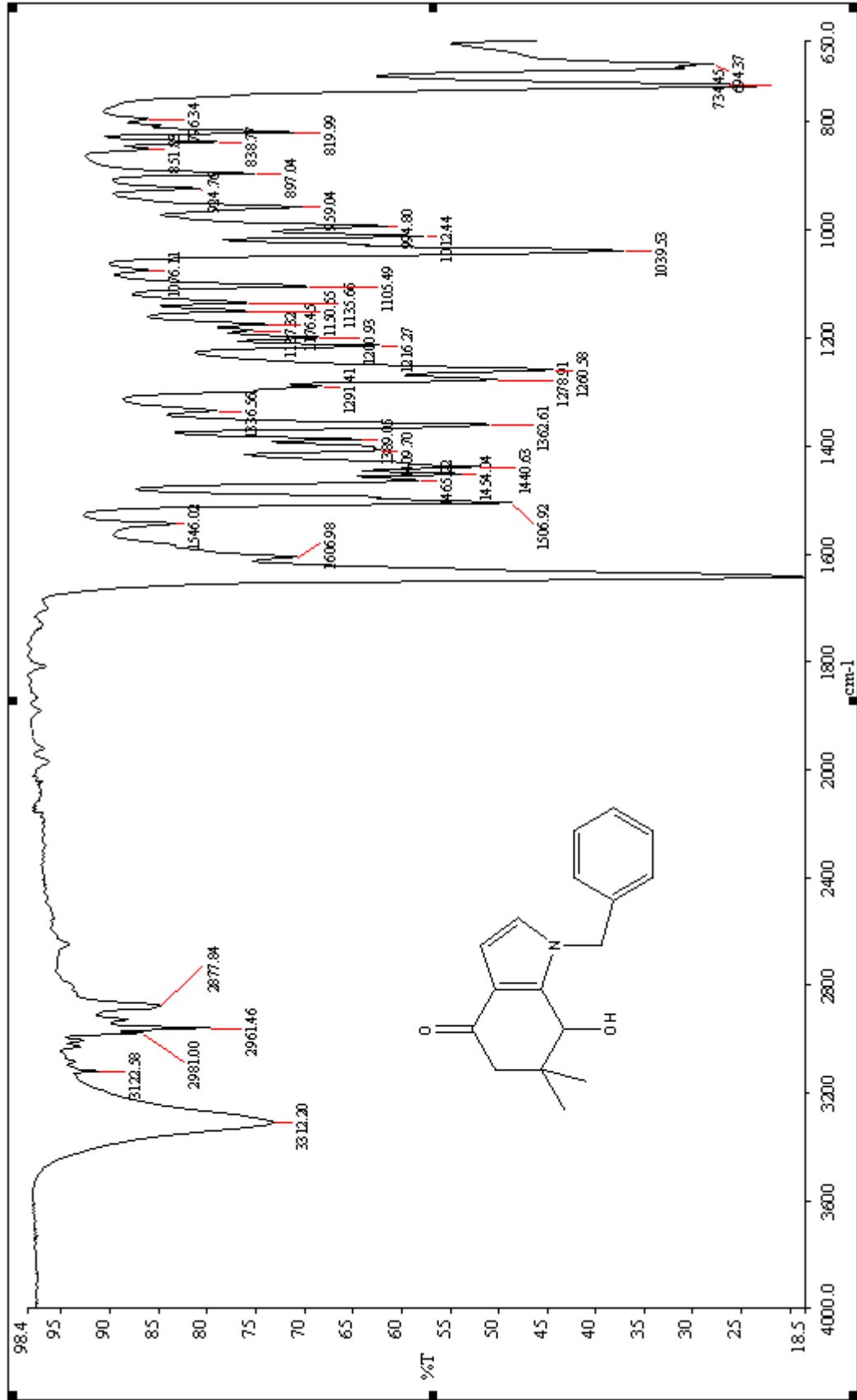


Şekil Ek 1.9 1-benzil-6,7-dihidro-7-hidroksi-6,6-dimetil-1H-indol-4(5H)-one bileşiğinin <sup>1</sup>H-NMR spektrumu

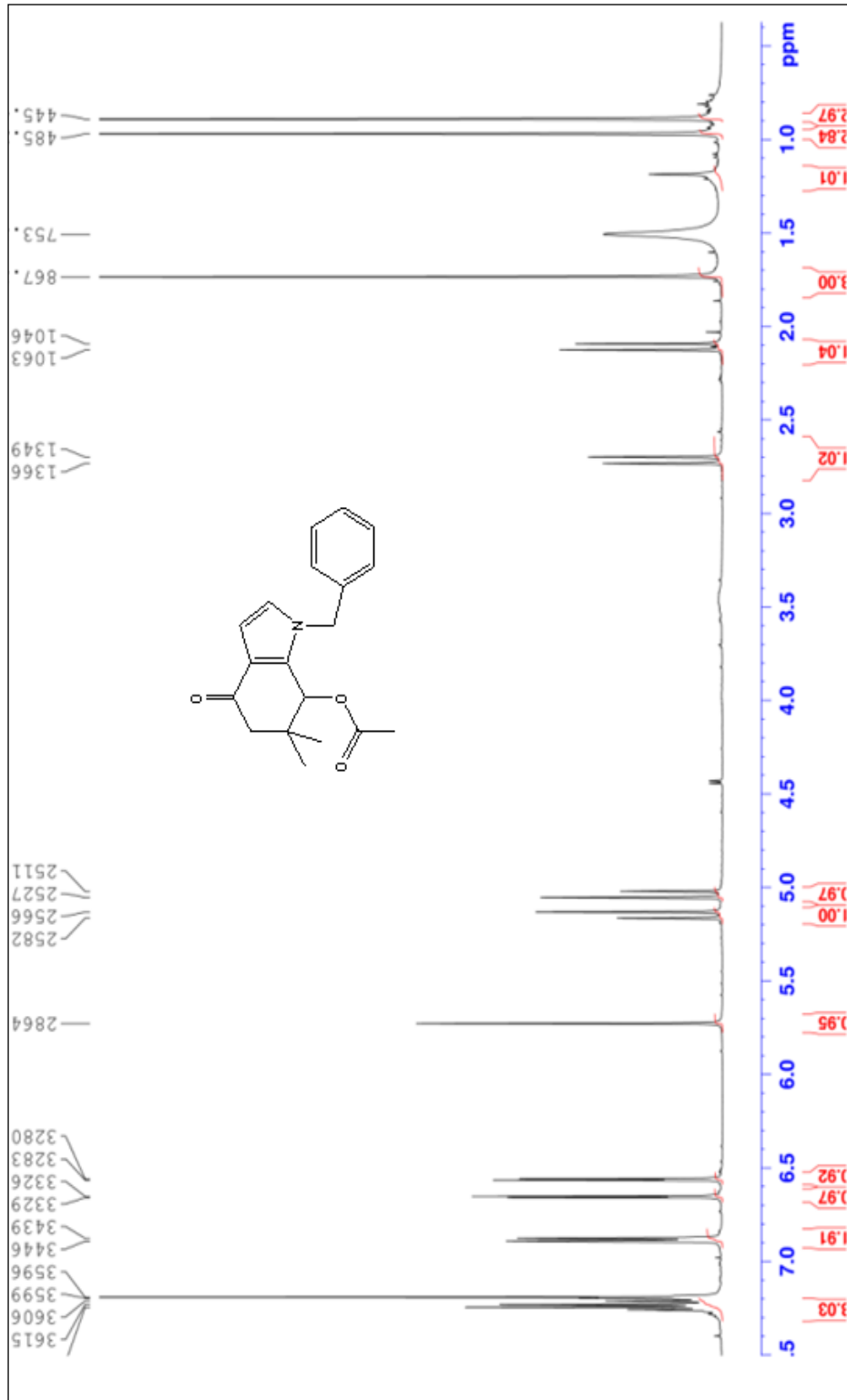


Şekil Ek 1.10 1-benzil-6,7-dihidro-7-hidroksi-6,6-dimetil-1H-indol-4(5H)-one bileşiğinin  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumu

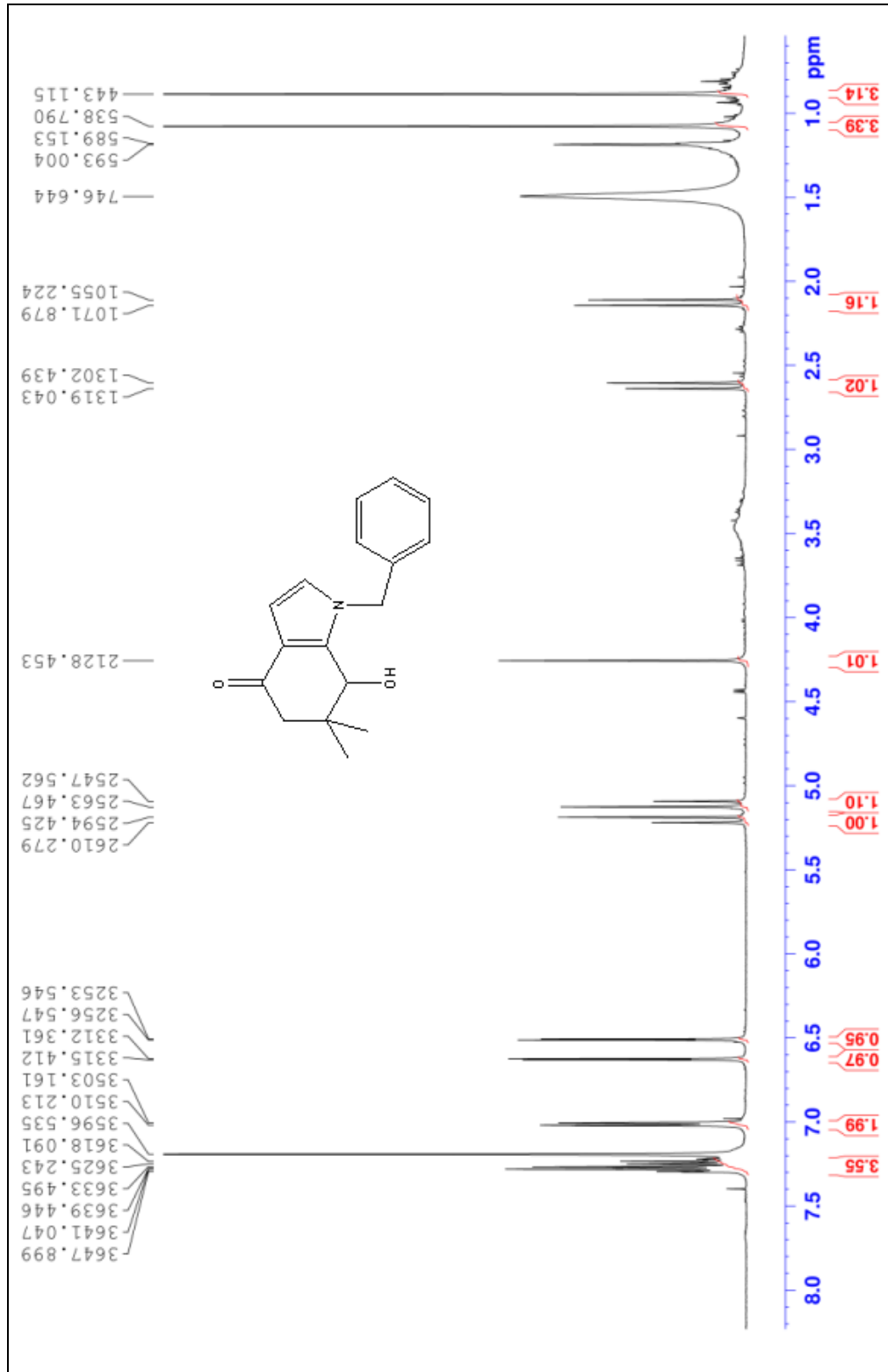




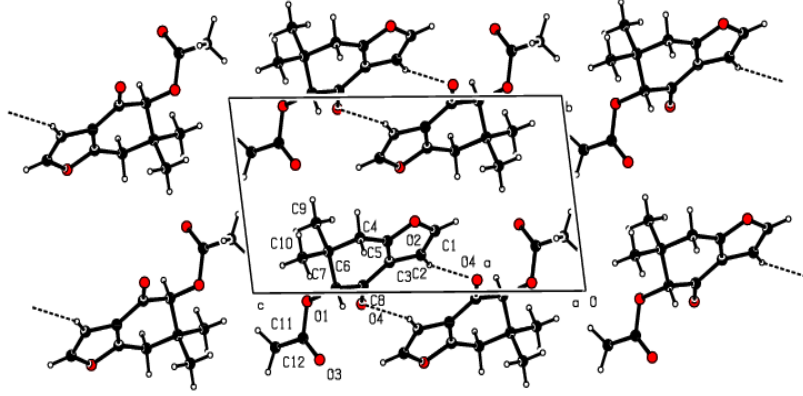
Şekil Ek 1.11 1-benzil-6,7-dihidro-7-hidroksi-6,6-dimetil-1H-indol-4(5H)-one bileşiğinin IR spektumu



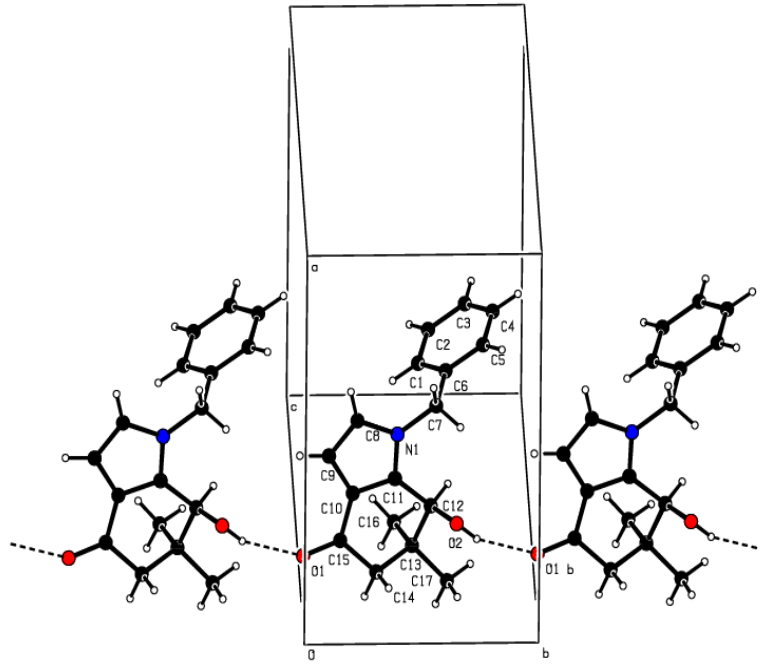
Şekil Ek 1.12 Lipaz katalizli reaksiyon sonucu oluşan 1-benzil-4,5,6,7-tetrahidro-6,6-dimetil-4-okso-1H-indol-7-yl asetat bileşiğinin <sup>1</sup>H-NMR spektrumu

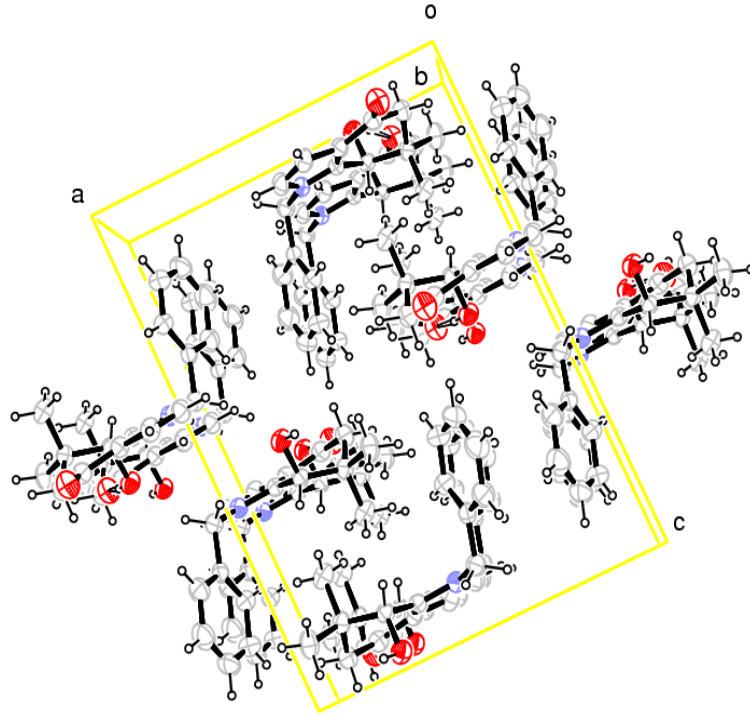


Şekil Ek 1.13 Lipaz katalizli reaksiyon sonucu oluşan 1-benzil-6,7-dihidro-7-hidroksi-6,6-dimetil-1H-indol-4(5H)-one bileşiğinin <sup>1</sup>H-NMR spektrumu

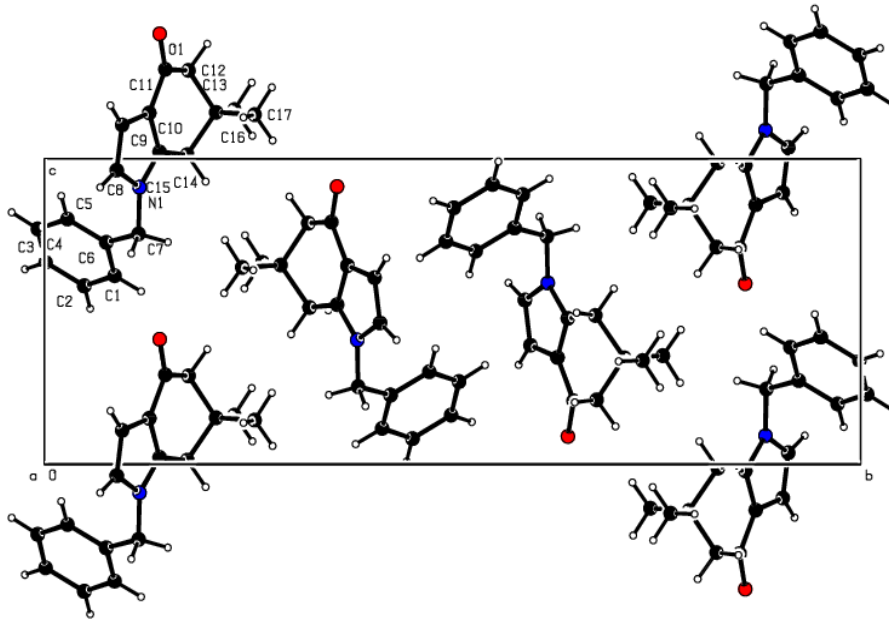


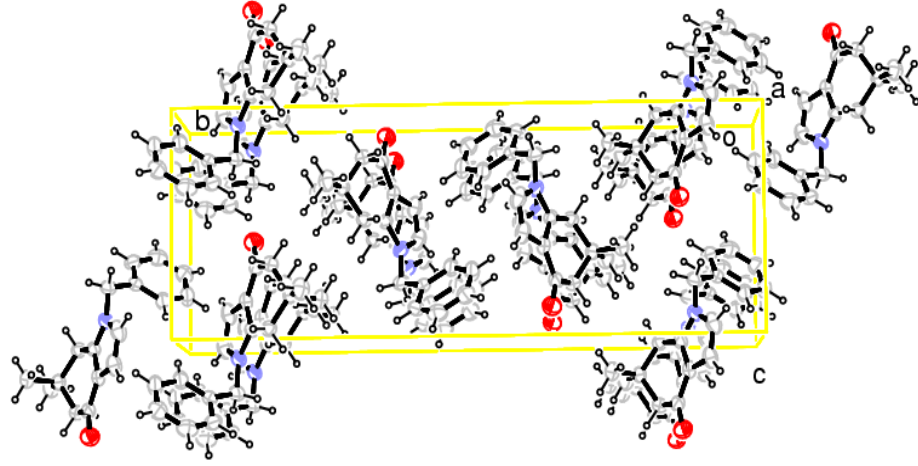
Şekil Ek 1.14  $C_{12}H_{14}NO_4$  bileşiğinin birim hücre örgüsü ( $a$ -ekseni boyunca) ve hidrojen bağları geometrisi ( $c$ -ekseni boyunca)





Şekil Ek 1.15 1-benzil-6,7-dihidro-7-hidroksi-6,6-dimetil-1*H*-indol-4(5*H*)-one ( $C_{17}H_{19}NO_2$ ) bileşiğinin birim hücre örgüsü (*b*-ekseni boyunca) ve hidrojen bağları geometrisi (*b*-ekseni boyunca)





Şekil Ek 1.16 C<sub>17</sub>H<sub>19</sub>NO bileşiğinin birim hücre örgüsü (a-ekseni boyunca)

Çizelge Ek 1.1 1-benzil-6,7-dihidro-7-hidroksi-6,6-dimetil-1*H*-indol-4(5*H*)-one (C<sub>17</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>2</sub>) bileşiğine ait kesirsel atomik koordinatlar ve eşdeğer izotropik yerdeğiştirme parametreleri

Atom	x/a	y/b	z/c	U <sub>eq</sub> (Å <sup>2</sup> )
O(2)	0.78682(16)	-0.14886(27)	0.53272(11)	0.06867
O(1)	0.69443(18)	0.50331(29)	0.55256(13)	0.08437
N(1)	0.97474(19)	0.10110(32)	0.60009(12)	0.05724
C(13)	0.6740(2)	0.0338(4)	0.6235(2)	0.05875
C(12)	0.7872(2)	-0.0434(4)	0.6050(2)	0.05368
C(10)	0.8364(2)	0.2914(4)	0.5810(2)	0.05727
C(6)	1.0752(2)	-0.1102(4)	0.6965(2)	0.05969
C(11)	0.8642(2)	0.1107(4)	0.5956(1)	0.05213
C(15)	0.7248(3)	0.3446(4)	0.5666(2)	0.06257
C(9)	0.9340(3)	0.3938(4)	0.5791(2)	0.06870
C(1)	1.0540(3)	0.0026(5)	0.7610(2)	0.07411
C(14)	0.6439(2)	0.1899(4)	0.5646(2)	0.06633
C(7)	1.0406(2)	-0.0640(4)	0.6108(2)	0.06548
C(8)	1.0170(3)	0.2729(5)	0.5902(2)	0.06934

C(16)	0.6783(3)	0.1039(5)	0.7113(2)	0.07869
C(17)	0.5876(3)	-0.1165(5)	0.6143(2)	0.08161
C(5)	1.1319(3)	-0.2699(5)	0.7112(2)	0.08409
C(3)	1.1472(3)	-0.2025(8)	0.8529(3)	0.10674
C(2)	1.0907(3)	-0.0457(6)	0.8387(2)	0.09523
C(4)	1.1679(3)	-0.3163(7)	0.7891(3)	0.10896

Çizelge Ek 1.2 1-benzil-6,7-dihidro-7-hidroksi-6,6-dimetil-1*H*-indol-4(5*H*)-one (C<sub>17</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>2</sub>) bileşiği için hidrojen atomu dışındaki atomlara ait bağ uzunlukları (Å)

O(1) - C(15)	1.239(4)	N(1) - C(11)	1.358(4)
N(1) - C(7)	1.461(4)	N(1) - C(8)	1.374(5)
C(13) - C(14)	1.534(5)	C(13) - C(16)	1.539(5)
C(13) - C(17)	1.532(5)	O(2) - C(12)	1.423(4)
C(12) - C(11)	1.487(4)	C(10) - C(11)	1.385(4)
C(10) - C(15)	1.433(5)	C(10) - C(9)	1.417(5)
C(6) - C(1)	1.385(5)	C(6) - C(7)	1.497(4)
C(6) - C(5)	1.376(5)	C(15) - C(14)	1.506(5)
C(5) - C(4)	1.383(7)	C(3) - H(3)	0.930(5)
C(3) - C(2)	1.357(7)	C(3) - C(4)	1.378(7)

Çizelge Ek 1.3 1-benzil-6,7-dihidro-7-hidroksi-6,6-dimetil-1*H*-indol-4(5*H*)-one (C<sub>17</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>2</sub>) bileşiği için hidrojen atomu dışındaki atomlara ait bağ açıları (°)

C(11)-N(1)-C(7)	126.6(3)	C(3)-C(4)-H(4)	119.9(5)
C(11)-N(1)-C(8)	109.2(3)	C(7)-N(1)-C(8)	124.2(3)
C(14)-C(13)-C(16)	110.2(3)	C(14)-C(13)-C(17)	109.3(3)
C(16)-C(13)-C(17)	108.8(3)	O(2)-C(12)-C(11)	107.3(3)
C(11)-C(10)-C(15)	121.0(3)	C(11)-C(10)-C(9)	107.9(3)
C(15)-C(10)-C(9)	131.0(3)	C(1)-C(6)-C(7)	122.7(3)
C(1)-C(6)-C(5)	119.0(3)	C(7)-C(6)-C(5)	118.3(3)
N(1)-C(11)-C(12)	126.5(3)	N(1)-C(11)-C(10)	107.2(3)
C(12)-C(11)-C(10)	126.2(3)	O(1)-C(15)-C(10)	124.2(3)
O(1)-C(15)-C(14)	120.7(3)	C(10)-C(15)-C(14)	115.0(3)
C(10)-C(9)-C(8)	106.4(3)	C(6)-C(1)-C(2)	119.9(4)
H(9)-C(9)-C(8)	126.8(4)	C(6)-C(1)-H(1)	120.1(3)
C(13)-C(14)-C(15)	114.2(3)	N(1)-C(7)-C(6)	115.4(3)
N(1)-C(8)-C(9)	109.1(3)	C(6)-C(5)-H(5)	119.8(4)
C(6)-C(5)-C(4)	120.5(4)	H(5)-C(5)-C(4)	119.8(4)
H(3)-C(3)-C(2)	120.2(5)	H(3)-C(3)-C(4)	120.2(6)
C(2)-C(3)-C(4)	119.5(4)	C(1)-C(2)-C(3)	121.0(4)
C(1)-C(2)-H(2)	119.5(5)	C(3)-C(2)-H(2)	119.5(4)
C(5)-C(4)-C(3)	120.1(5)	C(5)-C(4)-H(4)	119.9(5)

## Torsiyon açıları

C(7) - N(1) - C(11) - C(12)	3.6
C(7) - N(1) - C(11) - C(10)	-176.8
C(11) - N(1) - C(7) - C(6)	-93.2
C(8) - N(1) - C(11) - C(12)	-178.5
C(8) - N(1) - C(11) - C(10)	1.2
C(11) - N(1) - C(8) - C(9)	-0.1
C(8) - N(1) - C(7) - C(6)	89.1
C(7) - N(1) - C(8) - C(9)	177.9
C(16) - C(13) - C(14) - C(15)	62.0
C(17) - C(13) - C(14) - C(15)	-178.5
O(2) - C(12) - C(11) - N(1)	-74.8
O(2) - C(12) - C(11) - C(10)	105.6
C(11) - C(10) - C(15) - O(1)	-179.5
C(15) - C(10) - C(11) - N(1)	175.0
C(15) - C(10) - C(11) - C(12)	-5.3
C(11) - C(10) - C(15) - C(14)	-2.9
C(9) - C(10) - C(11) - N(1)	-1.7
C(9) - C(10) - C(11) - C(12)	177.9
C(11) - C(10) - C(9) - C(8)	1.7
C(9) - C(10) - C(15) - O(1)	-3.6
C(9) - C(10) - C(15) - C(14)	173.0
C(15) - C(10) - C(9) - C(8)	-174.6
C(1) - C(6) - C(7) - N(1)	-4.9
C(7) - C(6) - C(1) - C(2)	-178.3
C(5) - C(6) - C(1) - C(2)	0.5
C(1) - C(6) - C(5) - C(4)	-0.5
C(5) - C(6) - C(7) - N(1)	176.2
C(7) - C(6) - C(5) - C(4)	178.4
O(1) - C(15) - C(14) - C(13)	-148.5
C(10) - C(15) - C(14) - C(13)	34.8
C(6) - C(1) - C(2) - C(3)	-0.1
C(6) - C(5) - C(4) - C(3)	0.0

---



C(4) - C(3) - C(2) - C(1)	-0.5
C(2) - C(3) - C(4) - C(5)	0.5

---

Çizelge Ek 1.4 1-benzil-6,7-dihidro-6,6-dimetil-1H-indol-4(5)-one (C<sub>17</sub>H<sub>19</sub>NO) bileşiğine ait kesirsel atomik koordinatlar ve eşdeğer izotropik yerdeğiştirme parametreleri

Atom	x/a	y/b	z/c	U <sub>eq</sub> (Å <sup>2</sup> )
C(15)	0.7718(4)	0.1412(1)	0.0223(3)	0.05612
C(11)	0.8305(5)	0.1483(1)	0.2926(3)	0.06953
C(14)	0.5795(4)	0.1750(1)	0.0131(3)	0.06245
H(14A)	0.45606	0.15210	0.00417	0.07494
H(14B)	0.58005	0.19762	-0.07472	0.07494
O(1)	0.9356(4)	0.1414(1)	0.4090(3)	0.10399
C(13)	0.5690(4)	0.2105(1)	0.1519(3)	0.05857
N(1)	0.8623(4)	0.1167(1)	-0.0934(3)	0.07225
C(10)	0.8893(4)	0.1287(1)	0.1503(3)	0.06177
C(12)	0.6213(5)	0.1766(1)	0.2894(3)	0.06968
H(12A)	0.61842	0.19968	0.37611	0.08361
H(12B)	0.51177	0.14977	0.29754	0.08361
C(6)	0.5993(5)	0.0759(1)	-0.2738(3)	0.06692
C(17)	0.7228(4)	0.2576(1)	0.1444(3)	0.07599
H(17C)	0.71824	0.27872	0.23352	0.11399
H(17B)	0.68378	0.27967	0.05981	0.11399
H(17A)	0.86283	0.24406	0.13526	0.11399
C(9)	1.0590(5)	0.0954(1)	0.1105(4)	0.08367
H(9)	1.16389	0.08103	0.17468	0.10040
C(5)	0.5874(5)	0.0284(1)	-0.1974(3)	0.07680
H(5)	0.68846	0.02078	-0.12180	0.09216
C(7)	0.7776(6)	0.1156(1)	-0.2460(3)	0.09023
H(7A)	0.89008	0.10662	-0.31026	0.10828
H(7B)	0.72754	0.15133	-0.27306	0.10828
C(16)	0.3453(5)	0.2328(1)	0.1607(4)	0.09037
H(16A)	0.24707	0.20357	0.16325	0.13555
H(16B)	0.31153	0.25486	0.07507	0.13555
H(16C)	0.33729	0.25411	0.24921	0.13555
C(3)	0.2806(5)	0.0017(2)	-0.3393(4)	0.08991
H(3)	0.17620	-0.02366	-0.36189	0.10789
C(4)	0.4308(5)	-0.0080(1)	-0.2295(4)	0.08551
H(4)	0.42686	-0.03984	-0.17550	0.10261
C(8)	1.0388(5)	0.0887(1)	-0.0373(5)	0.08984
H(8)	1.12859	0.06855	-0.09359	0.10781
C(1)	0.4418(6)	0.0861(1)	-0.3828(3)	0.08769
H(1)	0.44199	0.11859	-0.43432	0.10522
C(2)	0.2847(6)	0.0490(2)	-0.4161(4)	0.09569
H(2)	0.18182	0.05625	-0.49078	0.11483

Çizelge Ek 1.5 1-benzil-6,7-dihidro-6,6-dimetil-1H-indol-4(5)-one (C<sub>17</sub>H<sub>19</sub>NO) bileşiği için hidrojen atomu dışındaki atomlara ait bağ uzunlukları (Å)

C(15) - C(14)	1.482(4)	C(15) - N(1)	1.361(4)
C(15) - C(10)	1.376(4)	C(11) - O(1)	1.224(4)
C(11) - C(10)	1.439(5)	C(11) - C(12)	1.504(5)
C(14) - H(14A)	0.970(3)	C(14) - H(14B)	0.970(3)
C(14) - C(13)	1.533(4)	C(13) - C(12)	1.519(4)
C(13) - C(17)	1.530(4)	C(13) - C(16)	1.534(4)
N(1) - C(7)	1.449(4)	N(1) - C(8)	1.391(5)
C(10) - C(9)	1.421(4)	C(12) - H(12A)	0.970(3)
C(12) - H(12B)	0.970(3)	C(6) - C(5)	1.371(4)
C(6) - C(7)	1.513(5)	C(6) - C(1)	1.388(5)
C(17) - H(17C)	0.960(3)	C(17) - H(17B)	0.960(3)
C(17) - H(17A)	0.960(3)	C(9) - H(9)	0.930(4)
C(9) - C(8)	1.341(6)	C(5) - H(5)	0.930(3)
C(5) - C(4)	1.365(5)	C(7) - H(7A)	0.970(4)
C(7) - H(7B)	0.970(4)	C(16) - H(16A)	0.960(3)
C(16) - H(16B)	0.960(4)	C(16) - H(16C)	0.960(4)
C(3) - H(3)	0.930(4)	C(3) - C(4)	1.359(5)
C(3) - C(2)	1.365(6)	C(4) - H(4)	0.930(4)
C(8) - H(8)	0.930(4)	C(1) - H(1)	0.930(4)
C(1) - C(2)	1.381(6)	C(2) - H(2)	0.930(4)

Çizelge Ek 1.6 1-benzil-6,7-dihidro-6,6-dimetil-1H-indol-4(5)-one (C<sub>17</sub>H<sub>19</sub>NO) bileşiği için hidrojen atomu dışındaki atomlara ait bağ açıları (°)

C(14)-C(15)-N(1)	126.4(3)	C(14)-C(15)-C(10)	125.8(3)
N(1)-C(15)-C(10)	107.8(3)	O(1)-C(11)-C(10)	123.9(3)
O(1)-C(11)-C(12)	121.6(3)	C(10)-C(11)-C(12)	114.4(3)
C(15)-C(14)-H(14A)	109.5(3)	C(15)-C(14)-H(14B)	109.5(3)
C(15)-C(14)-C(13)	110.6(3)	H(14A)-C(14)-H(14B)	108.1(3)
H(14A)-C(14)-C(13)	109.5(3)	H(14B)-C(14)-C(13)	109.5(3)
C(14)-C(13)-C(12)	109.2(3)	C(14)-C(13)-C(17)	110.4(3)
C(14)-C(13)-C(16)	109.4(3)	C(12)-C(13)-C(17)	110.3(3)
C(12)-C(13)-C(16)	108.8(3)	C(17)-C(13)-C(16)	108.8(3)
C(15)-N(1)-C(7)	125.6(3)	C(15)-N(1)-C(8)	108.2(3)
C(7)-N(1)-C(8)	125.9(3)	C(15)-C(10)-C(11)	120.9(3)
C(15)-C(10)-C(9)	107.9(3)	C(11)-C(10)-C(9)	131.2(3)
C(11)-C(12)-C(13)	115.5(3)	C(11)-C(12)-H(12A)	108.4(3)
C(11)-C(12)-H(12B)	108.4(3)	C(13)-C(12)-H(12A)	108.4(3)
C(13)-C(12)-H(12B)	108.4(3)	H(12A)-C(12)-H(12B)	107.5(3)
C(5)-C(6)-C(7)	122.6(3)	C(5)-C(6)-C(1)	117.1(3)

C(7)-C(6)-C(1)	120.3(3)	C(13)-C(17)-H(17C)	109.5(3)
C(13)-C(17)-H(17B)	109.5(3)	C(13)-C(17)-H(17A)	109.5(3)
H(17C)-C(17)-H(17B)	109.5(3)	H(17C)-C(17)-H(17A)	109.5(3)
H(17B)-C(17)-H(17A)	109.5(3)	C(10)-C(9)-H(9)	126.6(4)
C(10)-C(9)-C(8)	106.8(3)	H(9)-C(9)-C(8)	126.6(4)
C(6)-C(5)-H(5)	119.2(3)	C(6)-C(5)-C(4)	121.6(3)
H(5)-C(5)-C(4)	119.2(3)	N(1)-C(7)-C(6)	114.0(3)
N(1)-C(7)-H(7A)	108.8(3)	N(1)-C(7)-H(7B)	108.8(3)
C(6)-C(7)-H(7A)	108.8(3)	C(6)-C(7)-H(7B)	108.8(3)
H(7A)-C(7)-H(7B)	107.6(3)	C(13)-C(16)-H(16A)	109.5(3)
C(13)-C(16)-H(16B)	109.5(3)	C(13)-C(16)-H(16C)	109.5(3)
H(16A)-C(16)-H(16B)	109.5(4)	H(16A)-C(16)-H(16C)	109.5(4)
H(16B)-C(16)-H(16C)	109.5(3)	H(3)-C(3)-C(4)	120.4(4)
H(3)-C(3)-C(2)	120.4(4)	C(4)-C(3)-C(2)	119.3(4)
C(5)-C(4)-C(3)	120.9(4)	C(5)-C(4)-H(4)	119.6(4)
C(3)-C(4)-H(4)	119.5(4)	N(1)-C(8)-C(9)	109.3(3)
N(1)-C(8)-H(8)	125.4(4)	C(9)-C(8)-H(8)	125.4(4)
C(6)-C(1)-H(1)	119.4(4)	C(6)-C(1)-C(2)	121.2(4)
H(1)-C(1)-C(2)	119.4(4)	C(3)-C(2)-C(1)	119.9(4)
C(3)-C(2)-H(2)	120.1(4)	C(1)-C(2)-H(2)	120.0(4)

#### Torsiyon açıları

N(1) - C(15) - C(14) - H(14A)	78.5
N(1) - C(15) - C(14) - H(14B)	-39.9
N(1) - C(15) - C(14) - C(13)	-160.7
C(14) - C(15) - N(1) - C(7)	-5.1
C(14) - C(15) - N(1) - C(8)	-179.6
C(14) - C(15) - C(10) - C(11)	0.2
C(10) - C(15) - C(14) - H(14A)	-100.7
C(10) - C(15) - C(14) - H(14B)	141.0
C(10) - C(15) - C(14) - C(13)	20.2
C(14) - C(15) - C(10) - C(9)	179.7
N(1) - C(15) - C(10) - C(11)	-179.1
N(1) - C(15) - C(10) - C(9)	0.4
C(10) - C(15) - N(1) - C(7)	174.1
C(10) - C(15) - N(1) - C(8)	-0.3
O(1) - C(11) - C(10) - C(15)	-175.1

O(1) - C(11) - C(10) - C(9)	5.4
O(1) - C(11) - C(12) - C(13)	145.7
O(1) - C(11) - C(12) - H(12A)	23.9
O(1) - C(11) - C(12) - H(12B)	-92.4
C(12) - C(11) - C(10) - C(15)	7.4
C(10) - C(11) - C(12) - C(13)	-36.7
C(10) - C(11) - C(12) - H(12A)	-158.5
C(10) - C(11) - C(12) - H(12B)	85.1
C(12) - C(11) - C(10) - C(9)	-172.0
C(15) - C(14) - C(13) - C(12)	-45.6
C(15) - C(14) - C(13) - C(17)	75.9
C(15) - C(14) - C(13) - C(16)	-164.5
H(14A)- C(14) - C(13) - C(12)	75.3
H(14A)- C(14) - C(13) - C(17)	-163.3
H(14A)- C(14) - C(13) - C(16)	-43.7
H(14B)- C(14) - C(13) - C(12)	-166.4
H(14B)- C(14) - C(13) - C(17)	-44.9
H(14B)- C(14) - C(13) - C(16)	74.7
C(14) - C(13) - C(12) - C(11)	56.4
C(14) - C(13) - C(12) - H(12A)	178.3
C(14) - C(13) - C(12) - H(12B)	-65.4
C(14) - C(13) - C(17) - H(17C)	-177.9
C(14) - C(13) - C(17) - H(17B)	62.1
C(14) - C(13) - C(17) - H(17A)	-58.0
C(14) - C(13) - C(16) - H(16A)	58.2
C(14) - C(13) - C(16) - H(16B)	-61.8
C(14) - C(13) - C(16) - H(16C)	178.2
C(17) - C(13) - C(12) - C(11)	-65.0
C(17) - C(13) - C(12) - H(12A)	56.8
C(17) - C(13) - C(12) - H(12B)	173.2
C(12) - C(13) - C(17) - H(17C)	-57.2
C(12) - C(13) - C(17) - H(17B)	-177.2
C(12) - C(13) - C(17) - H(17A)	62.8
C(16) - C(13) - C(12) - C(11)	175.7

---

C(16) - C(13) - C(12) - H(12A)	-62.4
C(16) - C(13) - C(12) - H(12B)	53.9
C(12) - C(13) - C(16) - H(16A)	-61.0
C(12) - C(13) - C(16) - H(16B)	179.0
C(12) - C(13) - C(16) - H(16C)	59.0
C(16) - C(13) - C(17) - H(17C)	62.1
C(16) - C(13) - C(17) - H(17B)	-57.9
C(16) - C(13) - C(17) - H(17A)	-177.9
C(17) - C(13) - C(16) - H(16A)	178.8
C(17) - C(13) - C(16) - H(16B)	58.8
C(17) - C(13) - C(16) - H(16C)	-61.2
C(15) - N(1) - C(7) - C(6)	-77.4
C(15) - N(1) - C(7) - H(7A)	161.1
C(15) - N(1) - C(7) - H(7B)	44.1
C(15) - N(1) - C(8) - C(9)	0.1
C(15) - N(1) - C(8) - H(8)	-179.9
C(8) - N(1) - C(7) - C(6)	96.1
C(7) - N(1) - C(8) - C(9)	-174.4
C(8) - N(1) - C(7) - H(7A)	-25.4
C(8) - N(1) - C(7) - H(7B)	-142.3
C(7) - N(1) - C(8) - H(8)	5.6
C(15) - C(10) - C(9) - H(9)	179.6
C(15) - C(10) - C(9) - C(8)	-0.4
C(11) - C(10) - C(9) - H(9)	-0.9
C(11) - C(10) - C(9) - C(8)	179.1
C(5) - C(6) - C(7) - N(1)	-32.2
C(7) - C(6) - C(5) - H(5)	3.3
C(5) - C(6) - C(7) - H(7A)	89.3
C(5) - C(6) - C(7) - H(7B)	-153.7
C(7) - C(6) - C(5) - C(4)	-176.7
C(1) - C(6) - C(5) - H(5)	-178.3
C(1) - C(6) - C(5) - C(4)	1.7
C(5) - C(6) - C(1) - H(1)	177.6
C(5) - C(6) - C(1) - C(2)	-2.4

C(1) - C(6) - C(7) - N(1)	149.5
C(1) - C(6) - C(7) - H(7A)	-89.0
C(1) - C(6) - C(7) - H(7B)	28.0
C(7) - C(6) - C(1) - H(1)	-3.9
C(7) - C(6) - C(1) - C(2)	176.1
C(10) - C(9) - C(8) - N(1)	0.2
C(10) - C(9) - C(8) - H(8)	-179.8
H(9) - C(9) - C(8) - N(1)	-179.8
H(9) - C(9) - C(8) - H(8)	0.2
C(6) - C(5) - C(4) - C(3)	0.1
C(6) - C(5) - C(4) - H(4)	-179.9
H(5) - C(5) - C(4) - C(3)	-179.9
H(5) - C(5) - C(4) - H(4)	0.1
H(3) - C(3) - C(4) - C(5)	178.6
H(3) - C(3) - C(4) - H(4)	-1.4
H(3) - C(3) - C(2) - C(1)	-179.3
H(3) - C(3) - C(2) - H(2)	0.7
C(2) - C(3) - C(4) - C(5)	-1.4
C(2) - C(3) - C(4) - H(4)	178.6
C(4) - C(3) - C(2) - C(1)	0.7
C(4) - C(3) - C(2) - H(2)	-179.3
C(6) - C(1) - C(2) - C(3)	1.2
C(6) - C(1) - C(2) - H(2)	-178.8
H(1) - C(1) - C(2) - C(3)	-178.8
H(1) - C(1) - C(2) - H(2)	1.2

Çizelge Ek 1.7 4,5,6,7-tetrahidro-6,6-dimetil-4-oksobenzofuran-5-il asetat (C<sub>12</sub>H<sub>14</sub>NO<sub>4</sub>)  
bileşiğine ait kesirsel atomik koordinatlar ve eşdeğer izotropik yerdeğiştirme  
parametreleri

Atom	x/a	y/b	z/c	U <sub>eq</sub> (Å <sup>2</sup> )
O(1)	0.2568(3)	0.9563(2)	0.8405(1)	0.06707
O(2)	0.3827(4)	1.3609(3)	0.4873(1)	0.08118
O(4)	0.0898(4)	0.9411(3)	0.6780(1)	0.08921

C(6)	0.3743(5)	1.2112(4)	0.7584(2)	0.06257
C(3)	0.2423(5)	1.1554(4)	0.5785(2)	0.06248
C(7)	0.3628(5)	1.0223(3)	0.7488(2)	0.05843
H(7)	0.52898	0.92969	0.73596	0.07011
C(4)	0.3702(5)	1.2616(4)	0.5773(2)	0.06604
C(5)	0.4863(5)	1.2792(4)	0.6588(2)	0.07222
H(5A)	0.46260	1.40993	0.65690	0.08666
H(5B)	0.65986	1.20391	0.65133	0.08666
C(11)	0.3358(6)	0.7684(4)	0.8668(2)	0.07848
O(3)	0.5073(5)	0.6572(3)	0.8250(2)	0.12183
C(8)	0.2133(5)	1.0341(4)	0.6670(2)	0.06369
C(9)	0.1191(5)	1.3576(4)	0.7846(2)	0.07762
H(9A)	0.05475	1.31524	0.84801	0.11642
H(9B)	0.01441	1.37296	0.73575	0.11642
H(9C)	0.12825	1.47635	0.78658	0.11642
C(10)	0.5396(6)	1.1805(4)	0.8386(2)	0.08474
H(10A)	0.69709	1.08480	0.82348	0.12711
H(10B)	0.46930	1.14108	0.90129	0.12711
H(10C)	0.55564	1.29644	0.84107	0.12711
C(2)	0.1655(5)	1.1903(4)	0.4821(2)	0.07593
H(2)	0.07276	1.13831	0.46008	0.09112
C(1)	0.2542(6)	1.3126(4)	0.4304(2)	0.08386
H(1)	0.23282	1.35982	0.36438	0.10063
C(12)	0.1787(6)	0.7217(4)	0.9533(2)	0.09687
H(12A)	0.26415	0.59572	0.98436	0.14532
H(12B)	0.03160	0.73005	0.93144	0.14532
H(12C)	0.13926	0.80935	0.99966	0.14532C(4)

Çizelge Ek 1.8 4,5,6,7-tetrahidro-6,6-dimetil-4-oksobenzofuran-5-il asetat (C<sub>12</sub>H<sub>14</sub>NO<sub>4</sub>) bileşiği için hidrojen atomu dışındaki atomlara ait bağ uzunlukları (Å)

O(1) - C(11)	1.344(4)	O(2) - C(4)	1.351(4)
O(2) - C(1)	1.387(4)	O(4) - C(8)	1.218(4)
C(6) - C(5)	1.540(4)	C(6) - C(9)	1.534(4)
C(6) - C(10)	1.536(4)	C(3) - C(4)	1.347(4)
C(3) - C(8)	1.441(4)	C(3) - C(2)	1.428(4)
C(7) - H(7)	0.980(3)	C(7) - C(8)	1.528(4)
C(4) - C(5)	1.478(4)	C(5) - H(5A)	0.970(3)
C(5) - H(5B)	0.970(3)	C(11) - O(3)	1.192(5)
C(11) - C(12)	1.495(5)	C(9) - H(9A)	0.960(3)
C(9) - H(9B)	0.960(3)	C(9) - H(9C)	0.960(3)
C(10) - H(10A)	0.960(4)	C(10) - H(10B)	0.960(3)
C(10) - H(10C)	0.960(4)	C(2) - H(2)	0.930(3)
C(2) - C(1)	1.328(5)	C(1) - H(1)	0.930(3)
C(12) - H(12A)	0.960(4)	C(12) - H(12B)	0.960(4)
C(12) - H(12C)	0.960(3)		

Çizelge Ek 1.9 4,5,6,7-tetrahidro-6,6-dimetil-4-oksobenzofuran-5-il asetat (C<sub>12</sub>H<sub>14</sub>NO<sub>4</sub>) bileşiği için hidrojen atomu dışındaki atomlara ait bağ açıları (°)

C(4)-O(2)-C(1)	105.2(3)	C(5)-C(6)-C(9)	110.6(3)
C(5)-C(6)-C(10)	108.8(3)	C(9)-C(6)-C(10)	109.6(3)
C(4)-C(3)-C(8)	119.8(3)	C(4)-C(3)-C(2)	106.8(3)
C(8)-C(3)-C(2)	133.4(3)	H(7)-C(7)-C(8)	108.6(3)
O(2)-C(4)-C(3)	110.9(3)	O(2)-C(4)-C(5)	120.6(3)
C(3)-C(4)-C(5)	128.5(3)	C(6)-C(5)-C(4)	109.9(3)
C(6)-C(5)-H(5A)	109.7(3)	C(6)-C(5)-H(5B)	109.7(3)
C(4)-C(5)-H(5A)	109.7(3)	C(4)-C(5)-H(5B)	109.7(3)
H(5A)-C(5)-H(5B)	108.2(3)	O(1)-C(11)-O(3)	123.5(3)
O(1)-C(11)-C(12)	110.6(3)	O(3)-C(11)-C(12)	125.9(3)
O(4)-C(8)-C(3)	125.1(3)	O(4)-C(8)-C(7)	120.7(3)
C(3)-C(8)-C(7)	114.1(3)	C(6)-C(9)-H(9A)	109.5(3)
C(6)-C(9)-H(9B)	109.5(3)	C(6)-C(9)-H(9C)	109.5(3)
H(9A)-C(9)-H(9B)	109.5(3)	H(9A)-C(9)-H(9C)	109.5(3)
H(9B)-C(9)-H(9C)	109.5(3)	C(6)-C(10)-H(10A)	109.5(3)
C(6)-C(10)-H(10B)	109.5(3)	C(6)-C(10)-H(10C)	109.5(3)
H(10A)-C(10)-H(10B)	109.5(3)	H(10A)-C(10)-H(10C)	109.5(3)
H(10B)-C(10)-H(10C)	109.5(3)	C(3)-C(2)-H(2)	127.2(3)
C(3)-C(2)-C(1)	105.6(3)	H(2)-C(2)-C(1)	127.2(3)
O(2)-C(1)-C(2)	111.5(3)	O(2)-C(1)-H(1)	124.3(3)
C(2)-C(1)-H(1)	124.3(4)	C(11)-C(12)-H(12A)	109.5(3)
C(11)-C(12)-H(12B)	109.5(3)	C(11)-C(12)-H(12C)	109.5(3)
H(12A)-C(12)-H(12B)	109.5(4)	H(12A)-C(12)-H(12C)	109.5(3)
H(12B)-C(12)-H(12C)	109.5(4)		

#### Torsiyon açıları

C(1) - O(2) - C(4) - C(3)	0.2
C(1) - O(2) - C(4) - C(5)	-179.3
C(4) - O(2) - C(1) - C(2)	0.2
C(4) - O(2) - C(1) - H(1)	-179.8
C(9) - C(6) - C(5) - C(4)	-74.4
C(9) - C(6) - C(5) - H(5A)	46.2
C(9) - C(6) - C(5) - H(5B)	164.9
C(5) - C(6) - C(9) - H(9A)	-177.7
C(5) - C(6) - C(9) - H(9B)	62.3



C(5) - C(6) - C(9) - H(9C)	-57.7
C(10) - C(6) - C(5) - C(4)	165.1
C(10) - C(6) - C(5) - H(5A)	-74.2
C(10) - C(6) - C(5) - H(5B)	44.5
C(5) - C(6) - C(10) - H(10A)	-61.4
C(5) - C(6) - C(10) - H(10B)	178.6
C(5) - C(6) - C(10) - H(10C)	58.6
C(10) - C(6) - C(9) - H(9A)	-57.8
C(10) - C(6) - C(9) - H(9B)	-177.8
C(10) - C(6) - C(9) - H(9C)	62.2
C(9) - C(6) - C(10) - H(10A)	177.5
C(9) - C(6) - C(10) - H(10B)	57.5
C(9) - C(6) - C(10) - H(10C)	-62.5
C(8) - C(3) - C(4) - O(2)	178.2
C(4) - C(3) - C(8) - O(4)	175.4
C(4) - C(3) - C(8) - C(7)	-7.2
C(8) - C(3) - C(4) - C(5)	-2.4
C(2) - C(3) - C(4) - O(2)	-0.4
C(2) - C(3) - C(4) - C(5)	179.0
C(4) - C(3) - C(2) - H(2)	-179.4
C(4) - C(3) - C(2) - C(1)	0.6
C(2) - C(3) - C(8) - O(4)	-6.4
C(2) - C(3) - C(8) - C(7)	171.0
C(8) - C(3) - C(2) - H(2)	2.2
C(8) - C(3) - C(2) - C(1)	-177.8
H(7) - C(7) - C(8) - O(4)	95.1
H(7) - C(7) - C(8) - C(3)	-82.5
O(2) - C(4) - C(5) - C(6)	160.3
O(2) - C(4) - C(5) - H(5A)	39.7
O(2) - C(4) - C(5) - H(5B)	-79.0
C(3) - C(4) - C(5) - C(6)	-19.1
C(3) - C(4) - C(5) - H(5A)	-139.7
C(3) - C(4) - C(5) - H(5B)	101.6
O(1) - C(11) - C(12) - H(12A)	-161.2

O(1) - C(11) - C(12) - H(12B)	78.8
O(1) - C(11) - C(12) - H(12C)	-41.2
O(3) - C(11) - C(12) - H(12A)	19.4
O(3) - C(11) - C(12) - H(12B)	-100.6
O(3) - C(11) - C(12) - H(12C)	139.4
C(3) - C(2) - C(1) - O(2)	-0.5
C(3) - C(2) - C(1) - H(1)	179.5
H(2) - C(2) - C(1) - O(2)	179.5
H(2) - C(2) - C(1) - H(1)	-0.5

---

## ÖZGEÇMİŞ

---

### KİŞİSEL BİLGİLER

**Adı Soyadı** : Mediha SÜLEYMANOĞLU ERSEZ  
**Doğum Tarihi ve Yeri** : 27.07.1978 Razgrad ( Bulgaristan)  
**Yabancı Dili** : İngilizce  
**E-posta** : medihas@gmail.com

### ÖĞRENİM DURUMU

Derece	Alan	Okul/Üniversite	Mezuniyet Yılı
Y. Lisans	Biyoloji	Yıldız Teknik Üniversitesi	2011
Lisans	Biyoloji	Atatürk Üniversitesi	2001
Lise	Fen Bilimleri	Mehmet Akif Ersoy Lisesi (Yabancı dil ağırlıklı lise)	1997