

T.C.
BAYBURT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

***LACTOBACILLUS PARACASEI İLE PROKİRAL AROMATİK
KETONLARIN ASİMETRİK İNDİRGENMESİ***

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Selda ÖKSÜZ

Aralık - 2017

BAYBURT

***LACTOBACILLUS PARACASEI* İLE PROKİRAL AROMATİK
KETONLARIN ASİMETRİK İNDİRGENMESİ**

Selda ÖKSÜZ

**Yüksek Lisans Tezi
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı
Danışman: Yrd. Doç. Dr. Engin ŞAHİN**

**T.C.
BAYBURT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

***LACTOBACILLUS PARACASEI* İLE PROKİRAL AROMATİK
KETONLARIN ASİMETRİK İNDİRGENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Selda ÖKSÜZ

**2017
BAYBURT
Her Hakkı Saklıdır**

TEZ ONAY SAYFASI

***Lactobacillus Paracasei* İle Prokiral Aromatik Ketonların Asimetrik İndirgenmesi**

Yrd. Doç. Dr. Engin ŞAHİN danışmanlığında, Selda ÖKSÜZ tarafından hazırlanan bu tez çalışması 01/12/2017 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Doç. Dr. Kani ZİLBEYAZ

İmza : 

Üye: Doç. Dr. Enes DERTLİ

İmza : 

Üye: Yrd. Doç. Dr. Engin ŞAHİN

İmza : 

Yukarıdaki sonucu onaylıyorum.

(imza)

Doç. Dr. Metin UÇURUM

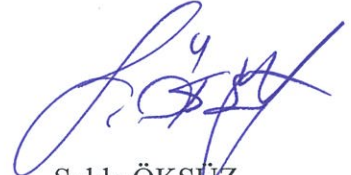
Enstitü Müdür V.

Bu çalışma Bayburt Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi kapsamında desteklenmiştir.

Not: Bu tezde kullanılan ve başka kaynaklardan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

TEZ BİLDİRİMİ

Bu tez içindeki bütün bilgilerin bilimsel ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu ve bu çalışmada şahsıma ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.



Selda ÖKSÜZ

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

***LACTOBACILLUS PARACASEI* İLE PROKİRAL AROMATİK KETONLARIN ASİMETRİK İNDİRGENMESİ**

Selda ÖKSÜZ

Bayburt Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Engin ŞAHİN

Son yıllarda enantiyomerik olarak saf maddeler endüstriyel anlamda büyük ilgi görmektedirler. Enantiyomerik saflıkta elde edilen kiral alkoller endüstrinin çeşitli alanlarında önemli yapı taşları olarak kullanılmaktadırlar. Kiral maddelere olan bu ilgiden dolayı biyoindirgenme reaksiyonları ile enantiyomerik saflıkta kiral madde üretimi üzerine çalışmalar önem kazanmıştır.

Bu çalışmada prokiral ketonların biyoindirgenmesi ile endüstride çeşitli alanlarda kullanılan optikçe aktif kiral sekonder alkoller elde edildi. Yedi farklı *Lactobacillus paracasei* suşu'nun prokiral ketonların asimetrik indirgenmesinde biyokatalizör olarak değerlendirildi. Bu laktik asit bakteri (LAB) suşları arasında *Lactobacillus paracasei* BD87E6 suşu en etkili asimetrik indirgeme yeteneğine sahip biyokatalizör olarak tespit edildi. Optimize edilen reaksiyon koşulları altında aromatik prokiral ketonlar %98 enantiyomerik aşırılığa varan sonuçlarla ilgili kiral sekonder alkollere dönüştürüldü. Bu metod hafif ve çevre dostu yöntem ile biyolojik öneme sahip sekonder kiral alkollerin sentezi için umut vaat eden ve alternatif bir yaklaşım getirmektedir.

2017, 72 sayfa

Anahtar kelimeler: Asimetrik sentez, Biyokatalizör, Kiral alkol, Enantiyoseçici indirgenme, Keton, *Lactobacillus paracasei*

ABSTRACT

MS Thesis

ASYMMETRIC REDUCTION OF PROCHIRAL AROMATIC KETONES BY A LACTOBACILLUS PARACASEI STRAIN

Selda ÖKSÜZ

Bayburt University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Food Engineering

Department of Food Engineering
Supervisor : Asst. Prof. Dr. Engin ŞAHİN

In recent years enantiomerically pure compounds have attracted great attention industrially. Enantiomerically pure chiral alcohols are important building blocks in various fields of industry. Because of the increasing interest in chiral compounds the studies on producing enantiomerically pure chiral compounds with bioreduction reactions have gained importance.

In this study, enantiomerically pure 1-phenyl ethanol, a precursor of many pharmacological products, was produced via bioreduction of acetophenone. Seven strains of *Lactobacillus paracasei* were evaluated as biocatalyst in the asymmetric reduction of acetophenone to (*R*) or (*S*)-1-phenyl ethanol. Among these lactic acid bacteria (LAB) strains *Lactobacillus paracasei* BD87E6 was determined to be a biocatalyst that has the most efficient asymmetric reduction ability for the enantioselective reduction of acetophenone. Under the optimized reaction conditions, aromatic prochiral ketones were converted to the corresponding chiral secondary alcohols with the result of reaching up to 98% enantiomeric excess. This method enables for a promising and alternative approach to the synthesis of biologically important secondary alcohols by using an environmentally friendly and a light method.

2017, 72 pages

Keywords : Asymmetric synthesis, Biocatalyst, Chiral alcohol, Enantioselective reduction, Ketone, *Lactobacillus paracasei*

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum bu çalışma, Bayburt Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nde Yrd. Doç. Dr. Engin ŞAHİN yöneticiliğinde gerçekleştirilmiştir.

Çalışmalarımın her aşamasında desteğini esirgemeyen, bilgi ve birikimlerinden her zaman faydalandığım Sayın Yrd. Doç. Dr. Engin ŞAHİN'e, çalışmalarım esnasında büyük yardımını gördüğüm hocam Sayın Doç. Dr. Enes DERTLİ'ye ve laboratuvar çalışmalarım esnasında benden desteklerini esirgemeyen değerli arkadaşlarım Sayın Hümeysra İSPİRLİ, Sayın Caner TOZLU ve Sayın Kübra PURUTOĞLU'na sabır ve yardımlarından dolayı çok teşekkür ederim.

Bu tez çalışması Bayburt Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri kapsamında 2016/01-04 proje numarası ile desteklenmiştir. Bu desteklerinden ötürü ilgili birim yöneticilerine ve çalışanlarına çok teşekkür ederim.

Yüksek lisans eğitimim boyunca benden bir an olsun yardımlarını esirgemeyen, bilgi ve tecrübeleri ile bana sürekli destek olan Sayın Doç. Dr. Metin UÇURUM ve sevgili eşi Sayın Elif TURHAL UÇURUM'a, çalışma süresince tüm zorlukları benimle göğüsleyen ve hayatımın her evresinde maddi manevi bana destek olan değerli aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Selda ÖKSÜZ

Aralık/2017

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
ŞEKİLLER DİZİNİ	v
ÇİZELGELER DİZİNİ	vi
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	vii
1. GİRİŞ	1
1.1 Asimetrik Sentezin Önemi	1
1.1.1 Kiralite	1
1.1.1 Kiral Bileşikler	3
1.1.3 Enantiyomerler ve Özellikleri.....	3
1.1.4 Optikçe Aktiflik.....	4
1.1.5 Rasemik Karışım.....	5
1.2 Enantiyomerik Olarak Saf Bileşiklerin Sentez Yöntemleri	9
1.2.1 Stereoseçimli Sentez.....	9
1.2.2 Rasematların Rezolüsyonu	10
1.2.3 Asimetrik Sentez	12
1.3 Kiral Sekonder Alkollerin Önemi.....	14
2. KAYNAK ÖZETLERİ	16
2.1 Kiral Sekonder Alkollerin Elde Edilme Yöntemleri	16
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	28
4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	34
4.1 Kromatografik Ayırmalar	34
4.1.1 Kolon Kromatografisi.....	34
4.1.2 İnce Tabaka Kromatografisi.....	34

4.2 Spektrumlar	34
4.2.1 ¹H-NMR Spektrumları.....	34
4.2.2 ¹³C-NMR Spektrumları	34
4.2.3 HPLC Spektrumu	34
4.3 Deneyler.....	34
4.3.1 Genel Asimetrik İndirgenme Prosedürü	34
5. SONUÇ.....	41
KAYNAKLAR	43
EKLER.....	49
EK 1 NMR SPEKTRUMLARI	49
EK 2 HPLC SPEKTRUMLARI	61
ÖZGEÇMİŞ	

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1 Kiral ve akiral nesnelere ayna görüntüleri. (a) Sağ ve sol el gibi her biri kiral olup ayna görüntüleri üst üste çakışmayan nesnelere. (b) Ayna görüntüsü ile üst üste çakışan akiral bir nesne olan şişe.....	1
Şekil 1.2 Kiral ve akiral moleküllerin karşılaştırılması. (a) Bromokloroflorometan ayna görüntüleri üst üste çakıştırmayan kiral bir moleküldür. (b) Dikloroflorometan ayna görüntüleri üst üste çakışan, kiral merkeze sahip olmayan akiral bir moleküldür.	2
Şekil 1.3 Kiral 2-Klorbütan molekülünün kiral merkezi.	3
Şekil 1.4 Laktik asit molekülünün enantiyomerleri.	4
Şekil 1.5 Enantiyosaf maddelerin polarize ışık düzlemini çevirmeleri	4
Şekil 1.6 1982'den önce kiral ilaçların tek enantiyomer veya rasemat şeklinde kullanımı	6
Şekil 1.7 Thalidomide ilacının R ve S enantiyomerleri.....	7
Şekil 1.8 (S) -thalidomide ilacının meydana getirdiği doğum kusurları.....	7
Şekil 1.9 a) S-(+)-Ketamin ve b) R-(-)-Ketamin	8
Şekil 1.10 Enantiyomerik saflıkta bileşiklerin elde edildiği metotlar.	9
Şekil 1.11 Rasematların rezolüsyonunda kullanılan metotlar.....	10
Şekil 1.12 Asimetrik sentez.	13
Şekil 1.13 Kinetik rezolüsyon, asimetrik sentez ve derasemizasyon yöntemleri.	13
Şekil 1.14 Endüstriyel kiral bileşik sentezi için kullanılan kiral kaynaklar.....	14
Şekil 1.15 Bazı farmasötik bileşik örnekleri.....	15
Şekil 2.1 Asimetrik indirgenme reaksiyonlarında kullanılan biyokatalizör çeşitleri	18
Şekil 2.2 Enzim ve tüm hücrelerin endüstriyel işlemlerde kullanımı.....	21
Şekil 2.3 2-bromo-4-floro asetofenonun mikroorganizmalar tarafından indirgenmesi	23
Şekil 2.4. <i>Lactobacillus paracasei</i> ile aromatik ketonların asimetrik indirgenmesi	27

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 Biyokatalizörlerin kimyasal katalizörler ile karşılaştırıldığında sahip olduğu avantajlar.....	16
Çizelge 2.2 Enzimlerin Sınıflandırılması.....	20
Çizelge 2.3 Değişik fungus türleri kullanılarak asetofenonun biyoindirgenmesi (Cso= 8mM, pH=6, T=28°C, N=200 rpm).	22
Çizelge 2.4 2-bromo-4-floro asetofenonun enantiyomerik saflıkta biyoindirgenmesi	23
Çizelge 3.1 Asetofenon'un asimetric indirgenmesinde en iyi <i>Lactobacillus paracasei</i> bakteri suşunun belirlenmesi.....	28
Çizelge 3.2 <i>Lactobacillus paracasei</i> BD87E6 bakteri suşu kullanılarak asetofenonun biyoindirgenme parametrelerinin optimizasyonu..	29
Çizelge 3.3 <i>Lactobacillus paracasei</i> BD87E6 bakteri suşu kullanılarak asetofenon türevlerinin asimetric indirgenmesi.	31

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

<i>ee</i>	Enantiyomerik aşırılık
<i>d</i>	dublet
<i>dd</i>	dubletin dubleti
<i>q</i>	kuarted
<i>bs</i>	broat (geniş) singlet
<i>m</i>	multiplet
<i>t</i>	triplet
<i>o</i>	orto
<i>m</i>	meta
<i>p</i>	para

Kısaltmalar

TLC	İnce Tabaka Kromatografisi
ADH	Alkol Dehidrogenaz Enzimi

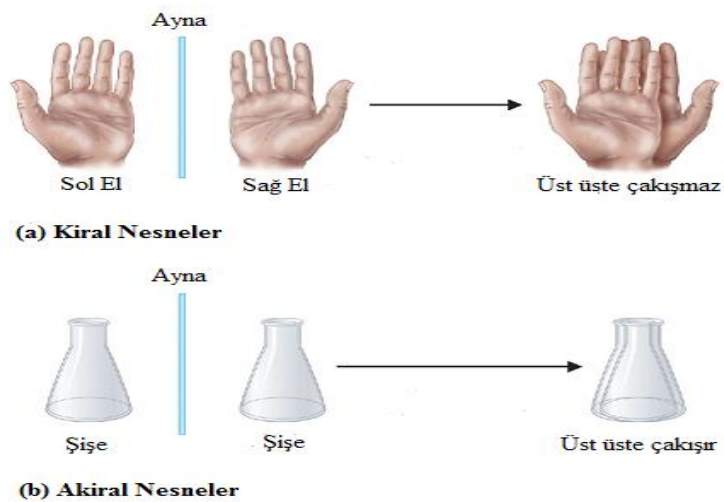
1. GİRİŞ

1.1 Asimetrik Sentezin Önemi

Asimetrik sentez reaksiyonları endüstri ve çeşitli alanlarda oldukça önemli kiral ara ürünlerin kolayca elde edilmesini sağlayan reaksiyonlardır. Asimetrik sentez sonucu elde edilen enantiyomerik saf bileşikler günümüzde başta ilaç endüstrisi olmak üzere parfüm endüstrisinde, gıda endüstrisinde ve herbisit, insektisit gibi zirai kimyasalların üretiminde kullanılan oldukça önemli yapı taşlarıdır.

1.1.1 Kiralite

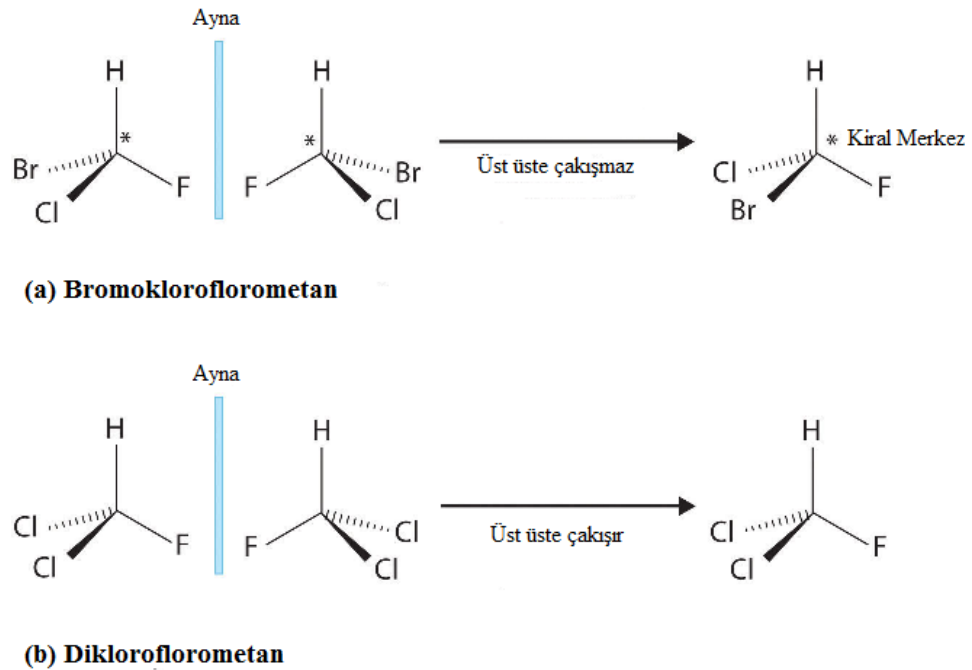
Doğada birçok kiral molekül bulunmakla birlikte canlı sistemlerde de çok sayıda kiral molekül örneğinin bulunması kiraliteyi canlı hayatı için vazgeçilmez unsurlardan biri haline getirmektedir. Bir molekül kiral veya akiraldir. Yunanca'da el anlamını taşıyan *cheiros* kelimesinden türeyen ve elimsi anlamına gelen kiral terimi ayna görüntüsü ile üst üste çakışmayan nesne anlamına gelmektedir. Kiral bir molekül bu anlamda ele benzer özellik göstermektedir (Bunnett, 1999). Kiral olmayan moleküllerin ise kendisi ile ayna görüntüsü üst üste çakışır (Şekil 1.1) (Chem.libretexts, 2016).



Şekil 1. 1 Kiral ve akiral nesnelere ayna görüntüleri. (a) Sağ ve sol el gibi her biri kiral olup ayna görüntüleri üst üste çakışmayan nesnelere. (b) Ayna görüntüsü ile üst üste çakışan akiral bir nesne olan şişe.

Kiralite canlı sistemlerde çok rastlanan bir kavramdır. Nükleik asitler, aminoasitler, karbonhidratlar, lipitler ve diğer birçok biyomolekül kiral yapıda olan moleküllerdir (Nejem, 2004).

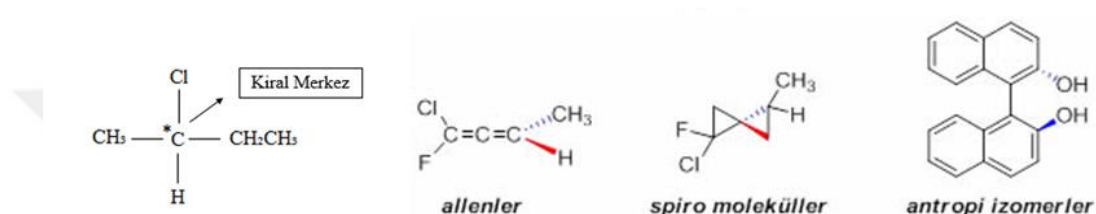
Dikloroflorometan ile bromokloroflorometan'ın ayna görüntülerini incelersek ayna görüntüleri üst üste çakışmadığı için bromokloroflorometan'ın kiral, ayna görüntüleri üst üste çakışan dikloroflorometan'ın ise akiral bir molekül olduğunu görürüz. Dikloroflorometan molekülünün akiral olmasından dolayı mevcut tek bir yapısı vardır. Ancak kiral olan bromokloroflorometan'ın bir kendisi bir de ayna görüntüsü olmak üzere iki yapısı vardır (Şekil 1.2) (Chem.libretext, 2006). Kendisi ile ayna görüntüsünün meydana getirdiği stereoizomer çiftine ise enantiyomerler denir. Bütün moleküllerin ayna görüntüleri olmakla birlikte bunların enantiyomerler olabilmeleri için üst üste çakışmamaları gerekmektedir (Bunnett, 1999).



Şekil 1. 2 Kiral ve akiral moleküllerin karşılaştırılması. (a) Bromokloroflorometan ayna görüntüleri üst üste çakıştırılmayan kiral bir moleküldür. (b) Dikloroflorometan ayna görüntüleri üst üste çakışan, kiral merkeze sahip olmayan akiral bir moleküldür.

1.1.1 Kiral Bileşikler

Bir karbona dört farklı grup veya atomun bağlı olduğu molekül kiral moleküldür. Böyle bir molekülün sahip olduğu bu merkez karbona ise stereojenik merkez, kiral merkez veya asimetric karbon denir (Tüzün, 1994). 2-Klorbütan molekülünün 2 numaralı karbonuna (yıldızla işaretlenmiş) Cl, CH₃, CH₂CH₃ ve H olmak üzere dört farklı grup bağlıdır (Şekil 1.3) (Bunnett, 1999). Bunun yanı sıra allenler, spiro moleküller ve antropi izomerlerde kiral bileşikler sınıfına girerler.

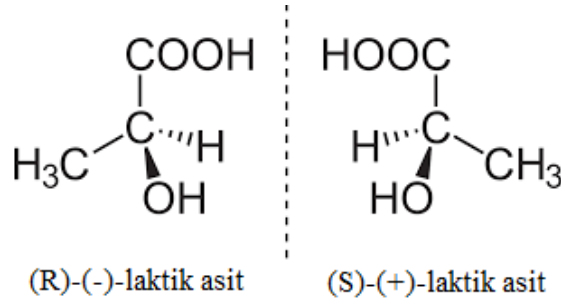


Şekil 1. 3 Bazı kiral bileşikler.

1.1.3 Enantiyomerler ve Özellikleri

Enantiyomerler sadece kirallik yönünden birbirlerinden farklılık gösterirler. Fiziksel ve kimyasal özellikleri açısından birbirinin aynısıdır. Kaynama noktaları, erime noktaları, çevirme açıları, yoğunlukları eşdeğerdir. Bundan dolayı ekstraksiyon, kristalizasyon ve distilasyon gibi kiral olmayan özelliklere dayanan fiziksel yöntemlerle ayrılamazlar. Buna karşılık düzlem polarize ışığı çevirme açılarının yönü ve biyolojik aktiviteleri gibi özellikleri farklılık gösterir.

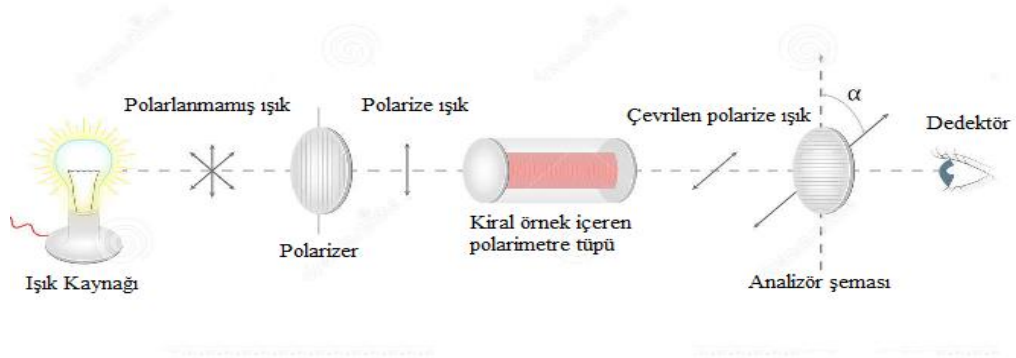
Buna bir örnek düzlem polarize ışığı saat yönünde veya zıt yönde çevirmeleridir. Çevirmenin miktarı değil yönü (+ veya -) kiral bir özelliktir. Bu nedenle özgül çevirme açıları eşitken sadece işaretleri terstir. Laktik asit molekülü pek çok biyolojik süreçte yer alan önemli bir kiral moleküldür. (R)-laktik asit polarize düzlem ışığı sola çevirirken diğer enantiyomeri olan (S)-laktik asit sağa doğru çevirir (Şekil 1.4) ("Enantiomer", 2017). Enantiyomerlerin biyolojik özellikleri kiralliteden kaynaklı olarak farklılık gösterir. Örneğin laktik asit dehidrogenaz enzimi (+)-laktik asiti pirüvik asite yükseltirken, (-)-laktik asitte bu işlemi gerçekleştirmez (Bunnett, 1999).



Şekil 1.4 Laktik asit molekülünün enantiyomerleri.

Optikçe Aktiflik

Optikçe aktiflik kavramı, kiral bir molekülün polarize olmuş ışığın polarizasyon düzlemini çevirme yeteneğine verilen isimdir. Bir kiral molekülün sahip olduğu her iki enantiyomer de optikçe aktif özellik gösterir (Atkins ve Carey, 1997). Polarimetre cihazı moleküllerin optikçe aktifliğini ölçen bir cihazdır (Şekil 1.5) (Dreamstime, 2017). Işın kaynağından çıkan bir ışın demeti polarizatör denen bir parça içerisinde geçerek ışık dalgalarının yalnızca bir düzlem üzerine titreşerek polarize ışık elde edilir. Tek bir enantiyomeri içeren bir çözelti içerisinde polarize ışık demeti geçirildiğinde bu ışın polarizasyon düzlemini α açısı kadar sağa veya sola çevirdiği gözlemlenir (Şekil 1.5).



Şekil 1.5 Enantiyosaf maddelerin polarize ışık düzlemini çevirmeleri

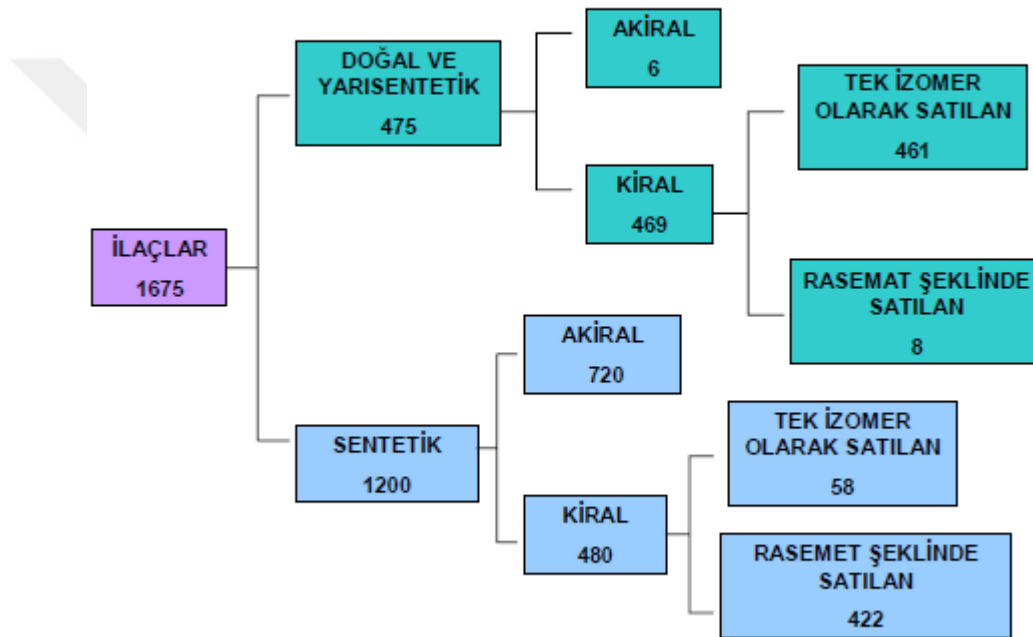
Optikçe aktiflikten bahsedilen bu çevirmedir. Bir maddenin optikçe aktifliği özgül çevirme olarak ifade edilen $[\alpha]$ sembolü ile gösterilir. Kiral bileşiklerin

enantiyomerlerinden her biri düzlem polarize ışığın düzlemini eşit miktarda fakat zıt yönlü çevirirler. Örneğin herhangi bir maddenin enantiyomerlerinden biri $[\alpha] = +27^\circ$ lik bir çevirme gösteriyorsa diğer enantiyomer $[\alpha] = -27^\circ$ lik bir çevirme gösterir. Kiral bir bileşiğin eşit miktardaki iki enantiyomerini bir arada içeren bir karışım pozitif ve negatif çevirmeler bir birini yok ettiği için herhangi bir optik çevirme göstermez. Bu türlü karışımlar rasemik karışım olarak isimlendirilirler ve herhangi bir optikçe aktiflik göstermezler. Herhangi bir maddenin optikçe aktiflik gösterebilmesi için madde kiral olmalıdır ve enantiyomerlerden birisinin miktarı diğerinden farklı olmalıdır.

1.1.4 Rasemik Karışım

Kiral bir bileşiğin her iki enantiyomerini de eşit oranda içeren karışıma rasemik karışım veya rasemat adı verilir. Rasemik karışımlar optikçe aktif değildirler yani polarize düzlem ışığı herhangi bir yöne çevirmezler. Bunun sebebi polarize ışık düzlemini eşit oranda ancak zıt (biri pozitif, diğeri negatif) yönlerde çevirmeleri ve bunun sonucunda çevirmelerinin birbirini yok etmesidir. Kısaca bir maddenin optikçe aktif sayılabilmesi için o maddenin hem kiral olması hem de bir enantiyomerinin miktarının diğerinden fazla olması gerekmektedir. Kiral bileşikler kimyasal yöntemlerle sentezlendiklerinde çoğunlukla rasemik karışım şeklindedirler. Kiral maddelerin biri (*R*) diğeri (*S*) olmak üzere iki enantiyomeri bulunmaktadır. Kiral maddelerin bu iki enantiyomeri de farmasötik sanayinde önem taşırlar ve birbirinden farklı biyolojik aktivite gösterirler. Enantiyomerler çoğu biyolojik etkinlik açısından da birbirlerinden farklıdır. Farklı biyolojik aktiviteye sahip olmaları enantiyomerlerin günümüzde başta ilaç endüstrisi olmak üzere çeşitli alanlarda çok büyük öneme sahip olmalarına neden olmuştur. İlaçlarda sahip oldukları farklı biyolojik etkinliklerden dolayı enantiyomerlerden birisi istenen aktiviteyi sağlayıp farmakolojik açıdan değerliken (Williams vd, 1998) diğeri ise istenen aktiviteyi göstermez hatta genellikle zararlı ve toksik etki gösterebilir veya diğeri enantiyomerin etkisini azaltacak yönde çalışabilir (Maier vd, 2001). İstenmeyen enantiyomerin ilaç içerisindeki değerinin % 0,1 değerinde olması istenir. Bundan dolayı enantiyomerlerin birbirinden ayrılması ve enantiyomerik olarak saf bileşiklerin elde edilmesi özellikle ilaç endüstrisi bakımından çok büyük önem taşımaktadır (Kordikowski vd, 1999). Örneğin ilaç olarak kullanılacak aktif enantiyomeri diğerinden ayırarak kullanmak

diğer enantiyomerin hastada meydana getireceği olumsuz etkileri engellemek anlamına gelir. Geçmiş yıllarda uzun bir süre ilaçlar rasemat halinde piyasaya sürülmüştür (şekil 1.6). Ancak bu durum rasemat halinde piyasaya sürülen ilaçların meydana getirdiği yan etkilerin ciddi boyutlara ulaşması ile zaman içerisinde hızla değişime uğramıştır (Sheldon, 1993). Günümüzde farmasötik, gıda, biyokimya, parfüm endüstrisi gibi çoğu alanda rasemik bileşikler yerine optikçe aktif olan tek enantiyomerli bileşikler tercih edilmektedir (Tüzün, 1994).

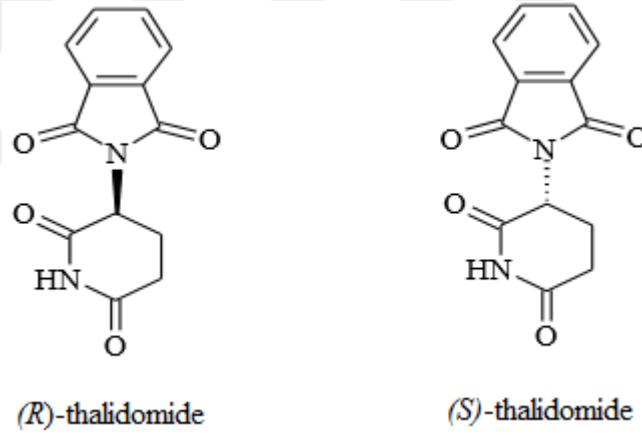


şekil 1. 6 1982'den önce kiral ilaçların tek enantiyomer veya rasemat şeklinde kullanımını.

Günümüzde dünya genelinde üretilen kayıtlı 5000 ilacın üçte biri ya doğal üründür veya doğal ürünlerin kimyasal modifikasyonu ile elde edilen ürünlerdir. Ziraat ve eczacılıkta kullanılan moleküller genellikle rasemik veya enantiyomerik saflıkta olmak üzere iki şekilde bulunabilirler. Doğal moleküllerden elde edilen ilaçların çoğu kiral olmakla birlikte rasem karışım şekline değil tek bir enantiyomer olarak üretilirler (Babaarslan, 2008). İlaç üretiminin ilk yıllarından başlayarak son zamanlara kadar üretilen ilaçlar istenen aktiviteyi yalnızca bir enantiyomer göstermesine rağmen rasem

olarak elde edildi ve satıldı. Günümüzde ise ilaçlar daha çok enantiyomerik olarak saf halde elde edilmektedir. Buna bağlı olarak başta ilaç endüstrisi olmak üzere birçok alanda optikçe saf enantiyomerlerin kullanımı oldukça yaygın hale gelmiştir.

Geçmişte ilaçların rasemik halde satılmasından kaynaklanan yan etkiler çok ciddi boyutlara ulaşmıştır. Bu konu ile ilgili en çarpıcı örnek ise Thalidomide ilacıdır. Bu ilaç 1957-1960 yılları arasında 3 yıl boyunca hamilelikte meydana gelen mide bulantısına çözüm olarak piyasaya sürülmüş ve hamile kadınlar tarafından kullanılmıştır. 1960 yılı ve sonrasında ise bu ilacı kullanan annelerin çocuklarının korkunç doğum kusurları ile dünyaya geldiği gözlenmiştir. Daha sonra yapılan çalışmalarla Thalidomide'in *R* enantiyomerinin bulantıları tedavi edici etkiye sahip olduğu belirlenirken *S* enantiyomerinin (Şekil 1.7) telafisi imkânsız doğum kusurlarına neden olduğuna dair kanıtlar tespit edilmiştir (Şekil 1.8) (Ananthanarayanan vd, 1993).

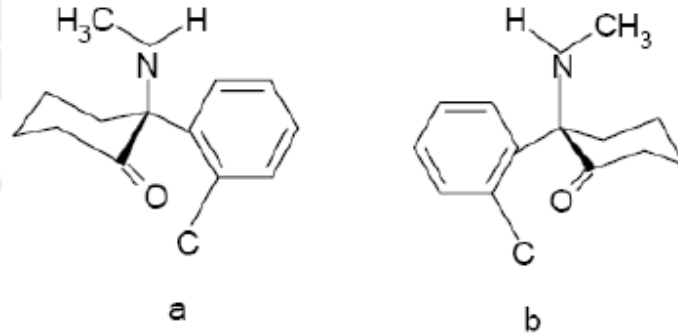


Şekil 1. 7 Thalidomide ilacının R ve S enantiyomerleri.



Şekil 1. 8 (*S*) -thalidomide ilacının meydana getirdiği doğum kusurları

Rasemik halde bulunan maddelerin olumsuz etkilerine verilebilecek bir diğör örnek ise ketamindir. Ketamin insan ve hayvan ameliyatlarında anestetik olarak kullanılan bir maddedir. Ketaminin rasemat şeklinde uygulandığı durumlarda hastalarda anestezi sonrasında zihinsel karışıklıklar ve halüsinasyonların meydana geldiği gözlenmiştir. Yapılan araştırmalar sonucunda *S*-(+)-Ketaminin anestetik etkisinin olduğu buna karşılık ketaminin yan etkilerinden sorumlu olan enantiyomerinin *R*-(-)-Ketamin olduğu tespit edilmiştir (Şekil 1.9) (Karadeniz, 2006). Bunları göz önünde bulundurduğumuzda ilaç kullanımında aktif enantiyomeri tespit ederek enantiyomerik saflıkta ilaç üretmek ve istenilen aktiviteyi göstermeyen enantiyomerin hastada meydana getireceği olumsuzlukları ve yan etkileri önlemek çok büyük önem taşımaktadır.

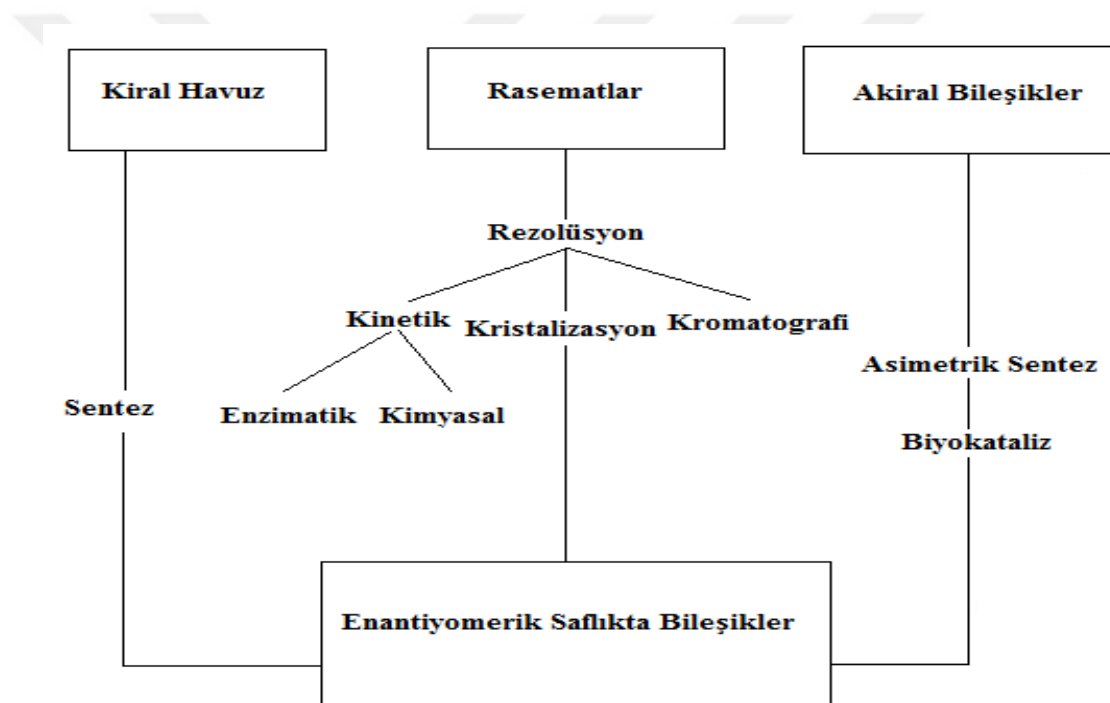


Şekil 1. 9 a) *S*-(+)-Ketamin ve b) *R*-(-)-Ketamin

Rasemik karışımlara oranla optikçe saf enantiyomerler çok daha az yan etki gösterirler (Tüzün, 1994). Enantiyomerik saflıktaki ilaç satışları dünya genelinde giderek artmaktadır. Günümüzde en çok satılan 500 ilacın 269 tanesi tek enantiyomer içermektedir. Buna örnek olarak verilebilecek fluoksetine ilacı rasemik halde hiçbir etki göstermezken ilacın *S* (-) formu migreni önleyici yönde etki eder. Aynı şekilde mide ülserini iyileştirmek için de Omeprazol ilacının *S* (-) formu kullanılmaktadır (Maier vd, 2001). Ateş düşürücü olarak kullanılan bir ilaç olan Ibuprofenin'in ise sadece *S* (+) formu aktiftir.

1.2 Enantiyomerik Olarak Saf Bileşiklerin Sentez Yöntemleri

Genellikle karmaşık ve çok fonksiyonlu yapıya sahip olan kiral moleküller çok aşamalı sentez yöntemleriyle elde edilirler (Ghanem ve AboulEnein, 2004). Optikçe saf enantiyomerler kullanılan hammaddenin (prokiral substratlar, kiral substratlar ya da rasemik karışımlar) türüne göre kiral havuzda bulunan bileşiklerden sentez, rasemik karışımların rezolüsyonu (diastereomerik kristalizasyon, kinetik rezolüsyon, tercihli kristalizasyon, kromatografi) ve asimetrik sentez olmak üzere 3 farklı yolla elde edilebilirler. (Şekil 1.10) (Ghanem ve AboulEnein, 2004).



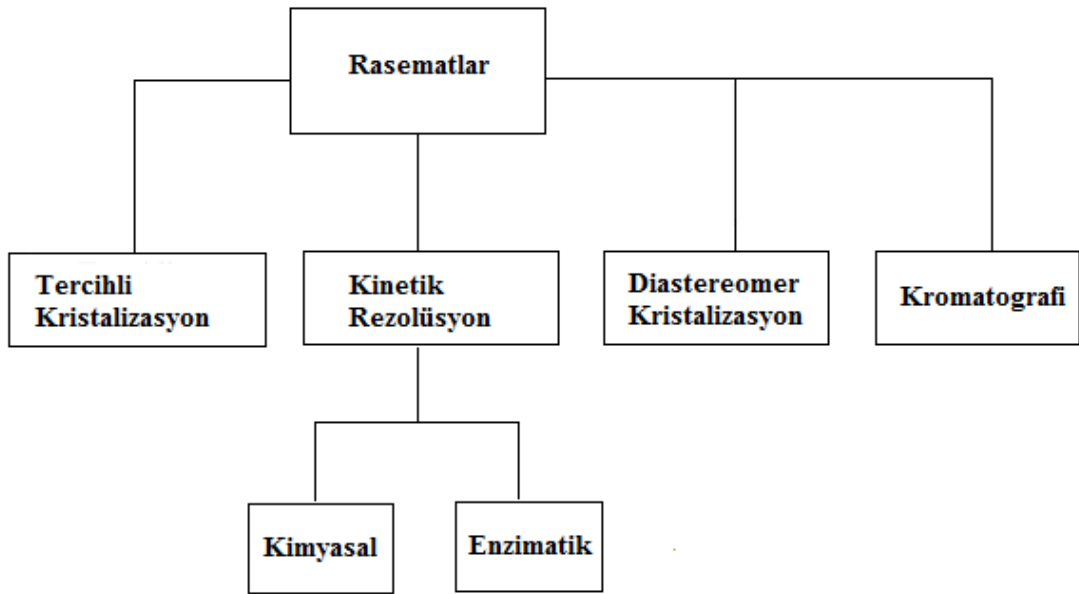
Şekil 1. 10 Enantiyomerik saflıkta bileşiklerin elde edildiği metotlar.

1.2.1 Stereoseçimli Sentez

Stereoseçimli sentez yöntemi, kiral havuz bileşikleri olarak ifade edilen kiral başlangıç substratı ve kimyasal veya biyolojik kiral ayırıcı ve kiral çevre kullanılarak akiral bileşikler ile gerçekleştirilebilir.

1.2.2 Rasematların Rezolüsyonu

Rasemat rezolüsyonu enantiyosaf bileşik eldesi için uygulanan bir diğer yöntemdir. Rezolüsyon, rasemat halinde bulunan bir bileşiğin enantiyomerlerine ayrılması işlemine denir. Rasemat rezolüsyonu için başta kristallendirme olmak üzere çeşitli fiziksel ve kimyasal metotlar geliştirilmiştir. Bu yöntem tercihlî kristalizasyon, diastereomerik tuzların kristalizasyonu, kinetik rezolüsyon ve kromatografi olmak üzere dörde ayrılır (Şekil 1.11).



Şekil 1. 11 Rasematların rezolüsyonunda kullanılan metotlar.

1.2.2.1 Tercihli Kristalizasyon

Konglomerat halindeki rasemat karışımlara uygulanabilen bir yöntemdir. İki enantiyomerin eşit orandaki kristallerinin mekanik karışımına konglomerat denir. Bu yöntem endüstriyel ölçekte yaygın olarak kullanılır. Buna örnek olarak kloramfenikol (enfeksiyon önleyici ilaç) ve α -metil-L-dopa (kalp damar hastalıklarında tedavi edici ajan) üretimi verilebilir. Bu yöntemin dezavantajı rasematların %20'den daha azının konglomerat şeklinde bulunması ve dolayısıyla geri kalan rasematların tercihlî kristalizasyon yöntemi ile ayrılamamasıdır.

1.2.2.2 Diastereomer Kristalizasyonu

Diastereomer tuzların oluşturulması şeklinde gerçekleştirilen bir yöntemdir. Optikçe aktif bir bazın enantiyomeri ile rasem bir bileşiğin tuzu oluşturulur. Oluşan bu tuzlar enantiyomer değil diastereomer tuzlardır ve fiziksel özellikleri ile çözünürlük özellikleri birbirinden çok farklıdır. Uygun bir çözücü ile kristallendirilerek birbirinden ayrılabilirler. Ayrılan tuzlar ise bir mineral asit ile etkileşime sokularak serbest hale dönüştürülebilirler. Diastereomer tuzlar oluşturmak amacıyla kullanılan optikçe saf organik asit ve bazlar doğal bileşikler olmakla birlikte türleri oldukça fazladır.

1.2.2.3 Kromatografi

Kolon kromatografisi ile gerçekleştirilen bu yöntemde kolon dolgu maddesi olarak optikçe aktif katı maddeler (glikoz, sakkaroz, laktoz gibi şekerler) kullanılır ve kolon içerisinden rasem bir bileşiğe ait çözelti geçirilir. Bunun sonucunda enantiyomerlerden bir tanesi diğerine göre daha kuvvetli tutunur ve rezolüsyon gerçekleşir. Yeterli uzunlukta bir kolon kullanılmış ise toplanan çözeltide sadece bir enantiyomer saf halde bulunur. Diğer enantiyomer ise kolonda tutulmuş haldedir ve başka bir çözücü yardımı ile kolondan alınabilir (Sheldon, 1993).

1.2.2.4 Kinetik Rezolüsyon

Kinetik rezolüsyon yönteminde rasematı oluşturan enantiyomerden bir tanesi, kiral yapıdaki bir kimyasal veya biyokimyasal katalizör aracılığı ile enantioseçimli olarak ve hızlı bir şekilde farklı bir yapıya dönüştürülür. Bu yöntemin asimetric sentez yönteminden farkı kiral girdi veya substratın rasemik formda bulunmasıdır. Kiral girdi olarak, biyokatalizör (enzim veya mikroorganizma) ya da kemokatalizör (kiral asit veya baz, kiral metal kompleksler) kullanılabilir. Rasemik bileşiklerin kinetik rezolüsyonunu tepkimelerinden en yaygın olanı lipaz enzimlerinin katalizlediği dönüşüm tepkimeleridir. Enzimler kiral olduğundan dolayı lipazlar rasemik karışımı oluşturan iki enantiyomer arasında ayırım yapma yeteneğine sahiptirler. Bu sayede bir enantiyomer diğerine oranla daha kısa sürede ürüne dönüştürülür (Ghanem ve

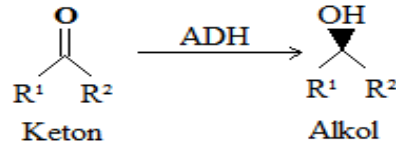
AboulEnein, 2004). Her ne kadar yaygın bir şekilde kullanılsa da endüstriyel boyutta birçok dezavantajı bulunan bir yöntemdir (Faber ve Strauss, 1999). Bu dezavantajlar;

- Teorik verim %50'yi geçememektedir.
- Dönüşüm %50'ye ulaştığında tepkimenin sona erdirilmesi gerekmektedir.
- Tepkime sonunda kalan substratın üründen ayrılması zor olabilmektedir. Ayrırma için kromatografik yöntemlerin uygulanması gerekmektedir.

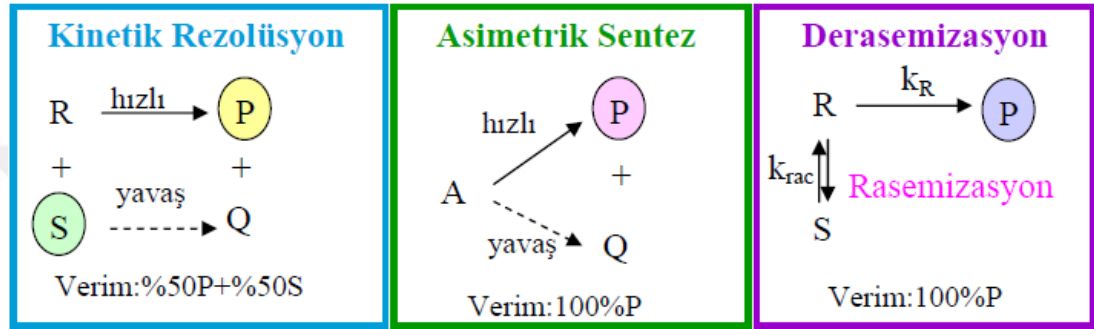
Rezolüsyon tekniklerine alternatif olarak rasemattan tek bir izomerin elde edilmesi oldukça avantajlıdır. Bu yöntem derasemizasyon olarak adlandırılmaktadır. Rasemattan tek bir izomerin yüksek verimle elde edilmesi yöntemine derasemizasyon denir. Derasemizasyon kimyasal ve biyokatalitik rasemizasyon ile enantiyoseçimli katalitik dönüşümü kapsar. Bu yöntemde hızlı olarak tepkimeye giren enantiyomer (*R*) ürünü (*P*) oluştururken yavaş olarak tepkimeye giren enantiyomer (*S*), diğer enantiyomer tükendikçe rasemizasyon ile *R* enantiyomerine dönüşmektedir. Sonuç olarak *R* enantiyomeri ortamda hiç bitmemektedir ve ortamdaki iki enantiyomerin de ürüne dönüşmesi ile teorik verim %100 olabilmektedir (Tüzün, 1994).

1.2.3 Asimetrik Sentez

Asimetrik sentez yönteminde başlangıç maddesi bir prokiral veya mezo bileşik (*M*) olduğundan yani kiral bir madde olmadığından tek bir enantiyomerik ürünün (*Ü* veya *Q*) elde edildiği teorik verim %100 olabilmektedir. Bu durum kinetik rezolüsyonla karşılaştırıldığında avantaj sağlamaktadır. Ayrıca tek bir tepkimenin tek bir enzimle gerçekleşmesi de derasemizasyona göre üstünlük sağlamaktadır (Temino vd, 2005). Asimetrik sentez tepkimelerini oksidoredüktazlar enzim sınıfına ait olan alkol dehidrojenazlar (ADH) katalizler (Şekil 1.12). Şekil 1.13'de kinetik rezolüsyon, asimetrik sentez ve derasemizasyon yöntemleri karşılaştırılmaktadır.



Şekil 1. 12 Asimetrik sentez.

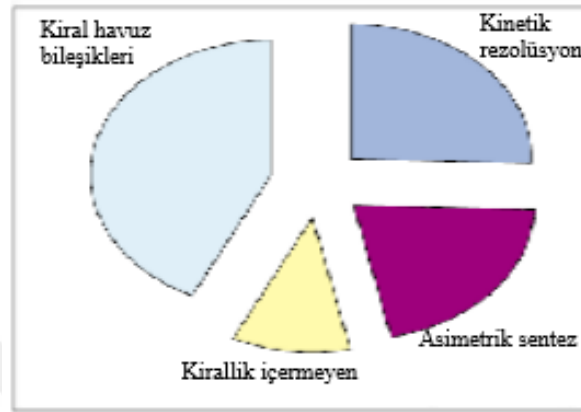


(R,S: Substrat enantiyomerleri, P,Q: Ürün enantiyomerleri, A: Prokiral veya mezo başlangıç maddesi)

Şekil 1. 13 Kinetik rezolüsyon, asimetrik sentez ve derasemizasyon yöntemleri.

Rasematların rezolüsyonu yöntemine ait olan diastereomerik kristalizasyon yolu ile optikçe saf enantiyomerlerin eldesi hala endüstride kullanılan en önemli yöntemlerden birisidir. Ancak başlangıç çıkış maddesi rasemik karışım (% 50 R-enantiyomer + % 50 S-enantiyomer) olduğu için maksimum teorik verim bir enantiyomer için %50'dir (Jacques vd, 1981; Faber, 1999; 2000; Ghanem ve AboulEnein, 2004). Kinetik rezolüsyonun enzimler kullanılarak gerçekleştirildiği zaman en verimli şekilde uygulandığı bildirilmiştir. Doğal yollardan oluşan kiral bileşikler optik olarak aktif tek enantiyomerli bileşiklerin eldesinde başlangıç maddesi olarak veya katalizör ya da ligand gibi enantiyoseçimli ajan olarak organik sentezde kullanılır (Blaser vd, 1992). Doğal olarak meydana gelen bileşiklerin bir dezavantajı ise çoğu bileşiğin iki enantiyomeri birden içermemesidir. Enantiyoseçimli sentez için en uygun ve elverişli yöntem asimetrik sentez yöntemidir. Asimetrik sentez yönteminde başlangıç maddesi olarak rasemik karışım kullanılmadığından elde edilen verim %100'ü bulabilmektedir. Başarılı asimetrik kataliz tepkimelerinin çoğunda elde edilen ee'nin >% 95 olduğu

rapor edilmiştir (Ojima, 1993; Brunner vd, 1993). Bu durum kinetik rezolüsyona göre üstünlük sağlamaktadır (Temino vd, 2005). Şekil 1.14'de biyokatalitik yolla gerçekleştirilen endüstriyel uygulamalarla elde edilen ürünler için verilen kiral bileşik kaynakları gösterilmektedir (Straathof vd, 2002).



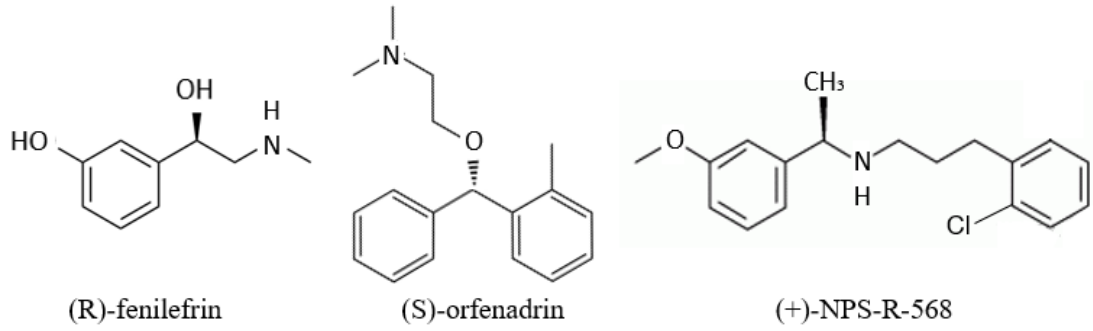
Şekil 1. 14 Endüstriyel kiral bileşik sentezi için kullanılan kiral kaynaklar (134 uygulama)

1.3 Kiral Sekonder Alkollerin Önemi

Organik moleküllerin sentezinde ketonların asimetrik olarak indirgenmesi temel bir süreçtir. Kiral alkoller prokiral ketonların asimetrik indirgenmesi ile elde edilebilmektedir. Enantiyomerik olarak saf alkoller, asimetrik sentezin temelini oluşturmaktadırlar. Elde edilen sekonder alkoller ise günümüzde başta ilaç sanayisi olmak üzere diğer birçok alanda önemli kullanım alanlarına sahip olduğu için son yıllarda kiral alkollere olan ilgi ve talep daha çok artmıştır (Wanda ve Agnieszka, 2004).

Bu alkoller biyolojik açıdan önemli birçok molekülün sentezinde hammadde olarak görev yaparlar. Optikçe aktif kiral alkoller önemli ilaçların (antibiyotikler, antidepresanlar, antibakteriyel ilaçlar, antivirütik ilaçlar, potasyum kanal açıcıları ve çeşitli kalp ilaçları) ve doğal ürünlerin sentezinde kullanılmaktadırlar. Örneğin sentezlenen kiral alkoller *R*-denopamin, *S*-fluoksetin, *L*-klorpromazin ve *R*-atomoksetin gibi kiral ilaçların yapı taşı olarak kullanılmaktadırlar (Kataoka vd, 2003). (*R*)-fenilefrin (Legnani ve Morandi, 2016), (+)-NPS-R-568 (Cohen ve Silverberg,

2002; Joy vd, 2006; Nagano, 2006) ve (*S*)-orfenadrin (Wujkowska vd, 2016) (Şekil 1.15) gibi bileşikler de optikçe saf sekonder alkollerden elde edilen farmakolojik olarak aktif bileşiklerdendir (Şahin, 2017a).



Şekil 1. 15 Bazı farmasötik bileşik örnekleri.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1 Kiral Sekonder Alkollerin Elde Edilme Yöntemleri

Geçtiğimiz son birkaç yıl içerisinde moleküllerin rasemik olmayan (non-rasemic) formda sentezine olanak sağlayan biyolojik ve kimyasal metotlar geliştirilmiştir (Matsuyama vd, 2002; Matsuda vd, 2009; Borges vd, 2009; Valadez-Blanco ve Livingston, 2009). İlaçların optikçe aktif enantiyoseçimli olarak üretilmelerinde kiral ajan olarak bir biyokatalizör (enzim, mikroorganizma) veya bir kemokatalizör (kiral-metal kompleksi, kiral asit veya baz) kullanılabilir (Ghanem ve Aboul-Enein, 2004). Bu amaçla çoğunlukla tek enantiyomerli üretim sağladıkları için (Kurbanoglu vd, 2007) enzim ya da mikroorganizmaların katalizör olarak kullanıldığı biyolojik katalizörleri içeren çalışmalar giderek artmaktadır.

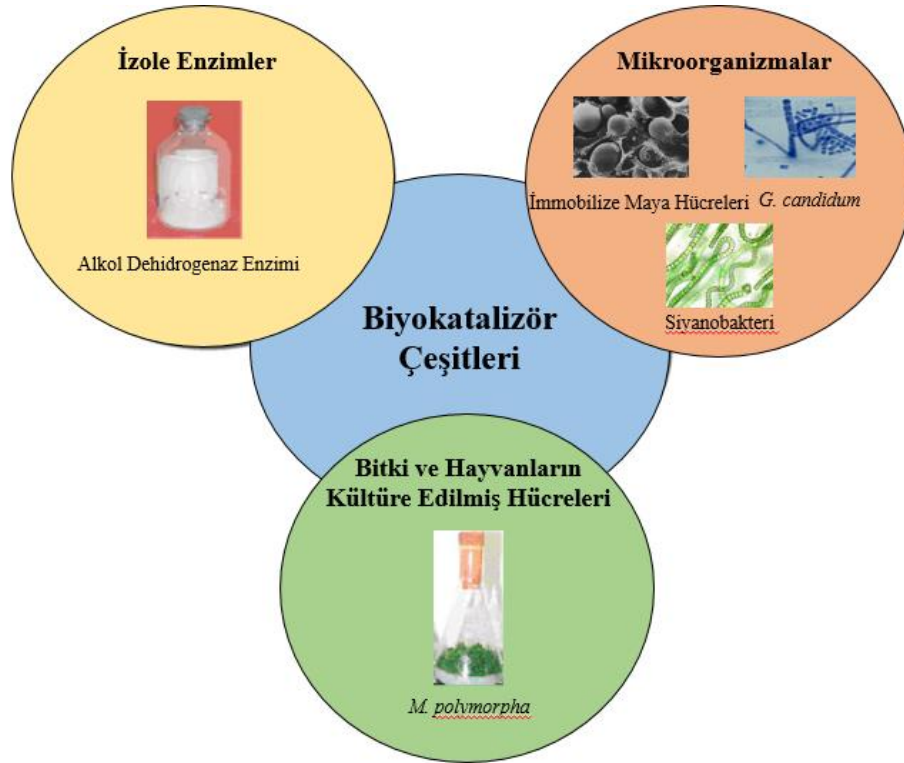
Kimyasal katalizörlerin sahip oldukları bazı dezavantajlar vardır. Bunlar; zayıf seçiciliğe sahip olmaları, çevreye zararlı toksik metal kullanımı, sert reaksiyon koşulları, tepkime esnasında oluşan yan ürünlerin fazla olması, düşük dönüşüm oranı ve maliyetlerinin fazla olmasıdır (Hage vd, 2001). Asimetrik indirgenme reaksiyonlarında kullanılan biyokatalizörler ise kimyasal katalizörlere oranla çok daha avantajlıdır (Çizelge 2.1) (Faber, 1997).

Çizelge 2.1 Biyokatalizörlerin kimyasal katalizörler ile karşılaştırıldığında sahip olduğu avantajlar.

Avantajları	Dezavantajları
Genellikle daha verimlidirler	Substrat veya ürün inhibisyonuna duyarlıdır
Seçicilik kararlılık ve aktivitelerini artıracak şekilde modifiye edilebilirler	Çözücü genellikle sudur (Yüksek kaynama noktası ve buharlaşma ısısı)
Daha seçicidirler (kimyasal seçicilik, bölgesel seçicilik, enantiyo seçicilik)	Enzimler doğada yalnızca bir enantiyomerik formda bulunurlar
İlımlı reaksiyon koşullarına sahiptirler (pH aralığı: 5-8, Sıcaklık aralığı: 20–40°C)	Enzimler alerjik reaksiyonlara neden olabilirler
Çevre dostudurlar (Doğada tamamen çözünürler)	

Biyokatalizörler tepkimelerin çok daha hızlı gerçekleşmesini sağlar. Mikroorganizma, bitki, hayvan veya bunlardan elde edilen izole enzimler gibi biyokatalizörler hem tekrar tekrar üretilirler hem de doğal yapıda olduklarından kullanım sonrasında doğada kolayca ayrışabilirler (Nakamura vd, 2003). Bu açıdan çevre dostudurlar. Katıldıkları tepkimeleri ılımlı koşullarda gerçekleştirdiklerinden rasemizasyon, izomerizasyon ve bozunma gibi istenmeyen tepkimelerin oluşmasını engellerler. Bir diğer özellikleri sahip oldukları bölgesel spesifiktir. Substrat molekülünde eşdeğer birkaç grup veya reaktif mevcut ise enzim belirli bir bölgeyi katalizler. Biyokatalizörler birçok reaksiyonu katalizleyebildikleri gibi yüksek seçiciliğe sahiptirler (Wu vd, 1999). Yüksek oranda bölgesel, kimyasal ve enantioseçicilik gösterirler (Johannes vd, 2005). Enzimin aktif merkezi asimetric bir çevre sağlar. Böylece rasemik substratların enantiyomerleri arasında ayırım yapılması sağlanır. Bu sayede sadece bir enantiyomer katalizlenir. Biyokatalizör kullanılarak gerçekleştirilen tepkimelerde yüksek verim elde edilmesi de yine biyokatalizörlerin sahip olduğu önemli özelliklerden biridir. Bu nedenle istenilen aktiviteyi gösteren yeni enzimler (Bhattacharyya vd, 2010) ve yeni biyokatalizörlerin keşfine ihtiyaç duyulmaktadır (Kurbanoglu vd, 2009 a,b, Barros-Filho vd, 2009; Xie vd, 2009; Bhattacharyya vd, 2010). Substrat veya ürün inhibisyonuna sahip olmaları, reaksiyonların su içeren çözeltilerde gerçekleştirilmesi en ciddi dezavantajlar olarak düşünülse de bu dezavantajların yanlış kanı ve önyargı olduğu ortaya çıkmıştır (Faber, 1997; Rozzell, 1999). Örneğin ticari olarak kullanılan birçok enzim uzun süreli kullanım koşullarında mükemmel kararlılık gösterir. Ayrıca neredeyse bilinen her organik reaksiyon tipine eşdeğer enzim-katalizli reaksiyon bulunmaktadır. Çoğu enzim doğal olmayan substratları kabul eder ve onları istenen ürünlere dönüştürür. Daha da önemlisi hemen hemen mevcut biyokatalizörlerin sahip olduğu özelliklerin tümü istenilen reaksiyon koşullarını karşılamak üzere protein ve metabolik mühendisliği metotları ile uygun hale getirilebilir (Johannes vd, 2005).

Günümüzde prokiral ketonların biyoindirgenmesi ile ilgili yapılan çalışmalarda biyokatalizör olarak saf enzimler, mikroorganizmalar ve bitki ve hayvanlardan elde edilen kültüre edilmiş hücreler olmak üzere temelde 3 gruba ayrılabilirler (Şekil 2.1) (Nakamura vd, 2003; Tüzün, 2005).



Şekil 2. 1 Asimetrik indirgenme reaksiyonlarında kullanılan biyokatalizör çeşitleri.

Biyokatalizörler ile gerçekleştirilen indirgenme tepkimeleri; önceden büyütülmüş hücreler, büyüyen hücreler, tutuklanmış hücreler, saf enzimler ile veya çok fazlı sistemler olmak üzere beş farklı yöntemle gerçekleştirilebilir.

Önceden büyütülmüş hücreler ile biyotransformasyon: Optimum koşullar altında büyütülen mikroorganizma filtrasyon veya santrifüj gibi çeşitli yöntemler ile ayrılır. Elde edilen hücreler substrat içeren optimum pH'daki çözelti veya su ile süspansiyon haline getirilir. Bu sistem substratın veya ürünün mikroorganizmanın büyümesine olan negatif etkisini ortadan kaldırması, ürünün uzaklaştırılmasının kolay olması, optimum dönüşüm oranı ve hızını veren hücre derişiminin kolay hesaplanması, üretilen mikroorganizmanın tepkime ortamına eklenmesi esnasında steril çalışmaya gerek olmaması gibi özelliklerinden dolayı avantajlıdır.

Büyüyen hücreler ile biyotransformasyon: Bu yöntemde hücreler çoğaldıkça ortamda bulunan gerekli enzim miktarı da artmaktadır. Substrat ortama aşılama ile ya da mikrobiyal üremenin durgunluk fazında ilave edilir. Substrat ilavesi için en uygun olan zaman belirlenir. Substratın üremeyi inhibe etmemesi için belirli bir derişime

ulaşıldıktan sonra ilave edilmesi daha uygundur (Karadeniz, 2006). Maksimum verime ulaşana kadar biyotransformasyon sürdürülür.

Tutuklanmış hücreler ile biyotransformasyon: Mikroorganizmalar uygun bir ortamda büyütüldükten sonra enzimlerin tutuklanmasına benzer yöntemler kullanılarak tutuklanırlar. Bu yöntem serbest hücrelerle gerçekleştirilenlere göre daha karardır. Tutuklanan hücreler biyotepkime ortamından hem kolayca uzaklaştırılabilir hem de tekrar kullanılabilirler. Ürün oluşum hızının yüksek olmasının yanı sıra inhibisyon etkisi minimumdur. Bu sayede biyokatalizörün kararlılığı ve maksimum etkinliği korunur.

Saf enzimler ile biyotransformasyon: Hücre membranının substrat ve ürünün geçmesine engel olması, diğer enzimlerin varlığının istenmeyen yan tepkimelere veya ürünün bozunmasına neden olması, gibi durumlarda saf enzimler kullanılarak biyotransformasyon işlemleri gerçekleştirilir. Enzimler hayvan veya bitki dokularından elde edilebilir. Saf enzimler ile gerçekleştirilen tepkimelerin avantajları; tepkime kontrolünün kolay olması, enzimlerin tepkimeye spesifik olmalarından dolayı yan tepkimelerin oluşmaması, enzimlerin çözücü toleranslarının mikroorganizmalara göre daha fazla olması şeklinde sıralanabilir. Ancak enzim saflaştırması hem uzun zaman alan, yorucu hem de saf enzim ve kofaktör fiyatlarının pahalı olması nedeniyle oldukça maliyetli bir işlemdir (Songür, 2009).

Çok fazlı sistemlerde biyotransformasyon: Substrat ve ürün inhibisyonunun az olması, tepkime hızının yüksek olması, substrat veya ürün hidrolizinin önlenmesi, sudaki çözünürlüğü düşük olan substrat ve ürünlerin yüksek derişimlerinde çalışılabilmesi, biyokatalizörlerin daha kararlı olması, biyokatalizör veya ürünün uzaklaştırılmasının daha kolay olması açısından avantajlı bir yöntemdir (Karadeniz, 2006).

Biyokimyasal tepkimeleri katalizleyen (tepkimenin hızını artıran) protein yapıdaki biyomoleküllere enzim denir (Garrett ve Grisham, 1999; Smith vd, 1997). Amino asitlerin çoğu kiral moleküller olduğundan dolayı protein yapıda olan enzimler de kiral yapıya sahip olmaktadır. Bu nedenle enzimler tarafından katalizlenen tepkimelerin çoğu enantiyoseçimli tepkime olmaktadır.

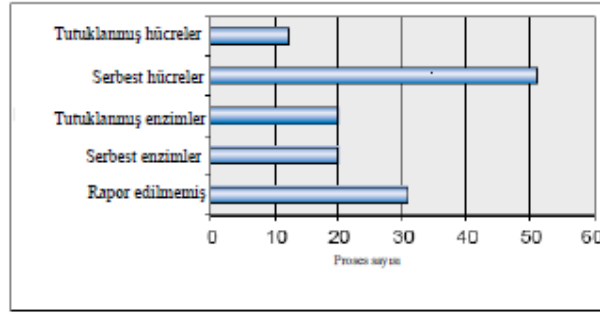
Farklı enzim grupları farklı tepkimeleri katalizleyebilmektedirler. Uluslararası Enzim Komisyonu tarafından 1955 yılında geliştirilen bir metot ile enzimler, katalizledikleri

tepkimelere göre 6 ana sınıfa ayrılmışlardır. Komisyon tarafından enzimler için EC numaraları adı verilen bir sistem geliştirilmiştir. Bu sisteme göre her enzimin başında enzimi simgeleyen bir EC numarası bulunmaktadır. Bu enzim sınıflandırma sistemi Çizelge 2.2’de gösterilmektedir (Tüzün, 2005).

Çizelge 2. 2 Enzimlerin Sınıflandırılması

GRUP	TEPKİME
1. Oksidoredüktazlar	İndirgenme/Yükseltgenme
2. Transferazlar	Grup veya Molekül Transferi
3. Hidrolazlar	Hidroliz
4. Liyazlar	Substrattan Grup Uzaklaştırma, Çift Bağlara Katılım
5. İzomerazlar	İzomerleştirme
6. Ligazlar	ATP Enerjisi Kullanılarak Moleküllerin Birleştirilmesi

Asimetrik indirgenme reaksiyonu ile enantiyomerik saflıkta kiral alkol eldesi biyokatalizör olarak alkol dehidrogenaz (ADH) enziminin kullanılması sonucu prokiral ketonların biyoindirgenmesi ile gerçekleşir. Alkol dehidrogenazlar (ADH) oksidoredüktaz enzim sınıfına ait enzim grubudur. Bu enzimler indirgenme yükseltgenme reaksiyonlarını katalizlerler. Geniş substrat aralığına ve yüksek stereoseçimliliğe sahip olmaları bu enzim grubunun özelliklerindedir (Aydoğan, 2012). ADH enzimi işlevini gerçekleştirmek için kofaktöre ihtiyaç duyar ve tepkime devam ettikçe kofaktör tükenir. Bu nedenle enzim kullanılan çalışmalarda kofaktör rejenerasyonuna ihtiyaç duyulur. Son yıllarda biyokatalitik indirgenme yöntemi ile prokiral ketonlardan kiral alkollerin eldesinde saf enzim kullanımına oranla doğrudan hücrenin (whole cell) kullanımı daha yaygın hale gelmiştir (Şekil 2.2) (Straathof vd, 2002).



Şekil 2. 2 Enzim ve tüm hücrelerin endüstriyel işlemlerde kullanımı (134 uygulama)

Çeşitli avantajlarından dolayı son yıllarda biyoindirgenme işlemi için mikroorganizmalar enzim kaynağı olarak kullanılmaktadırlar (Xiao vd, 2006; Kurbanoglu vd, 2007a,b). Asimetrik sentez tepkimelerinde enzimi saf olarak kullanmak yerine mikroorganizmaları enzim kaynağı olarak kullanmak hem ekonomik yönden hem de uygulama kolaylığı yönünden büyük avantaj sağlamaktadır. Bir hücre çok sayıda dehidrogenaz içerir ve herhangi bir kofaktör rejenerasyonuna ihtiyaç duymaz (Babaarslan, 2008). ADH enzimi kofaktör gerektiren ve kofaktörü ortamda tükendikçe yenilenmesini gerektiren bir enzim olduğundan bu enzimi içeren mikroorganizmaların kullanımı ile kofaktör rejenerasyonu gibi oldukça pahalı olan bir işlemi uygulamaya gerek kalmadan tepkimeler gerçekleştirilebilir (Ward ve Singh, 2000). Aynı zamanda enzim yerine mikroorganizmaların biyokatalizör olarak kullanılması daha ucuz, kararlı ve yüksek verimli olmalarının yanı sıra daha kolay elde edilebildiklerinden dolayı çok daha avantajlıdırlar. Bu anlamda organik materyallerin sentezi amacıyla çevreden mikroorganizmaların izolasyonu üzerine giderek artan bir ilgi bulunmaktadır (Kira vd, 2009).

Literatürde saf enzim ve mikroorganizmaların biyokatalizörlüğünde asimetrik indirgenme reaksiyonu ile ketonlardan kiral alkollerin sentezinin gerçekleştirildiği birçok araştırma yapılmıştır.

Adlercreutz (1991), çalışmasında asetik asit bakterilerine ait 6 adet suşu, ketonların enantiyomerik saflıkta indirgenmesini katalizleme yeteneği açısından değerlendirilmiştir. Hücreler biyodönüşümden önce geçirgen hale getirilmiştir. *Gluconobacter oxydans* DSM 50049 ve *Acetobacter aceti* DSM 2002 en iyi suşlar olarak tespit edilmiştir. Bu suşların her ikisini de kullanarak 12 adet ketonun tümünü

\geq %94 enantiyomerik aşırılık (ee) derecesinde (S)-alkollere indirgemek mümkündür. En yüksek seviyedeki enzimatik aktivite *Acetobacter aceti* DSM 2002 bakterisinde bulunmuştur.

Nakamura ve Matsuda (1998) yaptıkları çalışmada, aromatik ketonlar, β -keto esterler ve basit alifatik ketonları, *Geotrichum candidum* tozu kullanarak ilgili (S)-alkollere mükemmel seçicilikle indirgemıştır. Bu yöntem tüm hücre kullanılarak gerçekleştirilen indirgemelerde reaktivite ve stereoseçicilik açısından üstündür. İndirgeme sistemi için substrata göre biyokataliz oranı, koenzim çeşitleri, koenzim rejenerasyonu için alkol, tampon, pH ve reaksiyon sıcaklığı gibi deneysel koşullar araştırılmıştır ve biyokatalizörün muhafaza edilebilirliği ile kararlılığı da ayrıca incelenmiştir. Bu metot optikçe saf alkolleri gram ölçeğinde sentezlemek için oldukça uygundur.

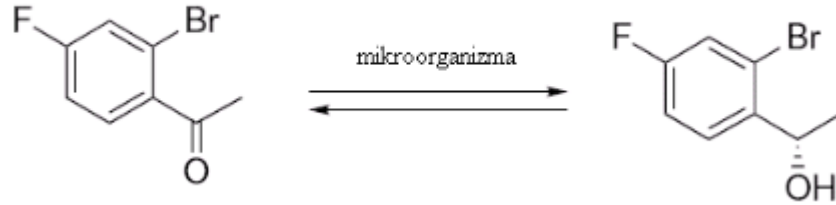
Mandal ve çalışma arkadaşları (2004), farklı fungus türlerini kullanarak asetofenon türevlerinin enantiyoseçimli biyoindirgenmesini gerçekleştirmişlerdir. Yaptıkları çalışmalar sonucunda elde ettikleri verilerde *Trichothecium sp.*'nin enantiyoseçimlilik (%93,5) ve dönüşüm (%85) açısından en iyi fungus olduğunu belirlediler. *Aspergillus oryzae* NCIM 649 türü ise %81,5 enantiyoseçimlilik ve %100 dönüşüm ile *Trichothecium sp.*'yi takip etmektedir (Çizelge 2.3).

Çizelge 2. 3 Değişik fungus türleri kullanılarak asetofenonun biyoindirgenmesi (Cso=8mM, pH=6, T=28°C, N=200 rpm)

Fungus	t,h	% ee ve konf.	%dönüşüm
<i>Fusarium oxysporum</i> NCIM 1282	42	72,S	100
<i>Verticillium</i> AAT-TS-3	48	41,R	78
<i>Fusarium sp.</i> NCIM 1075	24	51,R	25
<i>Aspergillus flavus</i> NCIM 542	48	67,R	100
<i>Aspergillus oryzae</i> NCIM 649	48	81,R	100
<i>Trichothecium sp.</i>	72	93,R	85

Patel ve arkadaşları (2004), 2-bromo-4-floro asetofenonun enantiyoseçimli mikrobiyal indirgenmesi üzerine çalışmışlardır. Mikrobiyal indirgenme aracılığı ile 2-bromo-4-

floro'dan (*S*)-1-(2-bromo-4-floro fenil) etanol elde etmişlerdir (Şekil 2.3). Elde edilen bu madde ise farmasötik ilaçlar açısından önemli bir ham maddedir.



Şekil 2. 3 2-bromo-4-floro asetofenonun mikroorganizmalar tarafından indirgenmesi.

Mikroorganizma olarak *Pichia*, *Saccharomyces*, *Candida*, *Hansenula*, *Rhodotorula* ve diğer birkaç hücre daha kullanılmış ve bu hücreler ayrı ayrı çalışılarak elde edilen dönüşüm ve enantiyomerik aşırılık değerleri incelenmiştir (Çizelge 2.4). İndirgeme tepkimeleri kesikli sistemde, 28 °C, 250 rpm'de, 10 mL hacimde (100 mM potasyum fosfat tamponu, pH:7), %20 w/v yaş hücre (0,02g /ml), 1,5 g/L substrat ve 25 g/L glikoz (138) mM ilave edilerek, 24 saatte gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 2. 4 2-bromo-4-floro asetofenonun enantiyomerik saflıkta biyoindirgenmesi

Mikroorganizma	%dönüşüm	% ee (<i>S</i> -alkol)
<i>Candida sonorensis</i> SC 16117	100	99
<i>Candida guilliermondi</i> SC 13861	100	99
<i>Candida boidinii</i> SC 13821	100	97
<i>Candida utilis</i> SC 13983	99	99
<i>Candida parapsilosis</i> SC 16346	98	97
<i>Rhodotorula glutinis</i> SC 16267	100	99
<i>Hansenula fabianii</i> SC 13894	94	99
<i>Hansenula polymorpha</i> SC 13824	100	99
<i>Hansenula saturnus</i> SC 13829	100	99
<i>Nocardia salmonicolor</i> SC 6310	100	99

<i>Pichia anomala</i> SC 16142	100	99
<i>Pichia methanolica</i> SC 13860	100	99
<i>Pichia pinus</i> SC 13864	100	99
<i>Pichia stiptis</i> SC 13863	99	99
<i>Pichia capsulata</i> SC 16306	100	99
<i>Pichia silvicola</i> SC 16159	99	99
<i>Sphingomonas paucimobilis</i> SC 16113	100	99
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> SC 13902	93	99

Çizelge 2.4’de görüldüğü üzere *Hansenula*, *Candida* ve *Pichia*’ya ait türler yüksek dönüşüm (%99-100) ve *S*-alkol üretiminde yüksek enantiyoseçimlilik ($ee > 99\%$) göstermiştir.

Yang ve ekibi tarafından yapılan çalışmada (2006) Prokiral ketonların geniş bir grubu, *Rhodotorula sp.* AS2.2241 hücreleri kullanılarak optikçe aktif ilgili sekonder alkollere verimli bir şekilde indirgenmişlerdir. Mikrobiyal indirgeme sistemi, α - ve β -keto esterlerin indirgenmesinde orta-yüksek enantiyoseçicilik gösterirken çeşitli aromatik ketonların ve asetilpiridinlerin ($>97\%$ ee) indirgenmesinde yüksek aktivite ve enantiyoseçicilik sergilemişlerdir. (*R*)-Nifenalol, a β -adrenerjik bloker da, *Rhodotorula sp.* AS2.2241 hücrelerinin 2-bromo-1-(4-nitrofenil)etanonu asimetrik indirgemesi yoluyla elde edilen 2-bromo-1(*R*)-(4-nitrofenil)etanol (97% ee) kullanılarak sentezlenmiştir. Biyokatalizörün basit bir şekilde hazırlanması ve yüksek aktivite göstermesi bu sistemi organik sentez için çok yönlü bir araca çevirmiştir.

Pujic (2006), 1-[3,5-bis(triflorometil)fenil] etanonun enantiyoseçici indirgenmesi için tamamlayıcı iki yaklaşım tanımlamış ve karşılaştırmıştır: asimetrik hidrojen transfer yoluyla ketonların asimetrik veya mikrobiyal indirgenmesi. İncelenen çeşitli mikroorganizmalar arasında *Lactobacillus kefir* ve *Aspergillus niger* ketonu ilgili (*R*)-alkol’e indirgenmişlerdir. (*S*)-alkol, homojen asimetrik kataliz kullanılarak 1-[3,5-bis(triflorometil)fenil] etanonun indirgenmesi tarafından elde edilmiştir. Her iki enantiyomerde yüksek verim ve enantiyomerik aşırılık (ee) değerleriyle elde edilmiştir.

Kurbanoglu ve arkadaşları (2007) tarafından bir bitki örneğinden izole edilen *Alternaria alternata* EBK-4 mantarı, asetofenon türevlerinin asimetrik indirgenme reaksiyonları açısından değerlendirilmiştir. Bir sonraki çalışmada, bu izolat asetofenonun 1-feniletanole mükemmel enantiyomerik aşırılıkla indirgenmesi için kullanılmıştır. Asetofenon türevleri *A. alternata* EBK-4 tarafından optimize koşullar altında ilgili optikçe aktif alkollere >%99 enantiyomerik aşırılık (ee) derecesinde dönüştürülmüştür. Bu çalışma artık materyallerden ram horn peptone kullanılarak asetofenon analoglarının *A. alternata* tarafından enantiyomerik indirgenmesi ile ilgili ilk bildirimdir.

Kurbanoglu ve grubu (2007) yaptıkları bir çalışmada *Aspergillus niger*'e ait 14 suşu toprak örneklerinden izole etmişlerdir. Bu izolatlar asetofenonu 1-feniletanole indirgemeleri yönünden değerlendirilmişlerdir. Test edilen izolatlar arasında, *A. niger* EBK-9 izolatının asetofenonun enantiyoseçimli indirgenmesi için etkili bir biyokatalizör olduğu tespit edilmiştir. Optimum şartlar altında asetofenon türevleri %99 ee saflık derecesinde optikçe aktif alkollere dönüştürülmüştür.

Ou ve grubu (2008), Kloroasetofenonu indirgeme aktivitesine sahip olan 4 adet maya suşunu incelemiştir. *Saccharomyces cerevisiae* B5 en iyi indirgeme aktivitesini ve stereoseçiciliği göstermiştir. Yüksek enantiyomerik saflıkta (*R*)-2'-kloro-1-feniletanol, biyokatalizör olarak kullanılan *Saccharomyces cerevisiae* B5 ile elde edilmiştir. Birkaç yardımcı substratın (*R*)-2'-kloro-1-feniletanolün verimi ve enantiyomerik aşırılık (ee) değeri üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. %5 (v/v) etanol, (*R*)-2'-kloro-1-feniletanolün oluşumu için en iyi yardımcı substrattır. *Saccharomyces cerevisiae* B5 tarafından katalizlenen, 2'-chloroacetophenoneun en iyi biyodönüşüm koşulları aşağıda belirtildiği şekildedir: pH: 8, 25 °C ve 24 saat. Biyodönüşümde 10.75 g/l *Saccharomyces cerevisiae* B5 (hücresinin kuru ağırlığı) ve 1 g/l 2'-kloroasetofenon kullanılmasıyla (*R*)-2'-kloro-1-feniletanolün verim ve enantiyomerik aşırılık değerlerinin (ee) her ikisi de %99'dan daha fazlasına ulaşabilmektedir.

Zilbeyaz ve grubu (2010) çalışmalarında toplamda 120 adet fungal suşu toprak örneklerinden izole etmişlerdir ve asetofenon türevlerini (*R*)- alkollere indirgemeleri yönünden değerlendirmişlerdir. Bu suşlar arasında, *Trichothecium roseum* EBK-18

izolatının mükemmel enantiyoseçicilikte (*R*)- alkol üretiminde oldukça etkili olduğu bulunmuştur ($ee > \%99$).

E. Kurbanoglu, K. Zilbeyaz, N. Kurbanoglu (2011) yaptıkları çalışmalarında, kalsiyum aljinat jeline sabitlenmiş immobilize *Cryptococcus laurentii* hücrelerini, asetofenon türevlerinin asimetrik indirgenmesinde kullanılan bir biyokatalizör olarak tanımlamışlardır. Bu taksonomik maya grubuna ait kırk farklı izolatu değişik örneklerden izole etmişlerdir. Bu izolatların immobilize hücrelerini asetofenonun alkole indirgenmesinde indirgeyici ajan olarak göstermişlerdir. En iyi dört izolat *Rhodotorula glutinis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Hansenula capsulata*, ve *Cryptococcus laurentii* olarak VITEK-2 kompakt sistemi tarafından seçilmiştir. İlk üç mikroorganizmanın kullanımı iyi bilindiğinden organik reaksiyonlarda yeni bir biyokatalizör olarak *C. laurentii*'nin araştırılmasına karar vermişlerdir. Amaçları *C. laurentii*'nin, alkollerin (*R*) veya (*S*) izomerlerini yüksek enantiomerik saflıkta elde etmek için ketonların biyoindirgenmesini katalizleyip katalizleyemeyeceğini belirlemektir. Yapacakları deneyler için *C. laurentii* EBK-19 izolatını tercih etmişlerdir. Test edilen ketonların tümü oldukça ılımlı şartlarda (*S*) izomer alkole %99'un üzerinde ee değeriyle dönüşürken test edilen ketonların %70'ten fazlasından hemen hemen tam dönüşümle (%100) alkol elde edilmiştir.

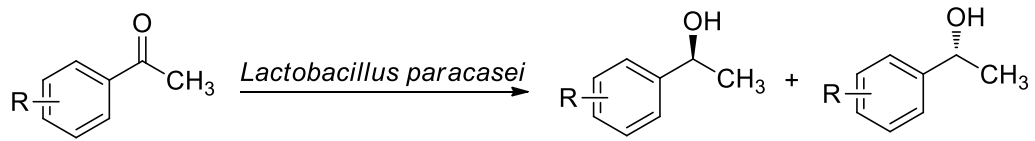
Aydoğan (2012), *Lactobacillus kefir* mikroorganizmasını biyokatalizör olarak kullandığı bir çalışmada prokiral ketonu (asetofenon) asimetrik sentez ile indirgemıştır. *Lactobacillus kefir* biyokatalizörü ile (*R*)-enantiyomer için yüksek enantiyomerik aşırılık verdiğini ($> \% 99$) belirlemiş fakat kofaktör rejenerasyonu gerektiği için dönüşümlerin yüksek olmadığını vurgulamıştır. Yüksek dönüşüm ve enantiyomerik aşırılık değerlerine ancak ortama kofaktör ekleyerek ulaşmıştır.

Yazıcı ve Mehmetoğlu (2015) yaptıkları bir çalışmada, asetofenonun indirgenmesiyle birçok farmakolojik ürünün öncü maddesi olan enantiyomerik saflıkta (*S*)-1-feniletanol üretmişlerdir. (*S*)-1-feniletanolün üretimini asetofenonun alkoldehidrogenaz (ADH) enzimi biyokatalizli asimetrik indirgenme tepkimesiyle gerçekleştirmişlerdir. Çalışmanın ilk aşamasında, karbonil grubunu indirgeyebilmesi için ADH enzim kaynağı olarak çeşitli meyve ve sebzeler kullanmışlardır. En yüksek aktiviteye sahip olan uygun bitkinin seçimi için, farklı bitkilerin (havuç, patates, üzüm, turp) ADH enzim aktivitelerini tayin etmişler ve biyokatalizör olarak en yüksek ADH

aktivitesine sahip bitki olarak havucu seçmişlerdir. Çalışmanın ikinci aşamasında ise, enantiyomerik saflıkta (*S*)-1-feniletanol üretimine biyokatalizör boyutu, enzim kaynağı, substrat derişimi ve sıcaklık, tepkime süresi, tepkime pH'ı ve hücre derişiminin etkilerini araştırmışlardır. Enantiyoseçimli asimetrik biyoindirgenme tepkimesinde biyokatalizör olarak kullanılan taze havuç içindeki ADH enziminin, tepkimeyi 2mM substrat derişimi, 200g/L biyokatalizör derişimi, 1,52 mm biyokatalizör boyutu, 33 °C tepkime sıcaklığı, pH=7 ve 150 rpm karıştırma hızı koşullarında, yüksek enantiyoseçimlikte ve yüksek dönüşümde katalizlediğini göstermişlerdir (>%99 ee ve %92 d). Bu çalışmalardan da görüleceği üzere biyokatalizörler asimetrik sentezde önemli bir yere sahiptir.

Çalışmanın Amacı:

Enantiyoseçici bir reaksiyonda katalizörün yapısı seçicilikte önemli rol oynar. Bu katalizörün yapısı prokiral bir substratın enantiyotopik yüzeyleri ile farklı hızlarda etkileşerek enantiyomerlerden birinin fazla miktarda meydana gelmesine sebep olur. Bu tez çalışması kapsamında asetofenon türevlerinin asimetrik biyoindirgenmesiyle çoğu farmakolojik ürünün öncü maddesi olarak kullanılan enantiyomerik saflıkta kiral alkollerin üretilmesi hedeflenmiştir (Şekil 2.4).



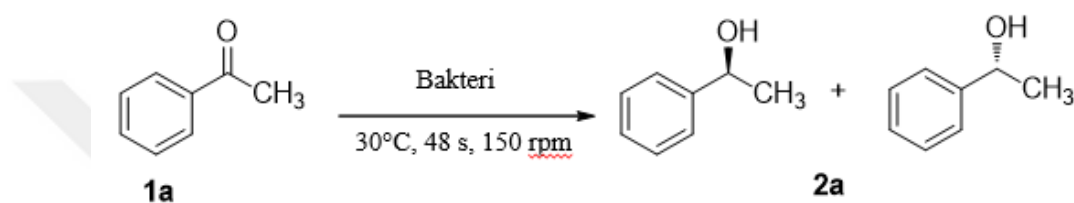
Şekil 2. 4. *Lactobacillus paracasei* ile aromatik ketonların asimetrik indirgenmesi

Biyokatalitik indirgenme kimyasal yolla yapılan indirgenmeye oranla daha avantajlıdır. Bu tez kapsamında asimetrik biyoindirgenme kapasitesine sahip olabilecek *Lactobacillus paracasei* bakteri suşları biyokatalizör olarak asimetrik indirgenme reaksiyonlarında test edilecektir. Test edilen bu suşlardan en etkili olan ile asimetrik indirgenme reaksiyonunun şartların optimizasyonu ve enantiyomerik olarak saf kiral alkollerin sentezlenmesi hedeflenmiştir.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

Model substrat asetofenon (**1a**) kullanılarak yedi *Lactobacillus paracasei* (Dertli vd., 2016) suşunun biyokatalizör olarak kullanılma kapasiteleri test edildi (Çizelge 3.1).

Çizelge 3. 1 Asetofenon'un asimetrik indirgenmesinde en iyi *Lactobacillus paracasei* bakteri suşunun belirlenmesi.



Bakteri ^a	Dönüşüm ^b (%)	% Verim ^c	%ee ^d
<i>Lactobacillus paracasei</i> BD87E1	57	47	57 (R)
<i>Lactobacillus paracasei</i> BD87E2	54	51	41 (S)
<i>Lactobacillus paracasei</i> BD87E3	53	48	54 (S)
<i>Lactobacillus paracasei</i> BD87E4	81	74	47 (S)
<i>Lactobacillus paracasei</i> BD87E5	64	57	67 (S)
<i>Lactobacillus paracasei</i> BD87E6	81	73	75 (S)
<i>Lactobacillus paracasei</i> BD87E7	71	74	63 (S)

Reaksiyon Koşulları: biyokatalizör 25 mg, substrat (Asetofenon) 1 mmol, sıcaklık: 30 °C, süre 48 s, 150 rpm

^a Biyokatalizör suşlarının karşılaştırılması.

^b Dönüşümler HPLC ile belirlendi.

^c Saflaştırılan verim.

^d Kiral OD-H, OD ve AS kolonlar kullanılarak belirlendi.

Çizelge 3.1'de görüldüğü gibi kullanılan suşlar (R) ve (S)-fenil etanol (**2a**)'yı % 41'den % 75'e değişen enantiyomerik aşırılıkta ürettiler. En iyi biyoindirgenme sonucu *Lactobacillus paracasei* BD87E6 suşu kullanılarak elde edildi. Bu indirgenme reaksiyonunda %81 dönüşüm ve %75 gibi bir enantiyomerik aşırılık gözlemlendi. Bu nedenle en iyi biyokatalizör olarak *Lactobacillus paracasei* BD87E6 suşu bundan sonraki reaksiyonlarda kullanılmak üzere seçildi.

Gerçekleştirilen asimetrik indirgenme tepkimesinde tepkime sıcaklığı, pH, inkübasyon süresi ve karıştırma hızı gibi parametreler enantiyoseçiciliği etkileyen önemli parametrelerdendir. Bu nedenle model substrat asetofenon kullanılarak reaksiyon şartları optimize edildi. Belirlenen uygun reaksiyon şartları Çizelge 3.2’de özetlenmiştir.

Çizelge 3. 2 *Lactobacillus paracasei* BD87E6 bakterisi suşu kullanılarak asetofenonun biyoindirgenme parametrelerinin optimizasyonu.

pH	pH		°C	Sıcaklık		Saat	İnkübasyon süresi		rpm	Karıştırma Hızı	
	Dönüş (%) ^b	ee (S) (%) ^c		Dönüş (%) ^b	ee (S) (%) ^{c,d}		Dönüş (%) ^b	ee (S) (%) ^{c,d}		Dönüş (%) ^b	ee (S) (%) ^{c,d}
4.5	70	65	25	81	77	24	88	83	100	88	91
5	77	73	28	84	81	48	91	91	150	99	94
5.5	81	77	30	88	83	72	95	80	200	99	64
6	70	70	32	77	77	96	100	75	250	99	59
6.5	81	70	34	45	58						
7	65	78									
7.5	60	80									

^a Substrat 1 mmol.

^b Dönüşümler HPLC ile belirlendi.

^c Enantiyomerik fazlalık kiral OD-H, OD, AS kolonlar kullanılarak belirlendi.

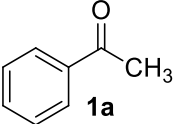
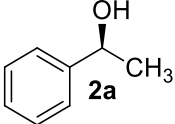
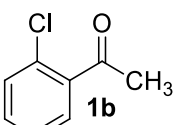
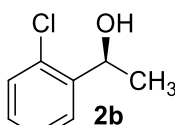
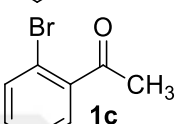
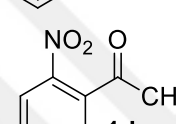
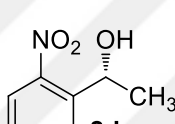
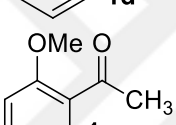
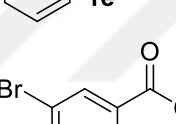
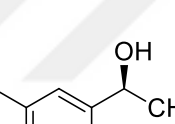
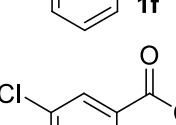
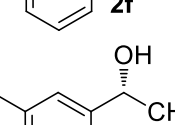
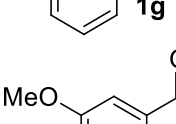
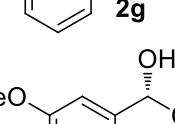
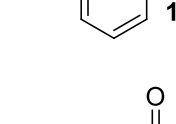
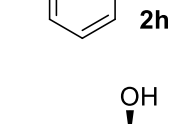
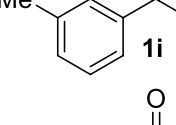
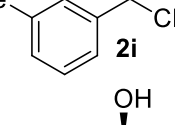
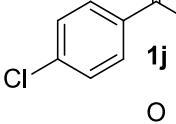
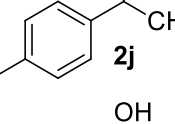
^d Konfigürasyonlar literatürdeki çevirme açıları ile karşılaştırılarak belirlendi.

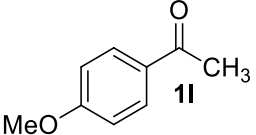
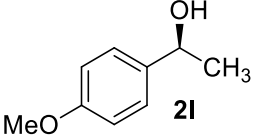
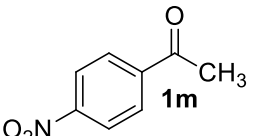
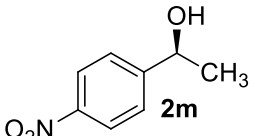
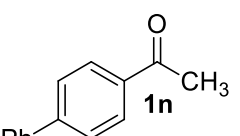
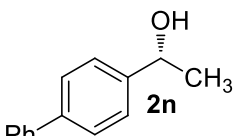
Kiral sekonder alkollerini başarılı bir şekilde elde etmek için pH, sıcaklık, inkübasyon süresi ve karıştırma hızı gibi reaksiyon şartlarını optimize etmek çok önemlidir (Pereira, 1998). *Lactobacillus paracasei* BD87E6 bakterisi suşu kullanılarak model substrat ile pH, sıcaklık, inkübasyon süresi ve karıştırma hızı gibi reaksiyon parametreleri optimize edildi (Çizelge 3.2). Optimizasyon için öncelikle pH’nın enantiyoseçicilik üzerine etkisi araştırıldı. 25 ml besiyeri (MRS) içerisinde 25 mg bakteri 2 saat 30°C’de 100 rpm’de karıştırıldı. Daha sonra pH’lar (4.5 – 7.5) ayarlandı ve 2 saat daha aynı şartlar altında karıştırıldı. 2 saatin sonunda ortama 1 mmol substrat (**1a**) ilave edildi ve 24 saat boyunca aynı şartlar altında karışmaya bırakıldı. pH enzimin üç boyutlu yapısında değişime neden olduğundan seçicilik açısından önemli bir parametredir. Çizelge 3.2’de görüldüğü gibi yapılan denemeler sonucunda optimum pH 5.5 olarak belirlendi. Bu pH’da **2a** %81 dönüşüm ve %77 enantiyomerik fazlalık ile elde edildi. Enantiyoseçicilik üzerine sıcaklığın etkisini belirlemek için pH değerinin 5.5 olduğu şartlarda 25-34°C arasında değişen farklı sıcaklıklarda reaksiyonlar yapıldı. İndirgenme reaksiyonunun en iyi gerçekleştiği sıcaklık 30°C

olarak belirlendi ve bundan sonraki reaksiyonlar 30°C sıcaklıkta gerçekleştirildi. Sıcaklık 30°C'nin üzerine çıktığında hem dönüşüm hem de enantiyomerik aşırılıkta azalmanın olduğu görülmektedir. pH'nın 5.5 ve sıcaklığın 30°C olduğu reaksiyon koşullarında farklı inkübasyon sürelerinde reaksiyonlar gerçekleştirilerek bu parametrenin seçicilik üzerindeki etkisi belirlendi. Çizelge 3.2'de görüldüğü üzere inkübasyon süresi 48 saat olduğunda dönüşüm ve enantiyomerik aşırılık en yüksek değere sahiptir. Bu nedenle inkübasyon süresi 48 saat olarak optimize edilmiştir. İnkübasyon süresi 48 saati geçtiğinde reaksiyon dönüşümü artarken enantiyoseçiciliğin düştüğü görülmektedir. Bunun muhtemel sebebi ise zamanla enzimin aktivitesinin azalması ile ilgilidir. Önemli bir diğer parametre de enzimin aktivitesi ve yapısını değiştirebilen karıştırma hızıdır. Karıştırma hızları karşılaştırıldığında en iyi dönüşüm ve enantiyomerik aşırılık değerlerinin 150 rpm'de elde edildiği görülmektedir. Karıştırma hızı 150 rpm'i geçtiğinde enantiyoseçicilikte önemli düşüşlerin olduğu gözlemlendi. Yüksek karıştırma hızının bu katalizör için negatif bir etkiye sahip olduğunun bir göstergesidir. Sonuç olarak optimize şartlar pH 5.5, sıcaklık 30°C, inkübasyon süresi 48 saat ve karıştırma hızı 150 rpm olarak belirlenmiştir.

Optimizasyon işleminden sonra belirlenen bu şartlar altında *Lactobacillus paracasei* BD87E6 bakteri suşunun asetofenon türevlerinin (**1b-n**) asimetric olarak indirgenmesinde biyokatalizör etkinliği değerlendirildi. Biyoindirgenme sonuçları Çizelge 3.3'te gösterilmiştir.

Çizelge 3. 3 *Lactobacillus paracasei* BD87E6 bakterisi suşu kullanılarak asetofenon türevlerinin asimetrik indirgenmesi.

Deney	Substrat	Ürün	ee (%) ^{a,b}	Dönüşüm (%) ^c	Verim(%) ^d
1			94 (S)	99	87
2			84 (S)	27	22
3		--	--	--	--
4			44 (R)	45	39
5		--	--	--	--
6			72 (S)	58	51
7			78 (R)	71	69
8			98 (R)	81	77
9			61 (S)	51	42
10			70 (S)	83	78
11			87 (R)	81	77

12			42 (S)	84	80
13			91 (S)	52	49
14			79 (R)	72	68

İndirgenme koşulları: Substrat: 1 mmol, temperature: 30 °C, süre: 48 s, pH: 5.5, 150 rpm

^a Enantiyomerik fazlalıklar kiral HPLC OD-H, OD ve AS kolonlar kullanılarak belirlendi.

^b Konfigürasyonlar literatürdeki çevirme açıları ile karşılaştırılarak belirlendi.

^c Dönüşümler HPLC ile belirlendi.

^d Saflaştırılan verimler.

Reaksiyon şartları optimize edildikten sonra aromatik halkaya bağlı brom, klor, nitro, metoksi, metil ve fenil gibi grupların seçiciliği nasıl etkilediği test edildi. Aromatik halkanın orto pozisyonunda klor ve nitro gibi elektron çekici gruplar olan substratlarda (**1b**, **1d**) seçicilik ve dönüşümün düştüğü görülmektedir. Diğer taraftan orto pozisyonunda elektron çeken brom **1c** ve elektron sağlayan metoksi **1e**'de ise reaksiyon olmamıştır. Bu da orto pozisyonunda bağlı olan grupların sterik olarak etkisinin seçicilikte önemli olduğunu göstermektedir. Meta pozisyonunda elektron çeken gruplar olan brom ve klor'un olduğu substratlarda ortalama bir enantiyomerik aşırılık ve dönüşüm ile ilgili sekonder alkol elde edilmiştir. Metil grubunun meta pozisyonunda olduğu substrat **1i**'de düşük enantiyomerik aşırılık gözlenirken *m*-metoksi asetofenonda harika bir enantiyomerik aşırılık (%98) ile **2h** sekonder alkol elde edilmiştir (Tablo3, deney 8). *p*-kloro asetofenon %70 enantiyomerik aşırılık ve %83'lük bir dönüşüm ile **2j** alkolüne dönüştürüldü (Tablo 3.3, deney 10). Klor atomu için orto pozisyonundan para pozisyonuna doğru gidildikçe enantiyomerik seçiciliğin düştüğü görülmektedir. *p*-bromo asetofenon ise %87 enantiyomerik aşırılık ve %81'lik bir dönüşüm ile **2k** alkolüne indirgenmiştir (Tablo 3.3, deney 11). *p*-bromo asetofenon *m*-bromo asetofenon ile karşılaştırılacak olursa klorun tam tersine *p*-bromo asetofenonda gözlenen seçicilik daha fazladır. *p*-metoksi asetofenon *m*-metoksi asetofenon ile karşılaştırıldığında enantiyoseçicilikte keskin bir şekilde düşüş olduğu

görülmektedir (Tablo 3.3, deney 12). *p*-nitro asetofenon'un indirgenmesinde ise *o*-nitro asetofenona göre hem dönüşüm hemde enantiyomerik aşırılıkta artışın olduğu görülmektedir (Tablo 3.3, deney 13). Elektron sağlayan bir grup olan fenil grubunun para pozisyonunda olduğu substrat **1n** %79 enantiyomerik aşırılık ile **2n** kiral sekonder alkole indirgenmiştir (Tablo 3.3, deney 14). Elde edilen alkollerin konfigürasyonları aromatik halkadaki bağlı olan grupların pozisyonuna ve yapısına bağlı olarak *R* veya *S* olarak değişmektedir.



4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1 Kromatografik Ayırmalar

4.1.1 Kolon Kromatografisi

Silikajel 60 (70-230 Mesh) ASTM (Merck)

4.1.2 İnce Tabaka Kromatografisi

Silikajel 60 (HF 254 + 366) (Merck)

4.2 Spektrumlar

4.2.1 ¹H-NMR Spektrumları

¹H-NMR 400 MHz Spektrometre (Bruker)

4.2.2 ¹³C-NMR Spektrumları

¹³C-NMR 100 MHz (Bruker)

4.2.3 HPLC Spektrumu

Kiral detektöre sahip Agilent 1260 HPLC

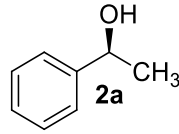
4.3 Deneyler

4.3.1 Genel Asimetrik İndirgenme Prosedürü

25 mL'lik steril MRS besiyeri içerisinde 25 mg kuru *Lactobacillus paracasei* suşu ilave edildi ve 2 saat 30 °C'de 150 rpm karıştırma hızı ile karıştırıldı. 2 saatin sonunda pH 5.5'e ayarlanarak 2 saat daha aynı şartlarda karışmaya bırakıldı. Belirlenen sürenin sonunda 0,5 mmol substrat direkt olarak reaksiyon ortamına ilave edildi ve 48 saat boyunca 30°C ve 150 rpm'de karıştırılmaya devam edildi. 48 saatlik inkübasyon süresinin sonunda sıvı kısım dietil eter ile ekstrakte edildi. Dietil eter ekstraktı susuz Na₂SO₄ ile kurutuldu. Ekstraktta bulunan dietil eter düşük basınçta uzaklaştırıldı. Elde

edilen ham ürün kolon kromatografisinde etil asetat-hekzan (10:90) çözücü karışımı ile saflaştırıldı. Elde edilen kiral alkollerin yapıları NMR ile ve enantiyomerik fazlalıklar da kiral HPLC ile belirlendi.

4.3.1.1. (S)-1-feniletanol (2a) (Şahin, 2017b)



$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ = 7.38-7.33 (m, 4H), 7.31-7.26 (m, 1H), 4.84 (q, J = 6.45 Hz, 1H), 2.62 (bs, 1H), 1.48 (d, J = 6.5 Hz, 3H) (EK-1, Şekil 1)

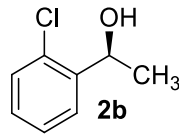
$^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ = 146.0, 128.4, 127.3, 125.5, 70.2, 25.2 (EK-1, Şekil 1)

$[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ = -41.4 (c 1.1, CHCl_3),

Enantiyomerik aşırılık: % 94

HPLC analizi: alıkonma zamanları: 9.1 dak. (*R* enantiyomer), 11.0 dak. (*S* enantiyomer), Chiralcel OD-H kolon, *n*-hekzan/*i*-PrOH, 95:5, akış hızı 1.0 mL/dak., 210 nm. (EK-2, Şekil 1)

4.3.1.2. (S)-1-(2-klorofenil)ethanol (2b) (Liu vd., 2015, Zhang vd., 2011)



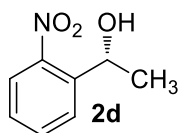
$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ = 7.58-7.56 (m, 1H), 7.32-7.17 (m, 3H), 5.27 (q, J = 6.4 Hz, 1H), 2.25 (bs, OH), 1.47 (d, J = 6.4 Hz, 3H) (EK-1, Şekil 2)

$^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ = 143.0, 131.6, 129.4, 128.4, 127.2, 126.4, 66.9, 23.5
 $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ = -57.2 (c 1.0, CHCl_3) (EK-1, Şekil 2)

Enantiyomerik aşırılık: %84

HPLC analizi: alıkonma zamanları: 14.7 dak. (*R* enantiyomer), 16.4 dak. (*S* enantiyomer), Chiralcel OD-H kolon, *n*-hekzan/*i*-PrOH, 98:2, akış hızı 1.0 mL/dak., 220 nm. (EK-2, Şekil 2)

4.3.1.2. (*R*)-1-(2-nitro fenil) etanol (2d) (Şahin, 2017b)



¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ= 7.84 (dd, *J* = 8.2, 1.1 Hz, 1H), 7.79 (dd, *J* = 7.9, 1.1 Hz, 1H), 7.63-7.59 (m, 1H), 7.40-7.36 (m, 1H), 5.35 (q, *J* = 6.4 Hz, 1H), 2.85 (bs, 1H), 1.51 (d, *J* = 6.4 Hz, 3H) (EK-1, Şekil 3)

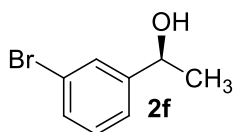
¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ= 147.7, 141.0, 133.6, 128.0, 127.5, 124.2, 65.4, 24.2

[α]_D²⁵ = +13.2 (c 0.4, CHCl₃), (EK-1, Şekil 3)

Enantiyomerik aşırılık: %44

HPLC analizi: alıkonma zamanları: 17.0 dak (*R* enantiyomer), 18.8 dak. (*S* enantiyomer), Chiralcel AS kolon, *n*-hekzan /*i*-PrOH, 97:3, akış hızı 0.8 mL/dak, 220 nm. (EK-2, Şekil 3)

4.3.1.3. (*S*)-1-(3-bromo fenil) etanol (2f) (Ren vd., 2015; Şahin, 2017b)



¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ= 7.49 (s, 1H), 7.36-7.38 (m, 1H), 7.25-7.16 (m, 2H), 4.79 (m, 1H), 2.67 (bs, 1H), 1.44 (d, *J* = 6.4 Hz, 3H) (EK-1, Şekil 4)

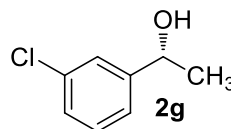
¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ=148.1, 130.4, 130.1, 128.5, 124.0, 122.5, 69.6, 25.2

[α]_D²⁵ = -76.8 (c 1.0, CHCl₃) (EK-1, Şekil 4)

Enantiyomerik aşırılık: % 72

HPLC analizi: alıkonma zamanları: 16.5 dak. (*S* enantiyomer), 18.7 dak. (*R* enantiyomer) Chiralcel OD-H kolon, *n*-hekzan /*i*-PrOH, 98:2, akış hızı 1.0 mL/dak, 210 nm. (EK-2, Şekil 4)

4.3.1.4. (*R*)-1-(3-klorofenil) etanol (2g) (Ren vd., 2015)



$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ = 7.34-7.19 (m, 4H), 4.82 (q, J = 6.4 Hz, 1H), 2.43 (bs, OH), 1.45 (d, J = 6.5 Hz, 3H) (EK-1, Şekil 5)

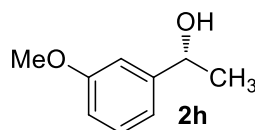
$^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ = 147.8, 134.3, 129.8, 127.5, 125.6, 123.5, 69.7, 25.2

$[\alpha]_D^{25}$ = +30.2 (c 0.60, CHCl_3) (EK-1, Şekil 5)

Enantiyomerik aşırılık: %78

HPLC analizi: alıkonma zamanları: 23.1 dak. (*S* enantiyomer), 25.4 dak. (*R* enantiyomer) Chiralcel OD-H kolon, *n*-hekzan /*i*-PrOH, 99:1, akış hızı 1.0 mL/dak, 210 nm. (EK-2, Şekil 5)

4.3.1.5. (*R*)-1-(3-metoksifenil) etanol (2h) (Zhang vd., 2011)



$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ = 7.27-7.23 (m, 1H), 6.93-6.91 (m, 2H), 6.81-6.78 (m, 1H), 4.83 (q, J = 6.4 Hz, 1H), 3.79 (s, 3H), 2.41 (bs, OH), 1.46 (d, J = 6.5 Hz, 3H) (EK-1, Şekil 6)

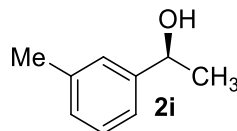
$^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ = 159.7, 147.6, 129.5, 117.7, 112.8, 110.9, 70.2, 55.2, 25.1 (EK-1, Şekil 6)

$[\alpha]_D^{25}$ = +58.2 (c 0.9, CHCl_3)

Enantiyomerik aşırılık: %98

HPLC analizi: alıkonma zamanları: 11.1 dak. (*S* enantiyomer), 17.2 dak. (*R* enantiyomer) Chiralcel OD-H kolon, *n*-hekzan /*i*-PrOH, 95:5, akış hızı 0.8 mL/dak., 210 nm. (EK-2, Şekil 6)

4.3.1.6. (*S*)-1-(3-metilfenil) etanol (2i) (Ren vd., 2015)



¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ = 7.25-7.09 (m, 4H), 4.84 (q, *J* = 6.4 Hz, 1H), 3.38 (s, 3H), 2.20 (bs, OH), 1.46 (d, *J* = 6.5 Hz, 3H) (EK-1, Şekil 7)

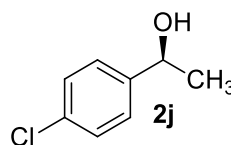
¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ =145.8, 138.1, 128.4, 128.2, 126.1, 122.4, 70.4, 25.1, 21.5 (EK-1, Şekil 7)

$[\alpha]_D^{25} = -37.3$ (c 0.9, CHCl₃)

Enantiyomerik aşırılık: %61

HPLC analizi: alıkonma zamanları: 11.3 dak. (*R* enantiyomer), 14.0 dak. (*S* enantiyomer), Chiralcel OD-H kolon, *n*-hekzan /*i*-PrOH, 97:3, akış hızı 1.0 mL/dak., 210 nm. (EK-2, Şekil 7)

4.3.1.7. (*S*)-1-(4-klorofenil)etanol (2j) (Wei ve Du, 2014, Liu vd., 2015)



¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ = 7.29-7.22 (m, 4H), 4.79 (q, *J* = 6.5 Hz, 1H), 2.77 (bs, 1H), 1.41 (d, *J* = 6.5 Hz, 3H) (EK-1, Şekil 8)

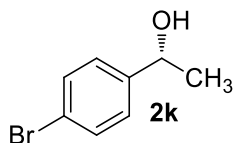
¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ = 144.2, 132.9, 128.5, 126.8, 69.6, 25.2

$[\alpha]_D^{25} = -37.6$ (c 1.0, CHCl₃) (EK-1, Şekil 8)

Enantiyomerik aşırılık: % 64

HPLC analizi: alıkonma zamanları: 16.6 dak. (*S* enantiyomer), 19.1 dak. (*R* enantiyomer), Chiralcel OD-H kolon, *n*-hekzan/*i*-PrOH, 98:2, akış hızı 1 mL/dak., 220 nm. (EK-2, Şekil 8)

4.3.1.8. (R)-1-(4-bromofenil)etanol (2k) (Singh ve Chopra, 2016)



$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ = 7.43-7.40 (m, 2H), 7.18-7.15 (m, 2H), 4.75 (q, J = 6.5 Hz, 1H), 2.93 (bs, 1H), 1.39 (d, J = 6.5 Hz, 3H) (**EK-1, Şekil 9**)

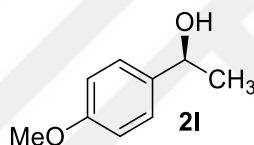
$^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ = 144.7, 131.5, 127.2, 121.0, 69.6, 25.2

$[\alpha]_D^{25}$ = +41.2 (c 1.0, CHCl_3) (**EK-1, Şekil 9**)

Enantiyomerik aşırılık: %87

HPLC analizi: alıkonma zamanları: 9.1 dak. (*R* enantiyomer), 10.1 dak. (*S* enantiyomer), Chiralcel OD-H kolon, *n*-hekzan /*i*-PrOH, 95:5, akış hızı 1 mL/dak., 220 nm. (**EK-2, Şekil 9**)

4.3.1.9. (S)-1-(4-metoksifenil) etanol (2l) (Singh ve Chopra, 2016)



$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ = 7.30-7.27 (m, 2H), 6.89-6.85 (m, 2H), 4.83 (q, J = 6.4 Hz, 1H), 3.79 (s, 3H), 2.11 (bs, OH), 1.46 (d, J = 6.5 Hz, 3H) (**EK-1, Şekil 10**)

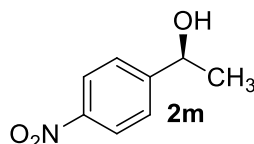
$^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ = 158.9, 138.0, 126.7, 113.8, 69.9, 55.3, 25.0

$[\alpha]_D^{25}$ = -25.9 (c 1.0, CHCl_3) (**EK-1, Şekil 10**)

Enantiyomerik aşırılık: %42

HPLC analizi: alıkonma zamanları: 23.7 dak. (*R* enantiyomer), 27.3 dak. (*S* enantiyomer), Chiralcel OD-H kolon, *n*-hekzan /*i*-PrOH, 95:5, akış hızı 0.8 mL/dak., 220 nm. (**EK-2, Şekil 10**)

4.3.1.10. (S)-1-(4-nitrofenil)etanol (2m) (Vieira vd., 2010)



$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ = 8.10-8.14 (m, 2H), 7.51-7.48 (m, 2H), 5.00-4.94 (m, 1H), 2.75 (d, J = 3.4 Hz, 1H), 1.47 (d, J = 6.5 Hz, 3H) (**EK-1, Şekil 11**)

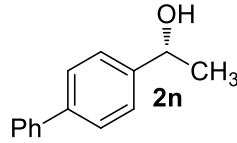
$^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ = 153.3, 147.0, 126.1, 123.7, 69.4, 25.4

$[\alpha]_D^{25} = -23.4$ (c 0.5, CHCl_3) (**EK-1, Şekil 11**)

Enantiyomerik aşırılık: % 91

HPLC analizi: alıkonma zamanları: 12.2 dak. (*R* enantiyomer), 14.8 dak. (*S* enantiyomer), Chiralcel AS kolon, *n*-hekzan/*i*-PrOH, 95:5, akış hızı 0.8 mL/dak., 220 nm. (**EK-2, Şekil 11**)

4.3.1.11. (*R*)-1-(*p*-bifenil) etanol (2n) (Zilbeyaz vd., 2012)



$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) $\delta =$ 7.63-7.60 (m, 4H), 7.49-7.45 (m, 4H), 7.40-7.36 (m, 1H), 4.95 (qd, $J = 6.4, 2.9$ Hz, 1H), 2.24 (d, $J = 2.8$ Hz, 1H), 1.56 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H) (**EK-1, Şekil 12**)

$^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) $\delta =$ 144.9, 140.9, 140.4, 128.8, 127.3, 127.3, 127.1, 125.9, 70.1, 25.2 (**EK-1, Şekil 12**)

$[\alpha]_D^{25} = +38.9$ (c 0.55, CH_2Cl_2)

Enantiyomerik aşırılık: % 79

HPLC analizi: alıkonma zamanları: 17.4 dak. (*S* enantiyomer), 18.8 dak. (*R* enantiyomer), Chiralcel OD kolon, *n*-hekzan/*i*-PrOH, 90:10, akış hızı 0.6 mL/dak, 220 nm. (**EK-2, Şekil 12**)

EN: 92-93°C,

5. SONUÇ

Enantiyomerik olarak saf kiral alkoller günümüzde giderek artan öneme sahip olan maddelerdir ve birçok bileşiğin sentezinde kullanılan önemli yapı taşlarıdır. Yüksek lisans tezi olarak sunulan bu çalışmada yedi farklı *Lactobacillus paracasei* bakteri suşu asimetric biy indirgenme reaksiyonları ile kiral alkol üretiminde biyokatalizör olarak değerlendirilmişlerdir. Bu suşlar arasında *Lactobacillus paracasei* BD87E6 en etkili biyokatalizör olarak belirlenmiştir. Sistemik olarak optimize edilen asimetric indirgenme reaksiyon şartları altında (pH 5.5, 30°C, 48 saat ve 150 rpm) çeşitli prokiral aromatik ketonların asimetric indirgenmesi gerçekleştirildi. İlgili kiral sekonder alkoller (**2a-o**) %98'e varan yüksek enantiyomerik aşırılıkta elde edilmiştir. Elde edilen ürünlerin konfigürasyonları benzen halkasındaki grupların yapısı ve pozisyonuna göre *R* veya *S* olarak değişmektedir. Ayrıca benzen halkasındaki gruplar reaksiyonun seçiciliğini ve dönüşümünü de önemli oranda değiştirmektedir. Örneğin *o*-kloro asetofenonun (**1b**) indirgenmesinde %84'lük bir enantiyomerik aşırılık ve %27'lik bir dönüşüm gözlenirken *o*-bromo asetofenonda (**1c**) herhangi bir reaksiyon meydana gelmemiştir. Buda benzen halkasına bağlı olan bir grubun enantiyoseçiciliği ne kadar etkilediğini göstermektedir. *Lactobacillus paracasei* BD87E6 biyokatalizörü kullanılarak yapılan asimetric indirgenmelerde bu biyokatalizörün *o*-süstitüe aromatik ketonlardan ziyade *m*- ve *p*-süstitüe aromatik ketonların indirgenmesinde daha etkili biyokatalizör olduğu görülmüştür. *o*-bromo asetofenonda reaksiyonun olmaması bu grup ile reaksiyon merkezi arasındaki sterik itmeden dolayı hidrojen atomunun transferinin gerçekleşmemesindedir. *o*-kloro asetofenonda ise azda olsa bir dönüşüm meydana gelmektedir, çünkü klor atomu brom atomu kadar büyük değildir. Sonuç olarak *m*-metoksi asetofenon **1h** %98'lik bir enantiyoseçicilik ile farmasötik açıdan çok önemli olan **2h** kiral sekonder alkole indirgenmiştir. Bu kiral katalizör başka prokiral ketonların asimetric indirgenmesinde de başarılı bir şekilde kullanılabilir. Bu çalışma ile dönüşüm ve enantiyoseçiciliğin süstitüentlerin pozisyonu ve elektronik etkileri tarafından kontrol edilen enantiyomerik olarak zengin ikincil alkollerin sentezinde kullanılabilir yeni bir biyokatalizör ortaya çıkarılmıştır. Ayrıca bu çalışma ile *Lactobacillus paracasei* BD87E6 biyokatalizörü prokiral ketonların asimetric olarak kiral karbinol bileşiklerine indirgenme reaksiyonlarında kullanılan klasik toksik ve çevreye zararlı

kimyasal katalizörlere alternatif bir biyokatalizör olarak kullanılabileceği gösterilmiştir.



KAYNAKLAR

- Ananthanarayanan, V.S., Tetreault, S., Saint-Jean, A. (1993). *Interaction of Calcium Channel Antagonists with Calcium: Spectroscopic and Modeling Studies on Diltiazem and Its Ca²⁺ Complex*. **J. Med. Chem.** 36, 1324–1332.
- Atkins, R.C. ve Carey, F.A. (1997). *Organic Chemistry*. The McGraw-Hill companies, Inc, 184–212, New York.
- Aydoğan, O. (2012). *Ketonların Biyokatalitik İndirgenmesi ile Enantiyomerik Safılıkta Kiral Madde Üretimi*. **Doktora Tezi**, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Babaarslan, Ç. (2008). *Biyokatalitik Olarak Enantiyoseçimli α -Hidroksi Keton Üretim Prosesinin Geliştirilmesi*, **Doktora Tezi**, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Bhattacharyya, M. S., Singh, A., Banerjee, U. C. (2010). *Immobilization of intracellular carbonyl reductase from *Geotrichum candidum* for the stereoselective reduction of 1-naphthyl ketone*. **Bioresour. Technol.** 101, 1581-1586.
- Blaser, H. U. (1992). *The Chiral Pool as a Source of Enantioselective Catalysts and Auxiliaries*, **Chem. Rev.**, 92 (5), 935-952.
- Borges, K. B., Borges, W. D., Duran-Patron, R., Pupo, M.T., Bonato, P.S., Collado, I.G. (2009). *Stereoselective biotransformations using fungi as biocatalysts*. **Tetrahedron: Asymmetry**, 20, 385-397.
- Brunner, H. ve Zettlmeier, W. (1993). *Handbook of Enantioselective Catalysis: With Transition Metal Compounds*, **VHC, New York**.
- Bunnett, J. F. (1999). *Organic Chemistry: A Short Course, 10th edition* (Hart, Harold; Craine, Leslie E.; Hart, David J.). **Journal of Chemical Education**, 76(10), 1341. <https://doi.org/10.1021/ed076p1341.1>
- Chem.libretexts. (2006). *Chirality in Organic Chemistry*. <https://chem.libretexts.org>, 21.08.2017.
- Cohen A., Silverberg S. J. (2002). *Calcimimetics: therapeutic potential in hyperparathyroidism*. **Curr Opin Pharmacol** 2: 734-739.
- Dreamstime. (2017). *Polarimeter Scheme*. <https://www.dreamstime.com>, (18.08.2017)
- Dertli, E., Mercan, E., Arıcı, M., Yılmaz, M.T., ve Sağdıç, O. (2016). *Characterisation of lactic acid bacteria from Turkish sourdough and determination of their exopolysaccharide (EPS) production characteristics*,

LWT-Food Science and Technology, 71, 116-124.

Enantiomer. (2017, 10 Mart). Wikipedia, The Free Encyclopedia içinde. <http://en.wikipedia.org/wiki/Enantiomer>, 17.08.2017.

Faber, K. (1997). *Biotransformations in Organic Chemistry: A Textbook*, 3th Edition **Springer-Verlag Berlin, Germany**

Faber, K. ve Strauss, U.T. (1999). *Deracemization of (±)-Mandelic Acid Using a LipaseMandelate Racemase Two-Enzyme System*. **Tetrahedron: Asymmetry**, Vol.10, pp. 4079-4081.

Faber, K. (2000). *Biotransformations in Organic Chemistry: A Textbook*, 4th Edition, **Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Germany**

Garrett, R. H. ve Grisham, C. M. (1999). *Biochemistry, Second Edition* **Saunders College Publishing**. 426-427.

Ghanem, A. ve Aboul-Enein, H.Y. (2004). *Lipase-Mediated Chiral Resolution of Racemates in Organic Solvents*. **Tetrahedron: Asymmetry**, 15; 3331-3351.

Jacques, J., Collet, A. ve Wilen, S. H. (1981). *Enantiomers, Racemates and Resolutions*, **Wiley, New York**.

Johannes, T., Simurdiak, M. R., Zhao, H. (2005). *Biocatalysis*. Department of Chemical and Biomolecular Engineering, University of Illinois, Urbana, Illinois, U.S.A.

Joy, M. S., Kshirsagar, A. V., Franceschini, N. (2006). *Calcimimetics and the treatment of primary and secondary hyperparathyroidism*. **Ann Pharmacother** 38: 1871-1880.

Karadeniz, F., (2006). *Rasemik 1-fenil-1-propanolün Lipaz Katalizli Enantiyoseçimli Esterleşme Tepkimesi*. **Yüksek Lisans Tezi**, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.

Kataoka, M., Kita, K., Wada, M., Yasohara, Y., Hasegawa, J. ve Shimuzu, S., (2003). *Novel Bioreduction System for the Production of Chiral Alcohols*, **Appl. Microbial. Biotechnol.**, 62,5-6, 437-445.

Kira, I., Suzuki, T., Onishi, N., Watanabe, K., Nakanishi, E. (2009). *Microbial production of (S)-1-phenyl-1, 3-propanediol by stereospecific reduction of 3-hydroxy-1-phenylpropane-1-one*. **J. Mol. Catal. B: Enzym.** 56, 283-287.

Kordikowski, A.,York, P. and Latham, D. (1999). *Resolution of Ephedrine Insupercritica CO2: A Novel Technique for Seperation of Chiral Drugs*, **Journal of Pharmaceutical Sciences**, 88, 786-791.

Kurbanoglu, E.B., Taskin, M., Zilbeyaz, K., Kurbanoglu, N.I. (2009a). *Production of (R)-3'-fluorophenylethan-1-ol by Trichothecium roseum isolate in a laboratory scale bioreactor*. **J. Chem. Technol. Biotechnol.** 84, 1474-1479.

- Kurbanoglu, E.B., Zilbeyaz, K., Taskin, M., Kurbanoglu, N.I. (2009b). *Total production of (R)-3,5-bis(trifluoromethyl)phenyl ethanol by asymmetric reduction of 3,5-bis(trifluoromethyl)-acetophenone in the submerged culture of Penicillium expansum isolate. Tetrahedron: Asymmetry*, 20, 2759-2763.
- Kurbanoglu, E.B., Zilbeyaz, K., Kurbanoglu, N.I. ve Kilic, H. (2007a). *Enantioselective Reduction of Substituted Acetophenones by Aspergillus niger, Tetrahedron: Asymmetry*, Cilt 18, 1159-1162.
- Kurbanoglu, E.B., Zilbeyaz, K., Kurbanoglu, N.I. ve Kilic, H. (2007b). *Asymmetric Reduction of Acetophenone Analogues by Alternaria alternata Using Ram Horn Peptone, Tetrahedron: Asymmetry*, Cilt 18, 2332-2335.
- Kurbanoglu, E.B., Zilbeyaz, K., Kurbanoglu, N.I. ve Taskin, M. (2007). *Highly Enantioselective Reduction of Acetophenone by Locally Isolated Alternaria alternata Using Ram Horn Peptone, Tetrahedron: Asymmetry*, Cilt18, 1529-1532.
- Kurbanoglu, E. B, Zilbeyaz, K., Kurbanoglu, N I. (2011). *Cryptococcus laurentii as a new biocatalyst for the asymmetric reduction of substituted acetophenones. Tetrahedron: Asymmetry*, 22; 345-350.
- Legnani, L. Morandi B. (2016). *Direct catalytic synthesis of unprotected 2-amino-1-phenylethanols from alkenes by using iron(II) phthalocyanine. Angew Chem Int Ed Engl.* 55: 2248-2251.
- Liu, W. P., Yuan, M. L., Yang, X. H., Li, K., Xie, J. H., Zhou, Q. L. (2015). *Efficient asymmetric transfer hydrogenation of ketones in ethanol with chiral iridium complexes of spiro PAP ligands as catalysts, Chem. Commun.* 51, 6123-6125.
- Maier, M.N., Franco,P., Lindner, W. (2001). *Separation of enantiomers: needs, challenges, perspectives. Journal of Chromotography A*, 906:3-33.
- Mandal, D., Ahmad, A., Khanb, M. I. ve Kumar, R., (2004). *Enantioselective Bioreduction of Acetophenone and Its Analogous by the Fungus Trichothecium sp. Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, Vol. 27, pp. 61-63.
- Matsuda, T., Yamanaka, R., Nakamura, K. (2009). *Recent progress in biocatalysis for asymmetric oxidation and reduction. Tetrahedron: Asymmetry*, 20, 513-557.
- Matsuyama, A., Yamamoto, H., Kobayashi, Y. (2002). *Practical application of recombinant whole-cell biocatalysts for the manufacturing of pharmaceutical intermediates such as chiral alcohols. Org. Proc. Res. Dev.*, 6, 558-561.
- Nagano, N. (2006). *Pharmalogical and clinical properties of calcimimetics: calcium receptor activators that afford an innovative approach to controlling hyperparathyroidism. Pharmacol Ther* 109: 339-365.
- Nakamura, K., Yamanaka, R., Matsuda, T. ve Harada, T. (2003). *Recent Developments in Asymmetric Reduction of Ketones with Biocatalysts.*

Tetrahedron :Asymmetry, Cilt 14, No 18, 2659–2681.

- Nejem, R. M. (2004). *Enantioselective sensors and biosensors for clinical analysis*. **Doctor Thesis**, University of Pretoria, Faculty of Natural and Agricultural Sciences, Pretoria.
- Ojima, I. (Ed.) (1993). *Catalytic Asymmetric Synthesis*, VHC, New York.
- Patel, R. N., Goswami, A., Chu, L., Donovan, M. J., Nanduri, V., Goldberg, S., Johnston, R., Siva, P. J., Nielsen, B., Fan, J., He, W., Shi, Z., Wang, K. Y., Eiring, R., Cazzulino, D., Singh, A. ve Mueller, R., (2004). *Enantioselective Microbial Reduction of Substituted Acetophenones*, **Tetrahedron: Asymmetry**, Vol. 15, pp.1247-1258.
- Pereira, R. D. S. (1998). *The use of baker's yeast in the generation of asymmetric centers to produce chiral drugs and other compounds*, **Crit. Rev. Biotechnol.**, 18,1, 25-64.
- Ren, X., Wei, S., Du, H. (2015). *Facile Development of Chiral Alkenylboranes from Chiral Diynes for Asymmetric Hydrogenation of Silyl Enol Ethers*, **Org. Lett.** 17, 990-993.
- Rozzell, J. D. (1999). *Commercial Scale Biocatalysis: Myths and Realities*, **Bioorg. Med. Chem.**, 7 (10), 2253–2261.
- Sheldon, R. A. (1993). *Chirotechnology*. **Marcel Dekker, Inc.**, New York.
- Singh, A., Chopra, H. K. (2016). *New benzimidazolium-based chiral ionic liquids: synthesis and application in enantioselective sodium borohydride reductions in water*, **Tetrahedron: Asymmetry**, 27, 448-453.
- Smith, A. D. (Ed) (1997). *Oxford Dictionary of Biochemistry and Molecular Biology*, **Oxford University Press**.
- Songür, R., (2009). *Rasemik Benzoin Asetattan Mikrobiyal Hidroliz Tepkimesi ile Enantiyomerik Saflıkta Benzoin Üretimi*. **Yüksek Lisans Tezi**, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Straathof, A. J., Panke, S. and Schmid, A. (2002). *The Production of Fine Chemicals by Biotransformations*, **Current opinion in biotechnology**, 13, 548–556.
- Şahin, E. (2017a). *Debaryomyces hansenii as a new biocatalyst in the asymmetric reduction of substituted acetophenones*. **Biocatalysis and Biotransformation**. 35: 5, 363-371.
- Şahin, E. (2017b). *Lactobacillus curvatus Suşu ile Asetofenon Türevlerinin Asimetrik İndirgenmesi*. **GÜFBED/GUSTIJ**. 7(2): 285-308.

- Temino, D.M., Hartmeier, W. and Ansorge-Schumacher, M.B. (2005). *Entrapment of the Alcohol Dehydrogenase from Lactobacillus kefir in Polyvinyl Alcohol for the Synthesis of Chiral Hydrophobic Alcohols in Organic Solvents*. **Enzyme Microbial Technology**, Vol. 36(1), pp.3-9.
- Tüzün, C. (1994). *Stereokimya*. Ankara: **Palme Yayın Dağıtım**.
- Tüzün, C. (2005). *Biyokimya*. Ankara: **Palme Yayın Dağıtım**.
- Uyar T., İnam R. (Ed.) (2011). *Organic Chemistry: a Short Course*, **Boston: Houghton Mifflin Company**, 149.
- Valadez-Blanco, R., Livingston, A.G. (2009). *Enantioselective whole-cell biotransformation of acetophenone to S-phenylethanol by Rhodotorula glutinis: Part I. Product formation kinetics and feeding strategies in aqueous media*. **Biochem. Eng. J.**, 46, 44-53.
- Vieira, G. A. B., Araujo, D. M. F., Lemos, T. L. G., Mattos, M. C., Oliveira, M. C. F., Melo, V. M. M., Gonzalu, G., Gotor-Fernandez, V., Gotor, V. (2010). *Candida tropicalis CE017: a new Brazilian enzymatic source for the bioreduction of aromatic prochiral ketones*, **J. Braz. Chem. Soc.** 21, 1-21.
- Wanda, K.M. ve Agnieszka, M. (2004). *Enantio Selective Reduction of Bromo- and Methoxy Acetophenone Derivatives Using Carrot and Celeriac Enzymatic System*, **Tetrahedron :Asymmetry**, Cilt 15, No 13, 1965–1967.
- Ward, O. P. ve Singh, A. (2000). *Enzymatic Asymmetric Synthesis by Decarboxylases*. **Current Opinion in Biotechnolog**, Vol.11, pp. 520-526.
- Wei, S., Du, H. (2014). *A Highly Enantioselective Hydrogenation of Silyl Enol Ethers Catalyzed by Chiral Frustrated Lewis Pairs*, **J. Am. Chem. Soc.** 136, 12261-12264.
- Williams, R.C., Riley, C.M., Sigvardson, K.W., Fortunak, J., Ma, P., Nicolas, E.C., Unger, S.E., Krahn, D.F. ve Bremmer, S.L. (1998). *Pharmaceutical Development and Specification of Stereoisomers*, **Journal of pharmaceutical and biomedical analysis**,17, 917-924.
- Wu, J.Y ve Liang, T.L. (1999). *Enhancement of Enantioselectivity by Altering Alcohol Concentration for Esterification in Supercritical CO₂*, **J. Chem. Eng.**, 32, 338-340.
- Wujkowska, Z., Jarzyński, S., Pieczonka, A. M., Leśniak, S., Rachwalski, M. (2016). *Highly enantioselective addition of arylzinc reagents to aldehydes promoted by chiral aziridine alcohols*. **Tetrahedron: Asymmetry** 27: 1238-1244.
- Xiao, M., Huang, Y., Chun, M. ve Guo, Y. (2006). *Kinetics of Aasymmetric Reduction of Phenylglyoxylic Acid to R-(-)- Mandelic Acid by Saccharomyces cerevisiae*

FD11b, **Chinese J. Chem. Eng.**, Cilt 14, No 1, 73-80.

Xie, Y., Xu, J., Lu, W., Lin, G. (2009). *Adzuki bean: a new resource of biocatalyst for asymmetric reduction of aromatic ketones with high stereoselectivity and substrate tolerance*. **Bioresour. Technol.** 100, 2463-2468.

Yazıcı H., Mehmetoğlu, U. (2015). *Use of the plant as biocatalysts for producing enantiomerically pure seconder alcohol*. **Journal of the Faculty of Engineering and Architecture of Gazi University**, 30, 49-56.

Zhang, Z., Jain, P., Antilla, J. C. (2011). *Asymmetric Reduction of Ketones by Phosphoric Acid Derived Catalysts*, **Angew. Chem., Int. Ed.** 50, 10961-10964.

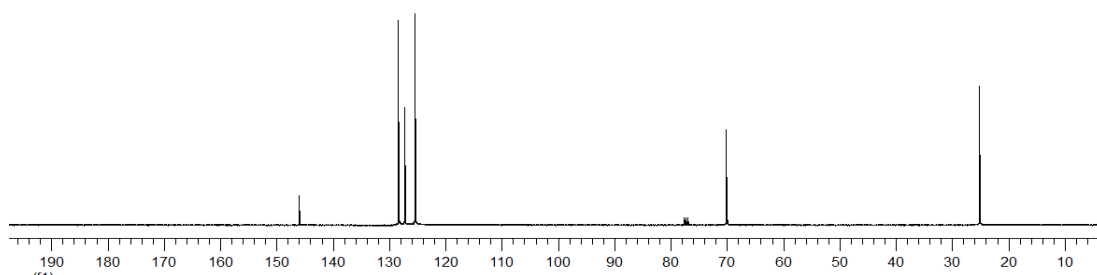
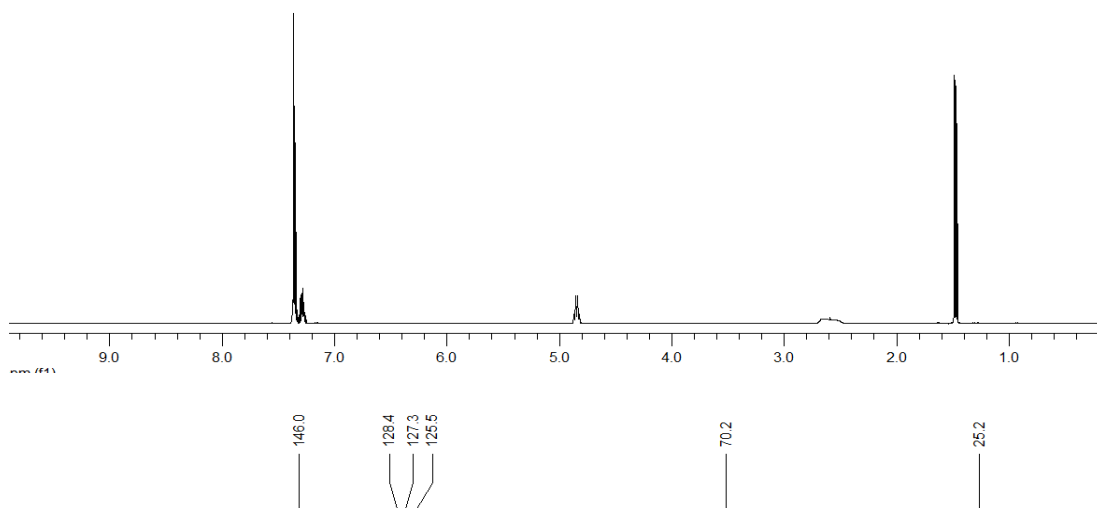
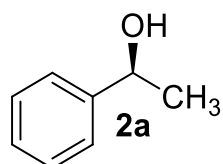
Zilbeyaz, K., Taskin, M., Kurbanoglu, E., Kurbanoglu, N., Kilic, H. (2010). *Production of (R)-1-phenylethanol through bioreduction of acetophenones by a new fungus isolate Trichothecium roseum*. **Tetrahedron: Asymmetry**, 22; 543-547.

Zilbeyaz, K., Kilic, H., Şişecioğlu, M., Ozdemir, H., Güngör, A. A. (2012). *Preparation of enantiomerically pure p-substituted phenylethyl hydroperoxides by kinetic resolution and their use as enantioselective oxidants in the asymmetric Weitz–Scheffer epoxidation of E-chalcone*, **Tetrahedron: Asymmetry**, 23, 594-601.

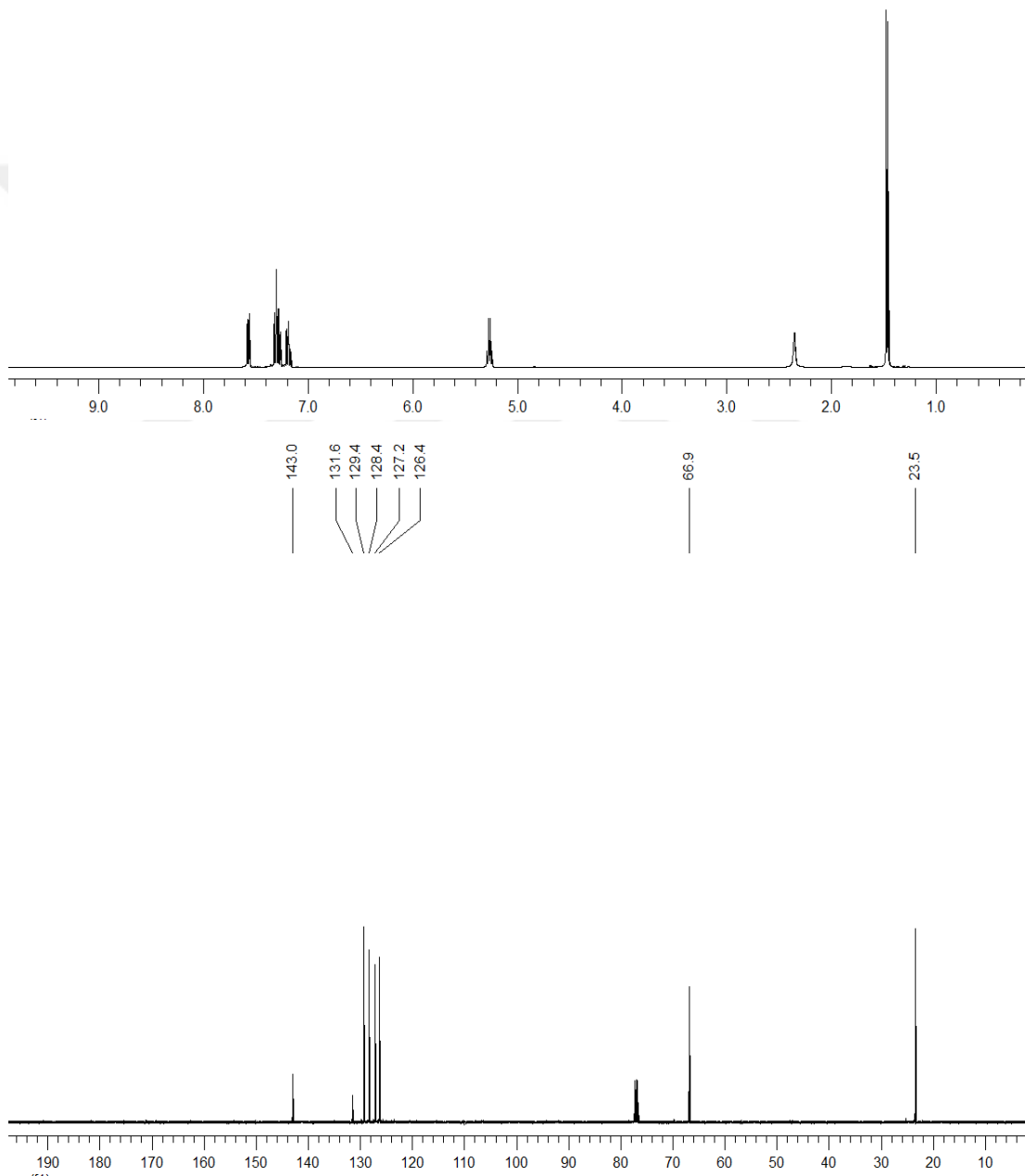
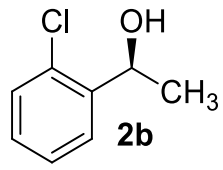
EKLER

EK 1

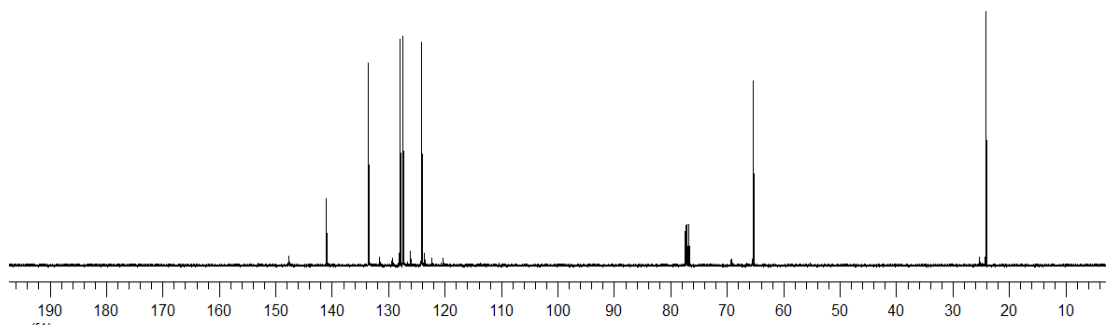
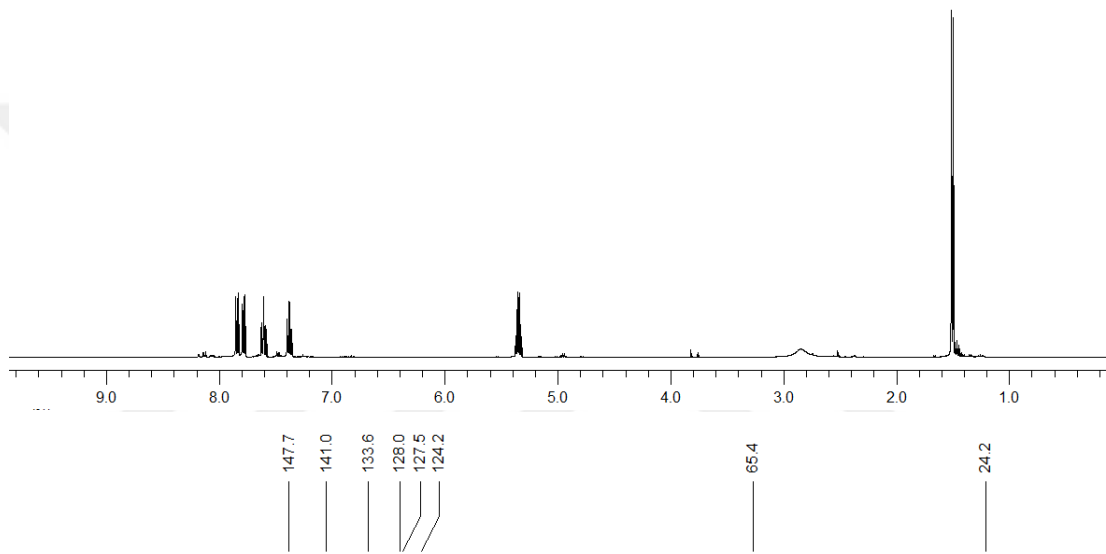
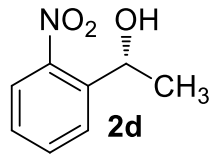
NMR SPEKTRUMLARI



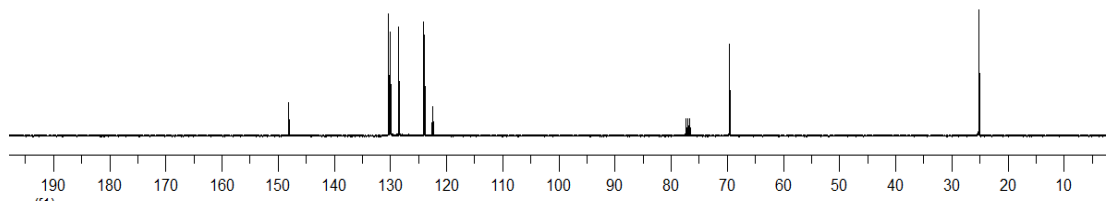
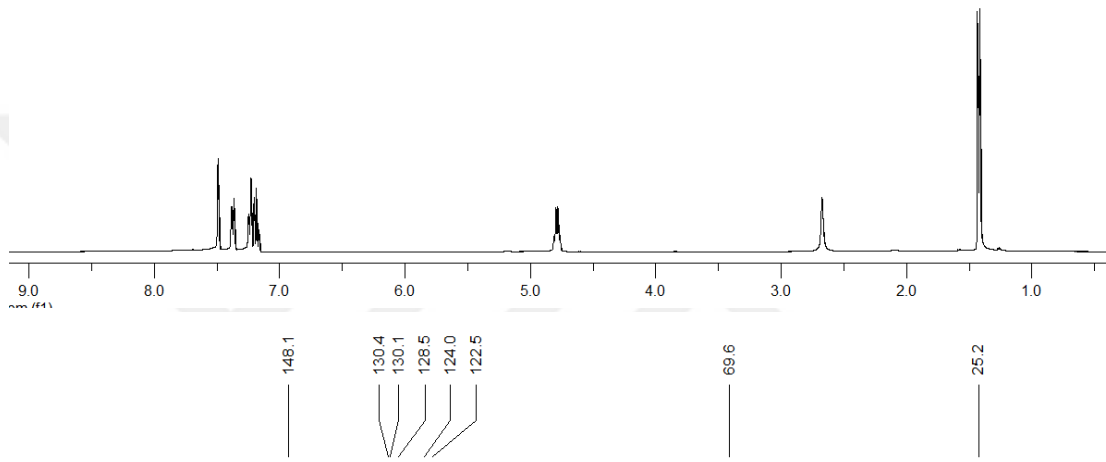
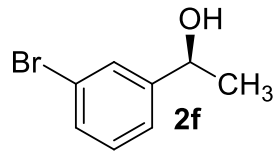
Şekil 1. (S)-1-feniletanol (2a)'nın 400 MHz ¹H ve 100 MHz ¹³C-NMR spektrumları (CDCl₃)



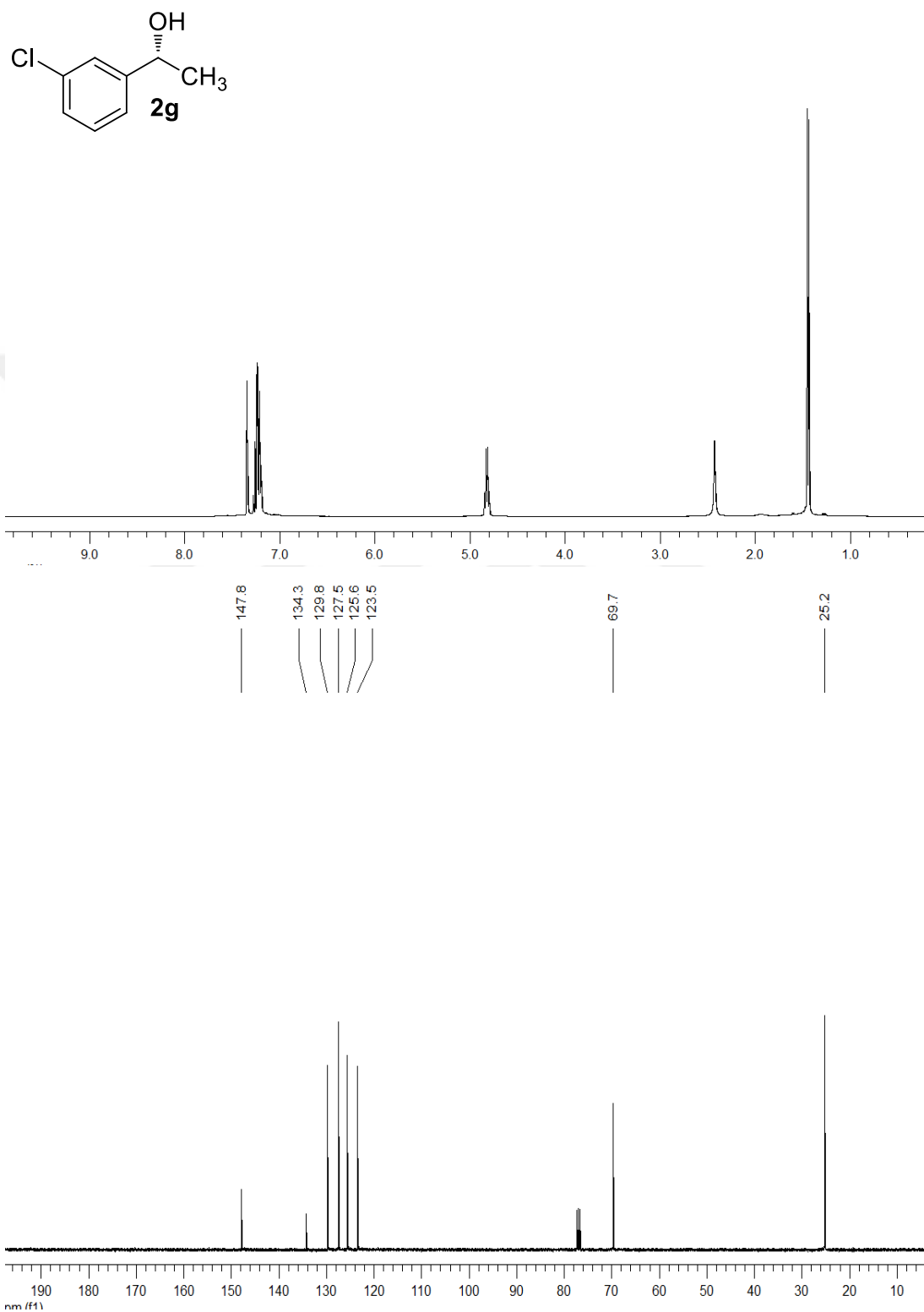
Şekil 2. (*S*)-1-(2-klorofenil)ethanol (**2b**)'nin 400 MHz ^1H ve 100 MHz ^{13}C -NMR spektrumları (CDCl_3)



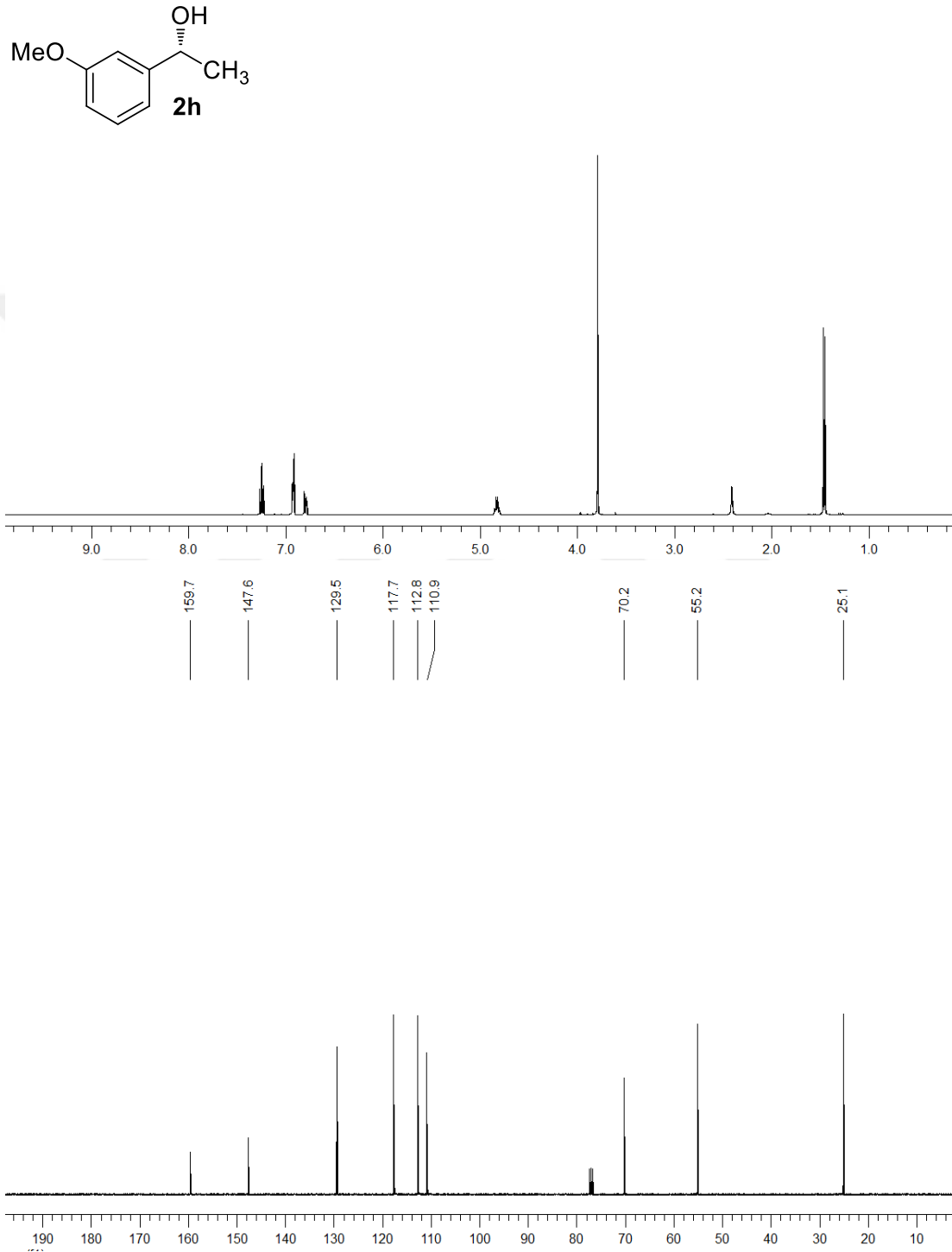
Şekil 3. (*R*)-1-(2-nitro fenil) etanol (**2d**)'nin 400 MHz ^1H ve 100 MHz ^{13}C -NMR spektrumları (CDCl_3)



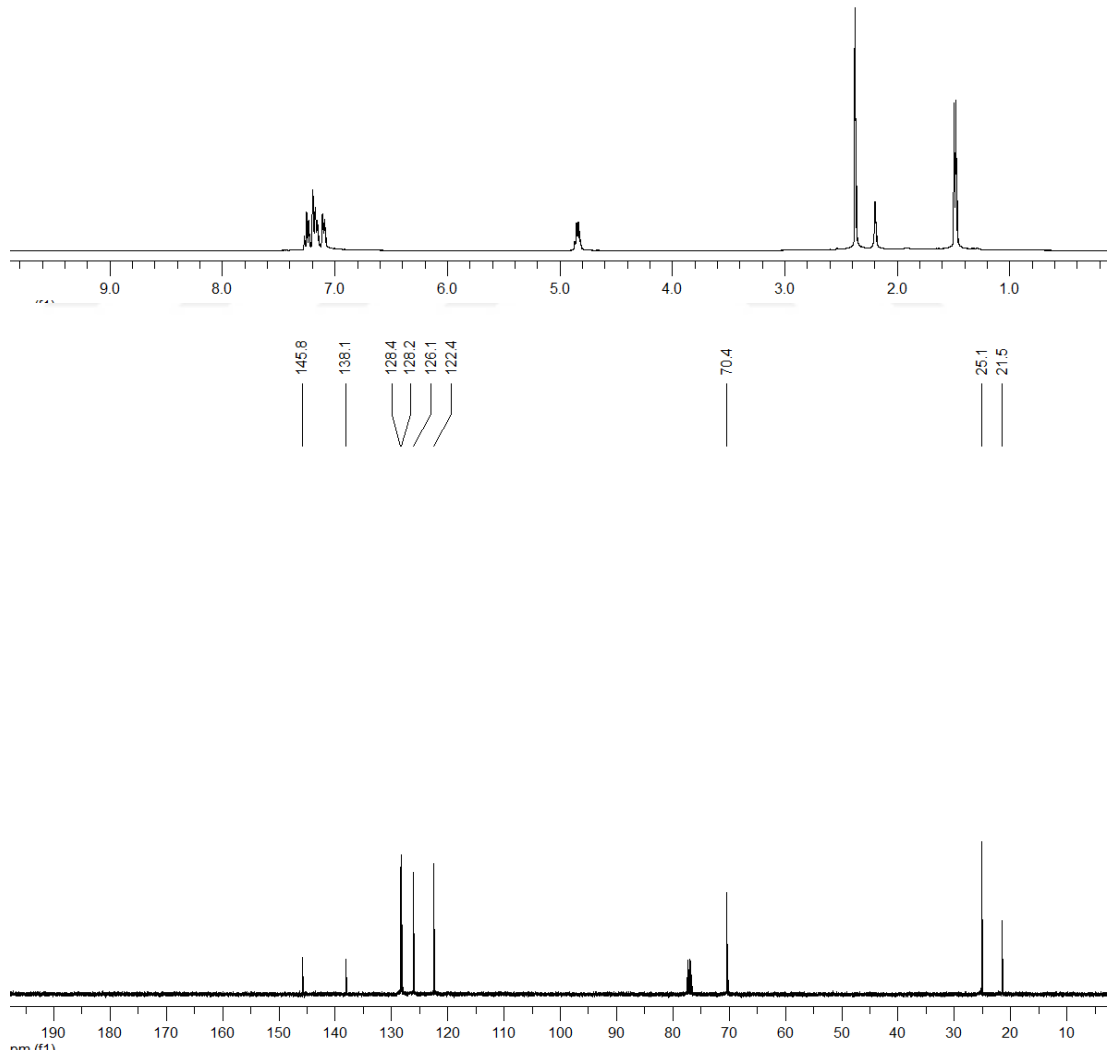
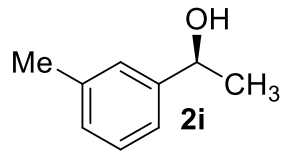
Şekil 4. (*S*)-1-(3-bromo fenil) etanol (**2f**)'nin 400 MHz ^1H ve 100 MHz ^{13}C -NMR spektrumları (CDCl_3)



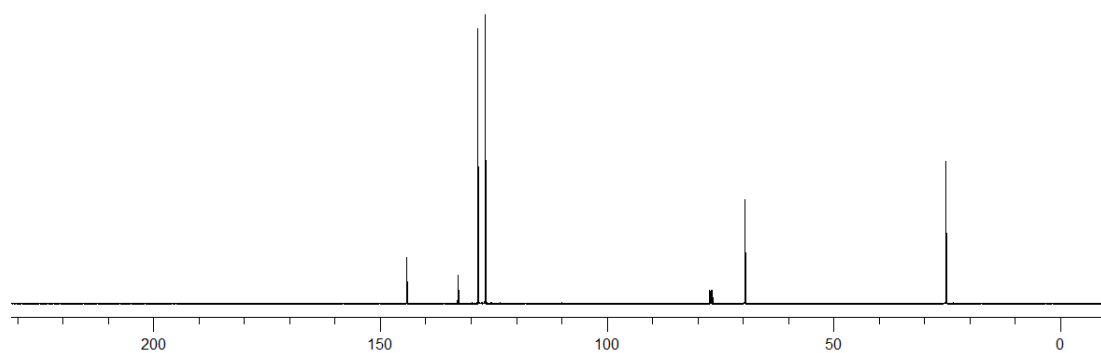
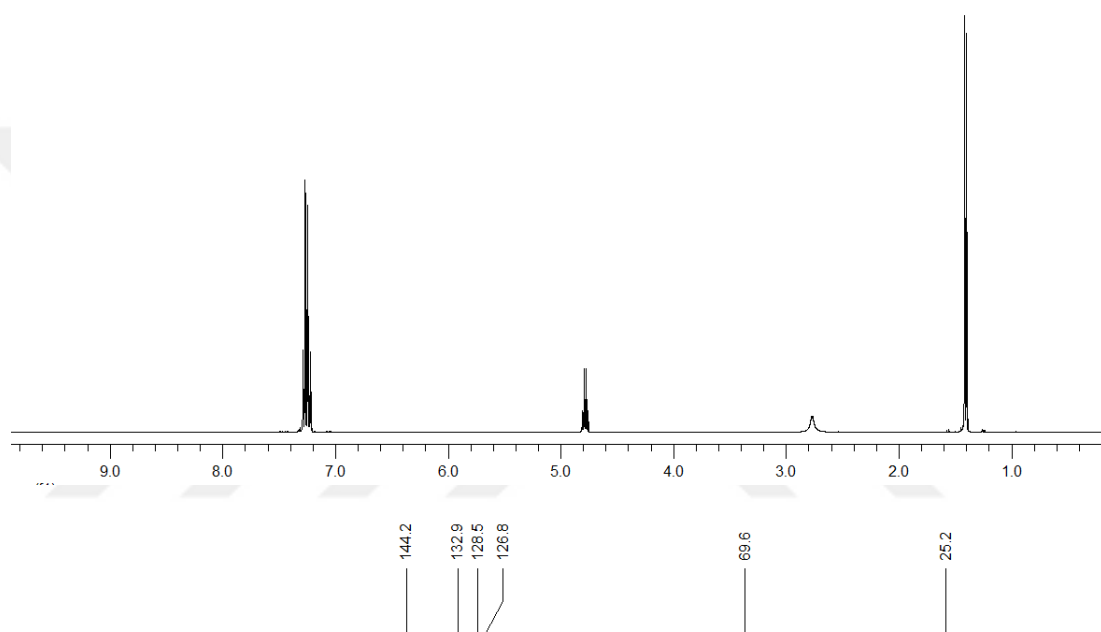
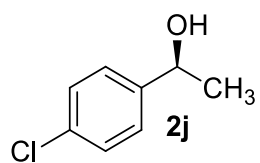
Şekil 5. (*R*)-1-(3-klorofenil) etanol (**2g**)'nin 400 MHz ^1H ve 100 MHz ^{13}C -NMR spektrumları (CDCl_3)



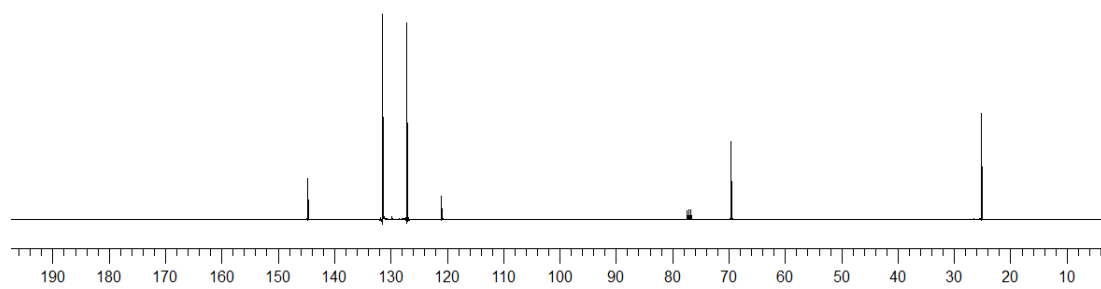
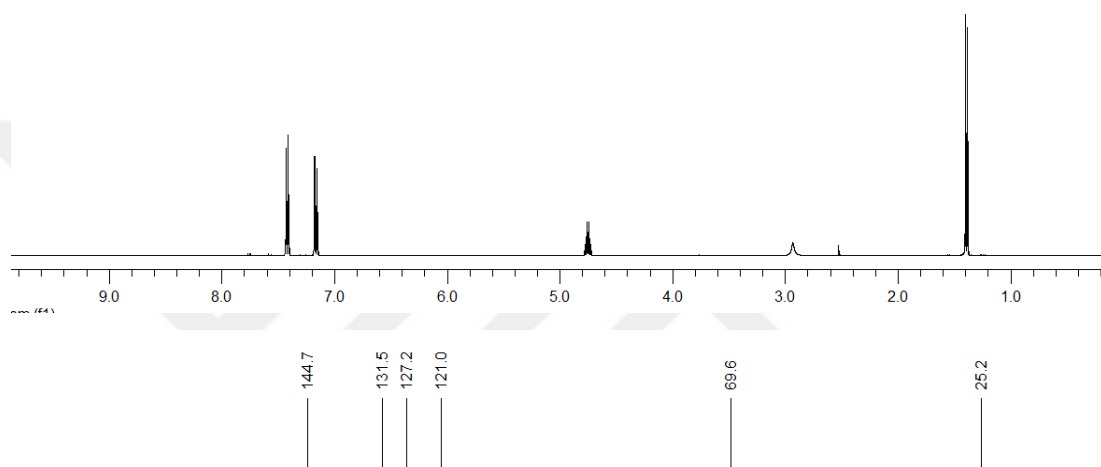
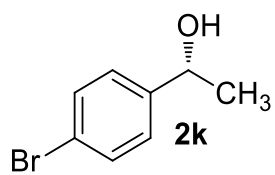
Şekil 6. (*R*)-1-(3-metoksifenil) ethanol (**2h**)'nin 400 MHz ^1H ve 100 MHz ^{13}C -NMR spektrumları (CDCl_3)



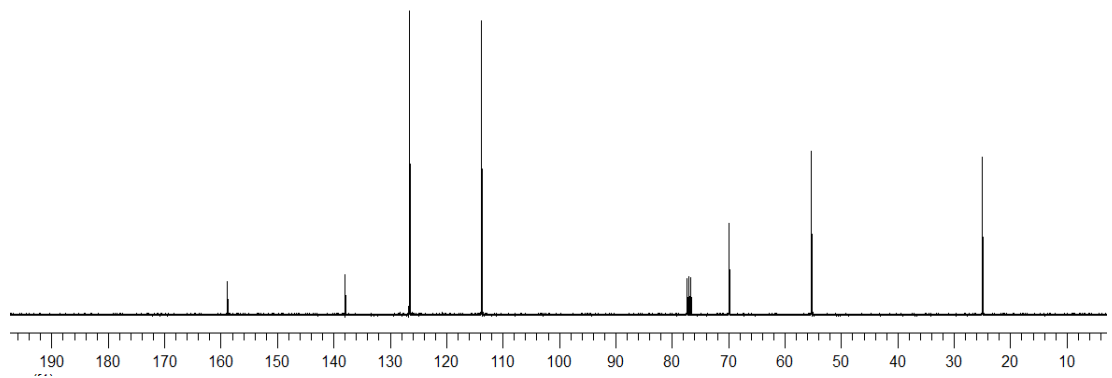
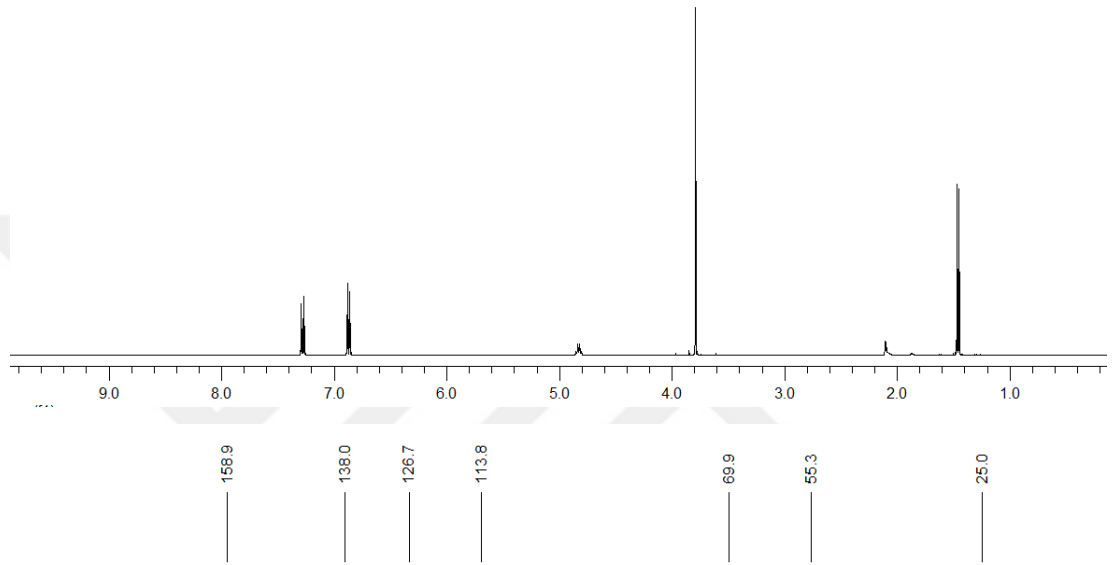
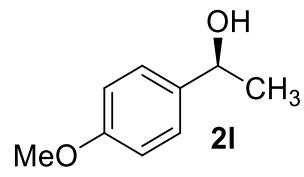
Şekil 7. (*S*)-1-(3-metilfenil) etanol (**2i**)'nin 400 MHz ^1H ve 100 MHz ^{13}C -NMR spektrumları (CDCl_3)



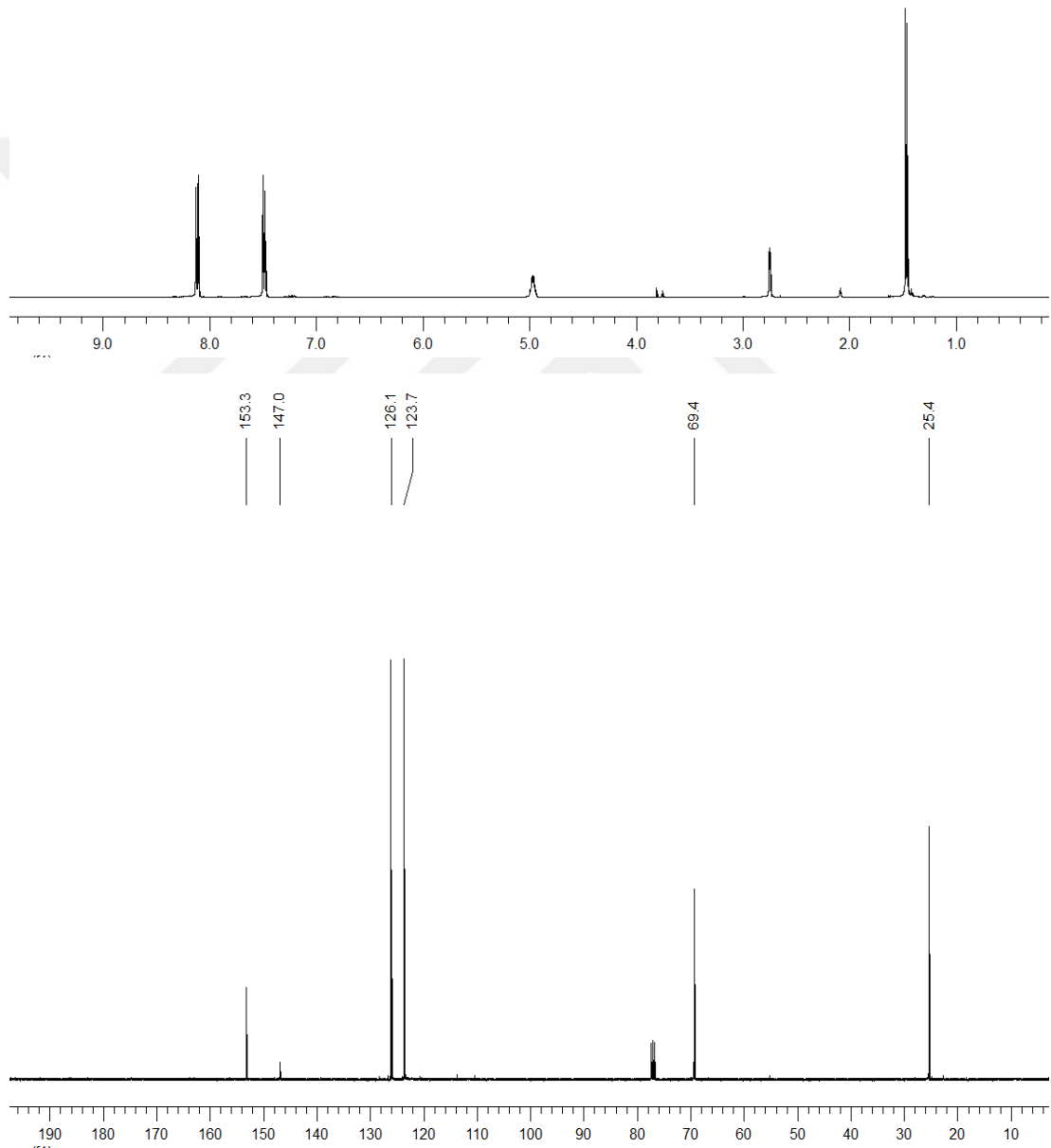
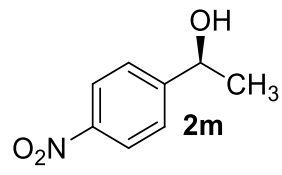
Şekil 8. (*S*)-1-(4-klorofenil)etanol (**2j**)'nin 400 MHz ^1H ve 100 MHz ^{13}C -NMR spektrumları (CDCl₃)



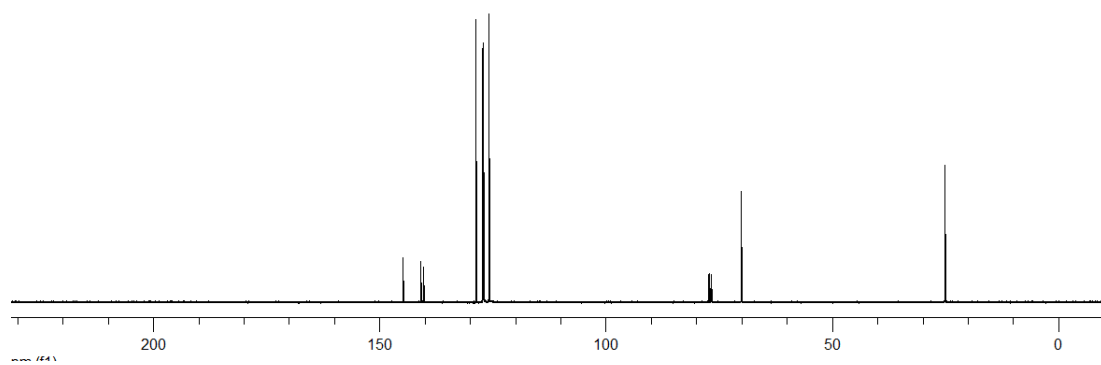
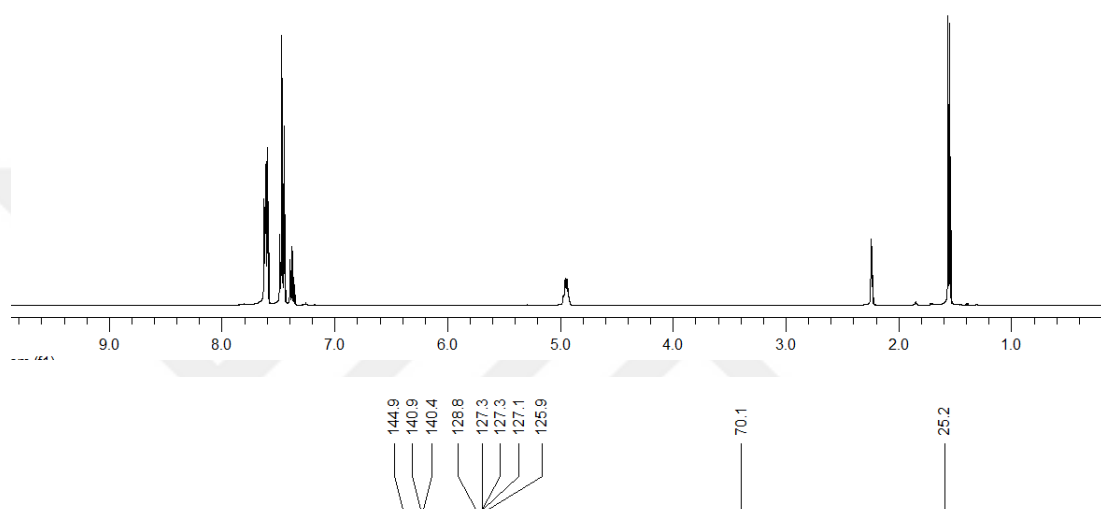
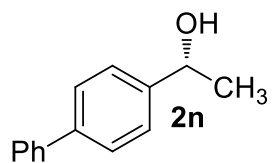
Şekil 9. (*R*)-1-(4-bromofenil)etanol (**2k**)'nin 400 MHz ^1H ve 100 MHz ^{13}C -NMR spektrumları (CDCl₃)



Şekil 10. (*S*)-1-(4-metoksifenil) ethanol (**21**)'nin 400 MHz ^1H ve 100 MHz ^{13}C -NMR spektrumları (CDCl_3)



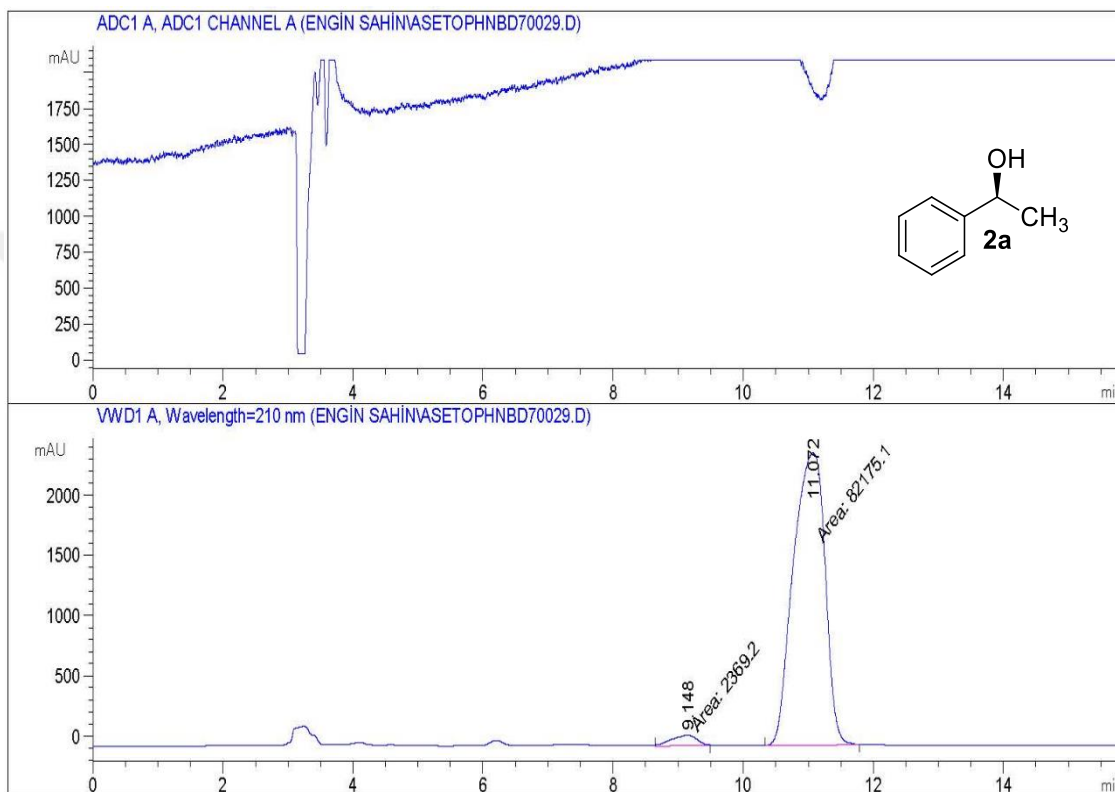
Şekil 11. (*S*)-1-(4-nitrofenil)etanol (**2m**)'nin 400 MHz ^1H ve 100 MHz ^{13}C -NMR spektrumları (CDCl_3)



Şekil 12. (*R*)-1-(*p*-bifenil) etanol (**2n**)'nin 400 MHz ^1H ve 100 MHz ^{13}C -NMR spektrumları (CDCl_3)

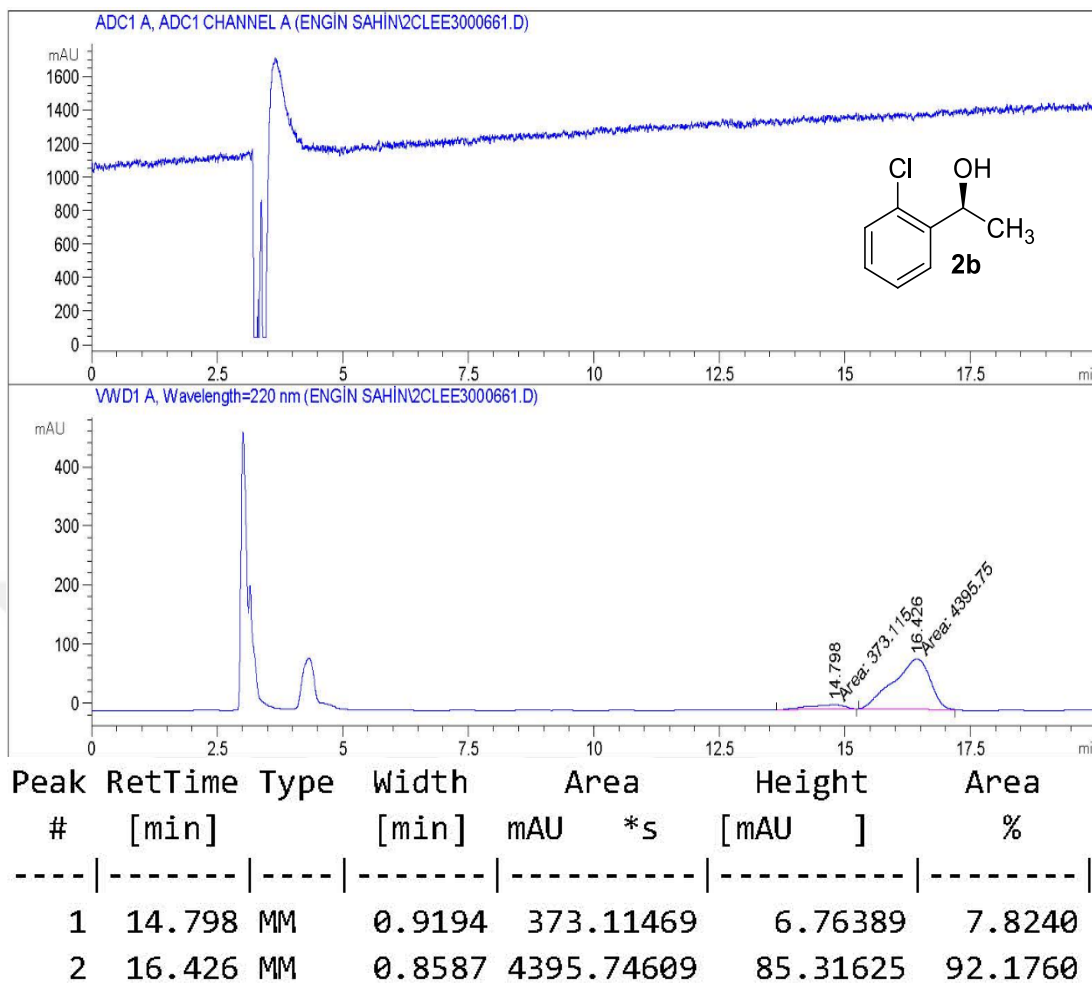
EK 2

HPLC SPEKTRUMLARI

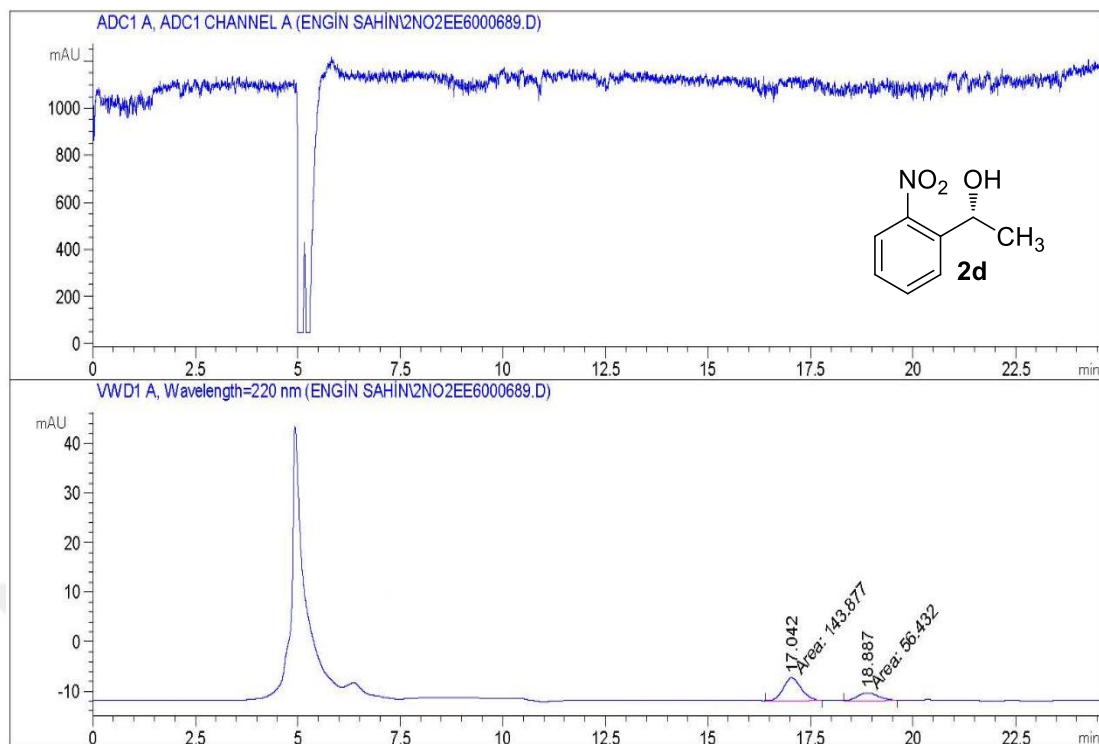


Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area mAU *s	Height [mAU]	Area %
1	9.148	MM	0.4613	2369.19727	85.59320	2.8023
2	11.072	MM	0.5647	8.21751e4	2425.38965	97.1977

Şekil 1. (S)-1-feniletanol (2a)'nın HPLC spektrumu

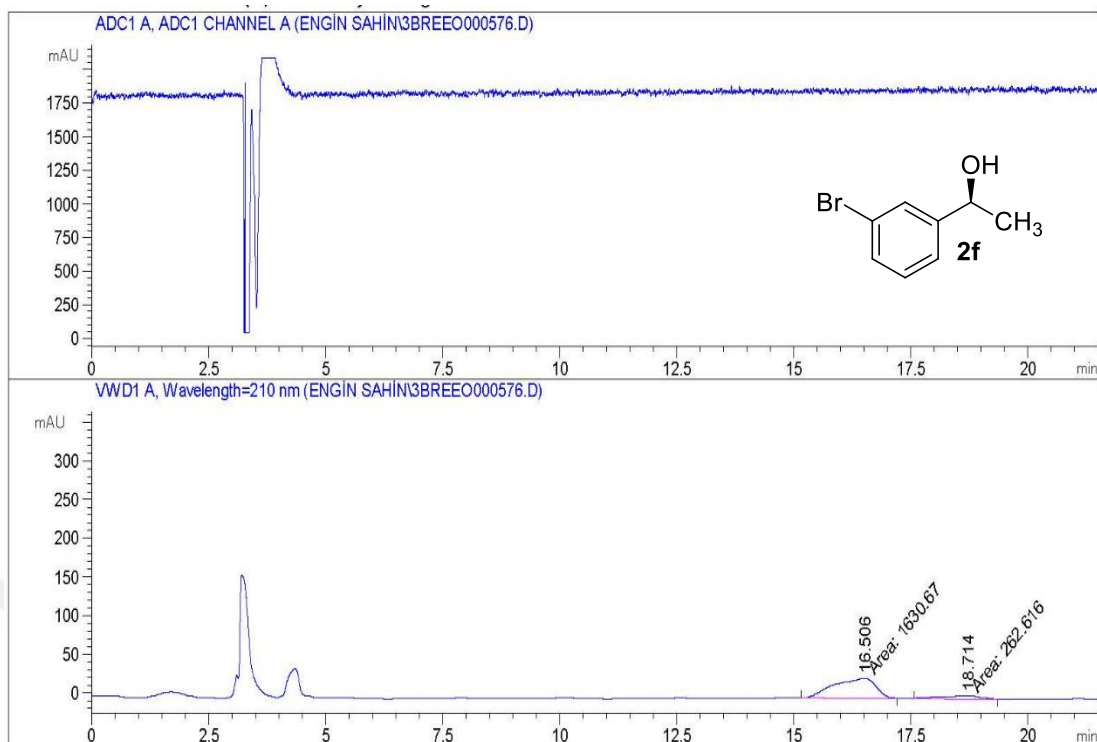


Şekil 2. (S)-1-(2-klorofenil)ethanol (**2b**)'nin HPLC spektrumu



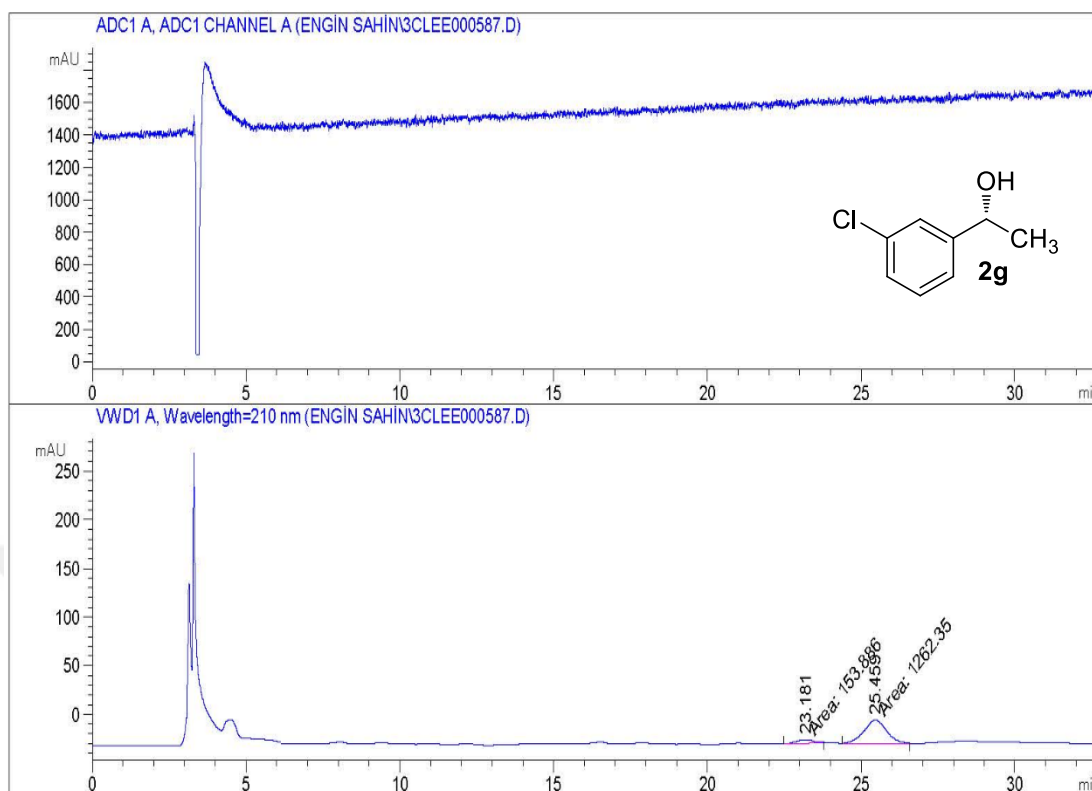
Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area mAU *s	Height [mAU]	Area %
1	17.042	MM	0.5171	143.87694	4.63773	71.8275
2	18.887	MM	0.5961	56.43198	1.57768	28.1725

Şekil 3. (R)-1-(2-nitro fenil) etanol (**2d**)'nin HPLC spektrumu



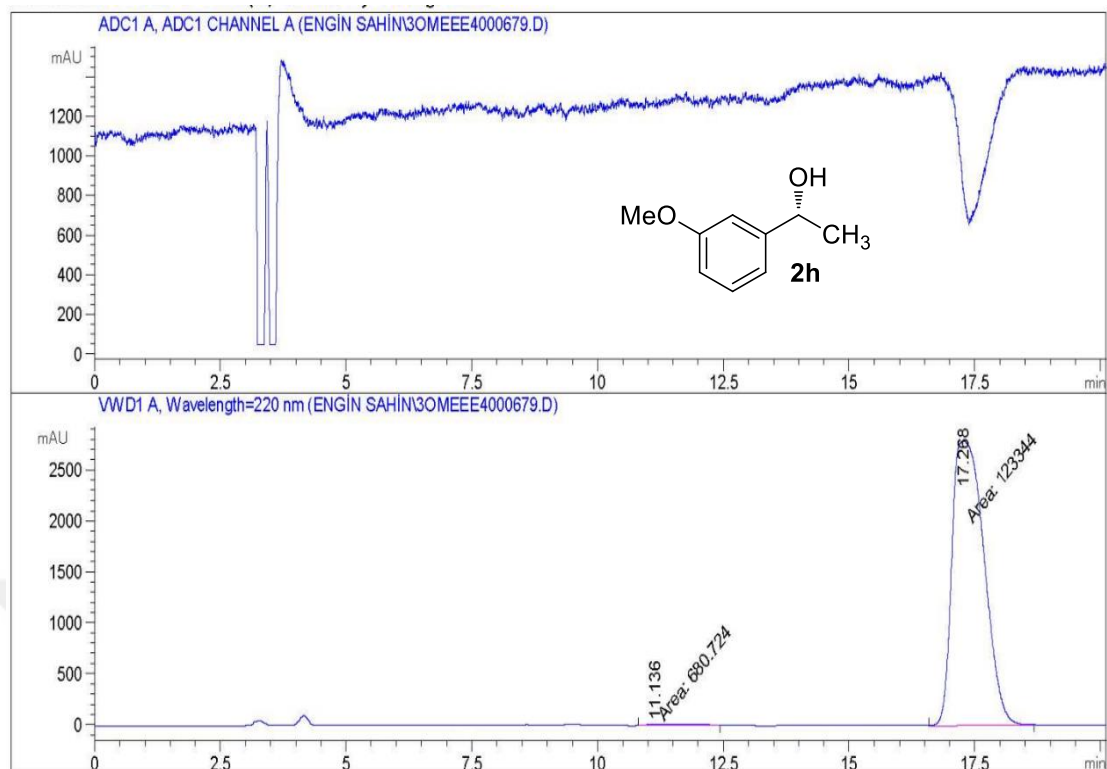
Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area mAU *s	Height [mAU]	Area %
1	16.506	MM	1.0519	1630.67371	25.83777	86.1291
2	18.714	MM	1.1348	262.61578	3.85684	13.8709

Şekil 4. (S)-1-(3-bromo fenil) etanol (**2f**)'nin HPLC spektrumu



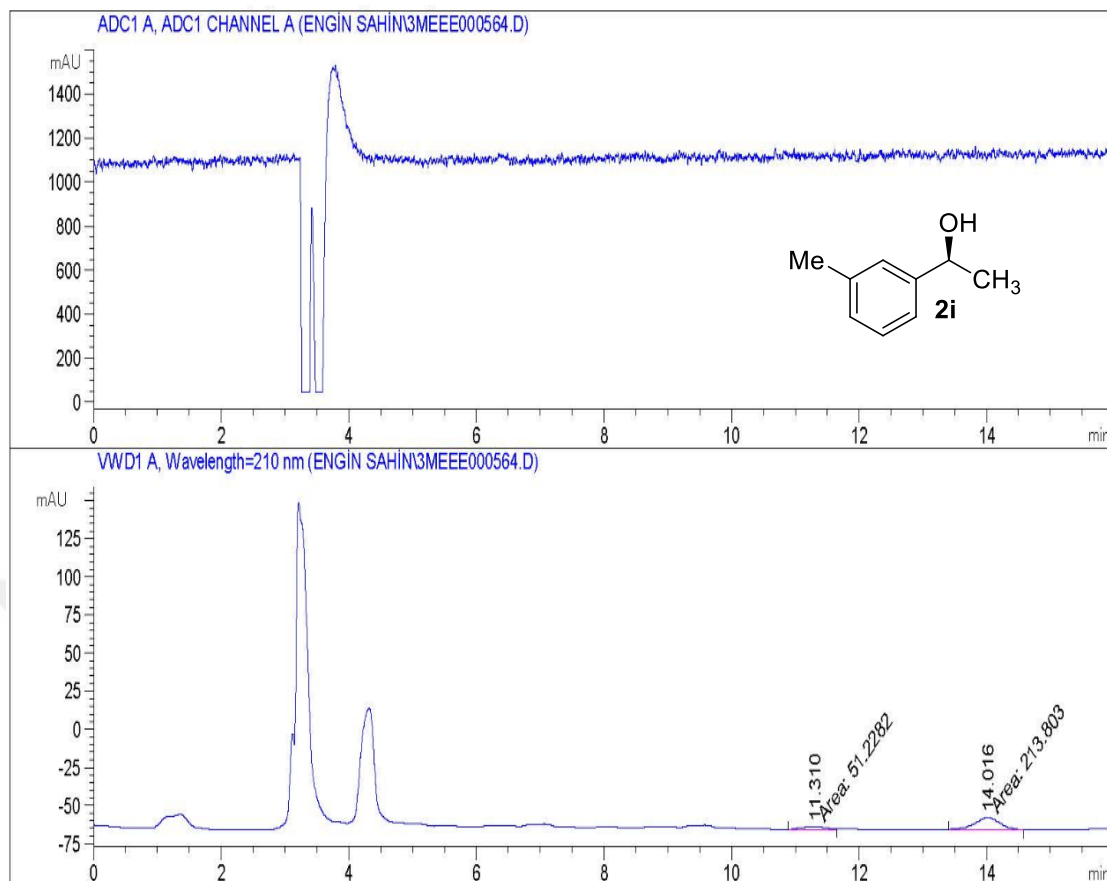
Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area mAU *s	Height [mAU]	Area %
1	23.181	MM	0.6717	153.88594	3.81807	10.8659
2	25.459	MM	0.8642	1262.34583	24.34617	89.1341

Şekil 5. (R)-1-(3-klorofenil) etanol (**2g**)'nin HPLC spektrumu



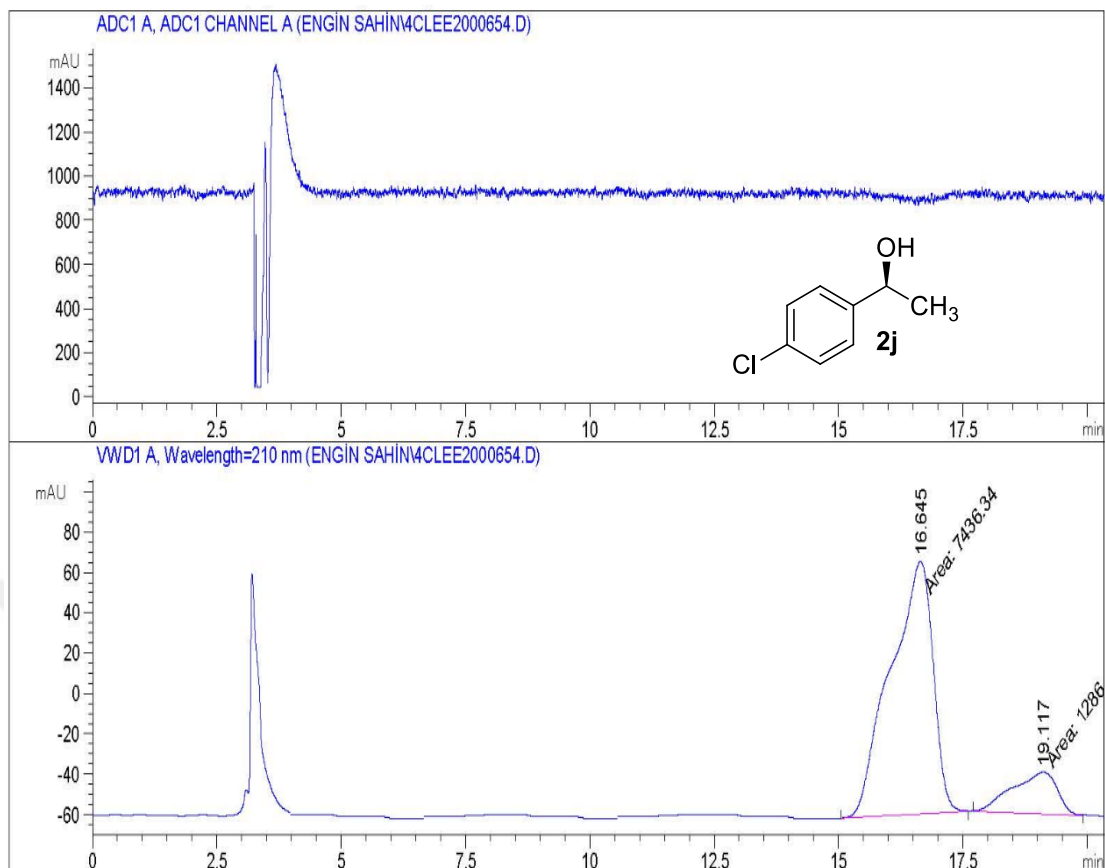
Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area mAU *s	Height [mAU]	Area %
1	11.136	MM	1.1955	680.72443	9.49016	0.5489
2	17.268	MM	0.7365	1.23344e5	2791.09448	99.4511

Şekil 6. (R)-1-(3-metoksifenil) ethanol (**2h**)'nin HPLC spektrumu



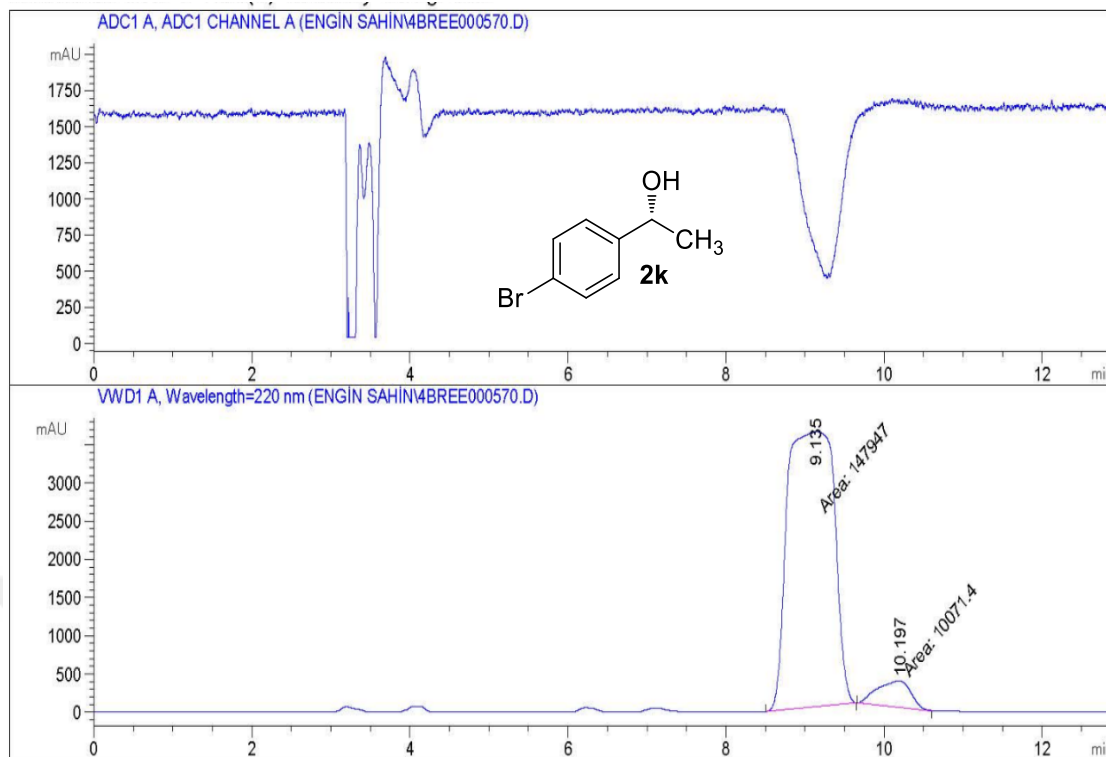
Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area mAU *s	Height [mAU]	Area %
1	11.310	MM	0.4342	51.22817	1.96624	19.3291
2	14.016	MM	0.4537	213.80345	7.85409	80.6709

Şekil 7. (S)-1-(3-metilfenil) etanol (**2i**)'nin HPLC spektrumu



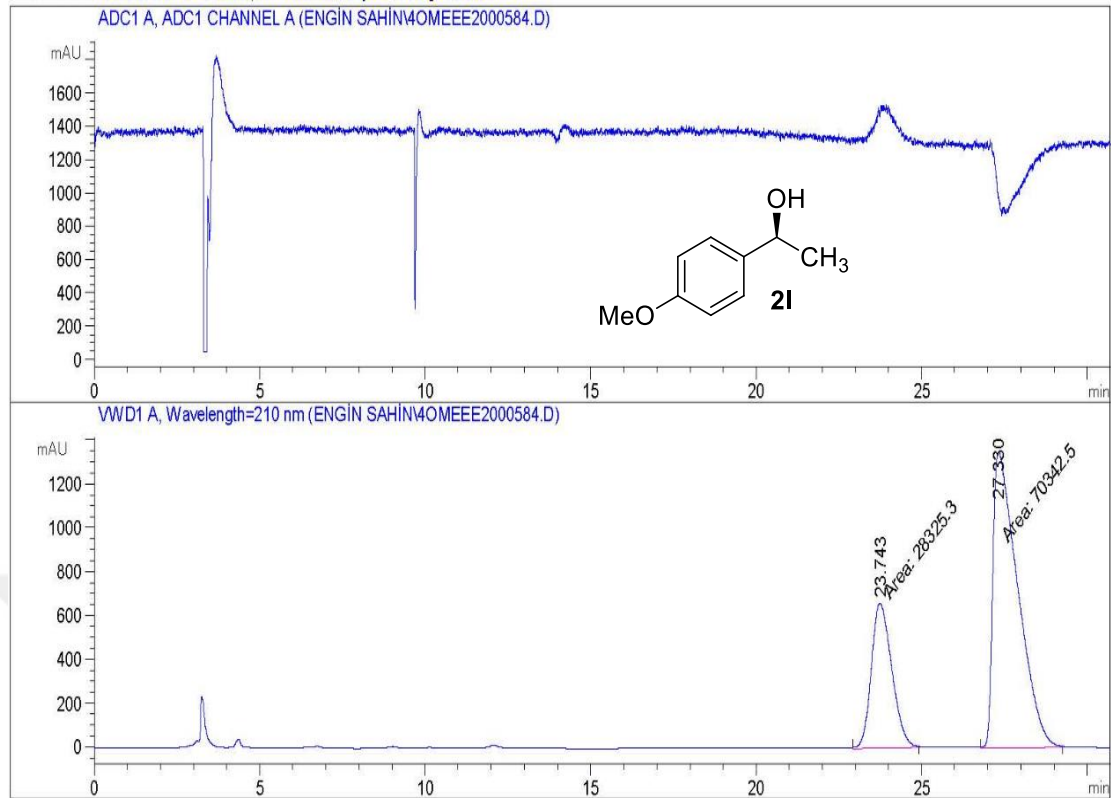
Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area mAU *s	Height [mAU]	Area %
1	16.645	MM	0.9908	7436.34424	125.08751	85.2523
2	19.117	MM	1.0404	1286.40479	20.60756	14.7477

Şekil 8. (S)-1-(4-klorofenil)etanol (**2j**)'nin HPLC spektrumu



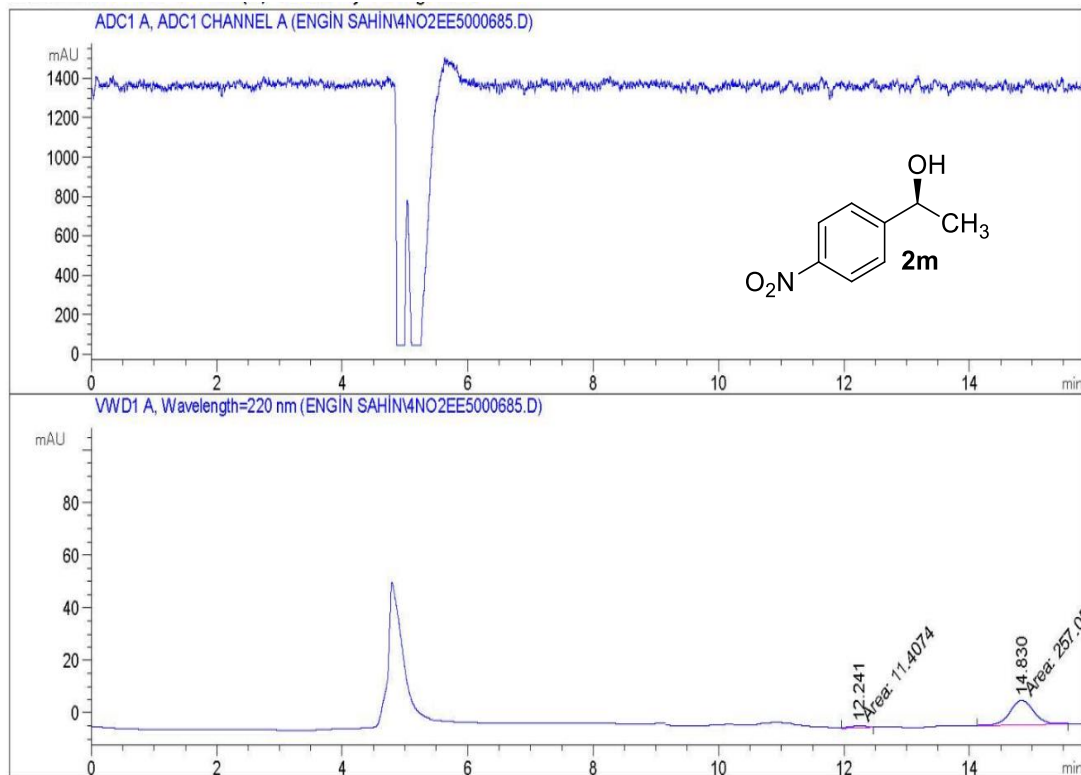
Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area mAU *s	Height [mAU]	Area %
1	9.135	MM	0.6850	1.47947e5	3599.71387	93.6265
2	10.197	MM	0.4785	1.00714e4	350.81705	6.3735

Şekil 9. (R)-1-(4-bromofenil)etanol (**2k**)'nin HPLC spektrumu



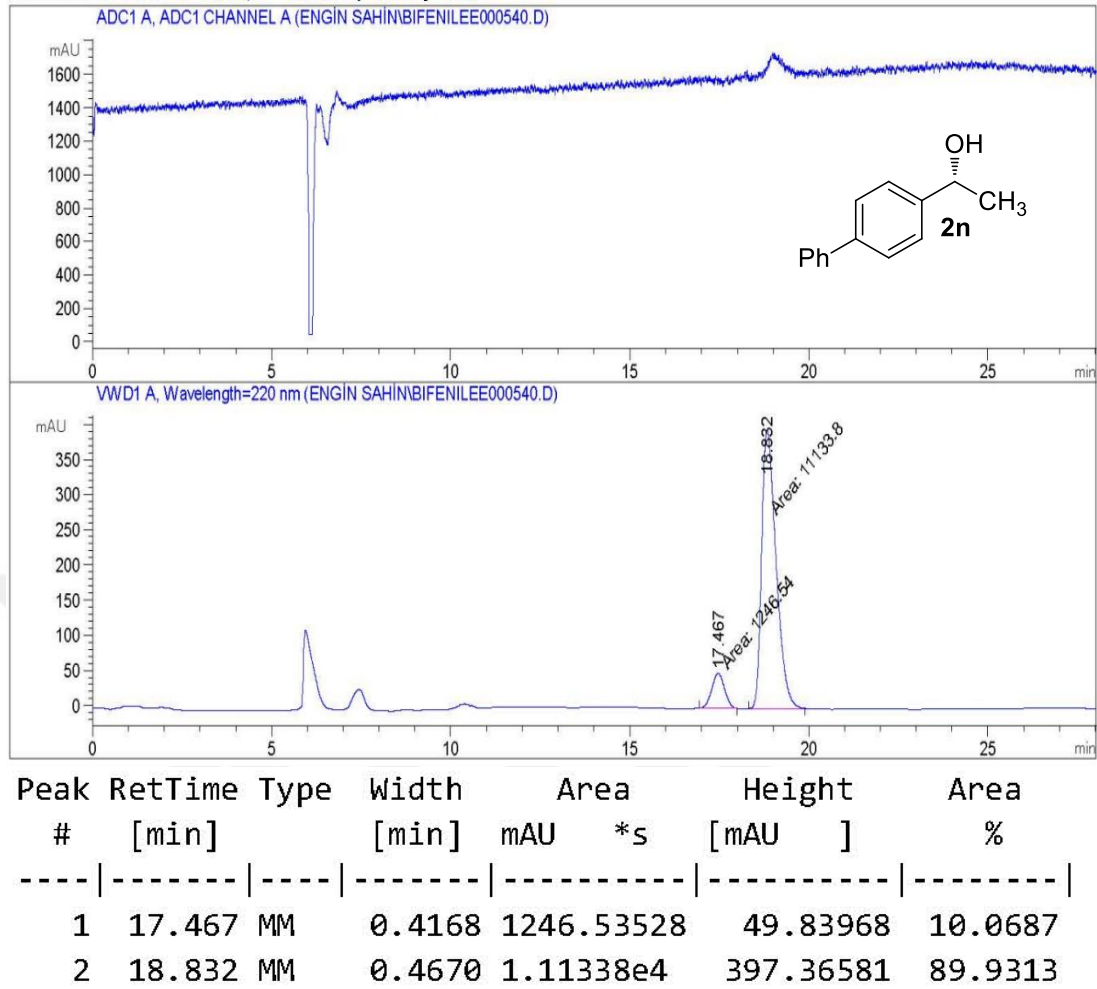
Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area mAU *s	Height [mAU]	Area %
1	23.743	MM	0.7158	2.83253e4	659.50494	28.7077
2	27.330	MM	0.8700	7.03425e4	1347.56616	71.2923

Şekil 10. (S)-1-(4-metoksifenil) ethanol (**2I**)'nin HPLC spektrumu



Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area mAU *s	Height [mAU]	Area %
1	12.241	MM	0.2877	11.40737	6.60806e-1	4.2492
2	14.830	MM	0.4546	257.05441	9.42415	95.7508

Şekil 11. (S)-1-(4-nitrofenil)etanol (**2m**)'nin HPLC spektrumu



Şekil 12. (R)-1-(p-bifenil) etanol (**2n**)'nin HPLC spektrumu

ÖZGEÇMİŞ

Selda ÖKSÜZ



14 Temmuz 1991 yılında Trabzon'da doğdu. İlköğrenimini Kaşüstü İlkokulu'nda tamamladıktan sonra orta öğrenimini Dumlupınar İlkokulu'nda tamamladı. Lise eğitimini Akçaabat Anadolu Lisesi'nde tamamladı. 2010 yılında başladığı Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü'nden 2015 yılında mezun oldu. Aynı yıl Bayburt Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalında yüksek lisans eğitimine başladı.