

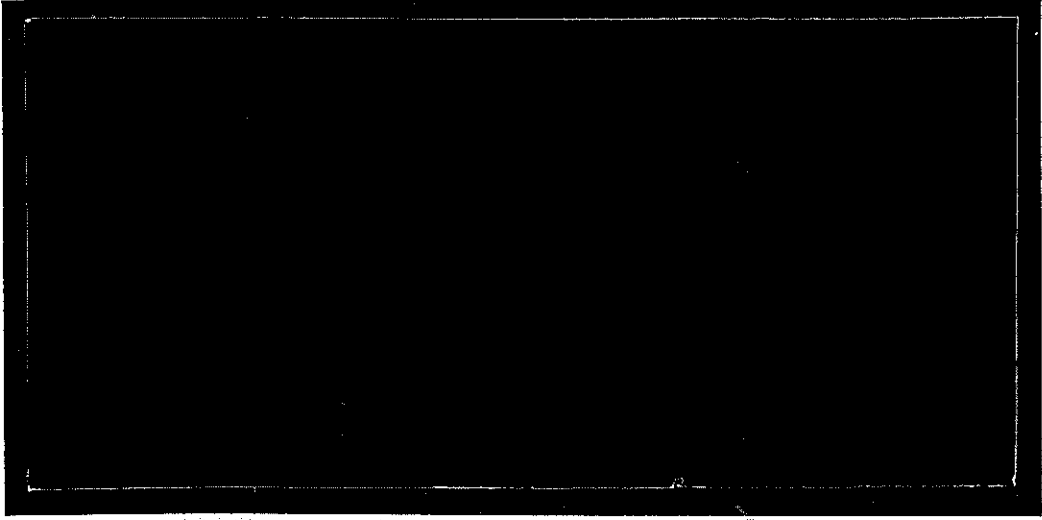
2000-231



TÜBİTAK

TÜRKİYE BİLİMSEL VE
TEKNİK ARAŞTIRMA KURUMU

THE SCIENTIFIC AND TECHNICAL
RESEARCH COUNCIL OF TURKEY



Temel Bilimler Araştırma Grubu
Basic Sciences Research Grant Committee

**EKMEK MAYASI
(*SACCHAROMYCES CEREVISIAE*)
YARDIMI İLE L-3,4-DİHİDROKSİFENİL ALANİN
(L-DOPA) İÇİN YENİ BİR SENTEZ YÖNTEMİ**

PROJE NO: TBAG-1332 (194T033)

**PROF. DR. KEMAL YELEKÇİ
ARŞ. GÖR. SEVİM KARATAŞ
ARŞ. GÖR. M. VEZİR KAHRAMAN
PROF. DR. HALUK HAMAMCI**

HAZİRAN 2000

İSTANBUL

KISALTMALAR

AD	Aminodekarboksilaz
Ac	Asetil
Et	Etil
Me	Metil
DNA	Dezoksiribonükleik asit
LDA	Lityumdiizopropilamid
FT-IR	Fourier Transform Infrared
En	Erime noktası
Kn	Kaynama noktası
NADP	Nikotinamidadeninükleotid
THF	Tetrahidrofüran
NMR	Nükleer manyetik rezonans
¹ H-NMR	Proton-1- nükleer manyetik rezonans
¹³ C-NMR	Karbon-13- nükleer manyetik rezonans
δ	Kimyasal kayma
J	Eşleşme sabiti (Hz)
Hz	Hertz
MHz	Mega Hertz
g	Gram
M	Molarite (mol/L)
L	Litre

mL	Mililitre
ppm	Milyonda bir kısım
CDCl ₃	Döterokloroform
CD ₃ OD	Döterometil alkol
Ar	Aromatik
Ph	Fenil
R	Alkil
s	tekli (singlet)
d	çiftli (doublet)
t	üçlü (triplet)
APT	Bağlı proton test
Δ	Isı
TEMED	NN,N,N-tetrametiletildiamin
PAA	Poliakrilamid
ee	enantiomerik fazlalık (enantiomeric excess)
ITK	İnce tabaka kromatografisi
R	Sağa çeviren (Rectus)
S	Sola çeviren (Sinister)
COMT	Katekol-O-Metil Transferaz
Ter	Tersiyer

ÖNSÖZ

TBAG-1332 No'lu Proje çalışmamızda, ileriki çalışmalarımızda temel teşkil edecek bilgileri edinmemizde bizlere destek oldukları için TÜBİTAK'a , analizlerimizi yaparak bizlere ek destek sağlayan ANKARA-TÜBİTAK Analiz Merkezi'ne, laboratuvar imkanlarını kullandığımız Marmara Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü'ne ve Marmara Üniversitesi Araştırma Fonuna, teşekkür ederiz.

Prof. Dr. Kemal YELEKÇİ

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
KISALTMALAR	I
ÖNSÖZ	III
İÇİNDEKİLER	IV
ÖZET	VIII
SUMMARY	IX
BÖLÜM 1.	1
1.1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
BÖLÜM 2.	2
2.1. Levo Dopa'nın Parkinson Hastalığında Kullanımı	2
2.2. Levo Dopa Sentezi	4
2.3. Çalışmada İzlenen Yöntemler	9
2.4. Ekmek Mayasının Organik Kimya Sentezinde Kullanımı	12
2.4.1. Hücre İmmobilizasyonu	14
2.4.2. Hücre İmmobilizasyon Yöntemleri	15
2.4.2.1. Adsorbsiyon Ve Kovalent Bağlanma	16
2.4.2.2. Tutuklama	16
2.4.2.3. Gözenekli Bir Baryier Arkasına Hapsetme	16
2.4.2.4. Çökeltme Veya Yığılma	16
2.5. İmmobilize Hücrelerin Biyolojik Özellikleri	16
2.6. Ekmek Mayası İle İndirgeme Çalışmaları	17
2.7. α -Halojeno- α,β -Doymamış Esterlerin Sentezi	21
2.7.1. α -Silil Karbanyon Yöntemi	21
2.7.2. Deaçilleme Yöntemi	23
2.7.2.1. Çalışmada İzlenen Yöntem	24
2.7.3. Wittig Reaksiyonu Yöntemiyle	25
2.7.3.1. Fosfor Ylidleri	26
2.7.3.2. Wittig Reaksiyonunun Stereokimyası Ve Mekanizması	29
2.7.3.3. Fosfor Ylidlerin α -Halojeno- α,β -Doymamış Ester Sentezinde Kullanımı	31
2.7.3.4. Çalışmada İzlenen Yöntem	33

BÖLÜM 3. DENEYSEL ÇALIŞMALARDA KULLANILAN

KİMYASAL MADDELER VE CİHAZLAR	35
3.1. Deneysel Çalışmalarda Kullanılan Kimyasal Maddeler	35
3.2. Deneysel Çalışmalarda Kullanılan Cihazlar	40
3.3. Sentezlenen Bileşiklerle İlgili Reaksiyonlar	41
3.3.1. 21 ve 22 Bileşiklerinin Sentezi	41
3.3.2. 40 Bileşiğinin Sentezi	43
3.3.3. 41 Bileşiğinin Sentezi	44
3.4. DENEYSEL YÖNTEMLER	46
3.4.1. Deaçilleme Yöntemi İle Z-Etil-(3,4-Disübstitüefenil)-2-Kloro-2-Propenoat Denemesi	46
3.4.2. Wittig Reaksiyonu	48
3.4.2.1. Halofosforanların Sentezi	48
I. Bromoasetik Asit Sentezi	48
II. Etilbromoasetat Sentezi	49
III. Trifenilkarbetoksümetilenfosforanın Hazırlanması	50
IV. Trifenilkarbetoksibromometilenfosforanın Hazırlanması	51
V. Trifenilkarbetoksiklorometilenfosforanın Hazırlanması	52
V.1. Klor Gazı Üretimi	52
V.2. Trietilamin Varlığında Klor Gazı Katılması	52
V.3. Sodyumhidroksit Çözeltisi Varlığında Klor Gazı Katılması	53
3.4.2.2. α -Halojeno- β -Aril- α, β -Doymamış Ester Bileşiklerinin sentezi	54
I. Z-Etil-3-Fenil-2-Bromo-2-Propenoat Sentezi	54
II. Z-Etil-3-(3,4-Dimetoksifenil)-2-Bromo-2-Propenoat Sentezi	55
III. Z-Etil-3-(3,4-Dimetoksifenil)-2-Kloro-2-Propenoat Sentezi	57
3.4.3. 2-Asetamino-3-(3,4-Disübstitüefenil)-2-Propenoik Asit Sentezi	59
I. N-Asetil Glisin Sentezi	59
II. 2-Asetamino-3-(3,4-Dimetoksifenil)-2-Propenoik Asit Sentezi	60
II.1. 2-Metil-4-(3,4-Dimetoksifenilmetilen)-5(4H)-Oksazolun Sentezi	60
II.2. 2-N-asetil-3-(3,4-Dimetoksifenil)-2-Propenoik Asit Sentezi	61
III. 2-Asetamino-3-(3,4-O,O-Diasetilfenil)-2-Propenoik Asit Sentezi	62
III.1. 2-Metil-4-(3,4-O,O-Diasetilfenilmetilen)-5(4H)-Oksazolun Sentezi	62
III..2. 2-N-asetil-3-(3,4-O,O-Diasetilfenil)-2-Propenoik Asit Sentezi	63

3.5. Ekmek Mayası (<i>Saccharomyces Cerevisiae</i>) İle Karbon Karbon Çift Bağının İndirgenmesine Yönelik Çalışmalar	65
3.5.8. İmmobilize Maya İle Yapılan Denemeler	69
I. Ekmek Mayasının Sodyum Alginat İle İmmobilizasyonu	69
II. Poliakrilamid İle Ekmek Mayasının İmmobilizasyonu	70
III. 20,21,22,40,41 Bileşiklerinin İmmobilize Mayalar İle Yapılan İndirgenme Denemeleri	71
3.6. 40,41 Bileşiklerinin Pd/C İle Hidrojenasyonu	72
3.6.1. α -Asetamino-3,4-Dimetoksifenilalanin Sentezi	72
3.6.2. α -Asetamino-3,4-O,O-Diasetilfenilalanin Sentezi	73
BÖLÜM 4. DENEY SONUÇLARI VE TARTIŞMA	76
4.1. Sentezlenen Maddelerin Spekturum Yorumları	76
4.2. Ekmek Mayası İle İndirgeme Çalışmaları	83
BÖLÜM 5. SENTEZLENEN MADDELERİN SPEKTURUM ŞEKİLLERİ	89
Şekil 5.1. (87) Bileşiğinin FT-IR Spekturumu	90
Şekil 5.2. (15) Bileşiğinin FT-IR Spekturumu	91
Şekil 5.3. (16) Bileşiğinin FT-IR Spekturumu	92
Şekil 5.4.1. (20) Bileşiğinin FT-IR Spekturumu	93
Şekil 5.5.1 (22) Bileşiğinin FT-IR Spekturumu	94
Şekil 5.5.2. (22) Bileşiğinin $^1\text{H-NMR}$ Spekturumu	95
Şekil 5.5.3. (22) Bileşiğinin $^{13}\text{C-NMR}$ Spekturumu	96
Şekil 5.5.4. (22) Bileşiğinin Kütle Spekturumu	97
Şekil 5.6.1 (21) Bileşiğinin FT-IR Spekturumu	98
Şekil 5.6.2. (21) Bileşiğinin $^1\text{H-NMR}$ Spekturumu	99
Şekil 5.6.3. (21) Bileşiğinin $^{13}\text{C-NMR}$ Spekturumu	100
Şekil 5.6.4. (21) Bileşiğinin Kütle Spekturumu	101
Şekil 5.7. (37) Bileşiğinin FT-IR Spekturumu	102
Şekil 5.8. (38) Bileşiğinin FT-IR Spekturumu	103
Şekil 5.9.1 (40) Bileşiğinin FT-IR Spekturumu	104
Şekil 5.9.2. (40) Bileşiğinin $^1\text{H-NMR}$ Spekturumu	105
Şekil 5.9.3. (40) Bileşiğinin $^{13}\text{C-NMR}$ Spekturumu	106
Şekil 5.9.4. (42) Bileşiğinin FT-IR Spekturumu	107

Şekil 5.9.5.	(42) Bileşğinin ¹ H-NMR Spekturumu	108
Şekil 5.9.6.	(42) Bileşğinin ¹³ C-NMR Spekturumu	109
Şekil 5.10.	(39) Bileşğinin FT-IR Spekturumu	110
Şekil 5.11.1	(41) Bileşğinin FT-IR Spekturumu	111
Şekil 5.11.2.	(41) Bileşğinin ¹ H-NMR Spekturumu	112
Şekil 5.11.3.	(41) Bileşğinin ¹³ C-NMR Spekturumu	113
Şekil 5.11.4.	(43) Bileşğinin FT-IR Spekturumu	114
Şekil 5.11.5.	(43) Bileşğinin ¹ H-NMR Spekturumu	115
Şekil 5.11.6.	(43) Bileşğinin ¹³ C-NMR Spekturumu	116
BÖLÜM 6.	KAYNAKLAR	117

ÖZET

Ekmek mayası (*saccharomyces cerevisiae*) ucuz ve kolay bulunan bir reaktif olmasına karşın, organik kimyada yaptığı tepkimeler hem ilginç hem de diğer sentez yöntemleri ile yapılması ya imkansız ya da çok zordur.

Bu amaçla klasik organik sentez yöntemleri, kullanılarak daha önce sentezi bu yolla denenmeyen, anti parkinson ilacı L-3,4-dihidroksifenilalanin'in sentezine yönelik ikisi orjinal olan dört önemli substrat hazırlanmıştır. Prokiral olan bu substratlardan; Z-etil-2-kloro-3,4-dimetoksisinamat (21) ve Z-etil-2-bromo-3,4-dimetoksisinamat (22) bileşikleri ilk kez bu çalışmada sentezlenmiş olup, diğer iki substrat; 2-N-asetil-3-(3,4-dimetoksifenil)-2-propenoik asit (40) ve 2-N-asetil-3-(3,4-O,O-diasetilfenil)-2-propenoik asit (41) bileşiklerinin sentezine yönelik çalışmalar daha önce, rapor edilmiştir.

21, 22, 40, 41 substratların, üzerinde bulunan karbon karbon çift bağının , stereospesifik olarak ekmek mayası (*saccharomyces cerevisiae*), yardımı ile indirgemeleri, ilk kez bu çalışmada denenmiştir.

Ayrıca, 40 , 41 bileşikleri, Pd/C üzerinde indirgenmiştir.

SUMMARY

Baker's Yeast is a readily available and a cheap reagent which accomplishes astonishing reactions. In some cases, carrying out these reactions are either very difficult or impossible with classical synthesis.

In this study four substrates (21, 22, 40, 41) whose synthesis have not been tried before with this method were prepared with classical organic synthesis to be used in the synthesis of an antiparkinson drug, L-3,4-dihydroxy-phenylalanine (L-DOPA).

Two of the prochiral substrates; *Z*-ethyl-2-chloro-3,4-dimethoxycinnamate (21) and *Z*-ethyl-2-bromo-3,4-dimethoxycinnamate (22) are original compounds and the other two 2-N-acetyl-3-(3,4-dimethoxyphenyl)-2-propenoic acid (40) and 2-N-acetyl-3-(3,4-O,O-diacetylphenyl)-2-propenoic acid (41) were reported before.

Stereospecific reduction of carbon-carbon double bond which is present in these substrates (21, 22, 40, 41) was tried by baker's yeast (*saccharomyces cerevisiae*) for the first time in this work.

Possibility of reduction some of the compounds (40, 41) were also tried on Pd/C.

BÖLÜM 1.

1.1. GİRİŞ VE AMAÇ

Mayalar, insanlığın başlangıcından beri ekmek, günlük ürünler ve alkollü içeceklerin üretiminde yaygın olarak kullanılan tek hücreli canlılardır. Yaklaşık 160 maya türünden en çok bilineni, *saccharomyces cerevisiae*'dir. Bu maya türü, şarap, bira gibi alkollü içeceklerin üretiminde ve ekmek yapımında kullanılır.

Ekmek mayasının (*saccharomyces cerevisiae*), indirgeme özelliği, 1874 yılında ilk kez Dumas tarafından ileri sürüldü. Literatürde, bu maya türünün, indirgeme özelliğinden yararlanarak, yapılan çok çalışma vardır.

Ekmek mayasının ucuz ve kolay bulunan bir reaktif olması, akiral yüzeye sahip olması, organik kimya sentezlerinde çok kullanılmasına neden olmuştur.

Bu çalışmada, bir anti-Parkinson ilacı olan levo dopanın sentezinde kullanılmak üzere, ikisi orjinal dört substurat (21, 22, 40, 41) sentezlenmiştir.

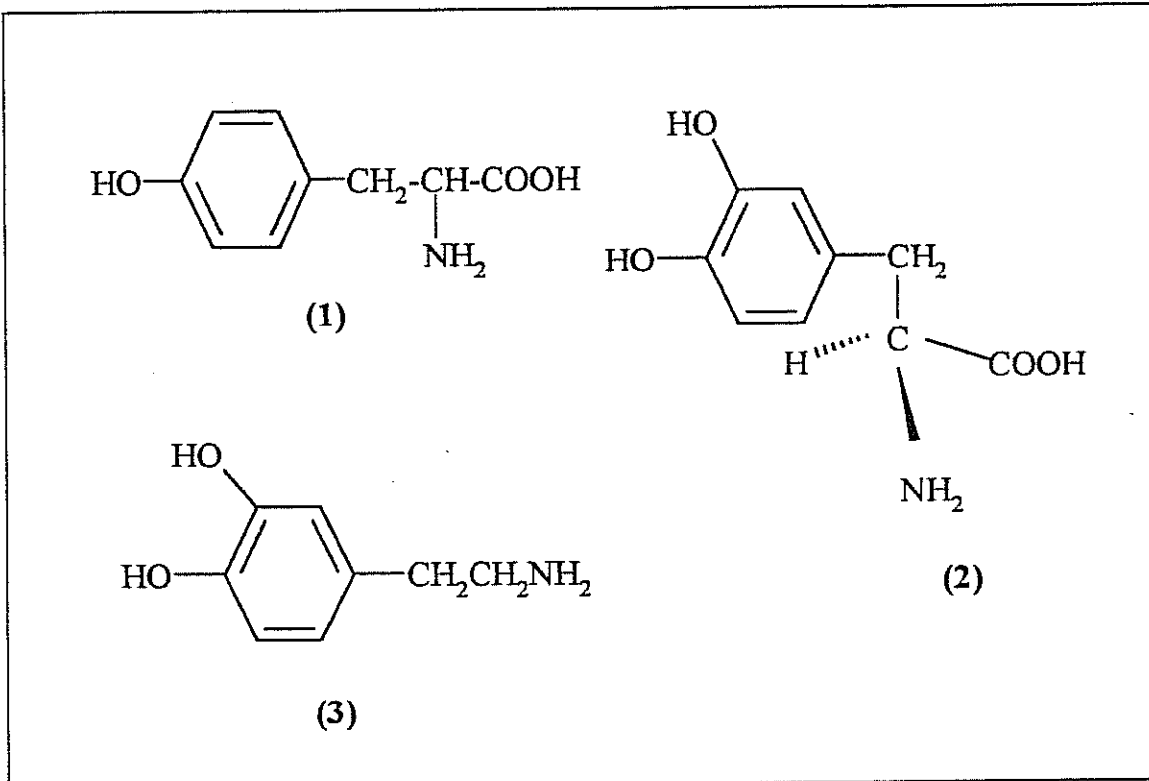
Bu amaçla, elde edilen substratların ekmek mayası ile indirgeme çalışmalarına yönelik bir çok ön denemeler yapılmıştır. Çalışmanın en önemli basamağını, levo dopa sentezine yönelik hazırlanan, dört önemli substuratın, üzerinde bulunan karbon karbon çift bağının, stereospesifik olarak indirgenmesidir. Ayrıca bazı substratların (40, 41), Pd/C ile indirgenme ürünleri de tespit edilmiştir.

BÖLÜM 2.

L-3,4-DİHİDROKSİFENİLALANİN (L-DOPA)'NİN YENİ BİR SENTEZİ İÇİN GEREKEN SUBSTRATLARIN HAZIRLANMASI VE EKMEK MAYASI (*SACCHAROMYCES CEREVISIAE*) YARDIMI İLE İNDİRGENMESİ

2.1. Levo Dopa'nın Parkinson Hastalığında Kullanımı

Levo dopa, 3,4-dihidroksifenilalanin (2), 1913'te T. Torquati tarafından *Vicia Faba* baklasından izole edildi ve aynı yıl içinde, M. Guggenheim tarafından yapısı aydınlatıldı. Daha sonraki yıllarda L-DOPA Parkinson sendromu tedavisinde kullanıldı.¹



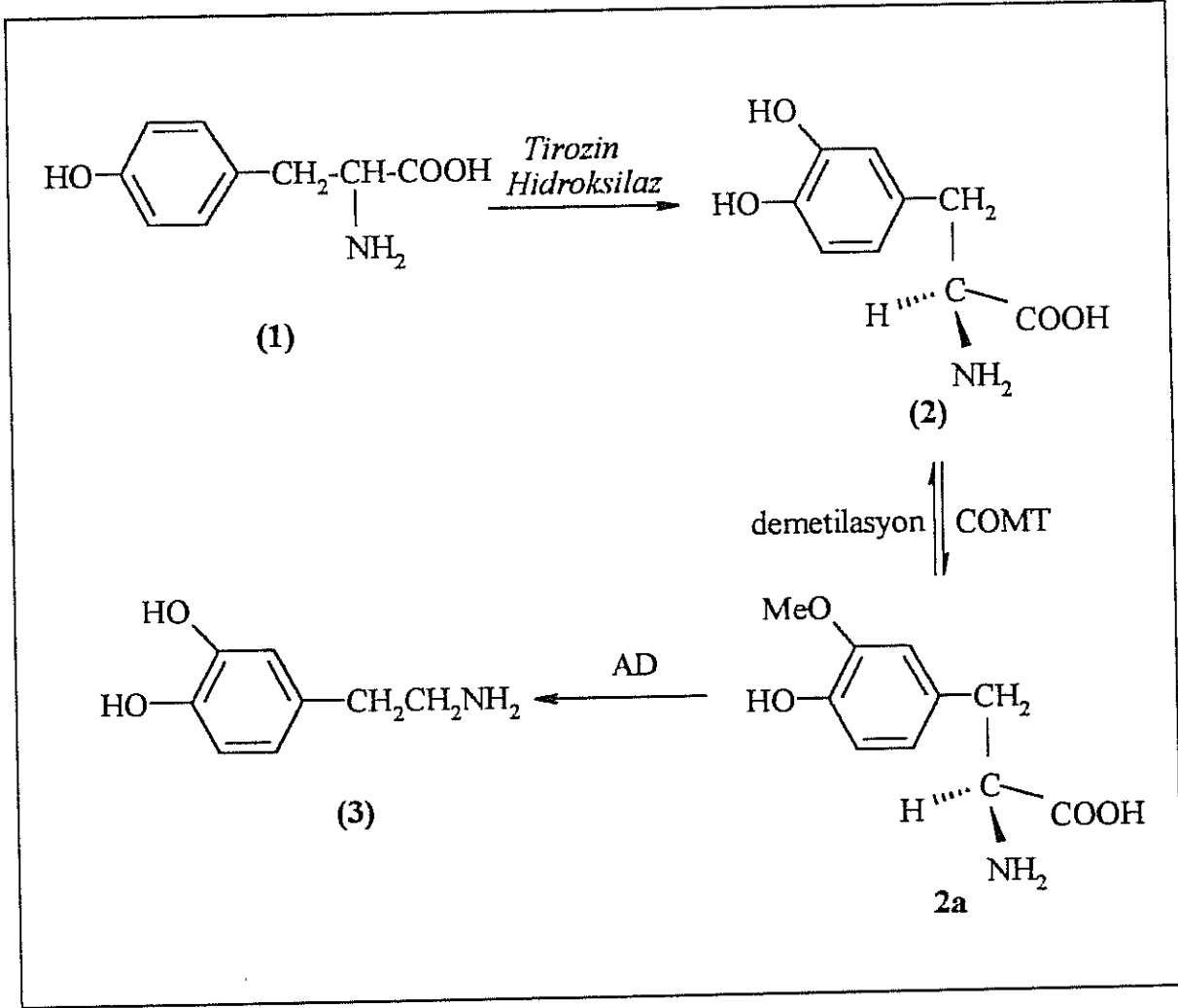
Levo dopa (2), Parkinson hastalığında kullanılan bir anti-Parkinson ilacıdır. Parkinsonizm, amaçlı hareketlerin yavaşlaması ve yetersiz kalması, kaslarda rijidite ve tremor gibi özelliklerle kendini gösteren kronik, ilerleyici bir merkezi sinir sistemi hastalığıdır. Parkinson hastalığı, idiyopatik bir hastalık olup, genellikle beyin bazı bölgelerinde hücre kaybı söz konusudur. Hastalık esnasında, beyindeki dopamin miktarında da azalma olmaktadır. Parkinson hastalığı, orta ve ileri yaşlardaki kimselerde ortaya çıkar. Başlangıçlı sinsidir ve çok zaman ellerden birinde tremorla (titreme) başlar. Bunu giderek artan bradikinezi (hastanın bütün istemli hareketlerinin ve özellikle de küçük kaslar tarafından meydana getirilenlerin, dikkati çekecek şekilde yavaşlaması) ve sertleşmesi izler. Tam olarak gelişmiş bir Parkinson hastalığında, hastanın görünümü karakteristiktir. Yüz ifadesi sabitleşmiş, kaslar düzleşmiş ve neredeyse hiç kıpırdamaz durumdadır. Hasta gözlerini kırpıstıramaz, bakışları bir noktaya takılıp kalır. Hastanın istem dışı hareketlerinde de azalma vardır (akinezi). Parkinson hastalarının yaklaşık yarısında hafif bir bunama vardır. Bu bunama, hastaların pek azında şiddet kazanır. Depresyon daha sık görülür ve hastanın hem fizik, hem de mental fonksiyonlarının değerlendirilmesini zorlaştırır.

Parkinsonizm tedavisinde, Levo dopa, atropine benzeyen veya antikolinerjik ilaçlar kullanılır. Bunların hepsi de semptomların düzelmesini sağlayan, ancak hastalığı iyileştirmek gibi bir etkileri olmayan ilaçlardır. Levo dopa, dopaminin metabolik ön maddesidir ve dopaminin kendisi kan-beyin bariyerini geçemediğinden, yerine koyma tedavisi amacıyla kullanılır.

L-dopa bir Parkinson hastası tarafından vücuda alındığında, kan yoluyla omurilik sıvısına karışır ve kan beyin bariyerini aşarak beyne ulaşır. Beyinde, COMT enzimiyle, O-DOPA'ya (O-metil dopa) dönüşür. DOPA ve O-DOPA, sürekli olarak birbirlerine dönüşüm halindedirler. L-DOPA, aromatik *L-aminoasitdekarboksilaz*, (AD), enzimi ile 3,4- dihidroksifeniletamine, dopamine (3), dönüşür. Parkinson hastası olmayan bir kişide, bu dönüşüm, tirozinden, 4-hidroksifenilalaninden (1), olmaktadır. İlgili reaksiyonlar (Şema 1)'de gösterilmiştir.²

Levo dopa'nın en büyük etkisi bradikinezi semptomları üzerinedir. L-dopanın büyük bölümü, beyindeki etki göstereceği yere ulaşmadan önce metabolize edildiğinden, levo dopa yüksek dozda kullanılması gereken bir ilaçtır. Yine bu nedenle

levo dopa, karbidopa ile birlikte kullanılır. Karbidopa, bir dopa dekarboksilaz inhibitörüdür ve levo dopanın sistemik metabolizmasını, etkisini göstereceği yere ulaşana kadar önler.³



Şema 1

Beyinde sadece L-DOPA (2), Dopamine (3) dönüşmekte , DOPA'nın diğer formu olan D-DOPA'nın ise hastalarda toksik etkileri görülmüştür.³

2.2. Levo Dopa Sentezi

Literatürde, L-DOPA (2) sentezi üzerine yapılan çeşitli çalışmalar vardır. Yapılan sentetik metodların çoğunda, başlangıç maddesi olarak, L-Tirozin ve türevleri

kullanılmıştır Yani, o-dihidroksi grubu içeren bileşiklerden yola çıkılarak sentezler gerçekleştirilmiştir.^{1,1a} Literatürde, L-DOPA (2) üzerine yapılan bazı sentez çalışmaları şöyledir;

2.2.1. L-Tirozin'nin (1), sentetik yolla hazırlanması amacı ile yapılan çalışmalarda, yan ürün ve rasematlar oluşması nedeniyle, doğal maddelerden izole edilmesi yolu benimsenmiştir. Bitkilerden elde edilen L-Tirozini (1), Levo dopaya (2) çevirme çalışmaları yapılmıştır.

2.2.2. L-Tirozinin (1), enzimatik veya mikrobiyolojik metodlarla hidroksillenerek (2)'ye dönüşümü üzerine çok çalışmalar yapılmıştır.

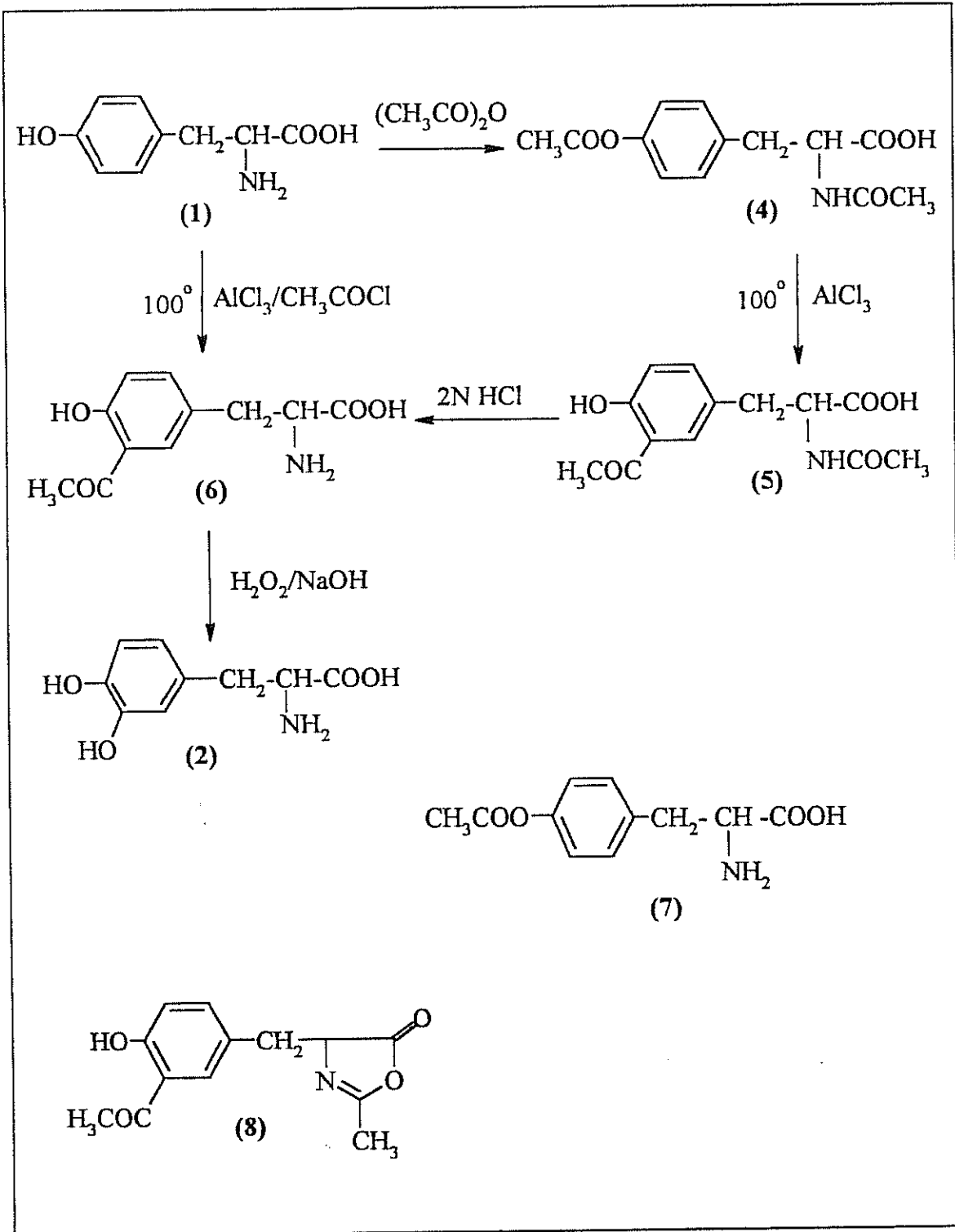
2.2.3. L-DOPA (2), Wasser ve Lewandowsky tarafından, L-Tirozinin (1), nitrolanması, indirgenmesi ve yüksek sıcaklıkta ısıtılması sonucu ile elde edilmiştir.

2.2.4. Raper tarafından yapılan çalışmada, L-Tirozinin (1), Fe³⁺ tuzları varlığında, hidrojen peroksit ile hidroksillenmesi sonucu, değişmeyen giriş maddesinin yanısıra, oksitlenmiş yan ürünlerle birlikte, düşük oranda (2) elde edilmiştir.

2.2.5. Vorbrüggen ve Kroklikiewicz tarafından, N-Açil-L-Tirozin esteri, benzoil peroksit ile L-DOPA türevlerine dönüştürülmüştür.

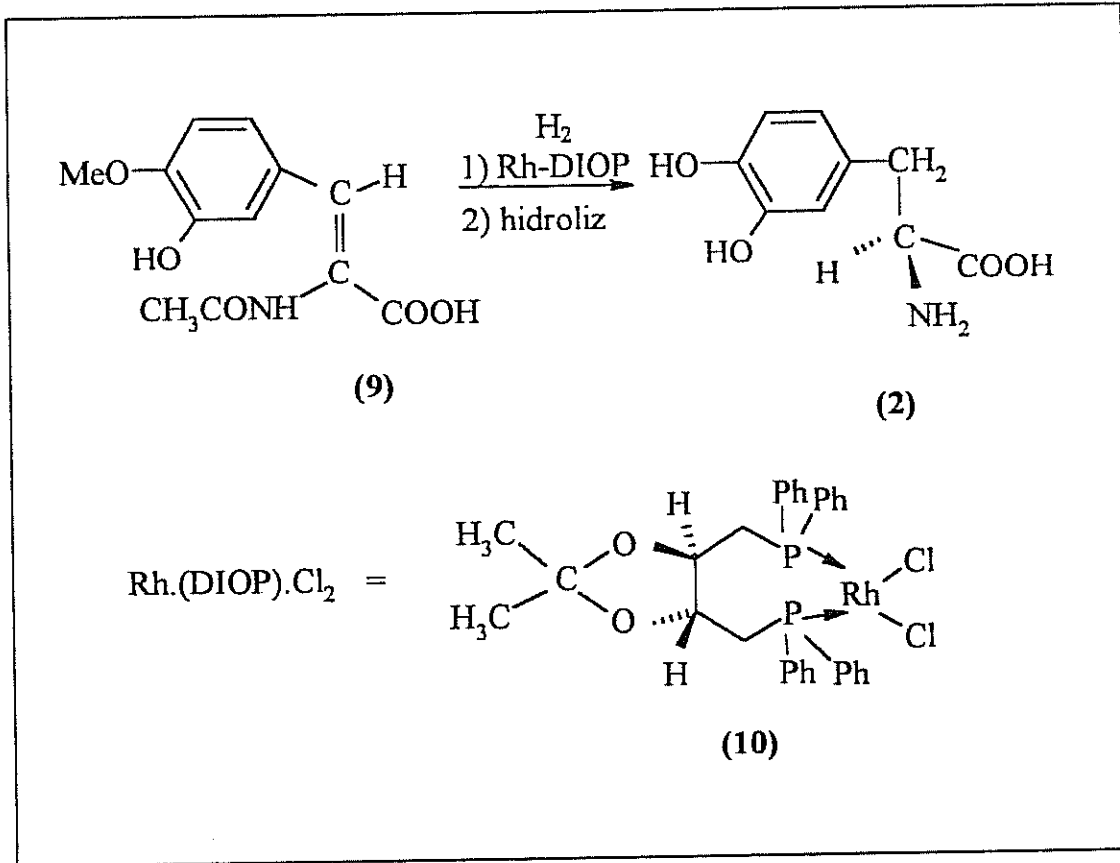
2.2.6. L-Tirozin (1) üzerinden, Ado Kaiser ve Uwe Wölcke¹ tarafından yapılan, (2)'nin sentez çalışması da ise (Şema 2); N,O-diasetil-L-Tirozin (4), L-Tirozin'nin (1) üzerinden asetikanhidrit ile % 100 verimle elde edilmiştir.¹ Bu bileşik (4), nitrobenzen içinde AlCl₃ ile muamele edildiğinde rasemleşme olmadan, 3-N-Diasetil-L-Tirozine (5) dönüşmektedir. Ancak 130°C üzerinde, rasemik bir ürün olan oksazolinona (8) dönüşmektedir. Çevrilme ürünü olan (5) bileşiği, seyreltik HCl ile muamele edildiğinde, yüksek bir verimle (6) elde edilmiştir. Bu bileşik (6), L-Tirozin üzerinden de tek aşamalı sentezlenebilir. Nitrobenzen içinde, (1) numaralı bileşik, 1 mol AlCl₃ ile bir kompleks oluşturur. Bu kompleks, 2 mol AlCl₃ ve asetil klorür ile 100 °C'nin üzerinde ısıtılırsa (6) bileşiği elde edilir. Bu reaksiyon ılımlı şartlarda (7) bileşiği üzerinden yürür. (6) bileşiği, alkali ortamda hidrojen peroksit ile tamamen (2)'ye

dönüşür. Reaksiyon sırasında çok az olarak da, renkli ileri derecede oksitlenmiş yan ürünler oluşmasına rağmen, Darkin oksidasyonu sonucunda, rasemleşme olmamıştır.



Şema 2

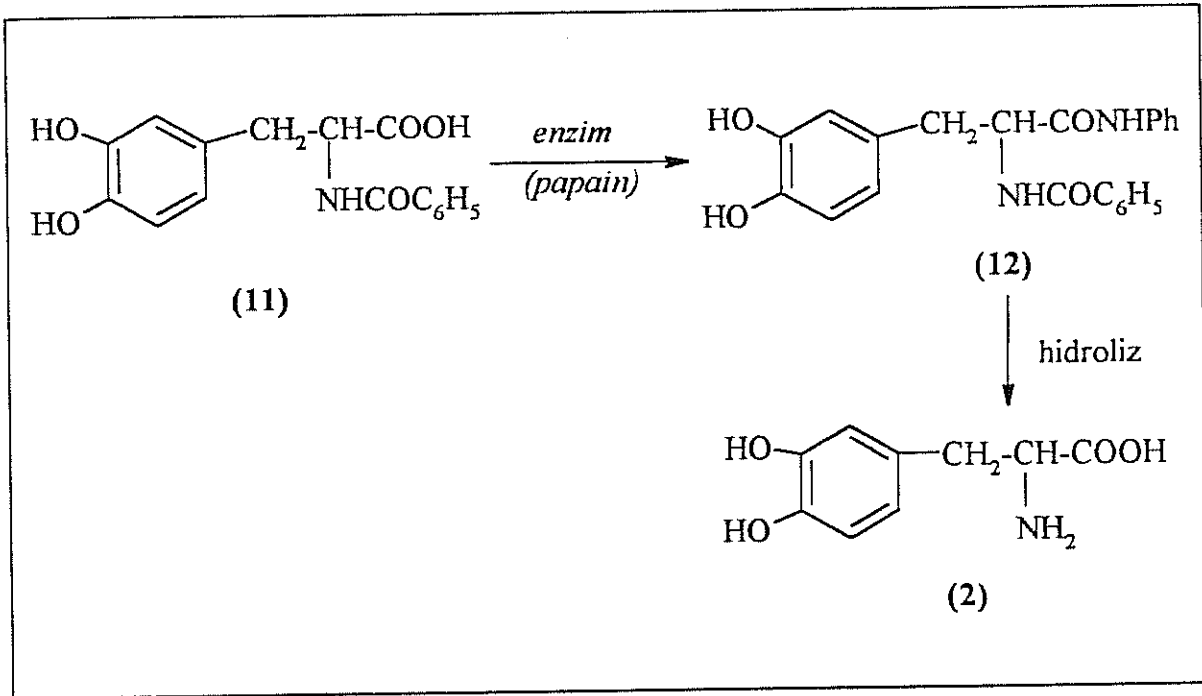
2.2.7. L-DOPA ticari olarak, kiral geçiş metal (Ru, Rh) komplekslerinin, asimetric hidrojenasyonundan elde edilmektedir.^{5,6} (Şema 3)'te kiral bir kataliz olan, Rh-DIOP kompleksinin (10), kullanımı ile akiral bir substrat olan, 2-N-asetil-3-(3-hidroksi-4-metoksifenil)-2-propenoik asidin (9), asimetric hidrojenasyonundan (2)'nin eldesi gösterilmiştir⁵ fakat bu yöntem, oldukça pahalıdır.



Şema 3

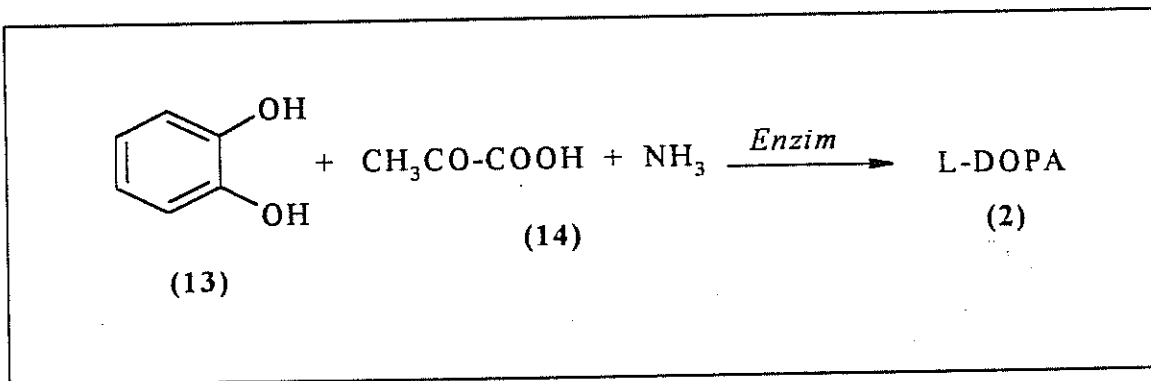
Yapılan başka çalışmalarda, (2)'nin enzimatik olarak, çeşitli akiral öncül maddelerden de sentezi gerçekleştirilmiştir.

2.2.8. 3,4-Dihidroksi-DL-N-benzoilfenilalanininden (11), enzimatik (*papain*) olarak optikçe aktif, L-N- benzoil-3- (3,4-dihidroksifenil) alaninanalid (12) bileşiğinin elde edilmesi ve bunun da hidroliz edilmesiyle L-DOPA (2)'ye dönüşümü gerçekleştirilmiştir.⁷ (Şema 4)



Şema 4

2.2.9. Carrageenan gel'de immobilize edilmiş *Escherichia intermedia* bakterisi, L-DOPA (2), sentezi için kullanılan bir biyokatalizördür. Katekol (13), piruvik asit (14) ve amonyakla, 37 °C'de *Escherichia intermedia* bakterisi ile muamele edildiğinde, (Şema 5)'deki reaksiyon gerçekleştirilmiştir.⁸



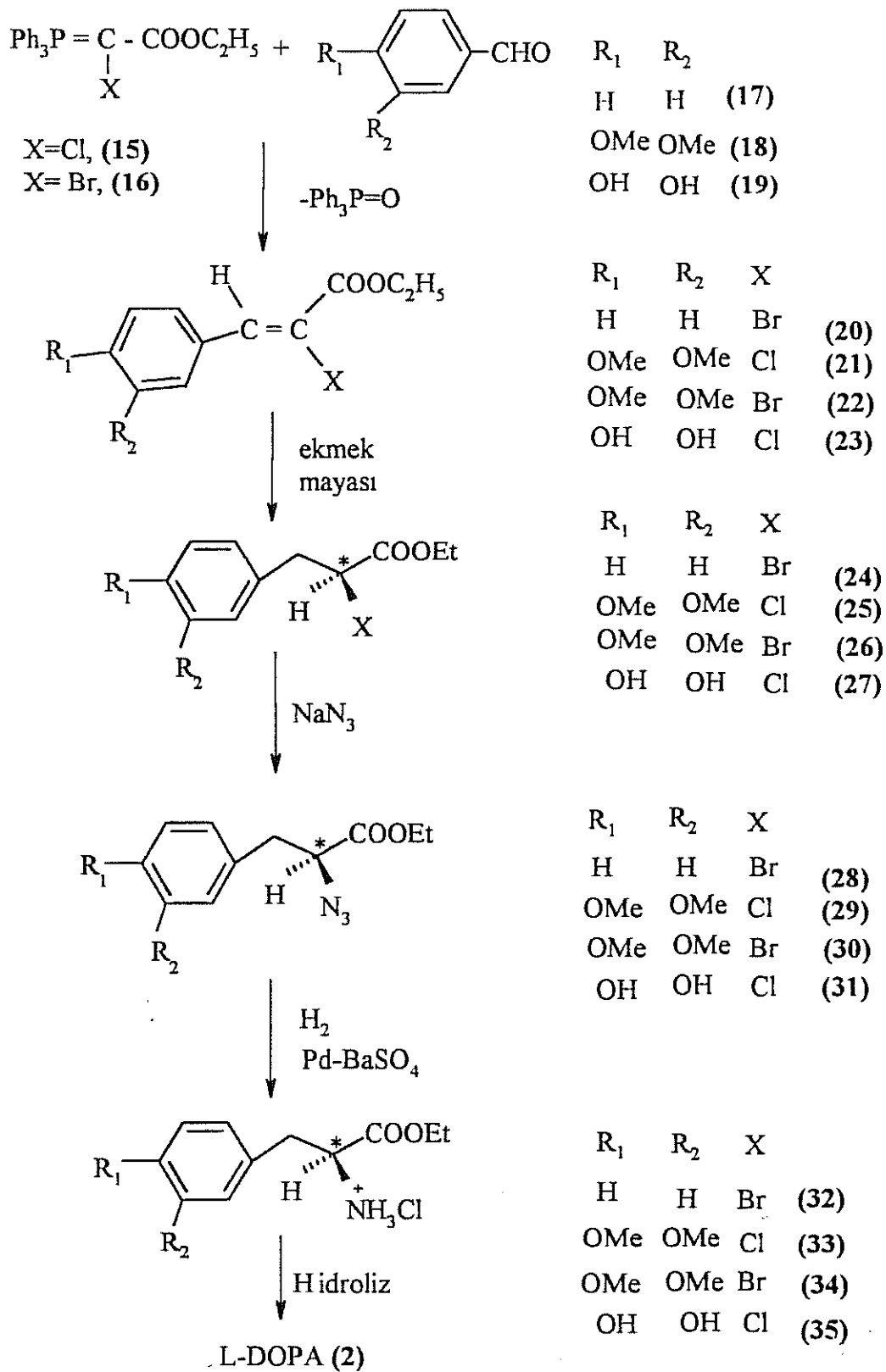
Şema 5

2.3. Çalışmada İzlenen Yöntemler

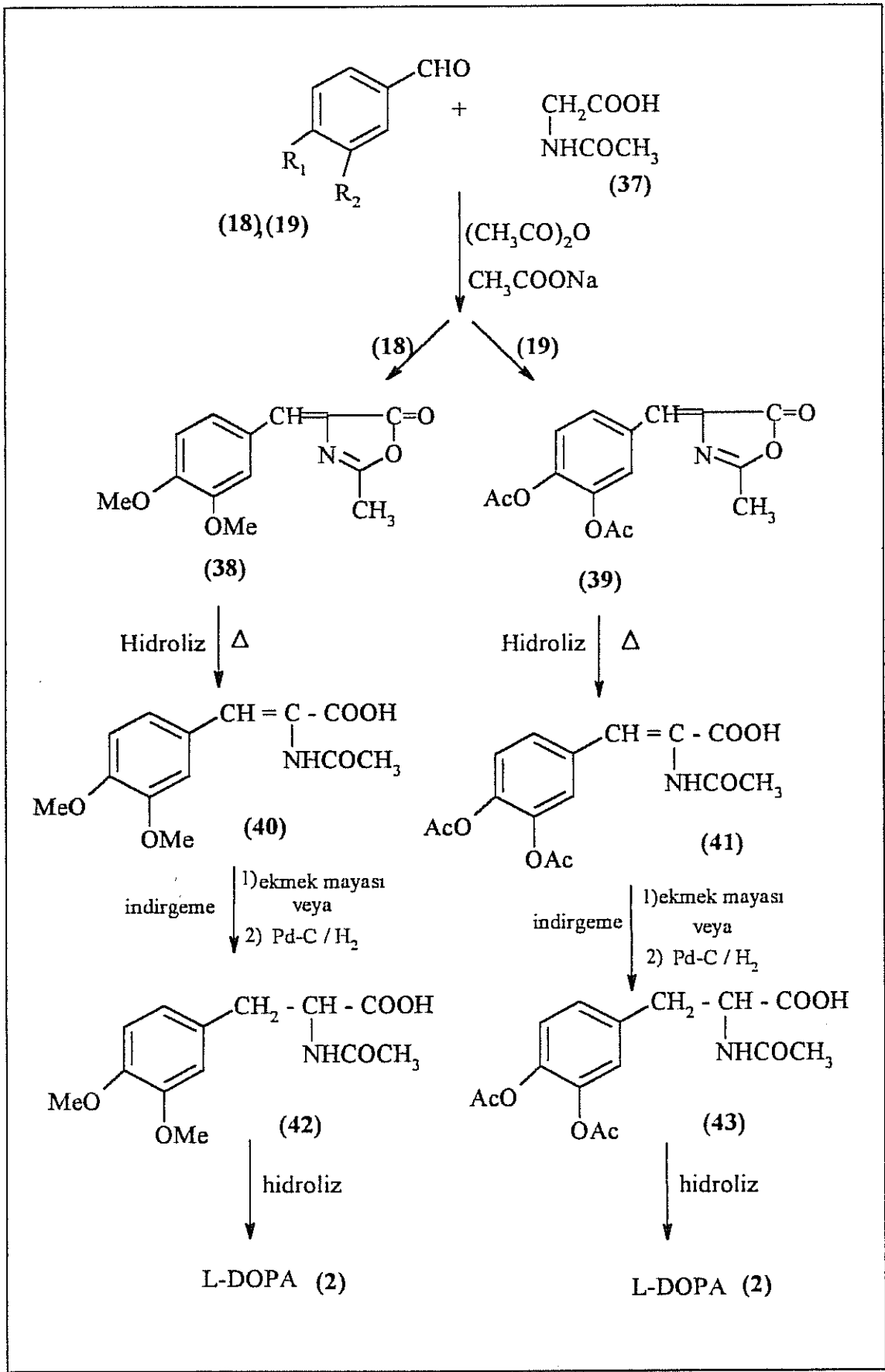
Çalışmalarımızda, L-DOPA (2), sentezinde kullanılmak üzere hazırlanan substuratlar (21, 22, 40, 41) üzerinden, aşağıda açıklandığı gibi elde edilmeye çalışılmıştır.

2.3.1. Wittig reaksiyonuyla elde edilen,⁹ Z-etil-2-kloro-3,4-dimetoksisinamat (21); Z-etil-2-bromo-3,4-dimetoksisinamat (22); bileşiklerinin ekme mayası (yaş, kuru, immobilize) *saccharomyces cerevisiae*, ile asimetrik olarak indirgenmesinden elde edilmeye çalışılmıştır.¹⁰⁻¹⁵ Sentezin en önemli basamağı, karbon karbon çift bağının, maya yardımı ile stereospesifik bir şekilde indirgenmesidir. Sentez yöntemi, başarılı olduğunda çok pahalı olan bu maddenin (2), daha kısa yoldan sentezi gerçekleştirilmiş olacaktır. İlgili reaksiyonlar (Şema 6)'da gösterilmiştir. Bu şemada gösterilen reaksiyonlarda, Z-etil-2-bromosinamat (20) bikeşiği ön denemeler için sentezlenmiştir.

2.3.2. Sentezlenen, α -asetamido-3,4-dimetoksisinamik asit (40) ve α -asetamido-3,4-O,O-diasetilsinamik asit (41), bileşiklerinin,¹⁶ maya ile indirgeme çalışmaları sonunda ve ayrıca Pd / C ile olan katalitik hidrojenasyonundan, (2) sentezlenmeye çalışılmıştır.¹⁷ İlgili reaksiyonlar (Şema 7)'de gösterilmiştir.



Şema 6



Şema 7

2.4. Ekmek Mayasının Organik Kimya Sentezlerinde Kullanımı

Mayalar, insanlığın başlangıcından beri ekmek, günlük tüketilen birçok gıda ürünlerimiz ve alkollü içeceklerin üretiminde yaygın olarak kullanılmaktadır. Mayalar, tek hücreli mikroskopik canlılardır.¹⁸ On yedi çift kromozomlu olan mayaların çoğu asklı mantarlar (*Ascomycetes*) sınıfının *Saccharomycetales* takımındandır. Yaklaşık 160 maya türünden en çok bilineni *saccharomyces cerevisiae*'dir. Çok yararlı bir canlı olan bu maya türü, şarap, bira gibi mayalı içeceklerin üretiminde ve ekmek yapımında kullanılır.

Mayaların ihtiva ettiği, enzimlerin yol açtığı kimyasal değişime mayalanma denir. Sütün ekşimesi, ekmek hamurunun kabarması, şeker ve nişastanın alkole dönüşmesi mayalanma olayının başlıca örnekleridir. Sanayide kullanılan birçok kimyasal madde ve tıpta kullanılan antibiyotiklerin bir bölümü denetimli mayalanmayla üretilir.

Mayalanmayla elde edilen ürünler, çok eski çağlardan beri kullanılmaktadır. Şarap, bira ve mayalı ekmeğin üretimi, aşağı yukarı tarımla birlikte başlamıştır. Süt ya da kremanın mayalandırılmasıyla elde edilen peynir, çok eski çağlardan beri tüketilen bir yiyecektir. Mayalanmış ürünlerin tıp açısından değeri de gene eski çağlardan beri bilinmektedir. Çinliler, bundan 3 bin yıl önce deri enfeksiyonlarını tedavi etmek için soyayı küflendirerek hazırladıkları ilaçları kullanmışlardır. Orta Amerika Yerlileri ise iltahaplanmış yaraları, mantarlarla tedavi yöntemlerini kullanmışlardır.

Her ne kadar kullanım şekli eskilere kadar gitmekte ise de, mayalanmanın gerçek nedeni, 19. Yüzyıla kadar anlaşılamamıştır. Mayalanmanın bilimsel olarak açıklanması, ilk kez 1862 yılında, Fransız Bilgin, Louis Pasteur tarafından yapılmıştır. 1886'da *Bacterium Xylinum* kullanılarak alkolün, asetik aside oksidasyonu gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmaları, *Acetobacter aceti* ile glukozun, glukonik aside oksidasyonu, ve *Acetobacter sp* ile sorbitolün, sorboza dönüşümü takip etmiştir. 1874'te ilk olarak Dumas tarafından, *saccharomyces cerevisiae* ,ekmek mayasının indirgeme özelliği ileri sürülmüştür. Dumas, şeker ihtiva eden yaş maya süspansiyonu içinde, toz küküdü hidrojen sülfide dönüştürmüştür. Anaerobik şartlar altında, canlı maya ile

fermantasyon sonucu, furfuralın furfuril alkole indirgenmesi, ilk kez organik kimya literatürlerine geçmiştir.¹⁸

Ekmek mayası, *saccharomyces cerevisiae*, ortamdaki besin miktarlarına göre; İki kromozom takımlı diploit hücre ya da tek kromozom takımlı haploit hücre olarak bulunabilirler. Ekmek mayasının bileşiminde ortalama olarak; % 14.0 protein, % 10.0 karbohidrat (değişik miktarlarda glikojen, mannon, glukoz), % 0.5 yağ, % 2.3 anorganik maddeler ve % 68-73 su bulunur. Bunlardan başka, enzim ve vitaminler de vardır. Mayada 200'e yakın enzim vardır. *İnvertaz* (sakkarozu doğrudan doğruya, glukoz ve fruktoza dönüştürür ve mayada fazla miktarda vardır.); *Maltaz* (malt şekeri veya maltozu glukozla dönüştürür.); *Zimas* (evirtik şeker ve glukoz üzerine etkisini gösteren birçok enzim kompleksidir.), bunlardan bazılarıdır.¹⁹

Ekmek mayası, organik kimya reaksiyonlarında çok kullanılan, ucuz ve kolay bulunan bir reaktiftir. En çok, indirgeme reaksiyonlarında (karbonil bileşiklerinin,²⁰⁻²⁶ karbon karbon çift bağının ve α,β -doymamış karbonil bileşiklerinin,²⁷⁻³³ indirgenmesi vb.) kullanılmakla birlikte, bazı bileşiklerin oksidasyonunda (oksidasyon özelliği sınırlıdır) ve esterlerin hidrolizinde de kullanılmaktadır.¹⁸

Ekmek mayası ile yapılan indirgeme reaksiyonlarında, indirgemenin maya hücresinde hangi enzim sistemi tarafından gerçekleştiği bilinmemekle birlikte, bu indirgemedede oksido-redüktaz enziminin önemli bir rol oynadığı tahmin edilmektedir. Çünkü maya, hücresinde bulunan 200 civarındaki enzimlerle, kiral yüzeye sahip bir indirgeme ajanıdır. İndirgenme sonunda optikçe aktif olan ya R ya da S konfigürasyonlarında ürünler elde edilmektedir. İndirgenmenin sadece bir izomer lehine fazla olması (genellikle % 90 üzerinde ee, optikçe saflık) bu çalışmalarını cazip hale getirmektedir.

İndirgeme reaksiyonlarında maya; yaş, kuru ve immobilize edilmiş formlarda kullanılmaktadır. Bazı indirgeme reaksiyonlarında, kullanılan yaş ve kuru mayalardan ileri gelen, uzaklaştırmamayan kirlilikler olabilir, ve bu da reaksiyon verimini olumsuz etkilemektedir. Böyle durumlarda, çeşitli metodlarla immobilize edilmiş mayalar kullanılır.¹²

İmmobilize maya, mayanın aktivitesi korunacak şekilde, belirli bir mekanda tutulması ya da fiziksel olarak tutuklanması suretiyle, yinelenerek ve sürekli olarak kullanıldığı formlardır.

Çalışmalarımız da kullanılan mayalar, hücre immobilizasyon tutuklama tekniği ile, sodyum alginat ve poliakril amid ile immobilize edilerek kullanılmıştır.

2.4.1. Hücre İmmobilizasyonu

Hücre immobilizasyonu, hücrelerin arzu edilen katalitik özellikleri korunarak, belirli bir mekanda tutulması ya da fiziksel olarak tutuklanması olayıdır. İmmobilize hücreler istenilen uygulamaya bağlı olarak ölü, üreyen, canlı fakat üremeyen olabilir. Fakat, hücre içi enzimlerin aktif olması zorunludur.³⁴

İmmobilize hücrelerin, serbest hücrelere göre pek çok avantajları vardır. Bunları şöyle sıralayabiliriz.

- İmmobilize hücreler, serbest hücrelere göre çevre koşullarındaki değişikliklerden daha az etkilenirler.
- Hücrelerin ortam çözeltisinden ayrılmasını sağladığı için filtrasyon adımını ortadan kaldırır.
- Hücre içi gradyanların oluşumu bazı reaksiyonlarda (örneğin substrat inhibasyonu durumunda) avantaj olabilir.
- Yüksek hücre konsantrasyonlarında çalışabilir olması.

Bu avantajların yanısıra hücre immobilizasyonunun bazı dezavantajları vardır. Bunlar; Diffüzyon limitasyonundan dolayı, biyokatalitik aktivitenin düşmesine neden olması ve aşırı üreme (matrisin kapasitesinden fazlası) hücrelerin bir kısmının ortama salınmasına sebep olması ve filtrasyon problemi yaratması, hatta aşırı üreme matrisin parçalanmasına yol açabilir olmasıdır.

Hücrelerin immobilizasyonunda kullanılan matrislerin, hücreye ve çevresine zarar vermemesi (zehirli olmaması) ve hücre metabolizmasını olumsuz etkilememesi gerekir. Ayrıca belirli bir pH aralığında kararlı olmalı ve yüksek gözeneklilik

göstermesi, substuratların ve ürünlerin matris içine ve dışına diffüzyonunu kolaylaştırması arzu edilen bir özelliğidir. İmmobilizasyonda kullanılan matrislerin (veya taşıyıcıların) hücre yüzeyi ile etkileşen reaktif grupları nicel ve nitel olarak birbirinden farklıdır. Hücre matris arasındaki temel ilişkinin ve bu ilişkinin metabolizma üzerine etkilerinin bilinmesi hücre immobilizasyonu için uygun matrislerin geliştirilmesine ve seçilmesine katkıda bulunacaktır.

Matrisler, organik ve anorganik kökenli olmak üzere ikiye ayrılabilirler. Fakat organik kökenli immobilizasyon matrisleri yüzeylerinde daha çok reaktif amino-, karboksil-, ve hidroksil-, grupları taşıdıkları için daha çok tercih edilmektedir. Aşağıda, (Tabloda 2.4.1) 'de kullanılan organik ve anorganik matrislerin bazıları verilmiştir.

Tablo .2.4.1. Hücre İmmobilizasyonunda Kullanılan Matrisler

Organik		Anorganik
Polisakkaritler	Selüloz Carrageenen Alginate Agar	Alumina Magnesia Silika Kum
Proteinler	Gelatin Collagen	Cam Seramik
Sentetik Polimerler	Poliakrilamid Poliüretan	Titania

2.4.2. Hücre İmmobilizasyon Yöntemleri

Bu konuda çok çalışmalar yapılmış ve yöntemler geliştirilmiştir. Hücre immobilizasyon yöntemleri, fiziksel mekanizmalara dayalı olarak dört ana grupta toplanabilir.³⁴

1. Adsorbsiyon ve kovalent bağlanma
2. Tutuklama
3. Gözenekli bir bariyer arkasına hapsetme
4. Çökeltme (floculation) veya yığılma (aggregation)

2.4.2.1. Adsorbsiyon ve kovalent bağlanma: Bir yüzey ile mikroorganizmaların etkileşmesi sonucu hücrelerin bir yüzeye tutuklanması doğada çok yaygın bir olaydır. Bu, elektrostatik bir etkileşimin bir sonucu olarak adsorbsiyon yoluyla veya kovalent bağlanma yoluyla gerçekleşir.

2.4.2.2. Tutuklama: Gözenekli bir matris içine hücrelerin hapsedilmesi yaygın kullanılan bir yöntemdir. Tutuklamada iki yöntem vardır.

a) Hücreler, mevcut matrisin içine difüzyonla hareket ederler. Burada hapsedilen hücreler üremeye başlar ve hücrelerin hareketi diğer hücreler tarafından engellenir. Kiselgur, silikat gibi matrisler bu amaç için kullanılır.

b) Hücrelerin hapsedilmesinde kullanılan matrisler hücrelerin çevresinde oluşturulabilir. Bu amaç için en çok kullanılan matrisler, poliakrilamid, k-carrageenen, agar, alginat, epoksi reçineleri gibi maddelerdir.

2.4.2.3. Gözenekli Bir Bariyer Arkasına Hapsetme: Bu kategoride tutuklanacak hücreler ya önceden oluşturulan ya da yerinde bir bariyerin arkasına hapsedilir. Hücreleri immobilize etmek için kullanılan bariyerler iki karışmayan sıvının sıvı-sıvı ara yüzeyi veya substuratların hücreye ulaşmasına izin veren yarı geçirgen sıvı membranı olabilir. Hücreler ve makro moleküller bu membranın içinde tutulur.

2.4.2.4. Çökeltme ve Yığılma: Bu yöntem matriks kullanılmaksızın gerçekleşen immobilizasyon yöntemidir. Büyük boyutlu flokların oluşumunu gerçekleştiren hücreler, küfler, mayalar, bitki hücreleri ve bakterilerdir. Bazen yapay ajanlar kullanılarak flok oluşumu ve aggregasyonu kolaylaştırılabilir.

2.5. İmmobilize Hücrelerin Biyolojik Özellikleri

Hücreler, bir matris içine veya yüzeyine immobilize olduktan sonra hücre fizyolojisinin ve morfolojisinin değişeceğine dair literatürde pek çok çalışma mevcuttur. Hücreler matrise tutuklandıktan sonra, matris yüzeyi ile arasındaki karmaşık ilişkilerin sonucu olarak hücrelerin metabolik aktiviteleri veya canlılıkları değişebilir. İmmobilize

hücrelerin davranışının modellenmesinde yapılan temel varsayımlardan birisi aktivitelerinin immobilizasyon sonucu değişmediği ve sadece hücrenin çevresine bağlı olduğudur.

Doran ve Bailey *sacharomyces cerevisiae*'yi çapraz (crosslinked) olarak jelatin yüzeyinde tutuklamışlar ve diffüzyon etkilerini yok ederek mayanın çeşitli kinetik özelliklerini serbest hücrelerinki ile karşılaştırmışlardır. Bunun göre, immobilize edilmiş mayanın, etanol üretim hızının serbest hücrelerinkine göre % 40-50 daha fazla olduğu gözlenmiştir. Glukoz tüketimi hızı, serbest hücrelerinin iki katı olduğu gözlenirken, üreme hızının, serbest üreme hücrelerinin yarısı olduğu görülmüştür. Ayrıca, immobilize hücrelerin DNA, depo maddesi ve polisakkarit miktarlarının serbest hücrelerinkine göre daha yüksek olduğu gözlenmiştir.³⁴

2.6. Ekmek Mayası ile İndirgeme Çalışmaları

Literatürde; yaş, kuru ve immobilize mayalar ile yapılan asimetric indirgeme çalışmalarında, reaksiyon genellikle sulu ortamda, 30-35 °C'de yapılmıştır. Fakat hekzan¹², benzen¹³ gibi organik çözücüler içinde gerçekleştirilen çalışmalar da vardır. Sulu ortamda mayadaki her enzim ve koenzim metabolitik reaksiyonlar sonucunda tekrar geri kazanılır. Bu nedenle sulu ortamda bir substratın maya ile indirgenmesi, sınırlanmış maya miktarı ile ilerleyebilir. Diğer taraftan maya, bir organik çözücüde yaşayamaz ve mayanın metabolitik yolu uzun sürmez. Sonuç olarak, mayadaki kofaktörü NADPH olan enzim, organik çözücüdeki bir mayada kendiliğinden rejenere olamaz ve NADPH seviyesi oldukça düşüktür. Organik çözücülerin kullanılması mayadaki hücre membranlarına zarar verebilir ve maya hücresindeki bileşenler hücre dışına dağılabilir.¹² Organik çözücülerle yapılan çalışmalarda, reaksiyon ortamına çok az miktarda su katıldığında verimin, su katılmadan elde edilen sonuçtan daha iyi olduğu belirlenmiştir.^{12,13}

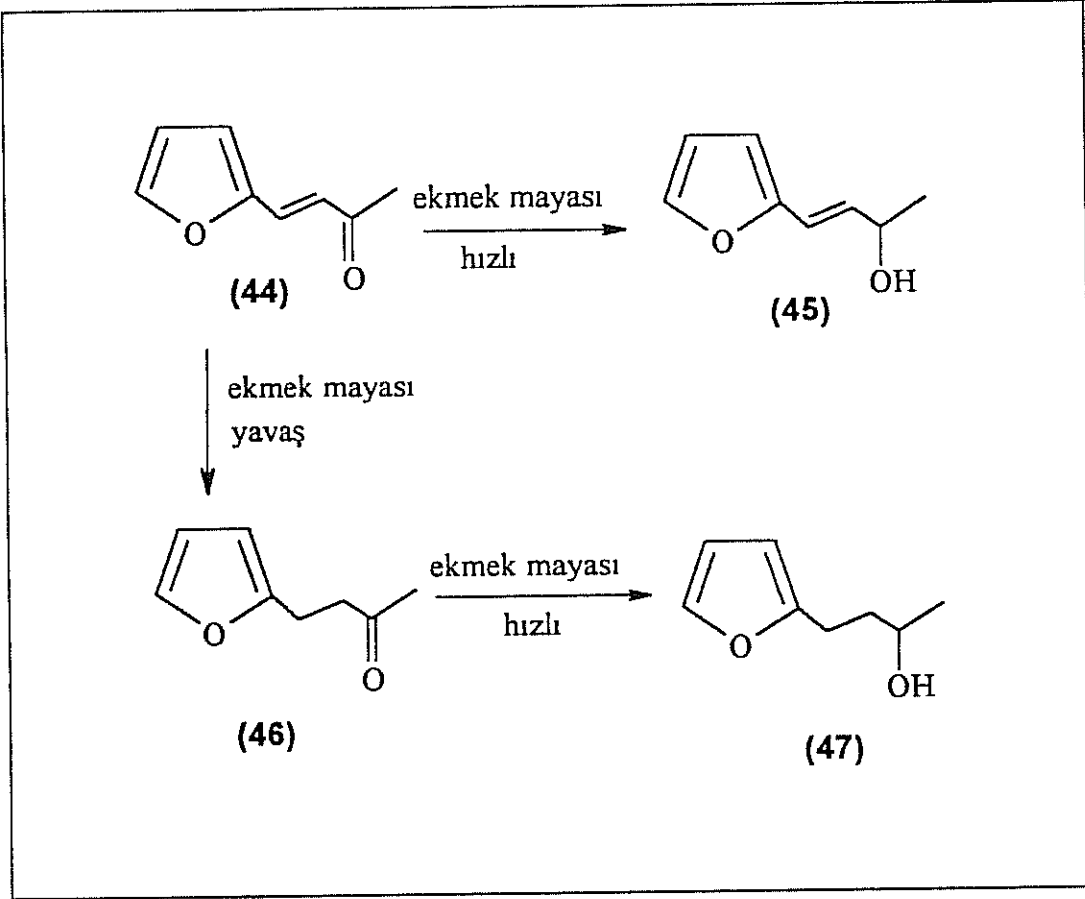
Maya ile yapılan indirgemelerde reaksiyon ortamına glukoz ilave edilmektedir. Mayada, indirgeyici ajan olarak kullanılan NADPH, maya hücrelerinde meydana gelen pentozfosfat yoluyla reaksiyon ortamında oluşmaktadır. NADPH'ın miktarı maya hücrelerinde oldukça düşüktür. Maya, hücrelerindeki bazı sakkaritlerle glukoz-6-fosfat

orjinli pentozfosfat yoluyla NADP⁺'yi NADPH'a indirger. Eğer reaksiyon ortamına glukoz ilave edilirse, pentozfosfat yolunu aktifleştirecek ve sonuç olarak NADPH'ın konsantrasyonunu artacak ve bu da reaksiyonda oluşacak olan ürün miktarını, olumlu etkileyecektir.

Literatürde maya ile yapılan asimertrik indirgeme çalışmaları genellikle prokiral karbonil grubu içeren bileşiklerin (mono karbonil grubu içeren bileşikler; tio süstitüe ketonlar; α -heterosiklik süstitüe ketonlar; di karbonil bileşikleri; α -keto esterler; β -keto esterler vb. bileşikler) kiral bileşiklerine dönüşümü üzerinedir.

α,β -doymamış karbonil bileşiklerinin maya ile yapılan indirgenme çalışmalarında, karbonil grubunun maya tarafından rahatlıkla indirgendiği, fakat (C=C) karbon karbon çift bağının, bir karbonil grubuna göre daha geç ve daha zor indirgendiğine ait çok miktarda çalışmalar yayınlanmıştır.¹⁰⁻¹⁵ (Şema 8).

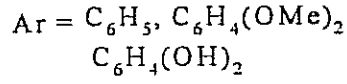
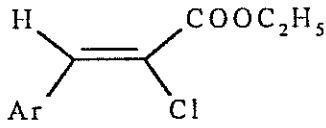
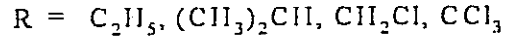
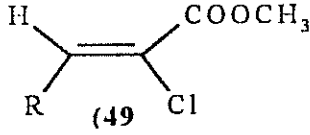
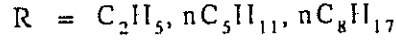
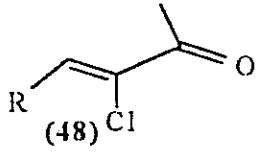
Bu çalışmada, α -kloro- α,β -doymamış karbonil formundaki bileşiklerin maya ile indirgenmeleri incelendiğinde, indirgenme sonunda, prokiral Z formundaki alkenin S konfigürasyonundaki kiral ürüne, prokiral E alkeni, kiral R ürününe dönüştüğü görülmüştür.



Şema 8

Literatürde maya ile yapılan indirgeme çalışmalarında kullanılan, α -kloro- α,β -doymamış karbonil bileşiklerin, bazıları 48 ve 49 aşağıda gösterilmiştir.

Bu çalışmada; α -kloro- α,β -doymamış karbonil formundaki 48 ve 49 numaralı bileşikler örnek alınarak 50 numaralı model bileşiği geliştirilmiştir.



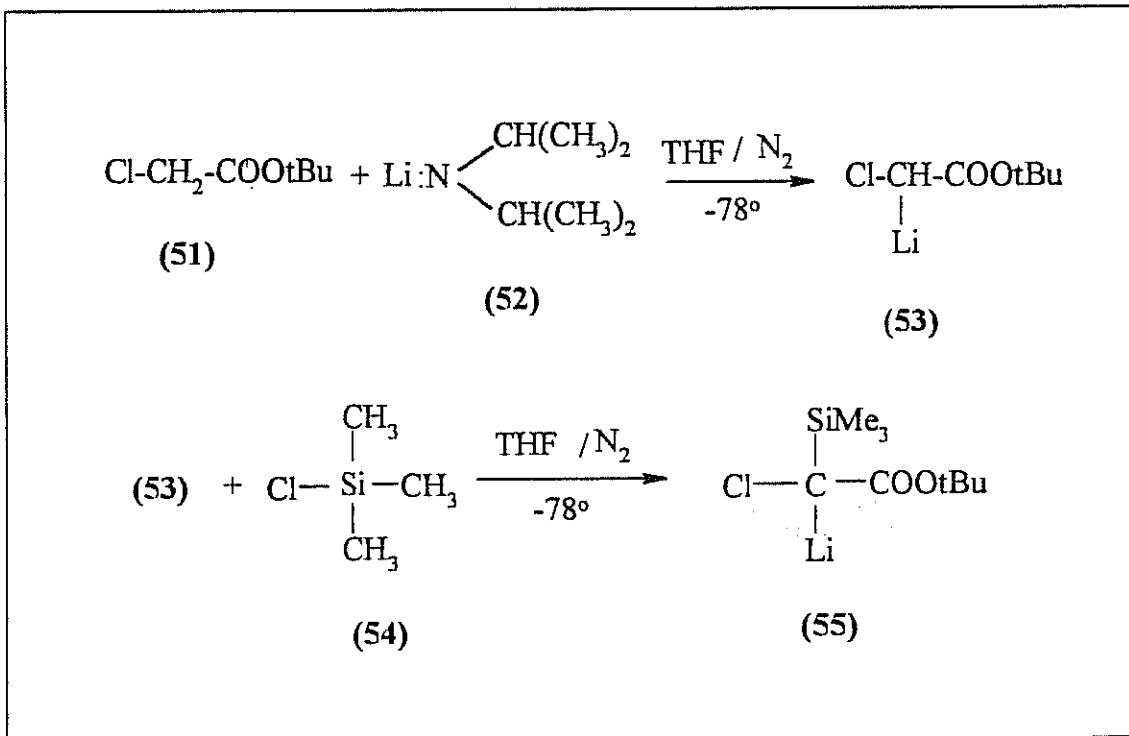
Yapılan literatür incelemelerinde, maya ile yapılan indirgeme çalışmalarında kullanılan bileşiklerde (48 ve 49), R grubu farklı alkoller olan türevlerin kullanılmış olmasına rağmen, bunların aril türevlerinin kullanımına rastlanmamıştır. Bu amaçla, α -halojeno- α,β -doymamış ester bileşikleri (49), örnek alınarak geliştirilen 50 numaralı α -halojeno- β -aril- α,β -doymamış ester bileşiği sentlenmiş olup, α -halojeno- α,β -doymamış ester bileşikleri (49), literatürde değişik yöntemlerle sentez edilmiştir.

2.7. α -Halogeno - α , β -Doymamış Esterlerin Sentezi

α -halogeno- α,β -doymamış ester bileşikleri, aşağıda kapsamlı olarak açıklanan yöntemlerle sentezlenmiştir.

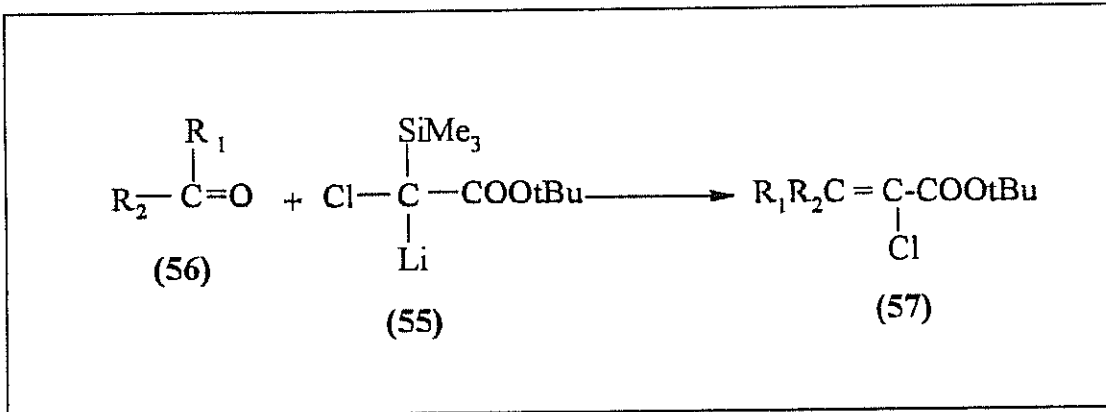
2.7.1. α -Silil Karbanyon Yöntemi : Organosilisyum bileşikleri, organik kimya sentezlerinde çok kullanılırlar. Bu bileşikler, içinde trialkilsilil yapısında olanlar, çeşitli α -silil karbanyonların hazırlanmasında kullanılırlar.³⁵ Bu tür organosilisyum türevleri, çeşitli karbonil bileşikleri ile reaksiyona girerek, olefin yapısındaki bileşikleri oluştururlar.

Bir α -silil karbanyon türevi olan, lityum-*ter* butil-trimetilsilil- α -kloroasetat (55), aldehit ve ketonlarla reaksiyona girerek, α -kloro- α,β -doymamış esterlerin sentezinde kullanılmaktadır. Bu reaktif, *ter*-butilkloroasetatın (51), THF içinde azot atmosferi altında, -78 °C'de, LDA (52), ile reaksiyonundan elde edilen, lityum-*ter* butil kloroasetatın (53), klorotrimetil silan (54), ile sililasyonundan hazırlanmaktadır.³⁶ (Şema 9)



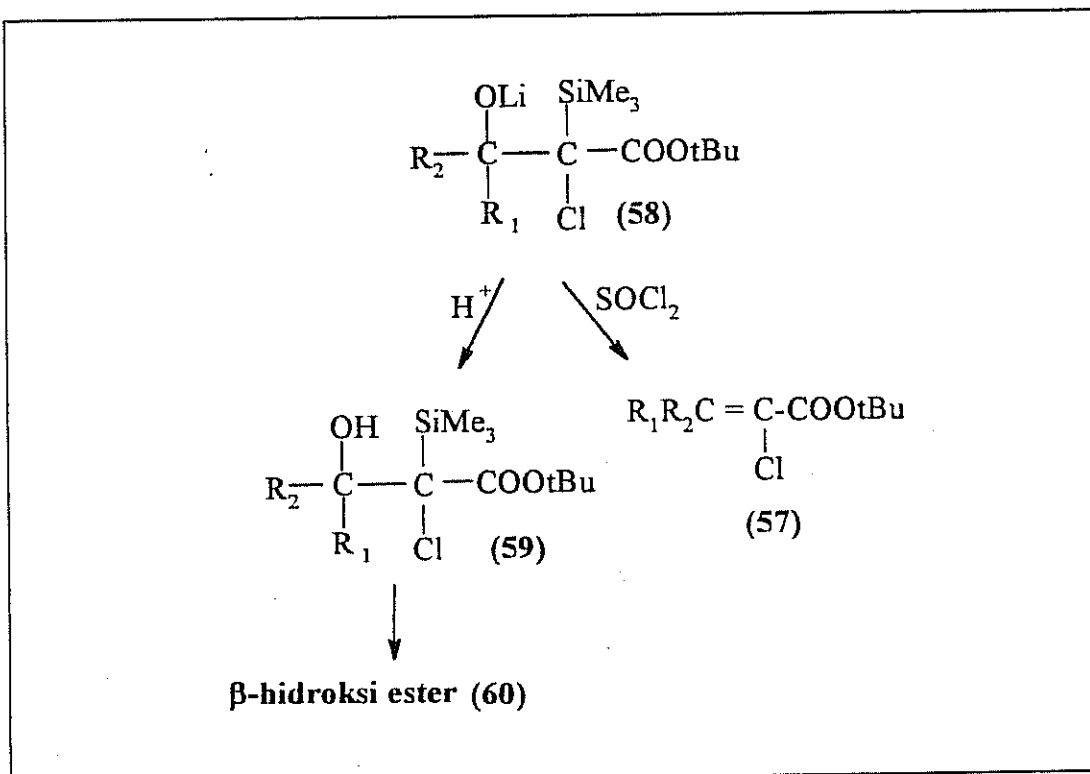
Şema 9

Bunun, aldehitler veya ketonlarla reaksiyonu ile, α -kloro- α,β -doymamış esterleri hazırlanmaktadır. Reaksiyon yürüyüşü (Şema 10)'da gösterildiği gibidir.



Şema 10

Bu reaksiyon sonunda, α -kloro- α,β -doymamış esterin (57) yanısıra, reaksiyonda oluşan ara ürün (58) üzerinden β -hidroksi esterler de (60), elde edilmektedir. Bu nedenle, reaksiyon ortamına SOCl_2 ilave edilerek, (60) bileşiğinin oluşumu engellenerek, sentezi hedeflenen ana ürünün verimi artırılır.³⁶ (Şema 11)



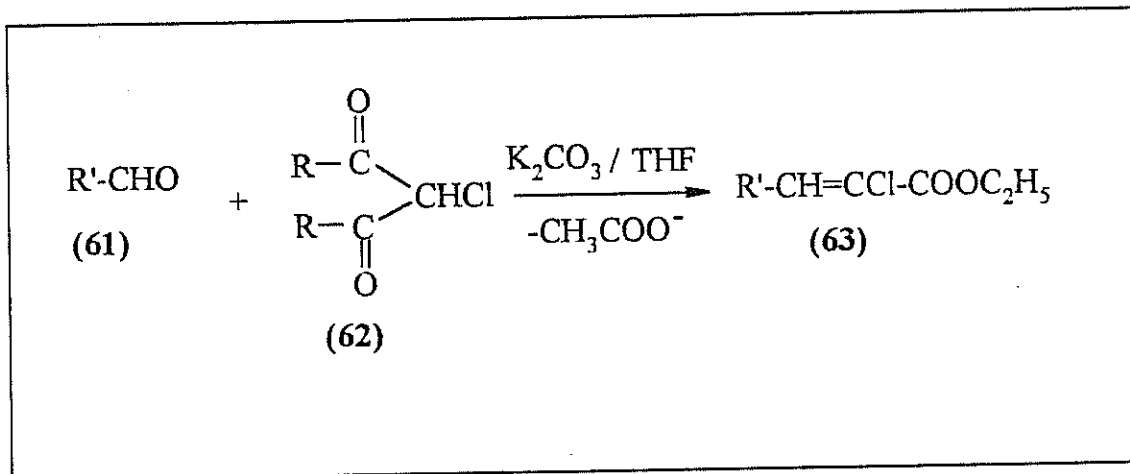
Şema 11

Literatürde bulunan ve bu yöntemle elde edilmiş, bazı α -kloro- α,β -doymamış ester bileşikleri (Tablo-2.7.1.)'de gösterilmiştir.³⁶

Tablo. 2.7.1. α -kloro- α,β -doymamış ester bileşikleri

Karbonil bileşiği	Ürün	Z : E
C_6H_5-CHO	$C_6H_5-CH=CClCOOtBu$	54 : 46
$C_6H_{10}-CHO$	$C_6H_{10}-CH=CClCOOtBu$	56 : 44
$(CH_3)_2CH-CHO$	$(CH_3)_2CHC=CClCOOtBu$	64 : 36
$PhCH_2COCH_3$	$PhCH_2C(CH_3)=CClCOOtBu$	77 : 23
$CH_3CH_2COCH_3$	$CH_3CH_2C(CH_3)=CClCOOtBu$	51 : 49
$(CH_3)_2CHCOCH_3$	$(CH_3)_2CHC(CH_3)=CClCOOtBu$	82 : 18

2.7.2. Deaçilleme Yöntemi : Uygun reaksiyon koşulları altında, aldehitler (61), susuz K_2CO_3 katalizörlüğünde, 1,3-dikarbonil bileşikleriyle (62) reaksiyona girerek, deaçiloizasyonu takiben tek aşamalı reaksiyon ile α -kloro- α,β -doymamış karbonil bileşikleri (63) hazırlanabilmektedir.³⁷ (Şema 12)



Şema 12

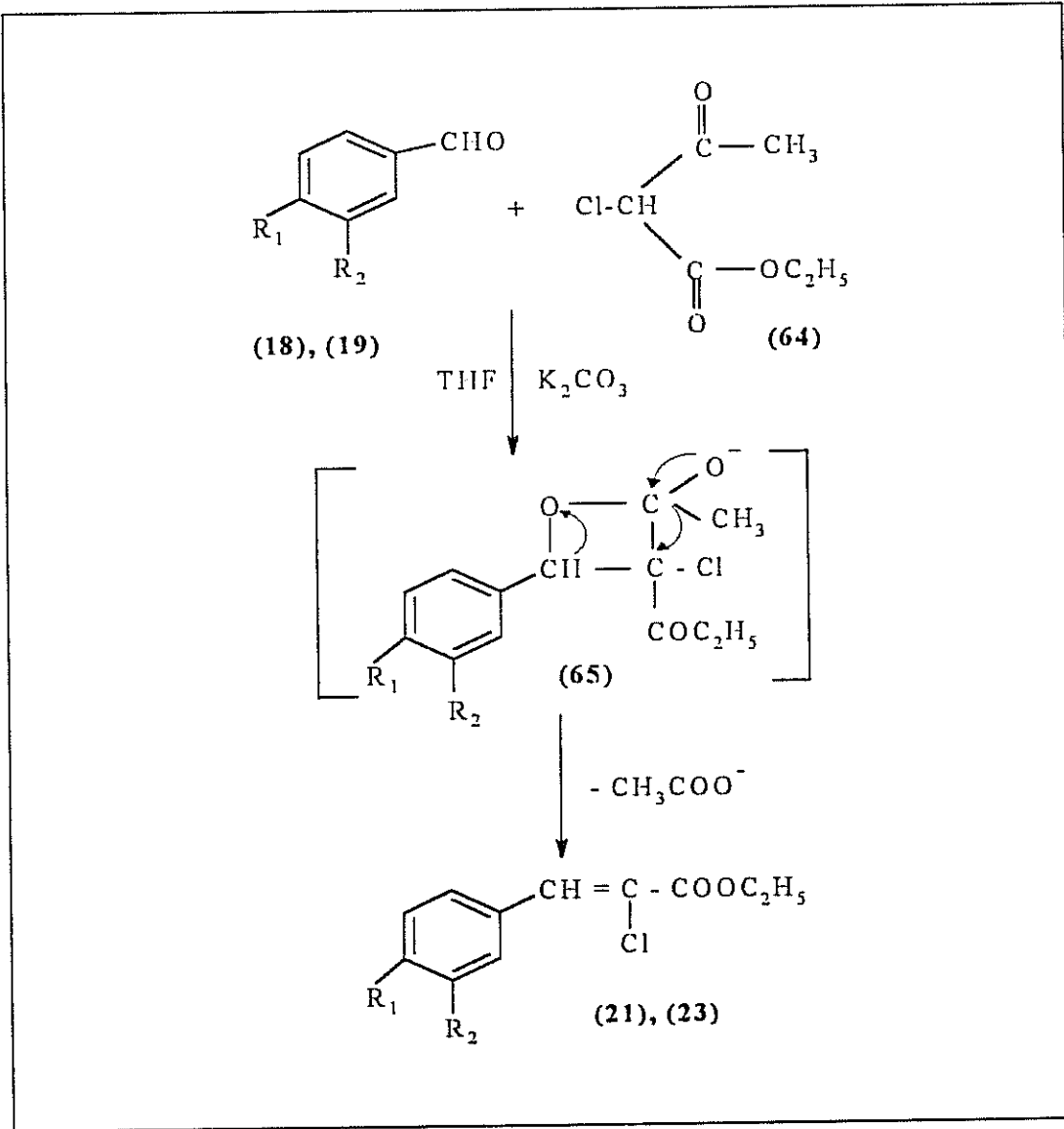
Bu yöntem ile yapılan çalışmalarda (Tablo.2.7.2), genellikle kloral, dikloroaset aldehit, 2,2-dikloropropanal gibi reaktif aldehitler, çeşitli 1,3-dikarbonil bileşikleri ile kondenzasyona tabi tutulmuştur. Reaksiyonun stereo kimyası ise, halkalı olan ara ürün üzerinden belirlenmektedir. Klorlu aldehitlerle yapılan çalışmalarda genellikle Z konfigürasyonundaki alkenler elde edilmiştir. Bu yöntem, tersiyer fosfin ve lityum ter-butiltrimetilsilil- α -klorasetat kullanılarak,³⁶ sentezlenen α -halojeno- α,β -doymamış esterlerinde uygulanan yöntemlerden daha ekonomiktir.

Tablo.2.7.2. α -kloro- α,β -doymamış ester

RCHO	1,3-dikarbonil bileşiği	Ürün	Verim	Z/E
CCl ₃ -	CH ₃ COCH ₂ COCH ₃	CCl ₃ CH=CHCOCH ₃	74	0/100
CCl ₃ -	CH ₃ COCHClCOC ₂ H ₅	CCl ₃ CH=CClCOC ₂ H ₅	83	100/0
C ₂ H ₅ -	CH ₃ COCHClCOC ₂ H ₅	C ₂ H ₅ CH=CClCOC ₂ H ₅	50	75/25
CHCl ₂	CH ₃ COCHClCOC ₂ H ₅	Cl ₂ CHCH=CClCOOEt	67	100/0

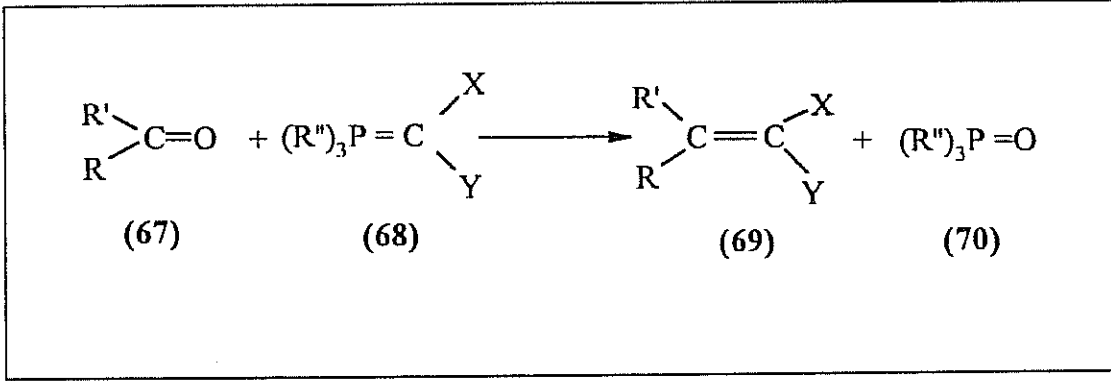
2.7.2.1. Çalışmada İzleneren Yöntem

Çalışmamızda, bu yöntem ile yapılan literatür araştırmalarında, aldehit olarak aromatik aldehitlerin kullanımına rastlanılmamıştır. Bu nedenle, yöntem, α -halojeno- β -aril- α,β -doymamış ester bileşiğini sentezlemek için modifiye edilmiştir. (Şema 13). Bunun amaçla, 3,4-dimetoksibenzaldehit (18), ve 3,4-dihidroksibenzaldehit (19), bileşikleri, etil- α -kloro-asetoasetat (64) ile kondanse edilerek, (21) ve (23) numaralı bileşikler elde edilmeye çalışılmıştır.



Şema 13

2.7.3. Wittig Reaksiyonu Yöntemiyle : Aldehit ya da ketonların (67), fosfonyum ylidlerle (68) , reaksiyona girerek bir alken bileşiği (69) oluşturmaları, 1950'li yıllarda ilk defa Wittig ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilmiştir.



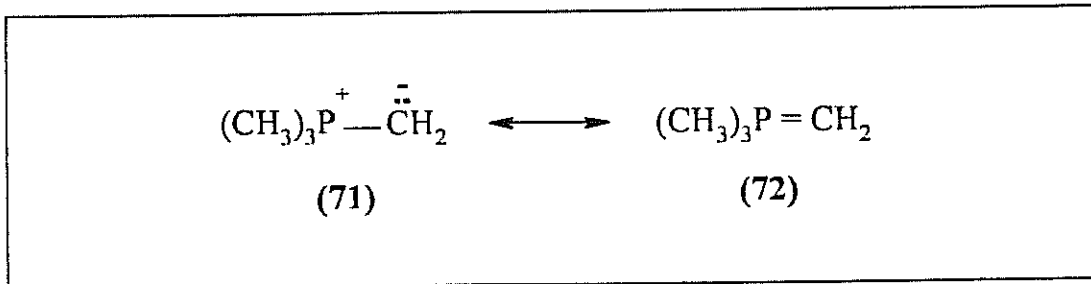
Şema 14

Wittig reaksiyonu ve Wittig tipi olefinasyon reaksiyonlarında, 1960'lı yıllarda büyük ilerlemeler oldu. Wittig reaksiyonunda, oluşacak olan E ya da Z alkenin stereokimyası ve mekanizmasının, reaksiyon şartlarına, karbonil bileşiği ve ylidin yapısına bağlı olduğu kanıtlandı.³⁸

2.7.3.1. Fosfor Ylidleri

Ylidler, pozitif ve negatif yüklere sahip komşu iki atomun (bu atomlar oktet elektronlarına sahiptir) oluşturduğu dipolar yapıdaki bileşiklerdir. Fosfor ylidler, nükleofilik karbonun önemli gruplarından olup, fosfor ylide negatif yük karbon atomu üzerinde, pozitif yük fosfor atomu üzerindedir.³⁵

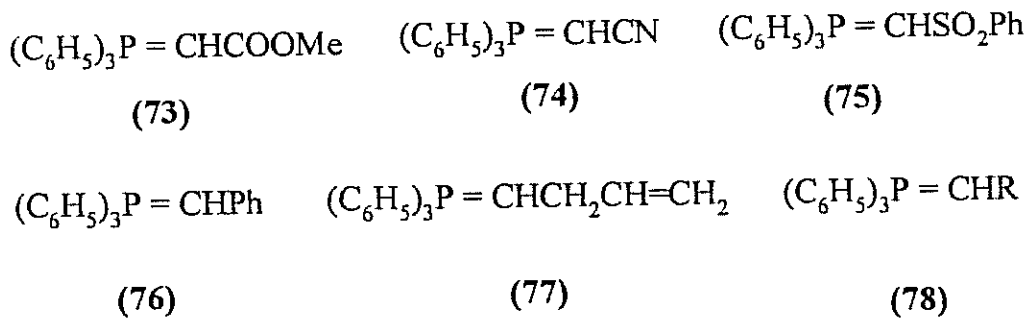
Fosfor ylidler, (Şema 15)'de gösterildiği gibi, trimetilfosfonyum ylid (71) ve trimetilfosfonyum ylen (72) formu olmak üzere iki şekilde gösterilebilirler.³⁵



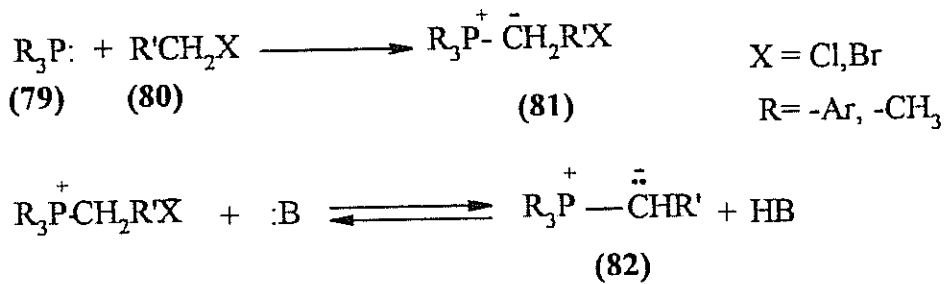
Şema 15

Ayrıca, fosfor ylidler, reaktivitelerine göre 3'e ayrılırlar.³⁹

1. **Kararlı ylidler;** Ylidik karbon üzerinde, -COOMe , -CN, -SO₂Ph gibi güçlü konjugasyona sahip süstitüentler bağlı bileşikler olup (73, 74, 75) genellikle E alkenleri oluştururlar.
2. **Yarı kararlı ylidler;** Ylidik karbona, -Ph, alil gibi daha ılımlı konjugasyona sahip süstitüentler bağlı olan bileşiklerdir. (76), (77)
3. **Kararlı olmayan ylidler;** Ylidik karbon üzerinde, fonksiyonel süstitüentler içermezler (78) ve genellikle Z alkenleri oluştururlar.



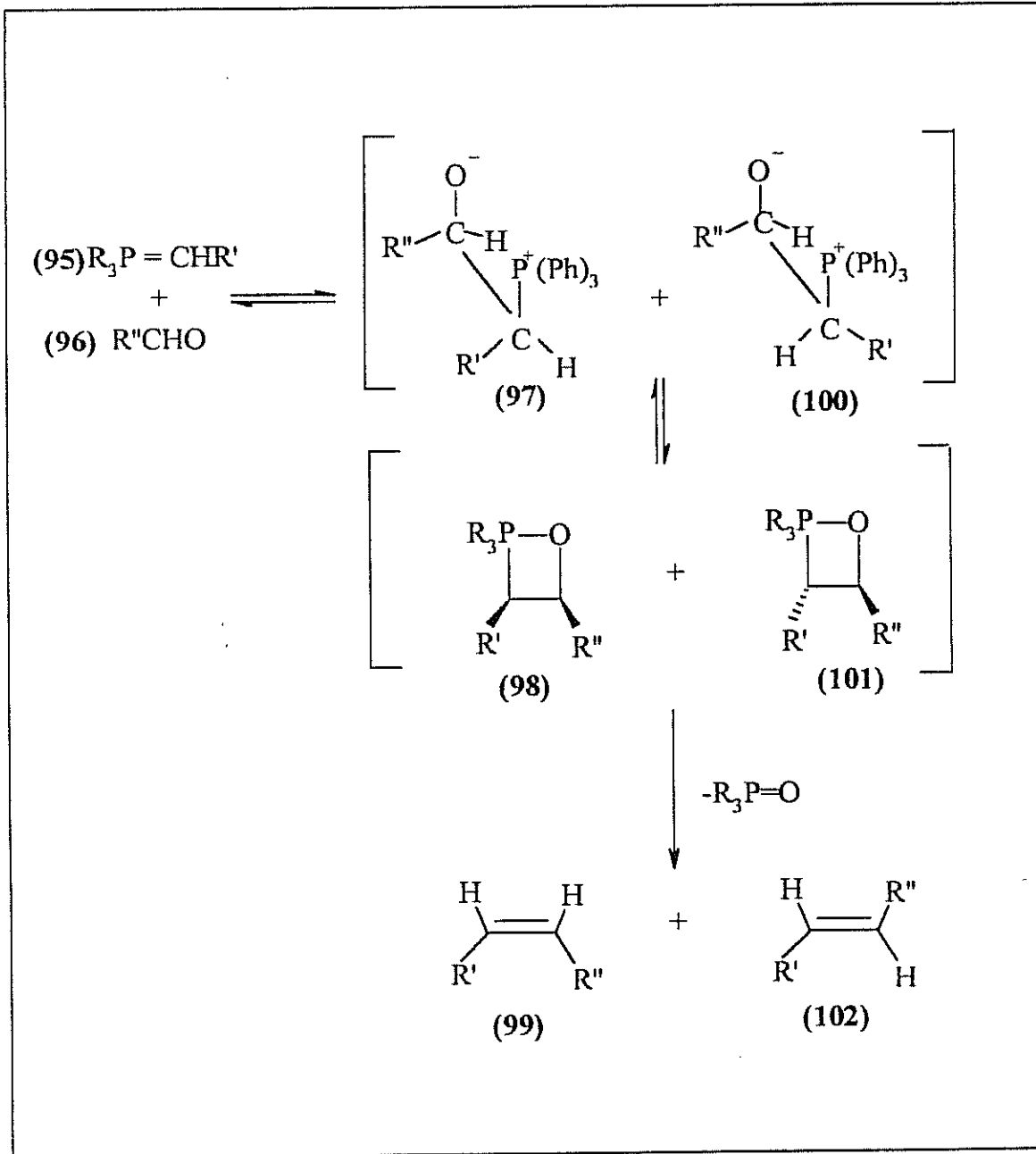
Fosfor ylidler (82), genel olarak, fosfonyum tuzlarının kuvvetli bazlarla olan deprotonasyonu ile hazırlanırlar. Fosfonyum tuzları (81), trialkil veya triaril fosfinlerin (79), alkil halojenürlerle (80), olan reaksiyonundan hazırlanırlar. (Şema 16)



Şema 16

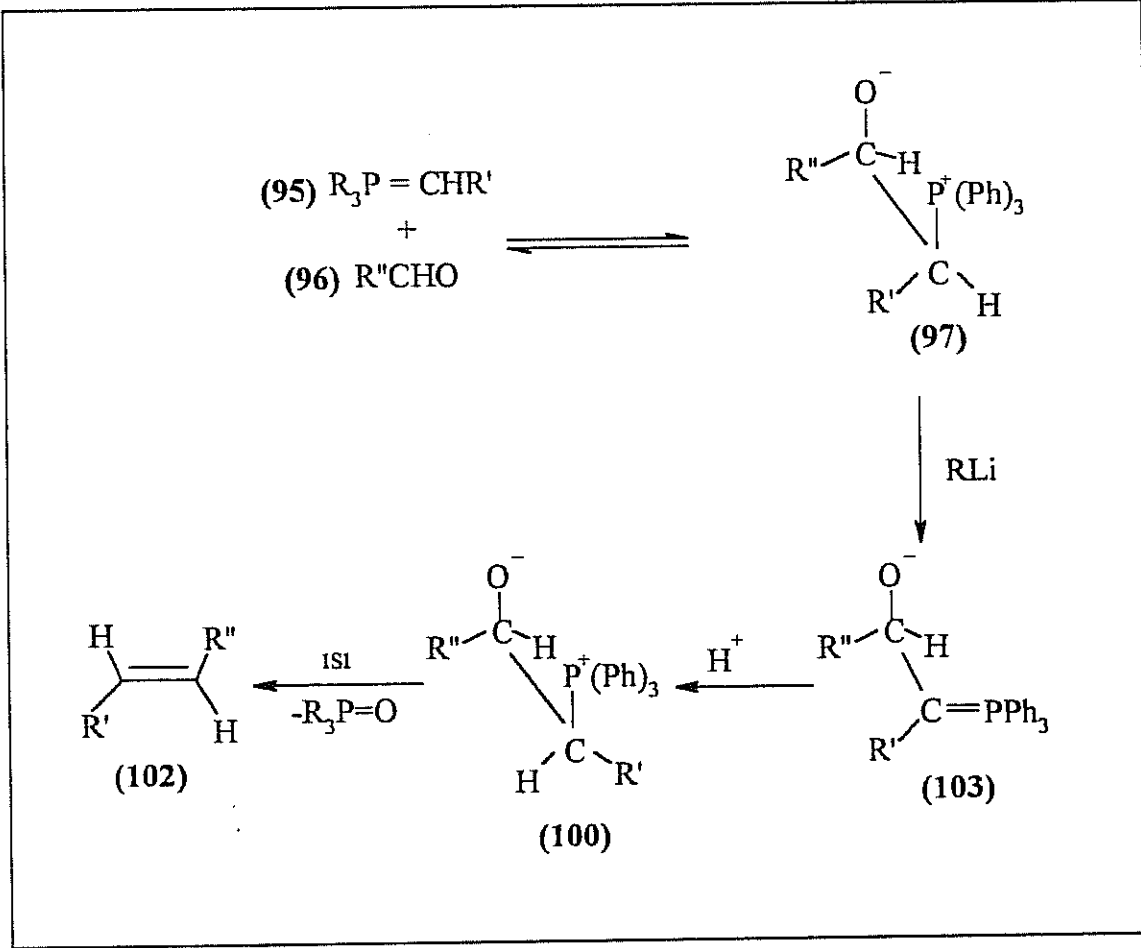
2. Dört üyeli siklik bir fosforan olan betainin (1,2-oksofosfetan; 99 ve 101), geri dönüşümsüz olarak bozunmasıdır.

Alkenin stereokimyasını (E ya da Z geometrisindeki oluşumunu) betain belirler. Geçiş konumunda, *eritro* ve *treo* formunda bulunan betainin, fosfinoksit olarak elimine olmasıyla, *cis*, *trans* ya da E, Z alken izomerleri oluşur. *Eritro* betainden (98), *cis* olefin (99) ; *treo* betainden (100), *trans* olefin (102) elde edilir. İlgili reaksiyonlar (Şema 20)'de gösterilmiştir.



Şema 20

Alkilfosfonyum tuzları, β -oksidofosfor ylidlere, yani betain ylidlere (103), dönüştürülerek, stereo selektif hale getirilebilirler. Bunun için, düşük sıcaklıklarda elde edilen, *eritro* betain (97), bir mol organolityum bileşiği ile muamele edilirse, daha kararlı olan *treo* betaine (100), dönüştürülerek, *trans* olefinler (102), sentezlenebilir. İlgili reaksiyonlar, (Şema 21)'de gösterilmiştir.

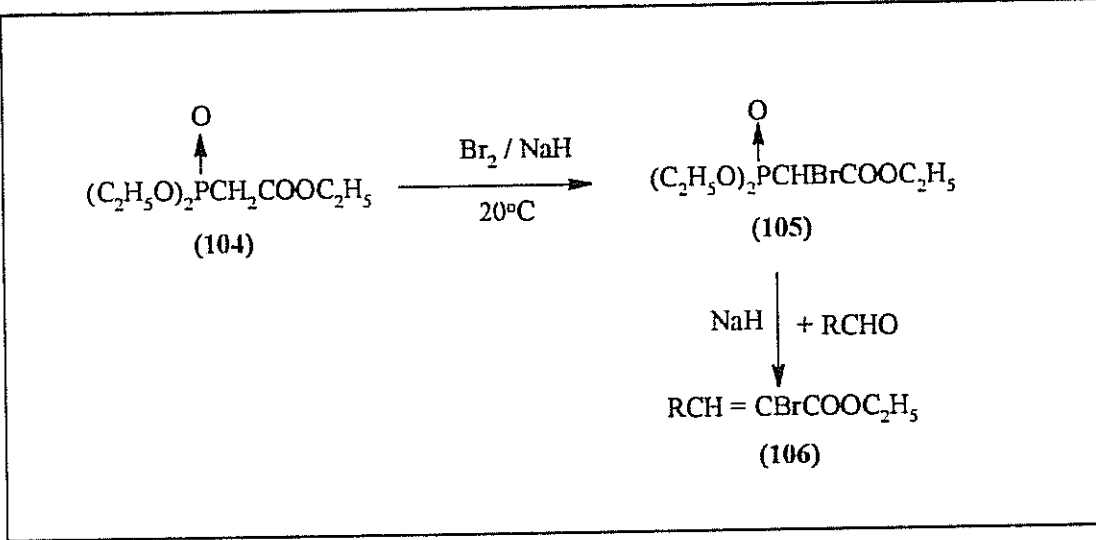


Şema 21

2.7.3.3. Fosfor Ylidlerin α -halojeno- α,β -doymamış Ester Sentezinde Kullanımı

α -halojeno- α,β -doymamış esterler, 104 ve 107 numaralı fosfor ylidler üzerinden, Wittig reaksiyonu ile sentezlenebilirler;

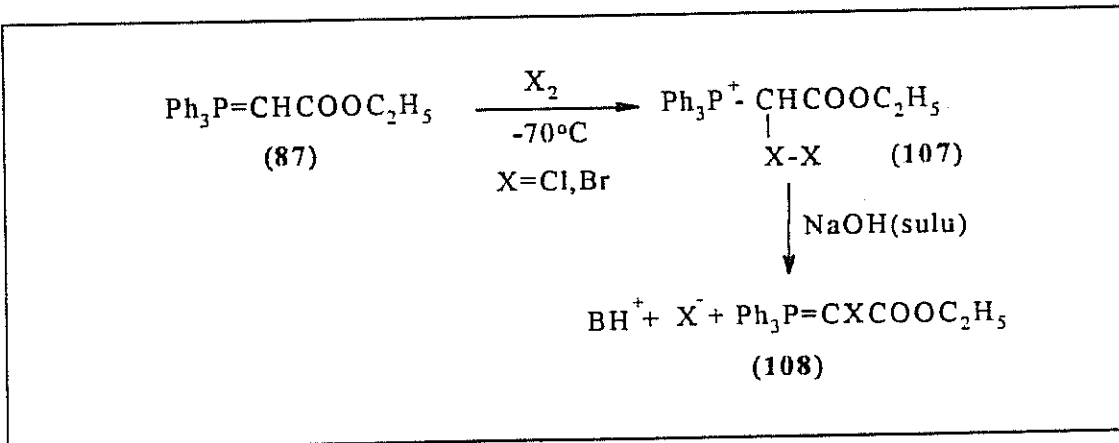
1. Trietilfosfanoasetatın (104), NaH ile reaksiyonundan elde edilen fosfonat karbanyonların, bromasyonundan elde edilen trietilfosfanobromoasetatın (105), bir karbonil bileşiği ile olan kondenzasyonundan, etilbromoalkenoat (106) sentezlenebilir.⁴⁴ (Şema 22)



Şema 22

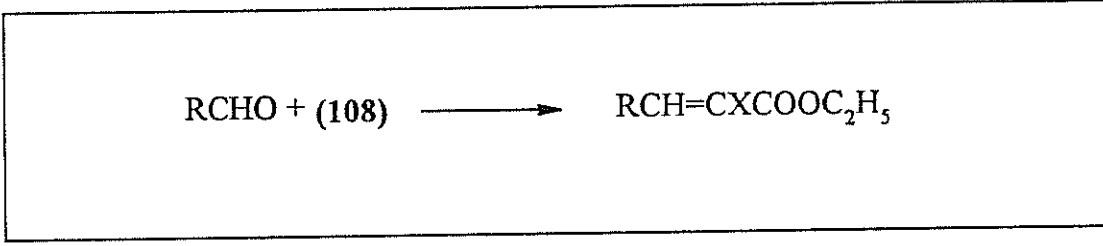
2. Halofosforanlar üzerinden sentezlenebilir. Kararlı olan bu halofosforanlar farklı metodlarla hazırlanabilirler.⁹

- Kararlı fosfor ylidlerin, -70°C 'de bir tersiyer amin varlığında olan halojenasyonundan elde edilirler.
- Kararlı fosfor ylidlerin (87), -70°C 'de halojenasyonu sonrası, izole edilen tuzun (107), % 6'lık NaOH ile olan reaksiyonundan, halofosforan (108) elde edilebilir.



Şema 23

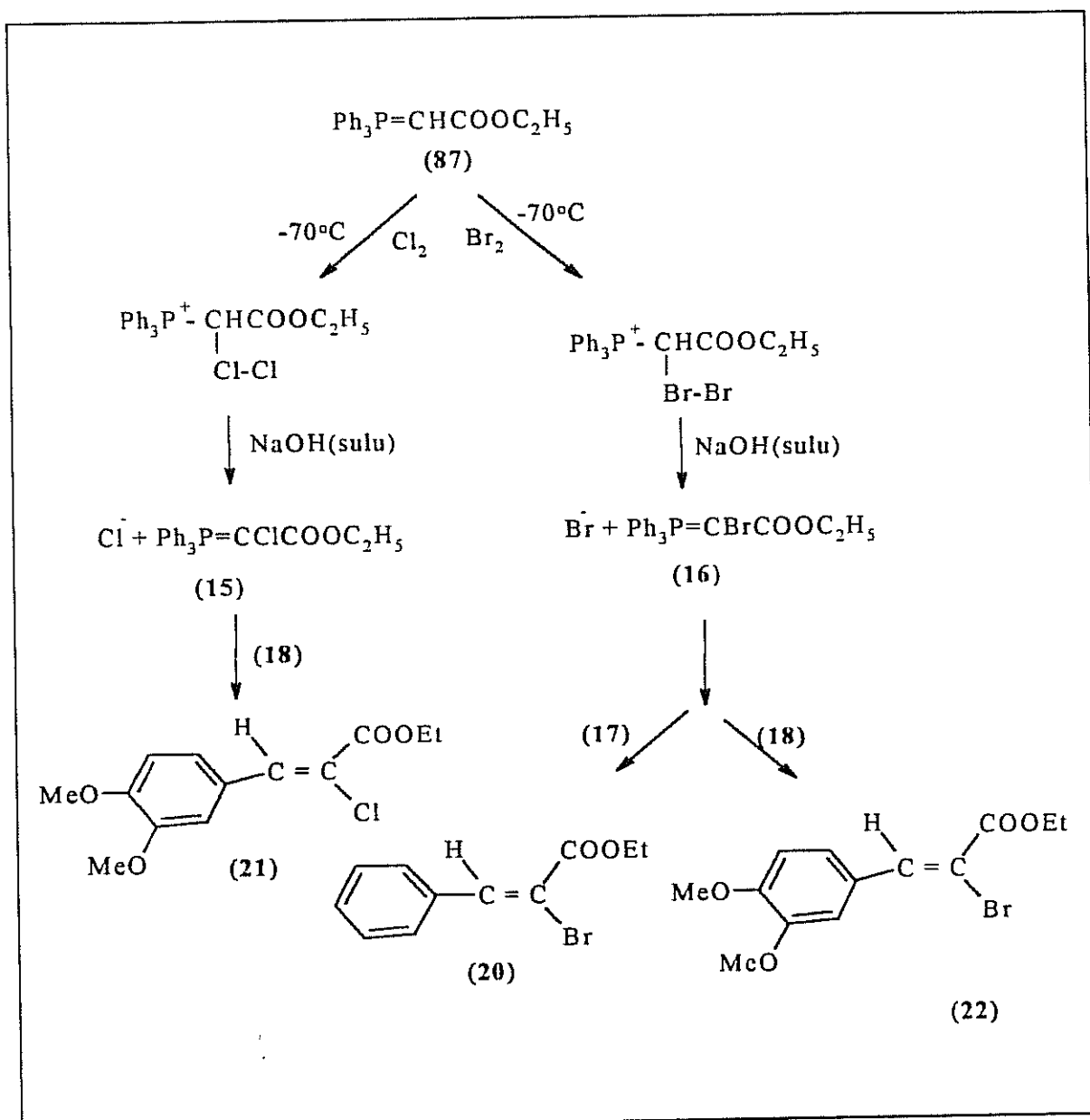
Elde edilen bu halofosforanlar, uygun şartlar altında, çeşitli karbonil bileşikleri ile kondenzasyona girerek, α -halojeno- α,β -doymamış ester bileşikleri elde edilir.⁹



(Şema 24)

2.7.3.4. Çalışmada İzlenen Yöntem

Bu çalışmada, α -halojeno- α,β -doymamış ester bileşiklerinin halofosforanlar üzerinden sentezi (20, 21, 22, 23) ile ilgili reaksiyonlar şema 25'de gösterilmiştir.



Şema 25

BÖLÜM 3.

KULLANILAN KİMYASAL MADDELER CİHAZLAR VE DENEYSEL YÖNTEMLER

3.1. DENEYSEL ÇALIŞMALARDA KULLANILAN KİMYASAL MADDELER

Benzaldehit , C_6H_5CHO ; Fluka Firmasından temin edilen madde % 99 saflıkta olup, Kn: 177-179 °C 'dir.

Etil-2-kloroasetoaset ester, $CH_3COCHClCOOC_2H_5$; Fluka Firmasından temin edilen madde, % 95 saflıkta olup, Kn: 196-199 °C 'dir.

Potasyumkarbonat , K_2CO_3 ; Fluka Firmasından temin edilen madde, susuz olup, % 99.5 saflıktadır.

Tetrahidrofuran , THF, C_4H_8O ; Merck Firmandan alınan madde, % 99 saflıkta olup, Kn: 66 °C 'dir.

Magnezyumsülfat, $MgSO_4$; % 98 saflıkta olan madde, susuz olup, Fluka Firmasından alınmıştır.

Magnezyum , Mg ; Tanecik büyüklüğü 0.06 – 0.3 mm olan madde, % 98.5 saflıkta olup, Fluka Firmasından alınmıştır.

Etil Alkol, C_2H_5OH , % 95 saflıkta olup, çalışmalarda, mutlak etil alkol halinde kullanılmıştır. Bu amaçla ; 2 L'lik bir balona, 800 mL % 95'lik etil alkol ve 250 °C'de fırınlanmış, 200 g kalsiyumoksit konuldu ve üzerinde kalsiyumklorür tüpü

olan bir geri soğutucu altında, 6 saat kaynatıldı. Ve bir gece kendi halinde bırakıldı.
ve, 76 °C'de destillenen kısım toplandı.

Kalsiyumoksit, CaO; Fluka Firmasından temin edilen madde, % 95 saflıkta olup,
kullanılmadan önce 250 °C 'de üç saat fırılandıktan sonra ,etil alkolün kurutma
işleminde kullanılmıştır.

Kalsiyumkarbonat, CaCO₃; % 99 saflıkta olup, Fluka Firmasından temin
edilmiştir.

Metil Alkol, CH₃OH; Merck Firmasından alınan madde, % 99.5 saflıkta olup,
çalışmalarda, mutlak metanol olarak kullanıldı. Bu amaçla; Üzerinde CaCl₂ tüpü
olan 1L'lik bir balona; 2.5 g Mg, 0.25 g I₂ konuldu ve üzerine 80 mL CH₃OH
katıldı. Alkol ilavesiyle, H₂ gazı çıkması sonucu ısınma oldu. (Eğer H₂ gaz çıkışı
olmuyorsa ortama biraz daha I₂ ilave etmek gerekir.) Balon soğuduktan sonra,
karışım, magnezyum metanolat oluncaya kadar ısıtıldı. Hafif beyazımsı bir hal
alınca, üzerine 420 mL CH₃OH daha ilave edildi. 2 saat daha, geri soğutucu altında
kaynatıldı, ve 65 °C'de destillendi.

Asetik Asit, CH₃COOH ; Merck Firmasından temin edilen madde, % 99.8 saflıkta
olup, Kn: 118 °C 'dir.

Toluen, C₆H₅(CH₃); Carlo Erba Firmasından temin edilmiş olup , % 99 saflıktadır
ve Kn: 109 °C 'dir.

Asetikanhidrit, (CH₃CO)₂O ; Merck Firmasından temin edilmiş olup, % 98
saflıktadır ve Kn : 140 °C 'dir.

Piridin , C₅H₅N; Merck firmasından temin edilen madde, % 99.5 saflıkta olup,
Kn: 115 °C 'dir.

Brom, Br₂; Merck Firmasından temin edilmiş olup, % 99.8 saflıktadır ve
Kn: 58 °C dir.

Sülfirik Asit, H_2SO_4 ; Merck Firmasından temin edilmiş olup, % 98 saflıktadır ve
Kn: 330 °C 'dir.

Sodyumbikarbonat, $NaHCO_3$; Merck Firmasından temin edilmiş olup, % 99.5 saflıktadır.

Trifenilfosfin, $(Ph)_3P$; Fluka Firmasından temin edilmiş olup, % 99 saflıktadır ve
En: 79-81 °C 'dir.

Benzen, C_6H_6 ; Fluka Firmasından temin edilmiş olup, % 99.5 saflıktadır ve
Kn: 80 °C 'dir.

Petrol Eter; Merck Firmasından temin edilmiş olup, Kn: 40-60 °C 'dir.

Sodyumhidroksit, $NaOH$; Fluka Firmasından temin edilmiş olup, % 98 saflıktadır.

Aseton, CH_3COCH_3 ; Fluka Firmasından alınmış olup, % 99.5 saflıktadır ve
Kn: 55-56 °C 'dir.

Hekzan, C_6H_{14} ; Merck Firmasından alınmış olup, % 99 saflıktadır ve
Kn: 68 °C 'dir.

Dietil Eter, $C_2H_5OC_2H_5$; Merck Firmasından temin edilmiş olup, % 99.5 saflıktadır ve
Kn: 34 °C 'dir.

Potasyum Permanganat, $KMnO_4$; Merck firmasından temin edilmiş olup, % 99 saflıktadır.

Hidrojenklorür Asidi, HCl ; Merck Firmasından alınmış olup, % 37 saflıktadır ve
Kn: 85 °C 'dir

Karbontetraklorür, CCl_4 ; Merck Firmasından alınmış olup, % 99.8 saflıktadır ve
Kn: 76 °C 'dir.

Trietilamin, $(C_2H_5)_3N$; Fluka Firmasından temin edilmiş olup, % 99.5 saflıktadır ve
Kn: 88-89 °C 'dir.

Diklorometan, CH_2Cl_2 ; Merck Firmasından alınmış olup, % 99.5 saflıktadır ve

Kn: 40 °C

Pentan, C_5H_{12} ; Merck Firmasından alınmış olup, % 99.5 saflıktadır ve

Kn: 36 °C 'dir.

3,4-Dimetoksi Benzaldehit, $3,4-(OMe)_2C_6H_3CHO$; Fluka firmasından alınmış olup,

% 98 saflıktadır ve En: 41-44 °C'dir.

Toluen, $C_6H_5(CH_3)$; Carlo Erba Firmasından alınmış olup , % 99 saflıktadır.

3,4-Dihidroksi Benzaldehit, $3,4-(OH)_2C_6H_3CHO$; Fluka Firmasından temin edilmiş

olup, % 97 saflıktadır ve En: 200 °C'dir.

Etilasetat, $C_2H_5COOC_2H_5$; Merck Firmasından alınmış olup, % 99.5 saflıktadır ve

Kn: 77 °C 'dir.

Sodyumasetat, CH_3COONa ; Labor Teknik firmasından temin edilmiş olup,

çalışmalarda, 250 °C'de fırınlandıktan sonra kullanıldı.

Sodyumsülfat, Na_2SO_4 , Merck Firmasından temin edilmiş olup, % 99 saflıktadır.

Potasyumdihidrojenfosfat, KH_2PO_4 ; Merck Firmasından alınmış olup, % 99.5

saflıktadır.

Amonyumdihidrojenfosfat, $NH_4 H_2PO_4$; Merck firmasından temin edilmiş olup,

% 99 saflıktadır ve En: 190 °C

Potasyumhidroksit, KOH , Merck Firmasından temin edilmiş olup, % 85 saflıktadır

ve En: 360 °C 'dir.

Sodyumkarbonat, Na_2CO_3 ; Fluka Firmasından alınmış olup, % 99.5 saflıktadır.

Metalik Sodyum, Na , Fluka Firmasından alınmıştır.

Kalsiyumklorür, $CaCl_2$; Labor Teknik firmasından alınmış olup, tekniktir.

Can Maya, Pak Maya, Yuva Maya; Migrostan temin edilmiş olup, +4 °C'de

buzdolabında muhafaza edildi.

Saccharomyces Cerevisiae, Sigma Firmasından temin edilmiş olup, % 90 saflıktadır ve +4 °C'de buzdolabında muhafaza edilmiştir.

Sodyum Alginat, Merck Firmasından alınmıştır.

Prepoliakrilamid, Merck firmasından alınmış olup, % 99 saflıktadır.

N,N'-Metilenbisakrilamid, BIS, Sigma Firmasından alınmıştır.

N,N,N,N-Tetrametiletilediamin, TEMED, Sigma Firmasından alınmıştır.

Amonyum Persülfat, $\text{NH}_4\text{S}_2\text{O}_8$; Merck Firmasından alınmış olup, % 99 saflıktadır.

Sodyumklorür, NaCl; Fluka Firmasından temin edilmiş olup, % 99.5 saflıktadır.

Glisin, $\text{NH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$; Merck Firmasından temin edilmiş olup, % 99.5 saflıktadır ve En: 232-296 °C 'dir.

Pd / C, Fluka Firmasından temin edilmiş olup, % 10 Pd içermektedir.

Potasyumbromür, KBr; Merck firmasından temin edilmiş olup, % 99.5 saflıktadır.

Sentezlenen maddelerin, tablet yapılarak, FT-IR spektrumlarının alınmasında kullanıldı.

İnce Tabaka Kromatografisi, İTK, Fluka firmasından alınmış olup, 254 nm floresan indikatörlü, 0.2 mm kalınlığında ve 20X20 ebatlarında alüminyum kart.

Silika gel, Merck Firmasından temin edilmiş olup, 70-230 mesh tanecik büyüklüğünde, 254 nm floresan indikatörlü, kolon kromatografisi için kullanılan bir dolgu maddesidir.

Silika gel, Merck Firmasından temin edilmiş olup, 254 nm floresan indikatörlü, preparatif ince tabaka kromatografisinde kullanılan bir dolgu maddesidir..

Celite, Fluka Firmasından alınmış olup, süzme işleminde kullanılan bir dolgu maddesidir.

3.2. DENEYSEL ÇALIŞMALARDA KULLANILAN CİHAZLAR

Deneysel çalışmalarımızda, Fen-Edebiyat Fakültesi imkanlarından yararlanılmıştır. Schmadzu FT-IR, Camag UV Lambası ve Gallenkamp erime noktası, santrifüj (Denley BS4000) kullanılmıştır.

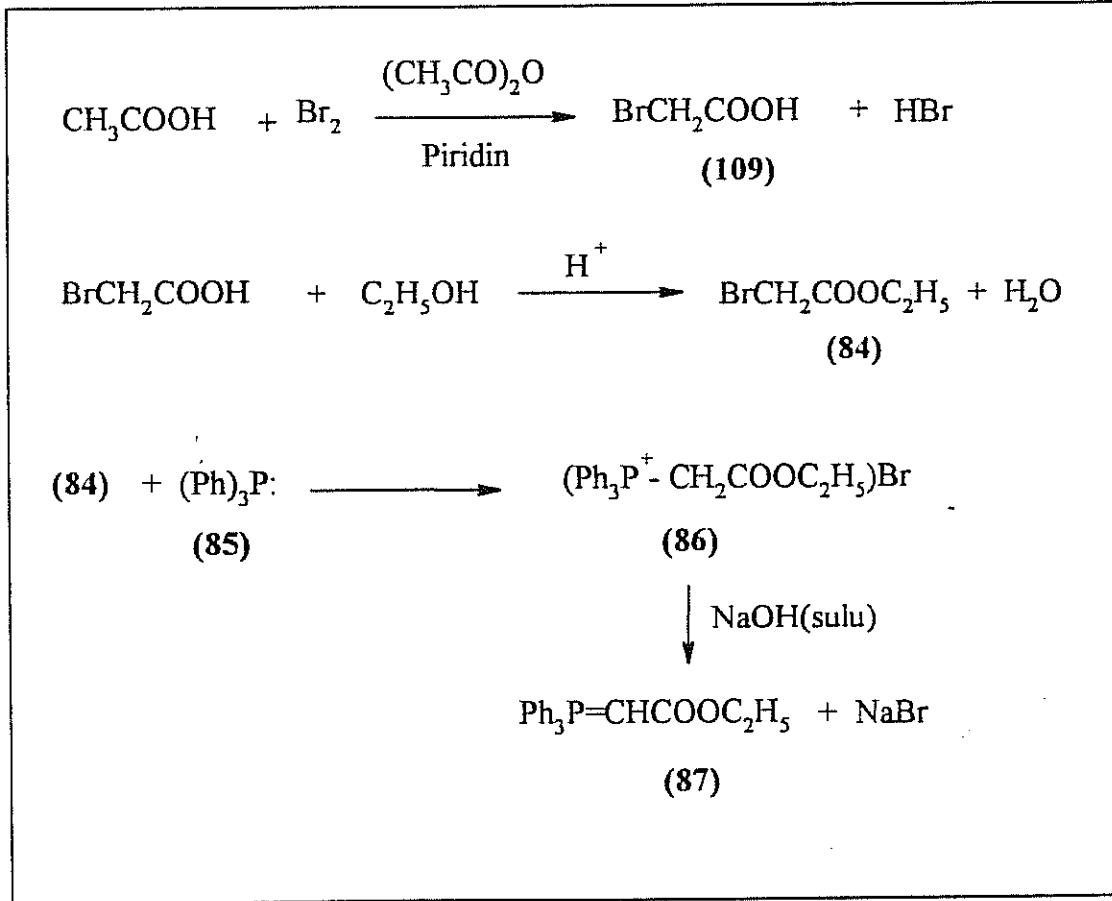
Sentezlenen maddelerin yapılarının aydınlatılması için gereken; $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ spekturumları, (BRUKER DPX-400); Kütle Spekturumları, (Micromass VG Platform-II) ve Elementel Analizler, (CHNS-932 LECO), TÜBİTAK-Ankara Enstrumental Analiz Laboratuarında ve Gebze Enstrumental Analiz Laboratuarında yaptırılmıştır.

3.3. SENTEZLENEN BİLEŞİKLERLE İLGİLİ REAKSİYONLAR

Bu çalışmada, ekmek mayası *saccharomyces ceevisiae* ile indirgeme reaksiyonlarında kullanılmak üzere, prokiral dört substrat (21, 22, 40, 41) sentezlenmiştir. Bu substratlarla ilgili reaksiyonlar aşağıdaki gibidir.

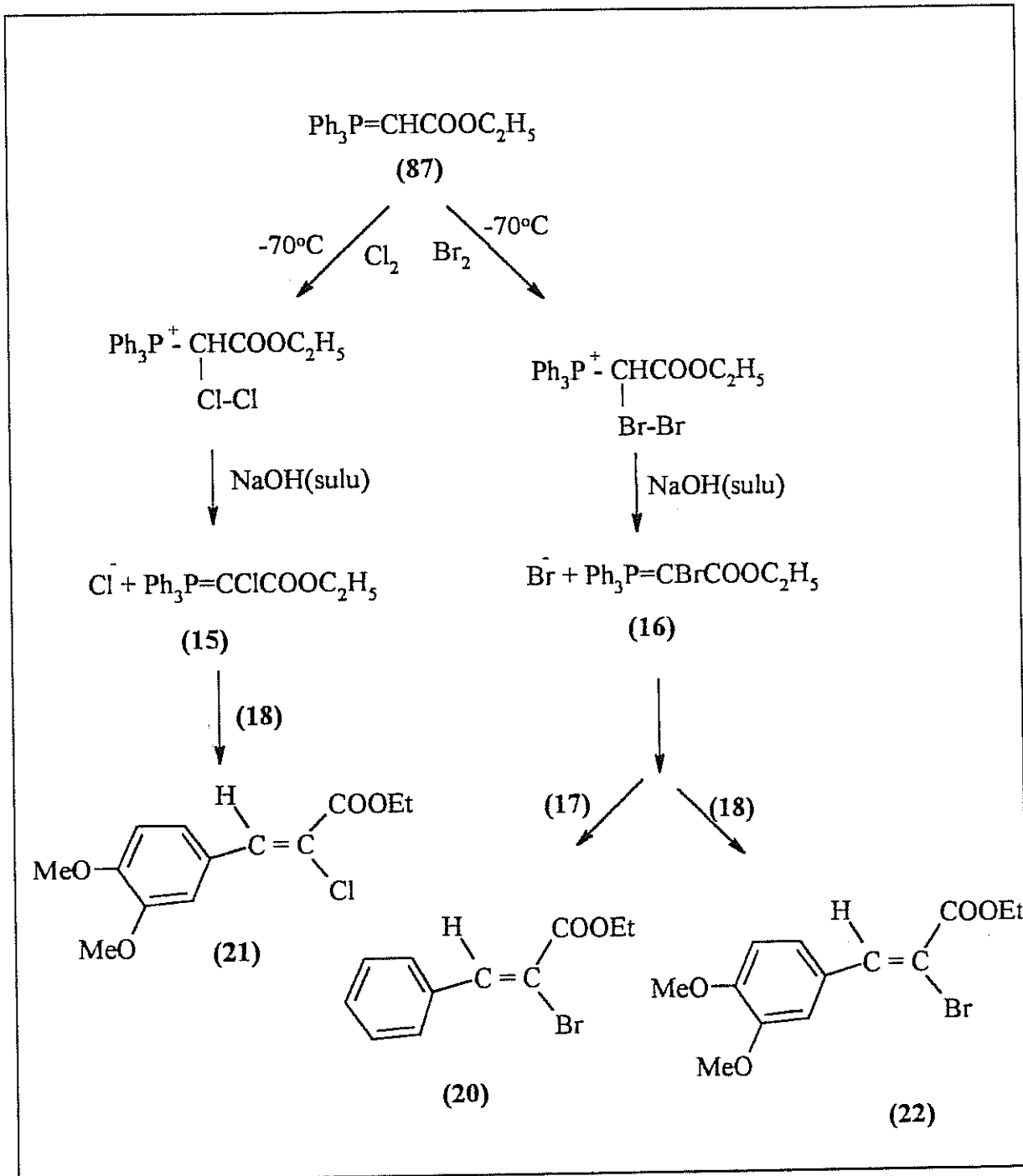
3.3.1. 21 ve 22 Bileşiklerinin Sentezi; Bu bileşikler, Wittig reaksiyonu yöntemi ile halofosforanlar üzerinden sentezlenmiştir. Bu çalışmada, halofosforanlar, (15, 26) başlangıç maddeleriyle beraber, aşağıdaki gibi sentezlenmiştir. İlk önce kararlı bir ylid olan, (87) numaralı fosforan bileşiği hazırlanmıştır.

(Şema 1)



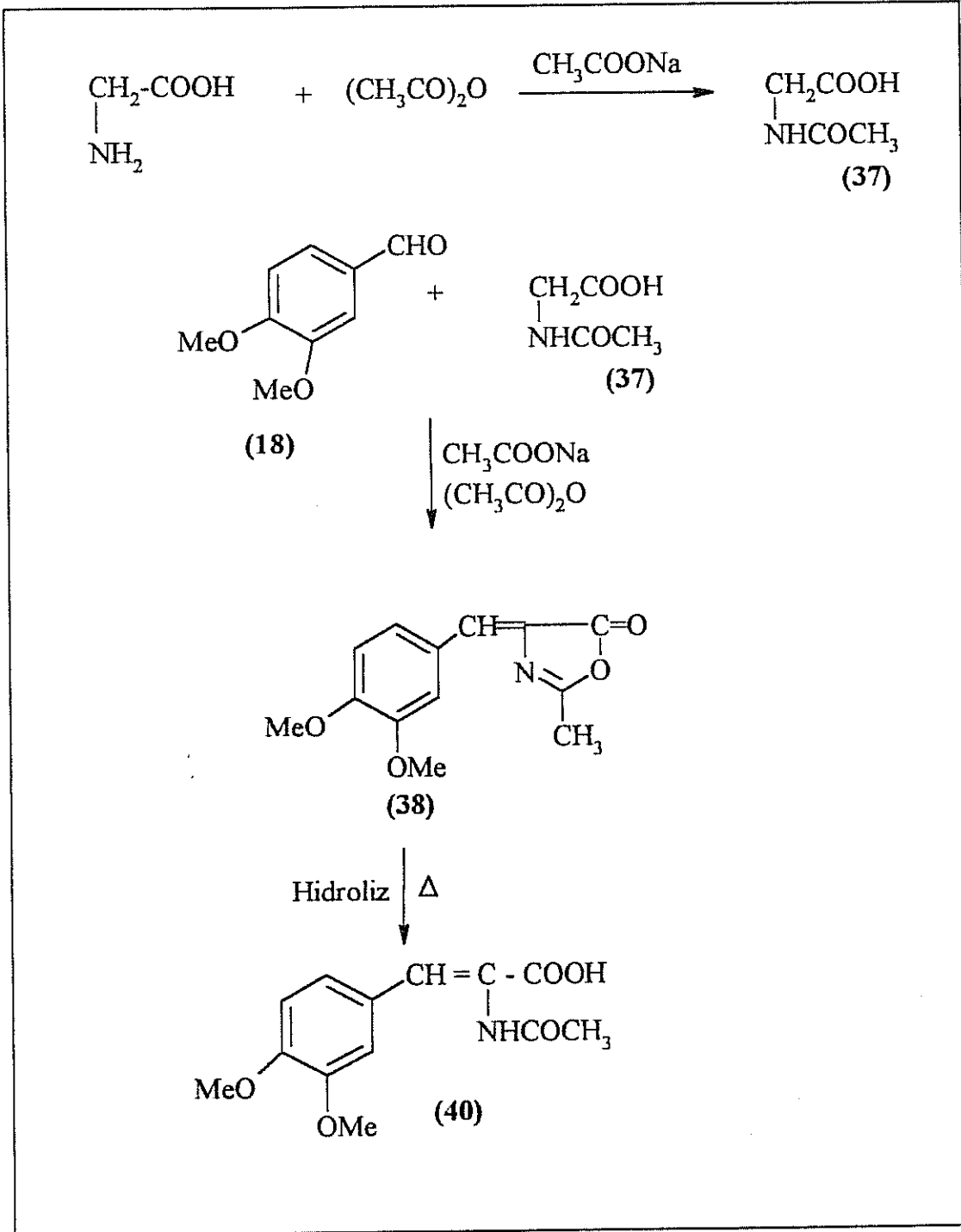
Şema 1

Elde edilen (87) bileşiği, kurubuz-aseton banyosunda -70°C 'de halojenlenerek 15, 16 bileşikleri elde edilmiştir. Hazırlanan halofosforanlardan 16 numaralı türevi, ön denemelerde kullanılmak üzere, benzaldehitte kondenzasyona tabi tutularak 20 bileşiğinin sentezinde kullanılmıştır. (Şema 2)



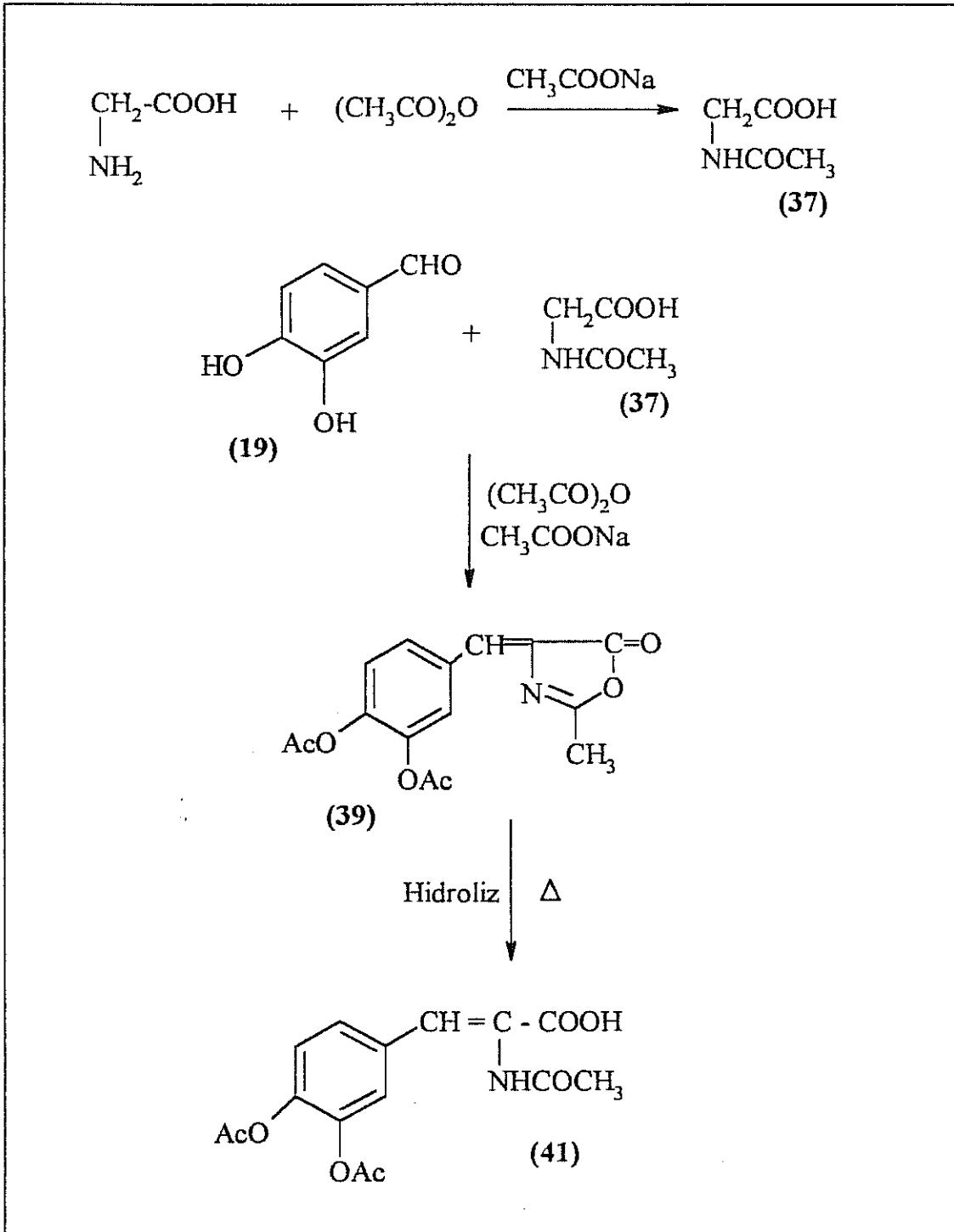
Şema 2

3.3.2. 40 Bileşğinin Sentezi; Öncelikle, bu bileşğın sentezi için gerekli, N-asetilglisin (37) hazırlanmıştır. Şema 3’de 40 numaralı bileşğın sentezindeki reaksiyonlar gösterilmiştir.



Şema 3

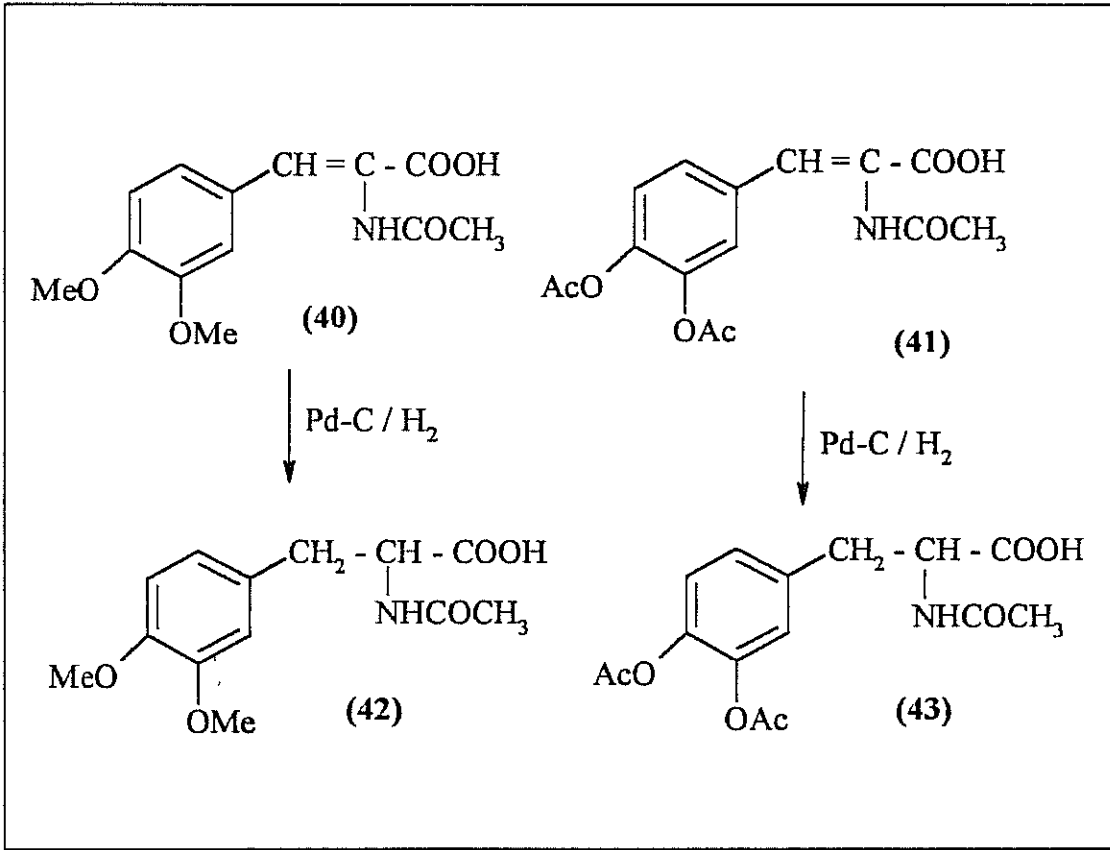
3.3.3. 41 Bileşiğinin Sentezi; Şema 4 'de bu bileşiğin sentezi ile ilgili reaksiyonlar gösterilmiştir.



Şema 4

Çalışmalarımızda sentezlenen, 20 numaralı türev, ön denemeler için hazırlanmış olup 21, 22, 40, 41 substratlarının, ekme mayası (yaş, kuru ve immobilize) ile indirgeme çalışmaları yapılmıştır.

Ayrıca, bu substratlardan, 40 ve 41 bileşiklerinin Pd/C ile azot atmaosferi altında hidrojenasyonu yapılmıştır. İlgili reaksiyonlar Şema 5' te gösterilmiştir.



Şema 5

3.4. DENEYSEL YÖNTEMLER

3.4.1. Deaçilleme Yöntemi İle Z- Etil-3-(3,4-disübstitüe fenil)-2- kloro 2-Propenoat Denemesi³⁷

Üzerinde geri soğutucu bulunan üç boyunlu 250 mL'lik bir balona; 190.0 mL mutlak THF'da çözülmüş, 240.0 mmol, 25.44 g benzaldehit, 200.0 mmol, 33.0 g α -kloroasetoasetester ve 300.0 mmol (41.5 g) susuz K_2CO_3 konularak, oda sıcaklığında manyetik karıştırıcı ile iki gün karıştırıldı. Reaksiyon sonunda, THF döner buharlaştırıcıda uzaklaştırıldı. Kalan kısma 500.0 mL su ilave edildi ve eter ile iki kez ekstrakte edildi, eterli fazlar birleştirildi ve susuz $MgSO_4$ ile kurutuldu. Eter, döner buharlaştırıcıda uzaklaştırıldı. Kalan kısım, vakum altında destile edilerek (Tablo.3.3.1)' deki fraksiyonlar halinde toplandı.

Tablo.3.4.1

Fraksiyon No	Sıcaklık °C	Vakum (mm-Hg)
1	30	10
2	48-51	7-10
3	75	8-9

Bu üç fraksiyonun, başlangıç maddeleri referans alınarak, petrol eter : etilasetat (18 : 4) hareketli fazında, İTK'lerine bakıldı. Bu çalışmalarda 1 numaralı fraksiyonunun benzaldehit, 2 numaralının, α -kloroasetoasetester, 3 numaralı fraksiyonun da referanslardan farklı yerlerde leke verdiği görüldü. Bu bulgular, kondenzasyon reaksiyonunun gerçekleştiğini, fakat safsızlıklar içerdiğini göstermektedir. Sentez sırasında oluşan safsızlıklar, mikro fraksiyonlu vakum

destilasyonu ile giderilmeye çalışıldı ise de giderilemedi.

Bu çalışma, 3,4-dimetoksibenzaldehit ve 3,4-dihidroksibenzaldehit kullanılarak tekrarlandı, fakat başarılı sonuçlar elde edilemedi.

Reaksiyonlar, K_2CO_3 'dan daha kuvvetli bir baz olan C_2H_5ONa ve CH_3ONa ile de tekrarlandı.

Mekanik karıştırıcı, üzerinde $CaCl_2$ tüpü olan geri soğutucu ve damlatma hunisi ile donatılmış üç boyunlu 500 mL'lik bir balona; 250.0 mL mutlak C_2H_5OH konuldu ve içine küçük parçalar halinde metalik sodyumlar ilave edildi. Tüm Na'un reaksiyona girip, C_2H_5ONa oluşturmasından sonra, 0.336 mol, 55.49 g etil-2-kloroasetoasetat reaksiyon ortamına ilave edildi. Bu işlem sonunda, sarı renkli, kıvamlı bir çözelti elde edildi. Daha sonra damla damla, 0.37 mol, 39.37 g benzaldehit katıldı. İlave sırasında oluşan ısı çıkışı durduktan sonra, reaksiyona 2 gün geri soğutucu altında kaynama sıcaklığında devam edildi. Reaksiyonun yürüyüşü, başlangıç maddeleri referans alınarak, İTK ile petrol eter : etilasetat ; 18:4 hareketli fazında kontrol edildi ve referanslardan farklı yerlerde lekeler olduğu görüldü Reaksiyon sonunda alkol fazlası, döner-buharlaştırıcı yardımı ile uzaklaştırıldı. Balonda kalan kısım, önce su ile işlem gördükten sonra, eter ile ekstrakte edildi. Eter fazı $MgSO_4$ ile kurutuldu, süzüldü ve ayrıldı. Eter döner-buharlaştırıcıda uzaklaştırıldı. Kalan kısım, kolon kromatografisi ile saflaştırılmaya çalışıldı fakat safsızlıklar giderilemedi.

Aynı çalışma, yukarıdakine benzer düzenek kurularak, CH_3ONa ile de yapıldı.

Balona; 70.0 mL mutlak metanol konuldu ve içine metalik sodyum küçük parçalar halinde atıldı. Bu sırada balon içindeki karışım, manyetik karıştırıcı ile sürekli karıştırıldı. Oluşan CH_3ONa üzerine 0.08 mol, 13.42 g Etil-2-kloro aseto asetat damlatma hunisinden yavaş yavaş ilave edildi. Daha sonra reaksiyon ortamına, 0.089 mol, 9.45 g benzaldehit katıldı ve reaksiyona bir gün süreyle, geri soğutucu altında kaynama sıcaklığında devam edildi. Reaksiyonun yürüyüşü, başlangıç maddeleri referans alınarak İTK ile (petrol eter : etilasetat ; 18:4) hareketli fazında kontrol edildi

ve referanslardan farklı yerlerde üç leke görüldü. kısım üzerine su katılıp, eter ile ekstrakte edildi. Reaksiyon sonunda metil alkol fazlası, döner-buharlaştırıcı yardımı ile uzaklaştırıldı. Balonda kalan kısım, önce su ile işlem gördükten sonra, eter ile ekstrakte edildi. Eter fazı MgSO₄ ile kurutuldu, süzüldü ve ayrıldı. Eter döner-buharlaştırıcıda uzaklaştırıldı. Kalan kısım, kolon kromatografisi ile saflaştırılmaya çalışıldı fakat safsızlıklar giderilemedi.

3.4.2. WITTIG REAKSİYONU

Bu reaksiyon; α -halojeno- β -aril- α,β -doymamış ester bileşiklerini sentezlemek üzere, iki aşamalı olarak gerçekleştirilmiştir. Birinci aşamada, 15 ve 16 numaralı halofosforanlar sentezlenmiştir. İkinci aşamada, elde edilen halofosforanların çeşitli karbonil bileşikleri ile kondenzasyonu gerçekleştirilmiştir.

3.4.2.1. Halofosforanların Sentezi (15), (16)

Bu reaksiyon için, gerekli olan halofosforanlar başlangıç maddelerinden itibaren sentezlenmiştir.

I - Bromoasetik Asit Sentezi⁴⁸ (109)

Üzerinde CaCl₂ tüpü olan geri soğutucu ve damlatma hunisi ile donatılmış iki boyunlu 250 mL'lik iki boyunlu bir balona; 1.88 mol, 131.87 g glasiyal asetik asit, 26.8 g, 0.26 mol asetikanhidrit ve 1 mL piridin konuldu ve karışım kaynayınca kadar manyetik karıştırıcı üzerinde ısıtıldı. Sonra ısıtma durduruldu ve 1 mL brom damlatma hunisinden damlatılarak, karışım renksiz oluncaya kadar bekletildi. (yaklaşık 10 dakika içinde Br₂'un rengi kayboldu.) ve 0.874 mol, 139.84 g brom, yaklaşık 4 saat içerisinde damlatıldı. Bu sırada balon, kaynama durmayacak şekilde yavaşca ısıtıldı. İlaveler sonunda elde edilen koyu renkli karışım, renksiz oluncaya kadar ısıtıldı. Soğutulan renksiz karışıma, yavaş yavaş 20.0 mL su katıldı ve reaksiyon esnasında oluşan asetik asit ve su, dönerli buharlaştırıcıda uzaklaştırıldı. Geriye kalan kısım soğutulduğunda bromoasetik asit kristallerinin çöktüğü görüldü. 103.0 g,

0.74 mol, bromoasetik asit elde edildi. E.n: 50 °C dir. Literatür değeriyle uyum içindedir.

II. Etilbromoasetat Sentezi⁴⁹ (84)

Üzerinde geri soğutucu olan 500 mL'lik bir balona; 0.65 mol, 90.0 g bromoasetik asit, 115.0 mL mutlak C₂H₅OH, 100.0 mL toluen ve 1.0 mL derişik H₂SO₄ konuldu. Karışım hafifçe geri soğutucu altında ısıtıldı. Esterleşme sırasında oluşan su, reaksiyon ortamından uzaklaştırıldı. Reaksiyona, su çıkışı olmayana kadar devam edildi, ve reaksiyon yürüyüşü İTK ile kontrol edildi. Reaksiyon sonunda balondaki karışım ayırma hunisine alındı, ve sırasıyla su, NaHCO₃ çözeltisi, su ile ekstraksiyon işlemi uygulandı. Ekstrakt, MgSO₄ ile kurutuldu. Kurutulan ham ürün, fraksiyonlu vakum destilasyonu ile saflaştırıldı ve Tablo 3.4.2.1.'de gösterilen değerler elde edildi.

Tablo 3.4.2.1.

Fraksiyon no	Sıcaklık °C
1	110 - 114
2	114 - 128
3	130 - 152

1 ve 2 numaralı fraksiyonların toluen olduğu anlaşıldı. 3 numaralı fraksiyon, destilasyon balonunda kalanlarla birleştirilerek tekrar vakum destilasyonu yapıldı ve Tablo 3.4.2.1.1'deki fraksiyonlar elde edildi.

Tablo 3.4.2.1.1

Fraksiyon no	Sıcaklık °C
1	143 - 152
2	152 - 156

1 ve 2 numaralı destilatların, kloroform mobil fazında İTK'sine bakıldı ve aynı yerde leke verdikleri görüldü. Etilbromoasetat olan bu iki destilat birleştirildi. (0.31 mol, 52.064 g). . FT- IR spekturumu alınan maddenin, etilbromoasetat olduğu saptandı.

III. Trifenilkarbetoksimetilenfosforanın Hazırlanması⁹ (87)

Dibi yuvarlak 1 L'lik bir balona; 227.0 mL benzende çözülmüş 0.45 mol, 119.0 g trifenilfosfin ve 227.0 mL benzende çözülmüş 0.45 mol, 75.6 g etilbromoasetat konuldu ve 24 saat manyetik karıştırıcı üzerinde hızlı bir şekilde karıştırıldı. Fosfonyum tuzunun oluşması ile, balonda hafif bir ısınma gözlemlendi. Karıştırma sonunda, karışım oda sıcaklığında 12 saat bekletildi. Oluşan beyaz kristaller Büchner hunisinden süzüldü. Kristaller, sırasıyla benzen ve hekzanla yıkandı, suda çözüldü ve yaklaşık 500 mL benzen ilave edildi. Su ve benzen olmak üzere iki faz oluştu. Sulu faza, fenolftalein varlığında kalıcı pembe renk oluncaya kadar NaOH katıldı. Benzen fazı ayrıldı, döner-buharlaştırıcıda konsantre hale getirildi ve kaynama noktası 40-60°C olan petrol eterin ilavesiyle beyaz bir çökelti oluştu. Oluşan çökelti petrol eter ve benzen karışımından kristallendirilerek saflaştırıldı (113.32 g, 0.326 mol, verim; % 72). Fosforanın erime noktasına bakıldı ve FT-IR spekturumu alınarak tanımlanması yapıldı. (Şekil 5.1.)

E.n (literatür) : 125-127°C

E.n (bulunan) : 125 -126°C

FT-IR (KBr tablette, cm^{-1}) :

(1607, -COOEt)

(1433, P-Ar)

(1123, 1105, -C-O)

(756, 696, C=C, aromatik)

IV. Trifenilkarbetoksibromometilenfosforanın Hazırlanması⁹ (16)

Uzun boyunlu, 250 mL'lik bir balona; 160.0 mL CH₂Cl₂' de çözülmüş 0.057 mol, 20.0 g, trifenilkarbetoksimetilenfosforan konuldu. Balon kurubuz-aseton karışımı bulunan banyoda, -78 °C'ye kadar soğutuldu. Soğutulan karışıma, damlatma hunisinden 30.0 mL CCl₄ içerisinde çözülmüş 0.057 mol, 9.12 g brom damla damla eklendi. Damlatma sırasında balon manyetik bir karıştırıcı yardımı ile karıştırıldı. İlave bittikten sonra, balonun, oda sıcaklığına gelmesi sağlandı ve karıştırmaya 12 saat süre ile devam edildi. Balondaki CH₂Cl₂'nin çoğu döner-buharlaştırıcıda uzaklaştırıldı ve kalan bakiye üzerine NaOH çözeltisi eklendi ve bir müddet sonra sarı renkli bir çökelti olduğu görüldü. Çöken kristaller Büchner hunisinden süzülerek ayrıldı ve 2:1 oranındaki aseton-hekzan karışımından iki kez kristallendirilerek saflaştırıldı. (11.77 g, 0.027 mol, verim % 61.0)

Elde edilen bileşiğin erime noktasına bakıldı ve FT-IR spekturumları alınarak yapı tanımlanması yapıldı. (Şekil 5.3.)

E.n (Bulunan) : 153-156°C E.n (Literatür) : 157-158°C

FT-IR (KBr tablette, cm⁻¹)

(1651, -COOEt)

(1583, 1568, 743, 712, C=C, aromatik)

(1435, P-Ar)

(1244, 1101, -C-O)

(692, C-Br)

V. Trifenilkarbetoksiklorometilenfosforanın Hazırlanması⁹ (15)

Bu reaksiyon için gerekli, klor gazı, laboratuarda aşağıdaki şekilde hazırlanmıştır.

V.1. Klor Gazı Üretimi⁵⁰

Bir destilasyon balonuna; 15.0 g KMnO_4 konuldu ve 90.0 mL derişik HCl bir damlatma hunisine alınarak, asit KMnO_4 kristalleri üzerine yavaşca damlatıldı ve zaman zaman reaksiyon kabı sallandı. Asidin yarısı katıldıktan sonra, gaz çıkışını arttırmak için balon yavaşca ısıtıldı. Asidin tamamının ilavesinden sonra karışım yavaşca kaynatıldı. Bu arada açığa çıkan Cl_2 gazı sırasıyla su ve derişik H_2SO_4 dolu yıkama şişelerinden geçirildi.

Klor, trifenilkarbetoksimetilen fosforana iki şekilde katıldı.

V.2. Trietil amin varlığında klor gazı katılması⁹

Dibi yuvarlak 100 mL'lik bir balona; 3.0 g, 6.62 mmol, trifenilkarbetoksimetilenfosforan, 60 mL CH_2Cl_2 konuldu ve -70 °C'ye kadar kurubuz-aseton banyosunda soğutuldu. Sonra içine, 2 mL trietil amin ilave edildi ve 30 ml Cl_2 / CCl_4 damla damla katıldı. Çözelti oda sıcaklığına getirildikten sonra, 25 mL su ile dört kez yıkandı. Organik faz, konsantre edildi ve hekzan ilavesi ile, beyaz katı bir madde çöktü. Çöken kısım, 2:1 oranındaki hekzan-aseton karışımından iki kez kristallendirildi. Elde edilen kristallerin erime noktasından, ve FT-IR spektrumunun, incelenmesinden başlangıç maddesi olduğu saptandı.

V.3. NaOH çözeltisi varlığında klor gazı katılması ⁹

Uzun boyunlu 500 mL'lik bir balona; 300.0 mL CH₂Cl₂' de çözülmüş 0.029 mol, 10.0 g, trifenilkarbetoksimetilenfosforan konuldu. Balon, kurubuz-aseton bonyosuna yerleştirilerek -78 °C' ye soğutuldu. Soğutulan karışıma, damlatma hunisinden 30.0 mL CCl₄ içerisinde çözülmüş klor damla damla eklendi. Damlatma sırasında balon manyetik bir karıştırıcı yardımı ile karıştırıldı. İlave bittikten sonra balonun, oda sıcaklığına gelmesi sağlandı ve karıştırmaya 12 saat süre ile devam edildi. Karışım, döner- buharlaştırıcı yardımı ile konsantre hale getirildikten sonra, üzerine, hekzan ilave edildi ve trifenilkarbetoksiklorometilen fosfonyum tuzu çöktü. Çöken bu tuz, 1:2 oranındaki aseton-heksan karışımında oda sıcaklığında çözüldü. Bu çözeltiliye, % 6 NaOH çözeltisi katıldı ve bir müddet sonra hafif sarı renkli klorofosforanların çöktüğü görüldü. Bu çökelti süzülerek ayrıldı, diklorometanda çözüldü ve döner-buharlaştırıcıda konsantre hale getirildi, hekzan katılarak trifenilkarbetoksiklorometilenfosforanın çökmesi sağlandı ve 1:2 aseton-heksan karışımından üç kez kristallendirilerek saflaştırıldı. (5g, 0.013mol, verim % 45).

Elde edilen bileşiğin erime noktasına bakıldı ve FT-IR spektrumları alınarak yapı tanımlanması yapıldı. (Şekil 5.2.)

E.n (Bulunan) : 147-150°C E.n (Literatür) : 150-151°C

FT-IR (KBr tablette, cm⁻¹)

(1622, -COOEt)

(1598, 754, 713, C=C , aromatik)

(1437 , P-Ar)

(1105, 1010, -C-O)

(694, C-Cl)

3.4.2.2. α -Halojeno- β -Aril- α , β -Doymamış Ester Bileşiklerinin Sentezi

α -Halojeno- β -Aril- α , β -Doymamış Ester Bileşikleri, yukarıda sentezlenen, t rifenilkarbetoksibromometilenfosforan (16), ve trifenilkarbetoksiklorometilenfosforan (15), bileşiklerinin, benzaldehit (17), 3,4-dimetoksibenzaldehit (18) ve 3,4-dihidroksibenzaldehit (19), bileşikleri ile reaksiyona girmesi sonucunda elde edilmişlerdir.

I. Z-Etil-3-Fenil-2-Bromo-2-Propenot, (Z-Etil-2-Bromosinnamat) Sentezi⁹ (20)

Reaksiyon, benzaldehidin hava oksijeniyle oksitlenerek benzoik aside dönüşümünü engellemek için azot atmosferi altında yürütüldü.

Dibi yuvarlak 25 mL'lik bir balona; 0.007 mol, 3.0 g, trifenilkarbetoksimetilenfosforan ve 0.059 mol, 6.3 g benzaldehit konuldu. Benzaldehidin ilavesiyle, balonda ani bir sıcaklık yükselmesi gözlemlendi. Karışım, azot atmosferi altında 8 saat manyetik karıştırıcı yardımıyla oda sıcaklığında karıştırıldı. Tepkime durdurularak benzaldehidin tepkimeye girmeyen aşırısı vakum destilasyonu ile uzaklaştırıldı, karışıma, 10.0 mL pentan ilave edildiğinde, beyaz trifenilfosfinoksid kristalleri çöktü. Pentanlı kısım bir başka balona dekante edilerek, döner buharlaştırıcıda uzaklaştırıldı. Geriye, hafif sarı renkli kıvamlı bir sıvı kaldı. Maddenin saflığı, başlangıç maddeleri referans alınarak, ince tabaka kromatografisiyle, (hekzan : etilasetat, 18 : 4) hareketli fazında, referanslardan farklı yerde, bir leke tespit edildi. Daha sonra, farklı olan bu leke, kolon kromatografisi tekniğiyle ayrıldı. Elde edilen maddenin, çeşitli spektroskopik yöntemlerle yapı tanımlaması yapıldı ve maddenin 20 numaralı bileşik olduğu saptandı. Reaksiyon verimi % 85.0 olup, (5 g, 0.02 mol) madde elde edilmiştir.

Elde edilen bileşiğin, FT-IR (Şekil 5.4.1), spektrumunu alınarak, Z-etil-3-fenil-

2-bromo-2-propenoat bileşiminin yapı tanımlaması yapıldı.

FT-IR (KBr tablette, cm^{-1})

(1724, COOEt)

(1612, 765, $\text{C}=\text{C}$, aromatik)

(1257, 1037, $-\text{C}-\text{O}$) ; (690, $\text{C}-\text{Br}$)

Yukarıdaki çalışma, aynı reaksiyon şartları altında, 3,4-dihidroksi benzaldehitte de (19), denendi. Fakat başarılı bir sonuç elde edilemedi.

II. Z-Etil-3-(3,4-Dimetoksifenil)-2-Bromo-2-Propenoat, (Z- Etil- Bromo-3,4-Dimetoksisinnamat) Sentezi⁹ (22)

Dibi yuvarlak 100 mL'lik bir balona; 0.01 mol, 4.27 g trifenilkarbetoksibromometilenfosforan, 0.1 mol, 16.6g 3,4-Dimetoksibenzaldehit, 40.0 mL CH_2Cl_2 konuldu. Karışım, 24 saat süre ile, manyetik karıştırıcı üzerinde geri soğutucu altında kaynatıldı. Reaksiyon sonrası, CH_2Cl_2 , döner-buharlaştırıcıda uzaklaştırıldı. Geri kalan kısım, pentan ile ekstrakte edildi. Pentanlı faz kendi halinde bırakıldığında, 24 saat sürede kristallerin oluştuğu gözlemlendi. Bu kristallerin; İTK, erime noktası, ve FT-IR ile yapılan incelemelerinden 3,4-Dimetoksibenzaldehit olduğu tespit edildi. Bu işlem tekrarlanarak, çözelti ürün yönünden zenginleştirildi. Pentanlı kısım, döner-buharlaştırıcıda uzaklaştırıldı ve kalan kısma, (hekzan : etilasetat, 10.0 : 5.0) hareketli fazında, başlangıç maddeleri referans alınarak İTK uygulandı ve referans maddelerden farklı yerde bir leke olduğu görüldü. Bu leke, preparatif olarak ince tabaka kromatografisiyle ayrıldı ve spektroskopik yöntemlerle yapısı belirlendi ve 22 numaralı bileşik olduğu saptandı. Reaksiyonda 1.36 g, 0.0043 mol, madde elde edildi. Reaksiyon verimi % 43 'tür.

Elde edilen bileşimin, erime noktasına bakıldı ve FT-IR (Şekil 5.5.1), $^1\text{H-NMR}$ (Şekil 5.5.2), $^{13}\text{C-NMR}$ (Şekil 5.5.3.), kütle spektrumları (Şekil 5.5.4.) ve elementel

analiz sonuçları alınarak yapısı aydınlatıldı.

En: 68.4 - 69.5°C

FT-IR (KBr tablette, cm^{-1})

(1693, -COOEt)

(1595, 851, 800, C=C, aromatik)

(1252, 1232, Ar-O-Me)

(1155, -C-O)

(611, C-Br)

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$

δ 1.37 ($\text{CH}_2\text{-CH}_3$, t, 3H ; $J=7.23$ Hz)

δ 3.91 (-OCH₃, s, 6H)

δ 4.33 (-CH₂-, q, 2H ; $J=7.26$ Hz)

δ 7.61 ($\text{CH}=\text{C}$ -, s, 1H)

δ 6.8-8 (C=C, aromatik, 3H)

$^{13}\text{C-NMR}(\text{CDCl}_3)$

δ (14.09, -CH₃)

δ (57, -OCH₃)

δ (63, -OCH₂)

δ (112-149, C=C, aromatik)

δ (151, =CH-)

δ (164, -COOEt)

Elementel Analiz : $\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{BrO}_4$

Heasplanan (C , 49.54 ; H, 4.79)

Bulunan (C , 49.54 ; H, 5.031)

Kütle Spekturumları :

MS (M/e) : 317.2 , 316, 314, 271, 235.3, 207, 189, 162, 147, 119, 91

**III. Z-Etil-3-(3,4-Dimetoksifenil)-2-Kloro-2-Propenoat,
(Z-Etil - 2- Kloro-3,4-Dimetoksi Sinamat) Sentezi⁹ (21)**

Dibi yuvarlak 100 mL'lik bir balona; 0.01 mol, 3.825 g trifenilkarbetoksiklorometilenfosforan, 0.1mol, 16.6g 3,4-Dimetoksibenzaldehit, 40.0 mL CH₂Cl₂ konuldu. Karışım, 24 saat süre ile manyetik karıştırıcı ile geri soğutucu altında kaynatıldı. Reflüks sonrası, reaksiyon ortamındaki CH₂Cl₂ döner-buharlaştırıcıda uzaklaştırılıp, pentan ile ekstrakte edildi. Pentanlı faz kendi halinde bırakıldığında, 24 saat sürede kristallerin oluştuğu gözlemlendi. Bu kristallerin; İTK, erime noktası, ve FT-IR ile yapılan incelemelerinden 3,4-Dimetoksibenzaldehit olduğu tespit edildi. Bu işlem tekrarlanarak, çözelti ürün yönünden zenginleştirildi. Pentanlı kısım, döner-buharlaştırıcıda uzaklaştırıldı ve kalan kısma, (hekzan : etilasetat, 10.0 : 5.0) hareketli fazında, başlangıç maddeleri referans alınarak İTK, uygulandı ve referans maddelerden farklı yerde bir leke olduğu görüldü. Bu leke, preparatif olarak ince tabaka kromatografisiyle ayrıldı ve spektroskopik yöntemlerle yapısı belirlendi ve 21 numaralı bileşik olduğu saptandı. Reaksiyonda, 0.81g , 0.003 mol, madde elde edildi. Reaksiyon verimi % 30 'dur.

Sentezlenen maddenin erime noktasına bakıldı ve FT-IR (Şekil 5.6.1.), ¹H-NMR (Şekil 5.6.2.), ¹³C-NMR (Şekil 5.6.3), kütle spektrumları (Şekil 5.6.4.) ve elementel analiz sonuçları alınarak yapısı aydınlatıldı.

En: 66 – 69 °C

FT-IR (KBr tablette, cm^{-1})

(1699, -COOEt)

(1596, 850, 802, C=C,aromatik)

(1252, 1232, Ar-O-CH₃)

(617, C-Cl)

¹H-NMR (CDCl₃)

δ 1.38 (-CH₃, 3H)

δ 3.92 (-OCH₃, 6H)

δ 4.33 (-OCH₂-CH₃, 2H)

δ 6.90 (=CH-, s, 1H)

δ 7.2-7.8 (C=C,aromatik, 3H)

¹³C (CDCl₃)

δ 14.25 (-CH₃)

δ 55.90 (-OCH₃)

δ 62.42 (-OCH₂)

δ 150.80 (=CH-)

δ 110-148.62 (C=C, aromatik)

δ 163.66 (-COOEt)

Elementel Analiz: C₁₃H₁₅ClO₄

Heasplanan (C , 57.679 ; H, 5.584)

Bulunan (C , 58.44 ; H, 5.499)

Kütle Spekturumu

MS (M / e) : 272.3 ; 270.1 ; 166.7 ; 162.6 ; 161.4 ; 146.4 ; 118.7 ; 100.8 ; 90.9

3.4.3 2 – Asetamino - 3 - (3,4-Disübstitüefenil)-2- Propenoik Asitlerin (α - Asetamino – 3,4 – Disübstitüe Sinnamik Asitlerin) Sentezi

Bu bileşiklerin (40,41) sentezi, bir azolaktonun elde edilmesi ve bu azolaktonun hidrolizi olmak üzere, iki aşamalı olarak gerçekleştirildi. Bu sentezler için gerekli olan N-asetilglisin aşağıdaki gibi hazırlanmıştır

I. N – Asetil Glisin (Aseturik Asit) Sentezi¹⁶ (110)

Uzun boyunlu, 1L'lik bir balona; 75.0 g, 1.0 mol glisin, 300.0 mL su konuldu ve glisinin tamamı çözününceye kadar karıştırıldı. Glisin çözeltisine, 215.0 g, 2.0 mol asetikanhidrit, bir defada katıldı. Karışım, 15-20 dakika sürekli karıştırıldı. Karıştırma esnasında, ısınma oldu, çözeltide zamanla bulanıklık meydana geldi ve beyaz kristaller çökmeye başladı. Çökmenin tamamlanması için, karışım 15 saat süre ile 5-7 ° C'de buz dolabında bekletildi. Çöken kristaller süzüldü ve soğuk su ile yıkandı, sıcak sudan kristallendirilerek saflaştırıldı, ve 100 – 110 °C'de etüvde kurutuldu.

Elde edilen, N-asetilglisinin, erime noktasına bakıldı ve FT-IR spektrumu alınarak, tanımlaması yapıldı. (Şekil 5.7.)

En (bulunan) : 207– 208 °C

En (literatür): 207 – 208 °C

FT-IR (KBr tablette, cm^{-1})

(3352, -COOH; -CONH-)

(1720, -COOH; -CONH)

(1236, -C-O)

II. 2– Asetamino - 3 - (3,4-Dimetoksifenil)-2- Propenoik Asit (α - Asetamino – 3,4 – Dimetoksisinnamik Asit) Sentezi¹⁶ (40)

Bu madde (40); 2-metil-4-(3,4-dimetoksifenilmetilen)-5(4H)-oksazolon (azolakton) sentezi ve elde edilen azolaktonun hidrolizi olmak üzere, iki aşamada sentezlenmiştir.

II.1. 2-Metil-4-(3,4-Dimetoksifenilmetilen)-5(4H)-Oksazolon Sentezi (38)

Uzun boyunlu 1L'lik bir balona; 31.0 g, 0.27 mol, N-asetilglisin, 20.0 g, 0.24 mol, susuz sodyumasetat, 66.4 g, 0.4 mol, 3,4-dimetoksibenzaldehit ve 69.36 g, 0.68 mol, asetik anhidrit konuldu. Üzerinde, CaCl₂ tüpü takılmış bir geri soğutucu altında 2 saat kaynatıldıktan sonra, reaksiyon durduruldu ve karışım soğutulduktan sonra, 12 saat süre ile buzdolabında bekletildi. Daha sonra karışıma, 500 mL soğuk su ilave edildi ve oluşan sarı renkli kristaller süzülerek ayrıldı, soğuk su ile yıkandı ve vakum desikatöründe P₂O₅ ve KOH üzerinde kurutuldu. Elde edilen madde 7.6 g, 0.03 mol olup, reaksiyon verim % 20'dir.

Elde edilen bileşiğin, erime noktasına bakıldı ve FT-IR spekturumu alınarak tanımlaması yapıldı. (Şekil 5.8.)

En: 167–170 °C

FT-IR (KBr tablette, cm⁻¹)

(1759, -COOEt)

(1259, 1271, Ar-O-CH₃)

(1591, C=C, alken ; C=N)

(1655, 1591, 1517, 891, 862, C=C, aromatik) ;

(1175, -C-N)

(-C-O, ester , 1211, 1140)

II.2. 2-N-Asetil-3-(3,4-Dimetoksifenil)-2-Propenoik Asit Sentezi (40)

Uzun boyunlu 1L'lik bir balona; bir önceki çalışmada sentezlenen azolaktondan (38), 3.5 g, 0.014 mol, 205.0 mL aseton ve 100.0 mL su konarak 5 saat süre ile geri soğutucu altında hidroliz edildi. Hidroliz sonunda asetonun çoğu döner- buharlaştırıcıda uzaklaştırıldı. Kalan çözeltiliye 100 mL daha su katıldı ve 1 saat daha geri soğutucu altında kaynatıldı. Reaksiyon sonunda balondaki karışım süzülerek hidroliz olmayan kısmından ayrıldı. Filtrat sıcak su ile yıkandı ve sulu çözeltiler birleştirilerek, döner-buharlaştırıcıda konsantre hale getirildi. Konsantre çözelti 12 saat süre ile buzdolabında bekletildiğinde, açık sarı renkli kristallerin çöktüğü görüldü. Oluşan kristaller süzülerek ayrıldı, ve 90 – 100 °C'de etüvde kurutuldu. Elde edilen madde, 1.34 g, 0.005 mol, reaksiyon verim % 36 'dır.

Elde edilen maddenin (40), erime noktasına bakıldı ve FT-IR (Şekil 5.9.1.), ¹H-NMR (Şekil 5.9.2.), ¹³C-NMR (Şekil 5.9.3.) spekturumları alınarak yapısı belirlendi.

En: 205 – 208 °C

FT-IR (KBr tablette, cm⁻¹)

(3254, -COOH ; -CONH)

(3020, =CH-)

(1695, -COOH)

(1664, -CONH)

(1621, 1421, 804, C=C, alken)

(1500,1621, 897, 804, C=C, aromatik)

(1265, -C-O)

(1163, 1143, Ar-O-CH₃)

¹H-NMR (CD₃OD)

δ 2.38 (-COCH₃, s, 3H)

δ 3.768 (s, -OCH₃)

δ 3.744 (s, -OCH₃)

δ 7.312 (-CONH, s, 1H)

δ 7.180 (CH=C, alken, s, 1H)

δ 7.127 - 6.857 (CH=CH, aromatik, 3H)

¹³C-NMR (CD₃OD)

δ 22.626 (-COCH₃)

δ 56.416 (-OCH₃)

δ 112.549 (CH=C, alken)

δ 114, 126, 136 (CH=CH, aromatik)

δ 173 (-COOH)

III. 2- Asetamino - 3 - (3,4-O,O-Diasetilfenil)-2- Propenoik Asit , (α - Asetamino - 3 - (3,4-O,O-Diasetilsinamik Asit) Sentezi¹⁶ (41)

Bu bileşik (41), 2-metil-4-(3,4-O,O-diasetilfenilmetilen)-5(4H)-oksazolon (39), (azolakton) sentezi ve elde edilen bu azolaktonun hidrolizi olmak üzere, iki aşamada sentezlenmiştir.

III.1. 2-Metil-4-(3,4-O,O-Diasetilfenilmetilen)-5(4H)-Oksazolon Sentezi (39)

Uzun boyunlu 500 mL'lik bir balona; 18.0 g, 0.24 mol N-asetilglisin, 17.71 g, 0.216 mol susuz sodyumasetat, 13.0 g, 0.093 mol 3,4-dihidroksibenzaldehit ve 150.0 g, 1.45 mol, asetikanhidrit konuldu. Üzerinde, CaCl₂ tüpü takılmış bir geri

soğutucu altında 5 saat süre ile kaynatıldı. Karışım soğutulduktan sonra, 12 saat süre ile buzdolabında bekletildi. Daha sonra, karışıma 500.0 mL soğuk su ilave edildi, ve oluşan sarı renkli kristaller süzülerek ayrıldı, soğuk su ile yıkandı, vakum desikatöründe P₂O₅ ve KOH üzerinde kurutuldu. Elde edilen azolakton (39) 10 g, 0.033 mol, reaksiyon verimi % 33 'dür.

(39)'un erime noktasına bakıldı, FT-IR spekturumu alınarak tanımlaması yapıldı. (Şekil 5.10.)

En : 104-108°C

FT-IR (KBr tablette, cm⁻¹)

(1773, -COOEt)

(1205, 1180, Ar-O-CH₃,)

(1606, C=C, alken; C=N)

(1606, 1610, 1502, 900, 893, C=C, aromatik)

(1168, -C-N)

(-C-O, ester, 1263, 1113)

III.2. 2-N-Asetil-3-(3,4-O,O-Diasetilfenil)-2-Propenoik Asit Sentezi (41)

Uzun boyunlu 1L'lik bir balona; bir önceki çalışmada sentezlenen azolaktondan (39), 9.0 g, 0.03 mol, 250.0 mL aseton ve 100.0 mL su konarak 5 saat süre ile geri soğutucu altında hidroliz edildi. Hidroliz sonunda asetonun çoğu dönerbuharlaştırıcıda uzaklaştırıldı. Kalan çözeltiye 100.0 mL daha su katılarak ve 1 saat süre ile geri soğutucu altında kaynatıldı. Daha sonra, sulu çözelti dönerbuharlaştırıcıda konsantre hale getirilip, 12 saat süre ile buz dolabında bekletildi. Daha sonra, oluşan sarı renkli kristaller süzülerek ayrıldı ve etilasetattan kristallendirilerek saflaştırıldı. Elde edilen ürün (41), 1.5 g, 0.005 mol, reaksiyon verimi % 15.58' dir.

(41)'in erime noktasın bakıldı ve F-TIR (Şekil 5.11.1.), ¹H-NMR (Şekil 5.11.2.), ¹³C-NMR (Şekil 5.11.3.) spekturumları alınarak maddenin tanımlaması yapıldı.

En: 180-184 °C

FT-IR (KBr tablette, cm⁻¹)

(3273, -COOH ; -CONH)

(1762, -COOH)

(1695, -CONH)

(1641, 1440, C=C, alken)

(1695, 1664, 1500, C=C, aromatik) (1253, -C-O)

¹H-NMR (CD₃OD)

δ 1.998 (-COCH₃, s, 3H)

δ 2.182 (-OCH₃ s, 6H)

δ 7.347 (-CONH , s, 1H)

δ 7.33 (CH=C, alken , s, 1H) ;

δ 7.12 – 7.37 (CH=CH, aromatik, 3H)

¹³C-NMR (CD₃OD)

δ 22.570 (-O-COCH₃)

δ 20.495 (-NHCO-CH₃)

δ133.47 (CH=C, alken)

δ 128 (CH=C, alken)

δ 125, 126, 129, (CH=CH, aromatik)

δ 134, 143.57, 144.15 (C=C, aromatik)

δ 70 (O-COCH₃)

δ 170 (-CONH)

δ173.39 (-COOH)

3.5. EKMEK MAYASI (*SACCHAROMYCES CEREVISIAE*) İLE KARBON KARBON ÇİFT BAĞININ İNDİRGEMESİNE YÖNELİK ÇALIŞMALAR

Ekmek mayası ile indirgeme çalışmalarında piyasadan temin edilen mayalar (Can maya, Pak maya, Yuva maya), ile ayrıca Sigma Yeast Type II kullanıldı. Bu çalışmalarda substrat olarak;

I. Z-Etil-3-Fenil-2-Bromo-2-Propenoat, (Z-Etil- α -Bromosinnamat) (20), alındığında, bu maddenin ekmek mayası ile (S)- C₆H₅-CH₂-CHBr-COOEt (24) bileşiğine;

II. Başlangıç maddesi olarak; Z-Etil-3-(3,4-Dimetoksifenil)-2-Bromo-2-Propenoat, (Z- Etil- 2-Bromo-3,4-Dimetoksisinnamat), (22), alındığında; ekmek mayası ile; (S)-3,4-Dimetoksifenil-2-Bromo-Etil Propanoata, (26)

III. Başlangıç maddesi olarak; Z-Etil-3-(3,4-Dimetoksifenil)-2-Kloro-2-Propenoat, (Z -Etil - 2- Kloro-3,4-Dimetoksi Sinnamat), (21), alındığında, ekmek mayası ile; (S)-3,4-Dimetoksi-2-Kloro-Etil Propanoata (25),

IV. Başlangıç maddesi olarak; 2-N-Asetil-3-(3,4-Dimetoksifenil)-2-Propenoik Asit (40), alındığında, ekmek mayası ile; α -Asetamino-3,4-Dimetoksifenilalanine (42), ve

V. Başlangıç maddesi olarak; 2-Asetamino-3-(3,4-O,O-Diasetilfenil)-2-Propenoik Asit alındığında (41), ekmek mayası ile; α -Asetamino-3,4-O,O-Diasetilfenilalanine (43), bileşiklerine indirgenmeleri hedeflenmiştir.

Bu amaca yönelik olarak aşağıdaki çalışmalar yapıldı.

3.5.1 Dibi yuvarlak 1 L'lik bir balona; 600.0 mL kaynamış su, 3.0 g CaCO₃, 1.2 g KH₂PO₄, 1.2 g NH₄H₂PO₄, 0.6 g MgSO₄, 22.8 g kuru maya, 40.0 g glukoz konuldu ve karışım 33 °C'de mekanik karıştırıcı ile yarım saat karıştırıldı. Daha sonra karışıma, 3.68 mmol alken (**20**), katıldı ve aynı sıcaklıkta iki saat daha karıştırmaya devam edildi. Reaksiyon yürüyüşü İTK ile kontrol edildi. Reaksiyon, pH 7'den 5'e düştüğünde durduruldu. Karışıma, 50.0 g Celite katıldı ve filtre edildi. Celite ve süzöntü eter ile ayrı ayrı ekstrakte edildi ve ekstraktler birleştirilerek MgSO₄ ile kurutuldu., eter döner buharlaştırıcıda uzaklaştırıldı. Elde edilen maddenin FT-IR spektrumunu alındı ve başlangıç maddesi olduğu tespit edildi.¹⁰

Yukarıdaki deneme aynı şartlarda ; 21, 22, 40 ve 41 bileşikleri için de yapılmıştır.

3.5.2. Dibi yuvarlak 100 mL'lik bir balona; 9.0 mL kaynamış su, 2.8 g kuru maya, 3.1 g glukoz, 16.0 mg KH₂PO₄, 6.0 mg MgSO₄ konuldu ve karışım 25-28 °C de manyetik karıştırıcıda 30 dakika karıştırıldı. Karışıma 0.5 mmol alken (**20**) , katıldı ve karışım bir hafta süre ile sürekli olarak karıştırıldı. Reaksiyon yürüyüşü, başlangıç maddeleri referans alınarak İTK ile kontrol edildi ve başlangıç maddesinden farklı yerlerde lekeler olduğu tespit edildi. Reaksiyon, pH 7'den 5'e düştüğünde durduruldu ve karışıma Celite katıldı, süzöldü, eter ile ekstrakte edildi. Eterli ekstrakt, MgSO₄ ile kurutuldu ve eter döner- buharlaştırıcıda uzaklaştırıldı. Elde edilen maddeki safsızlıklar, preparatif olarak ayrıldı, FT-IR spektrumunu alındı ve başlangıç maddesi ile mayadan ileri gelen safsızlıklar olduğu görüldü.¹¹

Bu deneme aynı şartlar altında ; 21, 22, 40 ve 41 bileşikleri için de uygulanmıştır

3.5.3. 100 mL'lik bir erlene; 80.0 mL su, 15.0 g yaş maya ve 10.0 g glukoz konuldu. Karışım, yarım saat, sallayıcıda (shaker) 30°C'de inkübe edildi. İnkübasyon sonunda, karışıma, 4.0 mL etil alkolde hazırlanmış 0.14 g, 0.5 mmol, (21) bileşiği katıldı. Reaksiyon karışımı, bir hafta süre ile sallayıcıda (shaker) 30 °C'de pH 3 - 4 arasında sürekli olarak karıştırıldı. Reaksiyon ortamına her gün, glukoz ve maya ilavesi ,bir önceki gün ilave edilen glukoz, maya miktarının yarısı kadar yapıldı. Reaksiyon yürüyüşü ITK ile kontrol edildi. Reaksiyon sonunda, karışıma 20.0 g Celite katıldı ve süzüldü. Süzüntü ve Celite'lı kısım 25.0 mL eter ile iki kez ekstrakte edildi. Eterli ekstraktler birleştirildi ve MgSO₄ ile kurutuldu. Eter dönerli buharlaştırıcıda uzaklaştırıldı.¹² Elde edilen maddenin FT-IR spektrumunu alındı ve başlangıç maddesi olduğu saptandı.

Yukarıdaki çalışma aynı reaksiyon koşulları altında; 20, 22, 40 ve 41 bileşikleri için de uygulanmıştır.

3.5.4. 100 mL'lik bir erlene; 70.0 mL su, 12.0 g yaş maya ve 7.5 g glukoz konuldu. Karışım, bir saat, sallayıcıda (shaker) 35 °C'de inkübe edildi. İnkübasyon sonunda, karışıma 3 mL etil alkolde hazırlanmış 0.15 g, 0.5 mmol, (40) bileşiği katıldı. Reaksiyon karışımı, bir hafta süre ile sallayıcıda (shaker) 35 °C'de pH 3 – 3.5 arasında sürekli olarak karıştırıldı. Reaksiyon ortamına her gün, glukoz ve maya ilavesi, bir önceki gün ilave edilen glukoz, maya miktarının yarısı kadar yapıldı. Reaksiyon yürüyüşü ITK ile kontrol edildi. Reaksiyon sonunda, karışım, 20.0 mL'lik tüplere konuldu ve santrifüj edilerek maya çöktürüldü. Sulu kısım 50.0 mL eter ile iki kez ekstrakte edildi ve Na₂SO₄ ile kurutuldu. Eter, döner-buharlaştırıcıda uzaklaştırıldı¹². Elde edilen maddenin (çok az madde kaldı), FT-IR spektrumunu alındı ve başlangıç maddesinin olduğu görüldü.

Yukarıdaki deneme aynı reaksiyon şartları altında ; 20, 21, 22 ve 41 bileşikleri için de yapılmıştır.

3.5.5. Dibi yuvarlak 100mL'lik bir balona 2.8 g kuru maya, 3.1 g glukoz, 7.0 mg KH_2PO_4 , 4.0 mg MgSO_4 , 10.0 g CaCO_3 , 9.0 mL kaynamış su konuldu. Karışım sallayıcıda (shaker) 33°C 'de yarım saat süre ile karıştırıldı. Daha sonra, karışıma 9.0 mL kaynamış su ve 0.25 mmol alken, (22), katıldı. Karışım 7 gün süre ile sürekli olarak karıştırıldı. Karışımın pH'sı reaksiyon süresince, 1.0 mL 1M KOH ilavesi ile 6-7 arasına ayarlandı. Bir hafta sonra, reaksiyona son verildi. Karışıma, Celite katıldı, süzüldü, etilasetat ile ekstraksiyon yapıldı, ekstraktler MgSO_4 ile kurutuldu. Etilasetat döner-buharlaştırıcıda uzaklaştırıldı. Elde edilen maddenin, safsızlıkları preperatif ince tabaka kromatografisi uzaklaştırıldı.¹¹ Ayrılan maddelerin FT-IR spektrumları alındı ve başlangıç maddesi ile mayadan ileri gelen kirlilikler olduğu görüldü.

Yukarıdaki çalışma, aynı reaksiyon şartları altında ; 20, 21, 40 ve 41 bileşikleri için de uygulanmıştır.

3.5.6. 100 mL'lik bir erlene 10.0 g kuru ekmek mayası, 5.0 g glukoz ve 50.0 mL su konuldu ve 2 saat süre ile 37°C 'de sallayıcıda (shaker) karıştırılarak, fermantasyona bırakıldı ve pH 7'den 4.58 'e düştü, doymuş Na_2CO_3 çözeltisi ile pH 5-5.5'e ayarlandı ve 0.06 g (22), ilave edildi. Bu karışım, bir hafta süre ile, sürekli olarak karıştırıldı ve her gün reaksiyon ortamına belirli miktarda glukoz ve maya, bir önceki gün ilave edilen miktarlarının yarısı kadar katıldı ve pH 5-5.5'e ayarlandı .Reaksiyon yürüyüşü başlangıç maddeleri referans alınarak, İTK ile kontrol edilerek, farklı yerlerde lekeler tespit edildi. Daha sonra, karışım cam pamuğundan süzüldü ve maya uzaklaştırıldı. Sulu faz, eter ile 2 kez ekstrakte edildi. Eterli fazlar birleştirildi, Na_2SO_4 ile kurutuldu. Eter döner-buharlaştırıcıda uzaklaştırıldı. Elde edilen maddeye, 2 kez kolon kromatografisi uygulanarak saflaştırılmaya çalışıldı.¹² Fakat, kolondan iyi bir ayırım sağlanamadı.

Bu çalışma, yukarıdaki prosedüre uygun olarak 20, 21, 41, 42 bileşikleri için de uygulandı.

3.5.7. 100 mL'lik bir erlene; 50.0 mL benzen, 10.0 g kuru maya, 10.0 mL tampon çözeltisi (0.1 M CH_3COOH , CH_3COONa), 0.14 g, 0.5 mmol, (21) konuldu. Reaksiyon karışımı bir hafta süre ile sürekli olarak sallayıcıda (shaker) karıştırıldı. Daha sonra, benzen mayadan filtre edilerek ayrıldı. Benzenli faz MgSO_4 ile kurutuldu. Benzen döner-buharlaştırıcıda uzaklaştırıldı ve kalan maddenin FT-IR spekturumu alındı ve başlangıç maddesi olduğu tespit edildi.¹³

Bu deneme aynı reaksiyon şartlarında ; 20, 22, 40 ve 41 bileşikleri için de yapılmıştır.

3.5.8. Immobilize Maya İle Yapılan Denemeler

Kuru ekmek mayası, hücre immobilizasyonunun tutuklama yöntemi ile, sodyumalginat ve prepolimer poliakrilamid ile immobilize edildi.

I. Ekmek Mayasının Sodyum Alginat İle Immobilizasyonu¹⁴

250 mL'lik bir erlene; 120.0 mL su ve 1.5 g sodyum alginat konarak, iyice karıştırıldı. Karışıma, 6.0 g kuru ekmek mayası katıldı ve manyetik karıştırıcıda, süspanse olana kadar iyice karıştırıldı. Süspansiyon, çapı 2.5 mm olan bir damlatma hunisine konuldu, bir beher içinde hazırlanmış olan 200.0 mL % 10'luk CaCl_2 çözeltisi içine yavaş yavaş damlatıldı ve CaCl_2 çözeltisi içinde, küçük küçük boncukların oluştuğu görüldü. Bu boncuklar 1.0 L su ile 3 kez yavaş yavaş yıkandı ve % 5'lik CaCl_2 çözeltisi içine alındı, 1-2 hafta buzdolabında bekletildikten sonra kullanıldı. Bu işlem sonunda 80 g immobilize maya elde edildi.

Bu immobilizasyon işlemi, Pak maya ve Sigma yeast type-II. Mayaları için de uygulandı.

II. Poliakrilamid İle Ekmek Mayasının İmmobilizasyonu³⁴

Poliakrilamid Çözeltisinin Hazırlanması:

750.0 mg akrilamid monomer ve 40.0 mg BIS, 2 mL % 0.9 NaCl çözeltisinde çözüldü.

Hücre Süspansiyonunun Hazırlanması:

1.0 g kuru maya, 2.0 mL % 0.9 NaCl çözeltisi hazırlandı.

Hücrelerin Karıştırılması:

750.0 mg akrilamid monomer ve 40.0 mg BIS hücre süspansiyonu içeren 2.0 mL % 0.9 NaCl çözeltisi vortex yardımı ile karıştırıldı. Üzerine 0.5 mL % 5 TEMED ilave edildi. Karışım üzerine 0.5 mL % 1 'lik amonyum persülfat ilave edilerek polimerizasyon tamamlandı.

Polimerizasyonda, amonyum persülfat, polimerizasyonu başlatmak için, BIS ise hızlandırmak için kullanıldı. Polimerizasyonunun tamamlanması için karışım, 25 °C 'de 20 dakika bekletildi. Bu işlemlerden sonra hazırlanan jel, küp küp kesildi ve bu küpler de % 0.9 NaCl çözeltisi ile yıkandı.

Bu işlem sonunda, 6 g immobilize maya hücresi elde edilir.

Poliakrilamid ile yapılan immobilizasyondan elde edilen immobilize maya hücrelerinin, hemen kullanılabilir olması, sodyum alginat ile yapılan immobilize maya hücrelerine göre, bir avantaj oluşturmaktadır.

III. (20), (21), (22), (40), (41) Bileşiklerinin İmmobilize Mayalar İle Yapılan İndirgenme Denemeleri¹⁴

250 mL'lik bir erlene, 200.0 mL kaynamış su, 3.0 g immobilize maya (3.0 g kuru mayanın sodyumalginat ile immobilize edilmesi) , 0.15 g KH_2PO_4 , 0.15 g $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, 0.08 g MgSO_4 ve 0.25 g CaCO_3 , 10.0 g glukoz konarak, karışım 1 saat süre ile 35 °C 'de inkübe edildi. İnkübasyon sonunda, karışımın pH 'sı 7'den 5.22'ye düştü. Daha sonra, karışıma, 0.06 g, 0.2 mmol **(42)**, katıldı ve bir hafta süre ile sürekli olarak, sallayıcıda (shaker) karıştırıldı. Bu süre içinde, reaksiyon karışımına belirli miktarlarda glukoz ilavesi yapıldı ve doymuş Na_2CO_3 çözeltisi ilave edilerek, pH 5.5-6 arasına ayarlandı. Reaksiyon sonunda, karışım süzüldü. Süzüntü eter ile ekstrakte edildi, MgSO_4 ile kurutuldu. Eter döner-buharlaştırıcıda uzaklaştırıldı ve elde edilen maddenin FT-IR spektrumunu alındı ve indirgenmenin olmadığı tespit edildi.

Yukarıdaki deneme aynı reaksiyon koşulları altında , 20,21, 22, 40 bileşikleri için de uygulanmıştır.

Bu çalışma, PAA ile immobilize edilmiş mayalarla da, 20, 21, 22, 40, 41 bileşikleri için ayrı ayrı uygulanmıştır.

Yukarıda anlatılan bütün bu indirgenme çalışmalarında, her bir deneme, piyasadaki mayalar (Can maya, Pak maya, Yuva maya) ve Sigma Yeast Type II ile 20 ,21 ve 22, 40, 41 bileşikleri için değişik pH ve sıcaklıklarda, bir çok kez denendi. Fakat bu mayaların, bu şartlarda karbon karbon çift bağını indirgemediği tespit edilmiştir.

3.6. (40), (41), Bileşiklerinin Pd/C İle Hidrojenasyonu¹⁷

(40) ve (41) bileşiklerinin Pd/C ile yapılan hidrojenasyonundan (42) ve (43) bileşikleri elde edilmiştir.

3.6.1. α - Asetamino – 3,4 – Dimetoksi Fenil Alanin Sentezi (42)

Reaksiyon azot atmosferi altında yapıldı.

Üç boyunlu 250 mL'lik bir balonun, ortadaki boynuna, üzerinde gaz çıkış adaptörü olan bir geri soğutucu, yan boyunlarından birine gaz geçiş adaptörü, diğer boyuna da kapak konuldu. Gaz geçişi, içinde silikon yağı olan bir sistemden kontrol edildi. İlk önce, balondan N₂ gazı geçirildi. Gaz geçirilirken balona; 0.3 g, 1 mmol, α - asetamino -3,4 -dimetoksisinamik asit, 60.0 mL metanol ve 35.0 mg Pd/C konuldu ve manyetik karıştırıcı ile karıştırılarak ısıtmaya başlandı. Bir müddet daha gaz geçirildi. Sonra N₂ gaz geçişi durdurulup, H₂ gazı geçirilmeye başlandı ve karışım, 7 saat süre ile H₂ gazı geçirilerek geri soğutucu altında kaynatıldı. Daha sonra, gaz geçişi durduruldu., siyah renkli karışıma, 3. 0 g Celite ilave edilerek süzüldü. Süzüntüdeki metanol, dönerli buharlaştırıcıda uzaklaştırıldı ve geriye yağlı bir kısım kaldı. Yağlı kısım 1 : 1 oranında kloroform ve petrol eterden kristallendirildi. Oluşan beyaz renkli kristallerin erime noktasına bakıldı.Elde edilen madde, 0.22 g, 0.0008 mol, reaksiyon verimi % 0.08 'dir. FT-IR (Şekil 5.9.4.), ¹H-NMR (Şekil 5.9.5.), ¹³C-NMR (Şekil 5.9.6.), spekturumları alınarak tanımlaması yapıldı.

En: 105-109 °C

FT-IR (KBr tablette, cm⁻¹)

(3329, -COOH ; -CONH)

(1726, -COOH ; CONH)

(1516, 1600, 861, 812, ,C=C, aromatik)

(1265, -C-O) ; (1156, 1146, Ar-O-CH₃)

¹H-NMR (CDCl₃)

δ 1.955 (-COCH₃, s, 3H)

δ 3.817 (-OCH₃, s, 6H)

δ 6.358 (-CONH, s, 1H)

δ 3.08 (-CH₂-CH-, d, 2H ; J=12)

δ 4.73 (-CH₂-CH-, 1H)

δ 6.69 – 6.78 (CH=CH, aromatik, 3H)

¹³C-NMR (CDCl₃)

δ 22.881 (-COCH₃)

δ 36.792 (-CH₂-)

δ 54 (-CH-)

δ 55.874 (-OCH₃) δ 111, 113, 121 (CH=CH, aromatik)

δ 129, 149, 148 (C=C, aromatik)

δ 171 (-CONH)

δ 175 (-COOH)

3.6.2. α - Asetamino – 3,4-O,O- Diasetilfenil Alanin Sentezi (43)

Reaksiyon azot atmosferi altında yapıldı.

Üç boyunlu 250 mL'lik bir balonun, ortadaki boynuna, üzerinde gaz çıkış adaptörü olan bir geri soğutucu, yan boyunlarından birine gaz geçiş adaptörü, diğer boyuna da kapak konuldu. Gaz geçişi, içinde silikon yağı olan bir sistemden kontrol edildi. İlk önce, balondan N₂ gazı geçirildi. Gaz geçirilirken balona; 0.5 g, 1.5 mmol, α - asetamino – 3,4 -O,O- diasetilsinamik asit, 80.0 mL metanol ve 50.0 mg Pd/C konuldu ve manyetik karıştırıcı ile karıştırılarak ısıtmaya başlandı. Bir

müddet daha gaz geçirildi. Sonra, N₂ gaz geçişi durdurulup, H₂ gazı geçirilmeye başlandı ve karışım, 8 saat süre ile H₂ gazı geçirilerek geri soğutucu altında kaynatıldı. Bu süre sonunda gaz geçişi durduruldu. Balondaki siyah renkli karışım, 3.0 g Celite ilave edilerek süzüldü. Süzüntüdeki metanol döner-buharlaştırıcıda uzaklaştırıldı ve geriye yağlı bir kısım kaldı. Yağlı kısım 1 : 1 oranında kloroform ve petrol eterden kristalendirildi.(0.25 g, 0.0008 mol, reaksiyon verimi % 0.082'dir). Oluşan beyaz renkli kristallerin erime noktasına bakıldı. FT-IR (Şekil 5.11.4.), ¹H-NMR (Şekil 5.11.5.), ¹³C-NMR (Şekil 5.11.6.), spektrumları alınarak tanımlaması yapıldı.

En: 140 –143°C

FT-IR (KBr tablette, cm⁻¹)

(3340, -COOH ; -CONH)

(1761, -COOH)

(1714, CONH)

(1620, 1584, 1506, C=C, aromatik)

(1259, 1180, -C-O)

¹H-NMR (CDCl₃)

δ 1.959 (-COCH₃, s, 3H)

δ 2.236 (-O-COCH₃, s, 3H)

δ 2.25 (-O-COCH₃, s, 3H)

δ 4.82 (-CH₂-CH-, t, 1H ; J= 5.7)

δ 3.12 (-CH₂-CH-, d, 2H ; J=6)

δ 7.05 (-CONH, s, 1H)

δ 6.57 – 7.09 (CH=CH, aromatik, 3H)

δ 10.91 (-COOH, s, 1H)

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3)

δ 22.657 ($-\text{COCH}_3$)

δ 20.631 ($-\text{NHCO}-$)

δ 36.375 (Ar-CH_2-)

δ 123, 125, 127 ($\text{CH}=\text{CH}$, aromatik)

δ 53.042 ($-\text{CH}-$)

δ 135, 141, 142 ($\text{C}=\text{C}$, aromatik)

δ 168 ($-\text{CONH}$)

δ 171.62 ($-\text{O-COCH}_3$)

δ 173 ($-\text{COOH}$)

BÖLÜM 4.

DENEY SONUÇLARI VE TARTIŞMA

4.1. Sentezlenen Substratların Spekturum Yorumları

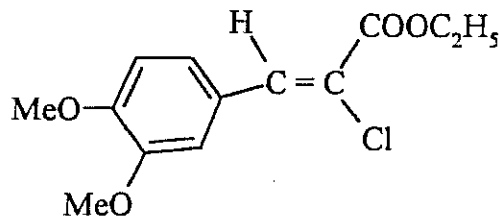
Bu çalışmamızda, 3,4-dihidroksifenilalaninin (L-DOPA), yeni bir yöntemle sentezi için gereken 21, 22, 40, 41 bileşikleri olmak üzere dört substrat hazırlanmıştır.

Bu substratlardan, 21 ve 22 bileşikleri orjinal olup, Wittig reaksiyonu yöntemiyle, halofosforanların aldehitlerle olan kondenzasyonundan elde edilmiştir.

40, 41 bileşikleri de; aldehitlerin, N-asetilglisin ile kondenzasyonundan elde edilen 38 ve 39 oksazolon bileşiklerinin hidrolizinden elde edilmiştir.

21, 22, 40, 41 bileşiklerinin, FT-IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR spekturumları alınarak tanımlamaları yapılmıştır. Alınan spekturumlarla ilgili değerlendirmeler şöyledir:

Z-etil-2-kloro-3,4-dimetoksisinnamat, (21), bileşiğinin FT-IR spekturumu KBr tablette, 400-4000 cm⁻¹ 'de alınmıştır. (Şekil 5.6.1)



1725-1715 cm^{-1} 'de çıkması gereken ester grubunun (-COOEt) sinyalleri, karbon karbon çift bağına konjuge olması nedeni ile 1699 cm^{-1} ' de ; aromatiklikten ileri gelen (C=C) sinyallerinden, 1490-1525 cm^{-1} 'de çıkması gereken sinyaller, 1514 cm^{-1} de ; 1525-1625 cm^{-1} 'de olması gereken sinyaller, 1597 cm^{-1} ' de; 885-870 cm^{-1} ' de çıkması gereken pikler, 850 cm^{-1} 'de; 825-805 cm^{-1} 'de çıkması gereken sinyaller, 802 cm^{-1} 'de (C=C) doymamışlığından ileri gelen sinyallerden, 1650-1600 cm^{-1} 'de çıkması gereken pik, 1597 cm^{-1} ' de aromatik pik ile çakışmış olarak, 850-790 cm^{-1} ' de olması gereken sinyal, 802 cm^{-1} 'de aromatik pikle çakışmış olarak; 1275-1200 cm^{-1} 'de çıkması gereken eter (Ar-O-CH₃) sinyalleri 1252 ve 1232 cm^{-1} ' de ; 800-600 cm^{-1} ' de olması gereken (C-Cl) sinyali, 617 cm^{-1} ' de çıkmıştır.

21 bileşiğinin, ¹H-NMR spekturumları 400 MHz'lik NMR'da CDCl₃ içinde alınmıştır. Alınan spekturumlar şöyledir; (Şekil 5.6.2.)

Kimyasal kayma aralığı 0.0-2.0 ppm olması gereken alkil protonları, (-OCH₂ - CH₃) 1.38 ppm'de ; kimyasal kayma aralığı 3.3-4.0 ppm'de olması gereken eter protonları (Ar-O-CH₃) 3.92 ppm'de tekli pik olarak ; kimyasal kayma aralığı 3.7-4.1 ppm olması gereken ester protonları (-OCH₂ - CH₃) , oksijen atomunun elektron çekici özelliğinden dolayı daha düşük alanda 4.33 ppm'de ; kimyasal kayma aralığı 4.6-6.0 ppm olması gereken olefinik proton (=CH-), vinil grubuna bağlı olan dimetoksifenil grubunun elektron çekici özelliğinden dolayı, daha düşük alanda, 6.90 ppm'de ; kimyasal kayma aralığı, 6-8.5 ppm'de olması gereken aromatik protonlar, (-CH=CH-) 7.2-7.8 ppm'de çıkmıştır.

21 bileşiğinin, olefinik protonunun, düşük alanda 6.90 ppm'de olması, bileşiğin Z konfigürasyonunda olduğunu gösterir. (E konfigürasyonundaki olefinik proton yüksek alanda çıkar.)

Bu bileşimin, ^{13}C -NMR spekturumları CDCl_3 içinde alınmıştır. İlgili spekturumlar şöyledir; (Şekil 5.6.3.)

Kimyasal kayma aralığı 0-31 ppm'de olması gereken alkil karbonları ($-\text{OCH}_2 - \text{CH}_3$), 14.25 ppm'de ; kimyasal kayma aralığı 40-60 ve 40-70 ppm'de olması gereken eter karbonları ($-\text{CH}_3$) 56 ppm ve ($-\text{OCH}_2 -$) 62.42 ppm'de ; kimyasal kayma aralığı 110-150 ppm'de olması gereken olefinik karbonlar ($-\text{CH}=\text{C}-$) 151 ppm'de; kimyasal kayma aralığı 110-145 ppm'de olması gereken aromatik karbonlar ($-\text{C}=\text{C}-$) 110-149 ppm'de ; kimyasal kayma aralığı 155-175 ppm'de olması gereken ester karbonu ($-\text{COOEt}$) 163.66 ppm 'de çıkmıştır.

$\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{ClO}_4$ bileşiminin alınan kütle spekturum, (Şekil 5.6.4.) ve elementel analiz sonuçları şöyledir;

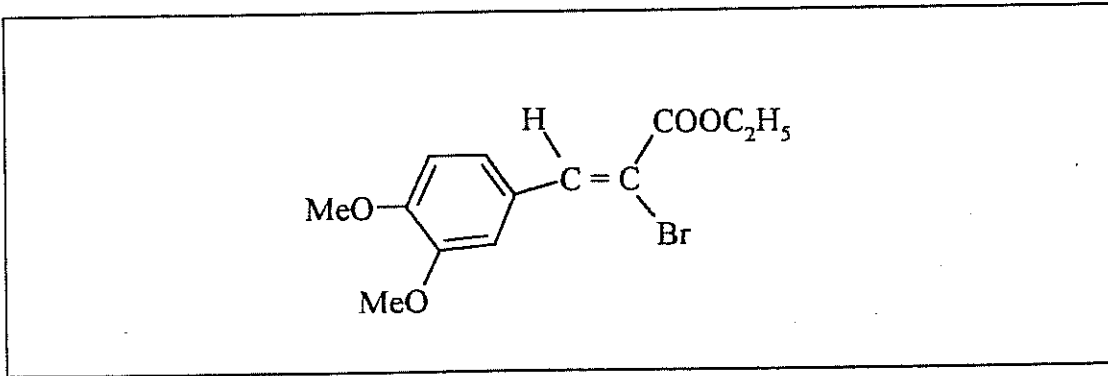
Elementel Analiz

Heasplanan (C , 57.679 ; H, 5.584) Bulunan (C , 57.25 ; H, 5.67)

Kütle Spekturumu

MS (M / e) : 272.3 ; 270.1 ; 166.7 ; 162.6 ; 161.4 ; 146.4 ; 118.7 ; 100.8 ; 90.9

Z-etil-2-bromo-3,4-dimetoksisinnamat, (22), bileşiminin FT-IR spekturumu KBr tablette, $400-4000 \text{ cm}^{-1}$ 'de alınmıştır. (Şekil 5.5.1.)



1725-1715 cm^{-1} 'de çıkması gereken ester grubunun (-COOEt) sinyalleri, karbon karbon çift bağına konjuge olması nedeni ile 1693 cm^{-1} ' de ; aromatiklikten ileri gelen (C=C) sinyallerinden, 1490-1525 cm^{-1} 'de çıkması gereken pikler, 1514 cm^{-1} de ; 1525-1625 cm^{-1} 'de olması gereken sinyaller, 1595 cm^{-1} ' de; 885-870 cm^{-1} ' de çıkması gereken pikler, 851 cm^{-1} 'de; 825-805 cm^{-1} 'de çıkması gereken sinyaller, 800 cm^{-1} 'de (C=C) doymamışlığından ileri gelen sinyallerden, 1650-1600 cm^{-1} 'de çıkması gereken pik, 1595 cm^{-1} ' de aromatik pik ile çakışmış olarak; 850-790 cm^{-1} ' de olması gereken sinyal, 800 cm^{-1} ' de aromatik pikle çakışmış olarak; 1275-1200 cm^{-1} 'de çıkması gereken eter (Ar-O-CH₃) sinyalleri 1252 ve 1232 cm^{-1} ' de ; 750-500 cm^{-1} 'de olması gereken (C-Br) sinyali, 611 cm^{-1} ' de çıkmıştır.

22 bileşiğinin, ¹H-NMR spekturumları 400 MHz'lik NMR'da CDCl₃ içinde alınmıştır. Alınan spekturumlar şöyledir; (Şekil 5.5.2.)

Kimyasal kayma aralığı 0.0-2.0 ppm olması gereken alkil protonları, (-OCH₂ - CH₃) 1.37 ppm'de, J sabiti 7.23 Hz olan üçlü bir pik vererek ; kimyasal kayma aralığı 3.3-4.0 ppm'de olması gereken eter protonları (Ar-O-CH₃) 3.91 ppm'de tekli pik olarak ; kimyasal kayma aralığı 3.7-4.1 ppm olması gereken ester protonları (-OCH₂ - CH₃) , oksijen atomunun elektron çekici özelliğinden dolayı daha düşük alanda 4.33 ppm'de, J sabiti 7.26 Hz olan kuartet pikler vererek ; kimyasal kayma aralığı 4.6-6.0 ppm olması gereken olefinik proton (=CH-), vinyl grubuna bağlı olan dimetoksifenil grubunun elektron çekici özelliğinden dolayı, daha düşük alanda, 7.61 ppm'de ; kimyasal kayma aralığı, 6-8.5 ppm'de olması gereken aromatik protonlar, (-CH=CH-) 6.8- 8 ppm'de çıkmıştır.

22 bileşiğinin, olefinik protonunun, düşük alanda 7.61 ppm'de olması, bileşiğin Z konfigürasyonunda olduğunu gösterir. (E konfigürasyonundaki olefinik proton yüksek alanda çıkar.)

Bu bileşiğin, ^{13}C -NMR spekturumları CDCl_3 içinde alınmıştır. İlgili spekturumlar şöyledir; (Şekil 5.5.3.)

Kimyasal kayma aralığı 0-30 ppm'de olması gereken alkil karbonları ($-\text{OCH}_2 - \underline{\text{C}}\text{H}_3$), 14.09 ppm'de ; kimyasal kayma aralığı 40-60 ve 40-70 ppm'de olması gereken eter karbonları ($-\underline{\text{C}}\text{H}_3$) 57 ppm ve ($-\text{O}\underline{\text{C}}\text{H}_2 -$) 63 ppm'de ; kimyasal kayma aralığı 110-150 ppm'de olması gereken olefinik karbonlar ($-\underline{\text{C}}\text{H}=\underline{\text{C}}-$) 151 ppm'de; kimyasal kayma aralığı 110-145 ppm'de olması gereken aromatik karbonlar ($-\underline{\text{C}}=\text{C}-$) 112-149 ppm'de ; kimyasal kayma aralığı 155-175 ppm'de olması gereken, ester karbonu ($-\underline{\text{C}}\text{OOEt}$) 164 ppm 'de çıkmıştır.

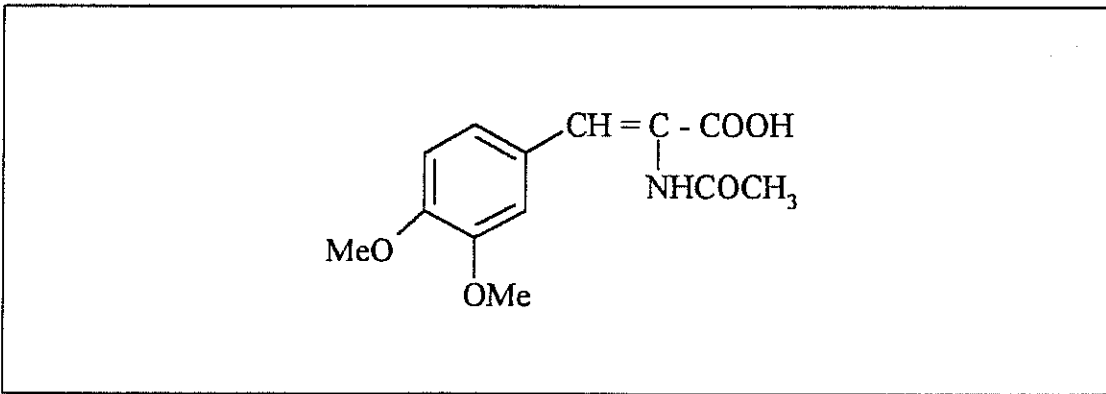
$\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{BrO}_4$ bileşiğinin alınan kütle spekturum (Şekil 5.5.4.) ve elementel analiz sonuçları şöyledir;

Heasplanan (C , 49.54 ; H, 4.79) Bulunan (C , 49.54 ; H, 5.031)

Kütle Spekturumları

MS (M/e) : 317.2 , 316, 314, 271, 235.3, 207, 189, 162, 147, 119, 91

α -asetamino-3,4-dimetoksisinnamik asit, (40), bileşiğinin FT-IR spekturumları şöyledir; (Şekil 5.9.1.)



2900-3300 cm^{-1} 'de çıkması gereken, karboksil hidroksil ($-\text{COOH}$) sinyalleri ve 3200-3400 cm^{-1} 'de çıkması gereken amid ($-\text{CO-NH}-$) sinyalleri, 3254 cm^{-1} 'de çakışmış olarak ; 1765-1750 cm^{-1} 'de çıkması gereken asit karbonili ($-\text{COOH}$) konjugasyon nedeniyle 1695 cm^{-1} 'de ; 1625-1700 cm^{-1} 'de çıkması gereken amid karbonil sinyalleri ($-\text{CONH}-$) 1664 cm^{-1} 'de ; 1200-1320 cm^{-1} 'de olması gereken asitten ileri gelen ($-\text{C-O}$) sinyalleri 1265 cm^{-1} 'de ; 1180-1300 cm^{-1} 'de olması gereken aromatik eter (Me-O-Ar) sinyalleri 1143 ve 1163 cm^{-1} 'de ; aromatiklikten ileri gelen (C=C) sinyallerinden, 1490-1525 cm^{-1} 'de çıkması gereken sinyaller 1500 cm^{-1} 'de; 1525-1625 cm^{-1} 'de olması gereken pikler 1601 cm^{-1} 'de ; 1600-1700 cm^{-1} 'de çıkması gereken sinyaller 1621 cm^{-1} 'de ; 800-860 cm^{-1} 'de çıkması gereken sinyaller 804 cm^{-1} ; 860-900 cm^{-1} 'de olması gereken sinyaller 897 cm^{-1} 'de ; (C=C) doymamışlığından ileri gelen sinyallerden ise, 790-850 cm^{-1} 'de olması gereken sinyaller 804 cm^{-1} 'de aromatik piklerle çakışmış olarak; 1600-1650 cm^{-1} 'de çıkması gereken sinyallerde aromatik piklerle çakışmış olarak 1621 cm^{-1} 'de çıkmıştır.

40 bileşiğinin $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD) değerleri şöyledir; (Şekil 5.9.2.)

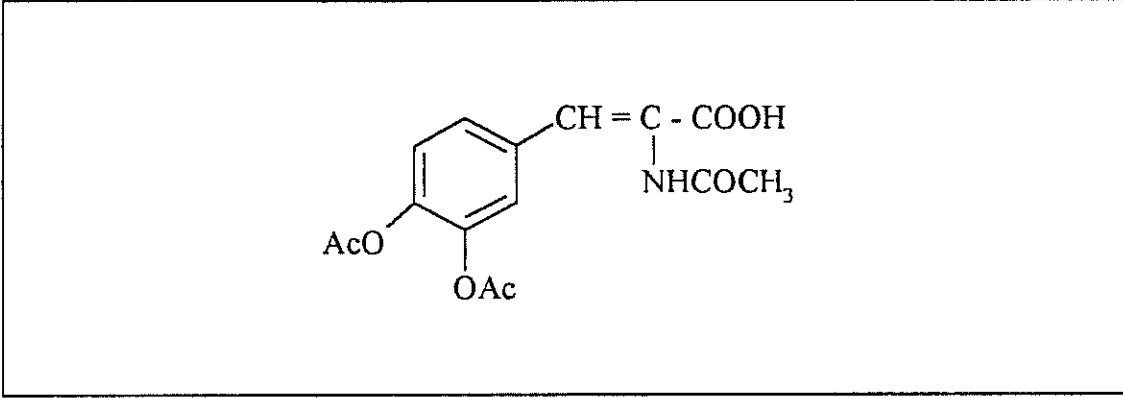
Kimyasal kayma aralığı 2.0-2.7'de ppm olması gereken, ($-\text{CO-CH}_3$) protonları, 2.38 pp'de tekli pik olarak; kimyasal kayma aralığı 3.3-4.0 ppm'de olması gereken $-\text{OCH}_3$ protonları 3.78 ve 3.744 ppm'de tekli pik olarak; kimyasal kayma aralığı 5.9-9.5 ppm'de çıkması gereken amid protonları ($-\text{CO-NH}-$), 7.32 ppm'de tekli pik olarak; kimyasal kayma aralığı 4.6-6.0 ppm 'de çıkması gereken olefinik proton ($=\text{CH}-$), 7.18 ppm'de tekli pik olarak; kimyasal kayma aralığı 6.8-8 ppm'de olması gereken aromatiklikten ileri gelen protonlar, 6.85-7.12 ppm'de çıkmıştır.

40 bileşiğinin $^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD) değerleri (APT) yöntemiyle alınmıştır. Alınan spekturum değerleri şöyledir; (Şekil 5.9.3.)

Kimyasal kayma aralığı, 0-30 ppm'de çıkması gereken ($-\text{CO-CH}_3$) karbonu, 22.62 pp de; kimyasal kayma aralığı, 40-60 ppm'de olması gereken $-\text{OCH}_3$ karbonu, 56.46 ppm'de; kimyasal kayma aralığı, 110-145 ppm'de çıkması gereken aromatik karbonlar, 114, 126, 136 ppm'de; kimyasal kayma aralığı 110-150 ppm'de olması gereken olefinik

karbonlar, 112.54 ppm'de; kimyasal kayma aralığı, 160-190 ppm'de çıkması gereken asit (-COOH) karbonu, 173 ppm'de çıkmıştır.

α -asetamino-3,4-O,O-diasetilsinnamik asit (41), bileşiğinin FT-IR spekturumu şöyledir; (Şekil 5.11.1.)



2900-3300 cm^{-1} 'de çıkması gereken, karboksil hidroksil (-COOH) sinyalleri ve 3200-3400 cm^{-1} 'de çıkması gereken amid (-CO-NH-) sinyalleri, 3273 cm^{-1} 'de çakışmış olarak ; 1765-1750 cm^{-1} 'de çıkması gereken asit karbonili (-COOH) 1762 cm^{-1} 'de ; 1625-1700 cm^{-1} 'de çıkması gereken amid karbonil sinyalleri (-CONH-) 1695 cm^{-1} 'de 1200-1320 cm^{-1} 'de olması gereken asitten ileri gelen (-C-O) sinyalleri 1263 cm^{-1} 'de ; aromatiklikten ileri gelen (C=C) sinyallerinden, 1490-1525 cm^{-1} 'de çıkması gereken sinyaller 1500 cm^{-1} 'de; 1600-1700 cm^{-1} 'de çıkması gereken sinyaller 1695 cm^{-1} 'de 1600-1650 cm^{-1} 'de çıkması gereken, (C=C) doymamışlığından ileri gelen sinyal ise aromatik piklerle çakışmış olarak 1641 cm^{-1} 'de çıkmıştır.

41 Bileşiğinin $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD) değerleri ; (Şekil 5.11.2.)

Kimyasal kayma değeri, 1.5-2.5 ppm'de olması gereken (-CO-CH₃) protonları, tekli pik olarak, 1.998 ppm'de; kimyasal kayma değeri 2.4 ppm'de çıkması gereken, (Ar-OCOCH₃) protonları, tekli pik olarak 2.18 ppm'de, kimyasal kayma değeri, 3.7-7.2 pp'de olması gereken, (-CH=C-) protonu tekli pik olarak, 7.33 ppm'de; kimyasal kayma değeri, 5.8-9.5 ppm'de çıkması gereken amid (-CO-NH-) protonları tekli pik olarak, 7.34

ppm'de; kimyasal kayma değeri, 5.9-8.9 ppm'de çıkması gereken aromatiklikten ileri gelen protonlar, 7.12-7.37 ppm'de çıkmıştır.

41 Bileşiğinin ^{13}C -NMR (CD_3OD) değerleri (APT) yöntemiyle alınmıştır . Alınan spekturum değerleri şöyledir; (Şekil 5.11.3.)

Kimyasal kayma değeri 0-30 ppm'de çıkması gereken, (CH_3COO -) karbonu 22.57 ppm'de ve ($-\text{NH}-\text{COCH}_3$) 20.45 ppm'de ; kimyasal kayma değeri 110-150 ppm'de çıkması gereken aromatik karbonlar, ($\text{C}=\text{C}$),144.15, 143.57, 133.67 ve ($\text{CH}=\text{CH}$) 129.11, 125.54, 124.76 ppm'de ; kimyasal kayma değeri 90-150 ppm'de olması gereken alken karbonu ($-\text{CH}=\text{C}$ -) 133.47 ppm'de ve ($-\text{CH}=\text{C}$ -) karbonu 127.96 ppm'de, kimyasal kayma değeri 160-186 ppm'de çıkması gereken asitlikten ileri gelen karbon ($-\text{COOH}$), 173 ppm'de çıkmıştır.

4.2. Ekmek Mayası İle İndirgeme Çalışmaları

Ekmek mayası (*saccharomyces cerevisiae*) ucuz ve kolay bulunan, kiral yüzeye sahip, bir indirgeme ajanıdır. Mayanın bu özelliğinden yararlanarak yapılan çalışmalar sonucunda, elde edilen kiral indirgenme ürünleri, çeşitli literatürlerde rapor edilmiştir.

Bu çalışmada, maya ile indirgeme denemelerinde kullanılmak üzere, ikisi orjinal beş substrat sentezlenmiştir. (20, 21, 22, 40, 41 bileşikleri). Yapılan literatür araştırmalarında, maya ile indirgenme çalışmalarına rastlanmayan bu beş substrattan 20 bileşiği ön denemeler yapmak için sentezlenmiştir.

Bu substratlarda bulunan karbon karbon çift bağının üzerinde, elektron çekici grupların (Cl, Br gibi) bulunması ve indirgenme başarılığında 21,22,40 ve 41 bileşiklerinden elde edilecek olan kiral indirgenme ürünlerinin, L-DOPA sentezi için önem teşkil etmesi, bu substratları, maya ile indirgenme çalışmalarında kullanmamıza neden olmuştur.

İlk önce, yaş ve kuru mayalar ile değişik reaksiyon şartlarında, indirgeme denemeleri yapıldı. Sentezlenen substratlar, öncelikle su, maya ve glukozdan

oluşturulan ortamda, değişik pH ve sıcaklıklarda (30 ° C'de pH 3-4 ve 35°C'de pH 5-5.5) indirgenmeye çalışıldı. Daha sonra, su, maya, glukoz ve değişik tampon maddelerinden oluşturulan ortamda, değişik pH ve sıcaklıklarda indirgenmeye çalışıldı. Reaksiyon ortamını, belli bir pH'da tutmak amacıyla kullanılan tampon ortamlar şunlardır; kalsiyumkarbonat, potasyumdihidrojenfosfat, amonyumdihidrojenfosfat ve magnezyumsülfat'tın oluşturduğu tampon ortam ; 0.1 M asetik asit ve sodyumasetatın oluşturduğu tampon ortamdır.

Ayrıca, 20, 21, 22, 40,41 substratları organik bir çözücü olan benzen, maya, ve glukozdan oluşturulan reaksiyon şartlarında da indirgenmeye çalışılmıştır.

Denemeler sırasında yapılan yapılan İTK'da başlangıç maddesinden farklı yerlerde lekeler tespit edildi. Fakat, preparatif ince tabaka kromatografisiyle ayrılan bu lekelerin, alınan FT-IR spektrumlarının anlamsız olması, bize bu lekelerin mayadan ileri gelen kirlilikler olduğunu gösterdi Bu durum, oluşabilecek olan ürünü izole etmemizi zorlaştırabilir, hatta düşük verimle elde edilen ürünlerin, bu kirlilik içinde kaybolmasına neden olabilirdi. Bu durumdan etkilenmemek için, immobilize edilmiş mayalarla çalışmaya karar verildi. Literatürde yapılan indirgeme çalışmaları genellikle immobilize mayalarladır.

İmmobilize mayalarla, değişik pH ve sıcaklıklarda yapılan indirgeme çalışmalarında, mayanın bu substratlar (20, 21, 22, 40 ve 41) üzerinde etkili olmadığına karar verildi. Mayanın aktivitesi, 2-kloroasetoaset ester üzerinde test edildi ve indirgenme reaksiyonlarına karşı aktif olduğu belirlendi. Bu indirgeme çalışmalarında, enzim substrat ilişkisi dikkate alındığında, bunların anahtar-kilit kadar birbirlerine uyum içinde olmaları gerekir. Fakat, sentezlenen bu substratların, mayadaki oksido-redüktaz enzimleriyle bu uyumu yakalayamadığı tespit edildi.

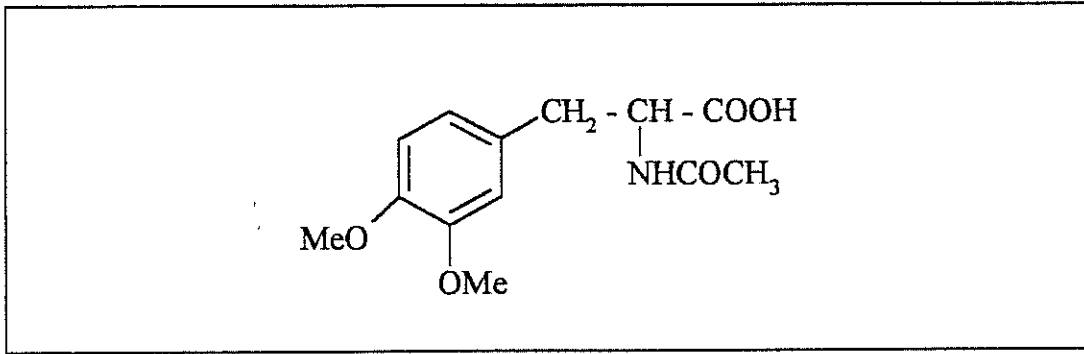
Litertürde yapılan çalışmalarda genellikle, karbonil grubu içeren değişik bileşikler kullanılmıştır. Hem karbonil, hem de karbon karbon çift bağını (α,β -doymamış karbonil bileşikleri) içeren substratlarla yapılan çalışmalarda ise; karbon karbon çift bağının karbonil grubuna göre, daha yavaş indirgendiği, hatta bazı substratlarda sadece karbonil grubunun indirgenip, karbon karbon çift bağının indirgenmediği rapor edilmiştir.

Ayrıca, 20, 21, 22, 40 ve 41 substuratlarının, karbon karbon çift bağının üzerinde bulunan, aromatik fenil grubunun olması da indirgenmemenin bir nedeni olabilir. Çünkü, literatürde bu formdaki bileşiklerle yapılan çalışmalarda, genellikle sübstitüent olarak çeşitli alkil bileşikleri kullanılmıştır.

Sentezlenen substuratlardan, L-DOPA sentezine daha yakın olan, 40 ve 41 bileşiklerinin, bilinen indirgen ajanlara karşı davranışını kontrol etmek amacıyla, Pd/C ile hidrojene edilip, indirgenme ürünleri (42, 43) tespit edilmiştir.

42 ve 43 bileşiklerinin FT-IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR spektrumları alınmıştır. Alınan spektrumlarla ilgili yorumlar şöyledir;

α-asetamino-3,4--dimetoksifenilalanin, (42) bileşiğinin alınan FT-IR spektrumu;
(Şekil 5.9.4.)



2900-3300 cm^{-1} 'de çıkması gereken, karboksil hidroksil (-COOH) sinyalleri ve 3200-3400 cm^{-1} 'de çıkması gereken amid (-CO-NH-) sinyalleri, 3329 cm^{-1} 'de çakışmış olarak ; 1765-1750 cm^{-1} 'de çıkması gereken (-COOH) ve 1625-1700 cm^{-1} 'de çıkması gereken amid karbonil sinyalleri (-CONH-) 1726 cm^{-1} ; 1200-1320 cm^{-1} 'de olması gereken asitten ileri gelen (-C-O) sinyalleri 1265 cm^{-1} 'de ; 1180-1300 cm^{-1} 'de olması gereken aromatik eter (Me-O-Ar) sinyalleri 1156 ve 1146 aromatiklikten ileri gelen (C=C) sinyallerinden, 1490-1525 cm^{-1} 'de çıkması gereken sinyaller 1516 cm^{-1} de; 1525-1625 cm^{-1} 'de olması gereken pikler 1600 cm^{-1} 'de ; 800-860 cm^{-1} 'de çıkması

gereken sinyaller 812 cm^{-1} 'de; $860\text{-}900\text{ cm}^{-1}$ 'de olması gereken sinyaller 861 cm^{-1} 'de çıkmıştır.

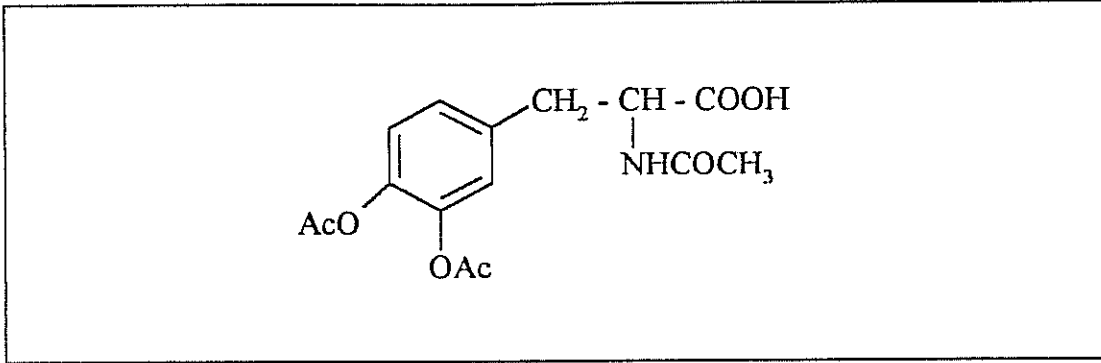
42 bileşiğinin, $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) spekturum değerleri, (Şekil 5.9.5.)

Kimyasal kayma aralığı $1.5\text{-}2.5$ 'de ppm olması gereken, $(-\text{CO}-\underline{\text{CH}}_3)$ protonları, 1.995 ppm 'de tekli pik olarak; kimyasal kayma aralığı $3.3\text{-}4.0$ ppm'de olması gereken $(-\text{O}\underline{\text{CH}}_3)$ protonları, 3.87 ppm'de tekli pik olarak; kimyasal kayma aralığı $5.9\text{-}9.5$ ppm'de çıkması gereken amid protonları $(-\text{CO}-\underline{\text{NH}}-)$, 6.358 ppm'de tekli pik olarak; kimyasal kayma aralığı $6.8\text{-}8$ ppm'de olması gereken aromatiklikten ileri gelen protonlar, $6.69\text{-}6.78$ ppm'de ; kimyasal kayma aralığı $1.7\text{-}3$ ppm'de çıkması gereken $(\text{Ar}-\underline{\text{CH}}_2-)$ protonları 3.08 ppm'de, J sabiti 4.088 Hz olan ikili pik olarak; $2.5\text{-}4.5$ ppm'de çıkması gereken $(-\underline{\text{CH}}-\text{COOH})$ protonları, 4.73 ppm'de üçlü pik olarak çıkmıştır.

42 bileşiğinin $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) değerleri (APT) yöntemiyle alınmıştır. Alınan spekturum değerleri şöyledir; (Şekil 5.9.6.)

Kimyasal kayma aralığı, $0\text{-}30$ ppm'de çıkması gereken $(-\text{CO}-\underline{\text{C}}\text{H}_3)$ karbonu, 22.88 ppm'de ve $(-\underline{\text{C}}\text{H}-\text{COOH})$ karbonili 53.678 ppm'de; kimyasal kayma aralığı, $22\text{-}48$ ppm'de olması gereken, $(-\underline{\text{C}}\text{H}_2-)$ karbonu, 36.79 ppm'de; kimyasal kayma aralığı, $40\text{-}60$ ppm'de olması gereken $-\text{O}\underline{\text{C}}\text{H}_3$ karbonu, 55.874 ppm'de; kimyasal kayma aralığı, $110\text{-}150$ ppm'de çıkması gereken aromatik karbonlar, $(-\text{C}=\text{C}-)$, 129.44 , 148.99 , 148.204 ppm'de ve $(-\text{CH}=\text{CH}-)$ karbonları 11.35 , 112.56 , 121.36 ppm'de; kimyasal kayma aralığı, $158\text{-}180$ ppm'de çıkması gereken amid karbonili $(-\underline{\text{C}}\text{ONH}-)$, 171.149 ppm'de; kimyasal kayma aralığı, $160\text{-}190$ ppm'de çıkması gereken asit $(-\underline{\text{C}}\text{OOH})$ karbonu, 174.846 ppm'de çıkmıştır.

α -asetamino-3,4-O,O-diasetilfenilalanin, (43) bileşğinin FT-IR spekturumu;
(Şekil 5.11.4.)



2900-3300 cm^{-1} 'de çıkması gereken, karboksil hidroksil (-COOH) sinyalleri ve 3200-3400 cm^{-1} 'de çıkması gereken amid (-CO-NH-) sinyalleri, 3340 cm^{-1} 'de çakışmış olarak ; 1765-1750 cm^{-1} 'de çıkması gereken asit karbonili (-COOH) 1761 cm^{-1} 'de ; 1200-1320 cm^{-1} 'de olması gereken asitten ileri gelen (-C-O) sinyalleri 1259; aromatiklikten ileri gelen (C=C) sinyallerinden, 1600-1700 cm^{-1} 'de çıkması gereken sinyaller 1620 cm^{-1} 'de, 1600-1650 cm^{-1} 'de çıkması gereken, 1584 cm^{-1} 'de çıkmıştır.

43 Bileşğinin $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) değerleri ; (Şekil 5.11.5.)

Kimyasal kayma değeri, 1.5-2.5 ppm'de olması gereken (-CO-CH₃) protonları, tekli pik olarak, 1.959 ppm'de; kimyasal kayma değeri 2.4 ppm'de çıkması gereken (Ar-OCOCH₃) protonları, tekli pik olarak 2.236 ppm'de ve 2.253 ppm'de, kimyasal kayma değeri, 5.8-9.5 ppm'de çıkması gereken amid (-CO-NH-) protonları tekli pik olarak, 7.05 ppm'de; kimyasal kayma değeri, 5.9-8.9 ppm'de çıkması gereken aromatiklikten ileri gelen protonlar, 6.57-7.09. ppm'de ve kimyasal kayma değeri 9.5-13 ppm'de olması gereken karboksil grubundan ileri gelen (-COOH) proton 10.91 ppm'de çıkmıştır.

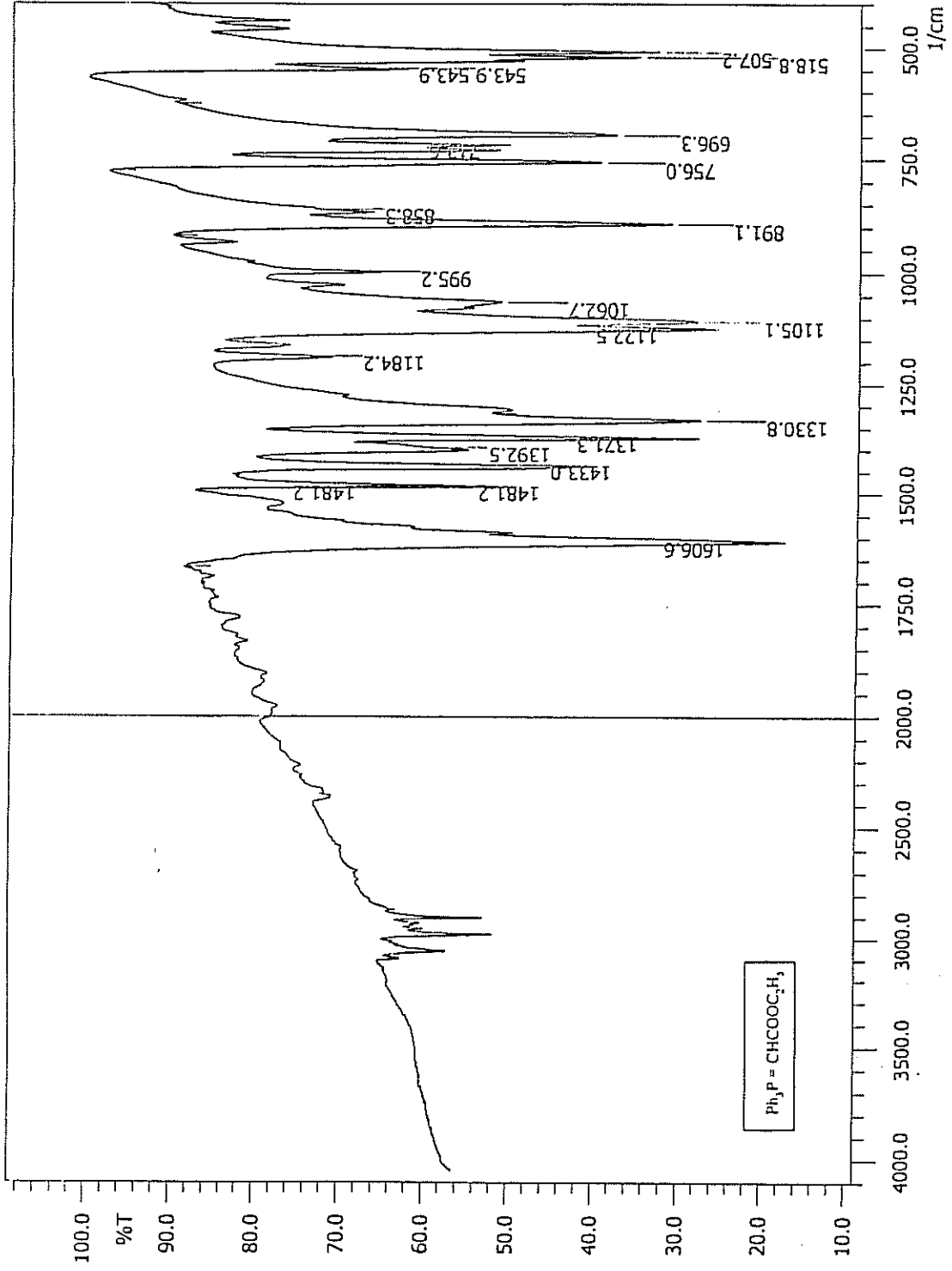
43 Bileşğinin $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) değerleri (APT) yöntemiyle alınmıştır. Alınan spekturum değerleri şöyledir; (Şekil 5.11.6.)

Kimyasal kayma değeri 0-30 ppm'de çıkması gereken, (CH₃COO-) karbonu 22.657 ppm'de, (-CH-COOH) karbonu 53.042 ppm'de ve (-NH-COCH₃) karbonu, 20.631

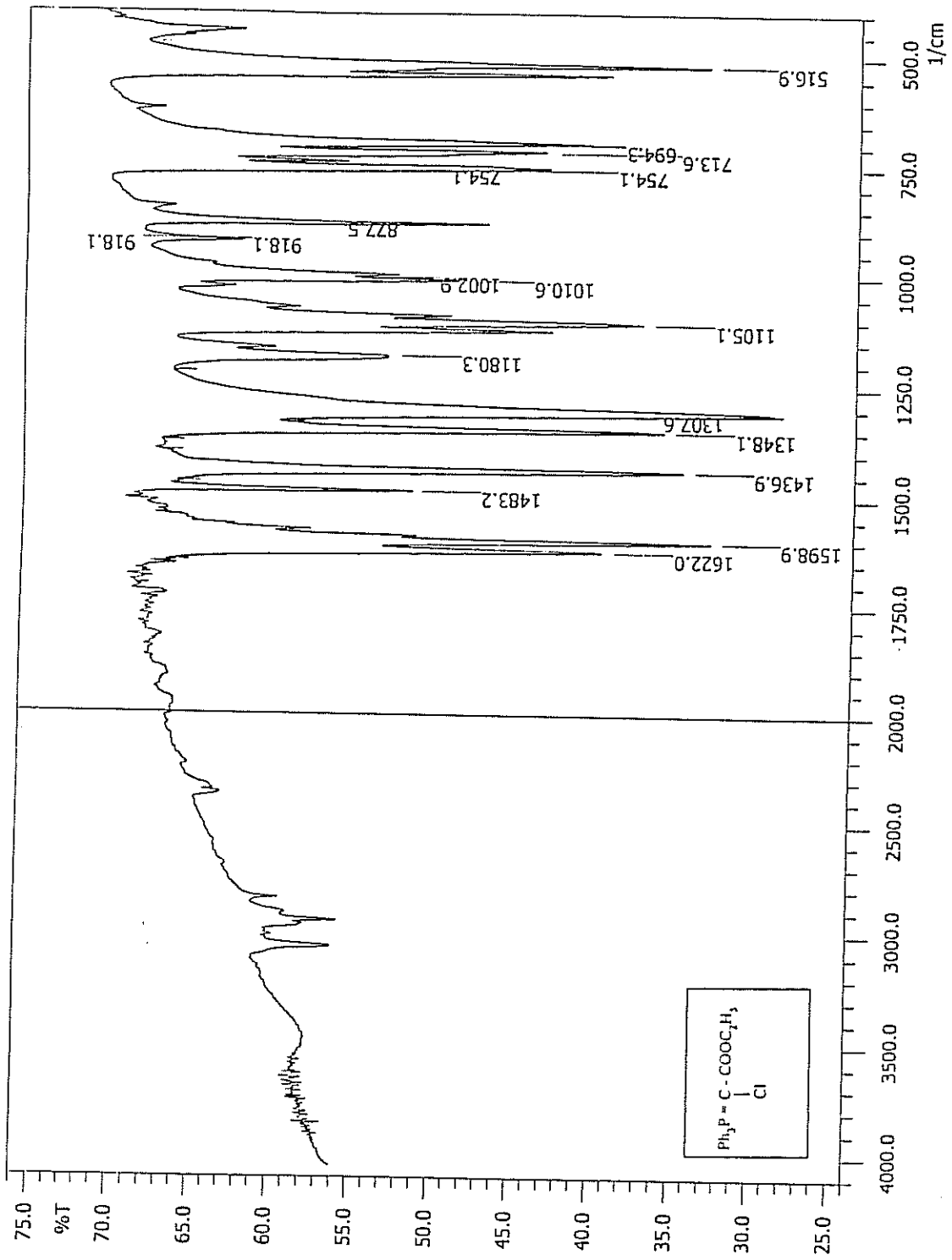
ppm'de; kimyasal kayma değeri, 22-48 ppm'de çıkması gereken (Ar-CH₂-) karbonu, 36.375 ppm'de; kimyasal kayma değeri, 156-180 ppm'de olması gereken ester karbonu (-O-CO-), 171.623 ppm'de; kimyasal kayma değeri, 158-180 ppm' çıkması gereken, amid karbonu (-CONH-) , 168.486 ppm'de; kimyasal kayma değeri 110-150 ppm'de çıkması gereken aromatik karbonlar, (C=C), 141.790, 141.002, 134.846 ve (CH=CH) 127.461, 124.610, 123.301 ppm'de ; kimyasal kayma değeri 160-186 ppm'de çıkması gereken asitlikten ileri gelen karbon (-COOH), 173 ppm'de çıkmıştır.

BÖLÜM 5.

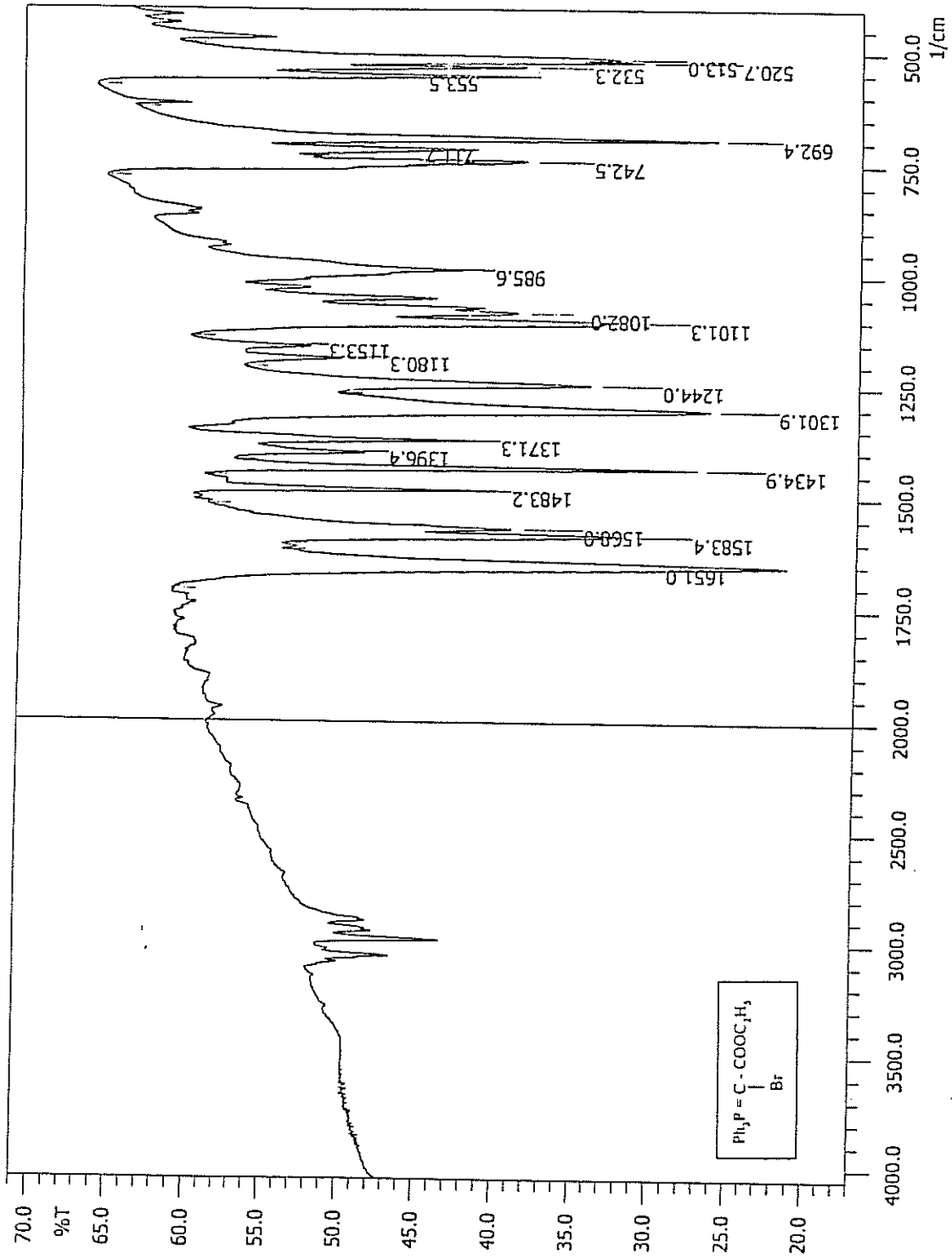
SENTEZLENEN MADDELERİN FT-IR, ¹H-NMR VE ¹³C-NMR SPEKTURUM ŞEKİLLERİ



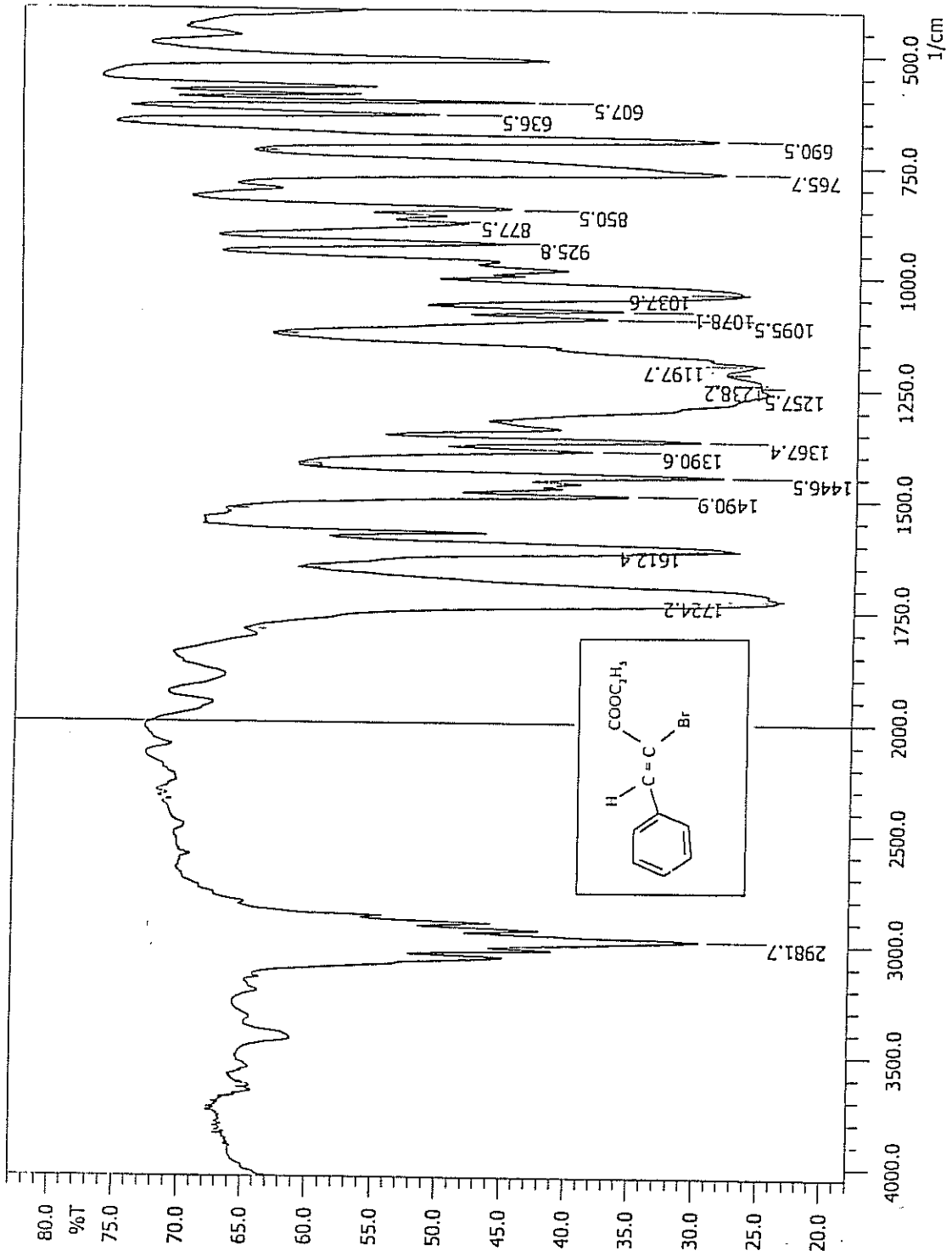
Şekil 5.1. (87) Bileşiğinin FT-IR Spekturumu



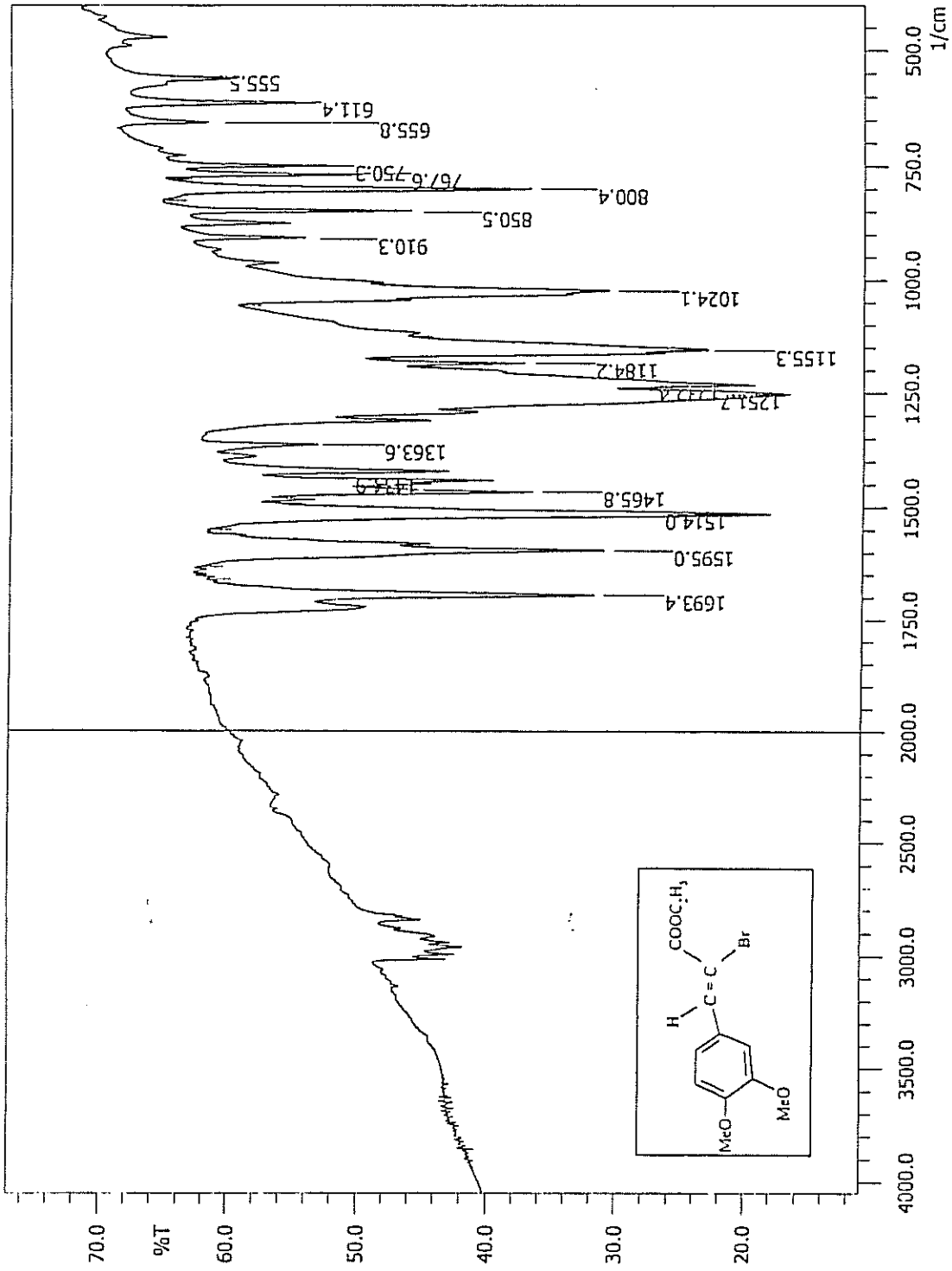
Şekil 5.2. (15) Bileşiğinin FT-IR Spekturumu



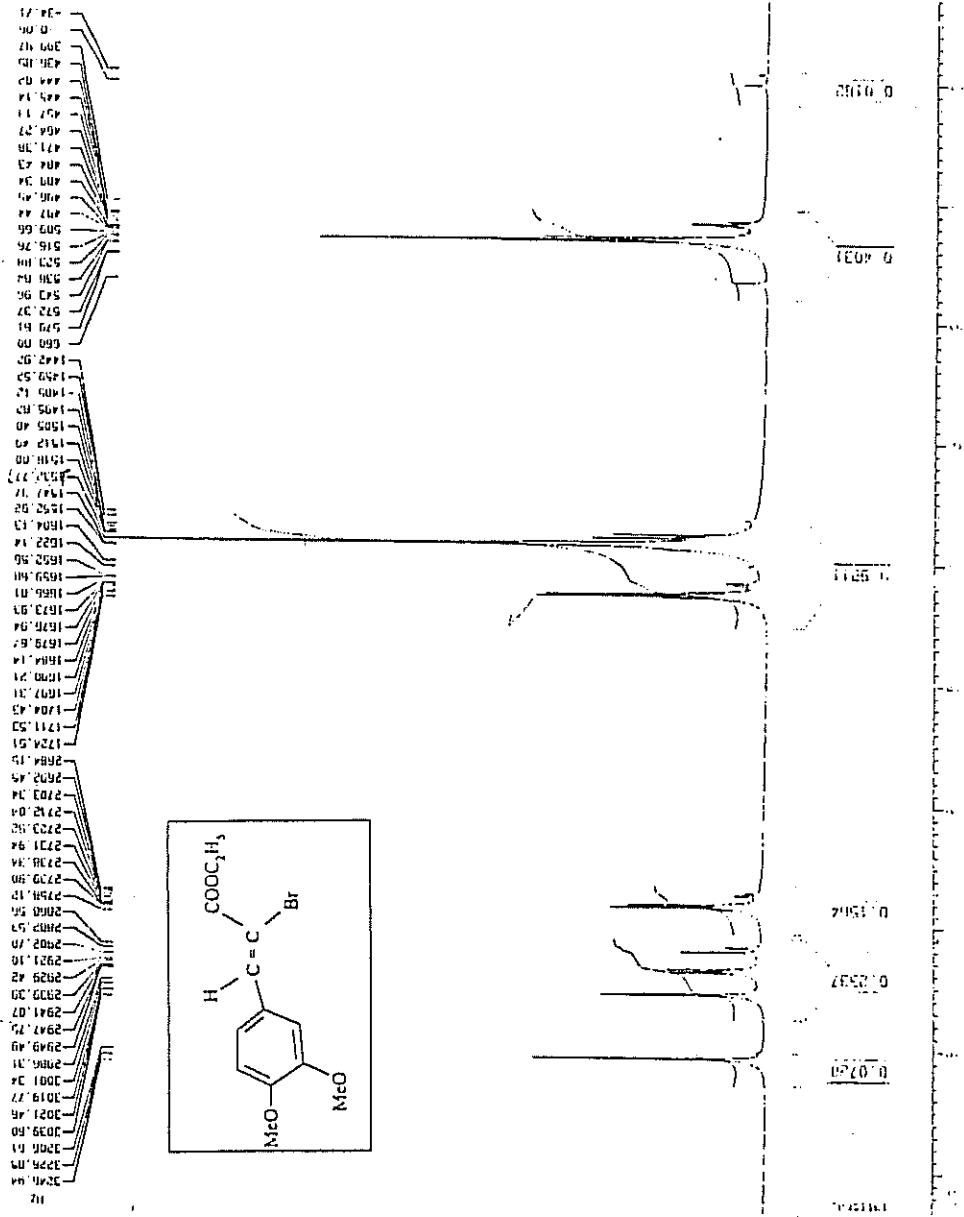
Şekil 5.3. (16) Bileşiğinin FT-IR Spekturumu



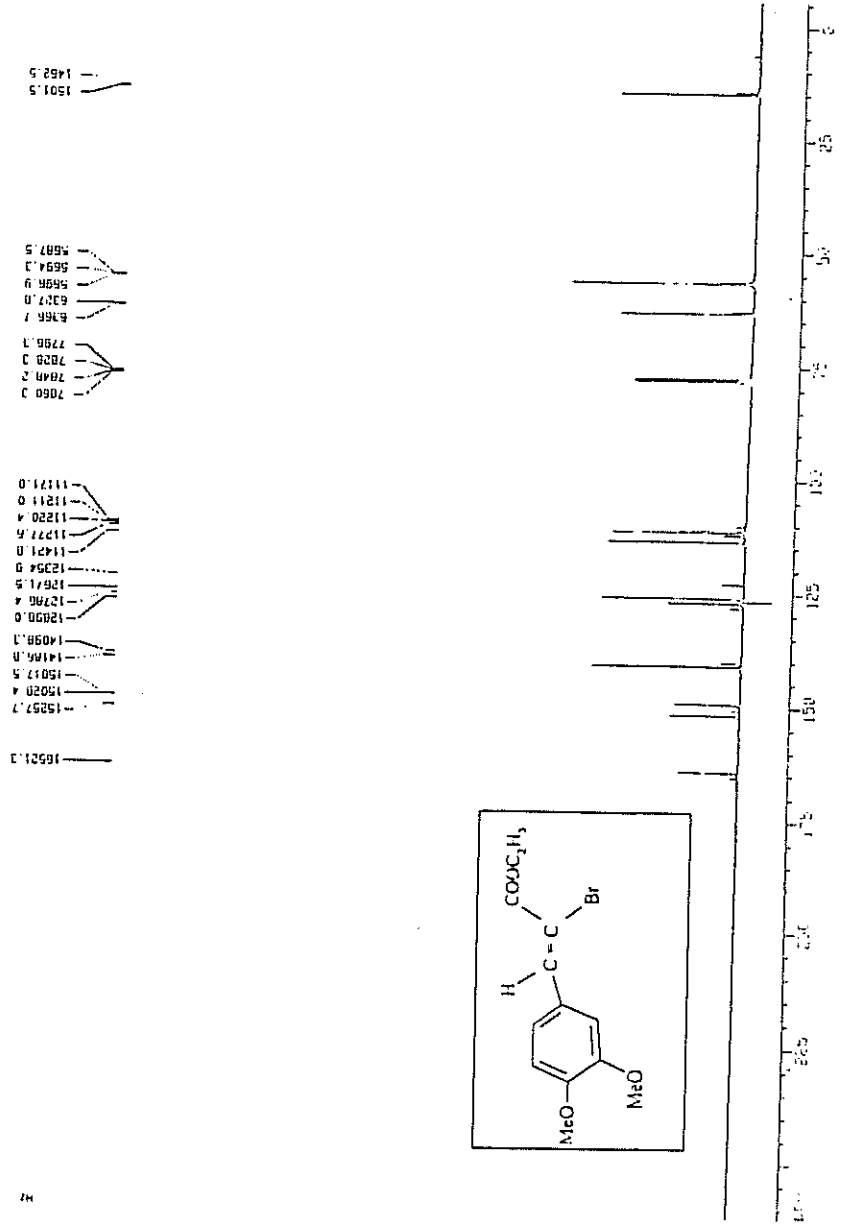
Şekil 5.4.1. (20) Bileşiğinin FT-IR Spekturumu



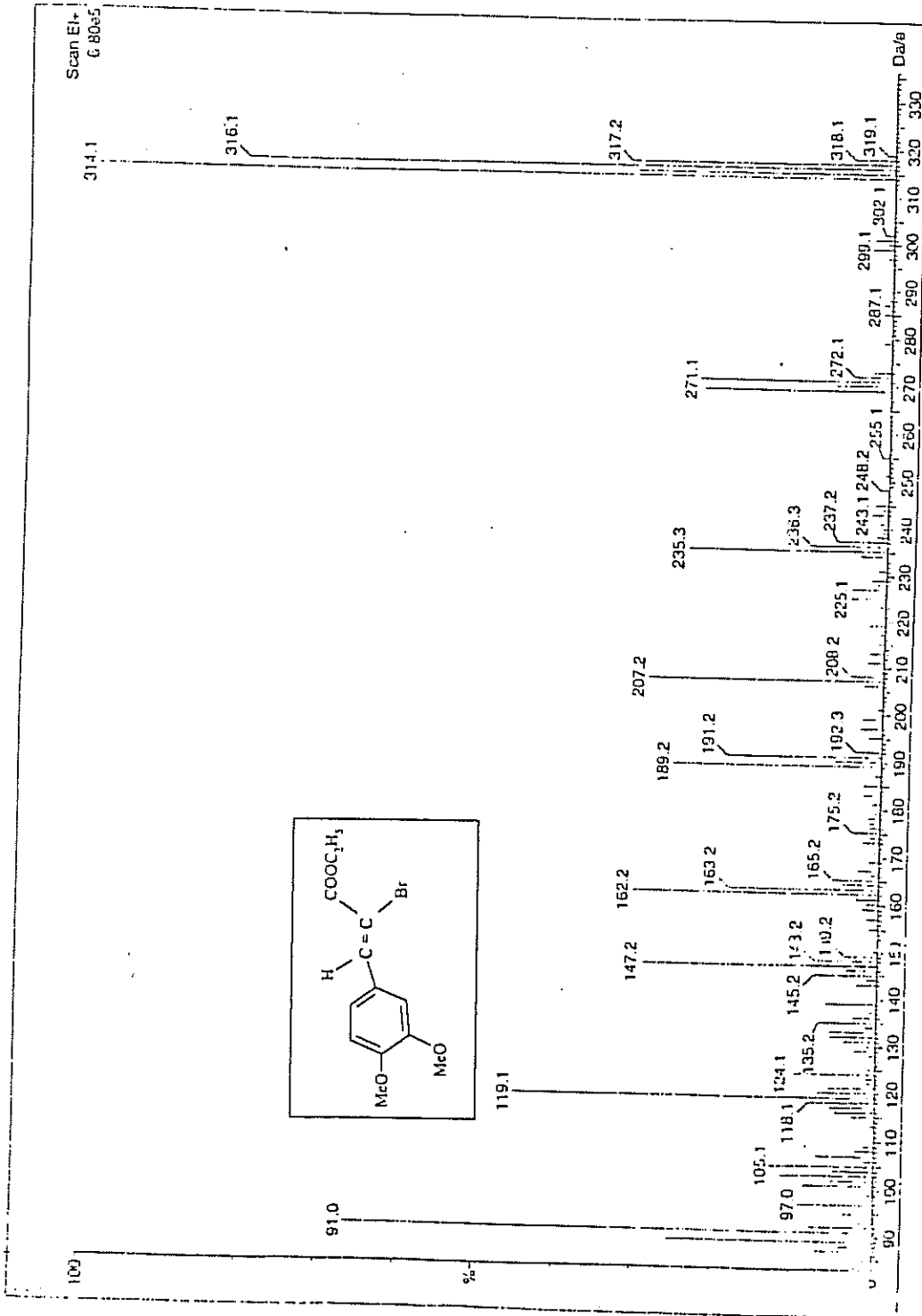
Şekil 5.5.1 (22) Bileşiğinin FT-IR Spekturumu



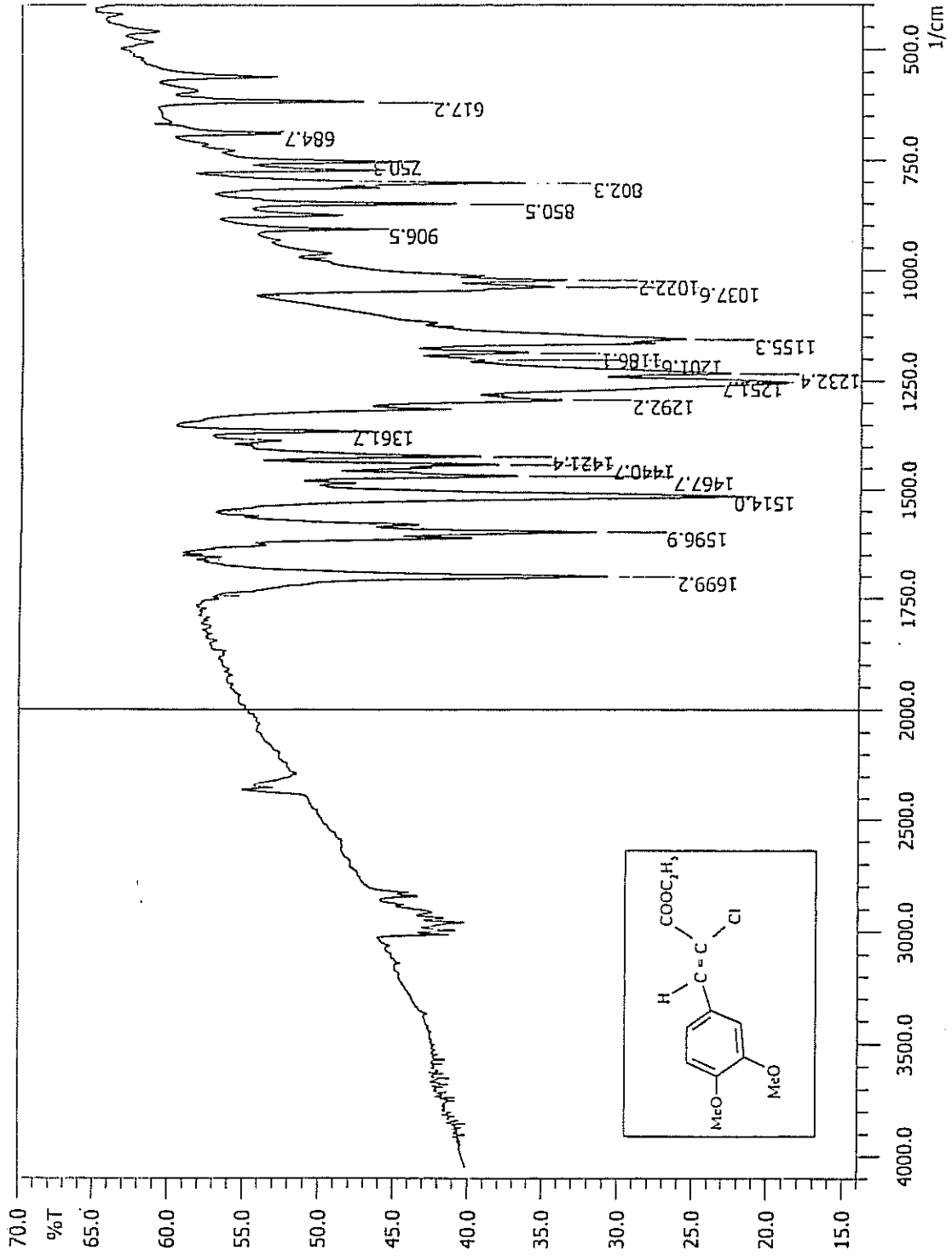
Şekil 5.5.2. (22) Bileşiğinin ¹H-NMR Spekturumu



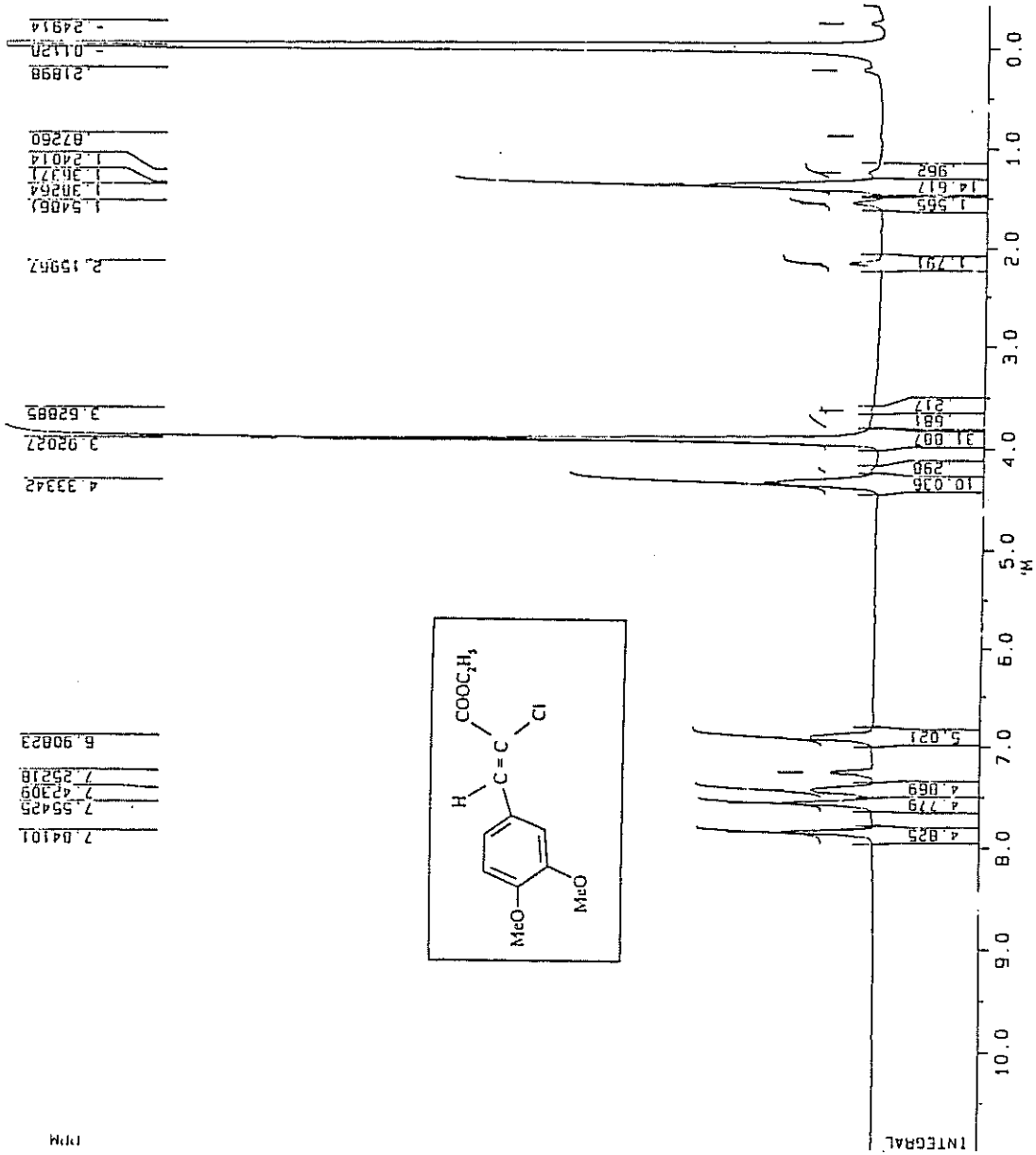
Şekil 5.5.3. (22) Bileşiğinin ¹³C-NMR Spekturumu



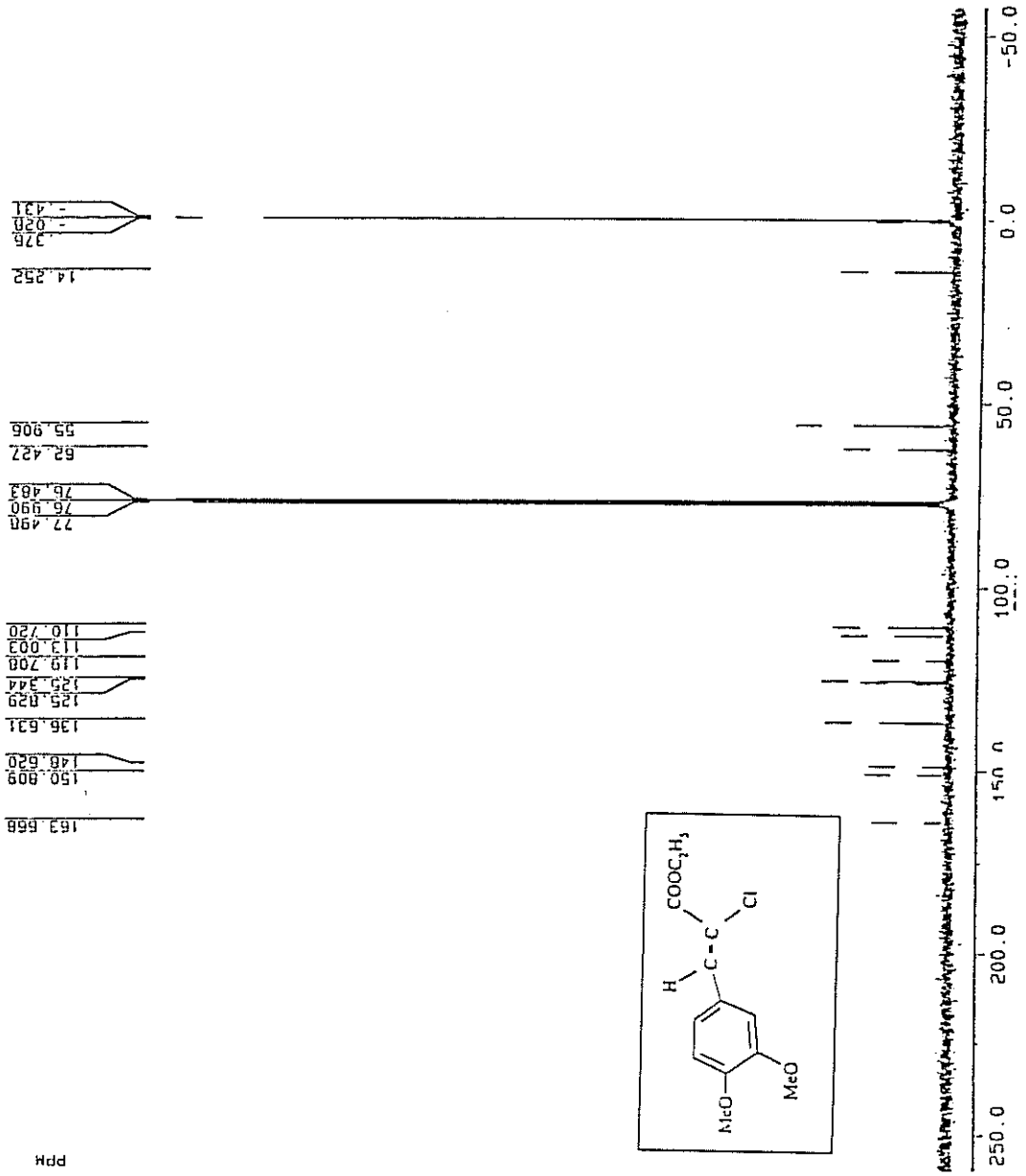
Şekil 5.5.4. (22) Bileşiğinin Kütle Spekturumu



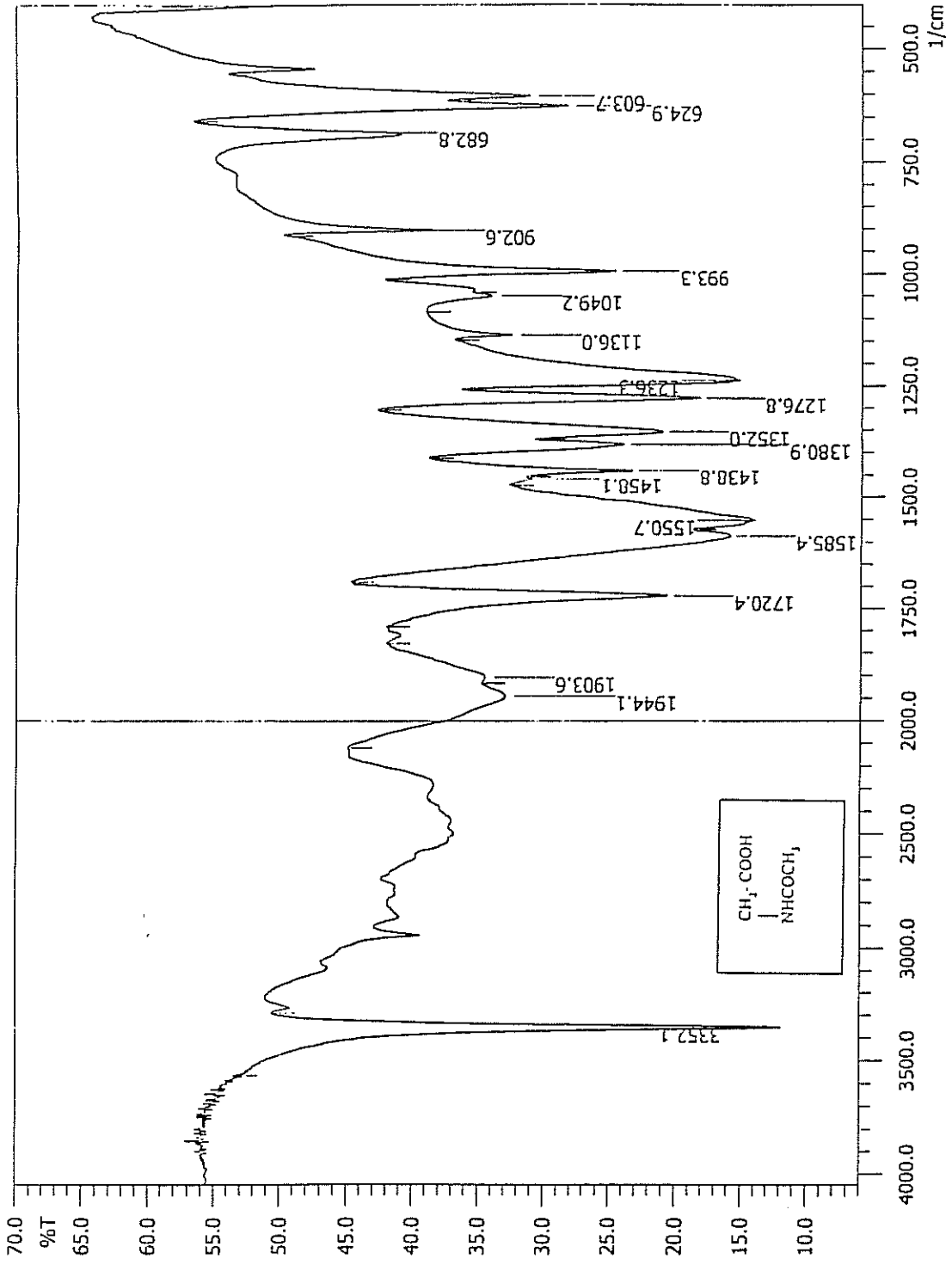
Şekil 5.6.1 (21) Bileşiğinin FT-IR Spekturumu



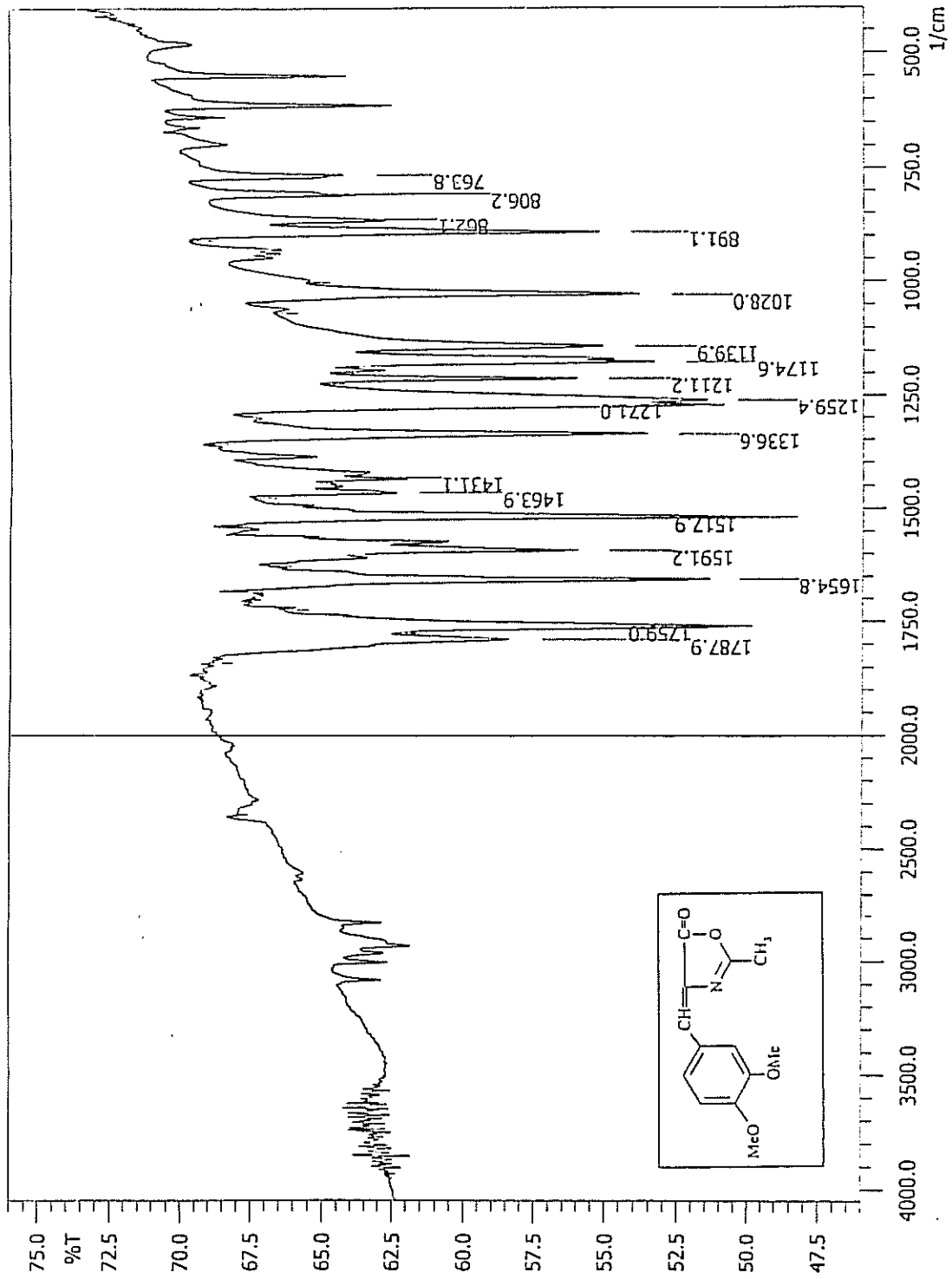
Şekil 5.6.2. (21) Bileşiğinin ¹H-NMR Spekturumu



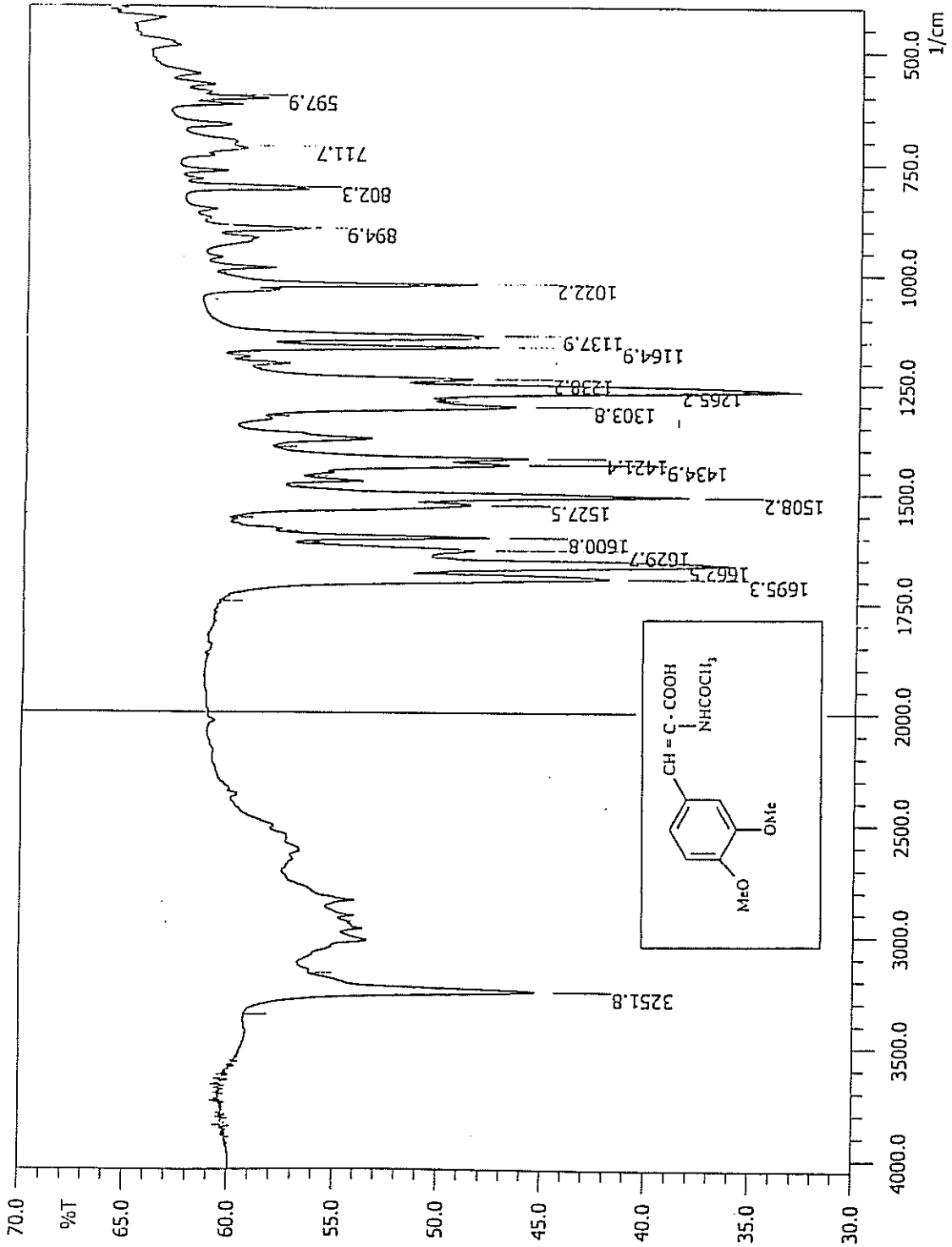
Şekil 5.6.3. (21) Bileşiğinin ¹³C-NMR Spekturumu



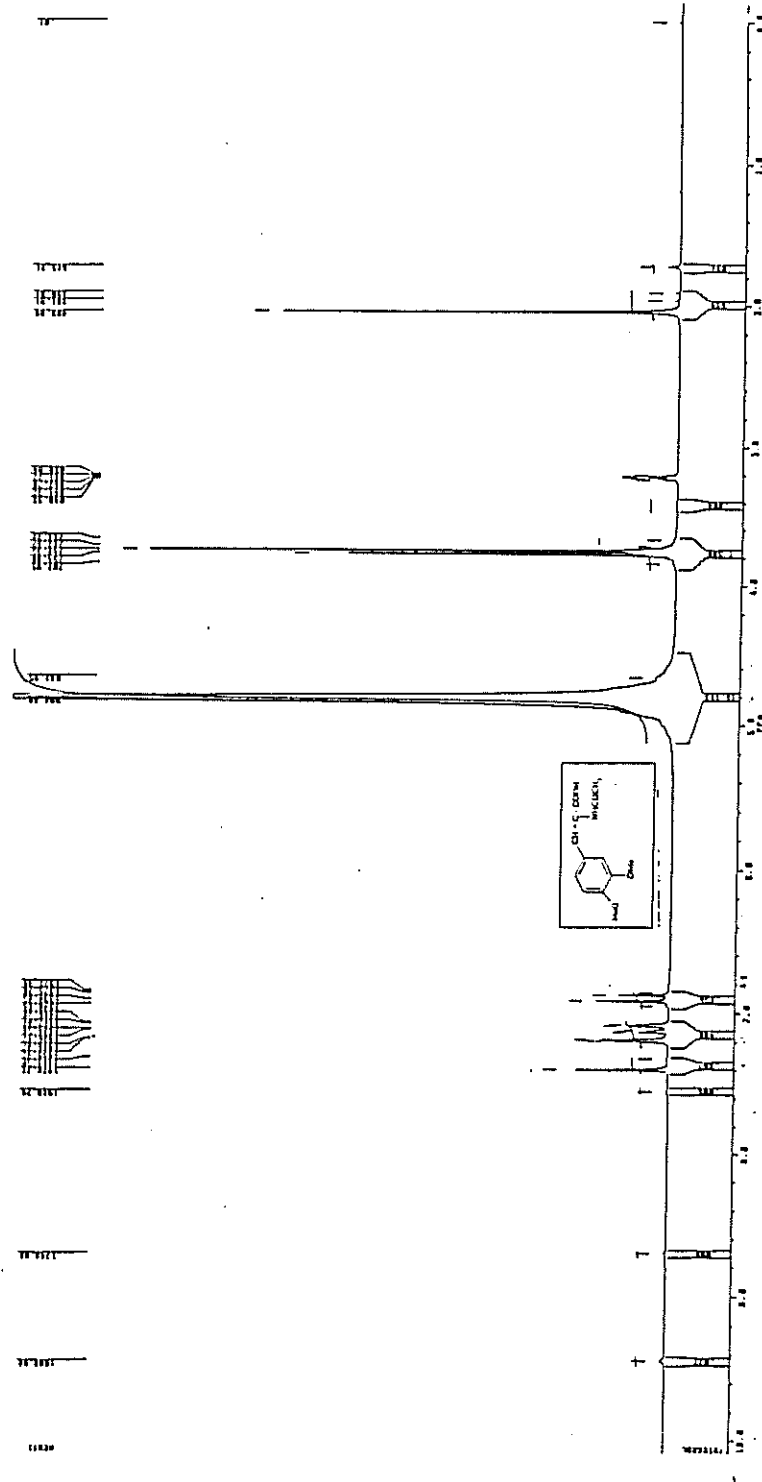
Şekil 5.7. (37) Bileşiğinin FT-IR Spekturumu



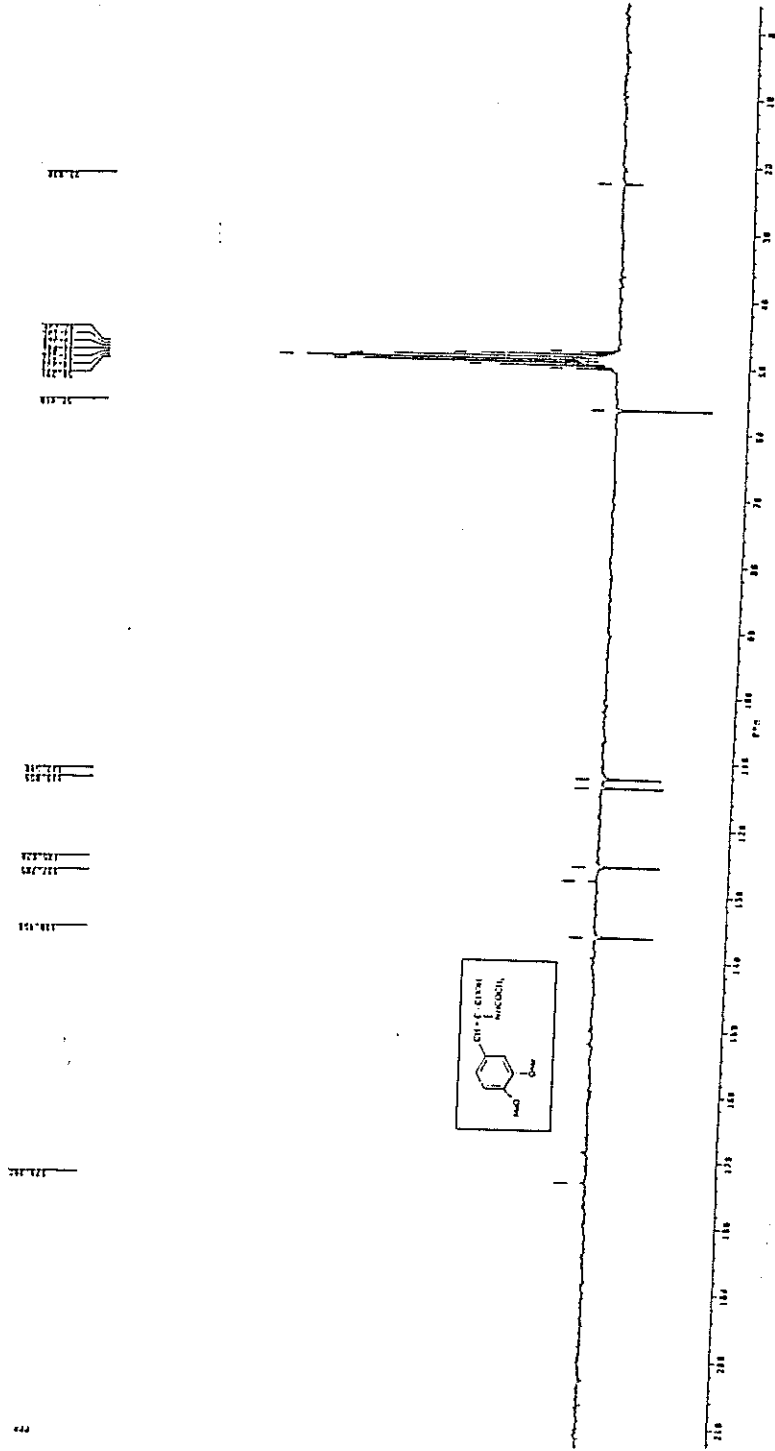
Şekil 5.8. (38) Bileşiğinin FT-IR Spekturumu



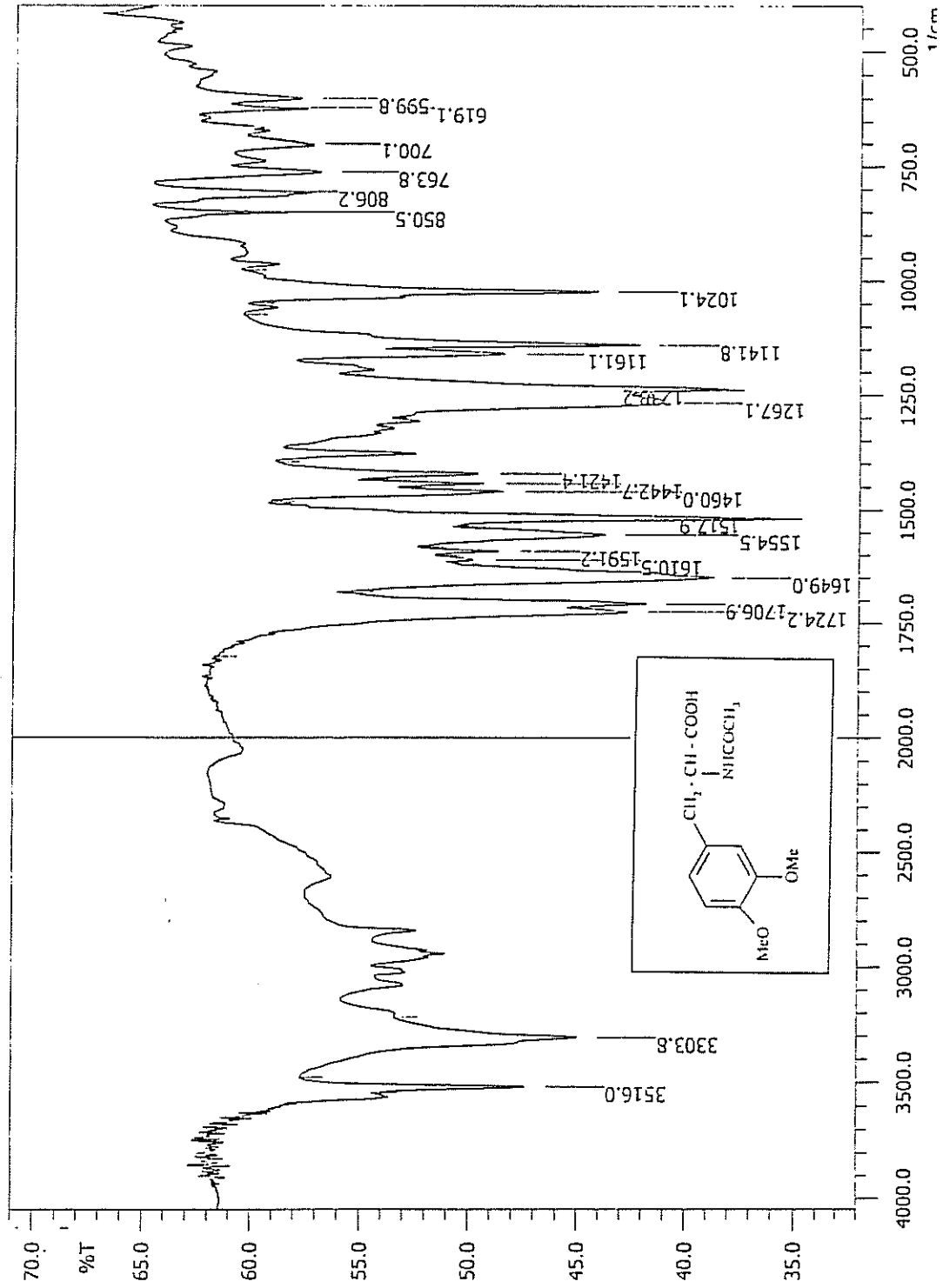
Şekil 5.9.1 (40) Bileşiğinin FT-IR Spekturumu



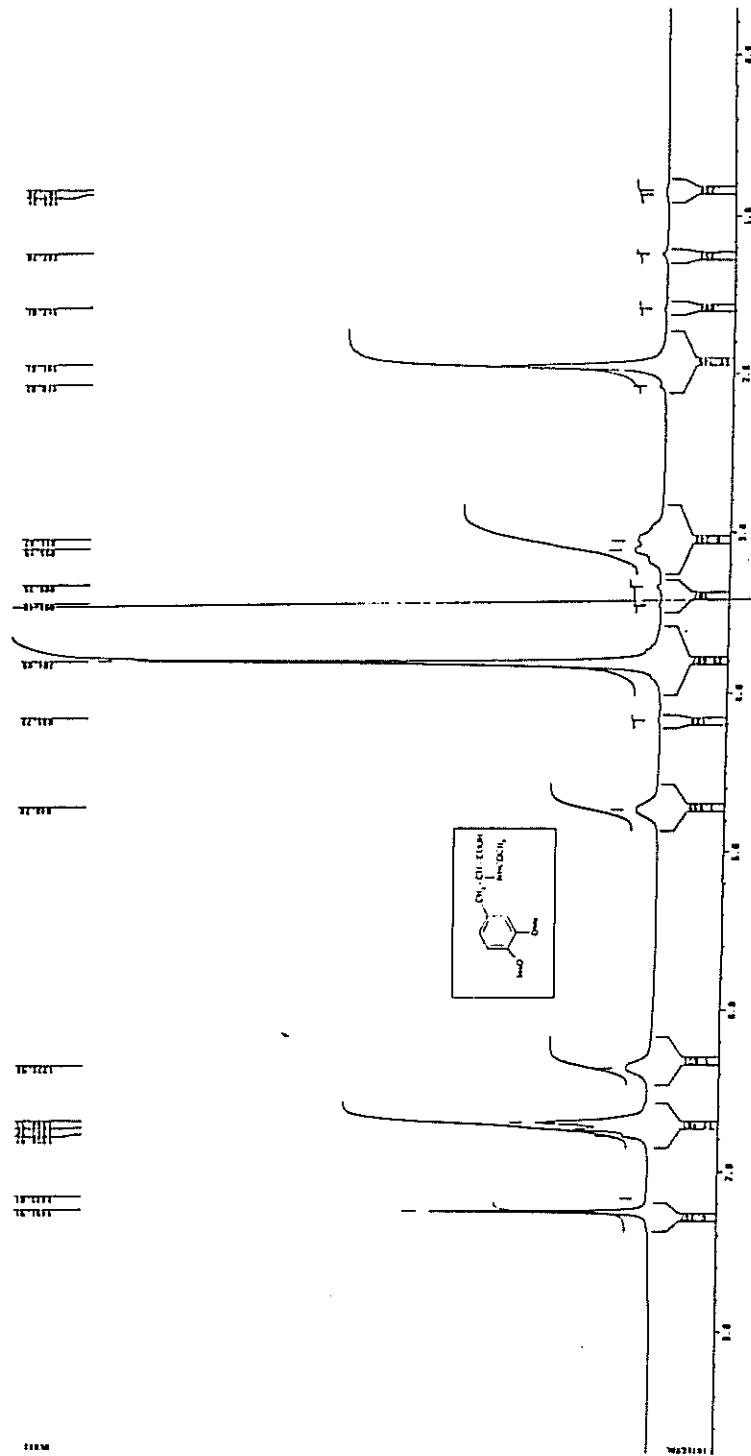
Şekil 5.9.2. (40) Bileşiminin ¹H-NMR Spekturumu



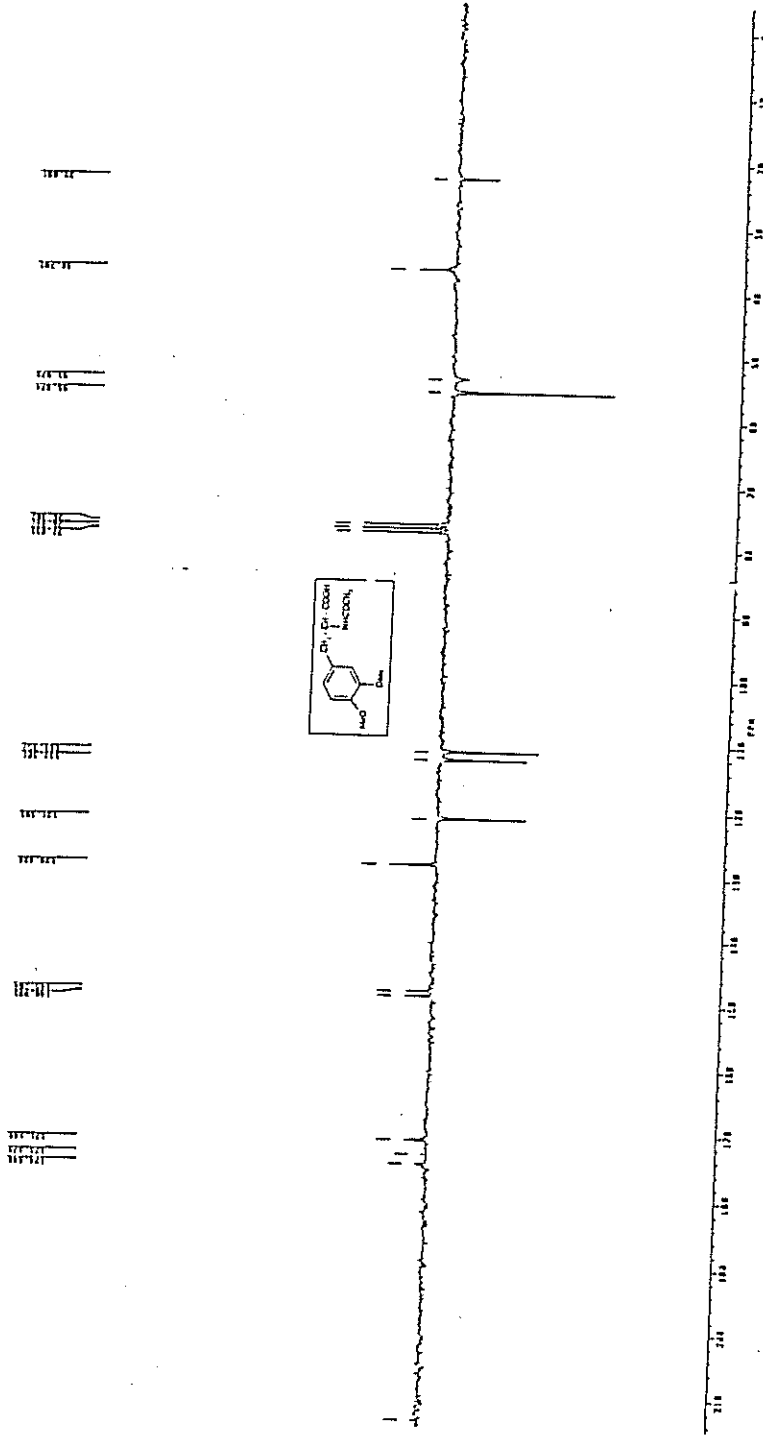
Şekil 5.9.3. (40) Bileşiğinin $^{13}\text{C-NMR}$ Spekturumu



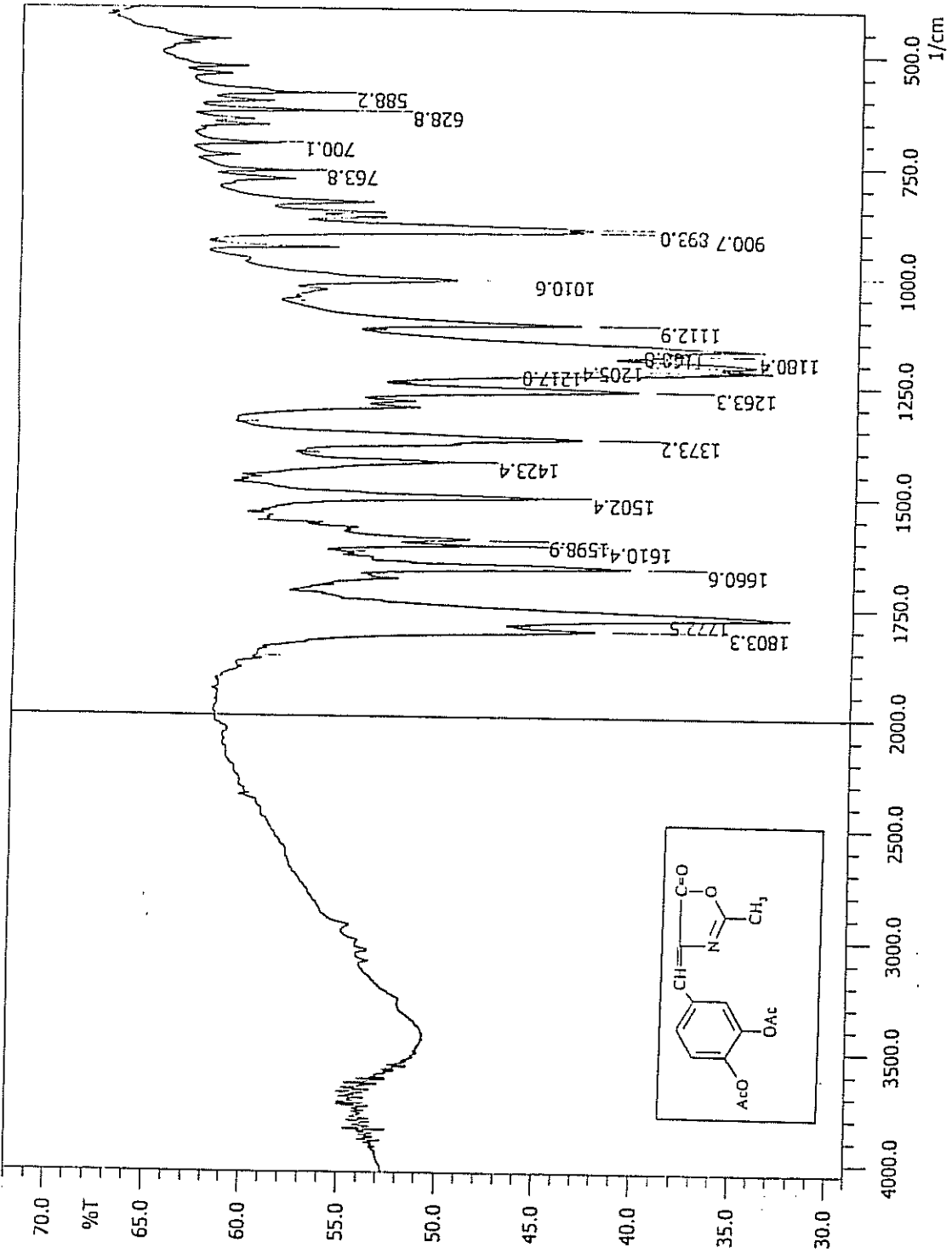
Şekil 5.9.4. (42) Bileşiğinin FT-IR Spekturumu



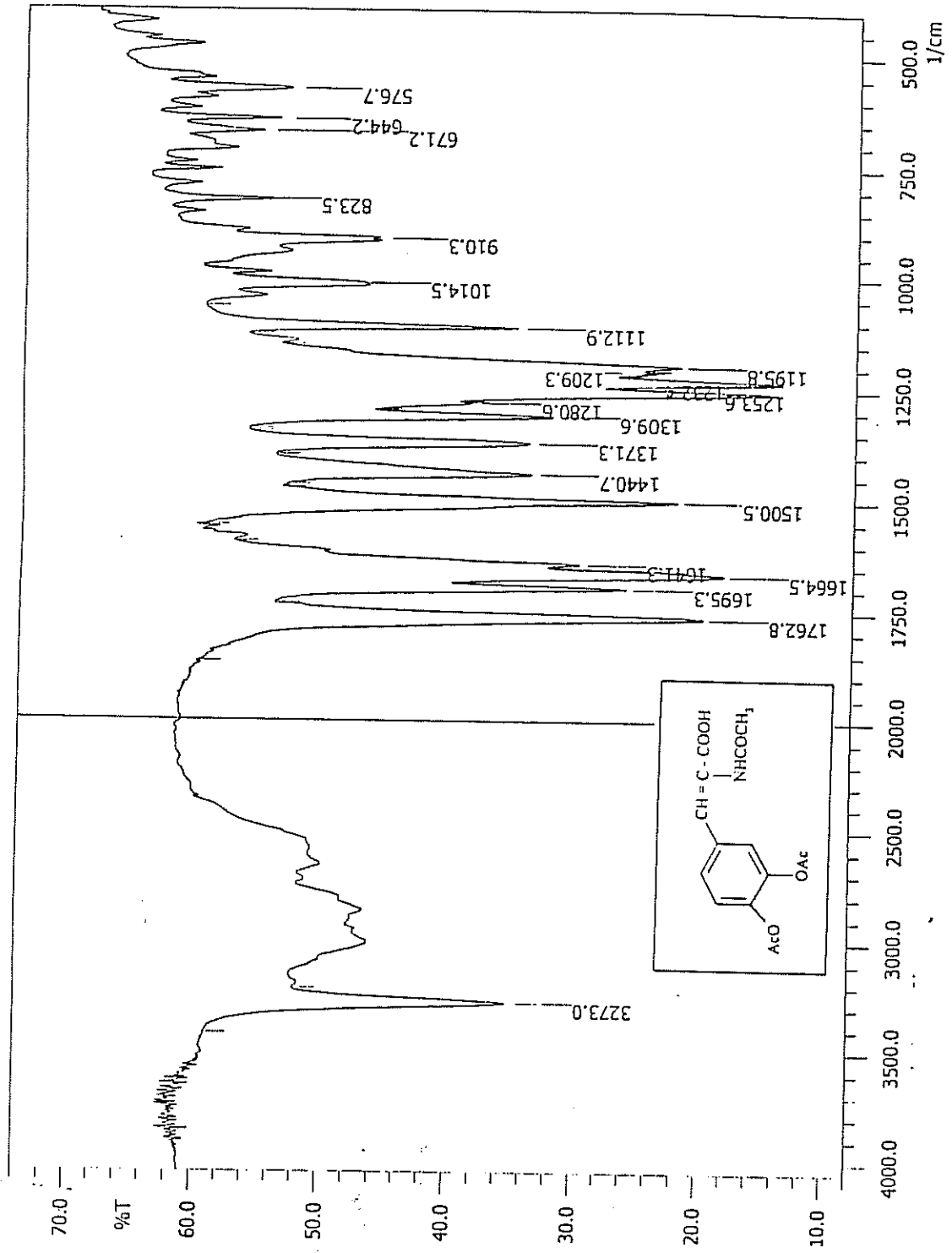
Şekil 5.9.5. (42) Bileşiğinin ¹H-NMR Spekturumu



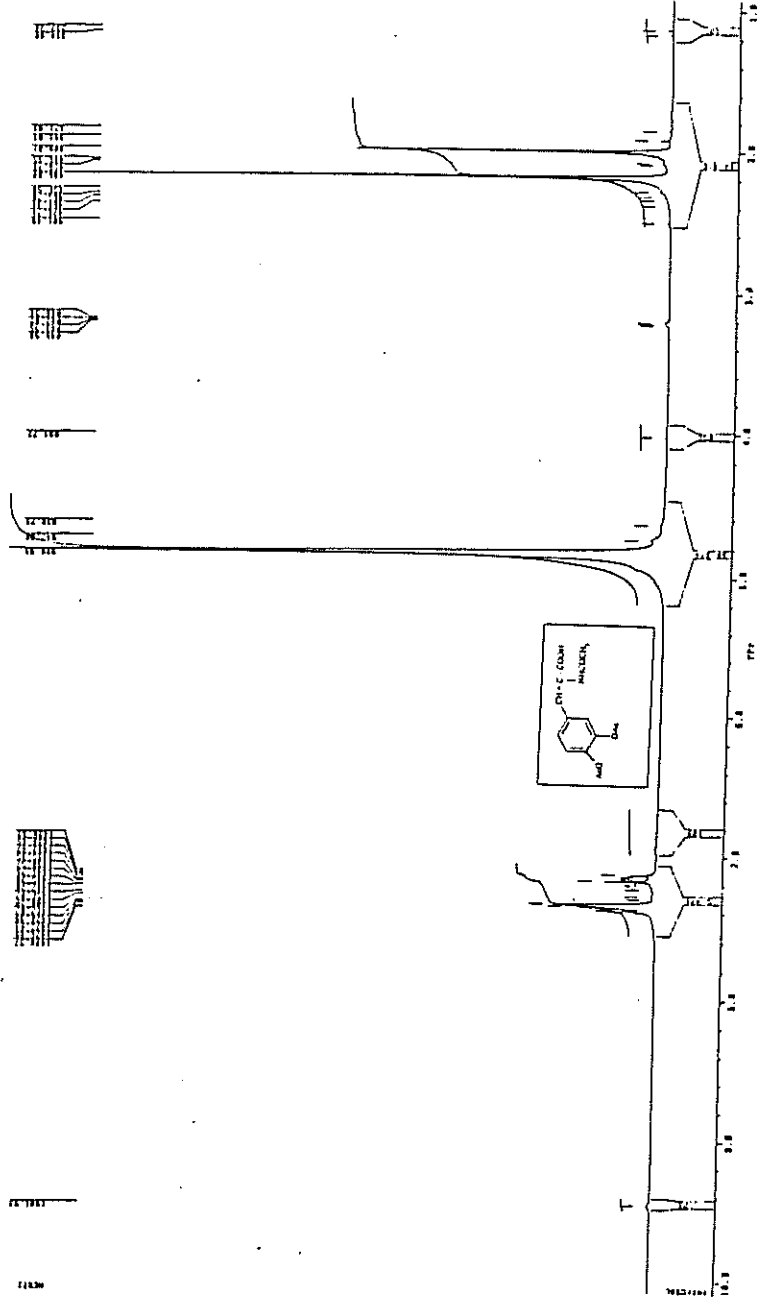
Şekil 5.9.6. (42) Bileşiğinin $^{13}\text{C-NMR}$ Spekturumu



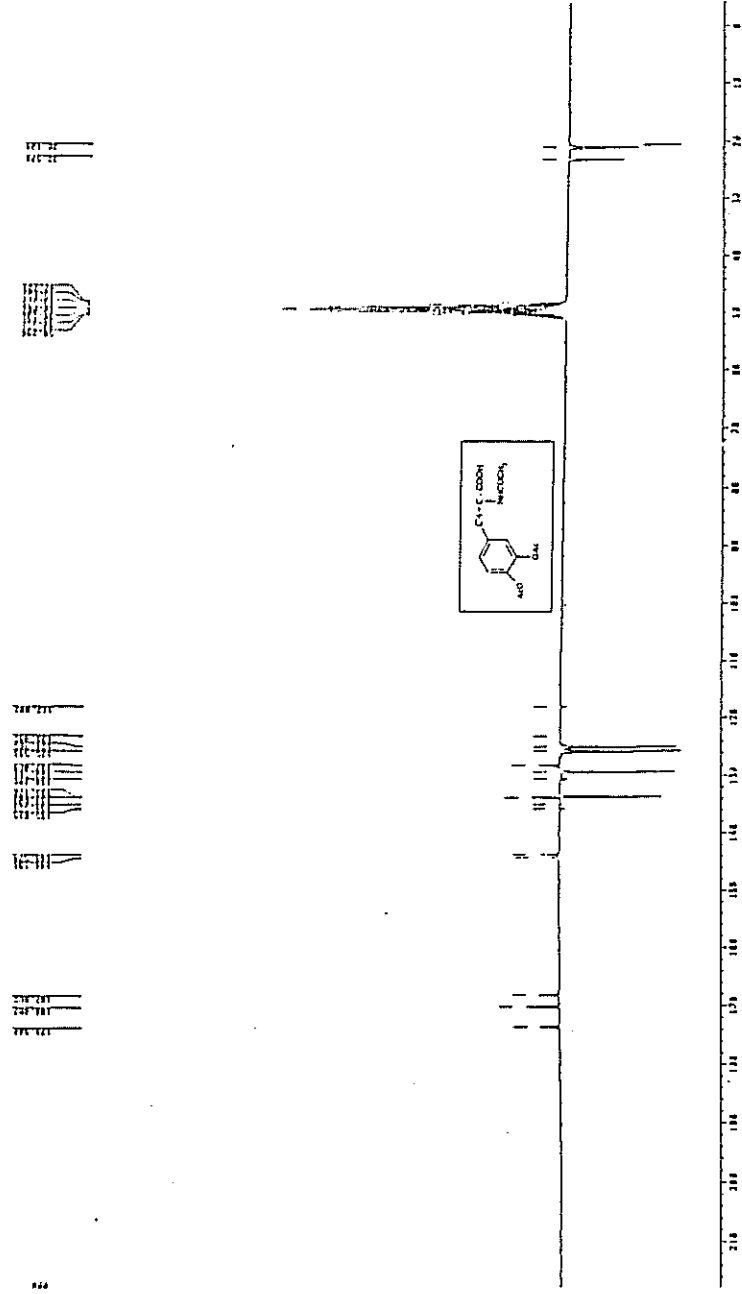
Şekil 5.10. (39) Bileşiğinin FT-IR Spekturumu



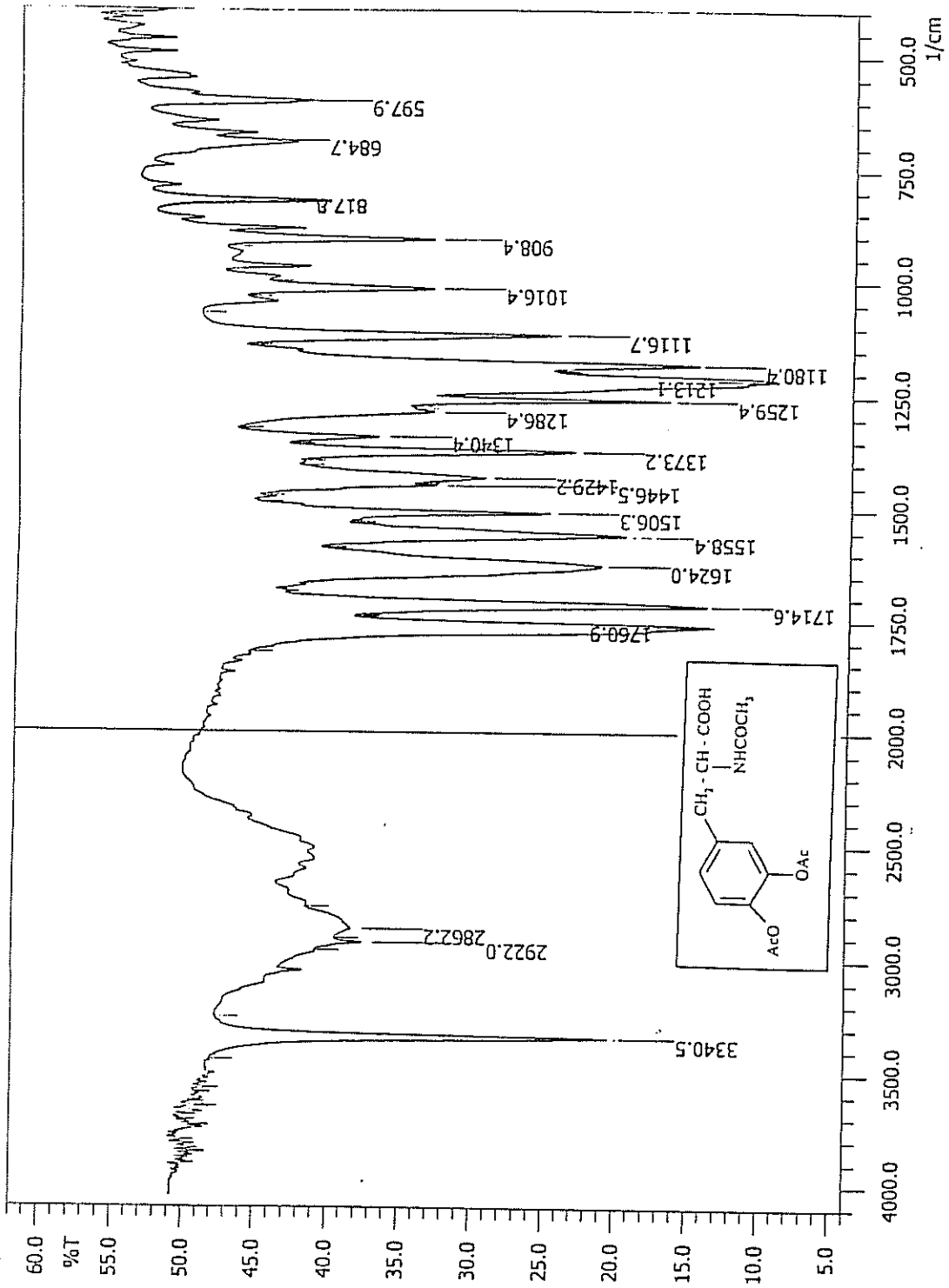
Şekil 5.11.1 (41) Bileşiğinin FT-IR Spekturumu



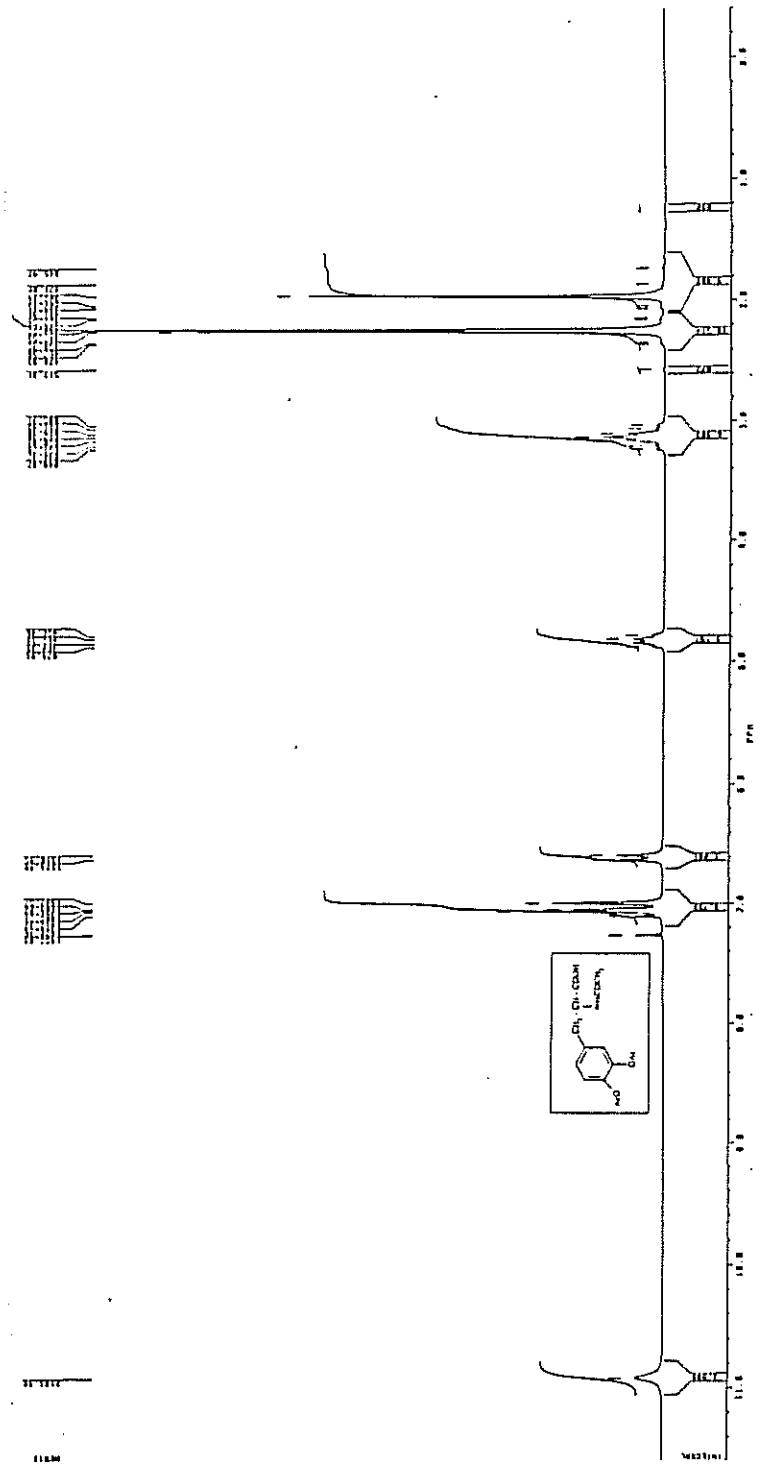
Şekil 5.11.2. (41) Bileşiğinin $^1\text{H-NMR}$ Spekturumu



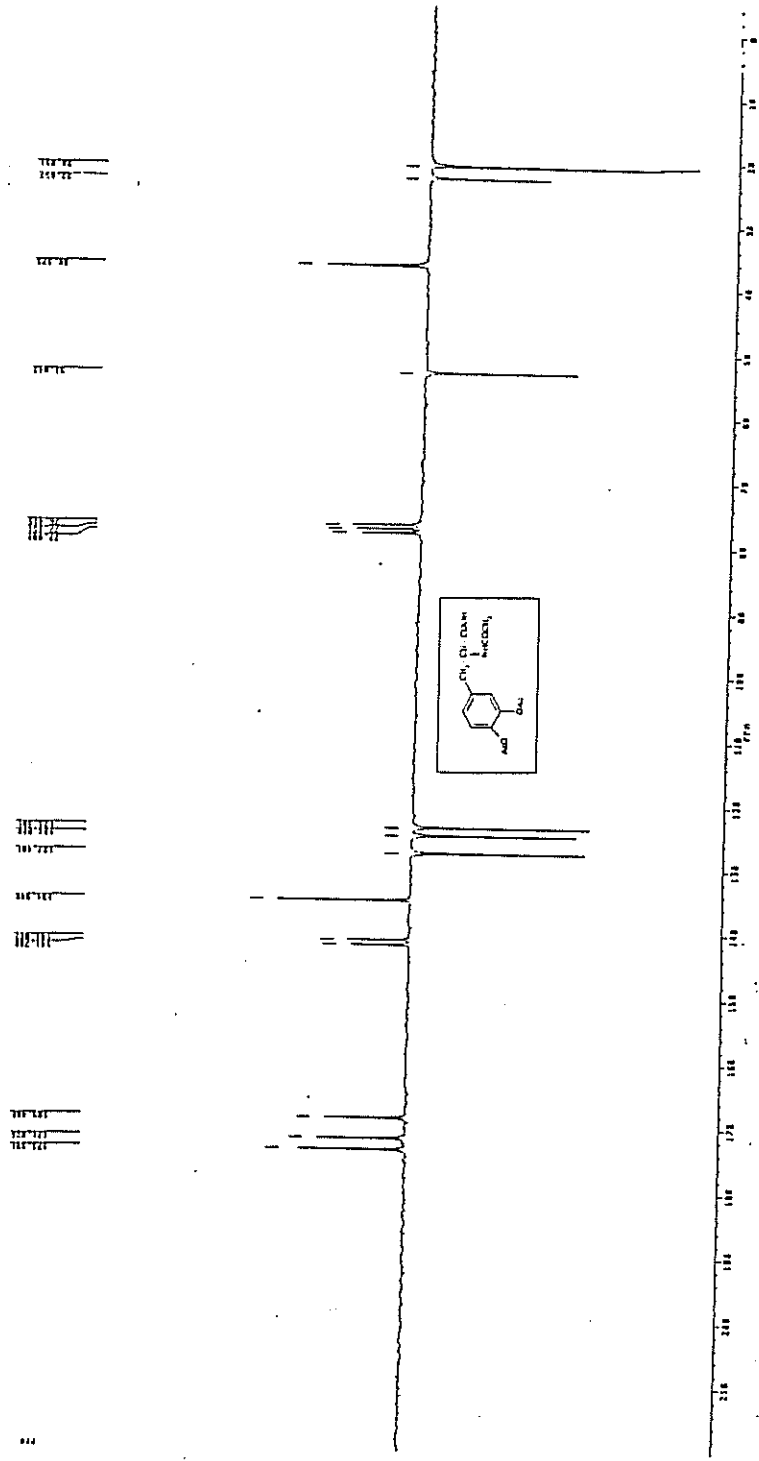
Şekil 5.11.3. (41) Bileşiğinin ^{13}C -NMR Spekturumu



Şekil 5.11.4. (43) Bileşiğinin FT-IR Spekturumu



Şekil 5.11.5. (43) Bileşiğinin ¹H-NMR Spekturumu



Şekil 5.11.6. (43) Bileşiğinin ¹³C-NMR Spekturumu

BÖLÜM 6.

KAYNAKLAR

1. Kaiser, A. ; Wölcke, U. ; *Helv. Chim. Acta*, Vol, 56, Fasc. 8, 1973.
- 1a. Chen, C. ; Zhu, Y. F. ; Wilcoxon, K.; *J. Org. Chem.* 65, 2574-2576, 2000
2. Pinder, R. M.; *The Pharmacotherapy of Parkinsonism*, 1971.
3. Berkow, R.; *The Merck Manual of Diagnosis and Therapy*, 1982.
4. L.G. Wade, Jr. *Organic Chemistry* , 1987.
5. R. Noyori, *Asymmetric Catalysis in Organic Synthesis*, J.Wiley and Sons. Inc. New York, 1994.
6. Ojima, I., Clos, N., Bastos, C.; *Tetrahedron* Vol 45, No. 22, pp 6901-6939, 1989.
7. Renth, E. O. ; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 14, 361,1975.
8. Para, G. ; Baratti, J. ; *Enzyme Microb. Technol.* 10 (12), 729-735 (Eng), 1988.
9. Denny, D. B. ; Ross, T. S. ; *J. Org. Chem.* Vol. 27, 998-1000, 1962.
10. Utak, M. ; Konishi, S. ; Takeda, A. ; *Tetrahedron Lett.* Vol. 27, pp- 4737-4740, 1986.
11. Utaka, M. ; Watabu, H. ; Takeda, A. ; *J. Org. Chem.* 52, 4363-4368, 1987.
12. Nakamura, K. ; Inoue, K. ; Ushio, K. ; Oka, S. ; Ohno, A. ; *J. Org. Chem.* 53, 2589-2593, 1988.
13. Nakamura, K. ; Konda, S. ; Kawai, Y. ; Ohno, A. ; *Tetrahedron. Lett.* vol. 32, No. 48, pp 7075-7078, 1991.
14. Utaka, M. ; Konishi, S. ; Mizuoka, A. ; Ohkuba, T. ; Sakai, T. ; Tusuboi, S. ; Takeda, A. ; *J. Org. Chem.* 54, 4989-4992, 1989.

15. Wada, M. ; Kato, J. ; *Eur. J. Appl. Microb. Biotech.* 10, 275-287, 1988.
16. *Organic Synthesis Collective Volume-2*, p-11
17. Tyagi, O. D. ; Boll P. M. ; Parmar, V. S. ; Singh, S. K. ; *Indian J. of Chem.* Vol.31B, pp. 851-854, 1992.
18. Csuk, R. ; Glanzer, B. I. ; *Chem. Rew.* 49-97, 1991.
19. Greaves, J. E.; *Elementary Bacteriology*, p 73-89, 1942.
20. Kawai, M. ; Tajima, K. ; Mizuna, S. ; Numi, K. ; Sugioka, H. ; Butsugan, Y. ; Kozawa, A. ; Asano, T. ; Imai, Y. ; *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 61, 3014-316, 1988.
21. Haag, T. ; arslan, T. ; Seebach, D. ; *Chima*, 43, 1989.
22. Utaka, M. ; Konishi, S. ; Okubo, T. ; Tsuboi, S. ; Takeda, A. ; *Tetrahedron Lett.* Vol. 28, No. 13, pp 1447-1450, 1987.
23. Utaka, M. ; Watabu, H. ; Takeda, A. ; *J. Org. Chem.* 52, 4363-4368, 1987.
24. Sato, T. ; Hanayama, K. ; Fujisawa, T. ; *Tetrahedron Lett.* Vol. 29, No. 18, pp 2197-2200, 1988.
25. Dao, H. ; Okamura, M. ; Akasaka, T. ; Kawai, Y. ; Hida, K. ; Ohno, A. ; *Tetrahedron Asymmetry* 9, 2725-2737, 1998.
26. Nakamura, K. , Higaki, M. ; Ushio, K. ; Oka, S. ; Ohno, A. ; *Tetrahedron Lett.* Vol. 26, No. 35, pp 4213-4216, 1985.
27. Gramatica, P. ; Manitto, P. ; Poli, L. ; *J.Org. Chem.* 50, 4625-4628, 1985.
28. Gramatica, P. ; Manitto, P. ; Monti, D. ; Speranza, G.; *Tetrahedron* Vol.44 , pp 1299-1304, 1988.
29. Gil, G. ; Ferje, E. ; Barre, M. ; Petit, J. ; *Tetrahedron Lett.* Vol. 29, No. 31, pp 3797-3798, 1988.
30. Kawai, Y. ; Saitou, K. ; Hida, K. ; Ohno, A. ; *Tetrahedron Asymmetry* Vol. 6, No. 9, pp 2143-2144, 1995.

31. Ferroboschi, P. ; Grisenti, P. ; Casati, R. ; Fiecchi, A. ; Santaniello, E. ; *J.Chem. Soc. Perkin Trans. I.* 1987.
32. Ohta, H. ; Kobayashi, N. ; Ozaki, K. ; *J. Org. Chem.* 54, 1802-1804, 1989.
33. Fuganti, C. ; Grasselli, P. ; Servi, S. ; *J. Chem. Soc. Perkin Trans I.* 1988.
34. Türker, M. , *İmmobilize Enzimler Ve Uygulamaları*, Marmara araştırma Merkezi, 1999.
35. Carruthers, W. ; *Some Modern Methods of Organic Sythesis*, Cambridge University Press. 1986.
36. Chan. T. H. ; Mareland, M. ; *Tetrahedron Lett.* No.6, pp 515-518, 1978.
37. Tsuboi, S. ; Uno, T. ; Takeda, A. ; *Chemistry Lett.* p- 1325-1328, 1978.
38. Schollosser, M. ; *Top. Stereochem.* 5, 1, 1970.
39. Maryanoff, B. E. ; Reitz, B.A. ; *Chem. Rev.* 89, 863-927, 1989.
40. Bergelson, L. D. ; Barsukov, I. ; Shemyakin, M. ; *Tetrahedron*, Vol. 23, pp 2709-2720, 1967.
41. Carey, F.A. ; Sundberg, R. J. ; *Advanced Organic Chemistry Part B*; Plenum Press, New York, 1977.
42. Eliel, E.L. ; Wilen, S. H. ; *Topic in Stereochemistry*, vol. 21, pp 2-20
43. Boutagy, J. ; Thomas, R. ; *Chemical. Rev.* vol. 74, No: 1 , 1974.
44. Wadsworth, W. S. ; Emmons, W. D. ; *J. Am. Chem. Soc.* Vol. 83, pp 1733-1738, 1961.
45. Wadsworth, D. H. ; Schupp, O. E. ; Seus, J. , Ford, A. ; *J.Am.Chem. Soc.* ; 30, 1965.
46. Corey, E. J. , Shulman, J. I. ; *J. Org. Chem.* Vol. 85, No. 8, 1970.
47. Jones, M. E. ; Trippett, S. , *J.Am.Chem. Soc. (C)*, 1966.
48. Vogel, A. I. ; *A Textbook of Practical Organic Including Oualitative Organic Analysis*, p 529, 4. Ed. Longmans London, 1981.

49. Vogel, A. I. ; *A Textbook of Practical Organic Including Qualitative Organic Analysis*, p 500, 4. Ed. Longmans London, 1981.
50. Vogel, A. I. ; *A Textbook of Practical Organic Including Qualitative Organic Analysis*, p 285, 4. Ed. Longmans London, 1981.

BİBLİYOGRAFİK BİLGİ FORMU		
1. Proje No: TBAG-1332	2. Rapor Tarihi: Haziran-2000	
3. Projenin Başlangıç Ve Bitiş Tarihleri: 01.11.1994-30.04.1997		
4. Projenin Adı: Ekmek Mayası (<i>Saccharomyces Cerevisiae</i>) Yardımı İle L-3,4-Dihidroksifenil Alanin (L-DOPA) İçin Yeni Bir Sentez Yöntemi		
5. Proje Yürütücüsü Ve Yardımcı Araştırmacılar: Prof. Dr. Kemal YELEKÇİ Arş. Gör. Sevim KARATAŞ Arş. Gör. M. Vezir KAHRAMAN Prof. Dr. Haluk HAMAMCI		
6. Projenin Yürütüldüğü Kuruluş Ve Adresi: Marmara Üniversitesi Fen-Edebiyat Fak. Kimya Bölümü		
7. Destekleyen Kuruluş(ların) Adı Ve Adresi		
8. ÖZ (Abstract): Ekmek mayası (<i>saccharomyces cerevisiae</i>) kolay ve ucuz bulunan bir reaktif olmasına karşın, organik kimyada yaptığı tepkimeler hem ilginç hem de diğer sentez yöntemleri ile yapılması ya imkansız ya da çok zordur. Bu amaçla klasik organik sentez yöntemleri ve maya kullanılarak daha önce sentezi bu yolla denenmeyen, anti parkinson ilacı L-3,4-Dihidroksifenilalanin'in sentezine yönelik ikisi orjinal dört önemli substrat hazırlanacak ve bu substratlar üzerinde bulunan karbon karbon çift bağı ekmek mayası ile stereospesifik olarak indirgenmeye çalışılacaktır. Anahtar Kelimeler: <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , L-DOPA, stereospesifik indirgeme		
9. Proje İle İlgili Yayın Ve Tebliğler XII. Ulusal Kimya Kongresi-EDİRNE (Tebliğ)		
10. Bilim Dalı: 4050200	Doç. B. Dalı Kodu: 4050201	Uzmanlık Alanı Kodu: ISIC Kodu
11. Dağıtım:	Sınırlı	Sınırsız X
12. Raporun Gizlilik Durumu:	Gizli	Gizli Değil X

BİBLİYOGRAFİK BİLGİ FORMU		
1. Proje No: TBAG-1332	2. Rapor Tarihi: Haziran-2000	
3. Projenin Başlangıç Ve Bitiş Tarihleri: 01.11.1994-30.04.1997		
4. Projenin Adı: A New Synthesis Method For L-3,4-Dihydroxy Phenyl Alanine By Baker's Yeast		
5. Proje Yürütücüsü Ve Yardımcı Araştırmacılar: Prof.Dr. Kemal YELEKÇİ Arş. Gör. Sevim KARATAŞ Arş. Gör. M. Vezir KAHRAMAN Prof. Dr. Haluk HAMAMCI		
6. Projenin Yürütüldüğü Kuruluş Ve Adresi: Marmara Üniversitesi Fen-Edebiyat Fak. Kimya Bölümü		
7. Destekleyen Kuruluş(ların) Adı Ve Adresi		
8. ÖZ (Abstract): Baker's yeast is a readily available and a cheap reagent which accomplishes astonishing reactions. In some cases, carrying out these reactions are either very difficult or impossible with classical synthesis. In this study four substrates, whose synthesis have not been tried before with this method, were prepared with classical synthesis to be used in the synthesis of an antiparkinson drug, L-3,4-Dihydroxy Phenyl Alanine. Stereospecific reduction of carbon-carbon double bond which is present in these substrates was tried by baker's yeast for the first time in this work. Anahtar Kelimeler: <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , L-DOPA, stereospecific reduction		
9. Proje İle İlgili Yayın Ve Tebliğler XII. Ulusal Kimya Kongresi-EDİRNE (Tebliğ)		
10. Bilim Dalı: 4050200		
Doç. B. Dalı Kodu:4050201	Uzmanlık Alanı Kodu:	ISIC Kodu
11. Dağıtım:	Sınırlı	Sınırsız X
12. Raporun Gizlilik Durumu:	Gizli	Gizli Değil X