



**YENİ BİR KOMPOZİT TASARIM TABANLI
OPTİMİZASYON STRATEJİSİ KULLANARAK
ENANTIYOSAF (S)-(4-KLOROFENİL)
(FENİL)METANOL'ÜN BİYOKATALİTİK SENTEZİ**

Nesrullah TOZLU

Yüksek Lisans Tezi

Kimya

Ana Bilim Dalı

Prof. Dr. Engin ŞAHİN

2024

(Her Hakkı Saklıdır)

T.C.
BAYBURT ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANA BİLİM DALI
KİMYA TEZLİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

YENİ BİR KOMPOZİT TASARIM TABANLI OPTİMİZASYON STRATEJİSİ
KULLANARAK ENANTIYOSAF (S)-(4-KLOROFENİL)
(FENİL)METANOL'ÜN BİYOKATALİTİK SENTEZİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Nesrullah TOZLU

Danışman: Prof. Dr. Engin ŞAHİN

BAYBURT- 2024

KABUL VE ONAY

Prof. Dr. Engin Şahin danışmanlığında, Nesrullah TOZLU tarafından hazırlanan “Yeni Bir Kompozit Tasarım Tabanlı Optimizasyon Stratejisi Kullanılarak Enantiyosaf (S)-(4-Klorofenil) (Fenil) Metanol'ün Biyokatalitik Sentezi” başlıklı bu çalışma, 19.07.2024 tarihinde yapılan savunma sınavı sonucunda oy birliği ile başarılı bulunarak jürimiz tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Engin ŞAHİN

Üye : Doç. Dr. Zehra CAN

Üye : Doç. Dr. Erbay KALAY

Bu tezin kabulü Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Yönetim Kurulu’nun/...../20... tarih ve 20...../.....-..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Doç. Dr. Murat KUL
Enstitü Müdürü

BEYANNAME

Bayburt Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü tez yazım kılavuzuna göre Prof. Dr. Engin ŞAHİN danışmanlığında hazırlamış olduğum “Yeni Bir Kompozit Tasarım Tabanlı Optimizasyon Stratejisi Kullanılarak Enantiyosaf (S)-(4-Klorofenil) (Fenil) Metanol'ün Biyokatalitik Sentezi” başlıklı program seçin tezimin bilimsel etik değerlere ve kurallara uygun, özgün bir çalışma olduğunu, aksinin tespit edilmesi halinde her türlü yasal yaptırımını kabul edeceğimi beyan ederim.

19.07.2024

Nesrullah TOZLU



ÖN SÖZ

Tezli yüksek lisans çalışmam süresince destekleri, katkıları ve yardımları için danışman hocam Sayın Prof. Dr. Engin ŞAHİN'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Teorik ve uygulamalı çalışmalarında katkılarından dolayı Prof. Dr. Ali Savaş BÜLBÜL, Prof. Dr. Enes DERTLİ ve Doç. Dr. Akın ÖZDEMİR hocalarıma teşekkürlerimi sunarım.

Her türlü desteklerini sunan aileme sonsuz şükranlarımı sunarım.

Nesrullah TOZLU



ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

YENİ BİR KOMPOZİT TASARIM TABANLI OPTİMİZASYON STRATEJİSİ KULLANARAK ENANTİYOSAF (S)-(4-KLOROFENİL) (FENİL)METANOL'ÜN BİYOKATALİTİK SENTEZİ

Nesrullah TOZLU

Bayburt Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Kimya Ana Bilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Engin ŞAHİN

Bayburt-2024, Sayfa: 51

Sentetik organik kimyada, kiral sekonder alkollerin üretimi için biyokatalitik asimetrik indirgemeler önemli bir yere sahiptir. L- kloprastin ve karbinoksaminin gibi ilaçların öncüsü olan (S)-(4- klorofenil) (fenil)metanol ((S)-2)'nin sentezi, yetersiz substrat miktarı ve üretim sürecinde yaşanan çeşitli zorluklar nedeniyle hala önemli eksiklikler içermektedir. Bu tez kapsamında, *Lactobacillus paracasei* BD101 biyokatalizörü ve yeni bir kompozit tasarım tabanlı optimizasyon tekniği kullanılarak (4-klorofenil) (fenil) metanon (1)'den (S)-2'nin sentezlenmesi hedeflenmiştir. Reaksiyonun optimizasyon koşulları, yeni tasarıma dayalı optimizasyon stratejisi ile şu şekilde belirlendi: pH=5.85, sıcaklık=37 °C, inkübasyon süresi=71 saat ve çalkalama hızı=120 rpm. Ayrıca, reaksiyon dönüşümü %97 ve enantiyomerik fazlalığın (ee) %99 olacağı tahmin edilmiştir. Önerilen optimize edilmiş koşullar altında gerçekleştirilen deneysel çalışmada (S)-2 >%99 ee, >%99 dönüşüm ve %97 verimle elde edildi. Ayrıca, 15.166 g 1, yüksek gram ölçeğinde tamamen (S)-2'ye (14.85 g, %97 saflaştırılmış verim) dönüştürüldü. (S)-2'nin bir biyokatalizör kullanılarak ve tepkime koşullarının kompozit tasarım tabanlı optimizasyon tekniği kullanılarak optimize edilmesi ile gram ölçeğinde üretimi ilk kez bu çalışmada gösterilmiştir. Antitussif (öksürük önleyici) ve antiemetik (kusma önleyici) özelliklere sahip olan ve bronşiyal kasları gevşeten L- kloprastin ve karbinoksamin öncüsü olan (S)-2'nin biyokatalitik sentezi için etkili bir biyokatalitik süreç, kompozit tasarıma dayalı optimizasyon yöntemiyle gösterilmiştir. Ayrıca, biyokatalitik reaksiyonlarda kullanılabilmesi için yeni bir kompozit tasarım tabanlı optimizasyon yönteminin uygulanabilirliği kanıtlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Kompozit tasarım tabanlı optimizasyon, ilaç öncüsü, asimetrik biyoredüksiyon, biyokatalizörler, (S)-(4- klorofenil) (fenil) metanol.

ABSTRACT

M. SC. THESIS

LACTOBACILLUS OF (S)-(4-CHLORO PHENYL) (PHENYL) METHANOL PARACASEI BD101 BIOCATALIZER AND ITS SYNTHESIS USING COMPOSITE DESIGN BASED OPTIMIZATION METHOD

Nesrullah TOZLU

Bayburt University

Institute of Graduate Studies

Department of Chemistry

Thesis Advisor: Prof. Dr. Engin ŞAHİN

Bayburt-2024, Pages: 51

In synthetic organic chemistry, biocatalytic asymmetric reductions have an important place for the production of chiral secondary alcohols. The synthesis of (S)-(4-chlorophenyl) (phenyl)methanol ((S)-2), which is the precursor of drugs such as L-cloprastine and carbinoxamine, still has significant deficiencies due to the insufficient amount of substrate and various difficulties experienced in the production process. In this thesis, it is aimed to synthesize (S)-2 from (4-chlorophenyl) (phenyl) methanone (1) using *Lactobacillus paracasei* BD101 biocatalyst and a new composite design-based optimization technique. The optimization conditions of the reaction were determined by the new design-based optimization strategy as follows: pH = 5.85, temperature = 37 °C, incubation time = 71 hours and shaking speed = 120 rpm. Additionally, the reaction conversion was estimated to be 97% and the enantiomeric excess (ee) to be 99%. In the experimental study carried out under specified optimized conditions, (S)-2 was obtained with >99% ee, >99% conversion and 97% yield. Additionally, 15.166 g of 1 was completely converted to (S)-2 (14.85 g, 97% purified yield) on a high gram scale. (S)-2 on a gram scale by using a biocatalyst and optimizing the reaction conditions using a composite design-based optimization technique. Its production is shown for the first time in this study. An effective biocatalytic process for the biocatalytic synthesis of (S)-2, a precursor of L- cloprastin and carbinoxamine, which has antitussive (anti-cough) and anti-emetic (anti-vomiting) properties and relaxes bronchial muscles, has been demonstrated by a composite design-based optimization method. In addition, the feasibility of a new composite design-based optimization method for applicability in biocatalytic reactions has been demonstrated.

Keywords: Composite design-based optimization, drug precursor, asymmetric bioreduction, biocatalysts, (S)-(4-chlorophenyl) (phenyl) methanol.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY.....	II
BEYANNAME.....	III
ÖN SÖZ.....	IV
ÖZET.....	V
ABSTRACT.....	VI
İÇİNDEKİLER.....	VII
TABLOLAR.....	IX
ŞEKİLLER.....	X
KISALTMALAR.....	XI
SİMGELER.....	XI
GİRİŞ.....	1
Araştırmanın Konusu ve Problemi	1
Araştırmanın Amacı	1
Araştırmanın Önemi ve Gerekçesi	2
BİRİNCİ BÖLÜM.....	4
1. KURAMSAL ÇERÇEVE	4
1.1. ASİMETRİK SENTEZ	4
1.2. OPTİKÇE AKTİFLİK.....	5
1.3. ENANTİYOMERLERİN ÖZELLİKLERİ	5
1.4. OPTİKÇE AKTİFLİK VE SİMETRİ DÜZLEMİ.....	6
1.5. RASEMİK KARIŞIM VE GENEL ÖZELLİKLERİ	7
1.6. ASİMETRİK SENTEZ VE ÖNEMİ	7
1.7. SAF ENANTİYOMERLERİN SENTEZ YÖNTEMLERİ.....	9
1.8. SEREOSEÇİMLİ SENTEZ.....	10
1.9. RASEMATLARIN REZOLÜSYON METOTLARI	10
1.10. TERCİHLİ KRİSTALİZASYON.....	10
1.11. DİASTEREOMER KRİSTALİZASYON	11
1.12. KROMOTOGRAFIK AYIRMA.....	11
1.13. KİNETİK REZOLÜSYON METOTLARI	11
1.14. ENANTİYOMERİK SAFLIK.....	12
1.15. KİRAL SEKONDER ALKOLLERİN ÖNEMİ	12
1.16. ALAN YAZIN DERLEMESİ	14
İKİNCİ BÖLÜM	28
2. YÖNTEM.....	28
2.1. MALZEMELER VE YÖNTEM	28
2.2. BİYOKATALİZÖR	28
2.3. DENEYSEL UYGULAMA	28
2.4. KOMPOZİT TASARIM TABANLI OPTİMİZASYON	29
ÜÇÜNCÜ BÖLÜM.....	33
3.BULGULAR	33
SONUÇ, TARTIŞMA VE ÖNERİLER.....	40
Sonuç	40

Tartışma	40
Öneriler	41
KAYNAKÇA.....	43
EKLER	48
EK 1: (S)-2 Bileşiğinin ¹ H ve ¹³ C-NMR Spektrumu.....	48
EK 2: Bileşik 1, Bileşik (S)-2 ve Rasemik (S)-2'nin HPLC Kromatogramı.....	49
ÖZ GEÇMİŞ	51



TABLÖLAR

Tablo 1: Bazı Sekonder Kiral Alkoller ve Kullanım Alanları	13
Tablo 2: Biyokatalizörler ile Kimyasal Katalizörlerin Karşılaştırılması	15
Tablo 3: Phaseolus Aureus L Biyokatalizörü ile Farklı Prokiral Ketonların Seçimli indirgenmesi	17
Tablo 4: 2-Bromo4-Floro Asetofenon'un Biyokatalitik İndirgenmesi	19
Tablo 5: Asetofenon'un Farklı Mantar Türleri ile İndirgenmesi	20
Tablo 6: Ketonların Farklı Asetik Asit Bakterisi ile İndirgenme Değerleri	21
Tablo 7: Asetofenon'un Farklı Bitki Köklerinden Elde Edilen Biyokatalizörler ile İndirgenmesi	22
Tablo 8: Tasarım Faktörleri ve Kodlanmış/Kodlanmamış Düzeyler	30
Tablo 9: Kompozit Tasarım Tabanlı Optimizasyon ile Farklı Koşullarda Hesaplanan ee(%) ve Dönüştürme(%) için Toplanan Veriler	30
Tablo 10: Ee Yanıt Değişkeni için Model Uyum İstatistikleri ve ANOVA Sonuçları	34
Tablo 11: Ee Yanıt için Kodlanmış Faktörler Açısından Regresyon Katsayıları.....	35
Tablo 12: Dönüşüm Yanıtı Değişkeni için Model Uyum İstatistikleri ve ANOVA Sonuçları	36
Tablo 13: Dönüşüm Yanıtı için Kodlanmış Faktörler Açısından Regresyon Katsayıları	37

ŞEKİLLER

Şekil 1: Substrat 1'in Yeni Bir Optimizasyon Yöntemi Kullanılarak Asimetrik İndirgenmesi.	2
Şekil 2: Bazı Biarilkarbinol İçeren İlaçlar	4
Şekil 3: Kiral Karbonun Ayna Görüntüsü.....	5
Şekil 4: R-S Adlandırma Örneği	6
Şekil 5: Asimetrik Sentez Türleri.....	8
Şekil 6: (S)-Talidomidin Neden Olduğu Bedensel Farklılıklar	8
Şekil 7: Tolidomit'in R ve S Enantiyomerleri.....	9
Şekil 8: Ketamin'in R ve S Enantiyomerleri	9
Şekil 9: Resematların Rezolüsyon Metotları.....	10
Şekil 10: R ve S Penisilamin.....	13
Şekil 11: Metildopa'nın S enantiyomeri.....	13
Şekil 12: Bazı Biarilkarbinol Grubu İçeren İlaçlar	15
Şekil 13: (R)-2-Bromo-1-4-4- Nitrofenil Etanon'un Asimetrik Sentezi	17
Şekil 14: Phaseolus Aureus L Biyokatalizörü ile Sekonder Alkol Eldesi	17
Şekil 15: 2-Bromo-4-Floro Asetofenon'un Asimetrik İndirgenmesi	19
Şekil 16: 1- [3,5-Bis (Triflorometil)Fenil] Etanonun Kimyasal ve Biyokatalizör ile İdirgenmesi	22
Şekil 17: Alternaria Alterna EBK-4 Biyokatalizörü ile Asetofenon'un Asimetrik İndirgenmesi	23
Şekil 18: Asetofenon'un RSM Optimizasyonu ile Biyokatalitik İndirgenmesi	24
Şekil 19: Havuç Biyokatalizörü ile Asetofenon'un İndirgenmesi	24
Şekil 20: Lactobacillus Paracasei BD101 Bakterisi ile (S)-(4-Kloro fenil) (fenil) Metanon'un Asimetrik İndirgenmesi	28
Şekil 21: Çalkalama Hızı, Sıcaklık, PH ve İnkübasyon Süresinin Seçicilik ve Dönüşüm Üzerine Etkisi	38
Şekil 22: (S)-2'nin Gram Ölçeğinde Sentezi	39

KISALTMALAR

ANOVA	: Analysis of Variance
e e	: Enantiyomer Aşırılık
NADPH	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
RSM	: Response Surface Methodology
TLC	: İnce Katman Kromatografisi
HPLC	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
NMR	: Nükleer Manyetik Rezonans
MATLAB	: Matrix Laboratory
VIF	: Varyans Eflasyon Faktörü
RO	: Rastgele Ortalama
DF	: Serbestlik Derecesi

SİMGELER

mL	: Mili Litre
mM	: Mili Mol
µl	: Mikro Litre
M	: Molar
L	: Litre
MHz	: Mega Hertz

GİRİŞ

Araştırmanın Konusu ve Problemi

Kimya bilimi ve kimya biliminden ortaya çıkmış birçok alt disiplin insanoğlunun yaşamını kolaylaştıran birçok çalışmada rol almıştır. Kimya biliminin çalışma alanı ve insanlığa katkısı birçok çalışma alanında devam etmektedir. Bu çalışma alanlarından biride Farmasötik kimyadır. Birçok ilacın etken maddesinin ve ilacın üretiminde Kimya bilimi ve Farmasötik kimya doğrudan görev almaktadır.

İlaç ve ilaç öncüsü maddelerin üretiminde kullanılan sentez yöntemleri etkili, kaliteli ve ekonomik uygunluk bakımından önemlidir bu nedenle rekabetçi ucuz ve ekonomik sentez yöntemleri üzerinde çalışmalar dinamik bir şekilde devam etmektedir.

Yeni sentez yöntemleri ile ilgili yapılan çalışmalarda mevcut yöntemlerden farklı olarak daha çevreci yüksek verimli ve ekonomik olması gibi koşullar üzerinde durulmaktadır. Bu nedenle yeni çevreci ve yüksek verimliliğe sahip yöntemler üzerinde durulmaktadır.

Farmasötik kimyada da birçok ilaç öncüsü maddenin üretiminde yenilikçi yöntemler uygulanmaktadır. Özellikle kiral maddelerden ilaç öncüsü maddelerin üretiminde biyokatalizör kullanımı daha çevreci ve sentez koşullarının optimizasyonu yüksek verimli sentezlerin mümkün olmasını sağlamıştır.

Bu nedenle özellikle asimetrik moleküllerin sentezlenmesinde kullanılabilir biyokatalizörlerin keşfi ve sentez koşullarının optimizasyonun da kullanılan yöntemlerin sentezde önemli bir yer tuttuğu görülmektedir.

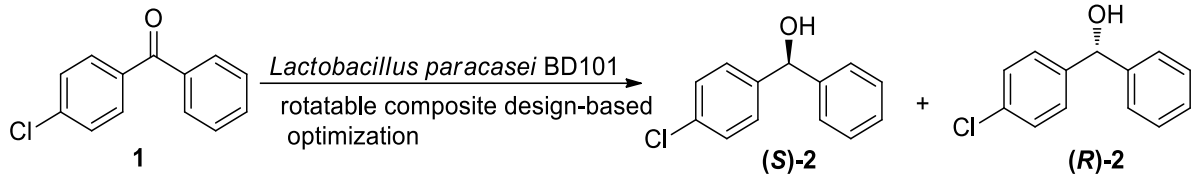
Araştırmanın Amacı

Kimya biliminde birçok madde farklı birçok amaç için sentezlenmektedir. Sentez tepkimelerinde yüksek verim ve saflık istenen en önemli durumdur. İlaç sanayisinde de birçok ilaç öncüsü madde sekonder kiral alkoller kullanılarak elde edilmektedir. Sekonder kiral alkoller enantiyomerik indirgenme tepkimeleri sonucunda elde edilirler. Sekonder kiral alkollerin çevre dostu olarak yüksek enantiyomerik saflıkta elde edilmesi oldukça önemlidir. Özellikle insan sağlığını doğrudan etkileyebilecek olan ilaç üretimi gibi bir konuda enantiyomerik saflık son derece önemlidir. Bu durumda sekonder kiral alkollerin sentezlenmesinde yeni proseslerin geliştirilmesi önemlidir.

Kiral alkollerin elde edilmesinde enantiyomerik indirgenme tepkimeleri önemli bir yer tutmaktadır ancak, L- kloprastin ve karbinoksaminin öncüleri olan (S)-(4- klorofenil) (fenil)

metanol ((S)-2)'nin biyokatalitik sentezi, yetersiz substrat kullanımı gibi olumsuzluklara sahiptir.

Bu çalışmada, bir ilaç öncüsü olan (S)-2'nin biyokatalizör eşliğinde yeni bir optimizasyon yöntemi kullanılarak sentezlenmesi amaçlanmaktadır (Şekil 1).



Şekil 1: Substrat 1'in Yeni Bir Optimizasyon Yöntemi Kullanılarak Asimetrik İndirgenmesi

Ayrıca bu tez çalışmada tepkimenin gerçekleştiği optimum şartlar klasik metotlar yerine yeni kompozit tasarıma dayalı bir optimizasyon stratejisi ile belirlenecektir.

Araştırmanın Önemi ve Gerekçesi

Optikçe aktif olan sekonder alkollerin önemli kullanım alanları bulunmaktadır. Bunlardan biri de ilaç öncüsü olarak kullanılmalarıdır. Optikçe aktif bileşikler Asimetrik sentez yöntemleri kullanılarak sentezlenmektedir. Bu sentezlerde enantiyomerlerin her ikisi de oluşabilmektedir enantiyomerlerin vücutta oluşturduğu fizyolojik etkiler farklı olmaktadır. Enantiyomerlerden biri istenen tedavi edici etkiyi gösterirken diğer izomer etkisiz olabilmekle beraber vücutta olumsuz durumların ortaya çıkabilmesine de neden olabilmektedir. Bu nedenle ilaç öncüsü olarak kullanılacak veya çıkış maddesi olarak kullanılacak optikçe aktif bileşiğin saflığı büyük önem arz etmektedir.

Öncü maddelerin endüstriyel olarak üretilibilmeleri yeterli substrat düzeyine ulaşılabilmesi açısından da önemlidir ayrıca endüstriyel üretim aşamalarında tepkimelerin gerçekleştirilme şartları göz önüne alındığında çevre açısından zararsız olması da beklenen ve istenen bir durumdur.

Biyokatalizörler ile katalize edilen asimetrik indirgenme tepkimeleri kiral alkollerin üretiminde kayda değer bir farklı yol olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu tez çalışmasında ilaç öncüsü olarak kullanılan (S)-(4-Klorofenil) (fenil) metanol'ün *Lactobacillus paracasei* biyokatalizörü eşliğinde (4-Klorofenil) (fenil) metanon'un indirgenmesi ile yüksek enanyiyomerik aşırılıkta (ee) ve yüksek verimde üretilmesi amaçlanmaktadır.

Ayrıca bu tepkimenin optimum koşullarının belirlenmesinde kompozit tasarım tabanlı yöntemin etkinliğinin belirlenmesi ve yeterli substrat düzeyine ulaşıp seri üretim için yeni bir sentez yönteminin ortaya konması amaçlanmaktadır.

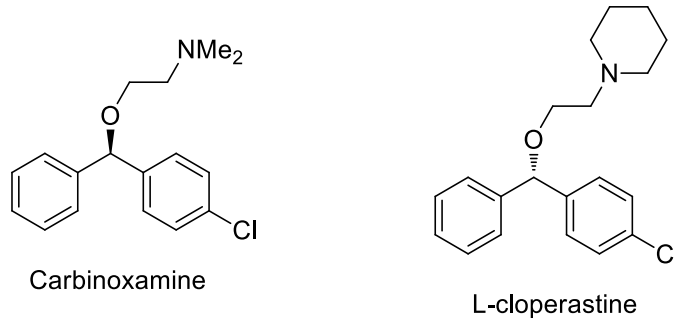


BİRİNCİ BÖLÜM

1. KURAMSAL ÇERÇEVE

1.1. ASİMETRİK SENTEZ

İlaçların birçoğunun öncü maddesi veya etken maddesi kiral bir yapıya sahiptir. Bu maddeler de biyolojik aktiviteye sahip olan ise genellikle enantiyomerlerden biridir. Bu nedenle Kimya veya farmasötik sanayilerinde enantiyosaf malzemelere olan ihtiyaç gün geçtikçe artmaktadır, bu durum özellikle optik olarak aktif alkoller olmak üzere kiral öncüller yaratmaya yönelik yoğun araştırmalara yönlendirmiştir (Mloz Solano vd., 2012; Habulin & Knez 2009). Ek olarak, bu alkoller, tıbbi kullanıma sahip moleküllerin üretiminde çok önemli ön maddeler ve yapı taşları olarak kullanılabilir. İlacın öncü maddelerinin enantiyomerlerinden biri amaçlanan etkiyi gösterirken, diğer enantiyomer olumsuz yan etkiler veya sıklıkla tehlikeli bazı farmakolojik özellikler gösterebilir. İki enantiyomerin kombinasyonu terapi için yararlı olabilir veya iki enantiyomerin her birinin farklı bir terapötik etkisi olabilir. L- kloperastin ve karbinoksamin molekülleri fizyolojik ve farmakolojik olarak önemlidir. Bu moleküller öksürük önleyici ve antiemetik özelliklere sahip olan bileşiklerdir (Schmidt vd., 2009; Magnus vd., 2007; Wujkowska vd., 2017). Bu bileşiklerin molekül formülleri Şekil 2’de gösterilmiştir.

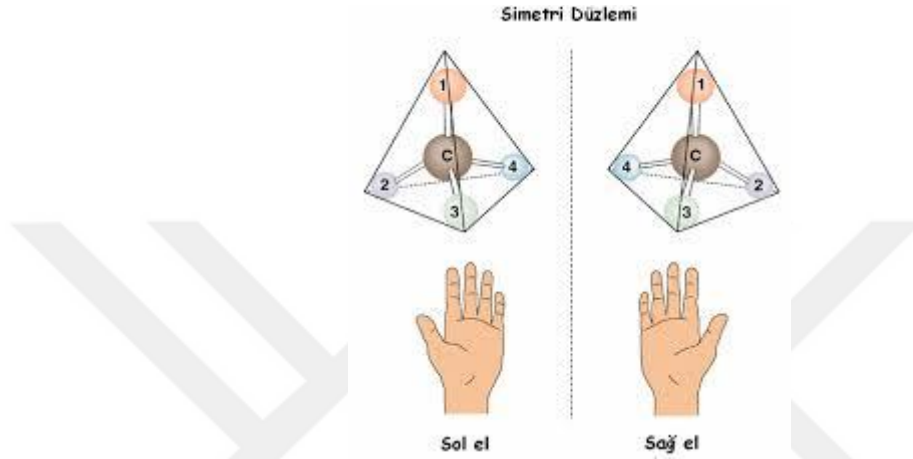


Şekil 2: Bazı Biarilkarbinol İçeren İlaçlar

Bu nedenle bu bileşiklerin asimetrik sentezleri büyük önem kazanmaktadır. Bir tür enantiyomere yönelik senteze asimetrik sentez adı verilmektedir. Asimetrik sentez reaksiyonları optikçe aktif kiral ara maddelerin kolaylıkla elde edilebilmesi için önemli reaksiyonlar olarak karşımıza çıkmaktadır (Nakamura & Kaoru 2003).

1.2. OPTİKÇE AKTİFLİK

Bir karbon atomuna dört farklı atom ya da atom grubu bağlı ise bu karbon atomuna kiral karbon atomu denilmektedir. Bu tür karbon atomuna sahip olan bileşikler kiral bileşikler veya optikçe aktif bileşikler olarak adlandırılmaktadır. Kiral bileşiklerin en önemli özelliklerinden biri üç boyutlu formülleri baz alındığında gerçek formülü ile ayna görüntüsünün çakışmamasıdır. Kiral olmayan bileşiklerde ise bu görüntüler üst üste çakışmaktadır (Tüzün, 1993).

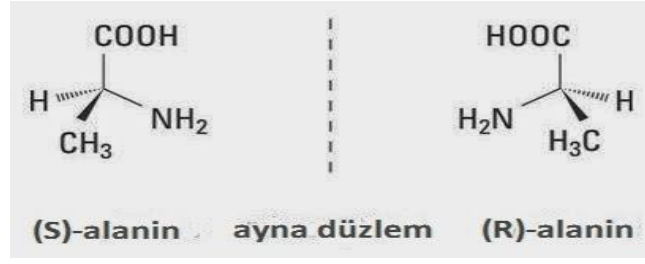


Şekil 3: Kiral Karbonun Ayna Görüntüsü

Optikçe aktif bileşiklerde kiral karbon optikçe aktif merkez olarak görev almaktadır. Optikçe aktif bir bileşiğin birbirinin ayna görüntüsüne enantiyomer adı verilmektedir. Bu enantiyomerler bir kısım özellikleri açısından farklı özellikler taşımaktadırlar. Örneğin enantiyomerlerden biri polarize edilmiş ışığı sola çevirirken diğeri ise sağa sapmasına neden olmaktadır (Bunnett, 1999).

1.3. ENANTIYOMERLERİN ÖZELLİKLERİ

Bir bileşiğin ayna görüntüsü ile kendisi ile üst üste geldiğinde tam olarak çakışmıyor ise bu bileşik çiftlerine birbirinin optik izomeri veya enantiyomeri adı verilmektedir. Birbirinin enantiyomeri olan bu bileşik çiftlerinin adlandırılmasında farklı adlandırma sistemleri kullanılmaktadır. Bu adlandırma sistemlerinden birisi R-S adlandırma sistemidir (Şekil 4). Enantiyomer çiftlerinden birinin çözeltisi polarize edilmiş ışığı sola çevirirken birisi sağa çevirir. Sağa çeviren enantiyomer rektus (R) olarak adlandırılırken, sola çeviren enantiyomer sinister (S) olarak adlandırılmaktadır. Enantiyomerlerden sağa çeviren (+), sola çeviren (-) enantiyomer olarak adlandırılmaktadır (Mislov, 2002).



Şekil 4: R-S Adlandırma Örneği

Enantiyomerlerin fiziksel ve kimyasal özellikleri aynıdır. Enantiyomer bileşik çiftlerinin fiziksel ve kimyasal özellikleri aynı olmakla birlikte polarize ışığa yapmış oldukları etkiler birbirinden farklılık göstermektedir. Bununla birlikte enantiyomer bileşiklerin biyolojik sistemlerde oluşturduğu etkiler farklı olabilmektedir. Örneğin; bir enantiyomer biyolojik aktiviteye sahip olurken diğer enantiyomer biyolojik aktiviteye sahip olmayabilir veya toksik etki oluşturabilir (Maier vd., 2001).

1.4. OPTİKÇE AKTİFLİK VE SİMETRİ DÜZLEMİ

Optikçe aktif maddeler moleküler yapıda veya kristal yapıda bulunabilirler. Optikçe aktif olan bu maddelerin optik izomer çiftlerinin kimyasal ve fiziksel özellikleri bakımından aynı olan bu moleküllerin polarize edilmiş ışığa, çözeltilerinin yaptıkları etkiler farklılık göstermektedir. Polarize edilmiş ışığı sağa çeviren izomerlere dekstrojir, sola çeviren izomerlere ise levojir adı verilmektedir. İsimlendirmede sağa çevirenlerin önüne (+), sola çevirenlerin önüne (-) işareti konularak ta bu farklılık gösterilebilmektedir. Optikçe aktif bileşiklerde izomerlerin polarize edilmiş ışığı kırma açıları polarimetre adı verilen bir alet ile ölçülmektedir. Polarimetreler bu sayede çözelti derişimlerinin hesaplanmasında, molekül büyüklüğünün belirlenmesinde ve dolaylı olarak gıda üretim proseslerinde gıda kalitesinin ölçülmesinde de kullanılmaktadır (Atkins & Carey, 1997).

Enantiyomerlerin her ikisini eşit oranda içeren bu tür çözeltilere rasemik karışım adı verilmektedir. Saf enantiyomer çözeltiler polarize ışığa etki ederken rasemik karışım olarak adlandırılan bu çözeltiler polarize edilmiş ışığa bir etki etmemektedirler.

Kiral bileşiklerde bileşik ile ayna görüntüsünü simetrik bir şekilde ayıran eksen simetri eksenini olarak adlandırılır. Optikçe aktif bileşiklerde kiral kısım optikçe aktif merkez olarak adlandırılmaktadır. Kiral merkez genellikle bu tür bileşiklere Karbon atomudur ancak bununla birlikte fosfor oksijen ve azot gibi farklı atomlarda kiral merkez olabilir.

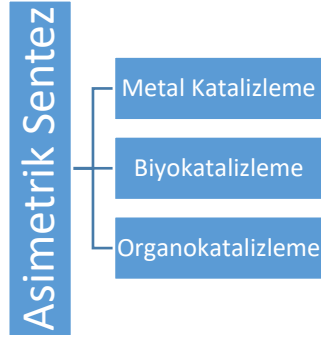
1.5. RASEMİK KARIŞIM VE GENEL ÖZELLİKLERİ

Optik izomerleri eşit miktarda içeren, optikçe aktif olmayan karışımlara rasemik karışım adı verilmektedir. Rasemik karışımlar polarize ışığı sağa veya sola çevirmeyen karışımlardır (Dreamsteam, 2007). Rasemik karışımların bazı fiziksel özellikleri saf enantiyomerlerden farklıdır.

İlaç endüstrisinde, gıda sanayisinin de biyokimya endüstrisinde optikçe aktif, saf enantiyomer maddeler genellikle kullanılmaktadırlar. (Böhringer vd., 1999). Bu nedenle optikçe aktif bileşiklerin karışımları önemlidir. Enantiyomerlerin kullanım amacına göre biyolojik aktiviteleri farklılık gösterebilir. Enantiyomerlerden biri beklenen etkiyi gösterirken diğeri etki göstermeye bilir veya istenmeyen sonuçların oluşmasına neden olabilmektedir. Bu durumda karışımda istenmeyen enantiyomerin oranının %0,1 altına düşmesi istenir (Böhringer vd., 1999). Pazarlanan ilaçların yaklaşık %50'si kiraldir ve bunların yaklaşık %50'si tekli enantiyomerler içeren bileşiklerdir (Hutt, 2002). Kiral olan bileşikler sentezlendiklerinde genellikle rasemik karışım olarak elde edilirler. Bu durumda rasematlardan enantiyomerlerin saf olarak elde edilmesi gerekmektedir. Rasemat olarak piyasaya sürülen bazı ilaçların olumsuz etkilerinin fark edilmesi ile birlikte enantiyomerlerin saflaştırılması önem kazanmıştır. Bu durumda birçok enantiyo seçici metot geliştirilmiştir (Sheldon, 1993).

1.6. ASİMETRİK SENTEZ VE ÖNEMİ

Organik kimya ve Biyokimya da enantiyomerik olarak saf olarak elde edilen maddeler tarım ilaçlarında ve farmasötik olarak büyük önem arz etmektedir (Kabasakal, 2013). Enantiyomerik olarak saf madde elde etmek için genel olarak iki metot vardır. Bunlardan ilki istenen enantiyomerin rasemat dan ayrılması yöntemidir. İstenen enantiyomerin rasemattan eldesi yöntemi oldukça sık kullanılan bir yöntem olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu yöntem kiral çözümüleme olarakta adlandırılmaktadır. Ancak bu yöntemde istenilen maddenin %50 'si elde edilebilmektedir (Porter, 1991). İkinci yöntem ise seçimli sentez ya da enantiyoseçici olarakta adlandırılabilen asimetric sentezdir. Pro-kiral bir bileşik kullanılarak enantiyomerin saf olarak elde edildiği sentez yöntemidir. Asimetric sentez ise kendi içerisinde metal katalizörler, biyokatalizöeler ve organokatalizörler olmak üzere üç gruba ayrılabilir.



Şekil 5: Asimetrik Sentez Türleri

Asimetrik sentez tepkimelerinde metal katalizleme de çinko bakır gibi bir metal katalizör olarak kullanılabilir biyokatalizleme de enzim veya protein gibi doğal biyolojik maddeler kullanılmaktadır. Organokatalizleme ise son yıllarda önem kazanmış diğer yöntemlere göre daha zor olan bir yöntemdir.

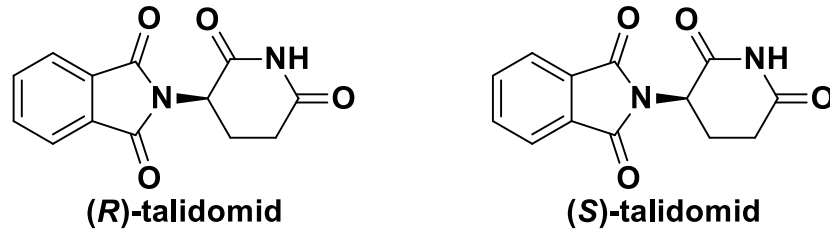
Asimetrik sentezin önemini ortaya koyan en önemli örnek Tolidomit isimli ilaçtır. Bu ilaç 1957 yılında piyasaya sürülmüş hamilelerde bulantı önleyici olarak kullanılmıştır. Rasemik olarak piyasaya sürülen bu ilacın 1960 yılından sonra ciddi yan etkileri ortaya çıkmaya başlamıştır. Tolidomit kullanan hamilelerin bebeklerinde doğum sonrasında ciddi fizyolojik farklılıklar gözlemlenmiştir.



Şekil 6: (S)-Talidomidin Neden Olduğu Bedensel Farklılıklar

Yapılan araştırmalarda *R*-Tolidomidin istenen etkiyi gösterdiği belirlenirken *S*-Tolidomidin istenmeyen fizyolojik farklılıklara neden olduğu belirlenmiştir.

Bu tarihi olay asimetrik sentezin önemini gösteren bir vaka olarak kayıtlara geçmiştir (Ananthanarayanan vd., 1993) (Şekil 7).



Şekil 7: Tolidomit'in R ve S Enantiyomerleri

Rasemik olarak piyasaya sürüldüğünde benzer olumsuzluklara neden olan bir başka ilaç ise Ketamin isimli ilaçtır. Anestezik madde olarak kullanılan bu ilaç rasemat olarak kullanıldıktan sonra halüsinasyon ve istenmeyen bazı zihinsel sorunlara neden olmuştur. Yapılan çalışmalarda Ketamin 'in S- izomerinin anestezik olduğu R-izomerin ise istenmeyen bazı yan etkilere neden olduğu ortaya çıkarılmıştır (Karadeniz, 2006).



Şekil 8: Ketamin'in R ve S Enantiyomerleri

1.7. SAF ENANTİYOMERLERİN SENTEZ YÖNTEMLERİ

Optikçe aktif bileşiklerin enantiyomerleri biyolojik sistemlerde farklı etkilere sahip olabilmektedirler. Bu nedenle enantiyomerlerin saf olarak elde edilmeleri oldukça önemlidir. Enantiyosaf maddelerin elde edilmesinde genel itibari ile üç farklı yöntemin kullanıldığı söylenilebilir. Birincisi rasemik karışımlardan çeşitli saflaştırma teknikleri kullanarak enantiyosaf maddenin eldesi iken ikincisi asimetrik sentez yöntemleri kullanılarak enantiyosaf maddenin elde edilmesi yöntemidir. Üçüncüsü ise stereoseçimli sentez yöntemidir. Enantiyosaf maddenin saflaştırılması yöntemlerine Rezolüsyon metotları adı da verilmektedir. Rezolüsyon rasemik bir karışımın enantiyomerlerine ayrılması işlemidir (Atkins, 1985).

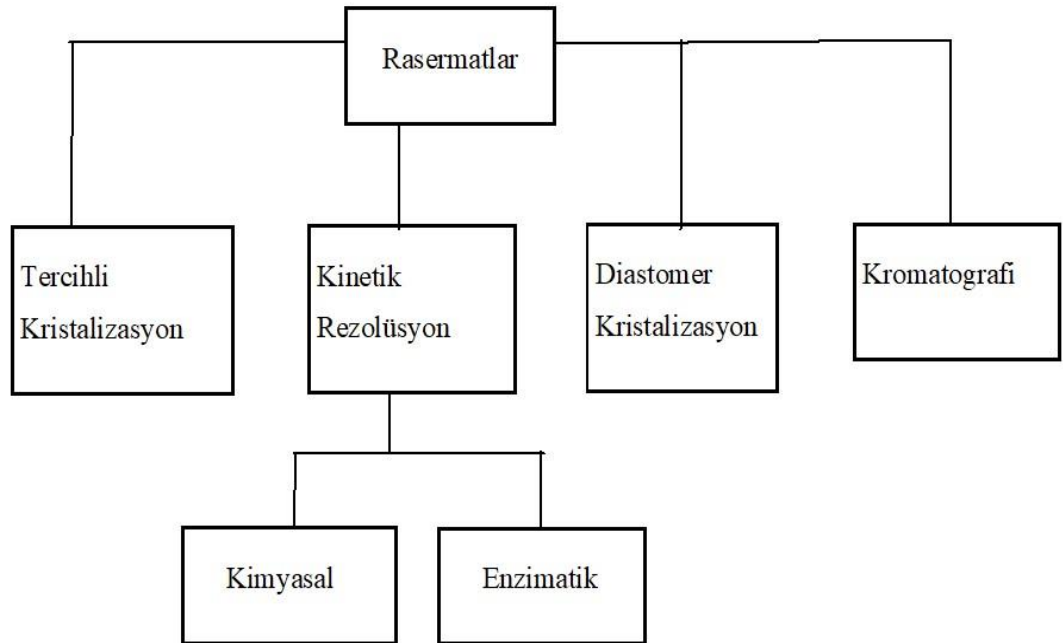
Rezolüsyonun uygulama da farklı kullanım alanları vardır bunlardan biriside ilaç sanayisidir birçok öncü ve etken kiral bileşiğin enantiyosaf olarak elde edilmesinde kullanılmaktadır. Asimetrik sentezle ilgili olumlu birçok gelişme olmasına karşın endüstriyel sentezlerde Rezolüsyon yöntemleri halen enantiyomerlerin saf olarak eldesinde oldukça önemli bir yer tutmaktadır (Karadeniz, 2007).

1.8. SEREOSEÇİMLİ SENTEZ

Bir molekülde iki konfigürasyondan birinden kiral merkezlerden birinin seçici olarak üretilmesi üzerine odaklanmasıdır. Prokiral bir merkez madde kullanılarak kiral olan bir merkez oluşturulur. Bu sentez tepkimelerinde kimyasal madde, biyolojik madde ve asimetrik çıkış maddeleri kullanılarak enantiyomerler yüksek saflıkta elde edilebilmektedirler.

1.9. RASEMATLARIN REZOLÜSYON METOTLARI

Rasemat halinde bulunan enantiyomerlerin ayrılması ve saflaştırılması yöntemidir. Rezüsyon işlemi için farklı ayırma yöntemleri ve saflaştırma teknikleri kullanılmaktadır (Şekil 9).



Şekil 9: Resematların Rezolüsyon Metotları

1.10. TERCİHLİ KRİSTALİZASYON

Her iki enantiyomeri barındıran karışımlara uygulanan bir ayırma yöntemidir. Her iki enantiyomeri eşit oranda içeren kristal mekanik karışımlara Konglomerat adı verilmektedir. Bu yöntem konglomerat karışımlara uygulanabilen bir yöntemdir. Bu yöntem endüstriyel ölçekte yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. Enfeksiyon önleyici bir ilaç olan Kloramfenikol ilacının üretimi bu yöntemin uygulama alanına örnek olarak verilebilir. Bu yöntemin en önemli olumsuz yönü rasematların ancak beşte birlik kısmının Konglomerat yapısında bulunması ve ancak bu beşte birlik kısma tercihli kristalizasyon işleminin uygulanabilmesidir.

1.11. DİASTEREOMER KRİSTALİZASYON

Diastereomer tuzlarının oluşturulması şeklinde gerçekleştirilen bir ayırma yöntemidir. Bu yöntemde bazik optikçe aktif olan enantiyomer ile rasemik karışım bir bileşiğin tuzu oluşturulur. Oluşan bu tuzlar diastereomer tuzlardır ve çözünürlük gibi fiziksel özellikleri birbirinden farklılıklar göstermektedir. Uygun bir çözücü ile kristallendirme işlemi yapılarak birbirinden ayrılabilirler. Ayrılan tuzlar bir mineral asit ile etkileşime sokularak serbest hale getirilirler. Diastereomer tuz oluşturmak üzere kullanılan asit ve bazlar optikçe saf bileşiklerdir ve birçok çeşitleri bulunmaktadır.

1.12. KROMOTOGRAFİK AYIRMA

Kolon kromatografisi kullanılarak gerçekleştirilen ayırma yöntemidir. Bu yöntemde glikoz, sakaroz gibi optikçe aktif olan şekerler kolonun içerisinde dolgu maddesi olarak kullanılmaktadırlar. Kolon içeresinden optikçe aktif bir bileşiğe ait rasemik çözelti karışımı geçirilir. Bunun sonucunda enantiyomerlerden biri diğerine göre daha iyi tutunur ve ayrılma işlemi gerçekleşmiş olur. Yeterli uzunluk ve özelliklere sahip bir kolon kullanıldığı takdirde istenen enantiyomer yüksek saflıkta elde edilebilmektedir. Rasemik karışımda bulunan diğer enantiyomer ise kolonda ki tutucu madde tarafından tutulmuş haldedir ve uygun bir çözücü kullanılarak kolonda ki tutucu maddeden ayrılabilir (Sheldon, 1993).

1.13. KİNETİK REZOLÜSYON METOTLARI

Kinetik rezolüsyon yönteminde rasemik karışımı oluşturan enantiyomerlerden bir tanesi uygun bir optikçe aktif yapıda bulunan kimyasal veya biyokimyasal yapıda katalizör kullanılarak enantiyoseçimli bir şekilde hızlı olarak farklı bir forma dönüştürülür. Bu dönüşüm sırasında enantiyomerlerden biri diğerine göre çok daha hızlı bir şekilde dönüşür. Kinetik rezolüsyon kimyasal kinetik ve enzimatik kinetik rezolüsyon olmak üzere iki farklı şekilde yapılabilmektedir. Bu yöntemin asimetric sentezden farkı kiral girdi ve substratın rasemik formda bulunmasıdır. Kiral girdi olarak biyokatalizör (enzim) veya kemokatalizör (kiral asit veya baz) kullanılabilir. Kinetik rezolüsyon tepkimelerinde yaygın olarak kullanılan kataliz lipaz enzimidir. Enzimler kiral yapıda olduğundan lipazlar rasemik karışımı ayırma yeteneğine sahiptirler. Bu nedenle bir enantiyomer diğerine göre daha kısa sürede ürüne dönüşmektedir (Ghanem & AboulEnein, 2004). Bu yöntem yaygın olarak kullanılmakla birlikte endüstriyel boyutta birçok dezavantajı bulunmaktadır (Faber & Strauss, 1999). Bu dezavantajlar;

- Teorik verim %50 yi geçmemektedir.

- Tepkime de dönüşüm %50' ye ulaştığında tepkimenin sonlandırılması gerekmektedir. Bu durum enantiyomerik zenginlik için gereklidir.
- Tepkime sonunda oluşan substratın üründen ayrılması zor olabilmektedir. Bunun için ek olarak saflaştırma için kromatografi gibi bazı ek tekniklerinde kullanılması gerekmektedir.

1.14. ENANTİYOMERİK SAFLIK

Enantiyomerik saflık enantiyomerlerden birinin oranını ifade etmektedir. Genellikle % olarak ifade edilir ve kısaca ee olarak gösterilmektedir. %100 ee oranına sahip bileşikler enantiyomerik olarak saf olarak kabul edilirler. Özel tepkime koşulları oluşturulmadığı takdirde laboratuvar da sentezlenen bileşikler genellikle rasemik karışım olarak elde edilirler. Doğada tek başına veya bir atom ya da atom grubuna bağlı olarak bulunabilen yapılar R-S izomerleri halinde bulunabilmektedir ve bu izomerlerin biyolojik aktiviteleri farklılık göstermektedir. Bu nedenle enantiyomerik saflık önem arz etmektedir. Bu durumun nedeni istenen etki ve aktiviteye sadece enantiyomerlerden bir tanesi sahip olmasıdır. Bu durum enantiyomerin farmakolojik açıdan tercih edilme nedenidir (Williams vd., 1998).

1.15. KİRAL SEKONDER ALKOLLERİN ÖNEMİ

Genel formülü R-OH şeklinde olan bileşikler alkol sınıfı bileşiklerdir. Hidroksil grubunun bağlı olduğu karbon atomunda ki H atom sayısına göre alkoller sınıflandırılabilir. Bu sınıflamaya göre Hidroksil grubunun bağlı olduğu karbon atomunda tek hidrojen atomu bulunduran alkoller sekonder alkol olarak adlandırılmaktadırlar. Kiral karbon atomu içeren alkoller optikçe aktiftir. Optikçe aktif olan sekonder alkol ilaç öncüsü ve ilaç etken maddesi olarak kullanılabilir.

Sürekli gelişen yenilenen ilaç sanayisinde ise yeni yöntemlerin ve yeni öncü ve etken maddelerin saf olarak üretilmesi önem arz etmektedir. İlaç üretiminde optikçe aktif bileşiklerin enantiyosaf olarak elde edilmesinin öneminin fark edilmesinden sonra asimetrik sentez önem kazanmıştır. Kiral sekonder alkollerinde birçok ilaç için etken madde ve ilaç öncüsü olarak kullanıldıkları bilinmektedir bu nedenle sekonder kirale alkol ilaç sanayisi bakımından son derece önemli kimyasallardır. Sekonder kirale alkol hali hazırda ilaç sanayisi başta olmak üzere birçok alanda kullanılmaktadır. Bu nedenden ötürü kirale sekonder alkollere ilgi ve talep artmaktadır (Wanda & Agnieszka, 2004).

Enantiyomer çiftlerinin farklı biyolojik aktiviteye sahip olduğunun anlaşılması üzerine genellikle rasemik karışım olarak piyasada bulunan ilaçlardan saf enantiyomer maddeleri içeren

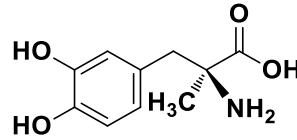
ilaçlara geçiş yapılmıştır. Bunun sonucunda kiral ilaçlar tek enantiyomer içerecek şekilde piyasaya sürülmeye başlanmıştır (Süleymanoğlu, 2011).

Kiral yapıda etken madde içeren bazı ilaçlar enantiyomerlerin farklı biyolojik aktiviteye sahip olmasından dolayı vücutta farklı etkilere neden olabilmektedirler. Örneğin penisilamin vücutta ağır metal zehirlenmelerinden dolayı oluşan semptomların giderilmesinde kullanılan bir amino asittir. Bu amino asitin *R* ve *S* enantiyomerleri vücutta etkilere neden olmaktadır. *S*-penisilamin ağır metalleri vücuttan uzaklaştırırken *R*- penisilamin körlüğe neden olabilmektedir (Şekil 10).



Şekil 10: R ve S Penisilamin

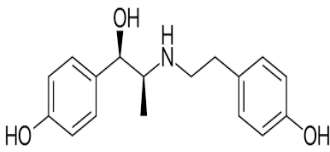
Enantiyomerlerrin farklı özelliklere sahip olduklarına başka bir örnek iltihap giderici olarak kullanılabilen ibuprofenin (*S*) izomeri etkin iken (*R*) izomeri ise etkisizdir. Bu ilacın sadece (*S*) izomerini içeren ilaç rasemat haline göre çok daha hızlı etki etmektedir. Hiper tansiyon durumunun tedavisinde kullanılan bir ilaç olan metildopa da ise sadece (*S*) izomeri tedavi edici özellik taşımaktadır (Karadeniz, 2006) (Şekil 11).

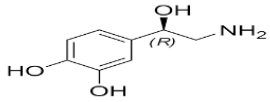
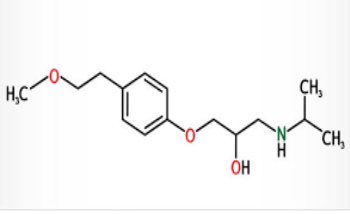
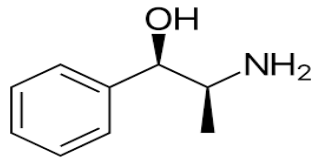


Şekil 11: Metildopa'nın S enantiyomeri

Sonuç olarak genelde optikçe aktif bileşikler, özelde ise kiral sekonder alkoller ilaç öncüsü olarak veya ilaç etken maddesi olarak kullanılabilmektedirler. Bu durum sekonder kiral alkoller önemli kılmalıdır.

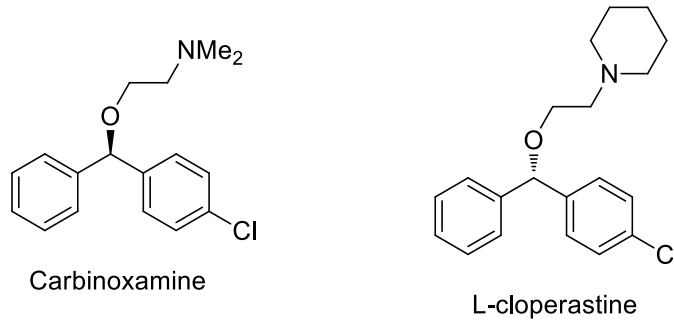
Tablo 1: Bazı Sekonder Kiral Alkoller ve Kullanım Alanları

Kiral Sekonder Alkol	Kullanım Amacı
 Ritodrin	Erken doğum önleyici ilaçlarda

 Norepinefrin	Kan basıncı düşürücü ilaçlarda
 Metoprolol	Kalp yetmezliği ilaçlarında
 Fenilporopanolamin	İştah kesici ilaçlarda

1.16. ALAN YAZIN DERLEMESİ

Kimya veya ilaç sanayisinde saf enantiyomer maddelere olan gereksinim her geçen gün artmaktadır. Bu gereksinim özellikle optikçe aktif olan sekonder kiral alkollere olan ihtiyacı artırdığından bu alkollerin üretilmesine yönelik sentez tepkimelerinin araştırılmasına yönlendirmiştir (Mloz Solano vd., 2012; Habulin & Knez, 2009). Ek olarak sekonder kiral alkoller tıbbi olarak kullanıma uygun ön maddeler ve yapı taşları olarak kullanılabilirler. Bu tür ilaçlarda enantiyomerlerden biri arzu edilen etkiyi gösterirken diğer enantiyomet etkisiz kalabilir veya istenmeyen olumsuz etkilerin ortaya çıkmasına sebep olabilmektedir. İlaç üretiminde iki enantiyomerin kombinasyonu tedavi için yararlı olabilir veya enantiyomerlerden her birinin farklı bir terapötik etkiye sahip olabilir. Günlük karbinoller, L- kloperastin ve karbinoksamin dahil olmak üzere fizyolojik ve farmakolojik olarak önemli birçok bileşik için yapı taşları olarak hizmet eder. Ayrıca, öksürük önleyici ve antiemetik özelliklere sahiptirler ve Şekil 12'de gösterildiği gibi bronşiyal kasları gevşettikleri rapor edilmiştir (Schmidt vd., 2009; Magnus vd., 2007; Wujkowska vd., 2017).



Şekil 12: Bazı Biarilkarbinol Grubu İçeren İlaçlar

Son yıllarda enantiyosaf diarilkarbinollerin sentezlenmesi için farklı yayınlar yayınlanmıştır (Braga vd., 2008; Kim & Walsh, 2006). Bu biaril alkoller çeşitli kimyasal yöntemler kullanılarak sentezlenmiştir. Örneğin ketonların katalizör eşliğinde indirgenmesi, enantiyoseçici indirgenmesi veya aril nükleofillerin aldehitlere nükleofil olarak katılması ile elde edilebilirler. Bu tepkimelerde katalizör olarak kullanılan difenilçinko yöntemin pahalı olmasına neden olmaktadır. Bu duruma ilaveten katalizörlerin ketonların enantiyoseçici tepkimelerinde güçlü reaksiyon koşulları ve yetersiz substrat oluşturma gibi sakıncaları da vardır (Trost & Bartlett, 2015; Welch vd., 2001). Bu eksiklikler bu tür tepkimelerin endüstriyel ölçekte kullanımını güçleştirmektedir. Kimyasal katalizörlerin toksik etkisi ve reaksiyon koşullarının şiddetli etkileri göz önüne alındığında biyokatalizörlerin önemi ortaya çıkmaktadır ve kimyasal katalizörlere alternatif olarak kullanılabilirler.

İlaçların optikçe aktif enantiyosseçimli tepkimelerinde kiral ajan olarak biyokatalizörler veya kemokatalizörler kullanılabilir (Ghanem & Aboul-Enein, 2004). Bu amaç doğrultusunda genellikle tek enantiyomerli bir sentez sağladıkları için mikroorganizmalar ya da bazı enzimler katalizör olarak kullanılmaktadır. Bu şekilde biyolojik katalizörlerin kullanıldığı çalışmalar yer almaktadır (Kurbanoğlu vd., 2007).

Tablo 2: Biyokatalizörler ile Kimyasal Katalizörlerin Karşılaştırılması

Avantajları	Dezavantajları
Genellikle daha verimlidirler.	Substrat ve ürün inhibisyonuna duyarlıdırlar.
Modifiye edilebilirler. Bu sayede seçicilik ve kararlılık ve aktiviteleri artırılabilir.	Çözücü genellikle sudur. (Yüksek kaynama noktası ve buharlaşma ısısı)
Daha seçicidirler. (Kimyasal ve bölgesel seçicilik.)	Enzimler doğada bir enantiyomerik formda bulunurlar.
İlımlı reaksiyon koşullarına sahiptirler. (Düşük sıcaklık uygun Ph koşulları.)	Enzimler alerjik reaksiyonlara sebep olabilirler.

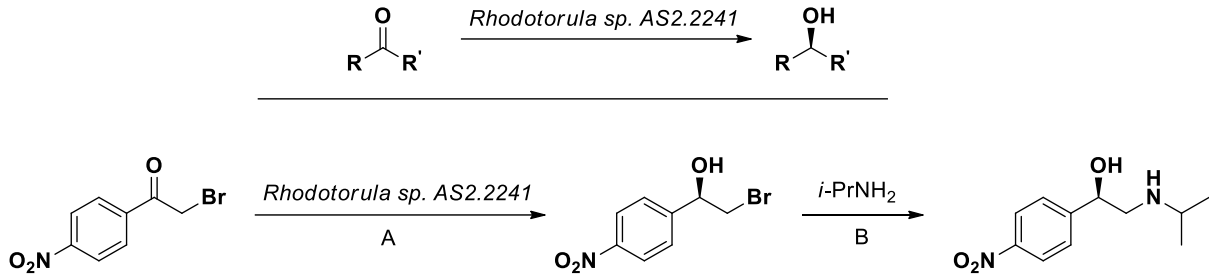
Kiral sekonder alkol üretiminde kullanılan biyotransformasyon yöntemlerinin, katalitik kimyasal tekniklere göre bir dizi avantajı vardır; örneğin, ağır metal katalizörlerin kullanılmaması ve daha düşük reaksiyon çalışma koşulları (ortam basıncı ve sıcaklığı) oluşmasını sağlar (Thomas vd., 2002; Sheldon & Woodley, 2017). Prokiral ketonların rasemat çözünürlüğü veya asimetric indirgenmesi, biyokatalitik tekniklerin iki yaygın endüstriyel uygulamasıdır. İdeal olarak mükemmel enantiyometrik saflığa ve yüksek verime sahip tek bir enantiyomer üreten asimetric indirgenme tepkimesinin aksine, bir rasemik karışım çözündüğünde %50 oranında istenmeyen enantiyomer barındırmaktadır (Ranjan vd., 2017). Daha sonra, kiral sekonder alkoller, izole edilmiş enzimler tarafından üretilebilir. Ancak enzimlerin saflaştırılması ve NADPH gibi kofaktörlerin indirgeme maliyetinin yüksek olması bu işlemi elverişsiz kılmaktadır. Bu dezavantajlar, çok miktartlı ticari sentezlerde saf enzim kullanımını kısıtlamaktadır (Hepworth vd., 2017; Vitale vd., 2018).

Biyokatalizörler, farklı enzimler kullanılarak elde edilebilirler bu enzimler bitki, hayvan veya farklı mikroorganizmalar kullanılarak izole edilerek elde edilebilirler. İzole edilen bu enzimlerin tekrar tekrar elde edilmesi mümkündür. Bu biyolojik katalizörler çevre dostudurlar yani doğada kolayca parçalanabilmektedirler (Nakamura vd., 2003). Biyolojik katalizörler izomerizasyon ve rasemizasyon gibi istenmeyen reaksiyonların oluşmasını engellerler. Aynı zamanda seçici olduklarından substratta belli bir bölgeyi katalizleme özelliğine sahip olduklarından enantiyoseçicilikleri oldukça yüksektir (Wu & Liang, 1999).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda tek hücreli canlılar, bitki ve hayvan hücrelerinden elde edilen kültür ortamlarından sağlanan enzimlerinde biyokatalizör olarak kullanıldığı, prokiral ketonların biyokatalizör eşliğinde indirgenmesi üzerine farklı tepkimeler üzerinde çalışmalar yapılmıştır.

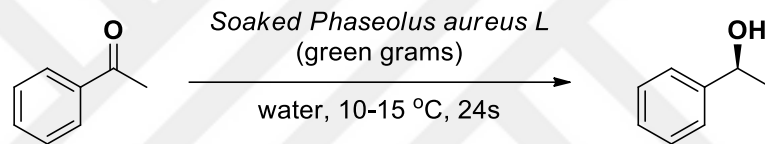
Yang ve çalışma arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada (2006) *Rhodotorula sp.* AS2.2241 hücreleri kullanılarak prokiral ketonların asimetric indirgenme tepkimeleri sonucunda sekonder alkoller elde etmişlerdir. Mikroorganizma kullanılarak yapılan indirgenme tepkimelerinde, farklı aromatik ketonların ve asetil piridinlerin (>%97 ee) indirgenmesinde yüksek aktivite ve enantiyoseçicilik gösterirken, alfa ve beta keto esterlerin indirgenmesinde orta ila yüksek enantiyoseçicilik göstermişlerdir. *Rhodotorula sp.* AS2.2241 hücreleri kullanılarak 2-bromo-1-(4-nitrofenil) etanon'un asimetric indirgemesi sonucu elde edilen (*R*)-(2-bromo-1-4-nitrofenil)

etanol 97% ee oranında sentezlenmiştir (Şekil 13). Bu sentez tepkimesi sekonder alkollerin yüksek enantiyoseçicilikte ve aktivitede biyokatalizör eşliğinde sentezlenebileceğini ve üretilabileceğini ortaya koymuştur.



Şekil 13: (R)-2-Bromo-1-4-4- Nitrofenil Etanon'un Asimetrik Sentezi

Başka bir çalışmada Kumaraswamy ve çalışma arkadaşları yaptıkları araştırmada farklı prokiral ketonları kullanarak (2003) *Phaseolus aureus L* biyokatalizörü eşliğinde asimetrik indirgenmesinin olduğu tepkimeleri gerçekleştirmişlerdir (Şekil 14).

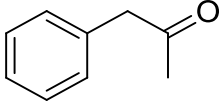
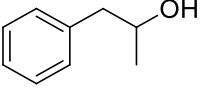
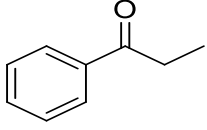
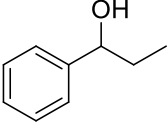
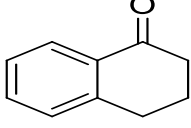
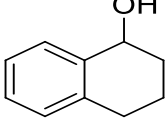
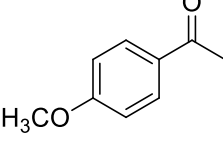
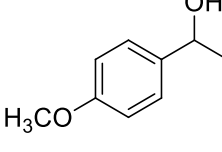
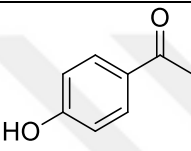
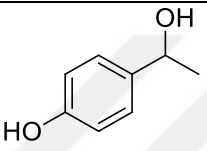
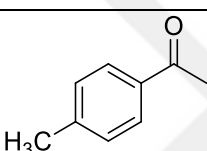
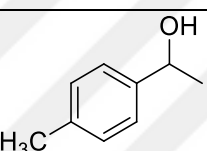
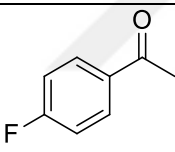
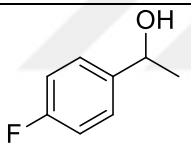
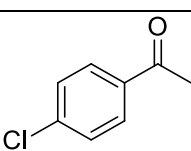
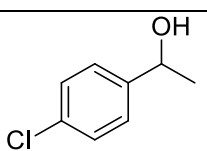
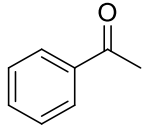
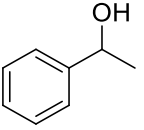


Şekil 14: Phaseolus Aureus L Biyokatalizörü ile Sekonder Alkol Eldesi

Bu yöntem ile çevre için zararlı olmayan çevre dostu biyokatalizörler kullanılarak sekonder alkoller elde edilmişlerdir. *Phaseolus aureus L* bakterisinin asimetrik indirgenme reaksiyonlarında enantiyoseçici olarak kullanılabileceğini keşfetmişlerdir. *Phaseolus aureus L* bakterisinin kullanılarak oluşturulan tepkimelerin daha yüksek verimli olduğu ve alışla gelen kimyasal girdilerden veya mikroorganizmalardan daha az istenmeyen madde ürettiğini saptamışlardır. Tepkime sonucunda optik olarak aktif alkollerin yüksek miktarda üretimi için bir yöntem denenmiştir ve başarılı sonuçlar elde edilmiştir (Tablo 3). *Phaseolus aureus L*'nin ilaç üretimi açısından önemli prokiral ketonların indirgenmesi gerçekleştirilecek tepkimeler için uygun bir biyokatalizör olduğu belirtilmiştir.

Tablo 3: Phaseolus Aureus L Biyokatalizörü ile Farklı Prokiral Ketonların Seçimli İndirgenmesi

Substrat	Ürün	Zaman(saat)	% ee	% verim
		24	85(S)	28

		24	98(S)	48
		24	80(S)	50
		46	98(S)	55
		24	90(S)	28
		24	72(S)	23
		24	95(S)	51
		24	87(S)	45
		24	90(S)	50
		24	84(S)	52

Başka bir çalışma da Patel ve arkadaşları (2004) yaptıkları bir çalışma ile 2-brom-4-floro Asetofenon'un mikroorganizma eşliğinde asimetrik indirgenmesini yapmışlardır. Mikroorganizma katalizörlüğünde 2-bromo-4-floro asetofenon'un asimetrik indirgenmesi sonucunda enantiyoseçici olarak (S)-1-(2-bromo-4-floro fenil) etanolü elde etmişlerdir (Şekil 15).



Şekil 15: 2-Bromo-4-Floro Asetofenon'un Asimetrik İndirgenmesi

Pichia, *Saccharomyces* gibi hamur işlerinde kullanılan mayadan elde edilen bazı bakteriler kullanılarak sekonder kiral alkoller elde edilmiştir. Bu mikroorganizmaların kullanıldığı sentez tepkimeleri ayrı ayrı incelenerek bu tepkimelerin dönüşümleri ve enantiyomerik aşırılık değerleri araştırılmıştır (Tablo 4). Bu indirgenme tepkimeleri belirli koşullarda gerçekleştirilerek bu koşullarda kullanılan bakteri türüne göre tepkimelerin ee ve dönüşüm miktarları ortaya konmuştur (Tablo 4).

Tablo 4: 2-Bromo4-Floro Asetofenon'un Biyokatalitik İndirgenmesi

Mikroorganizma Türü	% dönüşüm Oranı	% ee
<i>S.cerevisiae</i> SC13902	93	99
<i>S.paucimobilis</i> SC16113	100	99
<i>P.silvicola</i> SC 16159	99	99
<i>P.capsulata</i> SC16306	100	99
<i>P.stiptis</i> SC 13863	99	99
<i>P.pinus</i> SC13864	100	99
<i>P.methanolica</i> SC13860	100	99
<i>P.anomala</i> SC16142	100	99
<i>N.salmonicolor</i> SC 6310	100	99
<i>C.sonorosis</i> SC16117	100	99
<i>C.guilliermondi</i> SC 13861	100	99
<i>C.boidinii</i> SC13821	100	97
<i>C.utulis</i> SC 13983	99	99
<i>C.parapsilosis</i> SC 16346	98	97
<i>R.glutinis</i> SC 16267	100	99
<i>H.fabianii</i> SC 13894	94	99

Tablo 4'ten de anlaşılacağı üzere *Pichia*, *Saccharomyces*, *Candida*, *Hansenula*, *Rhodotorula* mikroorganizmalarının kullanıldığı tepkimelerde yüksek dönüşüm ve enantiyoseçicilik sağlanmıştır.

Mandal ve çalışma arkadaşları ise yaptıkları çalışmada (2004) Asetofenon dan elde edilen türevi bileşiklerinin enantioseçimli olarak indirgenmesini farklı biyokatalizörler eşliğinde gerçekleştirmişlerdir. Araştırma sonucunda elde etikleri verilere göre *Trichothecium sp.*'nin %93,5 enantioseçimlilik ve %85 dönüşüm oranı ile en iyi biyokatalizör olduğunu belirlemişlerdir. *Trichothecium sp.*'den sonra yüksek sonuçları veren biyokatalizör *Aspergillus oryzae* NCIM 649 biyokatalizörü olmuştur. Bu biyokatalizör %81,5 enantioseçimlilik ve %100 dönüşüm sonuçlarını vermiştir (Tablo 5).

Tablo 5: Asetofenon'un Farklı Mantar Türleri ile İndirgenmesi

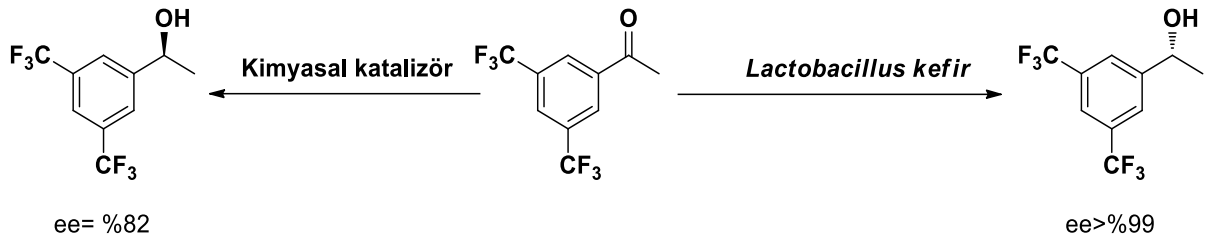
Fungus	saat	%ee	%Dönüşüm
<i>Fusarium oxysporum</i> NCIM 1282	48	72(S)	100
<i>Verticillium</i> AAT-TS-3	48	41(R)	78
<i>Fusarium sp.</i> NCIM 1075	24	51(R)	25
<i>FFusarium sp.</i> NCIM 1075	48	67(R)	100
<i>Aspergillus oryzae</i> NCIM649	48	81(R)	100
<i>Trichothecium sp.</i>	72	93(R)	85

Adlercreutz (1991) yaptığı çalışmada asetik asitin altı farklı bakteri şusunu kullanarak ketonların stereoseçici olarak indirgenme tepkimelerini katalizleme yeteneklerini incelemiştir. Yaptığı incelemede *Gluconobacter oxydans* DSM 50049 ve *Acetobacter aceti* DSM 2002 bakterilerinin ketonların stereoseçici indirgenmesini katalizlenme etkilerinin kayda değer bir şekilde yüksek olduğunu ortaya koymuştur. Bu bakteri kültürlerinden elde edilen biyokatalizörlerin her ikisini de kullanarak 12 adet ketonun tamamını $\geq$ %94 enantiyomerik aşırılık derecesinde (S)-alkollere indirgenmiştir. Bu bakteriler dışında *Acetobacter aceti* DSM 2002 bakterisinin yüksek düzeyde biyokatalizör etkiye sahip olduğu belirlenmiştir (Tablo 6).

Tablo 6: Ketonların Farklı Asetik Asit Bakterisi ile İndirgenme Değerleri

Ürün	G.oxydans DMS50049	A.aceti DMS2002	A.aceti DMS 2003	A.pasteurianus DMS 2004	A.perexydans DMS2347
(S)-2-Metil pentanol	94	94	42	72	91
(S)-2-Hekzanol	95	96	13	45	85
(S)-2-Oktanöl	94	91	45	69	56
(S)-3-Metil Bütanöl	99	11	74	98	64
(S)-3,3-Dimetil 2-Bütanöl	97	49	86	39	29
(S)-1-Sikloheksanol	95	94	76	81	66
(S)-4-Fenil 2-Bütanöl	81	94	82	90	50
(S)-1-Feniletanol	99	92	75	94	66
(S)-1-Fenil 1-Propanol	97	96	48	90	93
(S)-3-Heptanol	88	96	61	81	72
(S)-3-Nonaol	93	94	24	89	77
(S)-4,4-Dimetil 2-Pentanol	89	97	-	85	88

Gelo-Pujic ve arkadaşları 2006 yılında yaptıkları bir çalışmada özellikleri bilinen bazı mikroorganizmalar arasında bulunan, *Pichia*, *Saccharomyces* ve *Lactobacillus kefir* mikroorganizmalarını biyokatalizör olarak kullanılarak 1-[3,5-bis(triflorometil)fenil] etanonun enantiyomerlerinin tercihli indirgenmesi için iki farklı iki metot kullanmışlardır. Bu tepkimede hidrojen transferi ile ketonların indirgenmesi ile ketonların asimetrik indirgenmesi biyokatalizör eşliğinde yapılmıştır. Ve kullanılan bu iki metodun kıyaslamasını yapmışlardır. Kullanılan bu iki yeni metot ile 1-[3,5-bis(triflorometil)fenil] etanon *R* ve *S* alkole indirgenmiştir. Elde edilen her iki enantiyomer de ee oranı ve tepkime verimi yüksek olarak gerçekleştirilmiştir. Kullanılan bu metottun uygulanabilir yeni bir metot olduğunu ortaya koymuşlardır (Şekil 16).



Şekil 16: 1- [3,5-Bis (Triflorometil)Fenil] Etanonun Kimyasal ve Biyokatalizör ile İdirgenmesi

Andrade ve arkadaşları tarafından yapılan başka bir çalışmada (2006) farklı bitki kökleri katalizör olarak kullanılmış ve asetofenon türevlerinin bu biyokatalizörler eşliğinde indirgenmesini gerçekleştirmişlerdir. Kiral R ve S alkoller %98 varan ee oranlarında elde edilmişlerdir. Yaptıkları bu çalışmada reaksiyon koşullarını bitki hücrelerini 0.25 g/mL oranında içeren sulu çözelti biyo katalizör olarak kullanılmış, asetofenon derişimi 10 mM olarak alınmış, sıcaklık 32 °C, karıştırma hızı 160 rpm olarak belirlemişlerdir.

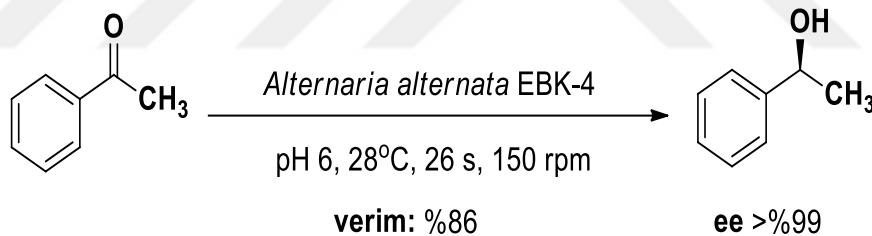
Tablo 7: Asetofenon'un Farklı Bitki Köklerinden Elde Edilen Biyokatalizörler ile İdirgenmesi

Bitki Hücresi	Reaksiyon süresi(Gün)	%Dönüşüm	%ee
<i>Allium</i>	3	5	>98,S
<i>Schoenoprassum</i>			
<i>Arctium lappa</i>	3	8	8,S
	6	21	58,S
<i>Arracacia</i>	3	44	91,S
<i>Xanthorrhiza</i>	6	91	66,S
<i>Beta vulgaris</i>	3	65	61,R
	6	83	87,R
<i>Colocasia esculante</i>	3	24	50,S
<i>Brassica rapa</i>	4	4	99,S
	6	10	99,S
<i>Dioscorea alata</i>	3	30	94,S
	6	47	94,S
<i>Manihot esculante</i>	3	13	29,R
	6	14	31,R
<i>Solanum tuberosum</i>	3	3	24,R
	6	5	7,S
<i>Zingiber officinale</i>	3	8	>98,S

Tablo 7 incelendiğinde tepkime süresi uzadığında enantiyomer aşırılıkta genellikle bir düşüş olduğu gözlenmektedir. En olumlu sonuçların *Arracacia xanthorrhiza* bitkisininin köklerinden elde edilen biyokatalizör ile sağlandığı da anlaşılmaktadır. Yaptıkları bu çalışmada kimyasal katalizörlere alternatif doğal bitkilerden elde edilen katalizörler kullandıkları için bu reaksiyonların çevre dostu olarak gerçekleştiklerini de göstermişlerdir.

Kurbanoglu ve arkadaşları yapmış oldukları çalışmada (2007) bazı bitki örneklerini kullanarak saflaştırdıkları *Alternaria alternata* EBK-4 mantarını biyokatalizör olarak kullanmışlardır ve aseto fenon türevlerinin asimetric indirgenme reaksiyonlarını gerçekleştirmişlerdir. Tepkimenin gerçekleştiği koşulların optimizasyonunu yaparak aşağıda verilen tepkimeyi gerçekleştirmişlerdir (Şekil 17).

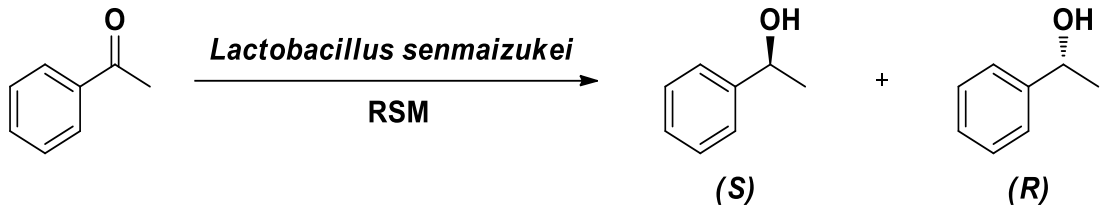
Yapılan optimizasyonda tepkimenin optimizasyon koşullarını pH:6, sıcaklık 28 °C, çalkalama hızını 150 rpm ve reaksiyon süresini 26 saat olarak belirlemişlerdir. Gerçekleştirdikleri tepkimede asetofenon türevinin verimini %86 ve ee %99 olarak bulmuşlardır.



Şekil 17: Alternaria Alterna EBK-4 Biyokatalizörü ile Asetofenon'un Asimetric indirgenmesi

Alternaria alternata EBK-4 mantarı biyokatalizör olarak kullanılarak reaksiyon katalizlenmiş ve asetofenon 1-feniletanole yüksek enantiyomerik saflıkta indirgenmiştir. *Alternaria alternata* EBK-4 katalizörü ile optimize edilmiş şartlarda ketonlar ilgili alkollere %99 ee ile dönüşümü sağlanmıştır.

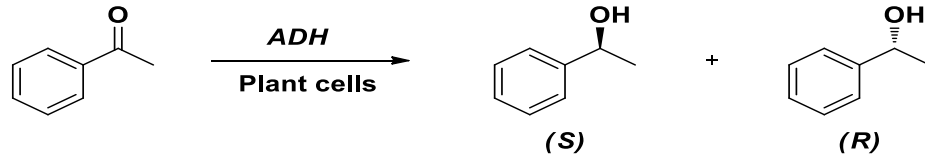
Çolak ve arkadaşları yaptıkları çalışmada (2019) asetofenonun indirgenmesinde laktik asit bakterisi olan *Lactobacillus senmaizukei*'nin bakterisini biyokatalizör olarak kullanılmış ve ph, sıcaklık ve çalkalama süresi gibi optimizasyon koşullarını *Response Surface Methodology* (RSM) yöntemini kullanarak belirlemişlerdir (Şekil 18). Tepkime koşullarının optimize edilmesinin nedeni her zaman ki gibi yüksek ee ve dönüşüm oranının elde edilebilmesi amaçlanmasındandır.



Şekil 18: Asetofenon'un RSM Optimizastonu ile Biyokatalitik İndirgenmesi

Lactobacillus senmaizukei biyokatalizörü ile indirgenme gerçekleştirirken bu reaksiyon için gerekli olan optimum koşulları sıcaklık 25°C, inkübasyon süresi 72 saat, pH 5.25 ve çalkalama hızı 100 rpm olarak RSM yöntemi kullanılarak optimizasyon sağlanmıştır. RSM yönteminin optimum koşulları belirleme de kullanılabileceğini göstermişlerdir.

Kazancı ve arkadaşları yaptıkları çalışmada (2016) kurutularak dondurulmuş havuçtan elde ettikleri biyokatalizörü bazı aldehit ve ketonların asimetrik indirgenme tepkimelerinde kullanımını incelemişlerdir (Şekil 19). Tam hücrelerin bu asimetrik sentez tepkimelerinde dehidrogenaz kaynağı olarak kullanılabileceğini belirtmişlerdir. Bütün bitki hücresi ile prokiral ketonları indirgeyerek sekonder alkoller elde etmek için biyokatalizörlü prosesleri araştırılmış ve yüksek ee elde edebilmek için gerekli olan reaksiyon koşullarını incelemişlerdir. RSM yöntemi ile reaksiyon koşullarının optimizasyonunu yaparak bitkilerden elde edilen biyokatalizörler ile reaksiyonu katalizlenerek bu indirgenme tepkimelerini gerçekleştirmişlerdir.



Şekil 19: Havuç Biyokatalizörü ile Asetofenon'un İndirgenmesi

Kurutularak dondurulan havuçların prokiral ketonların asimetrik indirgenmesinde biyokatalizör olarak kullanılabileceğini belirtmişlerdir. Optimizasyon koşullarını belirlemek için RSM yöntemini kullanarak reaksiyon verimliliği, dönüşümü üzerinde etkili olan substrat miktarı, tepkimenin gerçekleşme zamanı, pH ve sıcaklık gibi etkenlerin tepkime üzerinde ki etkilerini incelemişlerdir. En uygun reaksiyon koşullarını 48 saat süre, 1mmol madde miktarı, 33°C sıcaklık ve pH 7 olarak belirlemişlerdir. Bu koşullarda gerçekleşen reaksiyon sonucunda ee ve dönüşüm oranını sırası ile >%99 ve >%58 olarak bulmuşlardır.

Soyer ve arkadaşları ise yayınlamış oldukları araştırmada (2010) 1-fenil-1-propanolün tepkime koşullarını RSM yöntemini kullanarak optime ederek enantiyoseçici olarak üretimi

üzerinde araştırmalar yapmışlardır. Katalizör olarak *Candida antartica* kullanılarak reaksiyon koşulları RSM yöntemi ile optime edilmiştir. Yüksek yüzde enantiyomerik aşırılık için *Candida antartica* enzimi için reaksiyon koşulları optime edilerek %83 olan ee oranı %91 oranına yükseltilmiştir.

Goretti ve arkadaşları (2012) yapmış oldukları bir çalışmada ise *Cryptococcus gastricus*'un hücreleri kullanılarak (4S)-(+)-Karyonun asimetrik indirgenmesini gerçekleştirmişlerdir. *Cryptococcus gastricus* biyokatalizörü için optimum koşullar RSM yöntemi ile belirlenmiştir. *Cryptococcus gastricus* eşliğinde (4S)-(+)-Karyonun biyoindirgenmesi (>%95) yüksek oranda gerçekleştirilmiştir. Biyoindirgenme sonucunda verimi artırmak için reaksiyon koşullarının optimize edilmesi üzerinde çalışmışlardır.

Bin Halmi ve arkadaşları ise yaptıkları çalışmada (2016) RSM yöntemini kullanarak optimizasyon yöntemi ile *Serratia sp* suşunun tepkime koşullarını optime ederek altı değerlikli molibdenin biyoindirgenmesini gerçekleştirmişlerdir.

Yapılan çalışmalarda biyokatalizörlerin reaksiyonları yüksek verim ve ee de katalizledikleri görülmektedir. Tek hücreli biyokatalizörler enzimlere göre daha ucuz olması ve daha kararlı yapı göstermeleri bakımından izole edilmiş enzimlere göre daha tercih edile bilirdirler. Ek olarak tam hücreli biyokatalizörlerin kullanımı, kofaktör ilavesini ve enzim saflaştırma gerekliliğini de önlemektedir (Mandan vd., 2004). Kiral biaril sekonder alkoller farmasötik madde olarak kullanılabilir bu durum sekonder alkollerin önemini artırmaktadır. Kiral Biaril sekonder alkoller fizyolojik olarak aktif olan birçok farmasötik maddenin üretilmesinde çıkış maddesi ve ara madde olarak kullanılmaktadırlar (Devalie vd., 2001; Klaholz vd., 2000). Ayrıca büyük moleküllü prokiral ketonların biyokatalizörler eşliğinde indirgenmesi son derece seçici ve verimlidir (Moore vd., 2007; Zhu & Hua, 2006; Lavevdera vd., 2008; Truppo vd., 2007). Bu duruma ek olarak birçok diaril ketonun farklı biyokatalizörler eşliğinde biyoindirgenmesi gerçekleştirilmiştir. Bu tepkimeler iyi bir seçicilikle gerçekleştirilmiştir ancak bu tepkimeler hala sınırlı sayıdadır (Salvi & Chattopadhyay, 2001; Lee vd., 2015; Takemoto & Tanaka, 2001). Ayrıca büyük hacimli substratların biyokatalizörler eşliğinde indirgenmesi zordur (Wang, vd., 2018; Lavendera vd., 2008).

Daha sonra, *Sporobolomyces* ile mutan enzimleri kullanılarak yüksek dönüşüm ve seçicilikte diaril ketonlar indirgenerek sekonder kiral alkoller elde edilmiştir. Ancak bu sonuçların elde edilmesi için pahalı olan saf enzimler ve kofaktörler kullanılmıştır (Li vd., 2009). Ayrıca *Candida zeylanoides* biyokatalizör olarak kullanılmış ve düşük gram ölçeğinde %99 enantiyomerik fazlalıkta çeşitli hacimli substratlar indirgenmiştir (Şahin, 2020).

Kiral 1-(4-metoksifenol) etanol, ilaç üretiminde ara ürün olarak kullanılabilen çok önemli bir sekonder alkoldür. Ek olarak loratadin, (S)-1-(4-metoksifenil) etanol ve difenilhidramin hidroklorür gibi alerjik durumlarda kullanılan ilaçların üretimi için önemli bir öncü iken (R)-1-(4-metoksifenil) etanol, ibuprofen gibi anti-enflamatuvar ve analjezik ilaçların üretiminde kullanılan çok önemli bir çıkış maddesidir (MacLellan & Clayden, 2011; Brondani vd., 2012; Llona-Minguez vd., 2015). Bu sebeple kimyasal katalizörler eşliğinde veya biyokatalizörler eşliğinde enantiyosaf olarak sentezlenmesi oldukça önemlidir. Kimyasal katalizörler eşliğinde yapılan sentezlerin çevre kirliliklerine neden olması ayrıca bu sentezler sonucunda ürünlerin saflaştırılmasında yaşanan zorluklar kimyasal katalizörlü tepkimelerin sınırlılıkları arasındadır. Enzimatik yöntemler ise yüksek enantiyoseçicilik ve daha yumuşak reaksiyon şartları nedeniyle daha fazla tercih edilmektedir. Bitkilerden elde edilen hücre kültürleri, mikrobiyal hücreler ve ketoreduktazlar gibi farklı biyokatalizörler 4-metoksiasetofenonun (S)-1-(4-metoksifenil) etanole enantiyoseçici olarak indirgenmesi için uygulanmıştır (Lou vd., 2009; Wei, Liang vd., 2009). 4-metoksiasetofenonun biyokatalizör eşliğinde asimetric indirgenmesi sonucunda enantiyomerik olarak saf 1-(4-metoksifenol) etanol eldesine dair bazı çalışma yayınları bulunmaktadır (Zong vd., 2009; Lou vd., 2009). Yapılan bu araştırma çalışmalarında orta düzeyde bir enantiyo seçicilik ile ilaç öncüsü olarak kullanılabilecek ilgili kiral sekonder alkoller elde edilmiştir. Hatzakis ve arkadaşları yaptıkları çalışmada rasemik karışımdan (R)-1-(4-metoksifenil) etanol'ü biyokatalizör varlığında kinetik rezölüsyon ile biyokatalizör eşliğinde (R)-1-(4-metoksifenil) etanol'ü %88 enantiyomerik aşırılık ve %18 gibi oldukça düşük olduğu söylenebilecek bir verim ile elde etmişlerdir (Hatzakis & Smonou, 2005). Bitki hücre kültürleri yine birçok indirgenme tepkimesinde biyokatalizör olarak kullanılmıştır (Kumaraswamy & Ramesh, 2003; Maczka & Mironowicz, 2004). Mikrobiyal hücreler bazı çalışmalarda biyokatalizör olarak kullanılmış ve verim ve ee ile ilgili değerler ortaya konmuştur (Salvi vd., 1995; Homann vd., 2004; Utsukihara vd., 2006; Yang vd., 2006) ve ketoreduktazlar bazı indirgenme tepkimelerini katalizlemek için kullanılmışlardır (Wendlausen vd., 1998). Biyokatalizörlerin katalizör olarak kullanılarak 4'-metoksiasetofenonun, (S)-1-(4-metoksifenil) etanol'e biyokatalitik asimetric indirgenmesi ile ilgili çeşitli çalışma yayınları literatürde yer almaktadır. Ancak bu çalışmalarda elde edilen maksimum substrat dönüşümü istenilen düzeyin oldukça altında gerçekleşmiştir ($\leq$ %62,3). Yayınlanan çalışma raporlarının birçoğunda enantiyomerik aşırılık %77 den daha küçük çıkmıştır. *Fusarium caucasicum* 18791 ve *Aspergillus niveus* 12276 biyokatalizörleri eşliğinde yapılan çalışmalarda ee > %99 çıkmıştır ancak bu tepkimelerde verim oldukça düşük çıkmıştır (verim < %20).

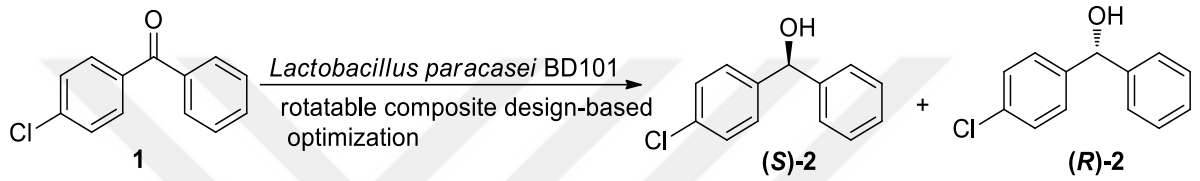
Literatürden de görüleceği üzere diaril ketonların özellikle ilaç öncüsü olarak kullanılan (4-Klorofenil) (fenil) metanon'un (1) biyokatalizör eşliğinde asimetric indirgenmesini içeren çalışmalar halen sınırlıdır. Ayrıca, substratın dönüşümü, ürünün enantiyomerik fazlalığı ve verimi bu koşullardan etkilendiği için tepkimenin gerçekleştiği koşullar biyokatalizör eşliğinde indirgeme için optimize edilmelidir. Yapılan araştırmalar incelendiğinde özellikle son yıllarda yapılan çalışmalarda genellikle çeşitli matematiksel yöntemlerin tepkime koşullarını optimize etmek için kullanıldığı görülmektedir. Tepkime koşullarının optimizasyonunda kullanılan geleneksel yöntemlerin pahalı olma, zaman alıcı olma gibi dezavantajlarının olduğu görülmektedir. Ayrıca geleneksel yolla yapılan optimizasyon yöntemlerinde tepkime için gerekli olan ortam koşulları birbirinden bağımsız olarak tek tek belirlenmektedir. Matematiksel yöntemlerde optimum koşulların aynı anda belirlenmesi amaca ulaşmak için nispeten daha kısa zaman alacağından matematiksel yöntem ile optimizasyon geleneksel yolla yapılan optimizasyon tekniklerine göre daha kullanışlı olduğu görülmektedir. Bu sebeple tepkimenin optimizasyon koşulları matematiksel bir yöntem kullanılarak belirlenmesi avantajlıdır.

Endüstriyel olarak biyokatalizörlerin kullanımı çevre açısından kirlilik oluşturmamaları, özellikle kiral ajanların seçici olarak elde edilmesinde kullanılması biyokatalizörlerin kullanımını önemli kılmaktadır. Optikçe aktif bileşiklerin üretilmesinde de tepkime koşullarının optimize edilmesi son derece büyük önem taşımaktadır. Optimize edilmiş koşullarda ee ve dönüşüm daha yüksek olarak gerçekleşmektedir. Farmasötik madde öncüsü olarak kullanılan 1'in biyokatalizör eşliğinde indirgenmesi için uygun katalizörlerin geliştirilmesi ve bu tepkimenin gerçekleştiği koşulların optimizasyonu için yeni yöntemlerin kullanılması da tepkimenin verimliliği ve dönüşümü yükseltilmesi bakımından önemlidir.

İKİNCİ BÖLÜM

2. YÖNTEM

Bu yüksek lisans tez çalışmasında *Lactobacillus paracasei* BD101 bakterisi biyokatalizör olarak kullanılarak (S)-(4-klorofenil) (Fenil) Metanon'un (1) asimetrik indirgenmesi gerçekleştirilerek ilaç öncüsü olarak kullanılabilen (S)-(4-Klorofenil) (Fenil) Metanol'ün ((S)-2) elde edilmesi amaçlanmıştır. Ayrıca bu sentez tepkimesinin optimum koşullarının belirlenmesin de matematiksel bir yöntem olan kompozit tasarım tabanlı optimizasyon yöntemi kullanılarak bu yöntemin optimum koşulların belirlenmesinde ki uygunluğu araştırılmıştır.



Şekil 20: *Lactobacillus paracasei* BD101 Bakterisi ile (S)-(4-Kloro fenil) (fenil) Metanon'un Asimetrik İndirgenmesi

2.1. MALZEMELER VE YÖNTEM

Çıkış maddesi olarak kullanılan substrat ve kültür ortamı (MRS) gibi malzemeler ticari tedarikçilerden temin edilmiştir. Reaksiyonun ilerlemesini takip etmek için TLC (İnce katman Kromatografisi) kullanılmıştır. Kiral bir dedektör içeren Agilent 1260 HPLC (Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi) sistemi kullanılarak ee'ler belirlendi. Bellingham+Stanley ADP 220 polarimetrisi, ürünün spesifik optik dönüşümünü ölçmek için kullanıldı. Rasemik alkol 2 substrat 1'in MeOH içinde NaBH₄ ile indirgenmesi sonucunda elde edildi. NMR analizleri Bruker (400 MHz) ile yapıldı.

2.2. BİYOKATALİZÖR

Bu araştırmada kullanılan bakteri türü *Lactobacillus paracasei* BD101, daha önce tahıldan elde edilen fermente boza içeceğinden izole edilmişti. Literatürde ifade edilen izole yöntemine göre biyokatalizör elde edildi, kurutuldu ve saklandı (Dertli vd., 2016).

2.3. DENEYSEL UYGULAMA

Lactobacillus paracasei BD101 tarafından (S)-(4- klorofenil) (fenil)metanol üretimi için genel bir prosedür hazırlanmıştır. 100 mL MRS brot ile 250 mL erlen mayer içerisine kuru

Lactobacillus paracasei BD101 (20 mg) ilave edildi ve karışım 37 °C de iki saat çalkalandı (120 rpm). Ayrıca reaksiyon ortamının pH'sı, 1M'lık HCl çözeltisiyle 5.85'e ayarlandı ve ardından karışım, aynı şekilde iki saat daha karıştırıldı. Daha sonra tepkime karışımına 1 mmol 1 (%2 oranında Etanolde çözünmüş olarak) ilave edildi ve 37 °C de 120 rpm'de 71 saat karıştırıldı. Daha sonra karışım santrifüj edilerek sıvı kısım ayrıldı. Sıvı faz etil asetat ile ekstrakte edildi. Az miktarda ham ürün, küçük bir silis kolonundan süzöldükten sonra, dönüşüm ve ee değerlerini belirlemek için kullanıldı. Daha sonra ham ürün, etil asetat: heksan (05:95) çözücü karışımı ile kolon kromatografisinde saflaştırıldı. Ardından, ürünü karakterize etmek için NMR analizi yapıldı. Optik çevirme acısı literatür ile karşılaştırılarak mutlak konfigürasyonlarını tespit etmemiz sağlandı. Alkol pikleri ile keton pikleri ile karşılaştırılarak reaksiyonun dönüşümü belirlendi. Biyokatalizör kullanılmadan yapılan denemelerde ürün elde edilememiştir.

(S)-(4- klorofenil) (fenil)metanolün gram ölçeğinde elde edilmesi: *Lactobacillus paracasei* BD101 tarafından (S)-(4- klorofenil) (fenil)metanolün gram ölçekli üretimi için de prosedür hazırlanmıştır. 1000 mL MRS brot içeren 5 L erlen mayer içine kuru *Lactobacillus paracasei* BD101 (200 mg) ilave edildi ve karışım 37 °C iki saat çalkalandı (120 rpm). Ayrıca reaksiyon ortamının pH'ı, 1M'lık HCl çözeltisiyle 5.85'e ayarlandı ve karışım, aynı şekilde iki saat daha karıştırıldı. Daha sonra reaksiyon karışımına 65 mmol 1 (%2 Etanolde çözünmüş olarak) ilave edildi ve 37 °C 120 rpm'de 71 saat karıştırıldı. Dönüşüm, ee ve saflaştırma yukarıda belirtildiği gibi gerçekleştirildi. Ürünün karakterizasyonu, ee'si ve substratın dönüşümü yukarıda tarif edildiği gibi yapıldı.

(S)-(4-klorofenil) (fenil)metanol ((S)-2) (Karthikeyan & Jeganmohan, 2010). Sarı yağ, izole edilmiş verim %97, ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ = 7.36-7.26 (m, 9H), 5.80 (s, 1H), 2.45 (s, 1H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ = 143.4, 142.2, 133.3, 128.6, 128.6, 127.9, 126.5, 75.6; [α]_D²⁴ = +19.1 (c 0.8, CHCl₃), ee > %99; [Aydınlatılmış. [α]_D²⁴ = (S)-enantiomerin % 93 ee'si için +17.9 (c 0.8, CHCl₃); HPLC, kiral AD -H sütünü, n -heksan/ i -PrOH, 90:10, akış hızı=1 mL/dak, 254 nm, t_R (S) 11,7 dak. Ayrıca keton 1 HPLC analiz koşulu alkol (S)-2 ile aynıdır ve substrat tutma süresi 7.0 dakikadır.

2.4. KOMPOZİT TASARIM TABANLI OPTİMİZASYON

Reaksiyonun optimum koşulları yeni bir kompozit tasarım tabanlı optimizasyon yöntemi kullanılarak belirlenmiştir ve bu yöntemim uygulanabilirliği geliştirilmiştir. Deneysel bir tasarımının seçimi bazı temel özelliklere dayanmaktadır (Özdemir, 2016). Örneğin, dönebilirlik, deneyin merkezinden eşit bir varyansı tahmin etmek için önemli bir özelliktir. Bu

nedenle, deneysel çalışmaları yürütmek için dönebilir bir bileşik tasarım seçilmiştir. Tablo 8, deney için dört tasarım faktörünü ve bunların kodlanmış/kodlanmamış düzeylerini göstermektedir. Ayrıca, yanıt değişkenleri ee ve dönüştürmedir. Dört tasarım faktörü ile asimetrik bir indirgemenin dönebilir tasarımı, on altı faktöriyel, sekiz eksenel ve sekiz kopyalanmış merkezden oluşur. Tablo 9, kompozit tasarımı ve ee ve dönüşüm için toplanan verileri göstermektedir. Deneysel yanlılığı ortadan kaldırmak için deneysel çalışmalar rastgele seçildi. Bu reaksiyonda verim ve ee sıcaklık, karıştırma hızı, karıştırma süresi ve pH gibi faktörlerden etkilenmektedir. Bu faktörler tasarım faktörü olarak alınmıştır.

Tablo 8: Tasarım Faktörleri ve Kodlanmış/Kodlanmamış Düzeyler

Tasarım faktörü/Notasyon	Birimler	Kodlu/ Kodsuz Düşük	Orta Kodlu/ Kodsuz Düşük	Kodlu/ Kodsuz Yüksek
pH/A		-2/2	0/6	+2/10
Sıcaklık/B	°C	-2/10	0/30	+2/50
Karıştırma süresi/C	Saat	-2/0	0/48	+2/96
Karıştırma hızı/D	Rpm	-2/50	0/150	+2/250

Kompozit tasarım tabanlı optimizasyon stratejisi kullanılarak (S)-(4-klorofenil) (Fenil) Metanon'un (2) asimetrik indirgenmesinin biyokatalizör eşliğinde farklı koşullarda yapılarak elde edilecek olan (S)-(4-Klorofenil) (Fenil) Metanol'ün ee (%) ve dönüşümüne (%) ait veriler elde edilmiştir.

Tablo 9: Kompozit Tasarım Tabanlı Optimizasyon ile Farklı Koşullarda Hesaplanan ee(%) ve Dönüştürme(%) için Toplanan Veriler

	A	B	C	D	ee	Dönüştürmek	
BU YÜZDEN	RO	PH	Sıcaklık	Karıştırma süresi	Karıştırma hızı	(%)	(%)
27	1	6	30	48	150	98	95
22	2	6	30	96	150	91	97
15	3	4	40	72	200	77	75
18	4	10	30	48	150	39	29
11	5	4	40	24	200	71	65
12	6	8	40	24	200	51	45
30	7	6	30	48	150	98	95
19	8	6	10	48	150	82	69
5	9	4	20	72	100	65	58
4	10	8	40	24	100	48	35
2	11	8	20	24	100	51	63
13	12	4	20	72	200	64	62
26	13	6	30	48	150	98	95
17	14	2	30	48	150	31	25
20	15	6	50	48	150	52	43

1	16	4	20	24	100	61	52
31	17	6	30	48	150	98	95
24	18	6	30	48	250	92	94
7	19	4	40	72	100	71	67
29	20	6	30	48	150	98	95
16	21	8	40	72	200	70	69
8	22	8	40	72	100	71	54
3	23	4	40	24	100	65	51
23	24	6	30	48	50	90	51
14	25	8	20	72	200	47	51
32	26	6	30	48	150	98	95
10	27	8	20	24	200	48	41
28	28	6	30	48	150	98	95
21	29	6	30	0	150	0	0
9	30	4	20	24	200	61	59
6	31	8	20	72	100	47	51
25	32	6	30	48	150	98	95

Modelleme adımı için, ee ve dönüşürmenin tahmin edilen yanıt fonksiyonları aşağıdaki gibi elde edilir:

$$\hat{\mu}_{ee}(\mathbf{g}) = \hat{\alpha}_0 + \mathbf{x}'\mathbf{e} + \mathbf{x}'\mathbf{E}\mathbf{x} \text{ where } \mathbf{g} = \begin{bmatrix} A \\ B \\ C \\ D \end{bmatrix}, \mathbf{e} = \begin{bmatrix} \hat{\alpha}_1 \\ \hat{\alpha}_2 \\ \hat{\alpha}_3 \\ \hat{\alpha}_4 \end{bmatrix}, \text{ and } \mathbf{E} = \begin{pmatrix} \hat{\alpha}_{11} & \hat{\alpha}_{12}/2 & \hat{\alpha}_{13}/2 & \hat{\alpha}_{14}/2 \\ \dots & \dots & \dots & \dots \\ \hat{\alpha}_{41}/2 & \hat{\alpha}_{42}/2 & \hat{\alpha}_{43}/2 & \hat{\alpha}_{44} \end{pmatrix} \quad (1)$$

$$\hat{\mu}_c(\mathbf{g}) = \hat{\beta}_0 + \mathbf{x}'\mathbf{h} + \mathbf{x}'\mathbf{H}\mathbf{x} \text{ where } \mathbf{g} = \begin{bmatrix} A \\ B \\ C \\ D \end{bmatrix}, \mathbf{h} = \begin{bmatrix} \hat{\beta}_1 \\ \hat{\beta}_2 \\ \hat{\beta}_3 \\ \hat{\beta}_4 \end{bmatrix}, \text{ and } \mathbf{H} = \begin{pmatrix} \hat{\beta}_{11} & \hat{\beta}_{12}/2 & \hat{\beta}_{13}/2 & \hat{\beta}_{1n}/2 \\ \dots & \dots & \dots & \dots \\ \hat{\beta}_{41}/2 & \hat{\beta}_{42}/2 & \hat{\beta}_{43}/2 & \hat{\beta}_{44} \end{pmatrix} \quad (2)$$

Burada $\hat{\mu}_{ee}(\mathbf{g})$ ve sırasıyla $\hat{\mu}_c(\mathbf{g})$ ee ve dönüşümün tahmini yanıt fonksiyonlarını gösterir. ee ve h sırasıyla ee ve dönüşüm için regresyon katsayılarının vektörleridir. Aynı hatlar boyunca, E ve H, sırasıyla ee ve dönüşüm için regresyon katsayılarının matrisini temsil eder. (1) ve (2)' deki modele dayalı olarak, daha uygun istatistikler sağlamak için logaritmik dönüşümü uygulanabilir. Ayrıca önemsiz model terimlerini ortadan kaldırmak için indirgenmiş modeller kullanılmıştır. Bu farkındalığa dayanarak, anlamlı model terimlerini bulmak için geriye dönük p -değeri yöntemi uygulandı.

Optimizasyon adımı, asimetrik biyolojik indirgeme için optimum çalışma koşullarını elde etmek için çok önemlidir. Bu özel amaç için yeni bir döndürülebilir bileşik tasarım tabanlı optimizasyon yöntemi önerilmiştir. Önerilen optimizasyonun amaç fonksiyonu, genel arzu edirlilik fonksiyonunu maksimize etmektir. Genel istenirlik değerinin sıfır ile bir arasında olduğu not edilir. Ardından, sınır koşulları sunulan modeli kısıtlar. Yeni döndürülebilir kompozit tasarım tabanlı optimizasyon yöntemi aşağıdaki gibidir:

$$\begin{aligned}
 & \text{maximize } (d_{ee} * d_{cr})^{1/2} \\
 & \text{subject to } -2 \leq A, B, C, D \leq +2 \\
 & \text{where} \\
 & d_{ee} = \begin{cases} 0, & \hat{\alpha}_0 + \mathbf{x}'\mathbf{e} + \mathbf{x}'\mathbf{E}\mathbf{x} < L_{ee} \\ \left(\frac{\hat{\alpha}_0 + \mathbf{x}'\mathbf{e} + \mathbf{x}'\mathbf{E}\mathbf{x} - L_{ee}}{T_{ee} - L_{ee}} \right), & L_{ee} \leq \hat{\alpha}_0 + \mathbf{x}'\mathbf{e} + \mathbf{x}'\mathbf{E}\mathbf{x} \leq T_{ee} \\ 1, & \hat{\alpha}_0 + \mathbf{x}'\mathbf{e} + \mathbf{x}'\mathbf{E}\mathbf{x} > L_{ee} \end{cases} \\
 & d_c = \begin{cases} 0, & \hat{\beta}_0 + \mathbf{x}'\mathbf{h} + \mathbf{x}'\mathbf{H}\mathbf{x} < L_c \\ \left(\frac{\hat{\beta}_0 + \mathbf{x}'\mathbf{h} + \mathbf{x}'\mathbf{H}\mathbf{x} - L_c}{T_c - L_c} \right), & L_c \leq \hat{\beta}_0 + \mathbf{x}'\mathbf{h} + \mathbf{x}'\mathbf{H}\mathbf{x} \leq T_c \\ 1, & \hat{\beta}_0 + \mathbf{x}'\mathbf{h} + \mathbf{x}'\mathbf{H}\mathbf{x} > L_c \end{cases}
 \end{aligned} \tag{3}$$

Burada d_{ee} ve sırasıyla d_c ve dönüşüm yanıtlarının bireysel arzu edirlilik fonksiyonlarıdır. Ek olarak L_{ee} ve L_c alt değerleri belirtin. Ayrıca, T_{ee} ve T_c hedef değerleri tanımladı.

Veri analizi ve tahmin edilen yanıtların grafiklerinin çizilmesi için Tasarım Uzmanı (Sürüm=12.0.3.0 Minneapolis, MN 55143) kullanıldı. Ayrıca, Denklem (3)'ü çözmek için optimizasyon araç kutusu (Sürüm=R2014a Natick, Massachusetts 01760) ile MATLAB yürütüldü.

Sonuç olarak kompozit tasarım tabanlı optimizasyon yöntemi ile 1'den *Lactobacillus paracasei* BD 101 biyokatalizörü ile eşliğinde (S)-2'nin sentezi için gerekli koşullar optimize edilmiştir.

ÜÇÜNCÜ BÖLÜM

3. BULGULAR

Optikçe aktif sekonder kiral alkoller ilaç öncüsü ve etken madde olarak kullanılabilirler. Optikçe aktif alkollerin bir enantiyomeri istenen fizyolojik etkiyi gösterirken diğer enantiyomer etki göstermeyebilir veya olumsuz yan etkilerin oluşmasına sebep olabilir bu nedenle bu tür optikçe aktif maddelerin enantiyosaf olarak elde edilmeleri oldukça önemlidir.

Bir ilaç öncüsü olarak kullanılan (S)-(4- klorofenil) (fenil)metanolün biyo-katalizli üretiminde tepkime koşullarının optimizasyonu ee, verim ve dönüşümü üst seviyeye çıkarmaktadır. Bu tepkime için sıcaklık (°C), pH, inkübasyon süresi (h) ve karıştırma hızı (rpm) optimizasyon için tasarım faktörü olarak belirlenmiştir. ee, dönüşüm ve tepkime verimine etki etmekle birlikte bu tasarım faktörleri biyokatalizör olarak kullanılan bakteri seviyesini ve asimetrik indirgenmede seçiciliği de etkilemektedir. Yeni tasarım tabanlı optimizasyon yöntemi dört tasarım faktörüne bağlı olarak tepkimenin en yüksek oran da ee, dönüşüm ve verimin olduğu koşulları tahmin etmektedir.

Modelleme aşaması için belirleme katsayısı (R^2) maksimize edildiğinden ve p -değerleri < 0.0001 olduğundan indirgenmiş kübik modeller seçildi. Tablo 10 ee yanıt değişkeni için model uyum istatistiklerini ve ANOVA sonuçlarını göstermektedir. Tablo 10'da gösterildiği gibi, R^2 'nin değeri 0,9994'tür. Bu nedenle model, anlamlı model terimlerini tahmin etmek için mükemmeldir. Ayrıca mutlak tahmin edilen belirleme katsayısı (R_p^2) değeri 0,9986 olarak elde edilmiştir. Düzeltilmiş belirleme katsayısı (R_a^2) değeri de 0,9789 olarak bulunmuştur. Ve R_{pre}^2 arasındaki farkın R_{adj}^2 0,0197 olduğuna dikkat edin; bu nedenle, R_p^2 ee yanıtının modeli için ile bir anlaşmadır R_a^2 . Ardından, yeterli kesinlik değeri istenir; bu nedenle, bu model deneysel tasarım alanında gezinmek için kullanılır. ANOVA sonuçlarından elde edilen verilere göre model anlamlıdır çünkü p değeri $< 0,0001$ 'dir. Tablo 10'da 0.0500'den küçük p değerleri, model terimlerinin anlamlı olduğunu göstermektedir. A (pH), B (sıcaklık), C (Karıştırma süresi), D (karıştırma hızı), AB (pH*sıcaklık), AC (pH*Karıştırma süresi), AD (pH*Karıştırma hızı), BC (sıcaklık*Karıştırma periyodu), BD (sıcaklık*karıştırma hızı), A^2 (pH 2), B^2 (sıcaklık 2), C^2 (Karıştırma periyodu 2), D^2 (Çalkalama hızı 2), ABC (pH*sıcaklık*Karıştırma periyodu), ABD (pH *sıcaklık*karıştırma hızı), A^2B (pH 2 *sıcaklık), A^2C (pH 2 *Çalkalama süresi) ve AB^2 (pH* sıcaklık 2) önemli model terimleridir. Uyum eksikliği model için önemli değildir.

Tablo 10: Ee Yanıt Değişkeni İçin Model Uyum İstatistikleri ve ANOVA Sonuçları

Uyum İstatistikleri						
r^2 _	0,9994					
R_a^2	0,9986					
R_p^2	0,9789					
Yeterli Hassasiyet	139.5689					
ee yanıt değişkeninin indirgenmiş kübik modeli için ANOVA						
Kaynak	Kareler Toplamı	D F	Ortalama Kare	F değeri	P değeri	Durum
Modeli	18480.55	18	1026.7	1251.29	< 0,0001	Önemli
A	32	1	32	39	< 0,0001	Önemli
B	450	1	450	548.44	< 0,0001	Önemli
C	4140.5	1	4140.5	5046.23	< 0,0001	Önemli
D	8.17	1	8.17	9.95	0,0076	Demek istediler
AB	12.25	1	12.25	14.93	0,002	Demek istediler
AC	20.25	1	20.25	24.68	0,0003	Demek istediler
İLE	9	1	9	10.97	0,0056	Demek istediler
M.Ö	169	1	169	205,97	< 0,0001	Önemli
BD	20.25	1	20.25	24.68	0,0003	Önemli
A ²	7192.32	1	7192.32	8765.64	< 0,0001	Önemli
B ²	1708.01	1	1708.01	2081.64	< 0,0001	Önemli
C ²	4976.01	1	4976.01	6064.52	< 0,0001	Önemli
D ²	76.01	1	76.01	92.64	< 0,0001	Önemli
ABC	110.25	1	110.25	134.37	< 0,0001	Önemli
ABD	4	1	4	4.88	0,0458	Önemli
A ² B	833.33	1	833.33	1015.63	< 0,0001	Önemli
A ² C	1976.33	1	1976.33	2408.66	< 0,0001	Önemli
AB ²	374.08	1	374.08	455.91	< 0,0001	Önemli

Artık	10.67	13	0,8205	
Uyum eksikliği	10.67	6	1.78	Önemsiz
Saf Hata	0	7	0	
Kor Toplam	18491.22	31		

Tablo 11 kodlanmış faktörlere bağlı olarak ee yanıtı için regresyon katsayılarını göstermektedir. Varyans eflasyon faktörü (VIF) değerleri 10'dan küçük olduğu için ee yanıtı için çoklu doğrusallık sorunu olmadığını gösterir (Özdemir & Türköz, 2020). ee cevabının tahmin edilen uygun fonksiyonu aşağıdaki gibidir:

$$\hat{\mu}_{ee}(\mathbf{g}) = 98.00 + 2.00A - 7.50B + 22.75C + 0.58D + 0.88AB + 1.12AC \\ - 0.75AD + 3.25BC + 1.13BD - 15.60A^2 - 7.60B^2 - 12.98C^2 - 1.60D^2 + 2.62ABC \\ - 0.50ABD + 12.50A^2B - 19.25A^2C - 8.37AB^2$$

Ee yanıtı için kodlanmış regresyon katsayıları aşağıdaki tablodaki gibidir.

Tablo 11: Ee Yanıt İçin Kodlanmış Faktörler Açısından Regresyon Katsayıları

Model terimi	Katsayı Tahmini	DF	Standart hata	%95 GA Düşük	%95 GA Yüksek	VİF
Tutmak	98	1	0,3203	97.31	98.69	
A	2	1	0,3203	1.31	2,69	3
B	-7.5	1	0,3203	-8.19	-6.81	3
C	22.75	1	0,3203	22.06	23.44	3
D	0,5833	1	0,1849	0,1839	0,9828	1
AB	0,875	1	0,2265	0,3858	1.36	1
AC	1.12	1	0,2265	0,6358	1.61	1
İK	-0.75	1	0,2265	-1.24	-0,2608	1
M.Ö	3.25	1	0,2265	2,76	3.74	1
BD	1.13	1	0,2265	0,6358	1.61	1
A ²	-15.6	1	0,1667	-15.96	-15.24	1.02
B ²	-7.6	1	0,1667	-7.96	-7.24	1.02
C ²	-12.98	1	0,1667	-13.34	-12.62	1.02
D ²	-1.6	1	0,1667	-1.96	-1.24	1.02
ABC	2.62	1	0,2265	2.14	3.11	1
ABD	-0,5	1	0,2265	-0,9892	-0.0108	1
A ² B	12.5	1	0,3922	11.65	13.35	3
A ² C	-19.25	1	0,3922	-20.1	-18.4	3
AB ²	-8.37	1	0,3922	-9.22	-7.53	3

Dönüşüm yanıtı için R_{adj}^2 ve arasındaki fark R_{pre}^2 0,2'den büyüktü; bu nedenle, modeli oluşturmak için logaritmik dönüşümü uygulandı. Tablo 12, dönüşüm yanıtı için indirgenmiş

kübik modeli göstermektedir. R^2 , R_a^2 , ve R_p^2 değerleri sırasıyla 0.9933, 0.9862 ve 0.8274 olarak bulunmuştur. Bu nedenle, model uyumu dönüşüm yanıtı için yeterlidir ve R_p^2 ile R_a^2 uyumdur.

Daha sonra, Tablo 12'de de yeterli bir kesinlik değeri istenmektedir. Bu nedenle, model deneysel tasarım uzayında gezinme yeteneğine sahiptir. ANOVA sonuçlarına göre model anlamlıdır. Model terimleri, B (sıcaklık), C (inkübasyon süresi), BC (sıcaklık*inkübasyon süresi), BD (sıcaklık*Çalkalama hızı), A² (pH 2), B² (sıcaklık 2), C² (inkübasyon periyodu 2), D² (Çalkalama hızı ²), A²C (pH ²*inkübasyon süresi), AB² (pH* sıcaklık ²), B³ (sıcaklık ³) ve D³ (Çalkalama hızı ³), 0,05'ten küçük p değerleri nedeniyle önemlidir. Bir hiyerarşi sağlamak için modele bazı önemsiz model terimleri eklenmiştir. Ayrıca, uyum eksikliği, dönüşüm yanıtı modeli için önemli değildir.

Tablo 12: Dönüşüm Yanıtı Değişkeni İçin Model Uyum İstatistikleri ve ANOVA Sonuçları

Uyum İstatistikleri							
r^2 _	0,9933						
R_a^2	0,9862						
R_p^2	0,8274						
Yeterli Hassasiyet	54.5019						
Dönüşüm yanıtı değişkeninin indirgenmiş kübik modeli için ANOVA							
Kaynak	Kareler Toplamı	DF	Ortalama Kare	F değeri	P değeri	Durum	
Modeli	101.61	16	6.35	139.14	< 0,0001	Önemli	
A	0,0197	1	0,0197	0,4324	0,5208	Önemsiz	
B	0,2728	1	0,2728	5.98	0,0273	Önemli	
C	36.01	1	36.01	789.03	< 0,0001	Önemli	
D	0,0889	1	0,0889	1.95	0,1831	Önemsiz	
AB	0,1103	1	0,1103	2.42	0,1409	Önemsiz	
AC	0,0016	1	0,0016	0,034	0,8563	Önemsiz	
M.Ö	0,4451	1	0,4451	9.75	0,007	Önemli	
BD	0,387	1	0,387	8.48	0,0107	Önemli	
A ²	29.7	1	29.7	650.72	< 0,0001	Önemli	
B ²	14.08	1	14.08	308.4	< 0,0001	Önemli	
C ²	21.54	1	21.54	471.98	< 0,0001	Önemli	
D ²	4.45	1	4.45	97.44	< 0,0001	Önemli	
A ² C	19.66	1	19.66	430.83	< 0,0001	Önemli	
AB ²	0,3573	1	0,3573	7.83	0,0135	Önemli	
B ³	0,626	1	0,626	13.71	0,0021	Önemli	
D ³	2.02	1	2.02	44.36	< 0,0001	Önemli	
Artık	0,6847	15	0,0456				
Uyum eksikliği	0,6847	8	0,0856			Önemsiz	
Saf Hata	0	7	0				
Kor Toplam	102.3	31					

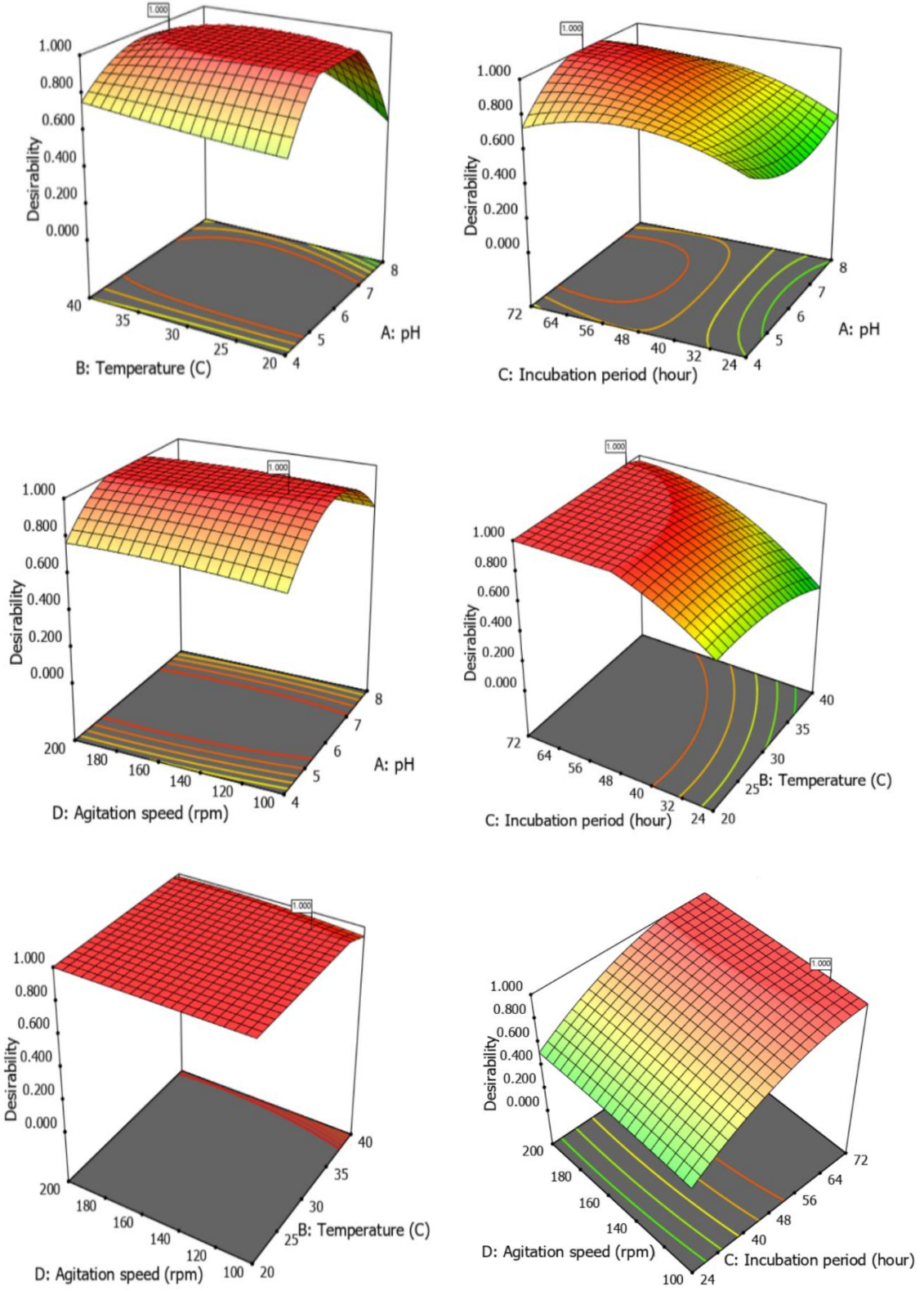
Tahmini regresyon katsayıları, dönüşüm yanıtı için Tablo 13'te gösterilmektedir. VIF değerleri 10'dan küçük olduğu için model için çoklu bağlantı sorunu olmadığı bildirilmektedir (Özdemir & Türköz, 2020). Daha sonra, dönüşümün tahmini yanıt fonksiyonu aşağıdaki gibi gösterilir:

$$\hat{\mu}_c(\mathbf{g}) = 3.18 + 0.05A + 0.18B + 2.12C - 0.11D - 0.08AB + 0.01AC + 0.17BC + 0.16BD - 1.00A^2 - 0.69B^2 - 0.85C^2 - 0.39D^2 - 1.92A^2C - 0.26AB^2 - 0.11B^3 + 0.21D^3$$

Tablo 13: Dönüşüm Yanıtı İçin Kodlanmış Faktörler Açısından Regresyon Katsayıları

Model terimi	Katsayı Tahmini	D F	Standart hata	%95 GA Düşük	%95 GA Yüksek	VİF
Tutmak	3.18	1	0,0755	3.02	3.34	
A	0,0497	1	0,0755	-0,1113	0,2107	3
B	0,1847	1	0,0755	0,0237	0,3457	3
C	2.12	1	0,0755	1.96	2.28	3
D	-0.1054	1	0,0755	-0,2664	0,0556	3
AB	-0,083	1	0,0534	-0.1969	0,0308	1
AC	0,0098	1	0,0534	-0.104	0,1237	1
M.Ö	0,1668	1	0,0534	0,053	0,2806	1
BD	0,1555	1	0,0534	0,0417	0,2694	1
A ²	-1	1	0,0393	-1.09	-0,919	1.0 2
B ²	-0.6903	1	0,0393	-0,7741	-0,6065	1.0 2
C ²	-0,854	1	0,0393	-0,9378	-0,7702	1.0 2
D ²	-0,388	1	0,0393	-0,4718	-0,3042	1.0 2
A ² C	-1.92	1	0,0925	-2.12	-1.72	3
AB ²	-0,2588	1	0,0925	-0,456	-0,0617	3
B ³	-0,1142	1	0,0308	-0,1799	-0,0485	3
D ³	0,2054	1	0,0308	0,1397	0,2711	3

Optimizasyon işlemi kompozit tasarıma dayalı optimizasyon yöntemi ile yapıldığında her bir tasarım faktörü için ideal yanıtları gösteren şekil aşağıda verilmiştir (Şekil 21). Şekil 21'de gösterildiği gibi, pH faktörünün orta seviye civarında olması arzu edilir. Öte yandan, yüksek seviye civarındaki sıcaklık faktörü arzu edilebilirliği en üst düzeye çıkarmak için istenmektedir. Aynı hatlar boyunca, daha yüksek seviyeli inkübasyon süresi faktörü arzu edilebilirlik için idealdir. Öte yandan, daha düşük seviyeli çalkalama hızı faktörü, arzu edilebilirliği en üst düzeye çıkarmak için daha iyi çözümler sağlamaktadır.

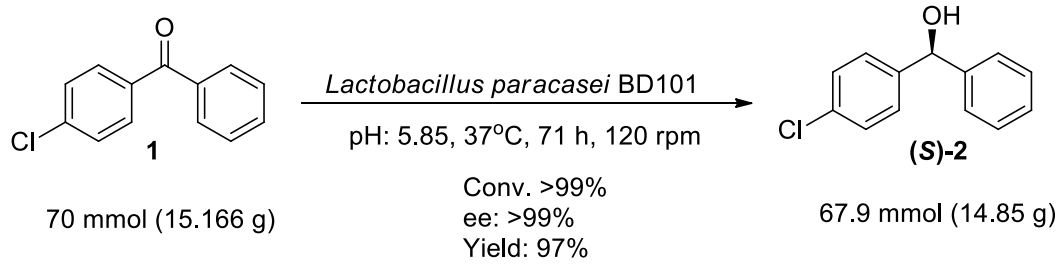


Şekil 21: Çalkalama Hızı, Sıcaklık, PH ve İnkübasyon Süresinin Seçicilik ve Dönüşüm Üzerine Etkisi

ee'nin tahmini yanıt fonksiyonlarını ve dönüşümü maksimize ederken, belirtilen tasarım faktörlerinin optimum koşullarını elde etmek için (21)'deki tasarım tabanlı optimizasyon yöntemi uygulandı. Optimizasyon sonuçları, genel arzu edilebilirliğin 1 olduğunu göstermektedir. Bu sonuç, bir ilaç öncüsü olarak (S)-(4-klorofenil) (fenil)metanolün biyo-katalize edilmiş üretimi için tamamen arzu edilen (ideal) koşulların elde edildiğini göstermektedir. Optimum koşullar şu şekilde sıralanmıştır: A(pH)=5,85, B(sıcaklık)=37 ° C, C (inkübasyon süresi) =71 saat ve D (Karıştırma hızı) =120 rpm. Tahmini ee ve dönüşüm yanıtı fonksiyonları sırasıyla %99, 35 ve %97,36 olarak elde edilmiştir. Daha sonra, ee ve dönüşüm için tahmin edilen sonuçları doğrulamak için yeni optimizasyon modelinden optimum koşullar kullanılarak bir deney yapılmıştır.

Doğrulama deneyinden, ee ve dönüşüm sırasıyla > %99,00 ve > %99,00 bulunmuştur. Bu nedenle, yeni tasarım tabanlı optimizasyon yönteminden elde edilen sonuçlar, doğrulama deneyi ile iyi bir uyum içindedir. Bu durum aynı zamanda yeni optimizasyon modelinin yeteneğini de ortaya koymaktadır.

Maksimum substrat miktarını bir ürüne dönüştürmek için elde edilen optimum koşullar altında çeşitli miktarlarda substratlarla çeşitli deneyler yapılmıştır. Optimize edilmiş koşullar altında 70 mmol (15.166 g) substrat kullanıldığında, Şekil 22'de görüldüğü gibi enantiopür formda > %99 dönüşüm ve %98 verimle (S)-2 14.85 g olarak elde edildi.



Şekil 22: (S)-2'nin Gram Ölçeğinde Sentezi

SONUÇ, TARTIŞMA VE ÖNERİLER

Sonuç

Biaril keton olan (4-Klorofenil) (fenil) metanon'un *Lactobacillus paracasei* BD101 biyokatalizörü eşliğinde asimetrik indirgenmesi gerçekleştirilerek yüksek enantiyosafılıkta ilaç öncüsü olarak kullanılan (S)-2 elde edilmiştir. Tepkimenin optimum koşulları kompozit tasarım tabanlı optimizasyon yöntemi ile başarılı bir şekilde belirlenmiştir. Kompozit tasarım tabanlı optimizasyon yönteminin biyokatalitik tepkimelerin optimum koşullarının tespit edilmesinde iyi çalıştığı gösterilmiştir. Ayrıca bu çalışma *Lactobacillus paracasei* BD101 biyokatalizörün biaril ketonu azaltmak için güçlü bir katalizör işlevi gördüğünü göstermiştir. Diaril ketonların organik sentez tepkimelerinde verimli bir şekilde indirgenmeleri hala önemli zorluklar içermektedir bu durum bu çalışmanın önemini artırmaktadır. Bu çalışmada kullanılan biyokatalizör ve kompozit tasarım tabanlı optimizasyon yaklaşımı, bu alanda önemli bir potansiyel göstermektedir. Enantiyosaf öksürük önleyici ve kusma önleyici özelliklere sahip olan ve bronş kaslarını gevşeten L- kloprastin ve karbinoksamin öncülleri olan (S)-2 etkili ve çevre dostu bir biyokatalitik yöntemle üretildi. Ek olarak, mükemmel bir dönüşüm, ee, verim ve yüksek gram ölçeğinde ürün elde edilmiştir. Yüksek gram ölçeğinde madde elde etmek için yine tasarım tabanlı optimizasyon tekniği kullanıldı. (S)-2'yi etkili bir şekilde sentezlemek için kullanıldığı dikkate alındığında, bu yöntem, farmasötik olarak değerli moleküllerin pratik sentezi için düşük maliyetli bir potansiyel sunmaktadır.

Tartışma

Optikçe aktif sekonder kiral alkollerin ilaç öncüsü olarak kullanılma gibi sanayide önemli kullanım alanları bulunmaktadır. Bu durum bu kimyasalların üretilmesini ve sentez tepkimelerini önemli kılmaktadır. Kiral sekonder alkollerin önemli elde yöntemlerinden biri de asimetrik indirgenme tepkimeleridir. Bu tür tepkimeler kullanılarak biaril ketonların indirgenmesi ile sentezlenebilmektedirler. Asimetrik indirgenme tepkimelerini katalizlenmek için kimyasal katalizörler ile birlikte biyolojik katalizörlerde kullanılabilirler. Biyokatalizörlerin bazı önemli avantajlarının ortaya konulmasından sonra bu tür tepkimelerin katalizlenmesinde biyokatalizörler yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır.

Asimetrik indirgenme tepkimelerinde enantiyosaf maddelerin eldesi izomerlerin farklı fizyolojik etkiler göstermesinden dolayı son derece önemlidir. Ee, dönüşüm ve tepkime veriminin artırılabilmesi için tepkime koşullarının optimizasyonu çok önemlidir. Sunulan yöntemin ve biyokatalizörün endüstriyel uygulanabilirliği önemlidir. Bu nedenle önerilen

yöntemin endüstriyel uygulanabilirliğini ve biyokatalizörü optimize edilmiş koşullar altında büyük miktarda substrat ürüne dönüştürülmelidir. Substrat konsantrasyonunun seçiciliği, dönüşümü ve ee' yi etkilediği literatürden incelenmiştir (Salvi & Chattopadhyay, 2016).

Bu tez çalışmasında bir ilaç olarak (S)-(4- klorofenil) (fenil)metanolün biyokatalizör eşliğinde sentezi gerçekleştirilmiştir. Biyokatalizör olarak. *Lactobacillus paracasei* BD101 bakterisi kullanılmıştır. Reaksiyon koşullarının optimizasyonu için tasarım tabanlı optimizasyon yöntemi kullanılarak (S)-2'nin elde tepkimesinde optimum koşullar şu şekilde sıralanmıştır: A(pH)=5,85, B(sıcaklık)=37 ° C, C (inkübasyon süresi) =71 saat ve D (ajitasyon hızı) =120 rpm. Tahmini ee ve dönüşüm yanıtı fonksiyonları sırasıyla %99, 35 ve %97,36 olarak elde edilmiştir. Daha sonra, ee ve dönüşüm için tahmin edilen sonuçları doğrulamak için yeni optimizasyon modelinden optimum koşullar kullanılarak bir deney yapılmıştır. Doğrulama deneyinden, ee ve dönüşüm sırasıyla > %99,00 ve > %99,00 olarak elde edildi. Elde edilen sonuçlardan tasarım tabanlı optimizasyon yöntemi ile tahmini olarak edilen dönüşüm ve ee oranı ile uyumlu olduğu görülmüştür.

Lactobacillus paracasei BD101 tarafından (S)-(4-klorofenil) (fenil)metanolün gram ölçekli üretimi gerçekleştirilerek optimum koşullar altında 70 mmol (15.166 g) substrat kullanılarak şekil 22 'de verilen sentez tepkimesine göre enantiyosaf olarak > %99 ee, dönüşüm oranının da ve>%98 verimle (S)-2 14.85 g olarak elde edilmiştir. Substrat miktarı 70mmol'den fazla olduğunda, substratın hem seçiciliği hem de dönüşümü azalmıştır. Örneğin, substrat miktarı 80 mmol olduğunda, reaksiyon dönüşüm değeri ve ürün ee değeri sırasıyla %77 ve %79 olarak bulunmuştur. Bunun nedeni, substrat toksisitesi ve azalmış biyokatalizör aktivitesidir (Şahin, 2018).

Öneriler

Optimizasyon koşulları kompozit tasarım tabanlı optimizasyon yöntemi ile belirlenerek bir biyokatalizör olan (4-Klorofenil) (fenil) metanolün *Lactobacillus paracasei* BD101 biyokatalizörü ile asimetrik indirgenmesi sağlanarak enantiyopure öksürük önleyici ve kusma önleyici özelliklere sahip olan ve bronş kaslarını gevşeten L- kloprastin ve karbinoksamin öncülleri olan (S)-(4- klorofenil) (fenil)metanolün enantiyosaf olarak eldesi gerçekleştirilmiştir. Asimetrik indirgenme tepkimelerinde optimum koşulların belirlenmesinde kompozit tasarım tabanlı optimizasyon yönteminin kullanılabileceği başarılı bir şekilde gösterilmiştir. Aynı zaman da ilaç öncüsü olan 1'in *Lactobacillus paracasei* BD101 bakterisi eşliğinde indirgenmesi başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiştir.

Asimetrik sekonder kiral alkollerin ilaç öncüsü olarak kullanılabildikleri göz önüne alındığında *Lactobacillus paracasei* BD101 biyokatalizörü eşliğinde farklı biaril ketonların biyokatalitik indirgenmesi yapılabilir. Kompozit tasarım tabanlı optimizasyon yönteminin optimum koşulları belirlemede ki başarısı ortaya konulduğundan bu yöntem ile farklı değerli maddelerin tepkime koşullarının optimize edilmesinde kullanılabilir. İlaç öncüsü olan (S)-2'nin üretimi bu sentez yöntemi ile endüstriyel ölçekte yapılabilir. Biaril ketonların indirgenme tepkimelerinde kimyasal katalizörler yerine çevre dostu olan ve daha ekonomik bir sentez sunan *Lactobacillus paracasei* BD101 biyokatalizörü kullanılabilir.



KAYNAKÇA

- Adlercreutz, P. (1991). Asymmetric reduction of ketones with enzymes from acetic acid bacteria. *Biotechnology Letters*, 13(4), 229-234.
- Andrade, L. H., Utsunomiya, R. S., Omori, A. T., Porto, A. L., & Comasseto, J. V. (2006). Edible catalysts for clean chemical reactions: Bioreduction of aromatic ketones and biooxidation of secondary alcohols using plants. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 38(2), 84-90.
- Asymmetry, 17(13), 2000-2005.
- Atkins, R., Brfwer, G., Kokto, E., Mockler, G. M., & Sinn, E. (1985). *Inorganic Chemistry*
- Bin Halmi, M. I. E., Abdullah, S. R. S., Wasoh, H., Johari, W. L. W., bin Mohd Ali, M. S., Shaharuddin, N. A., & Shukor, M. Y. (2016). Optimization and maximization of hexavalent molybdenum reduction to Mo-blue by *Serratia* sp. strain MIE2 using response surface methodology. *Rendiconti Lincei*, 27(4), 697-709.
- Braga, A. L., Paixao, M. W., Westermann B., Schneider P. H., & Wessjohann L. A. (2008) Acceleration of arylzinc formation and its enantioselective addition to aldehydes by microwave irradiation and aziridine-2-methanol catalysts, *Journal Organic Chemistry* 73, 2879-2882.
- Brondani, P. B., Guilimoto, N. M. A. F., Dudek, H. M., & Fraaije M. W. (2012). Chemoenzymatic approaches to obtain chiral-centered selenium compounds *Tetrahedron*, 68, 10431–10436.
- Çolak, N. S., Şahin, E., Dertli, E., Yılmaz, M. T., & Taylan, O. (2019). Response surface methodology as optimization strategy for asymmetric bioreduction of acetophenone using whole cell of *Lactobacillus senmaizukei*. *Preparative Biochemistry & Biotechnology*, 49(9), 884-890.
- Dertli E., Mercan E., M. Arıcı, Yılmaz M. T., & Sagdic O. (2016). Characterisation of lactic acid bacteria from Turkish sourdough and determination of their exopolysaccharide (EPS) production characteristics, *LWT Food Sci Technol.* 71,116–124.
- Devalia J. L., De Vos C., Hanotte F., & Baltes E. A. (2001). Arandomized, double-blind, crossover comparison among cetirizine, levocetirizine, and ucb 28557 on histamine-induced cutaneous responses in healthy adult volunteers, *Allergy* 56, 50-57.
- Gelo-Pujic, M., Le Guyader, F., & Schlama, T. (2006). Microbial and homogenous asymmetric catalysis in the reduction of 1- [3, 5-bis (trifluoromethyl) phenyl] ethanone. *Tetrahedron* 13, 2000-2005.
- Ghanem, A. & Aboul-Enein, H. Y. (2004). Lipase-Mediated Chiral Resolution of Racemates In Organic Solvents. *Tetrahedron: Asymmetry*, 15, 3331-3351.
- Goretti, M., Branda, E., Turchetti, B., Cramarossa, M. R., Onofri, A., Forti, L., & Buzzini, P. (2012). Response surface methodology as optimization strategy for asymmetric bioreduction of (4S)- (+)-carvone by *Cryptococcus gastricus*. *Bioresource Technology*, 121, 290-297.
- Habulin, M. & Knez Z. (2009). Optimization of (R, S)-1-phenylethanol kinetic resolution over *Candida antarctica* lipase B in ionic liquids, *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic* 58, 24-28.

- Hatzakis, N. S. & Smonou, I. (2005). Asymmetric transesterification of secondary alcohols catalyzed by feruloyl esterase from *Humicola insolens*. *Bioorganic Chemistry*, 33(4), 325-337.
- Hepworth L. J., France S. P., Hussain S., Both P., Turner N. J. & Flitsch S.L. (2017). Enzyme cascades in whole cells for the synthesis of chiral cyclic amines, *ACS Catalysis*. 7, 2920-2925.
- Homann, M. J., Vail, R. B., Previte, E., Tamarez, M., Morgan, B., Dodds, D. R., & Zaks, A. (2004). Rapid identification of Enantioselective Ketone Reductions Using Targeted Microbial Libraries. *Tetrahedron*, 60(3), 789-797.
- Hutt AJ. (2002). The development of single-isomer molecules: why and how. *CNS Spectrums*. (suppl 1):14-22.
- Kabasakal, Z. (1991). Bifunctional 2-Aminodamap/Thiourea Catalysis Enantioselective Michael Addition of A Thioacetic Acid to Trans-BetaNitrostyrenes, 2013.
Porter, W.H., *Pure Appl. Chem.*, 63, 1119
- Karadeniz, F. (2007). Rasemik 1-fenil-1-propanolün Lipaz Katalizli Enantioseçimli Esterleşme Tepkimesiyle Kinetik Resolüsyonu, Ankara Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi (Tez No. 233033)
- Karthikeyan J., Jeganmohan M., & Cheng C.H. (2010). Cobalt-catalyzed addition reaction of organoboronic acids with aldehydes: highly enantioselective synthesis of diarylmethanols, *Chemistry Europe* 16, 8989-8992.
- Kazici, H. C., Bayraktar, E., & Mehmetoğlu, Ü. (2016). Optimization of the asymmetric synthesis of chiral aromatic alcohol using freeze-dried carrots as whole-cell biocatalysts. *Green Processing and Synthesis*, 5(2), 131-137.
- Kim J. G., & Walsh P. J. (2006). From aryl bromides to enantioenriched benzylic alcohols in a single flask: catalytic asymmetric arylation of aldehydes, *Angewente. Chemie* 118, 41 75-4178
- Klaholz B. P., Mitschler A., & Moras D. (2000). Structural basis for isotype selectivity of the human retinoic acid nuclear receptor, *Journal of Molecular Biology* 302 ,155-170
- Kumaraswamy, G. & Ramesh, S. (2003). Soaked *Phaseolus aureus* L: an efficient biocatalyst for asymmetric reduction of prochiral aromatic ketones. *Green chemistry*, 5(3), 306-308.
- Kurbanoğlu, E. B., Zilbeyaz, K., Kurbanoğlu, N. I., & Taskin, M. (2007). Highly enantioselective reduction of acetophenone by locally isolated *Alternaria alternata* using ram horn peptone. *Tetrahedron: Asymmetry*, 18(13), 1529-1532.
- Lavandera I., Kern A., Ferreira-Silva B., Glieder A., Wildeman S.de & Kroutil W., (2008). Stereoselective bioreduction of bulky-bulky ketones by a novel ADH from *Ralstonia* sp., *Journal of Organic Chemistry* 73, 6003-6005
- Lee J., Oh Y., Choi Y. K., Choi E., Kim K., Park J., & Kim M. J. (2015). Dynamic kinetic resolution of diarylmethanols with an activated lipoprotein lipase, *ACS Catalysis* 5,683- 689.
- Li H., Zhu D., Hua L., & Biehl E. R. (2009). Enantioselective reduction of diaryl ketones catalyzed by a carbonyl reductase from *Sporobolomyces salmonicolor* and its mutant enzymes, *Adv. Synthesis Catalysis* 351, 583.

- Llona-Minguez, S., Ghassemian, A., & Helleday, T. (2015). Lysophosphatidic acid receptor (LPA) modulators: the current pharmacological toolbox, *Progress Lipid Research* 58 51–75.
- Lou, W., Wang, W., Smith, T. J., & Zong, M. (2009). Biocatalytic anti-Prelog stereoselective reduction of 4'-methoxyacetophenone to (R)-1-(4-methoxyphenyl) ethanol with immobilized *Trigonopsis variabilis* AS2.1611 cells using an ionic liquid-containing medium, *Green Chemistry* 11,1377–1384.
- MacLellan, P., & Clayden J. (2011). Enantioselective synthesis of tertiary thiols by intramolecular arylation of lithiated thiocarbamates, *Chem. Commun. (Camb.)* 47, 3395–3397.
- Maćzka, W. K., & Mironowicz, A. (2004). Enantioselective reduction of bromo- and methoxyacetophenone derivatives using carrot and celeriac enzymatic system. *Tetrahedron: Asymmetry*, 15(13), 1965–1967.
- Magnus N. A., Anzeveno P. B., Coffey D.S., Hay D. A., Laurila M.E., Schkeryantz J. M., Shaw B.W., & Staszak M.A, (2007). Optimized catalytic enantioselective aryl transfer process gives access to mGlu2 receptor potentiators, *Organic Process. Research Development* 11, 560–567
- Mandal D., Ahmad A., Khan M.I., & Kumar R. (2004). Enantioselective bioreduction of acetophenone and its analogous by the fungus *Trichothecium* sp., *Molecular Catalysis B: Enzymatic* 27, 61–63
- Moore J. C., Pollard D. J., Kosjek B., & Devine P. N. (2007). Advances in the enzymatic reduction of ketones, *Accounts of Chemical Research* 40, 1412–1419
- Muñoz Solano D., Hoyos P., Hernáiz M. J., Alcántara A. R., & Sánchez-Montero J. M. (2012). Industrial biotransformations in the synthesis of building blocks leading to enantiopure drugs, *Bioresouce Technology* 115,196–207
- Özdemir A., & Cho B. R. (2016). A nonlinear integer programming approach to solving the robust parameter design optimization problem, *Quality and Reliability Engineering International* 32, 2859–2870
- Özdemir A., & Türköz M. (2020). Development of a D-optimal design-based 0–1 mixed-integer nonlinear robust parameter design optimization model for finding optimum design factor level settings, *Computers & Industrial Engineering* 149, 106742.
- Patel, R. N., Goswami, A., Chu, L., Donovan, M. J., Nanduri, V., Goldberg, S., & Mueller, R. (2004). Enantioselective microbial reduction of substituted acetophenones. *Tetrahedron: Asymmetry*, 15(8), 1247–1258.
- Ranjan P., Pandey A., & Binod P. (2017). Resolution of enantiopure (S)-1-(1-naphthyl) ethanol from racemic mixture by a novel *Bacillus cereus* isolate, *Journal Basic Microbiology* 57,762–769.
- Salvi, N. A., Patil, P. N., Udupa, S. R., & Banerji A. (1995). Biotransformations with *Rhizopus arrhizus*: Preparation of the enantiomers of 1-phenylethanol and 1- (o-, m- and p-methoxyphenyl) ethanols. *Tetrahedron: Asymmetry*, 6(9), 2287–2290
- Salvi N. A., & Chattopadhyay S. (2001). Studies on *Rhizopus arrhizus* mediated enantioselective reduction of arylalkanones, *Tetrahedron*. 57, 2833–2839
- Salvi N. A., & Chattopadhyay S. (2016). Laboratory scale-up synthesis of chiral carbinols using *Rhizopus arrhizus*, *Tetrahedron: Asymmetry* 27,188–192.

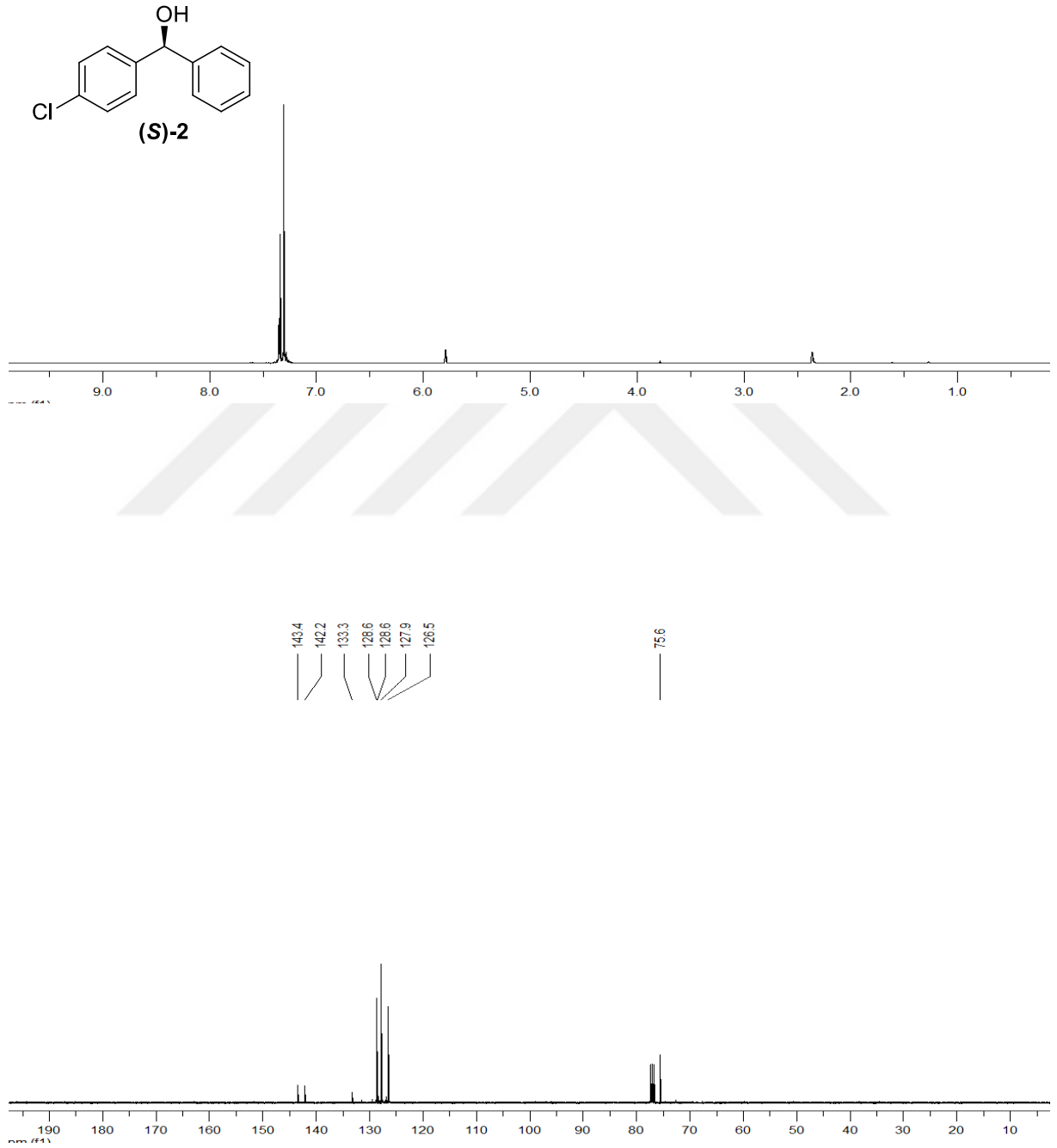
- Schmidt, F., Stemmler, R. T., Rudolph, J., & Bolm, C. (2006). Catalytic asymmetric Approaches towards enantiomerically enriched diarylmethanols and diarylmethylamines, *Chemical Society Reviews* 35, 454-470.
- Sheldon R. A., & Woodley J. M. (2017). Role of biocatalysis in sustainable chemistry, *Chemical Reviews* 118, 801-838.
- Soyer, A., Bayraktar, E., & Mehmetoglu, Ü. (2010). Optimization of lipase-catalyzed enantioselective production of 1-phenyl 1-propanol using response surface methodology. *Preparative biochemistry & biotechnology*, 40(4), 389-404.
- Şahin E. (2018). Production of (R)-1-(1, 3-benzodioxol-5-yl) ethanol in high enantiomeric purity by *Lactobacillus paracasei* BD 101, *Chirality* 30, 189-194.
- Şahin E., Serencam H., & Dertli E. (2019). Production of enantiomerically pure (S)-phenyl (pyridin-2-yl) methanol with *Lactobacillus paracasei* BD101. *Biocatal. Biotransformation* 37, 448-454.
- Şahin E. (2020). *Candida zeylanoides* as whole-cell biocatalyst to perform asymmetric bioreduction of benzophenone derivatives, *Synthetic Communications* 50, 612-619.
- Takemoto M., & Tanaka K. (2001). Synthesis of optically active α -phenylpyridylmethanols by *Camellia sinensis* cell culture, *Molecular Catalysis B: Enzymatic* 15, 173-176
- Thomas S. M., Dicosimo R., & Nagarajan V. (2002). Biocatalysis: applications and potentials for the chemical industry, *Trends Biotechnology* 20, 238-242.
- Trost B., & M., Bartlett M. J. (2015). ProPhenol-catalyzed asymmetric additions by spontaneously assembled dinuclear main group metal complexes, *Accounts of Chemical Research* 48, 688–701.
- Truppo M. D., Pollard D., & Devine P. (2007). Enzyme-catalyzed enantioselective diaryl ketone reductions., *Organic Letters* 9, 335-338.
- Utsukihara, T., Misumi, O., Kato, N., Kuroiwa, T., & Horiuchi, C. A. (2006). Reduction of various ketones by red algae. *Tetrahedron: Asymmetry*, 17(8), 1179-1185.
- Vitale P., Perna F. M., Agrimi G., Pisano I., Mirizzi F., Capobianco R. V., & Capriati V. (2018). Whole-cell biocatalyst for chemoenzymatic total synthesis of rivastigmine, *Catalysts* 8,55
- Wanda, K. M., & Agnieszka, M. (2004). Enantio Selective Reduction of Bromo- and Methoxy Acetophenone Derivatives Using Carrot and Celeriac Enzymatic System, *Tetrahedron Asymmetry*, Cilt 15, No 13, 1965–1967.
- Wang Y., Dai W., Liu Y., Zhang Z., Zhou J., Xu G., & Ni Y. (2018). Fine tuning the enantioselectivity and substrate specificity of alcohol dehydrogenase from *Kluyveromyces polysporus* by single residue at 237, *Catalysis Communications* 108, 1-6.
- Wei, P., Liang, J., Cheng, J., Zong, M., & Lou, W. (2016). Markedly improving asymmetric oxidation of 1-(4-methoxyphenyl) ethanol with *Acetobacter* sp.CCTCC M209061 cells by adding deep eutectic solvent in a two-phase system, *Microbial Cell Factories* 15, 1–11.
- Welch C. J., Grau B., Moore J., & Mathre D. (2001). Use of chiral HPLC-MS for rapid evaluation of the yeast-mediated enantioselective bioreduction of a diaryl ketone, *J. Organic Chemistry* 66, 6836-6837.

- Wendhausen Jr, R., Moran, P. J., Joekes, I., & Rodrigues, J. A. R. (1998). Continuous process for large-scale preparation of chiral alcohols with baker's yeast immobilized on chrysotile fibers. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 5(1-4), 69-73.
- Yang, W., Xu, J. H., Xie, Y., Xu, Y., Zhao, G., & Lin, G. Q. (2006). Asymmetric reduction of ketones by employing *Rhodotorula* sp. AS2. 2241 and synthesis of the β -blocker (R)-nifenalol. *Tetrahedron: asymmetry*, 17(12), 1769-1774.
- Zhu D., & Hua L. (2006). Enantioselective enzymatic reductions of sterically bulky aryl alkyl ketones catalyzed by a NADPH-dependent carbonyl reductase, *Organic Chemistry* 71, 9484

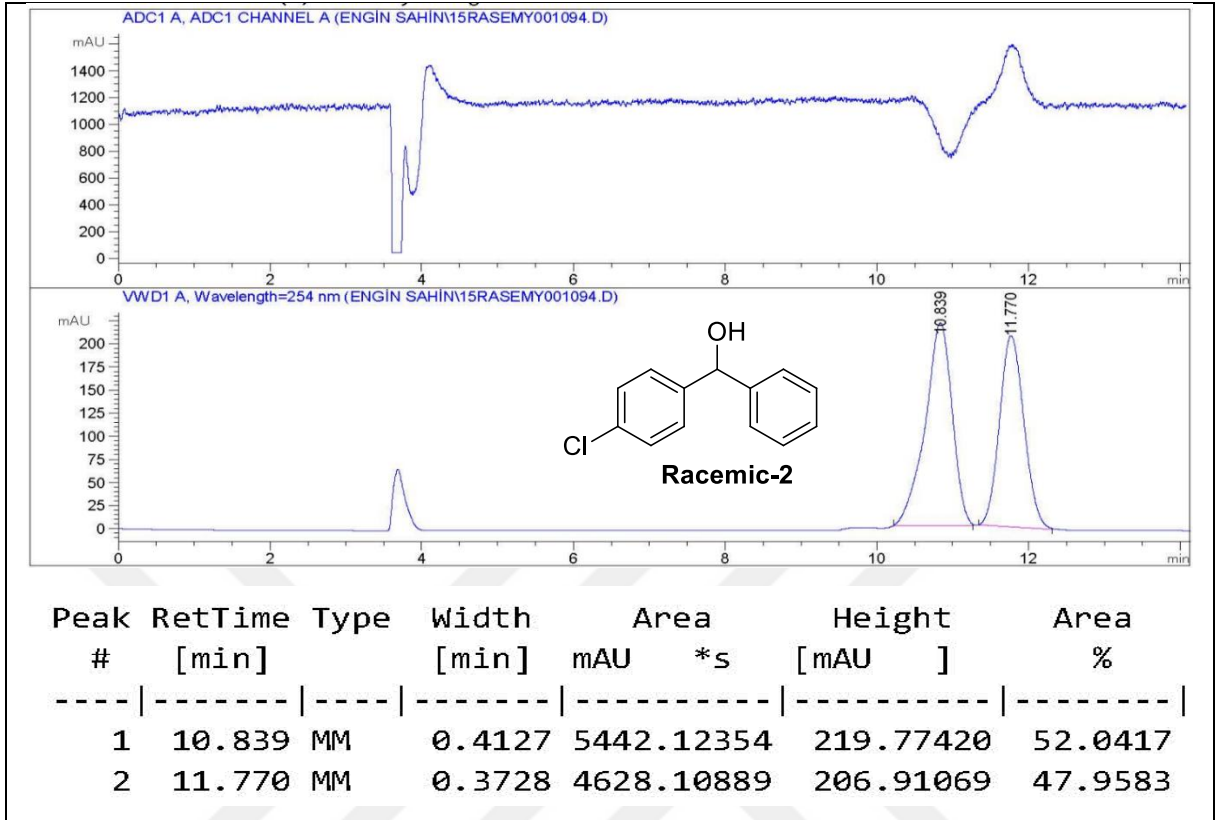


EKLER

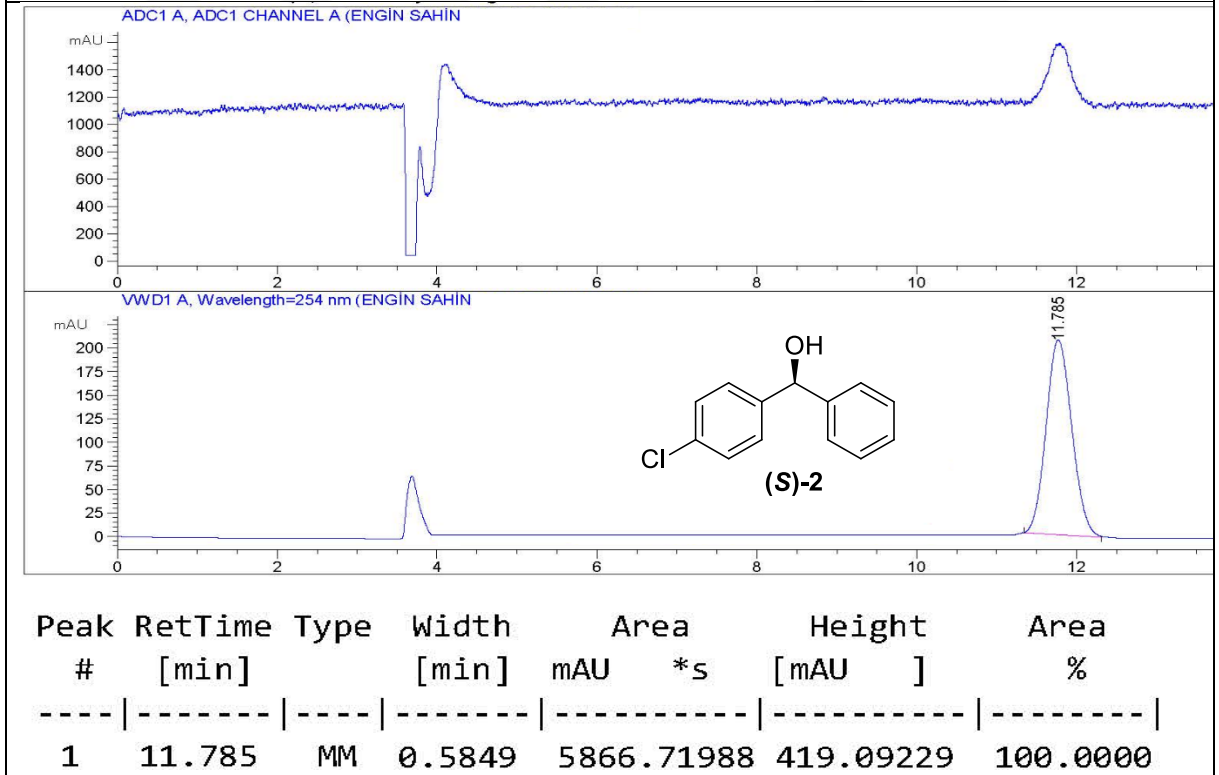
Ek 1: (S)-2 Bileşiğinin ¹H ve ¹³C-NMR Spektrumu



Ek 2: Bileşik 1, Bileşik (S)-2 ve Rasemik (S)-2'nin HPLC Kromatogramı

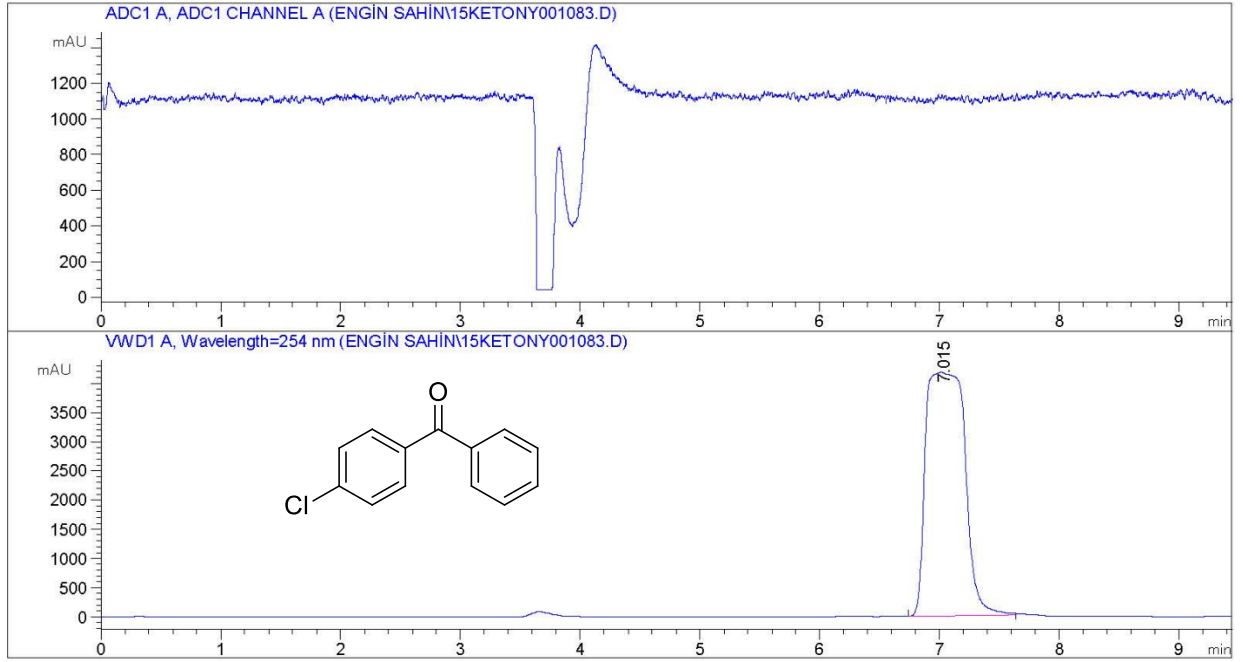


Rasemik(S)-2 'nin HPLC Kromatogramı



Bileşik (S)-2'nin HPLC Kromatogramı

Ek 2: Bileşik 1, Bileşik (S)-2 ve Rasemik (S)-2'nin HPLC Kromatogramı



Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area mAU *s	Height [mAU]	Area %
1	7.015	MM	0.3771	9.45467e4	4178.77344	100.0000

Bileşik 1'in HPLC Kromatogramı

ÖZ GEÇMİŞ

doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimimi Gümüşhane’de tamamladı. 2009 yılında Yüzüncü Yıl Üniversitesi Eğitim Fakültesi Kimya Öğretmenliği Bölümünden mezun oldu. 2011 yılında Rekabet Kurumu Kız Anadolu Lisesine Kimya Öğretmeni olarak atandı ve halen aynı kurumda çalışmaya devam etmektedir.