

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

İLAÇ OLABİLECEK AKTİF ORGANİK MOLEKÜLLERİN SENTEZİ



SALİH TUNCAY

**DOKTORA TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI
ORGANİK KİMYA PROGRAMI**

**DANIŞMAN
PROF. DR. NÜKET ÖCAL**

İSTANBUL, 2018

T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

İLAÇ OLABİLECEK AKTİF ORGANİK MOLEKÜLLERİN SENTEZİ

Salih TUNCAY tarafından hazırlanan tez çalışması 21.06.2018 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı'nda **DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Nüket ÖCAL
Yıldız Teknik Üniversitesi

Eş Danışman

Prof. Dr. Gülaçtı TOPÇU
Bezmialem Vakıf Üniversitesi



Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Nüket ÖCAL
Yıldız Teknik Üniversitesi



Prof. Dr. Turan Öztürk
İstanbul Teknik Üniversitesi



Prof. Dr. Zuhâl TURGUT
Yıldız Teknik Üniversitesi



Prof. Dr. Safiye SAĞ ERDEM
Marmara Üniversitesi



Prof. Dr. Feray AYDOĞAN
Yıldız Teknik Üniversitesi





Bu alışma, TÜBİTAK-BİDEB 2211-Yurt İçi Lisansüstü Burs Programı ve Nükleer Faktör Kappa-B İnhibisyon Etkili Triterpenlerin Sentezi ve İlaç Olma Potansiyellerinin Araştırılması isimli TÜBİTAK 113Z694 Proje Numaralı Araştırma Projesi kapsamında desteklenmiştir.

ÖNSÖZ

Bu tez çalışmasının hazırlanmasında bilgi ve tecrübesiyle bana yol gösteren çalışmamın tüm aşamalarında benimle yakından ilgilenen en kısıtlı ve yoğun zamanlarında bile benden yardım ve desteğini hiç esirgemeyen her detayla sabır ve titizlikle ilgilenen çok değerli hocam Sayın Prof. Dr. Nüket Öcal' a en içten duygularım ile sonsuz saygı, sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım sırasında beni yüksek sabır ve sevgiyle karşılayan yoğunluğu arasında çok değerli vakitlerini bana ayıran ve her ihtiyaç duyduğunda bilgi ve tecrübesine başvurduğum çok değerli hocam Sayın Prof. Dr. Gülaçtı TOPÇU' ya sonsuz saygı, sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım sırasında değerli bilgi ve görüşlerine başvurduğum bana sürekli farklı bakış açıları sunan en önemlisi etik tavırlarıyla akademik hayatımın oluşmasında bana yol gösteren ve önümde parlayan bir ışık olan çok değerli hocam Sayın Prof. Dr. Hasan SEÇEN' e sonsuz saygı ve sevgilerimle teşekkürlerimi sunarım.

Doktora çalışmalarım süresince vermiş olduğu destekten ve de sürekli olarak bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım Doç. Dr. Atilla AKDEMİR' e sonsuz saygı ve sevgilerimle teşekkürlerimi sunarım.

Laboratuvar çalışmalarım esnasında gerek tez yazım aşamasında gerekse reaksiyon ve analizlerinde bana yardımcı olan ve desteğini hep yanımda hissettiğim Dr. Ömer Tahir GÜNKARA'ya teşekkür ederim.

Laboratuvar çalışmalarım sırasında bana yardımcı olan Burcu BÜTÜN'e, Halil ŞENOL'a ve Müge GÜLELİ'ye teşekkür ederim.

Akademik çalışmalarım boyunca uzun yıllar ayrı kaldığım "hasret ve özlemle göstermiş oldukları anlayış ve destekle bana her an yanımda olduklarını hissettiren" sevgili annem Gülreyhan TUNCAY'a, kardeşlerim Yusuf TUNCAY'a, Ahmet TUNCAY'a, Hatice ÖZDEMİR'e ve ailemin tüm fertlerine sonsuz teşekkürlerimi ve şükranlarımı sunarım.

Eğitim ve akademik hayatımda beni sürekli olarak cesaretlendiren yaşadığım her sıkıntılı zamanlarda hep yanımda olan sevgili eşim Demet TUNCAY'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Doktora eğitimim süresince 2211/A-Yurt İçi Genel Doktora Burs Programı ile maddi destek sağlayan TÜBİTAK Bilim İnsanı Destekleme Daire Başkanlığına desteklerinden dolayı teşekkür ederim.

Haziran, 2018

Salih TUNCAY

İÇİNDEKİLER

Sayfa

SİMGE LİSTESİ.....	ix
KISALTMA LİSTESİ.....	x
ŞEKİL LİSTESİ.....	xi
ÇİZELGE LİSTESİ	xv
ÖZET	xvi
ABSTRACT.....	xviii
BÖLÜM 1	
GİRİŞ.....	1
1.1 Literatür Özeti	2
1.2 Tezin Amacı	3
1.3 Hipotez	4
BÖLÜM 2	
TERPENLERİN YAPI ve BİYOSENTEZİ.....	7
2.1 Triterpenlerin Biyosentezi	7
2.2 Sekonder Metabolit Olan; Terpenler	11
2.2.1 Monoterpenler	12
2.2.1.1 Asiklik Monoterpenler	12
2.2.1.2 Monosiklik Monoterpenler.....	14
2.2.1.3 Bisiklik Monoterpenler	15
2.2.2 Seskiterpenler	16
2.2.3 Diterpenler.....	17
2.2.3.1 Asiklik Diterpenler.....	19
2.2.3.2 Monosiklik Diterpenler	20
2.2.3.3 Bisiklik Diterpenler.....	20
2.2.3.4 Disiklik Diterpenler	21
2.2.3.5 Trisiklik Diterpenler.....	22
2.2.3.6 Tetrasiklik Diterpenler	24
2.2.4 Triterpenler.....	25
2.2.4.1 Tetrasiklik Triterpenler	26
2.2.4.2 Pentasiklik Triterpenler.....	26
2.2.5 Tetraterpenler	27
BÖLÜM 3	

TRİTERPENOIDLER ve OLEANOLİK ASİT	28
3.1 Triterpenoidler	28
3.2 Oleanolik Asit (Oleanan Grup)	28
3.2.1 Oleanolik Asit ve Türevlerinin İzolasyon Çalışmaları	29
3.2.2 Oleanolik Asit ve Türevlerinin Biyolojik Aktiviteleri	38
3.2.2.1 Anti-tümör/Anti-kanser Etkileri	39
3.2.2.2 Anti-diyabetik Aktivite	40
3.2.2.3 Antimikrobiyal Aktivite	40
3.2.2.4 Hepatoprotektif Aktivite	41
3.2.2.5 Antioksidan Aktivite	43
3.2.2.6 Anti-inflamatuvar Aktivite	43
3.2.3 Oleanolik Asit ve Türevlerinin Sentez Çalışmaları	44
3.2.4 Oleanolik Asidin Nanopartikül Uygulamaları	48
3.2.4.1 Nanosüspansiyon	48
3.2.4.2 Nanokapsüller	49
3.2.4.3 Lipozomlar	50
BÖLÜM 4	
DENEYSEL ÇALIŞMA ve BULGULAR	51
4.1 Materyal ve Yöntem	51
4.1.1 Kullanılan Cihaz ve Yardımcı Gereçler	51
4.1.2 Kullanılan Kimyasallar	52
4.1.3 Susuz THF' nin Hazırlanması	53
4.1.4 Susuz Trietilamin Hazırlanması	53
4.1.5 Schlenk Sistemi	53
4.2 Bilgisayar Destekli Doking Çalışmaları	53
4.2.1 NFκB/IκBα Kompleksinin Triterpenler İçin Hedef Protein Olarak Araştırılması	55
4.2.2 IKK2'nin Triterpenler İçin Hedef Protein Olarak Araştırılması	57
4.3 Doking Çalışmaları ve Analizi	58
4.4 Sentez Basamakları	61
4.4.1 Oleanolik Asidin Esterleşme Reaksiyonu	65
4.4.2 3β-Hidroksiolean-12-en-28-oik asit metil ester (58) ve 3β-Metoksiolean-12-en-28-oik asit metil ester (107)' nin Sentezi	66
4.4.3 Bileşik 58 'in Spektroskopik Analiz Verileri	67
4.4.4 Bileşik 107 ' nin Spektroskopik Analiz Verileri	72
4.4.5 Oleanolik Asidin MOMBr (Momlama) ve TBDMSiCl (Sililleme) ile reaksiyonu	76
4.4.5.1 3β-(Hidroksi)-olean-12-en-28- metoksimetil ester (135)' in Sentezi	76
4.4.5.2 Bileşik 135 ' in Spektroskopik Analiz Verileri	77
4.4.5.3 3β-(Hidroksi)-olean-12-en-28- tert-butil-dimetil silil ester (136)'in Sentezi	81
4.4.5.4 Bileşik 136 ' nın Spektroskopik Analiz Verileri	82
4.4.6 3β-(Metoksimetoksi)-olean-12-en-28-oik asit metil ester (108)' in Sentezi	86

4.4.7	Bileşik 108' in Spektroskopik Analiz Verileri	87
4.4.8	Eritrodiol (7')'ün Sentez Çalışmaları.....	91
4.4.9	Eritrodiol (7')'nin Spektroskopik Analiz Verileri.....	92
4.4.10	3 β -Metil Eter Eritrodiol (110')'un Sentezi	95
4.4.11	Bileşik 110' un Spektroskopik Analiz Verileri.....	95
4.4.12	Eritrodiol Türevlerinin Hazırlanması	100
4.4.13	3 β -Metoksiolean-12-en-28-ol metan sülfonat (111')' in Sentezi ...	100
4.4.14	Bileşik (111')'in Spektroskopik Analiz Verileri.....	101
4.4.15	3 β -Metoksiolean-12-en-28-bromür (112')'ün Sentezi	106
4.4.16	Bileşik 112' nin Spektroskopik Analiz Verileri	106
4.4.17	3 β -Metoksiolean-12-en-28, <i>p</i> -nitrobenzoat (114')' in Sentezi	112
4.4.18	Bileşik 114' ün Spektroskopik Analiz Verileri.....	112
4.4.19	Eritrodiol 3,28-dimetil eter (115')' in Reaksiyonu	117
4.4.20	Bileşik 115' in Spektroskopik Analiz Verileri	117
4.4.21	Eritrodiol 3,28-dimesilat (137')'in Sentezi	121
4.4.22	Bileşik 137' nin Spektroskopik Analiz Verileri.....	121
4.4.23	Eritrodiol 3,28-diasetat (138')'in Sentezi	125
4.4.24	Bileşik 138' in Spektroskopik Analiz Verileri	125
4.4.25	3- <i>O</i> -Metil eter β -amirin (116')' in Sentezi	129
4.4.26	Bileşik 116' nın Spektroskopik Analiz Verileri	129
4.4.27	β -Amirinin Kısa ve Etkili Sentezi	133
4.4.28	3 β -Hidroksi olean-12-en,28-bromür (113')'ün Sentezi.....	134
4.4.29	Bileşik 113' ün Spektroskopik Analiz Verileri	135
4.4.30	β -Amirin (3')' in Sentezi.....	139
4.4.31	β -Amirin (3')'in Spektroskopik Analiz Verileri	140
4.4.32	Oleanan Türevlerinin Sentezi	143
4.4.33	3-Okso, olean-12-en, 28-metil ester (117')' in Sentezi	143
4.4.34	Bileşik 117' nin Spektroskopik Analiz Verileri	144
4.4.35	3-Okso, olean-12-en, 28-metil ester (117')'in α -Selenleme Reaksiyonu.....	147
4.4.36	α,β -Doymamış Oleanolik Asit Türevi "3-Okso, olean-1,12-dien, 28-metil ester" (118')'in Sentezi.....	149
4.4.37	Bileşik 118' in Spektroskopik Analiz Verileri	149
4.4.38	3-Okso-1,2-epoksi, olean 12-en metil ester (119')' in Sentezi.....	153
4.4.39	Bileşik 119' un Spektroskopik Analiz Verileri	154
4.4.40	1-2,Dihidroksi-3-okso, olean-12-en metil esterleri (140) ve (141')'in Sentezi.....	161
4.4.41	3,11-Dihidroksi, olean 1,12-dien 28-metil ester (134')'in Sentez Tasarımı.....	164
4.4.42	3,11-Diokso, olean-12-en-28-metil esterleri Bileşik 142' nin Sentezi.....	164
4.4.43	Bileşik 142' nin Spektroskopik Analiz Verileri	165
4.4.44	Bileşik 143' ün Spektroskopik Analiz Verileri	169
4.4.45	11-Hidroksi, olean-12-en, 28-metil ester Bileşik 134' ün Sentezi ..	171
4.4.46	Bileşik 134' ün Spektroskopik Analiz Verileri	171
4.5	Biyolojik Aktivite Çalışmaları	174

4.5.1	Kimyasallar ve Reaktifler	174
4.5.2	Hücre Kültürü	174
4.5.3	Sitotoksik Aktivite Çalışması	174
4.5.4	Aktivite Sonuçları.....	175
BÖLÜM 5		
SONUÇ VE ÖNERİLER		179
5.1	β -Amirin'in Sentezi	182
KAYNAKLAR		184
ÖZGEÇMİŞ		194



SİMGE LİSTESİ

°C	Santigrat Derece (Celsius)
M.Ö.	Miladdan Önce
δ	Delta
μL	Mikrolitre
mg	Miligram
mL	Mililitre
mM	Milimolar
M	Molar
ppm	Milyonda bir birim
g	Gram
L	Litre

KISALTMA LİSTESİ

APT	Attached Proton Test
ATCC	American Type Cell Collection
ATP	Adenosin Trifosfat
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle Medium
DMSO	Dimetilsülfoksit
FTIR	Fourier Transformu Kırmızı Ötesi Spektroskopisi
LC	Likit Kromatografisi
LC-MS	Liquid Chromatography Mass Spectrometry
LDA	Lityum Diizopropilamid
MOMCl	Metoksimetil Klorür
MS	Kütle Spektroskopisi
NADPH	Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
NBS	<i>N</i> -bromosüksinimid
NF- κ B	Nükleer Faktör Kappa-B
NFAT	Nuclear Factor of Activated T-cells
NMR	Nükleer Magnetik Rezonans
TBDMSCl	<i>tert</i> -Bütil Dimetilsililklorür
TLC	İnce Tabaka Kromatografisi
<i>p</i> -TSA	<i>p</i> -Toluen Sülfonik Asit

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1.1	Oleanolik asit	3
Şekil 1.2	Triterpen bileşikler	3
Şekil 1.3	1 β ,2 α ,3 β ,11 α -Tetrahidroksi-olean-12-en,3-asetil	4
Şekil 2.1	Mevalonik asit-5-pirofosfat' ın sentez adımları	9
Şekil 2.2	Dimetilallil pirofosfat' ın oluşum basamağı	9
Şekil 2.3	Monoterpenlerin biyosentez adımları	10
Şekil 2.4	Seskiterpenlerin biyosentez adımları	10
Şekil 2.5	Geranilgeranil pirofosfat' ın oluşum basamağı	11
Şekil 2.6	Asiklik monoterpen linalool' ün yapısal formülü	13
Şekil 2.7	Asiklik monoterpen linalool' ün sentezi	13
Şekil 2.8	Monosiklik limonen ve diğer monoterpenlerin yapısal formülleri	14
Şekil 2.9	Geranil pirofosfattan limonen' in sentezi	14
Şekil 2.10	Limonenden mentolün biyosentezi	15
Şekil 2.11	Limonen' in sentezi	15
Şekil 2.12	Olası bisiklik monoterpen yapıları	16
Şekil 2.13	Kamfor ve α -pinen bileşiklerinin yapısı	16
Şekil 2.14	Bisiklik seskiterpen molekül yapıları	16
Şekil 2.15	Bazı seskiterpen molekül yapıları	17
Şekil 2.16	Bisiklik seskiterpenlerin biyosentezi	17
Şekil 2.17	Diterpen İskelet Yapıları	18
Şekil 2.18	Abietan ve kauren' in biyosentez basamakları	19
Şekil 2.19	Retinol İskelet Yapısı	20
Şekil 2.20	Labdan iskeletine sahip bisiklik diterpen molekülleri	21
Şekil 2.21	Backbone veya Friedo düzenlenmesi	21
Şekil 2.22	Kurkumin' in iskelet yapısı	22
Şekil 2.23	Rosenolakton ve Rimuen yapıları	22
Şekil 2.24	Pimarik asit ve türevleri	23
Şekil 2.25	Abietik asit, Abietan ve Horminon yapıları	23
Şekil 2.26	Biyolojik aktif abietan türevleri	24
Şekil 2.27	Kassan türevleri	24
Şekil 2.28	α , β -Kauren iskelet yapıları	25
Şekil 2.29	Squalen yapısı	25
Şekil 2.30	Asetillenmiş hidroksisqualen yapısı	26
Şekil 2.31	Lanosterol ve Euphol yapısı	26
Şekil 2.32	Karoten iskelet yapısı	27

Şekil 2.33	A-Vitamini (Retinol)	27
Şekil 3.1	Terpenoidler	28
Şekil 3.2	<i>Salvia</i> türünden izole edilen triterpenler.....	30
Şekil 3.3	Olean tip triterpen iskelet yapısı.....	35
Şekil 3.4	Diğer tip triterpen iskelet yapıları.....	36
Şekil 3.5	Triterpenler	37
Şekil 3.6	Ursan, Lupan, Dammaran ve Miscellaneous tip triterpenler	38
Şekil 3.7	Anti-kanser aktivite gösteren iki triterpen	39
Şekil 3.8	Oleanolik asit türevi bileşikler 75 ve 76	42
Şekil 3.9	OA' nın NBS ile reaksiyonundan elde edilen triterpenler	44
Şekil 3.10	OA' nın polihidroksi türevi triterpen 87' nin sentezi	45
Şekil 3.11	OA' nın Olefin, İndol, Hidrazon ve Oksim türevlerinin sentezi	46
Şekil 3.12	OA' nın oksim türevlerinin sentezi.....	47
Şekil 3.13	1,2,3-Triazol-süstitue-3-okso-oleanolik asit türevlerinin sentezi	48
Şekil 4.1	NF-κB aktivitesi	54
Şekil 4.2	NFκB (p50/p65) ile IκBα kompleksinde triterpenlerin bağlanabileceği yerler (I, II ve III) gösterilmiştir.	56
Şekil 4.3	Hedef molekül 2 ve NFκB (p50/p65) ile IκBα ara yüzeyinde bulunan bağlanma bölgesi I arasındaki ligand-protein ilişkileri gösterilmiştir.	56
Şekil 4.4	Dimerik insan IKK2'nin genel üç boyutlu yapısı ve inhibitör K252a'nın bağlandığı aktif bölge.	57
Şekil 4.5	K252a maddesinin insan IKK2'nin aktif bölgesiyle kurduğu bağlar	57
Şekil 4.6	Hedef molekül 2' nin (yeşil) insan IKK2 aktif bölgesiyle kurduğu bağlar.....	58
Şekil 4.7	Hedef molekül 2' nin karboksilik asitli ursan türevinin (turkuaz) insan IKK2 aktif bölgesiyle kurduğu bağların gösterimi.	59
Şekil 4.8	Doking çalışmasında en iyi bağlanma özelliği gösteren triterpen yapıları .	60
Şekil 4.9	Bileşik 134' ün c-Rel/c-Rel/IκBα enzimin homoloji modeli ile bağlanma ilişkisi	61
Şekil 4.10	β-Amirinin sentez basamakları	63
Şekil 4.11	Hedef molekülün sentez basamakları.....	65
Şekil 4.12	Fischer esterleşme reaksiyonu	66
Şekil 4.13	Bileşik 58' in ¹ H-NMR spektrumu (CDCl ₃)	69
Şekil 4.14	Bileşik 58' in APT spektrumu (CDCl ₃)	70
Şekil 4.15	Bileşik 58' in FTIR spektrumu (ATR)	71
Şekil 4.16	Bileşik 107' ye ait H-3 ve H-18 protonun rezonans gösterimi	72
Şekil 4.17	Bileşik 107' nin ¹ H-NMR spektrumu (CDCl ₃)	73
Şekil 4.18	Bileşik 107' nin APT spektrumu (CDCl ₃)	74
Şekil 4.19	Bileşik 107' nin FTIR spektrumu (ATR)	75
Şekil 4.20	Bileşik 135' e ait H-3 protonunun rezonans sinyali	77
Şekil 4.21	Bileşik 135' in LC-MS spektrumu	78
Şekil 4.22	Bileşik 135' in ¹ H-NMR spektrumu (CDCl ₃)	79
Şekil 4.23	Bileşik 135' in APT spektrumu (CDCl ₃)	80
Şekil 4.24	Bileşik 136' nın LC-MS spektrumu	83
Şekil 4.25	Bileşik 136' nın ¹ H-NMR spektrumu (CDCl ₃)	84
Şekil 4.26	Bileşik 136' nın APT spektrumu (CDCl ₃)	85
Şekil 4.27	Bileşik 108' e ait H-3 protonun rezonans gösterimi	87

Şekil 4.28	Bileşik 108' in ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3)	88
Şekil 4.29	Bileşik 108' in APT spektrumu (CDCl_3)	89
Şekil 4.30	Bileşik 108' in FTIR spektrumu (ATR)	90
Şekil 4.31	Eritrodiol (7')' nin ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3)	93
Şekil 4.32	Eritrodiol (7')' nin APT spektrumu (CDCl_3)	94
Şekil 4.33	Bileşik 110' un ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3)	97
Şekil 4.34	Bileşik 110' un APT spektrumu (CDCl_3)	98
Şekil 4.35	Bileşik 110' un FTIR spektrumu (ATR)	99
Şekil 4.36	Bileşik 111' in LC-MS spektrumu	103
Şekil 4.37	Bileşik 111' in ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3)	104
Şekil 4.38	Bileşik 111' in APT spektrumu (CDCl_3)	105
Şekil 4.39	Bileşik 112' nin LC-MS spektrumu	108
Şekil 4.40	Bileşik 112' nin ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3)	109
Şekil 4.41	Bileşik 112' nin APT spektrumu (CDCl_3)	110
Şekil 4.42	Bileşik 112' nin FTIR spektrumu (ATR)	111
Şekil 4.43	Bileşik 114' ün LC-MS spektrumu	114
Şekil 4.44	Bileşik 114' ün ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3)	115
Şekil 4.45	Bileşik 114' ün APT spektrumu (CDCl_3)	116
Şekil 4.46	Bileşik 115' in ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3)	119
Şekil 4.47	Bileşik 115' in APT spektrumu (CDCl_3)	120
Şekil 4.48	Bileşik 137' nin ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3)	123
Şekil 4.49	Bileşik 137' nin APT spektrumu (CDCl_3)	124
Şekil 4.50	Bileşik 138' in ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3)	127
Şekil 4.51	Bileşik 138' in APT spektrumu (CDCl_3)	128
Şekil 4.52	Bileşik 116' nin ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3)	131
Şekil 4.53	Bileşik 116' nin APT spektrumu (CDCl_3)	132
Şekil 4.54	Demetilasyon reaksiyonu	133
Şekil 4.55	β -Amirin (3')' in üç adımda sentezi	134
Şekil 4.56	Bileşik 113' ün ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3)	136
Şekil 4.57	Bileşik 113' ün ^{13}C -NMR spektrumu (CDCl_3)	137
Şekil 4.58	Bileşik 113' ün ^{13}C -NMR genişletilmiş spektrumu (CDCl_3)	138
Şekil 4.59	β -Amirin (3')' in ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3)	141
Şekil 4.60	β -Amirin (3')' in APT spektrumu (CDCl_3)	142
Şekil 4.61	Bileşik 117' nin ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3)	145
Şekil 4.62	Bileşik 117' nin APT spektrumu (CDCl_3)	146
Şekil 4.63	Bileşik 139' un ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3)	148
Şekil 4.64	Bileşik 118' in ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3)	151
Şekil 4.65	Bileşik 118' in APT spektrumu (CDCl_3)	152
Şekil 4.66	Bileşik 119' un yapısı	154
Şekil 4.67	Bileşik 119' a ait ^1H -NMR ve NOESY spektrumlarının karşılaştırılması	155
Şekil 4.68	Bileşik 119' a ait genişletilmiş ^{13}C -NMR spektrumu	155
Şekil 4.69	Bileşik 119' un ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3)	157
Şekil 4.70	Bileşik 119' un NOESY spektrumu (CDCl_3)	158
Şekil 4.71	Bileşik 119' un ^1H -NMR ve NOESY spektrumlarının birlikte gösterimi	159
Şekil 4.72	Bileşik 119' un APT spektrumu (CDCl_3)	160

Şekil 4.73	Bileşik 140 ve 141' den oluşan diastereoizomerik karışıma ait ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3).....	163
Şekil 4.74	3,11-Dihidroksi, olean 1,12-dien, 28-metil ester 134' ün sentez tasarımı	164
Şekil 4.75	Bileşik 142' nin ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3)	167
Şekil 4.76	Bileşik 142' nin ^{13}C -NMR spektrumu (CDCl_3)	168
Şekil 4.77	Bileşik 143' ün ^1H -NMR spektrumu	169
Şekil 4.78	Bileşik 143' ün ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3)	170
Şekil 4.79	Bileşik 134' ün ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3)	173
Şekil 4.80	Triterpen OA, 7, 58, 107, 108, 110' un sitotoksosite sonuçları	177
Şekil 4.81	Triterpen OA, 111, 112, 114, 115, 135, 136' nın sitotoksosite sonuçları ..	177
Şekil 4.82	Triterpen OA, 117, 118, 119, 140-141' in sitotoksosite sonuçları	178
Şekil 5.1	Olenan ve lupan iskelet yapısına ait triterpenler.....	179
Şekil 5.2	Doking çalışmasında en iyi bağlanma özelliği gösteren triterpen bileşikleri.....	181
Şekil 5.3	β -Amirin' in biyosentez gösterimi.....	182
Şekil 5.4	β -Amirin' in 2,3-oksidosqualenden biyosentezi	182
Şekil 5.5	Dongyin ve çalışma grubunun yaptığı β -amirin'in yarı-total sentezi.....	183
Şekil 5.6	Oleanolik asidin tosilleme ve esterleştirme reaksiyonu	184
Şekil 5.7	β -amirin' in etkili ve kısa sentezi.....	185
Şekil 5.8	Triterpen türevlerinin 1.56 μM konsantrasyondaki sitotoksitite test sonuçları.....	187
Şekil 5.9	Triterpen türevlerinin 3.125 μM konsantrasyondaki sitotoksitite test sonuçları.....	187
Şekil 5.10	Triterpen türevlerinin 6.25 μM konsantrasyondaki sitotoksitite test sonuçları.....	188
Şekil 5.11	Triterpen türevlerinin 12.5 μM konsantrasyondaki sitotoksitite test sonuçları.....	188
Şekil 5.12	Triterpen türevlerinin 25 μM konsantrasyondaki sitotoksitite test sonuçları.....	189
Şekil 5.13	Triterpen türevlerinin 50 μM konsantrasyondaki sitotoksitite test sonuçları	189
Şekil 5.14	Triterpen türevlerinin 100 μM konsantrasyondaki sitotoksitite test sonuçları	190
Şekil 5.15	Triterpen türevlerinin 200 μM konsantrasyondaki sitotoksitite test sonuçları	190

ÇİZELGE LİSTESİ

	Sayfa
Çizelge 2.1 Terpenlerin sınıflandırılması	11
Çizelge 3.1 <i>Salvia'</i> dan izole edilen oleanan grup triterpenoidler	31
Çizelge 3.2 Triazol oleanan türevleri	48
Çizelge 4.1 Kullanılan kimyasal maddeler	52
Çizelge 4.2 1-2,Dihidroksi-3-okso, olean-12-en metil esteri (140) ve (141)' in reaksiyon şartları.....	161
Çizelge 4.3 Sitotoksitite sonuçları	176
Çizelge 5.1 İlk kez sentezi gerçekleştirilen triterpenler	185

İLAÇ OLABİLECEK AKTİF ORGANİK MOLEKÜLLERİN SENTEZİ

Salih TUNCAY

Kimya Anabilim Dalı

Doktora Tezi

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Nüket ÖCAL

Eş Danışman: Prof Dr. Gülaçtı TOPÇU

Labiatae (=Lamiaceae) familyası, ılıman iklim kuşağında yer alan, özellikle Akdeniz ülkelerinde doğal olarak yetişen ve birçok ülkede de kültürü yapılan zengin bir familyadır. Bu familya, 200 kadar cins ve 3000'in üzerinde türü içerir. Oleanolik asit (OA), *Labiatae* ve diğer familyalara ait bitkilerde bulunan ve antimikrobiyal, anti-enflamatuar, anti-diyabetik ve sitotoksik gibi çeşitli biyolojik aktivitelere sahip doğal pentasiklik triterpenoiddir. İn-siliko testlerle bilgisayar ortamında yapılan doking çalışmalarında 12 farklı oleanan iskelet yapısı belirlendi. Belirlenen türler arasında 3 β ,11 α -dihidroksi-1,12-dien oleanolik asit bileşiği, c-Rel/c-Rel/I κ B α enzimin homoloji modeline en iyi bağlanma ilişkisi göstermiştir.

Oleanolik asitten çıkılarak hedef molekül 1 β ,2 α ,3 β ,11 α -tetrahidroksi-olean-12-en,3-asetil' in sentez çalışması iki aşamada gerçekleştirilmiştir. Birinci aşamada β -amirin elde edilmesi ve ikinci aşama da elde edilen β -amirin veya 3 β -Hidroksiolean-12-en-28-oik asit metil ester' den çıkılarak hedef molekülün sentez çalışmaları gerçekleştirildi. Sentez adımlarında farklı stereoizomerlere sahip 25 triterpen bileşiği hazırlanmıştır. Sentezlenen bileşiklerden 9 oleanan iskelet yapısı literatürde ilk kez sentezlenmiştir. β -amirin bileşiği ticari maliyeti çok yüksek olan bir triterpendir ve çalışmamızda β -amirin üç adımda tamamlanarak toplam %66 gibi oldukça yüksek verimle sentezlenmiştir.

Sentezlenen tüm bileşikler, İsviçre albino fare embriyo dokusundan türetilen standart sağlıklı fibroblast 3T3 hücre dizileri üzerindeki sitotoksik aktiviteleri açısından değerlendirildi. Triterpenlerin etkileri ATP hücre canlılık değerleri tarafından belirlendi.

İlk olarak, farklı triterpenleri içeren hücrelerin sitotoksitesi doz-cevap ilişkisi olarak belirlendi. 3T3 hücreler (her bir kuyucukta toplam 15×10^3 hücre) 24 saat süre ile

triterpenlerin çeşitli konsantrasyonlarına (1.56-200 µM) karşı maruz bırakıldı. Sentezlenen triterpenlerde düşük konsantrasyonlarda (1.56 µM) proliferatif etki gözlenirken artan konsantrasyonlarda sitotoksik aktivite gözlenmiştir. Bir seri oleanolik asit analogları doza bağlı olarak daha yüksek konsantrasyonlarda (6.25 ila 200 µM) anti-proliferatif etki göstermiştir ve en yüksek etkiyi eritrodiol göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: *Labiatae* (=Lamiaceae), Oleanolik asit, Oleanan, β-Amirin, Eritrodiol, Doking, Sitotoksitite, Proliferatif/Anti-proliferatif, Triterpenler



SYNTHESIS OF ACTIVE ORGANIC MOLECULES TO BE DRUG

Salih TUNCAY

Department of Chemistry
PhD. Thesis

Adviser: Prof. Dr. Nüket ÖCAL

Co-Adviser: Prof. Dr. Gülaçtı TOPÇU

The family *Labiatae* (= *Lamiaceae*) is a rich family, which is located in the temperate climate zone, naturally grown in Mediterranean countries and cultured in many countries. This family contains about 200 genera and over 3000 species. Oleanolic acid (OA) is a naturally occurring pentacyclic triterpenoid found indifferent family plants which exhibits various biological activities, including antimicrobial, anti-inflammatory, anti-diabetic and cytotoxic activities. Twelve different (12) oleanan structures were identified in the in-silico tests. Among the determined species, compound 3 β ,11 α -dihydroxy-1,12-diene oleanolic acid showed the best binding affinity to the homology model of the c-Rel/c-Rel / I κ B α enzyme.

The synthesis of the target molecule 1 β ,2 α ,3 β ,11 α -tetrahydroxy-oleanane-12-ene,3-acetyl was performed in two steps starting whit the oleanolic acid. In the first step, the β -amyrin was obtained and in the second step, starting whit the synthesized β -amyrin or 3 β -hydroxy-oleanane-12-ene-28-oic acid methyl ester, the target molecule synthesis studies were performed. In the synthesis steps, 25 triterpenes having different stereoisomers were synthesized. The nine (9) triterpenes having structure of the oleanan were synthesized for the first time in the literature. β -amyrin is a triterpene with a very high commercial cost and in our study β -amyrin's synthesis was completed in three steps with a very high yield of 66% in total.

All synthesized compounds were evaluated for cytotoxic activity on standard healthy fibroblast 3T3 cell lines derived from Swiss albino mouse embryo tissue. The effects of triterpenes were determined by ATP cell viability values.

First, the cytotoxicity of cells containing different triterpenes was determined as the dose-response relationship. 3T3 cells (15 x 10³ cells total in each well) were exposed to

various concentrations of triterpenes (1.56-200 μM) for 24 hours. The synthesized triterpenes showed proliferative activity at low concentrations (1.56 μM) and showed increased toxicity at increasing concentrations. A series of oleanolic acid analogues showed anti-proliferative activity at higher concentrations (6.25 to 200 μM) and the highest activity was observed with erythrodiol.

Keywords: *Labiatae* (=Lamiaceae), Oleanolic acid, Oleanane, β -Amylin, Erythrodiol, Dosing, Cytotoxic, Proliferative / Anti-proliferative, Triterpenes



BÖLÜM 1

GİRİŞ

Bilimin; dinin, büyü'nün ve geleneksel ritüellerin tekelinde olduğu dönemlerde hastalıkların kötü ruhlardan ileri geldiğine, kötü ruhların da büyü ya da geleneksel dini seremonilerle bedenden kovulacağına ve böylece hastalıkların tedavi edilebileceğine körü körüne inanılmıştır. Bu sebeptendir ki hekimlerin ilk öncüleri büyücüler, sihirbazlar ve dini liderler olmuştur. Tedavilerinde onlarda zaman zaman bitkilere veya bitkilerden elde edilen karışımlara başvurmuştur. Sümer ve Mısır dönemlerinden kalma tablet ve yazıtlarda şifalı bitkiler hakkında bilgiler bulunmaktadır. M.Ö. 1550 yılında Mısır'da yazılmış Ebers papirüslerinden ilaçlar hakkındaki ilk sistematik bilgiler çıkarılmıştır [1].

19. yüzyılın başlarında kimya alanındaki gelişmelerle bitkilerden elde edilen aktif maddelerin saflaştırılması ve bunların sentezlenmesi hız kazanmıştır. 1805' de Sertürner, *opiumdan* morfin'i izole etmiş [1] ve 1807 'de doğal kaynaklardan gelen bileşiklerle yapılan çalışmalarda ilk kez "karbon iskeletine sahip bileşiklerin kimyası veya canlı kimyası olarak bilinen" organik kimya terimi kullanılmaya başlanmıştır. 19. yy' a kadar organik maddelerin yalnızca canlılar tarafından üretileceğine inanılmış ve Jakob Berzelius' un öncüsü olan "vitalizm" olarak adlandırılan akımda özellikle yaşamayan sistemlerden (inorganik bileşiklerden) organik bileşiklerin üretilebilmesi için canlı bir ortama "yaşam gücüne" ihtiyaç duyulacağına inanılmıştır.

1824' de Friedrich Wöhler bu algıyı yıkmak için önemli çalışmalarda bulunmuştur. Wöhler inorganik bir madde olan disiyanojen maddesini su ile ısıtınca organik bir madde olan okzalik asiti elde etmiştir. 1828 yılında yine Friedrich Wöhler potasyum siyanat ile amonyum siyanatın tepkimeye girmesi sonucu oluşan amonyum siyanatı (NH_4OCN) kuru kuruya ısıtması sonucu üreyi elde etmiştir. Wöhler' in üreyi sentezlemiş olması eskiden

beri gelen ve organik maddelerin sadece canlılar tarafından üretileceği “vital” inanışını yıkmıştır. Böylece, saflaştırılan bu bileşiklerin büyü ya da yaşam güçleri olmadığı, doğada bitki ekstralerinden elde edilebildiği gibi yaşayan organizmalar üzerinde asıl sorumlu bu maddelerin sentezlenebileceği de anlaşılmıştır.

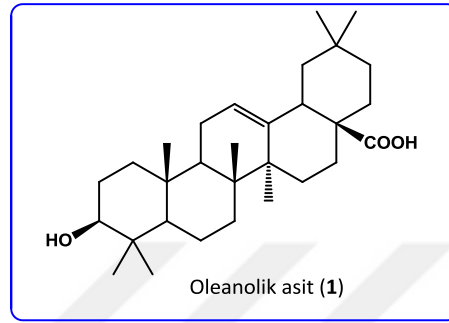
Bu gelişmeler sonucunda insanoğlu, hastalıklarla mücadele edebilmek için bitki tedavisine başvurmuş, farmakoloji alanındaki gelişmeler bitki kimyasına hız kazandırmış ve böylece birçok bitki türü geleneksel tıpta ilaç olarak kullanılmaya başlanmıştır. Örneğin, *Labiatae* (= *Lamiaceae*) familyasına ait birçok cins ve tür bilimsel çalışmalarda kullanılmış ve yapılarındaki sekonder metabolitlerin elde edilmesi için ekstraksiyon işlemlerine tabii tutulmuştur.

1.1 Literatür Özeti

Labiatae (= *Lamiaceae*) familyası, ılıman iklim kuşağında yer alan, özellikle Akdeniz ülkelerinde doğal olarak yetişen ve birçok ülkede de kültürü yapılan zengin bir familyadır. Bu familya, 250 kadar cins ve 3200’ ün üzerinde türü içerir. *Labiatae* familyasına ait birçok bitki veya bunların karışımı antik çağlardan bu yana halk arasında çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmıştır. İnsanlık tarihinde gelişen teknoloji ile birlikte tıp ve eczacılığın dışında bu familyaya ait birçok bitki türü gıda endüstrisi, parfümeri ve kozmetikte de yaygın olarak kullanılmıştır. Ayrıca günümüzde rasyonel fitoterapide kullanılan pek çok preperatta da bu familya ait bitkilerin yer aldığı görülmektedir [2]. Bu familyaya ait bitki türlerinden birçok sekonder metabolit elde edilmiş, özellikle elde edilen bileşikler arasında en yaygın olanları oleanan iskeletine sahip oleanolik asit, ursan iskeletine sahip ursolik asit ve lupan iskeletine sahip lupeol’ dür.

Oleanolik asit otuz karbonlu pentasiklik bir triterpendir ve bitkilerin bünyelerinde ya saponin veya aglikon “oleanolik asidin glikozit yapısı” olarak ya da serbest asit olarak bulunur. Oleanolik asidin serbest asit yapısı Şekil-1.1’ de verilmiştir. Ursan iskelet yapısına sahip ursolik asit, oleanolik asidin yapısal izomeridir. Oleanolik ve ursolik asit tıbbi bitkilerin bünyelerinde sıkça rastlanan triterpenoidlerdir ve insanlığın zayıflamak için sıkça kullandığı bitkilerin önemli bir kısmını oluşturur. Bilim insanları son yirmi otuz yıl boyunca yayımladıkları 700 den fazla çalışmada bu triterpenleri daha iyi anlamaya

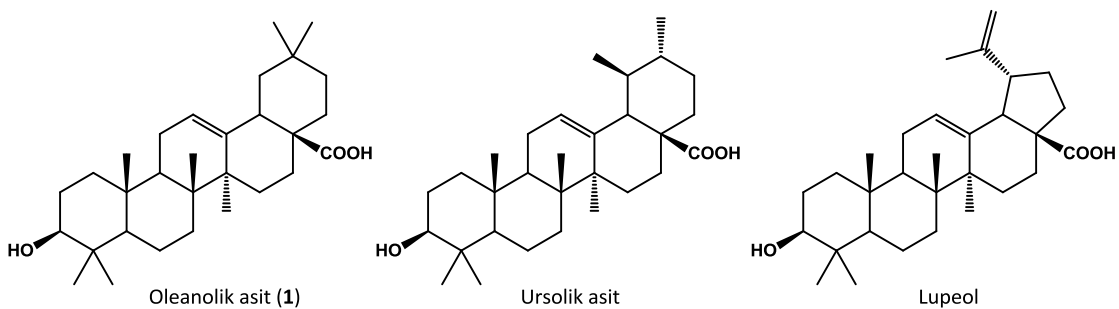
çalışmış ve bu çalışmalarda, birçok bitki ve otlardan yaptıkları izolasyonlar sonucu elde ettikleri triterpenleri; daha etkili yapıya dönüştürmek için kimyasal modelleme çalışmalarında, suda çözünen türevlerini oluşturmada, yararlı etkileri üzerine farmakolojik araştırmalarda, toksite çalışmalarını da içeren birçok biyolojik aktivite çalışmalarında ve kemoterapi dahil çeşitli hastalıklar üzerine klinik araştırmalarda kullanmışlardır.



Şekil 1.1 Oleanolik asit

1.2 Tezin Amacı

Doğada bitkilerden elde edilen ve önemli sekonder metabolitler arasında yer alan triterpenler, pek çok biyolojik aktiviteye sahiptirler. Çalışma grubumuz tarafından yapılan çalışmalarda oleanan, ursan ve lupan iskelet yapısındaki triterpenlerin antioksidan, antibakteriyel, anti-enflamatuvar, antiviral, sitotoksik, anti-tümör/anti-kanser gibi pek çok aktiviteye sahip oldukları bildirilmiştir [3-5].



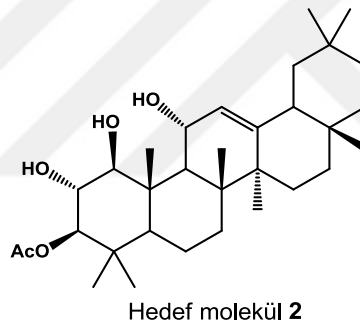
Şekil 1.2 Triterpen bileşikleri

Biyolojik aktiviteye sahip bu organik bileşikler, bitki ekstralarında çok az miktarda bulunmaktadır. Ayrıca insan nüfusundaki hızlı artış, gelişen teknolojiyle paralel olarak artan hastalıkların çeşitlenmesi ve bitki ekstralarından elde edilen madde miktarındaki yetersizlik, tedavi sürecini zorlaştırmaktadır. Bu sebeple bitkilerden elde edilen

maddelerin yapısının aydınlatılması, yapısı belirlenen maddelerin sentetik olarak elde edilmesi veya bu doğal ürünlerin iskeletinde bulunan fonksiyonel gruplar değiştirilerek daha biyoaktif türevlerinin sentezlenmesi önem arz etmektedir.

Bu amaçla tez kapsamında;

- I. Oleanan türevi doğal ürün triterpen $1\beta,2\alpha,3\beta,11\alpha$ -tetrahidroksi-olean-12-en,3-asetil (**2**) bileşiğinin sentez çalışmaları yapılmıştır.
- II. Hedef bileşiğin sentezi sırasında farklı fonksiyonel gruplara sahip oleanan türevi triterpenler sentezlenmiş ve ileriki reaksiyonlar sırasında oluşması muhtemel stereoizomerlerin sentez çalışmaları yapılarak sentez sonrasında bu stereoizomerlerin saflaştırma çalışmaları gerçekleştirilmiştir.
- III. Saf bileşiklerin yapıları 1D ve 2D-NMR yöntemleri ile belirlenmiş ve yapıları belirlenen tüm triterpen moleküllerinin 3T3 fibroblast normal hücrelere karşı in-vitro olarak sitotoksik aktiviteleri araştırılmıştır.



Şekil 1.3 $1\beta,2\alpha,3\beta,11\alpha$ -Tetrahidroksi-olean-12-en,3-asetil

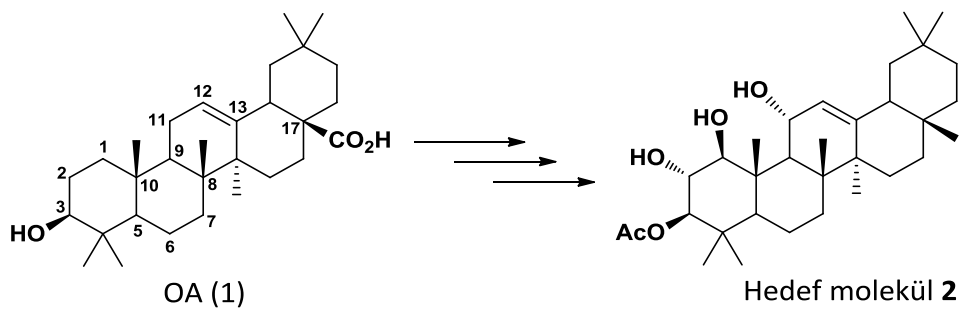
Yukarıda belirtilen biyoaktif doğal ürün triterpen **2'** nin sentezi sırasında oleanan iskelet yapısında farklı fonksiyonel gruplara sahip triterpenlerin bilgisayar destekli moleküler doking çalışmaları gerçekleştirilerek sentez adımlarına yön verilmiştir. Sentez basamakları sırasında farklı stereoizomer yapılarına sahip 25 farklı triterpen bileşiği sentezlenmiş ve sentezlenen her bir triterpen için saflaştırma, yapı analizi ve biyolojik aktivite çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

1.3 Hipotez

Literatürde oleanan ve ursan iskelet yapısına sahip birçok triterpen bileşiğinin sentez, izolasyon ve biyolojik aktive çalışmaları bilinmektedir. Oleanan, ursan ve lupan iskeletine

sahip triterpenlerin antioksidan, antibakteriyel, anti-enflamatuvar, antiviral, sitotoksik, anti-tümör/anti-kanser vb. pek çok aktiviteleri üzerine çok çeşitli çalışmalar geçmişten günümüze kadar yapılmakta ve halen bu alana ilgi giderek artmaktadır. Özellikle grubumuz tarafından oleanan ve ursan triterpenlerce zengin bitkiler üzerinde uzun yıllar süren çalışmalarımız sonucunda 50’yi aşkın triterpen bileşiği izole edilmiş yapıları aydınlatılmıştır. Yapılan çalışmalar sırasında bazı triterpenlerin antibakteriyel, antioksidan, sitotoksik, anti-kolinesteraz aktivite gösterdiği bildirilmiştir. Son yıllardaki çalışmalarımız sırasında ise bir seri polihidroksili oleanan ve ursan triterpen bileşiği *Salvia* türlerinden elde edilerek yapıları tayin edilmiştir. Bazı yapıların oldukça yüksek Nükleer Faktör Kappa-B (NF- κ B) inhibisyonu gösterdiğini in-siliko olarak ve hücre kültürü temelli deneylerle saptanmıştır. Önceki çalışmalarımızda, yüzlerce molekül arasında yapılan in-siliko ilaç taraması sonucunda triterpen moleküllerinin NF- κ B üzerinde önemli derecede inhibisyon yapma potansiyeline sahip olduğu görülmüş ve bunu izleyen deneysel çalışmalarımızda, pek çok ursan ve oleanan triterpen bileşiğinden özellikle iki triterpen molekülünün NF- κ B’nin transkripsiyon aktivitesini inhibe ettiği gösterilmiştir. Bu iki triterpenin “oleanan iskeletine sahip 1 β ,2 α ,3 β ,11 α -tetrahidroksi-olean-12-en,3-asetil (2) ve ursan iskeletine sahip 1 β ,2 α ,3 β ,11 α -tetrahidroksi-urs-12-en,3-asetil” ilgili aktiviteleri grubumuz tarafından patentlenmiştir.

- I. Oleanolik asitten çıkılarak ilaç olma potansiyeline sahip triterpen molekülü **2’** nin stereospesifik sentezi hedeflenmektedir.



- II. Hedef molekül **2’** nin yarı-total sentezi sırasında oluşacak stereoizomerlerinin ve aynı iskelete sahip potansiyel aktif analoglarının sentezlenmesi düşünülmektedir.
- III. İn-siliko deneylerle oleanan iskelet yapısındaki fonksiyonel gruplar değiştirilerek biyoaktif türlerinin belirlenmesi beklenmektedir

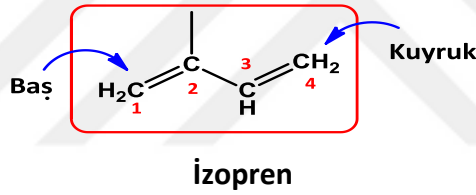
- IV. İn-siliko deneylerle belirlenen stereoizomerlerin sentezi için yeni sentez adımları oluşturulacak ve sentezi gerçekleştirilen tüm moleküllerin in vitro deneylerle ilaç etkin maddesi olma potansiyelleri araştırılacaktır.



TERPENLERİN YAPI ve BİYOSENTEZİ

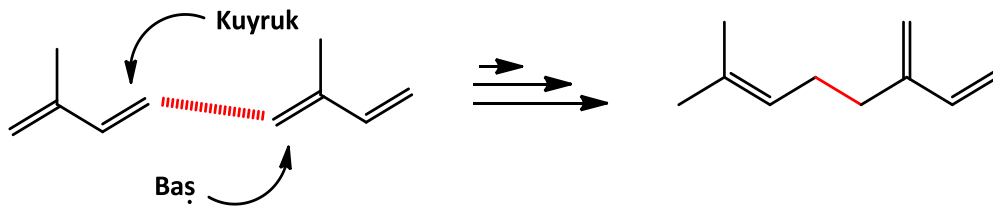
2.1 Triterpenlerin Biyosentezi

Bitkilerde terpen kökenli maddelerin biyosentezi fotosentez döngüsünde glikoz oluşumu ile başlar. Glikoz, Asetil koenzim A' ya dönüşür ve Asetil koenzim A biyosentetik basamaklardan sonra mevalonik asiti ve o da izopren çekirdeğini (C_5H_8) verir [6].

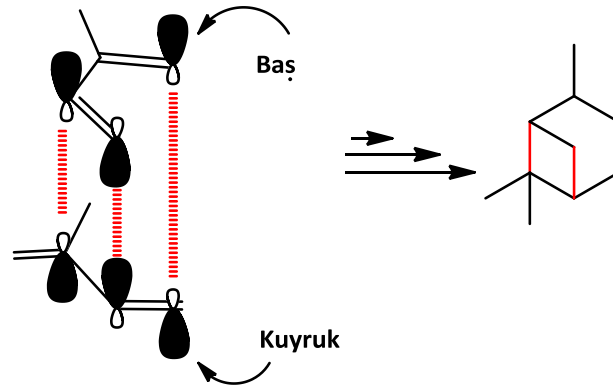


Terpenler biyosentetik olarak izopren birimlerden türetilirler, bu birimin kimyasal formülü C_5H_8 olup terpenlerin temel moleküler formülleri de bunun katlarıdır, yani $(C_5H_8)_n$ (n birleştirilmiş izopren birimlerinin sayısı) yapısıdır. Bu izopren kuralı veya C-5 kuralı olarak bilinir. İzopren birimleri baş-kuyruk şeklinde bağlanarak düz zincirli veya halkalı iskelet yapıları oluştururlar. İzopren zincirindeki 1 numaralı karbon baş olarak adlandırılırken, 4 numaralı karbon kuyruk olarak adlandırılır.

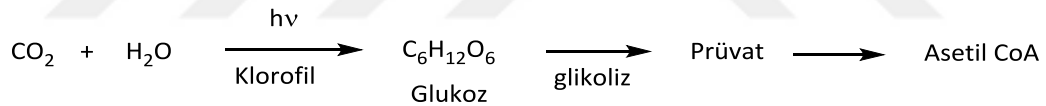
Düz zincirli monoterpenlere örnek; myrcene iki izopren biriminin baş – kuyruk kondenzasyonu ile meydana gelir.



Bisiklik monoterpen ailesine ait; α -pinen iki izopren zincirindeki π (Pi) orbitallerinin örtüşmesi ile oluşan kondenzasyon sonucu halkalı iskelet yapısı meydana gelir.

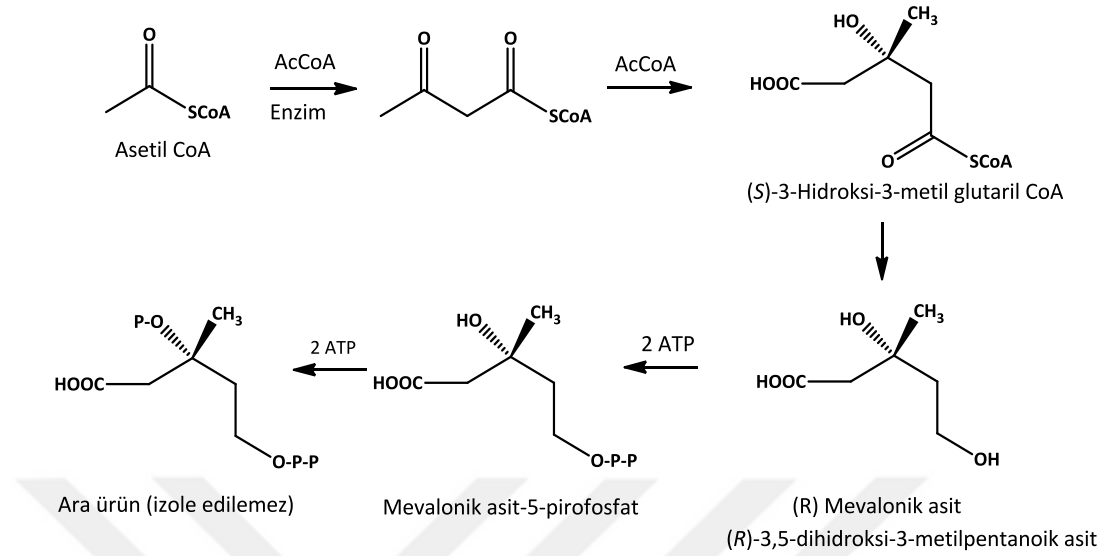


Tüm terpenik maddelerin biyosentezinde izopren temel monomerdur. İki izopren molekülü linalil pirofosfatı, geranil pirofosfat ve izomerleri pirofosfat verir. Monoterpenlerin sentezi bu üç molekülden gerçekleşir. Seskiterpenler ise bir molekül izopren katılımıyla oluşan farnesil pirofosfattan (15 C'lu) elde edilirler. İki geranil pirofosfat molekülü geranilgeranil pirofosfat (GGPP)'ı oluşturur. Bu da karotenoidlerin ve diterpenlerin sentezinde temel moleküldür [7].



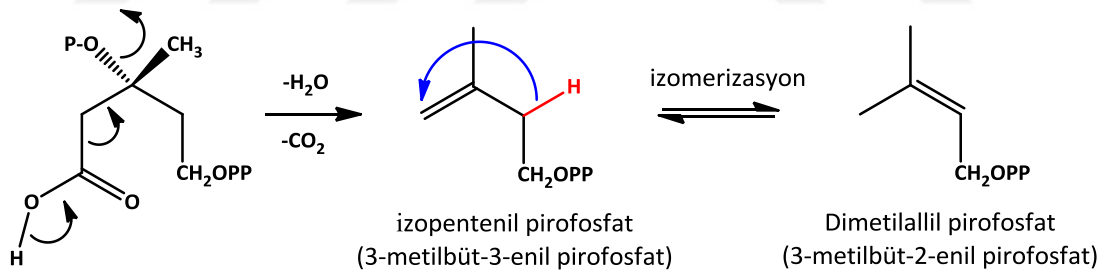
Şekerlerin oksidasyonu sonucu oluşan asetil koenzim A, pek çok doğal bileşiğin sentezinde olduğu gibi mevalonik asit sentezinde de başlangıç maddesi olarak kullanılır. Terpenoidlerin biyosentezinde önemli bir yeri olan mevalonik asit (3-metil-3,5-dihidroksipentanoik asit), 3 mol asetil koenzim A' nın kondenzasyonu ile oluşur. Mevalonik asidin su ve karbon dioksit kaybetmesi ile terpenleri oluşturan izopren (2-metil-3-butadien) birimleri meydana gelir. İki mol asetil koenzim A' nın kondenzasyonundan elde edilen aseto asetil koenzim A' nın başka bir mol asetil CoA ile birleşmesi ve ardından bir enzimle heterolitik bölünmesi sonucu 3-hidroksi-3-metilglutaril CoA elde edilir. Tiyol ester grubunun NADPH (Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat) ile indirgenmesi sonucunda mevalonik asit elde edilir [8]. Mevalonik asidin 2 molekül ATP (Adenosin trifosfat) ile fosforilasyonundan mevalonik asit 5-

pirofosfat bileşiği oluşur. Bu bileşikteki tersiyer hidroksi grubu da bir mol ATP ile fosforlanarak daha kolay ayrılabilen bir grup haline gelir [7].



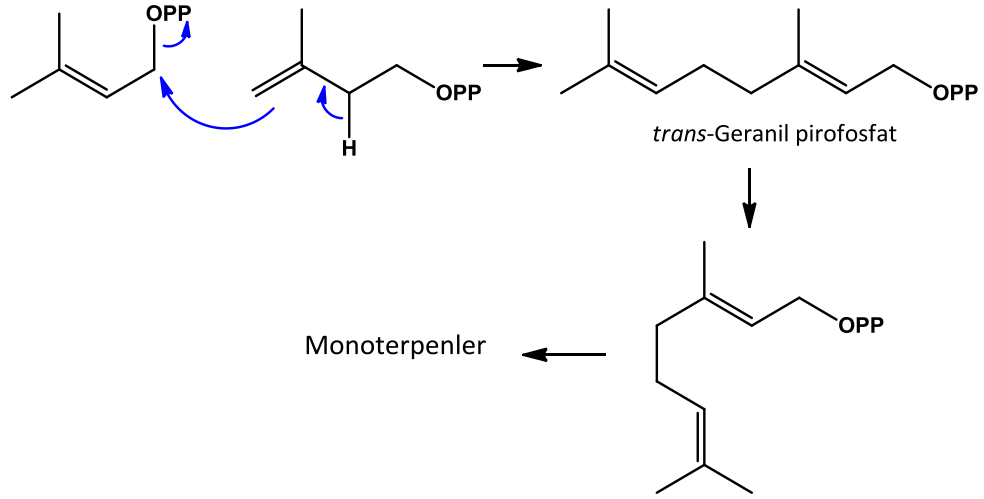
Şekil 2.1 Mevalonik asit-5-pirofosfat'ın sentez adımları

Daha sonra su ve karbon dioksit çıkışıyla izopentenil pirofosfat molekülü oluşur. Oluşan izopentenil pirofosfatın yapısında 1,3-hidrojen kaymasıyla (enzim izomerizasyonu) sonucu termodinamik kararlı ürün dimetilallil pirofosfat yapısı oluşur [7].



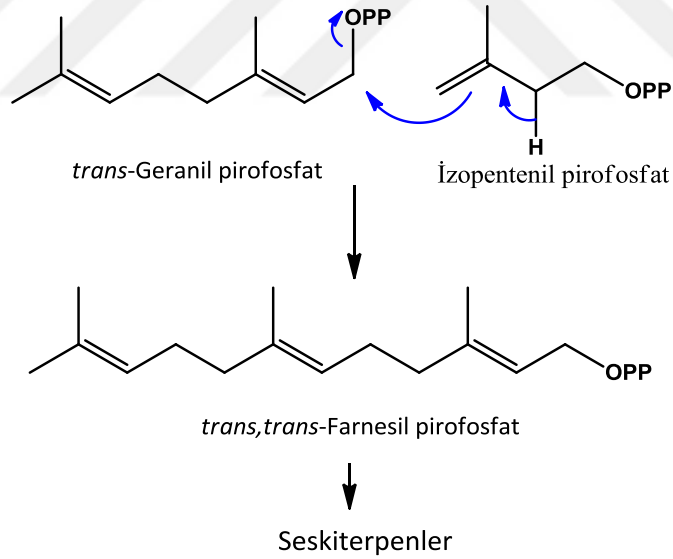
Şekil 2.2 Dimetilallil pirofosfat'ın oluşum basamağı

İzopentenil pirofosfat molekülünün proton kaybetmesi sonucu oluşan anyon molekül içi bağa katılarak çift bağdaki elektronlar nükleofilik olarak dimetilallil pirofosfat' a atak eder. Kondenzasyon sonucu monoterpenleri meydana getiren *trans*-geranil pirofosfat oluşur [9].



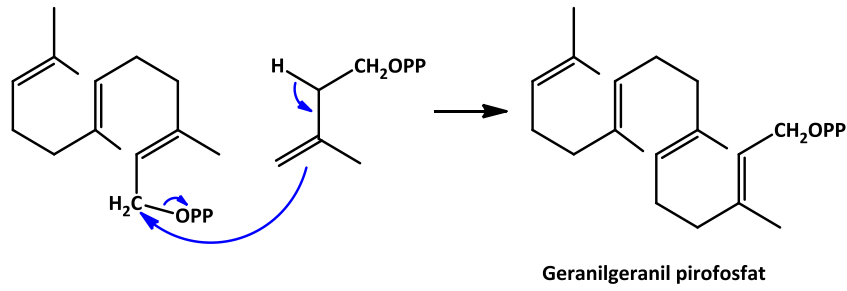
Şekil 2.3 Monoterpenlerin biyosentez adımları

Geranyl pirofosfatın tekrar izopentenil pirofosfat ile kondenzasyonu sonucu farnesil pirofosfat oluşur. 15 Karbondan oluşan bu yapılardan da seskiterpenler sentezlenmekte, 15 C 'lu seskiterpenlerin oluşumu sırasında squalenler üzerinden veya iki farnesil pirofosfatın kondenzasyonu ile de triterpenler oluşmaktadır.



Şekil 2.4 Seskiterpenlerin biyosentez adımları

Biyosentetik olarak oluşan farnesil pirofosfatın tekrar izopentenil pirofosfat ile kondenzasyondan diterpenlerin ve karotenoidlerin yapıtaşı olan geranylgeranyl pirofosfat bileşiği oluşmaktadır. İki geranylgeranyl pirofosfatın kondenzasyonu ile de karotenoidler oluşmaktadır [10].



Şekil 2.5 Geranylgeranyl pirofosfat' ın oluşum basamağı

2.2 Sekonder Metabolit Olan; Terpenler

Terpenler hidrokarbon yapılarının çok geniş bir sınıfını oluşturan ve büyük oranla bitkiler tarafından üretilen sekonder metabolitlerdir. Ayrıca terpenler böceklerin (örneğin *Papilionidae* cinsindeki kelebekler) osmeteriyumlarından da salgılandıkları gibi deniz yosunlarından da elde edilebilirler. Terpenler bitkilerin çok önemli savunma mekanizmaları olan ve izopren birimlerinden oluşan organik bileşiklerdir. Karbon sayılarına göre isimlendirilen terpenler; hemi-, mono-, seski-, di-, sester- ve tri- olmak üzere pek çok alt sınıflara ayrılır [11], [12], [13]. Hemiterpenler (C_5H_8) bir izopren ünitesinden, monoterpenler ($C_{10}H_{16}$) iki izopren ünitesinden, seskiterpenler ($C_{15}H_{24}$) üç izopren ünitesinden, diterpenler ($C_{20}H_{32}$) dört izopren ünitesinden, triterpenler ($C_{30}H_{48}$) altı izopren ünitesinden meydana gelirler.

Çizelge 2.1 Terpenlerin sınıflandırılması

İzopren Ünitesinin Sayısı	Sınıfı	Karbon Sayısı
1	Hemiterpenler	5
2	Monoterpenler	10
3	Seskiterpenler	15
4	Diterpenler	20
5	Sesterpenler	25
6	Triterpenler (Oleanolik asit)	30
8	Tetraterpenler (karotenoidler)	40
N	Politerpenler	(5)n

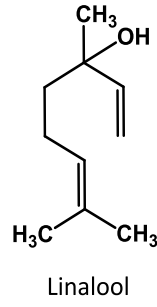
Terpenler yükseltgenme (oksidasyon) ile kimyasal olarak değişime uğratıldıkları zaman, alkol, aldehit, keton ve karboksilik asit gibi fonksiyonel gruplar taşır. Oksidasyon sonunda karbon iskeletinin düzenlenmesi ile meydana gelen bileşiklere genel olarak terpenoidler denir. Terpenoidler yapılarında heteroatomları içeren hidrofilik özellikteki organik bileşiklerdir. Terpen ve terpenoid yapıları, çoğu bitki ve çiçekteki esansiyel yağların başlıca bileşenleridir. Esansiyel (uçucu) yağlar aromatik tat ve koku sağladıkları için gıdalarda, parfümeride, aromaterapide, ayrıca geleneksel ve alternatif tıpta yaygın olarak kullanılırlar. Doğal terpenler ve sentetik türevleri kozmetik, ilaç ve gıda sektöründe birçok amaç için yaygın kullanıma sahiptirler.

2.2.1 Monoterpenler

İki izopren ünitesinin bağlanmasından oluşan on karbonlu bileşiklerdir. Monoterpenlerde otuz sekiz farklı iskelet tipine rastlanmıştır. Bunların çoğu düzenli tiptedir, yani iki izopren molekülü “baş-kuyruk” bağı ile bağlıdır. Birçok monoterpenin doğada tek bir izomeri bulunur. Fakat aynı bitkide iki izomerin bulunması ihtimaline sıkça rastlanılır. Monoterpenlerin en yaygın kullanılanları α -pinen ve β -pinen’ dir. Çam ağaçlarında bulunurlar ve plastik sanayinin hammaddesi, parfümeri sanayinin ise başlangıç maddesi olarak kullanılırlar. Bunun yanı sıra monoterpenler antispazmolitik, antibakteriyel, antifungal, anti-kanser ve hatta anti-alzheimer özellikleri nedeni ile halk ilaçlarında kullanılırlar. Monoterpenler düşük molekül ağırlığına sahip oldukları için oda sıcaklığında kolaylıkla gaz fazına geçebilirler (uçucu olabilir). Bu nedenle monoterpenler bitkilerden su buharı distilasyonu yöntemi ile elde edilirler. Monoterpenler yapılarına göre asiklik, monosiklik ve bisiklik monoterpenler olmak üzere üç grup altında sınıflandırılabilirler [7].

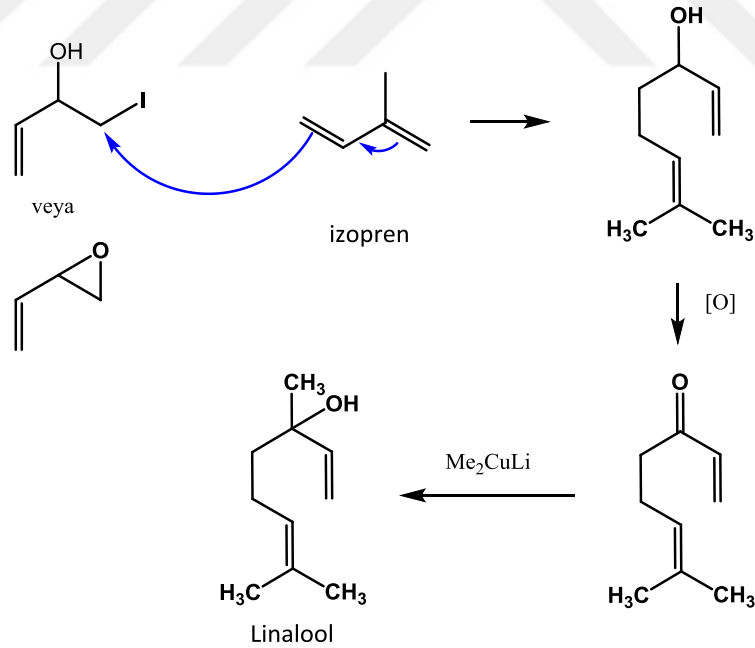
2.2.1.1 Asiklik Monoterpenler

Örneğin, *Lavandula Officinalis* ‘in (*Labiatae*) taze çiçekli dal uçlarından su buharı distilasyonu ile elde edilen lavanta esansında (*oleum lavanduale*) asiklik bir monoterpen olan linalool (%30-40) bulunur [14].



Şekil 2.6 Asiklik monotermen linalool' ün yapısal formülü

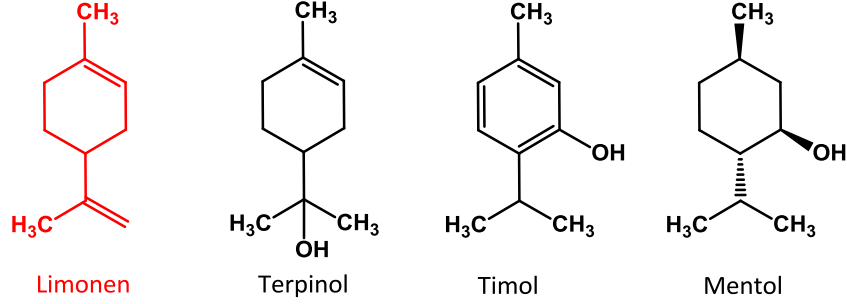
Asiklik monotermen Linalool bileşiği için retro analiz yapıldığında halohidrin yapısı ile izopren bileşiği arasında katılma reaksiyonu sonucu oluştuğu görülmektedir. Linalool sentezinde çıkış bileşikler olarak halohidrin veya iyodun dışarı çıkmasıyla oluşan epoksit yapısı kullanılabilir. Burada reaksiyon izoprenin kolay ayrılan iyot molekülünün karbonuna saldırmasıyla gerçekleşir. Oluşan allil alkol yapısı oksidatif ajan yardımıyla α,β -doymamış karbonil bileşiğine yükseltgenir. Elde edilen α,β -doymamış karbonil bileşiği de uygun şartlar altında dialkil kupratlarla etkileştirilmesi koşuluyla Linalool sentezi, kontrollü olarak 1,2-katılma reaksiyonu üzerinden gerçekleştirilir.



Şekil 2.7 Asiklik monotermen linalool' ün sentezi

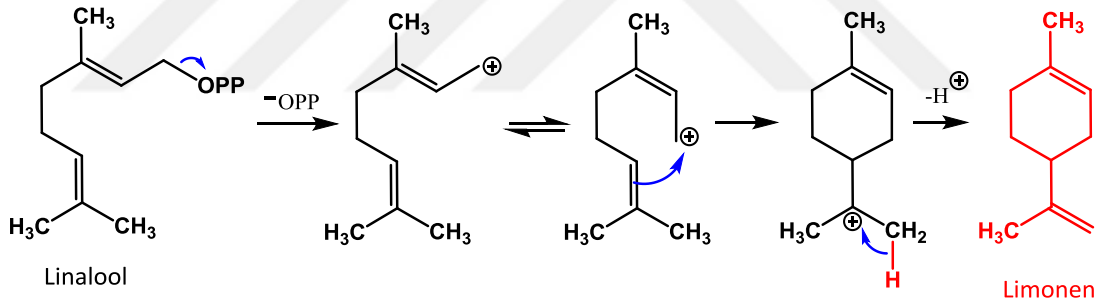
2.2.1.2 Monosiklik Monoterpenler

Monosiklik terpenler için özellikli bir örnek olan limonen renksiz, oda sıcaklığında sıvı olan ve çok keskin portakal kokusuna sahip bir bileşiktir. İsmi limondan alır ve diğer narenciye meyvelere de kokusunu veren bileşiktir.



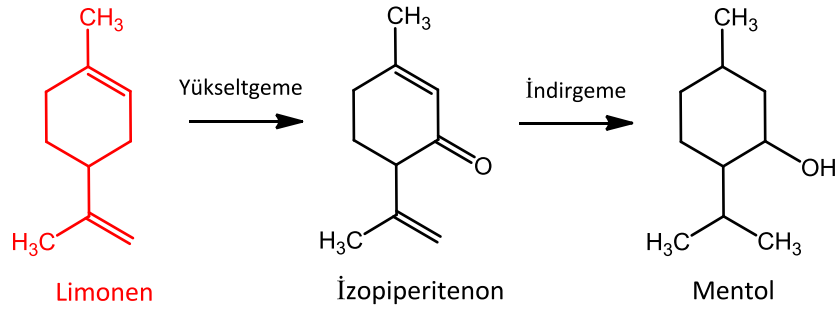
Şekil 2.8 Monosiklik limonen ve diğer monoterpenlerin yapısal formülleri

Endüstriyel olarak; gıda ve kozmetik ürünlerinin üretiminde limon ve portakal aroması oluşturmak için kullanılır. Genel bir sentez tasarımı için limonen, geranil pirofosfatın siklizasyon reaksiyonu sonucu elde edilebilir.



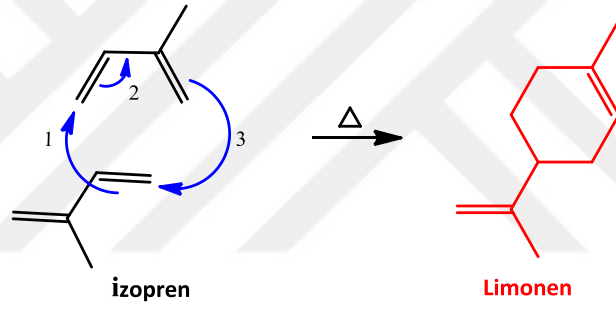
Şekil 2.9 Geranil pirofosfattan limonen' in sentezi

Yine birçok hazır gıdalarda ve kozmetikte kullanılan mentol bileşiği sentetik olarak üretilir. Burada Limonen bileşiği yükseltgeyici ajanlarla örneğin di-*tert*-bütil krom oksit ($\text{Di-}t\text{-Butil-CrO}_4$) ile yükseltgendiğinde izopiperitenon, elde edilen izopiperitenon bileşiği de Pd/C , $\text{H}_{2(g)}$ ile hidrojenasyona uğratarak mentol elde edilir.



Şekil 2.10 Limonenden mentolün biyosentezi

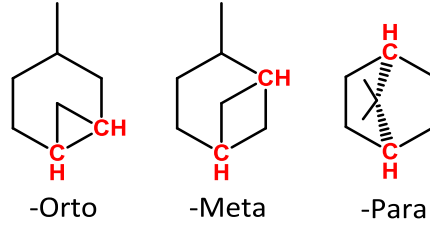
Monosiklik monoterpenlerin oluşum mekanizması ayrıca tipik bir Diels-Alder reaksiyonudur. İki izopren bileşiğinin biri konjuge dien diğeri dienofil olarak davranarak [4+2] siklo-katılma reaksiyonu verirler. Diels-Alder reaksiyonu, termal olarak (Δ) izinli olup 4π elektron sistemine sahip dienin LUMO' su ile 2π elektron sistemine sahip dienofilin HOMO' su arasında gerçekleşir.



Şekil 2.11 Limonen' in sentezi

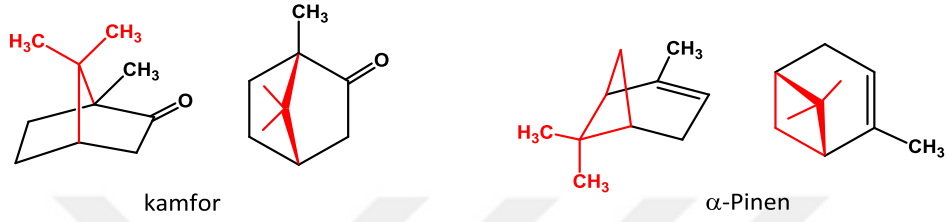
2.2.1.3 Bisiklik Monoterpenler

Altılı sikloheksan içerisinde üçlü, dörtlü veya beşli halkalardan oluşmuş 10 karbonlu hidrokarbon yapılarına bisiklik monoterpenler denir. Ayrıca siklopropan ve siklobütan halkaları gerilimli, kararsız halkalardır. Doğada, bu halkaların oluşumunu yeterli derecede kararlı kılmak için köprübaşı pozisyonlarda elektron verici geminal metil gruplarını içeren yapıları oluşturmaktadır. On karbonlu açık düz zincir yapısını üç olası bisiklik yapısı oluşacak şekilde kapatılabilir ve bu bisiklik yapısında kurulan köprüler birbirine göre -orto, -meta, -para pozisyonundaki karbonlar arasında gerçekleşir. (Şekil 2.12).



Şekil 2.12 Olası bisiklik monoterpen yapıları

Bisiklik yapılarına en iyi örnekler, kamfor, α -pinen bileşiklerini verebiliriz [14].

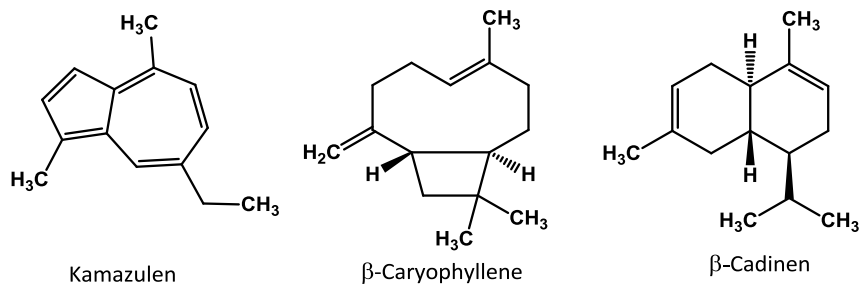


Şekil 2.13 Kamfor ve α -pinen bileşiklerinin yapısı

2.2.2 Seskiterpenler

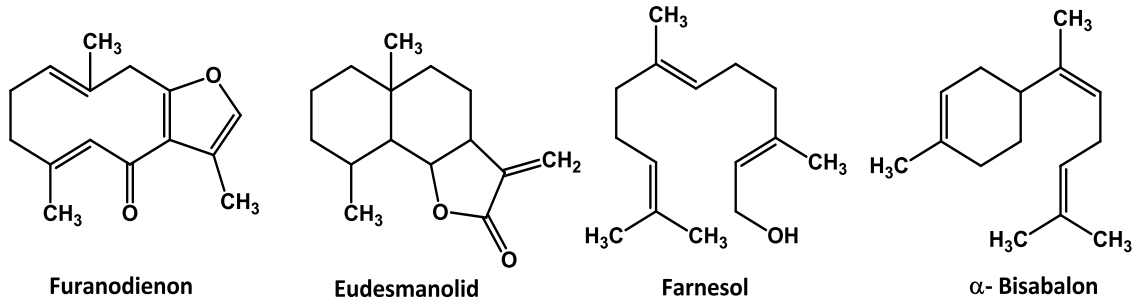
Terpenlerin en geniş sınıfını oluşturan seskiterpenler, doğada geniş bir dağılıma sahip olan 15 karbonlu organik bileşiklerdir. Monoterpenlerin yapıtaşı olan *trans*-geranil pirofosfat molekülü izopentenil pirofosfat ile kondenzasyona uğrayarak seskiterpenleri oluşturur.

Seskiterpenler asiklik, monosiklik, bisiklik, trisiklik ve tetrasiklik olarak 5 ayrı formda bulunabilirler. Bu yapılar özellikle *Compositae* familyasında oldukça yaygın olarak bulunur. Doğadan izole edilen seskiterpenlerin içinde β -Cadinen (ardıç katranından) ve β -Caryophyllene (karanfil yağından) bulunur. Seskiterpen laktonları diğer seskiterpenlerden bir α -metilen γ -lakton sisteminin varlığı ile farklılık gösterir. Birçoğu epoksitlerde olduğu gibi α,β -doymamış karbonil grubu içerir [14].



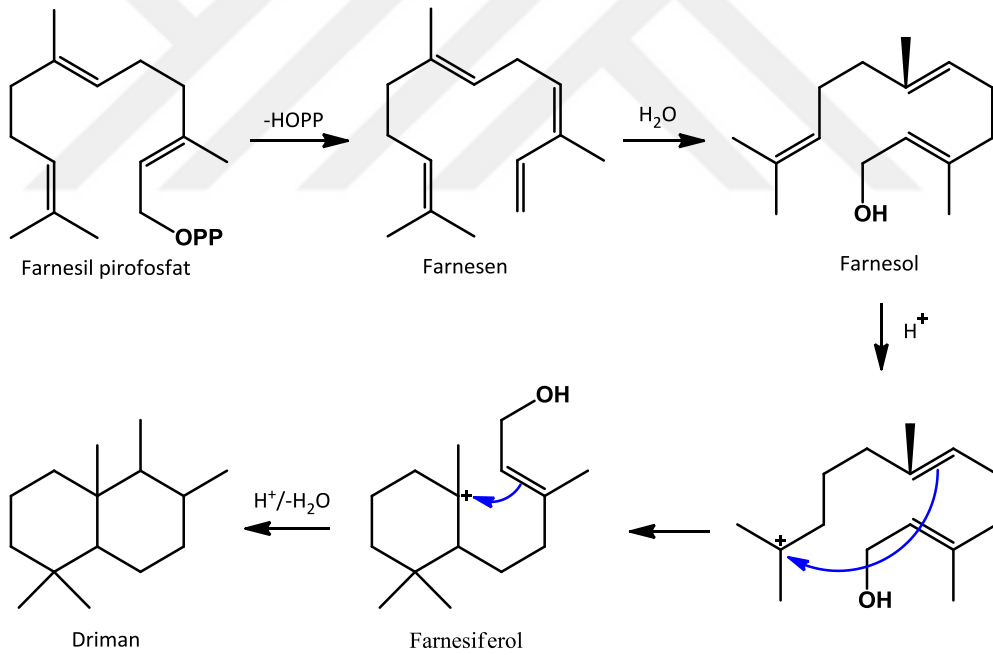
Şekil 2.14 Bisiklik seskiterpen molekül yapıları

Farnesol asiklik seskiterpenlere örnektir. Ambrette tohumlarının yağında bulunur ve leylak kokusundadır. Monosiklik seskiterpenlere bisabalon örnek olarak verilebilir. Bisabalon esansiyel yağlarda bulunur [15].



Şekil 2.15 Bazı seskiterpen molekül yapıları

Kamazulen bisiklik seskiterpenlerin önemli örnekleri arasında yer alır. Mayıs papatyası olarak da bilinen Kamazulen, boğaz ağrılarında gargara olarak kullanılan bir organik bileşiktir [15].

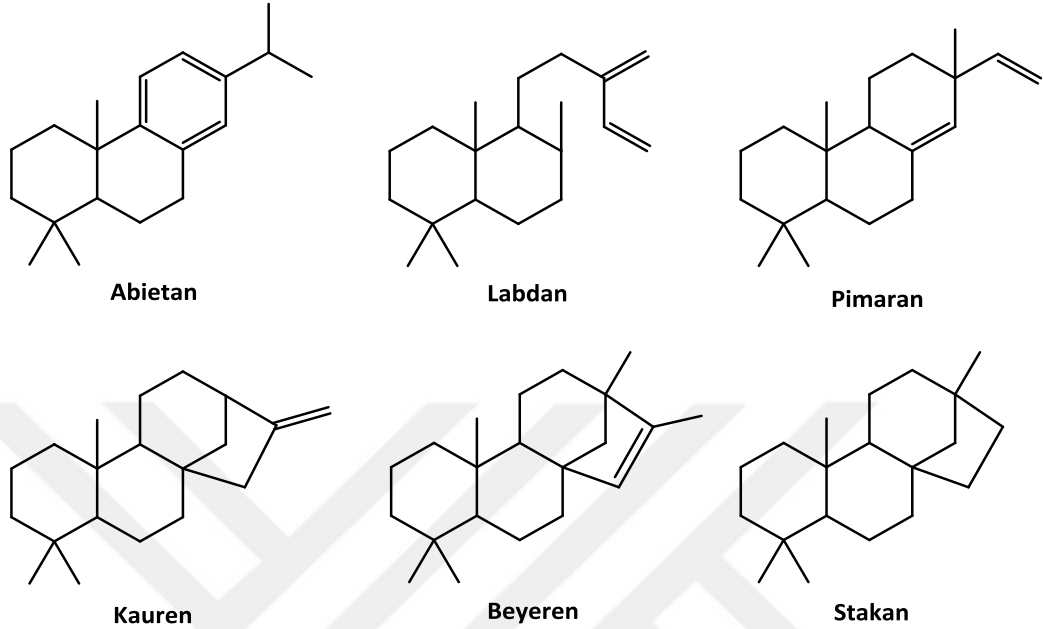


Şekil 2.16 Bisiklik seskiterpenlerin biyosentezi

2.2.3 Diterpenler

Diterpenler, geranilgeranil pirofosfattan türemiş doğal izoprenoid ailesinin en çok bulunan üyeleridir ve dört izopren zincirinin birbiriyle bağlanması sonucu oluşan 20 karbonlu (C) organik bileşiklerdir. Diterpenler, ayrıca bitkiler âleminin yaygın türleri

arasında yer alır ve çeşitli farmakolojik etkilere sahiptirler. Bu bileşikler doğada farklı birçok iskelet yapısında bulunabilir ve taşıdıkları ana iskelet yapısına göre sınıflandırılırlar, doğada çok bulunan diterpen iskeletleri Şekil 2.17’ de gösterilmiştir.



Şekil 2.17 Diterpen İskelet Yapıları

Diterpenlerde, steroidlere ve triterpenlere nazaran daha kolay oksitlenme görülür. Bu nedenle diterpenlerde komşu grup desteğinden dolayı yapısal reaksiyonlarda birçok farklılık gözlenir ve birçok iskelet yapısı oluşur. Ayrıca iskelet yapılarındaki gruplar arasında bağ yapmayan iç etkileşimler, özellikle 1,3-diaksial etkileşimler bulunmaktadır. Köprülü halka sistemlerinin bulunuşu, özellikle tetrasiklik diterpen yapıları non-klasik karbokasyon oluşumunu destekler ve bu yapılarda Wagner-Meerwein düzenlenmesi gözlenir [15].

Doğal ürünler içerisinde, diterpenler en geniş biyolojik aktiviteye sahip bileşiklerdir. Diterpenler hormonları geliştiren bitkilerde bulunmaktadır. Örneğin;

- **Gibberalin**; bitki büyüme hormonu,
- **Podolacton**; bitki büyüme inhibitörü,
- **Cloradane**; acı maddeler, antifeedantlar böcekleri; anti-tümör kanser etkisi ve bazı antibiyotiklere benzer özellikleri, bunun yanı sıra yüksek tansiyonu düşürücü etkisi

Biyolojik aktif diterpen iskelet yapılarının oluşumu sırasında 1,3-hidrojen (-H) ve metil (-CH₃) kaymalarına olanak tanımaktadır. Ara ürün olarak oluşan karbokatyon yapıları birçok diterpen iskelet yapılarının oluşmasını sağlamaktadır [16]. Şekil 2.18’ de diterpen iskeletlerinin biyosentez basamakları gösterilmiştir.

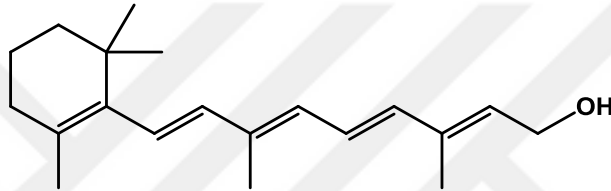


İskelet yapısında halka içermeyen bu diterpen yapıları yirmi karbon ve bağlı sübstitüentlere göre yirminin üzerinde karbon sayısına sahip olan doymuş ya da doymamış yapılardır.

Asiklik diterpenler; Doğada az rastlanan diterpenler olup genellikle deniz ürünlerinden elde edilmektedirler. Fitol, osimen, geraniol, farnesol türevleri ve oksepan diterpenler bunlara ait örneklerdir.

2.2.3.2 Monosiklik Diterpenler

Tek halkalı yapıya sahip monosiklik diterpenlere en iyi örnek retinoldür. 20 karbonlu retinol, A1 vitamini olarak bilinir ve havuç, kayısı, kavun, böğürtlen, şeftali, balkabağı, mango gibi sarı, turuncu renklerdeki meyve ve sebzelerde bol miktarda bulunur. Bitki hücrelerinde biyosentezi olmayan retinol omurgalı hayvanların karaciğerlerinde karotenoitlerin (C-40) ikiye bölünmesi ile oluşan organik bir bileşiktir.



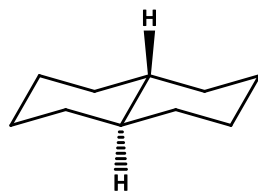
Şekil 2.19 Retinol İskelet Yapısı

2.2.3.3 Bisiklik Diterpenler

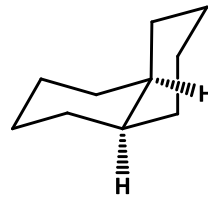
Bisiklik diterpenler Labdanlar (Labdanes) ve Kloedanlar (Kloedans) olmak üzere iki iskelet yapısında incelenir.

➤ Labdanlar

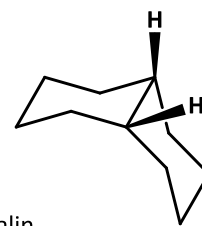
Labdanlara özellikle *Compositae* ve *Lamiaceae* familyalarındaki bitkilerde yaygın olarak rastlanmaktadır. Diterpen iskelet yapılarının karakteristik bir özelliği triterpen ve stereoidlerin aksine bu aşamada ortaya çıkar. İki sikloheksan halkasının birbiriyle kaynaşması sonucu iskelet yapıları oluşur. Bu iki sikloheksan birbiriyle iki uzaysal konformerde bir araya gelebilirler. Bunlar *cis*-dekalin ve *trans*-dekalin yapılarıdır.



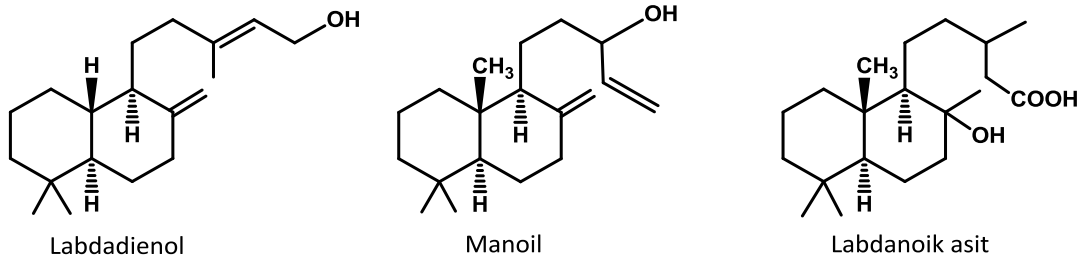
trans-Dekalin



cis-Dekalin



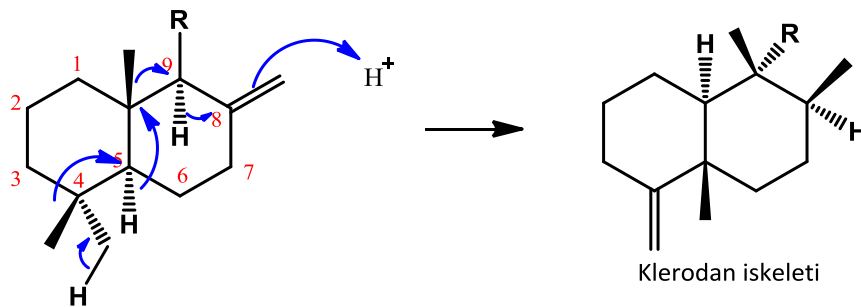
Labdanların iskelet yapıları en kararlı konformer olan *trans*-dekalin yapısıdır. Labdan yapılarına birkaç örnek Şekil 2.20' de verilmiştir.



Şekil 2.20 Labdan iskeletine sahip bisiklik diterpen molekülleri

➤ Klerodanlar

Literatürde 400'ü aşkın klerodan ve neo-klorodan türevleri bilinmektedir, bunların çoğu *Teucrium* türlerinden elde edilmişlerdir. Klerodan iskelet yapısı bir seri Backbone veya Friedo düzenlenmeleri sonucu oluşmaktadır. Klerodan yapısı incelendiğinde düzenlenme sırasında metil ve hidrojen kaymalarının olduğu düşünülmektedir. Şekil-2.21 de görüldüğü gibi 4 numaralı karbondaki metil grubu C-5 karbonuna, C-5 karbonundaki hidrojen atomu C-10 karbonuna, C-10 karbonundaki metil grubu C-9 karbonuna, C-9 karbonundaki hidrojen atomu da C-8 karbonuna transfer olmuştur. Burada alken yapısının bir proton yakalaması ile başlayan metil ve hidrojen kaymaları sonucunda klerodan yapısı oluşmaktadır.

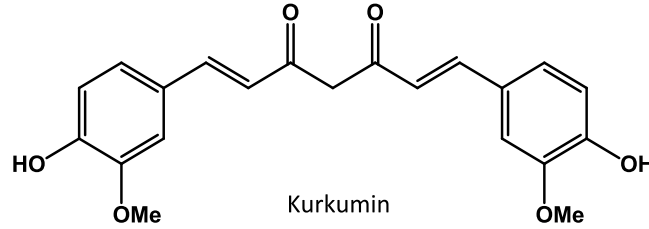


Şekil 2.21 Backbone veya Friedo düzenlenmesi

2.2.3.4 Disiklik Diterpenler

İki siklik halka içeren diterpen yapılarına örnek olarak doğal ürün diarilheptanoid iskelet yapıları gösterilebilir. Diarilheptanoid bileşikleri doğada birçok bitki türünde eser miktarlarda bulunan iskelet yapılarıdır. Doğadan izole edilen, diarilheptanoid yapısındaki

ilk doğal ürün Kurkumindir. Kurkumin 1815’de Vogel ve Pelletier tarafından *Curcuma longa*’ dan izole edilmiş olup, 1910’ da Milobedzka ve grubu tarafından yapısı aydınlatılmış ve 1913 tarihinde de Lampe and Milobedzka tarafından ilk sentezi gerçekleştirilmiştir [1].



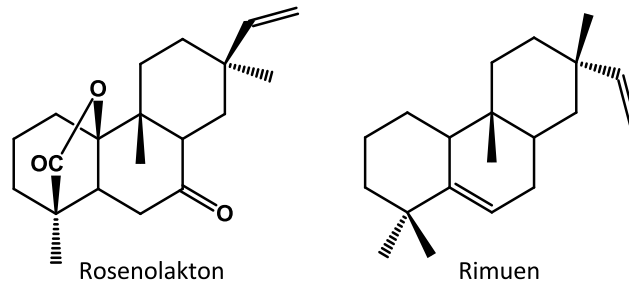
Şekil 2.22 Kurkumin’ in iskelet yapısı

2.2.3.5 Trisiklik Diterpenler

Trisiklik diterpen iskelet yapıları; Rosanlar (Rosanes), Pimaranlar (Pimarenes), Abietanlar (Abietans), Kassarlar (Cassanes) olmak üzere dört grup altında sınıflandırılır. Bu bileşikler 20 karbonlu olup, üç siklik halkaya sahiptirler.

➤ Rosanlar (Rosanes)

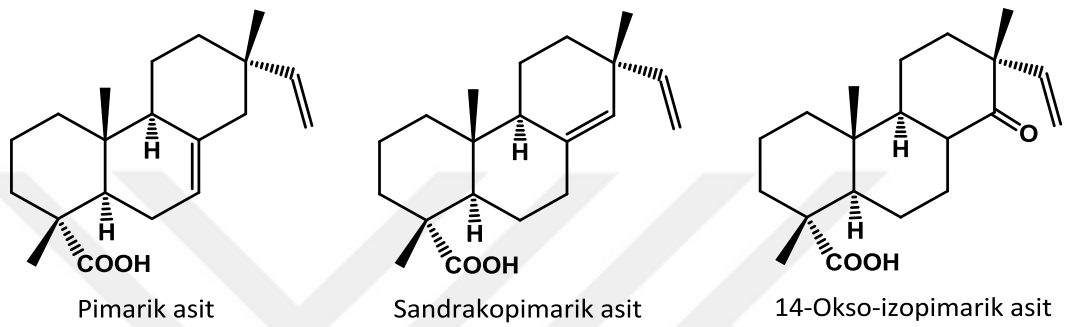
Trichothecium Roseum ve *Erythoxylon*’dan izole edilen rozenalakton, rimuen gibi trisiklik diterpenler bu gruba ait üyelerdir. Rozenalakton, yapısında bulunan karboksilik asit ve hidroksi grubunun birbiriyle vermiş oldukları esterleşme tepkimesi sonucu lakton yapısı oluşturarak dördüncü bir halka oluşumunu sağlarlar. Bu bileşik molekül içi halkalaşmadan dolayı dört halka içermesine rağmen trisiklik diterpen üyesidir.



Şekil 2.23 Rosenolakton ve Rimuen yapıları

➤ Pimaranlar (Pimarenes)

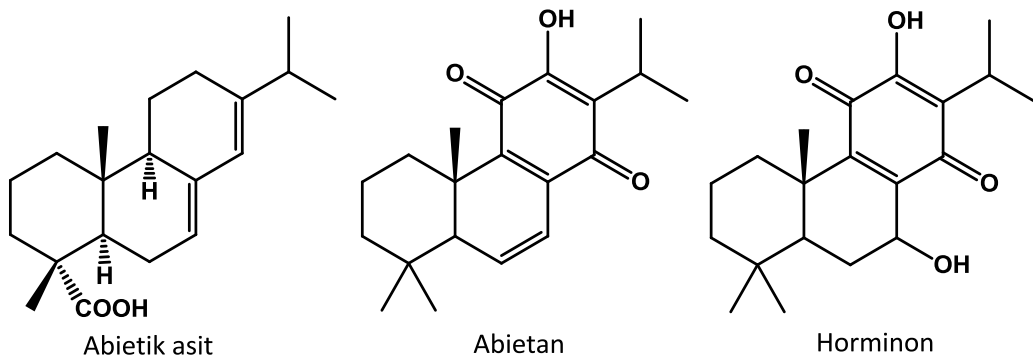
Trisiklik diterpen olan Pimaran iskelet yapısı, bisiklik diterpen olan labdan yapısının halkalaşma reaksiyonu sonrasında oluşmaktadır. Genel olarak diterpen iskeletlerinin oluşumu şekil 2.18 de gösterilmiştir. Pimaran iskelet yapısındaki bileşikler genellikle çeşitli çam reçinelerinde görülmektedir. Pimaradien bileşikleri oldukça yaygındır ve halka içindeki çift bağın pozisyonu farklılık göstermektedir. Bu iskelet yapısının en iyi bilinen örnekleri pimarik asit ve türevleridir.



Şekil 2.24 Pimarik asit ve türevleri

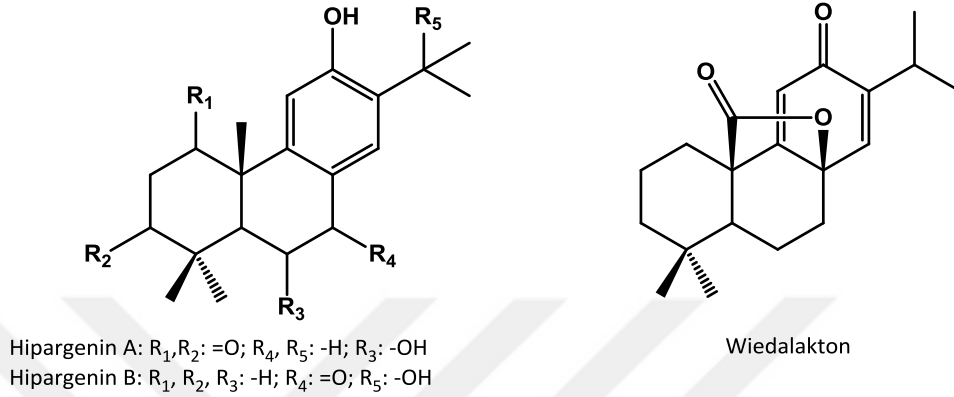
➤ Abietanlar (Abietans)

Trisiklik diterpen pimaran halkasında molekül içi düzenlemeler sonucu abietan iskelet yapısı oluşmaktadır. Abietan yapısı incelendiğinde C-halkasındaki metil grubunun komşu vinil yapısına kaydığı ve izopropil yan zincirini oluşturduğu görülmektedir. Ayrıca C-halkasının iskelet yapısında de-hidrojenasyon sonucu aromatik abietan yapılarının oluştuğu görülmektedir. Oluşan bu yapılar çoğunlukla fenolik abietan türevleridir. Bu yapının en iyi bilinen örnekleri abietik asit, kinon türevleri abietan ve horminon'dur.



Şekil 2.25 Abietik asit, Abietan ve Horminon yapıları

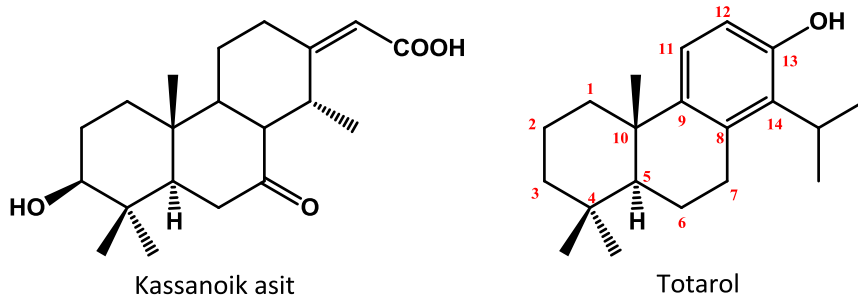
Salvia, Türkiye'nin bitki florasında yetişen bir türdür. Bu bitki türünden son zamanlarda elde edilen yeni diterpenoid abietan ve türevleri birçok biyolojik aktiviteye sahiptirler. Örneğin *S. hypargeia* bitkisinden izole edilen Hipargenin A ve B antibakteriyel aktivite gösterirler [17]. Ayrıca lakton türevi olan diterpenoid abietan, wiedelakton *S. Wiedemanni Boiss.* bitkisinden izole edilmiştir [18].



Şekil 2.26 Biyolojik aktif abietan türevleri

➤ Kassanlar (Cassanes)

Abietanlardan farklı olarak Kassanlar yeniden düzenlenmeyle metil grubu C-14 karbonuna göç eder. Kassan iskelet yapılarının abietanlardan farkı alkil gruplarının 14 numaralı karbona bağlı olmasıdır. Yapının en iyi bilinen örneği kassanoik asittir. *Podocarpus totora*'dan izole edilmiş totarol'de bu gruba ait organik bir bileşiktir.

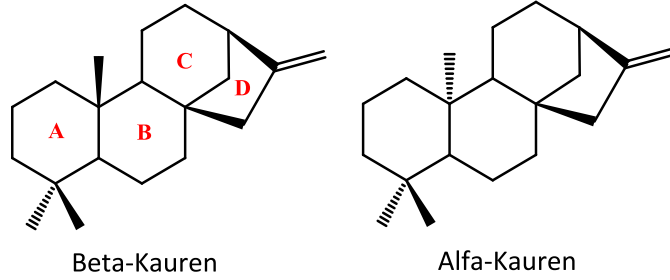


Şekil 2.27 Kassan türevleri

2.2.3.6 Tetrasiklik Diterpenler

Pimaradienlerin karbokasyon düzenlenmesi sonucu tetrasiklik diterpen molekül yapıları oluşmaktadır. Halka içindeki çift bağa, proton katıldığında 8 numaralı karbondan tersiyer karbokasyon oluşur oluşan bu karbokasyona halka dışındaki çift bağ karbonu nükleofilik

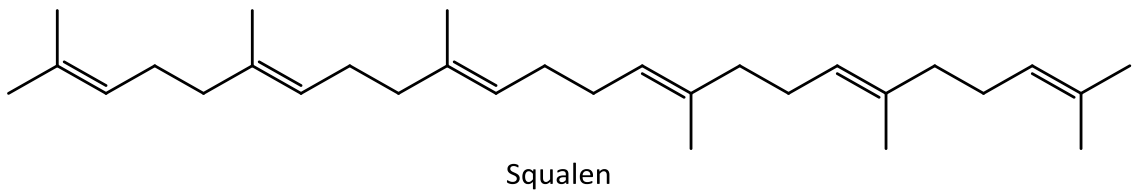
olarak atak eder ve sonuç olarak dört siklik yapısı kurulmuş olur. Mekanizma, Şekil 2.18' de gösterilmiştir. Bu iskelet yapısının en iyi bilinen örneği kauren bileşiğidir. Kauren bileşiğinin iki izomeri vardır. On (10) numaralı karbona bağlı metil grubu (20 numaralı karbon) önde ise β -kauren eğer arkada ise α -kauren veya ent-kauren olarak isimlendirilir.



Şekil 2.28 α,β -Kauren iskelet yapıları

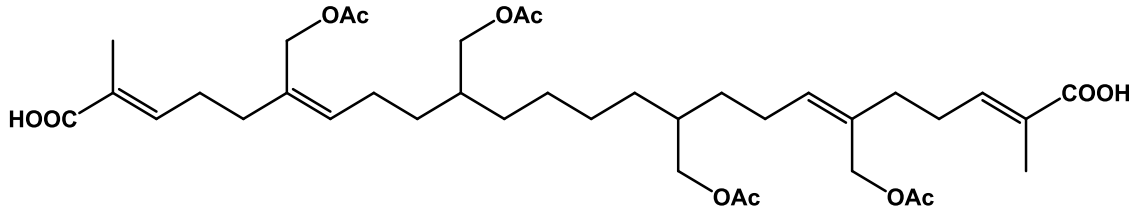
2.2.4 Triterpenler

Triterpenler altı izopren ünitesinin bağlanmasıyla oluşur ve $C_{30}H_{50}$ molekül formülüne sahiptirler. Köpekbalığının karaciğerinden elde edilen ve düz zincirli bir triterpen olan squalen, yağ içerisinde çözünür. Ayrıca squalen yağın ana bileşenlerinden biridir. İki çift farnesil pirofosfat molekülünün birbiriyle verdiği reaksiyon sonucu oluşur. Squalen bileşiğinin asiklik yapıda 6 tane çift bağı vardır. Molekül yapısındaki çift bağlar Pd-C katalizörlüğünde katalitik hidrojenasyon sonucu indirgenerek perhidrosqualen ($C_{30}H_{62}$) elde edilir. Genellikle sabit yağ içeriği yüksek olan zeytin, susam gibi bitkilerin bileşiminde bulunan squalen, kozmetikte krem yapımında kullanılır [19].



Şekil 2.29 Squalen yapısı

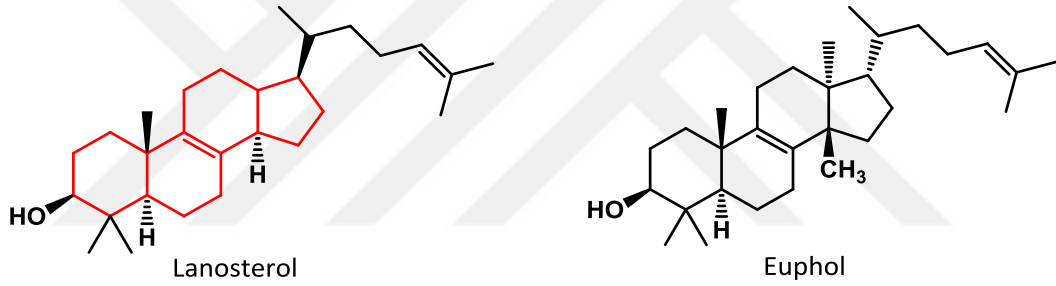
Doğadan izole edilen squalen türevi sapeleninler çok iyi derecede anti-inflamatuvar özellik gösteren bileşiklerdir. Örneğin 6, 10, 15 ve 19 numaralı karbonlarda asetillenmiş hidroksisqualen türevi bileşik (Şekil 2.30) *Peruvian Protium subserratum*' dan izole edilmiştir [20].



Şekil 2.30 Asetillenmiş hidroksisqualen yapısı

2.2.4.1 Tetrasiklik Triterpenler

Tetrasiklik triterpen iskelet yapıları 30 karbonlu ve birbirine bağlı dört siklik yapıya sahiptir. Steroid karbon iskeleti içeren önemli bir bileşik sınıfıdır. Bitki ve hayvan hücrelerinde yaygın olarak bulunan ve kırmızı renkle belirtilen yapı steroidlerin karakteristik yapısını temsil eder. Adrenal korteks hormonları, mide ve safra asitleri, cinsiyet hormonları ve kalp glikozitleri steroid sınıfına ait bileşiklerdir. Bu sınıfın en önemli iki örneği Lanosterol ve Euphol'dur.



Şekil 2.31 Lanosterol ve Euphol yapısı

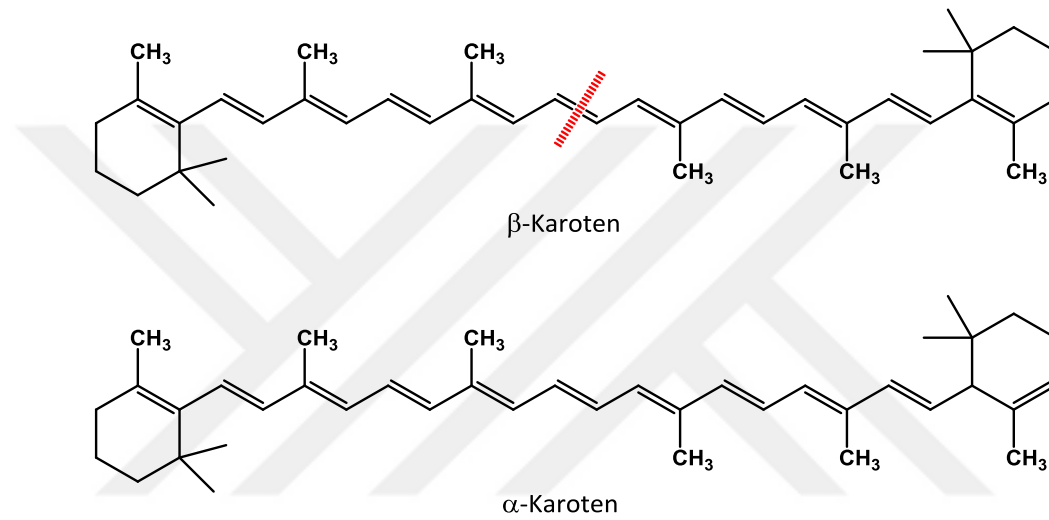
2.2.4.2 Pentasiklik Triterpenler

Pentasiklik triterpenler bitkilerde yaygın bir şekilde oluşan doğal bileşiklerdir. Genel olarak beş sikloheksan halkasının birbirine sıralı bir şekilde bağlanmasıyla oluşan otuz (30) karbonlu bileşiklerdir. Bu aileye ait en iyi bilinen bileşikler oleanolik asit (OA), ursolik asit (UA) ve lupeol'dür (Şekil-1.2). Oleanolik asit ve ursolik asit bitki krallığının birçok familyasında, özellikle de tıbbi bitkilerde çok sık bulunan triterpenoidlerdir ve insan diyetinin ayrılmaz bir parçasıdır. Bu iki triterpenoidin yapısal özelliklerini ve biyolojik aktivitelerini daha iyi anlamak için, literatürde binlerce makale yayınlanmıştır. Yapılan çalışmalar arasında; terpenoidlerin izolasyonu ve saflaştırılması, biyolojik aktiviteyi geliştirmek için iskelet yapısında fonksiyonel grup değişikliği, suda çözünür türevlerinin oluşturulması, faydalı etkileri üzerine farmakolojik araştırma, toksisite çalışmaları, anti-

kanser ve kemoterapi uygulamaları dahil olmak üzere çeşitli hastalıklarda klinik kullanımı yer almaktadır [21].

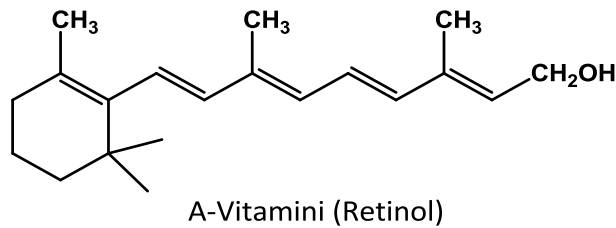
2.2.5 Tetraterpenler

Tetraterpenler, bitkilerin bünyesinde bulunan kırk (40) karbonlu bileşiklerdir. Bu yapıya ait en önemli bileşik α -karoten ve β -karoten bileşiğidir (Şekil 2.32). Karoten bileşiği, bitkilerin klorofil yapısının olgunlaşma süreci sonucunda oluşur ve konjuge sisteme sahiptir. Olgunlaşma sonunda bitkilerin meyve kısmı sarı-turuncu arasında renk alır.



Şekil 2.32 Karoten iskelet yapısı

β -karoten, A-vitaminin öncü maddesi olan bir pro-vitamindir. Karaciğerlerde depolanır ve ihtiyaç duyulduğunda karaciğer enzimleri ile ikiye bölünerek A-vitaminine dönüşür (Şekil 2.33).

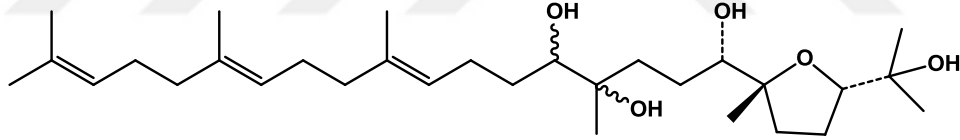


Şekil 2.33 A-Vitami (Retinol)

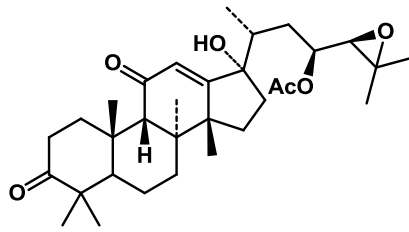
TRİTERPENÖİDLER ve OLEANOLİK ASİT

3.1 Triterpenoidler

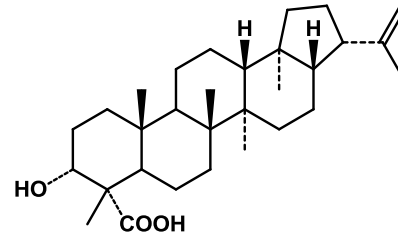
Triterpenoidler, terpen iskelet yapılarının belirli pozisyonlarına elektronegatif oksijen ve azot gibi hetero atomların bağlanmasıyla oluşan yapılardır. Bu yapılarda çoğunlukla alkol, keton, karboksilik asit, amin ve amid gibi fonksiyonel gruplar bulunmaktadır ve bu grupların artmasıyla terpenoidlerin suda çözünürlüğü artmaktadır. Terpenoidler; squalen, lanostan, dammaran, lupan, oleanan, ursan, hopan grup gibi yapılardan oluşabilir. Bu yapılar için örnekler Şekil 3.1’ de verilmiştir.



Squalen grup terpenoid



Lanostan grup terpenoid



Hopan grup terpenoid

Şekil 3.1 Terpenoidler

3.2 Oleanolik Asit (Oleanan Grup)

Oleanolik asit otuz karbonlu pentasiklik bir triterpendir ve bitkilerin bünyelerinde ya saponin veya aglikon “oleanolik asidin glikozit yapısı” olarak ya da serbest asit olarak

bulunur. Oleanolik asidin serbest asit yapısı şekil-1.1' de verilmiştir. Ursan iskelet yapısına sahip ursolik asit, oleanolik asidin yapısal izomeridir. Oleanolik ve Ursolik asit tıbbi bitkilerin bünyelerinde sıkça rastlanan triterpenoidlerdir ve insanlığın zayıflamak için sıkça kullandığı bitkilerin önemli bir kısmını oluşturur. Bilim insanları son yirmi otuz yıl boyunca yayınladıkları 700 den fazla çalışmada bu triterpenleri daha iyi anlamaya çalışmış ve bu çalışmalarda, birçok bitki ve otlardan yaptıkları izolasyonlar sonucu elde ettikleri triterpenleri; daha etkili yapıya dönüştürmek için kimyasal modelleme çalışmalarında, suda çözünen türevlerini oluşturmada, yararlı etkileri üzerine farmakolojik araştırmalarda, toksitite çalışmalarını da içeren birçok biyolojik aktivite çalışmalarında ve kemoterapi dahil çeşitli hastalıklar üzerine klinik araştırmalarda kullanmışlardır.

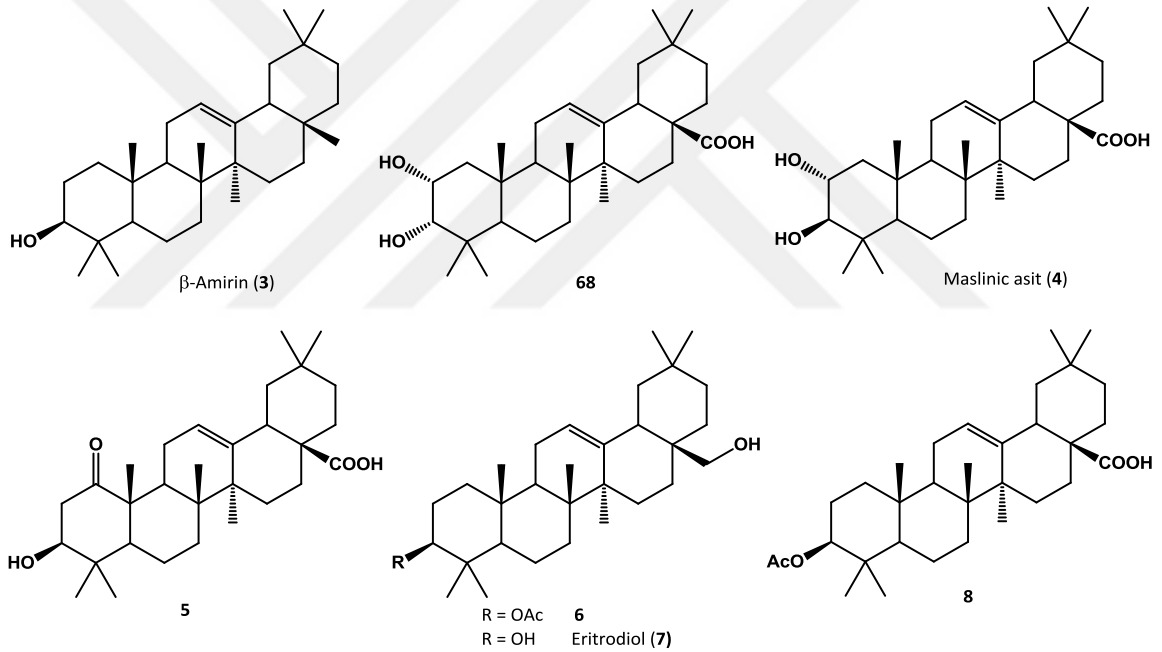
3.2.1 Oleanolik Asit ve Türevlerinin İzolasyon Çalışmaları

Oleanolik asit (OA); *Salvia Genus (Lamiaceae)*, *Olea Europaea (Oleaceae)*, *Viscum Album L (Santalaceae)*., *Aralia Chinensis L. (Araliaceae)* ve 120' nin üzerinde diğer bitki türünün yaprak ve köklerinden izole edilen pentasiklik bir triterpenoiddir [22]. Oleanolik asit izolasyonun en çok yapıldığı *Lamiaceae* familyası, yeryüzünde 250 kadar cinse ve 3200' ü aşkın türe sahiptir. Yurdumuzda ise 46 cins ve bunlara ait 758 takson ile temsil edilen *Lamiaceae* familyası Türkiye'nin en zengin üçüncü familyası olup ülkemizdeki endemizm oranı % 45'tir [23]. *Lamiaceae* familyası (Ballıbabagiller); nane, adaçayı, oğulotu, kekik, lavanta, reyhan gibi tanınmış ve ekonomik öneme sahip birçok tıbbi bitki türünü kapsamaktadır. Geniş adaptasyon sınırlarına sahip bu bitkilerin, özellikle ılıman ve tropikal bölgelere iyi uyum gösterdiği bilinmektedir. Ülkemizde de hemen her bölgenin doğal florasında bu familyaya ait türlere rastlamak mümkündür. Ayrıca Ege ve Akdeniz Bölgesi, familyanın endemik türleri açısından önemli bir konuma sahiptir [24].

Salvia L., 900 tür içeren *Lamiaceae* familyasından en büyük cinslerden biridir ve Amerika, Avrupa ve Asya kıtası gibi dünyanın çeşitli bölgelerinde yaygın olarak yetişir. Bu cinsine ait bitkiler tipik olarak 30-150 cm boyunda, otsu ya da çalimsı yapıdadır. Etkileyici renklere sahip olan *Salvia* cinsine ait bitki türleri çok yıllık, nadiren iki yıllık veya bir yıllık bitkilerdir.

Jash ve çalışma grubu [25], yaptıkları derleme çalışmasında bugüne kadar tüm *Salvia* türlerinden izole edilen molekülleri araştırmışlardır. Yaptıkları derlemede tüm *Salvia* türünden yalnızca 113' nde, farklı iskelet yapılarına sahip 214 triterpenoidin izole edildiğini ve yapılarının aydınlatıldığını bildirmişlerdir. İzole edilen triterpen yapılarından olean iskeletine sahip olan 68 bileşik çizelge 1.2 de gösterilmiştir.

Salvia cinsine ait farklı türlerden yapılan saflaştırma işlemleri sonucu en çok izole edilen bileşikler arasında oleanolik asit (**1**), β -amirin (**3**), $2\alpha,3\alpha$ -dihidroksiolean-12-en-28 oik asit (**68**), maslinik asit (**4**), vergatik asit (**5**), 3-asetileritrodiol (**6**), 3-asetiloleanolik asit (**8**) olduğu görülmektedir (Çizelge 1.2). Yapılan izolasyon çalışmalarında, farklı birçok *salvia* türünden elde edilen triterpenler arasında en çok oleanolik asit (**1**) bileşiği elde edilmiştir. Yukarıda belirtilen bileşiklerin yapıları şekil-3.2' de verilmiştir.



Şekil 3.2 *Salvia* türünden izole edilen triterpenler

Triterpenler, *Lamiaceae* familyasının yanı sıra farklı familyalarda yapılan çalışmalarda da elde edilmiştir. Özellikle eritrodiol (**7**), *Putranjivaceae* (*Putranjiva Roxburghii*) [26], *Moraceae* (*Trilepisium Madagascariense*) [27], *Lecythidaceae* (*Lecythis pisonis*) [28], *Asteraceae* (*Echinops Galalensis*) [29] ve *Euphorbiaceae* (*Alchornea Cordifolia*) [30] gibi birçok farklı familyalardan izole edilmiştir.

Çizelge 3.1 *Salvia*' dan izole edilen oleanan grup triterpenoidler

Sıra No	Triterpenoidler	<i>Salvia</i> Türü
1	Oleanolik asit (1)	<i>S. aegyptiaca</i> L.; <i>S. amplexicaulis</i> Lam.; <i>S. Anastomosans</i> Ramamoorthy; <i>S. apiana</i> Jeps; <i>S. argentea</i> L.; <i>S. aspera</i> M. et G; <i>S. Ballotaeflora</i>; <i>S. breviflora</i> Moc. et Sesse; <i>S. broussonetii</i> Benth.(<i>S. bolleana</i>); <i>S. buchananii</i> Hedge; <i>S. cabulica</i> Benth.; <i>S. caespitosa</i> Mont. et Auch. ex Benth.; <i>S. candelabrum</i> Boiss; <i>S. candicans</i> Mart. & Gal.; <i>S. cardiophylla</i> Benth.; <i>S. carduacea</i> Benth.; <i>S. ceratophylla</i> L.; <i>S. cilicica</i> Boiss. et Kotschy; <i>S. deserta</i> Schang; <i>S. divaricata</i> Mont. et Auch. ex Benth.; <i>S. euphratica</i> Mont. et Auch. ex Benth.; <i>S. glutinosa</i> L.; <i>S. gilliessi</i> Benth.; <i>S. glabrescens</i> Makino; <i>S. hierosolymitana</i> Boiss; <i>S. hydrangea</i> DC. ex Benth.; <i>S. horminum</i> L. (<i>S. viridis</i> L.); <i>S. lanigera</i> Poir.; <i>S. Lasiantha</i>; <i>S. lavandulifolia</i> Vahl.; <i>S. lavanduloides</i> (Cantueso); <i>S. leucantha</i> Cav.; <i>S. limbata</i> C. A. Meyer; <i>S. lineata</i> Benth.; <i>S. longipedicellata</i> Hedge; <i>S. longystyla</i> Benth.; <i>S. mellifera</i> Greene; <i>S. menthaefolia</i> Tenore; <i>S. microphylla</i> Kunth; <i>S. montbretii</i> Benth.; <i>S. moorcraftiana</i> Wall.; <i>S. nemorosa</i> L.; <i>S. nicolsoniana</i> Ramamoorthy; <i>S. nilotica</i> Juss. ex Jacq.; <i>S. officinalis</i> L. <i>S. palaefolia</i> H. B. K.; <i>S. palaestina</i> Benth.; <i>S. pinnata</i> L.; <i>S. pisidica</i> Boiss. & Heldr.; <i>S. pomifera</i> L.; <i>S. potentillifolia</i> Boiss.et Heldr.; <i>S. pratensis</i> L.; <i>S. przewalskii</i> Maxim.; <i>S. regla</i> Cav.; <i>S. reptans</i> Jacq.; <i>S. ringens</i> Sm.; <i>S. roborowskii</i> Max.; <i>S. sapinae</i> Epl.; <i>S. scabiosifolia</i> Lam.; <i>S. sclarea</i> L.; <i>S. Sousae</i>; <i>S. splendens</i> L.; <i>S. syriaca</i> L.; <i>S. thymoides</i> Benth.; <i>S. tricupis</i>; <i>S. triloba</i> L. (<i>S. fruticosa</i> L.) <i>S. tomentosa</i> Miller; <i>S. verticillata</i> L.; <i>S. virgata</i> Aiton
2	β -Amirin (3)	<i>S. aegyptiaca</i> L.; <i>S. amplexicaulis</i> Lam <i>S. apiana</i> Jeps; <i>S. cardiophylla</i> Benth. <i>S. cryptantha</i> Mont. et Auch. ex Benth; <i>S. glutinosa</i> L.; <i>S. mellifera</i> Greene; <i>S. nilotica</i> Juss. ex Jacq.; <i>S. officinalis</i> L.; <i>S. palaefolia</i> H. B. K.; <i>S. pisidica</i> Boiss. & Heldr.; <i>S. potentillifolia</i> Boiss.et Heldr.; <i>S.</i>

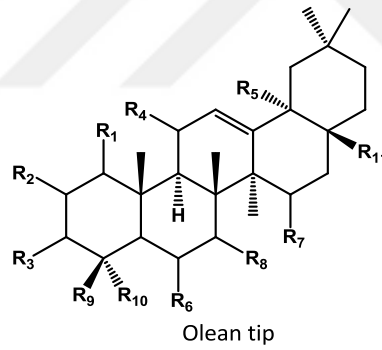
		<i>transsylvanica</i> (Schur ex Griseb.); <i>S. pratensis</i> L.; <i>S. triloba</i> L. (<i>S. fruticosa</i> L.); <i>S. tomentosa</i> Miller; <i>S. verticillata</i> L.
3	2 α ,3 β -Dihidroksiolean-12-en-28-oik asit (Maslinik asit, Crataegolik asit) (4)	<i>S. broussonetii</i> Benth. (<i>S. bolleana</i>); <i>S. carduea</i> Benth.; <i>S. cryptantha</i> Mont. et Auch. ex Benth; <i>S. deserta</i> Schang; <i>S. glabrescens</i> Makino; <i>S. grandiflora</i> Etling; <i>S. hierosolymitana</i> Boiss; <i>S. nilotica</i> Juss. ex Jacq.; <i>S. officinalis</i> L.; <i>S. oxyodon</i> L.; <i>S. palaestina</i> Benth.; <i>S. potentillifolia</i> Boiss. et Heldr.; <i>S. Tricupis</i> ; <i>S. ringens</i> Sm.; <i>S. roborowskii</i> Max.; <i>S. scabiosifolia</i> Lam. <i>S. tomentosa</i> Miller; <i>S. verticillata</i> L.; <i>S. virgata</i> Jacq.; <i>S. willeana</i> Holmboe
4	Vergatik asit (1-Okso- β -amirin) (5)	<i>S. cryptantha</i> Mont. et Auch. ex Benth; <i>S. nilotica</i> Juss. ex Jacq.; <i>S. palaestina</i> Benth. <i>S. pinnata</i> L.; <i>S. potentillifolia</i> Boiss. et Heldr. <i>S. tomentosa</i> Miller; <i>S. verticillata</i> L. <i>S. virgata</i> Jacq.
5	3-Asetileritrodiol (6)	<i>S. blepharochlaena</i> Hedge; <i>S. cryptantha</i> Mont. et Auch. ex Benth; <i>S. microphylla</i> Kunth; <i>S. pisidica</i> Boiss. & Heldr.; <i>S. tchihatcheffii</i> (Fisch. et Mey.) Boiss.
6	3-Asetiloleanolik asit (8)	<i>S. apiana</i> Jeps; <i>S. staminea</i> Benth. <i>S. amplexicaulis</i> Lam; <i>S. blepharochlaena</i> Hedge; <i>S. hypargeia</i> Fisch. et Mey. <i>S. recognita</i> Fisch. et Meyer; <i>S. longystyla</i> Benth.; <i>S. mellifera</i> Greene; <i>S. verticillata</i> L.
7	11-Okso- β -amirin (9)	<i>S. glutinosa</i> L.
8	11 α -Hidroksi- β -amirin (10)	<i>S. glutinosa</i> L.
9	1 β ,11 α -Dihidroksiolean-18-en-3-on (11)	<i>S. deserta</i> Schang
10	1 β ,2 α ,3 β ,11 α -Tetrahidroksi-olean-12-en (12)	<i>S. kronenburgii</i> Rech. f.
11	1 β ,3 β -Dihidroksi-olean-9(11),12-dienil (13)	<i>S. xanthocheila</i>
12	23-Hidroksigermanikon (14)	<i>S. pomifera</i> L.
13	24-nor-2 α ,3 β -Dihidroksiolean-4(23),12-en (15)	<i>S. hierosolymitana</i> Boiss
14	28-Asetileritrodiol (16)	<i>S. glutinosa</i> L. <i>S. tchihatcheffii</i> (Fisch. et Mey.) Boiss.
15	2 α ,3 α ,23-Trihidroksimetil oleanolat (17)	<i>S. paramiltiorrhiza</i> H. W. Li et X. L. Huang

16	2 α ,3 α ,23-Trihidroksiolean-12-en-28-oik asit (18)	<i>S. broussonetii</i> Benth.(<i>S. bolleana</i>) <i>S. tricupis</i> <i>S. willeana</i> Holmboe
17	2 α ,3 α ,24-Trihidroksimetil oleanolat (19)	<i>S. paramiltiorrhiza</i> H. W. Li et X. L. Huang
18	2 α ,3 α -Dihidroksi-24-nor-4(23),12-oleanadien- 28-oik asit (20)	<i>S. carduacea</i> Benth.
19	2 α ,3 β ,24-Trihidroksiolean-12-en-28-oik asit (21)	<i>S. roborowskii</i> Max. <i>S. tricupis</i>
20	2 α ,3 β -dihidroksimetil oleanolat (22)	<i>S. paramiltiorrhiza</i> H. W. Li et X. L. Huang
21	2 α -Hidroksi-3-okso-olean-12-en-28-oik asit (23)	<i>S. nilotica</i> Juss. ex Jacq. <i>S. officinalis</i> L.
22	2 β ,3 β ,18-Trihidroksiolean-12-en 28-oik asit (24)	<i>S. tomentosa</i> Miller
23	2 β ,3 β -Dihidroksiolean-5,12-dien 28-oik asit (25)	<i>S. tomentosa</i> Miller
24	3-Asetilvergatik asit (26)	<i>S. caespitosa</i> Mont. et Auch. ex Benth.
25	3-Epi-maslinik asit (27)	<i>S. broussonetii</i> Benth.(<i>S. bolleana</i>) <i>S. grandiflora</i> Etling
26	3-O-asetil oleanolik aldehit (28)	<i>S. apiana</i> Jeps <i>S. paramiltiorrhiza</i> H. W. Li et X. L. Huang
27	3-Okso-oleanoik asit (29)	<i>S. caespitosa</i> Mont. et Auch. ex Benth. <i>S. sclarea</i> L.
28	3 α ,24-Dihidroksiolean-12-en-28,30-dioik asit (30)	<i>S. nicolsoniana</i> Ramamoorthy
29	3 α ,24-Dihidroksiolean-12-en-28- oik asit (31)	<i>S. nicolsoniana</i> Ramamoorthy
30	3 α ,6 α ,24-Trihidroksiolean-12-en-28-oik asit (salvin B) (32)	<i>S. santolinifolia</i>
31	3 α -Asetileritrodiol (33)	<i>S. multicaulis</i> Vahl.
32	3 β ,22 β ,28-Trihidroksiolean-11,15-dien (salvitriol) (34)	<i>S. leucantha</i> Cav.
33	3 β ,22 β ,28-Trihidroksiolean-11-en (leucanthol) (35)	<i>S. leucantha</i> Cav.
34	3 β ,28-Dihidroksiolean-12,20(30)-dien (36)	<i>S. coccinea</i> Juss. ex Murr.
35	3 β ,28-Dihidroksi-olean-12-en (Eritrodiol) (7)	<i>S. apiana</i> Jeps
36	3 β -Asetoksi-2 α ,11 α -dihidroksiolean-12-en (37)	<i>S. haenkei</i> L.

37	3 β -Asetoksiolean-12-en-1 β ,2 α ,11 α -triol (38)	<i>S. argentea</i> L. <i>S. kronenburgii</i> Rech. f.
38	3 β -Asetoksiolean-9,12-dien (39)	<i>S. glutinosa</i> L.
39	3 β -Hidroksi-11 α ,12 α -epoksi-olean-28,13 β -olit (40)	<i>S. longystyla</i> Benth.
40	3 β -Hidroksi-1-okso-olean-12-en-28- metilkarboksilat (41)	<i>S. coccinea</i> Juss. ex Murr.
41	3 β -Hidroksiolean-12-en-28-al (42)	<i>S. mellifera</i> Greene <i>S. palaestina</i> Benth. <i>S. tchihatcheffii</i> (Fisch.et Mey.) Boiss.
42	3 β -Hidroksiolean-11,13(18)-dien-28-oik asit (43)	<i>S. aegyptiaca</i> L. <i>S. argentea</i> L.
43	3 β -hidroksioleanan-13 β ,28 lakton (44)	<i>S. lanigera</i> Poir.
44	Anagadiol (45)	<i>S. broussonetii</i> Benth.(<i>S. bolleana</i>) <i>S. moorcraftiana</i> Wall.
45	Epi-alnusenol (46)	<i>S. glutinosa</i> L. <i>S. nilotica</i> Juss. ex Jacq.
46	Epi-oleanolik asit (47)	<i>S. nilotica</i> Juss. ex Jacq.
47	Eritrodiol diasetat (48)	<i>S. tchihatcheffii</i> (Fisch.et Mey.) Boiss.
48	Germanikol (49)	<i>S. broussonetii</i> Benth.(<i>S. bolleana</i>) <i>S. pratensis</i> L.
49	Moradiol (50)	<i>S. pomifera</i> L.
50	Moronik asit (51)	<i>S. pomifera</i> L.
51	Nivadiol (52)	<i>S. broussonetii</i> Benth.(<i>S. bolleana</i>)
52	Olean-(13)18-en-2 β ,3 β -diol (53)	<i>S. horminum</i> L. (<i>S. viridis</i> L.)
53	Olean-12-en-3-on (3 okso-amirin) (54)	<i>S. palaefolia</i> H. B. K.
54	Olean-12-en-3 β ,7 β ,15 α ,28-tetraol (55)	<i>S. argentea</i> L.
55	Olean-13(18)-en-2 α ,3 β ,11 α -triol (56)	<i>S. pinnata</i> L.
56	Olean-18-en-1 β , 2 α , 3 β -triol (57)	<i>S. atropatana</i>
57	Oleanolik asit metil ester (58)	<i>S. glutinosa</i> L.
58	Oleanonik asit squalen (59)	<i>S. palaefolia</i> H. B. K.
59	Przewanoik asid A (60)	<i>S. przewalskii</i> Maxim.
60	Przewanoik asid B (61)	<i>S. przewalskii</i> Maxim.

61	Reglin [Deasetiloksisessein-7 α ,3 β -hidroksiolean-12-en-28-oat] (62)	<i>S. regla</i> Cav.
62	Salviolide (63)	<i>S. mexicana</i> L. var. <i>minor</i> Benth.
63	Salvinemorol (64)	<i>S. kronenburgii</i> Rech. f. <i>S. nemorosa</i> L.
64	Trijugaoside A (65)	<i>S. trijuga</i> Diels.
65	β -Amirin asetat (66)	<i>S. cryptantha</i> Mont. et Auch. ex Benth <i>S. pisidica</i> Boiss. & Heldr.
66	1 β ,3 β ,11 α -Trihidroksiolean-12-en (1 β ,11 α -dihidroksi, β -amirin) (67)	<i>S. urmiensis</i>
67	2 α ,3 α -Dihidroksiolean-12-en-28 oik asit (68)	<i>S. officinalis</i> L.; <i>S. roborowskii</i> Max.; <i>S. sapinae</i> Epl.; <i>S. Tricupis</i> ; <i>S. virgata</i> Aiton <i>S. willeana</i> Holmboe

Salvia türlerinden izole edilen olean iskeletine sahip triterpen yapılarının birkaçı aşağıda gösterilmiştir. İskelet yapılarında belirtilen **R** grupları, ilgili moleküldeki fonksiyonel grupları ve her farklı molekül için farklı fonksiyonel grupları temsil etmektedir.

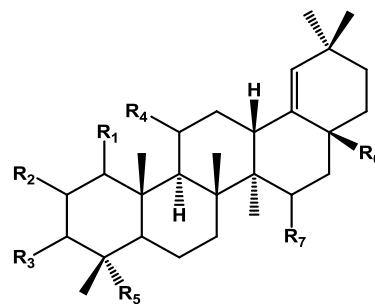


Şekil 3.3 Olean tip triterpen iskelet yapısı

- 9** $R_1, R_2, R_5, R_6, R_7, R_8 = H$; $R_3 = \beta OH$; $R_4 = \text{C}(=O)$; $R_9, R_{10}, R_{11} = CH_3$
- 10** $R_1, R_2, R_5, R_6, R_7, R_8 = H$; $R_3 = \beta-OH$; $R_4 = \alpha-OH$; $R_9, R_{10}, R_{11} = CH_3$
- 12** $R_1, R_3 = \beta-OH$; $R_2, R_4 = \alpha-OH$; $R_5, R_6, R_7, R_8 = H$; $R_9, R_{10}, R_{11} = CH_3$
- 16** $R_1, R_2, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8 = H$; $R_3 = \beta-OH$; $R_9, R_{10} = CH_3$; $R_{11} = CH_2OAc$
- 17** $R_1, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8 = H$; $R_2, R_3 = \alpha-OH$; $R_9 = CH_3$; $R_{10} = CH_2OH$; $R_{11} = COOMe$
- 18** $R_1, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8 = H$; $R_2, R_3 = \alpha-OH$; $R_9 = CH_3$; $R_{10} = CH_2OH$; $R_{11} = COOH$
- 19** $R_1, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8 = H$; $R_2, R_3 = \alpha-OH$; $R_9 = CH_2OH$; $R_{10} = CH_3$; $R_{11} = COOMe$
- 21** $R_1, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8 = H$; $R_2 = \alpha-OH$; $R_3 = \beta-OH$; $R_9 = CH_2OH$; $R_{10} = CH_3$; $R_{11} = COOH$

- 22** $R_1, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8 = H$; $R_2 = \alpha\text{-OH}$; $R_3 = \beta\text{-OH}$; $R_9, R_{10} = CH_3$; $R_{11} = COOMe$
- 23** $R_1, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8 = H$; $R_2 = \alpha\text{-OH}$; $R_3 = \text{C}(=O)$; $R_9, R_{10} = CH_3$; $R_{11} = COOH$
- 24** $R_1, R_4, R_6, R_7, R_8 = H$; $R_2, R_3 = \beta\text{-OH}$; $R_5 = \alpha\text{-OH}$; $R_9, R_{10} = CH_3$; $R_{11} = COOH$
- 26** $R_2, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8 = H$; $R_1 = \text{C}(=O)$; $R_3 = \beta\text{-OAc}$; $R_9, R_{10} = CH_3$; $R_{11} = COOH$
- 28** $R_1, R_2, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8 = H$; $R_3 = \beta\text{-OAc}$; $R_9, R_{10} = CH_3$; $R_{11} = CHO$
- 29** $R_1, R_2, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8 = H$; $R_3 = \text{C}(=O)$; $R_9, R_{10} = CH_3$; $R_{11} = COOH$
- 31** $R_1, R_2, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8 = H$; $R_3 = \alpha\text{-OH}$; $R_9 = CH_2OH$; $R_{10} = CH_3$; $R_{11} = COOH$
- 32** $R_1, R_2, R_4, R_5, R_7, R_8 = H$; $R_3, R_6 = \alpha\text{-OH}$; $R_9 = CH_2OH$; $R_{10} = CH_3$; $R_{11} = COOH$
- 33** $R_1, R_2, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8 = H$; $R_3 = \alpha\text{-OAc}$; $R_9, R_{10} = CH_3$; $R_{11} = CH_2OH$
- 37** $R_1, R_5, R_6, R_7, R_8 = H$; $R_2, R_4 = \alpha\text{-OH}$; $R_3 = \beta\text{-OAc}$; $R_9, R_{10} = CH_3$; $R_{11} = COOH$
- 38** $R_5, R_6, R_7, R_8 = H$; $R_1 = \beta\text{-OH}$; $R_2, R_4 = \alpha\text{-OH}$; $R_3 = \beta\text{-OAc}$; $R_9, R_{10} = CH_3$; $R_{11} = COOH$
- 41** $R_2, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8 = H$; $R_1 = \text{C}(=O)$; $R_3 = \beta\text{-OH}$; $R_9, R_{10} = CH_3$; $R_{11} = COOMe$
- 42** $R_1, R_2, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8 = H$; $R_3 = \beta\text{-OH}$; $R_9, R_{10} = CH_3$; $R_{11} = CHO$
- 47** $R_1, R_2, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8 = H$; $R_3 = \alpha\text{-OH}$; $R_9, R_{10} = CH_3$; $R_{11} = COOH$
- 48** $R_1, R_2, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8 = H$; $R_3 = \beta\text{-OAc}$; $R_9, R_{10} = CH_3$; $R_{11} = CH_2OAc$
- 54** $R_1, R_2, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8 = H$; $R_3 = \text{C}(=O)$; $R_9, R_{10}, R_{11} = CH_3$
- 55** $R_1, R_2, R_4, R_5, R_6 = H$; $R_3, R_8 = \beta\text{-OH}$; $R_7 = \alpha\text{-OH}$; $R_9, R_{10} = CH_3$; $R_{11} = CH_2OH$
- 58** $R_1, R_2, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8 = H$; $R_3 = \beta\text{-OH}$; $R_9, R_{10} = CH_3$; $R_{11} = COOMe$
- 66** $R_1, R_2, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8 = H$; $R_3 = \beta\text{-OAc}$; $R_9, R_{10}, R_{11} = CH_3$
- 67** $R_2, R_5, R_6, R_7, R_8 = H$; $R_1, R_3 = \beta\text{-OH}$; $R_4 = \alpha\text{-OH}$; $R_9, R_{10}, R_{11} = CH_3$
- 68** $R_1, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8 = H$; $R_2, R_3 = \alpha\text{-OH}$; $R_9, R_{10} = CH_3$; $R_{11} = COOH$

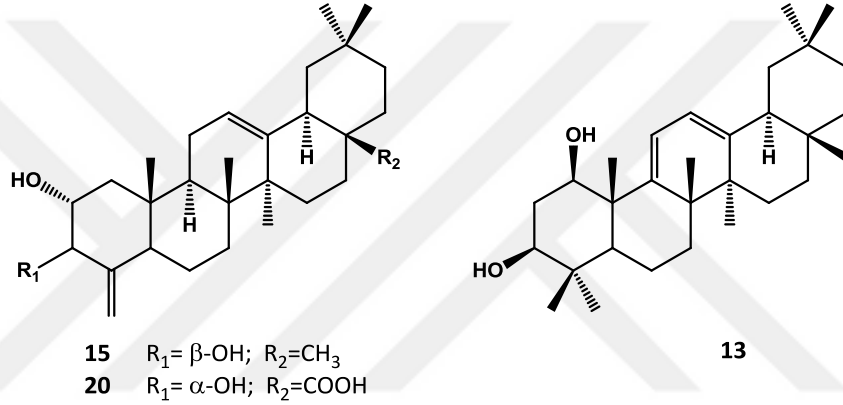
Sekonder metabolitler arasında oleanan tipine benzeyen fakat tam olarak oleanan iskelet yapısına sahip olmayan triterpenler de oluşmaktadır. Bunlar aşağıdaki gibidir.



Diger tip triterpen

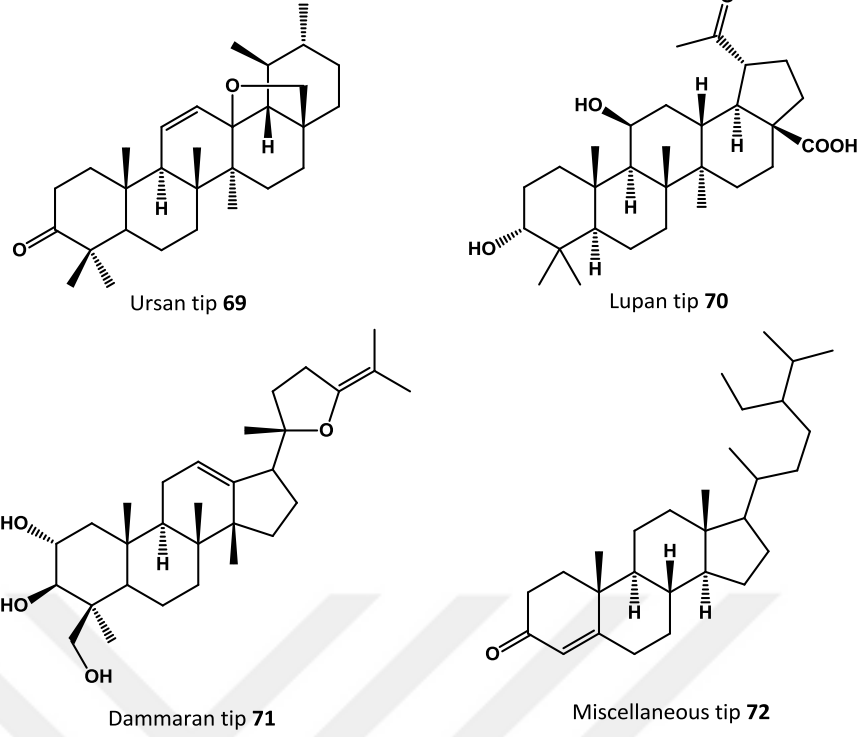
Şekil 3.4 Diğer tip triterpen iskelet yapıları

- 11** $R_1 = \beta\text{-OH}$; $R_2, R_3 = \text{C}(=\text{O})$; $R_4 = \alpha\text{-OH}$; $R_5, R_6 = \text{CH}_3$
- 14** $R_1, R_2, R_4 = \text{H}$; $R_3 = \beta\text{-OH}$; $\text{C}(=\text{O})$; $R_5 = \text{CH}_2\text{OH}$; $R_6 = \text{CH}_3$
- 45** $R_2, R_4 = \text{H}$; $R_1, R_3 = \beta\text{-OH}$; $R_5, R_6 = \text{CH}_3$
- 49** $R_1, R_2, R_4 = \text{H}$; $R_3 = \beta\text{-OH}$; $R_5, R_6 = \text{CH}_3$
- 50** $R_1, R_2, R_4 = \text{H}$; $R_3 = \beta\text{-OH}$; $R_5 = \text{CH}_3$; $R_6 = \text{CH}_2\text{OH}$
- 51** $R_1, R_2, R_4 = \text{H}$; $R_3 = \text{C}(=\text{O})$; $R_5 = \text{CH}_3$; $R_6 = \text{COOH}$
- 52** $R_1, R_2 = \text{H}$; $R_3 = \beta\text{-OH}$; $R_4 = \alpha\text{-OH}$; $R_5, R_6 = \text{CH}_3$
- 53** $R_1, R_4 = \text{H}$; $R_2, R_3 = \beta\text{-OH}$; $R_5, R_6 = \text{CH}_3$
- 56** $R_1 = \text{H}$; $R_2, R_3 = \beta\text{-OH}$; $R_4 = \alpha\text{-OH}$; $R_5, R_6 = \text{CH}_3$
- 57** $R_1, R_3 = \beta\text{-OH}$; $R_2 = \alpha\text{-OH}$; $R_4 = \text{H}$; $R_5, R_6 = \text{CH}_3$



Şekil 3.5 Triterpenler

Salvia cinsinden izole edilen olean iskeleti haricinde diğer iskelet yapıları; Ursan, Lupan, Dammaranes, Miscellaneous tip triterpenoidlerdir. Bu yapılar aşağıdaki gibidir.



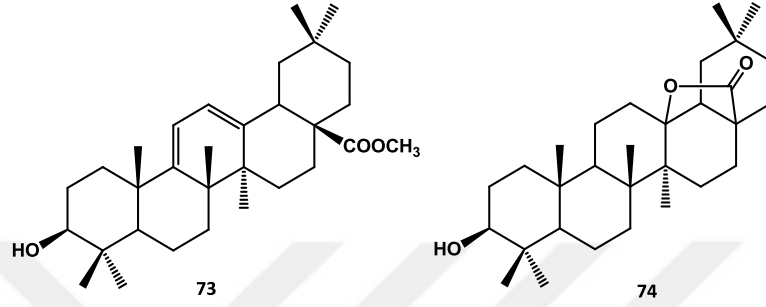
Şekil 3.6 Ursan, Lupan, Dammaran ve Miscellaneous tip triterpenler

3.2.2 Oleanolik Asit ve Türevlerinin Biyolojik Aktiviteleri

Kronik hastalıkların alternatif tedavi yöntemleri için farmakolojik öneme sahip biyoaktif doğal ürünlere artan talep oleanolik asit gibi bileşiklere ilgiyi arttırmış ve daha fazla araştırmayı teşvik etmiştir. Son zamanlarda, kronik hastalıkların önlenmesi ve/veya kontrol altına alınmasında oleanolik asit (OA) 'nın terapötik (tedavi edici) potansiyelinde bir ilgi artışı olmuştur. Örneğin oleanolik asit, Çin' de tezgâh üstü (over the counter: OTC) hepatoprotektif ilaç olarak kullanılmaktadır. Ayrıca geleneksel Çin tıbbında; OA, anti-enflamatuar, hepatoprotektif, analjezik ve kardiyotonik ilaç olarak farklı alanlarda kullanılmaktadır. Oleanolik asit, yukarıda belirtilen etkilerin yanı sıra 2010 yılından sonra hepatit, hepatik yaralanmalarda ve adjuvan tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır [31-34]. Yapılan literatür çalışmalarında oleanolik asidin; antimikrobiyal, anti-inflamatuar, anti-tümör, antiviral, anti-diabetik, ve sitotoksik aktivite gibi birçok biyolojik aktivite gösterdiği ve ayrıca karaciğer rahatsızlıklarının tedavisinde de kullanıldığı belirtilmiştir [4,35-37].

Pattnaik ve çalışma grubu yaptıkları araştırmalarda; oleanolik asidin güçlü bir anti-inflamatuar, anti-tümör, anti-HIV, kardiyovasküler ve glikojen fosforilaz inhibitör aktivite

gösterdiğini belirtmişlerdir [37]. Sentezledikleri sekiz (8) triterpen bileşiminin anti-kanser aktivite sonuçlarını incelemişler ve belirlenen konsantrasyonlarda MCF-7 (IC_{50} : 2.96 μ M), HeLa (IC_{50} : 6.30 μ M), DU-145 (IC_{50} : 6.77 μ M) ve ACHN (IC_{50} : 5.58 μ M) kanser hücrelerine karşı bileşik **73**' ün en yüksek anti-kanser aktivite, A-549 (IC_{50} : 2.10 μ M) kanser hücresine karşı da OA' nın lakton türevi bileşik **74**' ün en yüksek anti-kanser aktivite gösterdiğini belirtmişlerdir [37].



Şekil 3.7 Anti-kanser aktivite gösteren iki triterpen

3.2.2.1 Anti-tümör/Anti-kanser Etkileri

Bir dizi çalışmada, farklı in vitro ve in vivo ortamlarda çoğaltılan tümör ve kanser hücrelerine karşı oleanolik asidin anti-tümör ve anti-kanser aktiviteleri incelenmiştir. Bu çalışmalar arasında;

Wang ve çalışma grubu; farelere transfer ettikleri tümörün büyümesini ve karaciğer hepatosellüler hücrelerinin (HepG2) proliferasyonunu OA' in inhibe ettiğini belirlemişlerdir. p53 tümör protein tutukluğunun üst yüzeyinde bulunan reseptörlerin artmasıyla, mitokondriyal apoptotik yolağın siklooksijenaz-2 (COX-2) aktivasyonu ve hücre döngüsü bloke olmasıyla oleanolik asidin anti-tümör aktivite gösterdiğini ileri sürmüşlerdir [38].

Amara ve çalışma grubu; ozmotik strese maruz kalmış meme kanseri hücreleri üzerinde oleanolik asidin, daha önceden hipertonic şartlarda çoğaltılan glikolitik enzimlerin büyüme tavrını tersine çevirdiğini ve bu tersine etkinin kanser hücresi proliferasyonunun azalmasına neden olduğunu ifade etmişlerdir [39].

Mu ve çalışma grubu yaptıkları araştırmada oleanolik asidin; anti-tümör, kan şekeri seviyesini düzenleme ve karaciğerin korunması gibi konularda aglikon-oleanolik asit

türevlerine göre daha fazla farmakolojik aktiviteye sahip olduğunu bildirmişlerdir. Mu ve çalışma grubu; T24 hücrelerini kullanarak insan prostat kanserinin proliferasyonu ve apoptozu üzerinde oleanolik asidin etkisini incelemişlerdir. Yaptıkları çalışmada, oleanolik asidin, hücre proliferasyonunu önemli ölçüde baskıladığını, Caspase-3 proteininin aktivitesini ve kanser hücreleri üzerinde apoptozik etkiyi arttırdığını bildirmişlerdir. Hücre büyümesi, proliferasyon ve hayatta kalma mücadelesi (survival) için kritik öneme sahip Akt/ mTOR/ S6K/ ERK1/2 yolaklarının 50 µM oleanolik asit konsantrasyonunda inhibe olduğunu gözlemlemişlerdir [40].

3.2.2.2 Anti-diyabetik Aktivite

Diyabet, bozulmuş insülin salgılanması ve/veya duyarlılığından kaynaklanan karmaşık ve ilerleyici bir hastalıktır. Diyabet; gözler, böbrek, kan atardamarları ve sinirler gibi vücut organlarını etkileyen farklı metabolik komplikasyonlarla ilişkilidir [41-42]. Oleanolik asit, insülin etkisini geliştirmek, glikoneogenezi inhibe etmek ve glikoz kullanımını arttırmak için diyabet modellerinde terapötik ajan olarak kullanılmıştır. OA, insülin veya tiyazolidindionlar gibi yaygın olarak kullanılan anti-diyabetik terapötiklerin aksine adipojenik aktiviteden yoksundur ve periferde glikoz taşınmasını düzenler ve sıklıkla kilo alımına yol açar [43]. OA, ayrıca glukoneogenezi inhibe etme ve hepatik insülin direncini azaltma kabiliyeti de göstermektedir. Obezite durumlarında hepatik insülin direnci, tip-2 diyabet ve alkolsüz karaciğer yağlanması hastalığı (NAFLD: non-alcoholic fatty liver disease) arasında önemli bir bağlantı olarak kabul edilmektedir [44]. Wang ve çalışma grubunun 2013 yılında yaptıkları bir çalışmada iki hafta boyunca OA (20 mg / kg / gün) ile beslenen obez diyabetli farelerin vücut, karaciğer ve yağ ağırlıklarının düştüğünü belirlemişlerdir. Ayrıca karaciğer morfolojisi (yapısı) ve fonksiyonunu koruduğunu belirtmişlerdir. Bunlara ek olarak oleanolik asidin, açlık kan şekerini düşürdüğü, glukoz ve insülin toleransını artırdığı, insülin salgısını artırdığı ve glukoneojenezi inhibe ettiği bildirilmiştir [45].

3.2.2.3 Antimikrobiyal Aktivite

Oleanolik asit, bitkideki patojenlere karşı savunmada önemli bir rol oynar. Dolayısıyla, OA' nın geniş bir patojen aralığına karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip olması beklenir.

İnsanlarda, bazen kronik hastalıkların komplikasyonlarından kaynaklanan ikincil enfeksiyonların tedavisinde antibiyotik tedavisi sıklıkla kullanılır. Ayrıca, patojenler sadece komplikasyonlarda değil, aynı zamanda kronik hastalıkların ilerlemesinde de dikkate değer faktörler olarak ortaya çıkmaktadır [44].

Örneğin, OA, hücre zarlarına zarar vererek *Listeria monocytogenes*, *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium*'a karşı antimikrobiyal etki göstermektedir [46].

2015 yılında Wang ve çalışma grubu, çeşitli hastalıklara neden olan diğer mikroorganizmalar üzerine OA'nın etkisini daha fazla karakterize etmek için, oleanolik asit ve epi-oleanolik asit içeren bir dizi oleanan triterpenoid bileşiğini, bir tıbbi gıda bitkisi olan, *Akebia trifoliata*'nın meyve kısımlarının tamamı (perikarp)'ndan tek tek izole etmiştir [47]. Bu bileşiklerin her birinin antibakteriyel aktivitesi, belirlenen beş farklı bakterinin suşlarına karşı değerlendirilmiştir. Oleanolik asit, *Staphylococcus aureus* ve *Bacillus thuringiensis*'e karşı 62.5 µg / mL ve *Escherichia coli*, *Salmonella enterica* ve *Shigella dysenteriae*'ye karşı 31.2 µg / mL minimum inhibitör konsantrasyonda (MIC: minimum inhibitory concentration) orta derecede aktivite göstermiştir. Diğer taraftan, 3-epi-oleanolik asit (8) MIC aralığında (0.9-7.8 µg / mL) daha güçlü bir antibakteriyel aktivitesi sergilemiş ve bu değerlerin pozitif referans kanamisin sülfat (MIC aralığı; 1.9-3.9 µg / mL) ile kıyaslandığında benzer etkiler gösterdiği belirlenmiştir.

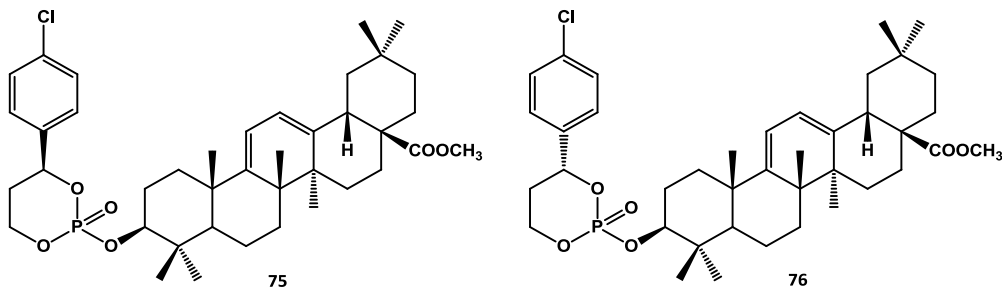
3.2.2.4 Hepatoprotektif Aktivite

Karaciğer, vücudun metabolik aktivitelerinde, özellikle vücuda uyum sağlayacak ilaç modifikasyonlarında çok önemli bir organdır. Günümüzde insanlar karaciğeri sitotoksositeye maruz bırakarak günde çok fazla ilaç tüketiyorlar. OA'nın kayda değer biyoaktivitelerinden biri de, karaciğerin toksisiteye karşı korunmasıdır ve şu anda Çin'de tezgah üstü (OTC; over the counter) hepatik ilaç olarak kullanılmaktadır [44]. Hoskeri ve çalışma grubunun yaptığı araştırma sonucu; *Flaveria trinervia*'dan kloroform ekstraktıyla elde edilen OA, Wistar albino sıçanları üzerinde kullanılmış ve hepatotoksik serum marker enzim düzeylerini geri yükleyerek etanol kaynaklı karaciğer toksisitesi üzerinde önemli bir koruyucu etkiye sahip olduğu belirtilmiştir [48]. Bu çalışma, OA'nın

hepato-koruyucu kabiliyetinin olası bir başka mekanizması olarak antioksidan yeteneğini göstermiştir.

ilaç etkinliğini arttırmak için bir yol olarak kombinasyon tedavi, sinerjistik bir etki oluşturmaları sebebiyle çeşitli hastalıkların tedavisinde yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. Gutierrez-Rebolledo ve çalışma grubu, ursolik asit (UA) ile kombine terapide anti-tüberküloz kaynaklı karaciğer hasarı üzerine OA' nın etkisini değerlendirmişlerdir. 100 µg / fare / gün OA ve UA karışımının uygulanmasıyla anti-tüberküloz ilaçlar tarafından indüklenen steatozu (karaciğer yağlanması) önlemiştir. Bu çalışmalar sonucunda hepatoksisitenin, anti-tüberküloz ilacın güçlü bir yan etkisi olduğu kabul edilmiştir [49-51].

OA metabolizmasını değiştirmek ve sonuç olarak tedavi sırasında raf ömrünü uzatmak amacıyla Yu ve çalışma grubu [52] iki yeni OA türevi ilaç geliştirmişlerdir (Şekil-3.8). Sıçanlarda metabolizma ve biyo-dağılımın değerlendirilmesinin yanı sıra, oleanolik asidin bu iki türevi, bileşik **75** ve **76**' nın hepatoprotektif kabiliyeti, farelerdeki karbon tetraklorür (CCl₄) ile indüklenen karaciğer hasarına karşı geliştirilmiştir. CCl₄ tedavisinin neden olduğu serum hepatik enzimlerin artan seviyesi bu ön-ilaçların müdahalesiyle belirgin şekilde azalmıştır. Sentezlenen bu iki OA türevi ile tedavi edilen farelerde, malonaldehid düzeyinin artışı ve ayrıca hepatik yaralanmaların göstergesi olan antioksidan enzimlerinin (GPx ve SOD) aktivitelerindeki azalmayı tersine çevirdiği belirtilmiştir. Çalışma, ön ilaçların sadece yarı ömrünün artmasına değil, aynı zamanda güçlü hepatoprotektif ve antioksidan yeteneklere sahip olduğunu göstermiştir [44].



Şekil 3.8 Oleanolik asit türevi bileşikler **75** ve **76**

3.2.2.5 Antioksidan Aktivite

Oksidatif stresin çeşitli kronik hastalıkların patogenezi'nde rol oynadığı bilinmektedir ve dolayısıyla antioksidan terapi bu hastalıkların tedavisi ve yönetimi için umut veren bir stratejidir. OA'nın biyolojik aktivite çalışmaları sırasında bazen OA'nın antioksidan etkisine değinilmiştir. Örneğin, Gao ve çalışma grubunun 2009 yılında yaptığı araştırmada [53], *Ligustrum lucidum*'dan elde ettikleri oleanolik asidin, alloxanın indüklediği diyabetik sıçanlarda malonaldehid (MDA) seviyesini düşürdüğü ve süperoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon peroksidaz (GSH-px) aktivitelerini artırdığı gözlemlenmiştir. MDA seviyesi (lipid peroksidasyon ürünü), SOD ve GPX (anahtar antioksidan enzimler) aktiviteleri, memeli dokularında antioksidan durumun önemli belirleyicileridir [44]. Benzer şekilde, in vitro bir çalışmada, OA glutatyon üretimini ve anahtar antioksidan enzimlerin ekspresyonunu artırdığı belirlenmiştir [54].

3.2.2.6 Anti-inflamatuvar Aktivite

İnflamasyon, insülin direnci, diyabet, kanser ve astım gibi çeşitli hastalıkların gelişmesinde ve ilerlemesinde önemli bir rol oynar [44]. HMGB1 birkaç inflamatuvar hastalıkta hücre membranı üzerinde pro-inflamatuvar sitokin reseptörlerin sayısını arttıran (up-regulates) bir proteindir [55].

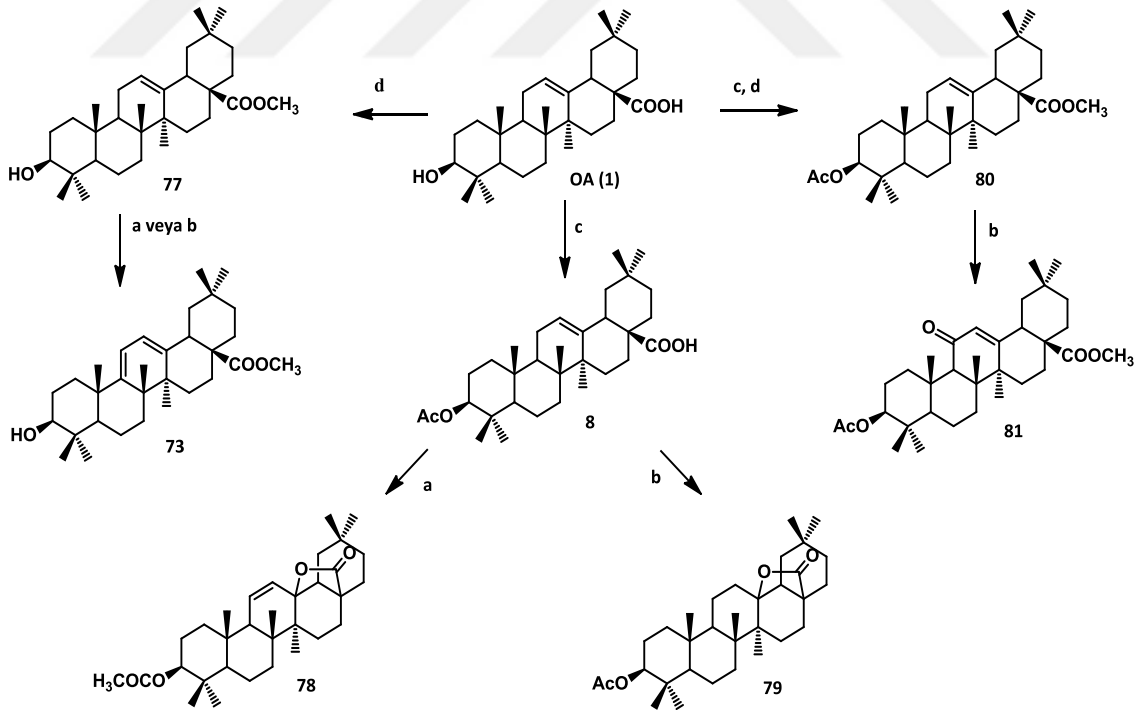
Benzer şekilde, Lee ve grubu [56] in vivo ve in vitro çalışmalarında oleanolik asidin nükleer faktör- κ B (NF- κ B) ve tümör nekrozis faktör- α (TNF- α) ekspresyonunda (genetik bilgi akışı) reseptör sayılarını azaltarak (down-regulates) lipopolisakarid ile (LPS) indüklenen pro-inflamatuvar yanıtlarını hafiflettiğini bildirmişlerdir.

Miyokardit, kronik kalp yetmezliğine dönüşebilen kalp kasının zayıf bir hastalığıdır [44]. Miyokardit ve Dilated Kardiyomiyopati (DCM) miyokardın inflamatuvar hastalıklarıdır, bunun için uygun tedavi önemli bir klinik sorun olmaya devam etmektedir. 2014 yılında Martin ve çalışma grubu, otoimmün miyokarditi olan fareler üzerinde OA'nın anti-inflamatuvar etkisini çalışmışlardır. Elde ettikleri sonuçlarda OA'nın anti-inflamatuvar sitokinlerin üretimini teşvik ettiği, pro-inflamatuvar sitokinlerin üretimini azalttığı ve nihayetinde hastalığın diğer semptomlarının hafiflediğini belirlemişlerdir [57].

3.2.3 Oleanolik Asit ve Türevlerinin Sentez Çalışmaları

Oleanolik asit, A ve C halkasındaki farklı karbon atomlarından veya C-3 ve C-28 pozisyonlarındaki karbon atomları ile bu pozisyona bağlı fonksiyonel gruplardan reaksiyon vermeye eğilimlidir. Yapısında bulunan hidroksi, karboksilik asit ve olefin fonksiyonel grupları oleanolik asidin reaktivitesini arttırmaktadır.

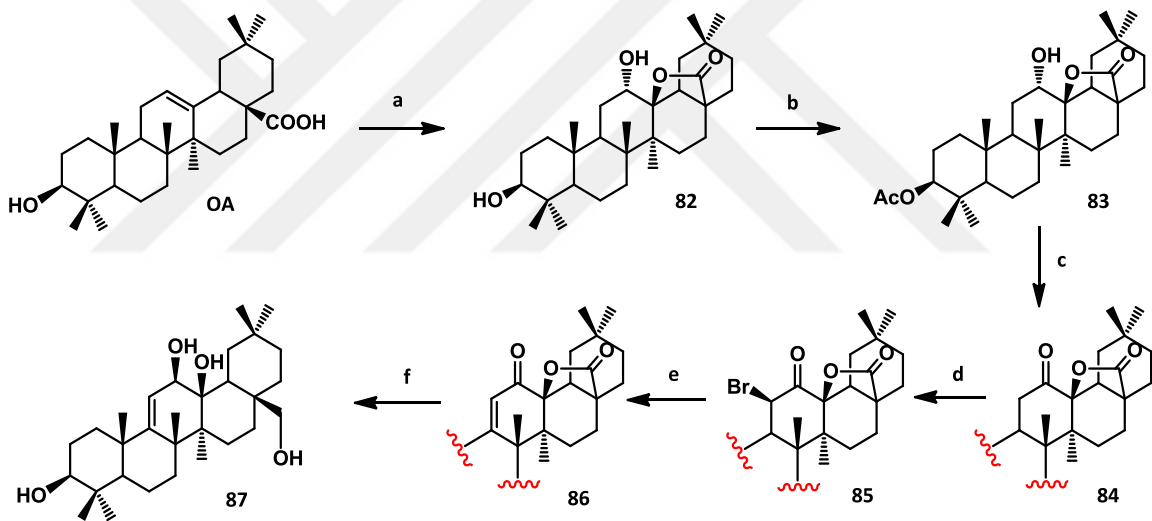
Pattnaik ve çalışma grubu, [37] oleanolik asidin C-halkası üzerinde yapıdaki karboksilik asit (-COOH) veya hidroksi (-OH) grubunun korunup korunmamasına göre çeşitli reaksiyon şartları altında *N*-bromosüksinimid (NBS) ile muamele ettirerek kimyasal olarak farklı türevlerde triterpenler elde etmişlerdir. Oleanolik asidin NBS ile tepkimesinden asit grubu korunduğunda hem karbon tetraklorür (CCl₄) içerisinde hem dioksan-CaCO₃ içerisinde triterpen **73** bileşiği; hidroksi grubu korunduğunda CCl₄ içerisinde triterpen **78**; dioksan- CaCO₃ içerisinde triterpen **79** bileşiği ve her iki grup korunduğunda dioksan- CaCO₃ içerisinde triterpen **81** bileşiği elde edilmiştir (Şekil 3.9). Oleanolik asidin direkt CCl₄ içerisinde NBS ile muamelesinden de triterpen **74** bileşiği sentezlenmiştir (Şekil 2.40).



Şekil 3.9 OA' nın NBS ile reaksiyonundan elde edilen triterpenler

Reaksiyon şartları: **a.** NBS-CCl₄, oda sıc., 8h, **b.** NBS- suludioksan-CaCO₃, oda sıc., 18h, **c.** (CH₃CO)₂OPy, oda sıc., 12h, %98, **d.** CH₂N₂, Dietil eter, 12h, 9%6.

2004 yılında yapılan bir çalışmada Garcia-Granados ve grubu [58], zeytinyağının soğuk presle eldesinden geriye kalan katı atıktan elde ettikleri OA' nın semi-sentetik türevlerini sentezlemişlerdir. Yaptıkları çalışmada eşit miktarda CHCl₃:MeOH (1:1) içerisinde oleanolik asidin ozonolizi sırasında oluşan epoksit yapısına C-28 asit grubunun saldırmasıyla **82** bileşiğini elde etmişlerdir. Triterpen **82** bileşiğinin asetillenmesiyle bileşik **83**, triterpen **83** bileşiğinin Jones' reaktifi ile hidroksi grubunun yükseltgenmesiyle bileşik **84**, triterpen **84** bileşiği alfa brominasyonu ile bileşik **85**, triterpen **85** bileşiğinin eliminasyonu sonucu oluşan α,β - doymamış karbonil bileşiği **86** ve elde edilen triterpen **86** bileşiğinin LiAlH₄ ile indirgenme reaksiyonu sonucu poli-hidroksi triterpen **87** bileşiği sentezlenmiştir.

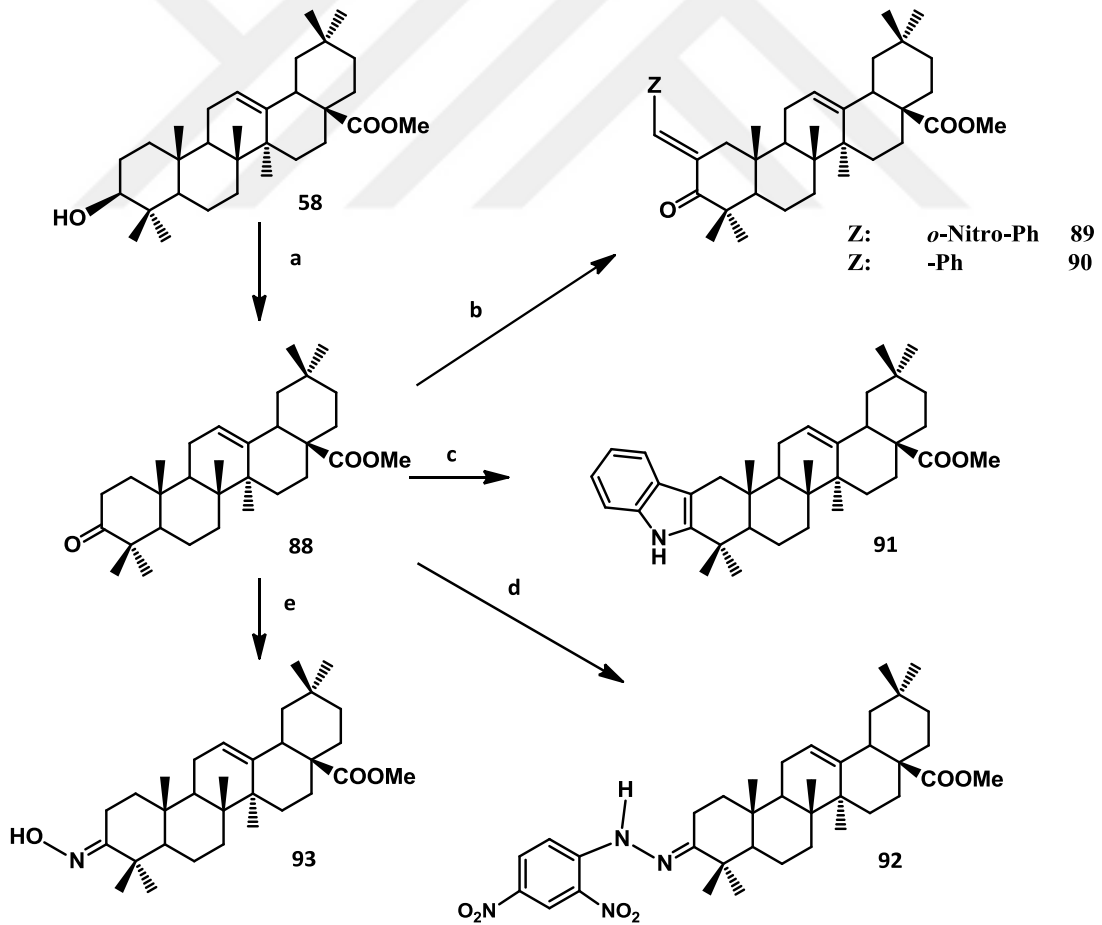


Şekil 3.10 OA' nın polihidroksi türevi triterpen **87**' nin sentezi

Reaksiyon Şartları: **a.** O₃, CHCl₃:MeOH, -78 °C, 30 dakika (%70); **b.** Ac₂O, Pridin, 0 °C, 3 saat, (%70); **c.** Jones' reaktifi, 0 °C, 1 saat, (%95); **d.** Br₂, CCl₄, rt, 5 saat, (%80); **e.** Li₂CO₃, LiBr, reflux, 3 saat, (%60); **f.** LiAlH₄, THF, reflux, 1.5 saat, (%95).

Yapısında hidroksi, epoksi ya da okso grubu olan triterpenler kolaylıkla yükseltgenerek karbonil bileşiğine dönüştürülebilirler. Oleanolik asidin farklı pozisyonlarında karbonil yapısı oluşturulabilir. Karbonil yapısı, C-3 pozisyonunda sübstitüe edilmemiş hidroksi, C-28 pozisyonunda karboksilik asit dışında C-2, C-11 ve C-12 karbonlarında da oluşturulabilir.

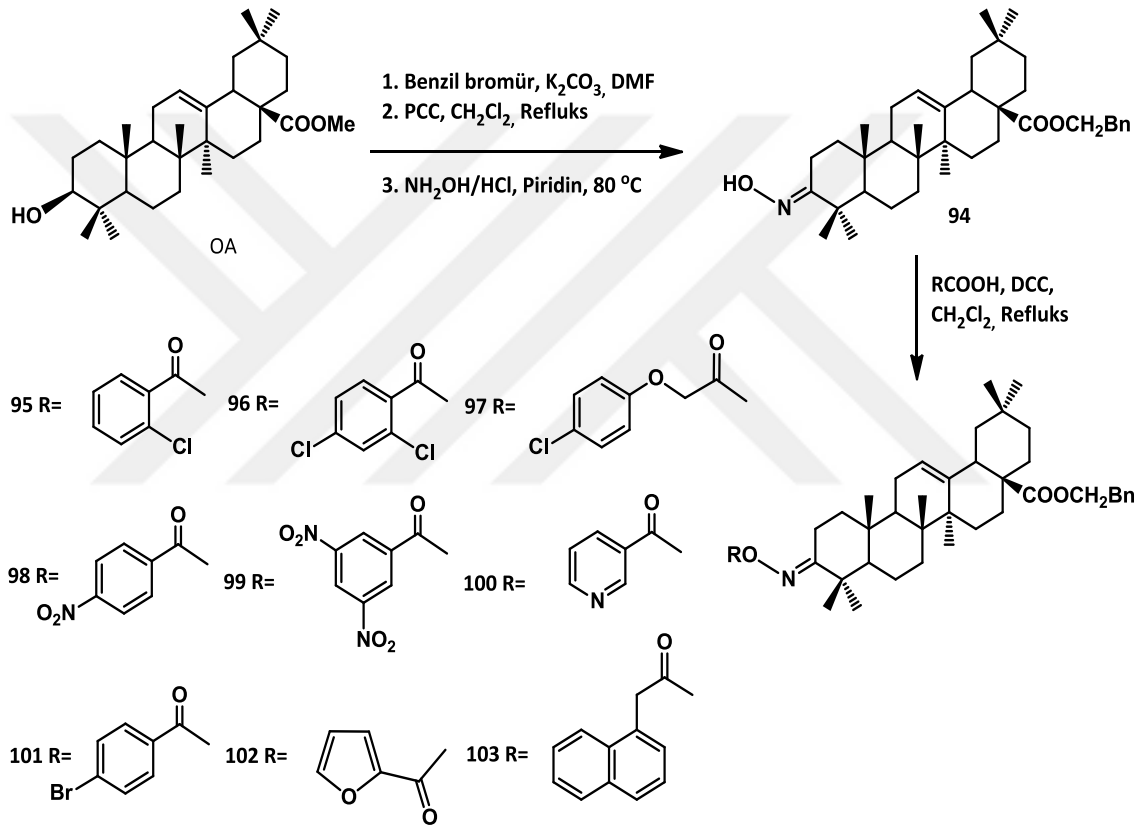
Bednarczyk-Cwynar ve Zaprutko 2015 yılında yaptığı bir derlemede [59], triterpenik oksimlerin açıl türevlerinin önemli farmakolojik aktivite gösterdiği belirtmişlerdir. Virüslerle aşılınmış hücre kültürü ortamlarında yapılan biyolojik testler sırasında bazı terpenik oksimlerin, tip 1 HSV (H7N1), ECHO-6 ve HIV-1 virüslerine karşı inhibitör etki gösterdiği belirlenmiştir. Yapılan çalışmalarda, C-3 pozisyonunda oluşturulan karbonil bileşiği üzerinden farklı oksim türevi triterpenler elde edilmiştir. Oleanolik asit (OA) veya metil ester (**58**), Jones reaktifi ya da piridinyum-kloro-kromat ile uygun 3-okso-metil oleanoat **88**'e yükseltgenabilir. Elde edilen 3-okso triterpen türevleri, aldol kondenzasyonu ile α,β - doymamış olefinik **89, 90** türevlerine, fenil hidrazin bileşikleriyle Fisher indolizasyon reaksiyonu ile indol **91** türevine, reaksiyon şartları değiştirilerek reflüks sıcaklığında ve elektron çekici (electron drawing groups) grupların varlığında 2,4-dinitrofenilhidrazin ile reaksiyonundan fenilhidrazon **92** türevine ve hidroksiamin/HCl ile oksim **93** türevine dönüştürülebilir.



Şekil 3.11 OA' nın Olefin, İndol, Hidrazon ve Oksim türevlerinin sentezi

Reaksiyon Şartları: **a.** Jones reaktifi, aseton, 25 °C veya PCC, CH₂Cl₂, 25 °C; **b.** *o*-Nitro-Ph-CHO (**89**) / Ar-CHO (**90**), C₂H₅OH, KOH, 25 °C; **c.** PH-NHNH₂, CH₃COOH, Reflüks; **d.** 2,4-dinitro-PH-NHNH₂, CH₃COOH, Reflüks; **e.** NH₂OH/HCl, CH₃COONa, C₂H₅OH, Reflüks.

Elde edilen triterpen oksim türevi **94** bileşiği ile bir seri karboksilik asit bileşikleriyle esterleşme reaksiyonları gerçekleştirilmiş ve elde edilen triterpen oksimlerin glukozamin-6-fosfat sentaz enzimine karşı inhibisyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Yapılan inhibisyon çalışması sonucunda triterpen oksim türevi **95**, **97** ve **99** bileşiklerinin oleanolik asitten (**1**) daha aktif olduğu belirlenmiştir.



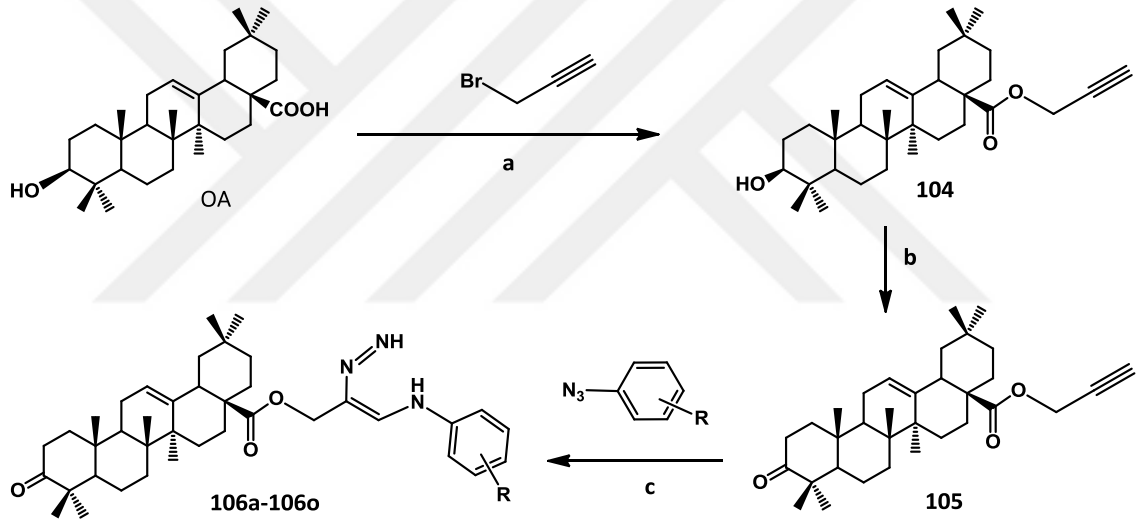
Şekil 3.12 OA' nın oksim türevlerinin sentezi

Fengran ve çalışma grubunun 2016 yılında yaptığı araştırmada [60], oleanolik asidin C-28 nolu karboksilik asit ucuna takılan alkin grubu ile azid bileşikleriyle bir seri reaksiyonlar yaparak elde ettikleri bileşiklerin biyolojik aktivitelerini çalışmışlardır. Aril sübstitue 1,2,3-triazol metil grubu taşıyan on beş 3-okso-oleanolik asit ester bileşikleri, bakır (II)-katalize Huisgen siklo-katılma yöntemi ile sentezlenmiştir. Bu bileşiklerin beş insan tümör hücre dizisine karşı sitotoksikite testleri yapılmış ve bu bileşiklerin çoğunun, A375-S2 ve HT1080 hücrelerine karşı güçlü aktivite ve seçicilik sergilediğini

belirtmişlerdir. Benzen halkasında *p*-NO₂ grubu taşıyan Bileşik **6c**, A375-S2'ye (IC₅₀ = 2.82 µmol / L) ve HT1080'e (IC₅₀ = 1.69 µmol / L) kanser hücrelerine karşı en iyi inhibitör aktivite göstermiştir.

Çizelge 3.2 Triazol oleanan türevleri

Bileşik	R	Verim(%)	Bileşik	R	Verim(%)
106a	<i>o</i> -NO ₂	69.0	106i	<i>m</i> -Br	70.5
106b	<i>m</i> -NO ₂	69.2	106j	<i>p</i> -Br	71.7
106c	<i>p</i> -NO ₂	70.9	106k	<i>o</i> -Ac	62.8
106d	<i>p</i> -CN	67.1	106l	<i>m</i> -Ac	68.4
106e	<i>o</i> -F	69.5	106m	<i>p</i> -Ac	70.2
106f	<i>m</i> -F	66.4	106n	<i>p</i> -OC ₂ H ₅	66.1
106g	<i>p</i> -F	65.7	106o	H	68.9
106h	<i>p</i> -Cl	66.6			



Şekil 3.13 1,2,3-Triazol-süstitue-3-okso-oleanolik asit türevlerinin sentezi

Reaksiyon Şartları: **a.** K₂CO₃, TBAB, H₂O, CH₂Cl₂, oda sıc., %89.1; **b.** Jones reaktifi, aseton, 0 °C, %88.5; **c.** Süstitue benzen azid, sodyum askorbat, CuSO₄·5H₂O, *t*-BuOH, H₂O, 60 °C.

3.2.4 Oleanolik Asidin Nanopartikül Uygulamaları

3.2.4.1 Nanosüspansiyon

Nanosüspansiyon teknolojisi, çözünürlüğü, dispersiyonu (dağılımı) ve homojenizasyonu, intravenöz enjekte edilebilirliği, basit üretim süreci, suda çözünürlüğü zayıf olan ilaçların

evrensel uyumluluğunu arttırmak için kullanılmıştır. Ayrıca, süspansiyonların oluşumu düşük maliyetle ve daha kararlı bir ürün elde etmek için basit teknoloji ile çok daha uygundur [61]. Nano süspansiyonu hazırlamak için iki ana yöntem vardır. Birinci yöntem yüksek basınçlı homojenizasyon ve ikinci yöntem nanopresipitasyon (Nanoçöktürme). Homojenizasyon basıncı ortalama partikül büyüklüğünü belirleyen ana faktördür. Artan homojenizasyon döngüleri polidispers (çoklu dağılım) indeksinin azalmasına yol açar. Ayrıca sürfaktanlar sistemin stabil kalmasına yardımcı olur ve ilaç nanopartiküllerinin çözünürlüğü ve çözünmesi ham ilaç tozundan daha iyidir [62].

Chen ve çalışma grubu bu yöntemi kullanarak ortalama parçacık büyüklüğü 284.9 nm olan OA nanosüspansiyonunu elde etmişlerdir. Nanosüspansiyon içerisindeki küresel veya küresele yakın nanopartikül ilaçların daha hızlı erime oranı gösterdiğini belirlemişlerdir [63]. OA nanosüspansiyon ile hücrelerin ön-muamelesi, serum alanin amino transferaz (ALT) aktivitesini ve karaciğer malondialdehit içeriğini düşürme yoluyla karbon tetraklorür kaynaklı karaciğer hasarına karşı hepatoprotektif etkiyi önemli ölçüde arttırdığını göstermiştir [63].

3.2.4.2 Nanokapsüller

Nanometre boyutlarında ultra ince konak veziküller veya kolloidal kapsüllerin içine ilaçların yüklenmesi kontrollü ilaç uygulamasının optimize edilmesi için bir teknik olarak kabul edilir. Nanokapsüller; stabilite, emilim, kantitatif doku transferi ve farmakodinamik aktiviteyi geliştirmek için tasarlanan yapılardır. Ayrıca nanopartiküller, ilaç tedavisi sırasında ve sonrasında daha iyi lokal ve sistemik toleransla vücut içerisinde yabancı cisimlerden kaynaklanan tahriş veya yan etkilerin oluşmasını önlerler [64]. Huang Y. ve çalışma grubu 2008 yılında oleanolik asit yüklü nanokapsüllerin in vitro salınımını incelemiştir. Oleanolik asit yüklü nanokapsüllerden in vitro ilaç salınımının kuralları dinamik penetrasyon sistemi ve HPLC ile gözlemlenmiştir. Oleanolik asit yüklü nanokapsüllerin profil eğrisi Weibull denklemine uygun bulunmuş ve oleanolik asit yüklü nanokapsüllerin $t_{1/2}$ salınımı orijinal oleanolik asidin yaklaşık 6.7 katı olarak belirlenmiştir [65].

3.2.4.3 Lipozomlar

Bir lipozom, esnek bir iki katmandan oluşan ve bir sulu çekirdek alanla çevrelenmiş bir keseciktir. Lipozomlar, son birkaç yıldır ilaçların terapötik aktivitesini ve güvenliğini arttırmak için kullanılmaktadır. Lipozomların avantajları yüksek biyouyumluluk, kolay hazırlama, yüksek oranda kimyasal çok yönlülük ve iki tabakalı bileşenlerin kimyasal bileşimini değiştirerek farmakokinetik özelliklerinin basit modülasyonunu içerir [66].

Lai ve Ma 2007 yılında yaptıkları araştırmada; OA lipozomları film-ultrason tekniği ile hazırlamışlardır. Optimal formülasyon ve hazırlama teknikleri, ortogonal tasarım testi ile seçilmiş, yakalama oranlarına göre değerlendirilmiş ve bu sayede lipozomlar onaylanmıştır [67]. OA lipozomlarının seçilen formülasyonu ve hazırlama tekniği, ortalama olarak 182 nm büyüklüğünde ve % 92.91'lik yakalama oranına sahip düzenli lipozomların oluşmasını sağlamıştır.

DENEYSEL ÇALIŞMA ve BULGULAR

4.1 Materyal ve Yöntem

4.1.1 Kullanılan Cihaz ve Yardımcı Gereçler

- Nükleer magnetik rezonans spektrumları (^1H -NMR ve ^{13}C -APT NMR) Yıldız Teknik Üniversitesi'nde "Bruker-500 MHz NMR" cihazlarıyla, dötero çözücülerle alındı.
- Kütle spektrumları Yıldız Teknik Üniversitesi Enstrümantel Analiz Laboratuvarı'nda, Agilent 6890N GC-System-5973 MSD cihazı ile ölçüldü.
- HRMS spektrumları Bruker micrOTOF-Q 55 cihazı ile TÜBİTAK'da alındı.
- Infrared spektrumları (FTIR) ATR başlığı ile "Perkin-Elmer, FT-IR" spektrofotometresinde, Yıldız Teknik Üniversitesi Enstrümantel Analiz Laboratuvarı'nda alındı.
- Kolon kromatografisinde "Merck Silikajel 60" (60-200 mesh), floresans indikatörlü Merck 5554 silikajel tabakalar ile "Camag 254 / 366 nm" UV lamba kullanıldı.
- Saf olarak elde edilen maddelerin erime noktaları "Gallenkamp" dijital termometreli (Northhampton, UK) erime noktası tayin cihazında açık kapiler tüplerle tayin edildi, termometre düzeltilmesi yapılmadı.
- Bileşiklerin elde edilmesi ve kolondan ayırma işlemleri sırasında çözücülerin geri kazanılmasında, "Heidolph" marka "Laborota 4000" model döner buharlaştırıcı kullanıldı.

4.1.2 Kullanılan Kimyasallar

Çizelge 4.1 Kullanılan kimyasal maddeler

Madde Adı	Kısaltma/ Formülü	Firma Adı	Katalog No
Trifenilfosfin	PPh ₃	S. Aldrich	T84409
Lityum diizopropilamin	LDA	S. Aldrich	246611
<i>p</i> -Toluen sülfonik asit	<i>p</i> -TsOH	S. Aldrich	402885
Tetrahidrofuran	THF	S. Aldrich	401757
Metoksimetil bromür	MOMBr	S. Aldrich	161756
Metansülfonil klorür	MsCl	S. Aldrich	471259
Karbon tetraklorür	CCl ₄	S. Aldrich	289116
<i>p</i> -Nitrobenzoil klorür	C ₇ H ₄ ClNO ₂	S. Aldrich	112208
Lityum alüminyum hidrür	LiAlH ₄	S. Aldrich	199877
Sodyum bor hidrür	NaBH ₄	S. Aldrich	452874
Metil iyodür	MeI	S. Aldrich	289566
Asetofenon	C ₈ H ₈ O	S. Aldrich	A10701
Sodyum hidrür	NaH	Aldrich	452912
Sodyum sülfat	Na ₂ SO ₄	S. Aldrich	798592
Kalsiyum sülfat	CaSO ₄	Merck	101987
Sodyum hidroksit	NaOH	Merck	1.06462
Sodyum bikarbonat	NaHCO ₃	S. Aldrich	792519
Hidroklorik asit	HCl	Merck	113386
Sülfirik asit	H ₂ SO ₄	S. Aldrich	30743-M
Asetik asit	CH ₃ COOH	S. Aldrich	A6283
Asetik anhidrit	C ₄ H ₆ O ₃	S. Aldrich	242845
Trietilamin	C ₆ H ₁₅ N	Merck	808352
<i>t</i> -Bütil dimetil silil klorür	TBDMSCl	S. Aldrich	190500
Asetonitril	CH ₃ CN	S. Aldrich	271004
Alüminyum klorür	AlCl ₃	Aldrich	563919
Okzalik asit	C ₂ H ₂ O ₄	S. Aldrich	75688
Fenil selenyum bromür	PhSeBr	Aldrich	243965
Hidrojen peroksit	H ₂ O ₂	S. Aldrich	H1009
Piridinyum klorokromat	PCC	Aldrich	190144
Silikajel 60	SiO ₂	Merck	107739
Dietil eter	C ₄ H ₁₀ O	Merck	100926
Diklorometan	CH ₂ Cl ₂	Merck	106049
Etil asetat	C ₄ H ₈ O ₂	Merck	100864
<i>n</i> -Hekzan	C ₆ H ₁₄	Merck	101782
Kloroform	CHCl ₃	Merck	822265
Metanol	CH ₃ OH	Merck	822283

4.1.3 Susuz THF' nin Hazırlanması

Yuvarlak dipli cam balon içerisinde 400 mL THF konuldu. Üzerine 5-6 parça Na metali ve 3 g asetofenon ilave edildi ve 2-3 saat refluks sıcaklığında ortam parlament mavisi olana kadar kaynatılarak susuz THF azot atmosferinde hazırlandı.

4.1.4 Susuz Trietilamin Hazırlanması

100 mL Trietilamin içerisine susuz CaSO_4 (25 g) konuldu ve beş saat kaynatıldıktan sonra basit destilasyon ile azot atmosferi altında destillendi (kaynama noktası 89.4°C) [68].

4.1.5 Schlenk Sistemi

Tüm indirgenme reaksiyonları ve çözücülerin kurutulması azot altında ve Schlenk sistemi kullanılarak gerçekleştirildi.

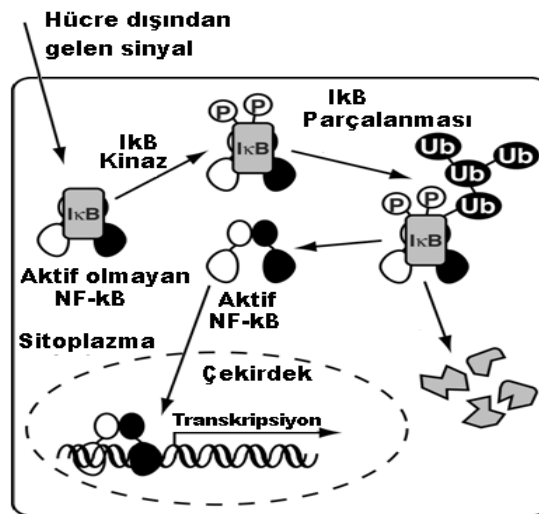
4.2 Bilgisayar Destekli Doking Çalışmaları

Triterpenlerin NF- κ B inhibisyonu konusundaki önemi, son birkaç yıl içinde bu konuda ve/veya antikanser özelliklerinin araştırılması amacıyla yapılan bilimsel çalışmaların sayısından da anlaşılabilir [69]. Bunlardan birinde bir triterpen glikozit olan Ginsenoside Rg3' ün kolon kanseri üzerindeki etkileri incelenmiştir [70]. Lupeol' ün NF- κ B inhibisyonu üzerinde etkili olduğu ve NF- κ B inhibisyonu yaparak epidermoid karsinoma A431 hücrelerini düzenlediği gösterilmiştir [71]. Ursan triterpenoidlerin ateroskleroza önlediği [72] ve bir ursan triterpen olan annurcoic asidin anti-tümör etkili bir antioksidan olduğu gösterilmiştir [73]. Triterpen grubundan pachymic asidin de anti-tümör etkisi gösterilmiştir [74]. Yine bir ursan triterpen olan alfa-amirinin enflamasyonu durdurma mekanizmaları incelenmiş [75], veursolik asidin NF- κ B inhibisyonu yaptığı belirlenmiştir [76]. Son yıllarda yapılmış olan triterpenlerin anti-kanser özellikleri ile ilgili bir derleme makalede [77] ve diğer bazı yayınlarda triterpenlerin anti-tümör/anti-kanser özellikleri açıkça izlenmektedir [78-81].

Klasik moleküler ilaç uygulamalarında, ilaçlar özellikle sinyal iletişimindeki kinazlara bağlanıp onları inhibe etmektedirler. Triterpenler ise transkripsiyon faktörlerine bağlanmak sureti ile aktivite göstermektedir. Bazı oleananların NFAT transkripsiyon

faktörünü [82, 83] etkilediği, hatta sentetik bir triterpenin büyüme faktörü olan β /Smad transkripsiyon aktivitesini [84] etkilediği ve farklı triterpenlerin de NF- κ B transkripsiyon aktivitesi üzerinde etki gösterdiği bilinmektedir [85]. Triterpenlerin tümör aktivitesini önleme konusunda gördüğü büyük ilginin odağı da bu moleküllerin özellikle transkripsiyonu etkilemesine dayanmaktadır ve bu nedenle ilaç olma potansiyelleri yüksektir.

Triterpenlerin transkripsiyon aktivitesini önlemekteki özellikleri beş halkadan oluşan nispeten rijit bir yapıya sahip olmaları, fakat daha da önemlisi, içerdikleri süstitüentlerin çeşitliliğine bağlanmaktadır, bu çeşitliliğe paralel olarak da inhibisyon etkilerinde farklılıklar görülmektedir [86, 87]. İnhibisyon etkisinin artması için bazı doğal triterpenlere sentetik yollardan modifikasyon da uygulanmıştır [88-90]. Böylece, istenilen protein üzerinde istenilen etkiyi gösterebilecek çok çeşitli yapılar elde edilebilmektedir. NF- κ B yolağı, 20 yıl önce bulunmuş bir yoldur [91]. Hücre gelişmesi, hücre ölümü, bağışıklık sistemi gibi süreçleri kontrol etmesinin yanı sıra, enflamasyona yol açan bir sürece de neden olan bir yoldur [92]. Enflamasyona yol açan kısmı, NF- κ B'nin bazı elemanlarının hücre çekirdeğine girmesinden sonra, c-Rel adlı elemanın DNA ile etkileşip yeni protein üretimine yol açması sonucu oluşur. Bu üretimin kontrolden çıkması ile de tümör oluşumu başlar. NF- κ B aktivitesi Şekil 4.1 yardımı ile kolayca açıklanabilir.



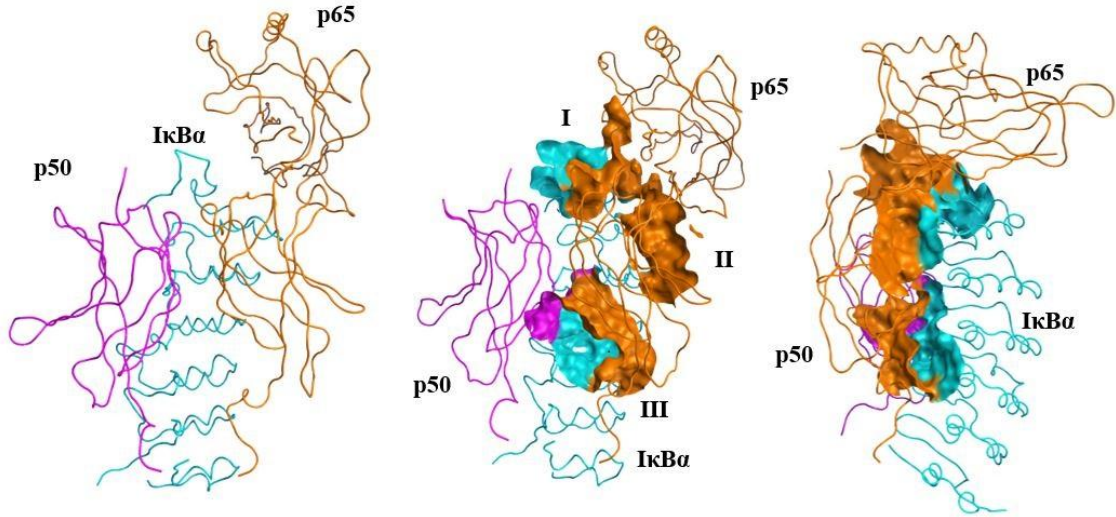
Şekil 4.1 NF- κ B aktivitesi

Şekil 4.1' de görüldüğü gibi, hücre dışından gelen sinyal NF- κ B kompleksini uyarır, dışarıdan gelen uyarı, I κ B' nin fosforlanmasına yol açar. Fosforlanma sonucu I κ B ubiquitin ile birleşir ve parçalanır. Geri kalan kompleks çekirdeğe girebilecek duruma gelir ve çekirdek içine girince, c-Rel DNA' ya bağlanır ve transkripsiyon başlar, c-Rel' in kontrolsüz şekilde bağlı kalması istenilmeyen protein üretimine ve tümör oluşumuna yol açar. Hücre membranından çekirdeğe kadar NF- κ B aktivitesini her düzeyde etkileyecek ve değiştirecek çok çeşitli faktör vardır [92]. Ancak, yalnızca tümör oluşumunu engelleyecek etkileşimleri kontrol etmek için NF- κ B grubuna çekirdek içinde ve özellikle de c-Rel üzerinden inhibisyon yaptırmak gerekmektedir. Daha önce yapılan çalışmalarda [93, 94] ve triterpenlerle ilgili çok sayıda çalışmada [77] çekirdek içinde aktivite gösteren c-Rel transkripsiyon proteinin, triterpen molekülleri tarafından inhibe edildiği görülmüştür.

4.2.1 NF κ B/I κ B α Kompleksinin Triterpenler İçin Hedef Protein Olarak Araştırılması

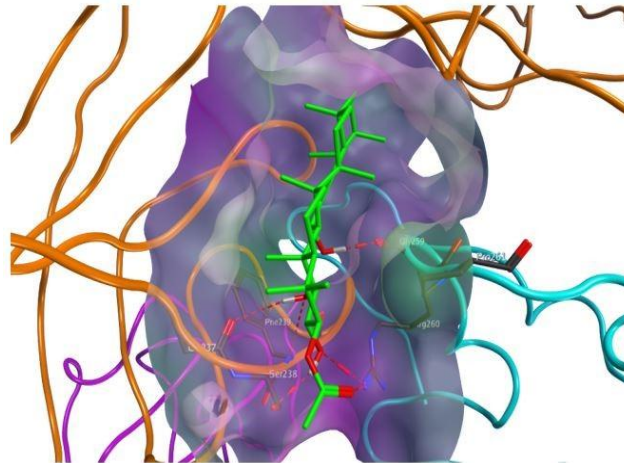
Grubumuz tarafından yapılan doking çalışmalarında PDB (Protein Data Bank) veri bankasından insan I κ B α ile kompleks oluşturmuş fare p50/p65 dimerinin kristal yapısı elde edilmiştir (pdb: 1ikn). Bu yapıda da sadece RHD bölgesi gözükmemektedir fakat bu çalışma için yeterli olmaktadır. İnsan c-Rel sekansı ile fare p65 proteini %65 benzerlik göstermektedir, fakat bu benzerlik fare p50 ile %51,3 olarak hesaplanmıştır.

Triterpenlerin NF κ B (p50/p65) – I κ B α kompleksine güçlü şekilde bağlanarak I κ B α 'nın p50/p65 dimerinden ayrılmasını engelleyebileceği olasılığı araştırılmıştır. MOE programı ile bu protein yapısında triterpenlerin bağlanabileceği yerler aranmıştır ve triterpenleri bağlayabilecek uygun hacme sahip olan 3 adet bağlanma bölgesi (I, II, III) tespit edilmiştir (Şekil 4.2). Bağlanma bölgeleri I ve II p65/I κ B α ara yüzeylerinde bulunmaktadır ve bağlanma bölgesi III ise p50/p60/I κ B α ara yüzeyinde bulunmaktadır. Bu kristal yapısı da doking çalışmaları için uygun hale getirilmiştir. Protein kristal yapısına MOE programı ile hidrojen atomları eklenmiştir, parsiyel yük hesaplanmıştır ve enerji minimizasyonu gerçekleştirilmiştir.



Şekil 4.2 NFκB (p50/p65) ile IκBα kompleksinde triterpenlerin bağlanabileceği yerler (I, II ve III) gösterilmiştir.

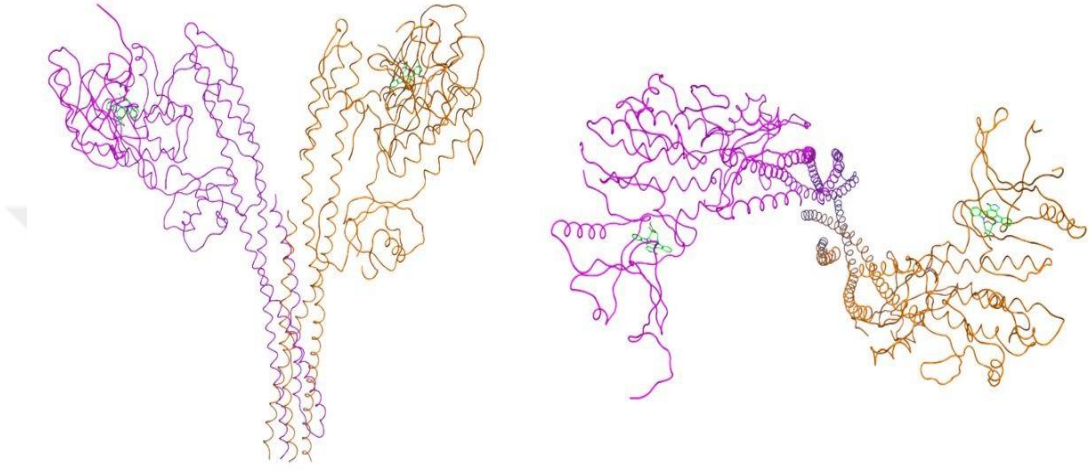
Hedef molekülleri **2** bu bölgelere GOLD Suite Programı ile dock edilmiştir. Tüm bağlanma bölgeleriyle ilişki kurabilmektedir fakat bağlanma bölgesi I ile hidrojen bağ kurma açısından daha uyumlu olduğu görülmüştür (Şekil 4.3). Hedef molekül **2** proteini Gly259 (IκBα), Arg260 (IκBα) ve Gly237 (p65), Ser238 (p65) ve Phe239 (p65) amino asitleri ile hidrojen bağı kurmaktadır. Ayrıca, ligand ve bağlanma bölgesi I arasında hidrofobik ilişkiler bulunmaktadır. Hidrojen bağları kırmızı kesik çizgiler ile gösterilmiştir.



Şekil 4.3 Hedef molekülü **2** ve NFκB (p50/p65) ile IκBα ara yüzeyinde bulunan bağlanma bölgesi I arasındaki ligand-protein ilişkileri gösterilmiştir.

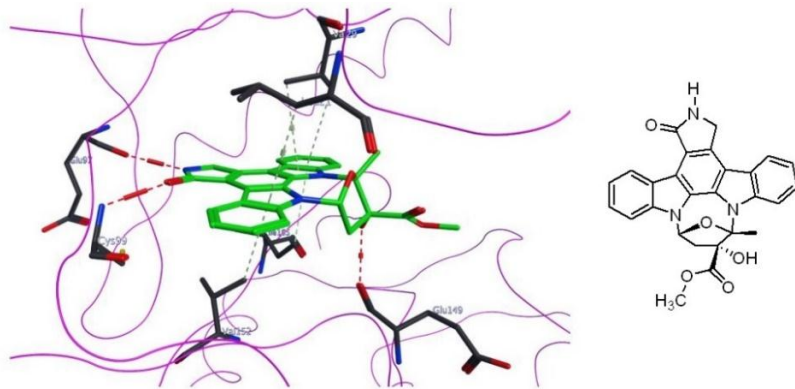
4.2.2 IKK2'nin Triterpenler İçin Hedef Protein Olarak Araştırılması

Dimerik insan IKK2 (IKK- β) yapısı PDB veri bankasından elde edilmiştir (pdb: 4kik). Her iki proteinin kinaz aktivitesi gösteren bölgeye bir inhibitör (staurosporin analogu K252a) bağlanmış bulunmaktadır (Şekil 4.4). Her iki K252a molekülü benzer şekilde IKK2 ile ligand-protein bağlanma ilişkisi kurmaktadır (Şekil 4.5). Bu kristal yapısı doking çalışmaları için yukarıda anlatılmış yöntem ile hazırlanmıştır.



Şekil 4.4 Dimerik insan IKK2'nin genel üç boyutlu yapısı ve inhibitör K252a'nın bağlandığı aktif bölge.

Şekil 4.5' te K252a maddesinin insan IKK2'nin aktif bölgesiyle kurduğu bağlar gösterilmiştir. Hidrojen bağları kırmızı kesik çizgiler ve hidrofobik ilişkiler gri kesik çizgiler ile gösterilmiştir.

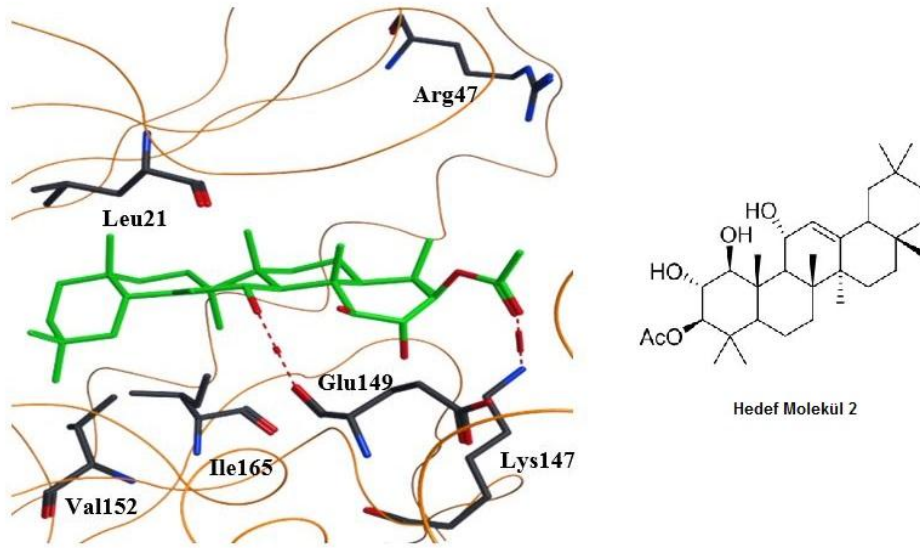


Şekil 4.5 K252a maddesinin insan IKK2'nin aktif bölgesiyle kurduğu bağlar

4.3 Doking Çalışmaları ve Analizi

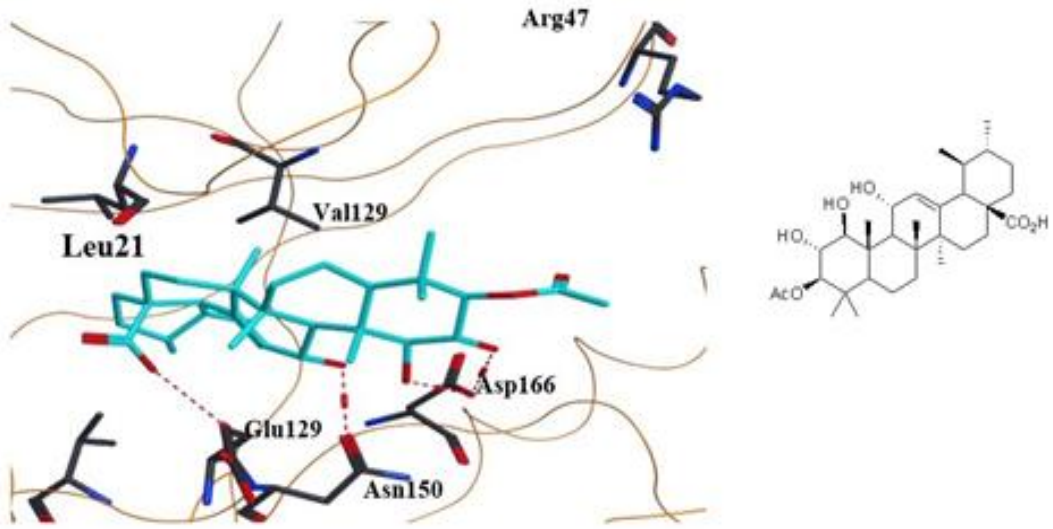
Hedef molekülü **2** ve inhibitör K252a her iki aktif bölgeye dock edilmiştir (GOLD Suite). Kristal yapıda gözlediğimiz K252a bağlanma şekli ve ligand-protein ilişkileri (Şekil 4.5) doking çalışmalarımızla da elde edilmiştir (RMSD: 0.2866 Å). Ayrıca, hedef molekül **2** için de hidrojen bağ ve hidrofobik ilişki kuran ve aynı anda şekil uyumluluğu gösteren bağlanma şekilleri elde edilmiştir.

Grubumuz tarafından sentezlenen ve sentezlerin ara basamaklarında elde edilen maddeler veya Prof. Dr. Gülaçtı Topçu' nun triterpenler üzerindeki önceki çalışmalarından elde edilen benzer triterpenleri içeren bir elektronik veri bankası oluşturulmuştur. Bu veri bankası içinde triterpen ve sentez ara basamak türevlerinin (toplam 93 adet) üç boyutlu yapıları bulunmakta ve doking çalışmaları için uygun bir kaynak oluşturmaktadır. Yapılan analiz sonuçlarına göre, hedef molekül **2**' nin yüksek ilgi ile IKK2'ye bağlanabileceği öngörülmüştür (Şekil 4.6). Hidrojen bağları kırmızı kesik çizgiler ile gösterilmiştir.



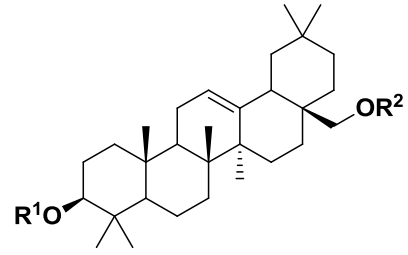
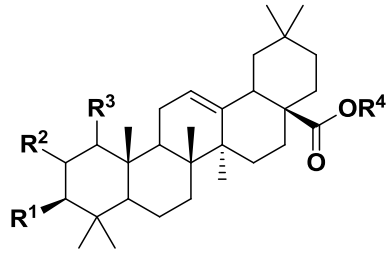
Şekil 4.6 Hedef molekül **2**'nin (yeşil) insan IKK2 aktif bölgesiyle kurduğu bağlar

Ayrıca hedef molekülü **2** ve ursan türevinin C-17 karbonunda karboksilik asit (-COOH) taşıyan türevlerinin ekstra hidrojen bağı yapmasından dolayı daha iyi affinite gösterdiği saptanmıştır (Şekil 4.7). Hidrojen bağları kırmızı kesik çizgiler ile gösterilmiştir.



Şekil 4.7 Hedef molekül 2' nin karboksilik asitli ursan türevinin (turkuaz) insan IKK2 aktif bölgesiyle kurduğu bağların gösterimi.

Bu yapıda üç farklı bağlanma bölgesi moleküler modelleme teknikleri ile tespit edilmiştir. Fakat bu bölgelere gerçekten ligandların bağlanmalarının mümkün olup olmadığı sadece farmakolojik ve biyokimyasal teknikler ile tespit edilebilir (örneğin mutasyon çalışmaları ve ligand bağlanma deneyleri). Yapılan çalışmalarda triterpen türevlerinin insan IKK2 enzimine bağlanma potansiyelini araştıran doking çalışmaları yürütülmüştür ve sonuçları verilmiştir. Ayrıca, insan IKK1 (IKK- α) ve insan c-Rel/c-Rel/I κ B α için homoloji modelleri oluşturulmuştur ve bu enzimlere karşı da doking çalışmaları yürütülmüştür. Yapılan çalışmalar neticesinde oleanan türevi oniki triterpenin yukarıda bahsi geçen enzimlere bağlanma potansiyellerinin yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu bileşiklerin yapıları şekil 4.8' de verilmiştir.



1: $R^1 = OH$; $R^2 = R^3 = R^4 = H$ (Oleanolik asit)

107: $R^1 = OCH_3$; $R^2 = R^3 = H$; $R^4 = CH_3$

127: $R^1 = OH$; $R^2 = R^3 = H$; $R^4 = MOM$

128: $R^1 = (=O)$; $R^2 = \alpha-OH$; $R^3 = \beta-OH$; $R^4 = H$

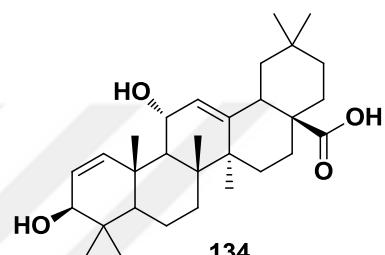
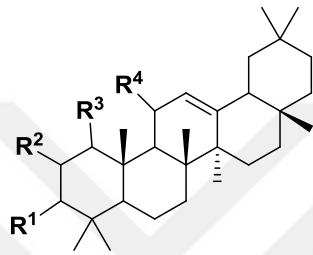
129: $R^1 = (=O)$; $R^2 = R^3 = R^4 = H$

7: $R^1 = H$; $R^2 = H$ (Eritrodiol)

109: $R^1 = MOM$; $R^2 = H$

130: $R^1 = MEM$; $R^2 = H$

131: $R^1 = H$; $R^2 = Ms$

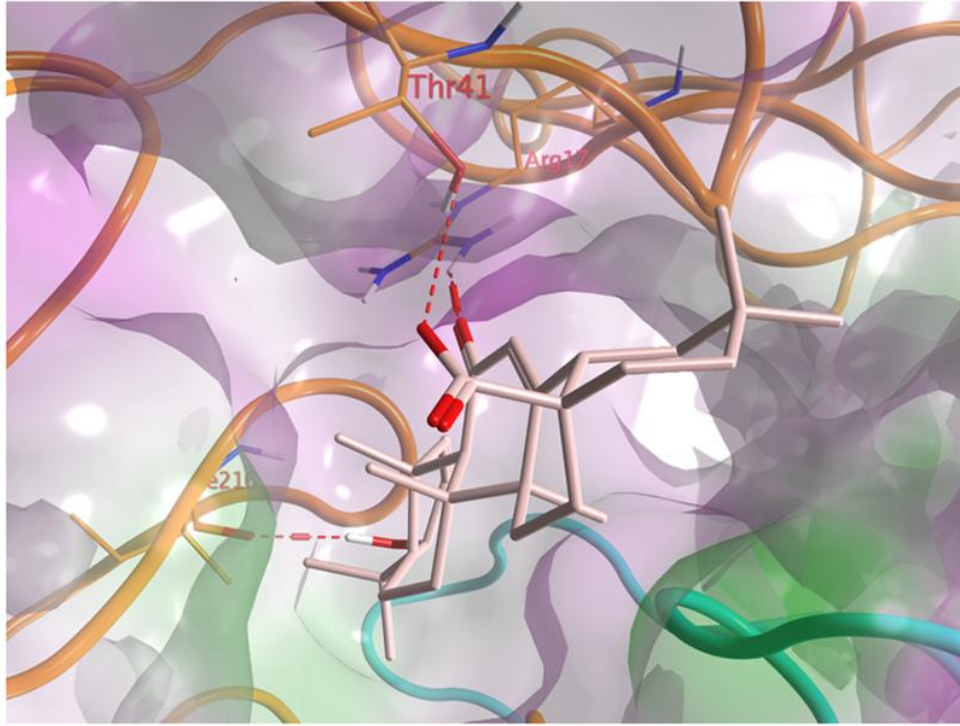


132: $R^1 = (=O)$; $R^2 = \alpha-OH$; $R^3 = \beta-OH$; $R^4 = H$

133: $R^1 = R^3 = \beta-OH$; $R^2 = R^4 = \alpha-OH$

Şekil 4.8 Doking çalışmasında en iyi bağlanma özelliği gösteren triterpen yapıları

c-Rel/c-Rel/I κ B α enzimin homoloji enzim modeli ile en iyi bağlanma özelliği gösteren triterpen yapısı bileşik **134** olmuştur.



Şekil 4.9 Bileşik **134'** ün c-Rel/c-Rel/IκBα enzimin homoloji modeli ile bağlanma ilişkisi

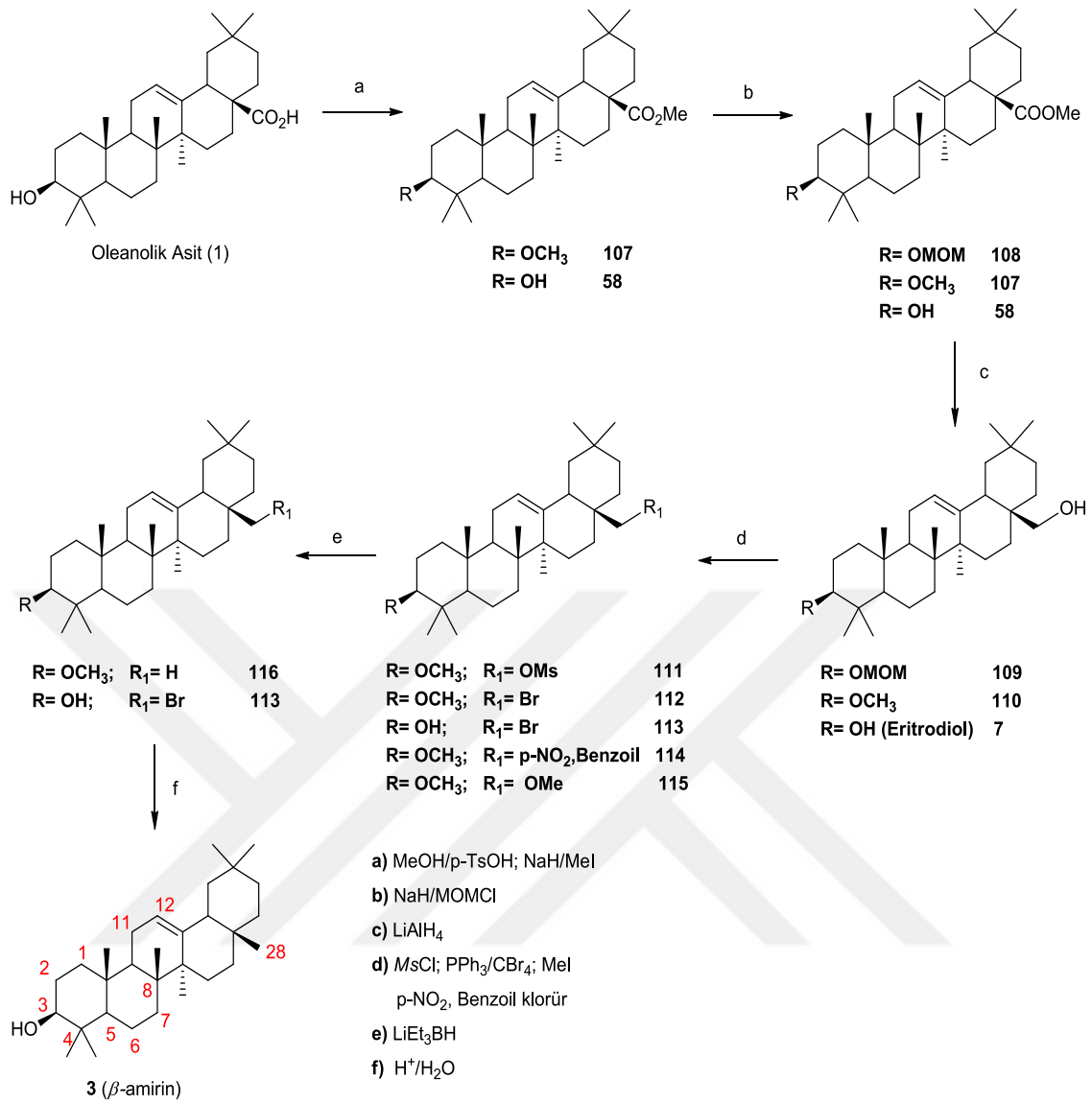
4.4 Sentez Basamakları

Bu tez kapsamında hedef molekül **2**, oleanolik asitten çıkılarak sentezlenecektir. Sentez adımları iki aşamalı olarak gerçekleştirilecektir. İlk aşama amirin bileşiğinin sentezlenmesi, ikinci aşama sentezlenen amirin bileşiğinden çıkılarak hedef molekül **2'** nin sentezlenmesidir. Sentezin ilk kısmında, oleanolik asitte bulunan -COOH grubu hedef molekül **2'** de -CH₃ grubu olduğundan oleanolik asitteki karboksilik asit birimi metiline indirgenerek β-amirin (**3**) bileşiği elde edildi (Şekil 4.10).

Karboksil grubunun indirgenerek metil grubuna dönüştürülebilmesi için ilk önce COOH, gerçekleştirilecek bir seri reaksiyon sırasında bazik karakterdeki reaktiflerle etkileşmemesi için ester türevine dönüştürülmek istendi. Karboksilik asit grubunun esterleşmesinde en iyi bilinen yöntem Fischer esterleştirme yöntemidir. *p*-TSA katalizörlüğünde metanol (MeOH) içerisinde yapılan reaksiyon denemeleri sırasında reaksiyon şartları zorlanmasına rağmen (yüksek sıcaklık, aşırı equivalent, ultrasonik banyo) asit grubu esterine dönüştürülemedi. Fischer esterleşme reaksiyonu OA' nın konfigürasyonundan kaynaklanan sterik engel nedeniyle gerçekleştirilemedi. Bunun

yerine OA, NaH ile etkileştirilerek asit protonu koparıldı ve elde edilen karboksilat anyonu MeI ile etkileştirilerek ester bileşikler **58** ve **107** sentezlenmiştir. β -amirin (**3**) bileşiğinin sentezi sırasında güçlü bazlarla çalışılacağı için C-3 pozisyonundaki hidroksi (-OH) grubunun korunması gerekmektedir. Elde edilen bileşik **58'** in C-3 pozisyonundaki OH grubu MOMCl ile muamele ettirilerek OMOM türevi bileşik **108** elde edildi [95]. Daha sonra ester grubu, iyi bir indirgeyici olan LiAlH₄ ile indirgenerek C-17 karbonunda hidroksimetil grubu içeren bileşikler **7**, **109** ve **110** sentezlenmiştir. Elde edilen hidroksimetil grubuna sahip bileşikler; MsCl, PPh₃/CBr₄, MeI ve *p*-nitrobenzoil klorür gibi reaktiflerle etkileştirilerek sırasıyla **111-115** bileşikler sentezlenmiştir.

Çalışmamızda hedef molekül **2'** nin sentezi gerçekleştirilirken sentez adımları sırasında elde edilen oleanolik asit türevi bileşiklerin potansiyel ilaç olma özellikleri dikkate alınmıştır. Bu nedenle elde edilen her bileşik farklı fonksiyonel gruplarla türevlendirilmeye çalışılmış ve bilgisayar üzerinde yapılan doking çalışmaları (in-siliko) rehberliğinde in vitro çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Sentezi gerçekleştirilen bileşik **112** ve **113** LiAlH₄ ile indirgenerek bileşik **112'** den β -metoksiamirin (**116**), **113'** den sentez adımlarının ilk aşamasında hedeflenen β - Amirin **3** bileşiği sentezlenmiştir. Mesilat esteri bileşik **111** ne LiAlH₄ ne de Süper Hidrür (LiEt₃BH) ile indirgenme reaksiyonlarına cevap vermemiştir.



Şekil 4.10 β -Amirinin sentez basamakları

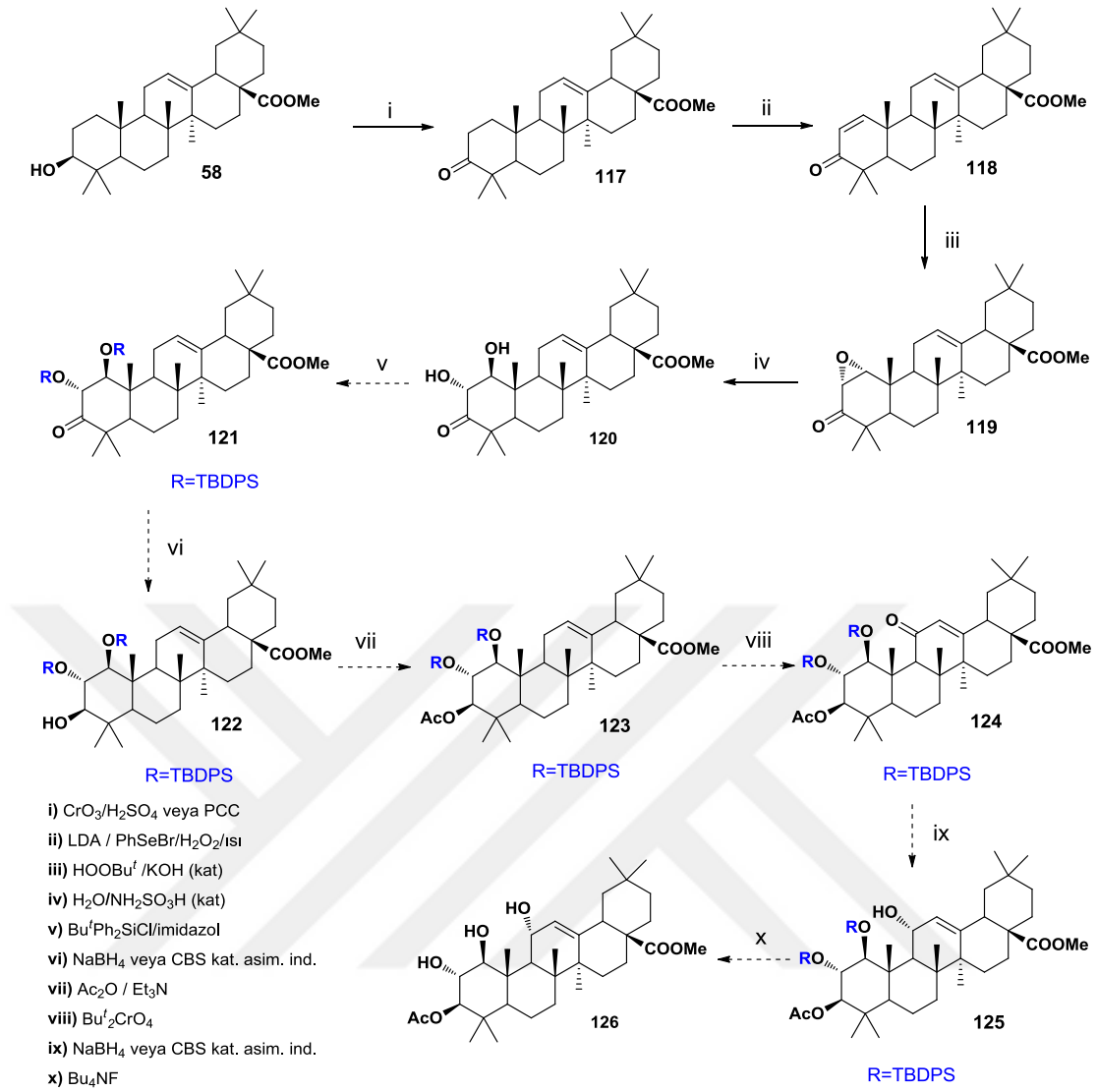
Literatürde hem amirinlerin hem de bazı doğal ve sentetik türevlerinin çok sayıda biyolojik aktiviteye sahip olduğu bildirilmektedir [96].

Sentezin birinci aşamasına kadar olan bölümde stereo kimyasal bir merkez ya da izomer ürün oluşumu yoktur. Ancak bundan sonraki basamaklarda stereoizomerlerin meydana gelmesi söz konusudur. Hedef molekülün sentezi için sentez adımlarının ikinci aşaması β -amirinden başlatılması planlanmıştı fakat doking çalışmalarında elde edilen sonuçlar C-17 karbonuna bağlı metil grubunun yerine karboksilik asit grubu olduğunda daha iyi bağlandığını göstermektedir. Bu sebeple hedef molekülünün karboksilik asit türevinin sentezlenmesi planlanmıştır. Çıkış bileşiği olarak bileşik 58 seçilmiştir ve sentez adımları

şekil 4.11' de gösterilmiştir. Bileşik **58'** den yola çıkılarak hedef bileşiği elde etmek için yapıya 1, 2 ve 11 pozisyonlarında üç adet OH grubu bağlamak, 3 pozisyonundaki OH grubunu da asetil türevine dönüştürmek gerekmektedir.

Reaksiyon adımlarına ilk olarak C-3 karbonundaki OH grubu literatürde bilinen uygun bir oksidasyon yöntemi ile [97] karbonil formuna dönüştürülerek keton bileşiği **117** sentezlenecektir (Şekil 4.11). Hazırlanan **117** bileşiği, yükseltgeme yöntemi olan PhSeCl/H₂O₂ reaktifleri ile muamele edilerek α,β -doymamış karbonil bileşiği **118** elde edilecektir [98-100]. Bundan sonraki aşamada bileşik **118**'in nükleofilik asimetrik epoksidasyon yöntemi [101, 102] ile iki çift bağdan daha pozitif karaktere sahip olan α,β -doymamış olanı seçimli olarak oksitlenerek epoksit **119** bileşiği sentezlenecektir.

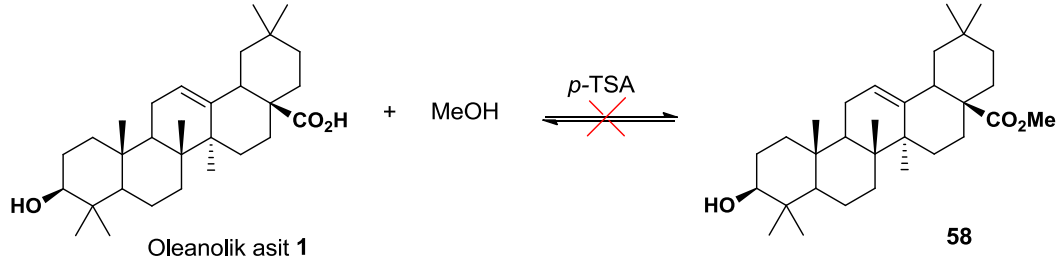
Farklı tepkime koşullarında epoksitlerin hidrolizlerini tanımlayan alternatif yöntemler mevcuttur [103, 104]. Elde edilen epoksit bileşiği **119** sülfamik asit varlığında hidroliz edilerek *trans*-diol **120'** ye dönüştürülecektir. Bileşik **120'** deki OH grubu *tert*-bütildimetilsilil klorür (TBDMSCl) ile baz varlığında muamele edilerek silil bileşiği **121**, bileşik **121** deki karbonil grubu LiAlH₄ ile indirgenerek alkol bileşiği **122** sentezlenecektir. Eğer oluşacak OH grubu uygun stereokimya da elde edilemez ise kiral Corey-Bakshi-Shibata (CBS) katalizörü varlığında indirgeme yapılacaktır [105, 106]. İndirgeme sonrası elde edilen alkol **122** asetillenerek bileşik **123** hazırlanacak, hazırlanan bileşik **123** allilik oksidasyona tabii tutularak çift bağın (C-12/C-13) allilik konumunda (C-11) karbonunda bir karbonil grubu oluşturulacaktır. Bu işlem için literatürde bilinen [96] ve bazı ursan ve oleanan türevlerinde de aynı amaç için kullanılmış olan *tert*-bütilkromat kullanılacak ve böylece bileşik **124** sentezlenecektir. Bileşik **124** indirgenerek bileşik **125** elde edilecektir. Son olarak bileşik **125'** de bulunan koruyucu silil grubu literatürde bilinen [107] Bu₄NF kullanılarak uzaklaştırılacak ve hedef molekül karboksilik asit metil ester türevi **126** sentezlenmiş olacaktır.



Şekil 4.11 Hedef molekülün sentez basamakları

4.4.1 Oleanolik Asidin Esterleşme Reaksiyonu

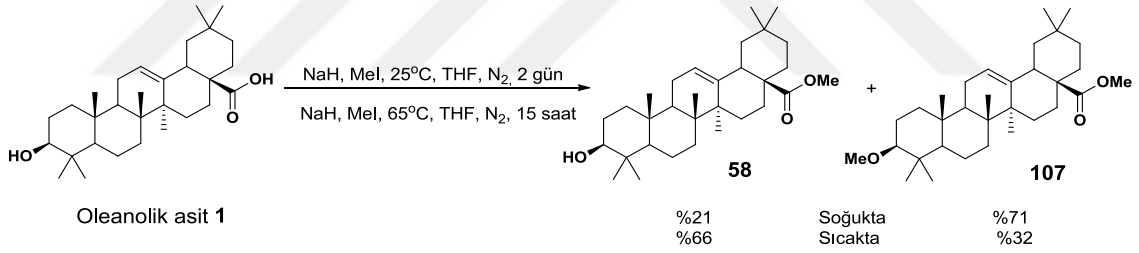
Sentez tasarımının ilk adımı olan β -amirinin sentezi için oleanolik asitten başlandı. Fischer esterleşmesi metoduyla metil esterine dönüşümünü sağlamak için, oleanolik asit *p*-toluensülfonik asit varlığında ve metanolün çözücü olarak kullanıldığı reaksiyonda bir gün oda sıcaklığında karıştırma yapıldı. TLC sonucuna göre başlangıç bileşiğinde herhangi bir değişiklik olmadığı gözlemlendi. Bu aşamadan sonra reaksiyona metanolün kaynama sıcaklığında ortalama 65 °C'de geri soğutucu altında devam edildi. Refluks olan reaksiyon 10 gün boyunca periyodik olarak takip edildi ancak yine esterleşme olmadığı gözlemlendi. Reaksiyon ultrasonik banyo içerisinde de tekrarlandı fakat karboksilik asit Fischer esterleşme reaksiyonu esterine dönüştürülemedi.



Şekil 4.12 Fischer esterleşme reaksiyonu

Literatürde yaygın olarak bilinen metanol içerisinde Fischer esterleşme reaksiyonu birçok organik bileşikte sorunsuz olarak ve yüksek verimlerde çalışmaktadır. Fakat bizim molekülde ise molekülün uzaysal diziliminden kaynaklanan sterik engeller dengeyi ürünler tarafına kaymasına engel olmaktadır. Bu yüzden moleküldeki karboksil asit fonksiyonel grubunu esterine dönüştürmek için daha reaktif olan MeI bileşiği ile bazik şartlarda reaksiyon yapıldı.

4.4.2 3β-Hidroksiolean-12-en-28-oik asit metil ester (58) ve 3β-Metoksiolean-12-en-28-oik asit metil ester (107)' nin Sentezi



Reaksiyon yeni destillenmiş 250 mL THF içerisinde azot atmosferinde ve oda sıcaklığında yapıldı. Oleanolik Asit (5 g, 10.95 mmol), THF (250 mL) içerisinde çözülerek üzerine NaH (920 mg, 23 mmol) ilave edildi. Reaksiyon ortamı 5 dakika boyunca karıştırıldıktan sonra üzerine MeI (3.9 g, 27.37 mmol) yavaşça ilave edildi. Reaksiyon gece boyunca karıştırılmaya bırakıldı ve TLC ile takip edilerek çıkış bileşiğinin tükenmesinin ardından 24 saat sonra ortama su ilave edilerek sonlandırıldı. Reaksiyon çözücüsü THF uzaklaştırıldı ve geriye kalan madde kloroform ile çözülerek Kloroform/Su ile üç kez ekstraksiyon yapıldı. Organik faz Na_2SO_4 üzerinden kurutularak rotari evaporatörden uzaklaştırıldı. Elde edilen ürün karışımı silikajel kolona verildi ve kolondan %5 Etil Asetat/*n*-Hekzan (5 mL / 95 mL) yürütücü fazı geçirilerek saflaştırıldı. Her iki üründe beyaz katı olarak elde edildi. Ürün verimleri bileşik 58 için soğukta %21, sıcakta %66

(sırasıyla 1,1 g, 3.4 g), bileşik **107** için soğukta %71, sıcakta %32 (sırasıyla 3.83 g, 1.7 g) olarak hesaplandı.

Bileşik **58** için: Beyaz katı; R_f: 0.64 (4/1, *n*-Hekzan/Etil asetat).

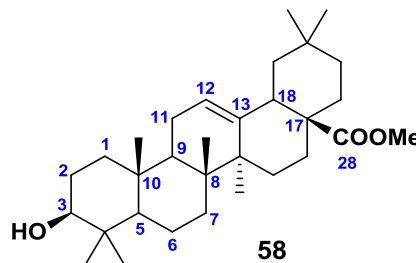
Bileşik **107** için: Beyaz katı; R_f: 0.82 (4/1, *n*-Hekzan/Etil asetat).

THF içerisinde NaH ile OA' dan proton koparılıp MeI ile reaksiyon oda sıcaklığında yapıldığında ana ürün % 71 verimle di-metoksioleanolik asit türevi bileşik **107** iken reflüks sıcaklığında yapılan reaksiyonda ana ürün % 66 verimle sadece karboksilik asit ünitesinin esterleştiği mono-metoksi türevi bileşik **58'** dir.

4.4.3 Bileşik 58'in Spektroskopik Analiz Verileri

Kısa süre, yüksek sıcaklık şartlarında % 66 verimle beyaz bir katı olarak elde edilen bileşik **58'** in ¹H-NMR spektrumu incelendiğinde yapıyla tam olarak uyumlu olduğu görüldü. Yapıyı incelediğimiz zaman aşağı alanda rezonans olacak H-3, H-12 ve karboksilik asit esterleri olmak üzere üç pozisyon bulunuyor ve OA' dan farklı olarak asit yapısının esterleştiği görülmektedir. Yapıda H-12 protonu, δ: 5.21 ppm' de triplet, δ: 3.55 ppm' de metoksi metil grubu singlet olarak rezonans olmaktadır. H- 3 protonuna baktığımız zaman δ: 3.20 ppm' de dubletin dubleti olarak oleanolik asitteki gibi aynı yerde rezonans olduğunu görüyoruz.

Eğer hidroksi grubu metillenmiş olsaydı oluşacak metoksi grubundan dolayı C-3 karbonun elektron yoğunluğu artacaktı ve daha yukarı alanda H-3 protonu rezonans olacaktı. Ayrıca ¹³C-NMR' ında δ: 178.0 ppm' de ester yapısına ait karakteristik karbonil karbonu piki yapıyı doğrulamaktadır.

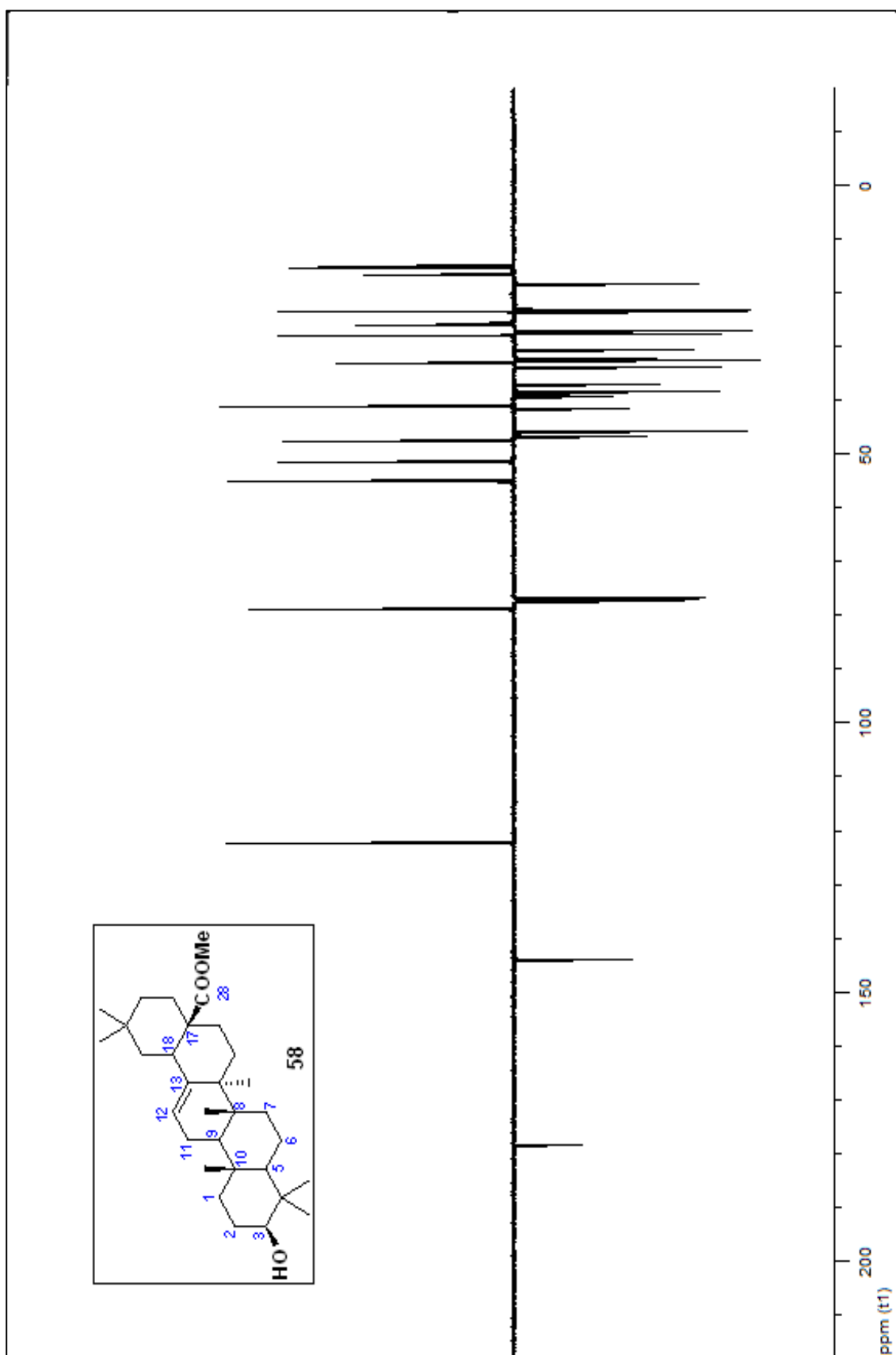


¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 5.21 (1H, t, *J* = 3.4 Hz, olefinik H-12), 3.55 (3H, s, -OCH₃), 3.20 (1H, dd, *J* = 4.7, 11.6 Hz, H-3), 2.85 (1H, dd, *J* = 4.0, 13.8 Hz, H-18) ppm.

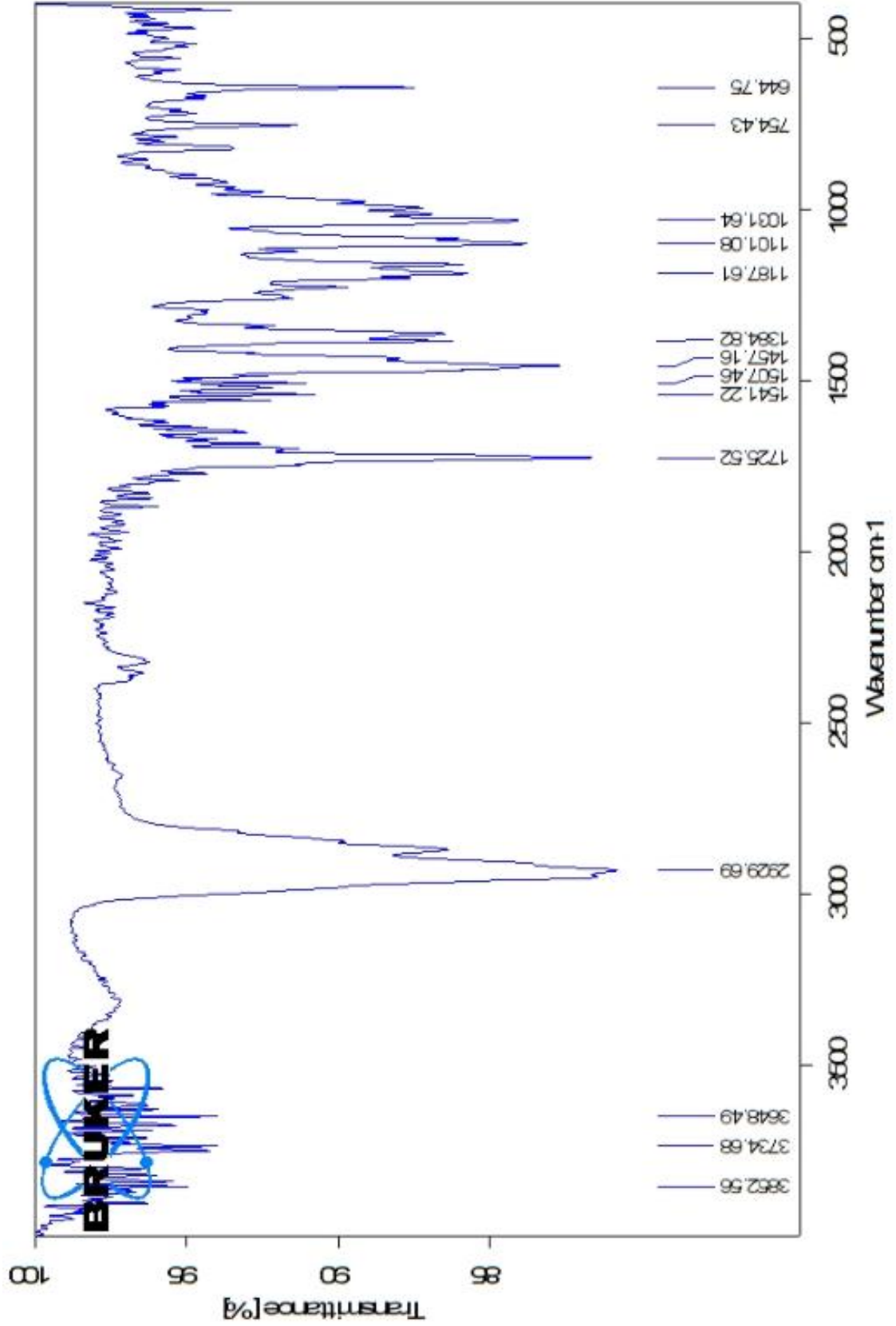
^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 178.0 (C=O), 143.4 (C-13), 122.0 (C-12), 78.7 (C-3), 54.9 (-OCH₃), 51.2 (C-18), 47.3 (C-11), 46.4 (C-14), 45.5 (C-17), 41.3, 40.9, 38.9, 38.4, 38.1, 36.7, 33.5, 32.8, 32.3, 32.0, 30.4, 27.8, 27.4, 26.8, 25.6, 23.3, 23.1, 22.7, 18.0, 16.5, 15.2, 15.0 ppm.

FTIR (ATR) ν = 3300 (OH), 2929, 1725 (C=O), 1541, 1507, 1457, 1384 (CH₃), 1187, 1101, 1031, 754, 644 cm^{-1} .





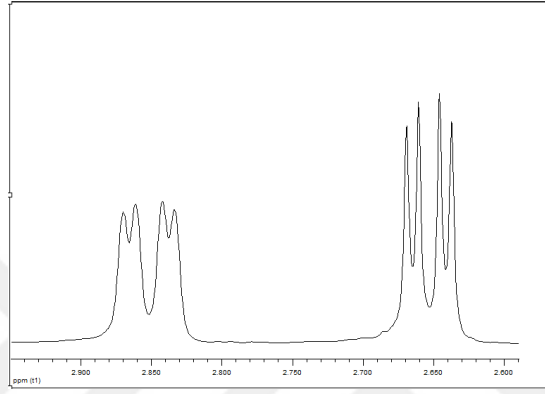
Şekil 4.14 Bileşik **58**'in APT spektrumu (CDCl_3)



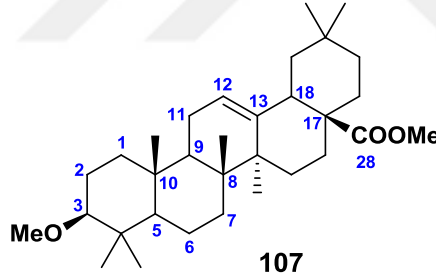
Şekil 4.15 Bileşik 58'in FTIR spektrumu (ATR)

4.4.4 Bileşik 107' nin Spektroskopik Analiz Verileri

Uzun süre, düşük sıcaklık şartlarında % 71 verimle beyaz bir katı olarak elde edilen bileşik **107'** nin ^1H -NMR spektrumu incelendiğinde yapıyla tam olarak uyumlu olduğu görüldü. İskelet yapısında δ : 5.21 ppm' de H-12 protonu triplet, 3.61 ppm' de C-3 karbonuna bağlı metoksi protonları singlet, karboksilik asit esteri protonları δ : 3.34 ppm' de singlet ve H-3 protonu δ : 2.65 ppm' de yukarı alana kayarak dubletin dubleti olarak rezonans olmaktadır (Şekil 4.16).



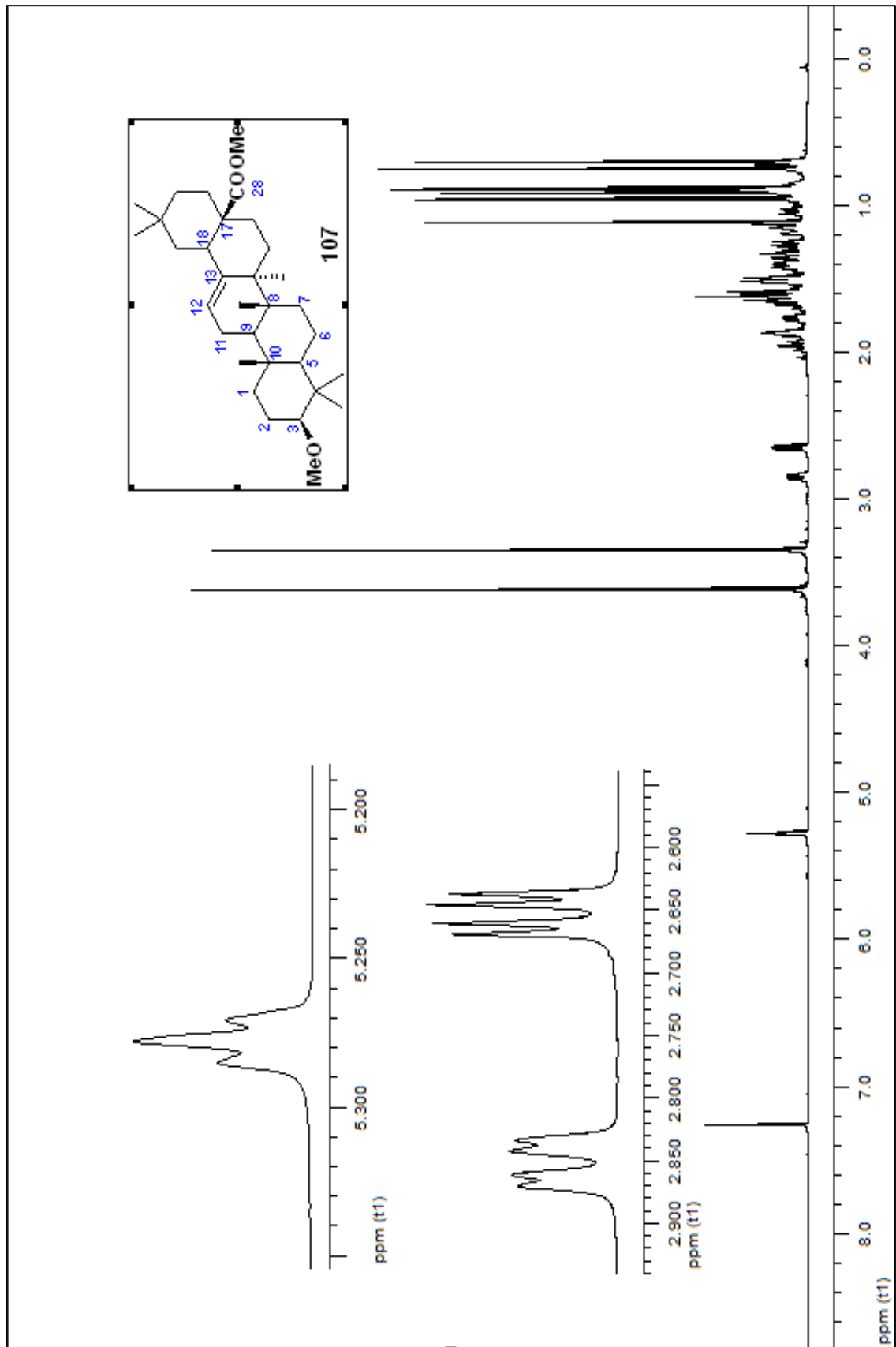
Şekil 4.16 Bileşik **107'** ye ait H-3 ve H-18 protonun rezonans gösterimi



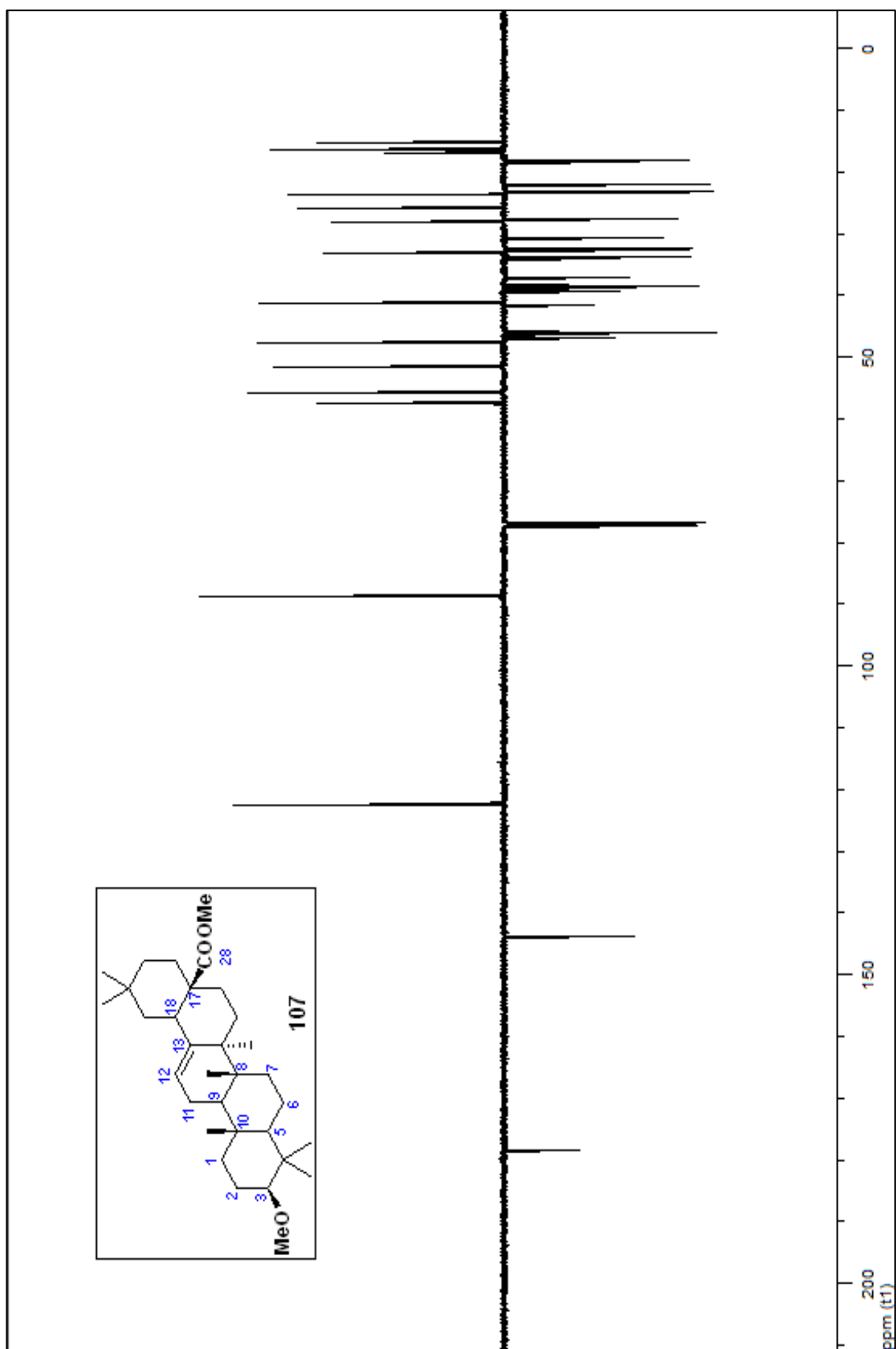
^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 5.28 (1H, t, J = 3.4 Hz, olefinik H-12), 3.61 (3H, s, HC-OCH₃), 3.34 (3H, s, O=C-OCH₃), 2.85 (1H, dd, J = 4.4, 13.8 Hz, H-18), 2.65 (1H, dd, J = 4.0, 11.6 Hz, H-3).

^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 177.6 (C=O), 143.1 (C-13), 121.7 (C-12), 87.9 (C-3), 56.8 (-OCH₃), 55.0 (O=C-OCH₃), 50.8 (C-18), 46.9 (C-11), 46.0 (C-14), 45.2 (C-17), 40.9, 40.6, 38.6, 38.0, 37.6, 36.3, 33.1, 32.4, 31.9, 31.7, 30.0, 27.4, 27.0, 25.2, 22.9, 22.7, 22.3, 21.3, 17.5, 16.1, 15.6, 14.6.

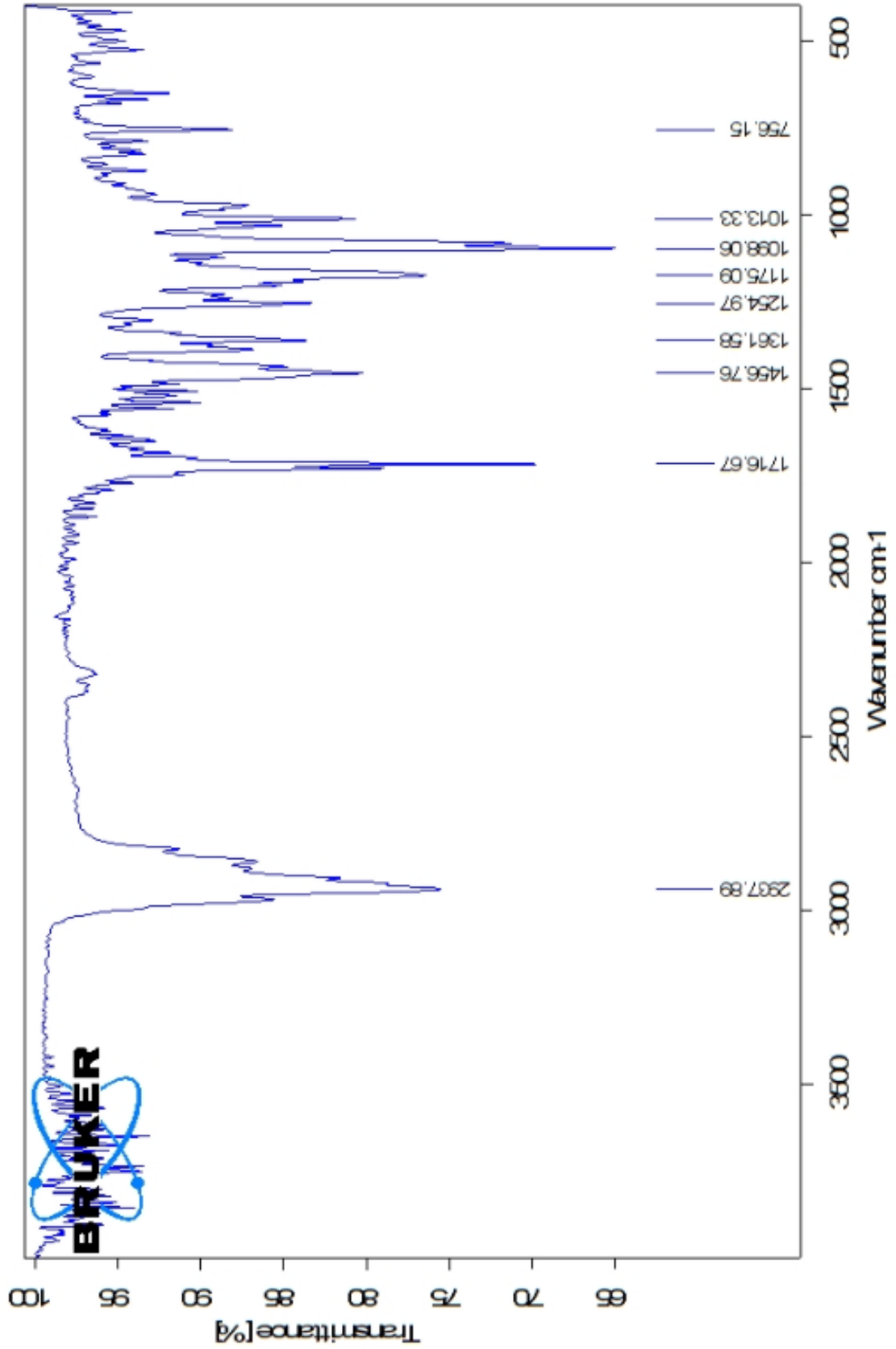
FTIR (ATR) ν = 2937, 1716 (C=O), 1456, 1361 (CH₃), 1254, 1175, 1098, 1013, 756 cm^{-1} .



Şekil 4.17 Bileşik **107'** nin ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3)



Şekil 4.18 Bileşik **107'** nin APT spektrumu (CDCl_3)

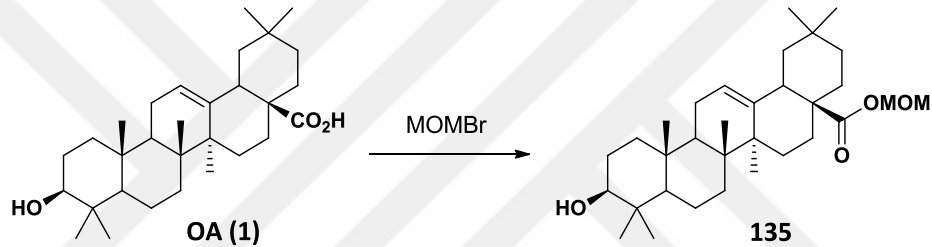


Şekil 4.19 Bileşik **107**'nin FTIR spektrumu (ATR)

4.4.5 Oleanolik Asidin MOMBr (Momlama) ve TBDMSiCl (Sililleme) ile reaksiyonu

Fischer esterleşme reaksiyonu olmayınca oleanolik asidin C-3 karbonuna bağlı hidroksi grubu MOM koruyucu grubuyla korunmak istendi. Reaksiyon sonunda elde edilen MOM türevi oleanolik asidin $^1\text{H-NMR}$ spektrumunda ürünün oluştuğu düşünülse de MOM grubunun hidroksi grubu yerine karboksilik asit grubundan bağlandığı bir sonraki adımda LiAlH_4 ile indirgenme reaksiyonu sonucunda anlaşılmıştır. İndirgenme reaksiyonu sonucunda hedeflenen bileşik **109** yerine her seferinde eritrodiol (**7**) bileşiği elde edilmiştir. Çalışmalar TBDMSiCl koruyucu grubuyla da tekrarlanmış ve her seferinde karboksilik asit ucundan bağlandığı görülmüştür.

4.4.5.1 3 β -(Hidroksi)-olean-12-en-28- metoksimetil ester (**135**)' in Sentezi

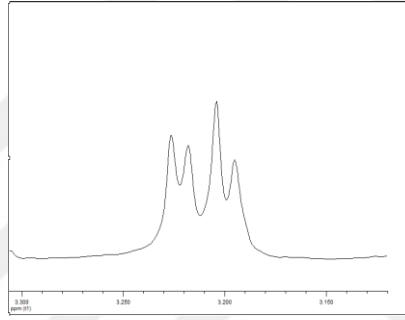


Reaksiyon, tetrahidrofuran (THF) içerisinde, oda sıcaklığında ve azot atmosferinde yapıldı. 500 mL' lik yuvarlak dipli iki boyunlu bir balona 250 mL yeni destillenmiş THF konuldu ve üzerine %60' lık NaH (13 mmol, 525 mg, 3 ekv.) ilave edildi. 15 dakika karıştırıldıktan sonra oleanolik asit (**1**) (4.4 mmol, 2 g, 1 ekv.) ilave edilerek 30 dakika daha karıştırıldı. Daha sonra MOMBr (8.8 mmol, 0.73 mL, 2 ekv.) ilave edilerek karıştırılmaya devam edildi. MOMBr ilavesinden sonra reaksiyon karışımı süt beyazı bir renge dönüştü. TLC ile takip edilen reaksiyon 2 saat sonra 2 mL su ilave edilerek sonlandırıldı. Reaksiyon çözücüsü evaporatörde uzaklaştırılarak geriye kalan kısım $\text{H}_2\text{O}/\text{CHCl}_3$ ile üç kez yıkandı ve organik faz Na_2SO_4 üzerinden kurutularak çözücü evaporatörde uzaklaştırıldı. Bileşik **135** beyaz renkli katı olarak elde edildi (2 g). Bileşik **135**' deki MOM grubu çok kararlı değildir. Saflaştırıldıktan sonra NMR tüpünde bile hidroliz olmaktadır.

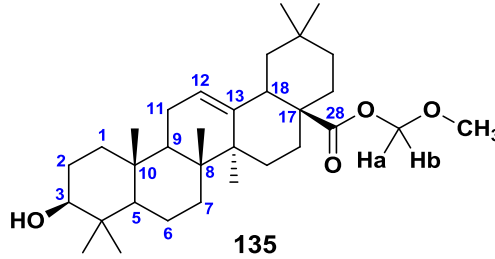
Beyaz katı; erime noktası: 260-261°C; R_f : 0.82 (4/1, *n*-Hekzan/Etil asetat); %91 verimle ilk kez sentezlendi.

4.4.5.2 Bileşik 135' in Spektroskopik Analiz Verileri

Oleanolik asidin MOM türevi bileşik **135'** in ^1H -NMR spektrumu incelendiğinde metoksimetil ($\text{CH}_3\text{O}-\text{CH}_2-\text{O}$) grubuna ait karakteristik pikler; $-\text{CH}_2-$ ait protonları, 5.15 ppm' de dublet ve 5.22 ppm' de dublet olarak ve 3.43 ppm' de metoksi ($-\text{OCH}_3$) grubuna ait protonlar singlet olarak rezonans olmaktadır. Eğer MOM grubu C-3 pozisyonundaki hidroksi ($-\text{OH}$) grubundan bağlansaydı H-3 protonunun 3.20 ppm yakın bir alanda değil daha yukarı alanda rezonans olması gerekirdi. H-3 protonunun 3.21 ppm' de rezonans olması MOM grubunun hidroksi grubundan değil karboksilik asit grubundan bağlandığını göstermektedir (Şekil 4.20). Bileşik **135'** e ait Hidrojen ve karbon NMR' lar hidroliz sonrası oluşan oleanolik asit ile karışım halindedir.



Şekil 4.20 Bileşik **135'** e ait H-3 protonunun rezonans sinyali

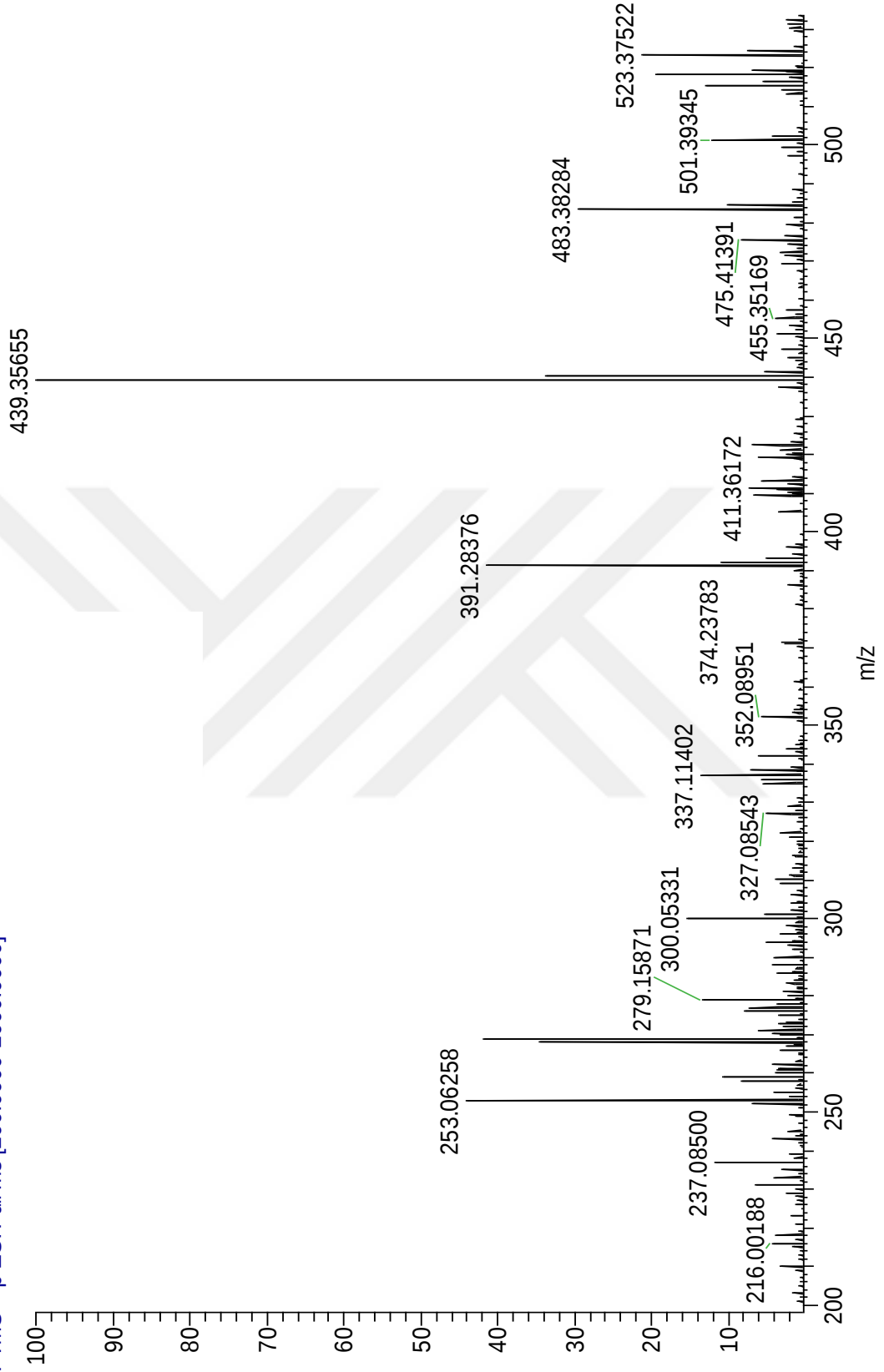


LC-MS (ESI-QTOF) ($\text{C}_{32}\text{H}_{52}\text{O}_4$) m/z = Hesaplanan 500.3865; ölçülen 501.3934 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

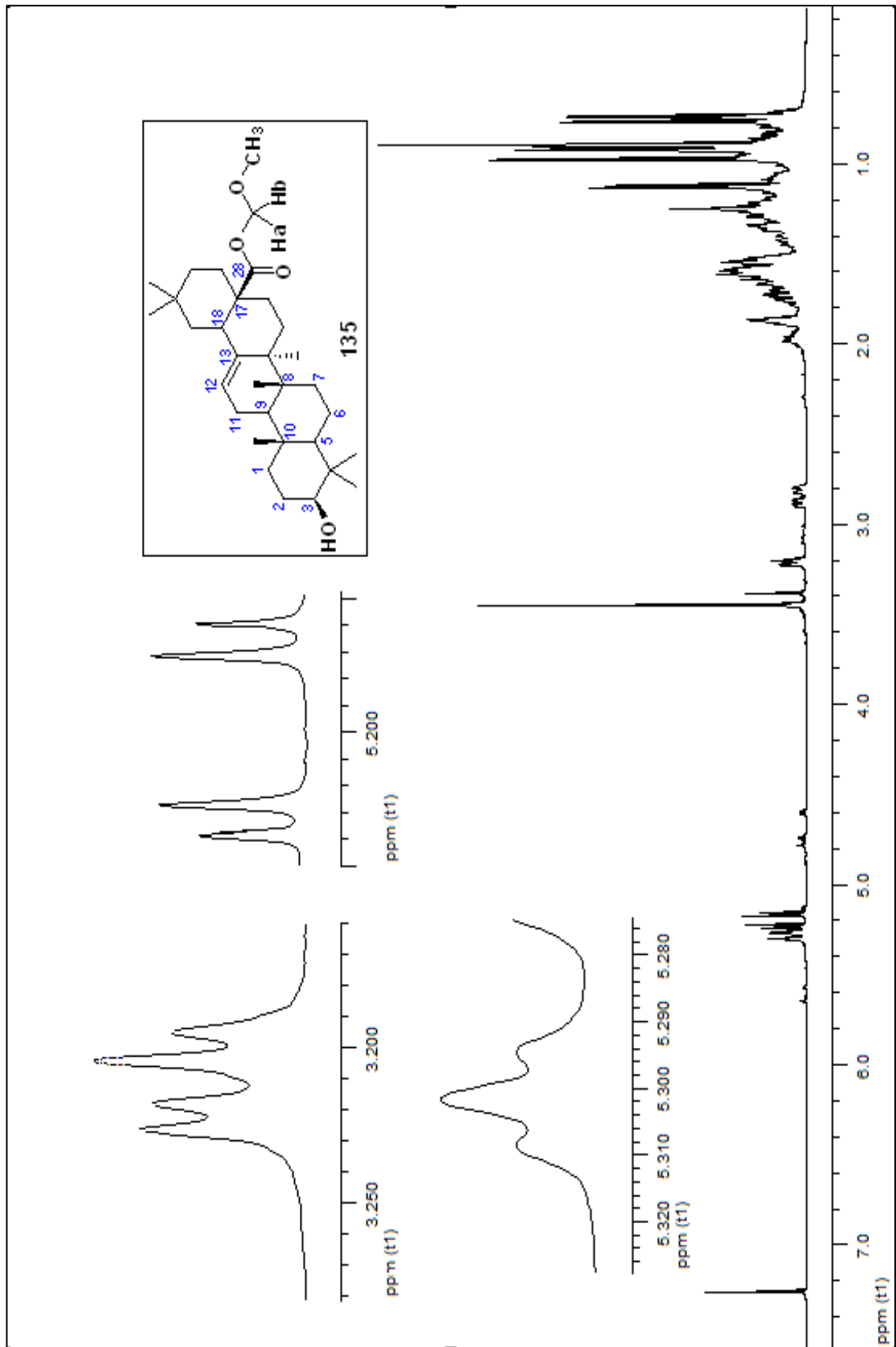
^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 5.28 (1H, t, J = 3.5 Hz, olefinik H-12), 5.22 (1H, d, J = 5.9 Hz, Ha, $\text{O}-\text{CH}_2-\text{O}$), 5.15 (1H, d, J = 5.9 Hz, Hb, $\text{O}-\text{CH}_2-\text{O}$), 3.43 (3H, s, $-\text{OCH}_3$), 3.18 (1H, dd, J = 4.7, 11.6 Hz, H-3), 2.86 (1H, dd, J = 4.2, 13.7 Hz, H-18) ppm.

^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 183.6 (C=O), 143.6 (C-13), 122.6 (C-12), 90.4 ($\text{O}-\text{CH}_2-\text{O}$), 79.0 (C-3), 57.6 ($-\text{OCH}_3$), 55.2 (C-18), 47.6 (C-11), 45.8 (C-14), 41.7 (C-17), 41.2, 39.3, 38.7, 38.4, 37.0, 33.8, 33.1, 32.7, 32.4, 30.7, 29.7, 28.1, 27.6, 27.1, 25.9, 23.6, 23.4, 22.9, 18.3, 17.1, 15.6, 15.3 ppm.

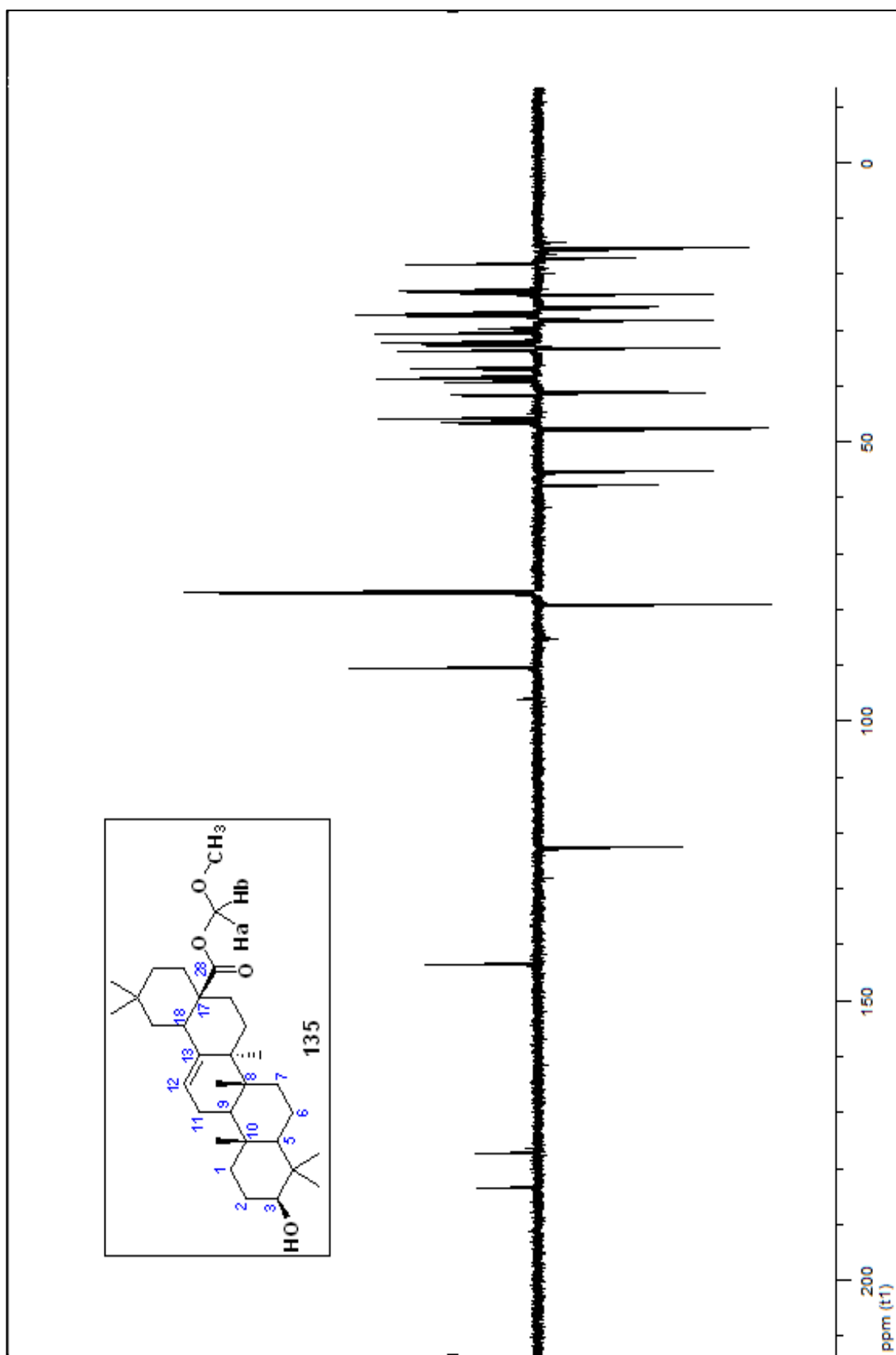
sty-69 #1-18 RT: 0.01-0.24 AV: 18 NL: 1.95E7
T: FTMS + p ESI Full ms [200.0000-2000.0000]



Şekil 4.21 Bileşik 135'in LC-MS spektrumu

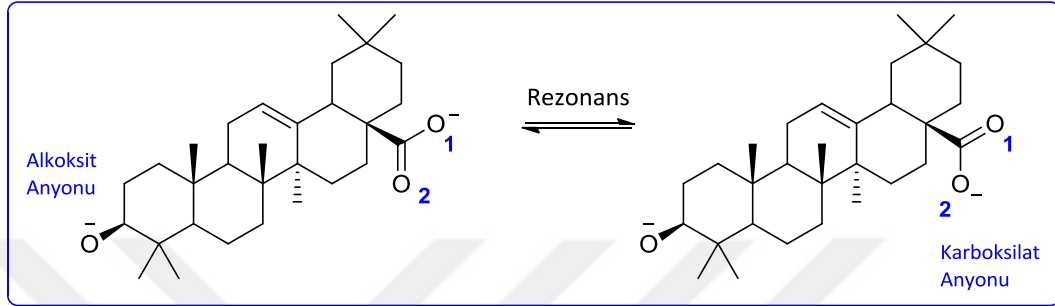


Şekil 4.22 Bileşik **135'** in ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3)



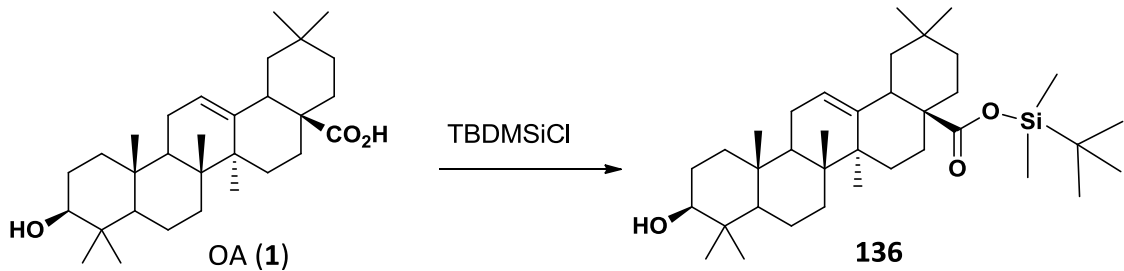
Şekil 4.23 Bileşik **135'** in APT spektrumu (CDCl_3)

Yukarıda MOM grubu için oluşturulan reaksiyon şartları sililleme reaksiyonu içinde tekrarlandı. Bazik şartlar altında oleanolik asidin hidroksi ve karboksilik asit gruplarından protonlar koparıldıktan sonra oluşan anyonların bazik ve nükleofilik kuvvetleri birbirinden farklıdır. Yapıdaki hidroksi (-OH) ve karboksilik asit (-COOH) fonksiyonel gruplarından hidrojen uzaklaşınca geriye C-3 karbonunda bir alkoksit, C-28 karbonunda bir karboksilat anyonu kalacaktır.



Bilindiği gibi karboksilat anyonunun üzerindeki negatif yük, iki oksijen atomu arasında rezonans halindedir ve alkoksit anyonuna göre daha nükleofiliktir. Diğer bir taraftan alkoksit anyonundaki negatif yük tek bir oksijen atomu üzerinde lokalize olduğu için daha baziktir. Sililleme ve momlama reaksiyonları elektrofilik sübsitüsyon reaksiyonu olduğu için her iki yapıda da ürün karboksilat anyonu tarafından gerçekleşmektedir.

4.4.5.3 3β-(Hidroksi)-olean-12-en-28- *tert*-butil-dimetil silil ester (136)' in Sentezi



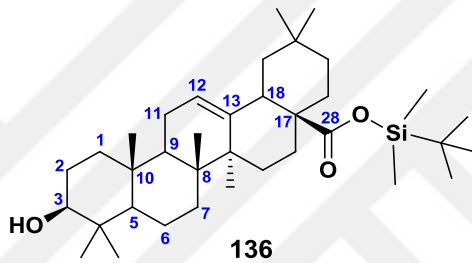
500 mL yuvarlak dipli tek boyunlu bir balon içerisine 300 mL metilen klorür kondu ve üzerine oleanolik asit (6.63 mmol, 3.0 g, 1 ekv.) ilave edilerek 15 dakika karıştırıldı. Oleanolik asit çözündükten sonra ortama trietilamin (19.71 mmol, 2.73 mL, 3 ekv.) ilave edilerek tekrar 15 dakika karıştırıldı. Son olarak reaksiyon ortamına TBDMSiCl (9.85 mmol, 1.49 g, 1.5 ekv.) katı halde ilave edilerek balona kurutucu başlık takıldı ve oda sıcaklığında karışmaya bırakıldı. TLC analizleri ile kontrol edilen reaksiyon çıkış bileşiğinin

tükenmesinin ardından sonlandırıldı. Reaksiyon karışımı CH₂Cl₂:H₂O ile üç kez yıkanarak organik faz sodyum sülfat (Na₂SO₄) üzerinden kurutuldu ve süzüldü. Ekstraksiyondan sonra bileşik **136** beyaz katı olarak elde edildi (3.64 g).

Beyaz katı; erime noktası 160-161 °C; R_f: 0.81 (4/1, *n*-Hekzan/Etil asetat); %97 verimle ilk kez sentezlendi.

4.4.5.4 Bileşik 136' nın Spektroskopik Analiz Verileri

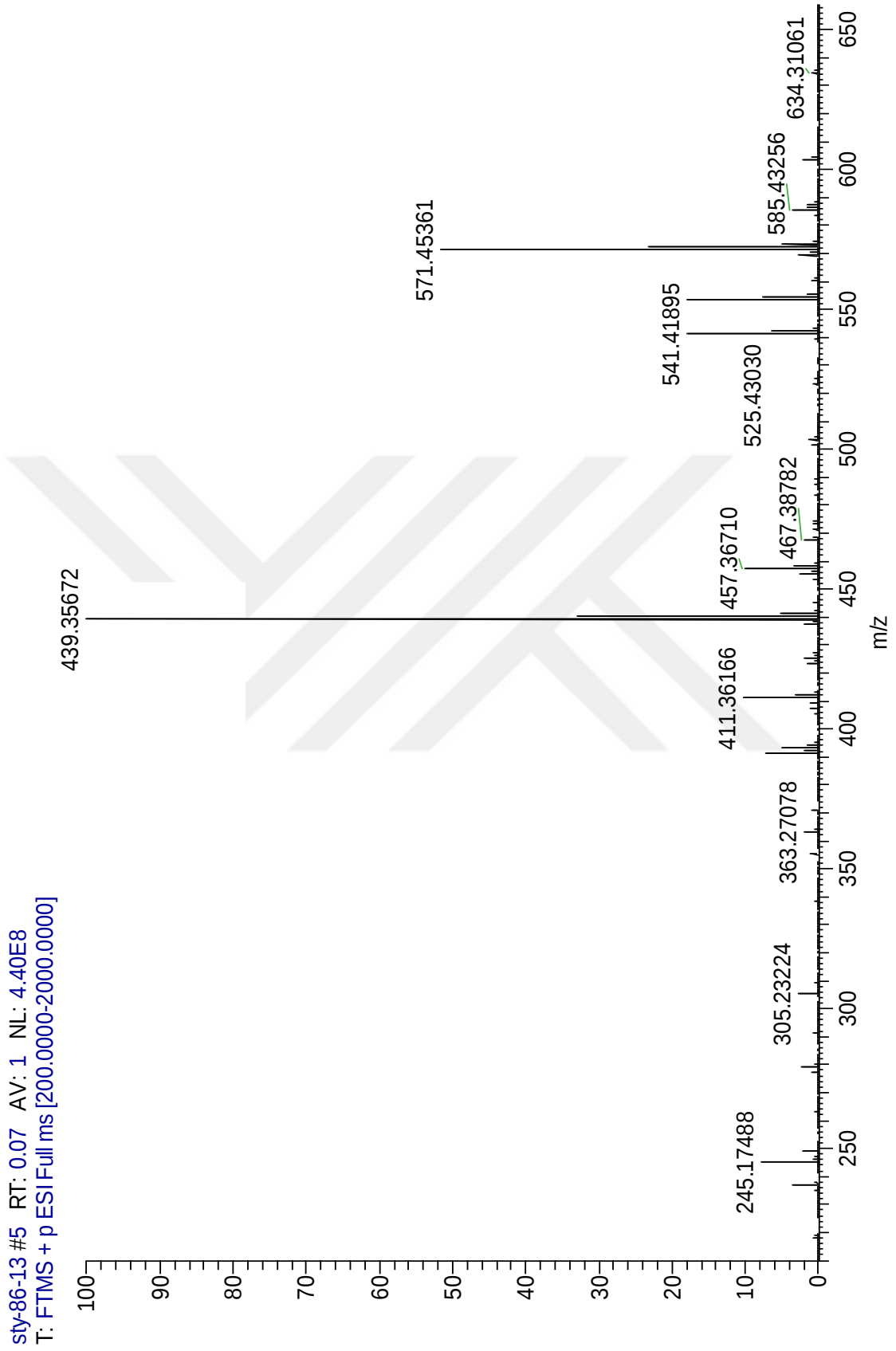
Bileşik **136'** ya ait ¹H-NMR spektrumu incelendiğinde H-12 protonu 5.26 ppm' de triplet, H-3 protonu 3.20 ppm' de dubletin dubleti, silil grubunda bulunan beş metil (-CH₃) grubuna ait pikler 0-1 ppm arasında singlet olarak rezonans olmaktadır.



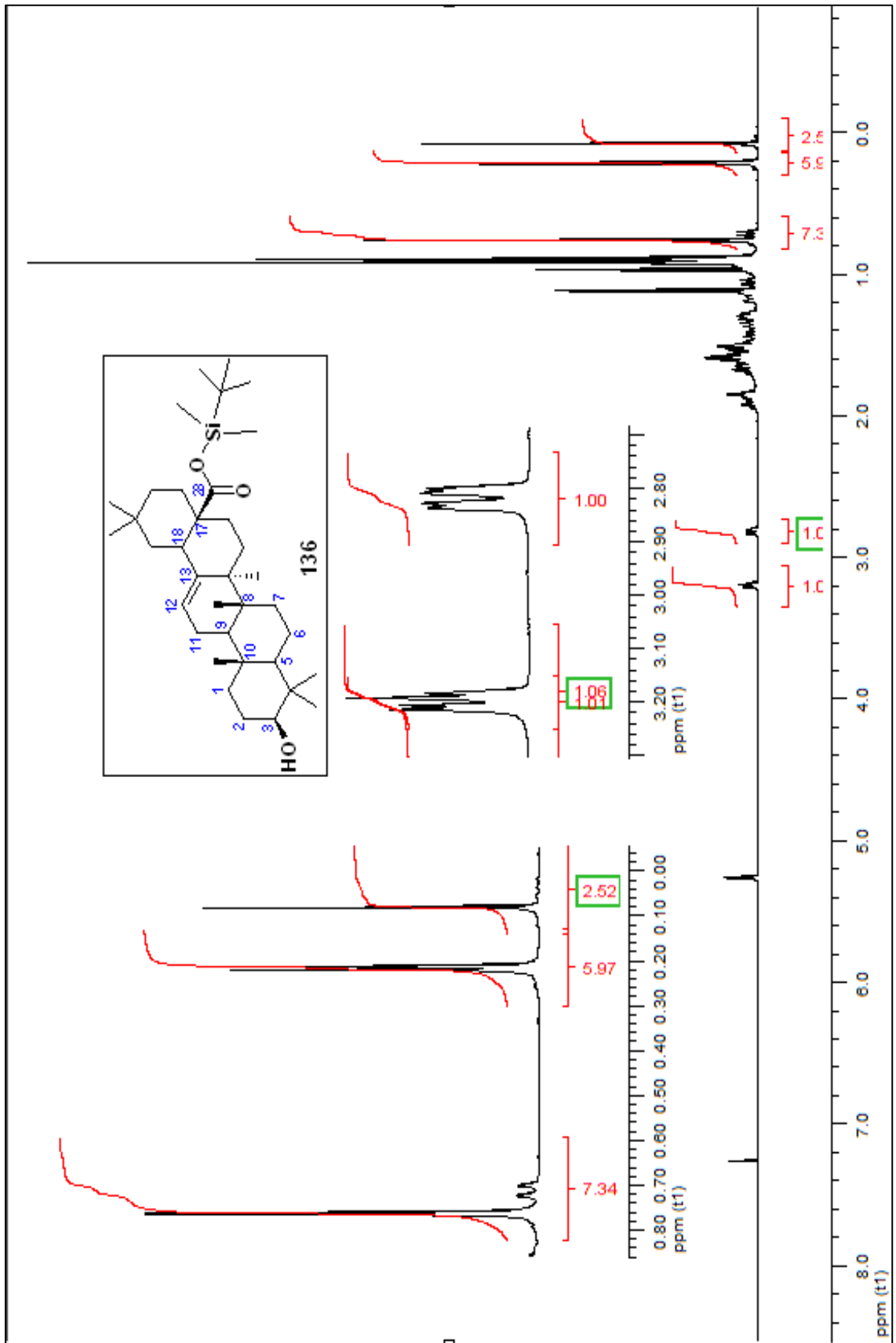
LC-MS (ESI-QTOF) (C₃₆H₆₂O₃Si) *m/z*= Hesaplanan 570.4468; ölçülen 571.4536 [M+H]⁺.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 5.26 (1H, t, *J*= 3.4Hz, olefinik H-12), 3.20 (1H, dd, *J*= 4.4, 11.3 Hz, H-3), 2.81 (1H, dd, *J*= 4.0, 13.8 Hz, H-18) ppm.

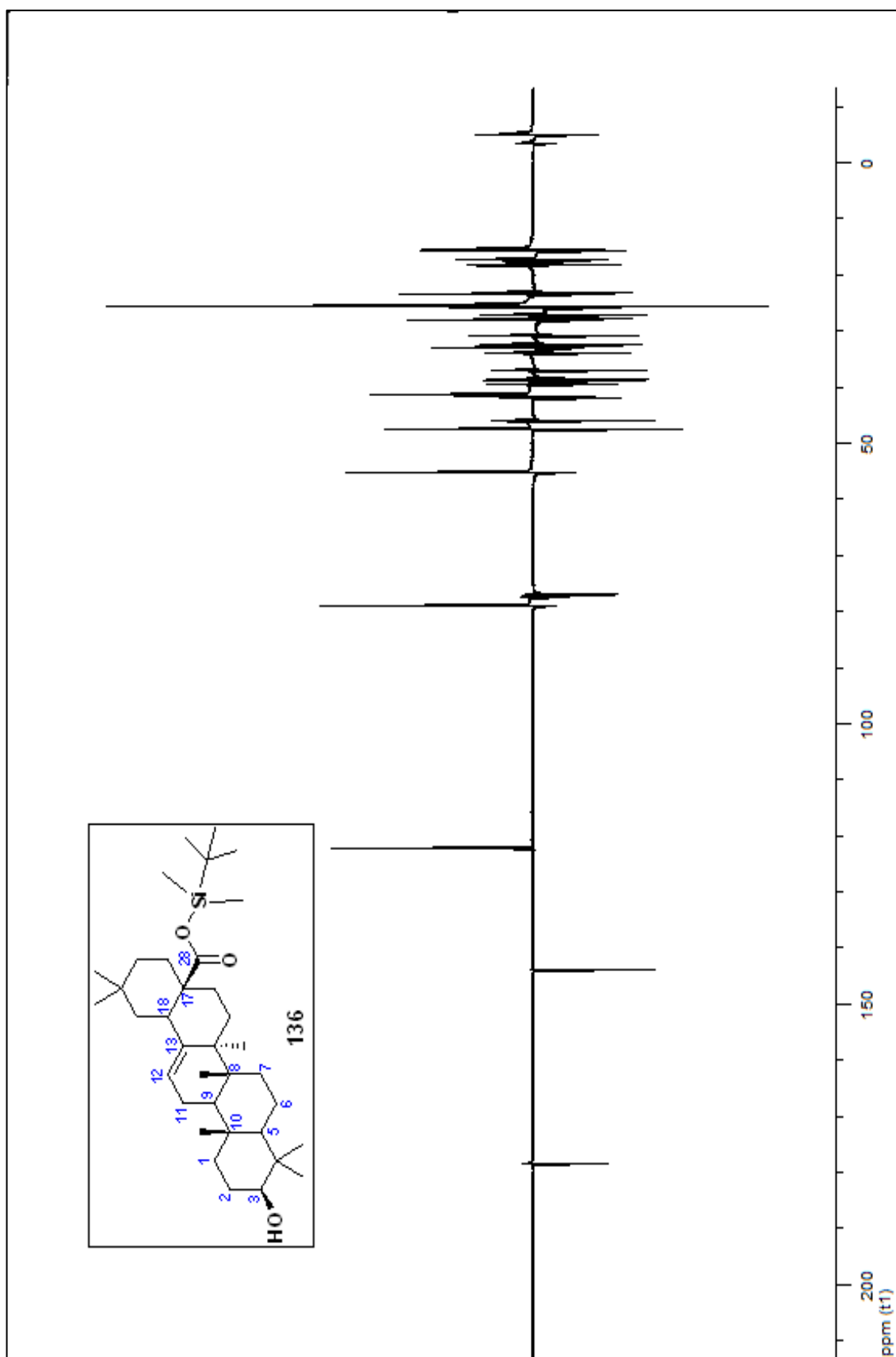
¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ: 178.3 (C=O), 143.8 (C-13), 122.3 (C-12), 79.0 (C-3), 55.2 (C-18), 47.5 (C-11), 47.5 (C-14), 46.0 (C-17), 41.7, 41.6, 41.4, 39.3, 38.7, 38.4, 36.9, 33.9, 33.0, 32.9, 32.7, 32.4, 30.7, 28.0, 27.5, 27.1, 25.7, 25.6, 25.4, 23.4, 23.3, 23.1, 18.2, 17.5, 17.2, 17.2, 15.5, 15.3 ppm.



Şekil 4.24 Bileşik **136**'nın LC-MS spektrumu



Şekil 4.25 Bileşik **136'** nın ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3)

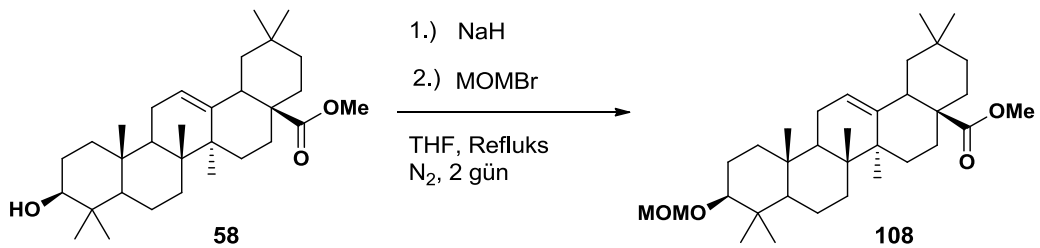


Şekil 4.26 Bileşik **136'** nin APT spektrumu (CDCl_3)

4.4.6 3β-(Metoksimetoksi)-olean-12-en-28-oik asit metil ester (108)' in Sentezi

Oleanolik asidin metil esteri bileşik **58**'in C-3 karbonundaki –OH fonksiyonel grubunun reaksiyona girme eğilimi komşu karbonundaki metil (–CH₃) grupları tarafından elektronik ve sterik etkilerle engellenmektedir. Bu yüzden reaksiyonda çıkış bileşiği tamamen tükenmemektedir. Bu durum önceden bilindiği için reaksiyon şartları; baz, sıcaklık, süre ve konsantrasyon gibi parametreler değiştirilerek MOMBr ile bileşik **58**' in reaktör kabında daha fazla uygun geometride çarpışması sağlandı. Reaksiyon sonunda MOMBr' ün aşırısı kullanıldığı için ortam da reaktifin hidroliz ürünü MOM-OH ile birlikte hedef ürün yağimsı renksiz sıvı olarak elde edildi. MOM-OH ve Bileşik **108** aynı R_f değerine sahip oldukları için ileri saflaştırma işlemlerine maruz bırakılarak saf halde elde edildi.

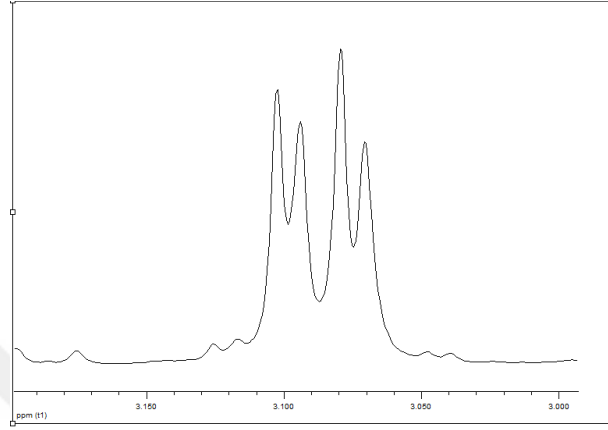
250 mL' lik yuvarlak dipli iki boyunlu bir balona 100 mL yeni destillenmiş THF konuldu ve üzerine %60' lık NaH (6.37 mmol, 255 mg, 3 ekv.) ilave edildi. 15 dakika karıştırıldıktan sonra bileşik **58** (2.12 mmol, 1 g, 1 ekv.) ilave edilerek 30 dakika daha karıştırıldı. Daha sonra MOMBr (4.25 mmol, 354 µmL, 2 ekv.) ilave edilerek karıştırılmaya devam edildi. MOMBr ilavesinden sonra reaksiyon karışımı süt beyazı bir renge dönüştü. TLC ile takip edilen reaksiyon 2 gün sonra 2 mL su ilave edilerek sonlandırıldı. Reaksiyon çözücüsü evaporatörde uzaklaştırılarak geriye kalan kısım H₂O/CHCl₃ ile üç kez yıkandı ve organik faz Na₂SO₄ üzerinden kurutularak evaporatörde uzaklaştırıldı. Ortamda metoksimetil alkol ile karışım halinde bulunan bileşik **108** şeffaf sıvı olarak elde edildi. Çöktürme ve kristallendirme işlemleri sonucunda bileşik **108** beyaz renkli katı madde olarak elde edildi (590 mg).



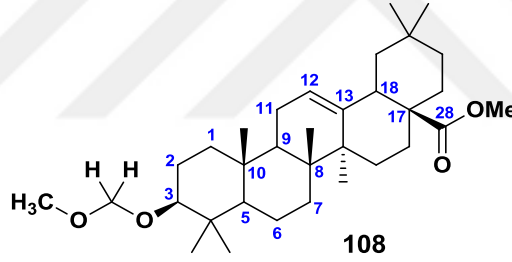
Beyaz katı; erime noktası 176-177 °C; R_f: 0.76 (4/1, *n*-Hekzan/Etil asetat); %54 verimle ilk kez sentezlendi.

4.4.7 Bileşik 108' in Spektroskopik Analiz Verileri

Moleküle ait ^1H -NMR spektrumu incelendiğinde H-12 protonu 5.27 ppm' de triplet, metoksi protonları 3.61 ppm ve 3.38 ppm' de singlet, H-3 protonu 3.08 ppm' de dubletin dubleti (Şekil 4.27), 4.74 ppm' de dublet ve 4.60 ppm' de dublet olarak $-\text{CH}_2-$ H_a ve H_b protonları rezonans olmaktadır.



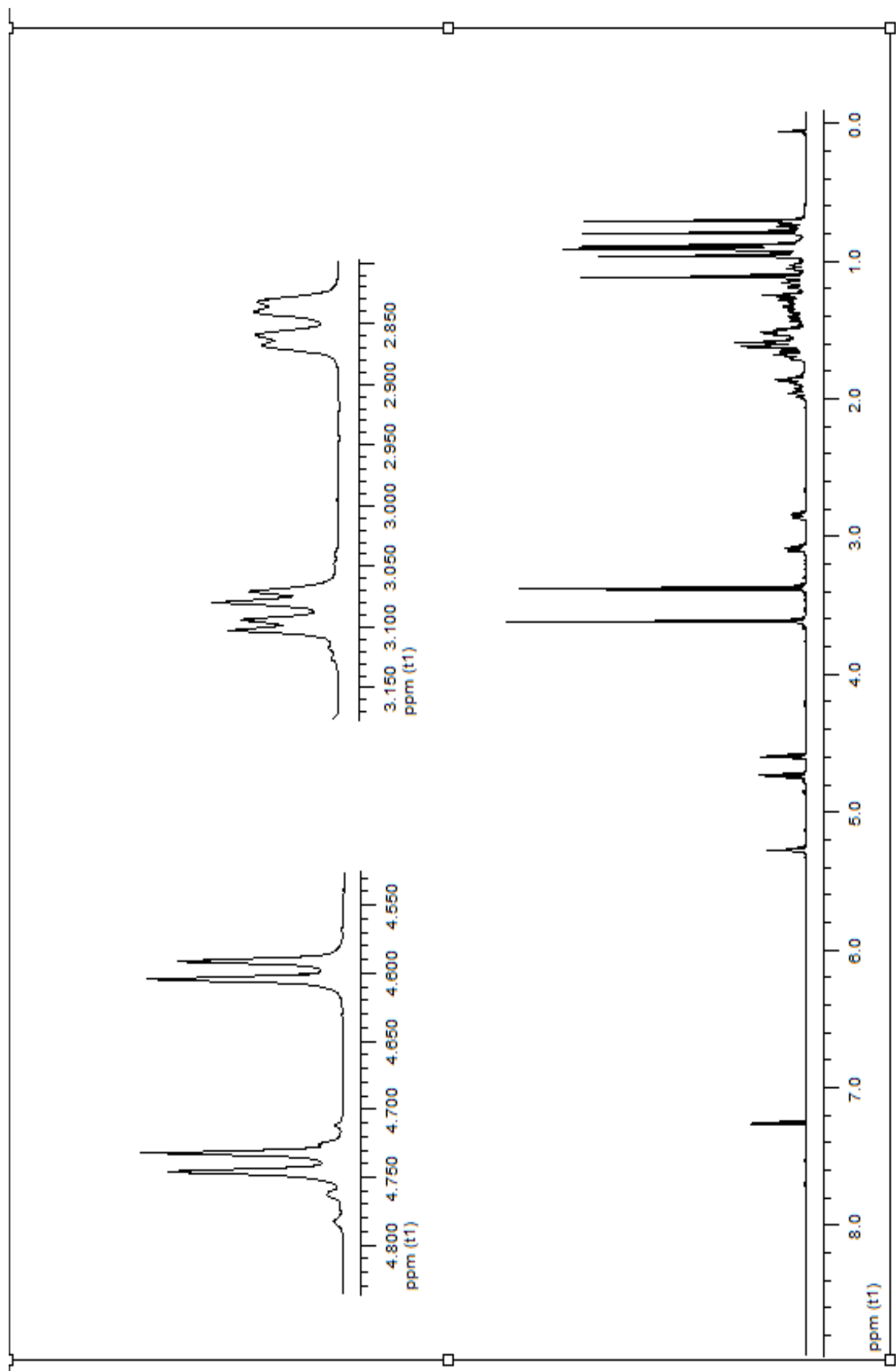
Şekil 4.27 Bileşik 108' e ait H-3 protonun rezonans gösterimi



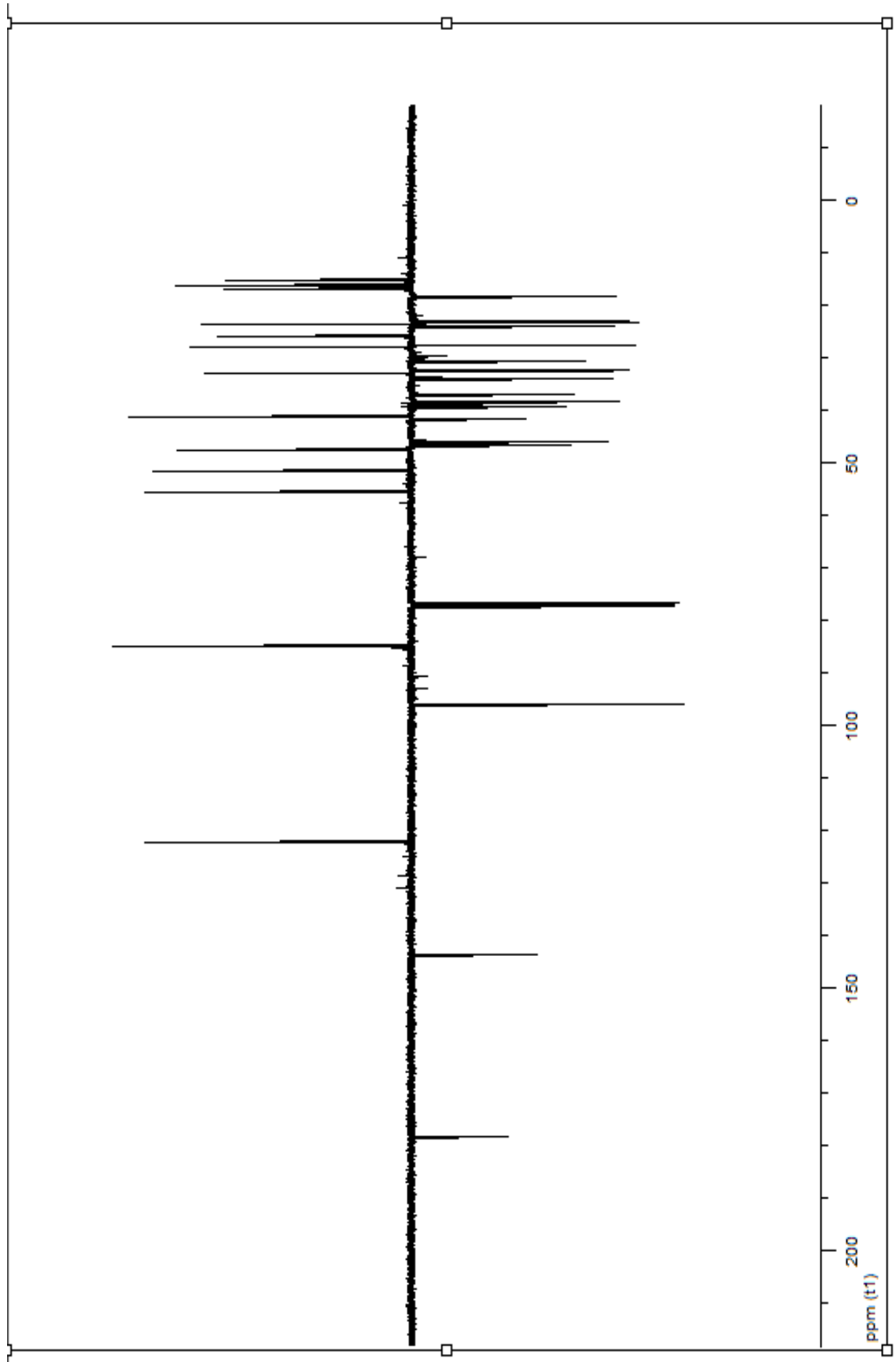
^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 5.27 (1H, t, J = 3.5 Hz, olefinik H-12), 4.74 (1H, d, J = 6.8 Hz, H_a , $\text{O}-\text{CH}_2-\text{O}$), 4.60 (1H, d, J = 6.8 Hz, H_b , $\text{O}-\text{CH}_2-\text{O}$), 3.61 (3H, s, $\text{O}=\text{C}-\text{OCH}_3$), 3.38 (3H, s, CH_2-OCH_3), 3.08 (1H, dd, J = 4.2, 11.5 Hz, H-3), 2.85 (1H, dd, J = 4.3, 13.8 Hz, H-18) ppm.

^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 178.3 (C=O), 143.7 (C-13), 122.2 (C-12), 95.8 ($-\text{O}-\text{CH}_2-\text{O}-$), 84.9 (C-3), 55.4 ($-\text{OMe}$), 55.3 ($\text{O}=\text{C}-\text{OCH}_3$), 51.3 (C-18), 47.4 (C-11), 46.5 (C-14), 45.6 (C-17), 41.4, 41.1, 39.1, 38.3, 38.2, 36.6, 33.6, 32.9, 32.4, 32.2, 30.5, 27.9, 27.5, 25.7, 23.7, 23.4, 23.2, 22.8, 18.1, 16.6, 16.3, 15.1 ppm.

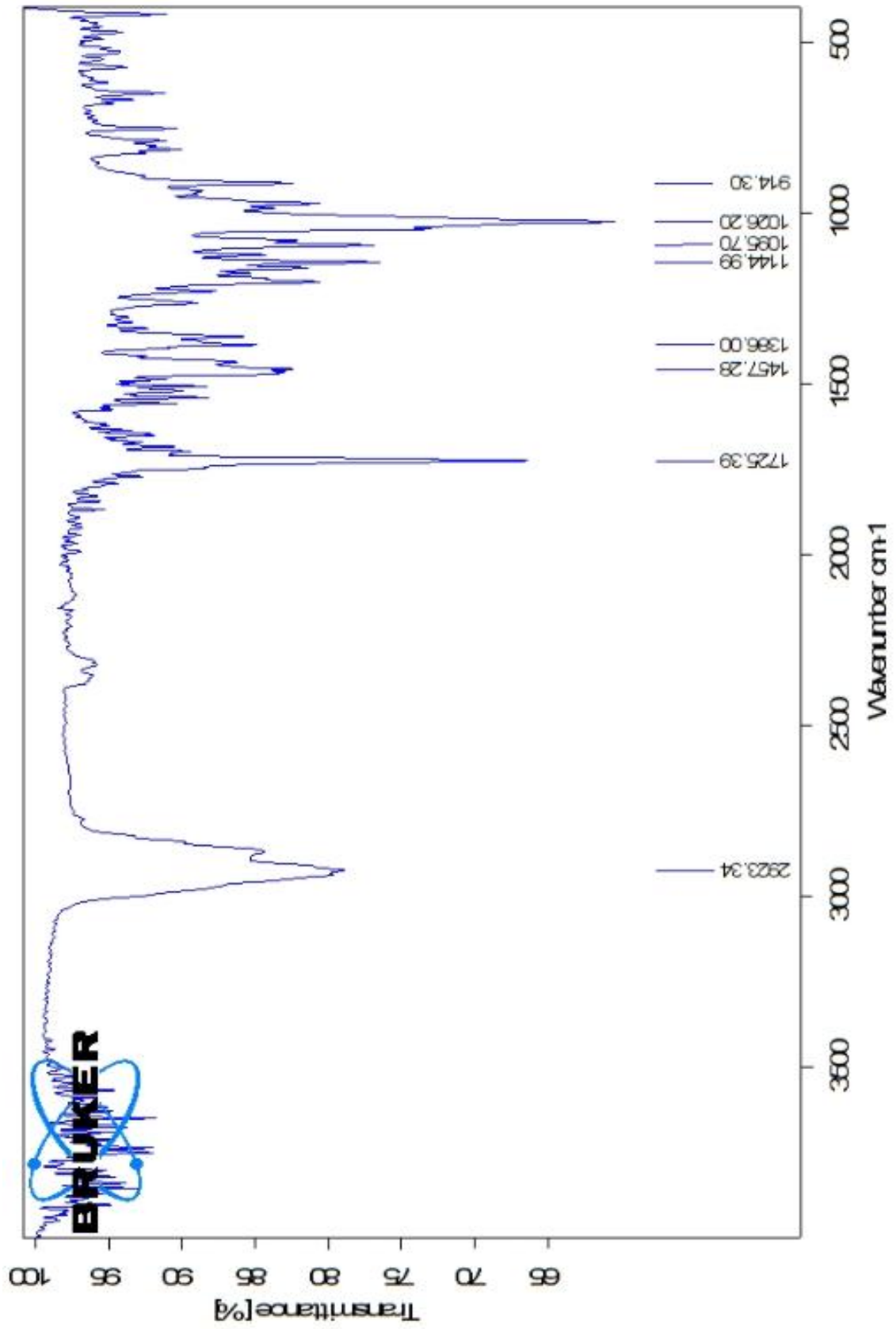
FTIR (ATR) ν = 2923, 1725 (C=O), 1457, 1386 (CH_3), 1144, 1095, 1026, 914 cm^{-1} .



Şekil 4.28 Bileşik **108'** in ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3)



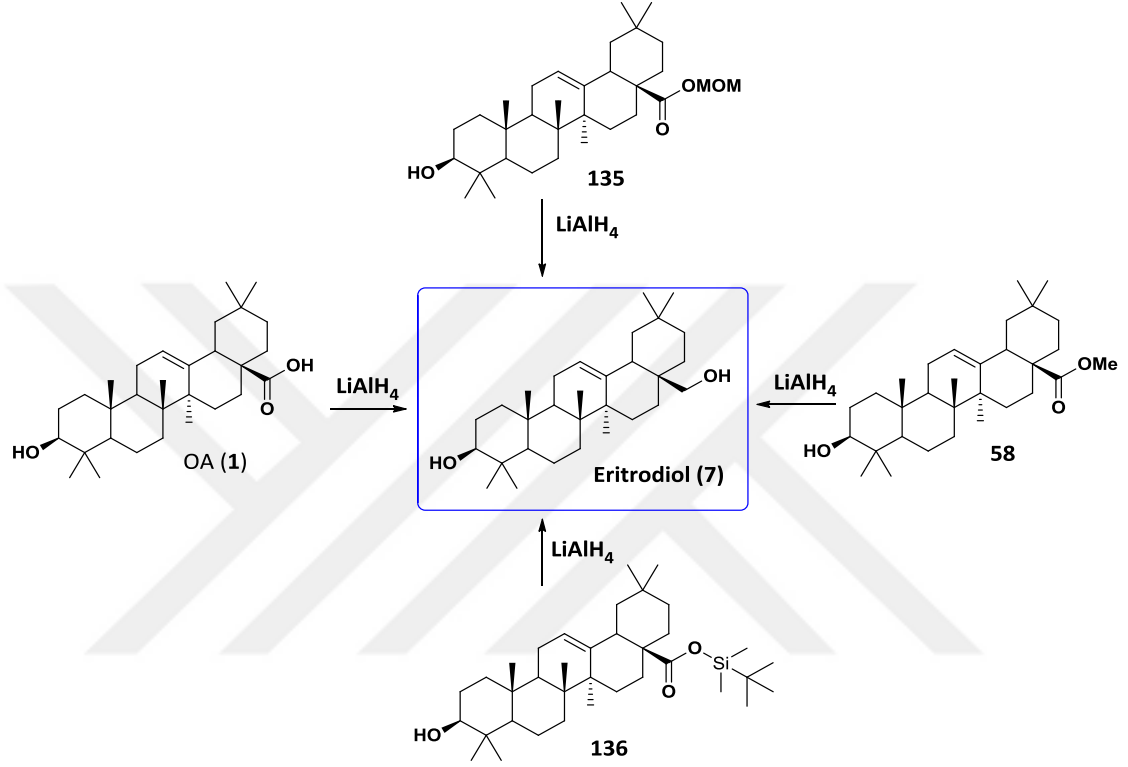
Şekil 4.29 Bileşik **108'** in APT spektrumu (CDCl₃)



Şekil 4.30 Bileşik **108**'in FTIR spektrumu (ATR)

4.4.8 Eritrodiol (7)' ün Sentez Çalışmaları

Eritrodiol (7), oleanolik asidin karboksil grubunun alkol formuna indirgenmiş türevidir. Biyolojik etkinlikleri bakımından eritrodiol ve türevlerinin oldukça aktif oldukları gerek literatür çalışmalarında gerekse de yapılan bilgisayar doking ve hücre kültürü çalışmalarında gözlemlenmiştir.



Farklı zaman ve farklı reaksiyonlar olarak yapılan indirgeme reaksiyonları sonucunda eritrodiol (7) sentezlendi. Tuz-Buz karışımı banyosunda (-12°C) susuz THF içerisinde 5 equivalent (eşdeğer) olarak hazırlanan LiAlH₄ karışımı üzerine bileşikler; OA (1), 58, 135 ve 136 azar azar ilave edilerek reaksiyonlar yapıldı. Azot atmosferi ve oda sıcaklığı koşullarında 1 gün karıştırılarak karbonil grupları primer alkole indirgendi. Soğuk EtOAc/Su karışımı ile tepkime sonlandırıldı ve ekstraksiyon, süzme, kurutma, saflaştırma işlemleri sonrasında hedeflenen ürün elde edildi.

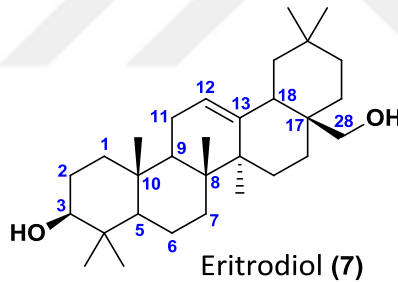
Reaksiyon yeni destillenmiş 300 mL THF içerisinde, azot atmosferinde ve -12 °C de tuz-buz karışımı içerisinde yapıldı. Öncelikle 500 mL' lik yuvarlak dipli cam balon içerisinde LiAlH₄ (4.16 g; 109.48 mmol) tartıldı ve üzerine -12 °C' de tuz-buz karışımı içerisinde soğutulmuş 300 mL THF ilave edildi. LiAlH₄, THF içerisinde dağıldıktan sonra üzerine 50 mL THF içerisinde çözülmüş oleanolik asit (OA) (10 g, 21.9 mmol) yavaşça ilave edildi.

Daha sonra sistem üzerine N₂ gazı takılarak reaksiyon tuz- buz karışımı içerisinde alındı ve oda sıcaklığına gelene kadar karıştırıldı. Reaksiyon oda sıcaklığında gece boyunca karıştırılmaya bırakıldı ve TLC ile takip edildikten sonra çıkış bileşiğinin tükenmesinin ardından soğuk etil asetat ve su ile sonlandırıldı. Beyaz alüminyum kompleksi süzöldükten sonra reaksiyon çözücüsü THF rotari evaporatörde uzaklaştırıldı. Geriye kalan madde etil asetat ile çözülerek üç kez su ile ekstraksiyon yapıldı. Organik faz Na₂SO₄ üzerinden kurutularak rotari evaporatörden uzaklaştırıldı (8.74 g).

Beyaz katı; erime noktası 255-257 °C (lit. 256 °C); R_f: 0.34 (4/1, *n*-Hekzan/Etil asetat); %90 verim.

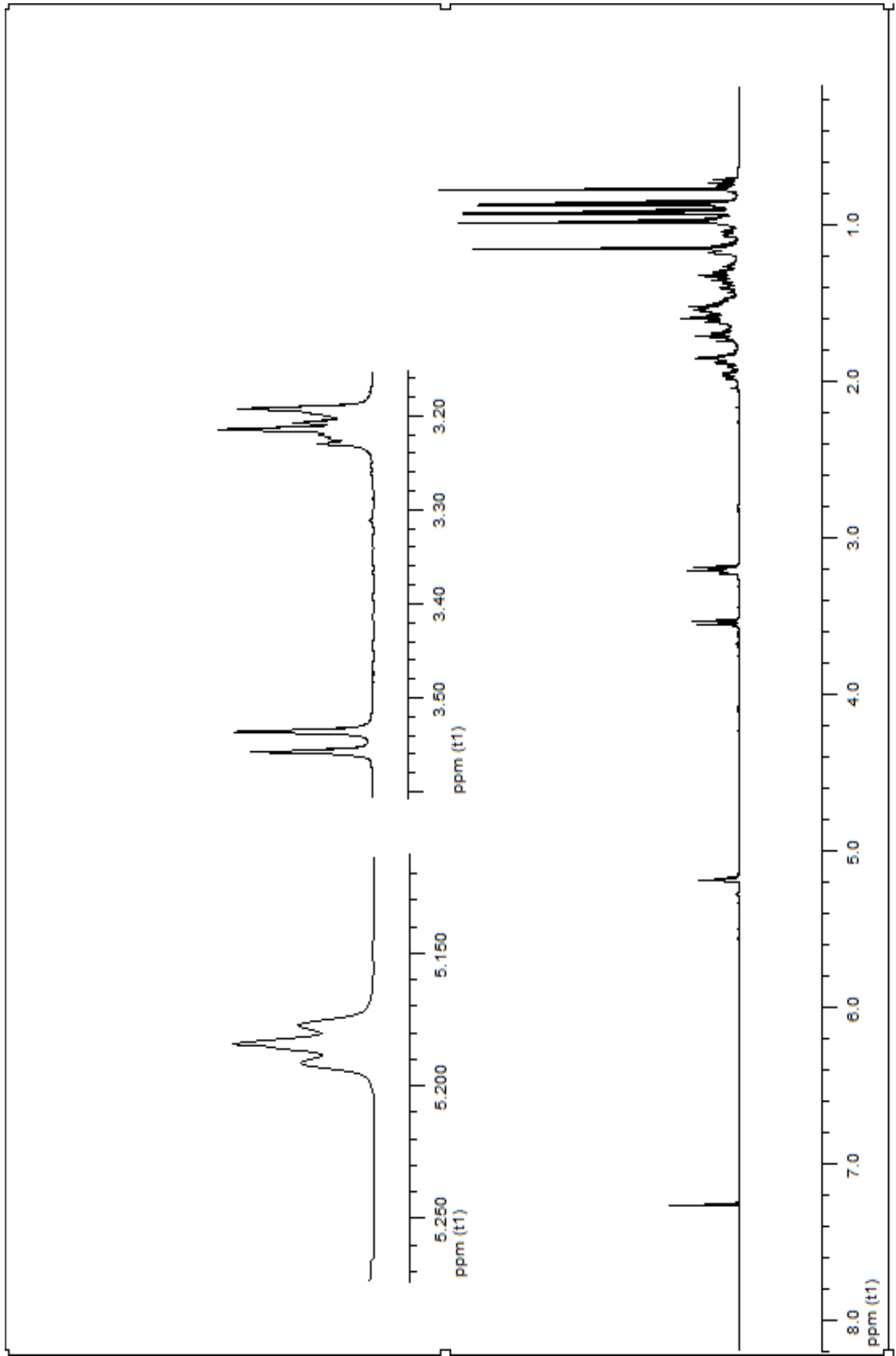
4.4.9 Eritrodiol (7)'nin Spektroskopik Analiz Verileri

Moleküle ait ¹H-NMR spektrumu incelendiğinde H-12 protonu 5.18 ppm' de triplet, H-3 protonu 3.20-3.22 ppm arasında multiplet, C-17 karbonuna bağlı hidroksimetil (-CH₂-OH) grubundaki -CH₂- (C-28) protonları ve 3.20 ppm' de dublet ve 3.54 ppm' de dublet ve H-18 protonları 1.97 ppm' de dubletin dubleti olarak rezonans olmaktadır.

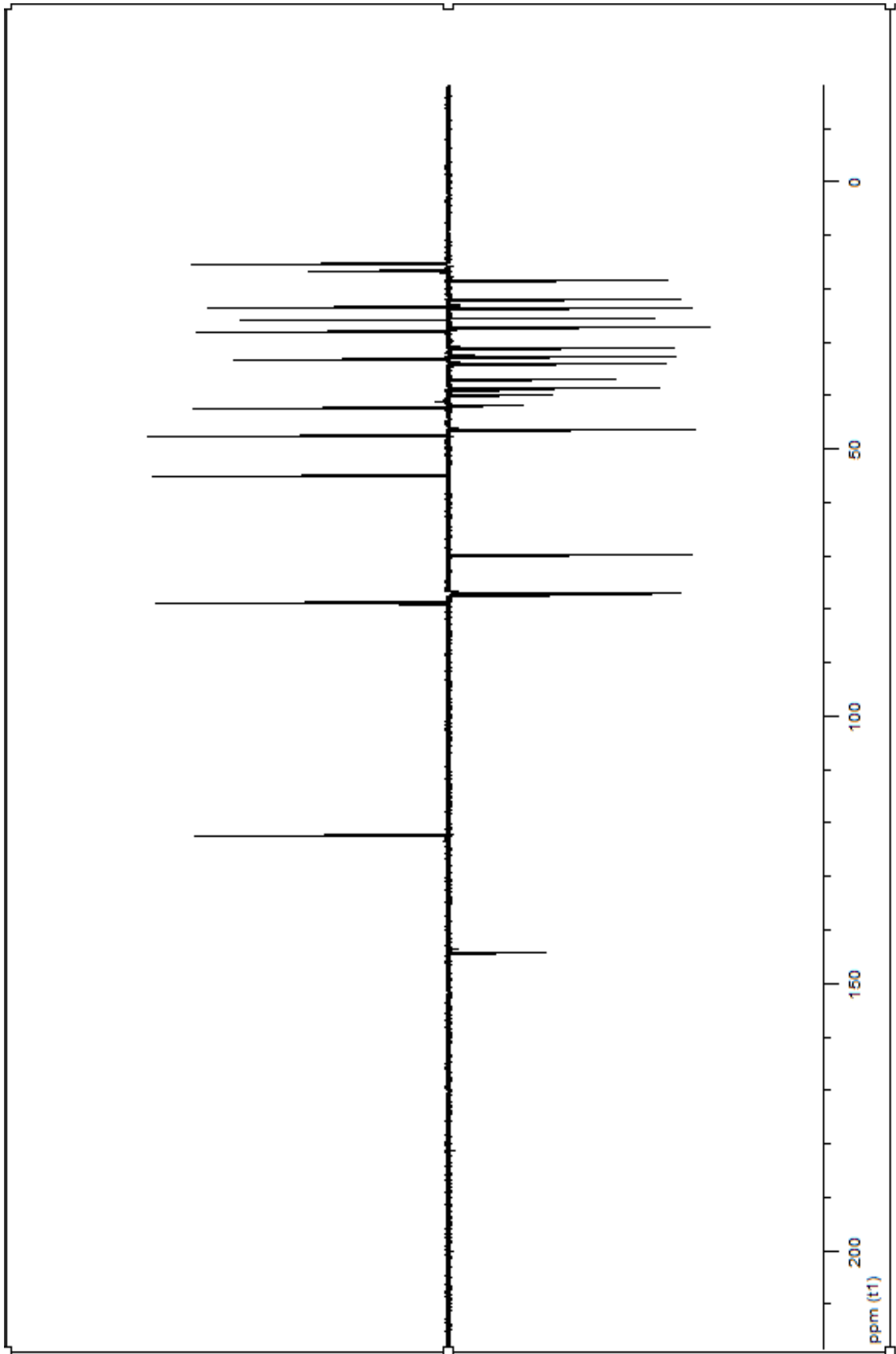


¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 5.18 (1H, t, *J* = 3.4 Hz, olefinik H-12), 3.54 (1H, d, *J* = 10.9 Hz, H-28a), 3.20-3.22 (1H, m, H-3), 3.20 (1H, d, *J* = 10.9 Hz, H-28b), 1.97 (1H, dd, *J* = 4.7, 13.5 Hz, H-18) ppm.

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ: 144.2 (C-13), 122.4 (C-12), 79.1 (C-3), 69.7 (C-28), 55.2 (C-18), 47.6 (C-11), 46.5 (C-14), 42.4 (C-17), 41.7, 39.8, 38.8, 38.6, 37.0, 36.9, 34.1, 33.2, 32.6, 31.1, 30.9, 28.1, 27.2, 26.0, 25.6, 23.6, 23.6, 22.0, 18.4, 16.8, 15.6, 15.6 ppm.



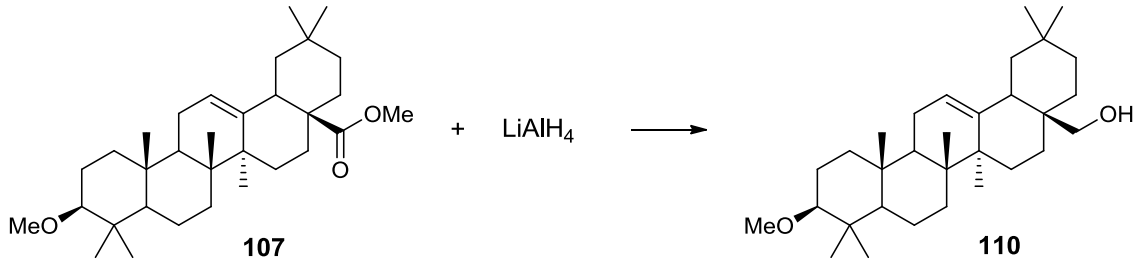
Şekil 4.31 Eritrodinol (**7'**)' nin ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3)



Şekil 4.32 Eritrodiol (7)' nin APT spektrumu (CDCl₃)

4.4.10 3β-Metil Eter Eritrodiol (110)'un Sentezi

Oleanolik asidin (1) dimetoksi türevinden sentez adımları devam ettirildi. Bileşik **107**' nin C-17 karbonuna bağlı karboksilik asit metil asteri (-CO₂Me) LiAlH₄ ile primer alkol (CH₂-OH) yapısına dönüştürüldü. Reaksiyon sonucunda eritrodiol bileşiğinin 3-metil eter türevi bileşik **110** elde edildi.

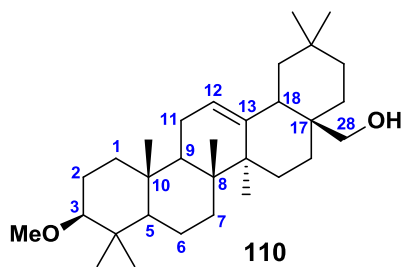


Reaksiyon yeni destillenmiş 150 mL THF içerisinde, azot atmosferinde ve -12 °C de tuz-buz karışımı içerisinde başlatıldı. Öncelikle 250 mL' lik yuvarlak dipli cam balon içerisinde LiAlH₄ (700 mg; 18.46 mmol) tartıldı ve üzerine tuz-buz karışımı içerisinde -12 °C soğutulmuş 140 mL THF ilave edildi. LiAlH₄ iyice THF içerisinde dağıldıktan sonra üzerine 10 mL THF içerisinde çözülmüş bileşik **107** (1.79 g, 3.7 mmol) yavaşça ilave edildi. Daha sonra sistem üzerine N₂ gazı takılarak reaksiyon tuz- buz karışımı içerisinde alındı ve oda sıcaklığına gelene kadar karıştırıldı. Reaksiyon oda sıcaklığında gece boyunca karıştırılmaya bırakıldı ve TLC ile takip edildikten sonra çıkış bileşiğinin tükenmesinin ardından soğuk etil asetat ve su ile sonlandırıldı. Beyaz alüminyum kompleksi süzöldükten sonra reaksiyon çözücüsü THF rotari evaporatörde uzaklaştırıldı. Geriye kalan madde etil asetat ile çözülerek üç kez su ile ekstraksiyon yapıldı. Organik faz Na₂SO₄ üzerinden kurutularak rotari evaporatörden uzaklaştırıldı (1.52 g).

Beyaz katı; erime noktası 239-240 °C; R_f: 0.46 (4/1, *n*-Hekzan/Etil asetat); %90 verim.

4.4.11 Bileşik 110'un Spektroskopik Analiz Verileri

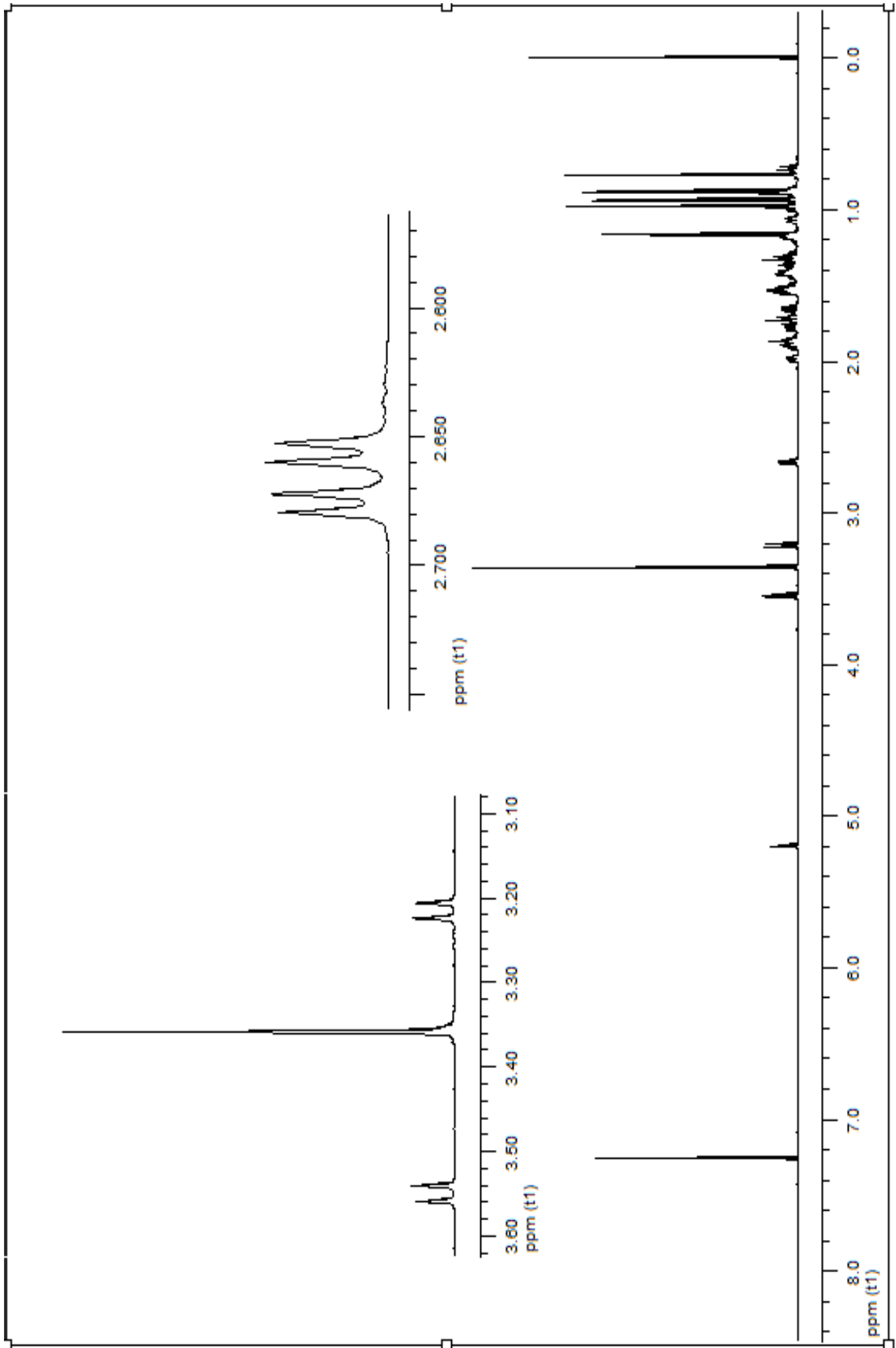
Moleküle ait ¹H-NMR spektrumu incelendiğinde H-12 protonu 5.19 ppm' de triplet, hidroksimetil (-CH₂-OH) grubundaki -CH₂- (C-28) protonları 3.55 ppm' de dublet ve 3.31 ppm' de dublet, metoksi protonları 3.35 ppm' de singlet, H-3 protonu 2.66 ppm' de arasında dubletin dubleti ve H-18 protonları 1.98 ppm' de dubletin dubleti olarak rezonans olmaktadır.



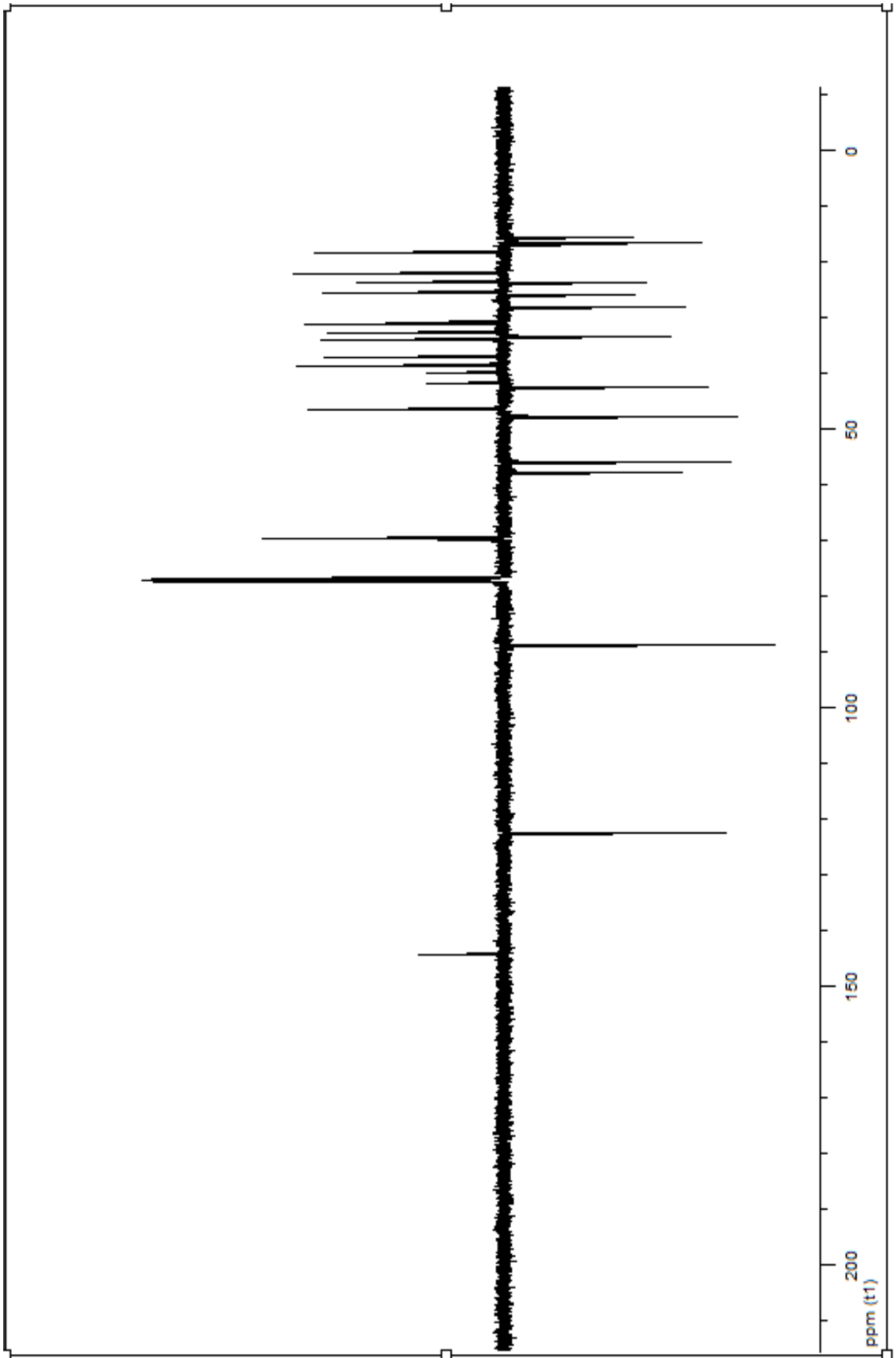
$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ : 5.19 (1H, t, $J = 3.5$ Hz, olefinik H-12), 3.55 (1H, d, $J = 10.9$ Hz, H-28a), 3.31 (1H, d, $J = 10.9$ Hz, H-28b), 3.35 (3H, s, $-\text{OCH}_3$), 2.66 (1H, dd, $J = 4.3, 11.7$ Hz, H-3), 1.98 (1H, dd, $J = 4.3, 13.4$ Hz, H-18) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ : 144.1 (C-13), 122.3 (C-12), 88.6 (C-3), 69.6 (C-28), 57.5 (OMe), 55.6 (C-18), 47.5 (C-11), 46.4 (C-14), 42.3 (C-17), 41.6, 39.7, 38.6, 38.4, 36.9, 34.0, 33.1, 32.5, 31.0, 30.9, 28.0, 25.9, 25.5, 23.5, 23.5, 22.0, 21.9, 18.2, 16.7, 16.3, 15.4 ppm.

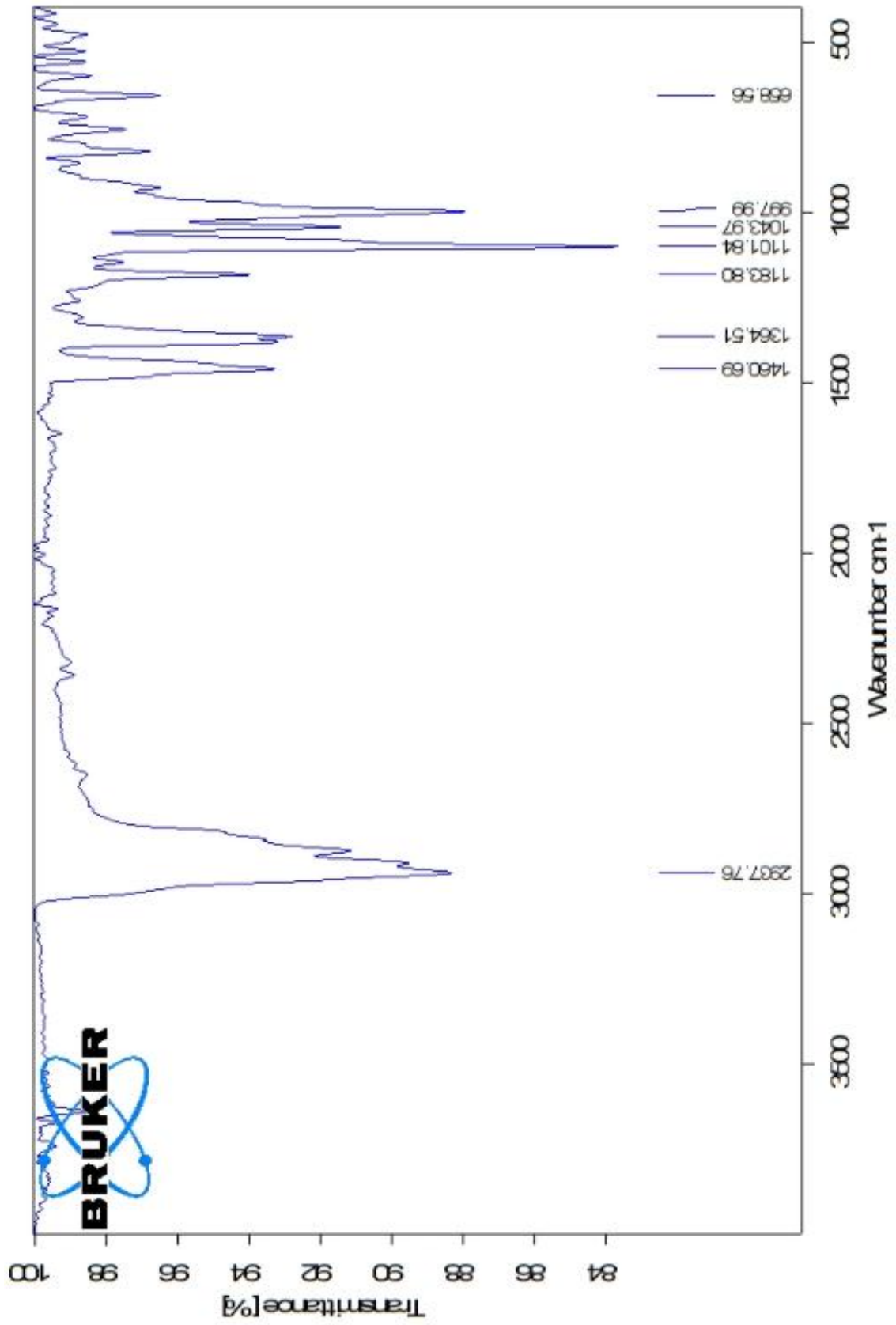
FTIR (ATR) ν : 2937, 1460, 1364 (CH_3), 1183, 1101, 1043, 997, 658 cm^{-1} .



Şekil 4.33 Bileşik **110'** un ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3)



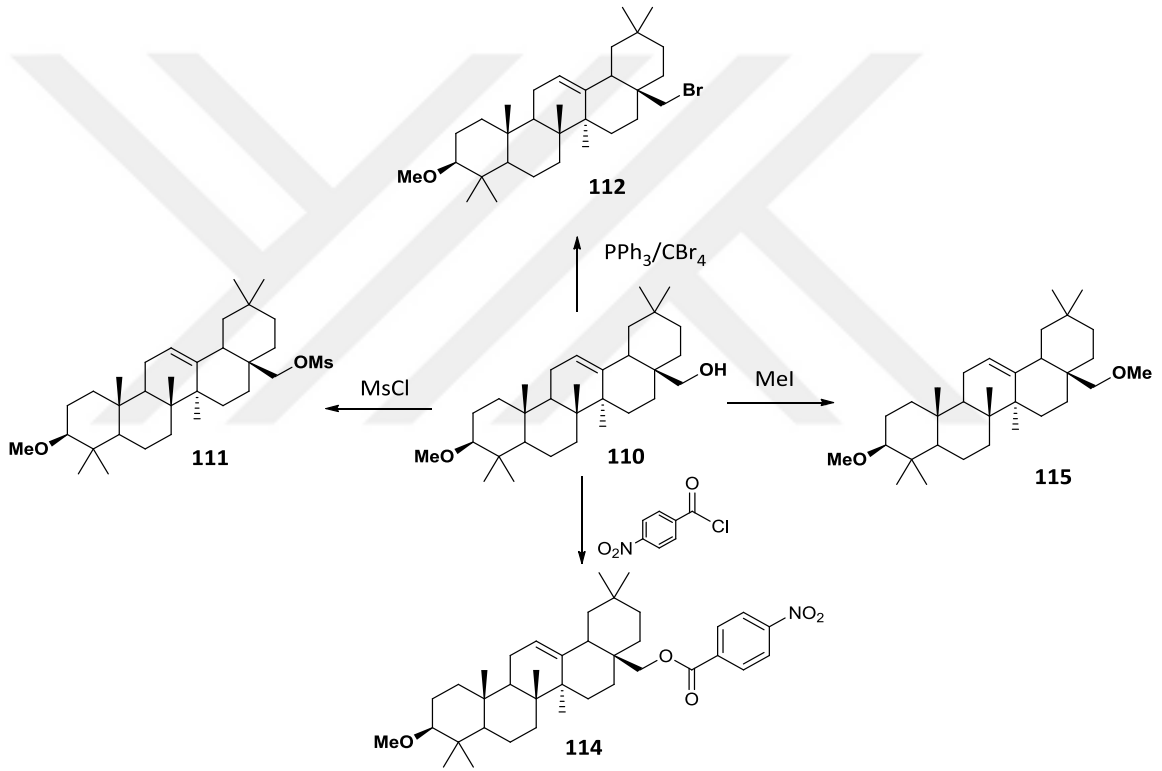
Şekil 4.34 Bileşik **110'** un APT spektrumu (CDCl_3)



Şekil 4.35 Bileşik 110' un FTIR spektrumu (ATR)

4.4.12 Eritrodiol Türevlerinin Hazırlanması

En aktif oleanan türevi iskelet yapısını elde edebilmek için β -amirin (**3**) sentez basamaklarında elde edilen her maddenin türevlendirme çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Özellikle sentetik türevlerin hazırlanmasında 3β -metil eter eritrodiol (**110**) çıkış bileşiği olarak kullanıldı. 3β -metil eter eritrodiol **110'** dan çıkılarak elde edilen sentetik türevlerinin sentez adımları şekil 4.18' de gösterilmiştir. Bir seri yapılan reaksiyonlarda MsCl ile 3β -metoksiolean-12-en-28-ol metan sülfonat (**111**), $\text{PPh}_3/\text{CBr}_4$ ile 3β -metoksiolean-12-en-28-bromür (**112**), *p*-nitrobenzoil klorür ile 3β -metoksiolean-12-en-28-*p*-nitrobenzoat (**114**) ve MeI ile eritrodiol 3,28-dimetil eter (**115**) elde edilmiştir.



4.4.13 3β -Metoksiolean-12-en-28-ol metan sülfonat (**111**)' in Sentezi

β -Amirin sentezi için eritrodiol-3-*O*-metil eter bileşiğinin C-28 pozisyonunda bulunan -OH grubunun yapıdan uzaklaştırılması gereklidir. Bu amaçla eritrodiol-3-*O*-metil eter bileşiği **110'** un MsCl ile reaksiyonundan **111** numaralı sülfonat esteri sentezlendi.

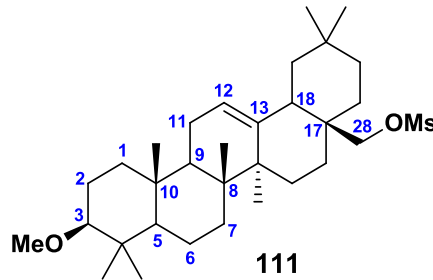


Reaksiyon oda sıcaklığında diklorometan (CH_2Cl_2) içerisinde yapıldı. Öncelikle bileşik **110** (400 mg; 875 μmol) CH_2Cl_2 (100 mL) de çözüldü sonra üzerine Et_3N (177 mg; 1.75 mmol) ilave edildi. 30 dakika karıştırıldıktan sonra reaksiyon ortamına MsCl (614 mg; 5.25 mmol) ilave edilerek balona kurutucu başlık takıldı. Reaksiyon bir gece karıştırmaya bırakıldı ve TLC ile takip edilerek çıkış bileşiğinin tükendiği gözlemlendiğinde 18 saat sonra sonlandırıldı. Reaksiyon karışımı üzerine seyreltik HCl (1 M) ilave edildi ve 10 dakika karıştırıldı. Daha sonra mevcut CH_2Cl_2 üç kez su (H_2O) ile ekstrakte edildi. Organik faz Na_2SO_4 üzerinden kurutularak rotari evaporatörde uzaklaştırıldı. Elde edilen madde kolon kromatografisinde %20 $\text{EtOAc}/n\text{-Hekzan}$ (20 mL/80 mL) karışımı ile saflaştırıldı (455 mg).

Beyaz katı; erime noktası 160-162 $^{\circ}\text{C}$; R_f : 0.74 (4/1, $n\text{-Hekzan}$ /Etil asetat); %97 verimle ilk kez sentezlendi.

4.4.14 Bileşik (111)'in Spektroskopik Analiz Verileri

Moleküle ait ^1H -NMR spektrumu incelendiğinde H-12 protonu 5.23 ppm' de triplet, $-\text{CH}_2\text{-OMs}$ grubundaki metilen protonları 4.18 ppm' de dublet ve 3.76 ppm' de dublet, metoksi protonları 3.35 ppm ve kükürtde bağlı bulunan metil protonları 2.97 ppm' de singlet, H-3 protonu 2.66 ppm' de dubletin dubleti ve H-18 protonları 1.94 ppm' de dubletin dubleti olarak rezonans olmaktadır.

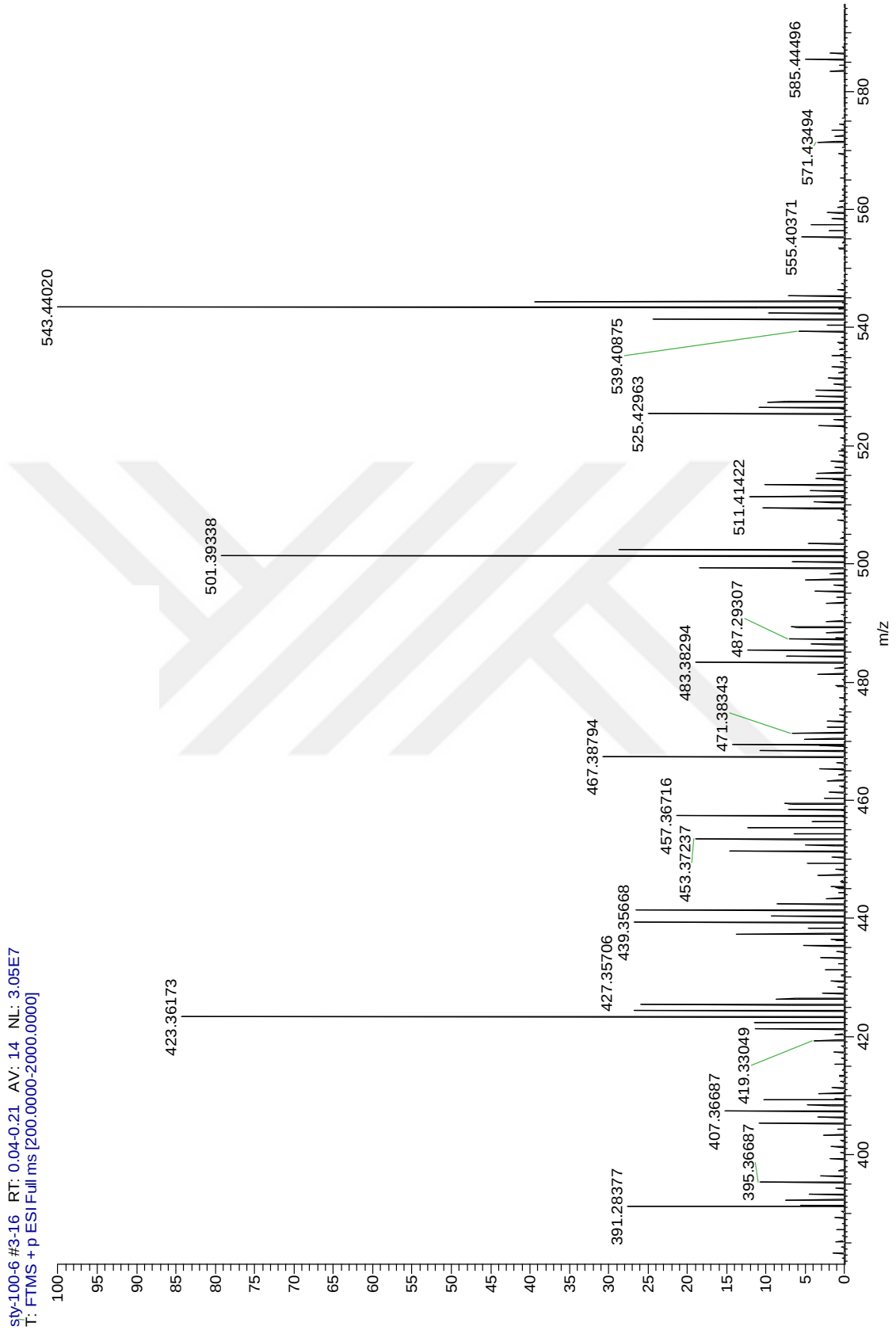


LC-MS (ESI-QTOF) ($\text{C}_{32}\text{H}_{54}\text{O}_4\text{S}$) m/z = Hesaplanan 534.3742; ölçülen 557.4037 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

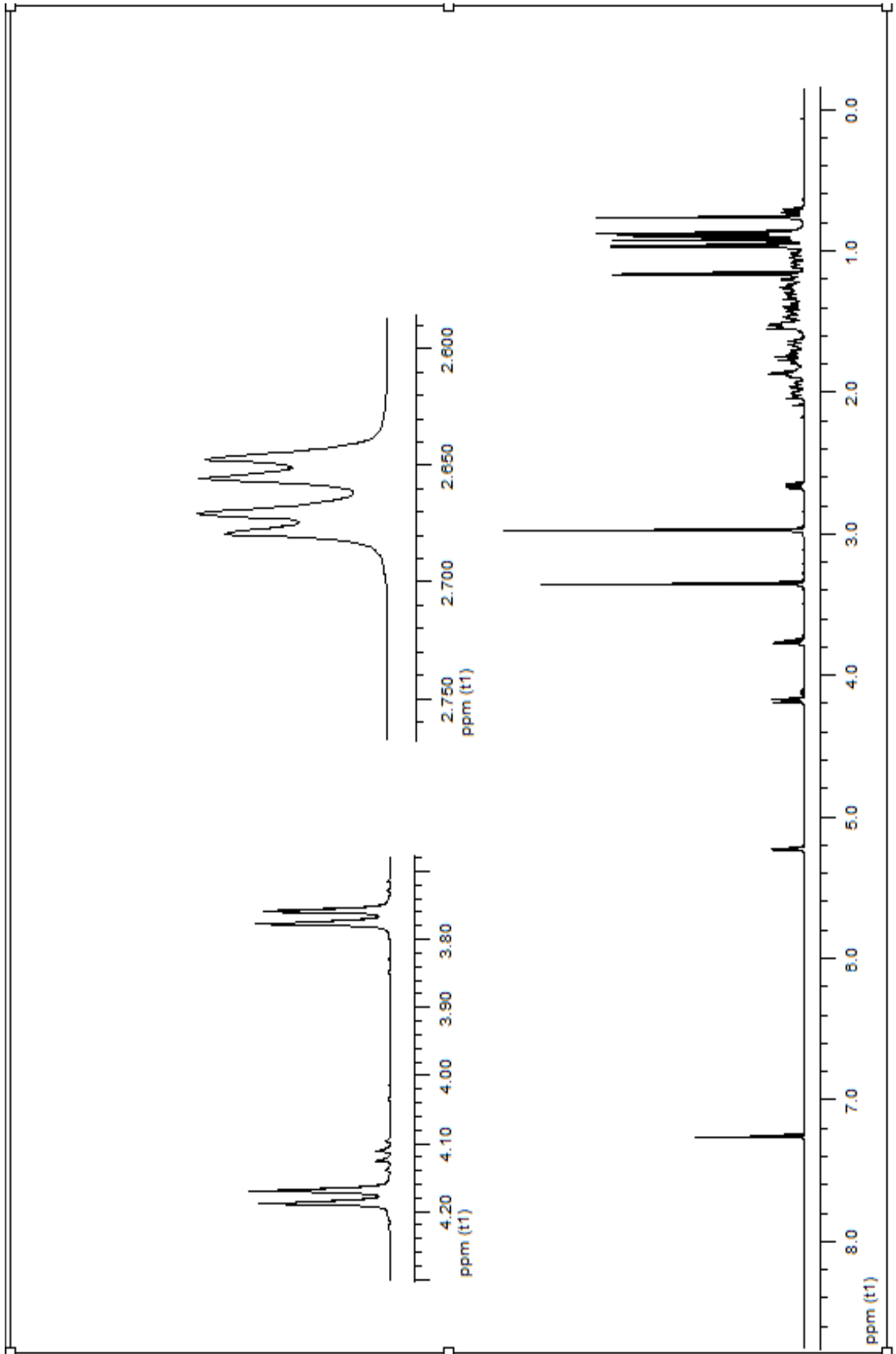
¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 5.23 (1H, t, *J* = 3.1 Hz, olefinik H-12), 4.18 (1H, d, *J* = 9.3 Hz, H-28a), 3.76 (1H, d, *J* = 9.3 Hz, H-28b), 3.35 (3H, s, -OCH₃), 2.97 (3H, s, -S-CH₃), 2.66 (1H, dd, *J* = 4.4, 11.6 Hz, H-3), 1.94 (1H, dd, *J* = 4.0, 13.5 Hz, H-18) ppm.

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ: 143.0 (C-13), 123.5 (C-12), 88.5 (C-28), 76.4 (C-3), 57.5 (C-18), 55.6 (OMe), 47.4 (C-11), 46.0 (C-14), 42.2 (C-17), 41.5, 39.8, 38.6, 38.4, 36.9, 36.8, 36.2, 33.7, 33.0, 32.4, 31.1, 30.8, 28.0, 25.9, 25.3, 23.5, 23.5, 21.9, 21.6, 18.1, 16.6, 16.3, 15.4 ppm.

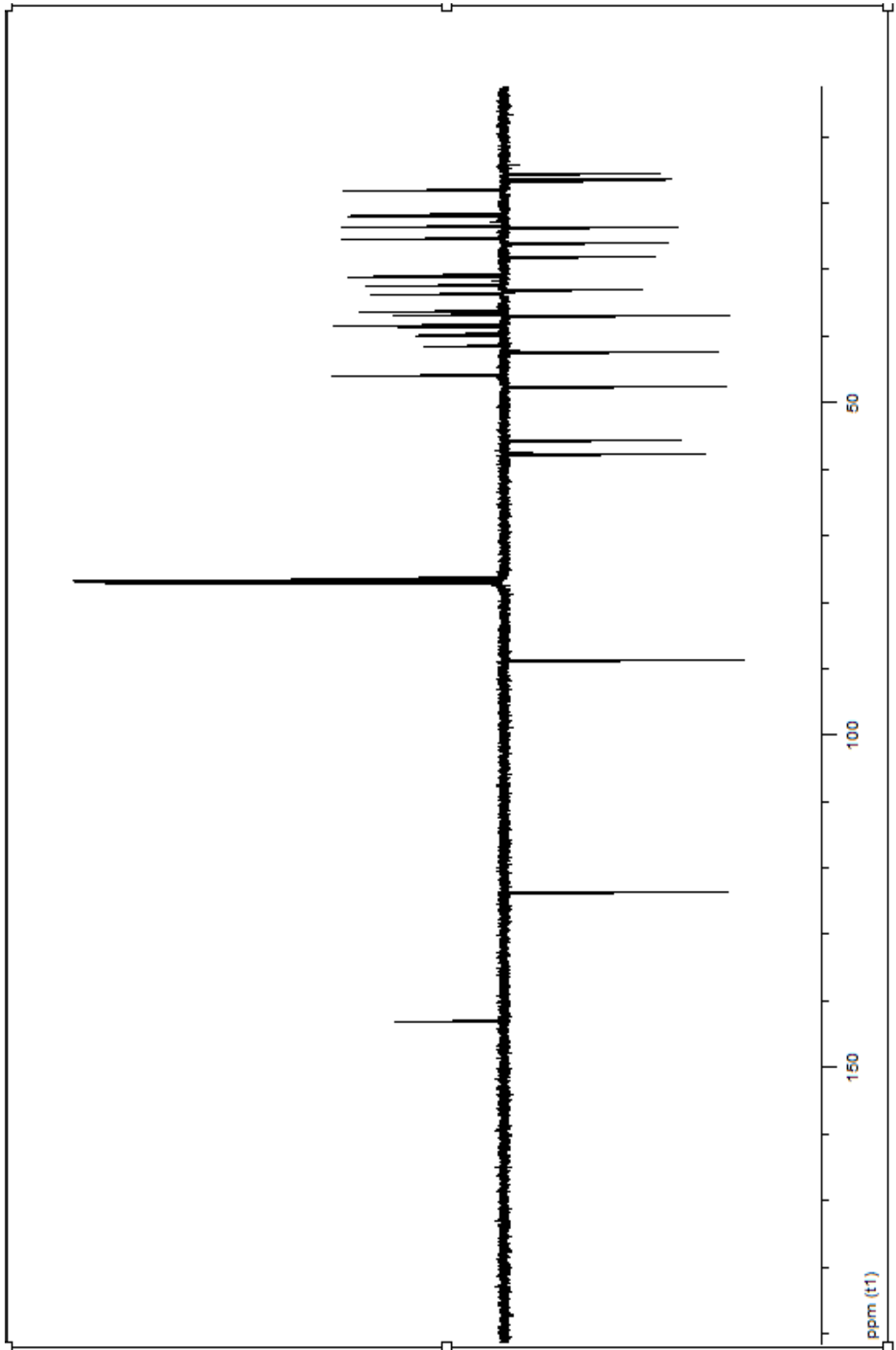




Şekil 4.36 Bileşik 111'in LC-MS spektrumu



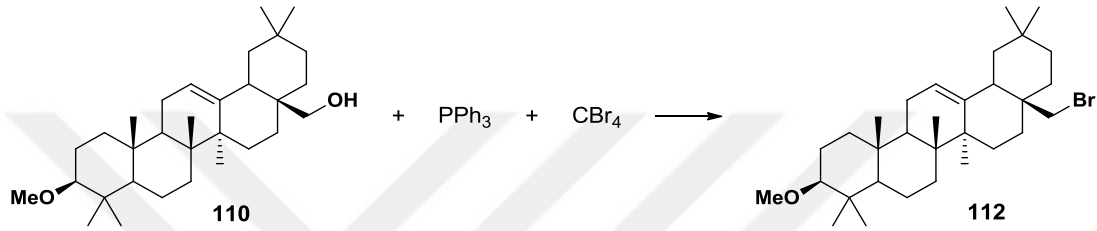
Şekil 4.37 Bileşik **111'** in ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3)



Şekil 4.38 Bileşik **111'** in APT spektrumu (CDCl_3)

4.4.15 3β-Metoksiolean-12-en-28-bromür (112)' ün Sentezi

Oleanolik asidin 28 nolu karbondaki metil grubunu oluşturmak için C-28 karbonunda oluşturulan grupların kolay ayrılan yapılar olması gerekmektedir. Bu nedenle yapıya tosil, mesil veya halojen grupları takılmaya çalışıldı. Tosil grubu büyük olduğu için sterik engelden dolayı yapıya takılamadı, mesil grubu yapıya takıldı fakat reaksiyon şartları aşırı zorlanarak ve yüksek maliyetli süper hidrür reaktifleri kullanılarak ancak düşük verimlerde yapıdan uzaklaştırılabildi. Bu nedenle yapıya brom takılarak sentez adımlarına devam edildi.



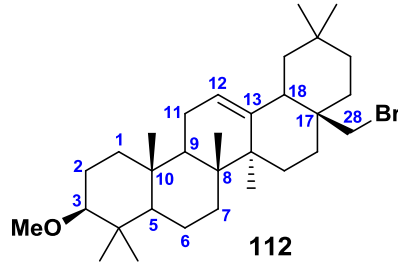
Reaksiyon 50 mL asetonitril içerisinde 90 °C sıcaklıkta yapıldı. Önce bileşik **110** (604 mg; 1,32 mmol), asetonitril (50 mL) içerisinde çözüldü sonra üzerine sırasıyla PPh₃ (694 mg; 2.64 mmol) ve CBr₄ (877 mg; 2.64 mmol) reaktifleri ilave edildi. Reaksiyon sıcaklığı 90 °C olarak ayarlandı ve reflüks sıcaklığında karıştırılmaya bırakıldı. Reaksiyon TLC ile takip edildikten sonra çıkış bileşiğinin tükenmesinin ardından 7 saat sonra sonlandırıldı. Reaksiyon çözücüsü rotary evaporatörden uzaklaştırıldı ve geriye kalan ekstrat kloroformda çözülerek CHCl₃/H₂O karışımı içerisinde üç kez ekstraksiyon yapıldı. Organik faz Na₂SO₄ üzerinden kurutuldu. Reaksiyon kalıntılarını uzaklaştırmak için madde önce silikajel kolondan süzüldü ve ardından kolon kromatografisi ile %5 (*n*-Hekzan/EtOAc; 95 mL/5 mL) çözücü kullanarak saflaştırıldı. Elde edilen madde saf EtOAc ile yıkanarak ilave saflaştırma yapıldı. Bileşik **112** saf beyaz katı olarak elde edildi (520 mg).

Bezyaz katı; erime noktası 210-211; R_f: 0.92 (4/1, *n*-Hekzan/Etil asetat); %75 verimle ilk kez sentezlendi.

4.4.16 Bileşik 112'nin Spektroskopik Analiz Verileri

Moleküle ait ¹H-NMR spektrumu incelendiğinde metil bromür (-CH₂-Br) grubundaki -CH₂- (C-28) protonları 3.53 ppm' de dublet ve 3.14 ppm' de dublet, metoksi protonları

3.35 ppm' de singlet, H-3 protonu 2.66 ppm' de dubletin dubleti ve H-18 protonları 2.08 ppm' de dubletin dubleti olarak rezonans olmaktadır.

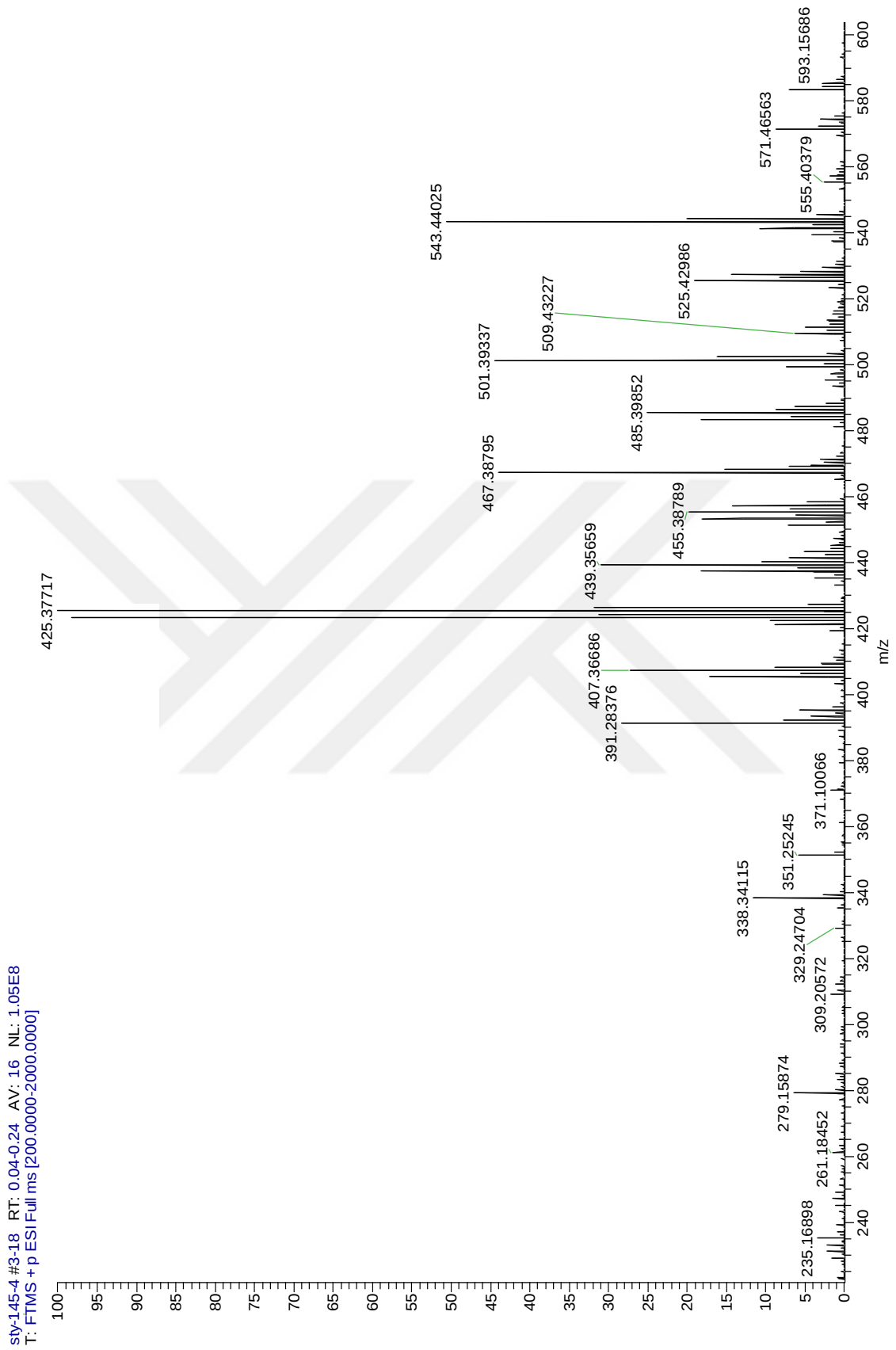


LC-MS (ESI-QTOF) ($C_{31}H_{51}BrO$) m/z = Hesaplanan 518.3123; ölçülen 543.4402 $[M+H+Na]^+$.

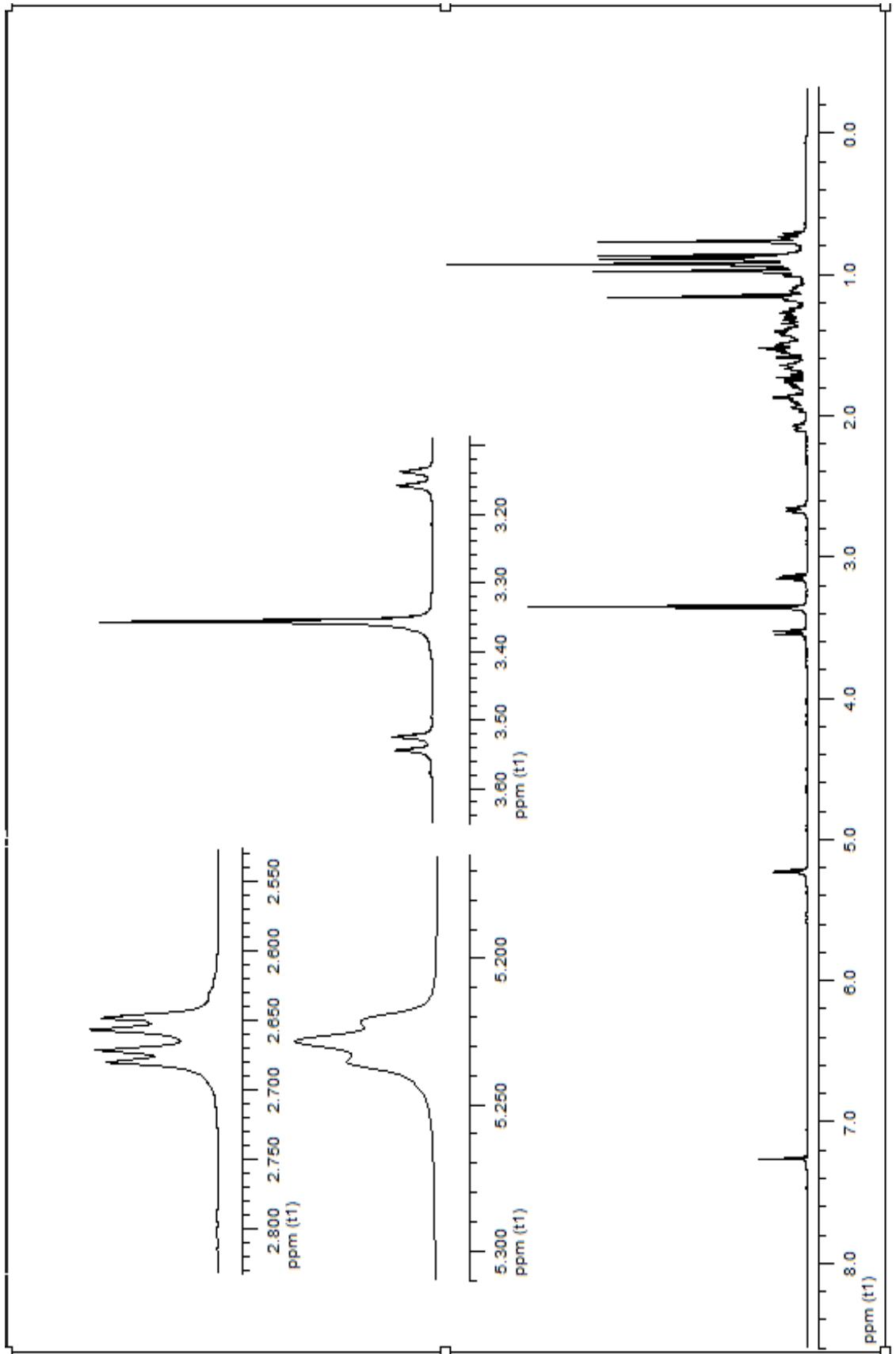
1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ : 5.22 (1H, t, J = 3.4 Hz, olefinik H-12), 3.53 (1H, d, J = 10.1 Hz, H-28a), 3.14 (1H, d, J = 10.1 Hz, H-28b), 3.35 (3H, s, $-OCH_3$), 2.66 (1H, dd, J = 4.0, 11.6 Hz, H-3), 2.08 (1H, dd, J = 3.4, 13.2 Hz, H-18);

^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ : 143.3 (C-13), 123.1 (C-12), 88.5 (C-28), 57.5 (C-3), 55.6 (OCH_3), 47.5 (C-18), 46.9 (C-11), 46.9 (C-14), 44.7 (C-17), 41.5, 39.7, 38.6, 38.4, 36.8, 36.2, 34.1, 32.9, 32.6, 32.3, 30.9, 28.0, 26.0, 25.3, 23.5, 23.5, 22.8, 21.9, 18.1, 16.4, 16.3, 15.4.

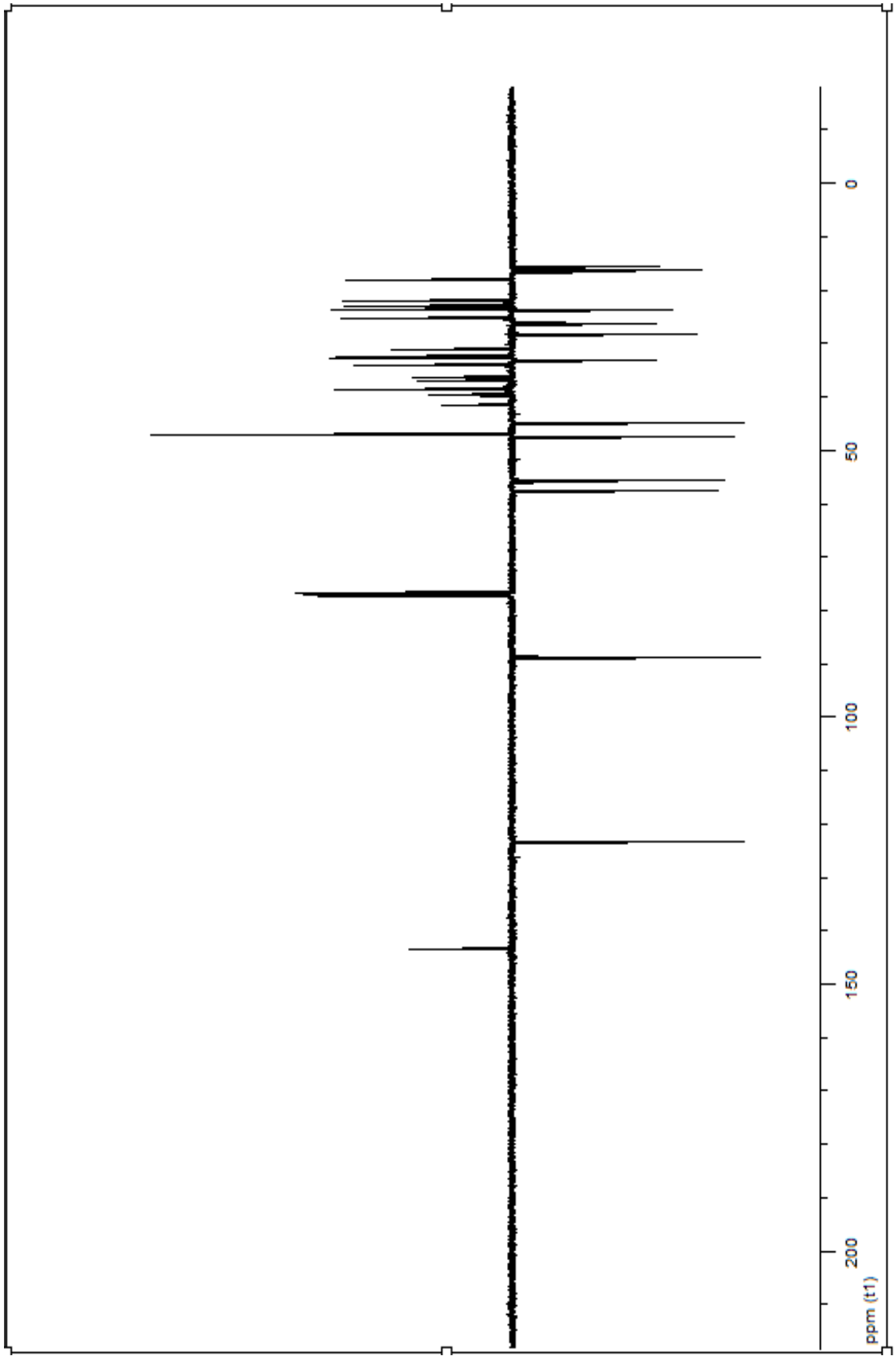
FTIR (ATR) ν = 2951, 1541, 1507, 1457, 1365 (CH_3), 1183, 1101, 975, 821, 644 cm^{-1} .



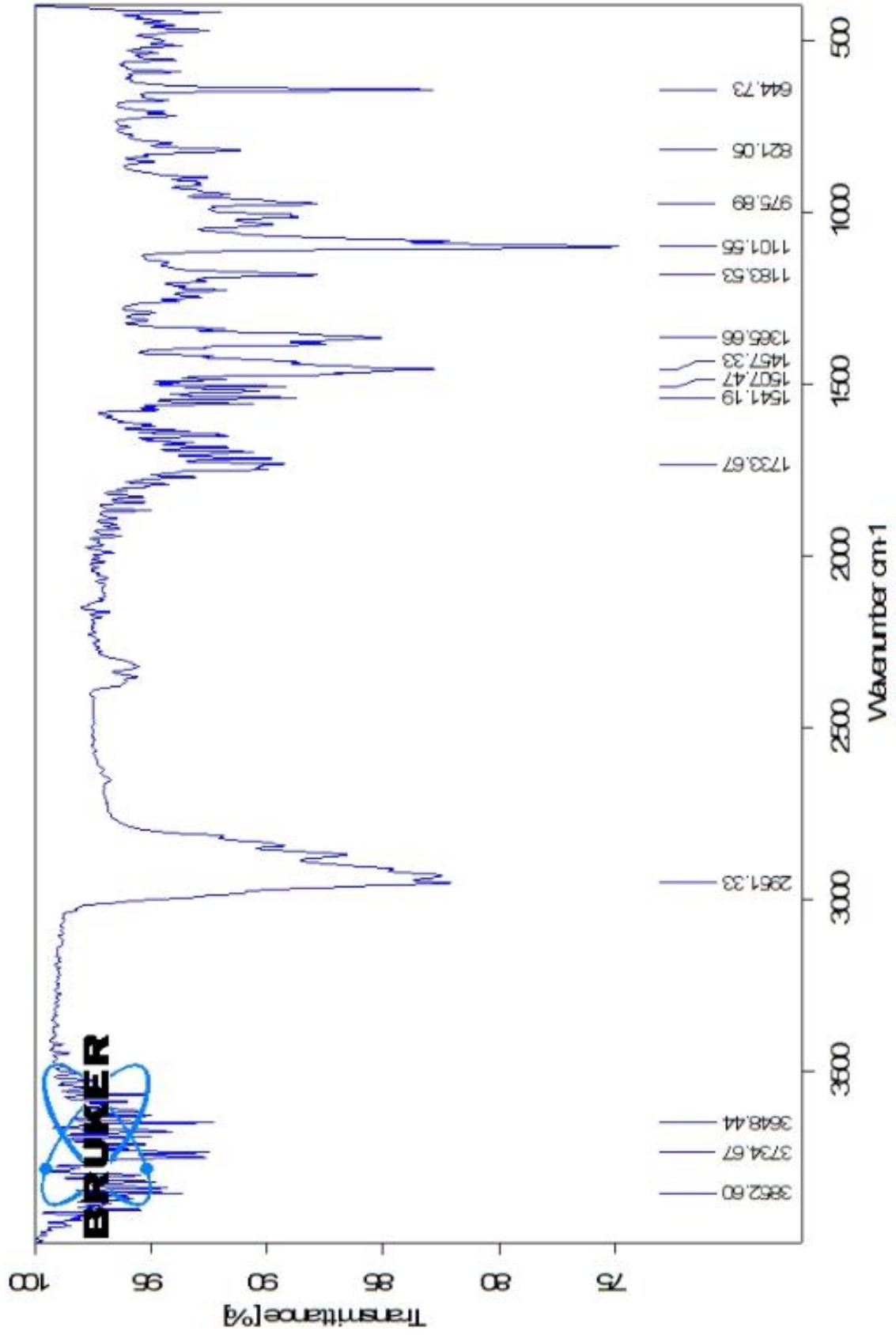
Şekil 4.39 Bileşik **112'** nin LC-MS spektrumu



Şekil 4.40 Bileşik **112'** nin ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3)

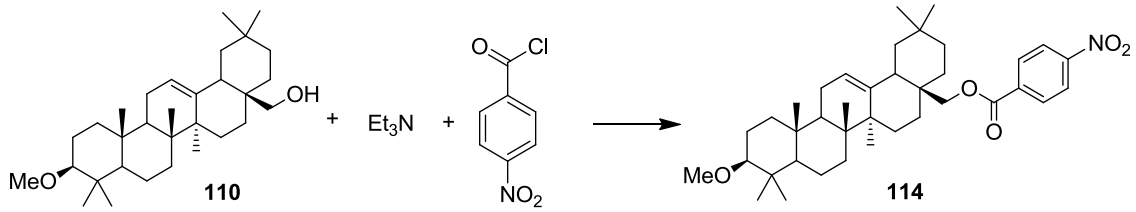


Şekil 4.41 Bileşik **112'** nin APT spektrumu (CDCl_3)



Şekil 4.42 Bileşik **112'** nin FTIR spektrumu (ATR)

4.4.17 3β-Metoksiolean-12-en-28, *p*-nitrobenzoat (114)' in Sentezi

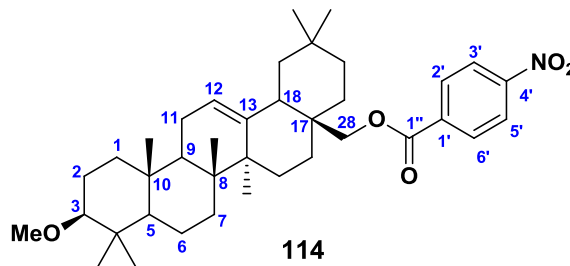


100 mL yuvarlak dipli bir balon içerisine NaH (2.19 mmol, 88 mg) ve 30 mL kuru THF koyuldu. Üzerine 10 mL THF içerisinde çözülmüş 3β-metil eter eritrodiol (**110**) (1.09 mmol, 500 mg) ilave edildi ve 10 dakika karıştırmaya bırakıldı. Daha sonra 10 mL THF içerisinde çözülen *p*-nitrobenzoil klorür (1.15 mmol, 213 mg) ilave edilerek balonun ağzı kurutucu başlık ile kapatıldı. TLC analizleri ile kontrol edilen reaksiyon bir gece karıştırıldıktan sonra sonlandırıldı. Çözücü çekirildi ve geriye kalan katı karışım CHCl₃/H₂O içerisinde yıkanarak ekstraksiyon yapıldı. Su fazı uzaklaştırıldıktan sonra organik faz Na₂SO₄ üzerinden kurutuldu ve çözücü rotary evaporatörde uzaklaştırıldı (490 mg).

Beyaz katı; erime noktası 215-217 °C; R_f: 0.8 (4/1, *n*-Hekzan/Etil asetat); %74 verimle ilk kez sentezlendi.

4.4.18 Bileşik 114'ün Spektroskopik Analiz Verileri

Moleküle ait ¹H-NMR spektrumu incelendiğinde benzoat grubuna ait aromatik H-3' ve H-5' protonları 8.28 ppm' de ve H-2' and H-6' protonları 8.19 ppm' de dublet, C-28 pozisyonundaki -CH₂- protonları 4.35 ppm' de dublet ve 3.98 ppm' de dublet, metoksi protonları 3.35 ppm' de singlet ve H-3 protonu 2.66 ppm' de dubletin dubleti olarak rezonans olmaktadır. Karbon ve hidrojen NMR sonuçlarının yapıyla uyumlu olduğu görüldü.

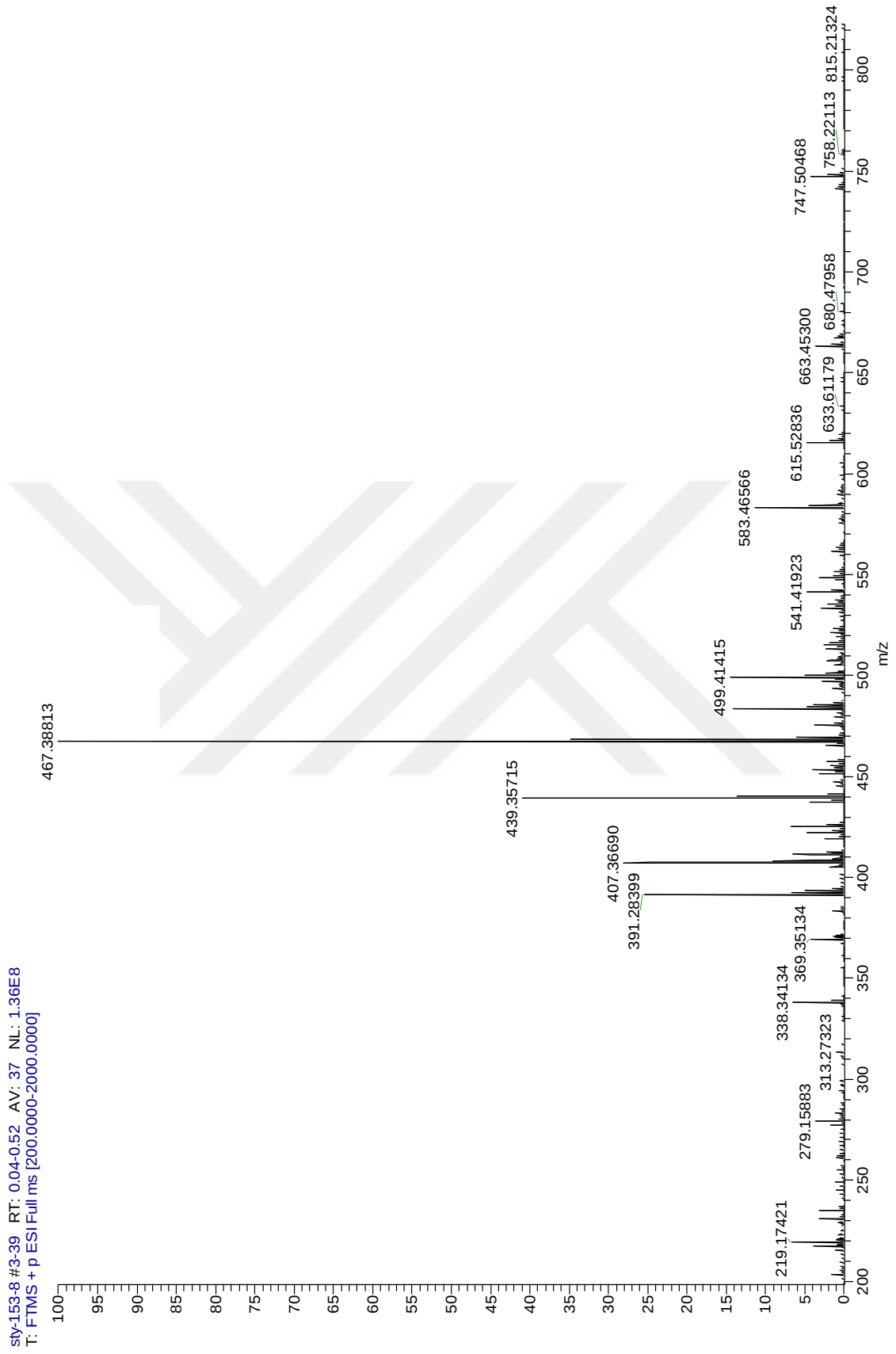


LC-MS (ESI-QTOF) (C₃₈H₅₅NO₅) *m/z*= Hesaplanan 605.4080, ölçülen 606.4607 [M+H]⁺.

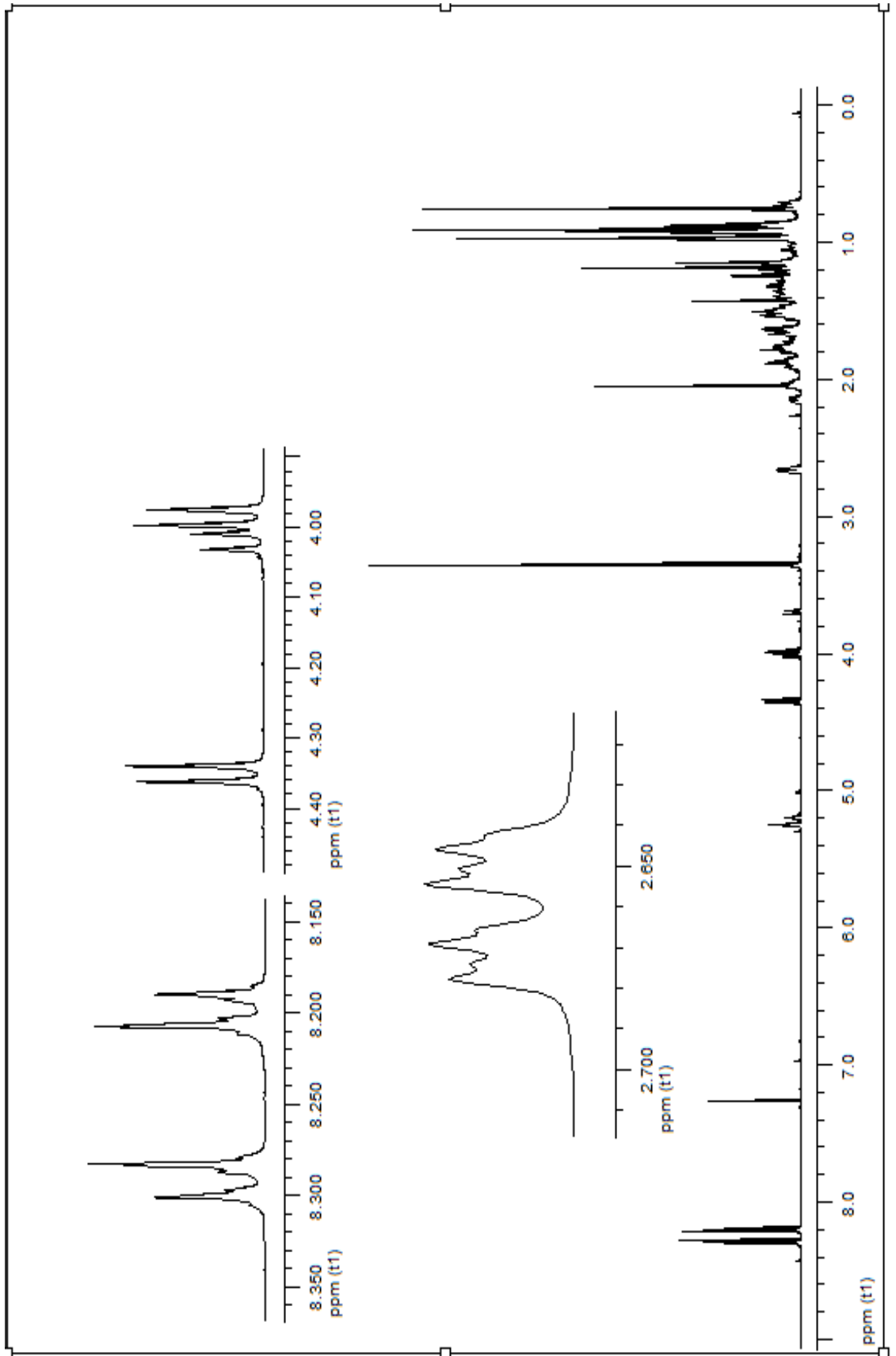
¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 8.28 (2H, d, *J*= 8.9 Hz, H-3' ve H-5'), 8.19 (2H, d, *J*= 8.9 Hz, H-2' ve H-6'), 5.25 (1H, t, *J*= 3.4 Hz, olefinik H-12), 4.35 (1H, d, *J*=10.9 Hz, H-28a), 3.98 (1H, d, *J*= 11.0 Hz, H-28b), 3.35 (3H, s, OCH₃), 2.66 (1H, dd, *J*= 4.4, 11.9 Hz, H-3), 2.14 (1H, dd, *J*= 4.4, 13.5 Hz, H-18) ppm.

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ: 171.3 (C-1''), 164.6 (C-5'), 150.4 (C-3'), 143.2 (C-13), 135.9 (C-6'), 130.6 (C-2'), 123.5 (C-12), 123.2 (C-4'), 88.5 (C-1'), 72.1 (C-3), 67.7 (C-28), 57.5 (C-18), 55.6 (OMe), 47.5 (C-11), 46.1 (C-14), 42.5 (C-17), 41.6, 39.7, 38.6, 38.4, 36.8, 36.2, 33.8, 33.1, 32.4, 31.6, 30.8, 28.0, 26.0, 25.5, 23.5, 21.9, 18.1, 16.6, 16.3, 15.4 ppm.

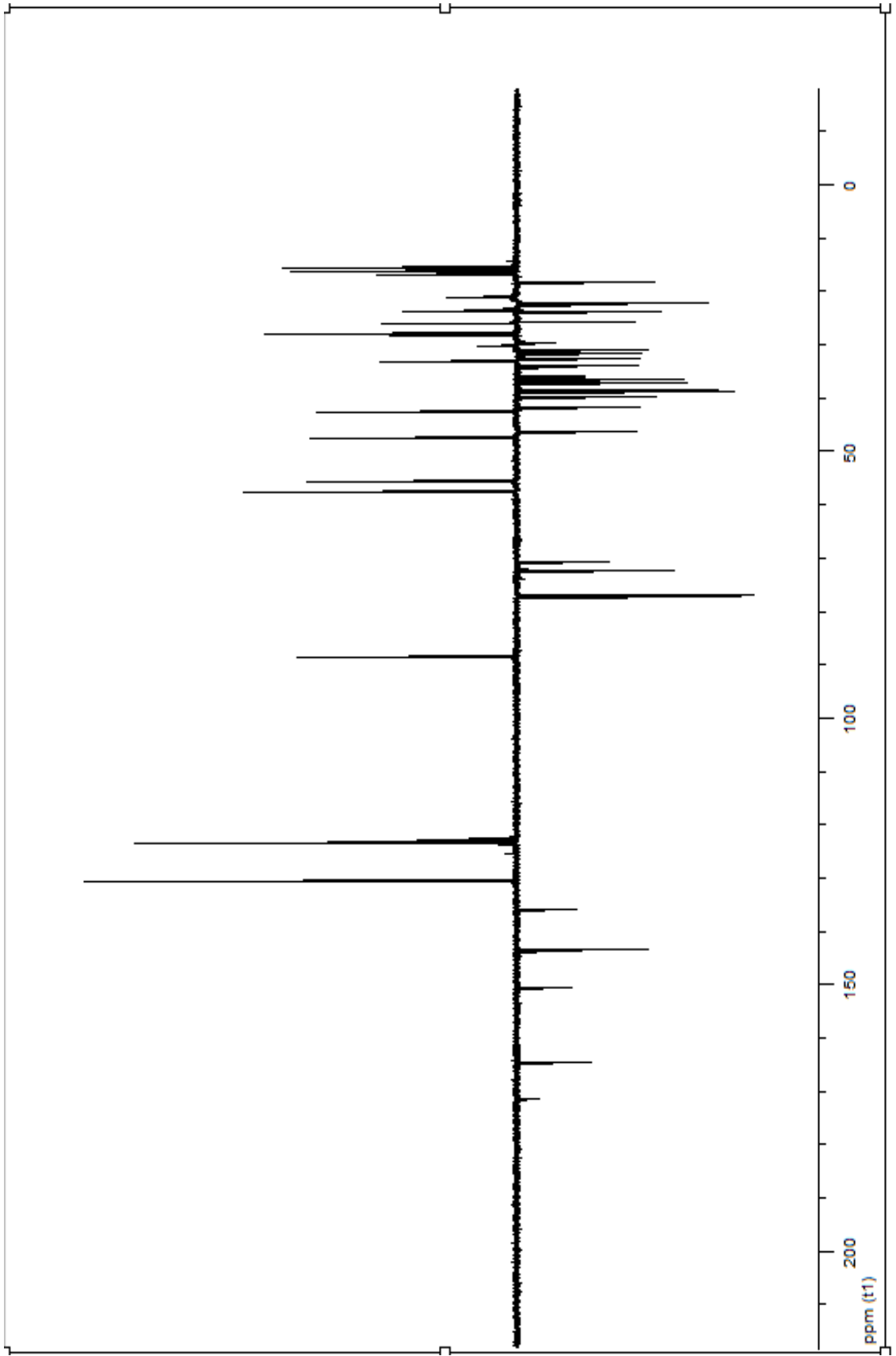




Şekil 4.43 Bileşik 114' ün LC-MS spektrumu



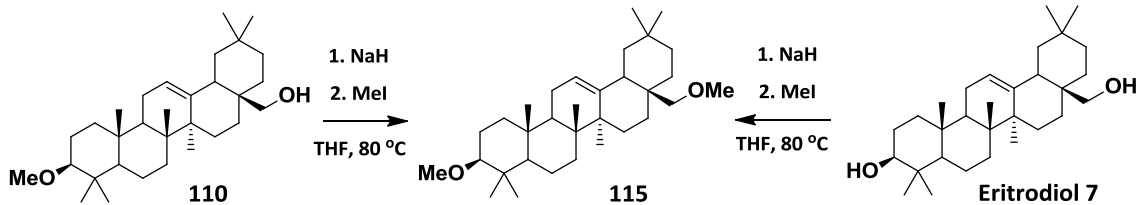
Şekil 4.44 Bileşik **114'** ün ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3)



Şekil 4.45 Bileşik **114'** ün APT spektrumu (CDCl₃)

4.4.19 Eritrodiol 3,28-dimetil eter (115)' in Reaksiyonu

Çalışmalar sırasında dimetil eter eritrodiol **115'** in sentezi hem eritrodiol (**7**) hem de 3 β -metil eter eritrodiol **110'** dan çıkılarak gerçekleştirildi. THF içerisinde NaH' ün süspansiyonu oluşturuldu ve üzerine bileşik **110** ilave edilerek eritrodiol 3,28-dimetil eter (**115**) sentezlendi.

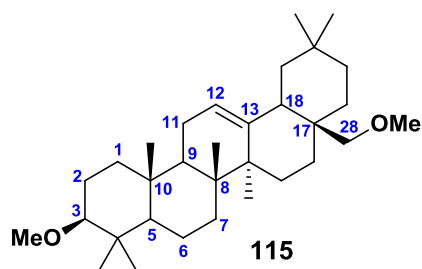


100 mL yuvarlak dipli bir balon içerisinde NaH (2.19 μ mol, 88 mg) ve 40 mL kuru THF konuldu. Üzerine 10 mL THF içerisinde çözülmüş 3 β -metil eter eritrodiol **110** (1.09 mmol, 500 mg) konuldu. Daha sonra 10 dakika karıştırmaya bırakıldı. 10 dakika sonra MeI (2.74 mmol, 170 μ mL) ilave edilerek kaynama sıcaklığında bir gece boyunca karıştırıldı. TLC ile kontrol edilerek çıkış bileşiğinin tükenmesinden sonra reaksiyon su ile sonlandırıldı. THF uzaklaştırıldıktan sonra su ile yıkanarak kloroform ile ekstraksiyon yapıldı. Organik faz Na₂SO₄ üzerinden kurutularak çözücü uzaklaştırıldı. Eritrodiol 3,28-dimetil eter bileşiği **115** elde edildi (465 mg).

Beyaz katı; erime noktası 162-163 °C; R_f: 0.84 (4/1, *n*-Hekzan/Etil asetat); %90 verim.

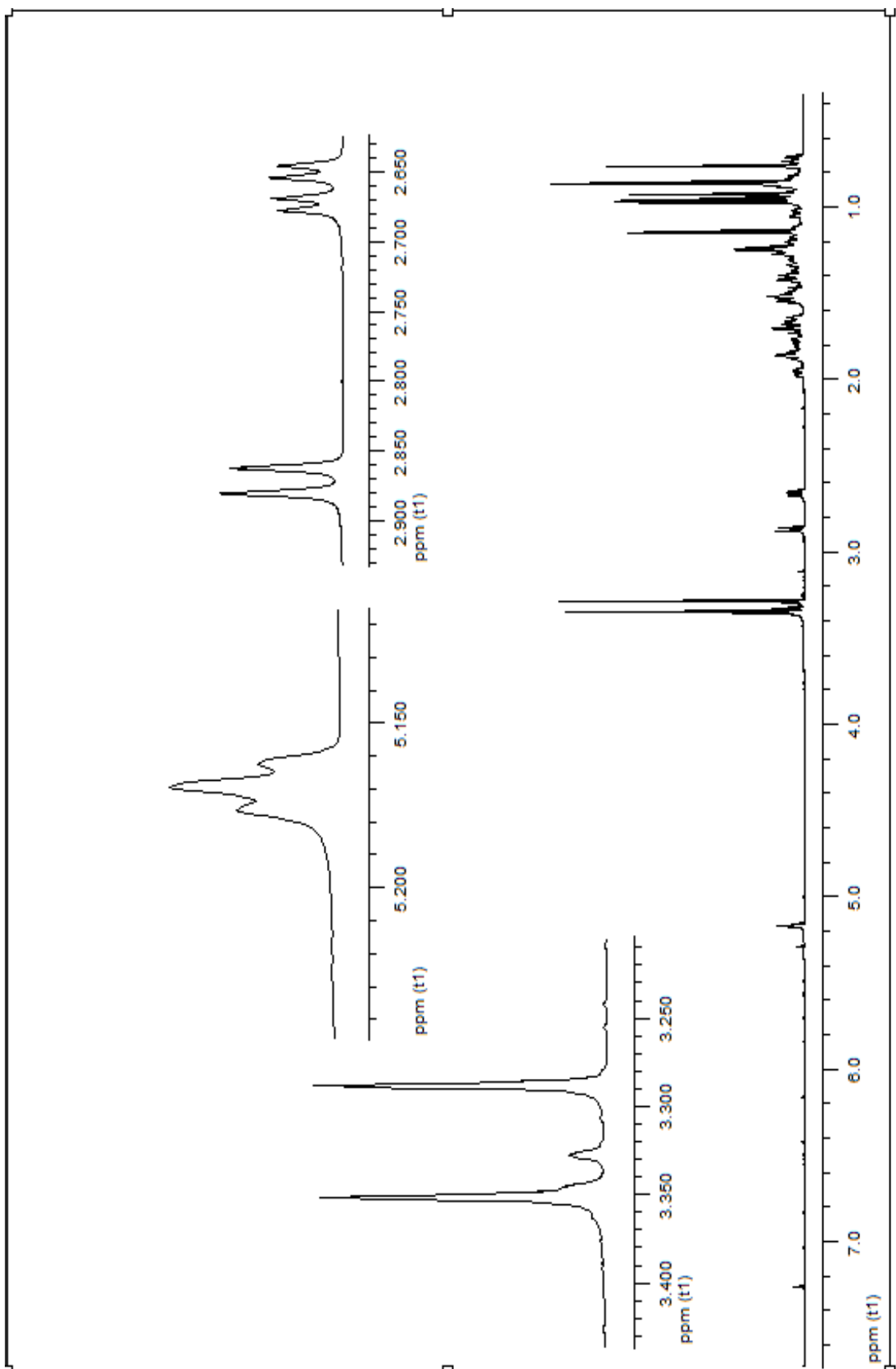
4.4.20 Bileşik 115'in Spektroskopik Analiz Verileri

Moleküle ait ¹H-NMR spektrumu incelendiğinde C-28 pozisyonundaki -CH₂- protonları 3.34 ppm' de dublet ve 2,87 ppm' de dublet olarak rezonans olması hidrojenlerin elektron yoğunluğunun arttığını ve bununda yapıyla uyumlu olduğunu gösterir. Ayrıca metoksi protonları 3.35 ppm ve 3.28 ppm' de singlet ve H-3 protonu 2.66 ppm' de dubletin dubleti olarak rezonans olmaktadır. Karbon ve hidrojen NMR spektrum sonuçlarının yapıyla uyumlu olduğu görüldü.

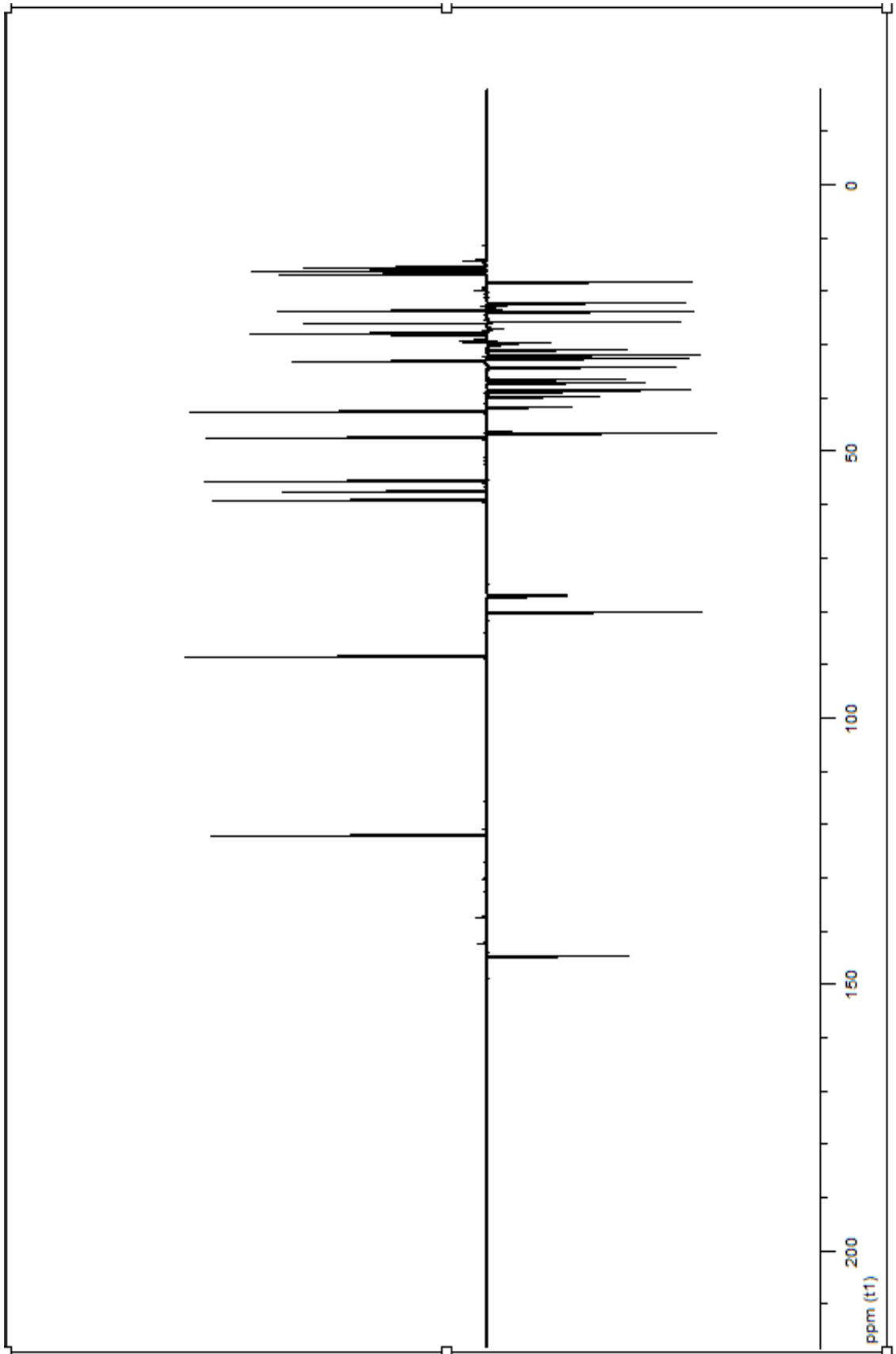


$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ : 5.16 (1H, t, J = 3.4 Hz, olefinik H-12), 3.35 (3H, s, OCH_3), 3.34 (1H, d, J = 9.1 Hz, H-28a), 3.28 (3H, s, $-\text{OCH}_3$), 2.87 (1H, d, J = 9.1 Hz, H-28b), 2.66 (1H, dd, J = 4.0, 11.6 Hz, H-3), 1.96 (1H, dd, J = 4.0, 13.5 Hz, H-18) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ : 144.5 (C-13), 122.0 (C-12), 88.5 (C-28), 80.0 (C-3), 59.3 ($\text{CH}_2\text{-OMe}$), 57.5 (C-18), 55.6 (CH-OMe), 47.5 (C-11), 46.3 (C-14), 42.6, 41.6, 39.7, 38.6, 38.4, 36.9, 36.4, 34.1, 33.2, 32.5, 31.9, 30.9, 28.0, 25.9, 25.6, 23.6, 23.5, 22.1, 22.0, 18.2, 16.7, 16.3, 15.4 ppm.

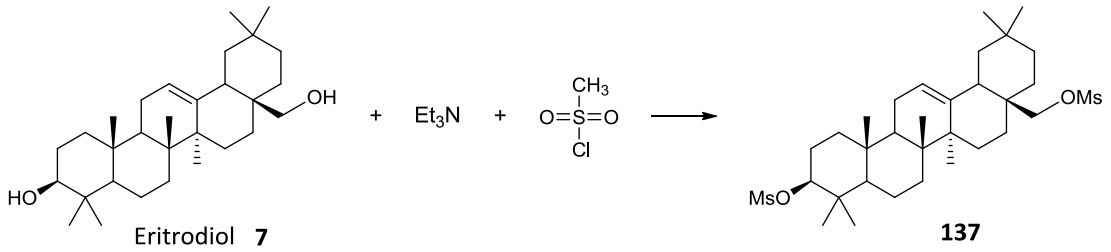


Şekil 4.46 Bileşik **115'** in ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3)



Şekil 4.47 Bileşik **115'** in APT spektrumu (CDCl₃)

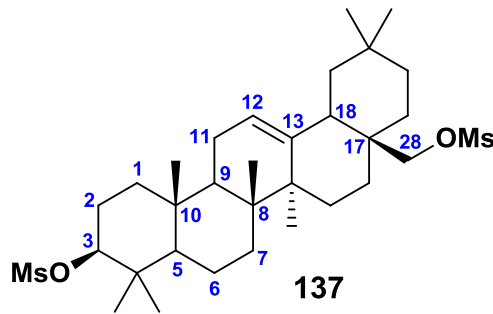
4.4.21 Eritrodiol 3,28-dimesilat (137)'in Sentezi



250 mL yuvarlak dipli bir balona eritrodiol (**7**) (1.15 mmol, 500 mg, 1 ekv.) konuldu ve üzerine 150 mL metilen klorür ilave edildi ve çözüldü. Daha sonra trietilamin (9 mmol, 1.25 ml, 8 ekv.) ilave edildi ve 10 dakika karıştırılmaya bırakıldı. Daha sonra hızlı bir şekilde mesil klorür (5.65 mmol, 0.450 mL, 5 ekv.) ilave edilerek balonun ağzı kurutucu başlık ile kapatıldı. TLC analizleri ile kontrol edilen reaksiyon bir gece sonunda sonlandırıldı. Reaksiyon karışımı önce %1'lik HCl çözeltisi ile üç kere ardından da %1'lik NaOH çözeltisi ile 3 kere yıkanarak metilen klorür (3X200 mL) ile ekstrakte edildi. Organik faz Na₂SO₄ üzerinden kurutuldu ve çözücü rotary evaporatörde uzaklaştırıldı (612 mg). Krem renkli katı; R_f: 0.72 (4/1, *n*-Hekzan/Etil asetat); %90 verim.

4.4.22 Bileşik 137'nin Spektroskopik Analiz Verileri

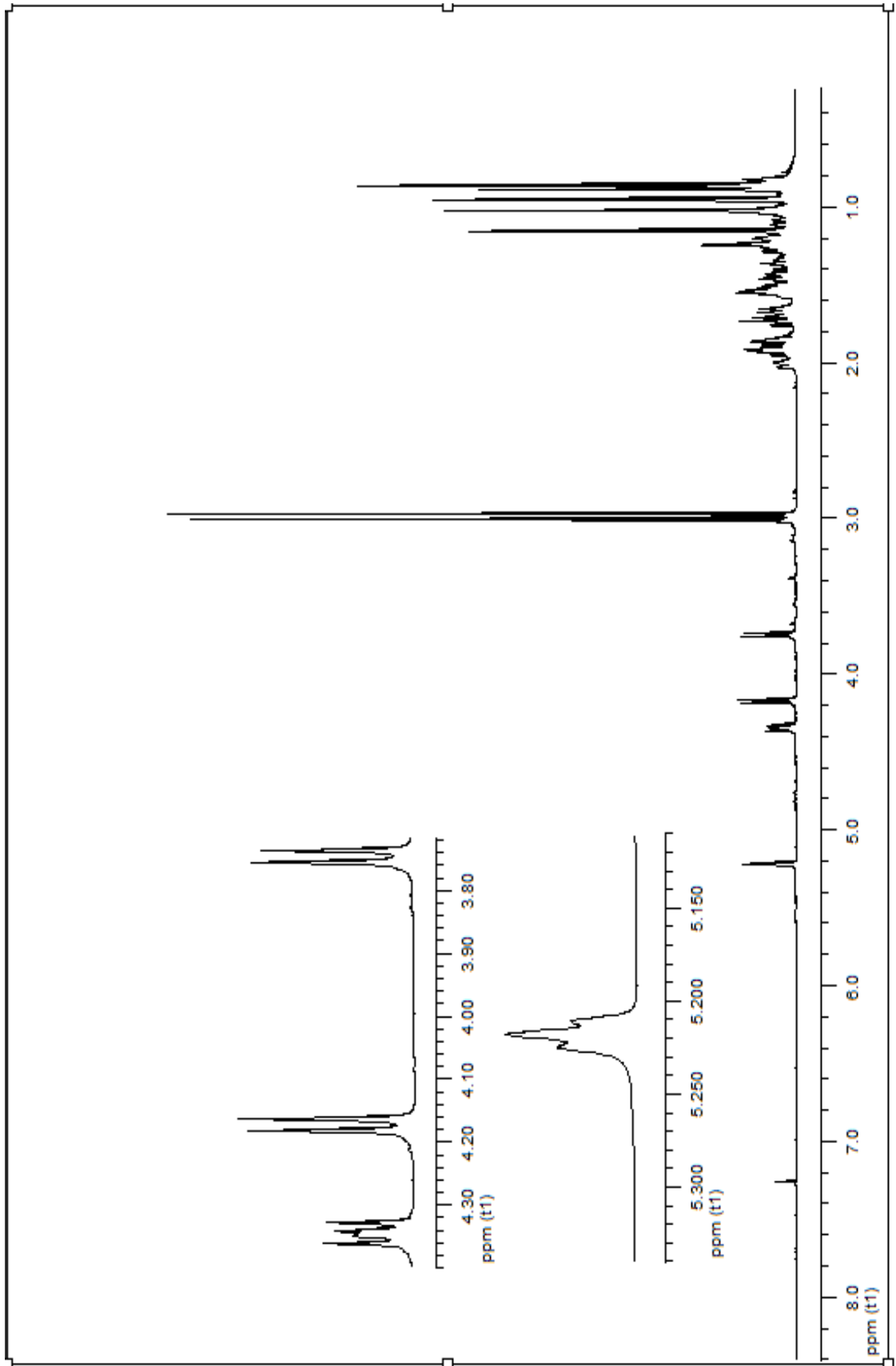
Moleküle ait ¹H-NMR spektrumu incelendiğinde C-28 pozisyonundaki -CH₂- protonları 4.17 ppm' de dublet ve 3.74 ppm' de dublet, S-CH₃ metil protonları 3.01 ppm ve 2.97 ppm' de singlet ve H-3 protonu 4.32-4.36 ppm arasında multiplet olarak rezonans olmaktadır. Elektron çekici mesil grubunun yapıya bağlanmasıyla H-3 ve H-28 protonları daha aşağı alana kaymaktadır. Karbon ve hidrojen NMR sonuçlarının yapıyla uyumlu olduğu görüldü.



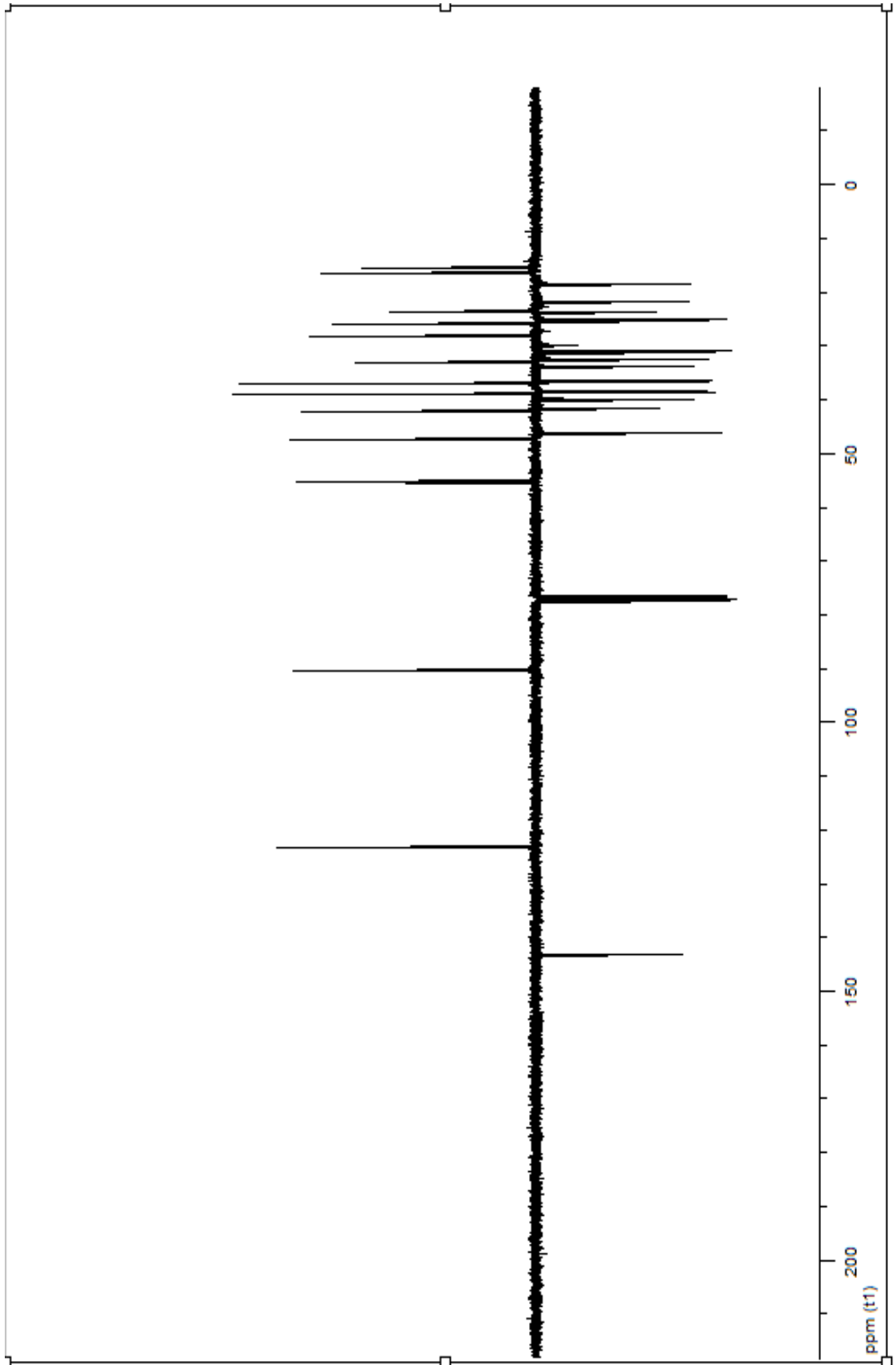
¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 5.21 (1H, t, *J*= 3.4 Hz, olefinik H-12), 4.32-4.36 (1H, m, H-3), 4.17 (1H, d, *J*= 9.3 Hz, H-28a), 3.74 (1H, d, *J*= 9.3 Hz, H-28b), 3.01 (3H, s, -S-CH₃), 2.97 (3H, s, -S-CH₃), 2.01 (1H, dd, *J*= 4.1, 13.4 Hz, H-18) ppm.

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ: 143.0 (C-13), 123.1 (C-12), 90.3 (C-3), 76.3 (C-28), 55.3 (C-18), 47.3 (C-11), 45.9 (C-14), 42.1 (C-17), 41.5, 39.7, 38.7 (S-Me), 38.4, 38.2, 36.9 (S-Me), 36.5, 36.2, 33.6, 33.0, 32.2, 31.1, 30.7, 28.1, 25.2, 25.0, 23.5, 23.4, 21.5, 18.2, 16.5, 16.3, 15.4 ppm.





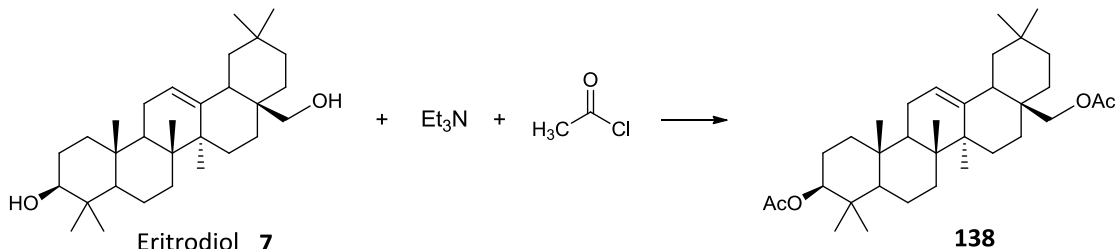
Şekil 4.48 Bileşik **137'** nin ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3)



Şekil 4.49 Bileşik **137'** nin APT spektrumu (CDCl_3)

4.4.23 Eritrodiol 3,28-diasetat (138)'in Sentezi

Eritrodiol (**7**) bileşiği asetil klorür ile asetilleme reaksiyonuna tabi tutuldu ve 3,28-diasetil türevi bileşik **138** sentezlendi.



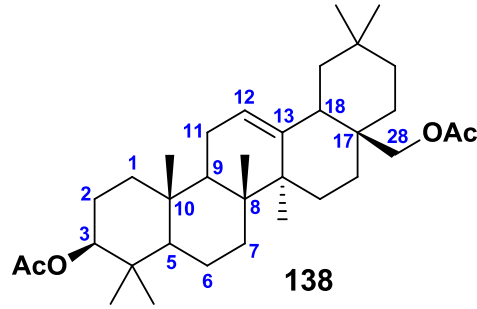
250 mL yuvarlak dipli bir balon içerisinde eritrodiol (**7**) (2.25 mmol, 1.0 g, 1 ekv.), 150 mL metilen klorür ile çözüldü. Daha sonra trietilamin (13.5 mmol, 1.9 mL, 6 ekv.) çözeltisi üzerine ilave edildi ve 10 dakika karıştırılmaya bırakıldı. Daha sonra asetil klorür (6.8 mmol, 0.48 mL, 5 ekv.) ilave edilerek balonun ağzı kurutucu başlık ile kapatıldı. TLC analizleri ile kontrol edilen reaksiyon bir gece sonunda sonlandırıldı. Reaksiyon karışımı önce %1'lik HCl çözeltisi ile üç kere ardından da %1'lik NaOH çözeltisi ile üç kere yıkanarak metilen klorür ile üç kez ekstrakte edildi. Organik faz Na₂SO₄ üzerinden kurutuldu ve çözücü rotary evaporatörde uzaklaştırıldı. Elde edilen **138** numaralı madde beyaz renkli katı olarak sentezlendi (1.1 g).

Beyaz katı; R_f: 0.88 (4/1, *n*-Hekzan/Etil asetat); %92 verim.

4.4.24 Bileşik 138'in Spektroskopik Analiz Verileri

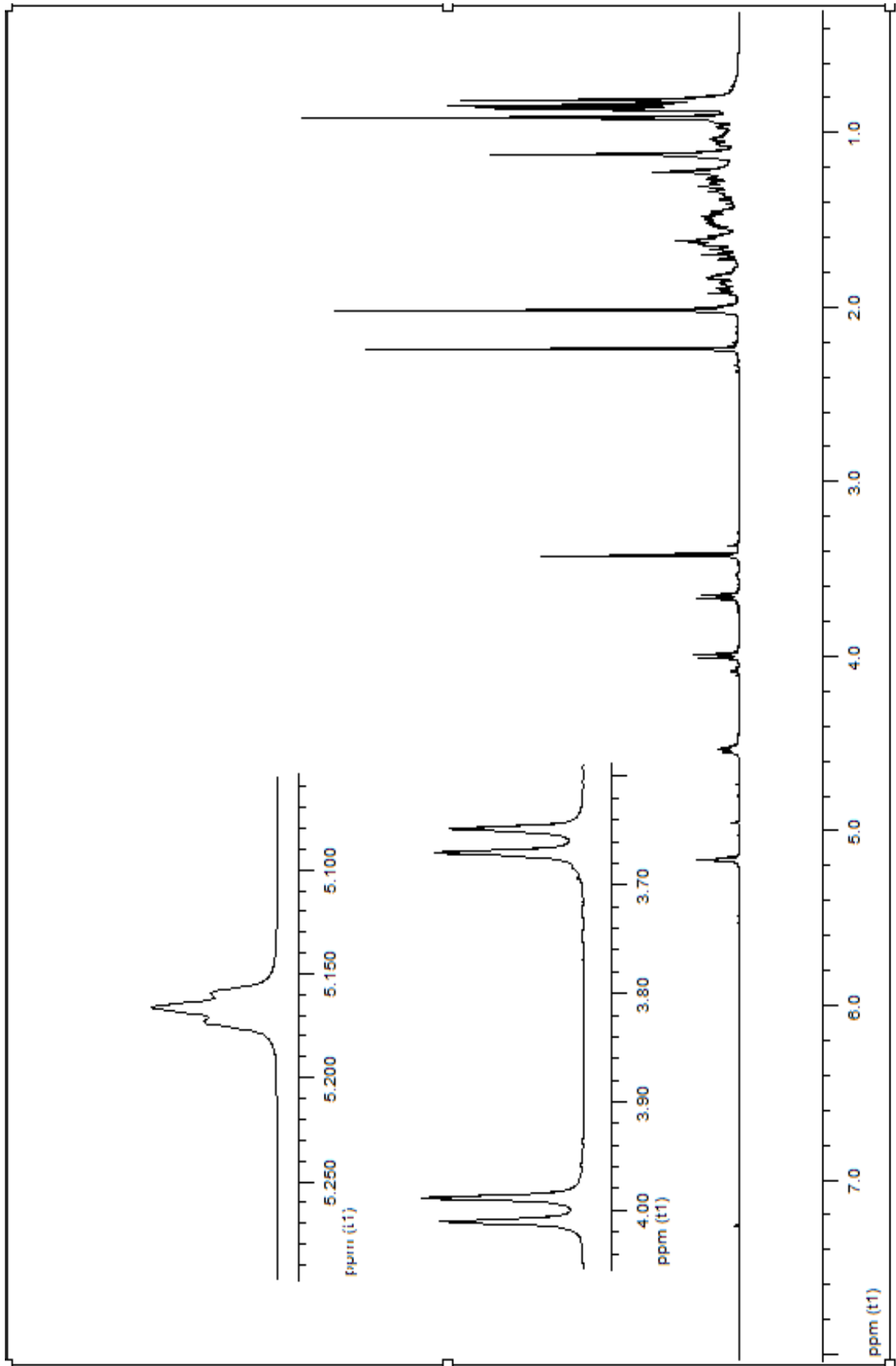
Moleküle ait ¹H-NMR spektrumu incelendiğinde C-28 pozisyonundaki -CH₂- protonları 3.99 ppm' de dublet ve 3.66 ppm' de dublet, karbonil gruplarına bağlı metil grupları 2.24 ve 2.01 ppm' de singlet, asetil grubunun etkisiyle elektron yoğunluğu azalan H-3 protonu 4.52-4.55 ppm arasında multipler olarak rezonans olmaktadır. Ayrıca APT spektrumunda asetil gruplarındaki ester karbonilleri 171.1 ve 166.8 ppm' de rezonans olmaktadır. Moleküldeki sikloheksan yapılarının konformasyonundan dolayı C-28 karbonuna bağlı asetil grubunun çift bağ üzerine geldiği düşünülmektedir ve çift bağın elektronik alanına denk geldiği için elektron yoğunluğu artmakta ve sinyaller yukarı alana doğru kaymaktadır. Bu nedenle C-28 karbonuna bağlı asetil metil grubu protonlarının 2.01 ve

karbonil karbonun da 166.8 ppm de rezonans olduğu düşünölmektedir. Karbon ve hidrojen NMR sonuçlarının yapıyla uyumlu olduğu göröldü.

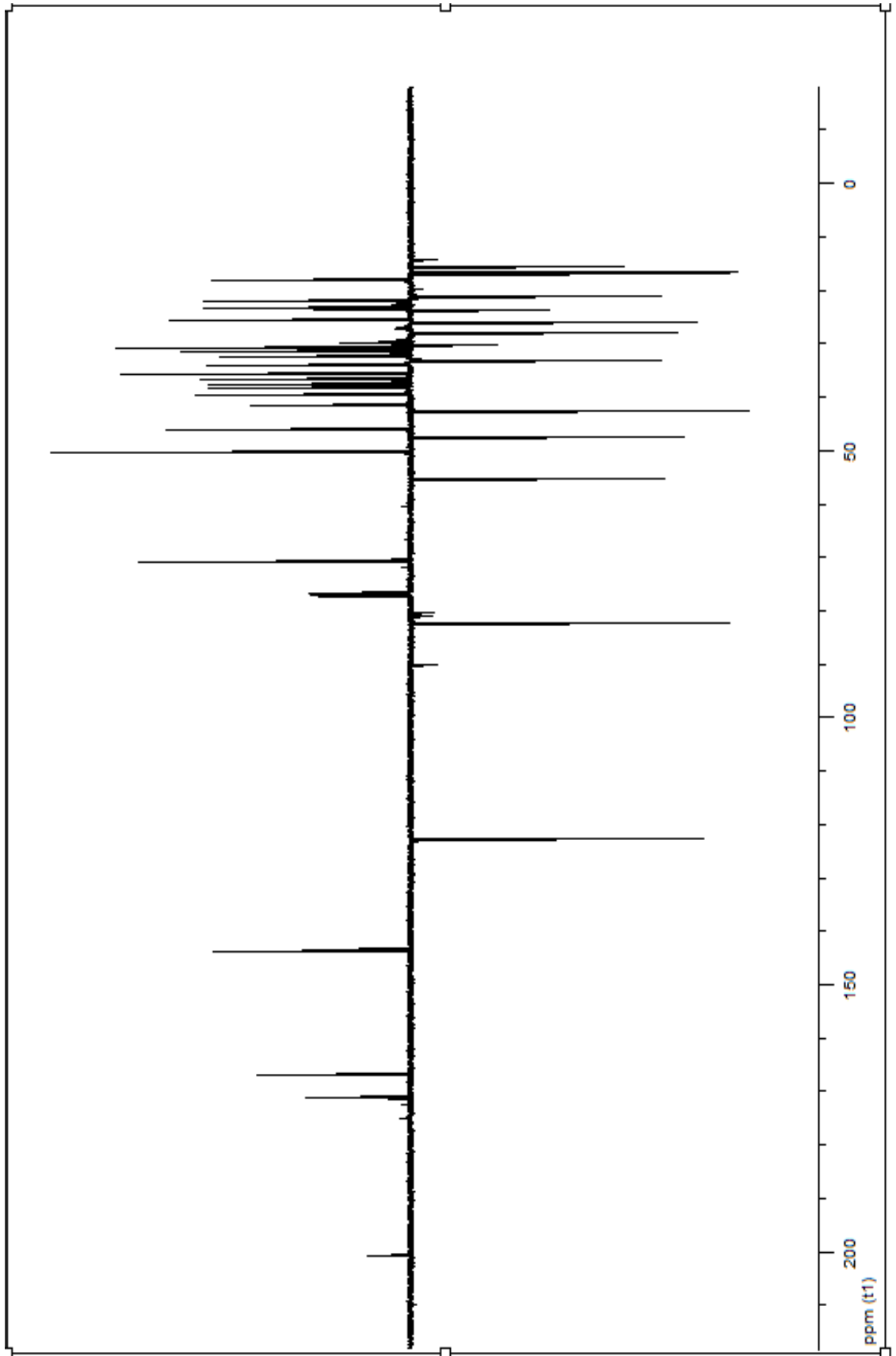


¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 5.16 (1H, t, J = 3.4 Hz, olefinik H-12), 4.52-4.55 (1H, m, H-3), 3.99 (1H, d, J = 10.9 Hz, H-28a), 3.66 (1H, d, J = 11.0 Hz, H-28b), 2.24 (3H, s, -O=C-CH₃), 2.01 (3H, s, -O=C-CH₃) ppm.

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 171.1 (CH-C=O), 166.8 (CH₂-C=O), 143.5 (C-13), 122.6 (C-12), 82.1 (C-3), 70.6 (C-28), 55.1 (C-18), 50.3 (C-17), 47.3 (C-11), 46.0 (C-14), 42.3, 41.5, 39.6, 38.1, 37.6, 36.6, 35.6, 33.8, 33.0, 32.3, 31.2, 30.7, 30.1, 29.6, 27.8, 25.8, 25.4, 23.4, 23.3, 22.0, 22.8, 18.0, 16.5, 15.4 ppm.



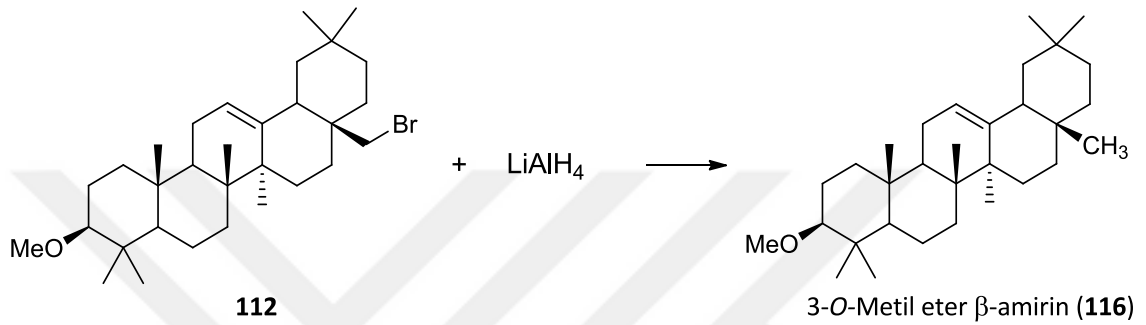
Şekil 4.50 Bileşik **138'** in ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3)



Şekil 4.51 Bileşik **138'** in APT spektrumu (CDCl_3)

4.4.25 3-O-Metil eter β -amirin (116)' in Sentezi

Bileşik **111'** deki mesilat (-OMs) grubunun yapıdan uzaklaştırılmasında yaşanan zorluklar nedeniyle C-28 karbonuna brom takıldı. Sentezi gerçekleştirilen 3 β -metoksiolean-12-en-28-bromür Bileşiği **112**, bazik şartlarda LiAlH₄ ile etkileştirilerek brom grubu yapıdan uzaklaştırıldı. 3-O-metil eter β -amirin (**116**) %82 gibi yüksek bir verimle elde edildi. Böylece molekül iskeletindeki karboksilik asit (-COOH) grubu metil (-CH₃) grubuna indirgenmiş oldu.



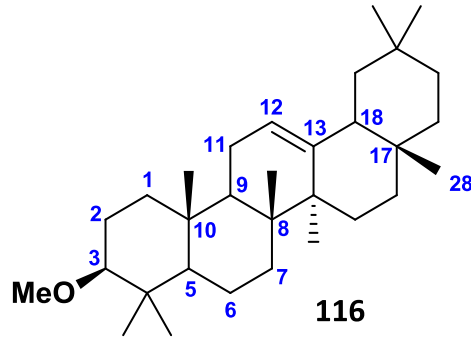
Reaksiyon oda sıcaklığında yeni destillenmiş 30 mL THF içerisinde inert atmosferde yapıldı. 100 mL'lik iki boyunlu balon içerisine 50 mL THF ilave edildi. Çözücü tuz-buz karışımı içerisinde -12 °C' ye soğutuldu ve üzerine LiAlH₄ (36.52 mg, 10 eq) katı olarak dekante edildi. Daha sonra reaksiyon sistemi üzerine N₂ (Azot) gazı bağlandı ve karışım oda sıcaklığına gelene kadar karıştırıldı. Ayrı bir balon içerisinde THF de çözülen katalitik miktarda AlCl₃ ve bileşik **112** (50 mg; 96.22 mmol)' nin karışımı reaksiyon ortamına azar azar ilave edildi. Reaksiyon ortamı reflux sıcaklığına getirilerek 22 saat boyunca karıştırıldı ve reaksiyon TLC ile takip edilerek 22 saat sonunda durduruldu. Reaksiyon soğuk etil asetat ve su ile bozuldu. Daha sonra reaksiyon çözücü karışımı rotari evaporatörde uzaklaştırılarak kalıntı Kloroform/Su ile üç kez yıkandı ve organik faz Na₂SO₄ üzerinden kurutuldu. Organik çözücü rotari evaporatörde uzaklaştırılarak geriye bileşik **116** beyaz katı madde olarak elde edildi (35 mg).

Beyaz katı; erime noktası 246-247 °C; R_f: 0.78 (4/1, *n*-Hekzan/Etil asetat); %82 verim.

4.4.26 Bileşik 116'nın Spektroskopik Analiz Verileri

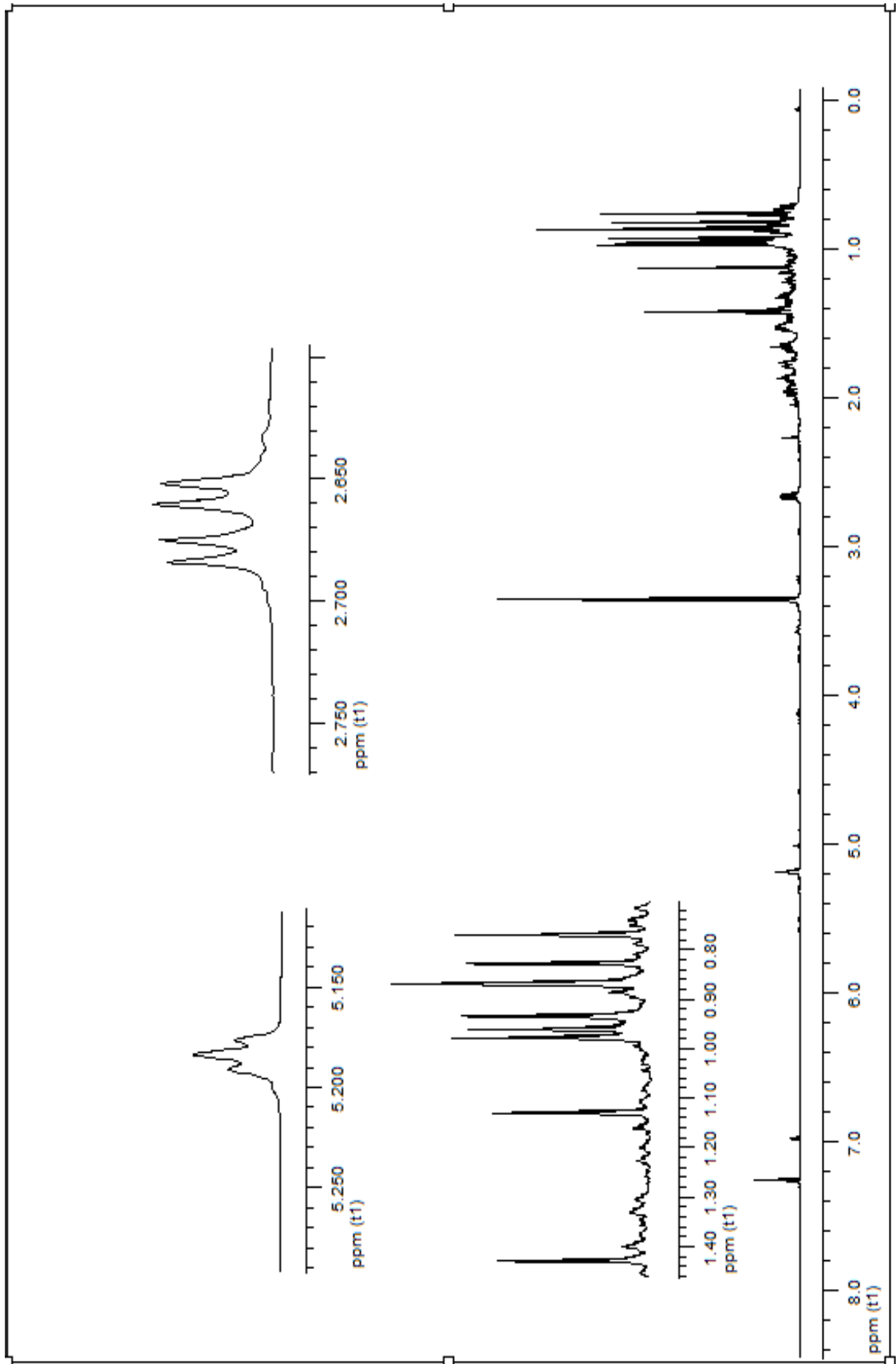
Olefinik proton 5.11 ppm' de triplet, metoksi protonları 3.29 ppm' de singlet ve H-3 protonu 2.60 ppm' de dubletin dubleti olarak rezonans olmaktadır. Hidrojen NMR

spektrumunun alifatik bölgesinde sekiz metil grubuna ait singlet pik görülmektedir. Spektrumun yapıyla uyumlu olduğu görülmektedir.

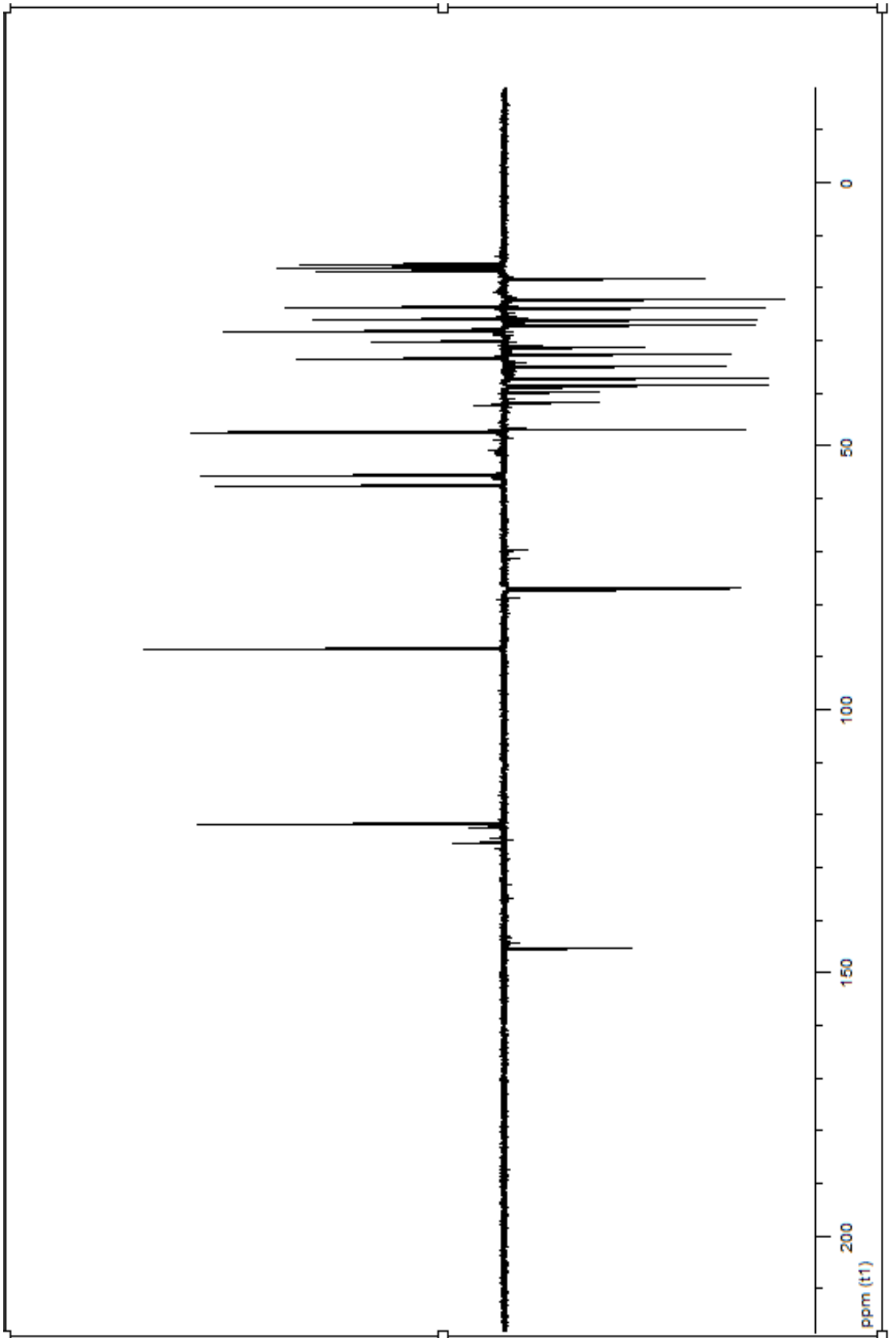


¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 5.11 (1H, t, J = 3.4 Hz, olefinik H-12), 3.29 (3H, s, -OCH₃), 2.60 (1H, dd, J = 4.4, 11.6 Hz, H-3), 1.90 (1H, dd, J = 4.4, 13.5 Hz, H-18) ppm.

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 145.2 (C-13), 121.7 (C-12), 88.6 (C-3), 57.5 (C-18), 55.7 (OMe), 47.6 (C-11), 47.2 (C-14), 46.8 (C-17), 41.7, 39.8, 38.7, 38.5, 37.1, 34.7, 33.3, 32.6, 32.5, 31.1, 30.3, 28.4, 28.1, 26.9, 26.1, 26.0, 23.7, 23.5, 22.0, 18.2, 16.8, 16.3, 15.5 ppm.



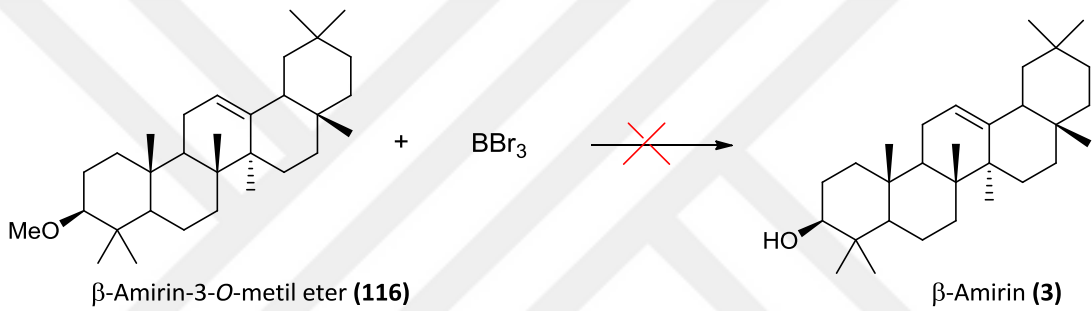
Şekil 4.52 Bileşik **116'** nin ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3)



Şekil 4.53 Bileşik **116'** nın APT spektrumu (CDCl₃)

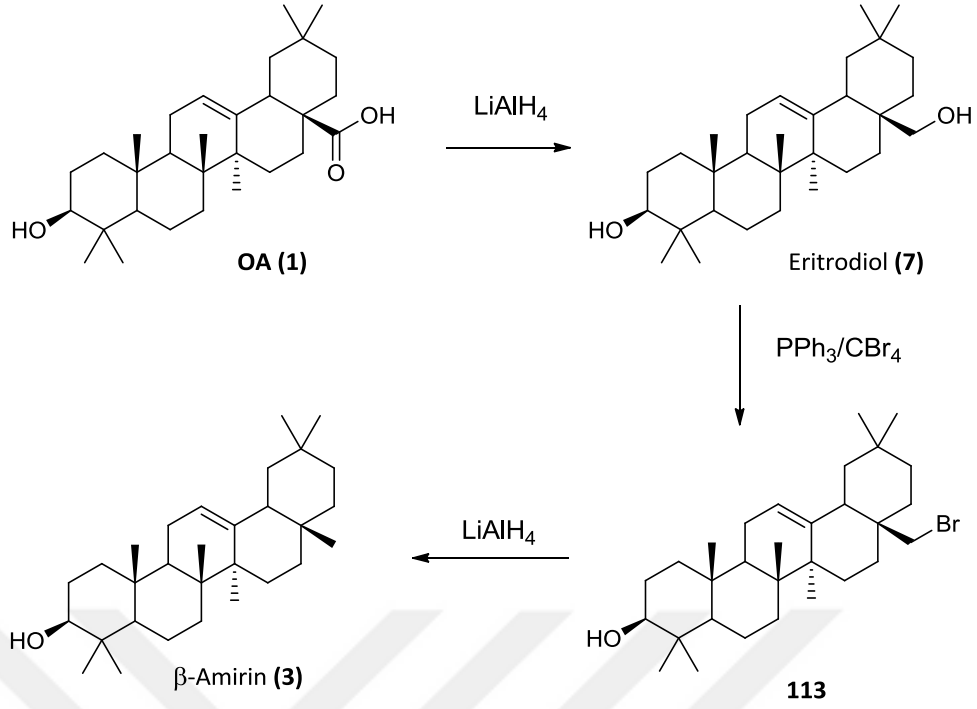
4.4.27 β -Amirinin Kısa ve Etkili Sentezi

Sentezi gerçekleştirilen 3-*O*-Metil Eter β -amirin (**116**) bileşiği, metoksil gruplarından metil yapısının uzaklaştırılması olarak bilinen de-metilasyon reaksiyonuna maruz bırakıldı. Tepkime, metilen klorür (CH_2Cl_2) içerisinde, azot atmosferi altında bileşik **116**'nın BBr_3 ile etkileştirilmesi koşuluyla gerçekleştirilmeye çalışıldı. Reaksiyon sonunda çıkış bileşiğinin tükendiği fakat β -amirin (**3**) bileşiğine ait triterpen iskelet yapısının $^1\text{H-NMR}$ da oluşmadığı gözlemlendi. Burada de-metilasyon reaktifi BBr_3 'ün çok reaktif olması sebebiyle triterpen iskeletinin parçalandığı düşünülmektedir. Reaksiyon, koşulları yeniden gözden geçirilerek tekrarlandı fakat tüm denemelere rağmen ürün elde edilemedi.



Şekil 4.54 Demetilasyon reaksiyonu

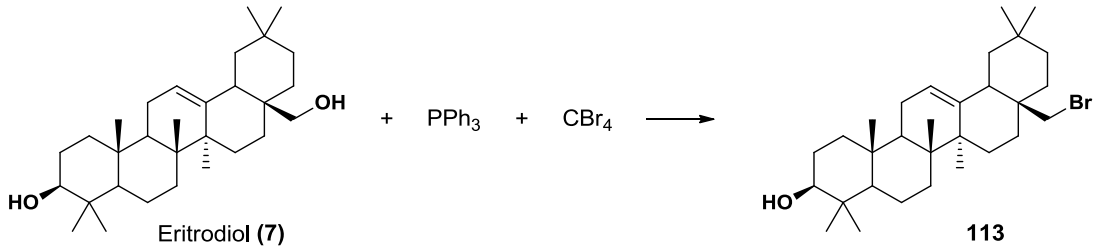
Reaksiyon adımları yeniden tasarlandı ve sentez ara basamaklarında elde edilen eritrodiol (**7**)' C-28 karbonunda brom türevine dönüştürüldü. Sentezlenen brom türevi bileşik **113**' LiAlH_4 ile indirgenerek hedeflenen β -amirin (**3**) bileşiği **üç adım** ve **toplam %66 verimle** sentezlenmiş oldu.



Şekil 4.55 β -Amirin (3)' in üç adımda sentezi

4.4.28 3β -Hidroksi olean-12-en,28-bromür (113)' ün Sentezi

Düşündüğümüz yeni sentez yönteminde oleanolik asit (1) LiAlH_4 ile indirgenerek eritrodiol (7)' nin sentezi gerçekleştirildi (Şekil 4.29). Sentezlenen eritrodiol (7) bileşiği $\text{PPh}_3/\text{CBr}_4$ reaktifleriyle etkileştirilerek C-28 karbonundaki primer alkol yapısı brom türevine dönüştürüldü.



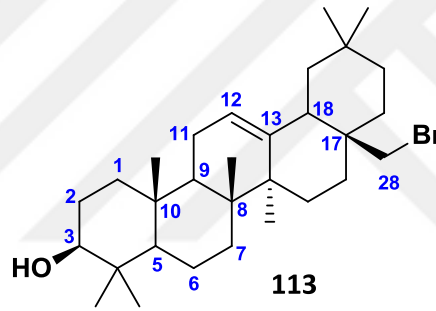
Reaksiyon 300 mL asetonitril içerisinde 90°C sıcaklıkta yapıldı. Önce eritrodiol (7), (5 g, 11.29 mmol) asetonitril içerisinde çözüldü sonra üzerine sırasıyla PPh_3 (694 mg; 2.64 mmol) ve CBr_4 (877 mg; 2.64 mmol) reaktifleri ilave edildi. Reaksiyon sıcaklığı 90°C olarak ayarlandı ve reflüks sıcaklığında karıştırılmaya bırakıldı. Reaksiyon TLC ile takip edildikten sonra çıkış bileşiğinin tükenmesinin ardından 7 saat sonra sonlandırıldı. Reaksiyon çözücüsü evaporatörden uzaklaştırıldı ve geriye kalan ekstrakt kloroformda

çözülerek $\text{CHCl}_3/\text{H}_2\text{O}$ karışımı içerisinde ekstraksiyon yapıldı. Organik faz Na_2SO_4 üzerinden kuruldu. Karışım madde önce silika jel kolondan süzüldü ve ardından %5' lik (Hekzan/EtOAc; 95 mL/5 mL) çözücü kullanarak kolonda saflaştırıldı. Elde edilen madde saf EtOAc ile yıkanarak ekstra saflaştırıldı (5.12 g).

Beyaz katı; R_f : 0.56 (4/1, *n*-Hekzan/Etil asetat); % 79 verim.

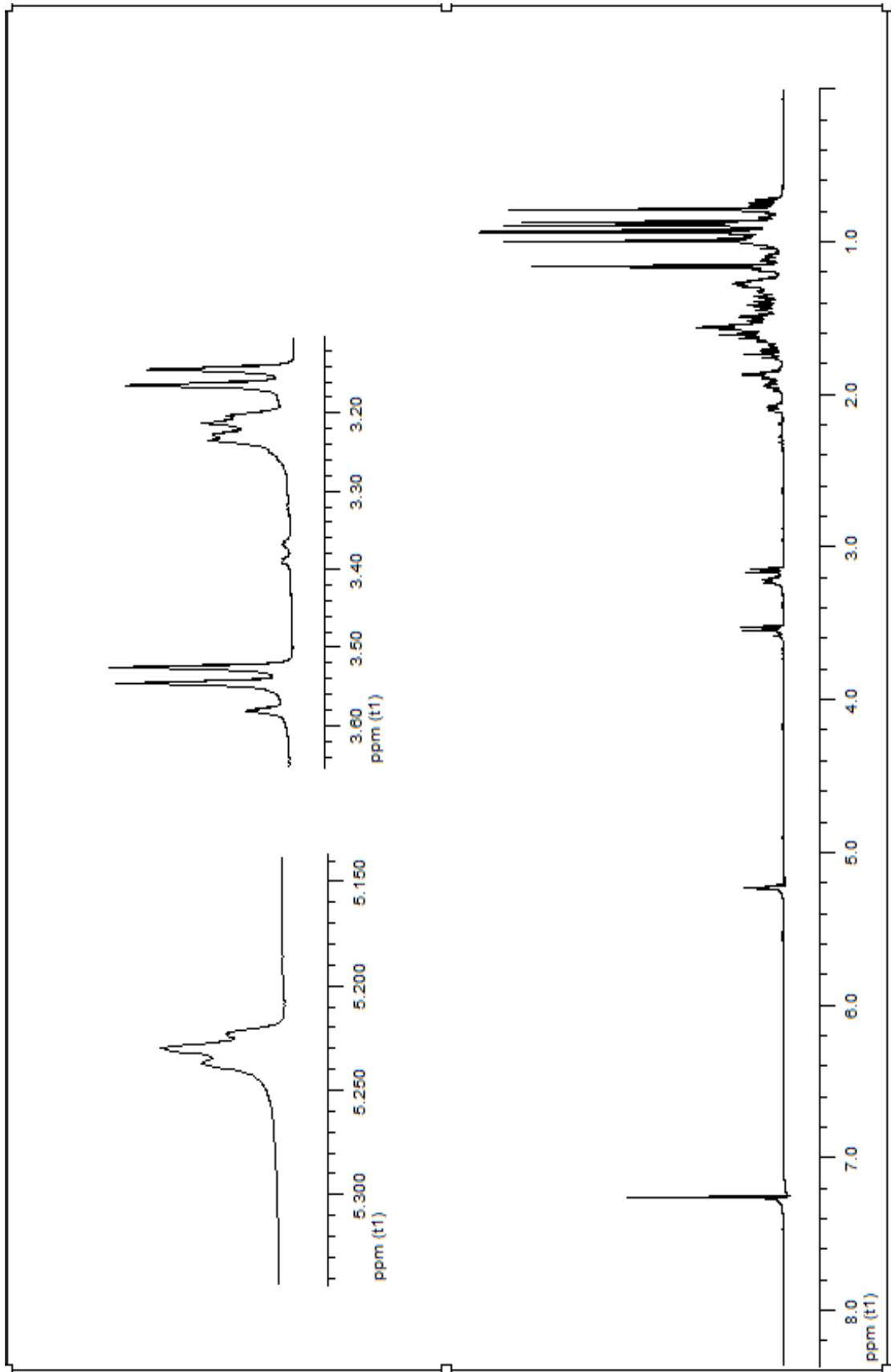
4.4.29 Bileşik 113'ün Spektroskopik Analiz Verileri

Moleküle ait ^1H -NMR spektrumu incelendiğinde metil bromür ($-\text{CH}_2\text{-Br}$) grubundaki $-\text{CH}_2-$ (C-28) protonları 3.53 ppm' de dublet ve 3.15 ppm' de dublet, H-3 protonu 3.21 ppm' de dubletin dubleti ve H-18 protonları 2.08 ppm' de dubletin dubleti olarak rezonans olmaktadır. Sentezlenen yapının NMR verileriyle uyumlu olduğu ve sekonder alkol grubunun reaksiyona girmedeği görüldü.

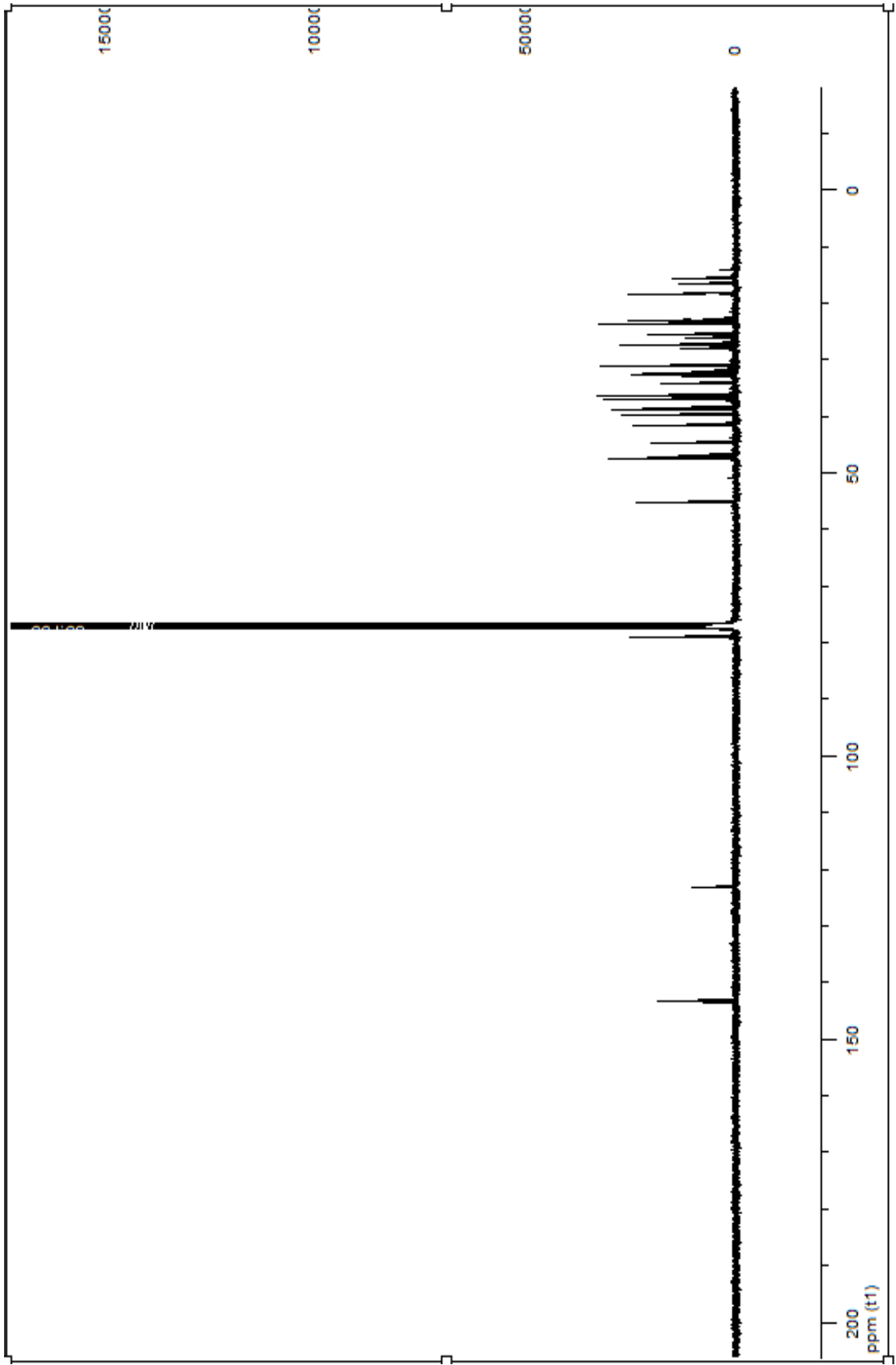


^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 5.22 (1H, t, J = 3.6 Hz, olefinik H-12), 3.53 (1H, d, J = 10.1 Hz, H-28a), 3.15 (1H, d, J = 10.1 Hz, H-28b), 3.21 (1H, dd, J = 4.4, 11.1 Hz, H-3), 2.08 (1H, dd, J = 3.7, 13.2 Hz, H-18) ppm.

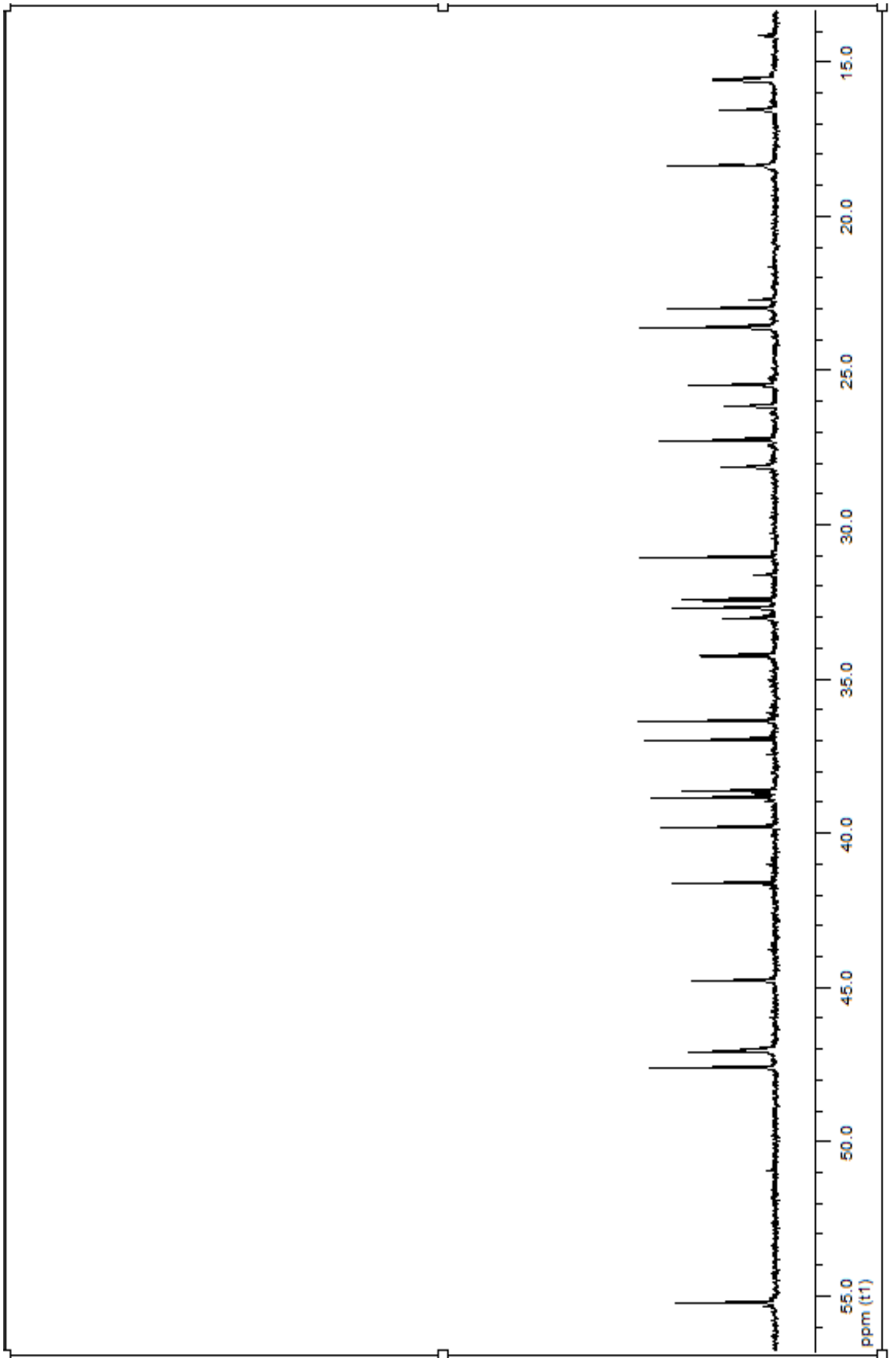
^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 143.4 (C-13), 123.2 (C-12), 123.1 (C-28), 79.0 (C-3), 55.2 (C-18), 47.6 (C-17), 47.0 (C-14), 47.0 (C-11), 44.7, 41.6, 39.7, 38.8, 38.6, 36.9, 36.3, 34.2, 33.0, 32.7, 32.4, 31.0, 28.1, 27.2, 26.1, 25.4, 23.6, 22.9, 18.3, 16.5, 15.6, 15.5 ppm.



Şekil 4.56 Bileşik **113'** ün ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3)



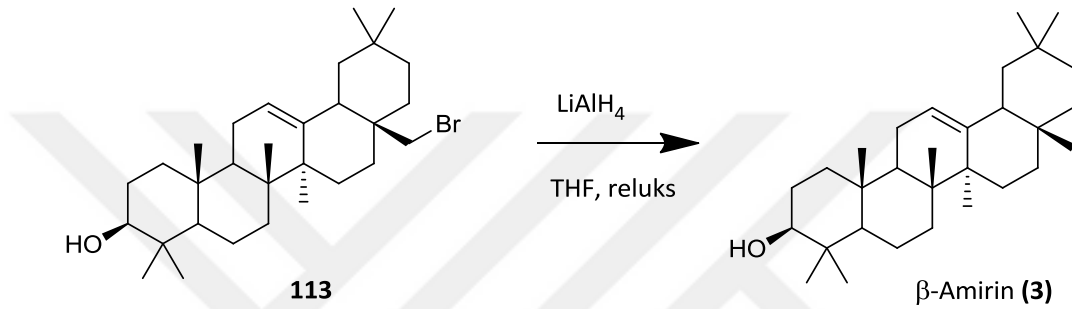
Şekil 4.57 Bileşik **113'** ün ^{13}C -NMR spektrumu (CDCl_3)



Şekil 4.58 Bileşik **113'** ün ^{13}C -NMR genişletilmiş spektrumu (CDCl_3)

4.4.30 β -Amirin (3)' in Sentezi

β -Amirin ticari değeri çok yüksek olan biyoaktif bir triterpendir ve literatürde oleanolik asidden (1) çıkılarak en az sentez adımı ve en yüksek verimle sentezi gerçekleştirilmiştir. Literatürde β -amirin sentez tasarımlarının çok adımlı olması üretim maliyetini arttırdığı gibi toplam verimi de çok düşürmektedir. Bu nedenle çalışmamızda β -amirin sentezini üç adımda toplam %66 gibi çok yüksek verimde sentezlememiz çalışmanın en özgün değeridir. Dolayısıyla sentez tasarımı bu yönüyle ticari değer kazanmaktadır. Hedef ürün 2' nin sentez adımlarının birinci aşaması tamamlanmış oldu.

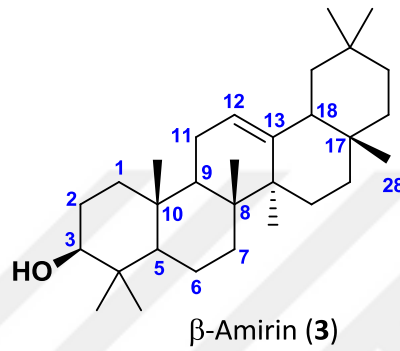


Reaksiyon yeni destillenmiş 100 mL THF içerisinde azot atmosferinde $-12\text{ }^\circ\text{C}$ de tuz-buz karışımı içerisinde başlatıldı. Öncelikle 250 mL' lik yuvarlak dipli cam balon içerisinde LiAlH_4 (640 mg, 3.37 mmol) ilave edildi ve üzerine tuz-buz karışımı içerisinde $-12\text{ }^\circ\text{C}$ soğutulmuş 90 mL THF ilave edildi ve karıştırılmaya bırakıldı. LiAlH_4 iyice THF içerisinde dağıldıktan sonra süspansiyon üzerine 10 mL THF içerisinde çözülmüş çıkış bileşiği 113 (852 mg, 1.69 mmol) yavaşça ilave edildi. Daha sonra sistem üzerine N_2 gazı takılarak reaksiyon tuz-buz karışımı içerisinde alındı ve oda sıcaklığına gelene kadar karıştırıldı. Daha sonra reflüks sıcaklığında karıştırılmaya bırakıldı ve TLC ile takip edildikten sonra çıkış bileşiğinin tükenmesinin ardından soğuk etil asetat ve su ile sonlandırıldı. Beyaz alüminyum kompleksi süzöldükten sonra reaksiyon çözücüsü THF rotari evaporatörde uzaklaştırıldı. Geriye kalan madde etil asetat ile çözülerek üç kez su ile ekstraksiyon yapıldı. Organik faz Na_2SO_4 üzerinden kurutularak rotari evaporatörden uzaklaştırıldı. β -amirin (3) saf bir şekilde elde edildi (674 mg).

Beyaz katı; ; R_f : 0.62 (4/1, *n*-Hekzan/Etil asetat); % 93 verim.

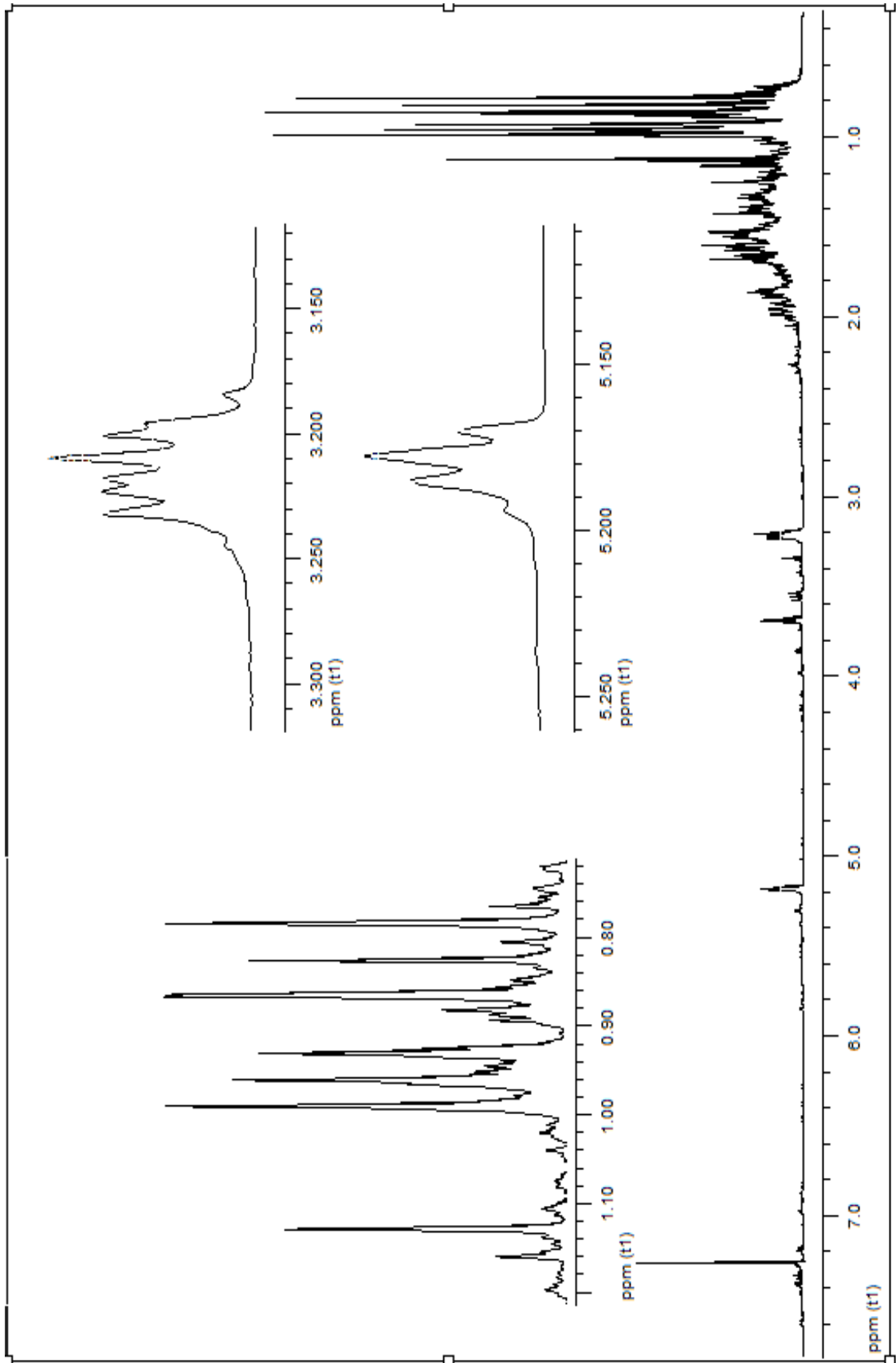
4.4.31 β -Amirin (3)'in Spektroskopik Analiz Verileri

Moleküle ait ^1H -NMR spektrumu incelendiğinde C-28 karbonuna bağlı metil bromür ($\text{CH}_2\text{-Br}$) grubundaki protonların 3.53 ppm' de dublet ve 3.17 ppm' de dublet piklerinin kaybolduğu ve alifatik bölgede metil ($-\text{CH}_3$) grubuna ait sekiz pik (1.12, 0.99, 0.96, 0.93, 0.86, 0.86, 0.82, 0.78 ppm) singlet olarak rezonans olduğu belirlendi. Ayrıca C-3 karbonundaki H-3 protonunda oleanolik asitteki gibi yine 3.21 ppm' de rezonans olduğu görülmektedir.

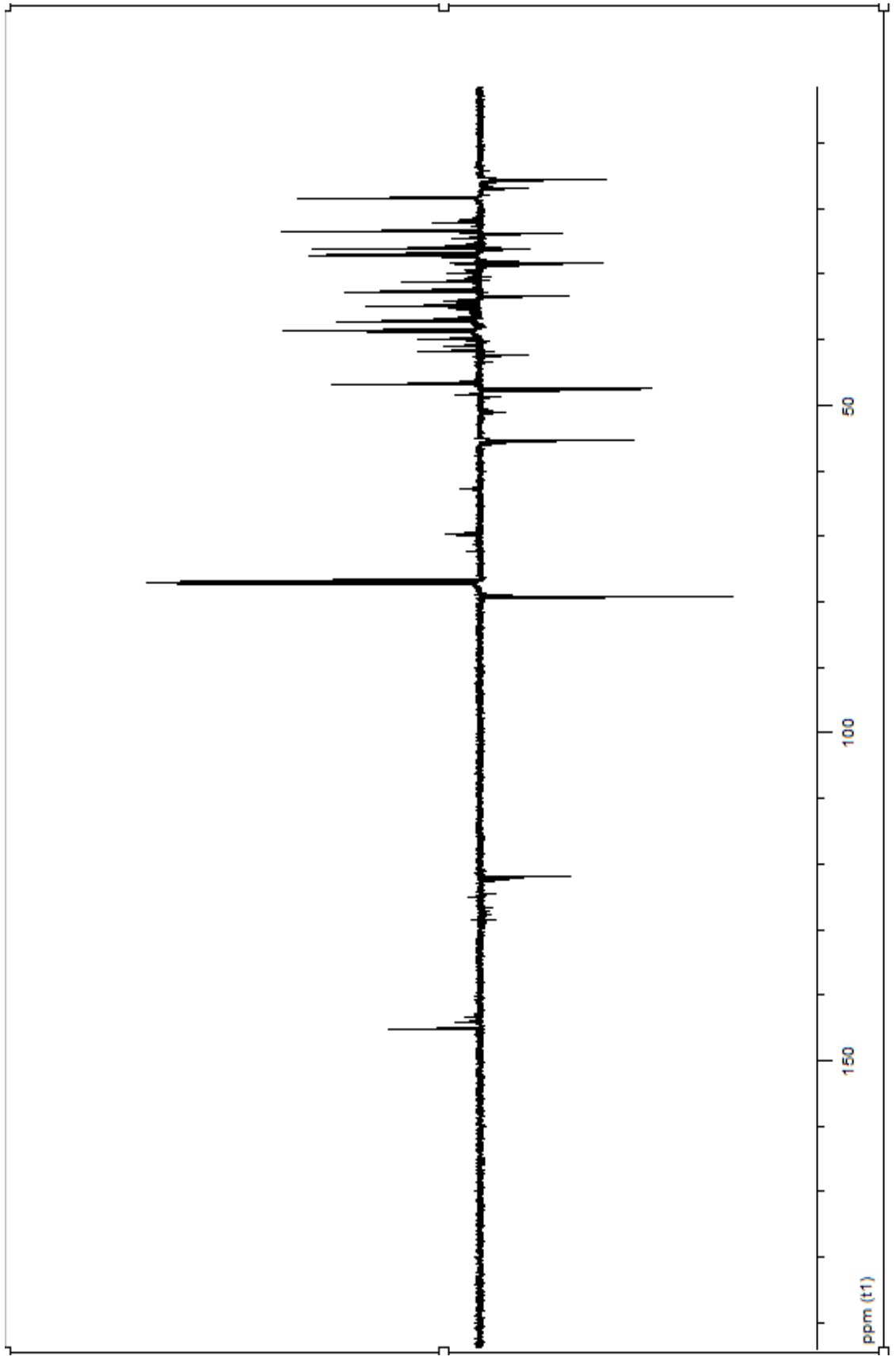


^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 5.17 (1H, t, J = 3.7 Hz, olefinik H-12), 3.21 (1H, dd, J = 4.4, 11.0 Hz, H-3), 1.97 (1H, dd, J = 4.4, 13.9 Hz, H-18) ppm.

^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 145.2 (C-13), 121.7 (C-12), 79.0 (C-3), 55.2 (C-18), 47.6 (C-11), 47.2 (C-14), 46.8 (C-17), 41.7, 39.8, 38.8, 38.6, 37.1, 36.9, 34.7, 33.4, 32.6, 32.5, 31.1, 29.9, 28.4, 27.2, 26.9, 26.2, 26.0, 23.7, 23.5, 18.4, 16.8, 15.6, 15.5 ppm.



Şekil 4.59 β -Amirin (**3**)' in ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3)



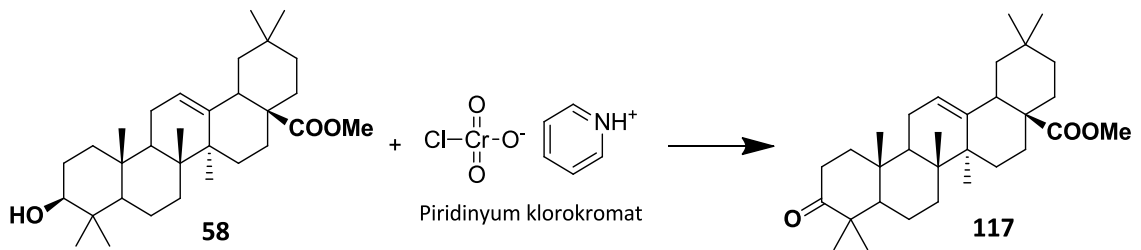
Şekil 4.60 β -Amirin (**3**)' in APT spektrumu (CDCl_3)

4.4.32 Oleanan Türevlerinin Sentezi

Sentez adımlarının ikinci aşamasında belirtilen hedef molekül **2'** nin sentezi için önerilen sentez adımlarında, C-28 karbonundaki asit grubu metil (-CH₃) grubuna indirgenmeden ester türevine (-COOMe) dönüştürülerek devam edilmiştir. Grubumuz tarafından yapılan doking çalışmaları, asit esterindeki karbonil grubunun (C=O), molekül-protein uyumluluğunda daha iyi etki gösterdiği ve molekülün proteinin aktif bölgesine daha iyi bağlandığını ortaya koymuştur. Bu nedenle hedef molekülün sentezinde asit grubu (-COOH) indirgenmeden çoklu hidroksi grupları taşıyan triterpen türevlerinin elde edilmesi için oleanolik asit metil esteri **58**, çıkış bileşiği olarak kullanılmıştır.

4.4.33 3-Okso, olean-12-en, 28-metil ester (**117**)' in Sentezi

Primer ve sekonder alkoller literatürde bilinen birçok yöntemle yükseltgenebilmektedir. En çok kullanılan yöntemler arasında Jones reaktifi (CrO₃/H₂SO₄), kromik asit H₂CrO₄, PCC ve PDC ile yükseltgeme yer almaktadır. PCC (piridinyum klorokromat) reaktifi yükseltgeme reaksiyonlarında reaksiyon şartları açısından daha avantajlı çalışma koşulları sağlar. Diğer reaktifler çok asitik ortam oluşturması nedeniyle molekül yapılarının parçalanmasına sebebiyet verebilir fakat PCC kontrollü asitik ortam oluşmasıyla yan ürün oluşumunu engellemektedir. Ayrıca sentez sonrasında saflaştırma işlemlerinde kolaylık sağlaması ve yüksek verimde ürün elde edilmesinde tercih edilme nedenidir.



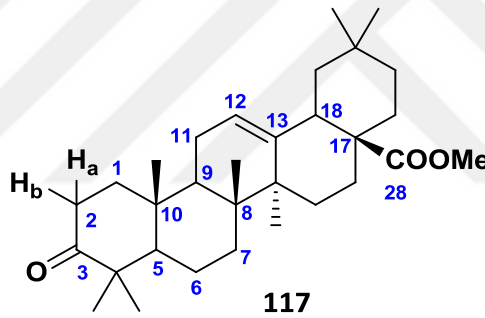
250 mL yuvarlak dipli iki boyunlu balon içerisine PCC (1.40 g, 10.33 mmol) ve 250 mg Al₂O₃ ilave edildi. Daha sonra üzerine 150 mL kuru CH₂Cl₂ ilave edilerek ortama azot gazı takıldı ve karıştırılmaya bırakıldı. Sisteme vakum yapılarak ortamdan oksijen uzaklaştırıldı. Daha sonra karışım üzerine azot atmosferinde kuru CH₂Cl₂ içerisinde çözünmüş olan bileşik **58** (2.86 g, 6.08 mmol) enjektör yardımıyla yavaşça ilave edildi. Reaksiyon azot atmosferinde ve oda sıcaklığında gece boyunca karıştırılmaya bırakıldı ve

TLC ile kontrol edilerek devam ettirildi. 20 saat sonrasında çıkış bileşiğinin TLC de tükendiği gözlenince durduruldu ve reaksiyon karışımı önce silika jel kolondan süzüldü ve ardından %5' lik (*n*-Hekzan/EtOAc, 95 mL/5 mL) çözücü karışımı kullanılarak kolon kromatografisinde saflaştırıldı. Saflaştırma işlemlerinin ardından bileşik **117** elde edildi (2.5 g).

Beyaz katı; R_f: 0.78 (4/1, *n*-Hekzan/Etil asetat); %88 verim.

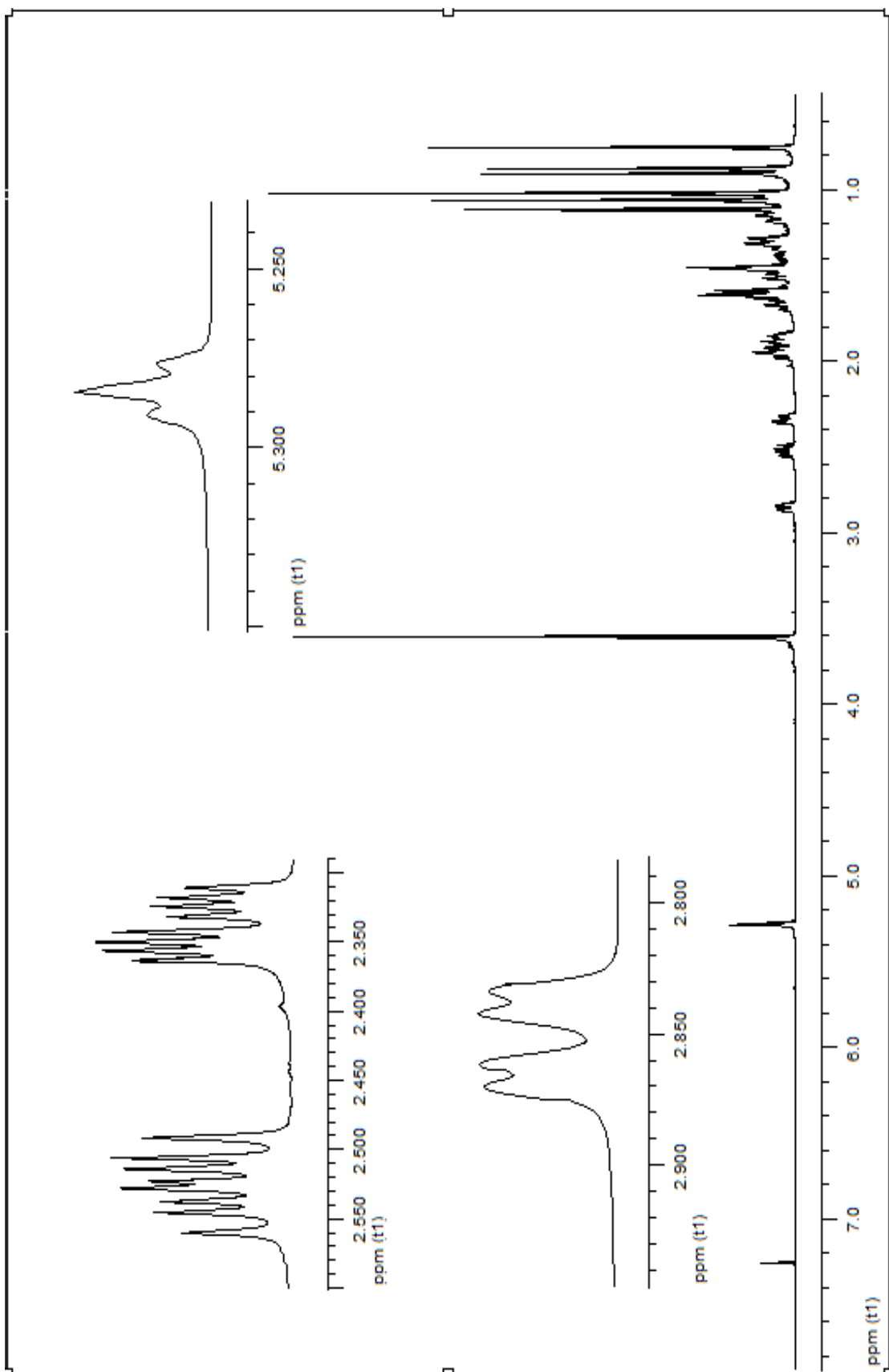
4.4.34 Bileşik 117'nin Spektroskopik Analiz Verileri

Moleküle ait ¹H-NMR spektrumu incelendiğinde C-2 karbonuna bağlı protonlar H_a ve H_b sırasıyla 2.53 ppm ve 2.34 ppm' de dubletin dubletin dubleti (ddd) olarak rezonans olduğu ve yine C-2 karbonil karbonunun 217.7 ppm de rezonans olması yapıyı doğrulamaktadır. Ayrıca H-12 protonu 5.29 ppm' de triplet, H-18 protonu 2.86 ppm' de dubletin dubleti olarak rezonans olmaktadır.

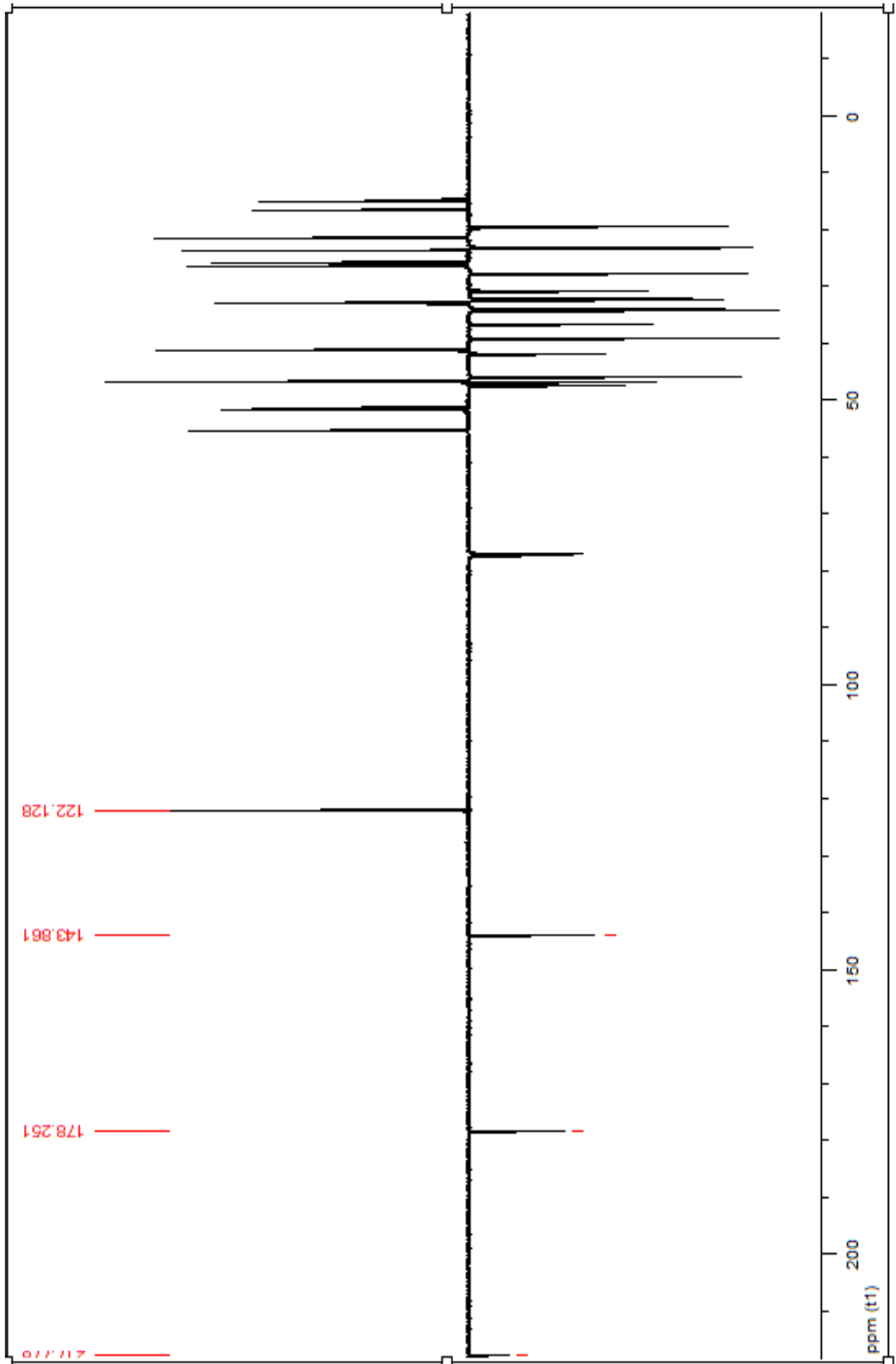


¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 5.29 (1H, t, *J* = 3.6 Hz, olefinik H-12), 3.62 (3H, s, O=C-OCH₃), 2.86 (1H, dd, *J* = 4.3, 13.9 Hz, H-18), 2.53 (1H_a, ddd, *J* = 7.2, 11.2, 15.9 Hz, H-2), 2.34 (1H_b, ddd, *J* = 3.6, 6.7, 10.3 Hz, H-2) ppm.

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ: 217.7 (C-3), 178.2 (C-28), 143.8 (C-13), 122.1 (C-12), 55.3 (OCH₃), 51.5 (C-18), 47.4 (C-14), 46.8 (C-11), 46.6 (C-17), 45.7, 41.7, 41.3, 39.2, 39.0, 36.7, 34.1, 33.8, 33.0, 32.2, 32.1, 30.6, 27.6, 26.3, 25.7, 23.5, 23.4, 23.0, 21.4, 19.5, 16.7, 14.9 ppm.



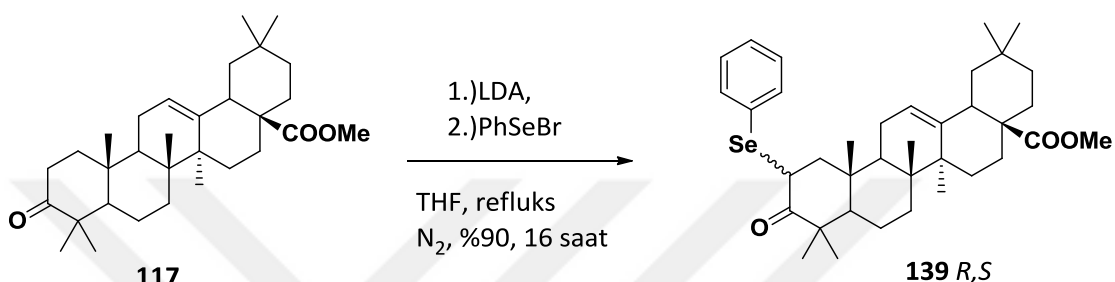
Şekil 4.61 Bileşik **117'** nin ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3)



Şekil 4.62 Bileşik 117'nin APT spektrumu (CDCl₃)

4.4.35 3-Okso, olean-12-en, 28-metil ester (117)'in α -Selenleme Reaksiyonu

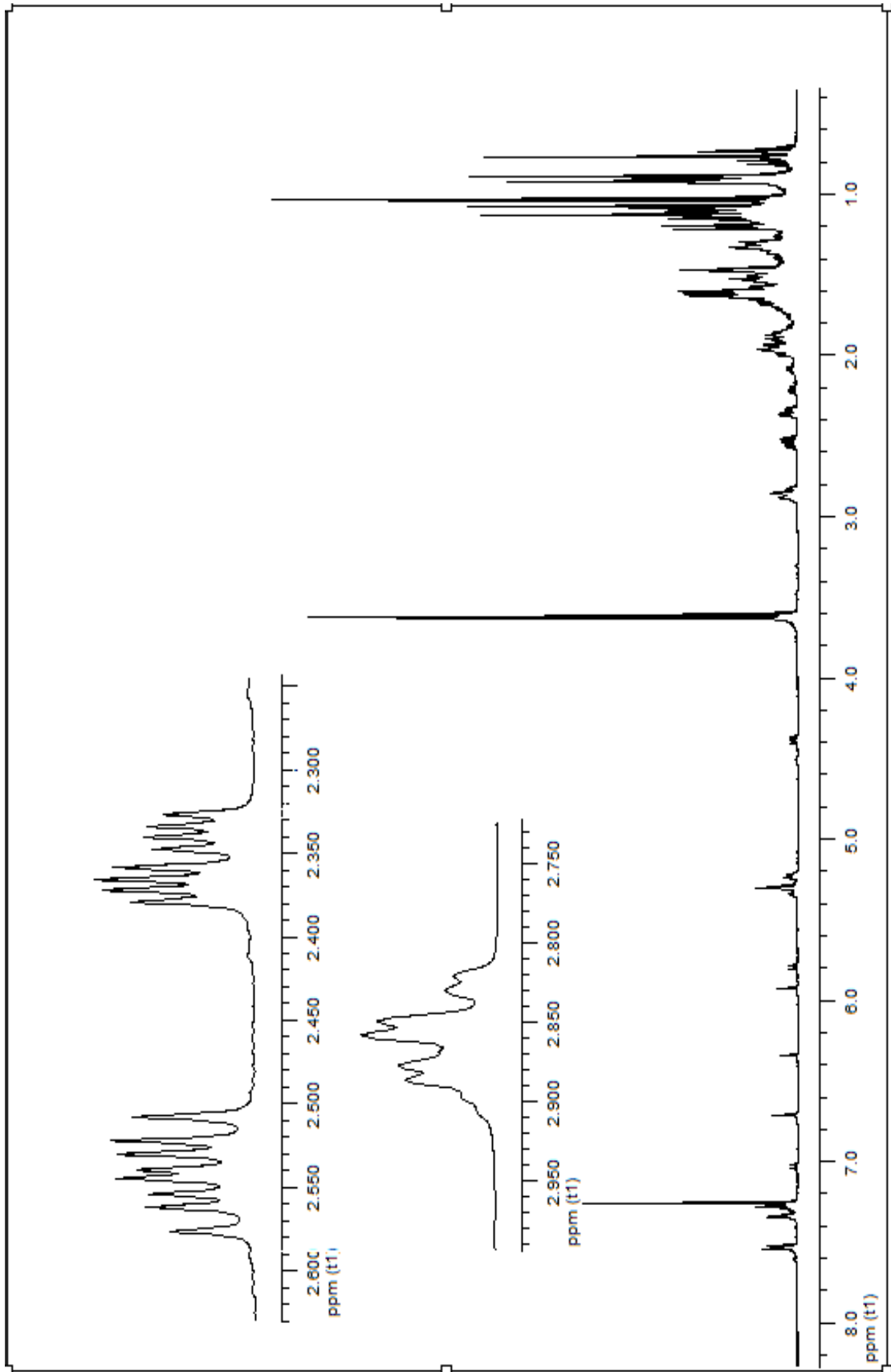
3-Okso, olean-12-en, 28-metil ester (117) bileşiğinin keton grubuna göre alfa pozisyonunda bulunan asidik proton LDA (lityum diizopropilamin) ile kopartıldı. Daha sonra nükleofilik merkezle PhSeBr reaktifi etkileştirilerek yapıya fenil selenyum grubu takıldı. Alfa pozisyonuna fenil selenyum grubu takıldığında rasemik (*R,S*) ürün karışımı oluşmaktadır. Bir sonraki reaksiyonda fenil selenyum grubu uzaklaştırıldığından tek ürün oluşacağı için herhangi bir saflaştırma işlemi yapılmadı.



Reaksiyon oda sıcaklığında 250 mL'lik iki boyunlu cam balon içerisine sırasıyla 150 mL THF, Bileşik 117 (500 mg; 1.07 mmol) konuldu ve karıştırılmaya bırakıldı. Cam balon üzerine geri soğutucu yerleştirildi ve sistem ortam atmosferine kapatılarak içerisinden azot gazı geçirildi. İnert bir atmosfer oluşturulduktan sonra enjektör yardımıyla THF içerisindeki 2M'lık LDA (587 μ L; 1.17 mmol) reaksiyon kabına yavaşça ilave edildi ve 15 dakika karıştırma işlemi gerçekleştirildi. Daha sonra 10 mL THF içerisinde çözülen PhSeBr (277 mg; 1.17 mmol) reaksiyon ortamına enjektör yardımıyla ilave edildi. Reaksiyon sıcaklığı artırılarak reflux sıcaklığında karıştırılmaya bırakıldı. Yapılan TLC kontrolleri sonrasında reaksiyon 16 saat sonra durdurularak suyla bozuldu. Çözücü karışımı rotari evaporatörden uzaklaştırıldı. Geriye kalan kalıntı klorofom (CHCl₃) ile çözülerek üç kez suyla ekstraksiyon işlemi yapıldı. Organik faz Na₂SO₄ üzerinden kurutularak uzaklaştırıldı. Elde edilen madde kolon kromatografisi yöntemiyle "silika kolondan %10'luk *n*-Hekzan/Etil asetat; (sırasıyla (90 mL/10 mL)) çözücü karışımı geçirilerek" saflaştırıldı (600 mg).

Açık sarı renkte katı; R_f: 0.6 (4/1, *n*-Hekzan/Etil asetat); %90 verim.

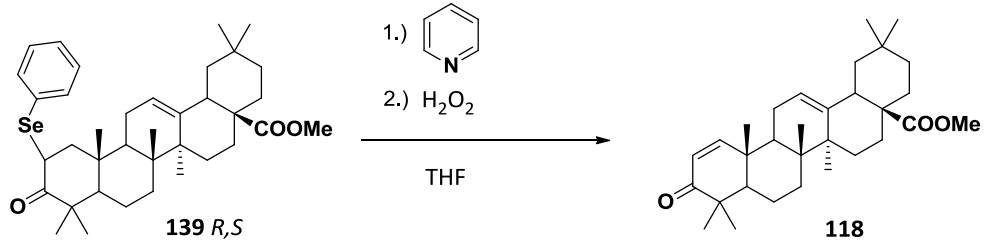
Ara kademedede elde edilen bir ürün olduğu için ¹H-NMR spektrumu alındı. Yapıyla uyumlu olduğu görüldükten sonra bir sonraki reaksiyona geçildi.



Şekil 4.63 Bileşik **139'** un ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3)

4.4.36 α,β -Doymamış Oleanolik Asit Türevi "3-Okso, olean-1,12-dien, 28-metil ester" (118)'in Sentezi

α -Selenlenmiş ürün **139**, piridin ve H₂O₂ varlığında tepkimeye sokularak selenyum atomunun oksitlenmesi suretiyle hedeflenen bileşik **118** sentezlendi.

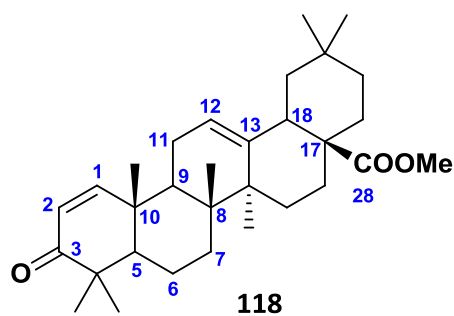


50 mL' lik tek boyunlu yuvarlak cam balon içerisine bileşik **139** (80 mg; 128 μ mol) konuldu ve üzerine 20 mL CH₂Cl₂ ilave edilerek oda sıcaklığında karıştırıldı. Daha sonra reaksiyon balonunun üzerine sırasıyla piridin (21 mg; 254 μ mol) ve hidrojen peroksit (122 mg; 1.26 mmol) ilave edildi. Reaksiyon karışımı TLC ile kontrol edilerek 6 saat sonra durduruldu. Karışım CH₂Cl₂/Su (50 mL/50 mL) içerisinde ekstraksiyon yapıldı ve organik faz üç kez su ile yıkanarak Na₂SO₄ üzerinden kurutuldu. Süzme işleminden sonra çözücü uzaklaştırıldı ve geriye kalan kalıntı saflaştırma işlemlerinden geçirilerek hedeflenen α,β -doymamış bileşik **118** elde edildi (48 mg).

Beyaz katı; R_f: 0.78 (4/1, *n*-Hekzan/Etil asetat); %80 verim.

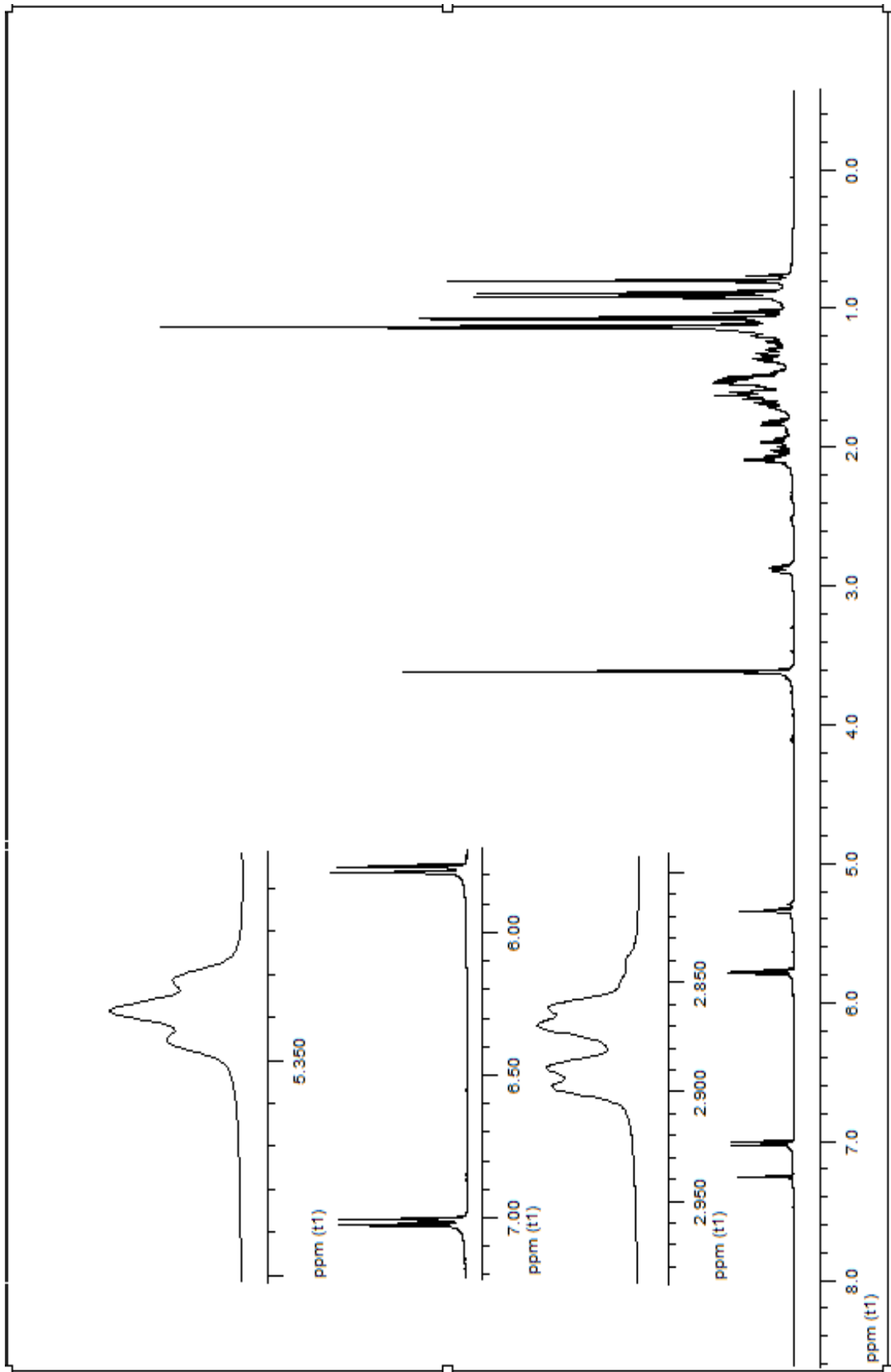
4.4.37 Bileşik 118'in Spektroskopik Analiz Verileri

Moleküle ait ¹H-NMR spektrumu incelendiğinde öncü çıkış bileşiği **117**' deki C-2 karbonuna bağlı α -protonlarının sırasıyla 2.53 ppm ve 2.34 ppm' deki dubletin dubletin dubleti (ddd) sinyallerinin kaybolduğu yerine α,β -doymamış sistemine ait sinyallerin oluştuğu görülmektedir. Bileşikteki α,β -doymamış sistemine ait β -protonu (H-1) aşağı alana kayarak 7.01 ppm' de dublet olarak rezonans olması molekül yapısını doğrulamaktadır. H-2 protonu 5.78 ppm' de dublet, 5.33 ppm' de H-12 protonu triplet, 2.88 ppm' de H-18 protonu dubletin dubleti (dd) olarak rezonans olmaktadır.

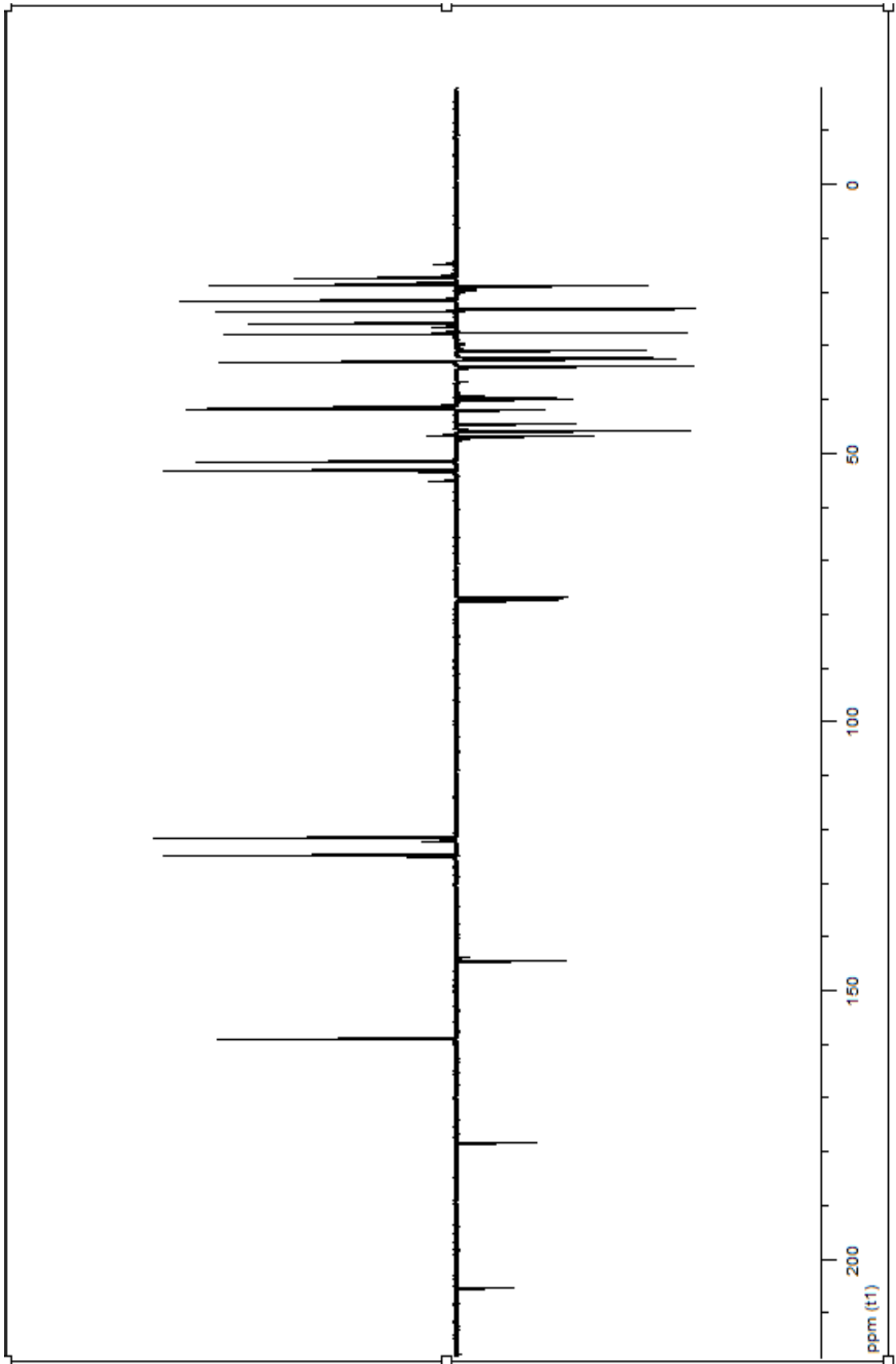


¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 7.01 (1H, d, *J* = 10.1 Hz, H-1), 5.78 (1H, d, *J* = 10.1 Hz, H-2), 5.33 (1H, t, *J* = 3.4 Hz, olefinik H-12), 3.61 (3H, s, O=C-OCH₃), 2.88 (1H, dd, *J* = 4.2, 13.9 Hz, H-18) ppm.

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ: 205.2 (C-3), 178.1 (C-28), 158.9 (C-1), 144.2 (C-13), 125.0 (C-2), 121.6 (C-12), 55.3 (OCH₃), 51.5 (C-18), 46.7 (C-14), 45.6 (C-11), 44.4 (C-17), 41.9, 41.7, 41.4, 40.0, 39.4, 33.8, 33.0, 32.4, 32.2, 30.6, 27.7, 27.6, 25.7, 23.5, 23.2, 22.9, 21.5, 18.8, 18.5, 17.2 ppm.



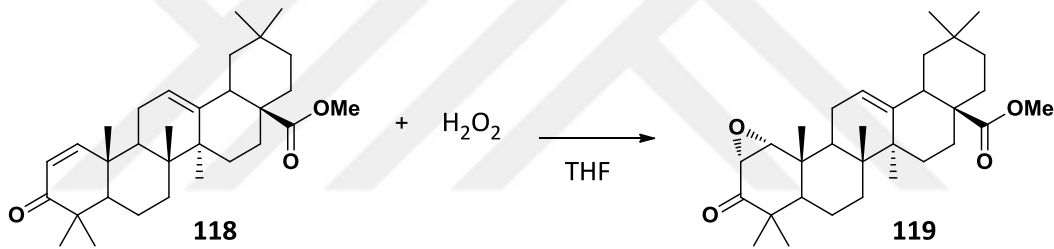
Şekil 4.64 Bileşik **118'** in ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3)



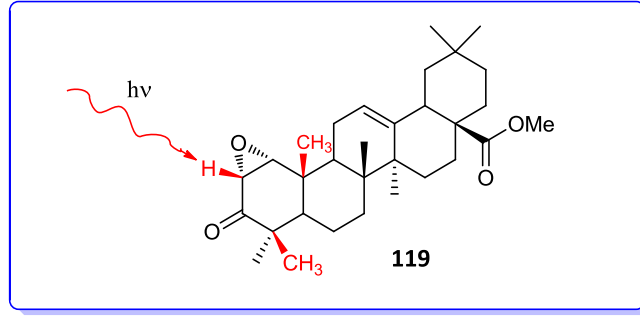
Şekil 4.65 Bileşik **118'** in APT spektrumu (CDCl_3)

4.4.38 3-Okso-1,2-epoksi, olean 12-en metil ester (119)' in Sentezi

Sentezi gerçekleştirilen **118** bileşiğinin nükleofilik asimetrik epoksidasyon yöntemi [101], [102] ile iki çift bağdan daha pozitif karaktere sahip olan α,β -doymamış bağı seçimli olarak epoksit türevine dönüştürülmek istendi. Bunun için bileşik **118** *t*-bütilhidroperoksit (HOOBut) ile muamele edildi. Fakat yaptığımız tüm denemelere rağmen hiçbir şekilde molekül reaktif ile reaksiyon vermedi. Önceden de tecrübe ettiğimiz gibi molekülün elektronik yapısı gereği reaksiyon merkezleri genel olarak sterik açıdan engelli olduğu için büyük hacimdeki reaktifler molekül üzerinde çalışmıyor. Bu nedenle molekülü bazik şartlarda hacimce daha küçük reaktif olan hidrojen peroksit (H_2O_2) ile etkileştirdik reaksiyon sonunda tek bir ürün olduğunu TLC den gözlemledik. Aldırdığımız NMR spektrumunda α,β -doymamış sistemine ait 5.71 ppm ve 6.95 ppm deki iki dublet pikinin kaybolduğu ve olefinik çift bağa ait 5.26 ppm deki (H-12) triplet pikinin değişmediği görüldü.



Bazik ortam oluşturularak yapılan epoksidasyon sonucu moleküldeki α,β -doymamış çift bağa H_2O_2 iki yüzeyden de yaklaşabilir. Ancak molekülde alilik pozisyonda bulunan metil ($-CH_3$) grubunun β (yukarı) yönlenmiş olmasından dolayı metil grubu sterik engel oluşturmaktadır. Bu nedenle H_2O_2 reaktifinin alt yüzden saldırması daha muhtemeldir. Elde edilen molekülün stereokimyasından emin olmak için C-2 pozisyonundaki 3.51 ppm' de rezonans olan H-2 alfa protonu ışınladı. Şekil 4.66' da önerilen yapıda molekülün stereokimyası gösterildiği gibi olursa NOESY spektrumunda belirtilen H-2 protonuyla aynı yönlü bulunan her iki metil ($-CH_3$) grubunun pik şiddetlerinde azalma olması beklenmektedir. Alınan NOESY spektrumunda her iki metil grubunun pik boylarında azalma görüldü ve böylece verilen yapının stereokimyası kesin olarak belirlendi (Şekil 4.67). Karbon ^{13}C -NMR spektrumunun 140-210 ppm arası genişletildiğinde karbon piklerinde yarıma görülmemektedir (Şekil 4.68). Hidrojen ve karbon NMR spektrumlarının yapıyla birebir uyumlu olduğu görülmektedir.



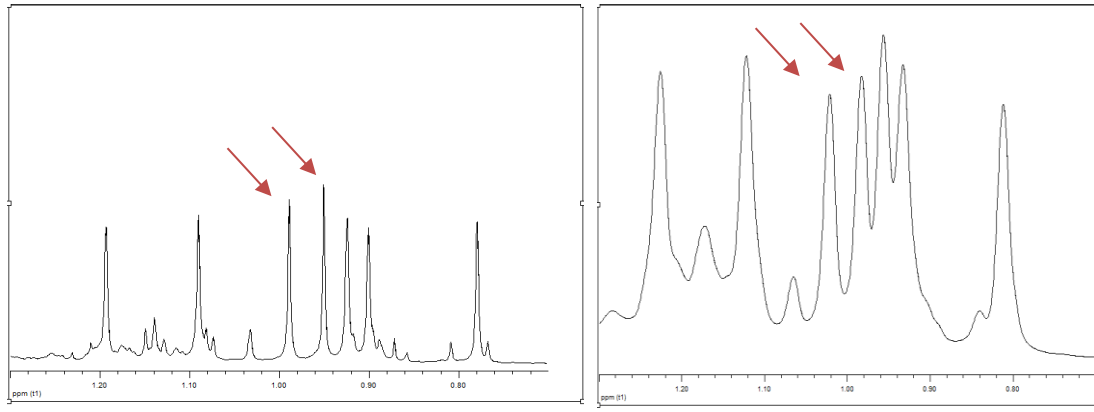
Şekil 4.66 Bileşik **119'** un yapısı

Yuvarlak dipli cam balon içlerine sırasıyla metanol (100 mL), Bileşik **118** (1.41 g, 3.02 mmol) ve NaOH (169 mg, 4.23 mmol) ilave edildi ve 30 dakika boyunca buz banyosunda karıştırıldı. NaOH parçacıkları iyice çözündükten sonra reaktörün üzerine H₂O₂ (2.6 mL, 30.21 mmol) damla damla ilave edildi. TLC ile çıkış bileşiğinin reaksiyon ortamında kalmadığı ana kadar reaksiyon oda sıcaklığında karıştırıldı. Reaksiyon karışımı 1 M HCl çözeltisiyle sonlandırıldı. Reaksiyon çözücüsü vakum altında uzaklaştırıldı. Geriye kalan kalıntı EtOAc ile çözülerek suyla üç kez ekstraksiyon (yıkama) yapıldı. Bir araya toplanan organik faz Na₂SO₄ üzerinden kurutuldu, sonra süzüldü ve vakum altında uzaklaştırıldı (1.37 g).

Beyaz katı; R_f: 0.88 (4/1, *n*-Hekzan/Etil asetat); %94 verim.

4.4.39 Bileşik **119'** un Spektroskopik Analiz Verileri

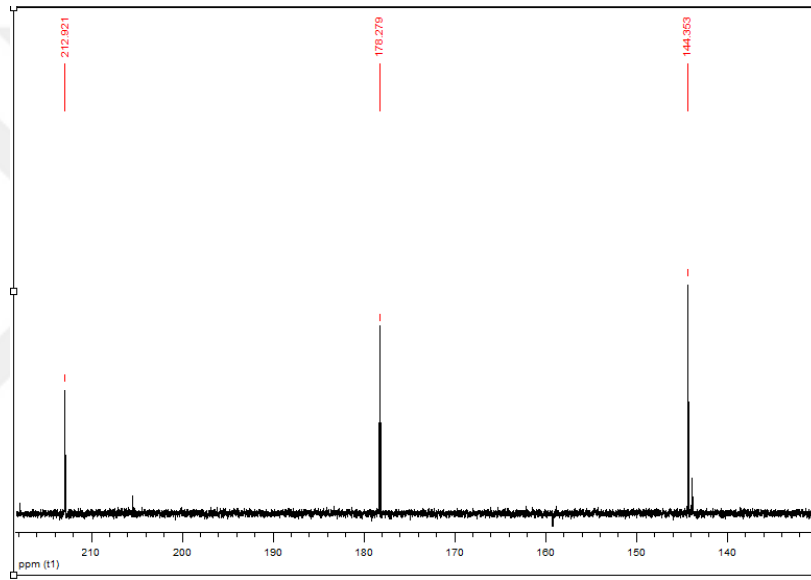
Bileşiğin ¹H-NMR spektrumu incelendiğinde α-β doymamış sistemine ait çift bağ piklerinin kaybolduğu ve daha yukarı alanda epoksit yapısındaki karbonlara bağlı hidrojenlerin rezonans olduğu gözlemlenmiştir. C-2 karbonuna bağlı α-protonunun 3.49 ppm, H-1 protonunun 3.35 ppm' de dublet (d) olarak rezonans olmaktadır. Ayrıca moleküle ait 3.62 ppm' de metoksi protonları singlet, 5.33 ppm' de H-12 protonu triplet, 2.88 ppm' de H-18 protonu dubletin dubleti (dd) olarak rezonans olmaktadır.



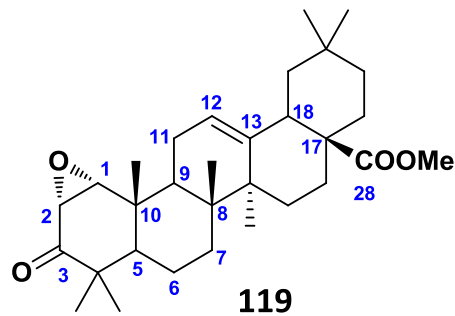
^1H -NMR spektrumu

NOESY spektrumu

Şekil 4.67 Bileşik **119**'a ait ^1H -NMR ve NOESY spektrumlarının karşılaştırılması



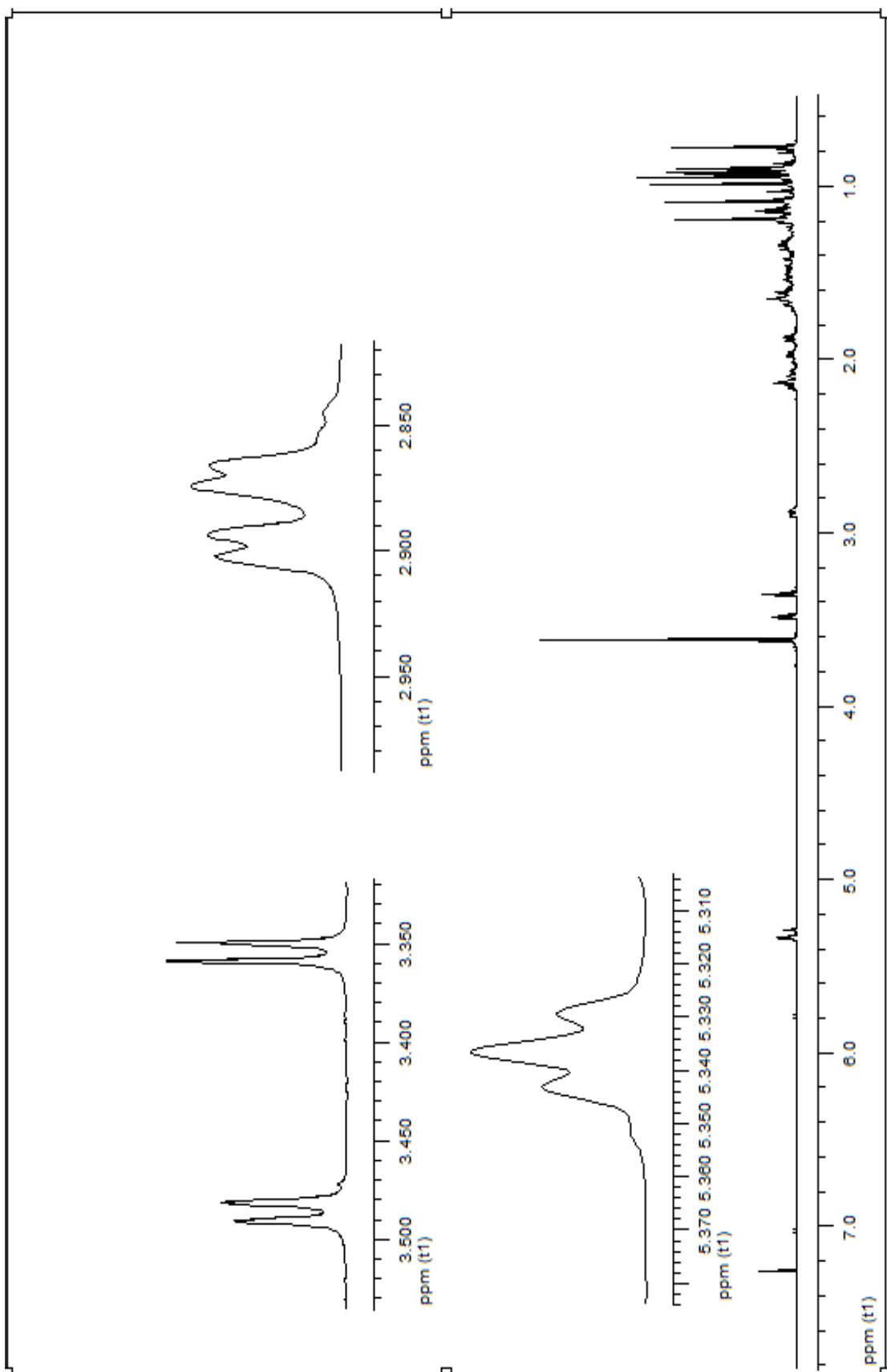
Şekil 4.68 Bileşik **119**'a ait genişletilmiş ^{13}C -NMR spektrumu



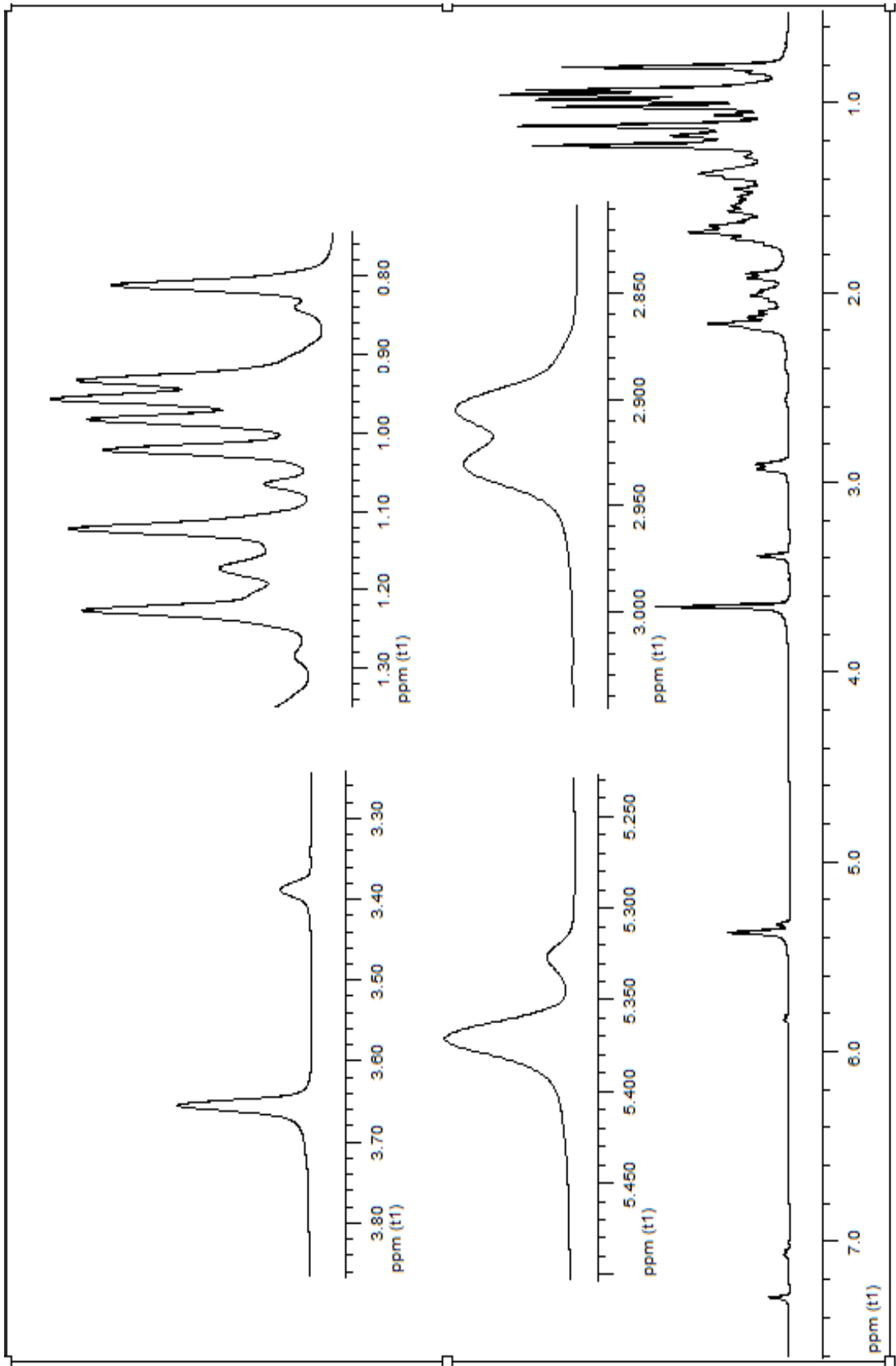
^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 5.33 (1H, t, J = 3.2 Hz, olefinik H-12), 3.62 (3H, s, $\text{O}=\text{C}-\text{OCH}_3$), 3.49 (1H, d, J = 4.6 Hz, H-2), 3.35 (1H, d, J = 4.6 Hz, H-1), 2.88 (1H, dd, J = 4.3, 14.0 Hz, H-18) ppm.

^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 212.9 (C-3), 178.2 (C-28), 144.3 (C-13), 121.5 (C-12), 63.9 (C-2), 63.9 (C-1), 56.9 (OCH_3), 51.6 (C-18), 46.8 (C-14), 46.0 (C-11), 45.7 (C-17), 44.8, 41.9, 41.5, 40.6, 39.5, 38.6, 33.9, 33.1, 32.3, 32.1, 30.7, 28.0, 27.7, 25.8, 23.8, 23.6, 23.0, 20.9, 17.2, 14.9 ppm.

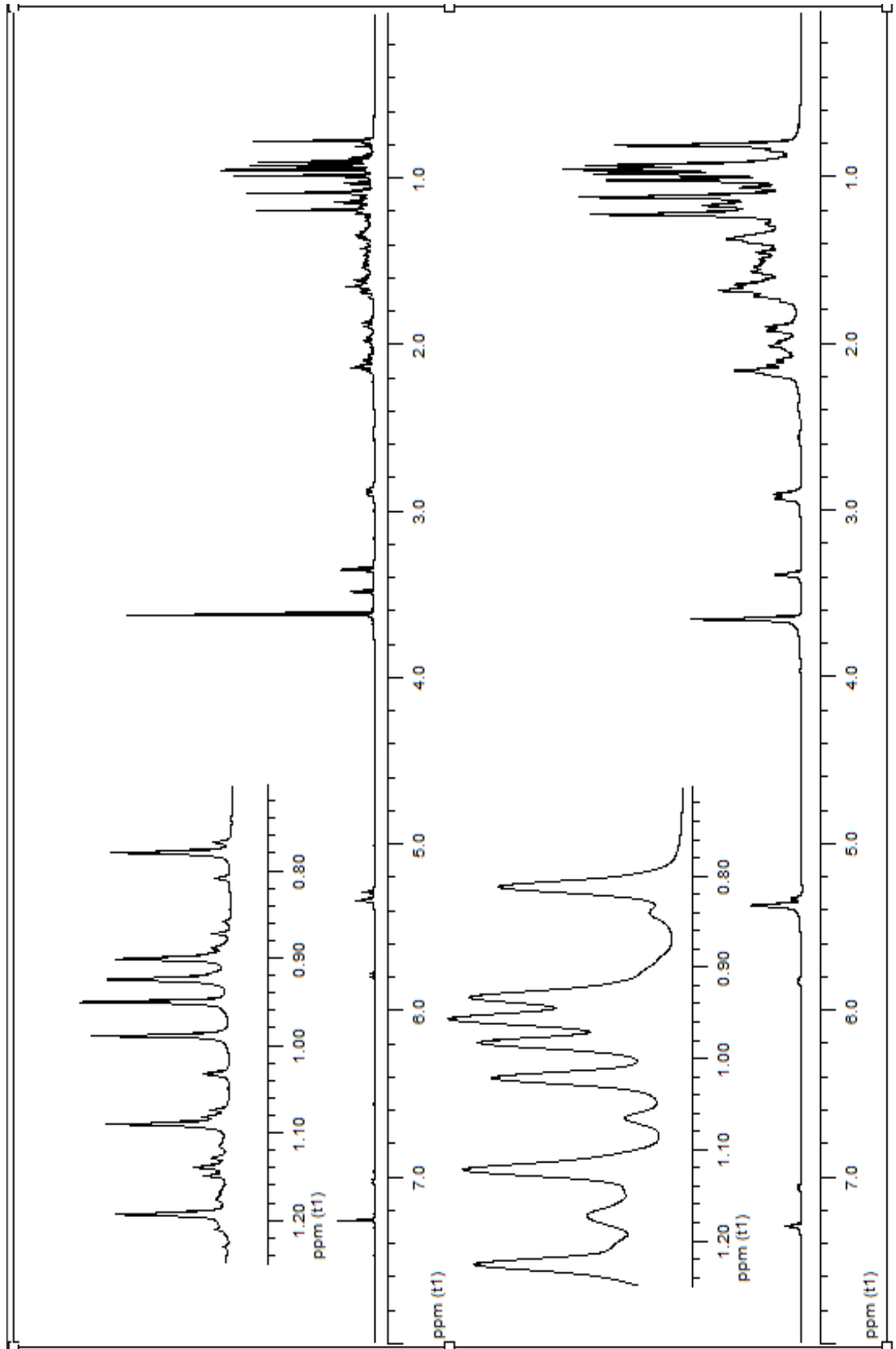




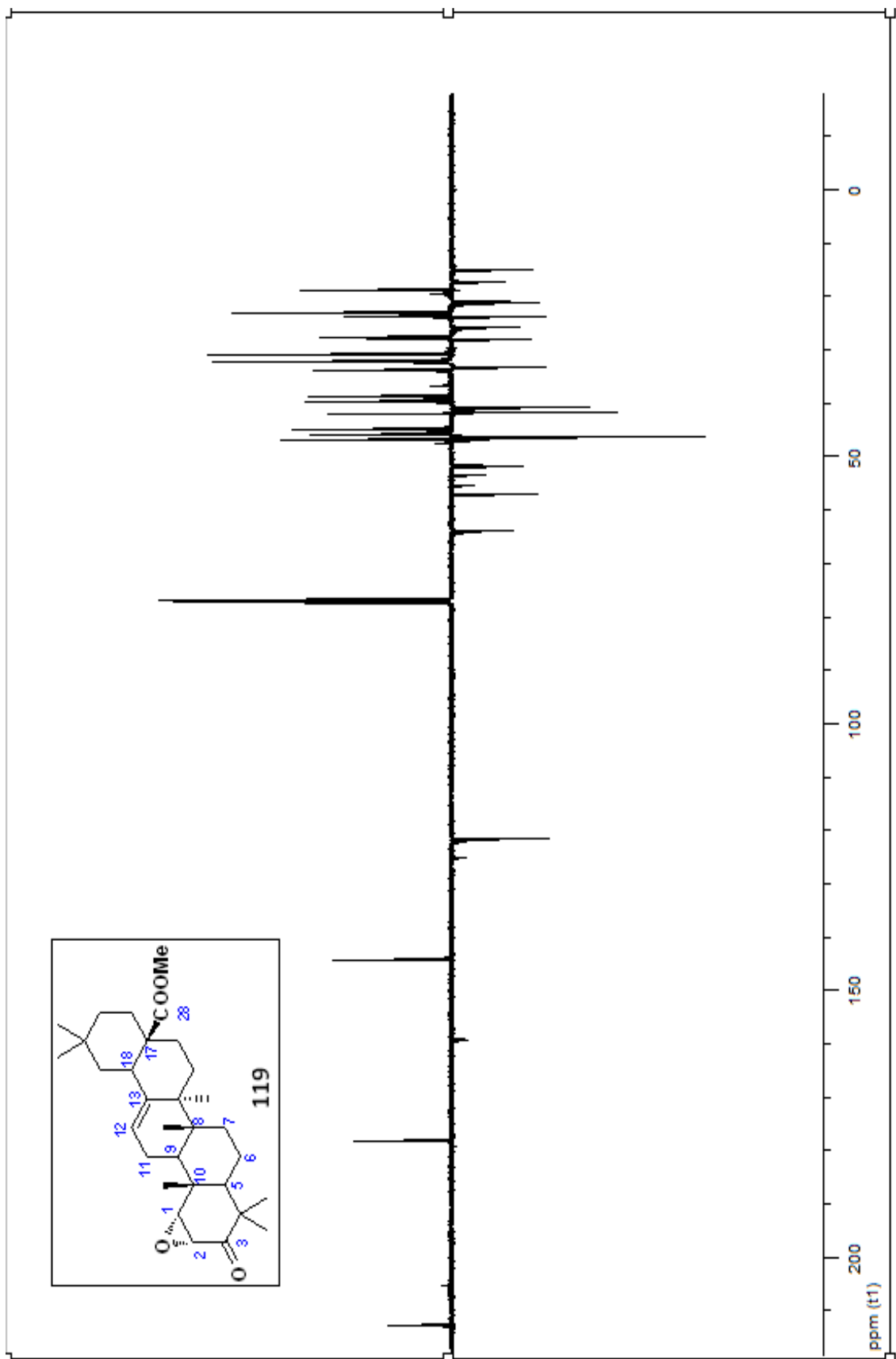
Şekil 4.69 Bileşik **119'** un ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3)



Şekil 4.70 Bileşik **119'** un NOESY spektrumu (CDCl_3)



Şekil 4.71 Bileşik **119'** un ^1H -NMR ve NOESY spektrumlarının birlikte gösterimi



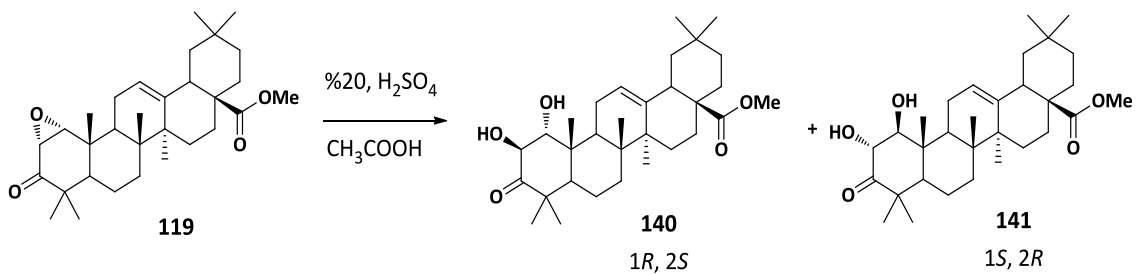
Şekil 4.72 Bileşik **119'** un APT spektrumu (CDCl_3)

4.4.40 1-2,Dihidroksi-3-okso, olean-12-en metil esteri (140) ve (141)'in Sentezi

Epoksi-oleanolik asit ester türevi bileşik **119** hem bazik hem de asidik şartlar altında reaksiyonlara tabii tutuldu. Reaksiyon şartları üzerinde konsantrasyon, süre, çözücü ve sıcaklık gibi tüm parametreler değiştirilerek reaksiyonlar tekrarlandı ve tüm denemelere rağmen epoksit halkası asidik ve bazik şartlarda açılmadı. Ayrıca bazik şartlarda ester grubunda da hiçbir değişim olmadı. 2009 yılında Baran ve Balci [103], yaptıkları çalışmada epoksit bileşiklerini asidik şartlarda (asetik asit/asetik anhidrit) açıp oluşan hidroksi yapılarını asetil türevine dönüştürmüşlerdir. Bizde reaksiyon şartlarını asetik asit içerisinde ortama %20' lik H_2SO_4 ilave ederek refluks düzeneğinde kurarak oluşturduk ve ortamda epoksit halkasının açıldığını yan ürünlerin oluştuğunu gözlemledik. Elde edilen izomerik karışım önce kolon kromatografisi yardımıyla (%3 EtOAc/*n*-Hekzan (3 mL/97 mL) çözücü karışımı; 1.80 cm uzunluğunda 1 cm yarıçapında kolon) sonra metanol içerisinde kristallendirmeye saflaştırılmaya çalışıldı. Elde edilen diastereoizomerik karışım tüm denemelere rağmen birbirinden ayrıştırılamadı.

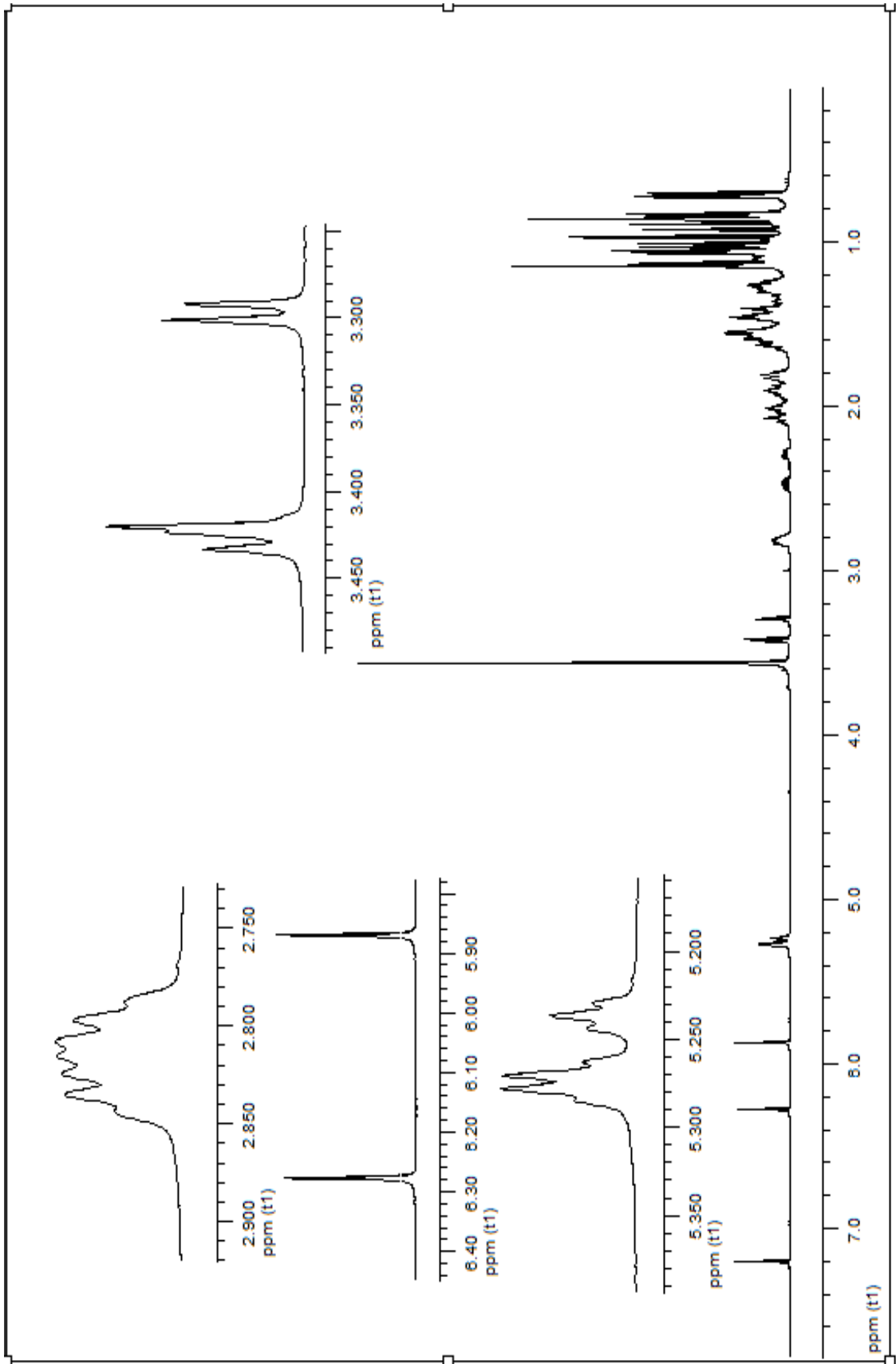
Çizelge 4.2 1-2,Dihidroksi-3-okso, olean-12-en metil esteri (**140**) ve (**141**)' in reaksiyon şartları

Çözücü	Reaktif	Sıcaklık	Konsantrasyon	Süre	Reaksiyon
THF	NaOH	25 °C	1 eq	1 gün	Olmadı.
THF/H ₂ O	NaOH	Refluks	4 eq	4 gün	Olmadı.
DMSO/H ₂ O	KOH	Refluks	2 eq	2 gün	Olmadı.
THF/ H ₂ O	H ₂ SO ₄	25 °C	%20	1 gün	Olmadı.
Dioksan/H ₂ O	H ₂ SO ₄	Refluks	%20	2 gün	Olmadı.
CH ₃ COOH	H ₂ SO ₄	Refluks	%20	4 saat	Oldu.



Yuvarlak dipli cam balon içine sırasıyla asetik asit (CH_3COOH , 30 mL), Bileşik **119** (1.00 g, 2.07 mmol) ilave edildi ve 10 dk karıştırıldı. Üzerine %20' lik H_2SO_4 (10 mL) ilave edilerek balon üzerine kondenser takıldı ve reaksiyon refluks sıcaklığına çıkarılarak 2 saat boyunca karıştırıldı. Yapılan TLC sonucu reaksiyon ortamında çıkış bileşiğinin kalmadığı görüldü ve 1 M NaHCO_3 ile reaksiyon durduruldu. Reaksiyon karışımı üzerine klorofom ilave edildi ve 3 kez ekstraksiyon yapıldı. Bir araya toplanan organik faz Na_2SO_4 üzerinden kurutuldu, sonra süzüldü ve vakum altında uzaklaştırıldı. Hedef madde kolon (1,80 cm boy, 1 cm yarıçap) kromatografisi yardımıyla kolondan %3 lük çözücü karışımı ($\text{EtOAc}/n\text{-Hekzan}$, 3 mL/ 97 mL) geçirilerek saflaştırıldı. Kolondan karışım halinde gelen stereoizomerler bileşik **140** ve **141** metanol içerisinde sıcakta çözülerek buzdolabında kristallenmeye bırakıldı. Elde edilen kristallerden alınan $^1\text{H-NMR}$ spektrumunda izomerlerin ayrılmadığı görüldü. İzomerik karışım %65 verimle saf beyaz katı olarak elde edildi (730 mg). Karışıma ait $^1\text{H-NMR}$ spektrumu şekil 4.73' de verilmiştir.

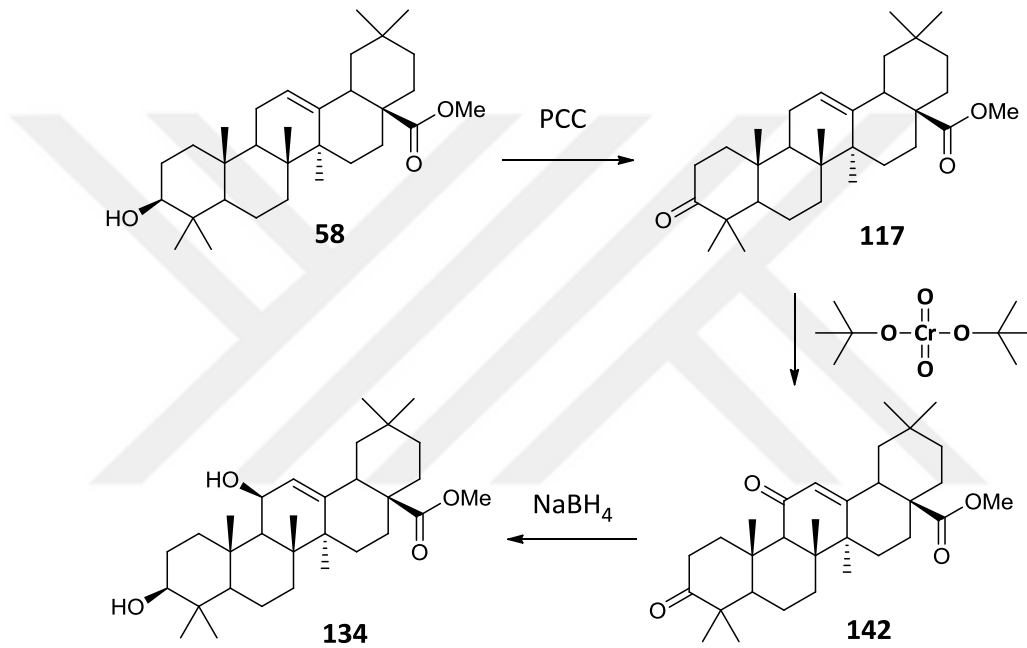
Hedef molekülün sentezinde bu basamaktan sonraki birçok reaksiyon sonunda stereo merkezlerin oluşması ve oluşan izomerik karışımların saflaştırılamamasından dolayı sentez adımları devam ettirilemedi. İn-siliko testlerde belirlenen ve enzimlerin protein yapısına en iyi bağlanan bileşik **134'** ün sentez çalışmalarına devam edildi.



Şekil 4.73 Bileşik **140** ve **141'**den oluşan diastereoizomerik karışıma ait ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3)

4.4.41 3,11-Dihidroksi, olean 1,12-dien 28-metil ester (**134**)'in Sentez Tasarımı

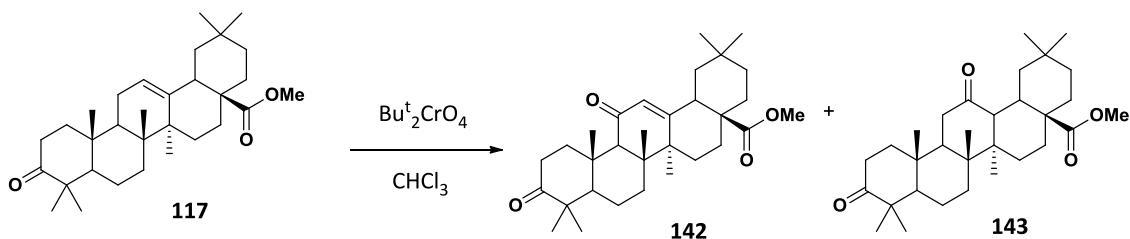
Bilgisayar destekli triterpenlerin enzim aktif bölgelerine bağlanma özellikleri sırasında yapılan in-siliko denemeleri ile yüzlerce molekül arasında en iyi bağlanma özelliği gösteren triterpen oleanan türevi bileşik **134**' ün sentez adımları tasarlandı ve en kısa yol belirlendi (Şekil 4.74). Önceki reaksiyonlarda elde edilen oleanolik asit metil ester **58**, PCC ile yükseltgenerek bileşik **117**' bileşik **117**, allilik oksidasyona maruz bırakılarak bileşik **142** ve elde edilen bileşik **142**, NaBH₄ ile indirgenerek bileşik **134**' ün sentezi gerçekleştirildi.



Şekil 4.74 3,11-Dihidroksi, olean 1,12-dien, 28-metil ester **134**' ün sentez tasarımı

4.4.42 3,11-Diokso, olean-12-en-28-metil ester Bileşik **142**'nin Sentezi

Sentezi gerçekleştirilen bileşik **117**, asetik asit ve asetik anhidrit içerisinde di-*tert*-bütil kromat (Bu₂CrO₄) ile etkileştirilerek allilik oksidasyon gerçekleştirildi. Hedef bileşik **142** ile birlikte yan ürün olarak bileşik **143**' de elde edildi. Saflaştırma sonrasında elde edilen bileşiklerin yapıları ¹H-NMR ve ¹³C-NMR sonuçlarıyla doğrulandı.



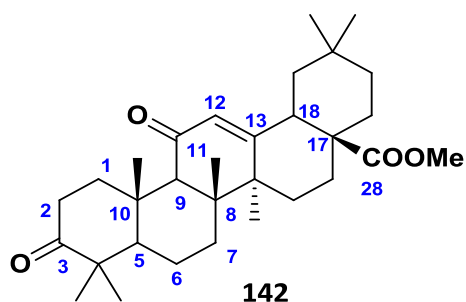
Reaksiyon balonu içerisine sırasıyla CHCl_3 (100 mL), çıkış bileşiği **117** (1 g, 2.13 mmol), asetik asit (1.82 mL, 2.13 mmol), asetik anhidrit (0.91 mL, 2.13 mmol) ve di-*tert*-butil kromat solüsyonu (1.6 M, 10 mL, 16 mmol) ilave edildi ve reaksiyon refluks düzeneğinde ısıtılarak 6 saat boyunca karıştırıldı. ıkış bileşiğinin tükenmesi üzerine reaksiyon karışımı %5' lik okzalik asit çözeltisiyle sonlandırıldı. Çözücü karışımı vakum altında uzaklaştırıldı. Sonrasında kalıntı kloroform ile çözölerek %5' lik NaHCO_3 solüsyonuyla üç kez yıkandı. Organik faz, Na_2SO_4 üzerinden kurutularak rotari evaporatörden uzaklaştırıldı. Kalıntı kolona verildi ve %10, %20, %30 EtOAc/*n*-Hekzan karışımları kolondan geçirilerek hedef molekül **142** sentezlendi. Yan ürün olarak bileşik **143** elde edildi (sırasıyla 780 mg, 120 mg).

Ana ürün **142**: beyaz katı; R_f : 0.76 (4/1, *n*-Hekzan/Etil asetat); %75 verim.

Yan ürün **143**: beyaz katı, R_f : 0.8 (4/1, *n*-Hekzan/Etil asetat); %11 verim.

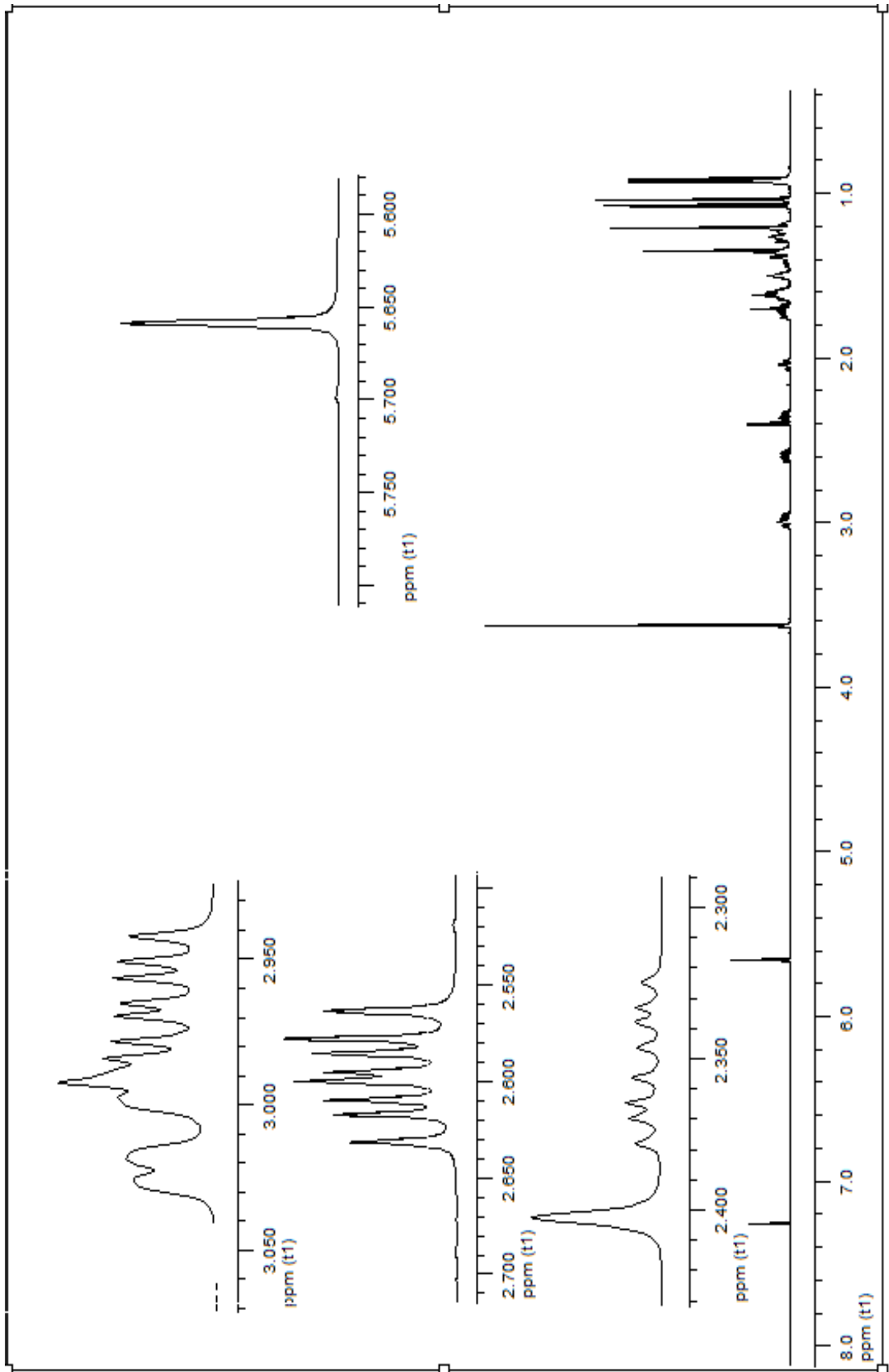
4.4.43 Bileşik 142'nin Spektroskopik Analiz Verileri

%20' lik EtOAc/*n*-Hekzan (80/20) özücü karışımı kullanılarak kolon kromatografisi ile saflaştırılan bileşik **142'** nin $^1\text{H-NMR}$ ı alındı. NMR spektrumunda en belirgin değişimin H-12 protonunda olması beklenir. C-11 karbonundaki yükseltgenme nedeniyle C-12 karbonuna komşu karbonlarında proton olmaması nedeniyle H-12 protonu singlet olarak rezonans olması ve ayrıca C-11 karbonu, karbonil grubuna dönüştüğü için H-12 protonun daha aşığı alana kayması beklenmektedir. $^1\text{H-NMR}$ spektrumu incelendiğinde, 5.65 ppm' de H-12 protonun singlet, 3.62 ppm' de OMe protonları singlet ve 2.40 ppm' de H-9 protonu singlet olarak rezonans olmaktadır. Ayrıca H-18 protonu 3.00 ppm' de dubletin dubleti olarak rezonans olmaktadır ve NMR sonuçlarının da yapıyla uyumlu olduğu görülmektedir.

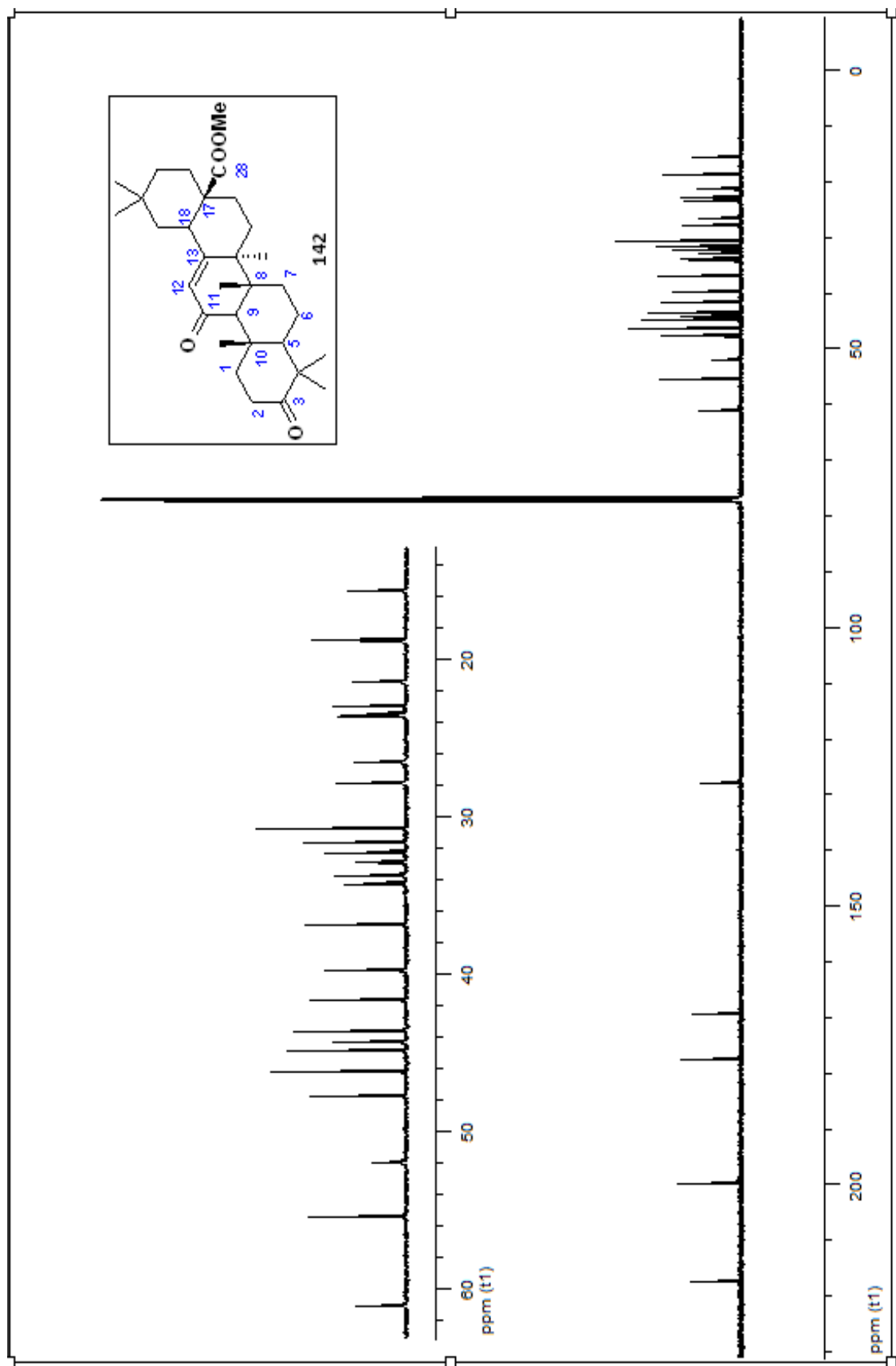


$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ : 5.65 (1H, s, olefinik H-12), 3.62 (3H, s, $\text{O}=\text{C}-\text{OCH}_3$), 3.00 (1H, dd, $J = 3.5, 14$ Hz, H-18), 2.96 (1H_a, ddd, $J = 4.0, 7.0, 11.3$ Hz, H-2), 2.60 (1H_b, ddd, $J = 7.1, 10.9, 15.8$ Hz, H-2), 2.40 (1H, s, H-9), 2.35 (1H_a, ddd, $J = 4.1, 6.6, 10.8$ Hz, H-1), 2.04 (1H_b, td, $J = 4.1, 13.7$ Hz, H-1), ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ : 217.3 (C-3), 199.6 (C-11), 177.5 (C-28), 169.2 (C-13), 127.8 (C-12), 61.0 (C-18), 55.4 (OCH_3), 52.0 (C-14), 47.7 (C-17), 46.2, 44.9, 44.3, 43.6, 41.6, 39.7, 36.8, 34.2, 33.7, 32.9, 32.2, 31.6, 30.7, 27.8, 26.5, 23.5, 23.4, 22.9, 21.4, 18.8, 18.7, 15.6 ppm.



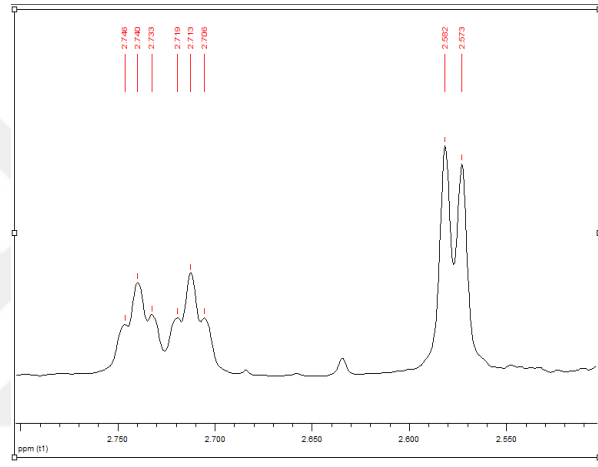
Şekil 4.75 Bileşik **142'** nin ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3)



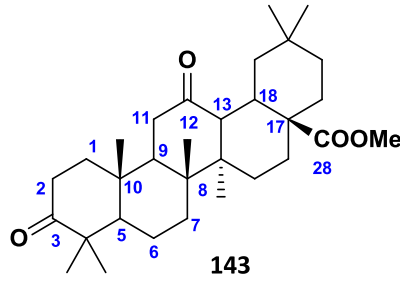
Şekil 4.76 Bileşik **142'** nin ^{13}C -NMR spektrumu (CDCl_3)

4.4.44 Bileşik 143'ün Spektroskopik Analiz Verileri

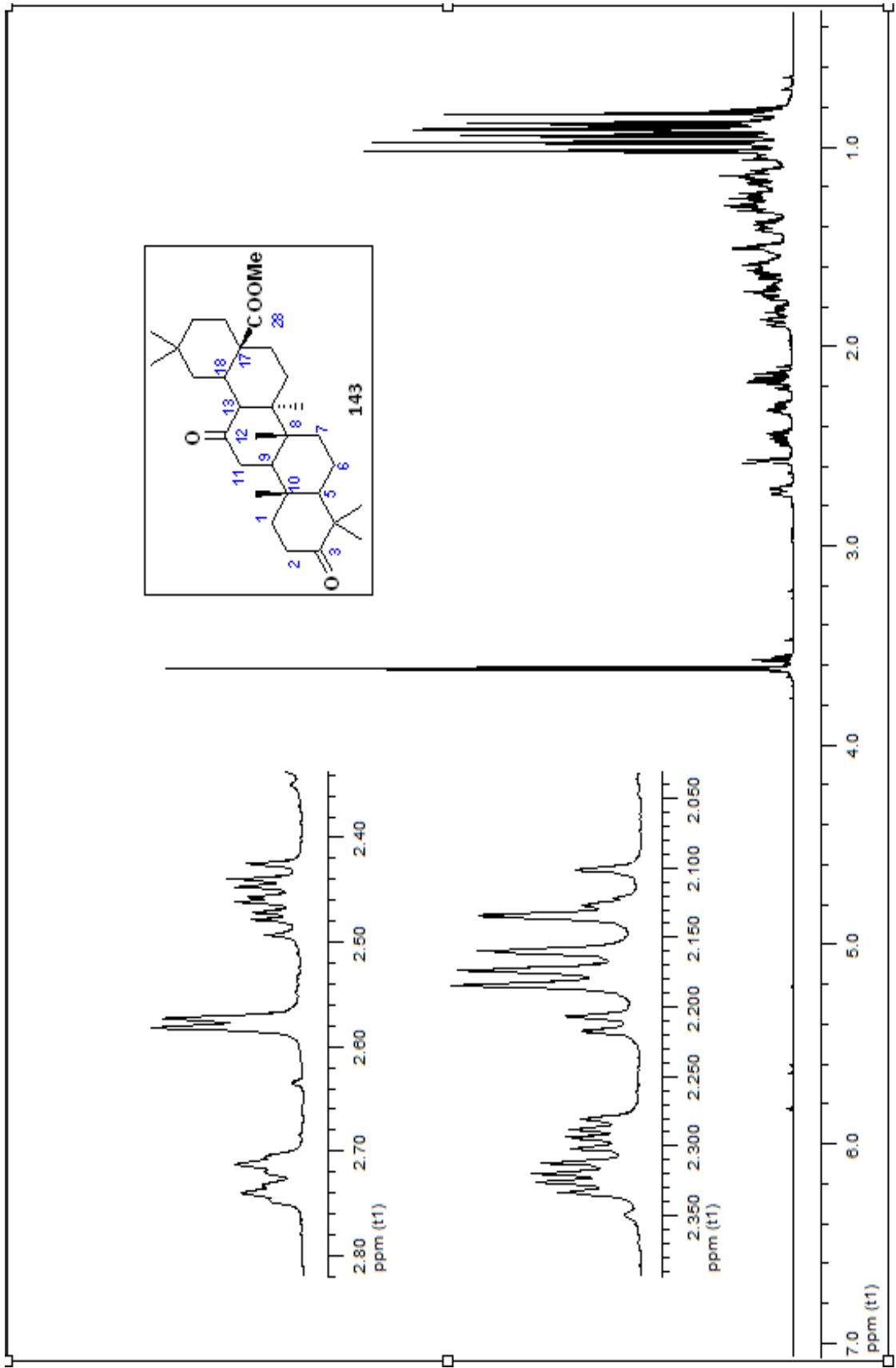
Sentez sırasında yan ürün olarak oluşan molekül **143'** ün yapısı NMR spektrumu ile aydınlatıldı. Olean iskeletindeki C-11 ve C-12 karbonları arasında bulunan olefinik çift bağa ait proton sinyalinin kaybolduğu ve 5-6 ppm arasında herhangi bir sinyalin oluşmadığı gözlemlendi. Ayrıca H-13 protonuna ait 2.58 ppm' de dublet ve H-18 protonuna ait 2.72 ppm' de dubletin tripleti sinyalleri, yükseltgeme sırasında olean iskelet yapısının düzenlenmesi sonucu bileşik **143'** ün oluştuğunu göstermektedir. Moleküle ait ^1H -NMR spektrumu dikkatli bir şekilde incelendiğinde sinyallerin yapıyla birebir uyumlu olduğu görülmektedir.



Şekil 4.77 Bileşik **143'** ün ^1H -NMR spektrumu



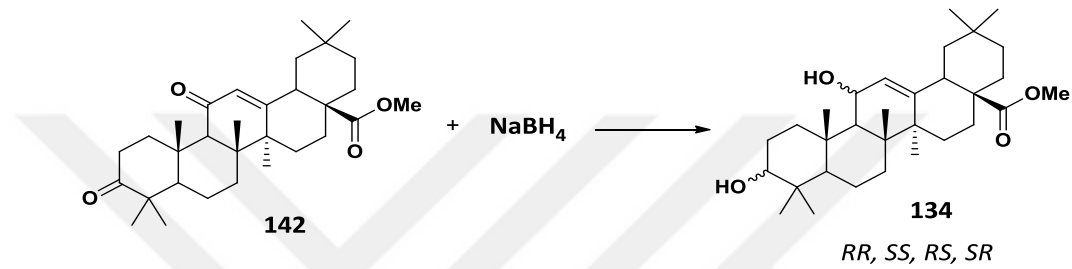
^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 3.61 (3H, s, $\text{O}=\text{C}-\text{OCH}_3$), 2.72 (1H, dt, $J = 3.6, 13.6$ Hz, H-18), 2.58 (1H, d, $J = 4.3$ Hz, H-13), 2.46 (1H_a, ddd, $J = 7.3, 10.9, 15.9$ Hz, H-2), 2.31 (1H_b, ddd, $J = 3.7, 6.8, 10.7$ Hz, H-2), 2.10-2.21 (2H, m, H-11) ppm.



Şekil 4.78 Bileşik **143'** ün ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3)

4.4.45 11-Hidroksi, olean-12-en, 28-metil ester Bileşik 134' ün Sentezi

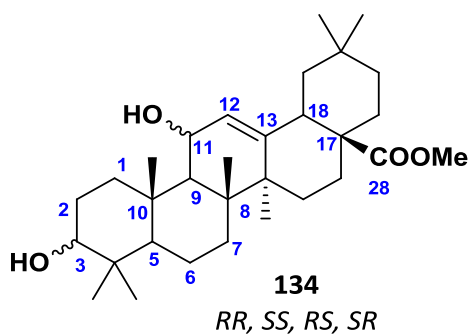
3,11-Dioksooleanolik asit esteri bileşik **142**' nin ester karbonil karbonu keton karbonil karbonuna göre daha az elektropozitif merkezdir. Ester grubu indirgenmeden keton karbonil yapıları NaBH_4 ile kolaylıkla indirgenebilmektedir. İndirgeme sonucunda nükleofilin karbonil karbonuna alttan ve üstten saldırma olasılığı olduğu için reaksiyon sonunda dört farklı diastereoizomer elde edildi. Moleküllerin elektronik etkileri ve molekül büyüklükleri aynı olduğu için yapılan tüm saflaştırma işlemlerine rağmen diastereoizomerler ayrıştırılamadı.



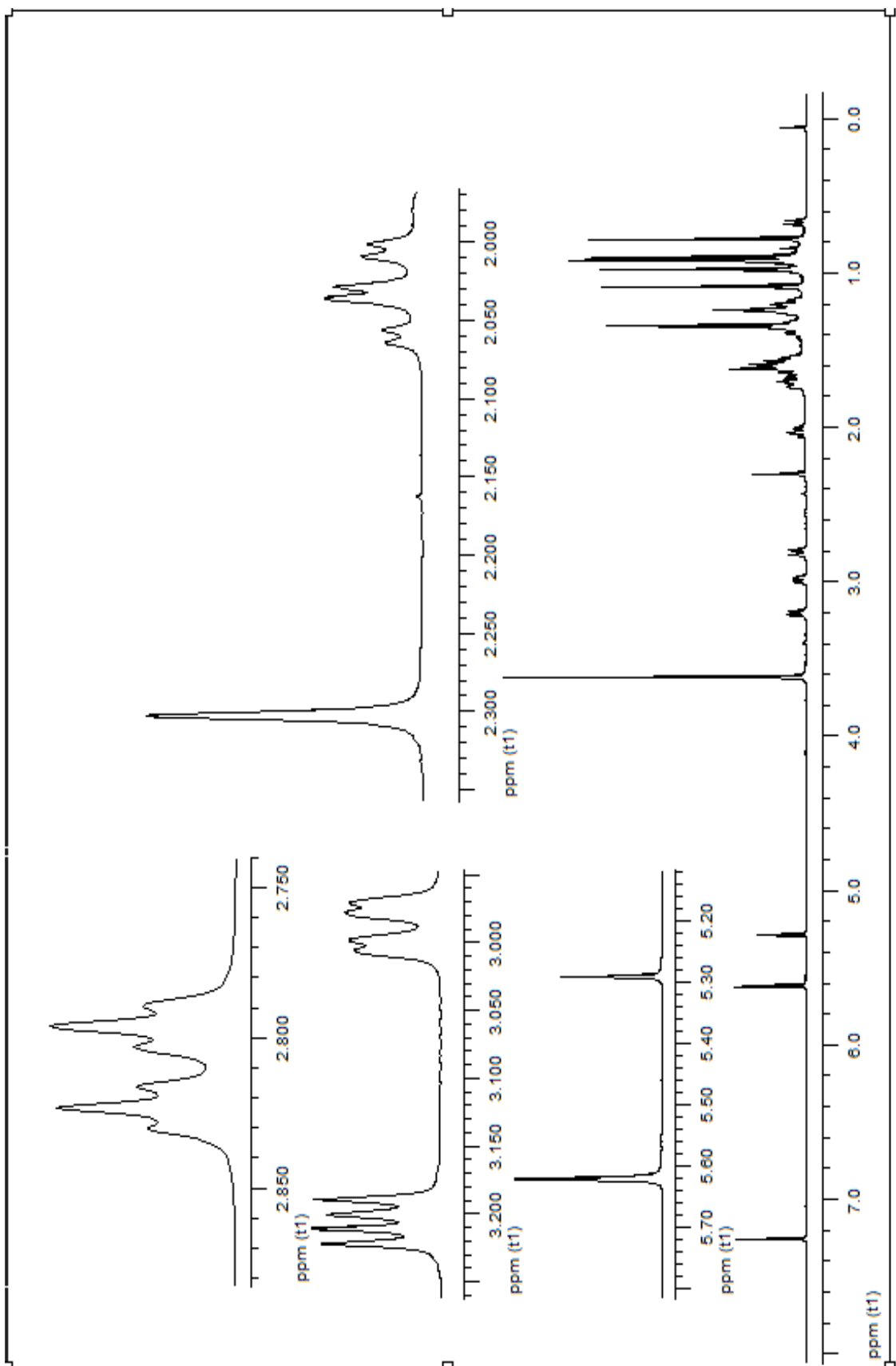
50 mL yuvarlak dipli balona yeni destillenmiş 10 mL THF konuldu, sistem azot atmosferine bağlandı. NaBH_4 (10 mg, 258 μmol , 2.5 ekv.) ilave edildi ve karışım tuz-buz banyosunda $-12\text{ }^\circ\text{C}$ ' ye soğutuldu. 15 dakika karıştırıldıktan sonra THF (10 mL) içerisinde çözülen bileşik **142** (50 mg, 104 μmol , 1 ekv.) azot atmosfer altında kontrollü bir şekilde damla damla ilave edildi. Reaksiyon TLC ile takip edilerek 18 saat sonra 5 mL su ile yavaş yavaş sonlandırıldı. Süzme işlemi yapılarak sıvı faz katısından uzaklaştırıldı. Daha sonra reaksiyon çözücüsü evaporatörde uzaklaştırıldı. Geriye kalan kalıntı 30 mL kloroform ile 30 mL su karışımı ile üç kez ekstrakte edildi. Organik faz sodyum sülfat üzerinden kurutularak çözücüsü rotary evaporatörde uzaklaştırıldı. Diastereoizomerik karışımın yapılan TLC' lerde R_f değerlerinin aynı olduğu gözlemlendi ve hiçbir çözücü karışımında ayrışma olmadı. İzomerik karışım **134** beyaz katı olarak elde edildi (48 mg). Karışıma ait $^1\text{H-NMR}$ spektrumu şekil 4.79' da verilmiştir.

4.4.46 Bileşik 134'ün Spektroskopik Analiz Verileri

Bileşiğe ait $^1\text{H-NMR}$ spektrumu incelendiğinde 5.62 ve 5.29 ppm' de hidroksi (-OH) protonları singlet olarak rezonans olmaktadır.



$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ : 6.27 (1H, s, OH), 5.87 (1H, s, OH), 5.27 (1H, d, $J = 3.3$ Hz, H-12), 3.56 (3H, s, $\text{O}=\text{C}-\text{OCH}_3$), 3.42-3.43 (1H, m, H-3), 3.36 (1H, dd, $J = 4.9, 65.9$ Hz, H-11), 2.81 (1H, m, H-18),



Şekil 4.79 Bileşik **134'** ün ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3)

4.5 Biyolojik Aktivite Çalışmaları

4.5.1 Kimyasallar ve Reaktifler

Fetal bovine serum (FBS), Dulbecco's modified Eagle medium (DMEM) ve penicilin-streptomisin ticari olarak Sigma-Aldrich' den sipariş edildi. Öncelikle triterpenlerin çözünürlükleri düşük olduğu için, dimetilsülfoksit (DMSO) içerisinde 200 µM stok çözelti olarak hazırlandı ve bu stok çözeltiden diğer konsantrasyonları elde etmek için DMEM (containing no fetal bovine serum) ile seyreltilerek hazırlandı. Triterpenlerden oluşturulan tüm konsantrasyonlarda dimetilsülfoksit (DMSO) oranının % 0,1 den daha az olduğu belirlendi ve deneye başlamadan önce konsantrasyonlar içerisindeki DMSO seviyesinin hücrelerin DNA' sına zarar vermediği doğrulandı. Her deneyden önce tüm reaktifler yeniden hazırlandı.

4.5.2 Hücre Kültürü

American Type Cell Collection (ATCC)'dan ticari olarak temin ettiğimiz sağlıklı hücre hatlarını 37 °C' de 1 dakika içinde eritip önceden hazırladığımız *complete medium* (DMEM + %10 FBS + %1P/S) içinde 25 cm² lik flaska ekip 24 saat inkübe edildi. Hücreleri çoğaltmak için birkaç kez pasajlandıktan sonra tripsin-EDTA ile hücreleri kaldırıp biyolojik aktiviteyi tespit etmek için, 96'lık beyaz renk kültür plaklarına her bir kuyuda 100 µL 5 x 10⁴ hücre olacak şekilde hücreler ilave edilip 24 saat inkübe edildi. Daha sonra hazırlanan örnekler son konsantrasyon % 0,1 DMSO olacak şekilde DMSO + PBS' de çözülüp 3 tekrarlı her bir kuyuya 5 µl ekilip 24 saat inkübasyonun ardından luminometrik yöntem ile multiplate reader kullanılarak ATP seviyesi ölçülerek hücre canlılığı tespit edildi.

4.5.3 Sitotoksik Aktivite Çalışması

Hücreler üzerine her bir triterpenin sitotoksik aktivitesi luminescence testi (Cell-Titer-Glo Luminescent Cell Viability Assay, Promega) ile ölçülen ATP seviyeleri tarafından belirlendi. Hücreler 96'lık beyaz renk kültür plaklarına, her bir kuyucukta hücrelerin yoğunluğu 15x10³ olacak şekilde ekildi ve 37 °C de, % 5 CO₂ atmosferinde inkübe edildi. Daha sonra hücre ortamına farklı konsantrasyonlarda hazırlanan (1.56-200 µM)

triterpenler ilave edildi. İlaveden sonra hücreler (5% CO₂ ve 95% O₂ atmosfer, 37 °C, 24 h) belirtilen şartlar altında nemlendirme için inkübasyona bırakıldı. Ayrıca kontrol hücreler 0,1 % DMSO ile muamele edilerek davranışları incelendi. Daha sonra her bir numuneye 100 µL (Cell Titer-Glo Luminescent Cell Viability Assay, Promega) reaktifi ekildi, 2 dakika karıştırıldı ve oda koşullarında 10 dakika inkübe edildi. Sonuçlar luminometri (Varioskan Flash Multimode Reader, Thermo, Waltham, MA) ile hesaplandı.

4.5.4 Aktivite Sonuçları

Sentezlenen tüm bileşikler, İsviçre albino fare embriyo dokusundan türetilen standart fibroblast 3T3 hücre dizileri üzerindeki sitotoksik aktiviteleri açısından değerlendirildi. İlk olarak, farklı triterpenleri içeren hücrelerin sitotoksitesi doz-cevap ilişkisi olarak belirlendi. 3T3 hücreler (her bir kuyucukta toplam 15×10³ hücre) 24 saat süre ile triterpenlerin çeşitli konsantrasyonlarına (1,56 - 200 µM) karşı maruz bırakıldı.

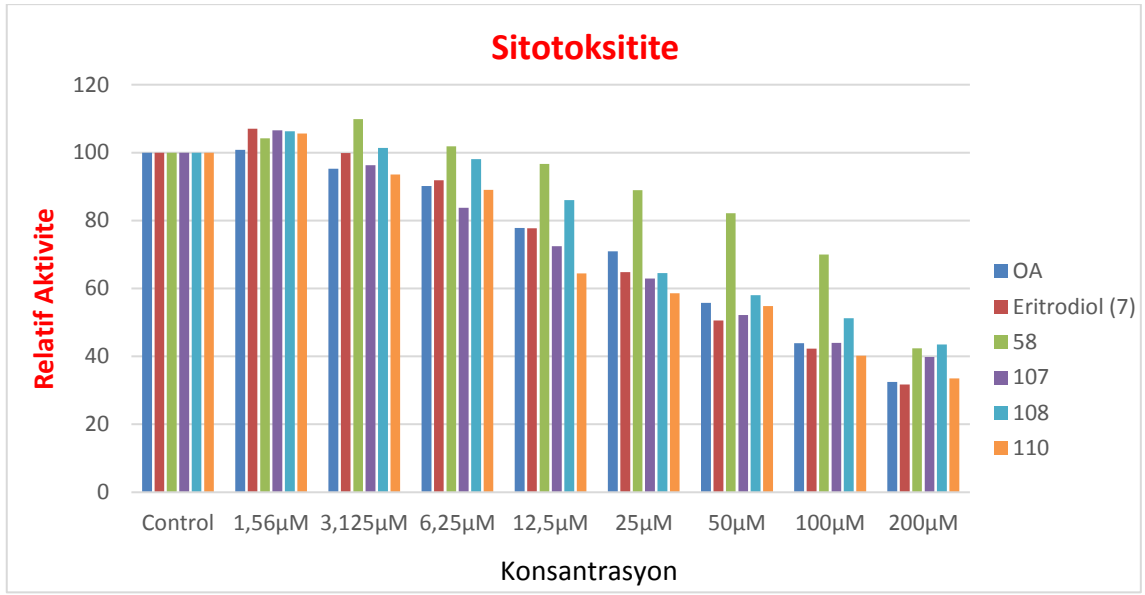
Triterpenlerin etkileri ATP hücre canlılık değerleri tarafından belirlendi. Hücre kültürlerindeki hücre canlılığı deneyden önce %95 den daha büyüktü. Triterpenlerin ilavesinde, örneğin eritrodiol **7**' nin 1,56 µM konsantrasyonunun ilavesi üzerine hücre canlılığı maksimum değere ulaşarak (%107) artış gösterdi. 1,56 µM dozda proliferatif etki en yüksek değerlerde iken artan konsantrasyonlarda anti-proliferatif etki önemli bir şekilde yükselmeye başladı. Sonuçlar artan dozlarda farklı triterpenlerin hücre canlılığını inhibe ettiği görüldü.

Sonuç olarak tüm triterpenler düşük konsantrasyonlarda (1,56 µM) proliferatif etki gözlenirken artan konsantrasyonlarda sitotoksik aktivite göstermiştir. Bir seri oleanolik asit analogları doza bağlı olarak daha yüksek konsantrasyonlarda (6.25 ila 200 µM) anti-proliferatif etki göstermiştir. 50 µM' den 200 µM'ye uzanan konsantrasyonlarda test edilen tüm triterpenoidler arasında eritrodiol **7** en yüksek sitotoksik etki gösteren triterpendir. Bileşik **117**, düşük konsantrasyonda (1.56 µM) tüm triterpenler arasında proliferatif etki göstermemiştir. Oleanolik asit 28-metil ester (**58**) test edilen diğer tüm bileşiklerden oldukça farklı bir davranış sergiledi ve en az sitotoksik bileşik olduğu bulundu. Bununla birlikte, 200 µM konsantrasyonda, bileşikler **58**, **111** ve **112** yaklaşık % 58-59 oranında aynı sitotoksikite sergilemiştir. Test edilen yirmi beş bileşik arasında,

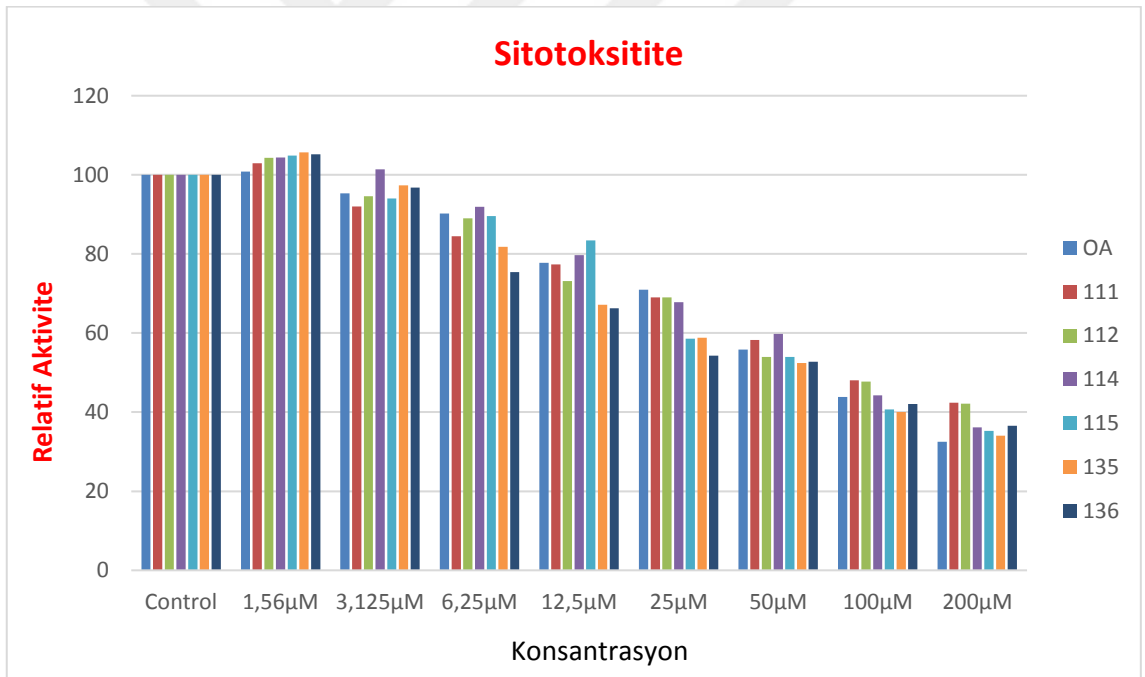
bileşik **110** 6.25 µM ile 125. µM konsantrasyon artışında canlılık için en büyük düşüşü sergilemiştir.

Çizelge 4.3 Sitotoksitite sonuçları

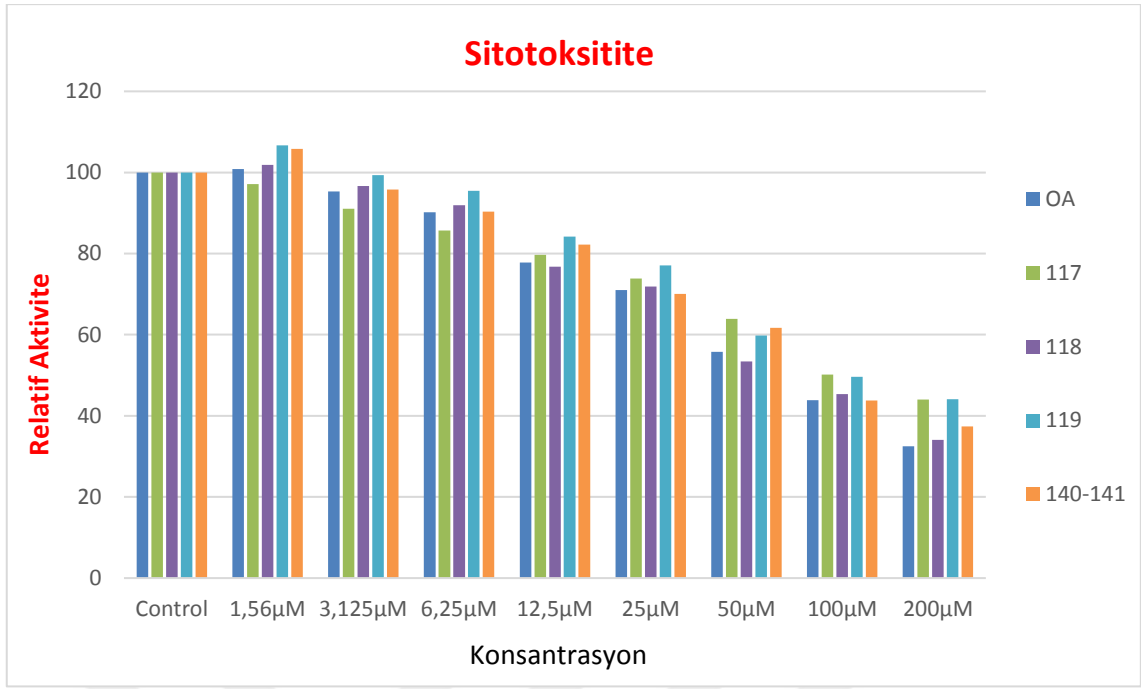
Sitotoksitite									
Bileşik	Kontrol	1,56µM	3,125µM	6,25µM	12,5µM	25µM	50µM	100µM	200µM
OA	100	100.82	95.28	90.19	77.79	70.97	55.81	43.87	32.51
Eritrodiol (7)	100	107.05	99.88	91.91	77.75	64.79	50.54	40.00	31.69
58	100	104.23	109.83	101.85	96.71	88.94	82.16	69.98	42.38
107	100	106.54	96.30	83.73	72.48	62.94	52.21	43.96	39.79
108	100	106.27	101.38	98.06	86.05	64.50	58.07	51.23	43.48
110	100	105.63	93.55	89.04	64.45	58.56	54.84	40.22	33.53
111	100	102.92	91.98	84.51	77.35	69.01	58.22	48.04	42.40
112	100	104.28	94.59	88.99	73.13	69.03	53.93	47.73	42.12
114	100	104.41	101.41	91.93	79.69	67.81	59.74	44.20	36.11
115	100	104.86	93.99	89.58	83.40	58.61	53.95	40.66	35.22
135	100	105.64	97.35	81.83	67.11	58.81	52.40	42.29	34.06
136	100	105.18	96.75	75.40	66.24	54.27	52.71	42.05	36.53
117	100	97.15	91.03	85.71	79.69	73.83	63.87	50.14	44.00
118	100	101.90	96.67	91.93	76.77	71.91	53.41	45.39	34.04
119	100	106.69	99.32	95.47	84.19	77.08	59.78	49.59	44.09
140-141	100	105.78	95.78	90.35	82.19	70.03	61.70	43.74	37.40



Şekil 4.80 Triterpen OA, 7, 58, 107, 108, 110' un sitotoksitite sonuçları



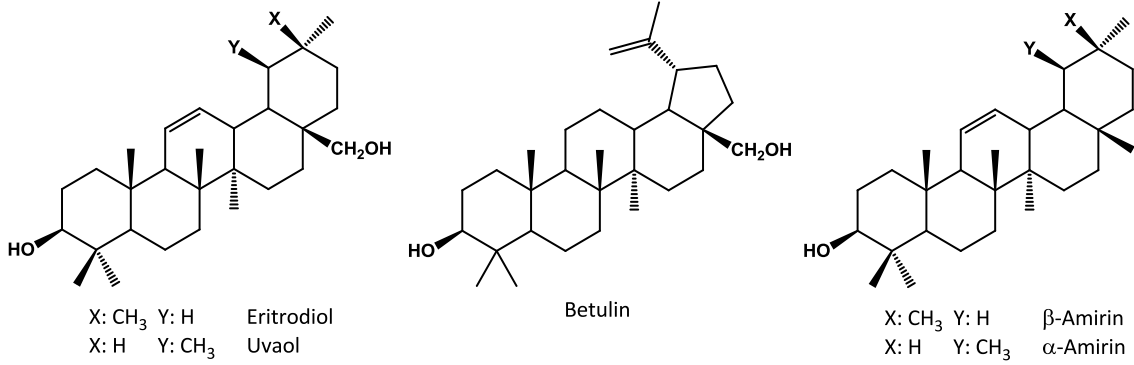
Şekil 4.81 Triterpen OA, 111, 112, 114, 115, 135, 136' nın sitotoksitite sonuçları



Şekil 4.82 Triterpen OA, 117, 118, 119, 140-141' in sitotoksitite sonuçları

SONUÇ VE ÖNERİLER

Triterpenler, bitkilerin çok önemli savunma mekanizmaları olan ve izopren birimlerinden oluşan sekonder metabolitlerindendir. En iyi bilinen iskelet yapıları Oleanan, Ursan ve Lupan' dir. Bu iskelet yapılarına sahip sekonder metabolitler arasında oleanolik asit, ursolik asit, eritrodiol, uvaol, α - ve β -Amirin, betulin en iyi bilinen organik bileşiklerdir. Sentezi hedeflenen bileşik 2' nin öncü bileşikler olan oleanolik asit (1), eritrodiol (7), β -amirin (3) ve farklı oleanan iskeletine sahip birçok triterpen bileşiği ilaç olma potansiyeline sahip oldukça aktif moleküllerdir. Literatürde bu bileşiklerin antioksidan, antibakteriyel, anti-enflamatuvar, antiviral, sitotoksik, anti-tümör/anti-kanser vb. pek çok aktiviteleri belirlenmiştir [4], [72], [108].



Şekil 5.1 Oleanan ve lupan iskelet yapısına ait triterpenler

Eritrodiol, uvaol ve betulin alkol yapılarının, tümör hücreleri üzerinde etkisi bilim dünyasında sürekli araştırma konusudur.

- Betulin'in biyolojik aktivitesi hakkındaki yayınlar çelişkilidir. Bir yandan, bazı araştırmacılar betulinin melanoma (MEL-2) ve epidermoid kanseri (KB) [109], leukosis (HL-60, U937, K-562) ve neuroblastoma (GOTO, NB-1) [110] gibi kötü huylu

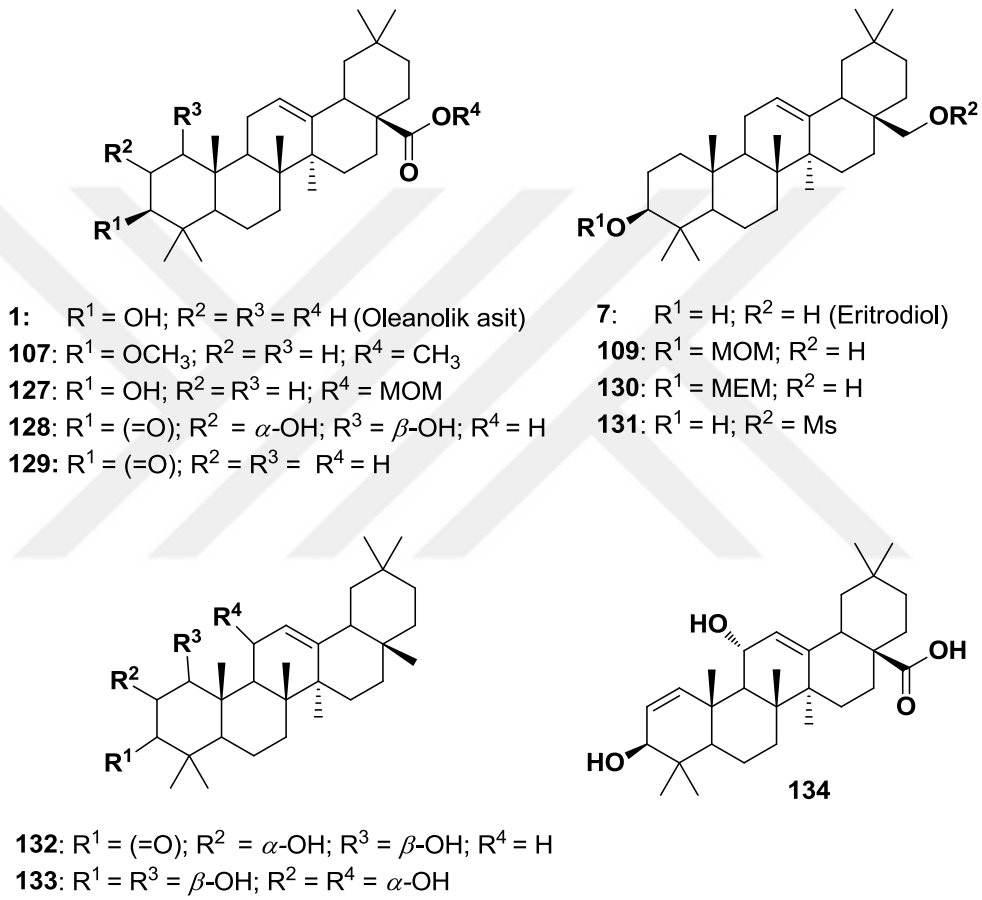
hücrelere karşı ya zayıf etki gösterdiğini ya da hiç etki göstermediğini bildirmektedirler. Diğer araştırmacıların verilerine göre betulin, sitotoksik aktivitenin mekanizmalarından biri olan ölümsüzleştirilmiş hat HaCaT [111] iyi huylu keratinositlerinin caspase-bağımlı apoptozunu indükleyebilmektedir. 20 μ M' lik bir konsantrasyondaki betulin, insan akciğer kanseri hücreleri A549'a karşı apoptosis etki sergilediği gösterilmiştir [112].

- Eritrodiol (7)' nin 50-150 μ M'lik konsantrasyonlarda insan kolon adenokarsinoma hücrelerine (HT29) karşı proapoptotik ve anti-proliferatif aktivitelere sahip olduğu gösterilmiştir. Ayrıca eritrodiol ve uvaolün, insan beyninin tümörlerinin tedavisi için bu bileşiklerin kullanılma potansiyelini gösteren, proliferasyonu inhibe ettiği ve insan astrositom hücrelerinin (1321N1) ölümünü indüklediği belirtilmiştir [113].
- 3-Asetil, α -amirin bileşiğinin anti-hiperglisemik etki gösterdiği ve 5 saat süre içerisinde kan glukoz düzeyini %18.4, 24 saat' lik süre içerisinde %17' ye düşürdüğü belirlenmiştir [114]. Afrika'da yaygın olarak büyüyen *Euphorbiaceae* familyasına ait *Maesobotrya barteri* (Baill) tropikal bir tıbbi bitki türünden elde edilen β -amirin bileşiğinin birçok patojenik mikroorganizmaya karşı antimikrobiyal aktivitesi araştırılmış ve β -amirinin antimikrobiyal aktivitesi ciprofloksacin, fluconazole, fulcin gibi antimikrobiyal ilaçlarla kıyaslandığında benzer skorlar elde edilmiştir [115]. Başka bir çalışmada, β -amirin Mısır'da yaygın olarak dağıtılan deniz yosunu *Laurenciamicrocladia*' dan ilk kez izole edilmiş ve *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella typhi*, *Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa* karşı antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir [115]. β -Amirin; göğüs ağrısı, ateş, karaciğer zehirlenmesi ve doğum komplikasyonlarının hafifletilmesi için kullanılan bir tıbbi bitki olan *Ardisia elliptica* [116] 'dan izole edilmiş ve trombosit agregasyonunu inhibe etmede β -amirin' in aspirin kadar aktif olduğu bulunmuştur.

Görüldüğü gibi oleanolik asit ve oleanan yapısına sahip eritrodiol, β -amirin ve hedef molekül **2** gibi triterpen bileşikleri birçok biyolojik aktiviteye sahiptir ve bu bileşikler üzerinde ilgi artarak devam etmektedir.

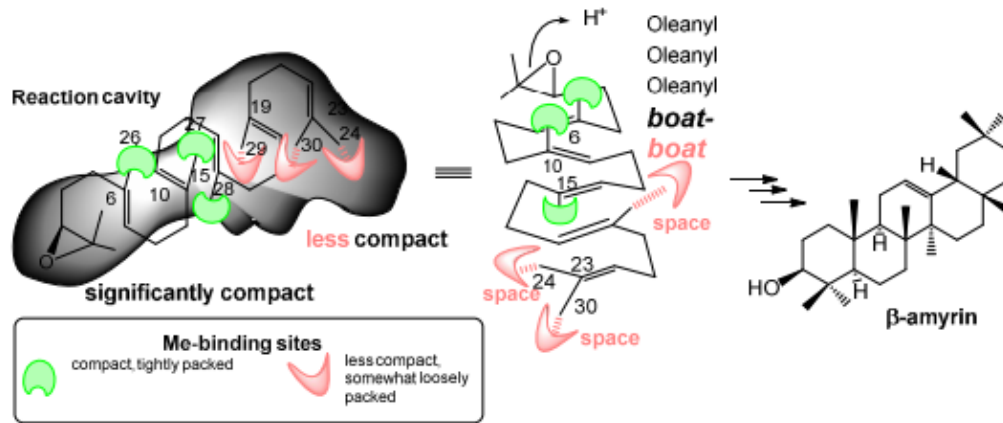
Çalışmalarımızda öncelikle oleanan iskeletinde fonksiyonel gruplar değiştirilerek bilgisayar ortamında doking çalışması yapıldı. Moleküllerin fonksiyonel grupları

(elektronegatif atom içeren hidroksi, karbonil ve karboksilik asit) ile enzimlerin aktif bölgeleri arasında en iyi etkileşim H-bağlarının kurulmasıyla oluşmaktadır. Dolayısıyla sentez adımlarında farklı triterpen türevleri elde edilirken karbonil, hidroksi, karboksilik asit ve azotlu fonksiyonel grupların oluşturulmasına özen gösterilmiştir. Yapılabilirlik yönünden mümkün olan olean iskeletine sahip 100' ün üzerinde triterpen bileşiğinin doking denemeleri yapılmış ve bu bileşikler arasından en iyi bağlanma özelliği gösteren oniki bileşik belirlenmiştir (Şekil 5.2).



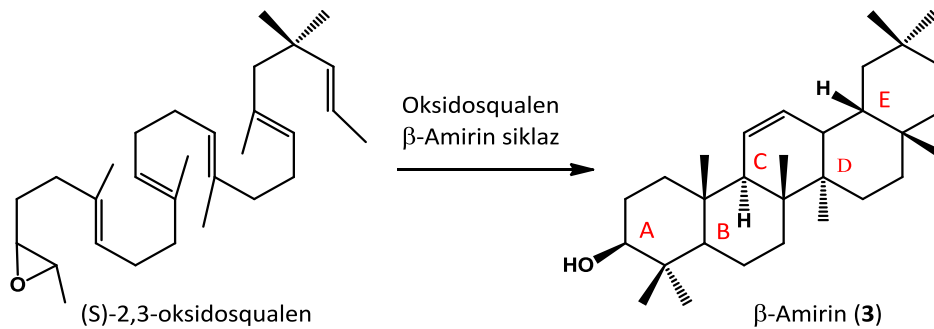
Şekil 5.2 Doking çalışmasında en iyi bağlanma özelliği gösteren triterpen bileşikler

5.1 β -Amirin'in Sentezi



Şekil 5.3 β -Amirin' in biyosentez gösterimi

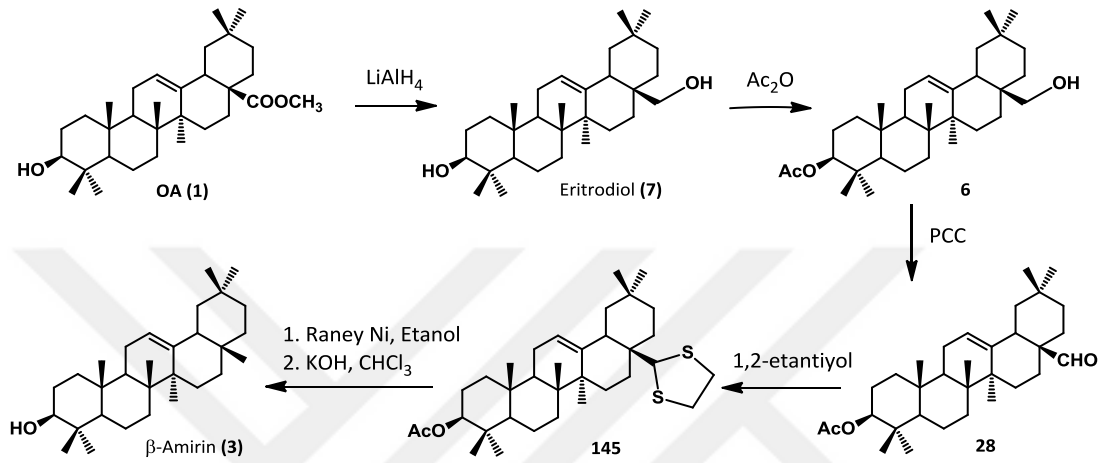
Oksidoskualen (OXSQ) siklazlar tarafından katalize edilen enzimatik polisiklikleştirme reaksiyonları, yeni C-C bağlarının ve kiral merkezlerin oluşumuna ve çeşitli polisiklik sterollerin ve triterpenoidlerin oluşumuna yol açan regio ve stereospesifik reaksiyonlarla ilerler. Biyoreaksiyonlar sırasında oluşan farklı yapısal dizi dikkat çekicidir ve yaklaşık 150 farklı karbon iskeleti bulunmuştur. Skualen-hopen siklaz (SHC) ve lanosterol sentaz (LaS) ile ilgili ayrıntılı araştırmalar bildirilmiştir, ancak bitkilerde her yerde bulunan β -amirin sentazın çalışmasında ilerleme kaydedilmiş gibi görünmektedir. Son birkaç yılda, β -amirin biyosentez çalışmalarında dikkate değer gelişmeler kaydedilmiştir ve 2017 yılında Hoshino [117] tarafından β -amirin sentazın katalitik mekanizması ve substrat tanımı ana hatlarıyla gösterilmiştir.



Şekil 5.4 β -Amirin' in 2,3-oksidoskualenden biyosentezi

Literatürde β -amirin' in biyosentezinin yanı sıra yarı-total sentez çalışmaları üzerine yoğun ilgi duyulmaktadır. Dongyin ve çalışma grubunun 2017 yılında yaptıkları yarı-total

sentez çalışmasında oleanolik asitten çıkarak toplam beş adımda ve toplam %39.8 verimle β -amirin'i sentezlemişlerdir [118]. Yaptıkları sentez tasarımı oleanolik asit (1), LiAlH_4 ile indirgenerek eritrodiol (7), elde edilen eritrodiol (7) asetik anhidritle asetillenerek bileşik 6, bileşik 6 PPC ile yükseltgenerek bileşik 28, bileşik 28 1,2-etantiyol ile korunarak bileşik 145 sentezlenmiş ve bileşik 145' teki etantiyol koruma grubu indirgeme ile yapıdan uzaklaştırılarak β -amirin sentezini gerçekleştirmişlerdir [118].

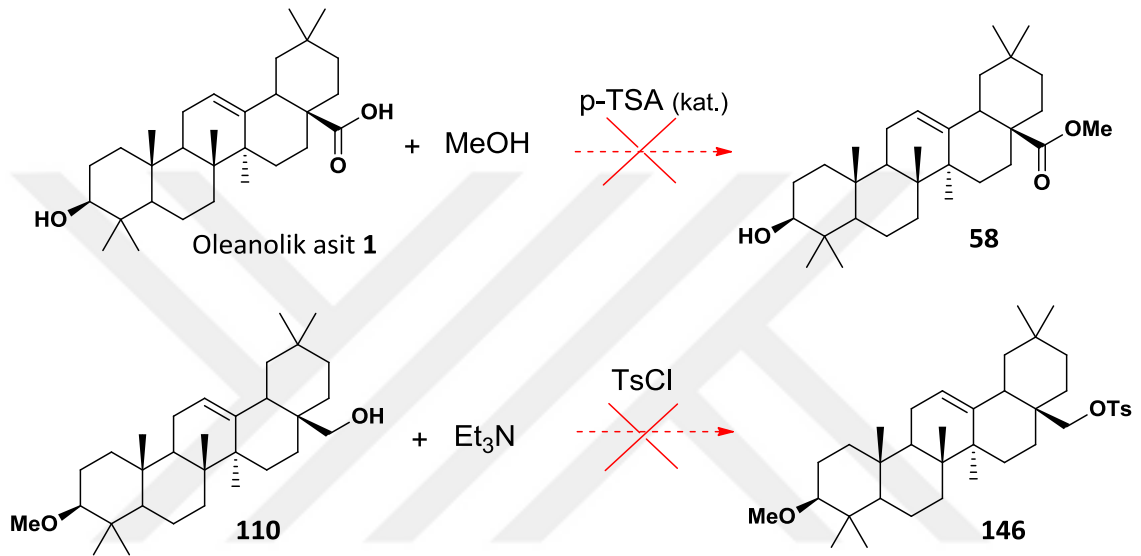


Şekil 5.5 Dongyin ve çalışma grubunun yaptığı β -amirin'in yarı-total sentezi

Dongyin ve çalışma grubunun yaptığı çalışmalarda β -amirin sentez adımlarının çok adımlı olması ve toplam sentez veriminin düşük olması üretim maliyetlerini arttıracığından dolayı sanayi ölçeğinde üretime geçişleri zorlaştırmaktadır.

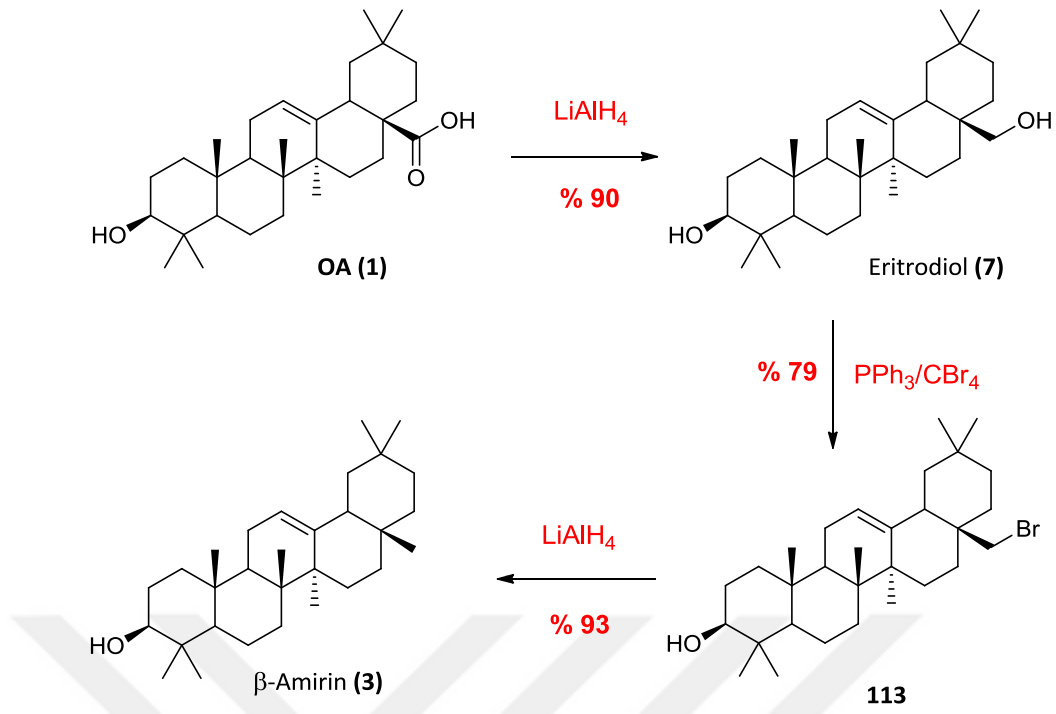
Yeni bir ilaç keşfi veya keşfedilen aktif ilaç molekül yapısının sentezlenmesi çok kolay değildir. Bu nedenle organik kimyada çok adımlı sentez tasarımı bir bilim olduğu kadar bir sanattır. Hedef molekülün sentezi için iyi bir tasarım gerçekleştirilmelidir. Bilimsel gerçekler ışığında tasarlanan reaksiyon adımları sterik engeller, çıkış moleküllerinin elektronik etkileri ve çevre koşulları nedeniyle istenilen bazı dönüşümler nedeniyle gerçekleşmeyebilir. Bu durumda reaksiyon şartları ve sentez adımları yeniden gözden geçirilerek özgün tasarımlar gerektirir. Bu özgün tasarımlar farklı molekül yapılarının oluşmasına, daha biyoaktif molekül yapılarının ve yeni reaksiyon mekanizmalarının keşfine imkân sağlamaktadır. Sentetik organik kimyada ki bu yaklaşımlar izolasyonu yapılan ve yapısı aydınlatılan moleküllerin sentezine katkı sağladığı gibi bu moleküllerin daha aktif türevlerin sentezlenmesini de kolaylaştırmaktadır. Böylelikle gelişen teknoloji ile birlikte kötüleşen çevre koşulları altında tedaviye direnç gösteren hastalıklar daha

biyoaktif türevler sayesinde tedavi edilebilecek ve ilaç sanayi gelişecektir. Çalışmalarımız sırasında oleanolik asit yapısındaki sterik engeller, elektronik etkileşimler ve/veya molekülün konformasyonundan kaynaklanan nedenlerle literatürde çok iyi bilinen tosilleme ile metanol içerisinde esterleştirme reaksiyonları gerçekleştirilemedi (Şekil 5.6). Ayrıca şekil 4.14' te verilen momlama ve sililleme reaksiyonları da normal koşullar altında (reaksiyon şartları zorlanmadan) C-3 pozisyonundan reaksiyon vermemektedir.



Şekil 5.6 Oleanolik asidin tosilleme ve esterleştirme reaksiyonu

C-3 pozisyonundaki hidroksi grubu sekonder alkol yapısındadır ve koruyucu gruplarla kolay kolay reaksiyon vermediği gibi nükleofilik S_N2 reaksiyonunu da vermemektedir. Bu şartlar göz önünde tutulunca β-amirin sentez adımları yeniden tasarlandı ve eritrodiol (7) bileşiğinin C-28 primer alkol yapısı brom türevine dönüştürüldü. Brom kolay ayrılan grup olduğu için LiAlH₄ ile etkileştirilerek S_N2 reaksiyonu üzerinden uzaklaştırıldı ve β-amirin literatürde ilk kez **üç adımda** toplam **%66 verimle** sentezlendi (Şekil 5.7).

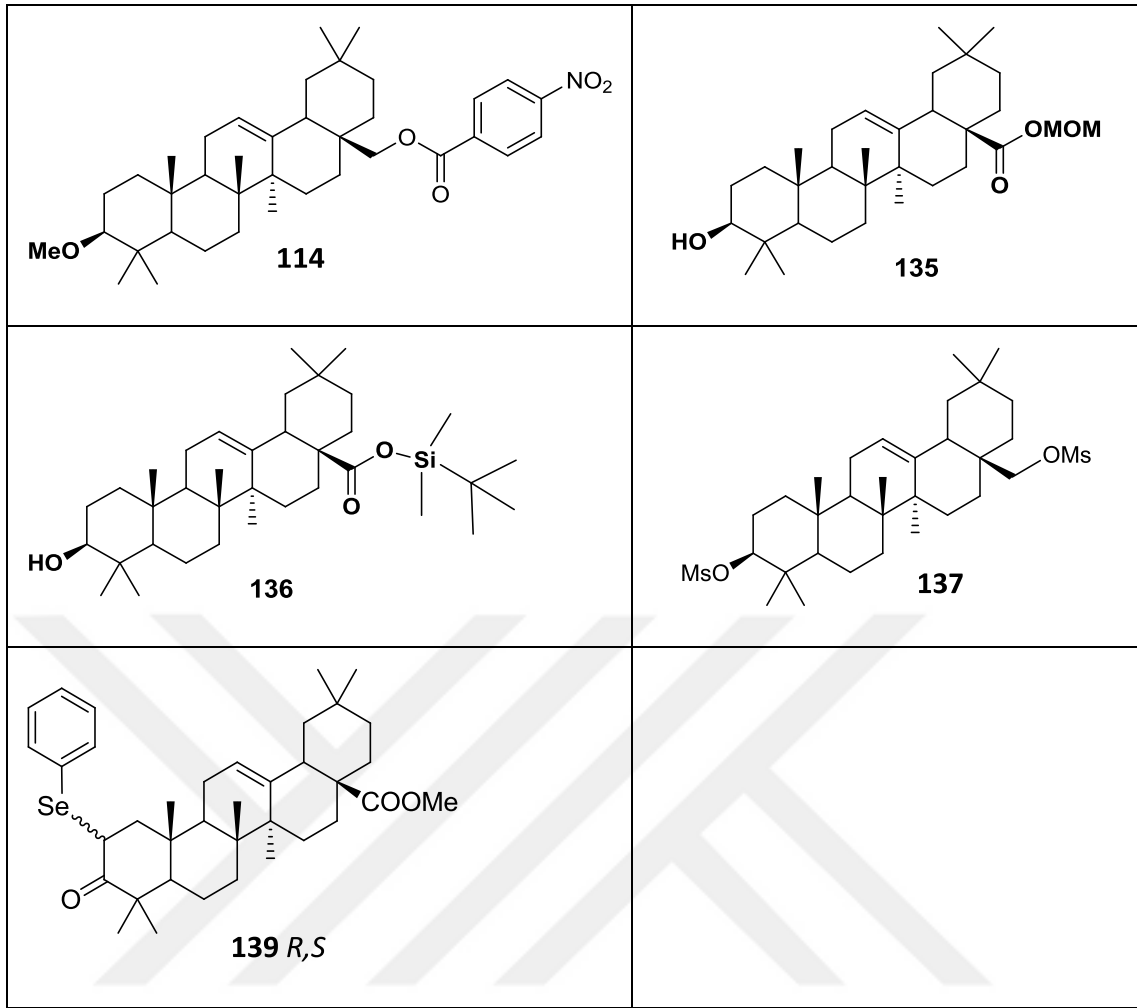


Şekil 5.7 β -amirin' in etkili ve kısa sentezi

Bu tez çalışmasında sentezlenen 25 farklı triterpen bileşiğinden 9 tanesi ilk kez sentezlenmiştir (şekil 5.8). Ayrıca bileşik **119**' un sentezi regiospesifik olarak gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 5.1 İlk kez sentezi gerçekleştirilen triterpenler

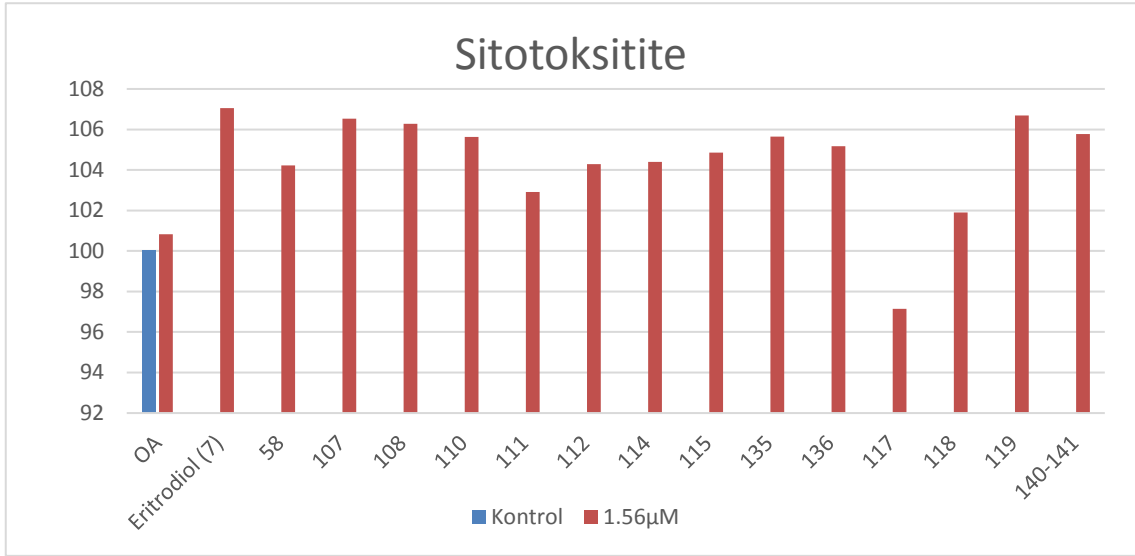
108	111
112	113



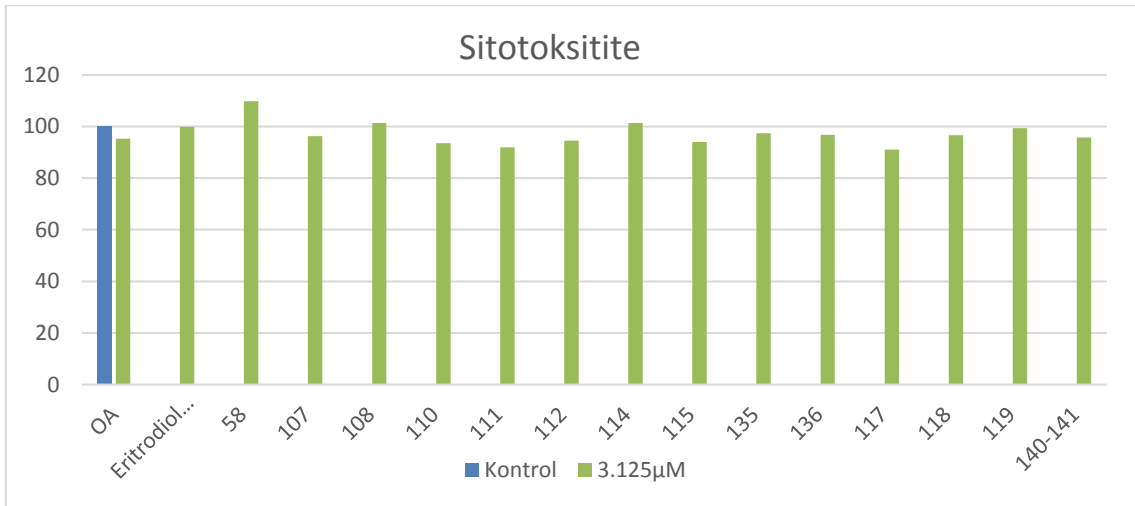
Sentezlenen tüm bileşikler, İsviçre albino fare embriyo dokusundan türetilen standart fibroblast 3T3 hücre dizileri üzerindeki sitotoksik aktiviteleri açısından değerlendirildi. İlk olarak, farklı triterpenleri içeren hücrelerin sitotoksitesi doz-cevap ilişkisi olarak belirlendi. 3T3 hücreler (her bir kuyucukta toplam 15×10^3 hücre) 24 saat süre ile 1.56 μM başlayan ve 200 μM kadar uzanan çeşitli triterpen konsantrasyonlarına karşı maruz bırakıldı.

Sonuç olarak triterpen **117** hariç tüm triterpenler düşük konsantrasyonlarda (1.56 μM) proliferatif etki gözlenirken artan konsantrasyonlarda (6.25 ila 200 μM) anti-proliferatif etki göstermiştir. 50 μM ' den 200 μM 'ye uzanan konsantrasyonlarda test edilen tüm triterpenoidler arasında eritrodiol **7** en yüksek sitotoksik etki gösteren bileşiktir. 1.56 μM 'da konsantrasyonda, bileşik **117** en düşük skorla anti-proliferatif etki gösterirken eritrodiol **7** en yüksek skorla proliferatif etki göstermiştir. 3.125 μM 'da konsantrasyonda, Bileşik **58**, **108**, ve **114** proliferatif etki gösterirken diğer triterpen anti-proliferatif etki

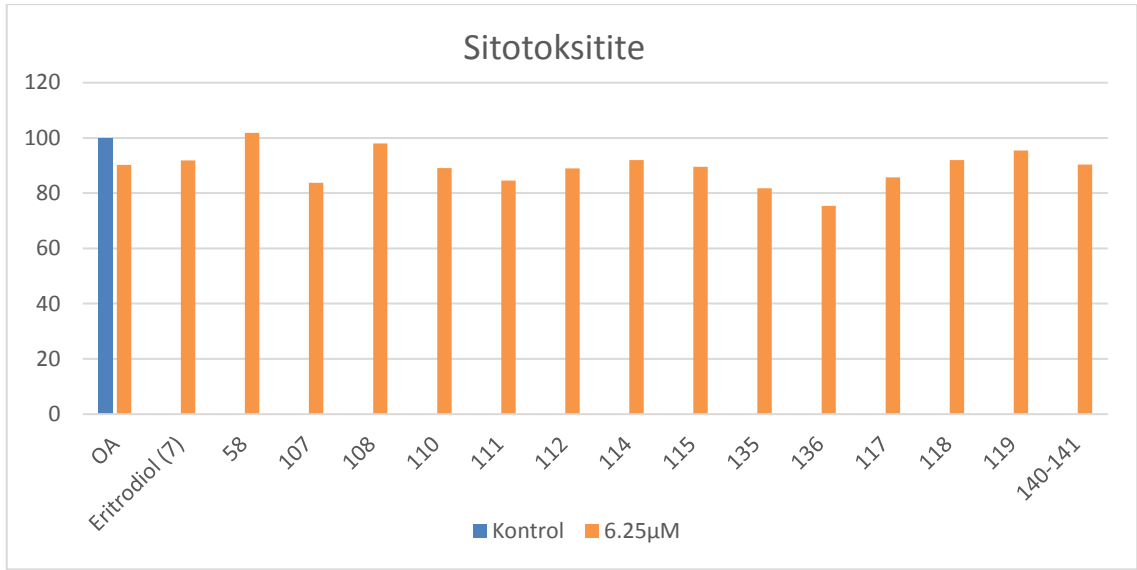
göstermiştir ve ayrıca bu konsantrasyonda bileşik **58** şimdiye kadar görülen en yüksek proliferatif etkiyi %109.83 ile göstermiştir. 6.25 μM 'da konsantrasyonda, yalnızca bileşik **58** proliferatif etki göstermiştir. Oleanolik asit 28-metil ester (**58**) test edilen diğer tüm bileşiklerden oldukça farklı bir davranış sergiledi ve tüm konsantrasyonlarda en az sitotoksik etki gösteren bileşik olduğu belirlendi.



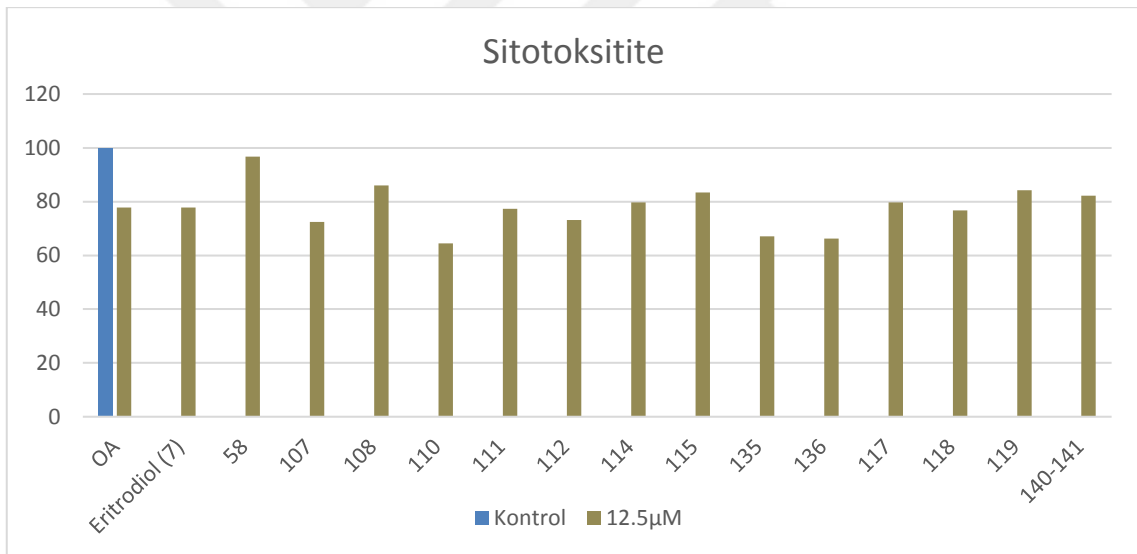
Şekil 5.8 Triterpen türevlerinin 1.56 μM konsantrasyondaki sitotoksitite test sonuçları



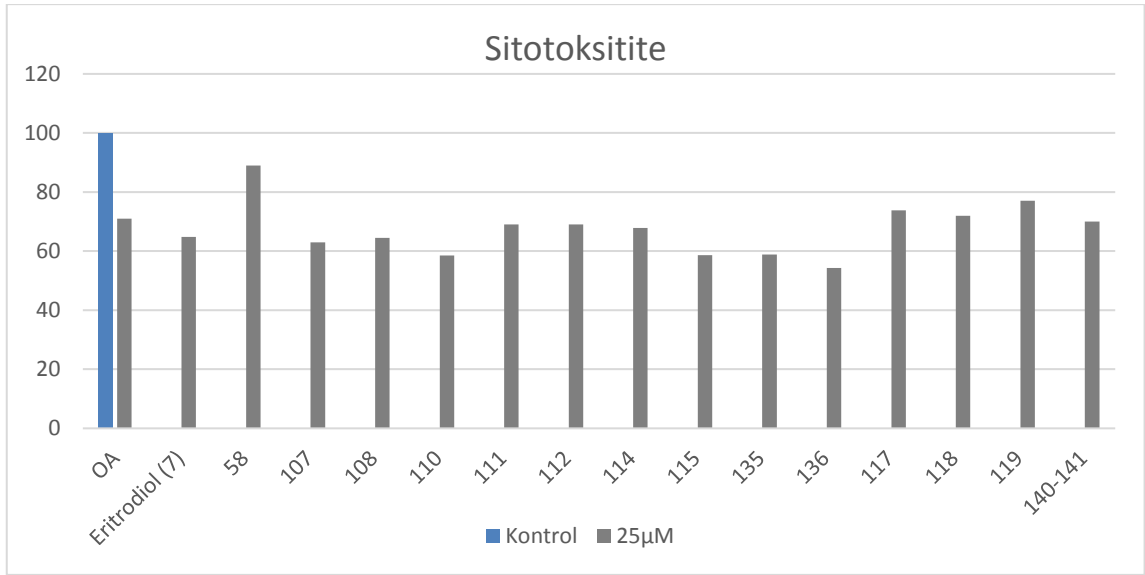
Şekil 5.9 Triterpen türevlerinin 3.125 μM konsantrasyondaki sitotoksitite test sonuçları



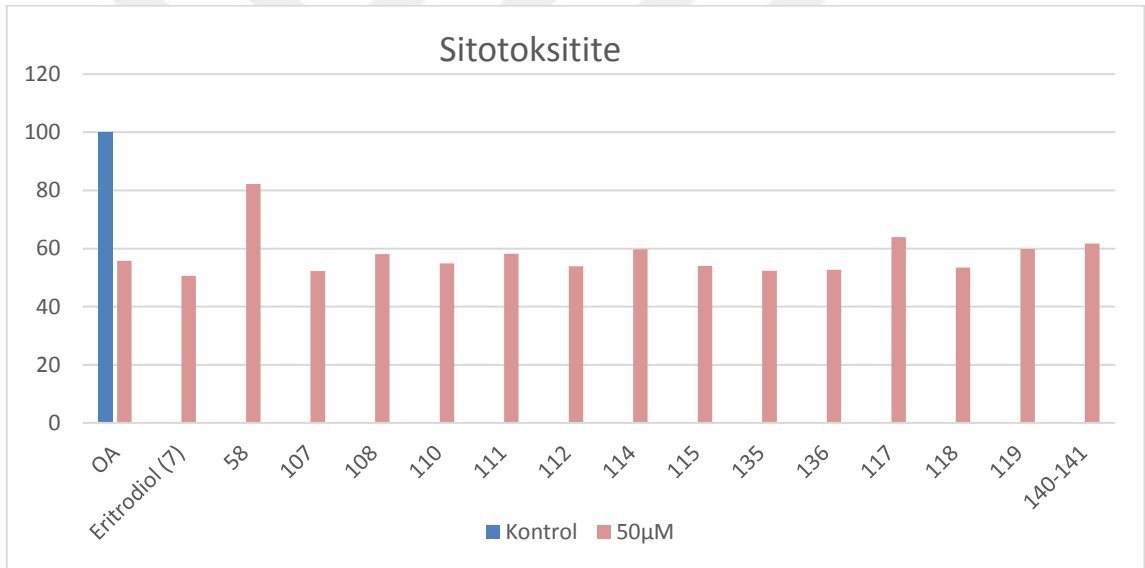
Şekil 5.10 Triterpen türevlerinin 6.25 µM konsantrasyondaki sitotoksitite test sonuçları



Şekil 5.11 Triterpen türevlerinin 12.5 µM konsantrasyondaki sitotoksitite test sonuçları

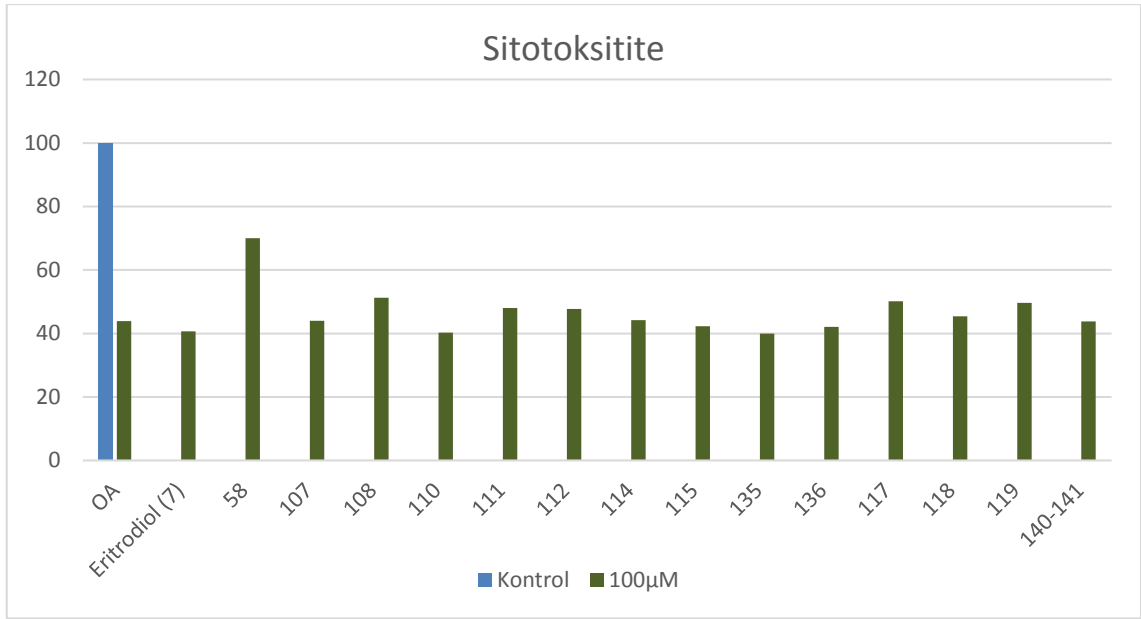


Şekil 5.12 Triterpen türevlerinin 25 µM konsantrasyondaki sitotoksitite test sonuçları

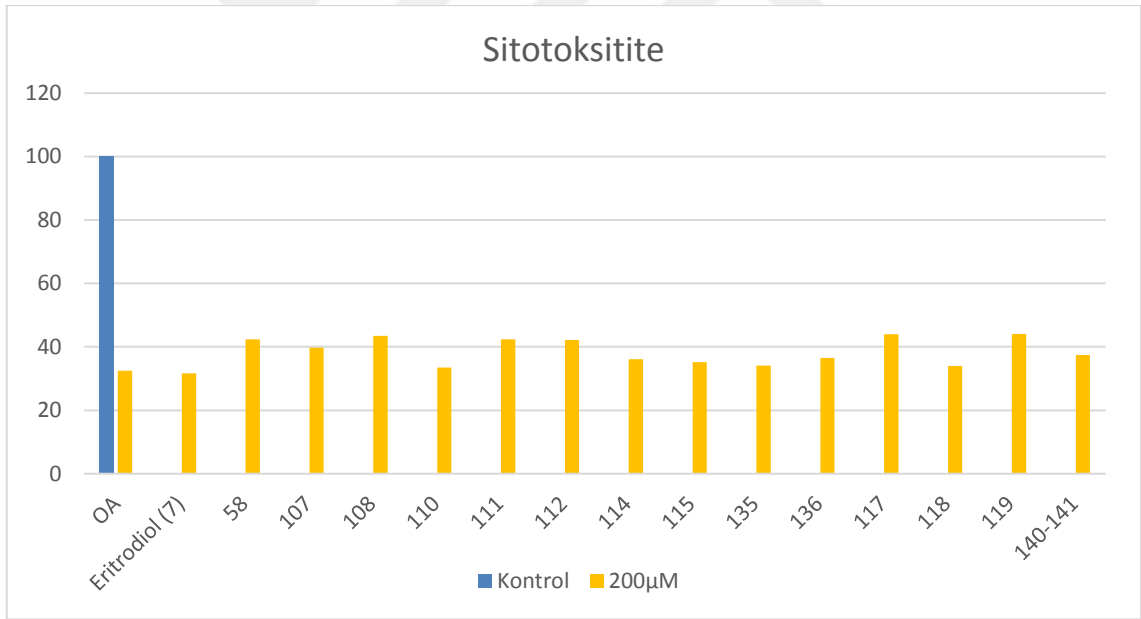


Şekil 5.13 Triterpen türevlerinin 50 µM konsantrasyondaki sitotoksitite test sonuçları

Bunların yanı sıra 200 µM konsantrasyonda, bileşik **114**, **115**, **118**, **135** ve **136** yaklaşık olarak % 58-59 oranında aynı sitotoksitite sergilemişlerdir.



Şekil 5.14 Triterpen türevlerinin 100 µM konsantrasyondaki sitotoksitite test sonuçları



Şekil 5.15 Triterpen türevlerinin 200 µM konsantrasyondaki sitotoksitite test sonuçları

KAYNAKLAR

- [1] Tuncay, S., (2013). Doğal Ürün Diarilheptanoid 1-(4''-Metoksifenil)-7-(4'-Hidroksifenil)-(E)-Hept-2-en' İ'n Z-İzomerinin Sentezi, Yüksek lisans tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- [2] Ayaz, A., (2008). *Sideritis hololeuca* Boiss.&Heldr. apud Benth. ve *Sideritis libanotica* Labill. subsp. *Violascens* Ekstraktlarının Antibakteriyel Aktivitelerinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Konya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya.
- [3] Topcu, G., Altiner, E. N., Gozcu, S., Halfon, B., Aydogmus, Z., Pezzuto, J. M., Zhou, B. N., Kingston, D. G. I., (2003). "Studies on di- and triterpenoids from *Salvia staminea* with cytotoxic activity", *Planta Medica*, 69: 464-467.
- [4] Topcu, G., (2006). "Bioactive Triterpenoids from *Salvia* Species", *Journal of Natural Products*, 69: 482-487.
- [5] Topcu, G., Ertas, A., Kolak, U., Ozturk, M., Ulubelen, A., (2007). "Anti-oxidant activity tests on novel triterpenoids from *Salvia macrochlamys*", *Arkivoc*, 7: 195-208.
- [6] Tetik, S., (1996). *Cistus Laurifolius* L. ve *Cistus Parviflorus* Lam. Uçucu yağlarının bileşimi, Yüksek lisans tezi, Anadolu Üniversitesi, Eskişehir,
- [7] Kıvrak, İ., (2006). *Salvia Potentillifolia* Boiss.&Heldr. ex Benth. bitkisinin uçucu bileşenlerinin analizi ve antioksidatif özelliklerinin belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Muğla Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, Muğla.
- [8] Kirimer, N., Cingi, M.I., Öztürk, N., Aydın, S., Özkul, H., Baser, K.H.C. *Salvia Sclarea*, *Salvia fruticosa* ve *Dorystoechas hastata* Uçucu Yağlarının Farmakolojik etkileri. 9. Bitkisel ilaç Hammaddeleri Toplantısı, 16-19 Mayıs 1991, Eskişehir, 382-388.
- [9] Topcu, G., Bodige, S.G., Gören, A.C., Kılıç, T., Yıldız, Y.K., Watson, W.H., (2001). "CCDC 158699 (Chambridge Crystallographic Data Centre)", Private Communication, 1078.
- [10] Tedder, J. M., Nechvatal, A., Murray, A. W., Carnduff, V., (1972). *Basic organic chemistry, Part 4, Natural products*, Willey, London.
- [11] Sönmez, U. (1995). *Salvia napifolia* Jacq. Bitkisinden elde edilen yeni diterpenoid bileşiklerinin yapı araştırılması, Doktora tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

- [12] Clayden, J., Greeves, N., Warren, S., Wothers, P., (2001). Organic Chemistry, Second Edition, Oxford University Press Inc., New York.
- [13] Gören, A. C. (2002). Bazı Sideritis (*Sideritis argyrea*, *Sideritis dichotoma*, *Sideritis trojana*) Türlerinin Diterpenik Bileşenlerinin İzolasyonu ve Yapılarının Tayini, Doktora Tezi, Balıkesir Üniversitesi Fenbilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, Balıkesir.
- [14] Özer, Z. (2010). *Sideritis* L. (*Lamiaceae*) Türlerinden izole edilen siderol bileşiği üzerine deneysel ve hesapsal çalışmalar, Yüksek Lisans Tezi, Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, Balıkesir.
- [15] Karahan, A., (2007). *Sideritis Gülendami* H. Duman & K. A. Karavelioğlu bitkisinin diterpen bileşiklerinin izolasyonu ve yapılarının tayini, Yüksek Lisans Tezi, Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, Balıkesir.
- [16] McMurry, (1986), Journal of Organic Chemistry, Fourth Edition, Brooks Cole Publishing Company, Chapter 28, 1099-1123.
- [17] Ulubelen, A., Evren, N., Tuzlacy, E., Johansson, C., (1988). "Diterpenoids from the roots of *Salvia hypargeia*", Journal of Natural Products, 51: 1178–1183.
- [18] Ulubelen, A., Topçu, G., Chen, S., Ca., P., Snyder, J. K., (1991). A new abietane diterpene from *Salvia wiedemannii* Boiss. The Journal of Organic Chemistry, 56: 7354–7356.
- [19] Çöl, Ç., (2007). *Sideritis Tmolea* P. H. Davis Bitkisinin Diterpen Bileşenlerinin İzolasyonu Ve Yapılarının Tayini, Doktora Tezi, Balıkesir Üniversitesi Fenbilimleri Enstitüsü, Balıkesir.
- [20] Hill R. A., Connolly J. D., (2015). "Triterpenoids", Natural Product Reports, 32: 273–327.
- [21] Liu J. (2005). "Oleanolic Acid and Ursolic Acid: Research perspectives", Journal of Ethnopharmacology, 100: 92–94.
- [22] Perez-Camino M.C., Cert A., (1999). "Quantitative determination of hydroxy pentacyclic triterpene acids in vegetable oils.", Journal of Agricultural and Food Chemistry, 47: 1558-1562.
- [23] Hatipoğlu, S. D., (2010). *Salvia Adenophylla* ve *Salvia Verticillata* Subsp. *Amasiaca* Bitkilerindeki Sekonder Metabolitlerin Aktivite Odaklı İzolasyonu ve Yarı Sentetik Türevlerinin Antioksidan ve Anti-kolinesteraz Aktivitelerinin İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, İstanbul.
- [24] Bahtiyarca B. R., Gümüştü A., Coşge B., (2006). "Lamiaceae Familyasına Ait Önemli Bazı Türlerin Kullanım Alanları", Ziraat Mühendisliği Dergisi, Temmuz-Aralık, Sayı 347: 10-15,56.
- [25] Jash, S. K., Gorai, D., Roy, R., (2016). "Salvia Genus and triterpenoids. International", Journal of Pharmaceutical Sciences and Research, 7: 4710-4732.
- [26] Mukherjee, T., Sarkar, T., Paul, P., Chakraborty, A. K., Jaisankar, P., Mukhopadhyay, S. B., (2012). "Putralone, a Novel 10 α -Hydroxy-25-nor D:A

- friedo-oleanan Triterpenoid from *Putranjiva roxburghii*”, *Natural Product Communications*, 7: 511-513.
- [27] Ango, P. Y., Kapche, D. W. F. G., Kuete, V., Ngadjui, B. T., Bezabih, M., Abegaz, B. M., (2012). “Chemical constituents of *Trilepisium madagascariense* (Moraceae) and their antimicrobial activity” *Phytochemistry Letters*, 5: 524-528.
 - [28] Oliveira, J. P. C., Ferreira, E. L. F., Chaves, M. H., Militao, G. C. G., Junior, G. M. V., Costa, A. D., Pessoa, C. D., de Moraes, M. O., Costa-Lotufo, L. V., (2012). “Chemical constituents of *Lecythis pisonis* and cytotoxic activity”, *Revista Brasileira De Farmacognosia-Brazilian Journal Of Pharmacognosy*, 22: 1140-1144.
 - [29] Abdallah, H. M., Ezzat, S. M., El Dine, R. S., Abdel-Sattar, E., Abdel-Naim, A. B., (2013). “ Protective effect of *Echinops galalensis* against CCl₄-induced injury on the human hepatoma cell line (Huh7)”, *Phytochemistry Letters*, 6: 73-78.
 - [30] Noundou, X. S., Krause, R. W. M., van Vuuren, S. F., Ndinteh, D. T., Olivier, D. K., (2016). “Antibacterial effects of *Alchornea cordifolia* (Schumach. and Thonn.) Mull. Arg extracts and compounds on gastrointestinal, skin, respiratory and urinary tract pathogens”, *Journal of Ethnopharmacology*, 179: 76-82.
 - [31] Pollier, J.; Goossens, A., (2012). “Oleanolic acid”, *Phytochemistry*, 77: 10-15.
 - [32] Khathi, A.; Serumula, M. R.; Myburg, R. B.; Van Heerden, F. R.; Musabayane, C. T., (2013). “Effects of *Syzygium aromaticum*-Derived triterpenes on postprandial blood glucose in streptozotocin-induced diabetic rats following carbohydrate challenge”, *PlosOne*, 8: e81632
 - [33] Zheng, Q., Liu, Y., Chen, H., Xiao, Y., Zeng, X., Wei, Y., Luo, X., Xiaol, X., Wang, Z., Zheng, X., (2015). “Advances in Research on Pharmacological Activities and Synthesis of Oleanolic acid Derivatives at C-3 Position”, *Journal of Natural Products*, 5: 191-198.
 - [34] Li, L., Wei, L., Shen, A., Chu, J., Lin, J., Peng, J., (2015). “Oleanolic acid modulates multiple intra cellular targets to inhibit colorectal cancer growth”, *International Journal of Oncology*, 47: 2247-2254.
 - [35] Chao, L., Xiaolan, W., Hongbin, S., (2016). “Oleanolic acid derivatives for pharmaceutical use: a patent review”, *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, 26: 643-55.
 - [36] Liu, J., (1995). “Pharmacology of oleanolic acid and ursolic acid”, *Journal of Ethnopharmacology*, 100: 92-94.
 - [37] Pattnaik, B., Nayak, V.L., Ramakrishna, S., Mallavadhani, U.V., (2016). “Synthesis of ring-C modified oleanolic acid derivatives and their cytotoxic evaluation”, *Bioorganic Chemistry*, 68: 152-158.
 - [38] Wang, X., Bai, H., Zhang, X., Liu, J., Cao, P., Liao, N., Zhang, W., Wang, Z., Hai, C., (2013). “Inhibitory effect of oleanolic acid on hepatocellular carcinoma via ERK–p53-mediated cell cycle arrest and mitochondrial-dependent apoptosis”, *Carcinogenesis*, 34: 1323–1330.

- [39] Amara, S., Zheng, M., Tiriveedhi, V., (2016). "Oleanolic Acid In hibits High Salt-Induced Exaggerationof Warburg-like Metabolism in Breast Cancer Cells", *Cell Biochemistry and Biophysics*, 74: 427–434.
- [40] Mu, D. W., Guo, H. Q., Zhou, G. B., Li, J. Y., Su, B., (2015). "Oleanolic acid suppresses the proliferation of human bladder cancer by Akt/mTOR/S6K and ERK1/2 signaling", *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, 8: 13864-70.
- [41] Oyenih, A. B., Ayeleso, A. O., Mukwevho, E., (2015). Masola, B., Anti-oxidant strategies in the management of diabetic neuropathy", *BioMed Research International*, 2015: 515042, 15.
- [42] Soumya, D., Srilatha, B., (2011). "Late stage complication soft diabetes and insulin resistance", *Journal of Diabetes and Metabolism*, 2: 167.
- [43] Sung, H. Y., Kang, S. W., Kim, J. L., Li, J., Lee, E. S., Gong, J. H., Han, S. J., Kang, Y. H., (2010). "Oleanolic acid reduces markers of differentiation in 3T3-L1 adipocytes", *Nutrition Research*, 30: 831–839.
- [44] Taiwo, B. A., Mashudu G. M., Emmanuel, M., (2017). " Oleanolic Acid and Its Derivatives: Biological Activities and Therapeutic Potential in Chronic Diseases", *Molecules*, 22: 1915.
- [45] Wang, X., Liu, R., Zhang, W., Zhang, X., Liao, N., Wang, Z., Li, W., Qin, X., Hai, C., (2013). "Oleanolic acid improves hepatic insulin resistance via anti-oxidant, hypolipidemic and anti-inflammatory effects", *Molecular and Cellular Endocrinology*, 376: 70–80.
- [46] Kim, S., Lee, H., Lee, S., Yoon, Y., Choi, K. H., (2015). "Antimicrobial action of oleanolic acid on *Listeria monocytogenes*, *Enterococcus faecium*, and *Enterococcus faecalis*", *PLoS ONE*, 10: e0118800.
- [47] Wang, J., Ren, H., Xu, Q. L., Zhou, Z. Y., Wu, P., Wei, X. Y., Cao, Y., Chen, X. X., Tan, J. W., (2015). "Antibacterial oleanan-type triterpenoids from pericarps of *Akebia trifoliata*", *Food Chemistry*, 168: 623–629.
- [48] Hoskeri, H. J., Krishna, V., Kumar, B. V., Shridar, A. H., Babu, K. R., Sudarshana, M. S., (2012). "In vivo prophylactic effects of oleanolic acid isolated from chloroform extract of *Flaveria trinervia* against ethanol induced liver toxicity in rats", *Archives of Pharmacal Research*, 35: 1803–1810.
- [49] Gutiérrez-Rebolledo, G. A., Siordia-Reyes, G. A., Meckes-Fischer, M., Jiménez-Arellanes, A., (2016). "Hepatoprotective properties of oleanolic and ursolic acids in antituber cular drug-induced liver damage", *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 9: 644–651.
- [50] Yew, W. W., Leung, C. C., (2006). "Antituberculosis drugs and hepatotoxicity. *Respirology*, 11: 699–707.
- [51] Tostmann, A., Boeree, M. J., Aarnoutse, R. E., DeLange, W., VanDerVen, A. J., Dekhuijzen, R., (2008). "Antituberculosis drug-induced hepatotoxicity: Concise up-to-date review", *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 23: 192–202.

- [52] Yu, Z., Sun, W., Peng, W., Yu, R., Li, G., Jiang, T., (2016). "Pharmaco kinetics in vitro and in vivo of two novel prodrugs of oleanolic acid in rats and its hepatoprotective effects against liver injury induced by CCl₄", *Molecular Pharmacology*, 13, 1699–1710.
- [53] Gao, D., Li, Q., Li, Y., Liu, Z., Fan, Y., Liu, Z., Zhao, H., Li, J., Han, Z., (2009). "Anti-diabetic and anti-oxidant effects of oleanolic acid from *Ligustrum lucidum* Ait in alloxan-induced diabetic rats", *Phytotherapy Research*, 23: 1257–1262.
- [54] Wang, X., Ye, X. L., Liu, R., Chen, H. L., Bai, H., Liang, X., Zhang, X. D., Wang, Z., Li, W. L., Hai, C. X., (2010). "Anti-oxidant activities of oleanolic acid in vitro: Possible role of Nrf2 and MAP kinases", *Chemico-Biological Interactions*, 184: 328–337.
- [55] Andersson, U., Tracey, K. J., (2011). "HMGB1 is a therapeutic target for sterile inflammation and infection", *Annual Review of Immunology*, 29: 139–162.
- [56] Lee, W., Yang, E. J., Ku, S. K., Song, K. S., Bae, J. S., (2013). "Anti-inflammatory effects of oleanolic acid on LPS-induced inflammation in vitro and in vivo", *Inflammation*, 36: 94–102.
- [57] Martín, R., Cordova, C., San Román, J. A., Gutierrez, B., Cachafeiro, V., Nieto, M. L., (2014). "Oleanolic acid modulates the immune-inflammatory response in mice with experimental autoimmune myocarditis and protects from cardiac injury. Therapeutic implications for the human disease", *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 72: 250–262.
- [58] Garcia-Granados, A., Lopez, P. E., Melguizo, E., Parra, A., Simeo Y., (2004). "Partial synthesis of C-ring derivatives from oleanolic and maslinic acids. Formation of several triene systems by chemical and photochemical isomerization processes", *Tetrahedron*, 60: 1491–1503.
- [59] Bednarczyk-Cwynar, B., Zaprutk, L., (2015). "Recent advances in synthesis and biological activity of triterpenic acylated oximes", *Phytochemistry Reviews*, 14: 203–231.
- [60] Fengran, L., Yang, L., Shuai, W., Gaofei, W., Maosheng, C., (2016). "Synthesis and Tumor Cytotoxicity of Novel 1,2,3-Triazole-substituted 3-Oxo-oleanolic Acid Derivatives", *Chemical Research in Chinese Universities*, 32: 938-942.
- [61] Latha, S., Selvamani, P., Kumar, C. S., Sharavanan, P., Suganya, G., Beniwal, V. S., Rao, P. R., (2009). "Formulation development and evaluation of metronidazole magnetic nanosuspension as a magnetic-targeted and polymericcontrolled drug delivery system", *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 321: 1580-1585.
- [62] Meiwan, C., Zhangfeng, Z., Wen, T., Shengpeng, W., Yitao, W., (2011). "Recent advances in nanoparticle formulation of oleanolic acid", *Chinese Medicine*, 6: 20.
- [63] Chen, Y., Liu, J., Yang, X., Zhao, X., Xu, H., (2005). "Oleanolic acid nanosuspensions: preparation, in-vitro characterization and enhanced hepatoprotective effect", *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 57: 259-264.

- [64] Speiser P.P., (1991) "Nanoparticles and liposomes: a state of the art", *Methods and Findings In Experimental and Clinical Pharmacology*, 13: 337-342.
- [65] Huang, Y., Li, Y., Li, X. Z., Liu, S., Lei, P., Xiao, J., (2008). "Study on the release of oleanolic acid loaded nanocapsules in vitro", *Journal of Chinese Medicinal Materials*, 31: 283-285.
- [66] Terreno, E., Delli Castelli, D., Cabella, C., Dastru, W., Sanino, A., Stancanella, J., Tei, L., Aime, S., (2008). "Paramagnetic liposomes as innovative contrast agents for magnetic resonance (MR) molecular imaging applications" *Chemistry & Biodiversity*, 5: 1901-1912.
- [67] Lai, H., Ma, L., (2007). "Study on preparation of oleanolic acid liposomes", *Journal of Xinjiang Medical University*, 30: 581-583.
- [68] Perrin, D.D., Armarego, W.L.F., Perrin, D.K., (1981). *Purification of Laboratory Chemicals*, Second Edition, Pergamon Press, Oxford.
- [69] Reiner, T., Parrondo, R., De las Pozas, A., Palenzuela, D., Perez-Stable, C., (2013). "Betulinic Acid Selectively Increases Protein Degradation and Enhances Prostate Cancer-Specific Apoptosis: Possible Role for Inhibition of Deubiquitinase Activity", *Plos One*, 8: e56234.
- [70] Kim, S. M., Lee, S. Y., Yuk, D. Y., Moon, D. C., Choi, S. S., Kim, Y., Han, S. B., Oh, K. W., Hong, J. T., (2009). "Inhibition of NF-kappa B by ginsenoside Rg3 enhances the susceptibility of colon cancer cells to docetaxel", *Archives of Pharmacal Research*, 32: 755-765.
- [71] Prasad, S., Madan, E., Nigam, N., Roy, P., George, J., Shukla, Y., (2009). "Induction of apoptosis by lupeol in human epidermoid carcinoma A431 cells through regulation of mitochondrial, Akt/PKB and NF kappa B signaling pathways" *Cancer Biology & Therapy*, 8: 1639-1646.
- [72] Zhang, Q., Chang, Z., Wang, Q., (2006). "Ursan triterpenoids inhibit atherosclerosis and xanthoma in LDL receptor knockout mice", *Cardiovascular Drugs and Therapy*, 20: 349-357.
- [73] D'Abrosca, B., Fiorentino, A., Monaco, P., Oriano, P., Pacifico, S., (2006). "Annurcoic acid: A new anti-oxidant ursan triterpene from fruits of cv. Annurca apple", *Food Chemistry*, 98: 285-290.
- [74] Ling, H., Jia, X. B., Zhang, Y. C., Gapter, L. A., Lim, Y. S., Agarwal, R., Ng, K. Y., (2010). "Pachymic Acid Inhibits Cell Growth and Modulates Arachidonic Acid Metabolism in Nonsmall Cell Lung Cancer A549 Cells", *Molecular Carcinogenesis*, 49: 271-282.
- [75] Medeiros, R., Otuki, M. F., Avellar, M. C. W., Calixto, J. B., (2007). "Mechanisms underlying the inhibitory actions of the pentacyclic triterpene alpha-amyrin in the mouse skin inflammation induced by phorbol ester 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate", *European Journal of Pharmacology*, 559: 227-235.

- [76] Manu, K. A., Kuttan, G., (2008). "Ursolic acid induces apoptosis by activating p53 and caspase-3 gene expressions and suppressing NF-kappa B mediated activation of bcl-2 in B16F-10 melanoma cells" *International Immunopharmacology*, 8: 974-981.
- [77] Liby, K. T., Yore, M. M., Sporn, M. B., (2007). "Triterpenoids and rexinoids as multifunctional agents for the prevention and treatment of cancer", *Nature Reviews Cancer*, 7: 357-369.
- [78] Hsu, Y. L., Kuo, P. L., Lin, C. C., (2004). "The proliferative inhibition and apoptotic mechanism of Saikosaponin D in human non-small cell lung cancer A549 cells", *Life Sciences*, 75: 1231-1242.
- [79] Nair, A. S., Shishodia, S., Ahn, K. S., Kunnumakkara, A. B., Sethi, G., Aggarwal, B. B., (2006). "Deguelin, an akt inhibitor, suppresses I kappa B alpha kinase activation leading to suppression of NF-kappa B-regulated gene expression, potentiation of apoptosis, and inhibition of cellular invasion", *Journal of Immunology*, 177: 5612-5622.
- [80] Tabata, M., Tabata, R., Grabowski, D. R., Bukowski, R. M., Ganapathi, M. K., Ganapathi, R., (2001). "Roles of NF-kappa B and 26 S proteasome in apoptotic cell death induced by topoisomerase I and II poisons in human nonsmall cell lung carcinoma", *Journal of Biological Chemistry*, 276: 8029-8036.
- [81] Ukiya, M., Akihisa, T., Tokuda, H., Suzuki, H., Mukainaka, T., Ichiishi, E., Yasukawa, K., Kasahara, Y., Nishino, H. (2002). "Constituents of Compositae plants III. Anti-tumor promoting effects and cytotoxic activity against human cancer cell lines of triterpene diols and triols from edible chrysanthemum flowers", *Cancer Letters*, 177: 7-12.
- [82] Cai, X. F., Lee, I. S., Shen, G., Dat, N. T., Lee, J. J., Kim, Y. H., (2004). "Triterpenoids from *Acanthopanax koreanum* root and their inhibitory activities on NFAT transcription", *Archives of Pharmacal Research*, 27: 825-828.
- [83] Dat, N. T., Lee, I. S., Cai, X. F., Shen, G., Kim, Y. H., (2004). "Oleanan triterpenoids with inhibitory activity against NFAT transcription factor from *Liquidambar formosana*", *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 27: 426-428.
- [84] Suh, N., Roberts, A. B., Reffey, S. B., Miyazono, K., Itoh, S., ten Dijke, P., Heiss, E. H., Place, A. E., Risingsong, R., Williams, C. R., Honda, T., Gribble, G. W., Sporn, M. B., (2003). "Synthetic triterpenoids enhance transforming growth factor beta/Smad signaling", *Cancer Research*, 63: 1371-1376.
- [85] Rios, J. L., (2010). "Effects of triterpenes on the immune system", *Journal of Ethnopharmacology*, 128: 1-14.
- [86] Huang, M. T., Ho, C. T., Wang, Z. Y., Ferraro, T., Lou, Y. R., Stauber, K., Ma, W., Georgiadis, C., Laskin, J. D., Conney, A. H., (1994). "Inhibition of Skin Tumorigenesis by Rosemary and Its Constituents Carnosol And Ursolic Acid", *Cancer Research*, 54: 701-708.
- [87] Nishino, H., Nishino, A., Takayasu, J., Hasegawa, T., Iwashima, A., Hirabayashi, K., Iwata, S., Shibata, S., (1988). "Inhibition of The Tumor-Promoting Action Of 12-

- O-Tetradecanoylphorbol-13-Acetate by Some Oleanan-Type Triterpenoid Compounds", *Cancer Research*, 48: 5210-5215.
- [88] Connolly, J. D., Hill, R. A., (2010). "Triterpenoids", *Natural Product Reports*, 27: 79-132.
- [89] Dzubak, P., Hajduch, M., Vydra, D., Hustova, A., Kvasnica, M., Biedermann, D., Markova, L., Urban, M., Sarek, J., (2006). "Pharmacological activities of natural triterpenoids and their therapeutic implications", *Natural Product Reports*, 23: 394-411.
- [90] Honda, T., Rounds, B. V., Bore, L., Finlay, H. J., Favaloro, F. G., Suh, N., Wang, Y. P., Sporn, M. B., Gribble, G. W., (2000). "Synthetic oleanan and ursan triterpenoids with modified rings A and C: A series of highly active inhibitors of nitric oxide production in mouse macrophages", *Journal of Medicinal Chemistry*, 43: 4233-4246.
- [91] Sen, R., and D. Baltimore, (1986). "Inducibility of Kappa-Immunoglobulin Enhancer-Binding Protein Nf-Kappa-B by a Posttranslational Mechanism", *Cell*, 47: 921-928.
- [92] Wan, F. Y., Lenardo, M. J., (2010). "The nuclear signaling of NF-kappa B: current knowledge, new insights, and future perspectives", *Cell Research*, 20: 24-33.
- [93] Erman, B., Topcu, G., (2012). Inhibition of NF-kB Activity by Triterpene Compounds, Turkey, Koc Universitesi, Turk.
- [94] Ozturk, M., Erman, B., (2011). Structure Based Drug Design Against c-Rel Transcription Factor, Koç Üniversitesi Kimya, Biyoloji Mühendisliği Bölümü.
- [95] Greene, T. W., Wuts P. G. M., (2006). Protective Groups in Organic Synthesis, A Wiley Interscience Publication, 4th Edition, Michigan.
- [96] Soldi, C., Pizzolatti, M. G., Luiz, A. P., Marcon, R., Meotti, F. C., Mito, L. A., and Santos, A. R. S., (2008). "Synthetic derivatives of the alpha- and beta-amyrin triterpenes and their antinociceptive properties", *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 16: 3377-3386.
- [97] Kim, D. S., Bolla, K., Lee, S., Ham, J., (2011). "One-pot preparation of hydroxylated potassium organotrifluoroborates and subsequent Jones oxidation to potassium organocarbonyltrifluoroborates", *Tetrahedron*, 67: 1062-1070.
- [98] Honda, T., B. V. Rounds, G. W. Gribble, N. J. Suh, Y. P. Wang and M. B. Sporn (1998). "Design and synthesis of 2-cyano-3,12-dioxoolean-1,9-dien-28-oic acid, a novel and highly active inhibitor of nitric oxide production in mouse macrophages", *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 8: 2711-2714.
- [99] Sharples, K. B., Lauer R. F., Teranish, A. Y., (1973). "Electrophilic And Nucleophilic Organoselenium Reagents - New Routes To Alpha,Beta-Unsaturated Carbonyl-Compounds", *Journal of the American Chemical Society*, 95: 6137-6139.
- [100] Sheng, S. R., Liu, X. L., and Wang, X. C., (2003). 'Synthesis of alpha,beta-unsaturated ketones and esters using polymer-supported selenium bromide", *Journal of the Chinese Chemical Society*, 50: 279-281.

- [101] Diez, D., M. G. Nunez, A. B. Anton, P. Garcia, R. F. Moro, N. M. Garrido, I. S. Marcos, P. Basabe and J. G. Urones (2008). "Asymmetric epoxidation of electron-deficient olefins", *Current Organic Synthesis*, 5: 186-216.
- [102] Zilbeyaz, K., Kilic, H., Sisecioglu, M., Ozdemir, H., Gungor, A. A., (2012). "Preparation of enantiomerically pure p-substituted phenylethyl hydroperoxides by kinetic resolution and their use as enantioselective oxidants in the asymmetric Weitz-Scheffer epoxidation of E-chalcone", *Tetrahedron-Asymmetry*, 23: 594-601.
- [103] Baran, A., Balci M., (2009). "Stereoselective Synthesis of Bishomo-inositols as Glycosidase Inhibitors", *Journal of Organic Chemistry*, 74: 88-95.
- [104] Baran, A., Cambul, S., Nebioglu, M., Balci, M., (2012). "Design, Synthesis, and Biological Activities of Some Branched Carbasugars: Construction of a Substituted 6-Oxabicyclo 3.2.1 nonane Skeleton", *Journal of Organic Chemistry*, 77: 5086-5097.
- [105] Garrett, C. E., Prasad, K., Repic, O., Blacklock, T. J. (2002). "The enantioselective reduction of 2'-fluoroacetophenone utilizing a simplified CBS-reduction procedure", *Tetrahedron-Asymmetry*, 13: 1347-1349.
- [106] Xu, G., Liu, Z. Z., Yang, J. H., Chen S. Z., Yang H. Y., (2007). "Stereoselective synthesis of 3-butylphthalide via CBS catalytic reduction", *Chinese Chemical Letters*, 18: 653-655.
- [107] Marcos, I. S., Cubillo, M. A., Moro, R. F., Carballares, S., Diez, D., Basabe, P., Llamazares, C. F., Beneitez, A., Sanz, F., Broughton, H. B., Urones, J. G., (2005). "Synthesis of tri- and tetracyclic diterpenes. Cyclisations promoted by SmI₂", *Tetrahedron*, 61: 977-1003.
- [108] Topcu, G., Turkmen, Z., Ulubelen, A., Schilling, J. K., Kingston D. G. I., (2004). "Highly hydroxylated triterpenes from *Salvia kronenburgii*", *Journal of Natural Products*, 67: 118-121.
- [109] Kim, D. S., Pezzuto, J. M., Pisha, E., (1998). "Synthesis of betulinic acid derivatives with activity against human melanoma", *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 8: 1707-1712.
- [110] Hata, K., Hori, K., Ogasawara, H., Takahashi, S., (2003). "Anti-leukemia activities of Lup-28-al-20(29)-en-3-one, a lupan triterpene", *Toxicology Letters*, 143: 1-7.
- [111] Laszczyk, M., Jeger, S., Simon-Haarhaus, B., Scheffler, A., Schempp, C. M., (2006). "Physical, chemical and pharmacological characterization of a new oleogel-forming triterpene extract from the outer bark of birch (*betulae cortex*)", *Planta Medica*, 72: 1389-1395.
- [112] Pyo, J. S., Roh, S. H., Kim, D. K., Lee, J. G., Lee, Y. Y., (2009). "Anti-cancer effect of betulin on a human lung cancer cell line: a pharmacoproteomic approach using 2-D SDS Page coupled with nano-HPLC tandem mass spectrometry", *Planta Medica*, 75: 127-131.

- [113] Giniyatyllina, G. V., Smirnova, I. E., Kazakova, O. B., Yavorskaya, N. P., Golubeva, I. S., Zhukova O. S., Pugacheva, R. B., Apryshko, G. N., Poroikov, V. V., (2015). "Synthesis and anticancer activity of aminopropoxytriterpenoids", *Medicinal Chemistry Research*, 24: 3423-3436.
- [114] Narander, T., Khaliq, T., Singh, A. B., Joshi, M. D., Mishra, P., Chaturvedi, J. P., Srivastava, A. K., (2009). " Synthesis of α -Amyrin derivatives and in-vivo antihyperglycemic activity", *European Journal of Medicinal Chemistry*, 44: 1215-1222.
- [115] Ogwuche, C. E., Amupitan, J.O., Ndukwe, I.G., Ayo, R. G., (2014). "Isolation and Biological Activity of the Triterpene β -Amyrin from the Aerial Plant Parts of *Maesobotrya Barteri* (Baill)", *Medicinal Chemistry*, 4: 729-733.
- [116] Ching, J., Chua, T. K., Chin, L. C., Lau, A. J., Pang, Y. K., (2010). " β -Amyrin from *Ardisia elliptica*. Thunb is mor potent than aspirin in inhibiting collagen induced platelet aggregation" *Indian Journal of Experimental Biology*, 48: 275-279.
- [117] Hoshino, T., (2017). " β -Amyrin Biosynthesis: Catalytic Mechanism and Substrate Recognition", *Organic & Biomolecular Chemistry*, 15: 2869-2891.
- [118] Dongyin, C., Fengguo, X., Pu, Z., Jie, D., Hongbin, S., Xiaoan, W., Jun, L. , (2017). " Practical Synthesis of α -Amyrin, β -Amyrin, and Lupeol: The Potential Natural Inhibitors of Human Oxidosqualene Cyclase", *Archiv der Pharmazie Chemistry in Life Sciences*, 350: e170017

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Salih TUNCAY
Doğum Tarihi ve Yeri : 14/12/1984 - Erzurum
Yabancı Dili : İngilizce
E-posta : slhtuncay@gmail.com

ÖĞRENİM DURUMU

Derece	Alan	Okul/Üniversite	Mezuniyet Yılı
Y. Lisans	Organik Kimya	Atatürk Üniversitesi	2013
Lisans	Kimya Mühendisliği	Atatürk Üniversitesi	2011
	Kimya	Atatürk Üniversitesi	2009
Lise		Aydın Lisesi	2002

İŞ TECRÜBESİ

Yıl	Kurum/Firma	Görevi
2015-	Üsküdar Üniversitesi	Öğretim Görevlisi
2009-2010	Sadıkoglulları Lokum Gıda İmalat SAN. TUR. PAZ. TİC. LTD. ŞTİ	Sorumlu Müdür
2010-2012	Çobanoğlu Gıda Sanayii	Sorumlu Müdür

YAYINLARI

Makale

1. Tuncay, S., Şenol, H., Güler, E. M., Öcal, N., Seçen, H., Koçyiğit, A., Topçu, G., (2018). "Synthesis of Oleanolic Acid Analogues and Their Cytotoxic Effects on 3T3 Cell Line", *Medicinal Chemistry*, 14: 1-9.

Ulusal Bildiriler

1. Kızılkaya, I. G., Babalı, S., Tuncay, S., Koca, İ., Seçen, H., (2012). "Yeni yöntemlerle diarilheptanoidlerin sentezi", Uluslar Arası Katılımlı 26. Ulusal Kimya Kongresi, 01-06 Ekim 2012, Muğla (Poster)
2. Tuncay, S., Seçen, H., (2013). "Doğal Ürün Diarilheptanoid 1-(4''-metoksifenil)-7-(4'-hidroksifenil)-(E)-hept-2-en'in İki Sentetik Türevinin Oluşumu", 1. İlaç Kimyası Kongresi, 29-31 Mart 2013, Antalya (Poster).
3. Tuncay, S., Şenol, H., Güler, E. M., Öcal, N., Seçen, H., Koçyiğit, A., Topçu, G., (2017). "Oleanolik Asit Türevlerinin Sentezi ve Sitotoksik Aktivitelerinin Araştırılması", 5. İlaç Kimyası: İlaç Etkin Maddesi Tasarımı, Sentezi, Üretimi ve Standardizasyonu Kongresi, 30 Mart-02 Nisan 2017, Antalya (Poster).
4. Şenol, H., Tuncay, S., Seçen, H., Öcal, N., Akdemir, A., Topçu, G., (2017). "Nükleer Faktör Kappa-B İnhibisyon Etkili Ursan Türevi Triterpenlerin Sentezi", 5. İlaç Kimyası: İlaç Etkin Maddesi Tasarımı, Sentezi, Üretimi Ve Standardizasyonu Kongresi, 30 Mart-02 Nisan 2017, Antalya (Poster)

Uluslararası Bildiriler

5. Şenol, H., Tuncay, S., Seçen, H., Öcal, N., Topçu, G., "Ursolik Asit ve Oleanolik Asitten Hareketle alfa-Amirin ve beta-Amirin Sentezi için Yeni ve Etkin Bir Yöntem", 3.Uluslararası İlaç ve Eczacılık Kongresi (IVEK 3rd International Convention of Pharmaceuticals and Pharmacies), 26-29 Nisan 2017, İstanbul (Poster).
6. Şenol, H., Tuncay, S., Güler, E. M., Seçen, H., Öcal, N., Akdemir, A., Koçyiğit, A., Topçu, G., "Bazı Uvaol Türevlerinin Sentezi ve in vitro Biyoaktivitelerinin İncelenmesi", 3.Uluslararası İlaç ve Eczacılık Kongresi (IVEK 3rd International Convention of Pharmaceuticals and Pharmacies), 26-29 Nisan 2017, İstanbul (Poster)

ÖDÜLLER

TÜBİTAK-BİDEB 2211-A Yurt İçi Doktora Burs Programı

2009 Yılı Atatürk Üniversitesi Kimya Bölümü Lisans Üçüncülüğü