



**MOLEKÜLER MODELLEME YÖNLENDİRMELİ
OLARAK URSAN TÜREVİ TRİTERPENLERİN
SENTEZLERİ VE BAZI BİYOLOJİK
AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ**

Halil ŞENOL

Doktora Tezi

Kimya Anabilim Dalı

Organik Kimya Bilim Dalı

Prof. Dr. Abdullah MENZEK

Prof. Dr. Gülaçtı TOPÇU

2018

Her Hakkı Saklıdır

**ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

DOKTORA TEZİ

**MOLEKÜLER MODELLEME YÖNLENDİRMELİ OLARAK
URSAN TÜREVİ TRİTERPENLERİN SENTEZLERİ VE BAZI
BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ**

HALİL ŞENOL

**KİMYA ANABİLİM DALI
Organik Kimya Bilim Dalı**

**ERZURUM
2018**

Her hakkı saklıdır



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



TEZ ONAY FORMU

**MOLEKÜLER MODELLEME YÖNLENDİRMELİ OLARAK URSAN TÜREVİ
TRİTERPENLERİN SENTEZLERİ VE BAZI BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN
İNCELENMESİ**

Prof. Dr. Abdullah MENZEK ve Prof. Dr. Gülaçtı TOPÇU danışmanlığında, Halil ŞENOL tarafından hazırlanan bu çalışma 09/05/2018 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Kimya Anabilim Dalı Organik Kimya Bilim Dalında Doktora Tezi olarak **oybirliği (7./7.) oy çokluğu (.../...)** ile kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Hasan SEÇEN
Üye : Prof. Dr. Abdullah MENZEK (Danışman)
Üye : Prof. Dr. Gülaçtı TOPÇU (Eş Danışman)
Üye : Prof. Dr. Ömer Faruk ALGUR
Üye : Prof. Dr. Turan ÖZTÜRK
Üye : Prof. Dr. Süleyman GÖKSU
Üye : Doç. Dr. Atilla AKDEMİR

Handwritten signatures of the jury members.

Yukarıdaki sonuç;

Enstitü Yönetim Kurulu ..24.05../2018 tarih ve ..21../17..... nolu

kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Mehmet KARAKAŞ

Fen Bilimleri Enstitüsü

Müdürü

Prof. Dr. Cevat KAZAN

Enstitü Müdürü

Handwritten signature of Prof. Dr. Cevat KAZAN.

Bu çalışma TÜBİTAK - 1001 Araştırma Projesi (113Z694) kapsamında desteklenmiştir.

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

ÖZET

Doktora Tezi

MOLEKÜLER MODELLEME YÖNLENDİRMELİ OLARAK URSAN TÜREVİ TRİTERPENLERİN SENTEZLERİ VE BAZI BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ

Halil ŞENOL

Atatürk Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Ana Bilim Dalı
Organik Kimya Bilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Abdullah MENZEK, Eş Danışman: Prof. Dr. Gülaçtı TOPÇU

Bu çalışmada, pek çok biyoaktiviteye sahip doğal triterpen ursolik asitten (3β -hidroksiurs-12-en-28-oik asit) hareketle Nükleer Faktör Kappa B (NF- κ B) inhibisyon aktivitesi gösterme potansiyeli olan triterpenlerin sentezi hedeflendi. Bu amaçla öncelikle ursolik asitten sentezi tasarlanan farklı türevlerin NF- κ B inhibisyon aktiviteleri moleküler docking yöntemleriyle incelendi. Oluşturulan veri bankasındaki bileşiklerin ilgili proteinler veya enzimler ile bağlanma skorları tayin edildi ve sentez için uygun moleküller belirlendi. Sentetik çalışmalarda moleküler modelleme sonuçları da dikkate alınarak ursolik asitten hareketle 39 tanesi yeni olmak üzere toplam 57 adet bileşik sentezlendi. Sentez çalışmalarında α -amirinin (3β -hidroksiurs-12-en) yarı sentezi için ursolik asitten hareketle üç basamaklı yeni ve etkin bir yöntem geliştirildi. Uvaol (3β -hidroksiurs-12-en-28-ol) ve uvaol-3-metil eter (3β -metoksiurs-12-en-28-ol) bileşikler üzerinden asetat, mesilat, tosilat, benzoat, akrilat ve metakrilat esterleri gibi ester türevlerinin yanı sıra metil, metoksimetil, metoksietoksimetil, *n*-butil, allil, propargil, silil ve 2,3-epoksi-1-propil eter türevleri sentezlendi. 2,3-epoksi-1-propil eter türevi üzerinden NaOMe, NaN₃ ve H₃O⁺ gibi reaktiflerle epoksit açılma ürünleri sentezlendi. Epoksitin sodyum azid ile açılmasıyla elde edilen azidoalkol türevi üzerinden fenilasetilen ile [2+3] siklokatılma reaksiyonu yapıldı ve bir triazol türevi elde edildi. Ursolik asitten hareketle A, C ve D halkalarında enon, epoksit ve lakton yapıları içeren ursan türevleri elde edildi ve bu bileşiklerin yapıları aydınlatıldı. Oksidasyon ürünlerinin bir kısmı doğrudan meydana gelirken dört bileşik oksidatif düzenlenme ürünü olarak ele geçti. Yapılan *in silico* NF- κ B taramalarında bağlanma skoru en yüksek olan bileşikler ursolik asit, bileşik 117 (3β -metoksiurs-12-en-28-ol, 28-*O*-*p*-nitrobenzoil) ve bileşik 118 (3β -metoksiurs-12-en-28-ol, 28-*O*-mesil) olarak belirlendi. Sentezlenen bileşiklerden seçilmiş bir seri triterpen türevine 3T3 fibroblast insan sağlıklı hücreleri üzerinde *in vitro* sitotoksiste, genotoksiste ve hücre içi ROS seviyesi ölçüm deneyleri yapıldı. Triterpenlerin konsantrasyonu 1.56 μ M olduğunda bağlı canlılık en yüksek seviyede iken artan konsantrasyona bağlı olarak sitotoksistenin arttığı gözlemlendi. 100 μ M konsantrasyonda en düşük sitotoksisteye sahip bileşikler 142 (3β -metoksiurs-12-en-28-oik asit), 157 (3β -hidroksiurs-12-en-28-ol, 28-*O*-asetil) ve 159 (3β -hidroksiurs-12-en-28-ol, 3,28-di-*O*-mesil) numaralı bileşikler olarak belirlendi. Hücre içi reaktif oksijen türlerinin (ROS) miktar ölçümlerinde ROS miktarını en az arttıran triterpen türevi ise bileşik 118 olarak belirlendi.

2018, 298 sayfa

Anahtar kelimeler: Ursolik asit, Uvaol, α -Amirin, Nükleer Faktör Kappa B, Moleküler Modelleme, Sitotoksiste, Genotoksiste, ROS

ABSTRACT

Ph.D. Thesis

SYNTHESIS OF URSANE TRITERPENOIDS BY MOLECULAR MODELLING ASSISTED AND INVESTIGATION OF SOME BIOLOGICAL ACTIVITIES

Atatürk University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Chemistry
Organic Chemistry Division

Supervisor: Prof. Dr. Abdullah MENZEK, Co-Supervisor: Prof. Dr. Gülaçtı TOPÇU

In this study, the synthesis of triterpenes with potential Nuclear Factor Kappa B (NF- κ B) inhibitory activity starting from natural bioactive triterpene ursolic acid (3 β -hydroxyurs-12-ene-28-oic acid) was aimed. For this purpose, initially NF- κ B inhibitory activities of different triterpene derivatives designed from ursolic acid were investigated by molecular docking methods. In the created database, the binding scores of the compounds with proteins or enzymes were determined and identified the appropriate molecules for synthesis. Based on the results of docking studies, 57 compounds were synthesized from ursolic acid, 39 of which were new. A new and efficient method has been developed for semi-synthesis of α -amyrin from ursolic acid in three steps. Methyl, methoxymethyl, methoxyethoxymethyl, *n*-butyl, allyl, propargyl, silyl and 2,3-epoxy-1-propyl ether derivatives have been synthesized as well as ester derivatives such as acetate, mesylate, tosylate, benzoate, acrylate and methacrylate from uvaol (3 β -hydroxyurs-12-ene-28-ol) and uvaol-3-methyl ether (3 β -methoxyurs-12-ene-28-ol). Epoxide opening products were synthesized reaction from the 2,3-epoxy-1-propyl ether derivative with reagents such as NaOMe, NaN₃ ve H₃O⁺. To synthesize a triazole derivative [2+3] cycloaddition reaction was performed with epoxide opening product, azido alcohol, and phenyl acetylene. Ursane derivatives including enon, epoxide and lactone structures in A, C and D rings, were synthesized from ursolic acid, and their structures were determined. Some of these oxidation products were formed directly from the reactions but four compounds were obtained as oxidative rearrangements products. Compounds with the highest binding score in the *in silico* NF- κ B tests are ursolic acid, compound **117** (3 β -methoxyurs-12-ene-28-ol, 28-*O*-*p*-nitrobenzoyl) and compound **118** (3 β -methoxyurs-12-en-28-ol, 28-*O*-mesyl). *In vitro* cytotoxicity, genotoxicity and intracellular reactive oxygen species (ROS) level measurement experiments were performed on 3T3 fibroblast human healthy cells to a series of triterpene derivatives selected from the synthesized compounds. When the concentration of triterpenes was 1.56 μ M, the relative viability was at the highest level, whereas the cytotoxicity increased with increasing concentration. The compounds with the lowest cytotoxicity at 100 μ M concentration were determined as **142** (3 β -methoxyurs-12-ene-28-oic acid), **157** (3 β -hydroxyurs-12-en-28-ol, 28-*O*-acetyl) and **159** (3 β -hydroxyurs-12-ene-28-ol, 3,28-di-*O*-mesyl). The triterpene derivative, which least increase of the intracellular ROS levels was determined as compound **118** (3 β -methoxyurs-12-en-28-ol, 28-*O*-mesyl).

2018, 298 pages

Keywords: Ursolic acid, Uvaol, α -Amyrin, Nuclear Factor Kappa B, Molecular Docking, Cytotoxicity, Genotoxicity, ROS

TEŞEKKÜR

Doktora tezi olarak sunduğum bu çalışma Bezmiâlem Vakıf Üniversitesi Eczacılık Fakültesi ve Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümünde gerçekleştirilmiş olup TÜBİTAK 1001 Araştırma Projesi kapsamında maddi olarak desteklenmiştir. Çalışmaya finansal ve lojistik açıdan destek sağlayan bu kurumlara teşekkür ederim.

Çalışmanın planlanmasında ve yürütülmesinde her zaman yakın ilgi ve desteğini gördüğüm, bilgi ve birikimlerinden çokça faydalandığım değerli hocalarım ve tez danışmanlarım Sayın Prof. Dr. Gülaçtı Topçu ve Sayın Prof. Dr. Abdullah Menzek'e sonsuz minnet ve şükranlarımı sunarım. Çalışmanın projeye dönüştürülmesi ve yürütülmesindeki her süreçte destek olan ve beni sürekli teşvik eden değerli hocam Sayın Prof. Dr. Hasan Seçen'e ayrıca teşekkürlerimi sunarım.

Doktora eğitimine başladığım Yıldız Teknik Üniversitesinde danışmanlığımı yapan Sayın Prof. Dr. Nüket Öcal'a ve sentez çalışmalarımın ilk bölümlerini laboratuvarında yürüttüğüm Sayın Prof. Dr. Turan Öztürk'e desteklerinden dolayı çok teşekkür ederim.

Tez kapsamında yapılan moleküler modelleme çalışmalarının planlanmasında ve yürütülmesinde büyük katkısı olan Sayın Doç. Dr. Atilla Akdemir'e ve yine moleküler modelleme çalışmalarında emeği olan Arş. Gör. Dr. Burcu Bütün'e teşekkür ederim. Biyolojik aktivite çalışmalarının yürütülmesinde emeği olan Öğr. Gör. Eray Metin Güler'e ve NMR spektrumlarının alınmasında emeği olan Öğr. Gör. Pınar Çağlar'a teşekkür ederim.

Deneyisel çalışmalarda ve tez yazım sürecinde desteğini esirgemeyen ve hiçbir fedakârlıktan kaçınmayan çok değerli eşim Arş. Gör. Dr. Ayşe Merve Şenol'a özellikle teşekkür ederim. Ayrıca, eğitim hayatım boyunca maddi ve manevi olarak her zaman desteğini gördüğüm anneme, babama ve kardeşlerime şükranlarımı sunarım.

Halil ŞENOL

Mayıs, 2018

İÇİNDEKİLER TABLOSU

ÖZET.....	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ	xvi
ÇİZELGELER DİZİNİ	xvii
1. GİRİŞ	1
1.1. Triterpenler ve Önemli Biyolojik Aktiviteleri.....	1
1.2. Nükleer Faktör Kappa B (NF-κB).....	5
1.2.1. NF-κB dimerlerinin oluşumu ve DNA'ya bağlanması.....	6
1.2.2. İnhibitör kappa B (IκB) kinaz (IKK) kompleksi	7
1.2.3. NF-κB sinyal iletim yolunun aktivasyonu	8
1.2.4. NF-κB aktivasyonunun sonlandırılması (NF-κB inhibisyonu).....	10
1.2.5. NF-κB aktivitesinin biyolojik etkileri.....	11
1.3. Moleküler Modelleme (Moleküler Docking)	12
1.4. Amaç ve Kapsam.....	13
2. KAYNAK ÖZETLERİ	16
2.1. Ursan ve Oleanan Triterpenler Üzerinden Sentetik Çalışmalar	16
2.2. Ursan ve Oleanan Triterpenler Üzerine Moleküler Modelleme Çalışmaları ...	29
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	32
3.1. Moleküler Modelleme Çalışmaları.....	32
3.1.1. Triterpenler için öngörülen hedef protein adayları	32
3.1.2. NF-κB/DNA kompleksinin hedef protein olarak araştırılması.....	32
3.1.2.1. Protein kristal yapısının elde edilmesi ve docking için hazırlanması	32

3.1.2.2.	NF- κ B/DNA kompleksi ile yapılan docking çalışmaları ve analizi.....	33
3.1.3.	NF- κ B/I κ B α kompleksinin hedef protein olarak araştırılması	34
3.1.3.1.	Protein kristal yapısının elde edilmesi ve docking için hazırlanması	34
3.1.3.2.	NF- κ B/I κ B α kompleksi ile yapılan docking çalışmaları ve analizi	35
3.1.4.	IKK2'nin triterpenler için hedef protein olarak araştırılması	35
3.1.4.1.	Protein kristal yapısının elde edilmesi ve docking için hazırlanması	35
3.1.4.2.	IKK2 üzerinde yapılan docking çalışmaları ve analizi	36
3.1.4.3.	IKK2 üzerinde yapılması planlanan docking çalışmalarının ön sonucu .	38
3.1.4.4.	İnsan IKK2 üzerinde triterpenler ile docking çalışmaları	39
3.1.5.	İnsan IKK1 üzerinde triterpenler ile docking çalışmaları.....	41
3.1.5.1.	İnsan IKK1'in homoloji modelinin oluşturulması	41
3.1.5.2.	İnsan IKK1 üzerinde yapılan docking çalışmaları	41
3.1.5.3.	İnsan IKK1 üzerinde yapılan docking çalışmalarının sonuçları	42
3.1.6.	İnsan c-Rel/c-Rel/I κ B α üzerinde triterpenler ile docking çalışmaları	43
3.1.6.1.	İnsan c-Rel/c-Rel/I κ B α 'nın homoloji modelinin oluşturulması	43
3.1.6.2.	İnsan c-Rel/c-Rel/ I κ B α üzerinde yapılan docking çalışmaları	44
3.1.6.3.	İnsan c-Rel/c-Rel/ I κ B α üzerinde docking sonuçlarının sonuçları	44
3.2.	Sentez Çalışmaları	45
3.2.1.	Ursolik asitin karboksil grubunun esterleştirilmesi	47
3.2.2.	Ursolik asitin MEMCl ile reaksiyonu	48
3.2.3.	Ursolik asitin MOMBr ile reaksiyonu	49
3.2.4.	Ursolik asitin TBDMSCl ile reaksiyonu.....	50
3.2.5.	Ursolik asitin trimetilsilil klorür ile reaksiyonu.....	51
3.2.6.	Ursolik asitin metil iyodür ile reaksiyonu.....	52
3.2.7.	Ursolik asitin metil türevlerinin LiAlH ₄ ile reaksiyonu.....	53
3.2.8.	Uvaol-3-metil eterin <i>p</i> -toluen sülfonil klorür ile reaksiyonu.....	54

3.2.9.	Uvaol-3-metil eterin metan sülfonil klorür ile reaksiyonu	55
3.2.10.	α -Amirin-3-metil eter bileşiğinin sentezi	56
3.2.11.	Uvaol-3-metil eterin bromlanma reaksiyonu	57
3.2.12.	Brom türevi bileşik 145 'in LiAlH_4 ile reaksiyonu	57
3.2.13.	Bileşik 144 'ün BBr_3 ile reaksiyonu	58
3.2.14.	Uvaol Sentezi	59
3.2.15.	Uvaol'un bromlanması	59
3.2.16.	α -Amirin sentezi	60
3.2.17.	α -Amirin'in PCC ile reaksiyonu	62
3.2.18.	Ursolik asitin PCC ile reaksiyonu	62
3.2.19.	Bileşik 60 'ın PCC ile reaksiyonu	63
3.2.20.	Bileşik 113 'ün CrO_3 ile reaksiyonu	63
3.2.21.	Bileşik 113 'ün SeO_2 ile reaksiyonu	64
3.2.22.	Bileşik 30 'un PhSeBr ile reaksiyonu	65
3.2.23.	Bileşik 30 'un SeO_2 ile Reaksiyonu	66
3.2.24.	Bileşik 152 'nin $t\text{-BuOOH}$ ile reaksiyonu	67
3.2.25.	Bileşik 153 'ün NaOMe ile reaksiyonu	68
3.2.26.	Uvaolun asetik anhidrit ile reaksiyonu	69
3.2.27.	Uvaolun metan sülfonil klorür ile reaksiyonu	70
3.2.28.	Uvaol'un trimetilsilil klorür ile reaksiyonu	70
3.2.29.	Uvaol-3-metil eterin asetil klorür ile reaksiyonu	71
3.2.30.	Uvaol-3-metil eterin benzoil klorür ile reaksiyonu	72
3.2.31.	Uvaol-3-metil eterin 4-nitrobenzoil klorür ile reaksiyonu	72
3.2.32.	Uvaol-3-metil eterin 3,5-dinitrobenzoil klorür ile reaksiyonu	73
3.2.33.	Uvaol-3-metil eterin metil iyodür ile reaksiyonu	73
3.2.34.	Uvaol-3-metil eterin n -bütil klorür ile reaksiyonu	74

3.2.35.	Uvaol-3-metil eterin MOMBr ile reaksiyonu	75
3.2.36.	Uvaol-3-metil eterin MEMCl ile reaksiyonu	75
3.2.37.	Uvaol-3-metil eterin 1,3-dibromopropan ile reaksiyonu	77
3.2.38.	Uvaol-3-metil eterin propargil bromür ile reaksiyonu	78
3.2.39.	Uvaol-3-metil eterin akrilol klorür ile reaksiyonu	78
3.2.40.	Uvaol-3-metil eterin metakrilol klorür ile reaksiyonu	79
3.2.41.	Uvaol-3-metil eterin ($\pm$)-epiklorohidrin ile reaksiyonu	79
3.2.42.	Epoksit bileşiği 177'nin sodyum metoksit ile reaksiyonu	80
3.2.43.	Epoksit bileşiği 177'nin sodyum azid ile reaksiyonu	80
3.2.44.	Epoksit bileşiği 177'nin su ile reaksiyonu	81
3.2.45.	Epoksit bileşiği 177'nin 2-naftol ile reaksiyonu	81
3.2.46.	Epoksit bileşiği 177'nin 3,4-dimetoksi benzil alkol ile reaksiyonu	82
3.2.47.	Azidoalkol 179'un 3,5-dinitrobenzoil klorür ile reaksiyonu.....	82
3.2.48.	Azidoalkol 179'un asetil klorür ile reaksiyonu.....	83
3.2.49.	Azidoalkol 179'un fenilasetilen ile reaksiyonu.....	83
3.2.50.	Uvaol-3-metil eterin (R)-(-)-epiklorohidrin ile reaksiyonu	84
3.2.51.	Uvaol-3-metil eterin (S)-(+)-epiklorohidrin ile reaksiyonu	85
3.2.52.	Epoksit bileşiği 186'nın sodyum azid ile reaksiyonu	85
3.2.53.	Epoksit bileşiği 187'nin sodyum azid ile reaksiyonu	86
3.2.54.	Ursolik asitin asetil klorür ile reaksiyonu	87
3.2.55.	Bileşik 112'nin asetil klorür ile reaksiyonu	87
3.3.	Biyolojik Aktivite Çalışmaları	88
3.3.1.	<i>in vitro</i> sitotoksikite deneyleri.....	88
3.3.2.	Hücre içi ROS düzeylerini belirleme çalışmaları	88
3.3.3.	Triterpenlerin insan sağlıklı hücreleri üzerindeki genotoksik etkisi.....	89
4.	ARAŞTIRMA BULGULARI.....	90

4.1. Deneyisel Yöntem	91
4.1.1. Bileşik 1'in (α -amirin) sentezi	91
4.1.2. Uvaol (2) sentezi	91
4.1.3. Uvaol-3-metil eter (13) bileşiğinin sentezi	92
4.1.4. Ursolik asitin asetil türevi bileşik 14'ün sentezi	92
4.1.5. Keton türevi bileşik 27'nin sentezi	93
4.1.6. Keton türevi bileşik 30'un sentezi	93
4.1.7. Ursolik asitin MeI ile reaksiyonu (60, 113 ve 142'nin sentezi)	94
4.1.8. Ursolik asitin MOMBr ile reaksiyonu (112 ve 139'un sentezi)	96
4.1.9. Uvaol-3-metil eterin <i>p</i> -nitrobenzoil türevi bileşik 117'nin sentezi	97
4.1.10. Uvaol-3-metil eterin mesilat türevi bileşik 118'in sentezi	98
4.1.11. Keton türevi bileşik 121'in sentezi	98
4.1.12. Ursolik asitin MEM türevi bileşik 137'nin sentezi	99
4.1.13. Ursolik asitin TBDMS türevi bileşik 140'ın sentezi	100
4.1.14. Ursolik asitin TMS türevi bileşik 141'in sentezi	100
4.1.15. Uvaol-3-metil eterin tosilat türevi bileşik 143'ün sentezi	101
4.1.16. Amirin türevi bileşik 144'ün sentezi	101
4.1.17. Uvaol-3-metil eterin brom türevi bileşik 145'in sentezi	102
4.1.18. Amirin türevi bileşik 146'nın sentezi	103
4.1.19. Uvaol'un bromlanması (147 ve 148'in sentezi)	103
4.1.20. Enon türevi bileşik 149'un Sentezi	104
4.1.21. Bileşik 113'ün SeO ₂ ile oksidasyonu (150 ve 151'in sentezi)	105
4.1.22. Bileşik 30'un SeO ₂ ile oksidasyonu (152, 153 ve 154'ün sentezi)	106
4.1.23. Uvaol'un asetillenmesi (157 ve 158'in sentezi)	108
4.1.24. Uvaolun mesilat türevi bileşik 159'un sentezi	108
4.1.25. Uvaolun trimetil silil eter türevleri bileşik 160 ve 161'in sentezi	109

4.1.26.	Uvaol-3-metil eterin asetil türevi bileşik 162 'nin sentezi.....	110
4.1.27.	Uvaol-3-metil eterin benzoil türevi bileşik 163 'ün sentezi.....	110
4.1.28.	Uvaol-3-metil eterin 3,5-dinitrobenzoil türevi bileşik 164 'ün sentezi....	111
4.1.29.	Uvaolun dimetil eter türevi bileşik 165 'in sentezi	111
4.1.30.	Uvaol-3-metil eterin n-butil türevi bileşik 166 'nın sentezi.....	115
4.1.31.	Uvaol-3-metil eterin MOM türevi bileşik 167 'nin sentezi	116
4.1.32.	Uvaol-3-metil eterin MEMCl ile reaksiyonu (168 ve 169 'un sentezi) ...	116
4.1.33.	Uvaol-3-metil eterin allil türevi bileşik 173 'ün sentezi	118
4.1.34.	Uvaol-3-metil eterin propargil türevi bileşik 174 'ün sentezi.....	118
4.1.35.	Uvaol-3-metil eterin akrilat türevi bileşik 175 'in sentezi	119
4.1.36.	Uvaol-3-metil eterin metakrilat türevi bileşik 176 'nın sentezi	120
4.1.37.	Uvaol-3-metil eterin epoksit türevi bileşik 177 'nin sentezi.....	120
4.1.38.	Epoksit açılma ürünü bileşik 178 'in sentezi	121
4.1.39.	Epoksit açılma ürünü bileşik 179 'un sentezi	121
4.1.40.	Epoksit açılma ürünü bileşik 180 'nin sentezi	121
4.1.41.	Asetil türevi bileşik 184 'ün sentezi.....	122
4.1.42.	Triazol türevi bileşik 185 'in sentezi.....	122
4.1.43.	Uvaol-3-metil eterin epoksit türevi bileşik 186 'nın sentezi.....	123
4.1.44.	Uvaol-3-metil eterin epoksit türevi bileşik 187 'nin sentezi.....	123
4.1.45.	Epoksit açılma ürünü bileşik 188 'in sentezi	124
4.1.46.	Epoksit açılma ürünü bileşik 189 'un sentezi	124
4.1.47.	Ursolik asit türevi bileşik 190 'in sentezi.....	125
4.2.	Biyolojik Aktivite Çalışmaları	126
4.2.1.	Kimyasallar ve Reaktifler	126
4.2.2.	Hücre Kültürü	126
4.2.3.	<i>in vitro</i> sitotoksosite deneylerinin sonuçları	126

4.2.4. Hücre içi ROS seviyeleri ölçüm çalışmalarının sonuçları	129
4.2.5. Genotoksisite çalışmalarının sonuçları	130
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	132
5.1. Docking çalışmalarının sonucu	132
5.1.1. NF- κ B/DNA kompleksi üzerindeki docking çalışmaların sonucu	132
5.1.2. NF- κ B/I κ B α kompleksi üzerindeki docking çalışmalarının sonucu.....	132
5.1.3. İnsan IKK2 üzerindeki docking çalışmaların sonucu	133
5.1.4. İnsan IKK1 üzerindeki docking çalışmalarının sonucu	135
5.1.5. İnsan c-Rel/c-Rel/ I κ B α üzerinde docking çalışmalarının sonucu	135
5.2. Docking Sonuçlarının Sentezlere Katkısı ve Yeni Türevlerin Sentezi	136
5.3. α -Amirin'in Yeni ve Etkili Bir Yöntemle Sentezi.....	141
5.4. Oksitlenmiş Ursan Türevlerinin Sentezi	142
5.5. Sentez Çalışmalarının Sonucu	145
5.6. Biyolojik Aktivite Çalışmalarının Sonuçları	146
KAYNAKLAR	148
EKLER.....	157
EK 1. NMR Spektrumları	157
ÖZGEÇMİŞ.....	297

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Å	Angström
Ac	Asetil
Ac ₂ O	Asetik anhidrit
AKR	Aldo-keto redüktaz
APCI	Atmosferik basınç kimyasal iyonizasyon
APT	Attached proton test
Arg	Arjinin (aminoasit)
Asp	Aspartik asit (aminoasit)
ATCC	American Type Cell Collection
ATP	Adenozin trifosfat
BA	Betulinik asit
bs	Broad Singlet (Geniş Singlet)
Bz	Benzoil
CBS	Corey-Bakshi-Shibata reaktifi
CCDC	Cambridge kristallografik veri merkezi
COSY	Homonükleer korelasyon spektroskopisi
COX-2	Sikloksijenaz-2
δ	Kimyasal kayma değeri
d	Dublet
DCC	N,N'-Disikloheksilkarbodiimid
DCFH-DA	Dikloro dihidro floressin diasetat
DD	Dimerizasyon bölgesi
dd	Dubletin dubleti
ddd	Dubletin dubletinin dubleti
dddd	Dubletin dubletinin dubletinin dubleti
ddt	Dubletin dubletinin tripleti
DMAP	Dimetilaminopiridin

DMEM	Dulbecco's Modified Eagle Medium
DMF	<i>N,N</i> -dimetilformamid
DMSO	Dimetilsülfoksit
DNA	Deoksiribonükleik asit
dq	Dubletin kuarteti
dt	Dubletin tripleti
EDTA	Etilendiamin tetra asetik asit
ekv.	Ekivalent miktar
EM	Enerji minimizasyonu
EN	Erime noktası
Et	Etil
Et ₂ O	Dietil eter
Et ₃ N	Trietilamin
FBS	Fetal bovine serum
g	Gram
Gly	Glisin (aminoasit)
HAT	Histon asetil transferaz
HDAC	Histon deasetilaz
HIV	İnsan bağışıklık yetmezlik virüsü
HMBC	Heteronükleer çoklu bağ korelasyon spektroskopisi
HMQC	Heteronükleer çoklu kuantum ilişkisi
HRMS	Yüksek çözünürlüklü kütle spektroskopisi
HSQC	Heteronükleer tek kuantum ilişkisi spektroskopisi
IKK	İnhibitör kappa B kinaz
IL	İnterlökin
IR	Kızılötesi Spektroskopisi
IRAK1	Interleukin-1 receptor associated kinase
IκB	İnhibitör kappa B
<i>i</i> Pr	İzopropil

<i>J</i>	Jiromanyetik etkileşim sabiti
L	Litre
LDA	Lityum diizopropil amid
Leu	Lösin (aminoasit)
LPS	Lipopolisakkarit
Lys	Lizin (aminoasit)
m	Multiplet
<i>m</i> -CPBA	<i>m</i> -Kloro perbenzoik asit
Me	Metil
MeCN	Asetonitril
MEM	Metoksi-etoksimetil
MEMCl	Metoksietoksimetil klorür
μL	Mikrolitre
μM	Mikromolar
mg	Miligram
mL	Mililitre
mmol	Milimol
MOM	Metoksimetil
MOMBr	Metoksimetil bromür
mRNA	Mesajcı ribonükleik asit
Ms	Metan sülfonil (mesil)
MsCl	Metan sülfonil klorür
MyD	Miyeloid farklılaşması
nBu	<i>n</i> -Butil
NCI	Amerika Ulusal Kanser Enstitüsü
NF-κB	Nükleer Faktör Kappa B (Aktif B hücrelerinin Nükleer Faktör Kappa hafif zincir büyütücüsü)
NFAT	Aktif T hücrelerinin nükleer faktörü
NLS	Nükleer lokalizasyon serisi

NMR	Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi
NO	Nitrik oksit
OA	Oleanolik asit
OAc	Asetat
OBz	Benzoat
°	Derece
°C	Santigrat derece
OH	Hidroksil
OMe	Metoksi
OMs	Metan sülfonat (mesilat)
OTs	<i>p</i> -Toluen sülfonat (tosilat)
PBS	Fosfat tamponu çözeltisi
PCC	Piridinyum kloro kromat
PDB	Protein veri bankası
Pent	Pentil
Ph	Fenil
Phe	Fenil alanin (aminoasit)
ppm	Milyonda bir
<i>p</i> -TSA	<i>p</i> -Toluen sülfonik asit
<i>p</i> -TsCl	<i>p</i> -Toluen sülfonil klorür
Pyr	Piridin
q	Kuartet
QSAR	Kantitatif yapı aktivite ilişkisi
RHD	Rel homoloji bölgesi (rel homology domain)
RNA	Ribonükleik asit
ROS	Reaktif oksijen türü
rt	Oda sıcaklığı
s	Singlet
SC X-Ray	Tek kristal X-ışını analizi

SEAP	Salgılanmış alkalın fosfataz
Ser	Serin (aminoasit)
t	Triplet
TBAF	Tetrabutylamonyumforür
TBDMSCl	<i>tert</i> -Bütil dimetil silil klorür
TBDPSCl	<i>tert</i> -Bütil difenilsilil klorür
TBHP	<i>tert</i> -Bütil hidroperoksit
TBSCl	<i>tert</i> -Butil dimetil silil klorür
THF	Tetrahidrofuran
TLC	İnce tabaka kromatografisi
TMS	Tetrametilsilan
TMSCl	Trimetilsilil klorür
TNF	Tümör nekrozis faktör
TOF-MS	Uçuş zamanlı kütle spektroskopisi
Trp	Triptofan (aminoasit)
Ts	<i>p</i> -Toluen sülfonil (tosil)
UA	Ursolik asit
UV	Ultraviyole
Val	Valin (aminoasit)

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. NF- κ B alt birimlerinin oluşturabileceği olası dimerler.	7
Şekil 1.2. Nükleer Faktör Kappa B aktivitesinin klasik yolu	9
Şekil 1.3. Nükleer Faktör Kappa B aktivitesinin alternatif yolu.....	10
Şekil 2.1. AKR1B10'un ursolik asit (3) ve oleanolik asit (4) bağlama modelleri.....	30
Şekil 2.2. Bileşik 109f'nin α -glukozidazın aktif bölgesi ile yaptığı bağlanma modeli ..	31
Şekil 2.3. Bileşik 109g'nin α -glukozidazın aktif bölgesi ile yaptığı bağlanma modeli..	31
Şekil 3.1. Tavuk NF- κ B (c-Rel/c-Rel) ile DNA'nın oluşturduğu kompleks	33
Şekil 3.2. NF- κ B ile I κ B α kompleksinde triterpenlerin bağlanabileceği bölgeler	34
Şekil 3.3. Bileşik 8'in NF- κ B/I κ B α 'nın bağlanma bölgesi I ile yaptığı etkileşim	35
Şekil 3.4. Dimerik insan IKK2'nin yapısı ve inhibitör K252a'nın bağlandığı bölge	36
Şekil 3.5. K252a'nın insan IKK2'nin aktif bölgesiyle yaptığı etkileşim.....	36
Şekil 3.6. Bileşik 8'in insan IKK2'nin aktif bölgesiyle yaptığı etkileşim	37
Şekil 3.7. Bileşik 110'un insan IKK2'nin aktif bölgesiyle yaptığı etkileşim	37
Şekil 3.8. Bileşik 7'nin insan IKK2'nin aktif bölgesiyle yaptığı etkileşim	38
Şekil 3.9. Ursolik asitin (3) insan IKK2'nin aktif bölgesiyle yaptığı etkileşim	40
Şekil 3.10. İnsan IKK1 homoloji modelinin bağlanma bölgesi.....	42
Şekil 3.11. Bileşik 3 ve 117'nin insan IKK1'in aktif bölgesiyle yaptığı etkileşim	43
Şekil 3.12. Bileşik 165'in tek kristal X-ışını yapı analizi görüntüsü	74
Şekil 3.13. Bileşik 165'in tek kristal X-ışını yapı analizi birim hücre görüntüsü	74
Şekil 4.1. Bileşik 1, 2 ve 3'ün 1.56-200 μ M derişimdeki bağıl sitotoksiteleri	128
Şekil 4.2. Bileşik 13, 27 ve 60'ın 1.56-200 μ M derişimdeki bağıl sitotoksiteleri	128
Şekil 4.3. Bileşik 112, 113 ve 117'nin 1.56-200 μ M derişimdeki bağıl sitotoksiteleri ..	128
Şekil 4.4. Bileşik 142, 144 ve 145'in 1.56-200 μ M derişimdeki bağıl sitotoksiteleri	129
Şekil 4.5. Bileşik 152, 158 ve 159'un 1.56-200 μ M derişimdeki bağıl sitotoksiteleri ...	129
Şekil 4.6. Triterpenlerin hücre içi ROS seviyelerine etkisinin sonuçları.....	130
Şekil 4.7. Genotoksitite çalışmalarının sonucunda elde edilen hücre görüntüleri	131
Şekil 5.1. Dimerik insan IKK2'nin üzerindeki bağlanma bölgesi	133
Şekil 5.2. Bileşik 8 ve 110'un insan IKK2 ile bağlanma modeli	134

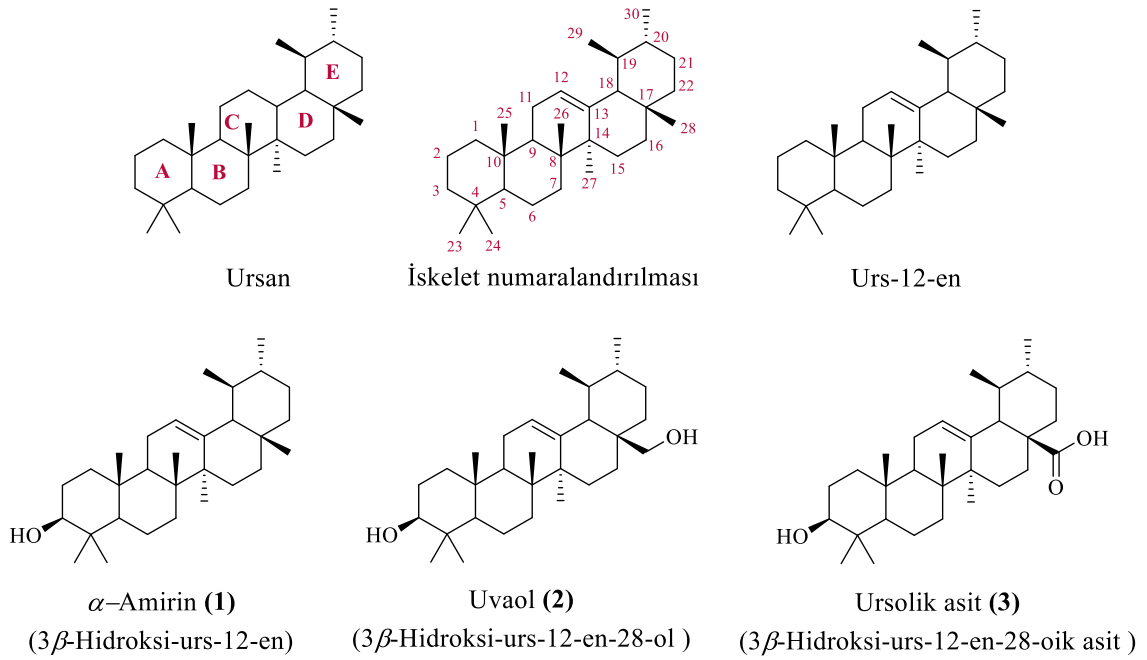
ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4.1. Bileşik 165'in atomları arasındaki bağ uzunlukları (Å)	112
Çizelge 4.2. Bileşik 165'in atomları arasındaki bağ açıları (°)	113
Çizelge 4.3. Bileşik 165'in atomları arasındaki torsiyonel açılar (°)	114
Çizelge 4.4. Triterpenlere ait bağıl sitotoksosite (canlılık) deneylerinin sonuçları	127
Çizelge 4.5. Hücre içi ROS seviyeleri ölçüm çalışmalarının sonuçları	129
Çizelge 4.6. Genotoksosite çalışmalarının sonuçları	130
Çizelge 5.1. Triterpen türevlerinde karbonil karbonlarının kimyasal kayma değerleri	137
Çizelge 5.2. Bileşik 13 ve türevlerinin C28 ve H-28 kimyasal kayma değerleri.....	138

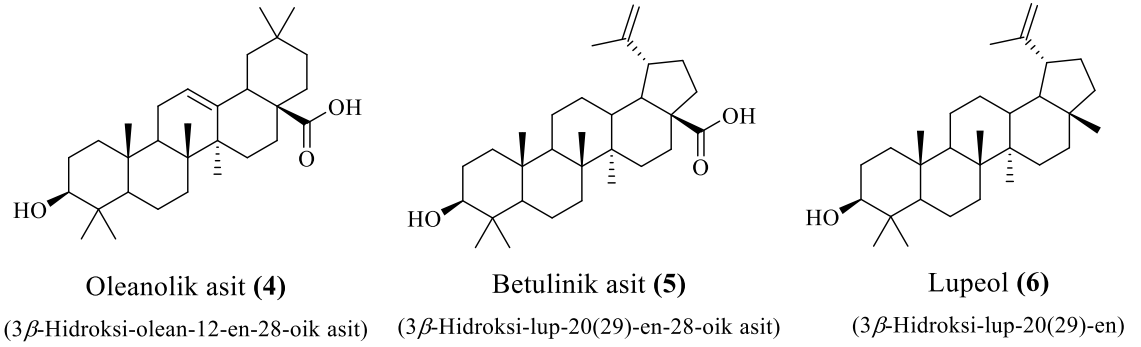
1. GİRİŞ

1.1. Triterpenler ve Önemli Biyolojik Aktiviteleri

Terpenler bitkilerin çok önemli savunma mekanizmaları olan ve izopren birimlerinden oluşan sekonder metabolitlerindendir ve mono-, seski-, di-, sester- ve triterpenler olmak üzere pek çok alt sınıflara ayrılırlar. Bunlardan triterpenler 30 karbonlu genelde halkalı iskelet yapısına sahip terpenlerdir (Brown 1998). İçlerinden ursan iskeletine sahip α -amirin (1), uvaol (2) ve ursolik asit (3), oleanan iskeletine sahip oleanolik asit (4) ve bir lupan tipi triterpen olan betulinik asit (5) pek çok biyolojik aktiviteye sahip olup dünyada çeşitli gruplar tarafından incelenmektedirler (Ukiya *et al.* 2002; Dzubak *et al.* 2006; Topcu 2006; Zhang *et al.* 2006; Liby *et al.* 2007). Ursan iskeletinin yapısı ve karbon atomlarının numaralandırılması ile beraber en çok bilinen ursan türevi triterpenler olan α -amirin (1), uvaol (2) ve ursolik asitin (3) yapıları Şema 1.1’de görülmektedir. Şema 1.2’de ise oleanolik asit (4), betulinik asit (5) ve lupeol (6) bileşiklerinin yapıları yer almaktadır.



Şema 1.1



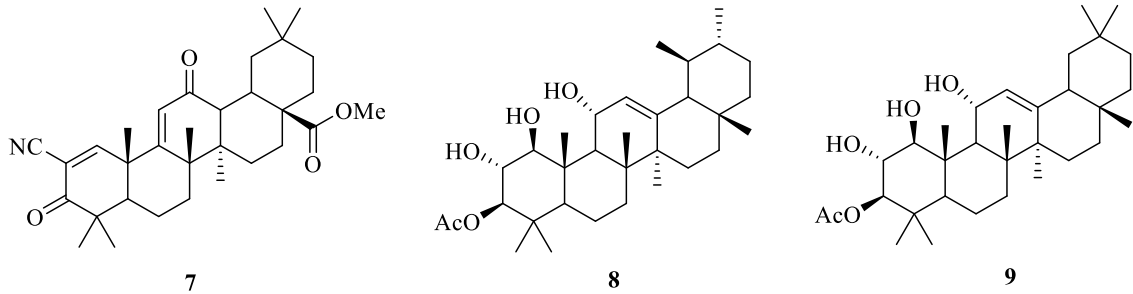
Şema 1.2

Topçu ve araştırma grubunun 30 yılı aşkın bir süredir başlıca Lamiaceae (Labiatae) familyası bitkileri olmak üzere diterpen ve triterpence zengin bitki familyaları ve üzerinde yoğun araştırmaları bulunmaktadır (Ulubelen and Topcu 1984; Topcu *et al.* 1995; Topcu *et al.* 2001; Culhaoglu and Topcu 2011; Culhaoglu *et al.* 2013; Topcu *et al.* 2013a; Culhaoglu *et al.* 2015; Culhaoglu *et al.* 2016). Yapılan çalışmalarda özellikle *Salvia* türlerinden elde edilen pek çok diterpen ve triterpenin anti tüberküloz, antibakteriyel, antioksidan ve sitotoksik aktiviteleri de incelenmiştir (Ulubelen *et al.* 1997; Topcu *et al.* 2007; Tel *et al.* 2010; Culhaoglu *et al.* 2013). Topçu ve grubunun da içinde olduğu pek çok grup ursolik asit üzerinde araştırmalarını sürdürmektedir ve bu bileşiğin antikanser, antiviral, antikolinesteraz vb. pek çok aktivitesi saptanmıştır (Hsu *et al.* 2004; Topcu *et al.* 2004b; Topcu 2006; Zhang *et al.* 2006).

Salvia'nın birçok türünden yüksek verimle oleanolik asit ve ursolik asit elde edilmesine rağmen çok sayıda hidroksil ve/veya farklı fonksiyonel gruplara sahip ursolik asit veya oleanolik asit türevlerinin çeşitliliği daha azdır (Topcu and Ulubelen 1999; Topcu *et al.* 2004b; Topcu *et al.* 2007). Genellikle Anadolu'da yetişen *Salvia* türleri triterpenlerden ziyade abietan diterpenlerce daha zengin biyoçeşitlilik göstermektedir. Bunun bir sonucu olarak da Topçu ve grubu *Salvia* türlerinden, 290 civarında abietan diterpen izole etmiştir ve bunların yarısı doğadan ilk kez izole edilmiştir. Elde edilen bu bileşikler kuvvetli antioksidan, antiviral ve sitotoksik/antitümör özelliklere sahiptirler (Ulubelen *et al.* 1997; Kabouche *et al.* 2007; Topcu *et al.* 2008; Kolak *et al.* 2009; Topcu *et al.* 2013b). Topçu ve grubu *Salvia* türleri üzerindeki çalışmalarından 50'yi aşkın triterpen izole etmiş ve

yapılarını belirlemişlerdir. Bu triterpenlerden bazılarının antioksidan, antibakteriyel, sitotoksik ve antikolinesteraz aktiviteleri incelenmiştir.

Salvia türlerinden ursan ve oleanan türevlerinin yanı sıra lupan iskeletine sahip triterpenler de elde edilmiştir (Topcu *et al.* 2007; Culhaoglu *et al.* 2015). Bunlardan betulinik asit (**5**) ve lupeol'un (**6**) ve sitotoksik, antiviral ve hatta Nükleer Faktör Kappa B (NF- κ B) yolağı üzerindeki aktiviteleri saptanmış ve halen üzerinde çalışmalar yoğun olarak sürmektedir (Reiner *et al.* 2013). Ayrıca 2008 tarihli “*Terpenoids: natural inhibitors of NF- κ B signaling with anti-inflammatory and anticancer potential*” başlıklı bir review makalede farklı terpenlerin NF- κ B yolağındaki iletişimin sinyalinin inhibisyonu üzerine yapılan mekanistik çalışmalar sunulmuştur (Salminen *et al.* 2008; Ling *et al.* 2010). Oleanan triterpenlerin antienflamatuvar, anti-proliferatif ve pro-apoptotik ajanlar olarak etkileri de kısmen araştırılmıştır (Liby *et al.* 2007). Sentetik olarak elde edilmiş bir molekül olan bardoksolonmetil (**7**) bileşiğinin (Şema 1.3) transkripsiyon faktörleri üzerinde etki yaparak enflamasyonu durdurduğu ve özellikle böbrek hastalıkları ve diyabetiklerde tedavi amaçlı kullanıldığı bilinmektedir (Roehr 2009; Hong *et al.* 2012; de Zeeuw *et al.* 2013).

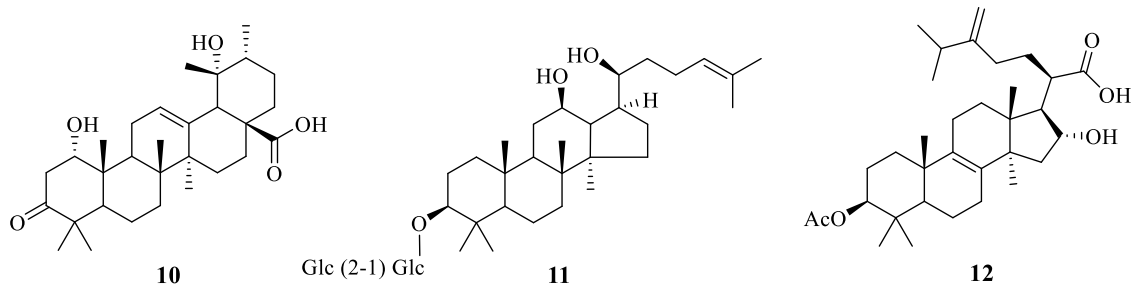


Şema 1.3

Topçu ve araştırma grubunun *Salvia* türleri üzerinde yaptıkları son yıllardaki çalışmaları sırasında bir seri polihidroksilli oleanan ve ursan türevi triterpen izole edilerek yapıları tayin edilmiş ve bazılarının oldukça yüksek Nükleer Faktör Kappa B (NF- κ B) inhibisyonu gösterebileceği *in silico* testlerle ve hücre esaslı deneylerle saptanmıştır. Aynı seriden birkaç triterpen Amerika Milli Kanser Enstitüsü (NCI) tarafından istenerek 60 hücre hattına karşı *in vitro* deneylerle sitotoksik aktiviteleri bakımından incelenmiştir. Bu inceleme sonrasında özellikle 1 β ,2 α ,3 β ,11 α -tetrahidroksiurs-12-en,3-asetil (**8**) ve

$1\beta,2\alpha,3\beta,11\alpha$ -tetrahidroksiolean-12-en,3-asetil (**9**) yapısındaki iki triterpenin böbrek, küçük hücreli olmayan akciğer ve göğüs kanser hücrelerine karşı oldukça yüksek sitotoksikite gösterdiği saptanmıştır (Topcu *et al.* 2004a).

Triterpenlerin NF- κ B inhibisyonu konusundaki önemi, son yıllarda bu alanda ve antikanser özelliklerinin araştırılması amacıyla yapılan çalışmaların sayısından da anlaşılabilir (Reiner *et al.* 2013). Çalışmalara bakıldığında ursan triterpenoidlerin ateroskleroza önlediği (Zhang *et al.* 2006) ve bir ursan triterpen olan annurkoik asitin (**10**) (Şema 1.4) antitümör etkili bir antioksidan olduğu gösterilmiştir (D'Abrosca *et al.* 2006). Bir triterpen glikozit olan Ginsenoside Rg3'ün (**11**) kolon kanseri üzerindeki etkileri incelenmiştir (Kim *et al.* 2009) Lupeol'ün (**6**) NF- κ B inhibisyonu üzerinde etkili olduğu ve NF- κ B inhibisyonu yaparak epidermoid karsinoma A431 hücrelerini düzenlediği bildirilmiştir (Prasad *et al.* 2009). Triterpen grubundan pachymic asitin (**12**) de antitümör etkisi gösterilmiştir (Ling *et al.* 2010). Ayrıca yine bir ursan triterpen olan α -amirinin (**1**) enflamasyonu durdurma mekanizmaları incelenmiş (Medeiros *et al.* 2007), ve ursolik asitin (**3**) NF- κ B inhibisyonu yaptığı belirlenmiştir (Manu and Kuttan 2008). Son yıllarda yapılmış olan triterpenlerin antikanser özellikleri ile ilgili bir derleme makalede (Liby *et al.* 2007) ve diğer bazı yayınlarda triterpenlerin antitümör/antikanser özellikleri açıkça izlenmektedir (Tabata *et al.* 2001; Ukiya *et al.* 2002; Hsu *et al.* 2004; Nair *et al.* 2006; Culhaoglu *et al.* 2016).



Şema 1.4

1.2. Nükleer Faktör Kappa B (NF- κ B)

Yaklaşık 30 yıl önce, Ranjan Sen ve David Baltimore immunoglobulin genleri ile bazı nükleer faktörler arasındaki ilişkiyi araştırdıkları bir çalışmada, B lenfositlerinde immunoglobulin-kappa zincirine ait genin özel bir bölgesine bağlanarak bu genin aktivitesini düzenleyen bir protein belirlediler. Daha sonra bu proteinin aktivitesinin bakteriyel lipopolisakkaritler (LPS) ile uyarılabildiği ve sadece B hücrelerine özgü olmadığı anlaşıldı. Sen ve Baltimore bu proteine **Nükleer Faktör Kappa B (NF- κ B)** adını verdiler (Sen and Baltimore 1986a; Sen and Baltimore 1986b). O günden sonra NF- κ B, pek çok bilimsel araştırmanın konusu oldu ve bugüne kadar NF- κ B hakkında 35.000'den fazla özgün makale ve derleme çalışma yayınlandı. Süregelen çalışmalarda elde edilen sonuçlar NF- κ B'nin bağışıklık sistemi, enflamasyon, hücre çoğalması ve hücre ölümü gibi birçok biyolojik olayda yer aldığını gösterdi (Bonizzi and Karin 2004; Karin and Greten 2005). Dahası kanser ve diyabet gibi hastalıklarla NF- κ B sinyal iletim yolunun ilişkisi de kabul edilmektedir (Vallabhapurapu and Karin 2009).

Nükleer Faktör Kappa B protein kompleksi DNA'nın kopyalama işlevini kontrol eden bir protein grubudur ve beş alt proteinden oluşur. Bunlar Rel proteinlerin dimerizasyonu ile oluşan **RelA (p65)**, **RelB**, **c-Rel**, **p50** ve **p52**'dir. Bu alt birimler herhangi bir uyarı olmadığında homodimer veya heterodimerler halinde inhibitör proteinleri (I κ B) tarafından sitoplazmada tutulurlar. Hücrenin birçok sebepten dolayı uyarılması sonucu, I κ B kinaz (IKK) proteinlerinin fosforilasyona bağlı olarak yıkılmasının ardından, serbest kalan NF- κ B dimerleri, çekirdek içine girerek hedef genlerinin aktivitelerini düzenlerler. (Ghosh and Karin 2002). Bu protein kompleksi içinde yer alan c-Rel proteini, bu gruptaki diğer dört proteinden farklı olarak, yalnızca tümör oluşumunda rol alan bir çekirdek transkripsiyon proteinidir. NF- κ B yolağı, kanserin gelişmesinde başrolü oynayan temel yolaktır. NF- κ B'nin bloke edilmesi, tümörlerin gelişmesini ve yayılmasını durdurabilir. Ancak, biyolojik sistem içinde çeşitli görevleri olan NF- κ B protein kompleksinin bastırılması, istenilmeyen yan etkilere de yol açabilmektedir. Bu nedenle bu sistemin baskılanması için kullanılabilecek tam etkili bir ilaç henüz mevcut değildir.

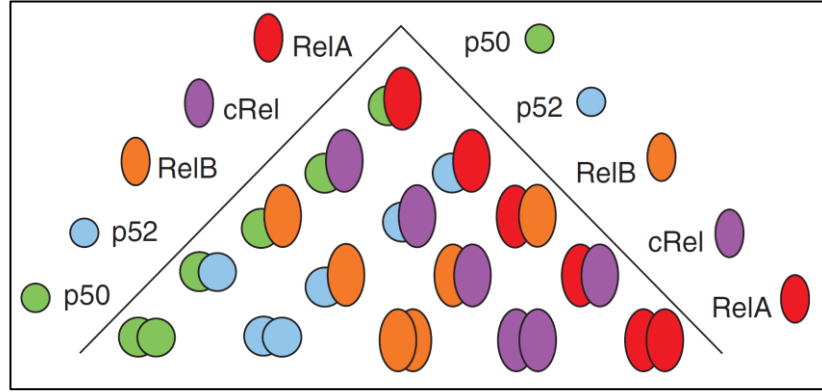
1.2.1. NF- κ B dimerlerinin oluşumu ve DNA'ya bağlanması

NF- κ B ailesini meydana getiren proteinlerin yapısı incelendiğinde tüm alt birimlerin amino ucunda Rel homoloji bölgesi (RHD) olarak adlandırılan yaklaşık 300 amino asit uzunluğunda bir dizinin olduğu tespit edilmiştir. Bu bölge dimer oluşumu, sitoplazmadan çekirdeğe geçiş, DNA'ya bağlanma ve I κ B proteinleriyle etkileşimden sorumludur (Hayden and Ghosh 2008; Vallabhapurapu and Karin 2009; Huxford *et al.* 2011).

RHD'nin yapısına yönelik ilk bilgiler, DNA'ya bağlı NF- κ B p50:p50 homodimerinin kristal yapısından elde edilmiştir (Ghosh *et al.* 1995). NF- κ B p50:DNA oluşumunun incelenmesiyle RHD'nin immunoglobulin yapısına benzeyen iki katlanmış bölgeden oluştuğu belirlenmiştir. Amino ucu, 160-210 amino asit uzunluğunda ve DNA'ya bağlanmadan sorumludur. Karboksil ucunda yer alan dimerizasyon bölgesi (DD) yaklaşık 100 amino asit uzunluğundadır. Yapısal olarak önemli diğer bir bölge olan nükleer lokalizasyon dizisi (NLS) serbest NF- κ B dimerlerinin çekirdeğe geçişinden sorumludur. Bu bölge, I κ B proteinleri gibi farklı yapıların bağlanabilmesi için gerekli konformasyon değişimine olanak sağlayacak şekilde değişken bir yapıdadır (Huxford *et al.* 2011).

Dimerlerin oluşumu, Rel homoloji bölgesi (RHD) içinde yer alan ve yaklaşık 100 amino asitten oluşan dimerizasyon bölgesi (DD) aracılığı ile gerçekleştirilir. NF- κ B'nin alt birimlerinin yapısı, X-ışını analizleriyle incelenmiş ve DD'nin iki tane anti paralel beta tabakadan oluştuğu, immunoglobulinlere benzeyen bir katlanma yapısına sahip olduğu tespit edilmiştir (Huang *et al.* 1997).

Teorik olarak beş farklı NF- κ B alt protein biriminden 15 farklı homo ve heterodimer oluşma olasılığı vardır (Şekil 1.1). Bunlardan 12 tanesinin oluştuğu *in vivo* şartlarda tespit edilmiştir ancak diğer üç dimerin (RelB:RelB, RelB:c-Rel ve p52:c-Rel) *in vivo* şartlarda oluşukları hakkında henüz bir bilgi yoktur (O'Dea and Hoffmann 2010).



Şekil 1.1. NF-κB alt birimlerinin oluşturabileceği olası dimerler.

NF-κB dimerlerinin DNA üzerindeki κB bölgesine bağlı halde elde edilen kristal yapısından, iki NF-κB alt biriminin Rel homoloji bölgelerinin dimer oluşturduğu yerde, ana oluk içinde bir tam dönüş boyunca, çift zincirli DNA ile sıkı bir etkileşim içinde olduğu belirlenmiştir (Ghosh *et al.* 1995). NF-κB'nin amino ucu ve dimerizasyon bölgeleri hedef DNA'nın etrafını kuşatır. DNA ile etkileşim, proteinin ikincil yapısındaki beta tabakaları bağlayan dönüşlerdeki amino asitler aracılığı ile olur.

NF-κB proteinlerinin DNA'ya bağlanma aktivitesi, sitoplazma ve çekirdekte bulunan IκB proteinleri, Rel alt birimleri, Rel proteinleri ile ilişkili diğer proteinleri, Rel olmayan alt birimleri kapsayan birçok basamakta kontrol edilmektedir. Rel ile ilişkili proteinlerin her geçen gün artan listesi, doku veya hücre tipine özgü bir düzenlenme mekanizması olduğunun diğer bir kanıtıdır (Wan and Lenardo 2010).

1.2.2. İnhibitör kappa B (IκB) kinaz (IKK) kompleksi

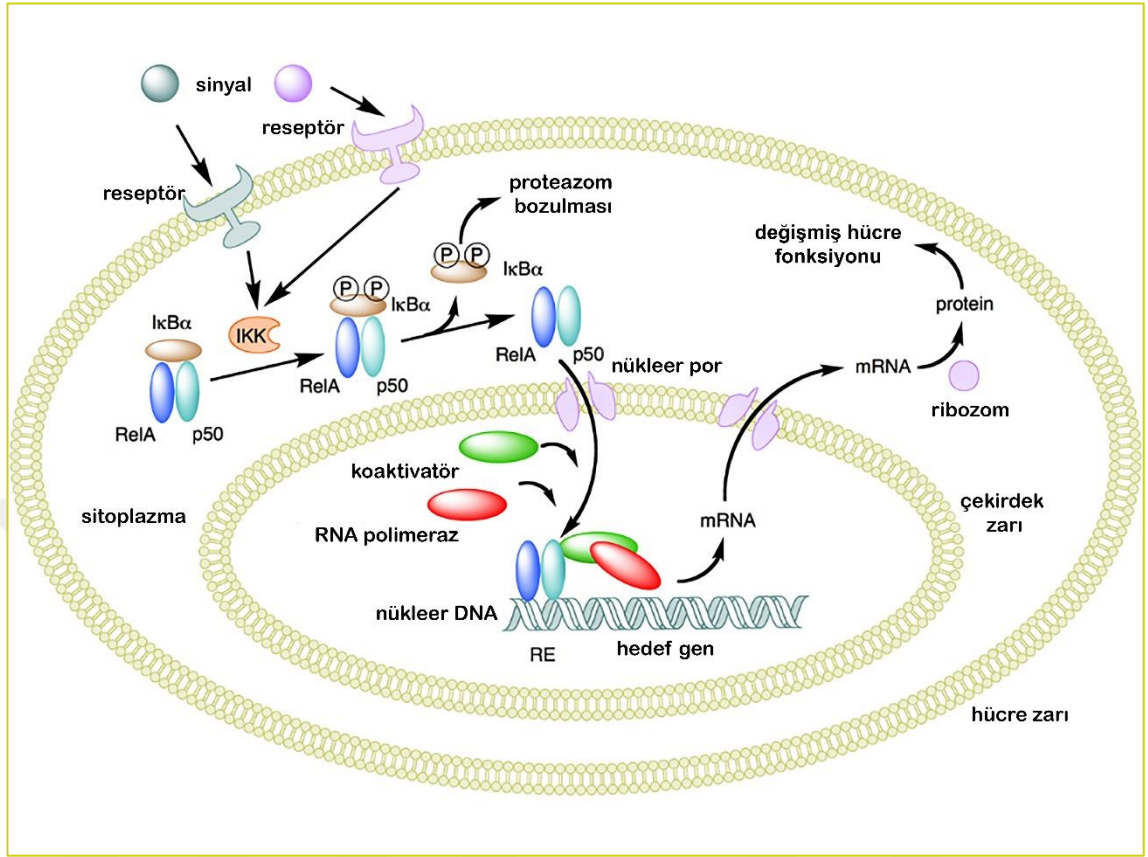
IκB proteinlerinin fosforilasyonundan sorumlu olan kinazlar ile ilgili uzun yıllar herhangi bir bilgi elde edilememiştir. Yapılan yoğun araştırmalar neticesinde 1996 yılında IκB kinaz (IKK) kompleksi tanımlanmıştır (DiDonato *et al.* 1997; Mercurio *et al.* 1997). Protein saflaştırma, dizi analizi ve moleküler klonlama teknikleri kullanılarak, bu kompleksin **IKK1/IKKα** ve **IKK2/IKKβ** olmak üzere iki tane homolog kinaz alt birimi ve **NEMO/IKKγ** olarak adlandırılan düzenleyici bir proteinden oluştuğu tespit edilmiştir (DiDonato *et al.* 1997; Mercurio *et al.* 1997; Mercurio *et al.* 1999).

IKK α ve IKK β 'nın amino asit dizilişlerine bakıldığında %52 özdeş oldukları görülür (Zandi *et al.* 1997). Amino ucunda yaklaşık 300 amino asit uzunluğunda bir protein kinaz bölgesi, daha sonra 22 amino asitten oluşan bir lösin fermuarı motifi ve sarmal-ilmek-sarmal bölgesi olduğu tespit edilmiştir. Bu iki proteinin karboksil ucunda ise 6 amino asitten (Leu-Asp-Trp-Ser-Trp-Leu) oluşan kısa bir IKK γ /NEMO bağlanma bölgesi bulunur (May *et al.* 2002).

1.2.3. NF- κ B sinyal iletim yolunun aktivasyonu

NF- κ B sinyal iletim yolu en basit şekliyle, bir dizi pozitif ve negatif düzenleyici elemenden oluşmaktadır. NF- κ B alt birimlerinin oluşturduğu dimerler, herhangi bir uyarı olmadığında inhibitörleri olan I κ B proteinleri ile birlikte hücrelerin sitoplazmasında tutulmaktadır. Uyarıyı takiben, büyük sinyal kompleksleri oluşturulmakta, bu kompleksler IKK proteinlerinin aktivasyonuna neden olmaktadır. IKK'nın kinaz alt birimlerinin aktivitesi ile I κ B proteinleri özel serin amino asitleri (genellikle Ser32 ve Ser36) üzerinden fosforilasyona uğramaktadır. Fosforilasyonu takiben I κ B proteinlerinin Lys21 ve Lys22 amino asitlerinden ubiquitinasyonu ve daha sonra 26S proteazom tarafından yıkımı gerçekleşmektedir. Serbest kalan NF- κ B dimerleri çekirdeğe geçerek hedef genlerindeki özel κ B bölgelerine bağlanmakta ve transkripsiyonunun düzenlenmesine aracılık etmektedir (Karin and Ben-Neriah 2000; Karin *et al.* 2002).

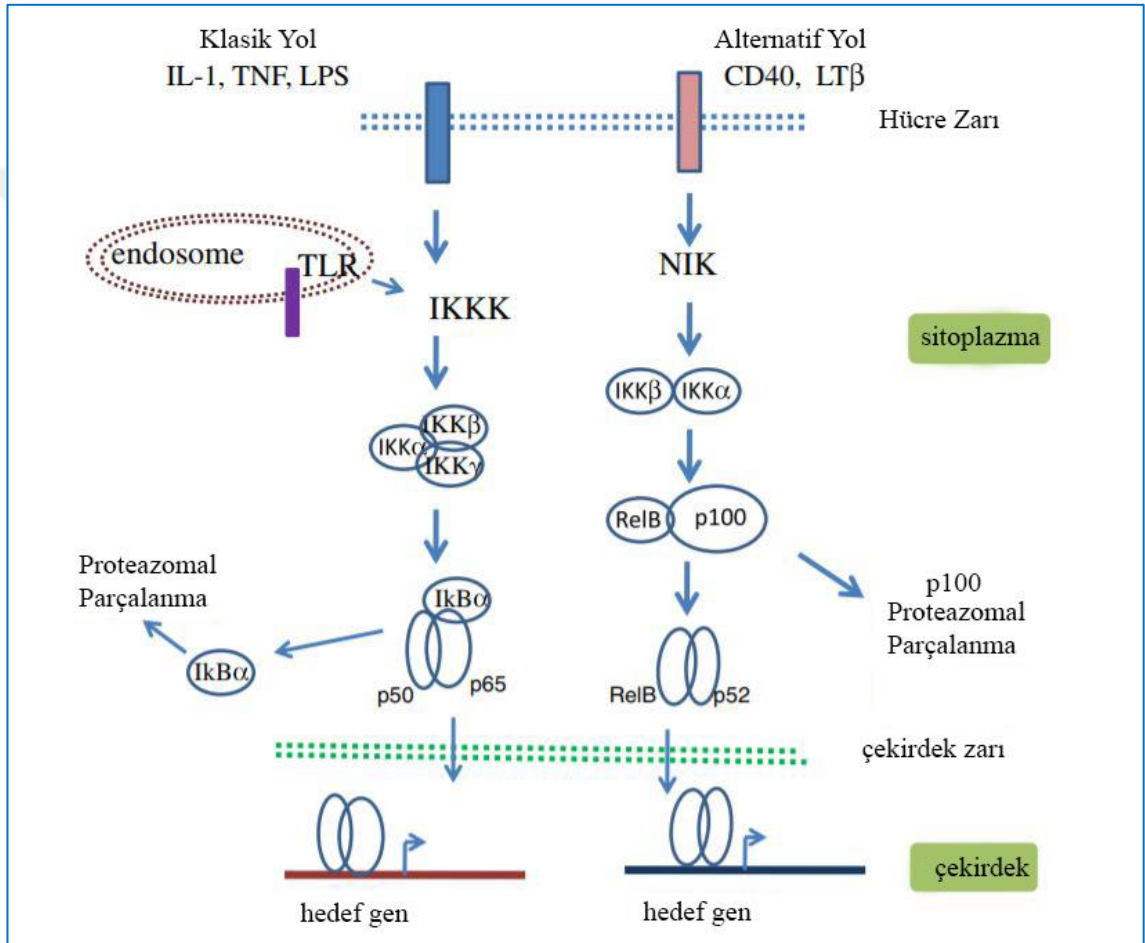
NF- κ B sinyal iletim yolunun aktivasyonu, IKK kompleksinin yapısında yer alan kinaz alt birimleri IKK α ve IKK β 'ya duyulan gereksinime dayalı olarak iki bağımsız yol üzerinden gerçekleşmektedir. Son yıllarda, sadece NEMO aracılığı ile gerçekleşen ve IKK alt birimlerine ihtiyaç duyulmayan iki atipik aktivasyon yolunun varlığından da bahsedilmektedir. NF- κ B'nin klasik yol üzerinden aktivasyonu Şekil 1.2 yardımı ile alternatif yol üzerinden aktivasyonu ise Şekil 1.3 yardımı ile de kolayca açıklanabilir. Şekil 1.3 alternatif yol ile beraber klasik yolu da içermekte ve her ikisini kıyaslamaktadır.



Şekil 1.2. Nükleer Faktör Kappa B aktivitesinin klasik yolu

Şekil 1.2’de hücre dışından gelen sinyal NF-κB kompleksini uyarır, dışarıdan gelen uyarı, IκB’nin fosforlanmasına yol açar. Fosforlanma sonucu IκB ubikuitin ile birleşir ve parçalanır. Geri kalan kompleks dimer çekirdeğe girerek DNA’ya bağlanır ve transkripsiyonu başlatır. Bu durumun kontrolsüz bir şekilde devam etmesi istenilmeyen protein üretimine ve tümör oluşumuna yol açar. Hücre membranından çekirdeğe kadar NF-κB aktivitesini her düzeyde etkileyecek ve değiştirecek çok çeşitli faktör vardır (Wan and Lenardo 2010). Ancak, yalnızca tümör oluşumunu engelleyecek etkileşimleri kontrol etmek için NF-κB grubuna çekirdek içinde ve özellikle de c-Rel üzerinden inhibisyon yaptırmak gerekmektedir. Daha önce yapılan çalışmalarda (Liby *et al.* 2007; Ozturk and Erman 2011; Erman and Topcu 2012) çekirdek içinde aktivite gösteren c-Rel transkripsiyon proteinin, triterpen molekülleri tarafından inhibe edilebileceği görülmüştür.

NF- κ B aktivitesinin alternatif yolunda ise NF Kappa B uyarıcı kinazın (NIK) etkisiyle NF Kappa B dimer kompleksi fosforlanır ve heterodimer RelB-p100 üzerinden p100'un bir kısmının parçalanarak dimerin çekirdek zarından geçecek kadar küçük hale gelmesine sebep olur. Böylelikle çekirdeğe giren kompleks hedef gen üzerinde transkripsiyonu başlatır (Şekil 1.3).



Şekil 1.3. Nükleer Faktör Kappa B aktivitesinin alternatif yolu

1.2.4. NF- κ B aktivasyonunun sonlandırılması (NF- κ B inhibisyonu)

NF- κ B aktivitesinin sonlandırılmasıyla ilgili en iyi bilinen mekanizma, I κ B proteinlerinin yeniden sentezlenmesidir. Bu işlem aktif NF- κ B dimerlerinin transkripsiyonel aktivitesi ile gerçekleştirilir. Yeni sentezlenen I κ B α , çekirdeğe geçerek NF- κ B'yi DNA'dan uzaklaştırır ve sitozole taşır. Öncül moleküller olan p100 ve p105 gibi, c-Rel ve RelB

genleri de NF- κ B tarafından indüklenebilir. Bu nedenle, bir hücrenin içindeki NF- κ B dimerlerinin kompozisyonu zamanla değişebilmektedir (Hayden and Ghosh 2004; Haecker and Karin 2006).

Son yıllarda, NF- κ B dimerlerinin translasyon sonrası modifikasyonları ile ortaya çıkan ve doğrudan DNA'ya bağlı aktif NF- κ B dimerlerini etkileyen yeni inhibisyon mekanizmaları tanımlanmıştır. Bu mekanizmalar, NF- κ B dimerlerinin yıkımına, hücresel yerleşiminin değişmesine aracılık ederek veya kofaktörlerin bağlanmasını önleyerek NF- κ B aktivitesinin sonlandırılmasına yardım ederler. NF- κ B'nin p65 alt biriminin asetilasyonunun, DNA'ya bağlanma afinitesini negatif olarak etkilediği tespit edilmiştir. Bu nedenle p65'in histon asetil transferaz (HAT) ve histon deasetilaz (HDAC) proteinleri ile ilişkisinin düzenlenmesi NF- κ B cevabının sonlandırılmasında önemlidir (Oeckinghaus and Ghosh 2009). NF- κ B alt birimlerinin aktivitesinin, DNA'ya bağlanma ilmeğindeki redoksa duyarlı bir sistein amino asidinin oksidasyonu ve alkilasyonu ile inhibe olduğu da gösterilmiştir (Perkins 2006).

1.2.5. NF- κ B aktivitesinin biyolojik etkileri

NF- κ B transkripsiyon faktörlerinin bilinen en önemli işlevleri, immün ve enflamatuvar cevapların oluşmasına aracılık etmektir. Ancak, işlevleri bununla sınırlı değildir. Enflamasyon ile kanser arasındaki bağlantının en önemli göstergelerinden biri olan bu transkripsiyon faktörü hücre adezyonu, farklılaşma, oksidatif stres cevapları, kanser oluşumu/gelişimi ile birlikte apoptozun inhibisyonu gibi önemli hücresel ve fizyolojik süreçleri kapsayan yüzlerce genin ekspresyonunu kontrol eder (Nabel and Verma 1993; Gilmore 2006; Gilmore and Herscovitch 2006; Perkins 2007). Son yıllarda, şaşırtıcı bir şekilde apoptoza aracılık ettiği ve tümör gelişimini baskıladığı ile ilgili bulgular da elde edilmiştir (Gilmore and Garbati 2011).

NF- κ B aktivitesi kanser dışında birçok hastalığa sebep olmaktadır. Bunlar başlıca, alerji, astım, ateroskleroz, obezite, diyabet, sepsis, iskemi/reperfüzyon, anjina pectoris, enflamatuvar nöropati, Parkinson, Alzheimer, migren ve psikososyal stres gibi pek çok hastalık ve bozukluklar şeklindedir (Gilmore and Garbati 2011).

1.3. Moleküler Modelleme (Moleküler Docking)

Moleküler modelleme çalışmaları günümüzde ilaç keşfi ve tasarımın vaz geçilmez bir parçası haline gelmiştir. Gelişen bilim ile birlikte proteinlerin, enzimlerin ve hatta DNA sarmallarının bile üç boyutlu kristal yapılarının belirlenmesi ve potansiyel ilaç molekülünün hedef ile etkileşiminin incelenmesi ile bir maddenin ilaç olma potansiyeli daha yolun başında tahmin edilebilmektedir.

Yirminci yüzyılın ikinci yarısından itibaren araştırmacılar, yeni ilaç etkin maddesi olabilecek bileşikler tasarlayabilmek için kimyasal bileşiklerin moleküler yapıları ile biyolojik etkileri arasındaki ilişkileri araştırmaktadırlar. Böylece yeni ilaç etken maddesi niteliğindeki kimyasal bileşiklerin geliştirilmesi, daha ideal etkili bileşiklere ulaşılması ve etki mekanizmalarının belirlenmesi giderek önemli hale gelmiştir (Akı-Şener and Yalçın 2003).

Moleküler modelleme çalışmaları üzerine yapılan araştırmaları incelediğimizde ilaç keşfi ve tasarımı için oldukça önemli olduğu ortaya çıkmaktadır. Bu sebeple ilaç etken maddelerinin etkileştiği bağlanma bölgelerinin aydınlatılması ve/veya biyolojik etkinliği daha yüksek bir bileşik tasarımı günümüz araştırmacılarının ilgi odağı olmuştur. İlaç tasarımındaki rasyonel yaklaşımlar, ligand yapısına dayalı tasarım ve hedef yapısına dayalı tasarım olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Ligand yapısına dayalı tasarımda etki gösteren moleküllerin yapısından faydalanılarak reseptör yapısının yorumlanması amaçlanmaktadır. Hedef yapısına dayalı tasarımda ise, bilinen reseptör yapısından hareketle etki gösterebilecek moleküllerin tasarlanması amaçlanmaktadır (Young 2009).

Protein yapısı belli olan çalışmalarda hedeflere yönelik tasarlanan moleküllerin reseptöre uyumu ve amino asit kalıntılarıyla etkileşimleri, çeşitli açılardan değerlendirilebilmektedir. Böylece ligand-protein etkileşimi ele alınarak hedeflenen bileşikler tasarlanabilmektedir (Lengauer and Rarey 1996).

Spesifik olarak tedavi edici etkisi bilinen ya da bilinmeyen bir seri molekülden hareketle, moleküllerin ortak özelliklerini gösteren farmakofor modelleri veya hipotezleri oluşturmaya dayanan bir yöntemle de docking çalışmaları yapılabilir (Greene *et al.* 1994; Hahn 1995; Smellie *et al.* 1995; Barnum *et al.* 1996; Hahn 1997; Hirashima *et al.* 2002a; Hirashima *et al.* 2002b). Farmakofor modeli, molekülde bulunan hidrofobik gruplar, yüklü veya iyonize olabilen gruplar, hidrojen bağı donörleri ve akseptörleri gibi molekül özelliklerini gösterir. Tüm bu özellikler aslında ilacın proteine bağlanması için gerekli olan kimyasal fonksiyonlardır. Yeni aday bileşiklere yönelik oluşturulan farmakofor modelleri üç boyutlu veri tabanı olarak da kullanılabilir.

Moleküler docking, daha basit bir tanımla kararlı bir kompleks oluşturmak üzere ligand ve proteinin birbirine nasıl bağlanacaklarını tahmin eden bir yöntemdir (Lengauer and Rarey 1996). Küçük moleküllu ilaç adaylarının protein hedeflerine karşı ilgisini, bu proteinlere bağlanmasını ve dolayısıyla biyolojik aktivitesini önceden tahmin edebilmek için kullanılmaktadır. Bu nedenle, ilaçların rasyonel tasarımında önemli bir yeri bulunmaktadır (Kitchen *et al.* 2004; Chikhi and Bensegueni 2008).

Teknik olarak, ligand ile bağlanma bölgesinin uyumunun araştırılması **docking** olarak adlandırılırken, ligand-protein arasındaki bağlanma gücü ise, **skoring** olarak adlandırılmaktadır. Docking ve skoring arasındaki fark docking programlarına ait iki önemli noktayı vurgulamaktadır. Bunlar, **poz tahmini** olarak adlandırılan ve molekülün bağlanma şeklini ve ayrıntısını doğru olarak tahmin edilmesi ve **bağlanma skoru** olarak adlandırılan bileşiklerin protein ile bağlanma ilgisinin matematiksel ifadesidir (Verkhivker *et al.* 2000; Stahl and Rarey 2001).

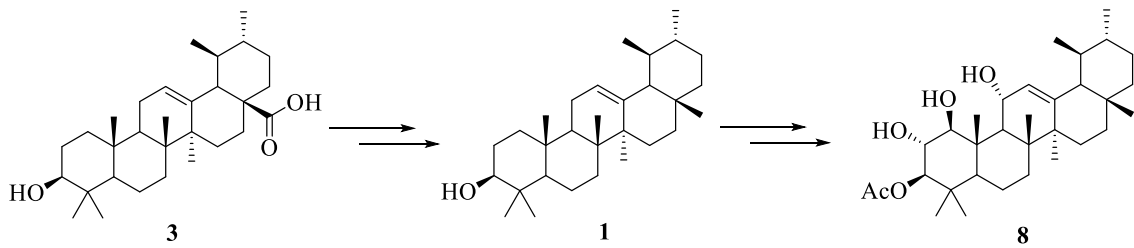
1.4. Amaç ve Kapsam

Bu tez çalışması başlıca, daha önce yapısı ve NF- κ B inhibisyonu yapabileceği patentlenmiş (Erman and Topcu 2012) ursan türevi doğal bir triterpen molekülü olan $1\beta,2\alpha,3\beta,11\alpha$ -tetrahidroksiurs-12-en,3-asetil (**8**) bileşiğini sentezlemeyi amaçlamaktadır. Sentez çalışmaları içerisinde hedef molekülün sentezinin yanı sıra, moleküler modelleme

çalışmaları ile biyolojik etkinliği bulunan bazı ursan türevi diğer triterpenlerin yarı-sentezini de yer almaktadır. Bu sebeple çalışma kapsamında elde edilmesi hedeflenen bütün sentetik türevlerin biyo-informatik taramalar (*in silico* deneyler) ile potansiyel aktivitelerinin saptanması ve hedefe yönelik türevlerin sentezinin yapılması tez çalışmasının ikinci amacıdır. Son olarak elde edilen yarı-sentetik triterpen türevlerinin bazı biyolojik aktivitelerinin (sitotoksisite, genotoksisite, ROS) hücre kültürü deneyleri ile incelenmesini hedeflemektedir.

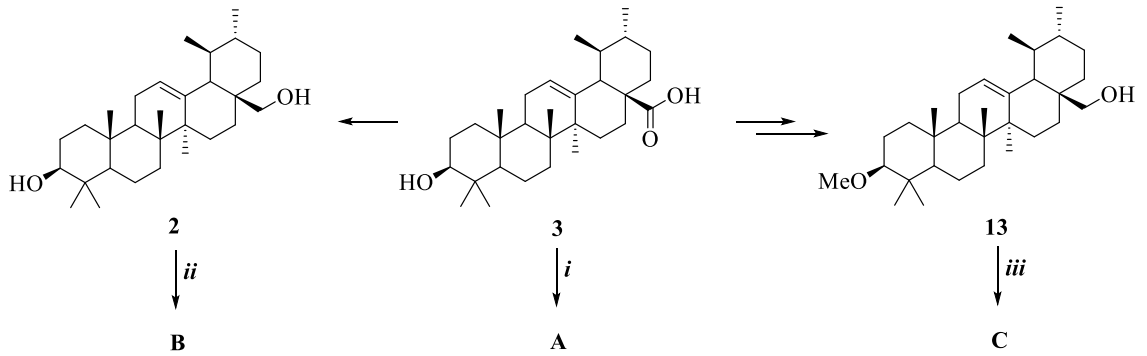
Öncül ilaç (lead drug) elde etmek amacı ile yapılan bu çalışmada, daha önceden sentezlenmemiş ve yüksek antienflamatuvar/antikanser potansiyele sahip triterpen bileşiklerinin sentezlenmesi hedeflendiği için bu çalışmanın özgün değeri oldukça yüksektir.

Hedef molekül ile ana iskelet yapısının aynı olması nedeniyle sentez çalışmalarına, ursolik asitten başlanarak hedef molekülün elde edilmesi planlandı. (Şema 1.5). Bu nedenle bu sentez dizisi tam bir total sentez olmayıp yarı sentez ve çoğunlukla türevlendirme esaslıdır, ancak yine de ürünlerdeki stereomerkez sayısının çokluğu ve bileşikteki elektronik etkilerin çalışmaları zaman zaman zorlaştırabileceği de düşünüldü.



Şema 1.5

Ursolik asitte (**1**) bulunan COOH grubu molekül **8**'de CH₃ grubu şeklinde olduğundan sentezin ilk bölümünde ursolik asit asitteki karboksilik asit grubu metile dönüştürülerek α -amirinin (**1**) elde edilmesi ve daha sonra oksitleme reaksiyonları neticesinde bileşik **8**'in sentezi planlanmıştır. Ayrıca Şema 1.6'da görülen bir seri ursan türevi bileşiğin biyolojik etkinlikleri bakımında incelenmek üzere sentezlenmesi planlandı.



Şema 1.6

- **A** ürünlerinin sentezi için **i** olarak belirlenen reaktifler; MeI, MOMBr, MEMCl, TBDMSCl, TMSCl ve Ac₂O,
- **B** ürünlerinin sentezi için **ii** olarak belirlenen reaktifler; Ac₂O, TMSCl, CBr₄-PPh₃ ve MsCl,
- **C** ürünlerinin sentezi için **iii** olarak belirlenen reaktifler; Ac₂O, BzCl, 4-NO₂-BzCl, 3,5-diNO₂-BzCl, MeI, *n*-BuCl, MOMBr, MEMCl, 1,3-dibromopropan, propargil bromür, CBr₄-PPh₃, akriloyl klorür, metakriloyl klorür ve epiklorohidrin şeklindedir.

C yapısında epiklorohidrin ile elde edilen türev üzerinden NaN₃, NaOMe ve H₃O⁺ gibi reaktiflerle epoksit açılma ürünlerinin sentezlenmesi ve epoksit yapısının NaN₃ ile açılmasından elde edilecek ürünün 1,2,3-triazol sentezi için alkin türevleri ile reaksiyonların yapılması da hedeflenmiştir.

Moleküler modelleme çalışmalarının yönlendirmeleri doğrultusunda biyolojik etkinliği daha yüksek olması öngörülen ursan türevlerinin sentezine öncelik verilmesi ve sentez çalışmalarını takiben elde edilen türevlerin seriler halinde biyolojik aktiviteleri incelenmesi amaçlanmaktadır. Başlıca 3T3 fibroblast insan sağlıklı hücre hatlarına karşı sitotoksikite, genotoksikite ve hücre içi reaktif oksijen türlerindeki seviyenin belirlenmesi deneylerinin yapılması, sentez ve biyoaktivite çalışmaları tamamlandıktan sonra ise sonuçların değerlendirilerek potansiyel moleküllerin belirlenip ilaç olma yolunda diğer adımların atılması planlandı.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

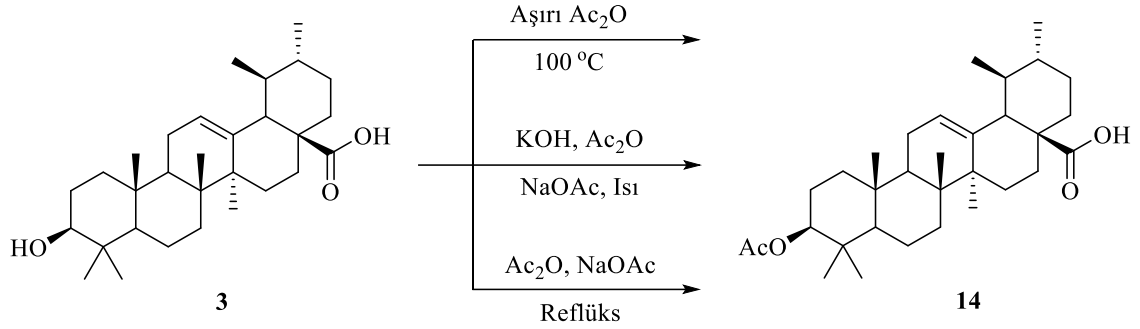
2.1. Ursan ve Oleanan Triterpenler Üzerinden Sentetik Çalışmalar

Hem ursolik asit, hem de oleanolik asit triterpenler grubunda biyolojik etkinlikleri bakımından önemli bileşikler olup bu bileşiklerin antikanser, antiviral, antikolinesteraz vb. pek çok aktivitesi yapılan çalışmalarla belirlenmiştir. (Topcu *et al.* 2004b; Topcu 2006; Zhang *et al.* 2006). Ursolik asit ve oleanolik asit doğada nispeten yaygın olmasına rağmen bu bileşiklerin sayısız biyoaktif türevi doğadan yeteri kadar elde edilemediğinden bu türevler sentetik ve/veya yarı sentetik olarak elde edilerek biyolojik etkinlikleri yönünden incelenmektedir.

Literatür verilerine bakıldığında bir asıdır biyoaktif ursan ve oleanan türevi triterpenler sentezlenmektedir (Dodge 1918). Sentezler bu türevlerin doğadan çok düşük verimle elde edilebilmiş bir örneğinin daha yüksek verimle elde edilmesini amaçladığı gibi doğala benzer ve biyolojik etkinliği yönünden daha farklı özellikler taşıyan türevleri de hedeflemektedir. Sentezlerin büyük bir bölümü fazla miktarda elde edilen doğal bir türevin üzerinden yarı-sentetik metotla yürütülürken kimi zaman da total sentez yöntemiyle izopren birimlerinden başlanarak yürütüldüğü görülmektedir. Ancak total sentez yöntemi yarı sentetik yöntemle göre oldukça az uygulanmaktadır. Çünkü 30 karbonlu, beş halkadan oluşan ve oldukça fazla kiral karbon atomu taşıyan bu bileşiklerin hedeflenen stereoizomerlerinin saf olarak elde edilmeleri pek de kolay değildir.

Oleanolik asit doğadan ilk kez 1825 yılında Baget ve Lodibert tarafından karanfil tomurcuklarından izole edilmiştir (Baget and Lodibert 1825). Ursolik asit ise doğadan ilk kez 1854 yılında Trommsdorf tarafından ayı üzümü (*Arctostaphylos uva-ursi*) yapraklardan izole edilmiştir (Trommsdorff 1854). Ancak o dönem her iki bileşiğin de basit formülleri dışında kesin yapıları belirlenememiştir. Bundan tam 100 yıl önce Amerikalı bilim adamı Francis D. Dodge ursolik asit ve oleanolik asitin kesin formüllerini belirlemek üzere bir takım çalışmalar yaparak sonuçlarını yayımlamıştır (Dodge 1918). Bu amaçla yaptığı çalışmalardan biri de 3 değişik metotla ursolik asit ve oleanolik asitin asetil türevlerini elde etme çalışmasıdır (Şema 2.1). Sentezlediği bileşikleri sıcak alkol

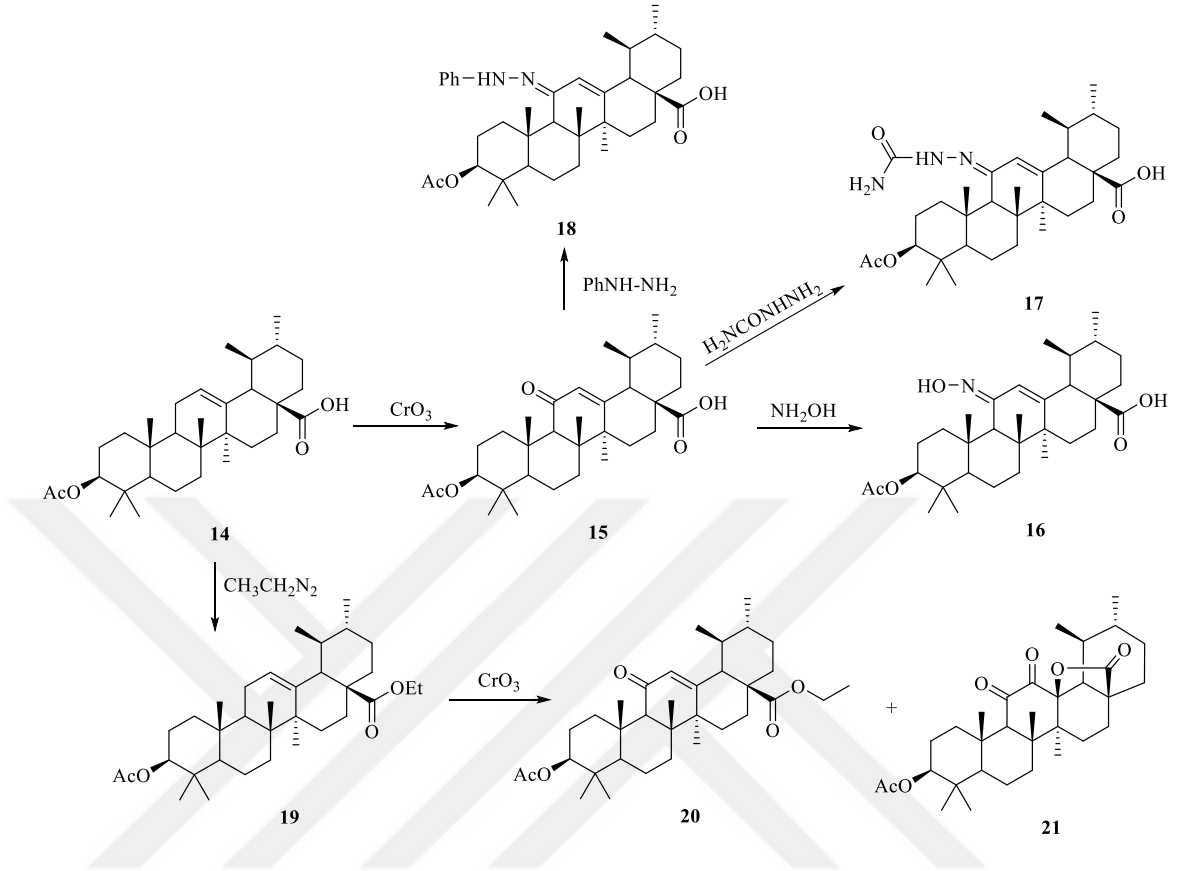
üzerinden kristallendirerek uzun iğne yapılı kristaller elde etmiş ve fizikokimyasal özelliklerini incelemiştir.



Şema 2.1

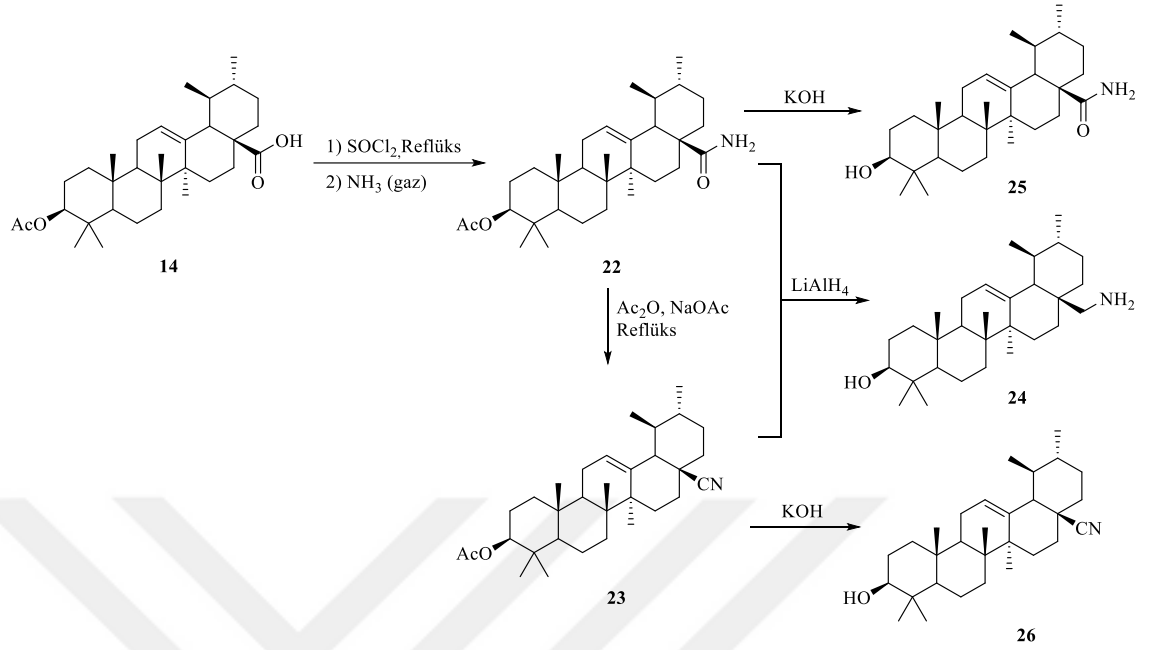
Jacobs ve Fleck ursolik asit ve oleanolik asitin dehidrojenasyonu üzerine bir takım çalışmalar yaparak ve ursolik asitin ve oleanolik asitin kükürt varlığında ısıtılmasıyla yapılarından birer mol hidrojen ayrıldığını gözlemlemişlerdir. Ayrıca çalışmalarında ursolik asit ve oleanolik asitin metil esterini de sentezleyerek bu yapılar üzerinden yarı sentetik türevler hazırlamışlardır (Jacobs and Fleck 1931; Jacobs and Fleck 1932). Dönemlerinde spektroskopik metotlar henüz yeterince gelişmediği için sadece kısıtlı ölçüde yapı analizi yapabilmişlerdir. Kuwada ve Matsukawa ise günümüzden çok önce bazı oksitli oleanolik asit türevlerinin Clemmensen indirgemesi reaksiyonları üzerine çalışmalar yapmıştır (Kuwada and Matsukawa 1934).

Ewen ve Spring asetil ursolik asitin (14) oksidasyonu üzerine bazı çalışmalar yapmışlardır (Şema 2.2). Reaksiyonlarda kromik anhidrit kullanılmış ve ana ürün olarak α,β -doymamış sistem içeren etil ketoasetilursolik asit ve yan ürün olarak ise bir diketolakton (31) elde etmişlerdir (Ewen and Spring 1943). Asetilursolik asitin (14) oksidasyonu, daha önce Kuwada ve Matsukawa tarafından geliştirilen bir metot ile yapılmıştır. Kuwada ve Matsukawa elde ettikleri ürünü ketoasetilursolik asit (15) olarak tanımlamışlardır ve bu bileşik üzerinden oksim, semikarbazon ve fenilhidrazon türevi 16-18 numaralı bileşikler elde edilmiştir (Kuwada and Matsukawa 1933).



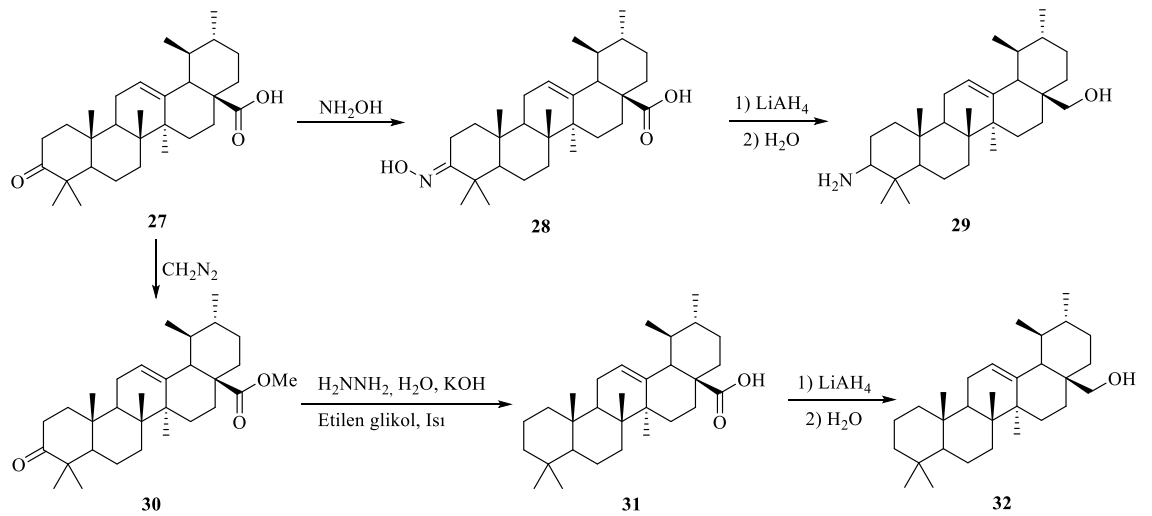
Şema 2.2

Ursolik asit üzerinde kimyasal araştırmalar adlı bir çalışmada asetilursolik asitin (**14**) azot içeren türevleri sentezlenmiştir (Wu and Parks 1953). Çalışmada asetilursolik asitin karboksilik asit grubu önce açıl klorür yapısına (Goodson 1938) sonra amit (**22**) ve nitril (**23**) yapılarına dönüştürülmüş, daha sonra her iki yapının da LiAlH_4 ile indirgenmesi ile ursolilamin (**24**) olarak adlandırılan amino türevi elde edilmiştir. Bileşik **22** ve **23**'nin KOH ile hidrolizi de ilgili alkol türevleri **25** ve **26** numaralı bileşikler oluşturmuştur (Şema 2.3).



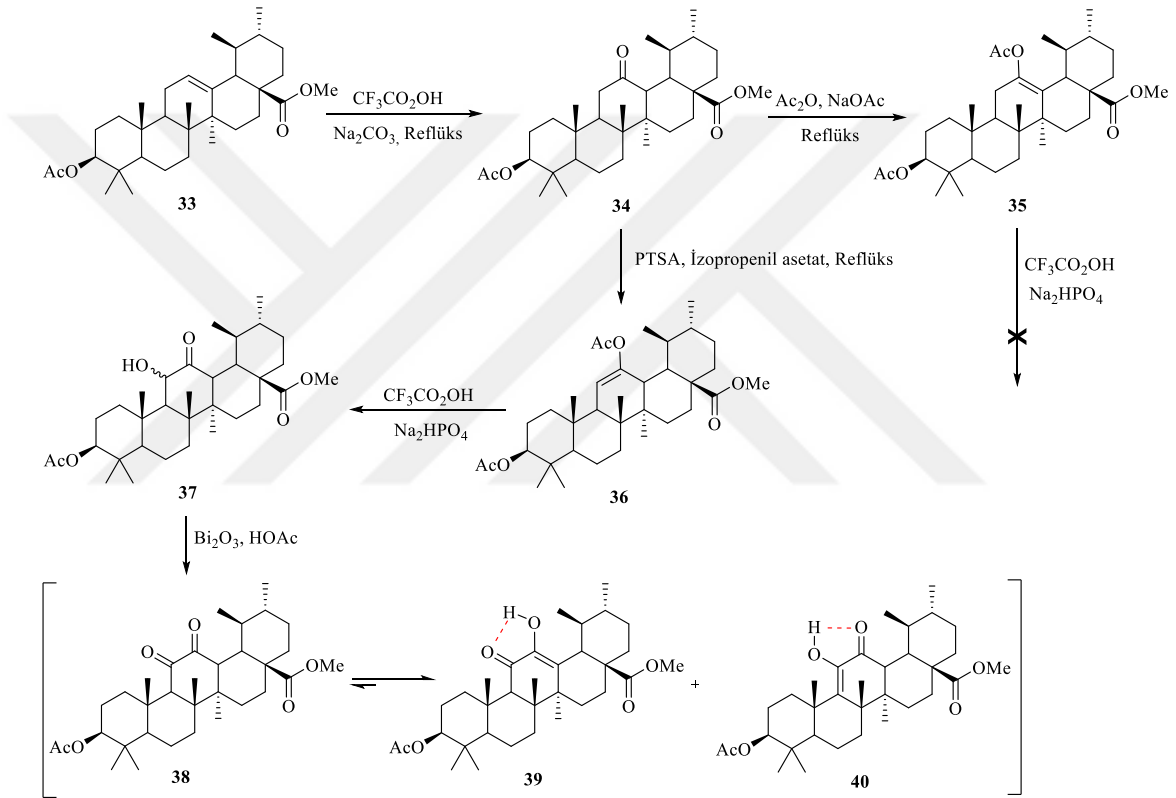
Şema 2.3

Aynı çalışmada benzer bir indirgeme ile ursonik asit (**27**) oksimi (**28**) indirgenerek **24** numaralı bileşiğin izomeri ursolilamin **29** elde edilmiştir (Şema 2.4). Ayrıca Şema 2.4'te görüleceği üzere ursonik asitin metil ester (**30**) Wolff-Kishner indirgemesinin Huang-Minlon modifikasyonu (Huang-Minlon 1946) ile ursanik asite (**31**) dönüştürülmüştür. Ursanik asit ise LiAlH_4 ile indirgenerek doğal ürün α -amirinin (**1**) bir izomeri olan ursanol (**32**) yapısı elde edilmiştir (Wu and Parks 1953).



Şema 2.4

Literatüre baktığımızda ursolik asit ve oleanolik asitin çoğunlukla oksitlenmiş veya azot içeren türevlerinin sentezlenmeye çalışıldığı görülmektedir. Micheli tarafından yapılan bir çalışmada ursolik asitin bazı hidroksil ve keto türevleri sentezlenmiş ve yapıları aydınlatılmıştır (Micheli 1962). Micheli öncelikle ursolik asiti ayı üzümü bitkisinin yapraklarından literatürde bilinen yöntemle (Bilham *et al.* 1942) izole ederek çalışmalarına başlamış ve Şema 2.5'te gösterilen reaksiyonları yaparak ilgili bileşikleri elde etmiştir.



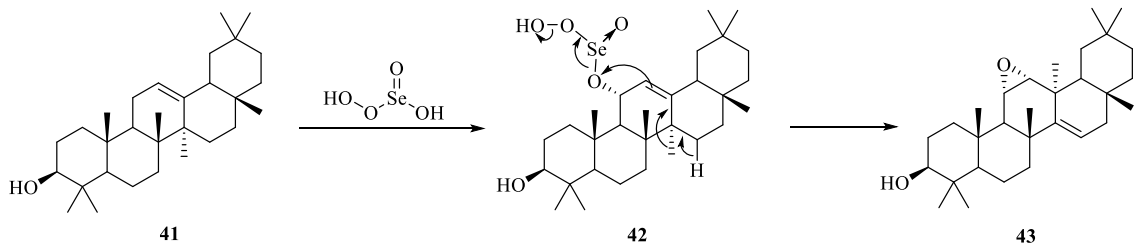
Şema 2.5

Asetilursolik asit metil ester bileşiğinin (**33**) sodyum karbonat varlığında H_2O_2 ve trifloroasetik anhidritten elde edilen trifloroperoksiasetik asit (Emmons and Pagano 1955) ile reaksiyonundan oksidasyon ürünü (Kaye *et al.* 1955) bileşik **34** elde edilmiştir. Bileşik **34**'te öncül bileşiğinde olduğu gibi çift bağ yoktur. Bileşik **34**'ün sodyum asetat varlığında asetik anhidrit ile reaksiyonundan enol asetat yapısındaki izomerik bileşikler **35** ve **36** sentezlenmiştir. Bileşik **35** ve **36**'nın yapıları proton NMR analizi ile belirlenmiştir. Bileşik **36**'nın ^1H -NMR spektrumunda 4.58 ppm'de bir çift bağ sinyali gözlenirken bileşik **35**'te böyle bir sonuca rastlanmamıştır. Bileşik **35** trifloroperoksi-

asetik asit ile oksitlenmezken bileşik **36** aynı şartlarda oksitlenerek bileşik **38**'ye dönüşmüştür. Bileşik **37**'nin bizmut oksit ile reaksiyonundan diketon yapısındaki bileşik **38** elde edilmiştir ancak bu yapının daha kararlı olan enol formuna dönüşerek iki izomer halinde (**38-40**) bulunduğu tespit edilmiştir (Micheli 1962)

Ursan ve oleanan iskeletine sahip birçok triterpen gerek kimyasal davranışları yönünden gerekse de biyolojik etkinlikleri bakımından incelenmek üzere doğala benzer yapıda ya da tamamen yeni olmak üzere oksijen taşıyan türevlerine dönüştürülmüştür. Triterpen iskeletinin değişik reaktiflerle oksidasyonu ile halkaya hidroksil ve/veya keton grupları takılmasının yanı sıra halkada yeni çift bağlar da oluşturulmuştur. Okside triterpenler kimi zaman da düzenlenerek farklı triterpen türevlerine dönüşmüşlerdir. Triterpen iskeletinde oluşturulan α,β -doymamış karbonil sistemleri, enol sistemleri, substitue enon sistemleri ve lakton veya laktam gibi heterosiklik yapılar bu bileşiklerin biyolojik etkinliklerinin artmasında oldukça önemli katkılar sağlamıştır. En önemli biyolojik aktivitelerinin başında NF-Kappa B inhibisyonu gelen sentetik triterpen bardoksolonmetil (**7**) bileşiği okside triterpenlere verilebilecek en önemli örneklerden birisidir.

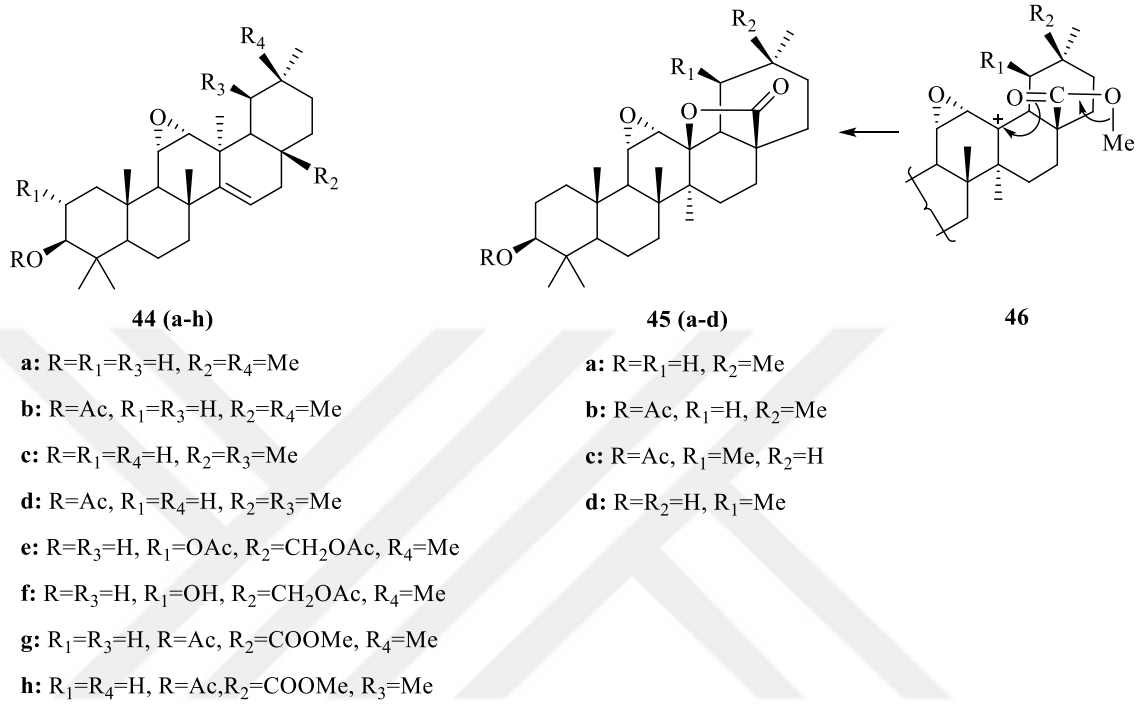
Agata ve grubu doğal olarak izole edilmiş okside bir triterpeni α - ve β -amirinden yola çıkarak sentezlemişlerdir (Şema 2.6). Sentezlerde oksidatif düzenlenme ürünleri olarak hedeflenen doğal ürün istenilen yapıda elde edilebilmiştir. Oksitleyici reaktif olarak bazı adımlarda CrO_3 bazı adımlarda da peroksiselenik asit (HO_2SeO_2) tercih edilmiştir (Agata *et al.* 1965).



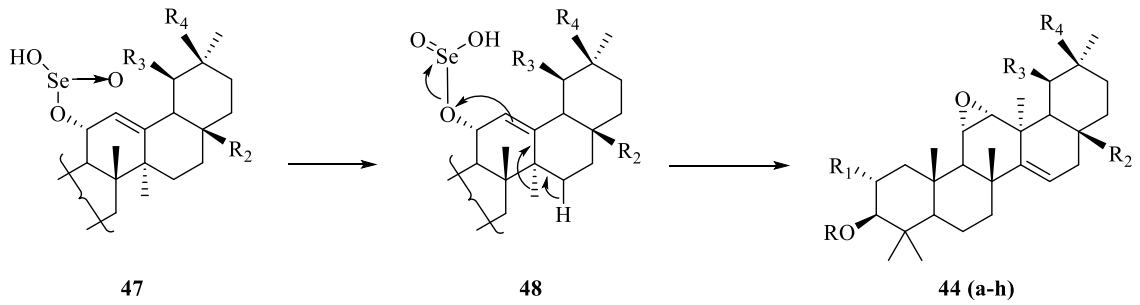
Şema 2.6

Pradhan ve çalışma arkadaşları SeO_2 ve H_2O_2 kullanarak bir seri oksitlenmiş ve aynı zamanda düzenlenmiş triterpen türevleri sentezlemişlerdir (Şema 2.7). Bileşik **101**'nin

elde edilmesine ilişkin mekanizma Şema 2.8’de gösterildiği şekliyle anlatılmıştır. Bileşik **102**’nin oluşumu ise Şema 2.7’de görüldüğü gibidir (Pradhan *et al.* 1987).

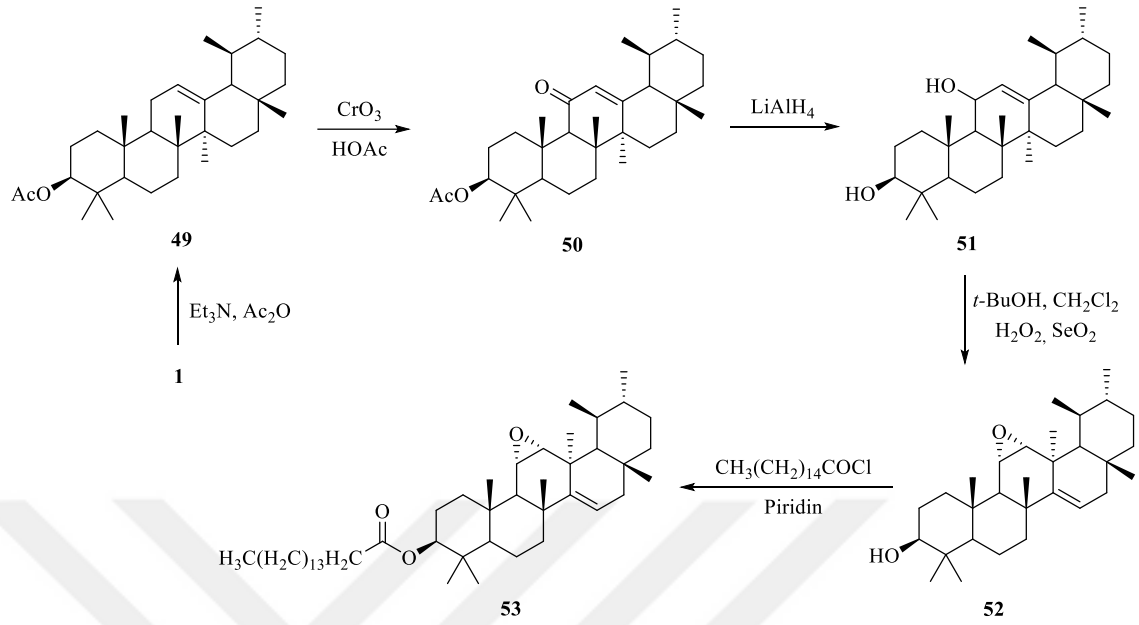


Şema 2.7



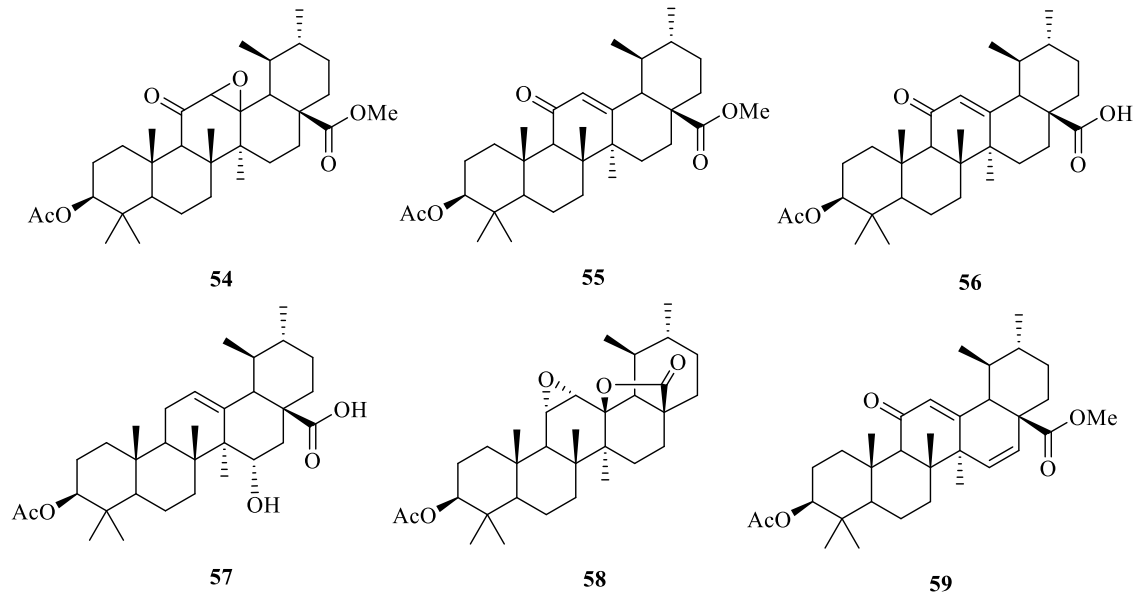
Şema 2.8

Huang ve grubu doğal bir triterpeni (**53**) α -amirin den başlayarak Şema 2.9’da gösterilen yöntemle yarı-sentetik olarak 5 basamakta sentezlemişlerdir (Huang *et al.* 1990).



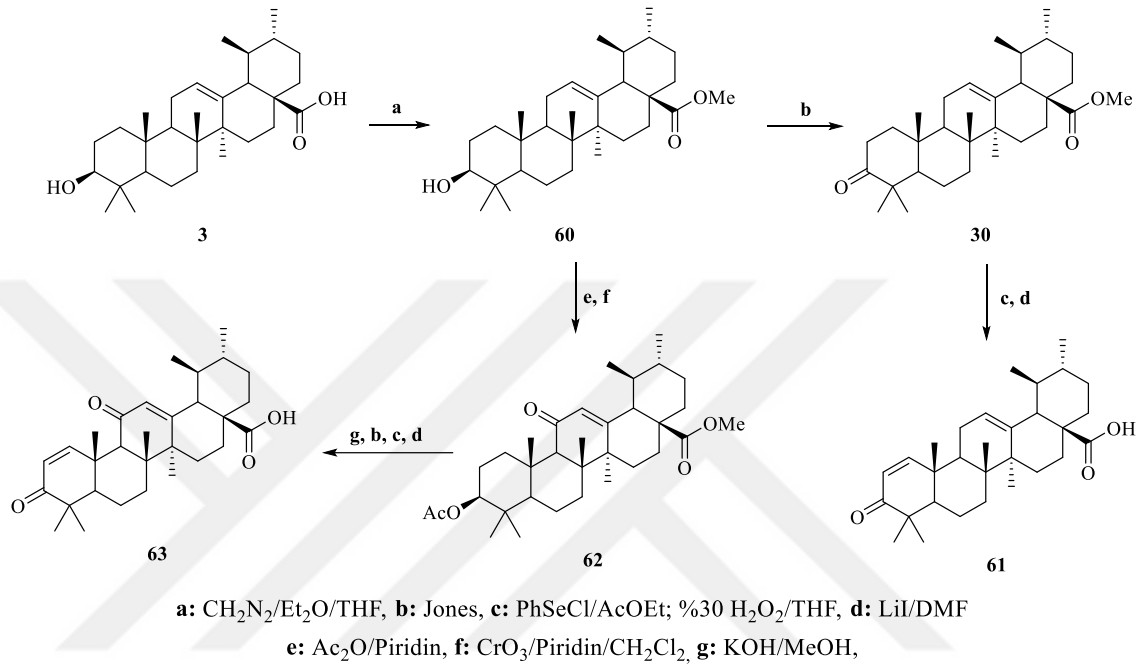
Şema 2.9

Siddiqui ve grubu ise tek bir reaksiyonda 3-asetil ursolik asit metil esterinin (**33**) ve hidrojen peroksitin asetik asit varlığında uzun süre reaksiyonundan Şema 2.10'da gösterilen **54-59** numaralı ursolik asit türevlerini elde etmişlerdir. (Siddiqui *et al.* 1990).

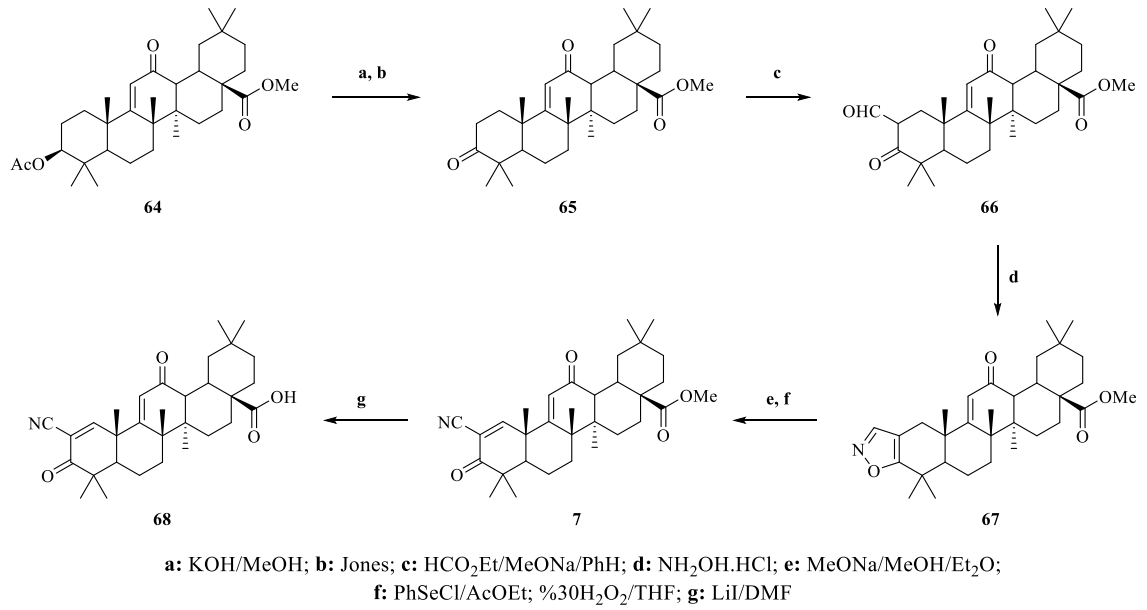


Şema 2.10

Honda ve çalışma grubu 1 μM yoğunlukta aktivite gösterip fare makrofajlarında üretilen nitrik oksiti inhibe eden Şema 2.11 ve Şema 2.12’de görülen enon türevlerini sırasıyla ursolik asitten ve oleanolik asitten hareketle sentezlemişlerdir (Honda *et al.* 1997; Honda *et al.* 1998).



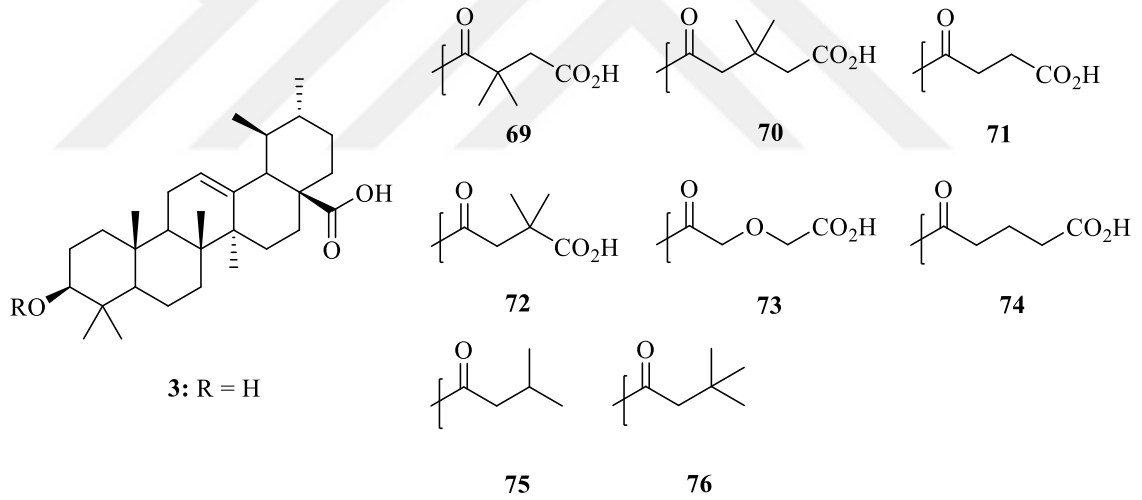
Şema 2.11



Şema 2.12

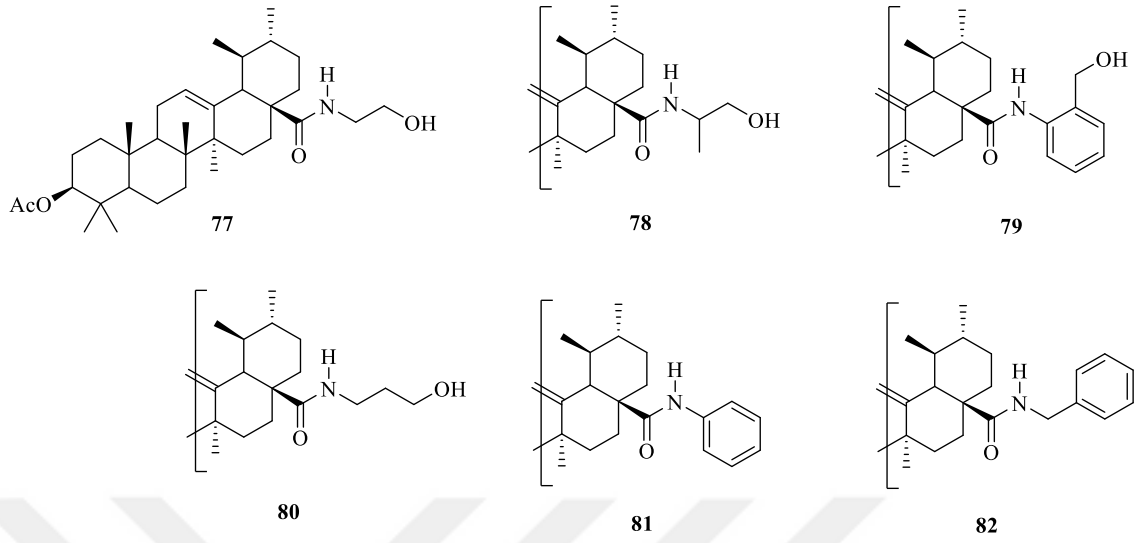
Triterpenlerin oksidasyonu doğal olarak da gerçekleşmektedir. Birçok triterpen doğal olarak birden fazla oksijen, karbonil grubu ve/veya çift bağ taşımaktadır. Bunlardan polihidroksilli triterpenik bileşiklere bakıldığında her bir bileşiğin değişik ve önemli ölçüde biyolojik aktiviteye sahip olduğu görülür. Topçu tarafından doğadan ilk kez izole edilen bir seri polihidroksilli ursan ve oleanan türevi triterpenin başta NF-Kappa B inhibisyonu olmak üzere pek çok aktivitesinden bahsedilmektedir (Topcu and Ulubelen 1999; Topcu *et al.* 2004b).

Ursolik asit türevlerinin anti-HIV aktivitesi incelenmek üzere Şema 2.13'te görülen bir seri 3-açıl-ursolik asit türevi bileşik elde edilmiştir. Kashiwada ve grubu ursolik asitin yanı sıra betulinik asit ve oleanolik asit üzerinden de benzer çalışmayı yapmış ve elde edilen bileşiklerin anti-HIV aktiviteleri incelenmiştir (Kashiwada *et al.* 2000).



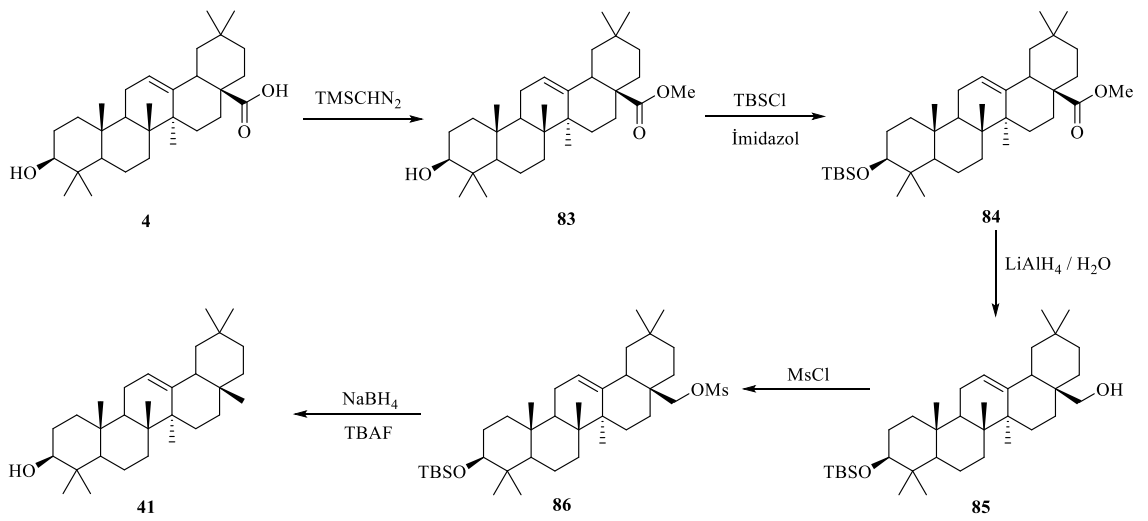
Şema 2.13

Liu ve araştırma grubu tarafından anti tümör aktivite gösteren Şema 2.14'te verilen bir seri amido-ursolik asit türevi bileşiği sentezlenmiş ve Hela hücreleri üzerinde aktivitelerini incelemişlerdir. Bütün türevlerin güçlü hücre büyüme inhibitörü olduğu gözlenmiştir (Liu *et al.* 2008).



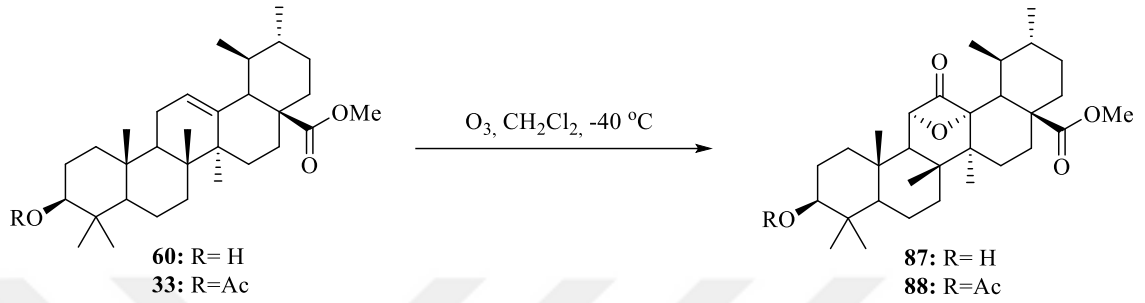
Şema 2.14

α - ve β -amirin bileşikleri doğadan ursolik asit ve oleanolik asit kadar çok miktarda şekilde izole edilemediklerinden dolayı aynı iskelet yapısına sahip ursolik asit ve oleanolik asitten hareketle yarı sentetik yolla sentezlenebilirler. Biyolojik aktivite bakımından birçok önemli türevi bulunan amirin bileşiklerinin sentetik olarak elde edilmesi oldukça önemlidir. β -Amirin türevlerinin sentezlendiği bir çalışmada öncelikle oleanolik asitten başlanarak şema 2.15'te görüleceği üzere altı basamakta β -amirin elde edilmiştir (Muranaka *et al.* 2009).



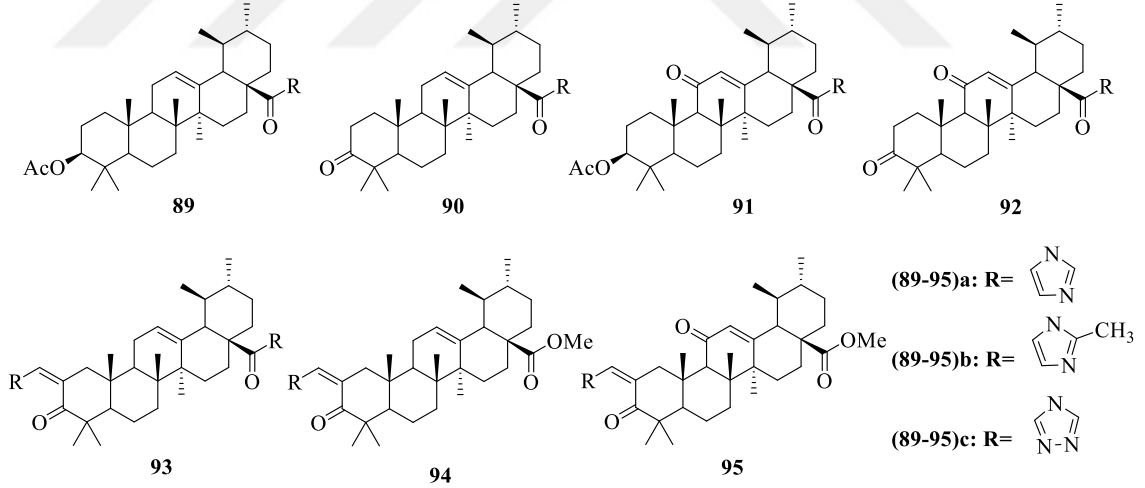
Şema 2.15

Kazakova ve arkadaşları ursolik asitin metil esterini (**60**) ve onun asetil türevini (**33**) ozon ile oksitleyerek Şema 2.16’da görülen triterpen oksetan türevlerini (**112-113**) elde etmişlerdir (Kazakova *et al.* 2011).



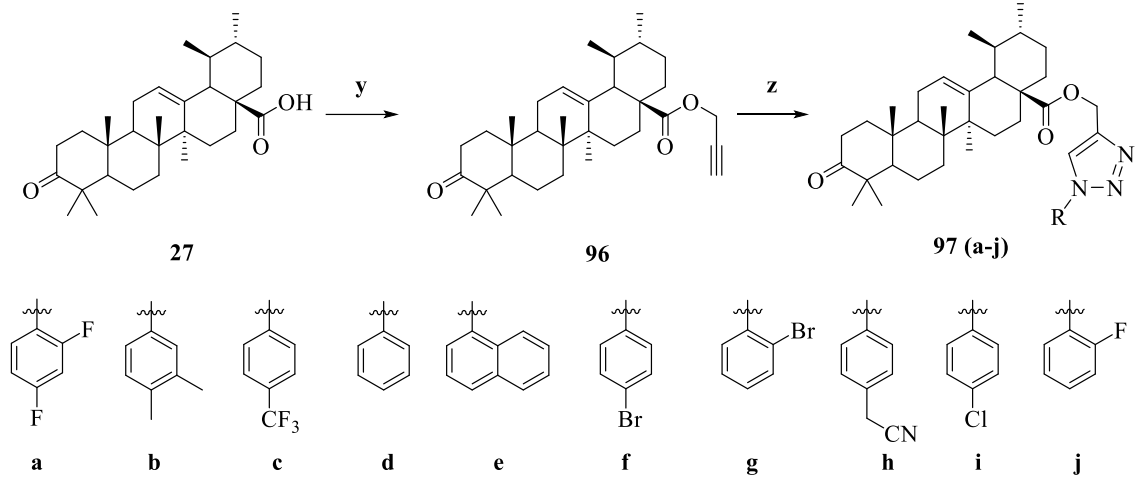
Şema 2.16

Leal ve grubu tarafından pankreas kanser hücrelerine karşı antiproliferatif etkili ursolik asit türevleri sentezlenmiştir (Şema 2.17). Biyoaktivite sonuçlarına göre **93-95** numaralı bileşiklerde antiproliferatif aktivitenin arttığı gözlenmiştir (Leal *et al.* 2012).



Şema 2.17

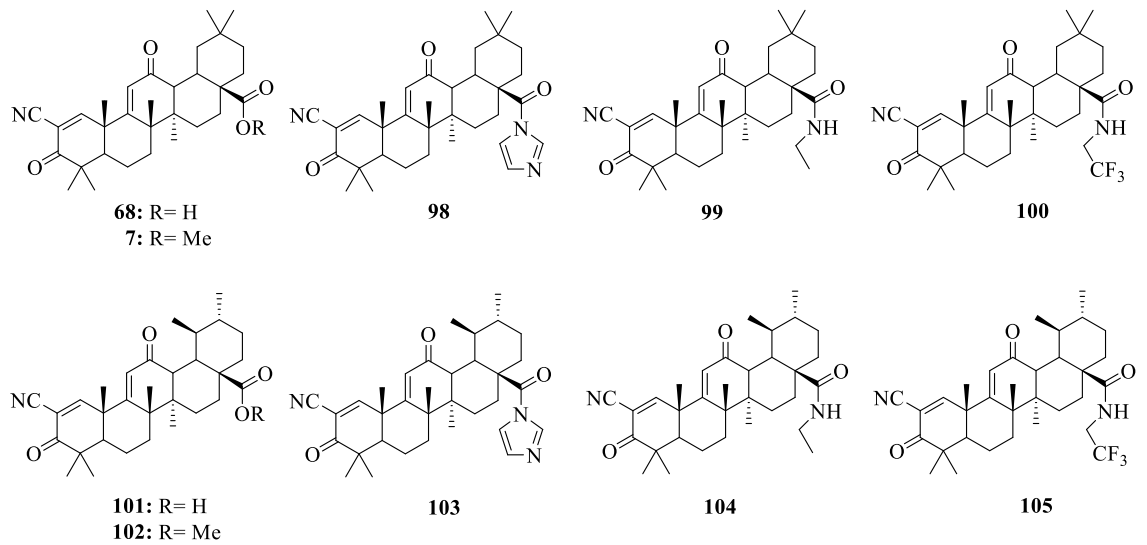
Rashid ve araştırma grubu tarafından son yıllarda yapılan bir çalışmada ursolik asitin potansiyel anti kanser aktif bir seri 1,2,3-triazol türevi bileşik sentezlenmiştir (Şema 2.18). Triazol halkası ursolik asitteki karboksilik asitin propargil esteri üzerinden click reaksiyonu ile yapıya bağlanmıştır (Rashid *et al.* 2013).



y: Cs_2CO_3 , Propargil bromür, THF; z: RN_3 , CuSO_4 , sodyum askorbat, $t\text{-BuOH:H}_2\text{O}$ (2:1), sonikasyon

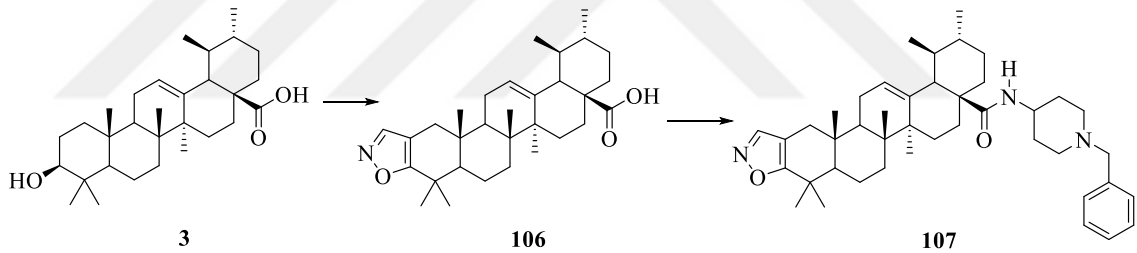
Şema 2.18

Ursolik asit ve oleanolik asit türevlerinin aktiviteleri kıyaslamak üzere Fu ve grubu tarafından yapılan çalışmada ursolik asit ve oleanolik asit bileşiklerinin C2 pozisyonlarında siyano grupları ve A ve C halkasında α,β -doymamış karbonil sistemleri içeren bir seri siyano enon türevi bileşik sentezlenmiştir (Şema 2.19). Kıyaslama sonucunda ise ilgili oleanolik asit türevlerinin ursolik asit türevlerine göre beş kat daha yüksek biyolojik aktivite gösterdiklerini belirlenmiştir (Fu *et al.* 2014b).



Şema 2.19

Osteosarkom, çocuklarda ve yetişkinlerde en sık rastlanan primer malign kemik tümörüdür ve sık sık metastaz yapması ve kemoterapiye karşı dirençli olması ile tanınmaktadır. Osteosarkom hücreleri güncel kemoterapi ilaçlarına duyarlı olmadığı için osteosarkom tedavisinde yeni alternatif stratejilere ihtiyaç duyulmaktadır. Yapılan bir çalışmada, ursolik asitin sentetik türevi bileşik **107**'nin osteosarkom hücreleri üzerindeki önleyici etkilerini ve moleküler mekanizmasını araştırılmıştır. Öncelikle ursolik asitten literatürde (Fu *et al.* 2014a) bilinen yöntemle bileşik **106** sentezlenmiştir. Bileşik **106**'nın trietil amin varlığında metilen klorür içerisinde benzilpiperidin-4-amin ile reaksiyonundan da bileşik **107** elde edilmiştir (Şema 2.20). Bileşik **107**'nin osteosarkom hücrelerinin proliferasyonu üzerine etkisine bakıldığında bu bileşiğin *in vitro* ve *in vivo* olarak osteosarkom hücrelerinin canlılığını önemli ölçüde azalttığı görülmüştür. Böylece bileşik **107**'nin osteosarkomunun önlenmesi ve tedavisinde umut verici bir madde haline geldiği sonucuna varılmıştır (Chen *et al.* 2014).

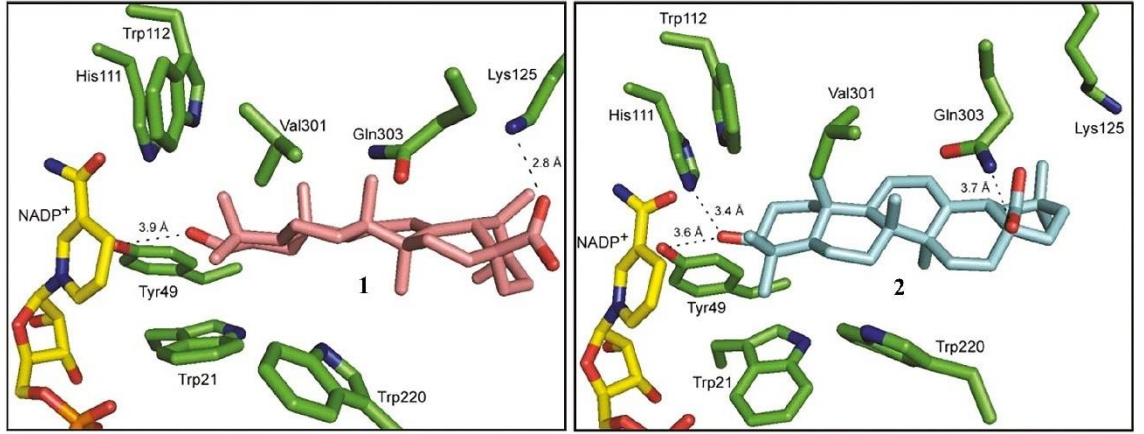


Şema 2.20

2.2. Ursan ve Oleanan Triterpenler Üzerine Moleküler Modelleme Çalışmaları

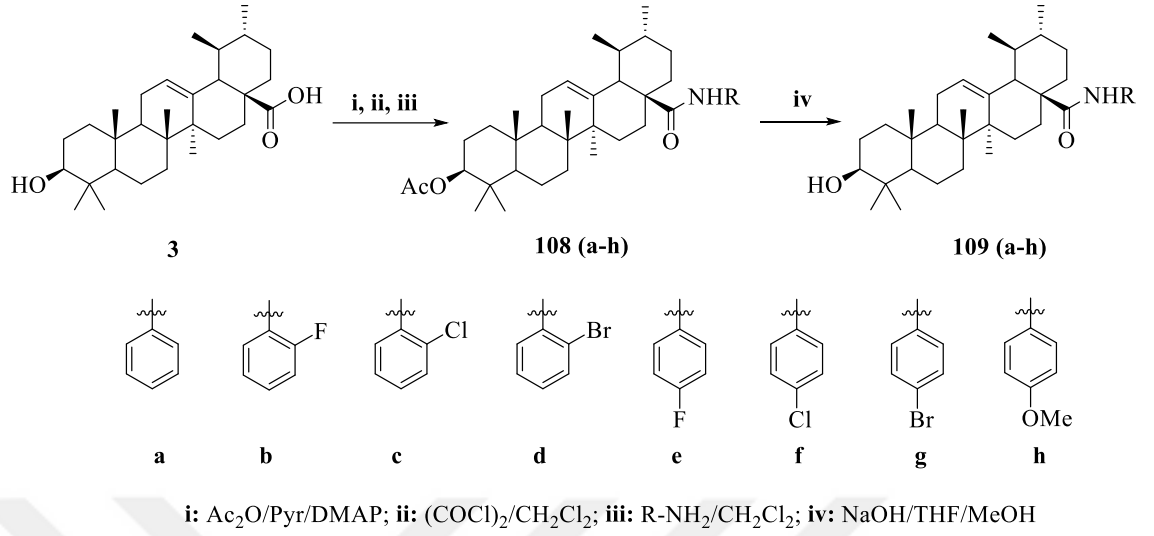
Moleküler docking teknikleri, bilgisayar destekli rasyonel ilaç tasarımı da ilaç adayları ile enzim, nükleik asit veya reseptör proteinlerinin birbirine nasıl uyum gösterdiklerini araştırmak için sıklıkla kullanılmaktadır (Jain 2007; Spitzer *et al.* 2007). Docking çalışmalarında ligandların, üç boyutlu yapısı belli olan proteine bağlanma olasılığı belirlenmekte ve bağlanma bölgesinde ligandın pozisyonu öngörülebilmektedir. Bu durum, bağlanma şeklinin anlaşılması ve proteinleri hedefleyen küçük molekül yapısında daha uyumlu ligandların tasarlanması için imkan sağlamaktadır (Holt *et al.* 2008).

Aldo-keto redüktaz (AKR) süper familyasının bir üyesi olan AKR1B10, son zamanlarda birkaç kanser tipinin tedavisinde terapötik bir hedef olarak gösterilmektedir. Yapılan bir çalışmada, potansiyel anti-kanser özellik gösteren yedi farklı pentasiklik triterpenin AKR1B10 üzerindeki inhibisyonunu incelenmiştir. Bunların arasında, ursolik asit (**3**) ve oleanolik asit (**4**) en yüksek AKR1B10 seçicilik oranına sahip inhibitör (inhibisyon sabiti, 72 nM) olarak bulunmuştur. Şekil 2.1'den görüleceği üzere bileşik **3** ve **4** ile AKR1B10 arasındaki moleküler modelleme ve beraberindeki mutajenez çalışmaları, AKR1B10'daki Val301 ve Gln303'ün korunmamış kalıntılarının, inhibisyon potansiyelini ve seçiciliğini belirlemek için önemli olduğunu göstermiştir (Takemura *et al.* 2011).

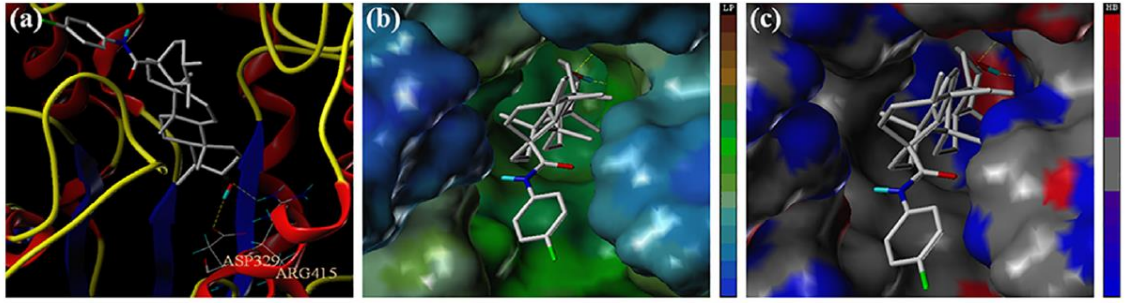
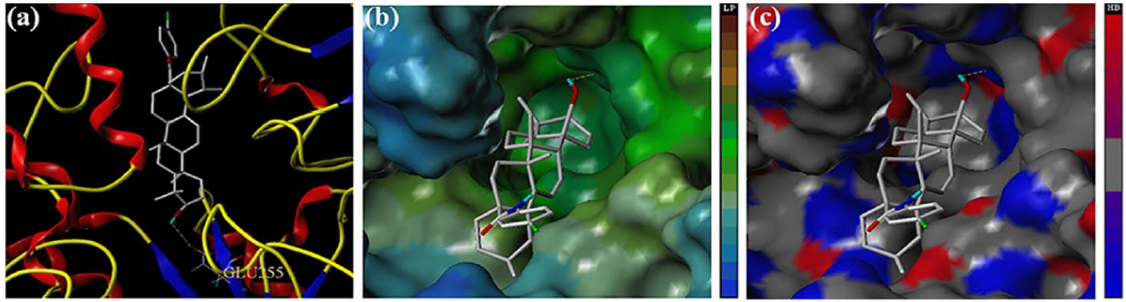


Şekil 2.1. AKR1B10'un ursolik asit (**3**) ve oleanolik asit (**4**) bağlama modelleri.

Son yıllarda yapılan bir çalışmada potansiyel anti diyabetik ajanlar olarak sentezlenen bir seri ursolik asit türevinin biyolojik etkinlikleri *in vitro* olarak incelenmiştir. Ayrıca iki boyutlu moleküler modelleme çalışmaları ile kantitatif yapı aktivite ilişkisi (2D-QSAR) incelenmiş ve yapılar modelleme çalışmalarına göre şekillenmiştir (Wu *et al.* 2015). Sentezlenen bileşikler Şema 2.21'den görüldüğü üzere aril substitue karboksamid türevi triterpen yapısındadır.



Şema 2.21

Şekil 2.2. Bileşik 109f'nin α -glukozidazın aktif bölgesi ile yaptığı bağlanma modeliŞekil 2.3. Bileşik 109g'nin α -glukozidazın aktif bölgesi ile yaptığı bağlanma modeli

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Moleküler Modelleme Çalışmaları

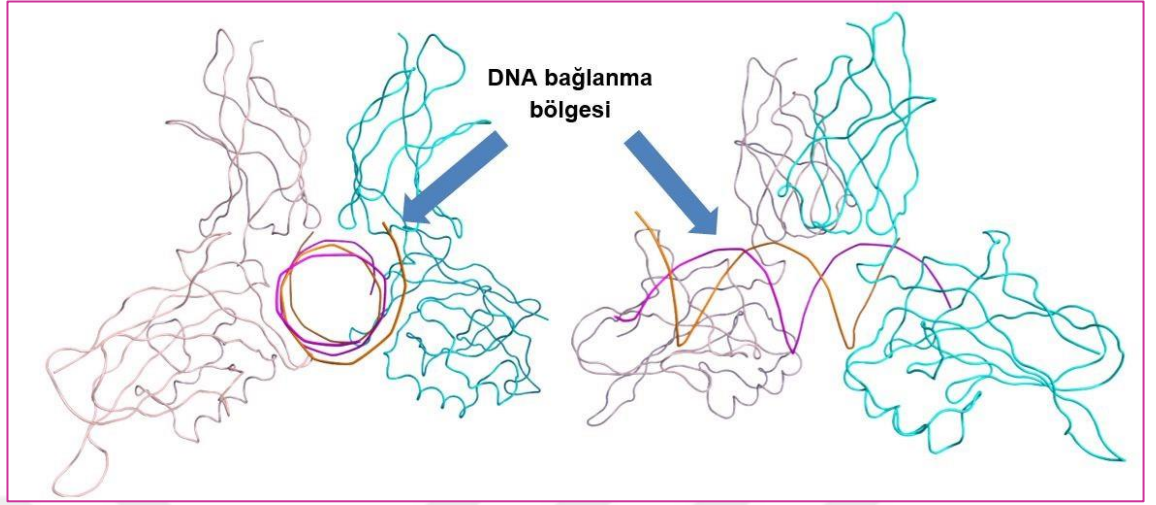
3.1.1. Triterpenler için öngörülen hedef protein adayları

Bu çalışmada öncelikli hedef NF- κ B (c-Rel/c-Rel) transkripsiyon faktörüdür. Triterpenlerin NF- κ B'nin DNA'ya bağlanmasını 2 mekanizma ile inhibe etmesi mümkündür. İlk mekanizmada maddeler NF- κ B'nin DNA'yı tanıdığı ve bağlandığı bölgeye bağlanarak bu bölgeyi işgal edebilir ve NF- κ B'ye DNA'nın bağlanmasına engel olur. İkinci mekanizmada ise I κ B α /c-Rel/c-Rel kompleksine bağlanarak bu kompleksi stabilize edebilir. Bu bağlar güçlü olursa I κ B α IKK tarafından fosforilize olsa bile NF- κ B'den ayrılamaz ve yolak engellenmiş olur. IKK proteinleri NF- κ B sinyal yolağında önemli rol oynadıkları için ana ilgi odağımızdır. IKK- α , IKK- β ve IKK- γ dan oluşan IKK kompleksine triterpenler bağlanarak kompleksi inaktif şekilde tutabilir veya IKK- α ve IKK- β enzimlerinin aktif bölgelerine bağlanarak I κ B α 'yı fosforlamaları engellenebilir.

3.1.2. NF- κ B/DNA kompleksinin hedef protein olarak araştırılması

3.1.2.1. Protein kristal yapısının elde edilmesi ve docking için hazırlanması

DNA ile kompleks oluşturan insan c-Rel/c-Rel dimerinin üç boyutlu kristal yapısına ulaşılamadı. Fakat PDB (proteins data bank) veri bankasından DNA'ya en uygun olarak bağlanan tavuk c-Rel/c-Rel kompleksinin üç boyutlu yapısı elde edilmiştir (pdb: 1gji) (Şekil 3.1). Bu kristal yapıda c-Rel'in RHD bölgesi görünmektedir (ilk 280 amino asit), geri kalan 300 amino asitlik bölüm ise görünmemektedir. RHD bölgesi (rel homology domain) bizim için önemli olan c-Rel/c-Rel, c-Rel/DNA ve c-Rel/I κ B α bağlanma bölgelerini içermektedir. Ayrıca, elde edilen tavuk c-Rel yapısının sekansı insan c-Rel sekansına %84 benzerlik göstermektedir.



Şekil 3.1. Tavuk NF-κB (c-Rel/c-Rel) ile DNA'nın oluşturduğu kompleks

NF-κB dimerinin (c-Rel/c-Rel) DNA'yı tanıdığı ve bağladığı bölgeye triterpenler bağlanarak SEAP raportör deneyinde inhibisyon göstermiş olma ihtimali docking çalışmalarıyla araştırılmıştır. Öncelikle MOE programı (v2014.09, Chemical Computing Group, Inc., Montreal) ile kristal yapıya hidrojen atomları eklenmiştir, kısmi yük hesaplanmıştır ve enerji minimizasyonu gerçekleştirilmiştir (AMBER99 forcefield).

3.1.2.2. NF-κB/DNA kompleksi ile yapılan docking çalışmaları ve analizi

DNA'nın bağlandığı yere triterpenlerin bağlanma olasılığı docking çalışmaları ile incelendi. DNA'ya yakın olan tüm amino asitler seçildi (mesafe < 4.5 Å) ve docking çalışmalarında bağlanma bölgesi olarak tanımlandı. Daha sonra DNA silinerek bağlanma bölgesine molekül **8** ($1\beta,2\alpha,3\beta,11\alpha$ -tetrahidroksi-urs-12-en,3-asetil) ve molekül **9** ($1\beta,2\alpha,3\beta,11\alpha$ -tetrahidroksi-olean-12-en,3-asetil), GOLD Suite programı (v5.2, CCDC, Cambridge, UK) ile dock edildi (ChemScore ve GoldScore kullanarak).

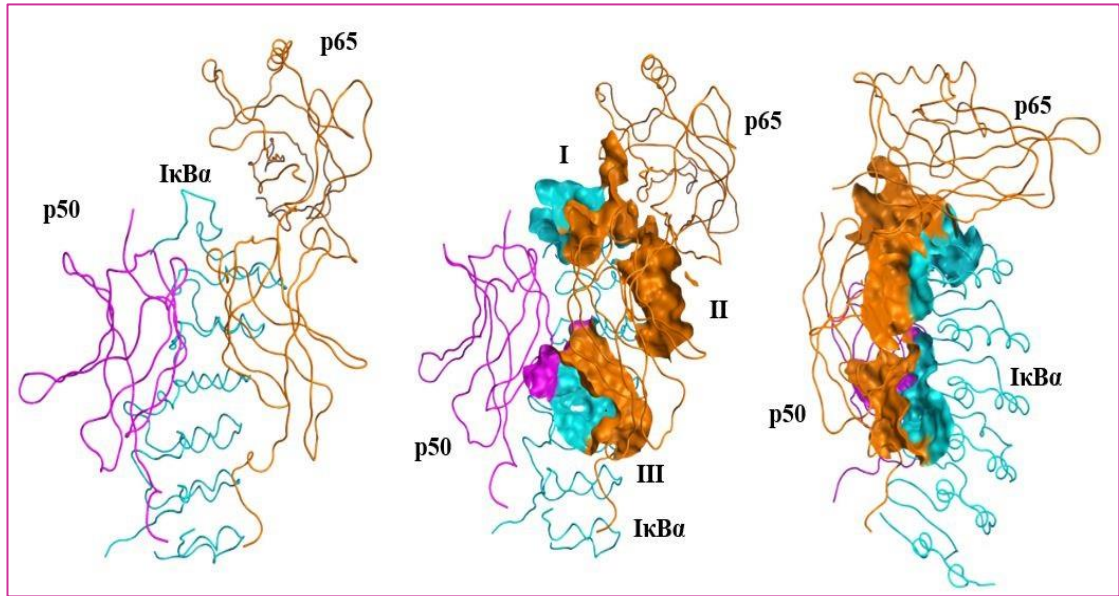
Docking sonuçlarına göre kullanılan bu iki triterpen DNA bağlanma bölgesine göre küçük kalmaktadır ve bu sebeple yeterince güçlü ligand-protein bağlanma ilişkisi (Şekil 3.2) tespit edilmemiştir. Dolayısıyla, incelenen triterpenlerin bu docking çalışmasında NF-κB/DNA kompleksi oluşturmadığı gözlenmiştir. Bu nedenle triterpenlerin bağlanabileceği diğer NF-κB kompleksleri sırasıyla araştırıldı.

3.1.3. NF- κ B/I κ B α kompleksinin hedef protein olarak araştırılması

3.1.3.1. Protein kristal yapısının elde edilmesi ve docking için hazırlanması

PDB 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 bu yeterli olmaktadır. İnsan c-Rel sekansı ile fare p65 proteini %65 benzerlik göstermektedir, fakat bu benzerlik fare p50 ile %51,3 olarak hesaplanmıştır.

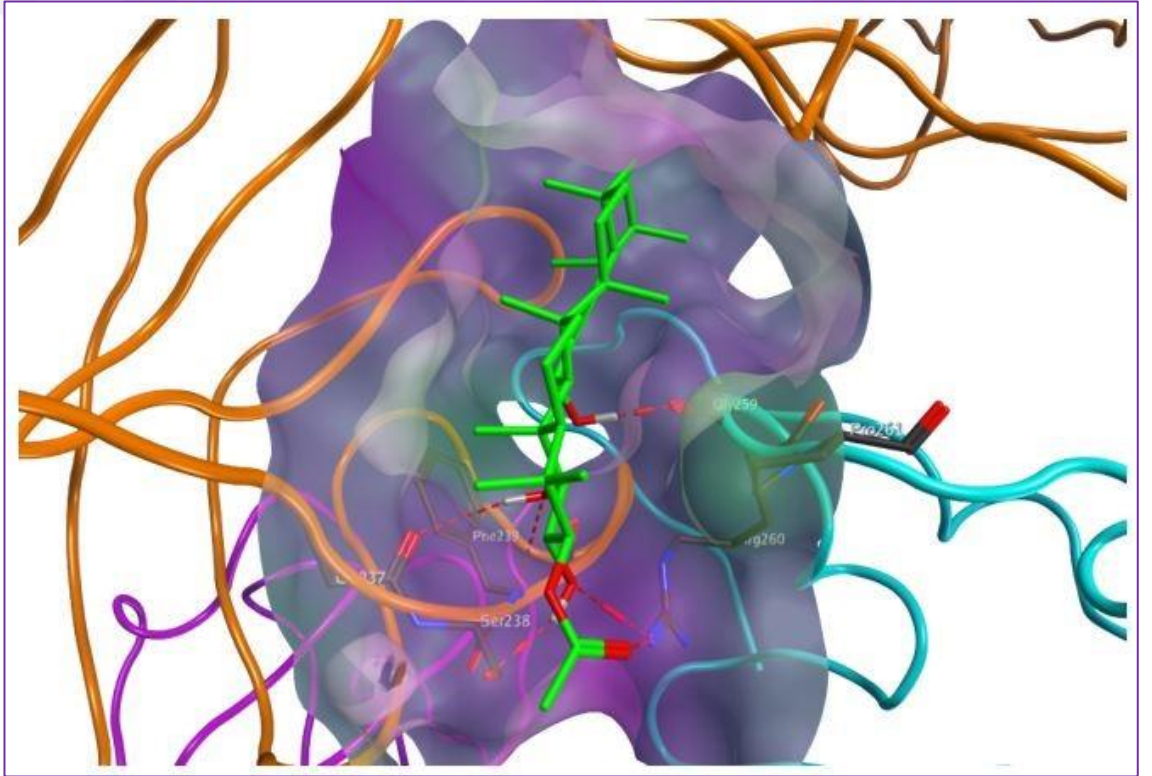
Triterpenlerin NF- κ B (p50/p65) – I κ B α kompleksine güçlü şekilde bağlanarak I κ B α 'nın p50/p65 dimerinden ayrılmasını engelleyebileceği olasılığı araştırıldı. MOE programı ile bu protein yapısında triterpenlerin bağlanabileceği yerler aranmıştır ve triterpenleri bağlayabilecek uygun hacme sahip olan 3 adet bağlanma bölgesi (**I**, **II**, **III**) tespit edilmiştir. 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 daha önceki yöntemle docking çalışmaları için uygun hale getirilmiştir (hidrojen atomları eklenmiştir, parsiyel yük hesaplanmıştır ve enerji minimizasyonu gerçekleştirilmiştir).



Şekil 3.2. NF- κ B ile I κ B α kompleksinde triterpenlerin bağlanabileceği bölgeler

3.1.3.2. NF- κ B/I κ B α kompleksi ile yapılan docking çalışmaları ve analizi

Bileşik **8** ve **9** bu bölgelere de GOLD Suite programı ile dock edilmiştir. Tüm bağlanma bölgeleriyle ilişki kurabilmektedir fakat bağlanma bölgesi **I** ile hidrojen bağı yapma açısından daha uyumlu olduğu görülmüştür (Şekil 3.3). Hedef molekül **8** proteini Gly259 (I κ B α), Arg260 (I κ B α) ve Gly237 (p65), Ser238 (p65) ve Phe239 (p65) amino asitleri ile hidrojen bağı yapmaktadır. Ayrıca, ligand ve bağlanma bölgesi **I** arasında hidrofobik ilişkiler bulunmaktadır.



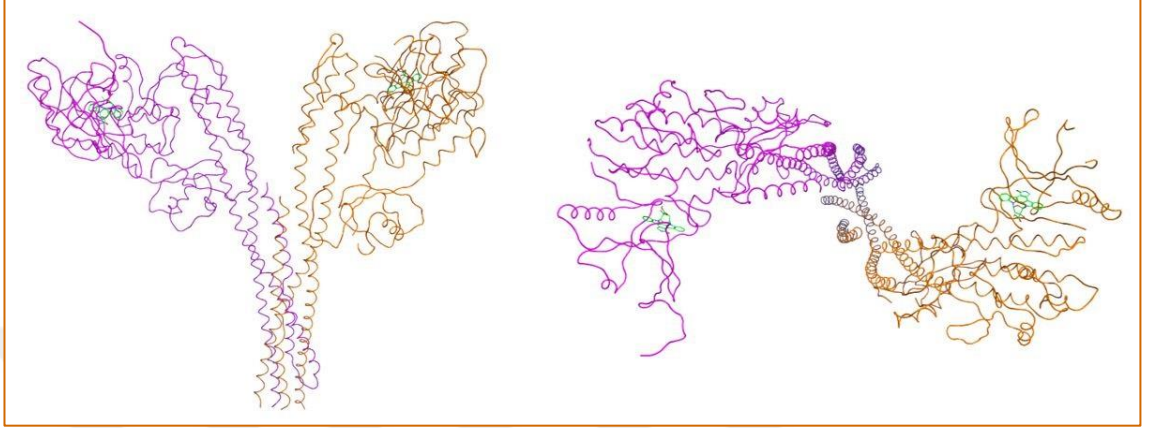
Şekil 3.3. Bileşik **8**'in NF- κ B/I κ B α 'nın bağlanma bölgesi **I** ile yaptığı etkileşim

3.1.4. IKK2'nin triterpenler için hedef protein olarak araştırılması

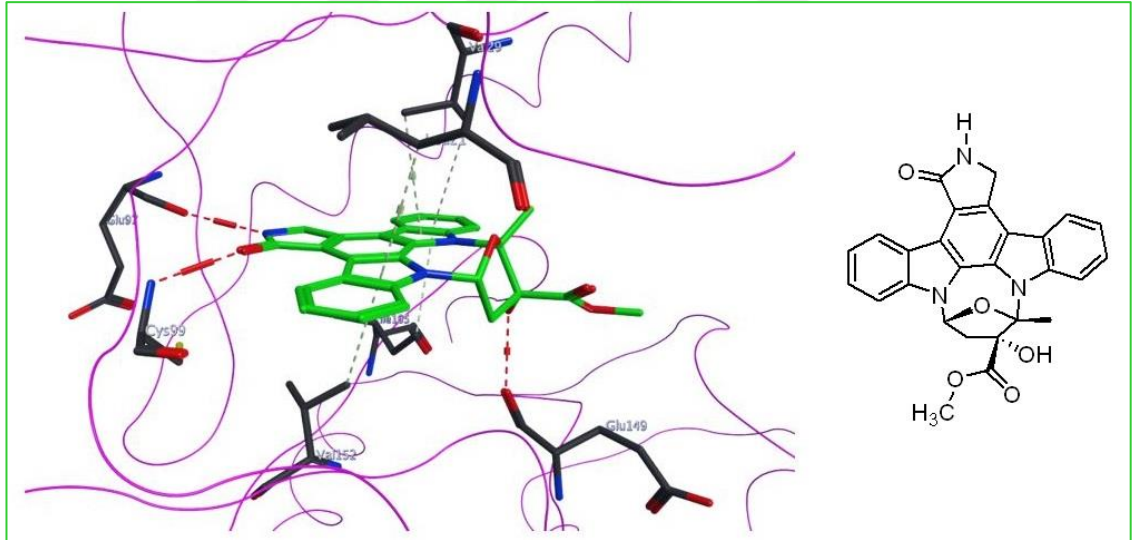
3.1.4.1. Protein kristal yapısının elde edilmesi ve docking için hazırlanması

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 3.4). Her iki K252a molekülü benzer şekilde IKK2 ile ligand-protein bağlanma ilişkisi kurmaktadır (Şekil 3.5). Bu kristal yapısı docking çalışmaları için yukarıda anlatılmış yöntem ile hazırlanmıştır.



Şekil 3.4. Dimerik insan IKK2'nin yapısı ve inhibitör K252a'nın bağlandığı bölge

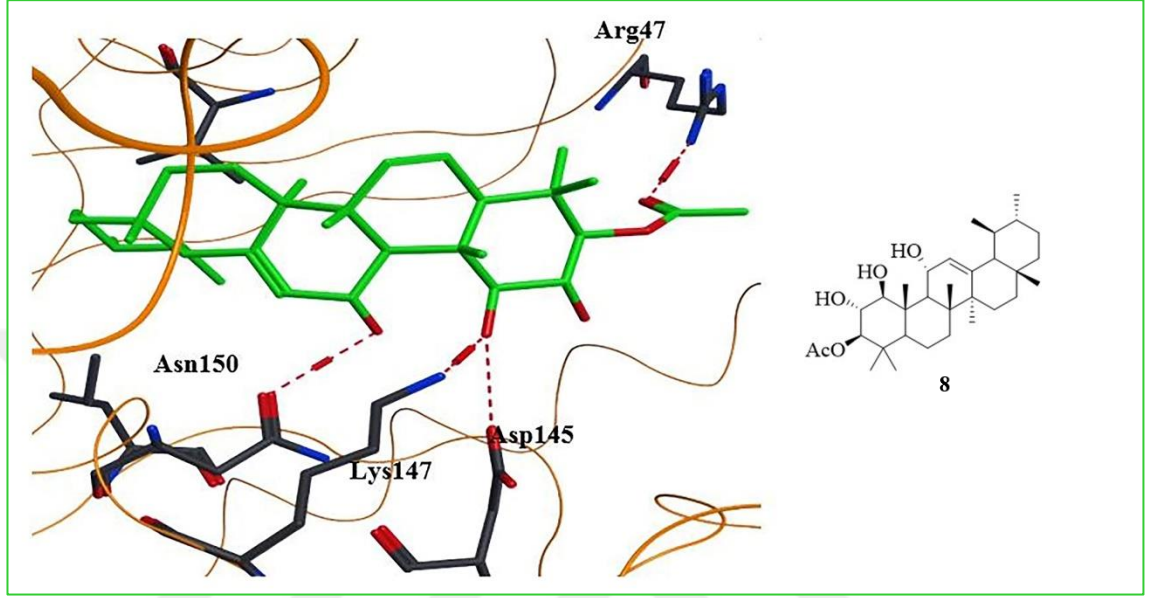


Şekil 3.5. K252a'nın insan IKK2'nin aktif bölgesiyle yaptığı etkileşim

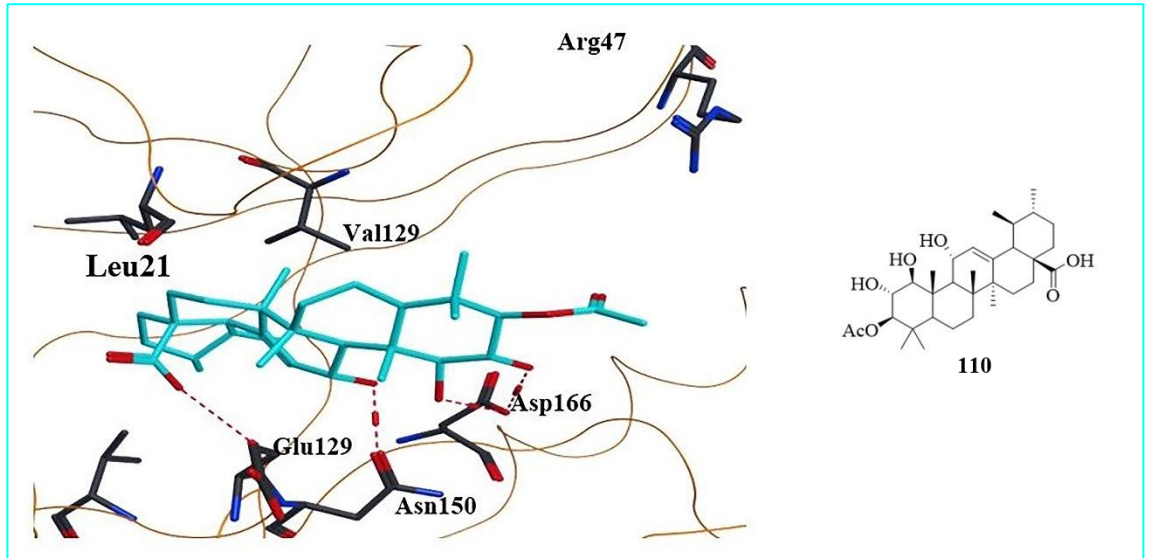
3.1.4.2. IKK2 üzerinde yapılan docking çalışmaları ve analizi

Bileşikler **8**, **9** ve inhibitör K252a her iki aktif bölgeye dock edilmiştir (GOLD Suite). Kristal yapıda gözlediğimiz K252a bağlanma şekli ve ligand-protein ilişkileri (Şekil 3.5) docking çalışmalarımızla da elde edilmiştir. Ayrıca, bileşik **6** ve **7** için de hidrojen bağ ve

hidrofobik ilişki kuran ve aynı anda şekil uyumluluğu gösteren bağlanma şekilleri elde edilmiştir (Şekil 3.6 ve 3.7).



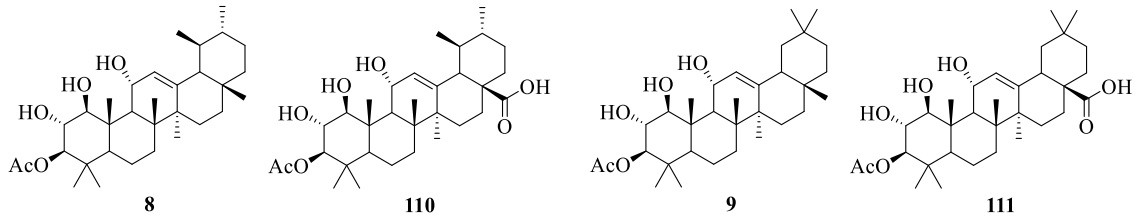
Şekil 3.6. Bileşik 8'in insan IKK2'nin aktif bölgesiyle yaptığı etkileşim



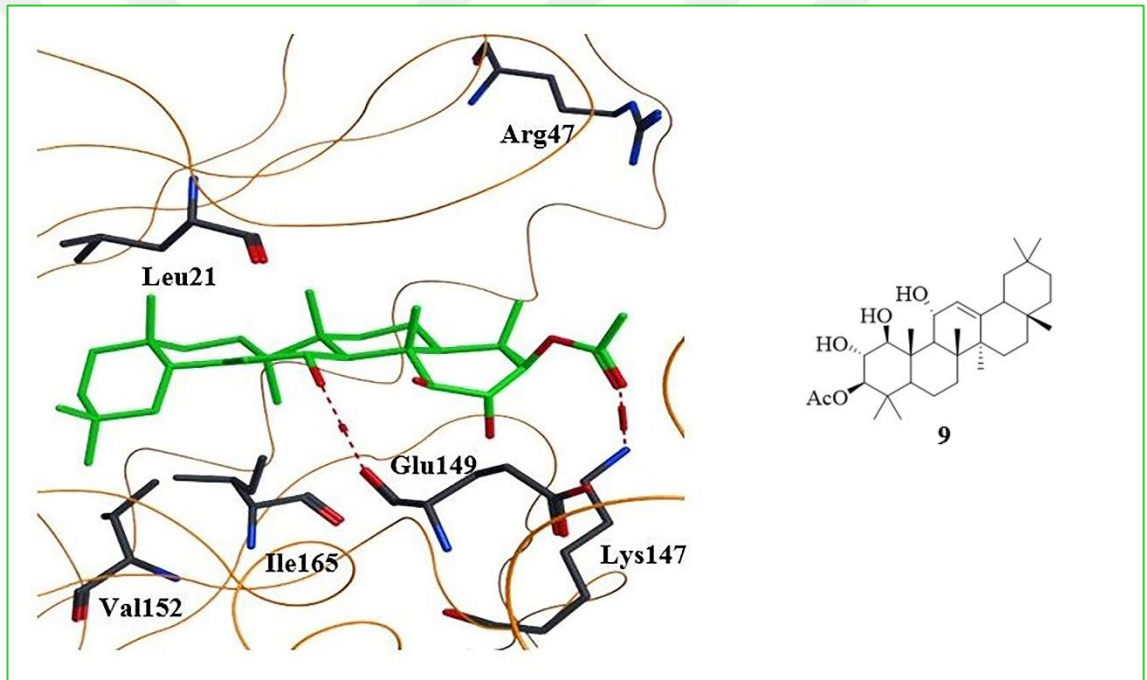
Şekil 3.7. Bileşik 110'un insan IKK2'nin ak tif bölgesiyle yaptığı etkileşim

İlk yapılan analiz sonuçlarına göre, bileşik 8 ve bileşik 9'un yüksek ilgi ile IKK2'ye bağlanabileceği ön görülmüştür. Ayrıca her iki bileşiğin C-17 karbonunda asit taşıyan

türevlerinden (Şema 3.1) bileşik **8**'in asit türevinin (**110**) diğerine (**111**) göre daha iyi afinite gösterdiği saptandı. (Şekil 3.8).



Şema 3.1



Şekil 3.8. Bileşik 7'nin insan IKK2'nin aktif bölgesiyle yaptığı etkileşim

3.1.4.3. IKK2 üzerinde yapılması planlanan docking çalışmalarının ön sonucu

Kristal yapı incelemeleri ve iki triterpen ile yapılan docking çalışmaları sonucunda iki ayrı hedef proteini belirledik. İlk hedef protein insan IKK2 olarak belirlendi. Bunun nedeni IKK2'nin aktif bölgesine inhibitör K252a'nın bağlanabildiği gibi hedef triterpenlerin de bağlanabildiğinin izlenmesidir. İkinci hedef olarak insan I κ B α ile kompleks oluşturmuş fare p50/p65 dimerin kristal yapısı belirlenmiştir. Bu yapıda üç

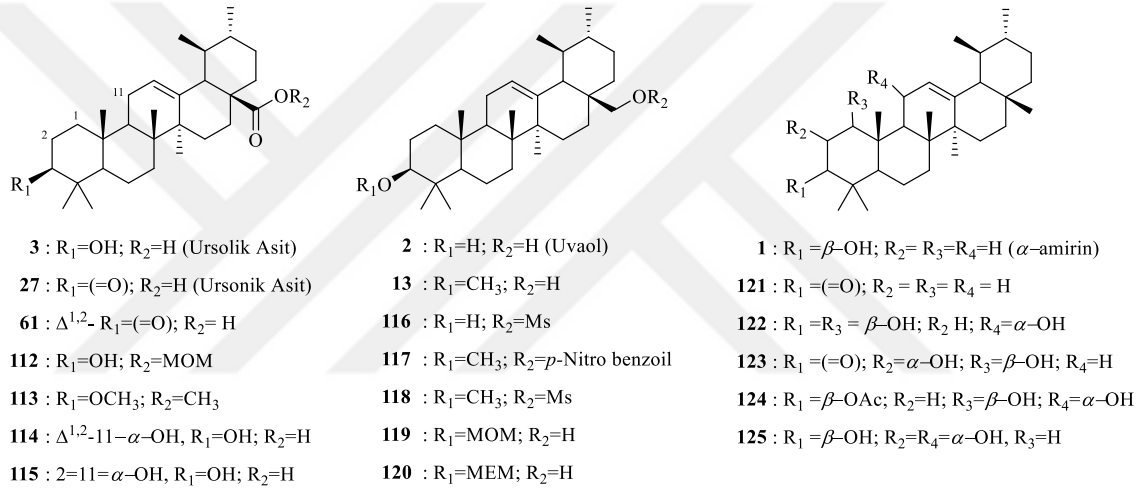
farklı bağlanma bölgesi moleküler modelleme teknikleri ile tespit edilmiştir. Fakat bu bölgelere gerçekten ligandların bağlanmaları mümkün olup olmadığının sadece farmakolojik ve biyokimyasal teknikler ile tespit edilebilir (örneğin mutasyon çalışmaları ve ligand bağlanma deneyleri). Fare p50/p65 ve insan c-Rel/c-Rel arasında yüksek benzerlik bulunduğu için fare kristal yapısını kullanarak insan c-Rel/c-Rel homoloji modeli oluşturuldu. Homoloji modelinde bağlanma bölgeleri I, II ve III'ün yerini teyit ettikten sonra docking çalışmaları yapıldı.

3.1.4.4. İnsan IKK2 üzerinde triterpenler ile docking çalışmaları

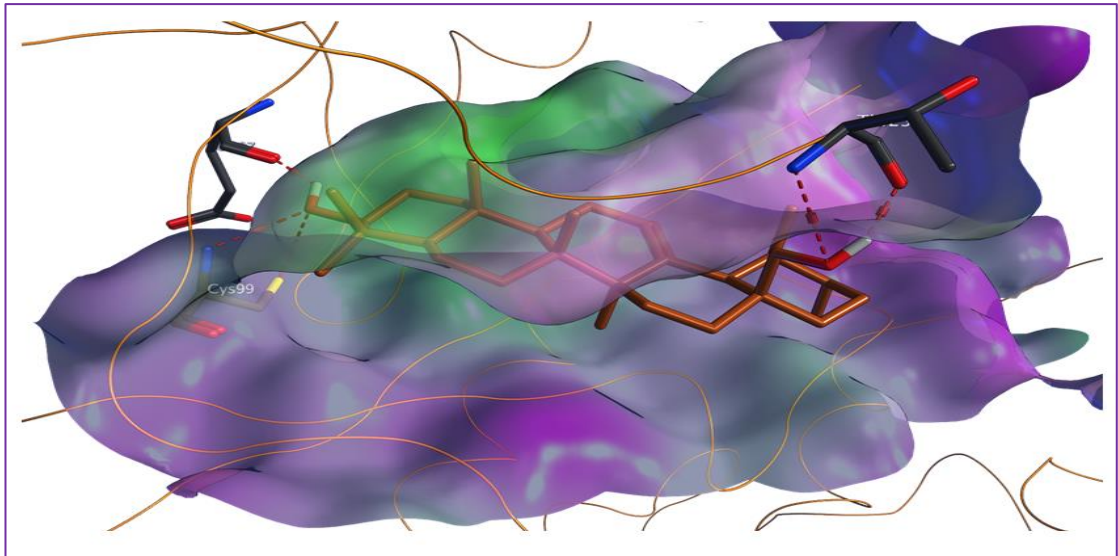
Tez çalışmasında Prof. Dr. Gülaçtı Topçu'nun yürümekte olan ve tamamlanmış önceki çalışmalarından elde edilen triterpen türevlerini içeren bir elektronik veri bankası oluşturulmuştur. Bu veri bankası içinde toplam 93 adet triterpenin üç boyutlu yapıları bulunmakta ve docking çalışmaları için uygun bir kaynak oluşturmaktadır. Moleküllerin protonasyon durumu fizyolojik şartlara uygun hazırlanmıştır (güçlü asitler deprotone edilmiştir ve güçlü bazlar protone edilmiştir). Protein kristal yapısına MOE programı (v2014.09, Chemical Computing Group, Inc., Montreal) ile hidrojen atomları eklenmiştir, parsiyal yük hesaplanmıştır ve enerji minimizasyonu gerçekleştirilmiştir (AMBER99 forcefield). Docking çalışmaları GOLD Suite programı (v5.2, CCDC, Cambridge, UK) ve ChemScore scoring function ile yapılmıştır. ChemScore fonksiyonunu seçmemizin nedeni validasyon çalışmalarımızda GoldScore fonksiyonuna göre daha hızlı ve daha fazla hidrojen bağı bulma başarısıdır. Diğer bir nedeni ise, **K252a** için elde ettiğimiz pozlar da kristal yapıda gözlemlediğimiz poz ile aynı olmasıdır (retrospektif docking çalışmaları).

Docking çalışmaları için dimerik IKK2 yapısında bulunan iki ayrı aktif bölge kullanılmıştır (IKK2 bağlanma bölgesi A için koordinatlar x: 48.787, y: 30.718, z: -56.831; IKK2 bağlanma bölgesi B için koordinatlar x: 49.071, y: 31.126, z: -56.447). Bu koordinatlara 14 Å veya daha yakında bulunan tüm amino asitler aktif bölgenin parçası olarak kabul edilmiştir ve docking çalışmaları için hedef olmuştur. Her ligand 50 kez dock edilmiştir ve her ligand için en yüksek 5 skor (docking score; bağlanma gücünü simgeleyen veri) gösteren poz (docking pose; ligandın bağlanma bölgesiyle kurduğu

ilişkiler) analiz için kaydedilmiştir. Analizlerde dikkat edilen noktalar, ligand ve bağlanma bölgesi arasında sterik, elektrostatik ve şekil uyumluluğu yanı sıra hidrojen bağları gibi güçlü ligand-protein bağlanma ilişkilerinin bulunmasıdır. Ayrıca, seçilen moleküllerin sentezinin yapılıp yapılamayacağı da göz önünde tutulmuştur. Bu prosedüre göre en yüksek skor ve en uygun bağlanma ilişkileri gösteren maddeler sentez için seçilmiştir. Bağlanma bölgesi A ve B'ye bağlanması ön görülen 8 adet ursan türevi triterpen bulunmaktadır. Bunlar Şema 3.2'de gösterilen bileşikler arasından **2, 3, 27, 61, 114, 115, 116 ve 125** numaralı bileşiklerdir. Şekil 3.9'da ursolik asitin insan IKK2'nin bağlanma bölgesi A ile kurduğu ilişkiler gösterilmiştir.



Şema 3.2

Şekil 3.9. Ursolik asitin (**3**) insan IKK2'nin aktif bölgesiyle yaptığı etkileşim

3.1.5. İnsan IKK1 üzerinde triterpenler ile docking çalışmaları

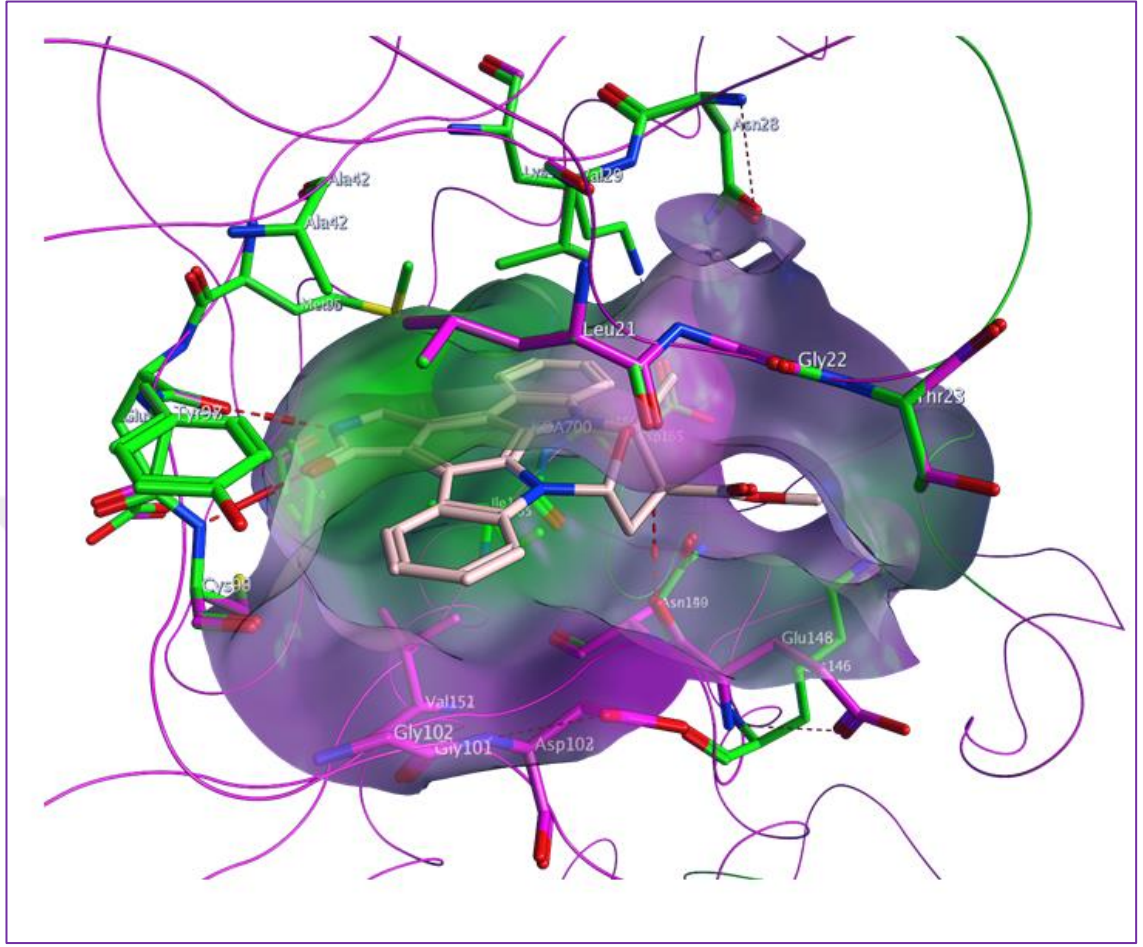
3.1.5.1. İnsan IKK1'in homoloji modelinin oluşturulması

İnsan IKK1'in kristal yapısı bulunmamaktadır, fakat bu proteinin amino asit sekansı ve kristal yapısı mevcut olan insan IKK2 amino asit sekansı ile %53.8 benzerlik gösterdiği saptanmıştır. Bu benzerlik, bağlanma bölgelerinde %100'e yaklaşmaktadır. Dolayısıyla, İnsan IKK2'nin kristal yapısını (pdb: 4kik) ve İnsan IKK1'in amino asit sekansını (NP001269ç03) kullanarak homoloji modeli oluşturma imkanımız bulunmaktadır.

MOE bilgisayar programını (v2014.09, Chemical Computing Group, Inc., Montreal) ve İnsan IKK2 kristal yapısını kullanarak 50 adet İnsan IKK1 homoloji modeli oluşturulmuştur. Daha sonra, en az sterik sorun ve en düşük potansiyel enerji gösteren (en stabil) homoloji modeli seçilmiştir. Bu model üzerinde enerji minimizasyonu (EM) çalışmaları yapılmıştır. İlk aşamada sadece hidrojen atomlarına EM uygulanmıştır (AMBER99). Daha sonra protein omurgası, bağlanma bölgesinde bulunan amino asitler ve **K252a** sabit tutularak proteinin geri kalan amino asitlerine EM uygulanmıştır. En son aşamada, sadece protein omurgası sabit tutularak EM uygulanmıştır ve insan IKK1'in docking çalışmalarında kullanılması amaçlanan homoloji modeli elde edilmiştir (Şekil 3.10). İnsan IKK1 ve insan IKK2'nin bağlanma bölgeleri birbirine çok benzemektedir ve dolayısıyla **K252a**'nın bağlanma pozu da çok benzerdir. IKK1 ve IKK2'nin bağlanma bölgelerinin yüksek benzerlik oranına rağmen docking çalışmaları sonrasında farklı ligandların IKK1'e yüksek skor göstermeleri ve dolayısıyla seçilmeleri mümkündür. Docking hesaplamalarında bağlanma bölgelerindeki küçük farklılıklar bile elde edilen skorda ciddi farklılıklar meydana getirebilir.

3.1.5.2. İnsan IKK1 üzerinde yapılan docking çalışmaları

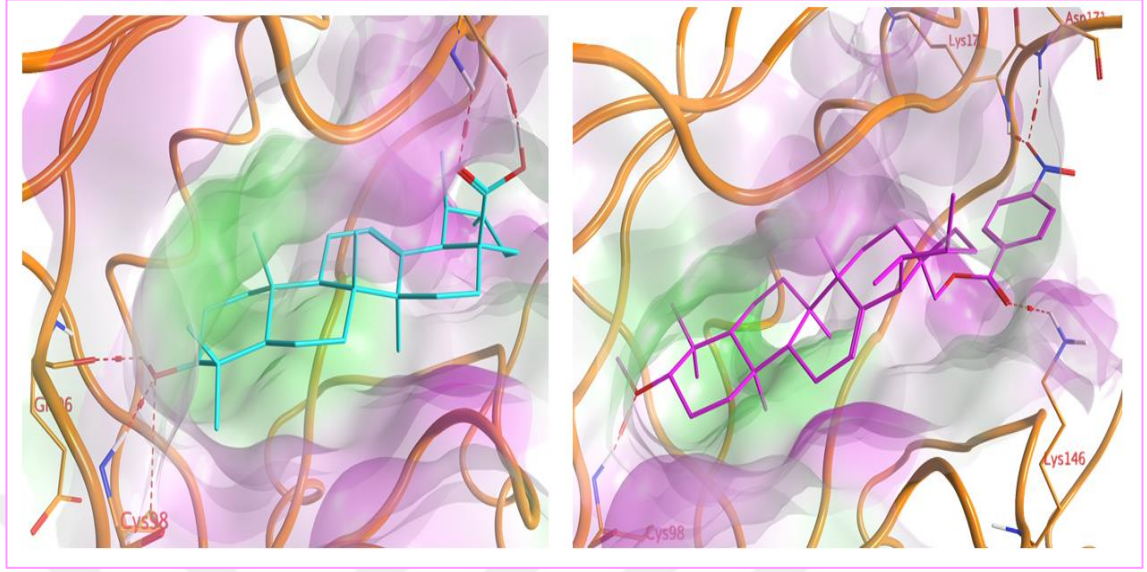
GOLD SUIT programı (v5.2, CCDC, Cambridge, UK) ile daha önce hazırladığımız 93 adet triterpen analogu insan IKK1 homoloji modelinde mevcut olan iki bağlanma bölgesine daha önce anlatıldığı gibi dock edildi.



Şekil 3.10. İnsan IKK1 homoloji modelinin bağlanma bölgesi

3.1.5.3. İnsan IKK1 üzerinde yapılan docking çalışmalarının sonuçları

Dimerik insan IKK1 homoloji modelinde bulunan her iki bağlanma bölgesine triterpen türevlerimiz aynı yöntem ile dock edildi (GOLD Suite programı, v5.4; ChemScore). Bağlanma bölgesi A ve B'ye bağlanması öngörülen bileşiklerden 6 adet ursan türevi triterpen bileşik belirlenmiştir. Bunlar Şema 3.2 de gösterilen, **2, 3, 116, 117, 119 ve 121**, numaralı bileşikleridir (bileşiklerin bağlanma skorları birbirine yakındır: 35.3395 – 28.3315). **3** (skor 35.3395) ve **117** (skor 32.1906) bileşiklerin örnek bağlanma ilişkileri Şekil 3.11'de gösterilmiştir.



Şekil 3.11. Bileşik 3 ve 117'nin insan IKK1'in aktif bölgesiyle yaptığı etkileşim

3.1.6. İnsan c-Rel/c-Rel/I κ B α üzerinde triterpenler ile docking çalışmaları

3.1.6.1. İnsan c-Rel/c-Rel/I κ B α 'nın homoloji modelinin oluşturulması

İnsan c-Rel/c-Rel/I κ B α kompleksinin kristal yapısı bulunmadığı için fare p65/p50/I κ B α kompleksinin kristal yapısı kullanıldı (pdb: 1ikn). Bu kompleksde I κ B α yapısı insandan elde edilmiştir. İnsan c-Rel sekansı (CAA52954.1) ile fare p65 proteini %65 benzerlik göstermektedir, fakat bu benzerlik fare p50 ile %51,3 olarak hesaplanmıştır. Bu sekans benzerliği homoloji modeli oluşturmak için yeterlidir.

Fare p50/p65/I κ B α kristal yapısı kullanarak 50 adet İnsan c-Rel/c-Rel homoloji modeli p50/p65 yapısı üzerinde oluşturuldu ve içlerinden en az sterik sorun ve en düşük potansiyel enerjiye sahip homoloji modeli seçildi. Bu yapıya insan I κ B α yapısı eklendi ve elde edilen c-Rel/c-Rel/I κ B α kompleks EM uygulamalarına tabii tutuldu. İlk aşamada sadece hidrojen atomlarına EM uygulanmıştır (AMBER99). Daha sonra sadece protein omurgası sabit tutularak EM uygulanmıştır ve docking çalışmalarında kullanılması amaçlanan homoloji modeli elde edilmiştir.

3.1.6.2. İnsan c-Rel/c-Rel/ I κ B α üzerinde yapılan docking çalışmaları

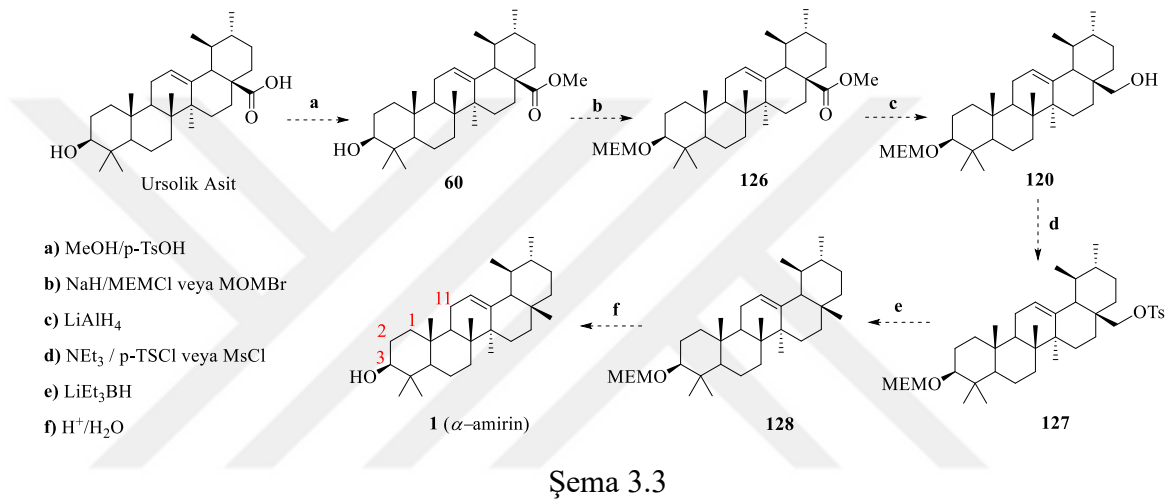
İnsan c-Rel/c-Rel/I κ B α homoloji modeli yapısında bulunan ve 3 adet bağlanma bölgesine (I, II ve III; Şekil 3.2) triterpenler GOLD Suit programı ve ChemScore scoring function ile önceki analizlerde kullanılan yöntem ile dock edildi.

3.1.6.3. İnsan c-Rel/c-Rel/ I κ B α üzerinde docking sonuçlarının sonuçları

Docking analizleri gerçekleştirildi ve yan yana bulunan bağlanma bölgeleri I ve II (Şekil 3.2) için bağlanması öngörülen bileşikler arasından 9 adet ursan türevi bileşik belirlendi. Bu bileşikler Şema 3.2’de verilen **1, 2, 3, 13 112, 118, 120, 122 ve 123** numaralı bileşiklerdir. Bağlanma bölgesi III için bağlanması öngörülen bileşikler arasından ursan türevi 8 adet bileşik ise **2, 112, 113, 116, 117, 119, 122 ve 124** numaralı bileşikleridir. Her üç bağlanma bölgesi için seçilen ligandların skorları birbirine çok yakındır (29.1765-24.5179).

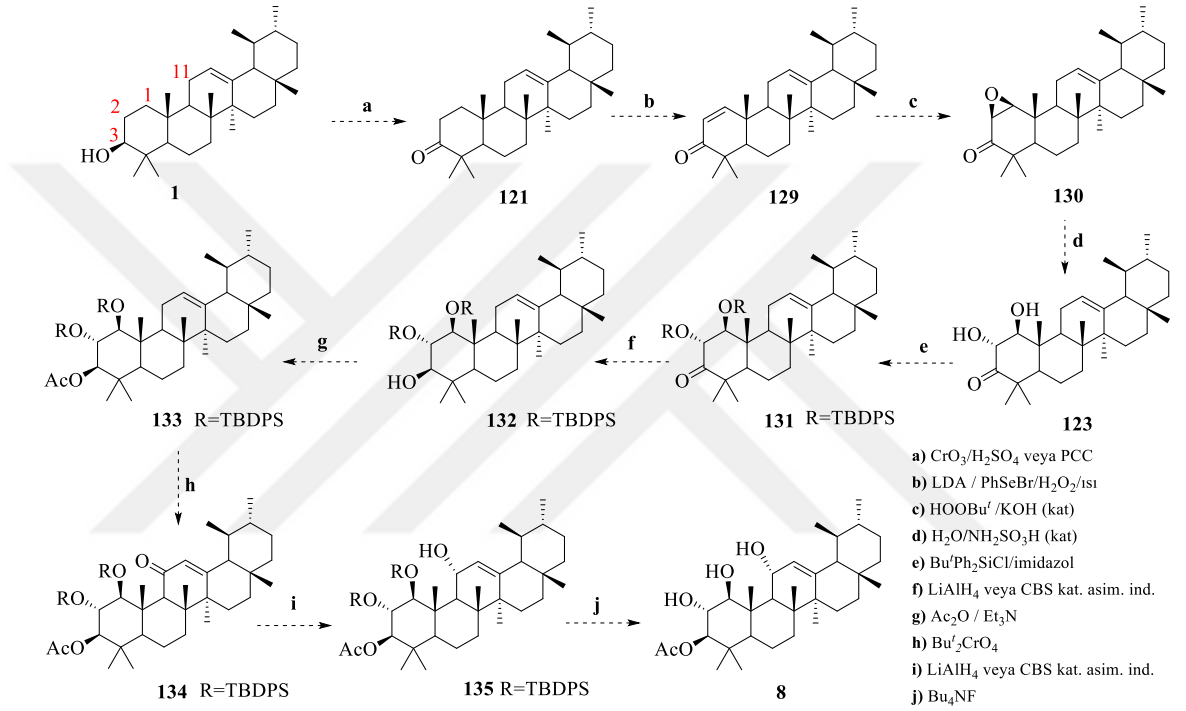
3.2. Sentez Çalışmaları

Tez çalışmasının ilk amacı daha önceden Nükleer Faktör Kappa B inhibisyon aktivitesi gösterebileceği patentlenmiş (Erman and Topcu, 2012) olan bileşik **8**'i ursolik asitten başlayarak sentezlemektir. Bu amaçla sentez çalışmalarına, ana iskelet yapısının aynı olması nedeniyle ursolik asitten başlanması ve Şema 3.3 ve Şema 3.4'te gösterilen sentetik yollar takip edilerek hedef moleküle ulaşılması planlanmıştır.



Ursolik asitte bulunan COOH grubu hedef molekül **8**'de CH₃ grubu şeklinde olduğundan sentezin ilk bölümünde ursolik asit asitteki karboksilik asit ünitesi metile dönüştürülerek α-amirin (**1**) elde edilmesi hedeflendi (Şema 3.3). Karboksil grubunun indirgenerek metil grubuna dönüştürülebilmesi için ilk önce COOH grubu Fischer esterleştirme yöntemiyle metil esterlerine dönüştürülerek ester bileşiği **60**'ın sentezi ve OH grubu da MEMCl veya MOMBr ile etkileştirilerek OMEM veya OMOM olarak korunmak suretiyle bileşik **126**'nın sentezi tasarlandı (Greene and Wuts 2006). Sentezin takip eden kademesinde ester grubu uygun bir indirgeyici ile hidroksimetil grubuna indirgenerek bileşik **120**'nin elde edilmesi ve bu bileşiğin sülfonat esteri olan bileşik **127**'nin indirgenmesi ile de bileşik **128**'in sentezi hedeflendi. Daha sonra koruyucu MEM/MOM grubunun asidik ortamda hidrolizi ile α-amirin (**1**) eldesinin tamamlanması planlandı. Literatürde hem amirinlerin hem de bazı doğal ve sentetik türevlerinin çok sayıda biyolojik etkinliğe sahip olduğu bildirilmektedir (Soldi *et al.* 2008).

Sentezin bu kısmına kadar olan bölümde stereokimyasal herhangi bir değişiklik ya da izomer ürün oluşumu yoktur. Ancak bundan sonraki basamaklarda teorik olarak bazı stereo izomerlerin meydana gelmesi söz konusudur. α -Amirinden yola çıkarak hedef bileşiğe ulaşmak için yapının 1, 2 ve 11 pozisyonlarına üç adet OH grubu bağlamak, 3 pozisyonundaki OH grubunu da asetil türevine dönüştürmek gerekmektedir.



Şema 3.4

α -Amirin bileşiğinin 3 pozisyonunda bulunan OH grubuna komşu C-2 ve C-1 karbonlarında bir doymamışlık meydana getirip bu çift bağ üzerinden C-2 ve C-1 karbonlarına birer OH grubu bağlanabilir. Bunun için öncelikle C-3 karbonundaki OH grubu literatürde bilinen uygun bir oksidasyon yöntemi ile (Kim *et al.* 2011) karbonil formuna dönüştürülerek bileşik **121**'in sentezi ve selenoksit eliminasyonu ile α,β -doymamış karbonil yapısı içeren bileşik **129**'a dönüştürülmesi (Sharples *et al.* 1973; Honda *et al.* 1998; Sheng *et al.* 2003), bundan sonraki aşamada ise Şema 3.4'te gösterilen c basamağında nükleofilik asimetrik epoksidasyon yöntemi (Diez *et al.* 2008; Zilbeyaz *et al.* 2012) ile iki çift bağdan daha pozitif karaktere sahip olan α,β -doymamış olanı seçimli olarak epoksitleyerek epoksit **130** bileşiğinin eldesi planlandı. Farklı tepkime koşullarında epoksitlerin hidrolizlerini tanımlayan alternatif yöntemler mevcuttur (Baran

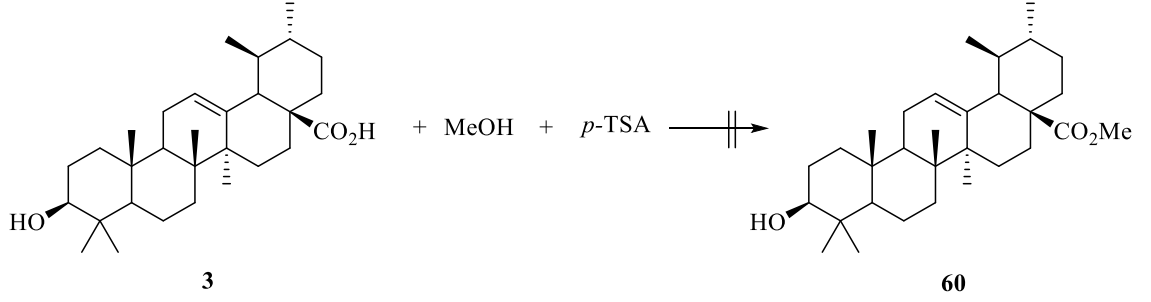
and Balci 2009; Baran *et al.* 2012). Elde edilen epoksit bileşiğinin (**130**) sülfamik asit varlığında hidroliz edilerek trans diol **123**'ee dönüştürülmesi ve bileşik **123**'deki OH gruplarının *tert*-bütil difenilsilil klorür (TBDPSCI) ile baz varlığında korunarak bileşik **131**'in eldesi amaçlandı. Sonraki adımda bileşik **131**'deki karbonil grubunun LiAlH₄ ile indirgenerek alkol **132**'in eldesi hedeflendi, ancak oluşacak OH grubu uygun stereokimyada elde edilememesi durumunda ise kiral Corey-Bakshi-Shibata (CBS) katalizörü varlığında indirgeme yapılması planlandı (Garrett *et al.* 2002; Xu *et al.* 2007). İndirgeme sonrası elde edilen alkol **132**'deki OH grubu hedef molekülde asetil formunda olduğundan bu aşamada asetillenerek bileşik **133**'ün hazırlanması ve basamak **h**'de allilik oksidasyon uygulanarak ve **133**'deki çift bağın (C-12/C-13) allilik konumunda (C-11) bir karbonil grubu oluşturulması planlandı. Bu işlem için literatürde bilinen (Soldi *et al.* 2008) ve bazı ursane ve oleanane türevlerinde de aynı amaç için kullanılmış olan *tert*-bütil kromatin kullanılarak bileşik **134**'ün sentezine karar verildi. Bileşik **134**'ün basamak **i**'de tanımlanan yöntemlerle indirgenerek bileşik **135**'e dönüştürülmesi ve son olarak bileşik **135**'teki koruyucu silil gruplarının uzaklaştırılması ile hedef molekül **8**'in sentezi tamamlanması hedeflendi.

3.2.1. Ursolik asitin karboksil grubunun esterleştirilmesi

Ursolik asitte (**3**) bulunan asit grubunu Fischer esterleşmesi metoduyla metil esterine dönüştürmek için, *p*-toluen sülfonik asit varlığında metanolün çözücü ve reaktif olarak kullanıldığı reaksiyonda bir gün oda sıcaklığında karıştırma yapılmasına rağmen TLC ve NMR analiz sonucuna göre başlangıç bileşiğinde herhangi bir değişiklik olmadığı gözlemlendi. Bu aşamadan sonra zaman zaman kontrol edilerek karışım 10 gün boyunca reflüks edildi ancak yine esterleşme olmadı ve dolayısıyla bu yöntemle ursolik asitin metil esteri elde edilemedi (Şema 3.5).

Ayrıca, reaksiyon mutlak metanolün çözücü ve reaktif olarak kullanıldığı başka bir reaksiyonda moleküler sieve ve *p*-toluen sülfonik asit varlığında ultrasonik banyo içerisinde reflüks yapılarak yeniden denendi ancak ester ürünü yine elde edilemedi. Moleküllerdeki elektronik etkilerden ve sterik engelden dolayı reaksiyonun

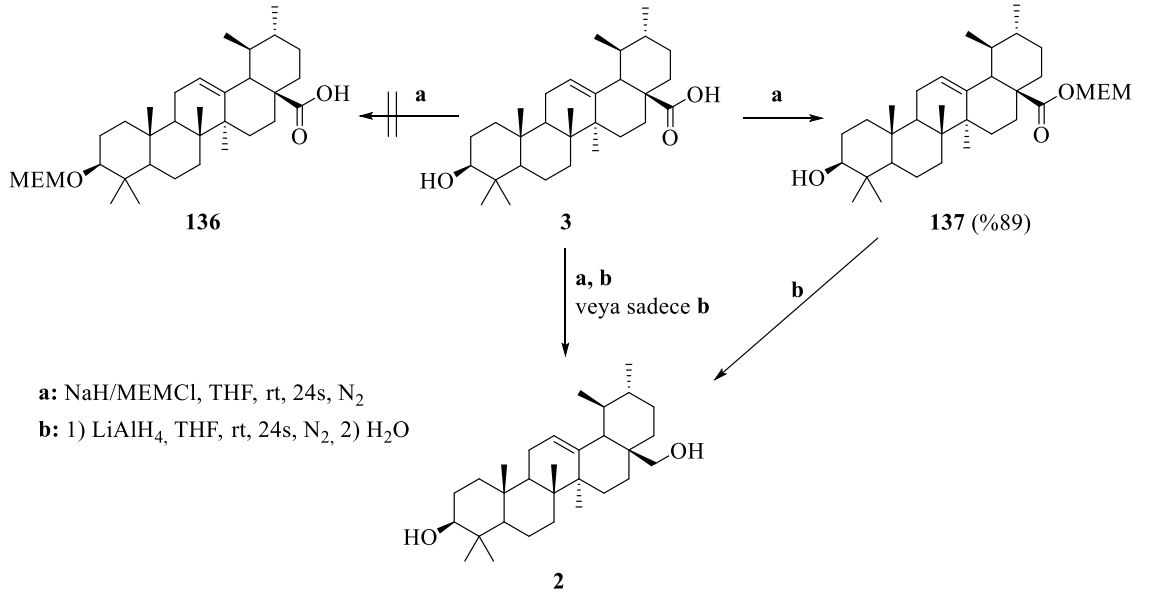
gerçekleşmediği düşünülerek sentez dizisindeki bu basamak atlandı ve esterleşme reaksiyonu yapılmadan diğer reaksiyonlara devam edildi.



Şema 3.5

3.2.2. Ursolik asitin MEMCl ile reaksiyonu

Ursolik asitin 3 numaralı karbon atomunda bulunan hidroksil grubunun bazik ortama dayanıklı hale getirilmesi için onun metoksi-etoksi-metil eter (MEM) türevi hazırlanmak istendi. Bu amaçla ursolik asit (**3**), sodyum hidrür (NaH) ve metoksi-etoksi metil klorür (MEMCl) ile reaksiyona konuldu (Şema 3.6).



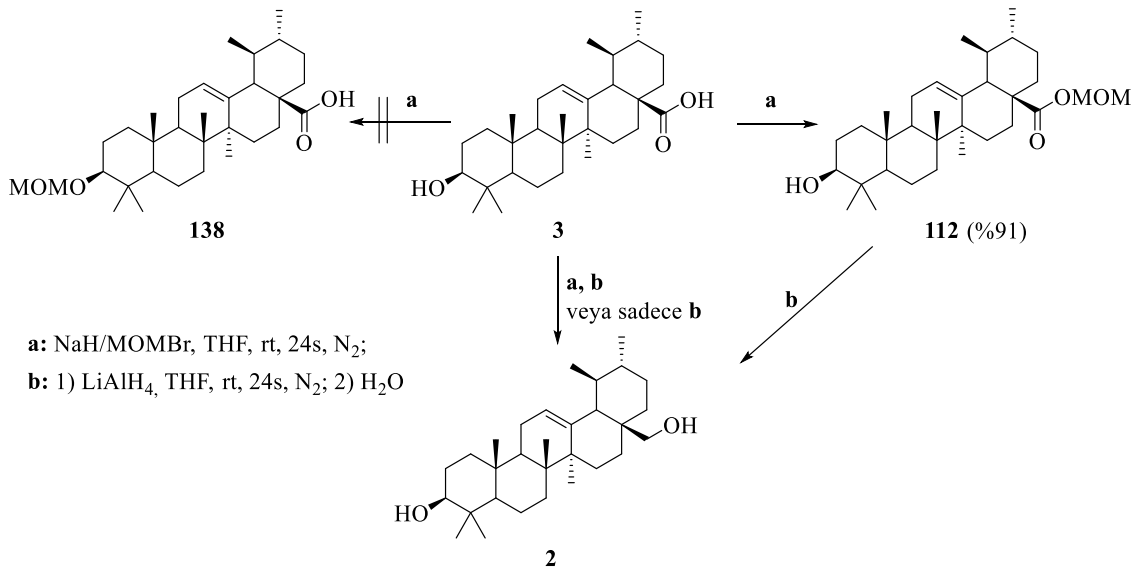
Şema 3.6

Şema 3.6'daki reaksiyon sonucunda ursolik asit türevi bileşik **136** oluşması beklenirken bileşik **137**'nin meydana geldiği tespit edildi. Çünkü reaksiyonda oluşan ürün LiAlH_4 ile indirgenince bileşik **136**'nın karboksil grubunun indirgenmiş hali bileşik **119** beklenirken, diol **2** yapısının ele geçtiği NMR spektrumlarından belirlendi. Bu sonuç bileşiğin **136** yapısında değil **137** yapısında olduğunu göstermiş oldu.

Ayrıca, bileşik **137**'nin NMR spektrumlarına bakıldığında C3-H sinyalinin ursolik asitte olduğu gibi kimyasal kaymasının değişmediği ancak, ^{13}C -NMR analizinde karboksil grubunun 184 ppm'de rezonans olan sinyalinin estere dönüşmesi ile 178 ppm değerine kaydığı gözlenmiştir. IR spektrumunda ise $3500\text{-}3000\text{ cm}^{-1}$ bölgesinde karboksilik asit ünitesine ait OH bantları yoktur. Bu sonuçlar da **137** yapısını destekler. Bileşik **137**'ye ait ^1H -NMR ve ^{13}C -APT NMR spektrumları sırasıyla **EK 1.1** ve **EK 1.2**'de, bileşik **2**'ye ait ^1H -NMR ve ^{13}C -APT NMR spektrumları ise sırasıyla **EK 1.3** ve **EK 1.4**'te verilmiştir.

3.2.3. Ursolik asitin MOMBr ile reaksiyonu

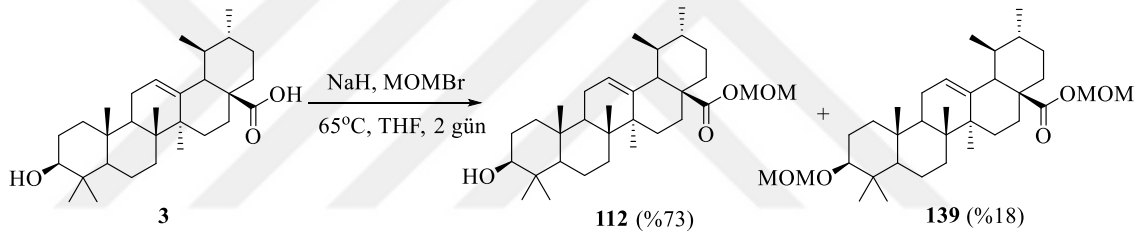
MEMCl ile yapılan reaksiyonda C3-OH korunamadığı için reaksiyonda reaktif olarak metoksi-metil-bromür (MOMBr) kullanıldı. Reaksiyon oda sıcaklığında NaH varlığında yapıldı. Reaksiyon sonucunda **138** numaralı ürün yerine yine MEMCl ile yapılan reaksiyonda olduğu gibi ester türevi bileşik **112** elde edildi (Şema 3.7).



Şema 3.7

MEM türevleri ile yapılan indirgeme reaksiyonları MOM türevleri içinde için de yapıldığında benzer sonuçlar alındı. Bileşik **112**'ye ait ^1H -NMR ve ^{13}C -APT NMR spektrumu sırasıyla **EK 1.5** ve **EK 1.6**'da verilmiştir.

Bileşik **112**'nin *in silico* NF-KappaB inhibisyon aktivitesi göstermesi üzerine bu bileşiğin C3'e bağlı OH grubunun da reaksiyon şartları değiştirilerek MOM eter türevine dönüştürülmesi düşünüldü. Önceki reaksiyonlarda ursolik asitten sadece MOM/MEM ester türevleri oluştuğu için reaksiyon ortamında dianyon (alkoksit ve karboksilat) oluşmadığı düşünüldü. Dianyon üzerinden di-MOM türevi oluşturmak ve ürünü elde etmek için de aşırı NaH ve MOMBr kullanılarak THF içerisinde reflüks yapıldı. Sonuçta hem mono-MOM türevi bileşik **112** hem de di-MOM türevi bileşik **139** elde edildi (Şema 3.8).



Şema 3.8

Eğer reaksiyonda tamamen **139** numaralı ürün sentezlenmiş olsaydı ester yapısı indirgenerek sonraki reaksiyonlara devam edilecekti. Ancak, yapılan tepkimede **112** numaralı bileşiğin, **139** numaralı bileşiğe tamamen dönüşmediği ve iki ürün karışımı olduğu belirlendi. Ursolik asitin di-MOM türevi bileşik **139**'un verimi oldukça düşük olduğu için sonraki reaksiyonlara farklı yoldan devam edilmesi düşünüldü. **112** ve **139** birbirlerinden kolon kromatografisi ile ayrılarak saflaştırıldılar. Bileşik **139**'a ait ^1H -NMR Spektrumu **EK 1.7**'de verilmiştir.

3.2.4. Ursolik asitin TBDMSCl ile reaksiyonu

MEM ve MOM türevleri ile iyi korunamayan C3-OH grubunu koruma sorununa çözüm olarak daha önce literatürde (Muranaka *et al.* 2009) de yer alan çalışmalar da dikkate alınarak tersiyerbütıl dimetil silil klorür (TBDMSCl) reaktifi kullanılarak silil ester türevi

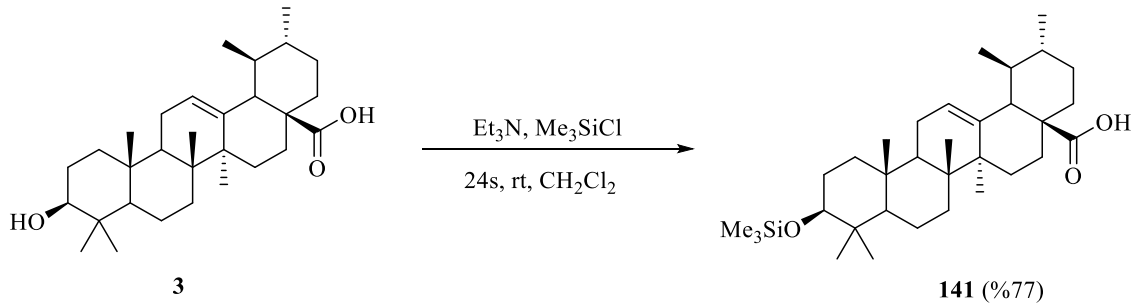
bileşik **140** sentezlendi (Şema 3.9). Hedeflenen C3-OTBDMS türevi elde edilemedi. Silil ester türevi bileşik **140**'a ait ^1H -NMR ve ^{13}C -APT NMR analizlerinin spektrumları sırasıyla **EK 1.8** ve **EK 1.9**'da verilmiştir. C3-OH konumu bu yöntemle de korunamadığı için bu ürün üzerinden çalışmalara devam edilmemiştir.



Şema 3.9

3.2.5. Ursolik asitin trimetilsilil klorür ile reaksiyonu

Ursolik asitin C3 pozisyonundaki OH grubu MOM, MEM ve TBDMS türevine dönüştürülemediği için trimetilsilil (TMS) türevine dönüştürülmesi düşünüldü. Ursolik asitin trietilamin varlığında Me_3SiCl ile reaksiyonundan silil eter türevi bileşik **307** elde edildi (Şema 3.10).



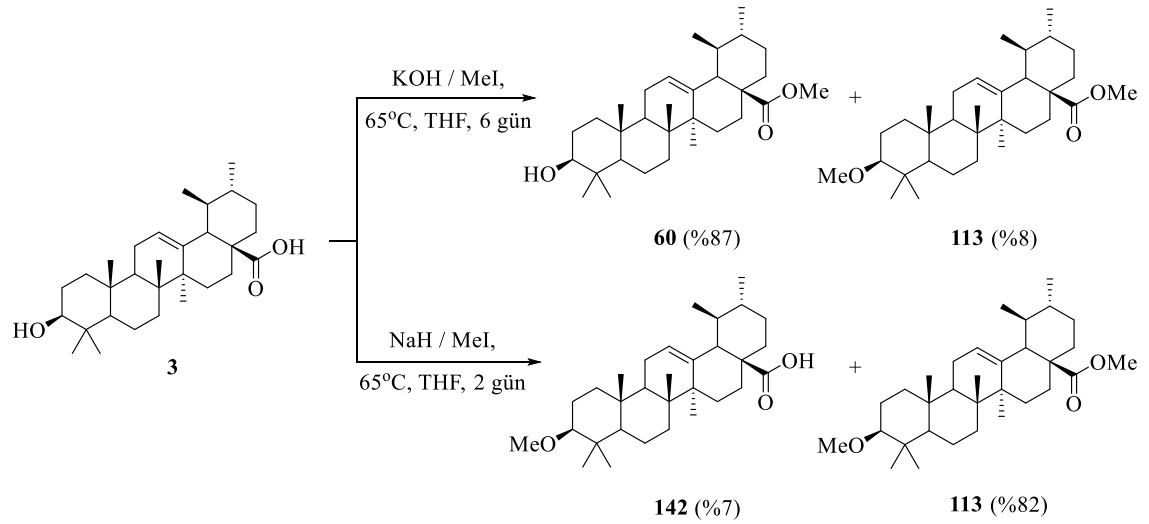
Şema 3.10

Trimetilsilil eter yapısının daha sonraki reaksiyonlarda koruyucu grup olarak kullanılabilecek olmasının yanı sıra silisyum atomunun biyolojik etkinliğinin olup olmadığı da biyolojik aktivite testleri ile değerlendirmiştir. Bileşik **141**'e ait ^1H -NMR ve ^{13}C -APT NMR spektrumları sırasıyla **EK 1.10**, **EK 1.11**'de verilmiştir. Bileşik **140** ve **141**'in ^{13}C -APT NMR kıyaslamalı görünümüleri **EK 1.12**'de verilmiştir. NMR

spektrumlarından **140**'ın ester **141**'in eter yapısında olduğu 178 ve 184 ppm'deki karbonil sinyallerinden anlaşılmaktadır.

3.2.6. Ursolik asitin metil iyodür ile reaksiyonu

Ursolik asitin C3 pozisyonundaki OH grubu üzerinden MOM, MEM ve TBDMS türevleri hiç oluşmadığından ve TMS türevinin de yeterince elde edilememesi nedeniyle C3-OH metoksi yapısına dönüştürüp çalışmalara metil türevleri üzerinden devam etmek amacıyla THF içinde oda sıcaklığında potasyum hidroksit ve metil iyodür kullanılarak metilleme reaksiyonu yapıldı. Yapılan TLC sonuçlarına göre reaksiyonun başlangıçta çok yavaş ilerlemesi ve artık bir noktada durması nedeniyle oda sıcaklığından reflüks sıcaklığına geçildi ve reaktiflerin fazlası kullanılarak çıkış bileşiği tükeninceye kadar reaksiyona devam edildi. Reaksiyon sonucunda yapılan TLC analizine göre iki ürünün oluştuğu gözlemlendi. Kolon kromatografisi kullanılarak bu bileşikler birbirlerinden ayrıldılar ve NMR analizlerine göre yapılarının Şema 3.11'de gösterilen bileşik **60** ve bileşik **113** olduğu saptandı.

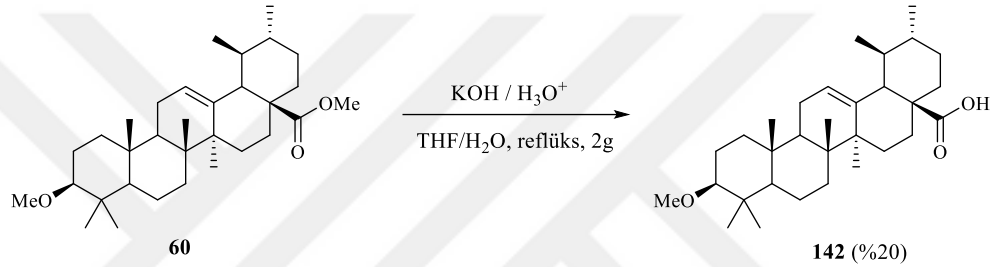


Şema 3.11

Aynı reaksiyon KOH yerine NaH kullanılarak daha kısa sürede tamamlandı ve oluşması istenilen dimetoksi ursolik asit türevi bileşik **113** daha kısa sürede ve daha yüksek verimle elde edildi. Bileşik **113** ursolik asitin hem NaH hem de KOH varlığında MeI ile reaksiyonundan elde edilirken, bileşik **60** sadece KOH varlığında bileşik **142** ise sadece

NaH varlığında elde edilmiştir. Bileşik **113**'e ait ^1H -NMR, ^{13}C -APT NMR ve HSQC analizlerinin spektrumları sırasıyla **EK 1.13**, **EK 1.14** ve **EK 1.15**'te verilmiştir. Bileşik **60**'a ait ^1H -NMR, ^{13}C -APT NMR ve HSQC analizlerinin spektrumları sırasıyla **EK 1.16**, **EK 1.17** ve **EK 1.18**'de verilmiştir.

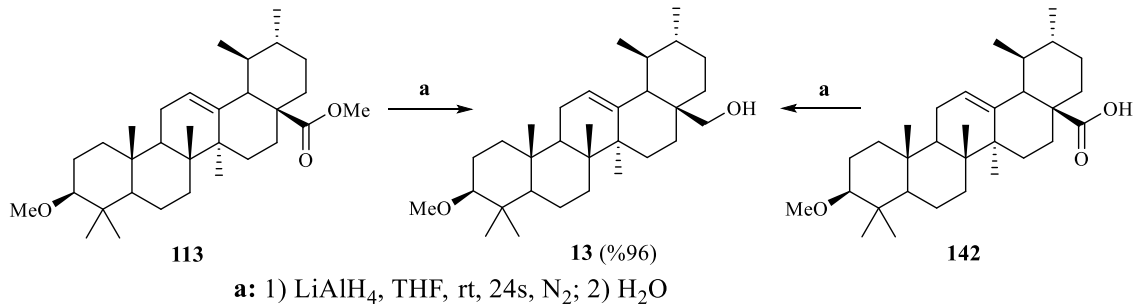
Bileşik **142** Şema 3.11'deki reaksiyondan farklı olarak **60** numaralı bileşiğin KOH ile hidroliz edilmesinden de elde edildi (Şema 3.12). Ancak, bu yöntemle ürün çok düşük verimle elde edildi. Bileşik **142**'ye ait ^1H -NMR, ^{13}C -APT NMR ve HSQC analizlerinin spektrumları sırasıyla **EK 1.19**, **EK 1.20** ve **EK 1.21**'de verilmiştir.



Şema 3.12

3.2.7. Ursolik asitin metil türevlerinin LiAlH_4 ile reaksiyonu

113 ve **142** numaralı bileşiklerdeki COOMe ve COOH grupları LiAlH_4 kullanılarak CH_2OH yapısına dönüştürüldü ve reaksiyon sonucunda uvaol bileşiğinin 3-metil eter türevi bileşik **13** elde edildi (Şema 3.13).



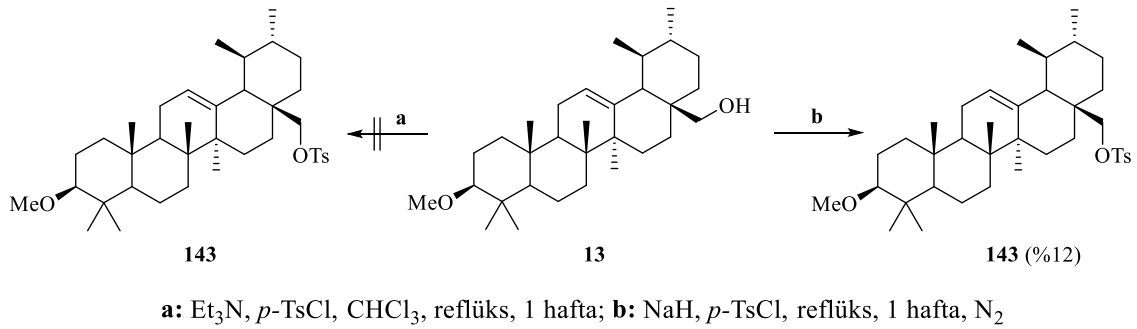
Şema 3.13

Daha sonraki reaksiyonlarda bileşik **13**'ün yapısındaki OH grubu sülfonat esteri haline dönüştürülerek güçlü bir baz yardımıyla yapıdan uzaklaştırılması hedeflenmiştir. Bileşik

13'e ait ^1H -NMR, ^{13}C -APT NMR, COSY, HSQC ve HMBC analizlerinin spektrumları sırasıyla **EK 1.22**, **EK 1.23**, **EK 1.24**, **EK 1.25** ve **EK 1.26**'da verilmiştir. İndirgemenin olduğunun göstergesi bileşiğin ^{13}C -NMR spektrumunda karbonil grubuna ait sinyalin bulunmaması ve bunun yerine 69.90 ppm de bir CH_2O pikinin bulunmasıdır.

3.2.8. Uvaol-3-metil eterin *p*-toluen sülfonil klorür ile reaksiyonu

α -Amirin sentezleyebilmek için bileşik **13**'te C28'e bağlı OH grubunun hidrojen ile yer değiştirmesi gerekmektedir. Bu amaçla onun önce sülfonat esteri hazırlanması daha sonra bir hidrür kaynağı ile sülfonat grubunun hidrür ile yer değiştirmesi planlandı. Bu amaçla öncelikle uvaol-3-metil eterin trietilamin varlığında kloroform içerisinde *p*-toluen sülfonil klorür (*p*-TsCl) ile reaksiyonu yapıldı. Reflüks reaksiyonundan sentezlenmesi hedeflenen tosilat türevi bileşik **143** elde edilemedi. Reaksiyon sodyum hidrür varlığında *p*-TsCl ile THF içerisinde tekrarlandı ve reflüks sıcaklığındaki reaksiyondan tosilat türevi bileşik **143** sentezlendi (Şema 3.14). Bileşik **143** defalarca denenmesine rağmen çok düşük verimle çok uzun sürede ve reaktiflerin aşırısı kullanılarak zor elde edilebildi. Bu reaksiyondan elde edilen ürünün verimi %12 olarak hesaplanmıştır. Bileşik **13** ve *p*-TsCl'nin yapılarından kaynaklı olarak sterik ve elektronik etkilerden dolayı reaksiyon çok düşük verimle gerçekleşmekte veya neredeyse hiç gerçekleşmemektedir. Bileşik **143**'e ait ^1H -NMR analizinin spektrumu **EK 1.27**'de verilmiştir.



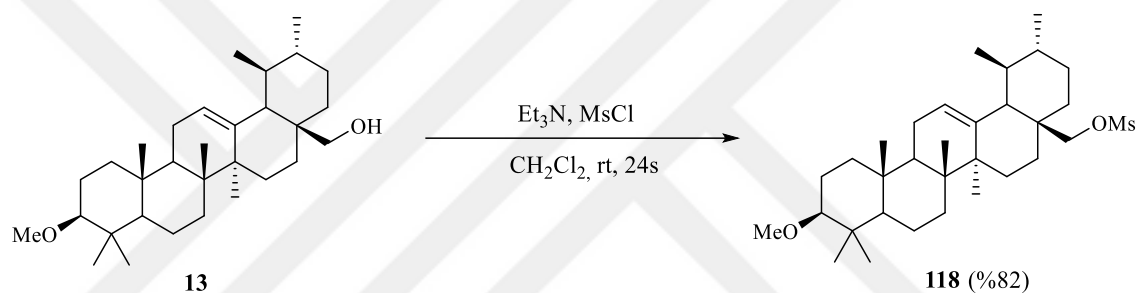
Şema 3.14

Tosilat türevi bileşik **143** çok düşük verimle oluştuğundan dolayı daha sonraki reaksiyonlarda kullanmak üzere yeterince ürün elde edilememiştir. Bu yüzden

reaksiyonun *p*-toluen sülfonil klorür yerine metan sülfonil klorür ile yeniden yapılması planlanmıştır.

3.2.9. Uvaol-3-metil eterin metan sülfonil klorür ile reaksiyonu

p-TsCl ile yapılan reaksiyonun veriminin çok düşük olmasından dolayı bileşik **13**'ün trietilamin varlığında metan sülfonil klorür (MsCl) ile metilen klorür içerisinde oda sıcaklığında reaksiyonu yapıldı ve reaksiyon sonucunda uvaol-3-metil eter bileşiğinin sülfonat esteri bileşik **118** yüksek verimle sentezlendi (Şema 3.15).



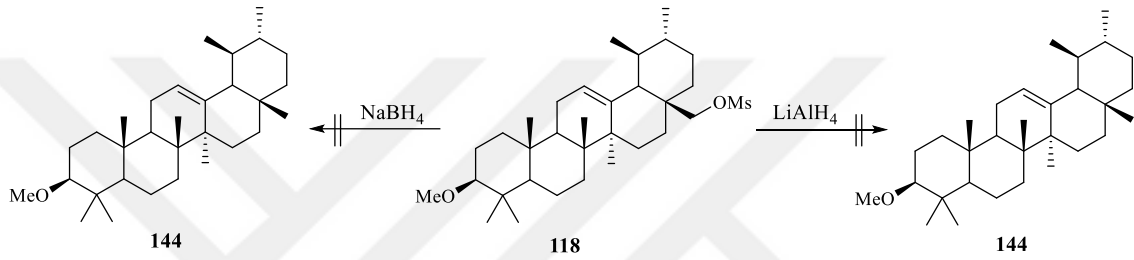
Şema 3.15

Burada reaksiyonun gerçekleştiğini gösteren en önemli kanıt ^1H -NMR spektrumunda alkol **13**'ün C28 hidrojenleri 3.10 ppm ve 3.42 ppm de rezonans olurken, mesilat **118**'in C28 hidrojenleri mesilat grubunun elektron çekici özelliğinden dolayı sırasıyla 3.65 ppm ve 4.10 ppm'de rezonans olmasıdır. Bileşik **118**'e ait ^1H -NMR ve ^{13}C -APT NMR spektrumları EK 1.28 ve EK 1.29'da verilmiştir.

Bileşik **143**'ün ^1H -NMR spektrumu ile mesilat türevi bileşik **118**'in ^1H -NMR spektrumlarına bakıldığında C28 hidrojenlerinin mesilat türevinde daha aşağı alanda rezonans olduğu görülür. Bu da MsCl'nin daha reaktif olduğunu gösterir. Hem bu sebepten hem de sterik etkiden dolayı mesilat türevi daha kolay sentezlenmektedir. Bileşik **118** ve **143**'ün ^1H -NMR spektrumları kıyaslamalı olarak EK 1.30'da verilmiştir.

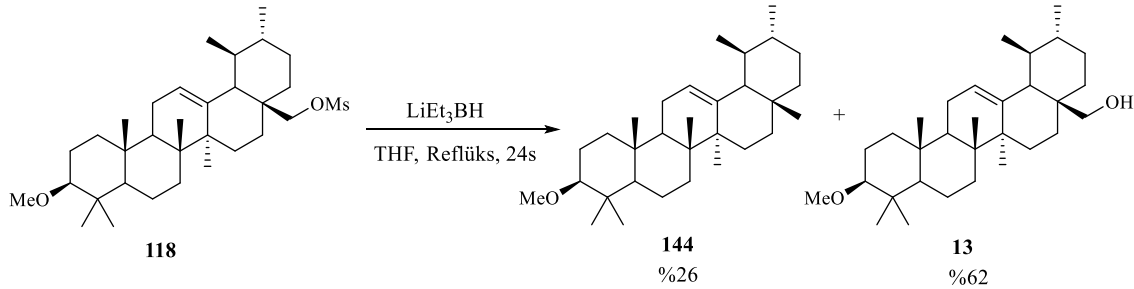
3.2.10. α -Amirin-3-metil eter bileşiğinin sentezi

Bileşik **118**'de olduğu gibi mesilat grubu taşıyan ve bazı ursan ve oleanan türevi bileşiklerden mesilat yapılarının uzaklaştırılması için literatürde (Muranaka *et al.* 2009) bilinen şekliyle NaBH_4 ve LiAlH_4 ile reaksiyonlar yapıldı (Şema 3.16). Yapılan çalışmalarda sülfonat esteri yapıdan uzaklaştırılamadı. Çalışmalar olumsuz sonuçlanınca bu soruna çözüm olması için hidrür kaynağı olarak süper hidrür adıyla bilinen LiEt_3BH tercih edildi.



Şema 3.16

Sülfonat esteri **118** numaralı bileşiğin LiEt_3BH ile reaksiyonundan sülfonat yapısı molekülden uzaklaştırıldı ve α -amirin bileşiğinin 3-metil eter türevi bileşik **144** sentezlendi (Şema 3.17).



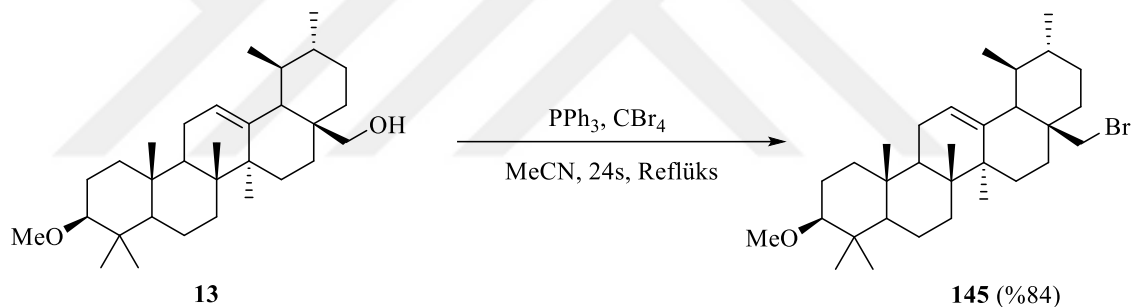
Şema 3.17

Reaksiyonda daha yüksek verimle mesil grubunun hidroliz olduğu **118** numaralı bileşik elde edildi. Reaksiyonun veriminin çok düşük olması nedeniyle verim artırma denemeleri yapıldı ve sülfonil grubunun hidroliz olma nedenleri araştırıldı. Bileşik **144**'e ait ^1H -NMR ve ^{13}C -APT NMR spektrumları sırasıyla **EK 1.31** ve **EK 1.32**'de verilmiştir.

Bileşik **144**'ün ^1H -NMR spektrumuna bakıldığında, bileşik **118**'e ait ^1H -NMR spektrumundaki mesilat grubunun taşındığı C28 karbonuna bağlı CH_2 protonlarına ait 3.62 ppm ve 4.15 ppm deki sinyallerin olmadığı ve C28'in metil yapısında olduğu görülür.

3.2.11. Uvaol-3-metil eterin bromlanma reaksiyonu

Amirin sentezi için 28 numaralı karbonun CH_3 yapısında olması gerektiğinden bileşik **13**'teki OH grubu broma dönüştürüldü ve bileşik **145** sentezlendi. Reaksiyon asetonitril içerisinde reflüks sıcaklığında PPh_3 ve CBr_4 kullanılarak yapıldı (Şema 3.18). Daha önce sentezlenen **118** numaralı bileşik üzerinden **144** numaralı bileşik elde edilirken reaksiyon verimin çok düşük olması (Şema 3.17) bileşik **13**'teki OH grubunun halojene dönüştürüp bileşik **145** üzerinden elde edilmesi fikrini ortaya çıkarmıştır.

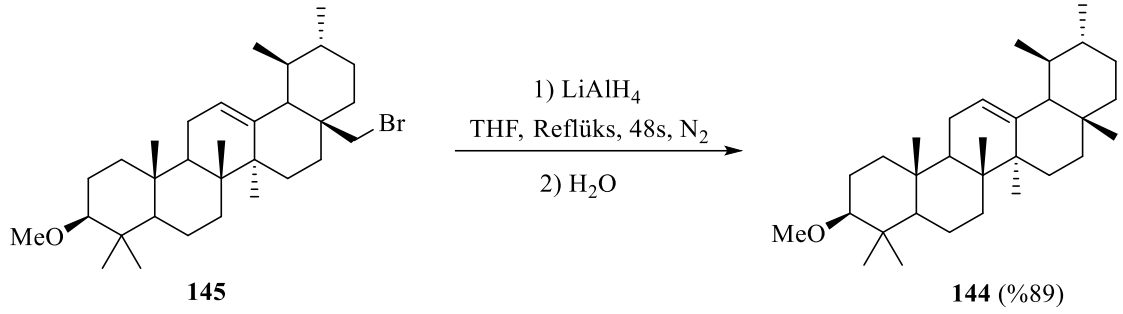


Şema 3.18

Şema 3.18'de görülen **145** numaralı bileşik LiAlH_4 ile indirgenince amirin türevi bileşik **144** elde edilmiş olur. Bileşik **145**'e ait ^1H -NMR ve ^{13}C -APT NMR analizlerinin spektrumları sırasıyla **EK 1.33** ve **EK 1.34**'te verilmiştir.

3.2.12. Brom türevi bileşik 145'in LiAlH_4 ile reaksiyonu

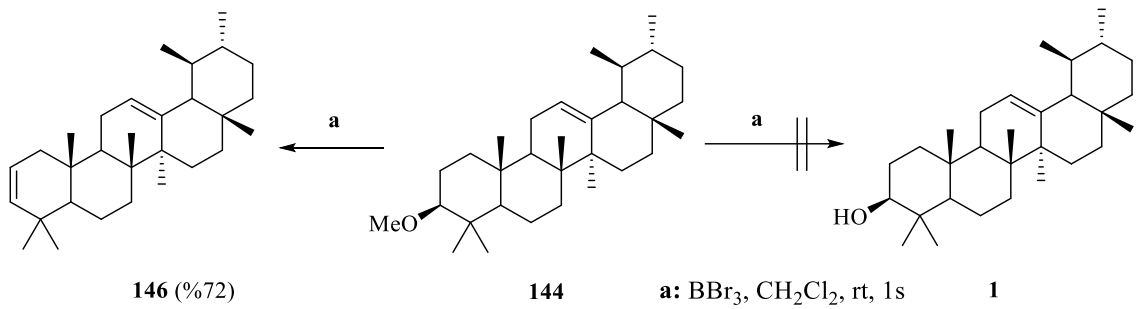
Bileşik **145**'in THF içerisinde N_2 gazı altında LiAlH_4 ile reaksiyonundan α -amirin-3-metil eter (**144**) bileşiği elde edildi. Bileşik **144** bileşik **118** üzerinden de elde edilmiştir. Ancak bileşik **144**'ün bileşik **118** üzerinden sentezine (Şema 3.17) yönelik reaksiyonun verimi oldukça düşük olduğundan bileşik **145** kullanılarak daha yüksek verimle elde edildi (Şema 3.19).



Şema 3.19

3.2.13. Bileşik 144'ün BBr_3 ile reaksiyonu

Amirin elde edebilmek için **144** numaralı bileşikteki OMe grubunun OH grubuna dönüşmesi gerekmektedir. Bu amaçla oda sıcaklığında metilen klorür içerisinde BBr_3 ile demetilasyon reaksiyonu yapıldı (Şema 3.20). Reaksiyon sonucunda beklendiği gibi **1** numaralı bileşiğin oluşması yerine eliminasyon ürünü bileşik **146** ve saflaştırılamayan bazı yan ürünler ele geçti. Bileşik **146**'ya ait ^1H -NMR spektrumu **EK 1.35**'te verilmiştir. Bileşik **146** izole edilemeyen bir kirlilik ile karışım halinde elde edilmiştir. Karışıma alınan NMR spektrumlarına baktığımızda hiçbir karbonda oksijen taşınmadığı ve olefinik bölgede yeni sinyallerin oluştuğu görülür.



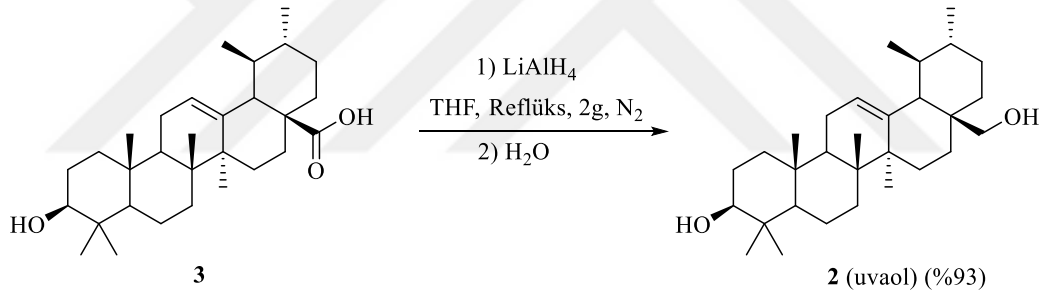
Şema 3.20

Eğer yer değiştirme ürünü meydana gelseydi 2.80-3.20 ppm aralığında oksijenin veya bromun bağlı olduğu karbondan taşınan hidrojenin sinyalleri görülürdü. Bunun yerine APT NMR spektrumundan anlaşılacağı üzere olefinik bölgede toplamda 3 hidrojene karşılık

gelecek şekilde CH olefinik sinyaller bulunmaktadır. Bileşik **146** ana ürün olarak oluşmuştur.

3.2.14. Uvaol Sentezi

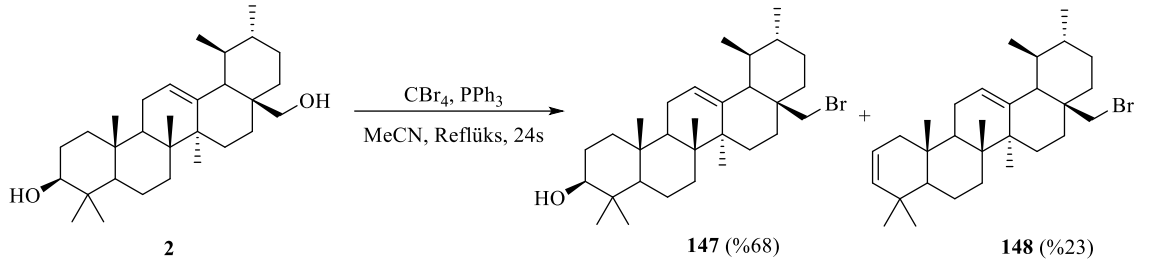
Uvaol (**2**), ursolik asitin karboksil grubunun alkol formuna indirgenmiş türevidir. Biyolojik etkinlikleri bakımından uvaol ve türevlerinin oldukça aktif oldukları gerek literatürden gerekse de yapılan çalışmalarda gözlemlenmiştir. Çalışmalarımız kapsamında uvaol ticari olarak satın aldığımız ursolik asitin LiAlH_4 ile indirgenmesinden elde edildi (Şema 3.21). Yaptığımız çalışmalarda uvaol ve türevlerinin *in silico* NF-Kappa B inhibisyon aktiviteleri oldukça yüksek çıktığı için bu testlerin *in vitro* olarak da yapılabilmesi amacıyla bazı uvaol türevlerin sentezleri de gerçekleştirildi.



Şema 3.21

3.2.15. Uvaol'un bromlanması

Amirin sentezindeki olumsuzluklar ve ele geçen ürünlerin karışım veya verimlerinin az olması nedeni çalışmaları doğrudan ursolik asit türevi üzerinden yürümeye zorlasa da bu konudaki sürekli denemelerde yeni sonuçlar elde edilmiştir. Uvaolun CBr_4 ve PPh_3 ile asetonitril içerisindeki reflüks reaksiyonundan bileşik **147** ve bileşik **148** meydana geldi (Şema 3.22).



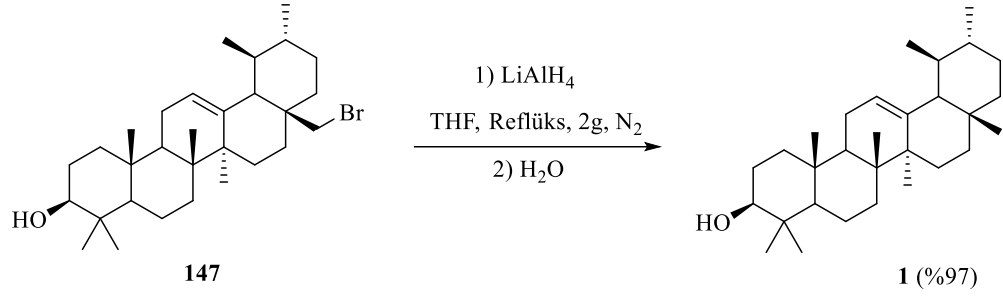
Şema 3.22

Bileşik **147**'ye ait ^1H -NMR, ^{13}C -APT NMR ve HSQC NMR analizi spektrumları sırasıyla **EK 1.36, EK 1.37 ve EK 1.38**'de verilmiştir. Bileşik **148**'e ait ^1H -NMR, ^{13}C -APT NMR, COSY, HSQC NMR ve HMBC analizi spektrumları ise sırasıyla **EK 1.39, EK 1.40, EK 1.41, EK 1.42 ve EK 1.43**'te verilmiştir.

Bileşik **148**'in COSY spektrumunda 3.00 ppm ve 3.50 ppm'deki sinyallerin sadece birbirleriyle etkileştikleri görülmektedir. Yine **148**'in HSQC spektrumuna bakıldığında bu hidrojenlerin CH_2 karbonunda taşındıkları görülmektedir. Bu hidrojenler brom atomunun bağlı olduğu C28 hidrojenleridir. 5.25 ppm civarındaki olefinik sinyaller ise her biri CH olan üç adet olefinik karbona karşılık gelmektedirler. Dolayısıyla yapıda iki çift bağ olması gerekmektedir. Bu sonuçlar da bize bileşiğin **148** yapısında olduğunu gösterir. Eğer **148** yapısında A halkasında C3 pozisyonundaki OH brom ile yer değiştirmiş olsaydı 3.00 ppm civarında bir dubletin dubleti şeklinde rezonans olmuş sinyal ve COSY spektrumunda C2-H ile etkileşim olması beklenirdi. Oysa **148**'in NMR spektrumlarına böyle bir durum söz konusu değildir ve Şema 3.22'de gösterilen eliminasyon ürünü oluşmuştur.

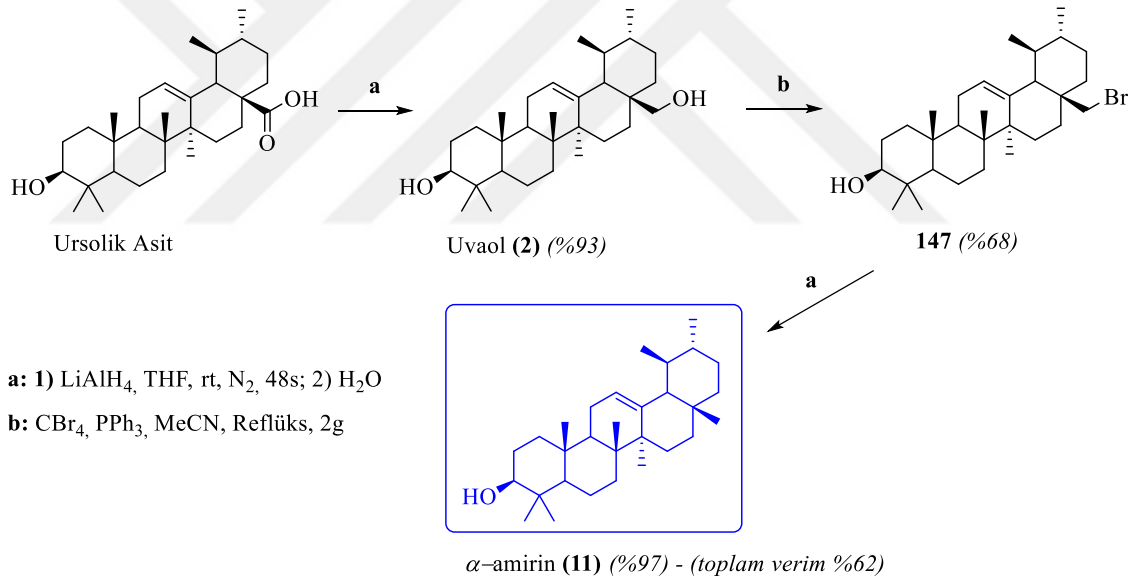
3.2.16. α -Amirin sentezi

Bileşik **147**'nin LiAlH_4 ile THF içerisinde yüksek sıcaklıktaki reaksiyonundan yüksek verimle α -amirin (**1**) sentezlendi (Şema 3.23). Böylelikle uzun zamandır sentezi için geliştirme çalışması yapılan α -amirin için efektif ve yüksek verimle sentez yöntemi belirlenmiş oldu.



Şema 3.23

Çalışmanın başında α -amirin sentezi için öngörülen sentetik yol reaksiyonlarda meydana gelen olumsuz nedenlerden dolayı birçok kere değişmiştir. Nihayetinde ursolik asitten başlayarak 3 basamakta ve yüksek verimde amirin sentezi yapılmıştır (Şema 3.24).

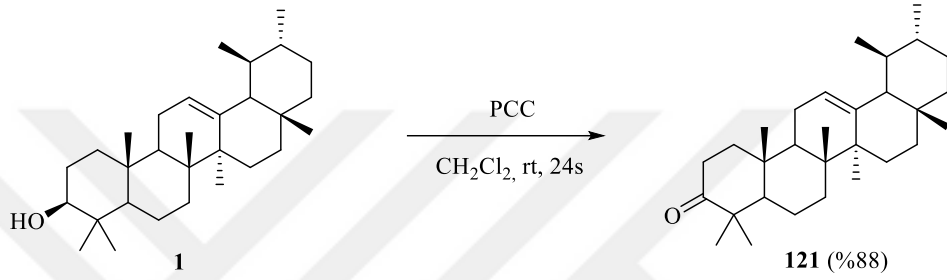


Şema 3.24

Şema 3.24'teki sentetik yol daha önce literatürde yer almayan ve ilk defa tarafımızdan tasarlanmış ve uygulanmış olup amirin sentezi için oldukça önemlidir. Ursolik asit ile α -amirin'in aynı miktarının ticari olarak fiyat kıyaslamasına bakacak olursak α -amirin'in, ursolik asitten yaklaşık 250 kat daha pahalı olduğu görülür. Bileşik **1**'e ait ¹H-NMR ve ¹³C-APT NMR, analizi spektrumları sırasıyla **EK 1.44** ve **EK 1.45**'te verilmiştir.

3.2.17. α -Amirin'in PCC ile reaksiyonu

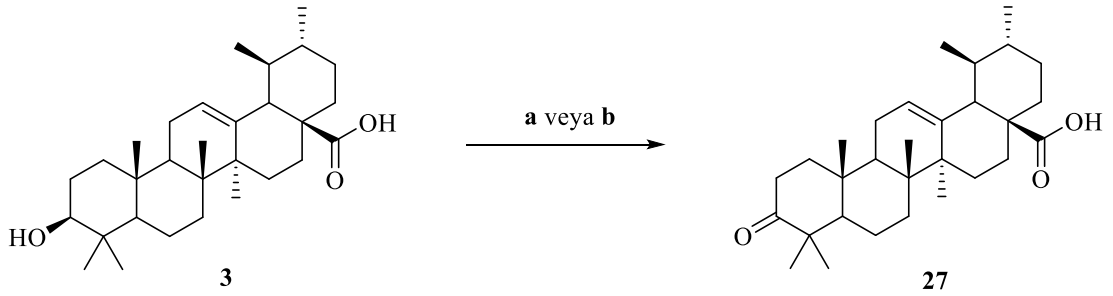
Hedef molekül **8**'e ulaşmak için alfa amirinin OH grubu önce keton yapısına dönüştürülmelidir. Bu amaçla alfa amirin (**1**) oda sıcaklığında metilen klorür içerisinde PCC ile oksitlenerek neredeyse kantitatif verimle bileşik **121** elde edildi (Şema 3.25). Bileşik **121**'e ait ^1H -NMR, ^{13}C -APT NMR ve HSQC NMR analizi spektrumları sırasıyla EK 1.46, EK 1.47 ve EK 1.48'de verilmiştir.



Şema 3.25

3.2.18. Ursolik asitin PCC ile reaksiyonu

Yapılan bilgisayarlı moleküler modelleme çalışmaları sonucunda hedef molekül **6**'nın asit türevinin daha yüksek NF- κ B inhibisyon aktivitesi göstermesi sonucu ursolik asitin karboksil grubu değiştirilmeden ya da ester formu üzerinden birçok çalışma yapıldı. Bu amaçla ursolik asitteki OH grubu piridinyum kloro kromat (PCC) ile metilen klorür içerisinde oda sıcaklığında reaksiyona tabi tutularak bileşik **27** sentezlendi (Şema 3.26).



a: PCC, CH_2Cl_2 , rt, 24s, %88; **b:** Jones reaktifi, Aseton, rt, 24s, %82

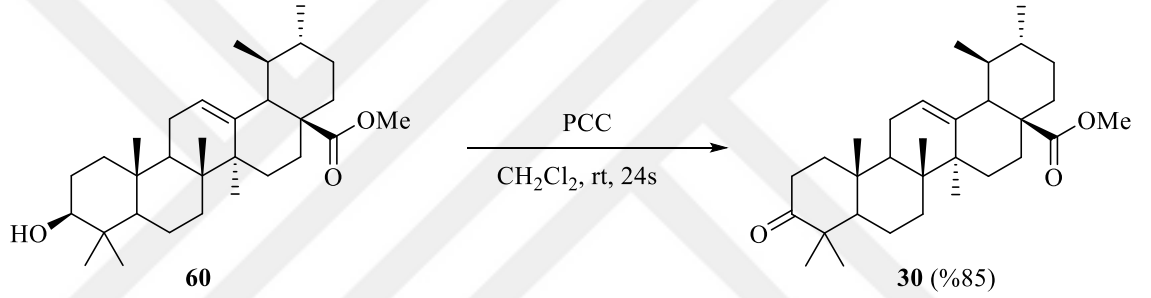
Şema 3.26

Bu sentez Jones reaktifi kullanılarak da yapıldı. Her iki reaksiyondan da aynı sonuç alındı ancak PCC ile yapılan reaksiyonun verimi daha yüksek ve ayrıca saflaştırılması daha

kolaydır. Bileşik 27'ye ait ^1H -NMR ve ^{13}C -APT NMR analizi spektrumları sırasıyla **EK 1.49** ve **EK 1.50**'de verilmiştir.

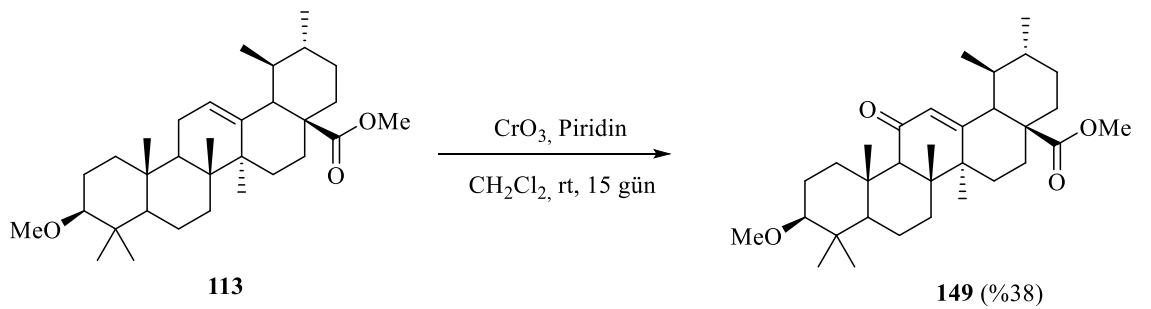
3.2.19. Bileşik 60'ın PCC ile reaksiyonu

Ursolik asit gibi bileşik 60'ın de oda sıcaklığında metilen klorür içerisinde PCC ile tepkimesinden bileşik 30 elde edildi (Şema 3.27). Bileşik 27 ve 30 üzerinden hedef molekülün asit türevlerinin polihidroksilli yapılarının sentezlenmesi hedeflendi. Bileşik 30'a ait ^1H -NMR ve ^{13}C -APT NMR spektrumları sırasıyla **EK 1.51** ve **EK 1.52**'de verilmiştir.



3.2.20. Bileşik 113'ün CrO_3 ile reaksiyonu

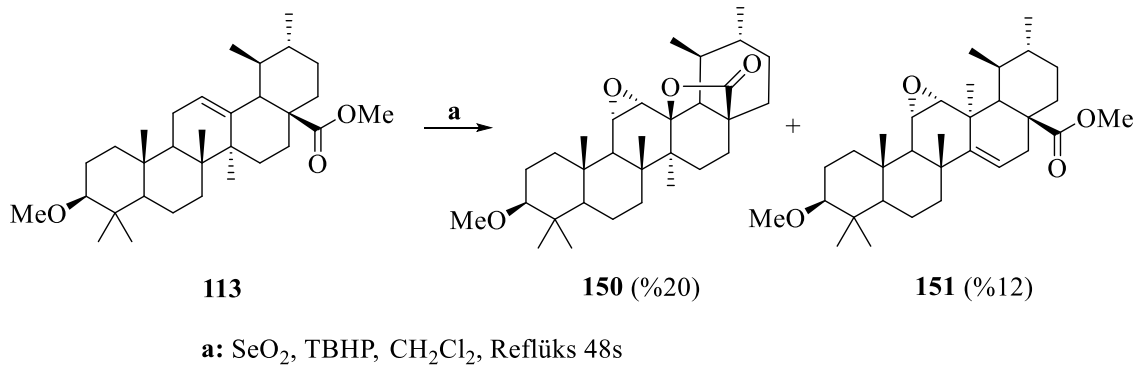
Bileşik 113'ün oda sıcaklığında metilen klorür içerisinde piridin ve CrO_3 ile reaksiyonundan bir hafta da C-11 karbonundan oksitlenmiş bileşik 149 düşük verimle sentezlendi (Şema 3.28). Bileşik 149'a ait ^1H -NMR ve ^{13}C -APT NMR, spektrumları sırasıyla **EK 1.53** ve **EK 1.54**'te verilmiştir.



Yapılan literatür araştırmalarında ursan ve oleanan iskeletine sahip bileşiklerde sadece CrO_3 ve piridin kullanılarak oda sıcaklığında çok kısa sürede allilik oksidasyon yapıldığı görülmüştür (Honda *et al.* 1997). Yöntem elimizde en kolay sentezlenen ve miktarı en fazla olan bileşik **113**'e uygulandı. Bileşik **149**'un NMR spektrumların bakıldığında ^1H -NMR spektrumunda çift bağda taşınan sinyalin 5.23 ppm'den 5.70 ppm civarına kaydığı ve singlet rezonans olduğu görülür. Bunun sebebi çift bağın allilik konumuna keton yapısının yerleşmiş olmasıdır. ^{13}C -APT NMR spektrumunda 199 ppm'de karbonil karbonuna ait sinyal görülür.

3.2.21. Bileşik 113'ün SeO_2 ile reaksiyonu

Bileşik **113**'in kloroform içerisinde SeO_2 ve *tert*-bütil hidroperoksit (TBHP) ile uzun süreli yüksek sıcaklık reaksiyonunda Şema 3.29'da görülen **150** ve **151** numaralı bileşikler meydana geldi. Bileşiklerin yapıları literatür (Siddiqui *et al.* 1990) örnekleri de dikkate alınarak NMR spektrumlarından belirlendi. **150** ve **151** numaralı bileşikler birbirlerinden kolon kromatografisi ile ayrıldılar. Reaksiyonda bu iki üründen başka bir ürün daha meydana geldi ancak kolon kromatografisi ile yeterince saflaştırılamadığı için yapısı tayin edilemedi. Bu reaksiyon aslında çift bağın allilik pozisyonunu oksitlemek amacı ile yapıldı. Oda sıcaklığında devam eden reaksiyondan sonuç alınamayınca reflüks sıcaklığına geçildi ve çıkış bileşiği tükeninceye kadar reaksiyona devam edildi. Reaksiyon sonucunda beklenen oksidasyon ürünü yerine Şema 3.29'daki oksidasyon ve düzenlenme ürünleri meydana geldiği için bu yöntemle allilik oksidasyon ürünü elde edilemedi.



Şema 3.29

Bileşik **150**'ye ait ^1H -NMR, ^{13}C -APT NMR, COSY, HMQC ve HMBC NMR analizi spektrumları sırasıyla **EK 1.55, EK 1.56, EK 1.57, EK 1.58 ve EK 1.59**'da verilmiştir. Bileşik **151**'e ait ^1H -NMR, ^{13}C -APT NMR, COSY, HMQC ve HMBC NMR analizi spektrumları ise sırasıyla **EK 1.60, EK 1.61, EK 1.62, EK 1.63 ve EK 1.64**'te verilmiştir.

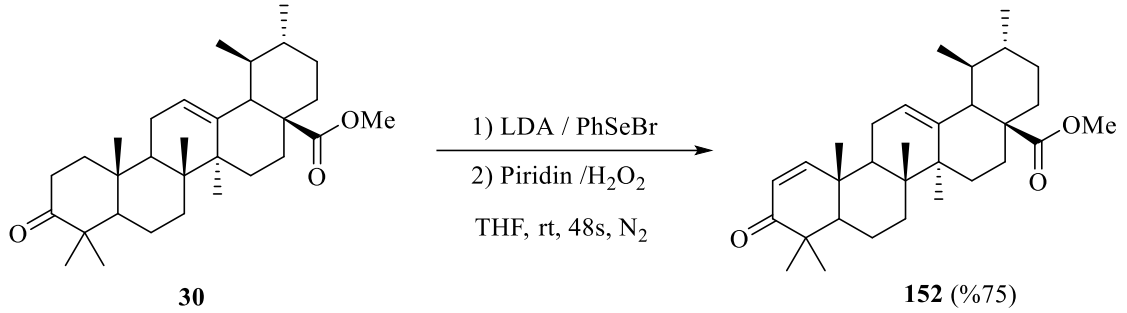
Bileşik **150**'nin ^1H -NMR spektrumunda bileşik **113**'inkinde olduğu gibi iki değil tek OMe sinyali bulunmaktadır ve bu OMe sinyali C-3 pozisyonunda taşınan OMe grubuna aittir. Sonuç olarak ester yapısı hidroliz olarak laktona dönüşmüştür çünkü hidroliz sonrası asite dönüşseydi ^{13}C -APT NMR spektrumunda 185 ppm'de rezonans olan asit karbonuna ait sinyal olması gerekirdi ama onun yerine 179 ppm'de lakton karboniline ait sinyal mevcuttur. Bileşik **150**'nin hem ^1H -NMR spektrumunda hem de ^{13}C -APT NMR spektrumunda çift bağ sinyalleri yoktur. Bu durum çift bağın doyduğunu göstermektedir. Çift bağın yerinin değişerek epoksitlendiği ise ^1H -NMR spektrumunda 2.80 ve 3.0 ppm de iki adet epoksit CH-O hidrojenlerine ait sinyallerin gözlenmesidir. Diğer taraftan lakton halkasının oksijenine bağlı kuaterner C-13 atomunun 89 ppm'de rezonans olduğu görülmektedir. Ayrıca ester halindeyken 178 ppm'de rezonans olan karboksil karbonu lakton haline dönüştüğünde 179 ppm'de rezonans olmuştur.

Bileşik **151**'in ^{13}C -APT NMR spektrumunda çift bağ sinyallerinin 159 ppm ve 119 ppm'de rezonans olduğu görülmektedir. Literatür verileri dikkate alınarak çift bağın tarakseren türevlerinde olduğu gibi C14-C15 pozisyonlarına geçecek şekilde düzenlenerek bileşiğin Şema 3.29 da gösterilen yapıya dönüştüğü belirlendi. Bileşik **151**'in ^1H -NMR spektrumunda 3.0 ve 3.2 ppm'de rezonans olmuş epoksit CH-O sinyalleri mevcuttur. Ayrıca 2.4 ppm'de çift bağın allilik pozisyonundaki C-16 hidrojenlerine ait sinyaller görülmektedir.

3.2.22. Bileşik 30'un PhSeBr ile reaksiyonu

Bileşik **30**'da bulunan keton yapısına komşu bir çift bağ meydana getirmek için literatürde sık uygulanan selenoksit eliminasyonu yöntemi kullanıldı. Bileşik **30** mutlak THF içerisinde inert atmosferde LDA ile etkileştirildikten sonra PhSeBr ilavesi ile α -selenleme ürünü üzerinden H_2O_2 ile oksitlenerek bileşik **152**'ye dönüştürüldü (Şema

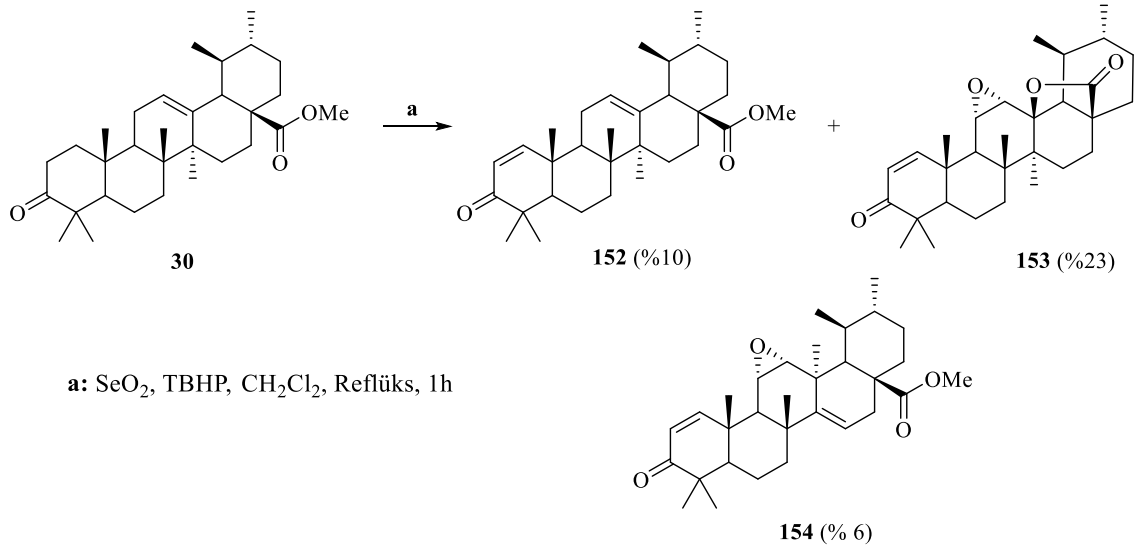
3.30). Bileşik **152**'ye ait ^1H -NMR, ^{13}C -APT NMR, spektrumları sırasıyla **EK 1.65** ve **EK 1.66**'da verilmiştir.



Şema 3.30

3.2.23. Bileşik 30'un SeO₂ ile Reaksiyonu

Bileşik **39**'un, SeO₂ ve *t*-BuOOH ile birlikte THF içerisindeki uzun süreli ve yüksek sıcaklık reaksiyonundan Şema 3.31'de verilen ürünler ve yapısı tam belirlenemeyen 3 ürün daha meydana geldi.



Şema 3.31

Reaksiyon sonucunda meydana gelen ürün karışımı kolon kromatografisi ile saflaştırıldı. Ürünlerin yapıları NMR analizleri ve literatür desteği (Ito and Lai 1978; Pradhan *et al.*

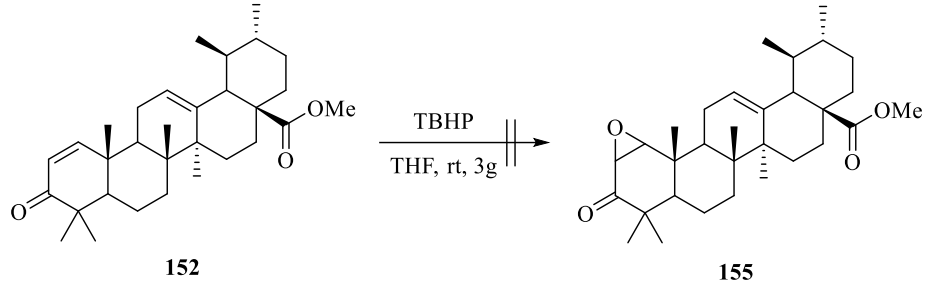
1987; Matsunaga *et al.* 1988; Tanaka and Matsunaga 1988; Huang *et al.* 1990; Siddiqui *et al.* 1990; Misra and Laatsch 2000; Kuroda *et al.* 2006; Chen *et al.* 2008) ile belirlendi. Ürünlerin oluşum mekanizması benzer ürünler üzerinden bu literatürlerde açıklanmıştır.

Reaksiyon sonucunda meydana gelen ürünlerden birisi Şema 3.30'da görülen bileşik **152** ile aynıdır. Bileşik **152** farklı iki reaksiyondan da elde edilmiştir. Şema 3.31'de meydana gelen **154** numaralı bileşik ile Şema 3.29'da meydana gelen **151** numaralı bileşik aynı mekanizma ile oluşmuş oksidatif düzenlenme ürünüdür. Bileşik **153** ve **150** ise aynı mekanizma ile oluşmuş laktonizasyon ürünleridir ve oksidasyon sürecinde meydana gelen alkoksit anyonunun ester grubunu hidroliz ederek laktone dönüştürmesi ile oluşmuştur.

Bileşik **153**'e ait ^1H -NMR, ^{13}C -APT NMR ve HSQC NMR analizi spektrumları sırasıyla **EK 1.67, EK 1.68 ve EK 1.69**'da verilmiştir. Bileşik **154**'e ait ^1H -NMR, ^{13}C -APT NMR, COSY, HSQC ve HMBC NMR analizi spektrumları ise sırasıyla **EK 1.70, EK 1.71, EK 1.72, EK 1.73 ve EK 1.74**'te verilmiştir. Meydana gelen oksidasyon ürünlerinin ve başlangıç bileşiklerinin kıyaslamalı NMR spektrumları oluşturuldu. Bileşik **30, 152, 153 ve 154**'ün ^{13}C -APT NMR spektrumlarının kıyaslamalı görünümü **EK 1.75**'te verilmiştir. Ayrıca bileşik **113, 150 ve 153**'ün ^{13}C -APT NMR kıyaslamalı görünümü de **EK 1.76**'da verilmiştir.

3.2.24. Bileşik 152'nin *t*-BuOOH ile reaksiyonu

Bileşik **152**'de bulunan α,β -doymamış çift bağ THF içerisinde tert-butil hidroperoksit (TBHP) kullanılarak nükleofilik asimetrik epoksidasyon yöntemi (Diez *et al.* 2008; Zilbeyaz *et al.* 2012) ile epoksit türevine dönüştürülmeye çalışıldı ancak yapılan tüm denemelere rağmen Şema 3.32'de verilen reaksiyon gerçekleşmediği için bileşik **155** bu yöntemle elde edilemedi.

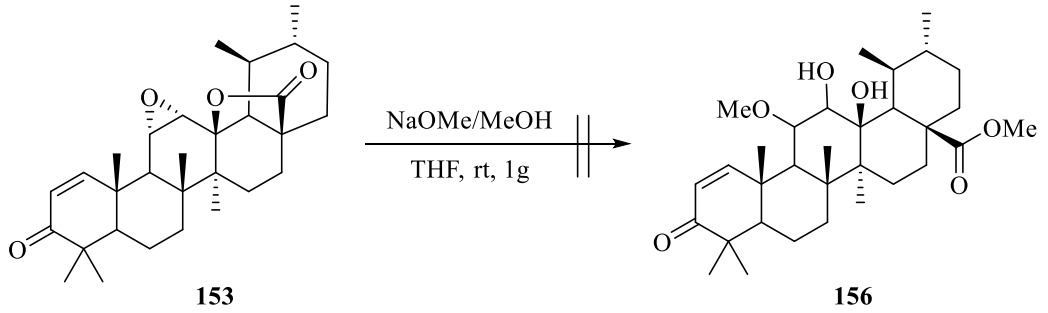


Şema 3.32

Reaksiyon H_2O_2 kullanılarak aynı şartlar altında tekrarlandı ancak bu sefer de birbirinden ayrılamayan ürün karışımı ele geçti. Şema 3.31’de verilen ürün karışımına benzer ürünlerin oluştuğu gözlemlendi.

3.2.25. Bileşik 153’ün NaOMe ile reaksiyonu

Bileşik 153’ün sodyum metoksit ile reaksiyonundan Şema 3.33’te gösterilen bileşik 156 veya onun bir stereoizomeri elde edilmek istendi ancak yapılan reaksiyonda beklenen sonuç alınamadı. Bileşik 153’ün miktarının az olması nedeniyle de reaksiyon tekrarlanamadı.



Şema 3.33

Epoksidasyon çalışmasında istenilen ürünün elde edilememesi ve SeO_2 ile yapılan reaksiyonlarda düşük verimle çok sayıda ürün karışımı elde edilmesi nedeniyle hedef molekül 8’in sentezi pek çok örneği olduğu halde beklenildiği gibi gerçekleşmeyen reaksiyonlardan dolayı tamamlanamamıştır.

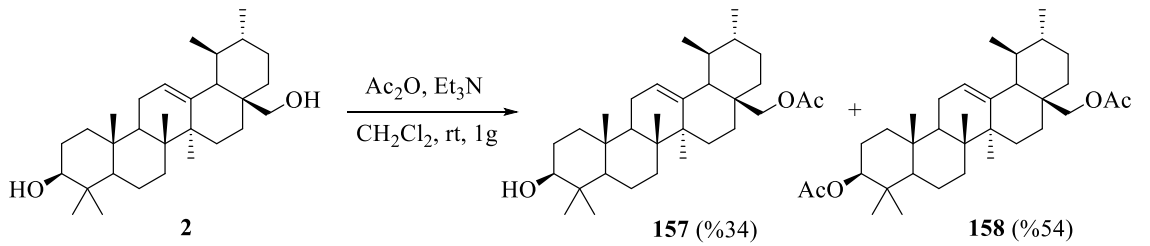
Hedef molekül 8’e ulaşmak için önce α -amirin elde etmek üzere çalışmalar yapılırken aynı zamanda yürütülen bilgisayarlı moleküler modelleme çalışmaları neticesinde hedef

molekül **8**'in C28 konumundan asitli türevinin daha yüksek *in silico* NF-Kappa B inhibisyon aktivitesi gösterdiğinin saptanması üzerine α -amirin sentezi durduruldu ve ursolik asit üzerinden çalışmalara devam edildi. α -amirin sentezi için harcanan sürede oksidasyon çalışmalarında yaşanan olumsuzluklar için belki profesyonel destek alınıp uygun çözümler bulunabilirdi ancak reaksiyonlar her zaman beklendiği gibi sonuçlanmadığı için geçen zamanın telafisi mümkün olmayabiliyor. Yine de tüm olumsuzluklara rağmen α -amirinin literatürde olmayan yeni bir yöntemle ve yüksek verimle yarı sentetik olarak elde edilmesi büyük bir adım olarak değerlendirilmelidir.

Bu aşamadan sonra tez kapsamında sentezlenmesi tasarlanan ve *in silico* NF-Kappa B inhibisyon aktivite çalışmaları yapılan bir seri ursan türevinin sentezine geçildi. Elde edilen türevlerin bazılarının yapılan moleküler modelleme çalışmalarında oldukça yüksek bağlanma skoru gösterdiği belirlendi.

3.2.26. Uvaolun asetik anhidrit ile reaksiyonu

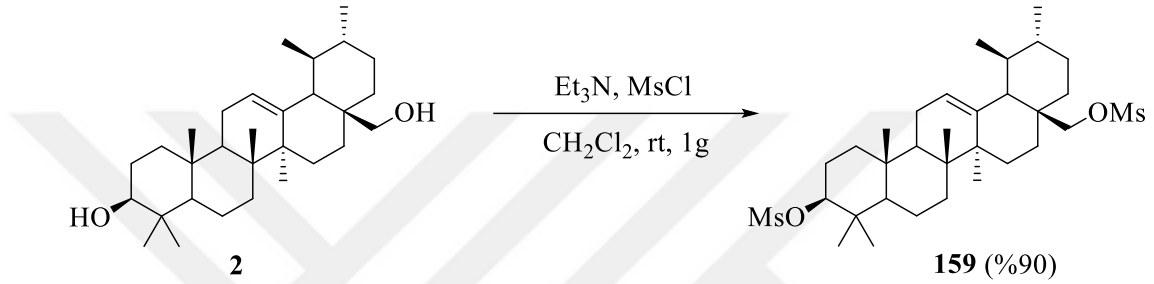
Asetil grupları biyoaktivite bakımından oldukça önemli role sahiptir. Bu özelliğinden dolayı bazı bileşiklerdeki OH grupları gerek koruma gerekse de biyoaktivite farkını ortaya çıkarma amacıyla asetillenmiştir. Uvaolun (**2**) trietilamin varlığında asetik anhidrit ile oda sıcaklığındaki reaksiyonundan mono-asetil ve di-asetil türevleri bileşik **157** ve **158** sentezlendi (Şema 3.34). Reaksiyonda önce bileşik **157**'nin oluştuğu yapılan TLC analizleri ile tespit edildi. Bileşik **157** ve **158** kolon kromatografisi ile birbirlerinden ayrıldılar ve yapıları NMR spektrumları ile tespit edildi. Bileşik **157** ve **158**'e ait ^1H -NMR spektrumları sırasıyla **EK 1.77** ve **EK 1.78**'de verilmiştir.



Şema 3.34

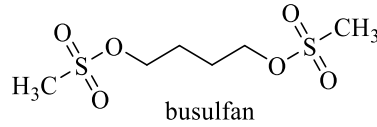
3.2.27. Uvaolun metan sülfonil klorür ile reaksiyonu

Uvaolun trietilamin varlığında metansülfonil klorür (MsCl) ile oda sıcaklığındaki reaksiyonundan sülfonat esterli bileşik **159** elde edildi (Şema 3.35). Bu sülfonat esterleri busulfan gibi değerli bir ilaç molekülü olabilme ümidiyle sentezlendi. Bileşik **159**'a ait ^1H -NMR ve ^{13}C -APT NMR analizlerinin spektrumları sırasıyla **EK 1.79 ve EK 1.80**'de verilmiştir.



Şema 3.35

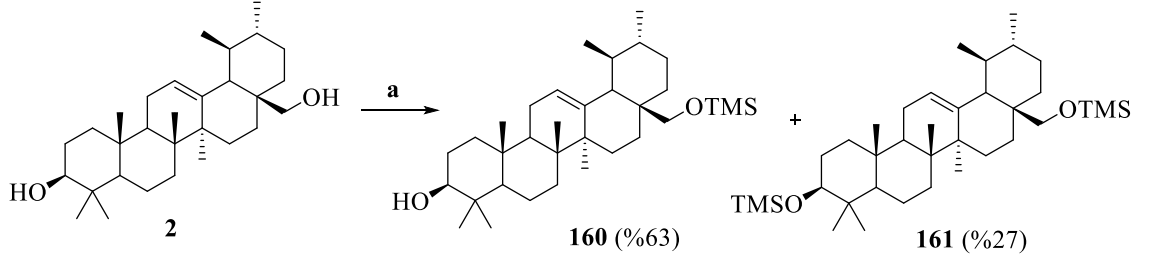
Metansülfonatlar guanin halkasının N7 pozisyonunda alkilleme yapabilirler. Bu türden ilaçlara örnek olarak busulfan verilebilir. DNA iplikleri arasında köprüler yapan azotlu mustardların aksine metansülfonatlar iç ipliklerde çapraz bağlar yaparlar (Iwanoto *et al.* 2004). Bu sayede DNA'nın kontrolsüz çoğalmasını engelleyerek kanserin yayılmasını engeller. Grubumuz tarafından yapılan *in silico* NF KappaB inhibisyon aktivitesi testlerinde uvaol ve eritrodiolun metan sülfonat esterlerinin yüksek afinite gösterdiği saptanmıştır.



3.2.28. Uvaol'un trimetilsilil klorür ile reaksiyonu

Uvaol (**2**) bileşiği trietilamin varlığında trimetilsilil klorür (Me_3SiCl) ile oda sıcaklığında reaksiyona konuldu ve bileşikler **160 ve 161** elde edildi (Şema 3.36). Seçimli olarak bileşik **160**'ın oluştuğu reaksiyonda ürünler birbirinden kolon kromatografisi ile ayrıldılar. Bileşik **160** üzerinden C3-OH grubu türevlerine dönüştürülüp C28-OH grubu ise serbest hale geçirilecektir. Böylelikle farklı uvaol türevleri elde edilmiş olacaktır.

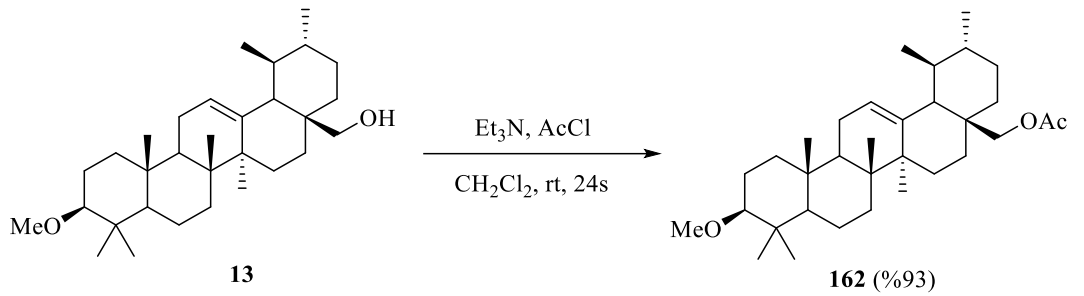
Bileşik **160**'a ait ^1H -NMR ve ^{13}C -APT NMR spektrumları **EK 1.81** ve **EK 1.82**'de verilmiştir.



Şema 3.36

3.2.29. Uvaol-3-metil eterin asetil klorür ile reaksiyonu

Uvaol-3-metil eterin (**13**) oda sıcaklığında trietilamin varlığında asetil klorür ile reaksiyondan asetil türevi bileşik **162** sentezlendi (Şema 3.37). Aynı reaksiyon asetik anhidrit kullanılarak yapıldığında da bileşik **162** neredeyse aynı verimle elde edildi.

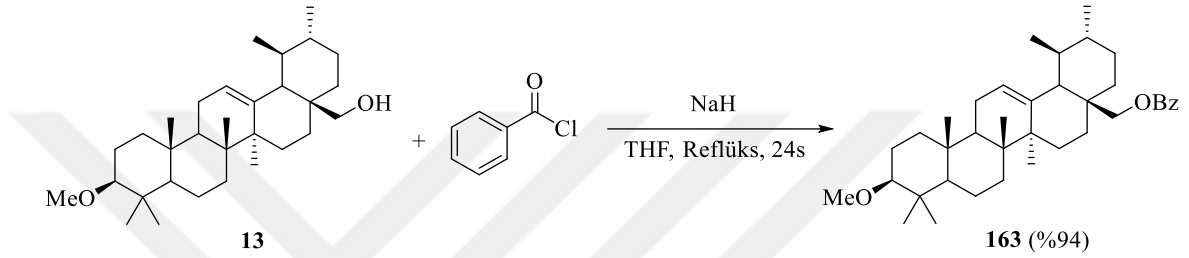


Şema 3.37

Bileşik **162**'ye ait ^1H -NMR spektrumu **EK 1.83**'te verilmiştir. Bileşiğin ^1H -NMR spektrumundan yapıya asetil grubunun girmesiyle C28 de taşınan hidrojenlerin kimyasal kayma değerlerinin değiştiği ve daha aşağı alana kaydığı açıkça izlenmiştir.

3.2.30. Uvaol-3-metil eterin benzoil klorür ile reaksiyonu

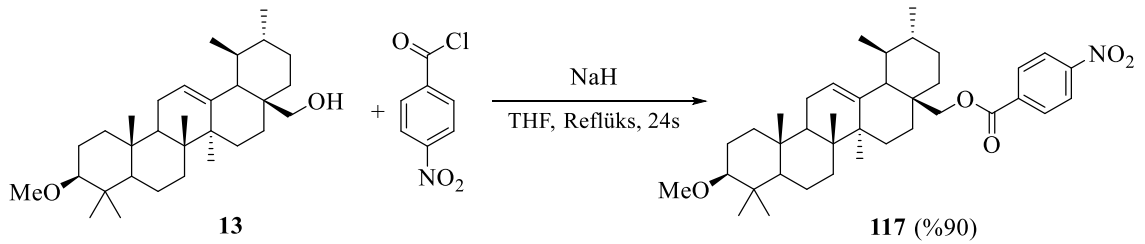
Uvaol-3-metil eterin (**13**) sodyum hidrür varlığında benzoil klorür ile THF içerisinde reflüks sıcaklığındaki reaksiyonundan benzoat türevi bileşik **163** sentezlendi (Şema 3.38). Bileşik **163**'e ait ^1H -NMR ve ^{13}C -APT NMR spektrumları sırasıyla **EK 1.84** ve **EK 1.85**'te verilmiştir.



Şema 3.38

3.2.31. Uvaol-3-metil eterin 4-nitrobenzoil klorür ile reaksiyonu

Uvaol-3-metil eterin (**13**) sodyum hidrür varlığında 4-nitrobenzoil klorür ile THF içerisinde reflüks sıcaklığındaki reaksiyonundan 4-nitrobenzoat türevi bileşik **117** sentezlendi (Şema 3.39).

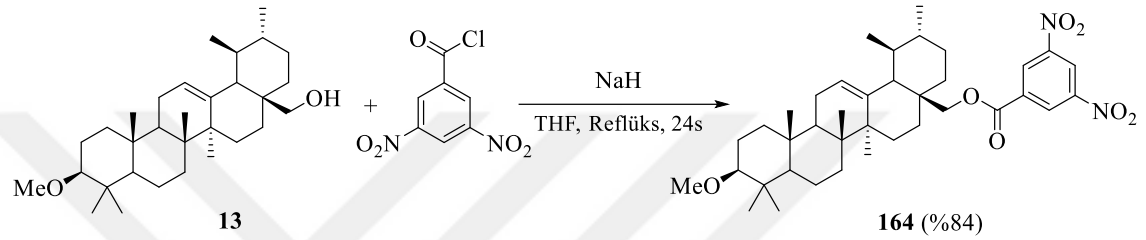


Şema 3.39

Bileşik **13** çalışma kapsamında yapılan *in silico* NF-KappaB inhibisyon aktivite testlerinde bileşik **8** gibi yüksek bağlanma skorlarından birine sahip moleküldür. Hedef moleküllerimizin yanı sıra uvaolun aromatik ve azotlu türevlerinin sentez ve biyolojik aktivite çalışmaları yapılmıştır. Bileşik **117**'ye ait ^1H -NMR ve ^{13}C -APT NMR spektrumları sırasıyla **EK 1.86** ve **EK 1.87**'de verilmiştir.

3.2.32. Uvaol-3-metil eterin 3,5-dinitrobenzoil klorür ile reaksiyonu

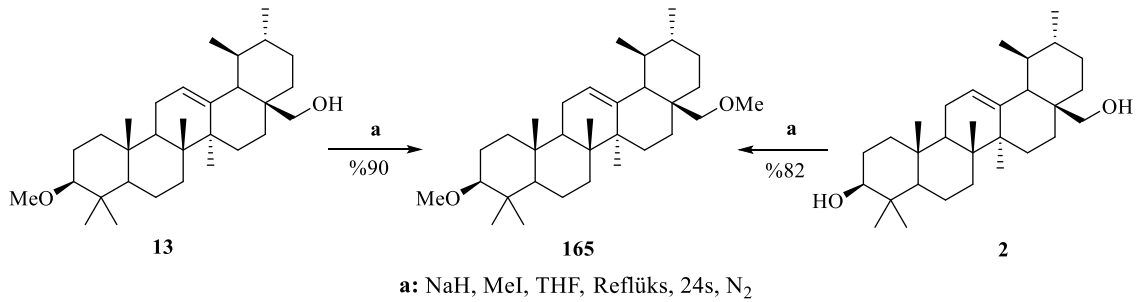
Uvaol-3-metil eterin sodyum hidrür varlığında 3,5-dinitrobenzoil klorür ile THF içerisinde reflüks sıcaklığındaki reaksiyonundan 3,5-dinitrobenzoat türevi bileşik **164** sentezlendi (Şema 3.40). Bileşik **164**'e ait ^1H -NMR ve ^{13}C -APT NMR analizlerinin spektrumları sırasıyla **EK 1.88** ve **EK 1.89**'da verilmiştir.



Şema 3.40

3.2.33. Uvaol-3-metil eterin metil iyodür ile reaksiyonu

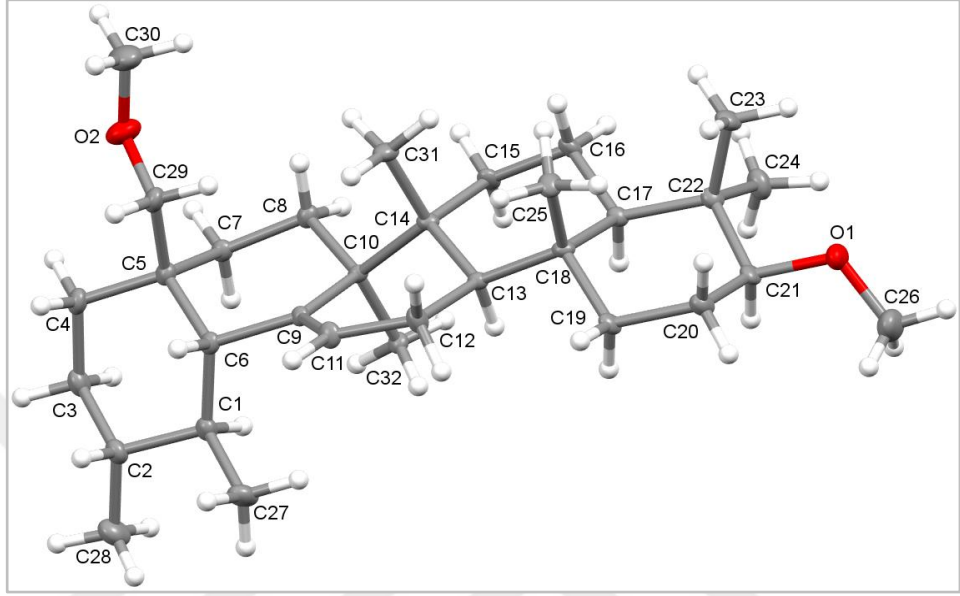
Hem uvaolun (**2**) hem de uvaol-3-metil-eterin (**13**) NaH varlığında MeI ile THF içerisinde reflüks sıcaklığındaki reaksiyonundan dimetiluvaol (**165**) sentezlendi (Şema 3.41).



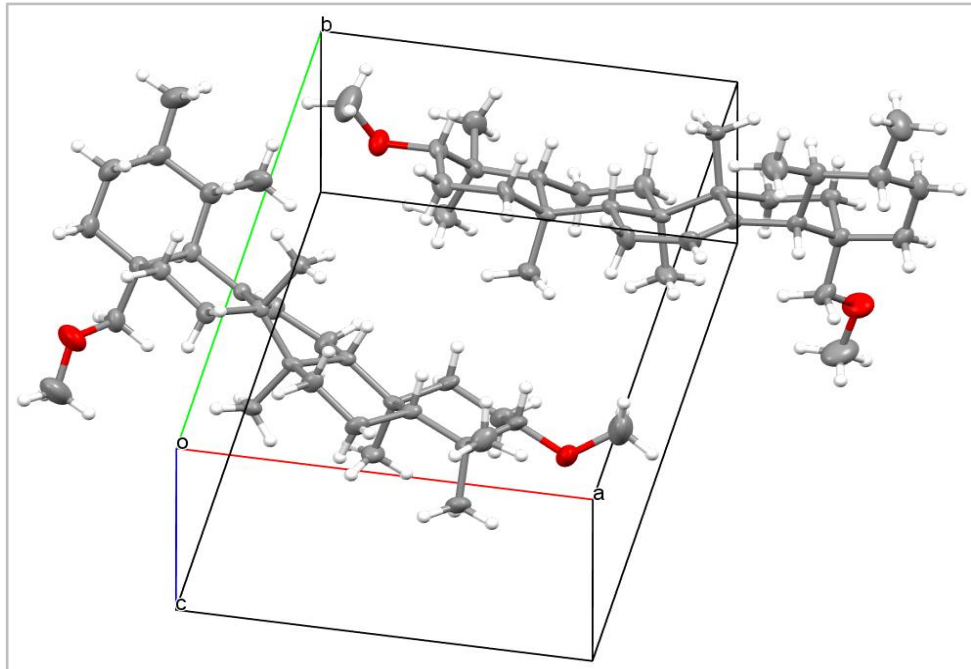
Şema 3.41

Bileşik **165**'e ait ^1H -NMR ve ^{13}C -APT NMR spektrumları sırasıyla **EK 1.90** ve **EK 1.91**'de verilmiştir. Ayrıca bileşik **165**'in tek kristal X-Işını analizi yapıldı. Bileşik **165**'e ait tek kristal X-ışını analizi Şekil 3.13'te birim hücre yapısı Şekil 3.14'te görülmektedir. Bileşik **165**'e ait tek kristal X-ışını analizinin sonuçlarına göre, bağ uzunlukları, bağ

açıları ve torsiyonel açılar araştırma bulguları bölümünde sırasıyla Çizelge 4.3, Çizelge 4.4 ve Çizelge 4.5'te verilmiştir.



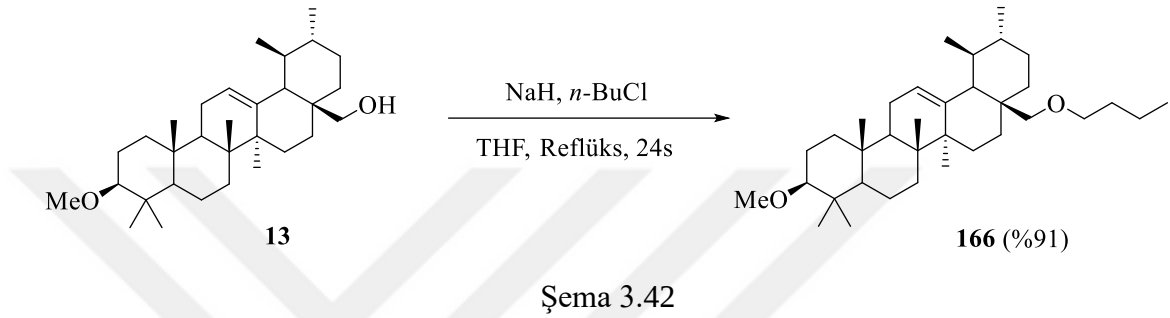
Şekil 3.12. Bileşik 165'in tek kristal X-ışını yapı analizi görüntüsü



Şekil 3.13. Bileşik 165'in tek kristal X-ışını yapı analizi birim hücre görüntüsü

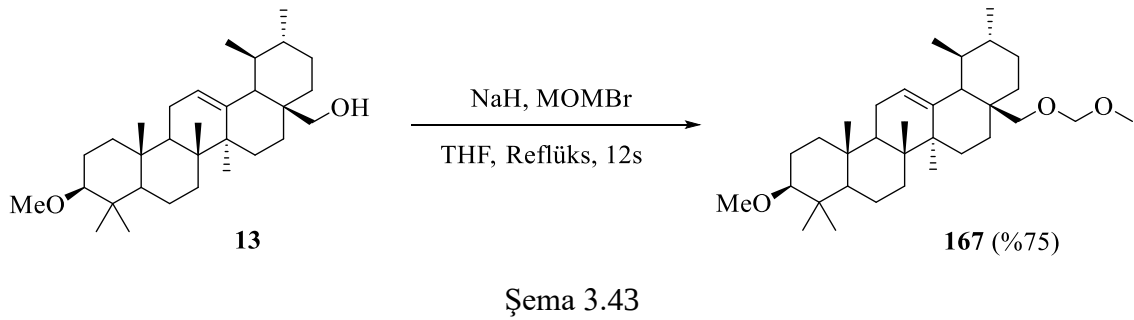
3.2.34. Uvaol-3-metil eterin *n*-bütil klorür ile reaksiyonu

Uvaol-3-metil eterin sodyum hidrür varlığında *n*-bütil klorür ile THF içerisinde reflüks sıcaklığındaki reaksiyonundan *n*-butil eter türevi bileşik **166** sentezlendi (Şema 3.42). Bileşik **166**'ya ait ^1H -NMR ve ^{13}C -APT NMR analizlerinin spektrumları sırasıyla **EK 1.92** ve **EK 1.93**'te verilmiştir.



3.2.35. Uvaol-3-metil eterin MOMBr ile reaksiyonu

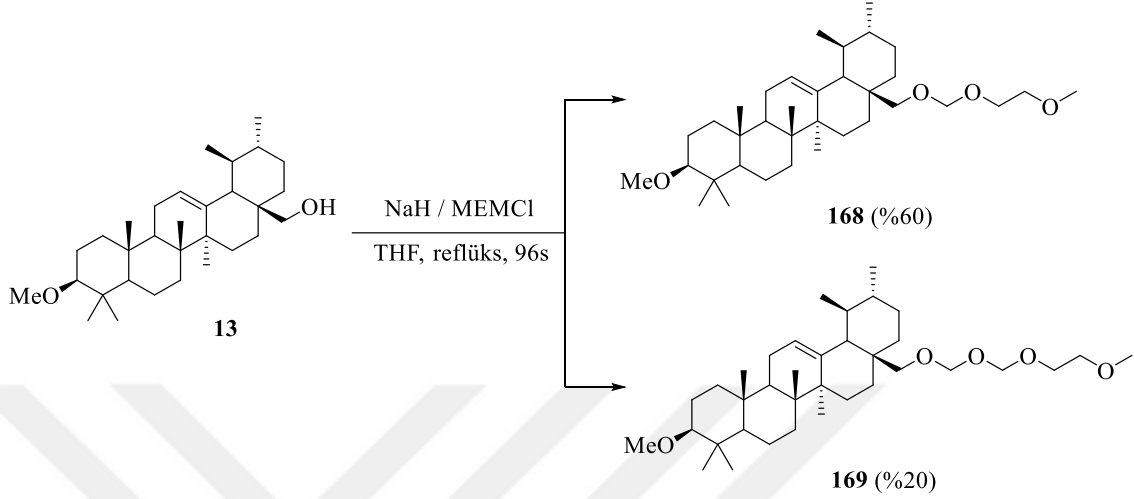
Uvaol-3-metil eterin sodyum hidrür varlığında MOMBr ile THF içerisinde reflüks sıcaklığındaki reaksiyonundan MOM eter türevi bileşik **167** sentezlendi (Şema 3.43). Bileşik **167**'ye ait ^1H -NMR ve ^{13}C -APT NMR spektrumları sırasıyla **EK 1.94** ve **EK 1.95**'te verilmiştir.



3.2.36. Uvaol-3-metil eterin MEMCl ile reaksiyonu

Uvaol-3-metil eterin sodyum hidrür varlığında MEMCl ile THF içerisindeki reflüks reaksiyonundan MEM eter türevi bileşik **168** sentezlendi (Şema 3.44). Bileşik **168**'in yanı sıra bileşik **169** bu reaksiyonda yan ürün olarak elde edildi. Bileşik **169**'un **168** üzerinden

oluştugu düşünölmektedir. Bileşik **168**'e ait ^1H -NMR, ^{13}C -APT NMR ve HSQC NMR analizlerinin spektrumları sırasıyla **EK 1.96**, **EK 1.97** ve **EK 1.98**'de verilmiştir.

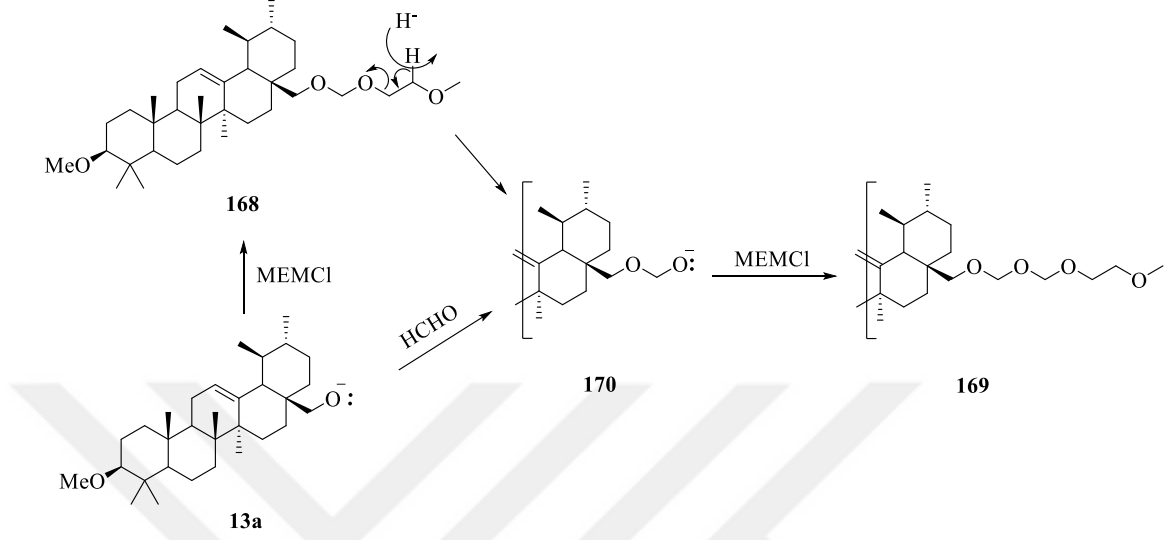


Bileşik **169**'a ait ^1H -NMR, ^{13}C -APT NMR ve HSQC NMR analizlerinin spektrumları ise sırasıyla **EK 1.99**, **EK 1.100** ve **EK 1.101**'de verilmiştir.

Bileşik **168**'in ^1H -NMR spektrumuna bakıldığında 4.64 ppm'de rezonans olmuş ve 2 hidrojene karşılık gelen bir singlet sinyal olduğu görülür. Bu hidrojenlerin taşındığı karbon atomu ^{13}C -APT NMR spektrumundaki 96 ppm'de rezonans olan iki oksijen arasında kalan karbon atomudur. Diğer taraftan bileşik **169**'ün ^1H -NMR spektrumuna bakıldığında biri 4.76 ppm'de singlet diğerleri 4.72 ppm ve 4.70 ppm'de dublet şeklinde yarılmış iki adet metilenik hidrojenlere karşılık gelen sinyaller olduğu görülür. Sinyallerin her ikisinin de birer farklı iki oksijene komşu karbon atomunda taşındığı ^{13}C -APT NMR ve HSQC analizinden açıkça görölmektedir.

Bileşik **169**'un Şema 3.45'te görölen iki farklı yoldan **170** ara ürünü üzerinden olabileceği düşünöldü. Birinci yol bileşik **168**'in reaksiyon ortamında parçalanması ile **170**'i oluşturabileceğidir. İkinci yol ise bileşik **13**'ten oluşmuş anyonun reaksiyon ortamında bulunan formaldehit ile etkileşmesi sonucunda **170** oluşabilir. Formaldehit ise reaksiyon ortamında gerek ürün üzerinden gerekse de MEMCl'nin hidrolizinden oluşabilir. Ayrıca,

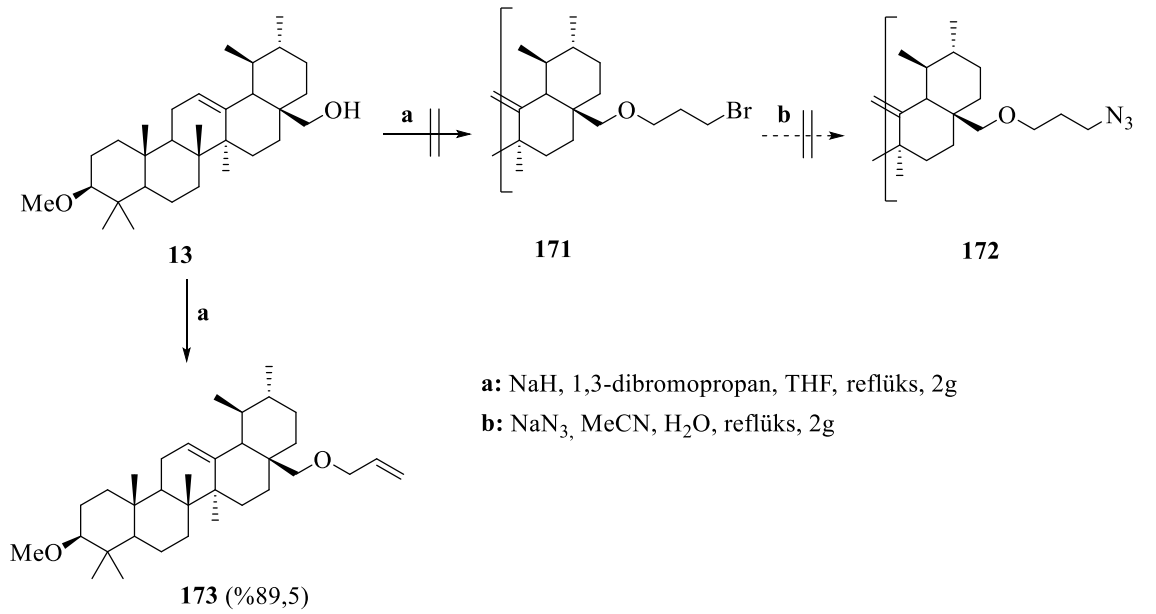
reaktif olarak kullanılan MEMCl içerisinde de oluşmuş olabilir. Bileşik **168** ve bileşik **169**'un $^1\text{H-NMR}$ spektrumlarının kıyaslamalı görünümü EK 1.102'de verilmiştir.



Şema 3.45

3.2.37. Uvaol-3-metil eterin 1,3-dibromopropan ile reaksiyonu

Uvaol-3-metil eterin sodyum hidrür varlığında 1,3-dibromopropan ile THF içerisinde reflüks sıcaklığında reaksiyonu yapıldı ve Şema 3.46'da gösterilen bileşik **171**'in sentezlenmesi hedeflendi.

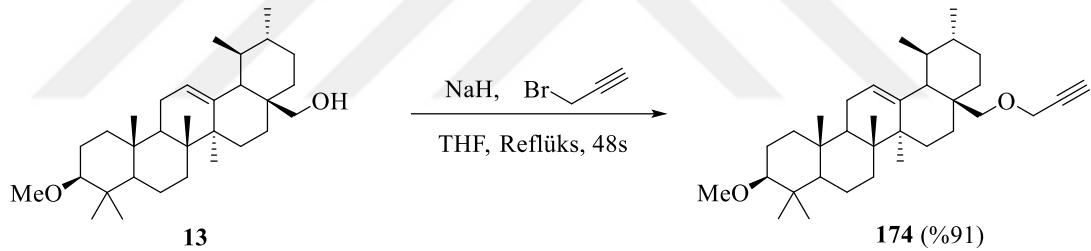


Şema 3.46

Bileşik 171’de bulunan brom atomu azid grubu ile yer değiştirilip elde edilecek azid türevi 172 üzerinden bir seri triazol bileşiği sentezlenmesi amaçlandı. Ancak bileşik 171 bu reaksiyon şartlarında elde edilemediği için 172’nin sentezine geçilemedi. Böylelikle şema 3.46’daki reaksiyondan beklenen substitusyon ürünü 171 yerine eliminasyon ürünü allil eter türevi bileşik 173 ele geçti. Bileşik 173’e ait ^1H -NMR, ^{13}C -APT NMR ve HSQC analizlerinin spektrumları sırasıyla EK 1.103, EK 1.104, EK 1.105’te verilmiştir.

3.2.38. Uvaol-3-metil eterin propargil bromür ile reaksiyonu

Uvaol-3-metil eterin sodyum hidrür varlığında propargil bromür ile THF içerisinde reflüks sıcaklığındaki reaksiyonundan propargil eter türevi bileşik 174 sentezlendi (Şema 3.47). Bileşik 174 üzerinden alkil ve aril azid türevleri ile 1,2,3-triazol bileşikleri sentezlenmesi planlanmıştır.

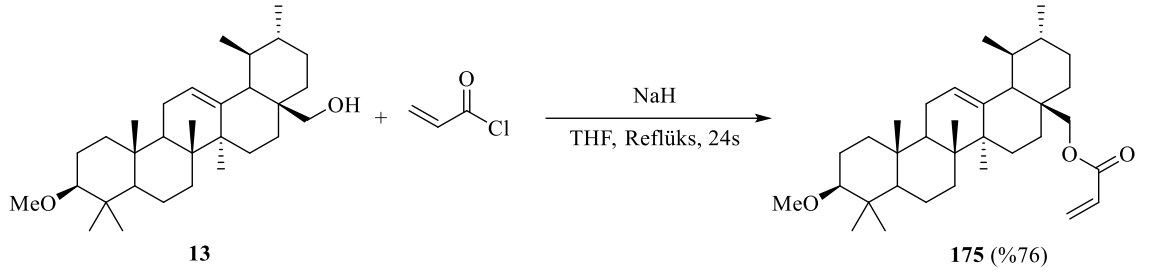


Şema 3.47

Bileşik 174’e ait ^1H -NMR, ^{13}C -APT NMR ve HSQC NMR analizlerinin spektrumları sırasıyla EK 1.106, EK 1.107 ve EK 1.108’de verilmiştir.

3.2.39. Uvaol-3-metil eterin akriloil klorür ile reaksiyonu

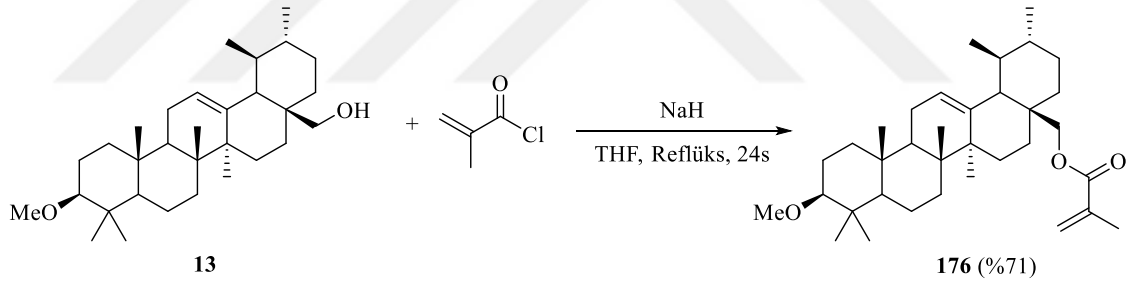
Uvaol-3-metil eterin sodyum hidrür varlığında akriloil klorür ile THF içerisinde reflüks sıcaklığındaki reaksiyonundan akrilat ester türevi bileşik 175 sentezlendi (Şema 3.48). Bileşik 175’e ait ^1H -NMR ve ^{13}C -APT NMR spektrumları sırasıyla EK 1.109 ve EK 1.110’da verilmiştir.



Şema 3.48

3.2.40. Uvaol-3-metil eterin metakriloil klorür ile reaksiyonu

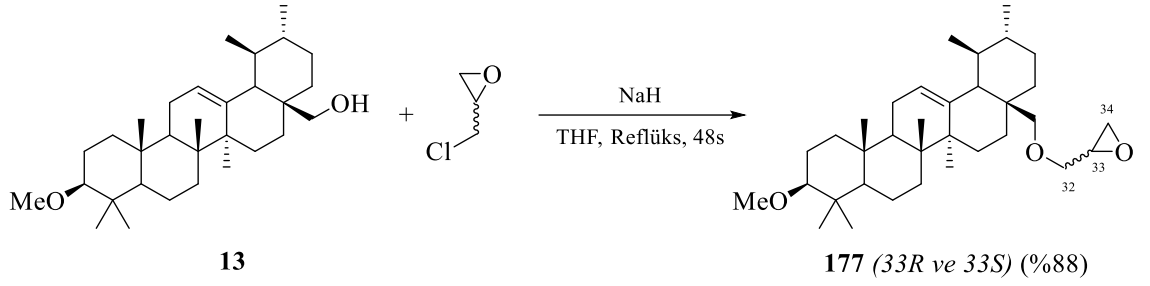
Uvaol-3-metil eterin sodyum hidrür varlığında metakriloil klorür ile THF içerisinde reflüks sıcaklığındaki reaksiyonundan metakrilat ester türevi bileşik **176** sentezlendi (Şema 3.49). Bileşik **176**'ya ait ¹H-NMR ve ¹³C-APT NMR analizlerinin spektrumları sırasıyla **EK 1.111** ve **EK 1.112**'de verilmiştir.



Şema 3.49

3.2.41. Uvaol-3-metil eterin (±)-epiklorohidrin ile reaksiyonu

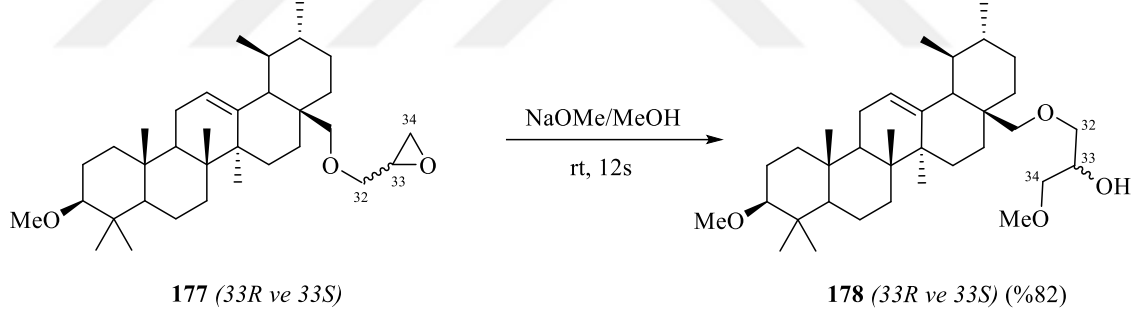
Bileşik **13** ile (±)-epiklorohidrinin THF içerisinde NaH varlığında yapılan reflüks reaksiyonundan bileşik **177** diastereomer karışımı olarak sentezlendi (Şema 3.50). Bileşik **177**'de bulunan epoksit yapısı bazik ve asidik olarak parçalanıp yeni türevler elde edilecek ve diastereomerler birbirinden ayrılmaya çalışılacaktır. Bileşik **177**'ye ait ¹H-NMR, ¹³C-APT NMR, COSY, HSQC ve HMBC NMR analizi spektrumları sırasıyla **EK 1.113**, **EK 1.114**, **EK 1.115**, **EK 1.116** ve **EK 1.117**'de verilmiştir.



Şema 3.50

3.2.42. Epoksit bileşiği 177'nin sodyum metoksit ile reaksiyonu

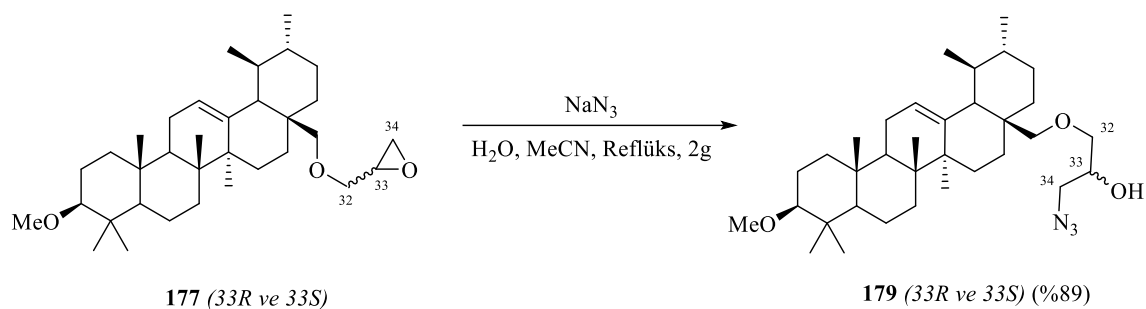
Şema 3.50'de sentezlenen diastereomerik epoksit bileşikler (177) NaOMe ile metanol içerisinde reaksiyona tabi tutuldu ve epoksit açılma ürünü bileşik 178 diastereomer karışımı olarak sentezlendi (Şema 3.51). Bileşik 178'e ait ^1H -NMR ve ^{13}C -APT NMR spektrumları sırasıyla EK 1.118 ve EK 1.119'da verilmiştir.



Şema 3.51

3.2.43. Epoksit bileşiği 177'nin sodyum azid ile reaksiyonu

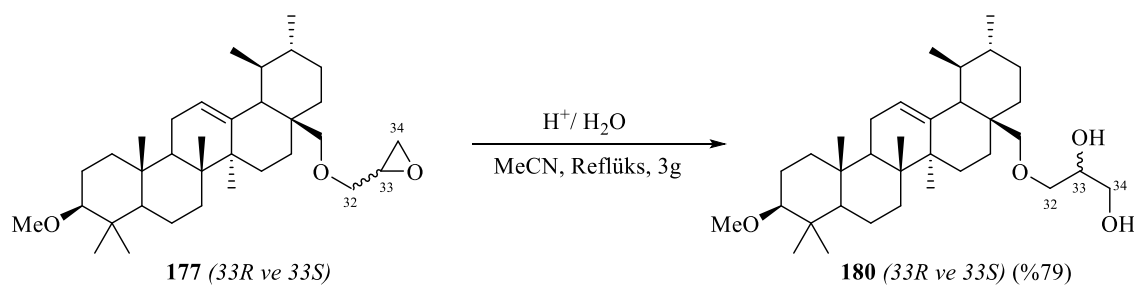
Diastereomerik epoksit 177'nin NaN_3 ile sulu asetonitril içerisindeki reaksiyonundan epoksit açılma ürünü bileşik 179 diastereomer karışımı olarak sentezlendi (Şema 3.52). Bileşik 179'a ait ^1H -NMR ve ^{13}C -APT NMR analizi spektrumları sırasıyla EK 1.120 ve EK 1.121'de verilmiştir.



Şema 3.52

3.2.44. Epoksit bileşiği 177'nin su ile reaksiyonu

Bileşik **177** katalitik miktarda HCl varlığında sulu asetonitril içerisinde reaksiyona tabi tutuldu ve epoksit açılma ürünü diol **180** diastereomer karışımı olarak sentezlendi (Şema 3.53). Bileşik **180**'e ait $^1\text{H-NMR}$ ve $^{13}\text{C-APT}$ NMR analizi spektrumları sırasıyla **EK 1.121** ve **EK 1.122**'de verilmiştir. Ayrıca bileşik **177** sulu THF içerisinde KOH ile reaksiyona tabi tutularak Şema 3.53'te görülen bileşik **180** sentezlenmek istendi ancak bu reaksiyondan epoksit açılma ürünü diol **180** elde edilemedi. Bazı ortamda OH ile epoksit açma tepkimesinden sonuç alınamadı.

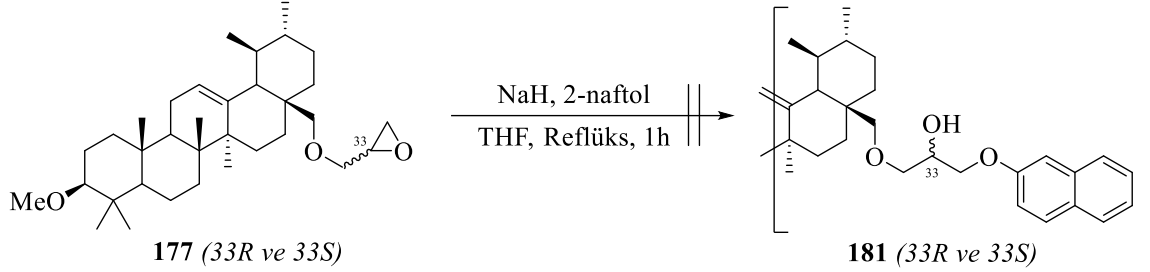


Şema 3.53

3.2.45. Epoksit bileşiği 177'nin 2-naftol ile reaksiyonu

Bileşik **177** THF içerisinde NaH varlığında 2-naftol ile reaksiyona tabi tutuldu. Önce 2-naftolün NaH ile reaksiyonundan 2-naftoksit anyonu elde edildi daha sonra ortama bileşik **177** ilave edildi (Şema 3.54). Bu reaksiyondan diastereomer karışımı olarak elde edilecek olan epoksit açılma ürününün (**181**) diastereomerlerini birbirinden ayırmak için uygun

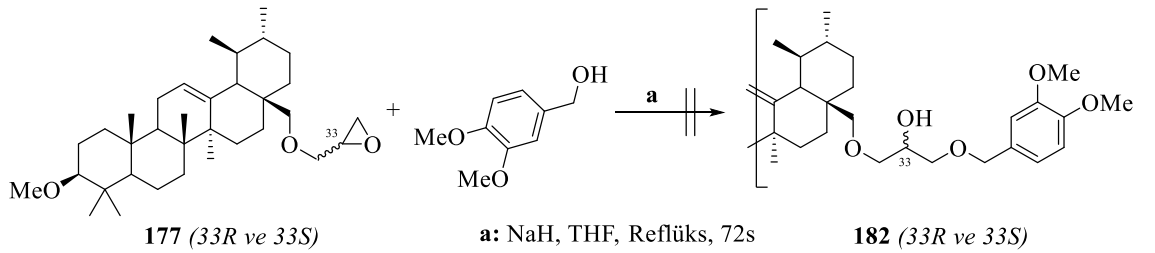
dipol moment farkı oluşturacağı düşünüldü ancak **181** elde edilmedi. Reaksiyonun sterik engel ve bileşikteki diğer elektronik etkilerden dolayı elde edilmediği düşünülmektedir.



Şema 3.54

3.2.46. Epoksit bileşiği **177**'nin 3,4-dimetoksi benzil alkol ile reaksiyonu

Bileşik **177** THF içerisinde NaH varlığında 3,4-dimetoksi benzil alkol ile reaksiyona tabi tutuldu. Önce 3,4-dimetoksi benzil alkolün NaH ile reaksiyonundan 3,4-dimetoksifenil metoksit elde edildi, daha sonra ortama bileşik **177** ilave edildi (Şema 3.55). Reaksiyon reflüks sıcaklığında 5 gün devam etti, ancak epoksit açılma ürünü bileşik **182** elde edilemedi. Bileşik **182**'nin elde edilme amacı bileşik **181** ile aynıdır.

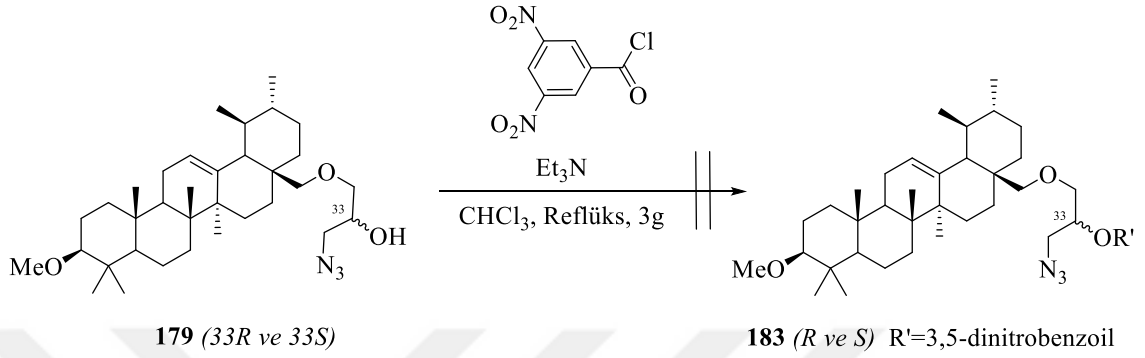


Şema 3.55

3.2.47. Azidoalkol **179**'un 3,5-dinitrobenzoil klorür ile reaksiyonu

Bileşik **179**'un trietilamin varlığında 3,5-dinitrobenzoil klorür ile kloroform içerisindeki reaksiyonundan Şema 3.56'da görülen bileşik **183**'ün sentezi hedeflendi ancak reaksiyon uzun süre devam etmesine rağmen ürün elde edilemedi. Bu ürün sentezlenerek

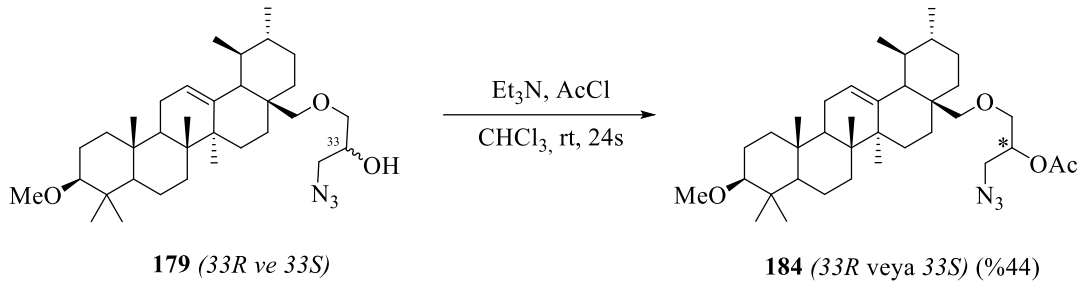
diastereomer karışımındaki stereoizomerlerin birbirinden ayrılması hedeflendi ancak bu şartlarda bu ürün elde edilemedi.



Şema 3.56

3.2.48. Azidoalkol 179'un asetil klorür ile reaksiyonu

Bileşik **179**'un trietilamin varlığında asetil klorür ile kloroform içerisindeki reaksiyonundan Şema 3.57'de görülen bileşik **184** diastereomer karışımı olarak elde edildi. Kolon yapıp saflaştırıldıktan sonra kaydedilen NMR spektrumuna göre ürünün tek bir diastereomer olduğu belirlendi. Diastereomerin mutlak konfigürasyonu belli olmayıp saflaştırılan bileşik stereoizomerlerden sadece biridir.

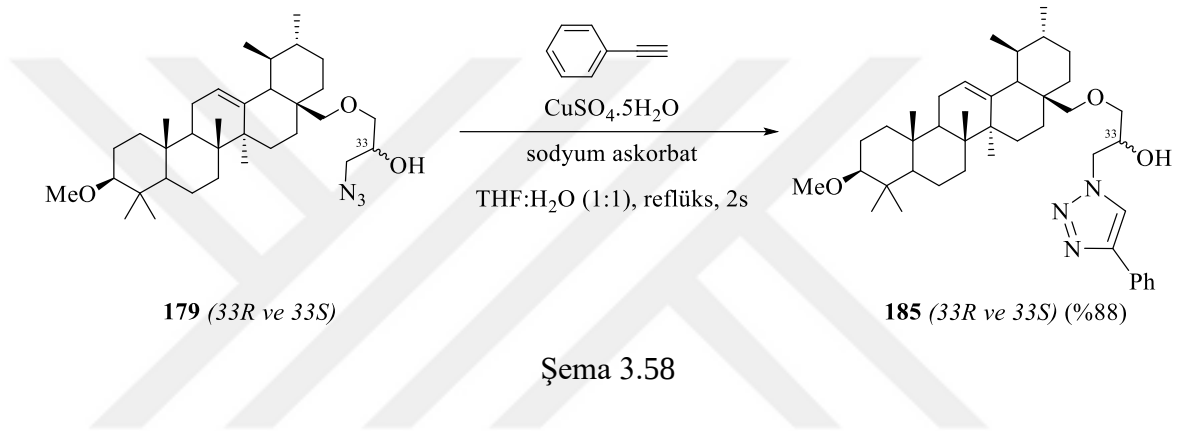


Şema 3.57

Bileşik **184**'e ait ^1H -NMR ve ^{13}C -APT NMR analizi spektrumları sırasıyla **EK 1.122** ve **EK 1.123**'de verilmiştir.

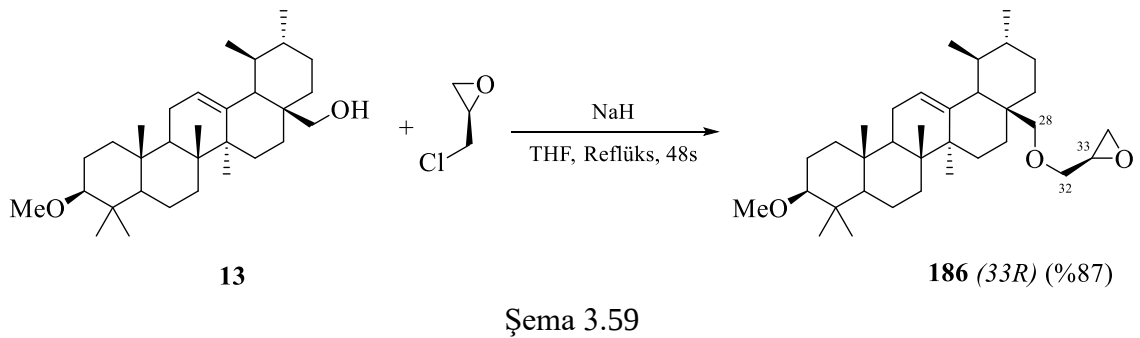
3.2.49. Azidoalkol 179'un fenilasetilen ile reaksiyonu

Bileşik **179**'daki azid grubu 1,2,3-triazol bileşiği elde etmek üzere $\text{Cu}_2\text{SO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ve sodyum askorbat varlığında oda sıcaklığında 1:1 THF su içerisinde fenilasetilen ile reaksiyonu yapıldı (Şema 3.58). Oda sıcaklığında devam eden reaksiyon tamamlanmayınca iki saat reflüks yapıldı ve reaksiyon bu şekilde tamamlandı. Reaksiyon sonrasında bileşik **185** diastereomer karışımı olarak elde edildi. Bileşik **185**'e ait ^1H -NMR ve ^{13}C -APT NMR analizi spektrumları sırasıyla **EK 1.124** ve **EK 1.125**'de verilmiştir.



3.2.50. Uvaol-3-metil eterin (R)-(-)-epiklorohidrin ile reaksiyonu

Bileşik **13** ile rasemik epiklorohidrinin reaksiyonundan elde edilen ürünler stereoizomerlerine ayıramadıkları için enantiyosaf (R)-(-)-epiklorohidrin ticari olarak temin edilip reaksiyon yapıldı. THF içerisinde NaH varlığında yapılan yüksek sıcaklık reaksiyonundan bileşik **186** saf diastereomer olarak sentezlendi (Şema 3.59).

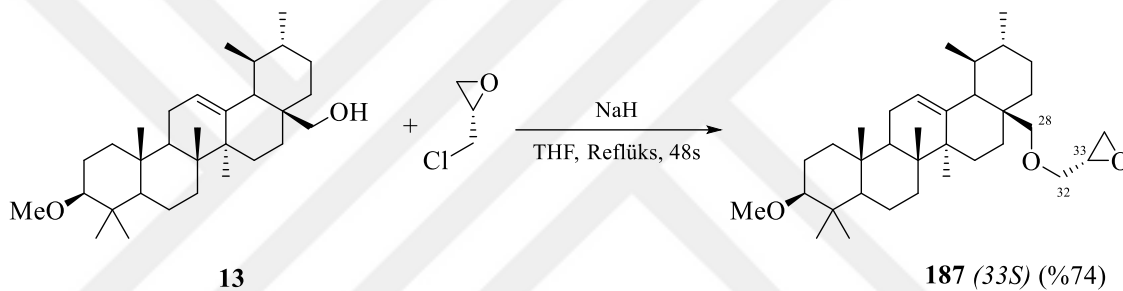


Bileşik **186**'ya ait ^1H -NMR spektrumu **EK 1.126**'da, diastereomerik karışım olan bileşik **177** ve saf olan bileşik **186**'nın ^1H -NMR analizi spektrumlarının kıyaslamalı görünümü

EK 1.127'de verilmiştir. Bileşik **186**'ya ait ^{13}C -APT NMR, COSY, HSQC ve HMBC NMR analizi spektrumları ise sırasıyla, **EK 1.128**, **EK 1.129**, **EK 1.130** ve **EK 1.131**'de verilmiştir. **EK 1.127**'de spektrumun 3.8-2.4-ppm aralığına bakıldığında diastereomer karışımı ve saf ürünün birbirinden farkı açıkça görülmektedir.

3.2.51. Uvaol-3-metil eterin (S)-(+)-epiklorohidrin ile reaksiyonu

Bileşik **13** ile enantiyosaf (S)-(+)-epiklorohidrinin THF içerisinde NaH varlığında yapılan yüksek sıcaklık reaksiyonundan bileşik **187** saf olarak sentezlendi (Şema 3.60).

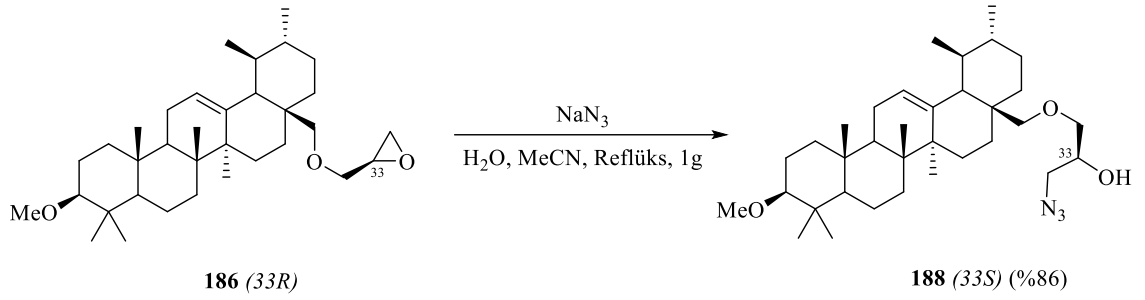


Şema 3.60

Bileşik **187**'ye ait ^1H -NMR spektrumu **EK 1.132**'de, bileşik **177**, **186** ve bileşik **187**'nin ^1H -NMR analizi spektrumlarının kıyaslamalı görünümü **EK 1.133**'te verilmiştir. Bileşik **177** diastereomer karışım, **186** R izomer ve **187** S izomerdir. Bileşik **187**'ye ait ^{13}C -APT NMR analizi spektrumu ise **EK 1.134**'te verilmiştir. **EK 1.133**'te spektrumların 3.8-2.4-ppm aralığına bakıldığında karışım ve saf ürünlerin birbirinden farkı açıkça görülmektedir.

3.2.52. Epoksit bileşiği 186'nın sodyum azid ile reaksiyonu

Bileşik **186**'da bulunan epoksit yapısı NaN_3 ile asetonytril içerisinde açılarak bileşik **188** sentezlendi (Şema 3.61).

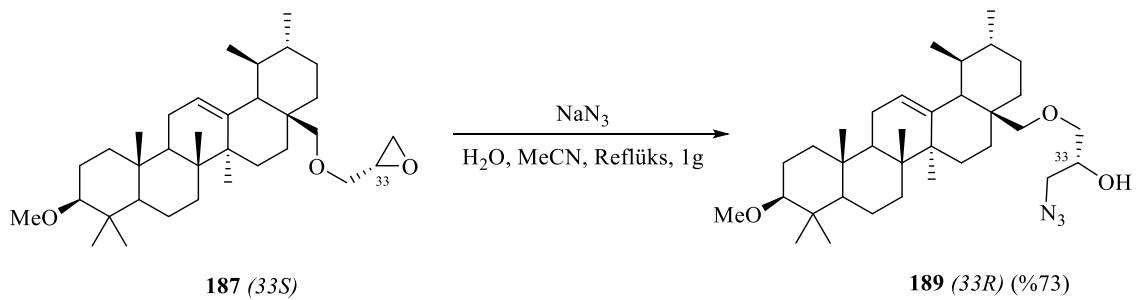


Şema 3.61

Bileşik **188** daha önce elde edilen bileşik **179**'un 33S diastereomerinin saf halidir. Bileşik **186**'da C-33'ün konfigürasyonu *R* olmasına rağmen epoksit açıldıktan sonra öncelikli grupların öncelik sırası değiştiği için ürün *S* olarak karşımıza çıkmış olup konfigürasyon dönüşümü ile bağlantısı yoktur. Bileşik **188**'e ait $^1\text{H-NMR}$ spektrumu **EK 1.135**'te bileşik **179** ve bileşik **188**'in $^1\text{H-NMR}$ analizi spektrumlarının kıyaslamalı görünümü **EK 1.136**'da verilmiştir. Bileşik **188**'e ait $^{13}\text{C-APT}$ NMR ve HSQC NMR analizi spektrumları ise sırasıyla **EK 1.137** ve **EK 1.138**'de verilmiştir.

3.2.53. Epoksit bileşiği **187**'nin sodyum azid ile reaksiyonu

Bileşik **187**'de bulunan epoksit yapısı NaN_3 ile asetonitril içerisinde açılarak bileşik **189** sentezlendi (Şema 3.62).



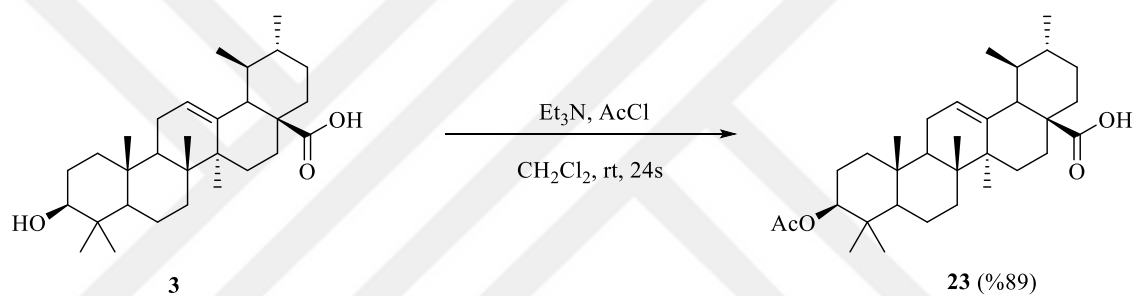
Şema 3.62

Bileşik **189** daha önce diastereomerik karışım olarak elde edilen bileşik **179**'un 33R izomeridir. Bileşik **189**'da C-33 konfigürasyonu *S* olmasına rağmen epoksit açıldıktan sonra öncelikli grupların sırası değiştiği için bu kiral karbon üründe *R* olarak karşımıza çıkmış olup bileşik **188**'de olduğu gibi konfigürasyon dönüşümü ile bağlantısı yoktur.

Bileşik **189**'a ait ^1H -NMR spektrumu **EK 1.139**'da bileşik **179**, bileşik **188** ve bileşik **189**'un ^1H -NMR analizi spektrumlarının kıyaslamalı görünümü **EK 1.140**'da verilmiştir. Bileşik **179**'a ait ^{13}C -APT NMR spektrumu ise **EK 1.141**'de verilmiştir.

3.2.54. Ursolik asitin asetil klorür ile reaksiyonu

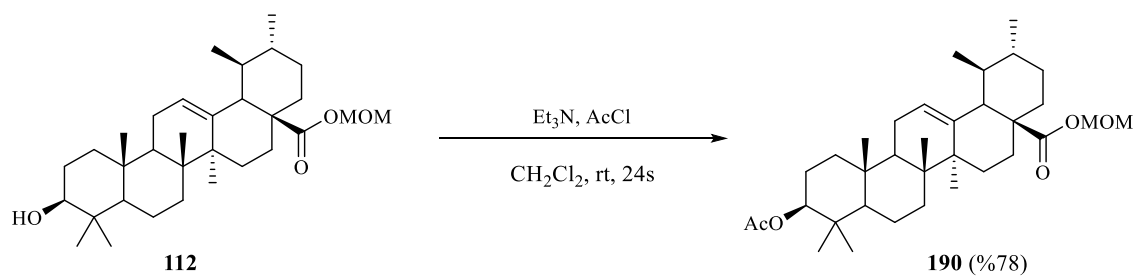
Ursolik asitin trietilamin varlığında asetil klorür ile oda sıcaklığındaki reaksiyonundan 3-asetil ursolik asit elde edildi (Şema 3.63). Bu reaksiyon biyoaktivite çalışmaları için bir ursolik asit türevi elde etmek için yapıldı. Bileşik **14**'e ait ^1H -NMR spektrumu **EK 1.142**'de verilmiştir.



Şema 3.63

3.2.55. Bileşik 112'nin asetil klorür ile reaksiyonu

Bileşik **112**'de karboksil grubu MOM-esteri formunda olup C3 pozisyonundaki OH grubu asetillenmeye uygundur. Bu OH grubunun asetillenmesiyle yeni bir türev olan bileşik **190** elde edildi. Reaksiyon trietilamin varlığında asetik anhidrit ile yapıldı (Şema 3.64). Bileşik **190**'a ait ^1H -NMR spektrumu **EK 1.143**'te verilmiştir. Spektrum yapı ile uyumludur.



Şema 3.18

3.3. Biyolojik Aktivite Çalışmaları

3.3.1. *in vitro* sitotoksikite deneyleri

Triterpen türevlerinin 3T3 fibroblast insan sağlıklı hücreleri üzerine sitotoksik aktiviteleri luminescence testi (Cell-Titer-Glo Luminescent Cell Viability Assay, Promega) ile ölçülen ATP seviyeleri tarafından belirlendi. Canlı hücreler 96 kuyucuklu beyaz renk kültür plaklarına, her bir kuyucukta hücrelerin yoğunluğu 15×10^4 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, 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) lüminesans reaktifi (Cell Titer-Glo Luminescent Cell Viability Assay, Promega) ilave edildi, 2 dakika karıştırıldı ve oda koşullarında 10 dakika inkübe edildi. Sonuçlar luminometry (Varioskan Flash Multimode Reader, Thermo, Waltham, MA) ile hesaplandı.

3.3.2. Hücre içi ROS düzeylerini belirleme çalışmaları

Hücre içi reaktif oksijen seviyesi çalışmalarında ise DCFH-DA floresans özellikli madde kullanılarak 3T3 fibroblast insan sağlıklı hücreleri içerisinde artan oksijen türevlerini ölçen fluorometrik bir yöntem uygulandı. ROS çalışmaları için 13 kere büyütülüp (13. Pasaj) başka kaplara alınan L929 fibroblast hücrelerinden 96 kuyucuklu plakanın her birine 15000 adet ekim yapıldı. 24 saat inkübasyon süresinin ardından sentezlenen triterpenler tatbik edildi. Bu ekim tamamlandıktan sonra 24 saat beklenip maddelerin hücre içi reaktif oksijen seviyesini nasıl etkilediği incelendiği incelendi. Sonuç olarak artan madde konsantrasyonlarıyla hücre içi reaktif oksijen seviyesinin arttığı görülmüştür. ROS çalışmalarının sonuçları araştırma bulguları bölümünde verilmiştir.

3.3.3. Triterpenlerin insan sağlıklı hücresleri üzerindeki genotoksik etkisi

Apoptotik aktiviteyi ölçmek için akrinin oranj/etidinyum bromür floresans boyası kullanarak floresans mikroskopunda triterpenlerin apoptotik aktiviteleri incelendi. 6 kuyucuklu plakalara 50.000 hücre/kuyu olacak şekilde ekilen hücreler 24 saat inkübasyonun ardından farklı konsantrasyonlarda triterpenler ile 24 saat inkübe edildi. Artan triterpen konsantrasyonlarında apoptotik ve nekrotik hücre sayısı artarken canlı hücre sayısı azaldı.



4. ARAŞTIRMA BULGULARI

Deneylerde kullanılan tüm çözücüler, kimyasal maddeler, hücre hatları ve diğer tüm sarf malzemeler ticari olarak satın alındı bazı reaktifler ise deney öncesi laboratuvarda sentezlenerek kullanıldı. Ticari olarak alınan kimyasal maddeler ve çözücüler genellikle yüksek saflıkta olmasına rağmen gerektiği durumlarda saflaştırma işlemleri literatürde (Armarego and Chai 2013) açıklandığı gibi yapıldı.

Kromatografik ayırımlarda çoğunlukla kolon kromatografisi uygulandı. Değişik uzunlukta ve kalınlıktaki cam kolonlarda sabit faz olarak silika jel, yürütücü faz olarak belirli oranlarda etil asetat ve hekzan karışımları kullanıldı. İnce tabaka kromatografisi (TLC) ile deneylerin ve kolon kromatografisinin takibi yapıldı. Preparatif TLC ve kromatotron ise madde miktarının az olduğu ayırımlarda kullanıldı.

Moleküler modelleme deneylerinde ticari olarak satın alınan GOLD Suite ve MOE programı kullanıldı. *in vitro* sitotoksosite deneyleri için ise ticari olarak satın alınan 3T3 Fibroblast insan sağlıklı hücreleri kullanıldı. *in vitro* sitotoksosite deneylerinin sonuçları Elisa Reader (Luminometre) ile hesaplandı.

Yapı tayini ve fiziksel özellikler deneylerin yapıldığı üniversitede veya diğer üniversitelerden ve TÜBİTAK'tan hizmet alımı olarak yapılan analizlerle belirlendi. Yapı tayini için başlıca nükleer manyetik rezonans (NMR) deneyleri (^1H -NMR, ^{13}C -APT NMR, COSY, HSQC ve HMBC), yapıldı. NMR analizlerinin neredeyse tamamı hizmet alımı yoluyla gerçekleştirildi. Maddelerin bir bölümüne kızılötesi (IR) spektrumları kaydedildi. Bazı numuneler için yüksek çözünürlüklü kütle spektroskopisi (HRMS) deneyleri ve tek kristal X-ışını (SC X-Ray) analizleri yapıldı. Katı olarak ele geçen bütün numunelere erime noktası tayinleri yapıldı.

4.1. Deneysel Yöntem

4.1.1. Bileşik 1'in (α -amirin) sentezi

Yeni destillenmiş THF (300 mL) içerisine inert atmosferde LiAlH_4 (12 mmol, 0.4 g, 6 ekv.) bileşik **147** (2 mmol, 1 g, 1 ekv.) konularak 2 gün reflüks yapıldı. TLC ile kontrol edilerek başlangıç bileşiği tükendikten sonra reaksiyon su (5 mL) ile kontrollü bir şekilde sonlandırıldı. Alüminyum kompleksi vakumda süzülerek ayrıldı. Çözücü döner buharlaştırıcıda uzaklaştırıldıktan sonra kalan madde su (2x200 mL) ile yıkanarak kloroform (3x400 mL) ile ekstraksiyon yapıldı. Organik faz Na_2SO_4 üzerinden kurutularak çözücüsü buharlaştırıldı ve bileşik **1** (beyaz katı, 0.82 g, %97 verim) elde edildi.

Bileşik 1: EN: 177 °C; $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3), δ ppm: 5.29 (t, J = 3.62 Hz, 1H), 3.26 (bs, OH, 1H), 3.21 (dd, J = 11.01, 4.98 Hz, 1H), 2.05-1.15 (alifatik bölgeye ait pik grubu, 22H), 1.06 (s, 3H), 1.00 (s, 3H), 0.97 (s, 3H), 0.95 (s, 3H), 0.92 (d, J = 6.00 Hz, 3H), 0.80-0.79 (m, 6H), 0.77 (s, 3H); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3), δ ppm: 139.64, 124.49, 79.10, 59.13, 55.24, 47.78, 42.14, 41.59, 40.07, 39.72, 39.66, 38.85, 38.15, 36.95, 33.80, 33.00, 31.31, 28.80, 28.17, 28.16, 27.33, 26.68, 23.42, 23.32, 21.44, 18.41, 17.52, 16.92, 15.72, 15.67.

4.1.2. Uvaol (2) sentezi

Yeni destillenmiş THF (300 mL) içerisine inert atmosferde LiAlH_4 (120 mmol, 5 g, 6 ekv.) ursolik asit (20 mmol, 10 g, 1 ekv.) konularak 2 gün oda sıcaklığında karıştırıldı. TLC ile kontrol edilerek başlangıç bileşiği tükendikten sonra reaksiyon su (5 mL) ile kontrollü bir şekilde sonlandırıldı. Alüminyum kompleksi jel halini aldığı için vakumda süzülerek ayrıldı. THF evaporatörde uzaklaştırıldıktan sonra kalan madde su (3x300 mL) ile yıkanarak kloroform (3x400) ile ekstraksiyon yapıldı. Organik faz Na_2SO_4 üzerinden kurutularak çözücüsü uzaklaştırıldı ve bileşik **2** (uvaol) (beyaz katı, 9.07 g, %93 verim) elde edildi.

Bileşik 2: EN: 230 °C; ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃), δ ppm: 5.13 (t, J = 3.59Hz, 1H), 3.52 (d, J = 10.96 Hz, AB sisteminin A kısmı, 1H), 3.20 (dd, J = 11.13, 4.78 Hz, 1H), 3.18 (d, J = 10.96 Hz, AB sisteminin B kısmı, 1H), 2.66 (dd, J = 11.72, 4.33 Hz, 1H), 1.90-1.14 (alifatik bölgeye ait pik grubu, 22H), 1.08 (s, 3H), 0.97 (s, 3H), 0.97 (s, 3H), 0.93 (d, J = 8.17 Hz, 3H), 0.80 (d, J = 5.85 Hz, 3H), 0.76 (s, 3H); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃), δ ppm: 138.71, 125.08, 78.67, 69.90, 57.58, 55.72, 54.02, 47.66, 42.02, 40.04, 39.42, 39.35, 38.72, 38.69, 38.00, 36.88, 35.18, 32.83, 30.63, 28.15, 25.99, 23.42, 23.30, 22.07, 21.36, 18.22, 17.38, 16.79, 16.39, 15.69.

4.1.3. Uvaol-3-metil eter (13) bileşiğinin sentezi

Bu reaksiyon 4.1.1’de verilen yöntem ile bileşik 60 (16.5mmol, 8g, 1 ekv) üzerinden sentezlendi ve reaksiyon sonucunda bileşik 13 (beyaz katı, 7.25 g, %96 verim) elde edildi.

Bileşik 13: EN: 217 °C; ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃), δ ppm: 5.13 (t, J = 3.59Hz, 1H), 3.52 (d, J = 10.96 Hz, AB sisteminin A kısmı, 1H), 3.35 (s, 3H), 3.18 (d, J = 10.96 Hz, AB sisteminin B kısmı, 1H), 2.66 (dd, J = 11.72, 4.33 Hz, 1H), 1.90-1.14 (alifatik bölgeye ait pik grubu, 22H), 1.08 (s, 3H), 0.97 (s, 3H), 0.97 (s, 3H), 0.93 (d, J = 8.17 Hz, 3H), 0.80 (d, J = 5.85 Hz, 3H), 0.76 (s, 3H); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃), δ ppm: 138.71, 125.08, 88.67, 69.90, 57.58, 55.72, 54.02, 47.66, 42.02, 40.04, 39.42, 39.35, 38.72, 38.69, 38.00, 36.88, 35.18, 32.83, 30.63, 28.15, 25.99, 23.42, 23.30, 22.07, 21.36, 18.22, 17.38, 16.79, 16.39, 15.69; IR (cm⁻¹): 3472, 2921, 2867, 1453, 1377, 1181, 1102, 1075, 1065, 1025, 991.

4.1.4. Ursolik asitin asetil türevi bileşik 14’ün sentezi

Ursolik asitin (4.4 mmol, 2.0 g, 1 ekv.) metilen klorür (150 mL) içerisindeki çözeltisine trietilamin (22 mmol, 3.13 mL, 5 ekv.) ve asetil klorür (17.5 mmol, 1.28 mL, 4 ekv.) ilave edilerek bir gece karıştırıldı. TLC ile kontrol edilerek başlangıç bileşiği tükendikten sonra reaksiyon sonlandırıldı. Reaksiyon karışımı sırasıyla HCl çözeltisi (%1, 200 mL) ve NaOH çözeltisi (%1, 200 mL) ile yıkanarak metilen klorür (3x200 mL) ile ekstrakte

edildi. Organik faz Na_2SO_4 üzerinde kurutularak çözücü döner buharlaştırıcıda uzaklaştırıldı ve bileşik **14** (beyaz katı, 1.96 g, %89 verim) elde edildi.

Bileşik 14: EN: 284 °C; $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3), δ ppm: 5.21 (t, $J = 3.45\text{Hz}$, 1H), 4.49 (dd, $J = 9.73, 6.26\text{ Hz}$, 1H), 4.49 (dd, $J = 9.73, 6.26\text{ Hz}$, 1H), 2.16 (d, $J = 11.21\text{ Hz}$, 1H), 3.35 (s, 3H), 2.03 (s, 3H), 2.03-1.20 (alifatik bölgeye ait pik grubu, 21H), 1.08 (s, 3H), 0.97 (s, 3H), 0.97 (s, 3H), 0.93 (d, $J = 8.17\text{ Hz}$, 3H), 0.80 (d, $J = 5.85\text{ Hz}$, 3H), 0.76 (s, 3H).

4.1.5. Keton türevi bileşik 27'nin sentezi

Ursolik asitin (10 g, 21 mmol, 1 ekv) metilen klorür (150 mL) içerisindeki çözeltisine PCC (14.1 g, 65 mmol, 3 ekv.) ilave edilerek bir gece oda sıcaklığında karıştırıldı. TLC ile kontrol edilerek başlangıç bileşiği tükendikten sonra reaksiyon sonlandırıldı. Ürün karışımı silika jel kolondan etil asetat hekzan karışımı (1:9) ile süzülerek safsızlıklardan ayrıldı ve bileşik **27** (beyaz katı, 8.7 g, %88 verim) elde edildi.

Bileşik 27: EN: 276 °C; $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3), δ ppm: 5.25 (t, $J = 3.44\text{ Hz}$, 1H), 2.53 (ddd, $J = 15.90, 10.89, 7.34\text{ Hz}$, AB sisteminin A kısmı, 1H), 2.37 (ddd, $J = 15.90, 6.83, 3.66\text{ Hz}$, AB sisteminin B kısmı, 1H), 2.19 (d, $J = 11.24\text{ Hz}$, 1H), 2.03-1.23 (alifatik bölgeye ait pik grubu, 20 H), 1.08 (s, 3H), 1.07 (s, 3H), 1.04 (s, 3H), 1.01 (s, 3H), 0.94 (d, $J = 6.25\text{ Hz}$, 3H), 0.85 (d, $J = 6.44\text{ Hz}$, 3H), 0.81 (s, 3H); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3), δ ppm: 217.79 (CO), 183.99 (COOH), 138.05, 125.56, 55.25, 52.58, 48.02, 47.40, 46.77, 42.06, 39.48, 39.29, 39.04, 38.23, 36.71, 36.69, 34.16, 32.45, 30.61, 29.70, 28.00, 26.56, 24.05, 23.54, 23.43, 21.44, 21.16, 19.55, 16.95, 15.22.

4.1.6. Keton türevi bileşik 30'un sentezi

Bu sentez için 4.1.5'teki yöntem kullanıldı ve bileşik **60** (4.5 g, 22 mmol, 1 ekv.) üzerinden bileşik **30** (beyaz katı 4.25 g, %85 verim) elde edildi.

Bileşik 30: EN: 194 °C; ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃), δ ppm: 5.25 (t, J = 3.44Hz, 1H), 3.54 (s, 3H), 2.53 (ddd, J = 15.90, 10.89, 7.34 Hz, AB sisteminin A kısmı, 1H), 2.37 (ddd, J = 15.90, 6.83, 3.66 Hz, AB sisteminin B kısmı, 1H), 2.19 (d, J = 11.24 Hz, 1H), 2.03-1.23 (alifatik bölgeye ait pik grubu, 20 H), 1.08 (s, 3H), 1.07 (s, 3H), 1.04 (s, 3H), 1.01 (s, 3H), 0.94 (d, J = 6.25 Hz, 3H), 0.85 (d, J = 6.44 Hz, 3H), 0.81 (s, 3H); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃), δ ppm: 217.70 (CO), 177.99 (COO), 138.29, 125.33, 55.29, 52.96, 51.45, 48.13, 47.39, 46.78, 42.12, 39.48, 39.30, 39.06, 38.86, 36.68, 36.60, 34.17, 32.50, 30.65, 28.02, 26.56, 24.21, 23.52, 23.45, 21.49, 21.15, 19.60, 17.03, 16.88, 15.20.

4.1.7. Ursolik asitin MeI ile reaksiyonu (60, 113 ve 142'nin sentezi)

Birinci yol: THF (300 mL) içerisindeki KOH (525 mmol, 30 g, 12 ekv.) çözeltisine ursolik asit (65 mmol, 30 g, 1 ekv.) ilave edilerek 30 dakika ısıtıldı. Daha sonra MeI (656 mmol, 40 mL, 15 ekv.) ilave edilerek 6 gün reflüks yapıldı. TLC ile takip edilen reaksiyonda çıkış bileşiği bitince iki farklı ürün oluştuğu gözlemlendi. Reaksiyon durduruldu çözücüsü evaporatörde uzaklaştırılarak geriye kalan kısım su (3x300 mL) ile yıkandı ve organik faz Na₂SO₄ üzerinden kurutularak çözücüsü uzaklaştırıldı. Ürünler karışımı silika jel kolon kromatografisinde etil asetat hekzan karışımı (1:9) kullanılarak birbirlerinden ayrıldılar. Kolondan birinci sırada alınan madde, ursolik asidin dimetoksi türevi bileşik **113** (beyaz katı, 2.49 g, %8 verim) ve kolondan ikinci sırada alınan madde bileşik **60** yapısındadır (beyaz katı, 26.75 g, %87 verim).

İkinci yol: Yeni destillenmiş THF (300 mL) içerisine inert atmosferde NaH (%60, 175 mmol, 7 g, 8 ekv.) ve ursolik asit (22 mmol, 10 g, 1 ekv.) ilave edilerek 30 dakika ısıtıldı. MeI (260 mmol, 16 mL, 12 ekv.) ilave edilerek 2 gün reflüks yapıldı. TLC ile takip edilen reaksiyonda çıkış bileşiği bitince KOH ile yapılan reaksiyonda olduğu gibi iki farklı ürün oluştuğu gözlemlendi. Reaksiyon durduruldu ve ortamdaki sodyum hidrürün fazlası su (15 mL) ile kontrollü bir şekilde hidroliz edildi. Reaksiyon çözücüsü döner buharlaştırıcıda uzaklaştırılarak geriye kalan kısım su ile (3x300 mL) yıkandı ve organik faz Na₂SO₄ üzerinden kurutularak çözücüsü uzaklaştırıldı. Ürünler karışımına silika jel kolon kromatografisi yapıldı etil asetat hekzan karışımı (1:9) ile birbirlerinden ayrıldılar. Kolondan birinci sırada alınan madde, bileşik **113** (beyaz katı, 8,5 g, %82 verim) ve

kolonda ikinci sırada alınan madde bileşik **142** (beyaz katı, 0.72 g, %7 verim) yapısındadır.

Üçüncü yol: Bileşik **142**, bileşik **113**'ün KOH ile hidroliz edilmesinden de elde edildi. Bileşik **113**'ün (0.5 mmol, 250 mg, 1 ekv.) su-THF (10:30 mL) karışımındaki çözeltisi KOH (5 mmol, 290 mg, 10 ekv.) ilave edildi ve 2 gün reflüks yapıldı. Reaksiyon TLC ile takip edilip çıkış bileşiğinin tükenmediği görülünce reaksiyon durduruldu. THF uzaklaştırıldıktan sonra madde HCl çözeltisi (%1, 50 mL) ile yıkanarak kloroform ile ekstrakte edildi (3x75 mL). Organik faz Na₂SO₄ üzerinden kurutularak çözücüsü uzaklaştırıldı. Çıkış bileşiği üründen silika jel kolon kromatografisi ile ayrıldı ve bileşik **142** (beyaz katı, 50 mg, %20 verim) elde edildi.

Bileşik 60: EN: 168 °C; ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃), δ ppm: 5.21 (t, *J* = 3.57, Hz, 1H), 3.57 (s, 3H), 3.17 (dd, *J* = 10.66, 5.21 Hz, 1H), 2.20 (d, *J* = 11.25 Hz, 1H), 1.96 (dt, *J* = 13.37, 4.49 Hz, 1H), 1.88 (dd, *J* = 8.85, 3.61 Hz, 2H), 1.83-1.17 (alifatik bölge pik grubu, 18H), 1.05 (s, 3H), 0.96 (s, 3H), 0.91 (d, *J* = 6.19 Hz, 3H), 0.89 (s, 3H), 0.71 (s, 3H); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃), δ ppm: 177.97, 138.08, 125.55, 78.84, 55.24, 52.84, 51.41, 48.03, 47.53, 41.94, 39.46, 39.01, 38.84, 38.71, 38.64, 36.93, 36.59, 32.96, 30.63, 28.15, 28.00, 27.18, 24.20, 23.60, 23.27, 21.17, 18.30, 16.87, 15.66, 15.42; IR (cm⁻¹): 3530, 3448, 2943, 2924, 2867, 1718, 1453, 1384, 1230, 1200, 1144, 1029, 995.

Bileşik 113: EN: 165 °C; ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃), δ ppm: 5.18 (t, *J* = 3.61, Hz, 1H), 3.54 (s, 3H), 3.29 (s, 3H), 2.59 (dd, *J* = 11.72, 4.32 Hz, 1H), 2.16 (d, *J* = 11.07 Hz, 1H), 1.93 (dt, *J* = 13.42, 4.54 Hz, 1H), 1.84 (dd, *J* = 8.86, 3.64 Hz, 2H), 1.83-1.17 (alifatik bölge pik grubu, 18H), 1.05 (s, 3H), 0.96 (s, 3H), 0.91 (d, *J* = 6.19 Hz, 3H), 0.89 (s, 3H), 0.71 (s, 3H); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃), δ ppm: 177.92, 137.99, 125.48, 88.53, 57.42, 55.63, 52.73, 51.34, 47.93, 41.83, 39.37, 38.91, 38.73, 38.53, 38.38, 36.84, 36.50, 32.84, 30.53, 30.19, 28.03, 28.87, 24.09, 23.47, 23.20, 21.89, 21.10, 18.07, 16.94, 16.79, 16.26, 15.30; IR (cm⁻¹): 2924, 1726, 1456, 1385, 1225, 1183, 1102, 1008, 973.

Bileşik 142: EN: 207 °C; ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃), δ ppm: 5.16 (t, *J* = 3.47 Hz, 1H), 3.29 (s, 3H), 2.59 (dd, *J* = 11.72, 4.29 Hz, 1H), 2.11 (d, *J* = 11.27 Hz, 1H), 1.95-

1.18 (alifatik bölgeye ait pik grubu, 22H), 1.08 (s, 3H), 0.98 (s, 3H), 0.94 (d, $J = 6.21$ Hz, 3H), 0.90 (s, 3H), 0.85 (d, $J = 6.47$ Hz, 3H), 0.79 (s, 3H), 0.79 (s, 3H); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3), δ ppm: 184.27, 137.93, 125.89, 88.80, 57.60, 55.82, 52.50, 47.98, 47.56, 41.89, 39.53, 39.05, 38.85, 38.72, 38.54, 37.06, 36.76, 32.95, 30.64, 28.18, 28.01, 24.06, 23.65, 23.34, 22.08, 21.25, 18.17, 17.06, 16.36, 15.48; **IR** (cm^{-1}): 3349, 2967, 2924, 2869, 1688, 1456, 1386, 1235, 1184, 1003.

4.1.8. Ursolik asitin MOMBr ile reaksiyonu (112 ve 139'un sentezi)

Birinci yol: Yeni destillenmiş THF (250 mL) içerisindeki NaH (%60, 13 mmol, 525 mg, 3 ekv.) üzerine inert atmosferde oda sıcaklığında ursolik asit (4.4 mmol, 2 g, 1 ekv.) ve MOMBr (8.8 mmol, 0.73 mL, 2 ekv.) ilave edildi. MOMBr ilavesinden sonra reaksiyon karışımı beyaz bir renge dönüştü. TLC ile kontrol edilerek başlangıç bileşiği tükendikten sonra reaksiyon su (5 mL) ile kontrollü bir şekilde sonlandırıldı. Reaksiyon çözücüsü döner buharlaştırıcıda uzaklaştırıldı. Geriye kalan kısım su ile (3x200 mL) yıkandı ve kloroform (300 mL) ile ekstrakte edildi. Organik faz Na_2SO_4 üzerinden kurutularak çözücüsü uzaklaştırıldı ve bileşik **112** (beyaz katı, 2 g, %91 verim) elde edildi.

İkinci yol: Yeni destillenmiş THF içerisindeki NaH (%60, 26 mmol, 1.0 g, 6 ekv.) üzerine inert atmosferde ursolik asit (4.4 mmol, 2 g, 1 ekv.) ve MOMBr (35 mmol, 2.86 mL, 8 ekv.) ilave edilerek bir hafta reflüks yapıldı. TLC ile kontrol edilerek başlangıç bileşiği tükendikten sonra reaksiyon su (5 mL) ile kontrollü bir şekilde sonlandırıldı. Reaksiyon çözücüsü döner buharlaştırıcıda uzaklaştırıldı. Geriye kalan kısım su ile (3x200 mL) yıkandı ve kloroform (300 mL) ile ekstrakte edildi. Organik faz Na_2SO_4 üzerinden kurutularak çözücüsü uzaklaştırıldı. Reaksiyon karışımındaki iki madde birbirinde kolon kromatografisi ile etil asetat hekzan (1:9) kullanılarak ayrıldı. Kolondan ilk ayrılan ürün ursolik asitin di-MOM türevi bileşik **139** numaralı bileşiktir (beyaz katı, 600 mg, %18 verim). Kolondan ikinci sırada alınan diğer ürün ise **112** numaralı maddedir (beyaz katı, 1.30 g %75 verim). Reaksiyonda önce **112** oluşmakta ve **139** numaralı bileşik **112** üzerinden meydana gelmektedir. Ancak bu şartlarda **112**'nin tamamı **139**'a dönüşmemiştir.

Bileşik 112: EN: 142 °C; ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃), δ ppm: 5.26 (t, J = 3.57 Hz, olefinik 1H), 5.19 (d, J = 5.95 Hz, AB sisteminin A kısmı, 1H), 5.16 (d, J = 5.95 Hz, AB sisteminin B kısmı, 1H), 3.44 (s, OMe, 3H), 3.20 (dd, J = 11.13, 4.78 Hz, 1H), 2.25 (d, J = 11.25 Hz, 1H), 2.07-1.05 (alifatik bölgeye ait pik grubu, 22H), 1.08 (s, 3H), 0.98 (s, 3H), 0.94 (d, J = 6.21 Hz, 3H), 0.90 (s, 3H), 0.85 (d, J = 6.47 Hz, 3H), 0.79 (s, 3H), 0.79 (s, 3H); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃), δ ppm: 177.07, 138.08, 125.71, 90.57, 79.01, 57.63, 55.21, 52.71, 48.36, 47.54, 42.09, 39.57, 39.08, 38.75, 38.63, 36.96, 36.64, 33.08, 30.65, 28.15, 27.95, 27.21, 14.13, 23.52, 23.31, 21.20, 18.31, 17.07, 17.01, 15.65, 15.47; IR (cm⁻¹): 3535, 2947, 2924, 2868, 1712, 1449, 1385, 1235, 1210, 1150, 1022, 999.

Bileşik 139: ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃), δ ppm: 5.20 (t, J = 3.53 Hz, 1H), 5.11 (dd, J = 16.08, 5.95 Hz, 1H), 4.68 (d, J = 6.87 Hz, 1H), 4.53 (d, J = 6.79 Hz, 1H), 3.38 (s, 3H), 3.32 (s, 3H), 3.02 (dd, J = 11.54, 4.39 Hz, 1H), 2.19 (d, J = 11.24 Hz, 1H), 2.00-1.36 (alifatik bölgeye ait pik grubu, 22H), 1.08 (s, 3H), 0.98 (s, 3H), 0.94 (d, J = 6.21 Hz, 3H), 0.90 (s, 3H), 0.85 (d, J = 6.47 Hz, 3H), 0.79 (s, 3H), 0.79 (s, 3H).

4.1.9. Uvaol-3-metil eterin *p*-nitrobenzoil türevi bileşik 117'nin sentezi

Yeni destillenmiş THF (150 mL) içerisine inert atmosferde NaH (13.14 mmol, 315 mg, 3 ekv.) ve bileşik 13 (4.38 mmol, 2 g, 1 ekv.) konularak yarım saat ısıtıldı. Daha sonra *p*-nitrobenzoil klorür (6.6 mmol, 1.25 g, 1.5 ekv.) ilave edilerek bir gece reflüks yapıldı. TLC ile kontrol edilerek çıkış bileşiği bittikten sonra reaksiyon su (5 mL) ile sonlandırıldı. THF uzaklaştırıldıktan sonra ham ürün su (3x200 mL) ile yıkanarak kloroform (3x250 mL) ile ekstraksiyon yapıldı. Organik faz Na₂SO₄ üzerinden kurutularak çözücü buharlaştırıldı. Geriye kalan madde silika jel kolondan etil asetat hekzan karışımı (1:9) ile süzülerek saflaştırıldı ve bileşik 117 (beyaz katı, 2.40 g, %90 verim) elde edildi.

Bileşik 117: ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃), δ ppm: 8.28 (d, J = 8.90 Hz, 2H), 8.18 (d, J = 8.90 Hz, 2H), 5.18 (t, J = 3.49 Hz, 1H), 4.39 (d, J = 11.09 Hz, AB sisteminin A kısmı, 1H), 3.88 (d, J = 11.09 Hz, AB sisteminin B kısmı, 1H), 3.34 (s, 3H), 2.66 (dd, J = 11.68, 4.27 Hz, 1H), 2.07- 1.19 (alifatik bölgeye ait pik grubu, 22H); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃), δ ppm: 164.70 (COO), 150.48, 137.96, 136.03, 130.72, 130.70, 126.06, 123.60,

88.70, 72.65, 57.60, 55.76, 54.53, 47.68, 42.05, 40.07, 39.46, 39.30, 38.74, 37.39, 36.92, 36.04, 32.80, 30.52, 28.18, 26.13, 23.64, 23.51, 23.43, 22.97, 21.32, 18.20, 17.35, 16.79, 16.43, 15.70.

4.1.10. Uvaol-3-metil eterin mesilat türevi bileşik 118'in sentezi

Uvaol-3-metil eterin (**13**) (15.3 mmol, 7 g, 1 ekv.) metilen klorür (250 mL) içerisindeki çözeltisine oda sıcaklığında trietilamin (61,3 mmol, 8.5 ml, 4 ekv) ve metan sülfonil klorür (46 mmol, 3.65 ml, 3 ekv.) ilave edilerek bir gece karıştırıldı. TLC ile kontrol edilerek sonlandırıldı. Reaksiyon karışımı sırasıyla HCl (%1, 200 mL) ve NaOH (%1, 200 mL) çözeltisi ile yıkanarak metilen klorür (3x200 mL) ile ekstrakte edildi. Organik faz Na₂SO₄ üzerinden kurutularak çözücü döner buharlaştırıcıda uzaklaştırıldı ve bileşik **118** (beyaz katı, 6.72 g, %82 verim) elde edildi.

Bileşik 118: EN: 159-160 °C; ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃), δ ppm: 5.17 (t, J = 3.53Hz, 1H), 4.18 (d, J = 9.27 Hz, AB sisteminin A kısmı, 1H), 3.70 (d, J = 9.27 Hz, AB sisteminin B kısmı, 1H), 3.34 (s, OMe, 3H), 2.94 (s, SMe, 3H), 2.65 (dd, J = 11.69, 4.30 Hz, 1H), 1.98(dt, J = 13.87, 4.78 Hz, 1H), 1.91 (dd, J = 8.82, 3.60 Hz, 2H), 1.81-1.15 (alifatik bölgeye ait pik grubu, 19H), 1.09 (s, 3H), 0.99 (s, 3H), 0.96 (s, 3H), 0.93 (s, 3H), 0.93 (d, J = 3.61 Hz, 3H), 0.81 (d, J = 5.72 Hz, 3H), 0.75 (s, 3H); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃), δ ppm: 137.72, 126.24, 88.62, 76.94, 57.55, 55.71, 53.90, 47.59, 46.22, 41.94, 40.09, 39.24, 39.20, 38.70, 37.32, 36.90, 36.87, 35.33, 32.72, 30.27, 28.14, 25.81, 23.46, 23.36, 22.99, 22.05, 21.20, 18.15, 17.22, 16.72, 16.38, 15.65; IR (cm⁻¹): 2919, 1716, 1541, 1456, 1348, 1178, 1101, 967, 834, 747, 529.

4.1.11. Keton türevi bileşik 121'in sentezi

Bu reaksiyon 4.1.5'te verilen yöntem ile bileşik **1** (α -amirin) (400 mg, 1 mmol, 1 ekv) üzerinden sentezlendi ve reaksiyon sonucunda bileşik **121** (beyaz katı, 350 mg, %88 verim) elde edildi.

Bileşik 121: EN: 99-100 °C; ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃), δ ppm: 5.13 (t, J = 3.50 Hz, 1H), 2.52 (ddd, J = 15.90, 10.91, 7.37 Hz, AB sisteminin A kısmı, 1H), 2.36 (ddd, J = 15.90, 7.00, 3.78 Hz, AB sisteminin B kısmı, 1H), 2.02-1.23 (alifatik bölgeye ait pik grubu, 20H), 1.06 (s, 3H), 1.00 (s, 3H), 0.97 (s, 3H), 0.95 (s, 3H), 0.92 (d, J = 6.00 Hz, 3H), 0.79 (s, 6H), 0.77 (s, 3H) ; ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃), δ ppm: 216.66 (CO), 138.70, 123.20, 58.13, 54.25, 46.38, 45.90, 41.21, 40.94, 38.98, 38.58, 38.48, 35.59, 33.18, 32.77, 31.45, 30.23, 28.70, 27.76, 27.07, 25.60, 25.57, 22.53, 22.18, 20.49, 20.37, 18.64, 16.47, 15.81, 14.41.

4.1.12. Ursolik asitin MEM türevi bileşik 137'nin sentezi

Yeni destillenmiş THF (150 mL) içerisine inert atmosferde NaH (%60, 2.5 mmol, 100 mg, 2.5 ekv.), ursolik asit (1 mmol, 456.71 mg, 1 ekv.) ve MEMCl (2.75 mmol, 0.32 mL, 2.75 ekv.) ilave edilerek oda sıcaklığında 20 saat karıştırıldı. TLC ile kontrol edilerek başlangıç bileşiği tükendikten sonra reaksiyon su (5 mL) ile kontrollü bir şekilde sonlandırıldı. Reaksiyon çözücüsü döner buharlaştırıcıda uzaklaştırıldı. Geriye kalan kısım su ile (3x200 mL) yıkandı ve kloroform (300 mL) ile ekstrakte edildi. Organik faz Na₂SO₄ üzerinden kurutularak çözücüsü uzaklaştırıldı ve bileşik **137** (beyaz katı, 485 mg, %89 verim) elde edildi.

Bileşik 137: ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃), δ ppm: 5.24 (d, J = 6.10 Hz, AB sisteminin A kısmı, 1H), 5.23 (t, J = 3.54 Hz, 1H), 5.22 (d, J = 6.10 Hz, AB sisteminin B kısmı, 1H), 3.74-3.68 (m, 2H), 3.50 (t, J = 4.69 Hz, 2H), 3.34 (s, OMe, 3H), 3.18 (dd, J = 10.81, 5.03 Hz, 1H), 2.20 (d, J = 11.26 Hz, 1H), 2.0-1.20 (alifatik bölge pik grubu, 22H) 1.04 (s, 3H), 0.94 (s, 3H), 0.90 (d, J = 6.18 Hz, 3H), 0.87 (s, 3H), 0.81 (d, J = 6.47 Hz, 3H), 0.77 (s, 3H), 0.73 (s, 3H) ; ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃), δ ppm: 176.90, 138.10, 125.67, 89.81, 78.83, 71.45, 69.35, 59.10, 55.18, 52.67, 47.50, 42.08, 39.55, 38.80, 38.68, 36.90, 36.52, 33.05, 31.55, 30.61, 28.16, 27.90, 27.18, 24.10, 23.50, 23.25, 22.66, 21.17, 18.28, 17.15, 17.00, 16.67, 16.45, 14.16; IR (cm⁻¹): 3542, 2941, 2921, 2864, 1714, 1441, 1388, 1236, 1212, 1152, 1023, 992.

4.1.13. Ursolik asitin TBDMS türevi bileşik 140'ın sentezi

Ursolik asitin (6.63 mmol, 3.0 g, 1 ekv.) metilen klorürdeki çözeltisine oda sıcaklığında trietilamin (19.88 mmol, 2.76 mL, 3 ekv.) ve TBDMSCl (9.85 mmol, 1.50 g, 1.5 ekv.) ilave edilerek bir gece karıştırıldı. TLC ile kontrol edilerek başlangıç bileşiği tükendikten sonra reaksiyon sonlandırıldı. Reaksiyon karışımı su (2x200 mL) ile yıkanarak metilen klorür (2x200 mL) ile ekstrakte edildi. Organik faz Na_2SO_4 üzerinden kurutularak çözücüsü uzaklaştırıldı ve bileşik **140** (beyaz katı, 3.20g, %84 verim) elde edildi.

Bileşik 140: $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3), δ ppm: 5.03 (t, $J = 3.57, 3.57$ Hz, 1H), 3.01 (dd, $J = 11.11, 4.86$ Hz, 1H), 1.96 (d, $J = 10.98$ Hz, 1H), 1.80-1.00 (alifatik bölgeye ait pik grubu, 22H), 0.87 (s, 3H), 0.78 (s, 3H), 0.71 (s, 12H), 0.64 (d, $J = 6.46$ Hz, 3H), 0.60 (s, 3H), 0.57 (s, 1H); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3), δ ppm: 178.07, 138.13, 125.50, 79.06, 55.23, 53.07, 49.06, 47.56, 42.22, 39.56, 39.25, 38.99, 38.75, 38.65, 36.99, 36.74, 33.19, 30.82, 28.16, 28.03, 27.24, 26.00, 25.66, 25.52, 24.54, 23.38, 23.25, 21.23, 18.33, 17.62, 17.53, 17.06, 15.64, 15.52, -5.01, -5.08

4.1.14. Ursolik asitin TMS türevi bileşik 141'in sentezi

Ursolik asitin (1 mmol, 500 mg, 1 ekv.) metilen klorür (100 mL) içerisindeki çözeltisine trietilamin (3 mmol, 0.48 mL, 3 ekv.) ve trimetil silil klorür (TMSCl) (2 mmol, 0.26 mL, 2 ekv.) ilave edilerek oda sıcaklığında 1 gün karıştırıldı. TLC ile kontrol edilerek başlangıç bileşiği tükendikten sonra reaksiyon sonlandırıldı. Reaksiyon karışımı su (100 mL) ile yıkanarak metilen klorür (100 mL) ile ekstrakte edildi. Organik faz sodyum sülfat üzerinden kurutularak çözücüsü uzaklaştırıldı ve bileşik **141** (krem renkli katı, 450 mg, %77 verim) elde edildi.

Bileşik 141: EN: 226-230 °C; $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3), δ ppm: 5.21 (t, $J = 3.57$, Hz, 1H), 3.17 (dd, $J = 10.66, 5.21$ Hz, 1H), 2.20 (d, $J = 11.25$ Hz, 1H), 1.96 (dt, $J = 13.37, 4.49$ Hz, 1H), 1.88 (dd, $J = 8.85, 3.61$ Hz, 2H), 1.83-1.17 (alifatik bölge pik grubu, 18H), 1.05 (s, 3H), 0.96 (s, 3H), 0.91 (d, $J = 6.19$ Hz, 3H), 0.89 (s, 3H), 0.71 (s, 3H), 0.09 (s, TMS, 9H); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3), δ ppm: 183.79 (COOH), 138.08, 125.55,

79.21, 55.24, 52.84, 51.41, 48.03, 47.53, 41.94, 39.46, 39.01, 38.84, 38.71, 38.64, 36.93, 36.59, 32.96, 30.63, 28.15, 28.00, 27.18, 24.20, 23.60, 23.27, 21.17, 18.30, 16.87, 15.66, 15.42. 0.00 (OTMS).

4.1.15. Uvaol-3-metil eterin tosilat türevi bileşik 143'ün sentezi

Yeni destillenmiş THF (150 mL) içerisine inert atmosferde NaH (13.1 mmol, 525 mg, 6 ekv.) ve bileşik 13 (2.19 mmol, 1 g, 1 ekv.) konularak yarım saat ısıtıldı. Daha sonra *p*-TsCl (6.57 mmol, 1.25 g, 3 ekv.) ilave edilerek bir hafta reflüks yapıldı. TLC ile kontrol edilerek çıkış bileşiğinin tükenmediği ve uzun bir süre reaksiyonun değişmediği gözlenince reaksiyon su (15 mL) ile sonlandırıldı. THF uzaklaştırıldıktan sonra ham ürün su (3x200 mL) ile yıkanarak kloroform (3x250 mL) ile ekstraksiyon yapıldı. Organik faz Na₂SO₄ üzerinden kurutularak çözücü buharlaştırıldı. Geriye kalan madde silika jel kolondan etil asetat hekzan karışımı (1:9) ile süzülerek saflaştırıldı ve bileşik 143 (açık sarı renkli katı, 0.16 g, %12 verim) elde edildi.

Bileşik 143: ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃), δ ppm: 7.73 (d, *J* = 8.15 Hz, 2H), 7.30 (d, *J* = 8.15 Hz, 2H), 5.01 (t, *J* = 3.40 Hz, 1H), 3.87 (d, *J* = 9.00 Hz, AB sisteminin A kısmı, 1H), 3.48 (d, *J* = 9.00 Hz, AB sisteminin B kısmı, 1H), 3.34 (s, OMe, 3H), 2.63 (dd, *J* = 11.68, 4.29 Hz, 1H), 2.43 (s, benzilik, 3H), 1.95-1.18 (alifatik bölgeye ait pik grubu, 22H), 1.08 (s, 3H), 0.98 (s, 3H), 0.94 (d, *J* = 6.21 Hz, 3H), 0.90 (s, 3H), 0.85 (d, *J* = 6.47 Hz, 3H), 0.79 (s, 3H), 0.79 (s, 3H).

4.1.16. Amirin türevi bileşik 144'ün sentezi

Birinci yol: Yeni destillenmiş THF (150 mL) içerisine inert atmosferde bileşik 118 (1.9 mmol, 1 g, 1 ekv.) ve LiEt₃BH (38 mmol, 37 mL, 20 ekv) konularak 1 hafta reflüks yapıldı. Reaksiyonun ilerleyişi değişmeyince LiEt₃BH'ün fazlası su (5 mL) ile hidroliz edildi. Çözücü evaporatörde uzaklaştırıldı. Reaksiyon ürünleri su (200 mL) ile yıkanıp kloroform (300 mL) ile ekstrakte edildi. Organik faz Na₂SO₄ üzerinden kurutularak çözücüsü döner buharlaştırıcıda uzaklaştırıldı. Karışımdaki ürünler silika jel kolon kromatografisi yapılarak etil asetat hekzan (1:19) ile birbirlerinden ayrıldılar. Kolondan

birinci sırada alınan bileşik **144** (krem renkli katı, 0.22 g %26 verim) ve kolondan ikinci sırada alınan ürün ise bileşik **13** (beyaz katı, 0.53 g, %62 verim) yapısındadır. Bileşik **13**'ün bu reaksiyonda elde edilme sebebi sülfonil grubunun hidroliz olmasından dolayıdır.

İkinci yol: Bileşik **144** ayrıca bileşik **145** üzerinden de elde edildi. Yeni destillenmiş THF (150 mL) içine inert atmosferde LiAlH_4 (19.2 mmol, 730 mg, 10 ekv.) ve bileşik **145** (1.9 mmol, 1 g, 1 ekv.) ilave edilip 2 gün reflüks yapıldı. TLC ile kontrol edilerek iki gün sonunda reaksiyon su (5 mL) ile sonlandırıldı ve oluşan alüminyum kompleksi süzüldü. Reaksiyon çözücüsü döner buharlaştırıcıda uzaklaştırıldıktan sonra su (200 mL) ile yıkanıp kloroform (300 mL) ile ekstraksiyon yapıldı. Organik faz Na_2SO_4 üzerinden kurutularak çözücüsü uzaklaştırıldı ve bileşik **144** (beyaz katı, 640 mg, %89 verim) elde edildi.

Bileşik 144: EN: 208 °C; $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3), δ ppm: 5.12 (t, $J = 3.59\text{Hz}$, 1H), 3.35 (s, OMe, 3H), 2.67 (dd, $J = 11.71, 4.32\text{ Hz}$, 1H), 2.05-1.15 (alifatik bölgeye ait pik grubu, 22H), 1.06 (s, 3H), 1.00 (s, 3H), 0.97 (s, 3H), 0.95 (s, 3H), 0.92 (d, $J = 6.00\text{ Hz}$, 3H), 0.79 (m, 6H), 0.77 (s, 3H); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CDCl_3), δ ppm: 139.56, 124.47, 88.70, 59.06, 57.52, 55.75, 47.72, 42.06, 41.53, 40.05, 39.66, 39.59, 38.70, 36.90, 33.74, 32.95, 31.25, 30.31, 29.69, 28.74, 28.14, 26.60, 23.40, 23.24, 22.08, 21.39, 18.24, 17.47, 16.87, 16.37, 15.51.

4.1.17. Uvaol-3-metil eterin brom türevi bileşik 145'in sentezi

Bileşik **13**'ün (11 mmol, 5 g, 1 ekv.) asetonitril (120 mL) içerisindeki çözeltisine sırasıyla PPH_3 (27 mmol, 7.18 g, 2.5 ekv.) ve CBr_4 (33 mmol, 10.9 g, 3 ekv.) ilave edilerek bir gece reflüks yapıldı. TLC ile kontrol edildikten sonra reaksiyon sonlandırıldı. Asetonitril evaporatörde uzaklaştırıldıktan sonra kalan madde su (200 mL) ile yıkanarak kloroform (300 mL) ile ekstraksiyon yapıldı. Organik faz Na_2SO_4 ile kurutulduktan sonra çözücü uzaklaştırıldı. Ham ürün etil asetat hekzan karışımı (1:25) ile silika jel kolon kromatografisi ile saflaştırıldı ve bileşik **145** (açık sarı renkli katı, 4.78 g, %84) elde edildi.

Bileşik 145: EN: 153-154 °C; ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃), δ ppm: 5.16 (t, J = 3.58 Hz, 1H), 3.56 (d, J = 10.15 Hz, AB sisteminin A kısmı, 1H), 3.34 (s, 3H), 3.03 (d, J = 10.15 Hz, AB sisteminin B kısmı, 1H), 2.66 (dd, J = 11.70, 4.33 Hz, 1H), 1.92-1.20 (alifatik bölgeye ait pik grubu, 22H), 1.08 (s, 3H), 0.97 (s, 3H), 0.96 (s, 3H), 0.93 (s, 3H), 0.92 (d, J = 6.51 Hz, 3H), 0.81 (d, J = 6.11 Hz, 3H), 0.76 (s, 3H); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃), δ ppm: 138.04, 125.92, 88.62, 57.54, 56.36, 55.74, 47.63, 47.28, 41.90, 40.13, 40.00, 39.40, 38.72, 37.23, 36.90, 36.89, 32.63, 30.62, 28.18, 25.92, 24.11, 23.50, 23.47, 22.08, 21.25, 18.21, 17.37, 16.46, 16.40, 15.67; IR (cm⁻¹): 2924, 2861, 1458, 1372, 1188, 1105, 1076, 1068, 1025, 990.

4.1.18. Amirin türevi bileşik 146'nın sentezi

Bileşik **144** üzerinden demetilasyon ile α -amirin sentezi hedeflenirken BBr₃'ün oluşturduğu istenmeyen ürün olarak elde edilmiştir. Bileşik **144**'ün (1 g, 2.27 mmol, 1 ekv) metilen klorür (100 mL) içerisindeki çözeltisine oda sıcaklığında BBr₃ (0,3 mL, 5 mmol 2 ekv.) ilave edildi. 1 saat sonra TLC ile kontrol edilip reaksiyon sonlandırıldı. Su (50 mL) ile yıkanıp kloroform (100 mL) ile ekstrakte edildi. Organik faz Na₂SO₄ üzerinden kurutularak çözücüsü uzaklaştırıldı. Reaksiyon karışımından bileşik **146** (sarı katı, 0.7 g, %72 verim) süzülerek ayrıldı.

Bileşik 146: ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃), δ ppm: 5.27-5.11 (m, olefinik, 2H), 5.17 (t, J = 3.56 Hz, 1H), 2.72-1.25 (alifatik bölgeye ait pik grubu, 20H), 1.08 (s, 3H), 0.97 (s, 3H), 0.97 (s, 3H), 0.93 (d, J = 8.17 Hz, 3H), 0.80 (d, J = 5.85 Hz, 3H), 0.76 (s, 3H); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃), δ ppm: 139.60, 125.09, 121.82, 116.09, 59.68, 56.80, 52.23, 46.31, 41.92, 39.86, 38.56, 37.69, 36.12, 33.13, 32.40, 30.80, 30.05, 28.34, 28.21, 27.93, 26.77, 26.40, 25.40, 23.07, 22.19, 21.40, 20.21, 19.94, 17.57, 14.14.

4.1.19. Uvaol'un bromlanması (147 ve 148'in sentezi)

Bu reaksiyon 4.1.17'de verilen yöntem ile aynı şekilde yapıldı. Ürün karışımındaki maddeler etil asetat hekzan karışımı (1:25) ile silika jel kolondan kullanılarak birbirlerinden ayrıldılar. Bileşik **147** (beyaz renkli pamuksu katı, 3.35 g, %68 verim) yer

değiştirme ürünü olarak, bileşik **148** (açık sarı renkli katı, 1.15 g, % 23 verim) ise hem yer değiştirme hem de eliminasyon ürünü olarak elde edildi.

Bileşik 147: $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3), δ ppm: 5.16 (t, $J = 3.58$ Hz, 1H), 3.58 (d, $J = 10.13$ Hz, AB sisteminin A kısmı, 1H), 3.21 (dd, $J = 11.14, 4.82$ Hz, 1H), 2.19 (d, $J = 11.24$ Hz, 1H), 3.05 (d, $J = 10.13$ Hz, AB sisteminin B kısmı, 1H), 1.95-1.18 (alifatik bölgeye ait pik grubu, 22H), 1.08 (s, 3H), 0.98 (s, 3H), 0.94 (d, $J = 6.21$ Hz, 3H), 0.90 (s, 3H), 0.85 (d, $J = 6.47$ Hz, 3H), 0.79 (s, 3H), 0.79 (s, 3H); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3), δ ppm: 138.11, 125.90, 79.04, 56.36, 55.18, 47.64, 47.47, 41.94, 40.16, 39.97, 39.43, 38.81, 38.07, 37.28, 36.92, 36.90, 32.62, 30.62, 28.16, 27.28, 25.95, 24.12, 23.48, 21.26, 18.34, 17.37, 16.47, 15.72, 15.67; **HRMS (APCI-Tof):** ($m/z - \text{OH}$ veya $- \text{H}_2\text{O} + \text{H}$) hesaplanan $\text{C}_{30}\text{H}_{48}^{81}\text{Br}$: 489.2919, Bulunan: 489.2915.

Bileşik 148: $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3), δ ppm: 5.51-5.43 (m, olefinik, 2H), 5.27 (t, $J = 3.54$ Hz, 1H), 3.67 (d, $J = 10.09$ Hz, AB sisteminin A kısmı, 1H), 3.14 (d, $J = 10.09$ Hz, AB sisteminin B kısmı, 1H), 2.10-1.22 (alifatik bölgeye ait pik grubu, 20H), 1.18 (s, 3H), 1.08 (s, 3H), 1.03 (s, 3H), 1.04 (d, $J = 6.37$ Hz, 3H), 1.00 (s, 3H), 0.97 (s, 3H), 0.90 (d, $J = 6.08$ Hz, 3H); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3), δ ppm: 137.98, 137.97, 126.18, 121.45, 56.54, 52.05, 47.48, 46.14, 42.15, 41.13, 40.25, 40.10, 39.44, 37.34, 37.20, 36.95, 36.10, 34.54, 32.06, 31.87, 30.67, 25.87, 24.20, 23.45, 23.35, 22.86, 21.23, 17.36, 16.29, 15.97; **HRMS (APCI-Tof):** ($m/z + \text{H}$) Hesaplanan $\text{C}_{30}\text{H}_{48}^{79}\text{Br}$: 487.2939, Bulunan: 487.2917.

4.1.20. Enon türevi bileşik 149'un Sentezi

Bileşik **113**'ün (1g, 2 mmol, 1 ekv) metilen klorürdeki çözeltisine piridin (0.5 mL, 6 mmol) ve CrO_3 (600 mg, 6 mmol, 6 ekv.) ilave edilerek 15 gün oda sıcaklığında karıştırıldı. TLC ile reaksiyonun tamamlandığı tespit edildi. Ürün karışımı silika jel kolondan 1:9 etil asetat hekzan karışımı ile süzülerek safsızlıklar ayrıldı ve bileşik **149** (krem renkli katı 350 mg, %38 verim) elde edildi.

Bileşik 149: $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3), δ ppm: 5.53 (s, 1H), 3.54 (s, 3H), 3.29 (s, 3H), 2.65 (dd, $J = 6.86, 3.68$ Hz, 1H), 2.36-1.25 (alifatik bölgeye ait pik grubu, 20H), 1.08 (s, 3H), 0.98 (s, 3H), 0.94 (d, $J = 6.21$ Hz, 3H), 0.90 (s, 3H), 0.85 (d, $J = 6.47$ Hz, 3H), 0.79 (s, 3H), 0.79 (s, 3H); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3), δ ppm: 200.06 (CO), 177.26 (COO), 162.92 (α,β -doymamış sistemin β karbonu), 130.72 (α,β -doymamış sistemin α karbonu), 88.41, 61.51, 60.75, 57.49, 55.37, 47.69, 44.72, 43.74, 39.76, 39.03, 38.66, 37.21, 36.04, 34.25, 32.41, 28.47, 28.16, 26.46, 23.96, 22.01, 21.09, 21.03, 17.35, 17.14, 16.39, 16.21, 15.58, 14.71.

4.1.21. Bileşik 113'ün SeO_2 ile oksidasyonu (150 ve 151'in sentezi)

Metilen klorür (50 mL) içerisindeki SeO_2 (2.75 g, 25 mmol, 6 ekv.) ve TPHP (2.6 mL, 25 mmol, 6 ekv.) karışımına bileşik **113** (2 g, 4 mmol) ilave edilerek oda sıcaklığında 1 hafta karıştırıldı ancak çıkış bileşiği tükenmeyince 2 gün reflüks yapıldı. Reaksiyon TLC ile kontrol edilerek çıkış bileşiğinin tükenmesinin ardından sonlandırıldı. Su (200 mL) ile yıkanıp kloroform (300 mL) ile ekstrakte edildi. Na_2SO_4 üzerinden kurutularak çözücü uzaklaştırıldı ve ham ürün karışımına kolon yapıldı. Bileşik **150** ve **151** silika jel kolon kullanılarak etil asetat hekzan karışımı (1:24) ile birbirinden ve safsızlıklardan ayrıldılar. Bu iki ürünün yanı sıra yapısı henüz belirlenemeyen 1 ürün daha saf olarak ayrıldı. Kolondan önce bileşik **151** (beyaz katı, 0.4 g, %20 verim) daha sonra **150** (beyaz katı, 0.2 g, %12 verim) alındı.

Bileşik 150: $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3), δ ppm: 3.36 (s, 3H), 3.13 (dd, $J = 3.79, 2.08$ Hz, epoksit, 1H), 2.94 (d, $J = 3.85$ Hz, epoksit, 1H), 2.68 (dd, $J = 11.62, 4.35$ Hz, 1H), 2.16-1.24 (alifatik bölgeye ait pik grubu, 22H), 1.21 (d, $J = 5.73$ Hz, 3H), 1.10 (s, 3H), 1.06 (s, 3H), 1.02 (s, 3H), 0.98 (d, $J = 6.14$ Hz, 3H), 0.96 (s, 3H), 0.77 (s, 3H); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3), δ ppm: 179.22 (lakton karbonil), 89.09 (lakton-OC), 88.46, 66.69, 57.64, 56.33, 55.12, 54.94, 51.49, 45.18, 41.53, 41.34, 40.25, 38.81, 38.09, 37.54, 36.49, 31.45, 31.39, 30.60, 27.84, 26.87, 22.79, 21.73, 20.30, 19.57, 17.56, 17.46, 17.28, 16.39, 15.87.

Bileşik 151: EN: 125 °C; ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃), δ ppm: 5.55-5.51 (m, 1H), 3.51 (s, 3H), 3.32 (s, 3H), 3.23-3.21 (m, epoksit, 1H), 3.11-3.08 (m, epoksit, 1H), 2.64 (dd, J = 11.52, 3.12 Hz, 1H), 2.51 (d, J = 10.85 Hz, 1H), 2.16-1.17 (alifatik bölgeye ait pik grubu, 20H), 1.00 (s, 3H), 0.91 (s, 3H), 0.88 (s, 3H), 0.81 (s, 3H), 0.75 (s, 3H); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃), δ ppm: 177.47 (COO), 157.48 (C-14), 119.13 (C-15), 87.63 (C-3), 59.98, 58.60, 54.26, 52.10, 51.27, 50.71, 39.76, 38.41, 38.12, 37.57, 37.16, 36.91, 35.75, 35.58, 33.72, 29.63, 29.01, 27.44, 26.82, 26.42, 22.58, 20.70, 19.80, 19.48, 17.79, 16.27, 15.97, 15.10.

4.1.22. Bileşik 30'un SeO₂ ile oksidasyonu (152, 153 ve 154'ün sentezi)

Bu reaksiyon 4.1.21'te anlatılan yöntemle yapılarak ürünler bir hafta sürede bileşik 30 üzerinden elde edildiler ve etil asetat hekzan karışımı (1:24) ile silika jel kolon kullanılarak birbirlerinden ayrıldılar. Hepsi aynı reaksiyonda meydana geldi ve yapılarının 152 (beyaz katı, 100 mg, %10), 153 (beyaz katı, 220 mg, %23 verim) ve 154 (beyaz katı, 60 mg, %6 verim) şeklinde olduğu belirlendi. Ayrıca yapısı belirlenememiş 3 farklı ürün daha saf olarak ayrıldı.

Bileşik 152 ayrıca LDA ve PhSeBr kullanılarak başka bir reaksiyondan da elde edildi. Reaksiyon yeni destillenmiş THF içerisine azot atmosferinde LDA (685 mg, 1.6 M, 4 mL, 6.40 mmol, 6 ekv.) ve bileşik 30'un THF deki çözeltisi eklendi. Karıştırma devam ederken PhSeBr (1 g, 4.25 mmol, 4 ekv.) eklenerek oda sıcaklığında 1 gün karıştırıldı. Piridin (2.13 mmol, 0.2 mL, 2 ekv.) ve H₂O₂ (0.15 mL, 3.20 mmol, 3 ekv.) ilavesi yapılarak 1 gün daha karıştırılıp TLC ile takip edildikten sonra sonlandırıldı. HCL-su (150 mL %1) ile yıkanıp kloroform (200 mL) ile ekstraksiyon yapıldı. Organik faz Na₂SO₄ üzerinden kurutuldu ve çözücü döner buharlaştırıcıda uzaklaştırıldı. Ürün karışımına kolon yapılarak (silika jel, etil asetat hekzan; 1:9) bileşik 152 saf olarak ayrıldı (beyaz katı, 0.34 g, % 75 verim).

Bileşik 152: ¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃), δ ppm: 7.04 (d, J = 10.13 Hz, AX sisteminin sistemin A kısmı, 1H), 5.79 (d, J = 10.13 Hz, AX sisteminin sistemin X kısmı, 1H), 5.30 (t, J = 3.60 Hz, 1H), 3.60 (s, 3H), 2.25 (d, J = 10.46 Hz, 1H), 2.16-1.18 (alifatik bölgeye

ait pik grubu, 20H), 1.14 (s, 3H), 1.12 (s, 3H), 1.08 (s, 3H), 1.07 (s, 3H), 0.92 (d, $J = 6.33$ Hz, 3H), 0.85 (d, $J = 6.47$ Hz, 3H), 0.82 (s, 3H); **^{13}C -NMR (150 MHz, CDCl_3), δ ppm:** 205.29 (α,β -CO), 177.91 (COO), 159.28 (α,β -doymamış sistemin β karbonu), 138.76, 124.98 (α,β -doymamış sistemin α karbonu), 124.80, 53.41, 53.02, 51.46, 48.14, 44.49, 42.35, 41.65, 40.21, 39.30, 38.92, 38.81, 36.50, 32.74, 30.60, 27.94, 27.81, 24.12, 23.45, 23.21, 21.60, 21.10, 18.84, 18.73, 17.47, 16.98.

Bileşik 153: ^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3), δ ppm: 7.21 (d, $J = 10.10$ Hz, AX sisteminin sistemin A kısmı, 1H), 5.91 (d, $J = 10.10$ Hz, AX sisteminin sistemin X kısmı, 1H), 3.44 (dd, $J = 3.57, 2.29$ Hz, epoksit, 1H), 3.06 (d, $J = 3.82$ Hz, epoksit, 1H), 2.18-2.11 (m, 1H), 1.87-1.25 (alifatik bölgeye ait pik grubu, 19H), 1.31 (s, 3H), 1.22 (d, $J = 6.01$ Hz, 3H), 1.16 (s, 3H), 1.15 (d, $J = 5.17$ Hz, 3H), 1.12 (s, 3H), 1.10 (s, 3H), 0.98 (s, 3H); **^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3), δ ppm:** 204.63 (α,β -doymamış CO), 178.99 (lakton CO), 157.85 (α,β -doymamış sisteminin β karbonu), 125.62 (α,β -doymamış sisteminin α karbonu), 88.75 (lakton OC), 60.64, 56.54, 54.38, 53.16, 46.15, 45.14, 44.77, 42.19, 41.54, 40.25, 38.69, 37.52, 31.40, 30.83, 30.56, 27.36, 26.90, 22.73, 21.28, 20.57, 20.38, 19.55, 19.31, 17.26, 16.42.

Bileşik 154: ^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3), δ ppm: 7.18 (d, $J = 10.15$ Hz, AX sisteminin sistemin A kısmı, 1H), 5.82 (d, $J = 10.15$ Hz, AX sisteminin sistemin X kısmı, 1H), 5.54 (dd, $J = 7.94, 3.26$ Hz, 1H), 3.50 (s, 3H), 3.28 (d, $J = 4.79$ Hz, epoksit, 1H), 3.27-3.24 (m, epoksit, 1H), 2.52 (dd, $J = 10.86, 1.57$ Hz, 1H), 2.20-1.19 (alifatik bölgeye ait pik grubu, 22H), 1.14 (s, 3H), 1.14 (dd, $J = 1.14, 6.18$ Hz, 1H), 1.07 (s, 3H), 1.04 (s, 3H), 0.92 (d, $J = 6.38$ Hz, 3H), 0.87 (s, 3H), 0.86 (s, 3H); **^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3), δ ppm:** 204.89 (α,β -doymamış CO), 178.44 (COO), 158.62 (α,β -doymamış sisteminin β karbonu), 157.79 (C-14), 125.42 (α,β -doymamış sisteminin α karbonu), 120.57 (C-15), 61.07, 53.21, 52.52, 51.76, 51.68, 48.02, 40.62, 39.97, 39.96, 39.30, 38.95, 38.89, 36.77, 35.30, 30.78, 29.99, 27.50, 27.41, 23.59, 21.51, 20.87, 20.58, 20.17, 19.49.

4.1.23. Uvaol'un asetillenmesi (157 ve 158'in sentezi)

Uvaolun (**2**) (2.25 mmol, 1.0 g, 1 ekv.) metilen klorür (150 mL) içerisindeki çözeltisine oda sıcaklığında trietilamin (9 mmol, 1.28 mL, 4 ekv.) ve asetik anhidrit (13.5 mmol, 1.35 mL, 6 ekv.) ilave edilerek bir gece karıştırıldı ve TLC ile kontrol edilerek sonlandırıldı. Reaksiyon karışımı sırasıyla HCl (%1, 200 mL) ve NaOH (%1, 200 mL) çözeltisi ile yıkanarak metilen klorür (3x200 mL) ile ekstrakte edildi. Organik faz Na₂SO₄ üzerinden kurutuldu ve çözücü döner buharlaştırıcıda uzaklaştırıldı. Ürün karışımı kolon kromatografisi (etil asetat hekzan (1:6), silika jel) yapılarak birbirinden ayrıldılar. Kolondan sırasıyla diasetil türevi bileşik **158** (beyaz katı, 0.64 g, %54 verim) mono asetil türevi bileşik **157** (beyaz katı, 0.38 mg, %34 verim) alındı.

Bileşik 157: EN: 179 °C; ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃), δ ppm: 5.12 (t, J = 3.53 Hz, 1H), 4.04 (d, J = 11.03 Hz, AB sisteminin A kısmı, 1H), 3.60 (d, J = 11.03 Hz, AB sisteminin B kısmı 1H), 3.20 (dd, J = 10.99, 4.99 Hz, 1H), 2.02 (s, asetil, 3H), 1.90-1.18 (alifatik bölgeye ait pik grubu, 22H), 1.07 (s, 3H), 1.97 (s, 3H), 0.97 (s, 3H), 0.96 (s, 3H), 0.92 (s, 3H), 0.91 (d, J = 4.59 Hz, 1H), 0.79 (d, J = 5.69 Hz, 1H), 0.77 (s, 3H).

Bileşik 158: EN: 153.5 °C; ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃), δ ppm: 5.12 (t, J = 3.49 Hz, 1H), 4.48 (dd, J = 6.86, 3.68 Hz, 1H), 4.48 (dd, J = 10.94, 4.95 Hz, 1H), 4.04 (d, J = 11.00 Hz, AB sisteminin A kısmı, 1H), 3.60 (d, J = 11.00 Hz, AB sisteminin B kısmı 1H), 2.03 (s, asetil, 3H), 2.02 (s, asetil, 3H), 1.90-1.18 (alifatik bölgeye ait pik grubu, 22H), 1.07 (s, 3H), 1.97 (s, 3H), 0.97 (s, 3H), 0.96 (s, 3H), 0.92 (s, 3H), 0.91 (d, J = 4.59 Hz, 1H), 0.79 (d, J = 5.69 Hz, 1H), 0.77 (s, 3H).

4.1.24. Uvaolun mesilat türevi bileşik 159'un sentezi

Uvaolun (**2**) (1.15 mmol, 500 mg, 1 ekv.) metilen klorür (150 mL) içerisindeki çözeltisine oda sıcaklığında trietilamin (9 mmol, 1.25 ml, 8 ekv.) ve mesil klorür (5.65 mmol, 0.450 ml, 5 ekv.) ilave edilerek bir gece karıştırıldı ve TLC ile kontrol edilerek sonlandırıldı. Reaksiyon karışımı sırasıyla HCl (%1, 200 mL) ve NaOH (%1, 200 mL) çözeltisi ile yıkanarak metilen klorür (3x200 mL) ile ekstrakte edildi. Organik faz Na₂SO₄ üzerinden

kurutuldu ve çözücü döner buharlaştırıcıda uzaklaştırıldı ve bileşik **325** (krem renkli katı, 612 mg, %90 verim) elde edildi

Bileşik 159: EN: 136 °C; **¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃), δ ppm:** 5.16 (t, *J* = 3.60 Hz, 1H), 4.34 (dd, *J* = 6.90, 3.70 Hz, 1H), 4.19 (d, *J* = 9.28 Hz, AB sisteminin A kısmı, 1H), 3.69 (d, *J* = 9.28 Hz, AB sisteminin B kısmı 1H), 3.00 (s, 3H), 2.95 (s, 3H), 2.03-1.17 (alifatik bölgeye ait pik grubu, 22H), 1.09 (s, 3H), 1.03 (s, 3H), 1.00 (s, 3H), 0.97 (s, 3H), 0.93 (bs, 3H), 0.86 (s, 3H), 0.81 (d, *J* = 5.86 Hz, 1H); **¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃), δ ppm:** 137.83, 125.90, 90.40, 76.80, 55.45, 53.88, 47.5, 41.94, 40.04, 39.24, 39.20, 38.86, 38.55, 38.51, 37.32, 36.95, 36.62, 35.36, 32.56, 30.25, 28.26, 25.80, 25.17, 23.43, 23.34, 22.93, 21.19, 18.33, 17.23, 16.67, 16.44, 15.70.

4.1.25. Uvaolun trimetil silil eter türevleri bileşik 160 ve 161'in sentezi

Uvaolun (**2**) (2.3 mmol, 1 g, 1 ekv.) metilen klorür (150 mL) içerisindeki çözeltisine oda sıcaklığında trietilamin (18 mmol, 2.5 mL, 8 ekv.) ve trimetilsilil klorür (13.55 mmol, 1.77 mL, 6 ekv.) ilave edilerek bir gece karıştırıldı ve TLC ile kontrol edilerek sonlandırıldı. Reaksiyon karışımı sırasıyla HCl (%1, 200 mL) ve NaOH (%1, 200 mL) çözeltisi ile yıkanarak metilen klorür (3x200 mL) ile ekstrakte edildi. Organik faz Na₂SO₄ üzerinden kurutuldu ve çözücü döner buharlaştırıcıda uzaklaştırıldı. Ürün karışımı kolon kromatografisi (etil asetat hekzan (1:6), silika jel) yapılarak birbirinden ayrıldılar. Kolondan sırasıyla bileşik **161** (beyaz katı, 0.36 g %27, verim) ve **160** (beyaz katı, 0.83 g, % 63 verim) alındı.

Bileşik 160: EN: 209 °C; **¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃), δ ppm:** 5.08 (t, *J* = 3.58 Hz, 1H), 3.47 (d, *J* = 9.64 Hz, AB sisteminin A kısmı, 1H), 3.22 (dd, *J* = 11.06, 5.03 Hz, 1H), 2.97 (d, *J* = 9.64 Hz, AB sisteminin B kısmı 1H), 1.91- 1.17 (alifatik bölgeye ait pik grubu, 22H), 1.08 (s, 3H), 0.99 (s, 3H), 0.98 (s, 3H), 0.95 (s, 3H), 0.91 (bs, 3H), 0.79 (s, 3H), 0.79 (d, *J* = 6.00 Hz, 3H), 0.04 (s, 9H); **¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃), δ ppm:** 139.42, 125.09, 79.42, 69.74, 55.58, 54.65, 48.10, 42.47, 40.45, 39.93, 39.20, 39.17, 38.23, 37.29, 35.96, 33.35, 31.22, 28.53, 27.67, 26.41, 23.76, 23.67, 23.53, 21.80, 18.73, 17.79, 17.18, 16.08, 16.02, 0,00 (OTMS-3C).

4.1.26. Uvaol-3-metil eterin asetil türevi bileşik 162'nin sentezi

Bu reaksiyon 4.1.4'teki yöntem ile bileşik 13 üzerinden yapılarak bileşik 162 (beyaz renkli katı, 1.02 g, %93 verim) elde edildi.

Bileşik 162: $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3), δ ppm: 5.10 (t, $J = 3.27$ Hz, 1H), 4.02 (d, $J = 11.03$ Hz, AB sisteminin A kısmı, 1H), 3.58 (d, $J = 11.03$ Hz, AB sisteminin B kısmı 1H), 3.31 (s, 3H), 2.63 (dd, $J = 11.66, 4.15$ Hz, 1H), 2.00 (s, asetil, 3H), 1.90-1.18 (alifatik bölgeye ait pik grubu, 22H), 1.07 (s, 3H), 1.97 (s, 3H), 0.97 (s, 3H), 0.96 (s, 3H), 0.92 (s, 3H), 0.91 (d, $J = 4.59$ Hz, 1H), 0.79 (d, $J = 5.69$ Hz, 1H), 0.77 (s, 3H)

4.1.27. Uvaol-3-metil eterin benzoil türevi bileşik 163'ün sentezi

Yeni destillenmiş THF (150 mL) içerisine inert atmosferde NaH (13.14 mmol, 315 mg, 3 ekv.) ve bileşik 13 (4.38 mmol, 2 g, 1 ekv.) konularak yarım saat ısıtıldı. Daha sonra benzoil klorür (6.57 mmol, 0.9 mL, 1.5 ekv.) ilave edilerek bir gece reflüks yapıldı. TLC ile kontrol edilerek çıkış bileşiği bittikten sonra reaksiyon su (5 mL) ile sonlandırıldı. THF uzaklaştırıldıktan sonra ham ürün su (3x200 mL) ile yıkanarak kloroform (3x250 mL) ile ekstraksiyon yapıldı. Organik faz Na_2SO_4 üzerinden kurutularak çözücü buharlaştırıldı. Geriye kalan madde silika jel kolondan etil asetat hekzan karışımı (1:9) ile süzülerek saflaştırıldı ve bileşik 163 (beyaz katı, 2.33 g, %94 verim) elde edildi.

Bileşik 163: $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3), δ ppm: 8.04 (d, $J = 7.09$ Hz, 2H), 7.54 (t, $J = 7.42$ Hz, 1H), 7.43 (t, $J = 7.70$ Hz, 2H), 5.19 (t, $J = 3.50$ Hz, 1H), 4.36 (d, $J = 11.03$ Hz, AB sisteminin A kısmı, 1H), 3.84 (d, $J = 11.03$ Hz, AB sisteminin B kısmı 1H), 3.35 (s, 3H), 2.66 (dd, $J = 11.68, 4.28$ Hz, 1H), 2.06-1.26 (alifatik bölgeye ait pik grubu, 22H), 1.12 (s, 3H), 1.03 (s, 3H), 0.98 (s, 3H), 0.95 (d, $J = 5.30$ Hz, 3H), 0.94 (s, 3H), 0.85 (d, $J = 6.18$ Hz, 3H), 0.77 (s, 3H); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3), δ ppm: 166.50 (COO), 138.18, 132.77, 130.74, 129.59, 128.37, 125.86, 88.70, 71.66, 57.55, 55.83, 54.62, 47.78, 42.07, 40.11, 39.50, 39.35, 38.80, 37.39, 36.95, 36.12, 32.87, 30.66, 28.23, 26.20, 23.66, 23.54, 23.46, 22.13, 21.37, 18.25, 17.40, 16.82, 16.45, 15.72.

4.1.28. Uvaol-3-metil eterin 3,5-dinitrobenzoil türevi bileşik 164'ün sentezi

Yeni destillenmiş THF (150 mL) içerisine inert atmosferde NaH (13.14 mmol, 315 mg, 3 ekv.) bileşik **13** (4.38 mmol, 2 g, 1 ekv.) konularak yarım saat ısıtıldı. Daha sonra 3,5-dinitrobenzoil klorür (6.6 mmol, 1.51 g, 1.5 ekv.) ilave edilerek bir gece reflüks yapıldı. TLC ile kontrol edilerek çıkış bileşiği bittikten sonra reaksiyon su (5 mL) ile sonlandırıldı. THF uzaklaştırıldıktan sonra ham ürün su (3x200 mL) ile yıkanarak kloroform (3x250 mL) ile ekstraksiyon yapıldı. Organik faz Na_2SO_4 üzerinden kurutularak çözücü buharlaştırıldı. Geriye kalan madde silika jel kolondan etil asetat hekzan karışımı (1:9) ile süzülerek saflaştırıldı ve bileşik **164** (beyaz katı, 2.42 g, %84 verim) elde edildi.

Bileşik 164: $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3), δ ppm: 9.21 (t, $J = 2.13$ Hz, 1H), 9.11 (d, $J = 2.16$ Hz, 2H), 5.21 (t, $J = 3.55$ Hz, 1H), 4.50 (d, $J = 11.00$ Hz, AB sisteminin A kısmı, 1H), 3.97 (d, $J = 11.00$ Hz, AB sisteminin B kısmı 1H), 3.35 (s, 3H), 2.66 (dd, $J = 11.70$, 4.30 Hz, 1H), 2.06-1.26 (alifatik bölgeye ait pik grubu, 22H), 1.12 (s, 3H), 1.03 (s, 3H), 0.98 (s, 3H), 0.95 (d, $J = 5.30$ Hz, 3H), 0.94 (s, 3H), 0.85 (d, $J = 6.18$ Hz, 3H), 0.77 (s, 3H); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3), δ ppm: 162.53, 148.76, 137.83, 134.33, 129.38, 126.27, 122.27, 88.68, 73.68, 57.59, 55.78, 54.57, 47.68, 42.09, 40.11, 39.45, 39.31, 38.76, 37.48, 36.94, 36.09, 32.82, 30.45, 28.18, 26.14, 23.64, 23.53, 23.43, 22.11, 21.27, 18.21, 17.31, 16.81, 16.41, 15.70.

4.1.29. Uvaolun dimetil eter türevi bileşik 165'in sentezi

Yeni destillenmiş THF (150 mL) içerisine inert atmosferde NaH (11.3 mmol, 272 mg, 5 ekv.) bileşik **2** (4.38 mmol, 2 g, 1 ekv.) konularak yarım saat ısıtıldı. Daha sonra MeI (13.5 mmol, 890 mL, 6 ekv.) ilave edilerek bir gece reflüks yapıldı. TLC ile kontrol edilerek çıkış bileşiği bittikten sonra reaksiyon su (5 mL) ile sonlandırıldı. THF uzaklaştırıldıktan sonra ham ürün su (3x200 mL) ile yıkanarak kloroform (3x250 mL) ile ekstraksiyon yapıldı. Organik faz sodyum sülfat üzerinden kurutularak çözücü buharlaştırıldı. Geriye kalan madde silika jel kolondan etil asetat hekzan karışımı (1:9) ile süzülerek saflaştırıldı ve bileşik **165** (beyaz katı, 0.96 g, %90 verim) elde edildi.

Bileşik **165**'e ait tek kristal X-ışını analizinin sonuçlarına göre, bağ uzunlukları, bağ açıları ve torsiyonel açılar sırasıyla Çizelge 4.1, Çizelge 4.2 ve Çizelge 4.3'te verilmiştir.

Bileşik 165: EN: 120 °C; ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃), δ ppm: 5.14 (t, *J* = 3.58 Hz, 1H), 3.38 (s, 3H), 3.35 (d, *J* = 9.10 Hz, AB sisteminin A kısmı, 1H), 3.30 (s, 3H), 2.87 (d, *J* = 9.10 Hz, AB sisteminin B kısmı, 1H), 2.69 (dd, *J* = 11.71, 4.33 Hz, 1H), 1.95-1.19 (alifatik bölgeye ait pik grubu, 22H), 1.11 (s, 3H), 1.03 (s, 3H), 1.00 (s, 3H), 0.98 (bs, 3H), 0.82 (d, *J* = 5.85 Hz, 3H), 0.80 (s, 3H); **¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃), δ ppm:** 139.03, 124.85, 88.68, 80.39, 59.28, 57.54, 55.75, 54.40, 47.70, 42.00, 40.07, 39.42, 39.27, 38.72, 37.63, 36.90, 36.14, 32.85, 30.75, 28.16, 26.13, 23.58, 23.43, 23.32, 22.09, 21.37, 18.23, 17.40, 16.79, 16.39, 15.68.

Çizelge 4.1. Bileşik **165**'in atomları arasındaki bağ uzunlukları (Å)

Atomlar	Bağ Uzunluğu	Atomlar	Bağ Uzunluğu	Atomlar	Bağ Uzunluğu
O(1)-C(26)	1.398(15)	O(2)-C(29)	1.413(13)	O(2)-C(30)	1.414(16)
C(22)-(21)	1.530(13)	C(32)-(32A)	0.960(9)	C(32)-(32B)	0.960(9)
C(10)-C(9)	1.537(12)	C(32)-(32C)	0.960(9)	C(15)-(15A)	0.970(11)
C(15)-(15B)	0.970(9)	C(15)-C(16)	1.516(13)	C(16)-(16A)	0.970(10)
C(16)-(16B)	0.970(9)	C(16)-C(17)	1.532(12)	C(9)-C(11)	1.331(13)
C(13)-H(13)	0.980(9)	C(6)-H(6)	0.980(9)	C(19)-H(19A)	0.970(9)
C(19)-(19B)	0.970(10)	C(19)-C(20)	1.528(13)	C(3)-H(3A)	0.970(11)
C(3)-H(3B)	0.970(10)	C(3)-C(4)	1.508(15)	C(3)-C(2)	1.519(14)
C(1)-H(1)	0.980(10)	C(1)-C(27)	1.538(15)	C(1)-C(2)	1.536(14)
C(8)-H(8A)	0.970(10)	C(8)-H(8B)	0.970(9)	C(8)-C(7)	1.523(13)
C(12)-(12A)	0.970(9)	C(12)-(12B)	0.970(11)	C(12)-C(11)	1.493(13)
C(17)-H(17)	0.980(9)	C(7)-H(7A)	0.970(10)	C(7)-H(7B)	0.970(9)
C(7)-C(5)	1.535(13)	C(29)-(29A)	0.970(11)	C(29)-H(29B)	0.970(10)
C(29)-C(5)	1.537(15)	C(11)-H(11)	0.930(10)	C(5)-C(4)	1.536(14)
C(21)-H(21)	0.980(10)	C(21)-C(20)	1.510(13)	C(4)-H(4A)	0.970(10)
C(4)-H(4B)	0.970(10)	C(23)-(23A)	0.960(11)	C(23)-H(23B)	0.960(10)
C(23)-(23C)	0.960(10)	C(20)-(20A)	0.970(11)	C(20)-H(20B)	0.970(10)
C(31)-(31A)	0.960(10)	C(31)-(31B)	0.960(10)	C(31)-H(31C)	0.960(10)
C(25)-(25A)	0.960(10)	C(25)-(25B)	0.960(10)	C(25)-H(25C)	0.960(10)
C(24)-(24A)	0.960(12)	C(24)-H(24B)	0.960(10)	C(24)-H(24C)	0.960(11)
C(27)-(27A)	0.960(11)	C(27)-(27B)	0.960(11)	C(27)-H(27C)	0.960(12)
C(28)-(28A)	0.960(13)	C(28)-(28B)	0.960(13)	C(28)-H(28C)	0.960(13)
C(28)-C(2)	1.534(16)	C(2)-H(2)	0.980(10)	C(30)-H(30A)	0.960(14)
C(30)-(30B)	0.960(14)	C(30)-(30C)	0.960(14)	C(26)-H(26A)	0.960(15)
C(26)-(26B)	0.960(14)	C(26)-(26C)	0.960(13)		

Çizelge 4.2. Bileşik **165**'in atomları arasındaki bağ açıları (°)

Atomlar	Bağ Açısı	Atomlar	Bağ Açısı
C(29)-O(2)-C(30)	112.3(9)	H(32A)-C(32)-H(32B)	109.5(9)
H(32A)-C(32)-H(32C)	109.5(9)	H(32B)-C(32)-H(32C)	109.5(9)
H(15A)-C(15)-H(15B)	107.6(9)	H(15A)-C(15)-C(16)	108.7(8)
H(15B)-C(15)-C(16)	108.7(9)	C(15)-C(16)-H(16A)	109.3(9)
C(15)-C(16)-H(16B)	109.3(8)	C(15)-C(16)-C(17)	111.6(8)
H(16A)-C(16)-H(16B)	108.0(9)	H(16A)-C(16)-C(17)	109.3(8)
H(16B)-C(16)-C(17)	109.3(8)	C(10)-C(9)-C(11)	120.0(8)
H(19A)-C(19)-H(19B)	107.8(9)	H(19A)-C(19)-C(20)	109.0(8)
H(19B)-C(19)-C(20)	109.0(8)	H(3A)-C(3)-H(3B)	107.8(10)
H(3A)-C(3)-C(4)	109.1(9)	H(3A)-C(3)-C(2)	109.1(9)
H(3B)-C(3)-C(4)	109.1(9)	H(3B)-C(3)-C(2)	109.1(9)
C(4)-C(3)-C(2)	112.5(9)	H(1)-C(1)-C(27)	107.9(9)
H(1)-C(1)-C(2)	107.9(9)	C(27)-C(1)-C(2)	110.7(8)
H(8A)-C(8)-H(8B)	107.7(9)	H(8A)-C(8)-C(7)	108.8(8)
H(8B)-C(8)-C(7)	108.8(8)	H(12A)-C(12)-H(12B)	107.5(9)
H(12A)-C(12)-C(11)	108.5(9)	H(12B)-C(12)-C(11)	108.5(8)
C(16)-C(17)-H(17)	104.4(8)	C(8)-C(7)-H(7A)	108.9(8)
C(8)-C(7)-H(7B)	108.9(8)	C(8)-C(7)-C(5)	113.3(8)
H(7A)-C(7)-H(7B)	107.7(9)	H(7A)-C(7)-C(5)	108.9(8)
H(7B)-C(7)-C(5)	108.9(8)	O(2)-C(29)-H(29A)	109.8(9)
O(2)-C(29)-H(29B)	109.8(9)	O(2)-C(29)-C(5)	109.2(8)
H(29A)-C(29)-H(29B)	108.3(10)	H(29A)-C(29)-C(5)	109.8(9)
H(29B)-C(29)-C(5)	109.8(9)	C(9)-C(11)-C(12)	126.1(9)
C(9)-C(11)-H(11)	116.9(9)	C(12)-C(11)-H(11)	116.9(9)
C(7)-C(5)-C(29)	110.9(8)	C(7)-C(5)-C(4)	111.2(8)
C(29)-C(5)-C(4)	107.9(8)	C(22)-C(21)-H(21)	107.6(8)
C(22)-C(21)-C(20)	114.0(8)	H(21)-C(21)-C(20)	107.6(8)
C(3)-C(4)-C(5)	112.7(8)	C(3)-C(4)-H(4A)	109.1(9)
C(3)-C(4)-H(4B)	109.1(9)	C(5)-C(4)-H(4A)	109.0(9)
C(5)-C(4)-H(4B)	109.0(9)	H(4A)-C(4)-H(4B)	107.8(10)
H(23A)-C(23)-H(23B)	109.5(10)	H(23A)-C(23)-H(23C)	109.5(10)
H(23B)-C(23)-H(23C)	109.5(10)	C(19)-C(20)-C(21)	111.2(8)
C(19)-C(20)-H(20A)	109.4(9)	C(19)-C(20)-H(20B)	109.4(9)
C(21)-C(20)-H(20A)	109.4(9)	C(21)-C(20)-H(20B)	109.4(9)
H(20A)-C(20)-H(20B)	108.0(9)	H(31A)-C(31)-H(31B)	109.5(10)
H(31A)-C(31)-H(31C)	109.5(10)	H(31B)-C(31)-H(31C)	109.5(10)
H(25A)-C(25)-H(25B)	109.5(10)	H(25A)-C(25)-H(25C)	109.5(10)
H(25B)-C(25)-H(25C)	109.5(10)	H(24A)-C(24)-H(24B)	109.5(11)
H(24A)-C(24)-H(24C)	109.5(11)	H(24B)-C(24)-H(24C)	109.5(10)
C(1)-C(27)-H(27A)	109.5(10)	C(1)-C(27)-H(27B)	109.5(10)
C(1)-C(27)-H(27C)	109.5(10)	H(27A)-C(27)-H(27B)	109.5(11)
H(27A)-C(27)-H(27C)	109.5(11)	H(27B)-C(27)-H(27C)	109.5(11)

Çizelge 4.2. Devam

Atomlar	Bağ Açısı	Atomlar	Bağ Açısı
H(28A)-C(28)-H(28B)	109.5(12)	H(28A)-C(28)-H(28C)	109.5(12)
H(28A)-C(28)-C(2)	109.5(11)	H(28B)-C(28)-H(28C)	109.5(13)
H(28B)-C(28)-C(2)	109.5(11)	H(28C)-C(28)-C(2)	109.5(11)
C(3)-C(2)-C(1)	110.4(8)	C(3)-C(2)-C(28)	109.3(9)
C(3)-C(2)-H(2)	108.2(9)	C(1)-C(2)-C(28)	112.5(9)
C(1)-C(2)-H(2)	108.2(9)	C(28)-C(2)-H(2)	108.2(9)
O(2)-C(30)-H(30A)	109.5(12)	O(2)-C(30)-H(30B)	109.5(12)
O(2)-C(30)-H(30C)	109.5(12)	H(30A)-C(30)-H(30B)	109.5(14)
H(30A)-C(30)-H(30C)	109.5(13)	H(30B)-C(30)-H(30C)	109.5(14)
O(1)-C(26)-H(26A)	109.5(10)	O(1)-C(26)-H(26B)	109.5(12)
O(1)-C(26)-H(26C)	109.5(13)	H(26A)-C(26)-H(26B)	109.5(15)
H(26A)-C(26)-H(26C)	109.5(14)	H(26B)-C(26)-H(26C)	109.5(12)

Çizelge 4.3. Bileşik 165'in atomları arasındaki torsiyonel açılar (°)

Atomlar	Açı	Atomlar	Açı
C(30)-O(2)-C(29)-H(29A)	69.8	C(30)-O(2)-C(29)-H(29B)	-49.2
C(30)-O(2)-C(29)-C(5)	-169.7	C(29)-O(2)-C(30)-H(30A)	65.3
C(29)-O(2)-C(30)-H(30B)	-54.7	C(29)-O(2)-C(30)-H(30C)	-174.7
H(15A)-C(15)-C(16)-H(16A)	173.1	H(15A)-C(15)-C(16)-H(16B)	55.1
H(15A)-C(15)-C(16)-C(17)	-65.9	H(15B)-C(15)-C(16)-H(16A)	56.2
H(15B)-C(15)-C(16)-H(16B)	-61.8	H(15B)-C(15)-C(16)-C(17)	177.2
C(15)-C(16)-C(17)-H(17)	48.5	H(16A)-C(16)-C(17)-H(17)	169.5
H(16B)-C(16)-C(17)-H(17)	-72.6	C(10)-C(9)-C(11)-C(12)	-0.3
C(10)-C(9)-C(11)-H(11)	179.7	H(19A)-C(19)-C(20)-C(21)	-178.2
H(19A)-C(19)-C(20)-H(20A)	-57.3	H(19A)-C(19)-C(20)-H(20B)	60.9
H(19B)-C(19)-C(20)-C(21)	64.4	H(19B)-C(19)-C(20)-H(20A)	-174.6
H(19B)-C(19)-C(20)-H(20B)	-56.5	H(3A)-C(3)-C(4)-C(5)	-63.6
H(3A)-C(3)-C(4)-H(4A)	175.2	H(3A)-C(3)-C(4)-H(4B)	57.7
H(3A)-C(3)-C(2)-C(1)	64.2	H(3A)-C(3)-C(2)-C(28)	-60.1
H(3A)-C(3)-C(2)-H(2)	-177.7	H(3B)-C(3)-C(4)-C(5)	178.9
H(3B)-C(3)-C(4)-H(4A)	57.6	H(3B)-C(3)-C(4)-H(4B)	-59.9
H(3B)-C(3)-C(2)-C(1)	-178.3	H(3B)-C(3)-C(2)-C(28)	57.4
H(3B)-C(3)-C(2)-H(2)	-60.1	C(4)-C(3)-C(2)-C(1)	-57.1
C(2)-C(3)-C(4)-C(5)	57.7	C(2)-C(3)-C(4)-H(4A)	-63.6
C(2)-C(3)-C(4)-H(4B)	178.9	C(4)-C(3)-C(2)-C(28)	178.7
C(4)-C(3)-C(2)-H(2)	61.1	H(1)-C(1)-C(27)-H(27A)	-176.8
H(1)-C(1)-C(27)-H(27B)	63.2	H(1)-C(1)-C(27)-H(27C)	-56.8
H(1)-C(1)-C(2)-C(3)	-65.9	H(1)-C(1)-C(2)-C(28)	56.5
H(1)-C(1)-C(2)-H(2)	175.9	C(27)-C(1)-C(2)-C(3)	176.2
C(2)-C(1)-C(27)-H(27A)	-59.0	C(2)-C(1)-C(27)-H(27B)	-179.0
C(2)-C(1)-C(27)-H(27C)	61.0	C(27)-C(1)-C(2)-C(28)	-61.4

Çizelge 4.3. Devam

Atomlar	Açı	Atomlar	Açı
C(27)-C(1)-C(2)-H(2)	58.0	H(8A)-C(8)-C(7)-H(7A)	171.5
H(8A)-C(8)-C(7)-H(7B)	54.3	H(8A)-C(8)-C(7)-C(5)	-67.1
H(8B)-C(8)-C(7)-H(7A)	54.4	H(8B)-C(8)-C(7)-H(7B)	-62.8
H(8B)-C(8)-C(7)-C(5)	175.8	H(12A)-C(12)-C(11)-C(9)	-124.0
H(12A)-C(12)-C(11)-H(11)	56.0	H(12B)-C(12)-C(11)-C(9)	119.5
H(12B)-C(12)-C(11)-H(11)	-60.5	C(8)-C(7)-C(5)-C(29)	55.3
C(8)-C(7)-C(5)-C(4)	175.4	H(7A)-C(7)-C(5)-C(29)	176.7
H(7A)-C(7)-C(5)-C(4)	-63.3	H(7B)-C(7)-C(5)-C(29)	-66.1
H(7B)-C(7)-C(5)-C(4)	54.0	O(2)-C(29)-C(5)-C(7)	54.5
O(2)-C(29)-C(5)-C(4)	-67.5	H(29A)-C(29)-C(5)-C(7)	175.1
H(29A)-C(29)-C(5)-C(4)	53.0	H(29B)-C(29)-C(5)-C(7)	-66.0
H(29B)-C(29)-C(5)-C(4)	172.0	C(7)-C(5)-C(4)-C(3)	68.8
C(7)-C(5)-C(4)-H(4A)	-169.9	C(7)-C(5)-C(4)-H(4B)	-52.4
C(29)-C(5)-C(4)-C(3)	-169.3	C(29)-C(5)-C(4)-H(4A)	-48.1
C(29)-C(5)-C(4)-H(4B)	69.4	C(22)-C(21)-C(20)-C(19)	57.2
C(22)-C(21)-C(20)-H(20A)	-63.7	C(22)-C(21)-C(20)-H(20B)	178.1
H(21)-C(21)-C(20)-C(19)	-62.0	H(21)-C(21)-C(20)-H(20A)	177.0
H(21)-C(21)-C(20)-H(20B)	58.9	H(28A)-C(28)-C(2)-C(3)	63.9
H(28A)-C(28)-C(2)-C(1)	-59.2	H(28A)-C(28)-C(2)-H(2)	-178.5
H(28B)-C(28)-C(2)-C(3)	-56.1	H(28B)-C(28)-C(2)-C(1)	-179.2
H(28B)-C(28)-C(2)-H(2)	61.5	H(28C)-C(28)-C(2)-C(3)	-176.1
H(28C)-C(28)-C(2)-C(1)	60.8	H(28C)-C(28)-C(2)-H(2)	-58.5

4.1.30. Uvaol-3-metil eterin n-butil türevi bileşik 166'nın sentezi

Yeni destillenmiş THF (150 mL) içerisine inert atmosferde NaH (13.14 mmol, 315 mg, 3 ekv.) bileşik **13** (4.38 mmol, 2 g, 1 ekv.) konularak yarım saat ısıtıldı. Daha sonra *n*-butilklorür (3.28 mmol, 0.34 mL, 3 ekv.) ilave edilerek bir gece reflüks yapıldı. TLC ile kontrol edilerek çıkış bileşiği bittikten sonra reaksiyon su (5 mL) ile sonlandırıldı. THF uzaklaştırıldıktan sonra ham ürün su (3x200 mL) ile yıkanarak kloroform (3x250 mL) ile ekstraksiyon yapıldı. Organik faz Na₂SO₄ üzerinden kurutularak çözücü buharlaştırıldı. Geriye kalan madde silika jel kolondan etil asetat hekzan karışımı (1:9) ile süzülerek saflaştırıldı ve bileşik **166** (beyaz katı, 0.51 g, %91 verim) elde edildi.

Bileşik 166: ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃), δ ppm: 5.10 (t, *J* = 3.57 Hz, 1H), 3.36 (s, 3H), 3.36-3.31 (m, pik grubu 3H), 2.85 (d, *J* = 9.06 Hz, AB sisteminin B kısmı, 1H), 2.67 (dd, *J* = 11.71, 4.31 Hz, 1H), 1.92-1.18 (alifatik bölgeye ait pik grubu, 22H), 1.09 (s, 3H),

1.00 (s, 3H), 0.98 (s, 3H), 0.95 (bs, 3H), 0.91 (bs, 3H), 0.82 (d, $J = 5.85$ Hz, 3H), 0.80 (s, 3H); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3), δ ppm: 139.19, 124.76, 88.75, 77.94, 71.12, 57.58, 55.79, 54.56, 47.76, 42.07, 40.12, 39.51, 34.00, 38.77, 37.74, 36.95, 36.25, 32.92, 31.83, 30.85, 28.20, 26.18, 23.62, 23.47, 23.53, 22.15, 21.42, 19.44, 18.28, 17.46, 16.87, 16.43, 15.72, 14.00.

4.1.31. Uvaol-3-metil eterin MOM türevi bileşik 167'nin sentezi

Yeni destillenmiş THF (150 mL) içerisine inert atmosferde NaH (13.2 mmol, 320 mg, 6 ekv.) bileşik 13 (2.19 mmol, 1 g, 1 ekv.) konularak yarım saat ısıtıldı. Daha sonra MOMBr (4.38 mmol, 0.36 mL, 2 ekv.) ilave edilerek bir gece reflüks yapıldı. TLC ile kontrol edilerek çıkış bileşiği bittikten sonra reaksiyon su (5 mL) ile sonlandırıldı. THF uzaklaştırıldıktan sonra ham ürün su (3x200 mL) ile yıkanarak kloroform (3x250 mL) ile ekstraksiyon yapıldı. Organik faz Na_2SO_4 üzerinden kurutularak çözücü buharlaştırıldı. Geriye kalan madde silika jel kolondan etil asetat hekzan karışımı (1:9) ile süzülerek saflaştırıldı ve bileşik 167 (beyaz katı, 0.82 g, %75 verim) elde edildi.

Bileşik 167: $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3), δ ppm: 5.11 (t, $J = 3.58$ Hz, 1H), 4.56 (s, 2H), 3.46 (d, $J = 9.38$ Hz, AB sisteminin A kısmı 1H), 3.35 (s, 3H), 3.32 (s, 3H), 3.03 (d, $J = 9.38$ Hz, AB sisteminin B kısmı, 1H), 2.66 (dd, $J = 11.70, 4.33$ Hz, 1H), 1.91-1.21 (alifatik bölgeye ait pik grubu, 22H), 1.11 (s, 3H), 1.03 (s, 3H), 1.00 (s, 3H), 0.98 (bs, 3H), 0.82 (d, $J = 5.85$ Hz, 3H), 0.80 (s, 3H); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3), δ ppm: 138.58, 125.09, 96.84, 88.73, 75.28, 57.58, 55.80, 54.80, 54.99, 54.47, 47.75, 40.14, 39.46, 39.32, 38.76, 37.40, 36.94, 36.05, 32.95, 30.79, 28.20, 26.00, 23.63, 23.48, 23.37, 22.13, 21.04, 18.26, 17.42, 16.78, 16.42, 15.72.

4.1.32. Uvaol-3-metil eterin MEMCl ile reaksiyonu (168 ve 169'un sentezi)

Yeni destillenmiş THF (150 mL) içerisine inert atmosferde NaH (13.2 mmol, 320 mg, 6 ekv.) bileşik 13 (2.19 mmol, 1 g, 1 ekv.) konularak yarım saat ısıtıldı. Daha sonra MEMCl (4.38 mmol, 0.5 mL, 2 ekv.) ilave edilerek 4 gün reflüks yapıldı. TLC ile kontrol edilerek çıkış bileşiği bittikten sonra reaksiyon su (5 mL) ile sonlandırıldı. THF uzaklaştırıldıktan

sonra ham ürün su (3x200 mL) ile yıkanarak kloroform (3x250 mL) ile ekstraksiyon yapıldı. Organik faz Na₂SO₄ üzerinden kurutularak çözücü buharlaştırıldı. Geriye kalan madde karışımı silika jel kolondan kromatografisinde etil asetat hekzan karışımı (1:9) ile birbirinden ayrıldılar. Kolondan ilk sırada alınan madde **168** (beyaz katı, 0.72 g, %60 verim) ve kolondan ikinci sırada alına madde **169** (beyaz katı, 0.25 g, %20 verim) yapısındadır.

Bileşik 168: ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃), δ ppm: 5.09 (t, J = 3.52 Hz, 1H), 4.64 (s, 2H), 3.65 (d, J = 4.50 Hz, AB sisteminin A kısmı, 1H), 3.63 (d, J = 4.50 Hz, AB sisteminin B kısmı, 1H), 3.51 (t, 4.75 Hz, 2H), 3.42 (d, J = 9.39 Hz, AB sisteminin A kısmı, 1H), 3.36 (s, 3H), 3.33 (s, 3H), 3.07 (d, J = 9.39 Hz, AB sisteminin B kısmı, 1H), 2.65 (dd, J = 11.69, 4.30 Hz, 1H), 1.89-1.17 (alifatik bölgeye ait pik grubu, 22H), 1.11 (s, 3H), 1.03 (s, 3H), 1.00 (s, 3H), 0.98 (bs, 3H), 0.82 (d, J = 5.85 Hz, 3H), 0.80 (s, 3H); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃), δ ppm: 138.82, 125.08, 96.00, 88.70, 75.42, 71.82, 66.63, 59.05, 57.55, 55.78, 54.37, 47.73, 42.03, 40.11, 39.42, 39.32, 38.75, 37.42, 36.93, 35.96, 32.94, 30.78, 28.19, 26.09, 23.70, 23.46, 23.34, 22.11, 21.39, 18.25, 17.41, 16.87, 16.42, 15.70.

Bileşik 169: ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃), δ ppm: 5.10 (t, J = 3.13 Hz, 1H), 4.77 (s, 2H), 4.72 (d, J = 6.41 Hz, AB sisteminin A kısmı, 1H), 4.70 (d, J = 6.46 Hz, AB sisteminin B kısmı, 1H), 3.68 (t, J = 3.89 Hz, 2H), 3.53 (t, J = 4.42 Hz, 2H), 3.46 (d, J = 9.27 Hz, AB sisteminin A kısmı, 1H), 3.36 (s, OMe, 3H), 3.33 (s, OMe, 3H), 3.05 (d, J = 9.27 Hz, AB sisteminin B kısmı, 1H), 2.65 (dd, J = 11.66, 4.16 Hz, 1H), 1.92-1.20 (alifatik bölgeye ait pik grubu, 22H), 1.11 (s, 3H), 1.03 (s, 3H), 1.00 (s, 3H), 0.98 (bs, 3H), 0.82 (d, J = 5.85 Hz, 3H), 0.80 (s, 3H); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃), δ ppm: 138.86, 125.08, 91.26, 91.52, 88.71, 75.78, 71.80, 67.34, 59.05, 57.56, 55.78, 54.35, 47.72, 42.02, 40.12, 39.43, 39.30, 38.75, 37.45, 36.93, 35.96, 32.92, 30.76, 28.19, 26.06, 23.58, 23.46, 23.34, 22.12, 21.38, 18.25, 17.41, 16.82, 16.42, 15.70.

4.1.33. Uvaol-3-metil eterin allil türevi bileşik 173'ün sentezi

Yeni destillenmiş THF (150 mL) içerisine inert atmosferde NaH (39.4 mmol, 1.58 g, 6 ekv.) bileşik **13** (6.57 mmol, 3 g, 1 ekv.) konularak yarım saat ısıtıldı. Daha sonra 1,3-dibromopropan (13.1 mmol, 1.33 mL, 2 ekv.) ilave edilerek bir gece reflüks yapıldı. TLC ile kontrol edilerek çıkış bileşiği bittikten sonra reaksiyon su (5 mL) ile sonlandırıldı. THF uzaklaştırıldıktan sonra ham ürün su (3x200 mL) ile yıkanarak kloroform (3x250 mL) ile ekstraksiyon yapıldı. Organik faz Na_2SO_4 üzerinden kurutularak çözücü buharlaştırıldı. Geriye kalan madde silika jel kolondan etil asetat hekzan karışımı (1:9) ile süzülerek saflaştırıldı ve bileşik **173** (açık sarı kristal, 2.92 g, %89.5 verim) elde edildi.

Bileşik 173: $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3), δ ppm: 5.87 (ddt, $J = 17.20, 10.55, 5.40$ Hz, 1H), 5.23 (dd, $J = 17.20, 1.70$ Hz, 1H), 5.11 (dd, $J = 10.55, 1.70$ Hz, 1H), 5.11 (t, $J = 3.60$, 1H), 3.90 (d, $J = 5.40$ Hz, 2H), 3.37 (d, $J = 9.15$ Hz, AB sisteminin A kısmı, 1H), 3.53 (s, 3H), 2.89 (d, $J = 9.15$ Hz, AB sisteminin B kısmı, 1H), 2.66 (dd, $J = 11.70, 4.32$ Hz, 1H), 1.92-1.20 (alifatik bölgeye ait pik grubu, 22H), 1.11 (s, 3H), 1.03 (s, 3H), 1.00 (s, 3H), 0.98 (bs, 3H), 0.82 (d, $J = 5.85$ Hz, 3H), 0.80 (s, 3H); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3), δ ppm: 139.07, 135.67, 124.86, 116.22, 88.72, 77.65, 57.57, 55.80, 54.53, 47.75, 42.08, 40.15, 39.48, 39.34, 38.77, 37.77, 36.95, 36.21, 32.92, 30.83, 28.20, 26.19, 23.61, 23.47, 23.35, 23.14, 21.43, 18.27, 17.46, 16.93, 16.44, 15.73.

4.1.34. Uvaol-3-metil eterin propargil türevi bileşik 174'ün sentezi

Yeni destillenmiş THF (150 mL) içerisine inert atmosferde NaH (13.1 mmol, 525 mg, 6 ekv.) bileşik **13** (2.19 mmol, 1 g, 1 ekv.) konularak yarım saat ısıtıldı. Daha sonra propargil bromür (6.57 mmol, 0.5 mL, 3 ekv.) ilave edilerek bir gece reflüks yapıldı. TLC ile kontrol edilerek çıkış bileşiği bittikten sonra reaksiyon su (5 mL) ile sonlandırıldı. THF uzaklaştırıldıktan sonra ham ürün su (3x200 mL) ile yıkanarak kloroform (3x250 mL) ile ekstraksiyon yapıldı. Organik faz Na_2SO_4 üzerinden kurutularak çözücü buharlaştırıldı. Geriye kalan madde silika jel kolondan etil asetat hekzan karışımı (1:9) ile süzülerek saflaştırıldı ve bileşik **174** (renksiz camsı kristal, 0.99 g, %91 verim) elde edildi.

Bileşik 174: $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3), δ ppm: 5.12 (t, $J = 3.58$ Hz, 1H), 4.10 (dd, $J = 15.88$, 2.34 Hz, AB sisteminin A kısmı, 1H), 4.04 (dd, $J = 15.88$, 2.34 Hz, AB sisteminin B kısmı, 1H), 3.51 (d, $J = 8.85$ Hz, AB sisteminin A kısmı, 1H), 3.35 (s, 3H), 2.94 (d, $J = 8.85$ Hz, AB sisteminin B kısmı, 1H), 2.66 (dd, $J = 11.70$, 4.32 Hz, 1H), 2.34 (t, $J = 2.34$ Hz, 1H), 1.92-1.20 (alifatik bölgeye ait pik grubu, 22H), 1.11 (s, 3H), 1.03 (s, 3H), 1.00 (s, 3H), 0.98 (bs, 3H), 0.82 (d, $J = 5.85$ Hz, 3H), 0.80 (s, 3H); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3), δ ppm: 138.86, 125.08, 88.73, 80.73, 77.73, 73.94, 73.90, 58.53, 57.58, 55.79, 54.57, 47.75, 42.11, 40.18, 39.45, 39.33, 38.77, 37.61, 36.95, 36.12, 32.95, 30.77, 28.20, 26.13, 23.48, 23.32, 23.14, 21.41, 18.28, 17.43, 17.09, 16.43, 15.74.

4.1.35. Uvaol-3-metil eterin akrilat türevi bileşik 175'in sentezi

Yeni destillenmiş THF (150 mL) içerisine inert atmosferde NaH (10.95 mmol, 437 mg, 5 ekv.) bileşik **13** (2.19 mmol, 1 g, 1 ekv.) konularak yarım saat ısıtıldı. Daha sonra akriloil klorür (6.57 mmol, 0.53 mL, 3 ekv.) ilave edilerek bir gece reflüks yapıldı. TLC ile kontrol edilerek çıkış bileşiği bittikten sonra reaksiyon su (5 mL) ile sonlandırıldı. THF uzaklaştırıldıktan sonra ham ürün su (3x200 mL) ile yıkanarak kloroform (3x250 mL) ile ekstraksiyon yapıldı. Organik faz Na_2SO_4 üzerinden kurutularak çözücü buharlaştırıldı. Geriye kalan madde silika jel kolondan etil asetat hekzan karışımı (1:9) ile süzülerek saflaştırıldı ve bileşik **175** (beyaz katı, 0.85 g, %76 verim) elde edildi.

Bileşik 175: $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3), δ ppm: 6.38 (dd, $J = 17.33$, 1.55 Hz, 1H), 6.12 (dd, $J = 17.33$, 10.41 Hz, 1H), 5.80 (dd, $J = 10.43$, 1.55 Hz, 1H), 5.17 (t, $J = 3.52$ Hz, 1H), 4.19 (d, $J = 11.10$ Hz, AB sisteminin A kısmı, 1H), 3.72 (d, $J = 11.10$ Hz, AB sisteminin B kısmı, 1H), 3.36 (s, 3H), 2.68 (dd, $J = 11.68$, 4.28 Hz, 1H), 1.92-1.20 (alifatik bölgeye ait pik grubu, 22H), 1.11 (s, 3H), 1.03 (s, 3H), 1.00 (s, 3H), 0.98 (bs, 3H), 0.82 (d, $J = 5.85$ Hz, 3H), 0.80 (s, 3H); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3), δ ppm: 166.23, 138.15, 130.17, 128.80, 125.79, 88.67, 71.20, 57.52, 55.81, 54.47, 47.74, 42.01, 40.07, 39.41, 39.30, 38.75, 37.13, 36.93, 35.81, 32.85, 31.56, 30.58, 28.21, 26.11, 23.50, 23.47, 23.41, 22.10, 21.34, 18.24, 17.36, 16.44, 15.71.

4.1.36. Uvaol-3-metil eterin metakrilat türevi bileşik 176'nın sentezi

Yeni destillenmiş THF (150 mL) içerisine inert atmosferde NaH (13.1 mmol, 525 mg, 6 ekv.) bileşik **13** (2.19 mmol, 1 g, 1 ekv.) konularak yarım saat ısıtıldı. Daha sonra metakrilolil klorür (6.57 mmol, 0.64 mL, 3 ekv.) ilave edilerek bir gece reflüks yapıldı. TLC ile kontrol edilerek çıkış bileşiği bittikten sonra reaksiyon su (5 mL) ile sonlandırıldı. THF uzaklaştırıldıktan sonra ham ürün su (3x200 mL) ile yıkanarak kloroform (3x250 mL) ile ekstraksiyon yapıldı. Organik faz Na_2SO_4 üzerinden kurutularak çözücü buharlaştırıldı. Geriye kalan madde silika jel kolondan etil asetat hekzan karışımı (1:9) ile süzülerek saflaştırıldı ve bileşik **176** (beyaz katı, 0.82 g, %71 verim) elde edildi.

Bileşik 176: $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3), δ ppm: 6.00 (d, $J = 1.60$ Hz, 1H), 5.43 (d, $J = 1.60$ Hz, 1H), 5.07 (t, $J = 3.54$ Hz, 1H), 4.07 (d, $J = 11.06$ Hz, AB sisteminin A kısmı, 1H), 3.59 (d, $J = 11.06$ Hz, AB sisteminin B kısmı, 1H), 3.26 (s, 1H), 2.57 (dd, $J = 11.68$, 4.27 Hz, 1H), 1.85 (s, 3H), 1.92-1.20 (alifatik bölgeye ait pik grubu, 22H), 1.11 (s, 3H), 1.03 (s, 3H), 1.00 (s, 3H), 0.98 (bs, 3H), 0.82 (d, $J = 5.85$ Hz, 3H), 0.80 (s, 3H); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3), δ ppm: 167.38, 138.17, 136.71, 125.78, 125.03, 88.69, 71.32, 57.54, 55.82, 54.53, 47.75, 42.03, 40.07, 39.47, 39.30, 38.78, 38.75, 37.23, 36.93, 35.95, 32.85, 31.52, 30.62, 30.82, 26.12, 23.59, 323.51, 23.41, 22.11, 21.33, 18.43, 18.24, 17.36, 16.80, 16.43, 15.70.

4.1.37. Uvaol-3-metil eterin epoksit türevi bileşik 177'nin sentezi

Yeni destillenmiş THF (150 mL) içerisine inert atmosferde NaH (20 mmol, 0.5 g, %60, 3 ekv.) bileşik **13** (6.5 mmol, 3 g, 1 ekv.) konularak yarım saat ısıtıldı. Daha sonra ($\pm$)-epiklorohidrin (20 mmol 1.5 mL, 3 ekv.) ilave edilerek bir gece reflüks yapıldı. TLC ile kontrol edilerek çıkış bileşiği bittikten sonra reaksiyon su (5 mL) ile sonlandırıldı. THF uzaklaştırıldıktan sonra ham ürün su (3x200 mL) ile yıkanarak kloroform (3x250 mL) ile ekstraksiyon yapıldı. Organik faz Na_2SO_4 üzerinden kurutularak çözücü buharlaştırıldı. Geriye kalan madde silika jel kolondan etil asetat hekzan karışımı (1:9) ile süzülerek saflaştırıldı ve bileşik **177** (beyaz katı, 2.98 g, %88 verim) elde edildi.

4.1.38. Epoksit açılma ürünü bileşik 178'in sentezi

Metanol (25 mL) ile metalik sodyum (200 mg, 4 mmol, 10 ekv) kullanılarak hazırlanan MeONa/MeOH tamponuna bileşik **177** (200 mg, 0,4 mmol 1 ekv) ilave edildi ve 12 saat karıştırıldı. TLC ile kontrol edilerek çıkış bileşiği bittikten sonra reaksiyon sonlandırıldı. Çözücü uzaklaştırıldıktan sonra ham ürün su (2x500 mL) ile yıkanarak kloroform (2x100 mL) ile ekstraksiyon yapıldı. Organik faz Na_2SO_4 üzerinden kurutularak çözücü buharlaştırıldı. Geriye kalan madde silika jel kolondan etil asetat hekzan karışımı (1:7) ile süzüldü ve **178** (beyaz katı, 170 mg, %82 verim) elde edildi.

4.1.39. Epoksit açılma ürünü bileşik 179'un sentezi

Epoksit türevi bileşik **177**'nin (2 g, 3.9 mmol, 1 ekv.) THF-MeCN-su (100:30:20 mL) içerisindeki çözeltisine sodyum azid (1.27 g, 19.5 mmol, 5 ekv.) eklenerek 2 gün reflüks yapıldı. TLC ile kontrol edilerek çıkış bileşiği bittikten sonra reaksiyon durduruldu. Çözücü uzaklaştırıldıktan sonra ham ürün su (3x200 mL) ile yıkanarak kloroform (3x250 mL) ile ekstraksiyon yapıldı. Organik faz Na_2SO_4 üzerinden kurutularak çözücü buharlaştırıldı. Geriye kalan madde silika jel kolondan etil asetat hekzan karışımı (1:9) ile süzülerek saflaştırıldı ve bileşik **179** (beyaz katı, 1.93 g, %89 verim) elde edildi.

4.1.40. Epoksit açılma ürünü bileşik 180'nin sentezi

Epoksit bileşik **177**'nin (200 mg, 0.39 mmol, 1 ekv.) su-MeCN (40:10 ml) içerisindeki çözeltisine HCl (%37, 1 mL) ilave edilerek 3 gün reflüks yapıldı. Reaksiyon TLC ile kontrol edilip çıkış bileşiğinin tükenmesinin ardından sonlandırıldı. Çözücü uzaklaştırıldıktan sonra ham ürün su (3x200 mL) ile yıkanarak kloroform (3x250 mL) ile ekstraksiyon yapıldı. Organik faz Na_2SO_4 üzerinden kurutularak çözücü buharlaştırıldı. Geriye kalan madde silika jel kolondan etil asetat hekzan karışımı (1:9) ile süzülerek saflaştırıldı ve bileşik **180** (beyaz katı, 165 mg, %79) elde edildi.

4.1.41. Asetil türevi bileşik 184'ün sentezi

Bu asetilleme reaksiyonunda 4.1.4'teki prosedür uygulanmıştır. Reaksiyon sonucunda ele geçen ürün karışımı silika jel kolon kromatografisi ile etil asetat hekzan (1:20) saflaştırıldı. TLC'ye göre en büyük spot ana ürün olarak izole edildi ve kolondan ilk sırada alındı diğer kirlilikler ve yan ürünler izole edilemedi. Bu reaksiyon sonucunda ele geçen bileşik diastereomer karışımı oluşturan izomerlerden yalnızca birisinin saf hali olan bileşik **184** (beyaz katı, 0,48 g, %44 verim) yapısındadır.

Bileşik 184: $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3), δ ppm: 5.09 (t, $J = 3.50$ Hz, 1H), 5.08-5.03 (m, CHOAc , 1H), 3.48-3.40 (m, pik grubu, 4H), 3.35 (d, $J = 8.83$ Hz, AB sisteminin A kısmı, 1H), 3.33 (s 3H), 2.92 (d, $J = 8.83$ Hz, AB sisteminin B kısmı, 1H), 2.65 (dd, $J = 11.68, 4.28$ Hz, 1H), 2.06 (s, Asetil, 3H), 1.92-1.20 (alifatik bölgeye ait pik grubu, 22H), 1.11 (s, 3H), 1.03 (s, 3H), 1.00 (s, 3H), 0.98 (bs, 3H), 0.82 (d, $J = 5.85$ Hz, 3H), 0.80 (s, 3H); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3), δ ppm: 170.12, 138.91, 125.07, 88.67, 78.77, 71.35, 69.47, 57.54, 55.57, 54.31, 51.08, 47.70, 42.01, 40.09, 39.46, 39.28, 38.74, 37.88, 36.92, 36.04, 32.87, 30.73, 28.19, 26.11, 23.52, 23.45, 23.35, 22.13, 21.37, 20.97, 18.25, 17.43, 16.88, 16.42, 15.71.

4.1.42. Triazol türevi bileşik 185'in sentezi

Bileşik **179**'un (500 mg, 0.9 mmol, 1 ekv.) THF-su (10:6 mL) içerisindeki çözeltisine fenilasetilen (0.2 mL, 1.8 mmol, 2 ekv.) ilave edilerek 10 dk karıştırıldı. Ayrı ayrı kaplarda bakır(II)sülfat pentahidrat (22.5 mg, 0.09 mmol, 0.1 ekv.) ve sodyum askorbat (18 mg, 0.09 mmol, 0.1 ekv.) su (2 mL) içerisinde çözüldü. Bakır(II)sülfat pentahidrat ve sodyum askorbat çözeltiler birbirleri ile karıştırılarak hızlı bir şekilde balona ilave edildi. İlk karıştırma esnasında kahverengi bir reaktif balona ilave sonrasında açık sarı-yeşil renkli çözelti karışımı meydana geldi. Reaksiyon oda sıcaklığında bir gece karıştırıldıktan sonra TLC ile kontrol edildi ve çıkış bileşiğinin tükenmediği gözlenince 2 saat reflüks yapıldı ve sürenin sonunda çıkış bileşiğinin tükendiği tespit edildi. Çözücü uzaklaştırıldıktan sonra ham ürün su (3x200 mL) ile yıkanarak kloroform (3x250 mL) ile ekstraksiyon yapıldı. Organik faz Na_2SO_4 üzerinden kurutularak çözücü buharlaştırıldı.

Geriye kalan madde silika jel kolondan etil asetat hekzan karışımı (1:9) ile süzülerek saflaştırıldı ve bileşik **185** (beyaz katı, 0.525 g, %88 verim) elde edildi.

4.1.43. Uvaol-3-metil eterin epoksit türevi bileşik **186**'nın sentezi

Bu reaksiyon 4.1.37'de anlatılan metot bileşik **13** (2.19 mmol, 1 g, 1 ekv.) üzerinden (R)-(-)-epiklorohidrin (6.57 mmol 0.52 mL, 3 ekv.) ile yapıldı ve bileşik **186** (beyaz katı, 0.98 g, %87 verim) elde edildi.

Bileşik 186: $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3), δ ppm: 5.11 (t, $J = 3.51$ Hz, 1H), 3.64 (dd, $J = 11.76, 3.10$ Hz, AB sisteminin A kısmı, 1H), 3.47 (d, $J = 9.05$ Hz, AB sisteminin A kısmı, 1H), 3.30 (s, 3H), 3.34 (dd, $J = 11.76, 3.10$ Hz, AB sisteminin B kısmı, 1H), 3.11-3.08 (m, 1H), 2.95 (d, $J = 9.05$ Hz, AB sisteminin B kısmı, 1H), 2.76 (dd, $J = 5.01, 4.24$ Hz, 1H), 2.68 (dd, $J = 11.69, 4.29$ Hz, 1H), 2.56 (dd, $J = 5.11, 2.71$ Hz, 1H), 1.92-1.20 (alifatik bölgeye ait pik grubu, 22H), 1.11 (s, 3H), 1.03 (s, 3H), 1.00 (s, 3H), 0.98 (bs, 3H), 0.82 (d, $J = 5.85$ Hz, 3H), 0.80 (s, 3H); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3), δ ppm: 138.98, 124.97, 88.72, 78.78, 71.95, 57.60, 55.77, 54.40, 51.06, 47.73, 44.40, 42.05, 40.10, 39.46, 39.31, 38.75, 37.87, 36.94, 32.88, 30.77, 28.19, 26.16, 23.50, 23.35, 22.13, 21.40, 18.25, 17.43, 16.86, 16.42, 15.71.

4.1.44. Uvaol-3-metil eterin epoksit türevi bileşik **187**'nin sentezi

Bu reaksiyon 4.1.37'de anlatılan metot bileşik **13** (2.19 mmol, 1 g, 1 ekv.) üzerinden (S)-(+)-epiklorohidrin (6.57 mmol 0.52 mL, 3 ekv.) ile yapıldı ve bileşik **187** (beyaz katı, 0.83 g, %74 verim) elde edildi.

Bileşik 187: $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3), δ ppm: 5.11 (t, $J = 3.57, 3.57$ Hz, 1H), 3.61 (dd, $J = 11.78, 3.18$ Hz, AB sisteminin A kısmı, 1H), 3.42 (d, $J = 9.03$ Hz, AB sisteminin A kısmı, 1H), 3.36 (dd, $J = 11.78, 3.18$ Hz, AB sisteminin B kısmı, 1H), 3.53 (s, 3H), 3.11-3.08 (m, 1H), 2.98 (d, $J = 9.05$ Hz, AB sisteminin B kısmı, 1H), 2.67 (dd, $J = 11.69, 4.29$ Hz, 1H), 2.56 (dd, $J = 5.11, 2.71$ Hz, 1H), 1.92-1.20 (alifatik bölgeye ait pik grubu, 22H), 1.11 (s, 3H), 1.03 (s, 3H), 1.00 (s, 3H), 0.98 (bs, 3H), 0.82 (d, $J = 5.85$ Hz, 3H),

0.80 (s, 3H); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃), δ ppm: 138.98, 124.97, 88.72, 78.78, 71.95, 57.60, 55.77, 54.40, 51.06, 47.73, 44.40, 42.05, 40.10, 39.46, 39.31, 38.75, 37.87, 36.94, 32.88, 30.77, 28.19, 26.16, 23.50, 23.35, 22.13, 21.40, 18.25, 17.43, 16.86, 16.42, 15.71.

4.1.45. Epoksit açılma ürünü bileşik 188'in sentezi

Bu reaksiyon 4.1.39'da verilen prosedüre uygun olarak yapıldı ve reaksiyon soncunda epoksit açılma ürünü bileşik 354 (beyaz katı, 188 mg, %86 verim) elde edildi.

Bileşik 188: ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃), δ ppm: 5.11 (t, J = 3.48 Hz, 1H), 3.90 (p, J = 5.03, 5.01 Hz, 1H), 3.38-3.29 (m, pik grubu, 5H), 3.34 (s, 3H), 2.91 (d, J = 9.00 Hz, AB sisteminin B kısmı 1H), 2.67 (dd, J = 11.69, 4.29 Hz, 1H), 2.61 (bs, OH, 1H) 1.92-1.20 (alifatik bölgeye ait pik grubu, 22H), 1.11 (s, 3H), 1.03 (s, 3H), 1.00 (s, 3H), 0.98 (bs, 3H), 0.82 (d, J = 5.85 Hz, 3H), 0.80 (s, 3H); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃), δ ppm: 138.91, 125.07, 88.69, 78.58, 72.21, 69.57, 57.55, 55.75, 54.36, 53.60, 47.69, 42.01, 40.09, 39.45, 39.26, 38.74, 37.88, 36.91, 36.14, 32.83, 30.71, 28.18, 26.11, 23.65, 23.45, 23.36, 22.11, 21.35, 18.23, 17.41, 16.84, 16.42, 15.70.

4.1.46. Epoksit açılma ürünü bileşik 189'un sentezi

Bu reaksiyon 4.1.39'da verilen prosedüre uygun olarak yapıldı ve reaksiyon soncunda epoksit açılma ürünü bileşik 189 (120 mg, %73 verim) elde edildi.

Bileşik 189: ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃), δ ppm: 5.11 (t, J = 2.93 Hz, 1H), 3.89 (p, J = 5.29, 5.17 Hz, 1H), 3.41-3.28 (m, pik grubu, 5H), 3.34 (s, 3H), 2.94 (d, J = 8.96 Hz, AB sisteminin B kısmı, 1H), 2.68 (dd, J = 11.69, 4.29 Hz, 1H), 2.55 (bs, OH, 1H) 1.92-1.20 (alifatik bölgeye ait pik grubu, 22H), 1.11 (s, 3H), 1.03 (s, 3H), 1.00 (s, 3H), 0.98 (bs, 3H), 0.82 (d, J = 5.85 Hz, 3H), 0.80 (s, 3H); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃), δ ppm: 138.91, 125.07, 88.69, 78.58, 72.21, 69.57, 57.55, 55.75, 54.36, 53.60, 47.69, 42.01, 40.09, 39.45, 39.26, 38.74, 37.88, 36.91, 36.14, 32.83, 30.71, 28.18, 26.11, 23.65, 23.45, 23.36, 22.11, 21.35, 18.23, 17.41, 16.84, 16.42, 15.70.

4.1.47. Ursolik asit türevi bileşik 190'ın sentezi

Bu reaksiyon 4.1.4'teki yöntem ile bileşik **112** üzerinden yapılarak bileşik **190** (beyaz renkli katı, 0.425 g, %78 verim) elde edildi.

Bileşik 190: $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3), δ ppm: 5.18 (t, $J = 3.18, 3.18$ Hz, 1H), 5.09 (d, $J = 5.93$ Hz, AB sisteminin A kısmı 1H), 5.08 (d, $J = 5.91$ Hz, AB sisteminin B kısmı, 1H), 4.48 (dd, $J = 10.23, 5.81$ Hz, 1H), 3.36 (s, 3H), 2.11 (s, 3H), 2.25 (d, $J = 11.25$ Hz, 1H), 2.07-1.05 (alifatik bölgeye ait pik grubu, 22H), 1.08 (s, 3H), 0.98 (s, 3H), 0.94 (d, $J = 6.21$ Hz, 3H), 0.90 (s, 3H), 0.85 (d, $J = 6.47$ Hz, 3H), 0.79 (s, 3H), 0.79 (s, 3H);

4.2. Biyolojik Aktivite Çalışmaları

4.2.1. 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, dimetil sülfoksit (DMSO) içerisinde 200 μ M 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 dimetil sülfoksit (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.

4.2.2. Hücre Kültürü

American Type Cell Collection (ATCC)'dan ticari olarak temin edilen sağlıklı hücre hatlarını 37°C'de 1 dakika içinde eritip önceden hazırlanmış *complete medium* (DMEM + %10 FBS + %1P/S) içinde 25cm²'lik besi ortamına ekip 24 saat inkübe edildi. Hücreleri çoğaltmak için birkaç kez pasajlandıktan sonra tripsin-EDTA ile hücreleri kaldırıp biyolojik aktiviteyi tespit etmek için, 96 hücreli beyaz renk kültür plaklarına her bir kuyuda 100 μ L 1,5x10⁴ hücre olacak şekilde hücreler ilave edilip 24 saat inkübe edildi. Daha sonra hazırlanan triterpen numuneleri son konsantrasyon %0,1 DMSO olacak şekilde DMSO+PBS'de çözülüp 3 tekrarlı her bir kuyuya 5 μ L ekilip 24 saat inkübasyonun ardından luminometrik yöntem ile multi-plate reader kullanılarak ATP seviyesi ölçülerek hücre canlılığı tespit edildi.

4.2.3. *in vitro* sitotoksiste deneylerinin sonuçları

Tez kapsamında sentezlenen triterpenlerden sadece bir bölümüne sitotoksiste deneyleri yapılmıştır. Hücre kültürü çalışmalarındaki aksaklıklar dolayısıyla bütün bileşiklerin *in*

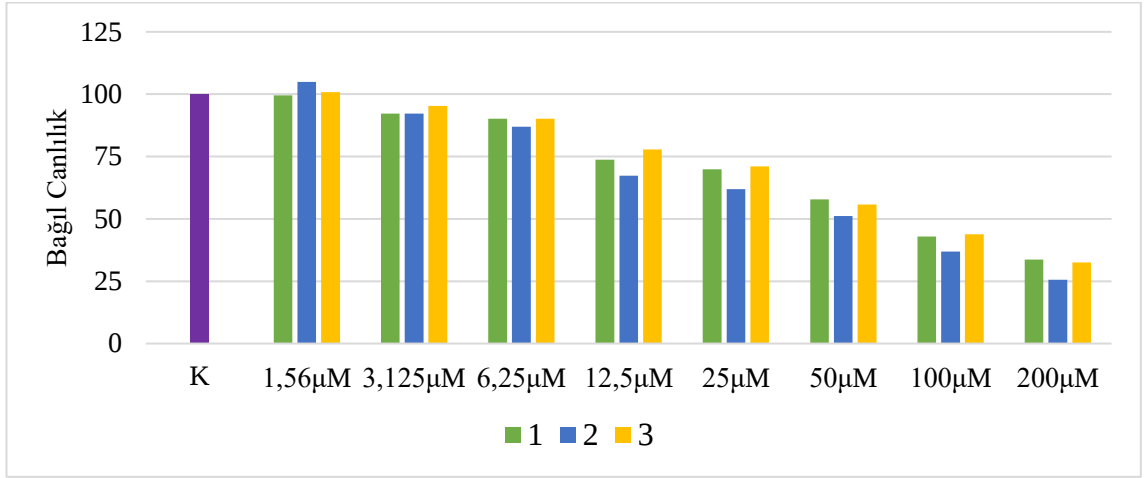
vitro sitotoksosite deneyleri tamamlanamamıştır. İlk olarak, farklı triterpenleri içeren hücrelerin sitotoksitesini doz-cevap ilişkisi olarak belirlendi. 3T3 hücreler (her bir kuyucukta toplam 15×10^3 hücre) 24 saat süre ile triterpenlerin çeşitli konsantrasyonlarına (1,56-200 μM) karşı maruz bırakıldı.

Triterpenlerin hücreler üzerindeki etkileri ATP hücre canlılık değerleri tarafından belirlendi. Hücre kültürlerindeki hücre canlılığı deneyden önce %95 den daha büyük olacak şekilde ayarlandı. Triterpenlerin ilavesi sonrası grafiklerden görüleceği üzere tüm triterpenler için düşük konsantrasyonlarda (1,56 μM) proliferatif etki gözlenirken artan konsantrasyonlarda sitotoksik aktivite göstermiştir.

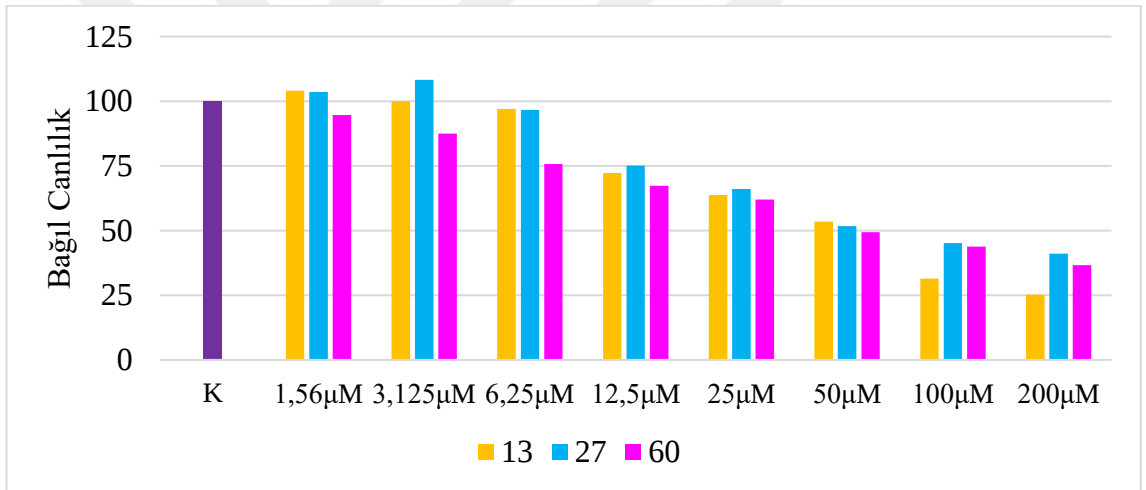
Çizelge 4.4. Triterpenlere ait bağıl sitotoksosite (canlılık) deneylerinin sonuçları

Bileşik	Konsantrasyona bağlı bağıl canlılık							
	1,56 μM	3,125 μM	6,25 μM	12,5 μM	25 μM	50 μM	100 μM	200 μM
Kontrol	100	100	100	100	100	100	100	100
1	99,5245	92,2777	90,1812	73,7868	69,6265	57,8025	42,8569	33,6185
2	104,9054	92,2265	86,9239	67,2893	61,9350	51,1720	36,9279	25,5876
3	100,8225	95,2776	90,1916	77,7864	70,9729	55,8073	43,8661	32,5136
13	104,0716	100,0013	97,0792	72,2490	63,7511	53,5149	31,3844	25,2352
27	103,5689	108,2563	96,6781	75,1265	66,0993	51,7599	45,1438	41,0635
60	94,6818	87,5204	75,7468	67,3301	61,9652	49,3696	43,8383	36,6306
112	92,7349	85,5433	68,5394	65,1864	52,7514	41,9431	38,9549	25,8059
113	88,0933	79,5735	69,7569	66,5150	52,1864	40,7607	33,4513	24,8075
117	104,4056	101,4131	91,9311	79,6960	67,8059	59,7448	44,2045	36,1134
142	105,8041	95,9203	94,0568	85,0971	73,1558	68,4959	62,1389	48,2531
144	102,5297	100,4254	86,8813	77,7824	64,0583	55,4839	44,6236	32,6312
145	106,9452	103,7960	85,3243	79,6428	64,9960	57,6195	39,8442	21,5567
157	101,2190	96,8506	89,2080	84,3580	77,8250	62,8264	57,2525	43,3508
158	91,8258	81,5150	66,7656	60,7782	55,6007	46,9816	39,5959	26,9905
159	95,9312	86,3210	73,4651	64,4745	59,1024	56,0949	49,7451	45,8192

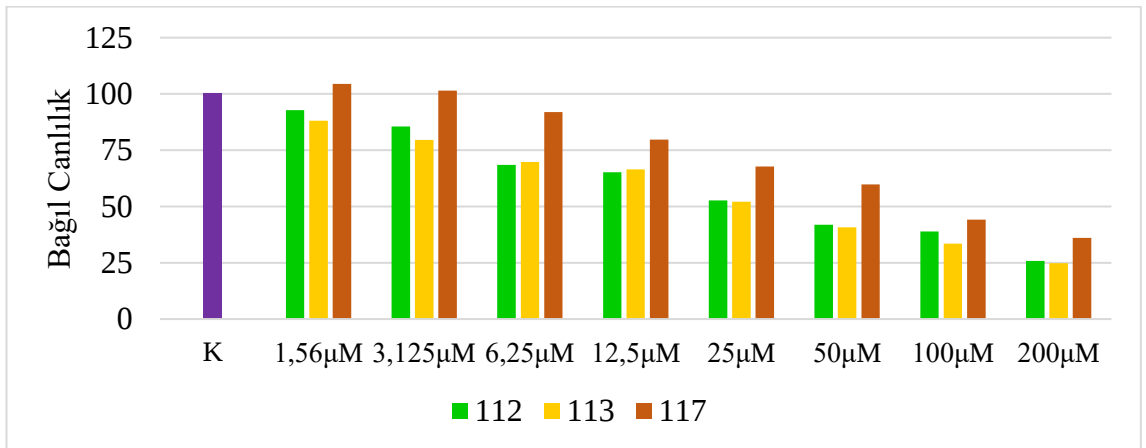
Çizelge 4.4'te yer alan sitotoksosite deneylerinin sonuçlarına yönelik bulguların grafikler üzerinde gösterimleri her bir konsantrasyon için sırasıyla Şekil 4.1-4.5'te üçlü gruplar halinde verilmiştir.



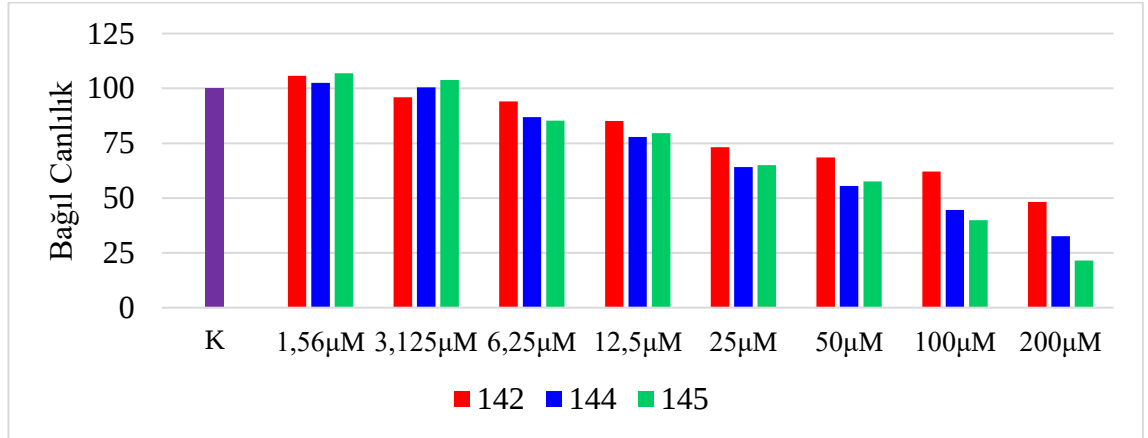
Şekil 4.1. Bileşik 1, 2 ve 3'ün 1.56-200 µM derişimdeki bağıl sitotoksisiteleri



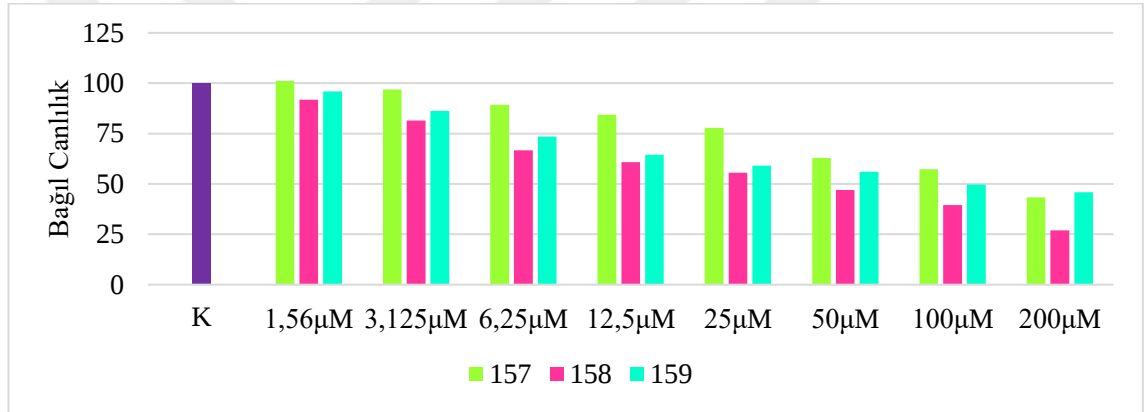
Şekil 4.2. Bileşik 13, 27 ve 60'ın 1.56-200 µM derişimdeki bağıl sitotoksisiteleri



Şekil 4.3. Bileşik 112, 113 ve 117'nin 1.56-200 µM derişimdeki bağıl sitotoksisiteleri



Şekil 4.4. Bileşik 142, 144 ve 145'in 1.56-200 µM derişimdeki bağıl sitotoksisiteleri



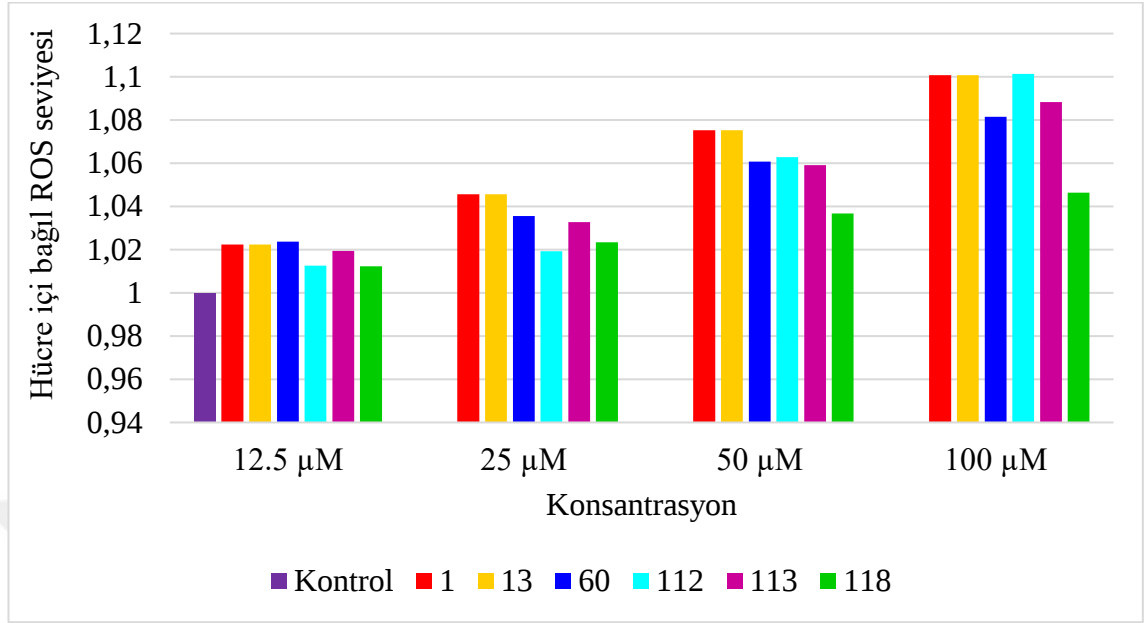
Şekil 4.5. Bileşik 152, 158 ve 159'un 1.56-200 µM derişimdeki bağıl sitotoksisiteleri

4.2.4. Hücre içi ROS seviyeleri ölçüm çalışmalarının sonuçları

Hücre içi reaktif oksijen türlerinin değişimini belirleme çalışmalarından elde edilen sonuçlar Çizelge 4.4'te Şekil 4.6'da yer almaktadır.

Çizelge 4.5. Hücre içi ROS seviyeleri ölçüm çalışmalarının sonuçları

Bileşik	Kontrol	12.5 µM	25 µM	50 µM	100 µM
1	1,00000	1,0224291	1,0456355	1,0752876	1,1007668
13	1,00000	1,0224291	1,0456355	1,0752876	1,1007668
60	1,00000	1,023734	1,035539	1,060797	1,081435
112	1,00000	1,0126249	1,019197	1,062760	1,101377
113	1,00000	1,0193555	1,0327348	1,0591798	1,0883646
118	1,00000	1,0123144	1,023437	1,0367911	1,0463027



Şekil 4.6. Triterpenlerin hücre içi ROS seviyelerine etkisinin sonuçları

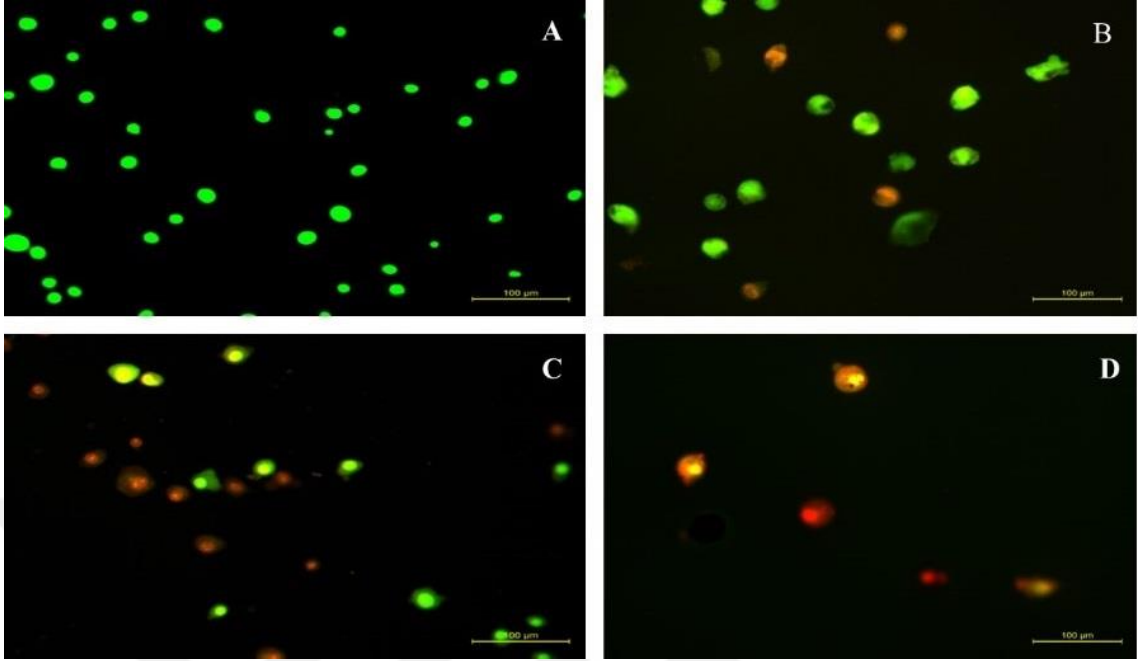
Sonuç olarak artan madde konsantrasyonlarıyla hücre içi reaktif oksijen seviyesinin arttığı görülmüştür. ROS düzeyini en az arttıran bileşik **118** numaralı bileşiktir. Bileşik **118**'in ROS düzeyine etkisi 100 µM konsantrasyonda bile neredeyse diğer bileşiklerin 25 µM'daki değerine eşit görülmektedir.

4.2.5. Genotoksisite çalışmalarının sonuçları

Çalışma sonucunda artan triterpen konsantrasyonlarında hücrelerde nekrozun ve apoptozun arttığı, buna karşın canlı hücrelerin azaldığı izlenmiştir.

Çizelge 4.6. Genotoksisite çalışmalarının sonuçları

	Canlı	Apoptoz	Nekroz
Kontrol	60	0	0
107	49	2	0
274	58	6	1
275	44	2	1
280	34	3	1
282	68	5	0



Şekil 4.7. Genotoksisite çalışmalarının sonucunda elde edilen hücre görüntüleri

Şekil 4.8’de yeşil hücreler canlı hücreleri, turuncu olanlar nekrotik hücreleri ve kırmızılar ise apoptotik hücreleri göstermektedir. A: Kontrol, B: Canlı hücreler ve nekrotik hücreler, C: Canlı hücreler ve apoptoza dönen hücreler, D: Nekrotik ve apoptotik hücrelerdir.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

5.1. Docking çalışmalarının sonucu

Docking çalışmaları için proteinlerin kristal yapıları protein veri banklarından (PDB) temin edildi. Hedef proteinin veri bankasında olmaması durumunda ise hedef proteine davranış ve bağlanma özellikleri bakımından en uygun dizilime sahip eşdeğer proteinler seçildi.

5.1.1. NF- κ B/DNA kompleksi üzerindeki docking çalışmalarının sonucu

NF- κ B'nin yolak içerisinde nasıl inhibe edildiği kesin olmamakla beraber öncelikle onun DNA'ya bağlanması engellemek üzere DNA yerine geçebilecek ligandlar araştırıldı. Bu amaçla ilk olarak NF- κ B/DNA kompleksinin yapısı belirlenmek istendi. NF- κ B/DNA kompleksinin hedef protein olarak araştırılması amacıyla insan c-Rel-cRel dimerinin yapısına ulaşamadığı için tavuk c-Rel/c-Rel kompleksinin kristal yapısı kullanıldı. Tavuk c-Rel yapısının sekansı insan c-Rel yapısının sekansına %84 benzerlik göstermektedir. NF- κ B/DNA kompleksinde DNA'nın bağlandığı yere triterpenlerin bağlanma olasılığı docking çalışmaları ile incelendi. Bunun için kompleks üzerinden DNA silindi ve yerine triterpenler yerleştirildi. Docking sonuçlarına göre kullanılan triterpenler DNA bağlanma bölgesine göre oldukça küçük kaldılar ve bu sebeple yeterince güçlü ligand-protein bağlanma ilişkisi tespit edilemedi. Bu nedenle triterpenlerin bağlanabileceği diğer NF- κ B kompleksleri araştırıldı.

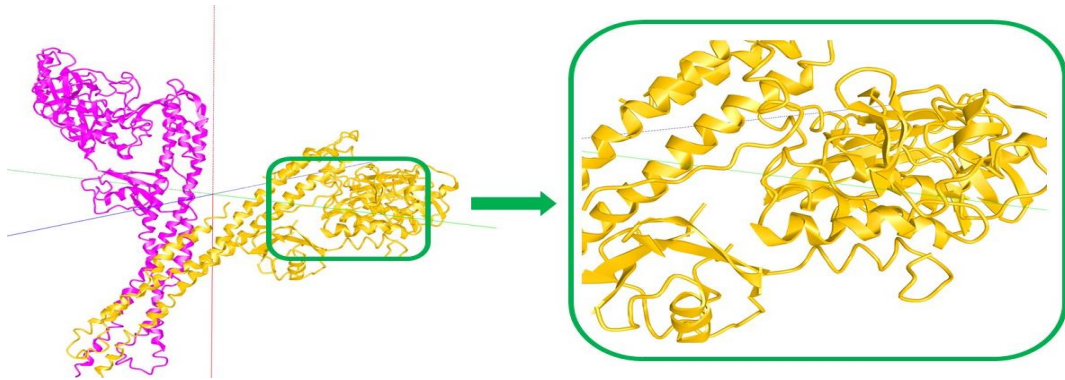
5.1.2. NF- κ B/I κ B α kompleksi üzerindeki docking çalışmalarının sonucu

Protein veri bankasından insan I κ B α ile kompleks oluşturmuş fare p50/p65 dimerinin kristal yapısı elde edildi ancak bu yapıda da sadece RHD bölgesi görüldüğü için bu çalışma için bu yeterli olmadı. 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 araştırıldı. Çünkü dimerler birbirlerinden ayrıldıklarında nükleer pordan geçerek çekirdek transkripsiyonuna sebep olmaktadır. MOE programı ile bu protein yapısında triterpenlerin bağlanabileceği yerler arandı ve triterpenleri bağlayabilecek uygun hacme sahip olan 3 adet bağlanma bölgesi (**I**, **II**, **III**) tespit edildi (Şekil 3.3). Bileşik **8** ve **9** bu bölgelere GOLD Suite programı ile dock edildi. Tüm bağlanma bölgeleriyle ilişki kuruldu ancak bağlanma bölgesi **I**'in hidrojen bağı yapma açısından daha uyumlu olduğu görüldü.

5.1.3. İnsan IKK2 üzerindeki docking çalışmalarının sonucu

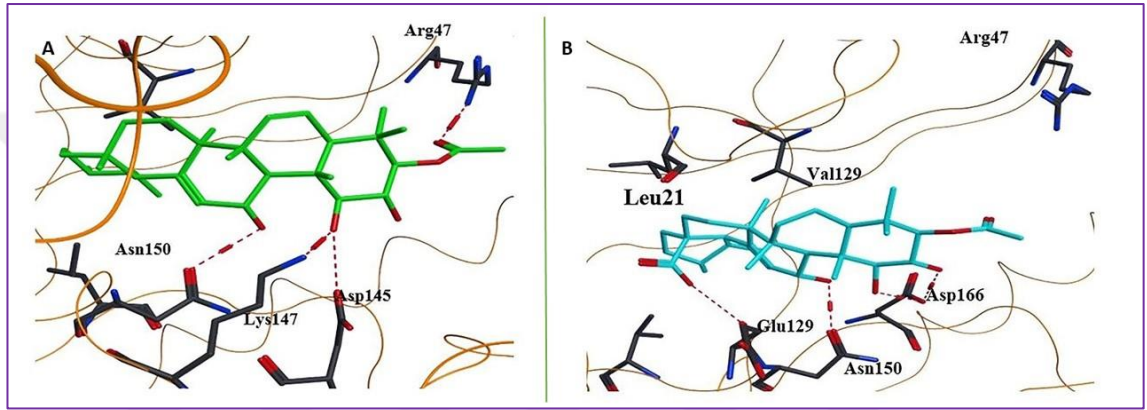
Devam eden çalışmalarda bir başka hedef protein dimerik insan IKK2 (IKK- β) seçildi ve bu proteinin yapısı protein veri bankasından elde edildi. Bu proteinin seçilmesinin en önemli nedeni dimerik yapıdaki IKK2'nin iki ayrı aktif bölgesine standart inhibitör K252a'nın bağlanabildiği gibi hedef triterpenlerin de bağlanabildiğinin gözlemlenmesidir. Dimerik insan IKK2 üzerindeki bağlanma bölgelerinden biri Şekil 5.1'de görülmektedir.



Şekil 5.1. Dimerik insan IKK2'nin üzerindeki bağlanma bölgesi

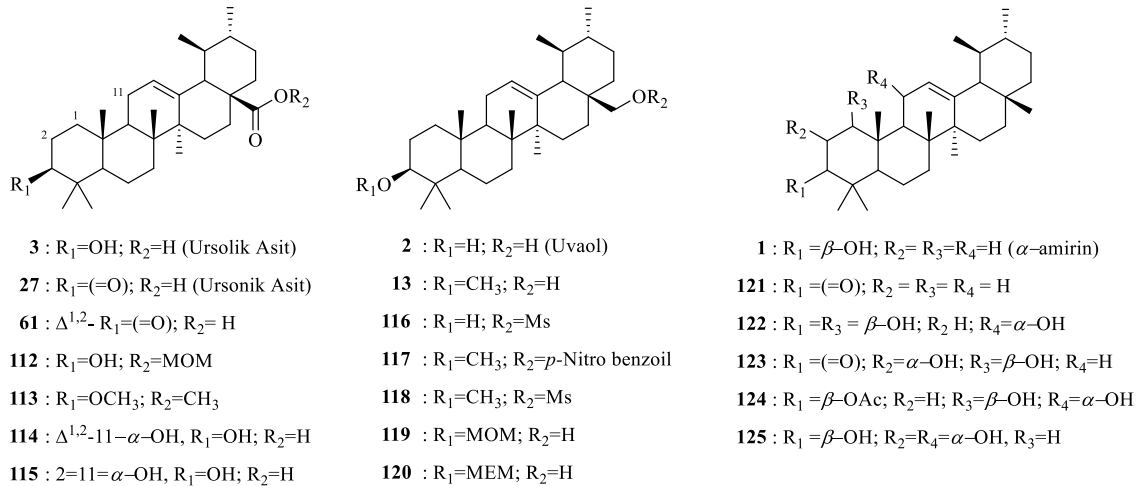
Docking çalışmalarında her triterpen molekülü 50 kez dock edildi ve her ligand için en yüksek 5 skor gösteren poz analiz için kaydedildi. Analizlerde dikkat ettiğimiz noktalar, ligand ve bağlanma bölgesi arasında sterik, elektrostatik ve şekil uyumluluğunun yanı sıra hidrojen bağları gibi güçlü ligand protein bağlanma ilişkilerinin bulunmasıdır. Ayrıca, seçilen moleküllerin sentezinin yapılabileceği de göz önünde tutuldu.

Başlangıçta bileşik **8**'in ve asitli türevi **110**'un IKK2'ye yüksek ilgi ile bağlanabileceği ön görüldü ve modelleme çalışmaları yapılarak sonuçlar değerlendirildi. Bileşik **110**'un bileşik **8** ile benzer bağlanma skorlarına sahip olduğu ancak asitli türevin daha iyi ilgi gösterdiği belirlendi. Şekil 5.2'de bileşik **8**'in (A) ve bileşik **110**'un (B) insan IKK2'nin aktif bölgesiyle yapmış olduğu bağlanma ilişkileri görülmektedir. Kırmızı çizgiler hidrojen bağlarını temsil etmektedir.



Şekil 5.2. Bileşik **8** ve **110**'un insan IKK2 ile bağlanma modeli

Sonuçlara göre en yüksek skor ve en uygun bağlanma ilişkileri gösteren maddeler sentez için seçildi. İnsan IKK2'nin bağlanma bölgesi A ve B'ye bağlanması öngörülen 8 adet ursan türevi triterpen Şema 5.1'de yer alan **2**, **3**, **27**, **61**, **114**, **115**, **116** ve **125** numaralı bileşikler olarak belirlendi.



Şema 5.1

5.1.4. İnsan IKK1 üzerindeki docking çalışmalarının sonucu

İnsan IKK1'in kristal yapısı bulunmamaktadır, fakat bu proteinin amino asit sekansı ve kristal yapısı mevcut olan insan IKK2 amino asit dizilimi ile %53.8 benzerlik göstermektedir. Bu benzerlik, bağlanma bölgelerinde %100'e yaklaşmaktadır. İnsan IKK2'nin kristal yapısını ve insan IKK1'in amino asit sekansını kullanarak MOE bilgisayar programı vasıtasıyla homoloji modelleri oluşturuldu. Daha sonra, en az sterik engel ve en düşük potansiyel enerji gösteren homoloji modeli seçildi. Bu model üzerinde enerji minimizasyonu çalışmaları yapıldı ve son olarak GOLD SUIT programı ile daha önce hazırladığımız 93 adet triterpen analoğu insan IKK1 homoloji modelinde mevcut olan iki bağlanma bölgesine dock edildi.

İnsan IKK1 üzerindeki bağlanma bölgesi A ve B'ye bağlanması öngörülen bileşiklerden 6 adet ursan türevi triterpen bileşik belirlendi. Bunlar Şema 5.1'de gösterilen, **2, 3, 116, 117, 119** ve **121** numaralı bileşiklerdir (bileşiklerin bağlanma skorları birbirine yakındır: 35.3395 – 28.3315). Bileşik **3** (skor 35.3395) ve Bileşik **117**'nin (skor 32.1906) örnek bağlanma ilişkileri Şekil 3.11'de gösterilmiştir.

5.1.5. İnsan c-Rel/c-Rel/ İκBα üzerinde docking çalışmalarının sonucu

İnsan c-Rel/c-Rel/İκBα kompleksinin kristal yapısı bulunmadığı için fare p65/p50/İκBα kompleksinin kristal yapısı kullanıldı. Bu kompleks üzerindeki İκBα yapısı insandan elde edilmiştir. Fare p50/p65/İκBα kristal yapısı kullanarak 50 adet İnsan c-Rel/c-Rel homoloji modeli oluşturuldu ve içlerinden en az sterik sorun ve en düşük potansiyel enerjiye sahip homoloji modeli seçildi.

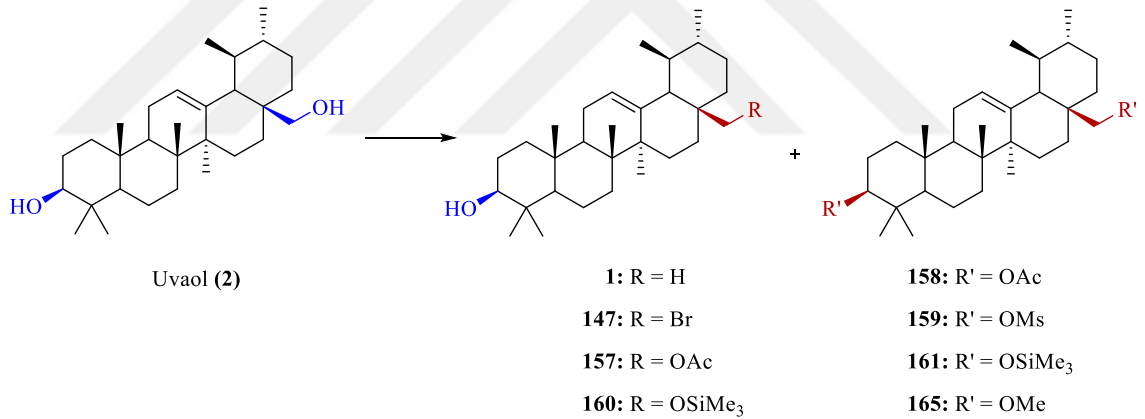
Docking analizleri gerçekleştirildi ve yan yana bulunan bağlanma bölgeleri I ve II (Şekil 3.2) için bağlanması öngörülen bileşikler arasından 9 adet ursan türevi bileşik belirlendi. Bu bileşikler Şema 5.1'de verilen **1, 2, 3, 13, 112, 118, 120, 122** ve **123** numaralı bileşiklerdir. Bağlanma bölgesi III için bağlanması öngörülen bileşikler arasından ursan türevi 8 adet bileşik ise **2, 112, 113, 279, 117, 119, 122** ve **125** numaralı bileşiklerdir. Her

üç bağlanma bölgesi için seçilen ligandların skorları birbirine çok yakındır (29.1765-24.5179).

Sonuç olarak ursan türevleri üzerinde yapılan bütün *in silico* NF- κ B inhibisyonu taramaları sonucunda Şema 5.1'deki triterpenlerin iyi sonuçlar verdiği tespit edildi. Bu sonuçlar doğrultusunda aktif triterpenler veya benzer türevleri de sentezlendi.

5.2. Docking Sonuçlarının Sentezlere Katkısı ve Yeni Türevlerin Sentezi

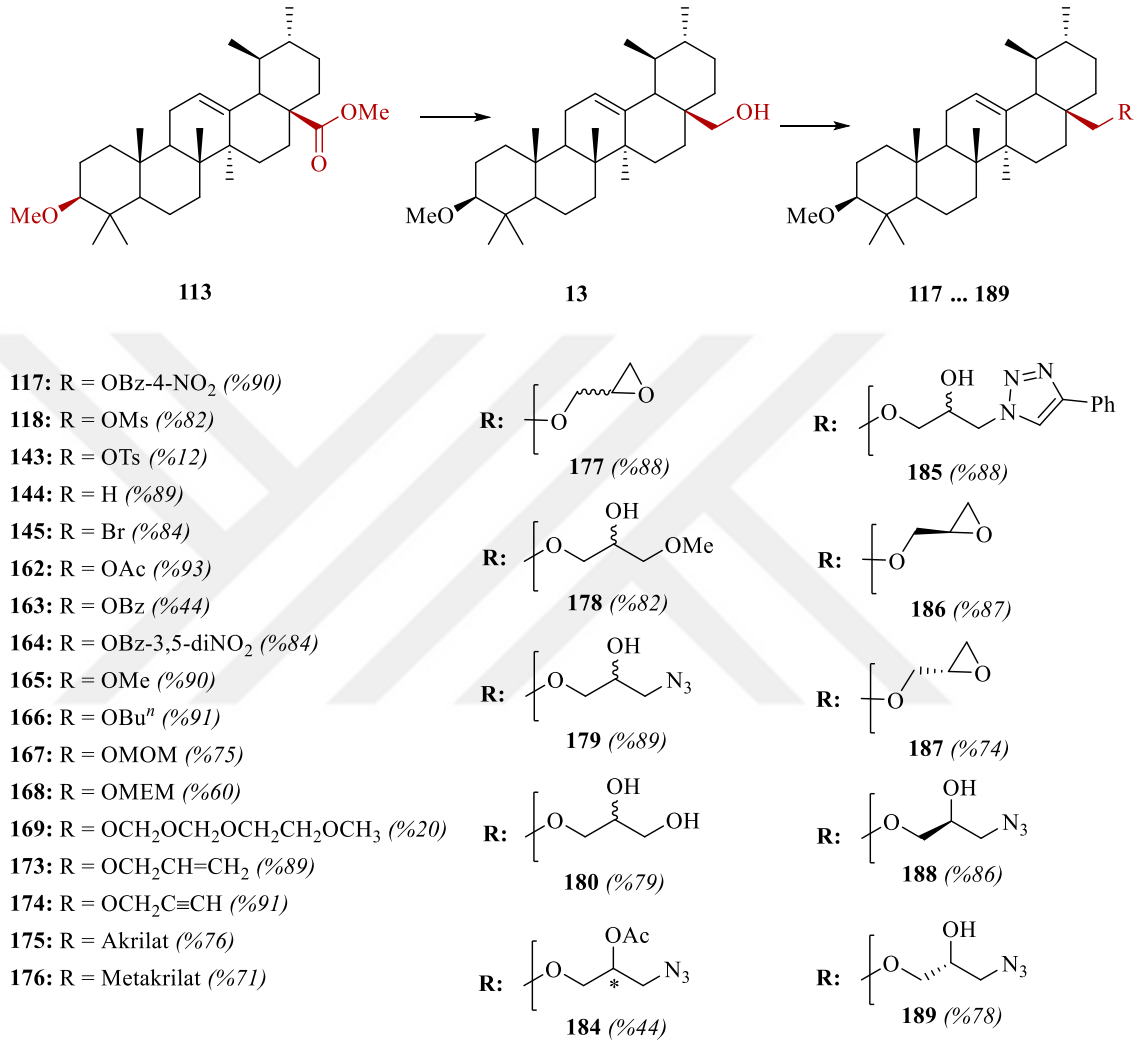
Bilgisayarlı ilaç tarama testlerinin yönlendirmesi ile Şema 5.2'de verilen uvaol türevleri ile Şema 5.3'te verilen bir seri uvaol-3-metileter türevi bileşik sentezlendi. Nitrobenzoat türevi bileşik **117** NF- κ B testlerinde en iyi skor veren bileşiklerden birisi oldu.



Şema 5.2

Uvaol (**2**) ursolik asitin karboksilik grubunun LiAlH₄ ile indirgenmesinden elde edilmiştir. Şema 5.2'de görülen bileşik **160**'ta bulunan C3-OH üzerinden bir seri türev elde edilip silil eter grubu hidroliz edildikten sonra sekonder alkolün türevlendirildiği primer alkolün serbest olarak kaldığı yeni bileşiklerin sentezi de tasarlanmış ancak çalışmalar tamamlanmadığı için burada yer verilmemiştir. Şema 5.3'te görülen Bileşik **113** ursolik asitin metil iyodür ile reaksiyonundan elde edilmiştir. Daha sonra onun COOMe grubu LiAlH₄ ile indirgenerek bileşik **13** elde edilmiştir. Bileşik **13** üzerinden 28 farklı bileşik sentezlenmiştir. Bu bileşikler başlıca alkil eter türevleri, karboksilat ester

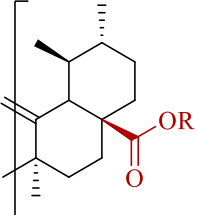
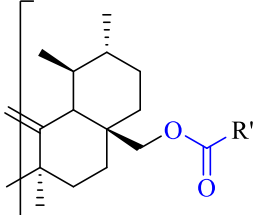
türevleri ve sülfonat ester türevleri şeklindedir. Ayrıca türevler arasında allil eter, propargil eter ve bazı azidoalkol türevleri ile bir de 1,2,3-triazol türevi bulunmaktadır.



Şema 5.3

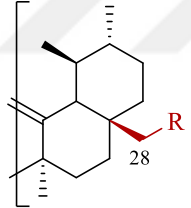
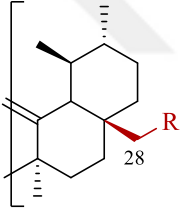
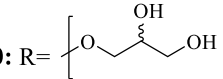
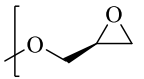
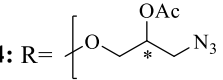
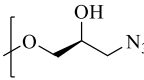
Şema 5.2 ve 5.3'te elde edilen bileşiklerin bir kısmı eterik yapıda bir kısmı da ester yapısındadır. Ursolik asit üzerinden elde edilen ester türevleri ile bileşik **13** üzerinden elde edilen ester türevlerinin ¹³C-NMR analizlerinde ester karbonlarının kimyasal kaymalarına dair dikkat çekici bir fark vardır. Bu farklar karşılaştırmalı olarak Çizelge 5.1'de verilmiştir.

Çizelge 5.1. Triterpen türevlerinde karbonil karbonlarının kimyasal kayma değerleri

	$^{13}\text{C-NMR}$ (δ C=O)		$^{13}\text{C-NMR}$ (δ C=O)
1: R = H	184.50	281: R' = 4-Nitrofenil	164.70
274: R = MOM	177.07	328: R' = Metil	171.30
275: R = Me	177.97	329: R' = Fenil	166.50
303: R = MEM	176.90	330: R' = 3,5-Dinitrofenil	162.53
306: R = TBDMS	178.07	341: R' = Vinil	166.23
308: R = H	184.27	342: R' = 1-Propen-2-il	167.38

Bileşik **280** üzerinden elde edilmiş türevlerde $^1\text{H-NMR}$ spektrumlarında C28 karbonuna ve hidrojenlerine ait kimyasal kayma değerlerindeki farklılıklar Çizelge 5.2'de görülmektedir.

Çizelge 5.2. Bileşik **13** ve türevlerinin C28 ve H-28 kimyasal kayma değerleri

	δ : ppm				δ : ppm		
	C28	H28a	H28b		C28	H28a	H28b
13: R = OH	69.90	3.52	3.18	165: R = OMe	80.93	3.35	2.87
117: R = OBz-4-NO ₂	72.65	4.39	3.88	166: R = OBu ⁿ	77.94	3.33	2.85
118: R = OMs	76.94	4.18	3.70	167: R = OMOM	75.28	3.46	3.03
143: R = OTs		3.87	3.48	168: R = OMEM	75.42	3.42	3.07
145: R = Br	57.54	3.56	3.03	173: R = OCH ₂ CH=CH ₂	77.65	3.90	3.37
162: R = OAc		4.02	3.58	174: R = OCH ₂ C≡CH	77.73	3.51	2.94
163: R = OBz	71.66	4.36	3.84	175: R = Akrilat	71.20	4.19	3.72
164: R = OBz-3,5-diNO ₂	73.68	4.50	3.97	176: R = Metakrilat	71.32	4.07	3.59
180: R = 	78.77	3.40	2.98	186: R = 	78.78	3.47	2.95
184: R = 	78.77	3.35	2.92	188: R = 	78.58	3.35	2.91

Çizelge 5.2'de mesilat türevi bileşik **118** ve tosilat türevi bileşik **143**'ün H28'e ait kimyasal kayma değerlerine bakıldığında mesilat yapısında bu hidrojenlerin daha aşağı alanda rezonans olduğu görülmektedir. Bu da mesilat grubunun daha elektron çekici bir

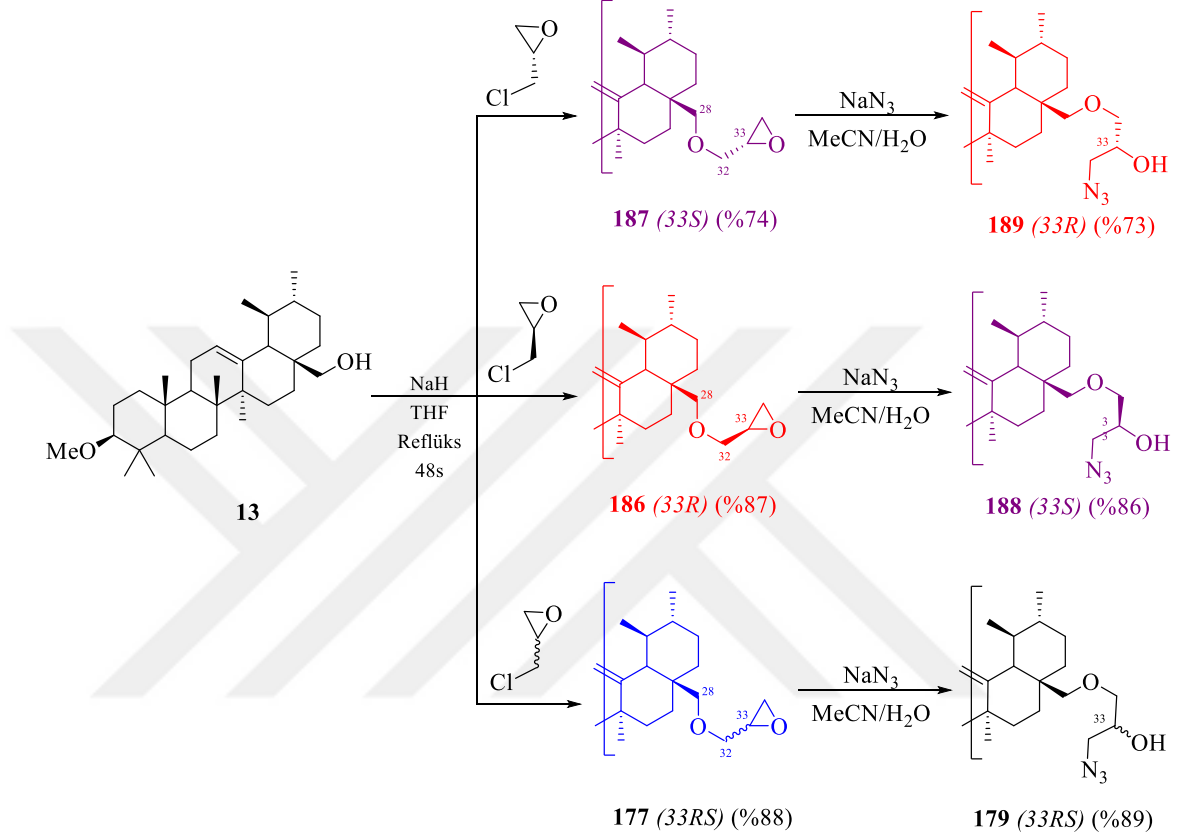
grup olduğu ve dolayısıyla mesil klorürün tosil klorürden daha reaktif olduğunu gösterir. Nitekim tosilat türevi bileşik **143**'ün verimi %12 iken mesilat türevi bileşik **118**'in verimi %82'dir. Genellikle alkil eter türevlerinde H-28 kimyasal kayma değerleri yukarı alana kayarken asetat, benzoat ve sülfonat gibi ester türevlerinde ise aşağı alana kaymaktadır. Benzoil, 4-nitrobenzil ve 3,5-dinitrobenzoil türevlerinde H28 kimyasal kayma değerleri sırasıyla 4.36-3.84 ppm, 4.39-3.88 ppm ve 4.50-3.97 ppm şeklinde olup 3,5-dinitrobenzoil türevinde iki nitro grubunun elektron çekmesi benzoil türevine göre 0.5 ppm kadar kimyasal kayma farkı ortaya çıkartmıştır. Akrilat ve metakrilat türevlerinde ise metakrilat yapısındaki metil grubundan dolayı metakrilat türevinde H-28 kimyasal kayma değerleri çok fark olmasa da akrilat türevine göre daha yukarı alandadır.

Bileşik **118**'in rasemik epiklorohidrin ile olan reaksiyonundan bileşik **177** diastereomer karışımı olarak elde edildi. Diastereomerleri birbirlerinden ayırmak için yapıdaki epoksit değişik reaktiflerle parçalanarak epoksit açılma ürünleri sentezlendi. Ancak epoksit açılma ürünleri de diastereomer karışımı olarak elde edildi ve saflaştırılamadılar. Epoksit açılma ürünlerindeki OH grubu bazı açıl klorürler ile esterleştirilmek istendi. Böylelikle polarite ve dipol moment farkı oluşacak ve diastereomerler birbirlerinden ayrılacaktı ancak sadece asetil klorür ile yapılan reaksiyondan netice alındı ve **184** numaralı bileşik sentezlendi. **184** numaralı bileşik kolon kromatografisi ile tek bir diastereomer olarak ayrıldı.

Rasemik epiklorohidrin ile yapılan reaksiyondan elde edilen stereoizomerler birbirlerinden ayıramadıkları için epiklorohidrinin saf enantiyomerleri olan R ve S epiklorohidrin bileşikleri ticari olarak temin edildi ve reaksiyonlar saf izomerler üzerinden yapıldı.

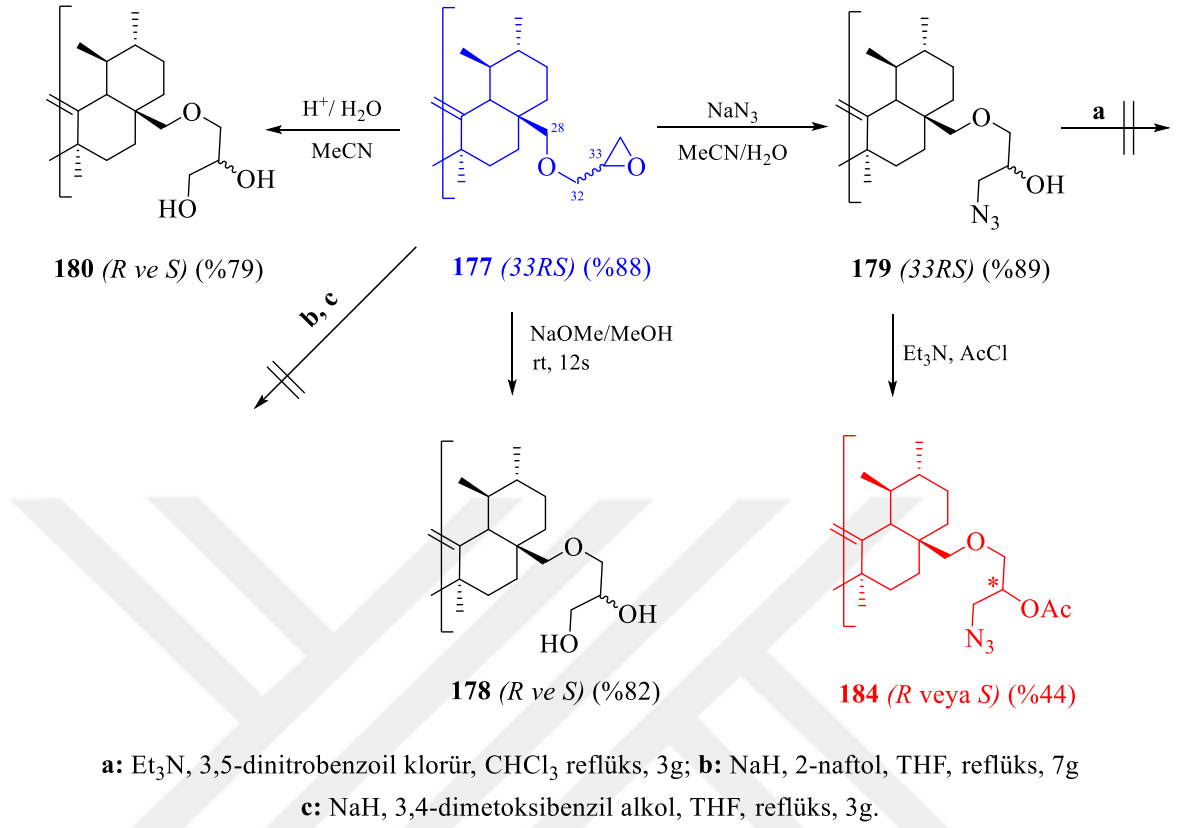
Bileşik **13** ve R epiklorohidrin ile yapılan reaksiyondan bileşik **186** ve S epiklorohidrin ile yapılan reaksiyondan ise bileşik **187** sentezlendi (Şema 3.59 ve Şema 3.60). Elde edilen saf epoksit bileşikler sodyum azid ile açılarak sırasıyla **188** ve **189** numaralı kiral azido alkoller elde edildi. Azido alkol yapısında kiral OH grubunun konfigürasyonu epoksit yapısındaki konfigürasyonun tersi olacak şekilde elde edildi. Burada konfigürasyon dönüşümünün sebebi kiral merkezdeki öncelikli grupların numaralarının

değişmesidir. S_N2 reaksiyonu gibi her hangi bir konfigürasyon inversiyonu söz konusu değildir. Şema 5.4'te bileşik **13** ve epiklorohidrin ile yapılan reaksiyonlar ve elde edilen azido alkoller görülmektedir.



Şema 5.4

Şema 5.4'te elde edilen 343 numaralı bileşik sodyum azid dışında sodyum metoksit, ve asidik ortamda su ile de parçalanarak iki farklı epoksit açılma ürünü daha elde edildi. Ancak bu ürünler de azidoalkol **179** gibi diastereomerik karışım olarak elde edildiler. Bileşik **179**'un asetillenmesiyle elde edilen asetil türevi bileşik **184** tek bir stereo izomer olarak saflaştırıldı. Bileşik **179**'un 3,5-dinitrobenzoil türevi de sentezlenmek istendi ancak bu bileşik elde edilemedi. Ayrıca bileşik **179**'un fenilasetilen ile 3+2 siklokatılma tepkimesinden 1,2,3 triazol türevi bileşik **185** diastereomerik karışım olarak elde edildi (Şema 5.5).



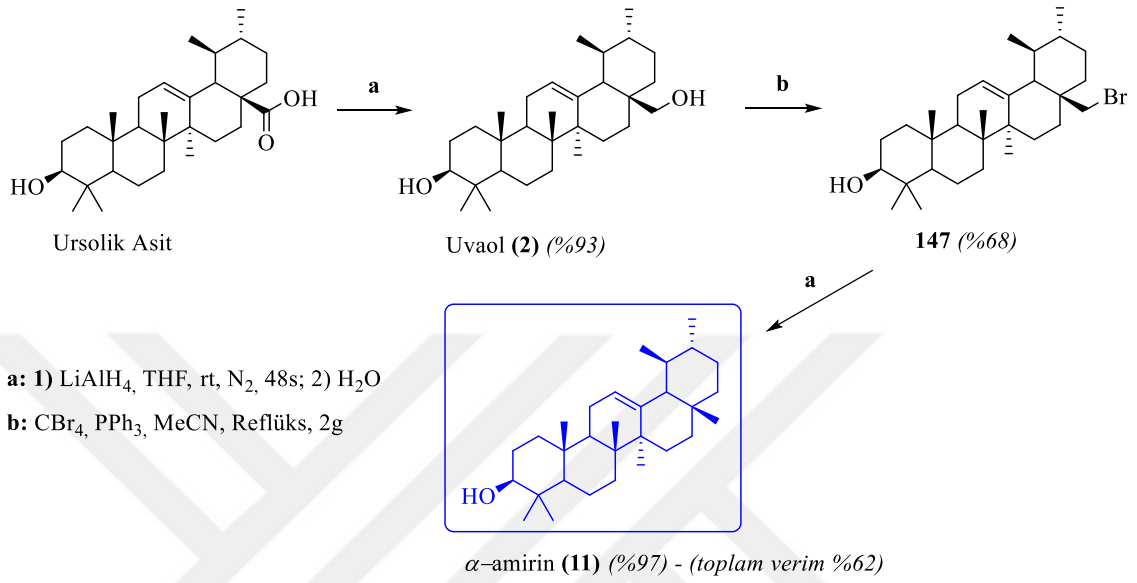
Şema 5.5

5.3. α -Amirin'in Yeni ve Etkili Bir Yöntemle Sentezi

Tez öneri formunda α -amirin sentezi için önerilen sentetik yol reaksiyonlarda meydana gelen olumsuz nedenlerden dolayı birçok kere değiştirildi. Nihayetinde literatürde olmayan bir yöntemle ursolik asitten başlayarak 3 basamakta ve yüksek verimde amirin sentezi yapıldı. Şema 5.6'daki sentetik yol daha önce literatürde yer almayan ve ilk defa tarafımızdan tasarlanmış ve uygulanmış olup amirin sentezi için oldukça önemlidir. Ursolik asit ile α -amirin'in aynı miktarının ticari olarak fiyat kıyaslamasına bakacak olursak α -amirin'in, ursolik asitten yaklaşık 250 kat daha pahalı olduğu görülür.

Şema 5.6'da meydana gelen **147** numaralı bileşiğin yanı sıra C3 pozisyonundaki sekonder OH grubunun eliminasyona uğradığı bir bileşik elde edildi. C3 pozisyonundaki OH grubunun bileşik **165**'in tek kristal X-ışını yapı analizinden elde edilen sonuç referans alınarak sikloheksan halkasında ekvatoryal olarak yöneldiği görülmektedir (Şekil 3.13).

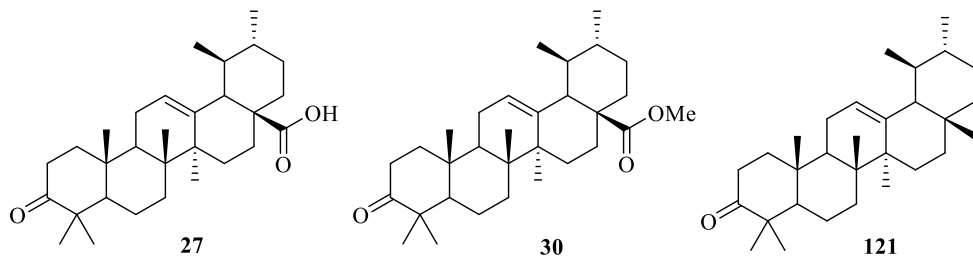
Bu sebepten dolayı da reaksiyon ortamında yer değiştirme ürünü yerine eliminasyon ürününün oluşması daha baskın gelmektedir.



Şema 5.6

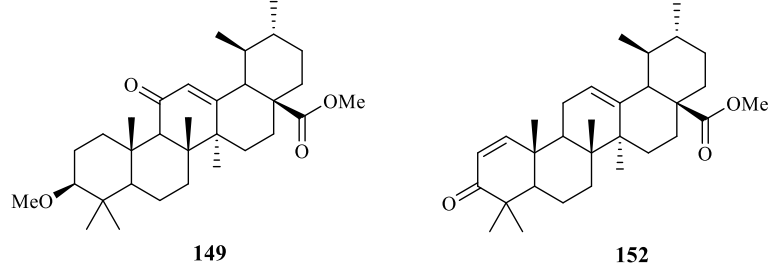
5.4. Oksitlenmiş Ursan Türevlerinin Sentezi

Ursolik asit ve türevlerinin A, B ve C halkasında oksidasyon yapmak için PCC, Jones reaktifi, LDA-PhSeBr, CrO₃ ve SeO₂-TBHP gibi oksidasyon ajanları kullanıldı. PCC ve Jones reaktifi ile yapılan oksidasyonlarda A halkasındaki C3-OH grubu keton yapısına dönüştürüldü. Bu yöntemle **27**, **30** ve **121** numaralı bileşikler sentezlendiler (Şema 5.7).



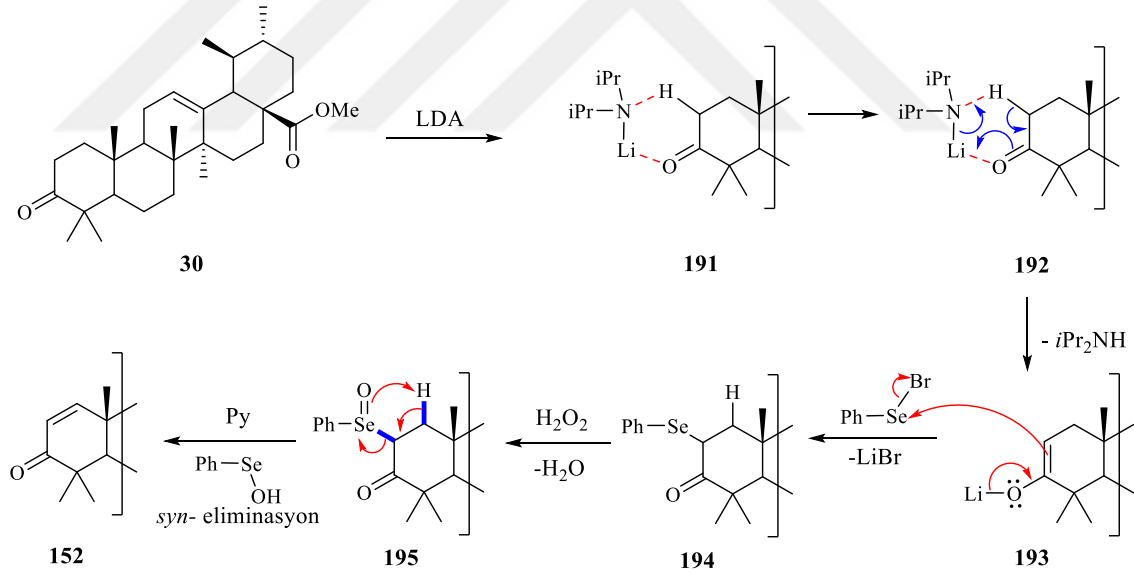
Şema 5.7

CrO_3 ve piridin birlikte kullanılarak allilik oksidasyon yapıldı ve bu yöntemle bileşik **149** sentezlendi (Şema 5.8).



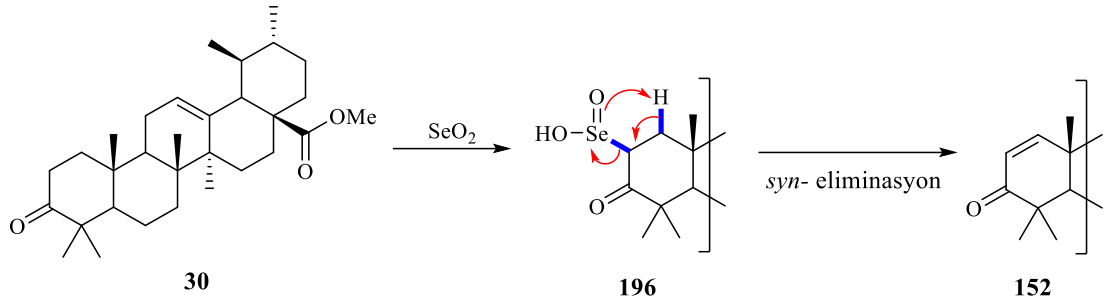
Şema 5.8

LDA ve PhSeBr kullanılarak alfa selenleme yapıldıktan sonra H_2O_2 ile selenoksit eliminasyonu üzerinden bileşik **152** sentezlendi. Bileşik **152**'nin sentezine yönelik mekanizma Şema 5.9'da görülmektedir. Önce lityum enolat yapısı **192** oluşmakta ve **195** üzerinden meydana gelen *syn*-eliminasyon neticesinde bileşik **152** elde edilmektedir.



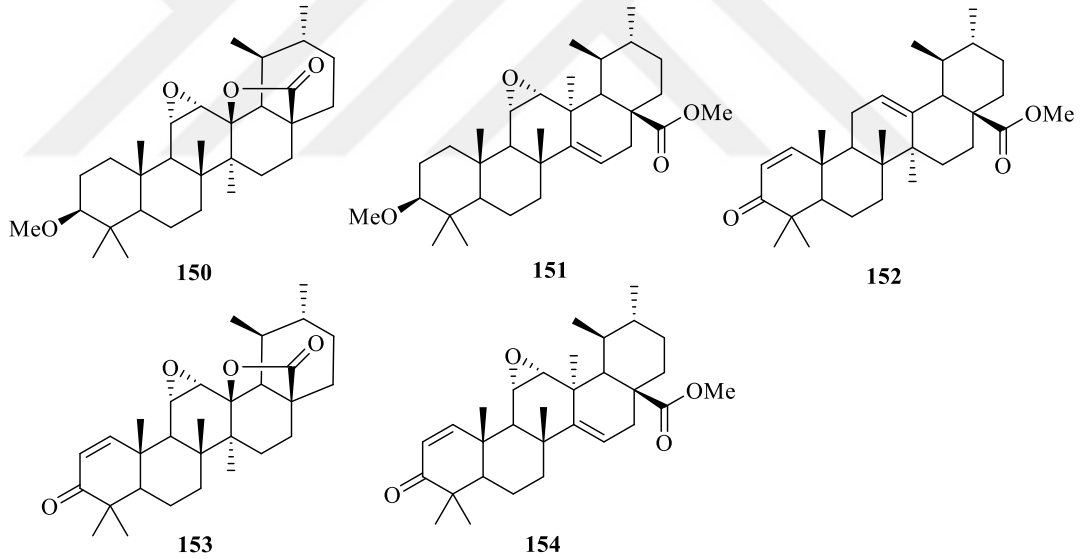
Şema 5.9

Bileşik **152** farklı iki yöntemle elde edildi. Birinci yöntem şema 5.6'da görülen yöntemdir. İkinci yöntemde ise Şema 5.9'da görüleceği üzere SeO_2 ve TBHP kullanıldığında ise benzer mekanizma ile *syn*-eliminasyon sonucu α,β -doymamış karbonil bileşiği **152** elde edilmektedir.



Şema 5.10

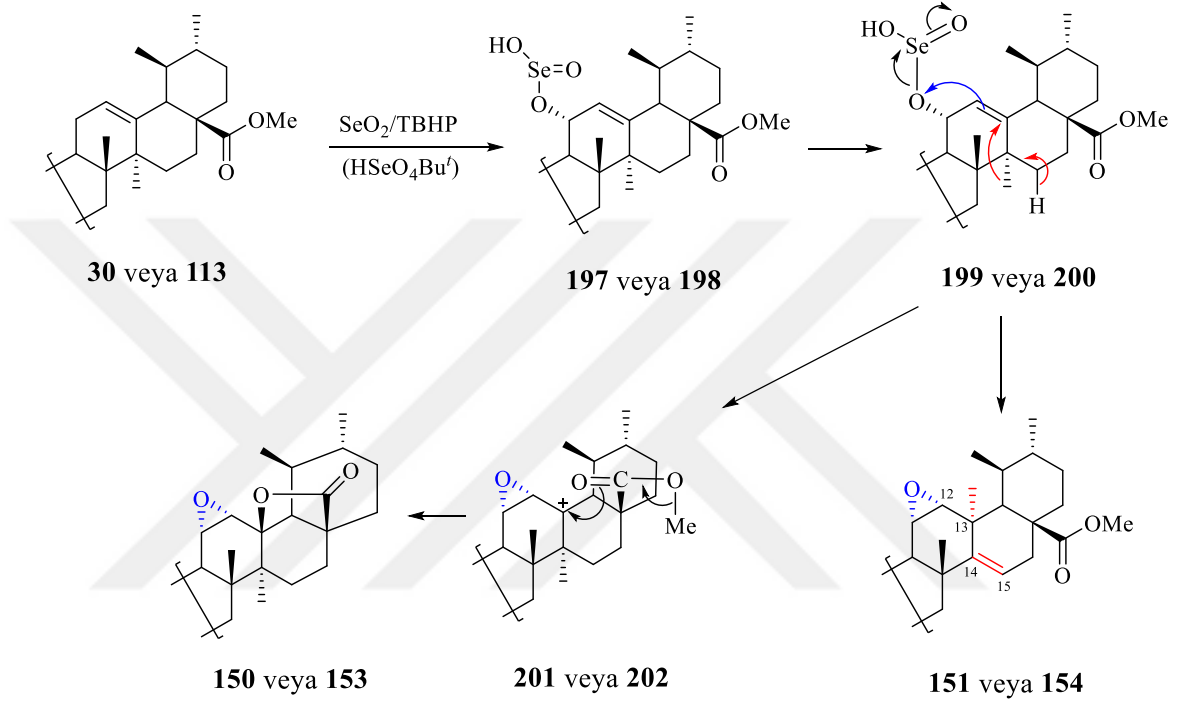
SeO₂-TBHP ile oksidasyon yapıldığında beklenenden farklı ve çok sayıda oksitlenmiş hatta düzenlenmiş yeni ursan türevleri elde edildi. Bu yöntemle elde edilen ve yapısı belirlenen bileşikler **150-154** numaralı bileşiklerdir (Şema 5.11). Bileşik **150** ve **151** aynı reaksiyondan elde edilirken bileşik **152-154** başka bir reaksiyondan elde edildi.



Şema 5.11

Bileşik **150** ve **153** laktonizasyon ürünleri iken bileşik **151** ve **154** oksidatif düzenlenme ürünleridir ve bu ürünlerin oluşum mekanizmaları Şema 5.12'de görüldüğü gibidir. Mekanizma literatürdeki (Pradhan *et al.* 1987) benzer örnekler üzerinden uyarlanmıştır. Bileşik **30**'un SeO₂-TBHP (tert-butil hidroperoksi selenik asit) ile allilik oksidasyonundan ara ürün **197** meydana gelmektedir. **197** düzenlenerek tarakseren türevi **154**'e dönüşmektedir. Burada bir metil kaymasını takiben çift bağ C12-C13

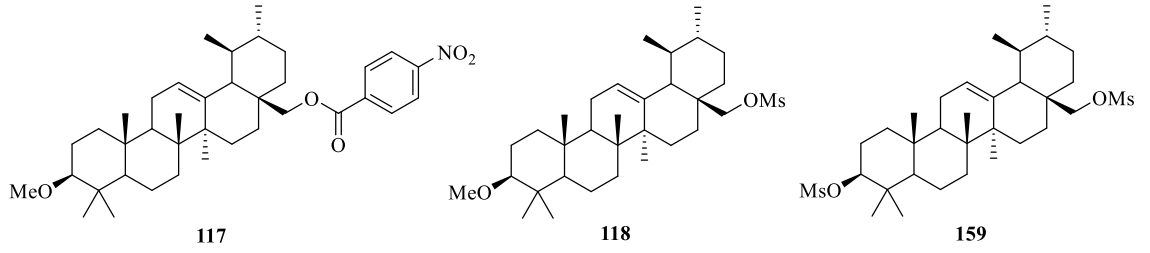
pozisyonundan C14-C15 pozisyonuna düzenlenmiştir. Aynı şekilde bileşik **151**'de bileşik **113** üzerinden meydana gelmiştir. Bileşik **150** ve **153** ise ara ürün **201** ve **202** üzerinden oluşmuştur. Metil kayması meydana gelmeden ester oksijeni karbokatyon ile etkileşerek hidroliz sonucu laktonizasyon gerçekleşmiştir (Şema 5.12).



Şema 5.12

5.5. Sentez Çalışmalarının Sonucu

Yapılan reaksiyonlarda ursolik asitten hareketle toplam 57 adet ursan türevi triterpenik bileşik yarı sentetik olarak sentezlenmiştir. Bu bileşiklerden 39 tanesi ilk defa sentezlenmiş olup bilinen 18 türevin birçoğu ise daha önce elde edilmiştir. Yeni olan 39 bileşik **112, 117, 118, 137, 139–141, 143, 145, 147, 148, 150, 151, 159–169, 173–180, 184–190** numaralı bileşiklerdir. Bu bileşiklerden özellikle **117, 118** ve **159** *yüksek in silico* NF-κB inhibisyon aktivitesi göstermiştir. Bu özellikleri bakımından ilaç olma potansiyelleri oldukça yüksektir.



Şema 5.13

5.6. Biyolojik Aktivite Çalışmalarının Sonuçları

Sentezlenen triterpenlerden seçilmiş olan bazı türevlerin insan sağlıklı hücreleri üzerindeki sitotoksik etkileri *in vitro* olarak incelendi. Sitotoksosite deneylerinde kullanılan triterpen türevleri **1**, **2**, **3**, **13**, **27**, **60**, **112**, **113**, **117**, **142**, **145**, **157**, **158** ve **159**'dur. Bununla birlikte yine bazı seçilmiş triterpen türevlerinin hücre içi ROS seviyelerini artırma ölçüleri tespit edildi. Son olarak 4 farklı triterpen molekülünün 3T3 fibroblast insan sağlıklı hücreleri üzerindeki genotoksik etkileri incelendi.

Sitotoksosite testlerinde sağlıklı hücreler üzerine triterpenlerin 200, 100, 50, 25, 12,5 6,25, 3,125 ve 1,56 μM , konsantrasyonlardaki çözeltileri ilave edildi. Düşük dozlarda proliferen olan hücreler yüksek konsantrasyonda toksik etkiye maruz kaldılar ve canlı hücre sayısında azalma oldu. Hücrelerin %50 canlı kaldığı noktada konsantrasyon ortalama 100 μM seviyesindedir. Yapılan çalışmalarda 200 μM konsantrasyonda en az sitotoksositeye sahip olan triterpen türevi bileşik **142**'dir. Bu şartlarda en yüksek toksisiteye sahip olan bileşik ise **145** olarak tespit edilmiştir. 50 μM konsantrasyonda ise en az sitotoksositeye sahip olan triterpen türevi bileşik **142** en yüksek toksisiteye sahip olan bileşik ise **113**'tür. *in silico* NF- κB inhibisyon aktivitesi gösteren bileşik **117** de yüksek konsantrasyonda sitotoksitesi en düşük triterpenler arasındadır.

Hücre içi ROS düzeyindeki artışın tespitine yönelik çalışmalar seçilmiş 5 triterpen molekülü (**1**, **13**, **60**, **112**, **113**, ve **118**) üzerinde denenmiştir. Sonuç olarak artan madde konsantrasyonlarıyla hücre içi reaktif oksijen seviyesinin arttığı görülmüştür. ROS düzeyini en az arttıran bileşik **118** numaralı bileşiktir. Bileşik **118**'in ROS düzeyine etkisi

100 μM konsantrasyonda bile neredeyse diğer bileşiklerin 25 μM 'daki değerine eşit görülmektedir. Triterpenlerin hücre içi ROS seviyelerine etkisinin sonuçları şekil 4.9'da verilmiştir.

Genotoksisite çalışmalarında kullanılan triterpenler **13, 60, 112, 113** ve **118**'dir Çalışma sonucunda artan triterpen konsantrasyonlarında hücrelerde nekrozun ve apoptozun arttığı, canlı hücrelerin azaldığı izlenmiştir.



KAYNAKLAR

- Agata, I., Corey, E.J., Hortmann, A.G., Klein, J., Proskow, S. and Ursprung, J.J., 1965. Oxidative rearrangements of pentacyclic triterpenes. A method for the synthesis of certain naturally occurring triterpenes from α - and β -amyrin. *Journal of Organic Chemistry*, 30, 1698-1710.
- Akı-Şener, E. and Yalçın, İ., 2003. *Farmasötik/Medisinal Kimyada İlaç Etken Madde Tasarım Yöntemleri: Kantitatif Yapı-Etki İlişkileri Analizleri QSAR*. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları No: 86, Ankara.
- Armarego, W.L.F. and Chai, C., 2013. *Purification of Laboratory Chemicals*, 7. Baskı. Elsevier, USA.
- Baget and Lodibert, 1825. *J. Physik. Chem.*, 11, 101.
- Baran, A. and Balci, M., 2009. Stereoselective Synthesis of Bishomo-inositols as Glycosidase Inhibitors. *Journal of Organic Chemistry*, 74 (1), 88-95.
- Baran, A., Cambul, S., Nebioglu, M. and 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 (11), 5086-5097.
- Barnum, D., Greene, J., Smellie, A. and Sprague, P., 1996. Identification of common functional configurations among molecules. *Journal of Chemical Information and Computer Sciences*, 36 (3), 563-571.
- Bilham, P., Kon, G.A.R. and Ross, W.C.J., 1942. Sapogenins. Part XII. The position of the carboxyl group in certain triterpene acids. *Journal of the Chemical Society*, 35-42.
- Bonizzi, G. and Karin, M., 2004. The two NF-kappa B activation pathways and their role in innate and adaptive immunity. *Trends in Immunology*, 25 (6), 280-288.
- Brown, G.D., 1998. The biosynthesis of steroids and triterpenoids. *Natural Product Reports*, 15 (6), 653-696.
- Chen, J., Fu, H.J., Wang, Z.Y., Yin, F., Li, J.X., Hua, Y.Q. and Cai, Z.D., 2014. A New Synthetic Ursolic Acid Derivative IUA with Anti-Tumor Efficacy Against Osteosarcoma Cells via Inhibition of JNK Signaling Pathway. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 34 (3), 724-733.
- Chen, J.J., Fei, D.Q., Chen, S.G. and Gao, K., 2008. Antimicrobial triterpenoids from *Vladimiria muliensis*. *Journal of Natural Products*, 71 (4), 547-550.
- Chikhi, A. and Bensegueni, A., 2008. Comparative Study of the Efficiency of Three Protein-Ligand Docking Programs. *Journal of Proteomics & Bioinformatics*, 01 (03), 161-165.
- Culhaoglu, B., Hatipoglu, S.D., Donmez, A.A. and Topcu, G., 2015. Antioxidant and anticholinesterase activities of lupane triterpenoids and other constituents of *Salvia trichoclada*. *Medicinal Chemistry Research*, 24 (11), 3831-3837.
- Culhaoglu, B., Sener, L.T., Birman, H., Albeniz, I. and Topcu, G., 2016. Cytotoxic Effects of Ursolic Acid and its Derivative on Breast Cancer Cell Lines. *Acta Physiologica*, 218, 37-37.
- Culhaoglu, B. and Topcu, G., 2011. Biologically active lupane triterpenoids from Anatolian *Salvia* species. *Planta Medica*, 77 (12), 1442-1442.
- Culhaoglu, B., Yapar, G., Dirmenci, T. and Topcu, G., 2013. Bioactive constituents of *Salvia chrysophylla* Stapf. *Natural Product Research*, 27 (4-5), 438-447.

- D'Abrosca, B., Fiorentino, A., Monaco, P., Oriano, P. and Pacifico, S., 2006. Annurcoic acid: A new antioxidant ursane triterpene from fruits of cv. Annurca apple. *Food Chemistry*, 98 (2), 285-290.
- de Zeeuw, D., Akizawa, T., Audhya, P., Bakris, G.L., Chin, M., Christ-Schmidt, H., Goldsberry, A., Houser, M., Krauth, M., Heerspink, H.J.L., McMurray, J.J., Meyer, C.J., Parving, H.H., Remuzzi, G., Toto, R.D., Vaziri, N.D., Wanner, C., Wittes, J., Wrolstad, D., Chertow, G.M. and Investigators, B.T., 2013. Bardoxolone Methyl in Type 2 Diabetes and Stage 4 Chronic Kidney Disease. *New England Journal of Medicine*, 369 (26), 2492-2503.
- DiDonato, J.A., Hayakawa, M., Rothwarf, D.M., Zandi, E. and Karin, M., 1997. A cytokine-responsive I kappa B kinase that activates the transcription factor NF-kappa B. *Nature*, 388 (6642), 548-554.
- Diez, D., Nunez, M.G., Anton, A.B., Garcia, P., Moro, R.F., Garrido, N.M., Marcos, I.S., Basabe, P. and Urones, J.G., 2008. Asymmetric epoxidation of electron-deficient olefins. *Current Organic Synthesis*, 5 (3), 186-216.
- Dodge, F.D., 1918. The isomeric lactones, caryophyllin and urson. *Journal of the American Chemical Society*, 40, 1917-39.
- Dzubak, P., Hajduch, M., Vydra, D., Hustova, A., Kvasnica, M., Biedermann, D., Markova, L., Urban, M. and Sarek, J., 2006. Pharmacological activities of natural triterpenoids and their therapeutic implications. *Natural Product Reports*, 23 (3), 394-411.
- Emmons, W.D. and Pagano, A.S., 1955. Trifluoroperoxyacetic acid. IV. The epoxidation of olefins. *Journal of the American Chemical Society*, 77, 87-92.
- Erman, B. and Topcu, G., 2012. Inhibition of NF-kB Activity by Triterpene Compounds. *Koc Universitesi, Turk., Turkey*.
- Ewen, E.S. and Spring, F.S., 1943. Triterpene resinols and related acids. XIV. The oxidation of acetylursolic acid. *Journal of the Chemical Society*, 523-5.
- Fu, H.-J., Zhou, Y.-R., Bao, B.-H., Jia, M.-X., Zhao, Y., Zhang, L., Li, J.-X., He, H.-L. and Zhou, X.-M., 2014a. Tryptophan Hydroxylase 1 (Tph-1)-Targeted Bone Anabolic Agents for Osteoporosis. *Journal of Medicinal Chemistry*, 57 (11), 4692-4709.
- Fu, L.F., Lin, Q.X., Liby, K.T., Sporn, M.B. and Gribble, G.W., 2014b. An efficient synthesis of methyl 2-cyano-3,12-dioxoursol-1,9-dien-28-oate (CDDU-methyl ester): analogues, biological activities, and comparison with oleanolic acid derivatives. *Organic & Biomolecular Chemistry*, 12 (28), 5192-5200.
- Garrett, C.E., Prasad, K., Repic, O. and Blacklock, T.J., 2002. The enantioselective reduction of 2'-fluoroacetophenone utilizing a simplified CBS-reduction procedure. *Tetrahedron-Asymmetry*, 13 (13), 1347-1349.
- Ghosh, G., Vanduyne, G., Ghosh, S. and Sigler, P.B., 1995. Structure of NF-Kappa-B p50 homodimer bound to a Kappa-B site. *Nature*, 373 (6512), 303-310.
- Ghosh, S. and Karin, M., 2002. Missing pieces in the NF-kappa B puzzle. *Cell*, 109, S81-S96.
- Gilmore, T.D., 2006. Introduction to NF-kappa B: players, pathways, perspectives. *Oncogene*, 25 (51), 6680-6684.
- Gilmore, T.D. and Garbati, M.R., 2011. Inhibition of NF-kappa B Signaling as a Strategy in Disease Therapy. *Nf-Kb in Health and Disease*, 349, 245-263.

- Gilmore, T.D. and Herscovitch, M., 2006. Inhibitors of NF-kappa B signaling: 785 and counting. *Oncogene*, 25 (51), 6887-6899.
- Goodson, J.A., 1938. The occurrence of ursolic acid in *Escallonia tortuosa*. Conversion of ursolic acid into α -amyrin. *Journal of the Chemical Society*, 999.
- Greene, J., Kahn, S., Savoj, H., Sprague, P. and Teig, S., 1994. CHEMICAL FUNCTION QUERIES FOR 3D DATABASE SEARCH. *Journal of Chemical Information and Computer Sciences*, 34 (6), 1297-1308.
- Greene, T.W. and Wuts, P.G.M., 2006. *Protective Groups in Organic Synthesis*. A Wiley Interscience Publication.
- Haecker, H. and Karin, M., 2006. Regulation and function of IKK and IKK-related Kinases, 2006, re13 p.
- Hahn, M., 1995. RECEPTOR SURFACE MODELS .1. DEFINITION AND CONSTRUCTION. *Journal of Medicinal Chemistry*, 38 (12), 2080-2090.
- Hahn, M., 1997. Three-dimensional shape-based searching of conformationally flexible compounds. *Journal of Chemical Information and Computer Sciences*, 37 (1), 80-86.
- Hayden, M.S. and Ghosh, S., 2004. Signaling to NF-kappa B. *Genes & Development*, 18 (18), 2195-2224.
- Hayden, M.S. and Ghosh, S., 2008. Shared principles in NF-kappa B signaling. *Cell*, 132 (3), 344-362.
- Hirashima, A., Morimoto, M., Kuwano, E., Taniguchi, E. and Eto, M., 2002a. Three-dimensional common-feature hypotheses for octopamine agonist 2-(arylimino)imidazolidines. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 10 (1), 117-123.
- Hirashima, A., Morimoto, M., Ohta, H., Kuwano, E., Taniguchi, E. and Eto, M., 2002b. Three-Dimensional Common-Feature Hypotheses for Octopamine Agonist 1-Arylimidazolidine-2-Thiones. *International Journal of Molecular Sciences*, 3 (2), 56-68.
- Holt, P.A., Chaires, J.B. and Trent, J.O., 2008. Molecular docking of intercalators and groove-binders to nucleic acids using Autodock and Surflex. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 48 (8), 1602-1615.
- Honda, T., Finlay, H.J., Gribble, G.W., Suh, N. and Sporn, M.B., 1997. New enone derivatives of oleanolic acid and ursolic acid as inhibitors of nitric oxide production in mouse macrophages. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 7 (13), 1623-1628.
- Honda, T., Rounds, B.V., Gribble, G.W., Suh, N.J., Wang, Y.P. and Sporn, M.B., 1998. Design and synthesis of 2-cyano-3,12-dioxolean-1,9-dien-28-oic acid, a novel and highly active inhibitor of nitric oxide production in mouse macrophages. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 8 (19), 2711-2714.
- Hong, D.S., Kurzrock, R., Supko, J.G., He, X., Naing, A., Wheler, J., Lawrence, D., Eder, J.P., Meyer, C.J., Ferguson, D.A., Mier, J., Konopleva, M., Konoplev, S., Andreeff, M., Kufe, D., Lazarus, H., Shapiro, G.I. and Dezube, B.J., 2012. A Phase I First-in-Human Trial of Bardoxolone Methyl in Patients with Advanced Solid Tumors and Lymphomas. *Clinical Cancer Research*, 18 (12), 3396-3406.
- Hsu, Y.L., Kuo, P.L. and 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 (10), 1231-1242.

- Huang-Minlon, 1946. A Simple Modification of the Wolff-Kishner Reduction. *Journal of the American Chemical Society*, 68, 2487.
- Huang, D.B., Huxford, T., Chen, Y.Q. and Ghosh, G., 1997. The role of DNA in the mechanism of NF kappa B dimer formation: crystal structures of the dimerization domains of the p50 and p65 subunits. *Structure*, 5 (11), 1427-1436.
- Huang, K.F., Sy, M.L. and Lai, J.S., 1990. A new pentacyclic triterpene from *ecdysanthera-rosea*. *Journal of the Chinese Chemical Society*, 37 (2), 187-189.
- Huxford, T., Hoffmann, A. and Ghosh, G., 2011. Understanding the Logic of I kappa B:NF-kappa B Regulation in Structural Terms. *Nf-Kb in Health and Disease*, 349, 1-24.
- Ito, K. and Lai, J., 1978. Studies on constituents of *Marsdenia-Formosana* Masamune II. Structures of marsformoxide-A and marsformoxide-B. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 26 (6), 1908-1911.
- Iwanoto, T., Hiraku, Y., Oikawa, S., Mizutani, H., Kojima, M. and Kawanishi, S., 2004. DNA intrastrand cross-link at the 5 '-GA-3 ' sequence formed by busulfan and its role in the cytotoxic effect. *Cancer Science*, 95 (5), 454-458.
- Jacobs, W.A. and Fleck, E.E., 1931. The partial dehydrogenation of ursolic acid. *Journal of Biological Chemistry*, 92, 487-94.
- Jacobs, W.A. and Fleck, E.E., 1932. The partial dehydrogenation of oleanolic acid. *Journal of Biological Chemistry*, 96, 341-54.
- Jain, A.N., 2007. Surflex-Dock 2.1: Robust performance from ligand energetic modeling, ring flexibility, and knowledge-based search. *Journal of Computer-Aided Molecular Design*, 21 (5), 281-306.
- Kabouche, A., Kabouche, Z., Ozturk, M., Kolak, U. and Topcu, G., 2007. Antioxidant abietane diterpenoids from *Salvia barrelieri*. *Food Chemistry*, 102 (4), 1281-1287.
- Karin, M. and Ben-Neriah, Y., 2000. Phosphorylation meets ubiquitination: The control of NF-kappa B activity. *Annual Review of Immunology*, 18, 621-+.
- Karin, M., Cao, Y.X., Greten, F.R. and Li, Z.W., 2002. NF-kappa B in cancer: From innocent bystander to major culprit. *Nature Reviews Cancer*, 2 (4), 301-310.
- Karin, M. and Greten, F.R., 2005. NF kappa B: Linking inflammation and immunity to cancer development and progression. *Nature Reviews Immunology*, 5 (10), 749-759.
- Kashiwada, Y., Nagao, T., Hashimoto, A., Ikeshiro, Y., Okabe, H., Cosentino, L.M. and Lee, K.-H., 2000. Anti-AIDS Agents 38. Anti-HIV Activity of 3-O-Acylursolic acid Derivatives. *Journal of Natural Products*, 63, 1619-1622.
- Kaye, I.A., Fieser, M. and Fieser, L.F., 1955. Chemistry of ring C in α -amyrin. *Journal of the American Chemical Society*, 77, 5936-9.
- Kazakova, O.B., Khusnutdinova, E.F., Lobov, A.N., Zvereva, T.I. and Suponitskii, K.Y., 2011. Oxidation of ursolic acid by ozone. *Chemistry of Natural Compounds*, 46 (6), 897-899.
- Kim, D.S., Bolla, K., Lee, S. and Ham, J., 2011. One-pot preparation of hydroxylated potassium organotrifluoroborates and subsequent Jones oxidation to potassium organocarbonyltrifluoroborates. *Tetrahedron*, 67 (6), 1062-1070.
- Kim, S.M., Lee, S.Y., Yuk, D.Y., Moon, D.C., Choi, S.S., Kim, Y., Han, S.B., Oh, K.W. and 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 (5), 755-765.

- Kitchen, D.B., Decornez, H., Furr, J.R. and Bajorath, J., 2004. Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: Methods and applications. *Nature Reviews Drug Discovery*, 3 (11), 935-949.
- Kolak, U., Kabouche, A., Ozturk, M., Kabouche, Z., Topcu, G. and Ulubelen, A., 2009. Antioxidant Diterpenoids from the Roots of *Salvia barrelieri*. *Phytochemical Analysis*, 20 (4), 320-327.
- Kuroda, M., Aoshima, T., Haraguchi, M., Young, M.C.M., Sakagami, H. and Mimaki, Y., 2006. Oleanane and taraxerane glycosides from the roots of *Gomphrena macrocephala*. *Journal of Natural Products*, 69 (11), 1606-1610.
- Kuwada, S. and Matsukawa, T., 1933. Ursolic acid. II. Oxidation of ursolic acid and its derivatives with chromic acid. *Yakugaku zasshi: Journal of the Pharmaceutical Society of Japan*, 53, 593-612.
- Kuwada, S. and Matsukawa, T., 1934. Chemical study of saponins. X. Clemmensen reduction of some oxidation products of oleanolic acid and its derivatives. *Yakugaku zasshi*, 54, 461-79.
- Leal, A.S., Wang, R., Salvador, J.A.R. and Jing, Y.K., 2012. Synthesis of novel ursolic acid heterocyclic derivatives with improved abilities of antiproliferation and induction of p53, p21(waf1) and NOXA in pancreatic cancer cells. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 20 (19), 5774-5786.
- Lengauer, T. and Rarey, M., 1996. Computational methods for biomolecular docking. *Current Opinion in Structural Biology*, 6 (3), 402-406.
- Liby, K.T., Yore, M.M. and Sporn, M.B., 2007. Triterpenoids and rexinoids as multifunctional agents for the prevention and treatment of cancer. *Nature Reviews Cancer*, 7 (5), 357-369.
- Ling, H., Jia, X.B., Zhang, Y.C., Gapter, L.A., Lim, Y.S., Agarwal, R. and Ng, K.Y., 2010. Pachymic Acid Inhibits Cell Growth and Modulates Arachidonic Acid Metabolism in Non-small Cell Lung Cancer A549 Cells. *Molecular Carcinogenesis*, 49 (3), 271-282.
- Liu, D., Meng, Y.Q., Zhao, J. and Chen, L.G., 2008. Synthesis and anti-tumor activity of novel amide derivatives of ursolic acid. *Chemical Research in Chinese Universities*, 24 (1), 42-46.
- Manu, K.A. and 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 (7), 974-981.
- Matsunaga, S., Tanaka, R. and Akagi, M., 1988. Triterpenoids from *euphorbia-maculata*. *Phytochemistry*, 27 (2), 535-537.
- May, M.J., Marienfeld, R.B. and Ghosh, S., 2002. Characterization of the I kappa B-kinase NEMO binding domain. *Journal of Biological Chemistry*, 277 (48), 45992-46000.
- Medeiros, R., Otuki, M.F., Avellar, M.C.W. and 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 (2-3), 227-235.
- Mercurio, F., Murray, B.W., Shevchenko, A., Bennett, B.L., Young, D.B., Li, J.W., Pascual, G., Motiwala, A., Zhu, H.Y., Mann, M. and Manning, A.M., 1999. I

- kappa B kinase (IKK)-associated protein 1, a common component of the heterogeneous IKK complex. *Molecular and Cellular Biology*, 19 (2), 1526-1538.
- Mercurio, F., Zhu, H.Y., Murray, B.W., Shevchenko, A., Bennett, B.L., Li, J.W., Young, D.B., Barbosa, M. and Mann, M., 1997. IKK-1 and IKK-2: Cytokine-activated I kappa B kinases essential for NF-kappa B activation. *Science*, 278 (5339), 860-866.
- Micheli, R.A., 1962. Synthesis of some derivatives of ursolic acid. *Journal of Organic Chemistry*, 27, 666-7.
- Misra, L. and Laatsch, H., 2000. Triterpenoids, essential oil and photo-oxidative 28 -> 13-lactonization of oleanolic acid from *Lantana camara*. *Phytochemistry*, 54 (8), 969-974.
- Muranaka, T., Seki, H., Kiyoshi, O., Hiroshi, S., Sawai, S. and Saito, K., 2009. Triterpene oxidase derived from glycyrrhiza plant, gene encoding the oxidase, and method for utilizing the gene, PCT Int. Appl. Riken Corp., Japan; Tokiwa Phytochemical Co., Ltd.; National University Corporation Chiba University, Japonya.
- Nabel, G.J. and Verma, I.M., 1993. Proposed NF-Kappa-B/i-Kappa-B family nomenclature. *Genes & Development*, 7 (11), 2063-2063.
- Nair, A.S., Shishodia, S., Ahn, K.S., Kunnumakkara, A.B., Sethi, G. and 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 (8), 5612-5622.
- O'Dea, E. and Hoffmann, A., 2010. The Regulatory Logic of the NF-kappa B Signaling System. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 2 (1).
- Oeckinghaus, A. and Ghosh, S., 2009. The NF-kappa B Family of Transcription Factors and Its Regulation. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 1 (4).
- Ozturk, M. and Erman, B., 2011. Structure Based Drug Design Against c-Rel Transcription Factor. *Koç Üniversitesi Kimya ve Biyoloji Mühendisliği Bölümü*.
- Perkins, N.D., 2006. Post-translational modifications regulating the activity and function of the nuclear factor kappa B pathway. *Oncogene*, 25 (51), 6717-6730.
- Perkins, N.D., 2007. Integrating cell-signalling pathways with NF-kappa B and IKK function. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 8 (1), 49-62.
- Pradhan, B.P., Chakraborty, S. and Weyerstahl, P., 1987. Studies on oxidation of triterpenoids .7. Transformation of oleanane and ursane skeletons to 11-alpha,12-alpha-oxidotriterpenoids with hydrogen-peroxide and selenium dioxide and their C-13 NMR data. *Tetrahedron*, 43 (19), 4487-4495.
- Prasad, S., Madan, E., Nigam, N., Roy, P., George, J. and 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 (17), 1639-1646.
- Rashid, S., Dar, B.A., Majeed, R., Hamid, A. and Bhat, B.A., 2013. Synthesis and biological evaluation of ursolic acid-triazolyl derivatives as potential anti-cancer agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 66, 238-245.
- Reiner, T., Parrondo, R., de las Pozas, A., Palenzuela, D. and 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 (2).

- Roehr, R., 2009. Bardoxolone May Improve Renal Function Through Inflammatory Pathways, Medscape Today. <http://www.medscape.com/viewarticle/590644>
- Salminen, A., Lehtonen, M., Suuronen, T., Kaarniranta, K. and Huuskonen, J., 2008. Terpenoids: natural inhibitors of NF-kappa B signaling with anti-inflammatory and anticancer potential. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 65 (19), 2979-2999.
- Sen, R. and Baltimore, D., 1986a. Inducibility of Kappa-Immunoglobulin Enhancer-Binding Protein Nf-Kappa-B by a Posttranslational Mechanism. *Cell*, 47 (6), 921-928.
- Sen, R. and Baltimore, D., 1986b. Multiple nuclear factors interact with the immunoglobulin enhancer sequences. *Cell*, 46 (5), 705-716.
- Sharples, K.B., Lauer, R.F. and Teranish.Ay, 1973. Electrophilic and nucleophilic organoselenium reagents - New routes to alpha,beta-unsaturated carbonyl-compounds. *Journal of the American Chemical Society*, 95 (18), 6137-6139.
- 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 (2), 279-281.
- Siddiqui, S., Siddiqui, B.S., Adil, Q. and Begum, S., 1990. Prolonged treatment of acetylmethyl ursolic acid with H₂O₂/acetic acid - a facile one-pot synthesis of 15-alpha-hydroxy analog. *Tetrahedron*, 46 (10), 3569-3580.
- Smellie, A., Teig, S.L. and Towbin, P., 1995. Poling - promoting conformational variation. *Journal of Computational Chemistry*, 16 (2), 171-187.
- 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 (6), 3377-3386.
- Spitzer, G.M., Wellenzohn, B., Laggner, C., Langer, T. and Liedl, K.R., 2007. DNA minor groove pharmacophores describing sequence specific properties. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 47 (4), 1580-1589.
- Stahl, M. and Rarey, M., 2001. Detailed analysis of scoring functions for virtual screening. *Journal of Medicinal Chemistry*, 44 (7), 1035-1042.
- Tabata, M., Tabata, R., Grabowski, D.R., Bukowski, R.M., Ganapathi, M.K. and 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 (11), 8029-8036.
- Takemura, M., Endo, S., Matsunaga, T., Soda, M., Zhao, H.T., El-Kabbani, O., Tajima, K., Iinuma, M. and Hara, A., 2011. Selective Inhibition of the Tumor Marker Aldo-keto Reductase Family Member 1B10 by Oleanolic Acid. *Journal of Natural Products*, 74 (5), 1201-1206.
- Tanaka, R. and Matsunaga, S., 1988. Triterpene constituents from *euphorbia-supina*. *Phytochemistry*, 27 (11), 3579-3584.
- Tel, G., Ozturk, M., Mehmet, E.D., Harmandar, M. and Topcu, G., 2010. Chemical composition of the essential oil and hexane extract of *Salvia chionantha* and their antioxidant and anticholinesterase activities. *Food and Chemical Toxicology*, 48 (11), 3189-3193.
- Topcu, G., 2006. Bioactive triterpenoids from *Salvia* species. *Journal of Natural Products*, 69 (3), 482-487.

- Topcu, G., Ayral, M.N., Aydin, A., Goren, A.C., Chai, H.B. and Pezzuto, J.M., 2001. Triterpenoids of the roots of *Lavandula stoechas* ssp *stoechas*. *Pharmazie*, 56 (11), 892-895.
- Topcu, G., Ertas, A., Kolak, U., Ozturk, M. and Ulubelen, A., 2007. Antioxidant activity tests on novel triterpenoids from *Salvia macrochlamys*. *Arkivoc*, 195-208.
- Topcu, G., Kolak, U., Ozturk, M., Boga, M., Hatipoglu, S.D., Bahadori, F., Culhaoglu, B. and Dirmenci, T., 2013a. Investigation of anticholinesterase activity of a series of *Salvia* extracts and the constituents of *Salvia staminea*. *The Natural Products Journal*, 3, 3-9.
- Topcu, G., Ozturk, M., Kusman, T., Barla Demirköz, A.A., Kolak, U. and Ulubelen, A., 2013b. Terpenoids, essential oil composition and fatty acids profile, and biological activities of Anatolian *Salvia fruticosa* Mill. *Turkish Journal of Chemistry*, 37 (4), 619-632.
- Topcu, G., Tan, N., Ulubelen, A., Sun, D. and Watson, W.H., 1995. Terpenoids and flavonoids from the aerial parts of *salvia-candidissima*. *Phytochemistry*, 40 (2), 501-504.
- Topcu, G., Turkmen, Z., Schilling, J.K., Kingston, D.G.I., Pezzuto, J.M. and Ulubelen, A., 2008. Cytotoxic activity of some anatolian *Salvia* extracts and isolated abietane diterpenoids. *Pharmaceutical Biology*, 46 (3), 180-184.
- Topcu, G., Turkmen, Z., Ulubelen, A., Schilling, J.K. and Kingston, D.G., 2004a. Highly hydroxylated triterpenes from *Salvia kronenburgii*. *J Nat Prod*, 67 (1), 118-21.
- Topcu, G., Turkmen, Z., Ulubelen, A., Schilling, J.K. and Kingston, D.G.I., 2004b. Highly hydroxylated triterpenes from *Salvia kronenburgii*. *Journal of Natural Products*, 67 (1), 118-121.
- Topcu, G. and Ulubelen, A., 1999. Terpenoids from *Salvia kronenburgii*. *Journal of Natural Products*, 62 (12), 1605-1608.
- Trommsdorff, H., 1854. *Chemische Mittheilungen*. *Archiv Der Pharmazie*, 130, 262-275.
- Ukiya, M., Akihisa, T., Tokuda, H., Suzuki, H., Mukainaka, T., Ichiishi, E., Yasukawa, K., Kasahara, Y. and 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 (1), 7-12.
- Ulubelen, A. and Topcu, G., 1984. Triterpenoids from *salvia-pinnata*. *Phytochemistry*, 23 (1), 133-134.
- Ulubelen, A., Topcu, G. and Johansson, C.B., 1997. Norditerpenoids and diterpenoids from *Salvia multicaulis* with antituberculous activity. *Journal of Natural Products*, 60 (12), 1275-1280.
- Vallabhapurapu, S. and Karin, M., 2009. Regulation and Function of NF-kappa B Transcription Factors in the Immune System. *Annual Review of Immunology*, 27, 693-733.
- Verkhivker, G.M., Bouzida, D., Gehlhaar, D.K., Rejto, P.A., Arthurs, S., Colson, A.B., Freer, S.T., Larson, V., Luty, B.A., Marrone, T. and Rose, P.W., 2000. Deciphering common failures in molecular docking of ligand-protein complexes. *Journal of Computer-Aided Molecular Design*, 14 (8), 731-751.
- Wan, F.Y. and Lenardo, M.J., 2010. The nuclear signaling of NF-kappa B: current knowledge, new insights, and future perspectives. *Cell Research*, 20 (1), 24-33.

- Wu, B.Y.T. and Parks, L.M., 1953. Chemical studies on ursolic acid. *Journal of the American Pharmaceutical Association*, 42, 603-6.
- Wu, P., Zheng, J., Huang, T., Li, D., Hu, Q., Cheng, A., Jiang, Z., Jiao, L., Zhao, S. and Zhang, K., 2015. Synthesis and Evaluation of Novel Triterpene Analogues of Ursolic Acid as Potential Antidiabetic Agent. *Plos One*, 10 (9).
- Xu, G., Liu, Z.Z., Yang, J.H., Chen, S.Z. and Yang, H.Y., 2007. Stereoselective synthesis of 3-butylphthalide via CBS catalytic reduction. *Chinese Chemical Letters*, 18 (6), 653-655.
- Young, D.C., 2009. *Computational Drug Design: A Guide for Computational and Medicinal Chemists*. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey.
- Zandi, E., Rothwarf, D.M., Delhase, M., Hayakawa, M. and Karin, M., 1997. The I kappa B kinase complex (IKK) contains two kinase subunits, IKK alpha and IKK beta, necessary for I kappa B phosphorylation and NF-kappa B activation. *Cell*, 91 (2), 243-252.
- Zhang, Q., Chang, Z. and Wang, Q., 2006. Ursane triterpenoids inhibit atherosclerosis and xanthoma in LDL receptor knockout mice. *Cardiovascular Drugs and Therapy*, 20 (5), 349-357.
- Zilbeyaz, K., Kilic, H., Sisecioglu, M., Ozdemir, H. and 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 (8), 594-601.

ÖZGEÇMİŞ

Halil ŞENOL, 1988 yılında Ardahan ilinin Posof ilçesinde dünyaya geldi. İlköğretimini Posof'ta orta öğretimini Ardahan'da tamamladı. 2005 yılında Kafkas Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünde üniversite eğitimine başladı ve bu bölümden 2009 yılında derece ile mezun oldu. 2009 yılında Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı Organik Kimya Bilim Dalında yüksek lisans eğitimine başladı. Yüksek lisans eğitimi süresince tez danışmanı Prof. Dr. Abdullah Menzek yürütücülüğündeki bir TÜBİTAK projesinde bursiyer olarak görev aldı ve 2011 yılında yüksek lisans eğitimin tamamladı. 2013 yılında Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı Organik Kimya Bilim Dalında Prof. Dr. Nüket Öcal danışmanlığında doktora eğitimine başladı. Yüksek lisans ve doktora eğitimi arasındaki sürede bir yıl Atatürk Üniversitesinde bir yıl da İstanbul Teknik Üniversitesi ve Bezmialem Vakıf Üniversitesi olmak üzere iki yıl bilimsel çalışmalarına devam etti. 2014 yılında yürütücülüğünü Prof. Dr. Gülaçtı Topçu'nun yaptığı ve Bezmialem Vakıf Üniversitesinde yürütülen bir TÜBİTAK projesine bursiyer olarak katıldı ve doktora çalışmalarını bu proje kapsamında hazırlamaya başladı. 2015 yılının ocak ayında üniversiteler arası yatay geçiş yoluyla Yıldız Teknik Üniversitesinden Atatürk Üniversitesi geçiş yaptı. Aynı yılın Haziran ayında da Bezmialem Vakıf Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Eczacılık Meslek Bilimleri Bölümü Farmasötik Kimya Anabilim Dalında Öğretim Görevlisi olarak göreve başladı ve halen bu görevine devam etmektedir. Yüksek lisans ve doktora eğitimi sürecinde birçok bilimsel kongre ve organizasyonda görev aldı ve 2011 yılında gerçekleştirilen 25. Ulusal Kimya Kongresinde kongre sekterliği görevini yürüttü. Ayrıca Kimyagerler Derneği ile çok sayıda mesleki eğitim organizasyonuna katıldı. Halen doktora eğitimine devam eden Halil Şenol evli ve bir erkek çocuk babasıdır.

SCI, SSCI, AHCI İndekslerine Giren Dergilerde Yayımlanan Makaleler

1. Tuncay S., **Şenol H.**, Güler E.M., Öcal N., Seçen H., Koçyiğit A., Topçu G., "Synthesis of Oleanolic Acid Analogues and Their Cytotoxic Effects on 3T3 Cell Line" Medicinal chemistry, 14, 1-9, 2018
2. **Şenol H.**, Bayrak C., Menzek A., Şahin E., Karakuş M., "Cycloaddition reaction of spiro[2.4]hepta-4,6-dien-1-ylmethanol and PTAD: a new rearrangement", Tetrahedron, 72, 2587-2592, 2016

Uluslararası kitaplarda bölüm

1. Topçu G., Yücer R., **Şenol H.**, Bioactive Constituents of Anatolian Salvia Species. In: Georgiev V., Pavlov A. (eds.) Salvia Biotechnology. Springer, Cham, Switzerland, pp.31-132, 2017

Projeler

1. **Bursiyer**, Nükleer Faktör KappaB İnhibisyon Etkili Triterpenlerin Sentezi ve İlaç Olma Potansiyellerinin Araştırılması; (TÜBİTAK 1001-Araştırma Projesi No: 113Z694); *Başlama ve Bitiş Tarihi*: 15.03.2014 – 15.03.2017; *Proje Yürütücüsü*: Prof. Dr. Gülaçtı Topçu; *Projenin Yürütüldüğü Kurum*: Bezmiâlem Vakıf Üniversitesi Eczacılık Fakültesi – İstanbul
2. **Bursiyer**, Spirosiklopropil metanol içeren siklopentadienin katılma ürünlerindeki düzenlenme tepkimelerinin incelenmesi (TÜBİTAK - 1001 Araştırma Projesi No: 109T403); *Başlama ve Bitiş Tarihi*: 15.01.2010 – 15.07.2012; *Proje Yürütücüsü*: Prof. Dr. Abdullah Menzek, *Projenin Yürütüldüğü Kurum*: Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü – Erzurum