

T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BAZI ORGANİK BİLEŞİKLERİN *ULOCLADIUM*
CHARTARUM KÜFÜ İLE
BİYOTRANSFORMASYONLARI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Vusala İSMAYİLOVA

Enstitü Anabilim Dalı : KİMYA
Enstitü Bilim Dalı : BİYOKİMYA
**Tez Danışmanı : Dr.Öğr.Üyesi Semra YILMAZER
KESKİN**

Temmuz 2021

T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BAZI ORGANİK BİLEŞİKLERİN *ULOCLADIUM*
CHARTARUM KÜFÜ İLE
BİYOTRANSFORMASYONLARI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Vusala İSMAYİLOVA

Enstitü Anabilim Dalı : KİMYA

Enstitü Bilim Dalı : BİYOKİMYA

Bu tez 09/07/2021 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oybirliği ile kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı

Üye

Üye

BEYAN

Tez içindeki tüm verilerin akademik kurallar çerçevesinde tarafımdan elde edildiğini, görsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uygun şekilde sunulduğunu, kullanılan verilerde herhangi bir tahribat yapılmadığını, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezde yer alan verilerin bu üniversite veya başka bir üniversitede herhangi bir tez çalışmasında kullanılmadığını beyan ederim.

Vusala İSMAYİLOVA

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca değerli bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, her konuda bilgi ve desteğini almaktan çekinmediğim, araştırmanın planlanmasından yazılmasına kadar tüm aşamalarında yardımlarını esirgemeyen, teşvik eden, aynı titizlikte beni yönlendiren değerli danışman hocam Dr.Öğr.Üyesi Semra YILMAZER KESKİN'e teşekkürlerimi sunarım.

Laboratuvar imkanları konusunda anlayış ve yardımlarını esirgemeyen, bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım Sakarya Üniversitesi Kimya Bölüm Öğretim Üyelerinden sayın Prof.Dr. Abil ÖZDEMİR'e ve Doç.Dr. Can Serkan KESKİN'e teşekkür ederim. NMR spektrumlarımın alınmasında ve yorumlamasında yardımlarını esirgemeyen değerli hocam sayın Doç.Dr. Fatih SÖNMEZ'e teşekkürlerimi bildiririm.

Eğitim hayatım boyunca beni maddi manevi konularda destekleyen tüm aileme teşekkür ederim.

Ayrıca bu çalışmanın maddi açıdan desteklenmesine olanak sağlayan Sakarya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Komisyon Başkanlığına (Proje No:2020-7-24-113) teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ	iv
ŞEKİLLER LİSTESİ	v
TABLolar LİSTESİ	vi
ÖZET	vii
SUMMARY	viii
BÖLÜM 1.	
GİRİŞ	1
BÖLÜM 2.	
GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Enzimler ve Özellikleri.....	3
2.2. Biyotransformasyonlar	4
2.3. Mikrobiyal Biyotransformasyonlar.....	6
2.4. Mikrobiyal Biyotransformasyonlarda Kullanılan Biyolojik Sistemler.....	8
2.5. Mikrobiyal Biyotransformasyonlarda Kullanılan Sekonder Metabolitler	11
2.6. Bazı Küfler ile Şalkonların ve α -Lipoik Asidin Biyotransformasyonları.....	14
2.8. Çalışmanın Amacı	14
BÖLÜM 3.	
MATERYAL VE YÖNTEM	15

3.1. Kullanılan Araç-Gereçler ve Sarf Malzemeler.....	15
3.2. Taze Yatık Agar Kültürlerinin Hazırlanması.....	15
3.3. Küf Kültürlerinin Hazırlanması.....	16
3.4. Küflere Ait Besiyerlerinin Hazırlanması	16
3.5. Biyotransformasyon Çalışmaları	16
3.6. Biyotransformasyon Çalışmalarının Kontrolü.....	17
3.7. Metabolitlerin Saflaştırılması ve Yapı Tayini.....	17
BÖLÜM 4.	
DENEYSEL BULGULARI	18
4.1. Bazı Şalkon Türevleri ile Biyotransformasyonlar.....	18
4.1.1. (E)-3-fenil-1-(p-tolil)prop-2-en-1-on <i>U. chartarum</i> küfü ile biyotransformasyonu.....	18
4.1.2. (E)-3-(furan-2-il)-1-(p-tolil)prop-2-en-1-on <i>U. chartarum</i> küfü ile biyotransformasyonu.....	21
4.2. α -Lipoik Asit ile Biyotransformasyonlar.....	23
4.2.1. α -Lipoik asit ile <i>Cladosporium sphaerospermum</i> MRC 70266 küfü ile biyotransformasyonu.....	23
4.2.2. α -Lipoik asit ile <i>Cladosporium cladosporioides</i> MRC 70282 küfü ile biyotransformasyonu.....	25
4.2.3. α -Lipoik asit ile <i>Ulocladium chartarum</i> MRC 72584 küfü ile biyotransformasyonu.....	27
BÖLÜM 5.	
TARTIŞMA VE SONUÇ	29
KAYNAKLAR	31
ÖZGEÇMİŞ	36

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

°C	: Santigrat derece
CDCL ₃	: Dötorokloroform
¹³ C-NMR	: Karbon-13 nükleer manyetik rezonans
DNA	: Deoksiribonükleik asit
FeSO ₄	: Demir (II) sülfat
g	: Gram
¹ H-NMR	: Proton Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi
Hz	: Hertz
İTK	: İnce tabaka kromatografisi
KCl	: Potasyum klorür
KH ₂ PO ₄	: Potasyum dihidrojen fosfat
L	: Litre
mg	: Miligram
MHz	: Megahertz
MgSO ₄	: Magnezyum sülfat
mL	: Mililitre
NaNO ₃	: Sodyum nitrat
PDA	: Patato dextrose agar
pH	: Hidrojen iyonu konsantrasyonunun eksi logaritması
ppm	: Milyonda bir kısım
rpm	: Dakika başına dönüş sayısı

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. Şalkon bileşiklerinin genel iskelet yapısı.....	12
Şekil 2.2. Lipoik asit (5-(1,2-ditiolan-3-il)pentanoik asit) in açık yapısı.....	13
Şekil 4.1. (E)-3-fenil-1-(p-tolil)prop-2-en-1-on (2) bileşiğinin <i>U. chartarum</i> küfü ile biyotransformasyonu.....	18
Şekil 4.2. (E)-3-fenil-1-(p-tolil)prop-2-en-1-on bileşiğine ait ¹ H NMR spektrumu.....	19
Şekil 4.3. 3-fenil-1-(p-tolil)propan-1-on bileşiğine ait ¹ H NMR spektrumu.....	19
Şekil 4.4. (E)-3-fenil-1-(p-tolil)prop-2-en-1-on (2)'in <i>U. chartarum</i> ile 3 günlük inkübasyonunda elde edilen karışıma ait ¹ H NMR spektrumu.....	20
Şekil 4.5. (E)-3-fenil-1-(p-tolil)prop-2-en-1-on bileşiğinin <i>U. chartarum</i> ile 5 günlük inkübasyonunda elde edilen karışıma ait ¹ H NMRspektrumu	20
Şekil 4.6. (E)-3-(furan-2-il)-1-(p-tolil)prop-2-en-1-on bileşiğinin <i>U. chartarum</i> ile biyotransformasyonu.....	21
Şekil 4.7. (E)-3-(furan-2-il)-1-(p-tolil)prop-2-en-1-on bileşiğine ait ¹ H NMR spektrumu.....	21
Şekil 4.8. 3-(furan-2-il)-1-(p-tolil)propan-1-on bileşiğinin ait ¹ H NMR spektrumu.....	22
Şekil 4.9. (E)-3-(furan-2-il)-1-(p-tolil)prop-2-en-1-on bileşiğinin <i>U. chartarum</i> ile 3 günlük inkübasyonunda elde edilen karışıma ait ¹ H NMR spektrumu.....	22
Şekil 4.10. (E)-3-(furan-2-il)-1-(p-tolil)prop-2-en-1-on bileşiğinin <i>U. chartarum</i> ile 5 günlük inkübasyonunda elde edilen karışıma ait ¹ H NMR spektrumu.....	23
Şekil 4.11. α-Lipoik asit (5-(1,2-ditiolan-3-il)pentanoik asit) in açık yapısı.....	23
Şekil 4.12. α-Lipoik aside (5-(1,2-ditiolan-3-il)pentanoik asit) ait ¹ H NMR spektrumu.....	24

Şekil 4.13. α -Lipoik asidin (0,5 g α -lipoik asit/L besiyeri) <i>C. sphaerospermum</i> ile 5 günlük inkübasyonunda elde edilen karışıma ait ^1H NMR spektrumu.....	24
Şekil 4.14. α -Lipoik asidin (1 g α -lipoik asit/L besiyeri) <i>C. sphaerospermum</i> ile 5 günlük inkübasyonunda elde edilen karışıma ait ^1H NMR spektrumu.....	25
Şekil 4.15. α -Lipoik asidin (0,5 g α -lipoik asit/L besiyeri) <i>C. cladosporioides</i> ile 5 günlük inkübasyonunda elde edilen karışıma ait ^1H NMR spektrumu.....	26
Şekil 4.16. α -Lipoik asidin (1 g α -lipoik asit/L besiyeri) <i>C. cladosporioides</i> ile 5 günlük inkübasyonunda elde edilen karışıma ait ^1H NMR spektrumu	26
Şekil 4.17. α -Lipoik asidin (0,5 g α -lipoik asit/L besiyeri) <i>U. chartarum</i> ile 5 günlük inkübasyonunda elde edilen karışıma ait ^1H NMR spektrumu	27
Şekil 4.18. α -Lipoik asidin (1 g α -lipoik asit/L besiyeri) <i>U. chartarum</i> ile 5 günlük inkübasyonunda elde edilen karışıma ait ^1H NMR spektrumu	28

TABLolar LİSTESİ

Tablo 2.1. Biyotransformasyon reaksiyon tipleri	5
Tablo 2.3. İzole enzim sistemlerinin ve bütün hücre sistemlerinin avantaj ve dezavantajları	8

ÖZET

Anahtar kelimeler: Biyotransformasyon, şalkon, α -lipoik asit, mikroorganizma

Flavonoid ailesine üye doğal veya sentetik bileşikler olan şalkonlar, geniş bir biyolojik aktivite spektrumuna sahiptir. Antibakteriyel, antikanser, antiviral gibi özelliklerinden dolayı son yıllarda şalkonlar üzerine yapılan çalışmalar artmıştır. Birçok biyolojik etkinliğe sahip olduğu bilinen bir antioksidan bileşik olan α -lipoik asitin de sentetik türevinin sentezi, mikrobiyal biyotransformasyon ile doğal türevlerinin eldesi son yıllarda önem kazanmıştır.

Bu çalışmada, (*E*)-3-fenil-1-(*p*-tolil)prop-2-en-1-on ve (*E*)-3-(furan-2-il)-1-(*p*-tolil)prop-2-en-1-on bileşiklerinin *Ulacladium chartarum* MRC 72584 küfü ile, α -lipoik asit ise *Cladosporium sphaerospermum* MRC 70266, *Cladosporium cladosporioides* MRC 70282 ve *Ulocladium chartarum* MRC 72584 küfleri ile biyotransformasyonları gerçekleştirildi.

Biyotransformasyon denemeleri sonrasında başlangıç maddesi ve elde edilen bileşiklerin ¹H NMR spektrumları alınarak biyotransformasyon sonuçları incelendi. Şalkon türevlerinin biyotransformasyonu neticesinde farklı verimle şalkonların hidrojenasyonu tespit edildi. α -lipoik asidin *Cladosporium cladosporioides* küfü ile biyotransformasyonu sonucunda herhangi bir metabolit elde edilemezken *Cladosporium cladosporioides* ve *Ulocladium chartarum* küfleri ile çok az miktarda tanımlanamayan metabolit elde edildi.

BIOTRANSFORMATIONS OF SOME ORGANIC COMPOUNDS WITH *ULOCLADIUM CHARTARUM* MOLD

SUMMARY

Keywords: Biotransformation, chalcone, α -lipoic acid, microorganism

The chalcones, which are natural or synthetic compounds belonging to the flavonoid family, have a wide spectrum of biological activity. Due to its antibacterial, anticancer and antiviral properties, studies on chalcones have increased in recent years. Synthesis of the synthetic derivative of α -lipoic acid, an antioxidant compound known to have many biological activities, and obtaining its natural derivatives by microbial biotransformation have gained importance in recent years.

In this study, (*E*)-3-phenyl-1-(*p*-tolyl)prop-2-en-1-one and (*E*)-3-(furan-2-yl)-1-(*p*-tolyl)prop-2-en-1-one compounds with the mold *Ulocladium chartarum* MRC 72584, α -lipoic acid with *Cladosporium sphaerospermum* MRC 70266, *Cladosporium cladosporioides* MRC 70282 and *Ulocladium chartarum* MRC 72584 molds were biotransformed.

After the biotransformation experiments, the ^1H NMR spectra of the starting material and the obtained compounds were taken and the biotransformation results were examined. As a result of the biotransformation of chalcone derivatives, hydrogenation of chalcones with different yields was determined. Biotransformation of α -lipoic acid with the mold *Cladosporium cladosporioides* did not yield any metabolites, while very few unidentified metabolites were obtained with the molds *Cladosporium cladosporioides* and *Ulocladium chartarum*.

BÖLÜM 1. GİRİŞ

İnsanlık tarihindeki önemli olayların yönlendirilmesi kendi çağında çoğunlukla teknoloji tarafından gerçekleştirilmiştir. Öyle ki 20. Yüzyıl kuşkusuz petrokimya, ilaç, gübre, lazer ve mikroçip gibi büyük endüstriyel kimya ve fizik çağı sayılmış. Daha sonra ise biyolojiyle ilişkili teknolojik alanlarda gelişmelerin hız kazanması biyoteknolojinin egemen olmasına olanak sağlamıştır [1, 2]. Günümüze kadar yapılan araştırmalara göre insan nüfusunun artması ile gereken hammadde ihtiyaçları da büyümekte. Bu ihtiyaçların doğal şekilde karşılanmasında yaşanan zorluklara bilim adamları tarafından bulunan çözümlerden bir tanesi de biyoteknolojik süreç sayılan biyotransformasyon uygulamaları olmuştur [3]. Doğal kaynaklardan yeni metabolitlerin üretilmesi, bu metabolitlerin biyolojik aktivitelerinin ortaya konması ve biyokimyasal türevlerinin elde edilmesi biyotransformasyon olarak tanımlanır. İhtiyaç duyulan gerekli bileşenlerin karşılanmasında bu tür çalışmalar her zaman oldukça büyük öneme sahip olmuştur.

Canlı organizmalarda bulunan doğal bileşikler temelde primer metabolitler ve sekonder metabolitler olmak üzere iki sınıfa ayrılırlar. Birinci sınıfa dahil olan primer metabolitler hücrelerde ortak bileşikler olup, büyüme, üreme ve gelişme, ürün dönüşümü, bitkilerde fotosentez gibi primer fonksiyonların gerçekleştirilmesini sağlayan bileşiklerdir [4]. Genellikle bitkiler tarafından üretilen bu sınıfın üyeleri canlının yapı taşlarını oluşturan karbonhidratlar (nişasta, selüloz), mineraller (katyonlar, tuzlar, anyonlar), lipitler (trigliserit, fosfolipit), proteinler ve hormonlar gibi mineral ve organik bileşiklerdir. Sekonder metabolitler ise canlıların gelişimi ile doğrudan ilişkili olmayıp, canlıların çevreye adapte olmaları, taşınma, korunma gibi ikincil faaliyetlerini gerçekleştiren organik bileşiklerdir. Başka bir ifade ile bu bileşikler canlı varlıkların büyümesi ve gelişmesi için zorunlu olmayan sekonder metabolizmanın ara ürünleri olup ikincil metabolitler yani sekonder metabolitler

olarak tanımlanmaktadır [5, 6]. Sekonder bileşenler birçok canlıda bulunsalar da daha çok bitkiler, böcekler ve mikroorganizmalarda fazlasıyla bulunur. Bu bileşikler genel olarak kötü tatları ve kokuları ile otçulları kendinden uzaklaştıran bileşikler, stres veya saldırı sonucunda ortaya çıkan savunma bileşenleri, başka canlıları güzel kokuları ve renkleriyle bulunmuş oldukları canlıya cezbeden bileşikler ve aynı zamanda bazı hayvanlar, misal böcekler arasında haberleşmeden sorumlu feromonlar olarak da bilinirler [3]. İlk başlarda sekonder metabolitlerin bitkilerde hiçbir değişikliye uğramadan depo ve atık ürünü olarak biriktiği düşünülmüş. Sonradan yapılan araştırmalarla sekonder ürünlerin tanenler, kauçuk ve ligninler gibi polimerler hariç gerektiğinde primer metabolitlere dönüştürülerek katabolize olduğu ortaya çıkmıştır. Böylelikle sekonder metabolitler bu dönüşümü sayesinde primer metabolik rolü oynayarak enerji kaynağı ya da koruma fonksiyonu üstelenebilmektelerdir. Örneğin; radyoaktif etkilenmelerden koruma rolü oynayabilir [4]. Bitkilerde bazı doku ve organlarda spesifik enzimler aracılığı ile özel olarak sentezlenmektedirler [7]. Ancak yapılan araştırmalar sonucu sekonder metabolitlerin bitkilerde eser miktarlarda üretildiği ortaya çıkmıştır. Buna rağmen günümüzde doğal yollarla ham maddeleri elde etmek adına sekonder metabolitlerin incelenmesinin ekonomik önemi daha da artmaktadır. Sekonder metabolitlerden hammadde şeklinde elde edilmesi zamanla çok büyük önem arz eden gıda katkı maddeleri, boyalar, farmosötikler, tatlandırıcılar, yapıştırıcılar, pestisitler gibi değerli bileşikler günümüzde çeşitli kullanım alanlarına sahiptir [8].

Kimyasal yapıları sebebi ile farklı özellikler göstermelerinden ve değişik sentez yöntemlerinden dolayı sekonder metabolitler çeşitli sınıflandırmalara sahiptir. Genel sınıflarınının yapılarına bakılacak olursa sekonder metabolitlerin çoğu azot içermekte. Bunlara alkaloidler, aminler, alkamidler, lektinler, polipeptidler örnek gösterilebilir. Ancak sekonder metabolitlerin bazı sınıflarınının yapılarında azot bulunmamakta olup yapılarında kükürt bulunan üyeleri de mevcuttur. Bu kategoriye ise terpenler, steroidler, flavonoidler, yağ asitleri, organik asitler, tanninler gibi önemli bileşikler örnek olarak verilebilir [4].

BÖLÜM 2. GENEL BİLGİLER

2.1. Enzimlerin ve Özellikleri

Enzimler yalnız canlı organizmalar tarafından sentezlenen ve biyokimyasal reaksiyonları hızlandıran biyokatalizörlerdir. Biyotransformasyonlar günümüzde ya birçok enzim izole edilerek ya da bazı enzimler ticari olarak elde edilerek yapılmaktadır. Enzimler, Uluslararası Biyokimya Birliği Enzim Komisyonu tarafından sırasıyla oksidoredüktazlar, transferazlar, hidrolazlar, liyazlar, izomerazlar ve ligazlar olmak üzere altı sınıfa ayrılmıştır. Her bir sınıf ise kendi içerisinde 4-13 arası alt sınıflara ayrılmaktadır [9].

Oksidoredüktazlar sınıfı, dehidrogenazlar, redüktazlar, oksijenazlar, oksidazlar gibi iki ayrı substrat arasındaki indirgenme-yükseltgenme tepkimelerini katalizleyen enzimleri içerirler. Transferazlar iki ayrı substrat arasındaki hidrojen haricinde belirli atomların ve grupların transferini katalizleyen enzimlerdir. Hidrolazlar ise ester, eter, anhidrit, peptid, glikozid gibi bazı bağların hidrolizini katalizlemektedir. Liyazlar substratlardan belirli grupların ayrılması ile çift bağların oluşumunu ve ayrıca çift bağlara katılmaları katalizleyen enzimlerdir. İzomerazlar; rasemaz, epimeraz, mutaz gibi enzimleri içerirler ve çeşitli izomerlerin birbirine dönüşümünü katalizlerler. Lipazlar iki substratın birbirine bağlanmasını katalizleyen enzimlerdir [9].

Enzimler dahil oldukları reaksiyonlarda hiçbir değişikliğe uğramadan ve hiçbir yan ürün oluşturmadan onları katalizler. Yan ürün oluşmadığı için enzimlerin katalizlediği reaksiyonlar çevre dostu sayılır [10].

Enzimlerle gerçekleştirilen reaksiyonlar %100' lük verim sağlayarak hücre dahilinde meydana gelen tepkimelerin hızını ve özgüllüğünü düzenlemekle görevlidir. Büyük

kısmı protein yapısında olan enzimler hücre içindeki etkileşimlerinin yanısıra çoğu zaman hücre dışındaki etkinliklerini de korurlar [10].

Enzimlerle ilgili çok pahalı ve fazlasıyla duyarlı olmaları, sadece kendilerine özgü substratlarına etki etmeleri yönünde bazı önyargılar vardır. Buna rağmen biyotransformasyonlarda iştirak eden çoğu enzim için bu olumsuz fikirler doğru değildir [11]. Enzimlerle gerçekleştirilen reaksiyonlar çok hızlı oldukları için kullanıcılarına her yönden avantaj sağlar. Örnek gösterecek olursak enzimlerle katalizlenen reaksiyonların hızı enzimler olmaksızın gerçekleştirilen reaksiyonlardan $10^8 - 10^{10}$ katı daha hızlı gerçekleşmektedir.

Sanayide ve diğer alanlarda yarar sağlayacak birçok reaksiyon enzimlerin iştirakı ile yapılmaktadır. Örnek olarak bu reaksiyonlara dekarboksilasyon, izomerizasyon, açılion ve aldol reaksiyonları, alken, alkan sülfürler ve sülfoksitlerin yükseltgenmesi ve indirgenmesi, Diels-Alder ve Michael katılması reaksiyonları gösterilebilir. Tüm bu avantajları sayesinde enzimler klasik yöntemlerle yapılması güç olan reaksiyonları çok kolay bir şekilde ve ılıman şartlar altında gerçekleştire bilmektedir. Bu da enzimlerin endüstriyel açıdan yararlı olmalarını ve iktisadi bakımdan tasarruf sağlamalarını mümkün kılar [11].

2.2. Biyotransformasyonlar

Biyotransaformasyon enzimler veya bünyesinde enzim bulunduran biyolojik sistemlerin aracılığıyla belirli bir substratın biyokimyasal türevlerinin elde edilmesi reaksiyonudur. Ancak biyotransformasyon reaksiyonları canlı sistemlerin doğada gerçekleştirdiği biyolojik reaksiyonların aksine kendilerine yabancı substratlara etki etmeleri açısından farklılık yaratmaktadır. Biyotransformasyon reaksiyonlarından iyi bir sonuç elde etmek için hem substratın hem de biyokatalizörün doğru seçilmesi çok önemlidir [12]. Tarihten birçok biyotransformasyon örneği verilebilir. Antik medeniyetler et ve süt ürünlerini hazırlamak için mikrobiyal biyokatalizörlerden yararlanmışlardır. Günümüzde ise biyokatalizörler gıda endüstrisinde, ilaç ve kimya

endüstri sektörlerinde özel kimyasallar ve çeşitli ara ürünlerin sentezi yönünde daha da yaygın şekilde kullanılmaktadır [13].

Biyotransformasyon geniş ve büyüyen bir biyoteknoloji alanıdır. Biyotransformasyon biyokimyasal reaksiyonlar sonucu istenen ürünün elde edilmesini sağlayan biyoteknolojik bir süreçtir. Çeşitli biyolojik kaynaklardan izole edilen mikroplar ve enzimlerle yeni bileşikler elde etmek adına birçok biyokatalitik metodolojiler geliştirilmiştir. Bu da onların çeşitli ortamlarda kullanımını kolaylaştırarak farklı metabolik yollarının araştırılması, manipülasyonu ve büyütülmesine olanak sağlamaktadır[13]. Laboratuvar ortamlarında gerçekleştirilen tüm sentetik tepkimelerin neredeyse tamamına eşdeğer biyotransformasyon reaksiyon tipi keşfedilmiştir. Biyotransformasyonda kullanılan reaksiyon tipleri Tablo 2.1’de gösterilmiştir [14-16].

Tablo 2.1. Biyotransformasyon reaksiyon tipleri

Reaksiyon tipi	Oksidasyon	Dehidrojenasyon, hidroksilasyon, epoksidasyon, kısmi oksidatif degradasyon, Bayer Villiger oksidasyonu
	Redüksiyon	Aldehitleri, ketonların, heteroatomların indirgenmesi, çifte bağların halojenasyonu
	Hidrolitik reaksiyonlar	Esterlerin, C-N ve epoksitlerin hidrolizi, C=C bağlarına su girişi, N-demetilasyon
	Katılma ve kondenzasyon	Ester ve amit bağlarının oluşumu, C=C bağlarına amonyak ilavesi, birleşme reaksiyonları

Biyotransformasyon ekonomik ve ekolojik bakımdan uygulanabilir bir teknoloji olup, biyolojik aktif bileşenlerin yapılarını modifiye ederek yeni metabolitlerin keşfine imkan sağlamaktadır. Bu değerli metabolitlerin özellikle antimikrobiyal aktivitelere sahip olması bitki ve insan patojenlerine karşı gittikçe artan ilaç direncini aşmak için onların biosentezini önemli bir alternatifte çevirmiştir [17]. Biyotransformasyon reaksiyonları ile sadece değerli bileşikler elde edilmemektedir. Aynı zamanda ilaçların kullanımını sonucunda oluşan ve canlılara yabancı bileşikler olan xenobiyotiklerin ve bazı zararlı bileşiklerin giderilmesi için gerçekleştirilen metabolik reaksiyonlar da biyotransformasyon reaksiyonları kategorisine dahildir [18].

Mikrobiyal hücrelerin metabolize ettiği substratlar hayvan ve bitki hücrelerine göre da çok çeşitliliğe sahiptir. Mikrobiyal hücreler küçük boyutlu olmaları ve hücre duvarlarının daha sağlam ve etkili olması sayesinde biyotransformasyonlarda daha kararlı davranabilmektelerdir. Mikroorganizma hücreleri diğerlerine kıyasla buldukları ortama çok rahat bir şekilde adapte oldukları için kullanımları avantajlıdır [15].

2.3. Mikrobiyal Biyotransformasyonlar

Mikroorganizmaların genetik sisteminde yapılan manipülasyonlar diğer canlı organizmaların hücrelerine göre daha kolay gerçekleştirilebilmektedir. Genetik bilginin aktarılması ve bu genetik manipülasyonlar açısından mikroorganizmalar çok avantajlıdır. Genetik değişimler sayesinde diğer kimyasal yöntemlerde istenmeyen sonuçlara sebep olan unsurlar ortadan kaldırılarak ürün eldesi arttırılmakta ve daha başarılı reaksiyonlar yapılmaktadır. Klasik kimyasal reaksiyonlarda kullanılan zararlı reaktiflerin aksine mikrobiyal biyotransformasyonlar doğa dostudur [19].

Kimyasal sentezlerin aksine mikrobiyal biyotransformasyonlar ılıman şartlarda gerçekleştirilmektedir. Mikrobiyal biyotransformasyonlar 1 atmosfer basıncında ve oda sıcaklığında reaksiyon vermektedir [16].

Mikrobiyal biyotransformasyonlarla yapılan reaksiyonlarda pahalı reaktifler ve sağlanması zor olan kimyasal reaksiyon şartlarının aksine daha ucuza elde edilen mikroorganizma kültürleri ve besiyeri bileşenleri kullanılmaktadır. Bu gibi avantajları sayesinde Mikrobiyal Biyotransformasyonlar modern biyoteknolojinin esas elemanlarına dönüşmüştür [16, 18].

Biyotransformasyon reaksiyonlarında kullanılan enzimler ya birçok kaynaktan izole edilmekte veya bütün hücre sistemleri dahilinde hücre içi formlar şeklinde bulunabilmektelerdir [20]. Çok eski dönemlerden itibaren enzimlerin izolasyonu gerçekleştirilmiş ve günümüz biyoteknolojisinde yaygın olarak kullanılmıştır. İzole edilen enzimler hayvan, bitki ya da mikroorganizmaların bünyesinde tespit edilerek

biyolojik yöntemlerle (ekstraksiyon, iyon değişim kromatografisi, filtrasyon vb) veya kimyasal tepkimelerle bu canlılardan saflaştırılır. Enzim izolasyonu gerçekleştirilecek mikroorganizmanın yapısı, bitki veya hayvan organizmasında hücre duvarının yapısı ve enzimin yerleştiği bölgeye bağlı olarak yöntem düzgün ve iyi bir şekilde seçilmelidir [12].

Çoğu intrasellüler enzim aktif hale gelebilmek için bazen bir değil, daha fazla kofaktöre ihtiyaç duymaktadır. Hücre dahilinde bu kofaktörler hazır olarak bulunurken hücre dışında temin edilmeleri ekonomik açıdan daha pahalıya mal olmaktadır. Bazen de bu intrasellüler enzimlerin izolasyonu daha çok zaman alabilmekte ve seçilecek kaynak bakımından daha pahalı olabilmektedir. Bu gibi nedenlerden dolayı biyotransformasyonlarda genel olarak bütün hücre sistemleri tercih edilir [15]. Tablo 2.2.'de bütün hücre sistemleri ve izole enzimlerle gerçekleştirilen biyotransformasyonların avantaj ve dezavantajları daha geniş bir şekilde gösterilmiştir.

Bütün hücre sistemlerini kapsayan biyokatalizörler;

- Canlı bitki, bitki doku ve hücre kültürleri,
- Canlı hayvan, hayvan doku ve hücre kültürleri,
- Mikroorganizmalar,
- İnsan hücreleri [20].

Bütün hücre sistemleri ile yapılan biyotransformasyonlardan en çok tercih edilenler mikrobiyal hücrelerdir. Bunun birçok nedeni vardır. Öncelikle bitki ve hayvan hücrelerine kıyasla mikroorganizma hücreleri çok hızlı büyüme ve gelişmeye sahiptir. Bu özellikleri mikrobiyal hücreleri yapılan biyotransformasyonların hızlı ve çok kısa sürede gerçekleşmesine sebep olmaktadır.

Tablo 2.2. İzole enzim sistemlerinin ve bütün hücre sistemlerinin avantaj ve dezavantajları [12, 15, 21].

Biyokatalizör	Avantajları	Dezavantajları
İzole enzim sistemleri	<ul style="list-style-type: none"> - Toksik yan ürün oluşturmaz - Yüksek oranda geri kazanım - Düşük maliyetli tepkimeler - Organik çözücülerde yüksek enzim aktivitesi, - Çalışma kolaylığı ve geri kazanım kolaylığı - Doğa dostu olması 	<ul style="list-style-type: none"> - Genelde kofaktöre ihtiyaç duyarlar - Sulu ortamlarda ekstraksiyon ihtiyacı, - Yan reaksiyon olasılığı, - immobilizasyonda aktivite kaybı - Çözünmeyen lipofilik substrat - Organik çözücüde düşük aktivite
Bütün hücre sistemleri	<ul style="list-style-type: none"> - Genelde kofaktör ihtiyacı yok - Büyüyen kültürde yüksek aktivite - Durağan kültürde çalışma kolaylığı ve daha az yan ürün - İmmobilize hücrelerde tekrar kullanılabilirlik - Çevre dostudur - Yüksek seçiciliğe sahip olmaları 	<ul style="list-style-type: none"> - Toksik yan ürün olasılığı - İnhibasyona duyarlılık - Pahalı donanım gereksinimi - Düşük derişim ve düşük verim - Organik çözücülerde düşük tolerans - Büyüyen kütlede düşük aktivite - İmmobilize hücrelerde düşük aktivite

2.4. Mikrobiyal Biyotransformasyonlarda Kullanılan Biyolojik Sistemler

Mikrobiyal biyotransformasyonlarda kullanılan bütün hücre sistemleri olan mikroorganizma hücreleri ya serbest büyüyen hücreler şeklinde ya da durağan hücreler olup belirli bir yüzeye sabitlenmiş şekilde kullanılmaktadır. Mikrobiyal biyotransformasyonlarda kullanımı yaygınlaşmış mikrobiyal biyolojik sistemler mantarlar (özellikle mantarlar aleminin ökaryotik üyelerinden olan küfler ve mayalar) ile mavi yeşil algler (siyanobakteriler) ve bakterilerdir [16].

Mantarlar aleminin ökaryotik üyelerinden olan mayaların en çok bulunduğu alanlar toprak, tatlı ve sulu meyvelerdir. Mayalar yere düşen meyvelerde ve torağın üst katmanlarında, 0-10 cm derinliklerinde bulunurlar. Mayalar eşeyli ve eşeysiz olmak suretiyle iki yolla çoğalabilmektedirler [19]. Hem oksijenli, hem de oksijensiz ortamlarda yaşamını sürdürebilen mayalar oksijen olmadığı ortamlarda şekeri, karbondioksit ve alkole; oksijenli ortamlarda ise şekeri karbon dioksit ve suya dönüştürmektedirler. Alkollü içecekler ve ekmek yapımını sağlamak üzere kullanımı çok eskiye dayanan ve önemi günümüzde daha da çok artan maya mantarları en çok yiyecek içecek sanayi sektöründe yer almaktadır.

Mikrobiyal biyotransformasyonlarda kullanılan mikrobiyolojik sistemlerden biri de bakterilerdir. Bakteriler prokaryotik yapıya sahip tek hücreli canlılardır. Bakteriler çoğunlukla heterotrof yaşam sürdürerek çürükçül ve parazit oldukları için organik besin ihtiyaçlarını dışarıdan almaktadırlar. Çok az bir kısmı ise gereken besin ihtiyaçlarını inorganik maddelerden organik maddeler sentezleyerek karşılayabilmektelerdir (siyanobakteriler) [22].

Biyoteknolojik uygulamalarda, tıbbi ve endüstri alanlarında kullanılan mikrobiyal organizmalardan bir tanesi de küf mantarlarıdır. Küf mantarları besinler üzerinde “küflenme” denilen olayın oluşmasına sebep olup, parazit, saprofit, bazen de simbiyotik yaşam sürdürmektedirler. Hücre yapısı itibariyle ökaryotik, çok hücreli mikroorganizmalar olan küfler genellikle sporlarla çoğalırlar. Çoğalma sporların eşeyli ve eşeysiz olmak üzere ayrılmasıyla gerçekleşmektedir [23]. Kitin tabakasının oluşturduğu sert yapılı hücre duvarlarına sahiplerdir. Küflerin aktivitesi sıcaklık, nem oranı, belirli pH aralığı, ışık gibi etmenlere bağlı olarak değişmektedir. Bu etmenleri şöyle özetleyebiliriz; optimum sıcaklık 25-30 °C, nem oranı %10-15 derecenin üstü, optimum pH aralığı 1,3-9,6 gibi şartlarda ve tabii ki oksijen kullandıkları için yüzey alanlarda daha iyi gelişebilmektelerdir. Ancak karanlıkta gelişebilen üyeleri de vardır [24].

Küf mantarlarının bir çok üyesi zengin enzim içeriği, antibiyotik üretebilmeleri, çevresel atıklardan protein oluşturarak çevreyi ve atık suları ağır metallerden ve diğer zararlı bileşenlerden arındırabilme yetenekleri, endüstride kullanılmak üzere birçok besin içerikli organik bileşikler ve aroma bileşenleri üretebilme potansiyeline sahiplerdir. Bu özelliklerinden dolayı günümüz biyoteknolojisinde bilimsel araştırmaları geniş çapta yapılmakta ve endüstriyel, tıbbi üretime katkı sağlamaktadırlar [22].

En bilinen küf biyotransformasyonlarından biri *Penicillium chrysogenum* tarafından penisilinin üretilmesidir. Üretilen penisilin tıbbi sektörde antibiyotik olarak geniş şekilde kullanılmaktadır. *Penicillium notatum* olarak da bilinen bu küf mantarı penisilin gibi bazı diğer antibiyotiklerin de kaynağı sayılır. *Penicillium chrysogenumun* ürettiği

doğal penisilinin sonradan 6-aminopenisillanik aside dönüştürülmesi bulunmuştur. Bu bileşik aslında ampisilin, amoksilin gibi yarısentetik penisilinlerin etken maddesi olarak bilinir [15, 25].

Küf mantarlarının yeryüzünde binlerce türü bulunmaktadır. Bunlardan en iyi bilinenleri *Cladosporium*, *Aspergillus*, *Alternaria*, *Mucor* ve *Penicillium* cinslerinin türleridir. Bu küf cinslerinin birtakım alerjiye neden olmasına karşın endüstri ve tıbbi alanlarda yapılan bilimsel araştırmaları da yaygın olarak bilinmektedir [26].

Bu tez çalışmasında *Ulocladium* cinsinin bir türü olan *Ulocladium chartarum* ile biyotransformasyon çalışmaları yapılmıştır. Askomiset mantarlarının geniş aralıkta yayılım gösteren *Ulocladium* cinsi *Cladosporiaceae* familyasının bir üyesidir. Çoğu zaman saprofit yaşam sürdüren bazı *Ulocladium* türleri bitki patojenleri olarak bitki hastalıklarına sebep olmaktadır. Bazı türleri gıda bozulmalarına yol açan bu cinsin üyeleri arasında çok nadiren insan hastalıklarına neden olan türleri de bulunmaktadır. Toprakta yaşayan ve doğada yaygın olarak dağılım gösteren *Ulocladium* genelde bir kirletici fungus olarak kabul edilir. *Ulocladium* cinsinin aktif türlerinden olan *Ulocladium chartarum* ve *Ulocladium botrytis* türleri konidiyalarının morfolojik özellikleri arasındaki farklılıklar nedeniyle farklı şekilde tanımlanmaktadır.

Alternaria ile filogenetik bağı olan *Ulocladium* cinsinin enzim üreten ve biyokontrol ajanı olarak dikkat çeken birkaç türü de mevcuttur. Genellikle dış mekânlarda yani toprakta, ölü bitkilerde, havada ve tozda, gıda ve yem kaynaklarında görülen *Ulocladium spp.* aynı zamanda bu tür kaynaklardan izole edilebilmektedir. Bu cinsin geniş aralıkta yayılım gösteren iki aktif türünden biri olan *Ulocladium chartarum* türüne ise daha çok iç mekânlarda rastlanmaktadır [27, 28].

Önceden de bahsedildiği gibi fungal biyotransformasyonlar küflerin kendilerine yabancı maddelere etki ederek onları farklı ürünlere çevirmeleri olarak tanımlanmıştır. Literatürde *Ulocladium* cinsinin bazı türleri ile gerçekleştirilmiş birkaç fungal biyotransformasyon bulunmaktadır. Bu biyotransformasyon reaksiyonları sonucunda birçok organik bileşiklerin farklı verimlerle önemli türevleri elde edilmektedir. Bu tez

çalışmasında ise *Ulocladium chartarum* küfö ile bazı şalkonların literatürde bulunmayan biotransformasyon reaksiyonları gerçekleştirilmiştir.

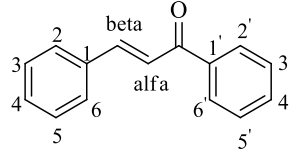
2.5. Mikrobiyal Biotransformasyonda Kullanılan Sekonder Metabolitler

Bitkilerde bazı doku ve organlarda spesifik enzimler aracılığıyla özel olarak sentezlenen sekonder metabolitler değişik sentez yöntemleri ve yapıları itibarı ile çeşitli şekillerde sınıflandırılırlar. Sekonder metabolitlerin en kalabalık sınıfları terpenler, fenolik bileşikler ve alkaloidlerdir. Fenolikler basit şekerlerden oluşarak benzen halkası, hidrojen ve oksijen içermektedirler [29]. Fenolik bileşikler (polifenoller) bir veya daha fazla hidroksil grubu ve benzen halkası içeren bileşiklerdir [30]. Farklı özelliklerinden dolayı birçok farklı kaynaklarda farklı sınıflandırmalara sahip olan bu bileşikler genelde fenolik asitler ve flavonoidler olmak üzere iki ana sınıfa ayrılmaktadır [31].

Bugüne kadar tanımlanmış olan 8000'den fazla polifenol bileşiklerin 4000'den fazlasını flavonoidler teşkil etmektedir. Antioksidan özelliğe sahip olan flavonoidler C₆-C₃-C₆ konfigürasyonunda olup düşük moleköl ağırlıklı bileşiklerdir. On beş karbonlu iskelet yapısı olan flavonoid bileşikleri çok çeşitli biyokimyasal ve farmakolojik aktivite gösteren flavonlar, izoflavonlar, flavoneller, flavononlar, şalkonlar (kalkonlar), flavanlar gibi birbirinden farklı polifenollerini içermektedir. Flavonoid grupları arasındaki bu farklılıkların kaynağı doymamışlık derecesi ve bağlı olan hidroksil grubu sayısı olmaktadır [32-35].

Gittikçe çoğalan hammadde ihtiyaçları sekonder metabolitlerin endüstriyel üretimine hız kazandırarak onların sentetik türevlerinin geliştirilmesine imkan sağlamıştır. Sekonder metabolitlerin flavonoidler sınıfında yer alan şalkon bileşikleri de diğer bileşikler gibi birçok sentez reaksiyonlarında başlangıç bileşikler olarak kullanılabilirlerdir [21]. Şalkonlar α , β -doymuş veya doymamış bir karbonil grubunu içeren üç karbon atomu ile iki benzen halkasının birleşmesinden oluşan aşık zincirli yapıya sahiplerdir [36].

Doğal ürünlerin önemli bileşenleri olmalarının yanısıra sentetik türevlendirmeler için de öncü bileşenler olan şalkonlar $C_{15}H_{12}O$ kapalı formülüne sahip kolay sentezlenebilen kimyasal bileşiklerdir. Bu özelliklerinden dolayı ilaç kimyası ve organik kimya çalışmalarının önemli bir araştırma alanına dönüşmüşlerdir. 1,3-Diarilprop-2-en-1-on, Şekil 2.1.'de gösterilen karbon iskeletine sahip tüm şalkon bileşiklerini içeren alternatif bir adlandırma olarak bilinmektedir [37].

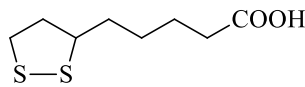


Şekil 2.1. Şalkon bileşiklerinin genel iskelet yapısı

Şalkonların yapılarındaki keton grubu ve olefinik bağlanmaların olması onların önemli özelliklerindedir. Şalkonların basit şalkonlar, kinoşalkonlar, alkillenmiş şalkonlar, β -şalkonlar ve β -metoksişalkonlar olmak üzere birkaç gruba ayrılır: [38]. Sebzelerde, meyvelerde, baharatlarda ve çayda yaygın olarak bulunan şalkonlar içeriğinde bulunan fenolik grupların serbest radikalleri yakalama gibi özel fonksiyonları olduğu için bu tür bitkilerin tüketimine olan ilgi her geçen gün artmaktadır. Bununla yanısıra şalkonlar önemli antifungal, antioksidan, antimikrobiyal, sitoksik, antikanser etkileri olmasından dolayı birçok hastalığın tedavi edilmesinde ve bu hastalıkların sebep olduğu ağrıların ortadan kaldırılmasında geniş ölçekte kullanılmaktadır [39].

Sekonder metabolitlerin hidrokarbon zincirine sahip önemli sınıflarından biri de monokarboksilik yapılu organik asitler olan yağ asitleridir. Yağ asitlerinin yapılarında diğer asitlerde olduğu gibi karboksil grubu 4-24 karbondan oluşan bir hidrokarbon zincirinin uç kısmında yer alır. Karbon zincirindeki karbonların sayısı ve çift bağların yapısına göre yağ asitleri iki ayrı grupta sınıflandırılır. Bunlar uzun hidrokarbon zincirinde tek karbon bağlarının oluşturduğu doymuş (sature) yağ asitler ve karbon zincirinde bir ya da daha çok çift bağdan oluşan doymamış (unsature) yağ asitleridir [40]. Vücutta sentezlenen, aynı zamanda bazı yiyeceklerden alınan ve yapısında tek karbon bağı bulunduran doymuş yağ asitlerinden biri de α -lipoik asittir. Şekil 2.2.'de açık yapısı verilen ve ilk olarak karaciğerden saflaştırılan bu bileşiğin moleküler yapısı 6,8 tioktik asit veya 1,2 ditiyolen-3 pentonoik asit şeklinde tanımlanmıştır. Ditiyolen

halka yapısı olan α -lipoik asit 8 karbon atomunun yanısıra ditiyolen halkasında 2 kükürt atomu bulunduran bir antioksidan bileşiktir. Rosenberg ve Kulik α -lipoik asitin antioksidan özelliğini 1959 yılında bularak bu bileşiğin hem α -lipoik asit hem de dihidrolipoik asit (DHLA) formunun ideal antioksidan olduğunu göstermişlerdir. α -lipoik asitin metabolizasyonu esas olarak karaciğerde mitokondriyal β -oksidasyon yoluyla gerçekleşmektedir [41]. α -lipoik asidin okside lipoik asit ve redükte lipoik asit olmak üzere 2 formu mevcuttur. Aynı zamanda dihidrolipoik asit olarak adlandırılan redükte lipoik asit diğer formuna göre biyolojik aktifliği daha fazladır. Mitokondride oktanoik asit ve bir sülfür kaynağından sentezlenen bu bileşik besinler ile alındığında %93'den de fazlası barsaklarda emildikten sonra %20-30 karaciğerde ilk geçiş etkisiyle metabolize edilir [42]. Lipoik asidin önemli kaynakları sadece domates, ıspanak brokoli gibi bitkisel dokular olmayıp aynı zamanda akciğer, karaciğer, böbrek, kalp gibi hayvansal dokulardır. Klinikte lipoik asitin kullanılması *Amanita* zehirlenmesi tedavisi ile başlamıştır. Daha sonra yapılan çalışmalarda bu bilgi teyit edilerek α -lipoik asit ile nöropatik şikayetlerin de tedavi edilebileceği yayınlanmıştır. Yapısındaki ditiyolen halkası sayesinde biyolojik aktiviteye sahip antioksidanlar olan tiyollerin bir üyesi olan α -lipoik asit antioksidan özelliğini serbest radikalleri yakalayarak, metallerle şelat oluşturarak ve bazı başka antioksidan bileşiklere yeniden kullanma özelliği kazandırarak göstermektedir [43]. Literatürde α -lipoik asidin biyotransformasyonu mevcut değildir.



Şekil 2.2. α -Lipoik asit (5-(1,2-ditiolan-3-il)pentanoik asit) in açık yapısı

2.6. Bazı Küfler ile Şalkonların Biyotransformasyonları

Sekonder metabolitlerden olan şalkonların ve türevlerinin kullanım alanları genişledikçe biyokimyasal çalışmalarda her geçen gün daha çok önem kazanmaya başlamıştır. Şalkon bileşiklerinin mikrobiyal biyotransformasyonları iyi sonuçlar verdiği için farklı mikroorganizmalar ile birçok farklı şalkonların bazı mikrobiyal biyotransformasyon reaksiyonları gerçekleştirilmiştir. Literatürde bazı şalkon

bileşikleri ve sentetik türevlerinin birkaç fungal biyotransformasyonları bildirilmiştir. Marivaldo ve arkadaşları *Aspergillus flavus* küfü ile şalkon, 3,4,5-trimetoksişalkon ve 2,3,4,4-tetrametoksişalkon bileşiklerinin fungal biyotransformasyonlarını gerçekleştirmişler. Bu biyotransformasyon reaksiyonları sonucunda sırasıyla dihidroşalkon, 3,4,5-trimetoksidihidroşalkon ve 2,3,4,4-tetrametoksidihidroşalkon bileşikleri elde edilmiştir [44]. Bir diğer literatür çalışmasında Mateuzs ve arkadaşları 8 farklı maya suşu ile 3-(2"-fural)-1-(2'-hidroksifenil)-prop-2-en-1-on ve 3-(2"-tienil)-1-(2'-hidroksifenil)-prop-2-en-1-on gibi şalkon türevlerinin biyotransformasyonlarını gerçekleştirmişler. Bu hidrojenasyon reaksiyonları sırasıyla 3-(2"-fural)-1-(2'-hidroksifenil)-propan-2-en-1-on ve 3-(2"-tienil)-1-(2'-hidroksifenil)-propan-2-en-1-on bileşiklerinin oluşumu ile sonuçlanmıştır. Bu sürecin en büyük avantajı yan ürün oluşmadan tek bir ürünün verimli şekilde üretilmesi olmuştur. Ayrıca birinci substratın yapısında bulunan çift bağın hidrojenasyonunda diğer maya kültürleri arasında en yüksek etkinliği *Saccharomyces cerevisiae* KCh 464 ve *Yarrowia lipolytica* KCh 71 suşları göstermişler [45].

2.7. Çalışmanın Amacı

Bu çalışmanın amacı (*E*)-3-fenil-1-(p-tolil)prop-2-en-1-on ve (*E*)-3-(furan-2-il)-1-(p-tolil)prop-2-en-1-on bileşiklerinin *Ulacladium chartarum* MRC 72584 küfü ile α -lipoik asit (5-(1,2-ditiolan-3-il)pentanoik asit) bileşiğinin ise *Cladosporium sphaerospermum* MRC 70266, *Cladosporium cladosporioides* MRC 70282, *Ulocladium chartarum* MRC 72584 küfleri ile biyotransformasyonlarının incelenmesidir.

BÖLÜM 3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Kullanılan Araç-Gereçler ve Sarf Malzemeler

Biyotransformasyon çalışmasında kullanılan cam malzemelerin ve besiyeri Nüve OT 020 marka otoklav cihazında 121 °C sıcaklıkta 20 dakika süre ile sterilize edildi. Küflerin yetiştirilmesi ve biyotransformasyon çalışmaları IKA KS 400 i çalkalamalı inkübatör cihazı ile gerçekleştirildi. ¹H NMR spektrumları iç sinyal olarak tetrametilsilan standardı kullanılarak 300 MHz'de çalışan Varian Mercury 300 NMR spektrometresi ile döterokloroform içerisinde gerçekleştirildi. Biyotransformasyon deneyinin sonucu ve kontrol deneyleri sonuçları ince tabaka kromatografisi (İTK) ile izlendi. İTK 0,25 mm kalınlığında silika jel tabakaları (Merck silika jel GF254) ve etil asetat-hekzan (1:1) çözgen sistemi kullanılarak yapıldı. İTK tabakalarındaki bileşikler *p*-anisaldehit-sülfürik asit reaktifine daldırılıp 120 °C sıcaklıkta 3 dakika boyunca ısıtıldıktan sonra görünür hale gelmeleri sağlandı

Deneyisel çalışmalarda kullanılan küf kültürleri TUBİTAK MAM Kurumu'ndan biyotransformasyon çalışmalarında kullanılmak üzere 1 adet stok kültür olarak yatık agar kültürü şeklinde temin edildi. Bu kültürlerin tazelenmesi ve çoğaltılması PDA (patato dekstroz agar) içeren yatık agar besiyerinde yapılarak 4 °C altında muhafaza edildi. Küfler için besiyerlerinin hazırlanmasında kullanılan tüm kimyasallar ve α -lipoik asit Merck firmasından satın alındı.

3.2. Taze Yatık Agar Kültürlerinin Hazırlanması

PDA (potato dekstroz agar) (5,85 g) ve agar (1,20 g) karışımı saf su ile 150 mL'ye tamamlandıktan sonra kaynatılarak yatık agar besiyeri çözeltisi hazırlandı. Hazırlanan besiyeri soğumadan 15 adet 22 mL'lik cam şişelerin yarısına kadar ilave edilerek

otoklav içerisinde 121 °C'de 20 dakika sterilize edildi. Steril edilen şişelerdeki erimiş besiyeri donmadan önce yaklaşık 45 derecelik bir eğimle soğumaya bırakılarak yatık agar besiyerleri hazırlandı.

3.3. Küf Kültürlerinin Hazırlanması

Oda sıcaklığında onbeş gün süresince çoğalmaya bırakılmak üzere, stok fungal kültüründeki küflerin bir kısmı yatık agar besiyerlerinin 3 tanesine steril şartlarda aktarıldı. Yatık agar kültürlerinin en gelişmişindeki küfler seçilerek steril şartlarda onbeş günde bir 3 yeni yatık agar besiyerine aktarıldı. Aktarma işlemi iki kez tekrarlandıktan sonra elde edilen en taze ve en gelişmiş yatık agar kültüründeki küfler biyotransformasyon çalışmalarında kullanıldı.

3.4. Küflere Ait Besiyerlerinin Hazırlanması

Cladosporium sphaerospermum MRC 70266, *Cladosporium cladosporioides* MRC 70282 ve *Ulocladium chartarum* MRC 72584 küflerine ait besiyerlerinin her birini hazırlamak için glukoz (20 g), pepton (5 g) ve maya ekstraktı (5 g) 1 L distile su içerisinde çözülerek karıştırıldı [46].

3.5. Biyotransformasyon Çalışmaları

Hazırlanan 1 L besiyeri çözeltileri her bir küf için 10 adet 250 mL erlene paylaştırılarak otoklavda sterilize edildi. Daha önce hazırlanan en taze alt kültürdeki küflerin her biri 10 erlene steril şartlar altında aktarıldı ve bu erlenler yeterli miktarda küf oluşabilmesi için 28°C sıcaklıkta, çalkalamalı inkübatörde 160 rpm'de, 3 gün boyunca inkübasyona bırakıldı. Üçüncü günün sonunda her bir biyotransformasyon çalışması için her bir substrat (1 g), etanol (10 mL) içerisinde çözülerek yeterli miktarda küf içeren erlenlere eşit hacimlerde ve steril şartlarda ilave edildi. Biyotransforman çalışmalarını izlemek için 3 ve 5 gün boyunca her bir küf için literatürde verilen optimum sıcaklıkta ve rpm'de inkübasyona bırakıldı.

3.6. Biyotransformasyon Çalışmalarının Kontrolü

Biyotransformasyon çalışmalarının takibi üçer adet kontrol erleni ile sağlandı. İlk kontrol erleninde inoküle edilmemiş steril besiyeri, ikinci kontrol erleninde inoküle edilmemiş steril besiyeri ve substratlardan birisi, üçüncü kontrol erleninde ise inoküle edilmiş steril besiyeri kullanıldı. Biyotransformasyon çalışmalarındaki bütün işlemler kontrol erlenleri içinde uygulandı. Kontrol erlenlerinden İTK alındığında herhangi bir metabolit gözlemlenmediği için biyotransformasyon çalışmalarından elde edilen metabolitlerin gerçek biyotransformasyon ürünleri olduğu sonucuna varıldı. Ayrıca inkübasyonlar boyunca tüm erlenlerdeki besiyeri görünümünde ve küf gelişimlerinde değişimler olup olmadığı da takip edildi ve herhangi bir farklılık gözlemlenmedi.

3.7. Metabolitlerin Saflaştırılması ve Yapı Tayini

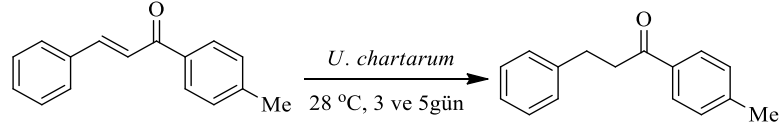
İnkübasyon sonrasında her bir besiyeri bir Buchner hunisi kullanılarak filtrasyon işlemi ile küf kültürlerine ait misellerden süzülerek iki ayrı filtrat (süzüntü) olarak ayrıldı. Buchner hunisinde kalan miselleri yıkamak için etil asetat (500 mL) kullanıldı. Filtratlardaki steroidleri su fazından organik faza çekmek için her seferinde etil asetat (1 L) kullanılarak 3 ayrı ekstraksiyon gerçekleştirildi. Ekstraksiyon sonrasında ortamda bulunabilecek suyu gidermek amacıyla ekstraktlara susuz sodyum sülfat ilave edildi. Ekstraktlar evaporatör ile uzaklaştırıldıktan sonra her bir biyotransformasyon çalışması için farklı bir yağimsı madde elde edildi. Her bir biyotransformasyon çalışması için başlangıç maddesi ve elde edilen yağimsı maddeyi karşılaştıracak şekilde bir İTK çalışması gerçekleştirildi. Yapılarının tayin edilmesi amacıyla substrat ve elde edilen her bir metabolite ait ^1H NMR spektrumları karşılaştırıldı.

BÖLÜM 4. DENEYSEL BULGULAR

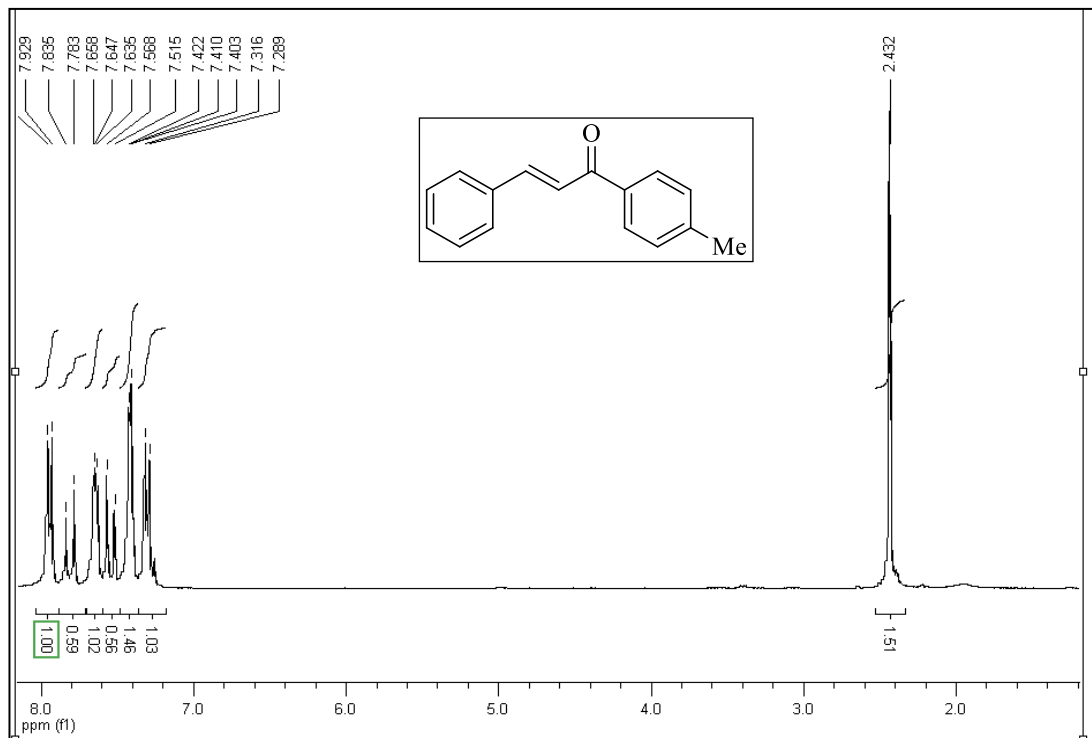
4.1. Bazı Şalkon Türevleri ile Biyotransformasyonlar

4.1.1. (*E*)-3-fenil-1-(*p*-tolil)prop-2-en-1-on *U. chartarum* küfü ile biyotransformasyonu

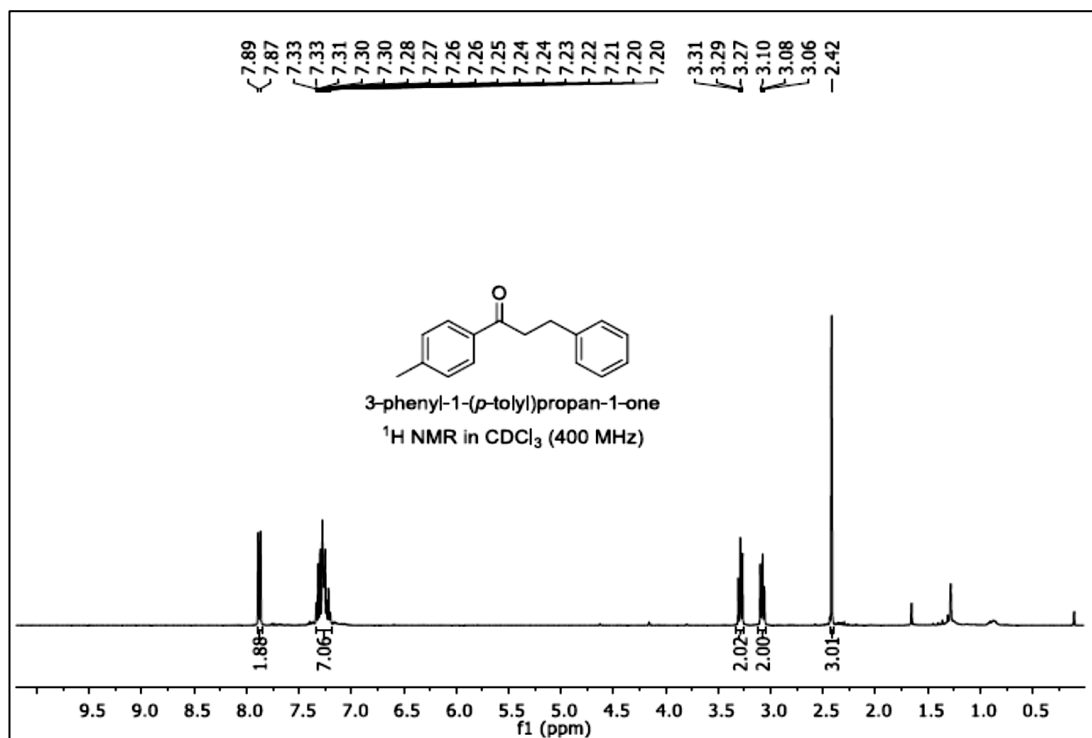
Şekil 4.1.'de gösterilen (*E*)-3-fenil-1-(*p*-tolil)prop-2-en-1-on bileşiğinin 28°C' de 3 ve 5 gün boyunca *U. chartarum* küfü ile gerçekleştirilen biyotransformasyon reaksiyonu sonucunda indirgenmiş ürün olarak 3-fenil-1-(*p*-tolil)propan-1-on ve değişmeyen başlangıç maddesi elde edildi. Şekil 4.2.'de başlangıç maddesinin, Şekil 4.3.'da indirgenmiş ürünün, Şekil 4.4.-4.5.'de sırasıyla 3 ve 5 günlük biyotransformasyon reaksiyonlarının metabolitlerine ait ¹H NMR spektrumlarının grafiği gösterilmiştir.



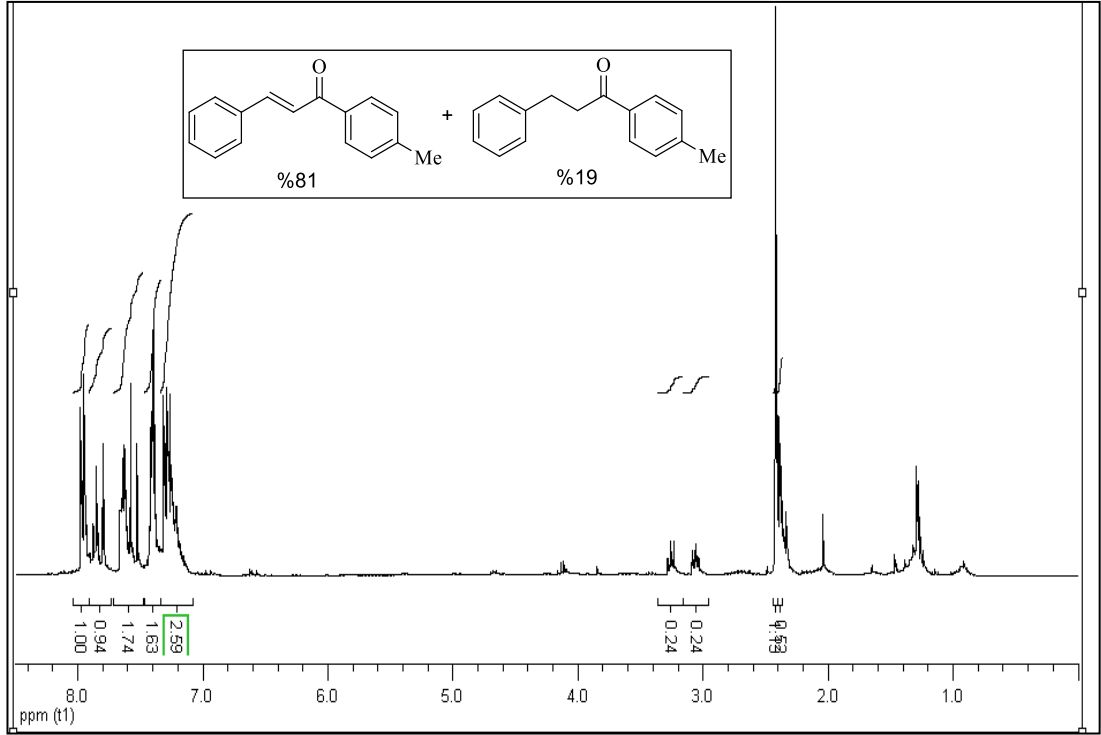
Şekil 4.1. (*E*)-3-fenil-1-(*p*-tolil)prop-2-en-1-on bileşiğinin *U. chartarum* küfü ile biyotransformasyonu



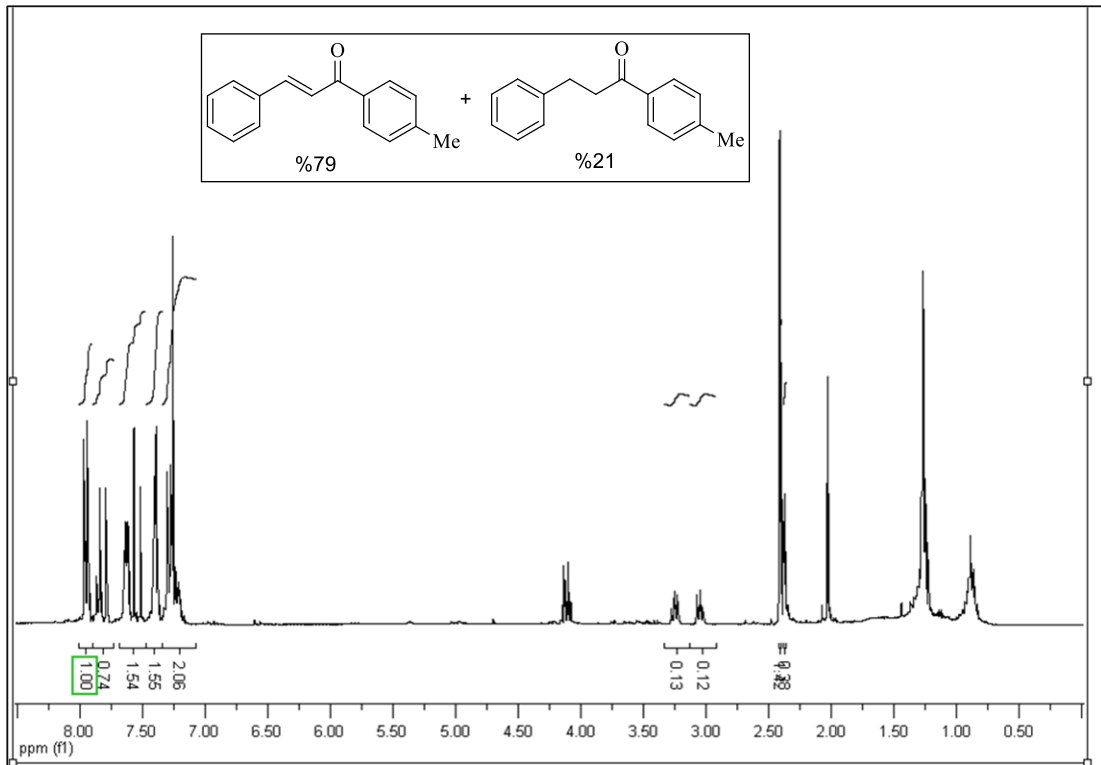
Şekil 4.2. (*E*)-3-fenil-1-(*p*-tolil)prop-2-en-1-on bileşiğine ait ^1H NMR spektrumu



Şekil 4.3. 3-fenil-1-(*p*-tolil)propan-1-on bileşiğine ait ^1H NMR spektrumu [47]



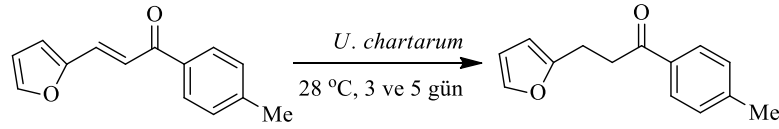
Şekil 4.4. (*E*)-3-fenil-1-(*p*-tolil)prop-2-en-1-on bileşiğinin *U. chartarum* ile 3 günlük inkübasyonunda elde edilen karışıma ait ¹H NMR spektrumu



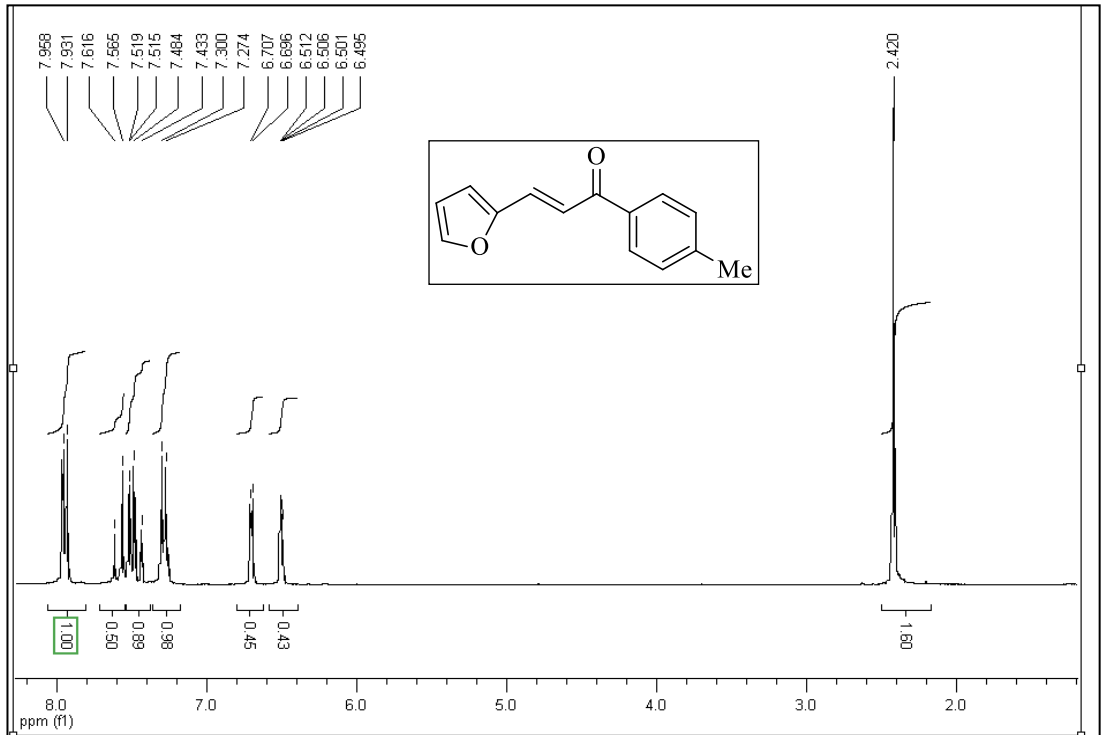
Şekil 4.5. (*E*)-3-fenil-1-(*p*-tolil)prop-2-en-1-on bileşiğinin *U. chartarum* ile 5 günlük inkübasyonunda elde edilen karışıma ait ¹H NMR spektrumu

4.1.2. (*E*)-3-(furan-2-il)-1-(*p*-tolil)prop-2-en-1-on *U. chartarum* küfö ile biyotransformasyonu

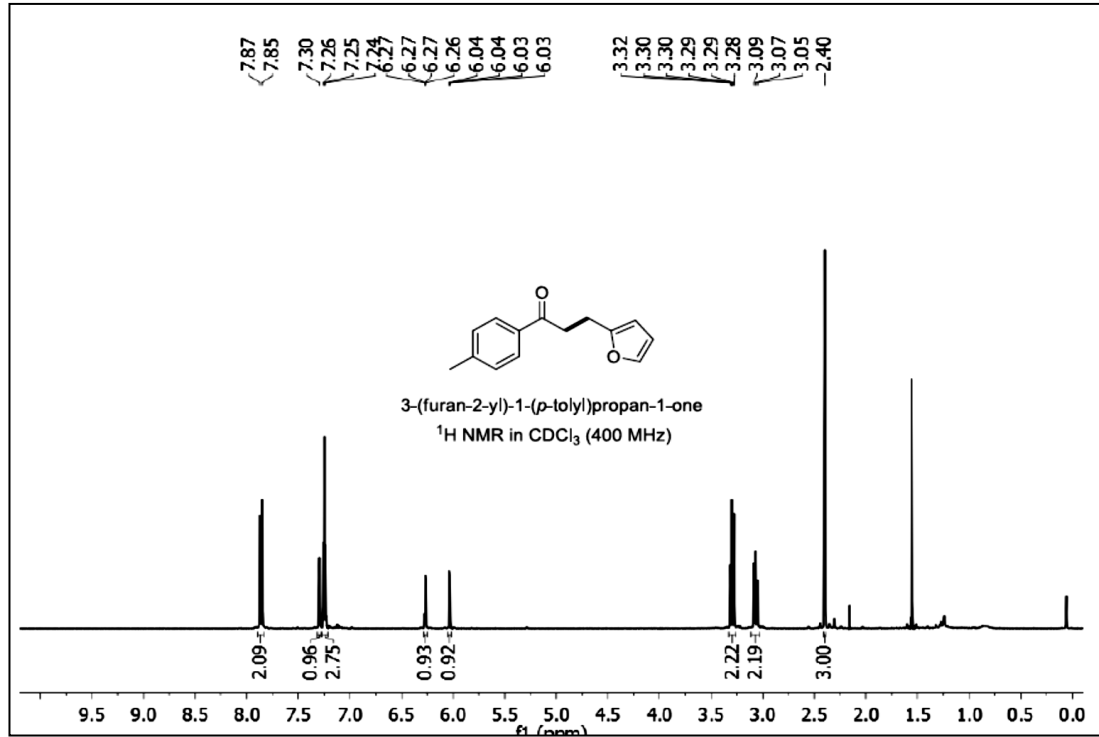
Şekil 4.6.'de gösterilen (*E*)-3-(furan-2-il)-1-(*p*-tolil)prop-2-en-1-on bileşiminin 28°C'de 3 ve 5 gün boyunca *U. chartarum* küfö ile gerçekleştirilen biyotransformasyonları sonucunda indirgenmiş ürün olarak 3-(furan-2-il)-1-(*p*-tolil)propan-1-on ve değişmeyen başlangıç maddesi elde edildi. Şekil 4.7.'de başlangıç maddesinin, Şekil 4.8.'de indirgenmiş ürünün, Şekil 4.9.-4.10.'da sırasıyla 3 ve 5 günlük biyotransformasyon reaksiyonlarının metabolitlerine ait ¹H NMR spektrumları gösterilmiştir.



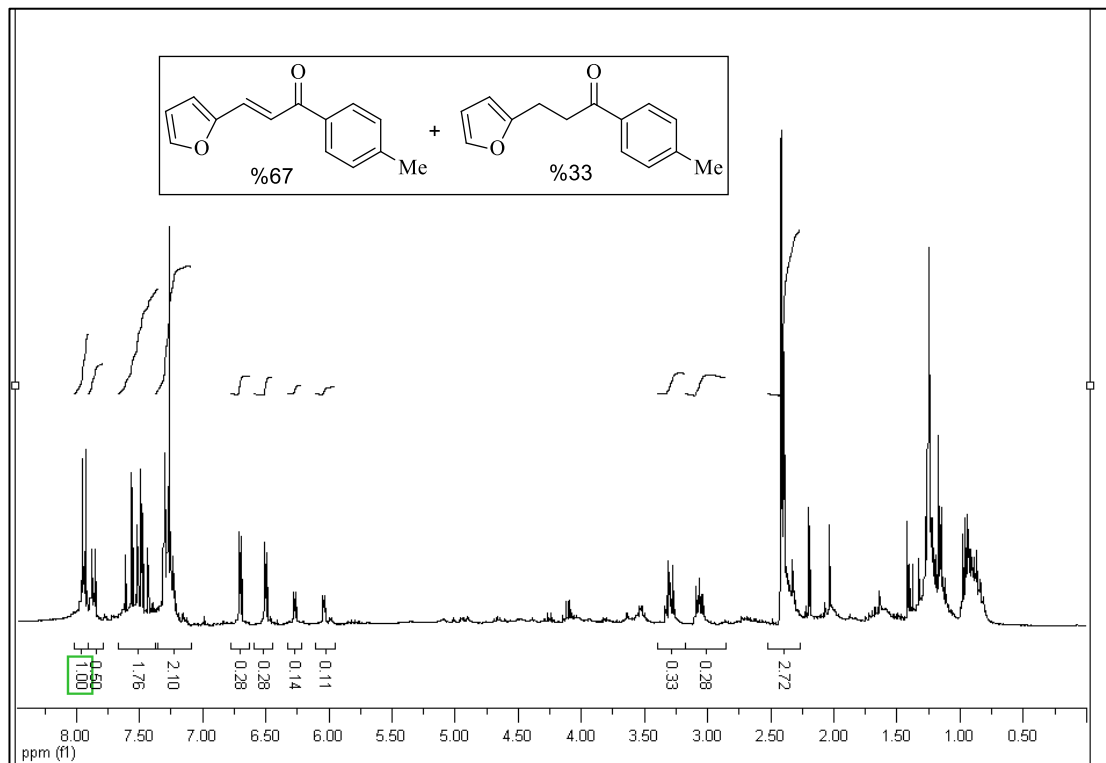
Şekil 4.6. (*E*)-3-(furan-2-il)-1-(*p*-tolil)prop-2-en-1-on bileşiminin *U. chartarum* ile biyotransformasyonu



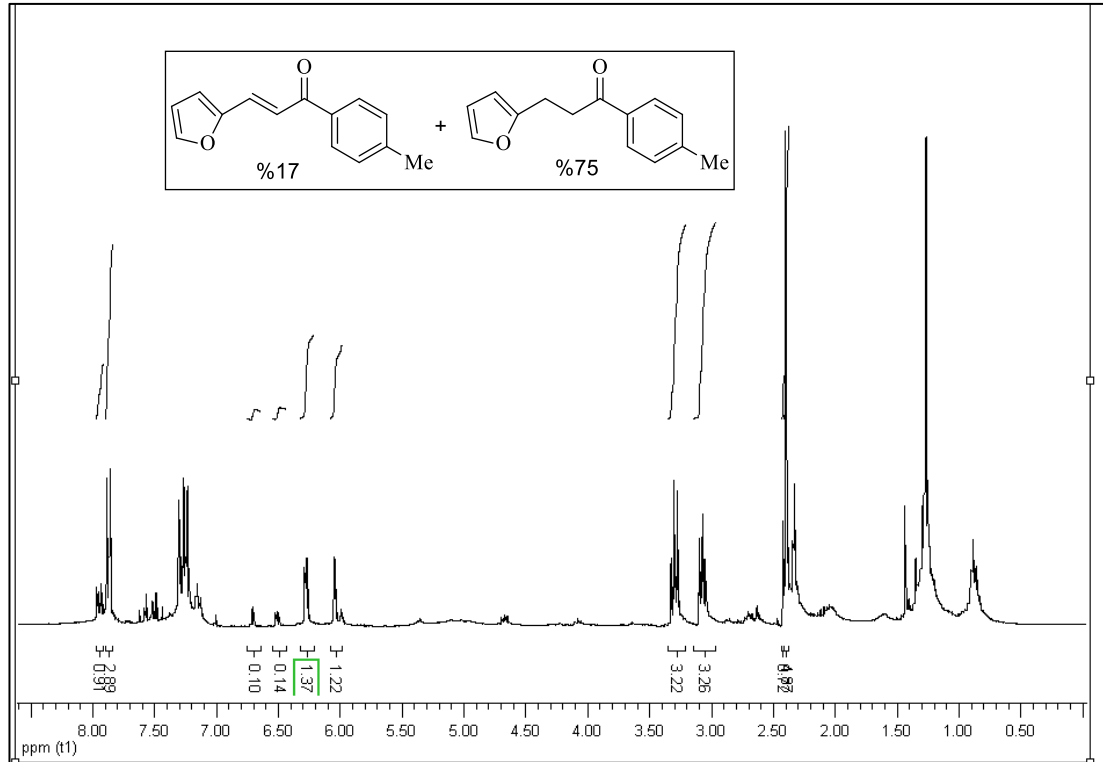
Şekil 4.7. (*E*)-3-(furan-2-il)-1-(*p*-tolil)prop-2-en-1-on bileşimine ait ¹H NMR spektrumu



Şekil 4.8. 3-(furan-2-il)-1-(p-tolil)propan-1-on bileşiğine ait ^1H NMR spektrumu [47]



Şekil 4.9. (E)-3-(furan-2-il)-1-(p-tolil)prop-2-en-1-on bileşiğinin *U. chartarum* ile 3 günlük inkübasyonunda elde edilen karışıma ait ^1H NMR spektrumu

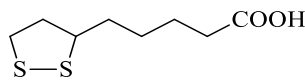


Şekil 4.10. (E)-3-(furan-2-il)-1-(p-tolil)prop-2-en-1-on bileşiğinin *U. chartarum* ile 5 günlük inkübasyonunda elde edilen karışıma ait ¹H NMR spektrumu

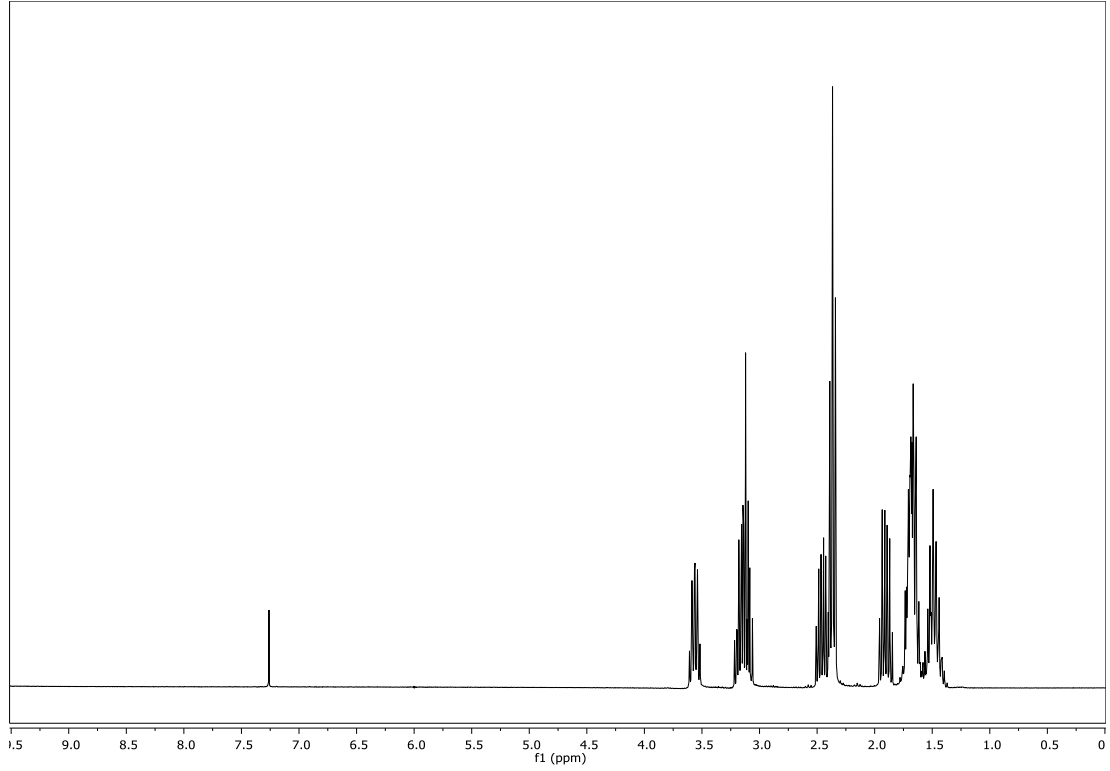
4.2. α-Lipoik Asit ile Biotransformasyonlar

4.2.1. α-Lipoik asit ile *Cladosporium sphaerospermum* MRC 70266 Küfü ile biyotransformasyonu

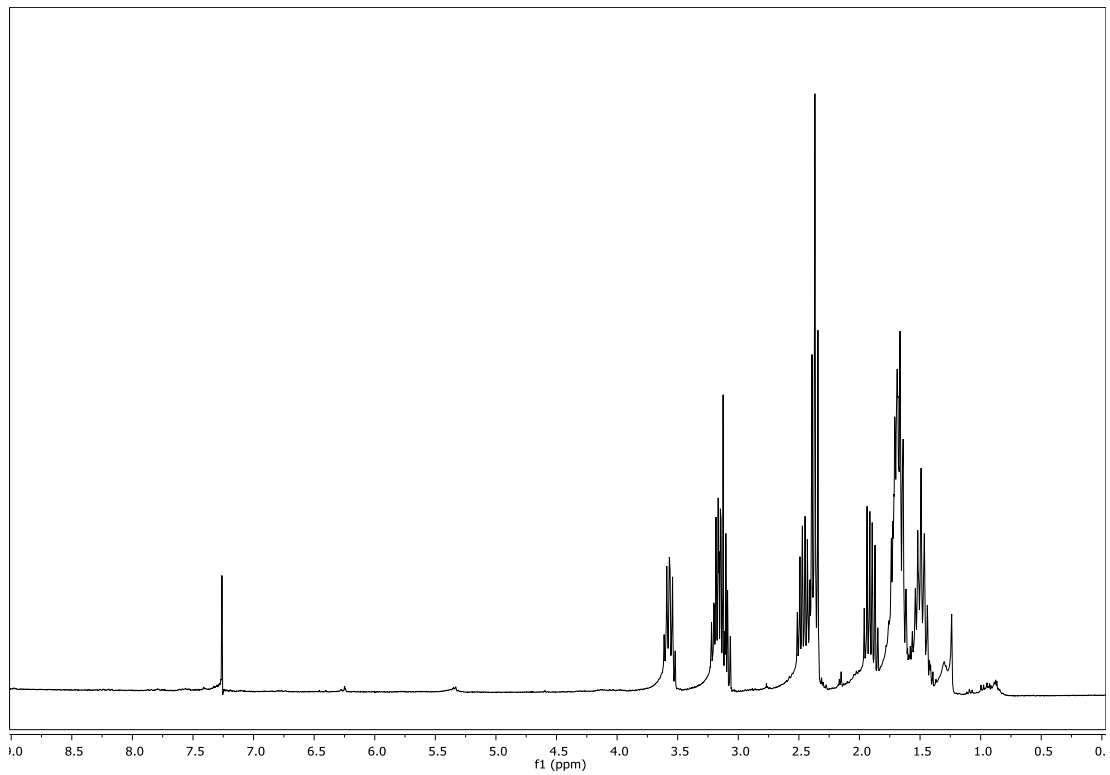
Şekil 4.11.'de gösterilen α-Lipoik asit (5-(1,2-ditiolan-3-il)pentanoik asit) bileşiğinin farklı miktarlardaki 28°C'de 5 gün boyunca *C. sphaerospermum* küfü ile gerçekleştirilen biyotransformasyon reaksiyonu sonucunda değişmeyen başlangıç maddesi ve tanımlanamayan metabolit elde edildi. Şekil 4.12.'de başlangıç maddesinin, Şekil 4.13.-4.14.'de farklı substrat ilaveleriyle gerçekleştirilen biyotransformasyon reaksiyonlarının metabolitlerine ait ¹H NMR spektrumları gösterilmiştir.



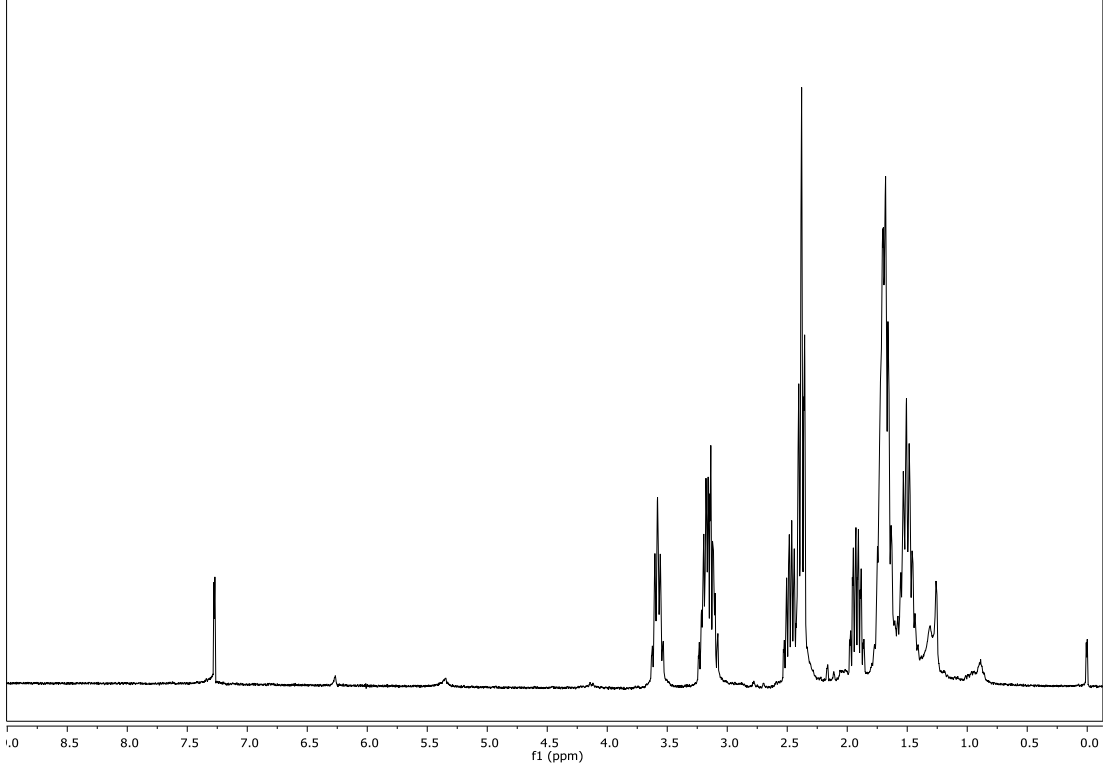
Şekil 4.11. α-Lipoik asit (5-(1,2-ditiolan-3-il)pentanoik asit) in açık yapısı



Şekil 4.12. α -Lipoik aside (5-(1,2-ditiolan-3-il)pentanoik asit) ait ^1H NMR spektrumu



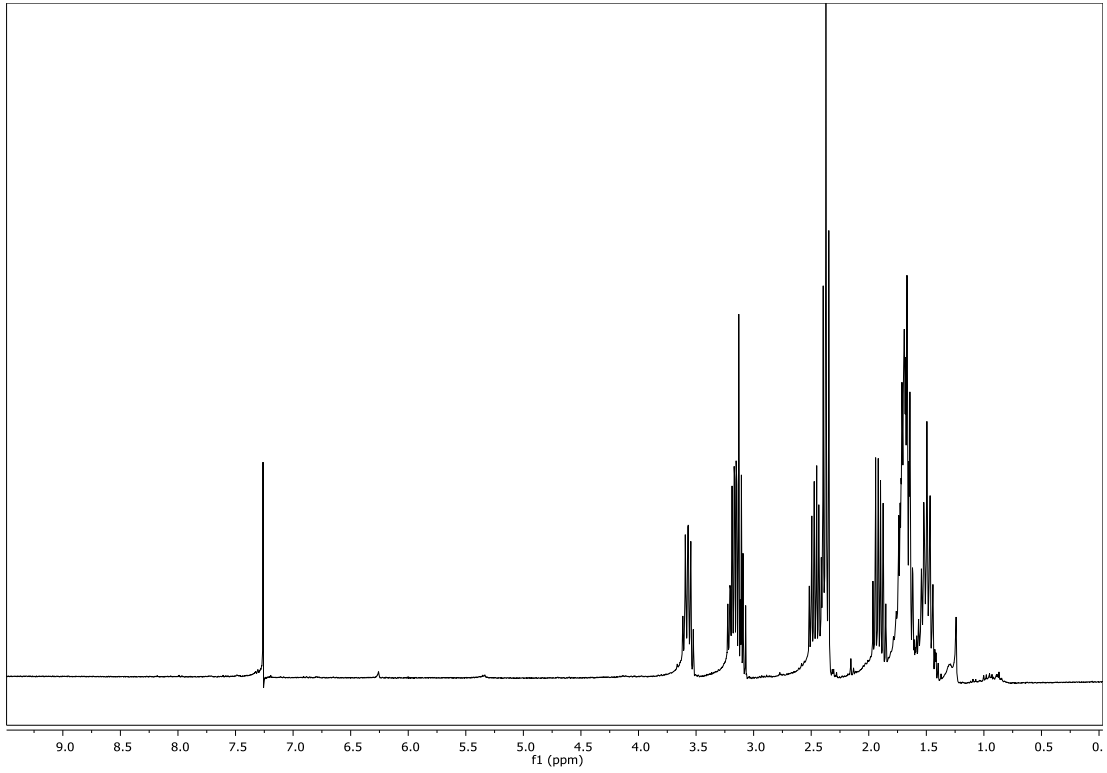
Şekil 4.13. α -Lipoik asidin (0,5 g α -lipoik asit/L besiyeri) *C. sphaerospermum* ile 5 günlük inkübasyonunda elde edilen karışıma ait ^1H NMR spektrumu



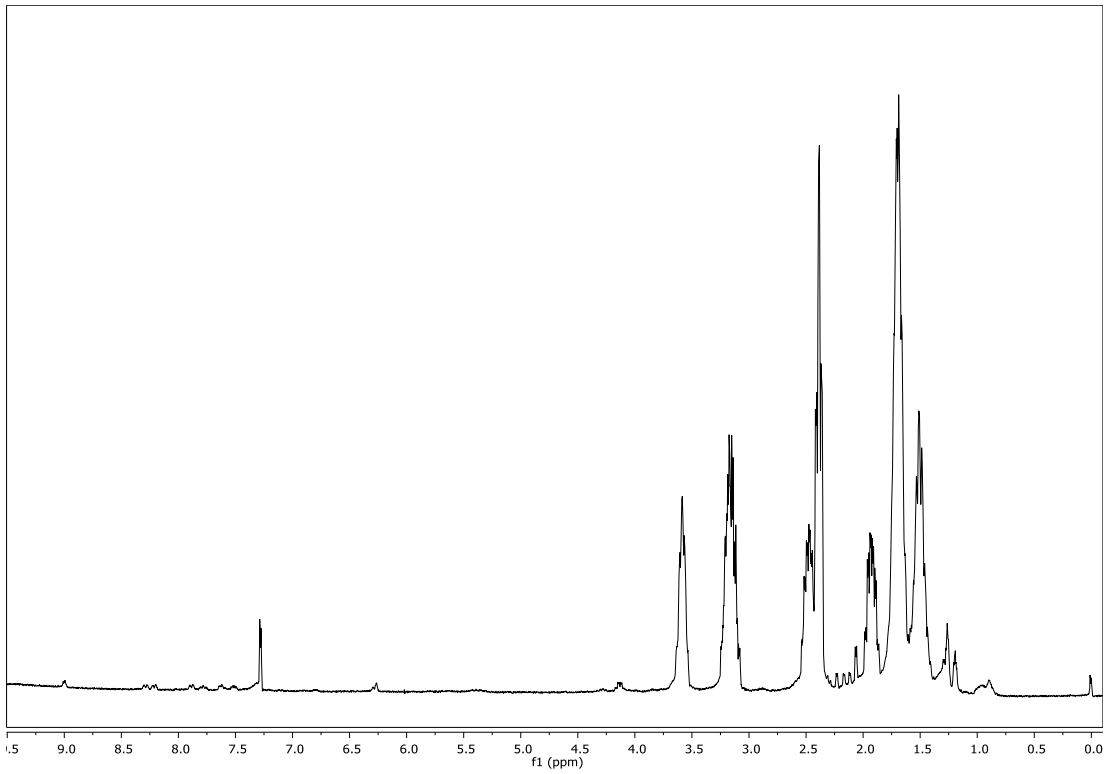
Şekil 4.14. α -Lipoik asidin (1 g α -lipoik asit/L besiyeri) *C. sphaerospermum* ile 5 günlük inkübasyonunda elde edilen karışıma ait ^1H NMR spektrumu

4.2.2. α -Lipoik asit ile *Cladosporium cladosporioides* MRC 70282 küfü ile biyotransformasyonu

α -Lipoik asit (5-(1,2-ditiolan-3-il)pentanoik asit) bileşiğinin farklı miktarlardaki 28°Cde 5 gün boyunca *C. cladosporioides* küfü ile gerçekleştirilen biyotransformasyon reaksiyonu sonucunda değişmeyen başlangıç maddesi ve tanımlanamayan bir metabolit elde edildi. Şekil 4.15.-4.16.'de farklı substrat ilaveleriyle gerçekleştirilen biyotransformasyon reaksiyonlarının metabolitlerine ait ^1H NMR spektrumları gösterilmiştir.



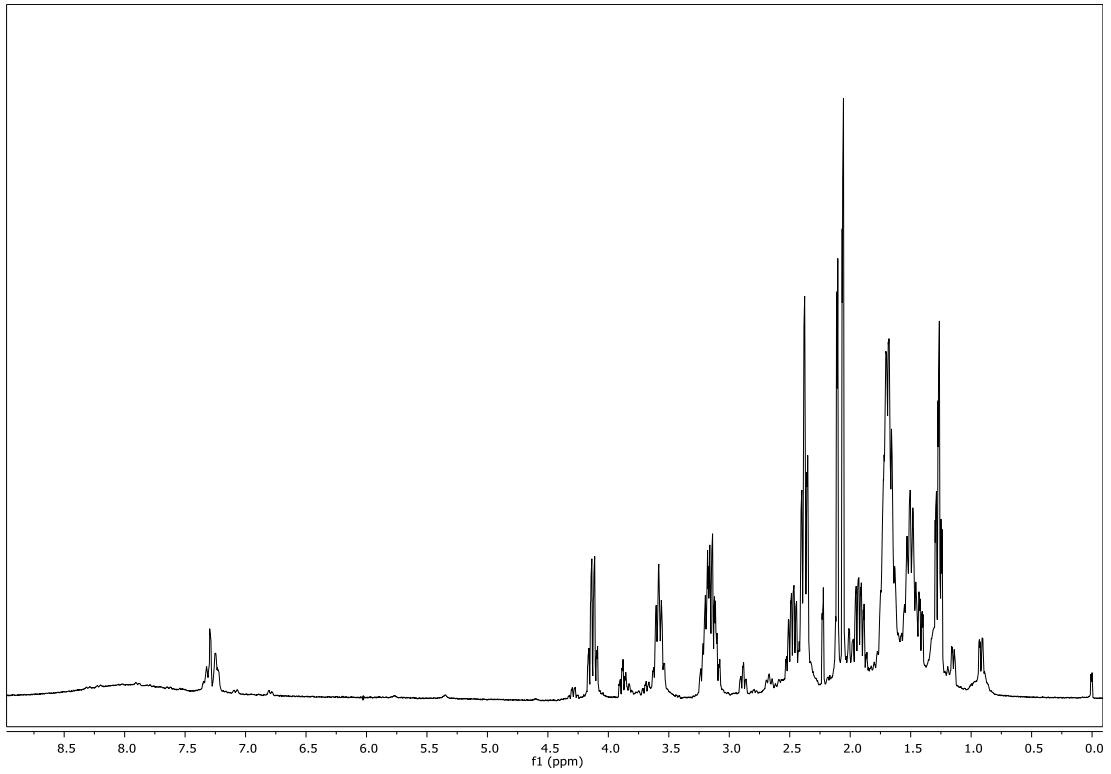
Şekil 4.15. α -Lipoik asidin (0,5 g α -lipoik asit/L besiyeri) *C. cladosporioides* ile 5 günlük inkübasyonunda elde edilen karışıma ait ^1H NMR spektrumu



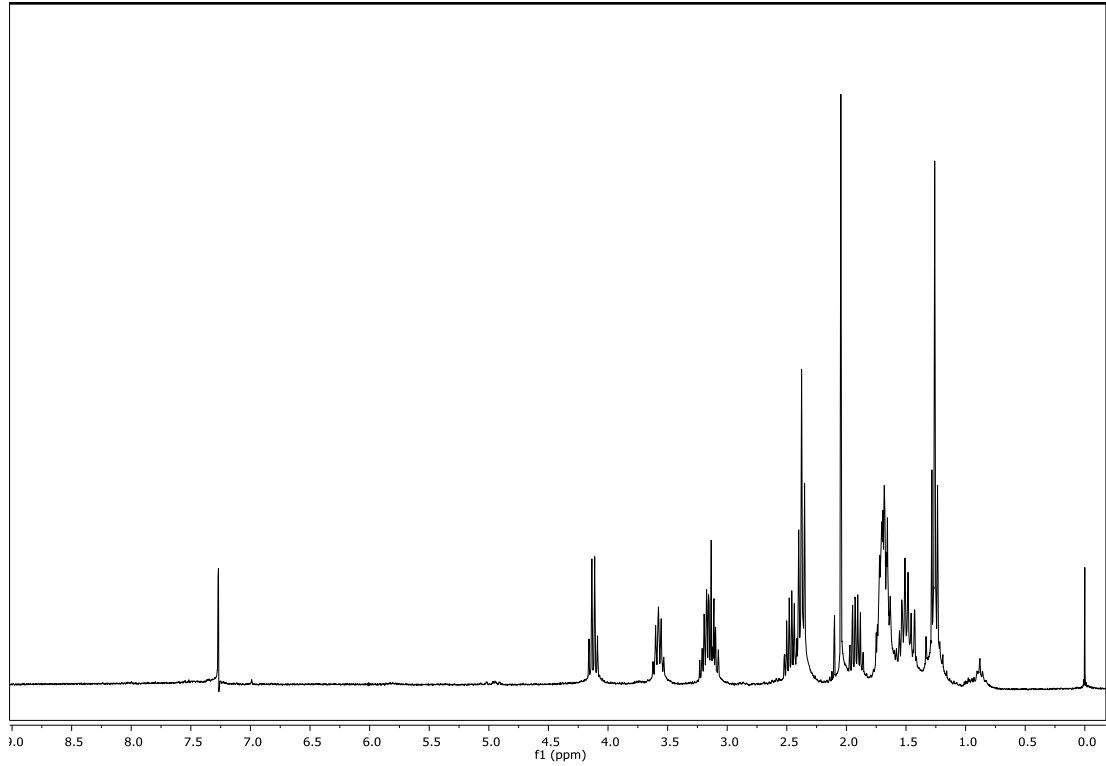
Şekil 4.16. α -Lipoik asidin (1 g α -lipoik asit/L besiyeri) *C. cladosporioides* ile 5 günlük inkübasyonunda elde edilen karışıma ait ^1H NMR spektrumu

4.2.3. α -Lipoik asit ile *Ulocladium chartarum* MRC 72584 küfö ile biyotransformasyonu

α -Lipoik asit (5-(1,2-ditiolan-3-il)pentanoik asit) bileşiminin farklı miktarlardaki 28°Cde 5 gün boyunca *U. chartarum* küfö ile gerçekleştirilen biyotransformasyon reaksiyonu sonucunda değişmeyen başlangıç maddesi ve tanımlanamayan bir metabolit elde edildi. Şekil 4.17.-4.18.'de farklı substrat ilaveleriyle gerçekleştirilen biyotransformasyon reaksiyonlarının metabolitlerine ait ^1H NMR spektrumları gösterilmiştir.



Şekil 4.17. α -Lipoik asidin (0,5 g α -lipoik asit/L besiyeri) *U. chartarum* ile 5 günlük inkübasyonunda elde edilen karışıma ait ^1H NMR spektrumu



Şekil 4.18. α -Lipoik asidin (1 g α -lipoik asit/L besiyeri) *U. chartarum* ile 5 günlük inkübasyonunda elde edilen karışıma ait ¹H NMR spektrumu

BÖLÜM 5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR

Şalkon türevlerinden (E)-3-fenil-1-(p-tolil)prop-2-en-1-on-2-en-1-on ve (E)-3-(furan-2-il)-1-(p-tolil)prop-2-en-1-on bileşiklerinin *U. chartarum* küfü ile α -lipoik asidin ise *C. sphaerospermum*, *C. Cladosporioide* ve *U. chartarum* küfleri ile biyotransformasyonları gerçekleştirildi.

(E)-3-fenil-1-(p-tolil)prop-2-en-1-on bileşiğinin *U. chartarum* küfü ile 28 °C 'de 3 ve 5 gün süren inkübasyonu neticesinde değişmeyen başlangıç maddesi ve 3-fenil-1-(p-tolil)propan-1-on elde edildi. Bileşiğin yapısı ¹H NMR spektrumunun başlangıç maddesinin spektrumu ile karşılaştırılmak suretiyle tespit edildi. 3 gün süren biyotransformasyon sonucunda %81 oranında başlangıç maddesi ve %19 oranında 3-fenil-1-(p-tolil)propan-1-on bileşiği elde edildi. 5 gün süren inkübasyon neticesinde ise %79 başlangıç maddesi, %21 indirgenmiş ürün elde edildi.

(E)-3-(furan-2-il)-1-(p-tolil)prop-2-en-1-on bileşiğinin *U. chartarum* küfü ile 28 °C'de optimum süreyi belirlemek amacıyla 3 ve 5 gün süren inkübasyonları neticesinde değişmeyen başlangıç maddesi ve indirgenmiş ürün olan 3-(furan-2-il)-1-(p-tolil)propan-1-on elde edildi. Bileşiğin yapısı ¹H NMR spektrumunun başlangıç maddesinin spektrumu ile karşılaştırılmak suretiyle tespit edildi. 3 günlük biyotransformasyon sonucunda %67 oranında başlangıç maddesi ve %33 oranında 3-(furan-2-il)-1-(p-tolil)propan-1-on bileşiği elde edildi. (E)-3-(furan-2-il)-1-(p-tolil)prop-2-en-1-on bileşiğinin *U. chartarum* küfü ile 5 gün süren inkübasyonunda %17 başlangıç maddesi, %75 indirgenmiş ürünün yanında %8 de safsızlık olduğu belirlendi.

α -Lipoik asidin (5-(1,2-ditiolan-3-il)pentanoik asit) *C. sphaerospermum* küfü ile 5 gün süren inkübasyonunda başlangıç maddesi elde edilirken *C. cladosporioides* ve *U.*

chartarum küfleri 5 gün süren inkübasyonlarından başlangıç maddesi ve çok az miktarda metabolit oluştu. Herbir küf içinde α -lipoik asit miktarı yarıya düşürülerek tekrar biyotransformasyon çalışmaları gerçekleştirildi. *C. sphaerospermum* küfü ile 0,5 g ve 1 g α -lipoik asit ile olan biyotransformasyonlarında herhangi bir dönüşüm gözlenmeden sadece başlangıç maddesi elde edildi. *C. cladosporioides* küfü ile 0,5 g ve 1 g α -lipoik asit ile olan biyotransformasyonlarında başlangıç maddesinin yanında çok az miktarda metabolit elde edildi. *U. chartarum* küfü ile 0,5 g α -lipoik asit ile olan biyotransformasyonunda başlangıç maddesinin yanında oluşan metabolite ait 3,8 ppm ve 2,8 ppm de triplet pikleri tespit edilmiştir. Dönüşüm oranı çok az olduğu için daha sonraki çalışmalara devam edilmedi. Ayrıca *U. chartarum* küfü ile 0,5 g ve 1 g α -lipoik asit ile olan biyotransformasyonlarına ait ^1H NMR spektrumunda görülen 2, 4 ve 1,25 ppm de bulunan pikler etil asetata aittir.

Çalışmada kullanılan şalkonların *U. chartarum* küfü ile, α -lipoik asidin ise *C. sphaerospermum*, *C. cladosporioides* ve *U. chartarum* küfleri ile biyotransformasyon çalışmaları ilk kez gerçekleştirilmiştir. Aynı küf ve başka küflerle daha yüksek verimler elde edebilmek için inkübasyon parametrelerinin değiştirilmesine yönelik çalışmalar planlarımız arasındadır. Ayrıca çalışmada kullanılan şalkonlar ve α -lipoik asidin benzer çalışmalar için kullanılmamış diğer bazı küfler ile daha önemli sonuçlar ve daha yüksek verimli inkübasyonlarını gerçekleştirmeye yönelik araştırmalarımız sürmektedir.

KAYNAKLAR

- [1] Smith J. E., Biotechnology, Fifth edition, Cambridge, Cambridge University Pres., 1981, 1988, 1-266, 2009.
- [2] Mehta, M.D.Gair, J.J, Social, Political, Legal and ethical areas of inquiry in Biotechnology and genetic engineering. Technology in Society, 23(2), 241-264, 2001.
- [3] Yılmaz K.S., Bazı Monoterpenoidlerin fungal biyotransformasyonunun incelenmesi. Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Bölümü, Doktora Tezi, 2010.
- [4] Ünay, A., Ürün Fizyolojisi Ders Notları. Adnan Menderes Üniversitesi, Aydın, 2004.
- [5] Bourgaud, F., Gravot, A., Milesi, S., Gontier, E., 2001. Production of plant secondary metabolites: A historical perspective. Plant Science, 161 (5), 839-851.
- [6] Hanson, J. R., Natural Products: the Secondary Metabolites. Roy. Soc. Chem., Cambridge, 1-2, 2003.
- [7] Wink, M., Chapter 1 Introduction. Annual Plant Reviews 39,1-20, 2009.
- [8] Başer, K.H.C., Tıbbi Bitki ve Baharatların Dünyada ve Türkiye'deki Ticareti ve Talep Durumu, Tarım Orman ve Köy İşleri Bakanlığı Dergisi, 53, 18-22, 1990.
- [9] Keha, E.E., Küfrevioğlu, Ö.İ., Biyokimya, Dördüncü baskı. Aktif Yayınevi, 93-188, Erzurum, 2005.
- [10] LEHNINGER, A. L., Principles of biochemistry. Worth publisher, Acedemic pres, New York, 587-665, 1982.

- [11] Haliskaranfil, S., Termoalkalifilik amilaz ve selüloz enzim (multi enzim) üreticisi *Bacillus* sp. izolasyonu, enzimlerin karakterizasyonu ve biyoteknolojik uygulanabilirliği. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, 2012.
- [12] Avcı, K., Mikrobiyal biyotransformasyon ile 4,5,6,7-tetrahidro-6-fenil-4-okso-benzofuranon türevlerinin sentezi. Yüksek Lisans Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, 2019.
- [13] Dordick JS, Khmelnsky YL, Sergeeva MV, The evolution of biotransformation technologies. *Curent opinion in Microbiology*, 1: 311-318, 1998.
- [14] Yıldırım, K., The Biotransformation and Synthesis of Some Steroids. D. Phil. Thesis, Sussex University, England, 8-81, 2001.
- [15] Akar T., Furanosterod yapılı bazı bileşiklerin anitfungallik etkinliğinin ve *neurospora crassa* fungal kültürünün biyotransformasyon ve biyosorpsiyon özelliklerinin incelenmesi. Doktora Tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, 2015.
- [16] Arnold, L., Small Bugs, Big Business: The Economic Power of the Microbe. *Biotechnology Advances*, 18, 499-514, 2000.
- [17] Bhattia H., Khan S., Khan A., Ranib M., Ahmad V., Choudhary M., Biotransformation of monoterpenoids and their antimicrobial activities. *Phytomedicine*, 21, 1597-1626, 2014.
- [18] Ergin, S., Dehidroepiandrosteron bileşiğinin bazı küfler ile biyotransformasyonları. Yüksek Lisans Tezi, Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Bölümü, 2020.
- [19] Bodur B., Bazı şalkon bileşiklerinin *Aspergillus candidus* küfü ile biyotransformasyonları. Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Bölümü, Yüksek Lisans Tezi, 2019.
- [20] Beyaztaş, S., Ksantin oksidaz (xo) enziminin saflaştırılması için yeni bir afinite jelinin sentezi, saflaştırılan enzim ile tiyosemikarbazon türevlerinin biyotransformasyonu ve bazı antibiyotiklerin enzim üzerindeki etkilerinin araştırılması. Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Bölümü, Doktora Tezi, 2010.

- [21] Baixue L., Yong T., Whole-cell Biocatalysts by Design. *Microbial Cell Fact*, 16:106, 2017.
- [22] Pamir, H.M., *Fermantasyon Mikrobiyolojisi*, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları 936, 10-130, 2018.
- [23] Ünlütürk, A., Turantaş, F., *Gıda Mikrobiyolojisi*. Ege Üniversitesi, İzmir, 1996.
- [24] <https://gida.erciyes.edu.tr/upload/IVKSWT4maya-ve-kUf-sayimi.pdf>, Erişim Tarihi: 21.04.2021.
- [25] <https://www.bustmold.com/resources/mold-library/penicillium-chrysogenum/>, Erişim Tarihi: 25.04.2021.
- [26] <http://www.belgeci.com/kuf.html>, Erişim Tarihi: 03.04.2021.
- [27] Andersen, B., Hollensted, M., Metabolite Production by Different *Ulocladium* Species. *Int. J. Food Microbiol.* 126(1-2), 172-179, 2008.
- [28] <https://drfungus.org/knowledge-base/ulocladium-species/>, Erişim Tarihi: 22.05.2021.
- [29] Alaca F., Arslan N., Sekonder metabolitlerin bitkiler açısından önemi. *Ziraat Mühendisliği dergisi*, (358): 48-55, 2012.
- [30] Yılmaz S., *Echinops orientalis* trautv. Bitkisindeki sekonder metabolitlerin izolasyonu, yapı tayini, antioksidan aktivitelerinin incelenmesi. Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 2012.
- [31] http://www.megep.meb.gov.tr/mte_program_modul/moduller/G%C4%B1dalaradaki%20Pigmentler%20ve%20Fenolik%20Bile%C5%9Fikler.pdf, Erişim Tarihi: 25.05.2021.
- [32] Harborne J.B., Baxter H., Moss G.P., *A Handbook of Bioactive Compounds From Plants*, 2nd Edition, Taylor- Francis, 1999.
- [33] Yağcı C., Toker M.C., Toker G., Bitki doku kültürü yoluyla üretilen flavonoidler. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 1 (1), 47-58, 2008.
- [34] D'Archivio M., Filesì C., Di, B.R., Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Ann Ist. Super Sanita*, 43(4), 348-61, 2007.

- [35] Ayhan, B., Sideritis libanotica familyasına ait bazı türlerin sekonder metabolitlerin saflaştırılması, karakterizasyonu ve biyolojik aktivitelerinin incelenmesi. Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2008.
- [36] R. Ghosh, A. Das., World J., Pharm. Pharmaceut Sci. 3, 578-595, 2014.
- [37] TAŞKIN, M., Benzofuran sübstitüe kalkonların sentezi. Adıyaman Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Bölümü, Yüksek Lisans Tezi, 2016.
- [38] Guliyev, V.B., Harmandar, M., Flavonoidler, Bakanlar Matbaacılık, İstanbul, 15-70, 1999.
- [39] Nowakowska Z., A review of anti-infective and anti-inflammatory chalcones. European Journal of Medicinal Chemistry, 42(2): 125-137, 2007.
- [40] <https://veteriner.erciyes.edu.tr/Uploads/files/Lipid1.pdf>, Erişim Tarihi: 10.06.2021.
- [41] Ergene E., Alfa lipoik asit ve metabolik etkileri. Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Dergisi, 2(3): 159-165, 2018.
- [42] Karaca E.G., Bayşu N. S., Dietilnitrozamin verilen ratlarda alfa lipoik asidin koruyucu etkilerinin araştırılması. Kocatepe Tıp Dergisi, 7: 11-17, 2007.
- [43] Yürük A.A., Ayaz A. A., Alfa Lipoik Asidin Sağlık Üzerine Etkileri. H.Ü. Sağlık Bilimleri Fakültesi Dergisi, 1(1), 2014.
- [44] Marivaldo, J.C.C., Fátima, M.N., Heriberto, R.B., Fábio, C.B., Giselle, M.S. P.G., Mara, S.P.A., Andrey, M.R.M., Alberdan, S.S., Cláudio, N.A., Davi, S.B. B. and Lourivaldo, S.S., Biotransformation of chalcones by the endophytic fungus *Aspergillus flavus* isolated from *paspalum maritimum* trin. J. Braz. Chem. Soc., 22(7), 1333-1338, 2011.
- [45] Luzny M., Krzywda M., Kozłowska E., Janeczko T., Effective hydrogenation of 3-(2''-furyl)- and 3-(2''-thienyl)-1-(2'-hydroxyphenyl)-prop-2-en-1-one in selected yeast cultures. Molecules, 24, 3185, 2019.
- [46] Şengül , Y., Testosteronun *Cladosporium sphaerospermum* ve *Ulacladium chartarum* ile biyotransformasyonları. Yüksek Lisans Tezi, Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Bölümü, 2019.

- [47] Barman K.M., Jana A., Maji B. Phosphine-free NNN-manganese complex catalyzed alkylation of ketones with primary alcohols and friedlander quinoline synthesis. *Adv. Synth. Catal.*, 360, 3233-3238, 2018.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Vusala İsmayilova

ÖĞRENİM DURUMU

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Yılı
Yüksek Lisans	Sakarya Üniversitesi / Fen Bilimleri Enstitüsü / Kimya	Devam ediyor
Yüksek Lisans	Nahçıvan Devlet Üniversitesi/ Sosyal bilimler Enstitüsü/ Pedagoji ve Pedagoji teorisi ve tarihi	2016
Lisans	Nahçıvan Devlet Üniversitesi / Doğa bilimleri Fakültesi / Biyoloji öğretmenliği	2013
Lise	Nahçıvan Alişar köy okulu	2009

YABANCI DİL

İngilizce, Türkçe

ESERLER (makale, bildiri, proje vb.)

1. Yılmaz Keskin, S., Sönmez F., Yıldırım K., İsmayilova V., Biotransformation of (E)-3-phenyl-1-(p-tolyl)prop-2-en-1-one by *Ulocladium chartarum* MRC 72584. International Asian Congress on Contemporary Sciences-V, Nakhchivan State University, Azerbaijan, 2021.

HOBİLER

Kitap okumak, Portre çizimleri yapmak, Bilim-kurgu filmleri izlemek