

T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**PROGESTERON BİLEŞİĞİNİN BAZI KÜFLER İLE
BİYOTRANSFORMASYONLARI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Fatih GÜLŞAN

Enstitü Anabilim Dalı : KİMYA

Enstitü Bilim Dalı : BİYOKİMYA

Tez Danışmanı : Yrd. Doç. Dr. Kudret Yıldırım

HAZİRAN 2010

T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**PROGESTERON BİLEŞİĞİNİN BAZI KÜFLER İLE
BİYOTRANSFORMASYONLARI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Fatih GÜLŞAN

Enstitü Anabilim Dalı : KİMYA

Enstitü Bilim Dalı : BİYOKİMYA

Bu tez 10 / 06 / 2010 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Oybirligi ile kabul edilmiştir.

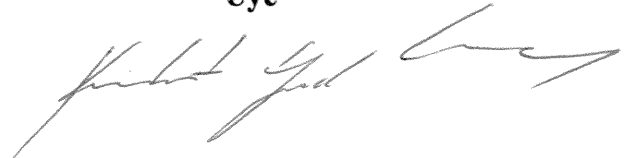
Prof. Dr. Cavit UYANIK
Jüri Başkanı



Prof. Dr. Ahmet TUTAR
Üye



Yrd. Doç. Dr. Kudret YILDIRIM
Üye



TEŞEKKÜR

Bu çalışmayı büyük bir titizlik ve sabırla yöneten, çalışma boyunca desteğini bir an bile esirgemeyen, bilgi ve tecrübelerinden istifade ettiğim kıymetli hocam Yrd. Doç. Dr. Kudret YILDIRIM'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Laboratuardaki çalışmalarım esnasında bana desteğini esirgemeyen Dr. Araş. Gör. Semra YILMAZER'e teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisansa beraber başladığımız ve çalışmalarımıza büyük katkıları olan İlknur KÜPÇÜ'ye teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım esnasında desteklerini esirgemeyen Sakarya Üniversitesi Kimya Bölümü Öğretim Üyeleri ve Araştırma Görevlilerine teşekkürlerimi sunarım.

Lisans öğrenimim boyunca iyi bir kimyager olarak yetişmemde büyük katkıları olan Trakya Üniversitesi Kimya Bölümünün tüm Öğretim Üyeleri ve Araştırma Görevlilerine teşekkürlerimi sunarım.

Yaşamım boyunca maddi manevi her türlü desteği esirgemeyen aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma SAÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklenmiştir (Proje no: 2009-50-01-018).

Nisan 2010
Fatih GÜLŞAN

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ.....	v
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	vii
TABLOLAR LİSTESİ.....	viii
ÖZET.....	x
SUMMARY.....	xi
BÖLÜM 1.	
GİRİŞ.....	1
BÖLÜM 2.	
PROGESTERON BİLEŞİĞİNİN KÜFLER İLE BİYOTRANSFORMASYONLARI.....	3
2.1. Progesteron.....	3
2.2. Küfler ile Progesteron (1) Biyotransformasyonları	4
2.3. Çalışmanın Amacı.....	17
BÖLÜM 3.	
MATERYAL VE METOT.....	18
3.1. Kullanılan Cihazlar ve Sarf Malzemeler.....	18
3.2. Taze Yatık Agar Kültürlerinin Hazırlanması.....	19
3.3. Substratın Bazı Küfler ile Biyotransformasyonları.....	19
3.3.1. Substratın <i>Aspergillus wentii</i> ile biyotransformasyonu	19
3.3.2. Substratın <i>Penicillium digitatum</i> ile biyotransformasyonu	20

BÖLÜM 4.	
DENEYSEL BULGULAR.....	22
BÖLÜM 5.	
SONUÇLAR VE TARTIŞMA	24
KAYNAKLAR.....	27
EKLER.....	36
ÖZGEÇMİŞ.....	43

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

α	: Molekül düzleminin altındaki süstitüentler
β	: Molekül düzleminin üstündeki süstitüentler
bs	: Broad singlet (küt singlet)
$^{\circ}\text{C}$: Santigrat derece
cm	: Santimetre
^{13}C NMR	: Karbon 13 Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi
Δ	: Kimyasal kayma farkı
δ_{C}	: ^{13}C NMR spektrumundaki kimyasal kayma
δ_{H}	: ^1H NMR spektrumundaki kimyasal kayma
DMF	: Dimetilformamit
e. n.	: Erime noktası
^1H NMR	: Proton Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi
Hz	: Hertz
IR	: Infrared Spektroskopisi
İTK	: İnce Tabaka Kromatografisi
J	: Etkileşme sabiti
L	: Litre
lit.	: Literatür
mg	: Miligram
MHz	: Megahertz
mL	: Mililitre
PDA	: Potato Dextrose Agar
pH	: Proton konsantrasyonunun eksi logaritması
ppm	: Milyonda bir kısım
rpm	: Dakika başına dönüş sayısı
s	: Singlet
sp.	: Belli bir cinse ait tür

td : Tripletin dubleti
TÜBİTAK : Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu
var. : Varyete

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.1. Progesteronun (1) <i>R. arrhizus</i> ile biyotransformasyonu	2
Şekil 2.1. Kolesterolde (3) progesteron (1) sentezi.....	3
Şekil 4.1. Substrat karbon iskeletinin numaralandırılması.....	22
Şekil 4.2. Substratın <i>A. wentii</i> ile biyotransformasyonu.....	23
Şekil 4.3. Substratın <i>P. digitatum</i> ile biyotransformasyonu.....	23
Şekil A.1. Progesteron (1) bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu	37
Şekil A.2. Progesteron (1) bileşiğinin ¹³ C NMR spektrumu	38
Şekil A.3. 11 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion (2) bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu.....	39
Şekil A.4. 11 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion (2) bileşiğinin ¹³ C NMR spektrumu.....	40
Şekil A.5. 5 α -Pregnan-3,20-dion (5) bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu.....	41
Şekil A.6. 5 α -Pregnan-3,20-dion (5) bileşiğinin ¹³ C NMR spektrumu.....	42

TABLolar LİSTESİ

Tablo 2.1.	<i>A. ochraceus</i> ile progesteron (1) biyotransformasyonları.....	4
Tablo 2.2.	<i>A. phoenicis</i> ile progesteron (1) biyotransformasyonları.....	5
Tablo 2.3.	<i>A. niger</i> ile progesteron (1) biyotransformasyonları.....	5
Tablo 2.4.	<i>A. fumigatus</i> ile progesteron (1) biyotransformasyonları.....	6
Tablo 2.5.	<i>A. tamarii</i> ile progesteron (1) biyotransformasyonları.....	6
Tablo 2.6.	<i>A. aureogulgens</i> ile progesteron (1) biyotransformasyonu.....	6
Tablo 2.7.	<i>Aspergillus</i> türleri ile diğer biyotransformasyonlar.....	7
Tablo 2.8.	<i>Penicillium</i> türleri ile progesteron (1) biyotransformasyonları.....	7
Tablo 2.9.	<i>Rhizopus</i> türleri ile progesteron (1) biyotransformasyonları.....	8
Tablo 2.10.	<i>Fusarium</i> türleri ile progesteron (1) biyotransformasyonları.....	9
Tablo 2.11.	<i>Mucor</i> türleri ile progesteron (1) biyotransformasyonları.....	9
Tablo 2.12.	<i>Trichoderma</i> türleri ile progesteron (1) biyotransformasyonları....	10
Tablo 2.13.	<i>Humicola</i> türleri ile progesteron (1) biyotransformasyonları.....	10
Tablo 2.14.	<i>Curvularia</i> türleri ile progesteron (1) biyotransformasyonları.....	11
Tablo 2.15.	<i>Acremonium</i> türleri ile progesteron (1) biyotransformasyonları...	11
Tablo 2.16.	<i>Saprolegnia</i> türleri ile progesteron (1) biyotransformasyonları....	12
Tablo 2.17.	<i>Cladosporium</i> türleri ile progesteron (1) biyotransformasyonları..	12
Tablo 2.18.	<i>H. werneckii</i> ile progesteron (1) biyotransformasyonu.....	12
Tablo 2.19.	<i>B. obtusa</i> ile progesteron (1) biyotransformasyonları.....	13
Tablo 2.20.	<i>A. chrysosperma</i> ile progesteron (1) biyotransformasyonları.....	13
Tablo 2.21.	<i>N. haematococca</i> ile progesteron (1) biyotransformasyonu.....	14
Tablo 2.22.	<i>C. aphidicola</i> ile progesteron (1) biyotransformasyonu.....	14
Tablo 2.23.	<i>S. ampullosporum</i> ile progesteron (1) biyotransformasyonu.....	14
Tablo 2.24.	<i>M. thermophila</i> ile progesteron (1) biyotransformasyonu.....	14
Tablo 2.25.	<i>P. blakesleanus</i> ile progesteron (1) biyotransformasyonu.....	15
Tablo 2.26.	<i>P. lilacinus</i> ile progesteron (1) biyotransformasyonu.....	15
Tablo 2.27.	<i>C. antirrhini</i> SC 2144 ile progesteron (1) biyotransformasyonu....	15

Tablo 2.28.	Diğer küfler ile progesteron (1) biyotransformasyonları.....	16
Tablo 3.1.	<i>A. wentii</i> küfüne ait besiyeri çözeltilisinin bileşenleri.....	19
Tablo 3.2.	<i>P. digitatum</i> küfüne ait besiyeri çözeltilisinin bileşenleri.....	20
Tablo 5.1.	Bileşik ¹ H NMR spektrumlarının karşılaştırılması.....	25
Tablo 5.2.	Bileşik ¹³ C NMR spektrumlarının karşılaştırılması.....	26

ÖZET

Anahtar Kelimeler: Biyotransformasyon, Progesteron, *Penicillium digitatum*, *Aspergillus wentii*

Bu çalışmada progesteronun *Aspergillus wentii* MRC 200316 ve *Penicillium digitatum* MRC 500787 küflerinde nasıl metabolize edileceğini incelemek için bileşiğin bahsedilen küfler ile biyotransformasyonları gerçekleştirildi. Her iki inkübasyondan birer metabolit elde edildi.

Elde edilen metabolitlerin yapıları, erime noktaları, ^1H NMR, ^{13}C NMR, ve IR spektrumları ile tayin edildi. *Aspergillus wentii* ile inkübasyon 11α -hidroksipreg-4-en-3,20-dion bileşiğini verirken *Penicillium digitatum* ile inkübasyon neticesinde ise 5α -pregnan-3,20-dion bileşiğini verdi.

THE BIOTRANSFORMATION OF PROGESTERONE BY SOME FUNGI

SUMMARY

Keywords : Biotransformation, Progesterone, *Penicillium digitatum*, *Aspergillus wentii*

In this work, progesterone was incubated with *Aspergillus wentii* MRC 200316 and *Penicillium digitatum* in order to see how it would be metabolized by these two fungi. Each incubation afforded only one metabolite.

The structures of the metabolites were elucidated by the melting points, ^1H NMR, ^{13}C NMR and IR spectra. Incubation with *Aspergillus wentii* afforded 11α -hydroxypreg-4-en-3,20-dione while incubation with *Penicillium digitatum* afforded 5α -pregnane-3,20-dione.

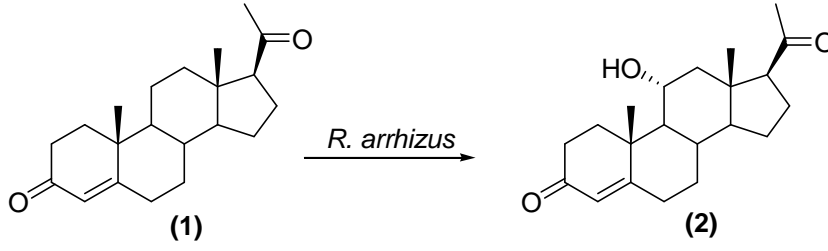
BÖLÜM 1. GİRİŞ

Canlıların kendi doğal substratları olmayan maddeler üzerinde enzimleri veya enzimlerini içeren mikrozomlar, hücre kültürleri, doku kültürleri, organ kültürleri, mikroorganizmalar ya da mikroorganizma sporları gibi biyolojik sistemler yolu ile meydana getirdiği kimyasal değişikliklere biyotransformasyonlar adı verilir [1].

Mikroorganizmalar ile gerçekleştirilen reaksiyonların çevre dostu olmaları, daha kısa sürede ve daha ucuza sonuçlandırılmaları ile erlenden fabrika fermentörüne kadar çeşitli ortamlarda gerçekleştirilebilmeleri gibi çeşitli avantajları sebebiyle mikrobiyal biyotransformasyonlar günümüzde daha tercih edilirdir. Mikroorganizmalar biyotransformasyonlar için serbest veya uygun yüzeylere sabitlenmiş olarak kullanılabilir. Küfler, mayalar, bakteriler ve mikrobiyal algler en yaygın olarak kullanılan mikroorganizma gruplarıdır [2].

Çoğu mikroorganizmalar spesifik olmayan enzim sistemleri sayesinde hem doğal hem de sentetik birçok substrat üzerinde çok sayıda farklı kimyasal reaksiyonlar gerçekleştirebilirler. Mikrobiyal biyotransformasyonların çoğu sitokrom P-450 enzimlerince gerçekleştirilirler. Mikrobiyal hidroksilasyon en önemli biyotransformasyon reaksiyonlarından birisidir [1].

Mikrobiyal hidroksilasyonun önemi ilk olarak 1952 yılında ortaya çıkmıştır [3]. Kortikosteroidlerin sentezi esnasında fonksiyonel gruplardan uzakta bulunan C-11'e bir oksijen fonksiyonu yerleştirmek klasik kimyasal yöntemlerle oldukça uzun ve masraflı bir işlemdir. Bu sorunun *Rhizopus arrhizus* küfünün progesteronu (1) 11 α -hidroksipregn-4-en-3,20-dion (2) bileşiğine dönüştürmesi (Şekil 1.1) ile çözülmesi dikkatleri mikrobiyal biyotransformasyonlar üzerine çekmiştir [1].



Şekil 1.1. Progesteronun (1) *R. arrhizus* ile biyotransformasyonu

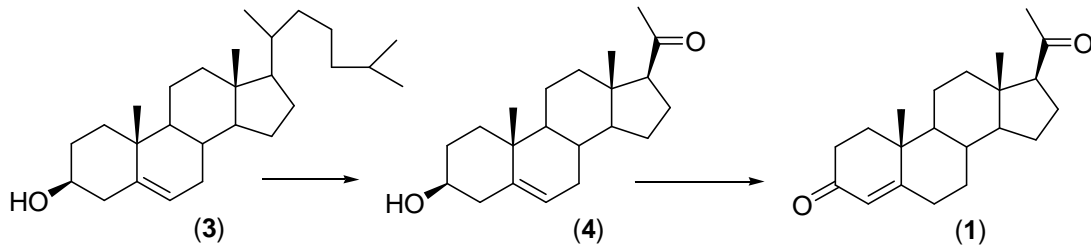
Mikrobiyal hidrosilasyonun öneminin anlaşılmasından sonra steroidler ve diğer birçok farklı madde üzerinde çok sayıda değişik mikroorganizma ile farklı ve yeni biyotransformasyon reaksiyonları gerçekleştirilmiştir [1, 4]. Çok sayıdaki önemli kimyasal madde çoğu çevre kirleticisi olan klasik sentez yöntemleri ile uzun sürede ve oldukça maliyetli olarak üretildiğinden mikrobiyal biyotransformasyonlar günümüzde giderek yaygınlaşmaktadır. Bu amaç doğrultusunda halen birçok steroid özellikle farklı küf türleri ile biyotransformasyonlara maruz bırakılmaktadır [4].

BÖLÜM 2. PROGESTERON BİLEŞİĞİNİN KÜFLER İLE BİYOTRANSFORMASYONLARI

2.1. Progesteron

Kolesterol (3) bileşğinden türevlenen steroid hormonlar glukokortikoidler, mineralokortikoidler, androjenler, östrojenler ve progestagenler (progestinler) olmak üzere beş ana sınıfta incelenmektedir [5, 6]. Androjenler, östrojenler ve progestagenler üreme ile ilgili organların gelişme ve büyümelerini, ikincil eşey karakterlerini ve üreme döngüsünü düzenleyen eşey hormonları olarak da bilinirler [6].

Progestagenlerin tek doğal temsilcisi olan progesteron (1) az miktarlarda östrojenleri de salgılayan corpus luteumun temel hormonudur. Yumurtalık stroması ve foliküllerinde az miktar da sentezlenen progesteronun (1) hamilelik esnasındaki ana sentez yeri plasentadır. Bir miktar progesteron dişi ve erkek bireylerin adrenal bezlerinde de sentezlenmektedir [6]. Önce pregnenolon (4) bileşğine çevrilen kolesterol (3), dehidrogenaz ve izomeraz enzimlerinin etkisiyle progesterona (1) dönüştürülmektedir (Şekil 2.1.). Progesteron (1), 3. karbonundan bir karbonil grubu ile 4. ve 5. karbon atomları arasında çift bağ içeren 21 karbonlu bir bileşiktir. Yapıdaki karbonil grubu ve çift bağ hormonun aktivitesi için gereklidir. 17. karbona bağlı yan zincirin ise fizyolojik bir etkisi bulunmamaktadır [6].



Şekil 2.1. Kolesterolde (3) progesteron (1) sentezi

Progesteron (1), rahim iç zarı olan endometriyumun hamilelik için hazırlanmasını ve hamileliğin devamlılığını sağlamaktadır. Hamilelik gerçekleşmediğinde corpus luteum, lüteoliz ile kendi yapısına ve fonksiyonuna son vermektedir. Hamilelik gerçekleştiğinde ise corpus luteum korunmakta ve özellikle ilk dönemlerde (6-8. haftalar arasında) bu yapıdan salınan progesteron sayesinde anne adayları ve ceninin hayatını tehdit edecek yeni bir üreme döngüsünün başlaması engellenmektedir [6].

2.2. Küfler ile Progesteron (1) Biotransformasyonları

Literatürde progesteron (1) bileşiğinin küfler ile biyotransformasyonları üzerine birçok çalışma bulunmaktadır [7-95]. Çoğu progesteron (1) biyotransformasyonları *Aspergillus* türleri ile gerçekleştirilmiştir. *Aspergillus* türleri içerisinde en çok kullanılanlardan birisi *Aspergillus ochraceus* küfidir (Tablo 2.1.).

Tablo 2.1. *A. ochraceus* ile progesteron (1) biyotransformasyonları

Küf	Ürün	Kaynak
<i>Aspergillus ochraceus</i> TS	Androst-4-en-3,17-dion	[7]
	17 β -Hidroksiandrost-4-en-3-on	
	Androsta-1,4-dien-3,17-dion	
	17 β -Asetoksiandrost-4-en-3-on	
	11 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion (2)	
	Pregna-1,4-dien-3,20-dion	
	17 β -Hidroksiandrosta-1,4-dien-3-on	
<i>Aspergillus ochraceus</i> TS	11 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion (2)	[8-9]
<i>Aspergillus ochraceus</i> TS *	11 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion (2)	[10]
	17 β -Hidroksiandrosta-1,4-dien-3-on	
	Androsta-1,4-dien-3,17-dion	
<i>Aspergillus ochraceus</i> ATCC	3,11 α -Dihidroksiestra-1,3,5(10)-trien-17-on	[11]
<i>Aspergillus ochraceus</i> G-8 *	11 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion (2)	[12]
<i>Aspergillus ochraceus</i> NRRL 405	1 β ,6 α -Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	[13]
<i>Aspergillus ochraceus</i>	11 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion (2)	[14-15]
	6 β ,11 α -Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
<i>Aspergillus ochraceus</i>	11 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion (2)	[13, 16-18]
<i>Aspergillus ochraceus</i> *	11 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion (2)	[19-22]

* Sabitlenmiş küfler ile gerçekleştirilen biyotransformasyonlar

Aspergillus phoenicis progesteron (1) biyotransformasyonları için kullanılan bir diğer *Aspergillus* türüdür (Tablo 2.2.).

Tablo 2.2. *A. phoenicis* ile progesteron (1) biyotransformasyonları

Küf	Ürün	Kaynak
<i>Aspergillus phoenicis</i>	11 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion (2)	[11, 23]
	6 β ,11 α -Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
<i>Aspergillus phoenicis</i>	11 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion (2)	[24]
	11 α ,15 β -Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
<i>Aspergillus phoenicis</i> *	11 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion (2)	[24]
	15 β -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	11 α ,15 β -Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
<i>Aspergillus phoenicis</i> *	11 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion (2)	[11,16]

* Sabitlenmiş küfler ile gerçekleştirilen biyotransformasyonlar

Progesteron (1) biyotransformasyonları için kullanılan bir diğer *Aspergillus* türü ise Tablo 2.3. gösterildiği gibi *Aspergillus niger* küfüdür.

Tablo 2.3. *A. niger* ile progesteron (1) biyotransformasyonları

Küf	Ürün	Kaynak
<i>Aspergillus niger</i> 3N	11 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion (2)	[23]
	6 β ,11 α -Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	11 α ,21-Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
<i>Aspergillus niger</i> 58F	11 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion (2)	
	6 β ,11 α -Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
<i>Aspergillus niger</i> 73	11 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion (2)	
	6 β ,11 α -Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
<i>Aspergillus niger</i> 100	11 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion (2)	[23, 25]
	17 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	21-Hidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	6 β ,11 α -Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	11 α ,17 α -Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	11 α ,17 α ,21-Trihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
<i>Aspergillus niger</i> 200	11 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion (2)	
	6 β ,11 α -Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	11 α ,21-Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
<i>Aspergillus niger</i> 567	11 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion (2)	
	21-Hidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	6 β ,11 α -Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	11 α ,21-Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
<i>Aspergillus niger</i> 1R	11 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion (2)	
	6 β ,11 α -Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	11 α ,21-Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
<i>Aspergillus niger</i> 37	11 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion (2)	
	17 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	11 α ,15 β -Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	11 α ,17 α -Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
<i>Aspergillus niger</i>	11 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion (2)	[26]
	6 β ,11 α -Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
<i>Aspergillus niger</i>	11 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion (2)	[27]
<i>Aspergillus niger</i> NCIM 589*	11 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion (2)	[28]

* Sabitlenmiş küfler ile gerçekleştirilen biyotransformasyonlar

Aspergillus türleri ile gerçekleştirilen progesteron (1) biyotransformasyonlarının diğer bir kısmı ise *Aspergillus fumigatus* küfii ile gerçekleştirilmiştir (Tablo 2.4.).

Tablo 2.4. *A. fumigatus* ile progesteron (1) biyotransformasyonları

Küf	Ürün	Kaynak
<i>Aspergillus fumigatus</i>	11 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion (2)	[29]
	7 β -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	15 β -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	7 β ,15 β -Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	11 α ,15 β -Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
<i>Aspergillus fumigatus</i>	11 α ,15 β -Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	[30]
	7 β ,15 β -Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	15 β -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	3 β -Hidroksi-5 α -pregnan-20-on	

Aspergillus tamarii ile gerçekleştirilen progesteron (1) biyotransformasyonları Tablo 2.5.'de özetlenmiştir.

Tablo 2.5. *A. tamarii* ile progesteron (1) biyotransformasyonları

Küf	Ürün	Kaynak
<i>Aspergillus tamarii</i>	11 β -Hidroksiandrosta-4,6-dien-3,17-dion	[31]
	Androst-4-en-3,17-dion	
	17 β -Hidroksiandrost-4-en-3-on	
	17 α -okza-D-homo-androst-4-en-3-on	
<i>Aspergillus tamarii</i>	17 α -okza-D-homo-androst-4-en-3-on	[32]
	11 β ,17 β -Dihidroksiandrost-4-en-3-on	

Aspergillus aureogulgens ile gerçekleştirilen progesteron (1) biyotransformasyonu ise Tablo 2.6.'de özetlenmiştir.

Tablo 2.6. *A. aureogulgens* ile progesteron (1) biyotransformasyonu

Küf	Ürün	Kaynak
<i>Aspergillus aureogulgens</i>	Androst-4-en-3,17-dion	[33]
	17 β -Hidroksiandrost-4-en-3-on	
	17 β -Asetoksiandrost-4-en-3-on	
	17 α -okza-D-homo-androst-4-en-3-on	
	5 β -Androstan-3,17-dion	
	3 α -Hidroksi-5 β -androstan-17-on	

Diğer *Aspergillus* türleri ile gerçekleştirilen progesteron (1) biyotransformasyonları ise Tablo 2.7.'de özetlenmiştir.

Tablo 2.7. *Aspergillus* türleri ile diğer biyotransformasyonlar

Küf	Ürün	Kaynak
<i>Aspergillus flavus</i>	11 β -Hidroksiandrosta-4,6-dien-3,17-dion	[31]
	Androst-4-en-3,17-dion	
	17 β -Hidroksiandrost-4-en-3-on	
	17a-okza-D-homo-androst-4-en-3-on	
<i>Aspergillus flavus-furcatis</i>	11 β ,17 β -Dihidroksiandrost-4-en-3-on	
	Androst-4-en-3,17-dion	
	17 β -Hidroksiandrost-4-en-3-on	
	17a-okza-D-homo-androst-4-en-3-on	
<i>Aspergillus parasiticus</i>	11 β ,17 β -Dihidroksiandrost-4-en-3-on	
	Androst-4-en-3,17-dion	
	17 β -Hidroksiandrost-4-en-3-on	
	17a-okza-D-homo-androst-4-en-3-on	
<i>Aspergillus oryzae</i>	Androst-4-en-3,17-dion	
	17 β -Hidroksiandrost-4-en-3-on	
	17a-okza-D-homo-androst-4-en-3-on	
<i>Aspergillus subolivaceus</i>	Androst-4-en-3,17-dion	
	17 β -Hidroksiandrost-4-en-3-on	
	11 β ,17 β -Dihidroksiandrost-4-en-3-on	
<i>Aspergillus fischeri</i>	11 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion (2)	
	11 α -Hidroksi-5 α -pregnan-3,20-dion	
	21-Hidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	11 α ,17 α -Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	17a-okza-D-homo-androst-4-en-3-on	
<i>Aspergillus unicolor</i>	11 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion (2)	
	11 α -Hidroksi-5 α -pregnan-3,20-dion	
	6 β ,11 α -Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	17a-okza-D-homo-androst-4-en-3-on	
<i>Aspergillus nidulans</i>	6 β ,11 α -Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	[16]
	11 β -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	21 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion	
<i>Aspergillus egyptiacus</i>	11 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion (2)	[14]
<i>Aspergillus flavus</i> var. <i>columnaris</i>	Androst-4-en-3,17-dion	[14]

Bazı progesteron (1) biyotransformasyonları ise Tablo 2.8.'de özetlendiği gibi çeşitli *Penicillium* türleri ile gerçekleştirilmiştir.

Tablo 2.8. *Penicillium* türleri ile progesteron (1) biyotransformasyonları

Küf	Ürün	Kaynak
<i>Penicillium camemberti</i> AM83	17a-okza-D-homo-androst-4-en-3-on	[34]
	Androst-4-en-3,17-dion	
	17 β -Hidroksiandrost-4-en-3-on	
<i>Penicillium citreoviride</i>	Androst-4-en-3,17-dion	[35]
	17a-okza-D-homo-androst-4-en-3-on	
<i>Penicillium decumbens</i> ATCC	5 α -Pregnan-3,20-dion (5)	[36]
<i>Penicillium chrysogenum</i>	17a-okza-D-homo-androst-4-en-3-on	[37]
<i>Penicillium brevicompactum</i>	11 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion (2)	[23]
	15 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	Androst-4-en-3,17-dion	
	17 β -Hidroksiandrost-4-en-3-on	
	17a-okza-D-homo-androst-4-en-3-on	

Progesteron (1) biyotransformasyonları için yaygın olarak kullanılan türlerin bir kısmı ise Tablo 2.9.'da gösterildiği gibi özellikle *Rhizopus nigricans* ile temsil edilen *Rhizopus* cinsine aittir.

Tablo 2.9. *Rhizopus* türleri ile progesteron (1) biyotransformasyonları

Küf	Ürün	Kaynak
<i>Rhizopus nigricans</i> YSF 129	11 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion (2)	[23]
	17 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	11 α -Hidroksi-5 α -pregnan-3,20-dion	
	11 α ,17 α -Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	6 β ,11 α -Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	11 α ,17 α ,21-Trihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
<i>Rhizopus nigricans</i>	11 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion (2)	[38]
	11 α -Hidroksi-5 α -pregnan-3,20-dion	
	17 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	21-Hidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	6 β ,11 α -Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	11 α ,17 α -Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	17 α ,21-Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	11 α ,17 α ,21-Trihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
<i>Rhizopus nigricans</i> REF 129	11 α -Hidroksi-5 α -pregnan-3,20-dion	[25]
	17 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	21-Hidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	11 α -Hidroksi-5 α -pregnan-3,20-dion	
	11 α ,17 α -Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	6 β ,11 α -Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
<i>Rhizopus nigricans</i>	11 α ,17 α ,21-Trihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	11 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion (2)	[39]
	11 α -Hidroksi-5 α -pregnan-3,20-dion	
<i>Rhizopus nigricans</i>	6 β ,11 α -Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	11 α -Hidroksiandrosta-4-en-3,17-dion	[40]
<i>Rhizopus nigricans</i>	11 α -Hidroksiandrosta-1,4-dien-3,17-dion	
	11 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion (2)	[23]
<i>Rhizopus nigricans</i> YSF 128	6 β ,11 α -Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	17 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion	[27]
<i>Rhizopus nigricans</i>	11 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion (2)	[16, 27, 41-44]
<i>Rhizopus arrhizus</i>	11 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion (2)	[45, 3]
<i>Rhizopus stolonifer</i>	11 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion (2)	[46-47]
<i>Rhizopus nigricans</i> *	11 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion (2)	[48]

* Sabitlenmiş küfler ile gerçekleştirilen biyotransformasyonlar

Fusarium cinsine ait bazı türler ile gerçekleştirilen progesteron (1) biyotransformasyonları Tablo 2.10.'da verilmiştir.

Tablo 2.10. *Fusarium* türleri ile progesteron (1) biyotransformasyonları

Küf	Ürün	Kaynak
<i>Fusarium culmorum</i>	15 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion	[49]
	12 β ,15 α -Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
<i>Fusarium oxysporum</i>	15 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion	[50]
<i>Fusarium argillaceum</i>	Androst-4-en-3,17-dion	[51]
	17 β -Hidroksiandrost-4-en-3-on	
	15 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	15 α -Hidroksiandrost-4-en-3,17-dion	
	5 α -Androstan-3,17-dion	
	15 α ,17 β -Dihidroksiandrost-4-en-3-on	
	16 α -Hidroksiandrost-4-en-3,17-dion	
<i>Fusarium oxysporum</i> var. <i>cubense</i>	15 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion	[52]
	12 β ,15 α -Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	

Bazı progesteron (1) biyotransformasyonları ise Tablo 2.11.'de gösterildiği gibi çeşitli *Mucor* türleri ile gerçekleştirilmiştir.

Tablo 2.11. *Mucor* türleri ile progesteron (1) biyotransformasyonları

Küf	Ürün	Kaynak
<i>Mucor racemosus</i>	14 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion	[53]
	7 α ,14 α -Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
<i>Mucor plumbeus</i>	6 β ,14 α -Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	[54]
<i>Mucor griseocyanus</i>	6 β ,14 α -Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	[55]
	7 α ,14 α -Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
<i>Mucor racemosus</i>	11 α -Hidroksipregna-4,6-dien-3,20-dion	[56]
<i>Mucor piriformis.</i>	14 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion	[57-58]
	5 β ,14 α -Dihidroksi-5 α -pregnan-3,20-dion	
	6 β ,14 α -Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	7 α ,14 α -Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	7 β ,14 α -Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
<i>Mucor fragilis</i>	11 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion (2)	[23]
	15 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	6 β ,11 α -Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
<i>Mucor hiemalis</i>	6 β -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion	[59]
	7 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	9 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	15 β -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	6 α ,14 α -Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	9 α -Hidroksipregna-4,14(15)-dien-3,20-dion	
	Pregna-4,8(9),14(15)-trien-3,20-dion	
<i>Mucor griseocyanus</i>	14 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion	[60]
	7 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	9 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	7 α ,14 α -Dihidroksi-5 α -pregnan-3,20-dion	
	6 β ,14 α -Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	8 β -Hidroksipregna-4,14-dien-3,20-dion	
	14 α ,15 α -epoksipregn-4-en-3,20-dion	

Trichoderma cinsine ait bazı türler ile gerçekleştirilen progesteron (1) biyotransformasyonlarının sonuçları Tablo 2.12’de verilmiştir

Tablo 2.12. *Trichoderma* türleri ile progesteron (1) biyotransformasyonları

Küf	Ürün	Kaynak
<i>Trichoderma hamatum</i>	11 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion (2)	[61]
	11 β -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	11 α ,17 α -Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	6 β ,11 α -Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	11 α ,17 α ,21-Trihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
<i>Trichoderma aureoviride</i>	11 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion (2)	
	11 β -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion (
	11 α ,17 α -Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	6 β ,11 α -Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	11 β ,17 α ,21-Trihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
<i>Trichoderma koningii</i>	11 β -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	11 α ,17 α -Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	6 β ,11 α -Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
<i>Trichoderma pseudokoningii</i>	11 β -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	11 α ,17 α -Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	6 β ,11 α -Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	11 β ,17 α ,21-Trihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
<i>Trichoderma harzianum</i>	11 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion (2)	
<i>Trichoderma polysporum</i>	11 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion (2)	
<i>Trichoderma viride</i>	17 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion	[62]
<i>Trichoderma hamatum</i>	11 α -Hidroksiandrosta-1,4-dien-3,17-dion	[63]
	11 α -Hidroksi-17 α -okza-D-homo-androsta-1,4-dien-3-on	
	11 α -Hidroksi-17 α -okza-D-homo-androst-4-en-3-on	

Bazı progesteron (1) biyotransformasyonları Tablo 2.13.’de gösterildiği gibi çeşitli *Humicola* türleri ile gerçekleştirilmiştir.

Tablo 2.13. *Humicola* türleri ile progesteron (1) biyotransformasyonları

Küf	Ürün	Kaynak
<i>Humicola hyalothermophila</i>	11 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion (2)	[64]
	11 β -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	21-Hidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	11 α ,17 α -Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	17 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	11 α ,17 α ,21-Trihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	11 β ,17 α ,21-Trihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
<i>Humicola fuscoatra</i>	Androst-4-en-3,17-dion	
	17 β -Hidroksiandrost-4-en-3-on	
	17 α -okza-D-homo-androst-4-en-3-on	
<i>Humicola grisea</i>	Androst-4-en-3,17-dion	
	17 β -Hidroksiandrost-4-en-3-on	
	17 α -okza-D-homo-androst-4-en-3-on	

Curvularia (*Cochliobolus*) türleri ile gerçekleştirilen progesteron (1) biyotransformasyonları Tablo 2.14.'de özetlenmiştir.

Tablo 2.14. *Curvularia* türleri ile progesteron (1) biyotransformasyonları

Küf	Ürün	Kaynak
<i>Curvularia lunata</i>	14 α -Hidroksipregn-4-en-3,11,20-trion	[65]
	7 α ,14 α -Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	11 β ,14 α -Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	Pregn-4-en-3,11,20-trion	
<i>Curvularia lunata</i>	11 β -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion	[66]
	7 α ,14 α -Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	11 β ,14 α -Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	14 α -Hidroksipregn-4-en-3,11,20-trion	
<i>Curvularia specifer</i>	21- Hidroksipregn-4-en-3,20-dion	[39]
	17 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	11 β -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	11 α ,17 α -Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	11 β ,17 α ,21-Trihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	11 α ,17 α ,21-Trihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
<i>Curvularia lunata</i>	3-Hidroksi-9,10-seko-1,3,5(10)-androstatien-9,17-dion	[27]
	3,17 α -Dihidroksi-9,10-seko-1,3,5(10)-androstatien-9-on	
	Pregna-1,4-dien-3,20-dion	
	Androsta-1,4-dien-3,17-dion	
	15 β -Hidroksipregna-1,4-dien-3,20-dion	
<i>Curvularia lunata</i>	6 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion	[67]
	11 β -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion	
<i>Curvularia clavata</i>	11 β ,14 α -Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	[68]
	7 α ,14 α -Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
<i>Curvularia lunata</i>	17 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion	[69]

Acremonium türleri ile gerçekleştirilen progesteron (1) biyotransformasyonları Tablo 2.15.'de verilmiştir.

Tablo 2.15. *Acremonium* türleri ile progesteron (1) biyotransformasyonları

Küf	Ürün	Kaynak
<i>Acremonium strictum</i>	15 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion	[70]
	15 α ,21-Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
<i>Acremonium strictum</i> NN106	7 β ,15 β -Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	[71]
	6 β ,11 α -Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	11 α ,15 β -Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	11 α ,15 β ,17 α -Trihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	7 β ,15 β ,17 α -Trihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	6 β ,11 α ,17 α -Trihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
<i>Acremonium roseum</i>	Androst-4-en-3,17-dion	[16]
	17 β -Hidroksiandrost-4-en-3-on	
	5 α -Androstan-3,17-dion	
<i>Acremonium strictum</i>	6 β ,11 α ,17 α -Trihidroksipregn-4-en-3,20-dion	

Bazı progesteron (1) biyotransformasyonları Tablo 2.16.'da verildiği gibi *Saprolegnia* türleri ile gerçekleştirilmiştir.

Tablo 2.16. *Saprolegnia* türleri ile progesteron (1) biyotransformasyonları

Küf	Ürün	Kaynak
<i>Saprolegnia hypogonia</i>	Androst-4-en-3,17-dion	[72]
	17β-Hidroksiandrost-4-en-3-on	
	17α-okza-D-homo-androst-4-en-3-on	
<i>Saprolegnia parasitica</i>	Androst-4-en-3,17-dion	
	17β-Hidroksiandrost-4-en-3-on	
	17α-okza-D-homo-androst-4-en-3-on	

Cladosporium türleri ile gerçekleştirilen progesteron (1) biyotransformasyonlarının sonuçları Tablo 2.17.'de özetlenmiştir.

Tablo 2.17. *Cladosporium* türleri ile progesteron (1) biyotransformasyonları

Küf	Ürün	Kaynak
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	11α-Hidroksipregn-4-en-3,20-dion (2)	[23]
	11β-Hidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	17α-Hidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	6β,11α-Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	11α,17α-Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	11β,17α,21-Trihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	11α,17α,21-Trihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
<i>Cladosporium herbarum</i>	17α-Hidroksipregn-4-en-3,20-dion	[73]
<i>Cladosporium resiniae</i>	Androst-4-en-3,17-dion	[74]
	17β-Hidroksiandrost-4-en-3-on	
	17β-Asetoksiandrost-4-en-3-on	

Progesteron (1) bileşiğinin *Hortaea werneckii* küfü ile gerçekleştirilen biyotransformasyonunun sonuçları Tablo 2.18.'de verilmiştir.

Tablo 2.18. *H. werneckii* ile progesteron (1) biyotransformasyonu

Küf	Ürün	Kaynak
<i>Hortaea werneckii</i>	6α-Hidroksipregn-4-en-3,20-dion	[75]
	11α-Hidroksipregn-4-en-3,20-dion (2)	
	14-Hidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	Androst-4-en-3,17-dion	
	17β-Asetoksiandrost-4-en-3-on	
	17β-Hidroksiandrost-4-en-3-on	
	20α-Hidroksipregn-4-en-3-on	
	5α-Pregnan-3,20-dion (5)	
	3β-Hidroksi-5α-pregnan-20-on	
	3β,20-Dihidroksi-5α-pregnan	

Botryosphaerica obtusa küfü ile gerçekleştirilen progesteron (1) biyotransformasyonları Tablo 2.19.'da gösterildiği gibi gerçekleşmiştir.

Tablo 2.19. *B. obtusa* ile progesteron (1) biyotransformasyonları

Küf	Ürün	Kaynak
<i>Botryosphaerica obtusa</i>	9 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion	[76]
	7 β -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	14 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	6 β -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	15 β -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	7 β ,11 α -Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	7 β ,12 α -Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	7 β ,14 α -Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	6 β ,14 α -Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	7 β ,15 α -Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	9 α ,14 α -Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	7 β ,15 β -Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	9 α ,15 β -Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	7 α ,14 α -Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	15 α ,20 β -Dihidroksipregn-4-en-3-on	
	15 β -Hidroksipregna-4,6-dien-3,20-dion	
	15 α -Hidroksipregna-4,6-dien-3,20-dion	
	11 α -Hidroksipregna-4,6-dien-3,20-dion	
	12 α -Hidroksipregna-4,6-dien-3,20-dion	
<i>Botryosphaerica obtusa</i>	11 α -Hidroksipregna-4,6-dien-3,20-dion	[56]
	12 α -Hidroksipregna-4,6-dien-3,20-dion	
	16 α -Hidroksipregna-4,6-dien-3,20-dion	
	15 β -Hidroksipregna-4,6-dien-3,20-dion	

Apiocrea chrysosperma küfü ile gerçekleştirilen progesteron (1) biyotransformasyonları Tablo 2.20.'de gösterildiği gibi gerçekleşmiştir.

Tablo 2.20. *A. chrysosperma* ile progesteron (1) biyotransformasyonları

Küf	Ürün	Kaynak
<i>Apiocrea chrysosperma</i>	15 α -Hidroksiandrost-4-en-3,17-dion	[77]
	14 α -Hidroksipregna-4,6-dien-3,20-dion	
	6 β ,9 α -Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	9 α ,15 β -Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	14 α ,15 β -Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	6 β ,14 α -Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	9 α ,14 α -Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	14 α ,15 α -Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
<i>Apiocrea chrysosperma</i>	14 α -Hidroksipregna-4,6-dien-3,20-dion	[56]

Progesteron (1) bileşiminin *Nectria haematococca* küfü ile gerçekleştirilen biyotransformasyonunun sonuçları Tablo 2.21.'de özetlenmiştir.

Tablo 2.21. *N. haematococca* ile progesteron (1) biyotransformasyonu

Küf	Ürün	Kaynak
<i>Nectria haematococca</i> 110	Androst-4-en-3,17-dion	[78]
	17 β -Hidroksiandrost-4-en-3-on	
	Androsta-1,4-dien-3,17-dion	
	17 β -Hidroksiandrosta-1,4-dien-3-on	
	11 α -Hidroksiandrost-4-en-3,17-dion	
	11 α -Hidroksiandrosta-1,4-dien-3,17-dion	
	11 α ,17 β -Dihidroksiandrosta-1,4-dien-3-on	

Cephalosporium aphidicola küfü ile gerçekleştirilen progesteron (1) biyotransformasyonu Tablo 2.22.'de gösterildiği gibi gerçekleşmiştir.

Tablo 2.22. *C. aphidicola* ile progesteron (1) biyotransformasyonu

Küf	Ürün	Kaynak
<i>Cephalosporium aphidicola</i>	11 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion (2)	[79]
	6 β ,11 α -Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	12 β ,17-Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	20 β -Hidroksipregn-4-en-3-on	
	6 β ,11 α ,20 β -Trihidroksipregn-4-en-3-on	
	17 β -Asetoksiandrost-4-en-3-on	

Progesteron (1) bileşiğinin *Sepedonium ampullosporum* küfü ile gerçekleştirilen biyotransformasyonunun sonuçları Tablo 2.23.'de verilmiştir.

Tablo 2.23. *S. ampullosporum* ile progesteron (1) biyotransformasyonu

Küf	Ürün	Kaynak
<i>Sepedonium ampullosporum</i>	16 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion	[80]
	6 β -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	17 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	16 α -Hidroksiandrost-4-en-3,17-dion	
	17 β -Hidroksiandrost-4-en-3,16-dion	
	15 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion	

Myceliophthora thermophila küfü ile gerçekleştirilen progesteron (1) biyotransformasyonu Tablo 2.24.'de gösterildiği gibi gerçekleşmiştir.

Tablo 2.24. *M. thermophila* ile progesteron (1) biyotransformasyonu

Küf	Ürün	Kaynak
<i>M.yceliophthora thermophila</i>	17 β -Hidroksiandrost-4-en-3-on	[81]
	17 β -Asetoksiandrost-4-en-3-on	
	11 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion (2)	
	11 β -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	3 α ,17 β -Dihidroksi-5 α -Androstan	

Progesteron (1) bileşiminin *Phycomyces blakesleeanus* küfü ile gerçekleştirilen biyotransformasyonunun sonuçları Tablo 2.25.'de gösterilmiştir.

Tablo 2.25. *P. blakesleeanus* ile progesteron (1) biyotransformasyonu

Küf	Ürün	Kaynak
<i>Phycomyces blakesleeanus</i>	6 β -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion	[82]
	7 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	14 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	15 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	15 β -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion	

Paecilomyces lilacinus küfü ile gerçekleştirilen progesteron (1) biyotransformasyonu Tablo 2.26.'da gösterildiği gibi gerçekleşmiştir.

Tablo 2.26. *P. lilacinus* ile progesteron (1) biyotransformasyonu

Küf	Ürün	Kaynak
<i>Paecilomyces lilacinus</i>	20 β -Hidroksipregn-4-en-3-on	[83]
	17 β -Hidroksiandrost-4-en-3-on	
	17 β -Asetoksiandrost-4-en-3-on	
	Androst-4-en-3,17-dion	
	17 α -okza-D-homo-androst-4-en-3-on	

Colletotrichum antirrhini SC 2144 küfü ile gerçekleştirilen progesteron (1) biyotransformasyonu Tablo 2.27.'de gösterildiği gibi gerçekleşmiştir.

Tablo 2.27. *C. antirrhini* SC 2144 ile progesteron (1) biyotransformasyonu

Küf	Ürün	Kaynak
<i>Colletotrichum antirrhini</i>	Androst-4-en-3,17-dion	[84]
	Androsta-1,4-dien-3,17-dion	
	14 α Hidroksiandrosta-1,4-dien-3,17-dion	
	11 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion (2)	
	14 α Hidroksipregna-1,4-dien-3,20-dion	
	14 α Hidroksiandrost-4-en-3,17-dion	

Progesteron (1) bileşiminin diğer küfler ile gerçekleştirilen biyotransformasyonlarının sonuçları ise Tablo 2.28.'de verilmiştir.

Tablo 2.28. Diğer küfler ile progesteron (1) biyotransformasyonları

Küf	Ürün	Kaynak
<i>Absidia regnieri</i> *	14 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion	[85]
	6 β ,14 α -Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	7 α ,14 α -Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	9 α ,14 α -Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	7 α ,14 α ,15 β -Trihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
<i>Absidia coerulea</i>	7 α ,14 α -Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	[86]
<i>Epicoccum purpurascens</i>	11 α -Hidroksi-5 α -pregnan-3,20-dion	[23]
	11 β -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	21-Hidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	6 β ,11 α -Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	11 α ,21-Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
<i>Trichurus spiralis</i>	Androst-4-en-3,17-dion	[11]
	17 β -Hidroksiandrost-4-en-3-on	
	17 α -okza-D-homo-androst-4-en-3-on	
	Androsta-1,4-dien-3,17-dion	
<i>Cunninghamella echinulata</i>	11 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion (2)	[27]
	17 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion	
	11 α ,17 α -Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
<i>Circinella sp.</i>	9 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion	[87]
	14 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion	
<i>Gymnoascus reesi</i>	3-Karboksi-3,4-seco-4 α -hidroksi-5 α -pregnan-20-on	[27]
	3-Karboksi-4-okzo3,4-seko-5 α -pregnan-20-on	
<i>Rhizomucor tauricus</i>	6 β -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion	[88]
	6 β ,11 α -Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
<i>Syncephalastrum racemosum</i>	7 α ,15 β -Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	[89]
	7 α ,14 α ,15 β -Trihidroksipregn-4-en-3,20-dion	
<i>Exophiala jeanselmei</i>	5 α -Pregnan-3,20-dion (5)	[90]
	3 β -Hidroksi-5 α -pregnan-20-on	
<i>Ceratocystis paradoxa</i>	5 α -Pregnan-3,20-dion (5)	
	3 β -Hidroksi-5 α -pregnan-20-on	
<i>Whetzelinia sclerotiorum</i>	2 β -Hidroksipregn-4-en-3,15,20-trion	[54]
	2 β ,15 β -Dihidroksipreg-4-en-3,20-dion	
<i>Phanerochaete chrysosporum</i>	6 β -Hidroksipreg-4-en-3,20-dion	
	14 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion	
<i>Thamnostylum piriforme</i>	14 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion	[55]
	9 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion	
<i>Chaetomium sp. KCH 6651</i>	6 β ,14 α -Dihidroksipregn-4-en-3,20-dion	[91]
<i>Beauveria bassiana</i>	11 α -Hidroksiandrost-4-en-3,17-dion	[92]
<i>Wojnowicia graminis</i>	21-Hidroksipregn-4-en-3,20-dion	[93]
<i>Nigrospora sphaerica</i>	11 α -Hidroksipregna-4,6-dien-3,20-dion	[56]
<i>Botryodiplodia theobromae</i>	Pregna-4,6-dien-3,20-dion	
<i>Cylindrocarpon radicola</i>	17 α -okza-D-homo-androsta-1,4-dien-3-on	[37]
<i>Mortieralla isobellina</i>	14 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion	[94]
<i>Syncephalastrum racemosum</i>	6 β -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion	[95]
<i>Emericella nidulans</i>	11 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion (2)	[14]

* Bazı metabolitlerin yapısı aydınlatılamamıştır

2.3. Çalışmanın Amacı

Steroidler mikroorganizmalar ile özellikle de küfler tarafından dönüştürülebilen önemli doğal bileşiklerdir [1,4]. Küfler ile steroid biyotransformasyonları için en sık kullanılan türlerin birçoğu *Aspergillus* ve *Penicillium* cinslerine aittir. *Aspergillus* ve *Penicillium* gibi bazı küf cinslerine ait türler sahip oldukları etkin enzim sistemleri [1] sayesinde dünyanın neredeyse her yerinde yaşayabilen canlılardır [1, 4]. Mikrobiyal biyotransformasyonlar aslında ksenobiyotiklerin bu ve diğer cinslere ait mikroorganizmalar tarafından değiştirilmesi esasına dayanmaktadır [1].

Bu çalışmanın amacı progesteron (1) bileşiğinin *Penicillium digitatum* MRC 500787 ve *Aspergillus wentii* MRC 200316 küflerinde nasıl metabolize edileceğinin incelenmesidir.

BÖLÜM 3. MATERYAL VE METOT

3.1. Kullanılan Cihazlar ve Sarf Malzemeler

Biyotransformasyon çalışmalarında kullanılan besiyeri ve cam malzemelerin sterilizasyonu 121 °C'de 20 dakika süre ile Nüve OT 020 marka otoklav ile gerçekleştirildi. Küflerin geliştirilmesi ve biyotransformasyon çalışmaları için Gerhardt THO 500 Laboshake Çalkalamalı İnkübatör kullanıldı. Infrared spektrumları, Shimadzu IR Prestige-21 spektrometre cihazı ile alındı. ¹H NMR spektrumları tetrametilsilan standart iç sinyal olarak kullanılarak, 300 MHz'de döterokloroform içerisinde ve Varian Mercury 300 NMR spektrometresi kullanılarak alındı. ¹³C NMR spektrumları, aynı cihaz kullanılarak 75 MHz'de döterokloroform içerisinde alındı. Steroidleri ayırmak için adsorban olarak Merck kalite silika jel 60 (230-400 mesh) içeren Kolon kromatografisi gerçekleştirildi ve bu bileşikler hekzan içerisinde artan etil asetat konsantrasyonları elüent olarak kullanılarak kolondan ayrıldı. Biyotransformasyon deneyinin sonucu ve kolon kromatografi çalışmalarının 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 daldırıldıktan sonra 120 °C'de 3 dakika ısıtıldıktan sonra görünür hale getirildi. Erime noktaları Elektrothermal IA 9200 erime noktası tayin cihazı ile tespit edildi.

Aspergillus wentii MRC 200316 ve *Penicillium digitatum* MRC 500787 küfleri TÜBİTAK, Marmara Araştırma Merkezi Gıda Teknoloji ve Araştırma Enstitüsü'nden yatık agar besiyerilerindeki stok kültürleri olarak temin edildi. Stok kültürler PDA içeren yatık agar besiyerlerinde ve 4 °C'de muhafaza edildi. progesteron (1) bileşiği Fluka şirketinden satın alındı. Tüm solventler, yatık agar

besiyerleri için kullanılan PDA ve küf besiyerleri için hazırlanan kimyasallar Merk şirketinden temin edildi.

3.2. Taze Yatık Agar Kültürlerin Hazırlanması

PDA (5,85 g) ve agar (1,35 g) karışımı saf su ile 150 mL'ye tamamlandıktan sonra kaynatılarak besi yeri hazırlandı. Hazırlanan besiyeri soğumadan 15 adet 22 mL'lik Universal marka patolojik cam şişelerin yarısına kadar ilave edildi ve otoklav içerisinde 121 °C'de 20 dakika sterilize edildi. Sterilizasyondan sonra şişeler içerisinde erimiş haldeki besi yerleri, donmadan önce 45°'ye yakın bir eğim oluşturacak şekilde soğumaya bırakılmak suretiyle yatık agar besi yerleri elde edildi.

Stok fungal kültürdeki küflerin bir kısmı yatık agar besiyerlerinin 3 tanesine steril şartlarda aktarıldı ve oda sıcaklığında 15 gün süresince çoğalmaya bırakıldı. Bu şekilde hazırlanan yeni yatık agar kültürlerinin en gelişmişindeki küfler 15 günde bir 3 yeni yatık agar besiyerine steril şartlarda aktarıldı. Bu aktarma işlemi 2 kez tekrarlandıktan sonra elde edilen en taze ve en gelişmiş yatık agar kültüründeki küfler biyotransformasyon çalışmasında kullanıldı.

3.3. Substratın Bazı Küfler ile Biyotransformasyonları

3.3.1. Substratın *Aspergillus wentii* ile biyotransformasyonu

Aspergillus wentii besiyerinin hazırlanması için kullanılan kimyasal maddelerin listesi ve bir litre çözelti içinde bulunan miktarları Tablo 3.1'de verilmiştir [96].

Tablo 3.1. *A. wentii* küfüne ait besiyeri çözeltisinin bileşenleri

Bileşenler	Miktar
Sukroz	15 g
Glukoz	15 g
Polipepton	5 g
KH ₂ PO ₄	1 g
KCl	0,5 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,5 g
FeSO ₄ .7H ₂ O	10 mg

Tablo 3.1.'ye göre hazırlanan ve pH'sı 7,2'ye ayarlanan 1 L besiyeri 10 adet 250 mL erlene paylaştırıldıktan sonra otoklavda sterilize edildi. Daha önce hazırlanan en taze alt kültürdeki küf erlenlerden her birine steril şartlar altında nakledildi. Bu erlenler yeterli miktarda küf oluşabilmesi için 2 gün boyunca 27°C'de çalkalamalı inkübatörde (150 rpm) inkübasyona bırakıldı.

Progesteron (1) (500 mg) DMF (10 mL) içerisinde çözünerek yeterli miktarda küf içeren erlenlere eşit hacimlerde, steril koşullar altında ilave edildikten sonra 5 gün süresince 27 °C' de çalkalamalı inkübatörde inkübasyona bırakıldı.

İnkübasyon işlemi tamamlandıktan sonra, besiyeri bir Buchner hunisi yardımıyla filtrasyon işlemine tabi tutuldu ve besi yeri küf kültürüne ait misellerden süzülerek ayrıldı. Buchner hunisinde kalan miseller etil asetat (500 mL) kullanılarak yıkandı. Filtrat sodyum klorüre doyunlaştırıldıktan sonra her seferinde 1 L etil asetat kullanılarak 3 ayrı ekstraksiyona maruz bırakıldı. Daha sonra toplanan ekstraktlara susuz sodyum sülfat katılarak ortamda bulunabilecek su uzaklaştırıldı. Etil asetat evaporatörde uzaklaştırıldıktan sonra yağimsı bir madde (705 mg) elde edildi.

Yağimsı madde daha sonra silika jel 60 üzerinde kolon kromatografisine tabi tutuldu. Kolondan %50'lik çözen sistemiyle elüsyon neticesinde sadece bir bileşik elde edildi.

3.3.2. Substratın *Penicillium digitatum* ile biyotransformasyonu

Penicillium digitatum besiyerinin hazırlanması için kullanılan kimyasal maddelerin listesi ve bir litre çözelti içinde bulunan miktarları Tablo 3.2'de verilmiştir [97].

Tablo 3.2. *P. digitatum* küfüne ait besiyeri çözeltisinin bileşenleri

Bileşenler	Miktar
Malt ekstrakt	20 g
Glukoz	10 g
Bakteriyolojik pepton	10 g
Maya ekstraktı	3 g

Hazırlanan 1 L besiyeri 10 adet 250 mL erlene paylaştırıldıktan sonra otoklavda sterilize edildi. Daha önce hazırlanan en taze alt kültürdeki küf erlenlerden herbirine steril şartlar altında nakledildi. Bu erlenler yeterli miktarda küf oluşabilmesi için 2 gün boyunca 24°C’de çalkalamalı inkübatörde (150 rpm) inkübasyona bırakıldı.

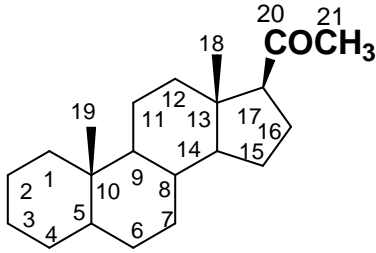
Progesteron (1) (500 mg) DMF (10 mL) içerisinde çözünerek yeterli miktarda küf içeren erlenlere eşit hacimlerde, steril koşullar altında ilave edildikten sonra 5 gün süresince 24°C’de çalkalamalı inkübatörde inkübasyona bırakıldı.

İnkübasyon işlemi tamamlandıktan sonra, besiyeri bir Buchner hunisi yardımıyla filtrasyon işlemine tabi tutuldu ve besiyeri küf kültürüne ait misellerden süzülerek ayrıldı. Buchner hunisinde kalan miseller etil asetat (500 mL) kullanılarak yıkandı. Filtrat her seferinde 1 L etil asetat kullanılarak 3 ayrı ekstraksiyona maruz bırakıldı. Daha sonra toplanan ekstraktlara susuz sodyum sülfat katılarak ortamda bulunabilecek su uzaklaştırıldı. Etil asetat evaporatörde uzaklaştırıldıktan sonra yağimsı bir madde (687 mg) elde edildi.

Yağimsı madde daha sonra silika jel 60 üzerinde kolon kromatografisine tabi tutuldu. Kolon kromatografisi kolonunda çözgen sistemi olarak hekzan içerisinde artan oranlarda etil asetat kullanıldı. Kolondan %15’lik çözgen sistemiyle elüsyon neticesinde bir bileşik elde edildi. %20’lik çözgen sistemiyle elüsyon neticesinde ise kolondan başlangıç maddesi ile aynı polariteye sahip olan bir bileşik elde edildi.

BÖLÜM 4. DENEYSEL BULGULAR

Progesteron (**1**) bileşiğinin *Aspergillus wentii* MRC 200316 ve *Penicillium digitatum* MRC 500787 küfleri ile biyotransformasyonlarından elde edilen bileşiklerin yapılarını belirlemek için hem başlangıç maddesinin hem de elde edilen bileşiklerin ¹H NMR, ¹³C NMR, IR spektrumları alındı ve erime noktaları tayin edildi. Bileşiklere ait ¹H NMR ve ¹³C NMR spektrumları Ekler Bölümünde verildi. Biyotransformasyonları gerçekleştirilen başlangıç maddesine ait karbon iskeletinin numaralandırılması Şekil 4.1'deki gibidir.



Şekil 4.1. Substrat karbon iskeletinin numaralandırılması

Progesteron (**1**) (500 mg) bileşiğinin *A. wentii* küfü ile 27 °C'de 5 gün süren inkübasyonu neticesinde sadece 11 α -hidroksipregn-4-en-3,20-dion (**2**) (457 mg, % 87) bileşiği elde edildi.

11 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion (**2**)

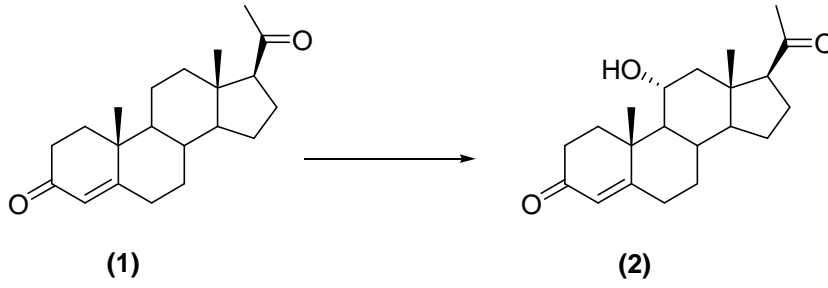
Etil asetatın iğneler şeklinde kristaller.

e. n.: 170-172 °C, (lit. [79] e. n.: 166-168 °C).

IR: 3450, 1706, 1670, 1610.

¹H NMR: 0,65 (3H, s, 18-H); 1,28 (3H, s, 19-H); 2,10 (3H, s, 21-H); 3,98 (1H, td, *J* = 5 ve 10 Hz, 11 β -H); 5,69 (1H, bs, 4-H).

¹³C NMR: 209,02; 200,49; 171,47; 124,27; 68,54; 62,98; 58,67; 55,16; 50,09; 44,00; 39,81; 37,26; 34,77; 34,03; 33,48; 31,37; 31,28, 24,08; 22,73; 18,12; 14,36.



Şekil 4.2. Substratın *A. wentii* ile biyotransformasyonu

Progesteron (1) (500 mg) bileşiğinin *Penicillium digitatum* ile 24 °C'de 5 gün süren inkübasyonu neticesinde 5 α -pregnan-3,20-dion (5) (62 mg, 12,3%) ve değişmeyen başlangıç maddesi (280 mg) elde edildi. Elde edilen başlangıç maddesinin yapısı ^1H ve ^{13}C NMR spektrumlarının progesteron (1) bileşiğinin ^1H ve ^{13}C NMR spektrumlarının karşılaştırılmasıyla anlaşıldı.

5 α -Pregnan-3,20-dion (5)

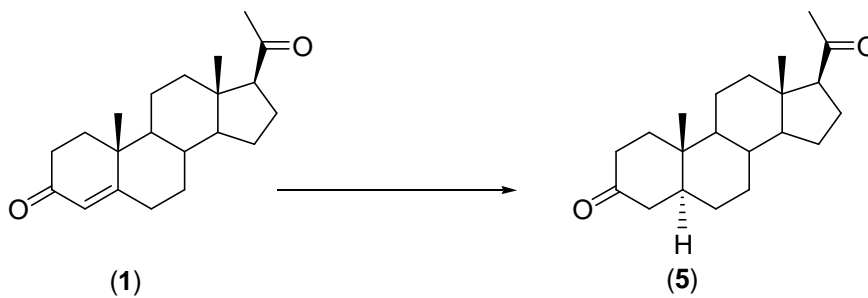
Etil asetatın iğneler şeklinde kristaller.

e. n.: 199-200 °C, (lit. [90] e. n.: 198-201 °C).

IR: 1728, 1710.

^1H NMR: 0,60 (3H, s, 18-H); 0,98 (3H, s, 19-H); 2,09 (3H, s, 21-H).

^{13}C NMR: 211,83; 209,46; 63,62; 56,34; 53,53; 46,54; 44,54; 44,08; 38,81; 38,43; 38,03; 35,57; 35,25; 31,53; 31,44; 28,71; 24,31; 22,70; 21,33; 13,35; 11,36.



Şekil 4.3. Substratın *P. digitatum* ile biyotransformasyonu

BÖLÜM 5. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Biyotransformasyon çalışmaları sonucunda elde edilen yeni bileşiklerin yapılarını tayin amacıyla progesteron (**1**) ile biyotransformasyonlardan elde edilen bileşiklerin ^1H NMR, ^{13}C NMR, IR spektrumları alındı ve erime noktalarının tayini yapıldı.

Progesteron (**1**) bileşiğinin *A. wentii* ile inkübasyonundan da tek metabolit elde edildi. Metabolitin ^1H NMR spektrumunda başlangıç maddesinin 4-H rezonansı δ_{H} 5,69 ppm'de (1H, bs) gözlemlendi. Metabolitin ^1H NMR spektrumu başlangıç maddesindeki 19-metil grubu için yukarı alana doğru bir kayma (Δ 0,08 ppm) gösterdi. Metabolitin δ_{H} 3,98 ppm (1H, td, $J = 5$ ve 10 Hz) [98] ve δ_{C} 68,54 ppm [99] değerlerindeki karakteristik rezonanslar bir 11 α -hidroksil grubunun varlığını gösterdi. Metabolitin ^{13}C NMR spektrumunda başlangıç maddesinin C-9 ve C-12 karbon atomları için aşağı alana doğru kaymalar gözlenirken (C-9 için Δ 5,29 ppm ve C-12 için Δ 11,69 ppm) C-8 karbon atomu için ise yukarı alana doğru bir γ -gauche kayması (Δ 0,51 ppm) gözlemlendi. Bu kaymalar C-11'de bir hidroksilasyonun gerçekleştiği daha da doğruladı. Metabolit ^{13}C NMR spektrumu değerlerinin literatür değerleri [81] ile karşılaştırılması neticesinde 11 α -hidroksipregn-4-en-3,20-dion (**2**) olduğu anlaşıldı.

Progesteron (**1**) bileşiğinin *Penicilium digitatum* ile inkübasyonu sonucunda tek metabolit elde edildi. Metabolitin ^1H NMR spektrumu başlangıç maddesinin δ_{H} 5,68 ppm'de gözlenen 4-H rezonansını (1H, bs) göstermedi. Metabolitin başlangıç maddesindeki 19-metil grubuna ait δ_{H} 1,20 ppm ve δ_{C} 17,13 ppm'de gözlenen rezonansları yukarı alana doğru kayma gösterdi (sırası ile Δ 0,22 ppm ve Δ 5,77 ppm). Metabolit ^{13}C NMR spektrumunda progesteron (**1**) bileşiğinin olefinik karbon atomları gözlenmedi. Bu sonuçlar A halkasındaki çift bağın indirgenmediğini düşündürdü. Metabolit ^{13}C NMR spektrumu değerlerinin literatür değerleri [99] ile

karşılaştırılması neticesinde A halkasındaki çift bağıın α yüzünden indirgendiğini ve bileşiğin 5 α -pregnan-3,20-dion (**5**) olduğu anlaşıldı.

Tablo 5.1. Bileşik ¹H NMR spektrumlarının karşılaştırılması

Bileşik	4-H	18-CH ₃	19-CH ₃	21-CH ₃	11 β -H
1	5,68 (bs)	0,67	1,20	2,13	-
2	5,69 (bs)	0,65	1,28	2,10	3,98 (td, J=5 ve 10 Hz)
5	*	0,60	0,98	2,09	-

*4 numaralı C atomu 2 geminal hidrojen atomu taşımaktadır

Aspergillus wentii ve *Penicillium digitatum* küfleri ilk defa steroid biyotransformasyonları için kullanıldı. *A. wentii* progesteronu (**1**) *Aspergillus ochraceus* [8, 15, 18] ve *Rhizopus nigricans* [44] küflerindeki gibi yüksek bir verim(%87) ile 11 α -hidroksipregn-4-en-3,20-dion (**2**) bileşiğine çevirdi. *A. wentii* ile progesteron (**1**) inkübasyonunun verimi daha da artırılarak *Rhizopus nigricans* ve *Aspergillus ochraceus* küfleri gibi antiinflamatuvar (iltihap giderici) özellikleri olan kortikosteroidlerin ticari olarak sentezinde kullanılabilir [1, 3-4].

P. digitatum küfü diğer birçok küfte olduğu gibi olduğu gibi progesteron (**1**) üzerinde 5 α -redüktaz aktivitesi sonucunda sadece α -yüzünden gerçekleşen mikrobiyal hidrojenasyonlar gösterdi [23, 25, 30-31, 36, 38-39, 57-58, 60, 75, 90]. *P. digitatum* ile inkübasyondan elde edilen 5 α -pregnan-3,20-dion (**5**) bileşiğini tek başına daha önce sadece *Penicillium decumbens* ile gerçekleştirilen progesteron (**1**) inkübasyonu vermiştir [36].

Çalışmada kullanılan steroidlerin aynı küfler ile inkübasyonlarından daha yüksek verimler elde etmek için inkübasyon sıcaklığı, besiyeri bileşenleri, inkübasyon süresi gibi parametrelerin değiştirilmesine yönelik çabalar gelecek çalışmalarımız kapsamındadır. Ayrıca çalışmada kullanılan steroidler ve diğer bazı steroidlerin benzer çalışmalar için kullanılmamış diğer bazı küfler ile daha önemli sonuçlar ve daha yüksek verimli inkübasyonlarını gerçekleştirmeye yönelik araştırmalarımız sürmektedir.

Table 5.2. Bileşik ¹³C NMR spektrumlarının karşılaştırılması

Karbon atomu	Bileşik		
	1	2	5
1	35,46	37,26	38,43
2	33,72	34,03	38,03
3	199,8	200,49	211,83
4	123,66	124,27	44,54
5	170,80	171,47	46,54
6	32,55	33,48	28,71
7	31,65	31,37	31,53
8	35,28	34,77	35,25
9	53,38	58,67	53,53
10	38,34	39,81	35,57
11	20,78	68,54	21,33
12	38,40	50,09	38,81
13	43,68	44,00	44,08
14	55,76	55,16	56,34
15	24,13	24,08	24,31
16	22,57	22,73	22,70
17	63,23	62,98	63,62
18	13,11	14,36	13,35
19	17,13	18,12	11,36
20	209,08	209,02	209,46
21	31,29	31,28	31,44

KAYNAKLAR

- [1] HANSON, J.R., An Introduction to Biotransformations in Organic Chemistry, W.H. Freeman Spektrum, 1-62, New York, 1995.
- [2] ARNOLD, L., Small Bugs, Big Business: The Economic Power of the Microbe, Biotechnology Advances, 18, 499-514, 2000.
- [3] PETERSON, D. H., MURRAY, H. C., Microbial Oxygenation of Steroids at Carbon 11, Journal of the American. Chemical Society, 74, 1871-1872, 1952.
- [4] FERNANDES, P., CRUZ, A., ANGELOV, B., PINHEIRO, H. M., CABRAL, J. M. S., Microbial Conversion of Steroids Compounds: Recent Developments, Enzyme and Microbial Technology, 32, 688-705, 2003.
- [5] KEHA, E., KÜFREVİOĞLU, Ö. İ., Biyokimya, Dördüncü baskı, Aktif Yayınevi, 185-188, Erzurum, 2005.
- [6] ONAT, T., EMERK, K., SÖZMEN, E.Y., İnsan Biyokimyası, Palme Yayıncılık, 481-495, Ankara, 2002.
- [7] DUTTA, T. K., DATTA, J., SAMANTA, T. B., Onset of New Catalytic Activity in Immobilized Spores of *Aspergillus ochraceus* TS in situ Germination C17-C20 Lysis Accompanies 11 α -Hydroxylation of Steroid, Biochemical and Biophysical Research Communications, 192, 119-123, 1993.
- [8] SAMANTA, T. B., ROY, N., CHATTOPADHYAY, S., An Improved 11 α -Hydroxylation of Progesterone by *Aspergillus ochraceus* TS, Biochemical Journal, 176, 593-594, 1978.
- [9] GHOSH, D., SAMANTA, T. B., 11 α -Hydroxylation of Progesterone by Cell Free Preparation of *Aspergillus ochraceus* TS, Journal of Steroid Biochemistry, 14, 1063-1067, 1981.
- [10] DUTTA, T. K., SAMANTA, T. B., Novel Catalytic Activity of Immobilized Spores Under Reduced Water Activity, Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters, 7, 629-632, 1997.

- [11] MAHATO, S. B., BANERJEE, S., PODDER, S., Steroid Transformations by Microorganisms-III, *Phytochemistry*, 28, 7-40, 1989.
- [12] BIHARI, V., GOSWAMI, P. P., RIVZI, S. H. M., KHAN, A. W., BASU, S. K., VORA, V. C., Studies on Immobilized Fungal Spores for Microbial Transformation of Steroids: 11 α -Hydroxylation of Progesterone with Immobilized Spores of *Aspergillus ochraceus* G8 on Polyacrylamide Gel and Other Matrices, *Biotechnology and Bioengineering*, 26, 1403-1408, 1984.
- [13] MAHATO, S. B., BANERJEE, S., Steroid Transformations by Microorganisms-II, *Phytochemistry*, 24, 1403-1421, 1985.
- [14] ISMAIL, M. A., ZOHRI, A. A., Confirmation of the Relationships of *Aspergillus egyptiacus* and *Emericella nidulans* Using Progesterone Transformation, *Letters in Applied Microbiology*, 18, 130-131, 1994.
- [15] SOMAL, P., CHOPRA, C. L., Microbial Conversion of Steroids III: 11 α -Hydroxylation by Fungal Mycelium, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 21, 267-269, 1985.
- [16] MAHATO, S. B., MAJUMDAR, I., Current Trends in Microbial Steroid Biotransformation, *Phytochemistry*, 34, 883-898, 1993.
- [17] CEEN, E. G., HERRMANN, J. P. R., DUNNILL, P., Solvent Damage during Free Cell Catalysis and its Avoidance: Studies of 11 α -Hydroxylation of Progesterone by *Aspergillus ochraceus*, *Journal of Steroid Biochemistry*, 9, 365-368, 1987.
- [18] WEAVER, E. A., KENNEY, H. E., WALL, M. E., Effect of Concentration on the Microbiological Hydroxylation of Progesterone, *Applied Microbiology*, 8, 345-348, 1960.
- [19] BIHARI, V., JOSHI, A. K., KHAN, A. W., BASU, S. K., Biochemical Engineering Studies for Steroid Transformations - 11 α -Hydroxylation of Progesterone Using *Aspergillus ochraceus*, *Journal of Microbial Biotechnology*, 3, 45-50, 1988.
- [20] HOUNG, J.-Y., CHIANG, W.-P., CHEN, K.-C., TIU, C., 11 α -Hydroxylation of Progesterone in Biphasic Media Using Alginate-Entrapped *Aspergillus ochraceus* Gel Beads Coated with Polyurea, *Enzyme and Microbial Technology*, 16, 485-491, 1994.
- [21] CHEN, K.-C., YIN, W.-S., TIU, C., HOUNG, J.-Y., 11 α -Hydroxylation of Progesterone Using Modified Alginate-Immobilized Cells, *Enzyme and Microbial Technology*, 16, 551-555, 1994.

- [22] BROAD, D. F. , FOULKES, J., DUNNILL, P., The Uptake of *Aspergillus ochraceus* Spores on Diatomaceous Particles and Their Use in the 11 α -Hydroxylation of Progesterone, *Biotechnology Letters*, 6, 357-362, 1984.
- [23] EL-REFAI, A. M. H., SALLAM, L. A. R., EL-KADY, I., Microbiological Transformations of Progesterone, *Journal of General and Applied Microbiology*, 15, 301–307, 1969.
- [24] KIM, M.N., ERGAN, F., DHULSTER, P., ATRAT, P., GELLF, G., THOMAS, D., Steroid Modification with Immobilized Mycelium of *Aspergillus phoenicis*, *Biotechnology Letters*, 4, 233-238, 1982.
- [25] SALLAM, L., EL-REFAI, A-M., EL-KADY, I., Transformation of Progesterone by *Aspergillus niger* 100 and *Rhizopus nigricans* REF ,129, *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, 43, 1239–1242, 1970.
- [26] EL-KADY, I . A., 6 β -Hydroxylation of Steroids by Extracts of *Aspergillus niger*, *Journal of General Microbiology*, 128, 2511-2514, 1982.
- [27] MAHATO, S. B., MUKHERJEE, A., Steroid Transformations by Microorganisms, *Phytochemistry*, 23, 2131–2154, 1984.
- [28] KULKARNI, A. G., LELE, S. S., KULKARNI, P. R., Improved Adsorption of *Aspergillus niger* 589 Spores on High-Density Polyethylene for Progesterone Biotransformation, *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 86, 510-512, 1998.
- [29] SMITH, K. E., AHMED, F., WILLIAMS, R. A. D., KELLY, L. K., Microbial Transformations of Steroids-VIII. Transformation of Progesterone by Whole Cells and Microsomes of *Aspergillus fumigatus*, *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 49, 93-100, 1994
- [30] MUKHERJEE, A., BANERJEE, S., MAHATO, S. B., Metabolism of Progesterone by *Aspergillus fumigatus*, *Journal Steroid Biochemistry*, 17, 443-446, 1982.
- [31] MOSTAFA, M. E., ZOHRI, A. A., Progesterone Side-Chain Degradation by Some Species of *Aspergillus flavus* Group, *Folia Microbiologica*, 45, 243-247, 2000.
- [32] BRANNON, D. R., MARTIN, J., OEHLISCHLAGER A. C., DURHAM, N. N., ZALKOW, L. H., Transformation of Progesterone and Related Steroids by *Aspergillus tamarii*, *Journal of Organic Chemistry*, 30, 760-762, 1965.
- [33] VIOLA, F., CAPUTO, O., BALLIANO, G., DELPRINO, L., CATTEL, L., Side Chain Degradation and Microbial Reduction of Different Steroids by *Aspergillus aureogulgens*, *Journal of Steroid Biochemistry*, 19, 1451-1458, 1983.

- [34] KOŁEK, T., SZPINETER, A., ŚWIZDOR, A., Studies on Baeyer–Villiger Oxidation of Steroids: DHEA and Pregnenolone D-Lactonization Pathways in *Penicillium camemberti* AM83, *Steroids*, 74, 859-862, 2009.
- [35] LIU, H.- M., LI, H., SHAN, L., WU, J., Synthesis of Steroidal Lactone by *Penicillium citreo-viride*, *Steroids*, 71, 931-934, 2006.
- [36] HOLLAND, H. L., NGUYEN, D. H., PEARSON, N. M., Biotransformation of Corticosteroids by *Penicillium decumbens* ATCC 10436, *Steroids*, 60, 646–649, 1995.
- [37] FRIED, J., THOMA, R. W., KLINGSBERG, A., Oxidation of Steroids by Microorganisms. III. Side Chain Degradation, Ring D-Cleavage and Dehydrogenation in Ring A, *Journal of the American Chemical Society*, 75, 5764–5765, 1953.
- [38] EL-REFAI, A.- M. H., SALLAM, L., EL-KADY, I., Transformation of Progesterone by *Rhizopus nigricans* REF 129 as Influenced by Modification of the Fermentation Medium, *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, 43, 2878–2884, 1970.
- [39] MAHATO, S. B., GARAI, S., Advances in Microbial Steroid Biotransformation, *Steroids*, 62, 332–345, 1997.
- [40] POKORNÁ, J., KASAL, A., Progesterone Side-Chain Degradation beside Hydroxylation with *Rhizopus nigricans* Depends on the Presence of Nutrients, *Journal of Steroid Biochemistry*, 35, 155-156, 1990.
- [41] ŽNIDARŠIČ, P., KOMEL, R. PAVKO, A., Studies of a Pelleted Growth Form of *Rhizopus nigricans* as a Biocatalyst for Progesterone 11 α -Hydroxylation, *Journal of Biotechnology*, 60, 207-216, 1998.
- [42] ROGLIČ, U., ŽNIDARŠIČ-PLAZL, P., PLAZL, I., The Influence of β -Cyclodextrin on the Kinetics of Progesterone Transformation by *Rhizopus nigricans*, *Biocatalysis and Biotransformation*, 23, 299-305, 2005.
- [43] ROGLIČ, U., PLAZL, I., ŽNIDARŠIČ-PLAZL, P., Batch and Continuous Transformation of Progesterone by *Rhizopus nigricans* Pellets in the Presence of β -Cyclodextrin, *Biocatalysis and Biotransformation*, 25, 16-23, 2007.
- [44] HANISCH, W. H., DUNNILL, P., LILLY, M. D., Optimisation of the Production of Progesterone 11 α -Hydroxylase by *Rhizopus nigricans*, *Biotechnology and Bioengineering*, 22, 555-570, 1980.
- [45] MORRIN, M., WARD, O. P., Biotransformation of Progesterone to 11 α - Hydroxyprogesterone by Different Morphological Forms of *Rhizopus arrhizus*, *Biotechnology Letters*, 11, 319-324, 1989.

- [46] SONOMOTO, K., NOMURA, K., TANAKA, A., FUKUI, S., 11 α -Hydroxylation of Progesterone by Gel-Entrapped Living *Rhizopus stolonifer* Mycelia, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 16, 57-62, 1982.
- [47] HOLLAND, H. L., RIEMLAND, E., Microbial Hydroxylation of Steroids. 10. Rearrangement during Epoxidation and Hydroxylation, and the Stepwise Nature of these Enzymic Reactions, *Canadian Journal of Chemistry*, 63, 1121-1126, 1985.
- [48] MADDOX, I. S., DUNNILL, P., LILLY., M. D., Use of Immobilized Cells of *Rhizopus nigricans* for the 11 α -Hydroxylation of Progesterone, *Biotechnology and Bioengineering*, 23, 345-354, 1981.
- [49] KOŁEK, T., ŠWIZDOR, A., Biotransformation XLV. Transformations of 4-ene-3-oxo Steroids in *Fusarium culmorum* Culture, *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 67, 63-69, 1998.
- [50] POLI, A., DI PETRO, A., ZIGON, D., LENASI, H., Possible Involvement of G-Proteins and cAMP in the Induction of Progesterone Hydroxylating Enzyme System in the Vascular Wilt Fungus *Fusarium oxysporum*, *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 113, 241-247, 2009.
- [51] BELIČ, I., PERTOT, E., SOČIČ, H., SUHADOLC, T., Transformation of Progesterone by *Fusarium argillaceum*, *Journal of Steroid Biochemistry*, 2, 105-110, 1971.
- [52] WILSON, M. R., GALLIMORE, W. A., REESE, P. B., Steroid Transformations with *Fusarium oxysporum* var. *cubense* and *Colletotrichum musae*, *Steroids*, 64, 834-843, 1999.
- [53] GE, W. Z., LI, N., SHAN, L. H., LIU, H. M., Microbial Transformation of 4-ene-3-one Steroids by *Mucor racemosus*, *Wei Sheng Wu Xue Bao*, 47, 540-543, 2007.
- [54] LAMM, A. S., CHEN, A. R. M., REYNOLDS, W. F., REESE, P. B., Steroid Hydroxylation by *Whetzelinia sclerotiorum*, *Phanerochaete chrysosporium* and *Mucor plumbeus*, *Steroids*, 72, 713-722, 2007.
- [55] HU, S. H., GENAIN, G., AZERAD, R., Microbial Transformation of Steroids: Contribution to 14 α -Hydroxylations, *Steroids*, 60, 337-352, 1995.
- [56] SMITH, K. E., LATIF, S., KIRK, D. N., WHITE, K. A., Microbial Transformations of Steroids—IV. 6,7-Dehydrogenation; a New Class of Fungal Steroid Transformation Product, *Journal of Steroid Biochemistry*, 33, 271-276, 1989.

- [57] MADYASTHA, K. M., SRIVATSAN, J., Novel Transformations of Progesterone by a *Mucor* sp., Canadian Journal of Microbiology, 33, 361-365, 1987.
- [58] MADYASTHA, K. M., Novel Microbial Transformations of Steroids, Advances in Experimental Medicine and Biology, 405, 259-270, 1996.
- [59] ANTONIOU, T. N. H., CURRAN, B. P. G., SMITH, K. E., Is mRNA Sequestration Involved in the Regulation of Progesterone 14 α -Hydroxylase Cytochrome P-450 expression in *Mucor hiemalis*, Microbiology, 140, 1633-1640, 1994.
- [60] TEMPLETON, J. F., KUMAR, V. P. S., MARAT, K., KIM, R. S., LABELLA, F. S., COTE, D., New Hydroxylation Products of Progesterone with *Mucor griseocyanus*, Journal of Natural Products, 50, 463-467, 1987.
- [61] EL-KADI, I. A., MOSTAFA, M. E., Hydroxylation of Progesterone by some *Trichoderma* species, Folia Microbiologica, 49, 285-290, 2004.
- [62] MCALEER, W. J., DULANEY, E. L., Transformation of Progesterone to 17 α -Hydroxyprogesterone by *Trichoderma viride* Pers. ex Fries, Archives of Biochemistry and Biophysics, 62, 111-112, 1956.
- [63] BARTMAŃSKA, A., DMOCHOWSKA-GLADYSZ, J., Transformation of Steroids by *Trichoderma hamatum*, Enzyme and Microbial Technology, 40, 1615-1621, 2007.
- [64] ZOHRI, A. A., ABDEL-GALIL, M. S. M., Progesterone Transformations by Three Species of *Humicola*, Folia Microbiologica, 44, 277-282, 1999.
- [65] VITAS, M., PAJIČ, T., KELLY, S. L., KOMEL, R., 11 β -Hydroxysteroid Dehydrogenase Activity in Progesterone Biotransformation by the Filamentous Fungus *Cochliobolus lunatus*, Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology, 63, 345-350, 1997.
- [66] VITAS, M., SMITH, K., ROZMAN, D., KOMEL, R., Progesterone Metabolism by the Filamentous Fungus *Cochliobolus lunatus*, Journal of Steroid Biochemistry, 49, 87-92, 1994.
- [67] ANDRYUSHINA, V. A., DRUZHININA, A. V., YADERETS, V. V., STYTSENKO, T. S., VOISHVILLO, N. E., 7 α -Hydroxylation of Steroid 5-Olefins by Mold Fungi, Applied Biochemistry and Microbiology, 46, 69-74, 2010.
- [68] VUJČIĆ, M., JANKOV, R. M., Microbiologic Transformation of Progesterone by *Curvularia clavata*, Steroids, 55, 17-21, 1990.
- [69] MANOSROI, J., SAOWAKHON, S., MANOSROI, A., Enhancement of 17 α -Hydroxyprogesterone Production from Progesterone by

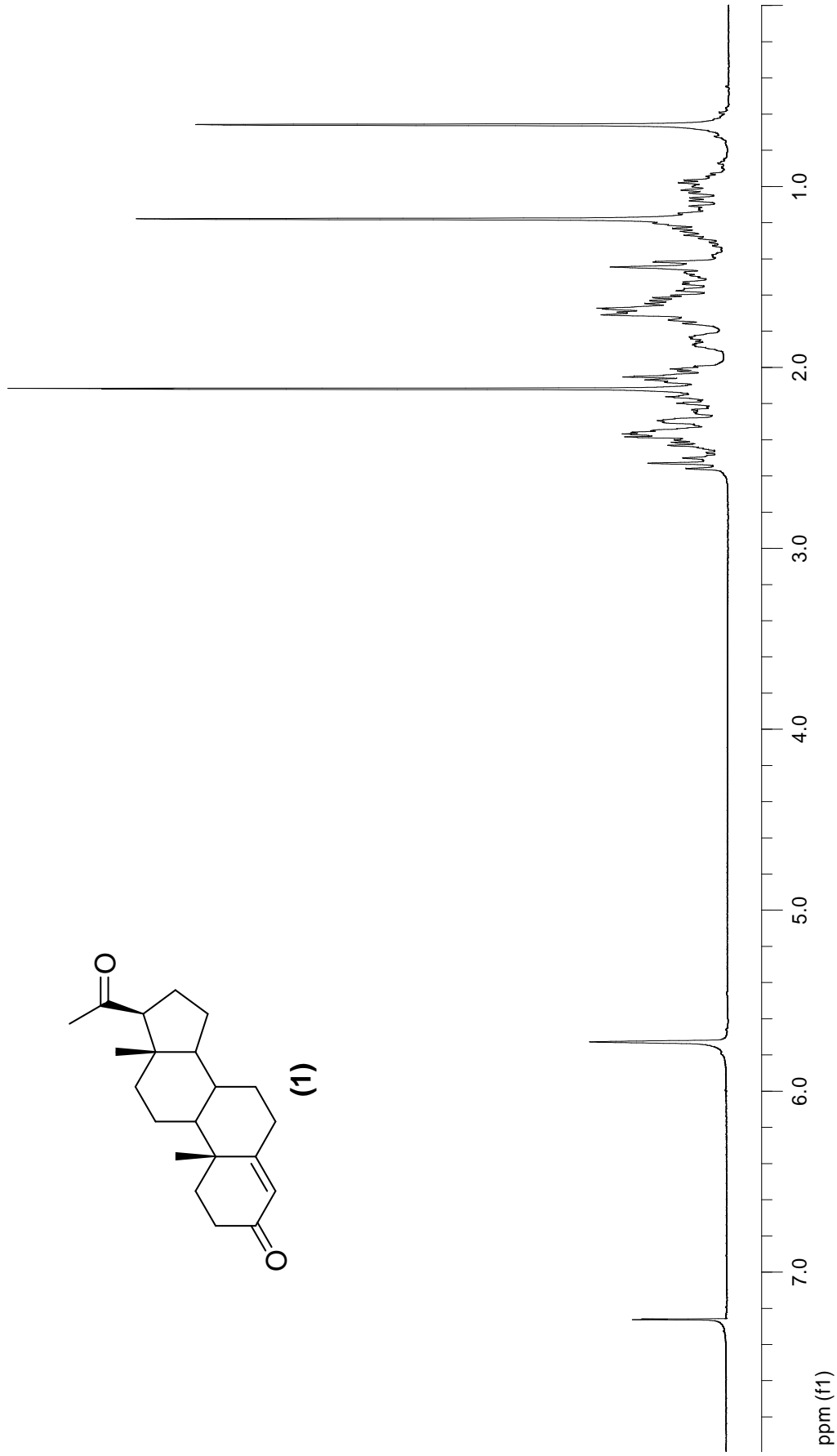
- Biotransformation Using Hydroxypropyl- β -cyclodextrin Complexation Technique, *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 112, 201-204, 2008.
- [70] FARAMARZI, M. A., TABATABAEI, Y. M., AMINI, M., ZARRINI, G., SHAFIEE, A., Microbial Hydroxylation of Progesterone with *Acremonium strictum*, *FEMS Microbiology Letters*, 222, 183-186, 2003.
- [71] YOSHIHAMA, M., NAKAKOSHI, M., TAMURA, K., MIYATA, N., KAWANISHI, G., IIDA, M., Microbial Polyhydroxylation of Progesterone by *Acremonium strictum*, *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 68, 238-242, 1989.
- [72] KHALLIL, A. M., MOSTAFA, E., Microbiological Transformation of Progesterone by Some Zoosporic Fungi, *Journal of Basic Microbiology*, 36, 255-259, 1996.
- [73] NAMBOORI, K., PEREIRA, L., MERCHANT, J. R., Fungal Transformation of Pregnenolone and Progesterone with the Marine Fungus *Cladosporium herbarum*, *Indian Journal of Biochemistry and Biophysics*, 17, 149-152, 1980.
- [74] NAKANO, H., SATO, H., TAMAOKI, B-I., Incorporation of Molecular Oxygen into Testosterone Acetate Directly Derived from Progesterone by *Cladosporium resinae*, *Biochimica et Biophysica Acta*, 164, 585-595, 1968.
- [75] BOMBEEK, L. K., LAPORNIK, A., UKMAR, M., MATIS, M., ČREŠNAR, B., KATALINIĆ, J. P., MARIJA, Ž.-M., Aspects of the Progesterone Response in *Hortaea werneckii*: Steroid Detoxification, Protein Induction and Remodelling of the Cell Wall, *Steroids*, 73, 1465-1474, 2008.
- [76] SMITH, K. E., LATIF, S., KIRK, D. N., Microbial Transformations of Steroids-V. Transformation of Progesterone by Whole Cells and Extracts of *Botryosphaeria obtusa*, *Journal of Steroid Biochemistry*, 33, 927-934, 1989.
- [77] SMITH, K. E., LATIF, S., KIRK, D. N., WHITE, K. A., Microbial Transformations of Steroids—I. Rare Transformations of Progesterone by *Apiocrea chrysosperma*, *Journal of Steroid Biochemistry*, 31, 83-89, 1988.
- [78] AHMED, F., WILLIAMS, R. A. D., SMITH, K. E., Microbial Transformations of Steroids—X. Cytochromes P-450 11 α -Hydroxylase and C17–C20 Lyase and a 1-ene Dehydrogenase Transform Steroids in *Nectria haematococca*, *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 58, 337-349, 1996.
- [79] FAROOQ, A., HANSON, J. R., IQBAL, Z., Hydroxylation of

- Progesterone by *Cephalosporium aphidicola*, *Phytochemistry*, 37, 723-726, 1994.
- [80] SMITH, K. E., WHITE, K. A., KIRK, D. N., Microbial Transformations of Steroids—III. Transformation of Progesterone by *Sepedonium ampullosporium*, *Journal of Steroid Biochemistry*, 33, 81-87, 1989.
- [81] HUNTER A. C., WATTS K. R., DEDI C. DODD H. T., An Unusual Ring-A Opening and Other Reactions in Steroid Transformation by the Thermophilic Fungus *Myceliophthora thermophila*, *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 116, 171-177, 2009.
- [82] SMITH, K. E., LATIF, S., KIRK, D. N., Microbial Transformation of Steroids—II. Transformations of Progesterone, Testosterone and Androstenedione by *Phycomyces blakesleanus*, *Journal of Steroid Biochemistry*, 32, 445-451, 1989.
- [83] VITAS, M., ROZMAN, D., KOMEL, R., KELLY, S. L., Progesterone Side-Chain Cleavage by *Paecilomyces lilacinus*, *Phytochemistry*, 40, 73-76, 1995.
- [84] NJAR, V. C., SHAPIRO, S., ARUNACHALAM, T., CASPI, E., Biotransformation of Progesterone to 14 α -hydroxypregna-1,4-diene-3,20-dione, a Novel Fungal Metabolite, by *Colletotrichum antirrhini*, *Journal of Steroid Biochemistry*, 22, 399-400, 1985.
- [85] TANEBE, K., HAYASHI, R., TAKASAKI, R., SHIRASAKA, M., Steroid Series. II. Microbial Oxidation of Progesterone by *Absidia regnieri*, *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 7, 811-816, 1959.
- [86] BRZEZOWSKA, E., DMOCHOWSKA-GLADYSZ, J., KOLEK, T., Biotransformation XXXIX. Metabolism of Testosterone, Androstenedione, Progesterone and Testosterone Derivatives in *Absidia coerulea* Culture, *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 57, 357-362, 1996.
- [87] VOISHVILLO, N. E., TURUTA, A. M., KAMERNITSKY, A. V., Microorganisms as Reagents for Transformations of 5 α -Steroids, *Russian Chemical Bulletin*, 43, 515-537, 1994.
- [88] HUNTER, A. C., MILLS, P. W., DEDI, C., DODD, H. T., Predominant Allylic Hydroxylation at Carbons 6 and 7 of 4 and 5-ene Functionalized Steroids by the Thermophilic Fungus *Rhizomucor tauricus* IMI23312, *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 108, 155-163 2008.
- [89] ASAI, T., AIDA, K., TANAKA, T., OHKI, E., MATSUHISA, T., TAKEDA, Y., INUI, T., Microbiological Hydroxylation of Steroid IX. Hydroxylation of Steroid by *Syncephalastrum racemosum*, *Journal of*

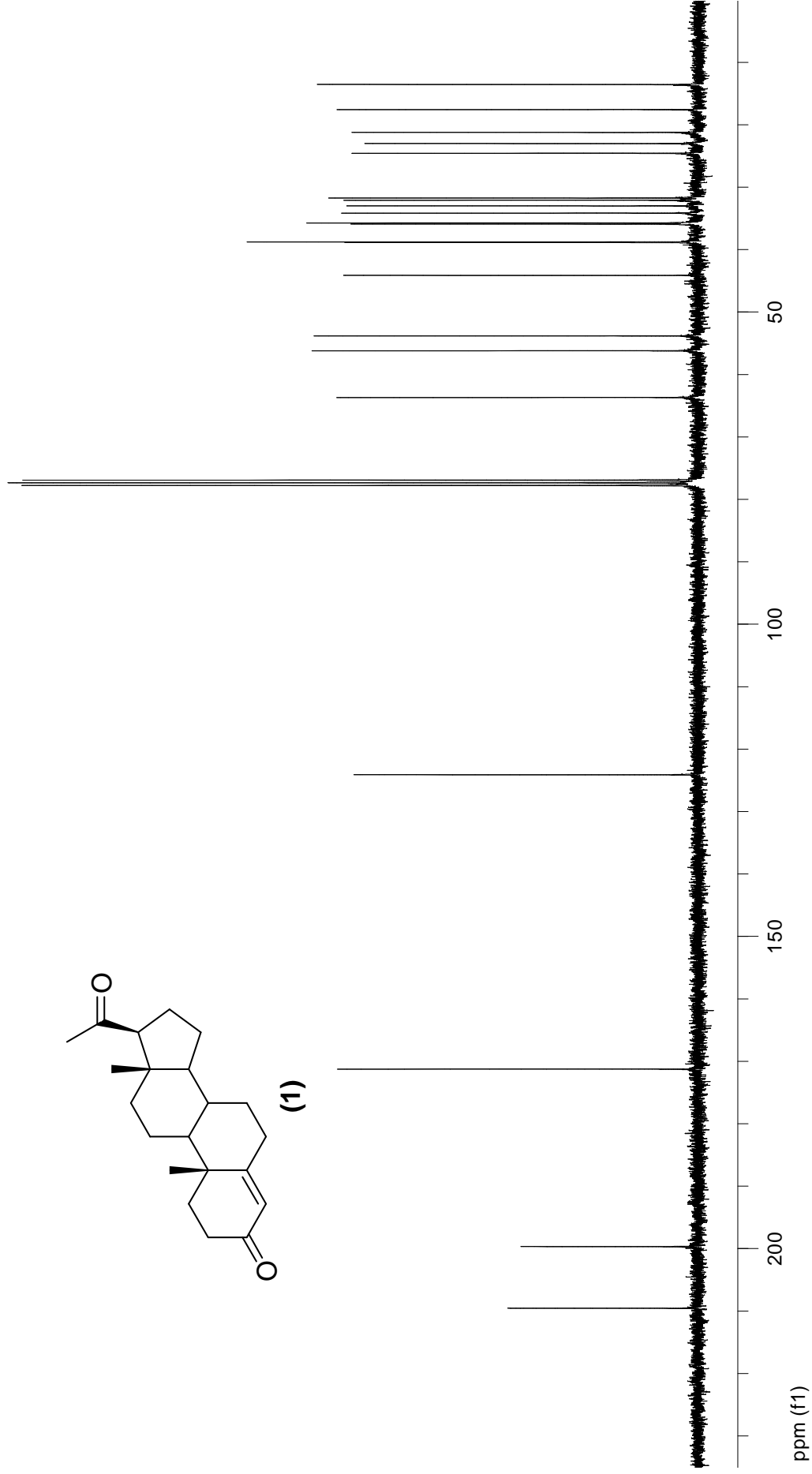
General and Applied Microbiology, 5, 127-137, 1959.

- [90] PORTER, R. B. R., GALLIMORE, W. A., REESE, P. B., Steroid Transformations with *Exophiala jeanselmei* var. *lecanii-corni* and *Ceratocystis paradoxa*, Steroids, 64, 770-779, 1999.
- [91] JANECZKO, T., DMOCHOWSKA-GLADYSZ, J., KOSTRZEWA-SUSŁOW, E., BIAŁOŃSKA, A. CIUNIK, Z., Biotransformations of Steroid Compounds by *Chaetomium* sp. KCH 6651, Steroids, 74, 657-661, 2009.
- [92] HUSZCZA, E., DMOCHOWSKA-GLADYSZ, J., BARTMAŃSKA, A., Transformations of Steroids by *Beauveria bassiana*, Zeitschrift für Naturforschung C, 60, 103-108, 2005.
- [93] MCALEER, W. J., DULANEY, E. L., Transformation of Progesterone to 11-Deoxycorticosterone by *Wojnowicia graminis*, Archives of Biochemistry and Biophysics, 62, 109-110, 1956.
- [94] HOLLAND, H. L., PODDAR, S., TRIPET, B., Effect of Cell Immobilization and Organic Solvents on Sulfoxidation and Steroid Hydroxylation by *Mortierella isabellina*, Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, 10,195-197, 1992.
- [95] SEN, R., SAMANTA, T. B., Influence of the Substituents at C-11 on Hydroxylation at C-6, of C-21 Steroids by *Syncephalastrum racemosum*, Journal of Steroid Biochemistry, 14, 307-309, 1981.
- [96] MIYAZAWA, M., TAKAHASHI, T., SAKATA, K., HORIBE, I., Biotransformation of Three Aromadendrane-type Sesquiterpenoids by *Aspergillus wentii*, Journal of Chemical Technology and Biotechnology, 83,1006-1011, 2008.
- [97] ADAMS, A., DEMYTTENAERE J.C.R., DE KIMPE, N., Biotransformation of (R)-(+)- and (S)-(-)- Limonene to α -Terpineol by *Penicillium digitatum* – Investigation of the Culture Conditions, Food Chemistry, 80, 525-534, 2003.
- [98] KIRK, D. N., TOMS, H. C., DOUGLAS C., WHITE, K. A., SMITH, K. E., LATIF, S., HUBBARD, R.W. P., A Survey of High Field ^1H NMR Spectra of the Steroids Hormones, Their Hydroxylated Derivatives and Related Compounds, Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2, 1567-1594, 1990.
- [99] BLUNT, J. W., STOTHERS, J. B., ^{13}C NMR Spectra of Steroids-A Survey and Commentary, Organic Magnetic Resonance, 9, 439-464, 1977.

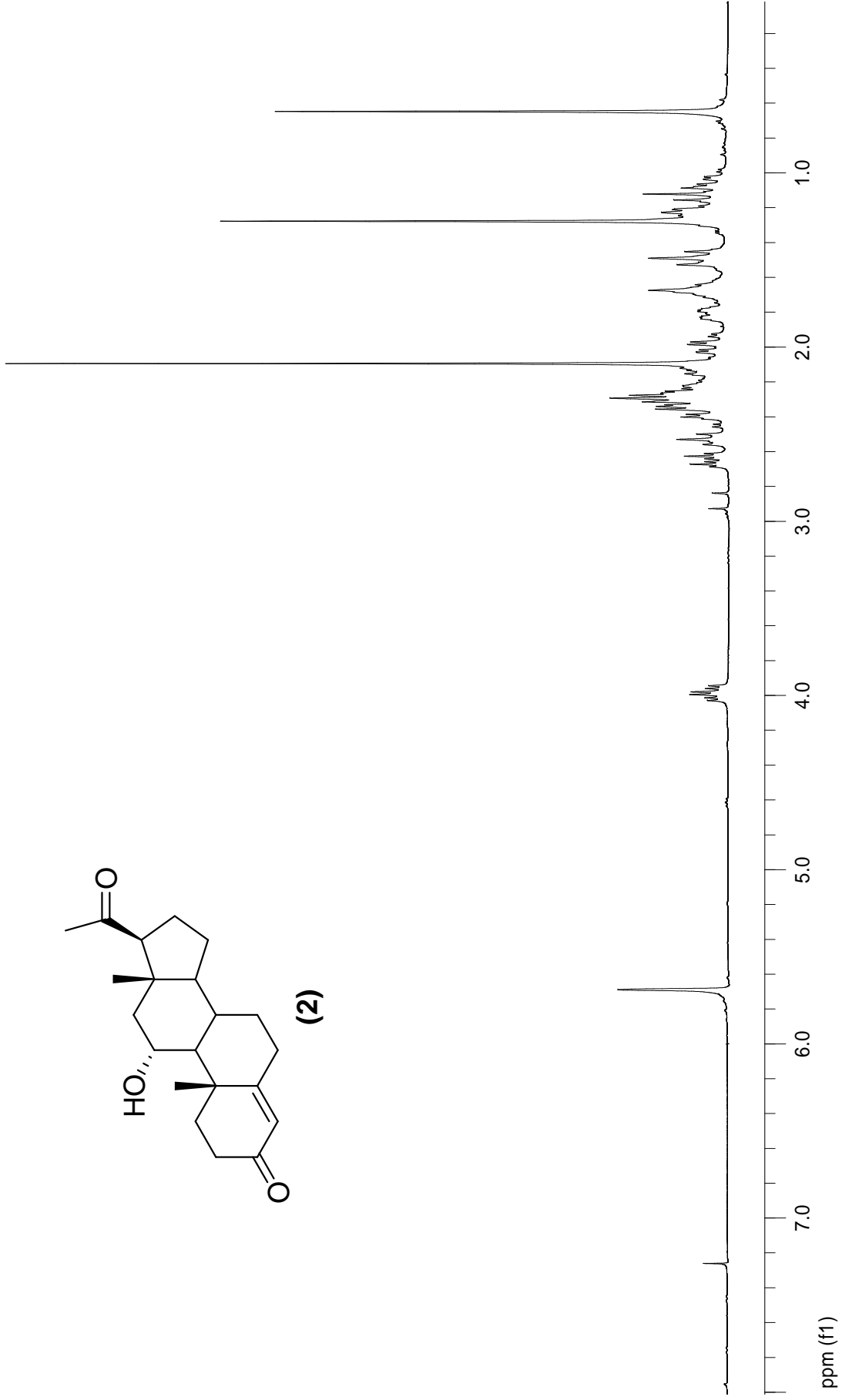
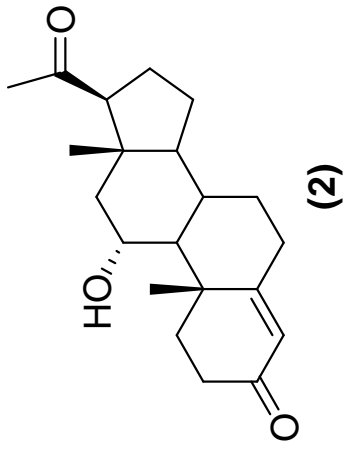
EKLER



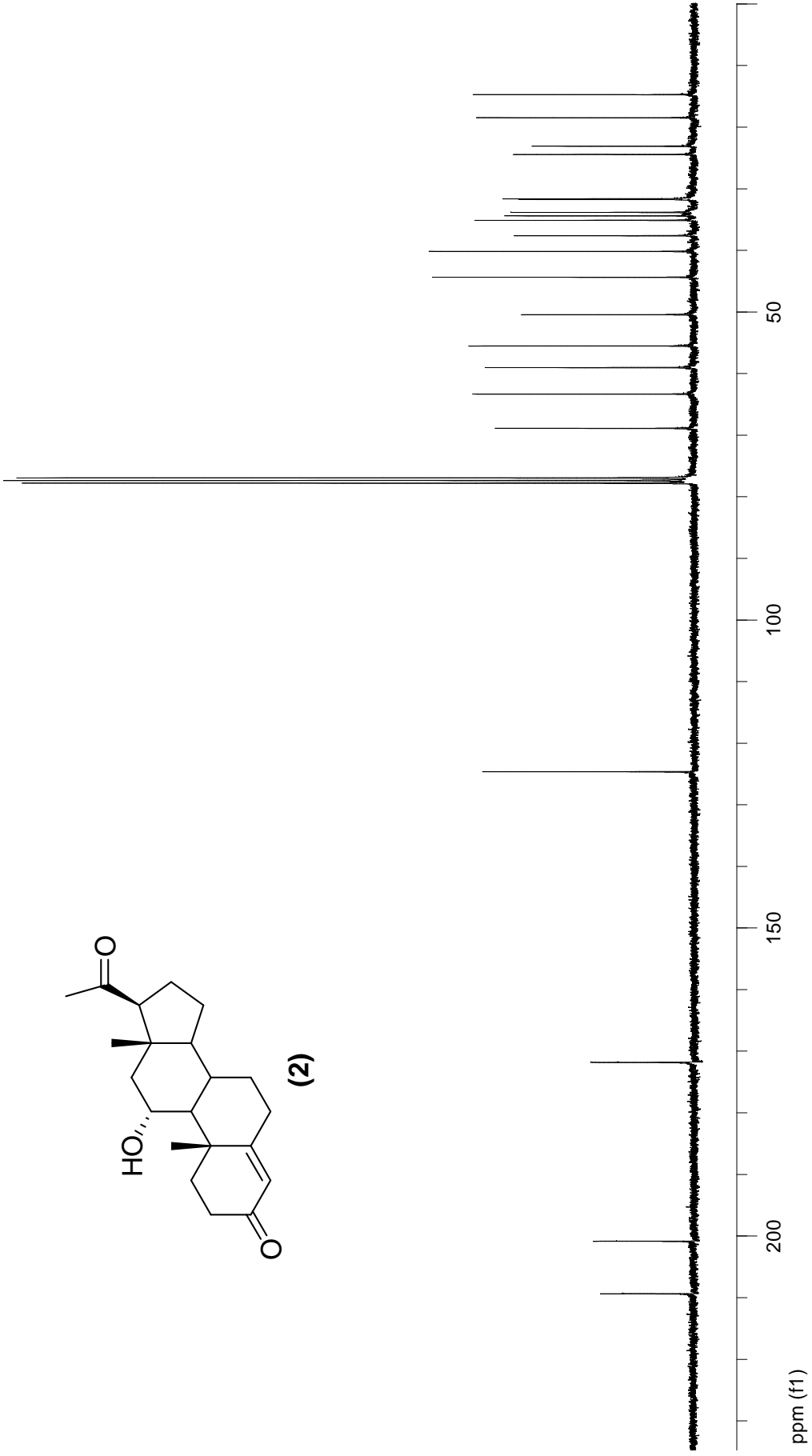
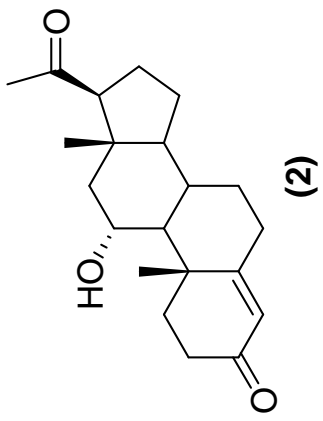
Şekil A.1. Progesteron (1) bileşğinin ¹H NMR spektrumu



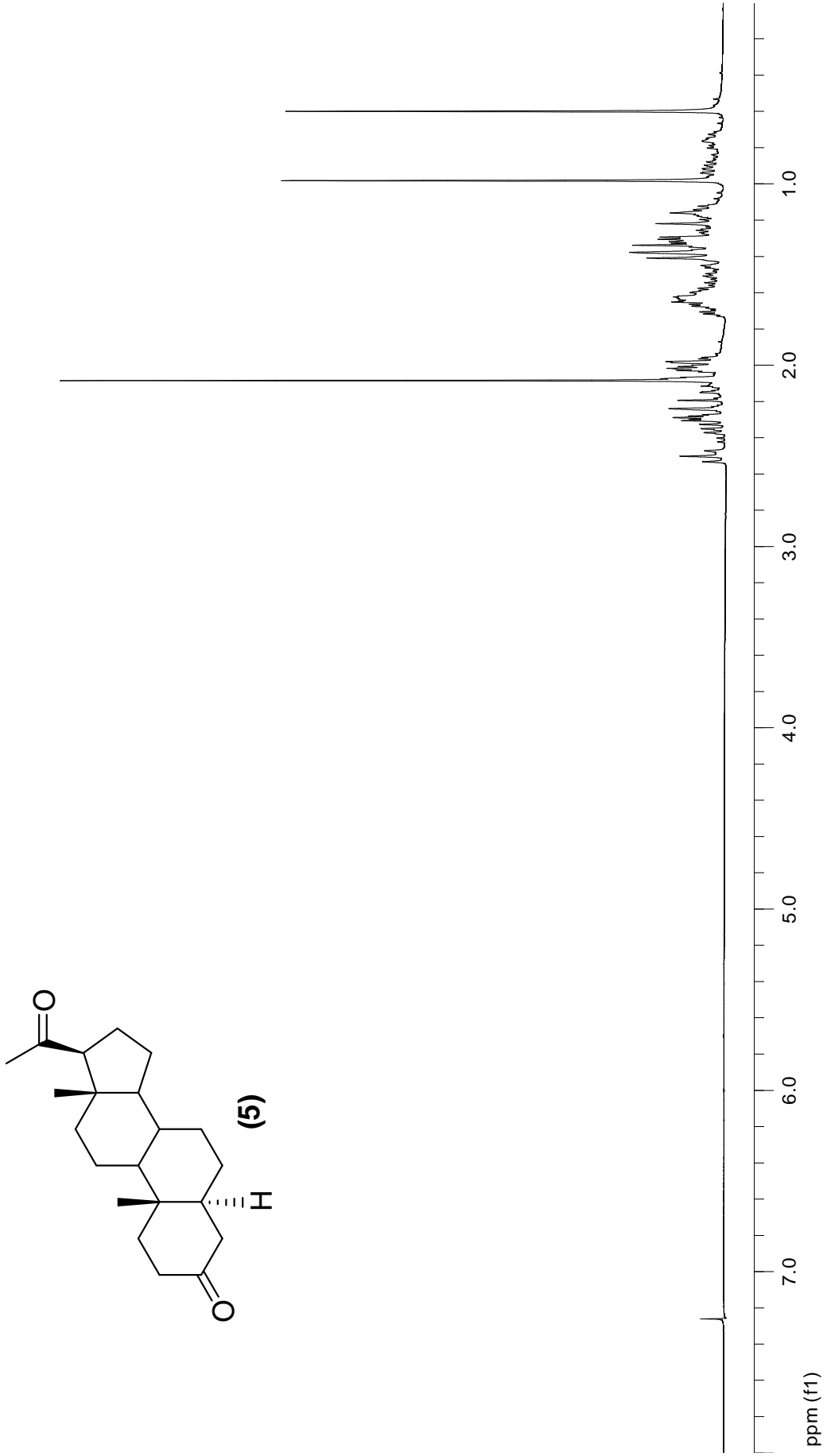
Şekil A.2. Progesteron (**1**) bileşiğinin ¹³C NMR spektrumu



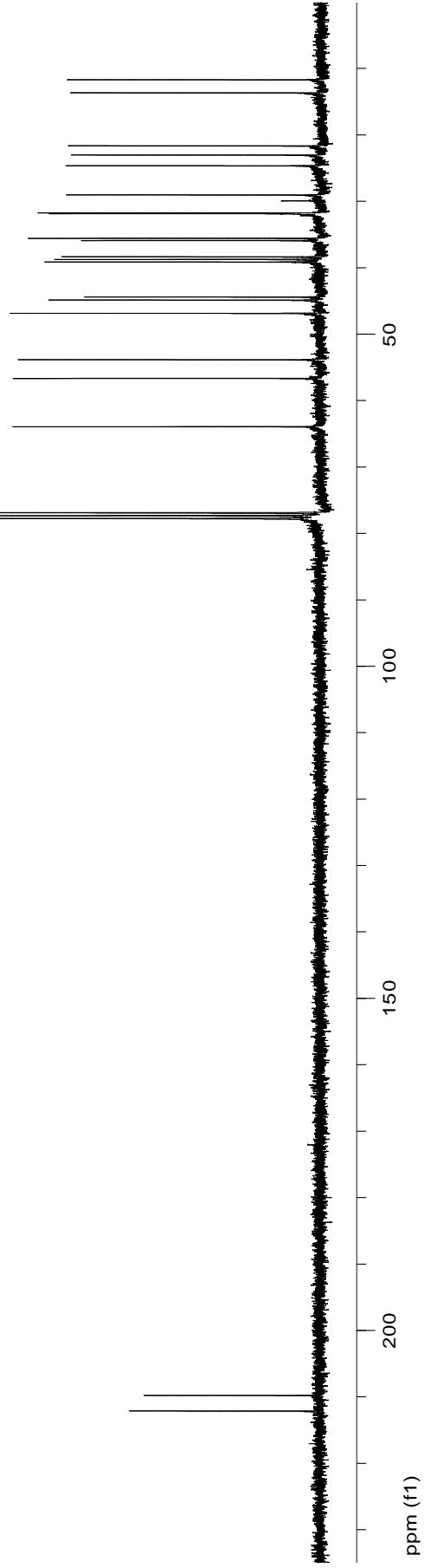
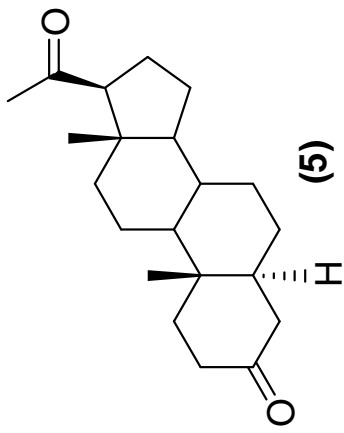
Şekil A.3. 11α-Hidroksipregn-4-en-3,20-dion (2) bileşiğinin ¹H NMR spektrumu



Şekil A.4. 11 α -Hidroksipregn-4-en-3,20-dion (2) bileşiğinin ^{13}C NMR spektrumu



Şekil A.5. 5α-Pregnan-3,20-dion (5) bileşiğinin ¹H NMR spektrumu



Şekil A.6. 5 α -Pregnan-3,20-dion (5) bileşğinin ^{13}C NMR spektrumu

ÖZGEÇMİŞ

Fatih GÜLŞAN, 1985 yılında Kadıköy’de doğdu. İlköğrenimini Gebze’de Fevzi Çakmak İlkokulunda, ortaokulunu öğrenimini Karaosman İlköğretim Okulunda, lise öğrenimini ise Ali Dilmen Lisesinde tamamladı. Lisans öğrenimi 2008 yılında Trakya Üniversitesi Kimya bölümünde tamamladı. Yüksek lisans öğrenimine 2008 yılında Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalında başladı. 2010 yılında Arifiye Kazım Karabekir İlköğretim Okulunda Fen Bilgisi öğretmenliğine başladı ve halen bu görevine devam etmektedir.