

T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

***ASPERGILLUS GLAUCUS* KÜFÜ İLE BAZI ŞALKONLARIN
BİYOTRANFORMASYONLARI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ayça MERAL

Kimya Anabilim Dalı

Biyokimya Bilim Dalı

TEMMUZ 2024

T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

***ASPERGİLLUS GLAUCUS* KÜFÜ İLE BAZI ŞALKONLARIN
BİYOTRANFORMASYONLARI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ayça MERAL

Kimya Anabilim Dalı

Biyokimya Bilim Dalı

Tez Danışmanı: Dr.Öğr.Üyesi Semra YILMAZER KESKİN

TEMMUZ 2024

Ayça MERAL tarafından hazırlanan “*Aspergillus Glaucus* Küfü İle Bazı Şalkonların Biyotransformasyonları” adlı tez çalışması 16.06.2022 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği/oy çokluğu ile Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı Biyokimya Bilim Dalı’nda Yüksek Lisans teziolarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi

Jüri Başkanı :

Jüri Üyesi :

Jüri Üyesi :



ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliğine ve Yükseköğretim Kurumları Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesine uygun olarak hazırlamış olduğum “ASPERGİLLUS GLAUCUS KÜFÜ İLE BAZI ŞALKONLARIN BİYOTRANSFORMASYONLARI ” başlıklı tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın tüm aşamalarında yukarıda belirtilen yönetmelik ve yönergeye uygun davrandığımı, tezin içerdiği yenilik ve sonuçları başka bir yerden almadığımı, tezde kullandığım eserleri usulüne göre kaynak olarak gösterdiğimi, bu tezi başka bir bilim kuruluna akademik amaç ve unvan almak amacıyla vermediğimi ve 20.04.2016 tarihli Resmi Gazete’de yayımlanan Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin 9/2 ve 22/2 maddeleri gereğince Sakarya Üniversitesi’nin abonesi olduğu intihal yazılım programı kullanılarak Enstitü tarafından belirlenmiş ölçütlere uygun rapor alındığını, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun ortaya çıkması halinde doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi beyan ederim.

(18/07/2024).

Ayça MERAL





Aileme ve her zaman, her koşulda yanımda olan sevdiklerime...



TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde, değerli bilgilerini benimle paylaşan, kendisine ne zaman danışsam bana kıymetli zamanını ayırıp sabırla ve büyük bir ilgiyle bana faydalı olabilmek için elinden gelenden fazlasını sunan, her sorun yaşadığımda yanına çekinmeden gidebildiğim, güler yüzünü ve samimiyetini benden esirgemeyen ve gelecekteki mesleki hayatımda da bana verdiği değerli bilgilerden faydalanacağım kıymetli hocam Dr.Öğr.Üyesi Semra YILMAZER KESKİN'e teşekkürlerimi sunarım.

Biyotransformasyon çalışmalarında kullanılan şalkon bileşiklerin temininde ve NMR ölçümlerinin alınmasında yardımını esirgemeyen Arş. Gör. Yavuz DERİN'e teşekkür ederim.

Aynı laboratuvarı paylaştığım her zaman her konuda bana desteğini esirgemeyen, çalışmalarımda her zaman yardımcı olan ve değerli vaktini ayıran tecrübelerinden yararlandığım sayın Doç.Dr. Can Serkan KESKİN hocama teşekkür ederim.

Bu yaşa gelmemi sağlayan her anımda yanımda olan, güçlerini ve desteklerini hissettiğim, eğitimim konusundaki teşviklerini hiç yitirmeyen, hayatıma güzellikler getiren değerli annem, babam ve kardeşime teşekkür etmek istiyorum.

Ayrıca bu çalışmanın maddi açıdan desteklenmesine olanak sağlayan Sakarya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Komisyon Başkanlığına (Proje No:2023-19-43-61) teşekkür ederim.

Ayça MERAL



İÇİNDEKİLER

Sayfa

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ	v
TEŞEKKÜR	ix
İÇİNDEKİLER	xi
KISALTMALAR	xiii
SİMGELER	xv
TABLO LİSTESİ	xvii
ŞEKİL LİSTESİ	xix
ÖZET	xxi
SUMMARY	xxiii
1. GİRİŞ	27
2. GENEL BİLGİLER	31
2.1. Biyotransformasyonun Tarihi	31
2.1.1. Biyotransformasyon içeren endüstriyel sektörler	31
2.1.2. Biyotransformasyonların potansiyel faydaları	32
2.1.3. Organik fazda biyotransformasyon	32
2.1.4. Biyotransformasyonun temel unsurları	33
2.2. Biyotransformasyonlar ve Katalizörler	33
2.3. Enzimatik Reaksiyonların Avantajları	34
2.4. Biyotransformasyonda Kullanılan Enzimatik Sistemler	35
2.4.1. Biyotransformasyon reaksiyonlarını etkileyen faktörler	36
2.5. Mikrobiyal Biyotransformasyon	36
2.6. Çalışmanın Amacı	39
3. 3. MATERİYAL VE YÖNTEM	41
3.1. Kullanılan Araç Gereçler ve Sarf Malzemeler	41
3.2. Taze Yatık Agar Kültürlerinin Hazırlanması	41
3.3. <i>A. glaucus</i> Küf Kültürlerinin Tazelenmesi	41
3.4. Biyotransformasyonu Gerçekleştirilecek Substratın İlavesi	42
3.5. Bileşiklerin Ekstraksiyonu ve Saflaştırılması	42
3.6. Biyotransformasyon Çalışmalarının Kontrolü	42
3.7. <i>A. glaucus</i> Küfü ile Şalkonların Biyotransformasyonları	42
3.7.1. (E)-3-(4-nitrofenil)-1-fenilprop-2-en-1-on (1) <i>A. glaucus</i> 200914 ile biyotransformasyonu	43
3.7.2. (E)-3-(4-bromofenil)-1-fenilprop-2-en-1-on (2) <i>A. glaucus</i> 200914 ile biyotransformasyonu	43
3.7.3. (E)-3-(4-klorofenil)-1-fenilprop-2-en-1-on (3) <i>A. glaucus</i> 200914 ile biyotransformasyonu	44
4. 4. DENEYSEL BULGULAR	45
4.1. <i>A. glaucus</i> Küfü ile Biyotransformasyonlar	45
4.1.1. (E)-3-(4-nitrofenil)-1-fenilprop-2-en-1-on (1) Şalkonunun <i>A. glaucus</i> 200914 ile biyotransformasyonu	45

4.1.2. (E)-3-(4-bromofenil)-1-fenilprop-2-en-1-on (2) Şalkonunun <i>A. glaucus</i> 200914 ile biyotransformasyonu	47
4.1.3. (E)-3-(4-klorofenil)-1-fenilprop-2-en-1-on (3) Şalkonun <i>A. glaucus</i> 200914 ile biyotransformasyonu	49
5. 5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR	53
KAYNAKLAR.....	55
ÖZGEÇMİŞ	57



KISALTMALAR

¹³C NMR	: Karbon 13 Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi
¹H NMR	: Proton Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi
İTK	: İnce Tabaka Kromatografisi
NMR	: Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi
PDA	: Potato Dekstroz Agar
ppm	: Milyonda bir kısım
rpm	: Dakika başına dönüş sayısı
UV	: Ultraviolet



SİMGELER

°C	: Santigrat derece
g	: Gram
L	: Litre
mg	: Miligram
MHz	: Megahertz
mL	: Mililitre
pH	: Hidronyum iyonu konsantrasyonunun eksi logaritması



TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 3.1. <i>A. glaucus</i> 200914 kültürüne ait besiyeri bileşenleri	43
---	----





ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1.1. Progesteronun mikrobiyal biyotransformasyonu.....	29
Şekil 3.1 Biyotransformasyonları gerçekleştirilen substratlar (a) (E)-3-(4-nitrofenil)-1-fenilprop-2-en-1-on (1), (b) (E)-3-(4-bromofenil)-1-fenilprop-2-en-1-on (2), (c) (E)-3-(4-klorofenil)-1-fenilprop-2-en-1-on (3).....	43
Şekil 4.1. (E)-3-(4-nitrofenil)-1-fenilprop-2-en-1-on (1) bileşiğinin <i>A. glaucus</i> 200914 ile biyotransformasyonu.....	45
Şekil 4.2. (E)-3-(4-nitrofenil)-1-fenilprop-2-en-1-on (1) bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu.....	45
Şekil 4.3. 3-(4-nitrofenil)-1-fenilpropan-1-on (4) bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu (Zheng vd., 2023).....	46
Şekil 4.4. (E)-3-(4-nitrofenil)-1-fenilprop-2-en-1-on (1) bileşiğinin <i>A. glaucus</i> 200914 küfü ile 5 gün süren inkübasyonu sonucunda elde edilen kalıntıya ait ¹ H NMR spektrumu.....	46
Şekil 4.5. (E)-3-(4-nitrofenil)-1-fenilprop-2-en-1-on (1) bileşiğinin <i>A. glaucus</i> 200914 küfü ile 5 gün süren inkübasyonu sonucunda elde edilen kalıntıya ait ¹³ C NMR spektrumu.....	47
Şekil 4.6. (E)-3-(4-bromofenil)-1-fenilprop-2-en-1-on (2) bileşiğinin <i>A. glaucus</i> 200914 ile biyotransformasyonu.....	47
Şekil 4.7. (E)-3-(4-bromofenil)-1-fenilprop-2-en-1-on (2) bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu.....	48
Şekil 4.8. 3-(4-bromofenil)-1-fenilpropan-1-on (5) bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu (Rajai-Daryasarei, vd., 2023).....	48
Şekil 4.9. (E)-3-(4-bromofenil)-1-fenilprop-2-en-1-on (2)'nin <i>A. glaucus</i> 200914 küfü ile 5 gün süren inkübasyonu sonucunda elde edilen kalıntıya ait ¹ H NMR spektrumu.....	49
Şekil 4.10. (E)-3-(4-klorofenil)-1-fenilprop-2-en-1-on (3) bileşiğinin <i>A. glaucus</i> 200914 ile biyotransformasyonu.....	49
Şekil 4.11. (E)-3-(4-klorofenil)-1-fenilprop-2-en-1-on (3) bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu.....	50
Şekil 4.12. 3-(4-klorofenil)-1-fenilpropan-1-on (6) bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu (Rajai-Daryasarei, vd., 2023).....	50
Şekil 4.13. (E)-3-(4-klorofenil)-1-fenilprop-2-en-1-on (3)'nin <i>A. glaucus</i> 200914 ile 5 günlük inkübasyonunda elde edilen kalıntıya ait ¹ H NMR spektrumu.....	51



ASPERGILLUS GLAUCUS KÜFÜ İLE BAZI ŞALKONLARIN BİYOTRANFORMASYONLARI

ÖZET

Şalkonlar, alfa, beta-doymuş keton yapılarına sahip organik bileşiklerdir. Genellikle bitkilerde bulunurlar ve bitkilerin çeşitli biyolojik fonksiyonları için önemli rol oynarlar. Şalkonlar, fenil grubu ve alfa, beta-doymuş keton grubunu içeren bir yapıya sahiptirler. Bu bileşikler, bitkilerde antioksidan, antimikrobiyal, antitümör, antienflamatuar ve diğer biyolojik etkilere sahip olabilirler. Bu özellikler, şalkonların sağlık yararları ve tıbbi uygulamalardaki potansiyellerini gösterir. Şalkonlar, doğal olarak bitkilerde bulunmalarının yanı sıra, sentetik olarak da elde edilebilirler. Kimyasal sentez yoluyla üretilen şalkon bileşikleri, ilaç endüstrisinde ve biyolojik araştırmalarda kullanılabilir. Flavonoidlerin bir alt grubu olarak kabul edilen şalkonlar, bitkilerin çiçeklerinde, meyvelerinde, yapraklarında ve diğer dokularında bulunabilirler. Bunlar, bitkilerin savunma mekanizmalarında, renk pigmentasyonunda ve çeşitli biyolojik süreçlerde rol oynarlar. Şalkonlar doğal olarak bitkilerde bulunan ve çeşitli biyolojik etkilere sahip organik bileşiklerdir. Antioksidan özellikleri, antimikrobiyal aktiviteleri ve diğer sağlık yararları nedeniyle, şalkonlar sağlık endüstrisi ve tıbbi araştırmalar için önemli bir ilgi odağı olmuştur. Doğal olarak bitkilerde bulunan ve sentetik olarak da elde edilebilen bu bileşikler, çeşitli biyolojik aktivitelere sahiptirler. Şalkonların biyotransformasyonu, mikroorganizmalar tarafından metabolize edilerek farklı bileşiklere dönüştürülmesini ifade eder. Bu biyotransformasyon süreci genellikle bakteri, mantar veya diğer mikroorganizmalar tarafından gerçekleştirilir. Biyotransformasyon sürecinde şalkon molekülleri çeşitli enzimatik reaksiyonlara tabi tutulur ve yeni bileşiklere dönüşürler. Bir mikroorganizma tarafından şalkon molekülünde hidroksil gruplarının eklenmesi, metilasyon, kondensasyon, konjugasyon gibi reaksiyonlar gerçekleşebilir. Bu reaksiyonlar sonucunda farklı kimyasal yapıya sahip metabolitler elde edilebilir. Şalkonların biyotransformasyonu, yeni biyolojik etkilere sahip bileşiklerin sentezlenmesi veya mevcut bileşiklerin etkinliklerinin değiştirilmesi amacıyla kullanılabilir. Bu süreç, ilaç keşfi ve geliştirilmesi, doğal ürünlerin değerlendirilmesi, endüstriyel biyoteknoloji ve biyoremediasyon gibi alanlarda önemli uygulamalara sahiptir. Şalkonların biyotransformasyonu, mikroorganizmaların metabolik yeteneklerinden yararlanarak farklı kimyasal yapıda bileşikler elde etmek için etkili bir yöntemdir. Bu süreç, doğal kaynaklardan elde edilen bileşiklerin biyolojik aktivitelerinin artırılması veya değiştirilmesi için önemli bir stratejidir. Bu çalışmada, (E)-3-(4-nitrofenil)-1-fenilprop-2-en-1-on (1), (E)-3-(4-bromofenil)-1-fenilprop-2-en-1-on (2) ve (E)-3-(4-klorofenil)-1-fenilprop-2-en-1-on (3) *Aspergillus glaucus* 200914 küfö ile biyotransformasyonu incelenmiştir. Bu işlem, şalkonların mikroorganizmalar tarafından metabolize edilmesini içerir. ¹H NMR ve ¹³C NMR spektrumları kullanılarak, elde edilen metabolitlerin yapıları belirlendi. Bu incelemeler sonucunda, şalkon hidrojenasyonlarının farklı verimlerle gerçekleştiği belirlenmiştir. Elde edilen

sonuçlar, şalkonların biyolojik aktivitelerini anlamak ve potansiyel uygulamalarını daha iyi değerlendirmek için önemli bir avantaj sağlayabilir. Bu biyotransformasyon süreci, yeni bileşiklerin oluşumuna ve mevcut bileşiklerin dönüşümüne yol açabilir. Çalışmada, farklı şalkon bileşiklerinin biyotransformasyonunun incelenmesi, şalkon hidrojenasyonlarının farklı verimlerle gerçekleştiği gösterilmiştir. (E)-3-(4-nitrofenil)-1-fenilprop-2-en-1-on **(1)** bileşiğinin *A. glaucus* 200914 kf ile inkübasyonu sonucunda %89 oranında 3-(4-nitrofenil)-1-fenilpropan-1-on elde edildi. (E)-3-(4-bromofenil)-1-fenilprop-2-en-1-on **(2)** bileşiğinin *A. glaucus* 200914 kf ile inkübasyonu sonucunda %40 oranında 3-(4-bromofenil)-1-fenilpropan-1-on **(5)** elde edildi. (E)-3-(4-klorofenil)-1-fenilprop-2-en-1-on **(3)** bileşiğinin *A. glaucus* 200914 kf ile inkübasyonu sonucunda, başlangıç maddesinin bir kısmı değişmeden kalırken, indirgenmiş ürün olan 3-(4-klorofenil)-1-fenilpropan-1-on **(6)** %43 oranında elde edildi.



BIOTRANSFORMATION OF SOME CHALCONES WITH *ASPERGILLUS GLAUCUS* MOLD

SUMMARY

Biotransformation is the process by which living organisms, like flora, fauna, microorganisms and fungi, chemically modify organic compounds. This transformation often leads to the conversion of a compound into metabolites with altered chemical structures and properties. Biotransformation can occur through enzymatic reactions catalysed by various enzymes present in the organism's cells. Key points of biotransformation. Firstly, Enzymatic Reactions; Biotransformation involves enzymatic reactions that may include oxidation, reduction, hydrolysis, and conjugation. These reactions can occur in a series of steps, often involving multiple enzymes and cofactors. Step I and Step II Metabolism; in drug metabolism, biotransformation is usually categorized divided into Step I and Step II processes. Step I reactions encompass functionalization processes, such as oxidation or hydrolysis, which either introduce or reveal functional groups. Step II reactions involve conjugation reactions, the metabolite undergoes conjugation with natural molecules such as glucuronic acid, sulphate or glutathione, enhancing its water solubility and aiding in its elimination from the body. After those two other steps coming through one of them is Environmental Detoxification; Biotransformation also contributes to the degradation and detoxification of environmental pollutants. Microbes, like bacteria and fungi, possess the capability to transform a variety of foreign compounds, such as pesticides, industrial chemicals, and pollutants, into forms that are either less harmful or more readily excretable. And the other one is Biotechnological Applications; Biotransformation processes are exploited in biotechnology for the synthesis of valuable compounds, such as pharmaceuticals, flavours, fragrances, and biofuels. Enzymes derived from living organisms are used as biocatalysts in biotransformation reactions, offering advantages such as regio- and stereo-selectivity, mild reaction conditions, and environmental sustainability. Biotransformation is a fundamental process in living organisms with broad implications for drug metabolism, environmental sustainability, and biotechnological innovation. Understanding and harnessing biotransformation pathways and enzymes offer opportunities for improving human health, environmental quality, and industrial processes.

Chalcones, also known as benzylideneacetophenones, are naturally occurring compounds widely distributed in plants. They serve as transitional compounds in the production of flavonoids, a class of secondary metabolites known for their diverse biological activities. Chalcones are characterized by their open-chain structure composed of comprising two aromatic rings linked by a three-carbon α,β -unsaturated carbonyl structure. This structural arrangement imparts unique chemical properties, making chalcones versatile precursors for the synthesis of various natural and synthetic compounds.

Due to their structural diversity and pharmacological potential, chalcones have attracted significant attention in medicinal chemistry and drug discovery. Their broad

spectrum of biological effects, encompassing antioxidant, anticancer, antimicrobial, anti-inflammatory, antiviral, and antimalarial properties, has spurred extensive investigation into the therapeutic applications of chalcones across various diseases and conditions. Chalcones can be isolated from natural sources such as fruits, vegetables, spices, and medicinal plants. They are also synthesized through chemical reactions, allowing for the modification of their chemical structure to enhance desired properties or activities. The synthesis and structural modification of chalcones have led to the development of numerous chalcone-based compounds with improved bioavailability, potency, and selectivity for specific biological targets.

In addition to their pharmaceutical significance, chalcones have applications in other industries, including agriculture, food, and cosmetics. They are utilized as ingredients in pesticides, herbicides, fungicides, and plant growth regulators due to their pesticidal and plant growth regulatory activities. Chalcones also contribute to the flavor, color, and fragrance of certain foods and beverages, and they are used in cosmetic formulations for their antioxidant and skin-lightening properties.

Overall, the multifaceted properties and versatile applications of chalcones make them valuable compounds with broad implications in various fields, ranging from medicine and agriculture to cosmetics and food science. Continued research into chalcone chemistry and biology holds promise for the development of novel therapeutics, agrochemicals, and cosmetic ingredients with enhanced efficacy and safety profiles. Overall, the multifaceted properties and versatile applications of chalcones make them valuable compounds with broad implications in various fields, ranging from medicine and agriculture to cosmetics and food science. Continued research into chalcone chemistry and biology holds promise for the development of novel therapeutics, agrochemicals, and cosmetic ingredients with enhanced efficacy and safety profiles.

Biotransformation of chalcones refers to the metabolic processes through which these compounds are transformed within living organisms. These transformations can occur via enzymatic reactions in various biological systems, including plants, animals, and microorganisms. The biotransformation of chalcones can result in the generation of metabolites with altered chemical structures and biological activities. In plants, chalcones are often metabolized through enzymatic pathways involving cytochrome P450 monooxygenases, peroxidases, and other enzymes. These pathways can result in the synthesis of flavonoids, such as flavones, flavonols, and isoflavonoids, which are derived from chalcone precursors. The specific metabolites produced depend on the type of chalcone, the plant species, and environmental factors. In animals, chalcones may undergo biotransformation primarily in the liver through Stage I and Stage II metabolic pathways. Stage I metabolic process entails enzymatic catalysis of oxidation, reduction, and hydrolysis reactions, facilitated by enzymes like cytochrome P450s, leading to the formation of intermediate metabolites. Stage II metabolism involves conjugation reactions, where these intermediates are further modified by enzymes such as glucuronosyltransferases, sulfotransferases, and glutathione S-transferases resulting in the production of metabolites with increased polarity, which can be easily eliminated from the body. Microbes, for example bacteria and fungi also involved in the metabolism of chalcones. Certain microbial species possess enzymes capable of metabolizing chalcones, leading to the production of diverse metabolites. These microbial transformations can be exploited for various purposes, including the synthesis of bioactive compounds and the bioremediation of environmental pollutants. The metabolism of chalcones undergoes a multifaceted transformation, which is

shaped by factors such as the biological milieu, the inherent chemical makeup of the chalcone, and prevailing environmental circumstances.

Aspergillus glaucus is a species of mold commonly found in various environments, including soil, decaying vegetation, and indoor settings. It is characterized by its greenish blue to bluish-gray colonies with a powdery or fluffy texture. *Aspergillus glaucus* is renowned for its metabolic adaptability and capacity to synthesize an extensive array of enzymes and secondary compounds. In terms of health implications, exposure to *Aspergillus glaucus* spores and metabolites can pose risks to human health, particularly for individuals with weakened immune systems or respiratory conditions. Inhalation of spores can lead to allergic reactions, respiratory infections, and, in severe cases, invasive aspergillosis.

In the realm of biotechnology, specific varieties of *Aspergillus glaucus* have garnered attention for their enzymatic potential, offering valuable contributions to sectors such as food and beverage manufacturing, biofuel generation, and environmental remediation. However, its ability to produce mycotoxins, such as gliotoxin, can also be a concern for food safety and public health. Understanding the biology, ecology, and biotechnological potential of *Aspergillus glaucus* plays a vital role in regulating its presence within both natural ecosystems and human-built environments, thereby mitigating potential health hazards while capitalizing on its advantageous characteristics for industrial and scientific endeavors. *Aspergillus glaucus* is a mold species known for its ability to biotransform various organic compounds, including chalcones. Biotransformation refers to the metabolic processes through which organisms modify chemical substances. In the case of *Aspergillus glaucus*, this process involves enzymatic reactions that can lead to the conversion of chalcones into different metabolites. Studies on *Aspergillus glaucus* biotransformation have concentrated on unravelling the enzymatic routes, determining the variables affecting transformation efficacy, and exploring the spectrum of structural variations within the resultant metabolites. Enzymes produced by *Aspergillus glaucus*, such as cytochrome P450 monooxygenases and peroxidases, play key roles in catalyzing these reactions. The biotransformation of chalcones by *Aspergillus glaucus* has potential applications in various fields, including medicine, agriculture, and biotechnology. By studying this process, researchers aim to elucidate the mechanisms of chalcone metabolism, identify new bioactive compounds, and develop biocatalytic strategies for the synthesis of valuable products.

In this study, the biotransformation of (E)-3-(4-nitrophenyl)-1-phenylprop-2-en-1-one (1), (E)-3-(4-bromophenyl)-1-phenylprop-2-en-1-one (2), and (E)-3-(4-chlorophenyl)-1-phenylprop-2-en-1-one (3) by *Aspergillus glaucus* 200914 was investigated. This process involves the metabolism of chalcones by microorganisms. Following a 5-day incubation period, the structures of the metabolites were elucidated through analysis of their ^1H NMR and ^{13}C NMR spectrum. Through these examinations, variations in the efficiency of chalcone hydrogenation were identified. These results can furnish valuable insights to enhance comprehension the biological activity and potential applications of chalcones. This biotransformation process may lead to the formation of new compounds and the transformation of existing compounds. The study revealed that the biotransformation of different chalcone compounds occurs with varying efficiencies in chalcone hydrogenations. These discoveries represent a significant advancement in grasping how chalcones are metabolized by microorganisms and perhaps in using these processes to obtain new bioactive compounds. The metabolism of chalcones by microorganisms generally

occurs through a series of enzymatic reactions. These reactions can vary depending on the structural characteristics of the chalcone and the enzymatic activities of the microorganism.



1. GİRİŞ

Biyotransformasyon, bir bileşiğin biyolojik sistemler tarafından bir formdan diğerine dönüşümü olarak bilinir. Bu, enzimatik reaksiyonlar yoluyla bileşiğin moleküler veya atomik yapıda değişiklik göstermesidir. Biyolojik katalizörler olarak organik reaksiyonlar, bütün hücreler veya enzimler tarafından kullanılabilir; bunlar serbest veya immobilize halde, sulu veya iki fazlı sistemlerde veya çapraz bağlı enzim kristalleri olarak kullanılabilirler. Enzimler biyokatalizör olarak kullanılarak, regioselektif ve stereoselektif reaksiyonlar için ve klasik sentetik süreçler için çok zor veya imkansız olan şekilde kiraliteyi tanıtmak için kullanılabilir (Sanjukta,2007).

Bir dizi biyotransformasyon, bir biyokimyasal yol oluşturur. Dolayısıyla, bir tek biyotransformasyon veya birkaç devam eden biyotransformasyon adımı, ürünlerin oluşumuna, bileşiğin canlı sistem tarafından detoksifikasyonuna veya metabolizmasına yol açabilir. Biotransformasyon ürünleri, organizmalardaki bir sürecin ara metabolitleri veya terminal ürünleri olabilir (Sanjukta,2007).

Biyotransformasyon hem enzimatik hem de mikrobiyal biyokatalizasyonu kapsayan biyoteknolojinin gelişen bir alanıdır. Mikropların ve enzimlerinin izolasyonu, taraması ve karakterizasyonu; bunların aşırı ortamlarda kullanımı, metabolik yolların manipülasyonu, değiştirilmesi, artırılması ve yeni bileşiklerin geliştirilmesi için kombinasyonel biyosentez ve biyokatalizör metodolojilerinin kullanımı da dahil olmak üzere biyotransformasyonların ana itici güçleri üzerinde yeterli ilerleme kaydedilmiştir (Sanjukta,2007).

Biyoloji ve kimyanın birleşimi, temiz endüstriyel süreçler için özelleştirilebilen doğal ve mühendislik edilmiş biyokatalizörlerin aralığını genişletirken, biyotransformasyonların sanayi için birçok fırsat sunmasını sağlamıştır.

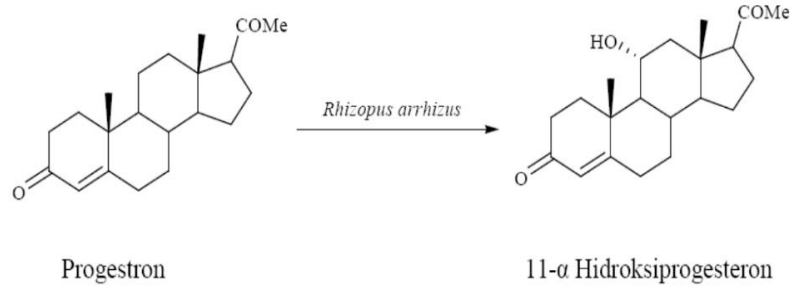
Biyotransformasyon, hammaddelerin verimli kullanımıyla mevcut ürünlerin daha maliyet etkin bir şekilde üretilmesi potansiyeline sahiptir, bu da daha düşük yatırım maliyetleri, daha az enerji talebi ve daha az tehlikeli emisyonlardan dolayı daha düşük atık maliyetleri anlamına gelir.

Ayrıca tamamen yeni ürünler ve sistem çözümleri için bir temel sağlayabilir ve örneğin ince kimyasallar, toplu kimyasallar ve enerji kaynakları gibi sektörlerde klasik kimyasal üretim süreçlerini değiştirme potansiyeline sahiptir. Biyotransformasyon yoluyla elde edilen önemli ürünler arasında etanol, glutamik asit, antibiyotikler, vitaminler, akrilamid ve izo-glikoz şurubu bulunmaktadır. Çeşitli kimyasal ürünlerin üretiminde biyotransformasyon süreçlerinin payının 2010 yılında yaklaşık %5 olduğu birkaç çalışma tarafından tahmin edilmekteydi, ancak bu oranın 2010 yılında %20'ye kadar yükseleceği öne sürülmektedir (Pacl, vd, 2004). Kimya endüstrisi için sadece biyotransformasyon ürününün potansiyel değer artışının yıllık olarak dünya çapında 2010 yılı itibarıyla 11-22 milyar Euro'ya ulaşması beklenmektedir (Pacl, vd, 2004).

Biyotransformasyon, kimyasal dönüşüm reaksiyonlarının biyolojik sistemler veya enzimler aracılığıyla gerçekleştirilmesiyle endüstriyel olarak önemli bileşiklerin elde edilmesidir. Günümüzde, biyotransformasyon, ilaç etken maddeleri, koku maddeleri, gıda katkı maddeleri, enerji üretimi, antibiyotik üretimi, ve amino asit üretimi gibi pek çok alanda kullanılmaktadır. Bunun yanı sıra, toksik endüstriyel atıkların parçalanması, atık suların giderilmesi ve geri kullanım sağlaması gibi çevresel sorunların çözümüne yönelik uygulamalarda da kullanılmaktadır (Onat T, vd, 2006). Biyotransformasyonun tarihçesi oldukça eskiye dayanmaktadır. Başlangıçta, Pasteur'un *P. glaucum* bakteri kültürüyle DL-amonyum tartaratın L-amonyuma dönüştürülmesi ve etanolün *Acetobacter aceti* ile asetik aside dönüştürülmesi gibi örnekler, biyotransformasyonun ilk uygulamaları arasında yer alır. Bu çalışmalar, biyotransformasyonun literatürdeki ilk örnekleridir. Sonraki yıllarda, özellikle mikroorganizmaların kullanımıyla birçok biyotransformasyon reaksiyonu gerçekleştirilmiştir. Örneğin, *S. cerevisiae* maya kültürüyle birçok organik bileşiğin dönüşümü gerçekleştirilmiştir. Steroid hormonların mikrobiyal transformasyonu, modern uygulamaların temelini oluşturmuştur. Özellikle, dehidroizoandrosteronun testosterona dönüştürülmesi gibi reaksiyonlar önemli bir ilerlemedir (Hanson, J.R., 1995; Onat T, vd, 2006; Tamer A., 2005).

Mikrobiyal hidroksilasyonun önemi ilk olarak 1952 yılında ortaya çıkmıştır (Peterson, vd, 1952). Kortikosteroidlerin sentezi sırasında, fonksiyonel gruplardan uzakta bulunan C-11'e bir oksijen fonksiyonu yerleştirmek klasik kimyasal yöntemlerle oldukça uzun ve masraflı bir işlemdir. Bu zorluğun çözümü için, *Rhizopus arrhizus*

küfünün progesteron (1)'u 11 α -hidroksiprogesteron (2) bileşiğine dönüştürmesi (Şekil 1.1) dikkatleri mikrobiyal biyotransformasyonlara çekmiştir (Hanson, J.R., 1995).



Şekil 1.1. Progesteronun mikrobiyal biyotransformasyonu

Biyotransformasyonun en büyük avantajlarından biri, enzimlerin kataliz ettiği reaksiyonların hızının çok yüksek olmasıdır. Ayrıca, enzimlerin çeşitli substratlar üzerinde etkili olabilmesi ve spesifik olarak belirli fonksiyonel gruplarına seçicilik gösterebilmesi de önemli bir avantajdır. Enzimatik reaksiyonların genellikle ılımlı koşullarda gerçekleşmesi, istenmeyen yan reaksiyonların minimum seviyede olmasını sağlar. Bu nitelikler, biyotransformasyonun ekonomik ve çevre dostu bir seçenek olmasına katkı sağlar (Terada, vd, 1997).

Biyotransformasyon reaksiyonlarının gerçekleşmesi için çeşitli faktörler etkilidir. Bu unsurlar arasında besiyerinin bileşimi, materyalin toksisitesi ve yoğunluğu, ortam sıcaklığı, çalkalama hızı, süre, oksijen miktarı, pH seviyesi ve mikroorganizmanın kökeni bulunmaktadır. Enzimlerle biyotransformasyon yapılırken, enzimlerin dayanıklılığı ve ortam şartları da önemlidir.

Biyotransformasyon, endüstriyel açıdan önemli bir konuma sahip olup çeşitli sektörlerde kullanılan etkili bir yöntemdir. Enzimlerin kataliz ettiği reaksiyonların hızı, seçiciliği ve çevre dostu olması, biyotransformasyonun tercih edilmesini sağlayan önemli faktörlerdir (Terada, vd, 1997).

Biyotransformasyon, doğal substratlar üzerindeki biyosentezden ayrılarak, doğal olmayan molekülleri biyolojik sistemler veya enzimler aracılığıyla kimyasal olarak dönüştüren reaksiyonlardır. Günümüzde biyoteknolojik araştırmaların önemli bir parçası olan biyotransformasyon ilaçlar, parfümler, gıda katkı maddeleri, enerji üretimi, antibiyotikler ve aminoasitler gibi çeşitli endüstriyel alanlarda yaygın bir şekilde kullanılmaktadır.

Biyotransformasyonun temelinde, doğal substratları olmayan moleküllerin biyolojik sistemler veya enzimler aracılığıyla dönüştürülmesi yatar. Bu reaksiyonlar, birçok endüstriyel uygulamada önemli avantajlar sağlar. Örneğin, enzimatik reaksiyonların hızı yüksektir ve çevre dostudur. Ayrıca, enzimlerin çeşitli substratlar üzerinde etkili olabilmesi ve spesifik olarak belirli fonksiyonel gruplarına seçicilik gösterebilmesi de önemli bir avantajdır (Hanson, J.R., 1995; Onat T, vd, 2006).

Steroid hormonların eldesi için androstenedionun bakteriyal biyotransformasyonu gibi yöntemler kullanılmıştır. Özellikle, bu süreçte kullanılan mikroorganizmaların doğal yeteneklerinden yararlanılarak çeşitli steroid hormonları sentezlemek mümkün olmuştur.

İlaç endüstrisindeki önemli bir ilerleme, doğal penisilini olan *P. chrysogenum* tarafından sentezlenen β -laktam'ın, yarı sentetik penisilinlerin aktif bileşeni olan 6-aminopenisillanik aside dönüştürülmesiyle gerçekleştirilmiştir. İlaçların etkinliği, içerdikleri fonksiyonel grupların stereokimyasıyla yakından ilişkilidir. Birçok ilaç molekülü, etkili olabilmesi için sadece bir enantiyomerde bulunmalıdır. Özellikle talidomid felaketi gibi vakalar, ilaçların farklı enantiyomerlerinin yan etkilere veya toksik etkilere yol açabileceğini göstermiştir. Bu nedenle, ilaç endüstrisinde belirli bir enantiyomerin üretimi büyük bir önem arz etmektedir. Biyotransformasyon, seçici olarak tek bir enantiyomerin üretilmesini sağlayan etkili bir yöntemdir. Bu konuda, *Pseudomonas putida* gibi mikroorganizmaların kullanımı önemli bir yer tutar (Onat T, vd, 2006).

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Biyotransformasyonun Tarihi

Biyotransformasyon süreçleri insanlık tarafından binlerce yıldır kullanılmaktadır. Örneğin, etil alkolün (alkol) asetobakter tarafından asetik asite (sirke) dönüştürülmesi, Mezopotamya (Babil), Mısır, Meksika ve Sudan gibi yerlerde, yaklaşık M.Ö. 5000 yıllarında fermantasyonla elde edilen şekerlerden etil alkol üretimi ile eş zamanlı olarak geliştirilmiştir. Bu, endüstriyel ölçekte uygulanan ilk bildirilen biyotransformasyon sürecidir. Biyotransformasyonlar, insanlar tarafından mikrobiyal kökenli oldukları anlaşılmadan önce uzun zaman önce gözlemlenmiştir. 1858'de Louis Pasteur, meyve suyu fermentasyonlarında belirli mikroorganizmaların rolüne dair kanıtlar sunmuştur (Pasteur, 1858). Enzimlerin, temel biyokatalizörlerin özellikleri, erken 1900'lerde yapılan kinetik çalışmalar sayesinde genel olarak anlaşılmıştır (Michaelis ve Menten, 1913). Büyük Britanya'nın savaş zamanı ihtiyaçlarını karşılamak için 1916 yılında aseton üretmek amacıyla geliştirilen önemli bir endüstriyel ölçekli fermantasyon (Glazer ve Nikaido, 1995) gerçekleştirilmiştir. Nişasta içeren materyallerden glikozun yüksek fruktozlu şuruba dönüştürülmesi, tatlandırma özelliklerini artıran bir örnektir ve yılda 15 milyon ton ölçeğinde işletilen bir biyotransformasyon örneğidir ve 1974 yılından bu yana kullanılmaktadır.

2.1.1. Biyotransformasyon içeren endüstriyel sektörler

Biyotransformasyon reaksiyonları doğada yaygındır ve biyotransformasyonların ticari ve ekonomik olarak başarılı teknolojilere dönüştürüldüğü endüstri sektörleri şunlardır:

- İlaç
- İnce ve toplu kimyasallar
- Gıda
- Kozmetik

Antibiyotikler, insulin, vitaminler, steroidler, prostaglandinler ve alkol gibi maddelerin üretimi, ticari olarak başarılı biyotransformasyon reaksiyonlarına örnek olarak verilebilir (Sanjukta, 2007)

2.1.2. Biyotransformasyonların potansiyel faydaları

Biyotransformasyon süreçleri diğer sentez yöntemlerine göre avantajlıdır ve aşağıda sıralanmıştır:

- Çevre dostu (Yeşil teknoloji)
- İyileştirilmiş reaksiyon verimlilikleri
- İyileştirilmiş enantiyoselektiviteler
- İşlem ekonomisi
- İyileştirilmiş toplam dönüşümler
- Azaltılmış yan ürünler
- Daha temiz atık akımları
- Daha kısa üretim yolları
- Asimetrik yöntem geliştirme ile gereken enantiyomerlerin kontrolü/seçimi
- Kiral ara ürünler
- Rasemik karışımların çözülmesi
- Ağır metaller, yüksek sıcaklık, yüksek basınç ve aşırı pH gibi aşırı koşulların gereksinimini ortadan kaldırma
- Nötr reaksiyon koşulları
- Doğal işleme (Sanjukta,2007)

2.1.3. Organik fazda biyotransformasyon

Organik fazda biyotransformasyon, (i) substratların ve/veya ürünlerin su içinde düşük çözünürlüğü ve/veya kararsızlığı ve (ii) substrat ve/veya ürün inhibisyonu gibi sorunların olduğu biyotransformasyon reaksiyonları için bir çözümdür. Bu tür reaksiyonlarda, steroid bileşikler gibi düşük su çözünürlüğüne sahip reaktanlarla ilgili olarak önemlidir (Buckland et al., 1975; Fukai ve Tanaka, 1981). Aqueous/organic iki-fazlı bir biyotransformasyon sisteminin tek bir sulu fazlı sistemden başlıca avantajları, organik fazın, sulu fazda çok az çözünür olan reaktanlar için bir rezervuar görevi görmesi ve reaktanın ve ürünün sulu veya organik fazdaki farklı çözünürlüklerinin ürün ayrımını sağlamak için kullanılabilmesidir. Organik fazın varlığı, mikrobiyal kontaminasyon riskinin azaltılması gibi diğer avantajlar da sunar.

a) Steroid biyotransformasyonu: *Curvularia lunata* hücreleri kullanılarak steroid öncüsü Reichstein maddesi S (cortexolone)'nin 11- β hidroksilasyonu için oktan çözücü olarak kullanılan organik faz biyotransformasyonu, hidrokortizon üretimi için model bir sistemdir (Harish ve Gina, 1994).

b) Terpenoid sentezi: Rhodococcus erythropolis hücreleri, limonen ve pinen gibi terpenleri, limonen 1,2 diol gibi oksijenli türevlerine (terpenoidler) biyotransforme edebilen organik faz biyotransformasyonunun örneklerinden biridir. Bu tür bileşikler geniş bir şekilde tatlandırıcılar ve parfümler olarak kullanılmaktadır (Carla, vd, 2000).

Mycobacterium sp.'nin immobilize enzim ve bütün hücreleri kullanılarak organik ortamda biyotransformasyon, sitosterol yan zincir kesimi ile aktif sterollerin üretimi için başarılı bir şekilde kullanılmıştır. Reaksiyon sisteminin hacimsel üretkenliğinde artış ve reaksiyon dengelemesinin ürün sentezi lehine kayması, yüksek ürün verimine yol açar çünkü substrat/ürün inhibisyonu azalır (Cabral, vd, 1997).

2.1.4. Biyotransformasyonun temel unsurları

Enzimler, biyokatalizde tüm biyotransformasyon türlerinde önemli unsurlardır. Canlı organizmaları oluşturan veya bu organizmalar tarafından varlıklarını, korunmalarını ve iletişimlerini sağlamak üzere üretilen organik moleküllerin sentezi, değişikliği ve parçalanması için gereken olağanüstü sayıda reaksiyonu katalizlerler. Metabolik yollar ve hücre büyümesi, karbon-karbon, peptit veya ester bağlarının oluşumu, karbon-karbon bağlarının doymuluk/doymuluk olmama durumu ve oksidasyon gibi çeşitli reaksiyonları içerir. Enzimlerin, katalitik özelliklerine göre altı sınıfa ayrılmıştır:

1. Oksidoreduktazlar- Oksidasyon/redüksiyon
2. Transferazlar- Fonksiyonel grupların transferi
3. Hidrolazlar- Hidroliz reaksiyonları
4. Liazlar- Küçük moleküllerin eklenmesi/çıkarılması
5. İzomerazlar- İzomerizasyon reaksiyonları
6. Ligazlar- Formasyon/kuvaj reaksiyonları (Sanjukta,2007)

2.2. Biyotransformasyonlar ve Katalizörler

Biyotransformasyon reaksiyonları, genellikle enzimlerin katalizör olarak görev aldığı biyolojik süreçlerdir. Bu enzimler, saf halleriyle ayrılmış enzimler veya hücrelerin tamamında bulunan enzimler olabilir.

İzole enzimler, bir organizmadan tamamen ayrılmış ve arındırılmış, saflaştırılmış enzimlerdir. Bu enzimler büyük ölçüde laboratuvar ortamında belirli bir reaksiyonu

hızlandırmak için kullanılır. Özellikle belirli bir reaksiyonun mekanizması veya kinetiği üzerine çalışmalarda izole enzimler tercih edilebilir (Yıldırım, 2001).

Bütün hücre sistemlerinde bulunan enzimler ise bir organizmanın tamamında veya belirli bir hücre kültüründe bulunan enzimlerdir. Bu enzimler, biyolojik sistemlerin karmaşıklığına daha iyi uyum sağlayabilir ve belirli bir reaksiyonun yanı sıra birçok başka reaksiyonu da katalize edebilir. Bu nedenle, bütün hücre sistemlerinde bulunan enzimler biyotransformasyon çalışmalarında daha çok tercih edilmektedir. Her iki yöntemde de enzimler biyotransformasyon reaksiyonlarını hızlandırarak ve spesifiklik kazandırarak belirli bileşiklerin dönüşümünü sağlarlar. Bu şekilde, biyotransformasyon süreçleri endüstriyel ve bilimsel uygulamalarda geniş bir yelpazede kullanılabilir (Yıldırım, 2001).

2.3. Enzimatik Reaksiyonların Avantajları

Enzimatik reaksiyonların birçok avantajı vardır:

- **Yüksek Hız ve Etkinlik:** Enzimatik reaksiyonlar, enzimsiz gerçekleşen aynı reaksiyonlara göre çok daha hızlıdır. Enzimler, 10^8 – 10^{10} kat daha hızlı reaksiyon hızları sağlayabilir. Bu hız, kimyasal katalizörlerin ulaşamayacağı seviyelerdedir.
- **Düşük Katalizör Miktarı:** Enzimatik reaksiyonlar için genellikle çok düşük konsantrasyonlarda enzim (10^{-3} – 10^{-4}) kullanılır. Bu durum, işlemlerin ekonomik ve pratik olmasını sağlar.
- **Optimal Çalışma Koşulları:** Enzimatik reaksiyonlar çoğunlukla pH 5-8 ve 20-40 °C aralığında (çoğunlukla pH 7 ve 30 °C) gerçekleşir. Bu ılımlı şartlar, istenmeyen yan etkilerin en aza indirilmesini sağlar.
- **Çeşitli Reaksiyonları Kolayca Gerçekleştirme Yeteneği:** Enzimler, çeşitli biyokatalitik reaksiyonları kolayca gerçekleştirebilirler. Tek bir ortamda çeşitli reaksiyonları gerçekleştirmek ve ardışık reaksiyonları kolaylaştırmak mümkündür.
- **Geniş Substrat Toleransı:** Enzimler, sentetik substratlar üzerinde de etkin olabilir ve genellikle sulu ortamlarda çalışma gereksinimi duymazlar, bu da organik çözücülerin kullanılması gereken durumlarda avantaj sağlar.
- **Seçicilik:** Enzimler, belirli fonksiyonel gruplar üzerinde seçicilik gösterebilirler, bu da istenmeyen yan ürünlerin oluşma olasılığını azaltır.

Ayrıca, enzimler substrattaki kiral seçiciliği ile istenen enantiyomerin üretimini kolaylaştırabilirler.

- Zor veya İmkansız Reaksiyonların Gerçekleştirilmesi: Organik sentez yöntemleriyle zor veya neredeyse imkansız olan reaksiyonlar, enzimatik olarak daha kolay bir şekilde gerçekleştirilebilir.
- Çevre Dostu ve Ekonomik: Enzimatik reaksiyonlar, genellikle daha maliyet etkin ve çevre dostu olarak değerlendirilir. Bu niteliklerinden dolayı biyotransformasyon reaksiyonları, birçok endüstriyel ve bilimsel alanda tercih edilen bir yöntemdir (Arnold, 2000; Onat T, vd, 2006).

2.4. Biyotransformasyonda Kullanılan Enzimatik Sistemler

Biyotransformasyon reaksiyonları genellikle tam hücre sistemleri veya izole enzimatik sistemler kullanılarak gerçekleştirilir. Bütün hücre sistemlerinin bir parçası olarak kullanılan biyokatalizörler şunlardır:

- Mikroorganizmalar: Bakteriler, mantarlar ve diğer mikroorganizmalar, biyotransformasyon reaksiyonlarında yaygın olarak kullanılan biyokatalizörlerdir. Özellikle bakteriler ve mantarlar, endüstriyel ölçekte kullanılmak üzere çeşitli biyoteknolojik uygulamalarda önemli rol oynamaktadır .
- Bitkiler, Bitkilerin Dokuları ve Hücre Kültürleri: Bazı bitkilerin veya bunların doku ve hücre kültürlerinin içerdikleri enzimler, biyotransformasyon reaksiyonlarında kullanılabilir. Bu yöntem, özellikle bitki kaynaklı bileşiklerin sentezi veya modifikasyonu için önemlidir.
- Hayvanlar, Hayvan Doku ve Hücre Kültürleri: Belirli hayvanların veya bunların doku ve hücre kültürlerinin içerdikleri enzimler de biyotransformasyon reaksiyonlarında kullanılabilir. Fakat, bu yöntem diğerlerine göre daha az tercih edilmektedir.
- İnsan Metabolizması: İnsan vücudu içinde bulunan enzimler ve metabolik sistemler, belirli biyotransformasyon reaksiyonlarında kullanılabilir. Bu tür sistemlerin kullanımı genellikle ilaç metabolizması veya toksikoloji alanında araştırmalarda veya ilaç geliştirme süreçlerinde önemlidir (Onat T, vd, 2006).

Biyotransformasyon reaksiyonlarında özgün avantajlar sunabilir ve endüstriyel veya bilimsel uygulamalarda farklı amaçlara hizmet edebilir.

2.4.1. Biyotransformasyon reaksiyonlarını etkileyen faktörler

Biyotransformasyon reaksiyonlarını etkileyen faktörler oldukça çeşitlidir, çünkü bu reaksiyonlar canlı sistemler ve enzimler tarafından katalizlenir. Kimyasal reaksiyonlardan farklı olarak, biyotransformasyon için gereken şartlar daha karmaşık ve hassastır. Besiyerinin kompozisyonu, materyalin toksisitesi ve yoğunluğu (%0,1–10 aralığındaki tolerans), ortam sıcaklığı ($\pm 2^{\circ}\text{C}$ değişim limiti), çalkalma hızı, süre (saatler-aylar), oksijen miktarı, pH değeri ve mikroorganizmanın kökeni bu faktörler arasındadır. Ayrıca, Biyotransformasyonda, maddenin antibakteriyel etkisi ve bu etkinin gözlemlendiği konsantrasyon ve titizlik gerektirir. Enzimlerin dayanıklılığı ve ortam koşulları (pH, sıcaklık, UV ışığı vb.) da kritik öneme sahiptir (Reiss J., 2000)

2.5. Mikrobiyal Biyotransformasyon

Mikrobiyal biyotransformasyon teknikleri, çeşitli mikroorganizmaların (genellikle bakteri veya funguslar) yardımıyla bir moleküler yapının değiştirilmesi için önemli bir yöntem olarak kabul edilir. Bu teknik, birçok endüstriyel uygulama alanında kullanılmaktadır, özellikle ilaç, gıda ve kimyasal endüstrilerinde kullanılıyor (Peterson, vd, 1952).

Mikrobiyal biyotransformasyon, bir molekülün yapısal özelliklerini değiştirerek yeni bileşiklerin sentezlenmesine olanak tanır. Bu süreç, istenmeyen yan ürünlerin oluşumunu minimum seviyeye indirilmesi, yüksek saflıkta ve belirli fizikokimyasal özelliklere sahip bileşikler elde etmeyi sağlar (Bağcıoğlu, 2006).

Örneğin, bir ilaç molekülünün belirli bir reaksiyonla metabolize edilerek, istenilen farmakolojik aktiviteye sahip yeni bir türev elde edilebilir. İlaçların keşfedilmesi ve geliştirilmesi sürecinde kritik bir aşama olarak kabul edilmektedir. Ayrıca, gıda endüstrisinde aroma bileşiklerinin üretiminde de mikrobiyal biyotransformasyon teknikleri kullanılır (Hanson, J.R., 1995).

Mikrobiyal biyotransformasyon genellikle istenilen bileşiklerin üretilmesi ve moleküler çeşitliliğin artırılması için etkili bir yöntemdir. Bu teknik, hem doğal olarak bulunan mikroorganizmaların metabolik yeteneklerinden yararlanarak hem de genetik mühendislik yoluyla özelleştirilmiş mikroorganizmalar kullanılarak gerçekleştirilebilir (Faber, K., 2000).

Mikrobiyal biyotransformasyon süreçlerinde genellikle çeşitli kimyasal reaksiyonlar gerçekleşir. Bu işlemler 6 tane temel kimyasal değişimlere dayanır (Peterson, vd, 1952).

- Oksidasyon ve Redüksiyon: Bu reaksiyonlar, bir molekülün oksijen eklenmesi veya kaldırılması yoluyla gerçekleşir. Oksidasyon, bir molekülün elektron kaybetmesiyle karakterizedirken, redüksiyon bir molekülün elektron kazanmasıyla gerçekleşir.
- Hidroliz: Hidroliz, bir molekülün suyun katılımıyla parçalanmasıdır. Bu genellikle esterlerin veya glikozid bağlarının hidrolizi gibi substratların parçalanmasıyla gerçekleşir.
- Karbon-Karbon Bağ Oluşumu: Bu tepki, iki molekül arasında yeni bir karbon-karbon bağının meydana gelmesiyle gerçekleşir.
- Eliminasyon: Bu reaksiyon, bir molekülün bir diğer molekülden ayrılmasıyla gerçekleşir, genellikle suyun veya hidrojenin eliminasyonu yoluyla gerçekleşir.
- Glikoz Transferi: Bu reaksiyon, bir glikozun bir molekülden başka bir moleküle aktarılmasıyla gerçekleşir. Bu genellikle karbonhidrat metabolizması veya glikoz konjugasyonunda önemlidir.
- Halojenizasyon ve Dehalojenizasyon: Bu reaksiyonlar, bir molekülün bir halojen grubunun eklenmesi veya kaldırılmasıyla gerçekleşir (Peterson, vd, 1952).

Mikroorganizmalar, genellikle geniş bir enzim yelpazesine sahiptir ve bu enzimler çeşitli kimyasal reaksiyonları katalize edebilir. Bu nedenle, mikroorganizmalar farklı substratlar üzerinde geniş bir kimyasal dönüşüm yelpazesi gerçekleştirebilirler. Bu özellik, mikrobiyal biyotransformasyonun birçok endüstriyel ve biyolojik uygulamasında değerli kılan bir özelliktir (Donova, M.V., vd, 2012).

Mikrobiyal biyotransformasyonlar genellikle daha elverişli koşullarda gerçekleşir, klasik kimyasal yöntemlerden daha uygun bir ortamda gerçekleşir. Mikrobiyal biyotransformasyonlar genellikle klasik kimyasal metotlara göre daha uygun ortam şartlarında gerçekleşir. Bu yöntemler, genellikle oda sıcaklığında ve standart atmosferik basınç altında gerçekleştirilebilir (Fernandes, P., vd, 2003).

Mikrobiyal biyotransformasyonlar genellikle daha ekonomik ve hızlıdır. Klasik kimyasal sentez yöntemleri için gereken çeşitli reaktiflerin ve koşulların yerine, mikrobiyal biyotransformasyonlar genellikle daha basit bileşenlerle gerçekleştirilebilir. (Fernandes, P., vd, 2003).

Mikroorganizmalar, genellikle doğal olarak bulunan veya düşük maliyetli olarak üretilen besin maddeleri üzerinde yetiştirilebilir. Bu da işlem maliyetlerini daha da azaltır. Ayrıca, mikroorganizmaların genetik mühendislik yoluyla özelleştirilmesi, istenilen bileşiklerin daha yüksek verimle üretilmesini sağlayabilir (Fernandes, P., vd, 2003).

Sonuç olarak, mikrobiyal biyotransformasyonlar, klasik kimyasal sentez yöntemlerine kıyasla genellikle daha ılımlı koşullarda gerçekleşir, Daha maliyet-etkin bir yaklaşımdır ve sonuçları daha hızlı elde edilir. Bu sebepten dolayı, endüstriyel uygulamaların çoğunda tercih edilen bir yöntemdir, özellikle farmasötik, gıda, ve kimya endüstrilerinde (Fernandes, P., vd, 2003).

Mikrobiyal biyotransformasyonlar çevreye az miktarda zarar verdiği biliniği daha çok tercih edilen bir alternatif olarak kabul edilir. Klasik kimyasal sentez yöntemlerinde kullanılan birçok reaktif, atık ürünlerin oluşmasına ve çevresel kirliliğe neden olabilir. Ancak, mikrobiyal biyotransformasyonlar genellikle çevre için daha dostça bir seçenek sunar çünkü mikroorganizmalar doğal olarak birçok atık ürünü biyodegrade edebilir ve çevreye zarar veren yan ürünlerin oluşumunu en aza indirebilir (Keha, vd, 2005).

Ayrıca, mikrobiyal biyotransformasyonlar genellikle enantioselektif (enantioseçici) olarak gerçekleşir. Bu, mikroorganizmaların belirli bir enantiyomere (optik izomer) tercihli olarak dönüşüm yapabilmesi anlamına gelir. Bu özellik, özellikle ilaç endüstrisinde, tek enantiyomer üretiminin önemli olmasından dolayı endüstriye büyük avantaj sağlamaktadır. Çünkü bazı ilaçların etkinliği ve güvenilirliği, belirli bir enantiyomerin diğerine göre farklılıklar gösterebilir (Fernandes, vd, 2003).

Klasik kimyasal sentez yöntemleri genellikle hedef molekülleri rasemik karışımlar olarak üretir. Rasemik karışımlar, iki optik izomerin (enantiyomerin) eşit oranlarda bulunduğu bir karışımdır. Ancak, mikrobiyal biyotransformasyonlar genellikle belirli bir enantiyomerin seçimli olarak üretilmesini sağlar. Bu da ilaç endüstrisi gibi

alanlarda, istenilen enantiyomerin saf olarak sentezlenmesini sağlar böylelikle ilacın etkinliği ve güvenilirliği açısından önemlidir.

Sonuç olarak, mikrobiyal biyotransformasyonlar evre dostu bir yaklaşım sunar, enantioselektif olarak gerçekleşir. En yaygın olarak kullanılan sentez yöntemlerini tersine mikrobiyal biyotransformasyonların gerçekleşmesi anından substratların üzerinde bulunan diğer fonksiyonel grupların korunmasın gerek kalmaz. Enzimlerin bölgesel seçicilikleri sebebiyle bu üstünlük ortaya çıkmaktadır (Demain A.L., 2000)

2.6. Çalışmanın Amacı

şalkon bileşiklerinin biyolojik aktivitelerini ve metabolik yollarını daha iyi anlamak ve potansiyel olarak yeni biyolojik olarak aktif bileşiklerin sentezini sağlamaktır. Ayrıca, bu çalışmalar yeni ilaçlar veya biyoaktif bileşiklerin keşfi ve geliştirilmesi için önemli bir adım olabilir. *Aspergillus glaucus* küfünün kullanımıyla gerçekleştirilen bu biyotransformasyon çalışması, şalkon bileşiklerinin doğada ve biyolojik sistemlerde nasıl değiştiğini anlamak için önemli bir katkı sağlayabilir. Bu çalışmanın amacı (E)-3-(4-nitrofenil)-1-fenilprop-2-en-1-on (1), (E)-3-(4-bromofenil)-1-fenilprop-2-en-1-on (2), (E)-3-(4-klorofenil)-1-fenilprop-2-en-1-on (3) bileşiklerinin *A. glaucus* 200914 kf ile biyotransformasyonlarının incelenmesidir.



3. 3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Kullanılan Araç Gereçler ve Sarf Malzemeler

Deneylerde kullanılan cam ekipmanlar ile besiyerleri, Nüve OT 020 marka otoklav cihazında 121 °C sıcaklıkta 20 dakika boyunca sterilize edildi. Küflerin büyütülmesi ve biyotransformasyon çalışmaları, çalkalamalı inkübatör cihazı olan IKA KS 400 ile gerçekleştirildi. ¹H NMR ve ¹³C NMR spektrumları, Varian Mercury 300 NMR spektrometresinde, tetrametilsilan standardı kullanılarak döterokloroform içinde 300 MHz frekansında elde edildi.

Deneyisel araştırmalarda kullanılan küf kültürleri, TÜBİTAK MAM Kurumu'ndan biyotransformasyon çalışmalarında kullanılmak üzere yatık agar kültürü şeklinde temin edildi. Bu kültürlerin tazelenmesi ve çoğaltılması, PDA içeren yatık agar besiyerinde yapılarak 4 °C altında saklandı. Küfler için besiyerlerinin hazırlanmasında kullanılan tüm kimyasallar, Merck firmasından sağlandı.

3.2. Taze Yatık Agar Kültürlerinin Hazırlanması

Yatık agar çözeltisini hazırlarken, agar (1,20 g) ve PDA (patates dekstroz agar) (5,85 g) karışımına 150 mL'ye kadar saf su eklenip ardında kaynatarak hazırlandı. Hazırlanan besiyeri soğumadan önce 30 adet 22 mL'lik cam şişenin yarısına gelecek şekilde ilave edildi ardından otoklavda 121 °C'de 20 dakika süreyle sterilize edildi. Sterilize edilmiş şişelerdeki eritilmiş eğik agarlar yaklaşık 45 derecelik bir eğimle soğumasına izin verilerek steril ortamda hazırlandı.

3.3. *A. glaucus* Küf Kültürlerinin Tazelenmesi

Yatık agarda hazırlanmış olan besiyerlere steril koşullarda aktarılan *A. glaucus* 200914 oda sıcaklığında 14 gün boyunca çoğalmak üzere bırakıldı. Hazırlanan yatık agarlardaki kültürlerden en iyi gelişim göstermiş olan *A. glaucus* 200914 küfü iki haftada bir steril koşullarda hazırlanan yeni yatık agarlara aktararak en gelişmiş ve taze küf kültürü biyotransformasyon işlemi için kullanıldı.

3.4. Biyotransformasyonu Gerçekleştirilecek Substratın İlavesi

Biyotransformasyonun yapılacağı her 500 mg şalkon, 10 mL etanol içinde çözündürüldükten sonra, steril koşullarda küf içeren erlenlere eşit hacimlerde eklenmiş ve bu erlenler 28 °C'de çalkalanarak inkübasyona alınmıştır. Deneyin amacı, belirli bir süre boyunca (5 gün) bu koşullarda şalkonun biyotransformasyonunu izlemektir.

3.5. Bileşiklerin Ekstraksiyonu ve Saflaştırılması

Biyotransformasyon sonucunda, besiyerinden *A. glaucus 200914* küf kültürüne ait miseller, bir Buchner hunisi kullanılarak süzülerek ayrıldı. Buchner hunisinde kalan miseller, etil asetat (500 mL) ile yıkanarak temizlendi. Süzüntüde bulunan bileşikler, her biri (1 L) etil asetat kullanılarak üç kez ekstrakte edildi. Daha sonra ekstraktlara suyun uzaklaştırılması için susuz sodyum sülfat eklenerek işlem tamamlandı. Etil asetatın evaporatörde uzaklaştırılmasından sonra kahverengi bir kalıntı elde edildi. Her bir biyotransformasyon çalışması için, başlangıç maddesi ve her bir kalıntıyı karşılaştırmak amacıyla ince tabaka kromatografisi (İTK) çalışması yapıldı.

3.6. Biyotransformasyon Çalışmalarının Kontrolü

Yapılan her bir biyotransformasyon deneyi, üç farklı kontrol erleniyle izlendi. İlk kontrol erleninde yalnızca besiyerine yer verilirken, ikinci kontrol erlenine besiyeri ve bir substrat eklendi. Üçüncü kontrol erlenine besiyerleri ve mikroorganizmalar eklenmiştir. Her bir kontrol erleni için, biyotransformasyon çalışmalarındaki tüm adımlar özenle uygulanmıştır. Kontrol erlenlerinden kalan kalıntılar, ¹H NMR analiziyle incelenerek, ana deneylerde oluşan metabolitlerin asıl biyotransformasyon ürünleri olup olmadığı doğrulandı.

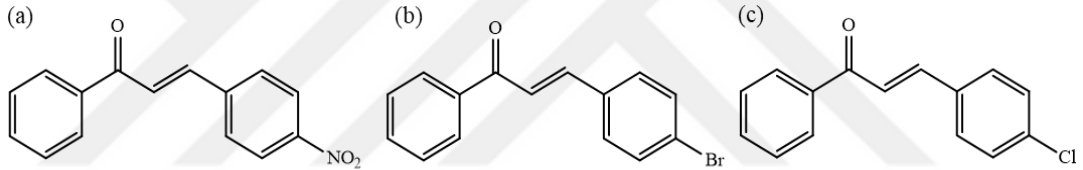
3.7. *A. glaucus* Küfü ile Şalkonların Biyotransformasyonları

A. glaucus 200914 kültürünün besiyerinin hazırlanması için gereken bileşenler ve bunların 1 L çözeltildeki miktarları Tablo 3.1'de listelenmiştir.

Tablo 3.1. *A. glaucus* 200914 kültürüne ait besiyeri bileşenleri

Bileşenler	Miktar (g)
Glukoz	20,00
Pepton	5,00
Maya ekstraktı	3,00
Malt ekstraktı	3,00

Şekil 3.1’de açık yapısı gösterilen şalkonların Her biri 500 mg olarak tartılan şalkonlar 10 mL etanol içinde çözüldü ve yeterli miktarda küf içeren steril koşullarda hazırlanmış erlenlere eşit hacimlerde ilave edildi. Biyotransformasyonları gerçekleştirilen (E)-3-(4-nitrofenil)-1-fenilprop-2-en-1-on (**1**), (E)-3-(4-bromofenil)-1-fenilprop-2-en-1-on (**2**) ve (E)-3-(4-klorofenil)-1-fenilprop-2-en-1-on (**3**) şalkonları 25 °C’de, çalkalamalı inkübatörde 160 rpm’de 5 günlük inkübasyon için *A. glaucus* 200914 içeren erlenlere steril koşullarda aktarıldı.



Şekil 3.1 Biyotransformasyonları gerçekleştirilen substratlar (a) (E)-3-(4-nitrofenil)-1-fenilprop-2-en-1-on (**1**), (b) (E)-3-(4-bromofenil)-1-fenilprop-2-en-1-on (**2**), (c) (E)-3-(4-klorofenil)-1-fenilprop-2-en-1-on (**3**)

3.7.1. (E)-3-(4-nitrofenil)-1-fenilprop-2-en-1-on (**1**) *A. glaucus* 200914 ile biyotransformasyonu

A. glaucus 200914 tarafından 5 gün boyunca (E)-3-(4-nitrofenil)-1-fenilprop-2-en-1-on (**1**) bileşiğinin biyotransformasyonu incelendi. Biyotransformasyon işlemlerinin ardından başlangıç materyali ve elde edilen ürünlerin ¹H NMR ve ¹³C NMR spektrumları alındı.

3.7.2. (E)-3-(4-bromofenil)-1-fenilprop-2-en-1-on (**2**) *A. glaucus* 200914 ile biyotransformasyonu

A. glaucus 200914 ile 5 gün boyunca (E)-3-(4-bromofenil)-1-fenilprop-2-en-1-on (**2**) bileşiğinin biyotransformasyonu incelendi. Biyotransformasyon işlemlerinin ardından başlangıç materyali ve elde edilen kalıntının ¹H NMR spektrumları alındı.

3.7.3. (E)-3-(4-klorofenil)-1-fenilprop-2-en-1-on (3) *A. glaucus* 200914 ile biyotransformasyonu

A. glaucus 200914 ile 5 gün boyunca (E)-3-(4-klorofenil)-1-fenilprop-2-en-1-on (3) bileşiminin biyotransformasyonu incelendi. Biyotransformasyon işlemlerinin ardından başlangıç materyali ve elde edilen kalıntının ^1H NMR spektrumları alındı.

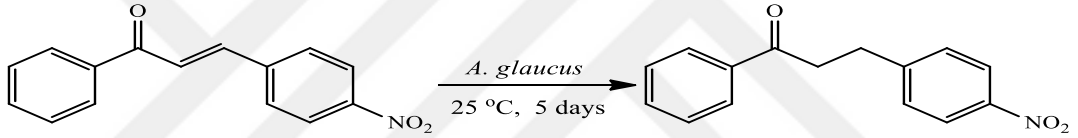


4. 4. DENEYSEL BULGULAR

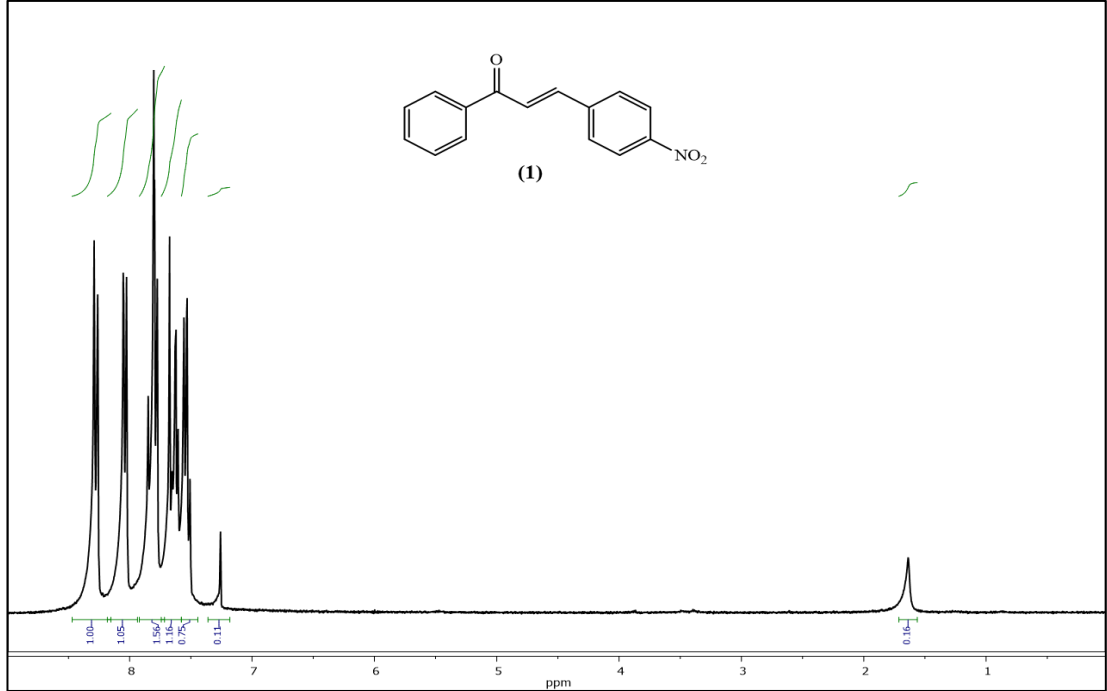
4.1. *A. glaucus* Küfü ile Biyotransformasyonlar

4.1.1. (E)-3-(4-nitrofenil)-1-fenilprop-2-en-1-on (1) Şalkonunun *A. glaucus* 200914 ile biyotransformasyonu

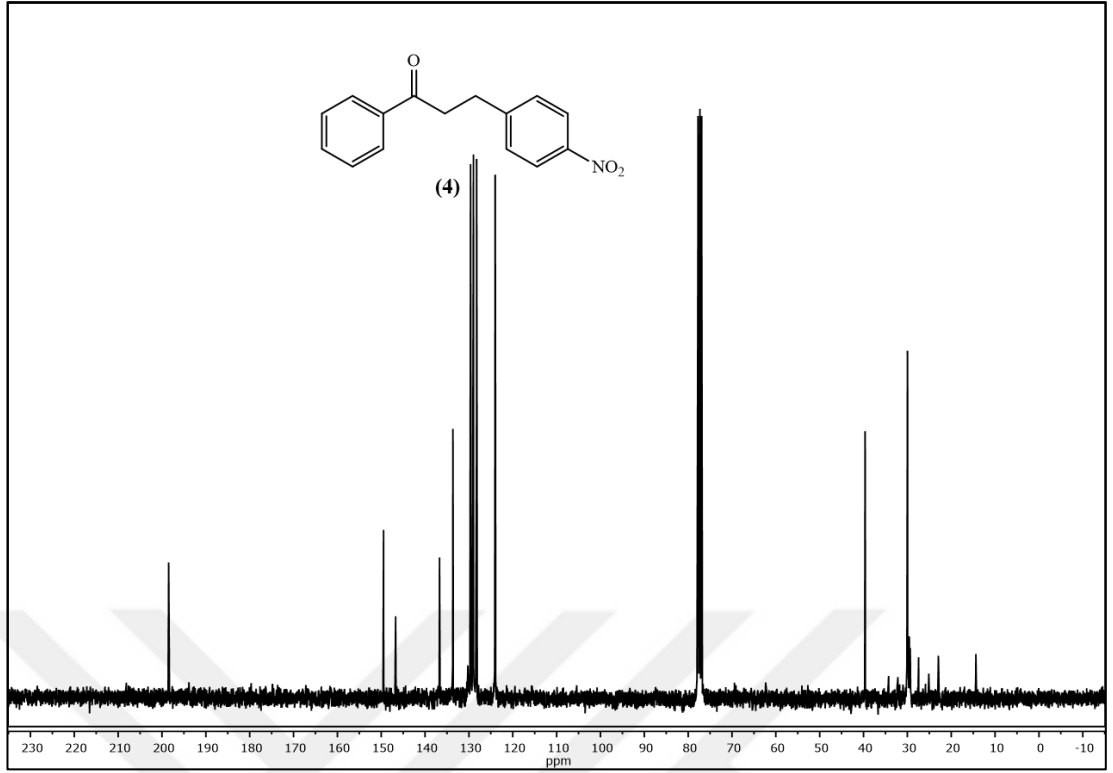
Şekil 4.1'de gösterilen (E)-3-(4-nitrofenil)-1-fenilprop-2-en-1-on (1) bileşiğinin *A. glaucus* 200914 küfü ile 5 gün boyunca 25 °C inkübasyonu sonucunda 3-(4-nitrofenil)-1-fenilpropan-1-on (4) (445 mg) ile yapıları aydınlatılamayan bazı safsızlıklar elde edildi. Şekil 4.2'de başlangıç maddesinin, Şekil 4.3'de indirgenmiş ürünün, Şekil 4.4'de biyotransformasyon reaksiyonu neticesinde elde edilen ürünün ¹H NMR spektrumu ve Şekil 4.5'de ise ¹³C NMR spektrumu verilmiştir.



Şekil 4.1. (E)-3-(4-nitrofenil)-1-fenilprop-2-en-1-on (1) bileşiğinin *A. glaucus* 200914 ile biyotransformasyonu



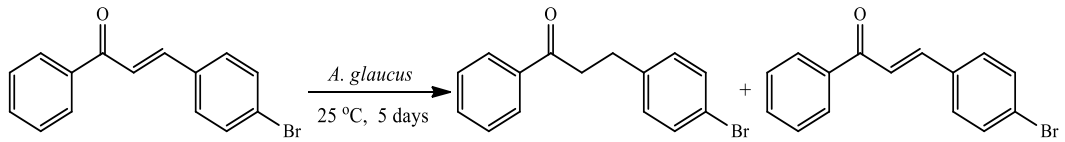
Şekil 4.2. (E)-3-(4-nitrofenil)-1-fenilprop-2-en-1-on (1) bileşiğinin ¹H NMR spektrumu



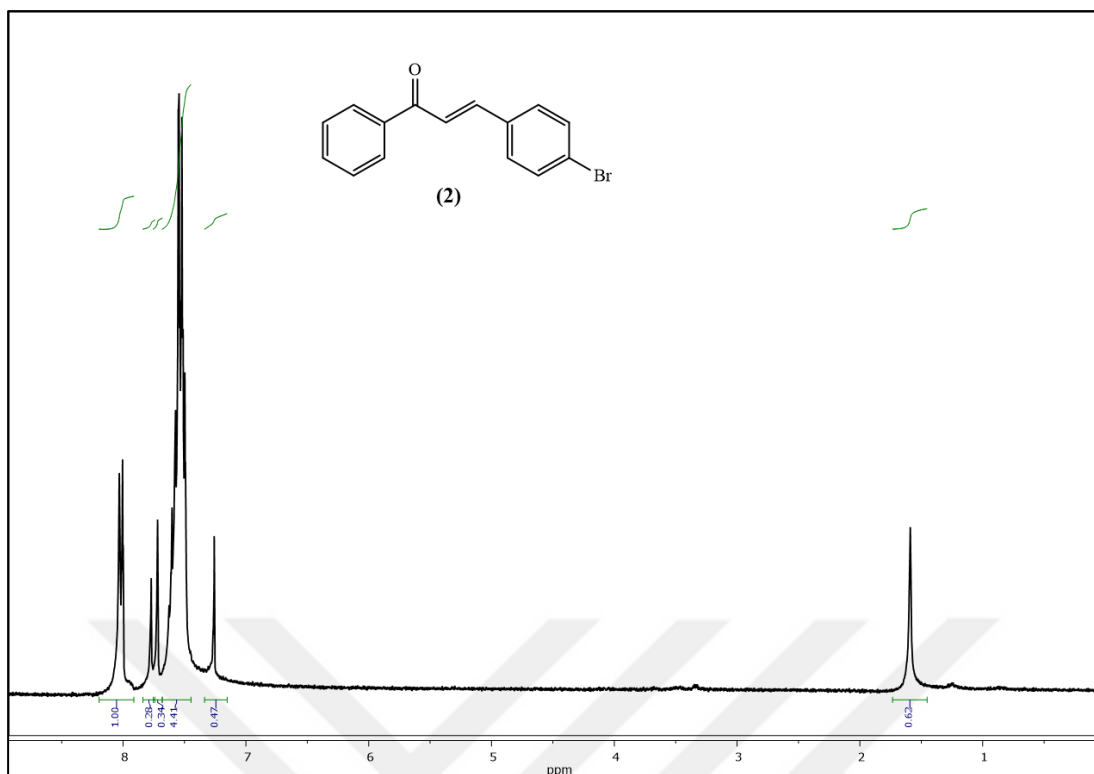
Şekil 4.5. (E)-3-(4-nitrofenil)-1-fenilprop-2-en-1-on (1) bileşiğinin *A. glaucus* 200914 küfü ile 5 gün süren inkübasyonu sonucunda elde edilen kalıntıya ait ^{13}C NMR spektrumu

4.1.2. (E)-3-(4-bromofenil)-1-fenilprop-2-en-1-on (2) Şalkonunun *A. glaucus* 200914 ile biyotransformasyonu

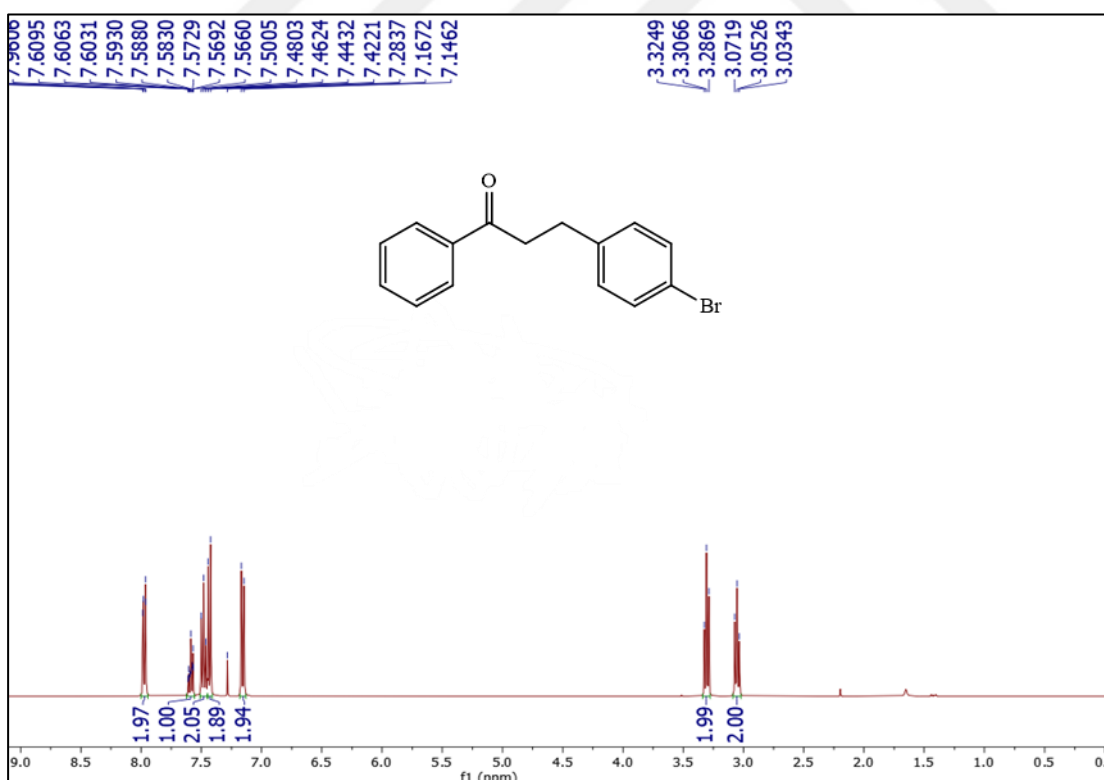
Şekil 4.6'da gösterilen (E)-3-(4-bromofenil)-1-fenilprop-2-en-1-on (2) bileşiğinin *A. glaucus* 200914 küfü ile 5 gün boyunca 25 °C'de inkübasyonu sonucunda, 230 mg başlangıç maddesi değişmeden kalırken 3-(4-bromofenil)-1-fenilpropan-1-on (5) (200 mg) ile tanımlanamayan bazı safsızlıklar elde edildi. Şekil 4.7.'de başlangıç maddesinin, Şekil 4.8.'de indirgenmiş ürünün ve Şekil 4.9.'de biyotransformasyon reaksiyonu neticesinde elde edilen ürünün ^1H NMR spektrumları verilmiştir.



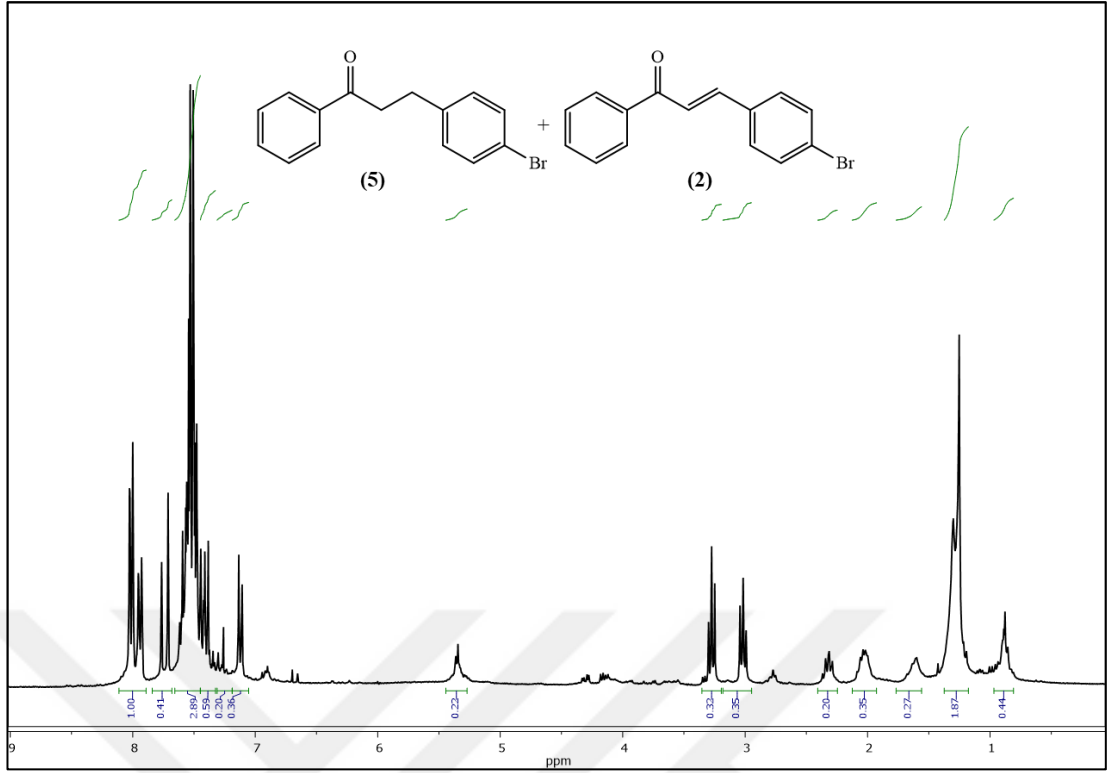
Şekil 4.6. (E)-3-(4-bromofenil)-1-fenilprop-2-en-1-on (2) bileşiğinin *A. glaucus* 200914 ile biyotransformasyonu



Şekil 4.7. (E)-3-(4-bromofenil)-1-fenilprop-2-en-1-on (2) bileşiğinin ¹H NMR spektrumu



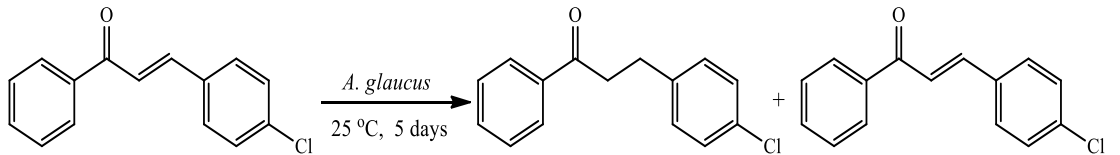
Şekil 4.8. 3-(4-bromofenil)-1-fenilpropan-1-on (5) bileşiğinin ¹H NMR spektrumu (Rajai-Daryasarei, vd., 2023)



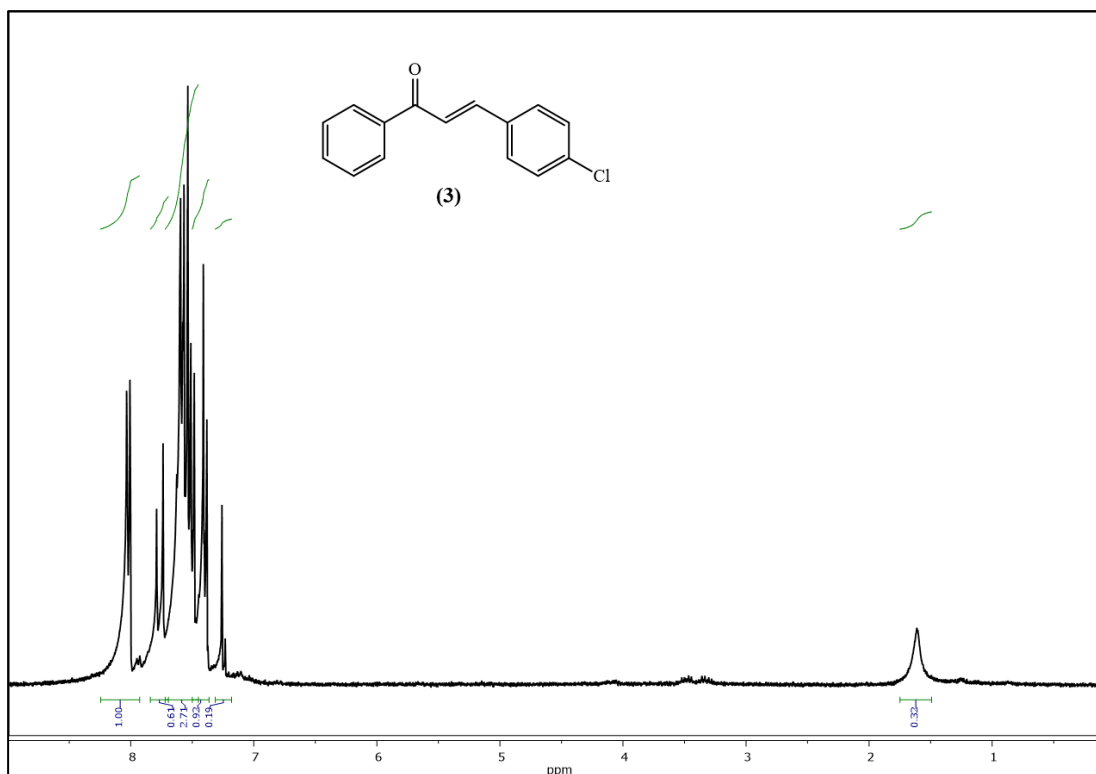
Şekil 4.9. (E)-3-(4-bromofenil)-1-fenilprop-2-en-1-on (2)'nin *A. glaucus* 200914 küfö ile 5 gün süren inkübasyonu sonucunda elde edilen kalıntıya ait ^1H NMR spektrumu

4.1.3. 4.1.3. (E)-3-(4-klorofenil)-1-fenilprop-2-en-1-on (3) Şalkonun *A. glaucus* 200914 ile biyotransformasyonu

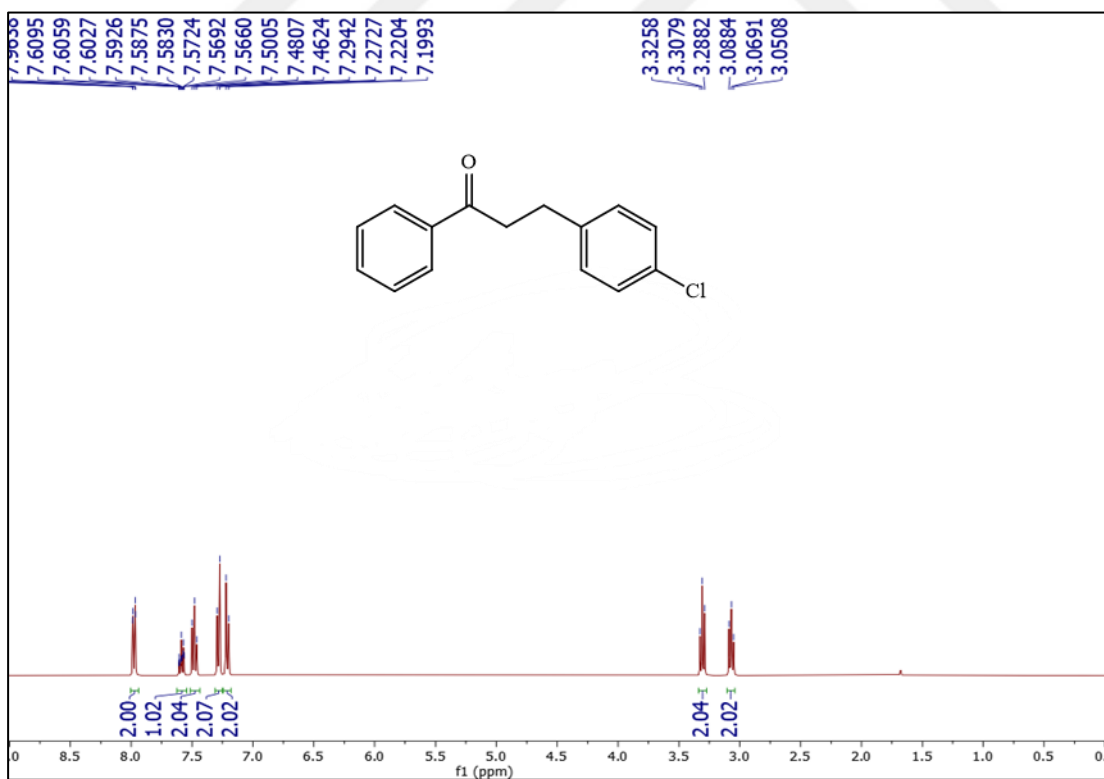
Şekil 4.10'da gösterilen (E)-3-(4-klorofenil)-1-fenilprop-2-en-1-on (3) bileşiğinin *A. glaucus* 200914 küfö ile 25 °C'de 5 gün süren inkübasyonu sonucunda, başlangıç maddesinin bir kısmı (245 mg) değişmeden kalırken, indirgenmiş ürün olan 3-(4-klorofenil)-1-fenilpropan-1-on (6) (215 mg) ile yapıları aydınlatılamayan bazı safsızlıklar elde edildi. Şekil 4.11'de başlangıç maddesinin, Şekil 4.12'de indirgenmiş ürünün ve Şekil 4.13.'de biyotransformasyon reaksiyonu neticesinde elde edilen ürünün ^1H NMR spektrumları verilmiştir.



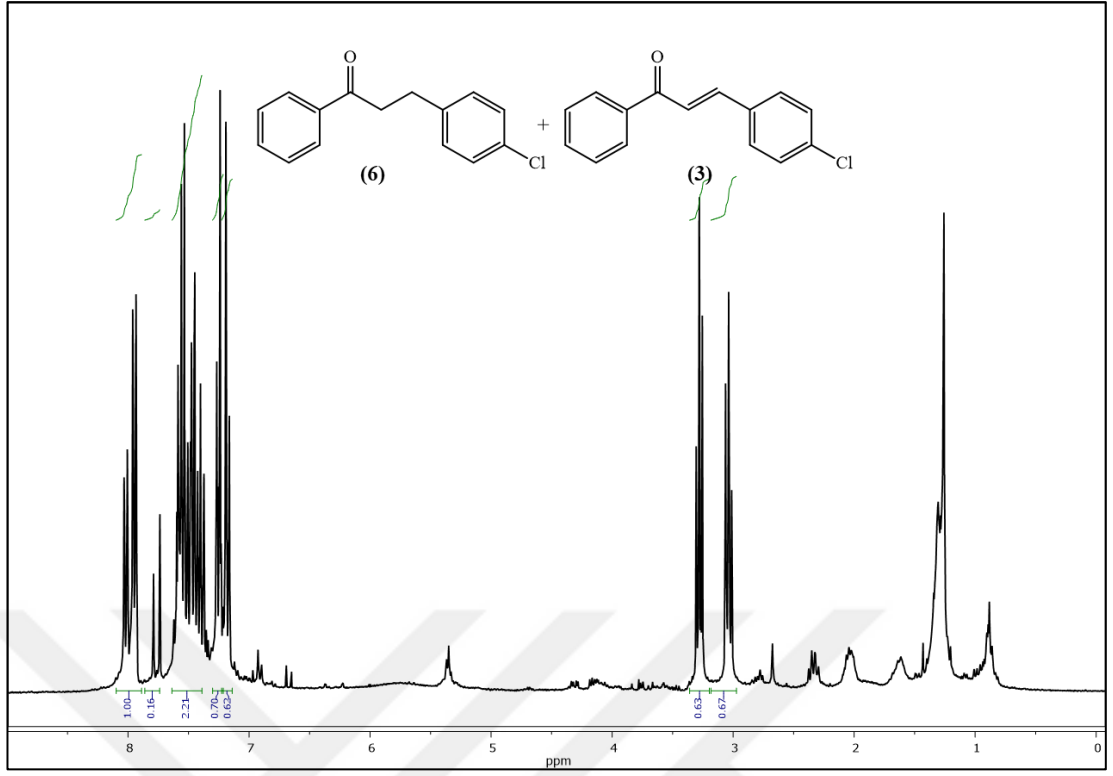
Şekil 4.10. (E)-3-(4-klorofenil)-1-fenilprop-2-en-1-on (3) bileşiğinin *A. glaucus* 200914 ile biyotransformasyonu



Şekil 4.11. (E)-3-(4-klorofenil)-1-fenilprop-2-en-1-on (3) bileşiğinin ¹H NMR spektrumu



Şekil 4.12. 3-(4-klorofenil)-1-fenilpropan-1-on (6) bileşiğinin ¹H NMR spektrumu (Rajai-Daryasarei, vd., 2023)



Şekil 4.13. (E)-3-(4-klorofenil)-1-fenilprop-2-en-1-on (3)'nin *A. glaucus* 200914 ile 5 günlük inkübasyonunda elde edilen kalıntıya ait ¹H NMR spektrumu



5. 5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR

Bu tez çalışmasında (E)-3-(4-nitrofenil)-1-fenilprop-2-en-1-on **(1)**, (E)-3-(4-bromofenil)-1-fenilprop-2-en-1-on **(2)** ve (E)-3-(4-klorofenil)-1-fenilprop-2-en-1-on **(3)** bileşiklerinin *A. glaucus* küfü ile 25 °C’de 5 gün süren biyotransformasyonları gerçekleştirildi.

(E)-3-(4-nitrofenil)-1-fenilprop-2-en-1-on **(1)** şalkonunun *A. glaucus* küfü ile 25 °C’de 5 gün süren inkübasyonu neticesinde indirgenmiş ürün olan 3-(4-nitrofenil)-1-fenilpropan-1-on **(4)** ile yapıları aydınlatılamayan bazı safsızlıklar elde edildi. 3-(4-nitrofenil)-1-fenilpropan-1-on **(4)** bileşiğinin yapısı ¹H NMR spektrumunun başlangıç maddesinin spektrumu ile karşılaştırılmak suretiyle tespit edildi (Zheng vd., 2023).

(E)-3-(4-bromofenil)-1-fenilprop-2-en-1-on **(2)** bileşiğinin *A. glaucus* küfü ile 25 °C’de 5 gün süren inkübasyonu neticesinde başlangıç maddesi, indirgenmiş ürün olan 3-(4-bromofenil)-1-fenilpropan-1-on **(5)** ve yapıları aydınlatılamayan bazı safsızlıklar elde edildi. Bileşiğin yapısı ¹H NMR spektrumunun başlangıç maddesinin spektrumu ile karşılaştırılmak suretiyle tespit edildi (Luo, vd., 2022)

(E)-3-(4-klorofenil)-1-fenilprop-2-en-1-on **(3)** bileşiğinin *A. glaucus* küfü ile 25 °C’de 5 gün süren inkübasyonu neticesinde başlangıç maddesi, indirgenmiş ürün olan 3-(4-klorofenil)-1-fenilpropan-1-on **(6)** ve yapıları aydınlatılamayan bazı safsızlıklar elde edildi. Bileşiğin yapısı ¹H NMR spektrumunun başlangıç maddesinin spektrumu ile karşılaştırılmak suretiyle tespit edildi (Rajayi, vd., 2023).

Bu çalışmada kullanılan şalkonlar olan (E)-3-(4-nitrofenil)-1-fenilprop-2-en-1-on **(1)**, (E)-3-(4-bromofenil)-1-fenilprop-2-en-1-on **(2)** ve (E)-3-(4-klorofenil)-1-fenilprop-2-en-1-on **(3)** bileşiklerinin ilk kez biyotransformasyonları gerçekleştirilmiştir. Bu bileşiklerin *A. glaucus* küfü ile biyotransformasyonları sonucunda elde edilen karışımlara ait ¹H NMR spektrumunda, başlangıç maddelerinin ¹H NMR’ında bulunmayan 3-3,5 ppm arasında -CH₂ protonlarına ait pikler görülmektedir. (E)-3-(4-nitrofenil)-1-fenilprop-2-en-1-on **(1)** bileşiğinin biyotransformasyonu neticesinde tek ürün olan 3-(4-nitrofenil)-1-fenilpropan-1-on **(4)** bileşiğine ait NMR’ında 3-3,5 ppm arasında -CH₂ protonlarına ait pikler görülmektedir. (E)-3-(4-bromofenil)-1-fenilprop-

2-en-1-on **(2)** ve (E)-3-(4-klorofenil)-1-fenilprop-2-en-1-on **(3)** bileşiklerinin *A. glaucus* küfü ile biyotransformasyonundan ortaya çıkan karışıma ait ^1H NMR spektrumlarında ise hem 3-3,5 ppm aralığında $-\text{CH}_2$ protonlarına ait pikler hem de 7,2-8,2 aralığında başlangıç maddelerine ait pikler de görülmektedir. *A. glaucus* küfünün üç farklı şalkon bileşiğini de benzer şekilde metabolize etmesi *A. glaucus* ile şalkonlar üzerinde yapılacak biyotransformasyonlar ile ilgili benzer sonuçlar elde edilebileceğini göstermektedir.



KAYNAKLAR

- Arnold, L., "Small Bugs, Big Business: The Economic Power of the Microbe", *Biotechnology Advances*, 18, 499-514, 2000.130
- Buckland, B. C., Dunnill, P., Lilly, M. D. (1975), The Enzymatic Transportation of water insoluble reactants in non aqueous solvents. Conversion of Cholesterol to Cholest-4-ene-3-one by a *Nocardia* sp. *Biotechnol. Bioeng.* 17:815-826.
- Cabral, J. M. S., Aires, M. R., Pinheiro, H. and Prazeres. D. M. F. (1997), Biotransformation in organic media by enzymes and whole cells. *J. of Biotechnol* 59 (1-2):133-143.
- Carla, C. C., Carvalho, R., Frederik, K. and Manuela, R. M. (2000), Botransformation of Limonene-1,2-epoxide to Limonene-1,2-diol, *Food.Technol. Biotechnol.* 38 (3): 181–185.
- Demain A.L., Small Bugs, Big Business: The Economic Power of the Microbe, *Biotechnology Advances*, 18, 499-514, 2000.
- Donova, M.V., Egorova, O.V., Microbial Steroid Tranformation: Current State and Prospects, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 94, 1423–1447, 2012.
- Faber, K., Biotransformations in Organic Chemistry, Fifth Edition, SpringerVerlag, Berlin, 1-407, 2003. *Biotechnology Advances*, 18, 499-514, 2000.
- 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
- Fukai, S. and Tanaka, A. (1981), Bioconversion of Lipophilic Compounds by Immobilised Microbial Cells in Organic Solvents. *Acta Biotechnol.*, 1 (4), 339-477.
- Glazer, A. N. and Nikaido, H. (1995), In: *Microbial Biotechnology: Fundamentals of Applied Microbiology*. Freeman, New York.
- Hanson, J.R., "An Introduction to Biyotransformations in Organic Chemistry", W.H. Freeman Spektrum, 1-58, New York, USA, 1995.
- Harish, K. S and Gina, S. S. (1994), Solvent Selection and Productivity in Multiphase Biotransformation Systems. *Biotechnol. Prog.* 10:187-192.
- Keha, E. E., Küfrevioğlu, Ö. İ., *Biyokimya*, Dördüncü baskı, Aktif Yayınevi, 93-188, Erzurum, 2005
- Luo, Z., Zhang, X., Liu, Z. Q., Hong, C. M., Li, Q. H., & Liu, T. L. (2022). Ruthenium-Catalyzed 1, 3-Aryl Redox Isomerization of Allylic Alcohols. *Organic Letters*, 24(43), 8072-8076.
- Luo, Z., Zhang, X., Liu, Z. Q., Hong, C. M., Li, Q. H., & Liu, T. L. (2022). Ruthenium-Catalyzed 1, 3-Aryl Redox Isomerization of Allylic Alcohols. *Organic Letters*, 24(43), 8072-8076.

- Michaelis, L. and Menten, M. L. (1913), Die Kinetik der Invertasewirkung. *Biochem J.* 49:333–369.
- Onat T., Emerk K., Sözmen E.Y., İnsan Biyokimyası, Palme Yayıncılık, Ankara, 2006
- Pacl, H., Festel, G. Wess G. (2004) The Future of Pharma R&D : Challenges and trends. P 27-38, Festel Capital (Huenenberg)
- Pasteur, L. (1858), Mémoire sur la fermentation appelle lactique. *Ann. Chim. Phys.* 52: 404–418.
- Patra Sanjukta, Biotransformation of caffeine to value added products (2007).
- Peterson, D. H., Murray, H. C., “Microbial Oxygenation of Steroids at Carbon 11”, *Journal of American Chemical Society*, 74, 1871-1872, 1952.
- Rajai-Daryasarei, S., Hosseini, M. S., & Balalaie, S. (2023). Chemoselective Reduction of α , β -Unsaturated Carbonyl Compounds via a CS₂/t-BuOK System: Dimethyl Sulfoxide as a Hydrogen Source. *The Journal of Organic Chemistry*, 88(15), 10828-10835.
- Reiss J., Genetics of molybdenum cofactor deficiency. *Hum. Genet* 106, 157-163, 2000
- Tamer Akar, Furanosteroid Yapılı Bazı Bileşiklerin Antifungal Etkinliğinin Ve *Neurospora Crassa* Fungal Kültürünün Biyotransformasyon Ve Biyosorpsiyon Özelliklerinin İncelenmesi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Eskişehir, Aralık 2005, Doktora Tezi
- Terada LS, Radisavljevic Z, Mahr NN, Jacobson ED. Xanthine oxidase decreases production of gut wall nitric oxide. *Proc Soc Exp Bio. Med* 1997; 216 (3): 40-41
- Ülkü Bağcıoğlu, Bazı Steroidlerin *Cephalosporium Aphidicola* Küfö İle Biyotransformasyonu, Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2006
- Yıldırım, K., “The Biotransformation and Synthesis of Some Steroids”, D. Phil. Thesis, Sussex University, 8-81, England, 2001.
- Zheng, J., Wang, Q., Li, Y., Zheng, H., Hu, C., Hu, X., ... & Li, R. (2023). Palladium-Catalyzed Multicomponent Cascade Reaction of 3-Hydroxypropionitrile: Synthesis of Substituted Dihydrochalcones. *The Journal of Organic Chemistry*, 88(13), 9187-9198.

ÖZGEÇMİŞ

Ad-Soyad : Ayça MERAL

ÖĞRENİM DURUMU:

- **Lisans** : 2021, Sakarya Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü
- **Yükseklisans** : 2021 Devam eden, Sakarya Üniversitesi, Kimya Anabilim Dalı, Biyokimya

TEZDEN TÜRETİLEN ESERLER:

- Yılmazer Keskin, S., Meral, A., Derin, Y., Öztürk, R., Tutar, A. (2023, 11-13 Ekim), Investigation of biotransformation of a chalcone derivative by *Aspergillus glaucus*, EurasianBioChem 2023, Ankara, Türkiye.
- Yılmazer Keskin, S., Meral, A., Altundal, A. T., Derin, Y., Aydın, E. N., Tutar, A. (2023, 11-13 Ekim), Biotransformation of (E)-1-phenyl-3-(p-tolyl)prop-2-en-1-one by *Aspergillus glaucus*, EurasianBioChem 2023, Ankara, Türkiye.

DİĞER ESERLER: