

**T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BAZI ŞALKONLARIN FUNGAL
BİYOTRANSFORMASYONLARININ İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ayşin Tuğçenur ALTUNDAL

Kimya Anabilim Dalı

Biyokimya Bilim Dalı

TEMMUZ 2024

T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BAZI ŞALKONLARIN FUNGAL
BİYOTRANSFORMASYONLARININ İNCELENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ayşin Tuğçenur ALTUNDAL

Kimya Anabilim Dalı

Biyokimya Bilim Dalı

Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Semra YILMAZER KESKİN

TEMMUZ 2024

Ayşin Tuğçenur ALTUNDAL tarafından hazırlanan “Bazı Şalkonların Fungal Biyotransformasyonlarının İncelenmesi” adlı tez çalışması 18.07.2024 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Sakarya Üniversitesi Fen Yüksek Lisans tezi Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı Biyokimya Bilim Dalı’nda Yüksek Lisans tezi olarak 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 “BAZI ŞALKONLARIN FUNGAL BİYOTRANSFORMASYONLARININ İNCELENMESİ” 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)

Ayşin Tuğçenur ALTUNDAL





Atalay'ıma



TEŞEKKÜR

Bu çalışmada danışmanlığımı yapan, çalışmayı büyük bir titizlikle sabırla yöneten, çalışma süresince fedakarlığını esirgemeyen, bilgi ve tecrübesinden yararlandığım kıymetli hocam Dr. Öğr. Üyesi Semra YILMAZER KESKİN'e teşekkürlerimi sunarım.

Bana büyük destek olan, kılavuzluk eden, kendisine her danıştığım da bana kıymetli zamanını ayırıp sabırla ve büyük bir ilgiyle bana faydalı olabilmek için elinden gelenden fazlasını sunan, her sorun yaşadığım da yanına çekinmeden gidebildiğim, güler yüzünü ve samimiyetini benden esirgemeyen ve gelecekteki mesleki hayatımda da bana verdiği değerli bilgilerinden faydalanacağımı düşündüğüm Öğr.Gör.Abdülhakim AYDIN'a teşekkürü bir borç biliyor ve şükranlarımı sunuyorum.

Yaşamım boyunca maddi manevi her türlü desteği esirgemeyen, bana güç veren aileme teşekkürlerimi sunarım.

Her zaman yanımda olan ve desteğini biran olsun esirgemeyen canım eşime teşekkür ederim.

Ayşin Tuğçenur ALTUNDAL



İÇİNDEKİLER

Sayfa

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ	v
TEŞEKKÜR	ix
İÇİNDEKİLER	xi
KISALTMALAR	xiii
TABLO LİSTESİ	xv
ŞEKİL LİSTESİ	xvii
ÖZET	xix
SUMMARY	xxi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Biyotransformasyonlar	5
2.2. Mikrobiyal Biyotransformasyonlar	7
2.3. Biyotransformasyonlarda Kullanılan Doğal Metabolitlerin Alternatifleri	11
2.4. Şalkonlar	12
2.5. Bazı <i>Aspergillus</i> Türleri İle Biyotransformasyon Çalışmaları	16
2.6. Çalışmanın Amacı	18
3. MATERYAL VE YÖNTEM	19
3.1. Kullanılan Ekipman ve Sarf Malzemeler	19
3.2. Taze Yatık Agar Kültürlerinin Elde Edilmesi	19
3.3. <i>A.glaucus</i> Küf Kültürlerinin Tazelenmesi	19
3.4. Biyotransformasyonu Gerçekleştirilecek Substratın Eklenmesi	20
3.5. Bileşiklerin Ekstraksiyonu ve Saflaştırılması	20
3.6. Biyotransformasyon Çalışmalarının Kontrolü	20
3.7. <i>A. glaucus</i> Küf ile Şalkonların Biyotransformasyonları	20
3.7.1. (E)-Şalkon (1) <i>A. glaucus</i> küf ile biyotransformasyonu	22
3.7.2. (E)-1-fenil-3-(p-tolil)prop-2-en-1-on, (2) <i>A.glaucus</i> küf ile biyotransformasyonu	22
3.7.3. (E)-3-(4-metoksifenil)-1-fenilprop-2-en-1-on, (3) <i>Aspergillus glaucus</i> küf ile biyotransformasyonu	22
4. DENEYSEL BULGULAR	23
4.1. Şalkonların Biyotransformasyonları	23
4.1.1. (E)-Şalkon (1) bileşiğinin <i>Aspergillus glaucus</i> ile biyotransformasyonu	23
4.1.2. (E)-1-fenil-3-(p-tolil)prop-2-en-1-on (2) bileşiğinin <i>Aspergillus glaucus</i> ile biyotransformasyonu	25
4.1.3. (E)-3-(4-metoksifenil)-1-fenilprop-2-en-1-on, (3) bileşiğinin <i>Aspergillus glaucus</i> ile biyotransformasyonu	27
5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR	29
KAYNAKLAR	31
ÖZGEÇMİŞ	35



KISALTMALAR

°C	: Santigrat derece
¹³C-NMR	: Karbon-13 nükleer manyetik rezonans
FTIR	: Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi
g	: Gram
¹H NMR	: Proton Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi
İTK	: İnce tabaka kromatografisi
L	: Litre
mg	: Miligram
MHz	: Megahertz
mL	: Mililitre
M.Ö.	: Milattan önce
PDA	: Patato dextrose agar
pH	: Hidronyum iyonu konsantrasyonunun eksi logaritması
ppm	: Milyonda bir kısım
rpm	: Dakika başına dönüş sayısı



TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 3.1. A. glaucus 200914 küfüne ait besiyeri bileşenleri.	21
---	----





ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1. Şalkon yapısı.....	14
Şekil 3.1. (E)-şalkon'un (1) açık yapısı.	21
Şekil 3.2. (E)-1-fenil-3-(p-tolil)prop-2-en-1-on'un, (2) açık yapısı.	21
Şekil 3.3. (E)-3-(4-metoksifenil)-1-fenilprop-2-en-1-on'un, (3) açık yapısı.....	21
Şekil 4.1. (E)-şalkon (1) bileşiğinin <i>A. glaucus</i> ile biyotransformasyonu.	23
Şekil 4.2. (E)-şalkon (1) bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu.....	23
Şekil 4.3. 1,3-difenilpropan-1-on (4) bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu (Kisets, vd. 2021).	24
Şekil 4.4. (E)-şalkon (1) bileşiğinin <i>A. glaucus</i> ile inkübasyonundan elde edilen kalıntının ¹ H NMR spektrumu.	24
Şekil 4.5. (E)-1-fenil-3-(p-tolil)prop-2-en-1-on, (2) bileşiğinin <i>A. glaucus</i> ile biyotransformasyonu.....	25
Şekil 4.6. (E)-1-fenil-3-(p-tolil)prop-2-en-1-on, (2) bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu.	25
Şekil 4.7. 1-fenil-3-(p-tolil)propan-1-on (5) bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu (Kisets, vd. 2021).	26
Şekil 4.8. (E)-1-fenil-3-(p-tolil)prop-2-en-1-on, (2)'nin <i>A. glaucus</i> ile inkübasyonunda elde edilen kalıntıya ait ¹ H NMR spektrumu.	26
Şekil 4.9. (E)-3-(4-metoksifenil)-1-fenilprop-2-en-1-on, (3) bileşiğinin <i>A. glaucus</i> ile biyotransformasyonu.....	27
Şekil 4.10. (E)-3-(4-metoksifenil)-1-fenilprop-2-en-1-on, (3) bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu.....	27
Şekil 4.11. 3-(4-metoksifenil)-1-fenilpropan-1-on (6) bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu (Kisets, vd. 2021).	28
Şekil 4.12. (E)-3-(4-metoksifenil)-1-fenilprop-2-en-1-on, (3)'nin <i>A. glaucus</i> ile inkübasyonu sonucu elde edilen kalıntıya ait ¹ H NMR spektrumu.	28



BAZI ŞALKONLARIN FUNGAL BİYOTANSFORMASYONLARININ İNCELENMESİ

ÖZET

Son yıllarda biyoteknoloji, çeşitli alanlarda giderek daha fazla kullanılan öncü bir bilim dalı olarak ortaya çıkmıştır. Biyoteknolojik yaklaşım, farmasötik kullanım için ikincil metabolitlerin üretiminde kullanılmaktadır.

Bitki biyoteknolojisi, bitki kaynaklarının uyarlanması, bitki hücresi ve protoplast kültürü, nükleer ve plazmid genlerin manipülasyonu, bitki hücresi ve enzim immobilizasyonu ve endüstriyel ölçekte üretim veya biyotransformasyon yöntemlerini içerir. Bu teknikler kullanılarak ikincil metabolitlerin üretimine olan ilgi, genellikle yüksek değere sahip olmalarından ancak nispeten küçük miktarlarda ihtiyaç duyulmalarından kaynaklanmaktadır.

Biyotransformasyon da metabolit üretimi için önemli bir tekniktir. Biyotransformasyon, kimyasal bileşiklerin kalıcılığını ve toksisitesini azaltmak için organik bileşiklerin bir formdan diğerine dönüştürüldüğü bir süreçtir.

Biyotransformasyon süreci, birçok adımda bir veya daha fazla enzimin aracılık ettiği basit bir süreç olabilir. Tek adımlı biyotransformasyon nispeten verimlidir, çünkü adımlar arttıkça verim azalır. Bu sürece bakteriler, mantarlar ve enzimler gibi çok çeşitli mikroorganizmalar ve bunların ürünleri yardımcı olur.

Biyotransformasyonlar, organizmalar/enzim sistemleri tarafından kimyasal bir bileşikte nispeten daha büyük polariteye sahip moleküllerin oluşumuna yol açan yapısal değişikliklerdir. Bu mekanizma mikroplar tarafından çevresel değişikliklere uyum sağlamak için geliştirilmiştir ve çok çeşitli biyoteknolojik süreçlerde faydalıdır.

Biyotransformasyonun en önemli yönü, ürünlerin elde edilmesinden sonra orijinal karbon iskeletini korumasıdır. Biyotransformasyonla bir dizi enzim aktivitesini ifade eden hücre kültürleri kullanılarak birden fazla reaksiyon gerçekleştirilebilir. Bazı durumlarda, üretim yapmayan hücre kültürü bile uygun öncül kullanılarak istenen son ürünü sentezlemek için kullanılabilir. Biyotransformasyon için doğal veya sentetik substrat kullanılır.

Biyotransformasyonlar gün geçtikçe daha fazla ilgi görmekte olup, mikrobiyal liçing, ilaç aktif maddeleri, esans maddeleri, gıda katkı maddeleri, enerji üretimi, antibiyotik üretimi ve aminoasit elde etme gibi birçok alanda kullanılmaktadır. Ayrıca, toksik endüstriyel atıkların parçalanması, atık suların temizlenmesi ve geri kazanılması gibi çevresel konularda da önemli bir rol oynamaktadır. Bu biyotransformasyon reaksiyonları için en çok tercih edilen hücre sistemleri arasında mikrobiyal hücreler gelir.

Mikrobiyal hücrelerin hızlı büyüme ve gelişme hızı, bitki ve hayvan hücrelerine kıyasla daha yüksektir, bu da biyotransformasyonların hızlı ve etkili bir şekilde gerçekleşmesini sağlar. Ayrıca, mikrobiyal hücreler, farklı tipte substratları metabolize edebilme yetenekleriyle öne çıkarlar. Küçük boyutları ve etkili hücre duvarı yapısı,

mekanik olarak daha kararlı olmalarını sağlar ve bu da farklı kültür tekniklerinde ortama uyum sağlama açısından avantaj sağlar.

Genellikle biyotransformasyon çalışmalarında aktif olarak büyüyen hücreler kullanılır. Mikroorganizmalar veya hücreler, kendilerine özgü besiyerlerinde üretilir ve daha sonra biyotransformasyona uğrıtılacak substrat ilave edilerek işlem gerçekleştirilir.

Bu tez çalışmasında *Aspergillus glaucus* küfü ile (E)-şalkon **(1)**, (E)-1-fenil-3-(p-tolil) prop-2-en-1-on **(2)** ve (E)-3-(4-metoksifenil)-1-fenilprop-2-en-1-on **(3)** şalkonlarının biyotransformasyonları ilk kez gerçekleştirildi. (E)-şalkon **(1)** bileşiğinin *A. glaucus* 200914 küfü ile 25 °C’de 5 gün süren inkübasyonu neticesinde başlangıç maddesi ve %45,2 oranında 1,3-difenilpropan-1-on **(4)** bileşiği elde edildi. (E)-1-fenil-3-(p-tolil) prop-2-en-1-on **(2)** ve (E)-3-(4-metoksifenil)-1-fenilprop-2-en-1-on **(3)** bileşiklerinin biyotransformasyonları neticesinde başlangıç maddelerinin yanında sırasıyla %42oranında 1-fenil-3-(p-tolil)propan-1-on **(5)** ve %46 oranında 3-(4-metoksifenil)-1-fenilpropan-1-on **(6)** bileşikleri elde edildi.



INVESTIGATION OF FUNGAL BIOTRANSFORMATION OF SOME CHALCONES

SUMMARY

Naturally occurring organic compounds in living organisms can be classified into three primary categories. Primary metabolites, which are common to all cells and also play a central role in the growth and reproduction of cells, the second is high molecular weight biopolymers that form cellular structures (sululose, proteins, etc.), and finally the third is the compounds that are characteristic for only one or a few species, which are also called natural products or secondary metabolites as components of secondary metabolism that are not essential for the reproduction and growth of living things.

Although natural products are not essential for living organisms, they are useful for living organisms and attract attention with their effects on other living organisms. These products are most commonly found in plants, microorganisms, fungi and insects, and are most abundant in plants and microorganisms.

Today, natural compounds which are medicine, odour and taste substances have gained importance due to new searches arising from the increasing population and the need for raw materials based on this. In this context, biotechnological applications have come into play and the importance of biotechnology has increased day by day as it is possible to synthesise and produce substances such as drugs and food additives that cannot be obtained by chemical means or whose isolation from natural resources is not possible due to economic limitations.

Briefly, biotechnology can also be expressed as solving problems by producing the needed substances using biological systems. Biotracnfomations, which are part of biotechnological applications, naturally produced substances are obtained from living things.

In recent years, biotechnology has emerged as a pioneering science that is increasingly used in various fields. The biotechnological method is utilized in the manufacturing of secondary metabolites for pharmaceutical applications.

Plant biotechnology includes methods of adaptation of plant resources, plant cell and protoplast culture, manipulation of nuclear and plasmid genes, plant cell and enzyme immobilisation and industrial scale production or biotransformation.

These techniques are gaining interest in secondary metabolite production due to their high value despite being required in relatively small quantities. Biotransformation stands out as a significant method for metabolite generation.

Biotransformation involves the conversion of organic compounds from one form to another, aiming to decrease the persistence and toxicity of chemical substances.

Biotransformation can be either a straightforward process mediated by one or more enzymes, or it can involve multiple steps. One-step biotransformation is relatively efficient because the efficiency decreases as the steps increase.

This process is assisted by a wide variety of microorganisms and their products, such as bacteria, fungi and enzymes.

Biotransformations are structural changes by organisms/enzyme systems in a chemical compound leading to the formation of molecules of relatively greater polarity. Microbes have evolved this mechanism to acclimate to environmental alterations, which in turn proves beneficial across a diverse array of biotechnological applications.

The most important aspect of biotransformation is that the products retain the original carbon skeleton after they are obtained. With biotransformation, multiple reactions can be carried out using cell cultures expressing a range of enzyme activities. In some cases, even non-producing cell culture can be used to synthesise the desired end product using the appropriate precursor.

The main biotransformation reactions are oxidation, reduction, hydrolytic reactions, addition and condensation, isomerisation, formation of new C-C bonds and addition of new heteroatoms.

The advantages of biotransformation reactions over classical chemical reactions are that it is possible to add functional groups to chemically inert or inactive carbon atoms, it is possible to selectively prepare derivatives of molecules with more than one functional group, chiral derivatives are formed, chiral derivatives can be easily formed as a result of biotransformation when prochiral carbon atoms are used, without giving racemic products, and also separation of racemic substances can be performed. This method is also used industrially. When all these are taken into account and used appropriately, and if the yields are good and the separation and isolation of the products are easy, biotransformations are a candidate to replace the classical production and obtaining methods in time.

Since the catalysts of biotransformation reactions are living organisms and enzymes, the conditions necessary for the reactions to take place can be more diverse and more sensitive than chemical reactions.

The composition of the medium, toxicity and concentration of the material, temperature of the medium (limit of variation $\pm 2^{\circ}\text{C}$), agitation speed (rpm), time, oxygen content, pH (usually neutral) and the origin of the microorganism strain in microbial biocatalysis are important factors.

Basically all biotransformation reactions are enzymatic. Knowledge of these enzyme groups gives an insight into the mechanisms of reactions with all biocatalysts.

Biotransformations, which are attracting more and more attention every day, are used in microbial leaching, pharmaceutical active ingredients, essences, food additives, energy production, antibiotic production and amino acid production, as well as in environmental issues such as the destruction of toxic industrial wastes, cleaning and recycling of wastewater.

Among all cell systems used for biotransformation reactions, microbial cells are the most preferred.

The synthesis of new metabolites under laboratory conditions from known precursors by the use of microorganisms is called microbial biotransformation.

Microbial transformation is the reactions carried out by the addition of starting materials to the media containing microorganisms whose viability and growth are provided. It is the easiest and most widely used method.

Among the reasons why microbial cells are preferred in all cell systems in biotransformation reactions, it can be stated that the growth, development and metabolic rate of microbial cells are considerably higher than plant and animal cells, thus allowing the reactions to give results in a fast and short time, the size and effective cell walls of microbial cells make them mechanically more stable than animal and plant cells, and the variety of substrates metabolised in microbial cells is high.

Microbial biotransformations, using microorganisms, take place under much milder conditions than classical chemical methods, are environmentally friendly and significant amounts can be generated quickly. For instance, separating desired target metabolites from racemic mixtures in the production of active pharmaceutical ingredients.

Microbial biotransformations, which enable many reactions that cannot be performed synthetically and in which more than one enzyme can work simultaneously, are economically much cheaper than biotransformation techniques using commercially obtained pure and semi-pure enzymes due to the lack of cofactor requirement.

Microorganism cells, which are all cell systems used in microbial biotransformations, are used either as free-growing cells or as stationary cells fixed to a specific surface.

The most common microbial biological systems used in microbial biotransformations are fungi (especially moulds and yeasts, which are eukaryotic members of the fungal kingdom), blue green algae (cyanobacteria) and bacteria.

Secondary metabolites, which are synthesised by specific enzymes in some tissues and organs of plants, are categorized differently based on their different synthesis methods and structures. The most populous classes of secondary metabolites are terpenes, phenolic compounds and alkaloids.

Phenolics consist of simple sugars and contain benzene ring, hydrogen and oxygen.

These compounds, which have different classifications in many different sources due to their different properties, are generally divided into two main classes as phenolic acids and flavonoids.

Flavonoid compounds, which have a fifteen-carbon skeletal structure, contain different polyphenols such as flavones, isoflavones, flavonols, flavonones, chalcones (chalcones), flavanes, which exhibit a broad spectrum of biochemical and pharmacological properties.

The source of these differences between flavonoid groups is the level of unsaturation and the quantity of hydroxyl groups present.

Increasing raw material needs have accelerated the industrial production of secondary metabolites and enabled the development of their synthetic derivatives.

Chalcone compounds in the flavonoid class of secondary metabolites can be used as starting compounds in many synthesis reactions like other compounds.

Chalcones, which are important components of natural products as well as leading components for synthetic derivatisation, are easily synthesised chemical compounds with the closed formula $C_{15}H_{12}O$. Due to these properties, they have become an important research area of pharmaceutical chemistry and organic chemistry studies.

Uses of chalcones and their derivatives, which are secondary metabolites is gaining increasing significance in biochemical studies as it expands started.

Microbial biotransformations of chalcone compounds have shown good results some microbial compounds of many different chalcones with different microorganisms to give some microbial biotransformation reactions were carried out.



1. GİRİŞ

Canlı organizmalarda doğal olarak bulunan organik bileşikler üç ana grupta incelenir. Bu bileşiklerden ilki, tüm hücrelerde ortak olan ve aynı zamanda hücrelerin büyümesi ve çoğalmasında temel işlevi olan birincil metabolitler, ikincisi hücrelerin temel yapı taşlarını oluşturan ve hücrelerin yapısal bütünlüğünü sağlayan yüksek moleküler ağırlıklı biyopolimerler (sülüloz, proteinler vb.) ve son olarak üçüncüsü, sadece belirli türler için özgü olan, doğal ürünler veya ikincil metabolizmanın bileşenleri olarak ikincil metabolitler olarak da adlandırılan, canlı organizmaların üremesi ve büyümesi için gerekli olmayan bileşiklerdir (Yılmaz Keskin, 2010).

Doğal ürünler, her ne kadar canlı yaşamı için esas olmasalarda, canlılara yararlı olmakla beraber diğer canlılar üzerindeki etkileriyle de oldukça dikkat çekmektedirler (Küçükbaşol, 2019).

Bu ürünler, diğer canlılara kıyasla en yaygın olarak; bitkiler, mikroorganizmalar, mantarlar ve böceklerde bulunurlarken, en çok olarak da bitkiler ve mikroorganizmalarda bulunurlar (Clayden, 2001).

Günümüzde, doğal bileşiklerin ilaç, koku ve tat maddesi olarak önemi giderek artmaktadır. Bu artışın arkasında yatan faktörlerden biri, sürekli artan nüfus ve buna bağlı olarak gelişen hammadde ihtiyacıdır. Bu ihtiyaçlar, yeni arayışların ortaya çıkmasına ve doğal bileşiklerin keşfi ve kullanımının önem kazanmasına yol açmaktadır. Bu bağlamda biyoteknolojik uygulamalar devreye girerek kimyasal yollarla istenilenin elde edilememesi yahut doğal kaynaklardan izolasyonu ekonomik sınırlamalar nedeniyle mümkün olmayan ilaç, gıda katkı hammadde gibi maddelerin sentezlenebilmesi ve üretilmesi söz konusu olarak, biyoteknolojinin önemi günden güne artmıştır (Yılmaztekin vd., 2008).

Kısaca biyoteknoloji, biyolojik sistemleri kullanarak gerekli maddeleri üreterek sorunları giderme şeklinde de ifade edilebilir. Biyoteknolojik uygulamaların bir parçası olan biyotransformasyonlar da canlılardan doğal olarak üretilen maddeler elde edilir (Tüsiad, 2000).

Mikroorganizmalar tarafından gerçekleştirilen kimyasal reaksiyonlar, kimyasal ve biyolojik açıdan ilgi çekici ürünler elde etmek için alternatif olarak kullanılmıştır. Daha emniyetli ve çevre dostu bir kimyaya yönelik modern kavramlar ve gereksinimler dikkate alındığında, mikroorganizmalar tarafından desteklenen reaksiyonların kullanımı yakın gelecekte artma eğilimindedir. Genellikle biyotransformasyon olarak bilinen bu tür reaksiyonların, geleneksel reaksiyonlara göre belirli avantajları vardır. Biyotransformasyon genellikle sulu sistemlerde ve nötr pH'ta gerçekleştirilir, bu da geleneksel sentezlerde tehlikeli solventlerin yaygın olarak kullanılmasını önler. Mikroorganizmalar, bazılarında kimyasal yollarla neredeyse erişilemeyen çeşitli reaksiyonları gerçekleştirebilirler (Corrêa, 2011).

Yeni organik bileşiklere olan talep ve çevrenin ve halk sağlığının korunmasını dikkate alan sürdürülebilir sentetik stratejilerin uygulanması bilim camiasının dikkatini çekmiştir. Bu bağlamda organik kimya, katma değeri yüksek bileşiklerin üretimine yönelik yeni teknolojilerin, metodolojilerin ve süreçlerin geliştirilmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Bitkiler, birçoğu geleneksel olarak ilaçlarda, kokularda, pigmentlerde ve tarım kimyasallarında kullanılan çok çeşitli kimyasalların değerli kaynaklarıdır. En yaygın kullanılan bileşik sınıfları terpenler, flavonoidler ve alkaloidlerdir (De Matos, 2000).

Mikrobiyal dönüşüm, flavonoidler de dahil olmak üzere biyoaktif doğal ve sentetik bileşiklerin yapısal modifikasyonu için enzimin yanı sıra etkili bir araçtır. Mikrobiyal üretim, hızlı büyüme, ekim kolaylığı, uygun genetik manipülasyonlar ve doğal ürünlerin biyotransformasyonu üzerinde yüksek düzeyde üretim gibi avantajlara sahiptir. Üstelik mikrobiyal üretim, ürün seçiciliğini artırır ve enerji kullanımından tasarruf sağlarken toksik kimyasalların kullanımını azaltır. Flavonoidlerin biyotransformasyonu, pek çok mikroorganizma türü arasında, *Aspergillus* ve *Bacillus* gibi örnekler de dahil olmak üzere geniş bir yelpazede incelenmiş ve araştırılmıştır (Wang vd., 2010).

Doğada oluşan şalkonların ana kaynağı bitkilerdir. Genellikle şifalı bitkilerde veya diyet bitkilerinde bulunurlar. Doğada şalkonlar, şalkon türevleri ve flavonoidler halinde bulunabilir. Tıbbi öneme sahip şalkon türevleri, ana şalkon yapı iskelelerinin çeşitli yapısal ikamelerle kimyasal modifikasyonu yoluyla laboratuvarında kimyasal olarak sentezlenebilir (Rudrapal, 2021).

Flavonoidlerin yapısal özellikleri, onları önemli antioksidanlar haline getiren bir dizi özelliği barındırır. Bu bileşiklerin en karakteristik özelliklerinden biri, konjuge çift bağların ve karbonil grubunun varlığıdır. Bu özellikler, molekül içindeki elektronların kararlı elektron delokalizasyonuna izin verir. Bu da, molekülün serbest radikallerle etkileşimini azaltarak oksidatif stresi engellemeye yardımcı olabilir. Flavonoidlerin antioksidan özellikleri, çoklu hidroksil gruplarının varlığına da bağlıdır. Bu gruplar, serbest radikalleri nötralize ederek hücresel hasarı önleyebilir. Ayrıca, bu hidroksil grupları, metal iyonlarını bağlayarak şelatlama özellikleri gösterebilirler. Bu da, metal katalizli oksidasyon reaksiyonlarını önleyerek hücresel oksidatif stresi azaltabilir. Sonuç olarak, flavonoidlerin konjuge çift bağları, karbonil grupları ve çoklu hidroksil grupları, bu bileşiklerin güçlü antioksidan ve şelatlama özelliklerine katkıda bulunur. Bu özellikler, flavonoidlerin sağlık yararları üzerindeki etkilerini destekleyen önemli bir moleküler temel oluşturur (Corcoran vd., 2012).

Flavonoidlerin sağlık üzerindeki yararlı etkilerinin çoğu antioksidan ve şelatlayıcı yeteneklerine bağlanmaktadır (Heim vd., 2002).

Flavonoidlerin biyolojik sistemlerdeki koruyucu etkileri, serbest radikalleri yakalama, metal iyonlarını bağlama, antioksidan enzimlerini aktive etme, alfa-tokoferol radikallerini azaltma ve oksidazları engelleme yetenekleriyle ilişkilendirilir (Heim vd., 2002).

Flavonoidler ve izoflavonoidler, bitkilerde doğal olarak bulunan ve insan beslenmesinde önemli rol oynayan bileşiklerdir. Flavonoidler, sarı pigmentler olarak bilinir ve 2-fenil kromojenondan türetilir. İzoflavonoidler ise, flavonoidlerin bir alt grubudur ve belirli bir yapısal özelliğe sahiptirler. Hem flavonoidler hem de izoflavonoidler, bitkilerin büyümesi ve gelişmesinde önemli rol oynarlar ve çeşitli biyolojik aktivitelere sahiptirler, bunlar arasında antibakteriyel, antiviral ve anti-inflamatuar etkiler yer alır (Wang vd., 2020).

Flavonoidler, temel çalışmalarda sıkça kullanılan bileşiklerdir çünkü önemli farmakolojik özelliklere sahiptirler. Bu nedenle, çeşitli enzim reaksiyonlarını katalizleme ve yabancı bileşikleri dönüştürme yetenekleri nedeniyle, yeni flavonoid türevlerinin elde edilmesinde yaygın olarak kullanılmaktadırlar (La Matos vd., 2020).

Şalkonlar, birçok biyolojik aktiviteye sahip olan ve önemli terapötik potansiyele sahip bir sınıfı oluşturan bileşiklerdir. Ayrıca, şalkonlar, birçok heterosiklinin sentezinde

kritik rol oynarlar. Bu nedenle, bilim insanları şalkonlara olan ilgiyi artırmaktadır çünkü yeni farmasötiklerin sentezinde kullanılabilirler. Ancak, şalkonların etkili bir şekilde kullanılabilmesi için bu bileşiklerin tanımlanması gereklidir. Bu tanımlama süreci, şalkonların spektral özelliklerinin analiz edilmesi yoluyla gerçekleştirilir. Dolayısıyla, şalkonların terapötik ve sentetik açıdan değerlendirilmesi için spektral analizler büyük önem taşır (Aksöz vd., 2012).



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Biyotransformasyonlar

"Biyotransformasyon" terimi, çeşitli bileşiklerin biyokatalize edildiği ve enzimatik olarak değiştirildiği sürecin yanı sıra ksenobiyotiklere maruz kalmanın bir sonucu olarak organizmalarda meydana gelen metabolik değişiklikleri ifade eder. İzole edilmiş veya tasarlanmış enzimlerle yapılan biyotransformasyonlar, doğal kaynaklardan katma değerli ürünlerin üretiminde de kimyasal senteze etkili bir alternatiftir (Valentová, 2023).

Biyokataliz veya biyotransformasyon, bir bileşiğin diğerine dönüşümünü katalize etmek için biyolojik sistemlerin kullanılmasını içerir. Bu süreç, çeşitli biyolojik kaynaklardan elde edilen enzimler veya hücresel sistemler aracılığıyla gerçekleşir. Örneğin, mikroorganizmalar, mikroorganizma sporları, hücre dışı enzimler veya hücre, doku ve organ kültürleri gibi biyolojik sistemler, birçok endüstriyel uygulamada biyotransformasyon reaksiyonları için kullanılabilir. Biyotransformasyon, 20. yüzyılın ikinci on yılına kadar "zimoteknoloji" veya "teknik biyoloji" gibi çeşitli isimler altında sınıflandırılıyordu. Biyoteknoloji terimi ise ilk kez 1917 yılında kullanıldı. Bu dönemde, endüstriyel biyoteknolojinin gelişiminde, bilim insanları hammaddelerin endüstriyel ürünlere dönüştürülmesi için daha etkili, seçici ve çevre dostu süreçlerin geliştirilmesi gerektiğine inanıyorlardı. Bu amaçla, biyolojik sistemlerin kullanılması ve kimyasal dönüşümler, sürdürülebilirlik ve ekolojik uyumluluk açısından önemli bir rol oynadı. Biyokatalizasyonun avantajları saymakla bitmez. Örneğin, ilaçların, malzemelerin veya kimyasalların sentezinde kullanıldığında, çeşitli karmaşıklık derecelerine sahip üç farklı yaklaşım benimsenebilir: Tamamen kimyasal bir strateji kullanma, kimyasal ve biyokatalitik adımları birleştiren kemoenzimatik bir yol kullanma ve fermantasyon veya çok aşamalı biyotransformasyon yoluyla biyolojik toplam sentez kullanma. Biyokatalizasyonun sıkça tercih edilmesinin nedenlerinden biri, çevre dostu ve sürdürülebilir olmasıdır. Biyolojik sistemler genellikle ılımlı sıcaklık ve pH koşullarında çalışır ve bu da enerji tüketimini azaltırken yan reaksiyonları en aza indirir. Ayrıca, biyokatalizörler, hücresel sistemlerin parçası

olarak genellikle kolayca yenilenebilir ve yeniden kullanılabilir. Sonuç olarak, biyokataliz veya biyotransformasyon, modern endüstriyel süreçlerin önemli bir parçası haline gelmiştir. Biyolojik sistemlerin kullanımı, çevre dostu, sürdürülebilir ve ekonomik olarak avantajlı bir alternatif sunar (Ghisalba vd., 2009).

Biyotransformasyon, biyolojik sistemler kullanılarak kimyasal moleküllerin yapısal modifikasyonları olarak tanımlanır (Raval, 2012).

Biyotransformasyon, ekonomik ve ekolojik açıdan uygulanabilir bir teknoloji olup, birçok biyolojik olarak aktif ürün sınıfının yapısını değiştirmek için yaygın olarak kullanılır (Bhatti, 2014).

Biyotransformasyonun avantajları olarak; bir dizi enzim aktivitesini ifade eden hücre kültürleri kullanılarak birden fazla reaksiyon gerçekleştirilebilirliği, bazı durumlarda, uygun öncül kullanılarak istenen son ürünün sentezlenmesi için üretmeyen hücre kültürü bile kullanılabilirliği, biyotransformasyon sürecinin, birçok adımlı bir veya daha fazla enzimin aracılık ettiği sürece basit olabilirliği söylenebilir. Adımların artmasıyla verim azaldığı için tek adımlı biyotransformasyon nispeten etkilidir. Biyotransformasyon için doğal veya sentetik substrat kullanılır (Dave, 2014).

Biyotransformasyon reaksiyonları genellikle oksidasyon, redüksiyon, hidrolitik reaksiyonlar, katılım ve kondensasyon, izomerizasyon, yeni C-C bağlarının oluşumu ve yeni heteroatomların ilavesi gibi kategorilere ayrılabilir. Bu reaksiyonlar, biyotransformasyon süreçlerinin neredeyse tüm sentetik reaksiyonlara denk gelebilecek çeşitlilikte olduğunu gösterir. Günümüzde kimyasal maddelerin kolayca temin edilebilmesi gibi, biyokatalizörlerin sağlanması da benzer derecede kolaydır (Demirci, 2000).

Biyotransformasyon reaksiyonlarını etkileyen unsurlar; materyalin toksisitesi ve konsantrasyonu, besiyerinin bileşimi, ortamın sıcaklığı, çalkalama hızı, zaman, oksijen miktarı, pH ve mikroorganizma suşunun kökeni yer almaktadır (Demirci, 2000).

Kullanılan biyokataliste göre biyotransformasyonların sınıflandırılması enzimatik ve bütün hücre sistemleri olmak üzere iki kısımda incelenir (Özçınar, 2018).

Mikroorganizmalar ve enzimlerinin çok yönlü bir biyokatalizör olduğu ve karmaşık organik materyallerin dönüşümünde rol oynadığı kanıtlanmıştır. Mikroorganizmalar, kimyasal ve biyolojik açıdan ilgi çekici ürünler elde etmek için alternatif olarak çeşitli kimyasal reaksiyonlar gerçekleştirdiler. Biyotransformasyon, doğal veya sentetik

öncüllerin değeri artan ürünlere dönüştürülmesidir. Bütün hücre veya katalitik enzim serbest, immobilize gibi birçok farklı koşulda kullanılır. Biyotransformasyon kimya ve mikrobiyolojinin birleşik bir çalışmasıdır . Bu tür reaksiyonlar, sulu sistemlerde ve nötr pH'ta gerçekleştirilen geleneksel reaksiyonlara göre belirli avantajlara sahiptir ve geleneksel sentezlerde solventlerin tehlikelerini önler (Ahmed vd., 2019).

Biyotransformasyonlar, mikroorganizmalar tarafından gerçekleştirilebilecek çok çeşitli biyotransformasyon reaksiyonları olduğundan, substratın yapısında basitten büyüğe değişikliklere neden olabilen, organik substratlar üzerinde mikroorganizmalar tarafından gerçekleştirilen kimyasal reaksiyonlardır. Biyotransformasyon reaksiyonları, doğal ürünler üzerinde gerçekleştirildiğinde, terpenlere, alkaloidlere ve steroidlere biyotransformasyon durumunda olduğu gibi çeşitli ürünlerin oluşumuna yol açabilir. Klasik organik sentezler genellikle sıcaklık ve/veya basınç kontrolleri, özel çözücülerin ve katalizörlerin kullanımı ve sentezi sıklıkla pahalı ve çevresel açıdan yetersiz kılan diğer işlemler gibi özel koşullar gerektirir. Öte yandan sulu çözeltilerde biyotransformasyonlar yapılabilmektedir. Ilıman şartlarda çalışırlar. Daha yüksek enantioseçicilik ve bölgesel seçiciliğe sahip ürünler elde edilebilir. Bu sebeple, biyotransformasyon, çevresel olarak dostça koşullarda yeni bileşiklerin üretimi için faydalı bir araç olarak görülebilir ve klasik sentezde yeniden düzenlemelerin ve alışılmadık reaksiyonların ürünlerini elde etme imkanı sunar. Mikroorganizmalar, hidroksilasyon, indirgeme (çift bağlar ve ketonlar), O-alkilasyon ve dealkilasyonlar, glikosilasyon ve sülfatasyon dahil olmak üzere farklı türdeki biyotransformasyon reaksiyonlarını katalize etme yetenekleriyle iyi bilinmektedir (Feitosa vd., 2021).

Biyotransformasyonun en önemli yönü, ürünler elde edildikten sonra orijinal karbon iskeletinin korunmasıdır (Smitha vd., 2017).

2.2. Mikrobiyal Biyotransformasyonlar

Canlılar, hayatları boyunca kendilerine yabancı olan kimyasallarla karşılaşır, bunlara ksenobiyotik denir. Mikroorganizmalar, mikroorganizma sporları, mikrozomlar, hücreler, dokular ve organ kültürleri gibi biyolojik sistemler, ksenobiyotikler üzerindeki kimyasal değişimleri enzimler aracılığıyla gerçekleştirir, bu sürece biyotransformasyon denir. Tarih boyunca kaydedilen ilk biyotransformasyon örnekleri arasında, bakterilerin etanolü asetik aside okside etmesi ve bira mayasının

şekerleri etanole dönüştürmesi yer alır. Biyotransformasyon için kullanılan enzimlerin çoğu biyolojik kaynaklardan elde edilse de, bazıları hala sadece ticari amaçlarla temin edilebilmektedir (Al-Samarrai, 2024).

Mikroorganizmalar insanlık tarihi boyunca sayısız katkılarından dolayı oldukça önemlidirler. Her ne kadar varlıklarından bir haber olarak yaşanan zamanlarda bile insanoğlu yiyecek (Mısırlıların ekmek yapması için maya kullanması) ve içecek olarak (M.Ö. 6000 de bira için mayalama yapması) mikroorganizmaları kullanmışlardır (Turner, 1998).

Mikroorganizmaların biyotransformasyon yeteneklerinin keşfi ile biyolojik katalizlerin kullanıldığı spesifik modifikasyona mikrobiyal biyotransformasyon denir (Akar, 2015).

Mikroorganizmalar, biyotransformasyonlar için serbest olarak ya da uygun yüzeylere sabitlenmiş şekilde kullanılabilirler. Bu amaçla en yaygın olarak kullanılan mikroorganizma grupları küfler, mayalar, bakteriler ve mikrobiyal alglerdir (Türkoğlu vd., 2011).

Mikrobiyal biyotransformasyonlar, bilinen sentez yöntemlerine göre sahip oldukları birçok avantaj sayesinde özellikle son yıllarda biyoteknolojinin vazgeçilmez unsurları haline gelmiştir (Faber, 2003).

Mikrobiyal hücreler genetik olarak değiştirilebilir organizmalar olduklarından biyoteknoloji çalışmalarında kullanımları her geçen gün artmaktadır (Demain,2000).

Biyoteknolojik yollarla üretimde mikroorganizmalar, enzimler, bitki hücre ve doku kültürleri yer almaktadır. Bunlardan mikroorganizma kullanılarak gerçekleştirilen tekniklerde, temelde iki yöntem yatmaktadır. Birinci yöntem basit besinlerden (amino asit,şeker gibi) başlayarak fermentasyonla üretim olurken ikinci yöntem ise ortama ilave edilen substrat biyotransformasyonu ile olan üretimdir. Aslında ilk yöntemde yani fermentasyon yönteminde karbon ve azot kaynaklarına ihtiyaç varken, mikrobiyal biyodönüşümde uygun olan substrat yeterlidir (Yılmaztekin vd., 2008).

Mikroorganizmalar belirli beslenme koşulları altında çok sayıda zengin enzim üretebilmekte ve geleneksel sentez yöntemleriyle üretilmesi zor olan çeşitli ürünler üretebilmektedirler. Son yıllarda önemli bir üretim aracı olarak mikrobiyal dönüşüm, ilaç endüstrisinde giderek daha fazla tanınmaya başlamıştır. Biyokataliz, bazı ilaçların

veya ara maddelerin sentezini basitleştirebilir. Kimyasal sentezle karşılaştırıldığında, karmaşık ayırma ve saflaştırma adımlarını ortadan kaldırır ve hedef ürünü nispeten yumuşak fermantasyon koşulları altında seçici olarak üretirler. Ek olarak, mikrobiyal dönüşüm süreci nötre yakın bir pH, sıcaklık ve atmosfer basıncında gerçekleşirken, kimyasal sentez genellikle aşırı koşullar gerektirir. Mikrobiyal dönüşüm aynı zamanda yüksek tepki özgülüğüne, enantiyoseçiciliğe ve bölgesel özgülüğe sahiptir (Qin vd., 2023).

Bazıları enzimlerin yalnızca doğal ortamlarında etkili olduğuna, aynı zamanda pahalı ve son derece hassas olduklarına yönelik katı inançlar taşır. Ancak, gerçeklik birçok enzim için bu önyargıyı çürütüyor. Enzimler, olağanüstü hızlarıyla kullanıcılarına önemli avantajlar sağlarlar. Enzim içeren reaksiyonlar, enzimsiz olanlara kıyasla 108-1010 kat daha hızlı gerçekleşebilir. Protein tabanlı enzimler, doğada tamamen parçalanabilirler, bu nedenle çevre dostudurlar ve klasik sentez süreçlerinde kullanılan katalizörler ve ağır metallerden farklı olarak çevreye zarar vermezler. Enzimler genellikle ılımlı koşullarda, yani sıcaklığın 20-40°C ve pH'ın 5-8 aralığında katalizleme yaparlar. Bu nedenle, diğer sentez yöntemlerinde sıklıkla görülen istenmeyen yan reaksiyonları, örneğin rasemizasyon, degradasyon veya izomerizasyonu nadiren meydana getirirler. Ayrıca, bazı enzimler geniş bir substrat yelpazesine sahip oldukları için birçok doğal veya sentetik bileşiğin kimyasal değişimlerini gerçekleştirebilirler (Al-Samarrai, 2024).

Enzimler, diğerleri arasında hidroksilasyon, glikosilasyon, hidrojenasyon, dehidrojenasyon, hidrolizler, O-metilasyon, O-asetilasyon gibi çeşitli reaksiyonları etkili bir şekilde hızlandırabilir. Genel olarak reaksiyonlar, izole edilmiş enzimler, mikroorganizmalar (mantarlar, bakteriler ve mayalar), bitki ve hayvan hücreleri kullanılarak gerçekleştirilir. Mikroorganizmaların kullanıldığı biyokatalitik reaksiyonlar, hızlı mikrobiyal büyüme, büyük ölçekli enzim üretimi, biyolojik olarak parçalanabilirlik ve biyotransformasyonun kemo, bölgesel ve stereoselektif kontrolü gibi avantajlar gösterir (De Matos vd., 2023).

Mikroorganizmalar, spesifik olmayan enzim sistemlerine sahip oldukları için, doğal ve sentetik birçok farklı substrat üzerinde çeşitli kimyasal reaksiyonları gerçekleştirebilirler (Turner, 1998).

Mikrobiyal biyotransformasyonlar, klasik kimyasal metodlara kıyasla daha hızlı ve maliyet açısından daha ekonomiktir. Daha uygun maliyetli besiyeri bileşenleri ve mikroorganizmalar kullanılarak, daha ekonomik bir şekilde istenilen bileşikler daha sürede ve çoğunlukla yüksek verimler ile elde edilebilmektedir. Mikrobiyal biyotransformasyonlar sırasında diğer fonksiyonel substrat gruplarının korunmasına gerek yoktur. Çoğunlukla fonksiyonel grupların varlığına ihtiyaç duymazlar. Örneğin mikrobiyal hidroksilasyonlar fonksiyonel gruplardan uzakta meydana gelirler (Turner, 1998).

Mikrobiyal hidroksilasyonlar, mikroorganizmaların en değerli ve yaygın biyotransformasyon reaksiyonları arasında öne çıkar. Bu önem, 1952'de kortikal steroidlerin sentezi sırasında ortaya çıkmıştır. Steroidlerin C-11 pozisyonundaki oksijen fonksiyonu ekleme gerekliliği, o dönemde mevcut yöntemlerle oldukça masraflı ve zaman alıcıydı. Ancak, *Rhizopus arrhizus* küfü ile bu zorluk tek bir adımda aşıldı ve mikrobiyal biyotransformasyonlar hızla popüler hale geldi. Mikrobiyal hidroksilasyonun keşfi ve öneminin anlaşılmasının ardından, farklı mikroorganizmaların çeşitli kimyasal maddeleri dönüştürmesi gözlemlendi. Bugün, hormonlar ve ilaçlar gibi kritik kimyasal maddelerin üretimi, geleneksel sentez yöntemleri yerine genellikle mikrobiyal biyotransformasyonlarla gerçekleştirilir (Al-Samarrai, 2024).

Mikrobiyal biyotransformasyon, genellikle beş temel teknikten oluşur. İlk olarak, immobilize hücreler tekniği kullanılır. Bu yöntemde, mikroorganizmalar bir taşıyıcı malzeme üzerine immobilize edilir, böylece daha uzun süre aktif kalabilirler ve tekrar kullanılabilirler. Serbest ve immobilize enzimler tekniği, hem serbest hem de immobilize enzimlerin kullanılmasını içerir. Serbest enzimler, çözelti içinde serbestçe bulunurken, immobilize enzimler bir taşıyıcı matrise bağlanır. Durağan hücreler tekniği, belirli bir süre boyunca sabit bir ortamda bulunan ve genellikle beslenmeleri sınırlı olan hücrelerin kullanılmasını içerir. Büyüyen hücreler tekniği ise, aktif hücrelerin bir besin ortamında sürekli olarak çoğaltıldığı bir yöntemdir. Son olarak, sporla le biyotransformasyon tekniği, belirli koşullar altında mikroorganizmaların sporlarının kullanılmasını içerir. Her bir tekniğin avantajları ve dezavantajları vardır ve uygun olanı, kullanım amacına ve uygulama gereksinimlerine bağlı olarak seçilir (Elmacı, 2013).

2.3. Biyotransformasyonlarda Kullanılan Doğal Metabolitlerin Alternatifleri

Bitkiler büyüme ve gelişimleri boyunca, hiçbir işlevi olmayan birçok ve çeşitli organik bileşik üretirler. Bitki kaynaklı ikincil metabolitler, terpenler, fenolik bileşikler ve azotlu bileşikler olarak üç temel gruba ayrılır (Nowakowska,2007). Flavonoidler, meyve ve sebzelerde yaygın olarak bulunan bir grup polifenolik bileşiktir. Sarı ve beyaz bitki pigmentleri olarak bulunurlar ve şimdiye kadar 4000'den fazla flavonoid keşfedilmiştir, bunlardan 500'ü serbest halde bulunmaktadır (Kesarkar vd., 2009).

Flavonoidler, yeşil bitkilerde yaygın olarak bulunan, oksijen içeren heterosiklik doğal ürünlerin önemli bir sınıfıdır. Bu grup doğal ürünler bitki büyümesinde, gelişmesinde, mikroorganizma ve zararlılara karşı savunmada ve insan sağlığında önemli rol oynamaktadır. Bitkilerdeki fizyolojik rollerine ek olarak flavonoidler, serbest radikalleri temizleyebilen antioksidanlar olarak insan beslenmesinde önemli bileşenlerdir. Flavonoidlerin biyolojik etkileri, insan sağlığına faydalı etkilerinden dolayı yoğun bir şekilde araştırılmaktadır (Alarcón vd., 2013).

Flavonoidler, meyvelerden sebzelere, tahıllardan kabuklara, köklerden gövdelere, çiçeklerden bitkilere kadar yaygın olarak bulunan çeşitli bileşik grubudur. Bitkilerde flavonoidler önemli işlevleri yerine getirir; birçoğu çiçeklerin, yaprakların ve meyvelerin çekici renklerinin yanı sıra bitki savunma sisteminden de sorumludur (De Matos vd., 2020).

Flavonoidler genellikle çiçeklerin, yaprakların, tohumların, gövdelerin veya köklerin boşluklarında glikozitler halinde bulunur (Das vd., 2006).

Flavonoidler, son zamanlarda önemli ölçüde bilimsel ve terapötik ilgiye konu olan bir doğal bileşik sınıfının üyeleridir (Havsteen, 2002). Flavonoidler aynı zamanda insan beslenmesinde de önemli bileşenlerdir. Araştırmalar flavonoidler açısından zengin bir diyet tüketiminin yaşlanma, kanser, diyabet, osteoporoz, kardiyovasküler ve nörodejeneratif ile ilişkili birçok hastalığın gelişimini önlediğini ileri sürmektedir. Son çalışmalar flavonoidlerin çeşitli biyolojik ve farmakolojik aktivitelerini araştırmış ve antioksidan, antibakteriyel, antifungal, antiviral, anti-alerjik, anti-enflamatuar ve antitümör etkileri gibi mükemmel sonuçlar vermiştir. Kronik hastalıkların risklerini azaltma potansiyeli, bilim camiasını bu sınıfa ait birkaç yeni bileşiğin sentez yöntemleri geliştirmeye motive etmiştir (De Matos vd., 2020).

Flavonoidlerin antimikrobiyal, antioksidan, antiviral, antiplatelet, anti-iskemik, antitümör, antiinflamatuvar, antialerjik, östrojenik ve radikal temizleme aktivitesi gibi birçok yararlı sağlık etkisi vardır. Çok çeşitli bitki, meyve ve sebzelerde bulunan bitkisel doğal ürünlerin bir sınıfı olan flavonoid, kalp-damar hastalıkları, kronik hastalıklar ve belirli kanser aktivitesi formları da dahil insan sağlığına birçok faydalı etki sunar. Çeşitli flavonoidler antimikrobiyal, antioksidan, antiviral, anti-trombosit, antiiskemik, anti-tümör, anti-inflamatuvar, anti-alerjik, östrojenik ve radikal temizleme aktivitelerine sahiptir. Bu sayısız özellik ve uygulamalar nedeniyle flavonoidler giderek artan bir ilgi kazanmıştır (Wang vd., 2010).

2.4. Şalkonlar

Şalkonlar, flavonoid familyasına ait bitkilerin başlıca sekonder metabolitlerinden biridir. Bu metabolitler yenilebilir bitkilerde bol miktarda bulunur. Doğal olarak oluşan şalkonların çoğunluğu polihidroksillenmiş aromatik bileşiklerdir ve açık zincirli flavonoidlerin, flavonoidlerin ve izoflavonoidlerin biyoöncüleri olarak kabul edilirler. Fenolik grupların varlığı nedeniyle şalkonlar radikal söndürme özelliğine sahiptir ve bu durum araştırmacılar arasında terapötik açıdan yararlı bileşikler arayışında şalkon açısından zengin bitki ekstraktlarının araştırılmasına yönelik ilgi yaratmıştır. Şalkonların terapötik uygulamaları çok eski zamanlardan beri farklı hastalıkların tedavisiyle ilişkilendirilmiştir. Kanıtlanmış terapötik aktiviteleri olan birçok şalkon, çeşitli tıbbi ve potansiyel şifalı bitkilerden izole edilmiştir (Rudrapal vd., 2021).

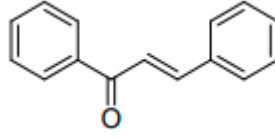
Şalkonlar "küçük flavonoid türleri" olarak kabul edilir. Bunlar, temel olarak flavanonlar ve flavanoller sınıflarındaki birçok doğal flavonoid ürünün biyosentetik öncüleridir. Bu bileşikler doğal olarak oluşur ve meyve ve sebzelerde kolayca bulunabilir. Şalkonların ana çekirdeği ayrıca üç karbon atomuyla birbirine bağlanan ve bir karbonil grubu ve α,β -doymamış sistem içeren iki aromatik halkadan oluşur. Ek olarak, şalkonlar genellikle aromatik halkalarında hidroksil grupları ile bulunur ancak yapılarına çeşitli ikame ediciler sentetik olarak bağlanabilir. Şalkonların temel çekirdeğinin özellikleri, hem kimyasal açıdan hem de bu sınıfa ait diğer birçok bileşiğin biyolojik sentezi açısından dikkat çekmektedir. Günümüzde, şalkon yapısındaki birçok yer değiştirilebildiğinden, yani bunlar kimyasal ve biyotransformasyon reaksiyonları yoluyla kolayca değiştirilebildiğinden, çok türevli

bileşiklerin elde edilmesine olanak tanıyan basit prosedürler vardır. Bu özellikler çok çeşitli biyolojik aktiviteler sağlayabilir (De Matos vd., 2020).

Şalkonlar, flavonoidler adı verilen polifenolik bileşiklere ait α,β -doymamış ketonlardır. Kimyasal yapıları, bir C=C bağı içeren üç karbonlu bir bağlayıcıyla birleştirilen iki aromatik halkadan oluşan açık bir flavanon iskeleti ile karakterize edilir. Şalkonlar doğada mikroorganizmaların, böceklerin veya hayvanların vereceği zarara karşı koruyucu bir bariyer oluşturan bitkilerin ikincil metabolitleri olarak oluşan biyoaktif bileşiklerdir. Yapılarının çeşitliliği, antikanser , antibakteriyel , antifungal, antioksidan, anti-inflamatuar ve antimalaryal gibi geniş bir aktivite yelpazesiyile sonuçlanır. Hidroksikalkonlar, -OH grubu ile enzimlerin aktif bölgelerinde bulunan amino asitler arasında artan hidrojen bağı eğilimi nedeniyle bilim camiasında bitmek bilmeyen bir ilgi çekmiştir (Kozłowska vd., 2020).

Şalkonlar aynı zamanda diğer tüm flavonoid gruplarının öncüsü olmaları nedeniyle çok önemli biyosentetik bileşiklerdir. Şalkonları ve dihidroşalkonları diğer flavonoidlerden ayıran temel özellik, flavonoidlerin C halkası yerine A ve B halkasına üç karbon molekülü açık zincirin bağlanmasıdır. Bitkilerde şalkon izomeras enziminin katalize ettiği stereospesifik bir reaksiyonla şalkonlar flavanonlara dönüşür. Şalkonlar ve flavanonlar arasındaki yakın biyogenetik ve yapısal ilişki, bu bileşiklerin doğal ürünlerde genellikle bir arada bulunmasının nedenidir. Bu, genel olarak flavanon ve dihidroflavonol ile birlikte şalkon, dihidrokalkon ve auronların tanımlanmasının nedenidir. Şalkonlara minör flavonoidler denir. Ancak şalkonlar için minör flavonoid isimlerinin kullanılması, yeni flavonoid türlerinin artması nedeniyle uygun görünmemektedir (Aksöz vd., 2011).

Şalkon türevleri sahip oldukları farmakolojik özelliklerden dolayı bilimsel çalışmalara hedef olmaktadır. Bu perspektiften bakıldığında, birçok türde organik reaksiyonu katalize eden enzimlerin çok yönlülüğü, flavonoidler ve diğer şalkon türevlerinin elde edilmesinde kullanılmıştır. Şalkonlar, aralarında hidrojenasyon, hidroksilasyon, metilasyon ve siklizasyon reaksiyonlarının da bulunduğu çeşitli bileşikler elde etmek için biyotransformasyona uğrayabilir. Bu ürün çeşitliliği, şalkonların yapısal çerçevesinde bulunan çeşitli dönüşüm bölgelerinin bir sonucudur (De Matos vd., 2023). Şalkon yapısı Şekil 2.1.'de gösterilmektedir.



Şekil 2.1. Şalkon yapısı

Şalkonların yapısında bulunan keton grubu ve olefinik bağlar önemli özellikleridir. Şalkonların çeşitli gruplarından bazıları ise basit şalkonlar, alkillenmiş şalkonlar, β-metoksişalkonlar'dır. (Nowakowska, 2007).

Şalkonlardaki fenolik gruplar serbest radikalleri yakalama gibi özel işlevlere sahip olduğundan bu tür bitkilerin kullanımına olan ilgi gün geçtikçe artmaktadır (Nowakowska, 2007).

Şalkonlar çok çeşitli biyolojik aktivitelere sahip bileşiklerdir ve bu aktiviteri nedeniyle akademik ve endüstri araştırmaları için oldukça ilgi çekicidir (Feitosa vd., 2021).

Literatürden de görüleceği üzere endüstriyel sektörde farklı uygulama alanlarına sahip olan ve biyolojik aktiviteri ile öne çıkan şalkonlar en önemli bileşikler arasında yer almaktadır. Bu nedenle şalkon türevlerinin sentezlenmesi, fonksiyonlarının tanımlanması ile uygulama alanlarının da genişletilmesi güncel ve mühim bir konudur (Sevmezler, 2011).

Ketovinil grubuna sahip birçok bileşiğin önemli biyolojik aktivite gösterdiği iyi bilinmektedir. Şalkonlar, ketovinil grubunu içermekle beraber biyolojik aktiviteri sebebiyle de üzerinde yapılan çalışmaları her geçen gün daha da arttırmaktadır (Sevmezler, 2011).

Şalkonlar, tümör hücrelerinin hayatta kalması ve çoğalması için gerekli olan kinazları inhibe ederek antitümör aktiviter sergiler. Yapılan araştırmalarda, şalkonların kanser hücrelerini hedef alıp yok ettiği, ancak sağlıklı hücrelere zarar vermediği gözlemlenmiştir. Özellikle akciğer kanseri gibi yaygın kanser tipleri üzerinde yapılan çalışmalarda olumlu sonuçlar elde edilmiştir. Şalkonlar, doğal bitkilerde bulunan ve çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılan bileşiklerdir. Ayrıca yapılan deneylerde, şalkonların birçok kanser türünde kanser hücrelerinin çoğalmasını yavaşlattığı hatta bazılarını durdurduğu gözlemlenmiştir (Can, 2022).

Şalkonlar, antioksidan aktiviteleriyle bilinirler ve çeşitli mekanizmalarla serbest radikallerle savaşırlar. Serbest radikal temizleme, hidrojen bağı, singlet oksijen söndürme, metal iyon şelasyonu gibi mekanizmalarla ilişkilendirilirler. Bu özellikleri sayesinde, hücreleri oksidatif strese koruyarak yaşlanma sürecini yavaşlatırlar. Ayrıca, şalkonlar bir dizi biyolojik aktiviteye sahiptirler. Örneğin, kolesterol düzeylerini düzenleyebilir, kan basıncını düşürebilir, kan şekerini düzenleyebilir ve görme ile hafızayı iyileştirebilirler. Ek olarak, eklem ve kas ağrılarını azaltabilir, karaciğer ve böbrek fonksiyonlarını iyileştirebilir, uykuya yardımcı olabilir, kanseri önleyebilir ve bağışıklık sistemini güçlendirebilirler. Cildi ve saçları güzelleştirebilirler. Tüm bu özellikler, şalkonların sağlık üzerindeki olumlu etkilerini destekler ve onları doğal bir sağlık destekleyicisi olarak değerli kılar

(Katsori vd., 2011).

Farklı biyolojik etkilere sahip olmaları nedeniyle, bu bileşiklerin çeşitlendirilmesi, kimyasal, biyolojik veya kemoenzimatik yöntemlerle ilgi çekici bir araştırma alanıdır. Özellikle, bileşik modifikasyonları için doğal olarak ortaya çıkan ve uyarılma tepkileri olarak adlandırılan reaksiyon türleri, hidroksilasyonlar, metilasyonlar ve glikozilasyonlar gibi işlevseldir. Hidroksilasyonlar, bir yandan flavonoidlerin pek çok faydalı etkisinde önemli bir rol oynayan hidroksi gruplarının varlığı nedeniyle önemlidir. Öte yandan, bu reaksiyonlar, glikozilasyon gibi daha ileri modifikasyonlar için yeni reaktif bölgeler oluşturarak, bileşiğin daha fazla çeşitlendirilmesine olanak tanır. Bu nedenle, bu reaksiyonları anlamak ve kullanmak, daha etkili ve çeşitli terapötik ajanlar geliştirmek için önemlidir (Overwin vd., 2015). Biyotransformasyon, zararlı bileşikler içermeyen şalkon türevlerini elde etmek için alternatif bir yöntemdir (Kozłowska vd., 2020).

Şalkonların doğal olarak oluşan biyosentetik yolları, özellikle asetil-CoA ve şekerlerin metabolizmasını içeren yollar gibi, derinlemesine incelendiğinde, bu moleküllerin oluşumu ve metabolik dönüşümleri hakkında önemli bilgiler elde edilir. Şalkon sentaz ve şalkon izomeraz enzimleri, şalkonların sentezinden ve farklı flavonoidlere dönüşümünden sorumlu temel bileşenlerdir. Sentetik olarak, şalkonlar çeşitli kimyasal reaksiyonlardan geçerek pirazolin, izoksazol ve diğer heterosiklik bileşiklerin sentezinde önemli bir rol oynarlar (Matos vd., 2015).

Şalkonlar güçlü antioksidanlar olarak bilinir ve vücudu yıkıcı serbest radikallerden koruyarak yaşlanma sürecini yavaşlatmaya yardımcı olurlar. Ayrıca, bir dizi biyolojik etkiye sahiptirler: kolesterol seviyelerini düzenler, kan basıncını düşürür, kan şekeri seviyelerini kontrol altında tutar, görme ve hafızayı iyileştirir, eklem ve kas ağrılarını azaltır, karaciğer ve böbrek fonksiyonlarını destekler, uykuyu düzenler, kanseri önler, bağışıklık sistemini güçlendirir ve cildi ile saç sağlığını destekler (Katsori vd., 2011).

Şalkonlar, çeşitli endüstriyel, sağlık ve beslenme alanlarında kullanılan önemli bir doğal kaynaktır. Başlıca kullanım alanları; gıda endüstrisi, sağlık ve beslenme, kozmetik endüstrisi ve tarım ve hayvancılıktır (Alpaslan vd., 2009).

Gıda endüstrisinde çeşitli amaçlar için kullanılırlar. Kozmetiklerde, sağlık takviyelerinde ve doğal gıda boyalarında renklendirici ve antioksidan olarak kullanılırlar. Ayrıca gıdalara lezzet ve aroma katmak için kalkon özleri ve ekstraktları tercih edilmektedir. Şalkonlar sağlık ve beslenmede de önemli bir rol oynar. Antioksidan özellikleri sayesinde vücudu serbest radikallerin zararlı etkilerine karşı korur ve yaşlanma sürecini yavaşlatır. Ayrıca kolesterol seviyelerini dengeleme, kan basıncını düşürme ve kan şekeri seviyelerini kontrol altında tutma gibi sağlık faydaları da sağlarlar (Guo, 2019).

Şalkonlar cilt bakımı ve saç bakımı ürünlerinde yaygın olarak kullanılan doğal bileşenlerdir. Antioksidan özellikleri sayesinde cildi korur ve yaşlanma belirtilerini azaltırlar. Ayrıca saçları güçlendirmeye ve parlaklığını artırmaya yardımcı olabilirler. Şalkonların bazı bileşenleri, tarım ve hayvancılık endüstrisinde kullanılan gübreler ve hayvan yemleri için doğal bir kaynak olarak kabul edilir. Özellikle organik tarım ve hayvancılıkta tercih edilen doğal ve sürdürülebilir bir besin kaynağı olarak kullanılırlar (Selvamuthukumaran, 2020).

2.5. Bazı Aspergillus Türleri İle Biyotransformasyon Çalışmaları

Aspergillus türleri biyotransformasyon çalışmalarında sıklıkla kullanılan mikroorganizmalardır. Bu türler, birçok endüstriyel ve biyoteknolojik uygulamada kullanılan enzimlerin üretimi için önemli bir kaynak olarak kabul edilmektedir. Aspergillus türleri ile yapılan biyotransformasyon çalışmaları, çeşitli endüstriyel ve biyoteknolojik uygulamalarda kullanılan önemli bileşiklerin üretimi için etkili bir strateji olarak kabul edilmektedir. Bu çalışmalar daha etkili, verimli ve sürdürülebilir

üretim yöntemlerinin geliştirilmesine katkı sağlamaktadır (Kouskoumvekaki vd., 2016).

Aspergillus türleri ile biyotransformasyonlar çeşitli ilaç bileşiklerinin sentezinde kullanılabilir. Özellikle *Aspergillus* türleri antimikrobiyal ilaçların sentezinde kullanılan enzimlerin üretiminde veya anti-kanser ilaçları için öncül maddelerin üretiminde sıklıkla tercih edilmektedir. Bu çalışmalar sonucunda daha etkili ve verimli ilaçların sentezlenmesinde önemli rol oynamaktadır (Kouskoumvekaki vd., 2016).

Biyokatalizör üretimi için de *Aspergillus* türleri ile biyotransformasyonlar gerçekleştirilmektedir. *Aspergillus* türlerinden elde edilen enzimler, endüstriyel ölçekte biyokimyasal dönüşümler için kullanılan enzimlerin üretimi için sıklıkla tercih edilmektedir. Bu enzimler, istenen ürünleri elde etmek için kimyasal sentez süreçlerinde kullanılır (Kouskoumvekaki vd., 2016).

Aspergillus türleri ile biyotransformasyonlar ile organik kimyasal bileşiklerin dönüşümü gerçekleştirilebilmektedir. Özellikle, *Aspergillus* türlerinin endüstriyel atıkların biyolojik olarak parçalanması veya biyoyakıt üretimi için biyokimyasal dönüşümler için kullanımı yaygındır. Bu çalışmalar, organik atıkların sürdürülebilir şekilde bertaraf edilmesine ve yenilenebilir enerji kaynaklarının üretilmesine katkı sağlamaktadır (Schuster vd., 2002).

Yapılan bir çalışmada, (E)-3-(furan-2-il)-1-(p-tolil)prop-2-en-1-on bileşiği *A. candidus* küfö ile biyotransformasyon sonucu 3-(furan-2-il)-1-(ptolil)propan-1, (E)-3-fenil-1-(p-tolil)prop-2-en-1-on bileşiği ile ise 3-fenil-1-(p-tolil)propan-1-on ve (E)-3-(tiyofen-2-il)-1-(p-tolil)prop-2-en-1-on bileşiği ile de 3-(tiyofen-2-il)-1-(p-tolil)propan-1-on indirgenmiş ürününü elde etmiştir (Bodur, 2019). 2021 yılında yapılan bir çalışmada ise (E)-3-fenil-1-(p-tolil)prop-2-en-1-on bileşiği *U. chartarum* küfö ile biyotransformasyon sonucu 3-fenil-1-(ptolil)propan-1-on, (E)-3-(furan-2-il)-1-(p-tolil)prop-2-en-1-on bileşiği ile 3-(furan-2-il)-1-(ptolil)propan-1-on indirgenmiş ürününü elde etmiştir (Vusala, 2021).

2023 yılında yapılan bir çalışmada progesteronun *A. glaucus* MRC 200914 izolatının biyotransformasyonundan 11 α -hidroksipregn-4-en-3,20-dion ile 11 α ,15 β -dihidroksipregn-4-en-3,20-dion olmak üzere iki metabolit elde edilmiştir (Konar, 2023). Yine aynı yıl *A. glaucus* MRC 200914 izolatının DHEA bileşiği ile

biyotransformasyonundan $3\beta,11\alpha$ -dihidroksiandrost-5-en-17-on ve $3\beta,7\alpha$ -dihidroksiandrost-5-en-17-on metabolitleri elde edilmiştir (Al-ani, 2023).

2.6. Çalışmanın Amacı

Bu tez çalışmasında *Aspergillus glaucus* küfö ile ilk kez (E)-şalkon **(1)**, (E)-1-fenil-3-(p-tolil)prop-2-en-1-on **(2)** ve (E)-3-(4-metoksifenil)-1-fenilprop-2-en-1-on **(3)** şalkonlarının biyotransformasyonlarının incelenmesi amaçlanmıştır.



3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Kullanılan Ekipman ve Sarf Malzemeler

Çalışmada kullanılan cam ekipmanlar ve besiyerleri, Nüve OT 020 model otoklav cihazında 121 °C sıcaklıkta 20 dakika süreyle sterilize edildi. Küf kültürleri ve biyotransformasyon çalışmaları ise, IKA KS 400 model çalkalamalı inkübatör cihazı kullanılarak gerçekleştirildi. ¹H ve ¹³C NMR spektrumları, tetrametilsilan standardı kullanılarak 300 MHz frekansında çalışan Varian Mercury 300 NMR spektrometresinde, döterokloroform içinde elde edildi.

Deneylerde kullanılan küf kültürleri, TÜBİTAK MAM Kurumu'ndan biyotransformasyon çalışmalarında kullanılmak üzere yatık agar üzerinde stok kültür olarak temin edildi. Kültürlerin yeniden canlandırılması ve çoğaltılması için patates dekstroza agar (PDA) içeren yatık agar besiyerlerinde 4 derecenin altında muhafaza edildi. Küfler için kullanılan besiyerlerinin hazırlanmasında gerekli olan tüm kimyasallar, Merck firmasından temin edildi. Şalkonlar ise organik kimya araştırma laboratuvarında sentezlendi.

3.2. Taze Yatık Agar Kültürlerinin Elde Edilmesi

Yatık agar çözeltisini hazırlarken, agar (1,20 g) ve PDA (patates dekstroza agar) (5,85 g) karışımına 150 mL'ye kadar saf su eklenip ardından kaynatılarak hazırlandı (Ergin, 2020). 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 ondört gün boyunca çoğalmak üzere bırakıldı. Hazırlanan yatık agarlardaki kültürlerden en iyi gelişim göstermiş olan *A. glaucus* 200914 küfö iki

haftada bir steril koşullarda hazırlanan yeni yatık agarlara aktararak en gelişmiş ve taze küf kültürü biyotransformasyon işlemleri için kullanıldı.

3.4. Biyotransformasyonu Gerçekleştirilecek Substratın Eklenmesi

Her bir şalkon (500 mg), etanol (10 mL) içinde çözülerek steril koşullarda hazırlanan yeterli miktarda küf içeren erlenlere eşit hacimlerde ilave edilmiştir. Ardından, 25 °C'de çalkalanabilen inkübatörde 5 gün boyunca inkübasyona bırakıldı.

3.5. Bileşiklerin Ekstraksiyonu ve Saflaştırılması

Biyotransformasyon sonucunda, besiyeri, bir Buchner hunisi ile filtre edilerek ve *A. glaucus* 200914 küf kültürüne ait misellerden süzülerek ayrıldı. Buchner hunisinde kalan miseller, etil asetat (500 mL) kullanılarak yıkandı. Ardından, erlendeki süzüntüye her seferinde etil asetat (1 L) eklenerek toplamda 3 ekstraksiyon gerçekleştirildi. Sonrasında, ekstraktlara susuz sodyum sülfat eklenerek olabilecek suyun uzaklaştırılması sağlandı. Evaporatör yardımı ile etil asetat uzaklaştırıldıktan sonra bir kahverengi bir kalıntı elde edildi. Biyotransformasyon çalışmalarının her biri için, başlangıç maddesi ile elde edilen madde arasında karşılaştırma yapmak amacıyla İnce Tabaka Kromatografisi (İTK) analizi gerçekleştirildi.

3.6. Biyotransformasyon Çalışmalarının Kontrolü

Biyotransformasyon çalışmalarının kontrolü için her deney için üç ayrı kontrol erleni kullanıldı ve bunlar takip edildi. İlk kontrol erleninde sadece besiyeri, ikincisinde ise besiyeri ve bir substrat bulunurken üçüncü kontrol erleninde besiyeri ve mikroorganizma mevcuttu. Her bir kontrol erleni için biyotransformasyon çalışmalarındaki tüm işlemler aynı şekilde uygulandı. Bu kontrol erlenlerinden elde edilen kalıntılar, ¹H NMR analizi yapılarak asıl deneylerden elde edilen metabolitlerin gerçek biyotransformasyon ürünleri olup olmadığı belirlendi.

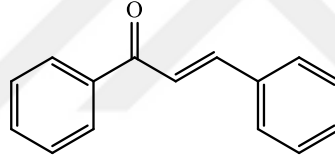
3.7. *A. glaucus* Küfö ile Şalkonların Biyotransformasyonları

A. glaucus 200914 kültür besiyerinin hazırlanması için gereken bileşenler ve bunların 1 L çözeltildeki miktarları Tablo 3.1.'de verilmiştir (Yamauchi, 1997)

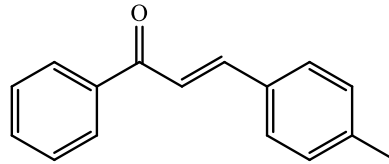
Tablo 3.1. *A. glaucus* 200914 küfüne ait besiyeri bileşenleri.

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

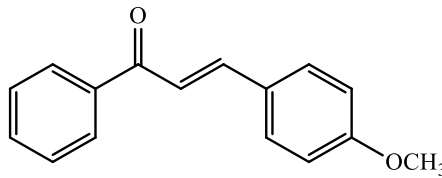
Şekil 3.1, 3.2 ve 3.3’de açık yapıları gösterilen şalkonların her biri (500 mg), etanol (10 mL) içinde çözülerek steril koşullarda hazırlanan erlenlere eşit hacimlerde ilave edildi. Bu erlenler, yeterli miktarda küf içeriyordu ve işlem steril koşullar altında gerçekleştirildi. Biyotransformasyonları gerçekleştiren (E)-şalkon (1), (E)-1-fenil-3-(p-tolil)prop-2-en-1-on (2) ve (E)-3-(4-(tert-bütil)fenil)-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. (E)-şalkon’un (1) açık yapısı.



Şekil 3.2. (E)-1-fenil-3-(p-tolil)prop-2-en-1-on’un, (2) açık yapısı.



Şekil 3.3. (E)-3-(4-metoksifenil)-1-fenilprop-2-en-1-on’un, (3) açık yapısı.

3.7.1. (E)-Şalkon (1) *A. glaucus* küfü ile biyotransformasyonu

(E)-şalkon (1) bileşiğinin *A. glaucus* 200914 ile 5 gün süren biyotransformasyonları gerçekleştirildi. Biyotransformasyon işlemlerinden sonra, başlangıç maddesi ve elde edilen kalıntının ^1H NMR spektrumları alındı.

3.7.2. (E)-1-fenil-3-(p-tolil)prop-2-en-1-on, (2) *A.glaucus* küfü ile biyotransformasyonu

(E)-1-fenil-3-(p-tolil)prop-2-en-1-on, (2) bileşiğinin *A. glaucus* 200914 ile 5 gün süren biyotransformasyonları incelendi. Biyotransformasyon işlemleri tamamlandıktan sonra, başlangıç maddesi ve elde edilen kalıntının ^1H NMR spektrumları alındı.

3.7.3. (E)-3-(4-metoksifenil)-1-fenilprop-2-en-1-on, (3) *Aspergillus glaucus* küfü ile biyotransformasyonu

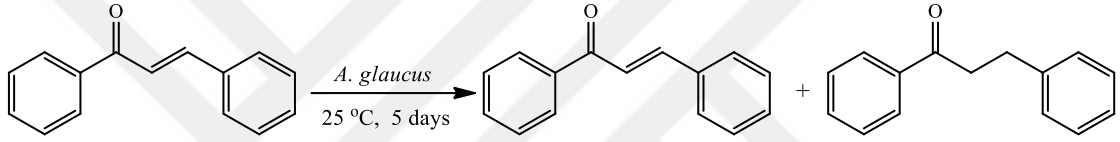
(E)-3-(4-metoksifenil)-1-fenilprop-2-en-1-on, (3) bileşiğinin *A. glaucus* 200914 ile 5 gün süren biyotransformasyonları incelendi. Biyotransformasyon işlemleri tamamlandıktan sonra, başlangıç maddesi ve elde edilen kalıntının ^1H NMR spektrumları alındı.

4. DENEYSEL BULGULAR

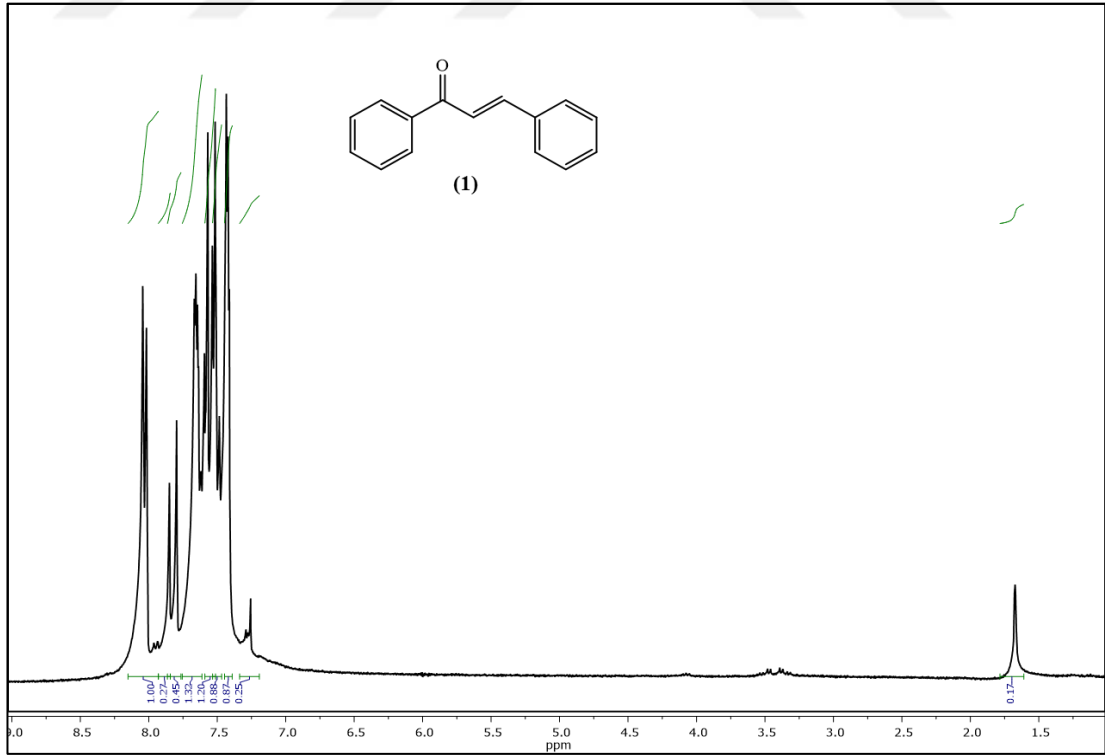
4.1. Şalkonların Biotransformasyonları

4.1.1. (E)-Şalkon (1) bileşiğinin *Aspergillus glaucus* ile biyotransformasyonu

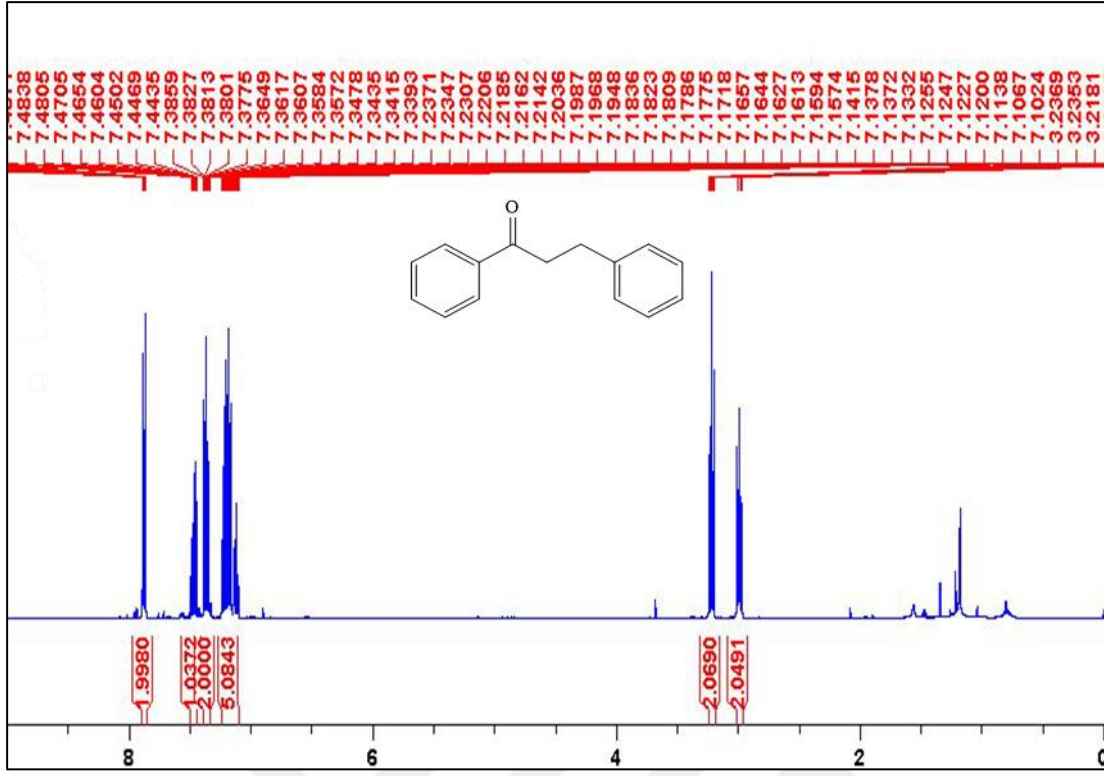
(E)-şalkon (1) bileşiğinin *A. glaucus* 200914 küfö ile 25 °C 'de 5 günlük inkübasyon sürecinin sonunda başlangıç maddesi (225 mg), 1,3-difenilpropan-1-on, (4) (226 mg) ile tanımlanamayan bazı safsızlıklar elde edildi (Şekil 4.1). Şekil 4.2.'de başlangıç maddesinin, Şekil 4.3'de indirgenmiş ürünün, Şekil 4.4.'de ise biyotransformasyon reaksiyonu neticesinde elde edilen ürünün ¹H NMR spektrumları verilmiştir.



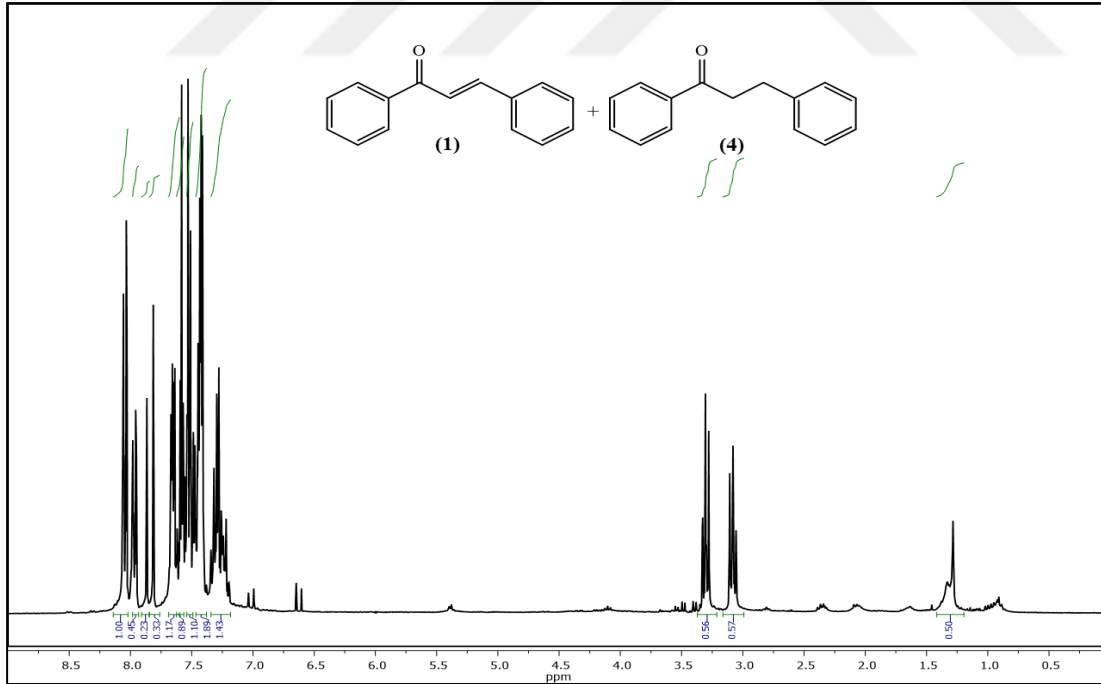
Şekil 4.1. (E)-şalkon (1) bileşiğinin *A. glaucus* ile biyotransformasyonu.



Şekil 4.2. (E)-şalkon (1) bileşiğinin ¹H NMR spektrumu.



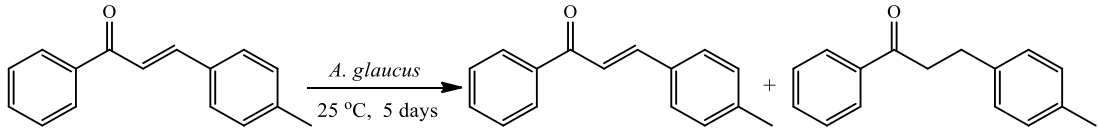
Şekil 4.3. 1,3-difenilpropan-1-on (4) bileşiğinin ¹H NMR spektrumu (Kisets, vd. 2021).



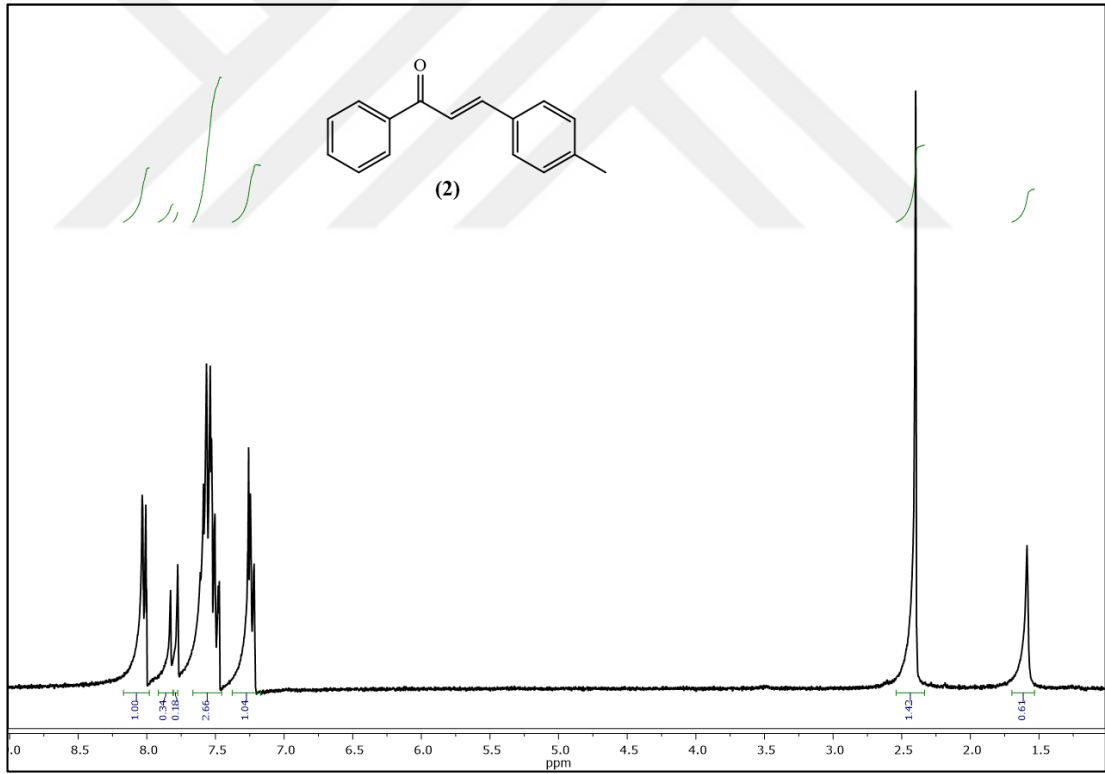
Şekil 4.4. (E)-şalkon (1) bileşiğinin *A. glaucus* ile inkübasyonundan elde edilen kalıntının ¹H NMR spektrumu.

4.1.2. (E)-1-fenil-3-(p-tolil)prop-2-en-1-on (2) bileřiřinin *Aspergillus glaucus* ile biyotransformasyonu

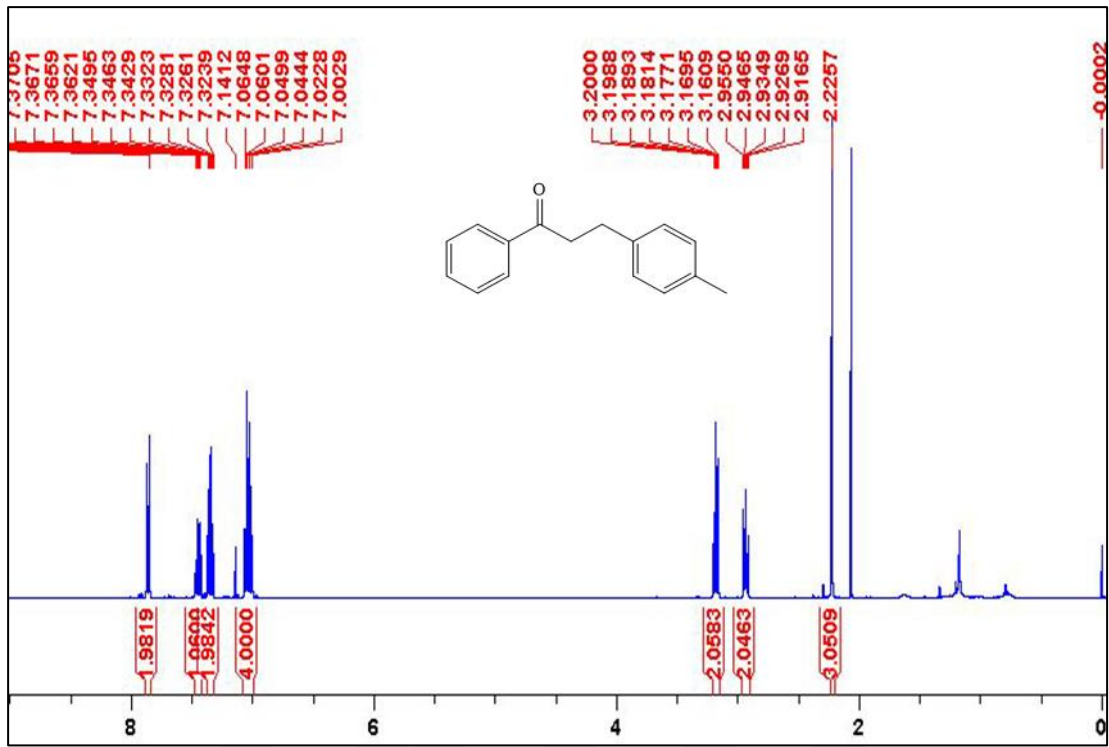
şekil 4.5.'de gösterilen (E)-1-fenil-3-(p-tolil)prop-2-en-1-on, (2) bileşişinin *A. glaucus* 200914 kf ile 25  C 'de 5 günlük inkübasyon sürecinin sonunda başlangıç maddesi (230 mg), 1-fenil-3-(p-tolil)propan-1-on (5) (210 mg) ve yapıları tanımlanamayan bazı safsızlıklar elde edildi. şekil 4.6.'de başlangıç maddesinin, şekil 4.7.'de indirgenmiş ürünün ve şekil 4.8.'de biyotransformasyon reaksiyonu neticesinde elde edilen ürünün ¹H NMR spektrumları verilmiştir.



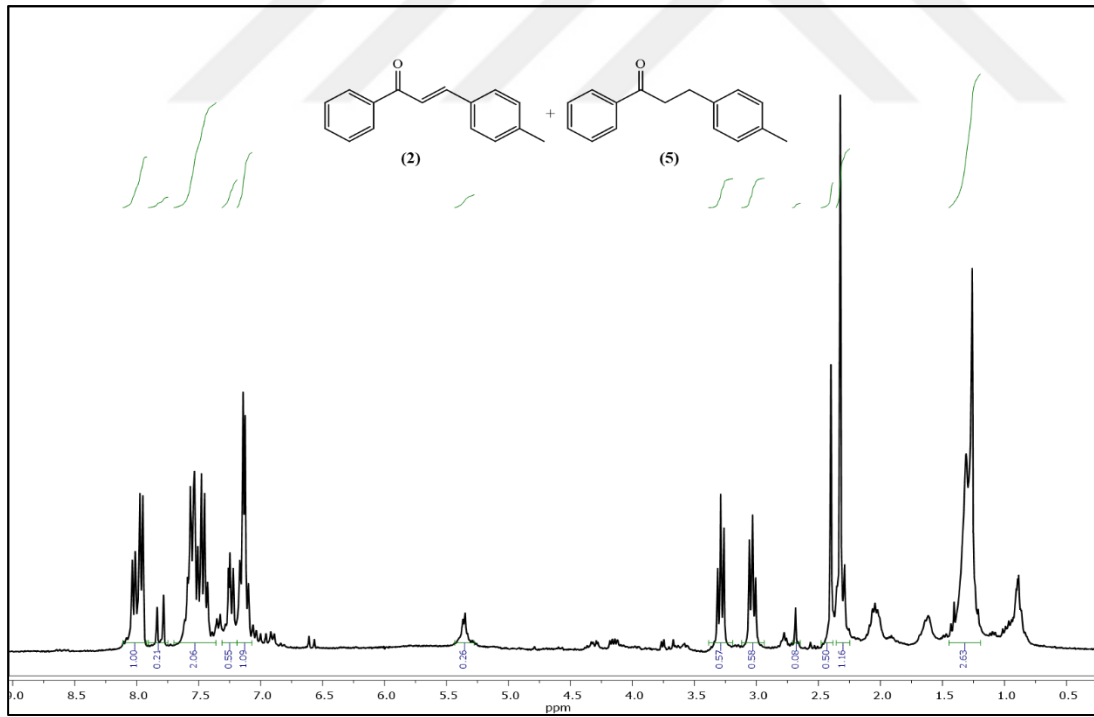
şekil 4.5. (E)-1-fenil-3-(p-tolil)prop-2-en-1-on, (2) bileřiřinin *A. glaucus* ile biyotransformasyonu.



şekil 4.6. (E)-1-fenil-3-(p-tolil)prop-2-en-1-on, (2) bileřiřinin ¹H NMR spektrumu.



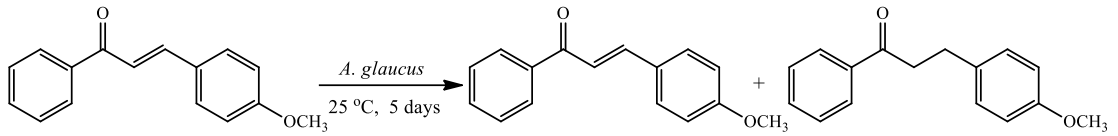
Şekil 4.7. 1-fenil-3-(p-tolil)propan-1-on (5) bileşiğinin ¹H NMR spektrumu (Kisets, vd. 2021).



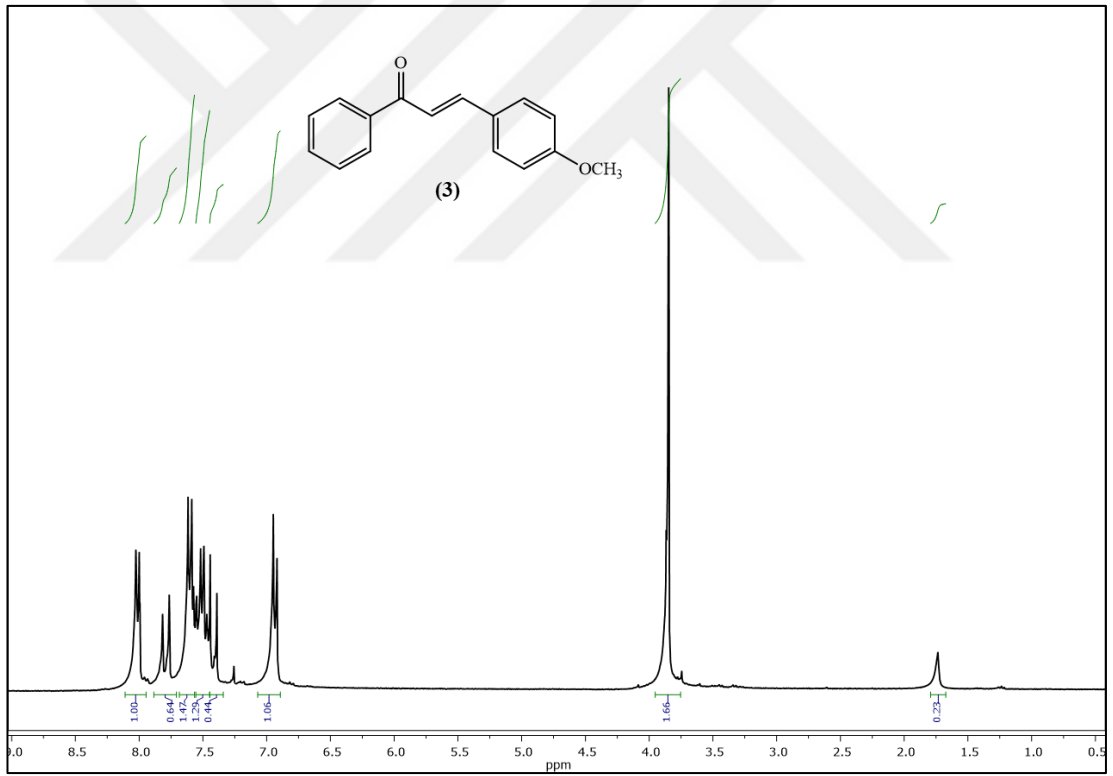
Şekil 4.8. (E)-1-fenil-3-(p-tolil)prop-2-en-1-on, (2)'nin *A. glaucus* ile inkübasyonunda elde edilen kalıntıya ait ¹H NMR spektrumu.

4.1.3. (E)-3-(4-metoksifenil)-1-fenilprop-2-en-1-on, (3) bileşiğinin *Aspergillus glaucus* ile biyotransformasyonu

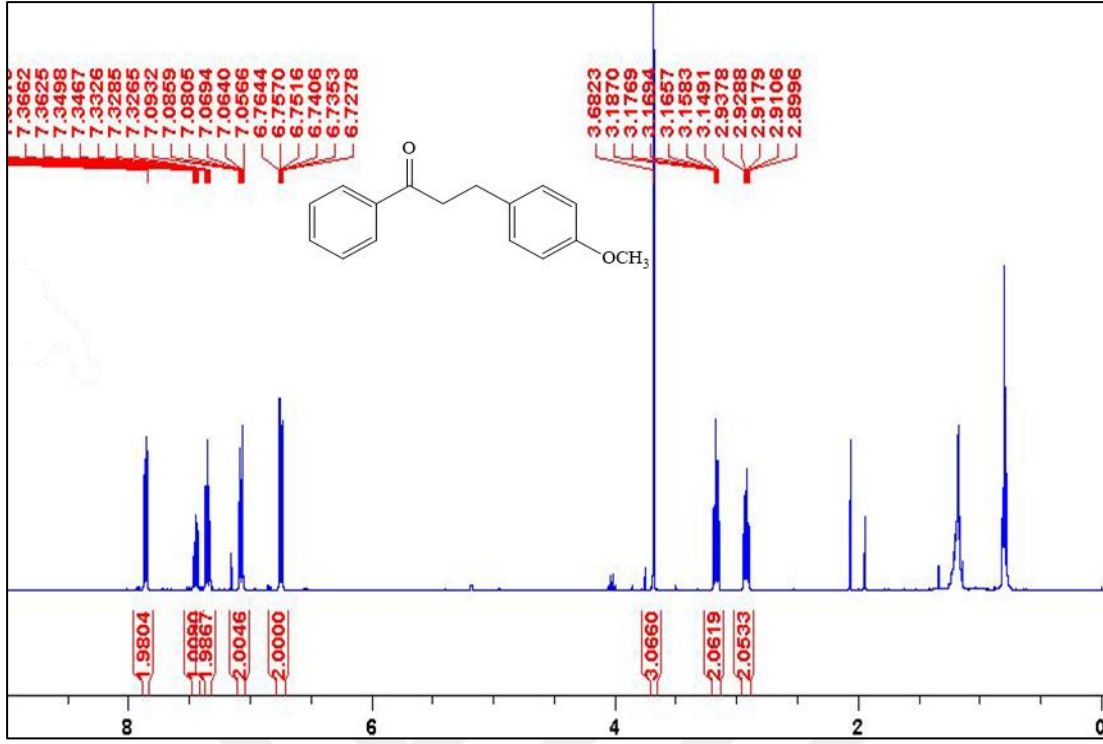
(E)-3-(4-metoksifenil)-1-fenilprop-2-en-1-on, (3) bileşiğinin *A. glaucus* 200914 küfö ile 25 °C 'de 5 günlük inkübasyon sürecinin sonunda başlangıç maddesi (210 mg), 3-(4-metoksifenil)-1-fenilpropan-1-on (6) (230 mg) ile yapıları aydınlatılamayan bazı safsızlıklar elde edildi (Şekil 4.9). Şekil 4.10.'de başlangıç maddesinin, Şekil 4.11.'de indirgenmiş ürünün ve Şekil 4.12.'de biyotransformasyon reaksiyonu neticesinde elde edilen ürünün ¹H NMR spektrumları verilmiştir.



Şekil 4.9. (E)-3-(4-metoksifenil)-1-fenilprop-2-en-1-on, (3) bileşiğinin *A. glaucus* ile biyotransformasyonu.



Şekil 4.10. (E)-3-(4-metoksifenil)-1-fenilprop-2-en-1-on, (3) bileşiğinin ¹H NMR spektrumu.



Şekil 4.11. 3-(4-metoksifenil)-1-fenilpropan-1-on (6) bileşiğinin ¹H NMR spektrumu (Kisets, vd. 2021).



Şekil 4.12. (E)-3-(4-metoksifenil)-1-fenilprop-2-en-1-on, (3)'nin *A. glaucus* ile inkübasyonu sonucu elde edilen kalıntıya ait ¹H NMR spektrumu.

5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR

Bu tez çalışmasında *A. glaucus* 200914 küfö ile (E)-şalkon **(1)**, (E)-1-fenil-3-(p-tolil)prop-2-en-1-on **(2)** ve (E)-3-(4-metoksifenil)-1-fenilprop-2-en-1-on **(3)** şalkonlarının 25 °C’de 5 gün süren biyotransformasyonları gerçekleştirildi.

(E)-şalkon **(1)** bileşiğinin bileşiğinin *A. glaucus* 200914 küfö ile 25 °C’de 5 gün süren inkübasyonu neticesinde başlangıç maddesi ve indirgenmiş ürün olan 1,3-difenilpropan-1-on **(4)** elde edildi. Bileşiğin yapısı ¹H NMR spektrumunun başlangıç maddesinin spektrumu ile karşılaştırılmak suretiyle tespit edildi (Luo vd., 2022).

(E)-1-fenil-3-(p-tolil)prop-2-en-1-on **(2)** şalkonunun *A. glaucus* 200914 küfö ile 25 °C’de 5 gün süren inkübasyonunda başlangıç maddesi ve 1-fenil-3-(p-tolil)propan-1-on **(5)** elde edildi. 1-fenil-3-(p-tolil)propan-1-on **(5)** bileşiğinin yapısı ¹H NMR spektrumunun başlangıç maddesinin spektrumu ile karşılaştırılmak suretiyle tespit edildi (Luo vd., 2022).

(E)-3-(4-metoksifenil)-1-fenilprop-2-en-1-on **(3)** bileşiğinin *A. glaucus* 200914 küfö ile 25 °C’de 5 gün süren inkübasyonu neticesinde başlangıç maddesi ve 3-(4-metoksifenil)-1-fenilpropan-1-on **(6)** elde edildi. Bileşiğin yapısı ¹H NMR spektrumunun başlangıç maddesinin spektrumu ile karşılaştırılmak suretiyle tespit edildi (Luo, 2022).

Şalkonların hidrojenlenmesi rutenyum katalizörleri varlığında formik asit, sodyum format veya Na₂CO₃/izopropanol içerisinde molekülün en on bölümünden sadece çift bağın indirgenmesi, karbonil grubunun indirgenmesi ya da her iki grubun birden indirgenmesine sebep olabilmektedir (Evranoş, 2010). Tez kapsamında (E)-şalkon **(1)**, (E)-1-fenil-3-(p-tolil)prop-2-en-1-on **(2)** ve (E)-3-(4-metoksifenil)-1-fenilprop-2-en-1-on **(3)** şalkonlarının *A. glaucus* 200914 küfö ile biyotransformasyonları neticesinde ılıman koşullarda hidrojenlenmesi ile elde edilen şalkonların sentezi için diğerkimyasal yöntemlere tercih edilebileceğı gösterilmiştir.

Tez çalışmasında kullanılan (E)-şalkon **(1)**, (E)-1-fenil-3-(p-tolil)prop-2-en-1-on **(2)** ve (E)-3-(4-metoksifenil)-1-fenilprop-2-en-1-on **(3)** bileşiklerinin ilk kez biyotransformasyonları gerçekleştirilmiştir. Bu bileşiklerin *A. glaucus* 200914 küfö ile

biyotransformasyonları sonucunda elde edilen karışımlara ait ^1H NMR spektrumunda, başlangıç maddelerinin ^1H NMR'ında bulunmayan 3-3,5 ppm arasında $-\text{CH}_2$ protonlarına ait pikler görülmektedir. Aynı zamanda 7,2-8,2 aralığında başlangıç maddelerinin pikleri de görülmektedir. Çalışmamızda *A. glaucus* 200914 küfünün üç farklı şalkon bileşimini de benzer şekilde metabolize etmesi *A. glaucus* 200914 ile şalkonlar üzerinde yapılacak biyotransformasyonlar ile ilgili benzer sonuçlar elde edilebileceğini göstermektedir. *A. glaucus* 200914 küfü ve farklı küfler ile şalkonların biyotransformasyonlarının gerçekleştirilmesine yönelik çalışmalar planlarımız arasındadır.



KAYNAKLAR

- Ahmed, N., & Baseer, S. A. Biotransformation of Pyrazole Chalcones By Conidiobolous Species Isolated from Detritus Vegetable Waste. synthesis,4,7.2019.
- Akar, T. (2015). *Furanosterod yapılı bazı bileşiklerin anitfungal etkinliğinin ve Neurospora Crassa Fungal kültürünün biyotransformasyon ve biyosorpsiyon özelliklerinin incelenmesi* [Doktora Tezi]. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi.
- Aksöz, B. E., ve Ertan, R. (2011). Kalkonların kimyasal ve yapısal özellikleri I. Fabad J Pharm Sci , 36 , 223-242.
- Aksöz, B. E., & Ertan, R. (2012). Spectral properties of chalcones II. Fabad J. Pharm. Sci, 37(4), 205-216.
- Al-ani, R. (2023). *Dehidroepiandrosteron bileşiğinin Aspergillus Glaucus küfö ile biyotransformasyonu* [Yüksek Lisans Tezi]. Sakarya Üniversitesi.
- Alarcón, J., Alderete, J., Escobar, C., Araya, R., & Cespedes, C. L. (2013). Aspergillus niger catalyzes the synthesis of flavonoids from chalcones. Biocatalysis and Biotransformation, 31(4), 160-167
- Alparslan, M. Mustafa et al. "The Effect of Antioxidant Use in Food Industry." Advances in food and nutrition research vol. 59 (2009): 1-15. doi:10.1016/S1043-4526(09)59001-9
- Al-Samarrai, A. (2024) *Pregnenolonun Penicillium Olsoni ile Biyotransformasyonu* [Yüksek Lisans Tezi]. Sakarya Üniversitesi.
- Bhatti, H. N., Khan, S. S., Khan, A., Rani, M., Ahmad, V. U., & Choudhary, M. I. (2014). Biotransformation of monoterpenoids and their antimicrobial activities. Phytomedicine, 21(12), 1597-1626.
- Bodur, B. (2019). *Bazı şalkon bileşiklerinin Aspergillus Candidus küfö ile biyotransformasyonları* [Yüksek Lisans Tezi]. Sakarya Üniversitesi.
- Can, R., (2022). *Şalkon içeren yeni karbazol türevlerinin sentezi ve karakterizasyonları* [Yüksek Lisans Tezi]. Sakarya Üniversitesi.
- CLAYDEN, J., GREEVES, N., WARREN, S., WOTHERS, P., Organic Chemistry, First Edition, Oxford University Press, Oxford, 1413-1414, 2001.
- Corcoran, MP, McKay, DL ve Blumberg, JB (2012). Flavonoidlerin temelleri: kimya, kaynaklar, etki mekanizmaları ve güvenlik. Gerontoloji ve geriatriye beslenme dergisi , 31 (3), 176-189.
- Corrêa, M. J., Nunes, F. M., Bitencourt, H. R., Borges, F. C., Guilhon, G., MS, P., ..& Santos, L. S. (2011). Biotransformation of chalcones by the endophytic Fungus Aspergillus flavus isolated from Paspalum maritimum trin. Journal of the Brazilian Chemical Society, 22, 1333-1338.

- Das, S., & Rosazza, J. P. (2006). Microbial and enzymatic transformations of flavonoids. *Journal of Natural Products*, 69(3), 499-508.
- Dave, V., Khirwadkar, P., & Dashora, K. (2014). A review on biotransformation. *Indian Journal of Research in Pharmacy and Biotechnology*, 2(2), 1136.
- Demain A.L., Small Bugs, Big Business: The Economic Power of the Microbe, *Biotechnology Advances*, 18, 499-514, 2000.
- De Matos, I. L., Nitschke, M., da Fonseca, L. J. P., & Porto, A. L. M. (2020). Biotransformation of flavonoids by terrestrial and marine microorganisms. *Encyclopedia of Marine Biotechnology*, 3, 1979-2000.
- De Matos, I. L., Nitschke, M., & Porto, A. L. M. (2023). Regioselective and chemoselective biotransformation of 2'-hydroxychalcone derivatives by marine-derived fungi. *Biocatalysis and Biotransformation*, 41(1), 46-56.
- Demirci, F. (2000). Biyoaktif monoterpenlerin mikrobiyal transformasyonu (Doctoral dissertation, Anadolu University (Turkey)).
- Elmacı, C. (2013). *Asetoksi Perillil Alkol Sentezi ve Mikrobiyal Biyotransformasyonu* [Yüksek Lisans Tezi]. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi.
- Ergin, S. (2020). *Dehidroepiandrosteron bileşiğinin bazı küfler ile biyotransformasyonları* [Yüksek Lisans Tezi]. Sakarya Üniversitesi.
- Evranoğlu, B. (2010). *Yeni Bazı Flavonoid Türevlerinin Sentezi Kimyasal Yapılarının Aydınlatılması ve Monoamin Oksidaz Enzimleri Üzerine Etkilerinin Araştırılması* [Doktora Tezi], Ankara Üniversitesi.
- FABER, K., *Biotransformations in Organic Chemistry*, Fifth Edition, Springer-Verlag, Berlin, 1-407, 2003.
- Feitosa, A. D. O., Anjos, M. L. D., Ramos, G. D. C., Siqueira, J. E. D. S., Oliveira, C., Costa, M. S., ... & Marinho, A. M. D. R. (2021). Bioreduction Of the Chalcones by Fungus *Scedosporium apiospermum* EJCP13. *Journal of the Mexican Chemical Society*, 65(2), 170-177.
- Ghisalpa, O., Meyer, HP ve Wohlgemuth, R. (2009). Endüstriyel Biyotransformasyon. Endüstriyel biyoteknoloji ansiklopedisi: biyoproses, biyoayırma ve hücre teknolojisi , 1-34.
- Guo, Shuiming et al. "Potential of Flavonoid C-glucosides as Natural Food Colorants and Preservatives: Extraction Optimization, Stability, and Antioxidant Activity." *Journal of agricultural and food chemistry* vol. 67,20 (2019): 5660-5671. doi:10.1021/acs.jafc.9b01690
- Havsteen, BH (2002). Flavonoidlerin biyokimyası ve tıbbi önemi. *Farmakoloji ve terapötikler* , 96 (2-3), 67-202.
- Heim, K. E., Tagliaferro, A. R., & Bobilya, D. J. (2002). Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *The Journal of nutritional biochemistry*, 13(10), 572-584.
- Ismayilova, V. (2021). *Bazı organik bileşiklerin Ulocladium Charatarum küfî ile biyotransformasyonları* [Yüksek Lisans Tezi]. Sakarya Üniversitesi,

- Katsori, AM ve Hadjipavlou-Litina, D. (2011). Kalkonların terapötik uygulamalarında son gelişmeler. Tedavi patentlerine ilişkin uzman görüşü , 21 (10),1575-1596.
- Kesarkar, S., Bhandage, A., Deshmukh, S., Shevkar, K. ve Abhyankar, M. (2009). Flavonoidler: genel bakış. Eczacılık Araştırmaları Dergisi , 2 (6), 1148-1154.
- Kisets, I., Zabelinskaya, S., & Gelman, D. (2021). Synthesis and Catalytic Properties of a Carbometalated Half-Sandwich Ru (II) Complex Bearing a Rigid Polyaromatic Tether. Organometallics, 41(1), 76-82.
- Konar, F. (2023). *Progesteron Bileşiğinin Aspergillus Glaucus küfü ile biyotransformasyonu* [Yüksek Lisans Tezi]. Sakarya Üniversitesi.
- Kouskoumvekaki, I., van der Horst, D., Veening, J. W., Kort, R., van den Berg, M. A., Buist, G., ... & Kok, J. (2016). Engineering *Aspergillus niger* for galactaric acid production: elimination of galactaric acid catabolism by using RNA sequencing and CRISPR/Cas9. Microbial cell factories, 15(1), 210.
- Kozłowska, J., Potaniec, B., & Anioł, M. (2020). Biotransformation of hydroxychalcones as a method of obtaining novel and unpredictable products using whole cells of bacteria. Catalysts, 10(10), 1167.
- Küçükbaşol, E. (2019). *Androstendionun Cladosporium sphaerospermum ve Ulocladium chartarum ile biyotransformasyonları* [Yüksek Lisans Tezi]. Sakarya Üniversitesi.
- 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.
- Matos, MJ, Vazquez-Rodriguez, S., Uriarte, E. ve Santana, L. (2015). Kalkonların potansiyel farmakolojik kullanımları: bir patent incelemesi (Haziran 2011-2014 arası). Tedavi patentlerine ilişkin uzman görüşü , 25 (3), 351-366.
- Nowakowska Z., A review of anti-infective and anti-inflammatory chalcones. European Journal of Medicinal Chemistry, 42(2): 125-137, 2007. (39 Daki 16.. Yazılan)
- Overwin, H., González, M., Méndez, V., Cárdenas, F., Seeger, M. ve Hofer, B. (2015). Flavonoidlerin tasarlanmış dioksijenazlar ve dehidrojenazlarla adım adım dönüşümü: Yeni biyotransformasyon ürünlerinin karakterizasyonu. Enzim ve mikrobiyal teknoloji ,81 , 63-71.
- Özçınar, Ö. (2018). *Ruskogeninlerin mikrobiyal biyotransformasyonu* [Doktora Tezi]. Ege Üniversitesi.
- Raval, K. M., Vaswani, P. S., & Majumder, D. R. (2012). Microbial biotransformation: Pharmaceutical peptides. Journal of Biological and Food Science Research, 1(1), 1-14.
- Rudrapal, M., Khan, J., Dukhyil, A. A. B., Alarousy, R. M. I. I., Attah, E. I., Sharma, T., ... & Bendale, A. R. (2021). Chalcone scaffolds, bioprecursors of flavonoids: Chemistry, bioactivities, and pharmacokinetics. Molecules, 26(23), 7177.

- Selvamuthukumaran, Meignana Arumugam et al. "Plant pigments as natural food colorants and preservatives: A review." Food Science and Human Wellness vol. 9,3 (2020): 204-215. doi:10.1016/j.fshw.2020.06.001
- Sevmezler, S. (2011). *Şalkon üre bileşiklerinin sentezi ve karakterizasyonu* [Yüksek Lisans Tezi]. Sakarya Üniversitesi.
- Schuster, E., Dunn-Coleman, N., Frisvad, J. C., ve van Dijck, P. W. (2002). On the safety of *Aspergillus niger*--a review. Applied microbiology and biotechnology, 59(4-5), 426-435.
- Smitha, M. S., Singh, S., & Singh, R. (2017). Microbial biotransformation: a process for chemical alterations. J Bacteriol Mycol Open Access, 4(2), 85.
- Turner, M.K., “ Perspectives in biotransformations, in: Biotechnology”, Vol 8, [Rehm, H.-J., Reed, G. eds.), Biotransformations I (Kelly, D.R. ed.) pp 9,Wiley- WCH, Wehinheim, 1998.
- Türkoğlu E.A. ve Çaktü Güler, K., “Mikrobal Culture Collections, The Essantial Resources for Life, Gazi University Journal of Sciense, 24 (2),175-180, 2011.
- Tüsiad, Uluslararası Rekabet Stratejileri: Biyoteknoloji. Tüsiad Yayınları, 12-289, İstanbul, 2000.
- Yamauchi, H., & Doi, M. (1997). O-Methylation of 2, 6-dimethoxy-4-Methylphenol by *Aspergillus glaucus* and their possible contribution to Katsuobushi flavor. Bioscience, biotechnology, and biochemistry, 61(8), 1386-1387.
- Yılmaz-Keskin, S. (2010). *Bazı Monoterpenoidlerin Fungal Biyotransformasyonlarının İncelenmesi* [Doktora Tezi]. Sakarya Üniversitesi.
- Yılmaztekin, M., Cabaroğlu, t. Ve Erten, H., “Biyoteknolojik yollarla aroma maddelerin üretimi”, Gıda, 33 (1), 35-41 , 2008.
- Valentová, K. (2023). Biotransformation of Natural Products and Phytochemicals: Metabolites, Their Preparation, and Properties. International Journal of Molecular Sciences, 24(9), 8030.
- Wang, A., Zhang, F., Huang, L., Yin, X., Li, H., Wang, Q., ... & Xie, T. (2010). New progress in biocatalysis and biotransformation of flavonoids. J Med Plants Res, 4(10), 847-856.
- Wang, JF, Liu, SS, Song, ZQ, Xu, TC, Liu, CS, Hou, YG, ... ve Wu, SH (2020). Doğal olarak oluşan flavonoidler ve izoflavonoidler ve bunların mikrobiyal dönüşümü: Bir inceleme. Moleküller , 25 (21), 5112.
- Qin, D. ve Dong, J. (2023). Doğa ürünlerinin mikrobiyal biyotransformasyonunda çok düzeyli optimizasyon ve stratejiler. Moleküller , 28 (6), 2619.

ÖZGEÇMİŞ

Ad-Soyad : Ayşin Tuğçenur ALTUNDAL

ÖĞRENİM DURUMU:

- **Lisans** : 2019, Sakarya Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya
- **Yükseklisans** : Devam Ediyor, Sakarya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya

MESLEKİ DENEYİM VE ÖDÜLLER:

- 2019-2020 yılları arasında Sakarya Üniversitesi'nde Kısmi Asistan olarak çalıştı.
- 2021-2022 yılları arasında Tüm Ekip Pharmaceuticals şirketinde Ar-Ge Analisti olarak çalıştı.
- 2022 yılında Menta Pharma İlaç.San. ve Tic. Aş. Şirketinde Ar-Ge Analisti olarak çalıştı.
- 2023-2024 yılları arasında Atabay Pharmaceuticals and Fine Chemicals Inc. Şirketinde Ar-Ge Analitik Uzman Yardımcısı olarak çalıştı.
- 2024 yılında Atabay Pharmaceuticals and Fine Chemicals Inc. Şirketinde CMC Uzmanı olarak devam etmekte.

TEZDEN TÜRETİLEN ESERLER:

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