



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



***ASPERGILLUS TERREUS VE ASPERGILLUS
COSTARICAENSIS MANTARLARI ÜZERİNE
FARMAKOĞNOZİK ARAŞTIRMALAR***

İbrahim Seyda URAS

**FARMAKOĞNOZİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Belma KONUKLUGİL**

**ANKARA
2021**

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ASPERGILLUS TERREUS VE ASPERGILLUS
***COSTARICAENSIS* MANTARLARI ÜZERİNE**
FARMAKOĞNOZİK ARAŞTIRMALAR

İbrahim Seyda URAS

FARMAKOĞNOZİ ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Belma KONUKLUGİL

Bu araştırma TÜBİTAK'ın 114S916 numaralı BMBF projesi ve Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Müdürlüğü'nün 19L0237009 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

ANKARA

2021

Etik Beyan

Ankara Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Doktora tezi olarak hazırlayıp sunduğum “*Aspergillus terreus* ve *Aspergillus costaricaensis* Mantarları Üzerine Farmakognozik Araştırmalar” başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir. Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

İbrahim Seyda URAS

17.02.2021

KABUL VE ONAY

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Farmakognozi Anabilim Dalında

İbrahim Seyda URAS tarafından hazırlanan

“*Aspergillus terreus* ve *Aspergillus costaricaensis* Mantarları Üzerine
Farmakognozic Araştırmalar” adlı tez çalışması

aşağıdaki jüri tarafından DOKTORA TEZİ olarak OY BİRLİĞİ / ~~OY ÇOKLUĞU~~ ile
kabul/~~ret~~ edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 17.02.2021

Prof. Dr. Belma KONUKLUGİL

Ankara Üniversitesi

Jüri Başkanı

Doç. Dr. Alper GÖKBULUT

Ankara Üniversitesi

Raportör

Prof. Dr. Didem DELİORMAN ORHAN

Gazi Üniversitesi

Üye

Prof. Dr. Osman ÜSTÜN

Gazi Üniversitesi

Üye

Prof. Dr. Mehmet Levent ALTUN

Ankara Üniversitesi

Üye

Tez hakkında alınan jüri kararı, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Yönetim Kurulu tarafından onaylanmıştır.

Prof. Dr. Fügen AKTAN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

İÇİNDEKİLER

Etik Beyan	ii
Kabul ve Onay	iii
İçindekiler	iv
Önsöz	vi
Simgeler ve Kısaltmalar	viii
Şekiller	xii
Çizelgeler	xxii
1.GİRİŞ	1
1.1. Doğal Ürünler	2
1.1.1. Doğal Ürünlerin Fonksiyonları	3
1.1.2. Doğal Ürünler Nerede Bulunur?	5
1.1.2.1. Prokaryotik Canlılar	6
1.1.2.2. Ökaryotik Canlılar	10
1.2. Deniz Canlılarının Önemi	19
1.3. Deniz Kaynaklı İlaçlar	22
1.4. Deniz Mantarları	31
1.4.1. Deniz Mantarlarıyla Çalışma Koşulları	42
1.4.2. Deniz Mantarlarından Elde Edilen Biyoaktif Sekonder Metabolitler	45
1.4.3. <i>Aspergillus</i> Türlerinden Elde Edilen Biyoaktif Sekonder Metabolitler	50
2. GEREÇ VE YÖNTEM	53
2.1. Gereç	53
2.1.1. <i>Aspergillus terreus</i>	53
2.1.2. <i>Aspergillus costaricaensis</i>	53
2.1.3. Kullanılan Kimyasallar ve Ekipmanlar	54
2.1.3.1. Kullanılan Kimyasallar	54
2.1.3.2. Çözücüler	54
2.1.3.3. Cihaz ve Ekipmanlar	55
2.2. Yöntem	56
2.2.1. Mantar İzolasyonu ve Saflaştırma	56
2.2.1.1. Kullanılan Besiyeri ve Besiyerinin Hazırlanışı	57
2.2.1.2. Mantar İzolasyonu	57
2.2.1.3. Mantarların Saflaştırılması	58
2.2.1.4. Saf Mantar Türlerinin Uzun Süreli Saklanması	59
2.2.1.5. Mantarların Tür Teşhis Tayinleri	59
2.2.1.6. Küçük Ölçekli Mantar Ekimi	60
2.2.1.7. Büyük Ölçekli Mantar Ekimi	61

2.2.2. Mantarların Ekstraksiyonu	61
2.2.3. Sekonder Metabolit İzolasyonu	62
2.2.3.1. Vakum Sıvı Kromatografisi (VSK)	62
2.2.3.2. İnce Tabaka Kromatografisi (İTK)	64
2.2.3.3. Açık Kolon Kromatografisi	65
2.2.3.4. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (YPSK)	66
2.2.4. Biyoaktivite Çalışmaları	67
2.2.4.1. Antimikrobiyal Aktivite	67
2.2.4.2. Antienflamatuvar Aktivite	67
2.2.4.3. DPPH Radikal Süpürücü Aktivite	68
2.2.4.4. ABTS Radikali Süpürücü Aktivitesinin Tayini	69
2.2.4.5. Alkalın DMSO Yöntemiyle Süperoksit Radikal Süpürücü Aktivitesinin Tayini (SO)	69
2.2.4.6. Nitrik Oksit Radikal Süpürücü Aktivitesinin Tayini (NO)	70
2.2.4.7. Antialerjik Aktivite Tayini	70
2.2.4.8. Sitotoksik Aktivite Tayini	71
3.BULGULAR	72
3.1. Kromatografi Analizlerine Dair Bulgular	72
3.1.1 Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografi Analizleri	72
3.1.2 İnce Tabaka Kromatografi Analizleri	87
3.2. Aktivite Analizlerine Dair Bulgular	91
3.3. Mantarlardan Etken Madde İzolasyon Şemaları	96
3.4. Mantarlardan İzole Edilen Sekonder Metabolitler	98
3.4.1. Bütirolakton I	98
3.4.2. Bütirolakton III	107
3.4.3. Terretonin	113
3.4.4. 4-hidroksi-3-(3-metilbüt-2-en-1-il) benzaldehit	121
3.4.5. Bütirolakton VI	126
3.4.6. Oktadesil 3-(3,5-di-tert-bütil-4-hidroksifenil) propionat	133
3.4.7. Rubrofusarin B	140
3.4.8. p-Hidroksifenil asetik asit metil ester	147
3.4.9. 8-O-Demetilflavasperon B	153
3.4.10. Fonsekin	159
3.4.11. Rubrofusarin	165
3.4.12. Fonsekinon D	171
4.TARTIŞMA	179
5.SONUÇ VE ÖNERİLER	183
ÖZET	187
SUMMARY	188
KAYNAKLAR	189
ÖZGEÇMİŞ	210

ÖNSÖZ

“*Aspergillus terreus* ve *Aspergillus costaricaensis* Mantarları Üzerine Farmakognozok Araştırmalar” başlıklı bu doktora tezi çalışması, iki *Aspergillus* türü üzerinde, ülkemiz denizlerinde yaşayan canlılardan elde edilen mantarlardan yapılan ilk çalışmadır. Bu tez çalışması, çalışma kapsamında elde edilen mantarların ve izole edilen bileşiklerin gösterdikleri biyoaktiviteye dair verileri kapsamaktadır.

Kıymetli hocam Prof. Dr. Belma KONUKLUGİL, akademik çalışmaya ve hayata dair yönlendirmeleriyle, destekleriyle, bütün kalbiyle eğitimimin mükemmel olması için sarfettiği tüm enerjisiyle doktora eğitimimi tamamlama sürecinde en büyük teşekkürün sahibi olan harikulade insandır. Doktora süreci bazen acılı bazen yorucu bazen neşeli bazen heyecanlı geçti, kıymetli hocam her anımda yanımdaydı. Değeri paha biçilemez bu desteği için kendisine en içten teşekkürlerimi sunarım.

Bugüne kadar beni hiç yalnız bırakmamış, yaşadığım tüm zorluklarda en büyük destekçim olmuş olan ailem, hayatımın her anında olduğu gibi doktora eğitimimde de yanımda olmuştur. Ailemin bütün fertlerine en kalbi şükranlarımı sunarım.

Sınır tanımayan dalış tutkusunu akademik bir katkıya dönüştüren, çalıştığımız materyalleri bizim için engin denizlerden toplayan kıymetli Dr. Bülent GÖZCELİOĞLU’na da teşekkürlerimi sunarım.

Lisans ve lisansüstü eğitimim süresince birlikte olduğum kıymetli arkadaşlarım yorulduğum, zorlandığım anlarda elimden tutmuş ve beni tekrar güçlendirmişlerdir. Sevgili Nuri ÖZMEN başta olmak üzere tüm kıymetli arkadaşlarıma ve laboratuvarında çalışma arkadaşlarım Dr. Eczacı Zehra TORUN ve Dr. Eczacı Amine Dilara PİLEVNELİ’ye teşekkürlerimi sunarım.

Doktora sürecinde beni laboratuvarına kabul eden ve akademik bir çalışmanın nasıl idealleştirilebileceği hususunda ufkumu açan çok değerli hocam Prof. Wenhan LİN’e, laboratuvarında beni bir kardeşleri gibi karşılayan öğrencilerine ve orada bulunduğum süre zarfında her zorlukta yardıma koşan laboratuvar arkadaşım Pianpian’a ve bana aile sıcaklığını hissettiren Çinli aileme de teşekkürü borç bilirim.

Çalışmalarımın sonuçlandırılmasında emeği yadsınamaz olan, yurtdışından buraya gelen ve rehberlik eden, bir ağabey sıcaklığıyla bana destek olan Sherif Saed EBADA'ya şükranlarımı sunarım.

Doktora eğitimimin tez aşamasında akademik gelişimime gerekli zamanı ayırabilmem için bana ellerinden gelen desteği sunan hocalarım Doç. Dr. Mucip GENİŞEL ve Doç. Dr. Tuba AYDIN'a teşekkürlerimi sunarım.

Doktora eğitimim boyunca 2211/A Genel Yurt İçi Doktora Burs Programı ile eğitimime önemli bir maddi destek sunmuş olan Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK)'a sağlanmış olduğu imkan için teşekkürlerimi sunarım.

Bana yaşamı ve yaşamın içerisinde tüm bu güzellikleri hediye etmiş olan Yaratıcıma şükretmeyi vazife bilirim.

SİMGELER VE KISALTMALAR

^{13}C -NMR	Karbon nükleer manyetik rezonans
^1H - ^1H COSY	İki boyutlu bağıntılandırılmış homonükleer (H,H) spektroskopisi
^1H -NMR	Proton nükleer manyetik rezonans
95D	İnsan akciğer kanseri hücre hattı
A23187	Mobil iyon taşıyıcı
A-375	Melanoma hücre hattı
A549	Adenokarsinomik insan alveolar bazal epitel hücre hattı
ABTS	2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit)
ACC-MESO-1	İnsan malign plevral mezotelyoma hücre hattı
ADC	Antikor ilaç konjugatı
Ara-A	9- β -D-arabinofuranosiladenin
Ara-C	Sitozin arabinosid
Ar-Ge	Araştırma-Geliştirme
BCMA	B hücresi olgunlaşma antijeni
CD	Farklılaşma kümesi
CDCl_3 -d	Dötere kloroform
CLSI M07-A9	Aerobik olarak büyüyen bakteriler için seyreltme antimikrobiyal duyarlılık testleri yöntemleri
CLSI M27-A3	Mayaların et suyu seyreltme antifungal duyarlılık testi için referans yöntemi
c-Met	Tirozin-protein kinaz met
δ	Kimyasal kayma göstergesi
d	Dublet
DCM	Diklorometan
Dd	Dublet dublet
DEPT	Polarizasyon transferi ile distorsiyonsuz geliştirme
DMEM	Dulbecco'nun değiştirilmiş Eagle's ortamı
$\text{DMSO-}d_6$	Dötere dimetil sülfoksit

DMXBA	3- (2,4-Dimetoksibenziliden) -anabazein
DPPH	2,2-Difenil-1-pikril-hidrazil
EGFR	Epidermal büyüme faktörü reseptörü
ENPP3	Ektonükleotid pirofosfataz / fosfodiesteraz aile üyesi 3
ESI	Elektron sprej iyonizasyonu
EtOAC	Etil asetat
FBS	Fetal sığır serumu
FDA	Amerikan İlaç ve Gıda Dairesi
gHMBC	Gradient seçici heteronükleer çoklu bağ korelasyonu spektroskopisi
gHMQC	Gradient seçici heteronükleer çoklu kuantum tutarlılığı spektroskopisi
gHSQC	Gradient seçici heteronükleer tek kuantum tutarlılığı spektroskopisi
GPNMB	Glikoprotein metastatik olmayan B
H	Hidrojen
H ₁ N ₁	İnfluenza A virüsü alt tipi
H ₃ N ₂	İnfluenza A virüsü alt tipi
HCC-S102	Hepatoselüler karsinoma hücre hattı
HCT116	İnsan kolon kanseri hücre hattı
Hep G2	İnsan karaciğer kanseri hücre hattı
HIV	İnsan bağışıklık yetmezliği virüsü
HL-60	Promyelositik lösemi hücre hattı
HLE	Karaciğer kanseri hücre hattı
HSV	Herpes Simpleks Virüsü
Hz	Hertz
IC ₅₀	Yarı maksimum inhibitör konsantrasyon
İTK	İnce tabaka kromatografisi
<i>J</i>	Bağlantı sabiti
JB6 P + C1 41	Fare epidermal hücresi
K562	İnsan ölümsüzleştirilmiş miyelojenöz lösemi hücre hattı
KB	Keratin oluşturan tümör hücre hattı HeLa'nın alt hattı

KBV200	Vinkristine dirençli insan kanser hücre hattı
LIV-1	Çinko taşıyıcı SLC39A6
µg	Mikrogram
µl	Mikrolitre
µM	Mikromolar
m	Multiplet
<i>m/z</i>	Kütle-yük oranı
MAXF401NL	Meme kanseri hücre hatları
MCF-7	Göğüs kanseri hücre hattı
MDA-MB-435	İnsan göğüs kanseri hücre hattı
MeOH	Metanol
MeOH- <i>d</i> ₄	Dötere metanol
mg	Miligram
MHz	Megahertz
MIK	Minimum inhibitör konsantrasyon
mL	Mililitre
mM	Milimolar
MMAE	Monometilauristatin E
MMAF	Monometilauristatin F
MPtpB	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> protein-tirozin-fosfataz B
MRSA	Metisiline dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>
MTT	3-(4,5- dimetiltiazol-2- il)-2,5- difenil tetrazolyum bromür
N	Azot
Na	Sodyum
NaCl	Sodyum klorür
NaPi2b	Sodyum bağımlı fosfat nakil proteini 2b
NBT	Nitro mavi tetrazolyum
ng	Nanogram
nm	Nanometre
NO	Nitrik oksit
NOESY	Nükleer overhauser etki spektroskopisi
NP	Doğal ürün

°C	Derece santigrat
OSMAC	Bir suş, birden çok bileşik.
ω	Omega
P388	Fare lösemi hücre hattı
p56 lck	Tirozin-protein kinaz
PBS	Fosfat tampon çözeltisi
ppm	Milyonda kısım
PSMA	Prostata özgü membran antijeni
RBL-2H3	Bazofilik lösemi hücre hattı
RXF 393	İnsan böbrek hücresi karsinomu hücre hattı
s	Singlet
SD	Standart sapma
Sefadex LH	Sephadex reçinesinin hidroksipropillenmiş formu
SF-268	İnsan beyin tümörü hücre hattı
SO	Süperoksit
TGA	Avustralya Tedavi Ürünleri İdaresi
TIM-1	T hücresi immünoglobulin alanı 1
TMV	Tütün mozaik virüsü
U	Ünite
U937	İnsan miyeloid lösemi hücre hattı
UV	Ultraviyole
VSK	Vakum sıvı kromatografi
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
WoRMS	World Register of Marine Species
YPSK	Yüksek performanslı sıvı kromatografi

ŞEKİLLER

Şekil 1.1. Streptomisin bileşiğinin açık kimyasal yapısı	7
Şekil 1.2. Neomisin B bileşiğinin açık kimyasal yapısı	7
Şekil 1.3. Kloramfenikol bileşiğinin açık kimyasal yapısı	8
Şekil 1.4. Tetrasiklin bileşiğinin açık kimyasal yapısı	8
Şekil 1.5. Eritromisin bileşiğinin açık kimyasal yapısı	9
Şekil 1.6. Penisilin G bileşiğinin açık kimyasal yapısı ve elde edildiği <i>Penicillium notatum</i> 'un petri görüntüsü	11
Şekil 1.7. Sefalosporin bileşiğinin açık kimyasal yapısı ve elde edildiği <i>Cephalosporium acremonium</i> 'un petri görüntüsü	12
Şekil 1.8. Griseofulvin bileşiğinin açık kimyasal yapısı ve elde edildiği <i>Penicillium griseofulvum</i> 'un ışık mikroskopundaki görüntüsü	12
Şekil 1.9. Lovastatin bileşiğinin açık kimyasal yapısı ve elde edildiği <i>Aspergillus terreus</i> 'un Nomarski mikroskopundaki görüntüsü	12
Şekil 1.10. Ergometrin bileşiğinin açık kimyasal yapısı ve elde edildiği <i>Claviceps</i> türünün fotoğrafı	13
Şekil 1.11. Siklosporin bileşiğinin açık kimyasal yapısı	13
Şekil 1.12. Paklitaksel bileşiğinin açık kimyasal formülü ve elde edildiği <i>Taxus brevifolia</i> bitkisi	14
Şekil 1.13. Vinblastin bileşiğinin açık kimyasal formülü ve elde edildiği <i>Catharanthus roseus</i> bitkisi	15
Şekil 1.14. Artemisinin bileşiğinin açık kimyasal formülü ve elde edildiği <i>Artemisia annua</i> bitkisi	15
Şekil 1.15. Morfin bileşiğinin açık kimyasal formülü ve elde edildiği bitki <i>Papaver somniferum</i>	16
Şekil 1.16. Galantamin bileşiğinin açık kimyasal formülü ve elde edildiği bitki <i>Galanthus woronowii</i>	16

Şekil 1.17. Podofilotoksin bileşiğinin açık kimyasal formülü ve elde edildiği bitki <i>Podophyllum peltatum</i>	16
Şekil 1.18. Trabektedin bileşiğinin açık kimyasal formülü ve elde edildiği mangrov tunikatı <i>Ecteinascidia turbinata</i>	18
Şekil 1.19. ω -konotoksin bileşiğinin açık kimyasal formülü ve elde edildiği deniz solucanı <i>Conus magus</i>	19
Şekil 1.20. 2014-2018 yılları arasında izole edilen deniz doğal ürünlerinin kaynak canlılarının yıllara göre dağılımları	20
Şekil 1.21. 1984-2012 yılları arasında deniz kaynaklarından elde edilen doğal ürünlerin sayıları ve biyokatif bileşiklerin toplam bileşik sayısına oranı	21
Şekil 1.22. 1985-2012 yılları arasında deniz kaynaklarından izole edilen bileşiklerin yıllara göre aktivite dağılımları	23
Şekil 1.23. Deniz canlılarından elde edilen biyoaktif metabolitlerin etken madde gruplarındaki dağılımları	24
Şekil 1.24. Doğal ürün elde edilen deniz mantarlarının kaynakları	32
Şekil 1.25. Deniz mantarlarından elde edilen bileşiklerin biyoaktivite dağılımları	37
Şekil 1.26. <i>Aspergillus</i> türlerinden elde edilen sekonder metabolitlerin ait oldukları etken madde gruplarının dağılımı	38
Şekil 1.27. Pisces V insanlı dalgıç okyanus keşif cihazı ile deniz derinliklerinden numune toplanması	41
Şekil 1.28. Deniz mantarlarından sekonder metabolit izolasyonunda gerçekleştirilen ana süreçler	44
Şekil 2.1. Deniz canlılarından mantar ham ekstresi elde etmede gerçekleştirilen aşamalar	56
Şekil 2.2. Sırasıyla <i>Aspergillus costaricensis</i> ve <i>Aspergillus terreus</i> mantarlarının petri kabı görüntüleri	58
Şekil 2.3. <i>Aspergillus costaricensis</i> mantarının %100 DCM fraksiyonunun alt fraksiyonuna uygulanan semipreparatif İTK çalışması	65
Şekil 3.1. <i>Aspergillus terreus</i> mantar ekstresinin YPSK Profili	72
Şekil 3.2. <i>Aspergillus costaricensis</i> mantar ekstresinin YPSK Profili	73
Şekil 3.3. <i>Aspergillus terreus</i> Fraksiyon 1 YPSK kromatogramı	73

Şekil 3.4. <i>Aspergillus terreus</i> Fraksiyon 2 YPSK kromatogramı	74
Şekil 3.5. <i>Aspergillus terreus</i> Fraksiyon 3 YPSK kromatogramı	74
Şekil 3.6. <i>Aspergillus terreus</i> Fraksiyon 4 YPSK kromatogramı	75
Şekil 3.7. <i>Aspergillus terreus</i> Fraksiyon 5 YPSK kromatogramı	75
Şekil 3.8. <i>Aspergillus terreus</i> Fraksiyon 6 YPSK kromatogramı	76
Şekil 3.9. <i>Aspergillus terreus</i> Fraksiyon 7 YPSK kromatogramı	76
Şekil 3.10. <i>Aspergillus terreus</i> Fraksiyon 8 YPSK kromatogramı	77
Şekil 3.11. <i>Aspergillus costaricaensis</i> Fraksiyon 1 YPSK kromatogramı	77
Şekil 3.12. <i>Aspergillus costaricaensis</i> Fraksiyon 2 YPSK kromatogramı	78
Şekil 3.13. <i>Aspergillus costaricaensis</i> Fraksiyon 3 YPSK kromatogramı	78
Şekil 3.14. <i>Aspergillus costaricaensis</i> Fraksiyon 4 YPSK kromatogramı	79
Şekil 3.15. <i>Aspergillus costaricaensis</i> Fraksiyon 5 YPSK kromatogramı	79
Şekil 3.16. <i>Aspergillus costaricaensis</i> Fraksiyon 6 YPSK kromatogramı	80
Şekil 3.17. <i>Aspergillus costaricaensis</i> Fraksiyon 7 YPSK kromatogramı	80
Şekil 3.18. <i>Aspergillus costaricaensis</i> Fraksiyon 8 YPSK kromatogramı	81
Şekil 3.19. <i>Aspergillus costaricaensis</i> Fraksiyon 9 YPSK kromatogramı	81
Şekil 3.20. <i>Aspergillus costaricaensis</i> Fraksiyon 10 YPSK kromatogramı	82
Şekil 3.21. <i>Aspergillus terreus</i> Fraksiyon 2'den izole edilen maddelere ait pikler	82
Şekil 3.22. <i>Aspergillus terreus</i> Hekzan fazı Fraksiyon 7'den izole edilen maddeye ait pik	83
Şekil 3.23. <i>Aspergillus costaricaensis</i> Fraksiyon 1'den izole edilen maddeye ait pik	83
Şekil 3.24. <i>Aspergillus costaricaensis</i> Fraksiyon 2'den izole edilen maddelere ait pikler	84
Şekil 3.25. <i>Aspergillus costaricaensis</i> Fraksiyon 3'ten izole edilen maddelere ait pikler	84

Şekil 3.26. <i>Aspergillus costaricaensis</i> Fraksiyon 5'ten izole edilen maddeye ait pik	85
Şekil 3.27. Bütürolakton VI maddesinin izole edildiği preparatif YPSK metoduna ait kromatogram	85
Şekil 3.28. Rubrofusarin B maddesinin izole edildiği preparatif YPSK metoduna ait kromatogram	86
Şekil 3.29. <i>p</i> -Hidroksifenil asetik asit metil ester maddesinin izole edildiği preparatif YPSK metoduna ait kromatogram	86
Şekil 3.30. 8- <i>O</i> -Demetilflavasperon B ve Fonsekin maddelerinin izole edildiği preparatif YPSK metoduna ait kromatogram	87
Şekil 3.31. 4-hidroksi-3-(3-metilbüt-2-en-1-il) benzaldehit maddesinin saflaştırıldığı İTK plağı	87
Şekil 3.32. Oktadesil 3-(3,5-di-tert-bütül-4-hidroksifenil) propiyonat maddesinin saflaştırıldığı İTK plağı	88
Şekil 3.33. Rubrofusarin maddesinin saflaştırıldığı İTK plağı	88
Şekil 3.34. Fonsekinon D maddesinin saflaştırıldığı İTK plağı	89
Şekil 3.35. <i>Aspergillus costaricaensis</i> mantarının 3. Fraksiyonunun İTK analizi	90
Şekil 3.36. <i>Aspergillus terreus</i> mantarının 2. Fraksiyonunun İTK analizi	90
Şekil 3.37. <i>Aspergillus terreus</i> mantarından izole edilmiş maddelere ait izolasyon şeması	97
Şekil 3.38. <i>Aspergillus costaricaensis</i> mantarından izole edilmiş maddelere ait izolasyon şeması	98
Şekil 3.39. Bütürolakton I bileşiğinin yapısı, kimyasal özellikleri ve adlandırılması	101
Şekil 3.40. Bütürolakton I bileşiğinin YPSK kromatogramı	101
Şekil 3.41. Bütürolakton I bileşiğinin maksimum UV absorbansı	102
Şekil 3.42. Bütürolakton I bileşiğinin yüksek çözünürlüklü +ESI kütle spektrometresi spektrumu	102
Şekil 3.43. Bütürolakton I bileşiğinin yüksek çözünürlüklü -ESI kütle spektrometresi spektrumu	102
Şekil 3.44. Bütürolakton I bileşiğinin CDCl ₃ - <i>d'</i> deki ¹ H-NMR spektrumu	103

Şekil 3.45. Bütirolakton I bileşiğinin CDCl_3-d' deki ^{13}C -NMR spektrumu	103
Şekil 3.46. Bütirolakton I bileşiğinin CDCl_3-d' deki DEPT spektrumu	104
Şekil 3.47. Bütirolakton I bileşiğinin CDCl_3-d' deki ^1H - ^1H COSY spektrumu	104
Şekil 3.48. Bütirolakton I bileşiğinin CDCl_3-d' deki gHMBC spektrumu	105
Şekil 3.49. Bütirolakton I bileşiğinin CDCl_3-d' deki gHMQC spektrumu	105
Şekil 3.50. Bütirolakton I bileşiğinin CDCl_3-d' deki NOESY spektrumu	106
Şekil 3.51. Bütirolakton III bileşiğinin yapısı, kimyasal özellikleri ve adlandırılması	109
Şekil 3.52. Bütirolakton III bileşiğinin YPSK kromatogramı	109
Şekil 3.53. Bütirolakton III bileşiğinin maksimum UV absorbansı	110
Şekil 3.54. Bütirolakton III bileşiğinin yüksek çözünürlüklü +ESI kütle spektrometresi spektrumu	110
Şekil 3.55. Bütirolakton III bileşiğinin yüksek çözünürlüklü -ESI kütle spektrometresi spektrumu	110
Şekil 3.56. Bütirolakton III bileşiğinin $\text{MeOH}-d_4$ 'deki ^1H -NMR spektrumu	111
Şekil 3.57. Bütirolakton III bileşiğinin $\text{MeOH}-d_4$ 'deki ^{13}C -NMR spektrumu	111
Şekil 3.58. Bütirolakton III bileşiğinin $\text{MeOH}-d_4$ 'deki ^1H - ^1H COSY spektrumu	112
Şekil 3.59. Bütirolakton III bileşiğinin $\text{MeOH}-d_4$ 'deki gHMBC spektrumu	112
Şekil 3.60. Bütirolakton III bileşiğinin $\text{MeOH}-d_4$ 'deki NOESY spektrumu	113
Şekil 3.61. Terretonin bileşiğinin yapısı, kimyasal özellikleri ve adlandırılması	115
Şekil 3.62. Terretonin bileşiğinin YPSK kromatogramı	116
Şekil 3.63. Terretonin bileşiğinin maksimum UV absorbansı	116
Şekil 3.64. Terretonin bileşiğinin yüksek çözünürlüklü +ESI kütle spektrometresi spektrumu	117
Şekil 3.65. Terretonin bileşiğinin yüksek çözünürlüklü -ESI kütle spektrometresi spektrumu	117

Şekil 3.66. Terretonin bileşiğinin CDCl ₃ - <i>d</i> 'teki ¹ H-NMR spektrumu	118
Şekil 3.67. Terretonin bileşiğinin CDCl ₃ - <i>d</i> 'deki ¹³ C-NMR spektrumu	118
Şekil 3.68. Terretonin bileşiğinin CDCl ₃ - <i>d</i> 'deki DEPT spektrumu	119
Şekil 3.69. Terretonin bileşiğinin CDCl ₃ - <i>d</i> 'deki ¹ H- ¹ H COSY spektrumu	119
Şekil 3.70. Terretonin bileşiğinin CDCl ₃ - <i>d</i> 'deki gHMBC spektrumu	120
Şekil 3.71. Terretonin bileşiğinin CDCl ₃ - <i>d</i> 'deki gHMQC spektrumu	120
Şekil 3.72. Terretonin bileşiğinin CDCl ₃ - <i>d</i> 'deki NOESY spektrumu	121
Şekil 3.73. 4-hidroksi-3-(3-metilbüt-2-en-1-il) benzaldehit bileşiğinin yapısı, kimyasal özellikleri ve adlandırılması	123
Şekil 3.74. 4-hidroksi-3-(3-metilbüt-2-en-1-il) benzaldehit bileşiğinin DMSO- <i>d</i> ₆ 'daki ¹ H-NMR spektrumu	123
Şekil 3.75. 4-hidroksi-3-(3-metilbüt-2-en-1-il) benzaldehit bileşiğinin DMSO- <i>d</i> ₆ 'daki ¹³ C-NMR spektrumu	124
Şekil 3.76. 4-hidroksi-3-(3-metilbüt-2-en-1-il) benzaldehit bileşiğinin DMSO- <i>d</i> ₆ 'daki ¹ H- ¹ H COSY spektrumu	124
Şekil 3.77. 4-hidroksi-3-(3-metilbüt-2-en-1-il) benzaldehit bileşiğinin DMSO- <i>d</i> ₆ 'daki gHMBC spektrumu	125
Şekil 3.78. 4-hidroksi-3-(3-metilbüt-2-en-1-il) benzaldehit bileşiğinin DMSO- <i>d</i> ₆ 'daki gHMQC spektrumu	125
Şekil 3.79. Bütirolakton VI bileşiğinin yapısı, kimyasal özellikleri ve adlandırılması	128
Şekil 3.80. Bütirolakton VI bileşiğinin YPSK kromatogramı	129
Şekil 3.81. Bütirolakton VI bileşiğinin maksimum UV absorbansı	129
Şekil 3.82. Bütirolakton VI bileşiğinin yüksek çözünürlüklü +ESI kütle spektrometresi spektrumu	130
Şekil 3.83. Bütirolakton VI bileşiğinin yüksek çözünürlüklü -ESI kütle spektrometresi spektrumu	130
Şekil 3.84. Bütirolakton VI bileşiğinin MeOH- <i>d</i> ₄ 'deki ¹ H-NMR spektrumu	130

Şekil 3.85. Bütirolakton VI bileşiğinin MeOH- <i>d4</i> 'deki ¹³ C-NMR spektrumu	131
Şekil 3.86. Bütirolakton VI bileşiğinin MeOH- <i>d4</i> 'deki ¹ H- ¹ H COSY spektrumu	131
Şekil 3.87. Bütirolakton VI bileşiğinin MeOH- <i>d4</i> 'deki gHMBC spektrumu	132
Şekil 3.88. Bütirolakton VI bileşiğinin MeOH- <i>d4</i> 'deki gHMQC spektrumu	132
Şekil 3.89. Bütirolakton VI bileşiğinin MeOH- <i>d4</i> 'deki NOESY spektrumu	133
Şekil 3.90. Oktadesil 3- (3,5-di-tert-butil-4-hidroksifenil) propiyonat bileşiğinin yapısı, kimyasal özellikleri ve adlandırılması	135
Şekil 3.91. Oktadesil 3- (3,5-di-tert-butil-4-hidroksifenil) propiyonat bileşiğinin YPSK kromatogramı	136
Şekil 3.92. Oktadesil 3- (3,5-di-tert-butil-4-hidroksifenil) propiyonat bileşiğinin maksimum UV absorbansı	136
Şekil 3.93. Oktadesil 3- (3,5-di-tert-butil-4-hidroksifenil) propiyonat bileşiğinin yüksek çözünürlüklü +ESI kütle spektrometresi spektrumu	137
Şekil 3.94. Oktadesil 3- (3,5-di-tert-butil-4-hidroksifenil) propiyonat bileşiğinin yüksek çözünürlüklü -ESI kütle spektrometresi spektrumu	137
Şekil 3.95. Oktadesil 3- (3,5-di-tert-butil-4-hidroksifenil) propiyonat bileşiğinin MeOH- <i>d4</i> 'deki ¹ H-NMR spektrumu	138
Şekil 3.96. Oktadesil 3- (3,5-di-tert-butil-4-hidroksifenil) propiyonat bileşiğinin MeOH- <i>d4</i> 'deki ¹³ C-NMR spektrumu	138
Şekil 3.97. Oktadesil 3- (3,5-di-tert-butil-4-hidroksifenil) propiyonat bileşiğinin MeOH- <i>d4</i> 'deki ¹ H- ¹ H COSY spektrumu	139
Şekil 3.98. Oktadesil 3- (3,5-di-tert-butil-4-hidroksifenil) propiyonat bileşiğinin MeOH- <i>d4</i> 'deki gHMBC spektrumu	139
Şekil 3.99. Oktadesil 3- (3,5-di-tert-butil-4-hidroksifenil) propiyonat bileşiğinin MeOH- <i>d4</i> 'deki gHMQC spektrumu	140
Şekil 3.100. Rubrofusarin B bileşiğinin yapısı, kimyasal özellikleri ve adlandırılması	142
Şekil 3.101. Rubrofusarin B bileşiğinin YPSK kromatogramı	143
Şekil 3.102. Rubrofusarin B bileşiğinin maksimum UV absorbansı	143
Şekil 3.103. Rubrofusarin B bileşiğinin MeOH- <i>d4</i> 'deki ¹ H-NMR spektrumu	144

Şekil 3.104. Rubrofusarin B bileşiğinin MeOH- <i>d4</i> 'deki ¹³ C-NMR spektrumu	144
Şekil 3.105. Rubrofusarin B bileşiğinin MeOH- <i>d4</i> 'deki ¹ H- ¹ H COSY spektrumu	145
Şekil 3.106. Rubrofusarin B bileşiğinin MeOH- <i>d4</i> 'deki gHMBC spektrumu	145
Şekil 3.107. Rubrofusarin B bileşiğinin MeOH- <i>d4</i> 'deki gHSQC spektrumu	146
Şekil 3.108. p-hidroksifenil asetik asit metil esteri bileşiğinin yapısı, kimyasal özellikleri ve adlandırılması	148
Şekil 3.109. p-hidroksifenil asetik asit metil esteri bileşiğinin YPSK kromatogramı	149
Şekil 3.110. p-hidroksifenil asetik asit metil esteri bileşiğinin maksimum UV absorbanı	149
Şekil 3.111. p-hidroksifenil asetik asit metil esteri bileşiğinin MeOH- <i>d4</i> 'deki ¹ H-NMR spektrumu	150
Şekil 3.112. p-hidroksifenil asetik asit metil esteri bileşiğinin MeOH- <i>d4</i> 'deki ¹³ C-NMR spektrumu	150
Şekil 3.113. p-hidroksifenil asetik asit metil esteri bileşiğinin MeOH- <i>d4</i> 'deki ¹ H- ¹ H COSY spektrumu	151
Şekil 3.114. p-hidroksifenil asetik asit metil esteri bileşiğinin MeOH- <i>d4</i> 'deki gHMBC spektrumu	151
Şekil 3.115. p-hidroksifenil asetik asit metil esteri bileşiğinin MeOH- <i>d4</i> 'deki gHSQC spektrumu	152
Şekil 3.116. 8- <i>O</i> -Demetilflavasperon B bileşiğinin yapısı, kimyasal özellikleri ve adlandırılması	155
Şekil 3.117. 8- <i>O</i> -Demetilflavasperon B bileşiğinin YPSK kromatogramı	155
Şekil 3.118. 8- <i>O</i> -Demetilflavasperon B bileşiğinin maksimum UV absorbanı	156
Şekil 3.119. 8- <i>O</i> -Demetilflavasperon B bileşiğinin MeOH- <i>d4</i> 'deki ¹ H-NMR spektrumu	156
Şekil 3.120. 8- <i>O</i> -Demetilflavasperon B bileşiğinin MeOH- <i>d4</i> 'deki ¹³ C-NMR spektrumu	157
Şekil 3.121. 8- <i>O</i> -Demetilflavasperon B bileşiğinin MeOH- <i>d4</i> 'deki ¹ H- ¹ H COSY spektrumu	157

Şekil 3.122. 8- <i>O</i> -Demetilflavasperon B bileşiğinin MeOH- <i>d</i> ₄ 'deki gHMBC spektrumu	158
Şekil 3.123. 8- <i>O</i> -Demetilflavasperon B bileşiğinin MeOH- <i>d</i> ₄ 'deki gHMQC spektrumu	158
Şekil 3.124. Fonsekin bileşiğinin yapısı, kimyasal özellikleri ve adlandırılması	161
Şekil 3.125. Fonsekin bileşiğinin YPSK kromatogramı	161
Şekil 3.126. Fonsekin bileşiğinin maksimum UV absorbanısı	162
Şekil 3.127. Fonsekin bileşiğinin MeOH- <i>d</i> ₄ 'deki ¹ H-NMR spektrumu	162
Şekil 3.128. Fonsekin bileşiğinin MeOH- <i>d</i> ₄ 'deki ¹³ C-NMR spektrumu	163
Şekil 3.129. Fonsekin bileşiğinin MeOH- <i>d</i> ₄ 'deki ¹ H- ¹ H COSY spektrumu	163
Şekil 3.130. Fonsekin bileşiğinin MeOH- <i>d</i> ₄ 'deki gHMBC spektrumu	164
Şekil 3.131. Fonsekin bileşiğinin MeOH- <i>d</i> ₄ 'deki gHMQC spektrumu	164
Şekil 3.132. Rubrofusarin maddesinin izole edildiği preparatif İTK plağı	165
Şekil 3.133. Rubrofusarin bileşiğinin yapısı, kimyasal özellikleri ve adlandırılması	167
Şekil 3.134. Rubrofusarin bileşiğinin YPSK kromatogramı	168
Şekil 3.135. Rubrofusarin bileşiğinin maksimum UV absorbanısı	168
Şekil 3.136. Rubrofusarin bileşiğinin MeOH- <i>d</i> ₄ 'deki ¹ H-NMR spektrumu	169
Şekil 3.137. Rubrofusarin bileşiğinin MeOH- <i>d</i> ₄ 'deki ¹³ C-NMR spektrumu	169
Şekil 3.138. Rubrofusarin bileşiğinin MeOH- <i>d</i> ₄ 'deki ¹ H- ¹ H COSY spektrumu	170
Şekil 3.139. Rubrofusarin bileşiğinin MeOH- <i>d</i> ₄ 'deki gHMBC spektrumu	170
Şekil 3.140. Rubrofusarin bileşiğinin MeOH- <i>d</i> ₄ 'deki gHMQC spektrumu	171
Şekil 3.141. Fonsekinon D bileşiğine ait preparatif İTK plağının görünür ışık, 254 nm ve 366 nm UV ışık altındaki görüntüsü	172
Şekil 3.142. Fonsekinon D bileşiğinin yapısı, kimyasal özellikleri ve adlandırılması	175
Şekil 3.143. Fonsekinon D bileşiğinin YPSK kromatogramı	175

Şekil 3.144. Fonsekinon D bileşiğinin maksimum UV absorbanısı	176
Şekil 3.145. Fonsekinon D bileşiğinin MeOH- <i>d</i> ₄ 'deki ¹ H-NMR spektrumu	176
Şekil 3.146. Fonsekinon D bileşiğinin MeOH- <i>d</i> ₄ 'deki ¹³ C-NMR spektrumu	177
Şekil 3.147. Fonsekinon D bileşiğinin MeOH- <i>d</i> ₄ 'deki ¹ H- ¹ H COSY spektrumu	177
Şekil 3.148. Fonsekinon D bileşiğinin MeOH- <i>d</i> ₄ 'deki gHMBC spektrumu	178
Şekil 3.149. Fonsekinon D bileşiğinin MeOH- <i>d</i> ₄ 'deki gHMQC spektrumu	178



ÇİZELGELER

Çizelge 1.1. Deniz canlılarından elde edilen ve piyasada bulunan onaylı ilaçlar	25
Çizelge 1.2. Deniz canlılarından elde edilen ve faz 3 çalışmaları gerçekleştirilen etken maddeler	27
Çizelge 1.3. Deniz canlılarından elde edilen ve faz 2 çalışmaları gerçekleştirilen etken maddeler	28
Çizelge 1.4. Deniz canlılarından elde edilen ve faz 1 çalışmaları gerçekleştirilen etken maddeler	30
Çizelge 1.5. Deniz mantarlarından izole edilen bazı sekonder metabolitler ve aktiviteleri	46
Çizelge 1.6. Deniz kaynaklı <i>Aspergillus</i> türlerinden elde edilen bazı sekonder metabolitler ve aktiviteleri	50
Çizelge 2.1. Canlıların petri kabında büyümesi için hazırlanan katı besiyeri	57
Çizelge 2.2. Mantarların büyütülmesi için hazırlanan katı besiyeri	60
Çizelge 2.3. <i>Aspergillus terreus</i> mantarının %90 metanollü fazının VSK fraksiyonları	62
Çizelge 2.4. <i>Aspergillus costaricaensis</i> mantarının %90 metanollü fazının VSK fraksiyonları	63
Çizelge 2.5. Farklı polaritedeki maddelerin ayırımında kullanılan İTK çözücü sistemlerinin gösterimi	64
Çizelge 2.6. Analitik YPSK analizlerinde kullanılan gradient çözücü sistemi	66
Çizelge 3.1. Mantar Ekstrelerinin Antioksidan Aktiviteleri	91
Çizelge 3.2. Mantar Ekstrelerinin HCT-116 Kolon Kanseri Hücre Hattı Üzerindeki Sitotoksik Aktiviteleri	92
Çizelge 3.3. Mantar Ekstrelerinin Antimikrobiyal Aktiviteleri	92
Çizelge 3.4. A23187-indüklü β -heksozaminidaz salımının % inhibisyonu yönünden antialerjik aktivite testi	94

Çizelge 3.5. Antijen-indüklü β -heksozaminidaz salımının % inhibisyonu yönünden antialerjik aktivite testi	94
Çizelge 3.6. Süperoksit anyon jenerasyonunun inhibisyonu yönünden ölçülen antienflamatuvar aktivite sonucu	95
Çizelge 3.7. fMLF/CB indüklü insan nötrofillerinde elastaz salımının inhibisyonu ölçülen antienflamatuvar aktivite sonucu	95
Çizelge 3.8. Bütirolakton I bileşiğine ait ^1H ve ^{13}C NMR analizleri	100
Çizelge 3.9. Bütirolakton I maddesine ait antienflamatuvar aktivite test sonuçları	106
Çizelge 3.10. Bütirolakton I maddesine ait antialerjik aktivite test sonuçları	106
Çizelge 3.11. Bütirolakton III bileşiğine ait ^1H ve ^{13}C NMR analizleri	108
Çizelge 3.12. Terretonin bileşiğine ait ^1H ve ^{13}C NMR analizleri	114
Çizelge 3.13. 4-hidroksi-3-(3-metilbüt-2-en-1-il) benzaldehit bileşiğine ait ^1H ve ^{13}C NMR analizleri	122
Çizelge 3.14. Bütirolakton VI maddesi için kullanılan preparatif YPSK metodu	126
Çizelge 3.15. Bütirolakton VI bileşiğine ait ^1H ve ^{13}C NMR analizleri	127
Çizelge 3.16. Oktadesil 3- (3,5-di-tert-butil-4-hidroksifenil) propiyonat bileşiğine ait ^1H ve ^{13}C NMR analizleri	135
Çizelge 3.17. Rubrofusarin B maddesi için kullanılan preparatif YPSK metodu	141
Çizelge 3.18. Rubrofusarin B bileşiğine ait ^1H ve ^{13}C NMR analizleri	142
Çizelge 3.19. p-Hidroksifenil asetik asit metil ester maddesi için kullanılan preparatif YPSK metodu	146
Çizelge 3.20. p-hidroksifenil asetik asit metil esteri bileşiğine ait ^1H ve ^{13}C NMR analizleri	148
Çizelge 3.21. 8-O-Demetilflavasperon B maddesi için kullanılan preparatif YPSK metodu	153
Çizelge 3.22. 8-O-Demetilflavasperon B bileşiğine ait ^1H ve ^{13}C NMR analizleri	154
Çizelge 3.23. Fonsekin maddesi için kullanılan preparatif YPSK metodu	159
Çizelge 3.24. Fonsekin bileşiğine ait ^1H ve ^{13}C NMR analizleri	160

Çizelge 3.25. Rubrofusarin bileşğine ait ^1H ve ^{13}C NMR analizleri	166
Çizelge 3.26. Fonsekinon D bileşğine ait ^1H ve ^{13}C NMR analizleri	173



1. GİRİŞ

Bitki, hayvan ve mineral gibi canlı kaynaklardan elde edilen doğal ürünler hastalıkların tedavisinin temelini oluşturmaktadır. İnsanlığın ilk kayıtlarından günümüze kadar ulaşan bilgiler modern tıbbın temellerini atmış olup gelecekte de tıbbı ve ilaçlara yön verecektir.

İlaçların tarihi, insan uygarlığının başlangıcına kadar uzanmaktadır. Tarihsel olarak bakıldığında yeni ilaçların birçoğu doğal ürünlerden ve doğal ürünlerin türevlerinden elde edilmektedir. 20. yüzyıldan önce insanların sahip olduğu ilaçlar mineral, mikroorganizma, hayvan ve bitkilerin ham ekstreleri veya kısmen saflaştırılmış maddeler iken 20. yüzyıl ilaçların kullanımına dönük yaklaşımlarda oldukça etkileyici değişiklikleri beraberinde getirmiştir. Kullandıkları ekstrelerin insan bedenindeki etkisinin, ekstre içindeki birbirinden farklı moleküllerin vücuttaki reseptörlerle iletişime geçmesi sonucunda meydana geldiğini öğrenmeleriyle farmakolojide yeni bir dönem başlamış ve ekstrelerden ziyade saf, izole edilmiş bileşiklerin hastalıkların tedavisinde standart olarak yerini alması söz konusu olmuştur. Böylelikle ekstrelerin içindeki aktif bileşikler izole edilmeye başlanılmış olup Opium droğundaki etken madde morfin ve *Digitalis lanata*' da bulunan kalp stimulanı olan digoksin bu şekilde keşfedilmiştir.

Sentetik kimya alanındaki gelişmeler aydınlatılmış yapıların sentez yoluyla elde edilmesine öncülük etmiştir. Öte yandan, ilaç sektöründeki Ar-Ge çabaları, yeni ilaçların geliştirilmesi, bilinen ilaçlar için yenilikçi / özgün süreçler ve geleneksel tıp sistemlerinden gelen ipuçlarının araştırılması yoluyla doğal bazlı ilaçların geliştirilmesine odaklanmıştır. Gelişmekte olan teknolojiyle birlikte ilaç endüstrisi yeni ilaçların keşfi için moleküler modelleme ve farklı yöntemlerle bilgisayarlardan yardım almıştır ancak alternatif ilaç keşif yöntemlerinin, kanser ve metabolik

hastalıklar için çok sayıda öncü bileşik sağlamada yetersiz kalması nedeniyle doğal ürün araştırmalarına yeniden ilgi duyulmuştur (Nisbet ve Moore, 1997).

Doğal ürünlere yönelik çalışmalar, ilaç endüstrisi tarafından yeni ilaçların geliştirilmesi için şablon olarak kullanılabilcek çeşitli öncü yapıların eldesinde önemli bir işlev görmektedir. Doğal ürünler, geçmişte ilaç etken maddelerinin önemli kaynakları olduğu gibi günümüzde ve gelecekte de yeni ilaç etken maddelerinin önemli kaynakları olacaklardır. Doğal ürünlerden ilaç etken maddesi elde edilmesi çok aşamalı bir süreç olup ciddi zaman harcanmasını gerektiren bir çalışmadır. Klasik metotların yanında doğal ürünlerden ilaç keşfini hızlandırma ve geliştirmeye yönelik yeni yaklaşımlar da denenmekte ve literatürde yerini almaktadır (Lahlou, 2007).

Dünyanın %70'i okyanuslarla kaplı olup, deniz ortamı kimyasal ve biyolojik açıdan oldukça geniş bir çeşitliliğe sahiptir (Jin ve ark., 2016). Deniz ortamının incelenmesi ve canlıların tanımlanması 18. yüzyılın ikinci yarısından başlayıp günümüzde artan bir hızla devam etmektedir. Son yıllara bakıldığında 2014 yılında 2363, 2015 yılında 2380, 2016 yılında 2118, 2017 yılında 2504, 2018 yılında 2389 yeni türün kaydedildiği, yani her yıl yaklaşık 2000 yeni türün bilim dünyasına kazandırıldığı görölmektedir. World Register of Marine Species (WoRMS) verilerine göre deniz biyotasında 527 448 takson ismi, sinonimleri de içeren 441 869 tür ismi ve kabul edilmiş 233 270 özgün tür bulunmaktadır. En çok tür kaydı hayvanlar aleminde bulunmaktadır, deniz mantarları aleminde ise bugüne kadar kayda geçirilmiş ve doğrulanmış 1228 tür bulunmaktadır ve bu türlerin yaklaşık 900'ü Ascomycota şubesindedir (Board, 2019).

1.1. Doğal Ürünler

Doğal ürünün en geniş kapsamda tanımını yapacak olursak yaşam tarafından üretilen her şey diyebiliriz; odun, ipek gibi biyotik materyaller; biyoplastik, mısır

nişastası gibi biyobazlı materyaller; süt, reçine gibi sıvılar ve karada ya da denizlerde bulunmakta olan tüm doğal materyaller doğal ürünlerdir. Tanım çerçevesini daraltığımızda ise yaşayan bir canlı organizma tarafından sentezlenen tüm organik bileşiklere doğal ürün deriz (Krueger, 2005).

Doğal ürünler yüksek yapısal çeşitliliğe sahiptirler ve yüzbinlerce yıllık yaşamsal gelişim süreçlerinin şekillendirdiği bir sonuç olarak benzersiz farmakolojik/biyolojik aktiviteler gösterirler. Doğal ürünlerdeki yapısal çeşitlilik laboratuvar ortamında sentetik organik kimyanın sunabileceği yapay çeşitliliğin çok ötesinde olduğundan dolayı hem geleneksel hem modern tıpta doğal ürünler tedavi amaçlı kullanılmaktadır. Amerikan İlaç ve Gıda Dairesi (FDA) tarafından onay almış olan çok sayıda ilaç doğal kaynaklardan elde edilmiştir (Vederas, 2009). Günümüzde doğal ürünler genellikle ilaç keşfinde başlangıç noktası olarak ele alınıp yapılan sentetik modifikasyonlarla yan etkiler azaltılmaya biyoyararlılık artırılmaya çalışılmaktadır. Bununla beraber moleküler modelleme yöntemleriyle doğadan elde edilen biyoaktif bileşikler incelenerek yeni etken maddelerin sentezlenmesi yoluna gidilmektedir (Gu ve Li, 2011).

Tıbbi kullanımlarının yanı sıra doğal ürünler gıda katkısı olarak da yaygın bir şekilde kullanıma sahiptir. Gıda tazeliğini korumak ve dayanabilirliğini artırmak amaçlı antioksidan olarak, antibakteriyel ajan olarak, tatlandırıcı ve baharat olarak kullanılmaktadırlar. Hayatımızın başka birçok alanında da doğal ürünlerin kullanımı mevcuttur.

1.1.1. Doğal Ürünlerin Fonksiyonları

Doğal ürünler temelde iki grupta incelenir: Primer metabolitler ve sekonder metabolitler. Primer metabolitler intrinsik fonksiyonları olan ve canlının temel

yaşamsal fonksiyonlarını sürdürmek için üretilen organik moleküllerdir. Bunlar olmadan canlının yaşamını sürdürmesi mümkün değildir. Primer metabolitlere, nükleik asitler, aminoasitler, şekerler ve yağ asitleri gibi temel yapıtaşları ile bunların meydana getirdiği DNA, RNA, proteinler, karbonhidratlar ve lipidler gibi majör makromolekülleri örnek verebiliriz (Karlovsky, 2008).

Sekonder metabolitler ise tipik olarak ekstrinsik fonksiyonları olan üreticinin haricindeki organizmaları etkileyen organik moleküllerdir. Sekonder metabolitler yaşamın devam ettirilebilmesi için zaruri değildir, canlının bulunduğu çevredeki rekabetçiliğini artırmaktadır. Organik kimya alanındaki doğal ürünler primer ve sekonder metabolitlerdir. Daha dar bir çerçevede ise tıbbi kimya ve farmakognozi alanında doğal ürünler sekonder metabolitlerden ibarettir (Lazar, 2005).

Sekonder metabolitler, primer metabolitlerin aksine vazgeçilebilirdir ve yaşam için mutlak ihtiyaç duyulan maddeler değildir. Sekonder metabolitler her türde öne çıkan belirli metaboliteler olarak ortaya çıkmaktadır. Örnek olarak Skopolamin, *Atropa belladonna* bitkisinin ürettiği toksik halüsinojenik bir bileşiktir. Bu bileşiği doğada sınırlı sayıda bitki üretebilmektedir. Bu tür engellere rağmen günümüze dek yüz binlerce farklı sekonder metabolit yüz binlerce canlıdan izole edilmiştir.

Sekonder metabolitler çok sayıda fonksiyona sahiptirler. Örneğin feromonlar, türün diğer canlılarıyla iletişimi sağlayan sosyal sinyal molekülleridir. Simbiyotik canlıları kendine çeken ve simbiyoz yaşamı aktifleştiren diğer iletişim molekülleri, siderofor olarak bilinen besin kaynaklarının taşınmasını ve çözünmesini sağlayan ajanlar, repellentler (kovucular), zehirler, toksinler gibi düşman canlılara karşı kullanılan yarışmacı silahlar, hepsi birer sekonder metabolit örneğidir. Birçok sekonder metabolitin fonksiyonu ise henüz tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır (Demain ve Fang, 2000).

2 000 000'dan fazla sekonder metabolit bilinmektedir ve genel olarak yapı, işlev ve biyosentezdeki geniş çeşitliliklerine göre sınıflandırılır. Yapılarına göre

sınıflandırıldığında sekonder metabolitler genellikle alkaloidler, terpenoidler, poliketidler, steroidler, yağ asiti türevi maddeler gibi etken madde gruplarında bulunmaktadır (McMurry, 2014). Alkaloidler organik yapılarında azot (N) içeren ve birçok alt sınıfa ayrılabilen sekonder metabolitlerdir. Tütün ürünlerindeki nikotin alkaloidlere örnek olarak gösterilebilir.

Fenilpropanoidler, fenilalanin ve tirozin aminoasitlerinden sentezlenen organik bileşiklerdir. Tarçında bulunan uçucu koku bileşiği sinamik asit bir fenilpropanoid örneğidir. Poliketidler, asetat ve malonatların büyük yapıli bileşikler oluşturmak için bir araya gelmesiyle oluşan bileşiklerdir. Aflatoksin B1, *Aspergillus* türü mantarlar tarafından üretilen poliketid yapıda bir bileşiktir ve bilinen en karsinojenik maddelerden birisidir (Li ve Liu, 2019). Terpenoidler, izopren adlı 5 karbonlu monomerlerin bir araya gelmesiyle oluşan büyük ölçekli bir doğal ürün sınıfıdır. Doğal kauçuk terpen bazlı yapılara güzel bir örnektir (Thirumurugan ve ark., 2018).

1.1.2. Doğal Ürünler Nerede Bulunur?

Doğal ürünler doğadaki canlılar tarafından üretilen, bir etken madde grubu ya da bir aktif bileşik üzerinden tanımlanan ve standardize edilen, biyolojik aktiviteye sahip ürünlerdir. Farmakognozi disiplininin araştırmacılar, biyolojik aktiviteye sahip doğal ürünlerin tıbbi kullanımını belirlemek adına doğal kaynakların teşhisi, bu kaynakların özelliklerinin ve içeriğinin tayin edilmesi ile doğal ürün eldesi konularında araştırma yapmaktadırlar (Katsuno ve ark., 2015).

Doğal ürünler, hayvan, bitki ve mikroorganizmaların sekresyonlarından, doku ve hücrelerinden ekstre edilebilir. Doğadaki kimyasal çeşitlilik biyolojik çeşitliliğin

bir yansıması olarak ortaya çıkmaktadır, bu yüzden araştırmacılar dñnyanın her yerinden örnekler toplayıp biyotarama ve ilaç etken maddesi keşifleri için analiz ve değerlendirme yapmaktadırlar. Doğal ürün arayışındaki bu çaba Türkçe biyoarama, İngilizce bioprospecting olarak adlandırılır (Cushnie ve ark., 2020).

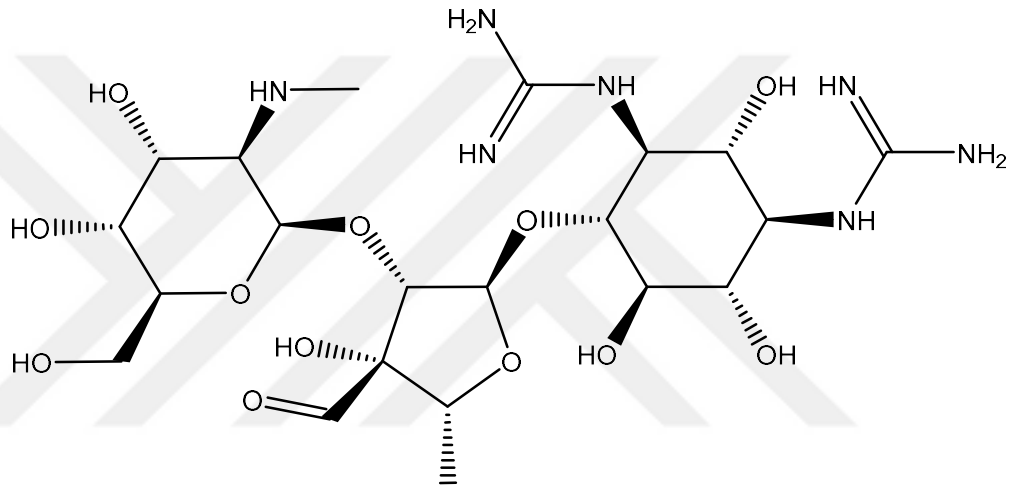
Canlılar alemine bakıldığında, bilim insanlarının tüm canlılardan doğal ürün elde etme konusunda faydalandığı açıkça görölmektedir. Mantar, bakteri gibi mikroorganizmalardan, zehirli yılanlar gibi hayvanlardan biyoaktif sekonder metabolit izole edilmesi, en küçük ve ilkel canlılardan en yırtıcı ve tehlikeli hayvanlara kadar birçok canlı türünden biyoaktif sekonder metabolitler izole edildiğini göstermektedir (Beekman ve Barrow, 2014; Herzig ve ark., 2020b).

1.1.2.1. Prokaryotik Canlılar

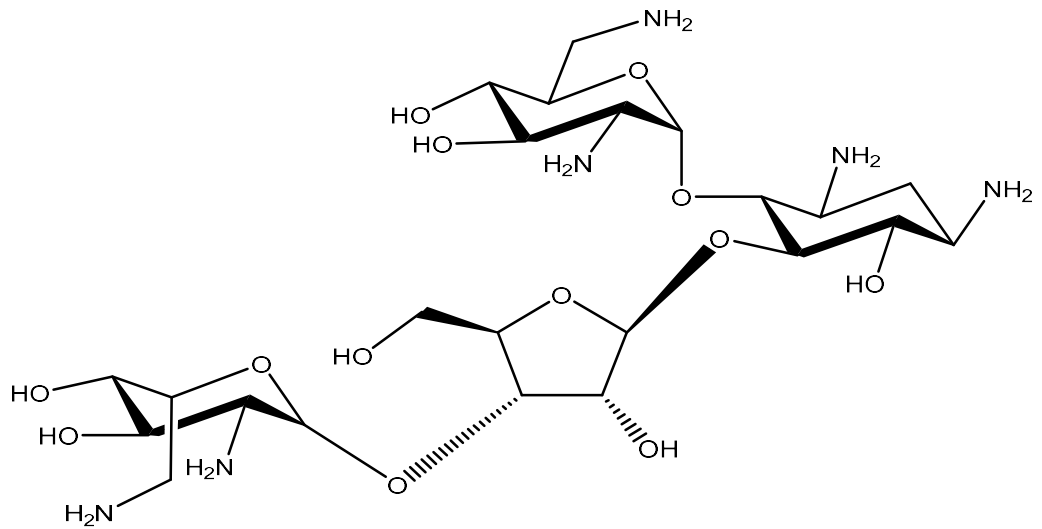
Prokaryot, membrana bağlı çekirdeği mitokondrisi ya da başka herhangi bir organelli bulunmayan tek hücreli canlılardır. Arkeler ve bakteriler olarak iki ana sınıfa ayrılırlar. Çekirdek ve organel taşıyan türler olan hayvanlar, bitkiler, mantarlar ve protistalar ise ökaryot organizmalar olarak incelenirler.

Bakteriler dünyada ortaya çıkan ilk yaşam formlarıdır ve hemen hemen tüm habitatlarda varlık gösterirler. Karada, denizde, radyoaktif atıklarda, dünyanın derinliklerinde, her yerde bulunurlar. Bitki ve hayvanlarla da simbiyotik ve parazitik yaşam ilişkileri kurarlar. Bakteriler üzerine çalışmalar mikrobiyolojinin alt branşı olan bakteriyoloji disiplince yürütölmektedir. Bakteriler doğal ürünlerin belirgin bir kaynağıdır. Penisilinin şans eseri bulunması ve sonrasında gelen klinik başarı, enfeksiyon karşıtı doğal ürünler üretebilecek diğer çevresel mikroorganizmaları geniş çaplı araştırmaların odağına yerleştirmiştir. Kara ve denizlerden toplanan örnekler

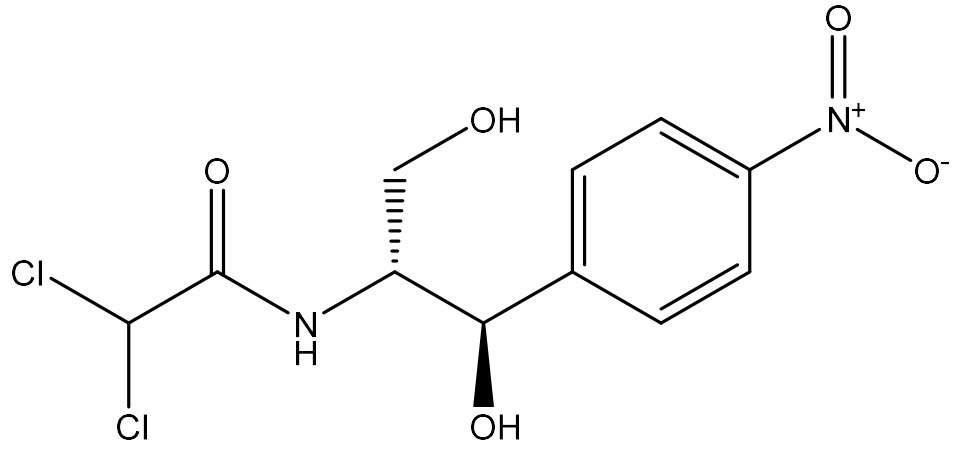
Streptomyces griseus bakterisinden Streptomisin'in (Şekil 1.1) keşfine yol açmış ve bilim insanları sadece mantarların değil bakterilerin de antibakteriyel doğal ürünlerin önemli bir kaynağı olabileceğini görmüşlerdir (Zaffiri ve ark., 2012). Bu ise *Amycolatopsis rifamycinica*'dan Rifamisin'in, *Peanibacillus polymyxa*'dan Polimiksin'in ve tümü *Streptomyces* türlerinden izole edilen Neomisin B (Şekil 1.2), Kloramfenikol (Şekil 1.3), Tetrasiklin (Şekil 1.4), Daptomisin, Eritromisin (Şekil 1.5), Amfoterisin B gibi antibakteriyel ve antifungal moleküllerin keşfine imkân sağlamıştır (Cochrane ve Vederas, 2016; Procópio ve ark., 2012; Saxena ve ark., 2014).



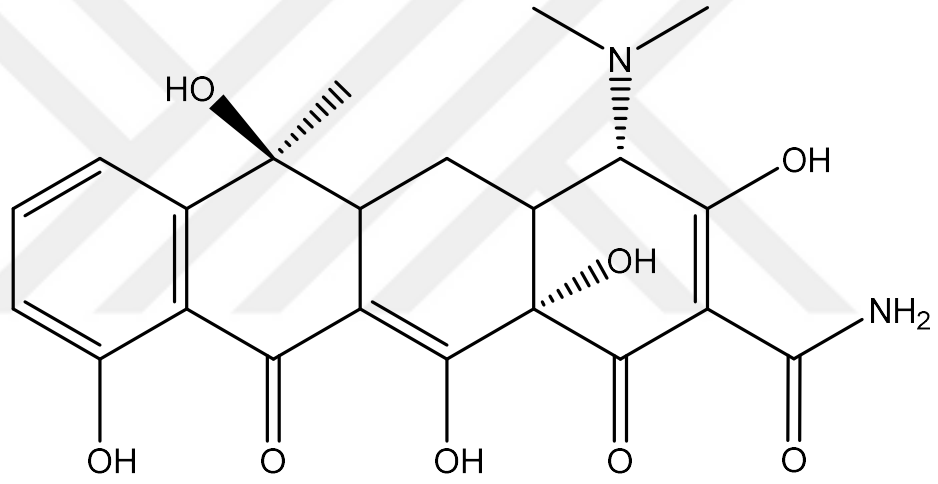
Şekil 1.1. Streptomisin bileşiğinin açık kimyasal yapısı



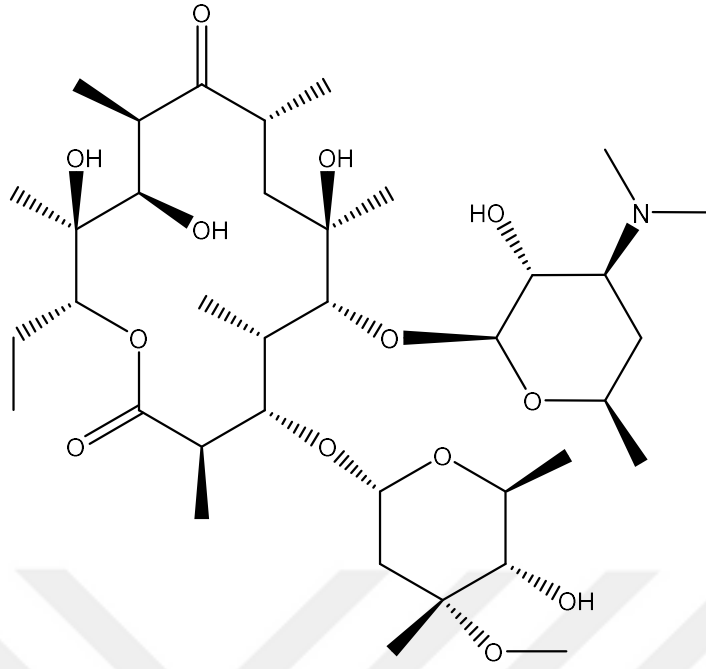
Şekil 1.2. Neomisin B bileşiğinin açık kimyasal yapısı



Şekil 1.3. Kloramfenikol bileşğinin açık kimyasal yapısı



Şekil 1.4. Tetrasiklin bileşğinin açık kimyasal yapısı



Şekil 1.5. Eritromisin bileşiminin açık kimyasal yapısı

Bakterilerden elde edilen birçok etken madde antienfektif etki göstermektedir. Bunun dışında *Clostridium botulinum*'dan elde edilen Botulinum toksini ve *Streptomyces veritricillus*'dan elde edilen Bleomisin farklı amaçlarla kullanımda kendilerine yer bulmuşlardır. Gıda toksini olan botulinum toksini günümüzde kozmetikte kırışıklıkları azaltmak amacıyla kullanılmaktadır (Hallett ve ark., 2013). Glikopeptit olan Bleomisin ise testis kanseri, boyun kanseri, Hodgkin's lenfoma gibi çeşitli kanser türlerinin tedavisinde kullanılmaktadır (Bandak ve ark., 2018). Bakteri simbiyantları ve endofitlerinden, sekonder metabolit keşifleri de devam etmektedir (Alvin ve ark., 2014).

Günümüzde Arkeler olarak sınıflandırılan organizmaların keşfi 1977 yılında Woese ve Fox tarafından gerçekleştirilmiştir. Önceleri bu canlıların bakterilerin olağan dışı koşullara adapte olan türleri olduğu düşünülürken sonraki araştırmalar bu canlıların antik canlılar olduğunu ve çok öncelerden beri olağan dışı çevre koşullarında yaşadıklarını göstermiştir (Woese ve Fox, 1977). Bu arke türleri ekstremofiller olarak da isimlendirilmektedir. Woese'nin çalışması oldukça önemlidir. Çünkü olağan dışı

simbiyantları ve endofitlerinden, sekonder metabolit keşifleri de devam etmektedir (Alvin ve ark., 2014).

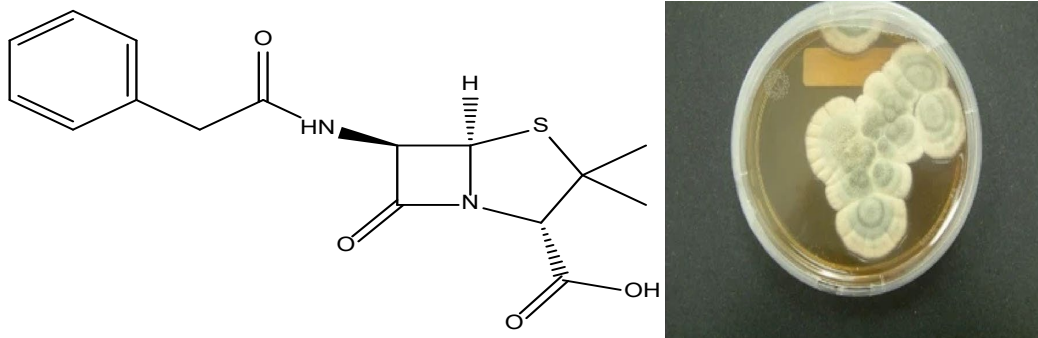
Günümüzde Arkeler olarak sınıflandırılan organizmaların keşfi 1977 yılında Woese ve Fox tarafından gerçekleştirilmiştir. Önceleri bu canlıların bakterilerin olağan dışı koşullara adapte olan türleri olduğu düşünülürken sonraki araştırmalar bu canlıların antik canlılar olduğunu ve çok öncelerden beri olağan dışı çevre koşullarında yaşadıklarını göstermiştir (Woese ve Fox, 1977). Bu arke türleri ekstremofiller olarak da isimlendirilmektedir. Woese'nin çalışması oldukça önemlidir. Çünkü olağan dışı koşullarda yaşamını sürdüren bu canlıların varlığı bilim insanlarının, insanlığın olağan dışı koşullarda yaşamaya adaptasyonuna dönük çalışmalarına kaynaklık etmektedir. Arkeler olağan dışı koşullarda da işlevini yerine getiren ve yapısını koruyabilen enzimlere sahiptirler. Bu enzimlerin gıda, kimya, ilaç endüstrisi gibi alanlarda potansiyel kullanımları söz konusudur. Örneğin *Pyrococcus furiosus* ekstremofil bir arke türüdür, hipertermofil canlı olarak sınıflandırılır. Çünkü birçok organizmanın canlılığını yitirdiği 100°C gibi bir sıcaklıkta yaşamını sürdürebilmektedir (Thornburg ve ark., 2010). Doktor Tang'ın araştırma grubu bu canlı türünden laktozu yıkabilen, termostabil olan bir enzim izole etmiştir. Sütte bulunan laktozu tolere edemeyen, laktoz intoleransı bulunan hastalar için bu oldukça önemli bir gelişmedir. Laktozsuz sütlerin üretilmesi bu problemi yenmek için büyük bir adımdır. Ayrıca termostabil laktaz enzimlerinin kullanılması laktoz kaynaklı muhtemel kontaminasyonlarında önüne geçmek için oldukça işlevseldir (Li ve ark., 2013).

1.1.2.2. Ökaryotik Canlılar

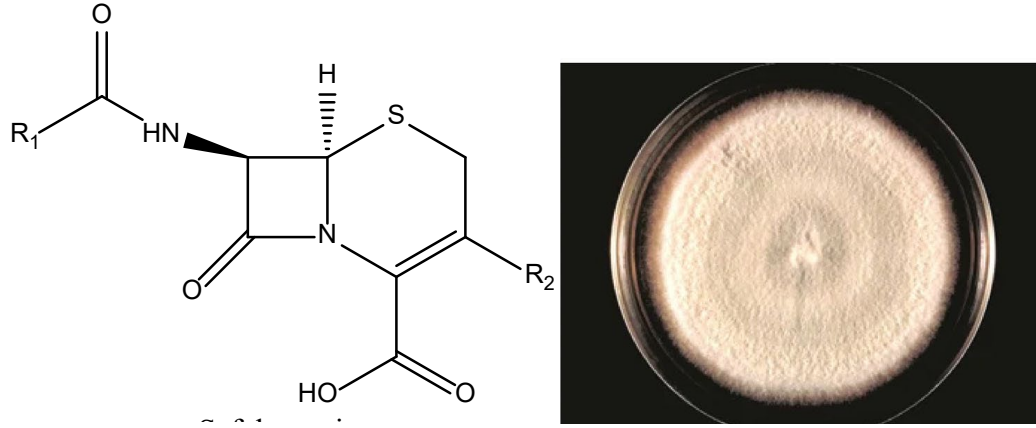
Ökaryotik organizmalar 4 ana sınıfta incelenir: Protista, mantar, bitki ve hayvan. Mantarlar, heterotrof, tek ya da çok hücreli olabilen primer çürükçül ökaryot canlılardır. Heterotroflar kendi besinlerini üretemeyen canlılardır. Bitkiler çok hücreli ototrof canlılardır yani kendi besinlerini üretebilirler. Bitkiler gerçek kök, gövde ve

yapraklara sahiptirler. Hayvanlar çok hücreli, heterotrof, yaşam döngülerinin en az bir kısmında hareket kabiliyetine sahip olmakla karakterize canlılardır. Protista terimi geride kalan bu 3 canlı alemine uymayan tüm ökaryotik canlılar için kullanılmaktadır. Bu canlılarda kendi içlerinde hayvan benzeri, mantar benzeri, bitki benzeri olarak gruplandırılmaktadır.

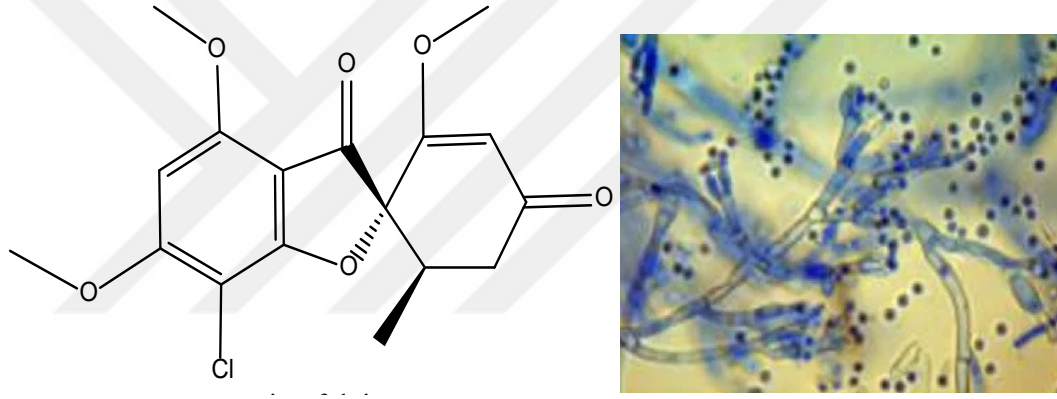
Mantarlar yukarıda bahsedildiği üzere heterotrof ökaryot organizmalar olup maya ve küf gibi tek hücreli türleri olduğu gibi kültür mantarı ve benzeri çok hücreli türleri de bulunmaktadır. Mantarlar sayısız sekonder metabolit üretmektedir. Bunların bazıları son derece toksik olup üretildikleri canlının Ölüm Meleği, Şeytan Mantarı gibi gibi çeşitli isimlerle anılmalarına neden olmuşlardır. Diğer bazı sekonder metabolitlerin ise tıpta harika kullanımları vardır. Örneğin; *Penicillium chrysogenum*'dan elde edilen penisilinler (Şekil 1.6) ve *Cephalosporium acremonium*'dan elde edilen sefalosporinler (Şekil 1.7) gibi antibakteriyel etken maddeler (Zaffiri ve ark., 2012), *Penicillium griseofulvum*'dan elde edilen Griseofulvin (Şekil 1.8) gibi antifungal etken maddeler (Beekman ve Barrow, 2014), *Aspergillus terreus*'tan elde edilen kolesterol düzeylerinin düşürülmesinde etkin rol alan statinlerin üretilmesinde öncü rol oynayan Lovastatin (Şekil 1.9) gibi etken maddeler, *Claviceps* türlerinden elde edilen vazokonstrüktör etkili, doğum sonrası kanamayı önleyici olarak kullanılan Ergometrin gibi etken maddeler (Şekil 1.10), tedavi amaçlı olarak günümüzde yaygın şekilde kullanılmaktadır (Dewick, 2002).



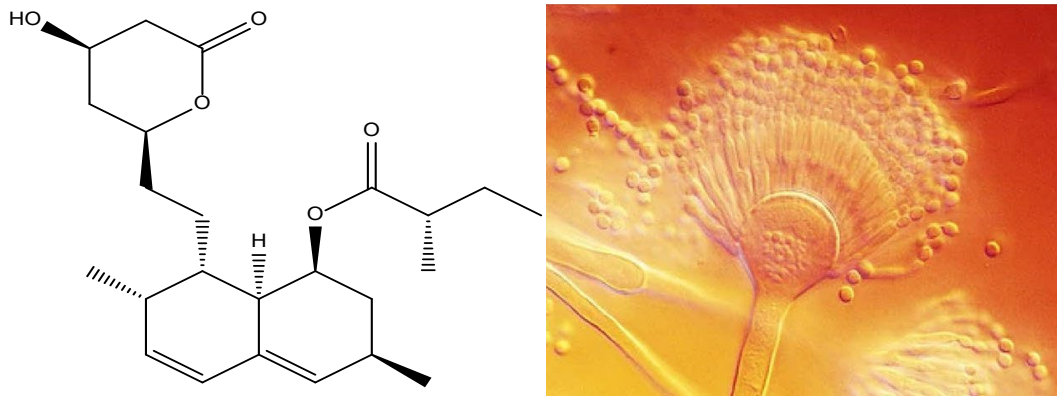
Şekil 1.6. Penisilin G bileşiğinin açık kimyasal yapısı ve elde edildiği *Penicillium notatum*'un petri görüntüsü (Contributors).



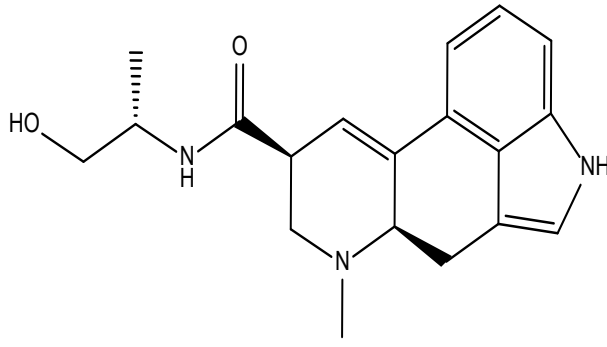
Şekil 1.7. Sefalosporin bileşiğinin açık kimyasal yapısı ve elde edildiği *Cephalosporium acremonium*'un petri görüntüsü (CDC)



Şekil 1.8. Griseofulvin bileşiğinin açık kimyasal yapısı ve elde edildiği *Penicillium griseofulvum*'un ışık mikroskobundaki görüntüsü ("Penicillium griseofulvum,")

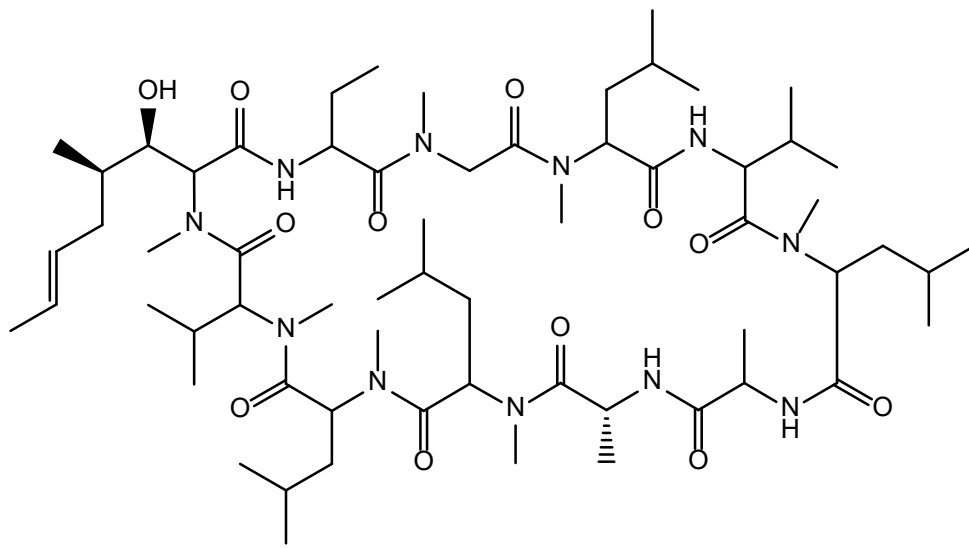


Şekil 1.9. Lovastatin bileşiğinin açık kimyasal yapısı ve elde edildiği *Aspergillus terreus*'un Nomarski mikroskobundaki görüntüsü



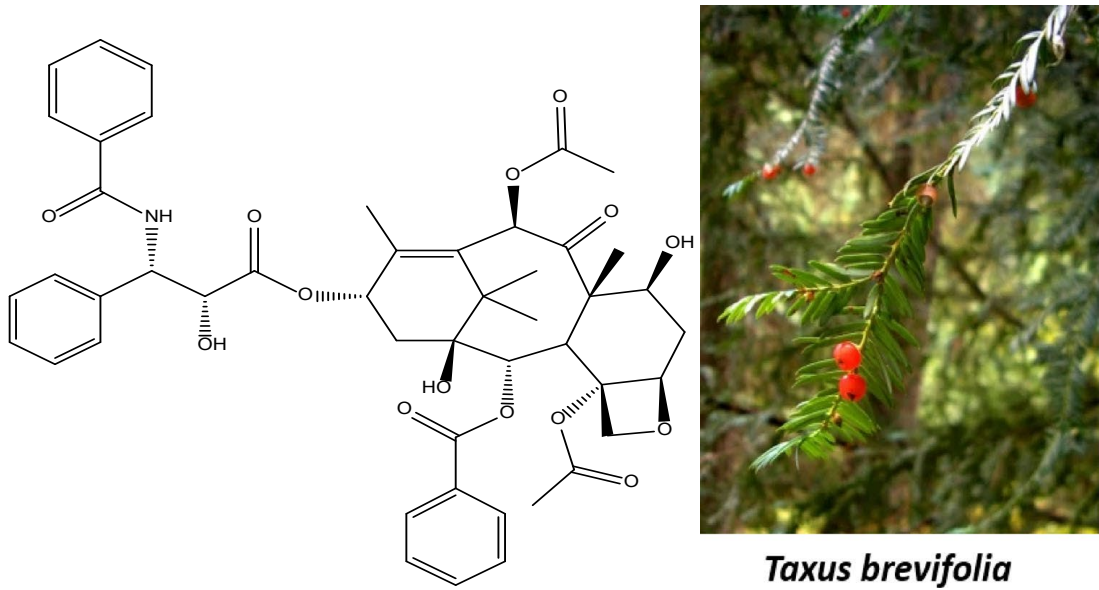
Şekil 1.10. Ergometrin bileşiminin açık kimyasal yapısı ve elde edildiği *Claviceps* türünün fotoğrafı

Siklosporin önemli tıbbi uygulamaya sahip bir diğer fungal metabolittir (Şekil 1.11). Siklosporin siklik peptit yapıya sahip olup en önemli biyoaktivitesi immun sistemi baskılamak olan alkaloid grubuna dahil olan bir bileşiktir. Bu sayede organ nakli olan hastalarda, organ reddini önlemek amacıyla geniş çaplı olarak kullanılmaktadır. *Tolypocladium inflatum* mantarından 1971’de izole edilen Siklosporin 12 yıllık laboratuvar incelemesinin ardından 1983 yılında FDA’dan kullanım onayı almıştır. Sağlık sistemindeki en etkili ve güvenli, ihtiyaç duyulan maddelerden birisi olarak Dünya Sağlık Örgütü’nün (WHO) esansiyel ilaçlar listesinde yer almıştır.

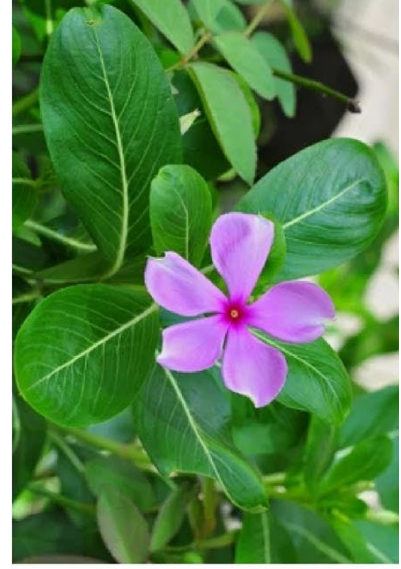
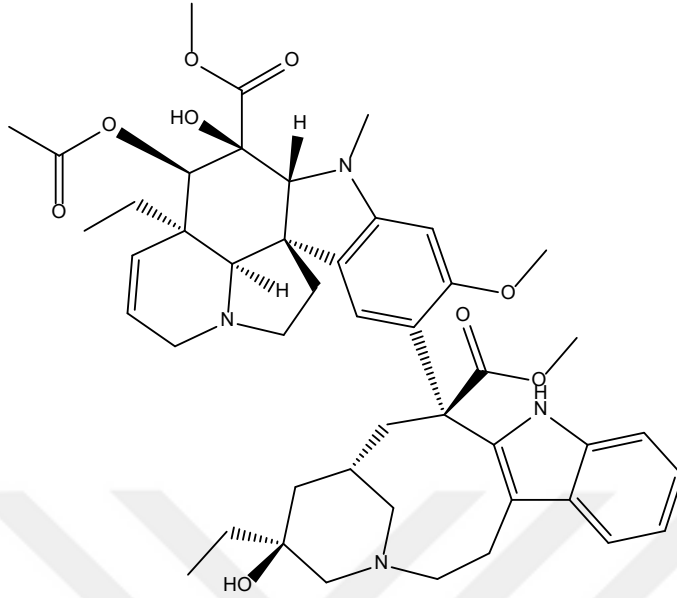


Şekil 1.11. Siklosporin bileşiminin açık kimyasal yapısı

Bitkiler, ototrof, çok hücreli, ökaryot canlılardır. Fotosentez süreci ile karbon dioksit ve suyu basit şekerlere dönüştürmek için güneşten gelen ışık enerjisini kullanarak kendi besinlerini üretirler. Oksijen bu reaksiyonun yan ürünü olup bu sayede bitkiler gezegendeki temel oksijen kaynağı konumuna gelmişlerdir (Dang ve Van Damme, 2015). 400 000 'e yaklaşan tür sayısı ile, oksijen üreticisi ve gıda kaynağı olarak kullanılmalarının yanı sıra bitkiler, kompleks ve yapısal olarak oldukça çeşitli sekonder metabolitlerin de en önemli kaynaklarından biridir (Christenhusz ve Byng, 2016). Bitkilerden elde edilen sekonder metabolitlerden farmakolojik olarak aktif olan birçok doğal ürün teşhis edilmiş ve günümüzde tedavilerde yerini almıştır. Birkaç örnek vermek gerekirse, *Taxus brevifolia*'dan elde edilen Paklitaksel (Şekil 1.12) ve *Catharanthus roseus*'tan elde edilen Vinblastin (Şekil 1.13) antikanser ajanlar olarak (Prasat ve ark., 2014), *Artemisia annua*'dan elde edilen Artemisinin (Şekil 1.14) antimalaryal ajan olarak (Kano, 2014), *Papaver somniferum*'dan elde edilen Morfin (Şekil 1.15) narkotik analjezik olarak kullanılmaktadır ve *Galanthus* türlerinden elde edilen Galantamin (Şekil 1.16) Alzheimer hastalığının tedavisinde kullanılmaktadır (Russo ve ark., 2013). *Podophyllum peltatum* rizomlarından elde edilen Podofilotoksin (Şekil 1.17) sekonder metabolitinin derivelerinden Etoposid ve Teniposid etken maddeleri antikanser ilaçlar olarak kullanılmaktadır (Ardalani ve ark., 2017).

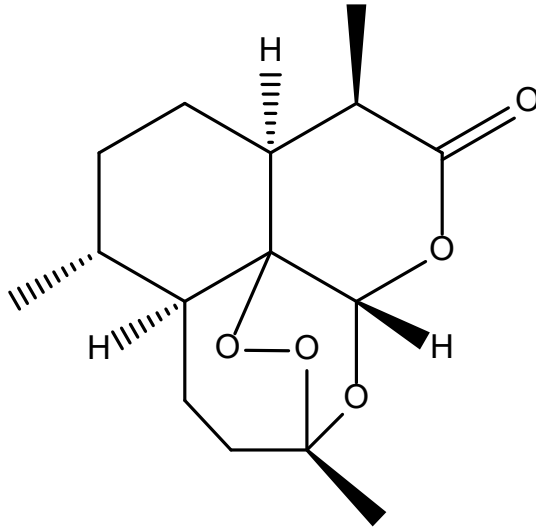


Şekil 1.12. Paklitaksel bileşiğinin açık kimyasal formülü ve elde edildiği *Taxus brevifolia* bitkisi (Hollinger, 2005)



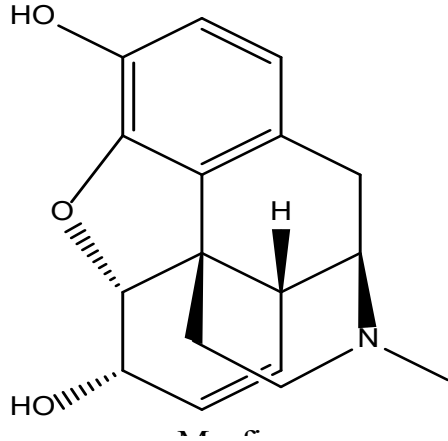
Catharanthus roseus

Şekil 1.13. Vinblastin bileşiğinin açık kimyasal formülü ve elde edildiği *Catharanthus roseus* bitkisi (Joydeep, 2012)



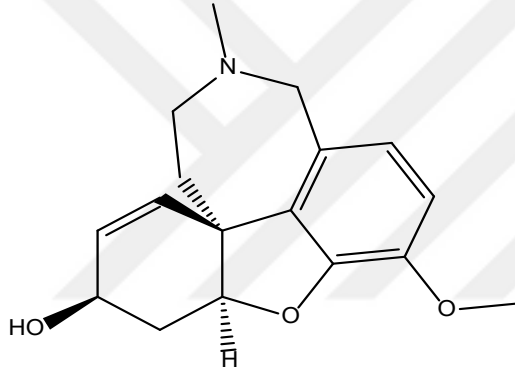
Artemisia annua

Şekil 1.14. Artemisinin bileşiğinin açık kimyasal formülü ve elde edildiği *Artemisia annua* bitkisi (Peters, 2007)



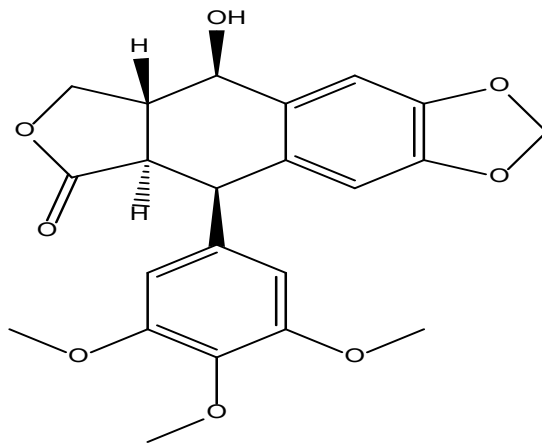
Papaver somniferum

Şekil 1.15. Morfin bileşiminin açık kimyasal formülü ve elde edildiği bitki *Papaver somniferum* (Dinkum, 2013)



Galanthus woronowii

Şekil 1.16. Galantamin bileşiminin açık kimyasal formülü ve elde edildiği bitki *Galanthus woronowii* (Bloem, 2010)



Şekil 1.17. Podofilotoksin bileşiminin açık kimyasal formülü ve elde edildiği bitki *Podophyllum peltatum* (Anderson, 2002)

Hayvanlar, heterotrof olup temelde omurgalılar ve omurgasızlar olarak ikiye ayrılmaktadır. Omurgalılar hayvanlar aleminin yüzde 5'i gibi oldukça az bir kısmını oluşturur.

- Balıklar
- Amfibiler
- Kuşlar
- Sürüngenler
- Memeliler

Diğer bütün hayvanlar omurgasızlar grubunda yer alırlar ve bel kemikleri yoktur.

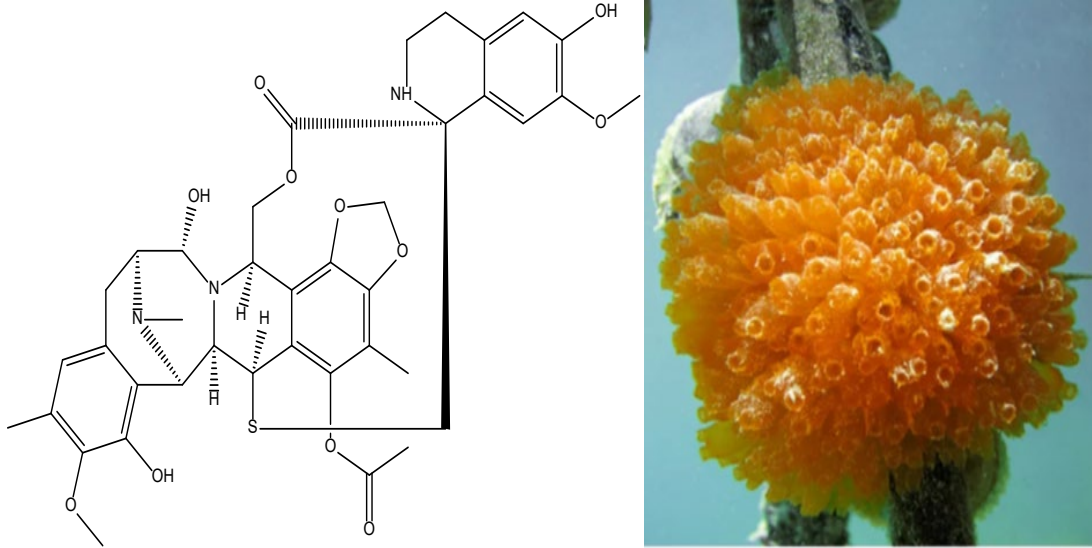
- Yumuşakçalar
- Artropodlar
- Annelidler
- Nematodlar
- Solucanlar
- Knidaryanlar
- Stenoforlar
- Süngerler

Hayvanlar biyoaktif doğal ürünlerin kaynaklarından birisidir. Özellikle zehirli hayvanlar bu anlamda daha çok ilgi çekmiştir. Bunun sebebi zehir bileşenlerinin (peptitler, enzimler, nükleotidler, lipitler, biyojenik aminler vb.) vücuttaki makromoleküler hedeflerle spesifik etkileşimleri olmasıdır (Dossey, 2010; Herzig ve ark., 2020b). Örnek verilecek olursa 36 aminoasitli bir peptit olan Klorotoksin, *Leirus quinquestriatus* akrebi tarafından düşmanları hareketsizleştirmek için kullanılan bir zehirdir. İnsanlarda ise Klorotoksin kayda değer ölçüde gliom beyin kanseri hücrelerine bağlanmaktadır. Klorotoksin sadece tümörlü beyin hücrelerine bağlanıp sağlıklı beyin hücrelerine zarar vermemektedir. Buradan hareketle geliştirilen sentetik Klorotoksin türevi tekrarlayan glioma hastalığına karşı gerçekleştirilen faz 2

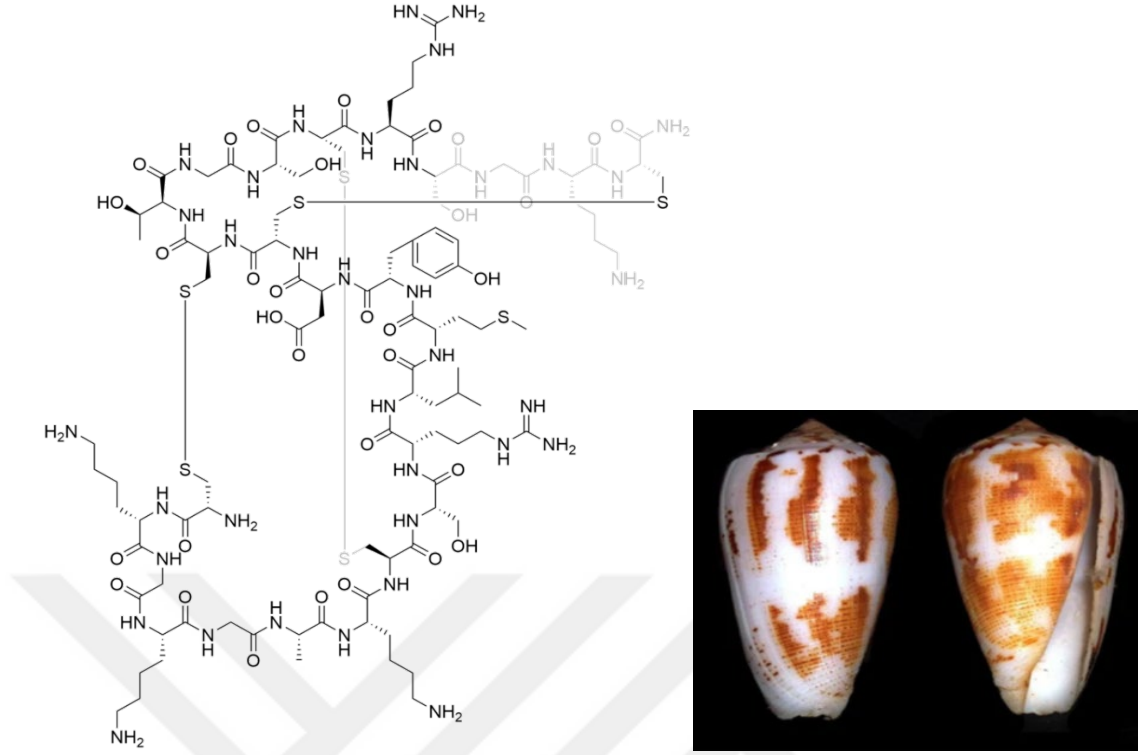
çalışmalarında başarılı bulunmuş ve faz 3 klinik deneyleri için FDA'dan onay almıştır (Sabatier ve De Waard, 2013).

Engerek yılanı olan *Bothrops jararaca*'dan elde edilen Teprotid toksini düşük oral biyoyararlanımından ötürü ilaç bileşiği olarak değerlendirilememiştir ancak bu bileşikten hareketle sentetik olarak elde edilen Silazapril ve Kaptopril antihipertansif ilaçlar olarak günümüzde kullanılmaktadır (Herzig ve ark., 2020a).

Bahsedilen karasal hayvanlara ek olarak Bryozoalar, deniz solucanları, tunikatlar, süngerler gibi denizlerdeki hayvanlardan da farmakolojik olarak aktif birçok doğal ürün analjezik, antiviral, antikanser etki yönünden incelenmiştir. *Ecteinascidia turbinata* tunikatından elde edilen Trabektedin (Şekil 1.18) kanser tedavisinde klinik olarak kullanıma sahiptir (Petek ve ark., 2015). Deniz solucanı *Conus magus*'tan ω -konotoksin (Şekil 1.19) ise morfinden 1000 kat daha etkili olup ciddi kronik ağrıların rahatlatılmasında (Bowersox ve Luther, 1998) kullanılmaktadır.



Şekil 1.18. Trabektedin bileşiğinin açık kimyasal formülü ve elde edildiği mangrov tunikatı *Ecteinascidia turbinata* (Nash, 2010)

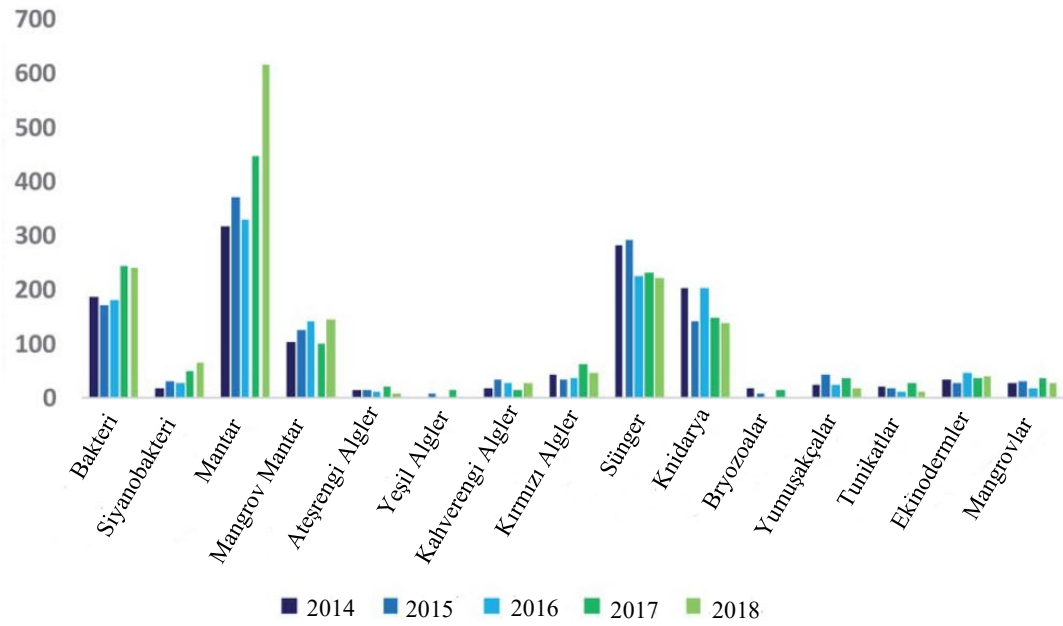


Şekil 1.19. ω-konotoksin bileşiğinin açık kimyasal formülü ve elde edildiği deniz solucanı *Conus magus* (Parker, 2009)

1.2. Deniz Canlılarının Önemi

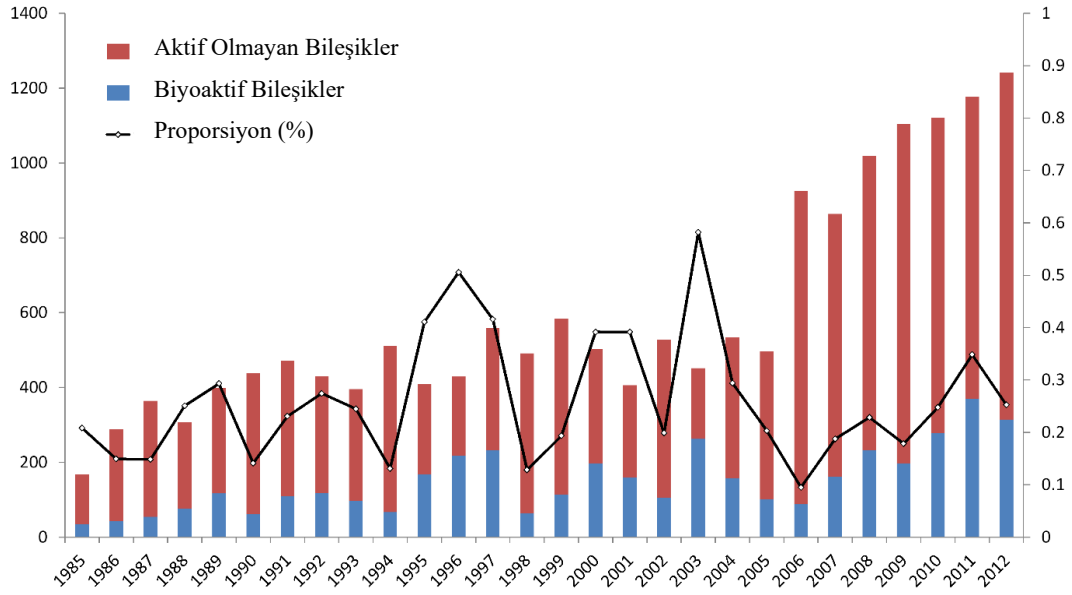
Deniz ortamı, farklı fizyolojiye ve çevrelerine uyum sağlama kapasitesine sahip çok çeşitli canlı organizmalar için doğal bir yaşam alanıdır. Bugün bilinen 33'ten fazla hayvan filumundan, deniz ortamında toplam 32 filum bulunmaktadır ve bunlardan 15'i sadece deniz ortamında bulunmaktadır (Margulis L, 1998). Bu genetik çeşitlilik, yeni ilaç geliştirme için umut vaat eden kimyasal çeşitliliği beraberinde getirmektedir. Okyanuslar, dünyadaki çeşitli bitki ve hayvan türlerinin % 80'inden fazlasını içermektedir. Süngerler, tunikatlar, balıklar, yumuşak mercanlar, deniz salyangozları, deniz tavşanları, ekinodermiler, bryozoalar, karidesler, kabuklar ve deniz mikroorganizmaları, biyoaktif bileşiklerin kaynağıdır (Donia ve Hamann, 2003). 1970'lerin sonlarında deniz bitkilerinin ve hayvanların genetik ve biyokimyasal olarak

benzersiz oldukları tespit edilmiş bu tür benzersiz doğal bileşiklerin yaklaşık 15.000'i tanımlanmış ve bunların % 30'u süngerlerden izole edilmiştir (Murti ve Agrawal, 2010). 2014-2018 yılları arasında gerçekleştirilen deniz doğal ürünlerinin elde edildiği kaynaklar incelendiğinde de süngerlerin ve mantarların en önemli kaynaklar olduğu verilen grafikte gösterilmiştir (Şekil 1.20).



Şekil 1.20. 2014-2018 yılları arasında izole edilen deniz doğal ürünlerinin kaynak canlılarının yıllara göre dağılımları (Carroll ve ark., 2020)

1980’li yıllardan günümüze yaklaştıkça denizden elde edilen yeni doğal ürünlerin artışı grafikte gösterilmiştir (Şekil 1.21).



Şekil 1.21. 1984-2012 yılları arasında deniz kaynaklarından elde edilen doğal ürünlerin sayıları ve biyoaktif bileşiklerin toplam bileşik sayısına oranı (Hu ve ark., 2015)

Yapılan araştırmalarda denizden elde edilen birçok bileşikte birbirinden farklı biyolojik aktiviteler gözlenmiştir. Örnek verilecek olursa; İzonitril içeren antimalaryal moleküller, bir Japon süngeri olan *Acanthella* sp.'den izole edilmiştir. İzole edilen moleküller, aynı zamanda antifungal, antelmintik ve antifouling bileşikler de içeren kalihinane diterpenoid sınıfına aittir (Miyaoaka ve ark., 1998).

Zikonotid, ağrıyı tedavi etmek için 2004 yılında ABD Gıda ve İlaç İdaresi'nden (FDA) onay alan ilk deniz kaynaklı ilaçtır. Prialit müstahzar ismiyle piyasada satılmakta olan Zikonotid, koni salyangoz türü *Conus magus*'un toksininden elde edilir. Hayvan çalışmalarından elde edilen sonuçlar, Zikonotid'in, omuriliğin primer nosiseptif sinirleri üzerindeki N tipi kalsiyum kanallarının bloke edilmesindeki rolünü ortaya koymuştur (Skov ve ark., 2007).

Bryostatinler doğada bulunan makrosiklik lakton yapısındaki maddeler olup, Bryostatin 1 ilk olarak *Bugula neritina*'dan elde edilmiştir ve antikanser biyoaktiviteye sahiptir (Manning ve ark., 2005).

Deniz kökenli *Phaeodactylum tricornutum*'un diyatomundan izole edilen çoklu doymamış bir yağ asidi olan eikosapentaenoik asit, çoklu-ilaç direncine sahip bir *Staphylococcus aureus* türünü de içeren bir dizi Gram-pozitif ve Gram-negatif bakteriye karşı antibakteriyel aktivite göstermektedir (Desbois ve ark., 2009).

Sefalosporinler, deniz kaynağından elde edilen, iyi bilinen antimikrobiyal ajanlardır. Sefalosporin C ilk olarak bir deniz mantarı olan *Cephalosporium acremonium*'dan izole edilip saflaştırılmıştır (Murti ve Agrawal, 2010).

Bir sünger türü olan *Spongia officinalis*'in ekstresi *in vivo* bir çalışmada karagenan kaynaklı pençe ödem testinin sıçan modeline uygulanmasıyla antiinflamatuar etki göstermiştir (Dellai ve ark., 2010).

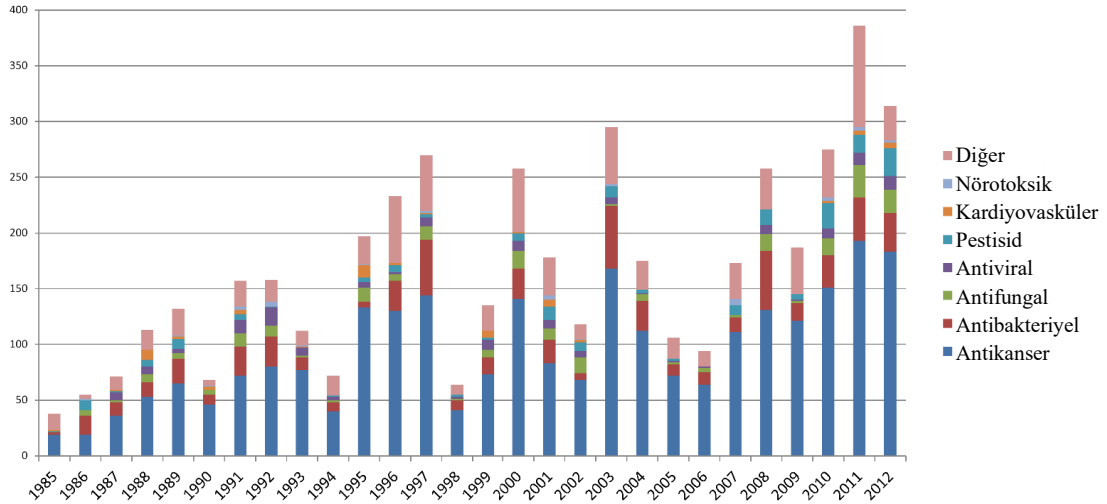
Güney Hindistan yeşil yosunu *Ulva reticulata* ekstresi, asetil ve butiril-kolinesterazları inhibe ederek nöroprotektif etki göstermiştir ve günümüzde Alzheimer hastalığı tedavisinde kullanılmakta olan Donepezil ile kıyaslanacak düzeyde yüksek aktivite göstermiştir (Suganthi ve ark., 2010).

Tunus süngeri olarak bilinen *Sarcotragus* sp.'nin diklorometan içinde hazırlanan ekstresi, *Leishmania major* promastigotlarında morfolojik değişiklikler meydana getirmesiyle ilişkili olarak *in vitro* antileishmanial aktivite göstermiştir (Ben Kahla-Nakbi ve ark., 2010).

1.3. Deniz Kaynaklı İlaçlar

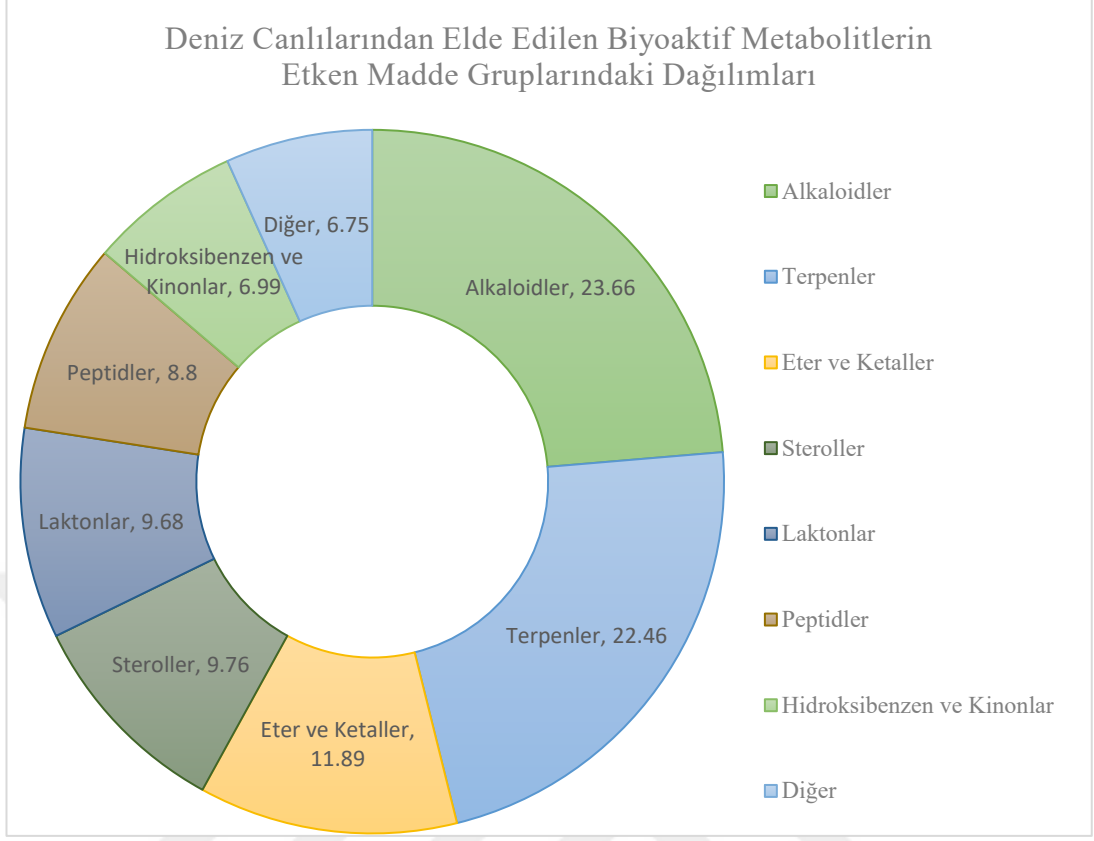
Deniz ve okyanus ortamındaki özel fiziksel ve kimyasal koşullardan ötürü, yapısal olarak benzersiz özelliklere sahip çok çeşitli etken maddeler birçok deniz

canlısından izole edilmektedir. Bununla birlikte karasal bitkiler oldukça uzun bir geçmişe dayanan tıbbi kullanıma sahipken deniz canlılarının farmakolojik uygulamalardaki yeri henüz yenidir (Schueffler ve Anke, 2014). Deniz canlılarından farmakolojik keşifler ve deniz kaynaklı ilaçların piyasaya sürülmesi 1950li yılların başlarında Bergmann'ın Karayip süngeri olan *Cryptotethya crypta*'dan Spongouridin ve Spongotimidini izole etmesi ve tanımlamasıyla başlamıştır. Bu keşifler, piyasaya sürülen deniz kaynaklı ilk antiviral ve antitümör etkili ilaçlar olan Vidarabin ve Sitarabin analoglarının sentezlenmesini sağlamıştır (Bergmann ve Burke, 1955). Son yıllarda antibiyotik, antiviral, antifungal, antikanser aktivite gösteren poliketidler, alkaloidler, peptitler, proteinler, lipitler, izoprenoidler gibi farklı yapılarda birçok yeni sekonder metabolit, deniz canlılarından keşfedilmiştir (Petersen ve ark., 2020). İzole edilen biyoaktif bileşiklerin aktivite dağılımları aşağıdaki grafikte gösterilmiş olup antikanser aktivitenin önemli bir yer tuttuğu görülmektedir (Şekil 1.22).



Şekil 1.22. 1985-2012 yılları arasında deniz kaynaklarından izole edilen bileşiklerin yıllara göre aktivite dağılımları (Hu ve ark., 2015)

İzole edilen bileşiklerin yapıları incelendiğinde aşağıda verilen grafikteki gibi bir dağılıma ulaşılmıştır (Şekil 1.23).



Şekil 1.23. Deniz canlılarından elde edilen biyoaktif metabolitlerin etken madde gruplarındaki dağılımları (Hu ve ark., 2015)

Güncel global deniz kaynaklı ilaçlar incelendiğinde halihazırda piyasada tescilli, FDA onaylı 13 ilaç bulunmaktadır. Plitidpsin etken maddeli çoklu miyeloma kanserine etkili olan Aplidin ilacı Avustralya Tedavi Ürünleri İdaresi (Therapeutic Goods Administration- TGA) tarafından onaylanmıştır ancak henüz FDA'dan onay alamamıştır. Henüz onay sürecini tamamlamamış, aktif klinik deneyleri devam eden, Faz 3 aşamasında 4 bileşik, faz 2 aşamasında 12 bileşik, faz 1 aşamasında 7 bileşik bulunmaktadır ("Clinical Pipeline of Marine Pharmacology,").

FDA'in onay vermiş olduğu ilaçlar ve bunlara ait bilgiler Çizelge 1.1 de verilmiştir. Çizelge 1.2.'de faz 3 aşamasındaki ilaçlara, Çizelge 1.3.'te faz 2 aşamasındaki ilaçlara, Çizelge 1.4.'te faz 1 aşamasındaki ilaçlara yer verilmiştir.

Çizelge 1.1. Deniz canlılarından elde edilen ve piyasada bulunan FDA onaylı ilaçlar. ("Clinical Pipeline of Marine Pharmacology,")

Bileşik Adı	Tescilli Marka	Deniz Canlısı	Kimyasal Sınıf	Moleküler Hedef	Hastalık Alanı	Firma/ Enstitü
Belantamab mafodotin-blmf	Blenrep TM (2020)	Yumuşakça/siyanobakteri	ADC (MMAF)	BCMA	Kanser: Tekrarlayan multipl miyelom	[GlaxoSmith Kline]
Lurbinektedin	Zepzelca TM (2020)	Tunikat	Alkaloid	RNA Polimeraz II	Kanser: Metastatik Küçük hücreli Akciğer Kanseri	[Pharmamar]
Enfortumab Vedotin	PADCEV TM (2019)	Yumuşakça/siyanobakteri	ADC (MMAE)	Nektin-4	Metastatik ürotelyal kanser	[Astellas Pharma & Seattle Genetics]
Polatuzumab vedotin (DCDS-4501A)	Polivy TM (2019)	Yumuşakça/siyanobakteri	ADC (MMAE)	CD76b & mikrotübüller	Kanser:Non-Hodgkin lenfoma, Kronik lenfotik lösemi	[Genentech / Roche]
Trabektedin (ET-743)	Yondelis® (2015)	Tunikat	Alkaloid	Minör DNA oluşu	Kanser: Yumuşak Doku Sarkomu ve Yumurtalık Kanseri	[Pharmamar]
Omega-3-karboksilik asit	Epanova® (2014)	Balık	Omega-3 yağ asitleri	Trigliserid sentez enzimleri	Hipertrigliseridemi	[AstraZeneca]

Çizelge 1.1. Devam

Eikoza pentaenoik asit etil ester	Vascepa® (2012)	Balık	Omega-3 yağ asitleri	Trigliserid sentez enzimleri	Hipertrigliseri demi	[Amarin]
Brentuksimab vedotin (SGN-35)	Adcetris® (2011)	Yumuşakça/ siyanobakteri	ADC(MM AE)	CD30 & mikrotübüller	Kanser: Anaplastik büyük hücreli sistemik malign lenfoma, Hodgkin hastalığı	[Seattle Genetics]
Eribulin Mesilat (E7389)	Halaven® (2010)	Sünger	Makrolid	Mikrotübüller	Kanser: Metastatik Meme Kanseri	[Eisai Inc.]
Omega-3-asit etil esterler	Lovaza® (2004)	Balık	Omega-3 yağ asitleri	Trigliserid sentez enzimleri	Hipertrigliseri demi	[GlaxoSmithKline]
Zikonotid	Prialt® (2004)	Koni salyangozu	Peptid	N-Tipi Ca kanalı	Ağrı: Şiddetli Kronik Ağrı	[Jazz Pharmaceuticals]
Vidarabin (Ara-A)	Vira-A® (1976)	Sünger	Nükleozid	Viral DNA polimeraz	Antiviral: Herpes Simplex Virüsü	[Mochida Pharmaceutical Co.]
Sitarabin (Ara-C)	Cytosar-U® (1969)	Sünger	Nükleozid	DNA polimeraz	Kanser:Lösemi	[Pfizer]

Çizelge 1.2. Deniz canlılarından elde edilen ve faz 3 çalışmaları gerçekleştirilen etken maddeler ("Clinical Pipeline of Marine Pharmacology,")

Bileşik Adı	Tescilli Marka	Deniz Canlısı	Kimyasal Sınıf	Moleküler Hedef	Hastalık Alanı	Firma/ Enstitü
Plinabulin (NPI-2358)	-	Mantar	Diketopiperazin	Mikrotübüller	Kanser: Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri, Beyin Tümörü	[BeyondSpring Pharmaceuticals]
Tetrodotoksin	Halneurion™	Kirpi balığı	Guanidiniyum alkaloidi	Sodyum kanalları	Ağrı: Kronik Ağrı	[Wex Pharmaceutical Inc.]
Marizomib (Salinosporamid A; NPI-0052)	-	Bakteri	Beta-lakton-gamma lactam	20S proteazom	Kanser: Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri, Pankreas Kanseri, Melanom, Lenfoma, Multipl Miyelom	[Triphase]

Çizelge 1.3. Deniz canlılarından elde edilen ve faz 2 çalışmaları gerçekleştirilen etken maddeler ("Clinical Pipeline of Marine Pharmacology,")

Bileşik Adı	Tescilli Marka	Deniz Canlısı	Kimyasal Sınıf	Moleküler Hedef	Hastalık Alanı	Firma/ Enstitü
GTS-21 (DMXBA)	-	Solucan	Alkaloid	$\alpha 7$ nikotinik asetilkolin reseptörü	Şizofreni, Alzheimer Hastalığı, Dikkat Eksikliği Hiperaktivite Bozukluğu, Endotoksemi, Sepsis, Vagal Aktivite	National Institute of Mental Health (NIMH)
AGS-16C3F	-	Yumuşakça / siyanobakteri	ADC (MMAF)	ENPP3 & mikrotübüller	Kanser: Renal Hücreli Karsinom	[Agensys & Astellas Pharma]
Plokabulin (PM184)	-	Sünger	Poliketid	Minor DNA oluşu	Kanser: Solid Tümörler	[Pharmamar]
Tisotumab Vedotin	HuMax®-TF-ADC	Yumuşakça / siyanobakteri	ADC (MMAF)	Doku faktörü & mikrotübüller	Kanser: Yumurtalık Kanseri, Rahim Ağzı Kanseri, Endometriyum Kanseri, Mesane Kanseri, Prostat Kanseri (CRPC), Baş Boyun Kanseri (SCCHN), Özofagus Kanseri, Akciğer Kanseri (NSCLC)	[GenMab]

Çizelge 1.3. Devam

Ladiratuzumab vedotin (SGN-LIV1A)	-	Yumuşakça / siyanobakteri	ADC (MMAF)	LIV-1 & mikrotubuler	Kanser: Meme Kanseri	[Seattle Genetics]
Briyostatin	-	Bryozoa	Macrolid İlaç	Protein kinaz C	Alzheimer hastalığı	[Neurotrope BioScience]
Telisotuzumab vedotin (ABBV-399)	-	Yumuşakça / siyanobakteri	ADC (MMAE)	c-Met	Kanser: Solid Tümörler	[Abbvie]
Enapotamab vedotin (HuMax-AXL)	-	Yumuşakça / siyanobakteri	ADC (MMAE)	Axl RTK	Kanser: Yumurtalık Kanseri, Rahim Ağzı Kanseri, Endometriyal Kanser	[Genmab]
RC-48	-	Yumuşakça / siyanobakteri	ADC (MMAE)	HER2	Kanser: Ürotelyal Karsinom, İlerlemiş Kanser, Mide Kanseri, İleri evre Meme Kanseri, Solid Tümörler	[RemeGen]
CAB-ROR2 (BA-3021)	-	Yumuşakça / siyanobakteri	ADC (MMAE)	ROR2	Kanser: Solid Tümör, Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri,	[BioAtla]
CX-2029 (ABBV-2029)	-	Yumuşakça / siyanobakteri	ADC (MMAE)	CD71	Kanser: Solid Tümör, Baş ve Boyun Kanseri	[AbbVie & CytomX Therapeutics]
W0101	-	Yumuşakça / siyanobakteri	ADC (MMAE)	IGF-R1	Kanser: İleri evre veya Metastatik Katı Tümörler	[Pierre-Fabre]

Çizelge 1.4. Deniz canlılarından elde edilen ve faz 1 çalışmaları gerçekleştirilen etken maddeler ("Clinical Pipeline of Marine Pharmacology,")

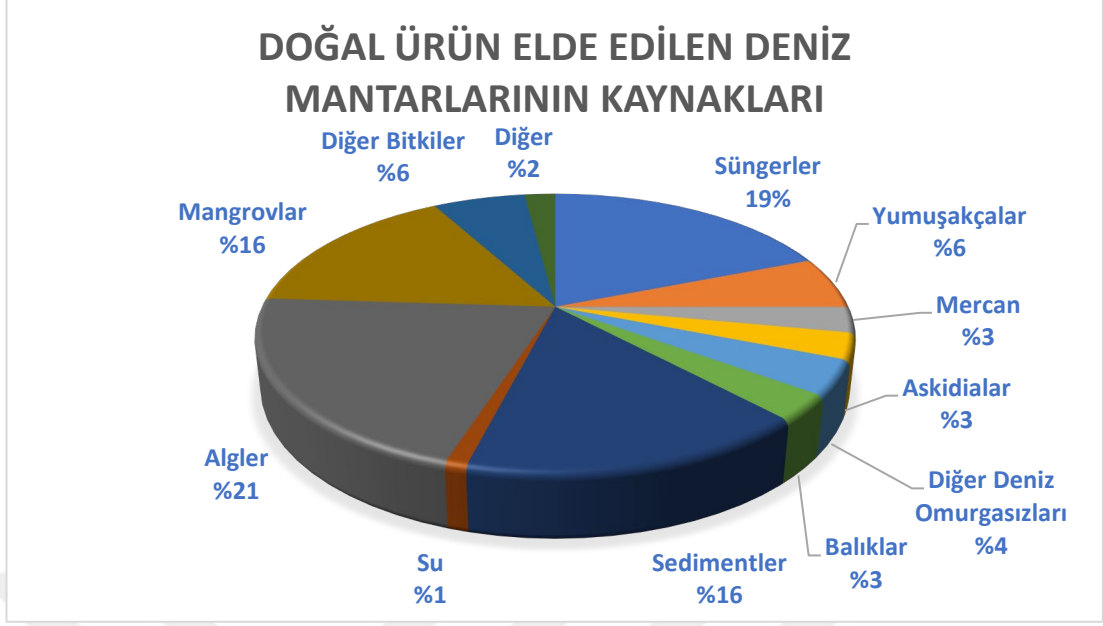
Bileşik Adı	Tescilli Marka	Deniz Canlısı	Kimyasal Sınıf	Moleküler Hedef	Hastalık Alanı	Firma/ Enstitü
ARX-788	-	Yumuşakça / siyanobakteri	ADC (MMAE)	HER2 & Mikrotübüller	Kanser: Meme kanseri, Mide kanseri	[Ambrex & Zhejiang Medicine]
XMT-1536	-	Yumuşakça / siyanobakteri	ADC (Dolafleksin)	NaPi2b & Mikrotübüller	Kanser: Solid Tümörler	[Mersana Therapeutics]
ALT-P7	-	Yumuşakça / siyanobakteri	ADC (MMAE)	HER2 & Mikrotübüller	Kanser: Meme kanseri, Mide kanseri	[3SBio & Alteogen]
MORAb-202	-	Sünger	ADC (Makrolid)	Mikrotübüller	Kanser: Solid Tümörler	[Eisai]
PF-06804103	-	Yumuşakça / siyanobakteri	ADC (Auristatin varyantı)	HER2	Kanser: Meme Tümörleri, Mide Tümörleri, Özofagogastrik Bağlantı Tümörleri,	[Pfizer & AbbVie]
Grifitsin	-	Kırmızı alg	Lektin	Karbonhidrat bağlayıcı	HIV önleme	[Center for Predictive Medicine]
ZW-49	--	Yumuşakça / siyanobakteri	ADC (Auristatin varyantı)	HER2	Kanser: HER2 aracılı Kanserler	[Zyneworks & BeiGene]

1.4. Deniz Mantarları

Mantarlar, bitkiler ve hayvanlarla simbiyotik ilişkiler geliştirdikleri ve çeşitli ekosistemlerde besin zincirinin ayrılmaz bir parçası oldukları karasal ortamlarda yaşamın devamı için gerekli olan mikroorganizmalardır. Karasal biyosferde nem ve herhangi karbon kaynağının bir araya gelmesiyle her yerde mantar oluşumu gözlemlenebilir.

Mantarlar karasal biyosferde sağlık ve hastalığın merkezinde rol oynamasına rağmen deniz mantarlarının işlevi ve potansiyeli hakkında çok daha az şey bilinmektedir. Mantarlar karada oldukları gibi deniz ortamlarında da her yerde bulunur mu? Bu ekosistemlerde karadaki ile aynı veya benzer özelliklere sahipler mi?

Deniz mantarları, araştırmacıların bakmak için ulaştığı her deniz habitatında bulunmaktadır. Hidrotermal menfezlerden, yeraltı derin deniz sedimentlerinden ve kutup buzullarından yüzey sularına, tuz bataklıklarına ve düşük gelgitteki kumsallara kadar her yerde deniz mantarlarına rastlanmaktadır. Deniz mantarları özellikle süngerler, mercanlar, sedimentler, tunikatlar, mangrovlar, algler ve hatta diğer mantarlar gibi birçok canlı türüyle simbiyotik yaşama konusunda oldukça beceriklidir (Şekil 1.24) (Gladfelter ve ark., 2019; Shin, 2020).



Şekil 1.24. Doğal ürün elde edilen deniz mantarlarının kaynakları (Petersen ve ark., 2020)

Yaygın dağılımları ve bollukları göz önüne alındığında, deniz mantarlarının karasal benzerlerinden veya diğere deniz mikroorganizmalarından daha az dikkat çekmesi şaşırtıcı gelmektedir.

Yirminci yüzyıl boyunca, birtakım öncü araştırmacılar, deniz mantarı çeşitliliğini karakterize etmek için zaman alan kültüre alma tekniklerini kullanmıştır ancak bu süreçteki doğal önyargılar, gerçek çeşitliliklerinin değerlendirmesini büyük ölçüde sınırlandırmıştır. Özellikle, zorunlu biyotroflar ve "erken ayrışan soylar" olarak adlandırılan kültüre edilemeyen türler tespit edilememiştir (Jones, 2011).

Deniz mantarları, karasal mantarlara kıyasla önemli zorluklarla karşı karşıyadır. Yüksek tuzluluk oranları, ultraviyole ışık maruziyeti, büyüme için gerekli substratlara sınırlı erişim ve bazı durumlarda zorlayıcı olan hidrostatik basınç gibi durumları tolere etmelidirler. Ayrıca, suda olmak yayılmada belirgin zorlukları da beraberinde getirir (Amend ve ark., 2019).

Okyanuslardaki en belirgin stres, ozmotik ve iyonik strese yol açan yüksek tuzluluktur. Yaklaşık 0,6 M NaCl içermekte olan deniz suyu, esnek olmayan hücre duvarlarına sahip olan ve önemli turgor basıncı altında büyüyen ve bölünen çoğu mantarın büyümesini durdurabilir. Bununla birlikte, deniz mantarları tipik olarak halofilik değildir; bazıları çok yüksek tuzluluğu tolere edebilseler bile bunun için bir tercih göstermezler ve benzer şekilde, deniz dışı mantarların çoğu, deniz suyuna yakın tuz konsantrasyonlarında bir dereceye kadar büyüebilir. Peki mantarlar hipertonic bir ortamda turgoru nasıl kontrol eder? Cevap kısmen, tuz akış pompalarını yukarı yönde regüle eden ve hücresel fonksiyonlarla uyumlu ozmolitler oluşturan yüksek ozmolariteli-gliserol sinyal yolu olarak bilinen korunmuş bir yola bağlı gibi görünmektedir. Diğer bir faktör, mantarların bir canlı üzerinde yaşamaları ve enzim aktivitesiyle üretilen şekerlerin ve diğer ozmolitlerin alımı için rekabet göstermelerinden ötürü yüksek çevresel ozmolit konsantrasyonlarında büyümek için evrimleşmiş olmalarıdır.

Denizde yaşam, tuzluluk toleransına ek uyarlamalar gerektirir. Yüksek ultraviyole maruziyeti, tuzlu deniz ortamlarında yüksek seviyelerde melanin üreten siyah maya olarak adlandırılan oluşumların yaygınlığını açıklayabilir. Kolloid ve balçık yapıları, salgılanan enzimlerin substratta tutulmasında rol oynayabilecek çürüyen odun yapılarında bulunan deniz mantarları tarafından üretilir (Tisthammer ve ark., 2015).

Bir su ortamında yayılmak için bir diğer bariz adaptasyon, bir Flagellum'un varlığıdır; bu durum, bazı su ekosistemlerinde küf mantarlarının (Kistritidler ve Kriptomisetler) bolluğunu açıklayabilir. İlginç bir şekilde, insan patojeni *Candida albicans* (bir konakçıya cevap olarak morfolojiyi değiştiren) akrabaları, hidrostatik basınca yanıt olarak şekli değiştirir, bu da bize göstermektedir ki bu mantar aşırı basıncı tolere etmenin yanında tepki vermiş ve canlılığını sürdürmede bu durumu lehine kullanmıştır (Gladfelter ve ark., 2019).

Güncel veriler ışığında

- 7 şubede,
- 22 sınıfta,
- 88 takım içinde
- 223 familyadan
- toplam
- 753 cinste

1867 deniz mantarı türü bulunmaktadır (Rai, 2020).

Klasik tanımlamaya göre deniz mantarları, zorunlu ve fakültatif deniz mantarları olarak iki gruba ayrılmaktadır (Kohlmeyer ve Kohlmeyer, 1979). Deniz mantarları ile ilgili çalışmaların çoğu algler, mercanlar ve özellikle süngerler gibi spesifik substratlarla ilintili olan deniz mantarlarıyla yapılmıştır. Deniz mantarları sıklıkla alg, sünger, mangrov, mercan, deniz yıldızı gibi canlılarla simbiyotik olarak yaşamlarını sürdürürler. Deniz mantarlarının toplanmasında genellikle konak canlının toplanmasını da gerektirmektedir. Buradan hareketle, karasal habitattan kontamine olarak gelebilecek olan ve deniz ortamında kültür teknikleri kullanılarak elde edilecek mantar suşlarını kapsayabilen nötr bir kavram olan deniz türevi mantar tabiri ortaya çıkmıştır. Mantarlar, derin denizlerden kutup buz örtülerine kadar tüm deniz ortamlarında yaygın dağılım gösterirler ve her türlü canlı ve ölü organik doku üzerinde bulunurlar. Yapılan pek çok araştırma, deniz süngerlerinden izole edilen mantar cinslerinin daha çok *Acremonium*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Phoma* ve *Trichoderma* olduğunu göstermiştir (Wiese ve ark., 2011).

Deniz mantarları yeni ilaç keşfi için, sekonder metabolitler açısından zengin kaynaklardır. Karasal benzerlerine kıyasla az araştırılmış olsalar da önemli bileşikler elde edilmiş olması doğal ürün keşfinde deniz mantarlarını önemli bir konuma getirmiştir. En bilinen örneği olan Sefalosporinler, deniz mantarlarının klinik öneme

sahip benzersiz kimyasallar sunabileceklerini göstermiştir. Mantarlardan Sefalosporin C, Lovastatin gibi önemli ilaç etken maddeleri elde edilmiş ve araştırmacılar ilaç olarak kullanılabilir potansiyeldeki yeni biyoaktif sekonder metabolitleri araştırmak için deniz kaynaklı mantarlara odaklanmışlardır (Javed ve ark., 2011).

1978-1987 döneminde deniz kaynaklı doğal ürünlerle ilgili 2070 yayın yapılmıştır. Bunların arasında sadece 21 tanesi deniz mikroorganizmaları ile ilgili olmuştur. Bu yayınlardan, 22'si bakteri ve mantardan kaynaklanan toplam 3076 metabolit tanımlanmıştır. Sonraki on yıl boyunca (1988-1997), hem toplam yayın sayısında (4791) hem de izole edilmiş metabolitlerin sayısında (7099) % 131'lik bir artış olmuştur. Bununla birlikte, aynı dönemde, mikroorganizmalar üzerindeki araştırmaların sayısında çok daha etkileyici bir artış olmuştur: Sırasıyla % 619 ve % 1016'lık artışa karşılık gelen 246 bileşiği tanımlayan 151 yayın literatüre girmiştir (Kelecom, 2002). 1992 yılına kadar sadece 15 deniz mantar metaboliti tanımlanmıştır (Jensen ve Fenical, 1996) ve bu sayı 2002'ye kadar 270'e yükselmiştir (Bugni ve Ireland, 2004). 2006'dan 2010 ortasına kadar olan sürede Rateb ve Ebel (2011), deniz habitatlarından izole edilen mantarlardan 690 doğal ürünü literatüre kazandırmışlardır.

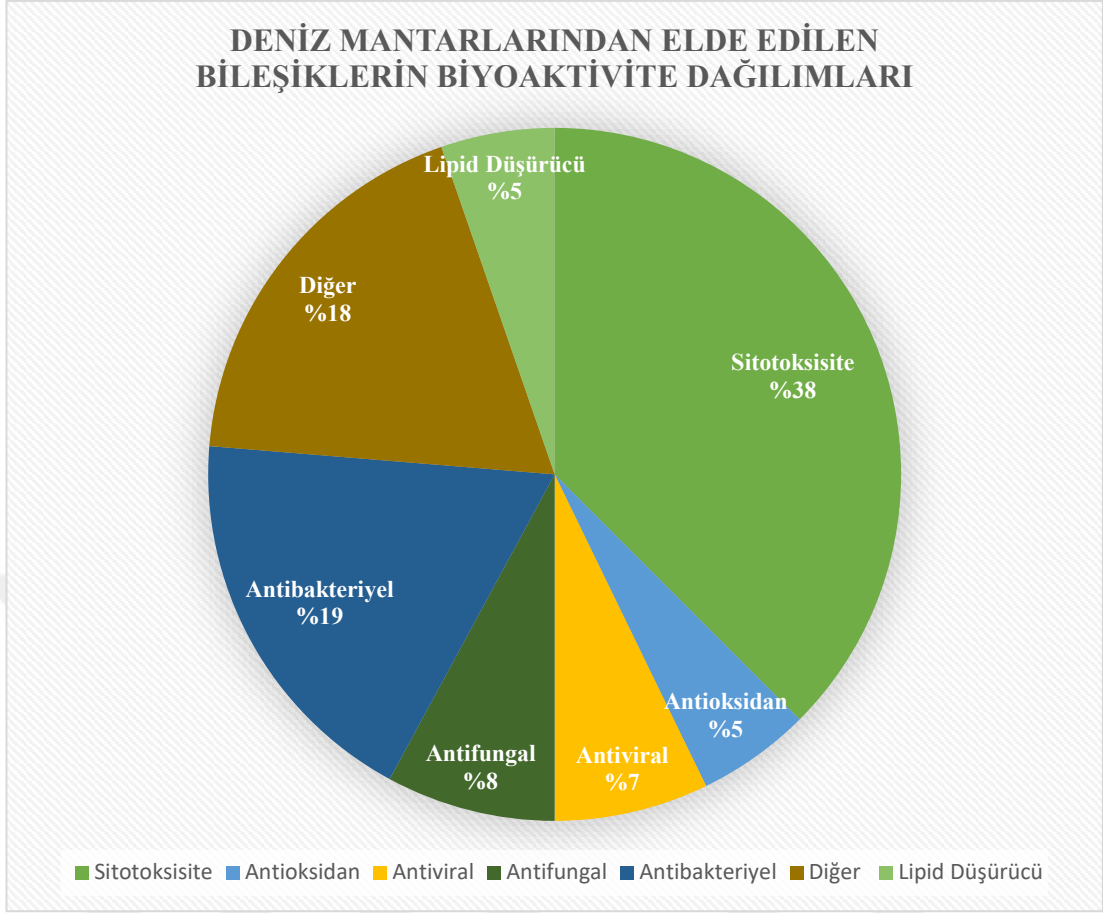
2020 yılında yayımlanan bir makalede derlenen bilgilere göre 2001-2017 yılları arasında Çin'de yapılan çalışmalar sonucunda 613 yeni doğal ürünün izole edildiği, 170 adet yeni doğal ürün ile *Aspergillus* cinsinin en çok yeni doğal ürün elde edilen kaynak olduğu ifade edilmiştir (Liu ve ark., 2020). Deniz mantarlarından sekonder metabolit izolasyon çalışmaları, 2017'de rapor edilen 448 yeni bileşik ile 369 bileşiğin rapor edildiği 2015 ve 328 bileşiğin rapor edildiği 2016 yıllarına kıyasla önemli ölçüde artmıştır ve bu alanda çalışmalar devam etmektedir. (Carroll ve ark., 2019).

1970'li yıllardan günümüze, etken madde saflaştırma ve yapı tayinindeki metotların modernleşmesi ve araştırmacıların işlerini kolaylaştırması ile mikrobiyal

kaynaklardan yeni doğal ürün elde etme oranı beligin bir şekilde yükselmiştir (Stien, 2020).

Deniz mantarlarının neden bu kadar karmaşık ve çeşitli metabolitler ürettiği, tam olarak anlaşılmamış olsa da bu organizmaların, düşük besin maddeleri, düşük sıcaklık, yüksek tuz konsantrasyonu ve yeryüzündeki koşullardan açıkça farklı olan ışık yokluğu ile yüksek basınçlı şiddetli deniz ortamında yaşamaları ve büyük ölçüde kimyasal savunma ile iletişim mekanizmalarının etkili olduğu varsayılmaktadır. Bu metabolitlerin biyosentezi ekolojik, fiziksel ve biyolojik faktörlere bağlıdır ve bu koşullardaki küçük değişiklikler tamamen yeni bir dizi metabolit oluşturabilir (Deshmukh ve ark., 2018).

Bu alana olan ilginin artması nedeniyle, deniz türevi mantarların yeni antikanser, antioksidan, antifungal, antibakteriyel, antienflamatuvar ve antiviral bileşiklerin üretken ve umut verici bir kaynağı olduğu belirlenmiştir (Carroll ve ark., 2020). Günümüze kadar, deniz türevi mantarlardan yüzlerce yapısal olarak eşsiz ve biyolojik olarak aktif bileşik bildirilmiştir (Blunt ve ark., 2009; Bugni ve Ireland, 2004). Jin ve ark. (2016) deniz mantarlarından elde edilen bileşiklerin biyoaktivite dağılımlarını (Şekil 1.25) incelemiştir (Jin ve ark., 2016).



Şekil 1.25. Deniz mantarlarından elde edilen bileşiklerin biyoaktivite dağılımları (Jin ve ark., 2016)

Xiaolei ve ark. (2018)' de yapmış oldukları derlemede *Aspergillus* türlerinden elde edilen sekonder metabolitlerde sitotoksik ve antimikrobiyal aktivitenin en yaygın görülen aktiviteler olduğunu, yapılan çalışmalarda izole edilen sekonder metabolitlerin en çok alkaloidler ve poliketonlar grubundan olduklarını göstermiştir (Şekil 1.26).



Şekil 1.26. *Aspergillus* türlerinden elde edilen sekonder metabolitlerin ait oldukları etken madde gruplarının dağılımı (Xiaolei ve ark., 2018)

Deniz mantarından elde edilen doğal ürüne ünlü bir örnek, bir deniz *Aspergillus* sp.'nin aromatik bir alkaloidi olan Diketopiperazin halimidir, yeşil alg *Halimeda copiosa*'dan izole edilmiştir (Xing ve ark., 1999). Sentetik analogu olan Plinabulin, tübülün depolimerizasyonuna neden olur, böylece tümör hücrelerinin bozulmasına ve ardından tümörün kendisinin nekrozuna yol açarak antitümör aktivite göstermesine neden olur (Gullo ve ark., 2006).

Bir diğer örnek Pontius ve ark. (2008b), *Chaetomium* sp.'den elde ettikleri Çæetoksanton B bileşiği *Plasmodium falciparum*'a karşı selektif antimalaryal etki ($IC_{50} = 0,5 \mu\text{g/mL}$) göstermektedir. Yine yapılan çalışmalardan elde edilen bir başka deniz doğal ürünü olan klorlu benzofenon Pestalon, Bahama Adaları yakınlarında toplanan kahverengi yosun *Rosenvingea* sp. ile ilişkili olan *Pestalotia* sp. mantarından izole edilmiştir. Bu bileşik Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* ve Vankomisine dirençli *Enterococcus faecium* suşlarına karşı, sırasıyla 37 ng/mL ve 78 ng/mL minimum inhibitör konsantrasyonları (MİK) ile güçlü aktivite göstermiştir (Cueto ve ark., 2001).

Bu örnekler, yeni ilaçların gelecekteki gelişimi için yeni deniz mantar türleri üzerinde devam eden araştırma faaliyetlerini teşvik etmektedir. Yaklaşık 22 000 biyoaktif mikrobiyal metabolitin % 38'inin mantar kaynaklı olduğu ve dünya mantar taksonlarının sadece % 5'inin tanımlandığı göz önüne alındığında, mantarlar yeni biyoaktif sekonder metabolitlerin keşfi için büyük bir potansiyel taşımaktadır (Schulz ve ark., 2008).

Bununla birlikte *Aspergillus* cinsi tekrar detaylıca incelenmiş ve bu çalışmalar sonucunda birçok yeni metabolit izole edilmiştir. Bir balıktan izole edilen bir *Aspergillus fumigatus* suşu, spiroheterosiklik g-laktam çekirdekli bir dizi bileşik vermiştir. Bu bileşiklerin asidik metanol ile tepkimeye sokularak bileşiğin enantiyomerleri elde edilmiştir. Moleküler orbital hesaplamalar ile molekül içi bir annülasyon (halkalama) yoluyla Sefalimisiner için uygun bir biyosentetik yol önerilmiştir (Yamada ve ark., 2017). Flavonlar, fenil eter deriveleri, furan ve indol alkaloidi gibi yapılarıdaki diğer bazı metabolitler de *Aspergillus* türlerinden izole edilmiştir. Sünger üzerinde yaşayan *Aspergillus versicolor* mantarından Versiorsinol A, B, C maddeleri elde edilmiştir (B.-Gu ve ark., 2017). Siklik peptid, düz peptitler (Ma ve ark., 2017), liptopeptidil benzofenonlar (Liao ve ark., 2017), benzaldehid deriveleri (Kwon ve ark., 2017), dioksopiperazin alkaloidleri, dioksomorfolin derivesi (Aparicio-Cuevas ve ark., 2017) yapısındaki başka bileşikler de yine *Aspergillus* türlerinden elde edilmişlerdir. *Graphostroma* türlerinden çok sayıda seskiterpen, rezorsinol ve bütirolakton deriveleri, poliketidler izole edilmiştir (Niu ve ark., 2017).

Penicillium türleri her zaman yeni metabolitlerin verimli bir kaynağı olmuştur. Bu türden elde edilen bileşiklerin, alkaloidler (Xu ve ark., 2017), izobenzofuranonlar (Chen ve ark., 2017), poliketidler (Chen ve ark., 2017), kinolinon (Zhang ve ark., 2017), azafilon deriveleri (Cao ve ark., 2017), kladosporin deriveleri (Takahashi ve ark., 2017), dimerik izokumarinler (Chen ve ark., 2017), meroseskiterpenoidler gibi birçok farklı yapıda oldukları görülmüştür (Chen ve ark., 2017).

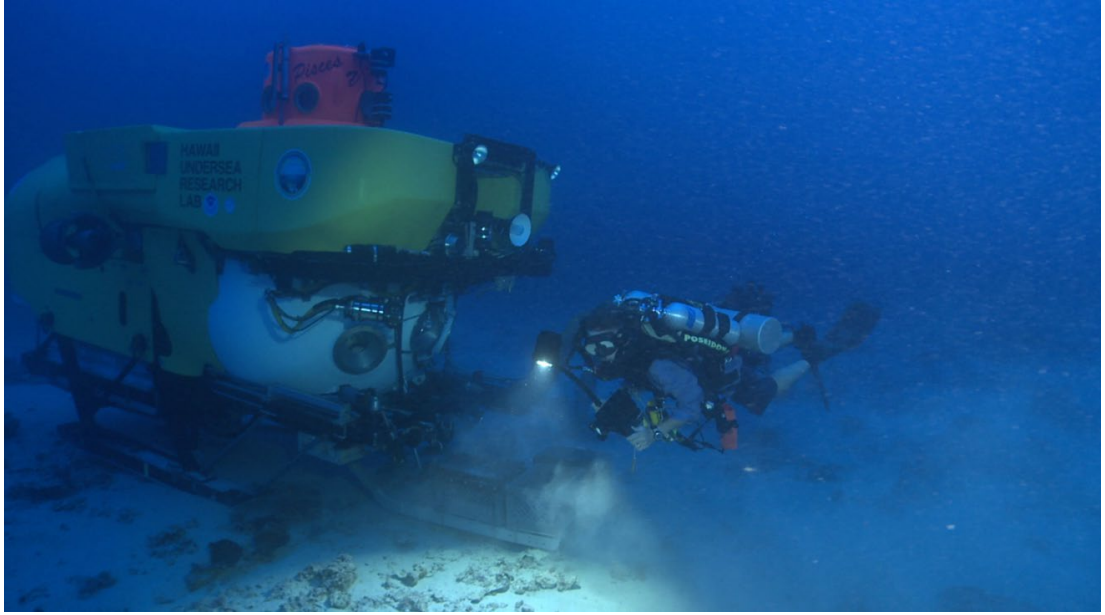
Diğer mantar türlerinden elde edilen yeni metabolitlere örnek verecek olursak; *Scopulariopsis* türlerinden naftokinon ve triterpenoidler (Elnaggar ve ark., 2017), *Stachybotrys* türlerinden izoindolinon türevleri (Yin ve ark., 2017), atranonlar (Li ve ark., 2017), meroterpenoidler (Liu ve ark., 2017) ve seskiterpenler (Li ve ark., 2017), *Stilbella* türlerinden diterpenoidler ve poliketid peptitler (Kildgaard ve ark., 2017), *Talaromyces* türlerinden bisantrakinon (Noinart ve ark., 2017), ergosterol analogu (Dewapriya ve ark., 2017), laktonlar (Küppers ve ark., 2017), hidroantrakinonlar (Li ve ark., 2017) elde edilmiştir.

Deniz ortamından izole edildiği ilk kez bildirilen diğer metabolitler arasında 4"-dehidroksikandidusin (Yurchenko ve ark., 2017), Aspokalasin K (Hao ve ark., 2017), Fuskin, Dihidrofuskin, Dihidrosekofuskin ve Sekofuskin (Navarri ve ark., 2017), Brevikompanin B (Ding ve ark., 2017), 4-hidroksi-3,6-dimetil-2-piron, 4-metoksiizokinolin-1(2H)-on ve N,N-dietil-3-metilbenzamid (Smetanina ve ark., 2017), İzotorkaton, Kartabomon ve Dikoromon (Barra ve ark., 2017) gibi bileşikler de bulunur.

Bilinen bazı mantar sekonder metabolitlerin bazı yeni aktiviteler gösterdikleri bulunmuştur. Penisilinol A1, A2, B1, B2, C1 ve C2 bileşikleri *Candida albicans*'ta biyofilm oluşumunu inhibe etmiş ve mevcut biyofilmi etkin bir şekilde ortadan kaldırmıştır (Wang ve ark., 2017). Siklik peptit Unguisin A'nın, fosfat ve pirofosfata en yüksek afinitesi olan bir dizi anyon için bir reseptör olduğu gösterilmiştir (Ariawan ve ark., 2017). Poliketid Pallidopenilinlerin, çeşitli tahıl mahsul fideleri için büyümeyi uyarıcı olduğu ve Ustusol A'nın parazit olan 3 mantar türüne karşı orta düzeyde aktivite sergilediği bulunmuştur (Cao ve ark., 2017; Chaikina ve ark., 2017).

Daha farklı yapılarda sekonder metabolitlerin izole edilebileceği düşüncesiyle yeni ve olağan dışı koşullardaki habitatlardan mantar izole etme çalışmaları araştırma gruplarınca gerçekleştirilmektedir. Örneğin, Burgaud ve ark. (2009) kültür edilebilir lifli mantarların biyolojik çeşitliliğini araştırmış ve tortu, midye, karides dahil olmak

üzere farklı derin deniz numuneleriyle ilişkili *Ascomycota* ve *Basidiomycota* örneklerinin varlığını ortaya çıkarmıştır. Kültür ortamında çoğaltma yöntemiyle mantar çoğaltılması üzerine yapılan bir araştırmada, *Ascomycota* filumundan birkaç Antarktik süngerden mantar izole edilmiş ve bu mantarlardan antimikrobiyal, antitümöral ve antioksidan potansiyel gösteren sekonder metabolitler elde edilmiştir (Henríquez ve ark., 2014). Ayrıca, derin denizlerin araştırılmasında kullanılan ekipmanların geliştirilmesi ve örnek toplanması için kullanılan yeni teknikler (Şekil 1.27) sayesinde, derin deniz habitatu, deniz mantarı biyolojik çeşitliliği için yeni ve oldukça umut verici bir kaynak olarak ortaya çıkmıştır ve bu duruma bağlı olarak çok sayıda yeni mantar örneği elde edilmiştir (Wang ve ark., 2015). Deniz mikroorganizmaları ve bu mikroorganizmalar içinde deniz mantarları biyoprospektif yaklaşımlarda ilgi gören bir alan olmaya başlamıştır (Fenical, 2020).



Şekil 1.27. Pisces V insanlı dalgıç okyanus keşif cihazı ile deniz derinliklerinden numune toplanması (Wainwright ve ark., 2017)

1.4.1. Deniz Mantarlarıyla Çalışma Koşulları

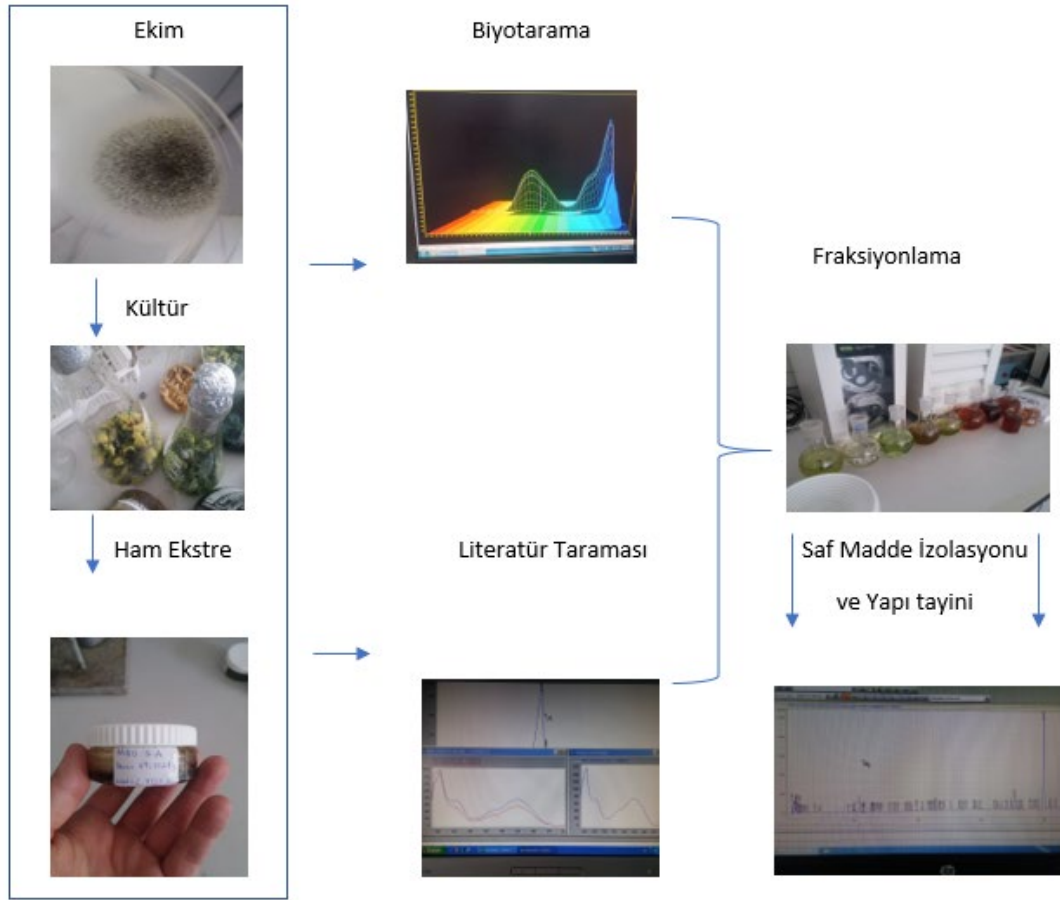
Deniz mantarları, son yıllarda ekosistemlerdeki fonksiyonel rollerinin öneminin artması ve yeni doğal ürünler için önemli kaynaklar olarak dikkat çekmiştir. Çeşitli “omic” teknolojilerin birlikte geliştirilmesiyle biyolojik çeşitlilik, fizyolojik ekoloji ve doğal ürün biyosentezi alanlarında mantar araştırmaları hızlanmıştır. Bu araştırma alanları arasındaki etkileşimler, deniz mantarlarının, ekolojik rolünün ayrıntılı bir şekilde anlaşılması, doğal ürün keşfi için gizli potansiyellerinin açığa çıkarılması ve biyoteknolojik üretime dönük erişim yollarının tasarlanması için büyük önem taşımaktadır.

Deniz mantarları, tür zenginliği, filogenetik dağılım ve doğal ürünleri (NP) bakımından geniş bir çeşitliliğe sahiptir. Diğer deniz organizmaları ile karşılaştırıldığında, deniz mantarlarının ve doğal ürünlerinin çeşitliliği büyük ölçüde ihmal edilmiştir. Henüz tam olarak ortaya konulamamış devasa biyolojik çeşitlilikleri ve neredeyse her yere dağılımları göz önüne alındığında, deniz mantarlarının çeşitliliği sekonder metabolitleri üzerinde yapılan araştırmalarda yeterince ifade edilememektedir. Deniz mantarlarının sekonder metabolitleri üzerine yayımlanan çalışmaların çoğu sadece *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium* ve *Cladosporium* gibi birkaç cins üzerinde odaklanmıştır. Son araştırmalarla birlikte bilim insanları daha fazla cinsi incelemeye başlamış ve bu yeterince çalışılmamış organizma grubu hakkında daha fazla veri sağlamaya başlamıştır.

Yeni nesil DNA sekanslama (NGS) yöntemleri artık çok sayıda ilgili genin saptanması için standart yaklaşım olup (Culligan ve ark., 2014) birçok mantar için genom boyu ilişkilendirme bilgilerinin sağlanmasında büyük ölçüde kullanılmasına rağmen deniz mantarları üzerindeki genom ve genetik veriler ve özellikle sekonder metabolit biyosentez genleri mevcut veri tabanlarında kendisine yeterli ölçüde yer bulamamaktadır (Grigoriev ve ark., 2014).

Deniz mantarı araştırmaları için bir başka dezavantaj, tek taksonlar için toplanan verilerin kapsamlı olmaktan çok uzak olması ve genellikle kamuya açık olmamasıdır. Ancak, veriler ekolojik, taksonomik ve biyoteknolojik araştırmalar için büyük önem taşımaktadır. Ayrıca, birçok çalışmada kültüre bağımlı veya kültüre bağımsız yaklaşımlar kullanılmaktadır ve mevcut veri kümeleri birbiriyle bağlantılı değildir.

Deniz mantarlarından doğal ürün keşfi genellikle klasik kültür temelli izolasyon teknikleri ile deniz habitatlarından izole edilen mantarlardan doğal ürünlerin biyolojik olarak yönlendirilmiş izolasyonu için kimyasal ve biyolojik taramanın birleştirilmesi şeklindeki klasik keşif yaklaşımını izler. Kültür ortamında yapılan çalışmalar ve moleküler çalışmalar, süngerler ve algler gibi deniz makroorganizmalarının mantarlar için zengin bir kaynak olduğunu göstermektedir (Debbab ve ark., 2010). Bu bilgi ışığında, son zamanlarda deniz mantarlarından artan sayıda yeni doğal ürünler izole edilip yapıları aydınlatılmıştır. Bu organizmalar, genellikle farmasötik açıdan çeşitli biyoaktiviteler gösteren ve yeni ilaçların geliştirilmesi için aday olabilecek çok sayıda ilginç sekonder metabolit üretmektedir. Deniz mantarlarından sekonder metabolit izolasyonunda gerçekleştirilen ana süreçler (Şekil 1.28)'de verilmiştir.



Şekil 1.28. Deniz mantarlarından sekonder metabolit izolasyonunda gerçekleştirilen ana süreçler

Biyotarama, doğal ürünlerin keşfinde en yaygın yaklaşım olan doğal ürünlerin izolasyonunu ve yapısal aydınlatılmasını yönlendirmiştir. Son yıllarda, yeni sekonder metabolitlerin mantar kaynakları, saprofitik karasal türlerden ve bitkilerden, deniz habitatlarına kadar genişlemiştir. Deniz mantarlarından doğal ürünler üzerine yapılan çalışmalar artmaya devam etmektedir: diğer canlılar üzerinde yaşayan mantarlar göz önüne alındığında, yayınlanan çalışmaların sayısı her yıl artmakta ve çoğunluğu endofitik türlerden gelmektedir.

Ekoloji ve yaşam koşulları, mantarların sekonder metabolit profili üzerinde büyük bir etkiye sahiptir. Bir petri kabında izole edilen bir mantarın davranışı, doğal ortamından önemli ölçüde farklıdır. Suni laboratuvar koşullarında belirli bir süre boyunca standart bir ortamda bir türün yetiştirilmesinden oluşan klasik deneyler altında deniz mantarının metabolik potansiyelinin sadece küçük bir kısmı gözlenebilmektedir. Bu durum, mantarlardan ilaç keşfi potansiyelini büyük ölçüde sınırlamaktadır (Brakhage, 2013). Bu sorunun üstesinden gelmek için, birçok araştırma ekibi daha geniş bir kemoçeşitlilik elde edebilmek için şifreli biyosentetik yolları çözümlerin yollarını araştırmıştır. Şimdiye kadar, organizmaların birlikte kültüre edilmesinin yanı sıra elisitörler ve epigenetik modifiye ediciler kullanılarak sessiz yolların uyandırılması gibi farklı yöntemler uygulanmıştır (Scharf ve Brakhage, 2013).

1.4.2 Deniz Mantarlarından Elde Edilen Biyoaktif Sekonder Metabolitler

Deniz mantarlarının, yeryüzünde büyüyen karasal mantarlardan farklı olarak ışık yoksunluğu, yüksek tuz konsantrasyonu, düşük ısı, yetersiz besin ve yüksek basınç gibi faktörlere karşı yaşam mücadelesi vermeleri, deniz mantarlarını benzersiz sekonder metabolitler üretebilecek bir noktaya taşımıştır. Bu durumun deniz mantarları üzerindeki ilgiyi artırmasıyla beraber son yıllarda deniz mantarlarından elde edilen biyoaktif sekonder metabolitler üzerine yapılan araştırmaların ve raporların sayısı artmaktadır. Günümüze kadar gelindiğinde deniz mantarlarından elde edilmiş olan biyolojik olarak aktif yüzlerce sekonder metabolit literatürde yerini almıştır ve deniz mantarları üzerine yapılan çalışmalar çoğalmaktadır (Çizelge 1.5) (Ameen ve ark., 2020; Cao ve Wang, 2020; Saleem ve Nazir, 2015; Yi ve ark., 2020).

Çizelge 1.5. Deniz mantarlarından izole edilen bazı sekonder metabolitler ve aktiviteleri

Sekonder Metabolit	Elde Edildiği Deniz Mantarı	Aktivite	Referans
Pirenosetin A	<i>Pyrenochaetopsis</i> sp. FVE-001	Sitotoksik (A-375)	(Fan ve ark., 2020)
Kinoizobütirid A	<i>Penicillium simplicissimum</i> strain WSH17	Antibakteriyel	(Ebada ve Ebrahim, 2020)
Stakibotrilakton B	<i>Penicillium</i> sp. SCSIO41201	Sitotoksik (HL-60, K562)	(Long ve ark., 2020)
(4S)-10-hidroksi-10-metil-11-okso-dodek-2-en-1,4-olid	<i>Streptomyces koyangensis</i>	Antiviral (HSV-1)	(Huang ve ark., 2019)
Disitrinon E	<i>Penicillium citrinum</i> HDN-152-088	Antioksidan	(Wang ve ark., 2019)
Tripilepirazinol	<i>Penicillium</i> sp. IMB17-046	Antiviral (HIV-1)	(Li ve ark., 2019)
İzokromofilon IX	<i>Penicillium sclerotiorin</i>	Antienflamatuvar	Liu ve ark., 2019)
Akremonpeptid B	<i>Acremonium persicinum</i> SCSIO 115	Antiviral (HSV-1)	(Luo ve ark., 2019)
Spirokurvulaid	<i>Curvularia</i> sp. IFB-Z10	Sitotoksik	(An ve ark., 2019)
Antranozit C	<i>Streptomyces</i> sp. CMN-62	Antiviral (H ₁ N ₁)	(Che ve ark., 2018)
Ketrasin E	<i>Acrostalagmus luteoalbus</i> HDN13-530	Sitotoksik (A549, HCT116, K562)	(Yu ve ark., 2018)
Kladosporisteroid B	<i>Cladosporium</i> sp. SCSIO41007	Antiviral (H ₃ N ₂)	(Pang ve ark., 2018)
Trunkateol O	<i>Truncatella angustata</i>	Antiviral (H ₁ N ₁)	(Zhao ve ark., 2018)
Simplisilliumtid J	<i>Simplicillium obclavatum</i> EIODSF 020	Antiviral (HSV-1)	(Liang ve ark., 2017)

Çizelge 1.5. Devam

Deoksinterosin	<i>Streptomyces</i> sp. OUCMDZ-3434	Antiviral (H ₁ N ₁)	(Liu ve ark., 2017)
3-Hidroksi pentasesilid A	<i>Penicillium</i> sp. SCSKFD09	Antiviral (H ₁ N ₁)	(Kong ve ark., 2017)
Penisillosid B	<i>Penicillium</i> sp.	Antimikrobiyal (<i>Escherichia coli</i>)	(Murshid ve ark., 2016)
Kladosin C	<i>Cladosporium sphaerospermum</i>	Antiviral (H ₁ N ₁)	(Wu ve ark., 2014)
Sorbikateşol A	<i>Penicillium chrysogenum</i> PJX-17	Antiviral (H ₁ N ₁)	(Peng ve ark., 2014)
Malettinin E	<i>Cladosporium</i> sp. strain KF501	Antimikrobiyal (<i>Xanthomonas campestris</i>)	(Silber ve ark., 2014)
Albonoursin	<i>Streptomyces</i> sp. FXJ7.328	Antiviral (H ₁ N ₁)	(Wang ve ark., 2013)
Akremolin	<i>Acremonium strictum</i>	Sitotoksosite (A549)	(Julianti ve ark., 2012)
Marilyn A1	<i>Stachydidium</i> sp.	Sitotoksosite (HLE)	(Almeida ve ark., 2012)
Penisillantranin A	<i>Penicillium citrinum</i> PSU-F51	Antimikrobiyal (MRSA SK1)	(Khamthong ve ark., 2012)
ω -hidroksiemodin	<i>Penicillium citrinum</i> PSU-F51	Antimikrobiyal (MRSA)	(Khamthong ve ark., 2012)
Emodin	<i>Penicillium citrinum</i> PSU-F51	Sitotoksik (KB, MCF-7)	(Khamthong ve ark., 2012)
Alterporriol L	<i>Alternaria</i> sp. ZJ9-6B.	Sitotoksik (MDA-MB-435, MCF-7)	(Huang ve ark., 2012)
Trikodermakinon	<i>Trichoderma aureoviride</i> PSU-F95	Antimikrobiyal (MRSA)	(Khamthong ve ark., 2012)
Sitokalsin D	<i>Xylaria</i> sp. SCSIO156	Antimikrobiyal	(Chen ve ark., 2011)
Sitokalsin Q	<i>Xylaria</i> sp. SCSIO156	Sitotoksosite (MCF-7)	(Chen ve ark., 2011)

Çizelge 1.5. Devam

Malformin C	<i>Rhizopus</i> sp. 2-PDA-61	Sitotoksosite (P388)	(Gu ve ark., 2011)
11-epi-çactomugilin I	<i>Chaetomium globosum</i>	Sitotoksosite (P388, HL-60)	(Yamada ve ark., 2011)
Fumigaklavin B	<i>Penicillium viridicatum</i>	Antimikrobiyal	(Kansoh ve ark., 2010)
Penisinolin	<i>Penicillium</i> sp.	Sitotoksosite (95-D, Hep G2)	(Shao ve ark., 2010)
JBIR-97	<i>Tritirachium</i> sp. SpB081112MEf2	Sitotoksik (HeLa, ACC-MESO-1)	(Ueda ve ark., 2010)
Trikodermaketon A	<i>Trichoderma koningii</i>	Antifungal (<i>Candida albicans</i>)	(Song ve ark., 2010)
Siklodepsipeptid IB-01,212	<i>Clonostachys</i> sp.	Leişmanisidal Aktivite	(Luque-Ortega ve ark., 2010)
Trikoderin A	<i>Trichoderma</i> sp.	Antibakteriyel	(Pruksakorn ve ark., 2010)
[(2E,4E)-1-(2,6-dihidroksi-3,5-dimetil-fenil) hekza-2,4-dien-1-on]	<i>Penicillium</i> sp. M207142	Sitotoksosite (HeLa)	(Liu ve ark., 2010)
Deoksiymiselianamid	<i>Gliocladium</i> sp.	Sitotoksosite (U937)	(Yao ve ark., 2009)
Spikokalsin A	<i>Spicaria elegans</i>	Sitotoksosite (HL-60)	(Lin ve ark., 2009)
Meleagrın B	<i>Penicillium</i> sp.	Sitotoksosite (HL-60, A-549)	(Du ve ark., 2009)
Sitrinin	<i>Penicillium</i> sp. i-1-1	Sitotoksosite (A549)	(Zhu ve ark., 2009)
Epoksifomalin A	<i>Phoma</i> sp.	Sitotoksosite (MAXF401NL)	(Mohamed ve ark., 2009)
Ksiloketal B	<i>Xylaria</i> sp. (no. 2508)	Antioksidan	(Zhao ve ark., 2009)
(3R,6R)-bisdetiyodi(metiltiyo)-hyalodendrin	<i>Pleosporales</i> strain CRIF2	Sitotoksosite (A549, HepG2, HCC-S102)	(Prachyawarakorn ve ark., 2008)
Askokitain	<i>Ascochyta</i> sp. NGB	Antimikrobiyal (<i>Bacillus subtilis</i>)	(Kano ve ark., 2008)

Çizelge 1.5. Devam

Sülfoalkilrezorsinol	<i>Zygosporium</i> sp. KNC52	Antimikrobiyal (<i>Pseudomonas aeruginosa</i>)	(Kanoğlu ve ark., 2008)
Çaetoksanton B	<i>Chaetomium</i> sp.	Antimikrobiyal (<i>Plasmodium falciparum</i>)	(Pontius ve ark., 2008a)
Çaetominedion	<i>Chaetomium</i> sp.	Sitotoksosite (p56 lck)	(Abdel-Lateff, 2008)
Şearinin E	<i>Penicillium janthinellum</i> Biourge	Sitotoksosite (JB6 P + C1 41)	(Smetanina ve ark., 2007)
Şearinin D	<i>Penicillium janthinellum</i> Biourge	Sitotoksosite (HL-60)	(Smetanina ve ark., 2007)
Mikrosporin A	<i>Microsporum gypseum</i>	Sitotoksosite (HCT-116)	(Gu ve ark., 2007)
Spisellamid A	<i>Spicellum roseum</i>	Sitotoksosite	(Kralj ve ark., 2007)
Gliokladrid	<i>Gliocladium</i> sp.	Sitotoksosite (A375-S2)	(Yao ve ark., 2007)
1,4,6-trihidroksi-2-metoksi-7-metilantrasen-9,10-dion	<i>Eurotium repens</i>	Sitotoksik (KB, KBv-200)	(Xia ve ark., 2007)
Tetrahidroauroglausin	<i>Eurotium repens</i>	Spermid	(Smetanina ve ark., 2007)
p-hidroksifenopirrozol	<i>Chromocleista</i> sp.	Antimikrobiyal (<i>Candida albicans</i>)	(Park ve ark., 2006)
Gliotoksin	<i>Pseudallescheria</i> sp.	Antibakteriyel (MRSA)	(Li ve ark., 2006)
Awajanomisin	<i>Acremonium</i> sp. AWA16-1	Sitotoksosite (A-549)	(Jang ve ark., 2006)
Trikoderid A	<i>Trichoderma reesei</i>	Sitotoksosite (A375-S2)	(Sun ve ark., 2006)
Zigosporamid	<i>Zygosporium masonii</i>	Sitotoksosite (SF-268, RXF 393)	(Oh ve ark., 2006)
Askokitin	<i>Ascochyta salicorniae</i>	Protein Fosfataz İnhibisyonu (MPtpB)	(Seibert ve ark., 2006)

1.4.3. *Aspergillus* Türlerinden Elde Edilen Biyoaktif Sekonder Metabolitler

Aspergillus genusu ilaç araştırmalarında önemli bir yeri bulunan geçmişten günümüze birçok araştırmacı tarafından çalışılmış bir genustur. Bu bölümde deniz kaynaklı *Aspergillus* türlerinden elde edilen biyoaktif sekonder metabolitlerden bazıları tablo halinde sunulmuştur (izelge 1.6).

Çizelge 1.6. Deniz kaynaklı *Aspergillus* türlerinden elde edilen bazı sekonder metabolitler ve aktiviteleri.

Sekonder Metabolit	Elde Edildiği Deniz Mantarı	Aktivite	Referans
Vioksantin	<i>Aspergillus elegans</i> KUFA0015	Antibakteriyel	(Kumla ve ark., 2021)
Ksantomegnin	<i>Aspergillus elegans</i> KUFA0015	Antibakteriyel	(Kumla ve ark., 2021)
Viomellein	<i>Aspergillus elegans</i> KUFA0015	Antibakteriyel	(Kumla ve ark., 2021)
Asperikasit A	<i>Aspergillus sp.</i> LS78	Antifungal	(Liu ve ark., 2020)
16-O-deasetilhelvolik asit 21,16-lakton	<i>Aspergillus fumigatus</i> HQD24	İmmünostüpresan	(Xu ve ark., 2020)
Asperfenin A	<i>Aspergillus sp.</i>	Antitümör	(Bae ve ark., 2020)
Aspergilsteroid A	<i>Aspergillus sp.</i> LS116	Antibakteriyel	(Xu ve ark., 2020)
şornefin A	<i>Aspergillus alabamensis</i> EN-547	Antimikrobiyal	(Yang ve ark., 2018)
Kokkokinin A	<i>Aspergillus versicolor</i> SCSIO 41502	Antiviral	(Huang ve ark., 2017)
Aspergillipeptid D	<i>Aspergillus sp.</i> SCSIO 41501	Antiviral	(Ma ve ark., 2017)
Kitinaz (EC 3.2.1.14)	<i>Aspergillus terreus</i>	Antimikrobiyal	(Frag ve ark., 2016)
Asteltoksin E	<i>Aspergillus sp.</i> SCSIO XWS02F40	Antiviral	(Tian ve ark., 2016)
Asperolid A	<i>Aspergillus terreus</i>	Sitotoksik	(İbrahim ve ark., 2015)
Spikulisporik asit F	<i>Aspergillus candidus</i> strain HDf2	Antimikrobiyal	(Wang ve ark., 2015)
Spikulisporik asit G	<i>Aspergillus candidus</i> strain HDf2	Antimikrobiyal	(Wang ve ark., 2015)
6-O-demetilmonoserin	<i>Aspergillus sp.</i> OUCMDZ-1583	Antiviral	(Kong ve ark., 2015)

Çizelge 1.6. Devamı

Aspergifuranon	<i>Aspergillus</i> sp. 16-5B	Sitotoksik	(Liu ve ark., 2015)
Rubrolid R	<i>Aspergillus terreus</i> OUCMDZ-1925	Antioksidan	(Zhu ve ark., 2014)
Rubrolid S	<i>Aspergillus terreus</i> OUCMDZ-1925	Antiviral	(Zhu ve ark., 2014)
Aspernolid B	<i>Aspergillus terreus</i>	Antifouling	(Nong ve ark., 2014)
Territrem B	<i>Aspergillus terreus</i>	Asetilkolinesteraz inhibitörü	(Nong ve ark., 2014)
5-metoksidihidrosterigmatisistin	<i>Aspergillus versicolor</i> MF359	Antibakteriyel	(Song ve ark., 2014)
Çevalon E	<i>Aspergillus similanensis</i> KUFA 0013	Antibakteriyel	(Prompanya ve ark., 2014)
Aspokalasin V	<i>Aspergillus</i> sp.	Sitotoksik	(Liu ve ark., 2014)
Pulvik asit	<i>Aspergillus terreus</i> Gwq-48	Antiviral	(Gao ve ark., 2013)
Asperterrestid A	<i>Aspergillus terreus</i> SCSGAF0162	Sitotoksik	(He ve ark., 2013)
Bauverisin	<i>Aspergillus terreus</i> (No. GX7-3B)	Sitotoksik	(Deng ve ark., 2013)
Disidonol A	<i>Aspergillus</i> sp.	Sitotoksisite	(Sun ve ark., 2012)
Guignarenon A	<i>Aspergillus ustus</i> (Bainier)	Sitotoksisite	(Sommart ve ark., 2012)
Brevianamide S	<i>Aspergillus versicolor</i>	Antimikrobiyal (BCG)	(Song ve ark., 2012)
Terremid A	<i>Aspergillus terreus</i> PT06-2	Antibakteriyel	(Wang ve ark., 2011)
Strobilakton A	<i>Aspergillus insuetus</i> OY-207	Antifungal	(Cohen ve ark., 2011)
Aspergilon A	<i>Aspergillus</i> sp.	Sitotoksik	(Shao ve ark., 2011)
3β,11α-dihidroksi ergosta-8,24(28)-dien-7-on	<i>Aspergillus ochraceus</i> EN-31.	Sitotoksik	(Cui ve ark., 2010)
JBIR-03	<i>Aspergillus oryzae</i>	İnsektisid	(Qiao ve ark., 2010)
Asporizin C	<i>Aspergillus oryzae</i>	Antibakteriyel	(Qiao ve ark., 2010)
Asperksanton	<i>Aspergillus</i> sp. MF-93	Antiviral	(Wu ve ark., 2009)
Spirotriprostatin E	<i>Aspergillus fumigates</i>	Sitotoksisite (A549)	(Wang ve ark., 2008)
Nidurufin	<i>Aspergillus niger</i>	Antiviral (TMV)	(Wu ve ark., 2008)
Aspinonen	<i>Aspergillus ostianus</i>	Sitotoksisite	(Kito ve ark., 2007)
Aspergiolid A	<i>Aspergillus glaucus</i>	Sitotoksik (A-549)	(Du ve ark., 2007)

2007 yılından günümüze kadar deniz kaynaklı *Aspergillus* türlerinden elde edilen biyoaktif sekonder metabolitlerin bir kısmı tabloda gösterilmiş olup burada yer verilmeyen daha yüzlerce biyoaktif sekonder metabolit bulunmaktadır. Güncel verilere baktığımızda deniz kaynaklı mantarlardan elde edilen sekonder metabolit Plinabulin, halihazırda faz 3 aşamasında klinik deneylerde olup beyin tümörü ve küçük hücreli olmayan akciğer kanserine karşı denenmektedir (BeyondSpringPharma, 2020).

Deniz mantarlarının yeni ilaç etken maddesi araştırmalarında artan önemi, ülkemizin denizlerle çevrili olması ve henüz yoğun bir araştırma faaliyetine girilmemiş olması üzerine, gerçekleştirilen bu doktora çalışmasında ülkemiz denizlerinde canlılığını sürdüren iki *Aspergillus* türü mantar izole edilerek çalışmak, bu mantarlardan elde edilen sekonder metabolitlerin yapılarını aydınlatmak ve aktiviteleri incelenerek elde edilecek sonuçlarla, ülkemiz deniz kaynaklarının öneminin vurgulanması ve bu kaynakların bilim dünyasına tanıtılması amaçlanmaktadır. Bu sayede ülkemizde bu alandaki çalışmaların artması ve ülkemiz bilim insanlarının bu alanda araştırmalarını sürdürmeleri de hedeflenmektedir.

2. GEREÇ ve YÖNTEM

2.1. Gereç

2.1.1. *Aspergillus terreus*

Mantar alemi, Ascomycota şubesinin Trichocomaceae familyasından olan *Aspergillus terreus* Thom mantarı 2018 yılı Temmuz ayında Marmara denizinden (40°50'33.0"N 29°07'28.9"E) toplanan *Spirorbis* sp. halkalı solucanından elde edilmiştir. Materyal Biyolog Bülent GÖZCELİOĞLU tarafından toplanıp deniz suyu içerisinde laboratuvara aktarımı gerçekleştirilmiştir. Solucanın dış kısmından alınan kesitin uygun besiyeri ortamına ekilmesiyle önce mantar oluşumu beklenmiş daha sonra da mantarın tür teşhisi yapılmıştır. Teşhisi yapılan mantarın, Amerika Ulusal Sağlık Enstitüsü'ne bağlı Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi'nin Uluslararası Nükleotid Dizisi Veritabanı İşbirliği kapsamında oluşturmuş olduğu gen bankasına kaydı yapılmış olup erişim kodu MT273950'dir.

2.1.2. *Aspergillus costaricensis*

Mantar alemi, Ascomycota şubesinin Trichocomaceae familyasından olan *Aspergillus costaricensis* Samson & Frisvad mantarı 2018 yılı Mayıs ayında Çıralı (Antalya)'dan (36°23'44.2"N 30°28'38.6"E) toplanan *Petrosia ficiformis* süngerinden elde edilmiştir. Materyal Biyolog Bülent GÖZCELİOĞLU tarafından toplanıp deniz suyu içerisinde laboratuvara aktarımı gerçekleştirilmiştir. Süngerin dış kısmından alınan kesitin uygun besiyeri ortamına ekilmesiyle önce mantar oluşumu gerçekleşmiş daha sonra da mantarın tür teşhisi gerçekleştirilmiştir. Teşhisi yapılan mantarın, Amerika Ulusal Sağlık Enstitüsü'ne bağlı Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi'nin

Uluslararası Nükleotid Dizisi Veritabanı İşbirliği kapsamında oluşturmuş olduğu gen bankasına kaydı yapılmış olup erişim kodu MT273951'dir.

2.1.3. Kullanılan Kimyasallar ve Ekipmanlar

2.1.3.1. Kullanılan Kimyasallar

- Sabouraud %2 Dekstroz Agar (Sigma-Aldrich)
- Deniz tuzu (Sigma-Aldrich)
- Distile Su (Merck Millipore)
- Ultra Saf Su (Merck Millipore)
- 2,2-Difenil-1-pikril-hidrazil (DPPH) (Merck)
- Silika jel 60 Kolon dolgu materyali (0.04-0.063, Merck)
- Sephadex LH- 20 Kolon dolgu materyali (Sigma-Aldrich)
- Silika jel 60 F254 İnce Tabaka Kromatografisi plağı (Merck)
- 2,2'-Azino-bis(3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonikasit) diamonyum)
- Askorbik asit
- Mueller Hinton Besiyeri (MHB, Difco) (Merck)
- 3-(4,5-dimetil-2-tiyazolil)-2,5-difenil-2H-tetrazoliumbromid
- Mueller Hinton Agar (MHA,Oxoid) (Merck)
- Kersetin (Sigma-Aldrich)
- 6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilikasit

2.1.3.2. Çözücüler

- Hekzan (Merck)

- Etil asetat (Merck)
- Metanol (Merck)
- Petrol eteri (Merck)
- Diklorometan (Merck)
- Aseton (Merck)
- Kloroform (Merck)
- Asetonitril (Merck)

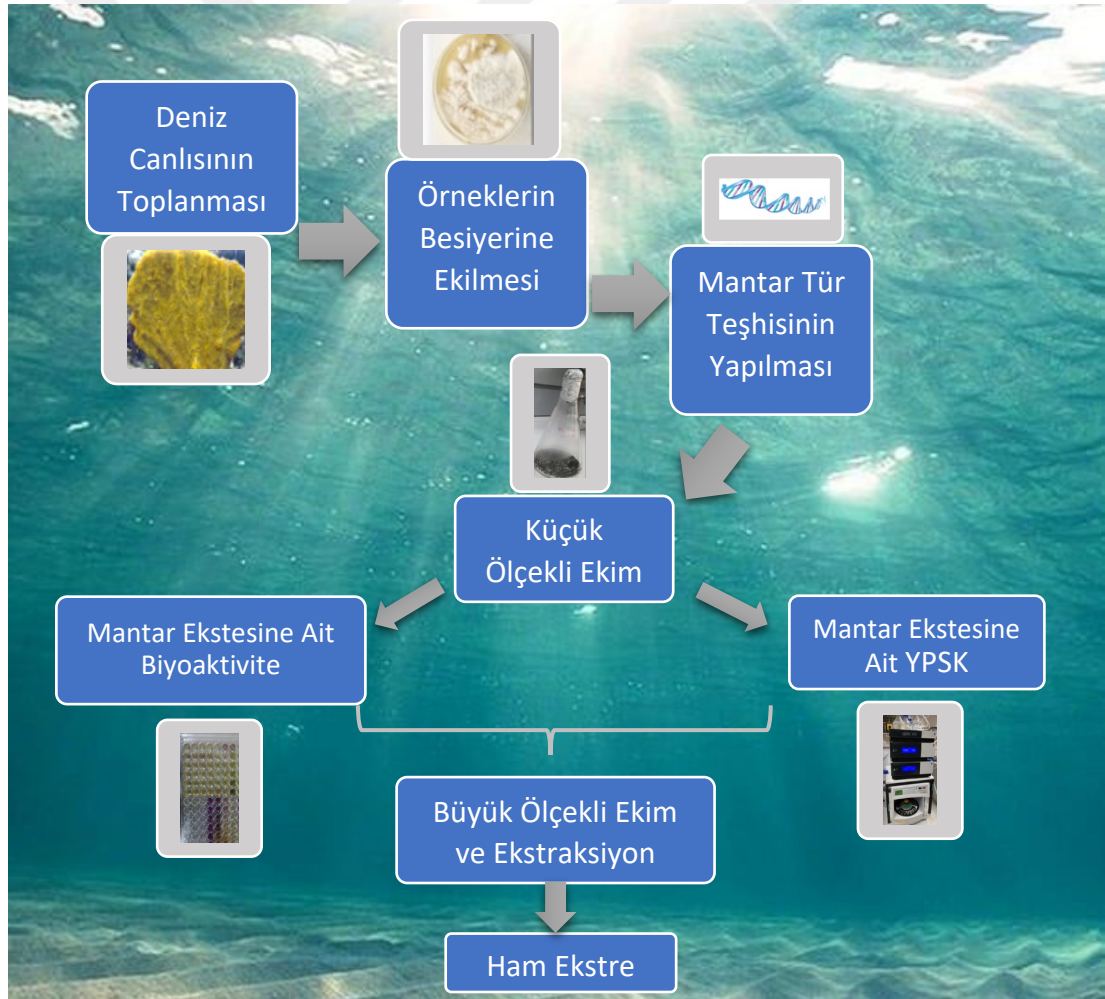
2.1.3.3. Cihaz ve Ekipmanlar

- Laminar flow kabin (Holten)
- Rotavapor R-300 (Büchi)
- Isıtıcı
- Ultrasonik su banyosu
- Shimadzu Spektrofotometre (Japonya)
- UV lambası
- NMR (Agilent, 600 MHz / Bruker, 400 MHz)
- YPSK (Agilent 1100 Serisi)
- YPSK degasser (G1379A)
- YPSK quatpump (G1311A)
- YPSK autosampler (G1329A)
- YPSK column compartment (G1316A)
- YPSK diode array detector (G1315B)
- Zorbax XDB-C18 semipreparatif YPSK kolon (9.4 x 250 mm, 5µm)
- Phenomenex analitik YPSK kolon (9.4 x 250 mm, 5µm)
- Shimadzu Mikroplate okuyucu (Japonya)
- Kuyucuklu mikropalaklar
- Fungal Çeşitlilik Kiti

2.2. Yöntem

2.2.1. Mantar İzolasyonu ve Saflaştırma

Denizden elde edilen canlılar laboratuvar ortamına getirilmekte ve kesitler alınarak besiyerlerine ekilmektedir. Mantarların petride büyümesini takiben önce küçük ölçekli ekimi yapılmakta, YPSK analizleri ve biyoaktivite testleri gerçekleştirilmektedir. Bu sonuçlara göre büyük ölçekli ekim gerçekleştirilerek ekstre eldesi ve fraksiyonlamayı takiben sekonder metabolit izolasyonuna geçilmektedir (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. Deniz canlılarından mantar ham ekstresi elde etmede gerçekleştirilen aşamalar

2.2.1.1. Kullanılan Besiyeri ve Besiyerinin Hazırlanışı

Çizelge 2.1. Canlıların petri kabında büyümesi için hazırlanan katı besiyeri

Bileşen	Miktar
Sabouraud Dekstroz Agar	65 g
Deniz Tuzu	35 g
Distile Su	1000 mL

Besiyeri için kullanılan maddeler bir şişe içerisinde karıştırıldıktan sonra otoklav cihazında 121 °C’de 20 dk tutularak sterilize edilmiştir (Çizelge 2.1). Sterilizasyon işleminden sonra alınan besi ortamı bir müddet soğuduktan sonra steril laminar kabin içerisine alınıp steril petri kaplarına aktarılmış, petri kaplarındaki besiyerinin donması beklenmiştir (Kjer ve ark., 2010).

2.2.1.2 Mantar İzolasyonu

Steril kabin içerisinde *Spirorbis* sp.’nin hem dış yüzeyinden hem de iç yüzeyinden 1x1 cm olacak şekilde kesitler alınmış, steril su ile 3 kez yıkanarak yüzeydeki kirliliklerden arındırılmıştır. Daha sonra parçaların yüzey sterilizasyon işlemi için %70 lik etanol kullanılmış, parçalar etanolde 1-2 dakika süreyle tutulup sonra steril pamuk ile kurutulmuşlardır. Bu işlemden sonra parçalar steril pens yardımıyla içinde besiyeri bulunan steril petri kaplarına aktarılmıştır. Petri kapları parafilmle hava teması kesilecek şekilde kapatılıp etiketlenmiş ve 25 °C’de 14 gün süreyle üremesi için inkübatöre alınmıştır.

Yine aynı şekilde *Petrosia ficiformis*’in hem dış yüzeyinden hem de iç yüzeyinden 1x1 cm olacak şekilde kesitler alınmış, steril su ile 3 kez yıkanarak

yüzeydeki kirliliklerden arındırılmıştır. Daha sonra parçaların yüzey sterilizasyon işlemi için %70 lik etanol kullanılmış, parçalar etanolde 1-2 dakika süreyle tutulup sonra steril pamuk ile kurutulmuşlardır. Bu işlemden sonra parçalar steril pens yardımıyla içinde besiyeri bulunan steril petri kaplarına aktarılmıştır. Petri kapları parafilmle hava teması kesilecek şekilde kapatılıp etiketlenmiş ve 25 °C’de 14 gün süreyle üremesi için inkübatöre alınmıştır (Kjer ve ark., 2010).

2.2.1.3. Mantarların Saflaştırılması

Petri kabına aktarılan kesitlerden aynı petri üzerinde birden fazla mantar üreyebilmektedir. Bu nedenle petriler aralıklarla kontrol edilip farklı mantar büyümleri görülmesi durumunda petri üzerine yayılmış olan farklı mantarlar, steril özeler ile taze hazırlanmış besiyerlerine ayrı ayrı aktarılarak tekrar büyümleri için beklenmiştir (Kjer ve ark., 2010). Saflaştırılmış olan mantarların petri görüntüleri aşağıda verilmiştir (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. Sırasıyla *Aspergillus costaricensis* ve *Aspergillus terreus* mantarlarının petri kabı görüntüleri

2.2.1.4. Saf Mantar Türlerinin Uzun Süreli Saklanması

Saf olarak elde edilen mantarların besiyerinden küçük parçalar Eppendorf tüplerine alınarak gerek görüldüğü takdirde tekrar kullanmak üzere (-80 °C) derin dondurucuda saklanmaktadır (Kjer ve ark., 2010).

2.2.1.5. Mantarların Tür Teşhis Tayinleri

Mikroorganizmalarla çalışıldığı zaman çalışılacak mikroorganizmanın teşhisinin tam ve net yapılması büyük önem arz etmektedir. Bu çalışmada kullanılacak olan mantarların DNA amplifikasyonu yöntemi ile beraber ITS bölgelerinin dizi analizleri yapılarak taksonomik tanıları gerçekleştirilip, saflaştırılmış mantar türlerinin DNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Mantar kültürlerinden DNA izolasyonunda yerli bir kit olan Biospeedy® Fungal DNA İzolasyon kiti (Bioeksen, Türkiye) kullanılmıştır. İzole edilen DNA'ların spektrofotometrik olarak kaliteleri değerlendirildikten sonra mantar türünü tayin etmek üzere PCR tabanlı Biospeedy® Fungal Çeşitlilik Kiti (Bioeksen, Türkiye) kullanılmıştır.

Kit, fungi genomik DNA'sında ITS1-5.8S-ITS2 bölgesine özgü olan ileri primer (TCCTCCGCTTATTGATATGC) ve geri primer (GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG) çiftini ve optimize qPCR (Gerçek Zamanlı PCR) kimyasallarını içermektedir. Tüm reaksiyonlar Biorad CFX Connect (Bio-Rad Laboratories, Amerika) qPCR cihazı kullanılarak yapılmıştır. Cihazda, primer çiftine özgü optimizasyonu sağlanmış ısı döngüsü programı ve qPCR sırasında sadece istenilen ürünün çoğaltıldığını belirlemek için 65°C- 95°C arasında erime eğrisi analizi uygulanmıştır. Sonuçlar q-PCR Biorad CFX Connect Software 3.0'da analiz edilmiştir.

Elde edilen fungal amplikonların sekans dizileri ABI prism Big Dye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit ile ABI Prism 377 DNA Sequencer'da (Applied Biosystems, USA) belirlenmiştir. Her bir fungal örnek için elde edilen sekans dizileri Chromas software package version 1.45'de analiz edilmiştir. Elde edilen sekanslar, NCBI DNA data bankasında ITS bölgesi belirlenmiş bilinen fungal türler ile karşılaştırılmış (BLAST- (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) ve en çok benzeyen türler ile eşleştirilmiştir. Benzerlik oranı ≥ 98 olan türlerin aynı olduğu kabul edilmiştir (Y. Sun ve ark., 2012).

2.2.1.6. Küçük Ölçekli Mantar Ekimi

Küçük ölçekli mantar ekimi için aşağıdaki verilen katı besiyeri kullanılmıştır (Çizelge 2.2). Besiyeri 3 adet 1 litrelik erlende hazırlanmış, hazırlanan besiyerleri ağzıları kauçuk tıpa ile kapatıldıktan sonra otoklov ile 121 °C de 20 dakika süreyle sterilize edilmiştir. -80 °C'de saklanan mantar örneğinden SDA besiyeri ile hazırlanmış olan petri kaplarına ekim yapılmış, büyümeleri için 1 hafta süreyle beklenmiştir. Büyüyen mantarlar katı besiyeri içeren erlenlere aktarılmış ve mantarların yeterli büyüklüğe erişip metabolit üretimini gerçekleştirebilmeleri için, erlenler ışıktan uzak serin ve ayrı bir odada 4 hafta süreyle bekletilmişlerdir. Bu süre sonunda erlenlerin içinde bulunan mantarlar etil asetat ile ekstraksiyona tabi tutulmuşlardır. Küçük ölçekli ekimden elde edilen bu ekstratların İnce Tabaka Kromatografisi ve Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi ile analizleri gerçekleştirilmiştir (Kjer ve ark., 2010).

Çizelge 2.2. Mantarların büyütülmesi için hazırlanan katı besiyeri

Bileşen	Miktar
Pirinç	100 g
Distile Su	100 mL
Yapay Deniz Tuzu	3,5 g

2.2.1.7. Büyük Ölçekli Mantar Ekimi

Büyük ölçekli mantar ekimi için, mantar kaynağı olarak yine -80 °C'de saklanan mantar örneğinin SDA besiyeri içeren petri kaplarına ekimi yapılmış ve 1 hafta süreyle büyümeleri beklenmiştir. Mantarlar büyüdüktan sonra, 2 litrelik 60 erlene küçük ölçekli ekim için hazırlanan ile aynı besiyeri hazırlanıp aktarılmış ve bu erlenler besiyeri ile sterilize edilerek, petrilere büyüyen mantarlar, steril, keskin bir aparat ile küçük parçalara ayrılıp bu erlenlerdeki besiyerlerine aktarılmıştır. Erlenler ağzı kapalı bir şekilde oda sıcaklığında ve ışık görmeyen ayrı bir alanda bırakılmış ve 4 hafta sonra mantarların büyüme durumu kontrol edilerek ekstraksiyon aşamasına geçilmiştir (Kjer ve ark., 2010).

2.2.2. Mantarların Ekstraksiyonu

4 hafta sonunda erlenler alındığında mantar miselyumlarını içeren kültür ortamına miselyumların hizasını geçecek şekilde etil asetat eklenmiştir ve etil asetatın bütün mantar sporlarını ıslatabilmesi ve fermantasyonu sonlandırabilmesi için 24 saat beklenilmiştir. Bu sürenin sonunda erlenlerin kapakları açılmış ve mantar miselyumları parçalanarak, çalkalayıcı cihaz yardımıyla 24 saat ekstraksiyona tabi tutulmuşlardır. Sonra etil asetat kısmı alınarak rotavapor yardımıyla ekstre yoğunlaştırılmış ve çözücü uzaklaştırılmıştır. Erlenlerdeki miselyumlara tekrar etil asetat eklenerek yeniden 24 saat boyunca çalkalayıcı yardımıyla ekstraksiyon yapılmıştır. 4. tekrarın sonunda kültür ortamından etil asetata herhangi bir renk geçişi olmadığı gözlenmiş ve ekstraksiyon bu şekilde sonlandırılmıştır. Toplanan tüm etil asetat fazı rotavapor yardımıyla 38 °C'de yoğunlaştırılmış ve yağlı ekstre elde edilmiştir (Kjer ve ark., 2010).

2.2.3. Sekonder Metabolit İzolasyonu

Her iki mantar ekstresi için elde edilen ekstreler ayrı ayrı vakum sıvı kromatografisi (VSK) metoduyla fraksiyonlara ayrılarak sonrasında ince tabaka kromatografisi, kolon kromatografisi ve YPSK gibi kromatografik yöntemlerle sekonder metabolit izolasyon sürecine başlanılmıştır.

2.2.3.1. Vakum Sıvı Kromatografisi (VSK)

Ham ekstrelerin kaba fraksiyonlara ayrılmasında VSK önemli bir rol oynamaktadır. Kolon kuru yükleme metodu ile kurulmuştur. Kullanılan kolonun çapı 10 cm olup dolgu uzunluğu 35 cm olarak kaydedilmiştir. *Aspergillus terreus* mantarının büyük ölçekli ekimi sonrasında elde edilen ekstre Hekzan ve %90'lık Metanol ile sıvı-sıvı ekstraksiyona tabi tutulmuş, oluşan 2 faz kuruluğa kadar uçurulmuştur. %90'lık Metanol fazı tamamen çözücülerden kurtarıldıktan sonra çok az miktarda aseton içerisinde çözülerek silika jel ile karıştırılmış ve vakum sıvı kromatografisi ile polaritesine göre fraksiyonlara ayrılmıştır. Uygulamada sabit faz olarak silika jel (70-230 mesh) dolgu maddesi, mobil faz olarak sırasıyla Hekzan : Etil Asetat çözücülerinin ve Diklorometan : Metanol çözücülerinin değişen orandaki karışımları kullanılmıştır. *Aspergillus terreus* mantarının %90'lık Metanol fazının 7.06 g olan ekstresi VSK uygulaması sonrasında 8 alt fraksiyona ayrılmış ve fraksiyonlar rotavapor kullanılarak çözücülerinden kurtarılmıştır (Çizelge 2.3).

Çizelge 2.3. *Aspergillus terreus* mantarının %90 Metanollü fazının VSK fraksiyonları

Fraksiyon	Hekzan, mL	Etil asetat, mL	Fraksiyon miktarı, mg
1	300	700	360
	Diklorometan, mL	Metanol, mL	
2	1000	0	1,552
3	900	100	860
4	800	200	1,052

Çizelge 2.3. Devam

5	700	300	965
6	500	500	306
7	300	700	220
8	0	1000	185

Aynı şekilde *Aspergillus costaricaensis* mantarının büyük ölçekli ekimi sonrasında elde edilen ekstre önce %90'lık Metanol ve Hekzan ile sıvı-sıvı ekstraksiyona tabi tutulmuş, fazlar ayrıştırılarak çözücünden kurtarılmıştır. %90 Metanollü faz az miktarda aseton ile çözülüp silika jel ile karıştırılarak vakum sıvı kromatografî uygulamasından geçirilmiştir. Uygulamada sabit faz olarak silika jel (70-230 mesh) dolgu maddesi kullanılmış, mobil faz olarak sırasıyla Hekzan : Etil Asetat çözücülerinin ve Diklorometan : Metanol çözücülerinin değişen orandaki karışımları kullanılmıştır.

Aspergillus costaricaensis mantarının %90'lık Metanol fazının 5.48 g olan ekstresi VSK uygulaması sonrasında 10 alt fraksiyona ayrılmış ve fraksiyonlar rotavapor kullanılarak çözücülerinden kurtarılmıştır (Çizelge 2.4).

Çizelge 2.4. *Aspergillus costaricaensis* mantarının %90 metanollü fazının VSK fraksiyonları

Fraksiyon	Hekzan, mL	Etil asetat, mL	Fraksiyon miktarı, mg
1	400	600	860
2	300	700	650
3	200	800	945
4	100	900	350
	Diklorometan, mL	Metanol, mL	
5	1000	0	1035
6	600	400	284
7	500	500	329
8	400	600	463
9	300	700	153
10	0	1000	90

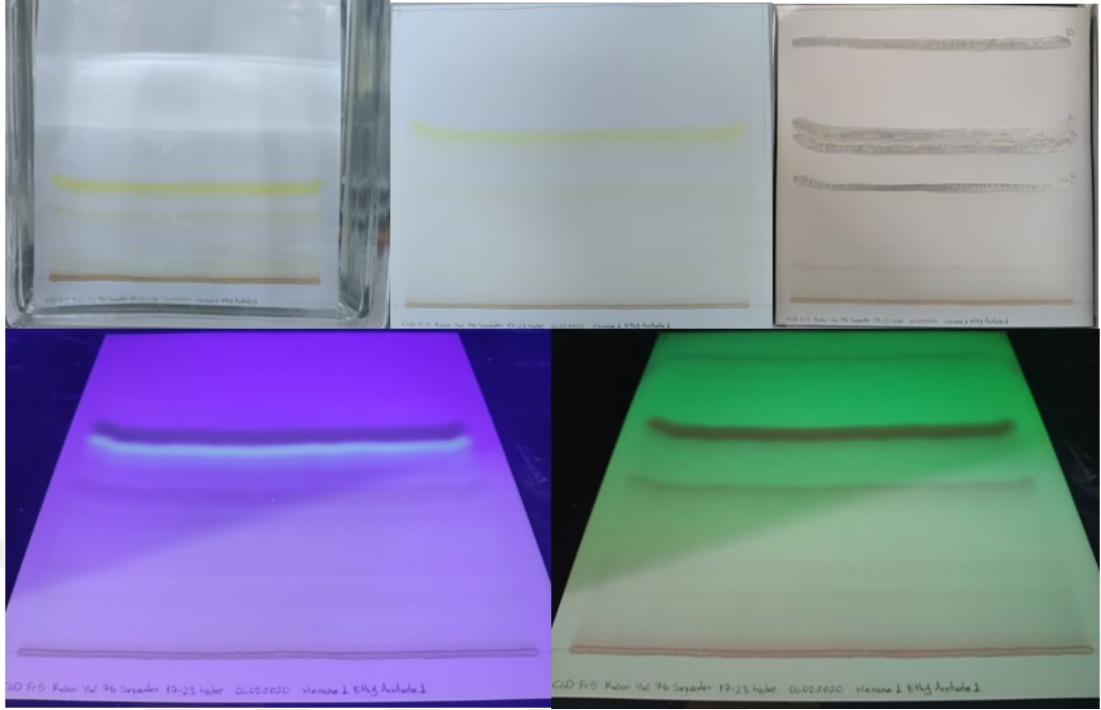
2.2.3.2. İnce Tabaka Kromatografisi (İTK)

İnce tabaka kromatografisi için analiz edilecek ekstre ve fraksiyonlar çok az miktarlarda alınarak çözünebildiği bir çözücü ile sıvı hale getirilmiştir. Sonra bir kılcal pipet yardımıyla sıvı haldeki numune alınıp hazır İTK plağının üzerine uygulama yapılmış ve plak uygun çözücü sistemi ile doyurulmuş olan İTK tankının içine yerleştirilerek çözücü sisteminin plak üzerinde yürümesi takip edilmiştir (Çizelge 2.5). Çözücü sistemi plağın üstten 1 santimetre altına ulaştığında plak tanktan çıkarılarak kurutulmuş ve 254 ile 366 nm UV ışık altında plak üzerinde oluşan lekeler gözlenmiştir.

Çizelge 2.5. Farklı polaritedeki maddelerin ayırımında kullanılan İTK çözücü sistemlerinin gösterimi

Ayrılmak İstenen Bileşik Polaritesi	Kullanılan Çözücü Sistemi
Nonpolar Bileşikler	Hekzan : Etil Asetat 8:2
	Petrol Eteri : Etil Asetat 4:1
	Petrol Eteri : Etil Asetat 2:1
Semipolar ve Polar bileşikler	DCM : MeOH 10:0,3
	DCM : MeOH 9,5 : 0,5
	CH ₃ Cl : MeOH 9:1

İTK analizi sonucunda preparatif İTK metodu ile saflaştırılmaya uygun görülen maddeler preparatif İTK uygulaması yapılarak saflaştırılmıştır (Şekil 2.3).



Şekil 2.3. *Aspergillus costaricensis* mantarının %100 DCM fraksiyonunun alt fraksiyonuna uygulanan semipreparatif İTK çalışması

2.2.3.3. Açık Kolon Kromatografisi

Vakum sıvı kromatografisinden elde edilen fraksiyonlar ile yapılan İTK analizleri ve YPSK analizleri incelenerek kolon kromatografisi ile ayrımı yapılabilecek olan fraksiyonlar belirlenmiştir. Bu fraksiyonlar silika jel veya sefadex dolgu maddesi ile doldurulmuş olan kolona uygulanmıştır. Analizler sonucunda polaritelerine göre rahat ayırım yapılabileceği düşünülen fraksiyonlar doğrudan silikajel kolona uygulanmıştır. Madde polaritelerinin birbirine çok yakın olduğu fraksiyonlarda madde kaybına da meydan vermemesi sebebiyle sefadex kolona uygulama yapılmış ve maddelerin molekül büyüklüklerine göre ayrılıp ayrılmadığı gözlenmiştir. Dolgu materyalinde çatlama olması riskini azaltmak için hem silika jel kolonlarda hem sefadex kolonlarda ıslak yükleme metodu kullanılmıştır.

2.2.3.4. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (YPSK)

Vakum sıvı kromatografisinden elde edilen fraksiyonlar YPSK ile analiz edilmiş ve YPSK ile sekonder metabolit izolasyonu için uygun olan fraksiyonlar belirlenmiştir. Bu fraksiyonlardan, semi-preparatif kolon kullanılarak, analiz gradient çözücü sisteminde gerçekleştirilen modifikasyonlar sonucunda, her bir fraksiyondan madde toplanabilmesi için ideal çözücü sistemi bulunarak etken madde izolasyonu gerçekleştirilmiştir. YPSK analizlerinde Agilent 1100 Series YPSK sistemi kullanılmış olup cihazda, , column compartment (G1316A) ve diode array detector (G1315B) kompartmanları bulunmaktadır. Analiz çalışmalarında örnekler 20 µl hacminde, semipreparative çalışmalarda 40 µl hacminde enjeksiyon gerçekleştirilmiştir. 190 nm den 400 nm'ye kadar olan tüm dalga boyları bütün çalışmalarda kaydedilmiştir. Analiz çalışmalarında kullanılan gradient çözücü sistemi aşağıda verilmiştir (Çizelge 2.6).

Çizelge 2.6. Analitik YPSK analizlerinde kullanılan gradient çözücü sistemi

Süre	Ultra Saf Su (%)	Asetonitril (%)	Akış hızı (ml/dk)
0	90	10	1,000
5	90	10	1,000
10	70	30	1,000
15	60	40	1,000
20	40	60	1,000
30	30	70	1,000
40	20	80	1,000
55	90	10	1,000
60	90	10	1,000

2.2.4. Biyoaktivite Çalışmaları

Mantar ekstreleri elde edildikten sonra bu ekstreler üzerinde antioksidan, antimikrobiyal ve sitotoksik aktivite testleri yapılmıştır. Mantarlardan izole edilen ve yapısı aydınlatılan maddeler üzerinde antialerjik ve antienflamatuvar biyoaktivite testleri yapılmıştır.

2.2.4.1. Antimikrobiyal Aktivite

Antimikrobiyal duyarlılık testi, modifiye mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak bakteriler için CLSI M07-A9'da mayalar için CLSI M27-A3'de belirtilen standartlara göre uygulanmıştır. Kapalı mikropalakalar nemli ortamda 35 °C'de bakteriler için 24 saat, mayalar için 48 saat inkübe edilmiştir. Ekstrenin mikroorganizmanın makroskopik büyümesini tamamen inhibe ettiği en düşük konsantrasyon minimum inhibisyon konsantrasyonu olarak kabul edilmiştir. Bu test için Gram pozitif olarak; *Staphylococcus aureus* ATTC 25923, *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 35984 ve *Bacillus subtilis* ATCC 6633, Gram negatif olarak; *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Klebsiella pneumoniae* RSKK 574 ve maya olarak *Candida albicans* 10231 ve *Candida parapsilosis* ATCC 22019 kullanılmıştır (Neumann, 2008).

2.2.4.2. Antienflamatuvar Aktivite

İnsan nötrofilleri, bildirilen prosedürü takiben sağlıklı yetişkin gönüllülerin (20-30 yaş) venöz kanından elde edilmiştir (Korinek ve ark., 2017). Aktive edilmiş

nötrofiller tarafından süperoksit anyon oluşumunun ölçümü, referans kaynaktan belirtildiği üzere ferrisitokrom c'nin azaltılmasına dayanmaktadır. Aktifleştirilmiş nötrofiller tarafından elastaz salımı, referans alınan yöntem doğrultusunda elastaz substratı olarak N-metoksisukinil-Ala-Ala-Pro-Val-p-nitroanilid kullanılarak belirlenmiştir. Konsantrasyon, ham ekstratlar için 1 ila 10 µg/mL ve saf bileşikler için 0,3 ila 10 µM olarak hazırlanmıştır. Pozitif kontrol olarak Genistein kullanılmıştır (Ebada ve ark., 2020).

2.2.4.3. DPPH Radikal Süpürücü Aktivite

Antioksidan aktivitenin tayininde DPPH maddesi sık kullanılan bir serbest radikaldir. Bu metotta süpürücü etkinlik DPPH radikali kullanılarak ölçülmektedir. Antioksidan kapasite DPPH radikalinin antioksidan bir madde tarafından indirgenmesi yolu ile saptanır. Bu metot basit ve hızlı olup kullanılan materyaller açısından uygun maliyetli bir antioksidan aktivite ölçüm yöntemidir.

Serbest radikal süpürücü aktivite testi DPPH maddesi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Farklı konsantrasyonlarda (40000, 20000, 10000, 5000, 2500, 1250, 625, 312,5 ; 156,25 ; 78,125 µg/mL örnekler) (50 µl) kuyucuklarda (96'lık-eliza plakları) hazırlanmış olup her örneğin üzerine DPPH çözeltisinden (150 µl) ilave edilmiştir. 30 dakika 37°C ve karanlıkta inkübe edildikten sonra örneklerin çözünmesinde kullanılan Dimetilsülfoksit (DMSO) ile oluşan köre karşı 517 nm'de absorbansları kaydedilmiştir. Kontrol olarak, herhangi bir numune eklenmeden DMSO üzerine DPPH çözeltisi eklenmiş ve ölçüm yapılmıştır. Azalan absorbans geriye kalan DPPH çözeltisi miktarını yani serbest radikal süpürücü aktivitesini vermiştir. Absorbanslar 3 kez tekrar okunmuş ve ortalamaları alınarak sonuçlar değerlendirilmiştir. Sonuçların değerlendirilmesinde referans olarak Askorbik asit ve Kersetin maddeleri kullanılmıştır. (Shirwaikar ve ark., 2006). Sonuçlar GraphPad

Prism programında nonlinear regresyon metoduyla inhibitör logaritma değerine karşı cevap değeri okunarak değerlendirilmiştir.

2.2.4.4. ABTS Radikali Süpürücü Aktivitesinin Tayini

2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit) (ABTS) radikali, 7 mM ABTS çözeltisi ve 2.45 mM potasyum persülfat çözeltisi arasındaki reaksiyonla oluşturulup 12-16 saat oda sıcaklığında karanlıkta bekletilmiştir. Kullanmadan önce metanol ile (pH=7,4), absorbans 734 nm'de $0,7 \pm 0,025$ olacak şekilde seyreltilmiştir. Farklı konsantrasyonlarda (40000, 20000, 10000, 5000, 2500, 1250, 625; 312,5; 156,25; 78,125 $\mu\text{g/mL}$) örnekler (25 μL) kuyucuklarda (96'lık-eliza plate) hazırlanmış ve her örneğin üzerine ABTS+ çözeltisinden (275 μL) ilave edilmiştir. Örneklerin absorbansları 734 nm'de 1-6 dakika süresinde okunmuştur. Elde edilen sonuçlar hem IC_{50} olarak hem de Troloks eşdeğerine karşı elde edilmiştir. Troloks eğrisini elde etmek için 8 farklı konsantrasyon (2,45; 1,22; 0,612; 0,306; 0,153; 0,076; 0,03; 0,01 mM) Troloks hazırlanmış ve 25 μL her konsantrasyon üzerine 275 μL ABTS' çözeltisi eklenerek absorbans 734 nm'de okunmuştur (M. H. Huang ve ark., 2011). Absorbanslar 3 kez tekrar okunmuş ve ortalamaları alınarak sonuçlar değerlendirilmiştir. Sonuçların değerlendirilmesinde referans olarak Askorbik asit ve Kersetin maddeleri kullanılmıştır. Sonuçlar GraphPad Prism programında nonlinear regresyon metoduyla inhibitör logaritma değerine karşı cevap değeri okunarak değerlendirilmiştir.

2.2.4.5. Alkalin DMSO Yöntemiyle Süperoksit Radikal Süpürücü Aktivitesinin Tayini (SO)

Alkalin DMSO yöntemi deney ortamında, DMSO tarafından oluşturulan süperoksit radikali, NBT (Nitro Mavi Tetrazolyum) ile renkli diformazan bileşiği

oluşturmasına dayanmaktadır. Bu yöntemde 1 mL alkalin DMSO (0.9 ml DMSO + 0,1 mL 5 mM NaOH) üzerine 0,1 mL NBT (1 mg/mL) ve 0,3 mL farklı konsantrasyonlarda ekstre (40000, 20000, 10000, 5000, 2500, 1250, 625, 312,5; 156,25; 78,125 µg/mL) ilave edilmiştir ve son hacmin 1,4 mL olmasına dikkat edilerek 560 nm'de absorbans ölçülmüştür (Harput ve ark., 2011). Absorbanslar 3 kez tekrar okunmuş ve ortalamaları alınarak sonuçlar değerlendirilmiştir. Sonuçların değerlendirilmesinde referans olarak Askorbik asit ve Kersetin maddeleri kullanılmıştır. Sonuçlar GraphPad Prism programında nonlineer regresyon metoduyla inhibitör logaritma değerine karşı cevap değeri okunarak değerlendirilmiştir.

2.2.4.6. Nitrik Oksit Radikal Süpürücü Aktivitesinin Tayini (NO)

Her ekstreten farklı konsantrasyonda (40000, 20000, 10000, 5000, 2500, 1250, 625,312,5, 156,25, 78,125 µg/mL) 60 µL 96'lık plaklara konulmuştur. Ekstrelerin üzerine 60 µL sodyum nitroprusit (10 mM) ilave edilip ve 25 °C de 150 dakika bekletilmiştir. Daha sonra üzerine 120 µL Griess reaktifi (%1 sülfanilamit, %0,1 naptiletilen diamin dihidroklorit, %2,5 H₃PO₄) eklenip, ve 577 nm'de absorbans ölçülmüştür (Tsai ve ark., 2007). Absorbanslar 3 kez tekrar okunmuş ve ortalamaları alınarak sonuçlar değerlendirilmiştir. Sonuçların değerlendirilmesinde referans olarak Askorbik asit ve Kersetin maddeleri kullanılmıştır. Sonuçlar GraphPad Prism programında nonlineer regresyon metoduyla inhibitör logaritma değerine karşı cevap değeri okunarak değerlendirilmiştir.

2.2.4.7. Antialerjik Aktivite Tayini

Mukozal mast hücresinden türetilmiş sıçan bazofilik lösemi hücreleri (RBL-2H3), Bioresource Collection and Research Center'dan (Hsin-Chu, Tayvan) temin edilmiştir. Hücreler, 10 cm hücre kültürü kaplarında % 10 fetal sığır serumu (FBS), 100 U/mL penisilin ve 100 µg/mL streptomisin içeren Dulbecco'nun değiştirilmiş

Eagle's medyasında (DMEM) % 5 CO₂ ile nemlendirilmiş hava olan bir bölmede 37 ° C'de kültüre alınmıştır. Numunelerin (ham ekstre için 10 ila 100 µg/mL ve saf bileşikler için 1 ila 400 µM) bazofilik lösemi hücre hattı (RBL-2H3) üzerindeki potansiyel sitotoksik etkileri, Korinek ve ark. (2016) gerçekleştirmiş olduğu [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolyum bromür] MTT testi baz alınarak belirlenmiştir (Korinek ve ark., 2016).

2.2.4.8. Sitotoksik Aktivite Tayini

Mantar ekstrelerinin sitotoksik etkinliklerinin ölçülmesinde Mossman tarafından geliştirmiş olan ölçüm metodu kullanılmıştır. HCT-116 kolon kanseri hücreleri (2×10⁴ hücre / kuyucuk) 96'lık ve 39'luk plaklara ekilmiştir. %5 CO₂ içeren 37 °C sıcaklığa sahip inkübatörde 24 saat inkübe edildikten sonra, kuyucuklardaki besiyeri değişik konsantrasyonlardaki (1-2000 µg/mL) ekstre çözeltilerini içeren taze besiyeri ile değiştirilmiştir. Hücreler, ekstreler ile 24 saat inkübe edildikten sonra, her bir kuyucuktaki besiyeri aspire edilmiştir. Stok MTT solüsyonu 5 mg/mL konsantrasyonda fosfat tampon çözeltisinde (PBS) hazırlanmıştır ve kuyucuklara eklenecek 4 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrasında canlı hücrelerdeki dehidrogenaz enzimi MTT'yi mor renkli formazan yapısına indirgemıştır. Süre sonunda kuyucuklara, oluşan formazan kristallerinin çözünmesini sağlamak amacıyla 100'er µL DMSO ilave edilmiş ve 550 nm'de absorbanslar okunmuştur (Mosmann, 1983). Absorbanslar 3 kez tekrar okunmuş ve ortalamaları alınarak sonuçlar değerlendirilmiştir. Sonuçların değerlendirilmesinde referans olarak Kamptotesin maddesi kullanılmıştır. Sonuçlar GraphPad Prism programında nonlineer regresyon metoduyla inhibitör logaritma değerine karşı cevap değeri okunarak değerlendirilmiştir.

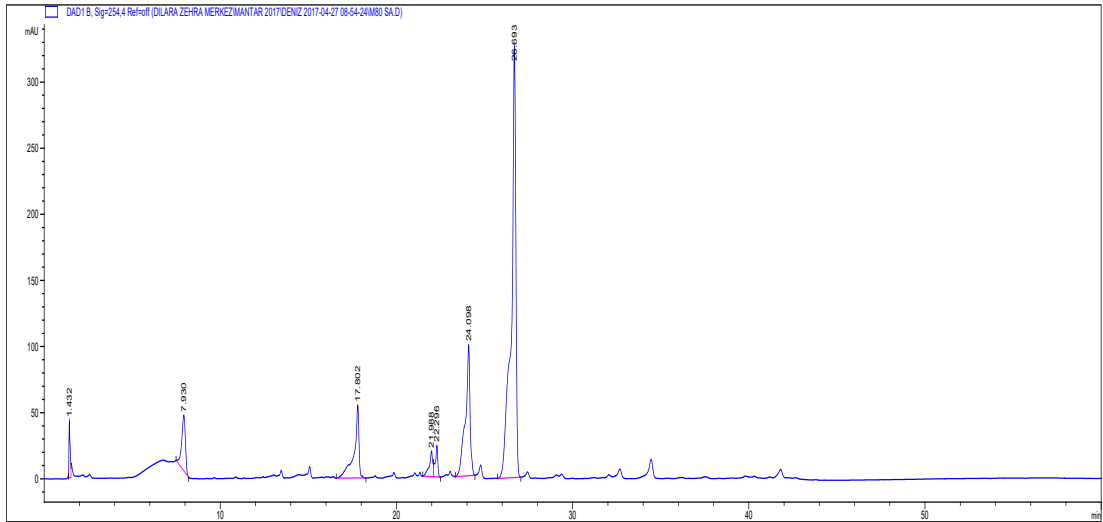
3. BULGULAR

3.1. Kromatografi Analizlerine Dair Bulgular

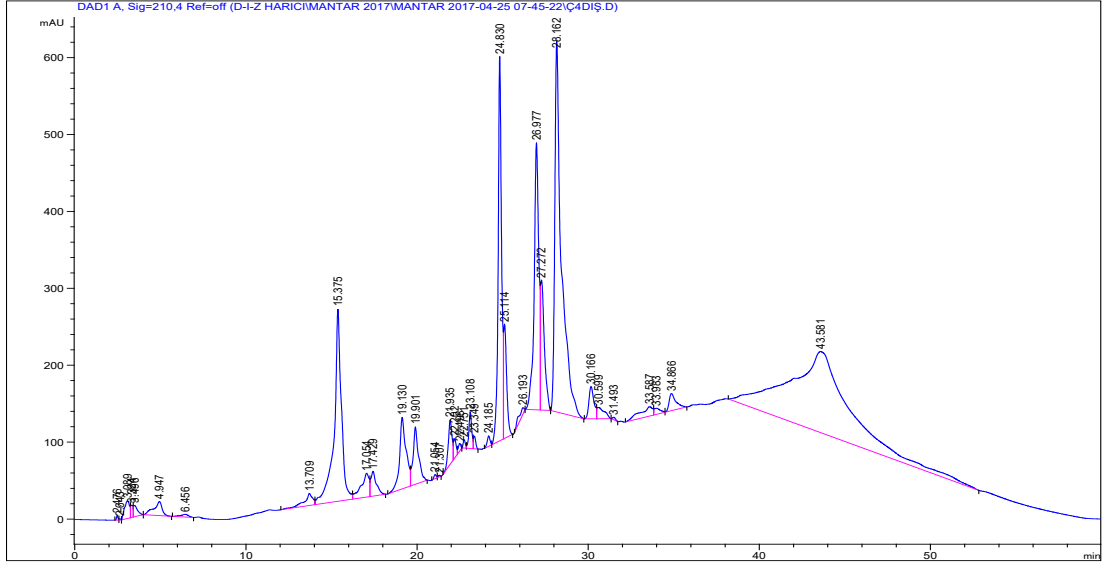
3.1.1 Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografi Analizleri

Çalışılan mantar ekstreleri ve fraksiyonlarının sekonder emtabolit içeriklerinin kontrol edilmesi ve sekonder metabolit izolasyonuna geçilebilmesi için YPSK analizleri ile değerlendirilmeleri yapılmıştır.

Etil asetat rotavaporda uçurularak elde edilen kuru ham mantar ekstreleri metanol ile çözülerek YPSK analizine tabi tutulmuşlardır. Yapılan analizlerde her iki mantar ekstresinin de birden çok maddenin izolasyonu için elverişli olduğu görülmüştür (Şekil 3.1 ve Şekil 3.2).

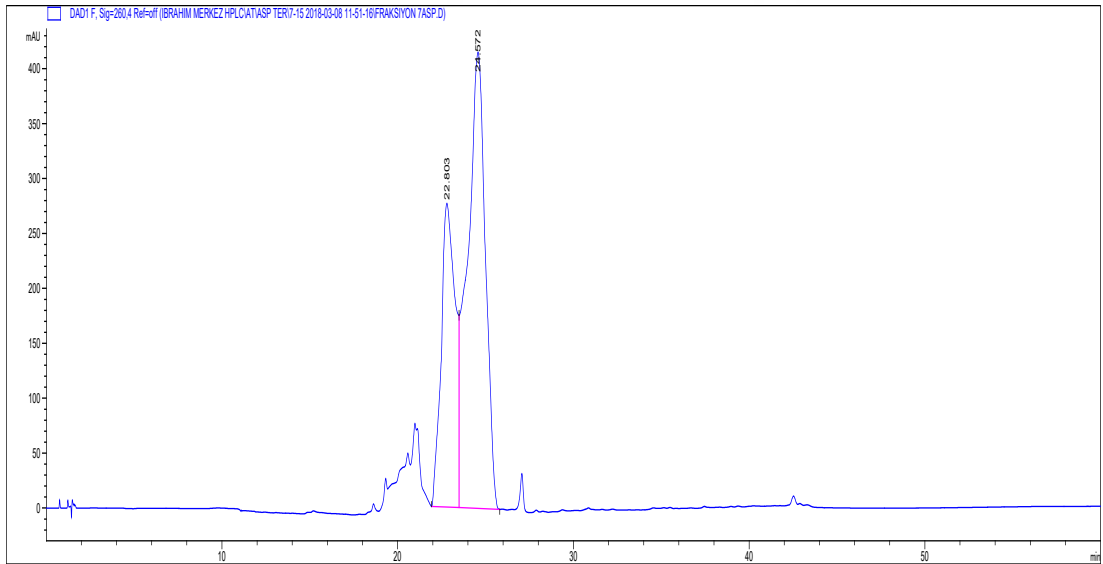


Şekil 3.1. *Aspergillus terreus* mantar ekstresinin YPSK Profili



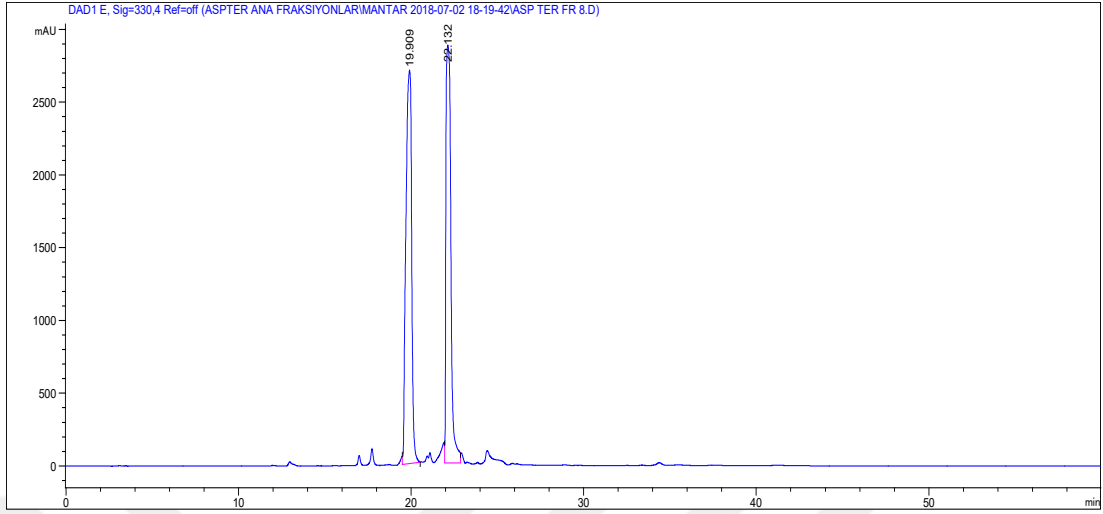
Şekil 3.2. *Aspergillus costaricaensis* mantar ekstresinin YPSK Profili

Aspergillus terreus ve *Aspergillus costaricaensis* mantarlarına ait ham ekstratlar VSK ile fraksiyonlandıktan sonra YPSK analizleri yürütülmüştür. *Aspergillus terreus* mantarının 1. fraksiyonu Şekil 3.3.'te verilmiştir.



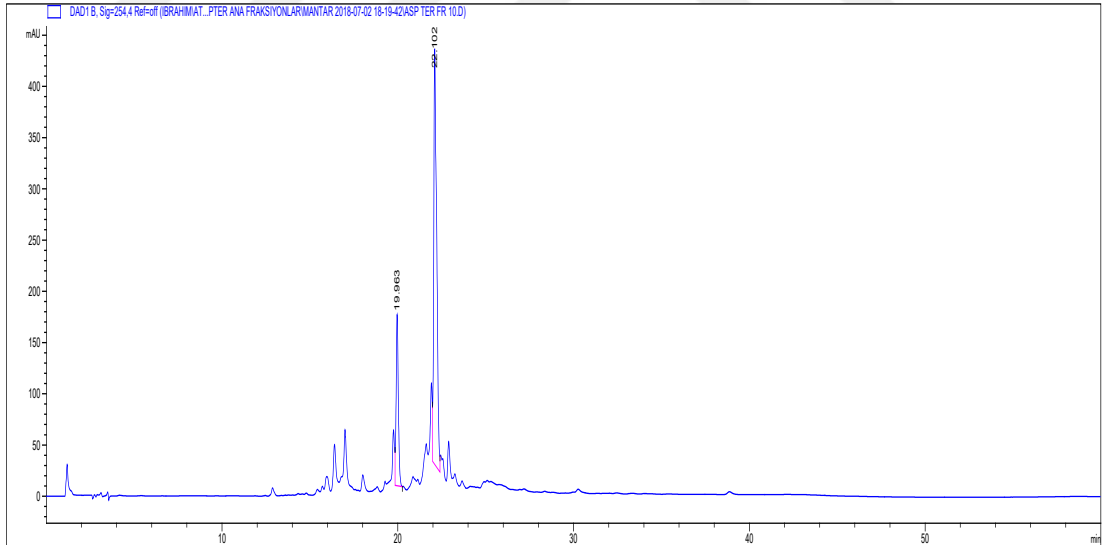
Şekil 3.3. *Aspergillus terreus* Fraksiyon 1 YPSK kromatogramı

Aspergillus terreus mantarının 2. fraksiyonu Şekil 3.4.'te verilmiştir.



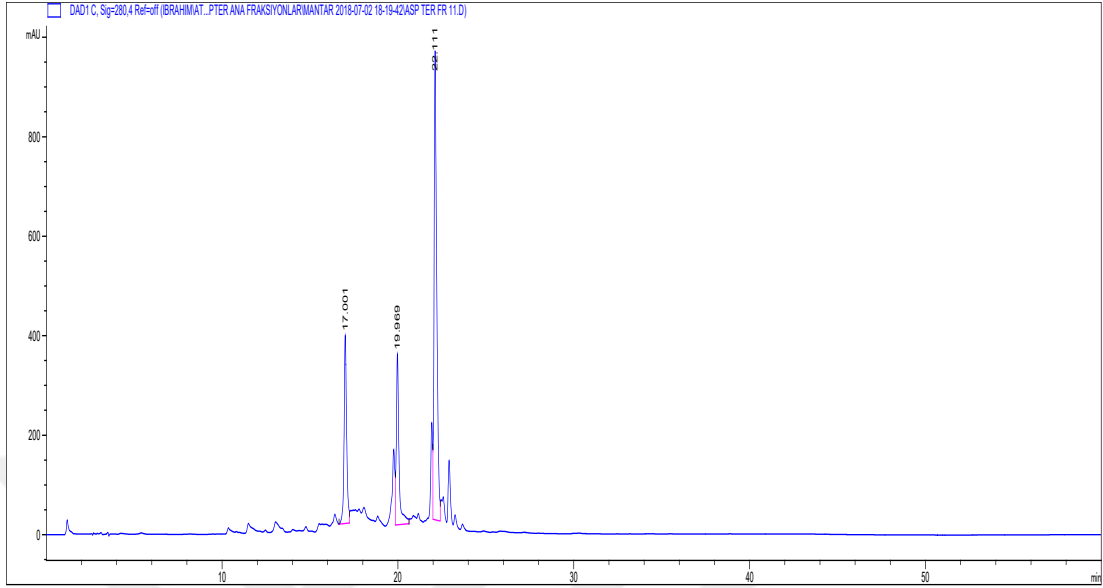
Şekil 3.4. *Aspergillus terreus* Fraksiyon 2 YPSK kromatogramı

Aspergillus terreus mantarının 3. fraksiyonu Şekil 3.5.'te verilmiştir.



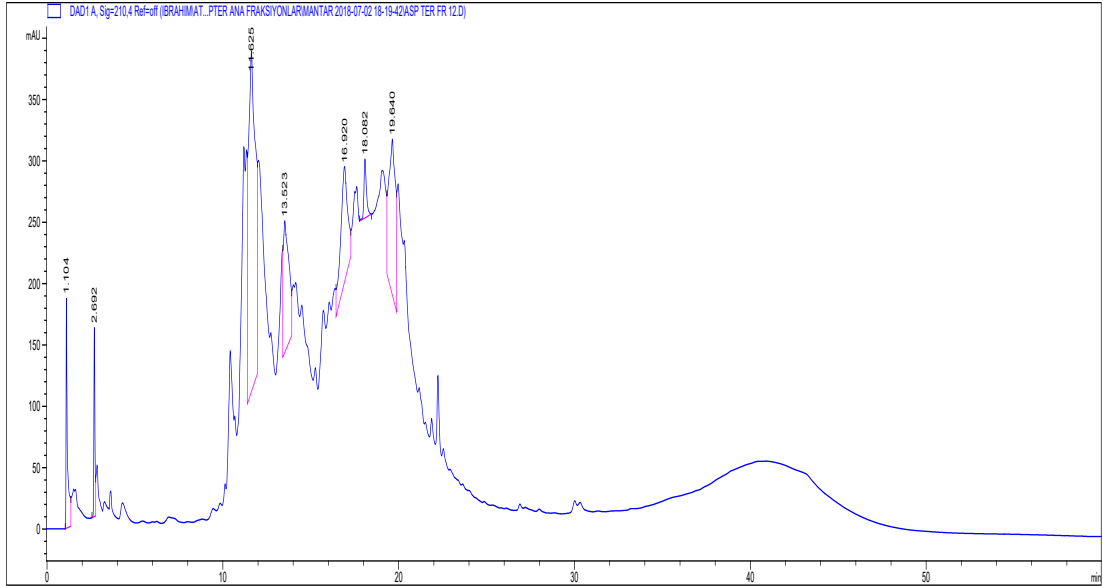
Şekil 3.5. *Aspergillus terreus* Fraksiyon 3 YPSK kromatogramı

Aspergillus terreus mantarının 4. fraksiyonu Şekil 3.6.'da verilmiştir.



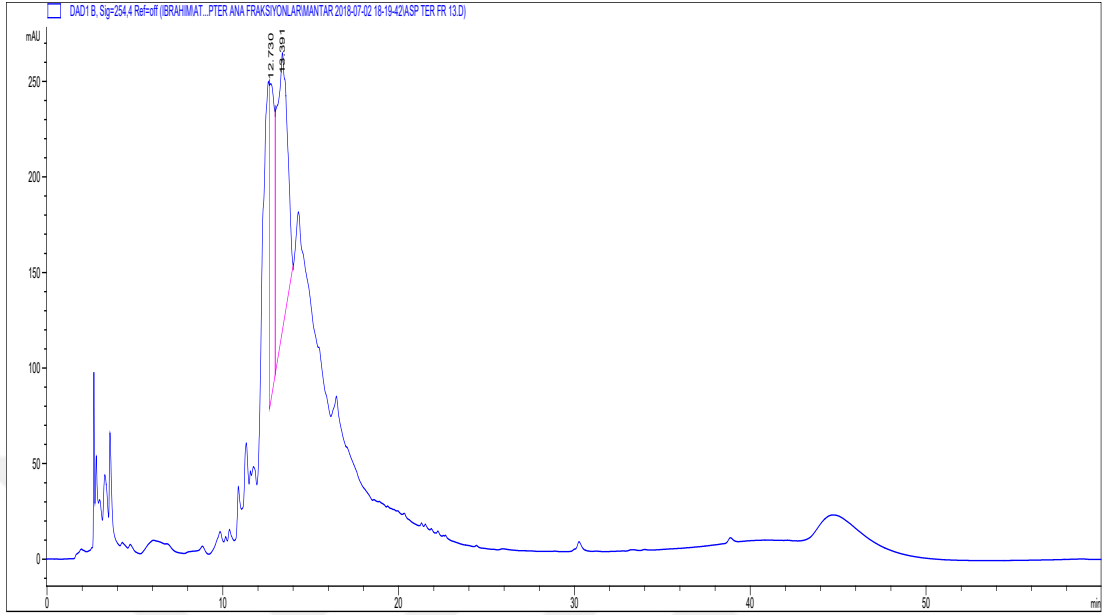
Şekil 3.6. *Aspergillus terreus* Fraksiyon 4 YPSK kromatogramı

Aspergillus terreus mantarının 5. fraksiyonu Şekil 3.7.'de verilmiştir.



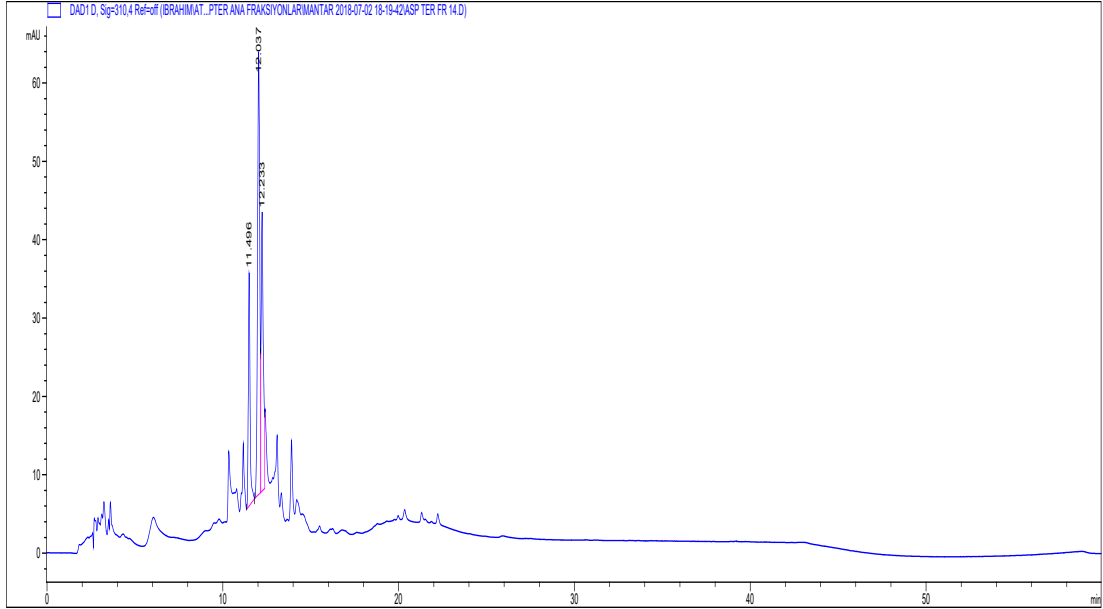
Şekil 3.7. *Aspergillus terreus* Fraksiyon 5 YPSK kromatogramı

Aspergillus terreus mantarının 6. fraksiyonu Şekil 3.8.'de verilmiştir.



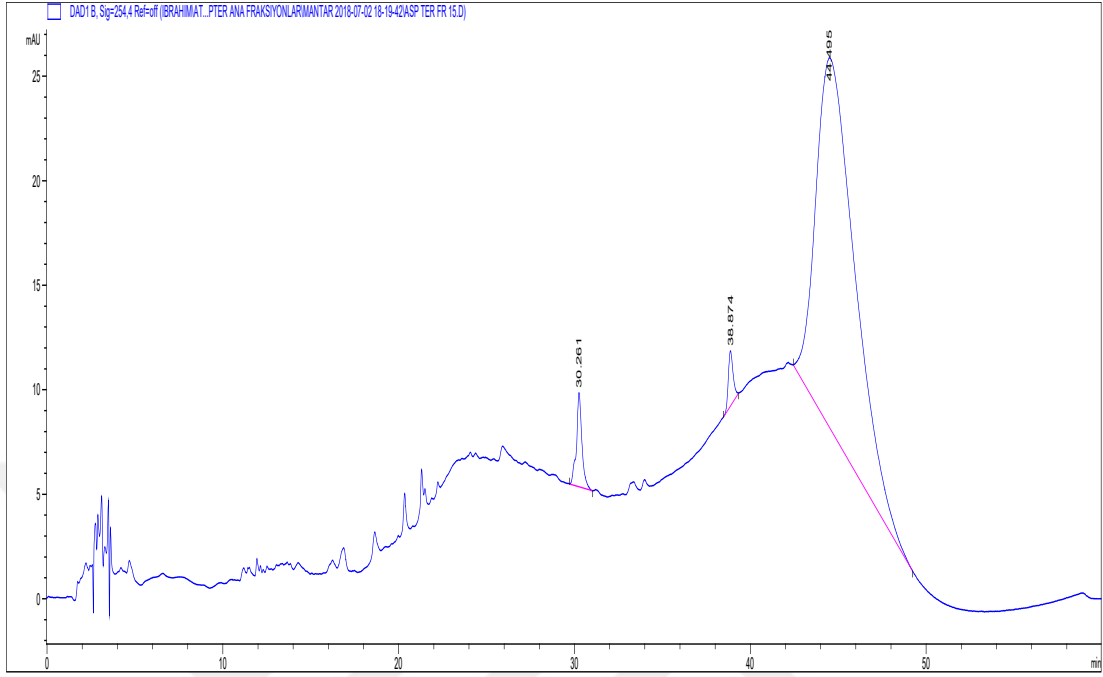
Şekil 3.8. *Aspergillus terreus* Fraksiyon 6 YPSK kromatogramı

Aspergillus terreus mantarının 7. fraksiyonu Şekil 3.9.'da verilmiştir.



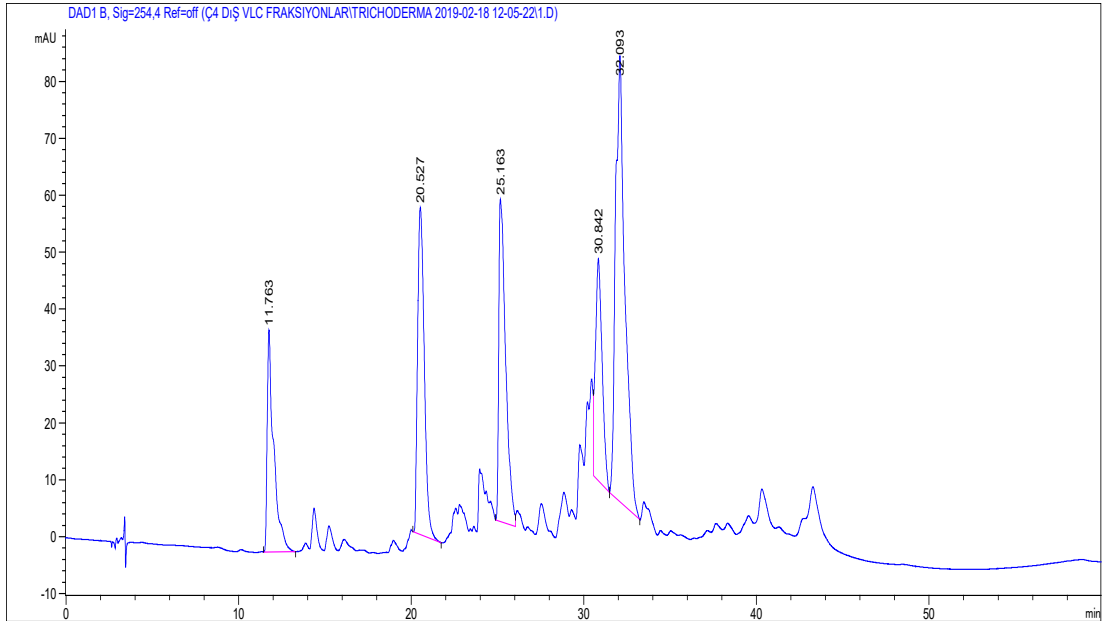
Şekil 3.9. *Aspergillus terreus* Fraksiyon 7 YPSK kromatogramı

Aspergillus terreus mantarının 8. fraksiyonu Şekil 3.10.'da verilmiştir.



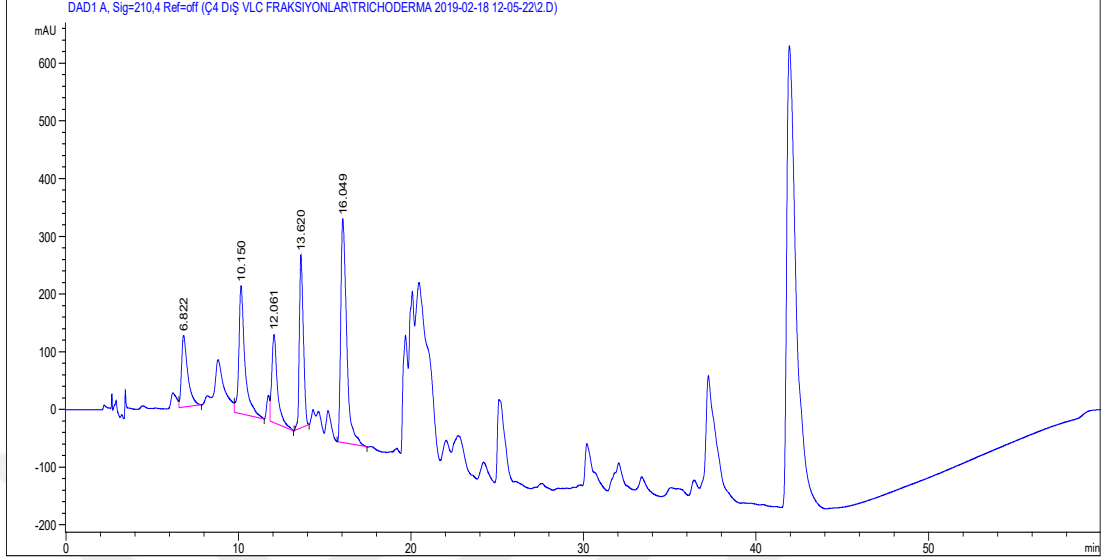
Şekil 3.10. *Aspergillus terreus* Fraksiyon 8 YPSK kromatogramı

Aspergillus costaricaensis mantarının 1. fraksiyonu Şekil 3.11.'de verilmiştir.



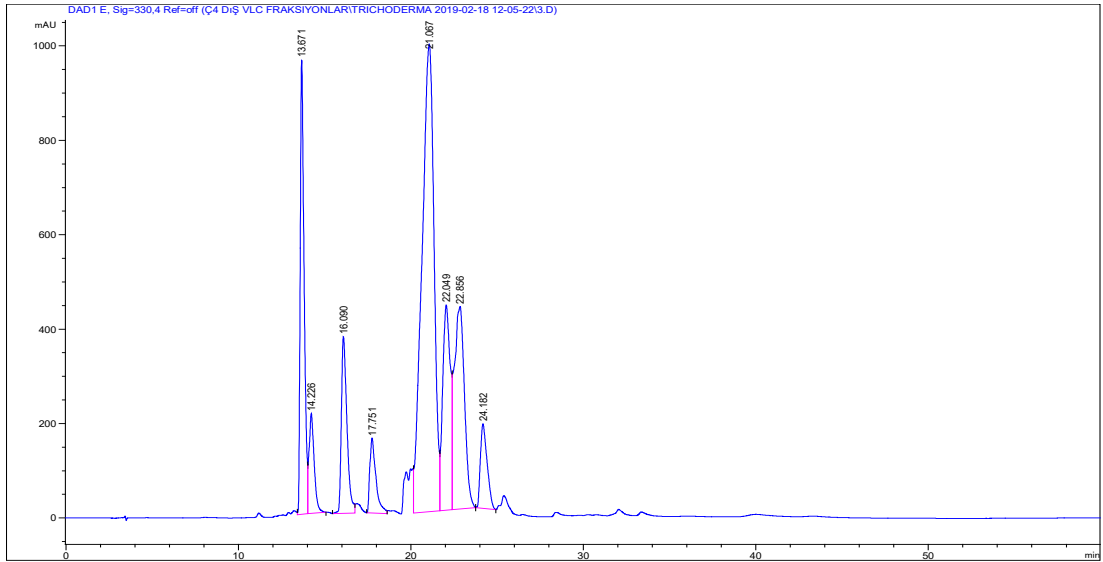
Şekil 3.11. *Aspergillus costaricaensis* Fraksiyon 1 YPSK kromatogramı

Aspergillus costaricaensis mantarının 2. fraksiyonu Şekil 3.12.'de verilmiştir.



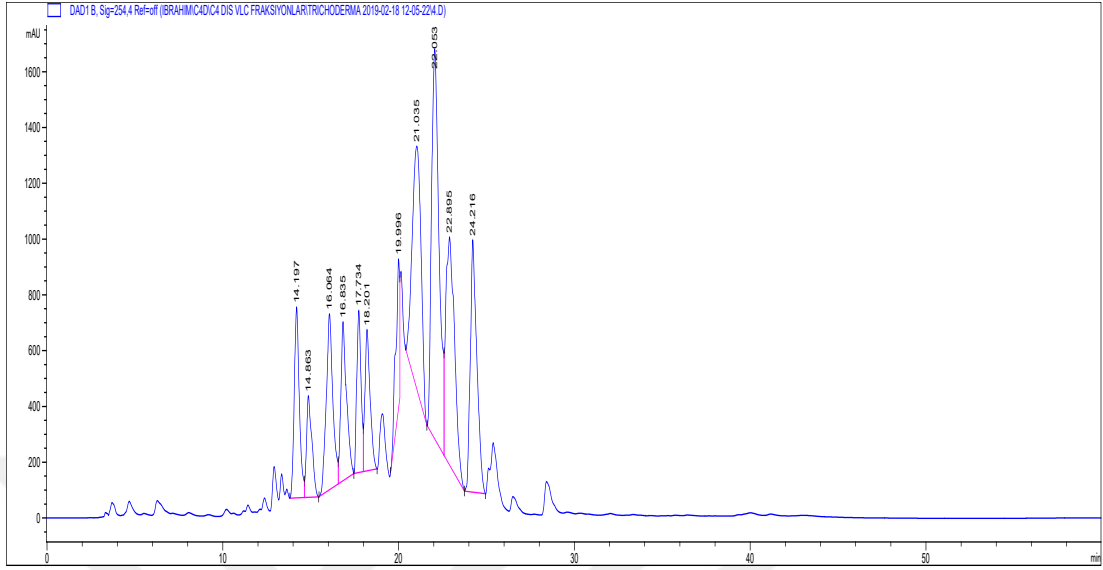
Şekil 3.12. *Aspergillus costaricaensis* Fraksiyon 2 YPSK kromatogramı

Aspergillus costaricaensis mantarının 3. fraksiyonu Şekil 3.13.'te verilmiştir.



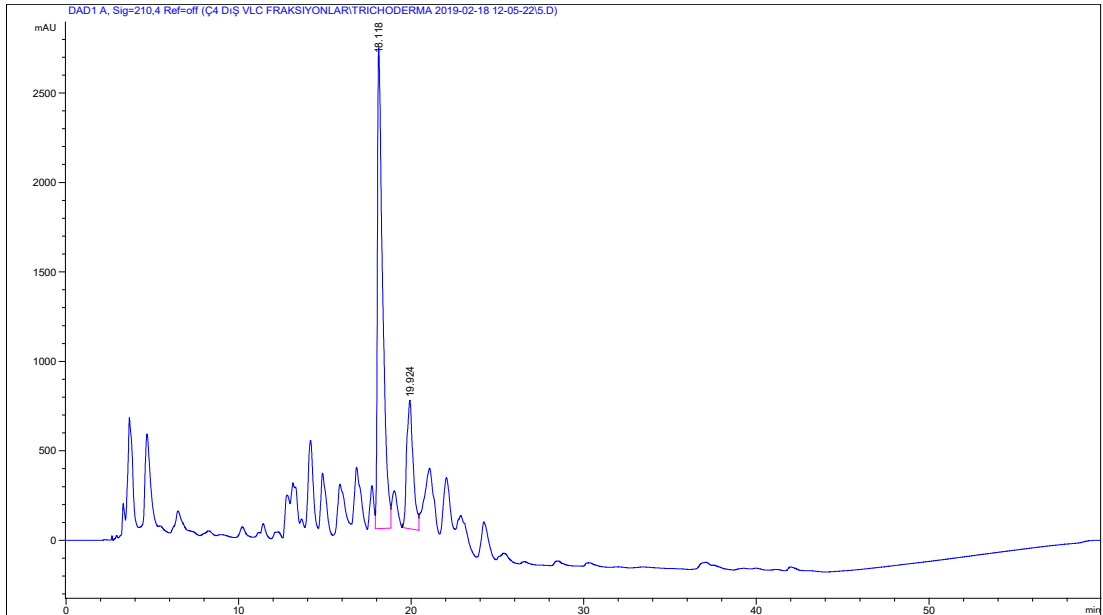
Şekil 3.13. *Aspergillus costaricaensis* Fraksiyon 3 YPSK kromatogramı

Aspergillus costaricaensis mantarının 4. fraksiyonu Şekil 3.14.'te verilmiştir.



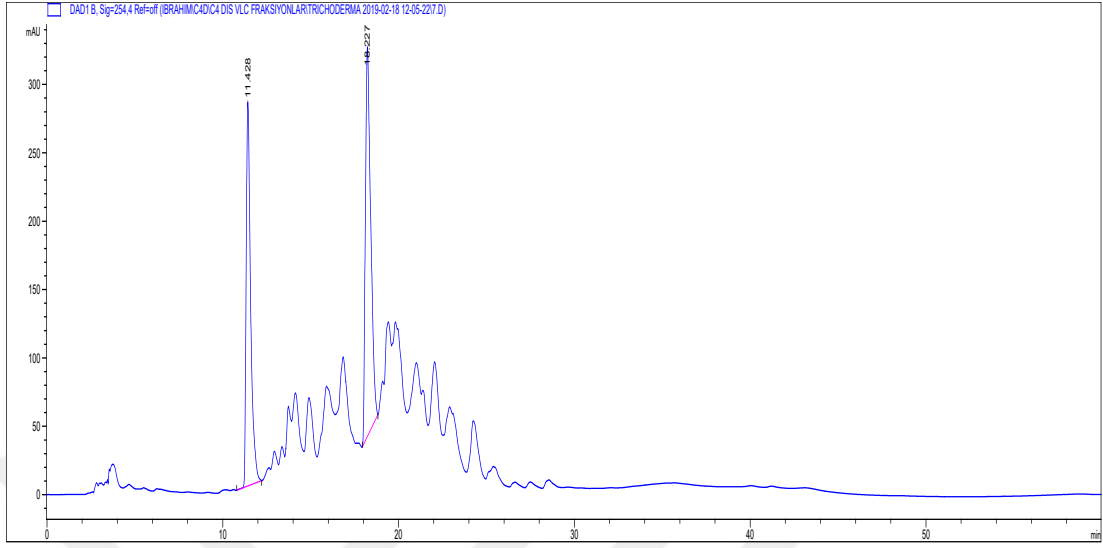
Şekil 3.14. *Aspergillus costaricaensis* Fraksiyon 4 YPSK kromatogramı

Aspergillus costaricaensis mantarının 5. fraksiyonu Şekil 3.15.'de verilmiştir.



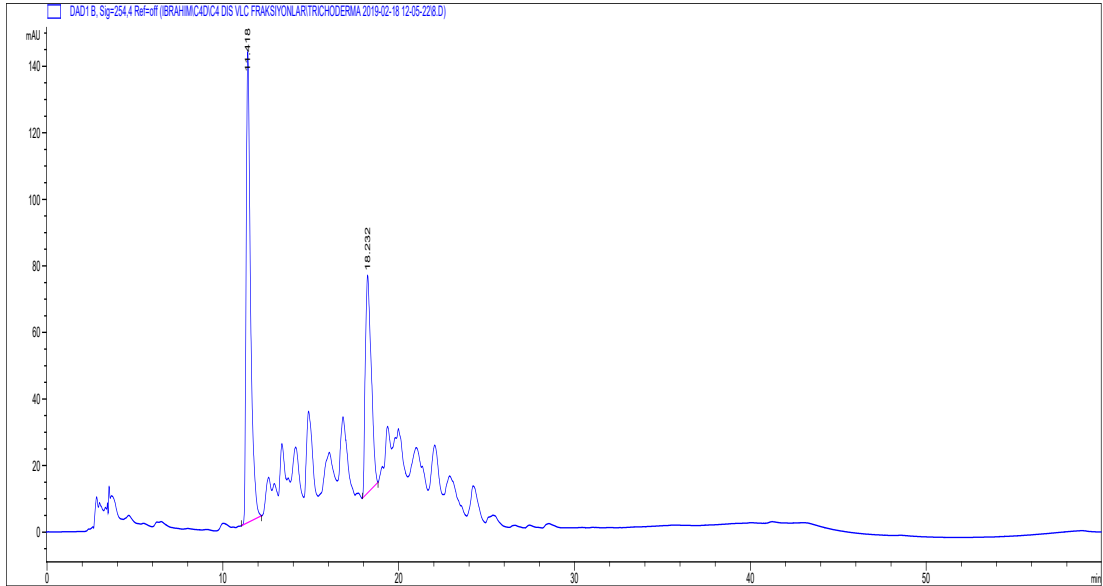
Şekil 3.15. *Aspergillus costaricaensis* Fraksiyon 5 YPSK kromatogramı

Aspergillus costaricensis mantarının 6. fraksiyonu Şekil 3.16.'de verilmiştir.



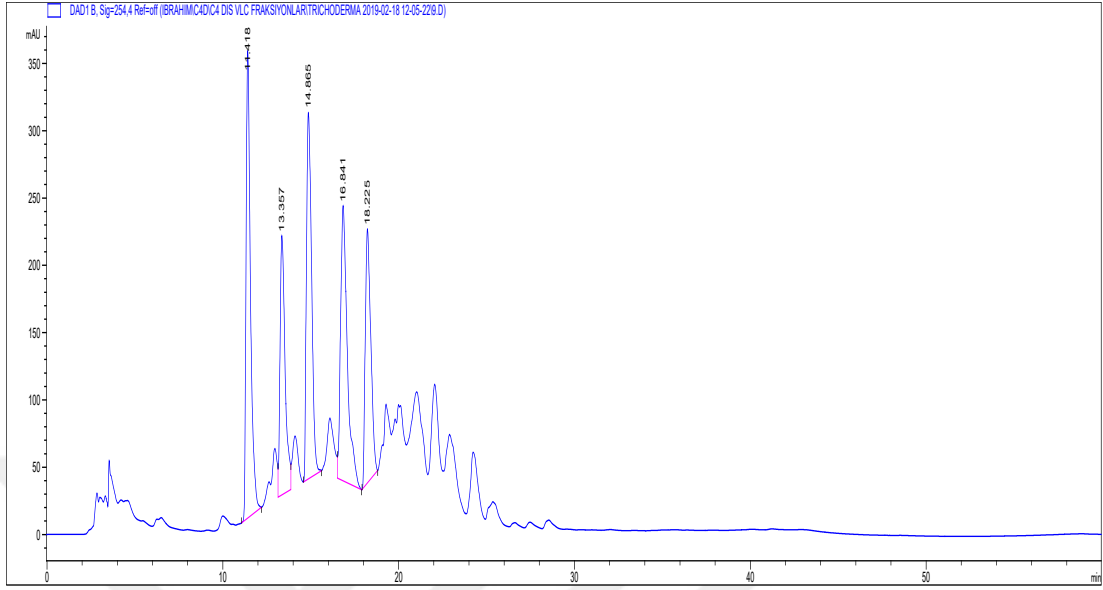
Şekil 3.16. *Aspergillus costaricensis* Fraksiyon 6 YPSK kromatogramı

Aspergillus costaricensis mantarının 7. fraksiyonu Şekil 3.17.'de verilmiştir.



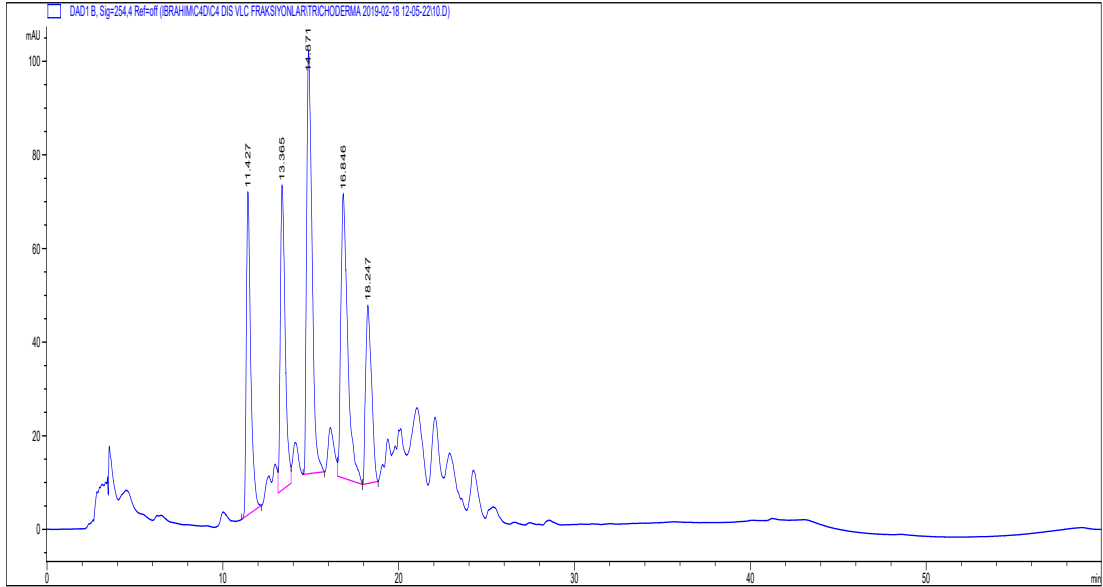
Şekil 3.17. *Aspergillus costaricensis* Fraksiyon 7 YPSK kromatogramı

Aspergillus costaricaensis mantarının 8. fraksiyonu Şekil 3.18.'de verilmiştir.



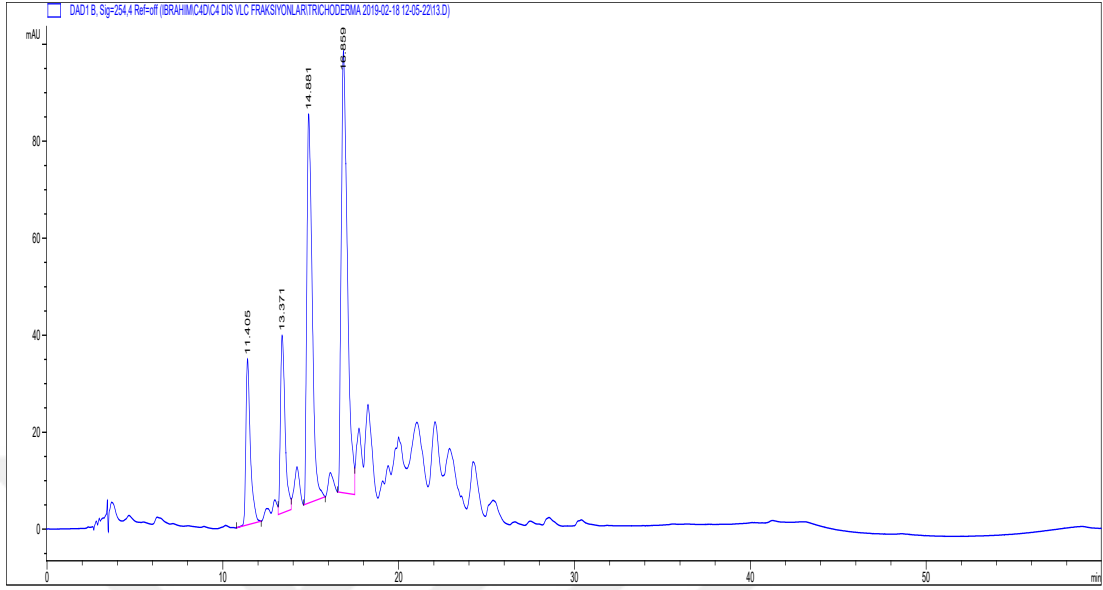
Şekil 3.18. *Aspergillus costaricaensis* Fraksiyon 8 YPSK kromatogramı

Aspergillus costaricaensis mantarının 9. fraksiyonu Şekil 3.19.'de verilmiştir.



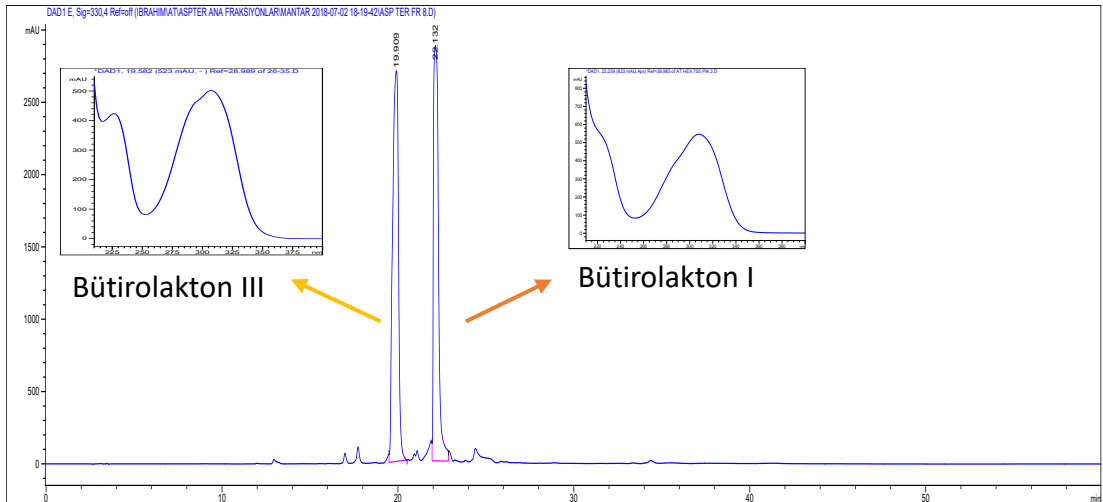
Şekil 3.19. *Aspergillus costaricaensis* Fraksiyon 9 YPSK kromatogramı

Aspergillus costaricaensis mantarının 10. fraksiyonu Şekil 3.20.'de verilmiştir.

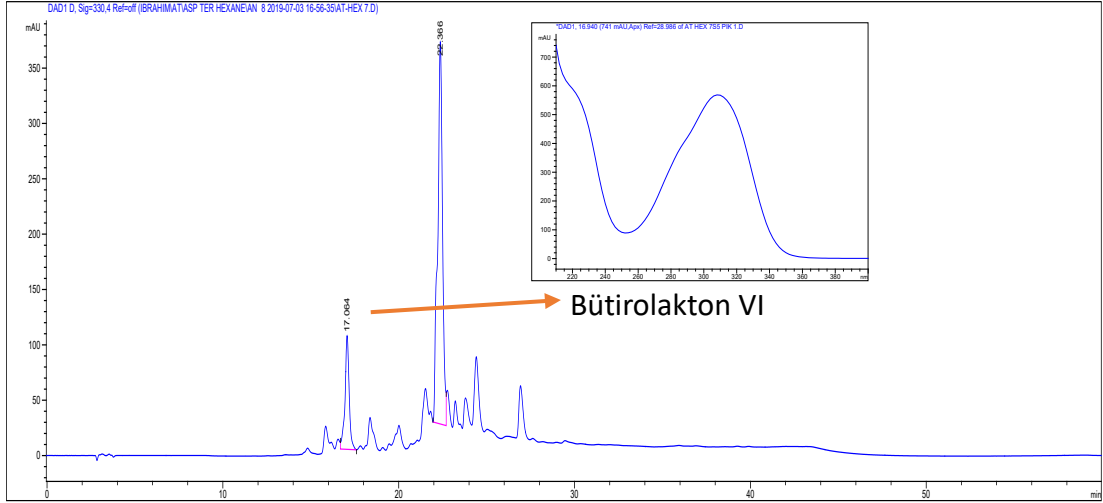


Şekil 3.20. *Aspergillus costaricaensis* Fraksiyon 10 YPSK kromatogramı

Şekil 3.21'de *Aspergillus terreus* mantarının metanollü fazının 2. fraksiyonundan izole edilen maddelere ait pikler, Şekil 3.22 de *Aspergillus terreus* Hekzan fazı Fraksiyon 7'den izole edilen maddeye ait pik YPSK kromatogramı üzerinde gösterilmiştir.

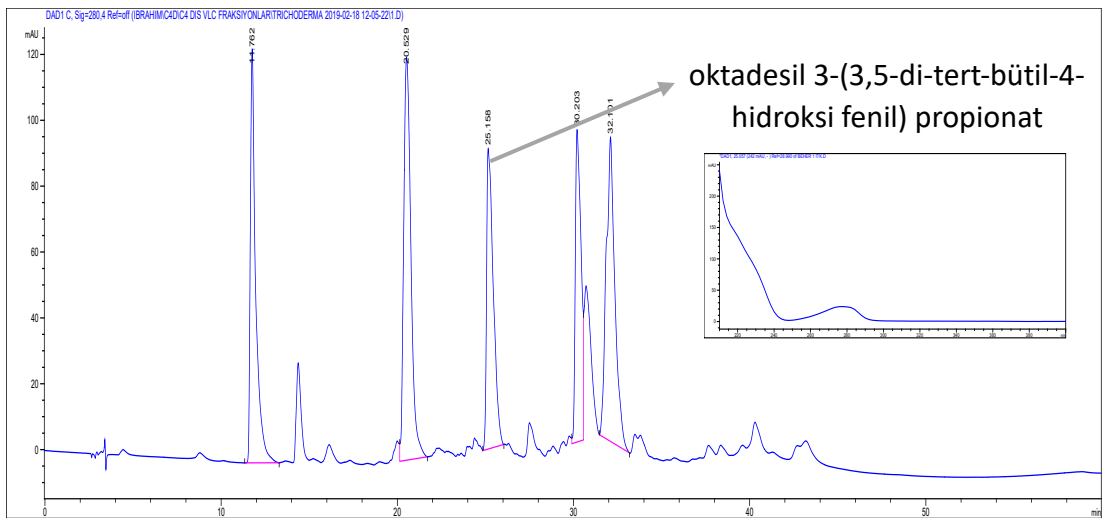


Şekil 3.21. *Aspergillus terreus* Fraksiyon 2'den izole edilen maddelere ait pikler

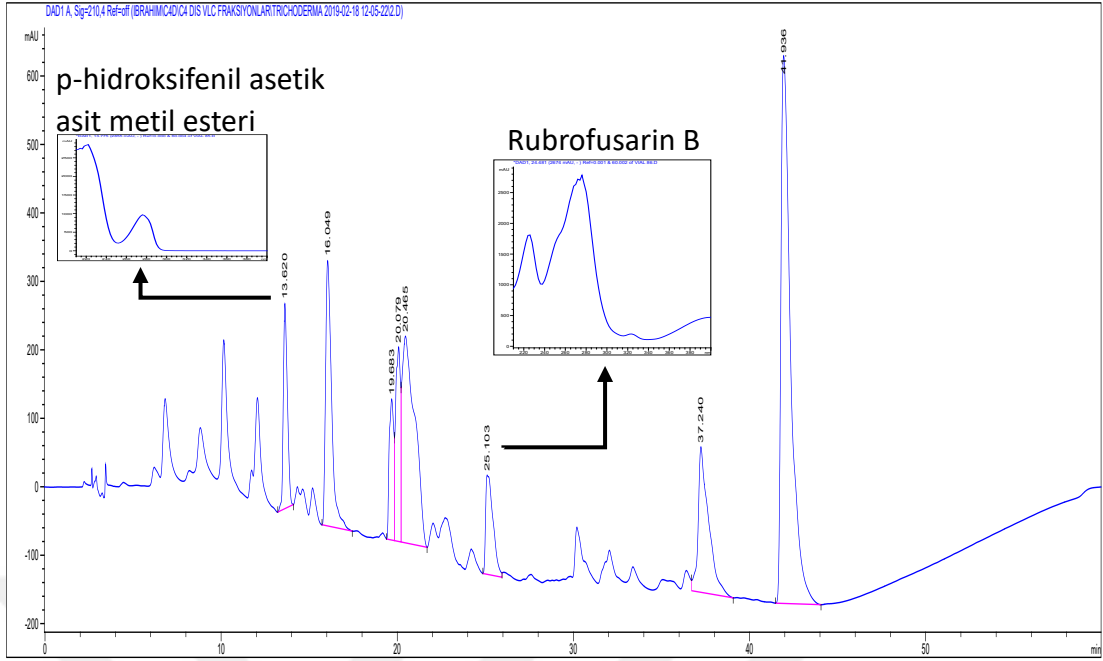


Şekil 3.22. *Aspergillus terreus* Hekzan fazı Fraksiyon 7'den izole edilen maddeye ait pik

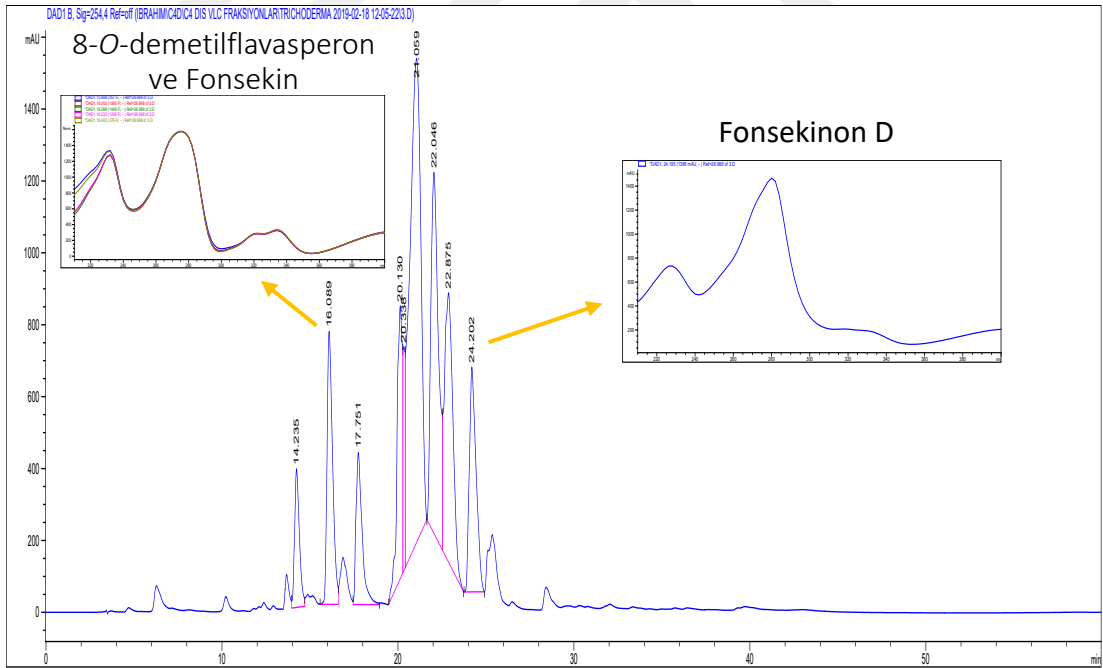
Şekil 3.23'te *Aspergillus costaricensis* mantarının metanollü fazının 1. fraksiyonundan izole edilen maddeye ait pik, Şekil 3.24'te *Aspergillus costaricensis* mantarının metanollü fazının 2. fraksiyonundan izole edilen maddelere ait pikler, Şekil 3.25'te *Aspergillus costaricensis* mantarının metanollü fazının 3. fraksiyonundan izole edilen maddelere ait pikler, Şekil 3.26'da *Aspergillus costaricensis* mantarının metanollü fazının 5. fraksiyonundan izole edilen maddeye ait pik YPSK kromatogramı üzerinde gösterilmiştir.



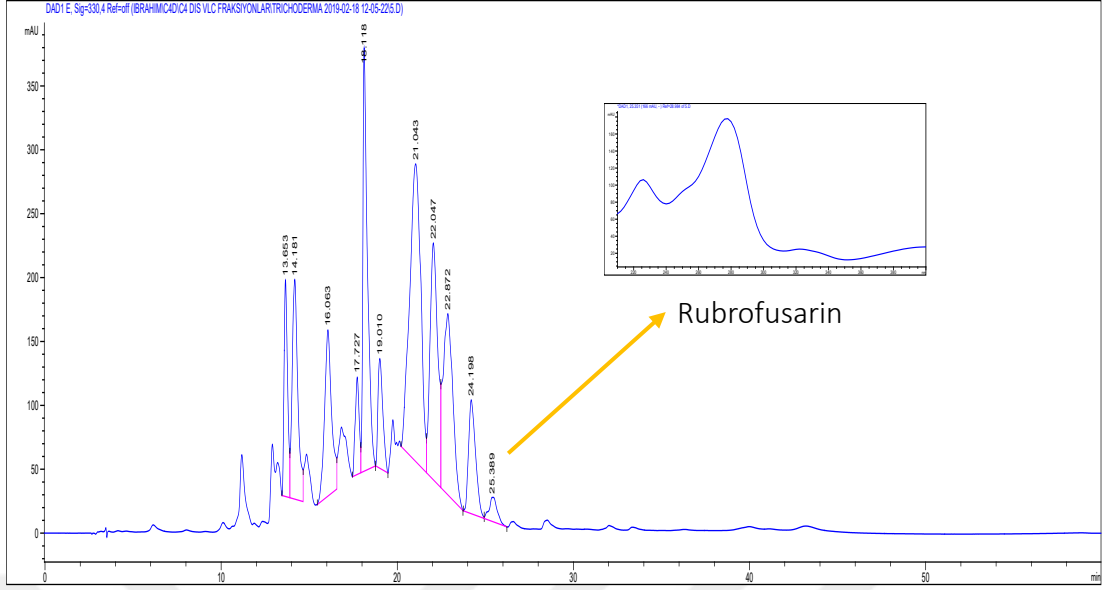
Şekil 3.23. *Aspergillus costaricensis* Fraksiyon 1'den izole edilen maddeye ait pik



Şekil 3.24. *Aspergillus costaricensis* Fraksiyon 2'den izole edilen maddelere ait pikler

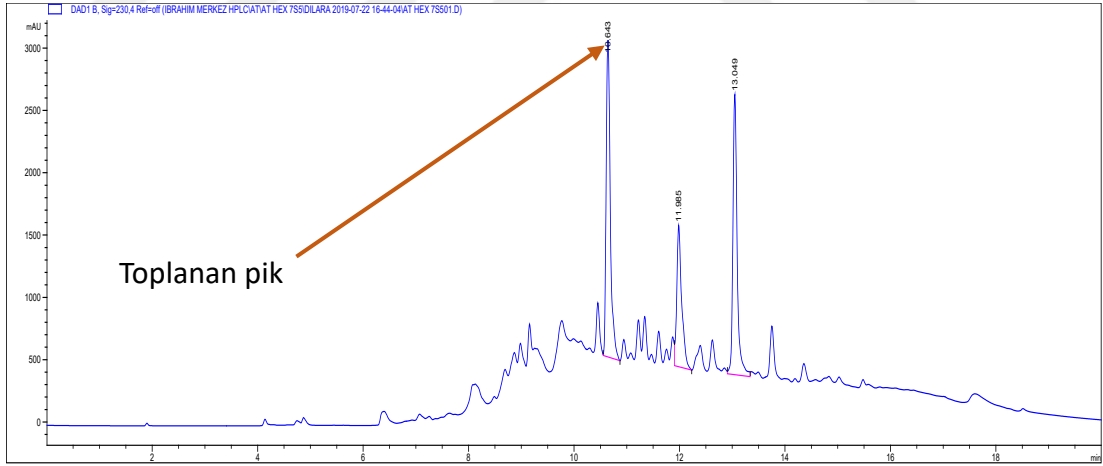


Şekil 3.25. *Aspergillus costaricensis* Fraksiyon 3'ten izole edilen maddelere ait pikler



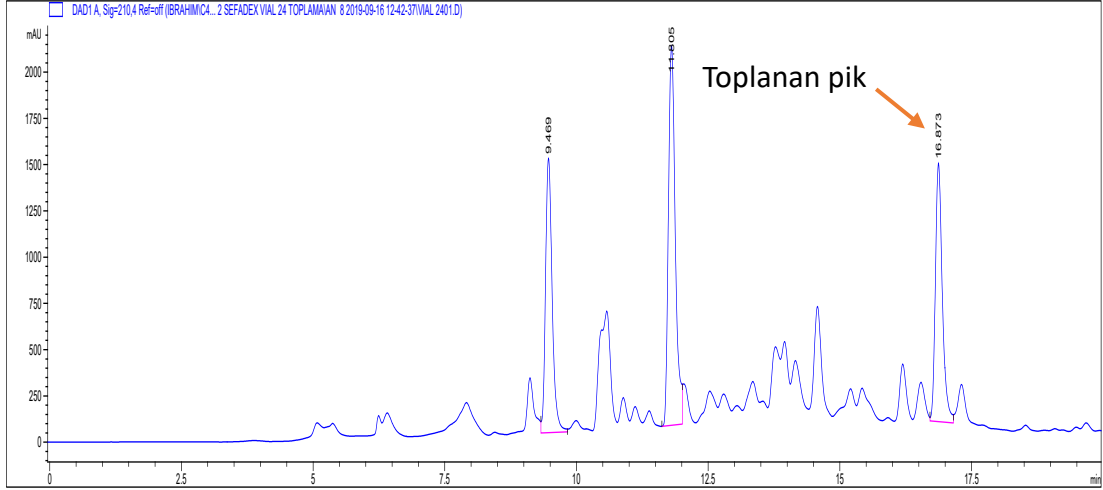
Şekil 3.26. *Aspergillus costaricensis* Fraksiyon 5'ten izole edilen maddeye ait pik

Şekil 3.27'de Bütürolakton VI maddesinin izole edildiği preparatif YPSK metoduna ait kromatogram verilmiştir.



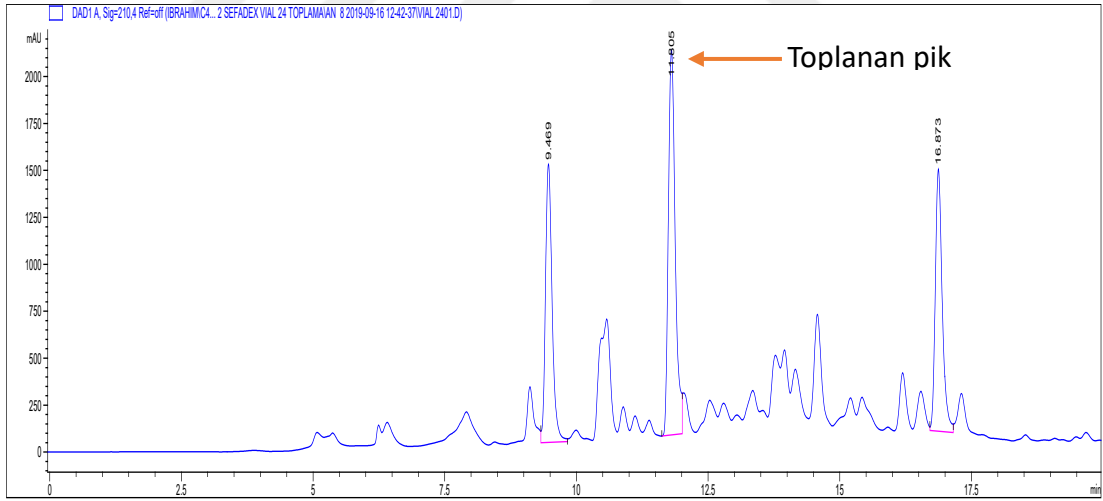
Şekil 3.27. Bütürolakton VI maddesinin izole edildiği preparatif YPSK metoduna ait kromatogram

Şekil 3.28'de Rubrofusarin B maddesinin izole edildiği preparatif YPSK metoduna ait kromatogram verilmiştir.



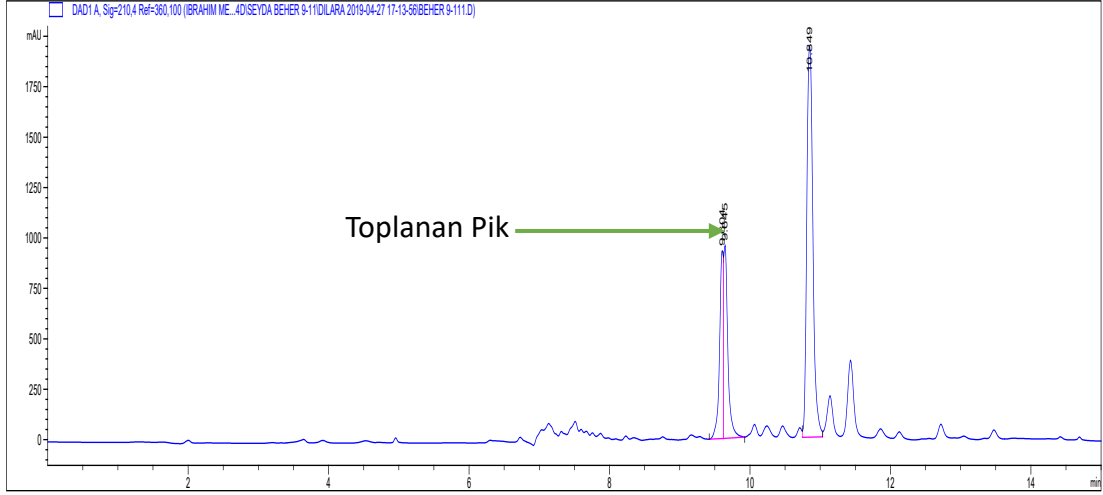
Şekil 3.28. Rubrofusarin B maddesinin izole edildiği preparatif YPSK metoduna ait kromatogram

Şekil 3.29’da *p*-Hidroksifenil asetik asit metil ester maddesinin izole edildiği preparatif YPSK metoduna ait kromatogram verilmiştir.



Şekil 3.29. *p*-Hidroksifenil asetik asit metil ester maddesinin izole edildiği preparatif YPSK metoduna ait kromatogram

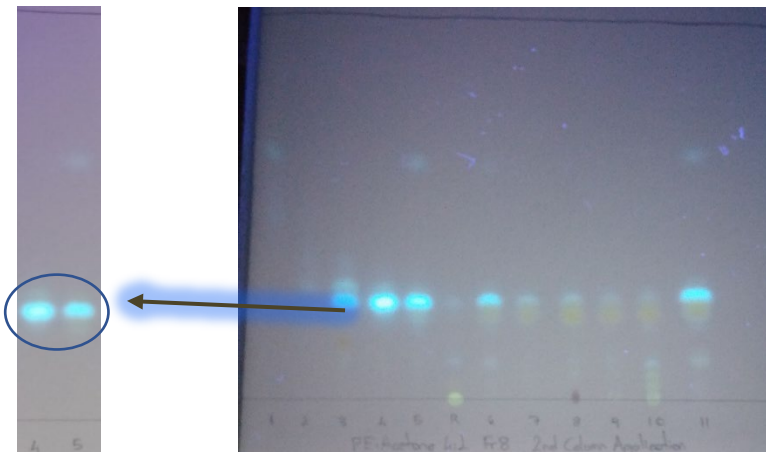
Şekil 3.30’da 8-*O*-Demetilflavasperon B ve Fonsekin maddelerinin izole edildiği preparatif YPSK metoduna ait kromatogram verilmiştir.



Şekil 3.30. 8-*O*-Demetilflavasperon B ve Fonsekin maddelerinin izole edildiği preparatif YPSK metoduna ait kromatogram

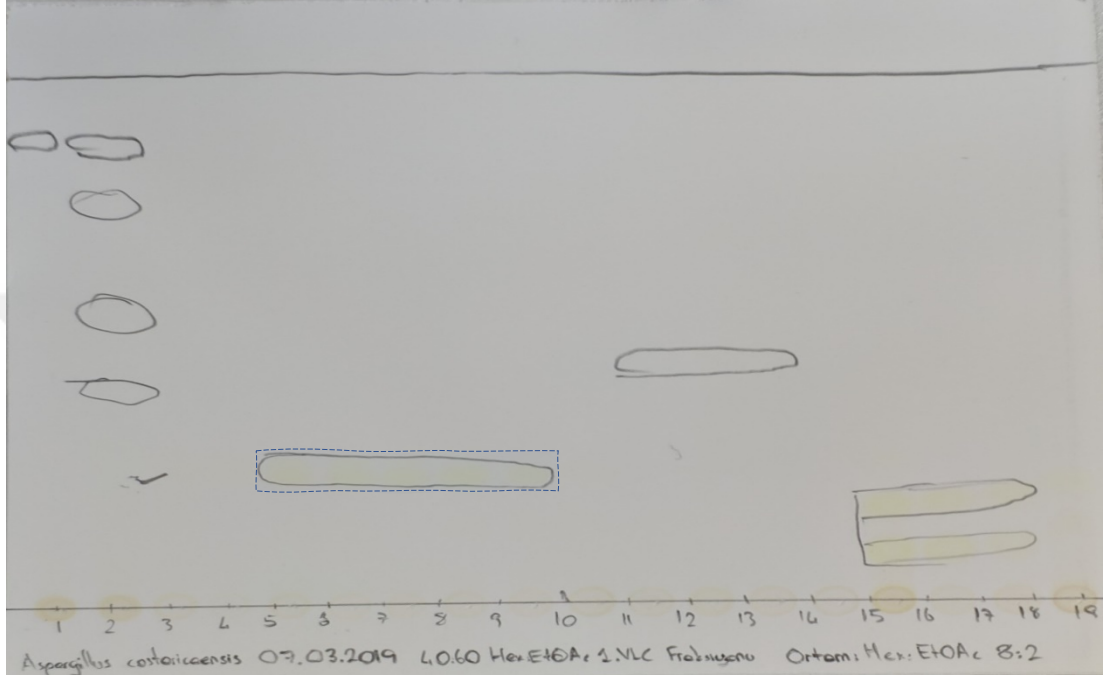
3.1.2 İnce Tabaka Kromatografi Analizleri

Mantar ekstralarının fraksiyonlanmasında ve elde edilen fraksiyonların kolona uygulandıktan sonraki kontrolünde ince tabaka kromatografisi önemli bir yer tutmaktadır. İzole edilen bileşiklerden 4-hidroksi-3-(3-metilbüt-2-en-1-il) benzaldehit maddesi ince tabaka kromatografisi yolu ile saflaştırılmıştır (Şekil 3.31).

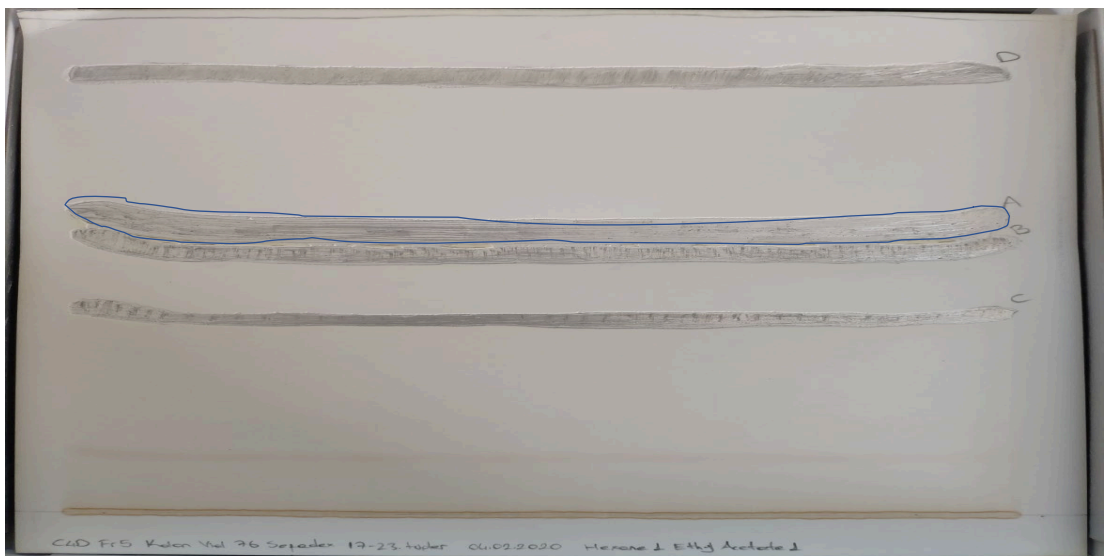


Şekil 3.31. 4-hidroksi-3-(3-metilbüt-2-en-1-il) benzaldehit maddesinin saflaştırıldığı İTK plağı

İzole edilen bir diğer madde olan Oktadesil 3-(3,5-di-tert-bütil-4-hidroksifenil) propionat maddesinde yapılan bir ince tabaka kromatografisinin sonucunda saflaştırılarak izole edilmiştir (Şekil 3.32). Şekil 3.33'te Rubrofusarin maddesinin preparatif İTK metodu ile saflaştırılması gösterilmiştir.

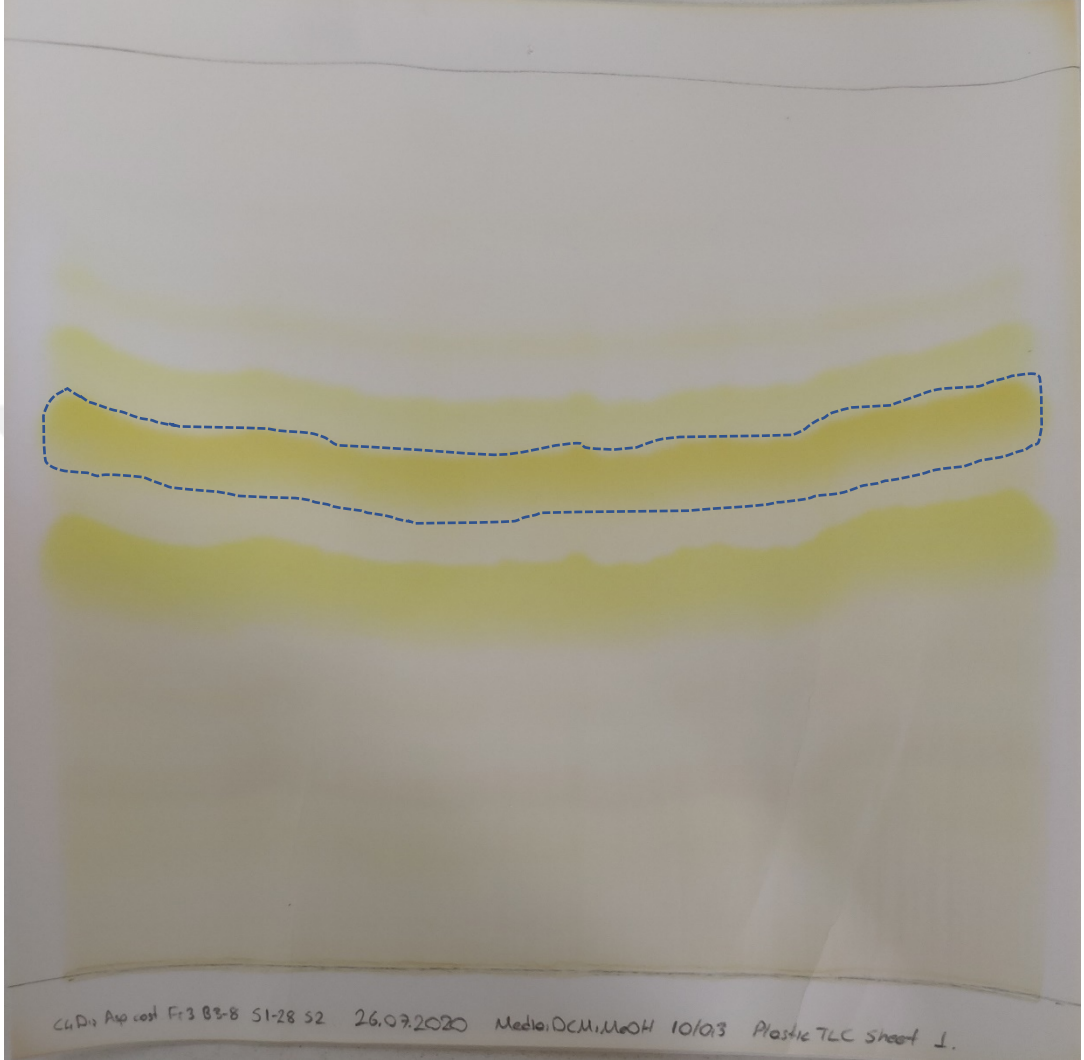


Şekil 3.32. Oktadesil 3-(3,5-di-tert-bütil-4-hidroksifenil) propionat maddesinin saflaştırıldığı İTK plağı



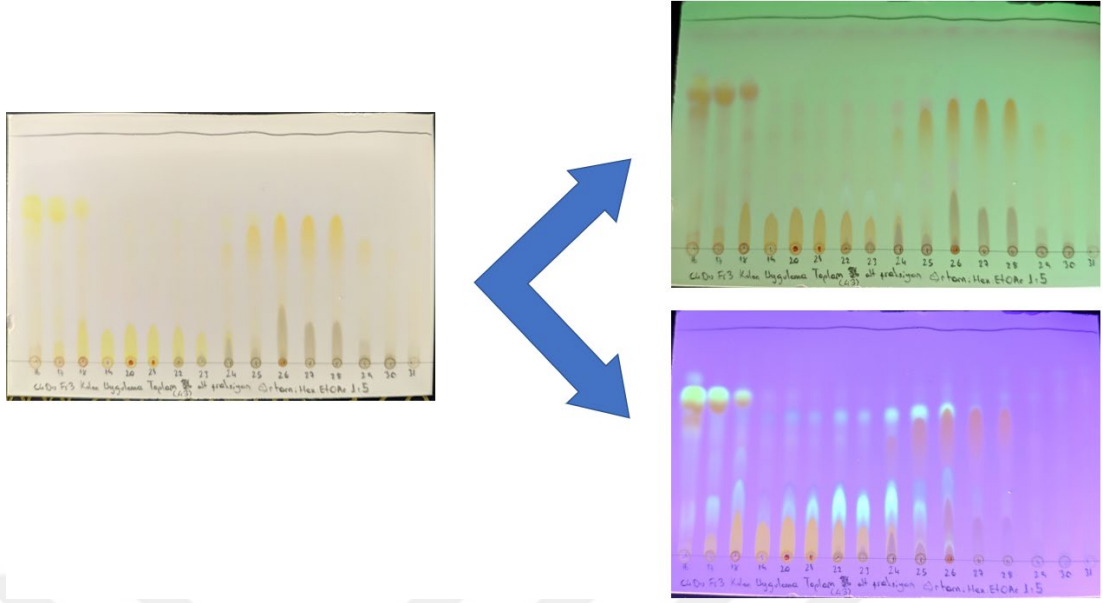
Şekil 3.33. Rubrofusarin maddesinin saflaştırıldığı İTK plağı

Şekil 3.34'te Fonsekinon D maddesinin preparatif İTK metodu ile saflaştırılması gösterilmiştir.



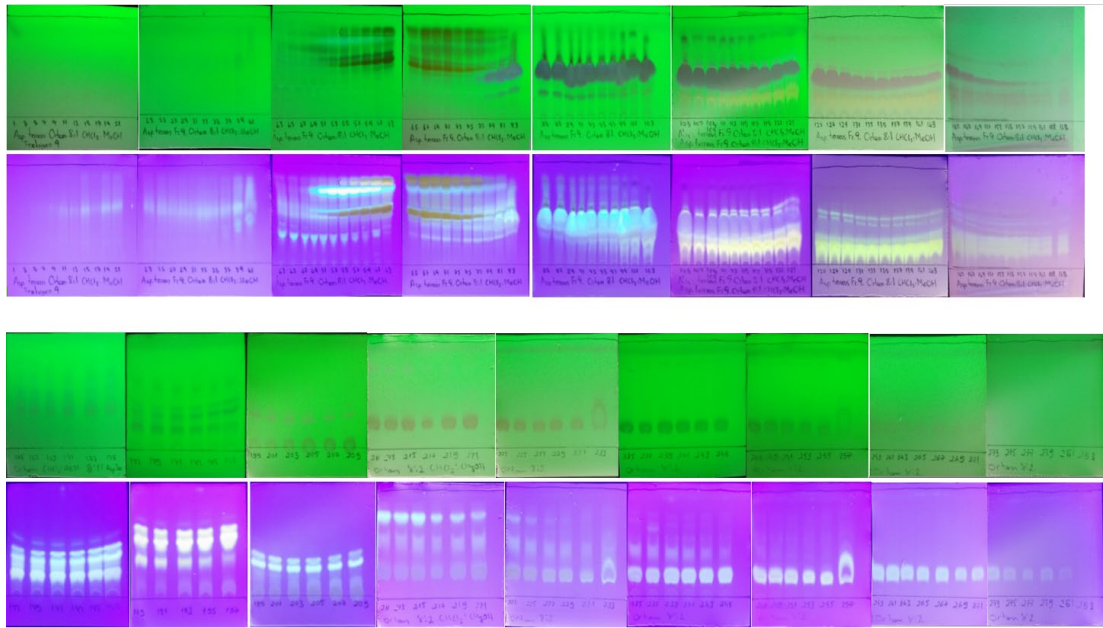
Şekil 3.34. Fonsekinon D maddesinin saflaştırıldığı İTK plağı

Aspergillus costaricensis mantarının 3. fraksiyonu ileri saflaştırma için ince tabaka kromatografisine uygulanmış Şekil 3.35 teki ayırım elde edilmiştir. Uygulamada mobil faz olarak hekzan : etil asetat 1:5 sistemi kullanılmıştır.



Şekil 3.35. *Aspergillus costaricaensis* mantarının 3. Fraksiyonunun İTK analizi

Aspergillus terreus mantarının 2. Fraksiyonu YPSK analizinden sonra kolona uygulanmış ve kolondan toplanan tüpler ince tabaka kromatografisine uygulanarak ayırım gözlenilmiştir (Şekil 3.36). Uygulamada mobil faz olarak kloroform : metanol 8:1 sistemi kullanılmıştır.



Şekil 3.36. *Aspergillus terreus* mantarının 2. Fraksiyonunun İTK analizi

3.2. Aktivite Analizlerine Dair Bulgular

YPSK analizlerinden izolasyon yapılabileceği kanaatine varılan ekstrelerde biyoaktivite çalışmalarına geçilmiştir. Seçilen mantar ekstrelerinde DPPH, SO, NO ve ABTS yöntemleriyle antioksidan aktivite (Çizelge 3.1), MTT testiyle HCT-116 hücre hattı üzerinde sitotoksik aktivite (Çizelge 3.2) incelenmiş ayrıca antimikrobiyal aktivite (Çizelge 3.3) de araştırılmıştır.

Çizelge 3.1. Mantar Ekstrelerinin Antioksidan Aktiviteleri

KOD	Mantar (EtOAc ekstresi)	IC ₅₀ (µg/mL) ±SD				TEAC (mM _{Trolox} /mg ekstre)
		DPPH	SO	NO	ABTS	
Ç4 Dış	<i>Aspergillus costaricaensis</i>	912,01 ± 1,24	660,69± 1,1	794,32±0,89	194,98 ± 1,76	0,3044 ± 1,76
M80-SA	<i>Aspergillus terreus</i>	16,14 ± 1,12	93,32 ± 1,5	165,95±1,77	56,23 ± 0,86	1,44 ± 0,86
Kersetin	-	7,04 ± 0,94	10,11 ± 0,28	13,18±0,15	11,1±0,23	-
Askorbik asit	-	5,72 ± 0,89	8,52 ± 0,78	10,12±0,19	8,21± 0,91	-

Antioksidan aktivite testlerinin sonuçlarında kullanılan tüm yöntemlerde *Aspergillus terreus* mantarına ait ham ekstrenin *Aspergillus costaricaensis* mantarına ait olan ham ekstreden daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu görülmektedir. DPPH yöntemiyle gerçekleştirilen antioksidan aktivite testlerinde *Aspergillus terreus* mantarına ait ham ekstrenin referans alınan kersetin maddesinin sahip olduğuna yakın bir antioksidan aktiviteye sahip olduğu görülmektedir.

Çizelge 3.2. Mantar Ekstrelerinin HCT-116 Kolon Kanseri Hücre Hattı Üzerindeki Sitotoksik Aktiviteleri

KOD	Mantar (EtOAc ekstresi)	IC ₅₀ (µg/mL) ±SD
M80-SA	<i>Aspergillus terreus</i>	99,05 ± 7,36
Ç4 dış	<i>Aspergillus costaricensis</i>	12,03 ± 1,04
Kamptotesin		0,31± 0,08

Çizelge 3.3. Mantar Ekstrelerinin Antimikrobiyal Aktiviteleri

Mantarlar ve kodları	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300	<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 35984	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>Klebsiella pneumoniae</i> RSKK 574	<i>Candida albicans</i> 10231	<i>Candida parapsilosis</i> ATCC 22019
M80SA <i>Aspergillus terreus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	250
Ç4 Dış <i>Aspergillus costaricensis</i>	-	-	500	-	500	-	250	500	500
Siprofloksasin	1,25	0,625	0,078	0,078	0,009	0,625	0,039	*	
Mikonazol	*	*	*	*	*	*	*	1,56	0,78

Gerçekleştirilen sitotoksik aktivite tayini incelendiğinde *Aspergillus costaricaensis* mantarına ait ham ekstrenin *Aspergillus terreus* mantarından daha yüksek sitotoksik aktiviteye sahip olduğu gözlenmektedir. Ancak her iki mantar ekstresinin sahip olduğu değerler referans madde kabul edilen Kamptotesinin sahip olduğu IC₅₀ değerinden oldukça yüksektir. Kamptotesin seçilmesinin nedeni kolon kanseri tedavisinde standart olarak kullanılmasıdır. IC₅₀ değerlerinin hesaplanması için GraphPad Prism programı kullanılmıştır.

Staphylococcus aureus ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 35984, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Klebsiella pneumoniae* RSKK 574, *Candida albicans* 10231, *Candida parapsilosis* ATCC 22019 suşları üzerinde antimikrobiyal aktivite testi gerçekleştirilmiş ancak her iki mantar ekstresinde de seçilen 9 türe karşı antimikrobiyal aktivite tespit edilememiştir.

Sonuçların karşılaştırmasında kullanılan siprofloksasin tüm bakterilere etki ettiği için ve klinikte kullanılan standartlar arasında olduğu için tercih edilmiştir. Aynı şekilde mikonazol de antifungal olarak klinikte sıkça kullanılan bir imidazol türevidir.

Ekstreler üzerinde yapılan analizlerin dışında yeterli miktarda izole edilen sekonder metabolitler üzerinde de aktivite tayinleri gerçekleştirilmiştir. Çizelge 3.4' te A23187-indüklü β -heksozaminidaz salımının % inhibisyonu yönünden antialerjik aktivite testinin sonuçları gösterilmiştir. Çizelge 3.5' te antijen indüklü β -heksozaminidaz salımının % inhibisyonu yönünden antialerjik aktivite testinin sonuçları gösterilmiştir.

Çizelge 3.4. A23187-indüklü β -heksozaminidaz salımının % inhibisyonu yönünden antialerjik aktivite testi

Madde	Canlılık, RBL-2H3 100 μ M'de % canlılık	A23187-indüklü β -heksozaminidaz salımının % inhibisyonu		
		Konsantrasyon (μ M)		IC ₅₀ (μ M)
		10	100	
4-hidroksi-3-(3-metilbüt-2-en-1-il) benzaldehit	>90%	—	—	
p-Hidroksifenil asetik asit metil ester	>90%	—	—	
Bütrolakton I	>90%	26,0 \pm 2,4%	98,7 \pm 0,7%	39,7
Rubrofusarin B	>90%	—	—	
Bütrolakton III	>90%	—	—	
Bütrolakton VI	>90%	—	—	
Terretonin	>90%	—	—	
Oktadesil 3-(3,5-di-tert-büt-4-hidroksifenil) propionat	>90%	—	—	
Azelastin (Referans Bileşik)	>90% (10 μ M)	34,5 \pm 2,5%		10,9

Çizelge 3.5. Antijen-indüklü β -heksozaminidaz salımının % inhibisyonu yönünden antialerjik aktivite testi

Madde	Canlılık, RBL-2H3 100 μ M'de % canlılık	Antijen-indüklü β -heksozaminidaz salımının % inhibisyonu		
		Konsantrasyon (μ M)		IC ₅₀ (μ M)
		10	100	
4-hidroksi-3-(3-metilbüt-2-en-1-il) benzaldehit	>90%	—	—	
p-Hidroksifenil asetik asit metil ester	>90%	—	—	
Bütrolakton I	>90%	30,0 \pm 3,3%	87,0 \pm 2,4%	41,6
Rubrofusarin B	>90%	—	—	
Bütrolakton III	>90%	—	—	
Bütrolakton VI	>90%	—	—	
Terretonin	>90%	—	—	
Oktadesil 3-(3,5-di-tert-büt-4-hidroksifenil) propionat	>90%	—	—	
Azelastin (Referans Bileşik)	>90% (10 μ M)	35,5 \pm 8,1%		10,9

Çizelge 3.6’da süperoksit anyon jenerasyonunun inhibisyonu yönünden ölçülen antienflamatuvar aktivite sonucu gösterilmiştir. Çizelge 3.7’de fMLF/CB indüklü insan nötrofillerinde elastaz salımının inhibisyonu ölçülen antienflamatuvar aktivite sonucu gösterilmiştir.

Çizelge 3.6. Süperoksit anyon jenerasyonunun inhibisyonu yönünden ölçülen antienflamatuvar aktivite sonucu

Madde	Süperoksit Anyon			
	IC ₅₀ (µM)		% İnhibisyon (10 µM)	
4-hidroksi-3-(3-metilbüt-2-en-1-il) benzaldehit			8,13	± 1,97
p-Hidroksifenil asetik asit metil ester			5,26	± 3,20
Bütirolakton I	2,58	± 0,46	105,26	± 0,14
Rubrofusarin B	6,48	± 0,08	68,66	± 1,94
Bütirolakton III			25,70	± 1,58
Bütirolakton VI	6,90	± 1,12	72,93	± 8,23
Terretonin			2,68	± 2,35
Oktadesil 3-(3,5-di-tert-bütül-4-hidroksifenil) propionat			3,39	± 2,39
Genistein (Referans Bileşik)	1,52	± 0,17	(3 µM) 67,01	± 2,38

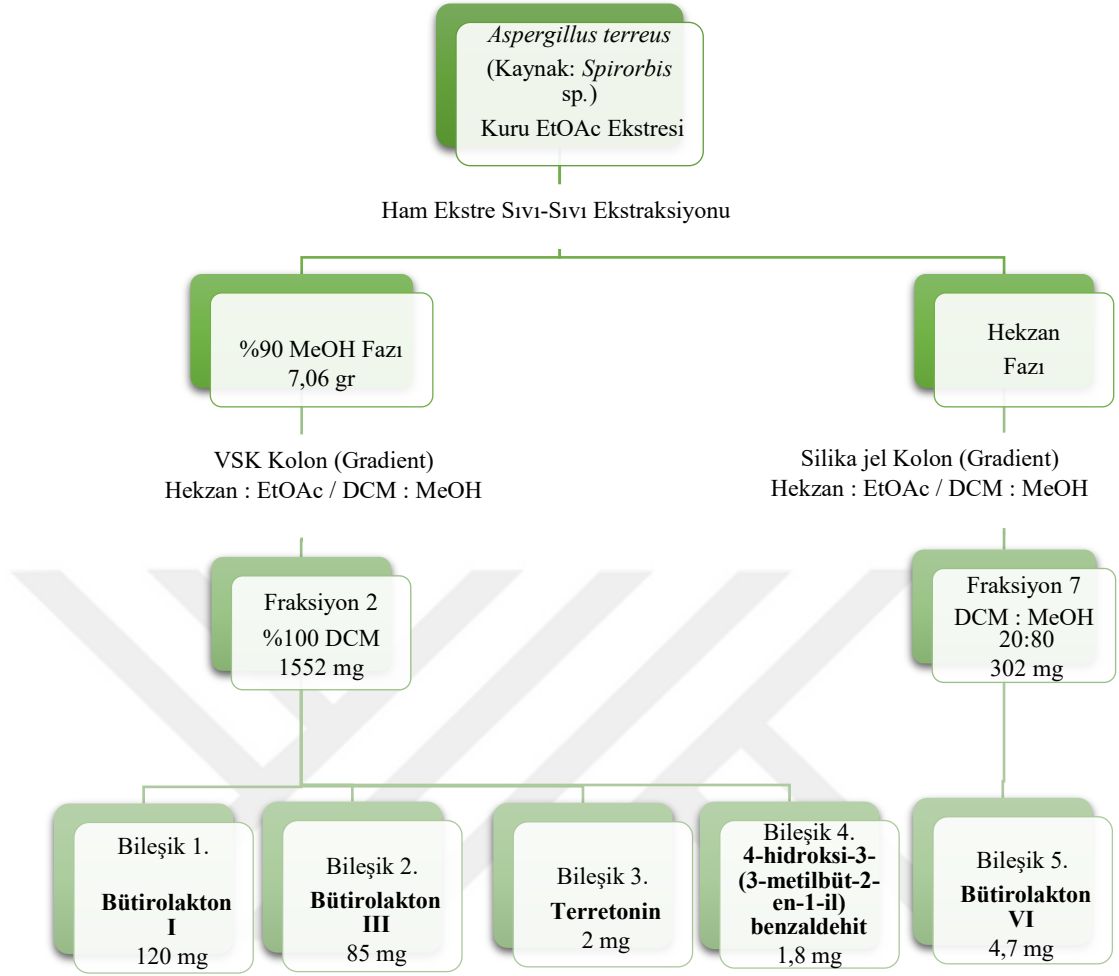
Çizelge 3.7. fMLF/CB indüklü insan nötrofillerinde elastaz salımının inhibisyonu ölçülen antienflamatuvar aktivite sonucu

Madde	Elastaz			
	IC ₅₀ (µM)		% İnhibisyon (10 µM)	
4-hidroksi-3-(3-metilbüt-2-en-1-il) benzaldehit			4,22	± 3,34
p-Hidroksifenil asetik asit metil ester			2,29	± 0,80
Bütirolakton I	2,58	± 0,46	114,86	± 4,02
Rubrofusarin B	6,48	± 0,08	23,75	± 8,95
Bütirolakton III			1,38	± 1,72
Bütirolakton VI	6,90	± 1,12	94,13	± 5,50
Terretonin			5,25	± 3,40
Oktadesil 3-(3,5-di-tert-bütül-4-hidroksifenil) propionat			1,63	± 2,13
Genistein (Referans Bileşik)	1,52	± 0,17	31,57	± 7,29

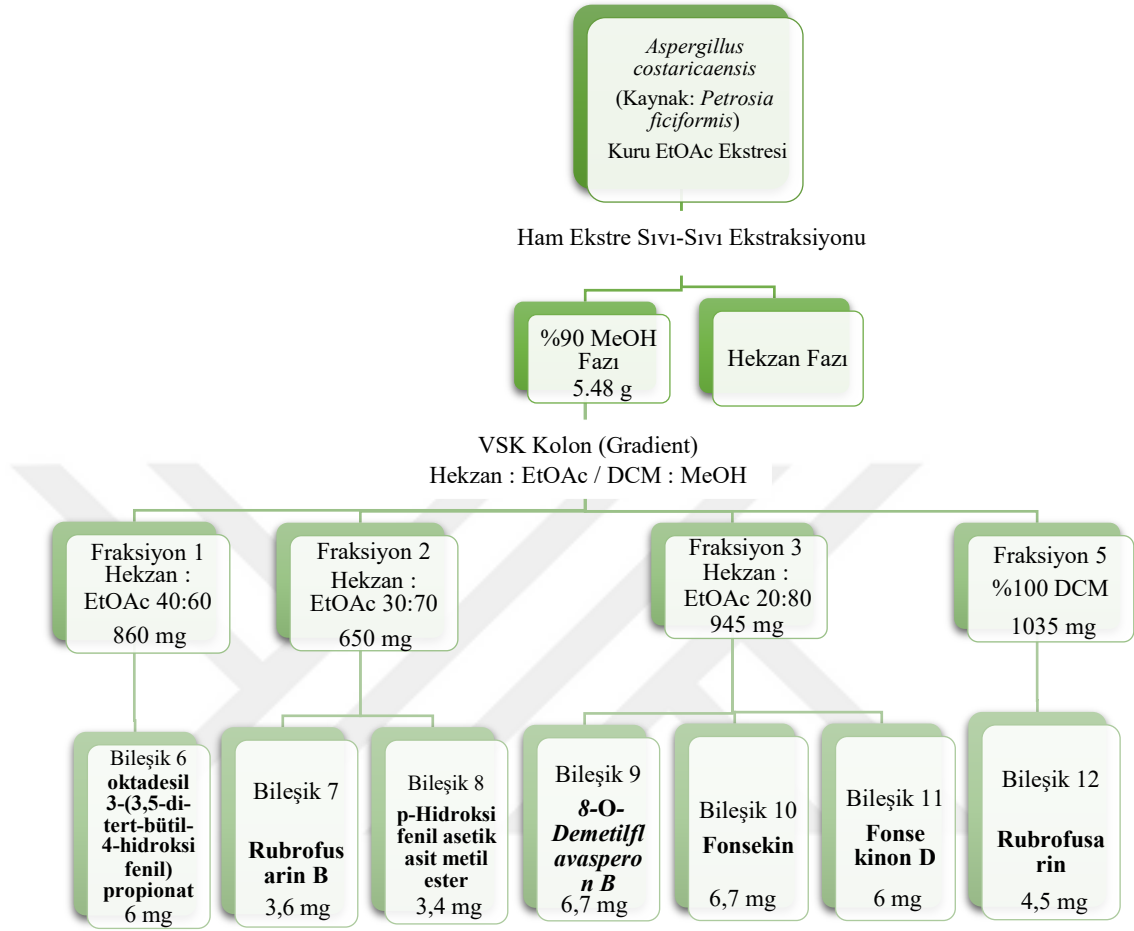
Yapılan biyoaktivite çalışmalarının sonuçları değerlendirildiğinde *Aspergillus terreus* mantarı ekstresinde antioksidan aktivite öne çıkarken *Aspergillus costaricaensis* mantar ekstresinin sitotoksik aktivite sonuçları ön plana çıkmaktadır. Her iki mantar ekstresi içinde antimikrobiyal aktivite gözlenmemiştir. İzole edilen maddeler üzerinde yapılan aktivite testlerinden elde edilen bulgular Bütirolakton I maddesinin yüksek antialerjik aktiviteye ve oldukça güçlü antienflamatuar aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir.

3.3. Mantarlardan Etken Madde İzolasyon Şemaları

Çalışılan mantarlar farklı polariteye sahip çözücüler tarafından fraksiyonlanmış ve bu fraksiyonlardan hareketle fraksiyon miktarı, YPSK sonuçlarında görülen pikler ve bu piklerin maksimum UV absorbanları gibi çeşitli veriler değerlendirilerek sekonder metabolit izolasyon aşamasına geçilmiştir. Mantarların ham ekstrelerinin fraksiyonlanması ile elde edilen alt fraksiyonların tümü yukarıda verilmiştir. Burada kolay anlaşılması için sadece izolasyon yapılan fraksiyonlara yer verilecektir. *Aspergillus terreus* mantarından maddelerin hangi fraksiyonlardan hangi metotlarla izole edildiği Şekil 3.37.'te, *Aspergillus costaricaensis* mantarından maddelerin hangi fraksiyonlardan hangi metotlarla izole edildiği Şekil 3.38.'te verilmiştir.



Şekil 3.37. *Aspergillus terreus* mantarından izole edilmiş maddelere ait izolasyon şeması



Şekil 3.38. *Aspergillus costaricaensis* mantarından madde izolasyon şeması

3.4. Mantarlardan İzole Edilen Sekonder Metabolitler

3.4.1. Bütirolakton I

Aspergillus terreus mantarının VSK kolona uygulanan Metanollü ekstresinin %100 Diklorometan içeren 8. fraksiyonu her orandan 300 mL olarak Petrol Eteri : Etil

Asetat (4:1, 3:1, 2:1, 1:1) gradient çözücü sistemiyle silika kolona uygulanmıştır. Kolondan toplanan 11-19 numara aralığındaki tüpler birleştirilmiş ve maddenin saflığı YPSK analiziyle kontrol edilmiştir. Elde edilen maddenin (120 mg) diğer spektral analizleri de gerçekleştirilmiştir ve yapısı Bütirolakton I olarak tayin edilmiştir.

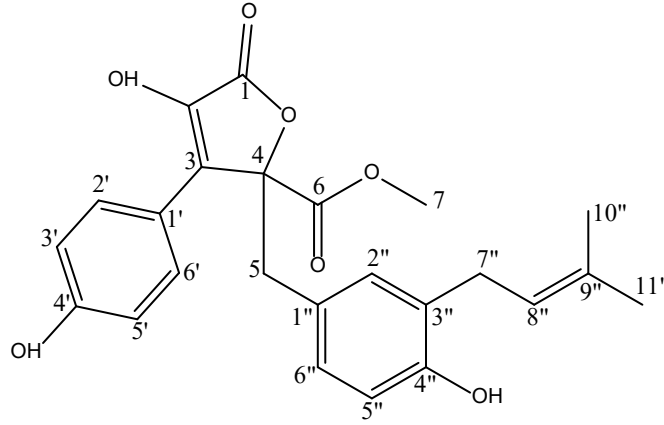
Bileşik turuncu renkli amorf yapıda bir katı olarak izole edilmiştir. Bileşiğin UV spektrumu 307 ve 210 nm değerlerinde maksimum absorbansa (λ_{max}) ulaşmıştır. Yüksek çözünürlüklü kütle spektrometresi analizi sonucunda m/z 447.12980'de $[M+Na]^+$ ($C_{24}H_{24}O_7Na$ için hesaplanan, 447.13092) ve m/z 423.12077'de $[M-H]^-$ ($C_{24}H_{23}O_7$ için hesaplanan, 423.12201) iki psödomoleküler iyon pikinin varlığı gösterilmiştir. Buradan hareketle, 13 doymamışlık derecesi varlığında moleküler formül $C_{24}H_{24}O_7$ olarak kabul edilmiştir. ^{13}C , DEPT ve HMQC analiz spektrumları, 11 kuaterner karbonun varlığını ortaya çıkarmıştır. Bunların ikisi karbonil grubu (δ_C 170.1 ve δ_C 169.8'de), üçü oksijenlenmiş olefinik karbon (δ_C 157.2, δ_C 153.2 ve δ_C 144.9 da), 5'i olefinik karbon (δ_C 137.7, δ_C 133.9, δ_C 128.8, δ_C 124.6 ve δ_C 121.8) ve bir tanesi de (δ_C 38.7) alifatik kuaterner karbondur. Buna ek olarak, 8 tersiyer, 2 sekonder ve 3 primer karbonun varlığı da ortaya konulmuştur. Maddenin 1H NMR spektrumu, 2 farklı aromatik halka sisteminin varlığını açık bir şekilde göstermektedir. Halkalardan birisi, 1,4 disüstitüe fenil olup δ_H 6.90 (2H, d, $J=8.8$ hz) ve δ_H 7.61 (2H, d, $J=8.8$) de bulunan ikişer proton arasındaki 2 proton rezonansına sahiptir. İkinci aromatik sistem δ_H 6.59 (1H, dd, $J=8.1, 2.0$ Hz), δ_H 6.52 (1H, d, $J=8.1$ Hz) ve δ_H 6.51 (1H, d, $J=2.0$ Hz) de 3 farklı proton rezonansına sahip olan 1,3,4 trisüstitüe aromatik yapı olarak tayin edilmiştir. Bunların yanında 1H spektrumu, birisi oksijenlenmiş (δ_H 3.75/ δ_C 53.7) diğer ikisi de δ_C 25.7 ve δ_C 17.7 ppm'deki karbon piklerine doğrudan bağlı olan sırasıyla δ_H 1.65 ve δ_H 1.59 ppm'deki olefinik singlet metil gruplarının varlığını göstermiştir.

Elde edilen tüm bu veriler literatürde bulunan fungal metabolitlerle karşılaştırıldığında Bütirolakton I maddesiyle uyumluluk göstermiştir (Kiriya ve ark., 1977; Niu ve ark., 2008; Rao ve ark., 2000).

Bütirolakton I bileşiğine ait ^1H ve ^{13}C NMR analizleri Çizelge 3.8'de verilmiştir. Bileşiğin yapısı, kimyasal özellikleri ve adlandırılması Şekil 3.39'da, YPSK kromatogramı Şekil 3.40'ta, maksimum UV absorbansı Şekil 3.41'de, yüksek çözünürlüklü +ESI kütle spektrometresi spektrumu Şekil 3.42'de, yüksek çözünürlüklü -ESI kütle spektrometresi spektrumu Şekil 3.43'te, ^1H -NMR spektrumu Şekil 3.44'te, ^{13}C -NMR spektrumu Şekil 3.45'te, DEPT spektrumu Şekil 3.46'da, ^1H - ^1H COSY spektrumu Şekil 3.47'de, gHMBC spektrumu Şekil 3.48'de, gHMQC spektrumu Şekil 3.49'da, NOESY spektrumu Şekil 3.50'de verilmiştir. Maddeye ait biyoaktivite sonuçları Çizelge 3.9. ve 3.10'da gösterilmiştir.

Çizelge 3.8. Bütirolakton I bileşiğine ait ^1H ve ^{13}C NMR analizleri

Bütirolakton I, CDCl_3 -d, 400 MHz		
#	δ_{H} (J[Hz])	δ_{C} , tip
1		169.8, C
2		144.9, C
3		137.7, C
4		86.2, C
5	3.53, d (15.0) 3.47, d (15.0)	38.7, CH_2
6		170.1, C
7	3.75, s (3H)	53.7, CH_3
1'		121.8, C
2'	7.61, d (8.8)	129.6, CH
3'	6.90, d (8.8)	116.1, CH
4'		157.2, C
5'	6.90, d (8.8)	116.1, CH
6'	7.61, d (8.8)	129.6, CH
1''		124.6, C
2''	6.51, d (2.0)	131.8, CH
3''		128.8, C
4''		153.2, C
5''	6.52, d (8.1)	115.1, CH
6''	6.59, dd (8.1, 2.0)	129.2, CH
7''	3.12, d (7.2, 2H)	28.7, CH_2
8''	5.08, td (6.7, 5.7, 3.8)	121.8, CH
9''		133.9, C
10''	1.65, s (3H)	25.7, CH_3
11''	1.59, s (3H)	17.7, CH_3



Bütürolakton I

Kimyasal Formül: $C_{24}H_{24}O_7$

Nihai Kütle: 424.15

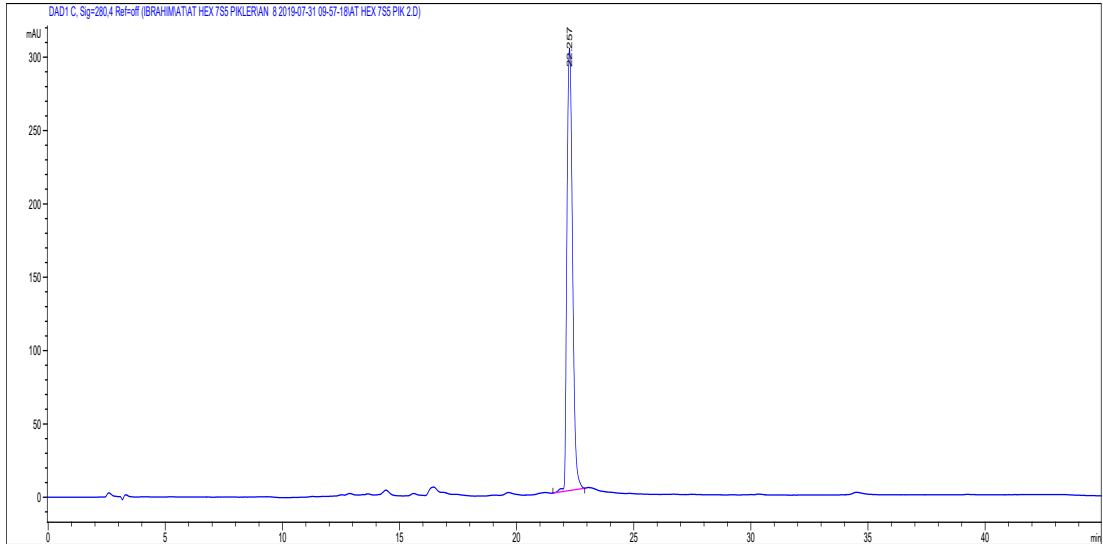
Moleküler Ağırlık: 424.45

m/z : 424.15 (100.0%), 425.16 (26.5%), 426.16 (4.8%)

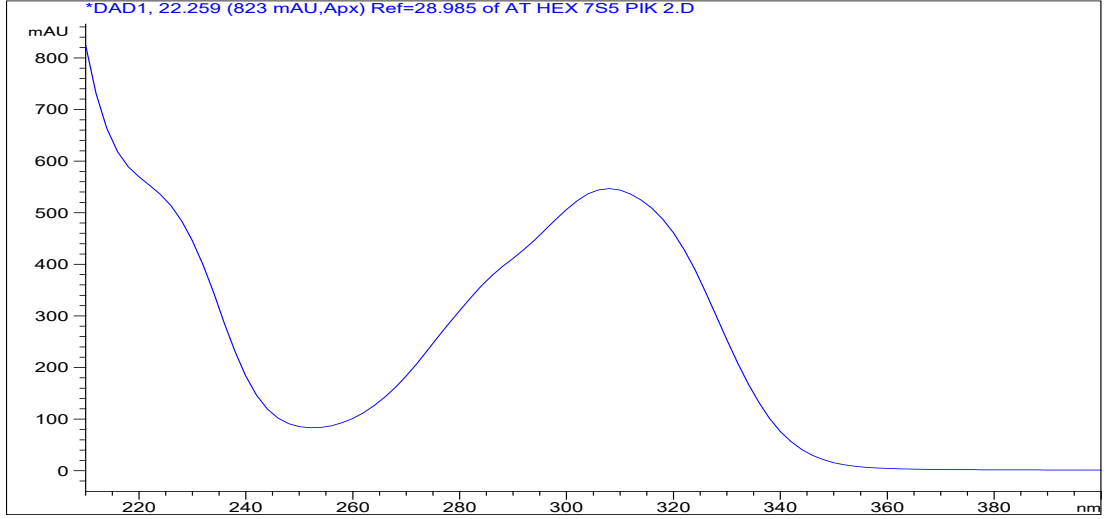
Elementel Analiz: C, 67.91; H, 5.70; O, 26.39

metil (*S*)-4-hidroksi-2-(4-hidroksi-3-(3-metilbüt-2-en-1-il)benzil)-3-(4-hidroksifenil)-5-okso-2,5-dihidrofuran-2-karboksilat

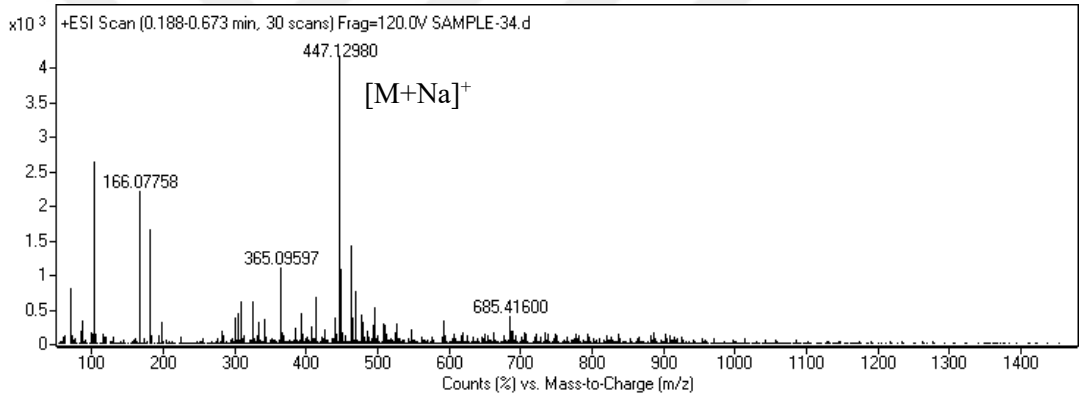
Şekil 3.39. Bütürolakton I bileşiğinin yapısı, kimyasal özellikleri ve adlandırılması



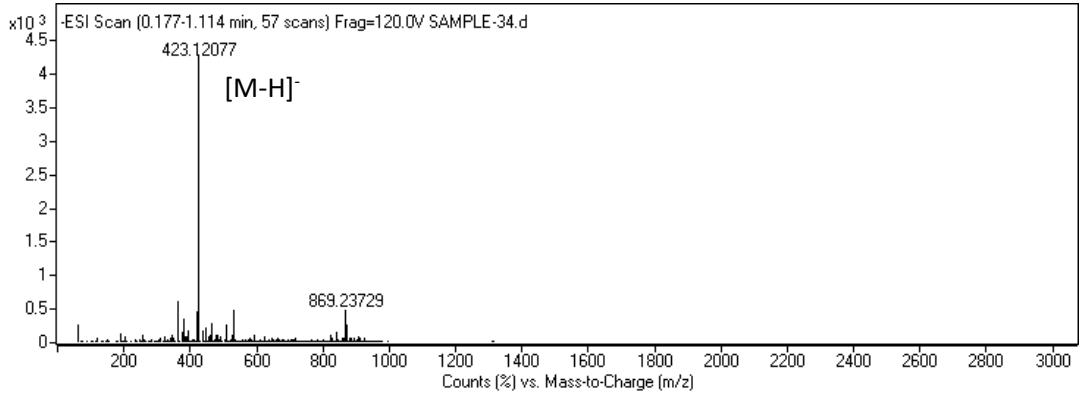
Şekil 3.40. Bütürolakton I bileşiğinin YPSK kromatogramı



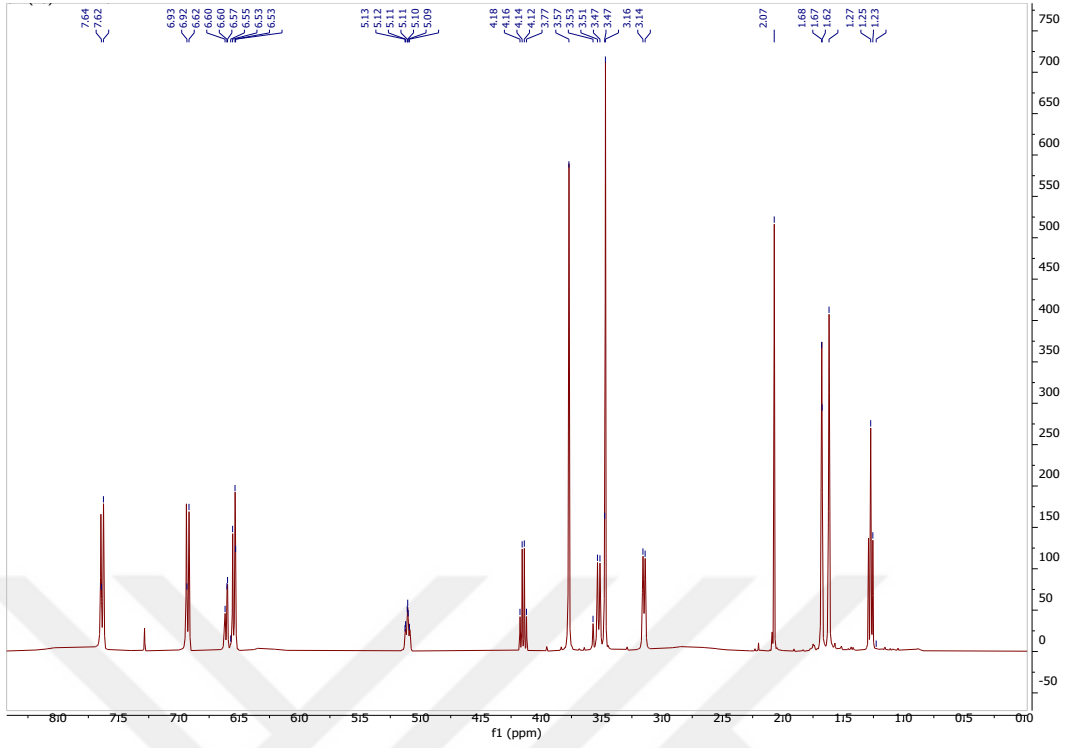
Şekil 3.41. Bütirolakton I bileşiğinin maksimum UV absorbanısı



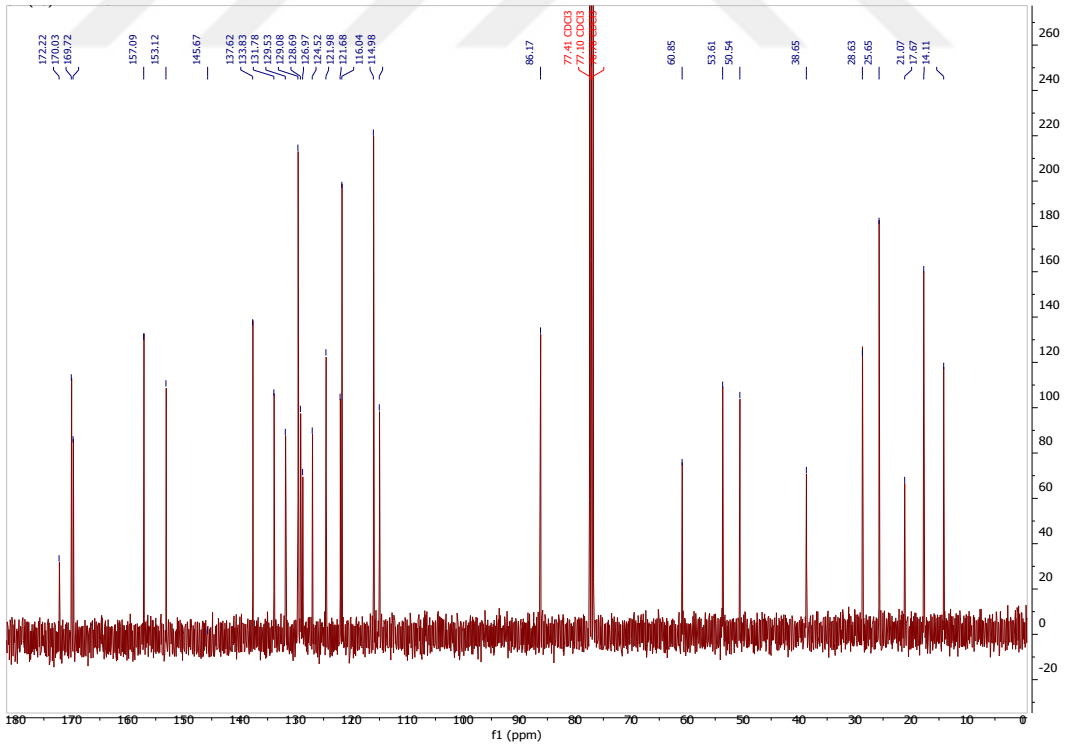
Şekil 3.42. Bütirolakton I bileşiğinin yüksek çözünürlüklü +ESI kütle spektrometresi spektrumu



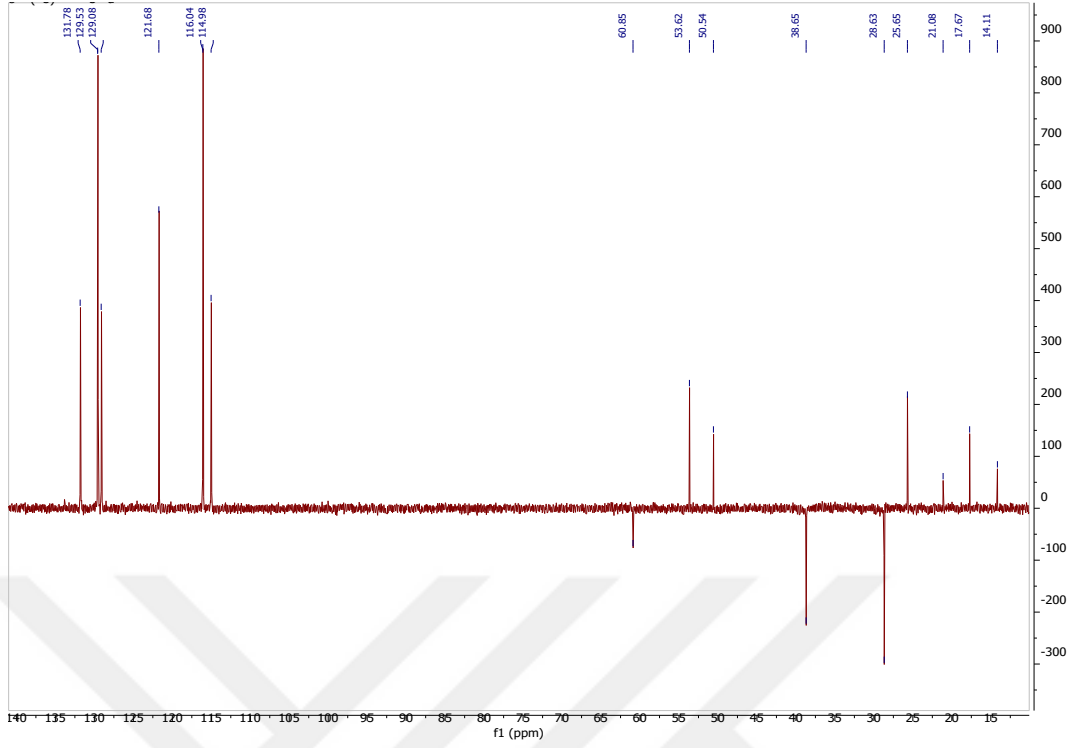
Şekil 3.43. Bütirolakton I bileşiğinin yüksek çözünürlüklü -ESI kütle spektrometresi spektrumu



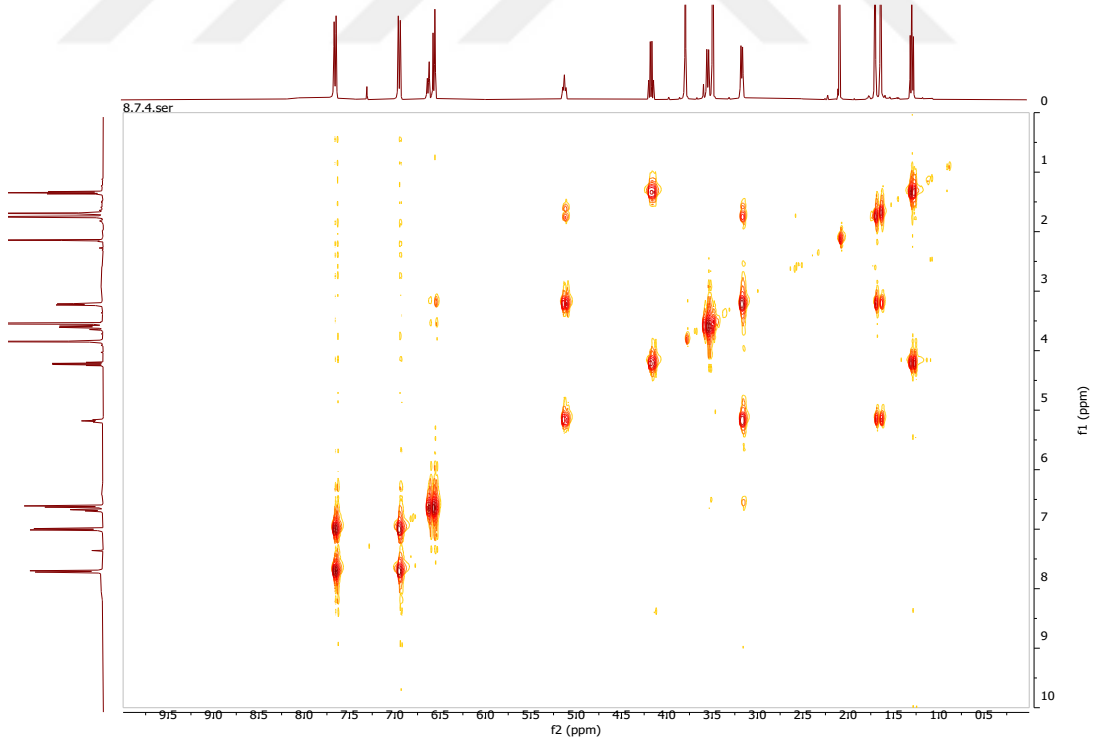
Şekil 3.44. Bütirolakton I bileşiğinin CDCl₃-d' deki ¹H-NMR spektrumu



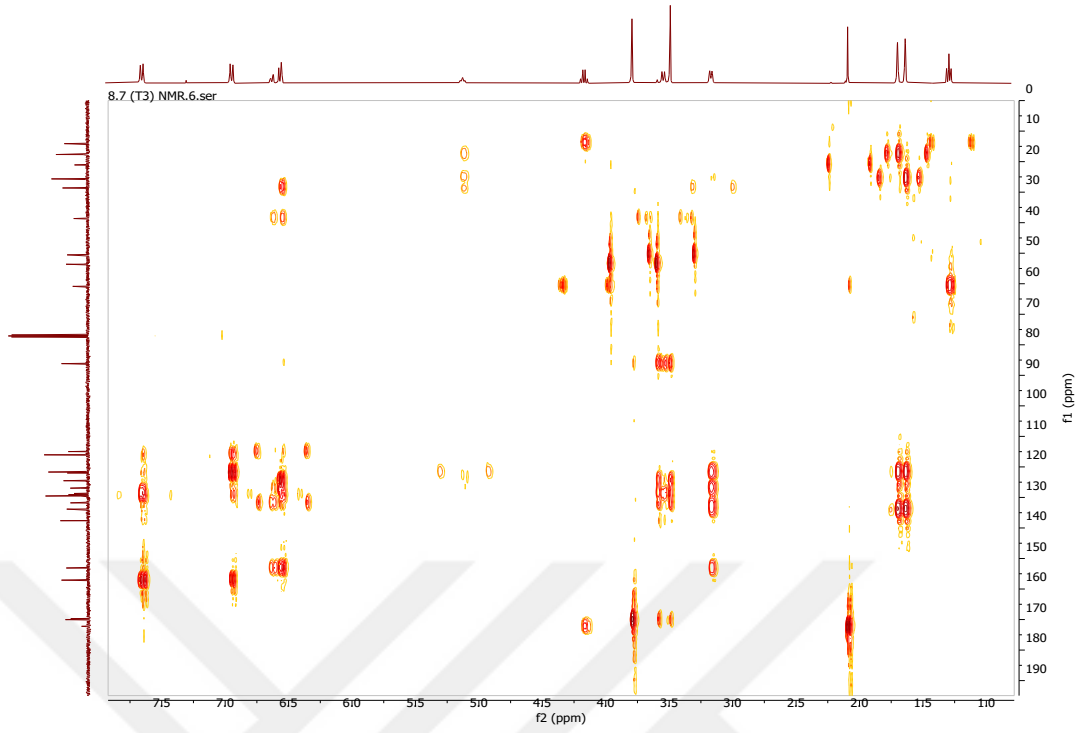
Şekil 3.45. Bütirolakton I bileşiğinin CDCl₃-d' deki ¹³C-NMR spektrumu



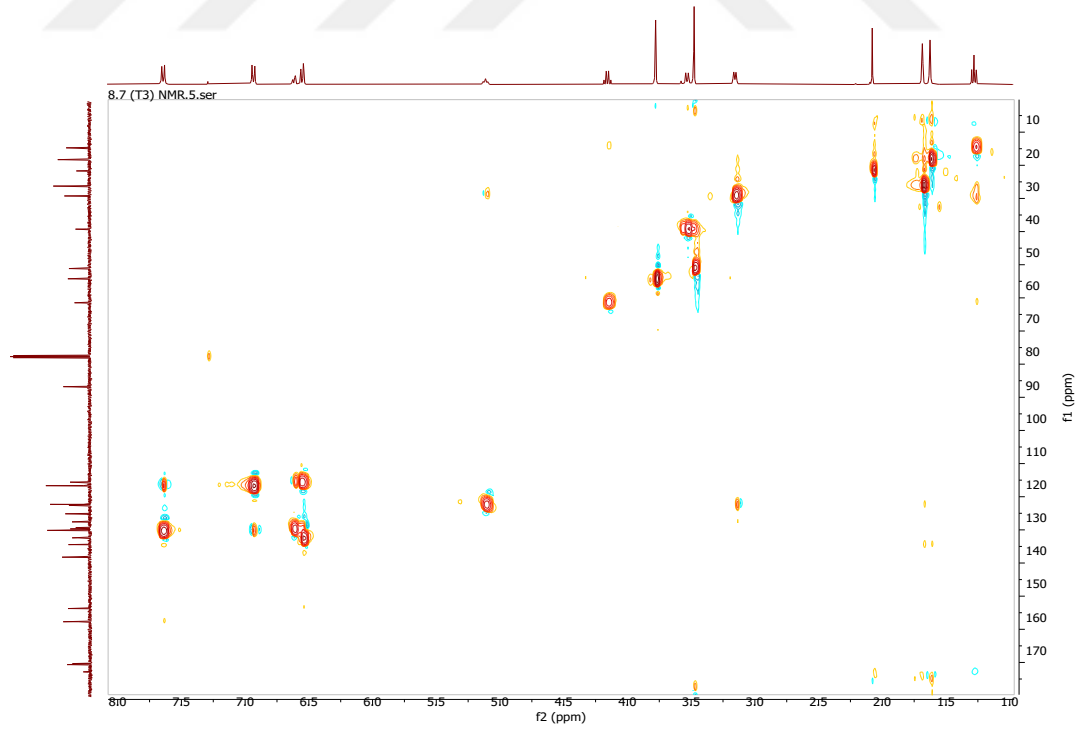
Şekil 3.46. Bütirolakton I bileşiğinin CDCl₃-d' deki DEPT spektrumu



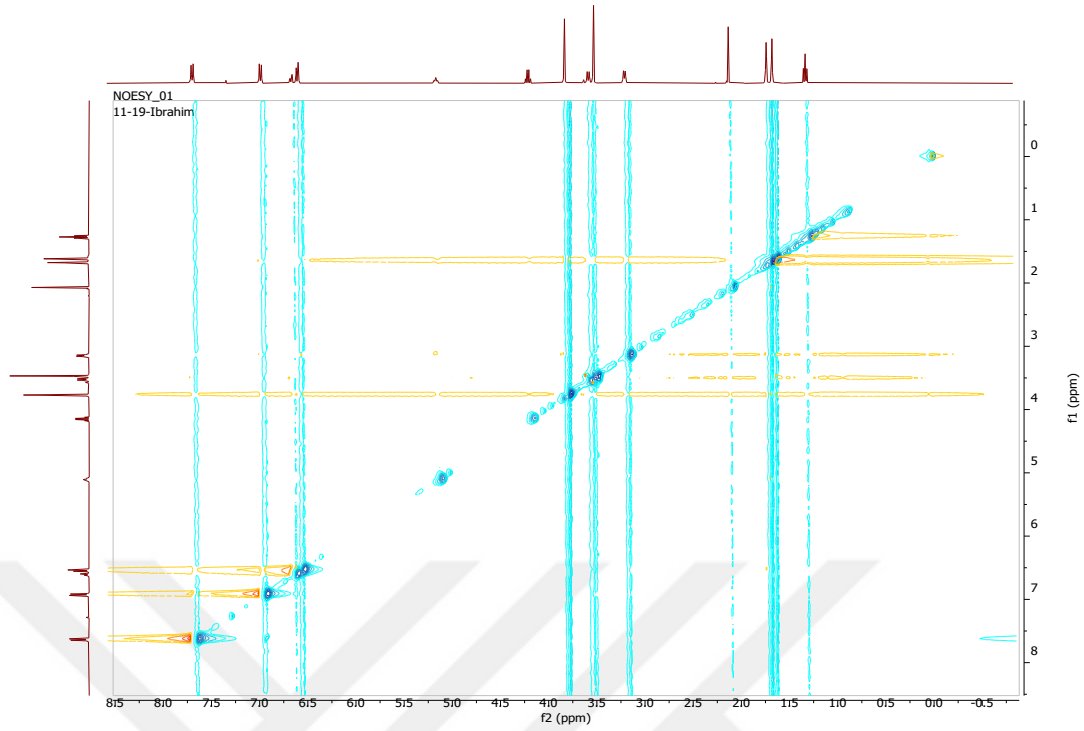
Şekil 3.47. Bütirolakton I bileşiğinin CDCl₃-d' deki ¹H-¹H COSY spektrumu



Şekil 3.48. Bütirolakton I bileşiğinin CDCl₃-d' deki gHMBC spektrumu



Şekil 3.49. Bütirolakton I bileşiğinin CDCl₃-d' deki gHMQC spektrumu



Şekil 3.50. Bütirolakton I bileşiğinin $CDCl_3-d'$ 'deki NOESY spektrumu

Çizelge 3.9. Bütirolakton I maddesine ait antienflamatuvar aktivite test sonuçları

Bileşik	Süperoksit anyon jenerasyonu		Elastaz salımı	
	% İnhibisyon ^a	IC ₅₀ (µM) ^b	% İnhibisyon ^a	IC ₅₀ (µM) ^b
Bütirolakton I	105.26 ± 0.14	2.58 ± 0.46	114.86 ± 4.02	2.30 ± 0.27
Genistein	<i>c</i>	1.52 ± 0.17	31.57 ± 7.29	16.34 ± 4.26

^a 10 µM konsantrasyonda inhibisyon yüzdesi. ^b Yüzde 50 inhibisyon için gereken konsantrasyon (IC₅₀). Sonuçlar ortalama ± standard hata olarak gösterilmiştir. (n = 3~6). ^c Genistein süperoksit anyon jenerasyonunu 3 µM konsantrasyonda 67.01 ± 2.38 % inhibe etmiştir.

Çizelge 3.10. Bütirolakton I maddesine ait antialerjik aktivite test sonuçları

Bileşik	% canlılık, RBL-2H3 ^a	A23187-nedenli degranülasyonun % inhibisyonu			Antijen-nedenli degranülasyonun % inhibisyonu		
		10 µM	100 µM	IC ₅₀ (µM) ^c	10 µM	100 µM	IC ₅₀ (µM) ^c
Bütirolakton I	>90%	26.0 ± 2.4	98.7 ± 0.7	39.7	30.0 ± 3.3%	87.0 ± 2.4%	41.6
Azelastin ^b	>90% (20 µM)			10.9			15.4

^a Örneklerin RBL-2H3 hücrelerine sitotoksitesi MTT canlılık taramasıyla ölçülmüştür. Sonuçlar kontrole (DMSO) karşı ortalama (n = 3) cinsinden ifade edilmiştir. Tüm örnekler RBL-2H3 hücrelerine non toksiktir.

^b Azelastin (20 µM) pozitif kontrol olarak kullanılmıştır ve 20 µM konsantrasyonda A23187 indüklü degranülasyonu % 78.4 ± 1.4, antijen indüklü degranülasyonu % 66.8 ± 9.8 inhibe etmiştir. ^c Yüzde 50 inhibisyon için gereken konsantrasyon (IC₅₀).

3.4.2. Bütrolakton III

Aspergillus terreus mantarının VSK kolona uygulanan Metanollü ekstresinin %100 Diklorometan içeren 8. Fraksiyonu tüm gradientlerde 300 mL olarak Petrol Eteri : Etil Asetat (4:1, 3:1, 2:1, 1:1) gradient çözücü sistemiyle silika kolona uygulanmıştır. Kolondan toplanan 26-35 numara aralığındaki tüpler birleştirilmiş ve maddenin saflığı YPSK analiziyle kontrol edilmiştir. Elde edilen maddenin (85 mg) diğer spektral analizleri de gerçekleştirilmiş ve yapısı Bütrolakton III olarak tayin edilmiştir.

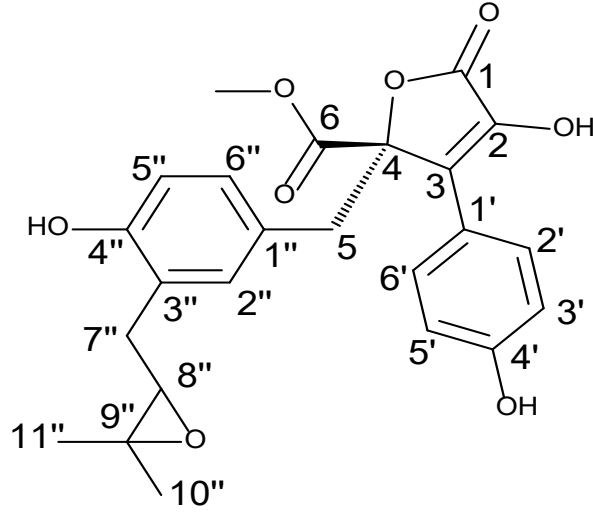
Bileşik amorf katı halde elde edilmiş olup, Bütrolakton I bileşiğine benzer surette 308 ve 225 nm değerlerinde maksimum UV absorbans göstermektedir. Maddenin yüksek çözünürlüklü kütle spektrometresi analizi sonucunda spektrumda 463.12586 [M+Na]⁺ da ve 439.11538 [M-H]⁻ de, maddenin Bütrolakton I ile kıyaslandığında bir oksijen atomuna daha sahip olan C₂₄H₂₄O₈ formülünde olacağını gösteren 2 psödomoleküler iyon piki gözlenmiştir. ¹H ve ¹³C spektrumlarına bakıldığında Bütrolakton I bileşiğine olan benzerlikten hariç olarak karakteristik izoprenil piklerinin yokluğu, δ_H 1.21 (δ_C 24.8) ve δ_H 1.24 (δ_C 22.0) de iki singlet metil grubunun, δ_C 76.8 de bir kuaterner karbon ve δ_C 69.7 de bir metin olarak kendini gösteren iki oksijenlenmiş sp³ karbonunun varlığı ortaya konulmuştur. Maddeye ait HMBC spektrumu, iki singlet metil grubundan δ_C 69.7 ve δ_C 76.8'deki iki karbona uzun mesafe korelasyonunun varlığını göstermiştir ki bu da izoprenil yapısının yerine bir epoksi halkasının geldiğini ortaya koymaktadır. Literatürdeki verilerle karşılaştırıldığında bileşik Bütrolakton III olarak doğrulanmıştır (Chen ve ark., 2015; Nitta ve ark., 1983).

Bütrolakton III bileşiğine ait ¹H ve ¹³C NMR analizleri Çizelge 3.11.'de verilmiştir. Bileşiğin yapısı, kimyasal özellikleri ve adlandırılması Şekil 3.51'de, YPSK kromatogramı Şekil 3.52.'de, maksimum UV absorbansı Şekil 3.53'te, yüksek çözünürlüklü +ESI kütle spektrometresi spektrumu Şekil 3.54'te, yüksek çözünürlüklü

-ESI kütle spektrometresi spektrumu Şekil 3.55'te, ^1H -NMR spektrumu Şekil 3.56'da, ^{13}C -NMR spektrumu Şekil 3.57'de, ^1H - ^1H COSY spektrumu Şekil 3.58'de, gHMBC spektrumu Şekil 3.59'da, NOESY spektrumu Şekil 3.60'ta verilmiştir.

Çizelge 3.11. Bütirolakton III bileşiğine ait ^1H ve ^{13}C NMR analizleri.

Bütirolakton III, MeOH- <i>d</i> ₄ , 600 MHz		
#	δ_{H} (J[Hz])	δ_{C} , tip
1		169.6, C
2		137.6, C
3		129.7, C
4		86.1, C
5	3.51, d (14.7) 3.41, d (14.7)	38.8, CH ₂
6		169.9, C
7	3.73, s (3H)	53.7, CH ₃
1'		122.0, C
2'	7.56, d (9.0)	129.6, CH
3'	6.90, d (9.0)	116.2, CH
4'		157.3, C
5'	6.90, d (9.0)	116.2, CH
6'	7.56, d (9.0)	129.6, CH
1''		118.4, C
2''	6.51, d (2.1)	132.1, CH
3''		124.8, C
4''		152.0, C
5''	6.53, d (8.1)	116.7, CH
6''	6.51, dd (8.1, 2.1)	128.9, CH
7''	2.82, dd (17.0, 5.0) 2.58, dd (17.0, 6.0)	30.9, CH ₂
8''	3.74, m	69.7, CH
9''		76.8, C
10''	1.24, s (3H)	22.0, CH ₃
11''	1.21, s (3H)	24.8, CH ₃



Bütürolakton III

Kimyasal Formül: $C_{24}H_{24}O_8$

Nihai Kütle: 440.15

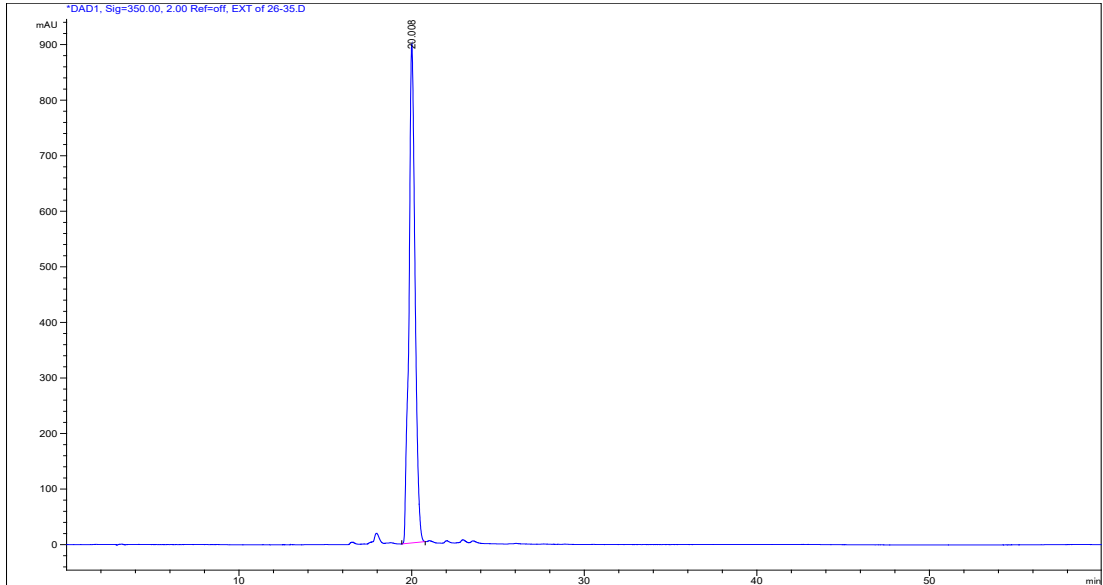
Moleküler Ağırlık: 440.45

m/z : 440.15 (100.0%), 441.15 (26.5%), 442.15 (5.0%)

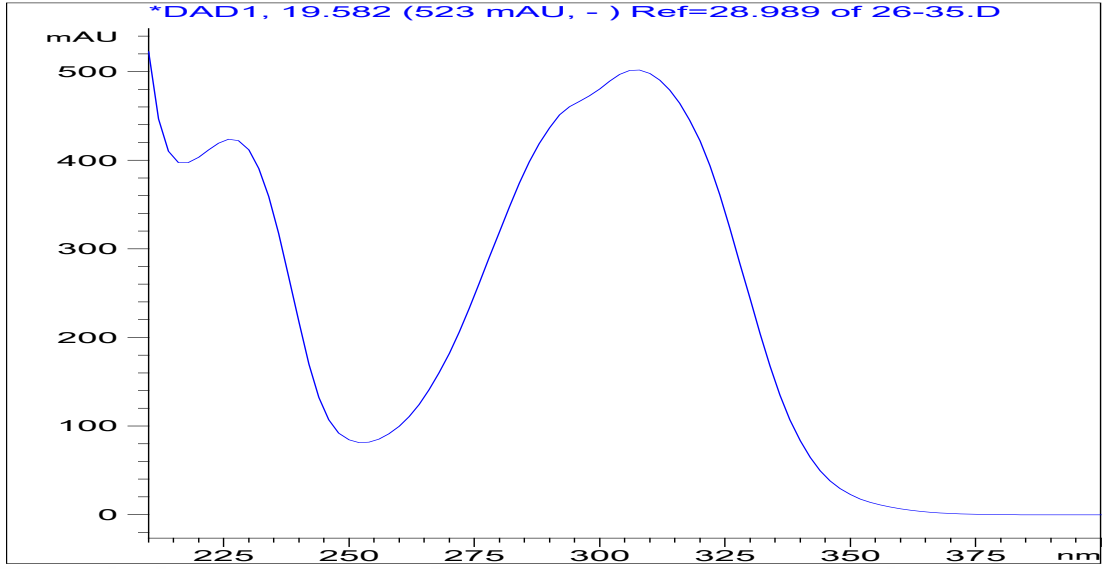
Elementel Analiz: C, 65.45; H, 5.49; O, 29.06

metil (2*S*)-2-(3-((3,3-dimetiloksiran-2-il)metil)-4-hidroksibenzi)-4-hidroksi-3-(4-hidroksifenil)-5-okso-2,5-dihidrofuran-2-karboksilat

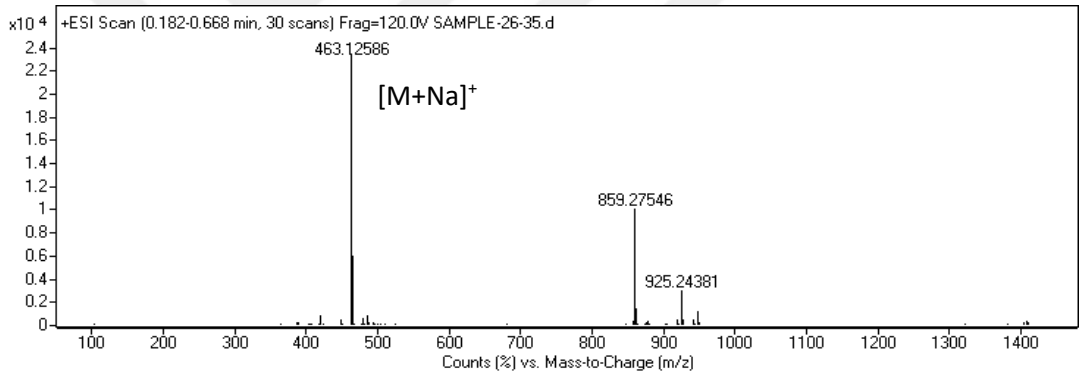
Şekil 3.51. Bütürolakton III bileşiğinin yapısı, kimyasal özellikleri ve adlandırılması



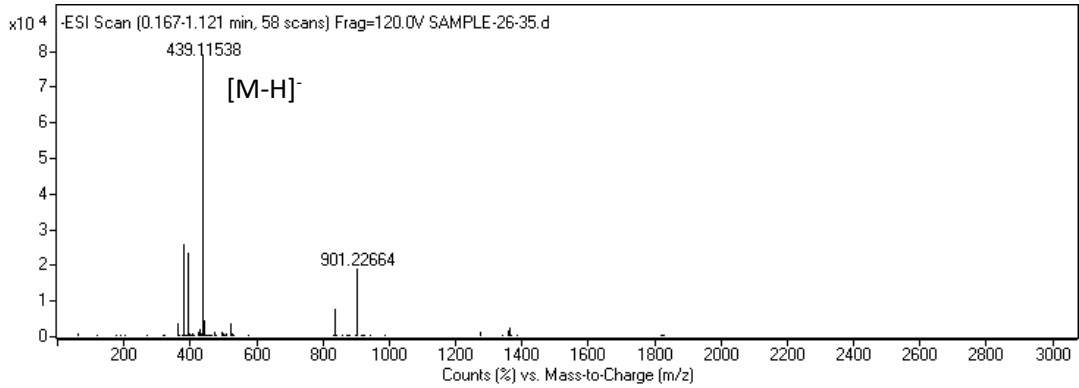
Şekil 3.52. Bütürolakton III bileşiğinin YPSK kromatogramı



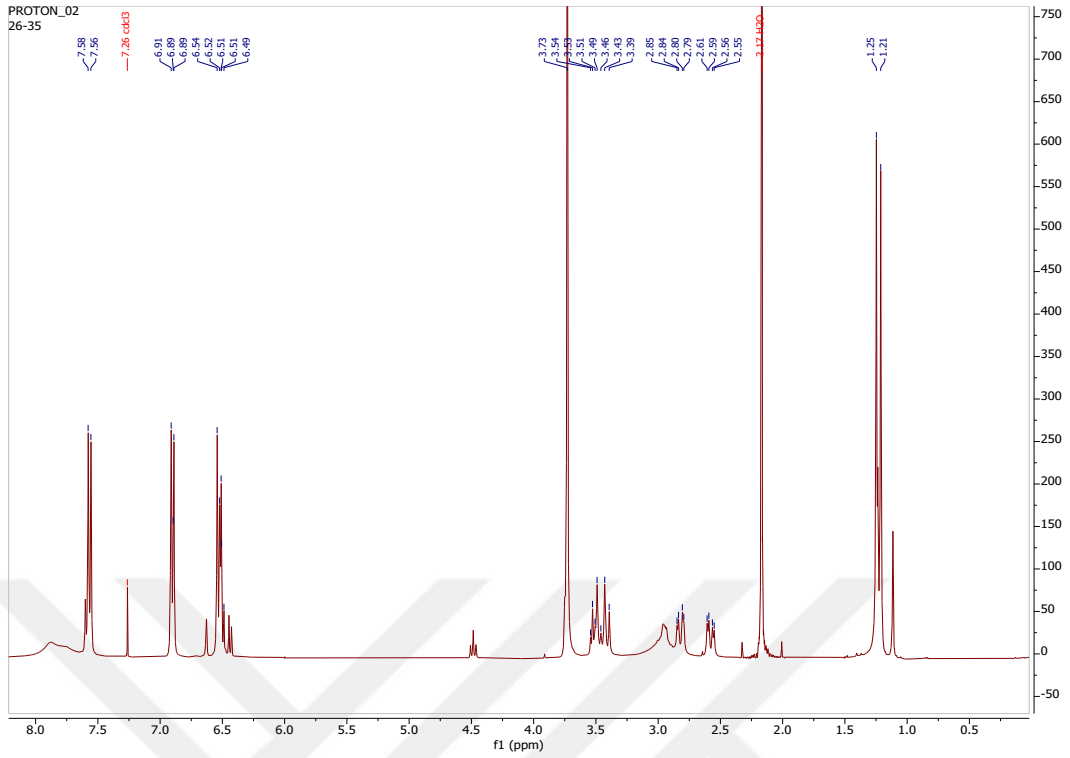
Şekil 3.53. Bütirolakton III bileşiğinin maksimum UV absorbansı



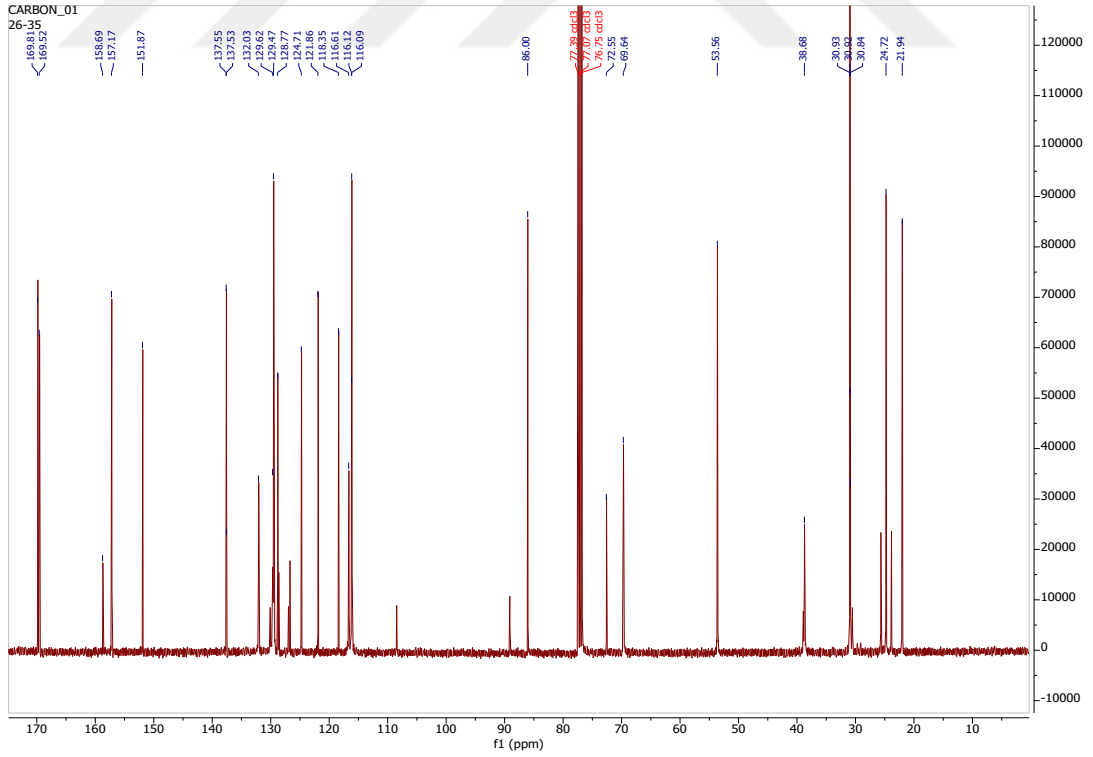
Şekil 3.54. Bütirolakton III bileşiğinin yüksek çözünürlüklü +ESI kütle spektrometresi spektrumu



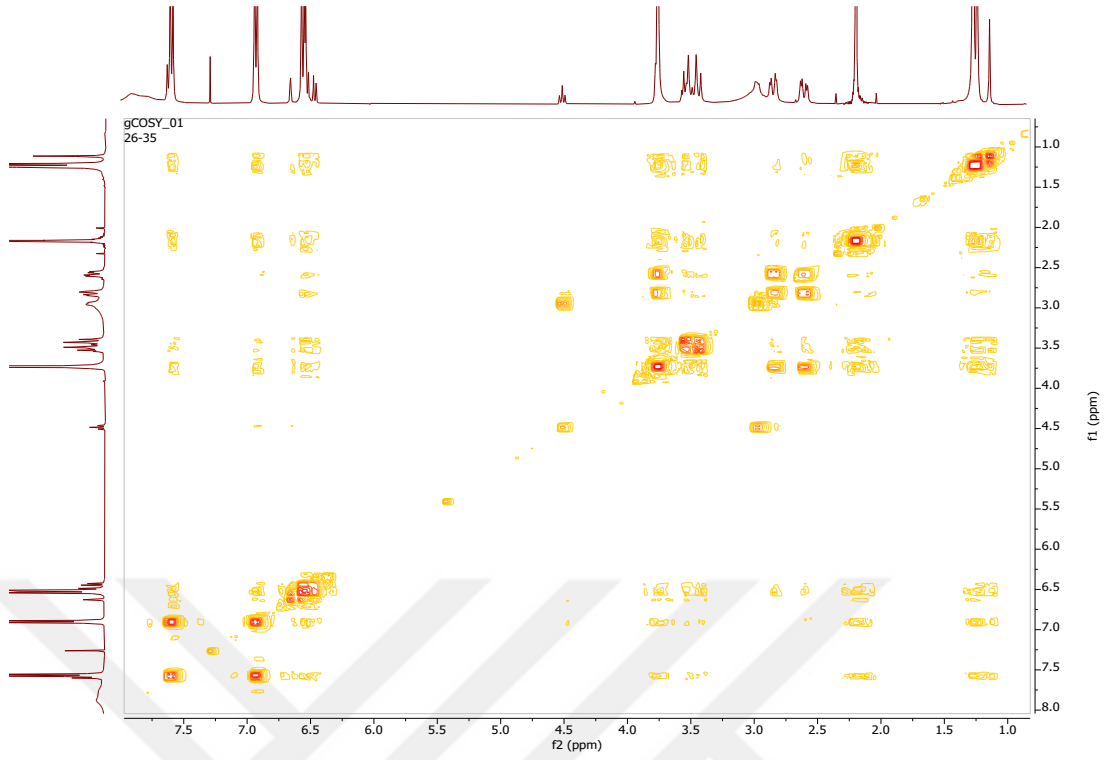
Şekil 3.55. Bütirolakton III bileşiğinin yüksek çözünürlüklü -ESI kütle spektrometresi spektrumu



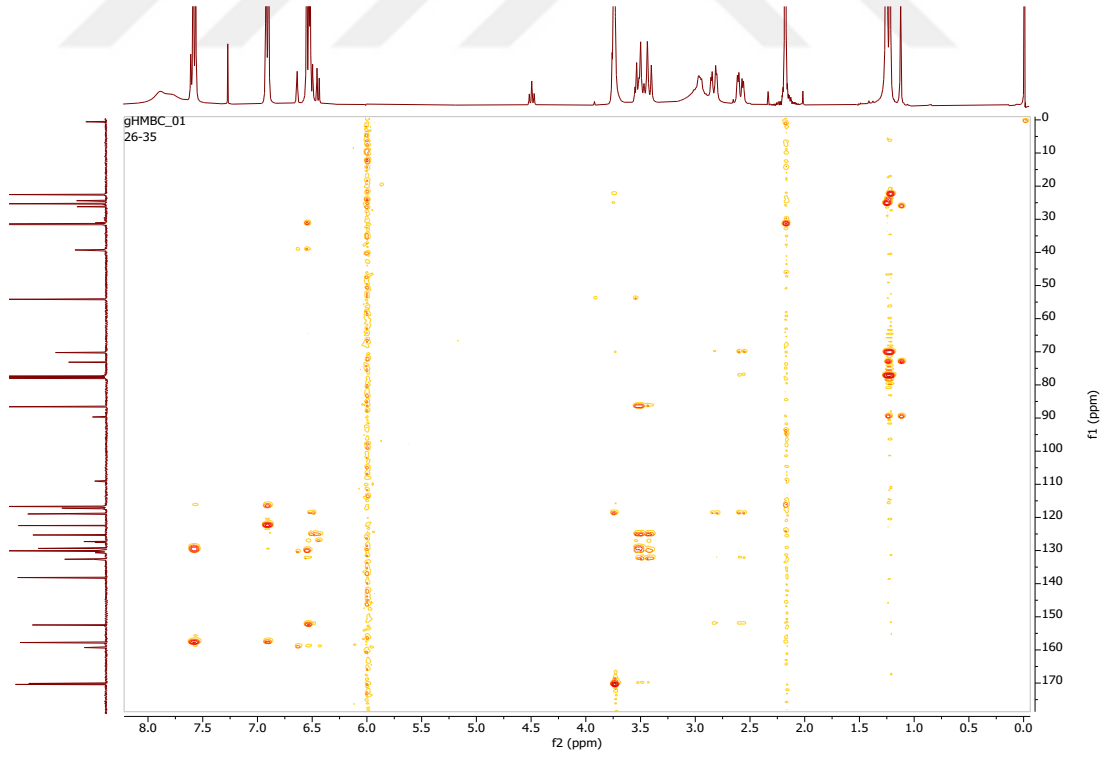
Şekil 3.56. Bütirolakton III bileşiğinin MeOH-*d*₄'deki ¹H-NMR spektrumu



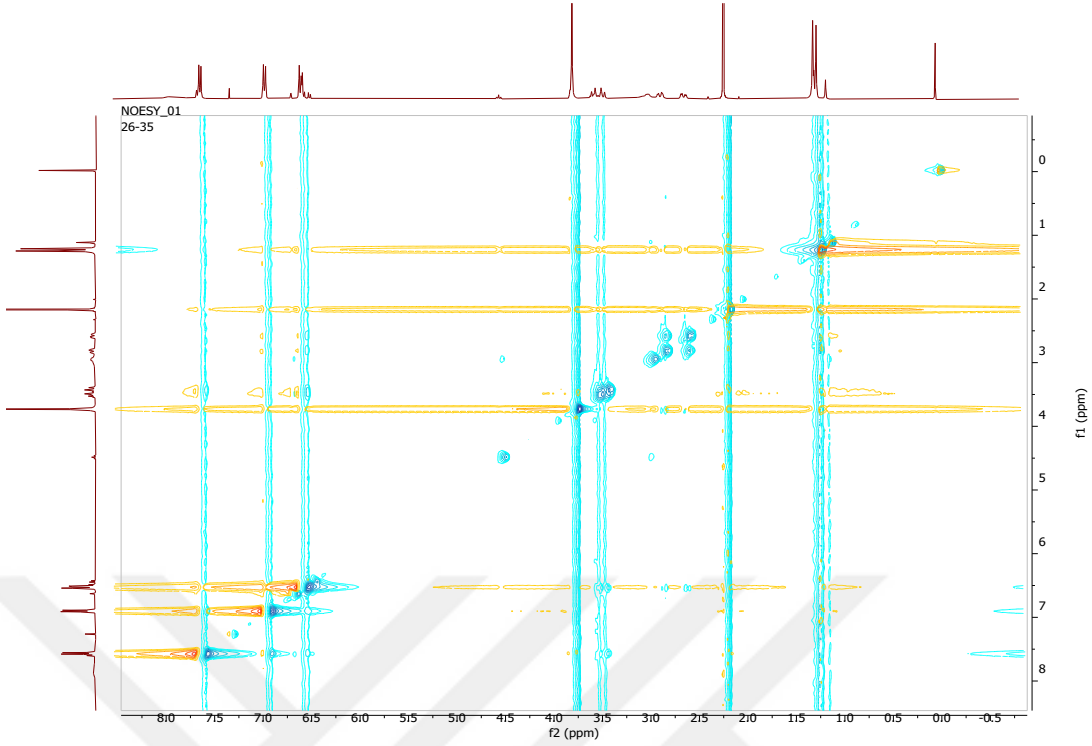
Şekil 3.57. Bütirolakton III bileşiğinin MeOH-*d*₄'deki ¹³C-NMR spektrumu



Şekil 3.58. Bütirolakton III bileşiğinin MeOH- d_4 'deki ^1H - ^1H COSY spektrumu



Şekil 3.59. Bütirolakton III bileşiğinin MeOH- d_4 'deki gHMBC spektrumu



Şekil 3.60. Bütirolakton III bileşiğinin MeOH- d_4 'deki NOESY spektrumu

3.4.3. Terretonin

Aspergillus terreus mantarının VSK kolona uygulanan Metanollü ekstresinin %100 Diklorometan içeren 8. Fraksiyonu Petrol Eteri : Etil Asetat (4:1>1:1) gradient çözücü sistemiyle silika kolona uygulanmıştır. Bu uygulamadan toplanan tüplerden 43. ve 50. tüpler arası birleştirilerek Petrol Eteri : Etil Asetat (1:1>1:4) çözücü sistemiyle silika kolona uygulanmış elde edilen 6-12 arası tüpler birleştirilerek preparatif YPSK metoduyla Terretonin maddesi elde edilmiştir.

Madde katı amorf olup 220 ve 278 nm değerlerinde maksimum UV absorbans göstermektedir. Yüksek çözünürlüklü kütle spektrometresinden alınan spektrum incelendiğinde m/z 489.2070 $[M+H]^+$ ($C_{26}H_{33}O_9$ için hesaplanan, 489.2125), m/z 511.1887 $[M+Na]^+$ ($C_{26}H_{32}O_9Na$ için hesaplanan, 511.1944) ve m/z 487.1971 $[M-H]^-$

(C₂₆H₃₁O₉ için hesaplanan, 487.1968) değerlerinde psödomoleküler iyon piklerinin varlığı bileşiğin yapısının C₂₆H₃₂O₉ olduğunu göstermektedir. Kütle spektrometresi analizi sonucunda doymamışlık derecesinin 11 olduğu bulunmuştur. 1D ve 2D NMR sonuçlarına bakıldığında, daha önce *Aspergillus terreus* mantarından izole edildiği literatüre geçmiş olan Terretonin maddesinin gösterdiği spektrumlarla karşılaşılmıştır (Li ve ark., 2005; Springer ve ark., 1979).

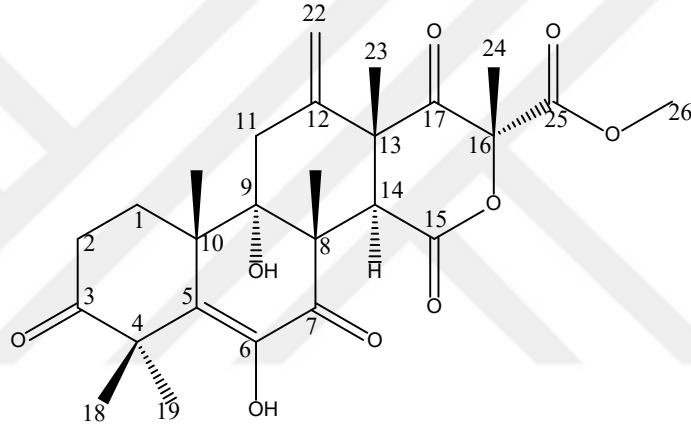
Terretonin bileşiğine ait ¹H ve ¹³C NMR analizleri Çizelge 3.12’de verilmiştir. Bileşiğin yapısı, kimyasal özellikleri ve adlandırılması Şekil 3.61’de, YPSK kromatogramı Şekil 3.62’de, maksimum UV absorbansı Şekil 3.63’te, yüksek çözünürlüklü +ESI kütle spektrometresi spektrumu Şekil 3.64’te, yüksek çözünürlüklü -ESI kütle spektrometresi spektrumu Şekil 3.65’te, ¹H-NMR spektrumu Şekil 3.66’da, ¹³C-NMR spektrumu Şekil 3.67’de, DEPT spektrumu Şekil 3.68’de, ¹H-¹H COSY spektrumu Şekil 3.69’da, gHMBC spektrumu Şekil 3.70’te, gHMQC spektrumu Şekil 3.71’de, NOESY spektrumu Şekil 3.72’de verilmiştir.

Çizelge 3.12. Terretonin bileşiğine ait ¹H ve ¹³C NMR analizleri.

Terretonin, CDCl ₃ -d ₄ , 400 MHz		
#	δ _H (J[Hz])	δ _C , tip
1	2.36, dd (13.1, 9.3) 1.76, dd (13.1, 8.3)	28.3, CH ₂
2	2.70, dd (19.0, 8.6) 2.52, ddd (19.2, 11.3, 8.5)	32.8, CH ₂
3		214.2, CO
4		47.9, C
5		131.7, C
6		138.8, C
7		197.1, CO
8		52.5, C
9		77.7, C
10		43.3, C
11	2.96, dt (14.2, 1.6) 2.27, d (14.2)	35.0, CH ₂
12		139.9, C
13		49.6, C
14	3.54, s	44.7, CH
15		167.9, CO
16		85.6, C
17		201.6, CO

Çizelge 3.12. Devam

18	1.46, s (3H)	23.7, CH ₃
19	1.46, s (3H)	23.7, CH ₃
20	1.94, s (3H)	19.9, CH ₃
21	1.21, s (3H)	18.7, CH ₃
22	5.08, d (1.5) 5.45, d (1.5)	117.2, CH ₂
23	1.43, s (3H)	23.5, CH ₃
24	1.72, s (3H)	21.4, CH ₃
25		168.7, CO
26	3.79, s (3H)	53.8, CH ₃
6-OH	6.14, s	



Terretinin

Kimyasal Formül: C₂₆H₃₂O₉

Nihai Kütle: 488.20

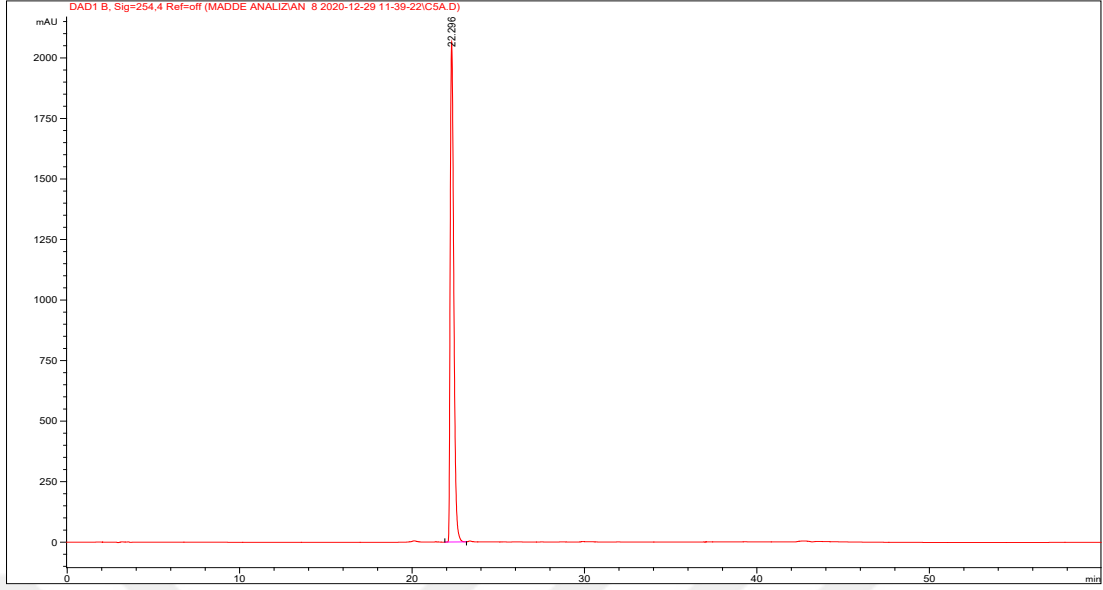
Moleküler Ağırlık: 488.53

m/z: 488.20 (100.0%), 489.21 (28.8%), 490.21 (5.9%)

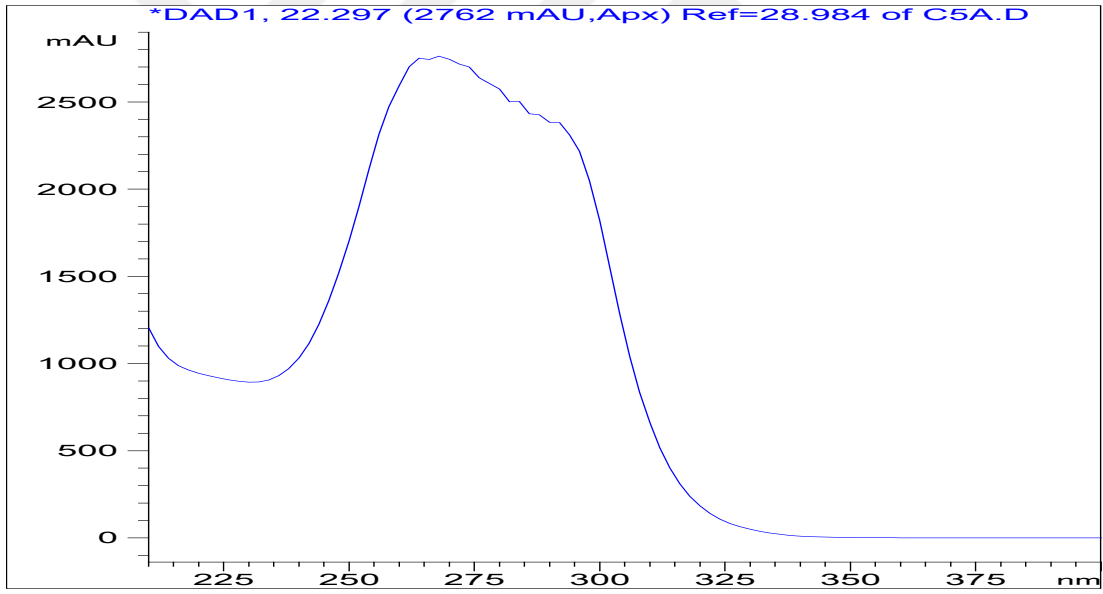
Elementel Analiz: C, 63.92; H, 6.60; O, 29.47

metil (2R,4aR,4bS,10aS,10bS,12aR)-6,10b-dihidroksi-2,4b,7,7,10a,12a-hekzametil-12-metiliden-1,4,5,8-tetraokso-4a,9,10,11-tetrahidronafto[1,2-h]izokromen-2-karboksilat

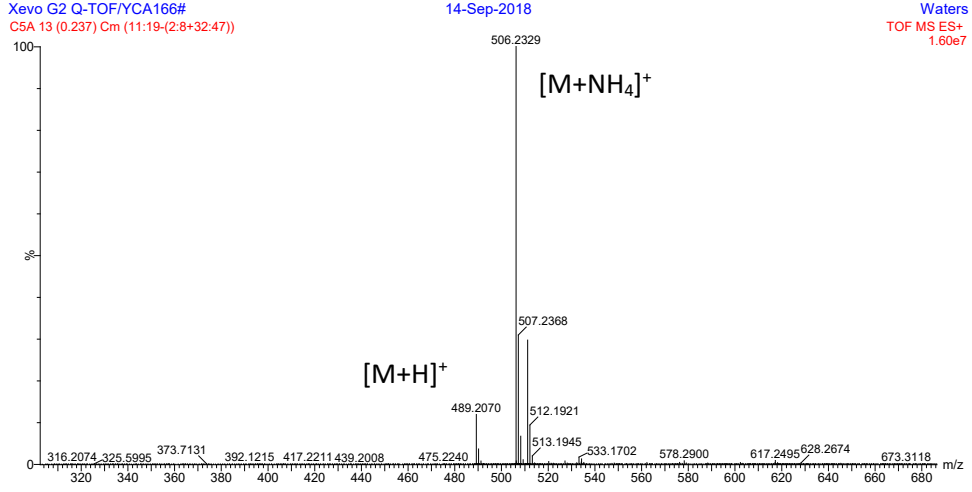
Şekil 3.61. Terretinin bileşiğinin yapısı, kimyasal özellikleri ve adlandırılması



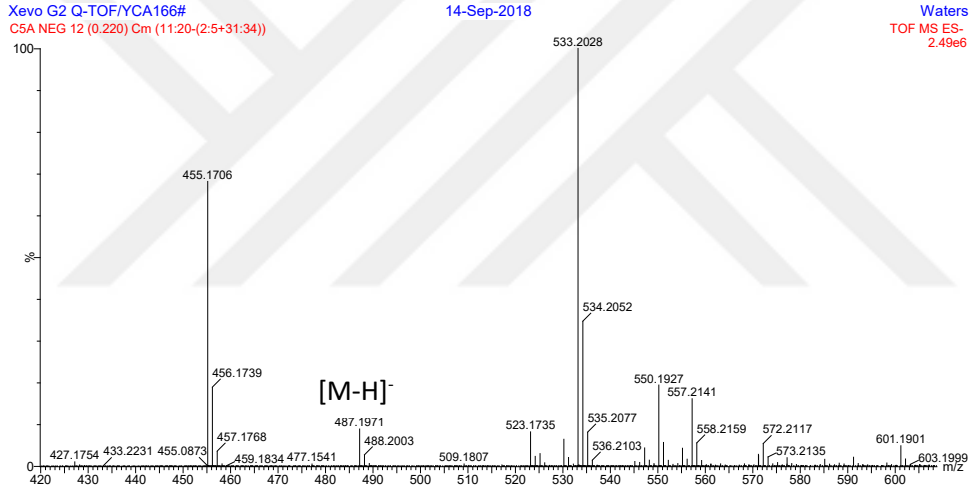
Şekil 3.62. Terretonin bileşğinin YPSK kromatogramı



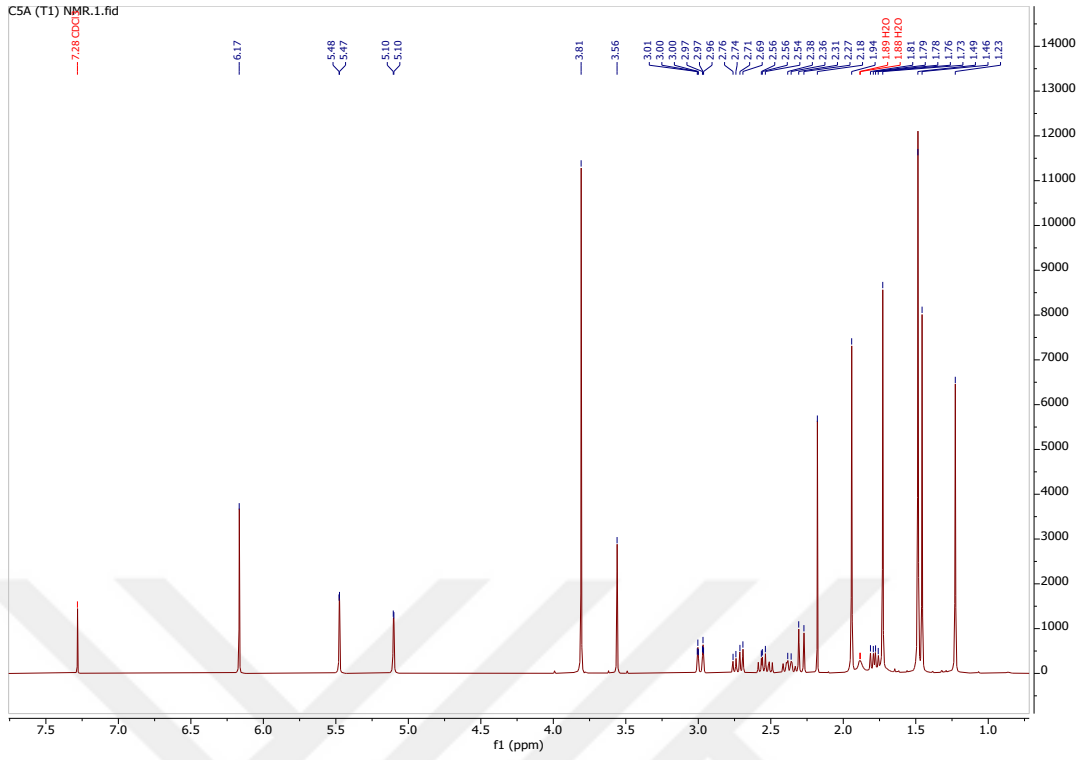
Şekil 3.63. Terretonin bileşğinin maksimum UV absorbansı



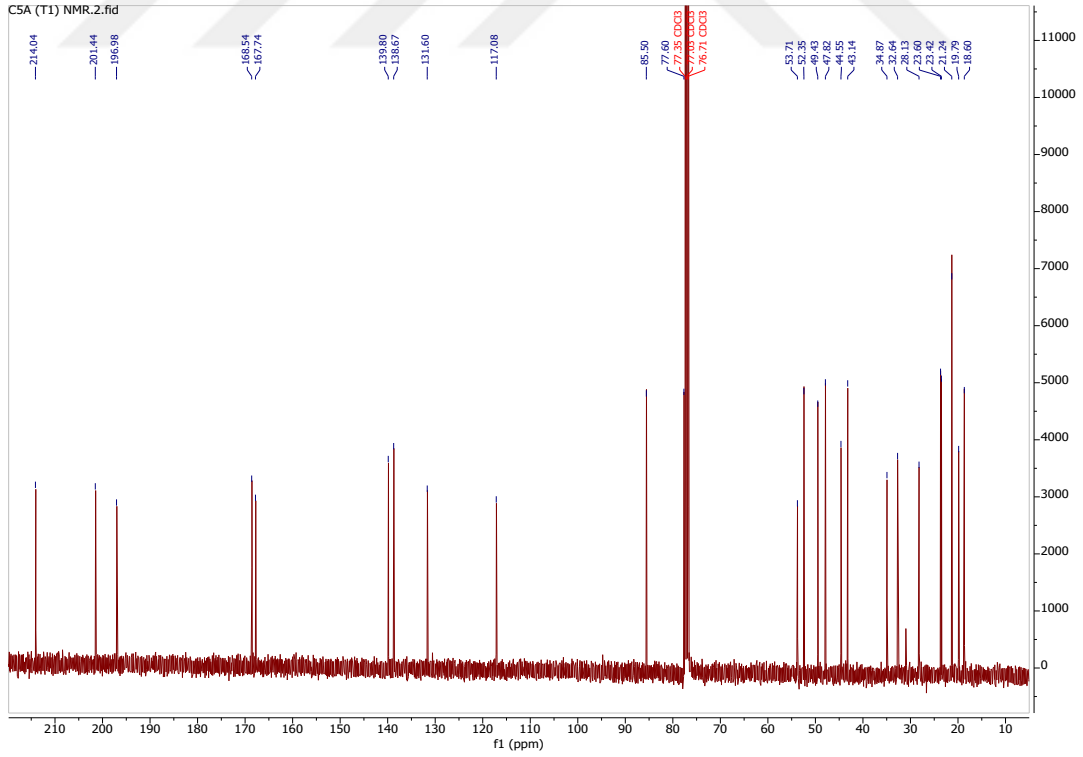
Şekil 3.64. Terretinin bileşiminin yüksek çözünürlüklü +ESI kütle spektrometresi spektrumu



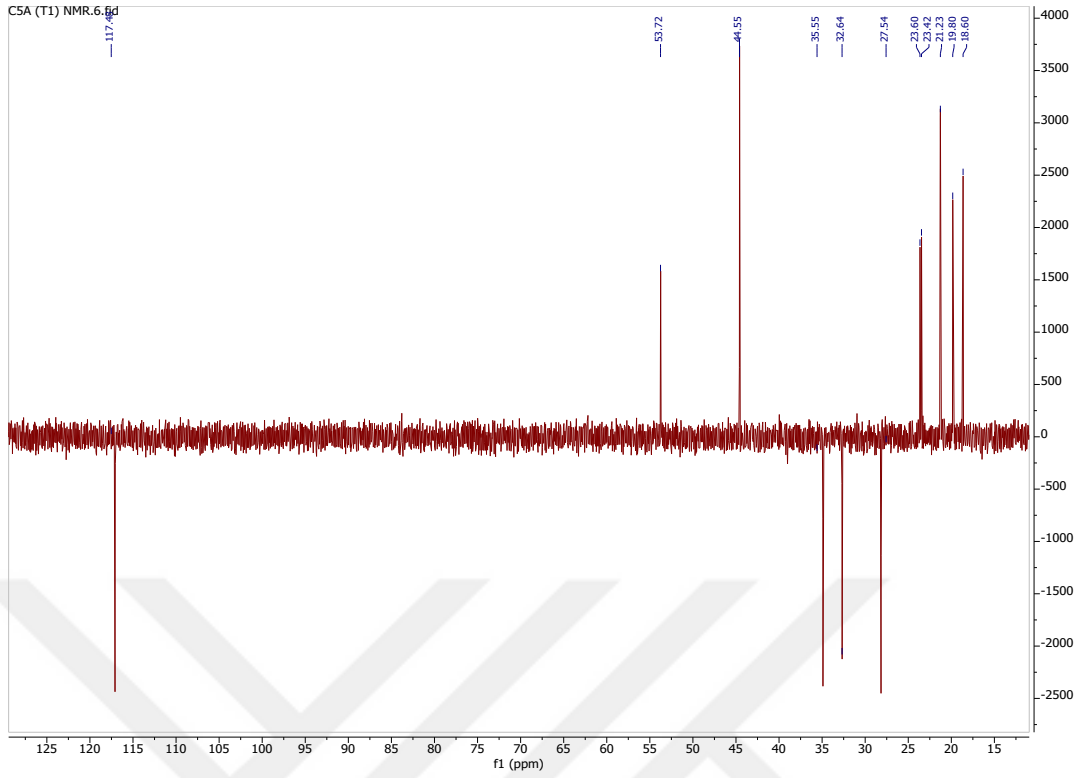
Şekil 3.65. Terretinin bileşiminin yüksek çözünürlüklü -ESI kütle spektrometresi spektrumu



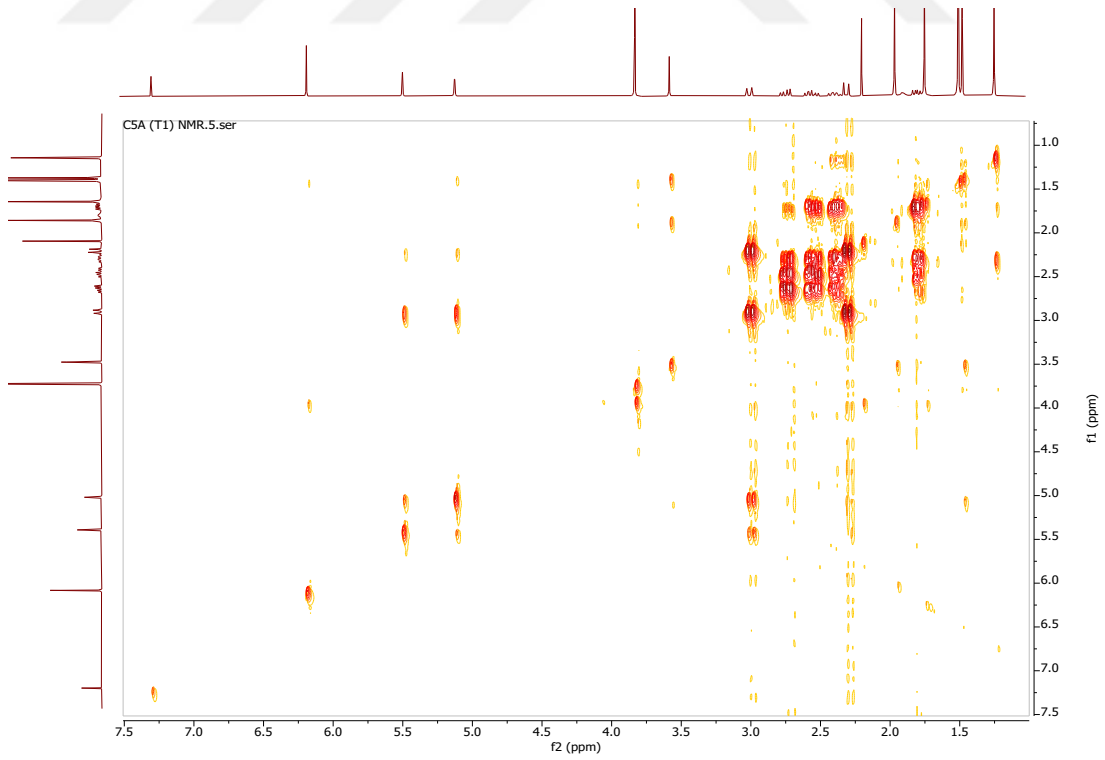
Şekil 3.66. Terretinin bileşiğinin CDCl₃-d'deki ¹H-NMR spektrumu



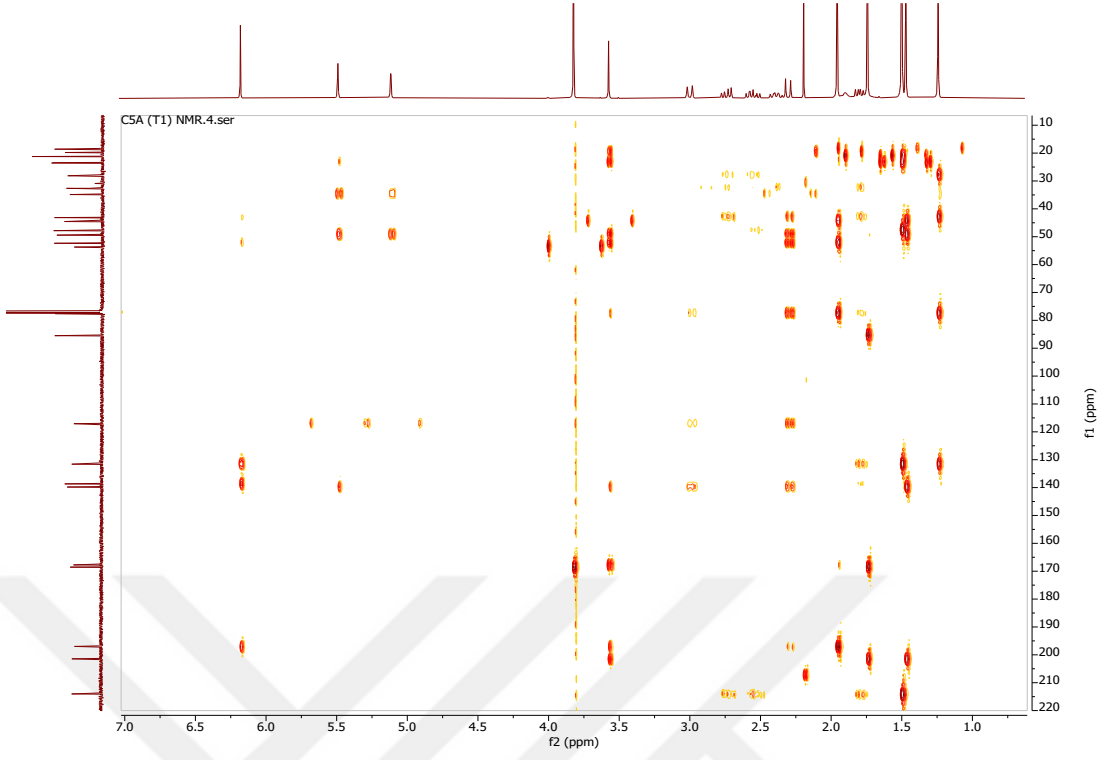
Şekil 3.67. Terretinin bileşiğinin CDCl₃-d'deki ¹³C-NMR spektrumu



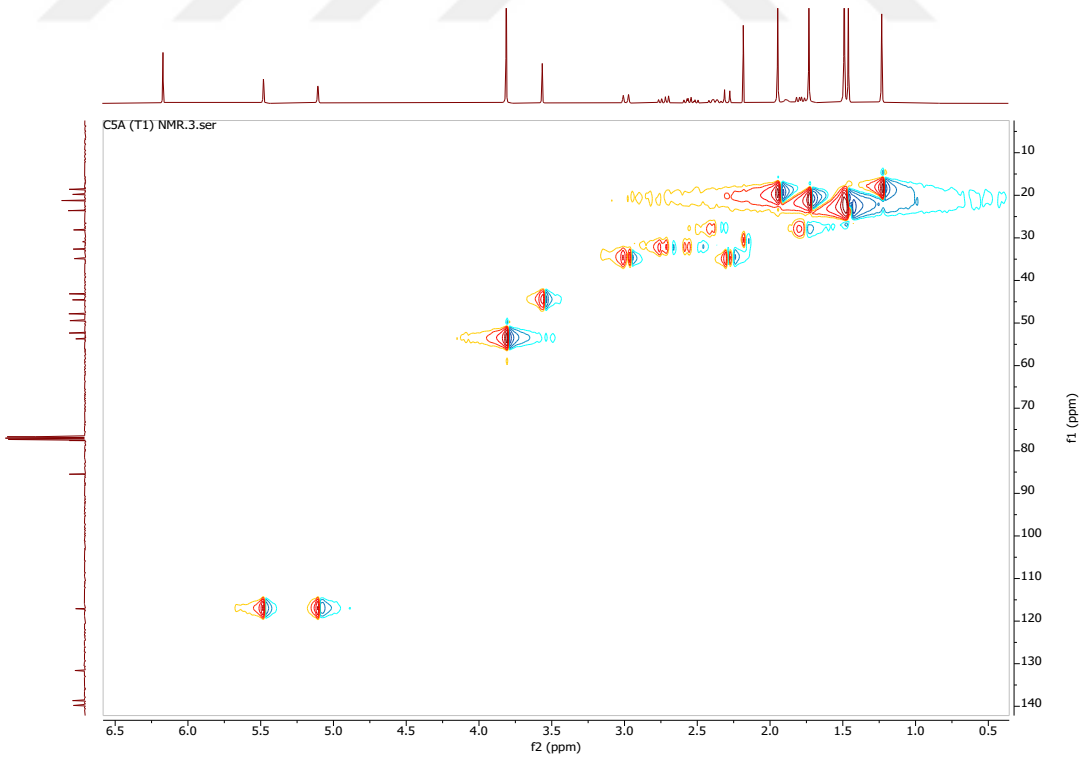
Şekil 3.68. Terretinin bileşiğinin CDCl_3-d' deki DEPT spektrumu



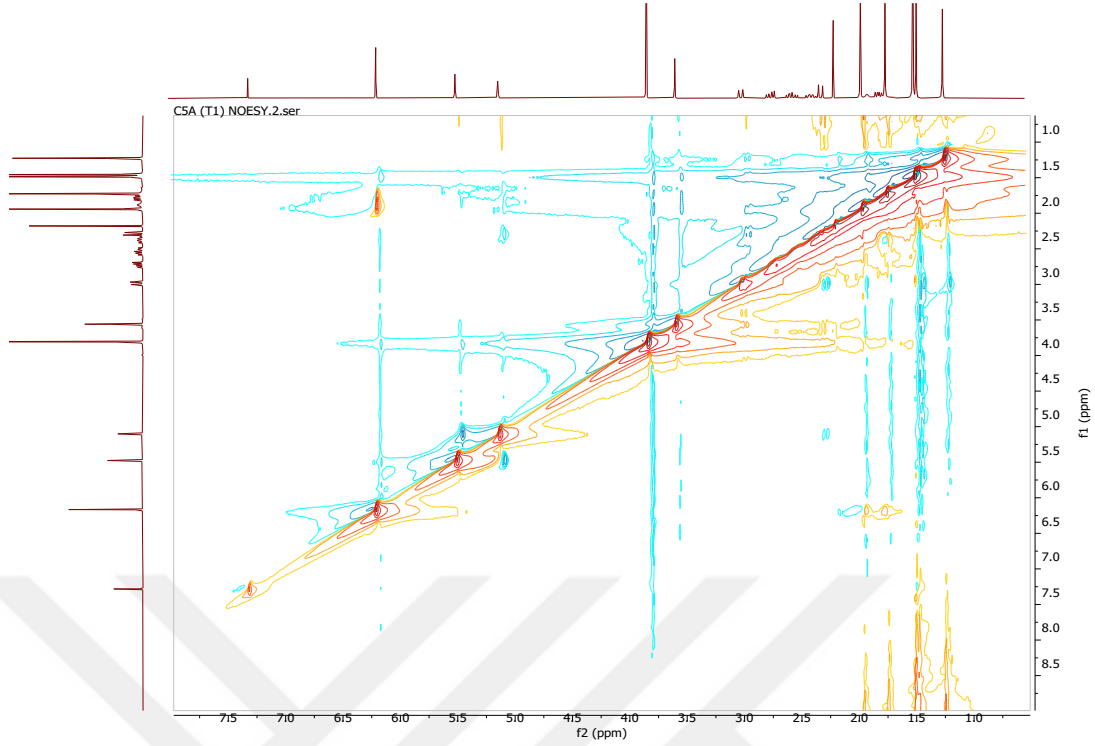
Şekil 3.69. Terretinin bileşiğinin CDCl_3-d' deki $^1\text{H}-^1\text{H}$ COSY spektrumu



Şekil 3.70. Terretinin bileşiğinin CDCl₃-d'³deki gHMBC spektrumu



Şekil 3.71. Terretinin bileşiğinin CDCl₃-d'³deki gHMQC spektrumu



Şekil 3.72. Terretinin bileşiğinin $CDCl_3-d'$ 'deki NOESY spektrumu

3.4.4. 4-hidroksi-3-(3-metilbüt-2-en-1-il) benzaldehit

Aspergillus terreus mantarının VSK kolona uygulanan Metanollü ekstresinin %100 Diklorometan içeren 8. Fraksiyonu Petrol Eteri : Etil Asetat (4:1>1:1) gradient çözücü sistemiyle silika kolona uygulanmıştır. Bu uygulamadan toplanan tüplerden 36. ve 42. tüpler arası birleştirilerek Petrol Eteri : Etil Asetat (2:1>1:2) çözücü sistemiyle silika kolona uygulanmış elde edilen 4. ve 5. tüpler birleştirilerek 4-hidroksi-3-(3-metilbüt-2-en-1-il) benzaldehit maddesi elde edilmiştir.

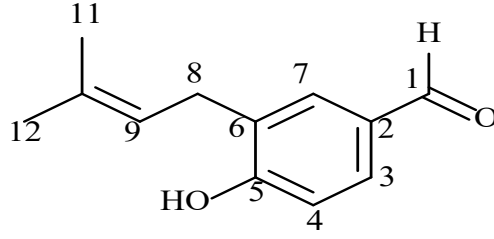
Madde kırmızı renkte katı tozdur. ^{13}C NMR spektrumunda 12 karbon rezonansı gözlenmiştir. 1H ve HMQC spektrumları da birlikte ele alındığında, δ_C 161.1, 132.1, 128.5 ve 128.4'te 4 kuaterner karbon, δ_C 190.0'de bir aldehit, δ_C 130.7, 130.1 ve 115.1'de 3 aromatik karbon, δ_C 121.9 [δ_H 5.29 (1H, td, $J = 7.4, 1.5$ Hz)]'da bir olefinik

karbon olarak 5 tane tersiyer karbon, δ_C 27.7 [δ_H 3.26 (2H, d, $J = 7.4$ Hz)]'de bir sekonder karbon, δ_C 25.5 [δ_H 1.71 (3H, d, $J = 1.5$ Hz)] ve δ_C 17.6 [δ_H 1.68 (3H, d, $J = 1.5$ Hz)]'de iki adet primer karbon varlığı tayin edilmiştir. DMSO çözücüsünden elde edilen 1H NMR spektrumu, δ_H 7.60 (1H, d, $J = 8.2, 2.2$ Hz), δ_H 7.58 (1H, d, $J = 2.2$ Hz) ve δ_H 6.95 (1H, d, $J = 8.2$ Hz)'deki 3 proton rezonansına binaen 1,3,4 trisüstitüe aromatik yapı varlığını göstermiştir. Buna ek olarak, δ_H 10.85 ve δ_H 9.75 ppm' de kimyasal kayma göstermiş 2 protonun varlığı bir aromatik hidroksil grubu ile bir aldehit yapısının varlığına işaret etmektedir. Bileşiğin 1D ve 2D NMR spektrumları literatür ile karşılaştırıldığında, ilk kez 2012 yılında elde edilmiş bir fungal metabolit olan 4-hidroksi-3-(3-metilbüt-2-en-1-il) benzaldehit maddesiyle birebir aynı oldukları gözlenmiştir(Hansson ve ark., 2012; Vu ve ark., 2016).

4-hidroksi-3-(3-metilbüt-2-en-1-il) benzaldehit bileşiğine ait 1H ve ^{13}C NMR analizleri Çizelge 3.13'te verilmiştir. Bileşiğin yapısı, kimyasal özellikleri ve adlandırılması Şekil 3.73'te, 1H -NMR spektrumu Şekil 3.74'te, ^{13}C -NMR spektrumu Şekil 3.75'de, 1H - 1H COSY spektrumu Şekil 3.76'da, gHMBC spektrumu Şekil 3.77'de, gHMQC spektrumu Şekil 3.78'de verilmiştir.

Çizelge 3.13. 4-hidroksi-3-(3-metilbüt-2-en-1-il) benzaldehit bileşiğine ait 1H ve ^{13}C NMR analizleri

4-hidroksi-3-(3-metilbüt-2-en-1-il) benzaldehit, DMSO- d_6 , 600 MHz		
#	δ_H (J[Hz])	δ_C , tip
1	9.75, s	190.9, CO
2		128.4, C
3	7.60, dd (8.2, 2.2)	130.1, CH
4	6.95, d (8.2)	115.1, CH
5		161.1, CO
6		128.5, C
5-OH	10.85, s	
7	7.58, d (2.1)	130.7, CH
8	3.26, d (7.4, 2H)	27.7, CH ₂
9	5.29, td (7.4, 1.5)	121.9, CH
10		132.1, C
11	1.71, d (1.5, 3H)	25.5, CH ₃
12	1.68, d (1.5, 3H)	17.6, CH ₃



4-hidroksi-3-(3-metilbüt-2-en-1-il)benzaldehit

Kimyasal Formül: $C_{12}H_{14}O_2$

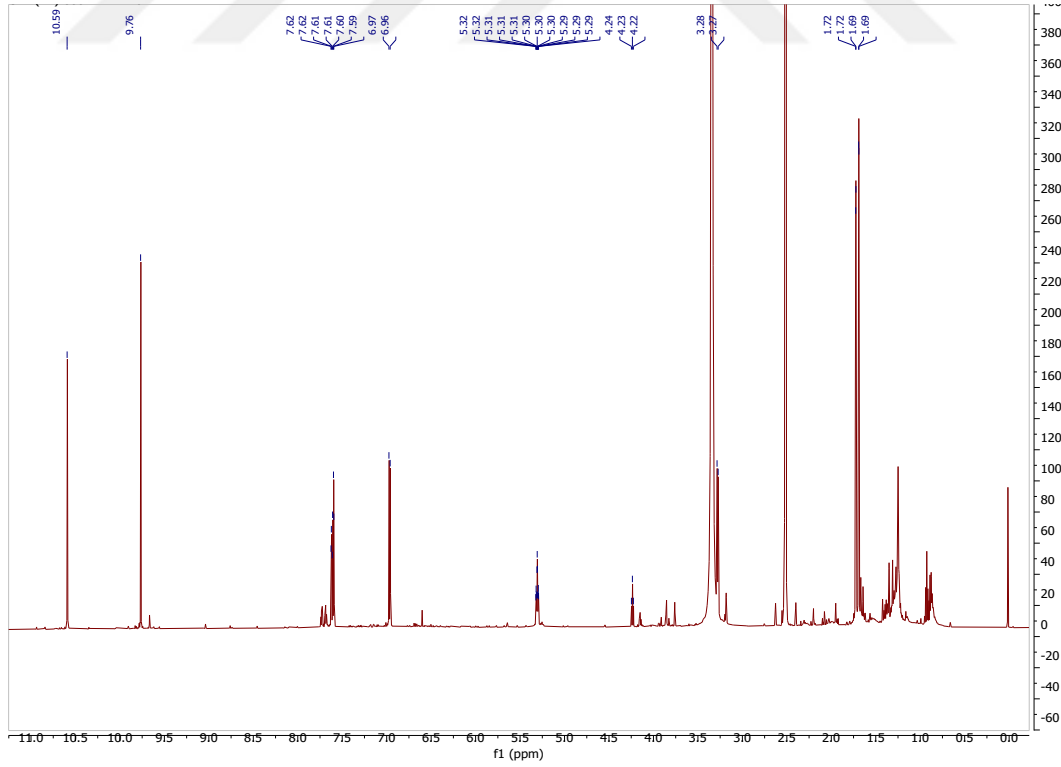
Nihai Kütle: 190.10

Moleküler Ağırlık: 190.24

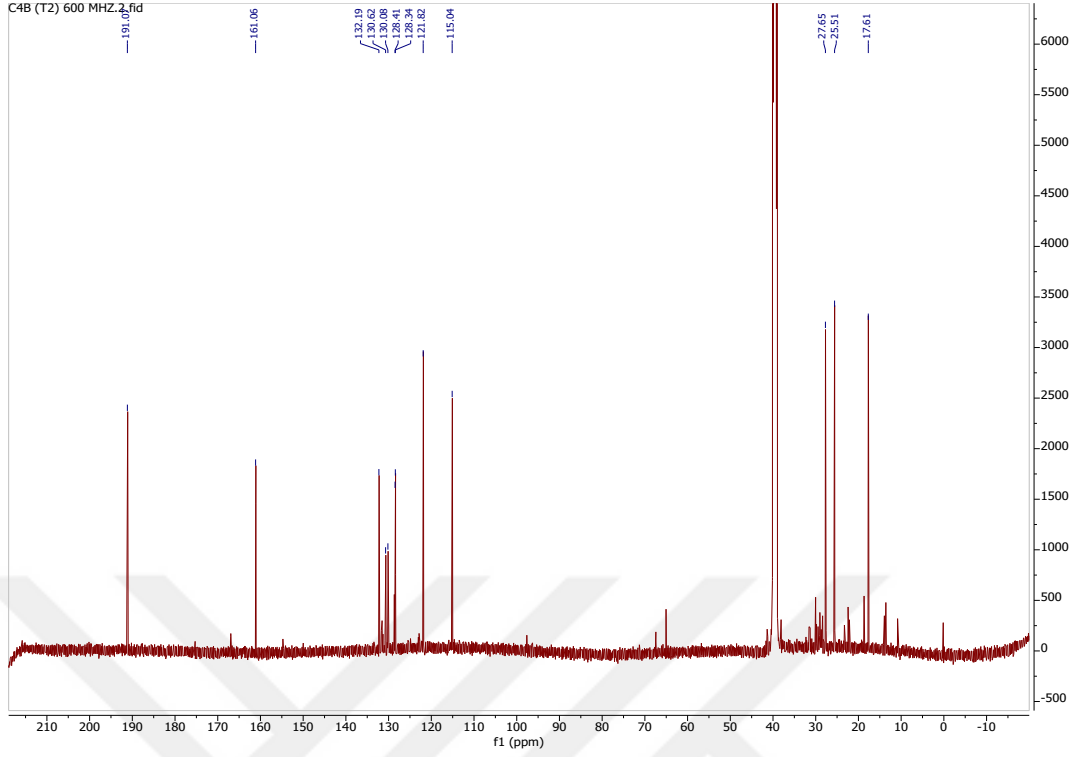
m/z : 190.10 (100.0%), 191.10 (13.1%)

Elementel Analiz: C, 75.76; H, 7.42; O, 16.82

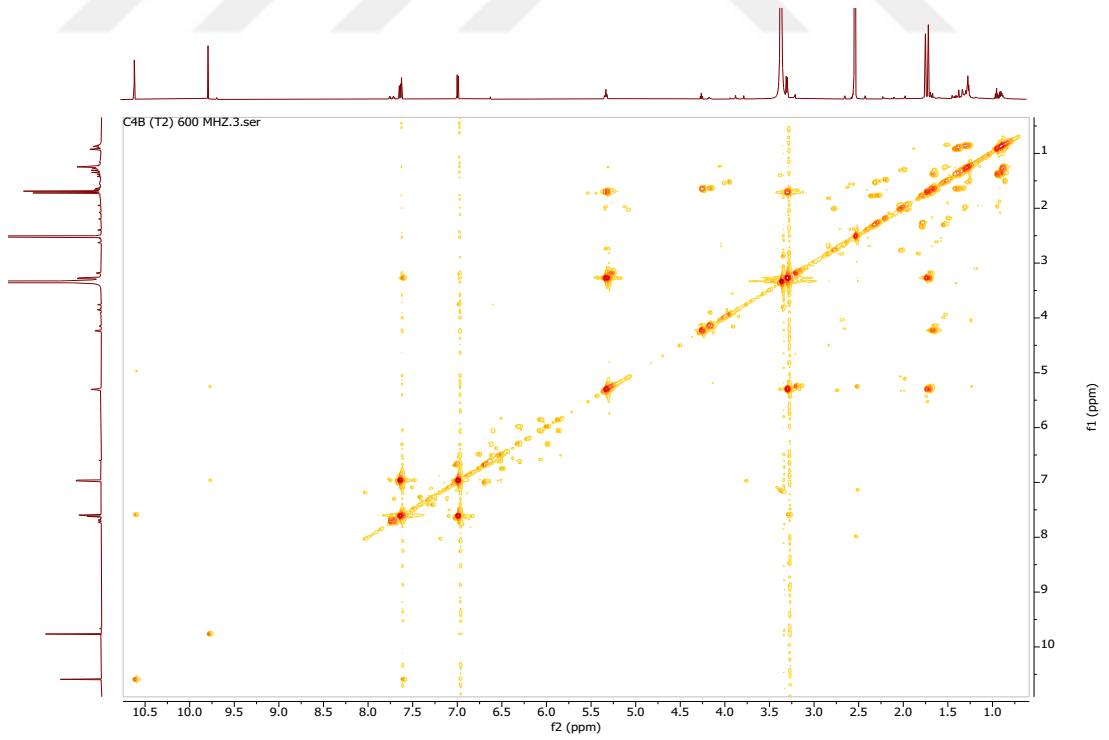
Şekil 3.73. 4-hidroksi-3-(3-metilbüt-2-en-1-il) benzaldehit bileşiğinin yapısı, kimyasal özellikleri ve adlandırılması



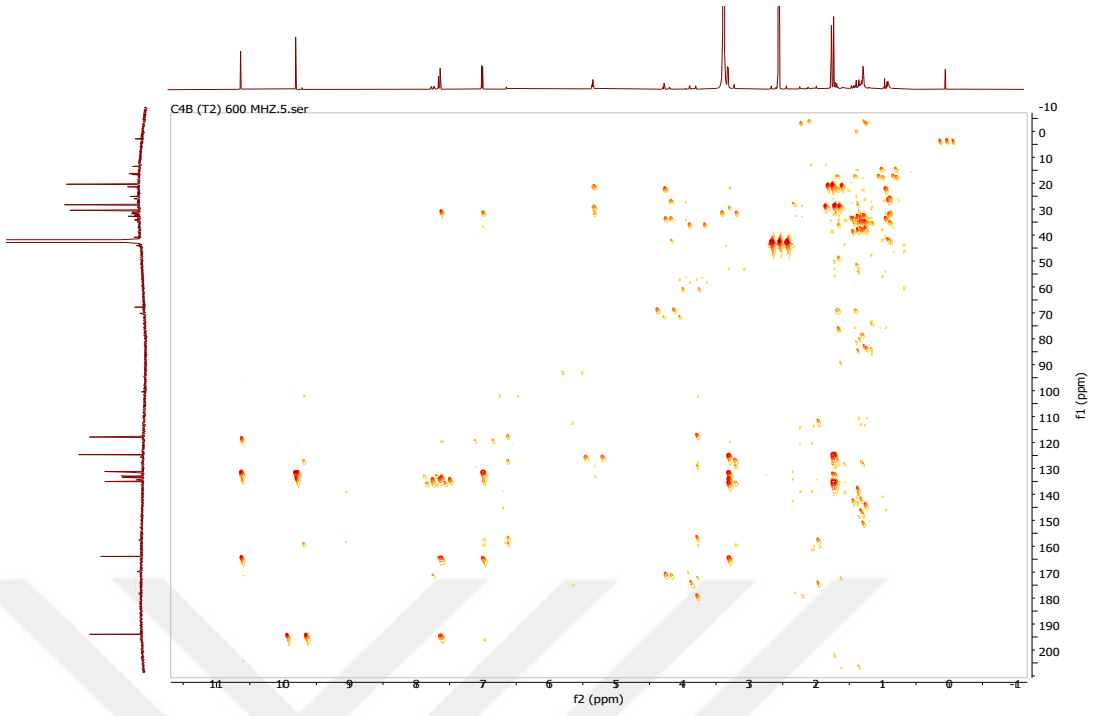
Şekil 3.74. 4-hidroksi-3-(3-metilbüt-2-en-1-il) benzaldehit bileşiğinin $DMSO-d_6$ 'daki 1H -NMR spektrumu



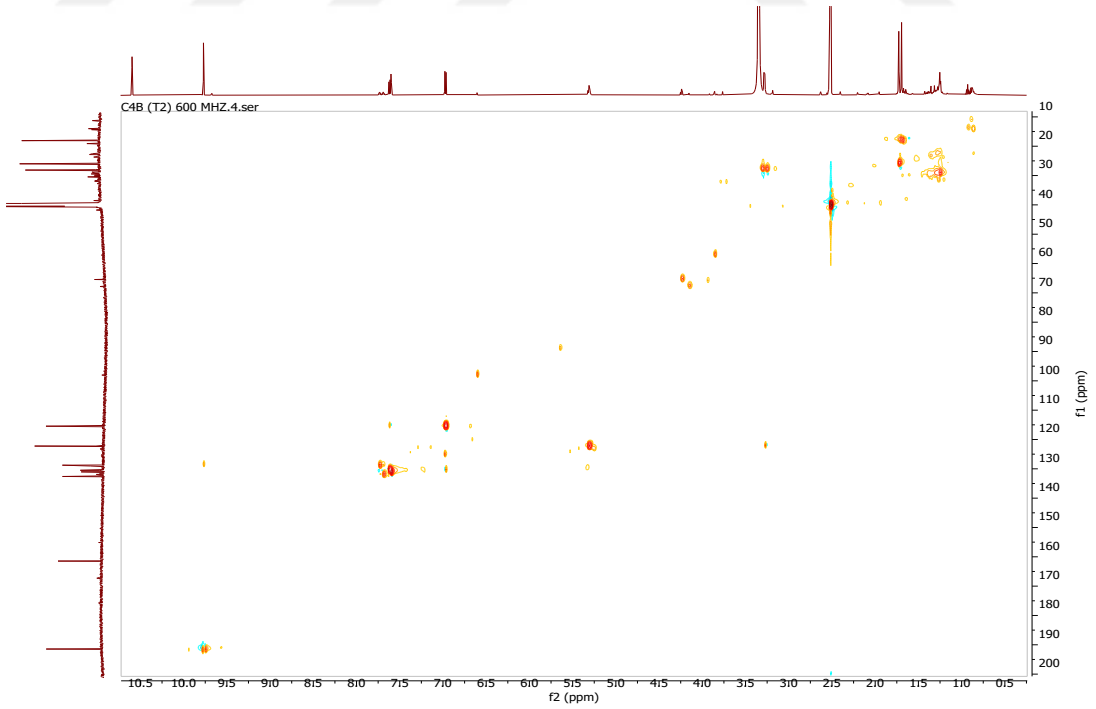
Şekil 3.75. 4-hidroksi-3-(3-metilbüt-2-en-1-il) benzaldehit bileşiminin DMSO- d_6 'daki ^{13}C -NMR spektrumu



Şekil 3.76. 4-hidroksi-3-(3-metilbüt-2-en-1-il) benzaldehit bileşiminin DMSO- d_6 'daki ^1H - ^1H COSY spektrumu



Şekil 3.77. 4-hidroksi-3-(3-metilbüt-2-en-1-il) benzaldehit bileşiminin DMSO- d_6 'daki gHMBC spektrumu



Şekil 3.78. 4-hidroksi-3-(3-metilbüt-2-en-1-il) benzaldehit bileşiminin DMSO- d_6 'daki gHMQC spektrumu

3.4.5. Bütrolakton VI

Aspergillus terreus mantarının ham ekstresinin Metanol-Hekzan sıvı-sıvı ekstraksiyonunun yapılmasıyla elde edilen Hekzan fazı silika jel kolona uygulanmıştır. Bu kolon uygulamasında mobil faz olarak Hekzan : Etil asetat (70:30, 50:50, 20:80, 0:100) ve Diklorometan : Metanol (80:20, 50:50, 220:80, 10:90, 0:100) gradient sistemi kullanılmıştır. Bu kolondan elde edilen 7. fraksiyon (302 mg DCM : MeOH 20:80), Metanol mobil fazıyla sephadex kolona uygulanarak, bu kolondan elde edilen 5. Alt fraksiyon (86 mg) YPSK analizine tabi tutulmuş ve bu maddenin YPSK analizinde görülen pik toplanarak bu madde elde edilmiştir. Preparatif YPSK metodu Çizelge 3.14'te verilmiştir.

Çizelge 3.14. Bütrolakton VI maddesi için kullanılan preparatif YPSK metodu

Zaman (dakika)	Ultra Saf Su (%)	Asetonitril (%)	Akış Hızı (ml/dakika)
0	90	10	2.000
4	60	40	2.000
8	30	70	2.000
12	0	100	2.000
16	30	70	2.000
18	60	40	2.000
20	90	10	2.000

Bileşik yeşil renkli katı toz halde olup 309 ve 223 nm değerlerinde maksimum UV absorbanza ulaşmıştır. Yüksek çözünürlüklü kütle spektrometresinden alınan spektrumda görülen m/z 481.13498 ($C_{24}H_{26}O_9Na$ için hesaplanan, 463.13391) ve m/z 457.12474 $[M-H]^-$ ($C_{24}H_{25}O_9$ için hesaplanan, 457.12212) iki psödomoleküler iyon pikinden hareketle maddenin kapalı kimyasal formülünün $C_{24}H_{26}O_9$ olduğu belirlenmiştir. Kütle spektrometresi analizi sonucunda doymamışlık derecesinin 12 olduğu bulunmuştur. 1D ve 2D NMR analiz sonuçları bütrolakton I ve bütrolakton III maddelerinin sonuçları ile yüksek benzerlikler taşımaktadır. Bileşiğin 1H NMR

spektrumu bütrolakton I bileşiğinin ¹H NMR spektrumu ile karşılaştırıldığında, spektrumlar, formül ve molekül ağırlığındaki farklılığın bütrolakton I de bulunan izoprenil yapısındaki olefinik bağın, bu bileşikte visinal dihidroksil gruplarına dönüşmesi olduğu görülmektedir. Literatürle karşılaştırıldığı zaman bu bileşiğin yapısı bütrolakton VI olarak tayin edilmiştir (Liu ve ark., 2018).

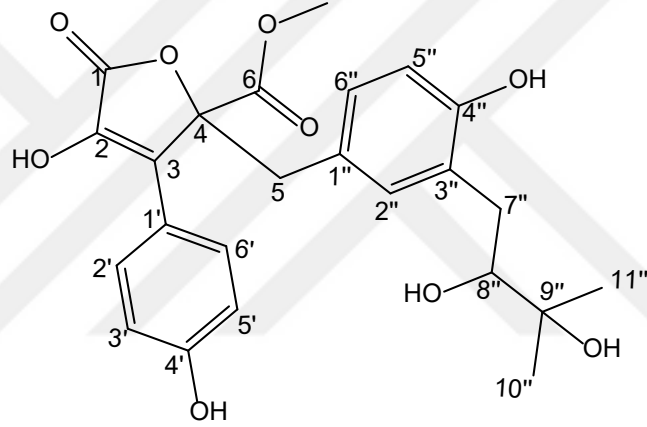
Bütrolakton VI bileşiğine ait ¹H ve ¹³C NMR analizleri Çizelge 3.15'te verilmiştir. Bileşiğin yapısı, kimyasal özellikleri ve adlandırılması Şekil 3.79'da, YPSK kromatogramı Şekil 3.80'de, maksimum UV absorbansı Şekil 3.81'de, yüksek çözünürlüklü +ESI kütle spektrometresi spektrumu Şekil 3.82'de, yüksek çözünürlüklü -ESI kütle spektrometresi spektrumu Şekil 3.83'te, ¹H-NMR spektrumu Şekil 3.84'te, ¹³C-NMR spektrumu Şekil 3.85'te, ¹H-¹H COSY spektrumu Şekil 3.86'da, gHMBC spektrumu Şekil 3.87'de, gHMQC spektrumu Şekil 3.88'de, NOESY spektrumu Şekil 3.89'da verilmiştir.

Çizelge 3.15. Bütrolakton VI bileşiğine ait ¹H ve ¹³C NMR analizleri

Bütrolakton VI, MeOH- <i>d</i> ₄ , 600 MHz		
#	δ _H (J[Hz])	δ _C , tip
1		170.4, C
2		139.9, C
3		129.2, C
4		86.8, C
5	3.45, s (2H)	39.5, CH ₂
6		171.6, C
7	3.79, s (3H)	53.9, CH ₃
1'		123.2, C
2'	7.58, d (8.8)	130.4, CH
3'	6.87, d (8.8)	116.6, CH
4'		159.4, C
5'	6.87, d (8.8)	116.6, CH
6'	7.58, d (8.8)	130.4, CH
1''		125.6, C
2''	6.62, d (2.1)	134.4, CH
3''		127.3, C
4''		155.9, C
5''	6.51, d (8.1)	115.9, CH
6''	6.49, dd (8.1, 2.1)	130.5, CH

Çizelge 3.15. Devam

7''	2.69, dd (14.1, 2.3) 2.54, dd (14.1, 10.0)	34.0, CH ₂
8''	3.44, dd (10.0, 2.3)	80.6, CH
9''		73.8, C
10''	1.18, s (3H)	25.5, CH ₃
11''	1.17, s (3H)	25.1, CH ₃



Bütürolakton VI

Kimyasal Formül: C₂₄H₂₆O₉

Nihai Kütle: 458.16

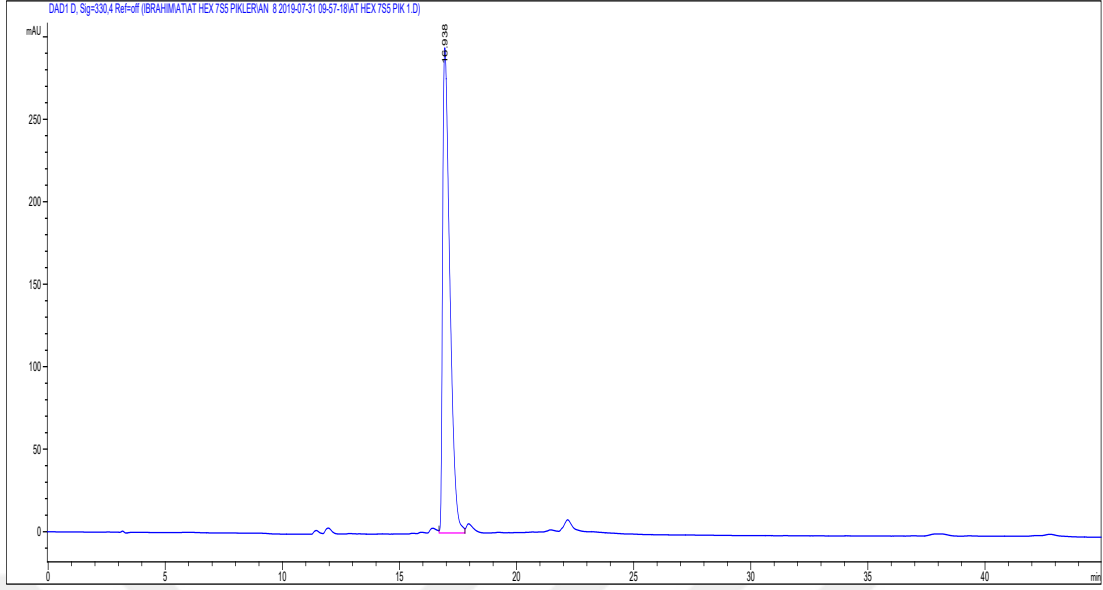
Moleküler Ağırlık: 458.46

m/z: 458.16 (100.0%), 459.16 (26.6%), 460.16 (5.1%)

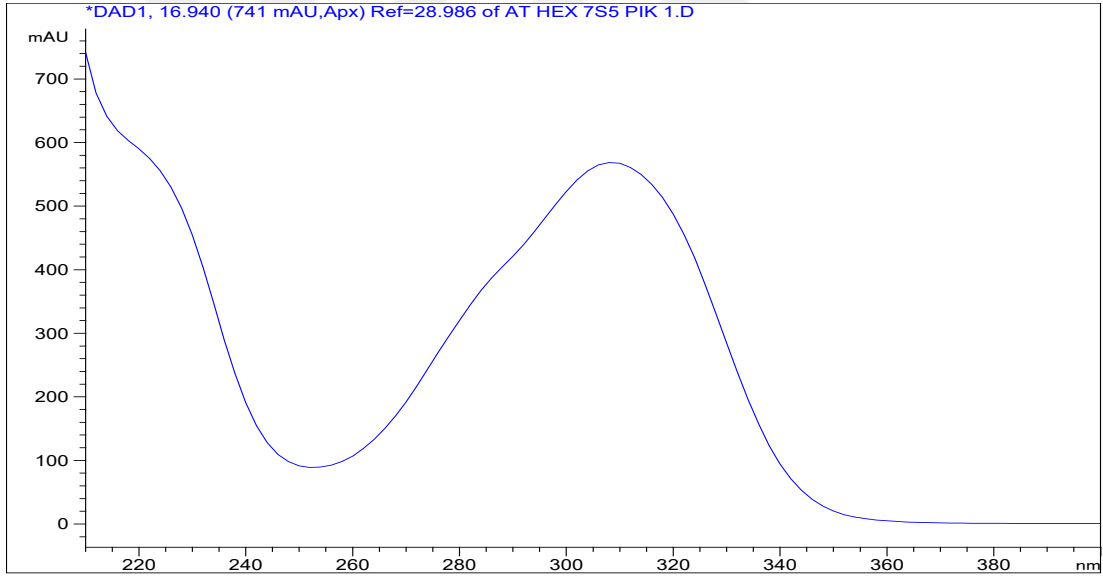
Elementel Analiz: C, 62.88; H, 5.72; O, 31.41

metil 2-(3-(2,3-dihidroksi-3-metilbütül)-4-hidroksibenzil)-4-hidroksi-3-(4-hidroksifenil)-5-okso-2,5-dihidrofuran-2-karboksilat

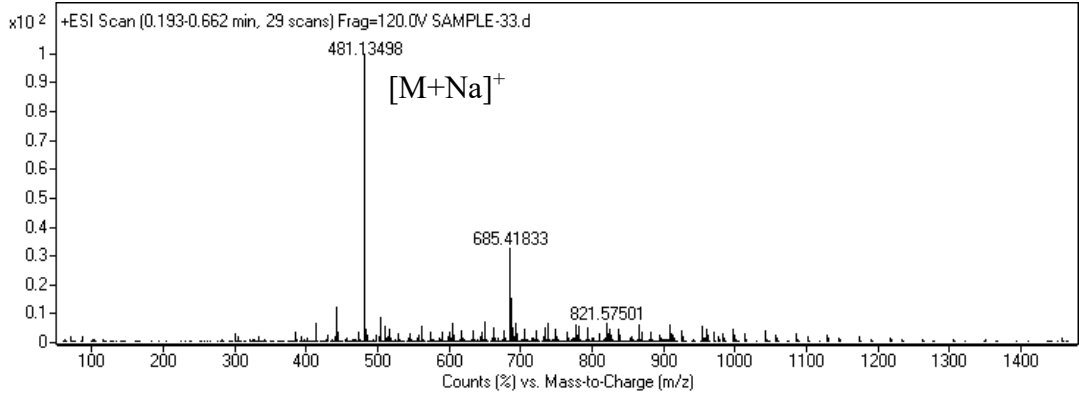
Şekil 3.79. Bütürolakton VI bileşiğinin yapısı, kimyasal özellikleri ve adlandırılması



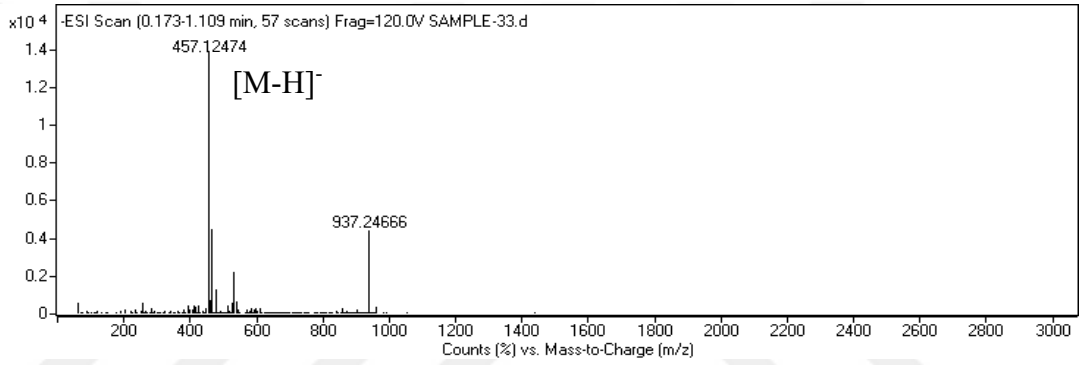
Şekil 3.80. Bütürolakton VI bileşiğinin YPSK kromatogramı



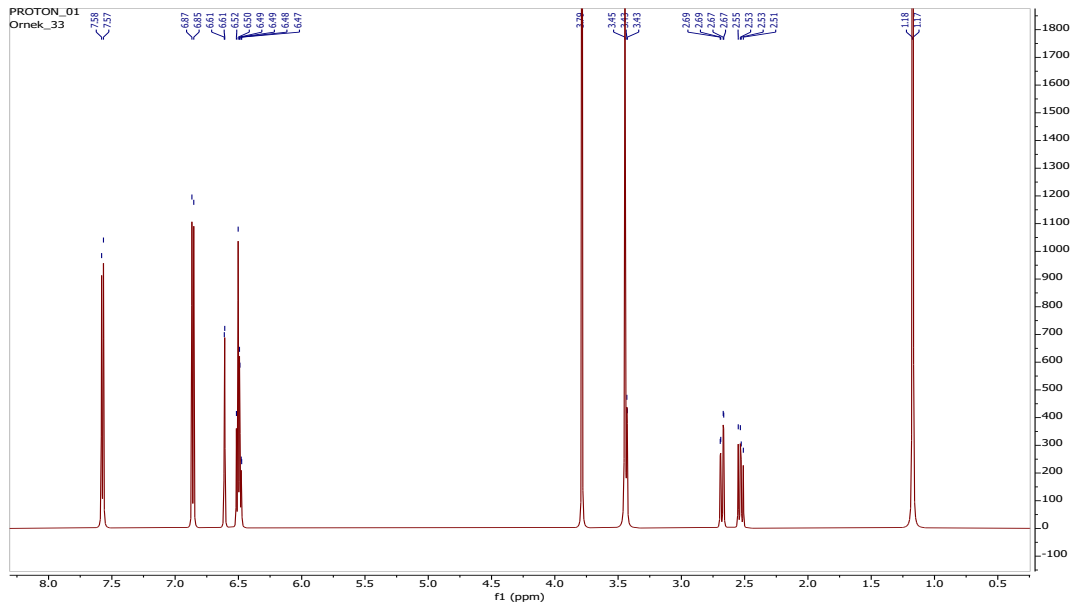
Şekil 3.81. Bütürolakton VI bileşiğinin maksimum UV absorbansı



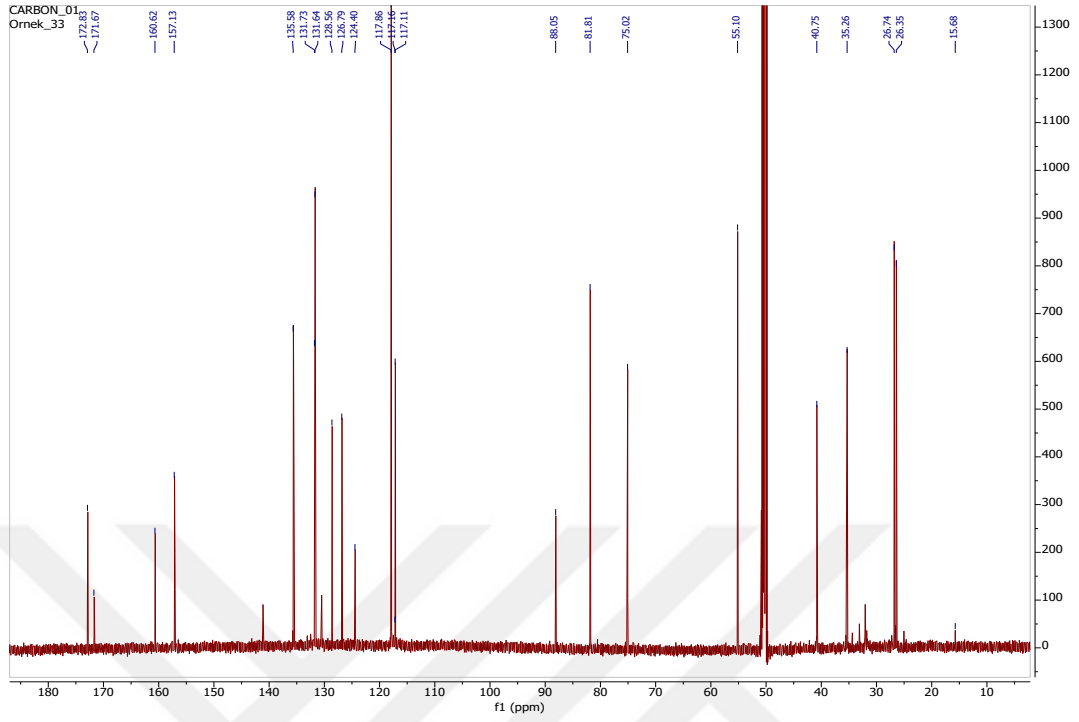
Şekil 3.82. Bütirolakton VI bileşiğinin yüksek çözünürlüklü +ESI kütle spektrometresi spektrumu



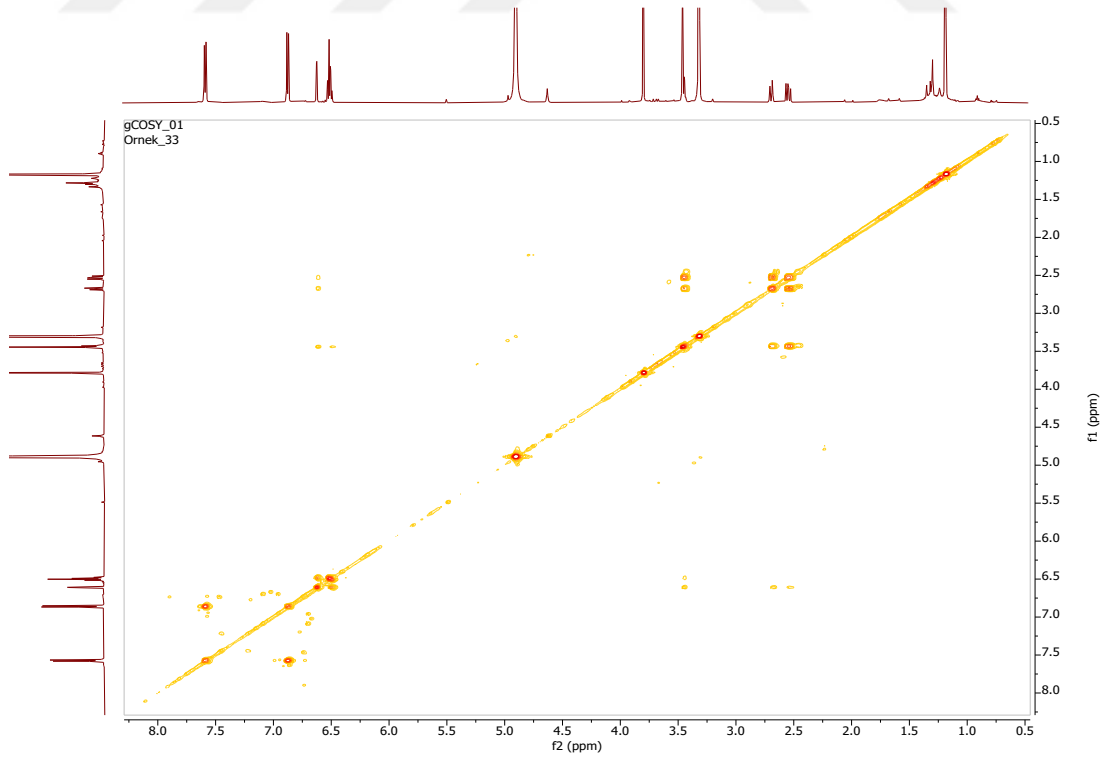
Şekil 3.83. Bütirolakton VI bileşiğinin yüksek çözünürlüklü -ESI kütle spektrometresi spektrumu



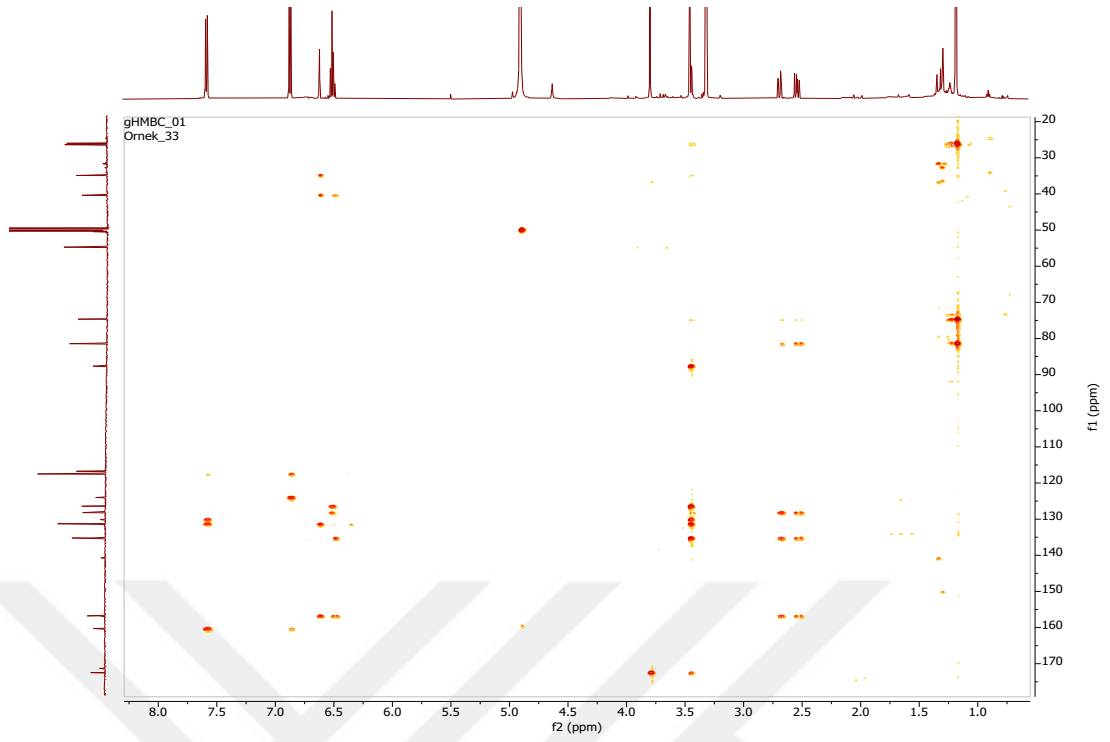
Şekil 3.84. Bütirolakton VI bileşiğinin MeOH-*d*₄'deki ¹H-NMR spektrumu



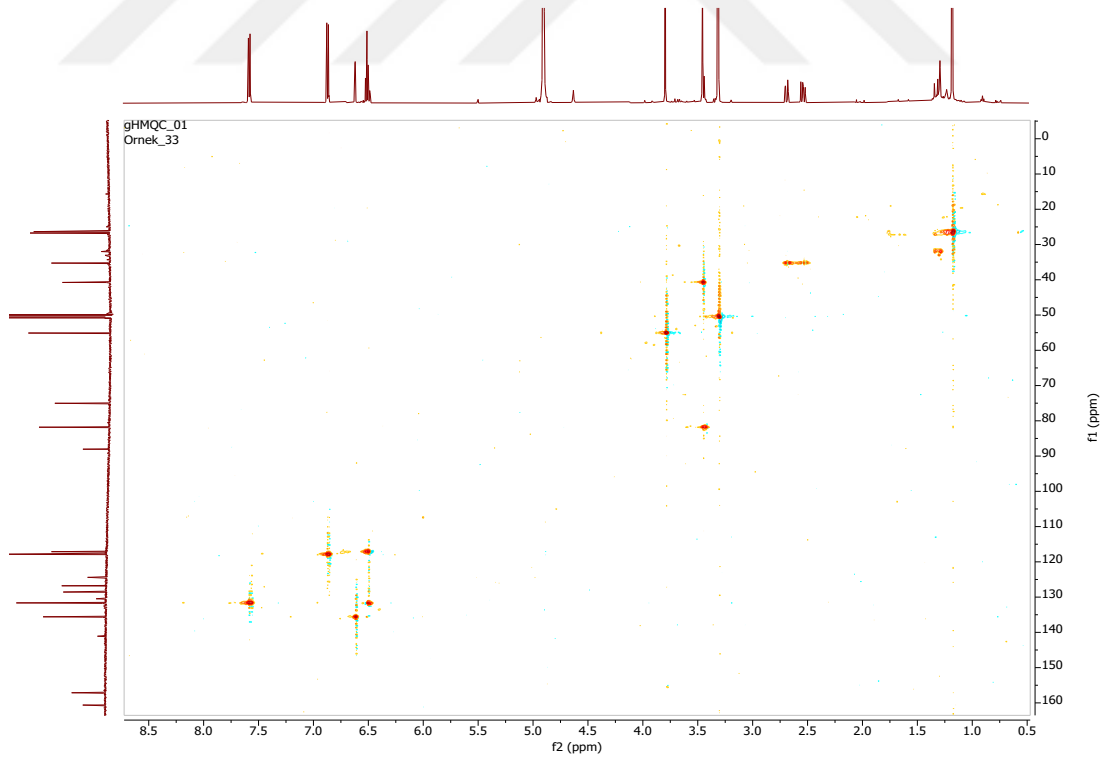
Şekil 3.85. Bütirolakton VI bileşiğinin MeOH- d_4 'deki ^{13}C -NMR spektrumu



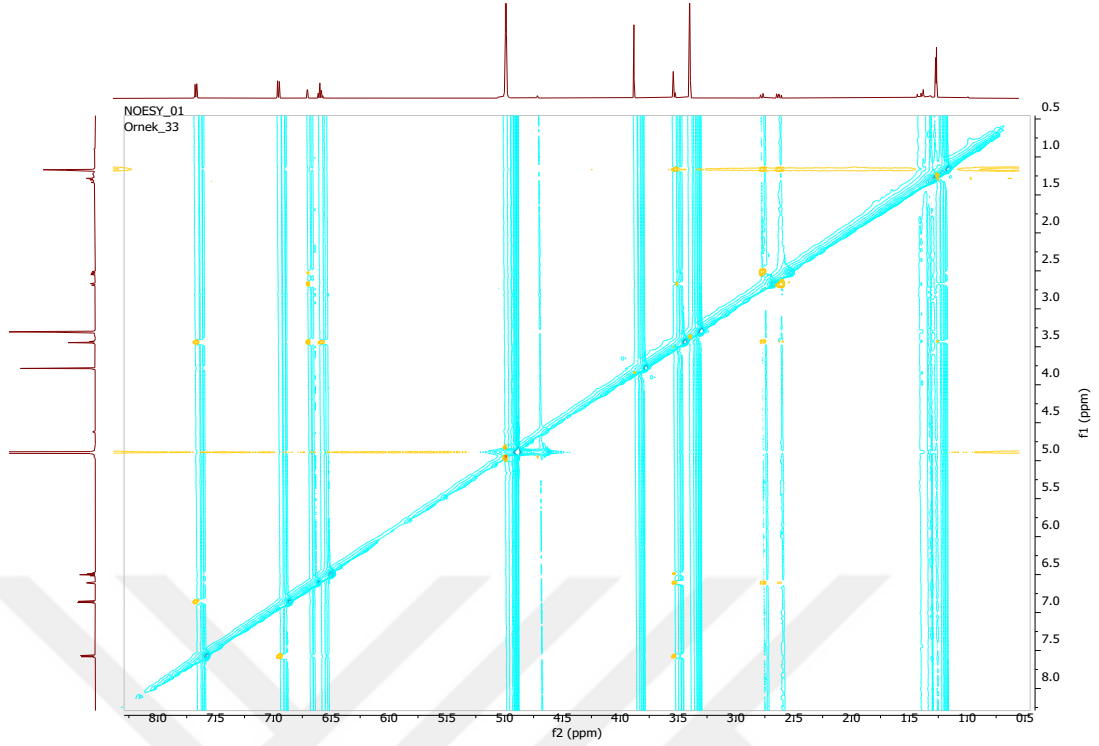
Şekil 3.86. Bütirolakton VI bileşiğinin MeOH- d_4 'deki ^1H - ^1H COSY spektrumu



Şekil 3.87. Bütirolakton VI bileşiğinin MeOH-*d*₄'deki gHMBC spektrumu



Şekil 3.88. Bütirolakton VI bileşiğinin MeOH-*d*₄'deki gHMQC spektrumu



Şekil 3.89. Bütirolakton VI bileşiğinin MeOH-*d*4’deki NOESY spektrumu

3.4.6. Oktadesil 3-(3,5-di-tert-bütil-4-hidroksifenil) propionat

Aspergillus costaricaensis mantarının ham ekstresinin Metanol-Hekzan sıvı sıvı ekstraksiyonundan sonra Metanollü faz alınmış ve VSK kolona uygulanmıştır. VSK sonucunda elde edilen 1. fraksiyon Hekzan : Etil Asetat (40:60), metanol mobil fazıyla sephadex kolona uygulanmıştır. Sephadex kolondan elde edilen birinci fraksiyondan İTK kontrolüyle tüplerin birleştirilmesi sonucu madde izole edilip saflaştırılmıştır.

Bileşiğin moleküler formülünün $C_{35}H_{62}O_3$ olduğu, m/z 553.44992 $[M+Na]^+$ ’de ($C_{35}H_{62}O_3Na$ için hesaplanan, 553.45967) beş derecelik bir doymamışlığın varlığını gösteren bir psödomoleküler iyon pikini gösteren yüksek çözünürlüklü kütle spektrometresi (HRESIMS) tarafından doğrulanmıştır.

Bileşğin ^1H NMR verileri, δ_{H} 6.99'da elektromanyetik olarak eşdeğer iki aromatik protonun varlığını ortaya çıkarmıştır. Bu ise, 18 proton için entegre edilmiş olarak δ_{H} 1.43'de bulunan singlet proton rezonansı ile simetrik dört süstitüe grubu olan aromatik halkanın varlığını ortaya çıkarmıştır. Bu veriler toplamda 6 elektromanyetik metil grubunun varlığına işaret etmektedir. Ayrıca ^1H NMR verileri, δ_{H} 2.87 ve δ_{H} 2.59'da benzer dubletdublet bölünme örüntüsüne ve $J= 9.0$ ve 7.1 Hz eşleşme sabiti değerlerine sahip iki bitişik metilen grubunun varlığını da göstermiştir. Bileşğin ^1H NMR spektrumu ayrıca var olan rezonanslara ve bunların entegrasyonlarına dayalı olarak oksijenlenmiş bir oktadesil alkil grubunun varlığını açık bir şekilde doğrulamıştır.

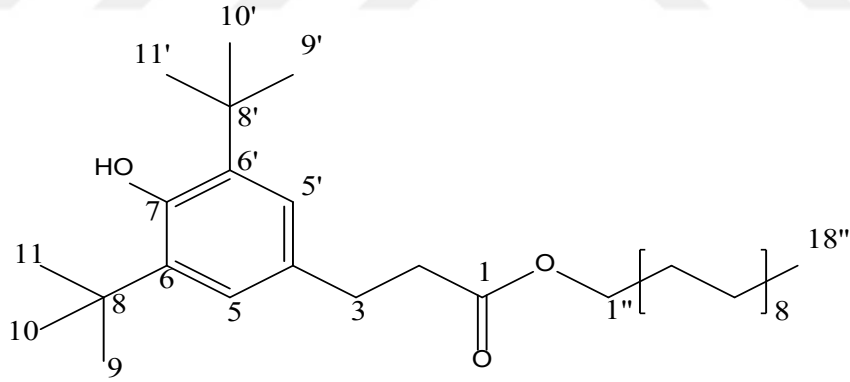
Bileşiğe ait ^{13}C NMR verileri, ^1H - ^1H COSY, HMBC ve HMQC gibi 2 boyutlu NMR verileriyle birlikte, δ_{H} 6.99'da (H-5 / H5') proton rezonanslarından uzun menzilli korelasyonlar ve δ_{C} 152.3 (C-7), δ_{C} 136.1 (C-6/C-6'), δ_{C} 131.3 (C-4), δ_{C} 36.7 (C-2) ve δ_{C} 31.2 (C-3)'deki karbon rezonansları gibi bazı anahtar korelasyonları ortaya koymuştur. Yapılan HMBC spektrumu, δ_{H} 4.07 (C-1'')'deki metilen protonundan δ_{C} 173.5 (C-1)'deki karbonil karbonuna olan anahtar korelasyonla birlikte δ_{H} 1.43'de bulunan singlet metil ile δ_{C} 136.1 (C-6/C-6') ve δ_{C} 34.5 (C-8/C 8')'de bulunan iki karbon atomu arasında uzun mesafe korelasyonunu açığa çıkarmıştır. Elde edilen verilere dayanılarak ve bildirilen literatürle karşılaştırıldığında, bileşğin oktadesil 3-(3,5-di-tert-butil-4-hidroksifenil) propiyonat olduğu doğrulanmıştır (Poofery ve ark., 2020).

Oktadesil 3-(3,5-di-tert-butil-4-hidroksifenil) propiyonat bileşiğine ait ^1H ve ^{13}C NMR analizleri Çizelge 3.16'da verilmiştir. Bileşğin yapısı, kimyasal özellikleri ve adlandırılması Şekil 3.90'da, YPSK kromatogramı Şekil 3.91'de, maksimum UV absorbansı Şekil 3.92'de, yüksek çözünürlüklü +ESI kütle spektrometresi spektrumu Şekil 3.93'te, yüksek çözünürlüklü -ESI kütle spektrometresi spektrumu Şekil 3.94'te,

¹H-NMR spektrumu Şekil 3.95'te, ¹³C-NMR spektrumu Şekil 3.96'da, ¹H-¹H COSY spektrumu Şekil 3.97'de, gHMBC spektrumu Şekil 3.98'de, gHMQC spektrumu Şekil 3.99'da verilmiştir.

Çizelge 3.16. Oktadesil 3- (3,5-di-tert-butil-4-hidroksifenil) propiyonat bileşiğine ait ¹H ve ¹³C NMR analizleri

Oktadesil 3- (3,5-di-tert-butil-4-hidroksifenil) propiyonat, MeOH- <i>d</i> ₄ , 600 MHz		
#	δ _H (J[Hz])	δ _C , tip
1		173.5, CO
2	2.59 (2H, dd, 9.0, 7.1)	36.7, CH ₂
3	2.87 (2H, dd, 9.0, 7.1)	31.2, CH ₂
4		131.3, C
5, 5'	6.99 (2H, s)	124.9, CH
6, 6'		136.1, C
7		152.3, CO
8, 8'		34.5, C
9-11, 9'-11'	1.43 (18H, s)	30.5, CH ₃
1''	4.07 (2H, t, 6.9)	64.8, CH ₂
2''	1.61 (2H, p, 6.9)	28.8, CH ₂
3''-17''	1.26 (30H, m)	23.0-32.0, CH ₂
18''	0.88 (3H, t, 7.0)	14.3, CH ₃



oktadesil 3-(3,5-di-tert-bütül-4-hidroksifenil) propionat

Kimyasal Formül: C₃₅H₆₂O₃

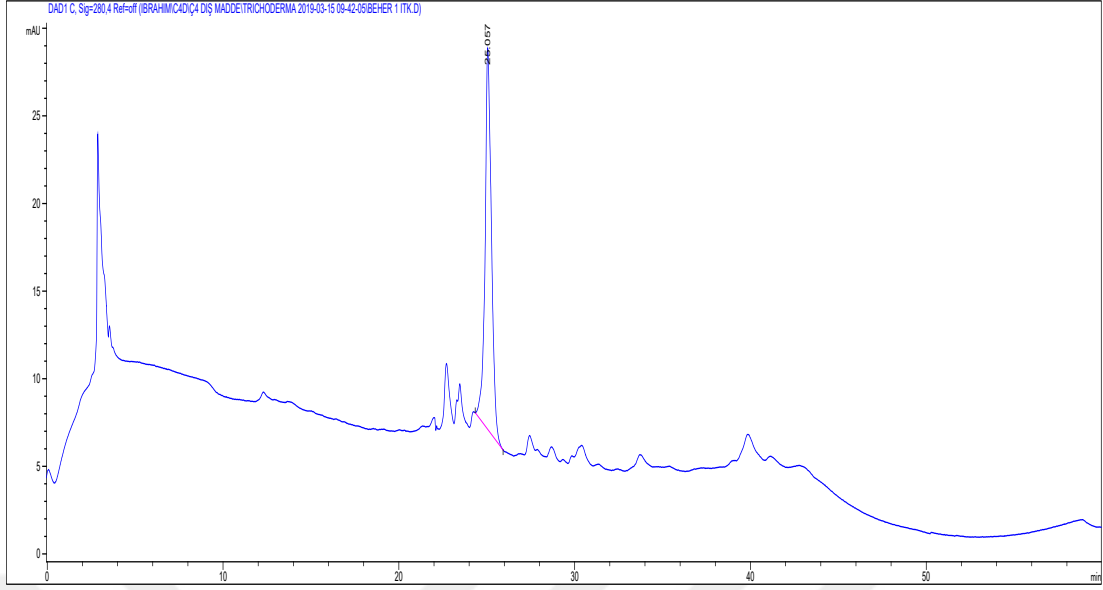
Nihai Kütle: 530.47

Moleküler Ağırlık: 530.88

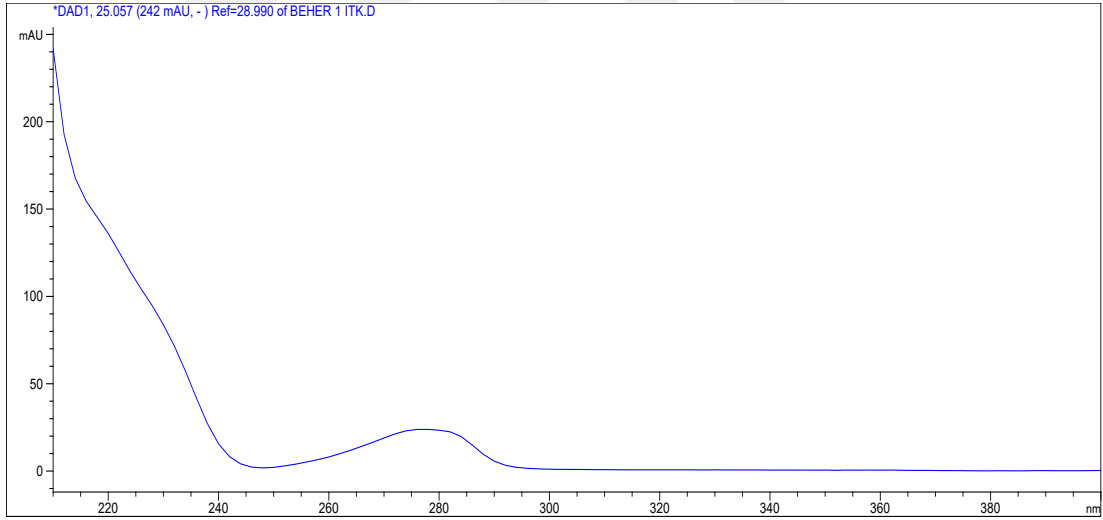
m/z: 530.47 (100.0%), 531.47 (38.0%), 532.48 (7.3%), 533.48 (1.1%)

Elementel Analiz: C, 79.19; H, 11.77; O, 9.04

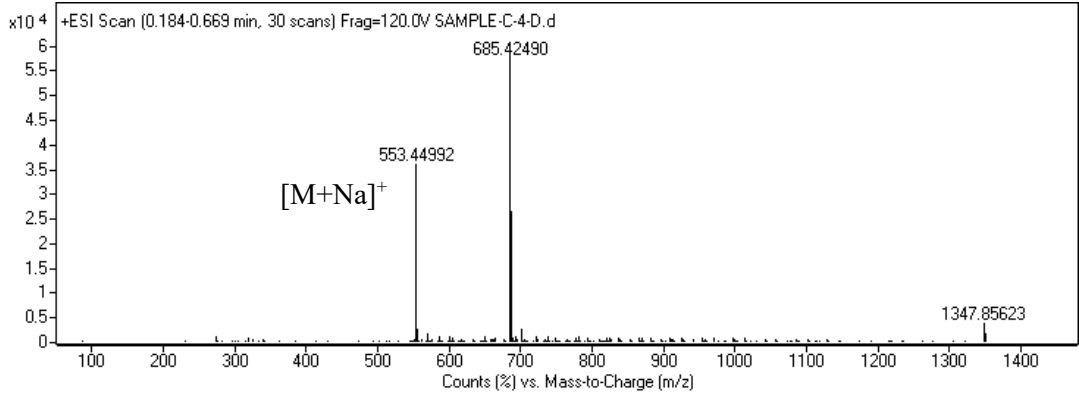
Şekil 3.90. Oktadesil 3- (3,5-di-tert-butil-4-hidroksifenil) propiyonat bileşiğinin yapısı, kimyasal özellikleri ve adlandırılması



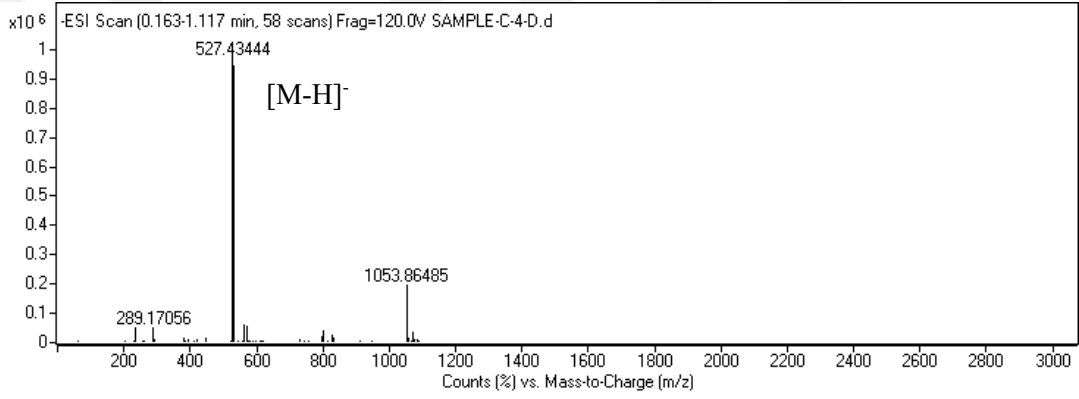
Şekil 3.91. Oktadesil 3- (3,5-di-tert-butil-4-hidroksifenil) propiyonat bileşiginin YPSK kromatogramı



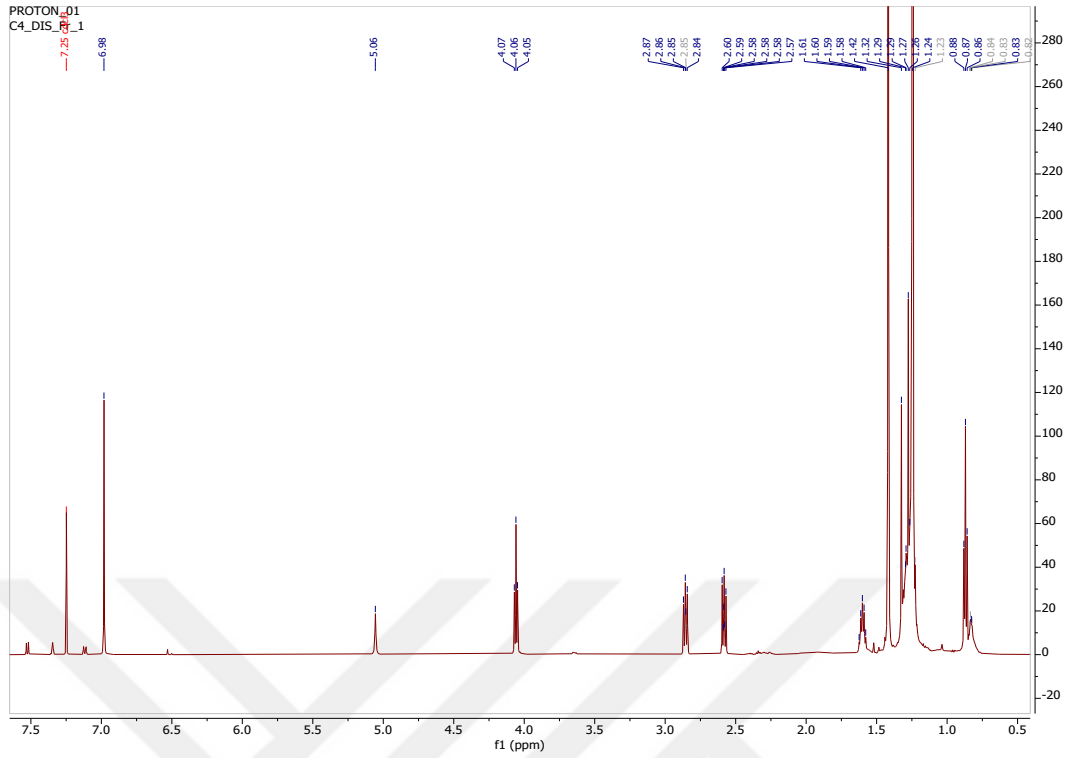
Şekil 3.92. Oktadesil 3- (3,5-di-tert-butil-4-hidroksifenil) propiyonat bileşiginin maksimum UV absorbansı



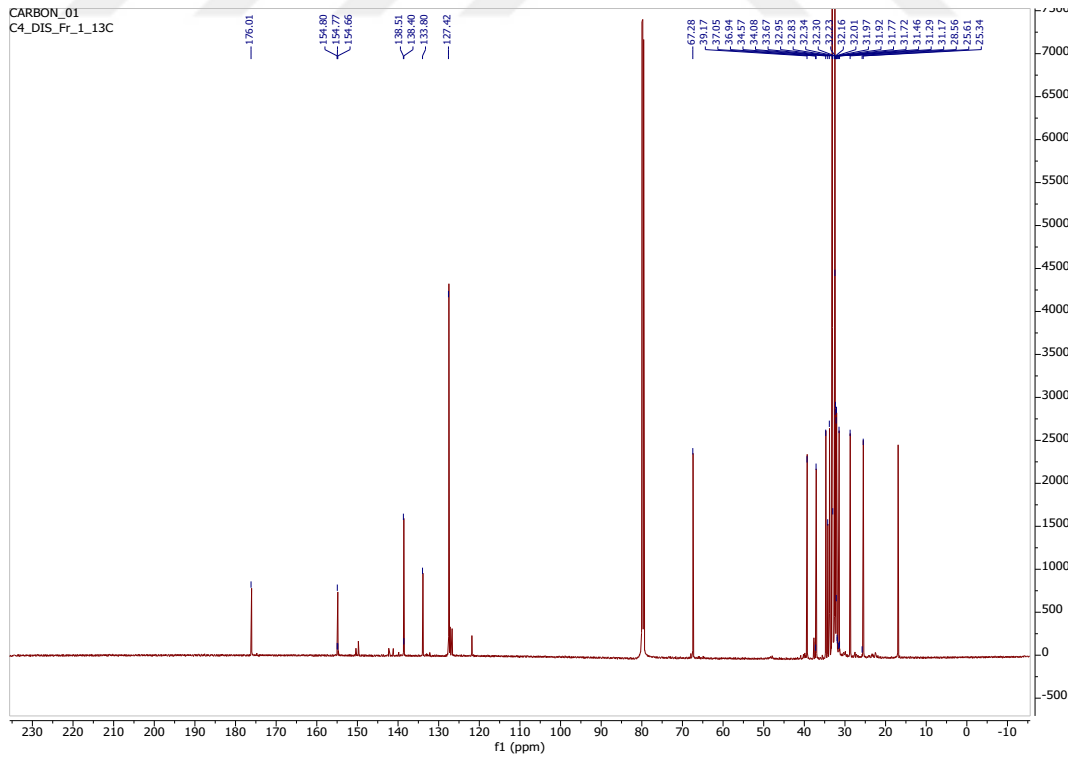
Şekil 3.93. Oktadesil 3- (3,5-di-tert-butil-4-hidroksifenil) propiyonat bileşğinin yüksek çözünürlüklü +ESI kütle spektrometresi spektrumu



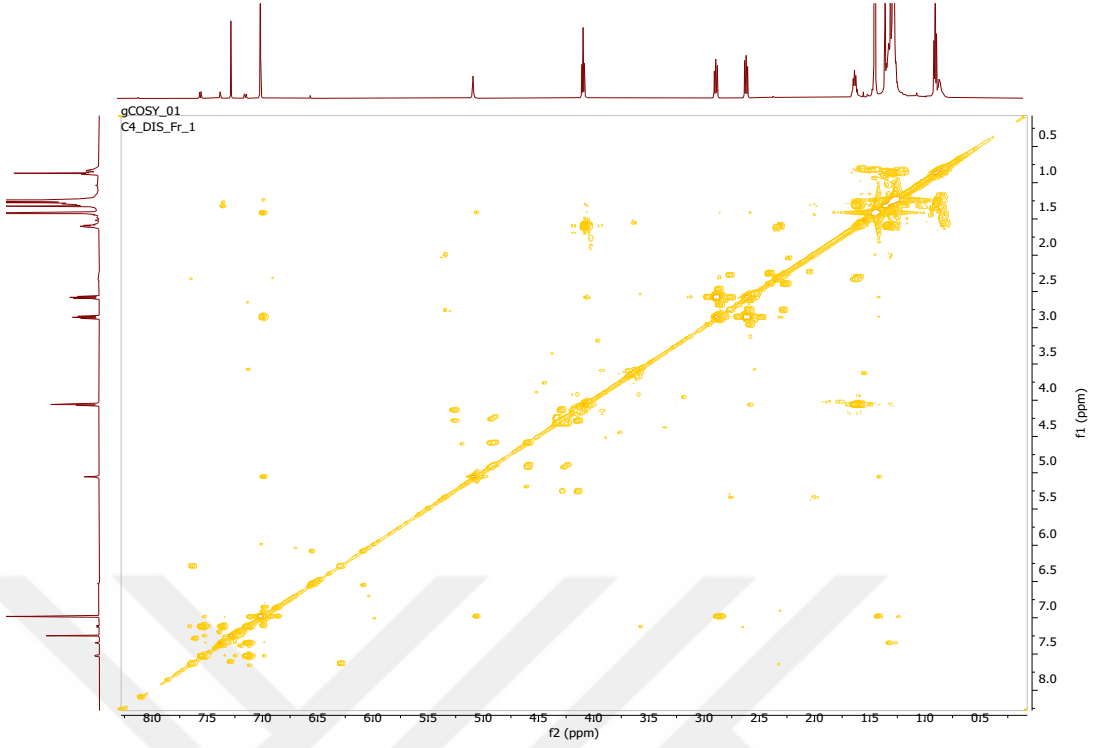
Şekil 3.94. Oktadesil 3- (3,5-di-tert-butil-4-hidroksifenil) propiyonat bileşğinin yüksek çözünürlüklü -ESI kütle spektrometresi spektrumu



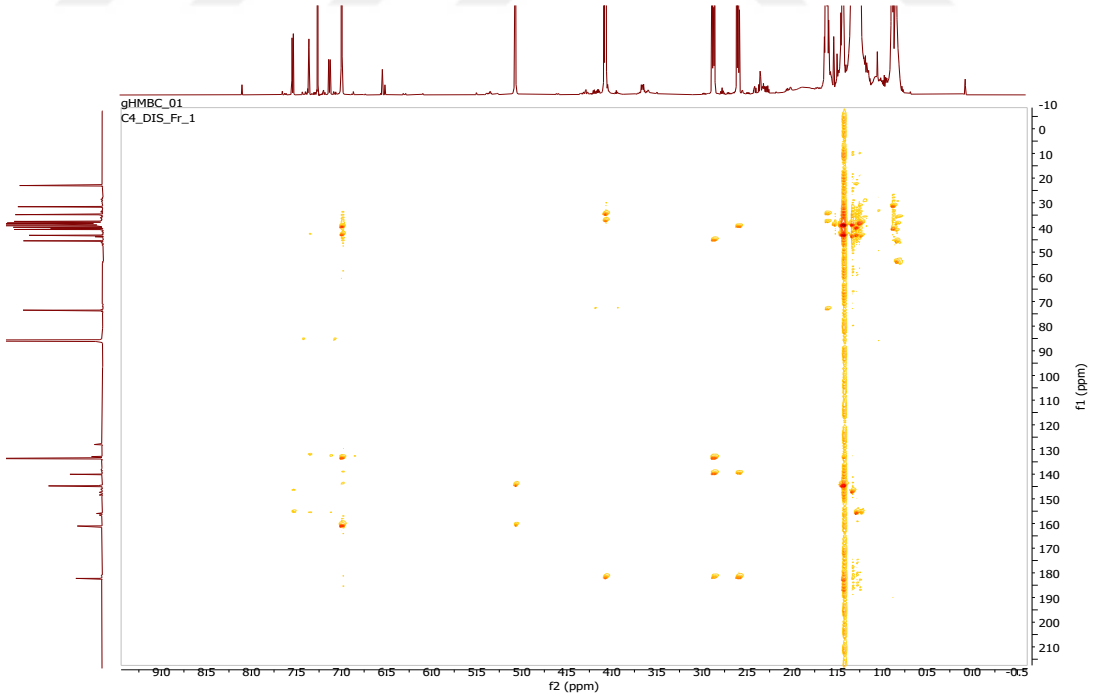
Şekil 3.95. Oktadesil 3- (3,5-di-tert-butil-4-hidroksifenil) propiyonat bileşiminin MeOH-*d*₄'deki ¹H-NMR spektrumu



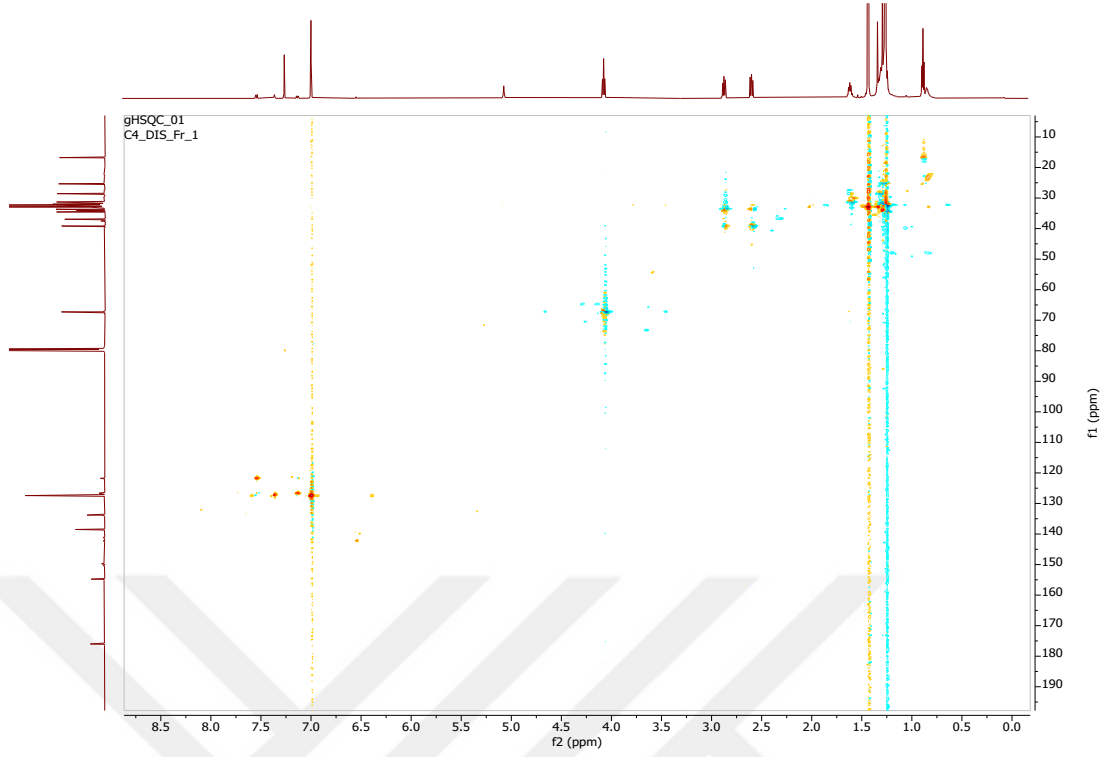
Şekil 3.96. Oktadesil 3- (3,5-di-tert-butil-4-hidroksifenil) propiyonat bileşiminin MeOH-*d*₄'deki ¹³C-NMR spektrumu



Şekil 3.97. Oktadesil 3- (3,5-di-tert-butil-4-hidroksifenil) propiyonat bileşğinin MeOH-*d*₄'deki ¹H-¹H COSY spektrumu



Şekil 3.98. Oktadesil 3- (3,5-di-tert-butil-4-hidroksifenil) propiyonat bileşğinin MeOH-*d*₄'deki gHMBC spektrumu



Şekil 3.99. Oktadesil 3- (3,5-di-tert-butil-4-hidroksifenil) propiyonat bileşiğinin MeOH-*d*4’deki gHMQC spektrumu

3.4.7. Rubrofusarin B

Aspergillus costaricaensis mantarının ham ekstresinin Metanol-Hekzan sıvı sıvı ekstraksiyonundan sonra Metanollü faz alınmış ve VSK kolona uygulanmıştır. VSK sonucunda elde edilen 2. Fraksiyon Hekzan : Etil Asetat (30:70), Aseton mobil fazıyla sephadex LH-20 kolona uygulanmıştır.

Sephadex kolondan elde edilen toplam 8 fraksiyondan 4. fraksiyondan preparatif YPSK metoduyla madde izole edilip saflaştırılmıştır. Preparatif YPSK metodu Çizelge 3.17’de verilmiştir.

Çizelge 3.17. Rubrofusarin B maddesi için kullanılan preparatif YPSK metodu

Zaman (dakika)	Ultra Saf Su (%)	Asetonitril (%)	Akış Hızı (ml/dakika)
0	90	10	2.000
5	60	40	2.000
10	30	70	2.000
15	0	100	2.000
18	60	40	2.000
20	90	10	2.000

NMR analizleri sonucunda bileşikte bulunan dokuz kuaterner karbon, birlikte γ -piron yapısını meydana getiren bir karbonil (δ_C 185.9) ve iki oksijenlenmiş olefinik karbon (δ_C 170.2 ve δ_C 154.6) grubu olarak ayırt edilebilir. Buna ek olarak (δ_C 163.4, δ_C 163.2 ve δ_C 161.8)'de 3 adet oksijenlenmiş aromatik karbonu ile (δ_C 142.9, δ_C 109.3 ve δ_C 105.1)'de oksijenlenmemiş üç kuaterner karbon tespit edilmiştir. Diğer karbon rezonanslarının, (δ_C 107.8, δ_C 102.6, δ_C 99.1 ve δ_C 98.5)'de dört metinle birlikte (δ_C 56.4 ve δ_C 56.0)'da iki oksijenlenmiş metil ve (δ_C 20.5)'de bir aromatik metil olarak 3 metil singleti olduğu gösterilmiştir.

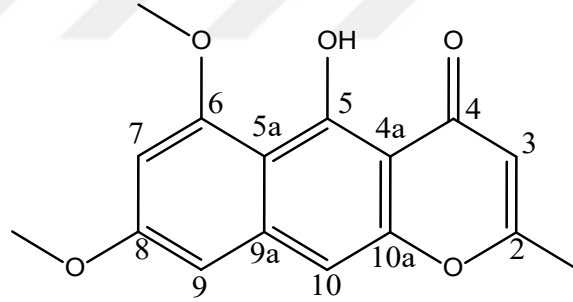
Maddenin 1H NMR verileri, 1H - 1H COSY ve ROESY spektrumları, (δ_H 6.76 ve δ_H 6.46)'da 2.2 Hz J değeri ile sırasıyla (δ_H 3.91 ve δ_H 3.93) metoksi protonlarına yakın olduğu görülen, meta eşleşme yapan 2 protonun varlığını göstermiştir. Bileşiğin HMBC spektrumu, bileşiğinin yapısının, literatürde daha önce bildirildiği gibi γ -naftopiron iskeletine ait olduğunu gösteren belirli anahtar korelasyonları göstermiştir. Elde edilen spektral verileri mevcut literatürle karşılaştırarak, bileşiğin rubrofusarin B olduğu açık bir şekilde doğrulanmıştır (Graham ve ark., 2004; Sakurai ve ark., 2002; Shaaban ve ark., 2012).

Rubrofusarin B bileşiğine ait 1H ve ^{13}C NMR analizleri Çizelge 3.18'de verilmiştir. Bileşiğin yapısı, kimyasal özellikleri ve adlandırılması Şekil 3.100'de, YPSK kromatogramı Şekil 3.101'de, maksimum UV absorbansı Şekil 3.102'de, 1H -NMR spektrumu Şekil 3.103'te, ^{13}C -NMR spektrumu Şekil 3.104'te, 1H - 1H COSY

spektrumu Şekil 3.105'te, gHMBC spektrumu Şekil 3.106'da, gHSQC spektrumu Şekil 3.107'de verilmiştir.

Çizelge 3.18. Rubrofusarin B bileşiğine ait ^1H ve ^{13}C NMR analizleri

Rubrofusarin B, MeOH- <i>d</i> ₄ , 600 MHz		
#	δ_{H} (J[Hz])	δ_{C} , tip
2		170.2, C
3	6.07 (d, 1.0)	107.8, CH
4		185.9, C
4a		105.1, C
5		163.2, C
5a		109.3, C
6		161.8, C
7	6.46 (d, 2.2)	98.5, CH
8		163.4, C
9	6.46 (d, 2.2)	99.1, CH
9a		142.9, C
10	7.10 (s)	102.6, CH
10a		154.6, C
2-CH ₃	2.40 (3H, d, 1.0)	20.5, CH ₃
6-OCH ₃	3.93 (3H, s)	56.4, CH ₃
8-OCH ₃	3.91 (3H, s)	56.0, CH ₃



Rubrofusarin B

Kimyasal Formül: $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{O}_5$

Nihai Kütle: 286.08

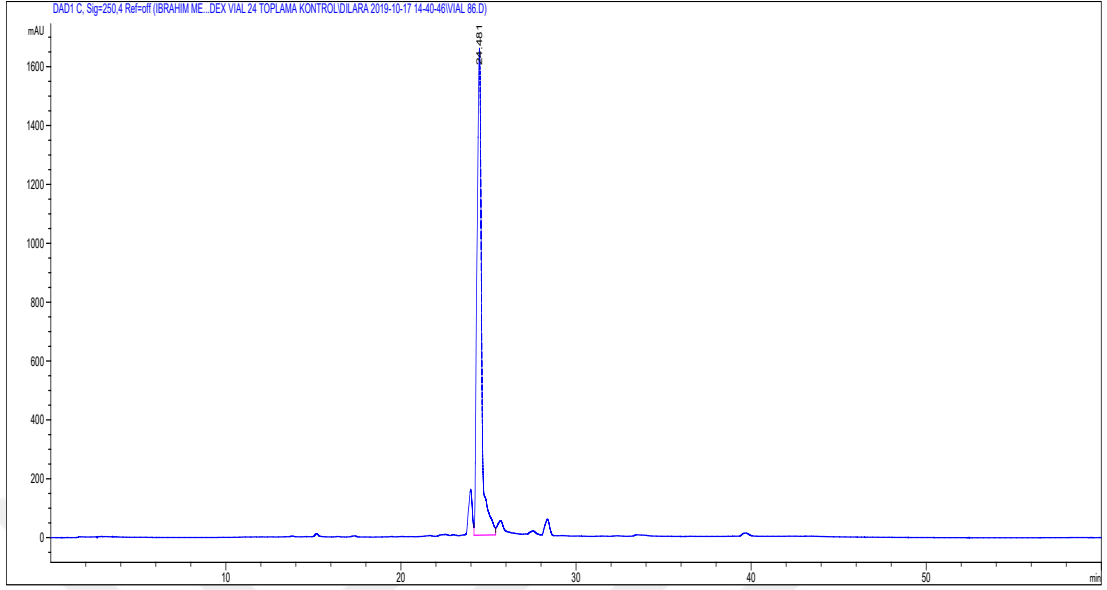
Moleküler Ağırlık: 286.28

m/z : 286.08 (100.0%), 287.09 (17.7%), 288.09 (2.5%)

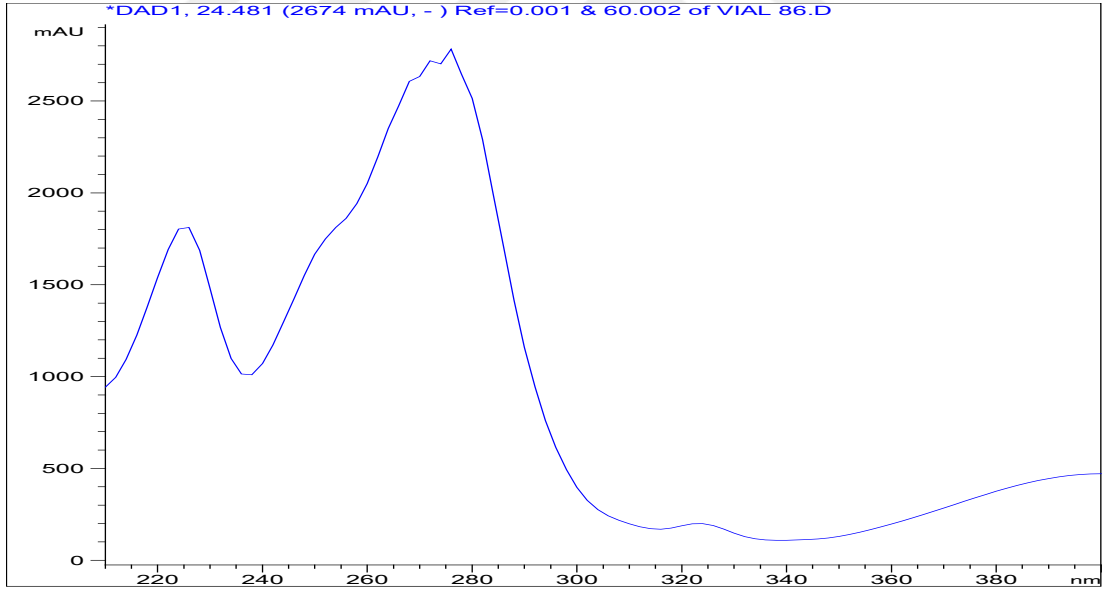
Elementel Analiz: C, 67.13; H, 4.93; O, 27.94

5-hidroksi-6,8-dimetoksi-2-metil-4*H*-benzo[*g*]kromen-4-on

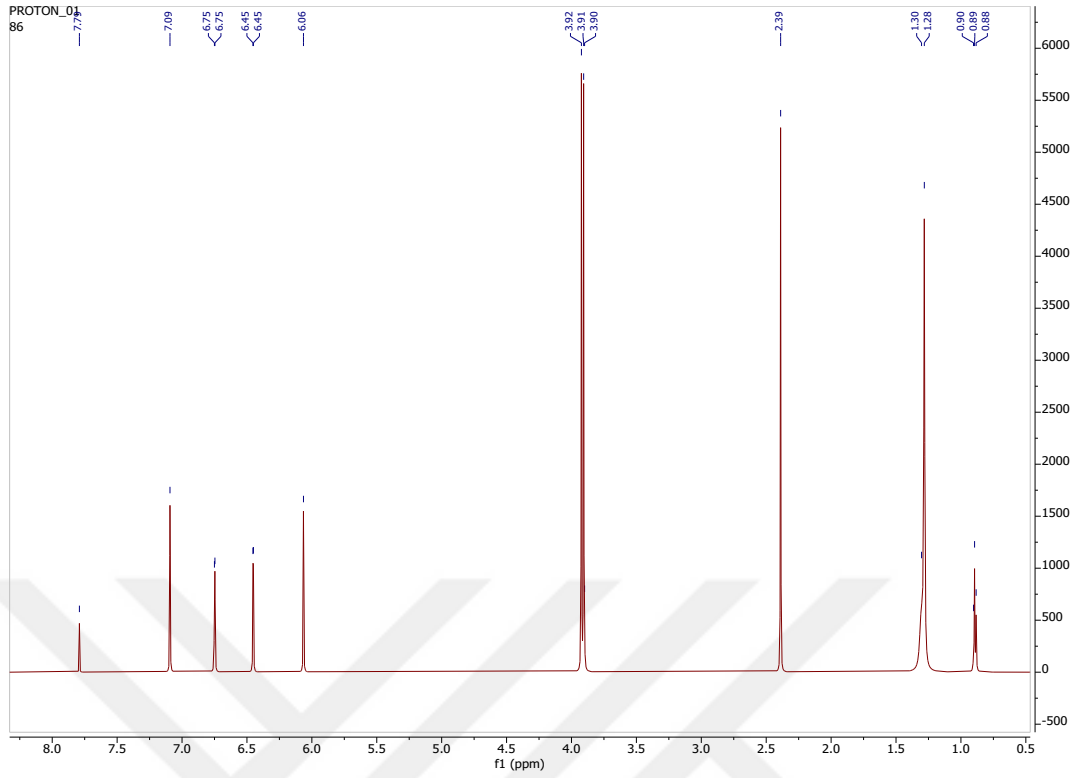
Şekil 3.100. Rubrofusarin B bileşiğinin yapısı, kimyasal özellikleri ve adlandırılması



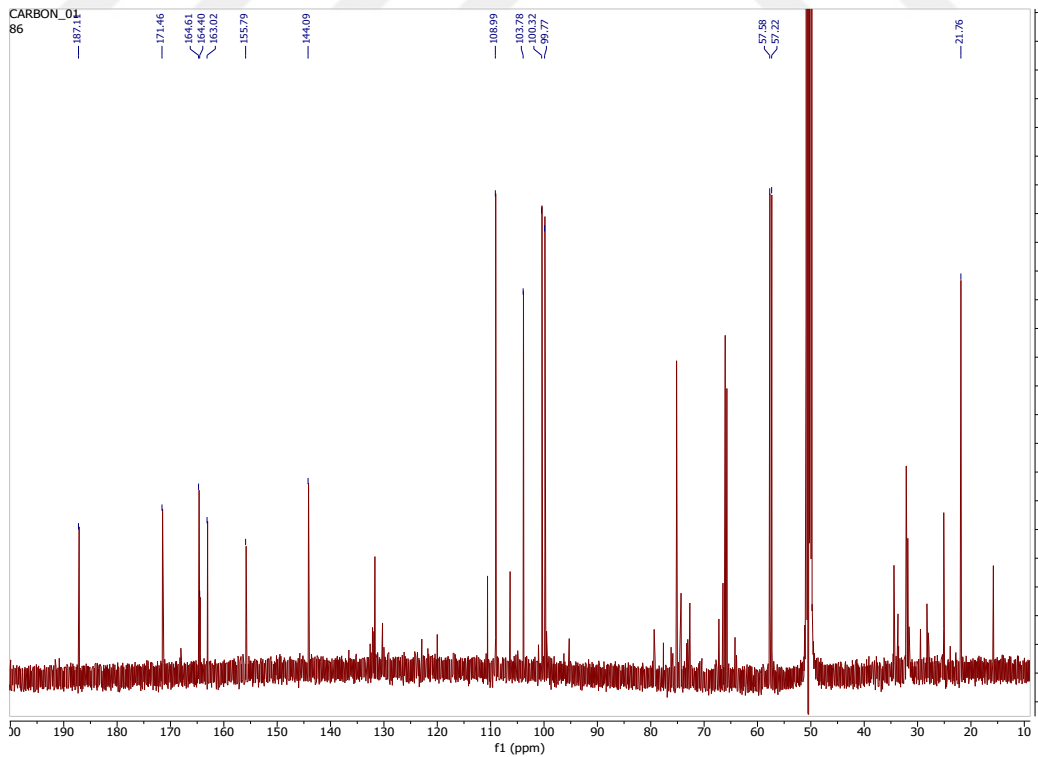
Şekil 3.101. Rubrofusarin B bileşiminin YPSK kromatogramı



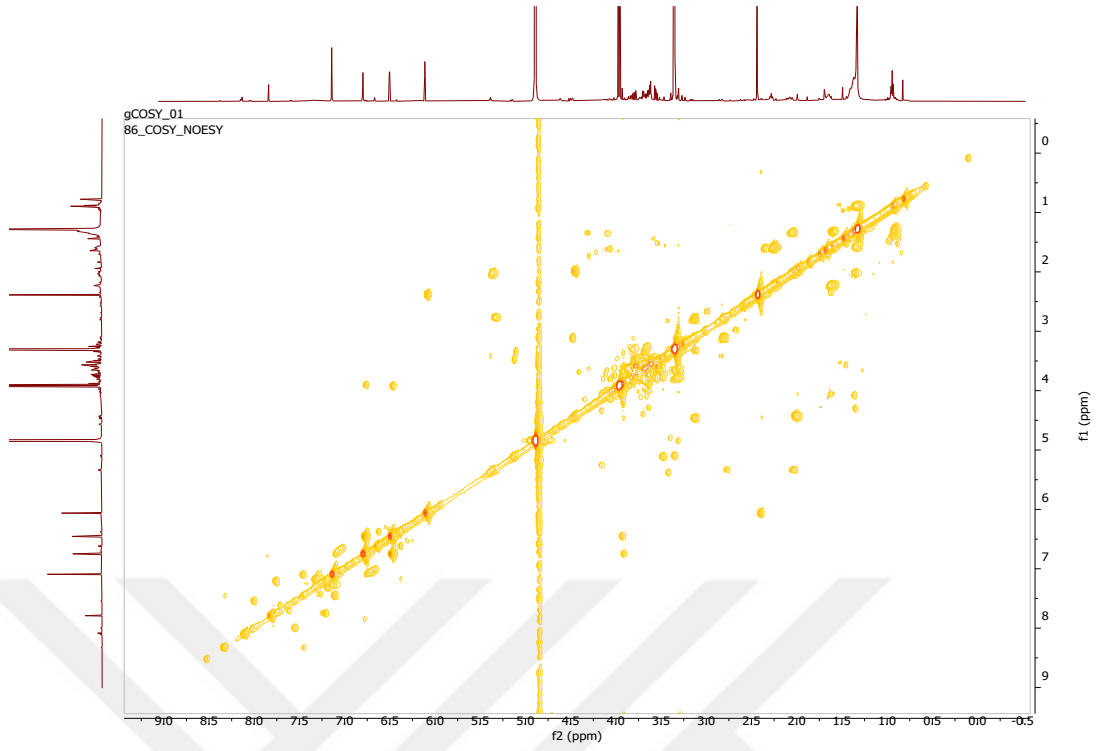
Şekil 3.102. Rubrofusarin B bileşiminin maksimum UV absorbansı



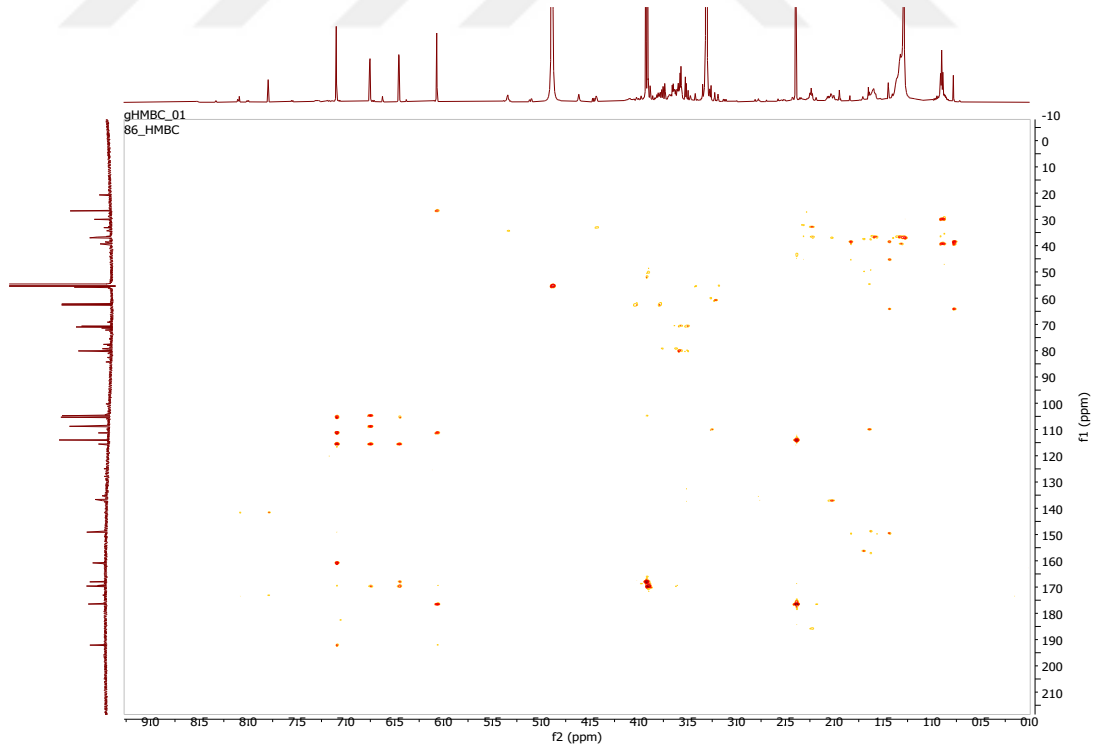
Şekil 3.103. Rubrofusarin B bileşiğinin MeOH-*d*₄'deki ¹H-NMR spektrumu



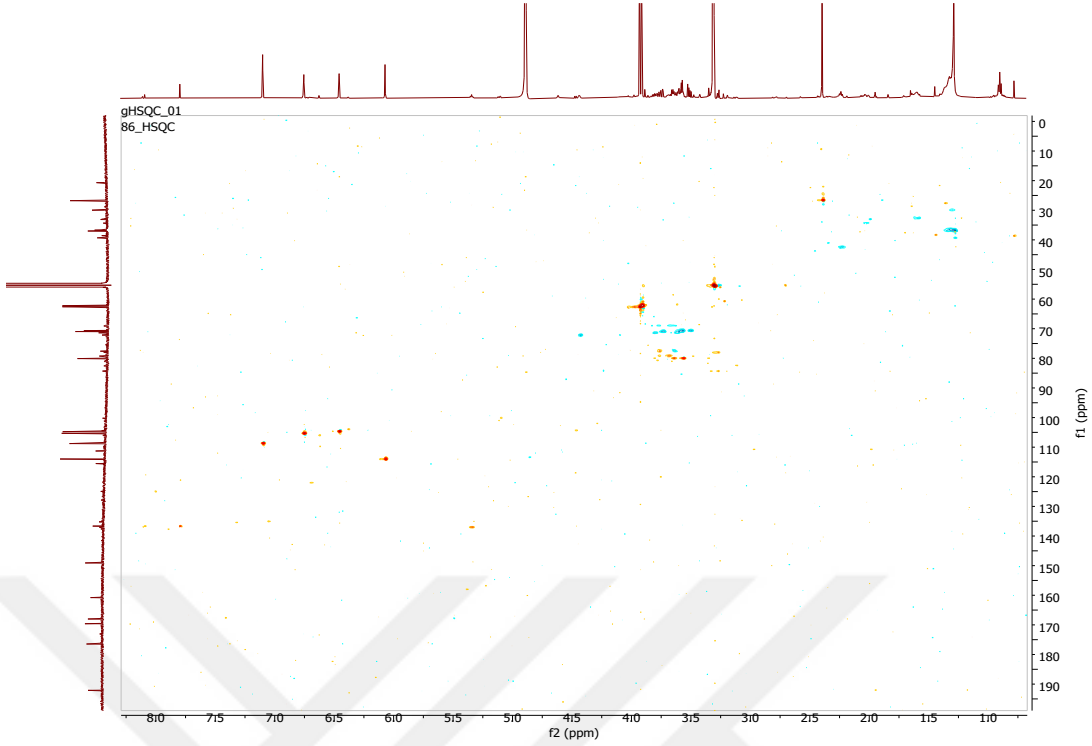
Şekil 3.104. Rubrofusarin B bileşiğinin MeOH-*d*₄'deki ¹³C-NMR spektrumu



Şekil 3.105. Rubrofusarin B bileşiminin MeOH-*d*₄'deki ¹H-¹H COSY spektrumu



Şekil 3.106. Rubrofusarin B bileşiminin MeOH-*d*₄'deki gHMBC spektrumu



Şekil 3.107. Rubrofusarin B bileşiğinin MeOH-*d*₄'deki gHSQC spektrumu

3.4.8. *p*-Hidroksifenil asetik asit metil ester

Aspergillus costaricaensis mantarının ham ekstresinin Metanol-Hekzan sıvı sıvı ekstraksiyonundan sonra Metanollü faz alınmış ve VSK kolona uygulanmıştır. VSK sonucunda elde edilen 2. fraksiyon Hekzan : Etil Asetat (30:70), Aseton mobil fazıyla sephadex kolona uygulanmıştır. Sephadex kolondan elde edilen toplam 8 fraksiyondan 4. fraksiyondan preparatif YPSK metoduyla madde izole edilip saflaştırılmıştır. Preparatif YPSK metodu Çizelge 3.19'da verilmiştir.

Çizelge 3.19. *p*-Hidroksifenil asetik asit metil ester maddesi için kullanılan preparatif YPSK metodu

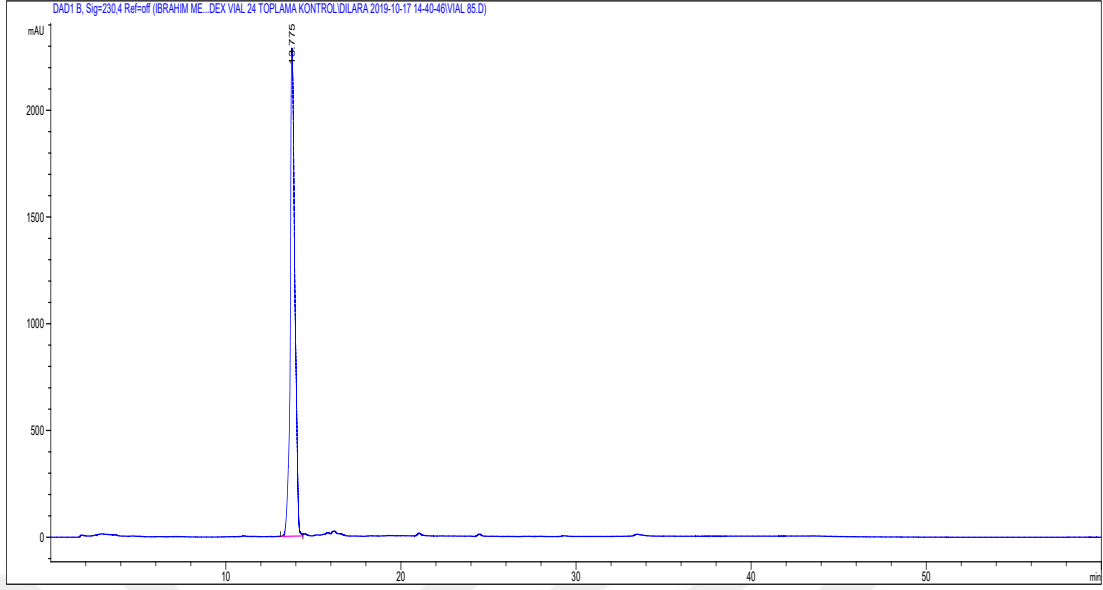
Zaman (dakika)	Ultra Saf Su (%)	Asetonitril (%)	Akış Hızı (ml/dakika)
0	90	10	2.000
5	60	40	2.000
10	30	70	2.000

Çizelge 3.19. Devam

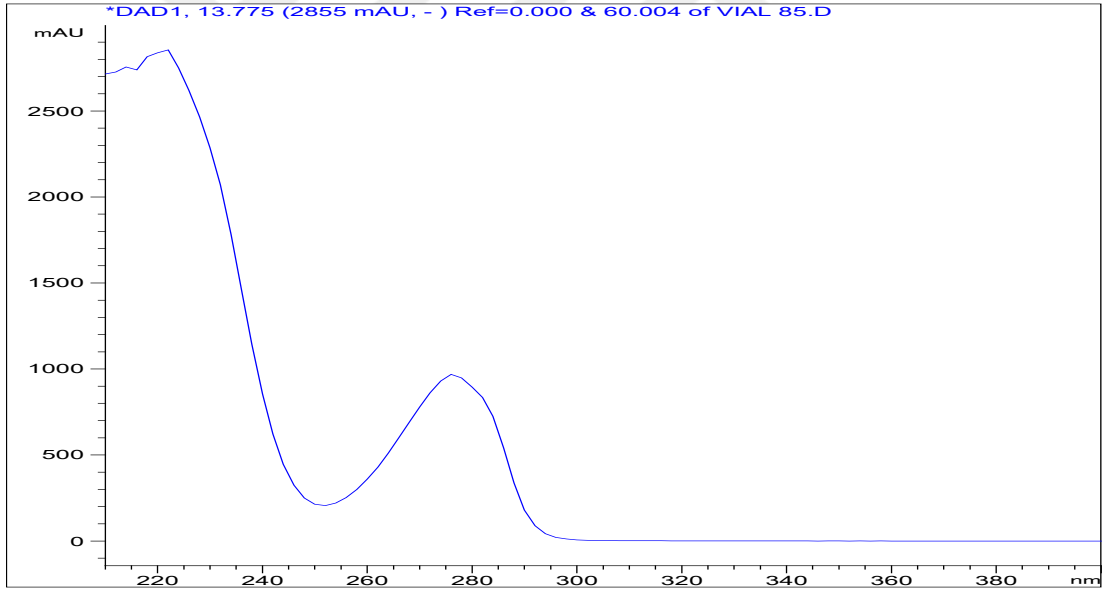
15	0	100	2.000
18	60	40	2.000
20	90	10	2.000

Maddeye ait ^1H NMR verileri, her biri, $J=8.4$ Hz eşleşme sabitine sahip (δ_{H} 6.72 ve δ_{H} 7.07) konumlarında bulunan, manyetik olarak eşdeğer iki protona entegre olmuş iki proton rezonansının varlığı yoluyla para konumdan disüstitüe aromatik bir halkanın varlığını ortaya koymuştur. Buna ek olarak δ_{H} 3.53'te bir singlet metilen ve δ_{H} 3.66'da oksijenlenmiş bir metil grubunun varlığı da tanımlanmıştır. Bileşiğin ^{13}C NMR verileri, δ_{C} 116.3 ve δ_{C} 131.3'de bulunan ve her biri HMQC ile paradisüstitüe aromatik halka ile ilişkilendirilen iki karbonu temsil eden pikler de dahil olmak üzere toplamda yedi farklı pikin varlığını göstermiştir. Bu iki karbon rezonansının dışında, ^{13}C NMR verileri, bir karboksil grubu (δ_{C} 174.6), bir oksijenlenmiş aromatik karbon (δ_{C} 157.6) ve bir kuarterner aromatik karbon (δ_{C} 126.3) dahil olmak üzere üç kuarterner karbonun varlığını göstermiştir. Elde edilen verilere dayanılarak ve mevcut literatürle karşılaştırılarak bileşiğin metil *p*-hidroksifenil asetat olduğu değerlendirilmiştir (Bose ve Venkat Narsaiiah, 2005; Shen ve ark., 2013). Bileşiğin kimyasal yapısı için daha fazla doğrulama, HMBC spektrumu aracılığıyla sağlanmıştır; δ_{H} 3.66 'daki singlet metilden bir karboksil grubuna (C-1) uzun menzilli korelasyonlar bileşiğin bir metil esteri olduğunu açığa çıkarmıştır ve δ_{H} 6.72 'deki proton rezonansından δ_{C} 40.9'daki bir metilen karbonuna uzun menzilli korelasyonlarla birlikte bileşiğin yapısı, *p*-hidroksifenil asetik asit metil esteri olarak aydınlatılmıştır.

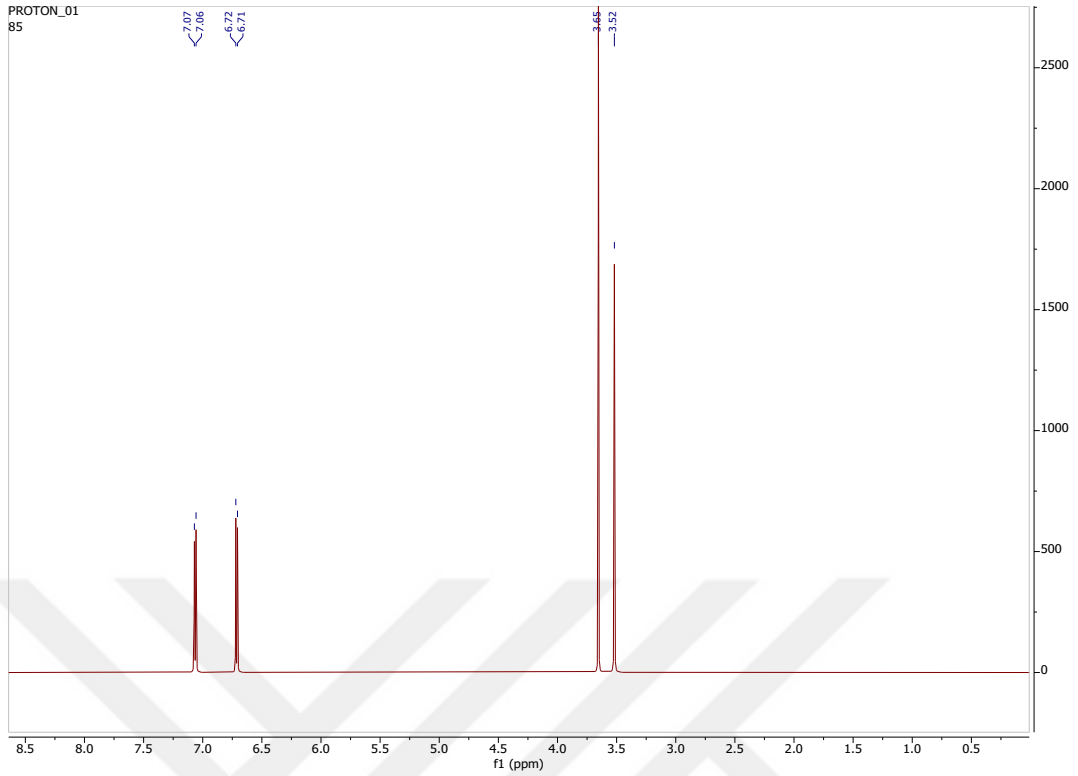
p-hidroksifenil asetik asit metil esteri bileşiğine ait ^1H ve ^{13}C NMR analizleri Çizelge 3.20'de verilmiştir. Bileşiğin yapısı, kimyasal özellikleri ve adlandırılması Şekil 3.108'de, YPSK kromatogramı Şekil 3.109'da, maksimum UV absorbansı Şekil 3.110'da, ^1H -NMR spektrumu Şekil 3.111'de, ^{13}C -NMR spektrumu Şekil 3.112'de, ^1H - ^1H COSY spektrumu Şekil 3.113'te, gHMBC spektrumu Şekil 3.114'te, gHSQC spektrumu Şekil 3.115'te verilmiştir.



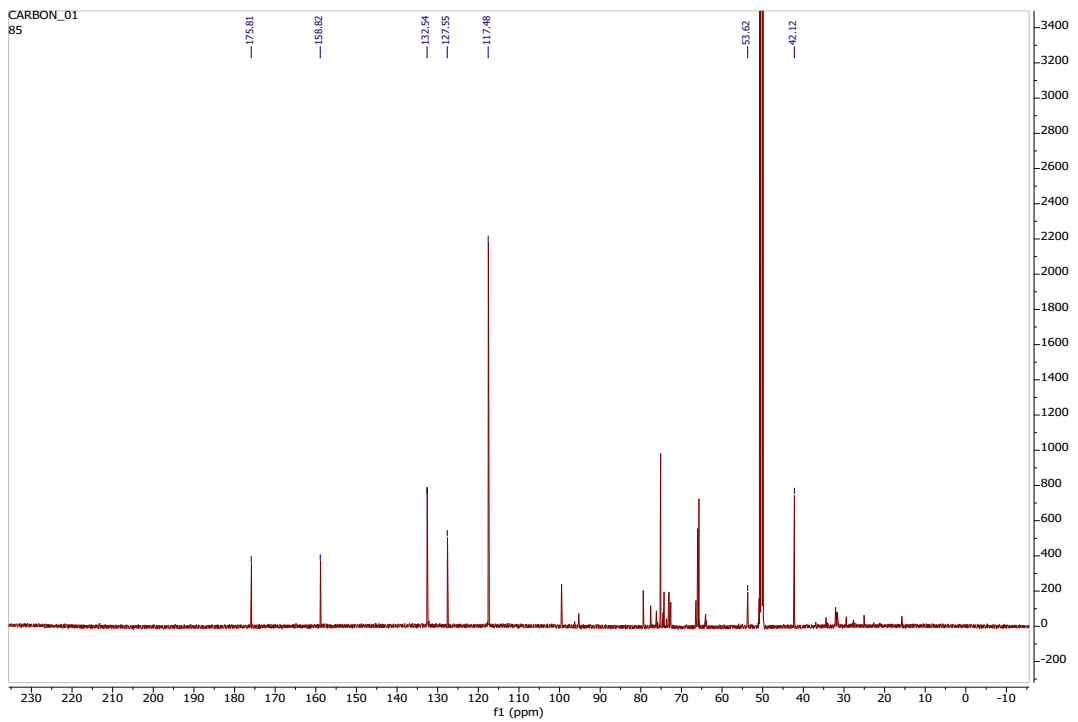
Şekil 3.109. *p*-hidroksifenil asetik asit metil esteri bileşiğinin YPSK kromatogramı



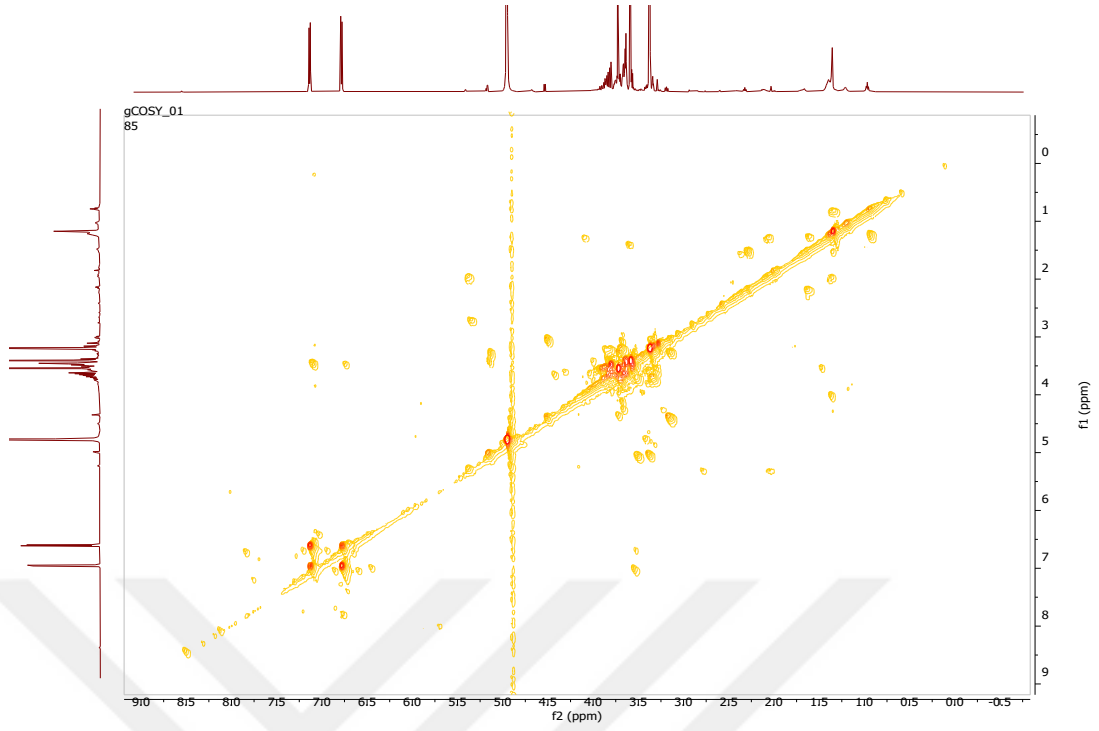
Şekil 3.110. *p*-hidroksifenil asetik asit metil esteri bileşiğinin maksimum UV absorbansı



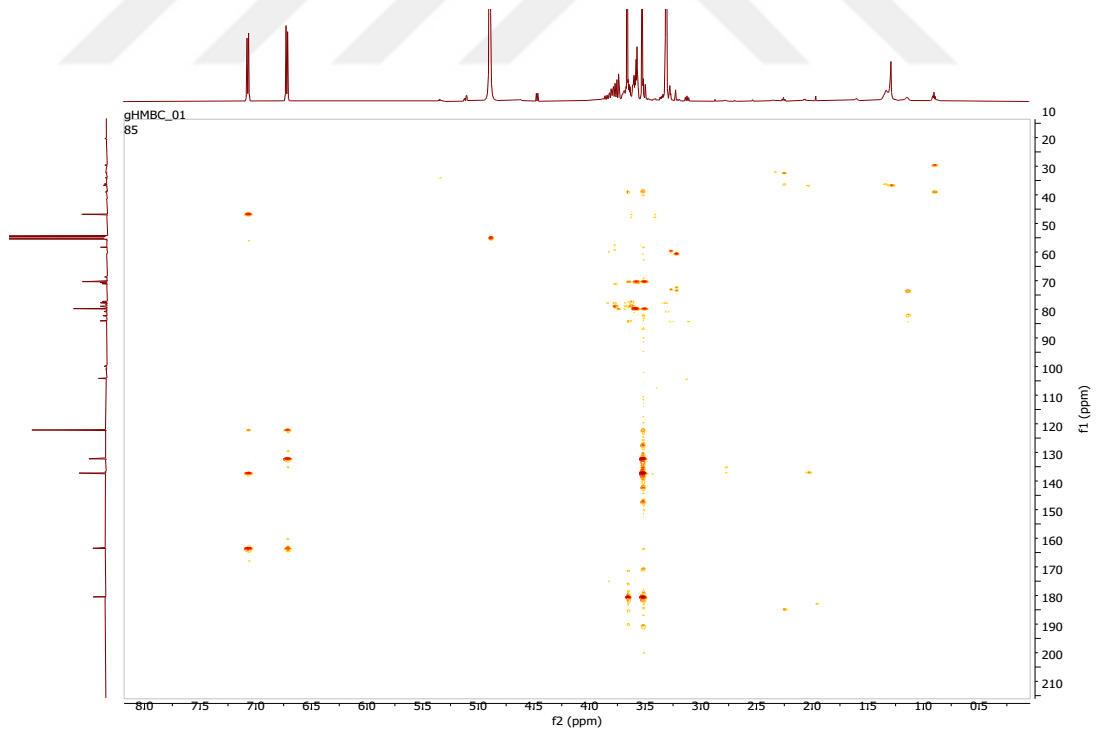
Şekil 3.111. *p*-hidroksifenil asetik asit metil esteri bileşiğinin MeOH-*d*₄'deki ¹H-NMR spektrumu



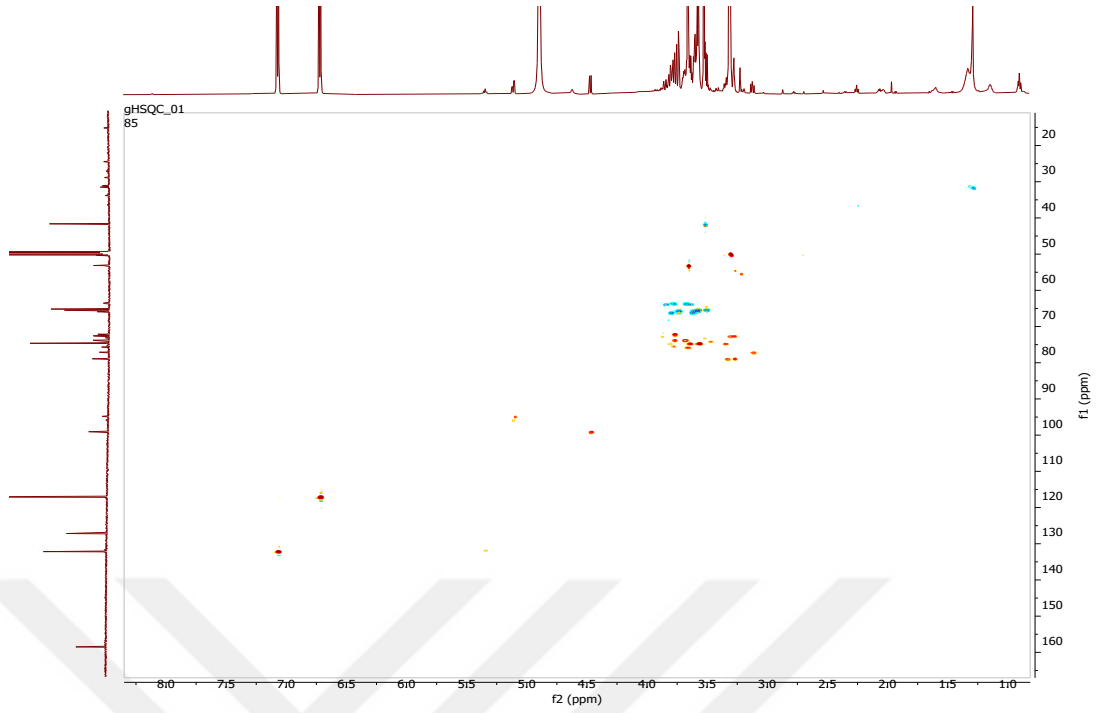
Şekil 3.112. *p*-hidroksifenil asetik asit metil esteri bileşiğinin MeOH-*d*₄'deki ¹³C-NMR spektrumu



Şekil 3.113. *p*-hidroksifenil asetik asit metil esteri bileşiğinin MeOH-*d*₄'deki ¹H-¹H COSY spektrumu



Şekil 3.114. *p*-hidroksifenil asetik asit metil esteri bileşiğinin MeOH-*d*₄'deki gHMBC spektrumu



Şekil 3.115. *p*-hidroksifenil asetik asit metil esterinin MeOH-*d*₄'deki gHSQC spektrumu

3.4.9. 8-*O*-Demetilflavasperon B

Aspergillus costaricaensis mantarının ham ekstresinin Metanol-Hekzan sıvı sıvı ekstraksiyonundan sonra metanollü faz alınmış ve VSK kolona uygulanmıştır. VSK sonucunda elde edilen 3. fraksiyon Hekzan: Etil Asetat (20:80), metanol mobil fazıyla sephadex kolona uygulanmıştır.

Sephadex kolon uygulamasında toplam 8 alt fraksiyon elde edilmiş olup 3. alt fraksiyon olan beher 9-11 fraksiyonundan preparatif YPSK metoduyla bu madde izole edilip saflaştırılmıştır. Preparatif YPSK metodu Çizelge 3.21'de verilmiştir.

Çizelge 3.21. 8-*O*-Demetilflavasperon B maddesi için kullanılan preparatif YPSK metodu

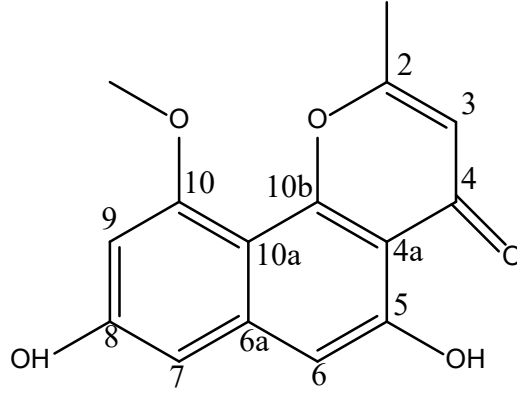
Zaman (dakika)	Ultra Saf Su (%)	Asetonitril (%)	Akış Hızı (ml/dakika)
0	90	10	2.000
3	60	40	2.000
6	30	70	2.000
9	0	100	2.000
12	50	50	2.000
14	90	10	2.000

8-*O*-Demetilflavasperon B ve Fonsekin bileşikleri sarı bir toz olarak karışım halinde izole edilmişlerdir. İki maddenin birbirinden ayrıştırılmayan karışımı olarak tanımlanmışlardır. İki maddenin varlığı, sırasıyla 1:2 oranında iki farklı proton rezonans setinin varlığını gösteren ¹H NMR spektumuna bakılarak saptanmıştır. HMQC spektrumuyla birlikte karşılık gelen integrasyon ve karbon korelasyonları saptanan birinci proton rezonans seti dört aromatik protonun varlığını ortaya koymaktadır. Bu protonlar, δ_H 6.84 (1H, d, $J = 2.2$ Hz; δ_C 98.2) ve δ_H 6.53 (1H, d, $J = 2.2$ Hz; δ_C 97.0) konumlarında meta bağlı iki proton ile δ_H 6.47 (δ_C 109.7) ve δ_H 6.91 (δ_C 105.0) konumlarında iki singlet proton ile δ_H 6.47 (1H, s, δ_C 109.7) ve δ_H 6.91 (1H, s, δ_C 105.0) konumlarındaki iki singlet protondur. ¹H NMR verisi ve HMQC spektrumu ayrıca biri δ_H 2.49 (3H, s; δ_C 19.9) konumunda olefinik, diğeri δ_H 3.95 (1H, s; δ_C 55.4) konumunda bir metoksi grubu olmak üzere iki singlet metil grubunun varlığını ortaya koymaktadır. HMBC spektrumu δ_H 2.49 (3H, s; δ_C 19.9) konumundaki olefinik metil grubu ve δ_H 6.47 (1H, s, δ_C 109.7) konumundaki aromatik protondan δ_C 182.1 konumundaki karbonil grubuna uzun mesafe korelasyonu olduğunu ortaya koymuştur. Buna ilaveten δ_H 6.53 (1H, d, $J = 2.2$ Hz; δ_C 98.3) konumundaki aromatik protondan δ_C 163.5 konumundaki oksijenlenmiş aromatik karbona uzun mesafe korelasyonu da görülebilmekte olup bu da aynı zamanda δ_H 3.93 (3H, s; δ_C 56.0) konumundaki metoksi grubuyla olan uzun mesafe korelasyonu açığa çıkarmıştır. Tüm bu veriler toplandığında ve literatür incelendiğinde bileşiğin 8-*O*-Demetilflavasperon B maddesi olduğu doğrulanmaktadır (Sakurai ve ark., 2003).

8-*O*-Demetilflavasperon B bileşiğine ait ^1H ve ^{13}C NMR analizleri Çizelge 3.22’de verilmiştir. Bileşiğin yapısı, kimyasal özellikleri ve adlandırılması Şekil 3.116’da, YPSK kromatogramı Şekil 3.117’de, maksimum UV absorbanısı Şekil 3.118’de, ^1H -NMR spektrumu Şekil 3.119’da, ^{13}C -NMR spektrumu Şekil 3.120’de, ^1H - ^1H COSY spektrumu Şekil 3.121’de, gHMBC spektrumu Şekil 3.122’de, gHMQC spektrumu Şekil 3.123’te verilmiştir.

Çizelge 3.22. 8-*O*-Demetilflavasperon B bileşiğine ait ^1H ve ^{13}C NMR analizleri

8- <i>O</i> -Demetilflavasperon B, MeOH- <i>d</i> ₄ , 600 MHz		
#	δ_{H} (J[Hz])	δ_{C} , tip
2		167.6, C
3	6.47, s (1H)	109.7, CH
4		182.1, CO
4a		107.8, C
5		155.1, C
6	6.91, s (1H)	105.0, C
6a		140.6, C
7	6.84, d (1H, 2.2)	98.2, CH
8		161.2, C
9	6.53, d (1H, 2.2)	97.0, CH
10		158.5, C
10a		104.0, CH
10b		155.7, C
2-Me	2.49, s (3H)	19.9, CH ₃
8-OMe	3.95, s (3H)	55.4, CH ₃



8-*O*-Demetilflavasperon B

Kimyasal Formül: $C_{15}H_{12}O_5$

Nihai Kütle: 272.07

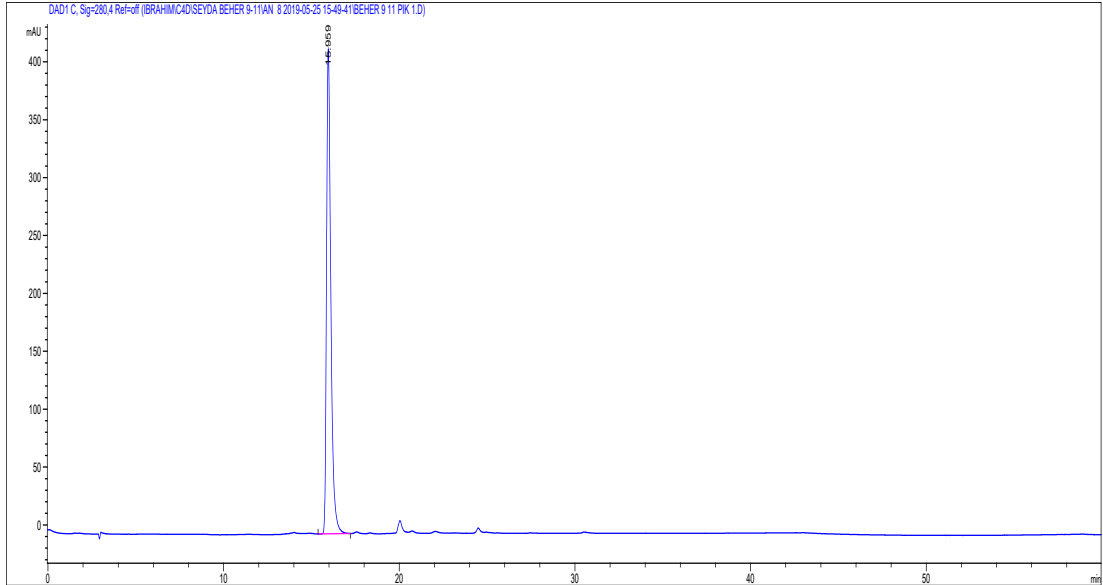
Moleküler Ağırlık: 272.26

m/z : 272.07 (100.0%), 273.07 (16.6%), 274.08 (1.3%), 274.07 (1.0%)

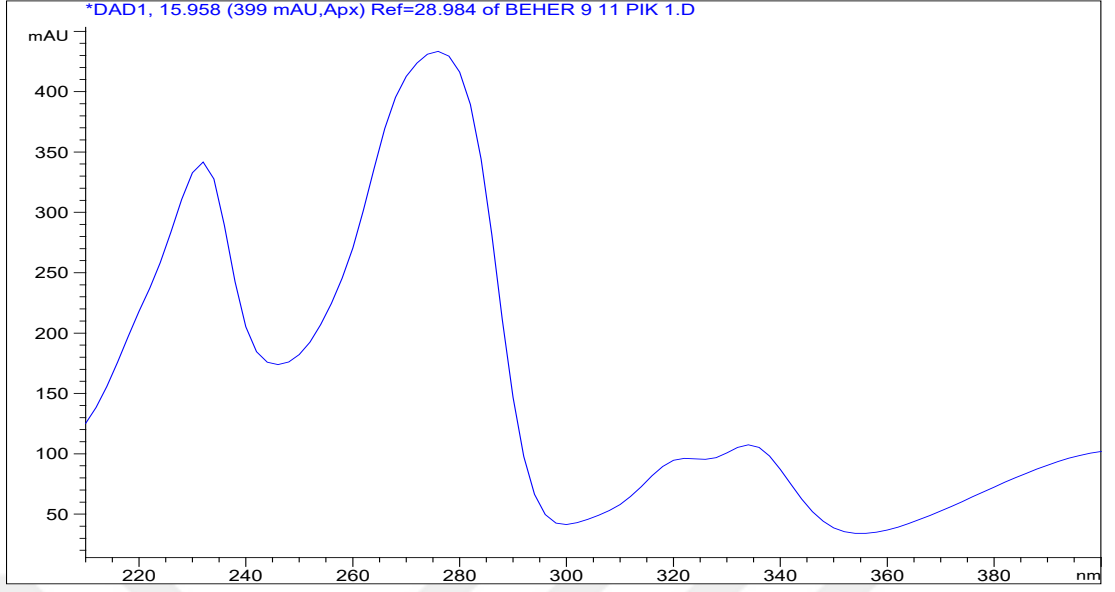
Elementel Analiz: C, 66.17; H, 4.44; O, 29.38

5,8-dihidroksi-10-metoksi-2-metil-4*H*-benzo[*h*]kromen-4-on

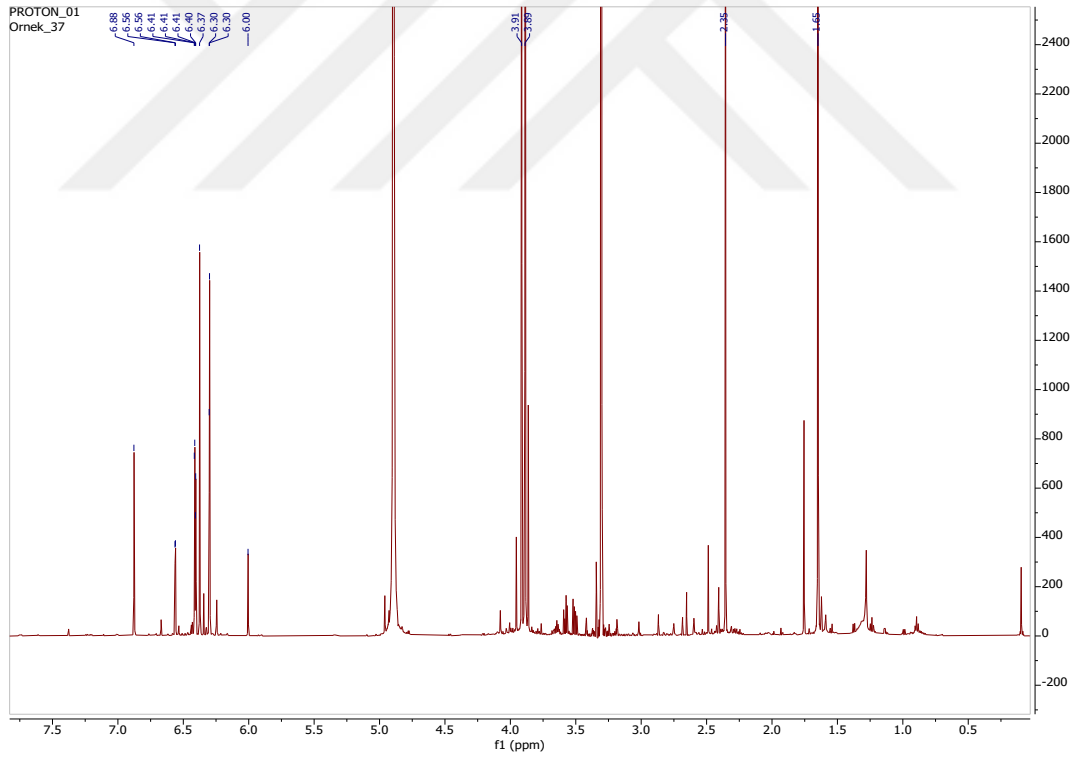
Şekil 3.116. 8-*O*-Demetilflavasperon B bileşiğinin yapısı, kimyasal özellikleri ve adlandırılması



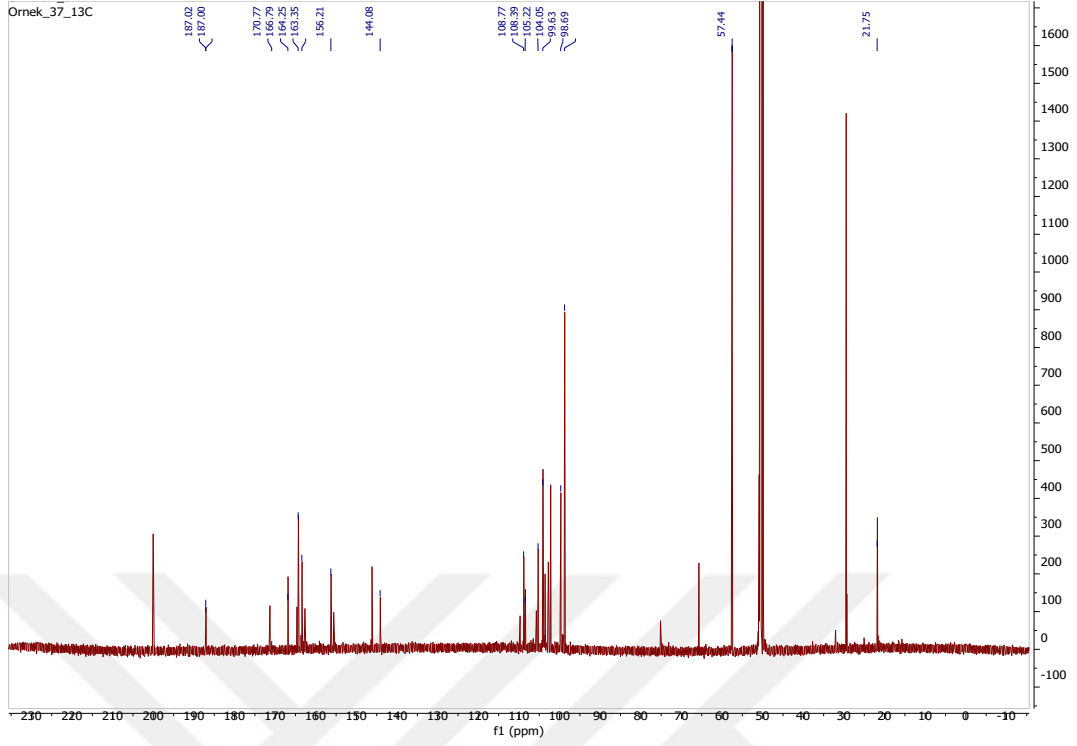
Şekil 3.117. 8-*O*-Demetilflavasperon B bileşiğinin YPSK kromatogramı



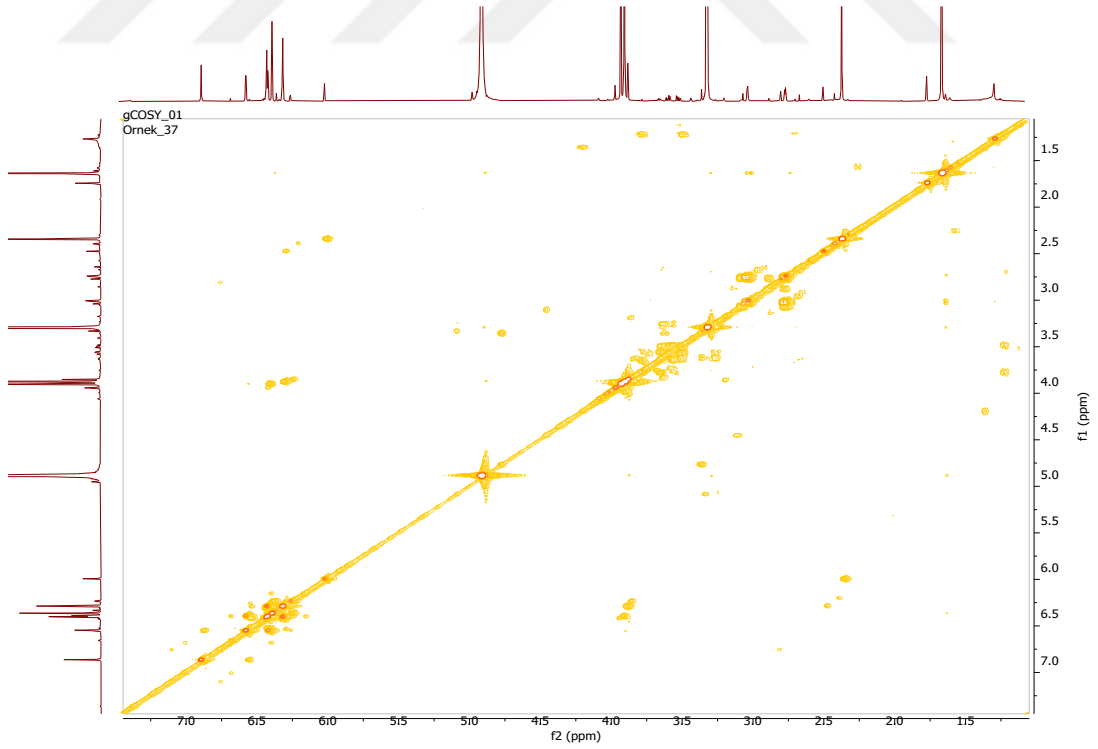
Şekil 3.118. 8-*O*-Demetilflavasperon B bileşiğinin maksimum UV absorbanısı



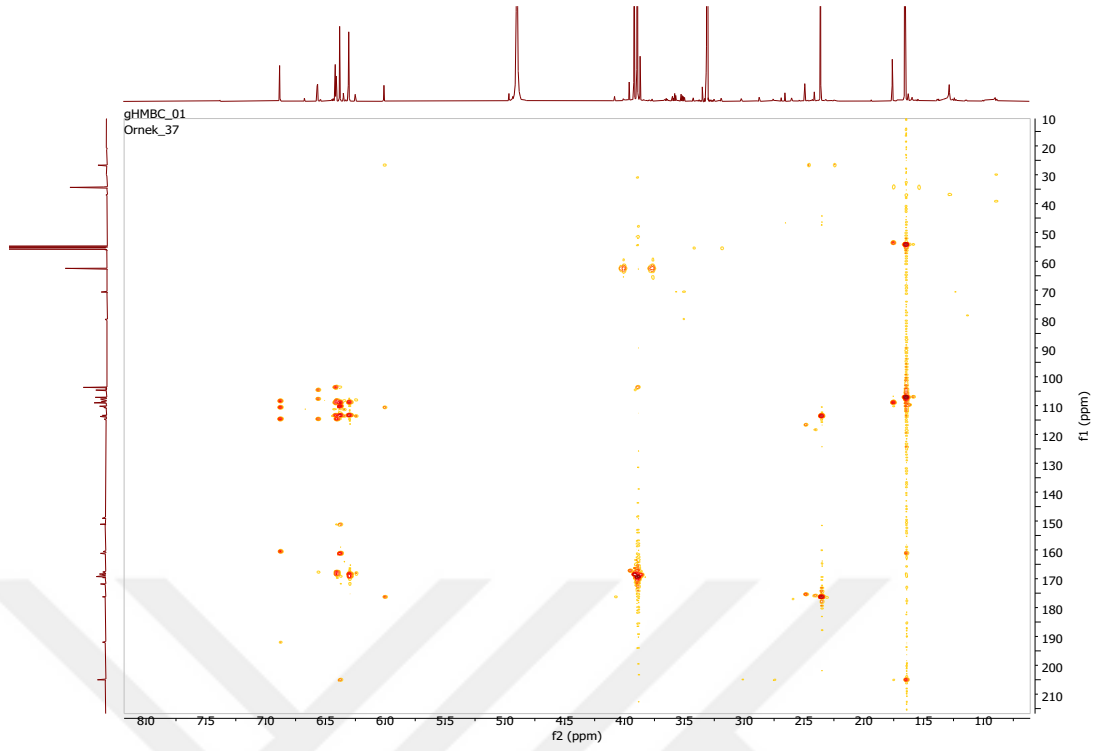
Şekil 3.119. 8-*O*-Demetilflavasperon B bileşiğinin MeOH-*d*₄'deki ¹H-NMR spektrumu



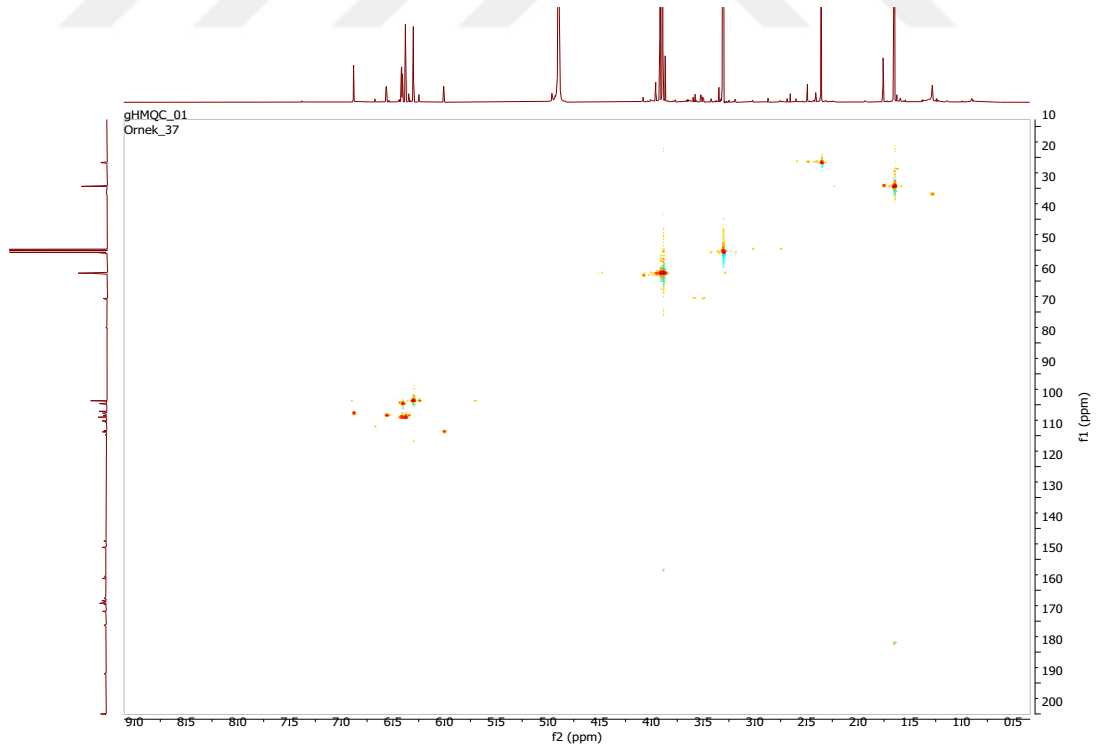
Şekil 3.120. 8-*O*-Demetilflavasperon B bileşiğinin MeOH-*d*₄'deki ¹³C-NMR spektrumu



Şekil 3.121. 8-*O*-Demetilflavasperon B bileşiğinin MeOH-*d*₄'deki ¹H-¹H COSY spektrumu



Şekil 3.122. 8-*O*-Demetilflavasperon B bileşiğinin MeOH-*d*₄'deki gHMBC spektrumu



Şekil 3.123. 8-*O*-Demetilflavasperon B bileşiğinin MeOH-*d*₄'deki gHMQC spektrumu

3.4.10. Fonsekin

Aspergillus costaricaensis mantarının ham ekstresinin Metanol-Hekzan sıvı sıvı ekstraksiyonundan sonra metanollü faz alınmış ve VSK kolona uygulanmıştır. VSK sonucunda elde edilen 3. fraksiyon Hekzan: Etil Asetat (20:80), metanol mobil fazıyla sephadex kolona uygulanmıştır. Sephadex kolon uygulamasında toplam 8 alt fraksiyon elde edilmiş olup 3. alt fraksiyon olan beher 9-11 fraksiyonundan preparatif YPSK metoduyla bu madde izole edilip saflaştırılmıştır. Preparatif YPSK metodu Çizelge 3.23'te verilmiştir.

Çizelge 3.23. Fonsekin maddesi için kullanılan preparatif YPSK metodu

Zaman (dakika)	Ultra Saf Su (%)	Asetonitril (%)	Akış Hızı (ml/dakika)
0	90	10	2.000
3	60	40	2.000
6	30	70	2.000
9	0	100	2.000
12	50	50	2.000
14	90	10	2.000

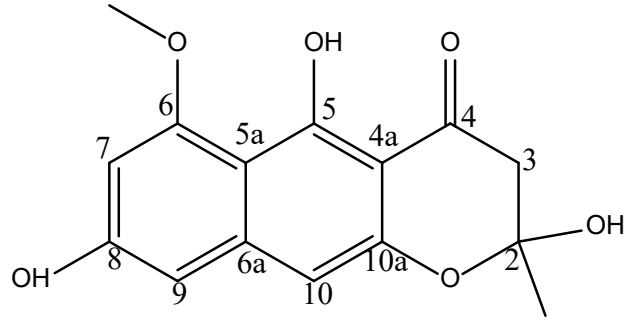
Fonsekin ve 8-*O*-Demetilflavaspon B bileşikleri sarı bir toz olarak karışım halinde izole edilmişlerdir. İki maddenin birbirinden ayrıştırılmayan karışımı olarak tanımlanmışlardır. İki maddenin varlığı, sırasıyla 2:1 oranında iki farklı proton rezonans setinin varlığını gösteren ¹H NMR spektumuna bakılarak saptanmıştır. Bu bileşiğe ait ¹H NMR verilerinde bulunan ikinci proton rezonans seti ve HMQC spektrumundan elde edilen korelasyon içinde oldukları karbon rezonansları, δ_H 6.40 (1H, d, J = 2.0 Hz; δ_C 102.8) ve δ_H 6.29 (1H, d, J = 2.0 Hz; δ_C 97.5) konumlarındaki meta bağlı iki aromatik protona ek olarak δ_H 2.76/ δ_H 3.03 (her biri 1H, d, J = 17.0 Hz; δ_C 48.0) konumlarındaki iki geminal bağlı protonun varlığını meydana çıkarmıştır. Buna ek olarak, δ_H 6.36 (1H, s; δ_C 102.9) konumundaki bir aromatik singlet protonun, δ_H 1.64 (3H, s; δ_C 28.1) konumundaki bir singlet metil grubunun ve δ_H 3.88 (3H, s; δ_C 56.2) konumundaki bir metoksi grubunun varlığı da ortaya konulmuştur. HMBC spektrumu δ_H 1.64 (3H, s; δ_C 28.1) konumundaki olefinik metil grubuyla δ_H 2.76/ δ_H 3.03 (her biri 1H, d, J = 17.0 Hz; δ_C 48.0) konumlarındaki geminal bağlı iki protonun

δ_C 198.8 konumundaki ketokarbonil grubuyla uzun mesafe korelasyonuna sahip olduğunu ortaya çıkarmıştır. Buna ek olarak δ_H 6.29 (1H, d, $J = 2.2$ Hz; δ_C 97.5) konumundaki aromatik protonun δ_C 164.2 konumundaki oksijenlenmiş aromatik karbona olan uzun mesafe korelasyonu δ_H 3.88 (3H, s; δ_C 56.2) konumundaki metoksi grubuyla olan uzun mesafe korelasyonu da meydana çıkarmıştır. Elde edilen bu veriler mevcut literatürle karşılaştırıldığında maddenin fonsekin olduğu doğrulanmıştır (Sakurai ve ark., 2003).

Fonsekin bileşiğine ait 1H ve ^{13}C NMR analizleri Çizelge 3.24'te verilmiştir. Bileşiğin yapısı, kimyasal özellikleri ve adlandırılması Şekil 3.124'te, YPSK kromatogramı Şekil 3.125'te, maksimum UV absorbansı Şekil 3.126'da, 1H -NMR spektrumu Şekil 3.127'de, ^{13}C -NMR spektrumu Şekil 3.128'de, 1H - 1H COSY spektrumu Şekil 3.129'da, gHMBC spektrumu Şekil 3.130'da, gHMQC spektrumu Şekil 3.131'de verilmiştir.

Çizelge 3.24. Fonsekin bileşiğine ait 1H ve ^{13}C NMR analizleri

Fonsekin, MeOH- d_4 , 600 MHz		
#	δ_H (J[Hz])	δ_C , tip
2		100.5, C
3	2.76, d (1H, 17.0) 3.03, d (1H, 17.0)	48.0, CH ₂
4		198.8, CO
4a		103.0, C
5		164.6, C
5a		105.8, C
6		164.2, C
7	6.29, d (1H, 2.0)	97.5, CH
8		161.9, C
9	6.40, d (1H, 2.0)	102.8, CH
9a		143.5, C
10	6.36, s (1H)	102.9, CH
10a		153.9, C
2-Me	1.64 s (3H)	28.1, CH ₃
6-OMe	3.88, s (3H)	56.2, CH ₃



Fonsekin

Kimyasal Formül: $C_{15}H_{14}O_6$

Nihai Kütle: 290.08

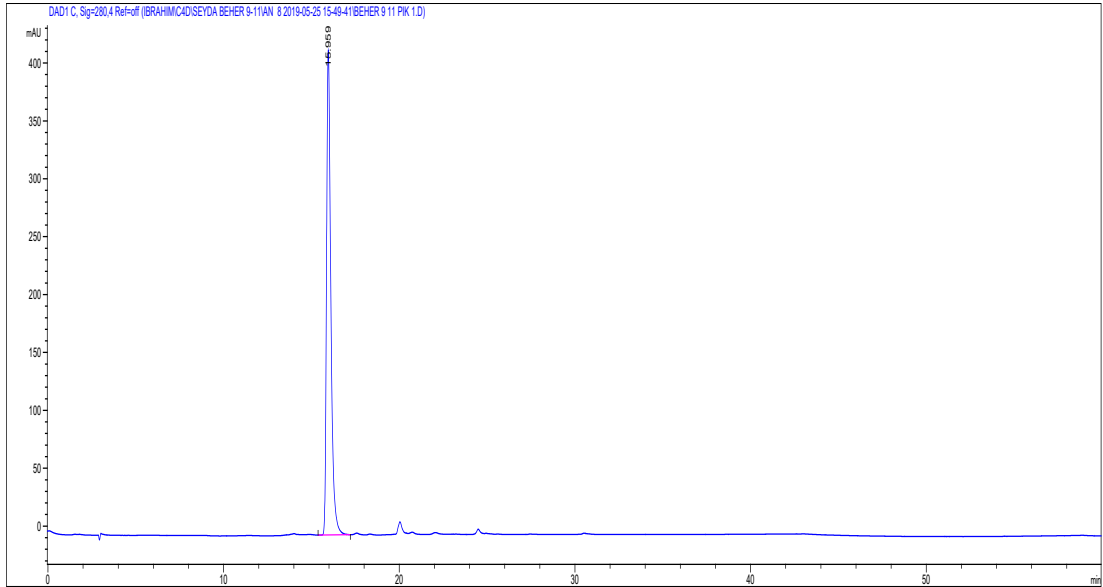
Moleküler Ağırlık: 290.27

m/z : 290.08 (100.0%), 291.08 (16.5%), 292.09 (1.3%), 292.08 (1.2%)

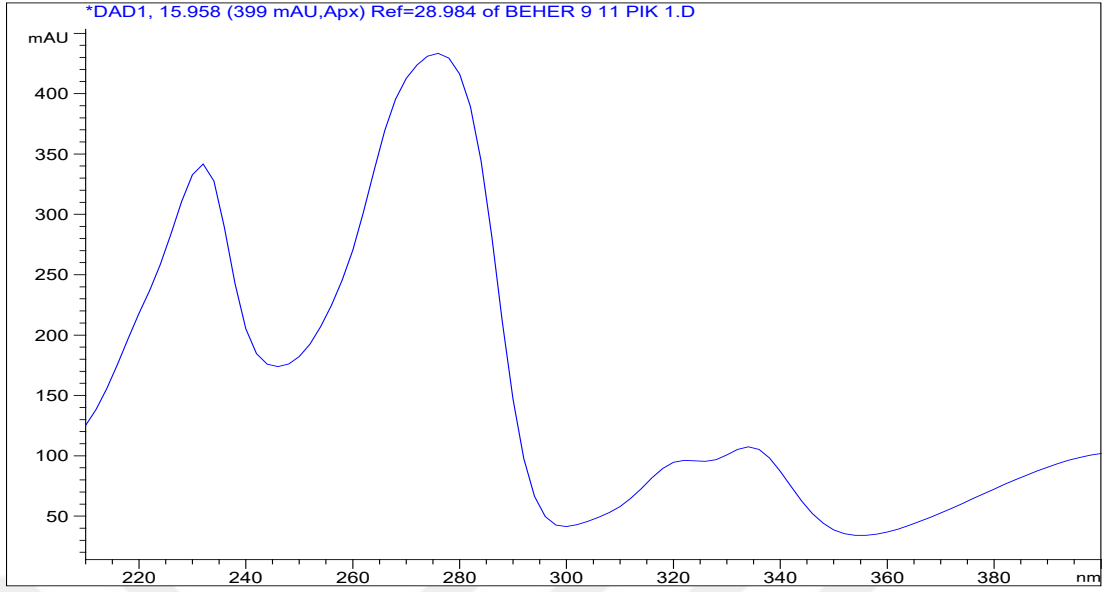
Elementel Analiz: C, 62.07; H, 4.86; O, 33.07

2,5,8-trihidroksi-6-metoksi-2-metil-2,3-dihidro-4*H*-benzo[*g*]kromen-4-on

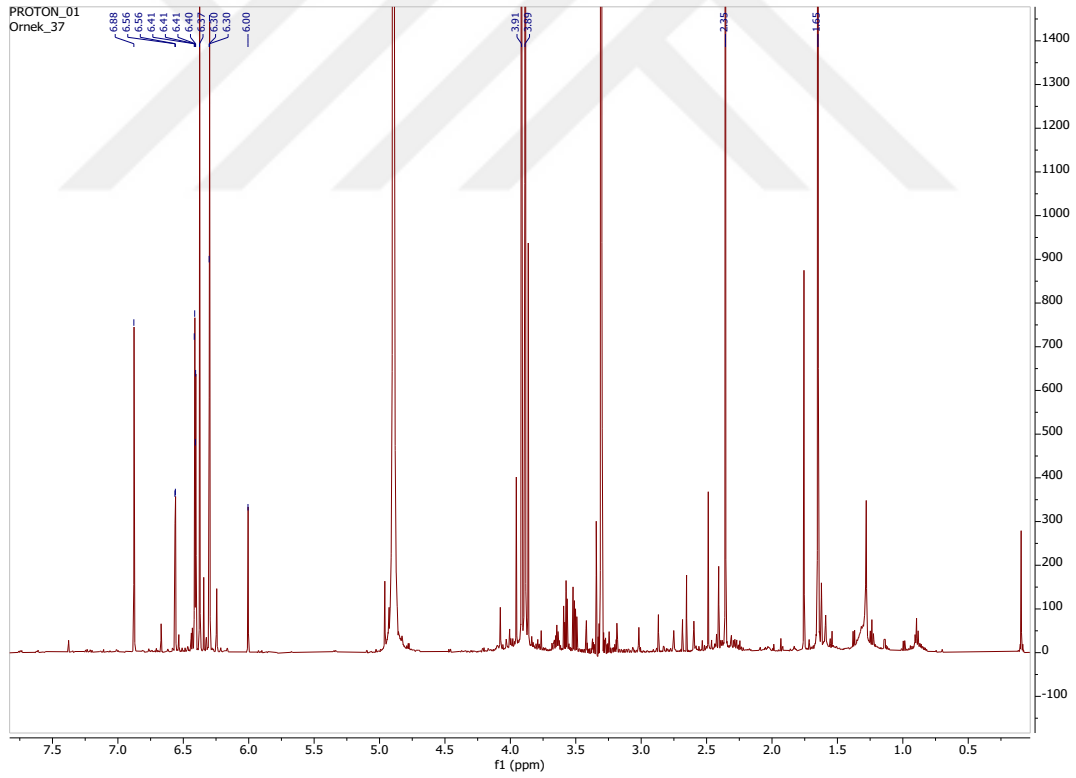
Şekil 3.124. Fonsekin bileşiğinin yapısı, kimyasal özellikleri ve adlandırılması



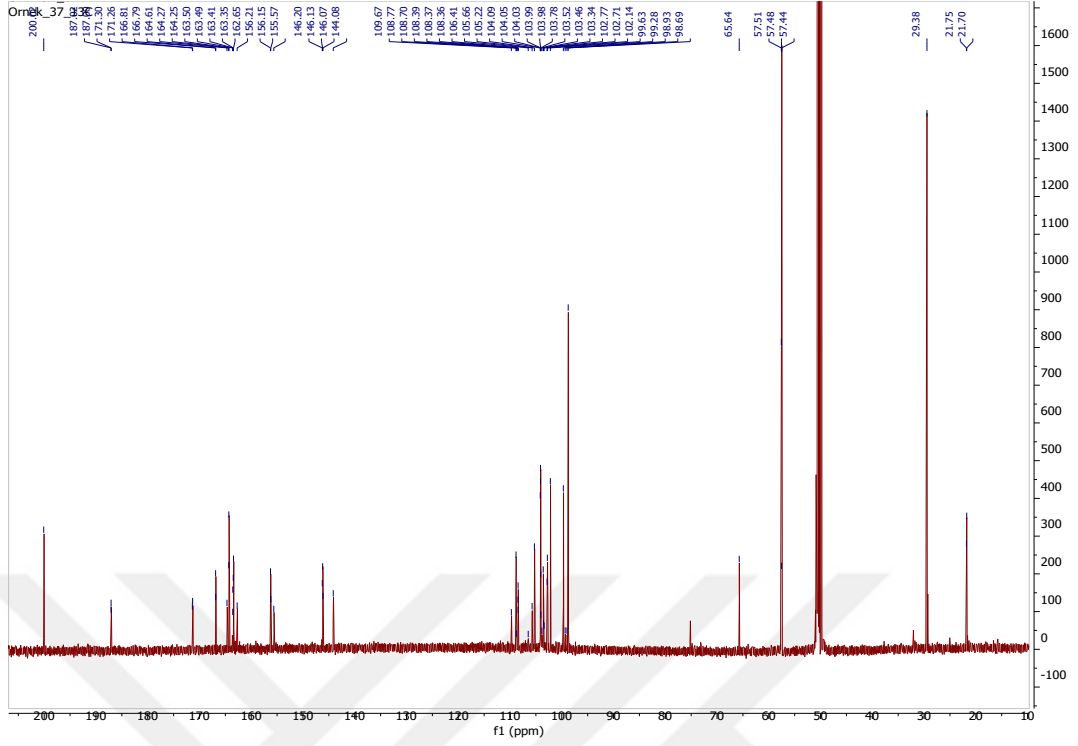
Şekil 3.125. Fonsekin bileşiğinin YPSK kromatogramı



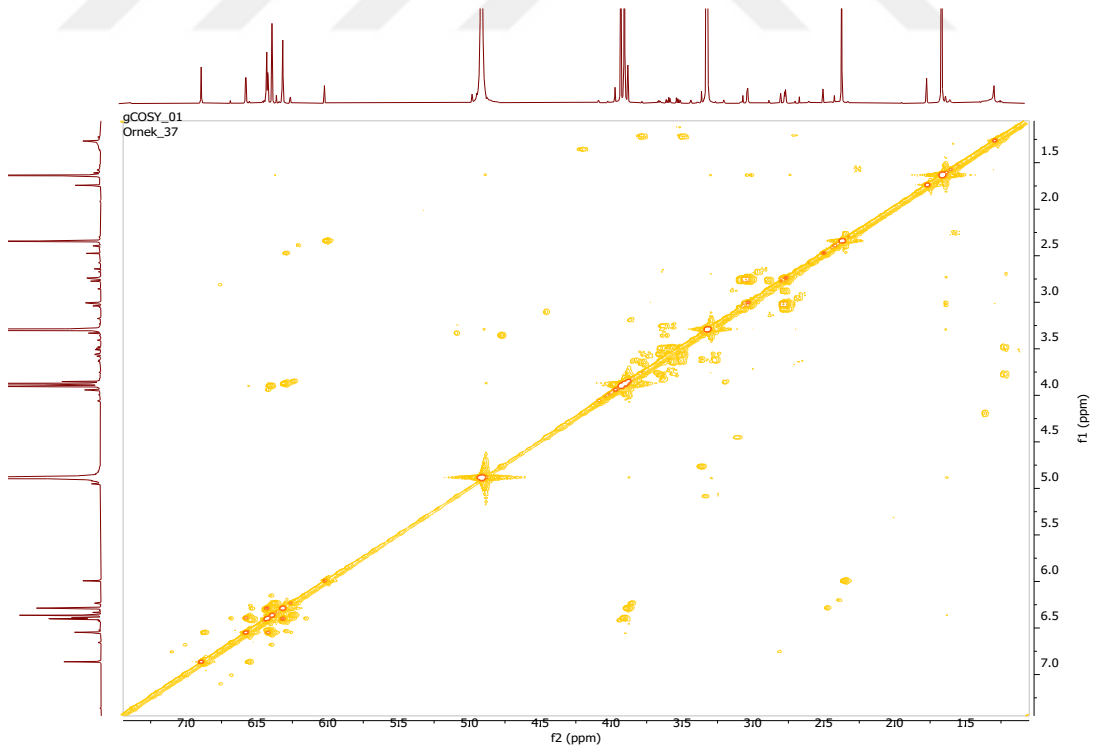
Şekil 3.126. Fonsekin bileşğinin maksimum UV absorbanısı



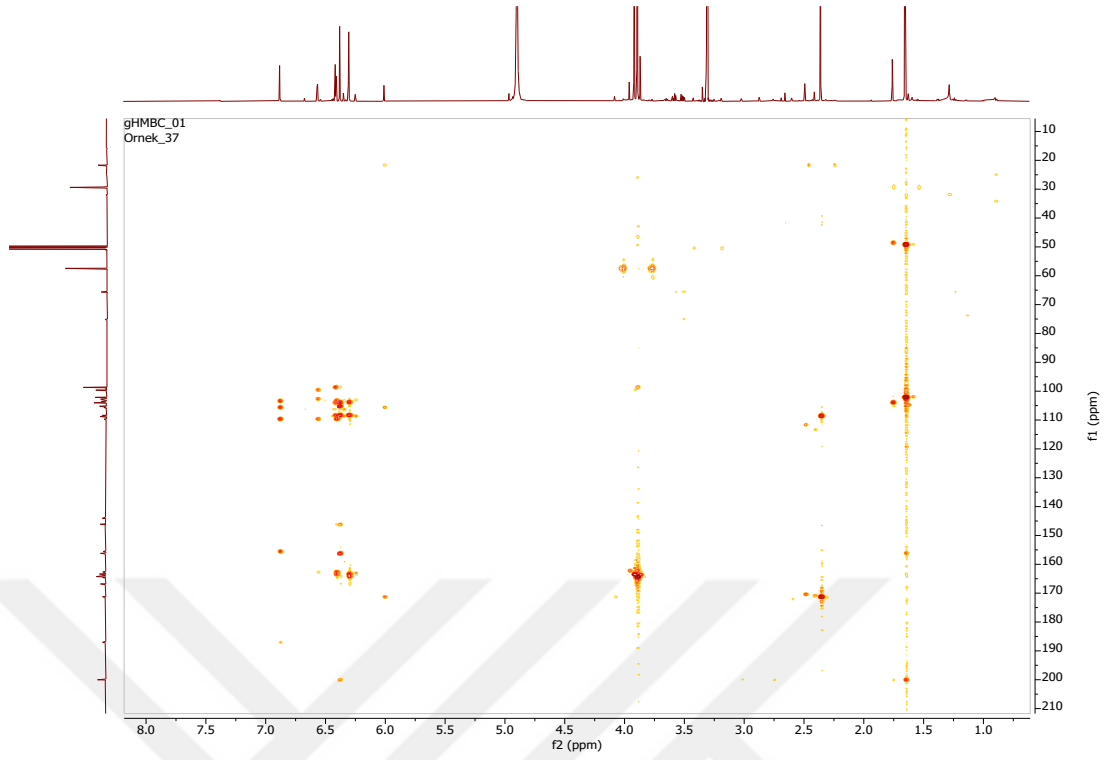
Şekil 3.127. Fonsekin bileşğinin MeOH-*d*4’deki ¹H-NMR spektrumu



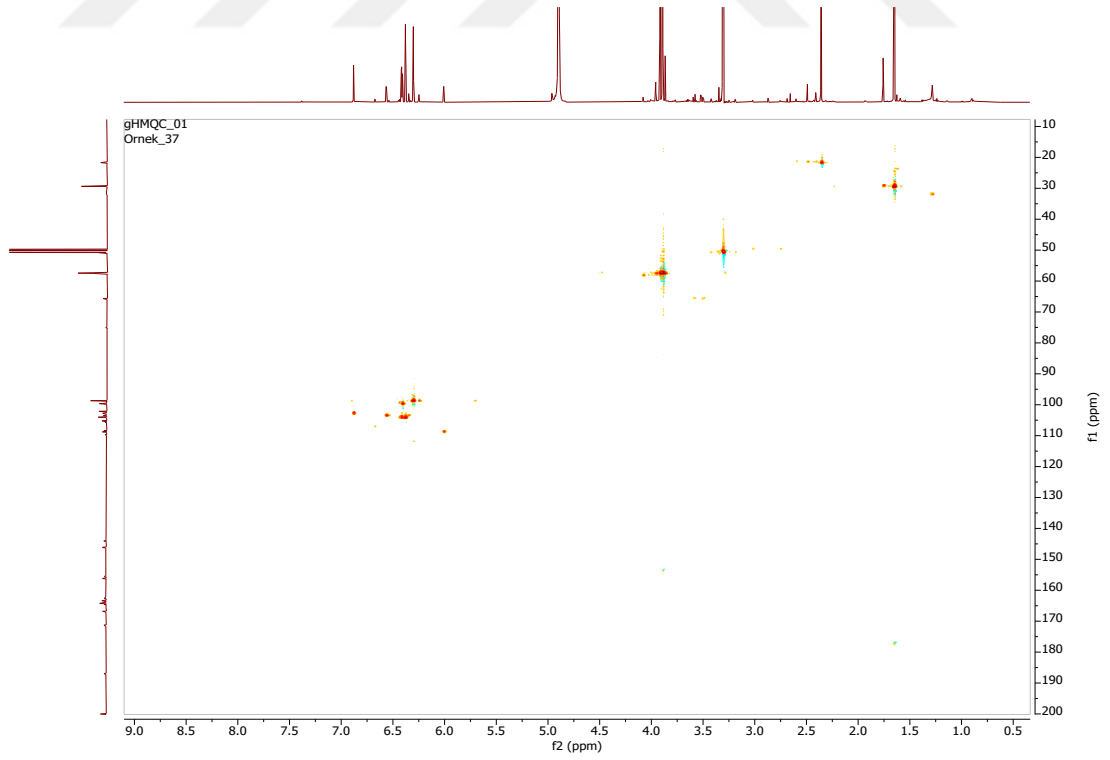
Şekil 3.128. Fonsekin bileşiğinin MeOH- d_4 'deki ^{13}C -NMR spektrumu



Şekil 3.129. Fonsekin bileşiğinin MeOH- d_4 'deki ^1H - ^1H COSY spektrumu



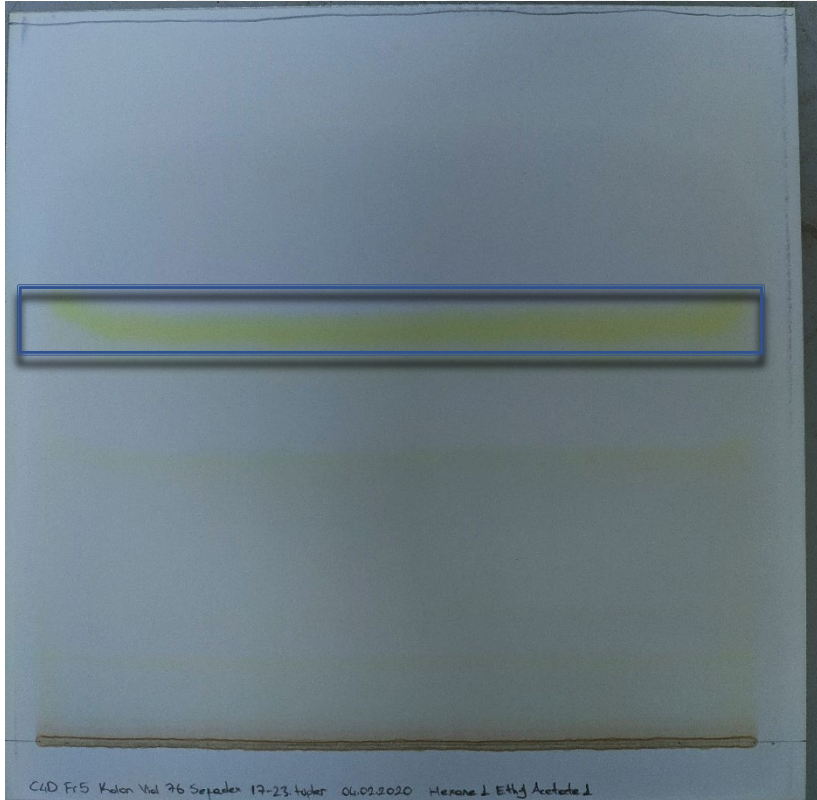
Şekil 3.130. Fonsekin bileşiğinin MeOH- d_4 'deki gHMBC spektrumu



Şekil 3.131. Fonsekin bileşiğinin MeOH- d_4 'deki gHMQC spektrumu

3.4.11. Rubrofusarin

Aspergillus costaricensis mantarının ham ekstresinin Metanol-Hekzan sıvı sıvı ekstraksiyonundan sonra metanollü faz alınmış ve VSK kolona uygulanmıştır. VSK sonucunda elde edilen 5. fraksiyon Diklorometan (%100), Metanol mobil fazıyla sephadex kolona uygulanmıştır. Sephadex kolondan elde edilen toplam 10 fraksiyondan 8. Fraksiyon tekrar metanol mobil fazıyla sefadex kolona uygulanmıştır. Uygulanan kolonda fraksiyonlar tüplere alınmış toplamda 120 deney tüpü kullanılmıştır. 101-120 arası numaraya sahip tüpler birleştirilmiş ve preparatif İTK uygulamasıyla madde izole edilerek saflaştırılmıştır. Preparatif İTK uygulamasında solvan sistemi hekzan : etil asetat (1:1) olarak belirlenmiş ve yürütme sonucunda Rubrofusarin maddesinin izole edildiği spotun developman faktörü 0,6 olarak bulunmuştur (Şekil 3.132).



Şekil 3.132. Rubrofusarin maddesinin izole edildiği preparatif İTK plağı

Sarı renkte katı toz olarak izole edilen madde, 251, 278 ve 330 nm değerlerinde maksimum UV absorbans göstermiştir. Bileşimin ^1H ve HMQC NMR spektrumları δ_{H} 6,60 (1H, d, $J = 2,2$ Hz; δ_{C} 103,4) ve δ_{H} 6,43 (1H, d, $J = 2,2$ Hz; δ_{C} 98,3) konumlarında bulunan iki meta bağlı proton, δ_{H} 6,04 (1H, s, δ_{C} 107,3) ve δ_{H} 6,94 (1H, s, δ_{C} 101,3) konumlarında bulunan iki singlet proton olmak üzere 4 aromatik protonun varlığını göstermiştir. Buna ilaveten δ_{H} 2,38 (3H, s; δ_{C} 20,3) konumunda bir singlet olefinik metil grubunun ve δ_{H} 3,93 (1H, s; δ_{C} 56,0) konumunda bir metoksi grubunun varlığı da ortaya konulmuştur. Bu veriler mevcut literatürle karşılaştırıldığında bileşimin nafto- γ -piron türevi bir bileşik olduğu sonucuna varılmış ve HMBC spektrumuyla nihai doğrulama gerçekleştirilmiştir. HMBC spektrumu incelendiğinde δ_{H} 2,38 (3H, s; δ_{C} 20,3) konumundaki olefinik metil grubundan ve δ_{H} 6,04 (δ_{C} 107,3) konumundaki aromatik protondan δ_{C} 183,5 konumundaki karbonil grubuna uzun mesafe korelasyonu tespit edilmiştir. Buna ek olarak, δ_{H} 6,43 (1H, d, $J = 2,2$ Hz; δ_{C} 98,3) konumundaki aromatik protondan δ_{C} 163,5 konumundaki oksijenlenmiş aromatik karbona ve δ_{H} 3,93 (1H, s; δ_{C} 56,0) konumundaki metoksi grubuna uzun mesafe korelasyonları tespit edilmiştir. Bu veriler ışığında bileşimin Rubrofusarin maddesi olduğu belirlenmiştir (Bouras ve ark., 2005; Priestap, 1984; Priestap, 1986; Sakurai ve ark., 2003).

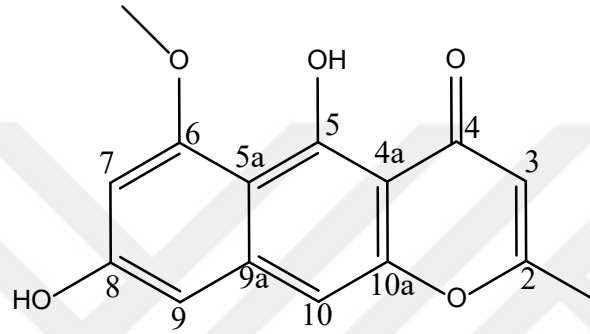
Rubrofusarin bileşiğine ait ^1H ve ^{13}C NMR analizleri Çizelge 3.25'te verilmiştir. Bileşimin yapısı, kimyasal özellikleri ve adlandırılması Şekil 3.133'te, YPSK kromatogramı Şekil 3.134'te, maksimum UV absorbansı Şekil 3.135'te, ^1H -NMR spektrumu Şekil 3.136'da, ^{13}C -NMR spektrumu Şekil 3.137'de, ^1H - ^1H COSY spektrumu Şekil 3.138'de, gHMBC spektrumu Şekil 3.139'da, gHMQC spektrumu Şekil 3.140'da verilmiştir.

Çizelge 3.25. Rubrofusarin bileşiğine ait ^1H ve ^{13}C NMR analizleri

Rubrofusarin, MeOH- d_4 , 600 MHz		
#	δ_{H} (J[Hz])	δ_{C} , tip
2		171,2, C
3	6,04, s (1H)	107,3, CH
4		183,5, C
4a		105,7, C
5		162,2, C
5a		109,3, C

Çizelge 3.25. Devam

6		163,5, C
7	6,43, d (1H, 2.2)	98,3, CH
8		162,7, C
9	6,60, d (1H, 2.2)	103,4, CH
9a		140,8, C
10	6,94, s (1H)	101,3, CH
10a		152,4, C
2-Me	2,38, s (3H)	20,3, CH ₃
6-OMe	3,93, s (3H)	56,0, CH ₃



Rubrofusarin

Kimyasal Formül: C₁₅H₁₂O₅

Nihai Kütle: 272.07

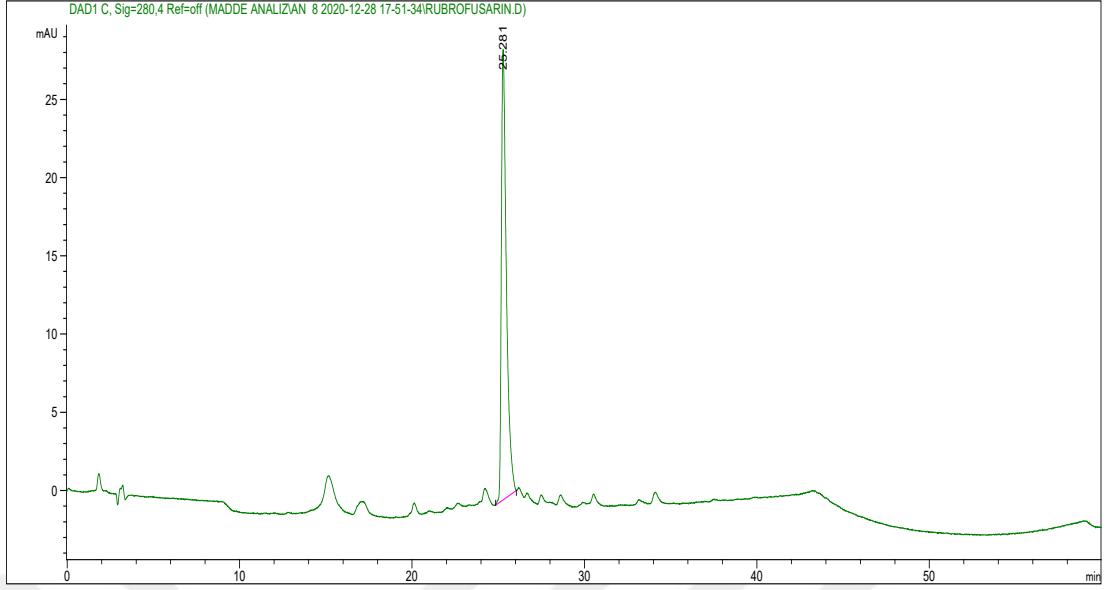
Moleküler Ağırlık: 272.26

m/z: 272.07 (100.0%), 273.07 (16.6%), 274.08 (1.3%), 274.07 (1.0%)

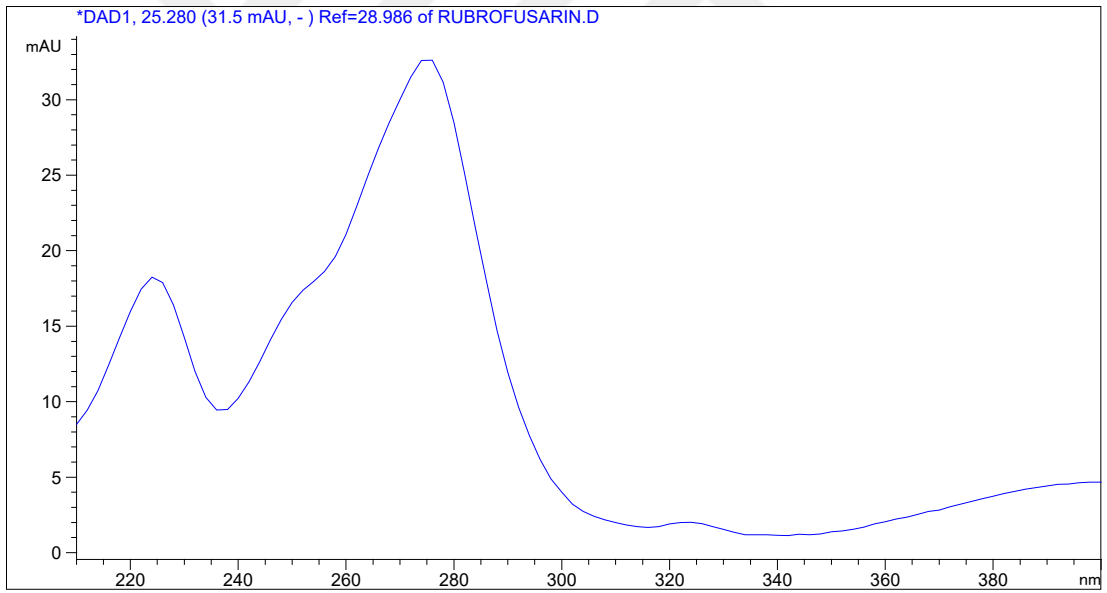
Elementel Analiz: C, 66.17; H, 4.44; O, 29.38

5,6-dihidroksi-8-metoksi-2-metilbenzo[g]kromen-4-on

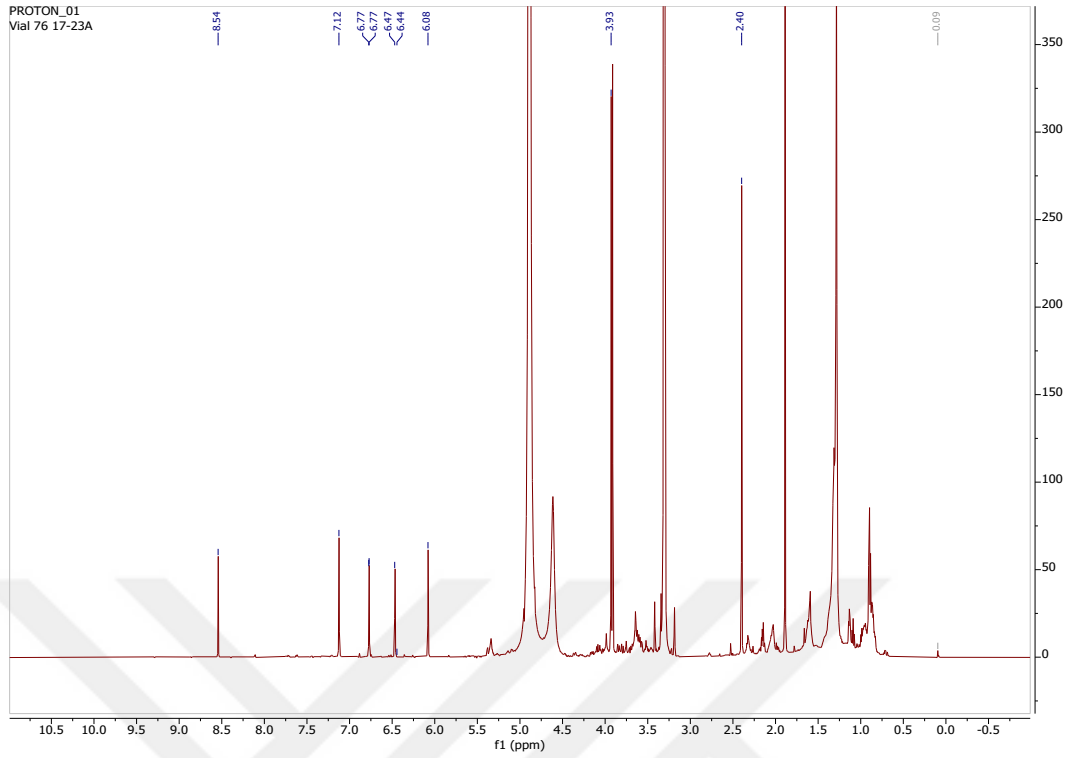
Şekil 3.133. Rubrofusarin bileşiğinin yapısı, kimyasal özellikleri ve adlandırılması



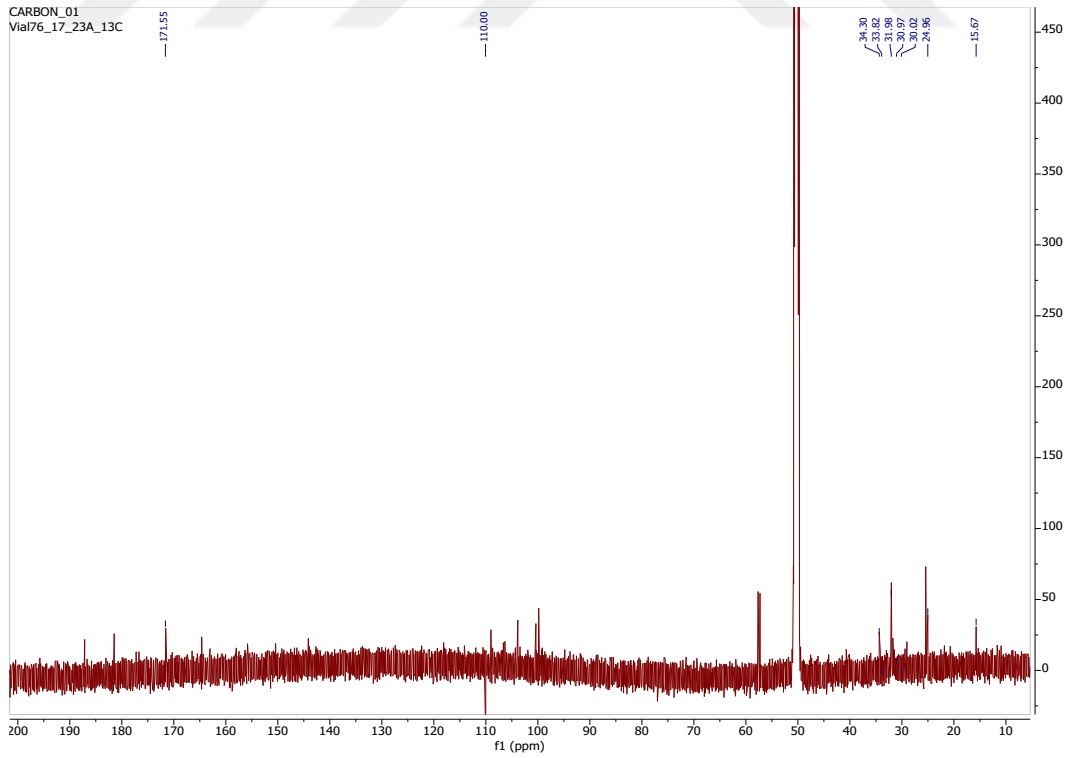
Şekil 3.134. Rubrofusarin bileşiğinin YPSK kromatogramı



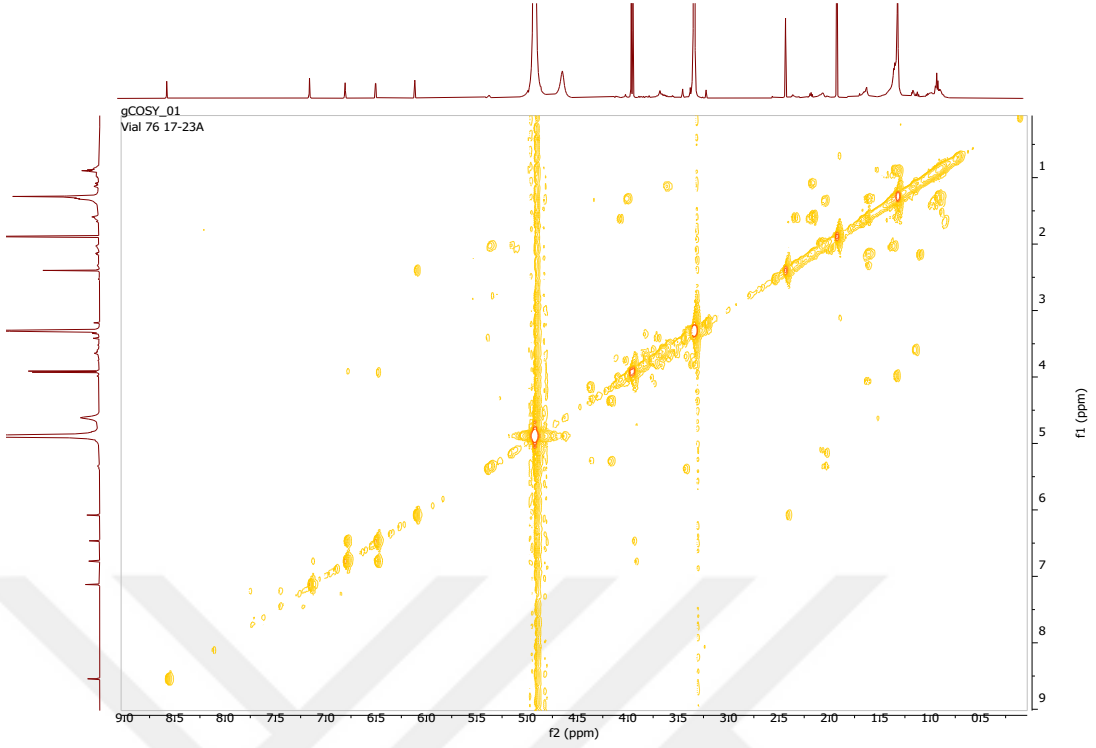
Şekil 3.135. Rubrofusarin bileşiğinin maksimum UV absorbansı



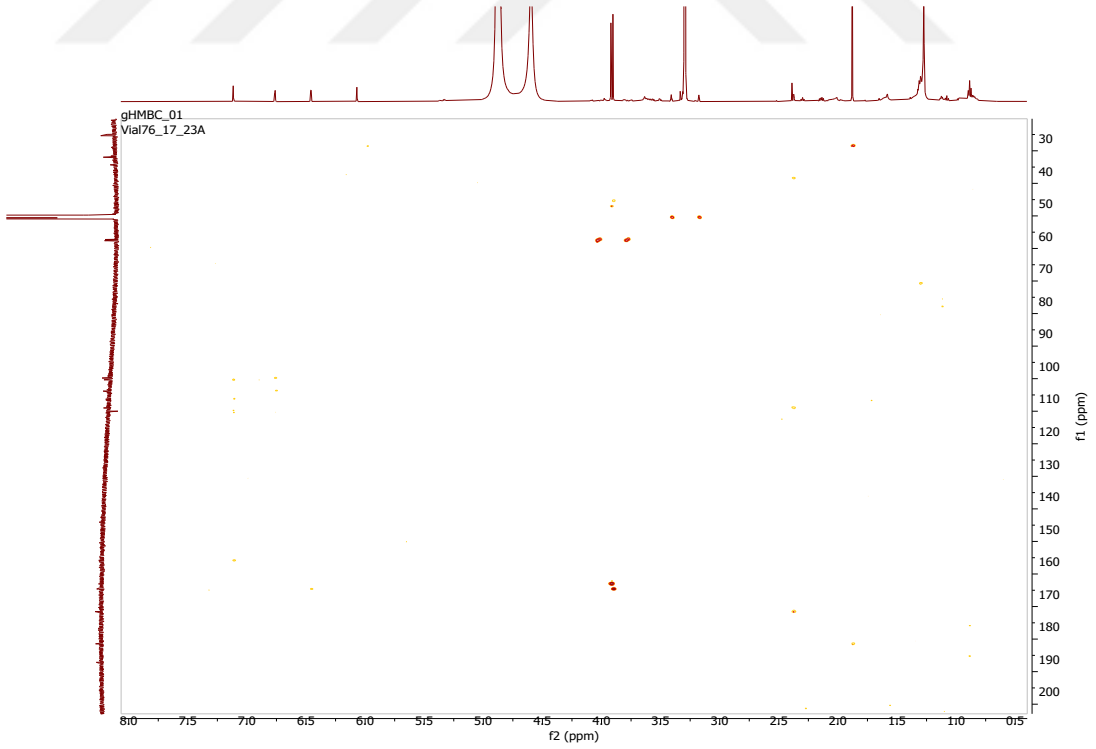
Şekil 3.136. Rubrofusarin bileşiğinin MeOH- d_4 'teki ^1H -NMR spektrumu



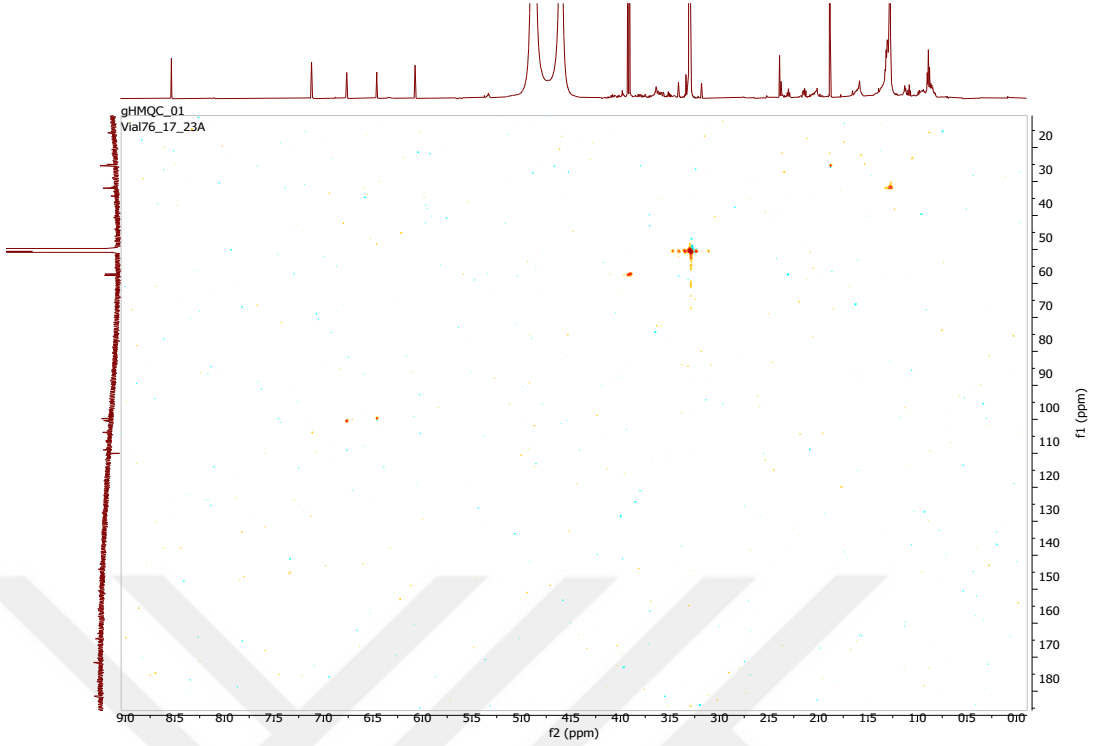
Şekil 3.137. Rubrofusarin bileşiğinin MeOH- d_4 'teki ^{13}C -NMR spektrumu



Şekil 3.138. Rubrofusarin bileşiğinin MeOH- d_4 'teki ^1H - ^1H COSY spektrumu



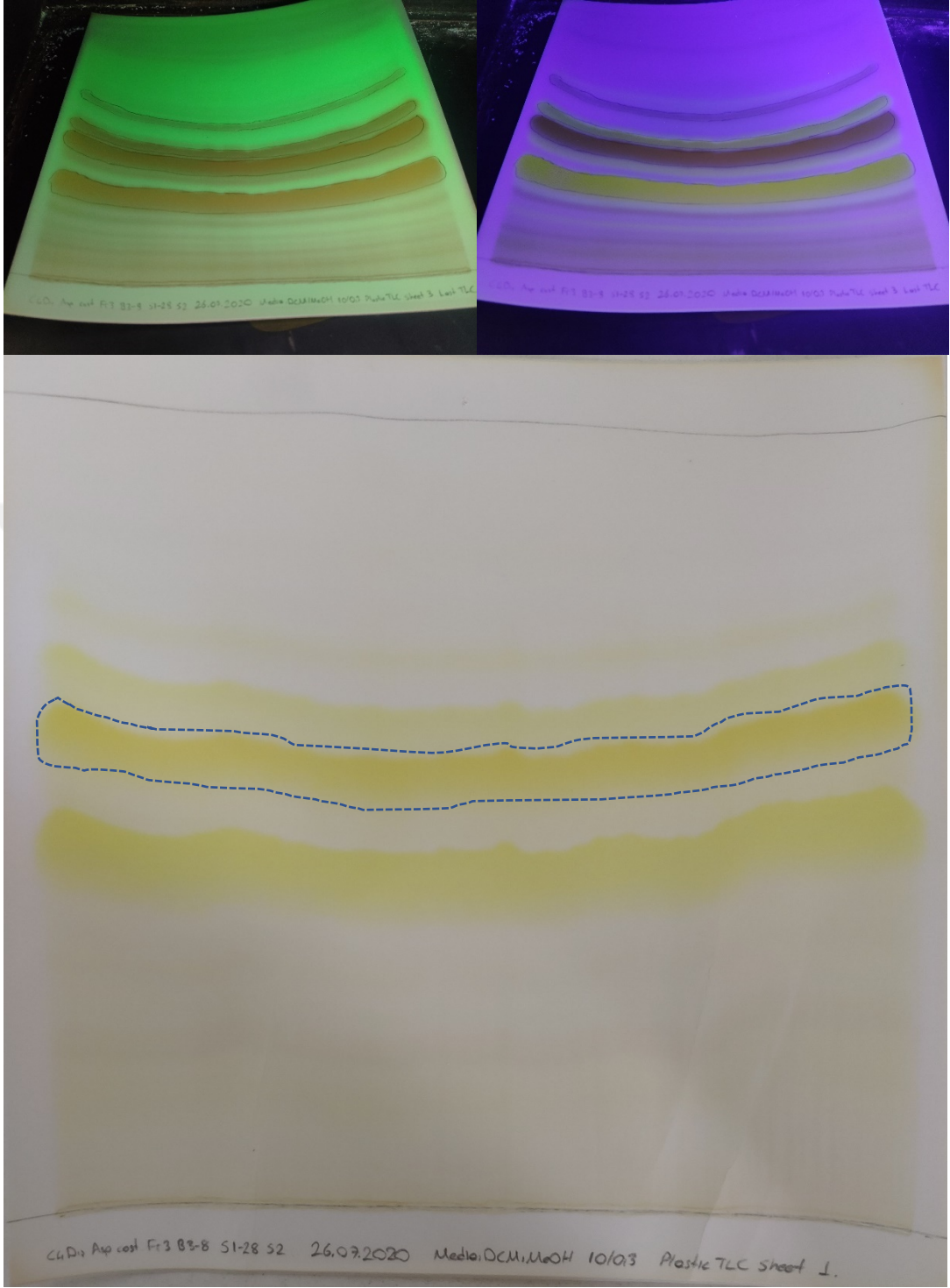
Şekil 3.139. Rubrofusarin bileşiğinin MeOH- d_4 'teki gHMBC spektrumu



Şekil 3.140. Rubrofusarin bileşiğinin MeOH-*d*₄'deki gHMQC spektrumu

3.4.12. Fonsekinon D

Aspergillus costaricaensis mantarının ham ekstresinin Metanol-Hekzan sıvı sıvı ekstraksiyonundan sonra Metanollü faz alınmış ve VSK kolona uygulanmıştır. VSK sonucunda elde edilen 3. fraksiyon Hekzan: Etil Asetat (20:80), Metanol mobil fazıyla sephadex kolona uygulanmıştır. Sephadex kolon uygulamasında toplam 8 alt fraksiyon elde edilmiş olup 2. alt fraksiyon olan beher 3-8 fraksiyonu tekrar Metanol mobil fazı ile ikinci defa sefadex kolona uygulanmıştır. İlk 28 tüp birleştirilerek preparatif İTK yapılmış ve 3. Sıradaki pik toplanarak Fonsekinon D olarak aydınlatılan madde izole edilmiştir. Maddenin saflaştırıldığı preparatif İTK çalışması aşağıdaki görselde verilmiştir (Şekil 3.141). Preparatif İTK çalışmasında mobil faz olarak 10:0,3 oranında sırasıyla Diklorometan : Metanol kullanılmıştır ve developman faktörü 0,552 olarak bulunmuştur.



Şekil 3.141. Fosekinon D bileşiğine ait preparatif İTK plağının görünür ışık, 254 nm ve 366 nm UV ışık altındaki görüntüsü

Fosekinon D bileşiği amorf sarı renkli bir katı olarak izole edilmiştir. Yapılan YPSK analizi sonucunda 228, 280 ve 320 nm dalga boylarında maddenin maksimum UV absorbans gösterdiği görülmüştür. ^{13}C NMR spektrumuna bakıldığında 32 farklı

karbon piki gözlenmiştir. δ_C 101.3 ppm'de bir alifatik oksijenlenmiş, δ_C 142.7, δ_C 140.7, δ_C 117.2, δ_C 110.5, δ_C 109.0, δ_C 106.8, δ_C 104.6 ve δ_C 104.5 ppm konumlarında 8 kuaterner aromatik karbon, δ_C 170.3, δ_C 163.4, δ_C 163.0, δ_C 162.0, δ_C 161.6, δ_C 159.9, δ_C 156.6, δ_C 155.6 ve δ_C 152.3 ppm konumlarında 9 oksijenlenmiş aromatik karbon ile δ_C 199.9 ve δ_C 186.2 ppm konumlarında iki adet karbonil karbonuyla toplamda 20 tane kuaterner karbon piki tespit edilmiştir. Maddeye ait 1H NMR spektrumu her biri bir protona işaret eden 5 farklı aromatik protonun varlığını göstermiş olup δ_H 7.07, δ_H 6.80 ve δ_H 6.09 ppm konumlarında 3 singlet, δ_H 6.50 (d, J = 2.2 Hz) ve δ_H 6.27 (d, J = 2.2 Hz) konumlarından meta bağlı olan iki protonun tayini yapılmıştır ve bu protonların HMQC spektrumu aracılığıyla sırasıyla δ_C 103.2, δ_C 104.1, δ_C 107.6, δ_C 98.2 ve δ_C 97.3 ppm konumlarındaki karbonlarla korele oldukları ortaya çıkarılmıştır. Elde edilen sonuçlar mevcut literatürlerle karşılaştırıldığında maddenin bir γ -naftopiron dimeri olduğu sonucuna varılmıştır. HMBC spektrumunda gözlenen anahtar uzun mesafe korelasyonları dikkatli bir şekilde incelendiğinde maddenin Fonsekinon D olduğu tayin edilmiştir (Priestap, 1984; Siriwardane ve ark., 2015).

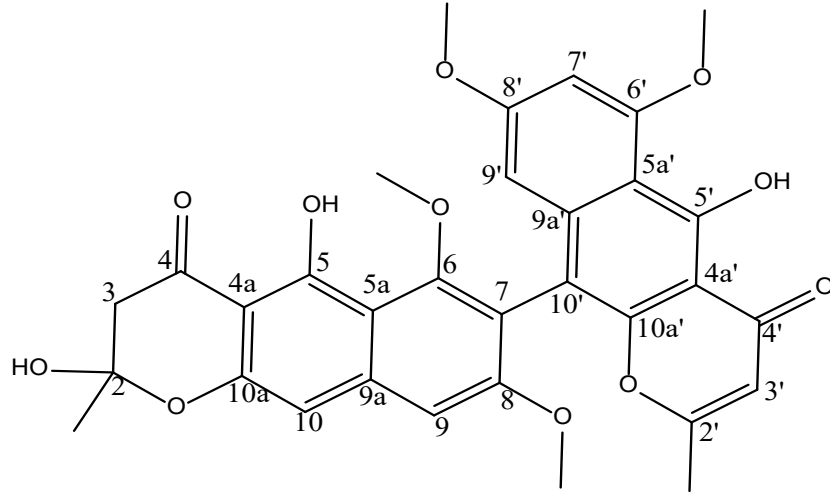
Fonsekinon D bileşiğine ait 1H ve ^{13}C NMR analizleri Çizelge 3.26'da verilmiştir. Bileşiğin yapısı, kimyasal özellikleri ve adlandırılması Şekil 3.142'de, YPSK kromatogramı Şekil 3.143'te, maksimum UV absorbansı Şekil 3.144'te, 1H -NMR spektrumu Şekil 3.145'te, ^{13}C -NMR spektrumu Şekil 3.146'da, 1H - 1H COSY spektrumu Şekil 3.147'de, gHMBC spektrumu Şekil 3.148'de, gHMQC spektrumu Şekil 3.149'da verilmiştir.

Çizelge 3.26. Fonsekinon D bileşiğine ait 1H ve ^{13}C NMR analizleri

Fonsekinon D, MeOH- <i>d</i> ₄ , 600 MHz		
#	δ_H (J[Hz])	δ_C , tip
2		101.3, C
3	Solvan piki ile maskelendiği için tespit edilemedi.	47.9, CH ₂
4		199.9, C
4a		104.5, C
5		155.6, C
5a		110.5, C
6		159.9, C

Çizelge 3.26. Devam

7		117.2, C
8		161.6, C
9	7.07, s (1H)	103.2, CH
9a		142.7, C
10	6.80, s (1H)	104.1, CH
10a		156.6, C
2-Me	1.73, s (3H)	28.1, CH ₃
6-OMe	3.44, s (3H)	62.4, CH ₃
8-OMe	3.77, s (3H)	56.4, CH ₃
2'		170.3, C
3'	6.09, s	107.6, CH
4'		186.2, C
4a'		104.6, C
5'		163.4, C
5a'		109.0, C
6'		162.0, C
7'	6.50, d (1H, 2.2)	98.2, CH
8'		163.0, C
9'	6.27, d (1H, 2.2)	97.3, CH
9a'		140.7, C
10'		106.8, C
10a'		152.3, C
2'-Me	2.18, s (3H)	20.4, CH ₃
6'-OMe	3.97, s (3H)	56.5, CH ₃
8'-OMe	3.62, s (3H)	55.6, CH ₃



Fonsekinon D

Kimyasal Formül: $C_{32}H_{28}O_{11}$

Nihai Kütle: 588.16

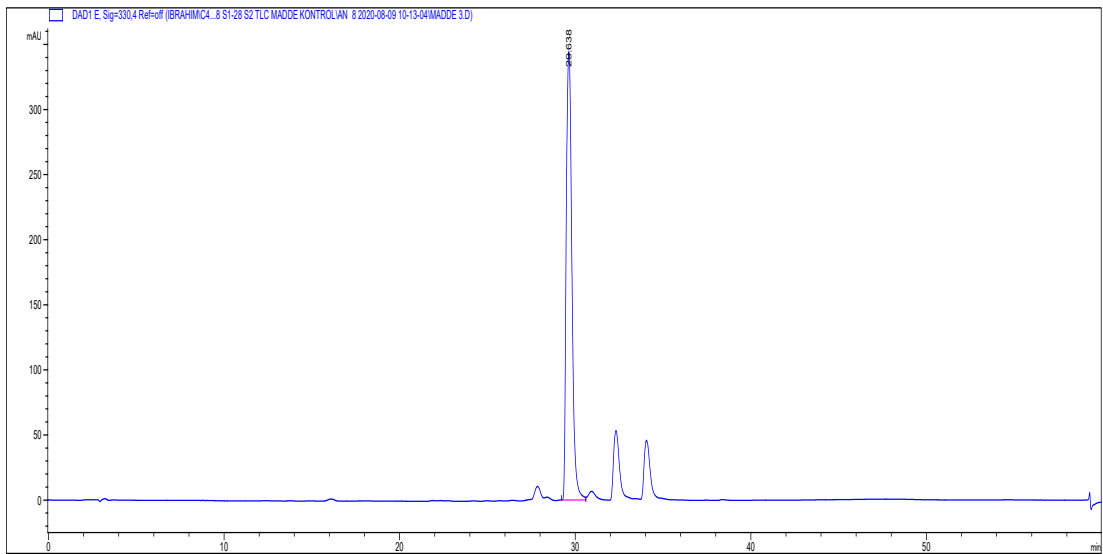
Moleküler Ağırlık: 588.57

m/z : 588.16 (100.0%), 589.17 (35.4%), 590.17 (8.3%), 591.17 (1.5%)

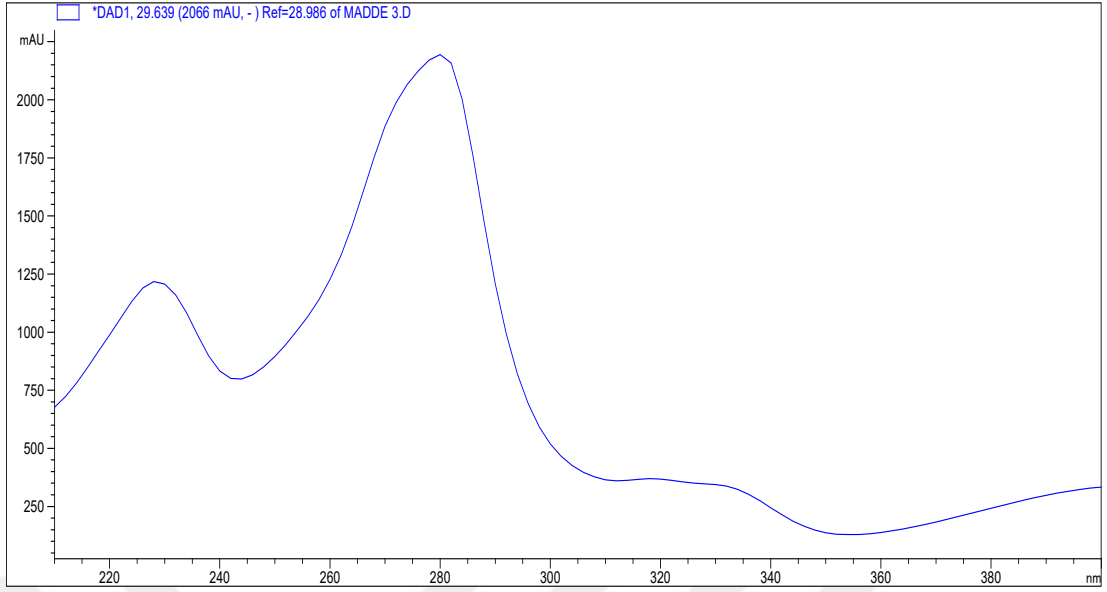
Elementel Analiz: C, 65.30; H, 4.80; O, 29.90

2,5,5'-trihidroksi-6,6',8,8'-tetrametoksi-2,2'-dimetil-2,3-dihidro-4*H*,4'*H*-[7,10'-bibenzo[*g*]kromen]-4,4'-dion

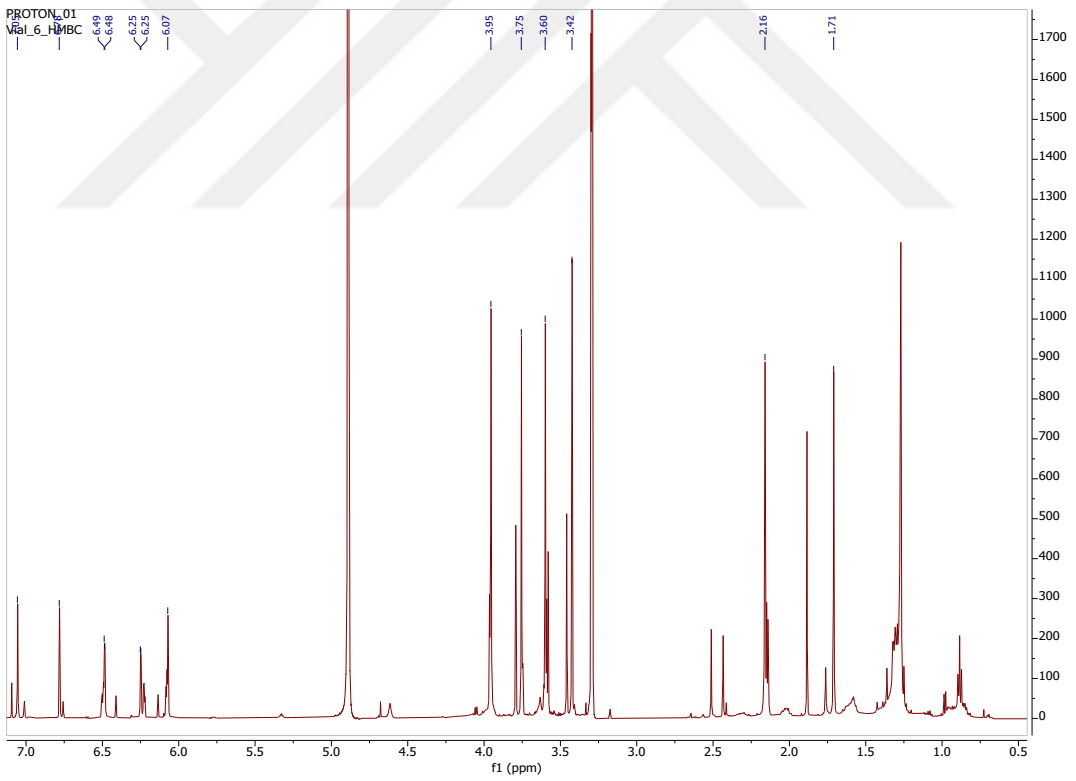
Şekil 3.142. Fonsekinon D bileşiminin yapısı, kimyasal özellikleri ve adlandırılması



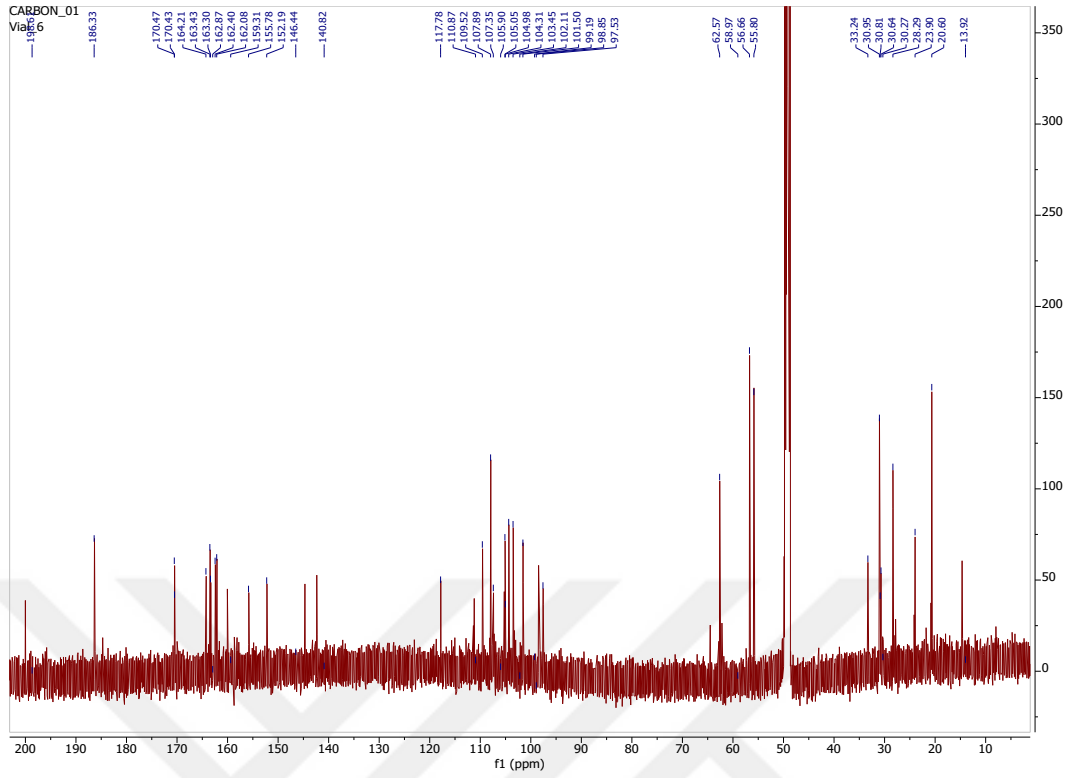
Şekil 3.143. Fonsekinon D bileşiminin YPSK kromatogramı



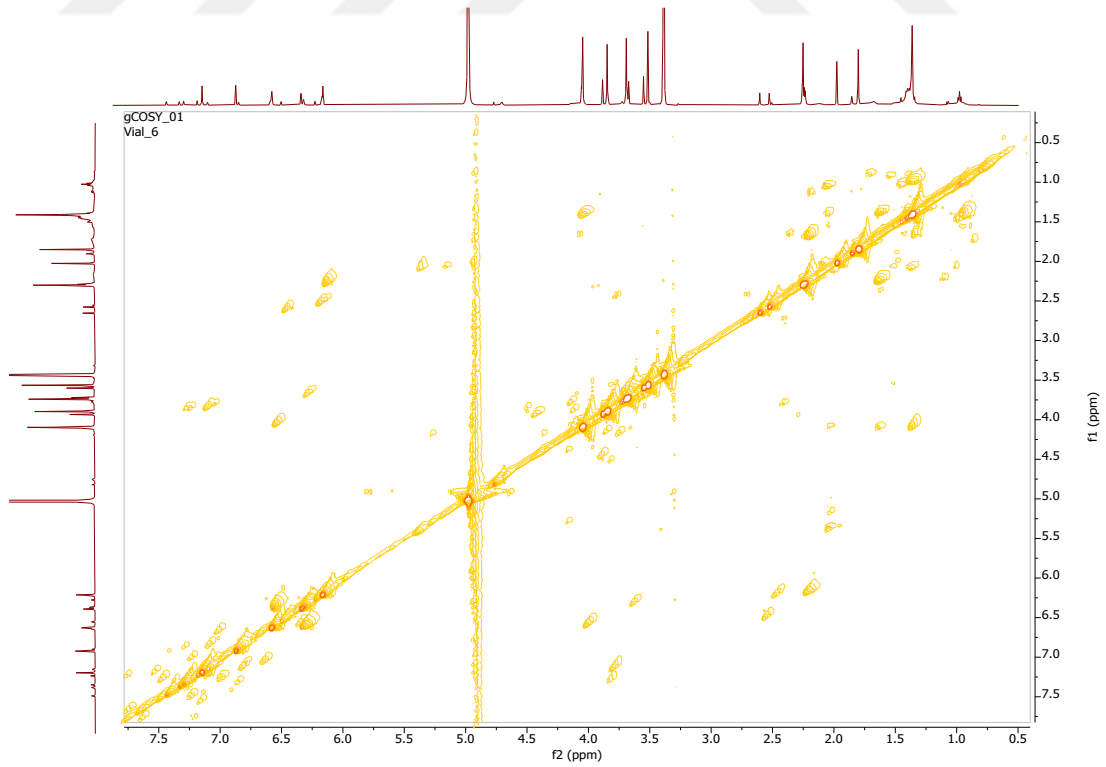
Şekil 3.144. Foneskinon D bileşiğinin maksimum UV absorbanası



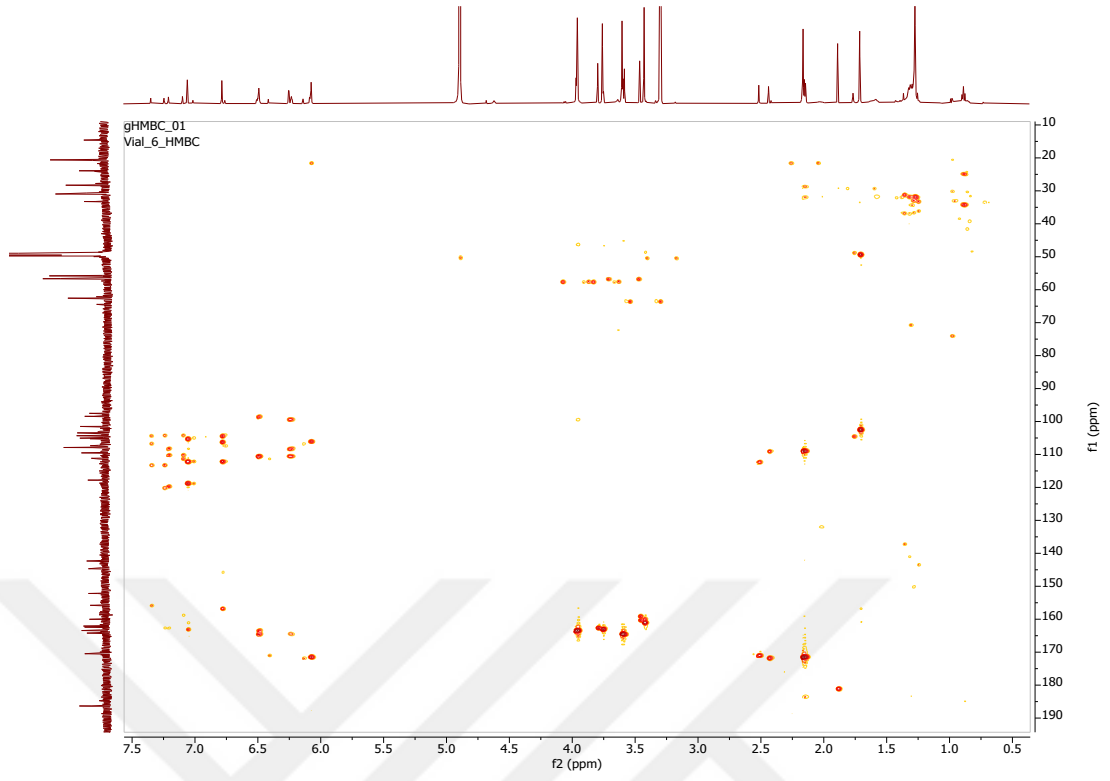
Şekil 3.145. Foneskinon D bileşiğinin MeOH-*d*₄'deki ¹H-NMR spektrumu



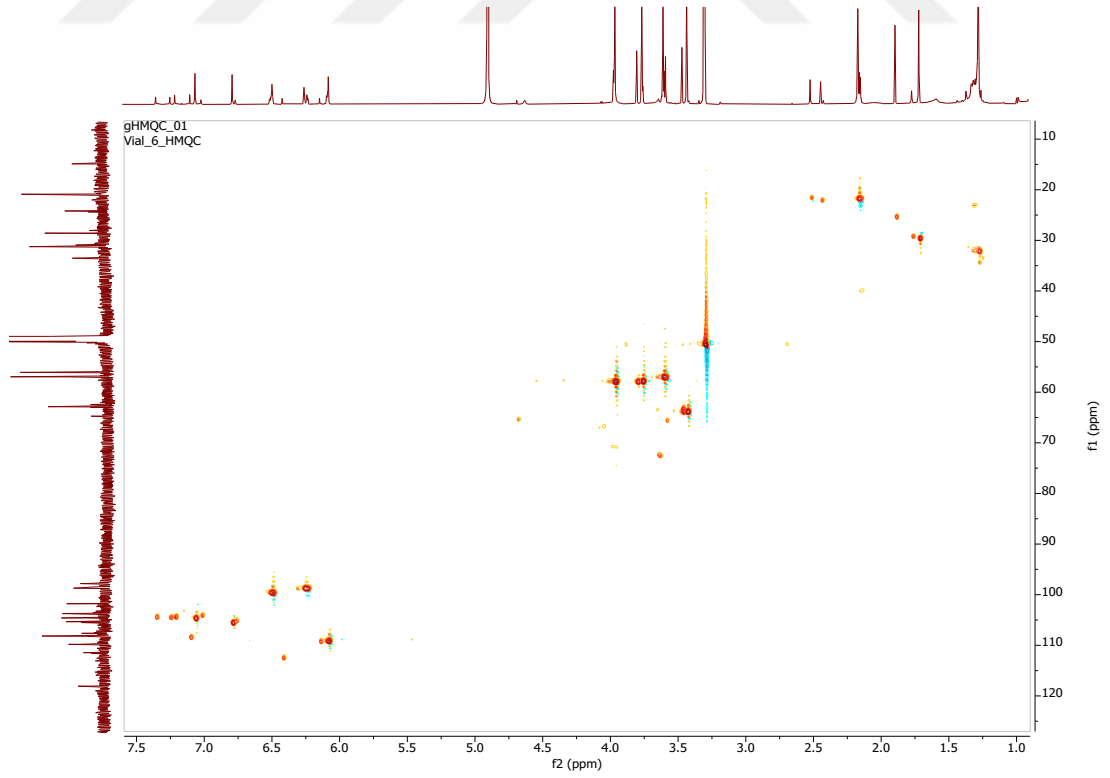
Şekil 3.146. Fonsekinon D bileşiğinin MeOH-*d*₄'deki ¹³C-NMR spektrumu



Şekil 3.147. Fonsekinon D bileşiğinin MeOH-*d*₄'deki ¹H-¹H COSY spektrumu



Şekil 3.148. Foneskinon D bileşiminin MeOH-*d*₄'deki gHMBC spektrumu



Şekil 3.149. Foneskinon D bileşiminin MeOH-*d*₄'deki gHMQC spektrumu

4.TARTIŞMA

Yaptığımız literatür araştırmasına göre Rubrofusarin maddesi ilk kez 1967 yılında karasal ortamdan, *Fusarium culmorum*'dan izole edilmiştir (Shibata ve ark., 1967). Rubrofusarin maddesi deniz kaynaklı bir canlıdan ilk kez 2016 yılında yapılan bir çalışmada *Aspergillus niger* SCSIO Jcsw6F30 mantarından izole edilmiştir (Zhou ve ark., 2016). 2017 yılında yapılan bir çalışmada Rubrofusarin maddesinin MCF-7 kanser hücre hatlarına karşı orta düzeyde etki gösterdiği ortaya konmuştur (Megawati ve ark., 2017). Bu madde, ilk kez bu çalışma ile deniz kaynaklı *Aspergillus costaricaensis* mantarından izole edilmiştir.

Rubrofusarin B maddesi ilk kez karasal ortamdan alınan *Aspergillus fonsecaeus* mantarından izole edilmiştir (Galmarini ve ark., 1974). 2007 yılında Çin'de yapılan bir çalışmada Rubrofusarin B maddesinin ilk kez bir deniz canlısından, mangrov türevi olan tanımlanamamış bir mantar türünden (No.ZZF79) izole edildiği literatüre girmiştir (Yong-cheng, 2007). 1 yıl sonra 2008'de gerçekleştirilen bir diğer çalışmada yine deniz kaynaklarından elde edilen bir mantar olan *Aspergillus carbonarius* WZ-4-11 mantarından Rubrofusarin B maddesi izole edilmiştir (Zhang ve ark., 2008). Günümüze kadar farklı deniz kaynaklı *Aspergillus* türlerinden izole edildiği raporlanmış olsa da bu maddenin, deniz kaynaklı *Aspergillus costaricaensis* mantarından ilk kez eldesi bu çalışma ile gerçekleşmiştir. Yapılan bir çalışma Rubrofusarin B maddesinin KB-C2 hücrelerinin Vinkristin ve Mitomisin C maddelerine karşı olan ilaç direncini tamamen ortadan kaldırdığını göstermiştir (Ikeda ve ark., 1990).

Bütirolakton I bileşiği ilk kez 1977 yılında Japonya'da karasal bir tür olan *Aspergillus terreus* var. *africanus* IFO 8835 mantarından izole edilmiştir (Kiryama ve ark., 1977). Bütirolakton I maddesi deniz kaynaklı bir canlıdan ilk kez 2009 yılında

yapılan bir çalışmada yumuşak mercandan izole edilmiş olan *Aspergillus terreus* mantarından izole edilmiştir (Parvatkar ve ark., 2009). 1996 yılında yapılan bir çalışmada bileşiğin PC-14 insan akciğer kanser hücreleri üzerinde seçici cdc2 kinaz inhibitör etkisi olduğu ortaya konulmuştur (Nishio ve ark., 1996).

Poliketid – terpenoid bileşiminden meydana gelen bir meroterpenoid olan Terretonin maddesi, ilk kez 1979 yılında Amerika’da yapılan bir çalışmada, toksijenik yani toksin sentezleme kabiliyetine sahip mantarların teşhisine yönelik gerçekleştirilen bir gözlemlene çalışmasında kullanılan bir saman balyasından izole edilen *Aspergillus terreus* mantarından izole edilmiştir (Springer ve ark., 1979). 2014 yılında yayımlanan bir çalışmada Güney Çin Denizi’nden alınan, mangrov türevi olan, tür teşhisi yapılamayan bir mantar türünden terretonin maddesinin izole edildiği kaydedilmiştir (Jian-xiang ve ark.). Bu çalışma bir deniz mantarından Terretonin’in elde edildiği ilk çalışmadır. Bunun yanı sıra 2019 yılında yapılan bir çalışmada Terretonin maddesi, deniz kaynaklı bir *Aspergillus* mantarından, Çin’in Yangma Adası’ndan toplanan yüzeyi sterilize edilmiş bir pasifik istiridyasının taze bağırsağından izole edilmiş olan *Aspergillus terreus* ML-44 mantarından elde edilmiştir (Wu ve ark., 2019).

Bütrolakton III maddesi, ilk kez 1983 yılında Japonya’da yapılan bir çalışmada kültür ortamında elde edilmiş olan *Aspergillus terreus* IFO 4100 mantar suşundan izole edilmiştir (Nitta ve ark., 1983). Daha sonra 2005 yılında gerçekleştirilen bir çalışmada Ekvador’dan izole edilen karasal bir *Aspergillus terreus* mantarından bu bileşik izole edilmiştir (Cazar ve ark., 2005). 2013 yılına gelindiğinde Çin Denizi’nden toplanmış olan dallı bir mercan olan *Echinogorgia aurantiaca*’nın dokusundan izole edilen *Aspergillus terreus* mantarından Bütrolakton III maddesi izole edilmiştir (He ve ark., 2013). Takip eden yıllarda farklı çalışmalarda denizden izole edilen farklı mantarlarda bu maddeye tekrar rastlanılmıştır (Liao ve ark., 2017). 2020 yılında yapılan bir çalışmada derin deniz sedimentlerinden izole edilen bir *Aspergillus* türünde de bu maddeye rastlanılmıştır (Zeng ve ark., 2020).

Oktadesil 3-(3,5-di-tert-bütül-4-hidroksifenil) propionat maddesi, ilk kez 2002 yılında Mısır'da yapılan bir çalışmada *Spinacia oleracea* L. bitkisinin yapraklarından izole edilmiştir (Abou Zeid ve Sleem, 2002). Bu maddenin karasal bir mantardan izole edildiğine dair bir kaynak bulunmamaktadır ve deniz ortamından elde edilen bir canlıdan ilk kez bu tez çalışmasıyla birlikte izole edilmiştir. Yapılan bir çalışmada bu bileşiğin HaCaT insan keratinosit ve B16 mürin melanom hücre hatlarına karşı zayıf sitotoksik aktivite gösterdiği tespit edilmiştir (Nguyen ve ark., 2018).

Fonsekin ve 8-*O*-Demetilflavasperon B bileşikleri ilk kez 2002 yılında karasal ortamda izole edilen *Aspergillus niger* türü bir mantardan izole edilmiştir (Sakurai ve ark., 2003).

Bütürolakton VI maddesi, ilk kez 2010 yılında, Japonya'da yapılan bir çalışmada karasal bir tür olan *Aspergillus terreus* BCC 4651 mantarından izole edilmiştir (Haritakun ve ark., 2010). 2015 yılında gerçekleştirilen bir çalışmada, Bütürolakton VI maddesi denizden toplanan *Grateloupia turuturu* kırmızı alg türünden izole edilen *Paecilomyces variotii* EN-291 mantar türünden izole edilmiştir (Zhang ve ark., 2015). Bütürolakton VI maddesi deniz türevi bir *Aspergillus* mantarından ilk kez bu çalışma ile izole edilmiştir.

4-hidroksi-3-(3-metilbüt-2-en-1-il) benzaldehit maddesi ilk kez 2012 yılında *Heterobasidion occidentale* kök çürütücü patojeninden izole edilmiştir. Sonraki yıllarda *Nartheicum ossifragum* meyvelerinden de izole edildiği raporlanmıştır. Ancak deniz kaynaklı bir canlıdan izolasyon yoluyla ilk defa bu çalışmada elde edilmiştir (Hansson ve ark., 2012; Vu ve ark., 2016).

p-Hidroksifenil asetik asit metil ester maddesi ilk kez *Taraxacum mongolicum* köklerinden izole edilmiştir (Peng ve ark., 2014). Bu madde deniz kaynaklı bir

canlıdan ilk kez 2020 yılında izole edilip literatüre kaydedilmiştir. Deniz sedimentinden izole edilmiş olan *Penicillium minioluteum* ZZ1657 mantarının göstermiş olduğu aktivitelerden hareketle sekonder metabolit izolasyonu yapılmış ve bu madde de bir deniz kaynaklı organizmadan ilk kez izole edilmiştir (Ma ve ark., 2020). Bu maddenin ilk kez deniz türevi bir *Aspergillus* türünden izole edilmesi bu çalışma ile gerçekleştirilmiştir.



5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Gerçekleştirilen bu doktora tez çalışmasında ülkemiz denizlerinde yaşayan canlılardan izole edilen *Aspergillus* cinsi iki deniz kaynaklı mantar ile çalışılmış, *Aspergillus terreus* türünden 5 adet, *Aspergillus costaricaensis* türünden 7 adet sekonder metabolit izole edilerek bu metabolitlerin yapıları aydınlatılmıştır. Yapıları aydınlatılan bileşikler üzerinde antiinflamatuvar ve antialerjik biyoaktivite çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

Sekonder metabolitler, canlıların gerek fiziki koşullara gerek kimyasal koşullara gerekse yabancı canlılara karşı kendi varlıklarının devamlılığını garanti altına almak için üretmiş oldukları bileşiklerdir. Bu bileşiklerin yapısı, üretilme amaçları doğrultusunda her canlıda değişiklik gösterebilmektedir. Aynı türde olan canlılarda dahi canlının bulunmuş olduğu ortamın fizikokimyasal özellikleri canlının ürettiği sekonder metabolit bileşimini değiştirebilmektedir. Bu yüzden bir mantar türündeki sekonder metabolitlerin incelenmesinde o mantar türünün izole edildiği canlı, izole edildiği coğrafi konum, canlının toplandığı derinlik, örneğin alındığı ortamın tuzluluğu, basınç ve sıcaklık değeri gibi koşullara bağlı olarak farklı sekonder metabolitlerin varlığı gözlemlenebilecektir.

Literatürü araştırdığımız zaman ülkemiz denizlerinden elde edilen canlılar üzerinde yapılan sekonder metabolit izolasyon çalışmalarının oldukça kısıtlı ve az sayıda olduğu görülmektedir. Ülkemizin etrafının denizlerle çevrili olması deniz canlılarının araştırılması konusunda ülkemizi önemli bir yerde konumlandırmaktadır. Ancak ülkemizin bu potansiyeli henüz değerlendirilememektedir. Yapılan bu çalışmayla ülkemiz deniz kaynaklarının yeni ilaç etken maddesi araştırmaları için önemli bir kaynak olduğu gösterilmek istenmiştir.

Yapılan biyoaktivite çalışmalarının sonuçları değerlendirildiğinde *Aspergillus terreus* mantarının ham ekstresinde DPPH ve ABTS metotları ile gerçekleştirilen testlerde IC₅₀ değerleri sırasıyla (16,14 ve 56,23) µg/mL olarak yüksek antioksidan aktivite görülmüştür. *Aspergillus costaricaensis* mantarının ham ekstresinde HCT-116 hücre hattı üzerinde yapılan sitotoksik aktivitede 12,03 µg/mL IC₅₀ değeriyle kayda değer aktivite gözlenmiştir. Gerçekleştirilen antimikrobiyal aktivite testinde incelenen bakteri suşları üzerinde her iki mantar ekstresi için de kayda değer bir sonuç alınamamıştır.

Aspergillus terreus mantarı, bilinen bir tür olup bu türün hem karasal hem deniz kaynaklı örnekleri üzerinde çok sayıda çalışma gerçekleştirilmiştir. Başka çalışmalara konu olmuş ve farklı yerlerden izole edilmiş *Aspergillus terreus* mantarları ile Marmara denizinden toplanan *Spirorbis* sp. halkalı solucanından izole edilen *Aspergillus terreus* mantarının ürettiği ortak metabolitlerin olduğu görülmüştür. İzole edilip yapısı aydınlatılan bileşiklerin 3 tanesi bütirolakton yapısında, terretinin maddesi steroid lakton yapısındaki bir meroterpenoid olup diğer madde benzaldehid türevidir. Bunlar içerisinde, bütirolakton I bileşiğinin önemli aktiviteye sahip olduğu yapılan biyoaktivite testleri sonucunda gösterilmiştir. Bununla birlikte 4-hidroksi-3-(3-metilbüt-2-en-1-il) benzaldehit maddesinin literatürde ilk kez, sentez yoluyla değil bir canlı organizmadan sekonder metabolit olarak izole edilmesi önemli bir husustur.

Mevcut bütün literatür tarandığı zaman *Aspergillus costaricaensis* mantarı üzerine yapılan hiçbir sekonder metabolit izolasyon çalışması bulunamamıştır. Dolayısıyla gerçekleştirilen bu çalışma, *Aspergillus costaricaensis* mantarından sekonder metabolit izolasyonunun yapıldığı ilk çalışma olma özelliğine sahiptir. Bunun sağlayacağı avantaj ise bu çalışmadan yapılacak yayınlarla birlikte ülkemizde Akdeniz'de yaşayan *Petrosia ficiformis* süngerinden izole edilen *Aspergillus costaricaensis* mantarından sekonder metabolit elde edilmesine dönük bu çalışma, dünya bilim camiasına tanıtılacaktır, böylece ülkemiz denizlerinin sekonder metabolitlerin elde edilmesi için önemli bir kaynak olduğu vurgulanacaktır.

Aspergillus costaricaensis mantarında izole edilen rubrofusarin ve rubrofusarin B bileşikleri poliketid naftopiron yapıdaki bileşiklerdir. *p*-Hidroksifenil asetik asit metil ester maddesi 4 hidroksi fenil asetik asitin karbonil grubunun metanol ile kondensasyonu sonucu oluşan bir metil esteridir. Bütrolakton I maddesi *Aspergillus terreus* mantarından izole edildiği gibi *Aspergillus costaricaensis* mantarından da izole edilmiştir.

İzole edilen bileşikler üzerinde gerçekleştirilen biyoaktivite testleri sonucunda, *Aspergillus terreus* mantarından izole edilen bütrolakton I bileşiğinin A23187 ve antijen tarafından indüklenen degranülasyonu inhibe ederek kayda değer antialerjik aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. *In vitro* antienflamatuvar analizinin sonuçları incelenen bileşikler içerisinde yalnızca bütrolakton I bileşiğinin süperoksit anyon oluşumuna ve nötrofil elastaz salımına karşı güçlü inhibitör etki gösterdiğini ortaya koymuştur. Sonuçlar incelendiğinde bütrolakton I bileşiğinin sağlıklı hücrelere karşı toksik olmadığını görülmesi ve bu bileşiğin hailandırda standart tedavi olarak kullanılan genistein etken maddesinden daha güçlü bir aktiviteye sahip olması bütrolakton I bileşiğini potansiyel bir antienflamatuvar ajanı olarak konumlandırmaktadır.

Deniz canlıları ve onlardan izole edilen mikroorganizmalar üzerine yapılan çalışmalar arttıkça bu kaynaklardan elde edilen etkili bileşiklerin ilaç etken maddesi olarak insanların sağlıklarına katkı sunma düzeyleri de artacaktır. 1969 yılından 2000 yılına kadar 2, 2000 yılından 2019 yılına kadar 7, 2019 ve 2020 yıllarında ise 4 adet deniz kaynaklı bileşiğin FDA'dan onay alarak kullanıma sunulması, deniz kaynaklı canlılar üzerinde çalışmaların yoğunlaştığını ve deniz kaynaklarının yeni ilaç etken maddelerinin keşfi için ne kadar önemli olduğunu ortaya koymaktadır.

Yapılan çalışmada *Aspergillus terreus* mantarından izole edilmiş olan bütrolakton I maddesinin kayda değer antialerjik ve yüksek antienflamatuvar

biyoaktivite göstermiş olması ülkemiz denizlerinden elde edilen bir deniz mikroorganizmasından da ileride piyasada ilaç olarak kullanılabilir bir etken maddenin çıkma potansiyeli olduğunu göstermektedir. Deniz canlıların taksonomik sınıflandırılmasına yönelik çalışmalar henüz başlangıç düzeyinde denebilecek olup, ülkemiz denizlerinde bulunan canlıların tanımlanıp sınıflandırılmaya dahil edilmesi de hem ülkemizin bu alandaki etkinliğini güçlendirecektir hem de ülkemiz bilim insanlarının bu alana yönelmelerini ve bu alanda çalışmalar yapmalarına olanak sağlayacaktır.

Bu tez çalışması ülkemizde deniz kaynaklı mantarlar üzerine yapılan ikinci doktora çalışması olmuştur ve bu çalışmadan elde edilen sonuçlar ülkemizin bilim dünyasında yer almasına katkı sağlayacaktır.

ÖZET

Aspergillus terreus ve *Aspergillus costaricaensis* Mantarları Üzerine Farmakognozik Araştırmalar

Dünya yüzeyinin yaklaşık üçte ikisi deniz ve okyanuslarla çevrilidir. İlaç keşifleri için karasal kaynaklar kadar deniz ortamı da önem arz etmektedir. Deniz canlıları bu keşfin önemli bir parçası olmaktadır. Son 20 yılda deniz canlıları ve deniz canlılarından elde edilen mantarlar, çeşitli biyoaktivitelere sahip yeni ve benzersiz metabolitler üretmeleriyle artan bir ilgi görmektedir.

Bu doğrultuda gerçekleştirilen bu tez çalışması kapsamında, Marmara denizinden toplanan *Spirorbis* sp. halkalı solucanından *Aspergillus terreus* mantarı ve Akdenizden toplanan *Petrosia ficiformis* süngerinden *Aspergillus costaricaensis* mantarı izole edilmiştir.

Mantar ham ekstraktları üzerinde biyoaktivite çalışmaları yürütülmüştür. DPPH, SO, NO, ABTS yöntemleriyle antioksidan, MTT yöntemiyle sitotoksik ve modifiye mikrodilüsyon yöntemiyle antimikrobiyal aktiviteleri incelenmiştir. *Aspergillus costaricaensis* ekstresi 12,03 µg/mL IC₅₀ değeriyle kaydadeğer sitotoksik aktivite göstermiştir. *Aspergillus terreus* ekstresi DPPH metoduyla yapılan testte 16,14 µg/mL IC₅₀ değeriyle yüksek antioksidan aktivite göstermiştir.

Mantarlardan sekonder metabolit izolasyonu gerçekleştirilmiş ve izole edilen sekonder metabolitlerin biyoaktiviteleri incelenmiştir. İzole edilen sekonder metabolitlerden 12 tanesinin yapısı aydınlatılmıştır. Gerçekleştirilen biyoaktivite testleri sonucunda *Aspergillus terreus* mantarından izole edilen Bütirolakton I maddesinin kayda değer antialerjik aktivitesinin yanında oldukça yüksek antienflamatuvar aktiviteye sahip olduğu ve normal hücrelere toksik olmadığı tespit edilmiştir.

Bütirolakton I maddesinin 2019 yılı sonunda görülen ve 1 yıldır tüm dünyada etkisini ağır bir şekilde göstermekte olan COVID-19 virüsünün ana proteazını inhibe edici aktivitesinin araştırılması halen devam etmektedir.

Sonuç olarak bu doktora tezi çalışmasıyla edinilen bilgilerin, hem yeni bir antialerjik ilaç etken maddesi üretilmesinde hem de ülkemiz denizlerinden elde edilecek deniz canlılarıyla yeni ilaç etken maddesi keşfi alanında başka araştırmacılara yön vermesinde etkili olacağı düşünülmektedir.

Anahtar Sözcükler: Antialerjik Aktivite, Antienflamatuvar Aktivite, Biyoaktivite Tayini, Deniz Mantarları, Sekonder Metabolit İzolasyonu.

SUMMARY

Pharmacognostical Investigations on *Aspergillus terreus* and *Aspergillus costaricensis* Fungi

About two-thirds of the earth's surface is surrounded by seas and oceans. Marine environment is as important as terrestrial sources for drug discovery. Sea creatures are an important part of this discovery. In the last 20 years, marine organisms and fungi from marine organisms have received increasing attention as they produce new and unique metabolites with various bioactivities.

Within the scope of this thesis study conducted in this direction, *Aspergillus terreus* fungi were isolated from *Spirorbis* sp. annelide which was collected from Marmara Sea and *Aspergillus costaricensis* fungi were isolated from *Petrosia ficiformis* sponge which was collected from Mediterranean Sea.

Bioactivity studies were carried out on crude extracts of two fungi. Antioxidant activities by DPPH, SO, NO, ABTS methods, cytotoxic activities by MTT method and antimicrobial activities by modified microdilution method were investigated. *Aspergillus costaricensis* extract showed significant cytotoxic activity with an IC₅₀ value of 12.03 µg/mL. *Aspergillus terreus* extract showed high antioxidant activity with an IC₅₀ value of 16,14 µg/mL in the test performed by DPPH method.

Secondary metabolite isolation was performed from both fungi and bioactivities of the isolated secondary metabolites were investigated. The structures of 12 isolated secondary metabolites were elucidated. As a result of the bioactivity tests carried out, it was determined that the butyrolactone I substance isolated from the fungus *Aspergillus terreus* has remarkable antiallergic activity and has a very high anti-inflammatory activity and is not toxic to normal cells.

The investigation of COVID-19 main protease inhibitory activity of Butyrolactone I, COVID-19 was observed at the end of 2019 and has been heavily effective all over the world for 1 year, is still ongoing.

In conclusion, it is thought that the information obtained from this doctoral thesis will be effective both in the production of a new antiallergic drug active substance and in guiding researchers in the field of discovering new drug active substance from marine organisms to be obtained from the seas of our country.

Keywords: Antiallergic Activity, Antiinflammatory Activity, Determination of Bioactivity, Marine Fungi, Secondary Metabolite Isolation.

KAYNAKLAR

- ABDEL-LATEFF A (2008). Chaetominedione, a new tyrosine kinase inhibitor isolated from the algicolous marine fungus *Chaetomium* sp. *Tetrahedron Letters - Tetrahedron Lett*, **49**: 6398-6400. doi:10.1016/j.tetlet.2008.08.064
- ABOU ZEID A, SLEEM A (2002). Natural and stress constituents from *Spinacia oleracea* L. leaves and their biological activities. *Bull. Fac. Pharm*, **40**: 153-167.
- ALMEIDA C, HEMBERGER Y, SCHMITT SM, BOUHIRED S, NATESAN L, KEHRAUS S, DIMAS K, GÜTSCHOW M, BRINGMANN G, KÖNIG GM (2012). Marilines A–C: Novel Phthalimidines from the Sponge-Derived Fungus *Stachylidium* sp. *Chemistry – A European Journal*, **18(28)**: 8827-8834. doi:<https://doi.org/10.1002/chem.201103278>
- ALVIN A, MILLER KI, NEILAN BA (2014). Exploring the potential of endophytes from medicinal plants as sources of antimycobacterial compounds. *Microbiological Research*, **169(7)**: 483-495. doi:<https://doi.org/10.1016/j.micres.2013.12.009>
- AMEEN F, ALNADHARI S, AL-HOMAIDAN AA (2020). Marine microorganisms as an untapped source of bioactive compounds. *Saudi Journal of Biological Sciences*. doi:<https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.09.052>
- AMEND A, BURGAUD G, CUNLIFFE M, EDGCOMB VP, ETTINGER CL, GUTIÉRREZ MH, HEITMAN J, HOM EFY, IANIRI G, JONES AC, KAGAMI M, PICARD KT, QUANDT CA, RAGHUKUMAR S, RIQUELME M, STAJICH J, VARGAS-MUÑIZ J, WALKER AK, YARDEN O, GLADFELTER AS (2019). Fungi in the Marine Environment: Open Questions and Unsolved Problems. *mBio*, **10(2)**: e01189-01118. doi:10.1128/mBio.01189-18
- AN F-L, LIU W-H, ZHANG Y, TAO J, LU Y-H (2019). Spirocurvulaide, a novel spirobicyclic polyketide from a marine fungus *Curvularia* sp. IFB-Z10. *Phytochemistry Letters*, **29**: 12-16. doi:<https://doi.org/10.1016/j.phytol.2018.07.011>
- ANDERSON J. (2002). *Podophyllum peltatum*.
- APARICIO-CUEVAS MA, RIVERO-CRUZ I, SÁNCHEZ-CASTELLANOS M, MENÉNDEZ D, RAJA HA, JOSEPH-NATHAN P, GONZÁLEZ MDC, FIGUEROA M (2017). Dioxomorpholines and Derivatives from a Marine-Facultative *Aspergillus* Species. *Journal of Natural Products*, **80(8)**: 2311-2318. doi:10.1021/acs.jnatprod.7b00331
- ARDALANI H, AVAN A, GHAYOUR-MOBARHAN M (2017). Podophyllotoxin: a novel potential natural anticancer agent. *Avicenna journal of phytomedicine*, **7(4)**: 285-294.
- BAE SY, LIAO L, PARK SH, KIM WK, SHIN J, LEE SK (2020). Antitumor Activity of Asperphenin A, a Lipopeptidyl Benzophenone from Marine-Derived *Aspergillus* sp. Fungus, by Inhibiting Tubulin Polymerization in Colon Cancer Cells. *Marine drugs*, **18(2)**: 110.
- BANDAK M, JØRGENSEN N, JUUL A, LAURITSEN J, KIER MGG, MORTENSEN MS, DAUGAARD G (2018). Longitudinal Changes in Serum Levels of Testosterone and Luteinizing Hormone in Testicular Cancer Patients after Orchiectomy Alone or Bleomycin, Etoposide, and Cisplatin. *European Urology Focus*, **4(4)**: 591-598. doi:<https://doi.org/10.1016/j.euf.2016.11.018>

- BARRA L, BARAC P, KÖNIG GM, CRÜSEMANN M, DICKSCHAT JS (2017). Volatiles from the fungal microbiome of the marine sponge *Callyspongia cf. flammea*. *Organic & Biomolecular Chemistry*, **15(35)**: 7411-7421. doi:10.1039/C7OB01837A
- BEEKMAN AM, BARROW RA (2014). Fungal Metabolites as Pharmaceuticals. *Australian Journal of Chemistry*, **67(6)**: 827-843. doi:<https://doi.org/10.1071/CH13639>
- BEN KAHLA-NAKBI A, HAOUAS N, EL OUAER A, GUERBEJ H, BEN MUSTAPHA K, BABBA H (2010). Screening of antileishmanial activity from marine sponge extracts collected off the Tunisian coast. *Parasitol Res*, **106(6)**: 1281-1286. doi:10.1007/s00436-010-1818-x
- BERGMANN W, BURKE DC (1955). CONTRIBUTIONS TO THE STUDY OF MARINE PRODUCTS. XXXIX. THE NUCLEOSIDES OF SPONGES. III.1 SPONGOTHYIMIDINE AND SPONGOURIDINE2. *The Journal of Organic Chemistry*, **20(11)**: 1501-1507. doi:10.1021/jo01128a007
- BEYONDSRINGPHARMA. (2020). Pipeline Overview. Erişim Tarihi: [\[https://www.beyondspringpharma.com/pipelineoverview/index.aspx\]](https://www.beyondspringpharma.com/pipelineoverview/index.aspx). Erişim Tarihi: [13/12/2020]
- BLOEM M. (2010). *Galanthus woronowii*.
- BLUNT JW, COPP BR, HU WP, MUNRO MH, NORTHCOTE PT, PRINSEP MR (2009). Marine natural products. *Nat Prod Rep*, **26(2)**: 170-244. doi:10.1039/b805113p
- BOARD WE. (2019). World Register of Marine Species (WoRMS). Retrieved 2019-07-11, from WoRMS Editorial Board <http://www.marinespecies.org>
- BOSE DS, VENKAT NARSAIAH A (2005). An efficient asymmetric synthesis of (S)-atenolol: using hydrolytic kinetic resolution. *Bioorganic & medicinal chemistry*, **13(3)**: 627-630. doi:10.1016/j.bmc.2004.10.057
- BOURAS N, MATHIEU F, COPPEL Y, LEBRIHI A (2005). Aurasperone F – a new member of the naphtho-gamma-pyrone class isolated from a cultured microfungus, *Aspergillus niger* C-433. *Natural Product Research*, **19(7)**: 653-659. doi:10.1080/14786410412331286955
- BOWERSOX SS, LUTHER R (1998). Pharmacotherapeutic potential of omega-conotoxin MVIIA (SNX-111), an N-type neuronal calcium channel blocker found in the venom of *Conus magus*. *Toxicon*, **36(11)**: 1651-1658. doi:[https://doi.org/10.1016/S0041-0101\(98\)00158-5](https://doi.org/10.1016/S0041-0101(98)00158-5)
- BRAKHAGE AA (2013). Regulation of fungal secondary metabolism. *Nat Rev Microbiol*, **11(1)**: 21-32. doi:10.1038/nrmicro2916
- BUGNI TS, IRELAND CM (2004). Marine-derived fungi: a chemically and biologically diverse group of microorganisms. *Nat Prod Rep*, **21(1)**: 143-163. doi:10.1039/b301926h
- BURGAUD G, CALVEZ T, ARZUR D, VANDENKOORNHUYSE P, BARBIER G (2009). Diversity of culturable marine filamentous fungi from deep-sea hydrothermal vents. *Environmental microbiology*, **11**: 1588-1600. doi:10.1111/j.1462-2920.2009.01886.x
- CAO F, ZHAO D, CHEN X-Y, LIANG X-D, LI W, ZHU H-J (2017). Antifungal Drimane Sesquiterpenoids From a Marine-Derived *Pleosporales* sp. Fungus. *Chemistry of Natural Compounds*, **53(6)**: 1189-1191. doi:10.1007/s10600-017-2236-4
- CAO F, ZHU H, CAI H, DU M, MA Y (2017). Fractionation of Azaphilones from Secondary Metabolites of Marine-Derived Fungus *Penicillium pinophilum* and Their Antibacterial Activity. *Chemical Journal of Chinese Universities*, **38(11)**: 1963-1967. doi:10.7503/cjcu20170304

- CAO J, WANG B-G (2020). Chemical diversity and biological function of indoleketopiperazines from marine-derived fungi. *Marine Life Science & Technology*, **2(1)**: 31-40. doi:10.1007/s42995-019-00023-0
- CARROLL AR, COPP BR, DAVIS RA, KEYZERS RA, PRINSEP MR (2019). Marine natural products. *Natural Product Reports*, **36(1)**: 122-173. doi:10.1039/C8NP00092A
- CARROLL AR, COPP BR, DAVIS RA, KEYZERS RA, PRINSEP MR (2020). Marine natural products. *Natural Product Reports*, **37(2)**: 175-223. doi:10.1039/C9NP00069K
- CAZAR ME, SCHMEDA-HIRSCHMANN G, ASTUDILLO L (2005). Antimicrobial Butyrolactone I Derivatives from the Ecuadorian Soil Fungus *Aspergillus terreus* Thorn. var *terreus*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, **21(6)**: 1067-1075. doi:10.1007/s11274-004-8150-5
- CDC CFDCAP. Erişim: [http://phil.cdc.gov/phil_images/20030717/9/PHIL_4167_lores.jpg]. Erişim Tarihi: [18.12.2020 00.12]
- CHAIKINA EL, SOBOLEVSKAYA MP, AFIYATULLOV SS, AMININ DL, ANISIMOV MM (2017). Pallidopenillines: Polyketides from the Alga-Derived Fungus *Penicillium thomii* Maire KMM 4675 as Stimulators of the Initial Stages of Crop Plant Development. *Natural Product Communications*, **12(6)**: 1934578X1701200612. doi:10.1177/1934578x1701200612
- CHE Q, QIAO L, HAN X, LIU Y, WANG W, GU Q, ZHU T, LI D (2018). Anthranosides A–C, Anthranilate Derivatives from a Sponge-Derived *Streptomyces* sp. CMN-62. *Organic Letters*, **20(17)**: 5466-5469. doi:10.1021/acs.orglett.8b02382
- CHEN L, ZHAO Y-Y, LAN R-F, DU L, WANG B-S, ZHOU T, LI Y-P, ZHANG Q-Q, YING M-G, ZHENG Q-H, LIU Q-Y (2017). Dicitrinone D, an antimitotic polyketide isolated from the marine-derived fungus *Penicillium citrinum*. *Tetrahedron*, **73(40)**: 5900-5911. doi:<https://doi.org/10.1016/j.tet.2017.08.032>
- CHEN L, ZHU T, ZHU G, LIU Y, WANG C, PIYACHATURAWAT P, CHAIROUNGDU A, ZHU W (2017). Bioactive Natural Products from the Marine-Derived *Penicillium brevicompactum* OUCMDZ-4920. *Chinese Journal of Organic Chemistry*, **37(10)**: 2752-2762. doi:10.6023/cjoc201705002
- CHEN M, WANG K-L, LIU M, SHE Z-G, WANG C-Y (2015). Bioactive Steroid Derivatives and Butyrolactone Derivatives from a Gorgonian-Derived *Aspergillus* sp. Fungus. *Chemistry & Biodiversity*, **12(9)**: 1398-1406. doi:<https://doi.org/10.1002/cbdv.201400321>
- CHEN S, WANG J, WANG Z, LIN X, ZHAO B, KALIAPERUMAL K, LIAO X, TU Z, LI J, XU S, LIU Y (2017). Structurally diverse secondary metabolites from a deep-sea-derived fungus *Penicillium chrysogenum* SCSIO 41001 and their biological evaluation. *Fitoterapia*, **117**: 71-78. doi:<https://doi.org/10.1016/j.fitote.2017.01.005>
- CHEN Z, HUANG H, CHEN Y, WANG Z, MA J, WANG B, ZHANG W, ZHANG C, JU J (2011). New Cytochalasins from the Marine-Derived Fungus *Xylaria* sp. SCSIO 156. *Helvetica Chimica Acta*, **94(9)**: 1671-1676. doi:10.1002/hlca.201100051
- CHRISTENHUSZ M, BYNG J (2016). The number of known plant species in the world and its annual increase. *Phytotaxa*, **261**: 201-217. doi:10.11646/phytotaxa.261.3.1
- Clinical Pipeline of Marine Pharmacology. (11.2019). Erişim: [<https://www.midwestern.edu/departments/marinepharmacology/clinical-pipeline.xml>]. Erişim Tarihi: [02.01.2020 00.04]

- COCHRANE SA, VEDERAS JC (2016). Lipopeptides from *Bacillus* and *Paenibacillus* spp.: A Gold Mine of Antibiotic Candidates. *Medicinal Research Reviews*, **36(1)**: 4-31. doi:<https://doi.org/10.1002/med.21321>
- COHEN E, KOCH L, THU KM, RAHAMIM Y, ALUMA Y, ILAN M, YARDEN O, CARMELI S (2011). Novel terpenoids of the fungus *Aspergillus insuetus* isolated from the Mediterranean sponge *Psammocinia* sp. collected along the coast of Israel. *Bioorg Med Chem*, **19(22)**: 6587-6593. doi:10.1016/j.bmc.2011.05.045
- CONTRIBUTORS WC. *Penicillium notatum*: Wikimedia Commons, the free media repository.
- CUETO M, JENSEN PR, KAUFFMAN C, FENICAL W, LOBKOVSKY E, CLARDY J (2001). Pestalone, a new antibiotic produced by a marine fungus in response to bacterial challenge. *J Nat Prod*, **64(11)**: 1444-1446. doi:10.1021/np0102713
- CUI CM, LI XM, MENG L, LI CS, HUANG CG, WANG BG (2010). 7-Nor-ergosterolide, a pentalactone-containing norsteroid and related steroids from the marine-derived endophytic *Aspergillus ochraceus* EN-31. *J Nat Prod*, **73(11)**: 1780-1784. doi:10.1021/np100386q
- CULLIGAN EP, MARCHESI JR, HILL C, SLEATOR RD (2014). Combined metagenomic and phenomic approaches identify a novel salt tolerance gene from the human gut microbiome. *Frontiers in Microbiology*, **5(189)**. doi:10.3389/fmicb.2014.00189
- CUSHNIE TPT, CUSHNIE B, ECHEVERRÍA J, FOWSANTEAR W, THAMMAWAT S, DODGSON JLA, LAW S, CLOW SM (2020). Bioprospecting for Antibacterial Drugs: a Multidisciplinary Perspective on Natural Product Source Material, Bioassay Selection and Avoidable Pitfalls. *Pharmaceutical Research*, **37(7)**: 125. doi:10.1007/s11095-020-02849-1
- DANG L, VAN DAMME EJM (2015). Toxic proteins in plants. *Phytochemistry*, **117**: 51-64. doi:<https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2015.05.020>
- DARYL ARIAWAN A, WEBB JEA, HOWE ENW, GALE PA, THORDARSON P, HUNTER L (2017). Cyclic peptide unguisin A is an anion receptor with high affinity for phosphate and pyrophosphate. *Organic & Biomolecular Chemistry*, **15(14)**: 2962-2967. doi:10.1039/C7OB00316A
- DE LIMA PROCÓPIO RE, DA SILVA IR, MARTINS MK, DE AZEVEDO JL, DE ARAÚJO JM (2012). Antibiotics produced by *Streptomyces*. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*, **16(5)**: 466-471. doi:<https://doi.org/10.1016/j.bjid.2012.08.014>
- DEBBAB A, ALY AH, LIN WH, PROKSCH P (2010). Bioactive Compounds from Marine Bacteria and Fungi. *Microbial Biotechnology*, **3(5)**: 544-563. doi:<https://doi.org/10.1111/j.1751-7915.2010.00179.x>
- DELLAI A, LAROCHE-CLARY A, MHADHEBI L, ROBERT J, BOURAOUI A (2010). Anti-inflammatory and antiproliferative activities of crude extract and its fractions of the defensive secretion from the Mediterranean sponge, *Spongia officinalis*. *Drug Development Research*, **71(7)**: 412-418. doi:10.1002/ddr.20392
- DEMAIN AL, FANG A. (2000). The Natural Functions of Secondary Metabolites. In: *History of Modern Biotechnology I* Ed.: Fiechter, A., Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. 1-39.
- DENG CM, LIU SX, HUANG CH, PANG JY, LIN YC (2013). Secondary metabolites of a mangrove endophytic fungus *Aspergillus terreus* (No. GX7-3B) from the South China Sea. *Marine drugs*, **11(7)**: 2616-2624. doi:10.3390/md11072616

- DESBOIS AP, MEARNS-SPRAGG A, SMITH VJ (2009). A fatty acid from the diatom *Phaeodactylum tricorutum* is antibacterial against diverse bacteria including multi-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Mar Biotechnol (NY)*, **11(1)**: 45-52. doi:10.1007/s10126-008-9118-5
- DESHMUKH SK, PRAKASH V, RANJAN N (2018). Marine Fungi: A Source of Potential Anticancer Compounds. *Frontiers in Microbiology*, **8(2536)**. doi:10.3389/fmicb.2017.02536
- DEWAPRIYA P, PRASAD P, DAMODAR R, SALIM AA, CAPON RJ (2017). Talarolide A, a Cyclic Heptapeptide Hydroxamate from an Australian Marine Tunicate-Associated Fungus, *Talaromyces* sp. (CMB-TU011). *Organic Letters*, **19(8)**: 2046-2049. doi:10.1021/acs.orglett.7b00638
- DEWICK PM. (2002). Medicinal natural products: a biosynthetic approach. (Ed.): John Wiley & Sons.
- DING H, DING W, MA Z (2017). Mass Spectrometric Characteristics of Prenylated Indole Derivatives from Marine-Derived *Penicillium* sp. NH-SL. *Marine drugs*, **15(3)**: 86.
- DINKUM. (2013). Papaver somniferum.
- DONIA M, HAMANN MT (2003). Marine natural products and their potential applications as anti-infective agents. *Lancet Infect Dis*, **3(6)**: 338-348. doi:10.1016/s1473-3099(03)00655-8
- DOSSEY AT (2010). Insects and their chemical weaponry: New potential for drug discovery. *Natural Product Reports*, **27(12)**: 1737-1757. doi:10.1039/C005319H
- DU L, LI D, ZHU T, CAI S, WANG F, XIAO X, GU Q (2009). New alkaloids and diterpenes from a deep ocean sediment derived fungus *Penicillium* sp. *Tetrahedron*, **65(5)**: 1033-1039. doi:<https://doi.org/10.1016/j.tet.2008.11.078>
- DU L, ZHU T, FANG Y, LIU H, GU Q, ZHU W (2007). Aspergiolide A, a novel anthraquinone derivative with naphtho[1,2,3-de]chromene-2,7-dione skeleton isolated from a marine-derived fungus *Aspergillus glaucus*. *Tetrahedron*, **63(5)**: 1085-1088. doi:<https://doi.org/10.1016/j.tet.2006.11.074>
- EBADA SS, AL-JAWABRI NA, YOUSSEF FS, EL-KASHEF DH, KNEDEL T-O, ALBOHY A, KORINEK M, HWANG T-L, CHEN B-H, LIN G-H, LIN C-Y, ALDALAIEN SEM, DISI AM, JANIAC C, PROKSCH P (2020). Anti-inflammatory, antiallergic and COVID-19 protease inhibitory activities of phytochemicals from the Jordanian hawksbeard: identification, structure–activity relationships, molecular modeling and impact on its folk medicinal uses. *RSC Advances*, **10(62)**: 38128-38141. doi:10.1039/D0RA04876C
- EBADA SS, EBRAHIM W (2020). Quinoisobutyride A, an acyclic antibacterial tetrapeptide incorporating an unprecedented heterocyclic amino acid residue from the hypersaline lake-derived fungus *Penicillium simplicissimum* strain WSH17. *Phytochemistry Letters*, **36**: 95-98. doi:<https://doi.org/10.1016/j.phytol.2020.01.022>
- ELNAGGAR MS, EBADA SS, ASHOUR ML, EBRAHIM W, SINGAB A, LIN W, LIU Z, PROKSCH P (2017). Two new triterpenoids and a new naphthoquinone derivative isolated from a hard coral-derived fungus *Scopulariopsis* sp. *Fitoterapia*, **116**: 126-130. doi:<https://doi.org/10.1016/j.fitote.2016.12.003>
- FAN B, DEWAPRIYA P, LI F, BLÜMEL M, TASDEMIR D (2020). Pyrenosetins A–C, New Decalinoylspirotetramic Acid Derivatives Isolated by Bioactivity-Based Molecular Networking from the Seaweed-Derived Fungus *Pyrenochaetopsis* sp. FVE-001. *Marine drugs*, **18(1)**: 47.
- FARAG AM, ABD-ELNABEY HM, IBRAHIM HAH, EL-SHENAWY M (2016). Purification, characterization and antimicrobial activity of chitinase from marine-derived *Aspergillus*

terreus. *The Egyptian Journal of Aquatic Research*, **42(2)**: 185-192. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ejar.2016.04.004>

- FENICAL W (2020). Marine microbial natural products: the evolution of a new field of science. *The Journal of Antibiotics*, **73(8)**: 481-487. doi:10.1038/s41429-020-0331-4
- GALMARINI OL, MASTRONARDI IO, PRIESTAP HA (1974). Two novel metabolites of *Aspergillus fonsecaeus*. *Experientia*, **30(6)**: 586-586. doi:10.1007/BF01921486
- GAO H, GUO W, WANG Q, ZHANG L, ZHU M, ZHU T, GU Q, WANG W, LI D (2013). Aspulvinones from a mangrove rhizosphere soil-derived fungus *Aspergillus terreus* Gwq-48 with anti-influenza A viral (H1N1) activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **23(6)**: 1776-1778. doi:<https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2013.01.051>
- GLADFELTER AS, JAMES TY, AMEND AS (2019). Marine fungi. *Current Biology*, **29(6)**: R191-R195. doi:<https://doi.org/10.1016/j.cub.2019.02.009>
- GRAHAM JG, ZHANG H, PENDLAND SL, SANTARSIERO BD, MESECAR AD, CABIESES F, FARNSWORTH NR (2004). Antimycobacterial Naphthopyrones from *Senna obliqua*. *J Nat Prod*, **67(2)**: 225-227. doi:10.1021/np030348i
- GRIGORIEV IV, NIKITIN R, HARIDAS S, KUO A, OHM R, OTILLAR R, RILEY R, SALAMOV A, ZHAO X, KORZENIEWSKI F, SMIRNOVA T, NORDBERG H, DUBCHAK I, SHABALOV I (2014). MycoCosm portal: gearing up for 1000 fungal genomes. *Nucleic acids research*, **42(Database issue)**: D699-D704. doi:10.1093/nar/gkt1183
- GU B-B, TANG J, WANG S-P, SUN F, YANG F, LI L, XU Y, LIN H-W (2017). Structure, absolute configuration, and variable-temperature 1H-NMR study of (±)-versiorcinols A–C, three racemates of diorcinol monoethers from the sponge-associated fungus *Aspergillus versicolor* 16F-11. *RSC Advances*, **7(79)**: 50254-50263. doi:10.1039/C7RA06106D
- GU Q-Q, LIN A-Q, WANG F-Z, ZHANG M, ZHU T-J (2011). Chemical Constituents from the Marine-derived Fungus *Rhizopus* sp. 2-PDA-61. *NATURAL PRODUCT RESEARCH AND DEVELOPMENT*, **23(2)**: 199-201.
- GU W, CUETO M, JENSEN PR, FENICAL W, SILVERMAN RB (2007). Microsporins A and B: new histone deacetylase inhibitors from the marine-derived fungus *Microsporium cf. gypseum* and the solid-phase synthesis of microsporin A. *Tetrahedron*, **63(28)**: 6535-6541. doi:<https://doi.org/10.1016/j.tet.2007.04.025>
- GU Y, LI M. (2011). Chapter 3 - Molecular Modeling. In: *Handbook of Benzoxazine Resins* Ed.: Ishida, H. Agag, T., Amsterdam: Elsevier. 103-110.
- GULLO VP, MCALPINE J, LAM KS, BAKER D, PETERSEN F (2006). Drug discovery from natural products. *J Ind Microbiol Biotechnol*, **33(7)**: 523-531. doi:10.1007/s10295-006-0107-2
- HALLETT M, ALBANESE A, DRESSLER D, SEGAL KR, SIMPSON DM, TRUONG D, JANKOVIC J (2013). Evidence-based review and assessment of botulinum neurotoxin for the treatment of movement disorders. *Toxicon*, **67**: 94-114. doi:<https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2012.12.004>
- HANSSON D, MENKIS A, OLSON K, STENLID J, BROBERG A, KARLSSON M (2012). Biosynthesis of fomannoxin in the root rotting pathogen *Heterobasidion occidentale*. *Phytochemistry*, **84**: 31-39. doi:10.1016/j.phytochem.2012.08.008
- HAO J-D, ZHENG J-J, CHEN M, WANG C-Y (2017). Cytochalasins from the Gorgonian-Derived Fungus *Aspergillus* sp. XS-2009-0B15. *Chemistry of Natural Compounds*, **53(4)**: 732-735. doi:10.1007/s10600-017-2102-4

- HARITAKUN R, RACHTAWEE P, CHANTHAKET R, BOONYUEN N, ISAKA M (2010). Butyrolactones from the fungus *Aspergillus terreus* BCC 4651. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*, **58(11)**: 1545-1548. doi:10.1248/cpb.58.1545
- HARPUR S, GENÇ Y, KHAN N, SARACOGLU I. (2011). *Radical Scavenging Effects of Different Veronica Species Ummuhan!*
- HE F, BAO J, ZHANG X-Y, TU Z-C, SHI Y-M, QI S-H (2013). Asperterrestide A, a Cytotoxic Cyclic Tetrapeptide from the Marine-Derived Fungus *Aspergillus terreus* SCSGAF0162. *Journal of Natural Products*, **76(6)**: 1182-1186. doi:10.1021/np300897v
- HENRÍQUEZ M, VERGARA K, NORAMBUENA J, BEIZA A, MAZA F, UBILLA P, ARAYA I, CHÁVEZ R, SAN-MARTÍN A, DARIAS J, DARIAS MJ, VACA I (2014). Diversity of cultivable fungi associated with Antarctic marine sponges and screening for their antimicrobial, antitumoral and antioxidant potential. *World J Microbiol Biotechnol*, **30(1)**: 65-76. doi:10.1007/s11274-013-1418-x
- HERZIG V, CRISTOFORI-ARMSTRONG B, ISRAEL MR, NIXON SA, VETTER I, KING GF (2020a). Animal toxins - Nature's evolutionary-refined toolkit for basic research and drug discovery. *Biochemical Pharmacology*, **181**: 114096-114096. doi:10.1016/j.bcp.2020.114096
- HERZIG V, CRISTOFORI-ARMSTRONG B, ISRAEL MR, NIXON SA, VETTER I, KING GF (2020b). Animal toxins — Nature's evolutionary-refined toolkit for basic research and drug discovery. *Biochemical Pharmacology*, **181**: 114096. doi:<https://doi.org/10.1016/j.bcp.2020.114096>
- HOLLINGER J. (2005). *Taxus brevifolia*.
- HU Y, CHEN J, HU G, YU J, ZHU X, LIN Y, CHEN S, YUAN J (2015). Statistical research on the bioactivity of new marine natural products discovered during the 28 years from 1985 to 2012. *Marine drugs*, **13(1)**: 202-221. doi:10.3390/md13010202
- HUANG C, JIN H, SONG B, ZHU X, ZHAO H, CAI J, LU Y, CHEN B, LIN Y (2012). The cytotoxicity and anticancer mechanisms of alterporriol L, a marine bianthraquinone, against MCF-7 human breast cancer cells. *Applied Microbiology and Biotechnology*, **93(2)**: 777-785. doi:10.1007/s00253-011-3463-4
- HUANG H, SONG Y, ZANG R, WANG X, JU J (2019). Octyl substituted butenolides from marine-derived *Streptomyces koyangensis*. *Natural Product Research*: 1-6. doi:10.1080/14786419.2019.1686368
- HUANG MH, HUANG SS, WANG BS, WU CH, SHEU MJ, HOU WC, LIN SS, HUANG GJ (2011). Antioxidant and anti-inflammatory properties of *Cardiospermum halicacabum* and its reference compounds ex vivo and in vivo. *J Ethnopharmacol*, **133(2)**: 743-750. doi:10.1016/j.jep.2010.11.005
- HUANG Z, NONG X, REN Z, WANG J, ZHANG X, QI S (2017). Anti-HSV-1, antioxidant and antifouling phenolic compounds from the deep-sea-derived fungus *Aspergillus versicolor* SCSIO 41502. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **27(4)**: 787-791. doi:<https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2017.01.032>
- IBRAHIM SRM, ELKHAYAT ES, MOHAMED GA, KHEDR AIM, FOUAD MA, KOTB MHR, ROSS SA (2015). Aspernolides F and G, new butyrolactones from the endophytic fungus *Aspergillus terreus*. *Phytochemistry Letters*, **14**: 84-90. doi:<https://doi.org/10.1016/j.phytol.2015.09.006>

- IKEDA S, SUGITA M, YOSHIMURA A, SUMIZAWA T, DOUZONO H, NAGATA Y, AKIYAMA S (1990). *Aspergillus* species strain M39 produces two naphtho-gamma-pyrones that reverse drug resistance in human KB cells. *International journal of cancer*, **45(3)**: 508-513. doi:10.1002/ijc.2910450323
- JANG J-H, KANO H K, ADACHI K, SHIZURI Y (2006). Awajanomycin, a Cytotoxic γ -Lactone- δ -lactam Metabolite from Marine-Derived *Acremonium* sp. AWA16-1. *Journal of Natural Products*, **69(9)**: 1358-1360. doi:10.1021/np060170a
- JAVED F, QADIR MI, JANBAZ KH, ALI M (2011). Novel drugs from marine microorganisms. *Crit Rev Microbiol*, **37(3)**: 245-249. doi:10.3109/1040841x.2011.576234
- JENSEN PR, FENICAL W (1996). Marine bacterial diversity as a resource for novel microbial products. *Journal of Industrial Microbiology*, **17(5)**: 346-351. doi:10.1007/BF01574765
- JIAN-XIANG Y, SHENG-XIANG QIU, ZHI-GANG SHE, YONG-CHENG LIN Metabolites of Mangrove Endophytic Fungus ZH-4d from South China Sea. *中国实验方剂学杂志 (英文版)*, **20(9)**: 110-114.
- JIN L, QUAN C, HOU X, FAN S (2016). Potential Pharmacological Resources: Natural Bioactive Compounds from Marine-Derived Fungi. *Marine drugs*, **14(4)**: 76.
- JONES EBG (2011). Are there more marine fungi to be described? *Botanica Marina*, **54(4)**: 343-354. doi:<https://doi.org/10.1515/bot.2011.043>
- JOYDEEP. (2012). *Catharanthus roseus*.
- JULIANTI E, OH H, LEE H-S, OH D-C, OH K-B, SHIN J (2012). Acremolin, a new 1H-azirine metabolite from the marine-derived fungus *Acremonium strictum*. *Tetrahedron Letters*, **53(23)**: 2885-2886. doi:<https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2012.03.133>
- KANO S (2014). Artemisinin-based combination therapies and their introduction in Japan. *Kansenshogaku Zasshi*, **88(3 Suppl 9-10)**: 18-25.
- KANO H K, ADACHI K, MATSUDA S, SHIZURI Y, YASUMOTO K, KUSUMI T, OKUMURA K, KIRIKAE T (2008). New Sulfoalkylresorcinol from Marine-derived Fungus, *Zygosporium* sp. KNC52. *The Journal of Antibiotics*, **61(3)**: 192-194. doi:10.1038/ja.2008.29
- KANO H K, OKADA A, ADACHI K, IMAGAWA H, NISHIZAWA M, MATSUDA S, SHIZURI Y, UTSUMI R (2008). Ascochytatin, a Novel Bioactive Spirodioxynaphthalene Metabolite Produced by the Marine-derived Fungus, *Ascochyta* sp. NGB4. *The Journal of Antibiotics*, **61(3)**: 142-148. doi:10.1038/ja.2008.123
- KANSOH A, KHATTAB OH, ABD-ELRAZEK ZM, MOTAWEA HM (2010). Broad spectrum antimicrobial agent from a local isolate of marine fungus strain. *Journal of Applied Sciences Research*, **6**: 580-588.
- KARLOVSKY P. (2008). Secondary Metabolites in Soil Ecology. In: *Secondary Metabolites in Soil Ecology* Ed.: Karlovsky, P., Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. 1-19.
- KATSUNO K, BURROWS JN, DUNCAN K, VAN HUIJSDUIJNEN RH, KANEKO T, KITA K, MOWBRAY CE, SCHMATZ D, WARNER P, SLINGSBY BT (2015). Hit and lead criteria in drug discovery for infectious diseases of the developing world. *Nature Reviews Drug Discovery*, **14(11)**: 751-758. doi:10.1038/nrd4683
- KELECOM A (2002). Secondary metabolites from marine microorganisms. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, **74**: 151-170.

- KHAMTHONG N, RUKACHAISIRIKUL V, PHONGPAICHIT S, PREEDANON S, SAKAYAROJ J (2012). Bioactive polyketides from the sea fan-derived fungus *Penicillium citrinum* PSU-F51. *Tetrahedron*, **68(39)**: 8245-8250. doi:<https://doi.org/10.1016/j.tet.2012.07.060>
- KHAMTHONG N, RUKACHAISIRIKUL V, TADPETCH K, KAEPET M, PHONGPAICHIT S, PREEDANON S, SAKAYAROJ J (2012). Tetrahydroanthraquinone and xanthone derivatives from the marine-derived fungus *Trichoderma aureoviride* PSU-F95. *Archives of Pharmacal Research*, **35(3)**: 461-468. doi:10.1007/s12272-012-0309-2
- KILDGAARD S, SUBKO K, PHILLIPS E, GOIDTS V, DE LA CRUZ M, DÍAZ C, GOTFREDSEN CH, ANDERSEN B, FRISVAD JC, NIELSEN KF, LARSEN TO (2017). A Dereplication and Bioguided Discovery Approach to Reveal New Compounds from a Marine-Derived Fungus *Stilbella fimetaria*. *Marine drugs*, **15(8)**: 253.
- KIRIYAMA N, NITTA K, SAKAGUCHI Y, TAGUCHI Y, YAMAMOTO Y (1977). Studies on the Metabolic Products of *Aspergillus terreus*. III. Metabolites of the Strain IFO 8835. (1). *CHEMICAL & PHARMACEUTICAL BULLETIN*, **25(10)**: 2593-2601. doi:10.1248/cpb.25.2593
- KITO K, OOKURA R, YOSHIDA S, NAMIKOSHI M, OOI T, KUSUMI T (2007). Pentaketides relating to aspinonene and dihydroaspyrone from a marine-derived fungus, *Aspergillus ostianus*. *J Nat Prod*, **70(12)**: 2022-2025. doi:10.1021/np070301n
- KJER J, DEBBAB A, ALY AH, PROKSCH P (2010). Methods for isolation of marine-derived endophytic fungi and their bioactive secondary products. *Nature Protocols*, **5(3)**: 479-490. doi:10.1038/nprot.2009.233
- KOHLMEYER J, KOHLMEYER E. (1979). 25 - Classification. In: *Marine Mycology* Ed.: Kohlmeyer, J. Kohlmeyer, E.: Academic Press. 212-220.
- KONG F-D, MA Q-Y, HUANG S-Z, WANG P, WANG J-F, ZHOU L-M, YUAN J-Z, DAI H-F, ZHAO Y-X (2017). Chrodriamanins K–N and Related Meroterpenoids from the Fungus *Penicillium* sp. SCS-KFD09 Isolated from a Marine Worm, *Sipunculus nudus*. *Journal of Natural Products*, **80(4)**: 1039-1047. doi:10.1021/acs.jnatprod.6b01061
- KONG F, ZHAO C, HAO J, WANG C, WANG W, HUANG X, ZHU W (2015). New α -glucosidase inhibitors from a marine sponge-derived fungus, *Aspergillus* sp. OUCMDZ-1583. *RSC Advances*, **5(84)**: 68852-68863. doi:10.1039/C5RA11185D
- KORINEK M, TSAI Y-H, EL-SHAZLY M, LAI K-H, BACKLUND A, WU S-F, LAI W-C, WU T-Y, CHEN S-L, WU Y-C, CHENG Y-B, HWANG T-L, CHEN B-H, CHANG F-R (2017). Anti-allergic Hydroxy Fatty Acids from *Typhonium blumei* Explored through ChemGPS-NP. *Frontiers in Pharmacology*, **8(356)**. doi:10.3389/fphar.2017.00356
- KORINEK M, WAGH VD, LO IW, HSU YM, HSU HY, HWANG TL, WU YC, CHENG YB, CHEN BH, CHANG FR (2016). Antiallergic Phorbol Ester from the Seeds of *Aquilaria malaccensis*. *Int J Mol Sci*, **17(3)**: 398. doi:10.3390/ijms17030398
- KRALJ A, KEHRAUS S, KRICK A, ECHTEN-DECKERT GV, KÖNIG GM (2007). Two New Depsipeptides from the Marine Fungus *Spicellum roseum*. *Planta Med*, **73(04)**: 366-371. doi:10.1055/s-2007-967131
- KRUEGER RJ (2005). *Drugs of Natural Origin. A Textbook of Pharmacognosy*. 5th Edition By Gunnar Samuelson. Swedish Pharmaceutical Press, Stockholm. 620 pp. 17 × 25 cm. \$70.00. ISBN 91-9743-184-2. *Journal of Natural Products*, **68(4)**: 631-631. doi:10.1021/np058229l

- KUMLA D, SOUSA E, MARENGO A, DETHOUP T, PEREIRA JA, GALES L, FREITAS-SILVA J, COSTA PM, MISTRY S, SILVA AMS, KIJJOA A (2021). 1,3-Dioxepine and spiropyran derivatives of viomellein and other dimeric naphthopyranones from cultures of *Aspergillus elegans* KUFA0015 and their antibacterial activity. *Phytochemistry*, **181**: 112575. doi:<https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2020.112575>
- KÜPPERS L, EBRAHIM W, EL-NEKETI M, ÖZKAYA FC, MÁNDI A, KURTÁN T, ORFALI RS, MÜLLER WEG, HARTMANN R, LIN W, SONG W, LIU Z, PROKSCH P (2017). Lactones from the Sponge-Derived Fungus *Talaromyces rugulosus*. *Marine drugs*, **15(11)**: 359.
- KWON J, LEE H, KO W, KIM D-C, KIM K-W, KWON HC, GUO Y, SOHN JH, YIM JH, KIM Y-C, OH H, LEE D (2017). Chemical constituents isolated from Antarctic marine-derived *Aspergillus* sp. SF-5976 and their anti-inflammatory effects in LPS-stimulated RAW 264.7 and BV2 cells. *Tetrahedron*, **73(27)**: 3905-3912. doi:<https://doi.org/10.1016/j.tet.2017.05.060>
- LAHLOU M (2007). Screening of natural products for drug discovery. *Expert Opin Drug Discov*, **2(5)**: 697-705. doi:10.1517/17460441.2.5.697
- LAZAR T (2005). Chemistry of Natural Products. By S. V. Bhat, B. A. Nagasampagi and M. Sivakumar. *ChemBioChem*, **6(6)**: 1127-1128. doi:<https://doi.org/10.1002/cbic.200500134>
- LI B, WANG Z, LI S, DONELAN W, WANG X, CUI T, TANG D (2013). Preparation of lactose-free pasteurized milk with a recombinant thermostable β -glucosidase from *Pyrococcus furiosus*. *BMC biotechnology*, **13**: 73-73. doi:10.1186/1472-6750-13-73
- LI G-Y, LI B-G, YANG T, YIN J-H, QI H-Y, LIU G-Y, ZHANG G-L (2005). Sesterterpenoids, Terretinins A–D, and an Alkaloid, Asterrelenin, from *Aspergillus terreus*. *Journal of Natural Products*, **68(8)**: 1243-1246. doi:10.1021/np0501738
- LI H-L, LI X-M, LI X, WANG C-Y, LIU H, KASSACK MU, MENG L-H, WANG B-G (2017). Antioxidant Hydroanthraquinones from the Marine Algal-Derived Endophytic Fungus *Talaromyces islandicus* EN-501. *Journal of Natural Products*, **80(1)**: 162-168. doi:10.1021/acs.jnatprod.6b00797
- LI J, LIU M. (2019). The Carcinogenicity of Aflatoxin B1. In: *Aflatoxin B1 Occurrence, Detection and Toxicological Effects* Ed.: IntechOpen.
- LI J, WANG Y, HAO X, LI S, JIA J, GUAN Y, PENG Z, BI H, XIAO C, CEN S, GAN M (2019). Broad-Spectrum Antiviral Natural Products from the Marine-Derived *Penicillium* sp. IMB17-046. *Molecules (Basel, Switzerland)*, **24(15)**: 2821. doi:10.3390/molecules24152821
- LI X, KIM SK, NAM KW, KANG JS, CHOI HD, SON BW (2006). A new antibacterial dioxopiperazine alkaloid related to gliotoxin from a marine isolate of the fungus *Pseudallescheria*. *J Antibiot (Tokyo)*, **59(4)**: 248-250. doi:10.1038/ja.2006.35
- LI Y-F, ZHANG P-P, YAN S-J, XU J-Y, NIAZ S-I, CHAND R, EDDIE MA CH, LIN Y-C, LI J, LIU L (2017). Atranones with enhancement neurite outgrowth capacities from the crinoid-derived fungus *Stachybotrys chartarum* 952. *Tetrahedron*, **73(52)**: 7260-7266. doi:<https://doi.org/10.1016/j.tet.2017.11.006>
- LI Y, LIU D, CHENG Z, PROKSCH P, LIN W (2017). Cytotoxic trichothecene-type sesquiterpenes from the sponge-derived fungus *Stachybotrys chartarum* with tyrosine kinase inhibition. *RSC Advances*, **7(12)**: 7259-7267. doi:10.1039/C6RA26956G
- LIANG X, NONG X-H, HUANG Z-H, QI S-H (2017). Antifungal and Antiviral Cyclic Peptides from the Deep-Sea-Derived Fungus *Simplicillium obclavatum* EIODSF 020. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **65(25)**: 5114-5121. doi:10.1021/acs.jafc.7b01238

- LIAO H-X, SUN D-W, ZHENG C-J, WANG C-Y (2017). A new hexahydrobenzopyran derivative from the gorgonian-derived Fungus *Eutypella* sp. *Natural Product Research*, **31(14)**: 1640-1646. doi:10.1080/14786419.2017.1285301
- LIAO L, BAE SY, WON TH, YOU M, KIM SH, OH DC, LEE SK, OH KB, SHIN J (2017). Asperphenins A and B, Lipopeptidyl Benzophenones from a Marine-Derived *Aspergillus* sp. Fungus. *Org Lett*, **19(8)**: 2066-2069. doi:10.1021/acs.orglett.7b00661
- LIN Z, ZHU T, WEI H, ZHANG G, WANG H, GU Q (2009). Spicochalsin A and New Aspochalsins from the Marine-Derived Fungus *Spicaria elegans*. *European Journal of Organic Chemistry*, **2009(18)**: 3045-3051. doi:<https://doi.org/10.1002/ejoc.200801085>
- LIU D, LI Y, LI X, CHENG Z, HUANG J, PROKSCH P, LIN W (2017). Chartarolides A-C, novel meroterpenoids with antitumor activities. *Tetrahedron Letters*, **58(19)**: 1826-1829. doi:<https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2017.03.079>
- LIU H, CHEN Z, ZHU G, WANG L, DU Y, WANG Y, ZHU W (2017). Phenolic polyketides from the marine alga-derived *Streptomyces* sp. OUCMDZ-3434. *Tetrahedron*, **73(36)**: 5451-5455. doi:<https://doi.org/10.1016/j.tet.2017.07.052>
- LIU M, ZHOU Q, WANG J, LIU J, QI C, LAI Y, ZHU H, XUE Y, HU Z, ZHANG Y (2018). Anti-inflammatory butenolide derivatives from the coral-derived fungus *Aspergillus terreus* and structure revisions of aspernolides D and G, butyrolactone VI and 4',8''-diacetoxy butyrolactone VI. *RSC Advances*, **8(23)**: 13040-13047. doi:10.1039/C8RA01840E
- LIU S, YAN X, YU M, CHEN J, ZHANG L (2010). A novel compound from *Penicillium* sp. (M207142). *Chemistry of Natural Compounds*, **46(1)**: 116-118. doi:10.1007/s10600-010-9542-4
- LIU Y, CHEN S, LIU Z, LU Y, XIA G, LIU H, HE L, SHE Z (2015). Bioactive Metabolites from Mangrove Endophytic Fungus *Aspergillus* sp. 16-5B. *Marine drugs*, **13(5)**: 3091-3102. doi:10.3390/md13053091
- LIU Y, DING L, ZHANG Z, YAN X, HE S (2020). New antifungal tetrahydrofuran derivatives from a marine sponge-associated fungus *Aspergillus* sp. LS78. *Fitoterapia*, **146**: 104677. doi:<https://doi.org/10.1016/j.fitote.2020.104677>
- LIU Y, ZHAO S, DING W, WANG P, YANG X, XU J (2014). Methylthio-aspochalsins from a marine-derived fungus *Aspergillus* sp. *Marine drugs*, **12(10)**: 5124-5131. doi:10.3390/md12105124
- LIU Z, FRANK M, YU X, YU H, TRAN-CONG NM, GAO Y, PROKSCH P. (2020). Secondary Metabolites from Marine-Derived Fungi from China. In: *Progress in the Chemistry of Organic Natural Products III* Ed.: Kinghorn, A. D., Falk, H., Gibbons, S., Kobayashi, J. i., Asakawa, Y., Liu, J.-K., Cham: Springer International Publishing. 81-153.
- LIU Z, QIU P, LIU H, LI J, SHAO C, YAN T, CAO W, SHE Z (2019). Identification of anti-inflammatory polyketides from the coral-derived fungus *Penicillium sclerotiorin*: In vitro approaches and molecular-modeling. *Bioorganic Chemistry*, **88**: 102973. doi:<https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2019.102973>
- LONG J-Y, WANG J-F, LIAO S-R, LIN X-P, ZHOU X-F, LI Y-Q, YANG B, LIU Y-H (2020). Four new steroids from the marine soft coral-derived fungus *Penicillium* sp. SCSIO41201. *Chinese Journal of Natural Medicines*, **18(4)**: 250-255. doi:[https://doi.org/10.1016/S1875-5364\(20\)30030-3](https://doi.org/10.1016/S1875-5364(20)30030-3)
- LUO M, ZANG R, WANG X, CHEN Z, SONG X, JU J, HUANG H (2019). Natural Hydroxamate-Containing Siderophore Acremonopeptides A-D and an Aluminum Complex of

- Acremonipeptide D from the Marine-Derived *Acremonium persicinum* SCSIO 115. *Journal of Natural Products*, **82(9)**: 2594-2600. doi:10.1021/acs.jnatprod.9b00545
- LUQUE-ORTEGA JR, CRUZ LJ, ALBERICIO F, RIVAS L (2010). The Antitumoral Depsipeptide IB-01212 Kills Leishmania through an Apoptosis-like Process Involving Intracellular Targets. *Molecular Pharmaceutics*, **7(5)**: 1608-1617. doi:10.1021/mp100035f
- MA M, GE H, YI W, WU B, ZHANG Z (2020). Bioactive drimane sesquiterpenoids and isocoumarins from the marine-derived fungus *Penicillium minioluteum* ZZ1657. *Tetrahedron Letters*, **61(7)**: 151504. doi:<https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2019.151504>
- MA X, NONG X-H, REN Z, WANG J, LIANG X, WANG L, QI S-H (2017). Antiviral peptides from marine gorgonian-derived fungus *Aspergillus* sp. SCSIO 41501. *Tetrahedron Letters*, **58(12)**: 1151-1155. doi:<https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2017.02.005>
- MANNING TJ, LAND M, RHODES E, CHAMBERLIN L, RUDLOE J, PHILLIPS D, LAM TT, PURCELL J, COOPER HJ, EMMETT MR, MARSHALL AG (2005). Identifying bryostatins and potential precursors from the bryozoan *Bugula neritina*. *Nat Prod Res*, **19(5)**: 467-491. doi:10.1080/14786410412331280041
- MARGULIS L SK. (1998). Five Kingdoms – An Illustrated Guide to the Phyla of Life on Earth. (Ed. 3rd. ed). New York, USA: W.H. Freeman and Company.
- MCMURRY JE. (2014). Organic chemistry with biological applications. (Ed.): Nelson Education.
- MEGAWATI, DEWI RT, MULYANI H, MARYANI F, LOTULLUNG PDN, MINARTI (2017). Rubrofusarin from *Aspergillus niger* GTS01-4 and its biological activity. *AIP Conference Proceedings*, **1803(1)**: 020026. doi:10.1063/1.4973153
- MIYAOKA H, SHIMOMURA M, KIMURA H, YAMADA Y, KIM H-S, YUSUKE W (1998). Antimalarial activity of kalihinol A and new relative diterpenoids from the Okinawan sponge, *Acanthella* sp. *Tetrahedron*, **54(44)**: 13467-13474. doi:[https://doi.org/10.1016/S0040-4020\(98\)00818-7](https://doi.org/10.1016/S0040-4020(98)00818-7)
- MOHAMED IE, GROSS H, PONTIUS A, KEHRAUS S, KRICK A, KELTER G, MAIER A, FIEBIG H-H, KÖNIG GM (2009). Epoxyphomalins A and B, prenylated polyketides with potent cytotoxicity from the marine-derived fungus *Phoma* sp. *Organic Letters*, **11(21)**: 5014-5017. doi:10.1021/ol901996g
- MOSMANN T (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods*, **65(1-2)**: 55-63. doi:10.1016/0022-1759(83)90303-4
- MURSHID SSA, BADR JM, YOUSSEF DTA (2016). Penicillosides A and B: new cerebroside from the marine-derived fungus *Penicillium* species. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, **26(1)**: 29-33. doi:<https://doi.org/10.1016/j.bjp.2015.09.007>
- MURTI Y, AGRAWAL T (2010). Marine derived pharmaceuticals-Development of natural health products from marine biodiversity. *International Journal of ChemTech Research CODEN(USA): IJCRGG ISSN*, **2**: 974-4290.
- NASH S. (2010). *Ecteinascidia turbinata*.
- NAVARRI M, JÉGOU C, BONDON A, POTTIER S, BACH S, BARATTE B, RUCHAUD S, BARBIER G, BURGAUD G, FLEURY Y (2017). Bioactive Metabolites from the Deep Subseafloor Fungus *Oidiodendron griseum* UBOCC-A-114129. *Marine drugs*, **15(4)**: 111.

- NEUMANN K. (2008). *MARINE-DERIVED FUNGI: A SOURCE FOR STRUCTURALLY NEW AND BIOACTIVE SECONDARY METABOLITES*.
- NGUYEN T-B-L, DELALANDE O, ROUAUD I, FERRON S, CHAILLOT L, PEDEUX R, TOMASI S (2018). tert-Butylphenolic Derivatives from *Paenibacillus odorifer*—A Case of Bioconversion. *Molecules (Basel, Switzerland)*, **23(8)**: 1951.
- NISBET LJ, MOORE M (1997). Will natural products remain an important source of drug research for the future? *Curr Opin Biotechnol*, **8(6)**: 708-712. doi:10.1016/s0958-1669(97)80124-3
- NISHIO K, ISHIDA T, ARIOKA H, KUROKAWA H, FUKUOKA K, NOMOTO T, FUKUMOTO H, YOKOTE H, SAIJO N (1996). Antitumor effects of butyrolactone I, a selective cdc2 kinase inhibitor, on human lung cancer cell lines. *Anticancer Res*, **16(6b)**: 3387-3395.
- NITTA K, FUJITA N, YOSHIMURA T, ARAI K, YAMAMOTO Y (1983). Metabolic Products of *Aspergillus terreus*. IX. Biosynthesis of Butyrolactone Derivatives isolated from Strains IFO 8835 and 4100. *CHEMICAL & PHARMACEUTICAL BULLETIN*, **31(5)**: 1528-1533. doi:10.1248/cpb.31.1528
- NIU S, XIE C-L, ZHONG T, XU W, LUO Z-H, SHAO Z, YANG X-W (2017). Sesquiterpenes from a deep-sea-derived fungus *Graphostroma* sp. MCCC 3A00421. *Tetrahedron*, **73(52)**: 7267-7273. doi:<https://doi.org/10.1016/j.tet.2017.11.013>
- NIU X, DAHSE H-M, MENZEL K-D, LOZACH O, WALTHER G, MEIJER L, GRABLEY S, SATTLER I (2008). Butyrolactone I Derivatives from *Aspergillus terreus* Carrying an Unusual Sulfate Moiety. *Journal of Natural Products*, **71(4)**: 689-692. doi:10.1021/np070341r
- NOINART J, BUTTACHON S, DETHOUP T, GALES L, PEREIRA JA, URBATZKA R, FREITAS S, LEE M, SILVA AMS, PINTO MMM, VASCONCELOS V, KIJJOA A. (2017). A New Ergosterol Analog, a New Bis-Anthraquinone and Anti-Obesity Activity of Anthraquinones from the Marine Sponge-Associated Fungus *Talaromyces stipitatus* KUFA 0207. *Marine drugs*, **15(5)**. Erişim: [<http://europepmc.org/abstract/MED/28509846>]
- NONG XH, WANG YF, ZHANG XY, ZHOU MP, XU XY, QI SH (2014). Territrem and butyrolactone derivatives from a marine-derived fungus *Aspergillus terreus*. *Marine drugs*, **12(12)**: 6113-6124. doi:10.3390/md12126113
- OH D-C, JENSEN PR, FENICAL W (2006). Zygosporamide, a cytotoxic cyclic depsipeptide from the marine-derived fungus *Zygosporium masonii*. *Tetrahedron Letters*, **47(48)**: 8625-8628. doi:<https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2006.08.113>
- PANG X, LIN X, WANG J, LIANG R, TIAN Y, SALENDRA L, LUO X, ZHOU X, YANG B, TU Z, LIU Y (2018). Three new highly oxygenated sterols and one new dihydroisocoumarin from the marine sponge-derived fungus *Cladosporium* sp. SCSIO41007. *Steroids*, **129**: 41-46. doi:<https://doi.org/10.1016/j.steroids.2017.12.001>
- PARK YC, GUNASEKERA SP, LOPEZ JV, MCCARTHY PJ, WRIGHT AE (2006). Metabolites from the marine-derived fungus *Chromocleista* sp. isolated from a deep-water sediment sample collected in the Gulf of Mexico. *J Nat Prod*, **69(4)**: 580-584. doi:10.1021/np058113p
- PARKER R. (2009). *Conus magus*.
- PARVATKAR RR, D'SOUZA C, TRIPATHI A, NAIK CG (2009). Aspernolides A and B, butenolides from a marine-derived fungus *Aspergillus terreus*. *Phytochemistry*, **70(1)**: 128-132. doi:<https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2008.10.017>

- PENG D-Q, GAO J, GUO X-M, WANG J-L, ZHANG S-J (2014). Chemical constituents from roots of *Taraxacum mongolicum*. *Traditional Chinese Medicine*, **36**: 1462-1466. doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2014.07.026
- PENG J, ZHANG X, DU L, WANG W, ZHU T, GU Q, LI D (2014). Sorbicatechols A and B, Antiviral Sorbicillinoids from the Marine-Derived Fungus *Penicillium chrysogenum* PJX-17. *Journal of Natural Products*, **77(2)**: 424-428. doi:10.1021/np400977e
- Penicillium griseofulvum*. Erişim: [<http://www.schimmel-schimmelpilze.de/penicillium-griseofulvum.html>]. Erişim Tarihi: [18.12.2020 00.16]
- PETEK BJ, LOGGERS ET, POLLACK SM, JONES RL (2015). Trabectedin in Soft Tissue Sarcomas. *Marine drugs*, **13(2)**: 974-983.
- PETERS K. (2007). *Artemisia annua*.
- PETERSEN L-E, KELLERMANN MY, SCHUPP PJ. (2020). Secondary Metabolites of Marine Microbes: From Natural Products Chemistry to Chemical Ecology. In: *YOUMARES 9 - The Oceans: Our Research, Our Future: Proceedings of the 2018 conference for YOUnG Marine REsearcher in Oldenburg, Germany* Ed.: Jungblut, S., Liebich, V., Bode-Dalby, M., Cham: Springer International Publishing. 159-180.
- PONTIUS A, KRICK A, KEHRAUS S, BRUN R, KÖNIG GM (2008a). Antiprotozoal Activities of Heterocyclic-Substituted Xanthenes from the Marine-Derived Fungus *Chaetomium* sp. *Journal of Natural Products*, **71(9)**: 1579-1584. doi:10.1021/np800294q
- POOFERY J, KHAW-ON P, SUBHAWA S, SRIPANIDKULCHAI B, TANTRAWORASIN A, SAETENG S, SIWACHAT S, LERTPRASERTSUKE N, BANJERDPONGCHAI R (2020). Potential of Thai Herbal Extracts on Lung Cancer Treatment by Inducing Apoptosis and Synergizing Chemotherapy. *Molecules*, **25(1)**. doi:10.3390/molecules25010231
- PRACHYAWARAKORN V, MAHIDOL C, SURERAM S, SANGPETSIRIPAN S, WIYAKRUTTA S, RUCHIRAWAT S, KITTAKOOP P (2008). Diketopiperazines and Phthalides from a Marine Derived Fungus of the Order *Pleosporales*. *Planta Med*, **74(01)**: 69-72. doi:10.1055/s-2007-993783
- PRASAT K, CHULABHORN M, SOMSAK R (2014). Alkaloids as Important Scaffolds in Therapeutic Drugs for the Treatments of Cancer, Tuberculosis, and Smoking Cessation. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, **14(2)**: 239-252. doi:<http://dx.doi.org/10.2174/1568026613666131216105049>
- PRIESTAP HA (1984). New naphthopyrones from *aspergillus fonsecaeus*. *Tetrahedron*, **40(19)**: 3617-3624. doi:[https://doi.org/10.1016/S0040-4020\(01\)88792-5](https://doi.org/10.1016/S0040-4020(01)88792-5)
- PRIESTAP HA (1986). ¹³C NMR spectroscopy of naphtho- γ -pyrones. *Magnetic Resonance in Chemistry*, **24(10)**: 875-878. doi:<https://doi.org/10.1002/mrc.1260241006>
- PROMPANYA C, DETHOUP T, BESSA LJ, PINTO MM, GALES L, COSTA PM, SILVA AM, KIJJOA A (2014). New isocoumarin derivatives and meroterpenoids from the marine sponge-associated fungus *Aspergillus similanensis* sp. nov. KUFA 0013. *Marine drugs*, **12(10)**: 5160-5173. doi:10.3390/md12105160
- PRUKSAKORN P, ARAI M, KOTOKU N, VILCHÈZE C, BAUGHN AD, MOODLEY P, JACOBS WR, KOBAYASHI M (2010). Trichoderins, novel aminolipopeptides from a marine sponge-derived *Trichoderma* sp., are active against dormant mycobacteria. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **20(12)**: 3658-3663. doi:<https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2010.04.100>

- QIAO M-F, JI N-Y, LIU X-H, LI K, ZHU Q-M, XUE Q-Z (2010). Indoloditerpenes from an algicolous isolate of *Aspergillus oryzae*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **20(19)**: 5677-5680. doi:<https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2010.08.024>
- RAI C. (2020, 02.12.2020). CURRENT NUMBER OF MARINE FUNGI. Erişim: [<http://marinefungi.org/>]. Erişim Tarihi: [19.12.2020]
- RAO KV, SADHUKHAN AK, VEERENDER M, RAVIKUMAR V, MOHAN EV, DHANVANTRI SD, SITARAMKUMAR M, BABU JM, VYAS K, REDDY GO (2000). Butyrolactones from *Aspergillus terreus*. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*, **48(4)**: 559-562. doi:10.1248/cpb.48.559
- RATEB ME, EBEL R (2011). Secondary metabolites of fungi from marine habitats. *Nat Prod Rep*, **28(2)**: 290-344. doi:10.1039/c0np00061b
- RUSSO P, FRUSTACI A, BUFALO AD, FINI M, CESARIO A (2013). Multitarget Drugs of Plants Origin Acting on Alzheimer's Disease. *Current Medicinal Chemistry*, **20(13)**: 1686-1693. doi:<http://dx.doi.org/10.2174/0929867311320130008>
- SABATIER J-M, DE WAARD M. (2013). Chapter 57 - Animal Toxins. In: *Handbook of Biologically Active Peptides (Second Edition)* Ed.: Kastin, A. J., Boston: Academic Press. 407-415.
- SAKURAI M, KOHNO J, YAMAMOTO K, OKUDA T, NISHIO M, KAWANO K, OHNUKI T (2002). TMC-256A1 and C1, new inhibitors of IL-4 signal transduction produced by *Aspergillus niger* var *niger* TC 1629. *J Antibiot (Tokyo)*, **55(8)**: 685-692. doi:10.7164/antibiotics.55.685
- SALEEM M, NAZIR M. (2015). Chapter 9 - Bioactive Natural Products from Marine-Derived Fungi: An Update. In: *Studies in Natural Products Chemistry* Ed.: Atta ur, R.: Elsevier. Vol. 45, 297-361.
- SAXENA A, KUMARI R, MUKHERJEE U, SINGH P, LAL R (2014). Draft Genome Sequence of the Rifamycin Producer *Amycolatopsis rifamycinica* DSM 46095. *Genome announcements*, **2(4)**: e00662-00614. doi:10.1128/genomeA.00662-14
- SCHARF DH, BRAKHAGE AA (2013). Engineering fungal secondary metabolism: a roadmap to novel compounds. *J Biotechnol*, **163(2)**: 179-183. doi:10.1016/j.jbiotec.2012.06.027
- SCHUEFFLER A, ANKE T (2014). Fungal natural products in research and development. *Nat Prod Rep*, **31(10)**: 1425-1448. doi:10.1039/c4np00060a
- SCHULZ B, DRAEGER S, DELA CRUZ TE, RHEINHEIMER J, SIEMS K, LOESGEN S, BITZER J, SCHLOERKE O, ZEECK A, KOCK I, HUSSAIN H, DAI J, KROHN K (2008). Screening strategies for obtaining novel, biologically active, fungal secondary metabolites from marine habitats. *Botanica Marina*, **51(3)**: 219-234. doi:<https://doi.org/10.1515/BOT.2008.029>
- SEIBERT SF, EGUEREVA E, KRICK A, KEHRAUS S, VOLOSHINA E, RAABE G, FLEISCHHAUER J, LEISTNER E, WIESE M, PRINZ H, ALEXANDROV K, JANNING P, WALDMANN H, KÖNIG GM (2006). Polyketides from the marine-derived fungus *Ascochyta salicorniae* and their potential to inhibit protein phosphatases. *Organic & Biomolecular Chemistry*, **4(11)**: 2233-2240. doi:10.1039/B601386D
- SHAABAN M, SHAABAN KA, ABDEL-AZIZ MS (2012). Seven naphtho- γ -pyrones from the marine-derived fungus *Alternaria alternata*: structure elucidation and biological properties. *Organic and Medicinal Chemistry Letters*, **2(1)**: 6. doi:10.1186/2191-2858-2-6
- SHAO C-L, WANG C-Y, GU Y-C, WEI M-Y, PAN J-H, DENG D-S, SHE Z-G, LIN Y-C (2010). Penicinoline, a new pyrrolyl 4-quinolinone alkaloid with an unprecedented ring system from

- an endophytic fungus *Penicillium* sp. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **20(11)**: 3284-3286. doi:<https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2010.04.043>
- SHAO C-L, WANG C-Y, WEI M-Y, GU Y-C, SHE Z-G, QIAN P-Y, LIN Y-C (2011). Aspergilones A and B, two benzylazaphilones with an unprecedented carbon skeleton from the gorgonian-derived fungus *Aspergillus* sp. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **21(2)**: 690-693. doi:<https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2010.12.005>
- SHEN S, LI W, WANG J (2013). A novel and other bioactive secondary metabolites from a marine fungus *Penicillium oxalicum* 0312F1. *Natural Product Research*, **27(24)**: 2286-2291. doi:10.1080/14786419.2013.827190
- SHIBATA S, MORISHITA E, ARIMA Y (1967). Metabolic Products of Fungi. XXV. Synthesis of Rubrofusarin and Its Derivatives. *CHEMICAL & PHARMACEUTICAL BULLETIN*, **15(11)**: 1757-1764. doi:10.1248/cpb.15.1757
- SHIN HJ (2020). Natural Products from Marine Fungi. *Marine drugs*, **18(5)**: 230.
- SHIRWAIKAR A, SHIRWAIKAR A, RAJENDRAN K, PUNITHA IS (2006). In vitro antioxidant studies on the benzyl tetra isoquinoline alkaloid berberine. *Biol Pharm Bull*, **29(9)**: 1906-1910. doi:10.1248/bpb.29.1906
- SILBER J, OHLENDORF B, LABES A, WENZEL-STORJOHANN A, NÄTHER C, IMHOFF JF (2014). Malettinin E, an antibacterial and antifungal tropolone produced by a marine *Cladosporium* strain. *Frontiers in Marine Science*, **1(35)**. doi:10.3389/fmars.2014.00035
- SIRIWARDANE AMDA, KUMAR NS, JAYASINGHE L, FUJIMOTO Y (2015). Chemical investigation of metabolites produced by an endophytic *Aspergillus* sp. isolated from *Limonia acidissima*. *Natural Product Research*, **29(14)**: 1384-1387. doi:10.1080/14786419.2015.1025230
- SKOV MJ, BECK JC, DE KATER AW, SHOPP GM (2007). Nonclinical safety of ziconotide: an intrathecal analgesic of a new pharmaceutical class. *Int J Toxicol*, **26(5)**: 411-421. doi:10.1080/10915810701582970
- SMETANINA OF, KALINOVSKII AI, KHUDYAKOVA YV, SLINKINA NN, PIVKIN MV, KUZNETSOVA TA (2007). Metabolites from the marine fungus *Eurotium repens*. *Chemistry of Natural Compounds*, **43(4)**: 395-398. doi:10.1007/s10600-007-0147-5
- SMETANINA OF, KALINOVSKY AI, KHUDYAKOVA YV, PIVKIN MV, DMITRENOK PS, FEDOROV SN, JI H, KWAK J-Y, KUZNETSOVA TA (2007). Indole Alkaloids Produced by a Marine Fungus Isolate of *Penicillium janthinellum* Biourge. *Journal of Natural Products*, **70(6)**: 906-909. doi:10.1021/np060396d
- SMETANINA OF, YURCHENKO AN, IVANETS EV, GERASIMENKO AV, TRINH PTH, LY BM, NHUT ND, VAN TTT, YURCHENKO EA, AFIYATULLOV SS (2017). Aromatic Metabolites of Marine Fungus *Penicillium* sp. KMM 4672 Associated with a Brown Alga *Padina* sp. *Chemistry of Natural Compounds*, **53(3)**: 600-602. doi:10.1007/s10600-017-2064-6
- SOMMART U, RUKACHAISIRIKUL V, TRISUWAN K, TADPETCH K, PHONGPAICHIT S, PREEDANON S, SAKAYAROJ J (2012). Tricycloalternarene derivatives from the endophytic fungus *Guignardia bidwellii* PSU-G11. *Phytochemistry Letters*, **5(1)**: 139-143. doi:<https://doi.org/10.1016/j.phytol.2011.11.010>
- SONG F, DAI H, TONG Y, REN B, CHEN C, SUN N, LIU X, BIAN J, LIU M, GAO H, LIU H, CHEN X, ZHANG L (2010). Trichoderma ketones A–D and 7-O-Methylkoniginin D from the

- Marine Fungus *Trichoderma koningii*. *Journal of Natural Products*, **73(5)**: 806-810. doi:10.1021/np900642p
- SONG F, LIU X, GUO H, REN B, CHEN C, PIGGOTT AM, YU K, GAO H, WANG Q, LIU M, LIU X, DAI H, ZHANG L, CAPON RJ (2012). Brevianamides with Antitubercular Potential from a Marine-Derived Isolate of *Aspergillus versicolor*. *Organic Letters*, **14(18)**: 4770-4773. doi:10.1021/ol302051x
- SONG F, REN B, CHEN C, YU K, LIU X, ZHANG Y, YANG N, HE H, LIU X, DAI H, ZHANG L (2014). Three new sterigmatocystin analogues from marine-derived fungus *Aspergillus versicolor* MF359. *Appl Microbiol Biotechnol*, **98(8)**: 3753-3758. doi:10.1007/s00253-013-5409-5
- SPRINGER JP, DORNER JW, COLE RJ, COX RH (1979). Terretonin, a toxic compound from *Aspergillus terreus*. *The Journal of Organic Chemistry*, **44(26)**: 4852-4854. doi:10.1021/jo00394a023
- STIEN D (2020). Marine Microbial Diversity as a Source of Bioactive Natural Products. *Marine drugs*, **18(4)**: 215.
- SUGANTHY N, KARUTHA PANDIAN S, PANDIMA DEVI K (2010). Neuroprotective effect of seaweeds inhabiting South Indian coastal area (Hare Island, Gulf of Mannar Marine Biosphere Reserve): Cholinesterase inhibitory effect of *Hypnea valentiae* and *Ulva reticulata*. *Neurosci Lett*, **468(3)**: 216-219. doi:10.1016/j.neulet.2009.11.001
- SUN LL, SHAO CL, CHEN JF, GUO ZY, FU XM, CHEN M, CHEN YY, LI R, DE VOOGD NJ, SHE ZG, LIN YC, WANG CY (2012). New bisabolane sesquiterpenoids from a marine-derived fungus *Aspergillus* sp. isolated from the sponge *Xestospongia testudinaria*. *Bioorg Med Chem Lett*, **22(3)**: 1326-1329. doi:10.1016/j.bmcl.2011.12.083
- SUN Y, CAI Y, HUSE SM, KNIGHT R, FARMERIE WG, WANG X, MAI V (2012). A large-scale benchmark study of existing algorithms for taxonomy-independent microbial community analysis. *Brief Bioinform*, **13(1)**: 107-121. doi:10.1093/bib/bbr009
- SUN Y, TIAN L, HUANG YF, SHA Y, PEI YH (2006). A new cyclotetrapeptide from marine fungus *Trichoderma reesei*. *Pharmazie*, **61(9)**: 809-810.
- TAKAHASHI K, SAKAI K, NAGANO Y, ORUI SAKAGUCHI S, LIMA AO, PELLIZARI VH, IWATSUKI M, TAKISHITA K, NONAKA K, FUJIKURA K, ŌMURA S (2017). Cladomarine, a new anti-saprolegniasis compound isolated from the deep-sea fungus, *Penicillium coralligerum* YK-247. *J Antibiot (Tokyo)*, **70(8)**: 911-914. doi:10.1038/ja.2017.58
- THIRUMURUGAN D, CHOLARAJAN A, RAJA SSS, VIJAYAKUMAR R. (2018). An Introductory Chapter: Secondary Metabolites. In: Ed.: InTech.
- THORNBURG CC, ZABRISKIE TM, MCPHAIL KL (2010). Deep-Sea Hydrothermal Vents: Potential Hot Spots for Natural Products Discovery? *Journal of Natural Products*, **73(3)**: 489-499. doi:10.1021/np900662k
- TIAN Y-Q, LIN X-P, WANG Z, ZHOU X-F, QIN X-C, KALIYAPERUMAL K, ZHANG T-Y, TU Z-C, LIU Y (2016). Asteltoxins with Antiviral Activities from the Marine Sponge-Derived Fungus *Aspergillus* sp. SCSIO XWS02F40. *Molecules*, **21(1)**: 34.
- TISTHAMMER K, COBIAN G, AMEND A (2015). Global biogeography of marine fungi is shaped by the environment. *Fungal Ecology*, **19**. doi:10.1016/j.funeco.2015.09.003

- TSAI P-J, TSAI T-H, YU C-H, HO S-C (2007). Comparison of NO-scavenging and NO-suppressing activities of different herbal teas with those of green tea. *Food Chemistry*: 181-187. doi:10.1016/j.foodchem.2006.08.013
- UEDA J-Y, TAKAGI M, SHIN-YA K (2010). New xanthoquinodin-like compounds, JBIR-97, -98 and -99, obtained from marine sponge-derived fungus *Tritirachium* sp. SpB081112MEf2. *The Journal of Antibiotics*, **63(10)**: 615-618. doi:10.1038/ja.2010.92
- VEDERAS J. (2009). *or an Endless Frontier ? Drug Discovery and Natural Products : End of an Era.*
- VU M, HERFINDAL L, JUVIK OJ, VEDELER A, HAAVIK S, FOSSEN T (2016). Toxic aromatic compounds from fruits of *Nartheceum ossifragum* L. *Phytochemistry*, **132**: 76-85. doi:10.1016/j.phytochem.2016.09.010
- WAINWRIGHT BJ, ZAHN GL, SPALDING HL, SHERWOOD AR, SMITH CM, AMEND AS (2017). Fungi associated with mesophotic macroalgae from the 'Au'au Channel, west Maui are differentiated by host and overlap terrestrial communities. *PeerJ*, **5**: e3532. doi:10.7717/peerj.3532
- WANG F, FANG Y, ZHU T, ZHANG M, LIN A, GU Q, ZHU W (2008). Seven new prenylated indole diketopiperazine alkaloids from holothurian-derived fungus *Aspergillus fumigatus*. *Tetrahedron*, **64(34)**: 7986-7991. doi:<https://doi.org/10.1016/j.tet.2008.06.013>
- WANG J, YAO QF, AMIN M, NONG XH, ZHANG XY, QI SH (2017). Penicillenols from a deep-sea fungus *Aspergillus restrictus* inhibit *Candida albicans* biofilm formation and hyphal growth. *J Antibiot (Tokyo)*, **70(6)**: 763-770. doi:10.1038/ja.2017.45
- WANG L, LI C, YU G, SUN Z, ZHANG G, GU Q, ZHU T, CHE Q, GUAN H, LI D (2019). Dicitrinones E and F, citrinin dimers from the marine derived fungus *Penicillium citrinum* HDN-152-088. *Tetrahedron Letters*, **60(44)**: 151182. doi:<https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2019.151182>
- WANG P, XI L, LIU P, WANG Y, WANG W, HUANG Y, ZHU W (2013). Diketopiperazine Derivatives from the Marine-Derived Actinomycete *Streptomyces* sp. FXJ7.328. *Marine drugs*, **11(4)**: 1035-1049.
- WANG R, GUO ZK, LI XM, CHEN FX, ZHAN XF, SHEN MH (2015). Spiculisporic acid analogues of the marine-derived fungus, *Aspergillus candidus* strain HDf2, and their antibacterial activity. *Antonie van Leeuwenhoek*, **108(1)**: 215-219. doi:10.1007/s10482-015-0462-y
- WANG Y-T, XUE Y-R, LIU C-H (2015). A Brief Review of Bioactive Metabolites Derived from Deep-Sea Fungi. *Marine drugs*, **13(8)**: 4594-4616. doi:10.3390/md13084594
- WANG Y, ZHENG J, LIU P, WANG W, ZHU W (2011). Three New Compounds from *Aspergillus terreus* PT06-2 Grown in a High Salt Medium. *Marine drugs*, **9(8)**: 1368-1378.
- WIESE J, OHLENDORF B, BLUMEL M, SCHMALJOHANN R, IMHOFF JF (2011). Phylogenetic identification of fungi isolated from the marine sponge *Tethya aurantium* and identification of their secondary metabolites. *Marine drugs*, **9(4)**: 561-585. doi:10.3390/md9040561
- WOESE CR, FOX GE (1977). Phylogenetic structure of the prokaryotic domain: The primary kingdoms. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **74(11)**: 5088. doi:10.1073/pnas.74.11.5088
- WU C-J, CUI X, XIONG B, YANG M-S, ZHANG Y-X, LIU X-M (2019). Terretinin D1, a new meroterpenoid from marine-derived *Aspergillus terreus* ML-44. *Natural Product Research*, **33(15)**: 2262-2265. doi:10.1080/14786419.2018.1493583

- WU G, SUN X, YU G, WANG W, ZHU T, GU Q, LI D (2014). Cladosins A–E, Hybrid Polyketides from a Deep-Sea-Derived Fungus, *Cladosporium sphaerospermum*. *Journal of Natural Products*, **77(2)**: 270-275. doi:10.1021/np400833x
- WU Z-J, OUYANG M-A, SU R-K, GUO Y-X (2008). Two New Cerebrosides and Anthraquinone Derivatives from the Marine Fungus *Aspergillus niger*. *Chinese Journal of Chemistry*, **26(4)**: 759-764. doi:<https://doi.org/10.1002/cjoc.200890142>
- WU Z-J, OUYANG M-A, TAN Q-W (2009). New asperxanthone and asperbiphenyl from the marine fungus *Aspergillus* sp. *Pest Management Science*, **65(1)**: 60-65. doi:<https://doi.org/10.1002/ps.1645>
- XIA XK, HUANG HR, SHE ZG, SHAO CL, LIU F, CAI XL, VRIJMOED LL, LIN YC (2007). (1)H and (13)C NMR assignments for five anthraquinones from the mangrove endophytic fungus *Halorosellinia* sp. (No. 1403). *Magn Reson Chem*, **45(11)**: 1006-1009. doi:10.1002/mrc.2078
- XIAOLEI Z, ZHI L, JIANGTAO G (2018). Chemistry and Biology of Secondary Metabolites from *Aspergillus* Genus. *The Natural Products Journal*, **8(4)**: 275-304. doi:<http://dx.doi.org/10.2174/2210315508666180501154759>
- XING CC, FENICAL W, JENSEN PR (1999). Halimide, a cytotoxic marine natural product, and derivatives thereof. European Patent Office Publ. of Application with search report EP19990915011.
- XU P, DING L, WEI J, LI Q, GUI M, HE X, SU D, HE S, JIN H (2020). A new aquatic pathogen inhibitor produced by the marine fungus *Aspergillus* sp. LS116. *Aquaculture*, **520**: 734670. doi:<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734670>
- XU X, ZHANG X, NONG X, WANG J, QI S (2017). Brevianamides and Mycophenolic Acid Derivatives from the Deep-Sea-Derived Fungus *Penicillium brevicompactum* DFFSCS025. *Marine drugs*, **15(2)**: 43.
- XU Z-Y, ZHANG X-X, MA J-K, YANG Y, ZHOU J, XU J (2020). Secondary metabolites produced by mangrove endophytic fungus *Aspergillus fumigatus* HQD24 with immunosuppressive activity. *Biochemical Systematics and Ecology*, **93**: 104166. doi:<https://doi.org/10.1016/j.bse.2020.104166>
- YAMADA T, KIMURA H, ARIMITSU K, KAJIMOTO T, KIKUCHI T, TANAKA R (2017). Absolute Configuration of Eight Cephalimysins Isolated from the Marine-Derived *Aspergillus fumigatus*. *ChemistrySelect*, **2(33)**: 10936-10940. doi:<https://doi.org/10.1002/slct.201702256>
- YAMADA T, MUROGA Y, JINNO M, KAJIMOTO T, USAMI Y, NUMATA A, TANAKA R (2011). New class azaphilone produced by a marine fish-derived *Chaetomium globosum*. The stereochemistry and biological activities. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **19(13)**: 4106-4113. doi:<https://doi.org/10.1016/j.bmc.2011.05.008>
- YANG S-Q, LI X-M, LI X, CHI L-P, WANG B-G (2018). Two New Diketomorpholine Derivatives and a New Highly Conjugated Ergostane-Type Steroid from the Marine Algal-Derived Endophytic Fungus *Aspergillus alabamensis* EN-547. *Marine drugs*, **16(4)**: 114.
- YAO Y, TIAN L, CAO J-Q, PEI Y-H (2007). A new piperazine-2,5-dione from the marine fungus *Gliocladium* sp. *Die Pharmazie*, **62(6)**: 478-479.
- YAO Y, TIAN L, LI J, CAO J, PEI Y (2009). Cytotoxic piperazine-2,5-dione derivatives from marine fungus *Gliocladium* sp. *Pharmazie*, **64(9)**: 616-618.

- YI M, LIN S, ZHANG B, JIN H, DING L (2020). Antiviral potential of natural products from marine microbes. *European Journal of Medicinal Chemistry*, **207**: 112790. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2020.112790>
- YIN Y, FU Q, WU W, CAI M, ZHOU X, ZHANG Y (2017). Producing Novel Fibrinolytic Isoindolinone Derivatives in Marine Fungus *Stachybotrys longispora* FG216 by the Rational Supply of Amino Compounds According to Its Biosynthesis Pathway. *Marine drugs*, **15(7)**: 214.
- YONG-CHENG L. (2007). *Pyrones in Metabolites of Marine Mangrove Endophytic Fungus(No.ZZF79) from the South China Sea*.
- YU G, WANG Y, YU R, FENG Y, WANG L, CHE Q, GU Q, LI D, LI J, ZHU T (2018). Chetracins E and F, cytotoxic epipolythiodioxopiperazines from the marine-derived fungus *Acrostalagmus luteoalbus* HDN13-530. *RSC Advances*, **8(1)**: 53-58. doi:10.1039/C7RA12063J
- YURCHENKO AN, IVANETS EV, SMETANINA OF, PIVKIN MV, DYSHLOVOI SA, VON AMSBERG G, AFIYATULLOV SS (2017). Metabolites of the Marine Fungus *Aspergillus candidus* KMM 4676 Associated with a Kuril Colonial Ascidian. *Chemistry of Natural Compounds*, **53(4)**: 747-749. doi:10.1007/s10600-017-2108-y
- ZAFFIRI L, GARDNER J, TOLEDO-PEREYRA LH (2012). History of Antibiotics. From Salvarsan to Cephalosporins. *Journal of Investigative Surgery*, **25(2)**: 67-77. doi:10.3109/08941939.2012.664099
- ZENG Q, ZHONG W-M, CHEN Y-C, XIANG Y, CHEN X-Y, TIAN X-P, ZHANG W-M, ZHANG S, WANG F-Z (2020). A new butenolide derivative from the deep-sea fungus *Aspergillus terreus* SCSIO FZQ028. *Natural Product Research*, **34(14)**: 1984-1991. doi:10.1080/14786419.2019.1569658
- ZHANG P, LI X-M, WANG J-N, LI X, WANG B-G (2015). New butenolide derivatives from the marine-derived fungus *Paecilomyces variotii* with DPPH radical scavenging activity. *Phytochemistry Letters*, **11**: 85-88. doi:<https://doi.org/10.1016/j.phytol.2014.11.014>
- ZHANG Y, LING S, FANG Y, ZHU T, GU Q, ZHU WM (2008). Isolation, Structure elucidation, and antimycobacterial properties of dimeric naphtho-gamma-pyrones from the marine-derived fungus *Aspergillus carbonarius*. *Chem Biodivers*, **5(1)**: 93-100. doi:10.1002/cbdv.200890017
- ZHANG Y, MU J, ESSMANN F, FENG Y, KRAMER M, BAO H-Y, GROND S (2017). A new quinolinone and its natural/artificial derivatives from a shark gill-derived fungus *Penicillium polonicum* AP2T1. *Natural Product Research*, **31(9)**: 985-989. doi:10.1080/14786419.2015.1045906
- ZHAO J, LI L, LING C, LI J, PANG J-Y, LIN Y-C, LIU J, HUANG R, WANG G-L, PEI Z, ZENG J (2009). Marine compound Xyloketal B protects PC12 cells against OGD-induced cell damage. *Brain Research*, **1302**: 240-247. doi:<https://doi.org/10.1016/j.brainres.2009.09.034>
- ZHAO Y, LIU D, PROKSCH P, ZHOU D, LIN W (2018). Truncateols O-V, further isoprenylated cyclohexanols from the sponge-associated fungus *Truncatella angustata* with antiviral activities. *Phytochemistry*, **155**: 61-68. doi:<https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2018.07.017>
- ZHOU X, FANG W, TAN S, LIN X, XUN T, YANG B, LIU S, LIU Y (2016). Aspernigrins with anti-HIV-1 activities from the marine-derived fungus *Aspergillus niger* SCSIO Jcsw6F30. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **26(2)**: 361-365. doi:<https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2015.12.005>

ZHU T, CHEN Z, LIU P, WANG Y, XIN Z, ZHU W (2014). New rubrolides from the marine-derived fungus *Aspergillus terreus* OUCMDZ-1925. *The Journal of Antibiotics*, **67(4)**: 315-318. doi:10.1038/ja.2013.135

ZHU TJ, DU L, HAO PF, LIN ZJ, GU QQ (2009). Citrinal A, a novel tricyclic derivative of citrinin, from an algicolous fungus *Penicillium* sp. i-1-1. *Chinese Chemical Letters*, **20(8)**: 917-920. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ccllet.2009.03.009>



ÖZGEÇMİŞ

I- Bireysel Bilgiler

Ad: İbrahim Seyda

Soyad: Uras

Doğum Yeri ve Tarihi: [REDACTED]

Uyruğu: T.C

Medeni Durumu: Bekar

Askerlik Durumu: Muaf

İletişim Adresi ve Telefon: [REDACTED]
[REDACTED]

II- Eğitimi

Doktora : Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakóltesi/Eczacılık Meslek Bilimleri Bölümü/Farmakognozi Anabilim Dalı (2017-..)

Lisans : Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakóltesi (2011 - 2016)

Yabancı Dil: İngilizce

III- Ünvanı

Araştırma Görevlisi: Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi / Eczacılık Fakóltesi / Eczacılık Meslek Bilimleri Bölümü / Farmakognozi Anabilim Dalı (2019-..)

IV- Bilimsel İlgi Alanları

Yayınları: Uras, İ, Konuklugil, B . (2021). Anticancer secondary metabolites from marine sponges . Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences , 38 (1) , 1-1 . Retrieved from <http://www.egejfas.org/tr/pub/issue/54812/677013>

Uras, İ, Ebada, SS, Konuklugil, B . Secondary metabolites of marine-derived *Aspergillus costaricensis*, Sözlü Sunum, 3rd International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences, 19 Mart 2020, 20 Mart 2020.

Uras, İ, Secondary metabolites and bioactivities of marine-derived *Aspergillus Terreus*, Sözlü Sunum, 2nd EuroGlobal Congress on Pharma, Vaccines Biotech, 11 Kasım 2019, 12 Kasım 2019.

Uras, İ, Torun, Z, Pilevneli AD, Konuklugil, B. Essential Oil Quantity And Composition From 4 Cultivars Of Organically Grown Lavender And Lavandin, Poster Sunumu, 12th International Symposium On Pharmaceutical Sciences, 26 Haziran 2018, 29 Haziran 2018.

Uras, İ. *Melissa Officinalis* L.'de YPSK-DAD Yöntemi Ile Rosmarinik Asit'in Kantitatif Tayini, Poster Sunumu, Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, 09 Nisan 2018, 12 Nisan 2018.

V- Bilimsel Etkinlikleri

Burs: İBRAHİM SEYDA URAS, Etkinlik Destekleri ve Eğitim Bursları Müdürlüğü, 2211-A Genel Yurt İçi Doktora Burs Programı, Destekleniyor, 2017 - 2, 01.10.2017 - 30.09.2021

Projeler: 114S916, Türkiye Denizlerindeki Bazı Canlılar Üzerinde Yaşayan Mantarlardan Biyoaktif Metabolitler, Uluslararası, Burslu, Sonuçlandı, ARDEB, SBAG - Sağlık Bilimleri Araştırma Destek Grubu, Projeye Katılma/Ayrılma Tarihleri: 06.12.2017 - 15.03.2019, Proje Başlangıç/Bitiş Tarihleri: 15.11.2015 - 15.04.2019.

Kurumsal (BAP), Yardımcı Personel, BAP Doktora Projesi, Yürütülen Kuruluş: Farmakognozi Anabilim Dalı, Destek Alınan Kuruluş: Ankara Üniversitesi (Yurt İçi)