

Fungal Metabolit Olarak Statinler: Aktivite, Biyosentez ve Üretim¹

Burcu Atılı², Mustafa Yamaç³

Özet

Statinler, gerek serum kolesterol seviyesini azaltarak, gerekse pleotropik etkileri ile kardiyovasküler mortalite ve morbiditenin azaltılmasında oldukça etkili olabilen önemli bir ilaç sınıfını oluşturmaktadırlar. Doğal statinler baskın çoğunluğu funguslar olan çeşitli mikroorganizmalar tarafından sekonder metabolit olarak üretilirler. Fungal fermantasyonla statin üretiminin optimizasyonu, konunun ticari önemi nedeni ile endüstriyel mikrobiyologların Dünya çapında yoğun ilgisini çekmiş olup son yıllarda konu ile ilgili pek çok çalışma literatüre katılmıştır. Bu çalışmada statinler, tıbbi önemlerinden çok bir mikrobiyal metabolit olarak biyolojik aktivite, biyosentez ve biyoteknolojik önemleri ekseninde incelenmiştir.

Anahtar kelimeler: Fungi, antihiperkolesterolemik ajan, statin

GİRİŞ

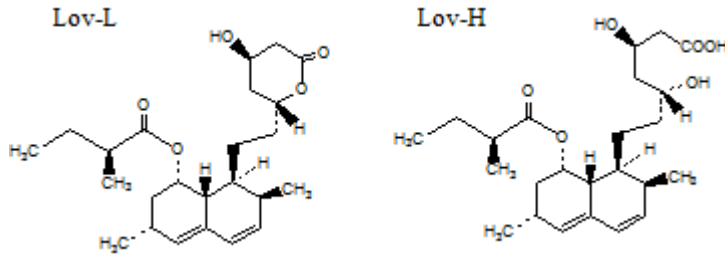
Kardiyovasküler hastalıklar günümüzde Türkiye ve Dünya'da en önde gelen ölüm nedenlerinden birisidir. Dünyada her yıl yaklaşık 17.5 milyon, ülkemizde ise 200 bin kişi koroner kalp hastalığı nedeniyle hayatını kaybetmektedir (1). Koroner kalp hastalıklarına neden olan değiştirilebilir faktörlerin başında hastalık oranını 4 kat arttıran yüksek kolesterol, hiperlipidemi gelmektedir (2). Vücut için gerekli olan kolesterol dışarıdan besin yoluyla alınabildiği gibi karaciğerde sentezi de gerçekleştirilmektedir. Bu nedenle hiperlipidemi tedavisinin ilk ve her aşamasında beslenme ve yaşam tarzı değişikliği yer almaktadır. Yapılan çok merkezli çalışmalara göre hiperlipideminin ilaç ile tedavisinde statinler; koroner kalp hastalığına bağlı morbidite ve mortaliteyi en fazla azaltmaları, yüksek lipolipidemik etkinlikleri, sık kullanılmaları ve oransal güvenilirlikleri gibi özellikleri ile ön plana çıkmaktadır (3). Statinlerin kan lipid seviyesini düşürücü etkileri, 1976 yılında Endo ve arkadaşları tarafından keşfedilmiş olup, 1979 yılında *Monascus* spp. 'nin ürettiği bir metabolitin sıçanların kanındaki yüksek lipoprotein miktarını azalttığını belirlenerek bu metabolit "monakolin" olarak adlandırılmıştır.

¹ Bu çalışma Burcu ATLI tarafından Doç. Dr. Mustafa YAMAÇ danışmanlığında tamamlanan "Fungal Fermantasyonla Statin Üretiminin Optimizasyonu" konulu yüksek lisans tezinden köken almıştır. ² Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir, ³ Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Eskişehir Yazışmadan sorumlu yazarın E-posta adresi: burcuatli2006@gmail.com

Monakolin (farmasötik adı lovastatin) sonraki yıllarda Merck şirketi tarafından "Mevacor" ismi ile ticari olarak piyasaya sürülmüştür (4). Bununla birlikte doğal üretilen statinlerin etkisini artırmak amacıyla yarı sentetik (simvastatin; "Zocor") ve sentetik (atorvastatin; "Lipitor") statinler de geliştirilmiştir. Koroner kalp hastalıklarının görülme sıklığının artmasıyla statinler en çok kullanılan ilaçlar listesinde yer almaya başlamıştır. IMS Health'ın yaptığı araştırmada dünyada en çok satılan ilaçların başında atorvastatin gelmektedir (5). Bu nedenle statinler günümüzde de hem araştırma bazında hem de piyasa bazında en ilgi çekici mikrobiyel ürünlerden birisidir. Dünyada çok ilgi gören bir konu olmasına karşın statin üretimi konusundaki biyoteknolojik araştırmalar ülkemizde yok seviyesindedir.

STATİNLERİN KİMYASAL YAPILARI

Statinler kimyasal yapılarında üç farklı bölge içerirler. Bunlar HMG-CoA enziminin substratının analogu ve bu bölgeye statini bağlayan hidrofobik halka sistemi ve farmakokinetik özelliklerini belirleyen halka yapılarına bağlı yan gruplardır (6). Tüm statinlerde ana poliketit bölgesinde bulunan hidroksi heksahidro naftalin halkası mevcuttur. Statinler β - hidroksi halkasına göre lakton (Lov-L) ve açık β - hidroksi asit form (Lov-H) yapısı göstermektedir (Şekil 1).



Şekil 1. Statinlerin temel yapısı

Statinler üretim biçimlerine bağlı olarak doğal ve sentetik statinler olmak üzere iki grupta incelenirler. Mevastatin (kompaktin) ve lovastatin doğal, atorvastatin, cerivastatin, fluvastatin, pravastatin, rosuvastatin ve simvastatin ise sentetik statinlerdendir. Lovastatin ($C_{24}H_{36}O_5$, mevastatin, monakolin K), mevastatinden farklı olarak 6- α metil grubu ve metilbütirik zincirini içerir. Lovastatin biyosentezinde önemli rol oynayan monakolin J ve L'de, lovastatinde yer alan metilbütirik zincir bulunmaz. Monakolin J'nin C8 bağlanma noktasında bir hidroksil grubu vardır (7-9). Sentetik statinlerin yapıları doğal statinlerden oldukça farklıdır. Sentetik statinlerde florofenil ve polar metan sulfonid grupları bulunmaktadır. Simvastatinde, zincirin 2. pozisyonunda bir metil grubu mevcuttur. Bu yan gruplar, lovastatin, simvastatin, fluvastatin, atorvastatine lipofilik özellik kazandırırken, rosuvastatin ve pravastatine hidrofobik özellik kazandırmaktadır. Istvan ve Deisenhofer, elektron yoğunluklu harita ile statinlerin HMG-CoA redüktaz enzimine bağlanma bölgelerini ve bunların kendi içinde farklılıklarını belirlemiştir (10). Statinlerdeki bağlantı bölgelerinin sayısı, HMG-CoA redüktaz enzimine bağlanma affinitesini belirler.

Bağlantı bölgelerinin artmasıyla HMG-CoA redüktaz enzimine bağlanma afinitesi artar. Sentetik statinlerde yer alan florofenil ve polar metan sulfomid grupları HMG-CoA redüktaz enzimine bağlanma afinitesini artırır.

STATİNLERİN BİYOLOJİK AKTİVİTELERİ

Günümüzde hiperlipidemi tedavisi amacı ile kullanılan statinler, mikroorganizmalar tarafından diğer mikroorganizmaları öldürmek veya gelişmelerini inhibe etmek için rekabet stratejisi gereği üretilen sekonder metabolitlerden birisidir. Statinler sahip oldukları biyolojik aktivitelerini, mikroorganizmalarda ergosterol, insanlarda ise kolesterol sentezini inhibe ederek gösterirler. Funguslar tarafından üretilen doğal statin olan lovastatinlerin β -hidroksi asit formu antifungal aktiviteye sahiptir. Lovastatinlerin antifungal aktiviteleri, mikrobiyal hücrelerdeki ergosterol seviyesini düşürerek mikrobiyal büyümenin inhibisyonuna dayanır (11). Durumun bir örneği olarak statinlerin HMG-CoA redüktaz enziminin aktivitesini azaltması nedeni ile miksomiset *Physarum polycephalum*'un hücre bölünmesini inhibe ettiği rapor edilmiştir (12). Yapılan bazı çalışmalarda lovastatinin bazı konsantrasyonlarının çeşitli fungal organizmaların büyümesini inhibe ettiği rapor edilmiştir (13). Bununla birlikte *Neurospora crassa*'nın β -hidroksi asit formuna karşı diğer fungal organizmalardan daha duyarlı olduğu bilinmektedir. Bu nedenle *Neurospora crassa* mikroorganizmaların lovastatin üretim potansiyellerinin araştırılmasında önemli bir test mikroorganizmasıdır (14). Lovastatinlerin β -hidroksi lakton formu suda çözünmezken, β -hidroksi asit formu suda çözünebilmektedir. Bu nedenle fermantasyon sonucunda üretilen lovastatinlerin %90'ı β -hidroksi asit formunda besiyerinde bulunmaktadır.

Statinlerin hiperkolesterolemik aktivitesi, HMG-CoA ara formunun ve statinlerin β -hidroksi asit formu arasındaki yapısal homoloji nedeniyle HMG-CoA redüktaz enziminin kompetitif inhibisyonuna dayanır. Statinlerde bulunan lakton halkası hücre içinde β -hidroksi asit formuna dönüşür. Kolesterol biyosentezinde statinlerin ilk adımı kolesterol sentezinde öncül madde olan mevolanat üretiminin azaltılmasıdır. HMG-CoA redüktaz inhibisyonuyla, izoprenoidlerin sentezi ve kolesterol sentezinde rol alan mevolanatın iki önemli ürününün yol izi etkilenir (15).

Hücre içi kolesterol sentezindeki azalmanın aktive ettiği proteaz ile sterol düzenleyici element bağlayıcı proteinler endoplazmik retikulumdan ayrılarak çekirdeğe gider ve düşük dansiteli lipoprotein (LDL) reseptör gen ekspresyonunu artırır. Bu sayede karaciğerde reseptör aracılı LDL endositozu artar ve serum LDL seviyeleri düşer. Bu şekilde statinlerin kolesterol düşürücü etkileri bir yandan hücre içi sentezi azaltıp, diğer yandan da dolaşımdaki LDL'nin hücre içine alınmasını sağlayarak gerçekleşir (3). Bu temel etkinin dışında, statinlerin pleiotropik etkiler olarak adlandırılan bir takım lipit dışı etkileri de (antioksidan, antienflamatuvar, endotel disfonksiyonunun geriletilmesi, trombüs oluşumu ve emboli üzerine etkileri söz konusudur (16). Astım, kanser (özellikle prostat, kolon kanseri), Alzheimer ve Parkinson hastalıklarında, sistemik sklerozis ve son zamanlarda gribal enfeksiyonlarda statinlerin pleiotropik etkileri vurgulanmaktadır (17).

STATİNLERİN FUNGAL BİYOSENTEZİ

Fungal lovastatinin biyosentezi asetat üniteleri ile başlar. İki poliketit zinciri bağlandıktan sonra asetat ve metiyoninden monakolin L ürünü oluşur. Monakolin L'nin monooksijenaz ile hidrosilasyonundan monakolin J oluşur. Monakolin J'nin esterifikasyonu ile son ürün lovastatin üretilir (18,19).

Lovastatin biyogenezininin araştırılmasında model organizma olarak *Aspergillus terreus* suşları kullanılmaktadır. *A. terreus*'un lovastatin üretimindeki sekonder metabolik yol izi öncül maddesi AsetilCoA olan poliketit yolizidir. Karboksilasyonu Malonil CoA formu ile yapılır. Genellikle statinlerin yan zincirinde bulunan metil grubu bazı funguslarda C6 metiyoninden türetilerek halka yapısı kapanmadan zincire eklenir. Sonra ana zincir halkasal hale geçer ve bazı statinler C8 yan zincirler tarafından esterlenir. Ana zincirdeki oksijen atomları, öncül madde de bulunan oksijenin uzaklaştırılmasıyla yapılan aerobik oksidasyondan sonra eklenir. Yapılan bazı çalışmalarda C8'in enzimatik hidrolizasyon ve sonrasında esterifikasyonun *Penicillium citrinum* ve *Monascus ruber*'de aynı olduğu görülmüştür (9).

Son zamanlarda yapılan araştırmalarda *A. terreus* ile lovastatin biyosentezinin ekspresyonu, gen regülasyonu ile birlikte enzimatik kinetikleri çalışılmıştır. Genetik çalışmalarda lovastatin üretiminde önemli rolü olan iki poliketit zincirinin mekanizmaları incelenmiştir (8, 18). *A. terreus*'un lovastatin üretimi bloke edilmiş mutant suşlarında, multifonksiyonel poliketit sentaz sistem (PKSs), lovastatin nonketit sentazdan (LNKS) oluşur. LNKS, monakolin J 'den metilbütiril yan zincir transferini sağlayan diketit sentaz (LDKS) ve heksahidronaftalin halka sistemi formundan ana poliketit zincir siklizasyonunu kapsar.

Lovastatinin nonketit formları, PKS'nin birincil yapısı ve lovastatin biyosentezi hakkında yeni bilgiler ortaya koyulmuş ve lovastatin biyosentezinde PKSs nin tüm fonksiyonu araştırılmaya çalışılmıştır (20, 21). LNKS, dihidromonakolin L'yi oluşturan biyosentetik yolizinin ilk basamağındaki reaksiyonları katalizleyen lovC ile etkileşen lovB geninin ürünüdür. Lovastatin üretimindeki son basamakta LDKS, monakolin L'den türetilen monakolin J'de ki 2-metilbütirik asitin bağlanmasını katalizleyen lovD ile etkileşen lovF tarafından yapılır. *A. terreus* ile lovastatin üretiminde düzenleyici faktörler ve bazı enzimleri kodlayan genlerin temel özellikleri araştırılmıştır. Dihidromonakolin L gibi aynı stereokimyasal halkalarla bisiklik sistem formu, *A. nidulans*'tan saflaştırılan LNKS tarafından katalizlenir. *A. terreus* ile yapılan diğer bir çalışmada lovC geni bloke edilerek lovastatin biyosentezinde rol oynayan post-PKS (post-poliketit sentaz) basamakları araştırılmıştır (22, 23). Çalışma sonucu lovC protein rolünün lovB protein yardımıyla lovastatindeki nonketit zincirin doğru eklenmesini sağladığı belirlenmiştir. Aksine LDKS (lovF protein) tarafından metilbütirat yan zincirinin yapımında lovC proteini gerekli olmadığı ve dihidromonakolin L'nin post-PKS sürecinde lovC proteinin bir fonksiyonu bulunmamıştır. Lovastatin biyosentezinde rol alan genlerden ORF1 veya lvrA geninin organizmaya lovastatine karşı direnç kazandırdığı bilinmektedir.

Lovastatine duyarlı olan *A. nidulans*'ın bu gene sahip olduktan sonra lovastatine dirençli hale geldiği Hutchinson ve ark., (23) tarafından rapor edilmiştir. *A. terreus*'un lovastatin biyosentezinde, lovastatinin kendi üretimini inhibe ettiği düşünülen geri besleme kontrol mekanizması olduğu tanımlanmıştır.

Bu geri besleme kontrol mekanizması etkisizleştirildiğinde lovastatin üretiminin artabileceği düşünülmektedir (24). Poliketit antibiyotiklerinin bu mekanizma üzerinde etkili olduğu ve lovastatin üretimini artırdığı gösterilmiştir (19).

STATİN ÜRETİCİ ORGANİZMALAR

İlk statin, 1976 yılında Akira Endo adlı bilim adamının araştırmaları sonucunda *Penicilim citrinum*'dan elde edilmiş ve "mevastatin" olarak adlandırılmıştır. Hemen ardından Madrid'te CIBE laboratuvarlarında tanımlanan *Aspergillus terreus* ve *Monascus ruber*'in statin (monakolin K) ürettiği belirlenmiş ve ilk lovastatin (mevinolin) olarak patentlenmiştir (4). Gelişen süreçte statinin önemi yavaş yavaş ortaya çıkarken tarama çalışmaları da paralel olarak hız kazanmıştır. Bu süreçte çeşitli mikroorganizma gruplarını temsil eden mikrobiyel türlerin statin ürettiği belirlenerek patent alınmıştır (Çizelge1).

Çizelge 1. Lovastatin üretimi için patent alınmış bazı üretim modelleri

Sekonder metabolit	Tür	Referans
Statin	<i>Nocardia</i> sp.	25
Schizostatin	<i>Schizophyllum commune</i>	26
Pravastatin	<i>Streptomyces</i> sp. CJPV 975652	27
Wuxistatin	<i>Amycolatopsis</i> sp.	28

Fermantasyon teknolojisinin gelişmesiyle birlikte statin üretimi yapan mikroorganizmaların belirlenmesi de hız kazanmıştır. Yapılan çalışmalarda fungal organizmalardan *Doratomyces*, *Eupenicillium*, *Gymnoascus*, *Hypomyces*, *Paecilomyces*, *Phoma*, *Trichoderma* (6), *Pleurotus* ve *Agaricus* (29)'un yanı sıra bazı aktinomisetlerin de statin ürettiği rapor edilmiştir (30). *Monascus pilosus*, *M. pubigerus*, *M. purpureus*, *M. ruber*, ve *M. vitreus*'un lovastatin üretici önemli organizmalar olduğu belirlenmiştir (31). *Monascus* türleri genellikle Uzak Doğu ülkelerinde "red koji" olarak bilinen geleneksel fermantasyonunda kullanılarak fermente gıda ürünü elde edilmektedir. *Monascus* türlerinin yanı sıra *Aspergillus* türlerinden *A. fischeri*, *A. flavipes*, *A. flavus*, *A. parasiticus*, *A. umbrosus* ve *Accremonium chrysogenum* 'un da lovastatin ürettiği bilinmektedir (32-34).

Çeşitli lovastatin üreticisi olan mikrofungus üretici organizmaları lovastatin üretimi sürecinde aflatoksin, citrinin gibi çeşitli toksik ko-metabolitlerin üretiminden dolayı bazı dezavantajlara sahip oldukları bilinmektedir. Bu nedenle son yıllarda mikrofungusların yanı sıra makrofungusların lovastatin üretim potansiyellerine yönelik çalışmalarda öne çıkmaya başlamıştır. Makrofungus izolatlarının lovastatin üretimine ilişkin bilgiler ilk kez Gunde-Cimerman ve ark. (29) tarafından literatüre kazandırılmıştır. Yapılan çalışmada *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus saca* ve *Pleurotus sapidus* türlerine ait bazı suşların lovastatin üretim potansiyelleri belirlenmiştir. *P. ostreatus* suşlarının misel ve şapka formlarının lovastatin içeriği karşılaştırıldığında, misel formunun daha fazla lovastatin içerdiği bulunmuştur. (35).

Chen ve ark., (36) tarafından yapılan çalışmada *Cordyceps sinensis* ve *Agaricus blazei*'nin misel ve *Agaricus bisporus*'un şapka formunun yüksek miktarlarda lovastatin ve GABA içerdiği rapor edilmiştir. Bununla birlikte lovastatin üretebilen makrofungusların belirlenmesine yönelik çalışmalar dünyada ve ülkemizde çok sınırlı seviyededir. Ülkemiz makrofungus suşlarının lovastatin üretim potansiyelinin belirlenmesine yönelik ilk çalışma, grubumuz tarafından gerçekleştirilmiş olup, tarama çalışmasına konu olan 136 adet makrofungus türü arasında *Omphalotus olearius* ve *Pleurotus ostreatus* türlerine ait suşların yüksek lovastatin üretim potansiyeline sahip olduğu belirlenmiştir (37).

STATİNLERİN FUNGAL FERMANTASYON İLE ÜRETİMİ

Lovastatin üretiminin endüstriyel süreci 1980 yılında *A. terreus* suşlarının kullanılmasıyla başlamıştır ("Mevacor", Merck). Sürecin gelişmesi, çeşitli karbon ve azot kaynakların etkisi, pH, oksijen ihtiyacı gibi farklı fermantasyon parametrelerinin analizini içermektedir. Tüm sekonder metabolitlerin üretiminde olduğu gibi lovastatin üretiminde de her organizma için farklı besin gereksinimleri ortaya çıkmaktadır. Fermantasyon sürecinde üretim ortamında bulunan karbon/azot kaynakları gibi büyümeyi sınırlayıcı olan besinler üretilen sekonder metabolitlerin miktarında olumlu ve olumsuz değişikliklere neden olmaktadır. Bu nedenle lovastatinin üretimi, çeşitli besinsel ve çevresel koşulların düzenlenmesi ile optimize edilmeye çalışılmaktadır. Bu amaçla gerçekleştirilen birçok çalışmada, karbon ve azot kaynaklarının tipi ve konsantrasyonları, oksijen ihtiyacı, pH, vitamin veya antibiyotik ile destekleme gibi besiyeri içeriği ve üretim koşullarının etkisi belirlenmeye çalışılmıştır. Çizelge 2'de görüldüğü üzere birçok çalışmada derin kültür fermantasyonu ile *Aspergillus terreus* tarafından lovastatin üretimi yapılmıştır.

Metkinen grup (ticari statin üreticisi), geliştirilmiş programlarda oluşturulmuş deney koşullarında *A. terreus* ATCC 20542 suşu ile lovastatin üretimini 7-8 g/L ye kadar arttırmıştır. Bu uygulama, katı substrat ve derin kültür fermantasyonlarında avantajlara sahiptir ve ürün ekstraksiyon aşamasında sürecin problemlerini en aza indirmiştir (8). Son zamanlarda araştırmacılar, tarımsal atıklar gibi ekonomik substratların kullanılabilmesi, kolay uygulanması, az enerji gerektirmesi gibi avantajlarından dolayı derin kültür fermantasyon yöntemine alternatif olan katı faz fermantasyonuna yönelmişlerdir. Katı faz fermantasyonu genel olarak endüstriyel enzimlerin üretiminde kullanılmasına rağmen günümüzde birçok sekonder metabolitin üretimi için kullanılır hale gelmiştir. Lovastatin üretimi için de katı faz fermantasyonunun etkili bir yöntem olduğu rapor edilmiştir (55). Günümüzde halen için *A. terreus* türünün çeşitli suşlarının yüksek lovastatin üretimi üzerine mutasyon gibi çeşitli stratejiler geliştirilerek sağlanmaktadır (53). Daha az maliyetli ve daha çok lovastatin üretimi hedefi ile yapılan araştırmalar sonucu günümüzde *A. terreus* ile üretilen lovastatin miktarı 16 g/L'ye ulaşmıştır. Bununla birlikte *A. terreus*'ün lovastatin üretimi için uygun koşullar pH 6.0, 28 °C'de 6 gün olarak kabul edilmiştir. Derin kültür fermantasyon sürecinde karbon kaynağı olarak laktoz ve glikoz, azot kaynağı olarak yeast ekstrakt ve pepton içeren besiyerlerinde yüksek lovastatin üretimi gerçekleşmektedir (45, 46, 48, 51). Yapılan bir çalışmada *A. terreus* için divalent metal katyonlarının (Ca^{+2} , Cu^{+2} , Fe^{+2} , Mg^{+2} , Mn^{+2} ve Zn^{+2}) fungal büyüme ve lovastatin üretimi üzerine etkisi araştırılmıştır. Fe^{+2} ve Zn^{+2} 'nin lovastatin biyosentezinde yer alan anahtar enzim görevi yapan Lov D ve Lov F'nin

üretmesinde önemli olduğunu, derin kültür fermantasyon ortamında Zn^{+2} 'nin 2-5 mM varlığında 49.2 mg/g lovastatin üretimi rapor edilmiştir (13). Katı faz fermantasyonunda substrat olarak pirincin, *Monascus* türlerinin lovastatin üretimi üzerine artırıcı etkisi (11 mg/g) olduğu rapor edilmiştir (56). Birçok çalışmada araştırılan mikrofunguslar olan *Aspergillus terreus* ve *Monascus ruber* tarafından lovastatin üretim miktarının katı substrat olarak buğday kepeği (43, 50, 55) ve buğday kepeği-arpa karışımı (57) kullanılması durumunda arttığı rapor edilmiştir. Kompaktin üretimi için *Penicillium brevicompactum* WA 2315 izolatının katı substrat olarak buğday kepeği kullanıldığında 0.678 mg/g kompaktin elde edilirken, besiyerine maltodekstrin ilavesi ile bu miktar 0.85 mg/g'a ulaşmıştır (58). Yapılan başka bir çalışmada ise (59) katı faz fermantasyonunda tutuklama yöntemiyle 7 günde 19.95 mg/g lovastatin üretimi sağlanmıştır. Bu şekilde immobilizasyon yöntemleri ile gerçekleştirilen fermantasyonlarda fungal türe ve üretilen metabolite bağlı olarak üretim verimliliğinin arttığı gözlenmiştir.

Çizelge 2. Bazı mikrofungus suşları ile lovastatin üretimi

Tür ve Suş Adı	Lovastatin miktarı (mg/l)	Literatür
<i>Penicillium citrinum</i> ML-236B	İlk Kayıt	4
<i>Penicillium citrinum</i> THOM	61	38
<i>Penicillium citrinum</i> NCIM 768	456	39
<i>Monascus ruber</i> M1005	İlk Kayıt	4
<i>Monascus ruber</i> ATCC 18199	131	40
<i>Aspergillus terreus</i> ATCC 20542 (Ticari suş)	İlk Kayıt	41
	54	42
	400	43
	84	38
	256	44
	110	45
	40	46
	230	47
	60	13
	300	48
	873	49
	0.65	50
<i>Aspergillus terreus</i> J9	1761	51
<i>Aspergillus terreus</i> JPM3	138	52
<i>Aspergillus terreus</i>	183	53

SONUÇ

Statinler çeşitli biyolojik ve farmakolojik etkileri nedeniyle önemli sekonder metabolitlerden biridir. Bu durum mikroorganizmalar tarafından üretilen doğal statinler olan lovastatin ve kompaktin üretiminin artırılmasına yönelik stratejilerin gelişimini indüklediği gibi, simvastatin ve pravastatin gibi türevlerinin sentezine yönelik çalışmaları da arttırmıştır.

Bu nedenle statinler günümüzde de hem araştırma hem de piyasa bazında en ilgi çekici mikrobiyal ürünlerden birisidir. Bu motivasyon, bir taraftan yeni statin üretici organizmaların belirlenmesine yönelik tarama çalışmalarına hız kazandırırken, diğer taraftan statin üretim verimini arttırmaya yönelik stratejilerin sayısı da gün geçtikçe artmaktadır. Günümüzde lovastatinin biyosentezi üzerine yapılan biyokimyasal ve genetik çalışmalar, ticari statinlerin üretiminin artırılması ve daha etkin biyolojik aktiviteye sahip statinlerin geliştirilmesini sağlamaktadır. Ancak hala statin üretimi ve saflaştırılması yüksek maliyetlidir. Bu nedenle daha ekonomik statin üretimi için yeni potent suşlara ve üretim tekniklerine ihtiyaç vardır. Bu nedenle metabolik avantaja sahip makrofungusların lovastatin üretim potansiyelleri, çeşitli fermantasyonlar ve biyoteknolojik teknikler ile lovastatin verimliliğinin artırılmasına yönelik çalışmalar gelecekteki araştırmaların merkezi olmaya adaydır. Ayrıca statinin üretim ortamından ekstraksiyonu ve saflaştırılmasına yönelik çalışmalar lovastatin üretim etkinliği ve maliyeti açısından önemli araştırma alanları olarak düşünülebilir.

KAYNAKLAR

1. Ulusal Kalp Sağlığı Politikası (2007).<http://www.tkd.org.tr/pages.asp?pg=276>
2. Gaw, A. (2001). Statins in General Practice, Martin Dunitz Ltd. p: 76.
3. Güleç, S. (2007). Statinlerin Etkinliği. Türk Kardiyol Dern Arfl-Arch Turk Soc Cardiol. 35 Suppl 1:8-14.
4. Endo, A. (2010). A historical perspective on the discovery of statins. Proc. Jpn. Acad., Ser. B 86 484-493.
5. IMS Health, Erişim tarihi 13 Ekim 2011.
http://www.imshealth.com/deployedfiles/imshealth/Global/Content/StaticFile/Top_Line_Data/Top_20_Global_Products.pdf
6. Samiee, S. M., Moazami, N., Haghighi, S., Mohseni, F. A., Mirdamadi, S. and Bakhtiari, M. R. (2003). Screening of Lovastatin Production by Filamentous Fungi. Iranian Biomedical Journal 7 (1): 29-33.
7. Endo, A., Hasumi, K. (1985). Dihydromonacolin L and Monacolin X, new metabolites those inhibit cholesterol biosynthesis. J Antibiot (Tokyo) 38:321–327.
8. Manzoni, M., Rollini, M. (2002). Biosynthesis and biotechnological production of statins by filamentous fungi and application of these cholesterol lowering drugs. Appl Microbiol Biotechnol. 58: 555–564.
9. Seenivasan, A., Subhagar, S., Aravindan, R., Viruthagiri, T. (2008). Microbial production and biomedical applications of lovastatin. Indian J. Pharm. Sci. 70:7 01-709.
10. Istvan, E. S., Deisenhofer, J. (2001). Structural mechanism for statin inhibition of HMG-CoA reductase. Science 292:1160–1164.
11. Macreadie, I. G., Johnson, G., Schlosser, T., Macreadie, P. I. (2006). Growth inhibition of *Candida* species and *Aspergillus fumigatus* by statins. FEMS Microbiol Lett 262 9–13.

12. Engstrom, W., Larsson, O., Sachsenmaier, W.(1989). The effect of tunicamycin, mevinolin and mevalonic acid on HMG-CoA reductase activity and nuclear division in myxomycete *Physarum polycephalum*. J. Cell. Sci. Mar. 92 (Pt3), 341–344.
13. Vilches Ferrón, M. A., Casas López, J. L., Sánchez Pérez, J. A., Fernández Sevilla, J. M. and Chisti, Y. (2005).Rapid screening of *Aspergillus terreus* mutants for over production of lovastatin. World Journal of Microbiology and Biotechnology 21: 123–125.
14. Kumar, M. S., Kumar, P. M., Sarnaik, H. M., Sadhukhan, A. K. (2000). A Rapid technique for screening of lovastatin-producing strains of *Aspergillus terreus* by agar plug and *Neurospora crassa* bioassay. Journal of Microbiological Methods 40, 99–104.
15. Barrios-González, J. and Miranda, R. U. (2010). Biotechnological production and applications of statins. Appl. Microbiol. Biotechnol. 85, 869–883.
16. İrat, A. M. ve Işık, A. C. (2006). HMG-Ko A Redüktaz inhibitörlerinin pleiotropik etkileri. Ankara Ecz. Fak. Derg. 35 (3) 197 – 209.
17. Mihos, C. G. And Santana O. (2011).Pleiotropic effects of the HMG-CoA reductase inhibitors. International Journal of General Medicine. 4:261–271.
18. Sorensen, J. L., Auclair, K., Kennedy, J., Hutchinson C. R. and Vederas J. C. (2002).Transformations of cyclicnonaketides by *Aspergillus terreus* mutants blocked for lovastatin biosynthesis at the lovA and lovC genes. Org. Biomol. Chem.1:50–59.
19. Jia, Z., Zhang, X., Zhao, Y. and Cao, X. (2010). Enhancement of Lovastatin Production by Supplementing Polyketide Antibiotics to the Submerged Culture of *Aspergillus terreus*. Appl Biochem Biotechnol. 160: 2014–2025.
20. Hendrickson, L.,Davis, C. R., Roach, C., Nguyen, D. K., Aldrich, T., McAda, P. C. and Reeves, C. D. (1999). Lovastatin biosynthesis in *Aspergillus terreus*: characterization of blocked mutants, enzyme activities and a multifunctional polyketide synthase gene. Chemistry& Biology Vol:6 No.7 p.429-439.
21. Cox, R. (2007).Polyketides, proteins and genes in fungi: programmed nano-machines begin to reveal their secrets. Org. Biomol. Chem.,5, 2010-2026.
22. Kennedy, J, Auclair, K, Kendrew, S. G., Park, C, Vederas, J. C., Hutchinson C. R., (1999).Modulation of polyketide synthase activity by accessory proteins during lovastatin biosynthesis. Science 284: 1368–1372.
23. Hutchinson, C. R., Kennedy, J., Park, C., Kendrew, S, Auclair, K. and Vederas, J., (2000). Aspects of the biosynthesis of non-aromatic fungal polyketides by iterative polyketide synthases. Antonievan Leeuwenhoek 78: 287–295.
24. Casas López, J. L., Sánchez Pérez, J. A., Fernández Sevilla, J. M., Rodríguez Porcel, E. M., Chisti, Y. (2004). Lovastatin inhibits its own synthesis in *Aspergillus terreus* J Ind Microbiol Biotechnol 31: 48–50.
25. Williamson, J. M. (1989). HMG–CoA reductase inhibitor produced by *Nocardia* sp. (MA6455). European Patent A20337548.
26. Tanimoto, T., Tsujita, Y., Hamano, K., Haruyama, H., Kinoshita, T., Hosoya, T., Kaneko, S., Tago, K., Kogen, H. (1996). Schizostatin, a potent squalene synthase

inhibitor from *Schizophyllum commune* II. Structure Elucidation and Total Synthesis. The Journal of Antibiotics p.624- 630.

27. Lee C. K., Kim D.Y., Suh J. W., Chang J. H. (2004).*Streptomyces* sp. CJPV975662 capable of converting compactin to pravastatin and Method for producing pravastatin using the same. Patent Appl. Pub. US Patent /0253692 A1.

28. Zhuge, B., Fang, H. Y., Yu, H., Rao, Z. M., Shen, W., Song, J. and Zhuge, J. (2008). Bioconversion of lovastatin to a novel statin by *Amycolatopsis* sp. Appl Microbiol Biotechnol 79: 209–216.

29. Gunde-Cimerman, N., Friedrich, J., Cimerman, A. and Benicki, N. (1993). Screening fungi for the production of an inhibitor of HMG CoA reductase: Production of mevinolin by the fungi of the genus *Pleurotus*. FEMS Microbiol. Lett. 111: 203-206.

30. Srinu, M., Phanibhushan, G. V., Moges, F., Srilakshmi, J., Sankar, G., Prabhakar, T., Lakshminarayana, K. (2010). Screening of HMG CoA a Reductase inhibitor producing marine *Actinomycetes*. JPHRC. Vol 2 (1): 66-74.

31. Miyake, T., Uchitomi, K., Zhang, M. Y., Kono, I., Nozaki, N., Sammoto, H., Inagaki, K. (2006). Effects of the Principal Nutrients on Lovastatin Production by *Monascus pilosus*. Biosci. Biotechnol. Biochem.,70 (5), 1154-1159.

32. Ahmad, A., Panda, B. P., Mujeeb, M., (2010). Screening of nutrient parameters for mevastatin production by *Penicillium citrinum* MTCC 1256 under submerged fermentation using the Plackett-Burman design. J Pharm Bioall Sci;2:44-6.

33. Chanakya, P., Latha, P. M., Manipati Srikanth M. (2011). Solid state fermentation for the production of lovastatin by *Aspergillus fischerii*. ResJPharm Sci Biotech 1: 9-13.

34. Latha P. M., Chanakya, P., Srikanth, M. (2012). Lovastatin production by *Aspergillus fischeri* under solid state fermentation from coconutoilcake. Nepal Journal of Biotechnology, Vol.2(1): 26-36.

35. Alarcón, J., Àguila, S., Arancibia-Avila, P., Fuentes, O., Zamorano-Ponce, E., Hernández M. (2003). Production and Purification of statins from *Pleurotus ostreatus* (Basidiomycetes) strains. Z. Naturforsch. 58c, 62-64.

36. Chen S., Tsai, C., Hsieh Y., Wang, L., Mau J. (2010). Lovastatin and γ -aminobutyric acid contents in mushroom fruiting body and mycelia. Food Chemistry. 289-294.

37. Atlı B, Yamaç M. (2012). Screening of Medicinal Higher Basidiomycetes Mushrooms from Turkey for Lovastatin Production, International Journal of Medicinal Mushrooms,14: (2), 149-159 (In press)

38. Shindia, A. A. (1997) Studies on mevinolin production by some fungi. Microbios 102, 53–61.

39. Chakravarti, R., Sahai, V. (2002). A chemically-defined medium for production of compactin by *Penicillium citrinum*. Biotechnology Letters 24: 527–530.

40. Chang, Y. N. , Lin, Y. C., Lee, C. C., Liu, B. L., Tzeng, Y. M. (2002). Effect of Rice-Glycerol Complex Medium on the Production of Lovastatin by *Monascus ruber*. Folia Microbiol. 47 (6), 677-584.

41. Alberts, A.W., Chen, J., Kuron, G., Hunt, V., Huff, J., Hoffman, C., J. Rothrock, Lopez M., Joshua, H., Harris E., Patchett, A., Monaghan R., Currie S., Stapley E., Albers-Schonberg, G., Hensens, O., Hirshfield, J., Hoogsteent, K., Liescht J., and Springer, J. (1980). Mevinolin: A highly potent competitive inhibitor of hydroxymethylglutaryl-coenzyme A reductase and a cholesterol-lowering agent. Proc. Natl. Acad. Sci. USA Vol. 77, No. 7, p. 3957-3961.
42. Hajjaj, H., Niederberger, P., and Duboc, P.(2001). Lovastatin biosynthesis by *Aspergillus terreus* in a chemically defined medium. Appl. Environ. Microbiol. 67, 2596-2602.
43. Szakács, G., Morovján, G., Tengerdy, R.P. (1998). Production of lovastatin by a wild strain of *Aspergillus terreus*. Biotechnol. Lett. 20, 411–415.
44. Manzoni, M., Rollini, M., Bergomi, S., Cavazzoni, V. (1998). Production and purification of statins from *Aspergillus terreus* strains. Biotechnol. Tech. 12, 529–532.
45. Shindia, A. A. (2001). Some Nutritional Factors Influencing Mevinolin Production by *Aspergillus terreus* Strain. Folia Microbiol. 46(5),413-416.
46. Casas López, J. L., Sánchez Pérez, J. A., Fernández Sevilla, J. M., Ación Fernández, F. G., Molina Grima, E., Chisti, Y. (2003). Production of lovastatin by *Aspergillus terreus*: effects of the C:N ratio and the principal nutrients on growth and metabolite production. Enzyme Microb. Technol. 33, 270–277.
47. Casas López, J. L., Sánchez Pérez, J. A., Sevilla, J. M. F., Fernández, F. G. A. and Chisti, Y. (2004). Fermentation optimization for the production of lovastatin by *Aspergillus terreus*: use of response surface methodology. J Chem Technol Biotechnol 79:1119–1126.
48. Manzoni, M., Rollini, M. (2006). Influence of medium design on lovastatin and mevastatin production by *Aspergillus terreus* strains. Annals of Microbiology, 56 (1) 47-51.
49. Lai, L. S. T., Hung, C. S., and Lo, C. C. (2007). Effects of Lactose and Glucose on Production of Itaconic Acid and Lovastatin by *Aspergillus terreus* ATCC 20542. The Society for Biotechnology, Japan. Vol. 104, No. 1, 9–13.
50. Barrios-González, J., Baños, J. G., Covarrubias, A. A. and Garay-Arroyo, A. (2008). Lovastatin biosynthetic genes of *Aspergillus terreus* are expressed differentially in solid-state and in liquid submerged fermentation. Appl Microbiol Biotechnol 79: 179–186.
51. Atalla, M. M., Hamed, E. R. and El-Shami, A. R.(2008). Optimization of a culture medium for increased mevinolin production by *Aspergillus terreus* strain. Malaysian Journal of Microbiology, Vol 4(2) p. 6-10.
52. Jaivel, N. and Marimuthu, P. (2010). Isolation and screening of lovastatin producing microorganisms. International Journal of Engineering Science and Technology Vol. 2 (7): 2607-2611.
53. Osman, M. E., Khattab, O. H., Zaghlol, G. M., Abd El-Hameed RM. (2011). Screening for the production of cholesterol lowering drugs (Lovastatin) by some fungi. Australian J Basic Appl Scie. 5(6): 698-703.

54. Jaivel, N. and Marimuthu, P. (2010). Strain improvement of *Aspergillus terreus* for increased lovastatin production. International Journal of Engineering Science and Technology Vol. 2 (7): 2612-2615.
55. Jaivel, N. and Marimuthu, P. (2010). Optimization of lovastatin production in solid state fermentation by *Aspergillus terreus*. International Journal of Engineering Science and Technology Vol. 2 (7): 2730-2733.
56. Xu B. J., Wang, Q. J., Jia, X. Q., Sung, C. K. (2005). Enhanced lovastatin production by solid state fermentation of *Monascus ruber*. Biotech. Bioproc. Eng. 10(10): 78-84.
57. Valera, H. R., Gomes, J., Lakshmi, S., Gururaja, R., Suryanarayan, S., Kumar, D. (2005). Lovastatin production by solid state fermentation using *Aspergillus flavipes*. Enzyme and Microbial Technology 37: 521–526.
58. Shaligram, N. S. (2009). Effect of precultural and nutritional parameters on compactin production by solid-state fermentation. J Microbiol Biotechnol 19:690.
59. Pandey, A., Soccol, C. R., Larroche, C. (2008). Production of antibiotics and other commercially, p314. Current Developments in Solid-State Fermentation. XI, p517.