

T.C.
BİTLİS EREN ÜNİVERSİTESİ VE FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

BAZI SCHIFF BAZLARININ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* KÜLTÜR
ORTAMLARINDA BAZI BİYOKİMYASAL PARAMETRELER ÜZERİNE ETKİLERİ

Nesrin BOZHAN

HAZİRAN 2017

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

BAZI SCHIFF BAZLARININ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* KÜLTÜR
ORTAMLARINDA BAZI BİYOKİMYASAL PARAMETRELER ÜZERİNE ETKİLERİ

Hazırlayan
Nesrin BOZHAN

Danışman
Doç. Dr. Ayşe Dilek ÖZŞAHİN KİREÇCİ

Jüri Üyeleri
Prof. Dr. Ökkeş YILMAZ
Doç. Dr. Ayşe Dilek ÖZŞAHİN KİREÇCİ
Doç. Dr. Songül ÇANAKCI GÜLENGÜL

HAZİRAN 2017

Nesrin BOZHAN tarafından hazırlanan “**Bazı Schiff Bazlarının *Saccharomyces cerevisiae* Kültür Ortamlarında Bazı Biyokimyasal Parametreler Üzerine Etkileri**” adlı tez çalışması ~~29./06/2017~~ tarihinde yapılan sınavla aşağıdaki jüri tarafından oybirliği/oyçokluğu ile Bitlis Eren Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı'nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Ökkeş YILMAZ

(Başkan)

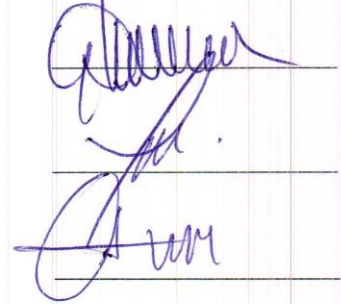
Doç. Dr. Ayşe Dilek ÖZŞAHİN KİREÇCİ

(Danışman)

Doç. Dr. Songül ÇANAKCI GÜLENGÜL

(Üye)

İmza



Bu tezin kabulü, Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun ~~14.08.2019~~ gün ve ~~30/17~~ Sayılı kararı ile onaylanmıştır.



Doç. Dr. Koray KÖKSAL
Enstitüsü Müdürü

ÖZET

BAZI SCHIFF BAZLARININ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* KÜLTÜR ORTAMLARINDA BAZI BİYOKİMYASAL PARAMETRELER ÜZERİNE ETKİLERİ

Nesrin BOZHAN

Yüksek Lisans Tezi

Bitlis Eren Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Ayşe Dilek ÖZŞAHİN KİREÇCİ

Haziran 2017, 64 sayfa

Yeni sentezlenmiş bazı Schiff bazlarının kullanılmadan önce canlılar üzerindeki biyokimyasal etkilerinin incelenmesi gerekir. Bu amaçla *Saccharomyces cerevisiae* en önemli hücre modeli içinde yer alır. *S. cerevisiae*'daki metabolik özellikler, yüksek yapılı organizmalara benzerlik gösterdiği için elde edilen sonuçlar da paralellik göstermektedir. Çalışmada; yeni sentezlenmiş Schiff bazlarının *S. cerevisiae* BY4741 kültür ortamlarında lipit peroksidasyon (MDA), total protein ve glutatyon analizleri yapılmıştır. Bu amaçla; deneyde kullanılan *S. cerevisiae* BY4741'in gelişimi ve çoğalması için YEPD besiyeri ortamı hazırlandı. Uygulama grupları için; schiff bazların her birinden 2ppm, 4 ppm ve 8 ppm olacak şekilde kültür ortamına ilave edildi. Elde edilen süpernatant ile; GSH, total protein ve MDA analizleri yapıldı. Lipid peroksidasyon sonuçları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında schiff bazı gruplarının lipit peroksidasyon önleme etkilerinin olmadığı belirlenirken, yeni sentezlenen schiff bazlarının kontrol grubuna göre glutatyon ve total protein miktarlarının oldukça belirgin düzeyde yüksek olduğu saptandı ($p<0.0001$). Sonuç olarak; yeni sentezlenmiş Schiff bazlarının *S. cerevisiae*'nın biyokimyasal ve savunma sistemi üzerinde farklı etkilere sahip olduğu gözlemlendi. Özellikle antioksidan savunma sistemi üzerinde açığa çıkan sonuçların diğer canlı modelleri üzerindeki benzer çalışmalara kaynak olacağı ve *in vivo* sistemler kullanılarak yapılacak ileriki çalışmalara destek olarak, literatür bilgisine katkıda bulunulacağı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Schiff bazı, *Saccharomyces cerevisiae*, MDA, GSH, Yağ asidi

ABSTRACT

THE EFFECTS OF SOME SCHIFF BASES ON SOME BIOCHEMICAL PARAMETERS IN *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* CULTURAL ENVIRONMENTS

Nesrin BOZHAN

Master Thesis

Bitlis Eren University Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biology

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Ayşe Dilek ÖZŞAHİN KİREÇÇİ

June 2017, 64 pages

Biochemical effects of newly synthesized some Schiff bases on living creatures need to be investigated before using them. For this purpose, *Saccharomyces cerevisiae* is involved in the most important cell model. Because metabolic properties of *S. cerevisiae* are similar to the highly organized organisms, the results show parallelism, as well.

In the present study; lipid peroxidation (MDA), total protein, and glutathione analyses of newly synthesized Schiff bases were conducted in *S. cerevisiae* BY4741 culture media. For this purpose, YEPD medium was prepared for development and growth of *S. cerevisiae* BY4741 used in the experiment. 2ppm, 4 ppm, and 8 ppm from each of Schiff bases were added in to culture medium for application groups. GSH, total protein and MDA analyses were carried out with the obtained supernatant. When the results of lipid peroxidation were compared with the control group, it was determined that the schiff base groups had no lipid peroxidation inhibition effects, and the newly synthesized schiff bases were found to have significantly higher amounts of glutathione and total protein than the control group ($p < 0.0001$). As a result, newly synthesized Schiff bases were determined to have different effects on biochemical and defense system of *S. cerevisiae*. In particular, the results of the antioxidant defense system will be a source for similar studies on other living models and will contribute to the knowledge of the literature as support for future studies using *in vivo* systems.

Key Word: Schiff base, *Saccharomyces cerevisiae*, MDA, GSH, Fatty acids

TEŐEKKÖR

Tez alıőması sırasında her tÖrlÖ bilgi, teővik ve deneyimleri ile yardımlarını esirgemeyen danışman hocam Sayın Doç. Dr. Ayşe Dilek ÖZŞAHİN KİREÇCİ'ye, tez çalıőmamda kullandığım Schiff bazlarının sentezini gerçekleőtiren Bitlis Eren Öniversitesi Fen Edebiyat FakÖltesi Kimya BÖlÖmÖ Öğretim Öyelerinden Sayın Yrd. Doç. Dr. Engin YILMAZ'a, laboratuvar çalışmalarında desteklerini ve yardımlarını esirgemeyen Fırat Öniversitesi Fen Edebiyat FakÖltesi Biyoloji BÖlÖm Baőkanı Sayın Prof. Dr. Ökkeş YILMAZ'a, Dr. Zehra GÖKÇE'ye, tezimi bitirmemde bana maddi destek sağlayan Bitlis Eren Öniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BEBAP 2016.04) Birimi'ne, hayatım boyunca her tÖrlÖ maddi ve manevi desteğini Özerimden esirgemeyen Babam Mehmet BOZHAN, Annem Raife BOZHAN ve sevgili kardeőlerime teőekkÖr ederim.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

Sayfa

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ	vii
SİMGELER DİZİNİ	viii
KISALTMALAR DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
1.1. Schiff Bazları	1
1.2. Maya Hücresi (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>)	2
1.3. Analiz Edilen Biyokimyasal Parametreler	4
1.3.1. Proteinler	4
1.3.2. Glutatyon	5
1.3.3. Lipitler	7
1.3.3.1. Yağ Asitleri	9
1.3.3.2. Lipit Peroksidasyonu ve Malondialdehit	10
1.3.3.3. Steroller ve Fitosteroller	12
1.3.4. Vitaminler	13
1.3.4.1. D Vitamini	13
1.3.4.2. E Vitamini	14
1.3.4.3. K Vitamini	14
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	16
3. MATERYAL VE YÖNTEM	18
3.1. Materyal	18
3.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Organik Çözücüler	18
3.1.2. Kullanılan Alet ve Cihazlar	18

3.1.3. Schiff Bazları	19
3.1.4. Kullanılan Maya.....	20
3.2. Yöntem.....	20
3.2.1. Schiff Bazı Solüsyonlarının Hazırlanması	20
3.2.2. In Vitro Maya Kültür Ortamının Hazırlanması	21
3.2.3. Biyokimyasal Analizler	22
3.2.3.1. GSH ve GSSG Miktarının HPLC Cihazında Ölçülmesi	23
3.2.3.2. Total Protein Düzeyinin Ölçümü	23
3.2.3.2.1. Protein Kalibrasyon Eğrisinin Oluşturulması	24
3.2.3.3. Lipit Peroksidasyon Miktarının Ölçülmesi	25
3.2.3.4. Maya Hücre Peletlerinin Lipit Ekstraksiyonu	25
3.2.3.4.1. Yağ Asidlerinin Metil Esterlerinin Hazırlanması	26
3.2.3.4.2. Yağ Asidi Metil Esterlerinin Analizi	26
3.2.3.5. Vitamin ve Sterollerin HPLC Cihazı ile Analizi	27
3.3. İstatistik Analizi	27
4. BULGULAR	28
4.1. Schiff Bazlarının <i>Saccharomyces cerevisiae</i> BY4741 Hücresinin Lipit Peroksidasyon Düzeyi Üzerine Etkisi.....	28
4.2. Schiff Bazlarının <i>Saccharomyces cerevisiae</i> BY4741 Hücresinin GSH ve GSSG Seviyesi Üzerine Etkisi.....	29
4.3. Schiff Bazlarının <i>Saccharomyces cerevisiae</i> BY4741 Hücresinin Total Protein Seviyesi Üzerine Etkisi.....	32
4.4. Schiff Bazlarının <i>Saccharomyces cerevisiae</i> Hücresinin Yağ Asidi Seviyesi Üzerine Etkisi.....	34
4.5. Schiff Bazlarının <i>Saccharomyces cerevisiae</i> Hücresinin Lipofilik Vitaminler ve Fitosterol Seviyesi Üzerine Etkisi.....	38
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	42
5.1. Sonuçlar	42
5.2. Öneriler	46
KAYNAKLAR.....	48
ÖZGEÇMİŞ	65

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>ŞEKİL</u>	<u>Sayfa</u>
1.1. Schiff bazı oluşum mekanizması	1
1.2. Transaminasyon tepkimesi	2
1.3: A. <i>S. cerevisiae</i> 'nın taramalı elektron mikroskobu görüntüsü	3
B. <i>S. cerevisiae</i> 'nin transmisyon elektron mikroskobu görüntüsü	3
1.4. Proteinin genel yapısı	5
1.5. Glutasyon'un (GSH) yapısı; L- γ -glutamil-L-sisteinilglisin.....	6
1.6. GSH-GSSG döngüsü	7
1.7. Yağ sentez reaksiyonu	8
1.8. Sterollerin kimyasal yapıları.....	12
1.9. D vitamininin kimyasal yapısı.....	13
1.10. E vitamininin kimyasal yapısı	14
1.11. K vitamininin kimyasal yapısı.....	15
3.1. Çalışmada kullanılan Schiff bazlarının yapısal formülleri ve molekül ağırlıkları	18
3.2. Laboratuvarda hazırlanan <i>Saccharomyces cerevisiae</i> grupları	22
3.3. Protein Kalibrasyon Eğrisi	25
4.1. Schiff Bazlarının <i>Saccharomyces cerevisiae</i> BY4741 hücreesindeki MDA-TBA miktarı üzerine etkisi	29
4.2. Schiff Bazlarının <i>Saccharomyces cerevisiae</i> BY4741 hücreesindeki Glutasyon miktarı üzerine etkisi	31
4.3. Schiff Bazlarının <i>Saccharomyces cerevisiae</i> BY4741 hücreesindeki GSSG miktarı üzerine etkisi	32
4.4. Schiff Bazlarının <i>Saccharomyces cerevisiae</i> BY4741 hücreesindeki total protein miktarı üzerine etkisi.....	34
4.5. Schiff Bazlarının <i>Saccharomyces cerevisiae</i> BY4741 hücreesindeki α -tokoferol miktarı üzerine etkisi	39

ÇİZELGELER DİZİNİ

ÇİZELGE

Sayfa

1.1. Bazı önemli yağ asitleri	10
3.1. Analizlerde kullanılan kimyasal maddeler ve organik çözücüler.....	18
4.1. Schiff Bazlarının <i>Saccharomyces cerevisiae</i> BY4741 hücresindeki MDA düzeyi üzerine etkisi.....	28
4.2. Schiff Bazlarının <i>Saccharomyces cerevisiae</i> BY4741 hücresindeki GSH ve GSSG düzeyi üzerine etkisi	30
4.3. Schiff Bazlarının <i>Saccharomyces cerevisiae</i> BY4741 hücresindeki Total Protein düzeyi üzerine etkisi	33
4.4. Schiff Bazlarının <i>Saccharomyces cerevisiae</i> hücresindeki yağ asidi içeriği (%).....	37
4.5. Schiff Bazlarının <i>Saccharomyces cerevisiae</i> BY4741 hücresindeki α -tokoferol düzeylerinin değişimi ($\mu\text{g/g}$)	38
4.6. Schiff Bazlarının <i>Saccharomyces cerevisiae</i> hücresindeki Lipofilik vitamin ve fitosterol düzeyi üzerine etkisi.....	41

SİMGELER DİZİNİ

C	Karbon
°C	Santigrat derece
dk	Dakika
ml	Mililitre
mmol	Milimol
µgr	Mikrogram
µl	Mikrolitre
µM	Mikromolar
N	Azot
O	Oksijen
OD	Optikal Dansite
ppm	Parts per million
rpm	Dakikada devir sayısı
S	Kükürt
sn	Saniye
%	Yüzde

KISALTMALAR DİZİNİ

Vd.	Ve diğlereri
<i>A.tumefaciens</i>	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>
<i>B. subtilis</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
BHT	Butylated hidroksitoluen
<i>C. albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
E ₁	2-(2-(3 hydroxy-4- methoxyphenyl) ethlidene) hydrazinecarbothioamide
E ₂	2-(2-(4benzyloxy)-3-methoxyphenyl) ethlidene)hydrazinecarbothioamide
E ₃	2-(2-(4benzyloxy-3- methoxyphenyl) ethlidene)hydrazinecarboxamide
<i>E. faecalis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
<i>H. influenzae</i>	<i>Haemophilus influenzae</i>
<i>H. oryzae</i>	<i>Helminthosporium oryzae</i>
HClO ₄	Perklorik asit
GSH	İndirgenmiş Glutatyon
GSSG	Okside Glutatyon
GSH-Px	Glutatyon peroksidaz
LPO	Lipit peroksidasyonu
MDA	Malondialdehit
<i>P. aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>P. mirabilis</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
PUFA	Polyunsaturated Fatty Acids
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>S.cerevisiae</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>S. faecalis</i>	<i>Streptococcus faecalis</i>
<i>S. pneumonia</i>	<i>Streptococcus pneumonia</i>
TBA	Tiyobarbitürük asit
vd.	Ve diğlereri
YEPD	Yeast Extract Peptone Dextrose

1. GİRİŞ

1.1. Schiff Bazları

İlk kez 1864'te Alman kimyacı H. J. Schiff tarafından bir primer amin ve bir aktif karbonil grubunun kondensasyonundan elde edilen ve azometin grubu içeren bileşiklere "Schiff Bazları" denir (Tüzün 1996). İlk defa 1930'larda Pfeiffer ve arkadaşları tarafından kullanılmışlardır (Ölmez ve Yılmaz 1998). Bu koordinasyon bileşikleri açısından önemli bir olaydır. Çünkü o güne kadar bilim adamları $-NH_2$, H_2N-NH_2 , $C_2O_4^{2-}$ ve CN^- gibi küçük moleküllu ligandları kullanmak zorundaydılar.

Schiff bazlarının oluşum mekanizmaları ve kompleks oluşturma özellikleri geniş çaplı incelenmiştir. Aminotioller, o-aminofenoller, α -amino asitler ve amino alkollere, asetil aseton veya salisilaldehit katılmasından türetilbilir (Şener 1999). İyi bir azot donör ligandı ($-C=N-$) olarak bilinen bu ligandlar koordinasyon bileşiğinin oluşumu esnasında metal iyonuna bir veya daha fazla elektron çifti verir. Schiff bazlarının kararlı 4, 5 veya 6 halkalı kompleksler oluşturabilmesi için, azometin grubuna mümkün olduğu kadar yakın ve yer değiştirebilir hidrojen atomuna sahip ikinci bir fonksiyonel grubun bulunması gereklidir. Bu grup tercihen hidroksil grubudur (Patai 1970). $RCH=NR'$ genel formülüyle gösterilebilir, bu formülde R ve R₁ (R') alkil veya aril süstitüentleridirler.



Şekil 1.1. Schiff bazı oluşum mekanizması

Schiff bazlarının ve metal komplekslerinin kullanım sahası oldukça geniş olup biyolojik ve yapısal önemlerinden dolayı üzerinde çok çalışılan bileşiklerdir (Helmut vd. 1976, Metzler vd. 1980). Endüstride ve biyolojik sistemlerdeki önemi giderek artmaktadır. Schiff bazları yapılarında bulunan gruptan dolayı elde edilen metal kompleksleri renkli maddeler

olduğundan boya endüstrisinde pigment boyar maddesi olarak kullanılmaktadır. İlaç sanayinde, tıpta, tarım alanında, roket yakıtı hazırlanmasında, biyolojik olayların açıklanmasında ve daha birçok alanda bu bileşiklerden yararlanılmaktadır (Zeishen vd. 1987, Zeishen vd. 1990, Dığrak vd. 1997).

Günümüzde farmakolojide, hastalıkların teşhis ve tedavisinde kullanımları önem kazanmıştır. Özellikle kükürt içeren Schiff bazı metal komplekslerinin antikanser etkinlikleri belirlendikten sonra bu komplekslere olan ilgi artmaya başlamıştır (Klayman vd. 1983, Scovill vd. 1982, Mirabelli vd. 1987, Patel vd. 1989, Kim ve Yoong-He 1992, Amirkhanov vd. 1999). Platin komplekslerinin antitümöral aktivite gösterdiği, metal içerikli bileşiklerinin önemli ölçüde antiviral etkilerinin olduğu bilinmektedir (Kuduk vd. 1994 , Jianhua vd. 2003).

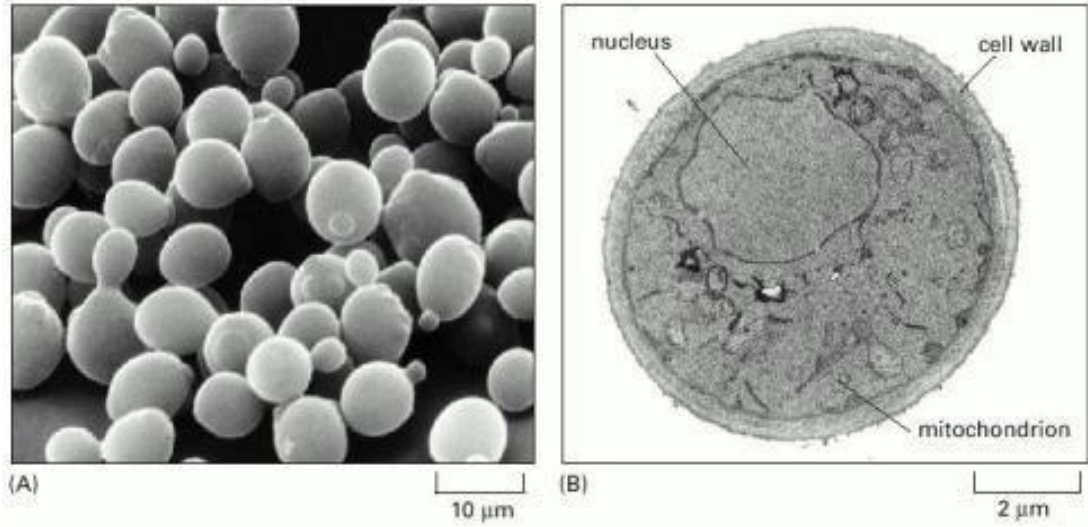
Ayrıca Schiff bazları, aminoasit biyosentezinde önemli rol oynarlar. α -Amino asitlerin (RCH (NH₂) COOH) biyosentezinde önemli ara bileşikler olup organizmada protein sentezinde kullanılmaktadır. Yiyeceklerin gerekli miktarlarda amino asit içermemesi durumunda organizma ihtiyaç fazlası bir amino asidi transaminasyon tepkimesiyle gereksinim duyduğu amino aside dönüştürür. Bu tepkimede ihtiyaç fazlası amino asidin amino grubu bir keto-aside taşınır. Organizma için önemli olan bu transaminasyon reaksiyonunun bir dizi Schiff bazı ara ürünü üzerinden yürüdüğü düşünülmektedir (Şekil 1.2) (Koçer 2012).



Şekil 1.2. Transaminasyon tepkimesi

1.2. Maya Hücresi (*Saccharomyces cerevisiae*)

Saccharomyces cerevisiae, fungus ailemine ait tomurcuklanan bir maya türüdür (Barnett ve Robinow 2002). Ekmek veya bira mayası olarak da isimlendirilmektedir. Boyutları bakterilerden daha büyük, tek hücreli, genellikle elips şeklinde, 10-30 μm uzunluğunda ve 2-6 μm genişliğinde olan canlılardır (Cabaroğlu ve Yılmaztekin 2010).



Şekil 1.3: A. *S. cerevisiae*'nin taramalı elektron mikroskobu görüntüsü (Alberts vd.2002)
B. *S. cerevisiae*'nin transmisyon elektron mikroskobu görüntüsü (Alberts vd.2002)

S. cerevisiae, canlı veya kuru olarak %20-40 oranında karbonhidrat içermektedir. Büyük çoğunluğu maya hücre duvarında bulunan beta-glukan ve mannan polisakkaritlerini bulundurması bakımından önemlidir. Çünkü bu polisakkaritler bağışıklık sisteminde ve sindirim sisteminde patojenik bakterilerin oluşumunu önlemede etkilidir. Hayvanların besini olarak çok tercih edilen besin kaynağıdır. Kolay ulaşılabilir ve besin değerinin yüksek olmasından dolayı tercih edilmektedir (Yağmur 2006).

Yapılan araştırmalarda %50'den fazla protein içerdiği, hem hayvanlar hem insanlar için zengin protein kaynağı olduğu belirlenmiştir (Rose 1979). Maya proteinlerinin sindirim ve emilimleri %80-90 arasındadır. Ayrıca lizin aminoasit miktarı oldukça yüksektir (Köksal 1980).

S. cerevisiae, hayvanlar için iyi bir protein kaynağı olması yanı sıra karakteristik olarak iyi bir aminoasit dengeleyicidir (özellikle Lizin ve Methionin aminoasitleri için). Yine vitamin B kompleksi bakımından özellikle, Thiamin, Riboflavin, Niasin, Pantotenik asit (B5 vitamini) ve Inositol (B7 vitamini) bakımından zengindir. Hatta sterol yapıcı D vitamini bakımından iyi bir besin kaynağıdır. Ayrıca enfeksiyonlara karşı dayanıklıdır, içerdiği maddeler bağışıklığını artırmaktadır (Yağmur 2006).

S. cerevisiae moleküler biyoloji, genetik, biyokimya ve metabolik çalışmalarda en fazla kullanılan eukaryotik hücre modelleri içinde yer almaktadır. *S. cerevisiae*; mantarlar, bitkiler ve hayvansal organizmalar üzerinde yapılan genomik, proteomik ve metabolik çalışmalarda

muhtemel biyolojik mekanizmaların ortaya çıkarılmasında en iyi karakterize edilen organizma olarak kabul edilmektedir (Braconi vd. 2006, Braconi vd. 2015).

Maya hücrelerinden *S. cerevisiae* (ekmek mayası), ksenobiyotik ve diğer toksik maddelerin etkilerinin incelenmesinde en iyi eukaryotik hücre modeli olarak görülmektedir (Ribeiro vd. 2000). Hücre döngüsünün araştırılmasında sıklıkla kullanılmaktadır. Çünkü kültürünün elde edilmesi oldukça kolaydır (Cabaroğlu ve Yılmaztekin 2010).

Genetik yapısından dolayı *S. cerevisiae* yararlı bir araştırma mikroorganizmasıdır. Örneğin; Carnegie Mellon Üniversitesi'nde Woolford Laboratuvarı'ndaki bilim adamları bu mikroorganizmayı ribozomla ilgili genetik çalışmalar için kullanmışlardır. Hücre genetiğinin ve fizyolojisinin yapısı ve organizasyonu hakkındaki temel bilgilerin geliştirilmesinde çok önemli bir yeri vardır (Anonim 2016a). İnsan biyolojisinde önemli yeri olan birçok protein (hücre döngüsü proteinleri, sinyal iletimi yapan proteinler ve protein işleme proteinleri) öncelikle mayada bulunan karşılıklarının araştırılması sonucunda bulunmuştur (Yağmur 2006).

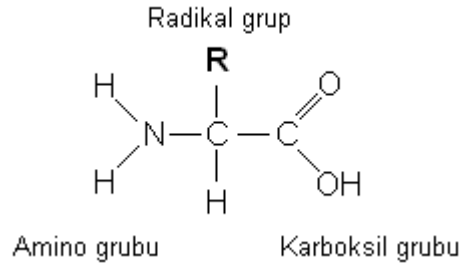
Bu deneysel çalışmada, yeni sentezlenen bazı Schiff bazlarının *S. cerevisiae* BY4741 ve *S. cerevisiae* maya hücrelerindeki biyokimyasal parametreleri üzerine olan etkileri araştırılmıştır.

1.3. Analiz Edilen Biyokimyasal Parametreler

1.3.1. Proteinler

Proteinler aminoasit adı verilen ve bilinen yirmi amino asidin uzun ve karmaşık polimerleridir. Hücrede hem yapısal hem de katalitik (enzimatik) roller üstlenirler. Ortalama bir hücre, binlerce farklı protein içerir (Madigan ve Martinko 2010). Karbonhidratlar ve yağlardan daha karmaşık olan proteinler canlı materyalin yapısında ve işlevinde temeldir. Doğrudan hücrenin ince kimyasının kontrolünden sorumludur, binlerce farklı formda bulunurlar.

Tüm proteinler karbon, hidrojen, oksijen ve azot elementi içermekte olup birçok protein kükürt de içerir. Bu elementler, proteinlerin yapıtaşları olan ve aminoasit olarak adlandırılan birimleri oluşturmak üzere birleşirler. Buna ek olarak her biri bir amino grubuna (NH₂) sahiptir. COOH ve -NH₂ grupları aynı karbon atomuna bağlıdır. Son olarak her bir amino asit R ile gösterilen bir yan zincire sahiptir (Şekil 1.4)



Şekil 1.4. Proteinin genel yapısı

Çeşitli amino asitlerin yan zincirleri büyük ölçüde farklılık gösterirler. R grupları her amino aside farklı karakteristikler verir, karşılığında bunlar oluşturdukları proteinlerin özelliklerine büyük ölçüde etki ederler. Örneğin bazı aminoasitler sahip oldukları R grupları pH 6.5-7 de nonpolar olduğu için suda çözünmezlerken diğer amino asitler suda çözünürler; çünkü R grupları polardır. Amino asitler -COOH ve -NH₂ grupları arasındaki kondensasyon tepkimeleri ile bağlanırlar. Bu bağlar peptit bağları olarak ve oluşturdukları zincirler de polipeptit zincirleri olarak isimlendirilir.

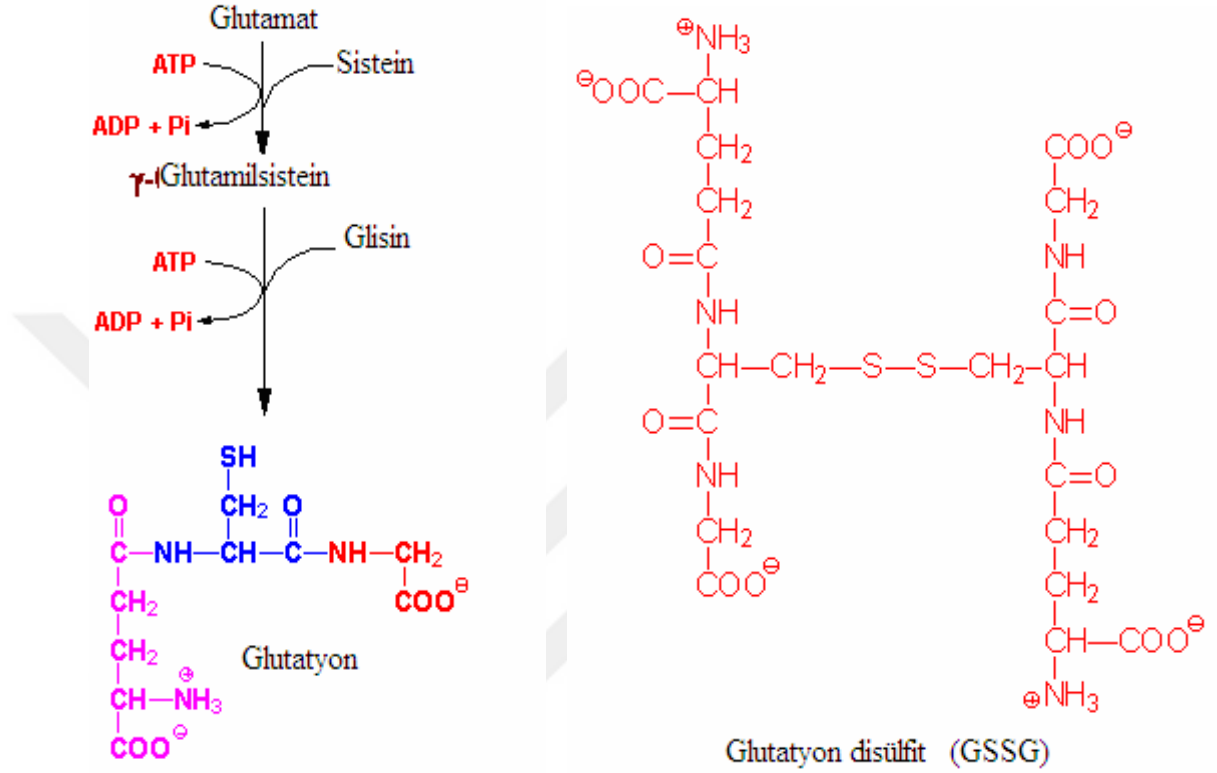
Proteinler basitçe dizilmiş düz amino asit zincirleri değildir. Her protein, kendine has biyolojik özelliklerini belirlemede çok önemli rol oynayan çok karmaşık konformasyonlar oluşturmak üzere, kıvrılıp katlanırlar. Bu üç boyutlu yapının çoğu proteindeki peptitler arası zayıf etkileşimlerin sonucudur (Keeton vd. 2003).

1.3.2. Glutasyon

Glutasyon (GSH); hücrede suda çözünebilir formda bulunan antioksidan bir maddedir (Travacío vd. 2000). Sitozolda, çekirdekte ve mitokondride bol miktarlarda bulunur (Shen vd. 2005).

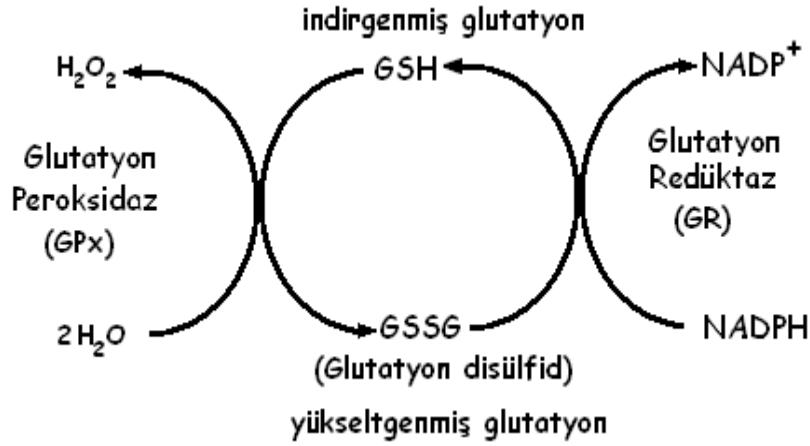
Bütün hücrelerin temel bileşiklerinden olan GSH'nın indirgeyici özelliği vardır. Yapısında bulunan sistein aminoasidi tarafından sağlanan sülfhidril (tiyol) grubu vasıtasıyla gerçekleşir (Champe ve Harvey 1997, Fırat 1997, Yanbeyi 1999). L-sistein, L-glutamat ve L-glisin amino asitlerinden oluşur. Glutamat ve sistein amino asitleri arasında γ -peptid bağı içeren bir tripeptittir. Bu bağ, GSH'ı peptidazların hidrolitik etkilerinden korur. Glutasyon genellikle tüm hücrelerde milimolar (mM) düzeylerde bulunmaktadır. (Travacío vd. 2000, Sen 1997).

Dokularda indirgenmiş (redükte) ve yükseltgenmiş (okside) olarak iki formda bulunmaktadır. Redükte glutatyon GSH, yükseltgenmiş glutatyon ise GSSG olarak belirtilir (Şekil 1.5). Hücrede %95'i GSH, %5'lik kısmı ise GSSG şeklinde bulunmaktadır. Glutatyon, bir bileşiği indirgediğinde kendisi oksitlenmektedir (Menguy 1974).



Şekil 1.5. Glutatyon'un (GSH) yapısı; L- γ -glutamil-L-sisteinilglisin

Glutatyon redüktaz, glutatyon peroksidaz aracılığıyla, hidroperoksitlerin indirgenmesi sonucu oluşan GSSG'nin tekrar GSH'ya dönüşümü reaksiyonunu katalize eder. GSSG'nin ilerde kullanılmak üzere tekrar GSH'a dönüştürülmesi gerekmektedir (Şekil 1.6).



Şekil 1.6. GSH-GSSG döngüsü

GSH'ın yüksek konsantrasyonda ve GSSG'nin düşük düzeylerde olması organizmanın yaşamı için gereklidir. Yüksek düzeyde GSSG konsantrasyonu birçok enzimi oksidatif hasara uğratabilir (Reiter vd. 1997). GSH içerdiği tiyol grubu aracılığı ile hücre içinde redoks potansiyeli yüksek bir ortam sağlayarak, serbest radikal ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreyi oksidatif hasara karşı korur. Hemoglobinin oksitlenerek methemoglobine dönüşümünün engellenmesinde, proteinlerdeki sülfidril gruplarının redükte halde tutulmasında, yabancı bileşiklerin detoksifikasyonunda ve aminoasitlerin membranlardan transportunda rol oynamaktadır. Bu nedenle GSH çok önemli bir antioksidan olarak kabul edilmektedir (Reiter vd. 1997).

1.3.3. Lipitler

Hücrelerin zorunlu bileşenlerinden birisi olan lipitler amfipatik makromoleküllerdir. Amfipatik molekül, hem hidrofilik, hem de hidrofobik özellikler taşır. Canlı domainlerindeki lipid yapıları farklılıklar taşır ve belirli bir domain içinde de çok farklı lipidler bulunabilir. Bakteri ve ökaryotlardaki lipitlerin temel bileşeni yağ asitleridir (Madigan ve Martinko 2010).

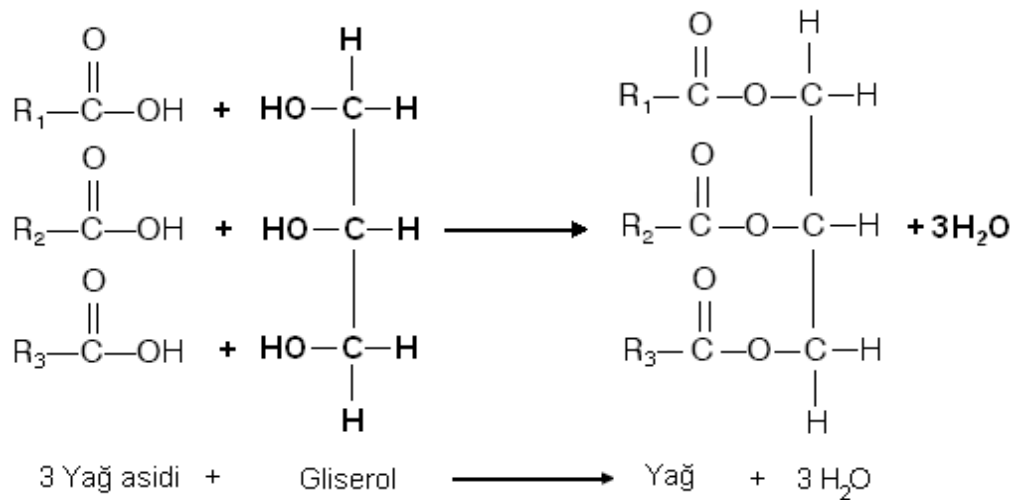
Lipitler başlıca karbon, hidrojen ve oksijen içeren ikinci temel hidrokarbon türevleri grubudur; ama özellikle fosfor ve azot gibi diğer elementleri de içerebilirler. En basit formlarında lipitler bir uçlarında bir karboksil grubu bulunan hidrokarbonlardır. Bu tip lipitler uzun hidrokarbon "kuyruklarından" dolayı aslında nonpolardırlar. Bu nedenle suda çözünmezler ama eter gibi organik bileşiklerde çözünürler. Lipitlerin çoğu karboksil uçlarına bağlı olan iyon grupları ile daha karışıkırlar ve uzun hidrofobik kuyrukları evrensel özellikleridir (Keeton vd. 2003).

Her yağ molekülü gliserol ile yağ asitlerinin birleşmesinden oluşmuştur. Gliserolün her birinde hidroksil (OH) grubu bulunan üç karbon atomlu iskeleti vardır. Yağ asitleri organik asitler gibi karboksil grubu içerir. Organik asitler ve alkoller kondensasyon tepkimeleri ile birleşme eğilimine sahiptirler. Gliserol sahip olduğu üç hidroksili ile bir yağ molekülü oluşturmak üzere üç molekül yağ asidi ile birleşebilir. (Şekil 1.7) (Keeton vd. 2003).

Basit lipidler C₃ alkol olan gliserol ile buna bağlı yağ asitlerinden oluşur. Basit lipidler trigliseritler olarak da adlandırılır; çünkü gliserol molekülüne üç adet yağ asidi bağlanmıştır. Kompleks lipidler fosfor, azot ya da kükürt gibi elementleri veya şeker, etanolamin, serin ya da hidrofobik yapıdaki kolin gibi bileşikleri içeren basit lipidlerdir. Fosfat grubu içeren lipidlere fosfolipidler adı verilir. Bu gruptaki kompleks lipidler sitoplazmik zarlarda önemli rol oynarlar.

Lipidlerin amfipatik özellikte olması, onları ideal zar bileşenleri haline getirir. Lipidler, zarları oluşturmak üzere bir araya gelirler; hidrofilik kısım (gliserol) ya sitoplazma ya da dış ortam ile temas halinde iken, hidrofobik kısım zarın iç kısmına gömülü durumdadır. Bu özellikten ötürü zarlar ideal geçirgenlik bariyerleridir (Madigan ve Martinko 2010).

Trigliseritler, depo lipidler olarak bilinir. Lipitlerin, yapılarında yer alan yağ asitlerine göre, membranlarda yapı taşı görevi yapmak, A, D ve E vitaminlerinin molekül yapılarını oluşturmak, metabolizma için gerekli hücre sel yakıt maddesi olarak depo edilmek, metabolizma için gerekli yakıtın taşınabilir şekli olmak gibi çok önemli fonksiyonları vardır. Lipitlerin bir kısmı organizmada yapılırken büyük kısmı organizmaya dışarıdan alınır. Esansiyel yağ asitleri gibi bazı önemli lipidlerin mutlaka bu yağ asitlerini içeren gıdalarla birlikte dışarıdan alınması gereklidir (Işık 2011).



Şekil 1.7. Yağ sentez reaksiyonu (R1, R2, R3 yağ asitlerinin uzun karbon zincirlerini simgeler.)

1.3.3.1. Yağ Asitleri

Yağ asitleri genellikle uzun zincirli karboksilik asitler olup düz zincirli, çift karbon sayılı moleküller olup; doymuş ve doymamış olarak iki grup altında incelenirler (Çizelge 1.1).

Doymuş yağ asitlerinde, karbon-karbon atomları arasında tek bir kovalent bulunur ve oda sıcaklığında genelde katıdırlar. Karbon atomlarının hepsi hidrojenlerle doyurulmuştur. Hayvansal kaynaklı yağ asitleri doymuş yağlardır. Yağ asitleri tam okside edildiklerinde karbonhidrat ve proteinlere göre daha fazla enerji verirler. Bunun sebebi yağ asitlerinin daha fazla indirgenmiş olmasıdır (Nas vd. 2001, Kayahan 2003, Karaca ve Aytaç 2007). Laurik asit (C12:0), miristik asit (C14:0), palmitik asit (C16:0), stearik asit (C18:0), araşidik asit (C20:0) ve behenik asit (C22:0) bitkisel yağlarda bulunan önemli doymuş yağ asitleridir. (Galaris ve Evangelou 2002).

Doymamış yağlardaki yağ asitleri oda sıcaklığında genellikle sıvıdırlar. En azından bir tane karbon-karbon arası çift bağa sahiptir, yani hidrojen ile tamamen doyurulmamışlardır (Keeton vd. 2003). Yapılarında bulunan çift bağlardan dolayı doymuş yağ asitlerine kıyasla daha reaktif olup yağ asidi zincirindeki çift bağ sayısı arttıkça reaktivite de artar (Karaca ve Aytaç 2007). Hidrokarbon zinciri ya palmitik asit de olduğu gibi doymuştur veya oleik asitte olduğu gibi bir ya da birden fazla çift bağ ihtiva etmektedir. Yağ asitleri ya ihtiva ettikleri karbon zinciri uzunluğu veya ihtiva ettikleri çift bağ sayısı ile birbirinden ayrılmaktadır (Nas vd.2001, Williams 2000).

Yapılarında bir çift bağ içeren yağ asitleri tekli doymamış (MUFA, monounsaturated) yağ asitleri olarak adlandırılır. Palmitoleik asit (C16:1) ve oleik asit (C18:1) bu grupta bulunan önemli yağ asitlerindedir (Kayahan 2003). Yapılarında, birden fazla çift bağ bulunan yağ asitleri çoklu doymamış (PUFA, polyunsaturated) yağ asitleri olarak adlandırılır. Linoleik (C18:2), linolenik (C18:3), araşidonik (C20:4) ve eikosapentaenoik (C22:5) asitler en önemli çoklu doymamış yağ asitleridir.

Çizelge 1.1. Bazı önemli yağ asitleri (Işık 2011)

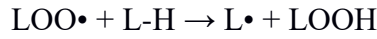
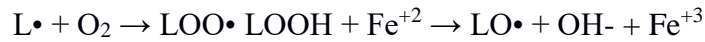
YAĞ ASİTLERİ		
<u>1. Doymuş yağ asitleri:</u>		
Asetik asit	2 karbonlu	CH ₃ .COOH
Propiyonik asit	3 "	CH ₃ .CH ₂ .COOH
Bütirik asit	4 "	CH ₃ .(CH ₂) ₂ .COOH
Kaproik asit	6 "	CH ₃ .(CH ₂) ₄ .COOH
Kaprilik asit	8 "	CH ₃ .(CH ₂) ₆ .COOH
Kaprik asit	10 "	CH ₃ .(CH ₂) ₈ .COOH
Laurik asit	12 "	CH ₃ .(CH ₂) ₁₀ .COOH
Miristik asit	14 "	CH ₃ .(CH ₂) ₁₂ .COOH
Palmitik asit	16 "	CH ₃ .(CH ₂) ₁₄ .COOH
Stearik asit	18 "	CH ₃ .(CH ₂) ₁₆ .COOH
Arahidik asit	20 "	CH ₃ .(CH ₂) ₁₈ .COOH
Behenik asit	22 "	CH ₃ .(CH ₂) ₂₀ .COOH
Lignoserik asit	24 "	CH ₃ .(CH ₂) ₂₂ .COOH
Serotik asit	26 "	CH ₃ .(CH ₂) ₂₄ .COOH
Montanik asit	28 "	CH ₃ .(CH ₂) ₂₆ .COOH
<u>2. Doymamış yağ asitleri</u>		
Palmitoleik asit	16 karbonlu	CH ₃ .(CH ₂) ₅ .CH = CH(CH ₂) ₇ .COOH
Oleik asit	18 "	CH ₃ .(CH ₂) ₇ .CH = CH(CH ₂) ₇ .COOH
Vaksenik asit	18 "	CH ₃ .(CH ₂) ₅ .CH = CH(CH ₂) ₉ .COOH
Linoleik asit (İki çift bağ)	18 "	CH ₃ .(CH ₂) ₄ .CH = CH.CH ₂ .CH = CH.(CH ₂) ₇ .COOH
Linolenik asit (Üç çift bağ)	18 "	CH ₃ .CH ₂ .CH = CH.CH ₂ .CH = CH.CH ₂ .CH = CH.(CH ₂) ₇ .COOH
Arahidonik asit (Dört çift bağ)	20 "	CH ₃ .CH ₂ .CH = CH.CH ₂ .CH = CH.CH ₂ .CH = CH.CH ₂ .CH = CH.(CH ₂) ₃ .COOH

1.3.3.2. Lipit Peroksidasyonu ve Malondialdehit

Mebranda bulunan fosfolipid, glikolipid, gliserit ve sterol yapısında yer alan doymamış yağ asitlerinin, serbest oksijen radikalleri tarafından peroksitler, alkoller, aldehitler, hidroksi yağ asitleri, etan ve pentan gibi çeşitli ürünlere yıkılması reaksiyonu Lipit Peroksidasyonu olarak adlandırılır. Serbest radikaller reaktif yapılarından dolayı lipitler, proteinler ve nükleik asitler gibi yükseltgenen bütün hücre yapıları ile etkileşebilirler (Nordberg ve Arner 2001).

Biyolojik membranların en önemli unsurları lipid ve proteinlerdir. Hayvan hücre membranlarında dominant lipitler, gliserol içeren fosfolipidlerdir. Ancak bazı membranlar özellikle plazma membranları önemli oranlarda sfingolipidleri ve kolesterol içerirler. Hücreleri saran membranlar ve hücre organelleri, geniş miktarda polyansature (doymamış) yağ asidi içerirler. Serbest radikaller hücre membranındaki bu polysanture yağ asitlerine saldırır ve lipid peroksitlerin teşekkülüne yol açan lipid radikallerinin oluşumuna sebep olurlar. Lipid peroksidasyonundaki artış serbest radikal aktivasyonunun indirekt bir işaretidir (Halliwell ve Gutteridge 1999). Ortaya çıkan serbest radikaller hücre bileşenlerine etki eder. Membran yapısının ve bütünlüğünün bozulmasına ve oluşan son ürünler sitotoksik etki göstererek çeşitli yollarla hücre hasarına sebep olur (Halliwell ve Chirico 1993, Yıldıztekin 2012).

Lipit peroksidasyonunu başlatan ilk radikal, hidroksil radikalidir. Bir zincir reaksiyonu şeklinde başlar ve daha ileri peroksidasyonu başlatacak serbest radikaller için sürekli bir kaynak niteliğindedir. Kendi kendini devam ettiren bu zincir tepkimeleri hücre membranına geri dönüşsüz şekilde hasara uğratar. Hidrojen atomunun uzaklaştırılması ile oluşan lipit radikali (L \cdot) dayanıksızdır. Bir dizi spontan değişikliğe uğrayarak oluşan konjugedienler daha stabildir. Lipit radikalinin moleküler oksijenle tepkimeye girmesi sonucunda Lipit peroksit radikali (LOO \cdot) meydana gelir. Bu radikaller membran yapısında bulunan diğer çoklu doymamış yağ asitlerini etki ederek yeni lipit radikallerinin oluştururken açığa çıkan hidrojen atomlarını alarak lipit hidroperoksitlerine (LOOH) dönüşürler. Lipit hidroperoksitlerden, fenton tipi bir tepkimeyle aldehit ve alkanlar oluşur (Yıldıztekin 2012).



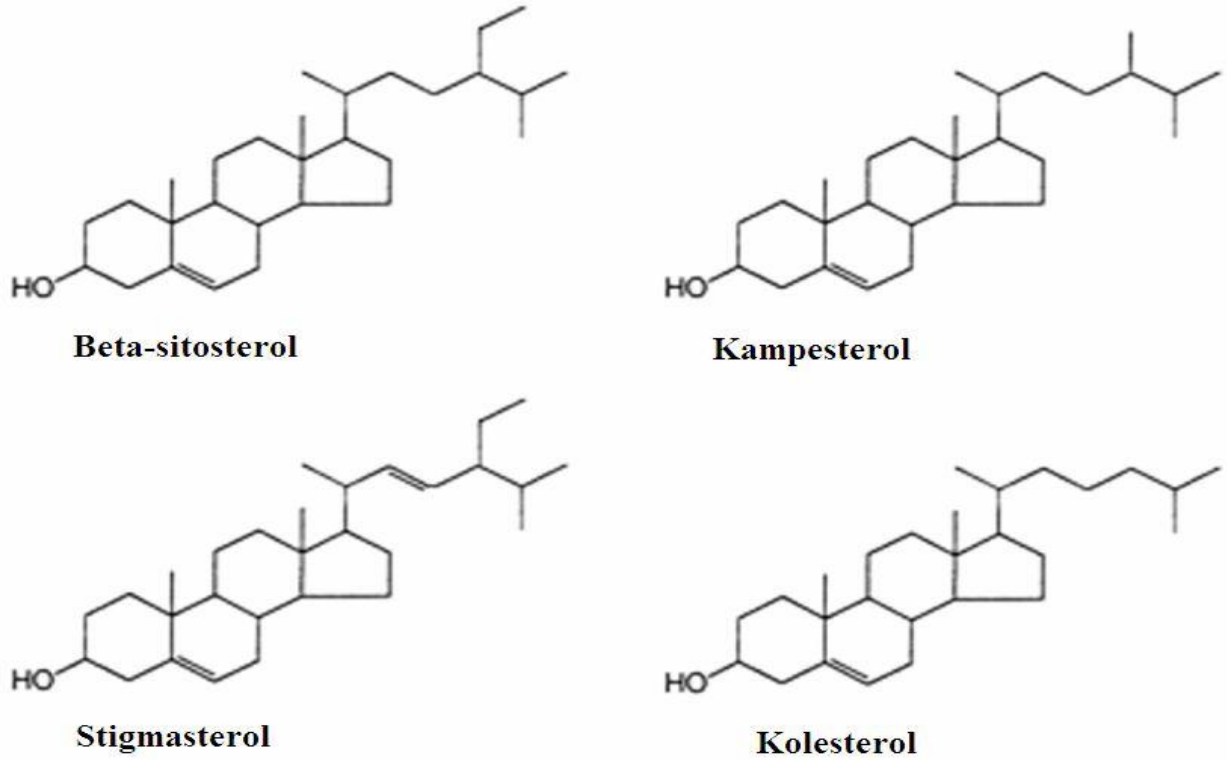
Lipit peroksidasyonu sonucunda ortaya çıkan çeşitli aldehitlerden en iyi bilinenleri malondialdehit (MDA) ve 4-hidroksinonenal (HNE)'dir. Hücresel olarak metabolize olurlar veya başlangıçta etkili oldukları bölgeden difüze olarak hasarın hücrenin diğer bölümlerine yayılmasına neden olurlar (Nair vd. 1986, Halliwell ve Chirico 1993).

MDA hücrelerin çoğunda membran bütünlüğünün bozulmasına neden olur. MDA, membranda iyon alışverişine etki ederek membrandaki bileşiklerin çapraz bağlanmasına neden olur. Bunun sonucunda iyon geçirgenliği ve enzim aktivitesinin değişimine neden olur. Ayrıca

DNA'nın nitrojen bazları ile reaksiyona girebilir. Bu yüzden mutajenik, hücre kültürleri için genotoksik ve karsinojenik olduğu bilinmektedir (Porter 1984, Niki 1987, Placer vd. 1990, Kalender vd. 2002).

1.3.3.3. Steroller ve Fitosteroller

Steroller; bitkiler ve hayvanlar tarafından üretilen ve hücre zarı için önemli bileşenlerdendir. Bitkilerde betasitosterol, stigmasterol ve ergosterol en fazla bulunan sterollerdir (Liu 2003). Fitosteroller doğada serbest halde veya yağ asitleri, fenolik asitler veya glikosidlerle esterleşmiş hallerde bulunurlar (Quilez vd. 2003). Fitosteroller 28 veya 29 C'lu sterollerdir. Hayvansal bir sterol olan kolesterol ise 27 C'ludur. Kolesterolde yan zincir 8 C'lu iken çoğu fitosterol 9–10 C'lu yan zincire sahiptir. (Şekil 1.8). Kimyasal olarak fitosteroller kolesterolle aynı temel yapıdadır. Örneğin, stigmasterol ($C_{29}H_{48}O$) ile kolesterol ($C_{27}H_{46}O$) yapısal olarak karşılaştırıldığında, stigmasterol yapısında farklı olarak yan zincirde fazladan bir etil grubu ve bir çift bağ bulunur (Kritchevsky ve Chen 2005).



Şekil 1.8. Sterollerin kimyasal yapıları

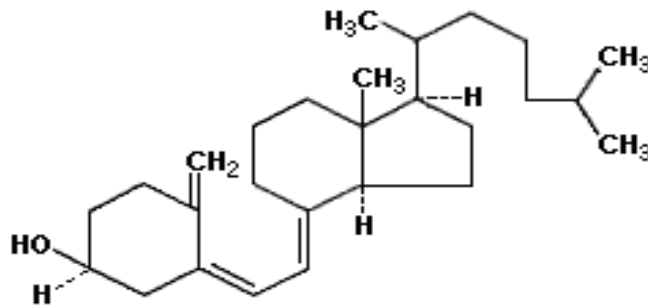
1.3.4. Vitaminler

Basit organik bileşikler olan vitaminler, sindirime uğramazlar ve enerji elde etmek amacıyla kullanılmazlar. Çoğu koenzim olarak biyokimyasal reaksiyonlarda katalizör olarak görev yapan enzimlerin yapılarına katılır. Vitaminler, vücudun işlevlerinin yapılabilmesi için kullanılan kalori içermeyen bileşiklerdir. Vücutta az miktarda üretilir veya hiç üretilmez. Bundan dolayı dışarıdan besinler yoluyla alınırlar. Yetersiz düzeyde alındığında metabolik faaliyetlerde bozulmalar görülür. A, D, E ve K yağda, B ve C vitaminleri ise suda çözünen vitaminlerdir (Adam 2000). Çalışmamızda D, E, K vitaminlerinin analizleri yapılmıştır.

1.3.4.1. D Vitamini

Vitamin D, hücre replikasyonunun düzenlenmesi ve endokrin fonksiyonlarda oldukça önemli rol oynayan bir hormondur. Dokularda üretilip kan dolaşımına verilir. Başka dokuların üzerinde etkili olması ayrıca bu etkinin “feedback” mekanizmalarla düzenlenmesinden dolayı, steroid yapılı hormon gibi de değerlendirilir (Ataş vd. 2008).

Bir ön hormon olan D vitamininin ergokalsiferol (D₂) ve kolekalsiferol (D₃) olmak üzere iki kaynağı bulunur. Her ikisi de steroid türevidir. Ergokalsiferol ultraviyole (UV) ışınlarının etkisiyle yapraklarda sentezlenmektedir (DeLuca 2004, Pérez-López 2007). Kolekalsiferol (vitamin D₃) doğal olarak bulunan ana bileşik olup, 290-310 nm dalga boyundaki UV aracılığıyla deride yüksek konsantrasyonda bulunan kolesterolün bir prekürsörü olan 7-dehidrokolesterolden sentezlenir (Shoback vd. 2009). İnsan vücudunda sadece vitamin D₃ sentezlenir. D₃ ve D₂ vitaminleri benzer şekilde metabolize olmalarından dolayı D vitamini olarak isimlendirilir. Kalsiyum ve fosfor homeostazından sorumludurlar (Hollick 2004).



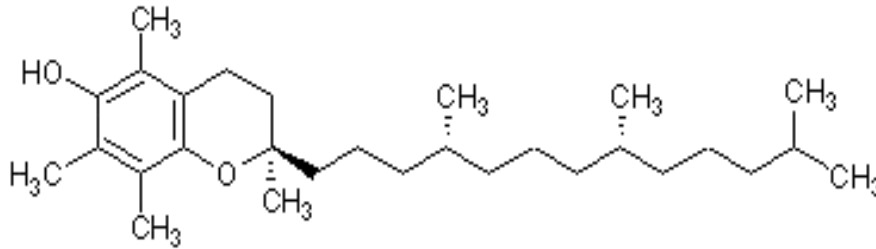
Şekil 1.9. D vitamininin kimyasal yapısı

1.3.4.2. E Vitamini

E vitamini, biyolojik sistemlerdeki serbest radikallerin reaksiyonlarının yayılmasını engelleyen bir antioksidandır (Sinclair vd.1990). Özellikle membranların fosfolipit ve lipoproteinlerindeki poliansature yağ asitlerini oksidasyondan korunmasında ilk savunma hattını oluşturur. Bir molekül E vitamini (alfa-tokoferol) 100 molekül PUFA'nın (poliansature yağ asidi) peroksidasyonunu engellemektedir (Akkuş 2005).

Yağda eriyen önemli antioksidanlardan olup; nükleik asit, askorbik asit ve kükürtlü aminoasit metabolizmasında görev alır. Mitokondride bulunan lipidlerin oksidatif yıkımını engeller. Keratin fosfat, adenosin trifosfat gibi fosfat bileşiklerinde fosforilasyon işlevlerini düzenler (Keskin 1987, Belitz vd. 2005).

Enzim sistemleri ve DNA'nın dayanıklılığını artırmaktadır. Oksidasyondan etkilenen A vitamininin biyolojik aktivitesine yardımcı olmaktadır. Anormal hücre bölünmelerini durdurmakta, alyuvar zarlarının parçalanmasını ve trombositlerin birbirlerine yapışmasını engellemekte ve damar içi pıhtılaşmayı önlemektedir (Podda vd. 1996).



Şekil 1.10. E vitamininin kimyasal yapısı

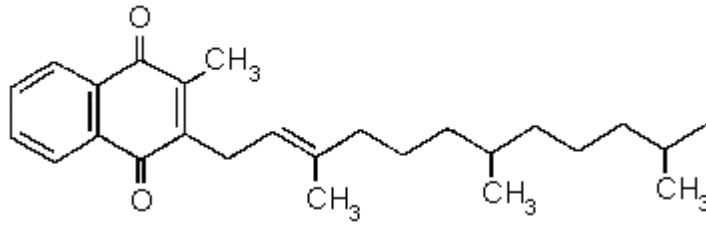
1.3.4.3. K Vitamini

K vitamini, 1930'lu yıllarda yağsız diyetlerle beslenen tavuklarda görülen aşırı kanama bozukluklarının nedenlerinin araştırılması yoluyla keşfedilmiş koagülasyon vitamini olarak da bilinen yağda eriyen bileşiklerin genel adıdır. Kimyasal yapısı 1939 yılında tanımlanmış ve metabolizmadaki işlevi ise 1974 yılında yeni bir protein olan γ -karboksil glutamikasidin keşfedilmesiyle belirlenmiştir (Hill ve Morrissey 2011).

K vitamini özelliği taşıyan bileşenler yapılarında 2-metil-1,4-naftokinon yapısını ortak olarak bulundurlar; fakat izoprenil halkasının 3. pozisyonu farklı uzunlukta ve doymuşluk

düzeyindedir. Biyolojik olarak aktif üç farklı K vitamini bileşeni bulunmaktadır. Bunlardan ikisi doğal, biri sentetik formdadır (Hill ve Morrissey 2011, Combs 2012).

K₁ vitamini (Filokinon), yeşil yapraklı sebzelerin kloroplastlarında doğal olarak bulunan 2-metil-3-fetil-1,4-naftokinon yapısındaki bileşiktir (Combs 2012). K₂ vitamini (Menakinon), gastrointestinal sistemde doğal olarak bulunan mikroflora bakterileri tarafından sentezlenen ve yan zincirinde bulundurduğu izoprenil ünitelerinin sayısına göre adlandırılan bileşikler grubudur (Shearer ve Bolton-Smith 2000). K₃ vitamini (Menadion), sentetik olarak üretilen ve provitamin aktivitesi gösteren suda eriyen bir K vitamini türüdür. Hayvan beslenmesinde supleman olarak kullanıldığından indirek olarak insan vücuduna alındığında K₁ vitamini veya K₂ vitaminine metabolize olabilmektedir. (Hill ve Morrissey 2011). K vitamini metabolizmada selektif glutamat (Glu) kalıntılarını γ -karboksiglutamat (Gla) kalıntılara taşıyan spesifik karboksilasyon reaksiyonlarında kofaktör olarak görev alır (Combs 2012).



Şekil 1.11. K vitamininin kimyasal yapısı

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Schiff bazları ve metal kompleksleri farklı alanlarda kullanılmakta olup çeşitli biyolojik özelliklere sahip olduğu bilinmektedir (Loncle vd. 2004). Kolesterol türevi bileşiklerin anti fungal etkisi olduğu bilinmektedir. Küçüküz vd. (2003) diflunisal hidrazide-hidrazone türevini sentezleyerek tüberküloza karşı etkinliğini incelemişler aynı zamanda bu bileşik sınıfının antikonvülzan etkiye sahip olduğunu göstermişlerdir. Todeschini vd. (1998) bu bileşik sınıfının farklı türevlerini sentezleyerek anti inflamatuvar ve analjezi üzerine etkinliklerini araştırmışlardır. Bunların yanı sıra, bu bileşik sınıfının antimalarial (Melnyk vd. 2006), ağrı kesici (Leite vd. 1999, Lima vd. 2000), antiplatelet (Cunha vd. 2003), antitüberküloz etkinliği vardır (Bedia vd. 2006).

Kim ve Yoong-He (1992) seçici azot-kükürt donör ligandları ile yaptıkları bir çalışmada bu bileşiklerin antimikrobiyal ve sitotoksik etkinliğinin olduğunu, Sharma ve Dubey (1994) tarafından yapılan başka bir çalışmada antibakteriyal ve antifungal etkilerinin bulunduğunu göstermişlerdir.

Liu vd. (2015) sentezledikleri schiff bazları ve bu bileşiklere ait Zn ve Co komplekslerinin antibakteriyal etkinliklerini *B. subtilis*, *E. coli* ve *S. aureus* türleri üzerine denemişlerdir. Hussein vd. (2015) sentezledikleri schiff bazlarının etkinliklerini gram pozitif bakteri türü *S. aureus* ATCC (25923), Gram-negatif bakteri türü olan *P. fluorescens* (S97) ve mantar türü olan *F. oxysporum* üzerinde denemişlerdir. Sentezlenen bileşiklerin adı geçen türler üzerinde orta derecede etkili olduğu bulunmuştur. İskeleli vd. (2015) sentezledikleri 4-[(4-Hydroxy-3-fluoro-5-methoxy-benzylidene)amino]-1,5-dimethyl-2-phenyl-1,2-dihydro-pyrazol-3-one bileşiğinin antibakterial etkinliğini 11 farklı bakteri türü üzerinde araştırmıştır. Yapılan bu çalışmada bileşiğin *S. pneumoniae*, *H. influenzae* ve *E. faecalis* türleri üzerinde etkin olduğu tespit edilmiştir.

Zhang vd. (2014) pirazol ve triazol halkaları içeren schiff bazlarını sentezlemişler ve bu yapıların antibakterial etkinliklerini *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *B. subtilis* ve *B. amyloliquefaciens* türleri üzerinde çalışmıştır. Sentezledikleri bileşiklerin etkin olduklarını tespit etmişlerdir. En etkin olan bileşiklerinin inhibitör konsantrasyon 50 (IC₅₀) değerini 5.2 µM olarak bulmuşlardır. Bhat vd. (2013) sentezledikleri bir seri schiff bazlarının aktifliklerini *S. aureus* NCTC (10418), *E. coli* NCTC (6571) ve mantar olarak da *C. albicans* ATCC (10231) türünü kullanmışlardır. Sentezlenen bileşiklerin DMF deki çözeltilerini hazırlayan araştırmacılar 1,3,4-oxadiazole yan grubuna sahip olan bileşiğin *S. aureus* and *E. coli* türleri üzerine en etkin bileşik olduğunu tespit etmişlerdir.

Sağlık alanında anti tümör etkinliği üzerine çalışmalar yapılmıştır. Mini vd. (2015) 5-kloro-2-(furan-2-yl metilamino)fenil)fenil metanon bileşiğinin Mn (II), Co (II), Ni (II), Cu (II), Zn (II) ve Fe (III) komplekslerini sentezleyip İnsan SkMEL hücreleri üzerine antitümör etkinliğini araştırmışlardır. Co (II) kompleksinin, diğer komplekslere göre daha fazla antitümör etkinlik gösterdiği yapılan bu çalışmada bulunmuştur. İnsan karaciğer kanser hücreleri (HEPG2) üzerinde yapılan bir başka çalışmada El-wakiel vd. (2015) 4-[(1H-Benzoimidazol-2-ylimino)-metil]-benzen-1,3-diol schiff bazının Cu (II) ve Ni (II) bileşiklerinin antitümör etkinliği incelenmiştir. Yapılan bu çalışmada; Schiff bazı ve komplekslere ait inhibitör konsantrasyon 50 (IC50) değerleri 9.08, 18.2 ve 19.7 µg/ml olarak bulunmuş ve schiff bazının komplekslerden daha etkin olduğunu gösterilmiştir. Gou vd. (2015) tarafından yapılan başka bir çalışmada salisilaldehit benzoilhidrazon bileşiğinin Cu(II) kompleksinin etkinliğini HepG2 hücreleri üzerinde çalışmışlardır. Salisilaldehit benzoilhidrazon bileşiği ile karşılaştırıldığında, Cu(II) kompleksinin HepG2 hücrelerinin apoptozu üzerinde daha etkin rol oynadığını ve bu etkiyi de G2/M fazı üzerinden yaptığını göstermişlerdir.

Kanser tedavisinde kullanılmasıyla ilgili araştırmalar yapılmaktadır (Scovil vd. 1982, West ve Panel 1989). Fareler üstünde yapılan çalışmalarda *Ascites carcinoma* virüsüne karşı antikanser etkinliğinin olduğu saptanmıştır (Patel vd. 1989). Gaber vd. (2015) 5-merkapro-1,2,4-triazol-3-imine-20-hidroksinaftalin schiff bazının Ni(II), Pd(II) ve Pt(II) komplekslerini sentezleyip karakterize etmişler ve bu bileşiklerin kolon karsinoma (HCT116) insan kanser hücre dizisinde anti tümör etkinliklerini araştırmışlardır. Bu çalışmada schiff bazının zayıf anti tümör etkinlik gösterdiği, bileşiğe ait Ni kompleksi yapının ise anti tümör etkinliğini artırdığı tespit edilmiştir. Li vd. (2015) sentezledikleri schiff bazı ve bu baza ait Cu(II) komplekslerinin anti tümör etkinliğini insan meme kanseri MDA-MB-231 hücreleri üzerinde çalışmışlar ve kompleksin liganda göre daha etkin olduğunu tespit etmişlerdir.

İkram vd. (2015) aminoasit türevi bazı schiff bazları ve bu bileşiklere ait metal komplekslerini sentezleyip DPPH metodu ile serbest radikal süpürücü özelliklerini ve aynı zamanda ksantin oksidaz enzimi üzerine inhibitör etkilerini incelemiştir. Yapılan bu çalışmada sadece çinko kompleksinin enzimatik aktivite üzerine inhibitör etkisini bulmuşlar ve kompleksin IC50 değerini 0.7 +/- 0.01 µM olarak tespit etmişlerdir. Vücutta reaktif oksijen türlerinin artması kanser oluşumuna sebep olabilir. Bu nedenle Schiff bazlarının antioksidan aktiviteleri de oldukça fazla çalışılmaktadır. Charef vd.(2015) sentezledikleri schiff bazı ve bu bileşiğe ait Ni (II), Zn(II), Fe (II) ve Cu (II) komplekslerinin antioksidan aktivitelerini DPPH metodu ile çalışmışlardır. Bu çalışmada Fe (II) kompleksinin en aktif bileşik olduğu tespit edilmiştir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Organik Çözücüler

Çizelge 3.1. Analizlerde kullanılan kimyasal maddeler ve organik çözücüler

Tris-base	Sülfirik Asit (H_2SO_4)
Tris-base HCl	Potasyum bikarbonat ($KHCO_3$)
Methanol	Potasyum hidroksit (KOH)
Asetonitril	Potasyum sodyum tartarat
n-hekzan	Sodyum karbonat ($NaCO_3$)
n-heptan	Sodyum sitrat ($C_6H_5Na_3O_7$)
İzopropanol	Monopotasyum fosfat (KH_2PO_4)
EDTA	5,5'ditiyobis 2-nitrobenzoik asit (DTNB)
Trikloroasetik asit (TCA)	Disodyum hidrojen fosfat (Na_2HPO_4)
Butilhidroksitoluen (BHT)	Bakır sülfat çözeltisi ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$)
2- thiobarbiturik asit (TBA)	Dimetil sülfoksit DMSO ($(CH_3)_2SO$)
Sodyum klorür ($NaCl$)	Folin (FCR)
Sodyum hidroksit ($NaOH$)	Yağ asidi standart karışımı
Hidroklorik asit (HCl)	Vitamin Standartları
Perklorik asit ($HClO_4$)	MDA Standartı
Fosforik Asit (H_3PO_4)	Albumin standardı
Potasyum bikarbonat ($KHCO_3$)	

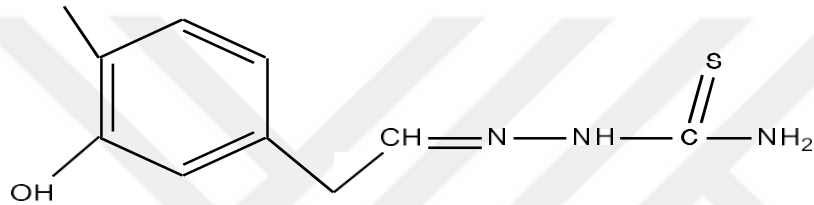
3.1.2. Kullanılan Alet ve Cihazlar

Gaz kromatografisi cihazı, HPLC cihazı, hassas terazi, magnetik karıştırıcılar, UV spektrofotometre, santrifüj cihazı, etüv, otoklav, homojenizatör, sonikasyon, vorteks, derin

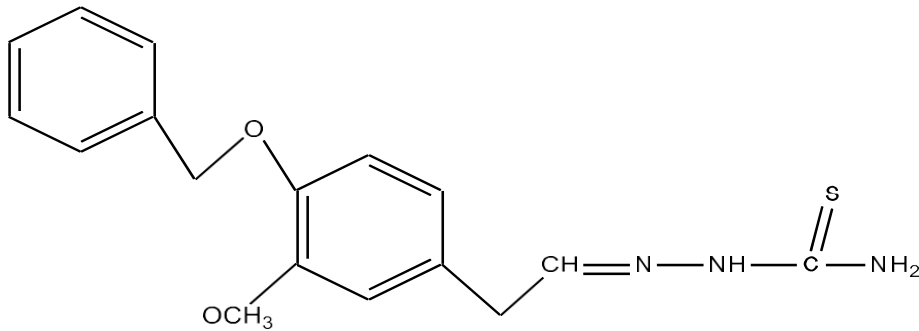
dondurucu, santrifüj tüpleri, mezür, otomatik pipet, plastik falkon tüpler, deney tüpleri ve vialler.

3.1.3. Schiff Bazları

Schiff bazları, BEBAP 2014.09 No'lu proje kapsamında sentezlenerek elde edilmiştir. Yapılan çalışmada üç (3) adet Schiff bazı kullanıldı. Kullanılan kimyasal maddelerin yapısal formülleri ve molekül ağırlıkları Şekil 3.1' de verilmiştir.

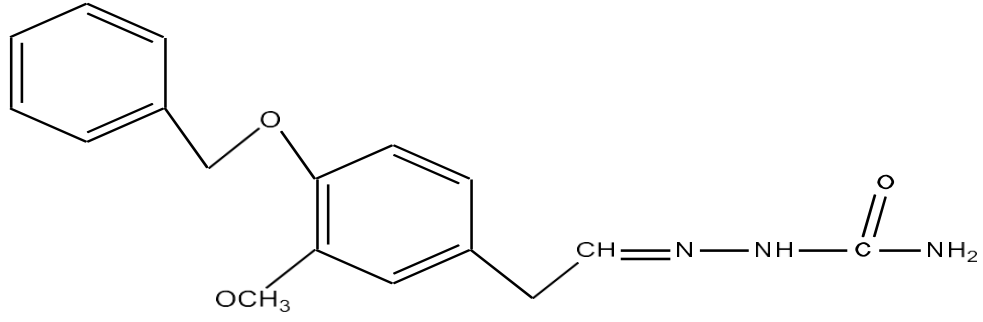


E1 2-(2-(3 hydroxy-4- methoxyphenyl)ethylidene)hydrazinecarbothioamide
Molekül Ağırlığı: 239.29



E2 2-(2-(4 benzyloxy)-3-methoxyphenyl)ethylidene)hydrazinecarbothioamide
Molekül Ağırlığı: 329.42

Şekil 3.1. Schiff bazlarının yapısal formülleri ve molekül ağırlıkları



E₃ 2-(2-(4benzyloxy-3-methoxyphenyl)ethylidene)hydrazinecarboxamide
Molekül Ağırlığı: 313.35

Şekil 3.1. Devamı Schiff bazlarının yapısal formülleri ve molekül ağırlıkları

Deneyde kullanılan Schiff bazları çalışmada aşağıdaki şekilde belirtilmiştir:

- **E₁** : 2-(2-(3 hydroxy-4- methoxyphenyl)ethylidene)hydrazinecarbothioamide
- **E₂** : 2-(2-(4 benzyloxy)-3-methoxyphenyl)ethylidene)hydrazinecarbothioamide
- **E₃** : 2-(2-(4benzyloxy-3-methoxyphenyl)ethylidene)hydrazinecarboxamide

3.1.4. Kullanılan Maya

Çalışmada *S. cerevisiae* BY4741- Yabani Tip Maya Hücresi (Genotip: MATa his3 leu2 met15 ura3) ve *S. cerevisiae* maya hücresi kullanıldı. *S. cerevisiae* BY4741- Yabani Tip Maya Hücresi (Genotip: MATa his3 leu2 met15 ura3) İzmir Yüksek Teknoloji Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Laboratuvarı'ndan temin edildi. Kullanılan bu maya hücresi mutasyona uğratılmış bir maya hücresi olduğu için yağ asidi ile vitamin ve fitosterol uygulamalarında beklenen sonuçlara ulaşılmamıştır. Bu nedenle çalışmanın bahsi geçen analizleri için ekmek mayasından izole edilmiş olan *S. cerevisiae* maya hücreleri kullanılmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1 Schiff bazı solüsyonlarının hazırlanması

E₁: M_A: 239.29

E₂: M_A: 329.42

E₃: M_A: 313.35 molekül ağırlıklarına sahip Schiff bazlarından;

- E₁: 0.00115 gr, E₂: 0.0016 gr ve E₃: 0.00155 gr olacak şekilde 5 ml DMSO 'da çözülerek 2ppm, 4ppm ve 8ppm'lik konsantrasyonları,
- Yağ asidi ile vitamin ve sterol uygulamaları için; E₁, E₂ ve E₃ schiff bazları DMSO 'da çözülerek 20 mg ve 40 mg'lık konsantrasyonları hazırlanmıştır.

3.2.2. *In Vitro* Maya Kültür Ortamının Hazırlanması

Öncelikle deneyde kullanılacak olan *S. cerevisiae* BY4741 ve *S. cerevisiae* maya hücrelerinin gelişimi ve çoğalması için YEPD (200 mL için; 2 gr maya ekstraktı, 4 gr baktopepton, 4 gr glukoz) besiyeri ortamı her grup için tekrar sayısı (n) = 5 olacak şekilde hazırlandı. Besiyerleri hazırlandıktan sonra aşağıda belirtilen gruplara ayrıldı ve 120 °C'de 15 dakika steril edildi. Laboratuvar şartlarına kadar soğutulup her kültür örneğine *S. cerevisiae* hücrelerinin stok kültüründen 1 ml düzeyinde aşılama yapıldı. Aşılama sırasında kontaminasyon olayına dikkat edildi ve hassas düzeyde çalışıldı. Aşılama işleminden sonra kültürler 30 C°'de 72 saat inkübasyona bırakıldı.

- **Kontrol grubu:** Bu gruptaki *S. cerevisiae* BY4741 ve *S. cerevisiae* hücreleri için, 200 mL saf su 2 g maya ekstraktı, 4 g baktopepton ve 4 g glukoz içeren besiyeri ortamı hazırlandı.
- **2-(2-(3 hydroxy-4- methoxyphenyl)ethylidene)hydrazinecarbothioamide Schiff bazı grubu:** Bu gruptaki *S. cerevisiae* BY4741 ve *S. cerevisiae* hücreleri için, 200 mL saf su içinde 2 g maya ekstraktı, 4 g baktopepton ve 4 g glukoz içeren besiyeri ortamı içerisine maya hücresi inoküle edildi. OD600 değerleri 0.4-0.6 civarına [yaklaşık olarak 1-3 10⁷ hücre/ml (Bergman 2001)] ulaşınca, *S. cerevisiae* BY4741 maya hücreleri için; E₁ maddesinden 2ppm, 4ppm ve 8ppm, *S. cerevisiae* maya hücreleri için; E₁ maddesinden 20 mg ve 40 mg konsantrasyonları içerecek şekilde eklenerek gruplar hazırlandı. Her konsantrasyon ayrı bir grup olarak belirlenip deneysel çalışma işlemi yürütüldü.
- **2-(2-(4 benzyloxy)-3-methoxyphenyl)ethylidene)hydrazinecarbothioamide Schiff bazı grubu:** Bu gruptaki *S. cerevisiae* BY4741 ve *S. cerevisiae* hücreleri için, 200 mL saf su içinde 2 g maya ekstraktı, 4 g baktopepton ve 4 g glukoz içeren besiyeri ortamı içerisine maya hücresi inoküle edildi. OD600 değerleri 0.4-0.6 civarına [yaklaşık olarak 1-3 10⁷ hücre/ml (Bergman 2001)] ulaşınca, *S. cerevisiae* BY4741 maya hücreleri için; E₂

maddesinden 2ppm, 4ppm ve 8ppm, *S. cerevisiae* maya hücreleri için; E₂ maddesinden 20 mg ve 40 mg konsantrasyonları içerecek şekilde eklenerek gruplar hazırlandı. Her konsantrasyon ayrı bir grup olarak belirlenip deneysel çalışma işlemi yürütüldü.

- **2-(2-(4 benzyloxy-3-methoxyphenyl)ethylidene)hydrazinecarboxamide Schiff bazı grubu:**
Bu gruptaki *S. cerevisiae* BY4741 ve *S. cerevisiae* hücreleri için 200 mL saf su içinde 2 g maya ekstraktı, 4 g baktopepton ve 4 g glukoz içeren besiyeri ortamı içerisine maya hücresi inoküle edildi. OD600 değerleri 0.4-0.6 civarına [yaklaşık olarak $1-3 \cdot 10^7$ hücre/ml (Bergman 2001)] ulaşıncaya, *S. cerevisiae* BY4741 maya hücreleri için; E₃ maddesinden 2ppm, 4ppm ve 8ppm, *S. cerevisiae* maya hücreleri için; E₃ maddesinden 20 mg ve 40 mg konsantrasyonları içerecek şekilde eklenerek gruplar hazırlandı. Her konsantrasyon ayrı bir grup olarak belirlenip deneysel çalışma işlemi yürütüldü.



Şekil 3.2. Laboratuvarda hazırlanan *Saccharomyces cerevisiae* grupları

3.2.3. Biyokimyasal Analizler

İnkübasyon sonunda kültürlerin laboratuvar şartlarında 517 nm'de hücre yoğunlukları ölçüldü. Gruplardaki örnekler plastik falkon tüpler içerisine alındı ve ağırlıkları hassas terazide tartıldı. 6000 rpm'de 5 dakika süreyle +4 C°'de santrifüj edilerek hücreler toplandı. Hücreler pellet olarak toplandıktan sonra yaş ağırlıkları belirlendi. Pelletlere 0.009'lık NaCl'den 5 ml ilave edilerek santrifüjlendi ve üst sıvısı atılarak pelletlerin yıkanması tamamlandı. Yıkamadan sonra falkon tüpler hassas terazide tartılarak pellet ağırlıkları belirlendi.

Parçalayıcı tampon olarak Tris tamponu (pH= 7.4) hazırlandı. Bu amaçla 0.84 gr Trisbase, 2.86 gr Tris HCl ve 3.72 gr EDTA 200 ml saf suda çözüldü ve diğer biyokimyasal analizler için hazırlık yapıldı.

Hücre pelletleri üzerine 5 ml Tris tamponu (20 mM Tris HCl-baz (pH= 7.4) ve 20 mM EDTA karışımı) ilave edilerek homojenizatörde parçalandı. Örnekler +4 C⁰'de 10 dk. 6000 rpm'de santrifüj edildi. Santrifüj sonrası süpernatant kısım GSH, MDA-TBA ve total protein analizleri yapılmak üzere deney tüplerine alındı. Falkon tüpünde geri kalan homojenat pellet, 10 ml 3/2, (v/v) oranında n-hekzan+izopropanol karışımı ile tekrar homojenize edilerek (Hara ve Radin 1978) yağ asidi düzeyi (Christie 1990, Katsadinis ve Addis 1999), vitamin ve sterollerin (ergosterol, kampesterol, stigmasterol, betasitosterol) analizlerinde kullanılmak üzere ayrı ayrı deney tüplerine alındı.

Total protein düzeyi Lowry yöntemine göre (1951), GSH ve GSSG miktarlarının ölçümü HPLC cihazında ilgili metoda göre analiz edildi (Klejduş vd. 2004, Yılmaz vd. 2009). TBARS miktarlarının ölçümü HPLC cihazında ölçüldü. Yağ asidi analizleri gaz kromatografisi cihazı, sterol ve lipofilik vitaminlerin analizleri HPLC cihazında yapıldı (Katsadinis ve Addis 1999).

3.2.3.1. GSH ve GSSG Miktarının HPLC Cihazında Ölçülmesi

GSH ve GSSG miktarlarının ölçümü HPLC cihazında ilgili metoda göre analiz edildi (Klejduş vd. 2004, Yılmaz vd. 2009). 1 mL homejanat alındı. 1 mL % 10'luk TCA eklenerek deprotenize edilmesi sağlandı. 6000 rpm'de santrifüj işleminden sonra 1 mL otosampler viallerine alındı. Kantitatif ölçümlerde 214 nm'de Shimadzu marka full otomatik HPLC cihazı kullanıldı. LC-10 AD^{VP} UV-visible pompa, SPD-M10A^{VP}, PDA dedektörü, CTO-10AS^{VP} kolon fırını, SIL-10AD^{VP} otosampler, DGU-14A degasser ünitesi ve Class VP 6.26 işletim programı (Shimadzu, Kyota Japan) kullanıldı.

Mobil faz olarak % 0,1 TFA ve metanol (% 94/% 6, v/v) karışımı kullanıldı Ayırma işlemi ODS-3 HPLC kolonunda yapıldı. Hesaplama işlemi standart karışımlardan hazırlanan kalibrasyon eğrisine göre Class VP 6,26 programı (Shimadzu, Kyota Japan) ile hesaplandı.

3.2.3.2. Total Protein Düzeyinin Ölçümü

Total protein düzeylerinin belirlenmesi Lowry yöntemi kullanılarak yapıldı (Lowry vd. 1951) Protein ölçümü için aşağıdaki çözeltiler hazırlandı:

A = 0.2 M Sodyum hidroksit (NaOH)	250 ml saf suda 2 gr
B = % 4 (w/v) Sodyum karbonat (NaCO ₃)	250 ml saf suda 10 gr
C = % 1 (w/v) Bakır sülfat (CuSO ₄ .5H ₂ O) çözeltisi	10 ml saf suda 0.1 gr
D = % 2 (w/v) Potasyum sodyum tartarat (KNaC ₄ H ₄ O ₆ .4H ₂ O)	10 ml saf suda 0.2 gr
% 50 Folin çözeltisi	25 ml saf suda 25 ml
% 0.1 Albumin	10 ml saf suda 0.003 gr

A ve B çözeltilerinin her birinden 5'er ml çözelti alınıp döküldü. Sonra bu iki çözelti birbirine karıştırıldı. Sonra da bu çözeltilere 5 ml C ve 5 ml D çözeltilerinden ilave edildi. Bu çözeltilerin karışımından hazırlanan reaktife E reaktifi (Lowry çözeltisi) adı verildi.

Daha sonra protein çözeltisinden 5 µl deney tüpüne alındı ve örnek üzerine 4 ml E reaktifinden ilave edildi. Çözelti karıştırıldı ve 10 dakika oda sıcaklığında bekletildi. Bekleme süresi sonunda 0.5 ml Folin (10 ml Folin-Ciocalteu reaktifi üzerine 10 ml saf su ilave edilerek hazırlanır) karışımından ilave edildi. 30 dk. oda ısısında bekletildi. Süre sonunda numuneler 750 nm'de blank'a karşı spektrofotometrede ölçüldü. Blank olarak 4 ml Lowry çözeltisi (E reaktifi) kullanıldı.

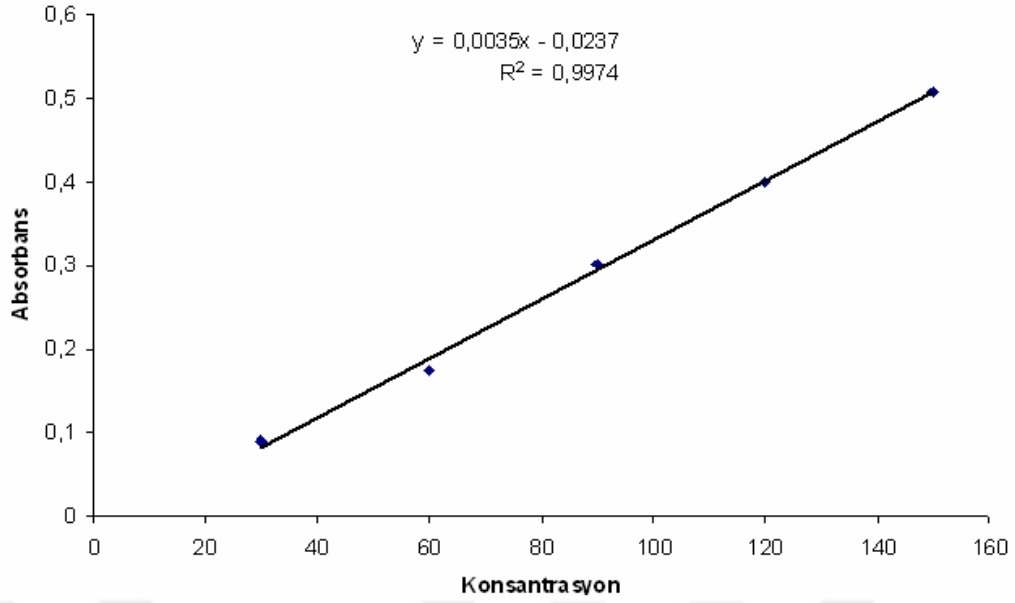
Total protein ölçümünde maya hücresinde proteinler çöktürüldükten sonra elde edilen pellete 1 ml distile su ilave edilip vortekslendi, tekrar santrifüj edildi ve oluşan süpernatanta ölçüm yapıldı.

3.2.3.2.1. Protein Kalibrasyon Eğrisinin Oluşturulması

Bu amaçla saf haldeki albuminden 10 ml'de 0.003 gram içerecek şekilde hazırlandı. Daha sonra standart grupları aşağıda belirtildiği gibi hazırlandı

- S1→ 100 µl albumin + 4 ml E çözeltisi + 0.5 ml Folin
- S2→ 200 µl albumin + 4 ml E çözeltisi + 0.5 ml Folin
- S3→ 300 µl albumin + 4 ml E çözeltisi + 0.5 ml Folin
- S4→ 400 µl albumin + 4 ml E çözeltisi + 0.5 ml Folin
- S5→ 500 µl albumin + 4 ml E çözeltisi + 0.5 ml Folin

Gruplar 750 nm köre karşı okutuldu. Ölçülen değerler doğrultusunda Şekil 3.2'de verilen kalibrasyon eğrisi yapıldı. Örneklerin protein miktarları elde edilen bu kalibrasyon eğrisindeki denklem vasıtasıyla hesaplandı.



Şekil 3.3. Protein kalibrasyon eğrisi

3.2.3.3. Lipid Peroksidasyon Miktarının Ölçülmesi

MDA miktarlarının ölçümü HPLC cihazının kullanıldığı analiz metodu ile yapıldı (Karatas vd. 2002). Tris tamponu ile homojenize edilen süpernatandan 1 mL alınarak % 10'luk perklorik asit (HClO_4) ile muamele edilerek proteinler çöktürüldü ve karışım 5000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildikten sonra süpernatan kısım otosampler viallerine alınarak HPLC cihazında analizi yapıldı.

Analiz için full otomatik Shimadzu marka HPLC sistemi (Kyoto Japan) kullanıldı. Mobil faz olarak 30 mmol KH_2PO_4 ve metil alkol karışımı (Karatepe 2004) (% 82,5-%17,5 H_3PO_4 ile pH=4,0) kolon olarak da ODS-3 HPLC kolonu (150 mm x 4,6- 5 μm) kullanılmıştır. Mobil faz akış hızı 1 ml/dk, PDA dedektörünün dalga boyu 244 nm'de belirlendi. Hesaplama işlemi standart karışımlardan hazırlanan kalibrasyon eğrisine göre Class VP 6,26 software (Shimadzu, Kyota Japan) ile hesaplandı.

3.2.3.4. Maya Hücre Peletlerinin Lipit Ekstraksiyonu

Maya hücre peletlerinden lipit ekstraksiyonları, 3:2 (v/v) hekzan izopropanol solüsyonları kullanılarak Hara ve Radin (1978) yöntemiyle yapılmıştır. Doku örnekleri üzerine 3:2 (v/v) 10 mL hekzan izopropanol eklendi ve homojenizatörde 11000 rpm'de 30 sn süre ile parçalandı. Doku örnekleri 6000 rpm'de 10 dk santrifüj edildi. Üstteki süpernatant alındı ve deney tüplerine alındı.

3.2.3.4.1. Yağ Asidlerinin Metil Esterlerinin Hazırlanması

Lipitlerin içerisindeki yağ asitlerinin analizlerinin yapılması için metil esterleri türevlerine dönüştürülmesi gerekmektedir. Bu amaçla değişik metodlar kullanılmaktadır. Yapılan çalışmada Christie (Christie 1990)'nin uygulaması pratik ve verimi yüksek olan asit katalizli esterleştirme yöntemi kullanıldı.

Bu yöntemle göre metil esterlerinin hazırlanması amacıyla hekzan/izopropanol fazı içerisindeki lipit ekstraktları 30 ml boyutlarındaki vida kapaklı tüplere konuldu. Üzerine 5 ml %2 metanol sülfürik asit çözeltisi eklenerek vortekslendi. Bu solüsyon 55 °C olan etüvde 15 saat bırakılarak metilleşmesi sağlandı. Süre sonunda çıkarılan deney tüplerinin oda sıcaklığında soğuması sağlandı. Üzerine 5 ml %5 NaCl eklenerek vortekslendi. Tüplerin içindeki yağ asidi metil esterlerinin üstüne 5 ml hekzan (n- Hekzan) eklendi. Tüm örneklerin seviyeleri hekzan ile eşitlendi ve kapaklar kapatılarak tüpler alt-üst edildi. Oda sıcaklığında 4 saat bekletildi. Süre sonunda hekzan fazı üstten pipetle alınıp alt faz döküldü ve üst faz aynı deney tüpüne alındı ve üzerine 5 ml %2'lik KHCO₃ çözeltisi ilave edildi. Kapakları kapatıldı ve örnekler alt üst edildi. KHCO₃ çözeltisi ilave edildikten sonra 3 saat beklenildi. Süre sonunda üst faz küçük deney tüplerine alınır alt faz dökülür ve örnekler 40 °C etüvde uçmaya bırakılır. Uçma meydana geldikten sonra örnek kalıntılarının olduğu deney tüplerine 1 ml heptan ilave edildikten sonra vortekslendi. 1 ml örnek 2 ml'lik vialler içine alındı ve gaz kromatografi cihazında analizleri yapıldı.

3.2.3.4.2. Yağ Asidi Metil Esterlerinin Analizi

Lipit ekstraktları içerisindeki yağ asitlerinin metil esterlerine dönüştürüldü ve SHIMADZU GC 17 cihazında analizleri yapıldı. Analizler 25 m uzunluk, 0.25 µm iç çaplı ve PERMABOND 25 mikron film kalınlığındaki Machery-Nagel (Germany) kapiller kolonu kullanılarak yapıldı. Enjeksiyon 240 °C ve dedektör 280°C olacak şekilde sıcaklıklar ayarlandı. Kolon sıcaklık programı 120 °C'den 220 °C'ye ayarlandı. Sıcaklık artışları 200 °C'ye kadar 5 °C/dk ve 200 °C'den 220 °C'ye ise 4 °C/dk olacak şekilde ayarlandı. 220 °C'de 8 dakika tutuldu ve toplam süre 35 dk olarak belirtildi. Azot gazı taşıyıcı olarak kullanıldı. İnceleme esnasında numunelerin yağ asidi metil esterlerinin analizinden önce, standart yağ asidi metil esterlerine ait karışımlar enjekte edilip yağ asidlerinin tutulma süreleri tespit edildi. Bu işlemlerden bittikten sonra programlama yapıldı ve yağ asidi metil esterlerinin analizleri yapıldı (Christie 1990).

3.2.3.5. Vitamin ve Sterollerin HPLC Cihazı ile Analizi

Pellet kısmını içeren örneklerin 10 ml 3/2 BHT'li hekzan izopropil alkol çözeltisinde parçalanıp santrifüj edilmesiyle elde edilen süpernatant kısmından 3 ml alındı. Bu süpernatant kısım ağız kapaklı uzun deney tüpleri içine alındı. Alınan 3 ml'lik örnek üzerine 5 ml metanolik KOH çözeltisi (10 gr KOH+100 ml metanol) ilave edildi. Vortekslendikten sonra 85 °C'lik etüvde 30 dk inkübe edildi. Etüvden çıkarıldıktan sonra oda sıcaklığında soğutulularak üstüne 5 ml saf su eklenerek vortekslendi. Daha sonra 10 ml BHT'siz hekzan izopropil alkol eklendi. Oda sıcaklığında 15 saat faz ayrımı için beklendi. Süre sonunda faz ayrımı meydana geldi ve üst faz küçük deney tüplerine alındı alt faz atıldı. Üst fazın olduğu deney tüpü 37 °C etüvde uçmaya bırakıldı. Uçma meydana geldikten sonra örnek kalıntılarının olduğu deney tüplerine 1 ml asetonitril (ACN)/metanol karışımı ilave edilerek vortekslendi. Örneklerden 1 ml viallere alınıp analiz edildi.

Analizler, Shimadzu marka HPLC cihazında yapıldı. LC-10 ADVP UV-visible pompa, SPD-10AVP detektörü, CTO-10ASVP kolon, SIL-10ADVP otosampler, DGU-14A degasser ünitesi ve Class VP software (Shimadzu, Kyoto Japan) kullanıldı. Mobil fazda asetonitril/metanol (%60+%40, v/v) kullanılarak akış hızı 1ml olarak ayarlandı. Analizler UV dedektör, Süpelcosil LCTM 18 (15×4,6 cm, 5 µm; Sigma, USA) kolonu kullanılarak yapıldı. E vitamin içerikleri 202 nm, D ve K vitaminleri ise 265 nm'de ölçüldü. (Katsanidis ve Addis 1999).

3.3. İstatistik Analizi

Deney sonucunda tespit edilen değerler SPSS 15.0 istatistik programıyla değerlendirildi. Kontrol grubu ile uygulanan maruziyet konsantrasyonları gruplarının ortalamaları arası farklar önce tek-yönlü ANOVA ile daha sonra da her bir grubun diğerinden olan farklılıklar post hoc LSD testi yapılarak belirlendi. Deney sonuçları tablolar halinde verildi ve değerler ortalama ± standard sapma (mean±S.D.) belirtildi. İstatistik yönden önemli bulunan farklar tablolar içinde değişik harfler ile gösterildi ve ayrıca metin içinde de istatistiksel P (p>0.05, p<0.05, p<0.01, p<0.001, p<0.0001) değerleri şeklinde ifade edildi.

4. BULGULAR

4.1. Schiff Bazlarının *S. cerevisiae* BY4741 Hücresinin Lipit Peroksidasyon Düzeyi Üzerine Etkisi

E₁, E₂ ve E₃ schiff bazlarının farklı konsantrasyonları ilave edilen maya hücrelerindeki MDA düzeyleri incelendiğinde; kontrol grubunda kıyasla tüm gruplarda artış olduğu gözlemlendi. Gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında E₁ 8 ppm, E₃ 8 ppm gruplarında MDA seviyesinin kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan oldukça önemli olduğu (p<0.0001), E₁ 2 ppm, E₂ 4 ppm, E₃ 4 ppm gruplarında ise belirgin miktarda anlamlı olduğu saptandı (p<0.001).

E₁ schiff bazının 2 ppm, 4 ppm ve 8 ppm konsantrasyonları ilave edilen maya hücrelerindeki MDA seviyesi kontrol grubuna göre miktarın tüm gruplarda arttığı tespit edildi. Gruplar kendi aralarında kıyaslandığında konsantrasyon arttıkça MDA düzeyinin E₁ 2 ppm'de belirgin miktarda arttığı (p<0.001), E₁ 8 ppm'de oldukça fazla bir artış olduğu tespit edildi (p<0.0001) (Çizelge 4.1) (Şekil 4.1).

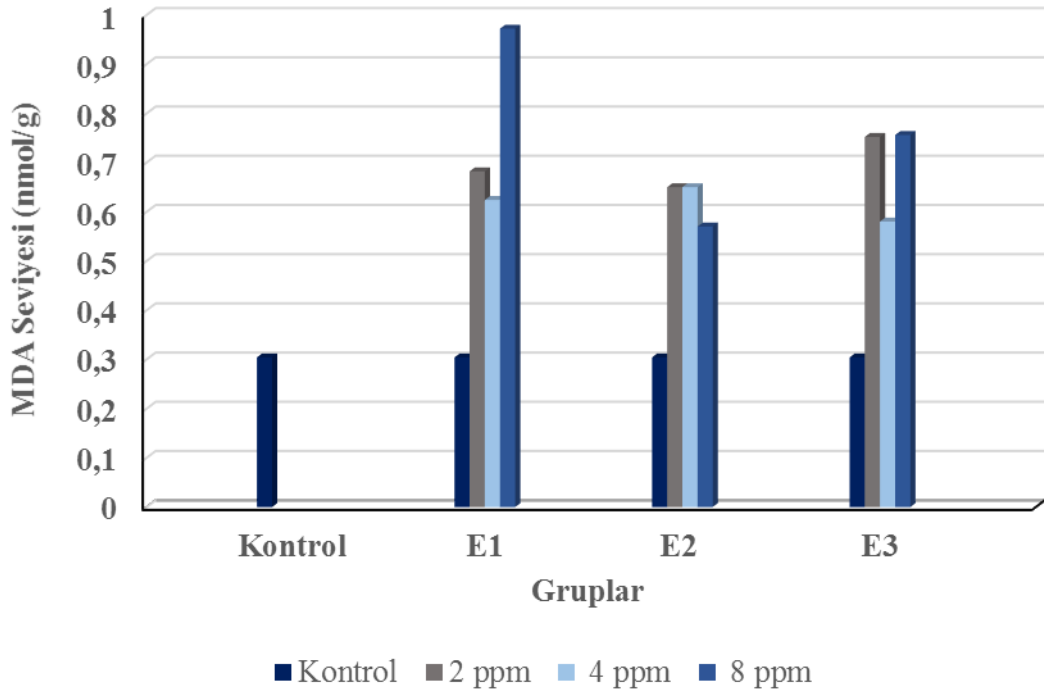
Çizelge 4.1. Schiff Bazlarının *S. cerevisiae* BY4741 hücresindeki MDA düzeyi üzerine etkisi

Gruplar	MDA (nmol/g)
Kontrol	0.304±0.07
E ₁ 2 ppm	0.682±0.07^d
E ₁ 4 ppm	0.624±0.007
E ₁ 8 ppm	0.972±0.15^{cd}
E ₂ 2 ppm	0.650±0.06
E ₂ 4 ppm	0.650±0.03^d
E ₂ 8 ppm	0.570±0.01
E ₃ 2 ppm	0.752±0.26
E ₃ 4 ppm	0.580±0.10^d
E ₃ 8 ppm	0.756±0.04^{cd}

d: p<0.001, cd: p<0.0001

Kontrol grubuna göre; E₂ schiff bazının farklı konsantrasyonları (2 ppm, 4 ppm ve 8 ppm) ilave edilen maya hücrelerindeki MDA seviyesinin tüm gruplarda önemli ölçüde arttığı gözlemlendi (p<0.001). Gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında konsantrasyon arttıkça MDA miktarının arttığı, bu artış miktarının özellikle E₂ 4 ppm’de belirgin düzeyde olduğu saptandı (p<0.001) (Çizelge 4.1) (Şekil 4.1).

E₃ schiff bazının üç farklı konsantrasyonu ilave edilen maya hücre hücrelerindeki MDA miktarının kontrol grubuna göre tüm gruplarda önemli düzeyde arttığı belirlendi (p<0.001). E₃ 4 ppm’de gruplar arasındaki farklılığın çok daha belirgin olduğu (p<0.001), E₃ 8 ppm’de miktarın oldukça fazla tespit edildi (p<0.0001) (Çizelge 4.1) (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. Schiff Bazlarının *S. cerevisiae* BY4741 hücresindeki MDA-TBA miktarı üzerine etkisi

4.2. Schiff Bazlarının *S. cerevisiae* BY4741 Hücresinin GSH ve GSSG Seviyesi Üzerine Etkisi

Schiff bazlarının maya hücresindeki GSH düzeyinin kontrol grubuna göre tüm gruplarda arttığı belirlendi. Artışların E₁ ve E₂ schiff bazlarını içeren gruplarda konsantrasyon arttıkça arttığı, buna karşılık E₃ grubunda ise azaldığı tespit edildi (Çizelge 4.2) (Şekil 4.2).

Çizelge 4.2. Schiff Bazlarının *S. cerevisiae* BY4741 hücresindeki GSH ve GSSG düzeyi üzerine etkisi

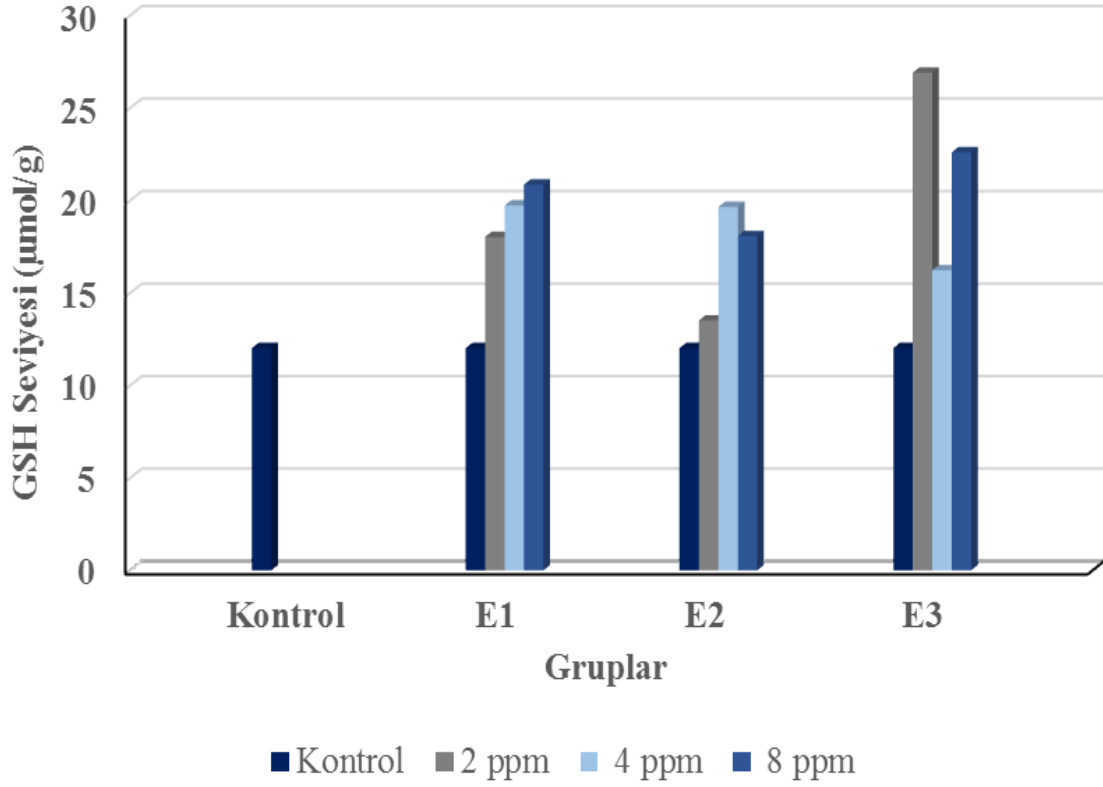
Gruplar	GSH (µmol/g)	GSSG (µmol/g)
Kontrol	12.01±2.26	5.50±1.58
E ₁ 2 ppm	18.02±1.28	3.51±0.15^d
E ₁ 4 ppm	19.72±1.45^d	3.98±0.33
E ₁ 8 ppm	20.85±2.13^{cd}	4.35±0.35^b
E ₂ 2 ppm	13.51±1.95 ^a	2.89±0.81^{cd}
E ₂ 4 ppm	19.64±2.43^d	3.30±0.36^d
E ₂ 8 ppm	18.07±1.56	3.19±0.12
E ₃ 2 ppm	26.90±6.88^{cd}	6.09±0.98^b
E ₃ 4 ppm	16.22±1.72^c	3.89±0.43^d
E ₃ 8 ppm	22.59±4.09	4.89±1.08

a: p>0.05, b: p<0.05, c: p<0.01, d: p<0.001, cd: p<0.0001

E₁ schiff bazının farklı konsantrasyonları ilave edilen maya hücrelerindeki GSH düzeyinin kontrol grubuna kıyasla tüm gruplarda arttığı gözlemlendi. Gruplar kendi aralarında kıyaslandığında konsantrasyon arttıkça GSH miktarının arttığı belirlendi. E₁ 4 ppm grubunda belirgin düzeyde arttığı, E₁ 8 ppm grubunda bu artışın istatistiksel açıdan oldukça önemli olduğu gözlemlendi (p<0.001) (p<0.0001) (Çizelge 4.2) (Şekil 4.2).

E₂ schiff bazı ilave edilen (2 ppm, 4 ppm ve 8 ppm) maya hücrelerindeki GSH seviyesi incelendiğinde; kontrol grubuna göre miktarın tüm gruplarda belirgin miktarda arttığı saptandı (p<0.001). Gruplar kendi aralarında kıyaslandığında konsantrasyon arttıkça GSH miktarının arttığı saptandı. E₂ 2 ppm'de istatistiksel farklılık bulunmadığı (p>0.05), E₂ 4 ppm'de miktarın belirgin seviyede arttığı tespit edildi (p<0.001). (Çizelge 4.2) (Şekil 4.2).

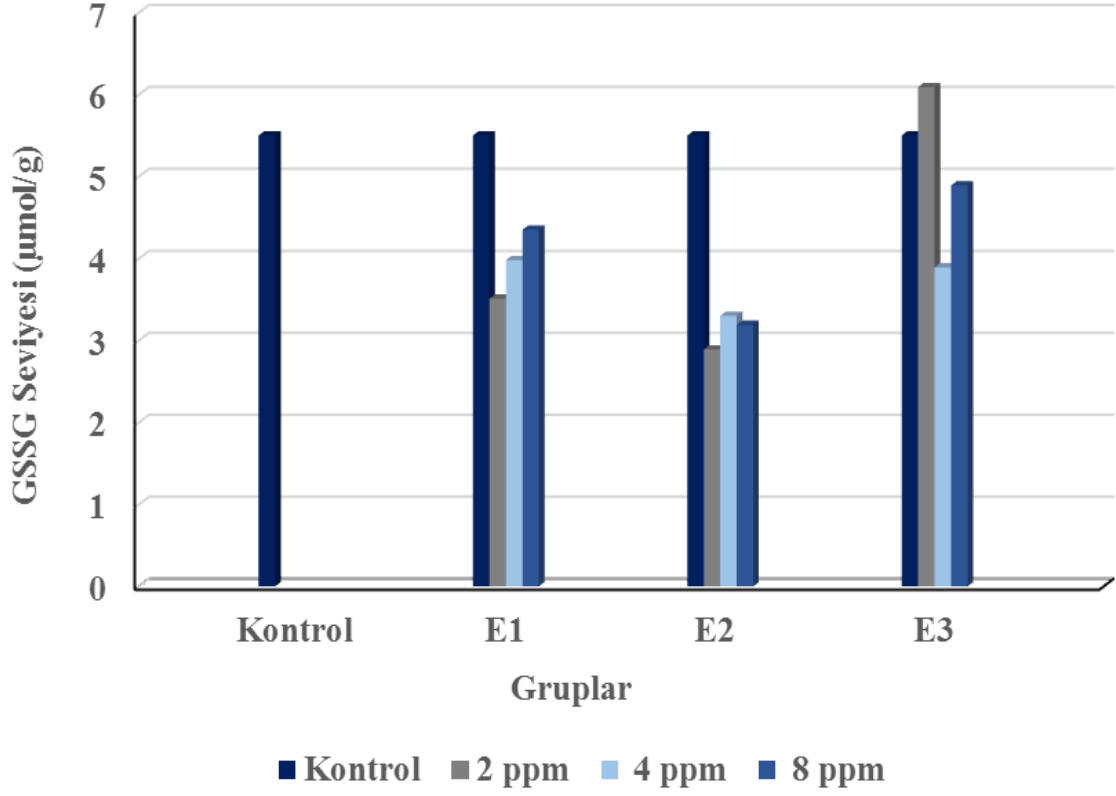
E₃ schiff bazının 2 ppm, 4 ppm ve 8 ppm konsantrasyonları ilave edilen maya hücrelerindeki GSH düzeyine bakıldığında kontrol grubuna kıyasla tüm gruplarda belirgin miktarda arttığı saptandı (p<0.001). E₃ 2 ppm'de miktarın oldukça fazla olduğu E₃ 4 ppm grubunda ise anlamlı derecede farklılık olduğu belirlendi (p<0.0001). (p<0.01) (Çizelge 4.2) (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. Schiff Bazlarının *S. cerevisiae* BY4741 hücreesindeki glutatyon miktarı üzerine etkisi

Kontrol grubuna göre E₁, E₂ ve E₃ schiff bazlarının farklı konsantrasyonları ilave edilen maya hücrelerindeki GSSG üzerindeki etkileri karşılaştırıldığında miktarın tüm gruplarda belirgin düzeyde azaldığı belirlendi. E₁ 2 ppm, E₂ 4 ppm, E₃ 4 ppm gruplarında çok daha belirgin bir azalış olduğu (p<0.001); E₂ 2 ppm grubunda azalışın istatistiksel açıdan oldukça önemli olduğu (p<0.0001), E₁ 8 ppm ve E₃ 2 ppm'de gruplar arasında kısmen farklılık olduğu tespit edildi (p<0.05).

E₁ schiff bazının 2 ppm, 4 ppm ve 8 ppm konsantrasyonları ilave edilen maya hücrelerinde GSSG seviyesinin kontrol grubuna kıyasla tüm gruplarda azaldığı gözlemlendi. Gruplar kendi aralarında kıyaslandığında konsantrasyon arttıkça GSSG miktarının arttığı belirlendi. E₁ 2 ppm grubunda miktarın belirgin düzeyde azaldığı (p<0.001), E₁ 8 ppm grubunda kısmi bir azalış olduğu (p<0.05) saptandı (Çizelge 4.2) (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. Schiff Bazlarının *S. cerevisiae* BY4741 hücreesindeki GSSG miktarı üzerine etkisi

E₂ schiff bazının 2 ppm, 4 ppm ve 8 ppm konsantrasyonları ilave edilen maya hücrelerindeki GSSG düzeyi incelendiğinde; kontrol grubuna kıyasla tüm gruplardaki miktarın belirgin seviyede düştüğü görüldü ($p < 0.001$). Gruplar kendi aralarında kıyaslandığı konsantrasyon arttıkça GSSG miktarının arttığı gözlemlendi. E₂ 2 ppm grubunda azalış düzeyinin oldukça önemli olduğu, E₂ 4 ppm grubunda farklılığın oldukça belirgin olduğu belirlendi ($p < 0.0001$) ($p < 0.001$) (Çizelge 4.2) (Şekil 4.3).

Kontrol grubuna kıyasla E₃ schiff bazının farklı konsantrasyonları (2 ppm, 4 ppm ve 8 ppm) ilave edilen maya hücrelerindeki GSSG seviyesi incelendiğinde; E₃ 2 ppm grubunda kısmi artış görülürken ($p < 0.05$), E₃ 4 ppm'de belirgin düzeyde azaldığı saptandı ($p < 0.001$) (Çizelge 4.2) (Şekil 4.3).

4.3. Schiff Bazlarının *S. cerevisiae* BY4741 Hücresinin Total Protein Seviyesi Üzerine Etkisi

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; E₁, E₂ ve E₃ schiff bazlarının farklı konsantrasyonları ilave edilen maya hücrelerindeki total protein miktarının tüm gruplarda belirgin seviyede arttığı saptandı ($p < 0.001$).

E₁ schiff bazının 2 ppm, 4 ppm ve 8 ppm konsantrasyonları ilave edilen maya hücrelerindeki total protein düzeyi incelendiğinde; kontrol grubuna kıyasla tüm gruplarda belirgin miktarda artış olduğu gözlemlendi (p<0.001). E₁ 4 ppm’ de bu artışın çok daha belirgin seviyede arttığı (p<0.001), E₁ 8 ppm’de miktarın istatistiksel açıdan oldukça önemli olduğu tespit edildi (p<0.0001) (Çizelge 4.3) (Şekil 4.4).

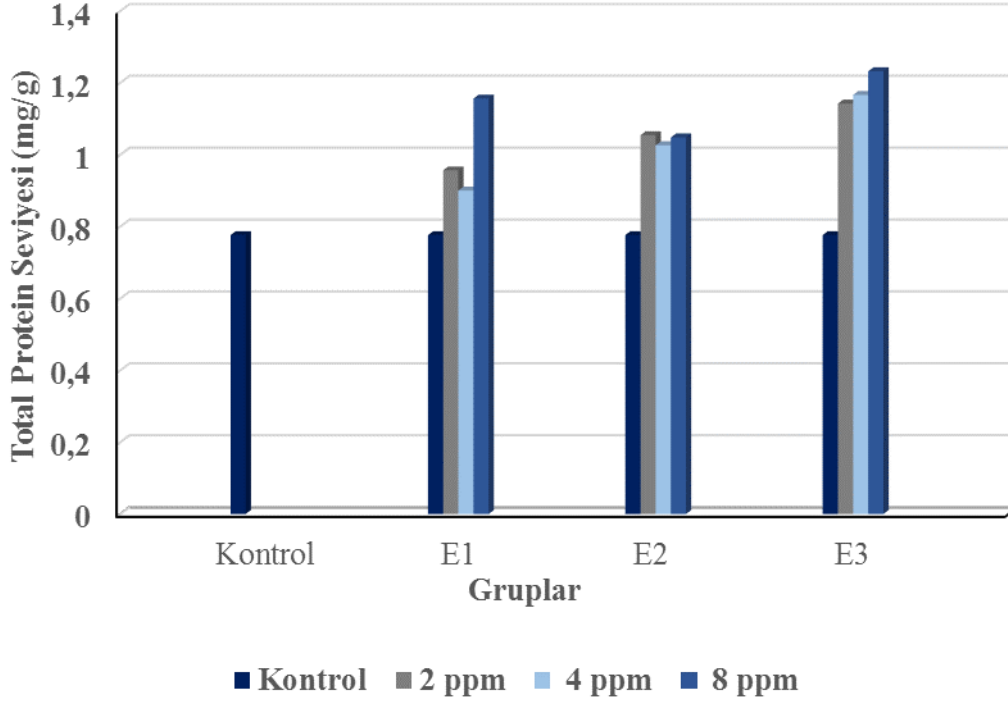
Çizelge 4.3. Schiff Bazlarının *S. cerevisiae* BY4741 hücresindeki Total Protein düzeyi üzerine etkisi

Gruplar	Total Protein (mg/g)
Kontrol	0.776±0.06
E₁ 2 ppm	0.956±0.09
E₁ 4 ppm	0.900±0.05^d
E₁ 8 ppm	1.156±0.06^{cd}
E₂ 2 ppm	1.054±0.004^d
E₂ 4 ppm	1.026±0.05
E₂ 8 ppm	1.048±0.11
E₃ 2 ppm	1.142±0.06
E₃ 4 ppm	1.166±0.13
E₃ 8 ppm	1.232±0.21^{cd}

d: p<0.001, cd: p<0.0001

Kontrol grubuna kıyasla E₂ schiff bazının farklı konsantrasyonları ilave edilen maya hücrelerindeki total protein miktarının tüm gruplarda önemli miktarda artış olduğu belirlendi (p<0.001). Gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında konsantrasyon arttıkça total protein miktarının azaldığı saptandı. E₂ 2 ppm’de miktarın belirgin düzeyde arttığı gözlemlendi (p<0.001) (Çizelge 4.3) (Şekil 4.4).

E₃ schiff bazının üç farklı konsantrasyonu ilave edilen maya hücrelerindeki total protein seviyesinin kontrol grubuna kıyasla tüm gruplarda artış olduğu belirlenmiştir (p<0.001). Gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında konsantrasyon arttıkça total protein miktarının arttığı tespit edildi. E₃ 8 ppm’de miktarın belirgin düzeyde arttığı (p<0.001), E₃ 8 ppm’de miktarın istatistiksel açıdan oldukça önemli olduğu saptandı (p<0.0001) (Çizelge 4.3) (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. Schiff Bazlarının *S. cerevisiae* BY4741 hücresindeki total protein miktarı üzerine etkisi

4.4. Schiff Bazlarının *S. cerevisiae* Hücresinin Yağ Asidi Seviyesi Üzerine Etkisi

E₁, E₂ ve E₃ schiff bazlarının 2 ppm 4 ppm 8 ppm konsantrasyonları uygulanan *Saccharomyces cerevisiae* BY4741- Yabani Tip Maya Hücresi'nde (Genotip: MATa his3 leu2 met15 ura3) yapılan analizlerde yağ asidi tespit edilememiştir.

E₁, E₂ ve E₃ schiff bazlarının farklı konsantrasyonları (10 mg ve 20 mg) ilave edilen *S. cerevisiae* hücresindeki yağ asidi düzeyi üzerine etkisi incelendiğinde; kaprilik asit (C8:0) miktarının kontrol grubuna kıyasla tüm gruplarda azaldığı saptandı. E₁-Y grubunda istatistiksel bir farklılık olmadığı, E₂-Y ilave edilen grupta ise azalış miktarının daha fazla olduğu gözlemlendi (p>0.05) (p<0.001) (Çizelge 4.4). Kontrol grubuna oranla laurik asit (C12:0) miktarının tüm gruplarda azaldığı sadece E₁-X grubunda artış gösterdiği tespit edildi. E₁-X grubunda görülen artışın istatistiksel bir farklılık oluşturmadığı; E₃-Y grubunda ise anlamlı derecede azalış olduğu belirlendi (p>0.05) (p<0.01) (Çizelge 4.4). Miristik asit (C14:0) miktarı üzerine schiff bazı uygulamalarının etkilerinin kontrole göre; E₁-Y, E₂-X, E₂-Y, E₃-X ve E₃-Y gruplarında azaltıcı yönde olduğu gözlemlendi. E₂-X grubunda anlamlı derecede azalış olduğu, E₁-X grubunda görülen artışın istatistiksel açıdan bir farklılık oluşturmadığı belirlendi (p<0.01) (p>0.05) (Çizelge 4.4).

Farklı konsantrasyonlardaki schiff bazlarının palmitik asit (C16:0) içeriği üzerine etkileri incelendiğinde kontrol grubuna oranla yağ asidinin E₂-X grubunda arttığı diğer gruplarda

azaldığı saptandı. E₂-X grubunda kısmen bir artış olduğu, E₂-Y grubunda azalmanın daha fazla olduğu görüldü (p<0.05) (p<0.001). Palmitoleik asit (C16:1) içeriği incelendiğinde; kontrol grubuna göre sadece E₂-X uygulamasında azalış olduğu; E₁-X, E₁-Y, E₂-Y, E₃-X ve E₃-Y uygulamalarında artış olduğu saptandı. E₃-X grubunda kısmi bir artış olduğu ve E₂-X grubunda tespit edilen azalış miktarının istatistiksel bir farklılık oluşturmadığı gözlemlendi (p<0.05) (p>0.05). Heptadekanoik asit (C17:0) miktarı kontrol ile karşılaştırıldığında E₁-X grubunda azalış görülürken diğer schiff bazı gruplarında 17:0 düzeyinin arttığı ve özellikle E₂-Y grubunda artış miktarının daha anlamlı olduğu belirlendi. (p<0.001). Heptadekanoik (C17:1) yağ asidinin E₃-X grubunda istatistiksel açıdan oldukça önemli oranda azaldığı, diğer gruplarda ise arttığı tespit edildi (p<0.0001). Stearik asit (C18:0) içeriğinin kontrole oranla E₂-Y grubunda anlamlı düzeyde artış olduğu (p<0.01), diğer gruplarda ise azaldığı gözlemlendi. E₃-X grubunda azalmanın kısmi miktarda olduğu saptandı (p<0.05) (Çizelge 4.4).

Oleik asit (C18:1) miktarı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında yağ asidinin E₁-Y, E₂-X gruplarında azaldığı, diğer gruplarda arttığı saptandı. E₁-Y grubunda kısmi bir azalış olduğu (p>0.05), E₂-Y grubunda ise anlamlı derecede artış olduğu tespit edildi (p<0.01). Schiff bazlarının linoleik asit (C18:2) içeriği üzerine etkilerinin yağ içeriğini artırıcı şekilde olduğu ve E₁-X ve E₃-Y içeren gruplarda bu artışın istatistiksel açıdan oldukça önemli olduğu belirlendi (p<0.0001) (Çizelge 4.4). Linolenik asit (C18:3) seviyesinin kontrole göre tüm gruplarda azaldığı özellikle E₂-X grubunda miktarın oldukça önemli derecede azaldığı gözlemlendi (p<0.0001) (Çizelge 4.4). Araşidik asit (C20:0) düzeyinin kontrole oranla tüm gruplarda arttığı, E₂-Y grubunda kısmi bir artış görülürken E₂-Y grubunda bu artışın daha belirgin olduğu görüldü (p<0.05) (p<0.001) (Çizelge 4.4). E₃-Y grubunda ise (C20:0) tespit edilmedi.

Eikosenoik asit (C20:1) kontrol grubunda saptanmadı. Schiff bazı uygulamalarının E₁ gruplarında konsantrasyon arttıkça Eikosenoik asit miktarını azaltıcı; E₂ ve E₃ gruplarında ise konsantrasyon arttıkça 20:1 düzeyini arttırıcı yönde gerçekleştiği gözlemlendi (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.4. Schiff Bazlarının *S. cerevisiae* hücreesindeki yağ asidi içeriği (%)

Yağ Asitleri	Kontrol	E ₁ -X	E ₁ -Y	E ₂ -X	E ₂ -Y	E ₃ -X	E ₃ -Y
C8:0	4.572±0.56	3.444±0.53	4.535±0.65^a	3.141±0.11	2.467±0.20^d	3.070±0.53	2.80±0.45
C12:0	8.151±0.64	8.169±0.67^a	7.952±0.75	7.638±0.66	7.381±0.50	7.679±0.77	6.069±0.38^c
C14:0	5.178±0.04	5.320±0.03^a	4.485±0.13	4.997±0.17^c	4.674±0.06	4.644±0.03	4.873±0.03
C16:0	45.96±0.43	38.05±8.13	43.89±0.80	46.26±1.16^b	37.41±6.52^d	44.94±0.46	42.68±0.75
C16:1	5.00±0.15	5.92±0.77	5.32±0.30	4.80±0.22^a	5.46±0.26	5.78±0.23^b	5.42±0.17
C17:0	0.297±0.02	0.163±0.04	1.04±0.23	1.23±0.09	1.59±0.08^d	1.19±0.09	1.08±0.07
C17:1	0.125±0.004	0.209±0.01	0.256±0.03	0.201±0.09	0.174±0.04	0.045±0.006^{cd}	0.38±0.04
C18:0	14.46±0.82	12.97±0.59	13.60±0.54	13.09±0.35	16.27±1.01^c	13.85±1.19^b	13.18±0.50
C18:1	3.38±0.12	3.67±0.44	3.36±0.15^a	3.03±0.12	4.66±0.20^c	4.45±0.43	3.64±0.12
C18:2	0.142±0.019	11.02±1.08^{cd}	9.47±1.42	10.35±1.29	7.05±1.22	7.69±1.76	14.78±0.18^{cd}
C18:3	9.80±0.60	0.157±0.04	0.113±0.05	0.098±0.009^{cd}	0.331±0.07	0.464±0.09	0.774±0.04
C20:0	0.120±0.007	0.160±0.015	0.131±0.007^b	0.145±0.021	0.202±0.03^d	0.156±0.024	-
C20:1	-	0.218±0.05	0.087±0.005	0.218±0.05	0.265±0.03	0.153±0.01	0.240±0.04

a: p>0.05, b: p<0.05, c: p<0.01, d: p<0.001, cd: p<0.0001 X: 10 mg Y: 20 mg

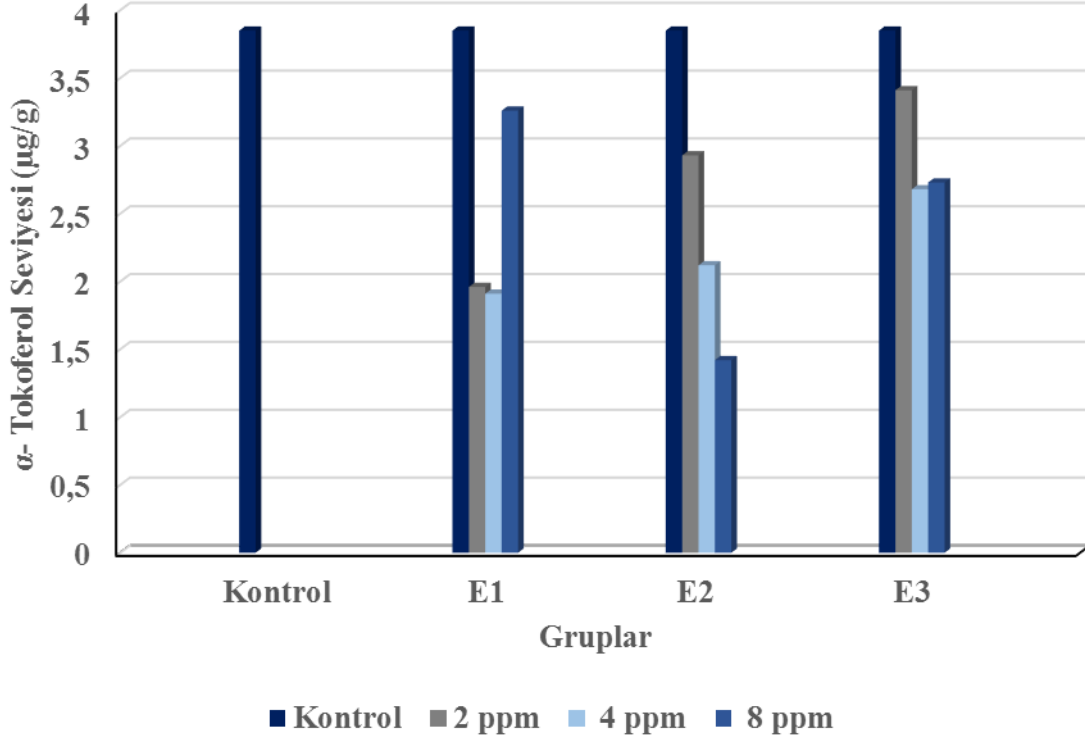
4.5. Schiff Bazlarının *S. cerevisiae* Hücresinin Lipofilik Vitaminler ve Fitosterol Seviyesi Üzerine Etkisi

E₁, E₂ ve E₃ schiff bazlarının 2 ppm 4 ppm 8 ppm konsantrasyonları uygulanan *Saccharomyces cerevisiae* BY4741- Yabani Tip Maya Hücresi'nde (Genotip: MATa his3 leu2 met15 ura3) sadece α -tokoferol tespit edildi. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; α -tokoferol içeriğinin tüm gruplarda azaldığı belirlendi. Gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında E₁ 2 ppm, E₂ 8 ppm gruplarında miktarın kontrole göre oldukça önemli seviyede azaldığı (p< 0.0001), E₁ 8 ppm grubunda istatistiksel bir farklılık olmadığı (p>0.05) ve E₃ 4 ppm grubunda ise belirgin düzeyde azaldığı tespit edildi (p<0.001) (Şekil 4.5) (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.5. Schiff Bazlarının *S. cerevisiae* BY4741 hücresindeki α -tokoferol düzeylerinin değişimi ($\mu\text{g/g}$)

Gruplar	α -tokoferol
Kontrol	3.85±0.43
E ₁ 2 ppm	1.96±0.31^{cd}
E ₁ 4 ppm	1.91±0.14
E ₁ 8 ppm	3.26±0.66^a
E ₂ 2 ppm	2.93±0.24
E ₂ 4 ppm	2.12±0.16
E ₂ 8 ppm	1.42±0.18^{cd}
E ₃ 2 ppm	3.41±0.71
E ₃ 4 ppm	2.68±0.52^d
E ₃ 8 ppm	2.73±0.86

a: p>0.05 d: p<0.001, cd: p<0.0001



Şekil 4.5. Schiff Bazlarının *S. cerevisiae* BY4741 hücreesindeki α -tokoferol miktarı üzerine etkisi

E₁, E₂ ve E₃ schiff bazı uygulamalarının (X: 10 mg ve Y: 20 mg) *S. cerevisiae* mayası tarafından sentezlenen lipofilik vitaminler üzerine etkileri incelendiğinde; vitamin miktarının kontrol grubuna oranla tüm gruplarda azaldığı belirlendi (Çizelge 4.6). K₁ vitamini içeriğinin kontrol ile karşılaştırılmasında E₁-X grubunda arttığı, diğer tüm gruplarda ise azaldığı saptandı. Bu azalışın E₁-Y, E₂-Y ve E₃-Y gruplarında anlamlı olduğu gözlemlendi (p<0.0001) (Çizelge 4.6). K₂ vitamini düzeylerinin kontrol grubu ile kıyaslandığında bütün gruplarda belirgin düzeyde azaldığı gözlemlendi (p<0.0001) (Çizelge 4.6).

D₂ vitamini düzeyinin kontrole göre tüm gruplarda önemli derecede azaldığı ve azalışın özellikle E₁-Y, E₂-X ve E₃-Y gruplarında istatistiksel açıdan oldukça önemli olduğu tespit edildi (p<0.0001). D₃ vitamini seviyesinin uygulama gruplarından E₁-Y uygulamasında kontrol grubu ile arasında belirgin bir azalış farkı olduğu gözlemlenirken, E₂-X ve E₃-X uygulama gruplarında ise azalış miktarı çok düşük seviyede saptandı (p<0.001) (p<0.0001) (Çizelge 4.6).

R-tokoferol miktarının kontrol grubu ile kıyaslandığında tüm gruplarda azaldığı belirlendi. E₂-X grubunda farkın daha belirgin olduğu, E₃-Y grubunda ise istatistiksel olarak oldukça önemli olduğu belirlendi (p<0.001). (p<0.0001). α -tokoferol miktarının kontrol grubuna göre tüm gruplarda azaldığı gözlemlendi. E₁-Y ve E₂-X gruplarında oldukça düşük miktarlarda bulunduğu ve istatistiksel açıdan önemli olduğu saptandı (p<0,0001) (Çizelge 4.6).

S.cerevisiae'da farklı konsantrasyonlardaki schiff bazı uygulamalarının fitosteroller (stigmasterol, ergosterol ve β -sitosterol) üzerine etkileri karşılaştırıldığında; kontrol grubuna oranla ergosterol ve stigmasterol miktarlarında oldukça belirgin seviyede azalmalar olduğu tespit edilirken, β -sitosterol miktarlarında bütün gruplarda artış olduğu belirlendi.

Ergosterol düzeyi kontrole göre kıyaslandığında miktarın bütün gruplarda azaldığı gözlemlendi. E₁-Y, E₂-X ve E₃-Y gruplarında azalmanın istatistiksel açıdan oldukça önemli olduğu, E₂-Y grubunda ise kısmen bir farklılık saptandı (p<0.0001) (p<0.05) (Çizelge 4.6).

β -sitosterol miktarının kontrole grubuna oranla tüm gruplarda arttığı belirlendi. Gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında, E₁-X, E₁-Y ve E₃-X gruplarında artışın çok daha anlamlı düzeyde bu sterolü içerdiği gözlemlendi (p<0.0001) (Çizelge 4.6).

Stigmasterol düzeyi incelendiğinde kontrol grubuna göre schiff bazı uygulanan tüm gruplarda miktarda anlamlı düzeyde azalma olduğu ve özellikle E₁-Y, E₂-Y ve E₃-X gruplarında azalmanın oldukça belirgin seviyede olduğu belirlendi (p<0.0001) (Çizelge 4.6).

Çizelge 4.6. Schiff Bazlarının *S. cerevisiae* hücresindeki lipofilik vitamin ve fitosterol seviyesi üzerine etkisi ($\mu\text{g/g}$)

Vitamin ve Steroller	Kontrol	E ₁ -X	E ₁ -Y	E ₂ -X	E ₂ -Y	E ₃ -X	E ₃ -Y
K1 vitamini	1.024±0.27	1.092±0.16	0.56±0.07^{cd}	0.65±0.09	0.46±0.13^{cd}	0.72±0.20	0.40±0.06^{cd}
K2 vitamini	0.31±0.02	0.03±0.001^{cd}	0.06±0.004^{cd}	0.06±0.007^{cd}	0.06±0.007^{cd}	0.07±0.002^{cd}	0.07±0.008^{cd}
D₂ vitamini	0.737±0.16	0.536±0.07	0.195±0.02^{cd}	0.192±0.05^{cd}	0.180±0.04	0.236±0.02	0.150±0.06^{cd}
D₃ vitamini	0.198±0.02	0.178±0.02	0.154±0.06^d	0.075±0.03^{cd}	0.060±0.008	0.056±0.01^{cd}	0.095±0.04
R-tokoferol	0.176±0.07	0.156±0.02	0.170±0.03	0.154±0.02^d	0.146±0.01	0.176±0.02	0.106±0.02^{cd}
α-tokoferol	2.924±0.28	2.432±0.18	1.420±0.20^{cd}	1.604±0.16^{cd}	1.432±0.06^{cd}	1.510±0.15	2.024±0.35
Ergosterol	119.36±14.46	90.97±16.22	48.70±9.21^{cd}	44.57±2.29^{cd}	106.20±62.76^b	50.90±4.86	34.96±4.81^{cd}
β-sitosterol	0.70±0.27	1.84±0.83^{cd}	1.85±0.47^{cd}	1.06±0.30	1.30±0.52	1.184±0.25^{cd}	1.476±0.22
Stigmasterol	885.03±47.15	542.43±47.33	265.16±48.98^{cd}	307.72±38.60^{cd}	267.87±34.71	261.87±49.65^{cd}	344.10±57.30

a: $p>0.05$, b: $p<0.05$, c: $p<0.01$, d: $p<0.001$, cd: $p<0.0001$ X: 10 mg Y: 20 mg

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

5.1. Sonuçlar

Schiff bazlarının biyoloji, farmakoloji ve kimya alanlarında kullanımları oldukça yaygındır. Bu moleküller değişik biyolojik etkilere sahip olabilir. Schiff bazlı maddeler insan diyetinde kullanılamaz. Fakat bu bileşiklerin çoğunluğu canlı vücudu içerisinde değişik amaçlarla kullanılabilir.

Canlı sistemlerde koordinasyon bileşikleri oldukça önemli bileşiklerdir. Schiff bazlarının değişik metallerle oluşturdukları bileşiklerin, biyolojik ve katalitik aktiviteleri birçok çalışmanın konusunu oluşturmuştur (West ve Panel 1989, Chohan 2001, 2002, Takani vd. 2002, Mukherjee vd. 2006, Silva vd. 2006, Li-Juan vd. 2009, Reiss 2009, Shayma 2009, Dolaz vd. 2010, Mounika vd. 2010, Prashanthi 2010, Ceyhan vd. 2011, Chavan 2011).

Canlı yapılarda önemli olan biyomoleküller olan enzimlerin büyük bir kısmı kofaktör olarak metal iyonu içerdiklerinden dolayı metal iyonlarından etkilenirler. Metal iyonları belli konsantrasyonlarda enzimlerin inhibitörü yada aktivatörü gibi davranmaktadır. Günümüzde bazı hastalıkların tedavisi enzimlerin inhibisyonu yada aktivasyonu yoluyla gerçekleşmektedir. Bu sebeple bu bileşiklerin farmakolojideki önemi giderek artmaktadır. Bileşiklerin biyolojik aktiviteleri üzerinde yapılan çalışmalar ilaçların sentezlenmesi ve hastalıkların tedavi edilmesi bakımından önem arz etmektedir. (Dominguez-Vera vd. 1998, Chohan 2000, 2002, You ve Zhu 2004, Xu vd. 2005, Peralta vd. 2006, Chu ve Huang 2007, Wang ve Zheng 2007). Schiff bazlarının Cu(II) kompleksleri, biyolojik sistemlerin fiziksel ve kimyasal davranışlarının belirlenmesinde kullanılmıştır (Reddy 2000). Bazı ligandların dinükleer Cu(II) komplekslerinin antitümör, antiviral ve antiinflamatuvar ajanlar olarak davrandığı tespit edilmiştir (Zishen 1990).

Kimyasal olarak sentezlenen bileşik ya da bileşik gruplarının doğrudan canlı sisteme uygun olduğu söylenemez. Bu maddelerin kullanımlarından önce canlılar üzerindeki toksik ve biyokimyasal özelliklerinin incelenmesi, biyolojik sistemlere, canlının savunma sistemine uygunluğunun ortaya konulması gereklidir. Bu amaçla eukaryotik grubundan olan *S. cerevisiae*, başarılı bir model organizma olarak kullanılmaktadır. *S. cerevisiae* serbest radikaller ve oksidatif stres ile karşı karşıya kaldığında hücre sisteminde bu zararlı saldırılara karşı cevap verebilecek sistemlerle donatılmıştır. *S. cerevisiae*'daki metabolik özellikler yüksek yapıli organizmalara benzerlik gösterdiği için yeni sentezlenmiş bir bileşiğin canlı sisteme uyum sağlayıp sağlamadığı bu tip çalışmalarla ortaya çıkarılıp kullanıldığı zaman herhangi bir sorun ile karşılaşılmaz.

Bu çalışmada, yeni sentezlenmiş bazı Schiff bazlarının *S. cerevisiae* kültür ortamlarında bazı biyokimyasal parametreler üzerine etkilerinin belirlenmesi hedeflendi. Bu amaçla analizlerde en önemli hücre modeli olan *S. cerevisiae* BY4741 ve *S. cerevisiae* maya hücreleri kullanıldı. Yapılan araştırma kapsamında; yeni sentezlenmiş biyolojik sistemlerde etkisi bilinmeyen bazı schiff bazlarının, *S. cerevisiae*'nin total protein, glutasyon, lipit peroksidasyon, yağ asidi, lipofilik vitamin ve fitosterol gibi bazı biyokimyasal parametreleri üzerine farklı etkilere sahip olduğu belirlendi. Kontrol grubu ve diğer gruplar arasında biyokimyasal parametre içerikleri açısından önemli ölçüde istatistiksel farklar olduğu gözlemlendi.

Antioksidan özelliği olan GSH, serbest radikaller ve peroksitler ile reaksiyona girer ve hücrelerin oksidatif yıkıma karşı korunmasını sağlar (Szacz 1969, Akkuş 1995, Dikici 1999). Bu çalışmada Schiff bazı uygulanan gruplarda GSH miktarlarının kontrol grubuyla karşılaştırıldığında belirgin düzeyde artış gösterdiği gözlemlendi. Tespit edilen artışın en fazla E₃ 2 ppm grubunda olduğu belirlendi. Bunun nedeninin *S. cerevisiae*'nin schiff bazlarına karşı bir savunma mekanizması geliştirerek glutasyon miktarını artırdığı ve böylece oksidatif hasarlara karşı adaptasyon sağlayabildiğini ileri sürebiliriz. Bu görüşümüz, Izawa vd. (1995) tarafından yapılan çalışma ile de desteklenmektedir. Bu araştırmacılar, çalışmalarında H₂O₂'ye karşı oluşturulan adaptasyonlardan birinin intraselüler glutasyonun artışının olabileceğini bildirmişlerdir. Ayrıca, Penninckx (2000) *S. cerevisiae* mayasının farklı besin kaynaklarına ve oksidatif strese cevap olarak glutasyon sentezlediğini saptamıştır.

Lee vd. (2001) *S. cerevisiae* mayasında iyon radyasyonuna karşı süperoksit radikalının koruyucu etkisinin araştırdıkları çalışmalarında mayada radyasyon sonunda SOD'un yanı sıra katalaz ve glutasyon redüktaz enzimlerinin düzeylerinin yüksek seviyede arttığını gözlemlemişlerdir.

Elde edilen bulgulara bakıldığında, schiff bazlarının maya hücrelerindeki GSSG miktarının kontrol grubuna göre tüm gruplarda belirgin düzeyde azaldığı belirlendi. E₂ 2 ppm grubunda azalışın istatistiksel açıdan oldukça önemli olduğu tespit edilmiştir (p<0.0001).

MDA miktar tayini ile lipit peroksidasyonunun değerlendirilmesi yapılabilmektedir. Araştırmamızda farklı konsantrasyonlarda schiff bazları uygulanan maya hücrelerinin MDA düzeyleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel farklılıklar olduğu gözlemlendi. Çizelge 4.3'ye bakıldığında schiff bazı ilave edilen gruplardaki MDA düzeylerinin kontrol grubuna kıyasla arttığı saptandı. Özellikle E₁ 8 ppm'de miktarın istatistiksel açıdan oldukça önemli olduğu belirlendi. MDA düzeyinde görülen artışın maya hücrelerinin uygulanan kimyasal bileşiklere direnç meydana getirmesinden olabileceği düşünüldü. Bunun yanında kullanılan test maddelerinin maya hücresi üzerinde toksik etki göstererek lipit peroksidasyonunu arttırdığını ve

hasar oluşumuna sebep olduğunu da düşündürmektedir. MDA lipid peroksidasyonunun son ürünüdür ve artmış olması hücrel hasarın bir göstergesidir (Garcia vd. 1997). Yapılan bir çalışmada *S. cerevisiae*'nin plazma membranlarının H₂O₂ uygulandıktan kısa bir süre sonra geçirgenlik ve biyofizyolojik özelliklerinin değiştirdiği tespit edilmiş bunun nedeninin lipid bileşimindeki değişikliklerden olabileceği belirtilmiştir (Folmer vd. 2008).

Yaptığımız çalışmada schiff bazı uygulanan gruplarda; toplam protein miktarının kontrol grubuna kıyasla belirgin olarak arttığı tespit edildi. Protein düzeylerinde izlenen artış en fazla E₁ 8 ppm ve E₃ 8 ppm gruplarında gözlemlendi. Schiff bazları etkisi ile hasara uğramış proteinlerin hücrede birikimi sonucu protein düzeyinde artış olabilir. Bununla birlikte oksidatif stres durumunda sentezlenen proteinlerin hücredeki protein seviyesini arttırmaktadır. Yapılan bir çalışmada; *E. coli*'nin hidrojen peroksite maruz bırakıldığında, alkol dehidrogenaz E, uzama faktörü G, ısı şok proteini DnaK gibi temel proteinlerin sentezinde artış olduğu tespit edilmiştir. Oksidatif strese bağlı olarak bir grup oksitlenmiş proteinin sentezlendiğini belirtmişlerdir (Tamarit vd. 1998).

Schiff bazlarının *S. cerevisiae*'nin yağ asidi profili üzerindeki etkileri karşılaştırıldığında; kaprilik asit (C8:0) ve linolenik asit (C18:3) içeriklerinin kontrol grubuna kıyasla tüm gruplarda azaldığı belirlendi. Miristik yağ asidi (C14:0) miktarının kontrole göre; E₁-Y, E₂-X, E₂-Y, E₃-X ve E₃-Y gruplarında azalırken; E₁-X grubunda arttığı saptandı. C16:0 içeriğinin E₂-X grubunda kısmi olarak arttığı, E₂-Y grubunda ise belirgin düzeyde azaldığı; Palmitoleik asit (C16:1) miktarının sadece E₂-X grubunda azaldığı, diğer gruplarda ise arttığı belirlendi. C17:0 düzeyinin E₁-X grubunda azalırken diğer gruplarda arttığı gözlemlendi. Heptadekenoik (17:1) yağ asidinin E₃-X grubunda oldukça önemli oranda azaldığı, diğer gruplarda ise arttığı belirlendi. Stearik asit (18:0) içeriğinin kontrole kıyasla gruplarda azaldığı sadece E₂-Y grubunda anlamlı düzeyde artış olduğu tespit edildi. Oleik asit (C18:1) seviyesinin E₁-Y ve E₂-X gruplarında azaldığı, diğer gruplarda ise arttığı saptandı. Özellikle E₂-Y grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede artış olduğu tespit edildi. Linoleik (18:2) ve araşidik (20:0) yağ asidi içeriklerinin schiff bazı ilave edilen grupların hepsinde arttığı gözlemlendi. *S. cerevisiae* yağ asit içeriklerinin farklılık göstermesinin; mayanın gelişme ortamına ilave edilen farklı konsantrasyonlardaki schiff bazlarının etkisi ile olduğu ve bu maddelerin yağ asitlerinin transkribinden sorumlu olan enzimlerin aktivitesini inhibe ya da stimüle ederek yağ asidi miktarlarında farklılığa yol açabildiği düşünülebilir.

Mayaların yağ asidi profili üzerine çevre şartlarının etkileri üzerine yapılan çalışmalarda da benzer sonuçlara ulaşılmıştır. Torija vd. (2002) tarafından yapılan bir çalışmada *S. cerevisiae*'nin yağ asidi bileşimi üzerine nitrojen kaynaklarının etkisi araştırılmış ve mayanın

gelişme ortamı içeriğinin ve çevresel şartların hücre membran yağ asidi bileşimini etkilediği belirtilmiştir. Bunun nedeninin, plasma membranının mayanın içinde bulunduğu çevre ile temas kuran ilk hücre kısmı olmasından kaynaklandığını ileri sürmüşlerdir.

Gurvitz vd. (2001) yaptıkları çalışmada; *S. cerevisiae*'den sentezlenen linoleik asit izomerlerinin insan beslenmesinde önemli bir yere sahip olduğunu belirtmişlerdir. Bu izomerlerin özellikle antikarsinogenezis, antiarteriosklerotik ve yağlanmayı azaltıcı etkisi olduğunu ortaya koymuşlardır. Farklı bir araştırmada ise sıcaklık, oksijen ve besin sınırlanması gibi çevresel faktörlerden *S.cerevisiae* mayasının açık bir şekilde etkilenerek plazma membranında bazı adaptasyonlar oluşturduğu saptanmıştır ve plazma membranlarındaki bu değişikliklerin lipit bileşimindeki modifikasyonlarla açıklanabileceğini öne sürülmüştür (Beltran vd. 2008).

S. cerevisiae ve ratlar üzerinde yapılan başka bir çalışmada; yağ asidi düzeylerinin ekstrakt ve Fenton reaktifi ilavesinden etkilendiği tespit edilmiştir. *S. cerevisiae*'nın yağ asit bileşimi içinde Fenton reaktifi ve meyve ekstraktlarının etkisiyle palmitik, palmitoleik, stearik, oleik ve linoleik asitlerin, ratların yağ asidi bileşimi içinde de belirtilen yağ asitlerinin yanı sıra araşidonik ve dokosaheksaenoik asitlerin miktarlarında kontrol grubuna göre farklı oranlarda artış olduğu gözlemlenmiştir (Özşahin 2010).

S. cerevisiae maya hücresinin büyüme ortamına eklenen ağır metallerin biyokimyasal parametreler üzerindeki etkisini incelemek için yapılan bir çalışmada 14:0, 16:0, 16:1, 17:0, 18:0, 18:1 ve 18:2 yağ asitlerinin farklı düzeyde artış ve azalmalar gösterdiği tespit edilmiştir. Yağ asidi düzeyinin azalmasının nedeninin; maya hücresinin ağır metal stresi ile karşılaştığında önemli yağ asitlerinin sentezinin azalttığı ve sentezden sorumlu olan enzimlerin transkriplerinin de inhibe olduğu belirtilmiştir (Kireççi 2016).

Çalışmamızda *S. cerevisiae*'da schiff bazı uygulamalarının lipofilik vitamin (D₁, D₂, K₁, K₂, α - tokoferol ve R-tokoferol) miktarı üzerine etkileri incelendiğinde tüm gruplarda vitamin sentezini azalttığı gözlemlenmiştir.

Serbest radikal oluşumunda artış MDA düzeyi ve GSH-P_X enzim aktivitesini artırır. E vitamini düzeyinde ise azalmaya neden olur (Bott ve Green 1991, Novelli vd. 1997, Diplock 1991). Novelli vd. (1995) sıtmayı önleyici ilaçlarda Schiff bazlarının bazı metal komplekslerinin aktif oksijen ürettiğini, Byrnes vd. (1990) ise tiyosemikarbazon-Cu kompleksinin oksidatif strese sebep olduğunu ileri sürmüşlerdir. Güçlü bir antioksidan olan E vitamini (α -tokoferol ve R-tokoferol) seviyelerindeki azalış schiff bazlarının oksidatif stres oluşturduğunun bir delili sayılabilir. Bulgularımızın bu literatürler ile uyumlu olduğu görülmektedir.

Yapılan bir çalışmada *S. cerevisiae* gelişme ortamına ilave edilen bitkisel örnek içeriklerinin vitamin sentezi üzerinde etkili olduğu tespit edilmiş ve bitkinin kendi bünyesinde içerdiği vitamin miktarına paralel olarak o grupta sentezlenen vitamin düzeyinin arttığı belirtilmiştir. Bunun nedeninin kullanılan farklı karbon kaynaklarının besin içeriklerinden kaynaklandığı ileri sürülmüştür (Özşahin 2010).

Standart besi ortamında geliştirilen *S. cerevisiae* maya hücresinde ağır metal uygulamalarının etkisini incelemek için yapılan başka bir çalışmada; Mn, Mg ve Fe ilave edilen bütün gruplarda R Tokoferol, α Tokoferol, D₂, D₃, K₁ ve K₂ vitamin miktarının azaldığı ve bu azalmanın istatistiksel açıdan önemli olduğu tespit edilmiştir (Kireççi 2016).

Kullanılan schiff bazlarının *S. cerevisiae* mayasında fitosterol sentezini farklı oranlarda etkilediği çalışmamız sonucunda ortaya konulmuştur. Ergosterol ve Stigmasterol sentezinin tüm gruplarda azalırken β -sitosterol sentezinin ise arttığı belirlenmiştir.

Steroller ökaryotik hücre membranlarının temel yapısını oluşturur. Mayalardaki temel sterol olan ergosterol membranların akıcılık, geçirgenlik ve membrane bağlı enzimlerin aktivitesi gibi olaylardan sorumludur. Aynı zamanda önemli bir ilaç ara maddesidir ve D₂ vitaminin öncüsü olduğu belirlenmiştir (Arnezeder ve Hampel, 1990). Shang vd. (2006) tarafından yapılan bir çalışmada yüksek amonyum iyonlarının mayada ergosterol birikimini olumsuz yönde etkilediği rapor edilmiştir.

Yapılan çalışmalar ile farklı karbon, nitrojen kaynaklarının ve *S. cerevisiae*'nın gelişme ortamında bulunan diğer bileşenlerin hücre gelişimini ve ergosterol sentezini etkilediği ortaya konulmuştur (Qian 1988, Tan vd. 2003). Bunun yanında maya hücresinin temel sterolu olan ergosterolün membran yapısının geçirgenlik, akıcılık gibi özelliklerinden ve membrana bağlı enzimlerin aktivitelerinden sorumlu olduğu bildirilmiştir. Mayanın sentezlediği ergosterol, aynı zamanda D vitamini ile kortizon üretiminde ticari olarak sıkça kullanılır (Shang vd. 2006).

5.2. Öneriler

Sonuç olarak; schiff bazı uygulanan gruplarda Total Protein, GSH ve MDA seviyelerinin kontrole kıyasla yüksek olması yeni sentezlenen Schiff bazlarının *S. cerevisiae*'nin biyokimyasal sistemi, savunma sistemi üzerinde farklı etkilere sahip olduğunu göstermiştir. Hücrede MDA düzeyinin artmış olması schiff bazı ile hücre hasarının olduğunu, protein seviyesindeki artış hücrede hasara uğramış proteinlerin birikimi, anormal protein birikimi, oksidatif strese karşı hücrelerde yeni proteinlerin sentezi ile açıklanabilir. Ayrıca schiff bazı indüklü toksisiteyi

göstermektedir. Bu bağlamda; yeni sentezlenen schiff bazları antikanser ajan olarak da kabul edilebilir ve farklı kanser ilaçları ile kombine olarak kullanılmasıyla kanser tedavisine olumlu katkı yapabilir. Dolayısıyla, bu tez çalışmasında araştırılan schiff bazı bileşiklerinin konvansiyel antikanser ilaçlarla kombine edilerek kullanıldığında kanser tedavisine olumlu katkı yapıp yapmayacağı ileride yapılacak çalışmaların konusu olabilir.

Schiff bazı bileşiklerinin araştırılan özellikleri ve çalışmamız ile elde edilen verilerin;

- Canlı sistemler üzerindeki biyokimyasal değişimlerinin belirlenmesi ve etkilerinin ortaya konulmasına olumlu katkıda bulunulacağı,
- Diğer canlı modelleri üzerinde yapılacak benzer çalışmalara kaynak ve yararlı olacağı,
- Canlı modelleri üzerinde yapılacak çalışmalardaki sonuçlarla da paralellik göstereceği,
- Literatür bilgisine katkıda bulunulacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Abou-Hussein AA, Linert W, 2015. Synthesis, spectroscopic studies and inhibitory activity against bacteria and fungi of acyclic and macrocyclic transition metal complexes containing a triamine coumarine Schiff base ligand. *Spectrochimica Acta Part a-Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 141: 223-232.
- Adam B, 2000. *Temel Biyokimya*, Nobel Yayın Dağıtım, Ankara.
- Akkuş İ, 1995. *Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri*. s: 3-10, 1. Baskı, Mimoza Yayınları. Konya.
- Akkuş İ, 2005. *Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri*, s: 68-73, Mimoza Yayınları, Konya.
- Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P, 2002. *Molecular Biology of the Cell*, Garland Science, New York, USA.
- Arnezeder C, Hampel WA 1990. Influence of growth rate on the accumulation of ergosterol in yeast-cells. *Biotechnology Letters*, 12: 277–282.
- Amirkhanov VM, Bundya EA, Trush VA, Ovchynnikov VA, Zaitsev VN. 1999. Coordination compounds of Co (II), Ni(II), Mn(II), and Zn(II) with new representative of carbacylamidophosphates–potential anticancer drugs. 5th International symposium on applied bioinorganic chemistry. Corfu, 13-17, Greece.
- Anonim 2016a. <http://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Saccharomyces> (Erişim Tarihi: 27.07.2016).
- Ataş A, Çakmak A, Soran M. 2008. D Vitamin Metabolizması ve Rikets Hastalığı. *Bakırköy Tıp Dergisi*, 4:1-7.
- Barnett JA, Robinow CF, 2002. ‘A history of research on yeasts 4: cytology part II, 1950-1990’, *Yeast*, 19: 745-772.

- Bedia KK, Elcin O, Seda U, 2006. Synthesis and characterization of novel hydrazide-hydrazones and the study of their structure-antituberculosis activity. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 41(11): 1253-1261.
- Belitz HD, Grosch W, Schieberle P, 2005. *Food Chemistry, Third Edition*, Springer Verlag, Analytical and Bioanalytical Chemistry, 382 (1): 10-11.
- Beltran G, Novo M, Guillamon JM, Mas A, and Rozes N, 2008. Effect of fermentation temperature and culture media on the yeast lipid composition and wine volatile compounds. *International Journal of Food Microbiology*, 121: 169–177.
- Bergman LW, 2001. Growth and Maintenance of Yeast. 2001. *Methods in Molecular Biology*, Vol. 177, Two-Hybrid Systems: Methods and Protocols Edited by: P. N. MacDonald © Humana Press Inc., Totowa, NJ.
- Bhat MA, Al-Omar MA, Siddiqui N, 2013. Antimicrobial activity of Schiff bases of coumarin-incorporated 1,3,4-oxadiazole derivatives: an in vitro evaluation. *Medicinal Chemistry Research*, 22(9): 4455-4458.
- Braconi D, Sotgi M, Millucci L, Paffetti A, Tasso F, Alisi C, Martini S, Rappuoli R, Lusini P, Rosa A, Rossi C, Santucci A, 2006. Comparative analysis of the effects of locally used herbicides and their active ingredients on a wild-type wine (*Saccharomyces cerevisiae*) strain. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 54: 31633172.
- Bott AB, Green MA, 1991. Effect of Glutathione Depletion on The Biodistribution of Cu (PTSM) in Rats. *International Journal of Radiation Applications Instrumentation*, 18 (18): 865-9.
- Braconi D, Bernardini G, Santucci A, 2015. *Saccharomyces cerevisiae* as a Model in Ecotoxicological Studies: A Post-Genomics Perspective. *Journal of Proteomics*, 137: 19-34.
- Byrnes RW, Mohan M, Antholine WE, Xu RX, Petering DH, 1990. Oxidative Stress Induced by a Copper Thiosemicarbazones Complex. *Biochemistry*, 29(30): 7046-7053.

- Cabaroğlu T, Yılmaztekin M, 2010. Aroma Biyoteknolojisi, içinde: Gıda Biyoteknoloji, Ed. Aran N, Nobel Yayıncılık, Ankara.
- Ceyhan G, Çelik C, Uruş S, Demirtaş İ, Elmastaş M, Tümer M, 2011. Antioxidant, electrochemical, thermal, antimicrobial and alkane oxidation properties of tridentate Schiff base ligands and their metal complexes. *Spectrochimica Acta Part A*, 81: 184– 198.
- Champe PC, Harvey RA, 1997. Glikozaminoglikanlar. Tokullugil A, Dirican M, Ulukaya E Lippincott's Illustrated reviews serisinden: Biyokimya. İkinci baskı, Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, s: 147-156.
- Charef N, Sebti F, Arrar L, Djarmouni M, Boussoualim N, Baghiani A, Khennouf S, Ourari A, Aldamen MA, Mubarak MS, Peters DG, 2015. Synthesis, characterization, X-ray structures, and biological activity of some metal complexes of the Schiff base 2,2' -(((azanediylbis (propane-3,1-diyl))bis(azanylylidene))bis(methanylylidene))diphenol. *Polyhedron*, 85: 450-456
- Chavan VL, Mehta BH, 2011. X-ray, Thermal and biological studies of Ru (III), Rh(III) and Pd(II) schiff base metal complexes. *Research Journal of Chemistry and Environment*, 15: 57-61.
- Chohan ZH, Mushtaq S, 2000. Antibacterial cobalt (II) and zinc(II) complexes of pyrazine-derived nno and nnn donor schiff-bases. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 13: 21-27.
- Chohan ZH, Praveen M, 2001. Synthesis, characterization, coordination and antibacterial properties of novel asymmetric 1,1'-disubstituted ferrocene-derived Schiff-base ligands and their Co(II), Cu(II) Ni(II) and Zn(II) complexes. *Applied Organometallic Chemistry*, 15: 617-625.
- Chohan ZH, Rauf A, Supuran CT, 2002. Antibacterial role of SO₄²⁻, NO₃⁻, C₂O₄²⁻ and CH₃CO₂⁻ anions on Cu(II) and Zn(II) complexes of a thiadiazole-derived pyrrolyl Schiff base. *Metal-Based Drugs*, 8: 287-291.

Chohan ZH, Rau A, Noreen S, Scozzafava A, Supuran CT, 2002. Antibacterial cobalt (II), nickel(II) and zinc(II) complexes of nicotinic acid-derived Schiff bases. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 17: 101-106.

Christie WW, 1990. *Gas chromatography and lipids*. The Oil Press, Glasgow.

Chu Z, Huang W, 2007. Syntheses and structures of two new bis-N,O-bidentate Schiff base ligands and their respective copper(II) complexes with dinuclear double-helical configuration. *Journal of Molecular Structure*, 837: 15-22.

Combs GF, 2012. Considering the Individual Vitamins; Vitamin K. In: (Ed.), *The Vitamins*. Elsevier Inc., pp. 213-232

Cunha AC, Figueiredo JM, Tributino JLM, Miranda ALP, Castro HC, Zingali RB, Fraga CAM, de Souza MCBV, Ferreira VF, Barreiro EJ, 2003. Antiplatelet properties of novel N-substituted-phenyl-1,2,3-triazole-4-acylhydrazone derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 11(9): 2051-2059.

DeLuca HF, 2004. Overview of general physiologic features and functions of vitamin D. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 80: 1689-96.

Dığrak M, Selvi S, Ahmedov MA, Bağcı E, 1997. 1,5-dien-3ol'lerin antimikrobiyal etkilerinin incelenmesi. XII. Ulusal Kimya Kongresi, Y.Y Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü, Kongre Özetler Kitabı, s: 677, Van

Dikici İ. 1999. Akut viral hepatitlerle interferon tedavisi görmüş kronik viral hepatitlerde oksidatif stresin araştırılması. Uzmanlık Tezi, Selçuk Üni. Tıp Fak. Biyokimya Anabilim Dalı, Konya.

Diplock AT, 1991. Antioxidant Nutrients and Disease Prevention: An Overview, *The American Journal of Clinical Nutrition*, 52: 1895-1935.

- Dolaz M, McKee V, Uruş S, Demir N, Sabik AE, Golcu A, Tumer M, 2010. Synthesis, structural characterization, catalytic, thermal and electrochemical investigations of bidentate Schiff base ligand and its metal complexes. *Spectrochimica Acta A*, 76: 174-181.
- Dominguez-Vera, JM, Galvez N, Moreno JM, Colacio E, 1998. Copper (II) complexes of two new oxamidate bis-tetradentate schiff-base ligands. *Polyhedron*, 17: 2713-2718.
- El-wakiel N, El-keiy M, Gaber M, 2015. Synthesis, spectral, antitumor, antioxidant and antimicrobial studies on Cu(II), Ni(II) and Co(II) complexes of 4-[(1H-Benzoimidazol-2-ylimino)-methyl]-benzene-1,3-diol. *Spectrochimica Acta Part a-Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 147: 117-123.
- Esterbauer H, Gebicki J, Puhl H, J.gens G, 1992. The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL. *Free Radical Biology Medicine*, 13: 341-90.
- Fırat S, 1997. Kobaylarda radyasyonlar olusan akciğer hasarında doku glutatyon, glutatyon peroksidaz, glutatyon- S-transferaz düzeyleri ve N-asetil sistein'in bu sistem üzerindeki etkisi. Uzm.Tezi, Gazi Üni. Tıp Fak. Biyokimya A.B.Dalı, Ankara.
- Folmer V, Pedroso N, Matias AC, Lopes SCDN, Antunes F, Cyrne L, Marinho HS, 2008. H₂O₂ induces rapid biophysical and permeability changes in the plasma membrane of *Saccharomyces cerevisiae*, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, 1778 (4): 1141-1147.
- Garcia JJ, Reiter RJ, Guerrero JM, Escames G, Yu BP, Oh CS. 1997. Melatonin prevents changes in microsomal membrane fluidity during induced lipid peroxidation. *FEBS Letters*, 408: 297-300.
- Gaber M, El-Ghamry H, Atlam F, Fathalla S, 2015. Synthesis, spectral and theoretical studies of Ni(II), Pd(II) and Pt(II) complexes of 5-mercapto-1,2,4-triazole-3-imine-2'-hydroxynaphthaline. *Spectrochimica Acta Part a-Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 137: 919-929.

- Galaris D, Evangelou A 2002. The role of oxidative stress mechanisms, *Critical Reviews in Oncolog, Hematology*, 42: 93-45.
- Gou Y, Zhang Y, Qi JX, Zhou ZP, Yang F, Liang H, 2015. Enhancing the copper (II) complexes cytotoxicity to cancer cells through bound to human serum albumin. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 144: 47-55.
- Hara A, Radin NS, 1978. Lipid extraction of tissues with a low-toxicity solvent. *Analytical Biochemistry*, 90 (1): 420–426.
- Halliwell B, Chirico S, 1993. Lipid peroxidation: Its mechanism, measurement and significance. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 57 (5): 715–725.
- Halliwell B, Gutteridge WMC, 1999. *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford Medicine Press, s: 246-351.
- Helmut S, 1976. *Metal Ions in Biological Systems*, Marcel Dekker Inc, New York, s: 2-50.
- Hill TR, Morrissey PA, (2011). Vitamin K. In: (Ed.), *Vitamins*. Elsevier Inc., s: 661-666.
- Hollick MF, 2004. Sunlight and vitamin D for bone health and prevention of autoimmune diseases, cancer and cardiovascular disease. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 80(6): 1678-88.
- Ikram M, Rehman S, Khan A, Baker RJ, Hofer TS, Subhan F, Qayum M, Faridoon Schulzke C, 2015. Synthesis, characterization, antioxidant and selective xanthine oxidase inhibitory studies of transition metal complexes of novel amino acid bearing Schiff base ligand. *Inorganica Chimica Acta*, 428: 117-126.
- Iskeleli NO, Alpaslan YB, Direkel S, Erturk AG, Suleymanoglu N, Ustabas R, 2015. The new Schiff base 4-[(4-Hydroxy-3-fluoro-5-methoxy-benzylidene)amino]-1,5-dimethyl-2-phenyl-1,2-dihydro-pyrazol-3-one: Experimental, DFT calculational studies and in vitro antimicrobial activity. *Spectrochimica Acta Part a-Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 139: 56-366.

- Işık, B. 2011. Ampisilin'in Erkek Sıçan Kalp ve Karaciğer Dokularındaki Yağ Asitleri, Kolesterol ve Bazı Vitamin Değerlerine Etkisinin İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Elazığ.
- Izawa S, Inoue Y, Kimura, A, 1995. Oxidative stres response in yeast: effect of glutathione on adaption to hydrogen peroxide stres in *Saccharomyces cerevisia*. *FEBS Letters*, 368: 73-76.
- Jianhua W, Wen L, Yuanliang W, 2003. The new Progress in the studies on antibacterial properties of Schiff bases and its metal complexes. *Taylor&Francis*, 178(12): 2563-2579.
- Kalender S, Kalender Y, Ögütçü A, Uzunhisarcıklı M, Durak D ve Açıkgöz F, 2002. Endosulfan-induced cardiotoxicity and free radicalmetabolism in rats: the protective effect of vitamin E, *Toxicology*, 202: 227-235.
- Karaca E, Aytaç S, 2007. Yağ bitkilerinde yağ asitleri kompozisyonu üzerine etki eden faktörler, *O.M.Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi*, 22 (1): 123- 131.
- Karataş F, Karatepe M, Baysar A, 2002. Determination of Free Malondialdehyde in Human Serum by High- Performance Liquid Chromatography. *Analytical Biochemistry*, 311(19): 76-79
- Karatepe M. (2004). Simultaneous determination of ascorbic acid and free malondialdehyde in human by HPLC-UV. *LC-GC North America*, 22: 62-365.
- Katsanidis E, Addis PB, 1999. Novel HPLC analysis of tocopherols and cholesterol in tissue. *Free Radical Biology Medicine*, 27(11-12): 1137-1140.
- Kayahan M, 2003. Yağ Kimyası, ODTÜ Yayıncılık, Ankara.
- Keeton WT, Gould JL, Gould CG, 2003. Genel Biyoloji, 57, içinde: Yaşamın Kimyası, Palme Yayıncılık, Ankara.

- Keeton WT, Gould JL, Gould CG, 2003. Genel Biyoloji, 60-65, içinde: Yaşamın Kimyası, Palme Yayıncılık, Ankara.
- Keskin H, 1987. Besin Kimyası (I-II), İ.Ü Yayınları, İstanbul.
- Kireççi OA, 2016. *Saccharomyces cerevisiae*'nin Gelişme Ortamına İlave Edilen Ağır Metallerin (Mn, Mg, Cd, Fe) Bazı Biyokimyasal Parametrelere Etkileri, KSÜ Doğa Bilimleri Dergisi, 20(3): 175-184.
- Kim C, Yoong-He L, 1992. Synthesis and evaluation of uracil-6-carboxaldehyde Schiff bases as potential antitumor agents. Korean Journal of Medicinal Chemistry, 2(1).
- Klayman DL, Scovill JP, Bartosevich JF, Bruce J, 1983. 2-Acetylpyridine thiosemicarbazones. 5. 1-[1-(2-Pyridyl)ethyl]-3-thiosemicarbazides as potential antimalarial agents. Journal of Medicinal Chemistry, 26-35.
- Klejdus B, Zehnalek J, Adam V, Petrek J, Kizek R, Vacek J, Trnkova L, Rozik R, Havel L, Kuban V, 2004. Sub-picomole High-Performance Liquid Chromatographic/Mass Spectrometric Determination of Glutathione in The Maize (*Zea mays* L.) Kernels Exposed to Cadmium. *Analitica Chimica Acta*, 520 (1-2): 117-124.
- Koçer S, 2012. "Liken Metaboliti Usnik Asitin Bazı Aril-Aminofenoller İle Schiff Bazları Türevleri Ve Metal Komplekslerinin Sentezi, Antimutajenik Ve Antimikrobiyal Aktivitelerinin Araştırılması" Yüksek Lisans Tezi, Kilis 7 Aralık Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kilis.
- Köksal O, 1980. Tek hücre proteininin insan beslenmesinde kullanılması, Gıda Dergisi, 4: 89-94.
- Kritchevsky D, Chen, SC, 2005. Phytosterols-health benefits and potential concerns a review. *Nutrition Research*, 25: 413-428.
- Kuduk J, Trynda L, 1994. Impact of K_2PtCl_6 on the structure of human serum albumin and its binding ability of heme and bilirubin. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 53 (4): 249-260.

- Küçükgül SG, Mazi A, Sahin F, Öztürk S, Stables J, 2003. Synthesis and biological activities of diflunisal hydrazide hydrazones *European Journal of Medicinal Chemistry*, 38(11-12): 1005-1013.
- Lee JH, Choi IY, Kil IS, Kim SY, Yang ES, Park J, 2001. Protective role of superoxide dismutases against ionizing radiation in yeast. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1526: 191–198.
- Leite LFCC, Ramos MN, da Silva JBP, Miranda ALP, Fraga CAM, Barreiro EJ, 1999. Synthesis and analgesic profile of novel N-containing heterocycle derivatives: arylidene 3-phenyl-1,2,4-oxadiazole-5-carbohydrazide. *Farmaco*, 54(11-12): 747-757.
- Li-Juan C, Fu-Ming M, Guang-Xing L, 2009. Co (II) Schiff base complexes on silica by sol–gel method as heterogeneous catalysts for oxidative carbonylation of aniline. *Catalysis Communication*, 10: 981-985.
- Li X, Fang C, Zong ZA, Cui LS, Bi CF, Fan YH, 2015. Synthesis, characterization and anticancer activity of two ternary copper (II) Schiff base complexes. *Inorganica Chimica Acta*, 432: 198-207.
- Lima PC, Lima LM, da Silva KCM, Leda PHO, de Miranda ALP, Fraga CAM, Barreiro EJ, 2000. Synthesis and analgesic activity of novel N-acylarylhydrazones and isosters, derived from natural safrole. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 35(2): 187-203.
- Liu HY, Li C, Ma JJ, 2015. New Cobalt and Zinc Complexes with Schiff Base Ligands: Synthesis, Structures, and Biochemical Properties. *Synthesis and Reactivity in Inorganic Metal-Organic and Nano-Metal Chemistry*, 45(1): 127-132.
- Liu RH, 2003. Health benefits of fruit and vegetables are from additive and synergistic combinations of phytochemicals. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 78: 517-520.

- Loncle C, Brunel JM, Vidal N, Dherbomez M, Letourneux Y, 2004. Synthesis and antifungal activity of cholesterol-hydrazone derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 39(12): 1067-1071.
- Lowry OH, Rosenbrough NJ, Farr AL, Randall RJ, 1951. Protein measurement with the Folin-phenol reagent. *The Journal of Biochemistry*, 193: 265- 277.
- Madigan MT, Martinko JM, 2010. *Mikroorganizmaların Biyolojisi*. s:42, içinde: *Makromoleküller*, Palme Yayıncılık, Ankara.
- Madigan MT, Martinko JM, 2010. *Mikroorganizmaların Biyolojisi*. s:45, içinde: *Makromoleküller*, Palme Yayıncılık, Ankara.
- Melnyk P, Leroux V, Sergheraert C, Grellier P, 2006. Design, synthesis and in vitro antimalarial activity of an acylhydrazone library. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 16(1): 31-35.
- Menguy R, Desbaillets L, Masters YF, 1974. Mechanism of stress ulcer: influence of hypovolemic shock on energy metabolism in the gastric mucosa. *Gastroenterology*, 66: 46-55.
- Metzler CM, Cahill A, Metzler DE, 1980. Equilibriums and absorption spectra of Schiff bases. *Journal of The American Chemical Society*, 102(19): 6075-6082.
- Mini S, Sadasivan V, Meena SS, Bhatt P, 2015. Synthesis and spectral studies of metal complexes of a Schiff base derived from (2-amino-5-chlorophenyl)phenyl methanone. *Spectrochimica Acta Part a-Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 151: 598-604.
- Mirabelli CK, Hill DT, Faucette LF, McCabe FL, Girard GR, Bryan DB, Sutton BM, Bartus JO, Crooke ST, Johnson RK, 1987. Antitumor activity of bis(diphenylphosphino)alkanes, their gold(I) coordination complexes, and related compounds. *Journal of Medicinal Chemistry*, 30: 2181-90.

- Mounika K, Anupama B, Pragathi J, Gyanakumari C, 2010. Synthesis, characterization and biological activity of a Schiff base derived from 3-ethoxy salicylaldehyde and 2-amino benzoic acid and its transition metal complexes. *Journal of Scientific Research*, 2: 513-524.
- Mukherjee S, Samanta, S, Roy, B. C, Bhaumik, A, 2006. Efficient allylic oxidation of cyclohexene catalyzed by immobilized Schiff base complex using peroxides as oxidants. *Applied Catalysis A: General*, 301: 79-88.
- Nair V, Cooper CS, Vietti DE and Turner GA (1986) The chemistry of Lipid peroxidation metabolites: crosslinking reactions of malondialdehyde, *Lipids*, 21 (1): 6-10
- Nas S, Gökalp YH, Ünsal M, 2001. Bitkisel yağ teknolojisi. Pamukkale Üni. Mimarlık Fak. Matbaası, Denizli.
- Niki E, 1987. Antioxidant in relation to lipid peroxidation. *Chemistry and Physics of Lipids*, 44: 227-253.
- Nordberg j, Arner ESJ, 2001. Reactive Oxygen Species, Antioxidants and The Mammalian Thioredoxin System. *Free Radical Biology and Medicine*, 31 (11): 1287-1317.
- Novelli EL, Silva AM, Novellif JL, Curi PR, 1995. Reactive Oxygen Generation by Azomethine H: A New Antimalarial Drug. *Canadian Journal Physiology and Pharmacology*, 73(8): 1189-1194.
- Novelli EL, Silva AM, Monteiro JP, Sacomani LB, Novellif JL, Curi PR, 1997. Free Radical Production by Azomethine H: Effects on Pancreatic and Hepatic Tissues. *Free Radical Research*, 26 (4): 319-324.
- Ölmez H, Yılmaz VT, 1998, *Anorganik Kimya Temel Kavramlar*. 285-370. Furkan Kitapevi, İstanbul.
- Özşahin AD, 2010. Malatya yöresine ait bazı üzüm ve kayısı çeşitlerinin fitokimyasal içeriklerine bağlı olarak antioksidan aktivitelerinin araştırılması. Doktora Tezi, Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Elazığ.

- Patai S, 1970. Chemistry of the Carbon-Nitrogen Double Bond, pp. 238-47. Wiley, New York.
- Patel VK, Vasanwala AM, Jejurkar CR, 1989. Synthesis of mixed Schiff base complexes of Cu (II) and Ni (II) and their spectral, magnetic and antifungal studies. Indian Journal of Chemistry, 28A: 719-721.
- Penninckx M, 2000. A short review on the role of glutathione in the response of yeasts to nutritional, environmental, and oxidative stresses. Enzyme and Microbiol Technology, 26: 737-742.
- Peralta RA, Neves A, Bortoluzzi AJ, dos Anjos A, Xavier FR, Szpoganicz B, Terenzi H, Oliveira MCB, Castellano E, GR, Friedermann, Mangrich, AS, Novak MA, 2006. New unsymmetric dinuclear Cu (II)Cu(II) complexes and their relevance to copper(II) containing metalloenzymes and DNA cleavage. Journal of Inorganic Biochemistry, 100: 992-1004.
- Pérez-López FR, 2007. Vitamin D and its implications for musculoskeletal health in women: An update. Maturitas, 58(2): 117-137.
- Placer CA, Cushman LL, Johnson BC, 1990. Estimation of product of lipid peroxidation (Malondy Dialdehyde) in biochemical systems, Analytical Biochemistry, 16: 259-264.
- Podda M, Weber C, Traber GM, Packer L, 1996. Simultaneous determination of tissue tocopherols, tocotrienols, ubiquinol, and ubiquinone. Journal of Lipid Research, 37: 893-901.
- Porter NA, 1984. Chemistry of lipid peroxidation, Methods Enzymology, 105: 273- 283.
- Prashanthi Y, Raj S, 2010. Synthesis and characterization of transition metal complexes with N,O; N,N and S,N-donor Schiff base ligands. Journal of Scientific Research, 2: 114-126.
- Qian SG, 1988. Ergosterol production in 5 l bottle shaken-flask experiments. Chinese Journal of Industrial Microorganism, 18(5): 18-23.

- Quilez J, Garcia-Lorda, P. and Salas-Salvado J, 2003. Potential uses and benefits of phytosterols in diet: present situation and future directions. *Clinical Nutrition*, 22: 343-351.
- Reiss A, Florea S, Caproiu T, Stanica N, 2009. Synthesis, characterization, and antibacterial activity of some transition metals with the Schiff base N-(2-furanylmethylene)-3-aminodibenzofuran. *Turkish Journal of Chemistry*, 33: 775-783.
- Reddy KH, Reddy PS, 2000. Nuclease activity of mixed ligand complexes of copper (II) with heteroaromatic derivatives and Picoline. *Transition Metal Chemistry*, 25: 505-510.
- Reiter R, Tang L, Garcia JJ, Munoz-Hoyos A, 1997. Pharmacological actions of melatonin in oxygen radical pathophysiology. *Life Science*, 60: 2255–2271.
- Ribeiro IC, Veri'ssimo I, Moniz L, Cardoso H, Sousa MJ, Soares AMVM, Leão C, 2000. Yeasts as A Model for Assessing The Toxicity of The Fungicides Penconazol, Cymoxanil and Dichlofluanid. *Chemosphere*, 41: 1637-1642.
- Rimoldi OJ, Finarelli GS, Brenner RR 2001. Effectes of diabetes and insulin on hepatic Delta 6 desaturase gene expression. *Biochemistry and Biophysical Research Communication*, 283(2): 323-326.
- Rose AH, 1979. Microbial Biomass, In: *Economic Microbiology*, pp: 1-29, Ed. Rose, A.H., Academic Press, London.
- Scovill JP, Klayman DL, Franchino F, 1982. 2-Acetylpyridine thiosemicarbazones. 4. Complexes with transition metals as antimalarial and antileukemic agents. *Journal of Medicinal Chemistry*, 25: 1261.
- Sen CK, 1997. Nutritional biochemistry of cellular glutathione. *Nutrition Biochemistry*, 8: 660-662.
- Shang F, Wen S, Wang X, Tan T, 2006. Effect of nitrogen limitation on the ergosterol production by fed-batch culture of *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Biotechnology*, 122: 285–292.

- Sharma PK, Dubey SN, 2002. Synthesis and structural studies of iron (II) complexes with N-salicylidene-and N-(2-hydroxy-1-naphthylidene) amino acids. *Indian Journal of Chemistry*, 33A: 1113-1115.
- Shayma AS, Yang F, Abbas AS, 2009. Synthesis and characterization of mixed ligand complexes of 8-hydroxyquinoline and o-hydroxybenzylidene-1-phenyl-2,3-dimethyl-4-amino-3-pyrazolin-5-one with Fe(II), Co(II), Ni(II) and Cu(II) ions. *European Journal of Scientific Research*, 33: 702-709.
- Shearer M, Bolton-Smith C. (2000). The UK food data-base for vitamin K and why we need it. *Food chemistry*, 68(2): 213-218.
- Shen D, Dalton TP, Nebert DW, Shertzer HG, 2005. Glutathione redox state regulates mitochondrial reactive oxygen production. *The Journal of Biological Chemistry*, 280: 25305–25312.
- Shoback D, Sellmeyer D, Bikle DD, 2009. Metabolik Kemik Hastalıkları. 281-345. In: Gardner DG, Shoback D. Greenspan's Temel ve Klinik Endokrinoloji. Çeviri editörü: Arslan M. 8. Baskı, Güneş Tıp Kitabevleri, Ankara.
- Silva AR, Wilson K, Clark JH, Freire C, 2006. Covalent attachment of chiral manganese (III) salen complexes onto functionalised hexagonal mesoporous silica and application to the asymmetric epoxidation of alkenes. *Microporous and Mesoporous Materials*, 91: 128-138.
- Sinclair AJ, Barnett A, H. Lunec JL, 1990. Free radicals and antioxidant systems in health and diseases. *British Journal of Hospital Medicine*, 43: 334-344.
- Szacz G, 1969. A kinetic photometric method for serum gamma-glutamyl transpeptidase. *Clinical Chemistry*, 15:24.
- Şener K, 1999. Bazı Tridentat Schiff Bazları ve Geçiş Metal Şelat Komplekslerinin Sentezi, Karakterizasyonu ve Anti Mikrobiyal Özelliklerinin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, KSÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Kahramanmaraş.

- Takani M, Yajimab T, Masudac H, Yamauchi O, 2002. Spectroscopic and structural characterization of copper (II) and palladium (II) complexes of a lichen substance usnic acid and its derivatives. Possible forms of environmental metals retained in lichens. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 91: 139-150.
- Tamarit J, Cabisco E. and Ros J, 1998. Identification of the Major Oxidatively Damaged Proteins in *Escherichia coli* Cells Exposed to Oxidative Stress. *The Journal of Biological Chemistry*, 273: 3027 – 3032.
- Tan T, Zhang M, Gao H 2003. Ergosterol production by fed-batch fermentation of *Saccharomyces cerevisiae*. *Enzyme and Microbial Technology*, 33: 366-370.
- Todeschini AR, Miranda AL, Silva CM, Parrini SC, Barreiro EJ, 1998. Synthesis and evaluation of analgesic, antiinflammatory and antiplatelet properties of new 2-pyridylarylhydrazone derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 33(3): 189-199.
- Travacio M, Polo JM, Llesuy S, 2000. Chromium (VI) induces oxidative stress in the mouse brain. *Toxicology*, 150: 137-146.
- Tüzün C, 1996. *Organik Kimya*, Ankara, 545-547.
- Wang XW, Zheng YQ, 2007. A dinuclear copper (II) complex and a zigzagchain iron(II) polymer based on the 4-antipyrine derived Schiff base ligands: The hydroxylation and redox occurred under the solvothermal conditions. *Inorganic Chemistry Communication*, 10: 709-712.
- West DX, Pannel LK, 1989. Transition metal ion complexes of thiosemicarbazones derived from 2-acetylpyridineN-oxide. II. The N-dimethyl derivative. *Transition Metal Chemistry*, 14: 457-462.
- Williams CM, 2000. Dietary fatty acids and human health, *Journal of Zootechnology*, 49: 165–180.

- Xu GJ, Yan SP, Liao DZ, Jiang ZH, Cheng P, 2005. A New Schiff Base Copper (II) Complex: Bis [N-(4-hydroxysalicylidene)-N,N-diethylethylenediamine-K₂N,O]bis[(oxalato- K₂O,O)copper(II)]dihydrate. *Acta Crystallographica E*, 61: 933-935.
- Yağmur G, 2006. Mitokondriyal Mutantların Bira Fermantasyonu Üzerine Etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üni. Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Adana.
- Yanbeyi, S. 1999. Aspirin ve antioksidant buthylatedhydroxyanisole'ün tavşanlarda eritrosit total katalaz, süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz aktiviteleri üzerine etkileri. Doktora Tezi, Ondokuz Mayıs Üni. Biyoloji Anabilim Dalı, Samsun.
- Yeap GY, Ha ST, Ishizawa N, Suda K, Boey PL, Mahmood WA, 2003. Synthesis, crystal structure and spectroscopic study of para substituted 2-hydroxy-3-methoxybenzalideneanilines, *Journal of Molecular Structure*, 658: 87-99.
- Yıldıztekin M, 2012. Bazı Bor bileşiklerinin ve Yaygın Kullanılan pestisitlerin domates bitkisinin (*L.esculentum*) fizyolojik ve biyokimyasal özellikleri üzerine etkilerinin araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Muğla Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji A.B.D. Muğla.
- Yılmaz O, Keser S, Tuzcu M, Guvenc M, Cetintaş B, Irtegun S, Tastan H, Sahin K, 2009. A Practical HPLC Method to Measure Reduced (GSH) and Oxidized (GSSG) Glutathione Concentrations in Animal Tissues. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 8(2): 343-347.
- You ZL, Zhu HL, 2004. Syntheses, crystal structures, and antibacterial activities of four Schiff base complexes of copper and zinc. *Zeitschrift für Anorganische und Allgemeine Chemie*, 630: 2754-2760.
- Zeishen W, Huixia W, Zhenhuan Y, Changhai H, 1987. XXV. International Conference on Coordination Chemistry, Book of Abstracts, s: 663.

Zeishen W, Zigi G, Zhenhuan Y, 1990. Synthesis, characterization and anticancer activity of L – alanin Schiff base complexes of cooper (II), zinc(II), and cobalt (II) . *Synthesis Reactivity in Inorganic and Metal- Organic Chemistry*, 20 (3): 335 – 344.

Zhang F, Wen Q, Wang SF, Karim BS, Yang YS, Liu JJ, Zhang WM, Zhu HL, 2014. Design, synthesis and antibacterial activities of 5-(pyrazin-2-yl)-4H-1,2,4-triazole-3-thiol derivatives containing Schiff base formation as FabH inhibitory. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 24(1): 90-95.



ÖZGEÇMİŞ

1978 yılında Diyarbakır'da doğdum. İlköğretimi Birlik İlkokulu'nda, ortaokulu ve liseyi Adana Anadolu Lisesi'nde tamamladım. 1996 yılında kazandığım Çukurova Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nden 2002 yılında mezun oldum. 2002-2003'de Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Ortaöğretim Alan Öğretmenliği (Biyoloji), 2012-2013'de Toros Üniversitesi Sağlık Kurumları İşletmeciliği Bölümü'nde Tezsiz Yüksek Lisans yaptım. 2013'de Bitlis Eren Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisansa başladım. Yabancı dilim İngilizce'dir.

Nesrin BOZHAN