

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

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İMİN GRUBU İÇEREN SİKLOFOSFAZEN TÜREVLERİNİN
Saccharomyces cerevisiae KÜLTÜR ORTAMLARINDA BAZI BİYOKİMYASAL
PARAMETRELER ÜZERİNE ETKİLERİ

DERYA BEŞER

TEMMUZ 2018

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

İMİN GRUBU İÇEREN SİKLOFOSFAZEN TÜREVLERİNİN
Saccharomyces cerevisiae KÜLTÜR ORTAMLARINDA BAZI BİYOKİMYASAL
PARAMETRELER ÜZERİNE ETKİLERİ

Hazırlayan
Derya BEŞER

Danışman
Doç. Dr. Ayşe Dilek ÖZŞAHİN KİREÇCİ

Jüri Üyeleri
Prof. Dr. Ökkeş YILMAZ
Doç. Dr. Ayşe Dilek ÖZŞAHİN KİREÇCİ
Doç. Dr. Abdullah ASLAN

TEMMUZ 2018

Derya BEŞER tarafından hazırlanan "İmin Grubu İçeren Siklofosfazen Türevlerinin *Saccharomyces cerevisiae* Kültür Ortamlarında Bazı Biyokimyasal Parametreler Üzerine Etkileri" adlı tez çalışması 31.07.2023 tarihinde yapılan sınavla aşağıdaki jüri tarafından oybirliği/çeyrekliği ile Bitlis Eren Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı'nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Okkeş YILMAZ
(Başkan)

Doç. Dr. Ayşe Dilek ÖZŞAFİN KİREÇCİ
(Tanışman)

Doç. Dr. Abdullah ASLAN
(Üye)

İmza



Bu tezin kabulü, Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 01.07.2023 gün ve 4395 Sayılı kararı ile onaylanmıştır.



Doç. Dr. Koray KOKSAL
Enstitüsü Müdürü



CANIM ANNEM Miyase BEŞER

ve

CANIM BABAM Fahri BEŞER....

ÖZET

İMİN GRUBU İÇEREN SİKLOFOSFAZEN TÜREVLERİNİN *Saccharomyces cerevisiae* KÜLTÜR ORTAMLARINDA BAZI BİYOKİMYASAL PARAMETRELER ÜZERİNE ETKİLERİ

DERYA BEŞER

Yüksek Lisans Tezi

Bitlis Eren Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Ayşe Dilek ÖZŞAHİN KİREÇCİ

Temmuz 2018, 63 Sayfa

Bu çalışmada; yeni sentezlenmiş beş schiff bazının *S. cerevisiae* kültür ortamlarında toplam protein, glutatyon, yağ asidi ve lipid peroksidasyon (MDA) analizleri yapıldı. *S. cerevisiae*'nin gelişimi ve çoğalması için YEPD besiyeri ortamı hazırlandı. Uygulama grupları için; schiff bazların her birinden 10 mg'lık ve 20 mg'lık konsantrasyonları kültür ortamına ilave edildi. Elde edilen süpernatant ile toplam protein, GSH ve MDA analizleri; geri kalan pelletle de yağ asidi analizi yapıldı. Kontrol grubu ile schiff bazı gruplarının sonuçları karşılaştırıldığında; yeni sentezlenmiş schiff bazlarının *S. cerevisiae*'nin biyokimyasal ve savunma sistemi üzerinde farklı etkilere sahip olduğu gözlemlendi. Hücre protein yapısını bozup birikimiyle toplam protein miktarının arttığı, oluşan oksidatif stres ortamına göstermiş olduğu uyumla GSH miktarının arttığı, lipid peroksidasyonu katalizlemesiyle MDA miktarının arttığı, doymuş yağ asitlerinden 12:0, 14:0, 16:0'nın azaldığı ve doymamış yağ asitlerinden 18:2, 18:3, 20:0'nin arttığı sonuçları elde edilmiştir. Bu çalışma ile yeni sentezlenmiş schiff bazlarının, özellikle antioksidan savunma etkisi ve sitotoksik özelliği ile gelecekte hastalık tedavilerine yönelik yapılacak olan çalışmalara destek olacağı ve literatüre katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: Schiff bazı, *Saccharomyces cerevisiae*, toplam protein, GSH, Yağ asidi, MDA

ABSTRACT

THE EFFECTS OF CYCLOPHOSPHAZANE ANALOGUE CONTAINING IMINE GROUP ON SOME BIOCHEMICAL PARAMETERS IN *Saccharomyces cerevisiae* CULTURAL ENVIRONMENTS

DERYA BEŞER

Master Thesis

Bitlis Eren University Graduate School of Applied and Natural Sciences

Department of Biology

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

July 2018, 63 pages

In this work; total protein, glutation, fatty acid and lipid peroxidation (MDA) analyses were made to five newly synthesized schiff bases in of *S. cerevisiae* culture environments. YEPD medium environments were prepared for the development and reproduction of *S. cerevisiae*. For the application groups; 10 mg and 20 mg concentrations from each one of the schiff bases were added to the culture environments. The acquired supernatant and total protein, GSH and MDA analyses; with the rest of the pellet fatty acid analysis was made. When the results of the control group and the schiff bases groups were compared; it was observed that the newly synthesized schiff bases had different effects on the biochemical and immune systems of *S. cerevisiae*. These results were obtained: quantity of total protein being increased through cumulation as the protein cell structure was deteriorated, quantity of GSH increasing with the adaptation exhibited to the oxidative stress setting, quantity of MDA increasing with the catalyzing of lipid peroxidation, of the saturated fatty acids 12:0, 14:0, 16:0 being decreased and of the unsaturated fatty acids 18:2, 18:3, 20:0 being increased. In the study, newly synthesized schiff bases, especially with the antioxidant defense effect and cytotoxic feature is expected to support works aimed at curing diseases and contribute to literature.

Key words: Schiff bases, *Saccharomyces cerevisiae*, total protein, GSH, fatty acid, MDA

TEŞEKKÜR

Hazırlamış olduğum bu tez çalışmasını önerip her türlü bilgi, destek ve deneyimleri ile yardımcı olan danışman hocam Sayın Doç. Dr. Ayşe Dilek ÖZŞAHİN KİREÇCİ' ye, Bölüm Başkanımız Sayın Prof. Dr. Ahmet BEYARSLAN' a, laboratuvar çalışmalarım için olanaklarını esirgemeyen Fırat Üniversitesi Biyoloji Bölüm Başkanı Sayın Prof. Dr. Ökkeş YILMAZ' a, tez çalışmamda kullandığım schiff bazlarının sentezini yapan Sayın Prof. Dr. Ali İhsan ÖZTÜRK ve Sayın Doç. Dr. Fatih ASLAN' a, laboratuvar çalışmamda dostluğunu, bilgi ve deneyimiyle desteğini esirgemeyen Sayın Figen ERDEM' e, her daim sabırla yanımda olan maddi manevi desteklerini esirgemeyen AİLEM ile can dostlarıma tüm samimiyetimle teşekkürlerimi bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	iv
ÇİZELGELER DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
SİMGELER DİZİNİ	viii
KISALTMALAR DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
1.1. Fosfazenlerin Adlandırılması	2
1.1.1. Monofosfazen (=Düz Zincirli Fosfazen =Doğrusal Fosfazen)	2
1.1.2. Siklofosfazen (Halkalı Fosfazen)	3
1.1.3. Polifosfazen	3
1.2. Fosfazenlerin Tarihçesi	3
1.3. Fosfazenlerin Kullanım Alanları	4
1.4. Schiff Bazı	5
1.5. Tezde Çalışılan Biyokimyasal Parametreler	6
1.5.1. Toplam Protein	6
1.5.2. Glutasyon (GSH) - Okside Glutasyon (GSSG)	7
1.5.3. Yağ Asitleri	9
1.5.4. Malondialdehit	10
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	12
3. MATERYAL VE YÖNTEM	15
3.1. Materyal	15
3.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Çözücüler	15
3.1.2. Kullanılan Aletler ve Cihazlar	15
3.1.3. Çalışmada Kullanılan Maya	15
3.1.4. Deneyde Kullanılan Schiff Bazları	17
3.2. Yöntem	20
3.2.1. Schiff Bazı Solüsyonlarının Hazırlanması	20
3.2.2. Laboratuarda Maya Kültür Ortamının Hazırlanması	20
3.2.3. Biyokimyasal Analizler	22

3.2.3.1. Toplam Protein Analizi.....	22
3.2.3.2. Glutasyon(GSH) ve Okside Glutasyon(GSSG) Analizi.....	24
3.2.3.3. Yağ Asidi Analizi	24
3.2.3.4. Malondialdehit Analizi	25
3.2.4. İstatiksel Analiz	26
4. BULGULAR.....	27
4.1. Farklı Konsantrasyonlardaki Schiff Bazlarının S. cerevisiae Hücresinin Toplam Protein Seviyesi Üzerindeki Etkisi.....	27
4.2. Farklı Konsantrasyonlardaki Schiff Bazlarının S. cerevisiae Hücresinin Glutasyon-Okside Glutasyon Seviyesi Üzerindeki Etkisi.....	29
4.3. Farklı Konsantrasyonlardaki Schiff Bazlarının S. cerevisiae Hücresinin Yağ Asit Seviyesi Üzerindeki Etkisi	32
4.4. Farklı Konsantrasyonlardaki Schiff Bazlarının S. cerevisiae Hücresinin Malondialdehit Seviyesi Üzerindeki Etkisi	39
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	41
5.1. Sonuçlar	41
5.2. Öneriler.....	47
KAYNAKLAR	48
ÖZGEÇMİŞ	63

ÇİZELGELER DİZİNİ

ÇİZELGE

Sayfa

4. 1. Schiff bazlarının <i>S. cerevisiae</i> hücresindeki toplam protein düzeyine etkisi.....	27
4. 2. Schiff bazlarının <i>S. cerevisiae</i> hücresindeki GSH düzeyine etkisi	29
4. 3. Schiff bazlarının <i>S. cerevisiae</i> hücresindeki GSGG düzeyine etkisi	31
4.4. Schiff bazlarının <i>S. cerevisiae</i> hücresindeki yağ asidi düzeyine etkisi (10 mg) (%)	35
4. 5. Schiff bazlarının <i>S. cerevisiae</i> hücresindeki yağ asidi düzeyine etkisi (20 mg) (%)	38
4. 6. Schiff bazlarının <i>S. cerevisiae</i> hücresindeki MDA düzeyine etkisi.....	39

ŞEKİLLER DİZİNİ

ŞEKİL

Sayfa

1.1. A. Fosfazan molekül yapısı	1
1.1. B. Fosfazen molekül yapısı	1
1.2. A. Hekzaklorosiklotrifosfazen molekül yapısı	1
1.2. B. Polifosfazen molekül yapısı.....	1
1.3. Schiff bazı oluşum mekanizması.....	5
1.4. Glutatyonun molekül yapısı	8
1.5. Doymuş ve doymamış yağ asitlerinin molekül yapısı	10
1.6. Malondialdehit oluşum mekanizması.....	11
3.1. <i>S. cerevisiae</i> 100x phase-contrast görüntüsü.....	16
3.2. A. <i>S. cerevisiae</i> 'nin taramalı elektron mikroskobu görüntüsü	16
3.2. B. <i>S. cerevisiae</i> 'nin transmisyon elektron mikroskobu görüntüsü	16
3.3. Hekza [4-(2-hidroksi-4-klorofenilimino) metil) fenoksi] siklotrifosfazen molekül yapısı	17
3.4. Hekza [4-(4-hidroksifenilimino) metil) fenoksi] siklotrifosfazen molekül yapısı	17
3.5. Hekza [2-metoksi-4(2-hidroksifenilimino) metil) fenoksi] siklotrifosfazen molekül yapısı	18
3.6. Hekza [2-metoksi-4(2-hidroksi-4-klorofenilimino) metil) fenoksi] siklotrifosfazen molekül yapısı.....	18
3.7. Hekza [2-metoksi-4(4-hidroksifenilimino) metil) fenoksi] siklotrifosfazen molekül yapısı.....	19
3.8. Protein kalibrasyon eğrisi	24
4.1. Schiff bazlarının <i>S. cerevisiae</i> hücrelerinde total protein miktarı üzerindeki etkisi	28
4.2. Schiff bazlarının <i>S. cerevisiae</i> hücrelerinde glutatyon miktarı üzerindeki etkisi	30
4.3. Schiff bazlarının <i>S. cerevisiae</i> hücrelerinde okside glutatyon miktarı üzerindeki etkisi	32
4.4. Schiff bazlarının <i>S. cerevisiae</i> hücrelerinde malondialdehit miktarı üzerindeki etkisi	40

SİMGELER DİZİNİ

P	Fosfor
N	Azot
H	Hidrojen
C	Karbon
Cl	Klor
O	Oksijen
°C	Santrigrat derece
Nm	Nanometre
mL	Mililitre
Mmol	Milimol
µgr	Mikrogram
µM	Mikromolar
Ppm	Milyonda parça
Rpm	Dakikadaki devir sayısı
%	Yüzde
OD	Optik yoğunluk
pH	Potansiyeli hidrojen olan

KISALTMALAR DİZİNİ

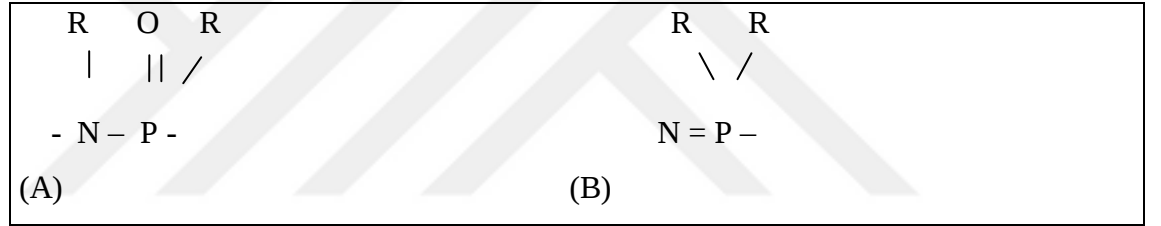
DNA	Deoksriboz nükleik asit
ATP	Adenintrifosfat
LPO	Lipid peroksidasyon
MDA	Malondialdehit
GSH	Glutasyon
GSSG	Okside glutasyon
M ₁	Hekza [4-(2-hidroksi-4-klorofenilimino) metil) fenoksi] Siklotrifosfazen
M ₂	Hekza [4-(4-hidroksifenilimino) metil) fenoksi] Siklotrifosfazen
M ₃	Hekza [2-metoksi-4(2-hidroksifenilimino) metil) fenoksi] siklotrifosfazen
M ₄	Hekza [2-metoksi-4(2-hidroksi-4-klorofenilimino) metil) fenoksi] siklotrifosfazen
M ₅	Hekza [2-metoksi-4(4-hidroksifenilimino) metil) fenoksi] siklotrifosfazen)
X	Schiff bazlarının 10 mg' lık konsantrasyon grubu
Y	Schiff bazlarının 20 mg' lık konsantrasyon grubu
vd.	Ve diğerleri
YEPD	Yeast extract peptone dextrose
UV	Ultraviyole
IR	Kızılötesi
NMR	Nükleer manyetik rezonans
ESR	Eritrosit çökeltme hızı
AIDS	Edinsel bağışıklık yetmezlik sendromu
HPLC	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
SFA	Tek bağ bulunduran doymuş yağ aside
MUFA	Yapılarında bir çift bağ bulunduran yağ aside
PUFA	2-4 çift bağ bulunduran yağ aside
HUFA	Yüksek oranda doymamış yağ aside
BHT	Butylhidroksitoluen
<i>S. cerevisiae</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>

<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>S. epidermidis</i>	<i>Stafilokok epidermidis</i>
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>K. pneumoniae</i>	<i>Klesiella pneumonia</i>
<i>P. aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>P. mirabilis</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
<i>C. albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
RAPD	Rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA
RFLP	Kısıtlama parçası uzunluk polimorfizmi
SSCP	Tek iplikli konformasyonel polimorfizmi
SSR	Tek sıralı tekrarlar
Subsp	Alt tür
TBE	Tris Borik asit EDTA
var.	Çeşitlilik

1. GİRİŞ

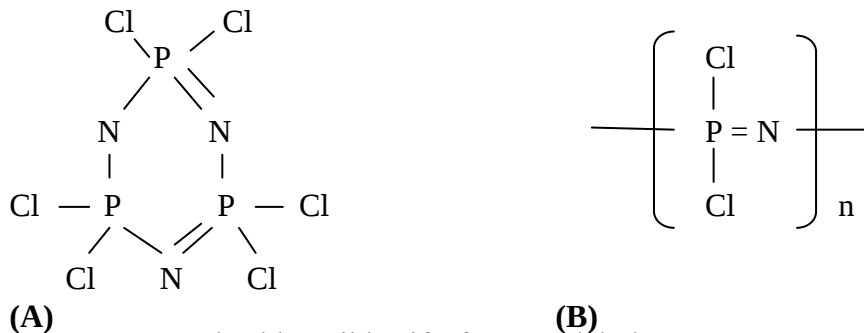
Fosfor bileşikleri ile azotlu nükleofillerin bileşiklerinin tepkimesiyle Fosfor-Azot bağı içeren birçok farklı bileşikler sentezlenir. Fosfazenler, azot, fosfor halojen ve organik yan gruplar içeren bileşikler olarak bilinir. Fosfazenlerin yapısı azot ve fosfor arasında çift bağ bulunmasıyla oluşur [1]. Yapılarında tekrarlanan $-P=N-$ birimlerinden oluşan, her fosfor atomunda iki organik veya inorganik yan grupların bulunduğu lineer veya halkalı yapıya sahip bileşiklerdir [2,3].

Fosforun azot ile oluşturduğu bileşikler üç ana grupta incelenir. Fosfor ve azot arasındaki bağ sayısı tek olduğu zaman fosfazan (H_2N-PH_4) (Şekil 1.1.), çift bağ oluşturdukları zaman fosfazen ($HN=PH_3$) (Şekil 1.1.), üçlü bağ oluşturdukları zaman da fosfazin ($N\equiv PH_2$) olarak isimlendirilir [4,5].



Şekil 1.1. A. Fosfazan molekül yapısı
B. Fosfazen molekül yapısı [1]

Fosfazenler de monofosfazenler (düz zincirli fosfazenler = doğrusal fosfazenler), siklofosfazenler (halkalı fosfazenler) ve polifosfazenler olmak üzere üç ana gruba sınıflandırılır. Siklofosfazenler veya polifosfazenler çalışmaların en çok yapıldığı fosfazenlerdendir [4,5]. Bunlardan en çok çalışılan ve en iyi bilinen fosfazen bileşikler hekzaklorosiklotrifosfazen (Şekil 1.2.) ve polifosfazenlerdir (Şekil 1.2.).



Şekil 1.2. A. Hekzaklorosiklotrifosfazen molekül yapısı
B. Polifosfazen molekül yapısı

Fosfazen bileşikleri, yapılarında bulundurdıkları $-Cl$ atomlarının reaktifliğinden dolayı aminoliz, fenoliz, ve Friedel-Crafts gibi birçok reaksiyonu vermektedir. Bu reaksiyonların sonucunda elde edilen lineer ve halkalı bileşiklerin süstitüentleri olabilmektedir [2,3].

1.1. Fosfazenlerin Adlandırılması

Fosfor-azot bileşikleri için;

- Fosfazen
- Fosfonitril
- Hidroazafosforin
- Fosfonimin ve Fosfaza gibi dört farklı adlandırma sistemi kullanılmaktadır.

Günümüzde en çok kullanılan sistem fosfazendir. Halkalı yapılar siklo, oligomerizasyon veya polimerizasyon derecesi ise tri, tetra, penta, hekza, ... , poli örnekleri ile nitelendirilmektedir. Numaralandırma azot atomundan başlanmaktadır [6].

Fosfazen bileşiklerinde her fosfor atomuna iki süstitüent bağlanan ve azotlar üzerinde herhangi bir süstitüent bulunmayan hetero halkalı veya doğrusal anorganik bileşiklerdir. Fosfazenler düz zincirli, halkalı ve polimerik olmak üzere üç grupta incelenir [7,8].

1.1.1. Monofosfazen (=Düz Zincirli Fosfazen =Doğrusal Fosfazen)

Monofosfazen bileşikleri, PCl_5 'in çeşitli maddelerle oluşturduğu tepkimelerden uygun koşullardan elde edilebilen [9] $RN=PR_3$ formülü ile gösterilen bileşiklerdir. Fosfinimler veya fosforaminler gibi düz zincirli fosfazenler birçok çalışmanın öncü maddeleri olarak kullanılmıştır [10].

Halkalı ve polimerik fosfazenlerle birçok benzerlik göstermektedir. Bağ yapıları incelendiğinde halkalı ve polimerik fosfazenlerin yapılarıyla nerdeyse aynı olduğu söylenebilir. Fakat halkalı fosfazenlere nazaran daha kararsız özellik göstermektedir [2].

1.1.2. Siklofosfazen (Halkalı Fosfazen)

Siklofosfazenler fosforpentaklorür ile amonyum tuzlarının kaynama noktası yüksek çözücülerde kaynatılmasıyla elde edilen $[1,11]$, $P=N$ - birimleriyle fosfor atomlarının her birinde iki süstitüent bulunduran, fosfora bağlanan bu süstitüentlerle özelliğini belirleyen halkalı yapıdaki fosfazenlerdir $[12]$.

Halkalı fosfazenlerin yapısında yer alan yan grupların özelliklerine göre farklı kimyasal ve fiziksel özellikler göstermekte olup $[2,13]$, doğrusal fosfazenlere nazaran elektron delokalizasyonundan dolayı daha kararlı bir yapı sergiler $[2,14]$. Siklo yapıdaki fosfazen bileşikleri üzerindeki çalışmalar daha çok $(N\text{PCl}_2)_3$ ve $(N\text{PCl}_2)_4$ bileşiklerinin yer değiştirme reaksiyonları ve yeni oluşan bileşiklerin yapılarının belirlenmesi noktasında yoğunlaşmıştır $[2,13]$.

1.1.3. Polifosfazen

Fosfazenlerin katılma ve kondezasyon polimerizasyon yöntemleriyle polifosfazenler oluşmaktadır. Polimerleştirilerek yapısında fosfor ve azot gruplarından başka $-Cl$ gibi organik yan gruplar bulunabilmektedir. Günümüze kadar birçok sayıda tipde polifosfazenler sentezlenmiş olup biyolojik ve fiziksel özellikleri araştırma konusu olmuştur.

Polifosfazenlerin; yıldız, lineer, organik bloklu kopolimer, siklolineer ve siklo matriks gibi birçok farklı yapısı bulunmaktadır $[2,15]$. 1965 yılından bu yana günümüze kadar 700'den fazla farklı polifosfazen türevleri sentezlenmiştir $[16]$.

Polifosfazen iki farklı metodla sentezlenir:

- Isı, ışık veya perasitler katalizörlüğünde halka açılması metodu
- Polimerleşebilen organik gruplar taşıyan fosfazenlerin, organik polimerizasyon yöntemi $[17]$.

1.2. Fosfazenlerin Tarihçesi

Tarihte bilinen en eski inorganik halkalı sistemlerdendir fosfazenler. Siklofosfazenlerin oluşturulmasına dair yapılan ilk çalışmalar 1834 yılında Liebig ve Wöhler tarafından yapılmıştır $[6]$. İlk oluşturulan fosfazen bileşikleri amonyak

(NH₃) ile fosfor pentaklorürün (PCl₅) reaksiyonu ile oluşturulan, (NPCl₂)_n klorofosfazenlerdir. Bu sentez ilk olarak 1834'te Fose, Wöhler ve Liebig tarafından oluşturulmuştur. Liebig ve Wöhler, fosfopentaklorür ve amonyumklorür arasındaki etkileşim sonucunda heksaklorosiklotrifosfazen bileşiğinin oluşumunu sağlamışlardır [4,18].

1895-1898 yılları arasında Stokes, (NPCl₂)_n yapısında olan bileşiklerden n'in 4, 5, 6 ve 7 olduğu halkalı yapıda yeni bileşikler sentezlemiştir. Schenk ve Römer 1924'te (NPCl₂)₃ ve (NPCl₂)₄ bileşiklerini yüksek verimle oluşturmayı başarmışlardır [6]. 1958'de de Wilson ve Carroll tarafından X-ışını ile yapılan çalışmayla yapısı hakkında yeni bilgiler elde edilmiş olup başka çalışmalara hız kazandırmıştır. Fosfazenlerin yapısını aydınlatmaya dair diğer yöntemler UV, Raman, IR, NMR, ESR, Kütle Spektroskopisi ve Termal Analiz'dir. 1958-1961 yılları arasında fosfazenlere dair diğer bir çalışma, bağlanma yapılarının incelenmesiyle yapıları hakkında yeni bilgilere ulaşılmıştır [4,18]. Fosfazenlerin yapısı 1960 yılından sonra ayrıntılı olarak incelenmeye başlanmıştır [6].

1965 yılında ilk polifosfazen sentezlenmiş olup, 1964-1965 yılları arasında Allcock vd. heksaklorosiklofosfazenin halka açılma polimerizasyon metodu ile polifosfazenleri (organofosfazenleri) sentezlemiştir. Fosfazen kimyasının bilim ve teknolojide önemli yer tutmasının nedeni olarak, fosfazen bileşiklerindeki klor atomlarının yer değiştirme reaksiyonları gösterilebilir [12].

1.3. Fosfazenlerin Kullanım Alanları

Siklofosfazenlerin yapısında bulunan çoklu aktif P- halojen bağlarından dolayı yeni oluşacak bileşiğin sentezinde kullanılan inorganik bir bileşik grubudur. Siklofosfazen zengin yapısını sağlayan bu neden; bu bileşiklerin birçok organik yada anorganik gruplarla süstitüsyon tepkimeleri verebilmeleri ve bağlandığı gruplara göre çeşitli kimyasal ve fiziksel özellikler kazanmalarındır [19]. Fosfazenin türevleri genelde kristal yapılı olup organik çözücülerle açılır. Polimer fosfazenler, siklofosfazenlerin uygun şartlarda ısı uygulanarak halka açılmasının ardından düz zincirli yapıya dönüştürülmesiyle oluşur [1].

Yapısında bulunan süstitüentlere göre farklı özellik gösteren fosfazenlerin kullanım alanları bu bağlamda çeşitlilik göstererek birçok alanda kullanılabilirler.

Fosfazenler fosfor sinerjisinden dolayı sıcaklık ve yanmaya dayanıklı bileşikler sentezlenmiş olup [11] yanmayı engelleyiciliğiyle tekstil, sentetik, kauçuk madde sanayisinde [20] ve bu özelliğiyle yağlama maddesi olarak kullanılmakta olup [21] sentezlenen bu yeni bileşikle patent alınmıştır [22]. Ayrıca sıvı kristal ve gaz geçirgenliği [23-25], biyo uyum sağlama özelliği ile organ naklinde [26], protez kemik yapımında [27,28], kontakt lens yapımında, diş tedavisinde dolgu malzemesi olarak, antibakteriyal özelliği ile [29,30] biyomedikalde kullanılmalarına yönelik çalışmalar mevcuttur [31]. Ligand olarak ziridin bulunduran siklofosfazen türevlerinin güçlü antitümör etkisiyle [29,32] AIDS'e bağlı lenfomlara karşı koruyuculuğu tespit edilmiştir [33]. Sitotoksik, antikonvülzan (nörolojik hastalıklarda nöbet durumlarının önlenmesi ve tedavisinde), antiproliferatif (çoğalım önleyen), antifungal ve böcek ilaçları gibi biyolojik alanlarda kullanılmıştır. Maya hücrelerine ve bakterilere etki gösterdiği çalışmaları da yer almaktadır [34,35].

1.4. Schiff Bazı

İlk defa 1869 yılında Alman kimyager H. Schiff tarafından oluşturulmuş olan schiff bazları (süstitüe iminler); primer aminlerle ($R-NH_2$) aldehit ve ketonların reaksiyonu ile oluşturulmuş olup [36,37], NH_3 ile tepkimelerden elde edilen iminlerin dayanıklı olmadığı bekletilince polimerleştiği fakat NH_3 (amonyak) yerine aromatik aldehitlerle (bezaldehit gibi) aril aminler (anilin gibi)' le daha dayanıklı iminler oluşturulduğu gözlenmiştir [38].

Schiff bazlarının değişken ve esnek yapılarından dolayı çok sayıda sentezlenmiş ve incelenmiştir [39]. İmin bileşikleri ile yapılan ilk çalışma Berichte'de Anselmino tarafından yayınlanmış olup [40] schiff bazlarını ilk defa ligand olarak kullanan ise Preiffer (1937) 'dir [41].

Schiff bazlarının genel formülü $RCH = NR'$ olup bu formülle R ve R' alkil yada alkil süstitüentleridir.



Şekil 1.3. Schiff bazı oluşum mekanizması [41]

Schiff Bazı Oluşum Mekanizması (Şekil 1.3.)’ında imin oluşumu çok düşük ve çok yüksek pH’da yavaştır ve genel olarak pH 4-5 arasında en hızlı gerçekleşir [42].

Schiff bazlarının ve geçiş metal komplekslerinin ucuz ve kolay elde edilebilirliği, termal ve kimyasal kararlılığı oldukça yüksek olmasıyla koordinasyon kimyasında sıkça karşımıza çıkar [36].

Schiff bazlarının geniş bir kullanım alanı tespit edilmiştir. Schiff bazlarının bazen halkası üzerinde yer alan fonksiyonel grupların çeşitliliğine göre göstermiş olduğu inhibitör özelliği [43], sterik yapıları ile salisilaldiminler güçlü antioksidant özelliği ile yağların kokuşmasını engellemede [44], metal kompleksleri renkli maddeler olduğundan boya endüstrisinde pigment boya maddesi olarak [42,45], fotoğraf kimyasallarında, ilaçlarda, tatlandırıcı ayraçları olarak [36], platin komplekslerinin antitümoral aktivite göstermesiyle kemoterapi tedavisinde [40], Mn ve Ru komplekslerinin suyun fotolizini katalizlemesinde [46], bazı bakterilere karşı antimikrobiyal etkileri (pestisitlerde) ile çeşitli alanlarda kullanılmaktadır [36,47].

Bu çalışmada yeni sentezlenmiş beş schiff bazı olan (Hekza [4-(2-hidroksi-4-klorofenilimino) metil) fenoksi] siklotrifosfazen, Hekza [4-(4-hidroksifenilimino) metil) fenoksi] siklotrifosfazen, Hekza [2-metoksi-4(2-hidroksifenilimino) metil) fenoksi] siklotrifosfazen, Hekza [2-metoksi-4(2-hidroksi-4-klorofenilimino) metil) fenoksi] siklotrifosfazen, Hekza [2- metoksi-4(4-hidroksifenilimino) metil) fenoksi] siklotrifosfazen)’ nin *Saccharomyces cerevisiae* maya hücresinde bazı biyokimyasal parametreler (toplam protein, MDA, yağ asitleri, GSH, GSSG) üzerindeki etkileri araştırılmıştır.

1.5. Tezde Çalışılan Biyokimyasal Parametreler

1.5.1. Toplam Protein

Proteinler, yirmi aminoasidin peptid bağları ile birbirine bağlanarak oluşturduğu yüksek moleküler organik bileşiklerdir. Bağlanmış aminoasitlerin dizilişi bu yüksek moleküler yapının kendine has üç boyutlu yapısı hakkında gerekli bilgiyi taşımaktadır [48,49].

Proteinler;

1. Basit proteinler

a) Fibröz Proteinler

- Kollajen
- Elastin
- Karatin

b) Globüler Poteinler

- Albümin
- Globülinler
- Histon
- Ptotamin

2. Bileşik Proteinler

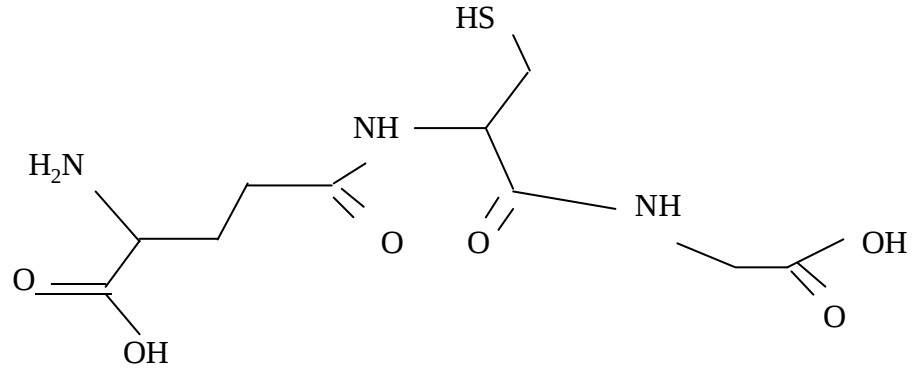
- a) Nükleoproteinler
- b) Mukoproteinler (Proteoglikanlar)
- c) Glikoproteinler
- d) Lipoproteinler
- e) Hemoproteinler
- f) Metaloproteinler
- g) Fosfoproteinler [50]

Serum proteinleri toplam protein belirlemekte önemli bir ölçüt olup globülin ve albümine ayrılmıştır [49]. Plazmada en fazla bulunan protein albümin olup en büyük boyuttaki protein de alfa-2 makroglobülinidir [50].

1.5.2. Glutatyon (GSH) - Okside Glutatyon (GSSG)

Mikroorganizmalardan insanlara kadar birçok hücrelerde, özellikle karaciğer hücrelerinde [51] sentezlenen düşük molekül ağırlıklı, intraselüler konsantrasyonunda yüksek oranda bulunan ve non-protein tiyol yapısında olan önemli bir antioksidandır [52].

Glutatyon, sisteinin glutamata eklenmesiyle oluşan yapıya glisin ilavesi ile mitokondri ve sitozolde bulunan sırasıyla glutamat – sistein ligaz ve glutatyon sentetaz gibi iki sitozolik enzimleri tarafından sentezlenenmiştir [53] (Şekil 1.4.).



Şekil 1.4. Glutatyonun molekül yapısı [52]

Yetişkin insanlarda günde yaklaşık 10 gram glutatyon üretilirken [54]; hücrelerde, total glutatyonun % 95' i glutatyon, % 5' i ise okside glutatyon halinde bulunur [55]. Glutatyonun; sistein taşınması ve depolanmasında, immün tepkinin düzenlenmesinde, antioksidant savunmasında, DNA sentezinde, elektrofilik ksenobiyotiklerin detoksifikasyonlarında ve prostoglandin metabolizmasının düzenlenmesinde görevleri vardır [56].

Hücredeki glutatyonun kullanım alanları ise;

- Bir antioksidan olarak direk serbest radikal temizleyici olarak
- Detoksifikasyon sırasında GSH – S transferazlar için kofaktör olarak
- Glutamini GSH' tan diğer aminoasitlere transfer eden gama glutamil trans peptidazlar için substrat olarak kullanılır [57].

Glutatyon peroksidaz enzimi tarafından katalizlenen reaksiyonla redükte formdaki glutatyon (GSH) lipid peroksit yada hidrojen peroksitlerle reaksiyona girerek bu moleküllerin detoksifikasyonunda rol alırken kendisi başka bir glutatyon molekülüyle disülfid köprüsü oluşturarak okside glutatyon (GSSG) formuna dönüşür. [58,59] GSSG' de glutatyon redüktaz enzimi aracılığı ile tekrar GSH' ı oluşturur [60].

GSH analizi için tanımlanmış birçok yöntem (enzimatik, flourometrik, kolorometrik) bulunmasına karşın [61-63], son yıllarda Yüksek Performanslı Sıvı kromatografisi yöntemi (HPLC); basit ve hızlı ve olmasının yanı sıra kesinlik, tekrarlanabilirlik ve femtomol düzeyinde yüksek duyarlılığı nedeniyle tercih edilmektedir [64].

1.5.3. Yağ Asitleri

Çoğu lipidlerin temel yapı taşı oluşturan 4-24 C atomuna sahip yağ asitleri; bir ucunda metil grubu, uzun bir hidrokarbon zinciri ve diğer ucunda da bir karboksil grubu içeren amfipatik bileşiklerdir [65].

Yağ asitleri bulundukları bağın tek yada çift oluşuna göre sınıflandırılmaktadırlar. Tek bağ bulundurmasıyla doymuş yağ asitleri (SFA) ve bu yağ asitlerince zengin olan yağlara da doymuş yağlar denir. Bitkisel yağlarda bulunan en önemli doymuş yağ asitleri; Laurik asit, Miristik asit, Palmitik asit, Stearik asit, Araşidonik asit ve Behenik asit olup oda sıcaklığında genellikle katı halde bulunurlar [66,67]. Çift bağ bulundurmasıyla da doymamış olarak nitelendirilir (Şekil 1.5.). Yapılarında bir çift bağ içeren yağ asitlerine MUFA veya monoenoik yağ asidi olarak isimlendirilir. Bu grubun en önemli üyeleri; Palmitoleik asit, Oleik asittir. Molekül dizilişleriyle karbon atom sayısı 18-20 arasında olan ve 2-4 arasında çift bağ bulunduran yağ asitlerine PUFA denir. Çoklu doymamış yağ asitlerine; Linoleik asit, Linolenik asit, Araşidonik asit, Eikosapentaenoik asit, Dokosaheptaenoik asit örnek gösterilebilir. 20'den fazla karbon atomu ve 4'ten fazla çift bağı bulunan yağ asitlerine de yüksek oranda doymamış yağ asitleri (HUFA) adı verilir [66-69].

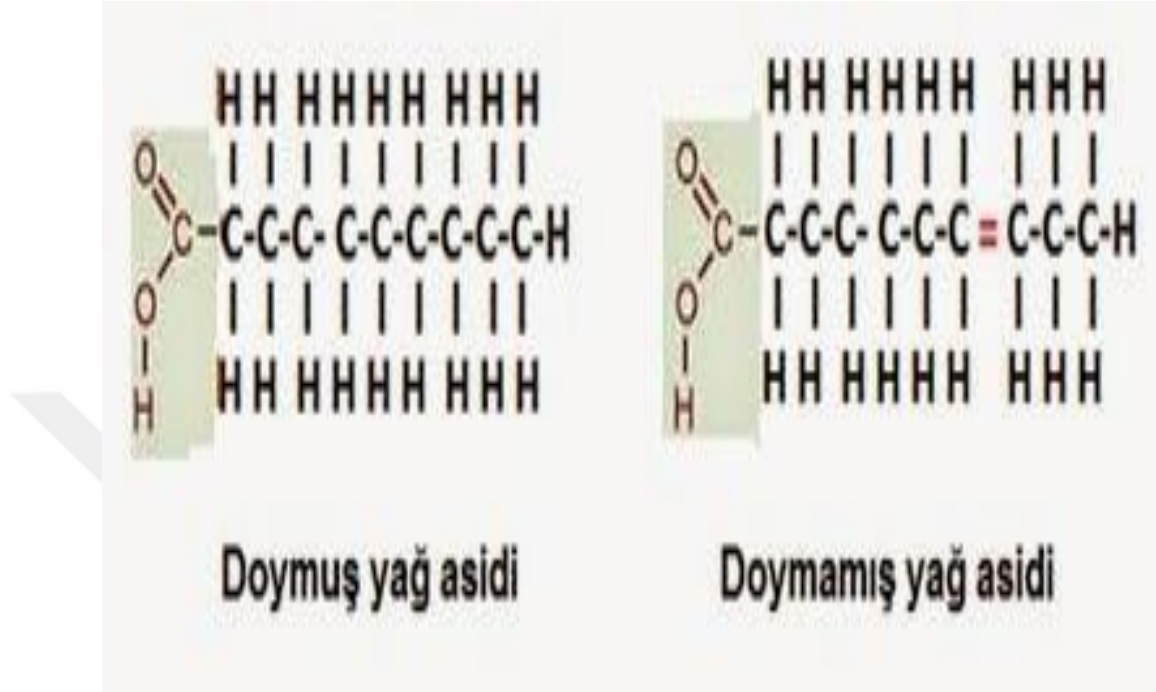
Yağ asitlerinin en önemli görevi membran yapısında bulunmaları [67,70,71] ve birçok molekülün hücreye giriş-çıkış ortamlarını sağlamalarıdır. Ayrıca yağ asitleri, glukoza göre daha çok ATP enerjisi üretimiyle kıymetli enerji kaynağıdır. Yağ asitleri birçok hücre sitoplazmasında trigliserit molekülleri şeklinde depo edilir. Lipositler sitoplazmasında yağ depolayan hücreler olup, toplu halde bulununca yağ dokusunu oluştururlar.

Yağ asitleri ve gliserol, tüm hücreleri ve organelleri saran zarın büyük bir kısmı olan fosfolipid molekülünü oluşturur. Fosfolipit molekülü, iki yağ asidi zincirinden oluşan hidrofobik (suda çözünemeyen) kuyruğa ve fosfatın yer aldığı hidrofilik (suda çözünen) baş kısmına sahiptir [72].

Memeli canlılarda iki farklı yağ asidi metabolizması vardır. Birincisi; vücuttaki karbonhidrat ve aminoasit öncülerinden de nove olarak sentezlenen ve depo lipidleri ile doku fosfolipidlerinde yer alan palmitik asit, palmitoleik asit, stearik asit, oleik asit, eikosenoik asit, dokosanoik asit, lignoserik asit ile nervonik asit. İkincisi; Linoleik asit ve linolenik asit ile başlayan esansiyel yağ asidi

metabolizması olarak bilinir [73,74].

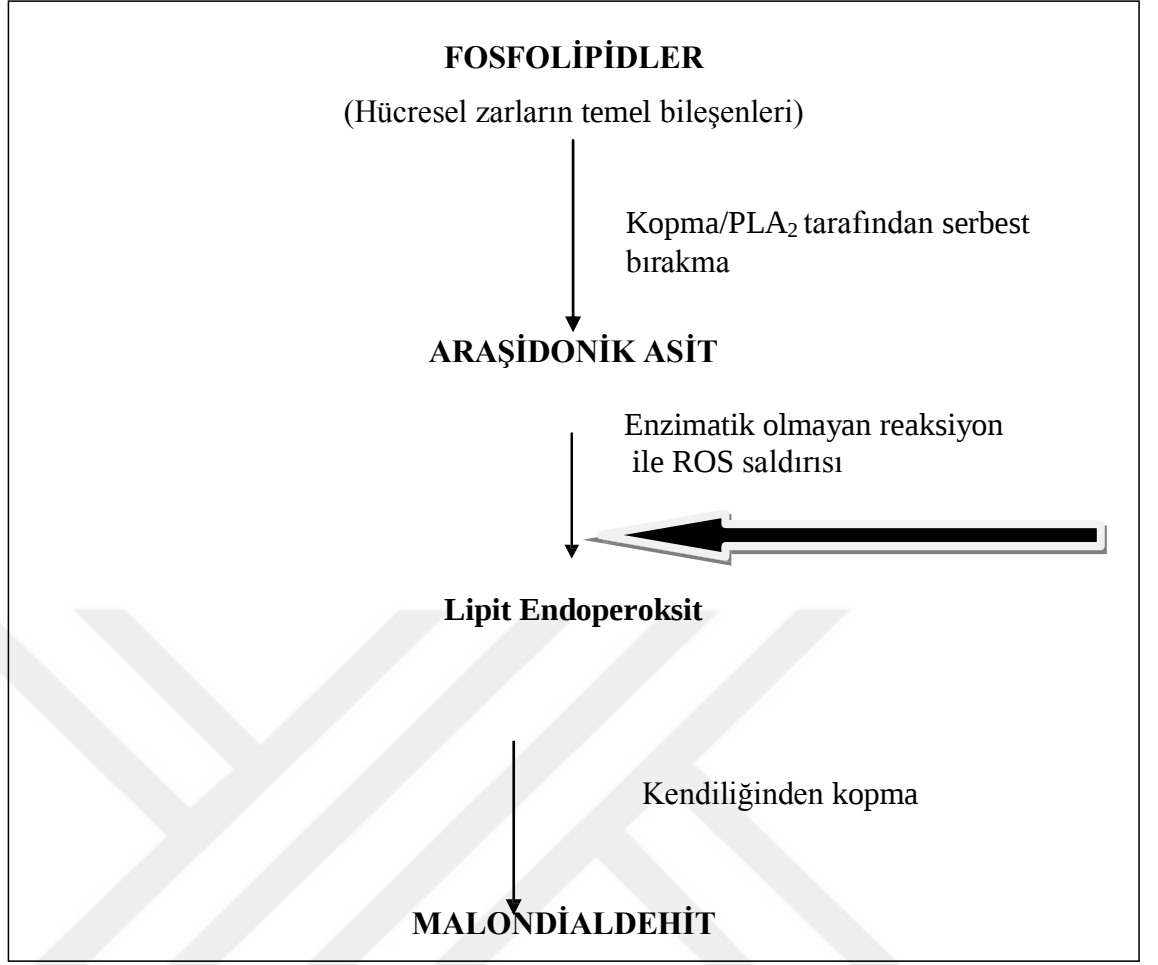
Yağ asitlerinin metabolik enerji kaynağı oluşu, hücre homoestazisinde rol alması, insan immün sistemini etkilemesi ve bazılarında antimikrobiyal ve antikanserojen aktivite göstermesi gibi önemli etkileri bilinmektedir [67,68,71].



Şekil 1.5. Doymuş ve doymamış yağ asitlerinin molekül yapısı

1.5.4. Malondialdehit

Serbest radikaller; lipidler, proteinler ve nükleik asitler ile etkileşmesi sonucu hücre yapısında olumsuz etkiler gösterir. Çeşitli patolojik vakaların hücre tipinde O_2 'nin redüksiyonundan oluşan türlerin oluşumuyla oksidatif stres meydana gelir. Bunun sonucu olarak lipid yapısında bozulmalar oluşur [75]. Yani lipid hidroperoksitleri, geçiş metallerinin katalizörlüğü ile yıkılımı sonucu çoğu faydalı olmayan aldehitlerin oluşmasına sebep olur. Bu aldehitlerden en iyi bilinen olan MDA (Malondialdehit), lipid peroksidasyonu sonucu oluşmaktadır [76] (Şekil 1.6.).



Şekil 1.6. Malondialdehit oluşum mekanizması

Bu sebeple MDA ölçüm sonucu ile LPO (lipit peroksidasyon oluşum reaksiyonu)'nun değerlendirilmesi yapılabilmektedir. Bu bileşikler ya başlangıçta etkili oldukları bölgede diffüze olup hasarlı hücrelerin diğer kısımlarına yayarlar ya da hücresel olarak metabolize olurlar.

Lipid radikallerini hidrofobik özellikte olması dolayısıyla reaksiyonların çoğu hücre zarına bağlı moleküllerde meydana gelmektedir. Peroksil radikallerle aldehitler, hücre zarındaki moleküllere çapraz bağlanma ve polimerizasyonuna neden olur. Böylelikle membranlarda, reseptörleri ve hücre zarına bağlı enzimleri inaktive ederek membran proteinlerine de olumsuz etki gösterip iyon transportunu etkileyebilir. Özellikle düşük dansiteli lipoproteinler de oksidasyona uğrayabilirler. Okside lipoproteinler hücre yapısının bozulumuna sebep olabilirler [77].

Lipit peroksidasyon oluşum reaksiyonu ya otokatalitik yayılma reaksiyonlarıyla devam edebilir ya da zincir kırıcı antioksidan reaksiyonlar ile sonlandırılır[78].

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Biyolojik aktivitelere yönelik schiff bazı ve komplekslerinin önemini vurgulayan birçok çalışma mevcut olduğu bilinmektedir [37]. Schiff bazlarının çeşitli metal komplekslerinin canlı organizmadaki etkinliği hemoglobin, klorofil gibi önemli koordinasyon bileşiklerine ilgiyi arttırmakla birlikte bu çalışmaların önem kazanmasına neden olmuştur [79,80]. Bazı schiff bazlarının platin komplekslerinin antitümoral aktivite gösterdiği çalışmalar yapılmıştır [40]. Kanser tedavisinde antitümör olarak cisplatin, testicular ve ovarian ilaçları kullanılmaktadır. Colacio yaptığı çalışmada Cis-[ptcl₂(NH₃)₂]' ün kullanım alanını belli tümör hücrelerinin dirençliliği ve bazı toksisiteden dolayı sınırlandırmasından dolayı yeni sentezlenerek geliştirilen platinum bileşiklerinin bu sorunların üstesinden gelmesi için yapılan çalışmaları yer almaktadır [81]. Daniel vd. yaptıkları çalışmada tiyofen halka sistemi içeren metal şelatlarının antitümör, antibakteriyel, antibioizosterik ilişkisi ve teropatik ajan olarak kullanıldığı bilinmesiyle, metal şelatasyon ile tiyofen türevlerinin antibakteriyel aktivitesi arttırdığını belirleyerek bu komplekslerin kullanılan *Staphylococcus aureus* ve *Alphahaemolytic streptococci* patojen bakterilerine karşı yüksek aktiviteye sahip olması şelatasyon teorisi ile izah etmişlerdir [82].

Ayrıca bazı bakterilere karşı antimikrobiyal etkiler gösterdiğine dair birçok çalışmalar da mevcuttur [47]. Reddy vd. yapmış olduğu çalışmayla elektron çekici grup içeren metal komplekslerinin fazla biyolojik aktiviteye sahip olduğu ve özellikle bakır komplekslerinin antibakteriyel etki gösterdiği, hidroksi grubunun bağlı olduğu schiff bazlarının daha çok aktivite gösterdiğini kanıtlamışlardır [83]. Çınarlı vd. yaptıkları çalışmayla 4-kloro-2-aminofenol ile kloro, bromo ve nitro grubu bulunduran salisilaldehitlerden elde edilen beş farklı schiff bazı sentezlemişlerdir. Bu bileşiklerin altı bakteri (*S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *P. mirabilis*) ve bir mantara karşı (*C. albicans*) üzerindeki etkinlikleri in vitro olarak incelenmiştir. Bileşiklerin genellikle *S. epidermidis*'e karşı etkili oldukları ve son derece antifugal özellik gösterdiği tespit edilmiştir [84]. Hearn ve Cynamon' un yaptığı bir çalışmada schiff bazlarının *Mycobakterium tubercullosis* üzerindeki etkisini fareler üzerinde in vivo ve laboratuarda in vitro olarak test ederek düşük toksisite ile yüksek aktivite özelliği

gösterdiğini ispatlamışlardır [85]. Diğer bir çalışma da Fiorovanti' nin yaptığı (N-heteroaryl) arylmethanamines schiff bazlarının antimikrobiyal ve antiviral etkinliğini incelemek üzerine olup bu bileşiklerin Herpes simplex virüs tip II, gram negatif ve (heteroaryl) arylmenthanamines schiff bazlarının poliovirüs sabin tip I ve *Cryptococcus neoformans*'a yönelik zayıf etki gösterdiği ve candida türüne karşı aktif olduğu tespit edilmiştir [86]. Schiff bazlarının metal içerikli bileşikleri serbest schiff bazlarına göre antiviral özelliği bakımından daha yüksek aktiviteye sahip olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur [87,88]. Chohan vd. *E. coli*, *S. aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* üzerinde 4-hidroksi salisilaldehit ve L-alaninden oluşan schiff bazlarının Cu(II), Zn(II), Ni(II), Co(II) komplekslerinin muamelesi ile serbest schiff bazlarına nazaran antibakteriyal özelliği ile daha etkili olduğu bu çalışmayla göstermiştir [89]. Rao ve Reddy glisin ve ninhidrin türevi schiff bazı metal [(Co(II), Ni(II), Zn(II)] kompleksleriyle yürüttükleri çalışmalarda bu bileşiklerin oktahedral sterokimya özellikte olduğu ve mono bazik tridante ligant gibi davrandığını göstermişlerdir. Bu metal komplekslerinin bakteriler üzerindeki etki özelliğiyle çalışmada kullanılan *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus aureus* ve *Streptococcus faecalis* gibi bakterilerde antibakteriyel özelliği kanıtlanmıştır [90].

Taş vd. yaptığı çalışmayla salisilaldiminlerin sterik etki göstermesiyle güçlü antioksidant olması özelliğiyle yağların kokuşmasını engellemek için kullanılacağını göstermişlerdir [44]. Sarı ve Çukurovalı' nın yaptığı çalışmada; tiyoseramikarbazon türevli 1-(1-mesitil-1- metisiklobütan-3-il)-2-suksinimido etanon tiyoseramikarbazon ve 1-(1-fenil-1-metilsiklobutan-3-fenil)-2-suksinimido etanon tiyoseramikarbazon maddelerinin tavşan karaciğerindeki yağ asitleri üzerindeki etkileri incelenmiştir, ve bu araştırma sonucunda metabolizmada doymuş yağ asit düzeylerini azalttığını ve doymamış yağ asit düzeylerini arttırdığını kanıtlamışlardır [91].

Bir başka çalışma ile Hay vd. 2,6-dimetilfenol'ü Cu(I) klorür/piridin katalizörlüğü ve hava oksijeni aracılığıyla polimerleştirilmesi ile ilk oksidatif polimerizasyon reaksiyonunu oluşturmuş olup, aromatik poli(fenilenoksit)'in sentezi yeni bir polimerizasyona ilk örnek oluşturulmuştur [92]. Schiff'in yaptığı bir birçok çalışmayla schiff bazlarının polimerizasyonda inhibitör olarak, antioksidant olarak, fotoğraf kimyasalları olarak, ilaç endüstrisinde, tadlandırıcı ayraçları olarak, zararlı organizmalara karşı peptisitlerde kullanılmakta olduğunu kanıtlamıştır [36]. Schiff

bazlarının inhibisyon etkisinin yapısındaki amin ve aldehitlere bağlı olduğu ve molekülündeki amin grubuna bağlı olarak inhibisyon etkisinin arttığı anlaşılmıştır [93]. Agrawal vd. yaptığı çalışmaya göre schiff bazlarının inhibitör olarak kullanılması, yapısındaki halka üzerinde yer alan fonksiyonel gruplara bağlı olarak inhibisyon süresinin değiştiği, korazyon davranışlarında sıcaklığın etkisi ve termodinamik parametreler tayin edilerek bu bileşiklerin önemli bir inhibitör olduğunu göstermişlerdir [43]. Habibi vd. imino grubu içeren bileşiklerin fenil türevleri korozyon inhibitörü olarak kullanıldığını yaptıkları çalışmada belirtmişlerdir [94].

Schiff bazlarıyla bazı iyonların belirlenmesine yönelik çalışmalar da mevcuttur. Chung vd. P-allil-tri-p-metoksifenilazokaliks[4]arenin sentezlenmesinden sonra ve Hg^{+2} iyonu ile oluşturulmuş kompleks yapıyı inceleyerek önemli bir renk değişikliği izlemişlerdir. Bundan dolayı Hg^{+2} iyonunu tanımada p-allil ve p-metoksifenilazo gruplarının önemini vurgulamışlardır [95]. Küçükmüzevir vd. yaptıkları çalışmada etanol: su karışımında çeşitli metal iyonlarına karşı florometrik duyarlılık özellikleri araştırılmak için ONNO tipi simetrik bir schiff bazı N-N1 – bis(salisiliden)-1,3-propandiamin(LH₂H) sentezlemişlerdir. Sonuç olarak da schiff bazı Zn^{+2} iyonlarına farklı uyarma ve emisyon dalga boylarında yüksek duyarlılık gösterirken, Al^{+3} iyonuna düşük floresans seçiciliği göstermiştir. Bundan dolayı da sentezlenmiş schiff bazlarının farklı numunelerinde Zn^{+2} iyonunun belirlenmesinde ve kantitatif analizinde kemosensör olarak kullanılabileceği sonucuna ulaşılmıştır [96].

Yeni sentezlenen schiff bazlarına yönelik çalışmalardan Memon vd. indirgeme ile elde edilmiş diamin türevli kaliks[4]aren ve tereftaloildiklorür ile polimer sentezi yapmış olmaları [97] ve Liang vd. kaliks[4]arenin para köşesini 5-nitro salisilaldehit ile fonksiyonlandırarak Bakır(II) iyonuna karşı flöresans özellik gösterdiği bilinen yeni bileşik sentezlemeleri örnek gösterilebilir [98].

Schiff bazlarının ürün verimine yönelik çalışmaları da mevcuttur. Wang vd. yaptıkları çalışma ile siyanürik klorür ile susuz etonelde -5 °C'de p-nitroanilini sodyum karbonat çözeltisi ile reaksiyon oluşturularak tek yönlü kapama yapılmıştır. Oluşan karışıma etilendiamin eklenmiştir. Sonra 100 °C' ye kadar ısıtılarak oluşturulmuş katı [2,4-di(2-aminoetilamino)-1,3,5- triazin-2-yl]amino yada [2,4-di(2-p-aminofenilamino)-1,3,5-triazin-2-yl]amino ayrılmış ve su ile yıkanmış olup ürün verimi %72 arttırıldığı tespit edilmiştir [99].

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Çözücüler

Twin 40, Tris- HCl baz ve methanol, asetonitril, n-hekzan, n-heptan, izopropanol, monopotasyum fosfat (KH_2PO_4), disodyum hidrojen fosfat (Na_2HPO_4), butilhidroksitoluen (BHT), 2-thiobarbiturik asit (TBA), etil alkol, sodyum klorür (NaCl), sodyum hidroksit (NaOH), sodyum karbonat (NaCO_3), potasyum hidroksit (KOH), potasyum bikarbonat (KHCO_3), yağ asidi metil esteri (doymuş ve doymamış türleri), ergosterol, beta sitosterol, stigma sterol, α - tokoferol, EDTA, glutatyon (GSH), hidroklorik asit (HCl), perklorik asit (HClO_4), trikloroasetik asit (TCA), 5,5'ditiyobis 2-nitrobenzoik asit (DTNB), sodyum sitrat, bakır sülfat ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), sodyum potasyum tartarat, folin (FCR), albümin standartı, MDA standartı, yağ asidi standart karışımı, metafosforik asit (MPA), sülfürik asit (H_2SO_4), dimetil sülfoksit DMSO (CH_3)₂SO.

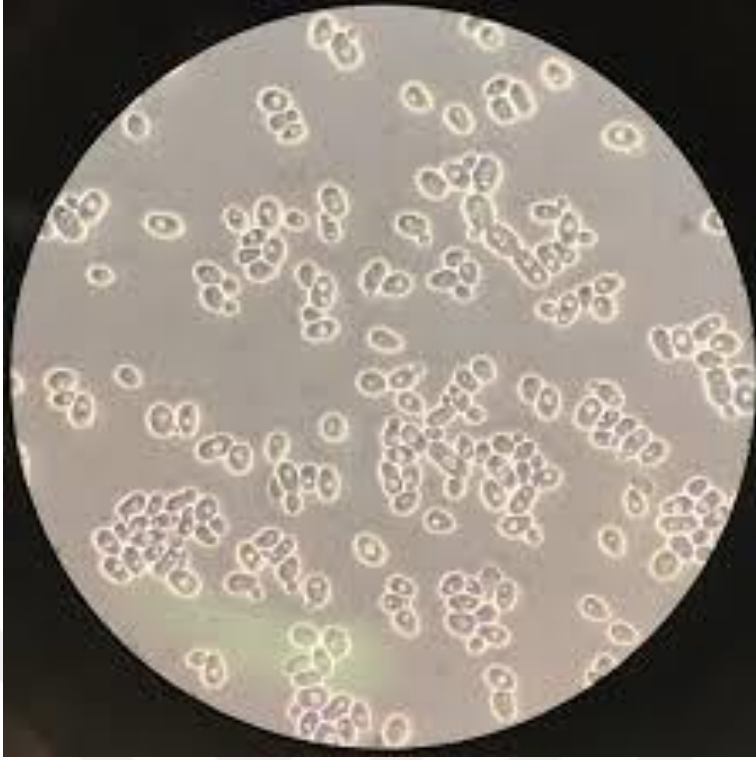
3.1.2. Kullanılan Alet ve Cihazlar

Falcon tüpleri, cam tüpler, vialler, pipet, mezür, tüplük, cam şişe, baget, spatül, öze, beher, santrifüj cihazı, otoklav, etüv, alev beki, hassas terazi, vortex, homojenizatör, magnetik karıştırıcı, sonikasyon, spektrofotometre, HPLC cihazı, derin dondurucu.

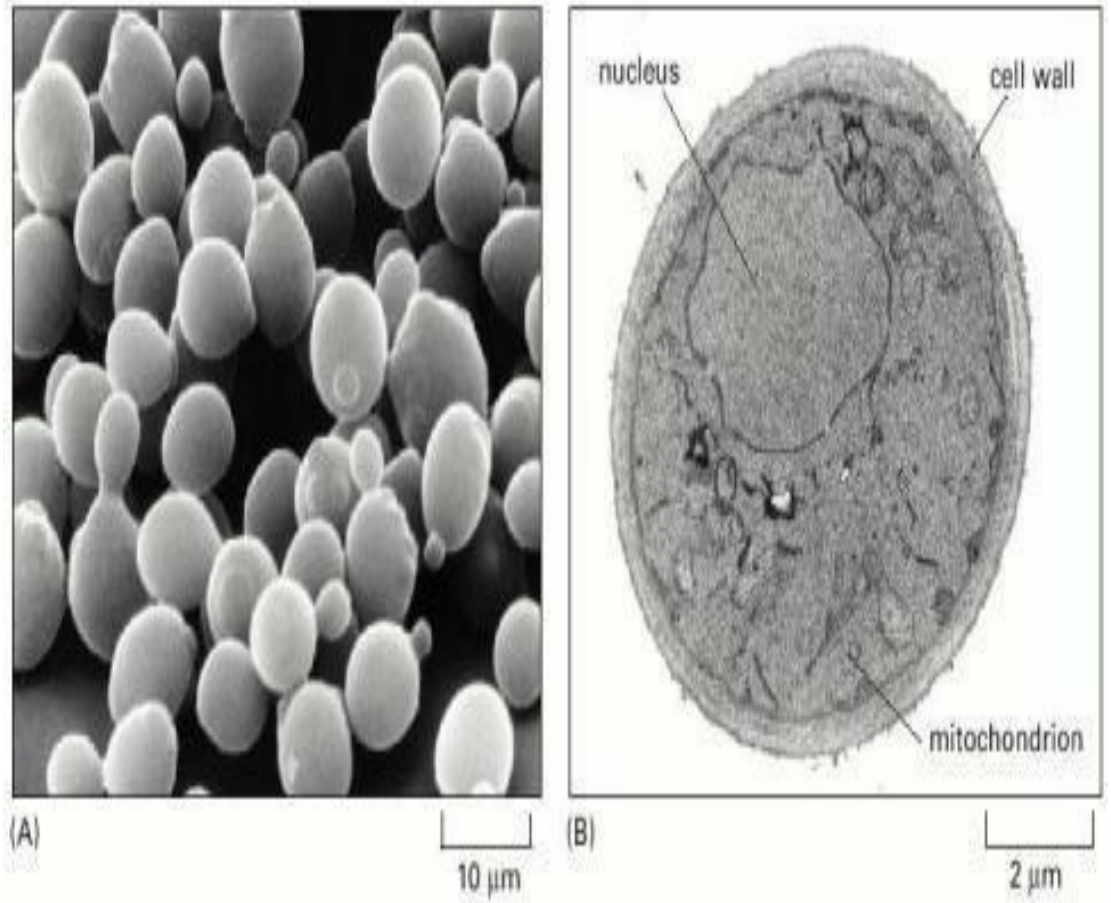
3.1.3. Çalışmada Kullanılan Maya

Ekmek veya bira mayası olarak bilinen *Saccharomyces cerevisiae*; 2-6 nm genişliğinde, 10-30 nm uzunluğunda, elips şeklinde tek hücreli organizmalardır.

Bu deneysel çalışmada ekmek mayasından izole edilmiş *S. cerevisiae* maya hücresi kullanılmıştır (Şekil 3.1.) (Şekil 3.2.).



Şekil 3.1. *S. cerevisiae* 100x phase-contrast görüntüsü

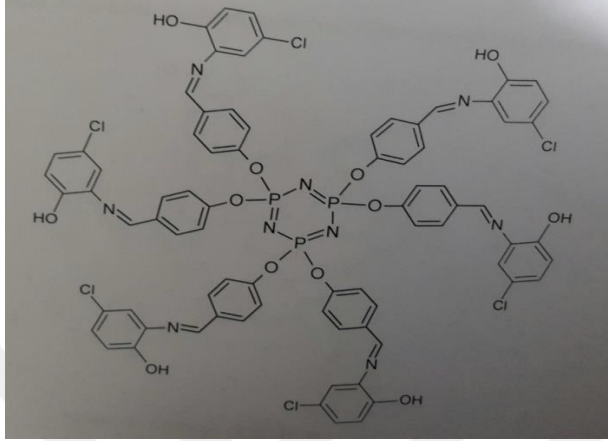


Şekil 3.2. A. *S. cerevisiae*'nın taramalı elektron mikroskobu görüntüsü
B. *S. cerevisiae*'nın transmisyon elektron mikroskobu görüntüsü [100]

3.1.4. Deneyde Kullanılan Schiff Bazları

Çalışmada kullanılan schiff bazları ve molekül yapıları aşağıda belirtilmiştir.

1-(M₁) = Hekza [4-(2-hidroksi-4-klorofenilimino) metil] fenoksi] siklotrifosfazen



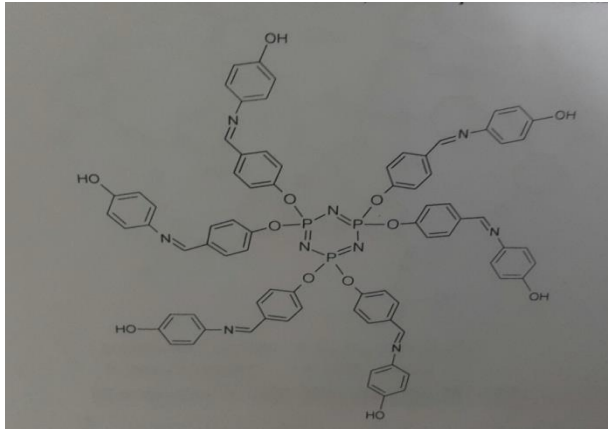
Şekil 3.3. Hekza [4-(2-hidroksi-4-klorofenilimino) metil] fenoksi] siklotrifosfazen molekül yapısı

Moleküler formülü: C₇₈H₅₄Cl₆N₉O₁₂P₃

Moleküler ağırlığı: 1614.955746

Birleşimi: C(%58.01) H(%3.37) N(%7.81)

2-(M₂) = Hekza [4-(4-hidroksifenilimino) metil] fenoksi] siklotrifosfazen



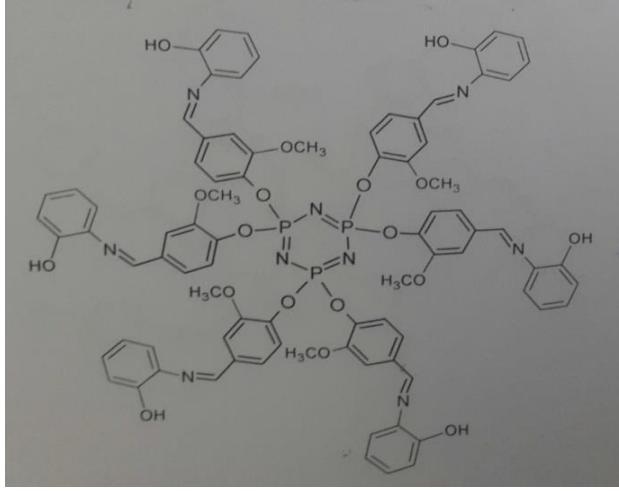
Şekil 3.4. Hekza [4-(4-hidroksifenilimino) metil] fenoksi] siklotrifosfazen molekül yapısı

Moleküler formülü: C₇₈H₆₀N₉O₁₂P₃

Moleküler ağırlığı: 1408.285386

Birleşimi: C(%66.52) H(%4.29) N(%8.95)

3-(M₃) = Hekza [2-metoksi-4(2-hidroksifenilimino) metil) fenoksi] siklotrifosfazen



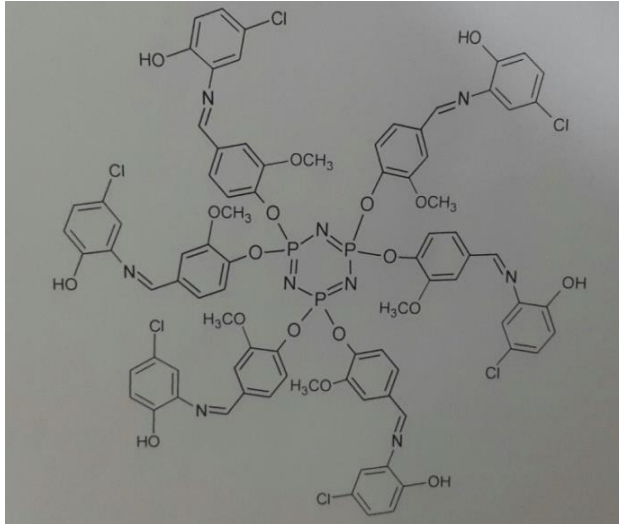
Şekil 3.5. Hekza [2-metoksi-4(2-hidroksifenilimino) metil) fenoksi] siklotrifosfazen molekül yapısı

Moleküler formülü: C₈₄H₇₂N₉O₁₈P₃

Moleküler ağırlığı: 1588.441266

Birleşimi: C(%63.52) H(%4.57) N(%7.94)

4-(M₄) = Hekza [2-metoksi-4(2-hidroksi-4-klorofenilimino) metil) fenoksi] siklotrifosfazen



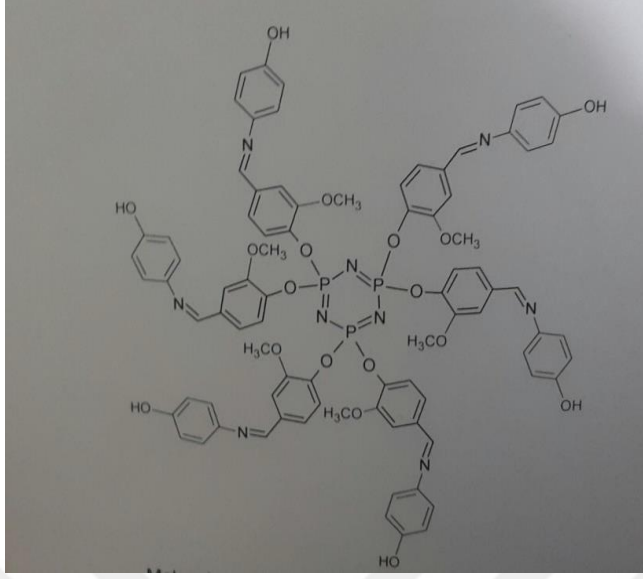
Şekil 3.6. Hekza [2-metoksi-4(2-hidroksi-4-klorofenilimino) metil) fenoksi] siklotrifosfazen molekül yapısı

Moleküler formülü: C₈₄H₆₆Cl₆N₉O₁₈P₃

Moleküler ağırlığı: 1795.111626

Birleşimi: C(%56.20) H(3.71) N(%7.02)

5- (**M₅**) = Hekza [2-metoksi-4(4-hidroksifenilimino) metil) fenoksi] siklotrifosfazen



Şekil 3.7. Hekza [2-metoksi-4(4-hidroksifenilimino) metil) fenoksi] siklotrifosfazen molekül yapısı

Moleküler formülü: $C_{84}H_{72}N_9O_{18}P_3$

Moleküler ağırlığı: 1588.441

Birleşimi: C(%63.52) H(%4.57) N(%7.94)

Deneyde kullanılan schiff bazları için;

- Hekza [4-(2-hidroksi-4-klorofenilimino) metil) fenoksi] siklotrifosfazen: **X₁** 10 mg'lık konsantrasyonu için, **Y₁** 20 mg'lık konsantrasyonu için kullanılmıştır.
- Hekza[4-(4-hidroksifenilimino) metil) fenoksi] siklotrifosfazen: **X₂** 10 mg'lık konsantrasyonu için, **Y₂** 20 mg'lık konsantrasyonu için kullanılmıştır.
- Hekza [2-metoksi-4(2-hidroksifenilimino) metil) fenoksi] siklotrifosfazen: **X₃** 10 mg'lık konsantrasyonu için, **Y₃** 20 mg'lık konsantrasyonu için kullanılmıştır.
- Hekza [2-metoksi-4(2-hidroksi-4-klorofenilimino) metil) fenoksi] siklotrifosfazen: **X₄** 10 mg'lık konsantrasyonu için, **Y₄** 20 mg'lık konsantrasyonu için kullanılmıştır.
- Hekza [2-metoksi-4(4-hidroksifenilimino) metil) fenoksi] siklotrifosfazen: **X₅** 10 mg'lık konsantrasyonu için, **Y₅** 20 mg'lık konsantrasyonu için kullanılmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Schiff Bazı Solüsyonlarının Hazırlanması

$$M_1=0.040\text{gr}$$

$$M_2= 0.060\text{gr}$$

$$M_3= 0.083\text{gr}$$

$$M_4= 0.047\text{gr}$$

$M_5= 0.049\text{gr}$ 'lık schiff bazlarından 10 mg alınıp 1 ml DMSO (dimethyl sülfokside)'da çözülmesi sağlanıp 10 mg'lık ve 20 mg'lık konsantrasyonları hazırlanmıştır.

3.2.2. Laboratuarda Maya Kültür Ortamının Hazırlanması

Deneyde kullanılan *S. cerevisiae* maya hücresinin gelişimi için uygun ortamı olan YEPD besiyeri 200 mL için 2 gr maya ekstraktı, 4 gr baktopepton, 4 gr glukoz kullanılmıştır. Tekrar sayısı (n=5) olacak şekilde hazırlanmıştır. Besiyerleri hazırlandıktan sonra kontrol grubu ile 5 tekrar grubu olacak şekilde 10 mg'lık ve 20 mg'lık konsantrasyonları için toplamında 60 cam şişe olacak şekilde hazırlanarak otoklavda 120 °C' de 15 dk steril edilmiştir. Laboratuar ısısına ulaşana kadar soğutulduktan sonra her gruba *S. cerevisiae* maya hücresinden 1 mL miktarında kontaminasyonu önlemek için de alev beki kullanılarak ekim yapılmıştır. Aşılama yapılan her grup 30 °C' de 72 saat etüvde inkübasyona bırakılmıştır.

1-Kontrol grubu: Bu gruptaki *S. cerevisiae* maya hücreleri için, 200 mL saf su içinde 2 gr maya ekstraktı, 4 gr baktopepton ve 4 gr glukoz içeren besiyeri ortamı hazırlandı.

2-Hekza [4-(2-hidroksi-4-klorofenilimino) metil) fenoksi] siklotrifosfazen schiff bazı grubu: Bu gruptaki *S. cerevisiae* hücreleri için, 200 mL saf su içinde 2 gr maya ekstraktı, 4 gr baktopepton ve 4 gr glukozdan oluşan besiyeri ortamı içerisine Hekza [4-(2-hidroksi-4- klorofenilimino) metil) fenoksi] siklotrifosfazen inoküle edilip OD600 değeri 0.4-0.6 değerine(yaklaşık olarak $1-3 \times 10^7$ hücre/mL) ulaşınca [101], 10 mg'lık ve 20 mg'lık konsantrasyonları içerecek şekilde eklenmesiyle gruplar hazırlandı. Her konsantrasyon ayrı bir grup olarak belirlenip deneysel

Çalışma işlemi yürütüldü.

3-Hekza [4-(4-hidroksifenilimino) metil) fenoksi] siklotrifosfazen schiff bazı grubu: Bu gruptaki *S. cerevisiae* hücreleri için, 200 mL saf su içinde 2 gr maya ekstraktı, 4 gr bakteopepton ve 4 gr glukozdan oluşan besiyeri ortamı içerisine Hekza [4-(4-hidroksifenilimino) metil) fenoksi] siklotrifosfazen inoküle edilip OD600 değeri 0.4-0.6 değerine (yaklaşık olarak $1-3 \times 10^7$ hücre/mL) ulaşınca [101], 10 mg'lık ve 20 mg'lık konsantrasyonları içerecek şekilde eklenmesiyle gruplar hazırlandı. Her konsantrasyon ayrı bir grup olarak belirlenip deneysel çalışma işlemi yürütüldü.

4-Hekza [2-metoksi-4(2-hidroksifenilimino) metil) fenoksi] siklotrifosfazen schiff bazı grubu: Bu gruptaki *S. cerevisiae* hücreleri için, 200 mL saf su içinde 2 gr maya ekstraktı, 4 gr bakteopepton ve 4 gr glukozdan oluşan besiyeri ortamı içerisine Hekza [2-metoksi-4(2- hidroksifenilimino) metil) fenoksi] siklotrifosfazen inoküle edilip OD600 değeri 0.4- 0.6 değerine (yaklaşık olarak $1-3 \times 10^7$ hücre/mL) ulaşınca [101], 10 mg'lık ve 20 mg'lık konsantrasyonları içerecek şekilde eklenmesiyle gruplar hazırlandı. Her konsantrasyon ayrı bir grup olarak belirlenip deneysel çalışma işlemi yürütüldü.

5-Hekza [2-metoksi-4(2-hidroksi-4-klorofenilimino) metil) fenoksi] siklotrifosfazen schiff bazı grubu: Bu gruptaki *S. cerevisiae* hücreleri için, 200 mL saf su içinde 2 gr maya ekstraktı, 4 gr bakteopepton ve 4 gr glukozdan oluşan besiyeri ortamı içerisine Hekza [2- metoksi-4(2-hidroksi-4-klorofenilimino) metil) fenoksi] siklotrifosfazen inoküle edilip OD600 değeri 0.4-0.6 değerine (yaklaşık olarak $1-3 \times 10^7$ hücre/mL) ulaşınca [101], 10 mg'lık ve 20 mg'lık konsantrasyonları içerecek şekilde eklenmesiyle gruplar hazırlandı. Her konsantrasyon ayrı bir grup olarak belirlenip deneysel çalışma işlemi yürütüldü.

6-Hekza [2-metoksi-4(4-hidroksifenilimino) metil) fenoksi] siklotrifosfazen schiff bazı grubu: Bu gruptaki *S. cerevisiae* hücreleri için, 200 mL saf su içinde 2 gr maya ekstraktı, 4 gr bakteopepton ve 4 gr glukozdan oluşan besiyeri ortamı içerisine Hekza [2-metoksi-4(4- hidroksifenilimino) metil) fenoksi] siklotrifosfazen inoküle edilip OD600 değeri 0.4-0.6 değerine (yaklaşık olarak $1-3 \times 10^7$ hücre/mL) ulaşınca [101], 10 mg'lık ve 20 mg'lık konsantrasyonları içerecek şekilde eklenmesiyle gruplar hazırlandı. Her konsantrasyon ayrı bir grup olarak belirlenip deneysel çalışma işlemi yürütüldü.

3.2.3. Biyokimyasal Analizler

İnkübasyon sonunda maya gelişimini gözlemek için UV'de 600 nm'de hücre yoğunluk ölçümü yapıldı. Yapılan bu yoğunluk ölçümünden sonra her grup için kullanılacak falcon tüplerinin boş daraları hassas terazide ölçüldü. Falcon tüplerine eklenen besiyerleri 6000 rpm'de 5 dk +4 °C'de santrifüj edilmesinin ardından elde edilen pelletlere 0.09' luk NaCl çözeltisinden her tüp için 5 mL eklendi. Yıkama için yapılan bu işlem üç kez tekrarlandı. Yıkama işleminden sonra elde edilen pelletler hassas terazide tartıldı. Yapılan bu ölçümlerden falcon tüplerinin boş ağırlıkları çıkarılarak pelletlerin ağırlıkları belirlendi.

Yıkanmış olan bu pelletlere 5 mL Tris-EDTA tamponu ilave edildi. Pelletlere eklenen bu tampon çözeltiyle homejenizatör yardımıyla parçalanması sağlandı. Bu işlem için kullanılan 250 mL' lik Tris Tampon çözeltisi için; 0.42 gr Tris Base, 1.43 gr Tris HCl ve 1.86 gr EDTA (Triplex III) kullanılarak hazırlandı.

Homojenizasyon sonucunda elde örnekler 6000 rpm' de 10 dk +4 °C'de santrifüj edildi. Santrifüjün ardından elde edilen supernatantlar, GSH, total protein ve MDA ölçümü için kullanıldı. Falcon tüpünde geri kalan pelletlere 10 ml 3/2, (v/v) oranında n-hekzan+izopropanol karışımı eklenip homojenize edilmesinin ardından [102] 6000 rpm' de 10 dk santrifüj sonrasında elde edilen süpernatantlar yağ asidi düzeyi [103,104] ölçümü için kullanıldı.

GSH-GSSG ve MDA miktarlarının ölçümü için HPLC cihazında uygun yöntem uygulanarak [105,106], yağ asidi ölçümü için gaz kromatografisi cihazı [104] ve total protein ölçümü için de Lowry yöntemi kullanıldı [107].

3.2.3.1. Toplam Protein Analizi

Tris-EDTA' lı süpernatant kullanılarak Lowry metodu [107] ile total protein analizi yapılmıştır. İlk grup yani 10 mg' lık konsantrasyon grupları için örnek sayımız 30 ve her grup için Lowry çözeltisinden kullanacağımız miktar 4 mL olduğundan toplamında 120 mL Lowry çözeltisi kullanılacaktır. Aynı işlem 20 mg'lık konsantrasyon grupları için de yapılacaktır.

200mL' lik Lowry çözeltisi (E reaktifi) için;

1. NaOH (sodyum hidroksit) çözeltisi: 0.89 gr NaOH saf su ile 100 ml olacak şekilde bir şişede hazırlandı.

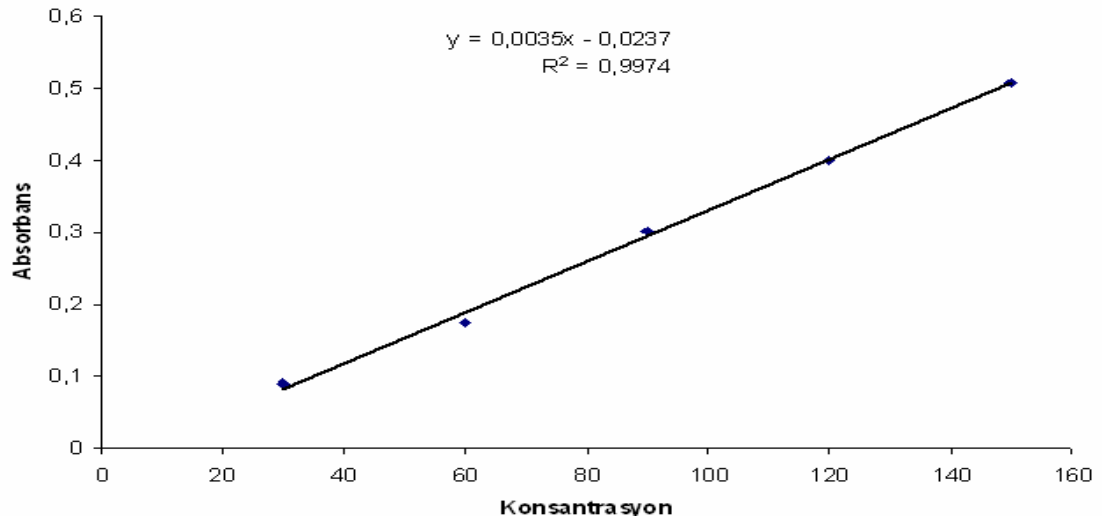
2. Sodyum karbonat çözeltisi: 4 gr sodyum karbonat saf su ile 100 ml olacak şekilde bir şişede hazırlandı.
3. % 2' lik potasyum sodyum tartarat çözeltisi: gr potasyum sodyum tartarat saf su ile 10 mL olacak şekilde bir şişede hazırlandı.
4. Bakır sülfat çözeltisi: 0.1 gr bakır sülfat saf su ile 10 mL olacak şekilde hazırlandı.

Her bir çözelti ölçüleri orantısında ayrı ayrı çözülerek hazırlandı. Hazırlanmış sodyum karbonat çözeltisinden 2 mL pipetle çekilip dökülerek 98 mL bırakıldı. Sodyum hidroksit (NaOH) çözeltisi içinde aynı işlem yani 2 mL pipetle çekilip döküldükten sonra 98 mL miktarında bırakıldı. Bu iki çözelti (NaOH ve sodyum karbonat çözeltileri) karıştırılarak 196 mL' lik yeni bir çözelti oluşturuldu. 196 mL' lik bu çözeltiye ayrı ayrı hazırlanmış olan potasyum tartarat ve bakır sülfat çözeltilerinden ikişer mL ölçüsünde eklenerek 200 mL' lik Lowry çözeltisi (E reaktifi) hazırlanmış olur.

Daha sonra tüp içine 10 µL Tris-EDTA' lı süpernatant üzerine 4 mL Lowry çözeltisi eklendi. Vortex yardımıyla karıştırıldıktan sonra oda ısısında 10 dk bekletildi. Üzerine 5mL folin, 5 ml saf sudan oluşan folin reaktifinden 0.5 mL eklenip vortexle karıştırılarak oda ısısında 30 dk bekletildi. Sonra 750 nm' de blank (kör) E reaktifi olacak şekilde spektrofotometrede ölçüm yapıldı. Kör için 4 ml Lowry çözeltisi kullanıldı. Protein kalibrasyon eğrisini oluşturabilmek için saf haldeki albuminden 10 ml saf suda 0.001 gram içerecek şekilde albumin çözeltisi hazırlanıp sonra da standart grupları aşağıda belirtilen miktar ölçüsünde oluşturuldu.

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

Her grup için albumin çözeltisine 4 mL Lowry çözeltisi eklendikten sonra. 10 dk bekletildi. Bu süre sonunda 0.5 mL folin reaktifi eklendikten sonra da 30 dk bekletildi. Gruplar 750 nm' de köre karşı okundu. Ölçülen değerler doğrultusunda kalibrasyon eğrisi oluşturuldu. Örneklerin protein miktarları elde edilen bu kalibrasyon eğrisindeki denklem vasıtasıyla hesaplandı (Şekil 3.8.).



Şekil 3.8. Protein kalibrasyon eğrisi

3.2.3.2. Glutatyon(GSH) ve Okside Glutatyon(GSSG) Analizi

Glutatyon ve okside glutatyon miktarlarının ölçümü ilgili metoda göre uygun olarak HPLC cihazında analiz edildi [105,106]. 1 mL supernatant üzerine 1 mL % 10'luk TCA eklenerek deprotenize edilmesi sağlandı. 6000 rpm'de santrifüj edildikten 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.

3.2.3.3. Yağ Asidi Analizi

Yağ asitleri lipidler içerisinde bulunduğu için metil esterleri türevlerine dönüştürülmesi gerekmektedir. Bu amaçla birçok yöntem kullanılmaktadır. Bu çalışmada Christie'nin uygulamasını [103] yani pratik ve verimi yüksek olan asit katalizli esterleştirme yöntemi kullanıldı.

Öncelikle metil esterlerinin hazırlamak için hekzan/izopropanol fazı içerisindeki lipit ekstraktları 30 ml ebatındaki vida kapaklı tüplere konuldu. Üzerine 5

ml %2 metanol sülfürik asit çözeltisi eklenerek vorteks yardımıyla homojenizasyonu sağlandı. Hazırlanan bu karışım etüvde 55 °C'de 15 saat bırakılarak metilleşmesi sağlandı. Geçen bu sürenin ardından etüvden çıkarılan deney tüplerinin oda sıcaklığında soğuması sağlandı. Üzerine 5 ml %5 NaCl eklenerek vorteks yardımıyla karıştırılması sağlandı. Hazırlanan bu yağ asidi metil esterlerinin üstüne 5 ml hekzan (n- Hekzan) eklendi. Tüp içinde tüm grup örneklerin seviyeleri hekzan ile eşitlenerek kapakları kapatılıp tüpler alt-üst edildi. Oda ısısında 4 saat bekletilmesinin ardından hekzan fazı üstten pipetle alınıp alt faz döküldü ve üst faz aynı deney tüpüne alındı ve üzerine 5 ml %2'lik KHCO₃ çözeltisi eklendi. Tekrar kapakları kapatılıp örnekler alt üst edildikten sonra 3 saat bekletildi. Geçen sürenin ardından üst faz küçük deney tüplerine alınıp alt faz döküldü ve örnekler etüvde 40 °C'de uçmaya bırakıldı. Bu işlemin ardından kalan örnek kalıntılarının olduğu deney tüplerine 1 ml heptan ilave edildikten sonra vorteks yardımı ile karışması sağlandı. 1 ml örnek 2 ml'lik vialler içine alınıp gaz kromatografi cihazında analizleri yapıldı. Yağ asitlerinin metil esterlerine dönüştürülmesinin ardından SHIMADZU GC 17 cihazı ile; 25 m uzunlukta, 0.25 µm iç çaplı ve PERMABOND 25 mikron film kalınlığındaki Machery - Nagel (Germany) kapiller kolonu kullanılarak analizleri yapıldı. Enjeksiyon sıcaklığı 240 °C, dedektör sıcaklığı 280 °C, kolon sıcaklık programı da 120 °C'den 220 °C'ye gelecek şekilde ayarlandı. Sıcaklık artışları için; 200 °C'ye kadar 5 °C/dk, 200 °C'den 220 °C'ye kadar ise 4°C/dk olacak şekilde ayarlanması yapıldı. 220 °C'de 8 dakika tutularak toplam süre 35 dk olarak belirlendi. Taşıyıcı olarak azot gazı kullanıldı. Bu deneysel çalışma esnasında örneklerin yağ asidi metil esterlerinin analizi öncesinde standart yağ asidi metil esterlerine ait karışımlar enjekte edilerek yağ asitlerinin tutulma için geçen süreleri tespit edildi. Bu işlemlerin ardından programlama yapılarak yağ asidi metil esterlerinin analizleri yapıldı [103].

3.2.3.4. Malondialdehit Analizi

Lipid perosidasyon (MDA) miktarlarının ölçümü için HPLC cihazında uygun metod kullanarak analizi yapıldı [108]. Tris-EDTA' lı süpernatandan 1 mL alınıp % 10'luk perklorik asit (HClO₄) ile muamele edilmesiyle proteinleri çöktürüldü. Oluşan bu karışım 5000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası elde edilen

süpernatantları otosampler viallerine alınmasıyla HPLC cihazında analizi yapıldı.

Analiz için full otomatik Shimadzu marka HPLC sistemi (Kyoto Japan) kullanıldı. Mobil faz olarak metil alkol karışımı (% 82,5- %17,5 H_3PO_4 ile pH= 4,0) ve 30 mmol KH_2PO_4 [109]; kolon olarak da ODS-3 HPLC kolonu (150 mm x 4,6-5 μm) kullanıldı. PDA dedektör dalga boyu 244 nm, mobil faz akış hızı da 1 ml/dk olarak belirlendi. Standart karışımlardan hazırlanan kalibrasyon eğrisine göre hesaplanması Class VP 6,26 software (Shimadzu, Kyota Japan) ile yapıldı.

3.2.4. İstatiksel Analiz

Deneyisel çalışmanın ardından elde edilen değerler SPSS 15.0 istatistik programıyla değerlendirildi. Kontrol grubu ile konsantrasyon gruplarının ortalamaları arasındaki farklar önce tek-yönlü ANOVA ile daha sonra da her bir grubun diğerinden olan farklılıkları için post hoc LSD testi yapılarak belirlendi. Elde edilen sonuçlardan tablolar oluşturuldu. Çıkan değerlerden tablolar içinde değişik harfler ile sembolize edilip, metin içinde de istatistiksel P ($p>0.05$, $p<0.05$, $p<0.01$, $p<0.001$, $p<0.0001$) değerleri şeklinde gösterildi.

4. BULGULAR

4.1. Farklı Konsantrasyonlardaki Schiff Bazlarının *Saccharomyces cerevisiae* Hücresinin Toplam Protein Seviyesi Üzerindeki Etkisi

M₁, M₂, M₃, M₄ ve M₅ schiff bazlarının 10 mg'lık ve 20 mg'lık konsantrasyon gruplarının kontrol grubu ile toplam protein miktarlarının kıyaslanması yapıldığında, ilave edilen maya hücrelerindeki toplam protein miktarının X₃, X₄, X₅, Y₂, Y₃ ve Y₄ gruplarında belirgin seviyede arttığı saptandı (p<0.05, p<0.01, p<0.001). X₁, X₂, Y₁ ve Y₅ schiff bazlarının olduğu grupların toplam protein seviyesinde kısmi seviyede azalma izlendi (p<0.05) (p<0.01) (p<0.001).

Çizelge 4. 1. Schiff bazlarının *S. cerevisiae* hücresindeki toplam protein düzeyine etkisi

10 mg'lık Konsantrasyon Grubu		20 mg'lık Konsantrasyon Grubu	
Toplam Protein(mg/g)		Toplam Protein(mg/g)	
Kontrol	1.562 ± 0.047	Kontrol	2.460 ± 0.35
M₁	1.470 ± 0.10^b	M₁	1.804 ± 0.06^c
M₂	1.406 ± 0.033	M₂	3.212 ± 0.52
M₃	1.684 ± 0.087^c	M₃	2.664 ± 0.40 ^a
M₄	1.870 ± 0.070^d	M₄	2.850 ± 0.86^b
M₅	1.858 ± 0.10^d	M₅	1.642 ± 0.06^d

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

M₁ schiff bazının 10 mg'lık ve 20 mg'lık konsantrasyonları ilave edilen maya hücrelerindeki toplam protein miktarı kontrol grubuyla kıyaslandığında; X₁'de bu azalışın az seviyede olduğu (p<0.05), Y₁'deki azalışın da istatistiksel açıdan kısmi düzeyde olduğu tespit edildi (p<0.01) (Çizelge 4.1.) (Şekil 4.1.).

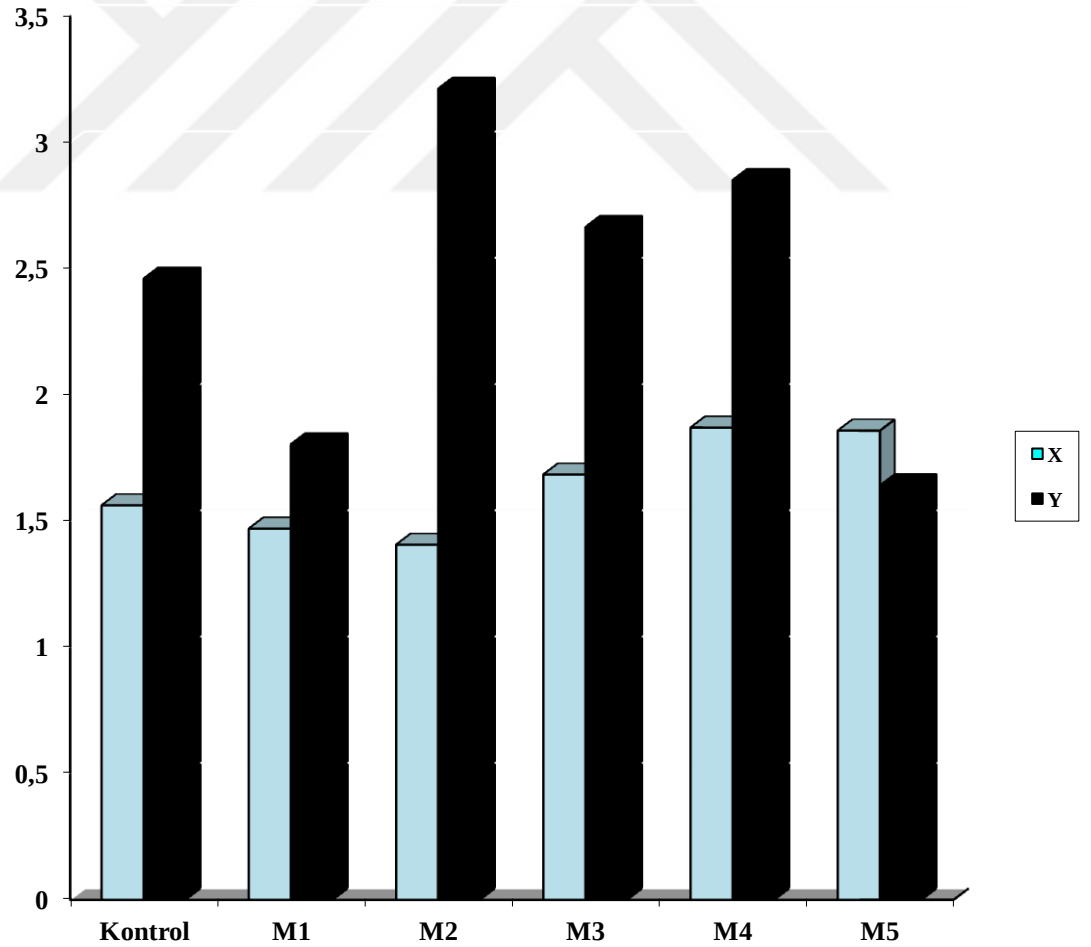
M₂ schiff bazının 10 mg'lık ve 20 mg'lık konsantrasyonları ilave edilen maya hücrelerindeki toplam protein miktarı kontrol grubuyla kıyaslandığında, belirgin seviyede olmasa da X₂ grubunda azalışın, Y₂ grubunda ise artışın olduğu görüldü (Çizelge 4.1.) (Şekil 4.1.).

M₃ schiff bazının 10 mg'lık ve 20 mg'lık konsantrasyonları ilave edilen maya

hücrelerindeki toplam protein miktarı kontrol grubuyla kıyaslandığında; X_3 grubunda kısmi düzeyde artış olduğu ($p<0.01$), Y_3 grubundaki artış farkının ise önemsiz düzeyde olduğu izlendi ($p>0.05$) (Çizelge 4.1.) (Şekil 4.1.).

M_4 schiff bazının 10 mg'lık ve 20 mg'lık konsantrasyonları ilave edilen maya hücrelerindeki toplam protein miktarı kontrol grubuyla kıyaslandığında; X_4 ve Y_4 gruplarında belirgin düzeyde artış olduğu görüldü ($p<0.05$, $p<0.001$). X_4 grubundaki bu artışın önemli seviyede olduğu ($p<0.001$), Y_4 grubundaki artışın da az seviyede olduğu tespit edildi ($p<0.05$) (Çizelge 4.1.) (Şekil 4.1.).

M_5 schiff bazının 10 mg'lık ve 20 mg'lık konsantrasyonları ilave edilen maya hücrelerindeki toplam protein miktarı kontrol grubuyla kıyaslandığında; X_5 grubunda önemli düzeyde artışın olduğu ($p<0.001$), Y_5 grubunda ise önemli seviyede azalmanın olduğu görüldü ($p<0.001$) (Çizelge 4.1.) (Şekil 4.1.).



Şekil 4.1. Schiff bazlarının *S. cerevisiae* hücresinde toplam protein miktarı üzerindeki etkisi

4.2. Farklı Konsantrasyonlardaki Schiff Bazlarının *Saccharomyces cerevisiae* Hücresinin GSH ve GSGG Seviyesi Üzerindeki Etkisi

M₁, M₂, M₃, M₄ ve M₅ schiff bazlarının 10 mg'lık ve 20 mg'lık konsantrasyonları ile kıyaslandığında ilave edilen maya hücrelerindeki GSH miktarının birçok grupta arttığı (p<0.001) (p<0.0001); Y₃, Y₄ ve Y₅ gruplarında ise belirgin olmayan düzeyde azaldığı tespit edildi (Çizelge 4.2.) (Şekil 4.2.).

Çizelge 4. 2. Schiff bazlarının *S. cerevisiae* hücresindeki GSH düzeyine etkisi

10 mg'lık Konsantrasyon Grubu		20 mg'lık Konsantrasyon Grubu	
GSH (µmol/g)		GSH (µmol/g)	
Kontrol	292.13 ± 10.06	Kontrol	2.460 ± 0.35
M₁	456.39 ± 15.31^d	M₁	1.804 ± 0.06^c
M₂	505.65 ± 32.05^{cd}	M₂	3.212 ± 0.52
M₃	448.70 ± 41.69^d	M₃	2.664 ± 0.40 ^a
M₄	405.53 ± 51.74	M₄	2.850 ± 0.86^b
M₅	471.18 ± 30.80^d	M₅	1.642 ± 0.06^d

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

M₁ schiff bazının 10 mg'lık ve 20 mg'lık konsantrasyonları ilave edilen maya hücrelerindeki GSH miktarı kontrol grubuyla kıyaslandığında; X₁ ve Y₁ gruplarındaki GSH miktarındaki artış farkının önemli düzeyde olduğu görüldü (p<0.001) (Çizelge 4.2.) (Şekil 4.2.).

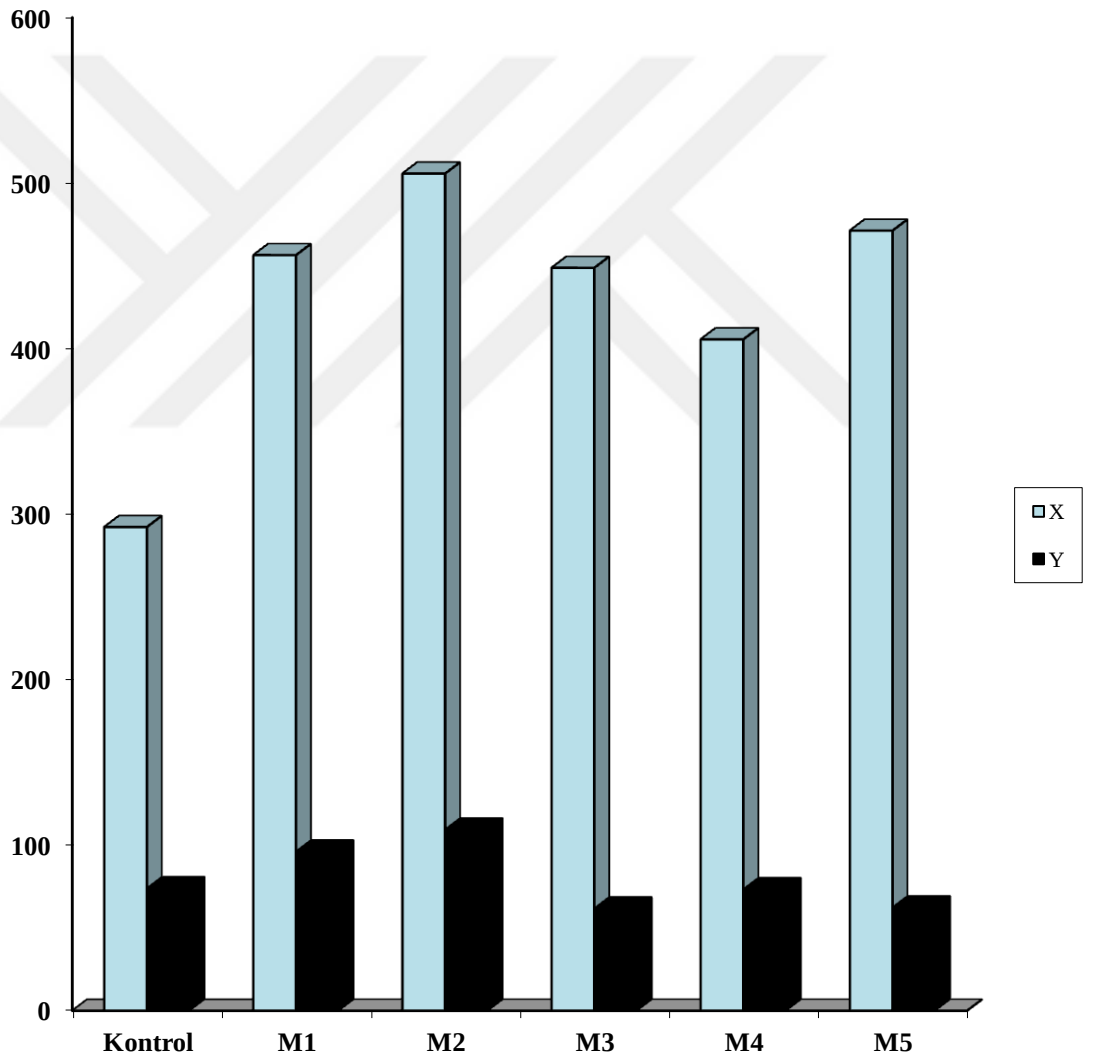
M₂ schiff bazının 10 mg'lık ve 20 mg'lık konsantrasyonları ilave edilen maya hücrelerindeki GSH miktarı kontrol grubu ile kıyaslandığında; X₂ ve Y₂ gruplarındaki GSH miktarındaki artış farkının en fazla olduğu izlendi (p<0.0001) (Çizelge 4.2.) (Şekil 4.2.).

M₃ schiff bazının 10 mg'lık ve 20 mg'lık konsantrasyonları ilave edilen maya hücrelerindeki GSH miktarı kontrol grubu ile kıyaslandığında; X₃ grubundaki GSH miktarındaki artışın önemli düzeyde olduğu (p<0.001), Y₃ grubundaki GSH miktarı belirgin seviyede olmasa da azalmış olduğu tespit edildi (Çizelge 4.2.) (Şekil 4.2.).

M₄ schiff bazının 10 mg'lık ve 20 mg'lık konsantrasyonları ilave edilen

maya hücrelerindeki GSH miktarı kontrol grubu ile kıyaslandığında; X_4 grubundaki GSH miktarında belirgin seviyede olmasa da artış olduğu, Y_4 grubunda ise farkın olmadığı görüldü ($p>0.05$) (Çizelge 4.2.) (Şekil 4.2.).

M_5 schiff bazının 10 mg'lık ve 20 mg'lık konsantrasyonları ilave edilen maya hücrelerindeki GSH miktarı kontrol grubu ile kıyaslandığında; X_5 grubundaki GSH miktarındaki artış önemli düzeyde olduğu ($p<0.001$), Y_5 grubundaki GSH miktarında belirgin seviyede olmasa da azalış olduğu izlendi (Çizelge 4.2.) (Şekil 4.2.).



Şekil 4.2. Schiff bazlarının *S. cerevisiae* hücresinde glutatyon miktarı üzerindeki etkisi

Kontrol grubu ile M_1 , M_2 , M_3 , M_4 ve M_5 schiff bazlarının ilave edilen maya hücrelerini içeren grupların GSGG miktarı kıyaslandığında, tüm gruplarda belirgin

düzeyde artış olduğu görülmüştür ($p<0.001$, $p<0.0001$). 10 mg'lık konsantrasyon içeren schiff bazlarının olduğu gruplardaki GSGG miktarı, 20 mg'lık konsantrasyon gruplarına göre artış farkının daha fazla seviyede olduğu tespit edildi (Çizelge 4.3.) (Şekil 4.3.).

Çizelge 4. 3. Schiff bazlarının *S. cerevisiae* hücreesindeki GSGG düzeyine etkisi

10 mg'lık Konsantrasyon Grubu		20 mg'lık Konsantrasyon Grubu	
GSGG ($\mu\text{mol/g}$)		GSGG ($\mu\text{mol/g}$)	
Kontrol	36.870 ± 4.52	Kontrol	12.750 ± 2.19
M₁	58.636 ± 5.09	M₁	13.194 ± 1.54^a
M₂	73.464 ± 7.10	M₂	26.752 ± 5.87^d
M₃	128.56 ± 11.43^{cd}	M₃	14.194 ± 3.77
M₄	108.31 ± 8.57^{cd}	M₄	24.484 ± 2.70^d
M₅	140.92 ± 4.56^{cd}	M₅	21.918 ± 5.18

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

M₁ schiff bazının 10 mg'lık ve 20 mg'lık konsantrasyonlarına ilave edilen maya hücrelerini içeren grupların GSGG miktarı kıyaslandığında, X₁ ve Y₁ gruplarında GSGG miktarında artış farkının belirgin seviyede olmadığı görüldü ($p>0.05$) (Çizelge 4.3.) (Şekil 4.3.).

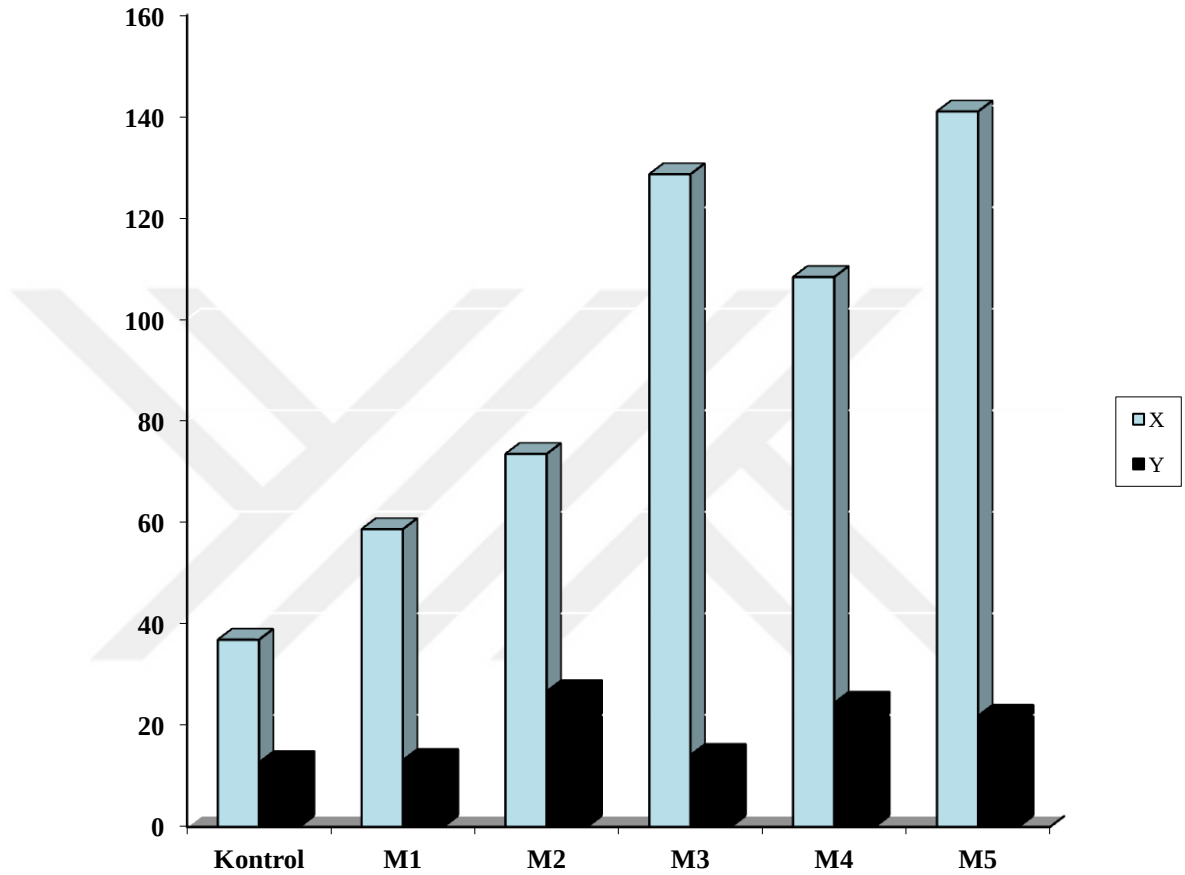
M₂ schiff bazının 10 mg'lık ve 20 mg'lık konsantrasyonlarına ilave edilen maya hücrelerini içeren grupların GSGG miktarı kıyaslandığında, X₂ grubunda GSGG miktarında artışın belirgin seviyede olmadığı, Y₂ grubunda GSGG miktarındaki artış farkının ise önemli düzeyde olduğu tespit edildi ($p<0.001$) (Çizelge 4.3.) (Şekil 4.3.).

M₃ schiff bazının 10 mg'lık ve 20 mg'lık konsantrasyonlarına ilave edilen maya hücrelerini içeren grupların GSGG miktarı kıyaslandığında; X₃ grubunda GSGG miktarındaki artış farkının en fazla olduğu ($p<0.0001$), Y₃ grubunda GSGG miktarındaki artışın ise belirgin seviyede olmadığı izlendi (Çizelge 4.3.) (Şekil 4.3.).

M₄ schiff bazının 10 mg'lık ve 20 mg'lık konsantrasyonlarına ilave edilen maya hücrelerini içeren grupların GSGG miktarı kıyaslandığında; X₄ grubunda GSGG miktarındaki artışın en fazla olduğu ($p<0.0001$), Y₄ grubunda ise GSGG miktarındaki artışın ise önemli düzeyde olduğu tespit edildi ($p<0.001$) (Çizelge 4.3.)

(Şekil 4.3.).

M₅ schiff bazının 10 mg'lık ve 20 mg'lık konsantrasyonlarına ilave edilen maya hücrelerini içeren grupların GSGG miktarı kıyaslandığında; X₅ grubunda GSGG miktarındaki artış farkının en fazla olduğu (p<0.0001), Y₅ grubunda GSGG miktarındaki artışın ise belirgin seviyede olmadığı görüldü (Çizelge 4.3.) (Şekil 4.3.).



Şekil 4.3. Schiff bazlarının *S. cerevisiae* hücresinde okside glutatyon miktarı üzerindeki etkisi

4.3. Farklı Konsantrasyonlardaki Schiff Bazlarının *Saccharomyces cerevisiae* Hücresinin Yağ Asidi Seviyesi Üzerindeki Etkisi

M₁, M₂, M₃, M₄ ve M₅ schiff bazlarının 10 mg'lık konsantrasyonunun ilave edildiği *S. cerevisiae* maya hücresindeki yağ asidi düzeyi üzerine etkisi incelendiğinde; kaproik asit (C6:0) miktarının kontrol grubuna kıyasla belirgin düzeyde olmasa da X₁ ve X₂'de azalmanın olduğunu, X₃ ve X₅ gruplarında ise artış olduğu izlendi. X₄ grubunda ise artışın önemli düzeyde olduğu görüldü (p<0.001) (Çizelge 4.4.).

Kontrol grubuna oranla kaprilik asit (C8:0) miktarının tüm gruplarda azaldığı; özellikle X_1 ve X_5 grubunda kısmi düzeyde azalış olduğu ($p<0.01$), X_3 grubundaki artışın ise önemsiz düzeyde olduğu izlendi ($p>0.05$) (Çizelge 4.4.)

Kontrol grubu ile kıyaslandığında kaprik asit (C10:0) miktarının belirgin düzeyde olmasa da X_1 ' de azalmanın olduğunu, diğer gruplarda ise artış olduğu tespit edildi (Çizelge 4.4.).

Kontrol grubuna oranla laurik asit (C12:0) miktarının belirgin düzeyde olmasa bile tüm gruplarda azaldığı, özellikle X_4 grubunda kısmi düzeyde azalış gösterdiği saptandı ($p<0.01$) (Çizelge 4.4.).

Kontrol grubuna göre kıyasla palmitik asit (C16:0) miktarının özellikle X_5 grubunda belirgin düzeyde olmasa bile artış olduğu izlendi. Diğer gruplarda belirgin seviyede olmasa da, X_3 grubunda da az bir farkla azalış olduğu belirlendi ($p<0.05$) (Çizelge 4.4.).

Kontrol grubuyla palmitoleik asit (C16:1) miktar düzeyi kıyaslandığında sadece X_1 grubunda belirgin seviyede olmasa bile arttığı gözlemlendi. Diğer gruplarda belirgin düzeyde olmasa bile azalış gösterdiği, X_4 grubundaki azalış farkının en fazla olduğu tespit edildi ($p<0.0001$) (Çizelge 4.4.).

Kontrol grubuna oranla stearik asit (C18:0) miktarı X_5 grubunda kısmi düzeyde ($p<0.01$), X_2 grubunda da belirgin seviyede olmasa bile artış olduğu belirlendi. Diğer gruplarda ise önemsiz seviyede azalma saptandı (Çizelge 4.4.).

Kontrol grubuna kıyasla oleik asit (C18:1) yağ asidinin sadece X_1 grubunda belirgin seviyede olmasa bile artış gösterdiği izlendi. X_2 , X_3 ve X_4 grubunda istatistiksel açıdan önemsiz düzeyde, X_5 grubunda ise en fazla farkla azaldığı görüldü ($p<0.0001$) (Çizelge 4.4.).

Kontrol grubuna kıyasla linoleik asit (C18:2) miktarının tüm gruplarda artış gösterdiği, X_3 grubundaki artış farkının ise en fazla düzeyde olduğu tespit edildi ($p<0.0001$) (Çizelge 4.4.).

Kontrol grubuna kıyasla linolenik asit (C18:3) yağ asit miktarının tüm gruplarda arttığı, X_2 grubundaki artış miktarının ise en fazla olduğu belirlendi ($p<0.0001$) (Çizelge 4.4.).

Kontrol grubu ile kıyaslandığında araşidonik asit (C20:0) miktarının X_1 ve X_2 grubunda önemsiz düzeyde arttığı görüldü. Diğer gruplarda belirgin olmayan seviyede, X_4 grubunda ise en fazla farkla azalış gösterdiği izlendi ($p<0.0001$) (Çizelge

4.4.).

Kontrol grubu ile kıyasla tetrakosaenoik asit (C24:1) miktarının X₂ grubunda kısmi düzeyde azalmanın olduğu, diğer gruplarda ise belirgin düzeyde olmasa bile artış gösterdiği tespit edildi ($p<0.01$) (Çizelge 4.4.).



Çizelge 4. 4. Schiff bazlarının *S. cerevisiae* hücreesindeki yağ asidi düzeyine etkisi (10 mg) (%)

Yağ Asitleri	Kontrol	M ₁	M ₂	M ₃	M ₄	M ₅
C6:0	0.978±0.13	0.823±0.04	0.878±0.02	1.379±0.18	1.658±0.14^d	1.605±0.16
C8:0	3.102±0.29	2.856±0.15^c	2.708±0.20	3.144±0.08 ^a	3.094±0.10	2.585±0.18^c
C10:0	0.125±0.38	0.123±0.009	0.152±0.01	0.155±0.02	0.185±0.009	0.170±0.02
C12:0	6.542±0.10	5.951±0.37	5.814±0.27	5.827±0.40	5.379±0.20^c	5.747±0.53
C16:0	38.337±0.53	37.980±1.00	37.525±0.93	36.748±0.85^b	36.409±0.58	39.239±1.29
C16:1	12.325±0.35	12.717±0.47	11.360±0.50	10.860±0.52	10.400±0.60^{cd}	11.052±0.36
C18:0	11.965±0.45	11.516±0.42	12.031±0.51	11.337±0.19	11.880±0.17	12.128±0.60^c
C18:1	9.440±0.57	10.138±1.41	8.888±0.34	9.074±0.53	8.77±0.95	6.518±0.97^{cd}
C18:2	0.808±0.02	1.716±0.26	2.09±0.77	3.367±1.04^{cd}	2.960±1.19	2.280±1.20
C18:3	3.541±0.36	4.413±0.59	6.220±0.62^{cd}	4.633±0.28	4.819±0.39	5.572±0.24
C20:0	0.234±0.003	0.315±0.01	0.317±0.01	0.196±0.05	1.430±0.40^{cd}	0.117±0.04
C24:1	4.243±0.70	4.543±0.37	3.528±0.35^c	4.454±0.64	4.491±0.57	04.312±0.40

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

M₁, M₂, M₃, M₄ ve M₅ schiff bazlarının 20 mg'lık konsantrasyonunun ilave edildiği *S. cerevisiae* maya hücresindeki yağ asidi düzeyi üzerine etkisi incelendiğinde; kaprilik asit (C8:0) miktarının kontrol grubuna kıyasla sadece Y₂ grubunda önemsiz düzeyde artış gösterdiği izlendi. Diğer gruplarda belirgin olmayan düzeyde, Y₃ grubunda ise en fazla farkla azaldığı görüldü (p<0.0001) (Çizelge 4.5.).

Laurik asit (C12:0) düzeyi kontrol grubundaki miktarı ile tüm gruplardaki miktarı kıyaslandığında, belirgin düzeyde olmasa da sadece Y₅ grubunda artış gösterdiği, diğer gruplarda ise azalmanın olduğu saptandı (Çizelge 4.5.).

Myristik asit (C14:0) düzeyi kontrol grubundaki miktarı ile tüm gruplardaki miktarı kıyaslandığında; sadece Y₁ grubunda önemsiz düzeyde artış gösterdiği izlendi. Y₅ grubunda az bir farkla azalış gösterdiği gözlemlenirken (p<0.05), diğer gruplardaki azalış düzeyi önemsiz düzeyde olduğu görüldü (Çizelge 4.5.).

Myristoleik asit (C14:1) düzeyi kontrol grubundaki miktarı ile tüm gruplardaki miktarı kıyaslandığında; özellikle Y₃ grubundaki miktarında kısmi olarak (p<0.01), diğer gruplarda ise önemsiz düzeyde artış olduğu tespit edildi (Çizelge 4.5.).

Pentadekanoik asit (C15:0) düzeyi kontrol grubundaki miktarı ile tüm gruplardaki miktarı kıyaslandığında; tüm gruplarda artış gösterdiği, özellikle Y₃ grubundaki miktarında farkın en fazla olduğu izlendi (p<0.0001) (Çizelge 4.5.).

Pentadekenoik asit (C15:1) düzeyi kontrol grubundaki miktarı ile tüm gruplardaki miktarı kıyaslandığında; tüm gruplarda artış olduğu, Y₃ grubundaki miktarında farkın en fazla olduğu görüldü (p<0.0001) (Çizelge 4.5.).

Palmitik asit (C16:0) düzeyi kontrol grubundaki miktarı ile tüm gruplardaki miktarı kıyaslandığında, önemsiz düzeyde sadece Y₁ grubunda artış olduğu, diğer gruplarda ise azalış gösterdiği belirlendi (Çizelge 4.5.).

Palmitoleik asit (C16:1) düzeyi kontrol grubundaki miktarı ile tüm gruplardaki miktarı kıyaslandığında; Y₁ grubundaki miktarında azalışın önemsiz düzeyde olduğu gözlemlendi. Diğer gruplarda artış olduğu, özellikle Y₅ grubunda bu artışın önemli düzeyde olduğu tespit edildi (Çizelge 4.5.).

Heptadekanoik asit (C17:0) düzeyi kontrol grubundaki miktarı ile tüm gruplardaki miktarı kıyaslandığında; Y₃, Y₄ ve Y₅ gruplardaki miktarında azalışın önemsiz düzeyde olduğu izlendi. Diğer iki grupta artışın olduğu, Y₂ grubundaki

farkın ise en fazla olduğu görüldü ($p<0.0001$) (Çizelge 4.5.).

Heptadekenoik asit (C17:1) düzeyi kontrol grubundaki miktarı ile tüm gruplardaki miktarı kıyaslandığında; Y_1 ve Y_5 gruplarında önemsiz düzeyde artış olduğu belirlendi. Diğer grupların azalış gösterdiği, özellikle Y_4 grubundaki miktarında azalış farkının en fazla olduğu izlendi ($p<0.0001$) (Çizelge 4.5.).

Stearik asit (C18:0) düzeyi kontrol grubundaki miktarı ile tüm gruplardaki miktarı kıyaslandığında; Y_1 ve Y_2 gruplarında önemsiz düzeyde azalmanın olduğu saptandı. Diğer gruplarda artışın olduğu, özellikle Y_3 ' de bu artışın kısmi düzeyde olduğu tespit edildi ($p<0.01$) (Çizelge 4.5.).

Oleik asit (C18:1) düzeyi kontrol grubundaki miktarı ile tüm gruplardaki miktarı kıyaslandığında; Y_1 ve Y_4 gruplarındaki miktarında önemli bir farkla azalış gösterdiği ($p<0.001$), diğer grupların miktarında ise önemsiz düzeyde artış olduğu görüldü (Çizelge 4.5.).

Linoleik asit (C18:2) düzeyi kontrol grubundaki miktarı ile tüm gruplardaki miktarı kıyaslandığında; Y_4 ve Y_5 gruplarında önemsiz düzeyde azalış gösterdiği belirlendi. Diğer grupların miktarında artış olduğu ve bu artış farkının Y_3 grubunda en fazla olduğu tespit edildi ($p<0.0001$) (Çizelge 4.5.).

Linolenik asit (C18:3) düzeyi kontrol grubundaki miktarı ile tüm gruplardaki miktarı kıyaslandığında; Y_1 grubunun miktarında önemsiz düzeyde artış olduğu görüldü. Diğer gruplarda ise azalış olduğu, Y_5 grubunda bu azalış farkının en fazla düzeyde olduğu saptandı ($p<0.0001$) (Çizelge 4.5.).

Çizelge 4. 5. Schiff bazlarının *S. cerevisiae* hücresindeki yağ asidi düzeyine etkisi (20 mg) (%)

Yağ asitleri	Kontrol	M ₁	M ₂	M ₃	M ₄	M ₅
C8:0	1.536±0.141	1.371±0.312	2.100±0.484	0.710±0.197^{cd}	0.892±0.305	1.192±0.848
C12:0	5.750±0.121	5.558±0.323	5.172±0.362	5.112±0.610	5.640±0.527	5.909±0.388
C14:0	3.918±0.209	3.978±0.094	3.526±0.232	3.263±0.442	3.383±0.228	2.842±0.264^b
C14:1	0.100±0.029	0.211±0.027	0.243±0.021	0.473±0.113^c	0.101±0.0005	0.107±0.032
C15:0	0.542±0.260	0.683±0.205	0.803±0.167	1.671±0.472^{cd}	0.633±0.194	1.031±0.471
C15:1	0.057±0.016	0.065±0.002	0.084±0.012	0.208±0.081^{cd}	0.074±0.010	0.060±0.017
C16:0	46.726±0.451	46.895±0.634	43.532±0.567	45.265±1.700	46.552±0.291	45.629±1.234
C16:1	10.313±0.341	9.984±0.705	11.360±2.306	11.810±1.799	13.665±0.295	16.087±1.399^d
C17:0	0.725±0.283	0.742±0.057	2.480±2.047^{cd}	0.299±0.085	0.650±0.248	0.293±0.045
C17:1	0.157±0.025	0.174±0.015	0.108±0.013	0.115±0.031	0.044±0^{cd}	0.180±0.041
C18:0	14.527±0.372	14.409±0.246	13.105±0.335	17.731±0.951^c	15.365±1.053	15.126±0.587
C18:1	8.066±0.681	6.339±0.321^d	8.745±0.903	8.202±1.058	6.417±0.166^d	8.114±0.783
C18:2	0.425±0.142	0.669±0.191	1.673±0.841	2.542±0.651^{cd}	0.170±0	0.268±0.009
C18:3	6.815±0.646	8.114±1.095	6.340±0.616	3.983±1.708	5.427±0.003	3.340±1.553^{cd}

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

4.4. Farklı Konsantrasyonlardaki Schiff Bazlarının *Saccharomyces cerevisiae* Hücresinin MDA Seviyesi Üzerindeki Etkisi

Kontrol grubu ile M₁, M₂, M₃, M₄ ve M₅ schiff bazlarının ilave edilen maya hücrelerindeki mallondialdehit miktarındaki farkın 10 mg'lık konsantrasyon gruplarında (X), (M₄' deki önemsiz düzeydeki artış haricinde) belirgin düzeyde azalış gösterdiği izlendi (p<0.01, p<0.001). 20 mg'lık konsantrasyon içeren maddelerin gruplarındaki MDA miktarında ise artış olduğu tespit edildi (p<0.01) (p<0.001) (Çizelge 4.6.) (Şekil 4.4.).

Çizelge 4. 6. Schiff bazlarının *S. cerevisiae* hücresindeki MDA düzeyine etkisi

10 mg'lık Konsantrasyon Grubu		20 mg'lık Konsantrasyon Grubu	
MDA (nmol/g)		MDA (nmol/g)	
Kontrol	66.172 ± 4.64	Kontrol	103.50 ± 9.41
M₁	49.632 ± 3.90^d	M₁	109 ± 17.35 ^a
M₂	44.114 ± 6.13^d	M₂	141.45 ± 14.06^d
M₃	57.07 ± 2.13	M₃	128.88 ± 10.39^c
M₄	67.812 ± 8.62 ^a	M₄	157.69 ± 37.56^d
M₅	54.582 ± 1.28^c	M₅	127.07 ± 7.67

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

M₁ schiff bazının 10 mg'lık ve 20 mg'lık konsantrasyonları ilave edilen maya hücrelerindeki MDA miktarındaki fark kontrol grubuyla kıyaslandığında; X₁ grubunda önemli düzeyde azalmanın olduğu (p<0.001), Y₁ grubundaki artış miktarının önemsiz düzeyde olduğu görüldü (Çizelge 4.6.) (Şekil 4.4.).

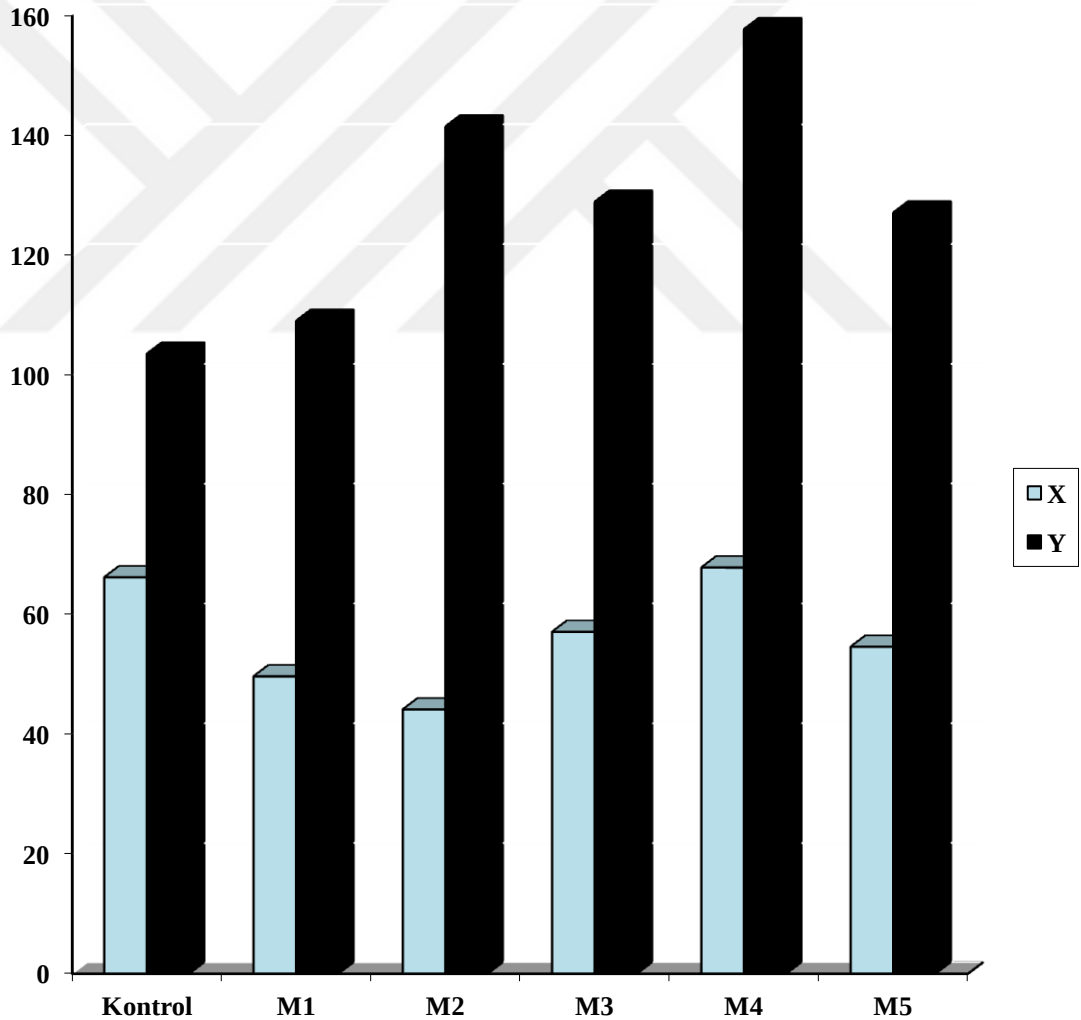
M₂ schiff bazının 10 mg'lık ve 20 mg'lık konsantrasyonları ilave edilen maya hücrelerindeki MDA miktarındaki fark kontrol grubuyla kıyaslandığında; X₂ grubunda önemli düzeyde azalma izlenirken (p<0.001), Y₂ grubunda önemli düzeyde artış olduğu saptandı (p<0.001) (Çizelge 4.6.) (Şekil 4.4.).

M₃ schiff bazının 10 mg'lık ve 20 mg'lık konsantrasyonları ilave edilen maya hücrelerindeki MDA miktarı kontrol grubuyla kıyaslandığında; X₃ grubunda MDA miktarında önemsiz düzeyde azalma belirlenirken, Y₃ grubundaki MDA düzeyinde ise kısmi bir artışın olduğu tespit edildi (p<0.001) (Çizelge 4.6) (Şekil

4.4.).

M₄ schiff bazının 10 mg'lık ve 20 mg'lık konsantrasyonları ilave edilen maya hücrelerindeki MDA miktarı kontrol grubuyla kıyaslandığında; X₄ grubunda MDA miktarında önemsiz düzeyde artış olduğu görüldü ($p>0.05$). Y₄ gruplarında ise MDA miktarındaki fark artışının önemli düzeyde olduğu izlendi ($p<0.001$) (Çizelge 4.6.) (Şekil 4.4.).

M₅ schiff bazının 10 mg'lık ve 20 mg'lık konsantrasyonları ilave edilen maya hücrelerindeki total protein miktarı kontrol grubuyla kıyaslandığında; X₅ grubunda MDA miktarındaki azalış farkının kısmi düzeyde olduğu ($p<0.01$), Y₅ grubunda ise belirgin olmayan düzeyde artış olduğu belirlendi (Çizelge 4.6.) (Şekil 4.4.).



Şekil 4.4. Schiff bazlarının *S. cerevisiae* hücresinde mallondialdehit miktarı üzerindeki etkisi

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

5.1. Sonuçlar

Günümüze kadar 5000'den fazla birçok çeşitte halkalı, düz zincirli ve polimerik fosfazen türevli bileşikler elde edilmiş ve bu bileşiklerin yapısı aydınlatılmıştır. Fosfazen bileşikleri endüstriyel ve tıbbi alanda kullanım açısından önemli bir yer tutar. Fosfazen bileşiklerini önemli yapan, halkalı klorofosfazenlerin nükleofiller ile süstitüsyon tepkimeleri verebilmesi ve bağlanan gruplara göre bileşiklerin farklı özellikler kazanabilmesidir [12,110-113].

Schiff bazlarının termal ve kimyasal kararlılığı oldukça yüksek olması, geçiş metal komplekslerinin ucuz ve kolay elde edilebilirliği dolayısıyla koordinasyon kimyasında sıkça karşımıza çıkar [36].

Schiff bazlarının geniş bir kullanım alanı tespit edilmiştir. Birçok özelliğe sahip schiff bazlarının halkası üzerinde yer alan fonksiyonel grupların çeşitliliğine göre göstermiş olduğu inhibitör özelliği [43], sterik yapıları ile salisilaldiminler güçlü antioksidant özelliği göstermesi [44], farmakolojide, ilaçların ve tatlandırıcıların ayraçları olarak kullanılması [36], platin komplekslerinin antitümoral aktivite göstermesiyle kemoterapi tedavisinde kullanılması [40] gibi özellikleriyle kullanım alanlarına örnek gösterilebilir.

Biyolojik aktivitelere yönelik schiff bazı ve komplekslerinin önemini vurgulayan birçok çalışmanın mevcut olduğu bilinmektedir [37]. Bu araştırmalar içerisinde; bazı bakterilere karşı antimikrobiyal etkiler gösterdiğine dair birçok çalışmalar da mevcuttur [36,47]. Reddy vd. yapmış olduğu çalışmayla elektron çekici grup içeren metal komplekslerinin fazla biyolojik aktiviteye sahip olduğu ve özellikle bakır komplekslerinin antibakteriyal etki gösterdiği, hidroksi grubunun bağlı olduğu schiff bazlarının daha çok aktivite gösterdiğini kanıtlamışlardır [83].

Schiff bazlarının inhibisyon etkisinin yapısındaki amin ve aldehitlere bağlı olduğu ve molekülündeki amin grubuna bağlı olarak inhibisyon etkisinin arttırdığı anlaşılmıştır [93].

İnorganik olan bileşik ve bileşik gruplarının yüksek yapılı organizmalara uygun olup olmamasının ortaya konulması için canlı sisteme direkt uygulanmaz. Bu sebeple basit yapılı organizmalardan eukaryotik grubuna dahil olan S.

cerevisiae'nın yüksek yapılı organizmalara benzerlik göstermesinden dolayı bu mikroorganizma deneysel çalışmada kullanılmıştır. Birçok çalışmada *S. cerevisiae* maya hücresinin maruz bırakıldığı yeni sentezlenmiş schiff bileşiklerine göstermiş olduğu tepkisel sonuçlar ile uygunluğu denetlenerek bilime ışık tutulmuştur.

Bu çalışmada beş yeni sentezlenmiş olan schiff bazlarının *S. cerevisiae*'ın kültür ortamına 10 mg'lık ve 20 mg'lık konsantrasyonlarının ilavesinden sonra bazı biyokimyasal parametreler üzerine etkileri araştırılmıştır. Yapılan çalışmada etkisi bilinmeyen yeni sentezlenmiş schiff bazlarının *S. cerevisiae* üzerindeki total protein, glutatyon - okside glutatyon, yağ asidi ve malondialdehit sonuçlarının etkileri değerlendirilmiştir. Kontrol grubu ile farklı konsantrasyonlarının *S. cerevisiae* maya hücresinin kültür ortamına eklenmiş schiff bazlarının tekrar sayısı (n=5) olacak şekilde toplamda 60 grupta biyokimyasal parametreler açısından önemli ölçüde istatistiksel farklılıklar gözlemlenmiştir.

Yaptığımız bu araştırmanın total protein miktarı schiff bazı gruplarının kontrol grubundaki miktarları ile kıyaslandığında; özellikle iki farklı konsantrasyon gruplarından M_3 ve M_4 'de önemli düzeyde artış olduğu izlendi. M_1 grubunun kontrol grubu ile total protein miktarındaki kıyaslamada ise belirgin düzeyde azalma olduğu saptandı. M_2 grubunda konsantrasyon yoğunluğu arttıkça total protein miktarında artış olduğu izlenirken, M_5 grubunda ise bu durum tam tersi olarak konsantrasyon yoğunluğu arttıkça azalma olduğu görüldü. Yapılan başka bir çalışma ile oksidatif stres karşısında sentezlenen proteinlerin yada hasara uğramış proteinlerin hücrede birikimine sebep olabileceğini belirtmiş olmaları [114]; çalışmamızda kullanmış olduğumuz schiff bazlarının hücre yapısında protein oksidasyonu ile hasar oluşturduğu yada oluşan hasarı onarabilmek için total protein miktarının artışına neden olabileceği sonucunu çıkarabiliriz. Protein oksidasyonu sonuçları olarak protein fonksiyonlarının kaybı, protein inhibitör aktivitesi kaybı, enzim aktivitesinde azalma, proteaz inhibitör aktivitesinin kaybı, protein agregasyonu, proteolizde artma/azalma yatkınlığı, immünojen reaktivitesindeki artışı, gen transkripsiyonundaki değişimler gibi durumlar sıralanabilir [115,116].

Non-protein tiyol yapısında olup önemli bir antioksidan olan GSH'nın yeni sentezlenmiş beş schiff bazının iki farklı konsantrasyonunu içeren gruplarındaki miktarları ile kontrol grubundaki GSH miktarı kıyaslandığında; M_1 ve M_2

gruplarının her iki konsantrasyon grubunda artış olduğu tespit edildi. M_3 , M_4 ve M_5 gruplarında ise konsantrasyonları arttıkça GSH seviyesinde azalma olduğu görüldü. Glutasyon miktarındaki artışın nedeni olarak maya hücresinin schiff bazlarına karşı bir savunma mekanizması geliştirmiş olabileceği ve GSH miktarını arttırarak oksidatif hasarlara karşı uyum sağlayabildiği görüşünü ileri sürebiliriz. Penninckx yaptığı çalışmada *S. cerevisiae* maya hücresinin oksidatif strese ve birçok farklı besin kaynaklarına karşı yanıt oluşturmak adına glutasyon sentezleyerek GSH miktarında artışa sebep olduğunu saptamıştır [117].

Okside glutasyon miktarındaki değişimlerin kontrol grubu ile farklı konsantrasyon içeren schiff bazı gruplarının istatistiksel olarak değerlendirilip kıyaslanmasında; tüm gruplarda belirgin düzeyde artış olduğu saptandı. Özellikle M_3 , M_4 ve M_5 gruplarının 10 mg'lık konsantrasyon gruplarındaki artış miktarı en fazla düzeyde iken, 20 mg'lık konsantrasyon gruplarının artış oranından belirgin düzeyde azalma olduğu izlendi. Maya hücresinin schiff bazlarına karşı bir savunma mekanizması geliştirmiş, glutasyon miktarını arttırmış ve böylece oksidatif hasarlara karşı adaptasyon gösterebildiği düşünülebilir. Izawa vd. yaptıkları çalışmada H_2O_2 'ye karşı oluşturulmuş olan ortama sağlanmış uyumun, hücre içindeki glutasyon miktarında artışa sebep olabileceğini öne sürmüşlerdir [118]. Bu çalışma, araştırmamızdaki gruplarla kontrol gruplarının glutasyon miktarındaki kıyaslaması sonucu 10 mg'lık konsantrasyon gruplarında gözlemlenen artışı açıklamak adına benzer bir çalışma örneğidir. Çalışmamızdaki glutasyon miktarındaki bu artış; maya hücrelerinin ortamına ilave edilen schiff bazlarının hücrede oluşturdukları hasarları onarabilmek adına bir ölçüt olarak kabul edilebilir.

Yağ asitlerinin metabolik enerji kaynağı oluşu, hücre homeostazisinde rol alması, insan immün sistemini etkilemesi ve bazılarında antimikrobiyal ve antikanserojen aktivite göstermesi gibi önemli etkileri bilinmektedir [67,68,71].

Lipitlerin yapı taşı olan yağ asidinin kontrol grubu ile iki farklı konsantrasyonları içeren schiff bazlarının *S. cerevisiae* ortamındaki miktar düzeylerinin kıyaslanması yapıldığında; kaprilik asit (8:0) yağ asidinin 10 mg'lık konsantrasyon gruplarından M_1 ve M_5 gruplarında kısmi düzeyde azalma izlenirken, M_3 grubunun konsantrasyon yoğunluğu artınca (yani 20 mg'lık konsantrasyon grubunda) en fazla farkla artış olduğu saptandı. Laurik asit (12:0) yağ asidinin miktarındaki azalma 10 mg'lık konsantrasyon grubundan M_4 'de kısmi

düzeyde olduğu izlendi. Myristik asit (14:0) yağ asit miktarındaki azalma sadece 20 mg'lık konsantrasyon gruplarından M₅ grubunda düşük düzeyde olduğu görüldü. Myristoleik asit (14:1) yağ asidi kontrol grubuna kıyasla sadece 20 mg'lık konsantrasyon gruplarından M₃ grubunda kısmi düzeyde arttığı tespit edildi. Pentadekanoik asit (15:0) yağ asidi ile pentadekanoik asit (15:1) yağ asidi miktarlarındaki artış farkının kontrol gruplarıyla kıyaslanmasında, 10 mg'lık ve 20 mg'lık konsantrasyon gruplarından M₃ grubunda en yüksek düzeyde olduğu saptandı. Palmitik asit (16:0) yağ asit miktarındaki azalmanın kontrole kıyasla sadece 10 mg'lık konsantrasyon gruplarından M₃ grubunda düşük düzeyde olduğu görüldü. Palmitoleik asit (16:1) yağ asit miktarı 10 mg'lık konsantrasyon gruplarından M₄'de en fazla farkla azalma izlenirken 20 mg'lık konsantrasyon gruplarından M₅'de önemli düzeyde artış olduğu gözlemlendi. Heptadekanoik asit (17:0) yağ asidindeki önemli farklılık tüm gruplara nazaran sadece 20 mg'lık konsantrasyon gruplarından M₂'de en fazla farkla artış olduğu görüldü. Heptadekanoik asit (17:1) yağ asidinde en fazla oranda azalma sadece 20 mg'lık konsantrasyon gruplarında M₄ grubunda olduğu saptandı. Stearik asit (18:0) yağ asit miktarındaki artış farkının; 10 mg'lık konsantrasyon gruplarından M₅'de ve 20 mg'lık konsantrasyon gruplarından M₃'de kısmi düzeyde olduğu tespit edildi. Oleik asit (18:1) yağ asit miktarındaki azalma farkının 10 mg'lık konsantrasyon gruplarından M₅'de en fazla düzeyde iken, 20 mg'lık konsantrasyon gruplarından M₁ ve M₄'de önemli düzeyde olduğu görüldü. Linoleik asit (18:2) yağ asit miktarının iki farklı konsantrasyon gruplarının sadece M₃ grubunda artış farkının en yüksek düzeyde olduğu saptandı. Linolenik asit (18:3) yağ asit miktarının kontrol grubu ile kıyaslandığında 10 mg'lık konsantrasyon gruplarından M₂ grubunda en yüksek düzeyde artış olduğu izlenirken, 20 mg'lık konsantrasyon gruplarının M₅ grubunda ise azalmanın aynı oranda olduğu görüldü. Araşidonik asit (20:0) yağ asid miktarındaki artış sadece 10 mg'lık konsantrasyon gruplarından M₄' de önemli düzeyde olduğu saptandı. Tetrakosaenoik asit (24:1) yağ asid düzeyi 10 mg'lık konsantrasyon gruplarından M₂ grubunda kısmi düzeyde azalma olduğu izlendi.

Sarı ve Çukurovalı' nın yaptığı çalışmada tiyosermikarbazon türevli 1-(1-mesitil-1- metisiklobütan-3-il)-2-suksinimido etanon tiyosermikarbazon ve 1-(1-fenil-1-metilsiklobutan-3- il)-2-suksinimido etanon tiyosemikarbazon maddelerinin

tavşan karaciğerindeki yağ asitleri üzerindeki etkileri incelenmiştir. Bu araştırma sonucunda metabolizmada doymuş yağ asitleri düzeylerini azalttığını ve doymamış yağ asit düzeylerini arttırdığını kanıtlamışlardır [91]. Yaptığımız çalışma sonucunda doymuş yağ asitlerinden 12:0, 14:0, 16:0 yağ asitlerinin düzeyindeki azalma, doymamış yağ asitlerinden 18:2, 18:3, 20:0 yağ asitlerinin miktarındaki artış bu çalışma sonucuyla paralellik göstermektedir. Bir başka çalışma olan Kireççi'nin *S. cerevisiae* maya hücresinin büyüme ortamına eklenen ağır metallerin biyokimyasal parametreler üzerindeki etkisini incelemesinin sonucu olarak 14:0, 16:0, 16:1, 17:0, 18:0, 18:1 ve 18:2 yağasitlerinin düzeylerindeki azalma sebebinin; maya hücresinin ağır metal stresi ile karşılaştığında önemli yağasitlerinin sentezini azaltışı ve sentezden sorumlu olan enzimin transkribinin inhibe olmasıyla açıklanabileceğini belirtmiştir [119].

Kontrol grubu ile 10 mg'lık ve 20 mg'lık konsantrasyonları içeren schiff bazı gruplarındaki MDA miktarlarının istatistiksel sonuçlarına göre yapılan karşılaştırmada; 10 mg'lık konsantrasyon gruplarının çoğunda belirgin düzeyde azalmanın olduğu izlenirken, 20 mg'lık konsantrasyon gruplarının tümünde belirgin düzeyde artış olduğu tespit edildi. Bu bağlamda MDA miktarındaki istatistiksel sonuçlara göre maddelerin yoğunluğu arttıkça malondialdehit miktar düzeyinin arttığı sonucuna varılabilir.

Maya hücrelerinin malondialdehit miktarı, lipid peroksidasyon oluşum reaksiyonunun değerlendirilmesi için kullanılan bir yöntemdir. Malondialdehit miktarındaki artışın sebebi olarak *S. cerevisiae* maya hücresinin kültür ortamına eklenen schiff bazlarının oluşturduğu oksidatif stres ortamıdır. Oluşan bu ortamın maya hücrelerindeki lipid yapısında oluşturduğu hasarlardan kaynaklı olabileceği düşünülmektedir.

Yaptığımız bu çalışmanın sonuçlarından biri olarak 20 mg'lık konsantrasyon grupların tümündeki MDA miktarında artış gözlemlenmiş olması, maya hücrelerinin ortamına eklenen schiff bazlarının oluşturduğu oksidatif stres ortamıdır. Oluşan bu ortamda maya hücrelerinin lipid yapısındaki bozulmalara sebep olmasına ve açığa çıkmış bir bileşik olan malondialdehit miktarındaki artışla açıklamak mümkündür. Bozhan' nın yapmış olduğu çalışmada; 2-(2-(3 hydroxy-4-methoxyphenyl)ethylidene)hydrazinecarbothioamide schiff bazının 8 ppm grubundaki MDA miktarında önemli düzeyde olan artış farkının sebebi olarak, maya hücrelerinin ortama eklenen maddelere gösterdiği direnç olarak kabul etmektedir

[120].

Schiff bazlarının tiyosemikarbazon türevleri ve bunların metal kompleksleri ile yapılan çalışmada; antineoplastik, antitümör, antibakteriyel, antiviral gibi biyolojik özelliklerinden dolayı; biyoloji, kimya ve farmakoloji alanlarının büyük ilgi gösterilmesine sebep olmuştur. Yapılmış olan bu çalışma ile tiyosemikarbazon ve ağır metal türevlerinin serum amino asit düzeylerine etkisi incelenerek, miktar düzeylerinde azalışa sebep olduğu görülmüştür [121]. Araştırmamızın diğer bir sonucu olan; 10 mg'lık konsantrasyon grupların çoğundaki MDA miktar düzeyindeki azalışın sebebi olarak, ağır metal görevindeki schiff bazlarının bir sonucu olduğu düşünülebilir.

Tiyosemikarbazon ve schiff bazları ribonükleotidleri deoksiribonükleotidlere indirgeyen ribonükleotid difosfat redüktazın bilinen en güçlü inhibitör olmalarından, DNA ve RNA sentezini inhibe ettiği bilinmektedir [122].

Yaptığımız deneyde yeni sentezlenmiş schiff bazlarının *S. cerevisiae*'nın ortamına uygulanmasıyla oluşturulmuş gruplarda oksidatif ortamdan dolayı; total protein, GSH, yağ asidi ve MDA seviyelerinin kontrole kıyasla yüksek olması, *S. cerevisiae*'nin savunma sistemi ile biyokimyasal sistemi üzerinde farklı etkilere sahip olduğunu göstermektedir.

5.2. Öneriler

Günümüze kadar schiff bazlı maddeler ile yapılan birçok araştırmaların sonuçları ile sentezlenen bu maddelerin özellikleri kanıtlanmış olmasının yanısıra, daha birçok alanda yeni özelliklerini ortaya çıkarmak adına yapılacak yeni araştırmalara konu olabileceği düşünülmektedir.

Yaptığımız çalışmada sentezlenen bileşiklerin iki farklı konsantrasyon gruplarında maya hücresinin göstermiş olduğu direncin sonuçları olarak MDA, GSH, yağasidi ve total protein düzeylerindeki artışları gösterilebilir. Sonuç olarak schiff bazlarının; hücrenin protein yapısını bozarak birikimiyle total protein seviyesinin artışına, lipid peroksidasyonu katalizlemesi ile MDA miktarının artışına, oluşan oksidatif stres ortamına göstermiş olduğu uyumla GSH miktarının artmasına sebep olduğu düşünülmektedir. Organizmaların schiff bazlarının oluşturduğu düşünülen oksidatif stres ortamında göstermiş olduğu savunma, immune sisteminde bilinmeyenler hakkında yeni bilgiler elde edinmek için yeni çalışmalara ışık tutabilir.

Antioksidantların yiyeceklerde ve vücutta düşük dozda bulunması halinde oksidasyonu engelleyen ve geciktiren maddeler olması dolayısıyla ayrıca birçok hastalık tedavi ajanı olarak kullanılması açısından önemi büyüktür [123]. Çalışmamızda iyi bir antioksidant olan GSH miktar artışının, organizmanın schiff bazlarından kaynaklı hasarı onardığı ve yeniden yapılandığı sonucuna varılabilir. Bu özelliği ile gelecekte hastalık tedavilerine yönelik yapılacak olan birçok çalışmalara ışık tutabileceği savunulmaktadır.

Beytur vd. yaptıkları çalışmada yeni sentezlenmiş tiyosemikarbazon türevi ve metal komplekslerinin prostat kanser hücreleri üzerine etkinlikleri incelenmiş olup, sitotoksik etkinin kanser hücrelerinin DNA'sında hasar oluşturmasıyla sağlandığını saptamışlardır. Bu etki androjen reseptör aracılı bir mekanizma ile olduğu savunulmaktadır [124]. Benzer şekilde çalışmamızda kullanılan yeni sentezlenmiş schiff bazlarının oluşturduğu oksidatif ortamın kanser hücre yapısında hasara sebep olması dolayısıyla yani anti tumor etkisi üzerine başka çalışmalara da konu olabileceği ve literatüre tüm bu bilgilerle katkılar sunabileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- [1] Shaw RA, Fitzsimmon BW, Smith BC, 1962. The Phosphazenes (Phosphonitrilic Compounds). Journal of Chemistry Reviews, 62: 242-281.
- [2] Allcock HR, 1972. Phosphorus – Nitrogen Compounds. Academic Press. New York. London.
- [3] Gleria M, Jaeger DR, 2004. Phosphazenes. Nova Science Publishers Inc. New York.
- [4] Kılıç A, Beğç S, Çetinkaya B, Kılıç Z, Gündüz N, Yıldız M, Hökelek T, 1996. Unusual Products in the Reaction of Hexachlorocyclotriphosphazatriene with Sodium Aryl Oxides. Journal of Heteroatom Chemistry, 44(7): 249-256.
- [5] Laguna MTR, Tarazona MP, Carriedo GA, Allonso FJG, Fidalgo JI, Saiz E, 2002. Thermal Degradation and Solution Properties of Poly (2, 2' – Dioxybiphenylphosphazene). Journal of Macromolecules, 35: 7505-7515.
- [6] Allcock HR, 1972. Recent Advances in Phosphazene (Phosphonitrilic). Journal of Chemistry Reviews, 315-356.
- [7] Allcock HR, Walsh EJ, 1972. Phosphonitrilic Compounds XIV. Basic Hydrolysis of Aryloxy and Spiroarylenedioxy Cyclophosphazenes. Journal of American Chemistry Society, 94: 4538-4545.
- [8] Allen CW, 1991. Regio and Stereochemical Control in Substitution Reactions of Cyclo- Phosphazenes. Journal of Chemical Reviews, 91: 119-135.
- [9] Emsley J, Moore J, Udy PB, 1971. Anew and Simple Method of Preparing Dichlorophosphinylphosphorimidic Trichloride. Journal of Chemistry Society (A), 2863- 2864.
- [10] Allen CW, 1994. Linear Cyclic and Polymeric Phosphazenes. Journal of

Coordination Chemistry Reviews, 130: 137-173.

- [11] Walker BJ, 1972. Organophosphorus Chemistry. Penguin Books Ltd. Harmondsworth. England.
- [12] Jaeger R, Gleria M, 1998. Poly (Organophosphazene)s and Related Compounds Synthesis Properties and Applications. Journal of Progress Polymer Science, 23: 179-276.
- [13] Labbаре JF, Sournies F, Spreafico F, Filippeschi SJ, 1986. Journal of the Molecular Structure, 147: 161-173.
- [14] Dewar MJS, Lucken EAC, Whitehead MA, 1960. The Structure of Phosphonitrilic Halides. Journal of American Chemistry Society, 2423-2429.
- [15] Andrianov KA, 2009. Polyphosphazenes for Biomedical Applications. Wiley. New Jersey.
- [16] Allcock HR, 2006. Recent Developments in Polyphosphazene Materials Science. Journal of Current Opinion in Solid State and Materials Science, 10: 231-240.
- [17] Allcock HR, Bridsal WJ, 1971. Phosphonitrilic Compounds X. Synthesis of Spirophosphazenes with Five-Six and Seven Membered Exocyclic Rings at Phosphorus. Journal of Inorganic Chemistry, 10: 1643-1647.
- [18] Carriedo GA, Alonso FJG, Elipe PG, Brillans E, Julia L, 1996. Incorporation of Stable Organic Radicals into Cyclotriphosphazene: Preparation and Characterization of Mono – and Diradical Adducts. Journal of the Organic Letters, 3: 1625-1628.
- [19] Kılıç A, Fosfazenler, 2007. <http://www.docplayer.biz.tr/fosfazenler/> (Erişim tarihi: 06.08.2016).

- [20] Allen CW, 1993. The Use of Phosphazenes as Fire Resistant Materials. *Journal of Fire Sciences*, 11: 320–328.
- [21] Jiaa Chi I, Liu Y, 1999. Tribological Evaluation and Analysis of the Head / Disk Interface with Perfluoropolyether and X1-P Phosphazene Mixed Lubricants. *Journal of Tribology Letters*, 7: 11-16.
- [22] Allcock HR, Coleman MM, Reed CS, Guigley KS, 1999. U. S. Blends of Polyurethane and Polyphosphazene. Penn State Research Foundation. <http://www.patents.google.com> (Erişim Tarihi: 02.09.2017).
- [23] Moriya K, Yamane T, Suzuki T, Masuda T, Mizusaki H, Yano S, Kajiwrw M, 2003. Mesogenicty of Organophosphazenes: The Effects of Phosphazene Ring and Side Groups on the Phase Transition. *Journal of the ChemInform*, 34 (4).
- [24] Allcock HR, Nelson CJ, Coqqio WD, Manners I, Koros WJ, Walker DRB, Pessan LA, 1993. Gas Permeation and Selectivity of Poly (Organophosphazene) Membranes. *Journal of the Macromolecules*, 26: 1493-1502.
- [25] Peterson ES, Stone ML, Mc Caffery RR, Cummings DG, 1993. Mixed-Gas Separation Properties of Phosphazene Polymembranes. *Journal of Separation Technology Science*, 28(1-3): 425.
- [26] Langone F, Lora S, Veronese FM, Calicet P, Pornigotto PP, Valenti F, Palma G, 1995. Peripheral Nerve Repair Using Poly (Organo) Phosphazene Tubular Prosthesis. *Journal of Biomaterials*, 16(5): 347-353.
- [27] Lakshmi S, Lee DA, Bender JD, Allcock HR, Laurencin CT, 2003. In Vitro Evaluation of Novel Biodegradable Polyphosphazenes for Bone Tissue Engineering. *Proceeding of the Joint Conference of the 47th Annual Meeting of Orthopaedic Research Society*, 6-7 August 2009, Newyork Universtiy-Newyork, 937.

- [28] Bernheim KA, Reed CS, Allcock HR, 1999. Synthetic Bone: A Polyphosphazene / Hydroxyapatite Composite. *Journal of Investigative Medicine*, 47, 42A.
- [29] Van der Huizen AA, 1984. Aziridinyl Cyclophosphazenes, Synthesis, Structure and Cytostatic Activity. Doctor These Ones, University of Groningen, Holland.
- [30] Allcock HR, 1992. Antibacterial Activity and Mutagenicity Studies of Water-Soluble Phosphazene High Polymers. *Journal of Biomaterials*, 13: 12.
- [31] Laurencin CT, Koh HJ, Neenan TX, Allcock HR, Langer R, 1987. Controlled Release Using a New Biodegradable Polyphosphazene Matrix System. *Journal of Biomedical Materials Research*, 21: 1231-1246.
- [32] Song SC, Lee BS, Lee HB, Ha HW, Lee KT, Sohn YS, 2003. Synthesis and Antitumor Activity of Novel Thermosensitive Platinum (II)-Cyclophosphazene Conjugates. *Journal of Controlled Releases*, 90: 303-311.
- [33] Brandt K, Kruszynski R, Bartczak JT, Czomperlik IP, 2001. AIDS – Related lymphoma Screen Results and Molecular Structure Determination of a New Crown Ether Bearing Aziridinylcyclophosphazene, Potentially Capable of Ion – Regulated DNA Cleavage Action. *Journal of Inorganic Chimica Acta*, 322: 138-144.
- [34] Öztürk Aİ, Yılmaz Ö, Kırbağ S, Arslan M, 2000. Antimicrobial and Biological Effects of Ipemphos and Amphos on Bacterial and Yeast Strains. *Journal of Cell Biochemistry and Function*, 18: 17-126.
- [35] Yılmaz Ö, Arslan F, Öztürk Aİ, Vanlı NS, Kırbağ S, Arslan M, 2002. Antimicrobial and Biological Effects of N- Diphenylphosphoryl- P- Triphenylmonophosphazene- II and N- Dio (o-tolyl) Phosphoryl- P- tri (o-tolyl) Monophosphazene- III on Bacterial and Yeast Cells. *Journal of Bioorganic Chemistry*, 30(5): 303-314.

- [36] Schiff H, 1869. Untersuchungen Über Salicinderivate. Journal of the American Chemical Society, 150: 193-200.
- [37] Morley J, 1977. Mechanism of Action of Aspirin in Inflammation. Journal of Proceedings of the Royal Society of Medicine, 7: 32-4.
- [38] Graham Solomons TW, 2002. Organik Kimya. 7. Basım (editörler: Okay G, Yıldırım Y), Literatür Yayıncılık. İstanbul.
- [39] Raman N, Muthuraj V, Ravichandran S, Kulandaisamy A, 2003. Synthesis, Characterisation and Electrochemical Behavior of Cu(II), Co(II), Ni(II) and Zn(II) Complexes Derived from Acetylacetone and p-Anisidine an their Antimicrobial Activity. Journal of Proceedings-Indian Academy of Sciences Chemical Sciences, 115-161.
- [40] Moore FJ, Gale RD, 1908. The Colored Salts of Schiff's Bases. A Contribution to Our Knowledge of Color as Related to Chemical Constitution. Journal of the American Chemistry Society, 30: 394-404.
- [41] Patai S, 1970. Chemistry of the Carbon-Nitrogen Double Bond. Wiley. Newyork.
- [42] Serin S, Gök Y, 1988. Hidroksi Schiff Bazı Metal Komplekslerin Tekstil Boyacılığında Kullanılabilirliğinin İncelenmesi. Doğa Dergisi, 12: 325-331.
- [43] Agrawal YK, Talati JD, Shah MD, Desai MN, Shah NK, 2004. Schiff Bases of Ethylenediamine as Corrosion İnhibitors of Zinc in Sulphuric Acid. Journal of Corrosion Science, 46(3): 633-651.
- [44] Taş E, Kılıç A, Aslanoğlu M, Kaplan Ö, İlhan S, Ulusoy M, 2005. Dört Dişli Salisilaldimin Schiff Bazı Ligandları ile Bunların Co(II) ve Cu(II) Komplekslerinin Sentezi Karakterizasyonu ve Redoks Özellikleri. XIX. Ulusal Kimya Kongresi, Kuşadası, s:328.
- [45] 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). Journal of Synthesis and Reactivity in Inorganic Metal Organic Chemistry, 20(3): 335-344.

- [46] Bogert MT, Beal GD, Amend CG, 1910. Researches on Quinazolines (Twenty-Sixty Paper). The Synthesis of Some Stilbazoles, Hydrazones an Schiff Bases in the 4-Quinazolone Group. Journal of the American Chemical Society, 32: 1654-1664.
- [47] Şener MK, 1999. Bazı Tridentat Schiff Bazları ve Geçiş Metal Şelat Komplekslerinin Sentezi, Karakterizasyonu ve Antimikrobiyal Özelliklerinin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi, Kahramanmaraş.
- [48] Champe PC, Harvey AR, 1997. Biyokimya. Nobel Yayıncılık. İstanbul.
- [49] Anonim, Total Protein 2015. <http://spinreact@spinreact.com/> (Erişim tarihi: 28.11.2017).
- [50] Başal U, 2004. Biyokimya ve Klinik Biyokimya. Nobel Yayıncılık. İstanbul.
- [51] Vignais PV, 2002. The Superoxide – Generating NADPH Oxidase Structural Aspects and Activation Mechanism. Journal of Cellular and Molecular Life Science, 59(9): 1428–1459.
- [52] Meister A, Anderson ME, 1983. Glutathione. Journal of Annual Review of Biochemistry.
- [53] Richman PG, Meister A, 1975. Regulation of Gamma – Glutamylcystein Synthetase b Nonallosteric Feedack İnhibition by Glutathione. Journal of Biology Chemistry, 250: 14-22.
- [54] Meister A, 1995. Glutathione Metabolism Methods Enzymol. Journal of Department of Biochemistry, 251: 3-7.

- [55] Halliwell B, Gutteridge JM, 1999. Free Radicals in Biology and Medicine. Oxford University Press. London.
- [56] Sen CK, 1997. Nutritional Biochemistry of Cellular Glutathione. Journal of Nutritional Biochemistry, 8: 660-662.
- [57] Liebman JF, Greenberg A, 1988. Mechanistic Principles of Enzyme Activity. VCH Publishers. Newyork.
- [58] Sözmen EY, 2002. Yaşlanma Biyokimyası. İçinde: Onat T, Emerk K, Sözmen EY. İnsan Biyokimyası. Palme Yayıncılık. Ankara.
- [59] Akkuş İ, 1995. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. Mimoza Yayıncılık. Konya.
- [60] Orlowski M, Karkowsky A, 1976. Glutathione Metabolism and Some Possible Functions of Glutathione in the Nervous System. Journal of International Review of Neurobiology, 19: 75-121.
- [61] Tietze F, 1969. Enzymic Method for Quantitative Determination of Nanogram Amounts of Total and Oxidized Glutathione: Applications to Mammalian Blood and Other Tissues. Journal of Anal Biochemistry, 27(3): 502-522.
- [62] Hissin PJ, Hilf R, 1976. A Fluorometric Method for Determination of Oxidized and Reduced Glutathione in Tissues. Journal of Analytical Biochemistry, 74: 214-226.
- [63] Owens CW, Belcher RV, 1965. A Colorimetric Micro-Method for the Determination of Glutathione. Journal of Biochemistry, 94: 705-711.
- [64] Pastore A, Federici G, Bertini E, Piemonte F, 2003. Analysis of Glutathione Implication in Redox and Detoxification. Journal of Clinica Chimica Acta, 333(1): 19-39.

- [65] Ersoy E, Bayşu N, 1986. Biyokimya Ders Kitabı. Ankara Üniversitesi Basımevi. Ankara.
- [66] Karaca E, Aytaç S, 2007. Yağ Bitkilerinde Yağ Asitleri Kompozisyonu Üzerine Etki Eden Faktörler. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 22: 123-131.
- [67] Yerlikaya FH, Mehmetoğlu İ, 2014. Obez Kişilerde Plazma Yağ Asit Kompozisyonu, Desatüras ve Elongaz Enzim Aktivitelerinin Değerlendirilmesi. Tıp Araştırma Dergisi, 12: 43-47.
- [68] Innis SM, 2007. Fatty Acids and Early Human Development, Journal of Early Human Development, 83: 761–766.
- [69] Sargent JR, Toche DR, Bell JG, 2002. The Lipids. 182-257, In: Fish Nutrition. Third Edition (eds: Halver JE, Hardy RW). Academic Press. San Diego.
- [70] Hac-Wydro K, Wydro P, 2007. The Influence of Fatty Acids on Model Cholesterol / Phospholipid Membranes. Physical Lipids Chemistry, 150: 66-81.
- [71] Mattes RD, 2005. Fat Taste and Lipid Metabolism in Humans. Journal of Physiology Behaviour, 86: 691-697.
- [72] Akay MT, 2012. Sitoloji. Palme yayınları. Ankamat Ofset. Ankara.
- [73] Turzicka E, Vecka M, Stankova B, Zak A, 2002. Analysis of Fatty Acids in Plasma Lipoproteins by Gas Chromatography Flame Ionisation Detection Quantitative Aspects. Journal of Analytica Chimica Acta, 465: 337-350.
- [74] Duplus E, Forest C, 2002. Is There Single Mechanism for Fatty Acid Regulation of Gene Transcription. Journal of Biochemical Pharmacology, 64: 893-901.

- [75] Akkuş İ, 2005. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. Mimoza Yayınları. Kuzucular Ofset. Konya.
- [76] Özşahin AD, 2010. Malatya Yöresine Ait Bazı Üzüm ve Kayısı Çeşitlerinin Fitokimyasal İçeriklerine Bağlı Olarak Antioksidan Aktivitelerinin Araştırılması. Doktora Tezi, Fırat Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Elazığ.
- [77] Rice–Evans CA, Diplock AT, Symons MCR, 1991. Techniques in Free Radicals Research. Elsevier. Amsterdam.
- [78] Dikici İ, 1999. Akut Viral Hepatitlerle İnterferon Tedavisi Görmüş Kronik Viral Hepatitlerde Oksidatif Stresin Araştırılması. Uzmalık Tezi, Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, Konya.
- [79] İbrahim G, Khan MA, Bouet GM, 2002. Complexes of 2-Furaldehyde-4-Phenyl Semisemicarbazone. Journal of Transition Metal Chemistry, 27(1): 2734-2737.
- [80] Chohan Z, Pervaz H, Rauf A, Scozafava T, Supuran C, 2002. Antibacterial Co(II) Cu(II), Ni(II) and Zn(II) Complexes of Thiadiazole Derived Furanyl, Thiopheny and Pyrolyl Schiff Bases. Journal of Enzyme Inhibition and Medicinel Chemistry, 17(2): 117-122.
- [81] Colacio E, Cuesta R, Ghazi Huertas MA, Moreno JM, Navarette A, 1997. Inorganic Chemistry. Granada Universty Press. Granada.
- [82] Varughese P, Daniel B, Murukan B, Sindhu Kumari K, Mohanan, 2008. Synthesis Spectroscopic Characterization Electrochemical Behavior Reactivity and Antibacterial Activity of Some Transition Metal Complexes with 2-(N-Salicylideneamino)-3-Carboxyethyl- 4,5-Dimethylthiophene. Journal of Spectrochimica Acta Part A, 70: 403-410.
- [83] Reddy SV, Katti KV, Barnes CL, 1994. Transition Metal Chemistry of Main Group Hydrazides, 9. Platinum Complexes of Diphosphanylhydrazides. Journal

of Organometallics Chemistry, 13(6): 2391-2396.

- [84] Çınarlı A, Gürbüz D, Tavman A, Birteksöz S, 2011. Synthesis Spectral Characterizations and Antimicrobial Activity of Some Schiff Bases of 4-Chloro-2-Aminophenol. Journal of Bulletin of the Chemical Society of Ethiopia, 25(3): 407-417.
- [85] Hearn J, Cynamon H, Michael, 2003. Designo and Synthesis of Antituberculars: Preparation and Evulation Against Mycobacterium Tuberculosis of an İsoinazid Schiff Base. The Britsh Society for Antimicrobial Chemotheraphy. Journal of Antimicrobial Chemotheraphy, 53(2): 185-91.
- [86] Fiorovanti R, Biava M, Donnarumma S, Poretta GC, Simonetti Villa A, Porta-Puglia A, Deidda D, Mualla C, Pompei R, 1996. Synthesis and Microbiological Evaluations of (N- Heteroaryl)arylmethanamines and their Schiff Bases. Journal of the Farmaco, 51(10): 643- 52.
- [87] Raman N, Kulandaisamy A, Jeyasubramanian K, 2002. Synthesis, Structural Characterization, Redox and Antimicrobialstudis of Schiff Base Copper(II) , Nickel(II) , Cobalt(II) , Managanase(II) , Zinc(II) and Oxovanadiom(II) Complexes Derived from Benzil and 2-Aminobenzyl Alcohol. Polish Journal of Chemistry, 76: 1085-1094.
- [88] Raman N, Ravichandran S, 2005. New Neutral Schiff Base and İt is Metal Complexes Derived from Mannich Base, N-(1-Morpholinobenzyl) Acetamide. Polish Journal of Chemistry, 79: 1107-1114.
- [89] Chohan ZH, Rauf 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 Inhib Medicine Chemistry, 17(2): 101-6.
- [90] Rao NS, Reddy MG, 1990. Studies on the Synthesis, Characterisation and Antimicrobial Activity of New Co(II) , Ni(II) and Zn(II) Complexes of Schiff Base Derived from Ninhydrin and Glycine. Journal of Biology Methods, 3(1):

19-23.

- [91] Sarı A, Çukurovalı A, 2008. Siklobütan Halkalı Tiyosemikarbazon Türevli Schiff Bazlarının Tavşan Karaciğerindeki Yağ Asitlerine Etkisinin İncelenmesi. Doğu Anadolu Bölgesi Araştırmaları, Elazığ, 183-185.
- [92] Hay AS, Blanchard HS, Endres GF, Eustance JW, 1959. Polymerization by Oxidative Coupling. Journal of the Americal Chemistry Science, 81(23): 6335-6336.
- [93] Desai MN, Desai MB, Shah CB, Desai SM, 1986. Schiff Bases as Corrosion Inhibitors for Mild Steel in Hydrochloric Acid Solutions. Journal of the Corrosion Science, 26(10): 827-837.
- [94] Habibi MH, Montazerozohori M, Lalegani A, Harington RW, Clegg W, 2006. Journal of Fluorine Chemistry, 127(6): 769-773.
- [95] Ho T, Lee G-H, Chung W-S, 2007. Synthesis of Upper - Rim Allyl - and p - Methoxyphenylazo Calix [4] Arenes and Their Efficiencies in Chromogenic Sensing of Hg^{+2} Ion. Journal of Organic Chemistry, 32: 635-643.
- [96] Küçük müzevir MF, İleri Ö, Ergun E, Ergun Ü, 2016. Onno Tipi Bir Schiff Bazı ve İndirgenmiş Türevinin Çeşitli Metallerle Yaptığı Komplekslerinin Floresans Özelliklerinin İncelenmesi, Düzce, Turkey. Journal of Science and Tecnology, 3(4): 862-872.
- [97] Akkuş Uysal G, Arslan S, Taktak F, Fulya and Memon S, 2008. Synthesis and Selective Extractant Properties of a Calixarene Thioether Derivative and Its Oligomeric Analogue, Turkey. Turk Journal of Chemistry, 32: 635-643.
- [98] Liang Z, Liu Z, Jiange L, Gaoa Y, 2007. A New Fluorescent Chemosensor for Copper(II) and Molecular Switch Controlled by Light. Journal of Tetrahedron Letters, 1629-1632.

- [99] Wang ZG, Sui Y, Liu YG, Gao J, Zhu Z, K and Huang DY, 1999. Study on Side-Chain Second-Order Nonlinear Optical Polymides Based on Novel Chromophore-Containing Diamines. I. Synthesis and Characterization. *Journal of Poly Science Part A: Poly Chemistry*, 37(23): 4330-4336.
- [100] Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P, 2002. *Molecular Biology of the Cell*. Garland Science. New York. USA.
- [101] 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.
- [102] Hara A, Radin NS, 1978. Lipid Extraction of Tissues with a Low-Toxicity Solvent. *Journal of Analytical Biochemistry*, 90(1): 420–426.
- [103] Christie WW, 1990. *Gas Chromatography and Lipids*. The Oil Press. Glaskow.
- [104] Katsanidis E, Addis PB, 1999. Novel HPLC Analysis of Tocopherols and Cholesterol in Tissue. *Journal of Free Radical Biology Medicine Sciences*, 27(11-12): 1137-1140.
- [105] 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 Scienze*, 520(1-2): 117-124.
- [106] 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.
- [107] Lowry OH, Rosenbrough NJ, Farr AL, Randall RJ, 1951. Protein Measurement with the Folin-Phenol Reagent. *The Journal of Biochemistry*,

193: 265-277.

- [108] Karataş F, Karatepe M, Baysar A, 2002. Determination of Free Malondialdehyde in Human Serum by High- Performance Liquid Chromatography. *Journal of Analytical Biochemistry*, 311(19): 76-79.
- [109] Karatepe M, 2004. Simultaneous Determination of Ascorbic Acid and Free Malondialdehyde in Human by HPLC-UV. *Journal of LC-GC North America*, 22: 62-365.
- [110] Vandompe J, Schacht E, Stolnik S, Garnett MC, Davies MC, Illum L, Davis SS, 1996. Poly(organo phosphazene) Nanoparticles Surface Modified with Poly(Ethylene Oxide). *Journal of Biotechnology and Bioengineering Sciences*, 52(1): 89-95.
- [111] Brandt K, Van de Grampel JC, Meetsma A, Jekel PA, 1991. Recueil Des Travaux Chimiques Des. *Journal of Pays- Bas*, 110(1): 27-28.
- [112] Davies DB, Clayton AT, Eaton RJ, Shaw RA, Egan A, Hursthouse MB, Sykara GD, Porwollik-Czomperlik, I, Siwy M, Brandt K, 2000. Chiral Configurations of Cyclotriphosphazatrienes. *Journal am Chemistry Soc*, 122: 12447-12457.
- [113] Hertzsch T, Budde F, Weber E, Hulliger J, 2002. Supramolecular-Wire Confinement of I₂ Molecules in Channels of the Organic Zeolite Tris(α -Phenylenedioxy)Cyclotriphos-Phazene. *Angew Chemistry International Edition*, 41: 2281-2284.
- [114] Vincent AM, Russell JW, Low P, Feldman EL, 2004. Oxidative Stres in the Pathogenesis of Diabetic Neuropathy. *Journal of Endocrinology Revision*, 25(4): 612-28.
- [115] Shacter E, 2000. Quantification and Significance of Protein Oxidation in Biological Samples. *Drug Metabolism Revision*, 32: 307-26.

- [116] Davies MJ, Fu S, Wang H, Dean RT, 1999. Stable Markers of Oxidant Damage to Proteins and Their Application in the Study of Human Disease. *Journal of Free Radicals Biology Medicine Sciences*, 27: 1151-63.
- [117] Penninckx M, 2000. A Short Review on the Role of Glutathione in the Response of Yeasts to Nutritional, Environmental, and Oxidative Stresses. *Journal of Enzyme and Microbiol Technology Sciences*, 26(9-10): 737-742.
- [118] Izawa S, Inoue Y, Kimura A, 1995. Oxidative Stres Response in Yeast: Effect of Glutathione on Adaptation to Hydrogen Peroxide Stres in *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of FEBS Letters*, 368(1): 73-76.
- [119] Kireççi OA, 2016. *Saccharomyces cerevisiae*'nın Gelişme Ortamına İlave Edilen Ağır Metallerin (Mn, Mg, Cd, Fe) Bazı Biyokimyasal Parametrelere Etkileri. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Doğa Bilimleri Dergisi*, 20(3): 175-184.
- [120] Bozhan N, 2017. Bazı Schiff Bazlarının *Sacharomyces cerevisiae* Kültür Ortamlarında Bazı Biyokimyasal Parametreler Üzerine Etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Bitlis Eren Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitlis.
- [121] Karatepe M, 2012. Tiyosemikarbazon ve Metal Komplekslerinin Ratlarda Serum Aminoasit Düzeylerine Etkisi. *Journal of New World Sciences Academy NWSA-Physical Sciences*, 3A0064, 8(1): 32-38.
- [122] Demertzi DK, Domopoulou A, Demertzis MA, Valle G, Papageorgiou A, 1997. Palladium (II) Complexes of 2-Acetylpyridine N(4)-Methyl, N(4)-Ethyl and N(4)-Phenyl- Tiyosemicarbazones. Crystal Structure of Chloro (2-Acetylpyridine N(4)-Methyl, N(4)- Methylthiosemicarbazonato) Palladium (II). Synthesis, Spectral Studies, In Vitro and in Vivo Antitumour Activity. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 68: 147-155.
- [123] Das S, Mitra I, Batuta S, Alam MN, Roy K, Begum NA, 2014. Design, Synthesis and Exploring the Quantitative Structure – Activitiy Relationship of

Some Antioxidant Flavonoid Analogues. Journal of Bioorganic and Medicine Chemistry Lettters, 24-5050.

- [124] Beytur A, Tekin S, Keleştimur T, Ergin Z, Sandal S, 2011. Yeni Sentezlenen Bir Tiyosemikarbazon Türevinin Prostat Kanseri Hücre Kültürleri Üzerine Antikanserojenik Özelliklerinin Belirlenmesi. Fırat Üniversitesi Sağ Bilimleri Tıp Dergisi, 25(1): 25-32.



ÖZGEÇMİŞ

23.07.1982 tarihinde Elazığ'ın Baskil ilçesinde doğdum. İlköğretimimi Cumhuriyet İlkokulu'nda, orta-lise eğitimimi Baskil Lisesi'nde, lisans eğitimimi Trakya Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji bölümünde, tezsiz yüksek lisans eğitimimi Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Orta Öğretim Fen ve Matematik Alanlar Eğitimi Biyoloji Öğretmenliği'nde tamamladım. 2014 yılından itibaren başladığım Bitlis Eren Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Bölümü Moleküler Biyoloji Bilim Dalında tezli yüksek lisans yapıyorum. Yabancı dilim İngilizce'dir. Fırat Üniversitesi Hastanesinin; 2007-2014 yılları arasında Kan Merkezi biriminde, 2014-2015 yılları arasında Adli Tıp biriminde çalıştım. 2015 yılından bu yana da Patoloji Laboratuvarında çalışmaya devam etmekteyim.

Derya BEŞER