

Atf İçin: Beyaz S, 2022. *Saccharomyces cerevisiae*'de Karbon Tetraklorür (CCl₄) ile Oluşturulan Oksidatif Hasara Karşı Karanfil (*Syzygium aromaticum* L.) Ekstraktının Koruyucu Etkilerinin Glutasyon, Malondialdehit ve Total Protein Düzeyleri ile Araştırılması. İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 12(2): 597-608.

To Cite: Beyaz S, 2022. Investigation of the Protective Effects of Clove (*Syzygium aromaticum* L.) Extract against Oxidative Damage Caused by Carbon Tetrachloride (CCl₄) in *Saccharomyces cerevisiae* by Glutathione, Malondialdehyde and Total Protein Levels. Journal of the Institute of Science and Technology, 12(2): 597-608.

***Saccharomyces cerevisiae*'de Karbon Tetraklorür (CCl₄) ile Oluşturulan Oksidatif Hasara Karşı Karanfil (*Syzygium aromaticum* L.) Ekstraktının Koruyucu Etkilerinin Glutasyon, Malondialdehit ve Total Protein Düzeyleri ile Araştırılması**

Seda BEYAZ^{1*}

ÖZET: Bitkisel ilaçların sağlık alanında kullanımları oldukça önemli yere sahiptir. Biyoaktif bileşenler bakımından zengin bir tür olan karanfil bitkisinin (*Syzygium aromaticum* L.) antihipertansif, antiaterojenik, antiinflamatuvar, antifungal, antiviral, antimikrobiyal gibi birçok özellikleri bulunmaktadır. Bu çalışmada, *Saccharomyces cerevisiae* (*S. cerevisiae*)'de karbon tetraklorür (CCl₄)'ün neden olduğu oksidatif hasara karşı karanfil bitki ekstraktının (*Syzygium aromaticum* L.) antiinflamatuvar ve antioksidan aktiviteleri araştırılmıştır. Bu çalışmada 4 grup oluşturulmuştur. Çalışma grupları: (i) Kontrol Grubu: Sadece maya ekilen grup; (ii) CCl₄ Grubu: CCl₄ (10 mM) verilen grup; (iii) Karanfil Grubu: Karanfil ekstraktı (% 10) verilen grup; (iv) Karanfil + CCl₄ Grubu: Karanfil ekstraktı (% 10) + CCl₄ (10 mM) verilen grup. *S. cerevisiae* kültürleri 1, 3, 5 ve 24 saat boyunca 30 °C'de geliştirildi. Antioksidan aktiviteleri glutasyon (GSH) analizi ile gerçekleştirilirken lipid peroksidasyonu ise malondialdehit (MDA) analizi ile spektrofotometrede ölçümleri gerçekleştirilmiştir. *S. cerevisiae* kültürlerinin 1, 3, 5 ve 24 saat dilimlerindeki hücre gelişimleri spektrofotometre ile ölçülmüştür. Total protein yoğunlukları SDS-PAGE elektroforezi ve Bradford yöntemi ile belirlendi. Sonuçlara göre; CCl₄ grubu ile kıyaslandığında GSH seviyeleri (24 saat), hücre gelişimi (1, 3, 5 ve 24 saat) ve total protein sentezi karanfil gruplarında artarken, MDA seviyeleri (24 saat) ise azalış göstermiştir. Karanfil bitkisinin güçlü biyoaktif kimyasal bileşenleri sayesinde *S. cerevisiae* kültüründe CCl₄ kaynaklı oksidatif stresi azaltarak hücre büyümesini ve total protein sentezini teşvik edici etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Karanfil ekstraktı oksidatif stresle ilişkili hastalıkların tedavisinde bir potansiyel taşıyabilir ancak ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Antiinflamatuvar, glutasyon, karanfil, *Saccharomyces cerevisiae*, total protein

Investigation of the Protective Effects of Clove (*Syzygium aromaticum* L.) Extract against Oxidative Damage Caused by Carbon Tetrachloride (CCl₄) in *Saccharomyces cerevisiae* by Glutathione, Malondialdehyde and Total Protein Levels

ABSTRACT: The use of herbal medicines in the field of health has a very important place. Clove plant (*Syzygium aromaticum* L.), a species rich in bioactive components, has many properties such as antihypertensive, antiatherogenic, antiinflammatory, antifungal, antiviral, antimicrobial. In this study, the antiinflammatory and antioxidant activities of clove plant extract (*Syzygium aromaticum* L.) against oxidative damage caused by carbon tetrachloride (CCl₄) in *Saccharomyces cerevisiae* (*S. cerevisiae*) were investigated. In this study, 4 groups were formed. Study groups: (i) Control Group: Yeast-only group; (ii) CCl₄ Group: CCl₄ (10 mM) given group; (iii) Clove Group: The group given clove extract (10%); (iv) Clove + CCl₄ Group: Clove extract (10%) + CCl₄ (10 mM) administered group. *S. cerevisiae* cultures were grown at 30 °C for 1, 3, 5 and 24 hours. Antioxidant activities were performed with glutathione (GSH) analysis, while lipid peroxidation was measured with malondialdehyde (MDA) analysis in spectrophotometer. Cell growth of *S. cerevisiae* cultures at 1, 3, 5 and 24 hours was measured by spectrophotometer. Total protein concentrations were determined by SDS-PAGE electrophoresis and Bradford method. According to the results obtained; Compared to the CCl₄ group, GSH levels (24 hours), cell growth (1, 3, 5 and 24 hours) and total protein synthesis increased in the clove groups, while MDA levels (24 hours) decreased. Thanks to its strong bioactive chemical components, the clove plant has been determined to have a stimulating effect on cell growth and total protein synthesis by reducing CCl₄-induced oxidative stress in *S. cerevisiae* culture. Clove extract may have potential in the treatment of oxidative stress-related diseases, but further studies are needed.

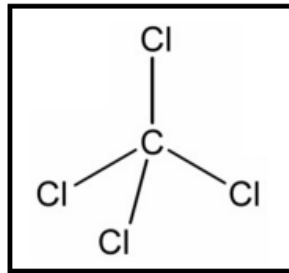
Keywords: Antiinflammatory, glutathione, clove, *Saccharomyces cerevisiae*, total protein

¹Seda BEYAZ ([Orcid ID: 0000-0003-0436-8112](https://orcid.org/0000-0003-0436-8112)), Fırat Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Elazığ, Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Seda BEYAZ, e-mail: beyazseda23@gmail.com

GİRİŞ

Son yıllarda modern tıpta tıbbi ve aromatik bitkilerin kullanımı oldukça önem arz etmektedir. Önemli tıbbi bitkiler arasında yer alan karanfil (*Syzygium aromaticum* L.) Myrtaceae familyasına ait kuru bir çiçek tomurcuğudur. Endonezya'nın Maluku adalarına özgü bir tür olan bu bitki son yıllarda farklı habitatlarda da yetiştirilebilmektedir. Karanfil bitkisi hoş kokulu bir bitki olup çok eski zamanlardan hem geleneksel tıpta hem de mutfakta baharat olarak kullanılmaktadır. Glikozitler, saponinler, flavonoidler, steroidler, tanenler, alkaloidler, terpenler gibi biyoaktif bileşenler bakımından zengin içeriğe sahip olduğu bilinmektedir. Ayrıca içeriğinde önemli miktarlarda vanilin, gallotanik asit, metil salisilat, öjenol, ramnetin, kaempferol, oleanolik asit, metil amil keton, metil salisilat, α -humulen, β -humulen ve benzaldehit bulunmaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalarla güçlü antiinflamatuvar, antioksidan, antimutajenik, analjezik, anestezik, antifungal, antiviral, antimikrobiyal, antinosiseptif ve antikanser aktiviteler gösterdiği belirlenmiştir (Batiha ve ark., 2020; Vicidomini ve ark., 2021). *Saccharomyces cerevisiae* (*S. cerevisiae*) ökaryotik hücre biyolojisinin temel yönlerini incelemek için güçlü bir model organizmadır. *S. cerevisiae* 16 kromozoma sahiptir. Toplam genom, 78 520 nükleotid çift mitokondriyal DNA ile yaklaşık 13 117 000 nükleotid çifti içermektedir. Protein kodlayan genlerin yoğunluğu insan genomundaki gen yoğunluğundan yaklaşık 50 kat daha yüksektir. Bu genom özelliklerinden dolayı yaklaşık % 23 oranında insan genomuna benzediği düşünülmektedir (Duina ve ark., 2014). İnsan genom özelliklerine benzerliğinden dolayı *S. cerevisiae* model organizma olarak bu çalışmada kullanılmıştır. Bu çalışmada kapsamında, *S. cerevisiae*'de oksidatif stres kaynağı olarak kullanılmış olan karbon tetraklorür (CCl₄), hayvanlarda ve insanlarda çeşitli sitotoksositeye neden olan bir ksenobiyotiktir (Şekil 1). CCl₄; merkezi bir karbon atomuna tek kovalent bağlarla birleştirilmiş dört klor atomunun konfigürasyonundan oluşmuş olup serbest radikal üretimine yol açarak hücresel hasara neden olmaktadır (Tekeli ve Bildik, 2016). Serbest radikaller, birçok hastalığın oluşumunun yanı sıra lipitlerin, proteinlerin ve nükleik asitlerin yapısında değişiklik meydana getirerek oksidatif strese neden olmaktadır. Bu değişikliklerin sonucunda oluşan oksidatif stres, lipid membranlarının ve proteinlerin yapılarında geri dönüşümü mümkün olmayan değişimler oluşturarak doku hasarına neden olmaktadır (Koçak ve ark., 2019).



Şekil 1. Karbon tetraklorür (CCl₄)'ün organik yapısı (Ünalımış, 2019)

Antioksidan özelliğe sahip birçok tıbbi bitki serbest radikallerin sebep olduğu hasarı azaltarak patolojik durumlara karşı koruma sağlamaktadır. Polifenoller, flavonoidler, saponinler, steroidler, tanenler, alkaloidler ve terpenler gibi biyoaktif bileşenler organizmada oluşan serbest radikalleri temizleyerek antioksidan savunma mekanizması oluşturmaktadır (Khan ve Siddique, 2012). Bu bağlamda, önemli tıbbi bitkiler arasında yer alan karanfil bitki (*Syzygium aromaticum* L.) ekstraktının CCl₄ kaynaklı oluşan serbest radikalleri ortadan kaldırarak oksidatif stresi azalttığı düşünülmektedir.

MATERYAL ve METOT

Çalışma Grupları

Bu çalışmada *S. cerevisiae*'de karbon tetraklorür (CCl₄) ile oluşturulan hasara karşı karanfil bitki (*Syzygium aromaticum* L.) ekstraktının terapötik aktivitesi araştırılmıştır. Çalışmada 4 grup mevcuttur. Gruplar şu şekildedir:

- (i) **Kontrol Grubu:** Sadece maya ekilen grup;
- (ii) **Karanfil Grubu:** Karanfil verilen grup (% 10);
- (iii) **CCl₄ Grubu:** CCl₄ (10 milimolar) verilen grup;
- (iv) **Karanfil + CCl₄ Grubu:** Karanfil (% 10) + CCl₄ (10 milimolar) verilen grup (Çizelge 1).

Çizelge 1. Çalışma grupları

ÇALIŞMA GRUPLARI	UYGULAMA AŞAMASI
Kontrol Grubu	Sadece maya ekilen grup
Karanfil Grubu	% 10 karanfil ekstraktı uygulanan grup
CCl ₄ Grubu	10 milimolar CCl ₄ uygulanan grup
Karanfil + CCl ₄ Grubu	% 10 karanfil ekstraktı ve 10 milimolar CCl ₄ uygulanan grup

Kültüre Karanfil Bitki Ekstraktının ve Karbon Tetraklorür (CCl₄) Uygulanması

S. cerevisiae'nin gelişim ortamı

Mayaların geliştirilmesi ve çoğaltılması için YEPD (250 ml için; 7.5 gram maya özütü, 7.5 gram tripton, 7.5 gram glukoz) hazırlanmıştır. Daha sonra 5 erlen alınarak erlenlerin her birine hazırlanan 250 ml'lik besiyerden 50 ml eklenmiştir. Otoklavda 121 °C'de 1 saat bekletildikten sonra çıkarılarak soğutulma işlemi gerçekleştirilmiştir. Bek alevi yanında her bir erlene 800 µl maya ekimi yapılmış ve etüvde 20 dakika bekletildikten sonra kör ölçümü yapılmıştır.

%10'luk karanfil bitki ekstraktının hazırlanması

10 gram karanfil tartılmış ve 100 ml kaynar distile suda demleme şeklinde 15-20 dakika bekletilmiştir. Daha sonra steril bir tülbent vasıtasıyla süzülerek kültüre ekimi için hazır hale getirilmiştir (Şekil 2). Hemen ardından etüvden çıkarılan diğer erlenlere bek alevi yanında CCl₄ ve karanfil bitki ekstraktı eklenmiştir. Grupların içeriğine göre karanfil bitki ekstraktından 10 ml, CCl₄'den 10 milimolar eklenmiştir. Kültürler, 1 saat, 3 saat, 5 saat ve 24 saat boyunca (gece boyunca) 30 °C'de geliştirilmiştir. Ardından SDS-PAGE elektroforezi yapılmış ve protein bant yoğunlukları değerlendirilmiştir (Aslan ve ark., 2019a).



Şekil 2. Karanfil bitkisi (*Syzygium aromaticum* L.) ve ekstraktı

Saccharomyces cerevisiae'de Karbon Tetraklorür (CCl₄) ile Oluşturulan Oksidatif Hasara Karşı Karanfil (*Syzygium aromaticum* L.) Ekstraktının Koruyucu Etkilerinin Glutasyon, Malondialdehit ve Total Protein Düzeyleri ile Araştırılması

Kültüre Karanfil Bitki Ekstraktının ve CCl₄ Kimyasalı Uygulaması

Karanfil (% 10) + CCl₄ (10 milimolar) *S. cerevisiae* ortamına eklenerek 30 °C'de geliştirilmiştir. Karanfil + CCl₄ Grubu: Karanfil (% 10) + CCl₄ (10 milimolar) eklenmiştir.

Hücre Gelişimi Ölçümleri

Gelişimi sağlanan kültür örnekleri 1 saat, 3 saat, 5 saat ve 24 saat boyunca 30 °C'de geliştirilmiştir. Hücre gelişim ölçümleri spektrofotometrede 600 nanometre (OD₆₀₀) dalga boyunda gerçekleştirilmiştir (Aslan ve ark., 2019a).

Sodyum Dodesil Sülfat–Poliakrilamid Jel Elektroferez (SDS-PAGE) Protein İzolasyonu

Kültür örneklerin 1 ml alınarak 13000 rpm'de 6 dakika santrifüj edildikten sonra pelet kısmı alınmış ve 500 µl TEA içerisinde çözülmüştür. Örnekler sonikatör cihazı yardımıyla 10 saniye süreyle iki kez parçalama işlemi gerçekleştirildikten sonra buz içerisinde 5 dakika bekletilmiştir. Ardından 13000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildikten sonra pelet kısmı alınmıştır. Hazırlanan örnekler elektroferez işlemi için boyama solüsyonu kullanılarak yüklemeye hazır hale getirilmiştir (Aslan ve ark., 2019b).

Sodyum Dodesil Sülfat–Poliakrilamid Jel Elektroferez (SDS-PAGE) Analizi

S. cerevisiae kültür örnekleri elektroferez işlemi için kuyucuklara yüklenmeden önce 1:1 oranında protein örnek uygulama ilave edilerek vorteks işlemi yapılmıştır. Daha sonra 5 dakika kaynatılarak yüklemeye hazır hale getirilmiştir. Kuyucuklara 25 µg protein yüklenmiştir. Elektroferez işlemi için 1x yürütme tamponu eklenmiştir. Ardından 30 miliamper akımda jeller yürütülmüş ve işlem tamamlandıktan sonra jeller oda sıcaklığında 40-60 dakika Coomassie mavisi ile boyanmıştır. Protein bant görüntüleri belirginleşinceye kadar boya uzaklaştırıcı tampon ile yıkanarak protein bantlarının görüntüleri alınmıştır (Beyaz ve ark., 2020).

Total Protein Yoğunluğu Ölçümleri

Stok çözeltilerden derişimi 0, 20, 40, 60, 80, 100 mg/L olan standart çözeltiler hazırlanmıştır. Bradford çözeltisi için 0.1 gram coomassie brilliant blue G-250, 50 ml % 95 etil alkol, 100 ml % 85'lik fosforik asit alınarak son hacim 1000 ml'ye tamamlanmıştır. Deney tüpüne analizi yapılacak örnekten 100 µl örnek konularak Bradford çözeltilerinden 5 ml eklenmiş ve 10 dakika bekletilmiştir. Gruplardaki total protein yoğunluğu Bradford metoduna göre 600 nanometre (OD₆₀₀) dalga boyunda spektrofotometrede ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Okunan absorbans değerlerine göre absorbans grafiği çizilmiştir (Bradford, 1976; Aslan, 2021).

Malondialdehit (MDA) Analizi

Lipid peroksidasyonunun en önemli göstergesi olan MDA'nın temel prensibi asit ortamda tiyobarbutirik asit ile ısıtıldığında reaksiyona girerek pembe renkli bir kromojen oluşturmasına dayanmaktadır. Pembe rengin şiddeti, numunedeki MDA konsantrasyonu ile doğru orantılıdır. Kültür numune örneklerine %10'luk homojenat oluşacak şekilde %1.15'lik KCl çözeltisi ilave edilerek 15000 rpm'de 1–2 dakika süreyle buz içinde homojenize edilmiştir. Elde edilen homojenatlar MDA analizinde kullanılmıştır. % 8.1'lik sodyum dodesil sülfat (SDS), % 20'lik asetik asit, % 0.8'lik 2-tiyobarbutirik asit (TBA), 2 mmol L⁻¹ 1.1'.3.3' tetraetoksipropan eklenip vortekslenildikten sonra 45 dakika kaynar su banyosunda (95 °C) inkubasyon ve soğutma işlemi gerçekleştirilmiştir. 2 ml n-butanol ilavesinden sonra vortekslenmiştir. Tüpler kaynar suda (en az 95 derecede) 1 saat bekletildikten sonra soğutulularak 5000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Spektrofotometre 532

Saccharomyces cerevisiae'de Karbon Tetraklorür (CCl₄) ile Oluşturulan Oksidatif Hasara Karşı Karanfil (*Syzygium aromaticum* L.) Ekstraktının Koruyucu Etkilerinin Glutasyon, Malondialdehit ve Total Protein Düzeyleri ile Araştırılması

nanometre dalga boyunda körle sıfır absorbansa ayarlanmıştır. Pembe renkli süpernatantların absorbansları 532 nanometre dalga boyunda okunarak sonuçlar nmol ml⁻¹ cinsinden ifade edilmiştir (Ohkawa ve ark., 1979; Erdemli, 2011).

Glutasyon (GSH) Analizi

Kültürlerden alınan %10'luk homojenat oluşturulmuş ve distile su ilave edilerek buz üzerinde 1-2 dakika 12000 rpm'de homojenize edilmiştir. Doku homojenatları 5000 rpm'de, +4 derecede, 20 dakika santrifüj edilmiştir. Elde edilen süpernatant içerisine TCA çözeltisi ilave edilerek karıştırılmıştır. Ardından 3000 rpm'de, +4 derecede, 20 dakika santrifüj edilerek proteinlerin çökmesi sağlanmıştır. Süpernatant numuneleri GSH analizinde kullanılmıştır. % 10'luk triklor asetik asit, % 1'lik trisodyum sitrat, % 0.4'lük 5.5'-ditiyobis 2-nitrobenzoik asit, 0.3 molar disodyum hidrojen fosfat reaktisleri kullanılarak deney tüpleri hazırlanmış ve çözeltilerin iyice karışmasını sağlamak için vortekslenmiştir. Oda sıcaklığında 5 dakika bekletilerek numunelerde oluşan renk sonucunda spektrofotometrede 410 nm dalga boyunda absorbans değerleri okunarak sonuçlar µmol ml⁻¹ olarak kaydedilmiştir (Habig ve ark., 1974; Erdemli, 2011).

İstatistiksel Analizler

Çalışmanın istatistiksel analizleri SPSS 22 paket programı ile analiz edilmiştir. Gruplar arası farklılıkları belirlemek için One Way Anova *Post Hoc* LSD testleri uygulanmıştır. Graphpad Prism 5 Project programı kullanılarak grafik çizimleri gerçekleştirilmiştir.

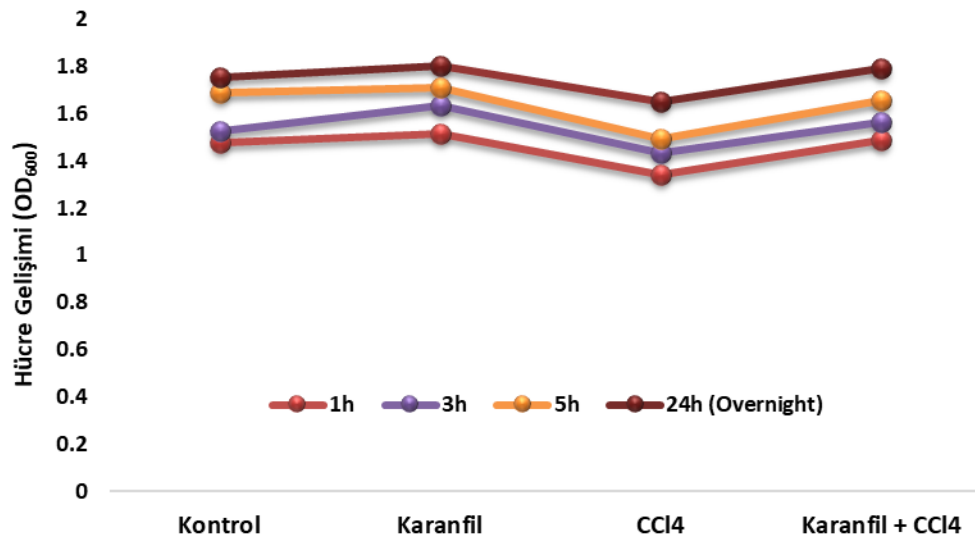
BULGULAR ve TARTIŞMA

Son yıllarda dünya çapında küresel bir salgın haline gelen Covid-19 bütün insanlığı olumsuz yönde etkileyen bir sağlık sorun haline gelmiştir. Bu hastalığın gün geçtikçe artıyor olması insanları çeşitli tedavi yöntemleri geliştirmeye yönlendirmiştir. Bu tedavi yöntemleri arasında yerini alan bitkisel ilaçlar içerdikleri zengin biyoaktif bileşikler nedeniyle birçok hastalığın tedavisinde kullanılmaya başlanmıştır. Karanfil bitkisi zengin fitokimyasal içeriği bakımından antioksidan, antimikrobiyal, antibakteriyel, antiviral ve antikanserojenik özellikleri ile birçok hastalığa karşı etkili ilaç olma potansiyeline sahiptir (Cortes-Rojas ve ark., 2014).

Gökçe (2020), *S. cerevisiae*'de CCl₄ kaynaklı oksidatif strese karşı fıstık (*Pistacia vera* L.) ekstraktının MDA ve SOD seviyesini azaltarak GSH seviyesi ve CAT aktivitelerini ise anlamlı bir şekilde arttığını tespit etmiştir. Fıstık ekstraktı verilen *S. cerevisiae* kültürlerinde hücre gelişiminin arttığını, oksidatif hasarın ise önemli ölçüde azalma gösterdiğini belirtmiştir. Ahmad ve ark., (2012), sıçanlarda iltihaplanma oluşumuna karşı karanfil bitki ekstraktının oksidatif stresi azalttığını tespit etmişlerdir. Karanfil bitki ekstraktı tedavisinin lipid peroksidasyonunu (MDA) azaltarak GSH seviyesi ve CAT aktivitesini arttırdığı bildirmişlerdir (p<0.001).

Bu çalışmanın deneysel analizleri sonucunda, karanfil bitki ekstraktının yüksek antioksidan etkileri sayesinde birçok hastalığın tedavi edilmesinde tedavi edici etkilere sahip olduğu belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre Şekil 3'de göre farklı gelişim zamanları olan gruplar arasında anlamlı bir fark olduğu gözlenmektedir (p<0.05). Kültür ortamına aktarılan karanfil bitki ekstraktının, *S. cerevisiae*'de oluşturulan CCl₄ hasarına karşı hücre gelişimini arttırdığı görülmüştür.

Saccharomyces cerevisiae'de Karbon Tetraklorür (CCl₄) ile Oluşturulan Oksidatif Hasara Karşı Karanfil (*Syzygium aromaticum* L.) Ekstraktının Koruyucu Etkilerinin Glutasyon, Malondialdehit ve Total Protein Düzeyleri ile Araştırılması



Şekil 3. *S. cerevisiae*'de karanfil tedavisinin 1, 3, 5 ve 24 saatlerdeki hücre gelişimi

Çizelge 2, Çizelge 3, Çizelge 4, Şekil 4, Şekil 5 ve 6'da verilen total protein pelet ve süpernatant sonuçlarına göre, karanfil bitki ekstraktının, *S. cerevisiae*'de protein sentezini arttırdığı tespit edilmiştir. Ayrıca CCl₄ grubuna kıyasla Karanfil (% 10) + CCl₄ (10 mM) grubunda total protein seviyesinin daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 2. *S. cerevisiae* bradford pelet protein yoğunluğu

Gruplar (Pelet)	<i>S. cerevisiae</i> Total Protein Seviyesi (nmol ml ⁻¹)
Kontrol	131.43 ± 4.81 ^a
Karanfil	133.69 ± 4.97 ^a
CCl ₄	90.16 ± 3.01 ^c
Karanfil + CCl ₄	102.63 ± 3.99 ^b

a-c: Sütunlarda farklı harfi taşıyan gruplar arası fark önemlidir (p < 0.05). One- Way ANOVA Post Hoc LSD Testi.

Çizelge 3. *S. cerevisiae* bradford süpernatant protein yoğunluğu

Gruplar (Süpernatant)	<i>S. cerevisiae</i> Total Protein Seviyesi (nmol ml ⁻¹)
Kontrol	42.54 ± 4.29 ^a
Karanfil	44.97 ± 4.55 ^a
CCl ₄	30.88 ± 2.64 ^c
Karanfil + CCl ₄	34.54 ± 3.12 ^b

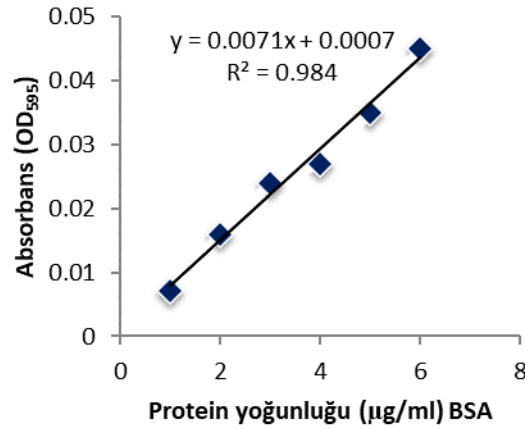
a-c: Sütunlarda farklı harfi taşıyan gruplar arası fark önemlidir (p < 0.05). One- Way ANOVA Post Hoc LSD Testi.

Çizelge 4. *Saccharomyces cerevisiae* 'nin 1h, 3h, 5h ve 24h zaman aralıklarındaki hücre gelişimi

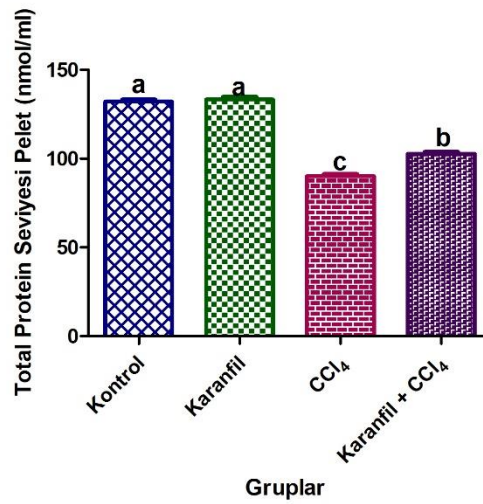
Gruplar	1h	3h	5h	24h (Overnight)
Kontrol	1.475 ± 1.05 ^d	1.523 ± 1.76 ^c	1.688 ± 1.73 ^b	1.753 ± 1.74 ^a
Karanfil	1.517 ± 1.07 ^d	1.635 ± 1.79 ^c	1.709 ± 1.79 ^b	1.802 ± 1.76 ^a
CCl ₄	1.340 ± 0.62 ^d	1.434 ± 0.59 ^c	1.495 ± 1.59 ^b	1.652 ± 1.66 ^a
Karanfil + CCl ₄	1.486 ± 0.86 ^d	1.565 ± 0.65 ^c	1.655 ± 1.66 ^b	1.792 ± 1.71 ^a

**a,b,c,d Sütunlarda farklı harfi taşıyan gruplar arası fark önemlidir (p < 0.05). One- Way ANOVA Post Hoc LSD Testi.

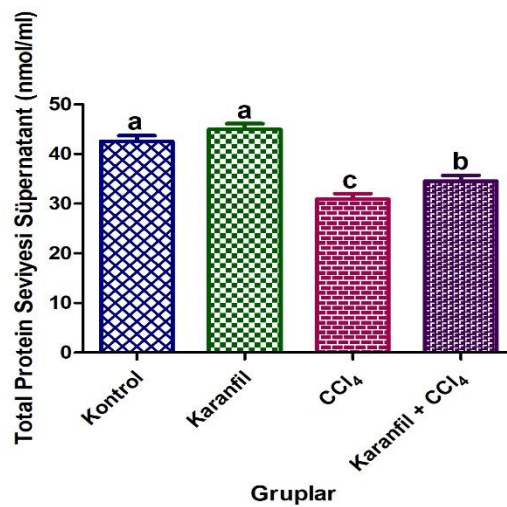
Saccharomyces cerevisiae'de Karbon Tetraklorür (CCl₄) ile Oluşturulan Oksidatif Hasara Karşı Karanfil (*Syzygium aromaticum* L.) Ekstraktının Koruyucu Etkilerinin Glutasyon, Malondialdehit ve Total Protein Düzeyleri ile Araştırılması



Şekil 4. *S. cerevisiae* bradford bovine serum albumin (BSA) standart grafiği



Şekil 5. Total protein pelet seviyesi



Şekil 6. Total protein süpernatant seviyesi

Aslan ve ark., (2019a), *S. cerevisiae*'de H₂O₂ kaynaklı oksidatif strese domatesin terapötik aktivitesini araştırmışlardır. H₂O₂ eklenen gruplara kıyasla domates eklenen gruplarda MDA seviyesinin azaldığını ve total protein seviyesinin ise anlamlı bir şekilde arttığını tespit etmişlerdir.

Saccharomyces cerevisiae'de Karbon Tetraklorür (CCl₄) ile Oluşturulan Oksidatif Hasara Karşı Karanfil (*Syzygium aromaticum* L.) Ekstraktının Koruyucu Etkilerinin Glutasyon, Malondialdehit ve Total Protein Düzeyleri ile Araştırılması

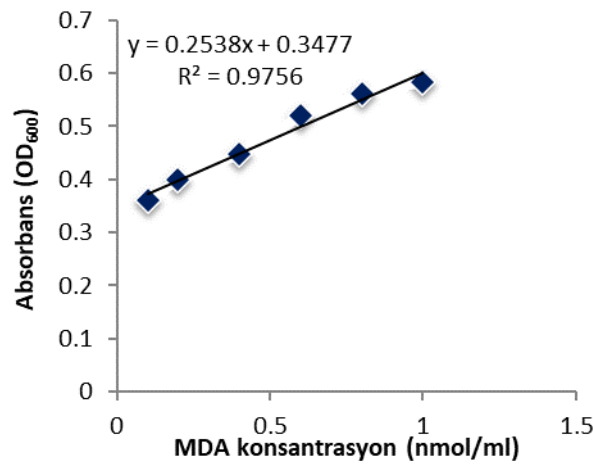
Beyaz ve ark., (2020), *S. cerevisiae*'de H₂O₂ kaynaklı oksidatif strese karadut (*Morus nigra* L.) ve kızılçık (*Cornus mas* L.) meyvelerinin oksidatif strese karşı oldukça güçlü bir terapötik etkiye sahip sonucuna varmışlardır. Ayrıca H₂O₂ eklenen gruplara kıyasla karadut ve kızılçık ekstraktlarının verildiği gruplarda MDA seviyesinin azaldığını ve total protein seviyesinin ise anlamlı bir şekilde arttığını belirtmişlerdir.

Bu çalışmada Çizelge 5, Şekil 7 ve Şekil 8'de verilen MDA seviyelerini incelediğinde, CCl₄ grubunda MDA seviyesinin en yüksek olduğu, Karanfil (% 10) + CCl₄ (10 mM) grubunda ise anlamlı bir şekilde azaldığı belirlenmiştir.

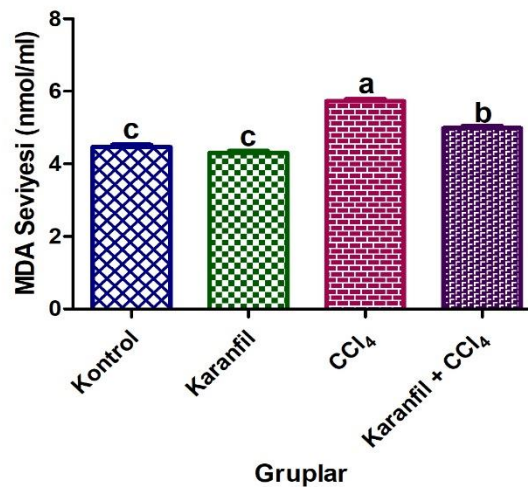
Çizelge 5. *S. cerevisiae* MDA seviyesi

Gruplar	<i>S. cerevisiae</i> MDA Seviyesi (nmol ml ⁻¹)
Kontrol	4.47 ± 1.89 ^c
Karanfil	4.30 ± 1.95 ^c
CCl ₄	5.73 ± 2.97 ^a
Karanfil + CCl ₄	4.99 ± 2.07 ^b

a-c: Sütunlarda farklı harfi taşıyan gruplar arası fark önemlidir (p < 0.05). One- Way ANOVA *Post Hoc* LSD Testi.



Şekil 7. *S. cerevisiae* malondialdehit (MDA) standart grafiği



Şekil 8. Malondialdehit (MDA) seviyesi

Saccharomyces cerevisiae'de Karbon Tetraklorür (CCl₄) ile Oluşturulan Oksidatif Hasara Karşı Karanfil (*Syzygium aromaticum* L.) Ekstraktının Koruyucu Etkilerinin Glutasyon, Malondialdehit ve Total Protein Düzeyleri ile Araştırılması

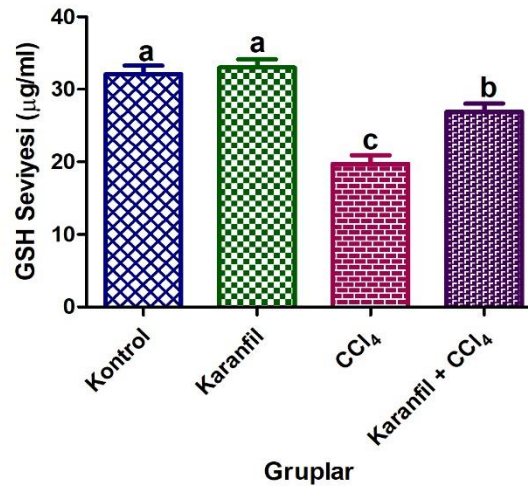
Kiruthika ve Padma (2013), *Zea mays* yaprağı ekstraktlarının *S.cerevisiae*'de H₂O₂ kaynaklı oksidatif stres karşı koruyucu rolünü araştırmışlar ve zengin antioksidan kaynağına sahip olan *Zea mays* yaprağı ekstraktlarının H₂O₂ tarafından indüklenen oksidatif strese karşı etkili bir şekilde koruma sağladığını belirtmişlerdir. Jilani ve ark., (2016), *S. cerevisiae*'de zeytin yaprağı (*Olea europaea* L.) polifenollerinin biyolojik olarak işlenebilirliği ve antioksidan kapasitesine etkisini araştırmışlar ve zeytin yaprağının güçlü antioksidan aktiviteye sahip olduğunu tespit etmişlerdir. Jamnik ve ark., (2007), *S. cerevisiae*'de arı sütü tedavisinin hücre içi oksidasyonu doza bağımlı bir şekilde azaltarak büyüme fazına bağlı bir şekilde büyümeyi ve hücredeki metabolik enerjisi aktivitesini olumlu yönde etkilediğini belirtmişlerdir. Dahası arı sütü hücredeki reaktif oksijen türlerinin temizleyicisi olarak hareket ederek protein ekspresyonunu da arttırdığını tespit etmişlerdir.

Bu çalışmada Çizelge 6 ve Şekil 9'da verilen GSH düzeylerini incelediğinde, CCl₄ grubunda GSH aktivitesinin en düşük olduğu, Karanfil (% 10) + CCl₄ (10 mM) grubunda ise anlamlı bir şekilde azaldığı belirlenmiştir.

Çizelge 6. *S. cerevisiae* GSH aktivite tayini

Gruplar	<i>S. cerevisiae</i> GSH Seviyesi (µg ml ⁻¹)
Kontrol	32.12 ± 3.77 ^a
Karanfil	33.01 ± 3.86 ^a
CCl ₄	19.76 ± 2.38 ^c
Karanfil + CCl ₄	26.91 ± 3.64 ^b

a-c: Sütunlarda farklı harfi taşıyan gruplar arası fark önemlidir (p < 0.05). One- Way ANOVA *Post Hoc* LSD Testi.



Şekil 9. Glutasyon (GSH) seviyesi

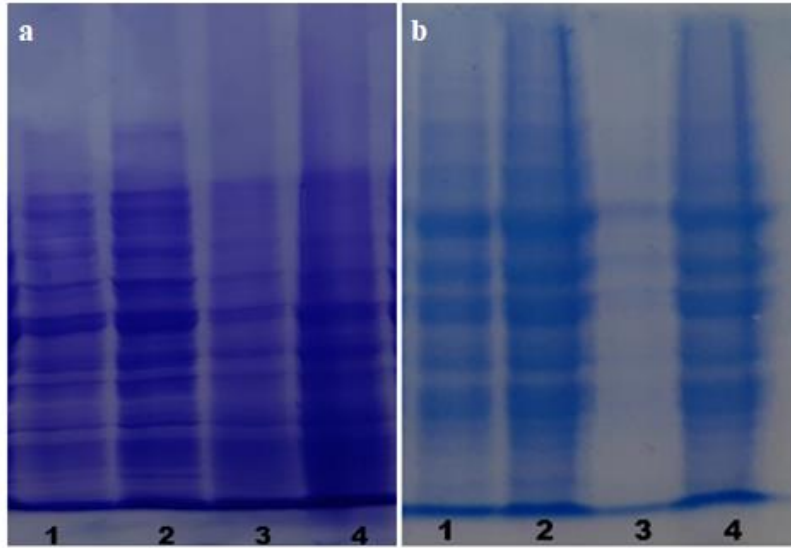
Aslan (2021), Goji berry ekstraktının *S. cerevisiae* kültüründe krom kaynaklı oksidatif hasarı ortadan kaldırarak *S. cerevisiae*'nin hücre büyümesini arttırdığı sonucuna varmıştır. Ajiboye ve ark., (2016), karanfil ekstraktının *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Staphylococcus aureus*'a karşı antibakteriyel aktivitesi, oksidatif stres ve membran geçirgenliği araştırılmıştır. Elde edilen verilere göre, karanfil ekstraktının *Escherichia coli*'de membran geçirgenliğini ve oksidatif stresi arttırdığını tespit etmişlerdir. Nirmala ve ark., (2019), karanfil tomurcuklarından elde edilen uçucu yağın antiviral, antibakteriyel ve antikanser aktiviteye sahip olduğunu belirtmişlerdir.

Kadri ve ark., (2018), karanfil bitkisinin yetişkin farelerde seryum klorür kaynaklı nörotoksik etkiyi azaltarak beyin doku hasarına karşı etkili koruma sağladığını belirtmişlerdir. Do ve ark., (2020),

Saccharomyces cerevisiae'de Karbon Tetraklorür (CCl₄) ile Oluşturulan Oksidatif Hasara Karşı Karanfil (*Syzygium aromaticum* L.) Ekstraktının Koruyucu Etkilerinin Glutatyon, Malondialdehit ve Total Protein Düzeyleri ile Araştırılması

karanfil özütünün, Nrf-2/Glo1 yoluyla AGE kaynaklı glukotoksisite ve oksidatif stresi inhibe ederek diyabet kaynaklı böbrek hasarını iyileştirebileceğini tespit etmişlerdir. Bakour ve ark., (2018), sıçanlarda hidrojen peroksit (H₂O₂) kaynaklı karaciğer, beyin ve böbrek doku hasarına karşı karanfil yağının güçlü antioksidan koruma sağladığını tespit etmişlerdir. Chniguir ve ark., (2019), karanfil ekstraktının lipopolisakkaritlerin neden olduğu akciğer iltihabına karşı koruma sağladığını belirlemişlerdir.

Bu çalışmada Şekil 10'daki SDS-PAGE pelet ve süpernatant jel görüntüleri incelendiğinde, protein yoğunluğunun CCl₄ grubuna kıyasla Karanfil (% 10) ve Karanfil (% 10) + CCl₄ (10 mM) grubunda yüksek oranda arttığı gözlenmiştir. CCl₄ serbest radikal üretiminden yol açarak hücrel hasara neden olduğu için CCl₄ verilen grupta protein yoğunluğunun azaldığı belirlenmiştir. Bu çalışma sonucunda, karanfil bitki ekstraktının, CCl₄'ün oluşturduğu oksidatif hasarı azaltarak ederek *S. cerevisiae*'nin gelişimini artırıcı aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir.



Şekil 10. Pelet (a) ve süpernatant (b) protein bantlarının SDS- PAGE görüntüsü. Bantlar; 1:Kontrol; 2: Karanfil; 3: CCl₄; 4: Karanfil + CCl₄

Sreenivasan ve ark., (2020), karanfil ve *Aloe vera* ve doğal bileşenler içeren bir test macununun dişlere etkisini araştırmışlardır. Kontrol diş macunu ile karşılaştırıldığında bu doğal diş macununun diş plağı ve diş eti iltihabında azalmaların yanı sıra hücrel bütünlükteki gelişmeleri temsil eden tükürük laktat dehidrogenazında önemli azalmaların olduğunu tespit etmişlerdir. Chong ve ark., (2019), yeşil çay polifenollerinden biri olan epigallokateşin-3-gallat (EGCG)'in *S.cerevisiae*'de DNA onarım yollarını aktive ederek genom stabilitesini korumada oldukça etkili olduğunu belirlemişlerdir.

Vicidomini ve ark., (2019), karanfil bitkisinin küresel bir salgın haline gelen koronavirüs (Covid-19) tedavisinde antiviral aktiviteye sahip olup olmadığını araştırmışlardır. Özellikle solunum yolu rahatsızlıklarını tedavi etmek için kullanılan karanfil bitkisinin terapötik etkisi ve farklı virüs türlerine karşı deneysel olarak kanıtlanmış etkinliği sayesinde antiinflamatuvar, immün sistemi uyarıcı ve antitrombotik aktiviteye sahip olduğunu belirtmişlerdir. Karanfil ve bileşenlerinin Covid-19'un önlenmesi ve tedavisinde etkili terapötik protokolleri gerçekleştirmek ve yeni ilaçlar tasarlamak için oldukça biyoaktif özelliklere sahip olduğunu belirtmişlerdir.

SONUÇ

Bu çalışmanın sonuçlarına göre, karanfil bitki ekstraktının *S. cerevisiae*'de total protein sentezini teşvik ederek hücre gelişimini anlamlı bir şekilde arttırdığı belirlenmiştir. Bu çalışma kapsamında, CCl₄ eklenen gruplara kıyasla karanfil bitki ekstraktı eklenen gruplarda antioksidan savunma mekanizma belirteçlerinden biri olan GSH seviyesinin önemli ölçüde arttığı, hücre içinde oksidatif stres belirteci olan MDA düzeylerinin ise anlamlı bir şekilde azaldığı tespit edilmiştir.

TEŞEKKÜR

Katkılarından dolayı Doç. Dr. Abdullah ASLAN ve Arş. Gör. Özlem GÖK'e teşekkürlerimi sunarım.

Çıkar Çatışması

Yazarlar arasında herhangi bir çıkar çatışması bulunmamaktadır.

Yazar Katkısı

Makalede tüm katkı şahsıma aittir.

KAYNAKLAR

- Ahmad T, Shinkafi TS, Routray I, Mahmood A, Ali S, 2012. Aqueous extract of dried flower buds of *Syzygium aromaticum* inhibits inflammation and oxidative stress. *Journal of Basic and Clinical Pharmacy*, 3: 323.
- Ajiboye TO, Mohammed AO, Bello SA, Yusuf II, Ibitoye OB, Muritala HF, Onajobi IB, 2016. Antibacterial activity of *Syzygium aromaticum* seed: Studies on oxidative stress biomarkers and membrane permeability. *Microbial Pathogenesis*, 95: 208-215.
- Aslan A, 2021. *Saccharomyces cerevisiae*'de krom (K₂Cr₂O₇) ile oluşturulan oksidatif hasara goji berry'nin koruyucu etkileri. *Bitlis Eren Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 10: 784-795.
- Aslan A, Beyaz S, Gök Ö, 2019a. Domates ekstraktının *Saccharomyces cerevisiae*'de oluşturulan krom hasarına karşı koruyucu etkisi. *Erzincan Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 12: 1048-1055.
- Aslan A, Gök Ö, Beyaz S, 2019b. Üzüm çekirdeği ekstraktının *Saccharomyces cerevisiae*'de oluşturulan hidrojen peroksit hasarına karşı koruyucu etkisi. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 9: 2216-2224.
- Bakour M, Soulo N, Hammam N, Fatemi HE, Aboulghazi A, Taroq A, Abdellaoui A, Al-Waili N, Lyoussi B, 2018. The antioxidant content and protective effect of argan oil and *Syzygium aromaticum* essential oil in hydrogen peroxide-induced biochemical and histological changes. *International Journal of Molecular Sciences*, 19: 610.
- Batiha GES, Alkazmi LM, Wasef LG, Beshbishy AM, Nadwa EH, Rashwan EK, 2020. *Syzygium aromaticum* L. (Myrtaceae): Traditional uses, bioactive chemical constituents, pharmacological and toxicological activities. *Biomolecules*, 10: 202.
- Beyaz S, Dalkılıç LK, Gök Ö, Aslan A, 2020. *Saccharomyces cerevisiae*'de hidrojen peroksit ile oluşturulan oksidatif hasara karşı karadut (*Morus nigra* L.) ve kızılıçık (*Cornus mas* L.)'ın bazı moleküler biyolojik ve biyokimyasal parametreler üzerine etkisi. *Bitlis Eren Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 9: 1134-1144.
- Bradford MM, 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72: 248-254.
- Chniguir A, Zioud F, Marzaoui V, El-Benna J, Bachoual R, 2019. *Syzygium aromaticum* aqueous extract inhibits human neutrophils myeloperoxidase and protects mice from LPS-induced lung inflammation. *Pharmaceutical Biology*, 57: 55-63.
- Chong SY, Chiang HY, Chen TH, Liang YJ, Lo YC, 2019. Green tea extract promotes DNA repair in a yeast model. *Scientific Reports*, 9: 3842.

***Saccharomyces cerevisiae*'de Karbon Tetraklorür (CCl₄) ile Oluşturulan Oksidatif Hasara Karşı Karanfil (*Syzygium aromaticum* L.) Ekstraktının Koruyucu Etkilerinin Glutasyon, Malondialdehit ve Total Protein Düzeyleri ile Araştırılması**

- Cortes-Rojas DF, Souza CRF, Oliveira WP, 2014. Clove (*Syzygium aromaticum*): A precious spice. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 4: 90-96.
- Do MH, Choi J, Kim Y, Ha SK, Yoo G, Hur J, 2020. *Syzygium aromaticum* reduces diabetes-induced glucotoxicity via the Nrf2/Glo1 pathway. *Planta Medica*, 86: 876-883.
- Duina, A.A., Miller, M.E., Keeney, J.B. (2014). Budding Yeast for Budding Geneticists: A Primer on the *Saccharomyces cerevisiae* Model System”, *Genetics*, 197 (1), 33-48.
- Erdemli ME, 2011. Subkronik akrilamid toksisitesi oluşturulan ratlarda kayısının, kalın bağırsak dokusu glutasyon s-transferaz-Pi (GST) gen ekspresyonu, glutasyon peroksidaz (GSH-Px), redukte glutasyon (GSH) ve malondialdehid (MDA) düzeylerine etkisinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, İnönü Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Malatya, Türkiye.
- Gokce Z, 2020. The protective effect of *Pistacia vera* L. (Pistachio) against to carbon tetrachloride (CCl₄)-induced damage in *Saccharomyces cerevisiae*. *Progress in Nutrition*, 22: e2020077.
- Habig WH, Pabst MJ, Jakoby WB, 1974. Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *Journal of Biological Chemistry*, 249: 7130–7139.
- Jamnik P, Goranovic D, Raspor P, 2007. Antioxidative action of royal jelly in the yeast cell. *Experimental Gerontology*, 42: 594-600.
- Jilani H, Cilla A, Barbera R, Hamdi M, 2016. Improved bioaccessibility and antioxidant capacity of olive leaf (*Olea europaea* L.) polyphenols through biosorption on *Saccharomyces cerevisiae*. *Industrial Crops and Products*, 84: 131-138.
- Kadri Y, Nciri R, Bardaa S, Brahmi N, Saber S, Harrath AH, Aldahmash W, Alwasel S, Mohany M, El Feki A, Salah Allagui M, 2019. *Syzygium aromaticum* alleviates cerium chloride-induced neurotoxic effect in the adult mice. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 29: 26-34.
- Khan MR, Siddique F, 2012. Antioxidant effects of *Citharexylum spinosum* in CCl₄ induced nephrotoxicity in rat. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 64: 349-55.
- Kiruthika B, Padma PR, 2013. *Zea mays* leaf extracts Protect *Saccharomyces cerevisiae* cell against oxidative stress-induced cell death. *Journal of Acute Medicine*, 3: 83-92.
- Koçak Y, Gökhan OTO, Mercan U, Yaşar S, Arihan O, 2019. Karbon tetraklorür ile oluşturulan doku hasarında *Allium schoenoprasum* L. uygulamasının karaciğer ve böbrek dokusunda total antioksidan ve total oksidan düzeyine etkisi. *Van Sağlık Bilimleri Dergisi*, 12: 1-10.
- Nirmala MJ, Durai L, Gopakumar V, Nagarajan R, 2019. Anticancer and antibacterial effects of a clove bud essential oil-based nanoscale emulsion system. *International Journal of Nanomedicine*, 14: 6439.
- Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K, 1979. Assay of lipid peroxides in animal tissue by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry*, 95: 351–358.
- Sreenivasan PK, Kakarla VVP, Sharda S, Setty Y, 2021. The effects of a novel herbal toothpaste on salivary lactate dehydrogenase as a measure of cellular integrity. *Clinical Oral Investigations*, 25: 3021-3030.
- Tekeli H, Bildik A, 2016. Karbon tetraklorür ile oluşturulan karaciğer hasarında glutasyon (GSH) ve glutasyon s-transferaz (GST) aktivitesi üzerine N-asetil sisteinin etkisi. *Balıkesir Sağlık Bilimleri Dergisi*, 5: 83-87.
- Ünalmiş S, 2019. Karaciğer dokusunda karbon tetraklorür ile oluşturulan hasara karşı beta glukannın etkisi. Doktora Tezi, Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kayseri, Türkiye.
- Vicidomini C, Roviello V, Roviello GN, 2021. Molecular basis of the therapeutical potential of clove (*Syzygium aromaticum* L.) and clues to its anti-covid-19 utility. *Molecules*, 26: 1880.