

T.C.
BİTLİS EREN ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI

Gundelia tenuisecta ETANOL EKSTRAKTININ
BİYOAKTİF KOMPOZİSYONU COVID-19 SPIKE ACE2
BAĞLANMA İNHİBİSYON POTANSİYELİ İLE IN SILICO
MOLECULAR DOCKING VE ADME ÖZELLİKLERİNİN
BELİRLENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TUNCAY GÜZELTAŞ
ORCID: 0000-0002-0526-4676

DANIŞMAN
PROF. DR. FATİH ÇAĞLAR ÇELİKEZEN
2. DANIŞMAN
DR. MEHMET FIRAT

OCAK 2025
BİTLİS

T.C.
BİTLİS EREN ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI

Gundelia tenuisecta ETANOL EKSTRAKTININ
BİYOAKTİF KOMPOZİSYONU COVID-19 SPIKE ACE2
BAĞLANMA İNHİBİSYON POTANSİYELİ İLE IN SILICO
MOLECULAR DOCKING VE ADME ÖZELLİKLERİNİN
BELİRLENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TUNCAY GÜZELTAŞ
ORCID: 0000-0002-0526-4676

DANIŞMAN
PROF. DR. FATİH ÇAĞLAR ÇELİKEZEN
2. DANIŞMAN
DR. MEHMET FIRAT

OCAK 2025

BİTLİS

T.C.
BİTLİS EREN ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS TEZ ÇALIŞMASI
ETİK BEYANI

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisiyim. Hazırlamış olduğum “*Gundelia tenuisecta* Etanol Ekstraktinin Biyoaktif Kompozisyonu COVID-19 Spike ACE2 Bağlanma İnhibisyon Potansiyeli ile In Silico Molecular Docking ve ADME Özelliklerinin Belirlenmesi” başlıklı tezde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi; tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu; tez çalışmasında yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi; kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı bildiririm. Ayrıca, bu çalışmada ELICIT ve ChatGPT üretken yapay zekâ programlarından destek aldığımı beyan ederim. Çalışmanın hazırlığı aşamasında üretken yapay zekâ programlarından çeviri (DeepL), ELICIT programları ile bilimsel makalelere erişim ve veri toplama desteği aldım. Üretken yapay zekâ programlarından aldığım bilgilerin doğruluğunu kontrol ettiğimi bildiririm bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim. ... /..../2025

İmza

Tuncay GÜZELTAŞ

T.C.
BİTLİS EREN ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
TEZ YAZIM KILAVUZU UYGUNLUK BEYANI

Gundelia tenuisecta Etanol Ekstraktinin Biyoaktif Kompozisyonu COVID-19 Spike ACE2 Bağlanma İnhibisyon Potansiyeli ile In Silico Molecular Docking ve ADME Özelliklerinin Belirlenmesi” başlıklı yüksek lisans tezi Bitlis Eren Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Tez Yazım Kılavuzuna uygun olarak hazırlanmıştır.

13 /01/2025

Tezi Hazırlayan

Danışman

İmza

İmza

Tuncay GÜZELTAŞ

Prof. Dr. Fatih Çağlar ÇELİKEZEN

Kimya Anabilim Dalı Başkanı

İmza

Prof. Dr. Fatih Çağlar ÇELİKEZEN

T.C.
BİTLİS EREN ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
TEZ ONAY SAYFASI

Bitlis Eren Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı öğrencisi Tuncay GÜZELTAŞ tarafından hazırlanan “*Gundelia tenuisecta* Etanol Ekstraktinin Biyoaktif Kompozisyonu COVID-19 Spike ACE2 Bağlanma İnhibisyon Potansiyeli ile In Silico Molecular Docking ve ADME Özelliklerinin Belirlenmesi” adlı Yüksek Lisans ile ilgili tez savunma sınavı, 13 /01/2025 tarihinde yapılmış ve tezin oy birliği ile kabul edilmesine karar verilmiştir.

JÜRİ:

İMZA

Danışman: Prof. Dr. Fatih Çağlar ÇELİKEZEN
(Bitlis Eren Üniversitesi)

Üye: Prof. Dr. Ayşe Dilek Özşahin KİREÇCİ
(Bitlis Eren Üniversitesi)

Üye: Prof. Dr Ercan SEYHAN
(Hasan Kalyoncu Üniversitesi)

Bitlis Eren Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Yönetim Kurulunun tarih ve sayılı kararıyla jüri tarafından kabul edilmiş bu çalışmanın yüksek lisans / doktora tezi olarak kabulü onaylanmıştır.

... /../2025

Prof. Dr. Mehmet Bakır ŞENGÜL

Enstitü Müdürü

T.C.

Bitlis Eren Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı

***Gundelia tenuisecta* ETANOL EKSTRAKTININ BİYOAKTİF KOMPOZİSYONU
COVID-19 SPIKE ACE2 BAĞLANMA İNHİBİSYON POTANSİYELİ İLE IN
SILICO MOLECULAR DOCKING VE ADME ÖZELLİKLERİNİN
BELİRLENMESİ**

Yüksek Lisans Tezi

Tuncay GÜZELTAŞ

Danışman: Prof. Dr. Fatih Çağlar ÇELİKEZEN

2. Danışman: Dr. Mehmet FIRAT

Ocak 2025

ÖZET

Bitkiler insanlık tarihi boyunca hastalıkların tedavisinde ve hastalıklardan korunmak amacıyla kullanılmıştır. Yan etkilerinin az olması ve bitki bazlı ilaçların maliyetlerinin düşük olması sebebi ile doğal ajanların anti-COVID etkileri dünyada birçok laboratuvarında araştırılmaktadır. Sunulan çalışmada *Gundelia tenuisecta* (Boiss.) Freyn & Sint bitkisinin in vitro ve insilico ortamlarda anti COVID-19 etkisi araştırıldı. In vitro çalışmalar ticari kitler kullanılarak spektrofotometrik olarak yapıldı. Bitki içeriği ise HPLC-DAD analizleri ile tespit edildi. Tespit edilen komponentlerin ADME özellikleri SwissADME web aracı kullanılarak yapılırken moleküler docking çalışmaları CB-DOCK-2 web aracı ile yapıldı. Elde edilen veriler *G. tenuisecta* bitkisinin 0.01 µl konsantrasyonda %19.23 oranında COVID-19 Spike ACE2 bağlanma inhibisyonu gerçekleştirdiğini gösterdi. Bunun yanında, bitki içeriğinde tespit edilen bileşiklerden resveratrol, kuersetin ve krisin tüm ilaç filtrelerine uyum gösterdi. Klorojenik asit, p-kumarik asit, salisilikasit ve t-sinamik asit sitokrom p450 izoenzimlerine karşı hiçbir inhibisyon etkisi göstermedi. Kan beyin bariyerini klorojenik asit ve kuersetin dışında tüm moleküller geçti. Moleküler docking çalışmalarında ise en yüksek bağlanma enerjisine sahip molekül klorojenik asit olarak tespit edildi ($\Delta G = -8.3$ kcal/mol). Sonuç

olarak, *G. tenuisecta* bitkisinin in vitro ve in silico analiz sonuçları bu bitkinin COVID-19'a karşı kullanılabileceğini gösterdi.

Anahtar Kelimeler: *Gundelia tenuisecta*, ACE 2, Asteraceae, SwissADME, Molecular docking



Republic of Türkiye

Bitlis Eren University Graduate School

Department of Chemistry

DETERMINATION OF THE BIOACTIVE COMPOSITION OF *Gundelia tenuisecta* ETANOL EXTRACT WITH COVID-19 SPIKE ACE2 BINDING INHIBITION POTENTIAL AND IN SILICO MOLECULAR DOCKING AND ADME PROPERTIES

Master's Thesis

ABSTRACT

Plants have been used throughout human history for the treatment and prevention of diseases. Due to the low side effects and low cost of plant-based drugs, the anti-COVID effects of natural agents are being investigated in many laboratories around the world. In the present study, the anti COVID-19 effect of *Gundelia tenuisecta* (Boiss.) Freyn & Sint. was investigated in vitro and in silico. In vitro studies were performed spectrophotometrically using commercial kits. Plant content was determined by HPLC-DAD analysis. ADME properties of the detected components were performed using SwissADME web tool, while molecular docking studies were performed with CB-DOCK-2 web tool. The data obtained showed that *G. tenuisecta* plant realized 19.23% COVID-19 Spike ACE2 binding inhibition at 0.01 µl concentration. In addition, resveratrol, quercetin and chrysin, the compounds detected in the plant content, complied with all drug filters. Chlorogenic acid, p-coumaric acid, salicylic acid and t-cinnamic acid showed no inhibition effect against cytochrome p450 isoenzymes. All molecules crossed the blood brain barrier except chlorogenic acid and quercetin. Molecular docking studies revealed that chlorogenic acid had the highest binding energy ($\Delta G = -8.3$ kcal/mol). In conclusion, the results of in vitro and in silico analysis of *G. tenuisecta* showed that this plant can be used against COVID-19.

Keywords: *Gundelia tenuisecta*, ACE 2, Asteraceae, SwissADME, Molecular Docking

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans tez çalışmamın her aşamasında her türlü desteğini benden eksik etmeyen danışmanım Sayın Prof. Dr. Fatih Çağlar ÇELİKEZEN'e sonsuz teşekkür ederim. Tez çalışmamızda sunduğu önemli katkılarından dolayı Van YYÜ Öğretim Elemanı 2. danışmanım Sayın Dr. Mehmet FIRAT'a teşekkür ederim. Ayrıca çalışmalarım süresince bana her zaman destek olan sevgili eşim Eylem GÜZELTAŞ'a sonsuz teşekkür ederim. Ayrıca, projemize finansal destek sağlayan Bitlis Eren Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne teşekkür ederim.



İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	I
ABSTRACT	III
TEŞEKKÜR.....	IV
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	VII
ÇİZELGELER LİSTESİ.....	VIII
KISALTMALAR	IX
1 GİRİŞ.....	1
1.1 <i>Gundelia teunisecta</i> hakkında genel bilgi.....	2
1.2 <i>Gundelia teunisecta</i> 'nın halk arasındaki kullanım şekilleri	2
1.3 Korona virus pandemisi	3
1.4 Korona Virüslerin Tanımı, Tarihçesi ve Evrimi	3
1.5 Korona Virüslerin Yapısal Özellikleri ve Mutasyonları.....	5
1.5.1 Gündelik Hayatta Korona Virüs ile Temas ve Enfeksiyonun Yayılımı ..	7
1.5.2 Korona Virüsün Bulaşma Yolları ve Yayılım Mekanizmaları	8
1.5.3 Korona Virüslerin Aile, Cins ve Tür Özellikleri Üzerine Bir İnceleme	10
1.6 Enzimler	15
1.6.1 Enzim İnhibisyonu	16
1.6.2 Kofaktörler ve Koenzimler	16
1.6.3 ACE2 Proteini	17
1.6.4 ACE2'nin Kardiyovasküler ve Solunum Sistemlerindeki Rolü.....	19
1.6.5 ACE2'nin Korona Virüs ile Etkileşimi ve Virüs Giriş Mekanizması.....	20
1.6.6 ACE2'nin Kardiyovasküler ve Solunum Sistemleri Üzerindeki Etkileri.....	20
1.6.7 ACE2'nin COVID 19 Üzerindeki Potansiyel Rolü.....	21
1.7 Moleküler Docking.....	21

1.8	ADME Özellikleri.....	22
1.9	Metabolizmayı Etkileyen Faktörler: Genetik Varyasyonlar, Enzim İndüksiyonu ve İnhibisyonu.....	23
1.10	Eliminasyon Süreçlerini Etkileyen Faktörler: İlaç Dozu, Yaş, Böbrek ve Karaciğer Fonksiyonları	24
2	ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	25
3	MATERYAL METOT	27
3.1	Bitki Materyali	27
3.2	Bitki Ekstraktının Hazırlanması	29
3.3	HPLC DAD analizi.....	29
3.4	ACE2 İnhibisyon Çalışmaları.....	29
3.5	ADME Analizleri.....	30
3.6	Moleküler Docking Çalışmaları.....	30
4	BULGULAR.....	31
5	TARTIŞMA VE SONUÇ	41
	KAYNAKLAR.....	48

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 3.1. <i>Gundelia tenuisecta</i> türünün toplandığı Erzincan Kemaliyedeki lokalitesi (▲).....	27
Şekil 3.2 <i>Gundelia tenuisecta</i> ; A. Meyvenin varyasyonları yandan görünüşü (ripe disseminules),	28
Şekil 4.3. <i>G. tenuisecta</i> 'nın etanolik ekstraktının fenolik içeriği.	31
Şekil.4.4. <i>G. tenuisecta</i> 'nın etanolik ekstraktının fenolik içeriğindeki komponentlerin kan beyin bariyeri tahmin sonuçları (BoiledEgg).(a:Klorojenik asit, b: p-Kumarikasıit, c: Salisilik asit d: Resveratrol, e: Quersetin , f: t-Sinamikasıit , g: Krysın).....	39
Şekil.4.5 Krisin ve 7U0N moleküllerinin 3D ve 2D görüntüleri ($\Delta G=-8.1$ kcal/mol) ...	39
Şekil.4.6. Klorojenik asit ve 7U0N moleküllerinin 3D ve 2D görüntüleri ($\Delta G=-8.3$ kcal/mol)	40
Şekil. 4.7 Resveratrol ve 7U0N moleküllerinin 3D ve 2D görüntüleri ($\Delta G = -7.3$ kcal/mol)	40
Şekil. 4.8 t-Sinamik asit ve 7U0N moleküllerinin 3D ve 2D görüntüleri ($\Delta G=-6.1$ kcal/mol)	41
Şekil.4.9 p-Kumarik asit ve 7U0N moleküllerinin 3D ve 2D görüntüleri ($\Delta G=-6.2$ kcal/mol)	41
Şekil.4.10 Kuersetin ve 7U0N moleküllerinin 3D ve 2D görüntüleri ($\Delta G = -7.9$ kcal/mol).	42
Şekil.4.11. Salisilik asit ve 7U0N moleküllerinin 3D ve 2D görüntüleri ($\Delta G = -5.6$ kcal/mol)	42

ÇİZELGELER LİSTESİ

Çizelge 4.1. <i>G. tenuisecta</i> 'nın etanolik ekstraktının COVID 19 Spike-ACE2 bağlanma inhibisyon sonuçları.....	31
Çizelge 4.2. <i>G. tenuisecta</i> 'nın etanolik ekstraktının fenolik içeriğindeki komponentlerin öngörülen fizikokimyasal özellikleri	322
Çizelge 4.3. <i>G. tenuisecta</i> 'nın etanolik ekstraktının fenolik içeriğindeki komponentlerin öngörülen lipofiliklik değerlendirmesi	322
Çizelge 4.4. <i>G. tenuisecta</i> 'nın etanolik ekstraktının fenolik içeriğindeki komponentlerin öngörülen suda çözünürlük değerlendirmesi.....	333
Çizelge 4.5. <i>G. tenuisecta</i> 'nın etanolik ekstraktının fenolik içeriğindeki komponentlerin öngörülen ilaç olabilirlik değerlendirmesi.	344
Çizelge 4.6. <i>G. tenuisecta</i> 'nın etanolik ekstraktının fenolik içeriğindeki komponentlerin öngörülen farmakokinetik değerlendirmesi.	355
Çizelge 4.7. <i>G. tenuisecta</i> 'nın etanolik ekstraktının fenolik içeriğindeki komponentlerin öngörülen tıbbi kimya değerlendirmesi.	355
Çizelge 4.8. <i>G. tenuisecta</i> 'nın etanolik ekstraktının fenolik içeriğindeki komponentlerin isimleri	36

KISALTMALAR

ACE2	: Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim 2
COVID-19	: Koronavirüs Hastalığı 2019
DNA	: Deoksirino Nükleik Asit
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
MERS-CoV	: Orta Doğu Solunum Sendromu
RNA	: Ribonükleik asit
S	: Spike Proteini
SARS	: Şiddetli Akut Solunum Yolu Sendromu
SARS-CoV	: Şiddetli Akut Solunum Yolu Sendromu Koronavirüsü
SARS-CoV-2	: Şiddetli Akut Solunum Sendromu Koronavirüs Tip 2
TMPRSS2	: Transmebran Serin Proteaz 2

1 GİRİŞ

Korona virüsü üzerine yapılan araştırmalar, virüsün biyolojik yapısı ve enfeksiyon süreçleri hakkında derinlemesine bilgi sağlarken, aynı zamanda virüsle mücadele yöntemlerinin geliştirilmesine de katkıda bulunmaktadır. Enzimler, virüsün hücrelere girişi ve çoğalması sırasında kritik bir rol oynar. Bu nedenle, enzimlerin yapısı, işlevleri ve virüsle etkileşimleri üzerine yapılan çalışmalar, virüsün nasıl etkisiz hale getirilebileceğini anlamak açısından hayati öneme sahiptir. Enzim inhibitörleri, enzimlerin işlevini durdurarak virüsün çoğalmasını engelleyebilen maddelerdir. Bu inhibitörler, özellikle virüsün hücre içindeki replikasyonunu durdurma potansiyeline sahiptir. Virüsle mücadelede etkili stratejiler geliştirilmesi için bu tür biyomoleküllerin nasıl kullanılabileceği üzerine yapılan araştırmalar, virüsün yayılmasını engellemeye yönelik önemli bulgular sunmaktadır (Masters & Perlman, 2013).

ACE2 proteini, virüsün insan hücrelerine bağlanmasını ve enfeksiyon sürecini başlatmasını sağlayan bir reseptördür. ACE2' nin yapısı ve fonksiyonları, virüsün hücreye giriş mekanizmasının anlaşılması açısından büyük bir öneme sahiptir. Son yıllarda yapılan çalışmalar, ACE2' nin korona virüsü ile etkileşimlerinin detaylı bir haritasını çıkarmış ve bu proteinin tedavi süreçlerindeki potansiyel rolünü ortaya koymuştur. Bu bağlamda, ACE2'yi hedef alan tedavi stratejileri, virüsle mücadelede yeni ufuklar açabilir (Masters & Perlman, 2013).

Diğer taraftan, moleküler docking yöntemleri, virüsle etkileşime girebilecek potansiyel ilaç moleküllerinin belirlenmesinde kullanılan önemli bir teknik olarak öne çıkmaktadır (Chan vd., 2020). Bu yöntem, özellikle ilaç tasarımı virüsün protein yapılarının analiz edilmesinde kritik bir rol oynar. Moleküler docking, virüs proteinlerine bağlanabilecek en uygun moleküllerin belirlenmesine yardımcı olur ve bu sayede potansiyel tedavi seçeneklerinin geliştirilmesini sağlar (Chan vd., 2020).

ADME (Absorpsiyon, Dağılım, Metabolizma, Eliminasyon) özellikleri, ilaçların vücutta nasıl davrandığını anlamak için kullanılan temel biyofarmasötik parametrelerdir. Bir ilacın emilimi, vücutta dağılımı, metabolize edilmesi ve atılımı, ilacın etkinliği ve güvenliği üzerinde doğrudan bir etkiye sahiptir (Şekeroğlu vd., 2012). ADME özelliklerinin doğru bir şekilde anlaşılması, ilaçların geliştirilmesi ve klinik denemelerde başarılı sonuçlar elde edilmesi için kritik bir rol oynar (Daina vd., 2017).

Sunulan çalışma, *Gundelia tenuisecta* (Boiss.) Freyn & Sint (*G. tenuisecta*) bitkisinin kimyasal kompozisyonu belirlenerek içeriğini tespit etmek, belirlenen bileşiklerin ADME profilleri belirlemek ve anti-COVID-19 etkilerini tespit etmek amacıyla planlandı.

1.1 *Gundelia teunisecta* hakkında genel bilgi

Asteraceae familyası, dünyadaki en çeşitli biyolojik grupları barındıran familyadır. Bu familyada yer alan 24.000 ile 30.000 arasında tür ve 1600 ile 1700 arasında cins, Antarktika dışında tüm kıtalarda yayılış göstermektedir. (Funk vd, 2005.). Ülkemiz sınırları içerisinde yayılış gösteren *Gundelia* cinsi, uzun süre tek türlü olduğu düşünülen bir cinsken, son yıllarda yapılan taksonomik çalışmalar ile tür çeşitliliğinin oldukça zengin olduğu anlaşılmıştır (Vitek vd., 2010, Fırat 2016, Fırat 2017a; Fırat 2017 b; Fırat 2017 c, Fırat 2017 2018a; Fırat 2018b, Fırat 2019a; Fırat 2019b, Fırat 2021a; Fırat 2021b, Fırat 2023).

Gundelia bitkisi, botanik biliminde kullanılan hiyerarşik sınıflandırma sistemine göre aşağıdaki taksonomik seviyelerde yer alır:

Aile: Asteraceae (Papatyagiller)

Cins: *Gundelia* L.

Tür (Örnek): *Gundelia tenuisecta* (Boiss.) Freyn & Sint (Holub & Davis 1979).

1.2 *Gundelia teunisecta*'nın halk arasındaki kullanım şekilleri

Kengerin kurutulmuş ve öğütülmüş tohumlarından kahve yapılır. Özsuyundan dişlere iyi gelen bir sakız elde edilir. Taze yaprakları sebze olarak yenir, kök ve gövdesi ise çiğ olarak tüketilir. Tohumları da şişkinliğe iyi gelir. (Öztürk & Özçelik, 1991, Fırat 2016, 2017abc, 2018ab, 2019ab, 2021ab, 2023).

Bitkinin tohumlarından elde edilen kaynatma, soğuk alınlığı ve nezle gibi üst solunum yolu enfeksiyonlarının tedavisinde geleneksel olarak kullanılmaktadır (Tabata vd., 1994).

Taze ürünleri sebze olarak tüketilen, kök ve gövdeleri çiğ yenebilen bu bitki, sindirim sistemini güçlendirerek iştahı açar, mideyi kuvvetlendirir, şişkinliği azaltır ve geleneksel tıpta zehirlenme, sıtma, sarılık ve safra kesesi taşları gibi çeşitli rahatsızlıkların tedavisinde kullanılmak üzere tohumları dahil olmak üzere tüm kısımları değerlendirilir. (Öztürk vd., 2000).

1.3 Korona virus pandemisi

Korona virüsü (SARS-CoV-2), 21. Yüzyılın en büyük küresel sağlık krizlerinden birini tetikleyerek, dünya genelinde milyarlarca insanın yaşamını derinden etkiledi. Pandeminin başlangıcından bu yana, virüsün yayılımını durdurmak ve etkilerini hafifletmek için büyük çaba harcanmıştır. Bu süreçte, virüsün biyolojik ve moleküler yapısının anlaşılması, etkili tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi ve halk sağlığına yönelik stratejilerin oluşturulması, bilim insanları ve sağlık otoriteleri için en öncelikli konular haline gelmiştir. (Masters & Perlman, 2013).

Pandemi, sadece sağlık sektörünü değil, aynı zamanda küresel ekonomiyi, sosyal yapıları ve günlük yaşamı da derinden etkilemiştir. Hızla yayılan virüs, sağlık sistemlerini zorlayarak ekonomileri sarsmış ve sosyal ilişkilerde büyük değişimlere yol açmıştır. Bu bağlamda, virüsün biyolojik ve moleküler mekanizmalarının derinlemesine incelenmesi, sadece mevcut pandemiyi kontrol altına almak için değil, aynı zamanda gelecekteki olası pandemilere karşı hazırlıklı olmak için de kritik öneme sahiptir (Masters & Perlman, 2013).

Korona virüsünün hala tam olarak anlaşılamamış birçok yönü olması mevcut tedavi yöntemlerinin sınırlı etkinliği ile ilişkilidir. Virüsün biyolojik yapısı, insan hücrelerine nasıl girdiği, enfeksiyon sürecinde hangi enzimlerin rol oynadığı ve virüsle mücadelede kullanılabilecek potansiyel tedavi hedefleri gibi konular, hem bilimsel topluluk hem de halk sağlığı açısından büyük önem taşımaktadır (Masters & Perlman, 2013).

Özellikle enzimler ve ACE2 proteini gibi moleküler bileşenlerin virüs enfeksiyonu sırasında oynadığı rol, virüsün etkili bir şekilde durdurulması için önemli ipuçları sunmaktadır. Enzimlerin virüs replikasyonundaki işlevleri ve bu işlevlerin engellenmesi, virüsün yayılmasını durdurmak için kullanılabilecek stratejik yaklaşımlar arasında yer almaktadır (Chan vd., 2020). Benzer şekilde, ACE2 proteininin virüsle etkileşimi, virüsün hücreye giriş mekanizmasının anlaşılması ve bu mekanizmanın bloke edilmesi açısından kritik bir hedef olarak öne çıkmaktadır (Chan vd., 2020).

1.4 Korona Virüslerin Tanımı, Tarihçesi ve Evrimi

Koronavirüs 19 (COVID-19), SARS ve MERS salgınlarından sonra ortaya çıkan üçüncü koronavirüs salgınıdır. Yeni koronavirüs hastalığı (COVID-19), Çin'in Wuhan kentinden bulaşan, şiddetli akut solunum sendromu koronavirüs 2'nin (SARS-CoV-2)

neden olduğu oldukça bulaşıcı ve oldukça patojenik bir virüs enfeksiyonudur (Xu vd., 2020).

Enfekte hayvanın gıda olarak tüketilmesi, hayvanlardan insanlara bulaşmanın ana nedenidir. Enfekte kişiyle yakın temas, sağlıklı kişilerde enfeksiyona neden olabilmektedir. COVID19'a karşı kullanımı klinik olarak onaylanmış herhangi bir antiviral ilaç veya aşı bulunmamaktadır. Bununla birlikte, COVID-19'a karşı çeşitli geniş spektrumlu antiviraller klinik çalışmalarda değerlendirilmiştir (Al-Tawfiq vd., 2014).

Yeni koronavirüs, 11 şubat 2020'de Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından COVID-19 olarak adlandırılmıştır. Koronavirüs gibi bazı virüsler, zarf adı verilen bir yağ tabakasıyla çevrilidir. Bu basit mikroorganizmanın açık havada bağımsız olarak çoğalma yeteneği yoktur. Virüsler zorunlu hücre içi parazitlerdir. Kendi seçtikleri hücreye, yani konakçıya girdiklerinde üreme yeteneğine sahiptirler. Virüsler vücuttaki belirli hücreleri seçer. Örneğin yeni koronavirüs, solunum yollarının mukozalarını tercih etmekte ve damlacıklar yoluyla kişiden kişiye bulaşmaktadır. Virüsün solunum yollarının mukozalarına girip çoğalması ve doku hasarına neden olması belli bir süre aldığı için bu döneme kulua dönemi denilmektedir (Sutton & Subbarao, 2015).

Koronavirüs, elektron mikroskobu altında bakıldığında çıkıntılı yuvarlak bir ta gibi görüldüğu için adını Latince “ta” anlamına gelen “Korona” kelimesinden almıştır. Koronavirüsler toplumumuzda uzun yıllardan beri görülmektedir. Bunlardan en basiti ve en yaygın olanı soğuk algınlığıdır. Koronavirüsler üst solunum yolu enfeksiyonlarına ve burun akıntısına neden olan 20 virüsten oluşan bir gruptur. Koronavirüs ailesindeki diğer birçok koronavirüs, yeni koronavirüse göre daha hafif semptomlarla hafif hastalığa neden olmaktadır (Chen vd.,2020).

Bazen koronavirüsler insanlar ve hayvanlar arasında bulaşabilmektedir. Virüsün genetik bilgisi RNA mutasyonları yoluyla değişmektedir. Hücrelere, özellikle de yüzey proteinlerine bağlanarak, istila için kullandıkları proteinlerde değişikliklere neden olarak, önceden oluşturulmuş bağışıklık sistemlerinden kaçarlar, daha hızlı çoğalırlar ve her türlü virüs gibi hücrelerde daha fazla çoğalarak hasara neden olabilirler (Singhal, 2020).

Zamanla gelişmeye devam eden koronavirüsler, 2002'den bu yana daha şiddetli hale gelmiş ve grip benzeri semptomlar sergilemiştir. Eski adıyla MERS'in insanlara develerden, eski adı SARS olan şiddetli Akut Solunum Sendromunun ise misk kedilerinden insanlara bulaştığı düşünülmektedir. Koronavirüsün yayılmasını önlemek

için standart öneriler arasında ellerin düzenli olarak yıkanması ve alkol bazlı el dezenfektanı veya sabun ve su ile temizlenmesi, öksürürken veya hapşırıırken ağzınızı ve burnunuzu mendil veya dirsek ile kapatmak yer alır. Bu, örtünmeyi ve insanlardan uzak durmayı da içermektedir (Sutton & Subbarao, 2015).

Bir virüs insan hücrelerine girdiğinde virüsün sahip olmadığı ancak ihtiyaç duyduğu enzimleri ve proteinleri üretebilir. Bunun nedeni genetik materyalin bileşenlerinin tüm organizmalarda aynı olmasıdır. Genom; sahip olduğunuz tüm genetik materyaldir. İnsan genomunda yaklaşık 20.000 gen bulunmaktadır ve bir hücrenin hayatta kalması için gereken tüm proteinler/enzimler, bu genlerin içindeki bilgi/kod okunarak oluşturulur (Huentelman vd., 2004). Bazı genler her zaman aktiftir, bazıları ise ihtiyaç duyulduğunda aktif hale gelir ve kullanılmadığında kapatılır (Yan vd., 2020).

1.5 Korona Virüslerin Yapısal Özellikleri ve Mutasyonları

SARS ve MERS-CoV'u bulunan Coronaviridae familyasındaki Beta-*Coronavirus* cinsinin B soyunda bulunmaktadır. Son yıllarda yapılmış olan çalışmalarda öksürük, ateş, miyalji ve yorgunluğun yoğun olan semptomlar olduğu, balgam çıkarma, baş ağrısı, hemoptizi ve ishalin ise yoğun semptomlara nazaran az görüldüğü bildirilmektedir (Actis-Goretta vd., 2006).

SARS ile MERS-CoV arasında epidemiyolojik ve klinik özellikler bakımından aynı ve farklı özellikler bulunmaktadır. İki virüste pozitif ve sarmallı RNA betakoronavirüsleridir. Yarasalardan arındırılarak yapılan SARS-CoV ile MERS-CoV arasındaki dizi homolojisinin insan izolatları veya misk kedisi izolatları arasında ortak olması, yarasaların bu konuda rezervuar olmuş olduğunu göstermektedir (Akyüz, 2007).

Çoklu gen ürünlerinin bir dizi iç içe geçmiş subgenomik RNA'yı kodlamasına viral genom denir. ACE2 ana reseptördür ve S proteini olan CD209L'ye nazaran daha düşük bir cazibeye sahiptir. MERS-CoV'nin hücre yüzeyi reseptörü, CD26 olarak da bilinen insan dipeptid peptidaz 4'tür (hDPP4). COVID-19 hastasının hem klinik hem de epidemiyolojik özellikleri, SARS-CoV-2 enfeksiyonunun, SARS-CoV'ye benzer klinik bulgularla ciddi solunum yolu hastalığı kümelerine neden olduğunu, yoğun bakıma yatışlara yol açabileceği öne sürülmüştür (Al-Tawfiq vd., 2014).

Koronavirüsler genomlarında bulunan beş yapısal proteini kodlar. Bunlar glikoprotein spike (S), membran (M), zarf (E), hemagglutinin esteraz (HE) ve nükleokapsid (N) (Báez vd., 2015a). Zarf glikoproteini ve N proteini tüm viryonlarda

bulunurken HE proteini yalnızca beta-korona virüslerde bulunur (Báez vd., 2015b). S glikoproteini virionun dış tarafında bulunur ve virona sahip olduğu tipik şeklini verir. M proteini Golgi aparatı içerisinde glikosile edilir (Balakrishna vd., 2014). M proteininde meydana gelen modifikasyonlar, virionun hücreye füzyonu için gereklidir ve proteine antijenite kazandırır. M proteini hücre içindeki virionların çoğalmasında önemli rol oynar (Balasuriya & Rupasinghe, 2011). E proteinleri, hücreler içindeki virion oluşumunda ve morfogenezde işlev görür (Baldwin, 2001). -N proteini, sarmallara bağlanabilen aynı zamanda viral genom RNA'sında esnek bir yapıya sahip olan ve koronavirüs virion yapısı, transkripsiyonu ve replikasyonu üzerinde önemli etkiye sahip olan bir fosfoprotein tür (Basso vd., 2016).

SARS-CoV-2'nin bilinen genom boyutu (29,8-29,9 kb) arasında değişmektedir. Genomun 5'-ucu 'ün üçte ikisinden fazlası Orflab'ı kodlayan Orflab- poliproteinini içerirken 3'-ucu 'ün üçte biri S, E, M ve N'yi içeren yapısal proteinleri kodlar. (Beckman & Crow, 1993).

Koronavirüs, çapı en az 60 nm en çok 140 nm arasında olan, pozitif yüklü RNA virüsüdür. Yüzeyindeki sivri uçlu benzeri çıkıntılar, elektron mikroskobu altında bakıldığında taç benzeri gibi görünmesini sağlar, dolayısıyla koronavirüs olarak adlandırılır. Dört farklı koronavirüs türü insanın dolaşım sisteminde mevcuttur. Bunlar; 229E, NL63, HKU1, ve OC43. Genellikle bu koronavirüsler hafif solunum yolu hastalığına neden olmuştur (Altuner, 2008). SARSCoV-2, SARS-CoV ile farksız olan genom dizisine sahiptir ve birçok yarasa CoV'ye daha benzer olduğu bulunmuştur (Al-Tawfiq vd., 2014).

Yeni koronavirüs genomunun toplam uzunluğu 29891 veya 29903 arasında değişen nükleotidden oluşur. Elde edilen viral genom sekansının tümü, 0,98 ila veya daha yüksek bir sekans benzerliğine sahiptir. SARS-CoV2- ile SARS-CoV aralarında nükleotid dizi benzerliğine sahip iken SARS-CoV2- ile MERS-CoV yaklaşık P dizi benzerliğine sahiptir. SARS- CoV-2'nin ORF1ab'ındaki korunmuş yedi replikaz alanı SARS-CoV'ye benzer, bu da bu virüslerin aynı türe ait olduğunu ima eder (Alvarez vd., 2006).

ACE2 membrana bağlı bir aminopeptidazdır. ACE2 enziminin, fizyolojik açıdan önemli iki farklı mekanizma yoluyla kardiyovasküler ve bağışıklık sistemlerini etkilemede rol oynadığı gösterilmiştir. ACE2, anjiyotensin II'nin güçlü vazokonstriktif

etkilerini dengelemeye hizmet ederken aynı zamanda anjiyotensin 1 de dahil olmak üzere vazodilatör peptidlerinin üretimini katalizler (Arends & Wyllie 1991).

ACE2'nin SARS'a neden olan koronavirüs için işlevsel bir reseptör olduğu bulunmuştur. SARS'ın ana etken maddesi olan koronavirüs (SARS-CoV), SARS-CoV spike proteini aracılığı ile hücre dışı enzimlere bağlandıktan sonra membran füzyonu yoluyla akciğer hücrelerine girer (Arends & Wyllie,1991).

COVID19'un hücrelere tamamen nüfuz edebilmesi için TMPRSS2 adındaki proteaz tarafından bir spike proteini oluşturulur. ACE2 enzimi, viral reseptörün hücresel ligandlara bağlanması için gereklidir ve TMPRSS2 proteaz, viral aktivasyon için gereklidir. 2019-nCoV konakçı hücreye girer, katlanır ve viral RNA genomu önce kopyalanır sonra çevrilir. 2019-nCoV genomunun replikasyon ve ardından transkripsiyon adımları, 20 kb replikaz geni tarafından kodlanan viral replikazın aracılık ettiği sürekli ve süreksiz RNA sentezini içerir (Arora vd., 2020).

Uzunluğu tam olan ACE2, bir parça N-terminal PD ve bir parça C-terminal kollektörün benzeri alandan (CLD) oluşur ve tek bir transmembran sarmalda ve yaklaşık 40 kalıntıdan oluşan bir hücre içi segmentte sonlanır. ACE2-B0 AT1 kompleksi, bir heterodimerik dimer olarak birleşir ve kollektörün benzeri alan, ACE2'nin homodimerizasyonuna aracılık eder (Ayub & Hallett, 2004).

1.5.1 Gündelik Hayatta Korona Virüs ile Temas ve Enfeksiyonun Yayılımı

İnsanlarda enfeksiyonlara neden olan, daha önceden tanımlanmış ve bilinen koronavirüs türleri (HCoV-229E, HCoV-OC43, HCoV-NL63 ve HCoV-HKU1)'dir. Soğuk algınlığı olarak adlandırılan üst solunum yolu enfeksiyonları ve özellikle kış ve kış ayları ile ilişkilidir. (Beckman vd., 1990).

Diğer koronavirüsler gibi, COVID-19 da virüsle enfekte olan kişilerin öksürmesine ve hapşırmasına neden olabilir. Enfeksiyonun, hastalık sırasında çevreye yayılan virüsü içeren havadaki damlacıklar yoluyla meydana geldiği düşünülmektedir. Bu nedenle insandan insana bulaş için yakın temas (1 metre veya daha fazla mesafe) gerekmektedir. Koronavirüs enfeksiyonunun belirtileri 2 ila 14 günlük bir kuluçka döneminden sonra ani başlayan yüksek ateş (39°C), öksürük ve nefes darlığı ile karakterizedir. Bazı hastalarda boğaz ağrısı veya burun akıntısı gibi belirtiler görülebilir. Daha ciddi vakalarda zatürreye (pnömoni), ciddi akut solunum yolu enfeksiyonlarına, böbrek yetmezliğine ve hatta ölüme neden olabilir. Hastalık sağlıklı kişilerde nispeten

hafif olsa da yaşlılarda (65 yaş üstü) ve altta yatan sağlık sorunları (diyabet, akciğer hastalığı veya bağışıklık sistemi baskılanması gibi) olan kişilerde enfeksiyon daha şiddetli ve ölümcül olabilir. Enfeksiyonun yayılmasını önlemek için standart öneriler arasında ellerin düzenli olarak yıkanması, öksürürken ve hapşırırken ağzınızın ve burnunuzun kapatılması ve et ve yumurtanın iyice pişirilmesi yer alır. Öksürme veya hapşıma gibi solunum yolu hastalığı belirtileri olan kişilerle yakın temastan kaçınmak önemlidir (Beckman vd., 1990).

1.5.2 Korona Virüsün Bulaşma Yolları ve Yayılım Mekanizmaları

İlk belgelenen insan CoV'leri; (HCoV'ler)-OC43, HCoV-229E, HCoV-NL63 ve HCoV-HKU1, olarak adlandırılmış ve bunlar alt solunum yolu enfeksiyonlarıyla hiçbir ilişkisi olmayan, tipik olarak üst solunum yolu enfeksiyonlarına neden olan CoV'leridir (Wang vd., 2020).

CoV ilk olarak 1937'de kümes hayvanlarında tanımlanmış ve insanlarda düzenli soğuk algınlığına ve hafif gastrointestinal enfeksiyonlara neden olduğu, bunun da onu çiftlik hayvanlarında oldukça önemli bir patojenik virüs haline getirdiği rapor edilmiştir (Wang vd., 2020).

Geçtiğimiz on yıl boyunca, iki insan CoV'si küresel tıp camiasında büyük endişeye neden olmuştur. 2002 yılında SARS-CoV, 8000 'e yakın hastada akut pnömoni ve yaygın alveolar hasar ile karakterize edilmiş, bu da yaklaşık 800 ölümle sonuçlanmıştır, bu da yaklaşık bir ölüm oranına karşılık gelmektedir (Nieto vd., 2014). Daha yakın bir zamanda 2012'de MERS-CoV (Orta Doğu Solunum Sendromu) adı verilen yeni bir insan CoV tanımlanmıştır (Wang vd., 2020). Çin'in Wuhan kentinde ortaya çıkan yeni tip insandan insana koronavirüs 'ün varlığı Aralık 2019'un sonlarında doğrulanmıştır (Pehote & Vij, 2020). SARS-CoV-2, adlı Virüsün neden olduğu hastalığa ise COVID-19 denmiştir. SARS, yaşlılarda, bağışıklığı baskılanmış hastalarda ve küçük çocuklarda ciddi sonuçlara yol açan, yavaş ve aşamalı olarak grip benzeri semptomlardan pnömoniye doğru ilerler ve sonuçta SARS, semptomların ilerleyici ve kademeli başlangıcı ile karakterize edilir (Peters vd., 2000).

İnsan CoV'si ile ilişkili yüksek mortalitenin, esas enfeksiyonundan sonra gözlemlenen gastrointestinal ve solunum yolu lezyonlarının gelişmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Fibrotik doku birikimine, hava yolu dejenerasyonuna, kanamaya ve ciddi makrofaj infiltrasyonuna neden olan akut atipik pnömoni ve yaygın alveolar hasara

sulu ishal, dehidrasyon ve kusma eşlik edebilir (Rabi vd., 2020). Hastanın bulantı, kusma, anozmi, tat kaybı, bilinç bozukluğu, ajitasyon ve konfüzyon gibi serebrovasküler hastalık semptomlarıyla başvurduğu şiddetli solunum yolu hastalığı durumunda SARS-CoV-2 enfeksiyonunun eşlik eden nörolojik komplikasyonları Kortikospinal semptomlar ve ensefalopati veya bunların yokluğunu bildiren vakayla birlikte ortaya çıkmaktadır (Li vd., 2020).

Genetik tipleri açısından CoV'ler, 27.000-32.000 arasında nükleotit uzunluğunda, parçadan oluşan büyük bir ribonükleik asit (RNA) genomuna sahiptir. Genomun ilk üçte ikisi viral replikaz 'ü kodlar ve geri kalan üçte biri dört yapısal protein ve yardımcı proteinler içerir: membran (M), zarf (E), spike (S), ve nükleokapsid (N), kod dizisi 'ü içerir (Masters, 2006). Bunlar arasında protein S, aynı kökenli reseptöre bağlanma ve membran füzyonuna aracılık etmede rol oynar (Millet & Whittaker, 2015).

M proteini olgun virüslerin birleşmesi ve farklılaşması için önemlidir (Liang vd., 2019). N proteini, RNA genomuna boncuk benzeri bir şekilde bağlanarak sarmal simetriye sahip bir nükleokapsid oluşturur (Masters, 2006). CoV, reseptörüne bağlanmak ve hücre zarı füzyonuna ve viral girişe yardımcı olmak için nötrleştirici antikor 'ün temel amacı olan spike glikoproteinini (S) kullanır. Trimerik (düzeltici) S proteininin her monomerinin boyutu neredeyse 180 kDa'dır ayrıca belli bir dizilmeyle bağlanma ve hücre zarı geçirgenliğine yardımcı olan iki ana birim (S1 ve S2) içerir. Bu yapıda S1'in C- ve N-terminal kısımları, C-terminal alanı ve N-terminal alanı olmak üzere iki ayrı alana katlanır. Bağlı olduğu virüse göre N-terminal ve C-terminal alanları, algı demecilerine bağlanma alanları olacak biçimde işlev görebilir (Ou vd., 2020).

SARS-CoV-2 virüsünün hücre girişi, yaşamdaki döngüde önemli bir basamak, SARS-CoV-2 virüsünün yüzeyindeki spike proteininin S1 alt birimi, öncelikle insan akciğerlerinde bulunan hACE2 reseptörüne bağlanarak hücre içine giriş yapar. Protein S'nin konakçı proteazı tarafından parçalanması bir preparattır. Bu süreç, S1 ve S2 alt birimleri arasındaki arayüzde bölünmeye neden olur ve membran füzyon reaksiyonunu katalize eder (Öztürk vd., 2019). Viral zarfın ve konakçı hücre zarının füzyonunu sağlayan S2 alt birimi, hücre yüzeyindeki TMPRSS2 proteazı tarafından aktive edilen viral spike proteininin parçalara ayrılmasıyla etkinleşir. (Pehote & Vij, 2020). SARS-CoV-2'nin insanı (hACE2) reseptörü olarak kullandığı bildirilmektedir.

SARS-CoV ve SARS-CoV-2, Spike proteininin S1 alt birimi, insan anjiyotensin dönüştürücü enzim 2 (ACE2) reseptörünün hücre dışı kısmıyla birden fazla noktada güçlü etkileşimler kurar. Bu etkileşimler, S1 ve ACE2 proteinlerinin yapısal benzerlikleri sayesinde mümkün olmaktadır. (Pisoschi & Pop, 2015).

SARS-CoV-2'nin S proteininin, SARS-CoV ve RaTG13'ün S proteinleriyle sırasıyla % α ve % β oranında amino asit benzerliği göstermesine rağmen, SARS-CoV-2'nin reseptör bağlanma alanı, SARS-CoV'üne oldukça yakın bir amino asit dizisine sahip CoV. Bunun nedeni CoV ve RaTG13'ün sırasıyla t ve 1 ile yalnızca yaklaşık olarak homolog olmasıdır (Ou vd., 2020).

SARS-CoV-2 virüsü, akciğerlerin hava keseciklerini döşeyen hücreler (alveolar epitel hücreleri) ve kılcal damarların iç yüzeyini kaplayan hücreler tarafından yoğun bir şekilde ifade edilen ACE2 reseptörüne bağlanarak, hücre içine girer ve çoğalır. Bu durum, şiddetli solunum yetmezliğine neden olan bir enfeksiyon sürecini başlatır (Ou vd., 2020).

1.5.3 Korona Virüslerin Aile, Cins ve Tür Özellikleri Üzerine Bir İnceleme

Koronavirüsler, Coronaviridae familyasının Orthocoronaviridae alt familyasına ait virüslerdir (Kurtuluş & Pirim 2020). Buna dört virüs türü dahildir: alfa-koronavirüs (α CoV), beta-koronavirüs (β CoV), gamma-koronavirüs (γ CoV) ve delta-koronavirüs (δ CoV). Deltakoronavirüs (δ CoV), karşılaştığımız üç yeni koronavirüsten ilkidir ve 2002 yılında Uzak Doğu Asya'da ortaya çıkmıştır. Bunu bir yarasadan aldığına inanıyordu. Genel olarak SARS CoV, diğer soğuk algınlığı virüsleri gibi uzun ömürlü ve oldukça bulaşıcı bir RNA virüsüdür (Yücel & Görmez, 2019).

Salgının bir diğer nedeni olan MERS koronavirüsü ise 20 Eylül 2012'de Suudi Arabistan'da keşfedilmiş ve 26 ülkeye yayılmıştır. Tüm dünyayı etkileyen son koronavirüs SARS CoV-2'dir. 2019 yılında Çin Halk Cumhuriyeti'nin Wuhan Eyaletinde ortaya çıkmıştır (Bai vd., 2022). Bu virüs ilk olarak Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından “2019 Yeni Koronavirüs” (2019-nCoV) olarak adlandırılmıştır (Tanrıverdi vd., 2020).

Ancak bu virüsün genetik olarak SARS CoV-1 ve MERS CoV'ye benzer olduğunun belirlenmesinin ardından Uluslararası Virüs Taksonomisi Komitesi bu virüsü SARS-CoV-2 (Şiddetli Akut Solunum Sendromu Koronavirüs-2) olarak sınıflandırmıştır. Virüsün hızla yayılması nedeniyle, 11 Mart 2020 tarihinde Dünya Sağlık Örgütü tarafından “pandemi” olarak ilan edilmiş ve bu virüsle mücadele için dünya çapında tanı

ve aşı denemeleri hızlandırılmıştır (Walls vd., 2020a). Koronavirüs-2 transmisyon elektron mikroskobu kullanılarak gözlemlenmiştir. Çapın 60 ila 140 nm arasında değiştiği ve morfolojisinin Coronaviridae'nin diğer üyelerinkiyle tutarlı olduğu bulunmuştur (Yücel & Görmez, 2019). SARS-COV-2, helisel olarak simetrik kapsid yapısına ve pozitif polariteli tek sarmallı RNA genomuna sahip zarflı bir virüsüdür (Tanrıverdi vd., 2020). SARS-CoV-2, beta koronavirüsün ortak bir genomik organizasyonuna sahiptir. Bu virüsün yaklaşık 26-35 kb'lık tek sarmallı pozitif RNA genomuna sahip olduğu ve yaklaşık 27 proteini kodladığı bilinmektedir (Safiabadi vd., 2021). Genomu, her iki uca kodlamayan iki bölge, yapısal proteinler, yapısal olmayan protein (NSP) ve yardımcı proteinleri kodlayan birkaç bölge dahil olmak üzere toplam 14 fonksiyonel açık okuma çerçevesinden (ORF'ler) oluşur.

Virüsün fiziksel incelemesi, nükleokapsid proteini ve genomik RNA kombinasyonuna ek olarak, bu yapının viral kılıf proteini tarafından çevrildiğini ve bunun sonucunda sarmal simetriye sahip bir nükleokapsid yapısının oluştuğunu göstermektedir (Babaoğlu vd., 2020). Enfekte konakçıya seçici bir avantaj sağlayan dokuz aksesuar protein vardır (Bai vd., 2022). SARS CoV-2 proteini. Yapısal proteinler ve yapısal olmayan proteinler (NSP) olarak sınıflandırılırlar (Bai vd., 2022)..

Bu, membran ile virüs arasındaki füzyondan sorumlu olan kaplama proteinlerini (sivri uç, zarf, membran, hemaglutinin esterase), kapsid proteinlerini ve aksesuar proteinleri (ORF'ler) 'ü içerir (Walls vd., 2020b). S proteini iki fonksiyonel alt birimden oluşur. S1 alt birimi, konak hücre reseptörlerine bağlanır ve viral membran ile konak hücre membranının füzyonunu başlatır (Walls vd., 2020b).

Hücre yüzeyinde spike adı verilen çıkıntılı yapıları, S proteinlerinin homotrimerlerini oluşturur ve bu taç benzeri protein yapıları, koronavirüse adını verir (Tanrıverdi vd., 2020). E proteinleri ayrıca yağ kabarcıklarına benzeyen iyon kanallarının oluşumunda da rol oynar (Tanrıverdi vd., 2020). Bir transmembran proteini olarak E proteini, N-terminal hücre dışı alana ve C-terminal hücre içi alana sahiptir (Babaoğlu vd., 2020). Üç transmembran bölgesi vardır. Bu proteinin virion oluşumu, membran eğriliğinin arttırılması, nükleokapside bağlanarak virüs oluşumunda ve salınımında aktif rol oynaması gibi fonksiyonları vardır (Aylaz & Yıldız, 2020). Virüsün sialik asit içeren reseptörlere bağlanmasını sağlayan, viral zarf üzerinde bulunan bir proteindir. SARS-CoV-2'nin RNA genomuna bağlanarak genomunun yapısını şekillendirerek SARS-CoV-

2'nin RNA genomunu koruyan ve viral RNA'yı stabil tutan bir nükleokapsid proteinidir (Tanrıverdi vd., 2020).

Başka bir deyişle, RNA'ya bağlanarak viral replikasyon ve konakçı hücrenin viral enfeksiyona hücrel tepkisi üzerindeki etkilerini gösterir (Akdoğan & Karslıgil, 2021). Koronavirüs N proteini yüksek oranda korunmuş üç bölge içerir. Bu; bir N-terminal RNA bağlama alanı (NTD), bir C-terminal dimerizasyon alanı (CTD) ve bir merkezi Ser-Arg açısından zengin bağlantı bölgesidir. Genellikle protein işleme, viral RNA replikasyonu ve mRNA sentezi gibi önemli olaylarda rol alırlar (Durmaz vd., 2020). Ayrıca virüslerin, enfekte organizmanın bağışıklık sisteminden kaçmasına da yardımcı olurlar. Bu proteinlerden Nsp 1'den Nsp 16'ya kadar toplam 16 adet vardır. Nsp normalde viral RNA 'ün sentezi için gereklidir. Ayrıca konağın bağışıklık sistemini baskılamak, kesecikler oluşturmak ve hücrelerden yeni virüsler salmak gibi işlevlere de sahiptir (Aylaz & Yıldız, 2020).

Koronavirüsler zarflı, pozitif polariteli ve segmentsiz çok büyük virüslerdir. Helisel olarak simetrik morfolojiye sahip Virionların çapları neredeyse 125 ila 160 nanometredir. En mühim özelliği viryonun üzerinde bulunan spike proteinidir. Elektron mikroskobu altındaki özel görünümü isminin kökenidir (Fehr & Perlman, 2015). Viral genin 3' ucunda kodlanan dört yapısal protein (S, M, E, N) virionun temel bileşenleridir. Özellikle, yaklaşık 150 kDa olan spike proteini, viral giriş için esastır ve konakçı hücreler üzerindeki reseptörüne yapışmadan sorumludur (Fehr & Perlman, 2015). Bu protein, virüsün konakçıda hastalık oluşturma patojenitesini belirleyen başlıca faktörlerden biridir (Cavanagh, 2005). M proteini virionun en bol bulunan yapısal proteinidir ve yaklaşık 25-30 kDa molekül ağırlığına sahiptir. Virion 'ün kapsüllenmesindeki rolü nedeniyle oluşan şekle katılır (Armstrong vd., 1984). E proteini, yaklaşık 8-12 kDa molekül ağırlığına sahip, hidrofobik bir transmembran proteinidir. Bu proteinin virion birleşiminde ve/veya viral giriş sürecinde işlevi olduğu düşünülmektedir. (Nieto vd., 2014). -N proteini yalnızca nükleokapsid içinde yer alır fosfoprotein yapısına sahiptir ve kapsidinin RNA bağlanmasından, oluşumundan ve paketlenmesinden sorumludur. HE (Hemagglutinin esterase) proteini, betakoronavirüslerde bulunan yapısal bir proteinidir. Yüzey sialik asitleri reseptöre yapışmada rol oynar ve asetil esterase aktivitesi sergiler (Fehr & Perlman, 2015). Virion yapısında yapısal olmayan proteinler de mevcuttur ancak bunların fonksiyonları hala belirsizdir (Cavanagh, 2005). Pekçok koronavirüs hücrel algılayıcı olarak peptidazları kullanım sağlar. Bu proteinlerin enzimatik alanları eksik olduğunda

hücrelere viral giriş meydana geldiğinden, peptidazların neden kullanıldığı hala belirsizdir. Bilinen koronavirüs reseptörünün hücrelerine viral giriş tipik olarak füzyon yoluyla gerçekleşir. Virüs reseptörüne bağlandıktan sonra virüs, konakçı hücrenin sitozolüne ulaşır ve S proteini, katepsin, TMPRRS2 veya başka bir proteaz tarafından aktive edilir. Daha sonra enfekte hücrelerin sitoplazmasında virüsün replikasyonu meydana gelir ve olgun virionlar kesecik içerisinde hücre yüzeyine taşınarak ekzositozla salınır (Fehr & Perlman, 2015).

2002 SARS salgını öncesinde, insanlarda etkili olan numaralı koronavirüs türleri hakkında çok az şey biliniyordu. Ancak hayvanda etkili olan koronavirüsün bir süredir olduğu biliniyor. Örneğin, kuş bulaşıcı bronşit virüsü (IBV) ve kedi bulaşıcı peritonit virüsü (FIPV), 20. yüzyıldan beri bilinmektedir. İnsanları etkileyen koronavirüslere ilişkin deneysel çalışma ve epidemiyolojik gözlem, insanları etkileyen koronavirüsün kontrolü ve aşı üretimine yönelik araştırmalara yönelik önemli ilerlemeleri temsil edebilir. Son zamanlarda domuzlarda etkili olan iki tip koronavirüs ortaya çıkmıştır. Domuz Salgın İshal Virüsü (PEDV) ve Şiddetli Akut İshal Sendromu Virüsü (SADS-CoV) , yarasalarda dolaşan virüslerden türetilir. Yine bir alfa-koronavirüs olan bulaşıcı domuz gastroenterit virüsünün (TGEV) büyük olasılıkla köpek koronavirüsünden (CCoV) türetildiği iddia edilmiştir. Domuz hemagglütinasyon ensefalomyelit virüsü 'ün (PHEV) sığır koronavirüsü (BCoV) 'e dönüştüğü, yarasalarda aktif olan virüs 'ün ise kemirgenlerin ara konakçı olarak kullanıldığı sığırlara bulaştığı belirtilmiştir (Decaro vd., 2020). Son zamanlarda Kuzey Amerika ve Asya'da şiddetli ishal salgınlarına neden olan domuz delta koronavirüsünün (PDCoV), kümes hayvanı delta koronavirüsünden türetildiği bildirilmiştir (Wang vd., 2020). Köpek koronavirüsü (CCoV), esas olarak gastrointestinal sistemi etkileyen bir patojen olarak bilinmektedir ancak son yıllarda sistemik enfeksiyona neden olan yeni bir pantropikal varyantın ortaya çıktığı rapor edilmiştir (Licitra vd., 2014).

Hayvanları etkileyen koronavirüsler orta yaş grubunun tamamını etkileyebilir; en çok etkilenen yaş grubu yenidoğanlardır. Enfeksiyon (virüs türüne bağlı olarak) genellikle damlacık yoluyla bulaşma, kontamine yem veya materyallerle temas, dışkı ve enfekte bireylerin kontrolsüz hareketi yoluyla meydana gelir. Keşfedildiği 1930'lu yıllardan bu yana hızla dünyaya yayılma özelliğine sahiptir. Örneğin IBV ve PEDV, ilk keşiflerinden bu yana kısa sürede tüm kıtalara yaymayı başardılar. Yine bu virüslerin doğadaki devamlılığı göz önüne alındığında, bu virüslerin diğer konakçıları etkileme ve

onlara uyum sağlama yeteneği Coronaviridae ailesinin önemli bir özelliği gibi görünmektedir. Benzer şekilde, ana bilgisayarını değiştirmeden aynı ana bilgisayar içindeki farklı sistemlere bulaşabilen (CCoV'ler) farklı varyantlarını oluşturma yeteneği, bu virüslere muazzam bir gücü verir (Licitra vd., 2014).

SARS, MERS ve COVID-19 salgılarından önce koronavirüslerin insanlarda ciddi salgınlara neden olduğu bilinmiyordu ancak veteriner hekimler hayvanlarda ölümcül enfeksiyon olasılığını araştırıyor. Zoonotik potansiyele sahip koronavirüslerin patojenezi ve yaşam döngüsünün daha iyi anlaşılması için hayvan modelleri üzerindeki karşılaştırmalı çalışmaların yapılması, SARS benzeri hastalıklara yönelik etkili tedavi ve önleme stratejilerinin geliştirilmesinde kritik öneme sahiptir (Decaro vd., 2020).

Doğrulanmış insan koronavirüs vakasından enfekte kişi veya toplumlarla doğrudan veya dolaylı bağlantısı olduğu gözlemlenmiştir. Damlacık bulaşması ve hastalarla doğrudan temas, en olası bulaşma yolları olarak kabul edilmektedir. Kontrolsüz enfeksiyon ve yayılma durumlarında "süper yayıcı" özellikle vurgulanıyor. Bu enfekte bireyler virüsü ülkeler, bölgeler ve kıtalar arasında kontrolsüz bir şekilde yaymaktadır (Hilgenfeld & Peiris, 2013). SARS üzerinde yapılan araştırma sonuçlarına göre serolojik testler, Çin'deki canlı hayvan pazarları ile ilişkili SARS-CoV salgını öncesinde, bazı bireylerde subklinik enfeksiyon olduğu ve bu kişilerin virüs rezervuarı olarak görev yaptıkları tespit edilmiştir. Bu bulgular, yakından ilişkili virüslerin bu pazarlarda birkaç yıldır dolaşımında olduğu ve sonuçta salgını birçok farklı faktörün etkisiyle şekillendirip yaydığı olasılığını artırmaktadır (Fehr & Perlman, 2015).

2012'de Suudi Arabistan'ın Cidde kentinde başlayan Orta Doğu Solunum Sendromu (MERS) salgını, 2015 yılı sonunda itibarıyla 1621 doğrulanmış vaka ve 584 ölümlle sonuçlanmıştır. Bu salgına neden olan virüs, Orta Doğu Solunum Sendromu Koronavirüsü (MERS-CoV) olarak adlandırılmaktadır. İnsanlarda solunum yolu enfeksiyonlarına neden olan diğer koronavirüs türleri arasında HCoV-229E (alfa-koronavirüs), HCoV-OC43 (alfa-koronavirüs) ve HCoV-NL63 (alfa-koronavirüs) sayılabilir. Bu virüsler sırasıyla 1966, 1967 ve 2004 yıllarında farklı coğrafyalarda ilk kez tanımlanmıştır ve günümüzde dünya genelinde yaygın olarak görülmektedir. HCoV-HKU1 (beta-koronavirüs) ise 2005 yılında Hong Kong'da keşfedilmiş ve daha sınırlı bir coğrafi dağılıma sahipken, zamanla dünya genelinde yaygınlaşma göstermiştir (Fehr & Perlman, 2015).

1.6 Enzimler

Enerji, evrenin doğuşundan günümüze kadar tüm fiziksel ve kimyasal reaksiyonlarda gözlemlenmekte ve bu reaksiyonları mümkün kılan olgu olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu enerji, mikrokozmostaki atomların titreşimlerinden makrokozmostaki patlayan yıldızlara kadar aşırı ölçeklerde mevcuttur. Ancak enerjiyi gözlemlemenin en iyi yolu canlı organizmalarda olabilir. Canlılar homeostazisini (vücut dengesini), yani canlılığını koruyabilmek için çeşitli biyokimyasal reaksiyonlara neden olarak hayatta kalmaya çalışırlar. Bu reaksiyonların tümüne vücutta meydana gelen tüm üretim ve yıkım süreçlerini kapsayan metabolizma adı verilmektedir. Çoğu metabolik aktivite homeostaziyi sürdürmek için enerji gerektirir. Bu ihtiyacı karşılamak için şu ana kadar esasen dört farklı yöntem tanımlanmıştır: fotofosforilasyon, oksidatif fosforilasyon, substrat düzeyinde fosforilasyon ve kimyasal fosforilasyon. Enerjiyi farklı şekillerde üretmeler de hepsinin çalışabilmesi için gerekli olan ortak bir yanı vardır. Enzimler, günümüzde doğada meydana gelen reaksiyonları önemli ölçüde daha kısa sürede ve önemli ölçüde daha düşük enerji gereksinimleriyle gerçekleştiren, esas olarak proteinlerden oluşan fonksiyonel biyokatalizörlerdir. Katalizör "hızlandırıcı" anlamına gelir ve enzimler düşük enerjili reaksiyonlara neden oldukları için bu adı alırlar. Bunlar sıklıkla birbirinin yerine kullanılsa da aslında aynı anlama gelmemektedir. Bütün enzimler katalizördür. Ancak tüm katalizörlerin enzim olması gerekmez. Bu nedenle "katalizör" daha genel bir terim, "enzim" ise daha dar bir terimdir (Şener & Yalçın, 2003).

Enzim ve katalizör arasındaki fark Enzim: Organik bir biyokatalizördür. Bunlar yüksek moleküler ağırlıklı küresel proteinler içerir. Bu nedenle moleküler ağırlığı daha yüksektir. Bilinen tüm enzimler katalizördür. Enzim reaksiyon hızı artmaktadır. Kimyasal reaksiyonların hızını artırır ve substratları ürünlere dönüştürür. Oldukça uzmandırlar ve büyük miktarlarda yüksek kalitede hurda üretirler. Karbon-karbon (C-C) ve karbon-hidrojen (C-H) bağları içerir. Enzimlerin iki genel türü vardır: aktive edici enzimler ve baskılayıcı enzimler. Bunun örnekleri lipaz ve amilaz enzimleridir. (Şener & Yalçın, 2003).

Katalizör: Tüm ilanı kapat İnorganik bir yapıya sahiptir. Düşük moleküler ağırlıktır. Katalizörlerin hepsi enzim değildir. Katalizör reaksiyon hızı normalden yavaştır. Bir kimyasal reaksiyonun hızını artırabilir veya azaltabilir. Karbon-karbon (C-C) ve karbon-hidrojen (C-H) bağları dahil değildir. Bunlar özel değildir ve kusurlu/hasarlı kalıntılarla sonuçlanabilir. İki genel katalizör türü vardır: pozitif katalizörler ve negatif

katalizörler. Bir örnek vanadyum oksitir enziminin bir diğer önemli özelliği reaksiyon sonrasında tekrar kullanılabilmesidir. Bu tür özellikler, hücrel evrimin moleküler düzeyde ekonomisinin bir örneği olarak açıklanabilir (Hinchliffe, 2003).

1.6.1 Enzim İnhibisyonu

Enzimler, aktivitelerini artıran veya azaltan diğer moleküller tarafından düzenlenebilir. Enzim aktivitesini artıran moleküllere aktivatör, enzim aktivitesini azaltan moleküllere ise inhibitör adı verilir. Enzim fonksiyonunu inhibe eden veya destekleyen birçok molekül türü vardır ve bunlar enzim fonksiyonunu farklı şekillerde etkiler. Rekabetçi ve Rekabetçi Olmayan İyi çalışılmış birçok durumda, aktivatörlerin veya inhibitörlerin bağlanmasının tersine çevrilebilir olduğu bulunmuştur. Yani molekül enzime kalıcı olarak bağlanmaz. Birkaç önemli ilaç sınıfı geri dönüşümlü inhibitör görevi görür. Örneğin HIV tedavisinde kullanılan tipranavir geri dönüşümlü bir inhibitördür (Brock, 2016).

Tipranavir, virüslerin kendilerinin kopyalarını oluşturmaları sağlayan viral bir enzimin aktivitesini bloke eder. Tersinir inhibitörler bağlanma davranışlarına göre gruplara ayrılır. Rekabetçi ve rekabetçi olmayan inhibitörler; İnhibitörler, bir enzimin aktif bölgesine bağlanarak substrat bağlanmasını önleyebilir. Buna rekabetçi inhibisyon denir çünkü inhibitör, enzimin substratı ile "rekabet eder". Bu rekabet, inhibitörlerden veya substratlardan yalnızca birinin enzime belirli bir aralıkta bağlanabilmesi nedeniyle oluşur. Rekabetçi olmayan inhibisyonda inhibitör, substratın aktif bölgeye bağlanmasını engellemez. Bunun yerine başka bir bölgeye bağlanarak enzimin çalışmasını engeller. Bu tip inhibisyona "rekabetçi olmayan" denir çünkü inhibitör ve substrat enzime aynı süre içinde bağlanabilir (Hinchliffe, 2003).

1.6.2 Kofaktörler ve Koenzimler

Çoğu enzim, kofaktör adı verilen protein olmayan yardımcı moleküllere bağlanmadıkça en iyi şekilde veya hiç çalışmaz. Enzimlere geçici olarak iyonik veya hidrojen bağları yoluyla veya kalıcı olarak daha güçlü kovalent bağlarla bağlanabilirler. Demir (Fe) ve magnezyum (Mg) gibi inorganik iyonlar ortak kofaktörlerdir. Örneğin, DNA moleküllerini oluşturan enzim olan DNA polimerazın, işlevini yerine getirebilmesi için magnezyum iyonlarına ihtiyacı vardır (Berg vd., 2002). Koenzimler, organik (karbon bazlı) kofaktör moleküllerin bir alt grubudur. Koenzimlerin en yaygın kaynakları vitaminlerdir. Bazı vitaminler koenzim öncüleridir, bazıları ise doğrudan koenzim görevi

görür. Örneğin C vitamini, bağ dokusunun önemli bileşenleri olan kolajen proteinlerini oluşturan birçok enzimin koenzimidir. Bölümlere ayrılmıştır ve işlevlerini yerine getirdikleri organeller gibi hücrenin belirli kısımlarında depolanırlar. Bölümlendirme sayesinde belirli bir işlem için ihtiyaç duyulan enzimler, işlevlerini yerine getirdikleri yerde kalır. Bu nedenle enzimler substratları kolaylıkla bulur, hücrelere zarar vermez ve enzim eylemi için gerekli mikro çevreye sahiptir (Cooper & Hausman 2000).

Örneğin, lizozomlardaki sindirim enzimlerinin en iyi şekilde çalıştığı pH yaklaşık olarak (5'dir. Bu nedenle, bu enzimler lizozomların asidik iç kısmında bulunur (ancak pH'ın yaklaşık (7) olduğu sitozolde değil). Lizozomal enzimlerin etkinliği sitozolik pH'ta daha düşüktür. Bu durum hücrelerin "hayat sigortası" olarak yorumlanabilir. Lizozomlar parçalanıp enzimleri dağıtsalar bile, işlevleri için gerekli pH'a sahip olmadıkları için hücreyi sindirmeye başlayamazlar (Berg vd., 2002).

1.6.3 ACE2 Proteini

SARS-CoV-2 virüsünün genomu yaklaşık 29.900 nükleotit uzunluğundadır. Bu virüsün genetik materyali, diğer koronavirüslerle yüksek düzeyde benzerlik göstermektedir. Özellikle, SARS-CoV-2, SARS-CoV ile nükleotid düzeyinde yüksek bir benzerlik paylaşırken, MERS-CoV ile bu benzerlik daha düşüktür. Bu durum, SARS-CoV-2'nin SARS-CoV'e daha yakın filogenetik bir konumda olduğunu göstermektedir. Ayrıca, virüsün genomunda bulunan ve viral çoğalmada önemli rol oynayan ORF1ab bölgesi, SARS-CoV'deki karşılığıyla yüksek oranda korunmuş amino asit dizilerine sahiptir bu da bu virüslerin aynı türe ait olduğunu ima eder (Jorgensen, 2004). ACE2 membrana bağlı bir aminopeptidazdır. ACE2 enziminin, fizyolojik açıdan önemli iki farklı mekanizma yoluyla kardiyovasküler ve bağışıklık sistemlerini etkilemede rol oynadığı gösterilmiştir. Anjiyotensin dönüştürücü enzim 2 (ACE2), damarları genişleten peptitlerin (örneğin anjiyotensin I) oluşumunu hızlandırır ve böylece damarları daraltan güçlü bir peptit olan anjiyotensin II'nin etkilerini dengelemeye yardımcı olur. ACE2'nin SARS'a neden olan koronavirüs için işlevsel bir reseptör olduğu bulunmuştur. SARS'ın ana etken maddesi olan Koronavirüs (SARS-CoV), hücre dışı enzimlere bağlandıktan sonra membran füzyonu yoluyla akciğer endotel hücrelerine sirayet eder. Bu birlikteliğe SARS-CoV spike proteini yardım etmektedir (Eskici vd., 2013). COVID19'un hücrelere tamamen nüfuz edebilmesi için TMPRSS2 adında bir proteaz tarafından bir spike proteini oluşturulur. ACE2 enzimi, viral reseptörün hücresel ligandlara bağlanması için gereklidir ve TMPRSS2 proteaz, viral aktivasyon için gereklidir (Meireles vd.,2011).

Anjiyotensin dönüştürücü enzim 2 (ACE2) akciğerler, arterler, kalp, böbrekler ve bağırsaklardaki hücrelerin dış yüzeyine (hücre zarı) bağlanan bir enzimdir (Weiss & Leibowitz, 2011). ACE2, vazokonstriktör anjiyotensin II hormonunun anjiyotensine hidrolizini teşvik ederek kan basıncını düşürür (Morris, & Wilby. 2008). Ek olarak ACE2, bazı koronavirüsler için hücrelere giriş noktası görevi görür. Bu enzimin insan versiyonuna hACE2 adı verilir. ACE2, anjiyotensin II miktarını azaltarak ve anjiyotensini artırarak anjiyotensin dönüştürücü enzimin (ACE) aktivitesini etkisiz hale getirir. Bu nedenle, kardiyovasküler hastalıkların tedavisi için umut verici bir ilaç hedefi haline gelmiştir.

Anjiyotensin dönüştürücü enzim 2, endotel hücrelerinin ve diğer hücrelerin yüzeyinde bulunan çinko içeren bir metaloenzimdir. ACE2 proteini, bir N-terminal peptidaz M2 alanını ve bir C-terminal kollekrin böbrek amino asit taşıyıcı alanını içerir. ACE2, akciğer ve diğer organ dokularının hücre yüzeyi üzerinde enzimatik olarak aktif bir alana sahip bir tip I tek geçişli membran proteinidir. ACE2'nin hücre dışı alanı, şeddaz adı verilen başka bir enzim tarafından transmembran alanından ayrılır. Ortaya çıkan çözünür protein kan dolaşımına salınır ve idrarla atılır (Zomot vd., 2015).

ACE2'nin birçok organda mevcut olduğu bilinmektedir. ACE2'nin ana bağlanma bölgeleri, akciğerlerdeki alveoler epitel hücrelerinin hücre zarları, ince bağırsaktaki enterositler, arterler ve damarlardaki endotel hücreleri ve birçok organdaki arteriyel düz kas hücreleridir. Ek olarak ACE2 mRNA serebral korteks, striatum, hipotalamus ve beyin sapında da mevcuttur. Misyonu ACE2'nin temel görevi ACE'ye karşı ağırlık görevi görmektir. ACE enzimi, anjiyotensin I hormonunu vazokonstriktör anjiyotensin II'ye parçalar. ACE2 daha sonra karboksil terminal amino asit fenilalanini anjiyotensin II'den ayırır ve vazodilatör anjiyotensini oluşturmak için onu hidrolize eder. Ek olarak ACE2 birçok başka peptidi (bradikinin, apelin, nörotensin, dinorfin A ve ghrelin peptidleri) parçalayabilir. ACE2 ayrıca nötr amino asit taşıyıcısı SLC6A19'un membran trafiğini de düzenler ve Hartnup hastalığında rol oynar (Ganesan vd., 2017) Bilinen ilk insan ACE homologu olan ACE2, Donoghue ve arkadaşları tarafından keşfedilen metaloproteaz aktivitesine sahip bir transmembran proteinidir. ACE ve ACE2, benzer oranlarda amino asit dizisi B'ye sahiptir ve her iki, anjiyotensin 1 (Ang1) üzerinde etkiler sergiler. Dipeptidaz ACE, Ang1'i anjiyotensin 2 (Ang2) 'e dönüştürür ve karboksipeptidaz ACE2, Ang1'i anjiyotensin Ang ve Ang2'yi anjiyotensin 'e dönüştürür (Gur vd., 2020).

Sonuç olarak ACE tarafından üretilen Ang2, ACE2 tarafından katalize edilerek anjiyotensin metabolizmasını düzenler. Farelerde yapılan ilk çalışmalarda ACE2'nin eksprese edildiği ana dokuların testis, böbrek ve kalp olduğu bulunmuştur (Borhani vd., 2012).

İnsan çalışmaları karaciğerde, akciğerlerde, gastrointestinal sistemde ve diğer birçok yapıda ACE2 ekspresyonunu göstermiştir. ACE2'nin ana fizyolojik işlevi bir vazokonstriktör olan Ang2'dir. Ang bir vazodilatör, anti-fibrotik ve anti-inflamatuar peptid olduğundan, bu proteinin kardiyovasküler sistem üzerindeki etkileri merak konusu olmuştur (Meng vd.,2020).

ACE2 geninin baskılandığı farelerde yapılan çalışmalarda kalp kontraktilesinde kusurlar bulunmuştur (Gebhard vd.,2020). Miyokard enfarktüsünden sonra insan ve fare kalplerinde ACE2 ekspresyonunun arttığı ve artan kardiyak ACE2 ekspresyonunun kalp fonksiyonunu koruduğu, sol ventrikül duvarının hareketini ve kasılmasını ve sol ventrikül duvarının incelmelerini sağlayarak kardiyoprotektif etkilerle sonuçlandığı gösterilmiştir. Miyokard enfarktüsü sırasında ventriküler duvarın hafifletilmesi Reseptör olarak ACE2 SARS-CoV salgını sırasında hastalığın patofizyolojisi üzerine yapılan çalışmalarda, virüsün hücrelere ACE2 aracılığıyla girdiği bulunmuştur. ACE2 ekspresyonu azalmış farelerde virüs enfeksiyonu riskinin azaldığı görülmüştür (Taneja, 2018). Bu sonuç, ACE2 varlığının SARS için gerekli olduğunu göstermektedir. Virüs bağlanması, hücre yüzeyi ACE2 ifadesini azaltır. Bu azalma hücre içinde Ang2'nin Ange dönüşümünü azaltır ve Ang2 miktarını artırır (Straub, 2007).

1.6.4 ACE2'nin Kardiyovasküler ve Solunum Sistemlerindeki Rolü

Bilinen ilk insan ACE homologu olan ACE2, Donoghue ve arkadaşları tarafından keşfedilen metaloproteaz aktivitesine sahip bir transmembran proteindir. ACE ve ACE2, benzer oranlarda amino asit dizisi B'ye sahiptir ve her iki, anjiyotensin 1 (Ang1) üzerinde etkiler sergiler. Dipeptidaz ACE, Ang1'i anjiyotensin 2 (Ang2) 'e dönüştürür ve karboksipeptidaz ACE2, Ang1'i anjiyotensin Ang ve Ang2'yi anjiyotensin 'e dönüştürür (Gur vd., 2020).

Sonuç olarak ACE tarafından üretilen Ang2, ACE2 tarafından katalize edilerek anjiyotensin metabolizmasını düzenler. Farelerde yapılan ilk çalışmalarda ACE2'nin eksprese edildiği ana dokuların testis, böbrek ve kalp olduğu bulunmuştur (Borhani vd., 2012).

1.6.5 ACE2'nin Korona Virüs ile Etkileşimi ve Virüs Giriş Mekanizması

SARS-CoV-2 virüsü, lipid zarfı içerisinde yer alan ve "spike" olarak adlandırılan bir glikoprotein taşımaktadır. Bu spike proteini, virüsün konakçı hücrelere bağlanması ve içeri girmesi için hayati öneme sahiptir. Spike proteininin S1 ve S2 olmak üzere iki temel alt birimi bulunmaktadır. S1 alt birimi, hedef hücrelerin yüzeyinde bulunan anjiyotensin dönüştürücü enzim 2 (ACE2) reseptörüne özgül olarak bağlanır. Bu bağlanma olayı, virüsün hücre zarına tutunmasını sağlar. Daha sonra, S2 alt birimi aracılığıyla virüs zarı ile hücre zarı birleşir ve virüs genetik materyalini hücre içine bırakır. Transmembran serin proteaz 2 (TMPRSS2) adlı bir konakçı enzimi, SARS-CoV-2 virüsünün hücrelere girişini kolaylaştırıcı bir rol oynar. Bu nedenle viral enfeksiyon için TMPRSS2 ve ACE-2 gereklidir. ACE-2, SARS-CoV-2 ve diğer koronavirüslerin hücre uyarıcısı ve tip 2 alveolar epitel hücreleri ve endotel üzerinde eksprese edilir. Koronavirüslerin yüzeyinde bulunan S (spike) glikoproteini, konakçı hücrelerin yüzeyinde yer alan ACE2 adı verilen bir proteine bağlanır. Bu bağlanma, S proteininin yapısında bir değişikliğe (konformasyonel değişim) neden olur. Bu değişim sonucunda, hücre içindeki TMPRSS2 adlı bir proteaz enzimi, S proteinini belirli bölgelerden keserek (proteolitik sindirim) virüsün hücre zarına daha kolay birleşmesini sağlar. Bu sayede virüs, hücre içine girerek çoğalmaya başlar. Bu süreç, virüsün yaşam döngüsü için kritik bir adımdır. S proteinine ve bu etkileşime aracılık eden ACE2 ve TMPRSS2 proteinlerine yönelik geliştirilecek ilaçlar, COVID-19 gibi koronavirüs enfeksiyonlarının tedavisi ve önlenmesi için potansiyel tedavi hedefleri olarak değerlendirilmektedir ve sonuçta 8 virionunun içselleştirilmesine yol açar. Viral glikoproteinler TMPRSS2 ve ACE-2 'ün inhibisyonu, terapötik ve aşı geliştirme için potansiyel bir hedef olabilir (Kayaalp, 2012).

1.6.6 ACE2'nin Kardiyovasküler ve Solunum Sistemleri Üzerindeki Etkileri

Yedi tip koronavirüsün insanlarda enfeksiyonlara neden olduğu biliniyor; bunlardan dördü çoğunlukla hafif semptomlara neden olurken, geri kalan üçü potansiyel olarak ölümcül hastalıklara (SARS, MERS, mevcut yeni koronavirüs enfeksiyonu19) neden olabilir. Yeni Koronavirüs Hastalığı (COVID-19) Bu, çok hızlı yayılan ve semptomatik olduğunda genellikle akut solunum sıkıntısı sendromu veya fulminan pnömoninin eşlik ettiği ölümcül bir hastalıktır. Bu hastalık, enfekte bir kişinin öksürmesi, hapşırması veya konuşması sırasında havaya yayılan damlacıklar yoluyla bulaşır. Enfeksiyon, enfekte yüzeyler veya mukozalarla temas sonrasında da meydana gelebilir. Virüsün vücuda girmesinden üç ila yedi gün sonra insanlarda ateş, öksürük, yorgunluk,

kas ağrıları, baş ağrısı, karın ağrısı, ishal ve nefes darlığı geliyor. Enfeksiyonlu hastalarda tomografide geniş filtrasyon alanları görülebilir. Ancak hastada önceden var olan diğer solunum yolu hastalıklarının veya enfeksiyonlarının ve kalp-damar hastalığının varlığı, bu hastalık için önemli risk faktörleri olup, önemli komplikasyonların gelişme riskini artırır ve COVID-19 ve Altta yatan kalp-damar hastalıkları riskini azaltır (Bernardi vd., 2015).

1.6.7 ACE2'nin COVID 19 Üzerindeki Potansiyel Rolü

SARS-CoV-2 dünya genelinde hızla yayılmaya devam etmektedir. Yapılan çalışmalarda, COVID-19 enfeksi- olan erkeklerin karşı cinslerine nazaran daha şiddetli semptomlar gösterdiği, yaşlı popülasyonunda COVID19'dan ölüm riskinin gençlere nazaran daha yüksek olduğu bildirilmiştir. SARS-CoV-2, anjiyotensin dönüştürücü enzim tip 2 (ACE-2) reseptörü ve transmembran serin proteaz 2 (TMPRSS2) reseptörü yöntemiyle hücreye girer (Van Drie, 2007).

1.7 Moleküler Docking

Moleküler modelleme alanında kenetlenme, bir molekülün ikinci bir moleküle bağlanarak stabil bir kompleks oluşturduğunda tercih edilen yönelimini tahmin etmeye yönelik bir yöntemdir. Tercih edilen yönelim bilgisi, iki molekül arasındaki ilişkiyi veya bağlanma afinitesini tahmin etmek için kullanılabilir. Küçük moleküllü bir ligandın (yeşil) ve bir protein hedefinin (siyah) stabil bir kompleks oluşturmak üzere kenetlenmesini gösteren şematik diyagram. Küçük moleküllerin (yeşil) β -2-adrenerjik G-protein bağlı reseptörün kristal yapısına bağlanması (PDB: 7U0N) Proteinler ve peptitler, nükleik asitler, karbonhidratlar ve lipidler gibi biyolojik olarak ilgili moleküller arasındaki etkileşimler sinyal iletiminde merkezi bir rol oynar. Ayrıca, etkileşim halindeki iki ortağın göreceli yönelimi, üretilen sinyalin tipini etkileyebilir; agonizm ve antagonizma). Bu nedenle yerleştirme, üretilen sinyalin hem gücünü hem de türünü tahmin etmek için kullanışlıdır. Moleküler yerleştirme, yapı bazlı ilaç tasarımı en yaygın kullanılan yöntemlerden biridir çünkü küçük molekül ligandlarının karşılık gelen hedef bağlanma bölgelerine bağlanma konformasyonunun tahmin edilmesine olanak tanır. Bağlanma davranışının karakterizasyonu, akılcı ilaç geliştirmede ve temel biyokimyasal süreçlerin aydınlatılmasında önemli bir rol oynar (Gur vd., 2020).

Proteinler arasındaki etkileşimler canlı organizmaların fizyolojik fonksiyonlarında önemli rol oynar. Moleküler hastalık yollarındaki yeni keşifler, tek

enzimler/proteinler içindeki aktif bölgeleri hedef alan ilaçlar yerine, bu hastalık yolları boyunca protein-protein etkileşimlerini modüle etmeyi amaçlayan ilaçların geliştirilmesine ilginin artmasına neden olmuştur. Laboratuvar, protein- etkileşim mekanizmalarını ve ligand/protein bağlanma modeli değişikliklerinin bir sonucu olarak protein yapısını/dinamiklerini/fonksiyonunu incelemek için hesaplamalı bir ortamda gerçekleştirilen hesaplamalı modelleme tekniklerini ve istatistiksel mekanik/termodinamikleri kullanılmaktadır. Modelleme yoluyla elde edilen protein-etkileşimlerinin mekanizmaları ve etkileri hakkında önemli ve kritik bilgiler, protein-etkileşimlerini önleyen veya inhibe eden ilaçların geliştirilmesi ve tasarımı için önemli ve gereklidir. Laboratuvarlarda bu amaçla in silico ilaç keşfi yapılmaktadır. Protein-etkileşimlerini anlamak ve ilaç/peptit tasarımını gerçekleştirmek için laboratuvarlardan Bilgi İşlem Ortamı Modeli [GNM] ve Anizotropik Ağ Modeli [ANM] kullanılarak gerçekleştirilir (Malinauskas, 2008).

1.8 ADME Özellikleri

Tek bir yeni ilacın Ar-Ge süresi 12 ila 24 yıl arasında değişmektedir. Ayrıca birçok pahalı ve uzun vadeli ilaç geliştirme çalışmasının, ilaç Ar-Ge çalışmaları sonucunda tamamen başarısızlığa uğradığı da bilinmektedir. İlaç araştırmaları uzun zaman alır. Etkinliği kısa süreli ve başarısızlık riski yüksek olsa bile, çok ciddi hastalıkları olan milyonlarca insana fayda sağlayan ilaçların keşfi, yeni ilaç geliştirme araştırmalarında yer alan araştırmacılar için sürekli bir motivasyondur. Molekülü ve yeni bir ilaç olarak ilaç pazarına sunulması, aşamasına kadar birçok aşamada yeni ilaç geliştirme sürecinde rol oynayabilmektedir (Kayaalp, 2012)..

Bu dönemde bireysel ve ekip araştırma ve planlamasını gerektiren yoğun bir çabanın olduğu bilinmektedir. Geliştirilen bileşiklerin çoğu bu şekilde gerçekleştirilebilmektedir. Klinik olarak test edilmiş ilaç içermez Bunun nedenleri:

- ❖ Karmaşık hastalıklar
- ❖ Maliyet
- ❖ Düşük seçicilik
- ❖ Kötü emilim
- ❖ Düşük vücut konsantrasyonu

- ❖ Yetersiz aktivite
- ❖ stabilite eksikliği
- ❖ Sentezinin pratik olmaması

Araştırma aşamasını geçmiş potansiyel ilaçlar durdurulabilir. Bir ilaç bilimsel olarak çalışılıp tamamlansa bile, bu ilaca harcanan onca paraya ve araştırma zamanına rağmen yıllar sonra dünyaya sunulmayabilir (Kayaalp, 2012).

1.9 Metabolizmayı Etkileyen Faktörler: Genetik Varyasyonlar, Enzim İndüksiyonu ve İnhibisyonu

İlaçların vücut üzerindeki etkileri çeşitli faktörlere bağlı olarak değişmektedir. Bu faktörün bazıları, diferansiyel farmakokinetik yoluyla ilacın etki bölgesindeki konsantrasyonunu değiştirir. Etkideki değişiklik buna bağlıdır. Diğer birçok faktör, ilacın farmakokinetiğini değiştirmeden hedef organların veya hücrelerin yanıtını değiştirir. Reseptörleri radyoligand bağlama yöntemleriyle etiketleyerek dokulardaki bolluklarını (yoğunluklarını) ve afinitelerini ölçmek mümkündür, böylece dokulardaki bolluklarını (yoğunluklarını) ve afinitelerini belirlemek mümkündür; bu, etkiyi değiştiren çeşitli faktörlerin ilişkili olduğunu gösterir. Reseptörlerin bu parametreleri (özellikle dokulardaki reseptörlerin sıklığını) etkilediği yakın zamanda anlaşılmıştır. Klinik uygulamada akılcı ve uygun tedaviyi sağlamak için ilacın etkisini etkileyen faktörlerin akılda tutulması, bu faktörlerin hastada mevcut olup olmadığının araştırılması ve hastanın durumuna göre dozajın ayarlanması gerekmektedir (Kayaalp, 2012). 2000).

Aşağıda listelenen ilaçların etkisini değiştiren çeşitli önemdeki faktörlerden bahsetmeden önce belirtmek gerekir. Söz konusu faktörlerin bazıları birbirinden bağımsız değildir. Bir faktör bir veya daha fazla faktörü etkileyebilir (Kayaalp, 2012).

Vücut Ağırlığı; Dağılım Hacmi Vücut ağırlığı (boy), ilacın dağıldığı vücut sıvısı bölümlerinin ve dokularının hacmini yansıtır. Bu hacimlerin boyutuna bağlı olarak ilacın kandaki veya etki bölgesindeki dağılım bölgesindeki konsantrasyonu değişecektir (Kayaalp, 2012).

Yaş İlaçların etkilerinin yaşla birlikte değişmesi, esas olarak vücut büyüklüğündeki yaşa bağlı farklılıklardan, kısmen de ilacın vücuttan atılma oranının yaşla birlikte değişmesinden kaynaklanmaktadır. Bu, "ekstrem" yaşlarda (yenidoğanlarda, bebeklerde ve yaşlı yetişkinde) belirgindir. Karaciğer ve böbrek gibi boşaltım organlarının yanı sıra

diğer organ hastalıklarında da ilaçların etkileri etkilenebilmektedir. Bu nedenle bazı ilacın etkileri normal bireyler ile belirli hastalıklara sahip kişiler arasında niteliksel ve/veya niceliksel olarak farklılık gösterebilir. Örneğin; trisiklik antidepresanlar normal insanlarda her zaman sedasyona neden olurken, endojen depresyonlu hastalarda birkaç haftalık kullanımdan sonra psikolojik ajitasyona neden olur (Kayaalp, 2012).

1.10 Eliminasyon Süreçlerini Etkileyen Faktörler: İlaç Dozu, Yaş, Böbrek ve Karaciğer Fonksiyonları

İlaç dozajı ile organizma yanıt arasındaki ilişki farmakolojide önemli bir konudur. Klinik farmakoloji, ilaçların akılcı kullanımını ve reçetelenmesini amaçlayan bir disiplindir. Akılcı ilaç kullanımının ilk adımı doğru tanının konulmasıdır. Uygun ilacın seçilmesi ve istenilen dozda, doğru yoldan, yeterli sürede uygulanmasının planlanması çok önemlidir. Tedavi başarısı değerlendirilmeli, yan etkiler ve hasta uyumu izlenmelidir. Farmakodinamik, ilaçların vücuttaki etkilerini, hangi dokularda, hangi reseptör bölgelerinde, hangi konsantrasyonlarda, nasıl etki ettiklerini ve hangi yan etkilere neden olduklarını inceler. İlacın etkisi başka ilaçların varlığında değişebilir (Kayaalp, 2012).

2 ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

COVID-19 tedavisinde alkaloidler, flavonoidler, polifenoller gibi çeşitli kimyasalları içeren bitkiler geniş spektrumlu antiviral etkileri ile SARS-CoV-2 replikasyonunda farklı aşamaları inhibe ederek ilaç geliştirmede umut vaat etmektedir (Españo vd., 2021). Birçok çalışmada tıbbi ve aromatik bitkilerin özleri ile biyoaktif bileşikler anti-SARS-CoV-2 özellikler göstermiş bazıları daha ileri çalışmalara geçme başarısı göstermiştir (Liu vd., 2024). Bunun yanında yapılan birçok çalışma moleküler docking teknikleri ile yapılmakta ve bitki içeriğindeki doğal bileşikler ile virüs arasındaki teorik etkileşimlere dayanmaktadır (Jamshidnia vd., 2022). Khairan vd. (2021) yaptıkları çalışmalarında kullandıkları 60 tıbbi bitkinin 50 tanesinin koronavirüslere içerdikleri flavonoidler sayesinde etki ettikleri bildirilmiştir. Aynı çalışmada, bitkisel doğal komponentlerin COVID-19 tedavisindeki aktivitelerinin tespitimnde *in vitro* ve *in vivo* daha fazla klinik araştırmaya ihtiyaç olduğu bildirilmiştir (Khairan vd., 2021).

Farklı bir çalışmada Sharad vd (2021) tarafından geliştirilen ilaç ve alkol içermeyen bir gargara olan BITS-003'ün insan SARS-CoV-2 virüsüne karşı doğrudan etkili olduğunu göstermişlerdir (Sharad vd., 2021).

Ao vd. (2021) tarafından yapılan bir araştırmada, doğal olarak yetişen *Prunella vulgaris*'in sulu ekstraktının SCoV-2 SP (SPG614 mutantı dahil) psödotipli virüs (SCoV-2-SP-PVs) aracılı enfeksiyonlara karşı etkili bir aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir. Ayrıca, Balkrishna vd. (2021) tarafından yapılan bir çalışmada, 'Coronil' adlı bitkisel ilacın ACE-2'nin S proteini (SWT) ile etkileşimini önemli düzeyde bloke ettiğini ve ayrıca psödovirüslerin de konak hücrelere girişini azalttığını bu hücrelerde SARS-CoV-2 S-proteini psödotipli veziküler stomatit virüsü aracılı sitokin cevabını inhibe ettiği belirtilmiştir. *Pimenta dioica* bitkisinden izole edilen rutin 2, gallik asit 3 ve klorojenik asit 4 bileşikler SARS-CoV-2'ye karşı sırasıyla 31 µg/mL, 108 µg/mL ve 360 µg/mL IC₅₀ değerlerinde umut verici antiviral aktiviteler göstermiştir (El Gizawy vd., 2021).

Birçok bitki içeriğinde bulunan resveratrol antiviral, antienflamatuvar gibi etkileri sayesinde COVID-19 etkilerini hafifletebilecek bir fitokimyasal olarak ortaya çıkmıştır (Ramdani & Bachari, 2020). Aynı zamanda bu bileşiğin ACE2 ekspresyonunu modüle edebileceği, renin-anjiyo tensin sistemini düzenleyebileceği gibi bağışıklık sistemini de uyarabileceği yine aynı çalışmada bildirilmiştir. (Ramdani & Bachari, 2020). Farklı bir çalışmada ise resveratrolün ağ farmakolojisi analizinde IL-17, NF-kappa B ve TNF

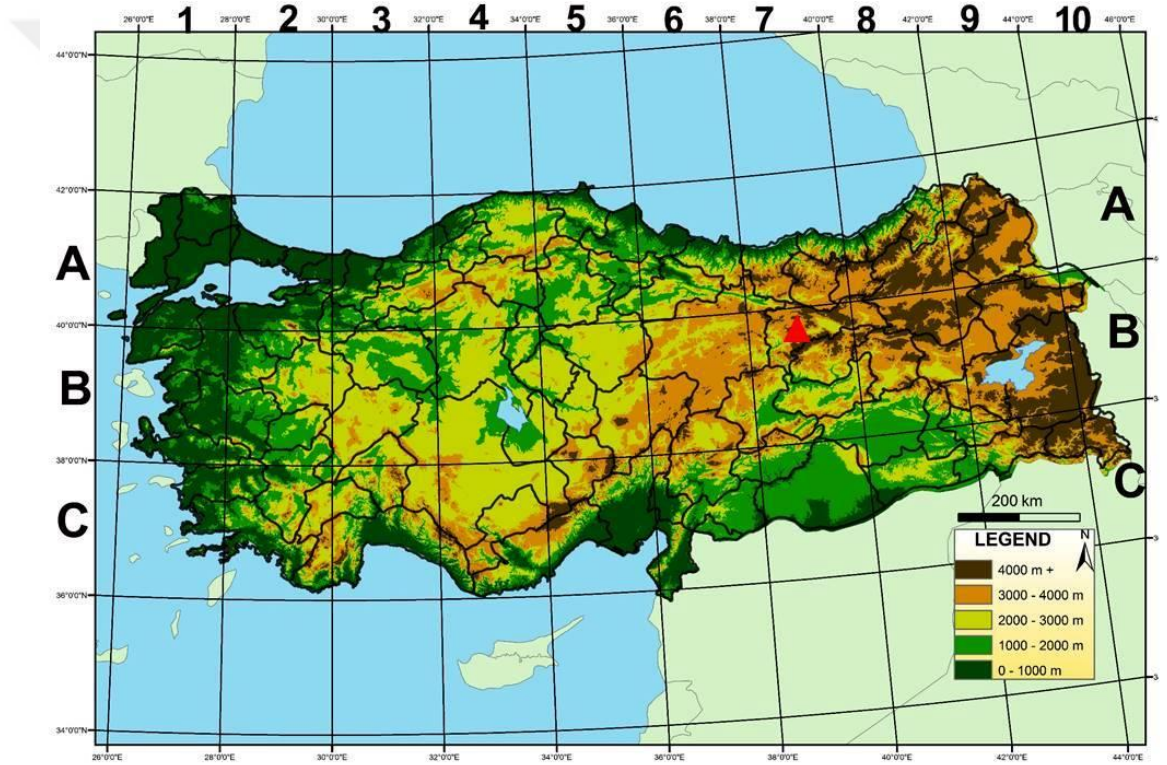
sinyali gibi temel yolakları etkileyerek yüksek enflasyonu engelleyebileceği gösterilmiştir (Xiao vd., 2021).



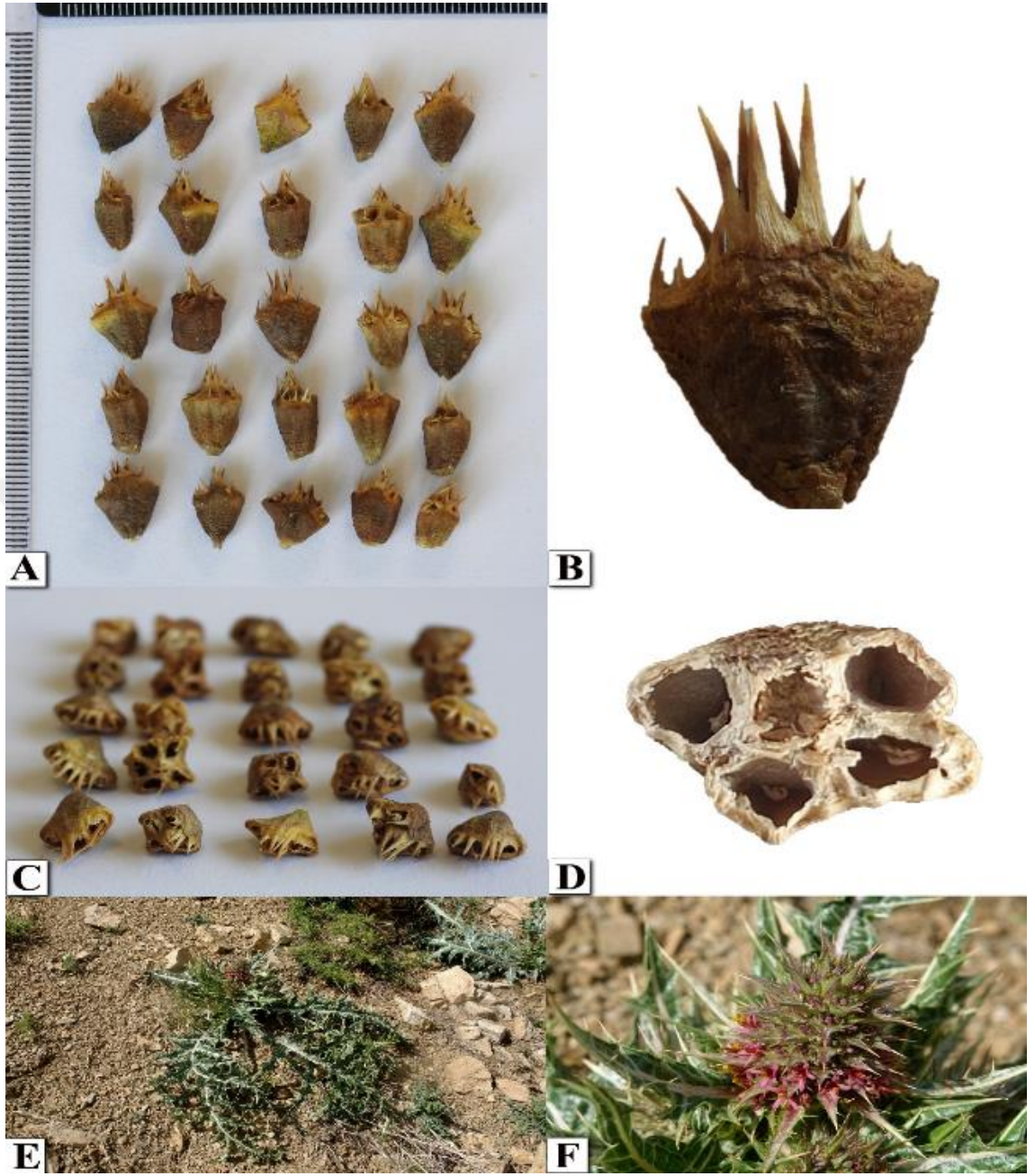
3 MATERYAL METOT

3.1 Bitki Materyali

Gundelia tenuisecta (Boiss.) Freyn & Sint. bitkisi Türkiye'den toplanmıştır. B7 Erzincan ili, Kemaliye ilçesi, Sandık köyü civarı, 2221 m, 38°17'24" N, 42°24'30" E, coll. 22 Ekim 2020, M. Fırat 35767 (VANF) (Şekil S9-10). Bitkinin bilimsel teşhisi Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Eğitim Fakültesi'nden Dr. Mehmet FIRAT tarafından yapılmıştır. Fırat, (2021)'ya göre teşhis edilen bitkinin bir örneği VANF Herbaryumuna bırakılmıştır.



Şekil 3.1. *Gundelia tenuisecta* türünün toplandığı Erzincan Kemaliyedeki lokalitesi (▲)



Şekil 3.2 *Gundelia tenuisecta*; A. Meyvenin varyasyonları yandan görünüşü (ripe disseminules), B. Genel meyve (ripe disseminule), C. Meyvenin varyasyonlarının üstten görünüşü (ripe disseminule), D. Meyvenin üstten 3 lü hali (ripe disseminule), E. Bitkinin genel görünümü, F. Çiçeklerden oluşan toplu çiçek durumu (Fırat & Selvi 2023).

3.2 Bitki Ekstraktının Hazırlanması

Analiz edilen bitkilerin kurutulmuş örnekleri 10 g alınarak 50 mL etanol içerisinde uygun koşullarda 72 saat bekletilerek elde edilmiştir. Çözücüler bir evaporatör yardımıyla uzaklaştırılmış ve elde edilen etanol ekstraktı su fazına alınmıştır.

3.3 HPLC DAD analizi

HPLC DAD analizi, minör değişikliklerle Çayan ve diğerleri (2020) tarafından tarif edildiği şekilde gerçekleştirilmiştir. Fenollerin analizi bir HPLC cihazında (Agilent 1200 serisi) gerçekleştirilmiş ve mobil faz aşağıdaki gibi hazırlanmıştır: A: % 83 (suda 0.1 M fosforik asit) ve C: % 17 (% 100 asetonitril) Çözücünün akış hızı 0.8 ml / dak, kolonun sıcaklığı 30 °C ve numune enjeksiyon hacmi 10 µl idi. Ölçümler 300/200 nm dalga boyunda bir DAD dedektörü kullanılarak gerçekleştirildi. Çalışmamızda Ace Generix markasının AC18 kolonu (4.6 mm × 250, 5 µm) kullanıldı.

Gradient Sistem

Zaman **A** **C**

0 83 17

7 85 15

20 80 20

24 75 25

28 70 30

30 60 40

32 50 50

36 30 70

40 83 17

3.4 ACE2 İnhibisyon Çalışmaları

G. tenuisecta etanolik ekstraktının ACE2 inhibisyon kapasitesi ticari kitler (Ray biotech COVID-19 Spike-ACE2 Binding Assay Kit) kullanılarak yapıldı. Çalışmada kit prosedürüne uygun olarak bitki ekstraktları 10 kat seyreltilerek kullanıldı. Testler iki tekrarlı olarak yapıldı. Kullanımdan önce tüm test reaktifleri oda sıcaklığına getirildi. Özet olarak, uygun kuyucuklara test reaktifi, pozitif kontrol ve negatif kontrol

örneklerinden 100 µl eklendi. Daha sonra 2.5 saat inkübe edildi. Kit prosedürüne uygun olarak 100 µl test antikoru eklendikten sonra 1 saat inkübe edildi. 1x HRP konjuge anti IgG 100 µl eklendi ve tekrar 1 saat inkübe edildi. Sonra her kuyucuğa 100 µl TMB tek adımlı substrat reaktifi eklendi. 30 dakika inkübe edildi. Sonra her bir kuyucuğa 50 µl durdurma solüsyonu eklendi ve 450 nm de mikro eliza plate okuyucuda (BiyoTek) okundu. Hesaplamalar aşağıdaki formüle göre yapıldı.

$$\%BI = (P.K. - T.K / PK) \times 100$$

%BI: Bağlanma İnhibisyon Yüzdesi

P.K : Pozitif Kontrolün Optik Danstitesi

T.K : Test Ayracının Optik Danstitesi

3.5 ADME Analizleri

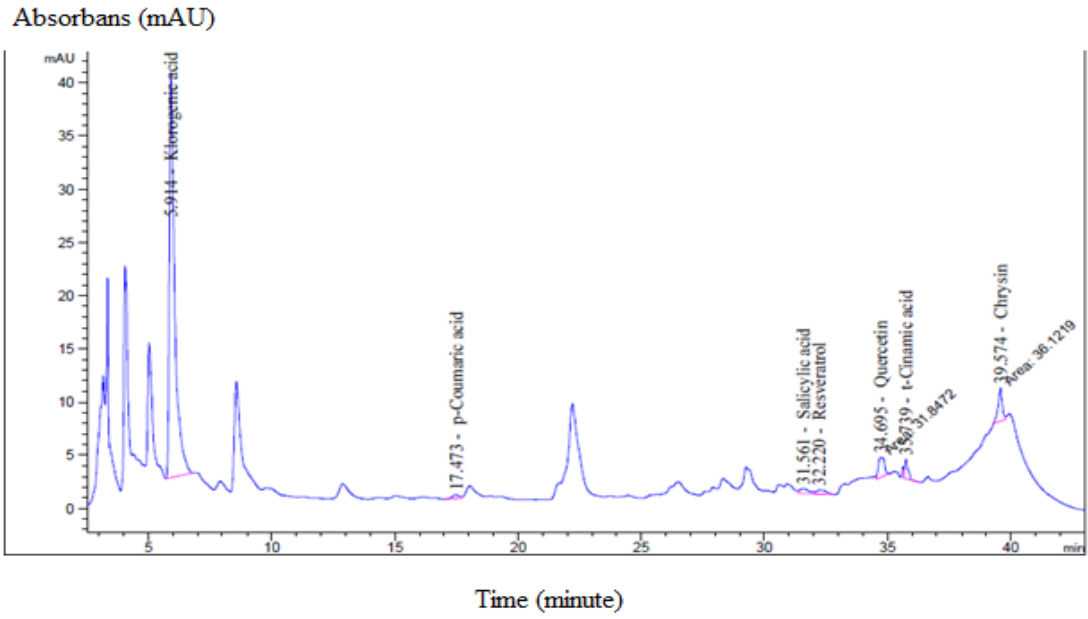
ADME çalışmaları SwissADME web aracı kullanılarak yapıldı (Daina vd., 2017). ADME çalışmaları için moleküllerin kanonik SMILES yapıları pubchem web sitesinden alındı.

3.6 Moleküler Docking Çalışmaları

Bitki içeriğinde tespit edilen bileşiklerin bağlanma afinitesini hesaplamak için CB-DOCK2 web aracı kullanıldı (Liu vd., 2022). Bileşiklerin 3D yapıları pubchem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) web sitesinden *.sdf formatında indirildi. Geometrik optimizasyonunu gerçekleştirmek için Gaussian 09 paket programı kullanıldı. Hesaplamalar yapılırken DFT/B3LYP fonksiyoneli ve 6-311G(d,p) baz seti kullanılarak en düşük enerjili yapı elde edildi ve bileşiklerin yapısı Gaussian'da *.pdb formatında kaydedildi. Bileşiklerin kenetlenmesi için hedef reseptör olarak seçilen proteinin X-ışını kristal yapısı (PDB kodu: 7U0N; Çözünürlük 2.61 Å) Protein Data Bank (PDB) web sitesinden *.pdb formatında elde edilmiştir [<http://www.rcsb.org/pdb>]. Bu çalışmada kullanılan bileşiklerin bağlanma enerjileri dikkate alınmıştır. Ekleme sonuçları, molekülün reseptöre bağlandığında en düşük bağ enerjisine sahip bileşiği göstermektedir.

Sunulan çalışma Bitlis Eren Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 2023.22 nolu proje olarak desteklenmiştir.

4 BULGULAR



Şekil 4.3. *G. tenuisecta*’nın etanolik ekstraktının fenolik içeriği.

Çizelge 4.1. *G. tenuisecta*’nın etanolik ekstraktının COVID 19 Spike-ACE2 bağlanma inhibisyon sonuçları

Konsantrasyon (µl)	% <i>G. tenuisecta</i> ’nın Bağlanma inhibisyon yüzdesi (%BI)
100	11,53
10	15,38
0,1	0
0,01	19,23
0,001	1,92
0,0001	17,3

Çizelge 4.2. *G. tenuisecta*'nın etanolik ekstraktının fenolik içeriğindeki komponentlerin öngörülen fizikokimyasal özellikleri (MW: Molekül ağırlığı, AAS: Ağır atom sayısı, SAHA: Say. arom. ağır atomlar, FCsp3: Fraksiyon Csp3, DBS: Dönebilen bağ sayısı, HBAS: H-bağı alıcılarının sayısı, HBDS: H-bağı donörlerinin sayısı, MK: Molar kırıcılık, TPYA: Topolojik polar yüzey alanı).

Molekül	Mol.Ağırlığı	AAS	SAHA	FCsp3	DBS	HBAS	HBDS	MK	TPYA
Klorojenik asit	354.31 g/mol	25	6	0,38	5	9	6	83,50	164,75 Å ²
P-Kumarikasit	164.16 gr/mol	12	6	0,00	2	3	2	45.13	57,53 Å ²
Salisilikasit	138,12 gr/mol	10	6	0,00	1	3	2	35.42	57,53 Å ²
Resveratrol	228,24 gr/mol	17	12	0,00	2	3	3	67.88	60,69 Å ²
Quersetin	302.24 g/mol	22	16	0,00	1	7	5	78.03	131.36 Å ²
t-Sinamikasit	148,16 gr/mol	11	6	0,00	2	2	1	43.11	37.30 Å ²
Krysin	254,24 gr/mol	19	16	0,00	1	4	2	71.97	70,67 Å ²

Çizelge 4.3. *G. tenuisecta*'nın etanolik ekstraktının fenolik içeriğindeki komponentlerin öngörülen lipofiliklik değerlendirmesi

Molekül	Log $P_{o/w}$ (iLOGP)	Log $P_{o/w}$ (XLOGP3)	Log $P_{o/w}$ (WLOGP)	Log $P_{o/w}$ (MLOGP)	Log $P_{o/w}$ (SILICOS-IT)	Ortalama Log $P_{o/w}$
Klorojenik asit	0,87	-0,42	-0,75	-1.05	-0,61	-0,39
P-Kumarikasit	0,95	1.46	1.38	1.28	1.22	1.26
Salisilikasit	1.13	2.26	1.09	0,99	0,74	1.24
Resveratrol	1.71	3.13	2,76	2.26	2.57	2,48
Quersetin	1.63	1.54	1.99	-0.56	1.54	1.23
t-Sinamikasit	1.55	2.13	1.68	1.90	1.70	1.79
Krysin	2.27	3.52	2,87	1.08	3.02	2.55

Çizelge 4. 4. *G. tenuisecta* 'nın etanolik ekstraktının fenolik içeriğindeki komponentlerin öngörülen suda çözünürlük değerlendirmesi.

Parametreler	Log S (ESOL) - Çözünürlük – Sınıf	Log S (Ali)- Çözünürlük- Sınıf	Log S (SILICOS-IT) Çözünürlük - Sınıf
Klorojenik asit	-1,62- 8,50e+00 mg/ml ; 2,40e-02 mol/l - iyi çözünür	-2,58 - 9,42e-01 mg/ml; 2,66e-03 mol/l- çözünür	0,40 -8,94e+02 mg/ml; 2,52e+00 mol/l Çözünür
p-Kumarikasit	-2.02 -1,58e+00 mg/ml; 9,65e-03 mol/l -Çözünür	-2,27 - 8.73e-01 mg/ml; 5,32e-03 mol/l-Çözünür	-1.28 -8.67e+00 mg/ml ; 5.28e-02 mol/l - Çözünür
Salisilikasit	-2,50 - 4.39e-01 mg/ml; 3.18e-03 mol/l - Çözünür	-3.10 - 1.09e-01 mg/ml ; 7.86e-04 mol/l-Çözünür	-1.17 - 9,40e+00 mg/ml ; 6,81e-02 mol/l - Çözünür
Resveratrol	-3.62 - 5.51e-02 mg/ml ; 2.41e-04 mol/l - Çözünür	-4.07 - 1,93e-02 mg/ml ; 8,44e-05 mol/l - Orta derecede çözünür	-3.29 - 1.18e-01 mg/ml ; 5.16e-04 mol/l - Çözünür
Quersetin	-3.16 - 2.11e-01 mg/ml ; 6.98e-04 mol/l - Çözünür	-3.91 - 3,74e-02 mg/ml; 1,24e-04 mol/l - Çözünür	-3.24 - 1.73e-01 mg/ml; 5,73e-04 mol/l - Çözünür
t-Sinamikasit	-2,37 - 6.29e-01 mg/ml; 4.25e-03 mol/l – Çözünür	-2,54 - 4.23e-01 mg/ml; 2.85e-03 mol/l - Çözünür	-1,84 - 2,14e+00 mg/ml ; 1,45e-02 mol/l - Çözünür
Krisin	-4.19 - 1,64e-02 mg/ml; 6,44e-05 mol/l - Orta derecede çözünür	-4.69 - 5.22e-03 mg/ml ; 2.05e-05 mol/l – Orta derecede çözünür	-4.98 - 2,64e-03 mg/ml; 1,04e-05 mol/l - Orta derecede çözünür

Çizelge 4.5. *G. tenuisecta* 'nın etanolik ekstraktının fenolik içeriğindeki komponentlerin öngörülen ilaç olabilirlik değerlendirmesi.

Parametreler	Klorojenik asit	P-Kumarikası t	Salisilik Asit	Resveratrol	Quersetin	t-Sinamik asit	Krysin
Lipinski	Evet; 1 ihlal: NH ya da OH>5	Evet	Evet	Evet	Evet	Evet	Evet
Ghose	Hayır; 1 ihlal: WLOGP<-0.4	Evet	Hayır; 3 ihlal: MW<160, MR<40, atom<20	Evet	Evet	Hayır; 2 ihlal: MW<160, atom<20	Evet
Veber	Hayır; 1 ihlal: TPYA>140	Evet	Evet	Evet	Evet	Evet	Evet
Egan	Hayır; 1 ihlal: TPYA>131.6	Evet	Evet	Evet	Evet	Evet	Evet
Muegge	Hayır; 2 ihlal: TPYA>150, H-don>5	Hayır; 1 ihlal: MW<200	Hayır; 1 ihlal: MW<200	Evet	Evet	Hayır; 1 ihlal: MW<200	Evet
Biyoyararlanım Puanı	0,11	0,85	0,85	0,55	0,55	0,85	0,55

Çizelge 4.6. *G. tenuisecta*'nın etanolik ekstraktının fenolik içeriğindeki komponentlerin öngörülen farmakokinetik değerlendirmesi.

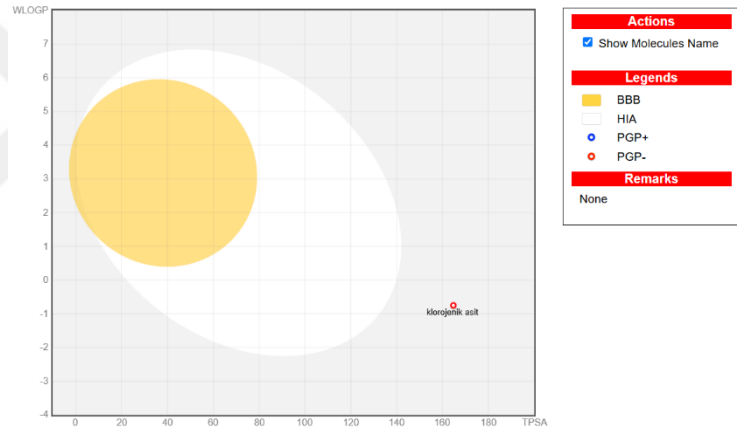
Parametreler	Klorojenik asit	p-Kumarikası t	Salisilik Asit	Resveratrol	Quersetin	t-Sinamik asit	Krysin
GI absorpsiyon	DÜŞÜK	YÜKSEK	YÜKSEK	YÜKSEK	YÜKSEK	YÜKSEK	YÜKSEK
BBB geçirgenlik	HAYIR	EVET	EVET	EVET	HAYIR	EVET	EVET
P-gp substurat	HAYIR	HAYIR	HAYIR	HAYIR	HAYIR	HAYIR	HAYIR
CYP1A2 inhibitör	HAYIR	HAYIR	HAYIR	EVET	EVET	HAYIR	EVET
CYP2C19 inhibitör	HAYIR	HAYIR	HAYIR	HAYIR	HAYIR	HAYIR	HAYIR
CYP2C9 inhibitör	HAYIR	HAYIR	HAYIR	EVET	HAYIR	HAYIR	HAYIR
CYP2D6 inhibitör	HAYIR	HAYIR	HAYIR	HAYIR	EVET	HAYIR	EVET
CYP3A4 inhibitör	HAYIR	HAYIR	HAYIR	EVET	EVET	HAYIR	EVET
Log K _p (cilt geçirgenliği)	-8,76 cm/sn	-6,26 cm/sn	-5,54 cm/sn	-5,47cm/sn	-7,05cm/sn	-5,69cm/sn	-5,35cm/sn

Çizelge 4.7. *G. tenuisecta*'nın etanolik ekstraktının fenolik içeriğindeki komponentlerin öngörülen tıbbi kimya değerlendirmesi.

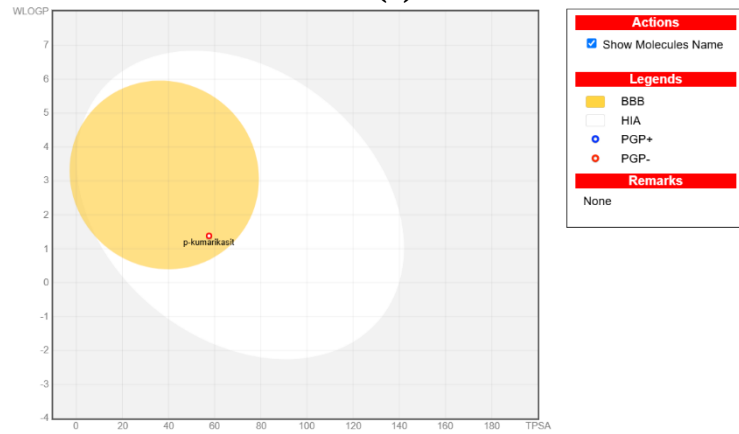
Parametreler	Klorojenik asit	p-Kumarikası t	Salisilik Asit	Resveratrol	Quersetin	t-Sinamikası t	Krysin
PAINS	1 uyarı: kateşol A	0 uyarı	0 uyarı	0 uyarı	1 uyarı: kateşol A	0 uyarı	0 uyarı
Brenk	2 uyarı: katekol, michael acceptor1	1 uyarı: michael acceptor1	0 uyarı	1 uyarı: stilben	1 uyarı: katekol	1 uyarı: michael acceptor1	0 uyarı
Lider molekül	Hayır; 1 ihlal: MW>350	Hayır; 1 ihlal: MW<250	Hayır; 1 ihlal: MW<250	Hayır; 1ihlal: MW<250	Evet	Hayır; 1 ihlal: MW<250	Hayır; 1 ihlal: XLOGP3 >3.5
Sentetik yapabilirlik	4.16	1.61	1.00	2.02	3.23	1.67	2,93

Çizelge 4.8. *G. tenuisecta*'nın etanolik ekstraktının fenolik içeriğindeki bileşenleri ve SMILES yapıları

Komponent isimleri	SMILES Yapıları
Klorojenik asit	<chem>C1[C@H]([C@H]([C@@H](C[C@@]1(C(=O)O)O)OC(=O)/C=C/C2=CC(=C(C=C2)O)O)O)O</chem>
p-Kumarikasit	<chem>C1=CC(=CC=C1/C=C/C(=O)O)O</chem>
Salisilik asit	<chem>C1=CC=C(C(=C1)C(=O)O)O</chem>
Resveratrol	<chem>C1=CC(=CC=C1/C=C/C2=CC(=CC(=C2)O)O)O</chem>
Quersetin	<chem>C1=CC(=C(C=C1C2=C(C(=O)C3=C(C=C(C=C3O2)O)O)O)O)O</chem>
t-Sinamikasit	<chem>C1=CC=C(C=C1)/C=C/C(=O)O</chem>
Krisin	<chem>C1=CC=C(C=C1)C2=CC(=O)C3=C(C=C(C=C3O2)O)O</chem>

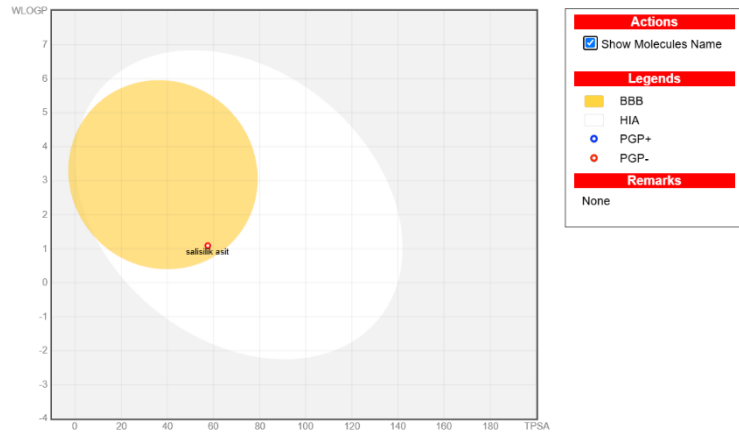


(a)

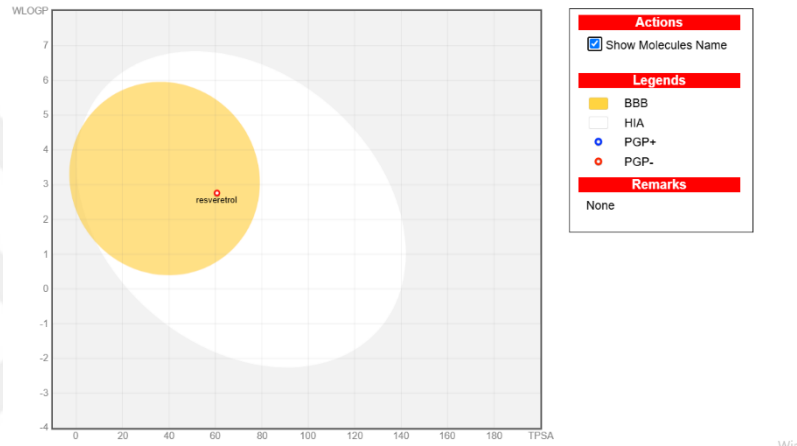


(b)

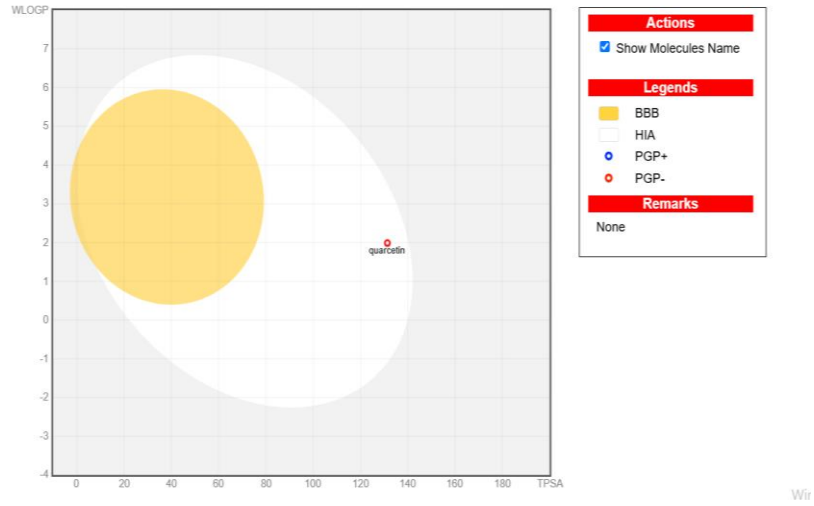
Şekil.4.4. *G. tenuisecta*'nın etanolik ekstraktının fenolik içeriğindeki bileşenlerin kan beyin bariyeri tahmin sonuçları (BoiledEgg).(a: Klorojenik asit, b: p-Kumarikasit, c: Salisilik asit d: Resveratrol, e: Quersetin , f: t-Sinamikasit , g: Krisin)



(c)

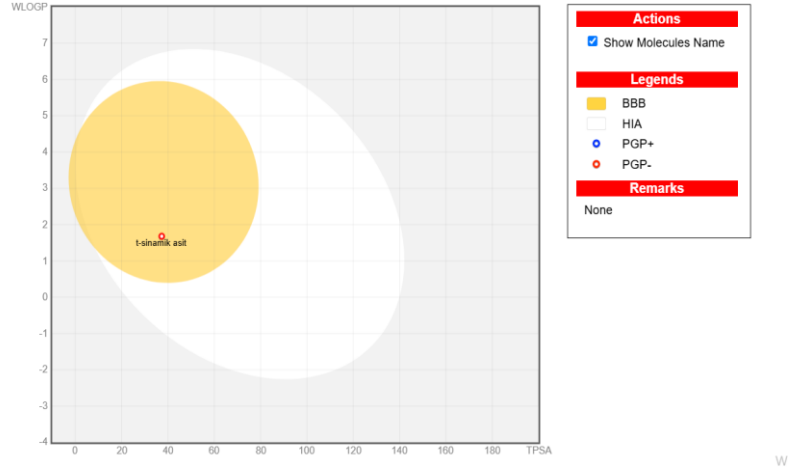


(d)

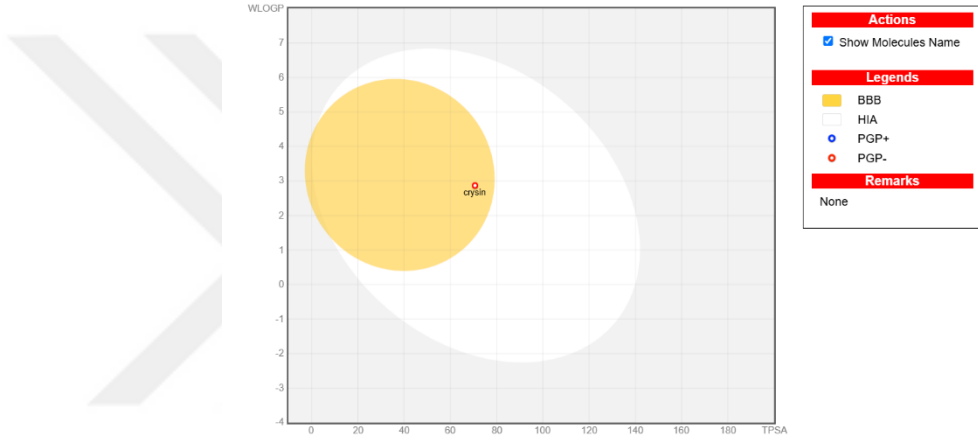


(e)

Şekil.4.4 (Devamı). *G. tenuisecta*'nın etanolik ekstraktının fenolik içeriğindeki komponentlerin kan beyin bariyeri tahmin sonuçları (BoiledEgg).(a: Klorojenik asit, b: p-Kumarikasit, c: Salisilik asit d: Resveratrol, e: Quersetin, f: t-Sinamikasit, g: Krisin)

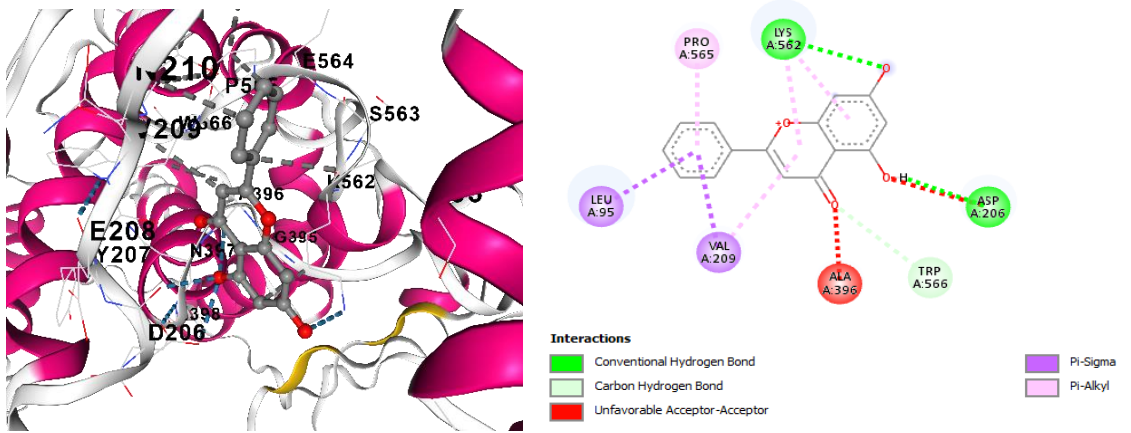


(f)

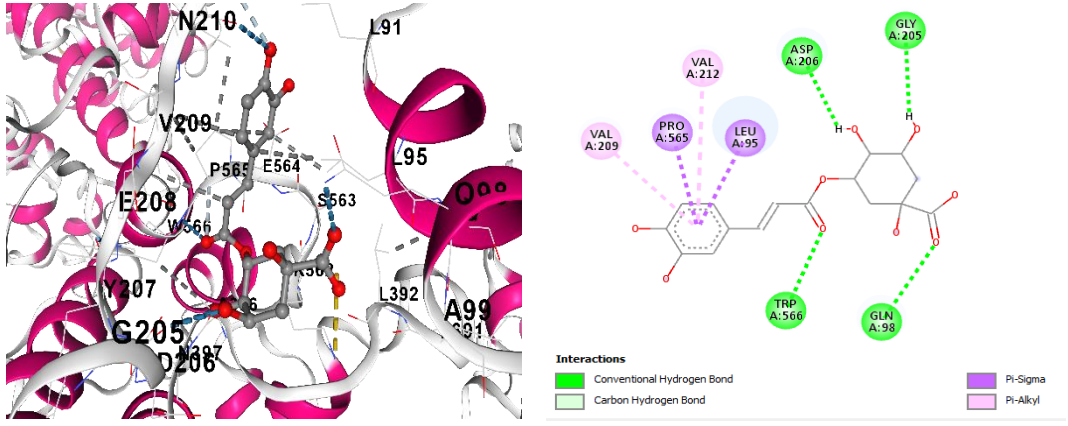


(g)

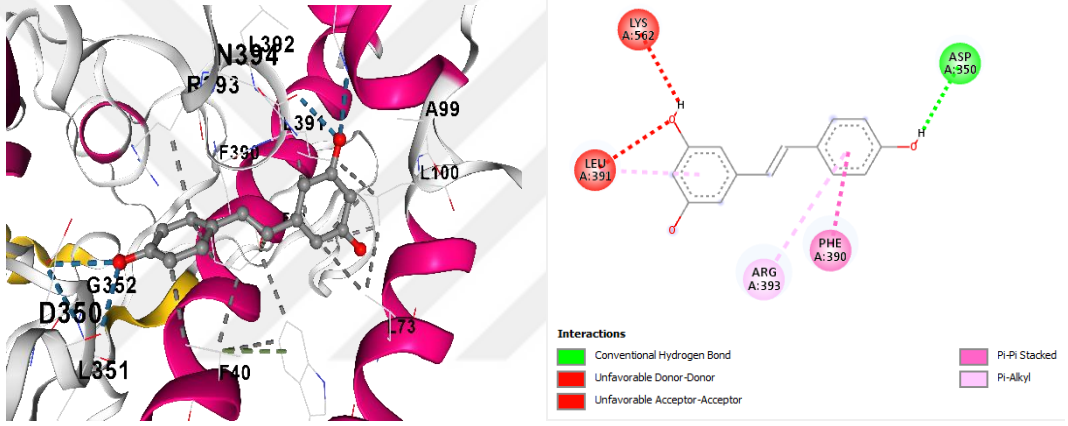
Şekil.4.4 (Devamı). *G. tenuisecta*'nın etanolik ekstraktının fenolik içeriğindeki komponentlerin kan beyin bariyeri tahmin sonuçları (BoiledEgg).(a: Klorojenik asit, b: p-Kumarikasit, c: Salisilik asit d: Resveratrol, e: Quersetin , f: t-Sinamikasit , g: Krisin)



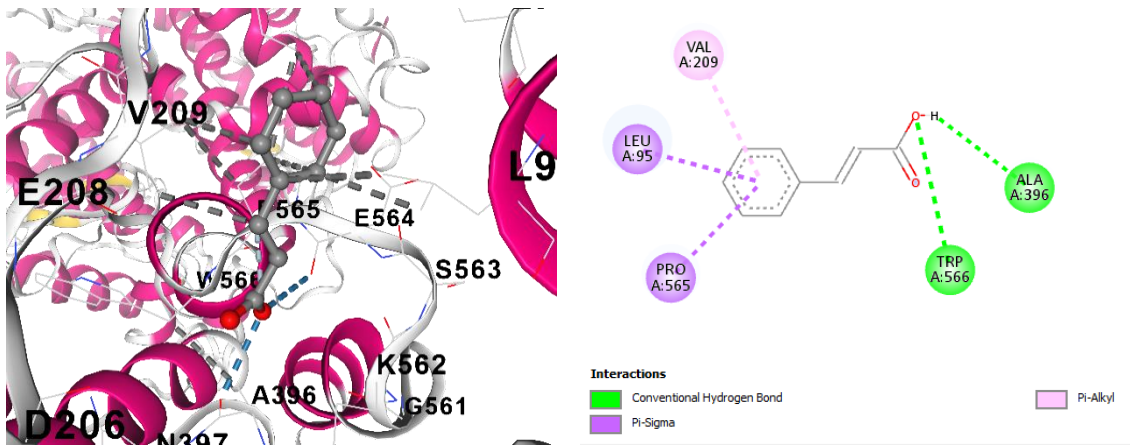
Şekil.4.5 Krisin ve 7U0N moleküllerinin 3D ve 2D görüntüleri ($\Delta G = -8.1$ kcal/mol)



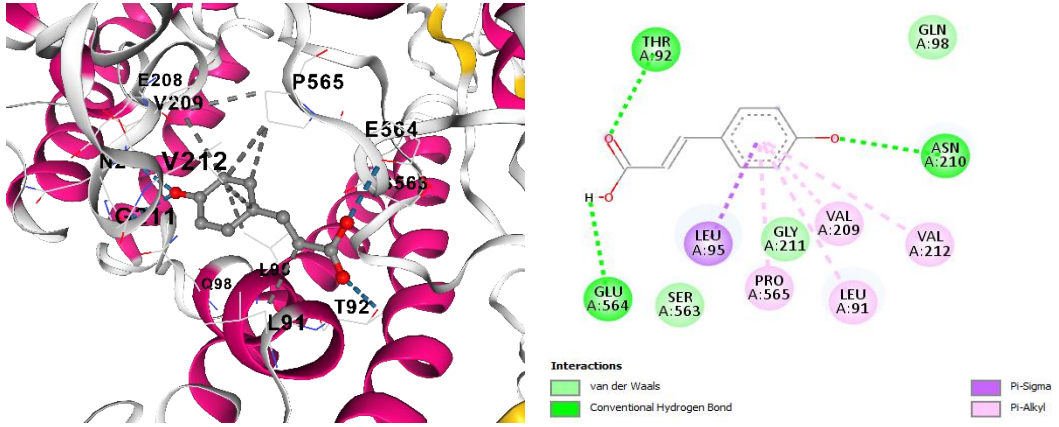
Şekil. 4.6. Klorojenik asit ve 7U0N moleküllerinin 3D ve 2D görüntüleri ($\Delta G = -8.3$ kcal/mol)



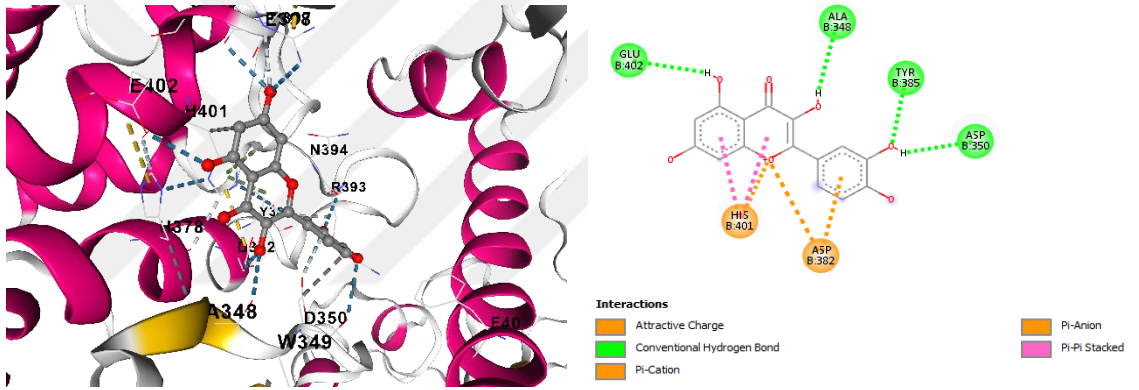
Şekil. 4.7. Resveratrol ve 7U0N moleküllerinin 3D ve 2D görüntüleri ($\Delta G = -7.3$ kcal/mol)



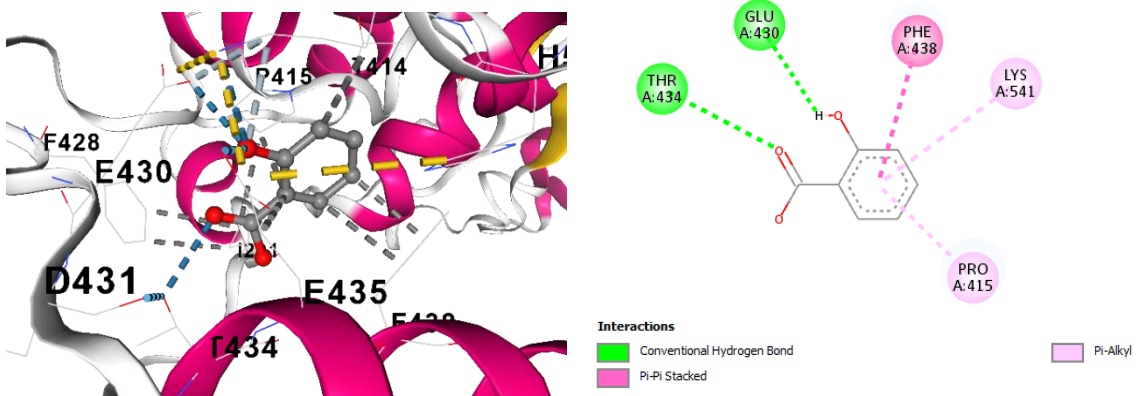
Şekil. 4.8 t-Sinamik asit ve 7U0N moleküllerinin 3D ve 2D görüntüleri ($\Delta G = -6.1$ kcal/mol)



Şekil. 4.9 p-Kumarik asit ve 7U0N moleküllerinin 3D ve 2D görüntüleri ($\Delta G = -6.2$ kcal/mol).



Şekil. 4.10 Kuersetin ve 7U0N moleküllerinin 3D ve 2D görüntüleri ($\Delta G = -7.9$ kcal/mol).



Şekil. 4.11 Salisilik asit ve 7U0N moleküllerinin 3D ve 2D görüntüleri ($\Delta G = -5.6$ kcal/mol).

5 TARTIŞMA VE SONUÇ

İnsan sağlığı açısından son derece önemli role sahip olan tıbbi bitkiler çok eski zamanlardan beri çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (Özkan vd. 2016). Yapılan çalışmalar, insanların antik çağlardan beri bitki bazlı ürünleri beslenme, tıp ve kozmetik gibi alanlarda kullandığını göstermektedir (Chivian, 2002). Tıbbi bitkiler nörodejeneratif hastalıklar ve kanser gibi birçok hastalıkları önlemede etkili olabilen antioksidan, antimikrobiyal ve antienflamatuar aktivite gibi çeşitli medikal faydalara sahiptirler (Özkan vd. 2016). Bu özellikleri dolayısı ile bitkiler ilaç geliştirme çalışmalarında umut verici özelliklere sahiptirler. (Raina vd. 2014) Dolayısıyla, tıbbi bitkilere olan talep her geçen gün artmakta ve sağlık sistemlerine önemli katkılar sunmaktadır. (Mofokeng vd. 2022)

Sunulan çalışmada, *Gundelia tenuisecta* (Boiss.) Freyn & Sint. bitkisinin etanol ekstraktının COVID 19 Spike-ACE2 bağlanma inhibisyon kapasitesi ticari kitler kullanılarak spektrofotometrik olarak çalışıldı. Bunun yanında, bitkinin kimyasal kompozisyonu HPLC-DAD analizleri ile belirlenerek ilaç potansiyelleri SwissADME web aracı kullanılarak belirlendi. Bileşiklerin kanonik SMILES yapıları pubchem resmi web sitesinden alındı (Çizelge 4.8.). Bunun yanında, bu komponentlerin 7U0N (insan ACE2 ile kompleks oluşturmuş kimerik omicron RBD (BA.1 suşu)) ile etkileşimleri moleküler docking yöntemi ile araştırıldı.

Yapılan *in vitro* çalışmalarda, *G. tenuisecta* bitkisinin etanol ekstraktının COVID 19 Spike-ACE2 bağlanma inhibisyon değeri kullanılan konsantrasyona bağlı olarak değişiklik gösterdi. En yüksek inhibisyon değeri 0.01 µl konsantrasyonda %IB 19.23 olarak bulundu. Bu da çalışmamızda kullanılan bitki ekstraktının zayıf bir inhibisyon etkisine sahip olduğunu göstermektedir.

Lipinski'nin 5 kuralı, ilaçların keşfinde çözünebilirliği, geçirgenliklerini ve etkinliklerini tahmin etmede kullanılan bir metot olup fiziko kimyasal parametrelere dayanmaktadır. (Lipinski vd., 2001) Moleküler ağırlık yanında, hidrojen bağı verici ve alıcılarının sayısı ile bölme katsayısının Log'u dahil olmak üzere dört parametreye dayanır. Ayrıca, diğer önemli tanımlayıcılar olarak lipofilik etkinlik, polar yüzey alanı ve dönebilen bağların ve aromatik halkaların sayısı da yer alır. (Roskoski ve Jr. 2023) Bu yöntem, farmakolojik özellikli bir bileşiğin oral yolla biyolojik kullanılabilirliğini gösteren temel bir kural olup oral olarak etkili olan komponentlerin çoğunun görece

küçük ve lipofilik özellikte olduklarını belirtir. Bu kural, ilaç keşfi ve geliştirilmesi araştırmalarında yüksek verimli taramalarda isabetli sonuçlar sağladığından ve öncü bileşiklerin özgüllük ve seçiciliğini koruyarak ve sistematik olarak optimize olduğu için kullanılır. (Roskoski ve Jr. 2023) Lipinski'nin beş kuralına göre, oral biyoyararlanım göstermesi beklenen bir bileşiğin moleküler ağırlığı 500 daltonu, lipofiliklik katsayısı ($\log P$) 5'i, hidrojen bağ verici ve alıcı atom sayıları sırasıyla 5 ve 10'u geçmemeli, molar refraktif indeksi ise 4 ile 130 arasında olmalıdır. Bu koşullardan herhangi ikisinden sapma olması durumunda, molekülün oral olarak alınabilir bir ilaç olma olasılığının daha düşük olduğu kabul edilmiştir. Doğal ürünler ile aktif taşıyan komponentler bu analizin dışında tutulmuştur. (Lipinski vd 2001) Sunulan çalışmada, bitki ekstraktında saptanan bileşiklerin tamamının bu kurala uyduğu tespit edildi (Çizelge 4.2., Çizelge 4.3., Çizelge 4.4. ve Çizelge 4.5).

Ghose filtresi, ilaç benzeri bileşik kütüphaneleri oluşturmak için kullanılan bir moleküler tanımlayıcıdır. Bu filtreye göre, bir molekülün ilaç adayı olarak kabul edilebilmesi için; $\log P$ değerinin -0.4 ile 5.6 arasında, molar refraktivite değerinin 40 ile 150 arasında, molekül ağırlığının 160 ile 480 g/mol arasında, atom sayısının 20 ile 70 arasında ve polar yüzey alanının 140 Å²'nin altında olması gerekmektedir (Ghose vd., 1998). Sunulan çalışmada, bitki ekstraktında saptanan bileşiklerden klorojenik asit, salisilik asit ve t-sinamik asit bu filtreyi geçemezken diğer bileşikler bu kriterlere uyum göstermiştir (Çizelge 4.2., Çizelge 4.3. ve Çizelge 4.5.)

Veber filtresi, GlaxoSmithKline'da çalışılan 1100'den fazla ilaç adayı molekülün biyoyararlanım dataları işlenerek oluşturulmuştur. Bu filtre, bileşiklerin optimize edilmiş bir biyoyararlanım sunmaları için uymaları gereken iki basit kuralı (toplam polar yüzey alanı (TPSA) ≤ 140 Å², döndürülebilir bağlar ≤ 10) kapsar. (Veber vd. 2002) Sunulan çalışmada, bitki içeriğinde tespit edilen bileşiklerden klorojenik asit (TPSA>140, 1 ihlal) haricinde tüm bileşiklerin bu filtreye uyduğu tespit edildi (Çizelge 4.2. ve Çizelge 4.5.).

Egan filtresi, insanlarda iyi ve kötü emilime sahip bileşiklerin verileri kullanılarak çok değişkenli istatistikler ile belirlenen bir dizi kriterdir ($\log P \leq 5.88$, TPYA ≤ 131.6 Å²). Membran geçirgenliğinin belirlenmesinde iyi biyoyararlanım hedefiyle sadece iki kriter ($\log P$ ve TPSA) eklenerek seçilmiştir (Egan vd., 2000). Biyoyararlanım kriterleri ile, taşıyıcılar ile gerçekleşen taşınmada ve aktif transportta hücrelere giren bileşiklerin tekrar çıkabileceklerine dikkat etmek gereklidir (Dobson vd., 2008). (Çizelge 4.2.

Çizelge 4.3. ve Çizelge 4.5.). Sunulan çalışmada sadece klorojenik asit bu kritere uymazken (TPYA>131.6 Å², 1 ihlal) diğer bileşikler bu kriterler ile uyum içindedir.

Muegge ve arkadaşları 'nın geliştirdikleri filtre ilaç benzeri moleküller ile ilaç olmayan bileşiklerin zayıf işleyişi ve ikiden az farmakofor noktası olanlar ile yediden fazla olanların ayırt edilmesi kriterini getirir. Sunulan çalışmada, klorojenik asit (2 ihlal), p-kumarik asit (1 ihlal), salisilik asit (1 ihlal) ve t-sinamik asit (1 ihlal) bu kriterlere uymaz iken diğer komponentler uygunluk göstermiştir (Muegge vd., 2001).

Sitokrom P450 (CYP) enzim familyası, ilaçların metabolize edilmesinde hayati bir role sahiptir (Zhao vd., 2021). CYP türlerinin moleküler mekanizmalarını çözümlmek, ilaç metabolizmasını tahmin etmede ve kişiselleştirilmiş tıbbi yaklaşımların geliştirilmesinde önemlidir (Adriana vd., 2017). Bu familyanın üyelerinden olan CYP1-3 aileleri oksidatif metabolizmanın hemen hemen %80' inden sorumlu olup yaygın olarak tüketilen klinik drogların genel eliminasyonunun %50'sinden sorumludur (Zhao vd., 2021). CYP3A alt ailesi, reçete ile verilen tüm ilaçların %50'sinden fazlasının metabolize etme yeteneğine sahiptir (Wright vd.,2019). CYP'ler, oksidatif stresi indükleyebilen ve yan etkilere neden olabilen ilaçların biyoaktivasyonunda rol alır. (Bhattacharyya, vd., 2014) Sunulan çalışmada, bitki içeriğinde tespit edilen bileşiklerden, Resveratrolün CYP1A2, CYP2C9 ve CYP3A4, kuersetinin ise CYP1A2, CYP2D6 ve CYP3A4'ü, krisinin ise CYP1A2, CYP2D6 ve CYP3A4'ü inhibe etmesi beklenebilir. Bu bileşiklerin metabolik hızı aracılık eden CYP1A2'yi inhibe etmesi, toksik etkilerin artmasına neden olabilir (Çizelge 4.6).

Pan-assay interference compounds (PAINS), sık kullanılan hedefleme yaklaşımını uygulayan bir fonksiyonel grup filtresidir. Yaklaşık olarak 480 fonksiyonel gruptan oluşan bir listeyi kullanarak bu bileşikleri giriş veritabanıyla karşılaştırır. İstenmeyen grupları içeren moleküller filtrelenebilir (Thorne vd., 2010). Sunulan çalışmada kuersetin ve klorojenik asit birer ihlal göstermektedir (Çizelge 4.7.)

SwissADME web aracı, tıbbi kimya filtresinde, toksik, kimyasal olarak reaktif, metabolik kararsız veya zayıf farmakokinetik aktiviteler gösteren 105 üyeden oluşan bir listeden yapısal ihlal verir. Brenk ve arkadaşları doğrudan yapı ve aktivite arasındaki interaksyonu basitleştiren lider molekül yapıları zenginleştirmek için istenmeyen yapıları ve değerlendirme kriterlerini tanımlayarak bir filtre geliştirmişlerdir. (Brenk vd. 2008) Yapılan araştırmada SwissADME, bitki ekstraktında kullanılan bileşiklerden krisin ve

salisilik asitin bu filtreyi geçtiğini diğerlerinin ise Brenk filtresini geçemediğini göstermektedir (Çizelge 4.7.).

Daina ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada 13 milyondan fazla bileşik analiz edilmiş ve daha yaygın moleküler parçaların daha yüksek sentetik yapılabilişliğe sahip olduğu, nadir yapıların ise zor bir sentetik yapılabilişlik gösterdiğini varsayarak derecelendirme yapmışlardır. Bu derecelendirmede, erişilebilirliği 1'den (çok kolay) 10'a (çok zor) kadar sıralamışlardır. (Daina vd., 2017) Sunulan çalışmada bu kriterlere göre en kolay sentezlenebilecek olan bileşik salisilik asit iken en zor olanı klorojenik asit olarak bulundu (Şekil 4.7.).

BOILED-Egg olarak adlandırılan bu model ilaçların geliştirilmesi yararlı olabilecek küçük moleküllerin emilimi ve beyin geçişini tahmin edebilmek için gerekli olan sağlam, kolay ve istatistiksel olarak eşi olmayan bir modeldir (Daina & Zoete 2016). Sunulan çalışmada, p-kumarik asit, salisilik asit, resveratrol, t-sinamik asit ve krisinin kan beyin bariyerini geçebildiğini göstermektedir (Şekil 4.4.).

Moleküler docking sonuçları değerlendirildiğinde, krisin ve 7U0N moleküllerinin interaksiyonunda krisin ile LYS A:562, ASP A:206 ve TRP A:566 arasında hidrojen bağı oluşurken, krisin ile ALA A:396 arasında akseptör-akseptör etkileşimi, krisin ile VAL A:209 ve LEU A:95 arasında pi-sigma bağı, krisin ile PRO A:565 arasında pi-alkil bağı oluşmuştur. İki molekül arasındaki bağlanma enerjisi $\Delta G = -8.1$ kcal/mol olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.5.).

Moleküler docking ve ADME profillemesi gibi biyoteknolojik yöntemler, ilaç geliştirme sürecinde giderek daha önemli hale gelmektedir. Moleküler docking, virüs proteinlerine bağlanabilecek potansiyel ilaç moleküllerinin belirlenmesinde kullanılırken, ADME profillemesi, bu ilaçların insan vücudundaki davranışlarını anlamak için kritik bir araçtır. Bu yöntemlerin araştırılması, virüsle mücadelede kullanılabilecek yeni ilaçların geliştirilmesi için önemli fırsatlar sunmaktadır (Chan vd., 2020).

Klorojenik asit ve 7U0N moleküllerinin interaksiyonunda Klorojenik asit ile GLY A:205, ASP A:206 ve TRP A:566 GLN A:98 arasında hidrojen bağı oluşurken, Klorojenik asit ile VALA:212 ve VAL A:209 pi-alkil bağı oluşmuş LEU A:95 ve PRO A:565 arasında pi-sigma bağı oluşmuştur. İki molekül arasındaki bağlanma enerjisi $\Delta G = -8.3$ kcal/mol olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.6.).

Resveratrol ve 7U0N moleküllerinin interaksiyonunda, resveratrol ile ASP A:350 arasında hidrojen bağı oluşurken, Resveratrol ile PHE A:390 arasında pi-pi bağı, Resveratrol ile ARG A:393 pi-alkil bağı oluşmuş, Resveratrol ile LEU A:391 arasında donör-donör bağı, Resveratrol LYS A:562 arasında akseptör- akseptör bağı oluşmuştur. İki molekül arasındaki bağlanma enerjisi $\Delta G = -7.3$ kcal/mol olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.7.).

t-Sinamik asit ve 7U0N moleküllerinin interaksiyonunda t-Sinamik asit ile TRP A:566, ve ALA A:396 arasında hidrojen bağı oluşurken, t-Sinamik asit ile VAL A:209 pi-alkil bağı oluşmuş, t-Sinamik asit ile LEU A:95 ve PRO A:565 arasında pi-sigma bağı oluşmuştur. İki molekül arasındaki bağlanma enerjisi $\Delta G = -6.1$ kcal/mol olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.8.).

p-Kumarik asit ve 7U0N moleküllerinin interaksiyonunda p-Kumarik asit ile THR A:92, GLU A:564 ve ASN A:210 arasında hidrojen bağı oluşurken, p-Kumarik asit ile VAL A:209, VAL A:212, PRO A:565, LEU A:91 pi-alkil bağı oluşmuş, p-Kumarik asit ile LEU A:95 arasında pi-sigma bağı, p-Kumarik asit ile GLN A:98, GLY A: 211 ve SER A:563 arasında ise van der Waals bağı oluşmuştur. İki molekül arasındaki bağlanma enerjisi $\Delta G = -6.2$ kcal/mol olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.9.).

Kuersetin ve 7U0N moleküllerinin interaksiyonunda Kuersetin ile TYR B:385, ALA B:348, GLU B:402 ve ASP B:350 arasında hidrojen bağı oluşurken, Kuersetin ile ASP B:382 ve HIS B:401 arasında ise pi anyon bağı oluşmuştur. İki molekül arasındaki bağlanma enerjisi $\Delta G = -7.9$ kcal/mol olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.10.).

Salisilik asit ve 7U0N moleküllerinin interaksiyonunda Salisilik asit ile THR A:434 ve GLU A:430 arasında hidrojen bağı, Salisilik asit ile LYS A:541 ve PRO A:415 arasında pi-alkil bağı oluşurken, Salisilik asit ile PHE A:438 arasında pi-pi bağı oluşmuştur. İki molekül arasındaki bağlanma enerjisi $\Delta G = -5.6$ kcal/mol olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.11.).

Krisinin COVID-19 üzerine etkilerinin incelendiği in vitro bir çalışmada krisin-7-O- β -D-glukuronid'in Vero E6 hücreleri üzerinde SARS-CoV-2'nin güçlü bir inhibitörü olduğu ve IC50 konsantrasyonun 8,72 μ M olduğu tespit edilmiştir (Yi vd., 2024). Kuersetinin anti viral özellikleri çeşitli çalışmalar ile gösterilmiştir. MDCK hücrelerinin H1N1 ve H3N2 influenza enfeksiyonunun in vitro modelinde, kuersetin enfeksiyondan 48 saat sonra sitopatik etkiyi azalttığını göstermiştir (Yi vd., 2004).

Kuersetinin korona virüs ailesinin farklı üyeleri üzerine yapılan bir araştırmada gösterdiği antiviral aktivite nedeni ile SARS'ın tedavisinde potansiyel bir ilaç olabileceği sonucuna varılmıştır (Yi vd., 2004). Kuersetinin COVID-19 hedefleri ile interaksiyonunun incelendiği bir çalışmada bağlanma enerjileri remdevisir ile kıyaslanmış ve Wnt-3, Frizzel, Lrp-6, spike protein ve ACE2 hedeflerine kuersetinin daha yüksek bir afinite ile bağlandığı bildirilmiştir (Chandran vd., 2023).

Rutinin SARS-Cov-2 üzerine antiviral etkilerinin incelendiği bir çalışmada in vitro ortamda rutinin antiviral etkisi gösterilmiş ve IC₅₀ değeri ise 31 µg/mL olarak tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar leponavir ilacı ile kıyaslandığında rutin 2 bileşiğinin etkili bir proteaz inhibitör aday olabileceği bildirilmiştir. Aynı çalışmada yapılan moleküler docking analiz sonuçları incelendiğinde hem rutin hem de klorojenik asitin SARS-CoV-2 Mpro bağlanma bölgesine en iyi skorlar ile finite gösterdiği rapor edilmiştir. (El Gizawy vd., 2021).

Agrimonia pilosa ve *Galla rhois* karışımının (6:4) antiviral etkileri incelenmiş ve karışımın SARS-CoV-2'nin konak hücrelere girişini inhibe ettiği bunun yanında SARS-CoV-2 plaklarının oluşumunu engellediği ve sahip olduğu antiviral aktivitenin remdesivir ve klorokin fosfat ile kıyaslanabilir düzeyde olduğu gösterilmiştir. Karışımın içeriğinde bulunan ursolik asit, kuersetin ve 1,2,3,4,6-penta-O-galloil-β-d-glukoz gibi maddelerin SARS-CoV-2 aktivitesine karşı olduğu rapor edilmiştir. Çalışmanın moleküler docking skorları ise ursolik asidin SARS-CoV-2 S RBD ve B.1.1.7 soyu S RBD'ye karşı sırasıyla -9,5 kcal/mol ve -9,0 kcal/mol bağlanma enerjisine sahip olduğunu gösterirken kuersetin sırasıyla -7.6 kcal/mol ve -8.9 kcal/mol bağlanma afinitesi sergilemiştir (Lee vd., 2021). Srivastava ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada ise ACE2 reseptörünün bağlanma bölgesine güçlü bir bağlanma gösteren sinamik asit (-5.20 kcal/mol), moleküler dinamik simülasyonlarında da ACE2'nin bağlanma bölgesindeki konformasyonu değiştirmeden verimli bir aktivite gösterebileceği saptanmıştır. (Srivastava vd., 2021)

Güler ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışma da ise ACE-2 inhibisyonu SARS-CoV-2 spike reseptör bağlanma alanına bazı doğal komponentlerin bağlanma afiniteleri moleküler docking yöntemi ile incelenmiş ACE2'ye bağlanma afiniteleri krisin için -8.47 kcal/mol, t-sinamik asit için -5.65 kcal/mol, p-kumarik asit için -5.63 kcal/mol olarak bulunurken, bağlanma enerjileri SARS-CoV-2 spike reseptör bağlanma alanı için

krisin için -7.48 kcal/mol, t-sinamik asit için -6.64 kcal/mol ve p-kumarik asit için ise -5.97 kcal/mol olarak tespit edilmiştir (Güler vd., 2021).

Ghosh ve arkadaşları tarafından yapılan bir in vitro çalışmada vero hücre hatları kullanılmış ve salisilik asit türevlerinin SARS-CoV-2 3CL proteaz enzimini inhibe etme kapasiteleri araştırılmış ve güçlü antiviral etkiler elde edildiğini bildirmişlerdir (Ghosh vd., 2021).

Garcinia cambogia Roxb. Meyve kabuklarından izole edilen bileşiklerin SARS-CoV-2 anti viral etkilerinin incelendiği bir çalışmada ise naringinin 3CL-Mpro enzimini IC₅₀ 16.62 µg/mL ile güçlü bir şekilde inhibe ettiğini göstermiş, naringinin doğrudan antiviral inhibisyon aktivitesi ise 0.0169 µM EC₅₀ değeri ile kanıtlanmıştır (Aati vd., 2022).

Sunulan çalışmadan elde edilen veriler *G. tenuisecta* bitkisinin 0.01 µl konsantrasyonda %19.23 oranında COVID-19 Spike ACE2 bağlanma inhibisyonu gerçekleştirdiği gözlemlendi. Bunun yanında, bitki içeriğinde tespit edilen bileşiklerden resveratrol, kuersetin ve krisin tüm ilaç filtrelerine uyum gösterdi. Klorojenik asit, p-kumarik asit, salisilikasit ve t-sinamik asit sitokrom p450 izoenzimlerine karşı hiçbir inhibisyon etkisi göstermedi. Kan beyin bariyerini klorojenik asit ve kuersetin dışında tüm moleküller geçti Moleküler docking çalışmalarında ise en yüksek bağlanma enerjisine sahip molekül klorojenik asit olarak tespit edildi ($\Delta G = -8.3$ kcal/mol). Sonuç olarak, *G. tenuisecta* bitkisinin in vitro ve in silico analiz sonuçları bu bitkinin COVID-19'a karşı kullanılabileceğini fakat daha ileri araştırmalara ihtiyaç olduğunu göstermektedir.

KAYNAKLAR

- Aati, H. Y., Ismail, A., Rateb, M. E., AboulMagd, A. M., Hassan, H. M., & Hetta, M. H. (2022). *Garcinia cambogia* phenolics as potent anti-COVID-19 agents: phytochemical profiling, biological activities, and molecular docking. *Plants*, 11(19), 2521.
- Actis-Goretta, L., Ottaviani, J. I., & Fraga, C. G. (2006). Inhibition of angiotensin converting enzyme activity by flavanol-rich foods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(1), 229-234.
- Adriana Ghita, M., Caruntu, C., Eugen Rosca, A., Caruntu, A., Moraru, L., Constantin, C., ... & Boda, D. (2017). Topikal kapsaisin ile indüklenen cilt kan akışı değişikliklerinin gerçek zamanlı araştırılması. *Acta Dermatovenerologica Croatica*, 25 (3), 223-223.
- Akdoğan, H., & Karslıgil, T. (2021). SARS-CoV-2: Bildiklerimiz, Bilmediklerimiz. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 51(3), 203-213.
- Akyüz, E. (2007). *Polygonum bistorta* ssp. *carneum* bitki ekstraktlarının kromatografik yöntemlerle kimyasal bileşiminin belirlenmesi ve antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri (Master's thesis, Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Al-Tawfiq, J. A., Momattin, H., Dib, J., & Memish, Z. A. (2014). Ribavirin and interferon therapy in patients infected with the Middle East respiratory syndrome coronavirus: an observational study. *International Journal of Infectious Diseases*, 20, 42-46.
- Al-Tawfiq, J. A., Zumla, A., & Memish, Z. A. (2014). Travel implications of emerging coronaviruses: SARS and MERS-CoV. *Travel Medicine And Infectious Disease*, 12(5), 422-428.
- Altuner, E. M. (2008). Bazı karayosunu türlerinin antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesi (Doctoral dissertation, Ankara Üniversitesi (Turkey)).
- Alvarez, D. F., King, J. A., Weber, D., Addison, E., Liedtke, W., & Townsley, M. I. (2006). Transient receptor potential vanilloid 4-mediated disruption of the alveolar septal barrier: a novel mechanism of acute lung injury. *Circulation Research*, 99(9), 988-995.

- Ao, Z., Chan, M., Ouyang, M. J., Olukitibi, T. A., Mahmoudi, M., Kobasa, D., & Yao, X. (2021). Identification and evaluation of the inhibitory effect of *Prunella vulgaris* extract on SARS-coronavirus 2 virus entry. *PloS one*, 16(6), e0251649.
- Arends, M. J., & Wyllie, A. H. (1991). Apoptosis: mechanisms and roles in pathology. *International Review of Experimental Pathology*, 32, 223-254.
- Armstrong, D. W., & DeMond, W. (1984). Cyclodextrin bonded phases for the liquid chromatographic separation of optical, geometrical, and structural isomers. *Journal of Chromatographic Science*, 22(9), 411-415.
- Arora, P., Jafferany, M., Lotti, T., Sadoughifar, R., & Goldust, M. (2020). Learning from history: Coronavirus outbreaks in the past. *Dermatologic Therapy*, 33(4):e13343. doi: 10.1111/dth.13343.
- Aylaz, R., & Yıldız, E. (2020). *Yeni koronavirüs hastalığının toplum üzerine etkileri ve hemşirelik yaklaşımları*. İnönü Üniversitesi Yayınevi, 38.
- Ayub, K., & Hallett, M. B. (2004). Ca^{2+} influx shutdown during neutrophil apoptosis: importance and possible mechanism. *Immunology*, 111(1), 8.
- Babaoğlu, A. R., Dağalp, S. B., Doğan, F., & Kırmızı, G. A. (2020). SARS-CoV-2'nin genom organizasyonu. *Eurasian Journal of Veterinary Sciences*, 36.
- Báez-Pagán, C. A, Delgado-Vélez, M., & Lasalde-Dominicci, J. A. (2015a). Activation of the macrophage $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor and control of inflammation. *Journal of Neuroimmune Pharmacology*, 10, 468-476.
- Báez-Santos, Y. M, John, S. E. S. & Mesecar, A. D. (2015b). The SARS-coronavirus papain-like protease: structure, function and inhibition by designed antiviral compounds. *Antiviral Research*, 115, 21-38.
- Bai, C, Zhong, Q, & Gao, G. F. (2022). Overview of SARS-CoV-2 genome-encoded proteins. *Science China Life Sciences*, 65(2), 280-294.
- Balakrishna, S., Song, W., Achanta, S., Doran, S. F., Liu, B., Kaelberer, M. M., & Jordt, S. E. (2014). TRPV4 inhibition counteracts edema and inflammation and improves pulmonary function and oxygen saturation in chemically induced acute lung injury. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*, 307(2), L158-L172.

- Balasuriya, B. N., & Rupasinghe, H. V. (2011). Plant flavonoids as angiotensin converting enzyme inhibitors in regulation of hypertension. *Functional Foods in Health And Disease*, 1(5), 172-188.
- Baldwin, A. S. (2001). Series introduction: the transcription factor NF- κ B and human disease. *The Journal of Clinical Investigation*, 107(1), 3-6.
- Balkrishna, A, Haldar, S. Singh, H, Roy, P., & Varshney, A. (2021). Coronil, a tri-herbal formulation, attenuates spike-protein-mediated SARS-CoV-2 viral entry into human alveolar epithelial cells and pro-inflammatory cytokines production by inhibiting spike protein-ACE-2 interaction. *Journal of Inflammation Research*, 869-884.
- Basso, L. G. Vicente, E. F. Crusca Jr, E, Cilli, E. M. & Costa-Filho, A. J. (2016). SARS-CoV fusion peptides induce membrane surface ordering and curvature. *Scientific Reports*, 6(1), 37131.
- Beckman, J. S, & Crow, J. P. (1993). Pathological implications of nitric oxide, superoxide and peroxynitrite formation. *Biochemical Society Transactions*, 21(2), 330-334.
- Beckman, J. S, Beckman, T. W. Chen, J, Marshall, P. A, & Freeman, B. A. (1990). Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite: implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxide. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 87(4), 1620-1624.
- Berg, J. Tymoczko, J. & Stryer, L. (2002). *Amino acid biosynthesis is regulated by feedback inhibition*. Freeman Publishing.
- Bernardi, R. C, Melo, M. C. & Schulten, K. (2015). Enhanced sampling techniques in molecular dynamics simulations of biological systems. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1850(5), 872-877.
- Bhattacharyya, S. Sinha, K. & Sil, P. C. (2014). Cytochrome P450s: Mechanisms and Biological Implications in Drug Metabolism and its Interaction with Oxidative Stress. *Current Drug Metabolism*, 15(7).
- Borhani, D. W, & Shaw, D. E. (2012). The future of molecular dynamics simulations in drug discovery. *Journal of Computer-Aided Molecular Design*, 26, 15-26.
- Brenk, R., Schipani, A., James, D., Krasowski, A., Gilbert, I. H., Frearson, J., & Wyatt, P. G. (2008). Lessons learnt from assembling screening libraries for drug

- discovery for neglected diseases. *ChemMedChem: Chemistry Enabling Drug Discovery*, 3(3), 435-444.
- Brock, T. D. (2016). Brock Mikroorganizmaların Biyolojisi. Palme Yayıncılık.
- Cavanagh, D. (2005). Coronaviruses in poultry and other birds. *Avian Pathology*, 34(6), 439-448.
- Chan, J. F. W., Yuan, S., Kok, K. H., To, K. K. W., Chu, H., Yang, J., & Yuen, K. Y. (2020). A familial cluster of pneumonia associated with the 2019 novel coronavirus indicating person-to-person transmission: a study of a family cluster. *The Lancet*, 395(10223), 514-523.
- Chandran, S. C. S., Christopher, I., Sounderrajan, A., Murugesan, V., Sabapathy, I., Periyasamy, V., & Manikkam, R. (2023). Molecular docking analysis of quercetin with known CoVid-19 targets. *Bioinformation*, 19(11), 1081.
- Chen, G., Wu, D. I., Guo, W., Cao, Y., Huang, D., Wang, H., & Ning, Q. (2020). Clinical and immunological features of severe and moderate coronavirus disease 2019. *The Journal of Clinical Investigation*, 130(5), 2620-2629.
- Chivian, E. (2002). Biodiversity: its importance to human health. *Center for Health and the Global Environment, Harvard Medical School, Cambridge, MA*, 23.
- Cooper, G. M., & Hausman, R. E. (2000). *The Cell: A Molecular Approach*, 2nd edition. Sunderland (MA): Sinauer Associates.
- Çayan F, Deveci E, Tel-Çayan G, Duru ME (2020) Identification and quantification of phenolic acid compounds of twenty-six mushrooms by HPLC–DAD. *J Food Meas Charact* 14(3):1690–1698
- Daina, A., & Zoete, V. (2016). A boiled-egg to predict gastrointestinal absorption and brain penetration of small molecules. *ChemMedChem*, 11(11), 1117-1121.
- Daina, A., Michielin, O., & Zoete, V. (2017). SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Scientific Reports*, 7(1), 42717.
- Decaro, N., Martella, V., Saif, L. J., & Buonavoglia, C. (2020). COVID-19 from veterinary medicine and one health perspectives: What animal coronaviruses have taught us. *Research in Veterinary Science*, 131, 21-23.

- Dobson, P. D., & Kell, D. B. (2008). Carrier-mediated cellular uptake of pharmaceutical drugs: An exception or the rule? *Nature Reviews Drug Discovery*, 7(7), 205-220.
- Durmaz, B., Abdulmajed, O., & Durmaz, R. (2020). SARS-CoV-2 spik proteinindeki mutasyonlar ve virüsün ACE-2 reseptörü ile etkileşimi üzerine etkileri. *Medeniyet Medical Journal*, 35(3), 253.
- Egan, W. J., Merz, K. M., & Baldwin, J. J. (2000). İlaç emiliminin çok değişkenli istatistikler kullanılarak tahmini. *Journal of Medicinal Chemistry*, 43(18), 3867-3877.
- El Gizawy, H. A., Boshra, S. A., Mostafa, A., Mahmoud, S. H., Ismail, M. I., Alsouk, A. A., & Al-Karmalawy, A. A. (2021). Pimenta dioica (L.) Merr. bioactive constituents exert anti-SARS-CoV-2 and anti-inflammatory activities: molecular docking and dynamics, in vitro, and in vivo studies. *Molecules*, 26(19), 5844.
- Eskici, G., & Gur, M. (2013). Alzheimer hastalığında amiloid beta (A β) agregasyonuna karşı yeni peptit inhibitörlerinin hesaplamalı tasarımı: yeni bir metodolojinin uygulaması. *PLOS One*, 8(6), e66178.
- Español, E., Kim, J., Lee, K., & Kim, J. K. (2021). Phytochemicals for the treatment of COVID-19. *Journal of Microbiology*, 59, 959-977.
- Funk VA, Bayer RJ, Keeley S, Chan R, Watson L, Gemeinholzer B, ... & Jansen RK, 2005. Everywhere but Antarctica: using a supertree to understand the diversity and distribution of the Compositae, *Biologiske skrifter*, 55: 343-374.
- Fehr, A. R., & Perlman, S. (2015). Coronaviruses: an overview of their replication and pathogenesis. *Coronaviruses: Methods And Protocols*, 1-23.
- Fırat, M. (2016). Four new species of Gundelia L.(Asteraceae) from Anatolia: G. komagenensis, G. colemerikensis, G. cilicica and G. anatolica. *Van: Sıtav*.
- FIRAT, M. (2017b). Gundelia mesopotamica (Asteraceae), a new lactiferous species from Mardin (Turkey). *Acta Biologica Turcica*, 30(3), 64-69.
- Fırat, M. (2017c). Gundelia rosea (Asteraceae), a new record for the Flora of Turkey with contributions to its systematics. *Acta Biologica Turcica*, 30(2), 31-35.

- Firat, M. (2018b). *Gundelia armeniaca* (Asteraceae); a species new to the Flora of Turkey, with contributions to its taxonomy. *Communications Faculty of Sciences University of Ankara Series C Biology*, 27(2), 35-46.
- Firat, M. (2019a). New status of *Gundelia tournefortii* L. var. *armata* Freyn & Sint. Asteraceae), and a new synonym of its. *OT Sistematik Botanik Dergisi*, 26(1), 17-32.
- Firat, M. (2019b). *Gundelia siirtica* (Asteraceae), a new lactiferous species from Siirt (south-eastern Anatolia). *Phytotaxa*, 394(4), 276-284.
- FIRAT, M. (2021a). A new taxonomic arrangement of the Asian genus *Gundelia* (Asteraceae), including two subgenera and two sections. *Acta Biologica Turcica*, 34(2), 92-99.
- FIRAT, M. (2021b). *Gundelia cappadocica* (Asteraceae); a new lactiferous species from Cappadocia (Kapadokya) Turkey, belonging to *G.* subg. *Gundelia* sect. *Komagenenses*. *Acta Biologica Turcica*, 34(3), 128-139
- FIRAT, M., & SELVİ, S. (2023). Macro and micromorphological study on fruit (disseminule) of the genus *Gundelia* L.(Asteraceae) with new evidence. *Acta Biologica Turcica*, 36(1), F1.
- Firat, M. (2017a). The resurrection and a new status of *Gundelia tournefortii* L. var. *asperrima* Trautv.(Asteraceae)'. *The Herb J. Syst. Bot*, 24, 57-67.
- Firat, M. (2018a). New status of *Gundelia tournefortii* L. forma *purpurascens* Bornm.(Asteraceae) and new record for the flora of Turkey. *The Herb J. Syst. Bot*, 25, 11-24.
- Ganesan, A., Coote, M. L., & Barakat, K. (2017). Molecular dynamics-driven drug discovery: leaping forward with confidence. *Drug Discovery Today*, 22(2), 249-269.
- Gebhard, C., Regitz-Zagrosek, V., Neuhauser, H. K., Morgan, R., & Klein, S. L. (2020). Impact of sex and gender on COVID-19 outcomes in Europe. *Biology Of Sex Differences*, 11, 1-13.
- Ghose, A. K., Viswanadhan, V. N., & Wendoloski, J. J. (1998). Prediction of hydrophobic (lipophilic) properties of small organic molecules using fragmental methods: an

- analysis of ALOGP and CLOGP methods. *The Journal of Physical Chemistry A*, 102(21), 3762-3772.
- Ghosh, A. K., Shahabi, D., Yadav, M., Kovela, S., Anson, B. J., Lendy, E. K., & Mesecar, A. D. (2021). Chloropyridinyl esters of nonsteroidal anti-inflammatory agents and related derivatives as potent SARS-CoV-2 3CL protease inhibitors. *Molecules*, 26(19), 5782.
- Gur, M., Golcuk, M., Gul, A., Erman, B., & Bahar, I. (2020). Moleküler dinamik simülasyonlar HLA-B51'in Behçet hastalığı patogenezindeki rolü hakkında moleküler içgörüler sağlar. *Chemical Biology & Drug Design*, 96(1), 644-658.
- Gur, M., Taka, E., Yilmaz, S. Z., Kilinc, C., Aktas, U., & Golcuk, M. (2020). Conformational transition of SARS-CoV-2 spike glycoprotein between its closed and open states. *The Journal of Chemical Physics*, 153(7), 075101.
- Güler, H. I., Şal, F. A., Can, Z., Kara, Y., Yildiz, O., Beldüz, A. O., & Kolaylı, S. (2021). Targeting CoV-2 spike RBD and ACE-2 interaction with flavonoids of Anatolian propolis by in silico and in vitro studies in terms of possible COVID-19 therapeutics. *Turkish Journal of Biology*, 45(7), 530-548.
- Hilgenfeld, R., & Peiris, M. (2013). From SARS to MERS: 10 years of research on highly pathogenic human coronaviruses. *Antiviral Research*, 100(1), 286-295.
- Hinchliffe, A. (2003). *Molecular Modelling for Beginners*. Wiley.
- Holub, J. (1979). Davis PH (ed.) et al. *Flora of Turkey and the east Aegean Islands Volume six*: Edinburgh University Press, Edinburgh 1978, 18+ 825 p., 59 maps, 24 pl., price: 60£.
- Huentelman, M. J., Zubcevic, J., Hernández Prada, J. A., Xiao, X., Dimitrov, D. S., Raizada, M. K., et al. (2004). Structure-based discovery of a novel angiotensin-converting enzyme 2 inhibitor. *Hypertension*, 44(6), 903-906.
- Jamshidnia, M., Sewell, R. D., & Rafieian-Kopaei, M. (2022). An Update on Promising Agents against COVID-19: Secondary metabolites and mechanistic aspects. *Current Pharmaceutical Design*, 28(29), 2415-2425.
- Jorgensen, W. L. (2004). The many roles of computation in drug discovery. *Science*, 303(5665), 1813-1818.

- Kayaalp Oğuz. (2012). Akılcı tedavi yönünden tıbbi farmakoloji. Pelikan Yayıncılık.
- Khairan, K., Idroes, R., Tallei, T. E., Nasim, M. J., & Jacob, C. (2021). Bioactive compounds from medicinal plants and their possible effect as therapeutic agents against COVID-19: a review. *Current Nutrition & Food Science*, 17(6), 621-633.
- Kurtuluş, M., & Pirim, İ. (2020). COVID-19 ve Sitokin Fırtınası. *Forbes Journal of Medicine*, 1(3), 55-60.
- Lee, Y. G., Kang, K. W., Hong, W., Kim, Y. H., Oh, J. T., Park, D. W., & Kang, S. C. (2021). Potent antiviral activity of *Agrimonia pilosa*, *Galla rhois*, and their components against SARS-CoV-2. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 45, 116329.
- Li, G., & De Clercq, E. (2020). Therapeutic options for the 2019 novel coronavirus (2019-nCoV). *Nature Reviews Drug Discovery*, 19(3), 149-150.
- Li, Y. C., Bai, W. Z., & Hashikawa, T. (2020). The neuroinvasive potential of SARS-CoV2 may play a role in the respiratory failure of COVID-19 patients. *Journal of medical virology*, 92(6), 552-555.
- Liang, J. Q., Fang, S., Yuan, Q., Huang, M., Chen, R. A., Fung, T. S., & Liu, D. X. (2019). N-Linked glycosylation of the membrane protein ectodomain regulates infectious bronchitis virus-induced ER stress response, apoptosis and pathogenesis. *Virology*, 531, 48-56.
- Licitra, B. N., Duhamel, G. E., & Whittaker, G. R. (2014). Canine enteric coronaviruses: emerging viral pathogens with distinct recombinant spike proteins. *Viruses*, 6(8), 3363-3376.
- Lipinski, C. A. (2001). Avoiding investment in doomed drugs. *Curr Drug Discov*, 1, 17-19.
- Liu, L., Kapralov, M., & Ashton, M. (2024). Plant-derived compounds as potential leads for new drug development targeting COVID-19. *Phytotherapy Research*, 38(3), 1522-1554.
- Liu, Y., Yang, X., Gan, J., Chen, S., Xiao, Z. X., & Cao, Y. (2022). CB-Dock2: Improved protein–ligand blind docking by integrating cavity detection, docking and homologous template fitting. *Nucleic Acids Research*, 50(W1), W159-W164.

- Malinauskas, R. (2008). College athletes' perceptions of social support provided by their coach before injury and after it. *Journal Of Sports Medicine And Physical Fitness*, 48(1), 107.
- Masters, P. S. (2006). The molecular biology of coronaviruses. *Advances in Virus Research*, 66, 193-292.
- Masters, P. S., & Perlman, S. (2013). Coronaviridae. In D. M. Knipe & P. M. Howley (Eds.), *Fields Virology* (6th ed., 825-858). Lippincott Williams & Wilkins.
- Meireles, L., Gur, M., Bakan, A., & Bahar, I. (2011). Pre-existing soft modes of motion uniquely defined by native contact topology facilitate ligand binding to proteins. *Protein Science*, 20(10), 1645-1658.
- Meng, Y., Wu, P., Lu, W., Liu, K., Ma, K., Huang, L., & Wu, P. (2020). Sex-specific clinical characteristics and prognosis of coronavirus disease-19 infection in Wuhan, China: A retrospective study of 168 severe patients. *Plos Pathogens*, 16(4), e1008520.
- Millet, J.K., & Whittaker, G. R. (2015). Host cell proteases: critical determinants of coronavirus tropism and pathogenesis. *Virus Research*, 202, 120-134.
- Mofokeng, M. M., du Plooy, C. P., Araya, H. T., Amoo, S. O., Mokgehele, S. N., Pofu, K. M., & Mashela, P. W. (2022). Medicinal plant cultivation for sustainable use and commercialisation of high-value crops. *South African Journal of Science*, 118(7/8).
- Morris, G. M., & Lim-Wilby, M. (2008). Molecular docking. *Molecular Modeling Of Proteins*, 365-382.
- Muegge, I., Heald, S. L., & Brittelli, D. (2001). Simple selection criteria for drug-like chemical matter. *Journal of Medicinal Chemistry*, 44(11), 1841-1846.
- Nieto-Torres, J. L., DeDiego, M. L., Verdía-Báguena, C., Jimenez-Guardeño, J. M., Regla-Nava, J. A., Fernandez-Delgado, R., & Enjuanes, L. (2014). Severe acute respiratory syndrome coronavirus envelope protein ion channel activity promotes virus fitness and pathogenesis. *PLoS pathogens*, 10(5), e1004077.
- Ou, X., Liu, Y., Lei, X., Li, P., Mi, D., Ren, L., & Qian, Z. (2020). Characterization of spike glycoprotein of SARS-CoV-2 on virus entry and its immune cross-reactivity with SARS-CoV. *Nature. Communications*, 11, 1–12.

- Özkan, G., Kamiloglu, S., Ozdal, T., Boyacioglu, D., & Capanoglu, E. (2016). Potential use of Turkish medicinal plants in the treatment of various diseases. *Molecules*, 21(3), 257.
- Öztürk, A., Öztürk, S., & Kartal, Ş. (2000). Van otlu peynirlerine katılan bitkilerin özellikleri ve kullanılışları. *Ot Sistematik Botanik Dergisi*, 7(2), 167-179.
- Öztürk, H., Ozkirimli, E., & Özgür, A. (2019). WideDTA: prediction of drug-target binding affinity. *arXiv preprint arXiv:1902.04166*.
- Öztürk, M., & Özçelik, H. (1991). *Doğu Anadolu'nun faydalı bitkiler*. Siirt İlim, spor, kültür ve Arastırma Vakfı.
- Pehote, G., & Vij, N. (2020). Autophagy augmentation to alleviate immune response dysfunction and resolve respiratory and COVID-19 exacerbations. *Cells*, 9(9), 1952.
- Peters, R. T., Liao, S. M., & Maniatis, T. (2000). IKK ϵ is part of a novel PMA-inducible I κ B kinase complex. *Molecular Cell*, 5(3), 513-522.
- Pisoschi, A. M., & Pop, A. (2015). The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 97, 55-74.
- Rabi, F. A., Al Zoubi, M. S., Kasasbeh, G. A., Salameh, D. M., & Al-Nasser, A. D. (2020). SARS-CoV-2 and coronavirus disease 2019: what we know so far. *Pathogens*, 9(3), 231.
- Raina, H., Soni, G., Jauhari, N., Sharma, N., & Bharadvaja, N. (2014). Phytochemical importance of medicinal plants as potential sources of anticancer agents. *Turkish Journal of Botany*, 38(6), 1062-1073.
- Ramdani, L. H., & Bachari, K. (2020). Potential therapeutic effects of Resveratrol against SARS-CoV-2. *Acta Virologica*, 64(3).
- Roskoski, R. Jr. (2023). Rule of five violations among the FDA-approved small molecule protein kinase inhibitors. *Pharmacology Research*, 191, 106774. [invalid URL removed]
- Safiabadi Tali, S. H., LeBlanc, J. J., Sadiq, Z., Oyewunmi, O. D., Camargo, C., Nikpour, B., Armanfard, N., Sagan, S. M., & Jahanshahi Anbuhi, S. (2021). Tools and

- techniques for severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2)/COVID-19 detection. *Clinical Microbiology Reviews*, 34(3), e00228-20.
- Şekeroğlu, N., Senol, F. S., Orhan, I. E., Gulpinar, A. R., Kartal, M., & Sener, B. (2012). In Vitro Prospective Effects of Various Traditional Herbal Coffees Consumed in Anatolia Linked to Neurodegeneration. *Food Research International*, 45(1), 197-203.
- Sharad, S., & Kapur, S. (2021). Indian herb-derived phytoconstituent-based antiviral, antimicrobial and antifungal formulation: an oral rinse candidate for oral hygiene and the potential prevention of COVID-19 outbreaks. *Pathogens*, 10(9), 1130.
- Singhal, T. (2020). A Review of Coronavirus Disease-2019 (COVID-19). *Indian Journal of Pediatrics*, 87(4), 281-286.
- Srivastava, N., Garg, P., Srivastava, P., & Seth, P. K. (2021). A molecular dynamics simulation study of the ACE2 receptor with screened natural inhibitors to identify novel drug candidate against COVID-19. *Peer J*, 9, e11171.
- Straub, R. H. (2007). The complex role of estrogens in inflammation. *Endocrine Reviews*, 28(5), 521-574.
- Sutton, T. C., & Subbarao, K. (2015). Development of animal models against emerging coronaviruses: From SARS to MERS coronavirus. *Virology*, 479-480, 247-258.
- Şener, E. A., & Yalçın, İ. (2003). Farmasötik/Medisinal Kimya'da ilaç etken madde tasarım yöntemleri-1: kantitatif yapı-etki ilişkileri analizleri (QSAR). [Drug design methods in pharmaceutical/medicinal chemistry-1: Quantitative structure-activity relationship (QSAR) analyses]. *Kimya Mühendisliği Dergisi*, 48(2), 2-6, 13-17.
- Tabata, M., Sezik, E., Honda, G., Yeşilada, E., Fukui, H., Goto, K., & Ikeshiro, Y. (1994). Traditional medicine in Turkey III. Folk medicine in east Anatolia, Van and Bitlis provinces. *International journal of pharmacognosy*, 32(1), 3-12.
- Taneja, V. (2018). Sex Hormones Determine Immune Response. *Frontiers in Immunology*, 9, 1931.
- Tanrıverdi, E. S., Yakupoğulları, Y., & Otlı, B. (2020). COVID-19 etkeninin özellikleri. In C. Çiçek (Ed.), *Mikrobiyoloji ve COVID-19. Türkiye Klinikleri*.

- Thorne, N., Auld, D. S., & Inglese, J. (2010). Apparent Activity in High-Throughput Screening: Origins of Compound-Dependent Assay Interference. *Current Opinion in Chemical Biology*, 14(3), 315-324.
- Van Drie, J. H. (2007). Computer-aided drug design: the next 20 years. *Journal Of Computer-Aided Molecular Design*, 21(10), 591-601.
- Veber, D. F., Johnson, S. R., Cheng, H. Y., Smith, B. R., Ward, K. W., & Kopple, K. D. (2002). Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates. *Journal of Medicinal Chemistry*, 45(12), 2615-2623.
- Vitek E, Fayvush G, Tamanyan K, Gemeinholzer B, 2010. New taxa of Gundelia (Compositae) in Armenia, *Annalen des Naturhistorischen Museums Wien Serie B*, 111: 85–99.
- Walls, A. C., & Park, Y. (2020a). J, Tortorici MA, Wall A, McGuire AT, Velesler D. Structure, function, and antigenicity of the SARS-CoV-2 spike glycoprotein. *Cell*, 181(2), 281-292.
- Walls, A. C., Park, Y. J., Tortorici, M. A., Wall, A., McGuire, A. T., & Velesler, D. (2020b). Structure, function, and antigenicity of the SARS-CoV-2 spike glycoprotein. *Cell*, 181(2), 281-292.
- Wang, B., Li, R., Lu, Z., & Huang, Y. (2020). Does comorbidity increase the risk of patients with COVID-19: evidence from meta-analysis. *Aging (albania NY)*, 12(7), 6049.
- Wang, Y., Wang, Y., Chen, Y., & Qin, Q. (2020). Unique epidemiological and clinical features of the emerging 2019 novel coronavirus pneumonia (COVID-19) implicate special control measures. *Journal of Medical Virology*. [In press]
- Weiss, S. R., & Leibowitz, J. L. (2011). Coronavirus pathogenesis. *Advances in Virus Research*, 81, 85-164.
- Wright, W. C., Chenge, J., & Chen, T. (2019). Structural perspectives of the CYP3A family and their small molecule modulators in drug metabolism. *Liver Research*, 3(3-4), 132-142.
- Xiao, P., Yan, W., Gou, L., Zhong, Y. N., Kong, L., Wu, C., ... & Shao, Z. (2021). Ligand recognition and allosteric regulation of DRD1-Gs signaling complexes. *Cell*, 184(4), 943-956.

- Xu, X., Yu, C., Qu, J., Zhang, L., Jiang, S., Huang, D., et al. (2020). Imaging and clinical features of patients with 2019 novel coronavirus SARS-CoV-2. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*, 47(5), 1275-1280.
- Yan, R., Zhang, Y., Li, Y., Xia, L., Guo, Y., Zhou, Q. (2020). Structural basis for the recognition of SARS-CoV-2 by full-length human ACE2. *Science*, 367(6485), 1444-1448.
- Yi, L., Li, Z., Yuan, K., Qu, X., Chen, J., Wang, G., & Xu, X. (2004). Small molecules blocking the entry of severe acute respiratory syndrome coronavirus into host cells. *Journal Of Virology*, 78(20), 11334-11339.
- Yi, Y., Yu, R., Xue, H., Jin, Z., Zhang, M., Bao, Y. O., & Yang, H. (2024). Chrysin 7-O- β -D-glucuronide, a dual inhibitor of SARS-CoV-2 3CLpro and PLpro, for the prevention and treatment of COVID-19. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 63(1),
- Yücel, B., & Görmez, A. A. (2019). SARS-Corona virüsüne genel bakış [A general overview of SARS coronavirus]. *Turkish Journal of Applied Sciences and Technology*, 2(1), 32-39.
- Zhao, M., Ma, J., Li, M., Zhang, Y., Jiang, B., Zhao, X., et al. (2021). Cytochrome P450 Enzymes and Drug Metabolism in Humans. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(23), 12808. [doi: 10.3390/ijms222312808]
- Zomot, E., Gur, M., & Bahar, I. (2015). Microseconds simulations reveal a new sodium-binding site and the mechanism of sodium-coupled substrate uptake by LeuT. *Journal of Biological Chemistry*, 290(1), 544-555.

ÖZGEÇMİŞ

Tuncay GÜZELTAŞ [redacted] yılında [redacted] doğdu. İlk ve orta öğrenimini Bitlis'te tamamladıktan sonra [redacted] Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi, Yaşlı Bakımı önlisans Bölümü'nde ardından [redacted] Bitlis Eren Üniversitesi Beslenme ve Diyetetik bölümünde lisans eğitimini tamamladı. Bitlis Eren Üniversitesi'nde başladığı yüksek lisans öğrenimine halen devam etmektedir.

