



**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



YÜKSEK LİSANS TEZİ

**BAZI BİTKİ EKSTRELERİ VE KİMYASAL MADDELERİN
NÖRAMİNİDAZ AKTİVİTESİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

Onur ERTİK

Kimya Anabilim Dalı

Biyokimya Programı

Danışman

Prof. Dr. Refiye YANARDAĞ

ARALIK, 2015

İSTANBUL

Bu çalışma/...../ 20 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından
Anabilim Dalı programında Doktora / Yüksek Lisans Tezi olarak
kabul edilmiştir.

Tez Jürisi:

İmza
Prof.Dr. Refiye YANARDAĞ
İstanbul Üniversitesi
Mühendislik Fakültesi

İmza
Jüri Unvan. Adı SOYADI
Üniversite
Fakülte

İmza
Jüri Unvan. Adı SOYADI
Üniversite
Fakülte

İmza
Jüri Unvan. Adı SOYADI
Üniversite
Fakülte

İmza
Jüri Unvan. Adı SOYADI
Üniversite
Fakülte

Bu alışma İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yürütücü Sekreterliđinin 46431 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitimim sırasında, biyokimya bilimini öğrenme sürecimde, tezimin planlaması ve gerçekleştirilmesi esnasında bilgi ve birikimini hiçbir zaman esirgemeyen çok değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Refiye YANARDAĞ'a en içten duygularıyla teşekkür ederim.

Tüm bu çalışma boyunca yardım severliği, hoşgörüsü ve insanlık paylaşımlarıyla her zaman bana destek olan, yol gösteren, teoride ve pratikte bilgilerimizin oluşmasında büyük katkısı olan hocam Sayın Prof. Dr. Özlem SAÇAN'a en içten duygularıyla teşekkür ederim. Bu süreçteki destek ve yardımlarından dolayı Doç. Dr. Sevim TUNALI'ya, Yrd. Doç. Dr. Bertan Boran BAYRAK'a ve Ar. Gör. Dr. İsmet Burcu TÜRKYILMAZ'a teşekkür ederim. Tez boyunca beraber çalıştığım, değerli bir insan olan yol arkadaşım Eda DAĞSUYU'na özellikle teşekkür ederim.

Bugünlerde olmamı sağlayan, emeklerini bizim için harcayan ve anlayışları ile her zaman ideallerimin peşinden koşmamı destekleyen babam Kemal ERTİK'e, annem Asuman ERTİK'e, ablam Duygu ÖZTEPE'ye, eniştem Yücel ÖZTEPE'ye ve doğduğu günden beri hayatımıza adı gibi renk katan sevgili yeğenim Deniz ÖZTEPE'ye sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Eğitim hayatım boyunca hem bilgi hem de insani olarak ilerlememe katkıda bulunan, yarının güzel çocuklarını yetiştiren saygıdeğer tüm öğretmenlerime şükranlarımı sunarım.

Çalışmamın uygulama kısmını destekleyen İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne teşekkür ederim.

ARALIK, 2015

Onur ERTİK

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ.....	i
İÇİNDEKİLER	ii
ŞEKİL LİSTESİ.....	iv
TABLO LİSTESİ	v
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ	vi
ÖZET.....	vii
SUMMARY	viii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL KISIMLAR	4
2.1. ENZİMLER VE GENEL ÖZELLİKLERİ.....	4
2.2. SİYALİK ASİT	5
2.3. NÖRAMİNİDAZLAR.....	7
2.3.1. Memelilerde Nöraminidaz	7
2.3.1.1. Sialidosis	10
2.3.1.2. Galaktosialidosis.....	10
2.3.2. Virüslerde Nöraminidaz.....	10
2.3.2.1. İnfluenza Virüsleri.....	10
2.3.2.2. Parainfluenza Virüsleri.....	16
2.3.3. Bakterilerde Nöraminidaz.....	18
2.3.4. Nöraminidaz Enzimlerinin Aktif Merkezleri.....	20
2.4. NÖRAMİNİDAZ ENZİMİNİN BAZI HASTALIKLAR İLE İLİŞKİSİ	26
2.4.1. Kanser	26
2.4.2. Pnömonokok	26
2.4.3. Periodontitis	27
3. MALZEME VE YÖNTEM	28
3.1. DENEYDE KULLANILAN ALETLER.....	28
3.2. DENEYDE KULLANILAN KİMYASAL MADDELER	28
3.3. ENZİM İNHİBİSYONUNDA KULLANILAN BİTKİ EKSTRELERİ	29

3.3.1. Metil Alkollü Ekstrelerin Hazırlanması.....	30
3.4. ENZİM İNHİBİSYONUNDA KULLANILAN KİMYASAL MADDELER	30
3.5. NÖRAMİNİDAZ ENZİM İNHİBİSYONUNUN ÖLÇÜLMESİ	31
4. BULGULAR	33
4.1. METİL ALKOLLÜ BİTKİ EKSTRELERİNİN NÖRAMİNİDAZ ENZİMİ ÜZERİNE İNHİBİTÖR ETKİLERİ	33
4.2. KİMYASAL MADDELERİN NÖRAMİNİDAZ ENZİMİ ÜZERİNE İNHİBİTÖR ETKİLERİ	36
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	45
KAYNAKLAR	53
ÖZGEÇMİŞ.....	65

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 2.1: Sialik Asit Molekülünün Yapısı ve Doğal Sübstitüentlerinin Listesi.	5
Şekil 2.2: N-asetilnöraminik Asidin Molekül Yapısı	6
Şekil 2.3: İnfluenza Virüsünde Bulunan Nöraminidaz'ın 3 Boyutlu Homotetramer Yapısı	11
Şekil 2.4: İnfluenza Virüslerinin Yapısı.	12
Şekil 2.5: İnfluenza Virüslerinin Elektron Mikroskopundaki Görüntüleri.....	13
Şekil 2.6: Parainfluenza (HPIV-3) Virüslerinin Elektron Mikroskopu Altındaki Görüntüsü	17
Şekil 2.7: Parainfluenza Virüslerinin Genel Yapısı.....	17
Şekil 2.8: Zanamir Molekülünün NA Aktif Merkezindeki Konumu ve Molekül Yapısı.....	21
Şekil 2.9: Oseltamivir Molekülünün NA Aktif Merkezindeki Konumu ve Molekül Yapısı.....	21
Şekil 2.10: Nöraminidazın Aktif Merkezinde Substratı Olan Sialik Asit ile Yaptığı Bağlar	22
Şekil 2.11: <i>Corynebacterium diphtheriae</i> Bakterisine Ait Nöraminidaz (NanH) Enziminin 3 Boyutlu Yapısı ve Aktif Merkezi	22
Şekil 2.12: NanH Aktif Bölgesinde Gerçekleşen Reaksiyonun Mekanizması	23
Şekil 2.13: Neu1, Neu2, Neu3 ve Neu4 Enzimlerinin Aktif Merkezileri.....	24
Şekil 2.14: Memeli Nöraminidazlarının 3 Boyutlu Yapıları	25

TABLO LİSTESİ

	Sayfa No
Tablo 2.1: Nöraminidazların Memeli Organizmasında Buldukları Yerler	8
Tablo 2.2: Memelilerde Bulunan Dört Nöraminidaz Enziminin Genel Özellikleri	9
Tablo 2.3: İnfluenza A Virüslerine Ait RNA Segmentleri ve Kodladıkları Proteinler	14
Tablo 2.4: Nöraminidaz İnhibitörü Olarak Kullanılan Bazı İlaçlar.	16
Tablo 2.5: Virülens Faktörü Nöraminidaz Olan Bazı Bakteriler ve Neden Oldukları Hastalıklar.....	18
Tablo 3.1: Enzim İnhibisyonunda Kullanılan Bitki Ekstrelerinin Latince Adları ve Bitkinin Kullanılan Kısımları.	29
Tablo 4.1: Çeşitli Bitkilerden Hazırlanan Metil Alkollü Ekstrelerin Nöraminidaz Üzerindeki % İnhibisyon ve IC ₅₀ Değerleri	33
Tablo 4.2: Bazı Vitaminlerin Nöraminidaz Üzerindeki % İnhibisyon ve IC ₅₀ Değerleri.	36
Tablo 4.3: Bazı Kimyasal Maddelerin Nöraminidaz Üzerindeki % İnhibisyon ve IC ₅₀ Değerleri.	39

SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

Simgeler Açıklama

kDa	: Kilodalton
mL	: Mililitre
M	: Molar
µL	: Mikrolitre
µM	: Mikromolar
µg	: Mikrogram

Kısaltmalar Açıklama

HA	: Hemagglutinin
HIV	: İnsan Bağışıklık Yetmezlik Virüsü
HN	: Hemagglutinin-Nöraminidaz
HPIV	: İnsan Para İnfluenza Virüsü
M1	: Matriks Protein 1
M2	: Matriks Protein 2
NA	: Nöraminidaz
NANA	: Nöraminidaz-A
NANB	: Nöraminidaz-B
NANC	: Nöraminidaz-C
NANH	: Nöraminidaz-H
NANI	: Nöraminidaz-I
NEU1	: Nöraminidaz-1
NEU2	: Nöraminidaz-2
NEU3	: Nöraminidaz-3
NEU4	: Nöraminidaz-4
NS1	: Yapısal Olmayan Protein
NP	: Nükleo Protein
PA	: Polimeraz Asidik
PB1	: Polimeraz Bazik 1
PB2	: Polimeraz Bazik 2

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BAZI BİTKİ EKSTRELERİ VE KİMYASAL MADDELERİN NÖRAMİNİDAZ AKTİVİTESİ ÜZERİNE ETKİLERİ

Onur ERTİK

İstanbul Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Refiye YANARDAĞ

Günümüz dünyasında, hastalık oranları çevresel faktörlerden, yaşam tarzlarından ve teknolojiye dolaylı olarak günden güne artmaktadır. Çoğu hastalık için pek çok ilaç olmasına rağmen, insanların bitkisel ürünlere olan ilgi ve talebi artış içindedir. Bu yüzden, hastalıkların tedavisinde kullanılabilir bitkilerin, bilimsel olarak araştırılması gerekmektedir. Nöraminidaz, glikoproteinlerin, glikolipidlerin ve polisakkaritlerin terminal N-asetil nöraminik asit kalıntılarını katalizleyen, glikozil hidrolazlar sınıfına ait bir enzimdir. Nöraminidaz enzimi memelilerde, mikroorganizmalarda ve virüslerde bulunabilmektedir ve patojenlik üzerinde etkileri bulunmaktadır. Bu enzim influenza A ve B virüslerinde viral replikasyon için gerekli olan yüzey glikoproteinidir. Bu çalışmada bazı bitki ekstraktları ve kimyasal maddelerin nöraminidaz aktivitesi üzerine inhibisyon etkileri incelenmiştir. Deneylerimiz sonucunda bitki ekstraktlarının ve kimyasal maddelerin doza bağımlı olarak nöraminidaz aktivitesini inhibe ettiği saptanmıştır. Bu bitki ekstraktları ve kimyasal maddelerin nöraminidaz inhibisyon aktiviteleri nedeniyle ilaç tedavisinde ve eczacılık endüstrisinde kullanılabileceği sonucuna varılabilir.

Aralık, 2015, 74 Sayfa.

Anahtar kelimeler: Nöraminidaz, bitki ekstresi, enzim inhibisyon

SUMMARY

M.Sc. THESIS

THE EFFECTS OF SOME PLANT EXTRACTS AND CHEMICAL COMPOUNDS ON NEURAMINIDASE ACTIVITY

Onur ERTİK

Istanbul University

Institute of Graduate Studies in Science and Engineering

Department of Chemistry

Supervisor: Prof. Dr. Refiye YANARDAĞ

In today's world, disease rates are increasing because of environmental factors, lifestyles and technology, day after day. Although there are many drugs for many diseases, people's interest and demand for herbal products are increasing. So, plants which can be used in the treatment of diseases, have to be researched scientifically. Neuraminidase belong to class of glycosyl hydrolases that release terminal sialic acid from glycoproteins, glycolipids and polysaccharides. Neuraminidases could be found in animals, microorganisms and viruses and they have an impact on pathogenicity. This enzyme which is required for viral replication is a surface glycoprotein in influenza type A and B. In this study, we have examined the inhibitory effects on neuraminidase activity of some plant extracts and some chemical compounds. As a result of our experiments, the neuraminidase inhibitory activities of plant extracts and chemical compounds were found to increase in a dose dependent manner. We can conclude that these plant extracts and chemical drugs can be used in pharmacy industries and drugs treatment due to their neuraminidase inhibitory activities.

December, 2015, 74 Pages.

Keywords: Neuraminidase, plant extract, enzyme inhibition

1. GİRİŞ

İnsanlık tarihi boyunca görülmüş olan birçok hastalık (şeker hastalığı, sarılık, nefes darlığı vb.) bitkiler tarafından tedavi edilmeye çalışılmış ve çalışılmaya devam etmektedir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO), dünyada yaklaşık 4 milyar insanın (dünya nüfusunun yaklaşık % 80'i) sağlık sorunlarını ilk olarak bitkisel ilaçlar ile tedavi etmeye çalıştıklarını bildirmektedir. Gelişmiş ülkelerde reçeteli ilaçların yaklaşık % 25'ini bitkisel kökenli etken maddeler (vimbilastin, rezerpin, kinin, aspirin vb.) oluşturmaktadır (Farnsworth ve diğ., 1985).

Özellikle 90'lı yıllardan sonra, tıbbi ve aromatik bitkilerin yeni kullanım alanlarının oluşması, doğal ürünlere olan talebin artması; bu bitkilerin kullanım miktarını her geçen gün arttırmaktadır. Günümüzde tıbbi bitkiler piyasasının yıllık yaklaşık 60 milyar dolarlık bir rakama sahip olduğu tahmin edilmektedir (Faydaoğlu ve Sürücüoğlu, 2011).

Canlılarda birçok farklı biyokimyasal reaksiyon gerçekleşmektedir. Bütün bu reaksiyonlar temelde protein yapısına sahip olan (ribozim hariç) ve enzim olarak adlandırılan biyolojik katalizörler tarafından gerçekleştirilmektedir. Bu özellikleri ile proteinlerin en büyük özelleşmiş grubunu teşkil etmektedirler (Friedman, 1996).

Enzimlerin diğer katalizörlerden en çarpıcı farkları spesifik olmalarıdır. Diğer bir ifade ile her reaksiyon için farklı enzim kullanılmaktadır. Organizmada yer alan organik maddelerin yapım, yıkım ve tüm fizyolojik olayları enzimlerin katalizör etkisi sayesinde devam edebilmektedir (Lehninger, 1988).

Enzimler spesifik olma özelliklerinden dolayı ve düşük konsantrasyonlarda da reaksiyon katalizleyebildikleri için kimya endüstrisinde, gıda, tıp, eczacılık, kozmetik ve daha birçok alanda kullanılmaktadırlar (Friedman, 1996).

Nöraminidazlar (Sialidaz, EC: 3.2.1.18, NA), doğada yaygın olarak bulunmaktadır. Virüslerde, protozoalarda, mantarlarda, kuşlarda, insalarda dahil olmak üzere gelişmiş memelilerde bulunmaktadır (Achyuthan ve Achyuthan, 2001). Nöraminidaz glikoproteinlerin, glikolipidlerin ve polisakkaritlerin terminal N-Asetil nöraminik asit kalıntılarını koparan bir enzimdir (Roggettin ve diğ., 1993).

İnfluenza; ateş, öksürük, baş ağrısı, halsizlik ve miyalji ile seyreden akut viral bir hastalıktır. Epidemik ve pandemiler oluşturabilmesi ve akciğer komplikasyonlarına neden olabilmesi diğer solunum sistemi viral infeksiyonlarından ayıran iki önemli özelliğidir (Aktaş, 2002).

Nöraminidaz enzimi, influenza virüslerinin enfekte oldukları konak hücrelerden serbest hale geçmesinden ve influenza virüslerinin üst solunum yolundaki hareketinde anahtar bir rol oynamaktadır (Bucher ve Palese, 1975; Air ve Laver, 1989). Bu işlevlerinin yanında nöraminidaz enzimi influenza A tipi virüslerde alt tiplerin oluşmasında da rol oynamaktadır (Brooks ve diğ., 2007).

İnfluenza bu özelliklerinden dolayı güncelliğini korumakta ve yeni salgınlar meydana gelebilmektedir. Bu hastalığın önlenmesi için uzun yıllardır süregelen çalışmalar bulunmakta olup, çeşitli ilaçlar mevcuttur. Hastalığın durdurulması için kullanılan ilaç gruplarından birisi de yapısında bulunan nöraminidaz enziminin inhibitörleridir. Nöraminidaz inhibitörleri infeksiyon bölgelerinden virüsün yayılmasını engelleyebilmektedir. Bu amaçla üretilen anti-viral ilaçların bu konuda başarılı olmasının yanı sıra, uzun süreli kullanımların sonucu olarak toksisite ve virüslerin ilaçlara karşı direnç kazanmasına neden olmaktadır (Ryan ve diğ., 1995; Bantia ve diğ., 2006; Hurt ve diğ., 2009).

İnfluenza hastalığının yanı sıra memelilerde bulunan nöraminidazların çeşitli doku ve vücut sıvılarındaki aktivite düzeylerinin, sialidosis, galaktosialidosis, Tay-Sachs hastalığı ve kanser gibi hastalıkların biyolojik markırları olduğu ileri sürülmüştür. Bakterilerde ise bu enzim karbohidrat sağlayarak bakterilerin beslenmesine hizmet

etmekte ve dolaylı olarak patojenlikte rol oynamaktadır (Roggentin ve diğ., 1993; Wiggins ve diğ., 2001).

Nöraminidazların önemi, birçok organizmada bulunmaları ve birçok hastalıkta görevlerinin olması nedeniyle her geçen gün artmaktadır. İnfluenza tedavisinde kullanılan nöraminidaz inhibitörlerine karşı virüslerin direnç göstermesiyle birlikte biyoyararlanımlarının düşük olmasından ötürü yeni inhibitörlerin geliştirilmesi gerekli olmuştur.

Kimyasal maddelerden daha az yan etkiye sahip olmaları ve üretim maliyetlerinin düşük olmasından dolayı, bitki ve bitki ekstralarına olan ilgi ve talep her geçen gün artmakta, bu yüzden bitki ve bitkisel kaynaklı ürünler çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Bu açıdan bitkilerin biyolojik etkilerinin ve mekanizmalarının araştırılması güncelliğini korumaktadır.

2. GENEL KISIMLAR

2.1. ENZİMLER VE GENEL ÖZELLİKLERİ

Enzimler, canlıların organizmalarında kimyasal tepkimelerin hızlarını arttıran ve bunu herhangi bir yan ürün oluşturmadan yapan biyolojik katalizörlerdir. Enzimler- katalitik RNA molekülleri olan ribozimler dışında- protein yapısındadır (Küfrevioğlu ve Keha, 2014). Enzimlerle ilgili ilk çalışmalar 19. yüzyılın ortalarına yakın başlamış ve ilk çalışma, 1835 yılında S.S. Berzelius tarafından, nişastanın sindiriminde etkili olan bitkisel enzimler üzerine yapılmıştır. 1860 yılında Pasteur'ün fermantasyon enzimleri üzerine yaptığı çalışmalar sonucu enzimlere ferment genel adı verilmiştir. Daha sonra bu isim 1878 yılında Kühne tarafından, Yunanca'da "mayada" anlamına gelen enzim ismi ile değiştirilmiştir. 1897 yılında Buchner maya hücrelerinden fermantasyon enzimlerini elde ederek, canlı hücrenin olmadığı ortamda da hücre özütünün şekerleri mayaladığını göstermiştir (Onat ve diğ., 2002).

Enzim alanındaki en önemli gelişme 1926 yılında gerçekleşmiştir. J.B. Sumner, *Jack Bean* adlı bir fasulye türünden üreaz enzimini kristallendirmiş ve daha sonra bu kristallerin protein yapısında olduğunu kanıtlamıştır. Önceleri tam anlamıyla kabul görmeyen bu durum 1930-1936 yılları arasında J. Northrop tarafından pepsin, tripsin ve kimotripsinin saflaştırılması ve protein yapısında olduklarının kanıtlanmasıyla kesin olarak doğrulanmıştır (Küfrevioğlu ve Keha, 2014).

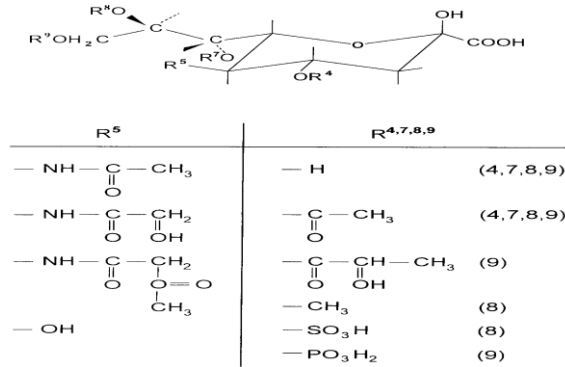
Sulu çözeltilerde bazı reaksiyonların oluşması çok yavaş olur ya da enerji açısından meydana gelmesi gerektiği halde reaksiyon kendiliğinden oluşmaz. Kimyasal reaksiyon ortamına bir takım maddelerin ilavesi reaksiyon hızının artmasına neden olur. Bu etkiyi gösteren maddelere katalizör adı verilir. Canlı organizmalardaki katalizörler ise enzimlerdir (Can ve Akev, 2008).

Enzimlerin katalizör olarak görev aldığı bir tepkimeye katılan kimyasal moleküllere *substrat* adı verilir. Enzimler son derece yüksek spesifiteye sahiptirler ve sadece bir substrata veya aynı fonksiyonel grubu içeren substrat serisine karşı etkindirler (Tüzün, 1997).

Enzimle katalizlenmiş kimyasal reaksiyonların hızı, katalizlenmemişlere göre 10^6 - 10^{12} kez daha hızlıdır. Bu büyüklükteki hız artışı, canlı organizma koşullarında kimyasal reaksiyonların gerçekleşmesine fırsat verdikleri için önemlidir (Solomons ve diğ., 2002).

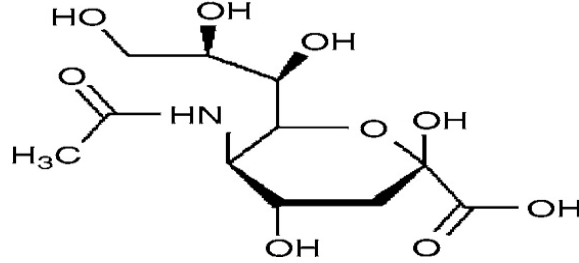
2.2. SİYALİK ASİT

Sialik asit, hücrelerde glikoproteinlerin, glikolipidlerin ve polisakkaritlerin yapısında bulunan, dokuz karbonlu karbohidrat ailesinin bir üyesidir. Sialik asidin çeşitleri olan; N-asetilnöraminik asit (Neu5Ac), N-glikolilnöraminik asit (Neu5Gc), deamine nöraminik asit (KDN) ve nöraminik asit (Neu) en yaygın olarak bilinenlerdir. Bu 4 çeşit sialik asidin hidroksil gruplarına O-asetil, O-metil, O-sülfat ve fosfat gruplarının katılmasıyla, çeşitli modifikasyonlar oluşur. Şekil 2.1’de sialik asit molekülünün genel yapısı ve doğal süstitüentlerinin listesi görülmektedir.



Şekil 2.1: Sialik Asit Molekülünün Yapısı ve Doğal Süstitüentlerinin Listesi (Traving ve Schauer, 1998).

Sialik asit türevleri içerisinde en yaygın olarak bilinenlerden biri de Şekil 2.2' de görülen N-asetilnöraminik asit'dir (Neu5Ac).



Şekil 2.2: N-asetilnöraminik Asidin Molekül Yapısı (Schwerdtfeger ve Melzig, 2010).

Sialik asitlerin yapılarındaki bu çeşitlilik, hücre yüzeyi üzerinde mevcut olan çeşitli sialoglikokonjugatların biyolojik fonksiyonlarına katkıda bulunur (Varki, 1999). Sialik asitler hücre yüzeylerinde, makro moleküllerin terminal kısımlarında veya içlerinde yer almaktadır (Schauer, 2000).

Sialik asitler bazı önemli biyolojik olay ve süreçlerde görev almaktadırlar. Bunlardan bazıları:

- Sialik asitler, hücre-hücre ve hatta hücre-küçük molekül tanıma gibi biyolojik süreçlerin geniş bir yelpazesinde önemli bir rol oynamaktadırlar. Biyosentezlerinde ya da bozulmalarında kanser de dahil olmak üzere birçok hastalığa yol açabilmektedirler (Varki, 1992; Severi ve diğ., 2007).
- Terminal sialik asitler; eritrositlerin, trombositlerin ve lökositlerin hayatta kalma süresini belirler. Ayrıca, bu terminal sialik asitler, immünolojik olarak, organizmanın yabancı olanla kendinden olanın ayrımını yapmasına aracılık eder (Traving ve Schauer, 1998).
- Sialik asitler, membranların parçasıdır ve hücre yüzeyinin elektronegativitesini artırırlar. Böylece pozitif yüklerin (örneğin Ca^{+2}) bağlanma

ve taşınmasının yanı sıra, hücreler ve moleküller arasında birleşme ve ayrılmalarda etkileri bulunmaktadır (Traving ve Schauer, 1998; Nakano ve diğ., 2006).

- Sialik asitler, molekül konformasyonunu stabilize etmenin yanı sıra, glikoproteinlerin proteazlar ve endoglikosidazlar tarafından bozulmasına karşı koruyucudurlar. Ayrıca organizmayı koruyucu etkileri de bulunmaktadır. Hücre reseptörlerini maskeleyerek hücreyi patojenlerden korurlar (Traving ve Schauer, 1998; Schauer, 2000; Wiggins ve diğ., 2001; Nakano ve diğ., 2006).

2.3. NÖRAMİNİDAZLAR

Nöraminidaz (Sialidaz); virüslerde, mikroorganizmalarda ve omurgalı hayvanlarda bulunan, organizmada çeşitli sialoglikokonjugatların terminal sialik asit kalıntılarının α -bağını hidroliz eden bir ekzo-glikozidaz enzimdir (Taylor, 1996), patojenlik üzerinde etkileri bulunmaktadır, bakterilerde, karbohidrat sağlayarak beslenme amaçlı görev almaktadır. Nöraminidazlar yüksek substrat seçiciliğine sahiptir, aynı zamanda afiniteleri ve aktiviteleri sialik asit türevlerine bağlıdır (Rogettin ve diğ., 1993; Wiggins ve diğ., 2001). Ayrıca bu enzimler ilk olarak virüslerde buldukları için reseptör yok edici enzimler olarakta bilinmektedirler (Traving ve Schauer, 1998).

2.3.1. Memelilerde Nöraminidaz

Memelilerde Neu1, Neu2, Neu3 ve Neu4 olarak bilinen 4 nöraminidaz bulunmaktadır. Bunlar subsellüler konumuna, enzimatik özelliklerine ve kromozomal konumlarına göre farklılık göstermektedirler (Miyagi ve diğ., 2008). Neu1, Neu2 ve Neu3 esas olarak sırasıyla lizozomda, sitozolde ve plazma membranında bulunur. Neu4 ise lizozomda, mitokondride ve endoplazmik retikulumda bulunur (Achyuthan ve Achyuthan, 2001; Monti ve diğ., 2004; Yamaguchi ve diğ., 2005; Miyagi ve diğ., 2008). Tablo 2.1'de memeli nöraminidazların organizmada buldukları yerler gösterilmiştir.

Tablo 2.1: Nöraminidazların Memeli Organizmasında Buldukları Yerler (Achyuthan ve Achyuthan, 2001).

Organ/Doku	Vücut Sıvısı	Hücreler
Akciğer	Plazma	B & T lenfositleri
Bağırsak	Serum	Endotel hücreleri
Beyin	Sperm	Epitel hücreleri
Böbrek	Tükürük	Eritrositler
Deri		Fibroblastlar
Karaciğer		Granülositler
Koryon		Hepatositler
Meme bezi		K562 eritrolösemi hücreleri
Plasenta		Makrofajlar
Testis		Nöroblastoma hücreleri
Tiroid		Trombositler
Tükürük bezi		

Bu dört nöraminidaz farklı substrat seçiciliğine sahiptir. Neu1, oligosakkaritler ve polipeptidler içinde benzer bir substrat spesifitesine sahiptir. Neu2 ve Neu4, optimum pH değerlerinde, glikoproteinleri ve ganglozidleri hidroliz edebilmektedir. Neu3, hemen hemen sadece ganglozidleri hidroliz eder (Miyagi ve diğ., 2008). Ayrıca bunların yanında Neu4 enziminin, Neu4L ve Neu4S olmak üzere iki çeşidi bulunmaktadır (Yamaguchi ve diğ., 2005). Tablo 2.2’de memeli nöraminidazlarının genel özellikleri gösterilmiştir.

Tablo 2.2: Memelilerde Bulunan Dört Nöraminidaz Enziminin Genel Özellikleri (Miyagi ve Yamaguchi, 2012).

	Neu1	Neu2	Neu3	Neu4
Başlıca hücre içi lokasyonu	Lizozomlar	Sitozol	Plazma membranları	Lizozomlar Mitokondri Endoplazmik retikulum
Substratları	Oligosakkaritler Glikopeptidler	Oligosakkaritler Glikoproteinler Gangliozidler	Gangliozidler	Oligosakkaritler Glikoproteinler Gangliozidler
Optimal pH	4.4-4.6	6.0-6.5	4.5-4.7	4.5-4.7
Total Amino Asit Sayısı				
İnsan	415	380	428	496 (484) ^a
Fare	409	379	418	501 (478) ^a
Önemli Fonksiyonları	Lizozomlarda bozunma Ekzositoz Bağışıklık işlevi Fagositoz	Miyoblast farklılaşması Nöron farklılaşması	Nöronal farklılaşma Apoptosis Adhezyon	Nöronal farklılaşma Apoptosis Adhezyon

^aNeu4S enzimine ait bilgilerdir.

Nöraminidaz aktivitesinin değişmesine, yapısının veya sentezinin bozulmasına bağlı olarak bazı hastalıklar ortaya çıkmaktadır. Sialidosis ve galaktosialidosis bunlardan başlıcalarıdır.

2.3.1.1. Sialidosis

Sialidosis, lizozomal sialidaz eksikliğine bağlı olarak ortaya çıkan otozomal resesif ve kalıtsal bir hastalıktır (Lowden ve O'Brein, 1979). Sialidosis hastalarının idrarlarında yüksek miktarlarda sialiloligosakkaritler ve sialilglikopeptidler bulunur. Nöraminidaz enziminin eksikliği bu durumların oluşmasına neden olmaktadır (Mueller ve diğ., 1986). Bu hastalık sırasında, plazma membranında bulunan NA'ların aktiviteleri normal iken, sitozolik ve lizozomal NA'lar yetersiz kalmaktadır (Achyuthan ve Achyuthan, 2001).

2.3.1.2. Galaktosialidosis

Galaktosialidosis, nöraminidaz aktivite düzeyi baskılanması sonucu meydana gelen, otozomal, kalıtsal, lizozomal depo hastalığıdır (Okamura-Oho ve diğ., 1994; D'Azzo ve diğ., 1995; Suzuki, 1995). Klinik göstergeler ve biyokimyasal özellikler galaktosialidosis ve sialidosis hastalıklarının birbirine benzer olduğunu göstermiştir (Suzuki, 1995). Galaktosialidosis'de nöraminidaz ve β -galaktozidazın kombine bir yetersizliği bulunur (Lowden ve O'Brein, 1979; Suzuki, 1995; Thomas ve Beudet, 1995). Örneğin, galaktosialidosis hastalarının fibroblastlarının, sialidaz ve β -galaktozidaz seviyelerine bakıldığında normal fibroblastlara göre bu değerlerin sayısının az olduğu görülmüştür (D'Azzo ve diğ., 1982).

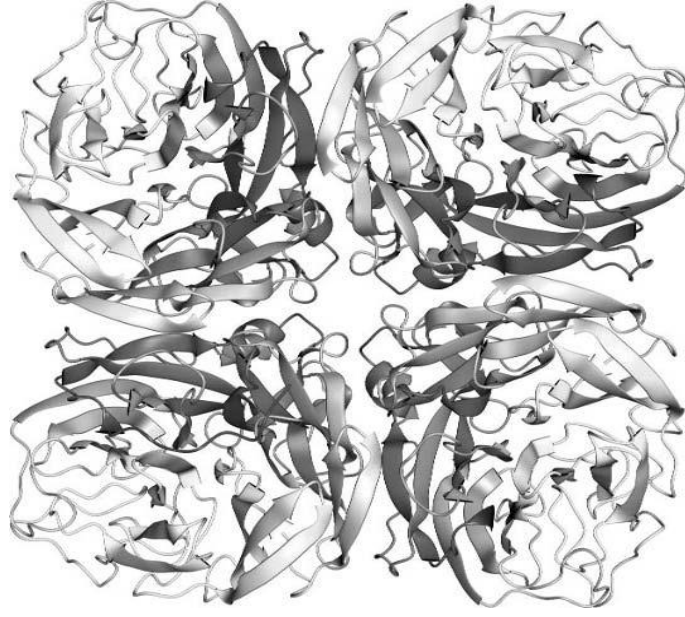
2.3.2. Virüslerde Nöraminidaz

Paramyxovirüs ve *orthomyxovirüs* ailesine ait virüslerde nöraminidaz enzimi bulunmaktadır.

2.3.2.1. İnfluenza Virüsleri

İnfluenza (grip); akut, bulaşıcı özellikte olan ve ateş, öksürük, halsizlik ve baş ağrısı gibi belirtiler gösteren viral bir enfeksiyon hastalığıdır. İlk pandemi 1580 yılında Avrupa, Asya ve Doğu Afrika'da görülmüştür. En büyük pandemi, 1918 – 1919 yılları

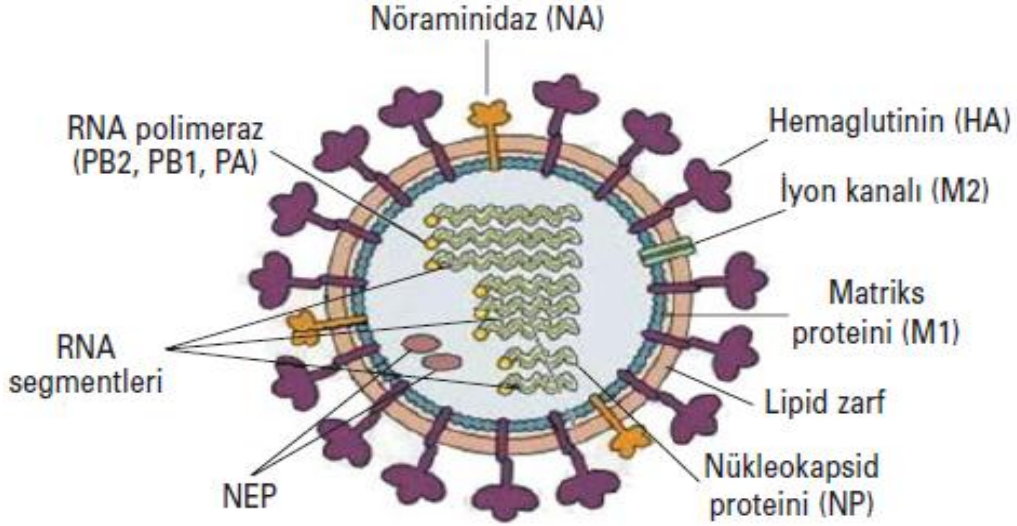
arasında görülmüş ve İspanyol gribi olarak adlandırılmasına karşın dünyanın dört bir yanında 20-40 milyon arası insanın ölümüne yol açmıştır (Patterson, 1987). İnfluenza virüsleri; RNA virüsleri sınıfına ait olup, Orthomyxoviridae ailesinden, zarflı, negatif polariteli, tek sarmallı yapıda ve 80-120 nanometre çapında, homotetramer yapısında bir virüstür. Şekil 2.3’de 3 influenza virüsünde bulunan nöraminidaz enziminin 3 boyutlu yapısı görülmektedir.



Şekil 2.3: İnfluenza Virüsünde Bulunan Nöraminidaz’ın 3 Boyutlu Homotetramer Yapısı (Garman ve Laver, 2004).

İnfluenza virüsleri, nükleokapsit ve matris proteinlerinin antijenik farklılıklarına göre A, B ve C olmak üzere 3 tipe bulunmaktadır. İnfluenza B ve C’nin subtipleri bulunmamaktadır. Ancak influenza A virüslerinde, hemagglutinin (HA) ve nöraminidaz (NA) glikoproteinlerindeki antijenik farklılıklardan kaynaklı subtipler mevcuttur. Günümüzde influenza A virüslerinde bilinen 16 adet HA (H1-H16) ve 9 adet NA (N1-N9) belirlenmiştir. İnsanda üç tip HA (HA-1, 2, 3) ve iki tip NA (NA-1, 2) saptanmıştır

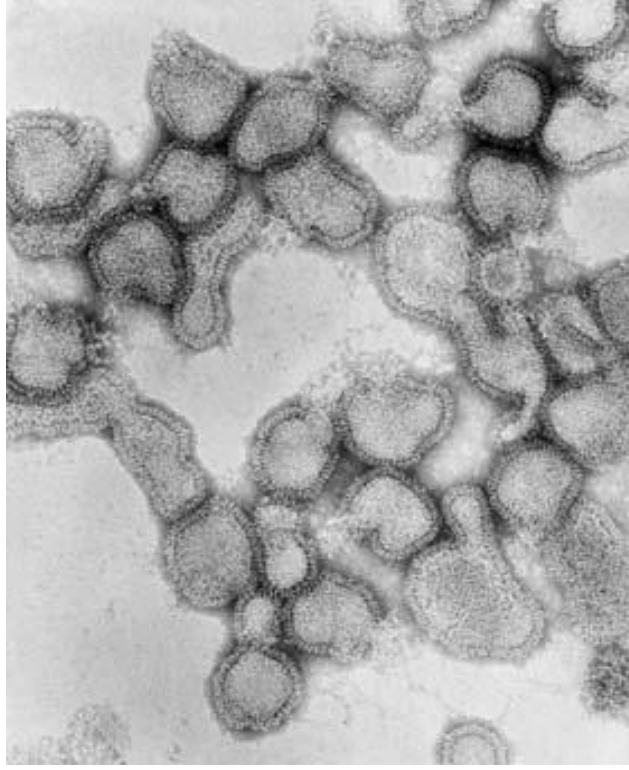
(Treanor, 2000; Aktaş, 2002; Jong ve Hien, 2006). Şekil 2.4’de influenza virüsünün yapısı görülmektedir.



Şekil 2.4: İnfluenza Virüslerinin Yapısı (Us, 2010).

İnfluenza virüslerinin, lipit membranından dışarı doğru uzamış şekilde bulunan iki önemli glikoproteinden biri olan HA, konak hücre yüzeyinde bulunan sialik asit reseptörlerine bağlanmadan sorumludur. Bir diğer glikoprotein olan NA ise virüsün enfekte olduğu hücreden serbest hale geçmesi sırasında, virüsün konak hücre yüzeyi ile bağlantısının kopmasından sorumlu olan bir enzimdir. HA, NA ve M2 transmembran proteinleridir ve zarfın lipit kısmına gömülü olarak bulunmaktadır. HA ve NA glikoproteinleri, gerek influenza virüslerinin genetik çeşitliliğini gerekse konak immün yanıtını belirleme özelliğindeki antijenlerdir (Brooks ve diğ., 2007).

İnfluenza virüsleri gözle görülebilecek kadar büyük olmadıkları için mikroskop altında görülebilmektedirler. Şekil 2.5’de influenza virüslerinin elektron mikroskobu altındaki görüntüsü gösterilmiştir.



Şekil 2.5: İnfluenza Virüslerinin Elektron Mikroskopundaki Görüntüleri (Garman ve Laver, 2005).

İnfluenza A ve B tiplerinin genetik yapısı sekiz segmentten oluşmaktadır ve on viral proteini kodlamaktadır (PB2, PB1, PA, NP, M1, M2, HA, NA, NEP, NS1). Tablo 2.3'de RNA segmentlerine ve viral proteinlere ait bazı özellikler görülmektedir. İnfluenza C tipi virüs ise yedi segmente sahiptir. PB1, PB2 ve PA olarak ifade edilmekte olan RNA segmentleri, polimeraz proteinlerinin kodlanmasında, bu kodlanan proteinlerde RNA replikasyonu ve transkripsiyonunda rol oynamaktadır.

Viral zarfın altında bulunan M1, virionun yaklaşık % 40'ını oluşturmaktadır ve viral partikülün morfogenezinde rol aldığı belirlenmiştir. Virüsün iyon kanalı proteini olan M2, endozom membranıyla füzyonu ve viral nükleik asitlerin sitoplazmaya geçişini sağlamaktadır (Brooks ve diğ., 2007).

Tablo 2.3: İnfluenza A Virüslerine Ait RNA Segmentleri ve Kodladıkları Proteinler (Us, 2010).

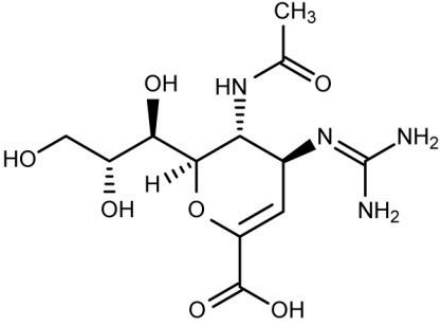
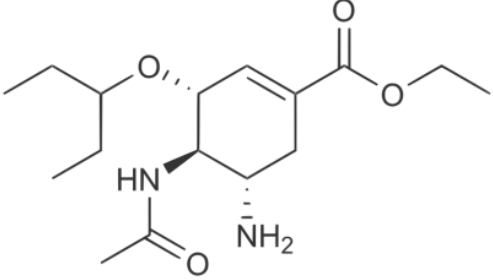
RNA Segmenti	Boyut (Nükleotid)	Simge	Açık Adı	Fonksiyon
1	2341	PB2	Polimeraz Bazık 2	RNA Transkriptaz: Cap Bağlama
2	2341	PB1	Polimeraz Bazık 1	RNA Transkriptaz: Elongasyon
3	2233	PA	Polimeraz Asidik	RNA Transkriptaz: Proteaz Aktivitesi
4	1778	HA	Hemaglutinin	Sialik Aside Tutunma
5	1565	NP	Nükleoprotein	Genomun Yapısal Proteini
6	1413	NA	Nöraminidaz	Sialik Asidin Koparılması
7	1027	M1	Matriks Proteini	Virüsün Morfogenezi
8		M2	Matriks Proteini	İyon Kanalı
9	890	NS1	Yapısal Olmayan Protein	RNA Transpotu
10		NEP	Nüklear Eksport Protein	Progeni Nükleokapidlerin Sitoplazmaya Taşınması

Grip (influenza) hastalığı, 2 ile 7 gün arasında bir inkübasyon döneminin ardından ani bir şekilde ortaya çıkar. Bu hastalıkta, vücudun genelinde oluşan bir halsizlik, yüksek ateş ve burun akıntısı gibi belirtiler görülmektedir. Çocuklarda bu belirtilerin yanı sıra kusma, karın ağrısı ve ishal de görülebilmektedir. Grip virüsünün bulaşıcılığı genel olarak semptomların bir gün öncesinde başlamakla beraber ortalama olarak 4 gün sürmektedir. Hastalığın başlaması ile semptomların düzelmesi arasındaki zaman dilimi yaklaşık olarak 9 gündür. Ancak bu süre hastalıkla birlikte gelişen bazı komplikasyonlar nedeniyle daha da uzamaktadır (Treanor, 2000; Aktaş, 2002; Akıncı ve diğ., 2011).

Günümüzde zanamivir, oseltamivir, laninamivir ve peramivir gibi maddeler, nöraminidaz üzerine inhibisyon etkilerinden dolayı antiviral ilaç olarak kullanılmaktadırlar (Stephenson ve Nicholson, 1999). Bunların içinde en yaygın olarak kullanılanları zanamivir ve oseltamivir'dir. Tablo 2.4'de zanamivir ve oseltamivir moleküllerinin kimyasal yapısı görülmektedir.

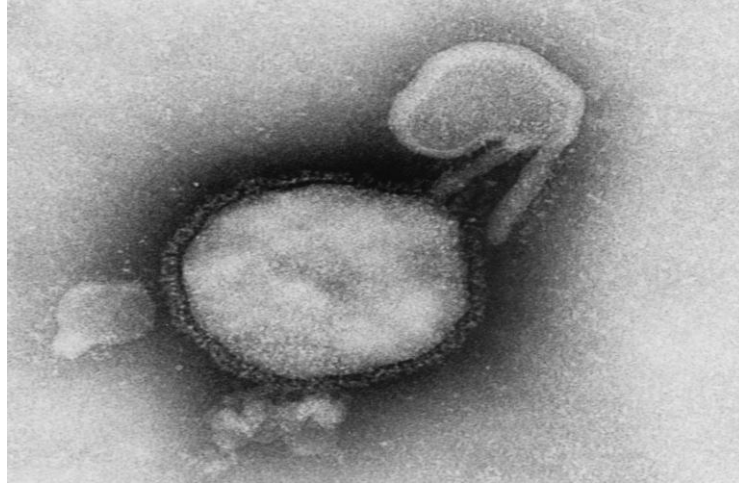
Zanamivir yüksek antiviral aktiviteye sahip olmasına karşın, böbreklerden hızla atıldığı için biyoyararlanımı düşüktür. Oseltamivir alan yetişkinlerde ise mide bulantısı ve kusma sıklıkla görülmektedir (Ryan ve diğ., 1995). Oseltamivir ile tedavi edilen hastalarda ilaca karşı dirençli suşlar görülmüştür (Gubareva ve diğ., 2001; Carr ve diğ., 2002; Monto ve diğ., 2006). Özellikle zanamivir ve oseltamivir'in uzun süreli kullanımı toksisiteye ve ilaca dirençli viral mutasyonların gerçekleşmesine neden olmaktadır (Nicholson ve diğ., 2003). Tüm bu durumlar nöraminidaz için yeni inhibitörlerin araştırılmasına neden olmaktadır.

Tablo 2.4: Nöraminidaz İnhibitörü Olarak Kullanılan Bazı İlaçlar.

Nöraminidaz İnhibitörü	Molekül Formülü
Zanamivir	 <p>The chemical structure of Zanamivir is a complex molecule. It features a central pyranose ring with a carboxylic acid group at the C2 position and a diethylamino group at the C3 position. The C4 position is substituted with a side chain containing a hydroxyl group, a hydroxymethyl group, and a methylamino group. The C5 position is substituted with a methylamino group.</p>
Oseltamivir	 <p>The chemical structure of Oseltamivir is a complex molecule. It features a central piperidine ring with a methylamino group at the C2 position and a diethylamino group at the C3 position. The C4 position is substituted with a side chain containing a hydroxyl group, a hydroxymethyl group, and a methylamino group. The C5 position is substituted with a methylamino group.</p>

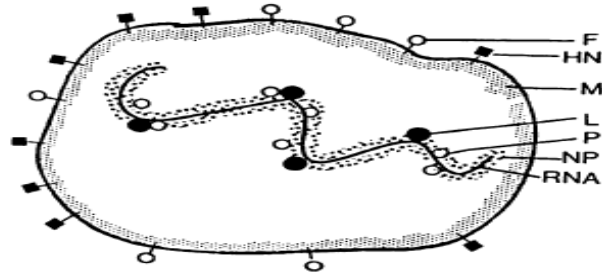
2.3.2.2. Parainfluenza Virüsleri

Parainfluenza virüsleri (HPIV 1-4) özellikle bebek ve çocuklarda alt ve üst solunum yolu hastalıklarına neden olmalarından dolayı insan patojenlerinde oldukça önemlidirler (Vainionpaa ve Hyypia, 1994). Diğer tüm virüsler gibi parainfluenza virüsleri de çıplak gözle görülemezler. Şekil 2.6'da parainfluenza-3 virüsünün elektron mikroskobu altındaki görüntüsü görülmektedir.



Şekil 2.6: Parainfluenza (HPIV-3) Virüslerinin Elektron Mikroskopi Altındaki Görüntüsü (Henrickson, 2003).

Parainfluenza virüslerinin yapısında olan nükleokapsid yapıları fosfoprotein (P protein) ve geniş protein (L protein) olmak üzere iki protein içermektedir. Virüslerin viral zarfında iki glikoprotein yapısı bulunmaktadır. Bunlar hemagglutinin-nöraminidaz ve fusion adı verilen F proteinleridir (Hamaguchi ve diğ., 1983). Matriks proteininin yapısı oldukça hidrofobiktir ve virüste glikoproteinler ile nükleokapsid arasındaki etkileşime aracılık etmektedir (Vainionpaa ve Hyypia, 1994). Şekil 2.7’de parainfluenza virüslerinin genel yapısı gösterilmiştir.



Şekil 2.7: Parainfluenza Virüslerinin Genel Yapısı (Vainionpaa ve Hyypia,1994).

HN proteinleri hem hemaglutinin hem de nöraminidaz aktivitesine sahiptirler. Üç boyutlu yapısı, influenza virüslerinde bulunan nöraminidaz ile oldukça benzerlik göstermektedir (Colman ve diğ., 1993).

2.3.3. Bakterilerde Nöraminidaz

Bazı patojenik bakteri türlerinde nöraminidazlar, virülans faktörü olarak fonksiyon gösterirler. Aynı zamanda konakçı hücrenin yüzeyi üzerinde bulunan sialik asitlerin tanınmasında rol aldığı ileri sürülmektedir (Vimr ve diğ., 2004). Mikroorganizmalarda bulunan glikozidazlar gibi, bazı bakteri sialidazları da sialillenmiş glikoproteinler, glikolipitler veya diğer glikokonjugatlardaki sialik asitleri kopararak, bakteriyel hücre büyümesi için besin kaynağı oluşturabilirler (Vimr ve Lichtensteiger, 2002; Vimr ve diğ., 2004). Bugüne kadar yaklaşık 20 mikrobiyal nöraminidazın biyokimyasal özellikleri bulunmuştur ve bunlardan en az sekiz tanesinin protein yapısı aydınlatılmıştır (Kim ve diğ., 2011). Tablo 2.5’de nöraminidaz enziminin virülens faktörü olduğu bakterilerin neden oldukları hastalıklar görülmektedir.

Tablo 2.5: Virülens Faktörü Nöraminidaz Olan Bazı Bakteriler ve Neden Oldukları Hastalıklar (Schwerdtfeger ve Melzig, 2010).

Bakteri adı	Neden olduğu hastalık
<i>Actinomyces viscosus</i>	Periodontitis
<i>Clostridium perfringens</i>	Gazlı Kangren Enterokolit
<i>Clostridium septicum</i>	Gazlı Kangren
<i>Clostridium sordelli</i>	Gazlı Kangren Enterokolit
<i>Clostridium haemolyticum</i>	Sepsis
<i>Salmonella enterica</i>	Gastroenterit Peritonit

Tablo 2.5 (Devam): Virülens Faktörü Nöraminidaz Olan Bazı Bakteriler ve Neden Oldukları Hastalıklar (Schwerdtfeger ve Melzig, 2010).

<i>Helicobakter pylori</i>	Mide Ülseri Onikiparmak Bağırsağı Ülseri
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Pnömoni Orta Kulak İltihabı
<i>Vibro cholerae</i>	Kolera
<i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i>	Erizipeloid (Deri hastalığı)

Arthrobacter nicotianae, *Arthrobacter ureafaciens*, *Clostridium perfringens*, *Pasteurella multocida* ve *Streptococcus pneumoniae*, gibi bakteriler farklı biyokimyasal özellikler ile birden fazla nöraminidaz izoenzimleri bulunmaktadır. Bu izoenzimlerin bazılarının biyolojik fonksiyonları hala belirsiz olmasına rağmen, substrat özelliklerinde farklılıklar göstermektedirler. Bu nedenle diğer organizmalarla ya da belirli doku enfeksiyonlarında bu izoenzimlerin önemli rol oynadığı ileri sürülmüştür (Manco ve diğ., 2006; Uchiyama ve diğ., 2009).

Örneğin *S. Pneumoniae* bakterisi üç nöraminidaz izoenzimi içerir. Bunlar: NanA, NanB ve NanC'dir (Pettigrew ve diğ., 2006; Gut ve diğ., 2008). Hücre yüzeyine saplanmış olarak bulunan NanA, hidroliz aktivitesi göstererek nazofarenkste koloni kurulmasında ve solunum yolu enfeksiyonunda rol almaktadır (Tong ve diğ., 2000; Manco ve diğ., 2006). Bunların yanında NanA, büyüme için serbest karbon kaynağı sağlayarak ve diğer bakterilerin yüzeylerini modifiye ederek bakterilerde hayati bir rol oynamaktadır (King ve diğ., 2006; Burnaugh ve diğ., 2008). Bir hücre dışı salgılama enzimi olan NanB'nin solunum yolu ve sepsis pnömokok enfeksiyonlarında rol oynadığı literatürde bildirilmiştir (Manco ve diğ., 2006). Ancak, NanC'nin fonksiyonu bugüne kadar aydınlatılamamıştır.

Bakteriyel nöraminidazlar farklı türlerde, farklı biçim ve boyutta bulunmaktadır. Boyutlar 40 kDa ile 120 kDa arasında değişebilir. Bu enzimler genellikle monomer

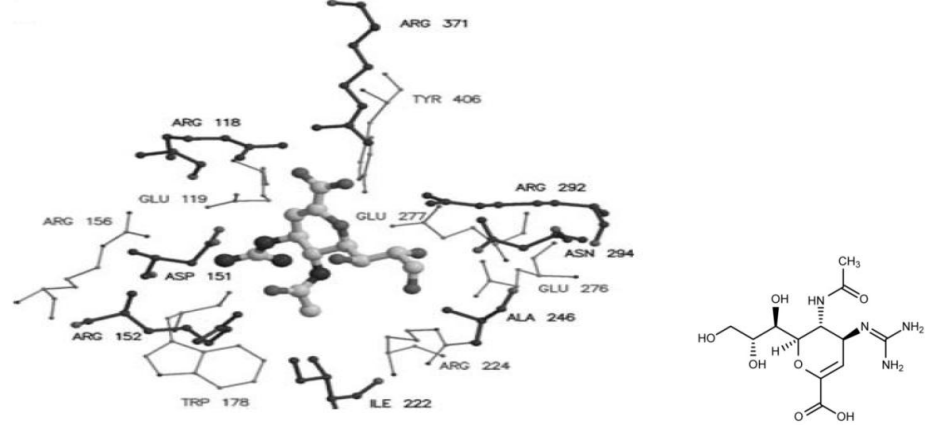
yapısındadır ancak oligomerik yapılarda olanları da tanımlanmıştır. Optimum pH değerleri ise 5 ile 7 arasında bulunmaktadır (Schwerdtfeger ve Melzig, 2010).

2.3.4. Nöraminidaz Enzimlerinin Aktif Merkezleri

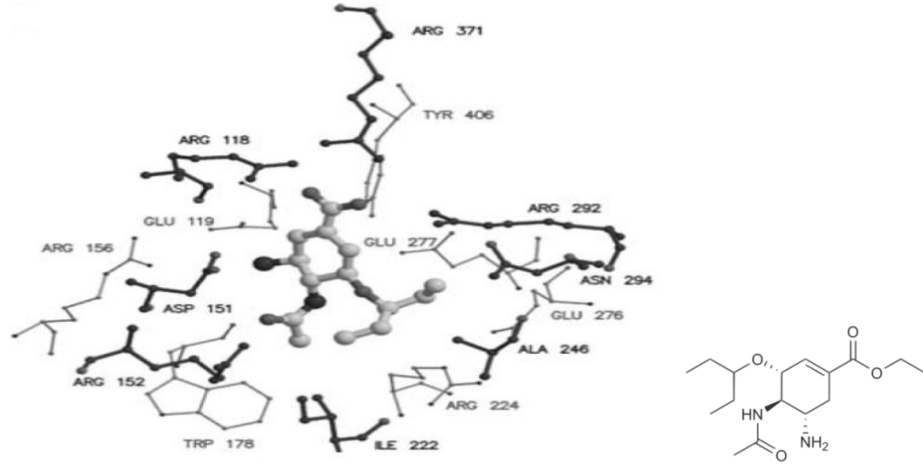
İnfluenza virüslerinin yapısındaki nöraminidaz enziminin aktif merkezi dört önemli özellik göstermektedir. Bunlar;

1. 3 arginin tarafından oluşan (Arg118, Arg292, Arg371) temel bölüm sialik asidin karboksilik asit kısmı ile etkileşime geçmektedir. Bu bağlanmanın önemli bir belirleyici olması sebebiyle bugüne kadar geliştirilen hemen hemen tüm inhibitörlerde bu karboksil kısmı bulunmaktadır.
2. Glutamatlar tarafından oluşan asidik bir kısım bulunmaktadır (Glu276, Glu277). Glu277 ile Tyr406 kuvvetli hidrojen bağı oluştururlar ve birlikte reaksiyon sırasında oluşan bir ara ürün olan oksokarbonyum iyonunu stabilize ettikleri düşünülmektedir. Glu276, sialik asidin gliserol kalıntısındaki O8 ve O9 atomları ile hidrojen bağı yapmaktadır.
3. Trp178, Ile222 ve Arg152, Arg224 amino asitlerinin metilen kısımları aktif bölgede hidrofobik kısmı oluşturmaktadırlar. Bu kısım sialik asidin asetamido bölgesinin metil grubunu içermektedir. Yine asetamido kısmında bulunan oksijen atomu Arg152 amino asidinin guanido kısmı ile hidrojen bağı yapmaktadır.
4. Glu119, Glu227 ve Asp151'den oluşan asidik kısım ise su molekülünün hidrolizini sağladığı düşünülmektedir (Taylor ve Russell, 2010). Tüm bu özellikler doğrultusunda şu ana kadar geliştirilmiş influenza NA inhibitörleri (zanamivir, oseltamivir), NA aktif merkezindeki özelliklerden yararlanılarak geliştirilmiştir.

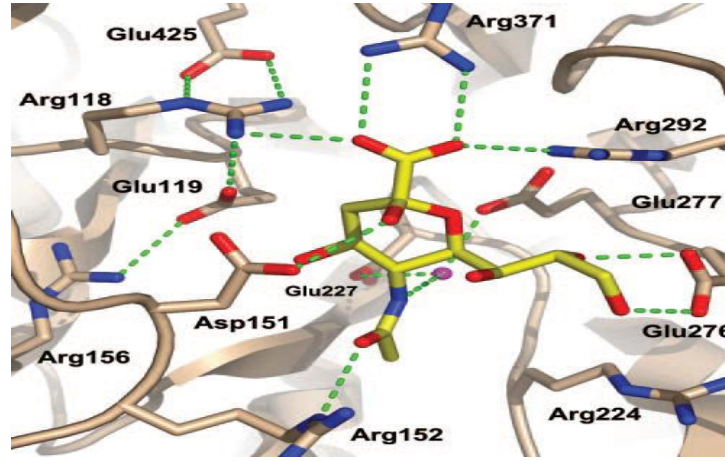
Şekil 2.8 ve Şekil 2.9’da influenza tedavisinde sıklıkla kullanılan ilaçlar olan zanamivir ve oseltamivir moleküllerinin, nöraminidaz aktif merkezinde yaptığı bağlar görülmektedir. Bununla birlikte Şekil 2.10’da nöraminidazın substratı olan sialik asit ile aktif merkezinde yaptığı bağlar görülmektedir.



Şekil 2.8: Zanamivir Molekülünün NA Aktif Merkezindeki Konumu ve Molekül Yapısı (Garman ve Laver, 2005).

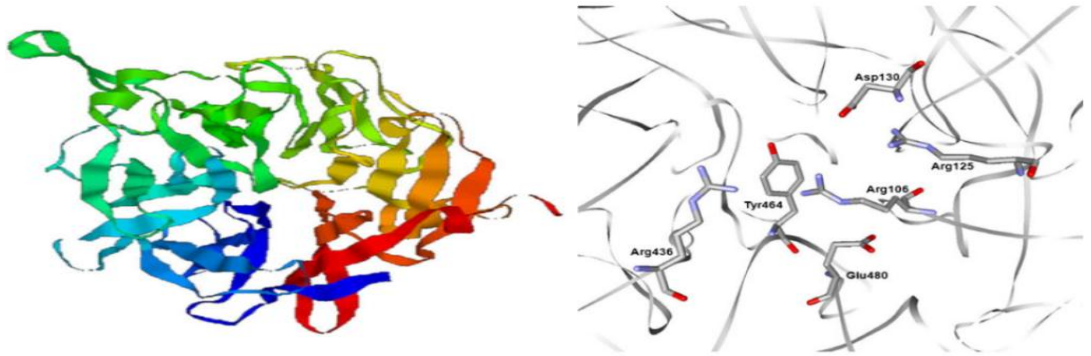


Şekil 2.9: Oseltamivir Molekülünün NA Aktif Merkezindeki Konumu ve Molekül Yapısı (Garman ve Laver, 2005).



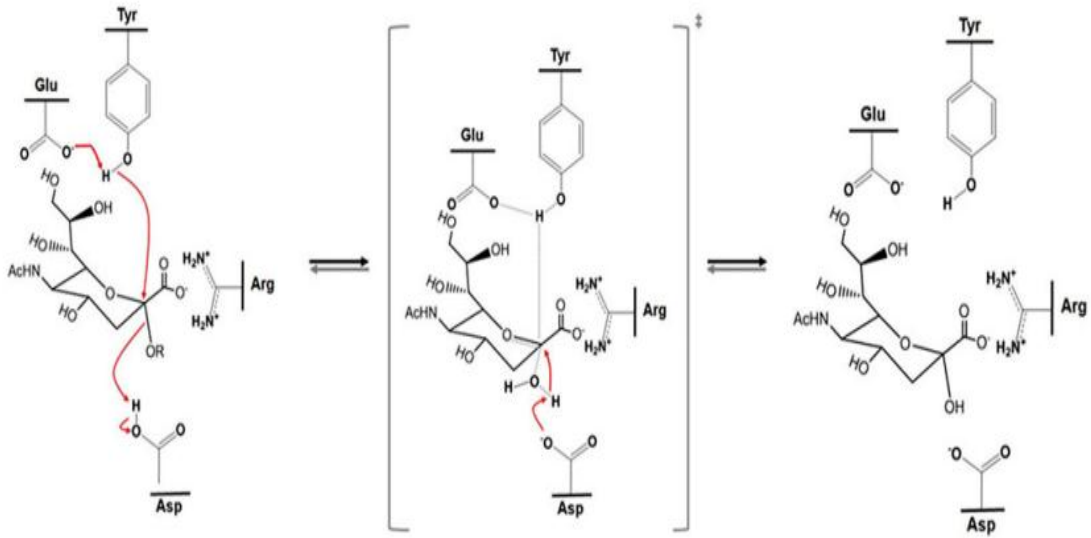
Şekil 2.10: Nöraminidazın Aktif Merkezinde Substratı Olan Sialik Asit ile Yaptığı Bağlar (Yen ve diğ., 2006).

Bakterilerde bulunan NA enzimleri genellikle monomer yapısındadır. Bu özellikleri influenza NA'larından farklıdır. Bakteriye nöraminidazların aktif bölgesinde; korunmuş bir tirozin kalıntısı, glutamat kalıntısı ve aspartat kalıntısı bulunmaktadır. Aktif merkezde bulunan üç arginin kalıntısı substratların karboksil grupları ile etkileşime girer (Newstead ve diğ., 2008; Xu ve diğ., 2008). Şekil 2.11'de *Corynebacterium diphtheriae* bakterisinde bulunan nöraminidaz (NanH) enziminin monomer yapısı ve aktif merkezi görülmektedir.



Şekil 2.11: *Corynebacterium diphtheriae* Bakterisine Ait Nöraminidaz (NanH) Enziminin 3 Boyutlu Yapısı ve Aktif Merkezi (Kim ve diğ., 2011).

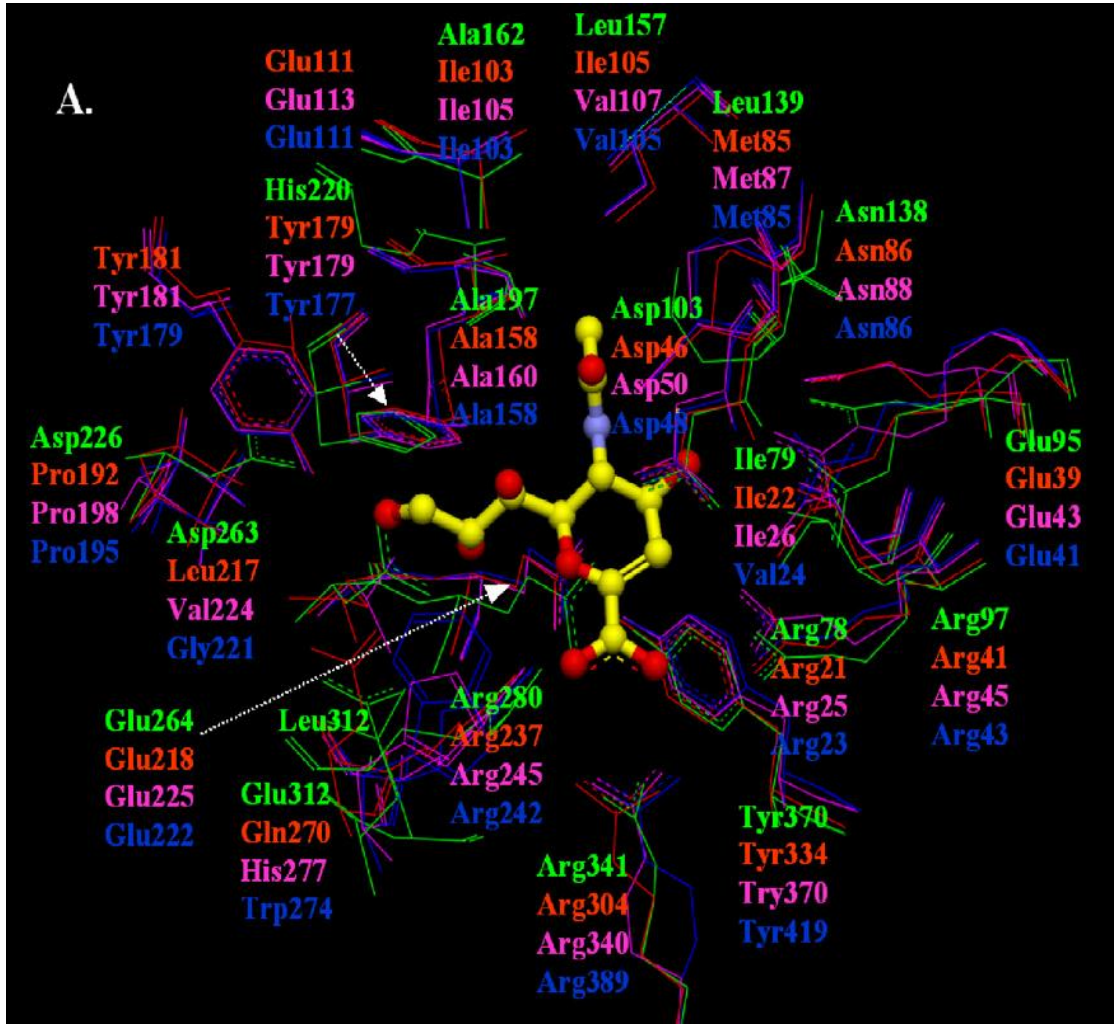
Aktif merkezde bulunan tirozin kalıntısı katalitik olarak bir nükleofil gibi davranır ve glutamat kalıntısı ise bir baz gibi davranarak tirozinin nükleofilik atak yapmasını kolaylaştırır (Watson ve diğ., 2003; Newstead ve diğ., 2008; Xu ve diğ., 2008). Aspartat kataliz sırasında asit/baz gibi davranarak fonksiyon gösterir. Şekil 2.12’de NanH enziminin aktif merkezinde gerçekleşen reaksiyonun mekanizması görülmektedir.



Şekil 2.12: NanH Aktif Bölgesinde Gerçekleşen Reaksiyonun Mekanizması (Kim ve diğ., 2011).

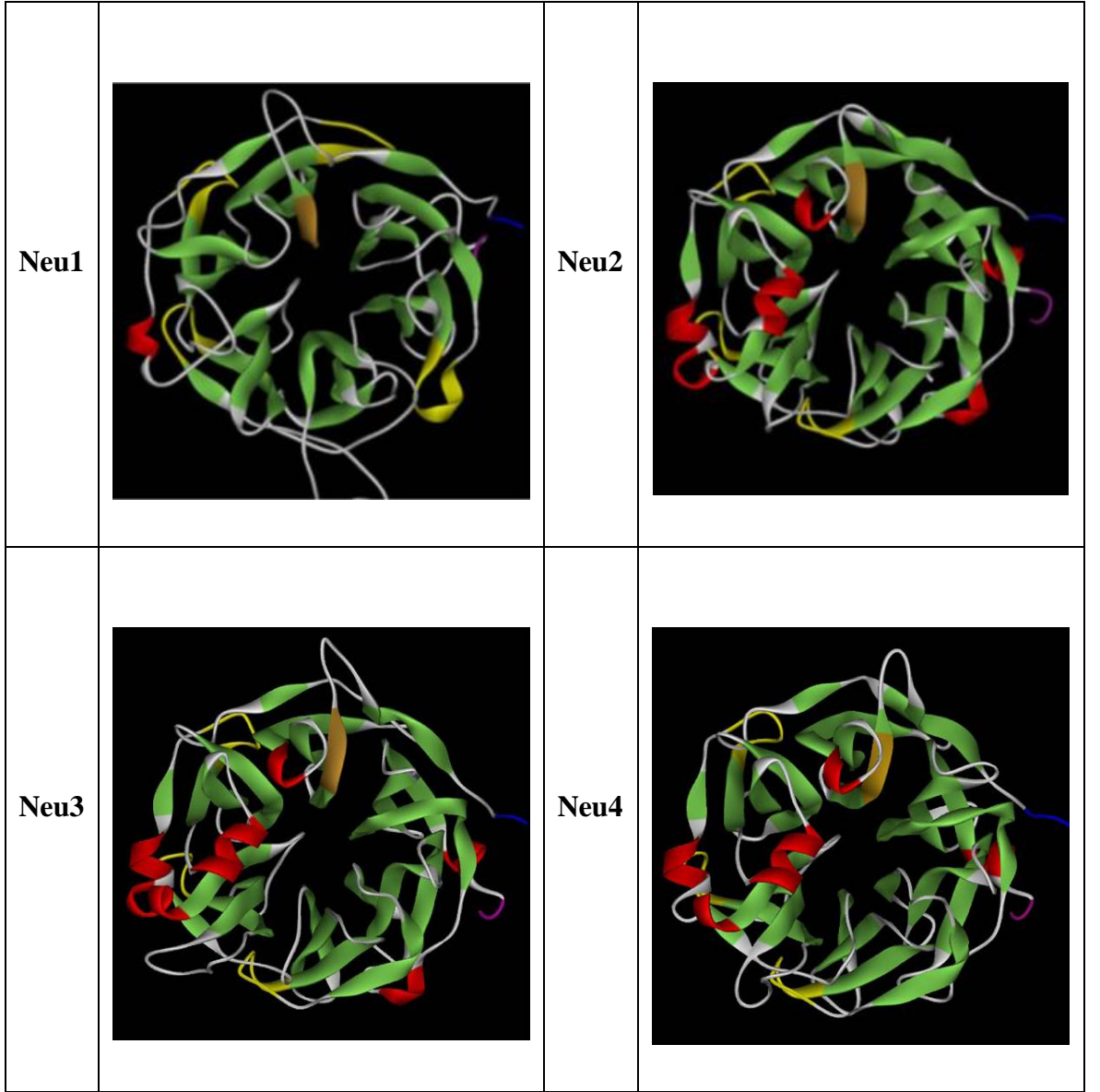
Tüm bunların yanında her bir enzimin aktif bölgesinde birbirinden farklı amino asit kalıntıları da bulunabilir. Bu amino asitler substrat spesifitesinde, katalitik etkinlikte ve kinetik davranışlarda önemli rol oynayabilirler (Kim ve diğ., 2011).

Memelilerde bulunan Neu1, Neu2, Neu3 ve Neu4 enzimlerinin aktif merkezleri birbirleri arasında benzerlik göstermektedir. Şekil 2.20’de bu 4 enzimin aktif bölgeleri görülmektedir. Yeşil renk; Neu1, kırmızı renk; Neu2, mor renk; Neu3 ve mavi renk; Neu4 enzimine ait amino asitleri ve bu amino asitlerin dizilim sırasını vermektedir.



Şekil 2.13: Neu1, Neu2, Neu3 ve Neu4 Enzimlerinin Aktif Merkezileri (Magesh ve diğ., 2008).

Şekil 2.13’de memelilerde bulunan 4 nöraminidaz enziminin katalitik bölgeleri görülmektedir. Bu dört enzimde aktif bölgesinde ufak farklılıklar görülsede, reaksiyonun gerçekleşmesi için gerekli temel yapılar hepsinde aynıdır. Memelilerde bulunan NA’ların aktif bölgelerine bakıldığında, 3 arginin kalıntısının yanı sıra 2 glutamat, aspartat, alanin ve asparjin kalıntılarının da bu dört NA’katalitik bölgesinde ortak olarak bulunduğu görülmektedir.



Şekil 2.14: Memeli Nöraminidazlarının 3 Boyutlu Yapıları (Magesh ve diğ., 2006).

Şekil 2.14’de memeli nöraminidazlarının 3 boyutlu yapıları görülmektedir. Burada amino asit dizilimindeki farklılıktan kaynaklı olarak, farklı katlanmalar meydana gelmiş ve böylece 3 boyutlu yapılarında farklılıklar oluşmuştur.

2.4. NÖRAMİNİDAZ ENZİMİNİN BAZI HASTALIKLAR İLE İLİŞKİSİ

2.4.1. Kanser

Kanser; hücrelerin zamansız ve aşırı çoğalarak, bağışıklık sisteminin gözetiminden kaçıp yayıldıkları ve en sonunda uzaktaki dokuları da istila edecek metastazlar oluşturdukları bir takım metabolik ve davranışsal değişiklikler geçirmeleri sonucu ortaya çıkan, çok basamaklı sürece sahip bir hastalıktır (Merlo ve diğ., 2006).

Kanser hücrelerinde NA aktivitesi üzerine yapılan gözlemlerde endojen NA'ların tümörün yayılmasında ve transformasyonda ilişkili olduğu ileri sürülmüştür. Memelilerde bulunan dört tip NA'nın karsinogenez sırasında farklı davranışlarda bulunduğu tespit edilmiştir (Miyagi ve diğ., 2004). Bu NA'lardan üçü; Neu1, Neu2 ve Neu4 down-regulation eğilimi gösterirken, Neu3 ise up-regulation eğilimi göstermektedir (Yamanami ve diğ., 2006). Neu3'ün kanser hücrelerinde apoptozu baskılayabildiği bilinmektedir (Miyagi ve diğ., 2008).

2.4.2. Pnömonokok

Streptococcus pneumoniae (pnömokok), toplum kaynaklı pnömoniye, yetişkinlerde influenza sonrası sepsis ve menejite, çocuklarda orta kulak iltihabına neden olan en yaygın ajandır (Engelich ve diğ., 2001). İnfluenza'da olduğu gibi Pnömonokok'ta da NA aktivitesi görülmektedir (Simonsen, 2001). Diğer bir çok bakteri gibi *S. pneumoniae*'da biyofilmlerde büyür (Moscoso ve diğ., 2009).

NanA ve NanB ekspresyonu pnömokok içeren biyofilmlerde artar. Son çalışmalarda serbest halde bulunan sialik asitlerin pnömokok biyofilm oluşumun da etkin oldukları ileri sürülmüştür. *In vitro* çalışmalarda sialik asit eklenmesiyle biyofilimde bulunan bakteri sayısının arttığı tespit edilmiştir (Trappetti ve diğ., 2009).

2.4.3. Periodontitis

Periodontitis; Dünya genelinde insanlarda diş kaybının ana nedenlerinden biridir ve yetişkinlerin %80'ini etkilediği bilinen kronik bir hastalıktır (Li ve diğ., 2012). *Tannerella forsythia* ve *Porphyromonas gingivalis* olmak üzere bu enfeksiyona neden olan iki patojen bulunmaktadır (Socransky ve diğ., 1998).

T. forsythia bakterisinde başlıca NanH enzimi etkindir. Bu bakteriyel NA konakçı hücrelerde ya da ağız ortamında bulunan glikoproteinlere bağlanmadan sorumludur. Buna ek olarak NanH enziminin hidrolizi sonucu ortaya çıkan sialik asidin, biyofilm oluşumunda etkili olduğu bulunmuştur ve bu nedenle biyofilm için aynı zaman da bir büyüme faktörüdür.

T. forsythia NA influenza tedavisinde kullanılan oseltamivir tarafından inhibisyona uğramaktadır (Roy ve diğ., 2011).

3. MALZEME VE YÖNTEM

3.1. DENEYDE KULLANILAN ALETLER

Buzdolabı	: Arçelik
Destile Su	: Brand Mono Dest 3000
Derin Dondurucu	: Beko
Etüv	: Nüve FN5000
Isıtıcı	: Electromantle
pH Metre	: Beckman
Spektroflorometre	: Biotek FLx800
Terazi	: Radwag AS 220/C/2 Hassas Terazi
Terazi	: Radwag AS 220/X Hassas Terazi
Sonikatör	: Bandelin Sonorex

3.2. DENEYDE KULLANILAN KİMYASAL MADDELER

Bu çalışmada glisin (Merck, 4201), sodyum hidroksit (Fluka, 71691), metil alkol (Merck, 106018), asetik asit (Merck, 100063), sodyum asetat (Merck, 6265), nöraminidaz (Sigma, N2876), 2'-(4-Metilumbelliferli)- α -D-N-asetilnöraminik asit sodyum tuzu (Sigma, M8639) ve enzim inhibisyonundaki kimyasal maddeler kullanıldı

3.3. ENZİM İNHİBİSYONUNDA KULLANILAN BİTKİ EKSTRELERİ

Enzim inhibisyonunun araştırılmasında ananas, ısırgan otu, kara hindiba, kekik, maydanoz, nane, siyah çay, soğan ve yaban mersini bitkilerinin metil alkollü ekstraları kullanılmıştır. Bu bitkiler aktar ve pazarlardan temin edildi. Temin edilen örneklerin yenilebilen kısımları kök ve saplarından ayıklanarak yıkandı, destile sudan geçirildikten sonra oda koşullarında ve gölgede kurutuldu. Çiğ meyveler ise tam kurumanın gerçekleşmesi için düşük sıcaklıktaki etüvde 2-3 gün süreyle bekletildi. Kuruyan materyaller ekstraları hazırlanıncaya kadar +4°C'de muhafaza edildi. Tablo 3.1'de deneylerde kullanılan bitki materyallerinin latince adları ve bitkinin kullanılan kısımları görülmektedir.

Tablo 3.1: Enzim İnhibisyonunda Kullanılan Bitki Ekstrelerinin Latince Adları ve Bitkinin Kullanılan Kısımları.

Bitki Materyalinin Türkçe Adı	Bitki Materyalinin Latince Adı	Bitkinin Kullanılan Kısmı
Ananas	<i>Ananas comosus</i>	Meyve
Isırgan Otu	<i>Urtica dioica</i>	Yaprak
Kara Hindiba	<i>Taraxacum turcicum</i>	Yaprak
Kekik	<i>Thymus</i>	Yaprak
Maydanoz	<i>Petroselinum crispum</i>	Yaprak
Nane	<i>Mentha piperita</i>	Yaprak
Siyah Çay	<i>Camelia sinensis</i>	Yaprak
Soğan	<i>Allium cepa</i>	Sebze
Yaban Mersini	<i>Vaccinium myrtillus</i>	Meyve

3.3.1. Metil Alkollü Ekstrelerin Hazırlanması

Kurutulan bitki ve meyveler ufak parçalara ayrıldıktan sonra 20 g'ı Sokslet cihazına yerleştirildi. Cihazın balonuna çözücü olarak 200 mL metil alkol ilave edilerek geri soğutucu altında yaklaşık 8 saat reflüks edildi. Elde edilen karışım oda sıcaklığına kadar soğutuldu ve evaporatöre yerleştirilerek düşük basınç altında çözücüsü uzaklaştırıldı. Geri kalan yoğun kıvamlı karışım darası alınmış porselen krozelere konulup düşük sıcaklıktaki etüvde 1-3 gün süreyle bekletildi. Eppendorflara konulan bu ekstreler analizlerde kullanılmıncaya kadar -20°C'de saklandı.

3.4. ENZİM İNHİBİSYONUNDA KULLANILAN KİMYASAL MADDELER

Enzim inhibisyon deneyinde; Askorbik asit (Merck, 100127), B₁ vitamini (Fluka, 95160), B₂ vitamini (Sigma, R4500), B₃ vitamini (Sigma, N1426), B₆ vitamini (BDH Chemical, 2430490), biotin (Merck 1643), E vitamini (Sigma, T3376), β-karoten (Fluka, 45300), U vitamini (Fluka, 64382) vitaminlerinin inhibitör etkileri incelendi.

Enzim inhibisyon deneyinde; Benzoik asit (Sigma-Aldrich, 242381), gallik asit (Fluka, 48630), glioksilik asit (Sigma, G4502), p-hidroksimetil benzoik asit (Fluka, 54630), kafeik asit (Fluka 60018), kateşin (Fluka, 22110), kuersetin (Fluka, 83370), kolin klorür (Merck,500117), p-kumarik asit (Fluka, 55823), laktik asit (Sigma, L1750), linoleik asit (Fluka, 62240), lipoik asit (Sigma, T5625), malik asit (Merck, 384), maleik asit (Merck 381), salisilik asit (Sigma, S5922), sinnamik asit (Merck, 235), sitrik asit (Merck, 244), sorbik asit (Fluka, G232-19014), tartarik asit (Merck, 802), ürik asit (Schering, 01761) vanilik asit (Aldrich, H3,600-1) kimyasal maddelerinin inhibitör etkileri incelendi.

3.5. NÖRAMİNİDAZ ENZİM İNHİBİSYONUNUN ÖLÇÜLMESİ

0.04 M sodyum asetat tamponunda (pH=5.00) çözülmüş nöraminidaz enziminin (2.5×10^{-3} U) 5 μ L'si bir deney tüpüne alındı. Bu enzim çözeltisinin üzerine 180 μ L 0.04 M sodyum asetat tampon çözeltisi (pH=5.00) eklendi. Bu karışım üzerine metil alkol içinde çözülmüş bitki ekstralerinden ya da kimyasal maddelerden 5 μ L eklendi. Bu karışım üzerine 10 μ L substrat çözeltisi olan, 0.04 M sodyum asetat tamponu (pH=5.00) içinde çözülmüş 0,125 mM 2'-(4-Metilumbelliferli)- α -D-N-asetilnöraminik asit çözeltisi ilave edildi. Bu karışım 37°C'de 10 dakika inkübe edildi. Daha sonra reaksiyon sonlandırma çözeltisi olan 0.1 M glisin-NaOH tampon çözeltisinden (pH=10.40) 1.75 mL ilave edildikten sonra mikropalakada, Ex 360 nm/ Em 460 nm'de spektrofotometrik olarak okuma yapıldı. Kör olarak örnek, substrat ve enzim çözeltisi yerine 0.04 M sodyum asetat tamponu eklendi. Kontrol çözeltisinde ise bitki ekstraleleri veya kimyasal maddelerin yerine metil alkol konuldu.

Yapılan deneylerde farklı konsantrasyonlarda hazırlanan maddelerin nöraminidaz inhibisyonu aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

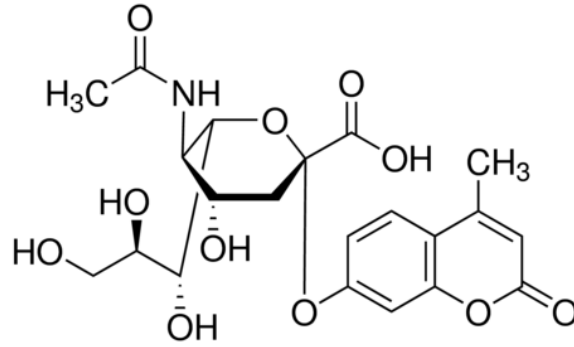
$$\% \text{ İnhibisyon} = [(\Delta A_{\text{ex360/em460 kontrol}} - \Delta A_{\text{ex360/em460 örnek}}) / \Delta A_{\text{ex360/em460 kontrol}}] \times 100$$

$\Delta A_{\text{ex360/em460 kontrol}}$: Kontrol çözeltisinin spektrofotometredeki floresans değeri

$\Delta A_{\text{ex360/em460 örnek}}$: Örnek içeren çözeltinin spektrofotometredeki floresans değeri

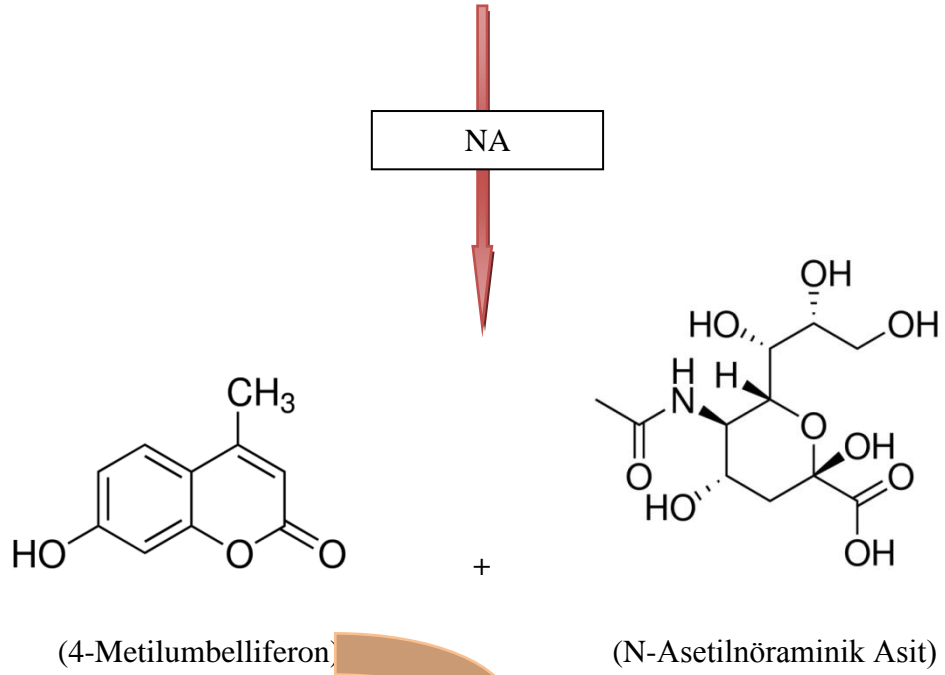
Nöraminidaz enziminin IC₅₀ değeri (enzimin % 50 inhibisyon etkisi göstermesi için gerekli madde miktarı) absise madde miktarı, ordinata % enzim inhibisyon verilerinin uygulaması ile çizilen eğrinin lineer kesiminden elde edilen regresyon denkleminde hesaplandı.

Oluşan reaksiyon aşağıdaki gibidir:



- Na
- xH₂O

(2'-(4-Metilumbelliferli)-α-D-N-asetilnöraminik asit sodyum tuzu)



Floresans Işıma
özelliği gösterir.

Ortama inhibitör eklenmesi ile 4-metilumbelliferon maddesi daha az oluşacağından floresans ışımada azalma görülecektir.

4. BULGULAR

Bu çalışmada, halk arasında çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılan bitki ekstraktları ve kimyasal maddelerin nöraminidaz enzimi üzerindeki inhibitör etkileri incelendi.

4.1. METİL ALKOLLÜ BİTKİ EKSTRELERİNİN NÖRAMİNİDAZ ENZİMİ ÜZERİNE İNHİBİTÖR ETKİLERİ

Tablo 4.1'de çeşitli bitkilerin metil alkollü ekstraktlarının nöraminidaz üzerindeki % inhibisyon ve IC₅₀ değerleri gösterilmektedir.

Tablo 4.1: Çeşitli Bitkilerden Hazırlanan Metil Alkollü Ekstrelerin Nöraminidaz Üzerindeki % İnhibisyon ve IC₅₀ Değerleri.

Bitki Ekstresinin Adı	Konsantrasyon. (µg/mL)	İnhibisyon (%)*	IC ₅₀ değeri (µg/mL)*
Ananas	1	8.40 ± 4.28	153.10 ± 17.73
	10	15.87 ± 9.71	
	50	25.22 ± 4.28	
	100	36.44 ± 5.84	
Isırgan Otu	10	11.22 ± 1.45	585.02 ± 74.05
	10	13.74 ± 1.45	
	50	14.57 ± 2.52	
	100	18.76 ± 1.45	

*Ortalama±SD

Tablo 4.1 (Devam): Çeşitli Bitkilerden Hazırlanan Metil Alkollü Ekstrelerin Nöraminidaz Üzerindeki % İnhibisyon ve IC₅₀ Değerleri.

Karahindiba	0.1	5.75 ± 1.66	591.64 ± 100.76
	1	7.67 ± 2.88	
	10	13.45 ± 2.88	
	100	15.37 ± 1.66	
Kekik	0.1	16.88 ± 5.69	52.09 ± 5.42
	1	22.40 ± 8.45	
	10	29.85 ± 1.73	
	50	47.94 ± 3.81	
Maydanoz	0.1	30.61 ± 2.30	16.69 ± 8.88
	1	33.89 ± 1.17	
	10	46.07 ± 11.28	
Nane	0.1	7.03 ± 4.16	93.50 ± 31.04
	1	25.82 ± 14.91	
	10	29.80 ± 14.41	
	50	34.43 ± 9.48	
Soğan	1	6.35 ± 1.37	710.11 ± 63.10
	10	9.39 ± 1.95	
	50	11.45 ± 0.80	
	100	13.23 ± 1.21	

*Ortalama±SD

Tablo 4.1 (Devam): Çeşitli Bitkilerden Hazırlanan Metil Alkollü Ekstrelerin Nöraminidaz Üzerindeki % İnhibisyon ve IC₅₀ Değerleri.

Siyah Çay	0.1	71.57 ± 9.00	0.07 ± 0.01
	1	78.57 ± 0.76	
	10	79.80 ± 0.34	
	50	81.41 ± 1.20	
Yaban Mersini	1	21.22 ± 4.09	266.36 ± 112.78
	10	25.47 ± 1.63	
	50	28.30 ± 1.63	
	100	33.96 ± 7.12	
Zencefil	0.1	17.27 ± 1.41	248.39 ± 92.20
	1	20.08 ± 1.40	
	10	29.89 ± 5.61	
	100	33.63 ± 6.48	

*Ortalama±SD

Tablo 4.1'e göre: Metil alkollü ekstrelerin nöraminidaz enzimi üzerine % inhibisyon değerleri konsantrasyon artışı ile arttı. Bitki ekstreleri içinde IC₅₀ değerinin en düşük olması nedeniyle en yüksek nöraminidaz inhibisyonunu siyah çayın (0.07 ± 0.01 µg/mL) gösterdiği bulundu. Siyah çay bitkisinin yanı sıra maydanoz (16.69 ± 8.88 µg/mL), kekik (52.09 ± 5.42µg/mL) ve nanenin (93.50 ± 31.04 µg/mL) metil alkollü ekstrelerinin nöraminidaz inhibitör etkileri olduğu bulundu.

En düşük IC₅₀ değerleri gözetilerek, bitkiler arasındaki en güçlü nöraminidaz inhibitör sıralaması şu şekildedir: siyah çay, maydanoz, kekik, nane, ananas, zencefil, yaban mersini, ısırgan otu, karahindiba ve soğan.

4.2. KİMYASAL MADDELERİN NÖRAMİNİDAZ ENZİMİ ÜZERİNE İNHİBİTÖR ETKİLERİ

Tablo 4.2’de bazı vitaminlerin nöraminidaz üzerindeki % inhibisyon ve IC₅₀ değerleri gösterilmektedir.

Tablo 4.2: Bazı Vitaminlerin Nöraminidaz Üzerindeki % İnhisyon ve IC₅₀ Değerleri.

Kimyasal Maddenin Adı	Konsantrasyon. (µg/mL)	İnhisyon (%)*	IC₅₀ değeri (µg/mL)*
Askorbik asit	1.25	18.24 ± 9.11	40.10 ± 25.05
	2.5	27.00 ± 3.35	
	5	28.47 ± 5.51	
	10	31.38 ± 5.51	
	15	37.95 ± 1.26	
	20	38.68 ± 7.90	
B ₁ Vitamini	0.001	13.36 ± 8.33	0.418 ± 0.18
	0.025	17.36 ± 6.11	
	0.05	21.36 ± 9.24	
	0.1	24.00 ± 0.00	
B ₂ Vitamini	0.01	16.07 ± 5.66	1.01 ± 0.45
	0.025	23.48 ± 2.14	
	0.05	29.63 ± 11.11	
	0.1	33.33 ± 0.00	
	0.5	37.04 ± 3.71	

*Ortalama±SD

Tablo 4.2 (Devam): Bazı Vitaminlerin Nöraminidaz Üzerindeki % İnhibisyon ve IC₅₀ Değerleri.

B ₃ Vitamini	0.0001	18.30 ± 1.48	0.054 ± 0.02
	0.0005	19.50 ± 2.11	
	0.001	26.82 ± 2.11	
	0.01	35.38 ± 2.09	
	0.025	37.80 ± 6.31	
B ₆ Vitamini	0.001	24.4 ± 4.23	0.101 ± 0.01
	0.01	29.72 ± 2.11	
	0.025	32.93 ± 2.14	
	0.05	40.25 ± 2.11	
	0.1	46.55 ± 3.66	
Biotin	0.001	4.77 ± 2.72	0.291 ± 0.04
	0.01	7.14 ± 3.09	
	0.025	11.91 ± 4.49	
	0.05	17.86 ± 4.72	
	0.1	19.64 ± 3.57	
E Vitamini	0.01	33.23 ± 10.66	0.435 ± 0.03
	0.025	35.56 ± 3.85	
	0.05	37.80 ± 1.93	
	0.1	41.13 ± 3.85	
	0.5	52.23 ± 1.92	

*Ortalama±SD

Tablo 4.2 (Devam): Bazı Vitaminlerin Nöraminidaz Üzerindeki % İnhibisyon ve IC₅₀ Değerleri.

β-Karoten	0.01	12.00 ± 4.00	0.251 ± 0.05
	0.025	17.36 ± 2.31	
	0.05	22.68 ± 2.31	
	0.1	26.68 ± 2.31	
U Vitamini	0.001	2.23 ± 1.92	0.673 ± 0.08
	0.01	7.80 ± 5.09	
	0.05	20.00 ± 3.34	
	0.1	26.66 ± 0.00	
	0.5	38.50 ± 1.93	

*Ortalama±SD

Tablo 4.2'ye göre: Bazı vitaminlerin nöraminidaz enzimi üzerine % inhibisyon değerleri konsantrasyon artışı ile arttı. Vitaminlerin içinde IC₅₀ değerinin en düşük olması nedeniyle en yüksek nöraminidaz inhibisyonunu B₃ vitamininin (0.054 ± 0.02 µg/mL) gösterdiği bulundu. B₃ vitamininin yanı sıra B₆ vitamini (0.101 ± 0.01 µg/mL), β-karoten (0.251 ± 0.05 µg/mL), biotin (0.291 ± 0.04µg/mL) vitaminlerinin de nöraminidaz enzimi üzerine inhibitör etkileri olduğu bulundu.

En düşük IC₅₀ değerleri gözetilerek, vitaminler arasındaki en güçlü nöraminidaz inhibitör sıralaması şu şekildedir: B₃ vitamini, B₆ vitamini, karoten, biotin, B₁ vitamini, E vitamini, U vitamini, B₂ vitamini, C vitamini.

Tablo 4.3’de bazı kimyasal maddelerin nöraminidaz üzerindeki % inhibisyon ve IC₅₀ değerleri gösterilmektedir.

Tablo 4.3: Bazı Kimyasal Maddelerin Nöraminidaz Üzerindeki % İnhibisyon ve IC₅₀ Değerleri.

Kimyasal Maddenin Adı	Konsantrasyon (µM)	İnhibisyon (%)*	IC₅₀ değeri (µM)*
Benzoik Asit	1.25	17.77 ± 10.79	49.32 ± 2.52
	2.5	22.22 ± 8.86	
	10	24.44 ± 10.46	
	15	28.88 ± 7.81	
	20	35.55 ± 1.70	
	30	35.55 ± 5.70	
Gallik Asit	5	18.91 ± 1.19	20.77 ± 0.99
	7.5	27.84 ± 2.07	
	10	39.53 ± 1.20	
	15	42.97 ± 5.22	
	20	46.39 ± 0.00	
Glioksilik Asit	2.5	9.75 ± 2.41	47.44 ± 5.76
	5	13.92 ± 2.40	
	10	16.66 ± 11.03	
	15	23.63 ± 4.81	
	20	25.00 ± 0.00	

*Ortalama±SD

Tablo 4.3 (Devam): Bazı Kimyasal Maddelerin Nöraminidaz Üzerindeki % İnhibisyon ve IC₅₀ Değerleri.

p-Hidroksi Benzoik Asit	5	22.23 ± 8.24	104.68 ± 12.40
	10	24.80 ± 5.33	
	15	28.21 ± 9.25	
	20	29.08 ± 9.71	
	30	30.77 ± 5.13	
	40	33.33 ± 4.45	
	50	34.62 ± 3.92	
Kafeik Asit	1.25	24.44 ± 4.44	31.10 ± 8.86
	2.5	28.88 ± 4.45	
	5	31.86 ± 1.28	
	10	37.04 ± 7.15	
	20	40.75 ± 2.57	
Kateşin	5	23.10 ± 6.56	13.22 ± 0.98
	7.5	33.35 ± 3.12	
	10	39.50 ± 1.18	
Kolin Klorür	0.007	9.54 ± 2.73	2.22 ± 0.57
	0.179	11.32 ± 2.73	
	0.358	16.68 ± 16.21	
	0.716	22.63 ± 0.98	

*Ortalama±SD

Tablo 4.3 (Devam): Bazı Kimyasal Maddelerin Nöraminidaz Üzerindeki % İnhibisyon ve IC₅₀ Değerleri.

Kuersetin	5	25.20 ± 2.14	45.67 ± 3.52
	10	28.60 ± 3.53	
	15	30.60 ± 2.04	
p-Kumarik asit	2.5	14.52 ± 6.79	35.66 ± 7.92
	5	21.58 ± 1.36	
	10	25.51 ± 1.36	
	15	27.86 ± 1.36	
	20	34.92 ± 9.80	
Laktik Asit	2.5	8.33 ± 4.17	41.95 ± 10.76
	5	12.50 ± 4.17	
	10	16.66 ± 4.17	
	15	20.83 ± 4.17	
	20	29.16 ± 4.17	
Linoleik Asit	0.004	2.14 ± 1.84	0.481 ± 0.06
	0.035	19.15 ± 1.84	
	0.089	25.54 ± 7.37	
	0.178	30.88 ± 14.39	
	0.356	36.16 ± 3.19	

*Ortalama±SD

Tablo 4.3 (Devam): Bazı Kimyasal Maddelerin Nöraminidaz Üzerindeki % İnhibisyon ve IC₅₀ Değerleri.

Lipoik Asit	0.005	12.37 ± 7.71	1.01 ± 0.29
	0.048	16.07 ± 11.32	
	0.121	22.22 ± 0.00	
	0.242	23.48 ± 2.14	
	0.484	28.41 ± 3.71	
Maleik Asit	2.5	15.55 ± 2.22	22.98 ± 4.20
	5	26.66 ± 4.45	
	10	31.86 ± 1.28	
	15	38.53 ± 8.42	
	20	45.20 ± 3.39	
Malik asit	5	16.53 ± 13.13	41.53 ± 11.24
	10	17.17 ± 1.09	
	15	20.97 ± 2.90	
	20	27.96 ± 5.69	
Salisilik asit	1.25	26.28 ± 7.69	37.59 ± 12.61
	2.5	29.19 ± 5.06	
	5	32.11 ± 2.19	
	10	35.76 ± 3.35	
	15	37.95 ± 1.26	
	20	39.42 ± 1.26	

*Ortalama±SD

Tablo 4.3 (Devam): Bazı Kimyasal Maddelerin Nöraminidaz Üzerindeki % İnhibisyon ve IC₅₀ Değerleri.

Sinnamik asit	1.25	15.33 ± 4.56	37.42 ± 2.28
	2.5	17.52 ± 4.54	
	5	21.90 ± 3.35	
	10	26.28 ± 1.26	
	15	29.19 ± 4.56	
	20	32.85 ± 3.35	
Sitrik Asit	2.5	8.33 ± 4.17	39.74 ± 5.92
	5	12.50 ± 7.22	
	10	16.66 ± 7.22	
	15	22.25 ± 2.41	
	20	29.16 ± 4.17	
Sorbik asit	2.5	9.04 ± 2.35	40.52 ± 1.64
	10	23.15 ± 5.92	
	15	26.28 ± 3.60	
	20	28.63 ± 3.59	
Tartarik asit	2.5	25.90 ± 6.59	26.67 ± 2.77
	5	28.77 ± 7.78	
	10	34.53 ± 2.49	
	15	38.14 ± 2.49	

*Ortalama±SD

Tablo 4.3 (Devam): Bazı Kimyasal Maddelerin Nöraminidaz Üzerindeki % İnhibisyon ve IC₅₀ Değerleri.

Ürik Asit	0.01	10.68 ± 4.62	2.72 ± 1.37
	0.15	14.68 ± 6.11	
	0.3	17.36 ± 4.62	
	0.6	21.36 ± 2.31	
Vanilik asit	2.5	23.74 ± 0.87	58.31 ± 23.46
	5	25.90 ± 2.49	
	10	28.06 ± 2.49	
	20	33.09 ± 3.74	

*Ortalama±SD

Tablo 4.3'e göre: Bazı kimyasal maddelerin nöraminidaz enzimi üzerine % inhibisyon değerleri konsantrasyon artışı ile arttı. Kimyasal maddeler içinde IC₅₀ değerinin en düşük olması nedeniyle en yüksek nöraminidaz inhibisyonunu linoleik asidin ($0.481 \pm 0.06 \mu\text{M}$) gösterdiği bulundu. Linoleik asidin yanı sıra lipoik asit ($1.01 \pm 0.29 \mu\text{M}$), kolin klorür ($2.22 \pm 0.57 \mu\text{M}$) ve ürik asidin ($2.72 \pm 1.37 \mu\text{M}$) nöraminidaz inhibitör etkileri olduğu bulundu.

En düşük IC₅₀ değerleri gözetilerek, bazı kimyasal maddeler arasındaki en güçlü nöraminidaz inhibitör sıralaması şu şekildedir: Linoleik asit, lipoik asit, kolin klorür, ürik asit, kateşin, gallik asit, maleik asit, tartarik asit, kafeik asit, p-kumarik asit, sinnamik asit, salisilik asit, sitrik asit, sorbik asit, malik asit, laktik asit, kuersetin, glioksilik asit, benzoik asit, vanilik asit, p-hidroksi benzoik asit.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Dünya genelinde ortalama her yıl 3 milyondan fazla kişi solunum yolu hastalıklarına bağlı olarak hayatını kaybetmektedir. Bu sayı dünyada ki tüm ölümlerin % 6.4' ünü oluşturmaktadır (Schappert ve Nelson, 1999). Solunum yolu rahatsızlıklarına neden olan en önemli hastalıklardan biri de influenza (grip) virüsleridir. İnfluenza virüsleri özellikle kuşlar olmak üzere, birçok memeli organizmasını konak olarak kullanmaları, hiçbir farklılık gözetmeksizin her bireyi infekte etme yetenekleri, epidemi ve pandemi oluşturmaları nedeniyle güncelliğini her zaman korumaktadır (Hsieh ve diğ., 2006). İnfluenzadan korunmada aşı halen en önemli yöntem olmasına rağmen, virüslerde antijenik değişimler olabilmekte ve aşı etkinliği azalabilmektedir. Antijenik değişimlerin oluşmasıyla aşı üretimi yetersiz kalabileceğinden antiviral ilaçların önemi daha da artmıştır (Korten, 2006).

İnfluenza tedavisinde iki temel ilaç grubu bulunmaktadır. Bunlar; M2 inhibitörleri olan amantadin, rimantadin ve nöraminidaz inhibitörleri olan zanamivir, oseltamivirdir (Korten, 2006). Oseltamivir, biyoyararlanma açısından iyi olmasının yanı sıra tüm vücuda dağılabilmektedir. En önemli yan etkileri bulantı, kusma ve karın ağrısıdır. Bu yan etkilerin görülme sıklığı ise % 5-10 civarındadır (Korten, 2006). Oseltamivir kullanan hastalarda nöropsikiyatrik olaylar olduğu bildirilmiş (kendi kendine zarar verme, deliryum), ancak son yıllarda yapılan yayınlarda bu durumun artmadığı öne sürülmüştür. Yine de FDA oseltamivir kullanan hastaların davranış bozukluğu açısından yakından takibini önermektedir (Fiore ve diğ., 2011). Zanamivir molekülünün oral biyoyararlanımı yoktur. Aktif ilacın % 10-20'si akciğerlerde bulunmaktadır (Korten, 2006). En sık bildirilen yan etkiler; diyare, bulantı, sinüzit, bronşit, öksürük, baş ağrısı, baş dönmesi ve kulak burun boğaz enfeksiyonlarıdır. Bu yan etkilerin olma oranı ise %

5'ten daha azdır (Fiore ve diğ., 2011). Tüm bu etkinlik ve yan etkiler göz önüne alındığında nöraminidaz enzimi için yeni inhibitörlerin bulunması gerekmektedir.

Bitkisel ilaçlar influenza tedavisinde alternatif bir yöntem olarak önerilmektedir. Bitkisel ilaçların kullanımı kimyasal ilaçlara nazaran daha güvenli olup multivalent fonksiyonlarından ötürü daha az virüs direnci ile karşılaşılırlar. Bunun birlikte bazı bitkiler hem virüsün kendisini hem de influenzanın yol açacağı semptomları hedef alabilir (Baskin ve diğ., 2009; Sharma ve diğ., 2009).

Nöraminidaz enzimi üzerine, bitkilerden elde edilen kimyasal yapıların inhibitör etkileri ile ilgili bazı çalışmalar bulunmaktadır. Örneğin; *Cudrania tricuspidata* bitkisinden izole edilen flavonlar ve flavononların (Ryu ve diğ., 2009), *Rhodiola rosea* bitkisinin köklerinden elde edilen flavanollerin (Jeong ve diğ., 2009), *Caesalpinia sappan* bitkisinden elde edilen homoizoflavonoidlerin (Jeong ve diğ., 2012), *Flemingia philippinensis* bitkisinin köklerinden elde edilmiş izoflavonların (Wang ve diğ., 2013) nöraminidaz enzimi üzerine inhibitör etki gösterdikleri bulunmuştur.

İnsan sağlığında antioksidanlar önemli rol oynar. Antioksidan fonksiyonları bakımından öne çıkan maddeler C ve E vitamini, karotenoidler ve fenolik maddelerdir. Fenolik bileşikler sebze ve meyvelerde fazla miktarlarda bulunmaktadır. Fenolik bileşik içeren bu doğa ürünlerinden biri de çay bitkisidir (Sivritepe, 2000). Günümüzde ticari amaçlı üretimi yapılan 3 tip çay tipi bulunmaktadır. Bunlar; Siyah, yeşil ve oolong çaylarıdır (Katiyar ve Mukhtar, 1997).

Siyah çay, çay yapraklarının ezilmesi sonucu ortaya çıkan polifenol oksidaz enziminin katalize ettiği oksidasyon sonucu oluşur (Yang ve Landau, 2000) ve siyah çay kuru madde de % 3-10 arasındaki bir oranda toplam flavonol içermektedir (Benzie ve Szeto, 1999). Son yıllarda çay kateşinlerine biyolojik aktivitelerinden dolayı çok fazla ilgi gösterilmektedir. Çay; antioksidan (Zandi ve Gordon, 1999; Mello ve diğ., 2005; Navas

ve diğ., 2005), antimutajenik (Halder ve diğ., 2005), antikarsinojenik (Han, 1997) ve antibakteriyel (An ve diğ., 2004) gibi aktiviteler göstermektedir.

Siyah çayda bulunan polifenolik bileşiklerin antioksidan aktivitesinden dolayı, her yaş grubu için başta koroner kalp hastalıkları (KKH), felç, kalp damar hastalıkları (KDH), hipertansiyon, mide ve kolorektal gibi çeşitli kanser türleri olmak üzere, artrit, antiviral, antiinflamatuvar hastalıklara karşı koruyucu ve kemik yoğunluğunu düzenleyici etkileri olduğu çeşitli araştırmalarla gösterilmiştir (Weisburger ve Chung, 2002; Henning ve diğ., 2003; Cooper ve diğ., 2005; Gardner ve diğ., 2007). Diğer bir yandan yeşil çayın hiyaluronidaz (Demirbay Özmen, 2015), kollajenaz (Sinanoğlu, 2013) ve elastaz (Göktaş, 2012) enzimlerini inhibe ettiği anabilim dalımızda yapılan çalışmalarla saptanmıştır. Çalışmamızda siyah çayın IC₅₀ değeri 0.07 ± 0.01 µg/mL olarak bulunmuştur. Bu değer düşük bir değer olup çayın iyi bir nöraminidaz inhibitörü olduğunu göstermektedir.

Ülkemizde sebze olarak kullanılan bir bitki olan maydanoz aynı zamanda tıbbi özellikleri bulunan bir bitkidir. Birçok vitamin ve mineral bakımından oldukça zengindir. Maydanoz bitkisi ayrıca flavonoid (apigenin, luteolin, apiin, miristisin), furanokumarin (psöralenler), uçucu yağ, sabit yağ ve oleorezin bakımından da zengindir. Maydanoz ile yapılmış olan *in vivo* çalışmalarda, metil alkollü ekstrelerinin sıçan beyin homojenizatlarında lipid peroksidasyonunu azaltıcı etkide bulunduğu, antioksidan aktiviteye sahip olduğu, antidiyabetik etki gösterdiği (Yanardag ve Ozsoy, 2000; Ozsoy-Sacan ve diğ., 2006) ve maydanoz yapraklarının antimikrobiyal etki gösterdiği rapor edilmiştir (Öztürk ve diğ., 2002). HaeWon ve YoungHwan tarafından yapılan çalışmada maydanoz bitkisinin %70 etanolik ekstresinin % 25 oranında nöraminidaz enzimini inhibe ettiği bulunmuştur. Maydanoz ekstresinin nöraminidaz inhibitörü olan zanamivir ile benzer oranda enzimi inhibe ettiği saptanmıştır (HaeWon ve YoungHwan, 2012). Yaptığımız çalışmada maydanozun metil alkollü bitki ekstresi nöraminidaz enzimi üzerinde inhibisyon etkisi göstermiş olup, IC₅₀ değeri 16.69 ± 8.88 µg/mL olarak bulunmuştur.

Kekik, boğaz ağrısı, baş ağrısı, bronşit, hazımsızlık, gaz, öksürük ve romatizma ağrıları başta olmak üzere pek çok hastalığa iyi gelen zengin bir mineral ve vitamin kaynağıdır. Kekik; antioksidan, antibakterial, antikanser, antiproliferatif (Marino ve diğ., 1999; El-Desouky ve diğ., 2009; Al-Kalaldehy ve diğ., 2010), astım giderici, antispazmodik, antifungal (Pina-Vaz ve diğ., 2004) gibi özelliklere sahiptir. Çalışmamızda kekik bitkisinden hazırlanan ekstrenin yüksek oranda enzimi inhibe ettiği saptanmıştır. Maydanoz bitkisinden sonra incelenen bitki ekstraları içinde enzimi iyi inhibe ettiği saptanmıştır. Kekik bitkisinden hazırlanan metanolik ekstraların gribal hastalıklarda kullanılabileceği öne sürülebilir.

Yan etkiler göz önüne alındığında influenza tedavisinde kullanılan NA enzim inhibitörleri olan oseltamivir ve zanamivir yerine, yaptığımız çalışmada yüksek inhibisyon gücüne sahip birçok bitki ekstresi olduğu görülmüştür. Bu metil alkollü bitki ekstraları NA inhibitör etkilerine göre sıralandığında bu bitkiler, siyah çay, maydanoz, kekik, nane, ananas, zencefil, yaban mersini, ısırgan otu, karahindiba ve soğandır. Bu durum detaylı bir şekilde değerlendirilmeli ve *in vivo* deneylerle yeni NA inhibitörleri geliştirmek için daha ileri çalışmalar yapılması oldukça önemlidir.

Vitaminler metabolizma için gerekli olan ve vücudun hücrelerinde sentezlenemeyen organik bileşikleridir. Bu organik maddeler vücudun sağlıklı gelişimi, sindirim fonksiyonları, enfeksiyonlara karşı bağışıklık kazanması açısından gerekli oldukları gibi karbohidrat, yağ ve protein metabolizmasında da oldukça önemlidir. Bu yüzden besinlerimizde uygun oranlarda bulunmadıkları zaman metabolizmada bozukluklara yol açabilmektedirler.

B₃ vitamininin kaynakları balık, yumurta, günlük süt ürünleri ve bazı sebzelerdir (Bogan ve Brenner, 2008). B₃ vitamininin oksidatif stresi önlediği, yağ birikimini inhibe ettiği ve yağlı karaciğer oluşumunu önlediği Ganji ve arkadaşları tarafından öne sürülmüştür

(Ganji ve diğ., 2015). B₃ vitaminin *mycobacterium tuberculosis* ve HIV'e (İnsan Bağışıklık Yetmezlik Virüsü) karşı antimikrobiyal bir madde olduğu Murray tarafından öne sürülmüştür (Murray, 2003). Nikotik asidin karaciğerde oluşan oksidatif stresi ve alkolle indüklenen karaciğer hasarını önlediği de öne sürülmüştür (Dou ve diğ., 2013).

Niasin eksikliği karsinoid tümör, izoniazid tedavisi, hartnup hastalığı gibi triptofan metabolizmasını etkileyen durumlar sonucu görülür. Niasinin hiperlipidemik sıçanların karaciğer ve diğer dokuları üzerine koruyucu etki gösterdiği Yanardağ ve arkadaşları tarafından öne sürülmüştür (Yanardag ve diğ., 2005). HIV virüsü bulaşmış kadınların ağırlık kaybı üzerine oral olarak verilen multivitamin niasin, riboflavin, tiamin, folik asit ve B₆, B₁₂, C ve E vitaminlerinin koruyucu etkileri Villamor ve arkadaşları tarafından öne sürülmüştür (Villamor ve diğ., 2002). Çalışmamızda B₃ vitamininin antinöraminidaz enzim aktivitesi gösterdiği saptanmıştır.

Yaptığımız çalışmada incelenen vitaminler içerisinde en etkin nöraminidaz inhibisyonu sağlayan vitaminin B₃ vitamini olduğu bulunmuştur. B₃ vitamininin IC₅₀ değeri 0.054 ± 0.02 µg/mL olarak bulunmuştur. IC₅₀ değerleri küçükten büyüğe doğru sıralandığında B₃ vitamini, B₆ vitamini, karoten, biotin, B₁ vitamini, E vitamini, U vitamini, B₂ vitamini, C vitamini olduğu görülmektedir.

Karotenoidler, A vitamininin ön maddesi olmalarıyla beraber, bitkilerdeki fonksiyonlarıyla yakından ilgili olarak bazı özel fonksiyonlarının memelilerin dokularında da etkili olduğu düşünülmektedir. Konjuge yapıda çift bağ içermeleri, bu pigmentlere serbest radikallere etki eden antioksidan özelliği kazandırmaktadır (Francis, 1985; Tee, 1992). Karotenoidlerin, bir provitamin A olmalarının yanında antioksidan olarak kalp-damar hastalıkları, kanser ve diğer kronik hastalıkların engellenmesinde önem arz ettiği ve son yıllarda bu yönde yoğun araştırmaların yapıldığı rapor edilmektedir (Zino ve diğ., 1997; Omoni ve Aluko, 2005; Rao ve Rao, 2007; Kapoor ve diğ., 2009). Henüz yeterli olmasa da bu güne kadar yapılan çalışmalar, karotenoidlerin başta akciğerde olmak üzere kanseri önlemede etkili olduğu düşünülmektedir (Gerster, 1993). Karotenoidlerden biri de β-karoten molekülüdür. Bu molekül özellikle ıspanak,

havuç ve tatlı patatesten yüksek miktarlarda bulunmaktadır. Çalışmamızda β -karoten molekülünün $IC_{50} = 0.251 \pm 0.05 \mu\text{g/mL}$ değeri ile NA inhibitör etkisinin olduğu görülmüştür.

Çalışmamızda vitaminlerin iyi bir nöraminidaz inhibitörü olduğu bulunmuştur. Tablo 4.2'den elde edilen sonuçlara göre vitaminlerin nöraminidaz enzimi ile ilgili hastalıklarda tedavi amaçlı kullanılabilmesi öne sürülebilir.

İnsanların diyetlerinde önemli bir bölümü oluşturan yağlar, yüksek enerji kaynağı olmalarının yanı sıra, yağda çözünen vitaminleri içermeleri ve kan lipit düzeyinde aldıkları rolden dolayı oldukça önemlidir (Çakmakçı ve Kahyaoğlu, 2012). Omega-6 yağ asitlerinin cilt sağlığı üzerinde koruyucu etkisi bulunduğu, esnek ve pürüzsüz cilt oluşumunda katkı sağladığı belirtilmektedir, böylece derinin yaralanmalardan ve enfeksiyonlardan korunduğu, vücut sıcaklığı ve su kaybının düzenlendiği belirtilmektedir (Karabulut ve Yandı, 2006). Esansiyel yağ asitlerinin bebek pişiklerinde yangıya karşı etki gösterdikleri rapor edilmiştir (Sarıca, 2003). Linoleik asit $IC_{50} = 0.481 \pm 0.06 \mu\text{M}$ değeri ile nöraminidaz enzimi üzerinde güçlü bir inhibitör etki göstermiştir.

Lipoik asit bazı yiyeceklerde bulunan ve aynı zamanda vücutta sentezlenen doğal bir antioksidan maddedir. Bitkiler içinde en fazla lipoik asit ıspanak, brokoli ve domatesten bulunur. Hayvan dokuları içerisinde ise, en fazla böbrek, kalp ve karaciğerde bulunur. Lipoik asit serbest radikalleri uzaklaştırır, diğer antioksidanları rejenere eder ve ağır metalleri bağlayıp atılmalarını kolaylaştıran antioksidan bir maddedir (Karaca, 2008). Çalışmamızda linoleik asit bileşiğinden sonra en yüksek inhibisyon değerini lipoik asit vermiştir ve IC_{50} değeri $1.01 \pm 0.29 \mu\text{M}$ olarak bulunmuştur.

Kolin, B vitaminleri arasında geçmesine rağmen vitamin benzeri bir maddedir, koenzim şeklinde görev yapar. Kolin, hücre membranlarının yapısında bulunan fosfolipitlerin sentezinde ve asetil kolinin yapısında bulunur. Vücutta kolin miktarındaki azalma

karaciğerde yağ depolarının artmasına, midede ülser oluşumuna, kalp ve böbreklerle ilgili sorunlara neden olabilir. Uzun süreli kolin eksikliği ise yüksek kan basıncına, siroza, yağlı karaciğere, ateroskleroza ve arterlerin sertleşmesine neden olur (Kökoğlu ve Alturfan, 2010). Çalışmamızda kolin klorürün nöraminidaz enzimini inhibe ettiği bulunmuştur.

Ürik asit insanlarda pürin metabolizmasının son ürünüdür. Hücre dışı ortamlarda ürik asit hidroksil, peroksinitrit ve serbest radikalleri uzaklaştırır. Bu nedenle güçlü bir antioksidan maddesi olarak düşünülebilir. Kimyasal ortamına bağlı olarak ürik asit proksidan gibi davranarak hipertansiyon, kalp, damar hastalıkları, iskemi-reperfüzyon hasarı, diyabet, yağlı karaciğer bozuklukları gibi hastalıklarla ilişkilidir (Kumar ve diğ., 2015). Çalışmamızda ürik asidin nöraminidaz enzimi inhibe ettiği saptanmıştır ve IC_{50} değeri $2.72 \pm 1.37 \mu M$ olarak bulunmuştur. Nöraminidaz enzimini iyi bir şekilde inhibe etmesi ile ürik asidin antioksidan özelliği yanında virüslerle bulaşan hastalıklarda kullanılabilmesi öne sürülebilir.

Fenolik bileşikler bitkilerde en yaygın bulunan maddeler grubu olup, günümüzde binlerce fenolik bileşiğin yapısı tanımlanmıştır (Kafkas ve diğ., 2006). Bunlara devamlı olarak bulunan yeni tanımlanan fenolikler eklenmektedir (Cemeroğlu, 2004). Fenolik bileşikler bitkilerin meyve, sebze, tohum, çiçek, yaprak, dal ve gövdelerinde bulunabilirler. Fenolik bileşikler antialerjik, antienflamatuar, antidiyabetik, antimikrobiyal, antipatojenik, antiviral ve antirombotik etkiye sahip olduğu yapılan pek çok araştırma ile tespit edilmiştir. Antioksidan olarak fenolik bileşikler kanser, kalp hastalıkları, katarakt, göz hastalıkları ve Alzheimer gibi hastalıkları engellemektedirler (Nizamlioğlu ve Nas, 2010).

Paeonia lactiflora bitkisinin tohumlarından elde edilen polifenollerin (Yuk ve diğ., 2013) ve *Glycyrrhiza uralensis* bitkisinden izole edilen polifenolik bileşiklerin (Ryu ve diğ., 2010) nöraminidaz enzimini inhibe ettiği bulunmuştur. Çalışmamızda kullandığımız polifenolik bileşikler olan gallik asit, kuersetin ve kateşin moleküllerinin

nöraminidaz enzimi üzerine inhibitör etki gösterdiği bulunmuştur. Yaptığımız çalışmada kateşin, gallik asit, kuersetin ve moleküllerinin IC₅₀ değerleri sırasıyla 13.22 ± 0.98 , 20.77 ± 0.99 ve 45.67 ± 3.52 ve μM olarak bulunmuştur.

Çalışmamızda yüksek oranda nöraminidaz inhibitör etkisi gösteren bitki ekstralarının ve kimyasal maddelerin nöraminidaz inhibitörü olarak nöraminidaz enziminin aktif olduğu hastalıklara (influenza gibi) yakalanmış hastaların ilaç tedavisine ek olarak kullanımının uygun olabileceği öne sürülebilir. Bu bitki ekstraları ve kimyasal maddelerin nöraminidaz enzim inhibisyonlarının *in vivo* deneyler de kanıtlanması için ileri düzeyde çalışmalara gereksinim duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

- Achyuthan, K., Achyuthan, A., 2001, Comparative enzymology, biochemistry and pathophysiology of human exo- α -sialidases (neuraminidases), *Comparative biochemistry and physiology part B biochemistry and molecular biology*, 129, 29–64.
- Air, G.M., Laver, W.G., 1989, The neuraminidase of influenza virus, *Proteins*, 6, 341–356.
- Akinci, E., Kayaaslan, B., Yetkin, M.A., Yılmaz, S., Alıracı, I.D., Yıldız, S., 2011, Analysis of 113 hospitalized patients with confirmed 2009 influenza A (H1N1) virus infection, *Turkish journal of medical sciences*, 41, 507-514.
- Aktaş, F., 2002, *Orthomyxovirus ailesi (İnfluenza virusları)*, Enfeksiyon hastalıkları ve klinik mikrobiyolojisi, In: Willke, A., Söyletir, G., Doğanay, M. (ed.), Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul, 1282-2174.
- Al-Kalaldeh, J.Z., Abu-Dahab, R., Afifi, F.U., 2010, Volatile oil composition and antiproliferative activity of *Laurus nobilis*, *Origanum syriacum*, *Origanum vulgare*, and *Salvia triloba* against human breast adenocarcinoma cells, *Nutrition research*, 30, 271-278.
- An, B., Kwak, J., Son, J., Park, J., Lee, J.C., Byun, M., 2004, Biological and antimicrobial activity of irradiated green tea polyphenols, *Food chemistry*, 88, 549-555.
- Bantia, S., Arnold, C.S., Parker, C.D., Upshaw, R., Chand, R., 2006, Anti-influenza virus activity of peramivir in mice with single intramuscular injection, *Antiviral research*, 69, 39-45.
- Baskin, C.R., Carole, R.B., Helle, B-O., Terrence, M.T., Patrick, J.S., James, P.L., Adolfo, G-S., Tolnay, A-E., Randy, A., John, A.P., Pam, H.O., Lauri, D.A., Elizabeth, R.R., Kaja, M.K., Edward, A.C., Mark, S.K., Jamie, L.F., Sean, P., Robert, E.P., Carol, L.S., Michael, G.K., 2009, Early and sustained innate immune response defines pathology and death in nonhuman primates infected by highly pathogenic influenza virus, *Proceedings of the national academy of sciences*, 106, 3455-3460.

- Benzie, I.F.F., Szeto, Y.T. 1999, Total antioxidant capacity of teas by the ferric reducing/ntioksidant power assay, *Journal of agricultural and food chemistry*, 64: 633-636.
- Bogan, K.L., Brenner, C., 2008, Nicotinic acid, nicotinamide, and nicotinamide riboside: a molecular evaluation of NAD⁺ precursor vitamins in human nutrition, *Annual review of nutrition*, 28, 115-130.
- Brooks, G.F., Carroll, K.C., Butel, J.S., Morse, S.A., Mietzner, T.A., 2007, *Orthomyxoviruses (Inflenza viruses)*, Jawetz, melnick, adelberg's medical microbiology, In: Brooks, G.F., Carroll, K.C., Butel, J.S., Morse, S.A. (ed.), Mc Graw Hill, USA, 533-545.
- Bucher, D., Palese, P., 1975, *The biologically active proteins of influenza virus: neuraminidase*, The influenza viruses and influenza, In: Kilbourne, E.D. (ed.), Academic Press, New York, USA, 83-123.
- Burnaugh, A.M., Frantz, L.J., King, S.J., 2008, Growth of *Streptococcus pneumoniae* on human glycoconjugates is dependent upon the sequential activity of bacterial exoglycosidases, *Journal of bacteriology*, 190, 221–230.
- Can, A., Akev, N., 2008, *Eczacılık fakültesi öğrencileri için biokimya dersleri*, İstanbul Üniversitesi Basım ve Yayınevi, İstanbul, 51-57.
- Carr, J., Ives, J., Kelly, L., Lambkin, R., Oxford, J., Mendel, D., Tai, L., Roberts, N., 2002, Influenza virus carrying neuraminidase with reduced sensitivity to oseltamivir carboxylate has altered properties *in vitro* and is compromised for infectivity and replicative ability *in vivo*, *Antiviral research*, 54, 79-88.
- Cemeroğlu, B., 2004, Meyve ve sebze işleme teknolojisi, *Gıda teknolojisi derneği yayınları*, 35, 77-88.
- Colman, P.M., Hoyne, P.A., Lawrence, M.C., 1993, Sequence and structure alignment of paramyxovirus hemagglutinin-neuraminidase with influenza virus neuraminidase, *The journal of virology*, 67, 2972-2980.
- Cooper, R., Morr , D.J., Morr , D.M., 2005, Medical benefits of green tea: part I. review of non-cancer health benefits, *The journal of alternative and complementary medicine*, 11, 521-528.
- Çakmakçı, S., Kahyaoğlu, D.T., 2012, Yağ asitlerinin sağlık ve beslenme üzerine etkileri, *Türk bilimsel derlemeler dergisi*, 5, 133-137.
- D'Azzo, A., Hoogeveen, A., Reuser, A.J.J., Robinson, D., Galjaard, H., 1982, Molecular defect in combined-galactosidase and neuraminidase deficiency in man, *Proceedings of the national academy of sciences*, 79, 4535-4539.

- D'Azzo, A., Andria, G., Strisciuglio, P., Galjaard, H., 1995, *Galactosialidosis*, The metabolic and molecular basis of inherited diseases, In: Scriver, C., Beaudet, A., Sly, W., Vallee, D. (ed.), 2. McGraw-Hill, New York, 2825-2838.
- Demirbay Özmen, H., 2015, *Hiyaluronidaz enzim inhibitörleri*, Yüksek Lisans, İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Dou, X., Shen, C., Wang, Z., Li, S., Zhang, X., Song, Z., 2013, Protection of nicotinic acid against oxidative stress-induced cell death in hepatocytes contributes to its beneficial effect on alcohol-induced liver injury in mice, *The journal of nutritional biochemistry*, 24, 1520-1528.
- El-Desouky, S.K., Ibrahim, L.F., Kawashty, S.A., El-Ansari, M.A., Kim, Y.S., Chong, H., Kim, O.K., Kim, Y.K., 2009, Phytochemical constituents and biological activities of *Origanum syriacum*, *Zeitschrift für naturforschung*, 64, 447-451.
- Engelich, G., White, M., Hartshorn, K.L., 2001, Neutrophil survival is markedly reduced by incubation with influenza virus and *Streptococcus pneumoniae*: role of respiratory burst, *The journal of leukocyte biology*, 69, 50-56.
- Faydaoğlu, E., Sürücüoğlu, M.S., 2011, Geçmişten günümüze tıbbi ve aromatik bitkilerin kullanılması ve ekonomik önemi, *Kastamonu üniversitesi orman fakültesi dergisi*, 11, 52 – 67.
- Farnsworth, N.R., Akerev, O., Bingel, A.S., 1985, Medicinal plants in therapy, *Bulletin of the world health organization*, 63, 965-981.
- Fiore, A.E., Fry, A., Shay, D., Gubareva, L., Bresee, J.S., Uyeki, T.M., 2011, Antiviral agents for the treatment and chemoprophylaxis of influenza, *Morbidity and mortality weekly report*, 60, 1-28.
- Francis, F.J., 1985, *Pigments and other colorants*, Food chemistry, Fennema, O.R. (ed.), Marcel and Decker, New York, USA, 991.
- Friedman, M., 1996, Food browning and its prevention: an overview, *Journal of agricultural and food chemistry*, 44, 631–653.
- Ganji, S.H., Kashyap, M.L., Kamanna, V.S., 2015, Niacin inhibits fat accumulation, oxidative stress, and inflammatory cytokine IL-8 in cultured hepatocytes: Impact on non-alcoholic fatty liver disease, *Metabolism*, 64, 982-990.
- Gardner, E.J., Ruxton, C.H.S., Leeds, A.R. 2007, Black tea – helpful or harmful? a review of the evidence, *European journal of clinical nutrition*, 61, 3-18.
- Garman, E., Laver, G., 2004, Controlling influenza by inhibiting the virus's neuraminidase, *Current drug targets*, 5, 119-136.

- Garman, E., Laver, G., 2005, *The Structure, function, and inhibition of influenza virus neuraminidase*, Viral membrane proteins: structure, function and drug design, In: Fischer, W. (ed.), Kluwer Academic/ Plenum Publishers, New York, 247-267.
- Gerster, H., 1993, Anticarcinogenic effect of common carotenoids, *International journal for vitamin and nutrition research*, 63, 93-121.
- Göktaş, H., 2012, *Elastaz enzim inhibitörleri*, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Gubareva, L.V., Kaiser, L., Matrosovich, M.N., Soo-Hoo, Y., Hayden, F.G., 2001, Selection of influenza virus mutants in experimentally infected volunteers treated with oseltamivir, *The journal of infectious diseases*, 183, 523-531.
- Gut, H., King, S.J., Walsh, M.A., 2008, Structural and functional studies of *Streptococcus pneumoniae* neuraminidase B: an intramolecular trans-sialidase, *FEBS letters*, 582, 3348–3352.
- Halder, B., Pramanick, S., Mukhopadhyoy, S. Giri, A.K., 2005, Inhibition of benzo[a]pyrene induced mutagenicity and genotoxicity multiple test systems, *Food and chemical toxicology*, 43, 591-597.
- Hamaguchi, M., Yoshida, T., Nishikawa, K., Naruse, H., Nagai, Y., 1983, Transcriptive complex of Newcastle disease virus: I. Both L and P proteins are required to constitute an active complex, *Virology*, 128, 105-117.
- Han, C., 1997, Screening of anticarcinogenic ingredients in tea polyphenols, *Cancer letters*, 114, 153-158.
- HaeWon, L., YoungHwan, K., 2012, Effects of apigenin and ethanol extract of parsley (*Petroselinum crispum*) on viral neuraminidase activity, *Asian journal of experimental biological sciences*, 3, 675-681.
- Henning, S.M., Fajardo- Lira, C., Lee, H., Youssefian, A.A., Go, V.L.W., Heber, D., 2003, Catechin content of 18 teas and a green tea extract supplement correlates with antioxidant capacity, *Nutrition and cancer*, 45, 226- 235.
- Henrickson, K.J., 2003, Parainfluenza viruses, *Clinical microbiology reviews*, 16, 242–264.
- Hsieh, Y.C., Wu, T.Z., Liu, D.P., Shao, P.L., Chang, L.Y., Lu, C.Y., Lee, C.Y., Huang, F.Y., Huang, L. M., 2006, Influenza pandemics: past, present and future, *Journal of the formosan medical association*, 105, 1-6.

- Hurt, A.C., Holien, J.K., Parker, M.W., Barr, I.G., 2009, Oseltamivir resistance and the H274Y neuraminidase mutation in seasonal, pandemic and highly pathogenic influenza viruses, *Drugs*, 69, 2523–2531.
- Jeong, H.J., Ryu, Y.B., Park, S.J., Kim, J.H., Kwon, H.J., Kim, J.H., Park, K.H., Rho, M.C., Lee, W.S., 2009, Neuraminidase inhibitory activities of flavonols isolated from *Rhodiola rosea* roots and their *in vitro* anti-influenza viral activities, *Bioorganic & medicinal chemistry*, 17, 6816–6823.
- Jeong, H.J., Kim, Y.M., Kim, J.H., Kim, J.Y., Park, J.Y., Park, S.J., Ryu, Y.B., Lee, W.S., 2012, Homoisoflavonoids from *Caesalpinia sappan* displaying viral neuraminidases inhibition, *Biological and pharmaceutical bulletin*, 35, 786–790.
- Jong, M.D., Hien, T.T., 2006, Avian influenza A (H5N1), *Journal of clinical virology*, 35, 2-13.
- Kafkas, E., Bozdoğan, A., Burgut, A., Türemiş, N., Paydaş Kargı, S., Cabaroğlu, T., 2006, Bazı üzüksü meyvelerde toplam fenol ve antosiyanin içerikleri. *II. Ulusal üzüksü meyveler sempozyumu*, 14-16 Eylül Tokat, Nobel Akademik Yayıncılık, 309-312.
- Kapoor, V.K., Dureja, J., Chadha, R., 2009, Herbals in the control of ageing, *Drug discovery today*, 14, 992–998.
- Karabulut, H.A., Yandı, İ., 2006, Su ürünlerindeki omega-3 yağ asitlerinin önemi ve sağlık üzerine etkisi, *Ege üniversitesi su ürünleri dergisi*, 23, 339-342.
- Karaca, E.G., 2008, Lipoik asit: evrensel antioksidan, *Afyon kocatepe üniversitesi fen bilimleri dergisi*, 8, 231-245.
- Katiyar, S.K., Mukhtar, H., 1997, Tea antioxidants in cancer chemoprevention, *Journal of cellular biochemistry supplement*, 27, 59-67.
- Kim, S., Oh, D.B., Kang, H.A., Kwon, O., 2011, Features and applications of bacterial sialidases, *Applied microbiology and biotechnology*, 91, 1-15.
- King, S.J., Hippe, K.R., Weiser, J.N., 2006, Deglycosylation of human glycoconjugates by the sequential activities of exoglycosidases expressed by *Streptococcus pneumoniae*, *Molecular microbiology*, 59, 961–974.
- Korten, V., 2006, İnfluenza tedavisi, *Antibiyotik ve kemoterapi derneği dergisi*, 20, 263-265.
- Kökoğlu, E., Alturfan, A.A., 2010, *C vitamini benzeri biyomoleküller*, Vitaminler ve vitamin benzeri moleküller, Nobel Tıp Kitapevleri, ISBN:978-975-420-737-8, 74-75.

- Kumar, A.N., Aruna, P., Naidu, J.N., Kumar, R., Srivastava, A.K., 2015, Review of concepts and controversies of uric acid as antioxidant and pro-oxidant, *Archives medical review journal*, 24, 19-40.
- Küfrevioğlu, Ö.İ., Keha, E.E., 2014, *Enzimler*, Biyokimya, Bölüm 4, Aktif Yayınevi, İstanbul, ISBN:975-6755-20-02, 89-137.
- Lehninger, A.L., 1988, *Biochemistry*, New York, Worth Publishers, Incorporated.
- Li, C., Kurniyati, H.B, Bian, J., Sun, J., Zhang, W., Liu, J., Pan, Y., Li, C., 2012, Abrogation of neuraminidase reduces biofilm formation, capsule biosynthesis, and virulence of *Porphyromonas gingivalis*, *Infection and immunity*, 80, 3-13.
- Lowden, J.A., O'Brien, J.S., 1979, Sialidosis: a review of human neuraminidase deficiency, *The american journal of human genetics*, 31, 1-18.
- Magesh, S., Suzuki, T., Miyagi, T., Ishida, H., Kiso, M., 2006, Homology modeling of human sialidase enzymes NEU1, NEU3 and NEU4 based on the crystal structure of NEU2: Hints for the design of selective NEU3 inhibitors, *Journal of molecular graphics and modelling*, 25, 196–207.
- Magesh, S., Moriya, S. Suzuki, T., Miyagi, T., Ishida, H., Kiso, M., 2008, Design, synthesis, and biological evaluation of human sialidase inhibitors. Part 1: Selective inhibitors of lysosomal sialidase (NEU1), *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 18, 532–537.
- Manco, S., Hennon, F., Yesilkaya, H., Paton, J.C., Andrew, P.W., Kadioglu, A., 2006, Pneumococcal neuraminidases A and B both have essential roles during infection of the respiratory tract and sepsis, *Infection and immunity*, 74, 4014–4020.
- Marino, M., Bersani, C. and Comi, G., 1999, Antimicrobial activity of the essential oils of *Thymus vulgaris* L. measured using a bioimpedometric method, *The journal of food protection*, 62, 1017-1023.
- Mello, L.D., Alves, A.A., Macedo, D.V., Kubota, L.T., 2005, Peroxidase-based biosensor as a tool for a fast evaluation of antioxidant capacity of tea, *Food chemistry*, 92, 515- 519.
- Merlo, L.M., Pepper, J.W., Reid, B.J., Maley, C.C., 2006, Cancer as an evolutionary and ecological process, *Nature reviews cancer*, 6, 924-935.
- Miyagi, T., Wada, T., Yamaguchi, K., Hata, K., 2004, Sialidase and malignancy: a minireview, *Glycoconjugate journal*, 20, 189-198.

- Miyagi, T., Wada, T., Yamaguchi, K., Hata, K., Shiozaki, K., 2008, Plasma membrane associated sialidase as a crucial regulator of transmembrane signalling, *The journal of biochemistry*, 144, 279–285.
- Miyagi, T., Yamaguchi, K., 2012, Mammalian sialidases: physiological and pathological roles in cellular functions, *Glycobiology*, 22, 880–896.
- Monti, E., Bassi, M., Bresciani, R., Civini, S., Croci, G.L., Papini, N., Riboni, M., Zanchetti, G., Ballabio, A., Preti, A., Tettamanti, G., Venerando, B., Borsani, G., 2004, Molecular cloning and characterization of NEU4, the fourth member of the human sialidase gene family, *Genomics*, 83, 445–453.
- Monto, A.S., McKimm-Breschkin, J.L., Macken, C., Hampson, A.W., Hay, A., Klimov, A., Tashiro, M., Webster, R.G., Aymard, M., Hayden, F.G., Zambon, M., 2006, Detection of influenza viruses resistant to neuraminidase inhibitors in global surveillance during the first 3 years of their use, *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 50, 2395-2402.
- Moscoso, M., Garcia, E., Lopez, R., 2009, Pneumococcal biofilms, *International microbiology*, 12, 77-85.
- Mueller, O.T., Henry, W.M., Haley, L.L., Byers, M.G., Eddy, R.L., Shows, T.B., 1986, Sialidosis and galactosialidosis: chromosomal assignment of two genes associated with neuraminidase deficiency disorders, *Proceedings of the national academy of sciences*, 83, 1817-1821.
- Murray, M.F., 2003, Nicotinamide: an oral antimicrobial agent with activity against both *Mycobacterium tuberculosis* and human immunodeficiency virus, *Clinical infectious disease*, 36, 453-460.
- Nakano, V., Piazza, R., Avila-Campos, M., 2006, A rapid assay of the sialidase activity in species of the bacteroides fragilis group by using peanut lectin hemagglutination, *Anaerobe*, 12, 238–241.
- Navas, P.B., Carrasquero-Durán, A., Flores, I., 2005, Effects of black tea, garlic and onion on corn oil stability and fatty acid composition under accelerated oxidation, *International journal of food science and technology*, 40, 1-5.
- Newstead, S.L., Potter, J.A., Wilson, J.C., Xu, G., Chien, C.H., Watts, A.G., Withers, S.G., Taylor, G.L., 2008, The structure of *Clostridium perfringens* NanI sialidase and its catalytic intermediates, *The journal of biological chemistry*, 283, 9080–9088.
- Nicholson, K.G., Wood, J.M., Zambon, M., 2003, Influenza, *Lancet*, 362, 1733-1745.

- Nizamlioğlu , N.M., Nas, S., 2010, Meyve ve sebzelerde bulunan fenolik bileşikler; yapıları ve önemleri, *Gıda teknolojileri elektronik dergisi*, 5, 20-35.
- Okamura-Oho, Y., Zhang, S., Callahan, J.W., 1994, The biochemistry and clinical features of galactosialidosis, *Biochimica et biophysica acta*, 1225, 244-254.
- Omoni, A.O., Aluko, E., 2005, The anticarcinogenic and anti-atherogenic effects of lycopene: a review, *Trends in food science & technology*, 16: 344–50.
- Onat, T., Emerk, K., Sözmen, E.Y., 2002, *Enzimler*, İnsan Biyokimyası, Bölüm 5, Palme Yayıncılık, ISBN: 975-8624-20-2, 197-220.
- Ozsoy-Sacan, O., Yanardag, R., Orak, H., Ozgey, Y., 2006, Effects of parsley (*Petroselinum crispum*) extract versus glibornuride on the liver of streptozotocin-induced diabetic rats, *Journal of ethnopharmacology*, 104, 175-181.
- Öztürk, N., Tunalier, Z., Koşar, M. ve Başer, K.H.C., 2002, *Petroselinum crispum*, anethum graveolens ve eruca sativa'nın antioksidan etki ve fenolik bileşikler yönünden incelenmesi, *14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı*, 29-31 Mayıs Eskişehir, Anadolu Üniversitesi, ISBN: 975-94077-2-8, 376-384.
- Patterson, K. D., 1987, *Pandemic influenza 1700-1900: A study in historical epidemiology*, Rowman & Littlefield, New Jersey, USA.
- Pettigrew, M.M., Fennie, K.P., York, M.P., Daniels, J., Ghaffar, F., 2006, Variation in the presence of neuraminidase genes among *Streptococcus pneumoniae* isolates with identical sequence types, *Infection and immunity*, 74, 3360–3365.
- Pina-Vaz, C., Rodrigues, A.G., Pinto, E., Costa-de-Oliveira, S., Tavares, C., Salgueiro, L., Cavaleiro, C., Goncalves, M.J., Martinez-de-Oliveira, J., 2004, Antifungal activity of thymus oils and their major compounds, *The journal of the european academy of dermatology and venereology*, 18, 73–78.
- Rao, A.V., Rao, L.G., 2007, Carotenoids and human health, *Pharmacological research*, 55, 207–216.
- Roggentin, P., Schauer, R., Hoyer, L.L., Vimr, E.R., 1993, The sialidase superfamily and its spread by horizontal gene transfer, *Molecular microbiology*, 9, 915-921.
- Roy, S., Honma, K., Douglas, W.I., Sharma, A., Stafford, G.P., 2011, Role of sialidase in glycoprotein utilization by *Tannerella forsythia*, *Microbiology*, 157, 3195-3202.
- Ryan, D.M., Ticehurst, J., Dempsey, M.H., 1995, GG167 (4-guanidino-2,4-dideoxy-2,3-dehydro-N-acetylneuraminic acid) is a potent inhibitor of influenza virus in ferrets, *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 39, 2583-2584.

- Ryu, Y.B., Curtis-Long, M.J., Lee, J.W., Ryu, H.W., Kim, J.Y., Lee, W.S., Park, K.H., 2009, Structural characteristics of flavanones and flavones from *Cudrania tricuspidata* for neuraminidase inhibition, *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 19, 4912–4915.
- Ryu, Y.B., Kim, J.H., Park, S.J., Chang, J.S., Rho, M.C., Bae, K.H., Park, K.H., Lee, W.S., 2010, Inhibition of neuraminidase activity by polyphenol compounds isolated from the roots of *Glycyrrhiza uralensis*, *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 20, 971–974.
- Sarıca, Ş., 2003, Omega-3 yağ asitlerinin insan sağlığı üzerine etkileri ve tavuk etinin omega-3 yağ asitlerince zenginleştirilmesi, *Hayvansal üretim*, 44, 1-9.
- Schappert, S.M., Nelson, C., 1999, National ambulatory medical care survey: 1995-96 summary, *Vital and health statistics*, 13, 1-122.
- Schwerdtfeger, S.M., Melzig, M.F., 2010, Sialidases in biological systems, *Pharmazie* 65, 551–561.
- Sharma, M., Anderson, S.A., Schoop, R., Hudson, J.B., 2009, Induction of pro-inflammatory cytokines by respiratory viruses and reversal by standardized *Echinacea*, a potent antiviral herbal extract, *Antiviral research*, 83, 165-170.
- Schauer, R., 2000, Achievements and challenges of sialic acid research, *Glycoconjugate journal*, 17, 485–499.
- Severi, E., Hood, W.D., Thomas, H.G., 2007, Sialic acid utilization by bacterial pathogens, *Microbiology*, 153, 2817-2822.
- Simonsen, L., 2001, *Influenza-related morbidity and mortality among children in developed and developing countries*, Options for the control of influenza IV, In: Osterhaus, A.D.M.E., Cox, N., Hampson, A.W. (ed.), Amsterdam, Elsevier, 13-19.
- Sinanoglu, G., 2013, *Kollajenaz enzim inhibitörleri*, Yüksek Lisans, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Sivritepe, N., 2000, Asma, üzüm ve şaraptaki antioksidantlar, *Dünya yayınları*, 12, 73-78.
- Socransky, S.S., Haffajee, A.D., Cugini, M.A., Smith, C., Kent, R.L., 1998, Microbial complexes in subgingival plaque, *The journal of clinical periodontology*, 25, 134-144.

- Solomons, G.T.W., Fryhle, C.B., 2002, *Amino asitler ve proteinler*, Organik Kimya, In: Okay, G., Yıldırım, Y. (ed.), Literatür Yayıncılık, ISBN: 975-8431-87-0, 1212-1213.
- Suzuki, K., 1995, *Sialic acid in biochemical pathology*, Biology of the Sialic Acids, In: Rosenberg, A. (ed.), Plenum Press, New York, USA, 337-361.
- Stephenson, I., Nicholson, K.G., 1999, Chemotherapeutic control of influenza, *The journal of antimicrobial chemotherapy*, 44, 6-10.
- Taylor, G., 1996, Sialidases: structures, biological significance and therapeutic potential, *Current opinion in structural biology*, 6, 830–837.
- Taylor, G., Russell, R., 2010, *Influenza virus neuraminidase inhibitors*, Handbook of cell signalling, In: Bradshaw, R.A., Dennis, E.A. (ed.), Chapter 16, Academic Press, USA, 103-110.
- Tee, E.S., 1992, Carotenoids and retinoids in human nutrition, *Critical reviews in food science and nutrition*, 31, 103-163.
- Thomas, G.H., Beaudet, A.L., 1995, *Disorders of glycoprotein degradation and structure: mannosidosis, mannosidosis, fucosidosis, sialidosis, aspartyl glucosaminuria, and carbohydrate-deficient glycoprotein syndrome*, The metabolic and molecular basis of inherited diseases, In: Scriver, A., Beaudet, A., Sly, W., Valle, D. (ed.), 2. McGraw-Hill, New York, USA, 2529-2561.
- Tong, H.H., Blue, L.E., James, M.A., DeMaria, T.F., 2000, Evaluation of the virulence of a *Streptococcus pneumoniae* neuraminidase-deficient mutant in nasopharyngeal colonization and development of otitis media in the chinchilla model, *Infection and immunity*, 68, 921–924.
- Trappetti, C., Kadioglu, A., Carter, M., Hayre, J., Iannelli, F., Pozzi, G., Andrew, P.W., Oggioni, M.R., 2009, Sialic acid: a preventable signal for pneumococcal biofilm formation, colonization, and invasion of the host, *The journal of infectious diseases*, 199, 1497-1505.
- Traving, C., Schauer, R., 1998, Structure, function and metabolism of sialic acids, *Cellular and molecular life sciences*, 54, 1330–1349.
- Treanor, J.J., 2000, *Influenza virus*, Principles and practice of infectious diseases, 5th edn. Churchill Livingstone, Philadelphia, USA, 1823–1849.
- Tüzün, C., 1997, *Biyokimya*, Palme Yayınları, Ankara, 124- 125.
- Uchiyama, S., Carlin, A.F., Khosravi, A., Weiman, S., Banerjee, A., Quach, D., Hightower, G., Mitchell, T.J., Doran, K.S., Nizet, V., 2009, The surface-anchored

- NanA protein promotes pneumococcal brain endothelial cell invasion, *The journal of experimental medicine*, 206, 1845–1852.
- Us, A.D., 2010, Pandemik influenza infeksiyonunda etyopatogenez ve laboratuvar tanı yöntemleri, *Hacettepe tıp dergisi*, 41, 13-27.
- Varki, A., 1999, *Sialic acids*, Essential of glycobiology, In: Varki, A., Cummings, R., Esko, J., Freeze, H.G., Marth, J. (ed.), Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, USA, 195–209.
- Varki, A., 1992, Diversity in the sialic acids, *Glycobiology*, 2, 25-40.
- Vainionpaa, R., Hyypia, T., 1994, Biology of parainfluenza viruses, *Clinical microbiology reviews*, 7, 265-275.
- Villamor, E., Msamanga, G., Spiegelman, D., Antelman, G., Peterson, K.E., Hunter, D.J., Fawzi, W.W., 2002, Effect of multivitamin and vitamin A supplements on weight gain during pregnancy among HIV-1 infected women, *The american journal of clinical nutrition*, 76, 1082-1090.
- Vimr, E.R., Lichtensteiger, C., 2002, To sialylate, or not to sialylate: that is the question, *Trends in microbiology*, 10, 254–257.
- Vimr, E.R., Kathryn, A.K., Deszo, E.L., Steenbergen, S.M., 2004, Diversity of microbial sialic acid metabolism, *Microbiology and molecular biology reviews*, 68, 132–153.
- Wang, Y., Curtis-Long, M.J., Yuk, H.J., Kim, D.W., Tan, X.F., Park, K.H., 2013, Bacterial neuraminidase inhibitory effects of prenylated isoflavones from roots of *Flemingia philippinensis*, *Bioorganic & medicinal chemistry*, 21, 6398–6404.
- Watson, J.N., Dookhun, V., Borgford, T.J., Bennet, A.J., 2003, Mutagenesis of the conserved active-site tyrosine changes a retaining sialidase into an inverting sialidase, *Biochemistry*, 42, 12682–12690.
- Weisburger, J.H., Chung, F.L. 2002, Mechanism by chronic disease caused by nutritional factors and tobacco products and their prevention by tea polyphenols, *Food and chemical toxicology*, 40, 1145-1154.
- Wiggins, R., Hicks, S., Soothill, P., Millar, M., Corfield, A., 2001, Mucinas and sialidases: their role in the pathogenesis of sexually transmitted infections in the female genital tract, *Sexually transmitted infections*, 77, 402–408.
- Xu, G., Potter, J.A., Russell, R.J., Oggioni, M.R., Andrew, P.W., Taylor, G.L., 2008, Crystal structure of the NanB sialidase from *Streptococcus pneumoniae*, *Journal of molecular biology*, 384, 436–449.

- Yang, C.S., Landau, J.M. 2000, Effects of tea consumption on nutrition and health, *Journal of nutrition*, 130, 2409-2412.
- Yamanami, T., Shiozaki, K., Wada, T., Yamaguchi, K., Uemura, T., Kakugawa, Y., Hujiya, T., Miyagi, T., 2006, Down-regulation of sialidase NEU4 may contribute to invasive properties of human colon cancers, *Cancer science*, 98, 299-307.
- Yamaguchi, K., Hata, K., Koseki, K., Shiozaki, A., Wada, T., Moriya, S., Miyagi, T., 2005, Evidence for mitochondrial localization of a novel human sialidase (Neu4), *Biochemical journal*, 390, 85–93.
- Yanardag, R., Ozsoy, O., 2000, The effect of parsley leaves and seed extracts on blood glucose levels in rabbits, *Journal of faculty of pharmacy of istanbul*, 33, 17-25.
- Yanardag, R., Peksel, A., Yesilyaprak, B., Doger, M.M., Arisan-Atac, I., 2005, Effect of a combination of niacin and chromium (III)-chloride on the skin and lungs of hyperlipemic rats, *Biological trace element research*, 103, 249-260.
- Yen, H.L., Hoffman, E., Taylor, G., Scholtissek, C., Monto, A.S., Webster, R.G., Govorkova, E.A., 2006, Importance of neuraminidase active-site residues to the neuraminidase inhibitor resistance of influenza viruses, *Journal of virology*, 80, 8787-8795.
- Yuk, H.J., Ryu, H.W., Jeong, S.H., Curtis-Long, M.J., Kim, H.J., Wang, Y., Song, Y.H., Park, K.H., 2013, Profiling of neuraminidase inhibitory polyphenols from the seeds of *Paeonia lactiflora*, *Food and chemical toxicology*, 55, 144–149.
- Zandi, P., Gordon, M.H., 1999, Antioxidant activity of extracts from old tea leaves, *Food chemistry*, 64, 285-288.
- Zino, S., Skeaff, M., Williams, S., Mann, J., 1997, Randomised controlled trial of effect of fruit and vegetable consumption on plasma concentrations of lipids and antioxidants, *British medical journal*, 314, 1787–1791.

ÖZGEÇMİŞ

Fotoğraf
(Bilgisayar
Çıktılı)

Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı	Onur ERTİK
Uyruğu	T.C.
Doğum tarihi, Yeri	01.06.1988, İstanbul
Telefon	0539-930-00-87
E-mail	onur.ertik@istanbul.edu.tr

Eğitim

Derece	Kurum/Anabilim Dalı/Programı	Yılı
Yüksek Lisans	İ.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü/Kimya Anabilim Dalı/Biyokimya Programı	2015
Lisans	Bülen Ecevit Üniversitesi	2012
Lise	Osman Ülkümen Y.D.A. Lisesi	2006

Makaleler / Bildiriler

Kongreler

A-Uluslararası Kongreler

1. Ertik O., Yanardag R. , "Inhibition of Neuraminidase by Some Chemical Compounds and Some Plant Extracts", Forth International Meeting on Pharmacy & Pharmaceutical Sciences (IMPPS-4), İSTANBUL, TÜRKİYE, 18-21 Eylül 2014, PP 210.

2. Sacan O. , Ertik O., Ipci Y., Kabasakal L., Sener G., Yanardag R., "Protective Effect of Chard Extract on Glycoprotein Components and Hydroxyproline Levels in Diabetic Lung Tissue", Forth International Meeting on Pharmacy & Pharmaceutical Sciences (IMPPS-4), İSTANBUL, TÜRKİYE, 18-21 Eylül 2014, PP 209.
3. Sacan O., Ertik O., Ipci Y., Kabasakal L., Sener G., Yanardag R., "Chard Extract Reduces Glycoprotein Components and Advanced Oxidation Protein Products in Experimental Diabetic Liver Tissues", III. World Congress of Public Health Nutrition, CANARY ISLANDS, İSPANYA, 10-12 Kasım 2014, PM-124, pp.120-120.
4. Ertik, O., Yanardağ, R., "Amino Asitlerin Nöraminidaz Enzimi Üzerine İnhibisyon Etkileri", 2. Uluslararası İlaç ve Eczacılık Kongresi, İSTANBUL, TÜRKİYE, 27-29 Kasım 2015, P-174, pp. 183-183.

B-Ulusal Kongreler

Ertik O., Yanardağ R., "Bazı Tıbbi İlaçların Nöraminidaz Aktivitesi Üzerine İnhibisyon Etkileri", 27. Ulusal Kimya Kongresi, ÇANAKKALE, TÜRKİYE, 23-28 Ağustos 2015, ss.505.