

GSTP-1 ENZİMİ İÇİN KUERSETİN TÜREVLERİNİN İNHİBİTÖR POTANSİYELİ: METOKSİLENMİŞ TÜREVLERİN MOLEKÜLER DOCKING ÇALIŞMASI

INHIBITORY POTENTIAL OF QUERCETIN DERIVATIVES FOR GSTP-1 ENZYME:
MOLECULAR DOCKING STUDY OF METHOXYLATED DERIVATIVES

 Mehmet ÖZCAN¹,  Çiğdem ÇİÇEK²,  Müslüm GÖK

¹ Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Zonguldak, Türkiye

² Yüksek İhtisas Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

³ Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Muğla, Türkiye

ÖZET

Amaç: Glutasyon S-transferazlar (GST'ler), detoksifikasyon süreçlerinde rol oynayan önemli bir enzim sınıfıdır. Özellikle GSTP-1 izozimlerinin kanser hücrelerindeki aşırı aktivasyonu, bu hücrelerin kemoterapi ilaçlarına karşı direnç geliştirmesine neden olmaktadır. Bu nedenle GSTP-1 inhibitörleri, kanser tedavisinde potansiyel bir terapötik hedef olarak önem kazanmaktadır. Bu çalışmada, kuersetin ve türevlerinin GSTP-1 enzimi üzerinde inhibitör potansiyele sahip olup olmadığını moleküler yerleştirme (docking) yöntemiyle araştırmayı amaçladık.

Materyal ve Metod: Çalışmada, GSTP-1 enziminin kristal yapısı Protein Veri Bankası'ndan (PDB ID: 2GSS) elde edilmiştir ve moleküler yerleştirme çalışmaları AutoDock Vina 1.2.5 programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Kuersetin türevleri ve etakrinik asit ligand olarak kullanılmış ve bu bileşiklerin GSTP-1 ile bağlanma enerjileri hesaplanarak inhibitör potansiyelleri karşılaştırılmıştır. Ayrıca, bağlanma enerjilerinin yanı sıra hidrojen bağı etkileşimleri de incelenmiştir.

Bulgular: Etakrinik asidin bağlanma enerjisi -6.7 kcal/mol olarak bulunurken, kuersetinin -7.2 kcal/mol, 3-O-metilkuersetinin -7.3 kcal/mol, 4-O-metilkuersetinin -7.2 kcal/mol ve 7-O-metilkuersetinin -7.5 kcal/mol bağlanma enerjilerine sahip olduğu belirlenmiştir. Sonuçlar, en güçlü inhibitör etkinin 7-O-metilkuersetin tarafından gösterildiğini ortaya koymaktadır. Ayrıca, kuersetin türevlerinin GSTP-1 ile güçlü hidrojen bağı etkileşimleri gösterdiği tespit edilmiştir.

Sonuç: Bu bulgular, kuersetin türevlerinin GSTP-1 enzimi inhibisyon potansiyeline sahip olduğunu ve kanser tedavisinde yeni stratejilere kapı aralayabileceğini işaret etmektedir.

Anahtar Kelimeler: Kanser, GSTP-1, Kuersetin, Moleküler yerleştirme

ABSTRACT

Objective: Glutathione S-transferases (GSTs) are an important enzyme class involved in detoxification processes. The overactivation of the GSTP-1 isozyme, particularly in cancer cells, leads to the development of resistance to chemotherapy drugs. Therefore, GSTP-1 inhibitors are gaining importance as potential therapeutic targets in cancer treatment. In this study, we aimed to investigate whether quercetin and its derivatives have inhibitory potential on the GSTP-1 enzyme through molecular docking methods.

Materials and Methods: The crystal structure of the GSTP-1 enzyme was obtained from the Protein Data Bank (PDB ID: 2GSS), and molecular docking studies were conducted using the AutoDock Vina 1.2.5 program. Quercetin derivatives and ethacrynic acid were used as ligands, and the binding energies of these compounds to

Conclusion: GSTP-1 were calculated, comparing their inhibitory potentials. Additionally, hydrogen bond interactions were examined alongside binding energies.

Results: The binding energy of ethacrynic acid was found to be -6.7 kcal/mol, while quercetin had a binding energy of -7.2 kcal/mol, 3-O-methylquercetin -7.3 kcal/mol, 4-O-methylquercetin -7.2 kcal/mol, and 7-O-methylquercetin -7.5 kcal/mol. These results indicate that the strongest inhibitory effect was exhibited by 7-O-methylquercetin. Furthermore, strong hydrogen bond interactions were observed between quercetin derivatives and GSTP-1. These findings suggest that quercetin derivatives have the potential to inhibit the GSTP-1 enzyme and may pave the way for new strategies in cancer treatment.

Key Words: Cancer, GSTP-1, Quercetin, Molecular docking

Yazının geliş tarihi: 07.09.2024

Yazının kabul tarihi: 10.10.2024

Sorumlu yazar: Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Zonguldak, Türkiye
biochemistmozcan@gmail.com

GİRİŞ

Kuersetin, bitkisel flavonoidler arasında en çok araştırılanlardan biridir ve geniş biyolojik aktivite yelpazesıyla dikkat çeker. Polifenol yapısına sahip bu doğal bileşik, başta antioksidan, anti-inflamatuar, anti-kanser, anti-viral ve anti-mikrobiyal etkileriyle bilinir. Flavonoidlerin en büyük grubu olan polifenoller, bitkisel kaynaklı birçok besinde yaygın olarak bulunur ve insan sağlığı üzerinde olumlu etkileri ile bilinirler¹. Kuersetin, elma, soğan, brokoli, üzüm ve çay gibi besinlerde bol miktarda bulunur ve çeşitli hastalıkların tedavisinde potansiyel bir ajan olarak değerlendirilir¹. Kuersetinin tıbbi potansiyeli, özellikle antioksidan özelliklerine dayanır. Oksidatif stres, birçok kronik hastalığın, özellikle kanser, kardiyovasküler hastalıklar ve nörodejeneratif bozuklukların altında yatan önemli bir faktördür. Kuersetin, hücre içi reaktif oksijen türlerini (ROS) azaltarak oksidatif hasarı önler ve böylece hücrelerin yaşamsal süreçlerine olumlu katkıda bulunur². Kuersetinin bu özellikleri, onun serbest radikalleri nötralize edebilme kabiliyetinden kaynaklanır.

Son yıllarda, kuersetin ve türevlerinin özellikle kanser tedavisinde kullanıma potansiyeline yönelik ilgi artmıştır. Kanser tedavisinde kuersetinin önemi, hücre proliferasyonunu inhibe etme, apoptozu indüklemeye ve metastazı baskılamaya yeteneklerinden kaynaklanır³. Bunun yanı sıra, anti-anjiyogenik özellikleri sayesinde tümör hücrelerinin kan damarları oluşturarak büyümesini engelleyebilir⁴. Kuersetinin özellikle kanserle ilişkili enzimler üzerindeki inhibitör etkileri, kanser hücrelerinin detoksifikasyon süreçlerini bloke ederek, kemoterapi ilaçlarına duyarlılığı artırabilir⁵. Bu bağlamda, Glutasyon S-Transferaz (GST) enzim ailesi, özellikle GSTP-1, kuersetinin inhibitör potansiyeli açısından önemli bir hedef olarak öne çıkmaktadır.

GSTP-1, kanser hücrelerinin hayatta kalmasını sağlayan önemli detoksifikasyon enzimlerinden biridir^{6,7}. Bu enzim, vücutta oluşan toksik bileşikleri glutasyon aracılığıyla zararsız hale getirir ve hücresel düzeyde oksidatif stresi azaltır. Bununla birlikte, GST enzimlerinin aşırı aktivasyonu, özellikle kanser hücrelerinde, bu hücrelerin kemoterapi ilaçlarına karşı direnç kazanmasına yol açabilir^{8,9}. Bu nedenle, GST inhibitörleri, kanser tedavisinde terapötik bir hedef olarak büyük bir öneme sahiptir.

Kuersetin ve türevleri, GST enzimlerini inhibe ederek bu süreci bloke edebilir^{10,11} ve kanser tedavisinde yardımcı bir ajan olarak değerlendirilebilir. Kuersetinin kimyasal yapısı, çeşitli modifikasyonlara olanak tanır¹². Bu modifikasyonlar, molekülün biyoyararlanımını ve inhibitör potansiyelini artırabilir. Özellikle metoksi türevleri, kuersetinin farmakolojik etkinliğini artıran önemli modifikasyonlar arasındadır¹¹. Bu bağlamda, 3-O, 4-O ve 7-O metoksi türevleri, GSTP-1 enzimi üzerindeki inhibitör etkilerinin anlaşılması açısından büyük önem taşır. Bu türevlerin yapısal

farklılıklarının, enzime bağlanma enerjileri üzerinde etkili olduğu ve inhibitör potansiyellerini belirlediği literatürde yapılan çeşitli çalışmalarla ortaya konmuştur. Özellikle, kuersetinin flavonoid yapısının GSTP-1 enzimi ile güçlü etkileşimler kurarak inhibitör etkiler sergilediği gösterilmiştir. Doğal bileşiklerin, özellikle kuersetin gibi flavonoidlerin, GST gibi önemli enzimler üzerindeki inhibitör etkilerinin detaylı bir şekilde incelenmesi, kanser tedavisinde yeni stratejilerin geliştirilmesine olanak tanıyabilir. Örneğin, kuersetinin GSTP-1 enzimi ile olan etkileşimleri üzerine yapılan moleküler modelleme çalışmaları, bu flavonoidin bağlanma enerjisinin inhibitör potansiyelinin önemli bir göstergesi olduğunu ortaya koymuştur¹³⁻¹⁵.

Bu bağlamda, kuersetin ve türevlerinin inhibitör etkinliklerinin daha detaylı araştırılması, hem moleküler hem de farmakolojik açıdan büyük bir önem taşımaktadır. Bu çalışma, kuersetinin metoksi türevlerinin GSTP-1 enzimi üzerindeki inhibitör etkilerini moleküler bağlanma enerjileri üzerinden değerlendirmeyi ve bu bileşiklerin inhibitör potansiyelini anlamayı amaçlamaktadır.

MATERYAL-METOT

Inhibitör Adayı Moleküllerin Seçilmesi

GSTP-1 için Moleküler docking çalışmaları için inhibitör adayı moleküller seçilirken, aşağıdaki faktörler dikkate alınmıştır:

Yapısal Çeşitlilik

Seçilen türev, kuersetinin temel yapısında yapılacak bir değişiklik ile GST enzimine farklı bağlanma özellikleri gösterebilmektedir.

Biyoyararlanım

Seçilen türev, hücre zarlarını geçme ve hedef enzime ulaşma yeteneğine sahip olmalıdır.

Önceki Çalışmaların Sonuçları

Eğer daha önce benzer çalışmalar yapılmışsa, hangi tür modifikasyonların etkili olduğunu bilmek, seçim yaparken yararlı olabilir.

Bu faktörlere dayanarak, metoksillenmiş kuersetin türevleri iyi bir seçim olduğu düşünülmüştür. Metoksil grupları, molekülün lipofilitesini artırarak, GST enzimi ile daha güçlü hidrofobik etkileşimlere izin verebilir. Ayrıca, metoksillenmiş türevler genellikle daha iyi biyoyararlanıma sahiptir ve metabolik stabilite açısından avantaj sağlayabilir. Bu tür türevler, GST enzimi ile farklı bir bağlanma profili sergileyebilir ve bu da enzimin inhibisyonunu etkileyebilir. Sonuç olarak, bu çalışmada kuersetinin 3, 4 ve 7 metoksi türevlerinin (3-O-metilkuersetin, 4-O-metilkuersetin ve 7-O-metilkuersetin) GSTP-1 enzime bağlanma enerjilerini karşılaştırarak ve inhibitör etkinliklerini değerlendirilmiştir. Ayrıca, etakrinik asit, GSTP-1 enziminin bilinen bir inhibitörü olarak deneylere

dahil edilmiştir. Bu bileşiğin bağlanma enerjisi sonuçları, kuersetin ve türevlerinin sonuçlarıyla karşılaştırılmıştır.

Çalışmada bağlanma enerjileri hesaplandıktan sonra, kuersetin ve türevlerinin inhibitör etkinliği açısından en uygun olanı belirlenmeye çalışılmıştır. Sonuçlar, türevler arasındaki yapısal farklılıkların bağlanma enerjilerine ve inhibitör etkilerine olan etkilerini ortaya koymayı hedeflemektedir.

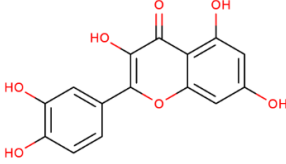
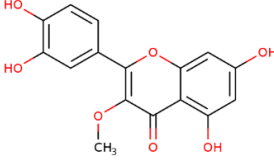
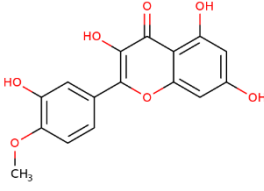
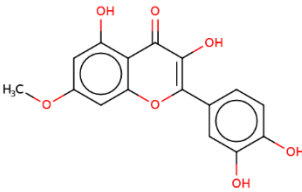
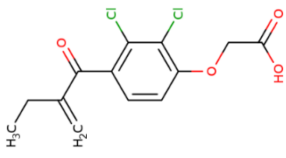
Docking Analizleri

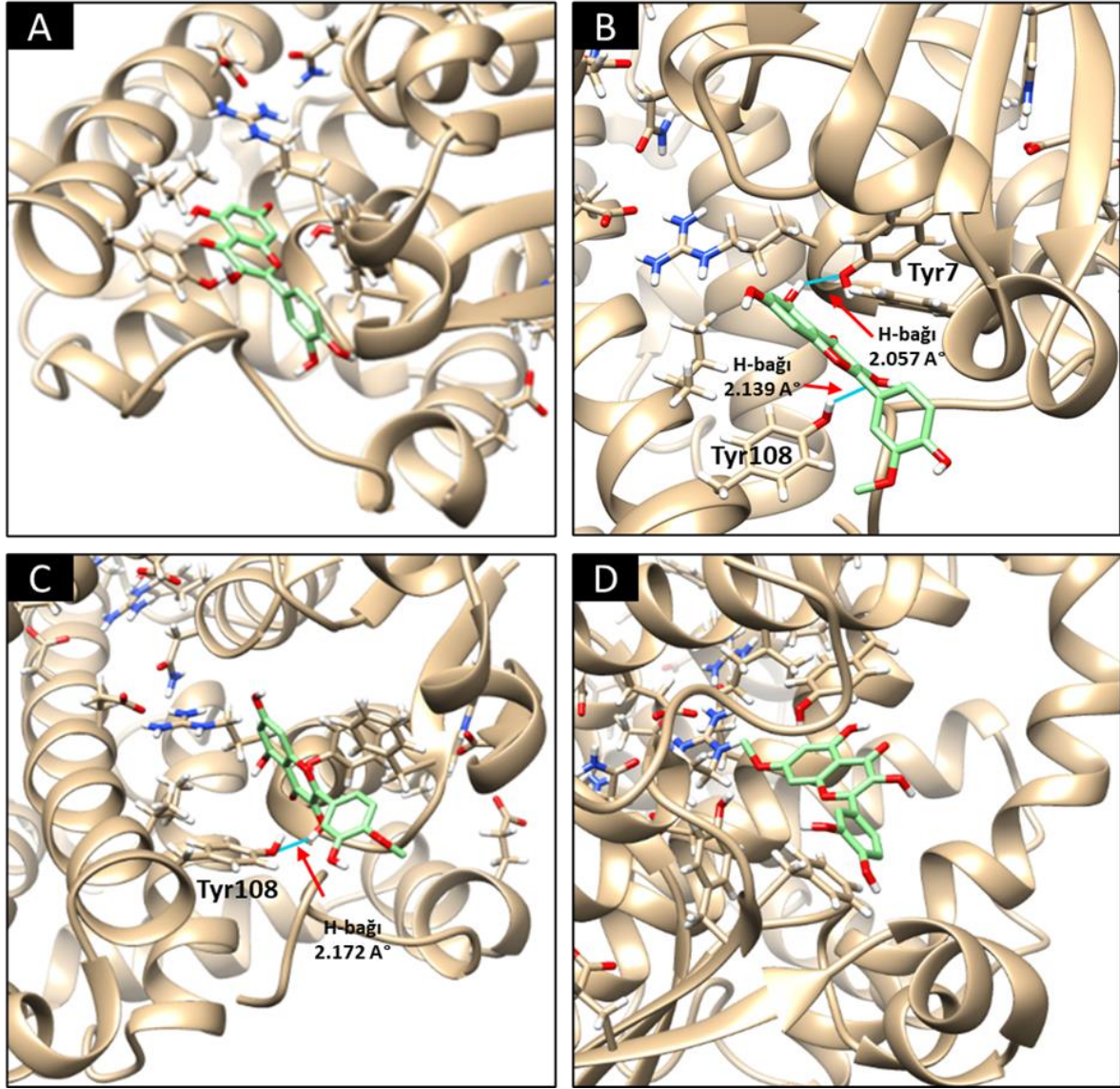
Glutasyon S-transferaz P-1 (GSTP-1) proteinin kristal yapısı, Protein Veri Bankası'ndan (PDB) 2GSS kodlu kristal yapı dosyası (çözünürlük: 1.9 Å, R_factor: 0.209, R_free: 0.229) elde edilmiştir. Docking işleminden önce, kristal yapıdaki su molekülleri ve protein olmayan tüm yapılar çıkarılmıştır. Proteine hidrojen atomları eklenmiş ve Gasteiger yükleri atanmıştır¹⁷. GSTP-1 kristal yapısının aktif bölgesi, etakrinik asitin 'nın bulunduğu yer temel alınarak tespit edilmiştir. Aktif bölgenin koordinatları x, y, z: 9.07595, 1.00542, 26.9067 olarak belirlenmiş ve aktif bölgenin boyutları 15 Å x 15 Å x 15 Å olacak şekilde kübik bir alan içinde tanımlanmıştır. Etkileşimlerin incelenmesi için etakrinik asit, kuersetin ve türevlerinin 3 boyutlu yapıları PubChem veri tabanından elde edilmiştir¹⁸. Docking işlemleri, AutoDock Vina 1.2.5 programı ile gerçekleştirilmiştir¹⁹. GSTP-1 proteinin aktif bölgesine ligandların bağlanma afiniteleri belirlenmiştir. Moleküller arasındaki hidrojen bağları tespit edilerek H-bağı uzunlukları tespit edilmiştir. Genel olarak, docking işleminde Lamarckian Genetik Algoritması'nın default parametreleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir²⁰.

BULGULAR ve TARTIŞMA

GSTP-1 ile kuersetin türevlerine ait bağlanma enerjileri Tablo 1'de gösterilmektedir. Docking analizlerinden elde edilen sonuçlarına göre, kuersetinin kendisinin bağlanma enerjisi -7.2 kcal/mol olarak hesaplanmıştır. Kuersetin türevlerinde ise şu bağlanma enerjileri elde edilmiştir: 3-O-Metilkuersetin: -7.3 kcal/mol, 4-O-Metilkuersetin: -7.2 kcal/mol, 7-O-Metilkuersetin: -7.5 kcal/mol. Bu sonuçlar, kuersetinin çeşitli metoksi türevlerinin GSTP-1 enzimi ile farklı bağlanma enerjilerine sahip olduğunu göstermektedir. 7-O-metilkuersetin, -7.5 kcal/mol ile en yüksek bağlanma enerjisini sergileyerek en güçlü inhibitör potansiyeline sahip olabilir. Buna karşılık, 4-O-metilkuersetin, -7.2 kcal/mol ile en düşük bağlanma enerjisine sahip olup, en az inhibitör etkili türev olarak öne çıkmıştır. Öte yandan, etakrinik asit, GSTP-1 enziminin bilinen inhibitörü olarak incelenmiş ve -6.7 kcal/mol bağlanma enerjisine sahip olduğu tespit edilmiştir. Bu değer, kuersetinin 3-O, 4-O ve 7-O-metil türevlerinin inhibitör etkinliğinin, etakrinik asitten daha yüksek olabileceğini işaret etmektedir. Sonuçlar, kuersetinin yapısal modifikasyonlarının (özellikle 3-O ve 4-O-metil grubu eklenmesinin) inhibitör potansiyeli üzerinde önemli bir etkisi olduğunu göstermektedir (**Tablo 1**).

Tablo 1. Kuersetin türevleri ve etakrinik asitin GSTP-1 enzimine bağlanma enerjileri

İnhibitör ve Aday Moleküller	Moleküler Yapısı	Bağlanma Enerjisi (Kcal/mol)
Kuersetin		7.2
3-O-Metilkuersetin		7.3
4-O-Metilkuersetin		7.2
7-O-Metilkuersetin		7.5
Etakrinik asit		6.7



Şekil 1. GSTP-1'in kuersetin ve türevleriyle olan etkileşimleri. A. Kuerstein. B. 3-O-Metilkuersetin. C. 4-O-Metilkuersetin. D. 7-O-Metilkuersetin. GSTP-1 proteine ait yapılar kahverengi ile gösterilmektedir. Kuersetin ve türevlerine ait moleküler yapılar ise yeşil renkte gösterilmektedir. Kuersetin türevlerinin GSTP-1 ile H-bağları ise mavi ile gösterilmektedir.

Yapılan docking analizlerine ek olarak tüm bileşiklerin GSTP-1 ile Hidrojen bağı (H-bağı) yapma potansiyelleri incelenmiştir (**Şekil 1**). Kuersetin belirgin bir H-bağı oluşturamazken (**Şekil 1A**), 3-O-metilkuersetinin Tyr7 ve Tyr108 amino asitleriyle sırasıyla 2.057 Å ve 2.139 Å uzunluklarında iki ayrı hidrojen bağı oluşturduğu gözlemlenmiştir (**Şekil 1B**). 4-O-metilkuersetin Tyr108 ile 2.172 Å uzunluğunda bir adet H-bağı oluştururken (**Şekil 1C**), 7-O-metilkuersetinin herhangi bir H-bağı oluşturmadığı tespit edilmiştir (**Şekil 1D**). Ayrıca etakrinik asitin de aynı koşullarda H-bağı oluşturmadığı gözlemlenmiştir (**Şekil 2**). H-bağlarının güçlü ve spesifik olduğu düşünülürse, seçilen ligandların GSTP-1 üzerinde etkili inhibitörler olma potansiyeli olduğu düşünülebilir. Docking skoru ne

kadar düşükse, bağlanma enerjisi o kadar yüksek ve inhibitör etkinliği de o kadar güçlü olacaktır. Bu nedenle, hidrojen bağlarının bu mesafelerde olması iyi bir bağlanma ve inhibitör etkileşimleri olduğunu düşündürmektedir.

Bu çalışma, kuersetin ve metoksillenmiş türevlerinin Glutatyon S-Transferaz 1-1 (GSTP-1) enzimi ile etkileşimlerini bağlanma enerjileri üzerinden inceleyerek, bu moleküllerin potansiyel inhibitör etkilerini değerlendirmiştir. Elde edilen sonuçlar, kuersetinin metoksi türevlerinin, GSTP-1 enzimi üzerindeki inhibitör potansiyellerinde önemli farklılıklar gösterdiğini ortaya koymaktadır. Bu bağlamda, özellikle 7-O-metilkuersetinin en yüksek bağlanma enerjisine sahip olduğu ve GSTP-1 enzimi üzerinde etkili inhibitörlerden biri olabileceği öne sürülmektedir. Şimdi bu bulguları daha geniş bir perspektifte tartışalım.

Metoksillenme ve Bağlanma Enerjisi İlişkisi

Kuersetinin GST'ler üzerinde inhibitör etkisi olduğu bildirilmiştir^{21,22} ancak bu inhibisyonun doğası henüz aydınlatılmamıştır. Bundan yola çıkarak metoksillenmiş kuersetin türevlerinin GSTP1-1 için iyi adaylar olabileceği düşünülmüştür. Bağlanma enerjisi, bir liganın hedef protein üzerindeki etkisinin önemli bir göstergesidir. Bu çalışmada kuersetin türevlerinin bağlanma enerjileri incelendiğinde, metoksi gruplarının pozisyonlarının inhibitör etkisi üzerinde belirleyici olduğu görülmektedir. Özellikle 7-O-metilkuersetinin (-7.5 kcal/mol) en yüksek bağlanma enerjisine sahip olması, 7. pozisyonda bulunan metoksi grubunun GSTP-1 enziminin aktif bölgesi ile güçlü etkileşimler kurduğunu göstermektedir. Bu durum, liganın enzime daha sıkı bağlanmasına ve dolayısıyla inhibitör etkisinin daha yüksek olmasına neden olabilir. Literatürde de belirtildiği gibi, metoksi gruplarının fenolik bileşiklerin biyolojik aktivitesi üzerinde önemli bir etkisi olduğu bilinmektedir. Fakat literatürde metoksillenmiş kuersetin türevlerinin GSTP-1 bağlanma enerjileri yer almamaktadır.

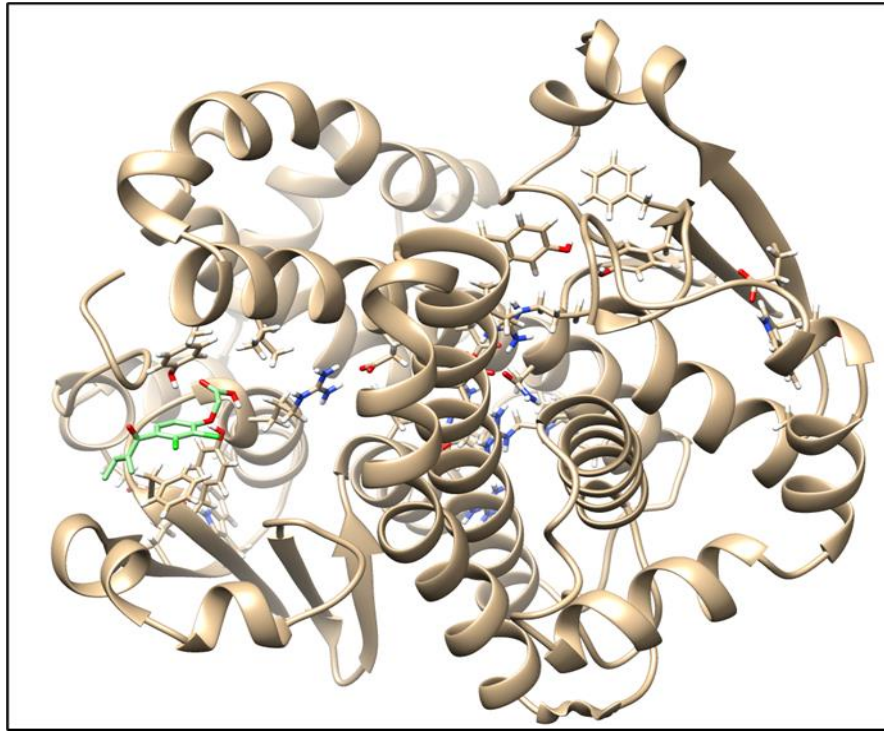
Diğer yandan, 4-O-metilkuersetin (-7.2 kcal/mol) en düşük bağlanma enerjisini göstermiştir. 4. pozisyonda bulunan metoksi grubunun GSTP-1 enzimi ile olan etkileşiminin daha zayıf olması, bu türevin inhibitör potansiyelini azaltmış olabilir. Bu durum, molekülün yapısal özelliklerinin, özellikle metoksi gruplarının pozisyonlarının bağlanma enerjisini ve inhibitör etkisini doğrudan etkilediğini göstermektedir. Yapılan bazı çalışmalarda da metoksi gruplarının konumunun enzim inhibitör aktivitesini belirlediği belirtilmiştir. Bu bağlamda, farklı pozisyonlardaki metoksi gruplarının inhibitör etkisinin detaylı bir şekilde araştırılması, yeni inhibitör tasarımlarında önemli bir strateji olabilir.

Etakrinik Asit ile Karşılaştırma

Çalışmada referans inhibitör olarak kullanılan etakrinik asit (-6.7 kcal/mol), GSTP-1 enzimi inhibitörü olarak bilinen ve kanser tedavisinde kullanılan bir moleküldür²³. Elde edilen bulgulara göre, kuersetinin özellikle 7-O ve 3-O metoksi türevlerinin, etakrinik asitten daha yüksek bağlanma enerjilerine sahip olması, bu türevlerin GSTP-1 enzimi üzerinde daha güçlü inhibitör etkileri olabileceğini göstermektedir. Etakrinik asidin bir GST inhibitörü olarak klinikte kullanılan bir ajan

olduğu göz önüne alındığında, kuersetinin metoksillenmiş bu türevlerinin daha güçlü inhibitör etkileri göstermesi, bu bileşiklerin farmakolojik potansiyellerinin araştırılması gerektiğini işaret etmektedir.

Elde edilen sonuçlar, doğal bileşiklerin inhibitör etkinliğini artırmak için kimyasal modifikasyonların önemli olduğunu bir kez daha göstermektedir. Özellikle kuersetinin yapısındaki metoksi gruplarının farklı pozisyonlara eklenmesi, inhibitör potansiyeli açısından önemli sonuçlar doğurmuştur. Benzer şekilde, literatürde de doğal bileşiklerin yapısal modifikasyonlarının, inhibitör etkinliğini artırabileceği çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir. Bu çalışmada 7-O-metilsikuersetinin yüksek bağlanma enerjisi, gelecekte GST inhibitörlerinin tasarımında ve geliştirilmesinde dikkate alınması gereken bir bileşik olduğunu göstermektedir.



Şekil 2. GSTP-1 ile etakrinik asitin etkileşimi. GSTP-1 proteine ait yapılar kahverengi ile gösterilmektedir. Etakrinik asit ise yeşil renkte gösterilmektedir.

Farmakolojik Potansiyel ve Klinik İmplikasyonlar

Kuersetin ve türevlerinin inhibitör etkilerini değerlendirmek, bu bileşiklerin farmakolojik potansiyelini anlamak açısından büyük önem taşımaktadır²⁴. GSTP-1 enzimi, özellikle kanser tedavisinde hedeflenen önemli bir biyomoleküldür. Kuersetinin GSTP-1 üzerinde inhibisyon etkisi daha önce rapor edilmiştir fakat türevlerinin olası inhibitör etkisi araştırılmamıştır²⁵. GST inhibitörleri, kanser hücrelerini kemoterapötik ilaçlara karşı daha hassas hale getirme potansiyeline sahiptir. Bu bağlamda

kuersetin ve metoksi türevleri, özellikle 7-O-metilkuersetin, güçlü inhibitör potansiyeliyle kanser tedavisinde yeni bir ajan olarak kullanılma potansiyeline sahip olabilir.

Ancak, bu bulgular moleküler modelleme ve simülasyon sonuçlarına dayanmaktadır. Bu nedenle, *in vivo* ve *in vitro* deneylerle doğrulanmaları gerekmektedir. Kuersetin ve türevlerinin antioksidan ve anti-kanser özelliklerini GSTP-1 ile ilişkilendirmek amacıyla karaciğer kanseri hücre hatları uygun bir model sunmaktadır. Bu tür çalışmalar için sıkça tercih edilen HepG2 hücreleri, GSTP-1'in etkilerini değerlendirmek açısından idealdir. Kuersetin'in anti-proliferatif etkileri ise genellikle meme kanseri hücreleri üzerinde araştırılmış olup, MCF-7 hücre hattında GSTP-1'in potansiyel rolü incelenebilir. Ayrıca, kuersetin ve türevlerinin GSTP-1 ile ilişkisini akciğer kanseri hücrelerinde incelemek için A549 hücre hattı kullanılabilir, bu hücre hattı, kuersetin'in anti-tümör etkilerini araştırmada yaygın olarak kullanılan bir modeldir. Kuersetinin biyoyararlanımı ve metabolizması, inhibitör potansiyelinin klinik uygulamalara taşınmasında kritik faktörlerdir. Literatürde kuersetinin biyoyararlanımının düşük olduğu belirtilmiştir^{26,27} bu nedenle metoksi türevlerinin biyoyararlanım üzerindeki etkilerinin de incelenmesi gerekmektedir. Ayrıca, kuersetinin vücut içerisindeki metabolik yıkımı ve eliminasyonu, farmakokinetik parametreler açısından detaylı olarak araştırılmalıdır.

Kuersetin ve türevleri üzerine yapılan benzer çalışmalara dair literatürde birçok örnek bulunmaktadır. Örneğin, bir çalışmada kuersetin ve türevlerinin kanser tedavisinde kullanımı ve özellikle inhibitör etkileri araştırılmıştır. Kuersetinin GST enzimlerini inhibe etme kabiliyeti, hücre içi detoksifikasyon süreçlerini engelleyerek kanser hücrelerinin hayatta kalmasını zorlaştırmaktadır³. Bu çalışmada, kuersetinin biyolojik etkilerinin, özellikle kanserle ilişkili Glutasyon S-Transferaz (GST) enzimleri üzerindeki inhibitör potansiyeli incelenmiştir. Bu da kuersetinin kanser tedavisinde kullanılabilmesi yönünde güçlü bir argüman sunmaktadır. Ayrıca, kuersetin türevlerinin anti-kanser özellikleri üzerine yapılan başka bir çalışma, bu türevlerin GST enzimleri üzerinde etkili inhibitörler olduğunu ve kanser hücrelerinin proliferasyonunu baskılayarak, anti-anjiyogenez etkiler gösterdiğini ortaya koymuştur¹. Örneğin, 7-O-metilkuersetin gibi türevlerin yüksek bağlanma enerjilerine sahip olması, bu moleküllerin GST inhibitörü olarak kullanılma potansiyelini güçlendirmektedir. Bu tür bulgular, kuersetin ve türevlerinin kanser tedavisi gibi alanlarda umut vaat ettiğini ve farmasötik gelişim için önemli olabileceklerini göstermektedir.

SONUÇ

Bu çalışma, kuersetinin metoksi türevlerinin GSTP-1 enzimi üzerindeki inhibitör etkilerini anlamak için önemli bir adım atmış olsa da, daha ileri çalışmalar gerekmektedir. Özellikle moleküler dinamik simülasyonlarının yanında kristalografi çalışmaları ve biyokimyasal deneyler ile bu bileşiklerin GSTP-1 enzimi üzerindeki etkilerinin daha net bir şekilde ortaya konması gerekmektedir. Ayrıca, farklı hastalık modellerinde bu bileşiklerin etkilerinin incelenmesi ve klinik çalışmalara taşınması da bu tür doğal bileşiklerin farmasötik potansiyelini anlamak açısından kritik öneme sahiptir.

Sonuç olarak, kuersetin ve türevleri, özellikle 7-O-metilkuersetin, GSTP-1 enzimi inhibitörleri olarak güçlü bir potansiyele sahiptir. Bu bileşiklerin gelecekte kanser tedavisi gibi alanlarda kullanımı, doğal bileşiklerden elde edilen ilaçların geliştirilmesi açısından umut vaat edici olabilir. Bu bağlamda, Kuersetin ve türevlerinin biyoyararlanımı, güvenliği ve etkinliği üzerine yapılacak ileri araştırmalar, bu bileşiklerin klinik uygulamalara geçişini hızlandırabilir.

KAYNAKLAR

1. Alsharairi, N. A., Quercetin derivatives as potential therapeutic agents: an updated perspective on the treatment of nicotine-induced non-small cell lung cancer. *International Journal of Molecular Sciences* 2023, 24 (20), 15208.
2. Sul, O.-J., Ra, S. W., Quercetin prevents LPS-induced oxidative stress and inflammation by modulating NOX2/ROS/NF-kB in lung epithelial cells. *Molecules* 2021, 26 (22), 6949.
3. Milanović, Ž. B., Antonijević, M. R., Amić, A. D., Avdović, E. H., Dimić, D. S., Milenković, D. A., Marković, Z. S., Inhibitory activity of quercetin, its metabolite, and standard antiviral drugs towards enzymes essential for SARS-CoV-2: The role of acid–base equilibria. *RSC advances* 2021, 11 (5), 2838-2847.
4. Lupo, G., Cambria, M. T., Olivieri, M., Rocco, C., Caporarello, N., Longo, A., Zanghi, G., Salmeri, M., Foti, M. C., Anfuso, C. D., Anti-angiogenic effect of quercetin and its 8-methyl pentamethyl ether derivative in human microvascular endothelial cells. *Journal of cellular and molecular medicine* 2019, 23 (10), 6565-6577.
5. Yang, D., Wang, T., Long, M., Li, P., Quercetin: its main pharmacological activity and potential application in clinical medicine. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2020, 2020 (1), 8825387.
6. Hayes, J. D., Flanagan, J. U., Jowsey, I. R., Glutathione transferases. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 2005, 45 (1), 51-88.
7. Ozcan, M., Esendagli, G., Musdal, Y., Canpinar, H., Bacanlı, M., Anlar, H. G., Esendağlı-Yılmaz, G., Beyramzadeh, M., Aksoy, Y., Dual actions of the antioxidant chlorophyllin, a glutathione transferase P1-1 inhibitor, in tumorigenesis and tumor progression. *Journal of cellular biochemistry* 2019, 120 (5), 7045-7055.
8. Ozcan, M., Aydemir, D., Bacanlı, M., Anlar, H. G., Ulusu, N. N., Aksoy, Y., Protective effects of antioxidant chlorophyllin in chemically induced breast cancer model in vivo. *Biological trace element research* 2021, 199, 4475-4488.
9. Singh, R. R., Reindl, K. M., Glutathione S-transferases in cancer. *Antioxidants* 2021, 10 (5), 701.
10. van Zanden, J. J., Hamman, O. B., van Iersel, M. L., Boeren, S., Cnubben, N. H., Bello, M. L., Vervoort, J., van Bladeren, P. J., Rietjens, I. M., Inhibition of human glutathione S-transferase P1-1 by the flavonoid quercetin. *Chemico-biological interactions* 2003, 145 (2), 139-148.
11. Wiegand, H., Boesch-Saadatmandi, C., Regos, I., Treutter, D., Wolfram, S., Rimbach, G., Effects of quercetin and catechin on hepatic glutathione-S transferase (GST), NAD (P) H quinone oxidoreductase 1 (NQO1), and antioxidant enzyme activity levels in rats. *Nutrition and cancer* 2009, 61 (5), 717-722.
12. Dhanaraj, S., A critical review on quercetin bioflavonoid and its derivatives: scope, synthesis, and biological applications with future prospects. *Arabian Journal of Chemistry* 2023, 16 (8), 104881.
13. Bhattacharya, K., Mahato, S., Deka, S., Chanu, N. R., Shrivastava, A. K., Khanal, P., Netting into the Sophoretin pool: An approach to trace GSTP1 inhibitors for reversing chemoresistance. *Computational Biology and Chemistry* 2024, 108, 107981.

14. Das, A., Chalil, S., Nigam, P., Magee, P., Janneh, O., Owusu-Apenten, R., Glutathione transferase-P1-1 binding with naturally occurring ligands: assessment by docking simulations. *Journal of Biophysical Chemistry* 2011, 2 (4), 401-407.
15. Guneidy, R. A., Zaki, E. R., Saleh, N. S.-e., Shokeer, A., Inhibition of human glutathione transferase by catechin and gossypol: comparative structural analysis by kinetic properties, molecular docking and their efficacy on the viability of human MCF-7 cells. *The Journal of Biochemistry* 2024, 175 (1), 69-83.
16. Oakley, A. J., Rossjohn, J., Lo Bello, M., Caccuri, A. M., Federici, G., Parker, M. W., The three-dimensional structure of the human Pi class glutathione transferase P1-1 in complex with the inhibitor ethacrynic acid and its glutathione conjugate. *Biochemistry* 1997, 36 (3), 576-585.
17. Rizvi, S. M. D., Shakil, S., Haneef, M., A simple click by click protocol to perform docking: AutoDock 4.2 made easy for non-bioinformaticians. *EXCLI journal* 2013, 12, 831.
18. Kim, S., Thiessen, P. A., Bolton, E. E., Chen, J., Fu, G., Gindulyte, A., Han, L., He, J., He, S., Shoemaker, B. A., PubChem substance and compound databases. *Nucleic acids research* 2016, 44 (D1), D1202-D1213.
19. Trott, O., Olson, A. J., AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *Journal of computational chemistry* 2010, 31 (2), 455-461.
20. Morris, G. M., Huey, R., Lindstrom, W., Sanner, M. F., Belew, R. K., Goodsell, D. S., Olson, A. J., AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. *Journal of computational chemistry* 2009, 30 (16), 2785-2791.
21. Kurata, M., Suzuki, M., Takeda, K., Effects of phenol compounds, glutathione analogues and a diuretic drug on glutathione S-transferase, glutathione reductase and glutathione peroxidase from canine erythrocytes. *Comparative Biochemistry and physiology. B, Comparative Biochemistry* 1992, 103 (4), 863-867.
22. Zhang, K., Das, N. P., Inhibitory effects of plant polyphenols on rat liver glutathione S-transferases. *Biochemical pharmacology* 1994, 47 (11), 2063-2068.
23. Oakley, A. J., Lo Bello, M., Mazzetti, A. P., Federici, G., Parker, M. W., The glutathione conjugate of ethacrynic acid can bind to human pi class glutathione transferase P1-1 in two different modes. *FEBS Letters* 1997, 419 (1), 32-36.
24. Rajesh R, U., Dhanaraj, S., A critical review on quercetin bioflavonoid and its derivatives: Scope, synthesis, and biological applications with future prospects. *Arabian Journal of Chemistry* 2023, 16 (8), 104881.
25. van Zanden, J. J., Ben Hamman, O., van Iersel, M. L. P. S., Boeren, S., Cnubben, N. H. P., Lo Bello, M., Vervoort, J., van Bladeren, P. J., Rietjens, I. M. C. M., Inhibition of human glutathione S-transferase P1-1 by the flavonoid quercetin. *Chem Biol Interact* 2003, 145 (2), 139-148.
26. Li, M., Li, H., Lu, L., Fu, J., Ao, H., Han, M., Guo, Y., Zhang, H., Wang, Z., Wang, X., Simple preparation and greatly improved oral bioavailability: The supersaturated drug delivery system of quercetin based on PVP K30. *Drug Delivery and Translational Research* 2024, 1-14.
27. Rich, G. T., Buchweitz, M., Winterbone, M. S., Kroon, P. A., Wilde, P. J., Towards an understanding of the low bioavailability of quercetin: a study of its interaction with intestinal lipids. *Nutrients* 2017, 9 (2), 111.