

Kalisteginlerin Sükraz-İzomaltaz Enzim İnhibisyonunun İn-siliko Analizi

Safinur ÇELİK^{1*} 

Öz

Beslenme ile ilgili kronik hastalıklar dünya genelinde ve Türkiye’de hızla arttığı ve bu hastalıklar arasında prevalansı en yüksek olan hastalıkların diyabet ve obezite olduğu IDF (International Diabetes Federation) tarafından yapılan araştırmalarda ortaya konmuştur. Diyabet hastalarında önemli yan etkilere neden olan hiperglisemiye baskılamak, diyet ile alınan karbohidrat sindirimini ve emilimini azaltmak veya yavaşlatmak etkili bir yaklaşımdır. Bu amaçla hiperglisemi tedavisinde sükraz-izomaltaz inhibitörü olan ilaçlar kullanılmaktadır. Ayrıca çalışmalarda bitkisel biyoaktif maddelerin sükraz-izomaltaz enzimini inhibe ettiğine dair bulgular bulunmaktadır. Kalisteginler doğal olarak bitkilerde bulunan alkaloidlerdir. Günlük diyetimizin bir parçası olan patates, patlıcan ve kırmızıbiberde kalistegin türlerinden A3, B2 ve B1’in bulunduğu bildirilmiştir. Bu türlerin sükraz-izomaltaz enzimi üzerine inhibisyon etkileri bu çalışmada in-siliko olarak incelenmiştir. LeDock programı in-siliko kenetlendirme için kullanılmıştır. Yapılan kenetlendirme işlemi pozitif kontrol olarak kotalanol kullanılarak doğrulanmıştır. Çalışma sonucunda A3, B2, B1 ve kotalanolün bağlanma enerjileri sırasıyla -5,40, -5,60, -5,86 ve -7,39 kkal/mol olarak program tarafından hesaplanmıştır. Bağlanma enerjilerinin inhibitör ve enzim arasında oluşan hidrojen bağ sayılarıyla doğru orantılı olduğu anlaşılmıştır. İnhibitörlerin taşıdığı hidroksil grubu sayısının enzimi inhibe etme kapasitesini arttırdığı sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: İn-siliko, Kenetleme, İnhibisyon, Sükraz-İzomaltaz, Kalistegin.

In silico Analysis of Sucrase-Isomaltase Enzyme Inhibition by Calistegins

Abstract

IDF (International Diabetes Federation) conducted research revealing that chronic diseases related to nutrition are increasing rapidly around the world including Turkey, and the diseases with the highest prevalence are diabetes and obesity. In order to suppress hyperglycemia, which causes significant side effects in diabetic patients, reducing or slowing down the digestion and absorption of dietary carbohydrates is an effective approach. For this purpose, sucrase-isomaltase inhibitor drugs are used in the treatment of hyperglycemia. Additionally, there are findings in studies that herbal bioactive substances inhibit the sucrase-isomaltase enzyme. It has been reported that potatoes, eggplants and red peppers, which are a part of our daily diet, contain calystegin types A3, B2 and B1. The inhibitory effects of these species on the sucrase-isomaltase enzyme were examined in silico for the first time in this study. The LeDock program was used for in-silico docking. The coupling process was confirmed using cotalanol as a positive control. The coupling process was confirmed using cotalanol as a positive control. As a result of the study, the binding energies of A3, B2, B1 and cotalanol were calculated by the program as -5.40, -5.60, -5.86 and -7.39 kcal/mol, respectively. It has been understood that binding energies are directly proportional to the number of hydrogen bonds formed between the inhibitor and the enzyme. It was concluded that the number of hydroxyl groups of the inhibitors increased the capacity to inhibit the enzyme.

Keywords: In-silico, Docking, Inhibition, Sucrase-Isomaltase, Calystegin.

Atatürk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Erzurum, Türkiye, safinur.celik@atauni.edu.tr

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author

Geliş/Received: 09.05.2024

Kabul/Accepted: 05.03.2025

Yayın/Published: 15.03.2025

Çelik, S. (2025). Kalisteginlerin Sükraz-İzomaltaz Enzim İnhibisyonunun İn-siliko Analizi. *Karadeniz Fen Bilimleri Dergisi*, 15(1), 60-72.

1. Giriş

Beslenme ile ilgili kronik hastalıklar dünya genelinde ve Türkiye’de hızla artmaktadır. Diyabet ve obezite bu hastalıklar arasında bulunmaktadır. Diyabet insülin salgılanmasının bozulması, salgılanan insülinin yeteri derecede kullanılamaması veya her ikisine bağlı olarak gelişen ve hipergliseminin varlığı ile karakterize edilen metabolik bir bozukluktur. Uluslararası Diyabet Federasyonu tarafından yayınlanan 10. raporda dünya geneli ve ülkemizde diyabet vakalarının görülme sıklığının giderek arttığı bildirilmiştir. 2021 dünya genelinde 537.000.000 yetişkin diyabetli vaka olduğu bu sayının 2030 yılında 643.000.000, 2045 yılında ise 783.000.000’a çıkacağı tahminleri yapılmıştır. Türkiye’de 2021 yılında 9.020.000 vaka bildirilirken 2030 yılında 10.817.800, 2045 yılında 13.386.300 vaka sayısına ulaşılacağı tahmin edilmektedir (IDF Diabetes Atlas | Tenth Edition, 2021). Diyabet hastalarında önemli yan etkilere neden olan hiperglisemi görülmektedir.

Tablo 1. Diyabet ile gelişen hipergliseminin neden olduğu mikrovasküler ve makrovasküler vakalar ve oranları (Kim ve ark., 2018; Pistrosch ve ark., 2011).

	<i>Hastalıklar</i>	<i>Görülme Yüzdeleri</i>
<i>Mikrovasküler</i>	Nefropati	3,4
	Retinopati	6,2
	Nöropati	14,9
<i>Makrovasküler</i>	Koroner arter hastalıkları	12,9
	Serebrovasküler hastalıklar	1,5
	Periferik arter hastalıkları	0,7
	Kalp hastalıkları	2,1

Mikrovasküler ve makrovasküler vakaları en aza indirebilmek için diyabetin bir sonucu olan hipergliseminin tedavi edilmesi gerekmektedir. Hiperglisemiyi baskılamak için, diyet ile alınan karbohidrat sindirimini ve emilimini azaltmak veya yavaşlatmak önemli bir yaklaşımdır. Diyetle alınan karbohidratlar sindirim sisteminin son enzimi α -glukozidaz (sükraz-izomaltaz) tarafından hidroliz edilerek monosakkaritlere dönüştürülür. Bu enzimin inhibisyonu ile glukozun emilimi azaltılmakta veya geciktirilmekte ve böylece hiperglisemi önemli ölçüde düşürülmektedir. Hiperglisemi tedavisinde etken maddesi α -glukozidaz inhibitörü olan ilaçlar kullanılmaktadır (Baron, 1998; Gong ve ark., 2020; Lee ve ark., 2010; Oh ve ark., 2015). Akarboz α -glukozidaz inhibitörü olarak Türkiye’de de piyasada kullanımda olan bir ilaçtır. Ayrıca yapılan çalışmalarda

bitkisel biyoaktif maddelerin de α -glukozidaz enzimini inhibe ettiğine dair bulgular bulunmaktadır (Kobayashi ve ark., 2021).

Kalisteginler doğal olarak bitkilerde bulunan alkaloidlerdir. Yapılarında bulundukları hidroksil grubu sayısı ve konumuna göre B1, B2, B3, A3 vb. sekiz adet farklı türü bulunmaktadır. Günlük diyetimizin bir parçası olan patates, patlıcan ve kırmızıbiberin kalisteginin A3 ve B2 formu bakımından zengin olduğu bildirilmiştir (Glerup ve ark., 2013). Kalistegin B1'in ise *Ipomoea setifera*, *Duboisia leichhardtii* ve bazı tıbbi aromatik bitkilerde bulunduğu bildirilmiştir. Tropikal Amerika'da yetişen *Ipomoea* türleri halk arasında ilaç olarak kullanılmaktadır (Asano ve ark., 1995; Ferreira ve Maruo, 2015; Hank ve ark., 2004; Kato ve ark., 1997; Meira ve ark., 2012; Nejadhabibvash ve ark., 2012).

Fareler üzerinde yapılan in vivo çalışmalarda kalisteginin türevlerinin antidiyabetik etkisi olduğu bulunmuştur (Bourebaba ve ark., 2016). Kalisteginin yapı ve özelliklerinin revizyonu, bunların ilgili biyolojik aktiviteleri ve kendine özgü özellikleriyle karbonhidrat taklitleri olarak kabul edilebileceğini göstermektedir (Pino-Gonzalez ve ark., 2012).

Bu çalışmada bitkisel biyoaktif maddeler olan bazı kalistegin türlerinden A3, B2 ve B1'in insan kaynaklı α -glukozidaz (sükraz-izomaltaz) enzim inhibisyonunu in-siliko kenetleme (Docking) modeli ile incelenmesi hedeflenmiştir.

2. Materyal ve Metot

2.1. Hedef Proteinin Seçilmesi ve Proteinin Ligand Kenetlenmesine Hazırlanması

Bu çalışmada insan kaynaklı α -glukozidaz (sükraz-izomaltaz) enzimi kullanılmıştır. Protein Data Bank'tan İnsan (*Homo sapiens*) Sükraz-İzomaltaz (α -glukozidaz) enziminin kotalanol inhibitörü ile olan üç boyutlu kristal yapısını (PDB ID:3LPP) *.pdb dosya formatında indirilmiştir (Sim ve ark., 2010). Gerekli modifikasyonlar AutoDock4.2 programı ile yapılarak (su molekülleri ve ligandların çıkarılması ve polar hidrojen moleküllerinin ilave edilmesi) enzim kenetlenme çalışmaları için hazır hale getirilmiş ve PDB dosya formatında kaydedilmiştir (Eberhardt ve ark., 2021; Trott ve Olson, 2010; Zhang ve Zhao, 2016).

2.2. İnhibitörlerin Protein-Ligand Kenetleme Çalışmaları için Hazırlanması

İnhibitörler (kalistegin A3, B2, B1 ve kotalanol) PubChem'den (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) 3D*.sdf dosya formatında indirilmiştir. Bu dosyanın biçimi OPEN Babel GUI uygulamasıyla *.mol2 biçimine dönüştürülerek kenetlenme için hazırlanmıştır.

2.3 Protein-Ligand Kenetleme Çalışması ve Görüntülerin Alınması

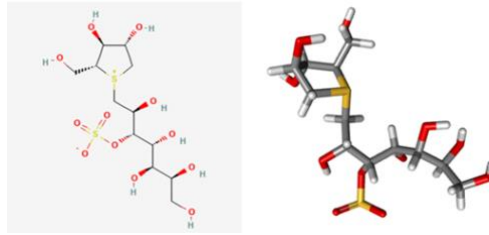
Moleküler kenetleme çalışmasında LEPHAR tarafından hazırlanan LeDock programı kullanılmıştır. Görüntülerin analizi ise Discovery Studio 2021 uygulaması ile yapılmıştır.

Bu çalışmada sükröz-izomaltaz (SI) enziminin inhibitörü olan kotalanolün moleküler kenetleme (Docking) modeli ile incelenerek kullanılan in-siliko kenetleme modelinin doğruluğu teyit edilmiştir. Kalisteginlerin inhibisyon analizi in-siliko kenetleme modeli ile incelenmiştir.

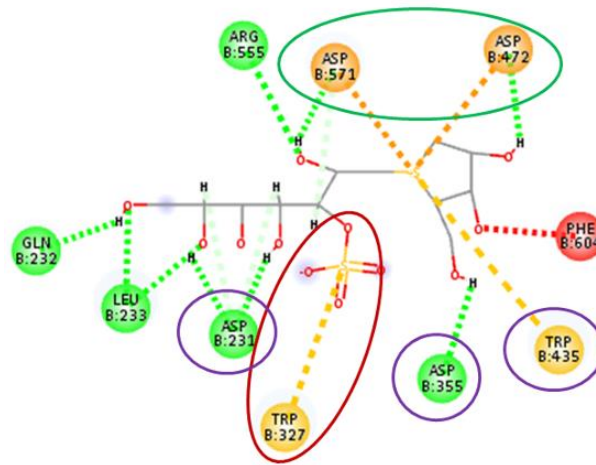
3. Bulgular ve Tartışma

3.1. Kotalanolün Sükröz-İzomaltaza İn-Siliko Kenetlenme Analizi

Yapılan kenetleme işlemlerinin doğruluğu kotalanol ile test edilmiştir. Bu amaçla n-terminal sükröz-izomaltazın (ntSI) 3D kristal yapısında kotalanolün yeniden kenetleme işlemi yapılmış ve elde edilen sonuçlar literatür ile karşılaştırılmıştır. Kotalanol bilgisayar ortamında kenetlendirme çalışmalarında bağlanma enerjisi -7,39 kkal/mol olarak bulunmuştur.

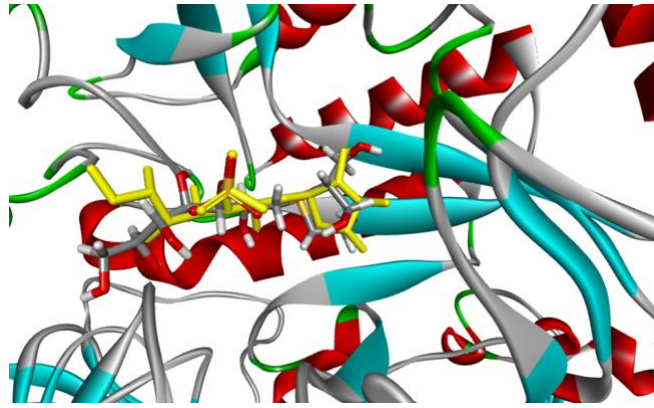


Şekil 1. Kotalanolün 2D ve 3D modelleri.



Şekil 2. Kotalanol ve ntSI (3LPP) ye in-siliko olarak kenetlendirilmesi sonucunda inhibitör ve aktif bölge amino asit kalıntılarının etkileşim görüntüsü.

Bu işlemin sonucunda Trp327'nin kotalanolün sülfat grubu ile etkileşim içinde olduğu görülmüş (Şekil 2: Kırmızı halka) ve literatür ile uyumlu olduğu anlaşılmıştır. Kotalanolün yedi tane aminoasit kalıntısıyla dokuz tane hidrojen bağı (Şekil 2: Yeşil renkli kesikli çizgiler) ile enzime bağlandığı görülmektedir. Aktif bölgenin katalitik nükleofilleri olduğu bildirilen Asp472 ve Asp571 kalıntıları ile kotalanolün hidrojen bağı (Şekil 2: Yeşil halka) yaptığının görülmesi literatür ile uyumludur. Ayrıca His629, Asp355, Arg555, Asp231, Trp435 ve Phe479'ün substratı bağlayan aminoasit kalıntılarının olduğu literatürde bildirilmiştir (Sim ve ark., 2010) . Bu kalıntılardan Arg555, Asp355, Asp231 ve Trp435'nin (Şekil 2: Mor halkalar) kotalanol ile etkileşim içinde olduğu görülmektedir.

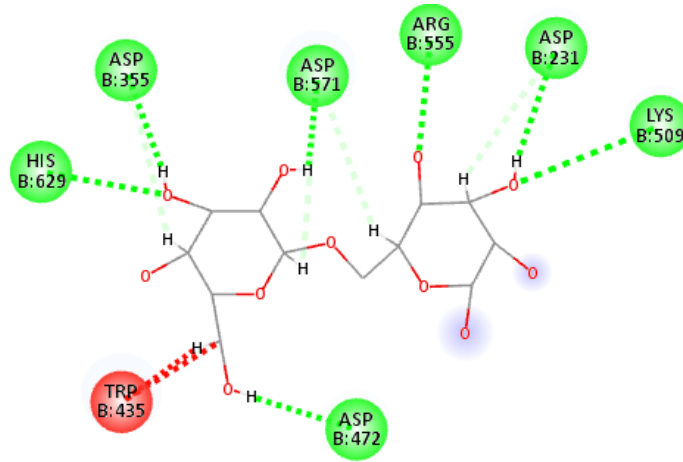


Şekil 3. Kotalanol ve ntSI (3LPP) nin in-siliko olarak yeniden kenetlenirilmesi. Literatürde bağlandığı pozisyon sarı renkli kotalanol olarak, in-siliko kenetlendirmede aldığı pozisyon ise gri-kırmızı renkli kotalanol olarak verilmektedir.

Kotalanol ve ntSI (3LPP) in-siliko olarak yeniden kenetlenirilmiştir. Literatürde bağlandığı pozisyon (sarı renkli kotalanol) ve in-siliko kenetlendirmede aldığı pozisyon (gri- kırmızı kotalanol) görüntüsü karşılaştırılmıştır. Kotalanolün aynı bölgede ve oldukça yakın pozisyonda olduğu görülmektedir.

Yapılan in-siliko yeniden kenetlendirme çalışmaları ve literatür bilgisi karşılaştırılmış ve kenetlendirme çalışmalarının sonuçlarının literatürle uyumlu olduğu görülmüştür. Böylece bu çalışmada yapılan in-siliko kenetlendirme çalışmalarının doğruluğu teyit edilmiş ve diğer kenetlendirme işlemleri de aynı yöntemle yapılmıştır.

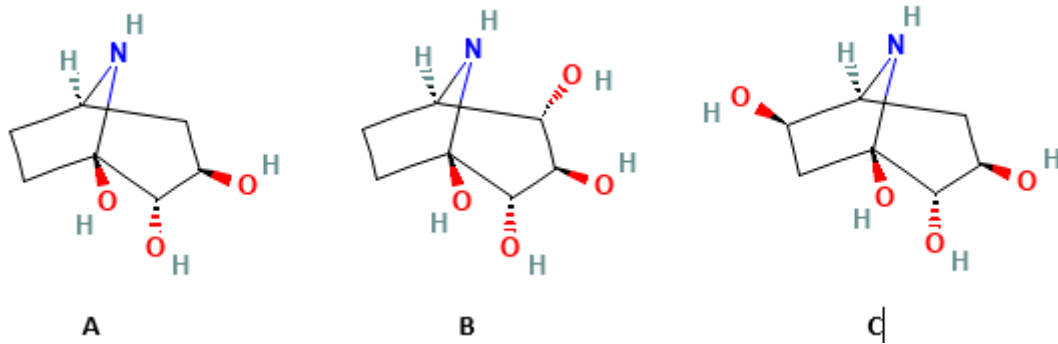
Bu çalışmada sükröz-izomaltaz enziminin inhibitörü olan kotalanola ilaveten enziminin substratı olan izomaltozda moleküler olarak kenetlendirme çalışması yapılmış ve bağlanma enerjisi -7,80 kkal/mol olarak hesaplanmıştır. İzomaltozun bağlanma bölgesinde katalitik kalıntılar dahil toplam 7 adet hidrojen bağı yaptığı şekil 4'te görülmektedir.



Şekil 4. İzomaltozun ntSI'ye (3LPP) in-siliko olarak kenetlenmesi sonucu substrat ve aktif bölge amino asit kalıntılarının etkileşim görüntüsü.

3.2. Kalistegin A3, B2 ve B1'in ntSI'ye İn-siliko Kenetlenme Analizi

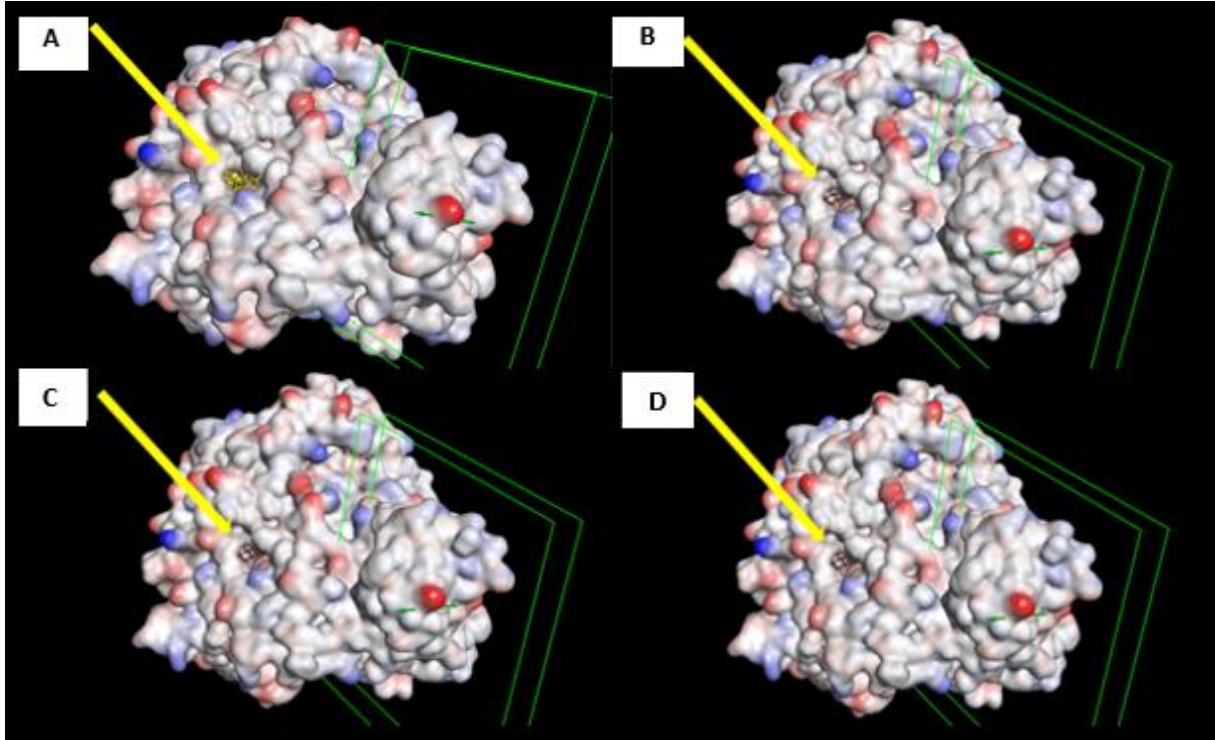
Bu çalışmada bir bitkisel alkaloid olan kalisteginlerin in-siliko olarak insan sükras-izomaltaz enzimine kenetlenirerek bağlanma enerjileri hesaplanmış ve bağlanma bölgesi analiz edilmiştir. Kalisteginlerin taşıdıkları hidroksil grubunun sayısı ve bağlanma konumuna göre doğada farklı türleri bulunmaktadır. Türkiye'de oldukça fazla üretilen ve tüketilen bitkisel ürünlerden patates yumruları, patlıcan ve kırmızıbiber, kalisteginin A3 (3 hidroksil grubu içermektedir) ve B2 (4 hidroksil grubu içermektedir) içermektedir (Şekil 5) (Glerup ve ark., 2013; Türkiye İstatistik Kurumu, 2021). Kalistegin B1 (4 hidroksil grubu bulunduran) ise *Ipomoea setifera* ve *Duboisia leichhardtii* bitki türlerinde bulunmaktadır (Şekil 5). Tropikal Amerika'da yetişen *Ipomoea* türleri geleneksel tıpta ilaç olarak kullanıldığı bildirilmiştir (Asano ve ark., 1995; Ferreira ve Maruo, 2015; Hank ve ark., 2004; Kato ve ark., 1997; Meira ve ark., 2012; Nejadhabibvash ve ark., 2012).



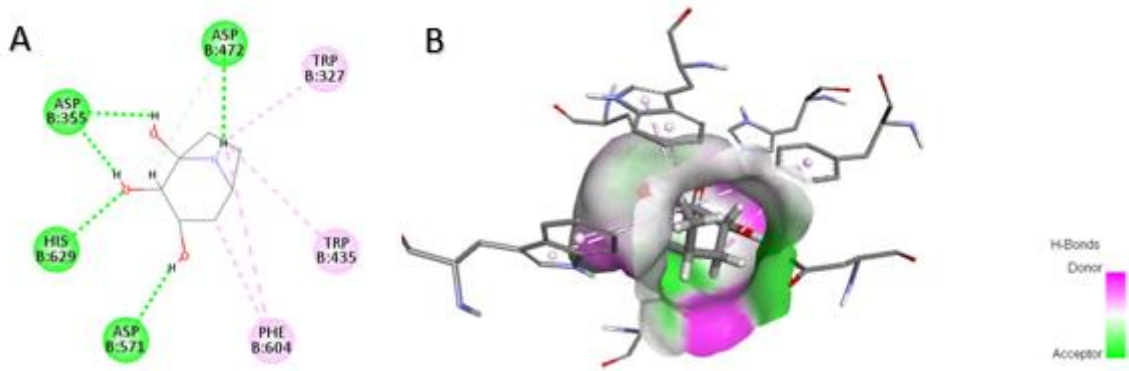
Şekil 5. Kalistegin A3 (A), B2 (B) ve B1'in (C) 2D modelleri.

Sükras-izomaltaz enziminin inhibitörü olan kotalanol enzimin aktif bölgesine bağlanarak enzimi inhibe etmektedir. Bu nedenle kalisteginlerin bağlanacağı bölge sükras izomaltazın

inhibitörü olan kotalanol bağlandığı bölge olarak tayin edilmiştir. Bu amaçla, ntSI 3D kristal yapısında kotalanolün bağlandığı bölge, Discovery Studio 2021 ile koordinatları belirlenmiş ve LeDock programında kullanım için uyarlanmıştır. LeDock ile kenetlendirme işlemleri yapıldıktan sonra kotalanol ve kalistegeninlerin görüntüleri analiz edilerek bağlanma bölgesinin kotalanol ile aynı olduğu teyit edilmiştir. Bağlanma bölgelerinin görüntüleri Discovery Studio 2021'den elde edilmiş ve şekil 6'da verilmiştir.

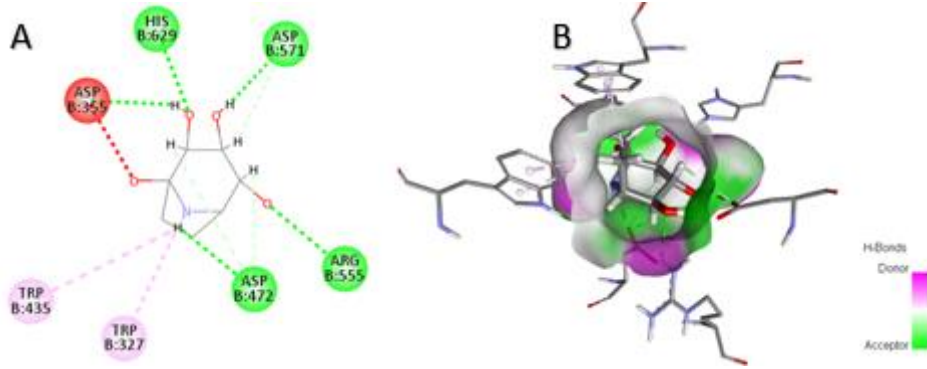


Şekil 6. A: Kotalanolün ntSI (3LPP) enzime kenetlendiği bölge. B,C ve D: Kalistegin A3, B2 ve B1'in ntSI (3LPP) enzime kenetlendiği bölge.



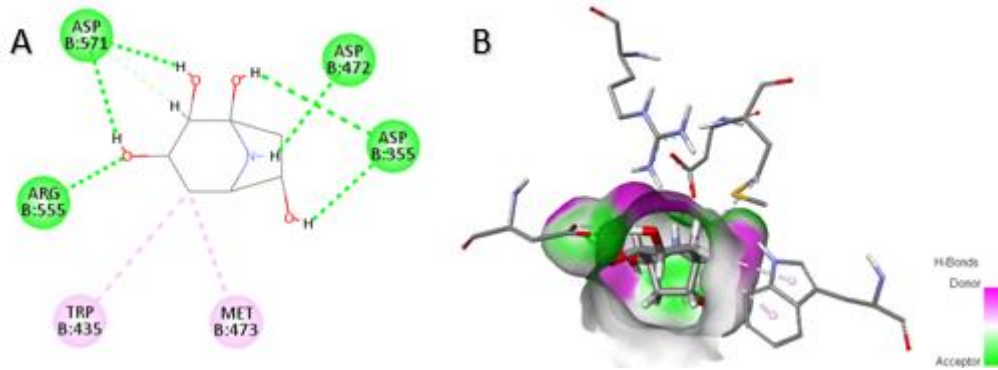
Şekil 7. A; Kalistegin A3 ve ntSI'nın (3LPP) in-siliko olarak kenetlendirilmesi. Çalışma sonucunda elde edilen inhibitör ve aktif bölge amino asit kalıntılarının etkileşim görüntüsü. B; Kalistegin A3 ve ntSI (3 LPP) donör ve akseptör olduğu hidrojen bağlarının görüntüsü.

Kalistegin A3 ile ntSI enzimi dört adet aminoasit kalıntısıyla beş tane hidrojen bağı (Şekil 7: Yeşil renkli kesikli çizgiler) yaptığı görülmektedir. Bu hidrojen bağlarının ikisi, enzimin katalitik aktivitesinde görev alan Asp472 ve Asp571 kalıntılarıyla yapılmıştır. Diğer hidrojen bağlarının ise enzimin substratı bağladığı kalıntılardan olan His629 ve Asp355 ile yapıldığı görülmektedir. Kalistegin A3 Trp327, Trp435 ve Phe604 ile dört adet π -alkil bağı yaptığı (Şekil 7: Pembe renkli kesikli çizgiler) ve bunlardan Trp435'in enzimin substratı bağladığı kalıntılardan olduğu literatürde bildirilmiştir (Sim ve ark., 2010).



Şekil 8. A; Kalistegin B2 ve ntSI (3LPP) nin in-siliko olarak kenetlenirilmesi. Çalışma sonucunda elde edilen inhibitör ve aktif bölge amino asit kalıntılarının etkileşim görüntüsü. B; Kalistegin B2 ve ntSI (3 LPP) donör ve akseptör olduğu hidrojen bağlarının görüntüsü.

Kalistegin B2 ntSI enziminin dört aminoasit kalıntısı üzerinden beş tane hidrojen bağı (Şekil 8: Yeşil renkli kesikli çizgiler) yaptığı görülmektedir. Bu hidrojen bağlarının ikisi enzimin katalitik aktivitesinde görev alan Asp472 ve Asp571 kalıntılarıdır. Hidrojen bağlarının üçü ise enzimin substratı bağladığı kalıntılardan olan Asp355, His629 ve Arg555 ile olduğu görülmektedir. Kalistegin B2 Trp327 ve Trp435 ile iki adet π -alkil bağı yaptığı (Şekil 8: Pembe renkli kesikli çizgiler) ve bunlardan Trp435'in enzimin substratı bağladığı kalıntılardan olduğu anlaşılmıştır.



Şekil 9. A; Kalistegin B1 ve ntSI (3LPP) nin in-siliko olarak kenetlenirilmesi. Çalışma sonucunda elde edilen inhibitör ve aktif bölge amino asit kalıntılarının etkileşim görüntüsü. B; Kalistegin B1 ve ntSI (3 LPP) donör ve akseptör olduğu hidrojen bağlarının görüntüsü.

Kalistegin B1 ntSI enzimi ile dört aminoasit kalıntısı üzerinden altı tane hidrojen bağı (Şekil 9: Yeşil kesikli çizgiler) yaptığı görülmektedir. Hidrojen bağlarının üçünü enzimin katalitik aktivitesinde görev alan Asp472 ve Asp571 kalıntıları ile yaparken diğer üçünün ise enzimin substratı bağladığı kalıntılardan olan Asp355 ve Arg555 ile olduğu görülmektedir. Ayrıca kalistegin B2 Met473 ve enzimin substratı bağladığı kalıntılardan Trp435 ile iki adet π -alkil bağı yapmaktadır (Şekil 9: Pembe renkli kesikli çizgiler).

Bu çalışmada izomaltaz, kotalanol, kalistegenin A3, B2 ve B1'in bilgisayar ortamında kenetlendirme çalışmaları sonucunda bağlanma enerjileri sırasıyla -7,80 kkal/mol, -7,39 kkal/mol, -5,40 kkal/mol, -5,60 kkal/mol ve -5,86 kkal/mol olarak hesaplanmıştır. Bağlanma enerjisinin artması moleküllerin enzime daha güçlü bağlandığının ve enzime olan afinitelerinin arttığının bir göstergesidir. Dolayısıyla substratın enzime olan afinitesinin artması reaksiyon hızını artırırken inhibitörlerin enzime olan afinitelerinin artması inhibisyon etkisini artırmakta ve reaksiyon hızını düşürmektedir. Yapılan in-siliko analizler sonucunda hesaplanan bağlanma enerjilerinden en yüksek olanın enzimin substratı izomaltaz (-7,80 kkal/mol) için olduğu dolayısıyla enzimin izomaltaza olan afinitesinin inhibitörlerinden daha yüksek olduğu sonucuna varılmıştır. Bunun yanı sıra enzimin bilinen inhibitörü olan kotalanolün de kalistegeninlerden daha yüksek bağlanma enerjisine sahip olduğu dolayısıyla daha güçlü bir inhibitör olduğu anlaşılmıştır.

Kalistegeninlerin inhibisyon kinetikleri çalışılmış ve A3'ün değeri $227 \pm 47 \mu\text{m}$ ve B2'nin değeri $55 \pm 12 \mu\text{m}$ olarak hesaplanmıştır (Jocković ve ark., 2013). Literatür taramasında B1'in insan kaynaklı glukozidaz enzimleri ile inhibisyon kinetiği çalışmasına rastlanmamıştır. Jones ve ark. tarafından yapılan çalışmada kotalanolün k_i değeri $0,60 \pm 0,06 \mu\text{m}$ olarak bulunmuştur (Jones ve ark., 2012). İnhibitörün k_i (ayırışma denge sabiti) değeri küçüldükçe inhibisyon etkisi artmaktadır. Yapılan in-siliko analiz sonucunda ntSI enzimi ve inhibitörün yaptığı hidrojen bağı sayısı arttıkça bağlanma enerjisinin attığı ve k_i 'nin azaldığı tablo 2'de görülmektedir. Bu sonuçtan yola çıkılarak in-siliko çalışmaların in vitro bulgularla uyumlu olduğu anlaşılmıştır.

Tablo 2. Kalisteginlerin, kotalanolün ve izomaltozun sükröz-izomaltaz enzimine moleküler kenetlendirme sonucunda elde edilen bağlanma enerjileri ve yaptıkları hidrojen bağı sayıları.

	-OH sayısı	k_i (μm)	Bağlanma Enerjisi (kkal/mol)	Hidrojen Bağı		n-alkil Bağı	
				Sayı	Amino Asitler	Sayı	Amino Asitler
Kalistegin A3	3	227 ± 47*	-5,40	5	Asp ⁴⁷² , Asp ⁵⁷¹ , His ⁶²⁹ ve Asp ³⁵⁵	3	Trp ³²⁷ , Trp ⁴³⁵ ve Phe ⁶⁰⁴
Kalistegin B2	4	55 ± 12*	-5,60	5	Asp ⁴⁷² , Asp ⁵⁷¹ , Asp ³⁵⁵ , His ⁶²⁹ ve Arg ⁵⁵⁵	2	Trp ³²⁷ ve Trp ⁴³⁵
Kalistegin B1	4	-	-5,86	6	Asp ⁴⁷² , Asp ⁵⁷¹ , Asp ³⁵⁵ ve Arg ⁵⁵⁵	2	Met ⁴⁷³ ve Trp ⁴³⁵
Kotalanol	8	0,6 ± 0,06**	-7,39	9	Asp ⁴⁷² , Asp ⁵⁷¹ , Asp ³⁵⁵ , Gln ²³² , Leu ²³³ , Asp ²³¹ ve Arg ⁵⁵⁵	2	Trp ³²⁷ ve Trp ⁴³⁵
İzomaltoz	8	-	-7,80	7	Asp ⁴⁷² , Asp ⁵⁷¹ , His ⁶²⁹ , Asp ³⁵⁵ , Arg ⁵⁵⁵ , Asp ²³¹ ve Lys ⁵⁰⁹	-	-

*(Jocković ve ark., 2013)

** (Jones ve ark., 2012)

Tolmie ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada domuz pankreatik α -amilaz ve *Saccharomyces cerevisiae* α -glukozidaz enzimlerinin aktiviteleri üzerine rozmarinik asit, eriodiktiyol, apigenin, sinnamik asit, mirsen ve piperinin etkisi araştırılmış ve inhibisyon kinetikleri çalışılmıştır. Ayrıca inhibitörlerin α -amilaz ve α -glukozidaz enzimlerine in-siliko kenetlendirme yapılarak inhibitörlerin enzimlere bağlanma enerjileri bulunmuş ve in vitro deney sonuçları ile karşılaştırılmıştır. Bu çalışmada elde edilen bulgular ve inhibitörlerin fonksiyonel grupları Tablo 3'de özet olarak verilmiştir. Yaptıkları çalışma sonucunda inhibitörler arasında en fazla -OH grubuna sahip olan rozmarinik asit (dört adet -OH grubuna sahiptir) ve eriodiktiyolün (dört adet -OH grubuna sahiptir) bağlanma enerjilerinin en yüksek olduğu bulunmuştur. Diğer taraftan -OH grubu ve hidrojen bağı yapma potansiyeli bulunmayan mirsenin en düşük bağlanma enerjisine sahip olduğu görülmüştür (Tolmie ve ark., 2021). Ayrıca enzimlerin deneysel olarak bulunan k_i 'leri, bağlanma enerjileri ile karşılaştırılmış ve rozmarinik asit dışında diğer sonuçların birbirleriyle ters orantılı olarak değiştiği bulunmuştur. Yani in vitro deneylerden elde edilen k_i 'ler artarken in-siliko deneylerden elde edilen bağlanma enerjileri azalmaktadır. Elde edilen bu sonuçlar çalışmamızda elde ettiğimiz inhibitörlerin -OH gruplarının ve hidrojen bağlarının artmasıyla bağlanma enerjisinin de artırmakta olduğu sonucuyla uyusmaktadır. Tomie ve ark. tarafından yapılan çalışma, bu çalışmada ortaya koyduğumuz tezi desteklemektedir.

Tablo 3. Rozmarinik asit, eriodiktiyol, apigenin, sinnamik asit, mirsen ve piperinin α -amilaz ve α -glukozidaz enzimleri arasında ayrışma denge sabitleri (k_i), moleküler kenetlendirme sonucunda elde edilen bağlanma enerjileri ve moleküllerin hidrojen bağı yapabilecek fonksiyonel grupları (Tolmie ve ark., 2021).

	Hidrojen Bağı Yapma Kapasitesi Olan Gruplar				k_i (μm)	Bağlanma Enerjisi (kkal/mol)
	Hidroksil	Karboksil	Karbonil	Eter		
Eriodiktiyol	4	-	1	1	130 \pm 70	-5,5
Rozmarinik Asit	4	1	1	1	2530 \pm 550	-5,4
Apigenin	3	-	1	1	160 \pm 50	-5,3
Piperinin	-	-	1	2	280 \pm 120	-4,2
Sinamic Asit	-	1	-	-	620 \pm 380	-3,4
Asetilögenol	-	-	1	2	950 \pm 240	-3,4
Mirsen	-	-	-	-	1580 \pm 650	-1,4

4. Sonuçlar ve Öneriler

Uluslararası Diyabet Federasyonu'nun 2021 yılında yayınladığı raporda beslenme ile ilgili kronik hastalıklardan olan diyabet ve obezitenin dünya genelinde hızla arttığı görülmektedir. Diyabet tedavisinde, bireylerin beslenme ve egzersizden oluşan yaşam tarzı değişiklikleri ilk olarak hedeflenmektedir. Diğer hedef ise diyabet hastalarında önemli sağlık problemlerine neden olan kan glukoz seviyesinin düzenlenmesidir. Bu amaçla ilaç tedavisi uygulanmaktadır. Yüksek kan şekerini baskılamak amacıyla kullanılan ilaç gruplarından birinin hedefi α -glukozidazlardır. Glukozidaz inhibitörleri, diyet ile alınan nişasta veya sükröz gibi karbohidratların sindirimini ve emilimini azaltarak veya yavaşlatarak etki etmektedirler (Baron, 1998; Deng ve ark., 2012; Gong ve ark., 2020; Jokura ve ark., 2015; Ohe ve ark., 2015). Yapılan çalışmalarda bitkisel biyoaktif maddelerin de α -glukozidaz enzimini inhibe ettiğine dair bulgular bulunmaktadır. Kalisteginler, sofralarımızın önemli bir parçası olan patates, patlıcan ve kırmızıbiberde doğal olarak bulunduğu bildirilen alkaloidlerdendir (Glerup ve ark., 2013).

Kalisteginlerin (A3, B1 ve B2), kotalanolün ve izomaltozun ntSI enzimine kenetlendirme işlemleri yapılarak moleküllerin enzime bağlanma enerjileri bulunmuştur. Ayrıca moleküllerin enzime bağlandığı bölgenin modeli incelenerek moleküllerle enzim arasında hidrojen ve π -alkil bağlarının kurulduğu görülmektedir. İnhibitör ve enzim arasında oluşan hidrojen bağı sayısının inhibitörün sahip olduğu $-OH$ gruplarının sayısıyla artmaktadır. Bu nedenle sükröz-izomaltaz enziminin $-OH$ grubunu fazla bulduran moleküller tarafından daha etkili inhibe edilebileceği kanısına varılmıştır. Bu sonuçlar sükröz-izomaltaz enzimine inhibitör arayışında $-OH$ gruplarının önemli bir gösterge olduğunu düşündürmektedir. Elde edilen bu bulgular kalistegininler sükröz-izomaltaz enziminin potansiyel inhibitörü olduğu özellikle hidroksil grubu sayısı fazla olan türlerinin inhibisyon etkisini arttırdığını göstermiştir.

Çıkar Çatışması Beyanı

Herhangi bir kişi ya da kurumla çıkar çatışması bulunmamaktadır.

Araştırma ve Yayın Etiği Beyanı

Yapılan çalışmada araştırma ve yayın etiğine uyulmuştur.

Kaynaklar

- Asano, N., Kato, A., Oseki, K., Kizu, H., & Matsui, K. (1995). Calystegins of Physaltes alkekengi var. Francheti (Solanaceae): Structure Determination and their Glycosidase Inhibitory Activities. *European Journal of Biochemistry*, 229(2), 369–376. <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1995.0369k.x>
- Baron, A. D. (1998). Postprandial hyperglycaemia and α -glucosidase inhibitors. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 40(SUPPL.), 51–55. [https://doi.org/10.1016/S0168-8227\(98\)00043-6](https://doi.org/10.1016/S0168-8227(98)00043-6)
- Bourebaba, L., Saci, S., Touguit, D., Gali, L., Terkmane, S., Oukil, N., & Bedjou, F. (2016). Evaluation of antidiabetic effect of total calystegines extracted from Hyoscyamus albus. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 82, 337–344. <https://doi.org/10.1016/J.BIOPHA.2016.05.011>
- Deng, Y. X., Zhang, X. J., Shi, Q. Z., Chen, Y. S., Qiu, X. M., & Chen, B. (2012). Anti-hyperglycemic effects and mechanism of traditional Chinese medicine Huanglian Wan in streptozocin-induced diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 144(2), 425–432. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2012.09.039>
- Eberhardt, J., Santos-Martins, D., Tillack, A. F., & Forli, S. (2021). AutoDock Vina 1.2.0: New Docking Methods, Expanded Force Field, and Python Bindings. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 61(8), 3891–3898. https://doi.org/10.1021/ACS.JCIM.1C00203/SUPPL_FILE/CI1C00203_SI_002.ZIP
- Ferreira, O. R., & Maruo, V. M. (2015). Toxicidade de Ipomoea setifera. *Revista Científica de Medicina Veterinária*, 53(9), 1689–1699.
- Glerup, P., Grand, N., & Skydsgaard, M. (2013). The Use of Minipigs in Non-Clinical Research. In *Haschek and Rousseaux's Handbook of Toxicologic Pathology, Third Edition: Volume 1-3* (Vol. 1). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-415759-0.00013-3>
- Gong, L., Feng, D., Wang, T., Ren, Y., Liu, Y., & Wang, J. (2020). Inhibitors of α -amylase and α -glucosidase: Potential linkage for whole cereal foods on prevention of hyperglycemia. *Food Science and Nutrition*, 8(12), 6320–6337. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1987>
- Hank, H., Szoke, É., Tóth, K., László, I., & Kursinszki, L. (2004). Investigation of tropane alkaloids in genetically transformed *Atropa belladonna* L. cultures. *Chromatographia*, 60(SUPPL.). <https://doi.org/10.1365/s10337-004-0240-x>
- IDF Diabetes Atlas | Tenth Edition. (2021). In *International Diabetes Federation*.
- Jocković, N., Fischer, W., Brandsch, M., Brandt, W., & Dräger, B. (2013). Inhibition of human intestinal α -glucosidases by calystegines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(23), 5550–5557. <https://doi.org/10.1021/jf4010737>
- Jokura, H., Watanabe, I., Umeda, M., Hase, T., & Shimotoyodome, A. (2015). Coffee polyphenol consumption improves postprandial hyperglycemia associated with impaired vascular endothelial function in healthy male adults. *Nutrition Research*, 35(10), 873–881. <https://doi.org/10.1016/J.NUTRES.2015.07.005>
- Jones, K., Eskandari, R., Naim, H. Y., Pinto, B. M., & Rose, D. R. (2012). Investigations of the structures and inhibitory properties of intestinal maltase glucoamylase and sucrase isomaltase. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 55(SUPPL.2). <https://doi.org/10.1097/01.MPG.0000421403.34763.71>
- Kato, A., Asano, N., Kizu, H., Matsui, K., Suzuki, S., & Arisawa, M. (1997). Calystegine alkaloids from *Duboisia leichhardtii*. *Phytochemistry*, 45(2), 425–429. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(96\)00865-5](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(96)00865-5)

- Kim, H. H., Kang, Y. R., Lee, J. Y., Chang, H. B., Lee, K. W., Apostolidis, E., & Kwon, Y. I. (2018). The postprandial anti-hyperglycemic effect of pyridoxine and its derivatives using in vitro and in vivo animal models. *Nutrients*, *10*(3). <https://doi.org/10.3390/nu10030285>
- Kobayashi, M., Akaki, J., Ninomiya, K., Yoshikawa, M., Muraoka, O., Morikawa, T., & Odawara, M. (2021). Dose-Dependent Suppression of Postprandial Hyperglycemia and Improvement of Blood Glucose Parameters by *Salacia chinensis* Extract: Two Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Studies. *Journal Medicinal Food*, *24*(1), 10–17. <https://doi.org/10.1089/JMF.2020.4751>
- Lee, S. H., Park, M. H., Heo, S. J., Kang, S. M., Ko, S. C., Han, J. S., & Jeon, Y. J. (2010). Dieckol isolated from *Ecklonia cava* inhibits α -glucosidase and α -amylase in vitro and alleviates postprandial hyperglycemia in streptozotocin-induced diabetic mice. *Food and Chemical Toxicology*, *48*(10), 2633–2637. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2010.06.032>
- Meira, M., da Silva, E. P., David, J. M., & David, J. P. (2012). Review of the genus *Ipomoea*: traditional uses, chemistry and biological activities. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, *22*(3), 682–713. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2012005000025>
- Nejadhabibvash, F., Rahmani, F., & Jamei, R. (2012). Assessment of genetic diversity among *Hyoscyamus* genotypes based on ISSR markers. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences*, *4*(17), 1300–1306. www.ijagcs.com
- Oh, J., Jo, S. H., Kim, J. S., Ha, K. S., Lee, J. Y., Choi, H. Y., Yu, S. Y., Kwon, Y. I., & Kim, Y. C. (2015). Selected tea and tea pomace extracts inhibit intestinal α -glucosidase activity in vitro and postprandial hyperglycemia in vivo. *International Journal of Molecular Sciences*, *16*(4), 8811–8825. <https://doi.org/10.3390/IJMS16048811>
- Pino-Gonzalez, M. S., Ona, N., & Romero-Carrasco, A. (2012). Advances in the synthesis of calystegines and related products and their biochemical properties. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, *12*(14), 1477–1484. <https://doi.org/10.2174/138955712803832708>
- Pistrosch, F., Natali, A., & Hanefeld, M. (2011). Is hyperglycemia a cardiovascular risk factor? *Diabetes Care*, *34*(SUPPL. 2), 128. <https://doi.org/10.2337/dc11-s207>
- Sim, L., Willemsma, C., Mohan, S., Naim, H. Y., Pinto, B. M., & Rose, D. R. (2010). Structural basis for substrate selectivity in human maltase-glucoamylase and sucrase-isomaltase N-terminal domains. *Journal of Biological Chemistry*, *285*(23), 17763–17770. <https://doi.org/10.1074/jbc.M109.078980>
- Tolmie, M., Bester, M. J., & Apostolides, Z. (2021). Inhibition of α -glucosidase and α -amylase by herbal compounds for the treatment of type 2 diabetes: A validation of in silico reverse docking with in vitro enzyme assays. *Journal of Diabetes*, *13*(10), 779–791. <https://doi.org/10.1111/1753-0407.13163>
- Trott, O., & Olson, A. J. (2010). AutoDock Vina: Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *Journal of Computational Chemistry*, *31*(2), 455–461. <https://doi.org/10.1002/JCC.21334>
- Türkiye İstatistik Kurumu. (2021). *TÜİK Kurumsal*. Bitkisel Üretim İstatistikleri, 2024. <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Bitkisel-Uretim-Istatistikleri-2024-53447>
- Zhang, N., & Zhao, H. (2016). Enriching screening libraries with bioactive fragment space. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, *26*(15), 3594–3597. <https://doi.org/10.1016/J.BMCL.2016.06.013>