

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**BAZI PROPOLİS FENOLİKLERİNİN HIV-1 REVERS TRANSKRİPTAZ İLE MOLEKÜLER
İTERAKSİYONU:
MOLEKÜLER DOCKİNG (KENETLENME) ÇALIŞMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Zübeyde COŞKUN

**EYLÜL 2021
TRABZON**



KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**BAZI PROPOLİS FENOLİKLERİNİN HIV-1 REVERS TRANSKRİPTAZ İLE
MOLEKÜLER İNTERAKSİYONU:
MOLEKÜLER DOCKİNG (KENETLENME) ÇALIŞMASI**

Zübeyde COŞKUN

ORCID : - - -

**Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünde
"YÜKSEK LİSANS (BİYOLOJİ)
Unvanı Verilmesi İçin Kabul Edilen Tezdir.**

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 25 / 08 / 2021

Tezin Savunma Tarihi : 27 / 09 / 2021

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Ali Osman BELDÜZ
ORCID : - - -

Trabzon 2021

ÖNSÖZ

“Bazı Propolis Fenoliklerinin HIV-1 Revers Transkriptaz ile Moleküler İnteraksiyonu: Moleküler Docking (Kenetlenme)” adındaki bu çalışma Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Programında “Yüksek Lisans Tezi” olarak hazırlanmıştır.

Eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım değerli danışman hocam Prof. Dr. Ali Osman BELDÜZ’e, tez çalışmam boyunca ilgi ve yardımları için Doç. Dr. Halil İbrahim GÜLER’e ve Dr. Öğr. Üyesi Gizem TATAR’a teşekkürlerimi sunarım.

Sevgisiyle bana her zaman güç veren annem Fikriye KOÇ’a ve tüm varlıklarını benim eğitimim için feda ederek bana her zaman yol göstermiş olan babam Mürsel KOÇ’a,

Hayatımın her aşamasında varlıklarından güç aldığım ağabeylerim; Mehmet Ali KOÇ ve Mustafa KOÇ’a,

Yaşamım boyunca her türlü nazımı çeken, aynı şehirde olamasak da varlığını her daim yanımda hissettiğim canım ablam Nurcan ÖZEN’e,

Attığım her adımda hiçbir desteğini esirgemeyen, her anımda yanımda olan, diğer yarım; sevgili eşim Tuna COŞKUN’a sonsuz sevgi ve minnetle.

Bu günlere gelmem de büyük emekleri olan, eğitimim için maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen; ailem, eşim ve yakında dünyaya gelecek olan minik mucizemiz, oğlumuz; Aras Batın’a ithafen...

Zübeyde COŞKUN

Trabzon 2021

TEZ ETİK BEYANNAMESİ

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum ‘‘Bazı Propolis Fenoliklerinin HIV-1 Revers Transkriptaz ile Moleküler İnteraksiyonu: Moleküler Docking (Kenetlenme) Çalışması’’ başlıklı bu çalışmayı baştan sona kadar danışmanım Prof. Dr. Ali Osman BELDÜZ’ün sorumluluğunda tamamladığımı, verileri/örnekleri kendim topladığımı, deneyleri/analizleri ilgili laboratuvarlarda yaptığımı, başka kaynaklardan aldığım bilgileri metinde ve kaynakçada eksiksiz olarak gösterdiğimi, çalışma sürecinde bilimsel araştırma ve etik kurallara uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim. 27/09/2021

Zübeyde COŞKUN

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ.....	III
TEZ ETİK BEYANNAMESİ.....	IV
İÇİNDEKİLER.....	V
ÖZET	VII
SUMMARY	VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	IX
TABLolar DİZİNİ.....	X
KISALTMALAR DİZİNİ	XI
1. GENEL BİLGİLER.....	1
1.1. Giriş	1
1.2. Retrovirüsler	10
1.2.1. HIV'in Genetik Yapısı.....	11
1.2.2. HIV'in Virion Yapısı.....	15
1.2.3. HIV'in Viral Yaşam Döngüsü	16
1.2.4. Revers Transkriptaz Enzimi	18
1.3. AIDS Tedavisinde Kullanılan İlaçlar	21
1.3.1. Revers Transkriptaz İnhibitörleri	21
1.4. Antiretroviral İlaçlarla Tedavi	24
1.4.1. Antiretroviral Tedavi Öncesi Yaklaşımlar.....	24
1.4.2. Antiretroviral Tedavinin Hedefleri	25
1.4.3. Yüksek Aktiviteli Antiretroviral Tedavi (HAART)	25
1.4.4. Antiretroviral Tedavide Kullanılan Rejimler	26
1.4.5. Birinci ve İkinci Basamak Rejimler	26
1.5. Propolis.....	27
1.5.1. Propolisin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri	33

1.5.2.	Propolislerin Toplam Fenolik Madde İçerikleri	34
1.5.3.	Propolisin Antioksidan Aktivitesi	36
1.5.4.	Propolisin Farklı Çözücülerde Ekstraksiyonları	38
1.5.5.	Propolis ile İlgili Yapılan Çalışmalar	40
1.6.	İlaç Tasarımı	43
1.6.1.	Bilgisayar Destekli İlaç Tasarımı	43
1.6.2.	Ligand Yerleştirme	44
2.	YAPILAN ÇALIŞMALAR.....	46
2.1.	Kullanılan Programlar.....	46
2.1.1.	AutoDock 4.0 ve AutoDockTools.....	46
2.1.2.	BIOVIA Discovery Studio.....	47
2.2.	HIV-1 Revers Transkriptaz Enziminin 3-Boyutlu Protein Yapısının Belirlenmesi.....	48
2.3.	Materyal ve Yöntem	56
2.3.1.	Reseptör ve Ligandların Yerleştirme İşlemi için Hazırlanması	56
2.3.2.	Moleküler Docking Yöntemi.....	57
2.3.3.	Git Bash Programı ile Komut Dosyası Oluşturma	60
2.3.4.	Docking Sonuçlarının Görselleştirilmesi.....	62
3.	BULGULAR VE TARTIŞMA.....	70
4.	SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	79
5.	KAYNAKLAR.....	81
ÖZGEÇMİŞ		

Yüksek lisans Tezi

ÖZET

BAZI PROPOLİS FENOLİKLERİNİN HIV-1 REVERS TRANSKRİPTAZ İLE MOLEKÜLER İNTERAKSİYONU: MOLEKÜLER DOCKİNG (KENETLENME) ÇALIŞMASI

Zübeyde COŞKUN

Karadeniz Teknik Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı
Danışman: Prof. Dr. Ali Osman BELDÜZ
2021, 99 Sayfa

HIV'in neden olduğu AIDS, dünya çapında yaygın olup insan bağışıklık sistemini baskılayarak, vücudu enfeksiyonlara karşı savunmasız bırakmaktadır. Standart antiretroviral ilaçlara karşı HIV-1 direnci görülme sıklığı artmakta ve şu anda kullanımda olanlardan daha az toksik ve ucuz ajanlara ihtiyaç duyulduğundan, doğal ürünler arasından yeni tedaviler aranmaktadır. Aranan bu tedaviler arasında, propolisin antiviral özelliği (Gekker vd., 2005) ve Revers transkriptaz inhibitörü olma özelliği ona olan ilgiyi arttırmaktadır. Bu yüzden, dünyada büyük bir sorun olan HIV-1'in tedavisinde propolis iyi bir aday olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu çalışmada, tasarlanan ligandlar filtrelenerek ilaç olma özelliğine sahip olabilecek propolisin yapısında bulunan sekiz fenolik madde ligand olarak Autodock4 programı ile bir RT kristal yapısı olan 3qip.pdb yerleştirildi. Yerleştirme sonucunda CAPE (Caffeic acid phenetyl ester) ligandı -8,65 kcal/mol'lük skor ile RT enzimine en iyi bağlanan ligand olarak belirlendi. Diğer yedi ligandın da enzim için iyi yerleşme skorları verdiği gözlemlendi. Sonuç olarak HIV-1 revers transkriptaz için inhibitör adayları olan yeni ligandların tasarımı gerçekleştirildi. Daha önceki çalışmalarda etki mekanizması çoğunlukla virüsün hücre içine girişini bloke etmeye yönelik iken (Harish vd., 1997), bizim çalışma hedefimizin ise HIV-1 Revers transkriptaz enziminin inhibisyonuna yönelik olmasıdır. Dolayısı ile hedeflediğimiz yön itibarıyla yenilikçi ve ümit vaat edicidir.

Anahtar Kelimeler: Bilgisayar Destekli İlaç Tasarımı, HIV-1, Propolis, Moleküler Docking (kenetlenme), Revers Transkriptaz

Master Thesis

SUMMARY

MOLECULAR INTERACTION OF SOME PROPOLIS PHENOLICS WITH HIV-1 REVERSE TRANSCRIPTASE: A MOLECULAR DOCKING STUDY

Zübeyde COŞKUN

Karadeniz Technical University
The Institute of Science
Biology Graduate Program
Supervisor: Prof. Dr. Ali Osman BELDÜZ
2021, 99 Pages

AIDS caused by HIV is common worldwide and suppresses the human immune system, leaving the body vulnerable to infections. The incidence of HIV-1 resistance to standard antiretroviral drugs is increasing and new treatments are sought from natural products, as less toxic and cheaper agents are needed than those currently in use. Among these treatments sought, the antiviral properties of propolis (Gekker et al., 2005) and the property of being a Reverse transcriptase inhibitor increase the interest in it. Therefore, propolis emerges as a good candidate in the treatment of HIV-1, which is a big problem in the world. In this study, designed ligands were filtered and eight phenolic substances from propolis contents, which could have the properties of being a drug, were placed as ligands 3qip.pdb, an RT crystal structure, with Autodock4 program. CAPE (Caffeic acid phenethyl ester) ligand was determined as the ligand that binds the RT enzyme best with a score of -8.65 kcal/mol. The other seven ligands were also observed to give good settling scores for the enzyme. As a result, new ligands that are inhibitor candidate for HIV-1 reverse transcriptase were designed. While the mechanism of action in previous studies was mostly to block the entry of the virus into the cell (Harish et al., 1997), our study goal is to inhibit the HIV-1 reverse transcriptase enzyme. Therefore, it is innovative and promising in terms of our purpose.

Keywords: Computer Aided Drug Design, HIV-1, Propolis, Molecular Docking, Reverse Transcriptase

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 1. HIV' in parçacık yapısının vektör çizimi gösterimi.....	5
Şekil 2. HIV Virüsünün genel yapısı.....	12
Şekil 3. HIV' in genomik organizasyonu gösterimi.....	15
Şekil 4. HIV replikasyon Döngüsü.....	18
Şekil 5. Revers transkriptaz enzimi	21
Şekil 6. NRTI'lerin kimyasal yapıları	22
Şekil 7. TDF'nin kimyasal yapısı	23
Şekil 8: NNRTI'lerin kimyasal yapıları... ..	24
Şekil 9. Propolisin arılarda depo şekli	28
Şekil 10. Fenolik halka	35
Şekil 11. Antioksidan ve serbest radikal	37
Şekil 12. AutoDockTools grafiksel kullanıcı ara yüzü.....	47
Şekil 13. AutoDockTools grafiksel kullanıcı ara yüzü ile docking başlangıcı.	58
Şekil 14. AutoDockTools grafiksel kullanıcı ara yüzü ile ligand yükleme aşaması	58
Şekil 15. AutoDockTools grafiksel kullanıcı ara yüzü ile protein yükleme aşaması.....	59
Şekil 16. AutoDockTools grafiksel kullanıcı ara yüzü ile dimensionların seçilmesi.....	59
Şekil 17. Lamackian GA(4.2) ile dock.dpf dosyasının oluşturulması.....	60
Şekil 18. Git Bash Programı ile komut dosyası oluşturma.....	61
Şekil 19. Ligandların bağlanma enerjisi kcal/mol ve Ki(μ M) cinsinden oluşturulması.....	61
Şekil 20. DSV ile proteinin üçüncül yapısının gösterimi	61
Şekil 21. Fenolik Madde Ligandlarının 2 boyutlu etkileşim görüntüleri.	62
Şekil 22. NVP ve 8 Fenolik maddenin kimyasal yapıları.....	64
Şekil 23. RT enzimine yerleştirmede ligandların 3 boyutlu ligand-reseptör etkileşimler...66	

TABLÖLAR DİZİNİ

Sayfa No

Tablo 1. Propolisin genel yapısı ve kimyasal bileşenlerinin oranı	31
Tablo 2. Propolis ekstraksiyonu için kullanılan çözücüler ve elde edilen bileşenler	39
Tablo 3. 120 proteinin çözünürlük değerleri ve uzunlukları	49
Tablo 4. 3QIP yapısına yerleştirilen moleküllerin kcal/mol cinsinden skorları.	70
Tablo 5. Ligandların reseptöre bağlandığı amino asitler.....	78

KISALTMALAR DİZİNİ

AIDS:	Acquired Immune Deficiency Syndrome (Edinilmiş Bağışıklık Yetmezliği Sendromu)
HIV:	Human Immunodeficiency Virus (İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü)
RT:	Reverse Transkriptase (Revers transkriptaz, ters transkriptaz)
IN:	İntegraz
PR:	Proteaz
CDC:	Centers for Disease Control
KS:	Kaposi Sendromu
UNAIDS:	Birleşmiş Milletler HIV/AIDS Programı
WHO:	Dünya Sağlık Örgütü
FDA:	U.S. Food and Drug Administration (Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi)
Gp:	Glikoprotein
Pol:	Polimeraz
CA:	Kapsid protein
NC:	Nükleokapsid protein
LTR:	Uzun Terminal Tekrarları
NLS:	Lokalizasyon Sinyali
NRT:	Nükleosit Revers Transkriptaz
NtRT:	Nükleotit Revers Transkriptaz

NNRT:	Non-nükleozid Revers Transkriptaz
FI:	Füzyon İnhibitörleri
CRI:	Koreseptör İnhibitörler
INI:	İntegraz İnhibitörleri
CTD:	C-Terminal Bölgesi
CD:	Katalitik Özbölgesi (Domain)
QSAR:	Kantitatif Yapı Aktivite İlişkileri
CADD:	Computer Aided Drug Design
LGA:	Lamarkian Genetik Algoritması
AMBER:	Moleküler Dinamik Programı

1. GENEL BİLGİLER

1.1. Giriş

Propolis (arı zambkı), bal arılarının bitki filizleri ve tomurcuklarından topladığı reçine benzeri maddeye verilen isimdir. Propolis yapısında ağırlıklı olarak reçineleri bulundurur ve içeriğinde bulunan çok düşük miktardaki polen bulaşma kaynaklıdır. Nektar propolis üretiminde yapıda çok az kullanılır veya hiç kullanılmaz.

Kimyasal olarak karakterize edilmiş propolisin biyolojik çalışmalar için kullanımı, özelliklerini ortaya çıkarmak ve karşılaştırmalı çalışmalar yapmaktan geçer. Tek bileşenler yerine aktif bileşen gruplarının konsantrasyonlarının ölçümü propolis konusunda daha doğru bir yaklaşım olacaktır. Propolis tipleri üzerinde güvenilir bir standardizasyon ve uygulayıcılar için önerileri sunmak, aynı zamanda spesifik bir biyolojik aktiviteyi belirli bir propolis örneği ile bağlantılandırmayı başarmak için, hala yapılmakta olan birçok çalışma vardır (Bankova, 2005 a,b). Bilim insanlarının propolisle ilgili antioksidan, antimikrobiyal, nörodejeneratif tedavide kullanım, hepatoprotektif (karaciğer koruyucu), hyaluronidaz enzim inhibitörü (antiinflamatuvar etkili), antiureaz aktivitesi, karbonik anhidraz inhibitörü olduğu yönündeki çalışmaları (Sarıkaya vd., 2009; Sahin vd., 2011; Sahin vd., 2012; Yıldız vd., 2013; Yıldız vd., 2014; Can vd., 2015; Saral vd., 2016; Kolaylı vd., 2016; Baltas vd., 2016; Kolaylı, 2017) da bu ürünün biyoaktif değerini destekler niteliktedir.

Propolisin antimikrobiyal özelliği, farklı araştırmacılar tarafından da yaygın olarak araştırılmış ve etkinliği tespit edilmiştir (Grange vd., 1990; Kujumgiev vd., 1999; Sforcin vd., 2000; Orsi vd., 2005c, 2006b; Scazzocchio vd., 2006). Fernandes vd., 2001). Afrika bal arıları tarafından üretilen propolis ile arsız arılar (subfamily Meliponinae) tarafından üretilen propolisin antimikrobiyal etkisini araştırmış ve karşılaştırmıştır. *Partamona* sp. ve *Melipona* sp. kaynaklı *Apis mellifera* tarafından üretilen propolisler benzer aktiviteye sahiptir.

Propolis, aynı zamanda antiviral (Amoros vd., 1992; Serkedjieva vd., 1992; Vynograd vd., 2000; Ito vd., 2001; Huleihel ve Isanu, 2002; Gekker vd., 2005), antifungal (Dobrowolski vd., 1991; Sforcin vd., 2001) ve antiparazit aktiviteler de gösterir (Higashi and De Castro, 1994; De Castro and Higashi, 1995; Salomao vd., 2004; Freitas vd., 2006). Propolisin birçok viral enfeksiyona karşı farmakolojik etkisi ortaya çıkarılmıştır; örneğin

influenza (Serkedjieva vd., 1992), HIV (Ito vd., 2001), adenovirüs (Amoros vd., 1992 a) ve herpes simplex virüs (Debiaggi vd., 1990; Amoros vd., 1994; Huleihel and Isanu, 2002).

Egzema, ülser enfeksiyonları, böbrek enfeksiyonları, nefes darlığı, göz ve boğaz enfeksiyonları propolis tarafından iyileştirilebilen hastalıklardandır (Hill, 1977). Biyolojik etkinliğinin fazla olması sebebiyle, propolisli ürünlerin üretiminde oldukça artış olmuştur. Ayrıca propolis içeren pastiller, diş macunları, güneş koruyucuları, çiklet ve çikolata gibi ürünler farmosötik endüstrisinde ve sağlıklı yiyecek sektöründe büyük bir pazar payına sahiptir (Banskota vd., 2001; Sarıkaya vd., 2009).

Ito ve ark. (2001) tarafından propolisin insan immün yetmezlik virüsü (HIV) kaynaklı hastalıklar üzerine etki çalışmaları yapılmıştır. Propolisin viral hastalıkların tedavisinde kullanım potansiyeli üzerine yapılan bu çalışmalardan, viral bir hastalık olan ve küresel bir sorun haline gelen AIDS (Acquired Immunodeficiency Syndrome) hastalığının tedavisi için oldukça ilgi çekici bir alan olarak karşımıza çıkmaktadır. Buradaki etki mekanizması çoğunlukla virüsün hücre içine girişini bloke etmeye yönelik iken (Harish vd., 1997) bizim çalışma hedefimiz ise, HIV'nin RNA'sını kalıp olarak kullanarak, komplementer DNA yapmakta sorumlu olan HIV-1 Revers transkriptaz enziminin inhibisyonuna yönelik olmasıdır. Dolayısı ile hedeflediğimiz yön itibarıyla yenilikçi ve ümit vaat edicidir.

AIDS, Türkçe'ye "Edinilmiş Bağışıklık Yetmezliği Sendromu" olarak dönüştürülmüştür. AIDS, ilk olarak Amerika Bileşik Devletleri'nde 1981 yılında Haiti'den gelen göçmenlerde gözlemlenmiştir. Keşfinden hemen sonra hızla yayılmıştır. AIDS, fırsatçı enfeksiyonların bağışıklık hücrelerine saldırıp, bağışıklık sistemini çökertmesiyle oluşan bir hastalıktır. HIV (Human Immunodeficiency Virus-İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü) AIDS'e sebep olan etken virüstür (Piot vd., 2001; Küçükoğlu vd., 2009). Hastaların cildinde ve diğer organlarında oluşan nodüller, pnömoni, ağır mukozal pamukçuk gibi belirtilerle oluşan Kapoksi sarkomu (KS) gibi vakaların belirlenmesiyle açıklanmıştır (Küçükoğlu ve ark., 2009). Etken virüs, ilk kez Sinoussi ve ark. (1983) tarafından Fransa Pasteur Enstitüsü'nde izole etmişlerdir (Sinoussi vd., 1983; Küçükoğlu vd., 2009). Uluslararası Virüs Taksonomi Komitesi virüsü "insan immün yetmezlik virüsü" (human immunodeficiency virus; HIV), virüsün neden olduğu "sendrom"u da "edinilmiş bağışıklık yetmezliği sendromu" (acquired immunodeficiency syndrome; AIDS) şeklinde adlandırmışlardır (Coffin vd., 1986; Küçükoğlu vd., 2009).

Retrovirüslerin lentivirüs ailesine olan HIV, tek zincir RNA içeren membran virüsleridir. Mikroplara karşı bağışıklık sistemini ve kazanılmış direnç durumunu baskılayan kronik enfeksiyon hastalığıdır. Retrovirüsler, ters transkriptaz enzimi ile genetik materyellerini, çift zincirli DNA'ya dönüştürebilir. Aynı zamanda tek zincirli RNA içeren membran virüsleridir (Kaya, 2008; Küçükoğlu vd., 2009).

İnsan retrovirüslerinin hastalıkla sonuçlanan en önemli enfeksiyonu, insan immün yetmezlik virüsleri Tip 1 (HIV-1) ve Tip 2 (HIV-2) lentivirüsler tarafından meydana getirilen AIDS' dir. Avrupa ve Kuzey Amerika'da daha patojen olan tip HIV-1 yaygın olup, HIV-2 ise Batı Afrika'da yaygın olan tiptir (Tuofu Zhu, 2005). Benzer yapıları sahip olmalarına rağmen genetik olarak bazı farklılıklar mevcuttur (Yenen, 2010). Ülkemizde tanımlanan ilk HIV-2 enfeksiyonu ise, Bombay'de böbrek transplantasyonu yapılmış bir hastada belirlenmiştir (Ustaçelebi, 20002; Yılmaz, 2007).

HIV-1, iğne, kan-kan etkileşimi ve cinsel yollarla bulaşabilir. HIV-2 ise, anne rahminde bulunan bebeğe sadece cinsel yolla geçmektedir. HIV-1'den daha yavaş olmasının sebebi HIV-1 virüsüyle kıyaslandığında kanda daha düşük bir virüs yoğunluğuna sahip olmasıdır. HIV belirlemede kullanılan testlerin çoğu HIV-2'yi tespit edemez (Oster ve Harold, 2004; Kaya, 2008).

HIV virüsü ile enfekte olmadan önce bağışıklık sistemi, basit enfeksiyonlarla kolayca mücadele edebilmektedir. En basit bir enfeksiyon ölümcül hale gelmesinin sebebi HIV virüsünün bağışıklık sistemini zayıflattığı içindir. Bu tür basit enfeksiyonlardan dolayı birçok AIDS hastası hayatlarını kaybetmişlerdir (Kaya, 2008; Küçükoğlu vd., 2009).

AIDS, modern dünyanın en önemli hastalıklarından biridir (Smith ve Donnela, 2006; Alonso vd., 2006). Dünyada en fazla HIV hastalığı tespiti Sahra altı Afrika bölgesinde (25.98 milyon), Orta Avrupa ise en az görülen bölge (23.959 kişi) olduğu, böylece dünyada 36.7 milyon kişi de HIV virüsü olduğu Dünya Sağlık Örgütü'nün Temmuz 2017 verileriyle belirlenmiştir. 1981 yılından bu yana yaklaşık 35 milyon insanın bu hastalıktan dolayı yaşamını kaybettiği bildirilmiştir.

Türkiye'de ise vakaların en fazla 25-35 yaş aralıklarında görüldüğü de tespit edilmiştir. 1985-2018 tarihleri arasında 1.651 kişinin AIDS hastalığı taşıdığı ve 16.233 kişinin de HIV (+) olduğu belirlenmiştir. Hastaların %79.2'sini erkekler, %20.8'ini kadınlar, %15.2'si yabancılar oluşturmaktadır.

AIDS'in günümüzde bilinen bulaşma yolları; cinsel yolla bulaşma (vajina ya da anus mukozası üzerinden), doğum sırasında, hamilelikte, emzirme ile, enjeksiyon yolu ile ilaç kullanan bağımlılarda bulaşma, sağlık çalışanlarında kaza ile yaralanmayla, kan ürünlerinin transfüzyonu ile bulaşmadır (Midilli, 2007; Öztürk, 2007).

İnsan hayatı için büyük bir tehdit oluşturan bu hastalığın toplumda kontrolünün sağlanması, sağlıklı gelecek nesiller açısından önem oluşturmaktadır. İnfekte olmuş insanda virüs iki ile üç hafta içinde replike olmaya başlayarak, ilk ay içerisinde yüksek seviyelere ulaşır. Virüs replikasyonunun yavaşlaması için devreye kişinin bağışıklık sistemi girer ve böylece altı ay kadar kısa bir sürede kararlı bir noktaya getirir. Birey, "HIV taşıyıcısı" adını alır. Bu zaman insandan insana sekiz ile on sene arasında değişkenlik gösterebilmektedir. Taşıyıcı durumdaki kişinin hedef hücre CD4 T-lenfositleri sayısında azalma olmasının sebebi günde yaklaşık 101-109 arasında HIV üretmesidir. İmmun sistemin önemli bir yapı taşlarındaki bu azalma bireyi enfeksiyonlara karşı savunmasız bırakır. CD4 T-lenfosit sayısı kritik düzeyin (<350) altına inmiş bir kişi, tedavi görmez ise AIDS gelişir. Vücut fırsatçı enfeksiyonlardan korunamaz ve kişi bir ile iki sene içerisinde hayatını kaybeder. Günümüzde HIV tedavisinde kullanılan birçok farklı sınıf antiretroviral bulunmaktadır (NRTI, NNRTI, PI, II). Kombinasyon şeklinde kullanılan bu ilaçların amacı HIV replikasyonunu engelleyerek CD4 T-lenfosit sayısını kritik düzeyin üzerinde tutmaktır (Afacan ve Menteş, 2007).

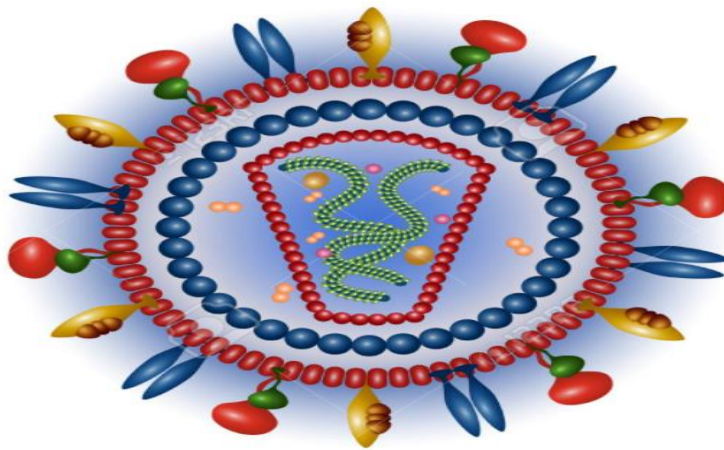
Tedaviye başlayan kişi antiretroviral ilaçları doz atlamadan almak mecburiyetindedir. Bu durum hastaya çok iyi bir şekilde anlatılmadan tedaviye başlanmamalıdır. Mevcut antiretroviraller sadece infekte olmayan hücreleri HIV enfeksiyonundan korudukları için birey bu ilaçları alırken doz atlarsa ilacın kandaki seviyesi düşer ve HIV bu korunmasız hücreleri infekte eder. HIV, hasta vücudunda düşük ilaç düzeyinde çoğalma fırsatı bulduğu için, yaban tipteki virüsten farklı olarak mutant virüsler ortaya çıkar. Kullanılan antiretrovirallerin seçici baskısı altında yaban tipteki virüs replike olamazken, ilaca karşı dirençli olanlar virüs popülasyonunda baskın hale geçerler. Bunun bir sonucu olarak, kullanılan antiretrovirallere karşı kısa sürede direnç meydana gelir (A Guide to HIV Drug Resistance, 2009), Afacan ve Menteş, 2007, Anti-HIV ilaçları, 2010, Midilli, 2007).

HIV ilaç direnci, tedavide başarısızlığın en önemli sebebidir. İlaç direncinin genetik temeli, virüsün yüksek replikasyon ve mutasyon oranından doğmaktadır. İlaç direnci, primer olarak bir bireyin dirençli bir suş ile infekte olması ile de oluşabilir. Tedavi olmayan

hastalarda saptanan ilaç direnci, herhangi bir ilaç baskısı altında bulunmayan ve seçici baskının olmadığı durumlarda primer ilaç direnci olarak açıklanmaktadır. Bu tür ilaç direncinin uzun yıllar kalıcı olabileceği söylenmektedir (Lisa vd., 2011, M. Oette vd., 2004). Enfekte kişilerde direnç ile ilgili bir diğer önemli nokta ise dirençli suşlar ile ortaya çıkan süperenfeksiyonlardır. Direnç gelişimi açısından seropozitif kişiler arasında bulaşmaların önlenmesi de önemli bir konudur. Tedavi sürecindeki kişiler, tedaviye uyum gösterebilir bile tedavi başarısız sonuçlanabilir (Demeter LM vd., 2000).

Tüm bunlar göz önüne alındığında direnç testleri tedaviye başlamadan önce yapıldığından, daha iyi tedavi düzenlemelerine olanak oluşturmaktadır. Böylece primer dirençte düşüş meydana gelecektir (Lisa vd., 2011; Midilli, 2007).

HIV tanısı konmuş bir vakada klinik olarak kontrolün sağlanması ve uygun tedavi belirlenmesi için düzenli olarak yapılması gereken testler bulunur. Bunlar; CD4 T-lenfosit sayımı, viral yük testi ve direnç testleridir. Direnç testleri, genotipik ve fenotipik olarak ikiye ayrılmaktadır. Günümüzde direnç belirlemede genellikle hem zaman hem de maliyet sebebiyle daha fazla avantaj sağlayan virüsün hedef enzimlerini kodlayan genlerin sekans analizine dayanan genotipik testler yeğlenmektedir (Beerenwinkel vd., 2001; Midilli, 2007), AIDS'in tedavisi, kimyasal anti-HIV ajanlarını kapsayan araştırmalar üzerine odaklanarak sürmektedir (Abad vd., 2011).



Şekil 1. Beyaz arka plan üzerinde izole renkli HIV virüsü parçacık yapısının vektör çizimi (Yıldırım, 2017).

HIV, replikasyonu için, üç enzim kodlar: HIV-1 revers transkriptaz (RT), HIV İntegraz (IN) ve HIV proteaz (PT). Virüsün hücreye girişini takiben, viral RT enzimi viral RNA'nın DNA'ya dönüşümünü katalizler. Viral DNA çekirdeğe girer ve konak hücrenin kromozomal DNA'sına entegre (integrasyona) olmaya başlar (Abad vd., 2011).

Revers Transkriptaz enzimi önce, RNA tümör virüslerindeki RNA-bağımlı DNA sentezi araştırılırken, 1970'de keşfedildi Prensip olarak, RT kalıp olarak tek zincirli bir RNA'yı kullanarak, komplementer DNA yapan bir DNA polimerazdır. Bu amaçla çok fonksiyonlu enzim, RNA bağımlı DNA polimeraz (RDDP), Ribonükleaz H (RNaz H) ve DNA-bağımlı DNA polimeraz (DDDP) aktiviteleri bulundurmaktadır (Baltimore, 1970).

Anti-HIV ilaçları, HIV'in replikatif döngüsündeki aktivitelerine göre üç farklı grup altında sınıflandırılır ve HIV'in tedavisi için kabul görmüş 25'den fazla bileşen mevcuttur; bunların çoğu Nükleosit proteaz inhibitörü (PI'lar), RT inhibitörü (NRTI), non-nükleosit RT inhibitörleri (NNRTI)'dir (Warnke ve Barreto, 2007, Zhan vd., 2009).

Günümüzde bilinen iki tip HIV-1 RT inhibitörü bulunmaktadır. Birincisi, polimerazın substratına benzeyen bir nükleosit analogu olan nükleosit HIV-1 RT inhibitörü (NRTI) 'dir. Bu inhibitörlerin katalitik bölgelere bağlanması, HIV-1 RT işlevinin kesilmesine neden olur. Bununla birlikte, nükleosit benzeri NRTI insan mitokondriyal polimerazını da inhibe edebilir; Dolayısıyla NRTI çok toksik yan etkilere sahiptir. İkinci tip inhibitör, nükleozit olmayan HIV-1 RT inhibitörüdür (NNRTI). Hidrofobik özelliklerinden ötürü, bu inhibitörler, katalitik konumdan uzaktaki HIV-1 RT'nin hidrofobik cebine (allosterik bölgesine) bağlanır. NNRTI, çok yüksek seçicilik gösterir ve sadece HIV-1 RT'ye spesifik olarak bağlanır (Shen vd., 2003; Masuda vd., 2004; de BMP, 2010).

Günümüzde insanların HIV'a karşı kullanmak üzere ABD Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından lisanslanmış ve onaylanmış 30 bireysel veya kombine antiretroviral ilaç vardır. Anti-HIV ilaçlarının sınıfları öncelikle HIV yaşam döngüsündeki faaliyet alanları/hedefleri olarak tanımlanır (Rege A., vd, 2015). FDA onaylı NRTI, NNRTI ve PI'lerin tümü, hepatotoksisite (hepatit, hepatik nekroz ve hepatik steatoz), hiperglisemi, hiperlipidemi laktik asidoz, lipodistrofi, osteonekroz ve osteoporoz gibi çeşitli yan etkilerle birlikte (Rege A. vd., 2015).

Literatürden bilindiği üzere, birkaç ilacın karışımıyla (tipik olarak 3 ya da 4) yapılan yüksek derecede aktif antiretroviral terapi (HAART), önemli ölçüde iyileşen hastaları ortaya çıkarmıştır. Uzun süreli kullanımın yol açtığı olumsuz etkiler ve toksisiteler ve ilaç

direncinin ortaya çıkması sebebiyle ile tedavi edici etkileri sınırlanmaktadır (Abad vd., 2011).

Yeni tanımlanmış RT inhibitörleri, yeni yapısal özellikler ve enzimi inhibe eden farklı mekanizmalar ile direncin gelişmesini geciktirmekte ve böylece HIV enfeksiyonunu kontrol altına alabilmektedir. Bu gibi etkileri olan yeni kimyasal maddeler, doğal ürünlerin taranması gibi çeşitli yaklaşımlarla ortaya çıkarılır (Matthee G. vd., 1999).

Muhtemelen doğal kaynaklardan anti-HIV ilaçları için üstlenilen en kapsamlı tarama çabası ABD Ulusal Kanser Enstitüsü (NCI) tarafından yapılmıştır. Şimdilik, bu çabadan gelen en umut verici bileşikler, meyve ve *Calophyllum lanigerum* dalları özlerinden elde edilmiştir. Sekiz kumarinin izole edildiği, diğer analoglara kıyasla hücre esaslı HIV-1 analizinde, A ve B kalanolidlerin en fazla aktif olduğu keşfedilmiştir.

Calanolide A ve Calanolide B, nükleosit olmayan HIV-1-RT inhibitörleri olarak görev yaparlar. Bir ribozomal RNA kalıp olarak kullanılarak HIV-1-RT'ye karşı test edildiğinde, HIV-2-RT'nin değil sadece HIV-1-RT'nin seçici olarak inhibisyonu (bir ilaç olarak kalanolid A için 0,007 μM 'lik IC_{50}) bileşiğin özel özelliklerini ve potansiyel yararlılığını göstermektedir. Bu, kalanolid A'nın HIV direnç suşlarına karşı aktif olması ile desteklenmektedir.

Yapılan bir çalışmada, bir liken olan *Cetraria islandica*'dan elde edilen Asetogenin protolikhesterinik asitin HIV-1-RT'sini inhibe ettiği gösterilmiştir (Pengsuparp vd., 1996). Taninlerin RT inhibitörleri oldukları bilinmektedir (Kakiuchi vd, 1985). Oenothrin B gibi Ellagitaninlerin *in vitro*'da kısmen RT inhibisyonuna bağlı bir aktiviteyi baskılayarak, HIV replikasyonunu inhibe ettiği bulunmuştur. Yine digallik asitin 0,5 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonda HIV-1-RT için %90 inhibisyona neden olduğu bilinmektedir. Bu kapsamda HIV ve RT inhibisyonuna neden olan 42 farklı tanin açıklanmıştır. Quercetin, Myricetin, Baicalein ve Quercetagen gibi birçok flavonoidin farklı konsantrasyonlarda HIV-1-RT'yi hemen hemen tamamıyla inhibe ettiği bilinmektedir. (Okuda vd., 1989).

Literatürde *D. cinerea*'dan elde edilen Avarone E ve Mavarol F'nin, araştırılan bileşenler arasında, en etkili olanlardan olduğu saptanmıştır (Isaacs vd., 1993).

Literatürden bilindiği üzere, doğal kaynaklardan elde edilen 60.000'den fazla ekstrakt, HIV-1'e karşı değerlendirilmiştir, bunun en önemli sonucu, kalanolidler olarak bilinen bileşik sınıfıdır. Özellikle, *Callophyllum lanigerum*'un meyveleri ve dallarından ekstrakte edilmiş, (+) - Calanolide A (NSC 650886), Calanolide B (NSC 661122; costatolid) ve

Dihydrocalanolide B (NSC 661123; Dihidrokalanolid). Her üç kalanolidin laboratuvara uyarlanmış HIV-1 varyantlarını inhibe ettiği bilinmektedir (Rege vd, 2015).

Bu kalanolidlerin birer fenolik madde olması ve propolisin yapısında da bol miktarda ve sayıda fenolik bulunması, yapılan proje çalışmalarında alınan pozitif sonuçlar, araştırma sonuçlarına da yansımıştır.

Calanolide A, HIV-1'e karşı güçlü bir aktiviteye sahip yeni, doğal olarak bulunan, nükleosit olmayan revers transkriptaz inhibitörü (NNRTI) olarak bulunur (Sethi vd., 1975). Benzer şekilde, 2010 yılında, *Homalanthus nutra* 'dan izole edilen Prostratin'in I. evre insan klinik çalışmaları, Los Angeles, California'daki AIDS Research Alliance (Sethi vd., 1979) tarafından gerçekleştirilmiştir.

Bevirimat (PA-457), HIV Gag protein işlevinin son aşamasını inhibe ettiğine inanılmaktadır (Sethi vd., 1983).

Özellikle HIV-1-RT inhibitörleri olarak AIDS'in tedavisinde mümkün olan kullanıma ilişkin çok sayıda bileşik incelenmiştir. Yine de, daha ileri HIV-1-RT inhibitörlerinin keşfi, heyecanı da beraberinde getirir; zira enzimi inhibe eden yeni mekanizmalara sahip yeni ve daha güçlü bileşiklerin bulunması ümidini besler. Bugüne kadar denizel ve karasal makro ve mikroorganizmaların taranması, HIV-RT'yi inhibe edebilen çok sayıda doğal ürünün tanımlanmasına sebep olmuştur. Beklendiği gibi, birçoğu ya spesifik olmayan bir şekilde, örneğin; tanenler ve flavonoidler buldururlar ya da etki göstermezler ya da çok sitotoksiktirler. Doğal kökenli en umut verici RT inhibe edici bileşikler muhtemelen NCI tarama programında tanımlananlardır: kalanolid A, şu anda mevcut NNRTI'ler ve HIV-RT'yi inhibe eden Mikhelamin B ile karşılaştırıldığında farklı bir şekilde yeni inhibitör özellikleri olan bir HIV-1-RT inhibitörüdür (Cardellina J.H vd., 1993).

Yüksek bitkiler, HIV-1-RT inhibitörleri için muhtemelen potansiyel doğal kaynak olarak karşımıza çıkan en geniş kapsamlı araştırılmış bitkilerdir. Bu bitkilerden elde edilen ekstraktlardan inhibitor maddelerin saflaştırma aşamalarında birçok sıkıntı meydana gelmektedir, bunların en önemlisi de ekstraktlardan sorun teşkil eden bileşiklerin uzaklaştırılmasıdır. Bu sorunlar aşıldığında, HIV-1-RT inhibitörleri için daha fazla çalışmanın daha etkili olacaktır (Cardellina vd., 1993).

HIV replikasyon döngüsü için yeni inhibitörler araştırmak birçok araştırmacının temel ilgi alanlarından biridir ve umut verici bir şekilde hem sentetik hem de doğal lider bileşikler bulma yönünde büyük çabalar gösterilmiştir (Clerc ve De, 1996). HIV-1 Revers

transkriptaz (HIV-1 RT), HIV'in çoğalmasını inhibe etmek için ana hedeflerden biridir. Bu enzim, viral RNA'nın DNA'ya transkripsiyonu ve sonrasında konak hücreye entegrasyonundan sorumludur ve yeni viral partiküllerin sentezi için gerekli bilgiyi taşır. HIV-1 RT'nin inhibisyonu, ayrıca son keşfedilen HIV proteaz ve integrazın inhibisyonu, infekte olmuş kişinin ömrünü uzatmak için uygulanan başarılı ilk terapötik yaklaşımdır (Barre-Sinoussi, 1996).

Nükleosit ve non-nükleosit inhibitörler tedavilerde kullanılmaktadır (Clercq, 2001). HIV, terapötik ajanlara karşı direnç geliştirme konusunda yüksek bir yeteneğe sahiptir ve bu nedenle yeni umut vadeci maddeler keşfedilmelidir. Yeni öncü bileşiklerin keşfedilmesinde sıkça kullanılan yöntemlerden biri de sentetik ve doğal maddelerin araştırılmasıdır. Bu nedenle, tarama stratejileri ve biyoassaylar geliştirilmiştir. HIV-1 RT inhibe edici aktivitede tarama için ilk geliştirilmiş testler nispeten karmaşıktır, zaman alıcıdır ve radyoaktif malzeme ile çalışma gerekmektedir (Tan ve Pezzuto, 1991).

Çeşitli doğal ürünler veya bunların türevleri, insan immün yetmezliği virüsü tip 1 (HIV-1) enfeksiyonunun tedavisi için potansiyel adaylar olarak düşünülmüştür (Cowan, 1999; De Clercq, 2000). Standart antiretroviral ilaçlara karşı HIV-1 direnci görülme sıklığı artmakta ve şu anda kullanımda olanlardan daha az toksik ve ucuz ajanlara ihtiyaç duyulduğundan, bu doğal ürünler arasından yeni tedaviler aranmaktadır.

Aranan bu tedaviler arasında, propolisin antiviral özelliği (Gekker vd., 2005) ve Revers transkriptaz inhibitörü olma özelliği ona olan ilgiyi arttırmaktadır. Bu yüzden, diğerlerine kıyasla dünyada daha büyük bir sorun olan HIV-1'in tedavisinde propolis iyi bir aday olmaktadır.

Antik çağdan beri tıbbi amaçla kullanılan propolisin, edinilmiş immün yetmezlik sendromu (AIDS) ile ilişkili fırsatçı patojenlere karşı etkinlik de dahil olmak üzere geniş spektrumlu antimikrobiyal etkinliğe sahip olduğu daha yakın zamanlarda sunulmuştur (Banskota vd., 2001; Burdock, 1998). Antiviral özelliklerinin incelenmesi esas olarak Herpes Simplex virüsüne (Amoros vd., 1994; Vynograd vd, 2000) ve influenza virüsüne (Serkedjieva vd., 1992) odaklanmıştır. Bir hücre hattı (CEM hücreleri) kullanarak, Harish ve ark. (1997) propolisin HIV-1 ekspresyonunu potansiyel olarak inhibe ettiğini göstermiştir. Literatürde belirtildiği üzere, AIDS tedavisi için tanımlanan ve kullanılan birçok inhibitör ortaya çıkarılmıştır ama bu inhibitörlerin çoğunun aktiviteleri düşük, yine bir çoğu non selektif ya da sitotoksiktir. Bu yüzden HIV virüsü belirli bir süre kullanılan

ilaçlara direnç göstermekte ve bu da yeni inhibitör ihtiyacını artırmaktadır. Yaptığımız bu tez çalışması ile de literatürdeki önemli bir eksiklik giderilecek, böylece propolisin HIV-1 inhibe edici özelliğinde etkin görev alan molekül ya da moleküllerin tanımlanması yapılacaktır.

1.2. Retrovirüsler

RNA virüsleri olan retrovirüs'ler, 80-120 nm büyüklüğünde ve küresel görünüme sahiptir. En içte, genomunu oluşturan RNA ve bununla sıkı ilişkide bulunan bir protein (p15) ve revers transkriptaz enzim molekülü bulunur. Bunun dışında ikozohedral simetri gösteren bir nükleokapsid, nükleokapsidin dışında bir ara membran (p17) ve en dışta glikoproteinlerden meydana gelmiş (Gp120+Gp41) zarf bulunur. Ara membran, nükleokapsid, genom ve genomla ilgili proteinlerle birlikte "çekirdek" olarak adlandırılır (Buchsacher, 2001).

İkozahedral simetriye sahip bir kapsid viral genomu sarar. Ribonükleoproteinler kapsid bölümünde bulunur. Bu lipid tabaka reseptör bağlayıcı proteinleri içine alan polipeptit zincirlerini içerir. Bu bağlantı konakçı hücrelerin membran reseptörlerine bağlanmasını sağlayarak enfeksiyon işleminin başlamasını sağlar (Buchsacher, 2001). Virüsün yapısı daha önce Şekil 2’de gösterilmiştir.

Retrovirüsler, genetik bellek olarak virionlarında DNA değil RNA taşırlar. Virüsün genetik bilgisi tek zincirli RNA’da depolanır. Retrovirüs bir hücreye girdiği zaman RNA’nın bir zincirini serbest bırakır (Sverdlov, 2000). Retrovirüs'ler revers transkriptaz enzimine sahip olan tek virüs grubudur ve kendi revers transkriptaz enzimini ile viral RNA’yı kullanarak komplementer DNA oluştururlar. Bu yeni DNA “provirüs” olarak adlandırılır ve konak hücrenin DNA'sına entegre olmuş olur. Böylece DNA provirüsünden hücresel RNA polimeraz aracılığı ile RNA transkripsiyonu oluşur. Bir retrovirüs üreme hücresine girdiği zaman bu işlem tekrarlanır. Bu sayede binlerce nesil sonra bile üreme hücresinde bu virüslerin DNA parçacıklarına rastlamak mümkündür (Sverdlov, 2000).

Retrovirüslerin sadece bölünen hücrelere entegre olmasının sebebi nükleer membrandan geçemedikleri içindir. Lentivirüsler bölünmeyen hücrelere entegre olabilmektedirler (Kars, 2004). Retrovirüsler hücre içindeki yabancı DNA’ların belirlenmesinde kullanılır. İnsanlarda endojen retrovirüsler genomun yaklaşık olarak % 1’ini

olustururlar ve her bir insanın genomik DNA'sında yaklaşık olarak 30.000 farklı retrovirüs bulunur (Sverdlov, 2000). Retrovirüsler entegre oldukları DNA 'da uzun süreli ve kalıcı enfeksiyonlara sebep olmaktadır (Buchsacher, 2001).

1.2.1. HIV'in Genetik Yapısı

Retrovirüs ailesindeki HIV, bir Lentivirüs cinsidir. "Lenti" sözcüğü "yavaş" anlamına gelmektedir. Böyle denmesinin amacı bu virüsün vücuda enfekte olması ile önemli belirtilerin oluşması arasında uzunca bir zamanın olmasından kaynaklanır. Diğer virüsler genetik materyal olarak DNA taşıırken, retrovirüslerin genomu RNA'dır (Card vd., 2008, Küçükkoğlu vd., 2009).

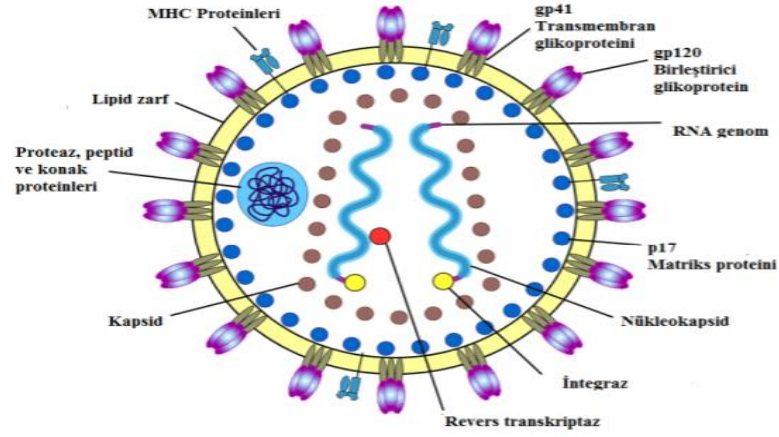
AIDS'e Sonradan Edinilmiş Bağışıklık Sistemi Yetersizliği Sendromu ifadesi verilmesinin sebebi hastalığın genetik olmadığını anlamına gelmektedir. 1983'te ise HIV Robert Gallo ve Luc Montagnier tarafından AIDS'e yol açan etken patojen olarak açıklanmıştır. (Barré-Sinoussi vd., 1983), (Popovic M, Sarngadharan MG, Read E, vd., 1984).

1959 yılında, şu anki ismiyle Demokratik Kongo Cumhuriyeti olan bölgede yaşayan bir erişkin Bantu adamından alınan kan örneğinde, dünyadaki bilinen en eski HIV-1 enfeksiyonu saptanmıştır (Zhu T. vd., 1998). Bu kan örneğinin ve Afrika'nın aynı bölgesinden alınan diğer kan örneklerinin HIV sekanslaması, insanların HIV-1 M grubunun yaygın bir atasını doğal koşullar altında yaklaşık olarak 1933 yılında (1919-1945), türler arası bulaş ile aldığını düşündürmektedir (Worobey M. vd., 2008).

1985'te, ilk serolojik tanı testi kullanılmaya başlanmıştır. 1995-1996 yıllarında ise hastaların kanında viral yük miktarını saptayabilen ilk testler kullanıma girmiştir. İlk antiretroviral ajan olan zidovudin (AZT) ise, 1987'de lisans almış ve klinik kullanıma girmiştir. AZT, o yıllarda tek tedavi seçeneği olduğu için, hastaların sadece semptomlarını azaltmış, AIDS evresine gidişlerini yavaşlatmıştır. 1995 yılında gelişmiş ülkelerde çok etkin antiretroviral tedavi (Highly Active Antiretroviral Therapy, HAART) kullanımının yaygınlaşmasından sonra, AIDS insidansında ve mortalitesinde keskin azalmalar gözlenmiştir (Pallela vd., 1998).

HIV küremsi bir yapıya sahiptir. Çapı 100-120 nm'dir (Şekil 2). RNA genomu içeren koni şeklinde bir özyapı (nükleokapsidi) bulunmaktadır ve lipid zar ile çevrilidir. (Sierra vd.,

2005, Küçüköğlu vd., 2009). HIV virüsündeki RNA tek zincirli ve iki adettir. Virüs genlerinin kopyası, bu zincirlerdeki RNA'da mevcuttur. Revers transkriptaz (RT) enzimi protein kılıf içinde iki adettir. (Card vd., 2008, Küçüköğlu vd., 2009). Kopyalama işlemi retrovirüslerde revers transkriptaz enziminin yardımı ile gerçekleştirir. Revers Transkriptaz enzimi çift zincirli DNA haline getirmiş olduğu RNA genomunu enfekte eder. Hücrenin kromozomuna entegrasyonunu sağlamaktadır. Entegre işmeninden sonra "provirüs" ismini alır (Lever, 2009, Küçüköğlu vd., 2009).



Şekil 2. HIV Virüsünün Genel Yapısı (URL-1)

Kompleks proteinler, HIV'ın konak hücreğine bağlanmasını sağlar ve viral zarf yüzeyinde bulunmaktadır. Çıkıntı (peplomer) olarak isimlendirilen bu proteinler, dışa doğru yönelmektedir. HIV virüsünde yaklaşık 72 tane çıkıntı bulunmaktadır ve başlık ile gövdeden oluşur (Card vd., 2008, Küçüköğlu vd., 2009). Bu başlıkların her biri üç adet yüzey glikoproteinden (Gp120) ve gövdelerin her biri de üç adet transmembran glikoprotein (G41) oluşmaktadır (Card vd., 2008, Roux vd., 2007, Küçüköğlu vd., 2009). Polimeraz (pol), zarf (env) ve özel antijen olan gag HIV virüsünün yapısında bulunan 3 adet gendir. Bu proteinlerden başka, dört yardımcı proteine ve iki düzenleyici proteine sahiptir.

Yardımcı proteinler, viral proteinler u (Vpu), r (Vpr), viral enfeksiyon faktörü (Vif), ve negatif efektör (Nef) iken, düzenleyici proteinler ise; virüs gen ekspresyonunu düzenleyici (Rev) ve Transkripsiyonel transaktivatör-(Tat)'dür (Sierra vd., 2005, Küçüköğlu vd., 2009). Enfeksiyonun oluşmasında, viral-RNA kontrolü ve kopyalamada bu yapıların önemli görevleri mevcuttur. Gp120 konak hücre yüzey reseptörlerine bağlanmayı sağlarken,

Gp41 zarf glikoproteine ve virüs zarfına bağlanma görevlerini yerine getirir. Gp1 ve Gp41, Gp160'ın proteaz enzimi tarafından ikiye ayrılması ile meydana gelir. Gp41 ise, viral zarf ve hücre membranının hücreye füzyonunu sağlarken, Gp120 konağın CD4 hücre yüzeylerine ve koreseptörlere bağlanmasını sağlar (Lever, 2009, Freeman ve Freed, 2001, Yılmaz, 1999, Küçükoglu vd., 2009). Virüs; deterjan, ısı, kuruluk, asit, solvent gibi çevre koşullarına dayanıksızdır (Yıldırım, 2017).

Geniş bir çeşitliliğe sahip bir zarflı virüs ailesi olan, tek zincirli RNA virüsü retrovirüsler; genomik sekans bilgilerini “Reverz Transkripsiyon” işlemi aracılığı ile transfer ederler. Bu diğer pek çok canlı hücrede gerçekleşen replikasyon - transkripsiyon - translasyon genomik sekans bilgi akışından farklılık göstermektedir. RNA'dan DNA'ya olan bu konversiyon, biyolojik sistemlerdeki geriye doğru bilgi akışının ilk örneğidir (Yıldırım, 2017).

İnsan Retrovirüsleri üç gruba ayrılmıştır. Oncovirüsler, Lentivirüsler ve Spumavirüsler. Oncovirüsler çok çeşitli sayıda kanser ile ilişkilendirilmiştir. İlk insan retrovirüsü HTLV-1 (Human T-lymphotropic virus type 1) 1970'lerin sonlarına doğru keşfedilmiş ve T-hücre lösemisi, kronik nörolojik durumlar ile ilişkisi gösterilmiştir. HTLV-1 'in yakın akrabası olan HTLV-2 de yine insan lösemisi ile ilişkili bulunmuştur. İnsan retrovirüslerinin hastalıkla sonuçlanan en önemli infeksiyonu İnsan bağışıklık yetmezliği virüsleri Tip-1 ve Tip-2 (HIV-1, HIV-2) Lentivirüsler tarafından meydana getirilen “Edinilmiş İmmün Yetmezlik Sendromu” (AIDS) dur. Lentivirüslerin diğer retrovirüslerden farkı ise klinik belirtilerinin ortaya çıkmasına kadar çok uzun süre latent halde kalmaları ve genomik yapılarının daha karmaşık olmasıdır. Spumavirüsler ise insanda bilinen herhangi bir hastalığa neden olmamaktadır (Ağaçfıdan A. Ve Anğ Ö, 1999), (Midilli, 2007), (Ustaçebi, 2002), (Tuofu Zhu, MD (2005), (Yenen vd., 2010).

HIV birincil olarak immün sistem hücrelerini infekte eden bir RNA virüsüdür. Revers Transkriptaz virüsün genomik RNA'sını bir DNA kopyasına dönüştürerek konak hücre genomuna integre olmasını sağlamaktadır. Buna ek olarak retrovirüslerde bulunan üç temel gene (env, gag ve pol) ek olarak kompleks düzenleyici genler (tat, rev, nef) ve yardımcı genler (vpr, vpu, vif) de bulunmaktadır. Bu düzenleyici ve yardımcı genlerin etkisiyle HIV diğer retrovirüslerden belirgin bir şekilde ayrılmakta, türlerin kısıtlanması ve infektivite parametreleri üzerinde etki göstermektedir. HIV-1 virionu içerisinde elektron mikroskopunda tipik konik görünüme sahip merkezin bulunduğu küresel partiküller

şeklindedir. Etrafı tomurcuklanma sırasında büyük ölçüde konak hücresinden alınmış olan lipid zarf ile çevrilidir. Lipid yüzeyinde ve zarf içinde virüse ait glikoproteinler (Gp41 ve Gp120) bulunur. MHC antijenleri ve aktin gibi konak hücre proteinleri, viral zarf içinde viral zarf proteinleri ile birlikte gömülü olarak kalırlar. (A Guide to HIV Drug Resistance. (2009), (Jacobson vd., 2009).

Virüsün genomu iki adet, birbirlerinin kopyası olan pozitif anlamlı, tek zincirli nükleoproteinlerle kompleks halinde bulunan RNA'dan oluşur. Genom uzunluğu 9-10 kilobaz uzunluğundadır. Her iki ucunda uzun tekrar bölgeleri yer alır. LTR'ler (long terminal repeats) transkripsiyonu düzenleyici sekanslar, RNA işleme sinyalleri, RNA paketleme bölgeleri ve entegrasyon bölgeleri içerir (Aygün, 2007), Batchelor vd., 2001, Bieniasz, 2006), Croteau vd., 1997, T.C. Sağlık Bakanlığı 1 Ekim 1985-31 Aralık 2010 verileri).

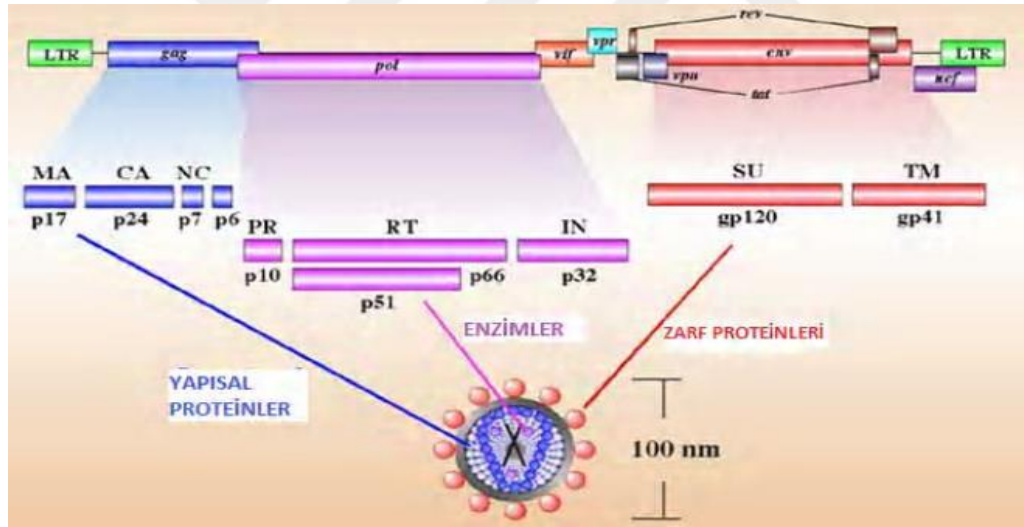
RNA, viral protein p24'ün yaklaşık olarak 2000 kopyasından oluşan konik şekilli bir kapsid ile çevrilidir. Zarf peplomerleri çıkıntı şeklinde olup HIV partikülünün membranında yer alır. Her biri 9-10 nm uzunluğunda olup virionun en büyük moleküler ağırlığına sahip (Gp160)'tir. Zarf glikoproteinleri olarak bilinen Gp160 ise membrana gömülü olarak bulunan Gp41 (Transmembrane=TM) ve yüzeyde serbest olarak bulunan Gp120 (Surface=SU) glikoprotein olarak iki kısımdan oluşur. Gp41 virüsün membran ile hücre arası füzyon yapma özelliğine sahiptir. Gp120 HIV'in hücre yüzeyindeki reseptörlere birleşmesinde ve tutunmasında rol alır. CD4 reseptörü T4 hücrelerinde bulunur ve bu kademe virüsün konak hücreyi infeksiyonundaki ilk kademesidir (Midilli, 2007, Yenen vd., 2010).

Zarf proteini HIV'in en çok çeşitlilik gösteren komponentidir. Bunun yanı sıra Gp120'nin kendisi yapısal olarak yüksek çeşitlilik gösteren (V) ve sabit (C) bölgeler olmak üzere ikiye ayrılır. V bölgesinin bu değişkenliği zarf fonksiyonelliğinin bir ürünü olabilir. HIV zarfında görülen bu çeşitlilik aynı zamanda benzersiz bir kompleks antijenik değişiklik sunmaktadır (Jennifer vd., 2009).

1.2.2. HIV 'in Virion Yapısı

HIV virüsü, sferik yapıda olup dondurma külahı şeklindeki öz yapısını zarf veya lipid membran çevrelemektedir. Virionda bulunan major kapsid proteini (NC), matriks proteini (MA), *gag* geninin ürünleridir. Membranında zarf glikoproteini olarak bilinen 72 adet çıkıntı mevcuttur. Gp120 ve Gp41, hücre yüzeyindeki reseptörlerle birleşmedeki tanıma rolünü üstlenmektedir. Transmembran glikoproteini olan G41 iki tabakalı lipid içinde yer alırken, Gp120 ise virüsün yüzeyinde yer alır ve Gp41'e bağlıdır (Uzun Ö., Ünal S., 2002).

Uygun hücre yüzeyi reseptörlerini taşıyan hücreleri bağlamak ana fonksiyonudur (Murray vd., 1998). Serbest HIV partikülünde bulunan RNA dokuz kb uzunluğunda olup 9,749 nükleotit içerir. RNA genomunda dokuz gen bölgesi (yapısal, regülatör, aksesuar genleri kodlayan genler) bulunur (Şekil 3) ve 15 farklı proteini kodlar (Murray vd., 1998).



Şekil 3. HIV'in genomik organizasyonu (URL-2)

HIV, lentivirüs cinsi ile genetik olarak ilişkilidir. Lentivirüsler tipik olarak, uzun süreli bir latent dönem, inatçı viral replikasyon ve merkezi sinir sistemi tutulumu ile seyreden kronik bir tablo oluştururlar. Retrovirüs genomu birbirine özdeş iki tek zincirli RNA molekülünden oluşmaktadır ve *gag*, *pol* ve *env* gibi yapısal genleri bulunmaktadır. Temel yapıları (örneğin *gag*, *pol* ve *env* gibi yapısal genlerin varlığı) tüm retrovirüslerle aynı olmasına rağmen bu iki tipin genom organizasyonları birbirinden farklıdır. Ayrıca, bu üç gene sahip olmanın yanı sıra, yaşam döngüsünde düzenleyici rol oynayan regülatör ve

aksesuar genlere sahiptirler. Her iki virüs de AIDS (Edinilmiş Bağışıklık Yetmezlik Sendromu) etkenidir. Bununla birlikte HIV-2, HIV-1'e oranla daha az virulan gibi gözükmemektedir ve enfeksiyonun AIDS tablosuna dönüşümü daha uzun bir süre almaktadır (Pillay vd., 1994).

HIV partikül yapısı, HIV-1 ve HIV-2'de benzerdir. Diğer retrovirüslere benzer şekilde *gag* geni, yapısal proteinleri (p6, p7, p24) ve matriksi (p17) kodlarken, *env* geni hücre yüzeyi reseptörleri kabul edilen viral zarf glikoproteinleri Gp41 ve Gp120'yi kodlar. Pol geni ise viral replikasyon için hayati öneme sahip ve viral RNA'nın DNA'ya çevirimini sağlayan ters transkriptazı, viral DNA'nın konak hücre kromozomal DNA'sı içerisine integrasyonunu sağlayan integrazı ve büyük gag ve pol protein öncüllerinin kesimlenmesini sağlayan proteazı kodlar. HIV viral partikülleri, lipoproteince zengin bir zar ile çevrili olup yaklaşık 100 nm çapa sahiptir. Elektron mikroskopunda viral partiküllerin içerisinde tipik konik görünüme sahip olan viral kor bulunmaktadır (Turner Bg ve Summers MF. 1999). Gp120 ve Gp41 arasındaki bağlantı non-kovalenttir. Enfekte hücrelerden tomurcuklanma işlemi süresince virüs, kor antijeni (p24) polimerlerinden HLA sınıf I ve II proteinleri gibi konak hücre membranı kökenli farklı membran proteinlerini veya ICAM-1 gibi adhezyon moleküllerini bünyesine katabilir bu da virüsün farklı hedef hücrelere adhezyonuna olanak sağlar. Matriks proteini (p17) viral lipoprotein membran içerisine bağlanmıştır. Tomurcuklanan virion paketleri içerisindeki tüm bileşenler enfeksiyon için gereklidir. Bu virionlar, iki pozitif anlamlı genomik viral RNA'nın kopyası, ilk cDNA sentezi için hücresel tRNALT indis, viral zarf (*Env*) proteini, Gag poliproteini ve üç viral enzim proteaz (PR), ters transkriptaz (RT) ve integraz (IN) içerir. Provirüsler yaklaşık 9,8 kilobaz uzunluğundadır. Provirüsün her iki ucu uzun terminal tekrarlar (LTR'ler) olarak bilinen tekrar dizileri ile kaplıdır. HIV genleri proviral DNA'nın merkezinde bulunur ve dokuz protein kodlar (Sundquist IW, Krausslich HG. 2012).

1.2.3. HIV'in Viral Yaşam Döngüsü

Virüsler çoğalabilmek için, içine girdikleri hücreyi enfekte etmek zorundadırlar. Yeni virüsler üretebilmek için hücreyi ele geçirip, onu virüs üretim merkezi gibi kullanırlar. Hücreler de çoğalabilmek ve hayatta kalabilmek için yeni proteinler elde etmek zorundadır. Virüs, kendi DNA'sını hücrenin DNA'sında gizler. Hücre de yeni proteinler üretmeye

çalışırken farkında varmadan yeni virüsleri de üretmiş olur. HIV ise, genellikle bağışıklık sistemindeki hücreleri enfekte etmektedir (URL-3).

CD4+ reseptörü adlı verilmiş olan proteinler pek çok hücrenin yüzeyinde bulunmaktadır. Virüsün hücreye bağlanmasına bu özel proteinler olanak tanır. Bu sebeple HIV, yüzeyinde CD4+ reseptörleri bulunan bu hücreleri aramaktadır. HIV farklı hücreleri enfekte ediyor olsa de asıl hedefinde T4 lenfositleri (T yardımcı hücreleri) bulunmaktadır. Çok sayıda CD4+ reseptörü bulunduran T4 lenfositleri, beyaz kan hücrelerinin bir türünü oluşturmaktadır. İşgalcinin sistemde bulunması halinde bağışıklık sistemini uyarmak T4 lenfositlerinin öncelikli görevidir (URL-3).

HIV, kendi DNA'sını bağlandığı hücrenin DNA'sı içine gizler. Böylece, HIV üretim merkezi haline gelmiş olan hücre kendisini çoğaltmaya başlar. HIV'in kendini eşleme durumu komplekstir. Bu durum viral faktörlere ve konak hücreye bağlıdır. Bu çeşitli basamaklardan (6 basamak) meydana gelmektedir (Küçüköğlu vd., 2009) (Şekil 5).

İlk basamak; CD4+ yüzey reseptörlerine HIV'in bağlanmasıdır. Makrofajların, T yardımcı lenfositlerin ve zarf glikoproteini olan Gp120'nin yüzeyinde bulunan CD4+ reseptörü ile arasında bağlanma oluşur (Ustaçelebi, 1999).

İkinci basamak; hücre içine virüsün girmesidir. Koreseptöre beğlanan Gp41 ile Gp120'de üç boyutlu değişimler olur (Doms ve R.W., 2000, Melikyan ve G.B., 2008, Küçüköğlu vd.,2009). Hidrofobik olarak sarmal bir uç oluşturan birkaç Gp41 molekülü hücre içine girilmesine olanak sağlar. Hücre zarı ve virüs zarfı birbirlerine yaklaşır. Böylece geçiş oluşur (Lever, 2009, Küçüköğlu vd., 2009).

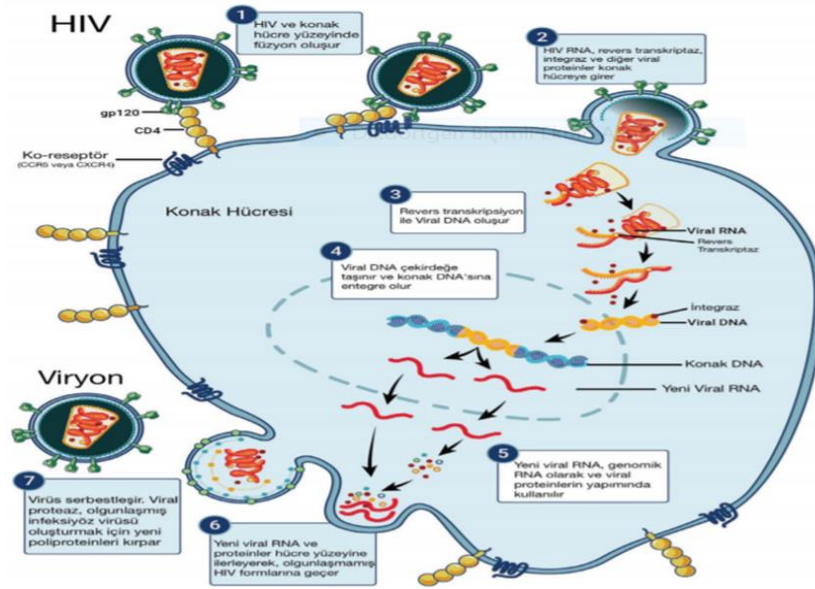
Üçüncü basamak ise; ters yazılım olan ters transkripsiyon (RT)'dur. Bağlanma aşamasından sonra önemli enzimleri içeren viral kılıf ve RNA hücre içerisine doğru yerleşir. RNA'dan DNA oluşturan RT enzimi kopyalanma işlemi gerçekleştirir. DNA artık proviral DNA adını alır (Ustaçelebi, 1999).

Dördüncü basamak; proviral DNA integras ile hücre DNA'sına saklanır. Hücre genomuna kovalent bağlarla bağlanır. Böylece hücre protein üretmek yerine HIV üretmiş olur. Bu aşamada enfeksiyon kalıcı olmuş olur (Ustaçelebi, 1999).

Beşinci basamak; genomik RNA ve Viral m-RNA' nın proviral DNA tarafından sentezlendiği aşamadır (Ustaçelebi Ş., 1999). HIV-1 genomik RNA ile birleşir. Bunun sonucunda RT ve RNA'nın çevresi paket şeklinde kaplayan viral kapsid, konak hücre

içerisinde sentezlenen zarf glikoproteinleri hücre zarına taşıyarak yerleşir (Nakielny, 1999, Özbal, 2007).

Altıncı basamak; tomurcuklanmanın başladığı aşamadır (Ustaçelebi, 1999). HIV'in yapısında protein kılıf içerisinde bulunan enzim ve protein zincirlerini proteaz keser. Böylece parçacık enfektif hale gelmiş olur. HIV artık altıncı basamakta gelişmiş bir virüs olmuştur. Provirus aktif olduğu zaman yeni olgun virüsler oluşturabilirken, konak hücre genomuyla birleştiğinde ise yıllarca sessiz kalabilir (Lever, 2009, Card vd., 2008, Küçükoglu vd., 2009).



Şekil 4. HIV Replikasyon Döngüsü (URL-4)

1.2.4. Revers (Ters) Transkriptaz Enzimi

HIV (İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü) ve AIDS (Edinilmiş İmmün Yetmezlik Sendromu) hakkında yoğun olarak çalışılmıştır. İlaç hedefi olarak işlev görebilecek virüsün yaşam döngüsünde birkaç işlem belirlenmiştir (Mohan, 1992, Kalathiya vd., 2017). Genetik materyalin ters transkripsiyonu retrovirüslerin kendini eşlemedeki kritik ve benzersiz bir adımıdır. Bu enzim ters transkriptaz (RT) tarafından katalize edilir. İlaçlara karşı hızlı direnç geliştirmeleri HIV'de ki yapısal değişimler nedeniyledir. Bu sebeble HIV-1 Revers

Transkriptaz gibi HIV virüsü ile ilişkili enzimlerin inhibitör ilaçlarına ihtiyaç duyulmaktadır (Matthe vd., 1999, Kalathiya, 2017).

Howard Temin and David Baltimore tarafından 1970 yılında ters transkriptaz (RT) keşfedildi. RT 'nin tek zincirli bir RNA kullanarak çift zincirli DNA'yı sentezleyen DNA polimerazı olduğu bilgisine ulaşıldı (Baltimor, 1970, Huber vd., 1989, Kalathiya, 2017).

RT'nin HIV-1 RNA ve RT veya DNA belirtilmeden nükleik asit ile birlikte kristalize edildi. 2001 yılında RNA/DNA hibrit kompleksinin ilk yapısı tespit edilmiştir (Sarafianos vd., 2009, Tian vd., 2018). HIV-RT'nin biyokimyası ve moleküler biyolojisi kapsamlı bir şekilde incelenmiştir. HIV-1 (Farmerie, WG vd., 1987) 'de RT'nin biyosentezi sırasında ilk olarak translasyona uğramış protein iki 66 kDa alt biriminden (p66/p66) oluşan bir dimerik enzim prekürsörünün üretilmesi için kesilir. Bu premature enzim daha sonra aktif heterodimerik p66/p51 HIV-1-RT oluşturmak üzere HIV-1 proteazı ile işlenir. HIV-1-RT alt ünitelerinin aşırı ekspresyonu için en yaygın olarak, *E.coli* 'de yapılmakta (Muller, B. vd., 1989; Chattopadhyay, D vd., 1992), ardından kararlı dimerin kromatografik olarak saflaştırılması için kullanılır (Stahlhut, M.W.; Olsen, D.B.; 1996). Nevirapin (Kohlstaedt, LA vd., 1992) ve iki zincirli DNA (Tantillo, C. vd., 1994) ile kristalleştirilen HIV-1-RT'nin X-Ray analizi, p66 alt-biriminin aktif polimeraz ve RNaz H alt domainlerine sahip olduğu asimetrik yapıyı net şekilde göstermektedir. HIV virüsünün aşamaları sırasıyla; virüs-hücre adsorbsiyonu, virüs-hücre füzyonu, kılıftan kurtulma, Revers transkripsiyon, integrasyon, DNA replikasyon, transkripsiyon, translasyon, gelişme (birleşme/ayrılma) ve olgunlaşma olarak sıralanabilir.

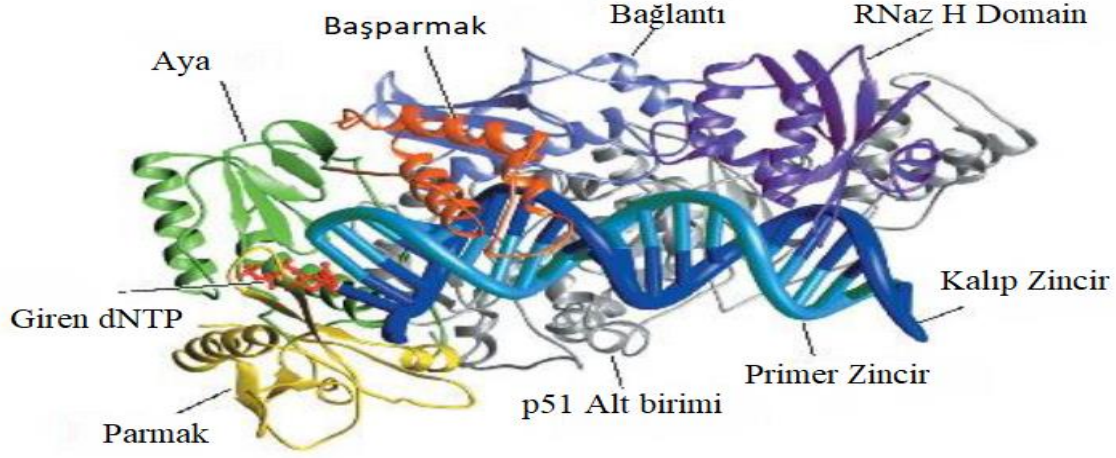
HIV-1 virüsünün sebep olduğu AIDS'in keşfi 1980'lerin başlarında retrovirüs araştırmalarını kuvvetlendirmiş ve dikkatleri virüse ait enzimleri üzerine çekmiştir. Böylece anti-AIDS ilaçları için enzimler önemli hedef olmuşlardır. HIV RT'ı heterodimer ve asimetriktir. İki alt birimi vardır. Bunlar; p51 ve p66'dır. Bu alt birimler viral proteaz ile bölünerek çoğaltılır (di Marzo Veronese vd., 1986, Lowe vd., 1988, Sarafianos vd., 2009).

Bu alt birimler bir proteindeki serbest amino grubunun bulunmuş olduğu ucu ortak olarak paylaşır. Revers Trankriptaz geni tarafından kodlanan tüm 560 amino asit ve p51, RT geninin ilk 440 amino asidi p66 alt biriminden meydana gelir (Shafer vd., 2001, Kalathiya, 2017).

X-ışını kristalografisi ile HIV-1 RT yapısı belirlenmiştir. p51 ve p66, farklı üç boyutlu yapılara sahiptir fakat aynı kodlama dizisini paylaşır (Huang vd., 1998, Kohlstaedt vd., 1992, Sarafianos vd., 2009, Tian vd., 2017).

p66 ve p51 alt birimleri 450 amino asiti paylaşmalarına rağmen, önemli derecede farklı göreceli düzenlemelere sahiptir. Alt birim p51, enzimatik bir aktiviteye sahip değilken, p66 alt birimi, aktif bölge ve DNA bağlayıcı oluk içerir. Aynı zamanda p51 alt birimi, p66 alt birim için bir köprü görevi görmektedir. (Huang vd., 1998, Kohlstaedt vd., 1992, Kalathiya vd., 2016). p66, geometrik olarak farklı iki alandan, RNA/DNA hibrit moleküllerini parçalayan, RNaz H ve DNA polimerazdan meydana gelir. Parmak bölgesi, rezidüleri 1-85 ve 118-155 arasında değişirken, palmye bölgesi rezidüleri 86 -117 ve 156-236 arasında değişir. 237-318 arasında değişen parmak bölgesi rezidüleri ve 319-426 arasında değişen bağlantı rezidüleri olmak üzere polimeraz domaini dört alandan oluşmaktadır (Kohlstaedt vd., 1992, Jacobo-Molina vd., 1993, Kalathiya vd., 2016). p51, dört alt etki alanına sahiptir, bunlar p66'nın polimeraz domaini ile aynıdır. Bunlar aya, parmak, başparmak ve bağlantıdır. Fakat alt domainlerin birbirine göre konumları p51 ve p66'da farklıdır (Şekil 5) (Sarafianos vd., 2009, Kalathiya vd., 2016). Aya, p66 parmak, başparmak, RNaz H, nükleik asit bağlama yarığı ve bağlantıdan oluşur. Bağlanma yarığının zemini, p51'in başparmak alt etki domainlerinden ve bağlantıdan yapılmıştır. Bağlanma yarığı, nükleik asidin hem RNaz H hem de polimeraz aktif bölgelerine temas edecek şekilde düzenlenmektedir. p66 başparmağın heliksleri olan alfa H ve alfa I, hem şablon şeritleri içeren hem de primer etkileşimler yoluyla düzgün şekilde nükleik asiti konumlandırmaya yardımcı olur (Xiong vd., 1990, Sarafianos vd., 2009).

DNA primer yapısı, son derece korunmuş bir yapısal motiftir. Polimeraz aktif bölgesine primer dizinin 3'-OH ucunun yerleşmesine yardımcı olur. RT'nin RNaz H ve polimeraz aktiviteleri ile DNA primer yapısı mutasyonel değişikliklerden etkilenebilir (Sarafianos, 2009, Xiong vd., 1990, Wisniewski vd., 1999, Kalathiya vd., 2016). Polimeraz aktif bölge, p66'nın palmye alt birimindeki üç kataliz özelliğinde olan karboksilattan oluşur (D110, D185 ve D186) (Larder vd., 1987, Kalathiya vd., 2016).



Şekil 5. Revers transkriptaz enzimi (URL-5)

1.3. AIDS Tedavisinde Kullanılan İlaçlar

AIDS' in kesin olarak bir tedavisi bulunmamaktadır. Üretilen ilaçların amacı HIV+ olan bireyin kilo kaybetmesini durdurmak, yaşam kalitesini arttırmak veya bu belirtilerin azalmasını sağlamaktır. Kullanılmakta olan bu ilaçların asıl hedefi AIDS'in ilerlemesini durdurabilmektir. Yeni tedavi yöntemlerinden günümüzde sıklıkla bahsedilmektedir. Bazı değişken durumları izleyerek, bu yöntemleri kontrol etmek mümkündür. Bunlardan ilki bağışıklık sistemini güçlendiren CD4+ hücrelerindeki artış, diğeri ise HIV virüsündeki azalmayı gözlemlemek olacaktır (Çetinkaya, 1998, Ünal, 1998, Küçükoğlu vd., 2009).

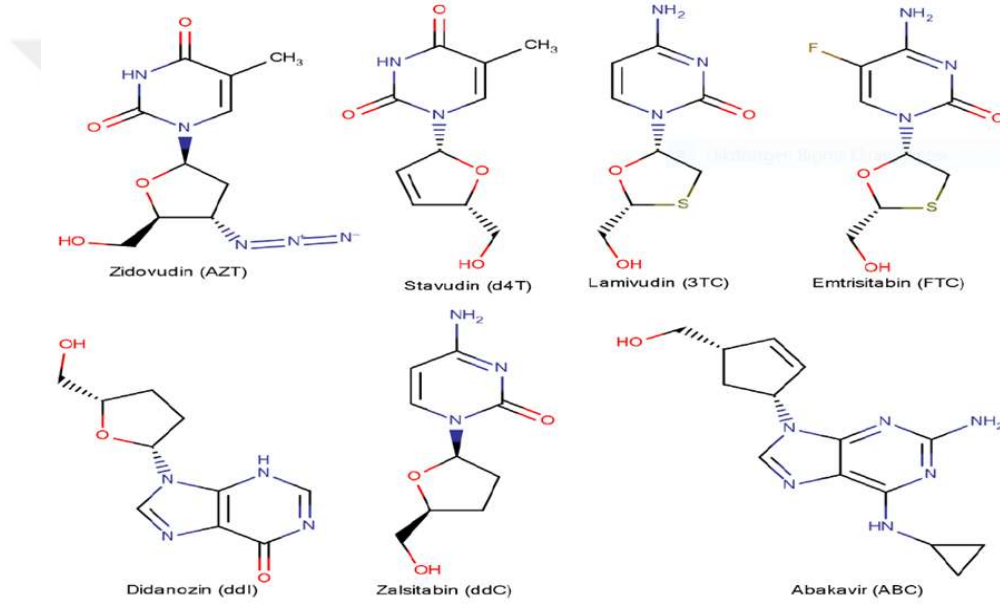
İlk olarak 1996 yılında uygulanmaya başlanan Yüksek Aktiviteli AntiRetroviral Tedavi (HAART), bugün HIV enfeksiyonu için standart tedavi haline gelmiştir. HAART, CD4+ hücrelerinin artmasına, virüs sayısında ise azalmaya sebep olmaktadır. CD4+ hücrelerinin bağışıklık sistemini güçlendirdiği bilinmektedir (Hammer vd., 2008, Küçükoğlu vd., 2009).

1.3.1. Revers Transkriptaz İnhibitörleri

Revers Transkriptaz (RT) enzim inhibitörlerinin görevleri; HIV'in genetik materyali olan RNA'dan DNA üremesini etkileyerek kopyalanmayı engellemektir. Revers Transkriptaz inhibitörleri (NRTI), nükleosit revers transkriptaz inhibitörleri (NtRI) ve non-

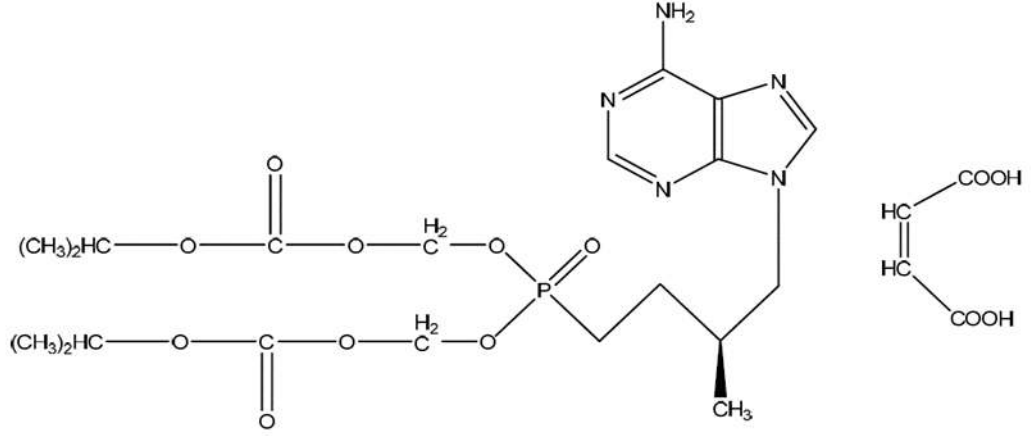
nükleosid revers transkriptaz inhibitörleri (NNRTI) olmak üzere üç çeşittir (De Clercq, 2004, Küçükoğlu vd, 2009).

NNRTI'ler, NRTI'lere göre daha avantajlıdır. Bunun sebebi yüksek seçicilik, kuvvetli, özgüllüğe ve düşük toksisiteye sahip olmalarıdır (Bell vd., 1995, Rocca vd., 2018). Zidovudin (AZT), Stavudin (d4T), Lamivudin (3TC), Emtrisitabin ((-) FTC), Didanozin (ddl), Zalsitabin (ddC), ve Abakavir (ABC) (Şekil 7) NRTI kaynaklı bu ilaçlar HIV tedavisi için onaylanmıştır (De Clercq, 2009, Küçükoğlu vd., 2009).



Şekil 6. NRTI'lerin Kimyasal Yapıları

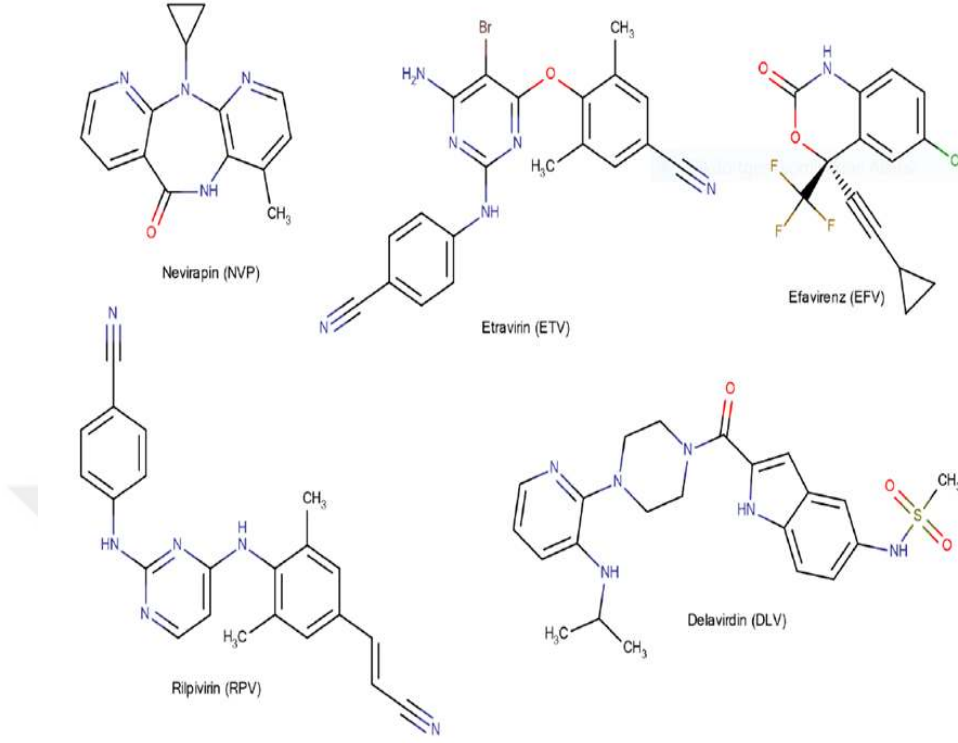
RT'nin katalitik bölgesi ile NTRTI'ler etkileşirler. Tenofovir (TDF), bu sınıf ilaçlarının ilk örneğidir. Kronik hepatit B hastalığı için 2008 yılında kullanılmaya başlanan ilaç AIDS tedavisi için kullanılmaktadır. TDF'nin böbrekte mitokondriyal zedelenmeye yol açtığı bilinmektedir (De Clercq, 2009, Küçükoğlu vd., 2009).



Şekil 7. TDF'nin kimyasal yapısı

Özgüllük ve yüksek seçicilikten dolayı NNRTI gibi özel inhibitörleri bulunmaktadır (De Clercq, 2004, Küçükoğlu vd. 2009). Bu gruptaki ilaçlar iki sınıfta toplanmıştır. Birincisi HEPT (1 [(2hidroksietoksi)metil]-6-(feniltiyo) timin yapısına sahip bileşikler (Jalali-Heravi ve Parastar, 2000, Küçükoğlu ve ark., 2009) iken diğeri kısaca TIBO olarak ifade edilen 4,5,6,7-tetrahidro-5-metilimidazo[4,5,1-jk][1,4]benzodiazepin-2(1H)-on türevleridir (Pauwels vd., 1990, Küçükoğlu vd., 2009).

Bu bileşiklerin, ilk kez HIV-1 revers transkriptazın allosterik bölgesiyle etkileştiği saptanmıştır. Böylece bu grup ilaçlar, HIV-1'in spesifik inhibitörleri olarak tanınmaktadır (De Clercq, 2004). Çalışmamızda referans ligand olarak Nevirapin (NVP)'in kullanılmasının sebeplerinden birisi de budur.



Şekil 8. NNRTI'lerin kimyasal yapıları.

1.4. Antiretroviral İlaçlarla Tedavi

1.4.1. Antiretroviral Tedavi Öncesi Yaklaşımlar

HIV, tanısı konan her hastanın laboratuvar değerlendirmesi, fizik muayenesi ve tam tıbbi öyküsü yapılmalıdır. Bu işlemin amacı İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü enfeksiyonunun durumunu ve buna eşlik eden ko-enfeksiyonun varlığını tespit etmektir. Başvuran her yeni hasta için; CD4 hücre sayısı, HIV antikor testi, HIV RNA düzeyi, idrar analizi ve plazma tam kan sayımı istenmesi gereken laboratuvar testlerindendir. Ayrıca riskli davranışları bulunan, cinsel yolla bulaşan hastalık riski taşıyan ve kronik enfekte olan kişilerde tedaviye başlamadan önce direnç testlerinin uygulanması ve *Chlamydia trachomatis* ve *Neisseria gonorrhoea* testleri yapılması uygun olmaktadır (Aberg vd., 2004).

Tedavi öncesi viral yük ve CD4 hücre sayısı ilk izlemede ve değerlendirmede tedavinin yanıtı için bakılmalıdır (Kaufmann, vd., 2003).

HIV belirtilerinin en önemlilerinden biri, vücudun bağışıklık sisteminde önemli bir görev olan CD4 lenfosit hücrelerinin sayısının azalması ve disfonksiyonudur. Kanda bulunan HIV miktarını gösteren parametre ise, viral yüküdür (URL-6).

HIV, enfeksiyonlarında yaklaşık her gün 1 milyar viral partikül dolaşıma katılır. CD4 lenfosit sayısı ile viral yük arasında ters ilişki vardır. CD4 lenfositleri bağışıklık sisteminde görevli akyuvar hücreleri olması sebebiyle içerisinde HIV bulunduruyor olması, bu lenfositlerin işlev görmesine engel olmaktadır. Akyuvar sayısı azaldığı için normalde kolayca üstesinden gelebileceği enfeksiyonlar ile artık vücut bağışıklık sistemi savaşamayacak hale gelir. Böylece vücut bağışıklık sistemi zayıflayan hasta ölür (Horowitz vd.,1998).

1.4.2. Antiretroviral Tedavinin Hedefleri

Günümüzde HIV enfeksiyonu, antiretroviral tedavi rejimleri ile tamamen ortadan kaldırılamaz (Chun vd.,1998).

Antiretroviral tedavilerin hedefleri;

- HIV'e bağlı mortalite ve morbiditeyi azaltmak,
- İmmunolojik fonksiyonları iyileştirmek ve korumak,
- Viral yükü uzun süreli ve en yüksek seviyede baskılamak
- Yaşam kalitesini ise arttırmaktır (Palella vd., 1998, Mocroft vd.,1998, Vittinghoff vd.,1999).

1.4.3. Yüksek Aktiviteli Antiretroviral Tedavi (HAART)

HIV enfeksiyonunun progresyonu, CD4 sayısındaki azalma ve virüs yükündeki artış ile ilişkilidir (Çetinkaya, Y., Ünal, S.,1998).

1996 tarihinde ilk kez uygulanmaya başlanan Yüksek Aktiviteli AntiRetroviral Tedavi (Highly Active Anti-Retroviral Therapy, HAART), günümüzde HIV için standart bir tedavi haline gelmiş bulunmaktadır. HAART, CD4 hücre sayısının artmasına sebep olurken, viral yükte ise belirgin bir şekilde azalmaya neden olmaktadır (Hammer, S.M., ve ark., 2008).

HIV enfeksiyonu olan kişide antiretroviral tedavinin amaçları, enfeksiyonunun etkilerini azaltmak, yaşam kalitesini ve süresini arttırmak, kilo kaybını yavaşlatmak veya

durdurmaktır. HIV patogenezi ve biyolojisi ile ilgili yeni bilgiler günümüzde kazanılmış olup ve bu bilgiler ışığında yeni tedavi yaklaşımları gündeme gelmektedir. Sunulan tedavinin etkin olup olmadığını anlamak için immün fonksiyonlardaki düzelme (CD4 sayısı, β -2 mikroglobulin vb.) ve virüs yükündeki azalma (viral RNA, proviral DNA vb.)'ların izlenmesi gibi bazı önemli parametreler vardır (Çetinkaya, Y., Ünal, S.,1998).

1.4.4. Antiretroviral Tedavide Kullanılan Rejimler

Aşağıdaki faktörler HAART tedavisinde uygun tedavi rejimlerini seçerken dikkate alınmaktadır:

- Toksisite profili,
- Önerilen doz ve ürün için, ulusal ilaç düzenleyici otoriteler tarafından ruhsat verilmesi,
- Özellikle sabit doz kombinasyonlarının etkinliği ve ilaç formülasyonu yoğunluğu,
- Fırsatçı enfeksiyonlar (Hepatit B, vb.),
- Laboratuvar izleme şartları,
- Etkinlik ve maliyet
- Hamile olan ya da doğum potansiyeli olan kadınların özel durumları.

Antiretroviral tedavide günümüzde WHO tarafından önerilen iki rejim bulunmaktadır. Bunlar, birinci ve ikinci basamaktan oluşmaktadır (URL-7).

1.4.5. Birinci ve İkinci Basamak Rejimler

Birinci basamak rejimlerinde kullanılan NNRTI'ler Efavirenz (EFV) ve Nevirapin (NVP) iken, NRTI'ler ise; Tenofovir disoproksil fumarat (TDF), Abakavir (ABC), Emtrisitabin (FTC), Lamivudin (3TC), Stavudin (d4T) ve Zidovudin (AZT)'dir (URL-7).

Standart Birinci Basamak Rejimi: Dünya Sağlık Örgütü genç ve yetişkin hastalar için standart birinci basamak rejiminin 2 NRTI + 1 NNRTI ya da 1 NtRTI + 1 NRTI+ 1 NNRTI olduğunu önermeyi sürdürmektedir. Bu öneri, fizibilite programları ve klinik deneyimler ile onaylanmıştır. Birinci basamak ilaç gruplarına dayalı rejimler, ikinci basamak rejimlerine oranla genellikle daha geniş formülasyona sahip, etkili ve ucuzdur (Calmy vd., 2006).

İkinci Basamak Rejim ise, Dünya Sağlık Örgütü birinci basamak tedavi rejimi başarısız olması halinde tüm rejimin değiştirilmesini öne sürülmektedir. İkinci basamak rejiminde temel prensip, destekli PI'ler ile kullanılmayan NRTI'ler ile kombine edilmesi üzerinedir. Yeni ikinci basamak rejimi ilaçlarının aşağıdaki özellikleri taşıması gerekir:

- Çapraz direnç riski azaltmalı
- En az 3 aktif ilaç içermeli, bu ilaçlardan en az biri yeni sınıf olmalı,
- Tedavinin başarı olasılığını artırmalı,
- Hastanın virüs özelliğine karşı aktif olmalıdır.

Bu sebeple, HAART ile tedavide ilaçların kombine olarak kullanılıyor olması günlük kullanılan ilaç miktarını azaltmış ve bununla birlikte toksik yan etkileri de azaltılmıştır. Ayrıca farklı etki mekanizmasına sahip ilaçların beraber kullanılıyor olması benzer etki yaratmıştır. Böylece HIV'in vücut içerisinde çoğalmasını engellemek de mümkün olmuştur. Bu gelişmeler, AIDS'den ölen insanların sayısını azaltmıştır (Molina vd., 2005).

1.5. Propolis

Propolis, işçi arılar vasıtasıyla bitkilerin tomurcuğundan, ağaçların kabuk ve kozalaklarından toplanıp, mum ile karıştırılarak kovanda pek çok amaç için kullanılan, reçineli, yapışkan, keskin kokulu ve renk olarak, koyu sarıdan, kahverengi tonlarına kadar değişken bir madde olarak tanımlanabilir. Propolis kelimesinin etimolojisinde “pro” savunma anlamına gelirken “polis” de şehir anlamındadır. Bu bağlamda propolis kelimesinden “şehrin/kovanın savunmasına” benzer bir anlam çıkarmak mümkündür (Uygur, 2010).

Arılar reçinemsi, zamksı bu maddeyi arka ayakları ile mandibulalarını kullanarak almakta ve ağızdan salgıladıkları farklı enzimi de katıp, pellet şekline getirilen propolisin biyolojik değeri arttırılmaktadır. Propolis arılarda ön ile orta bacakların yardımıyla arka bacaklarında bulunan polen sepetine depolanmaktadır. Şekil 9'da propolisin arılarda depo şekli gösterilmiştir (Kumova vd., 2002).



Şekil 9. Propolisin arılarda depo şekli (Kumova, 2002)

Propolisin kullanımı antik çağlara, M.Ö. 300'lü yıllara kadar uzanmaktadır ve dünyanın çoğu bölgesinde yerel ve popüler tıpta hem harici hem de dahili ilaç olarak kullanılmaktadır. Doğal bir arı ürünü olan propolis, insanların ilgisini tıbbi yönden uzun zaman önce çekerek eski dönemlerde Mısırlılar, Yunanlılar, Romalılar gibi uygarlıklar tarafından yaygın olarak kullanılmıştır. Geleneksel hekimlikte Aristo, Hipokrat ve başka antik çağ bilimcileri vasıtasıyla eski dönemlerden günümüze kadar türlü hastalıkların tedavilerinde veya hastalıkların etkisinin hafifletilmesinde kullanıldığı bildirilmiştir (Kutluca vd., 2006).

Mısırlılar, Yunanlılar ve Romalıların propolisi bazı deri lezyonlarının tedavisinde ve genel iyileştirmede kullanıldığı bilinmektedir. Propolis, her zaman antiinflamatuvar bir ajan olarak kabul edilmiş olup yara ve ülseri iyileştirici olarak kullanılmıştır. Antik Mısırlılar ilk başlarda ölümlerini mumyalamak için propolisi kullanmışlar, sonraki zamanlarda da yaptıkları savaşlarda yaraların iyileştirilmesi ve dokuların yenilenmesi için kullanmışlardır (Ghisalberti, 1979). İnkalar da ateşi düşürmek için kullanmışlardır (Kutluca vd.,2006).

11. y.y.'da İbn-i Sina askerler için yaraların tedavisine propolisi önerirken, 15. y.y.'da Roma İmparatorluğu lejyonierleri ve Anglo-Boer Mücadelesi ile II. Dünya Muharebesi sürecinde doktorlar yaraların hızlı iyileşmesi amacıyla propolisi kullanmışlardır. Aynı zamanda İtalyanlar da propolisi farklı bir amaçla, kemanlarını verniklemek için kullanmışlardır (Öztürk, 2010).

Bununla birlikte, propolisin kullanımı kişisel ürünlerde, ilaçlarda günümüze kadar devam etmekte olup ve kullanım alanı sonsuzdur. Şu an Balkan ülkelerinde en fazla kullanılan ilaçlardan biridir (Bankova, 2005a) ve son birkaç on yıldır bilim insanları propolisin bileşenleri ve biyolojik özellikleri üzerine yoğun araştırmalar da bulunmaktadır.

Propolisin kendine has bir kokusu vardır ve yapışkan özelliktedir. Deri proteinleri ve yağları ile güçlü etkileşime geçer. Genellikle, doğada, %30 balmumu, %50 rezin ve bitkisel balzam, %10 esansiyel yağlar, %5 polen, aromatik yağlar ve diğer bileşenlerden meydana gelir (Burdock, 1998).

Propolis bu kadar yüksek aktiviteye sahip olmasına rağmen, en önemli detay tüketim şeklidir. Propolis zamlı yapısı ile biyoaktif bileşenleri yapıda hapseder ve kullanım kolaylığı sunmaz. Son yıllarda propolis içerisinden mumları gidererek ya da aktif bileşenleri ekstrakte ederek, kullanım yoluna gidilmiştir. Yaygın şekilde etanol, metanol, propandiol, su, DMSO, süper kritik ekstraksiyon, gliserol ekstraktları kullanılmaktadır. Biyolojik çalışmalarda kullanılan en yaygın ekstraktlar; farklı konsantrasyonlardaki etanol, metanol ve sudur (Cunha vd., 2004). Ancak günlük kullanımda su ve etanolik ekstraktları günümüzde tüketicilerce kullanılmaktadır. Çalışmamızda yararlanılan projede araştırmacılar tarafından geliştirilen ve patent müracaatı yapılarak koruma alınan sulu ekstraksiyon metodunda piyasa ekstraktlarından çok yüksek aktiviteler (antioksidan, antimikrobiyal, antiinflamatuvar, antiüreaz) tespit edilmiştir.

Propolisin oldukça kompleks olan kimyasal bileşiminde 300'den fazla bileşen tanımlanmıştır ve bileşenleri daha çok kaynak bitkisine ve yerel flora'ya bağlıdır. Dahası, propolisin bileşimi tamamen değişken olduğundan, medikal kullanım ve standartizasyon için bir sorun meydana getirmektedir (Marcucci, 1995; De Castro, 2001).

Propolisin genel olarak toplandığı bitki türlerinin bölgelere ve mevsimlere göre değişmekte olduğu ve arılar için; *Betula spp.* (Huş), *Pinus spp.* (Çam), *Salix spp.* (Söğüt), *Populus spp.* (Kavak), *Aesculus hippocastanum* (Atkestanesi), *Prunus spp.* (Erik), *Alnus spp.* (Kızıl Ağaç), *Ulmus spp.* (Kara Ağaç), *Abies spp.* (Kökner), *Fraxinus excelsior* (Dişbudak), *Quercus spp.* (Meşe) gibi bitki türlerinin önemli propolis kaynağı olduğu bildirilmiştir (Kumova vd., 2002).

Avrupa ülkelerinde genel olarak birinci derece propolis kaynağı, söğüt ile meşe olurken huş ise ikinci derece propolis kaynağıdır. Avustralya'da okaliptüs, İtalya'da kestane, Orta Rusya'da huş, Hindistan'da ise kavak türleri önemli propolis kaynaklarıdır (Kumova

vd., 2002). Amerika'da kavak ve çam türleri, Batı Asya ve Kuzey Afrika'da kavak tomurcukları, Pasifik adasında *Plumeria accuminata*, *Plumeria acutifolia*, *Schinus terebinthifolius* ile *Psidium guajava* gibi çalıların tomurcuğu ve kabuklarının önemli propolis kaynağı olduğu bildirilmiştir (Mateescu, 2013).

Propolisin toplandığı bitki kaynağının bilinmesi, kimyasal standardizasyonun oluşturulması açısından önemlidir. Propolis örneklerinin TLC, HPLC gibi yöntemlerle bitki kaynağında bulunan bitki salgılarının kalitatif kompozisyonu ortaya çıkarılmakta ve kolaylıkla karakterize edilebilmektedir. Ayrıca propolisin toplanabileceği bitki kaynaklarının bilinmesi, arı yetiştiricileri açısından da önemlidir. Çünkü bal arıları bulundukları bölgeden propolis toplayamadıklarında boya ve asfalt gibi insan sağlığını olumsuz yönde etkileyecek birtakım maddeyi propolis gibi kullanarak toplamak zorunda kalmaktadırlar (Kumova vd., 2002).

Propolisin kaynağı ile ilgili, çeşitli bölgelerden toplanmış Türkiyede bulunan propolislerin bitki orjini için kimyasal özellikleri ile antibakteriyel aktivitelerinin belirlendiği bir çalışmada; propolis bitki kaynağının *Populus alba*, *Populus tremuloides* ile *Salix alba* olduğu bildirilmiştir (Silici vd., 2007). Türkiyede bulunan propolislerin antibakteriyel aktiviteleri, kantitatif ve kalitatif kompozisyonlarının belirlendiği bir başka çalışmada ise, *Populus nigra* (kara kavak) ve *P. Euphratica* 'nın önemli propolis kaynağı olduğu bildirilmiştir (Popova vd., 2005).

Arılar propolisi, kovandaki çatlak ve deliklerin kapatılmasında, iç yüzeylerin kaplanmasında, petek tamirinde, kovandaki giriş deliğini kolay bir şekilde savunabilecekleri hale getirilmesinde, kraliçe arının yumurtlamasından önce petek gözünün temizlenmesi için kullanmaktadırlar. Ayrıca kovanda öldürülerek kovan dışına çıkarılamayan zararlıların çürüyerek kokuşma yapmalarını ve birtakım mikroorganizmaların (virüs, bakteri, fungus) çoğalmasını önlemek amacıyla mumyalama işleminde kullanmaktadırlar. Aynı zamanda kovanda görev yapan arılar, kovanın girişinde dışarıdan gelen bal arılarını propolis ile fırçalayarak birtakım enfeksiyonların kovan içine girmesini önlemekte kullanmaktadırlar (Kumova vd., 2002). Propolis, ayrıca antiseptik etkisi ve antimikrobiyal özelliklerinden dolayı koloniyi hastalıklara karşı korur (Salatino vd., 2005).

Propolisin rengi toplandığı bölgeye, mevsime ve bitki kaynağına göre farklılık göstererek sarıdan kahverengi tonuna kadar değişebilmektedir. Örneğin ılıman iklime sahip ülkelere ait propolis örnekleri genel olarak belirgin bir kahverengi renkte iken, tropikal bir

iklim tipine sahip yerlerde ise propolis rengi siyah olarak bildirilmektedir. Propolis, kovandan alındığında reçinemsî olup, keskin tat ve karakteristik kokuya sahiptir. Propolis, ortam soğuk olduğu durumlarda balmumuna benzer biçimde katı kırılğan, 15-25 °C ortam sıcaklıklarında mum kıvamındaki elastik yapıya sahipken, 30-40 °C ortam sıcaklıklarında yumuşayarak yapışkan yapıya dönüşmektedir (Anonymous,2016).

Propolisin kimyasal içeriği oldukça karmaşık olup toplandığı bölgenin bitki florasına, iklim koşullarına, toplanma zamanına, arı tarafından salgılanan maddeye, arı türüne ve arı ırkına bağlı olarak çeşitlilik göstermektedir. Propolis içeriğinde flavonoidler, fenolikler ve çeşitli aromatik bileşikler gibi çok sayıda biyokimyasal açıdan zengin bileşenleri barındırmakta ve bu bileşenler su ile hidrokarbon çözücünde zayıf bir çözünürlüğe sahipken alkolde iyi çözünmektedirler (Anonymous,2016).

Tablo 1. Propolisin genel yapısı ve kimyasal bileşenlerinin oranı (Albayrak, 2008)

Bileşen Sınıfı	Bileşen Grubu ve Miktar (%)
Reçine	%45-55 (Esterler, Flavonoidler ve Fenolik asit)
Yağ asitleri ile Mum	%25-35
Esansiyel yağ	%10 (Uçucu yağlar)
Polen	%5
Mineral ve Diğer organik maddeler	%5 (En yaygın Fe ve Zn, 14 iz element,) (Şekerler, Ketonlar, Vitaminler, Laktonlar, Steroidler, Kinonlar, Benzoik asit ve esterleri)

Çeşitli propolis örnekleri ile yapılmış olan araştırmalar sonucu propolis içeriğinde 300'den fazla komponent tanımlandığı ve kompozisyonu bitki kaynağı, bölgesel flora gibi etkenlere bağlı olarak değişiklik gösterdiği bildirilmiştir (Silici, 2015).

Propolisin kimyasal yapısının aydınlatılması genellikle sıvı ve gaz kromatografisi kullanılarak yapılmaktadır. Propolisin içerik analizi yapılarak farklı propolis örneklerinin toplandığı bölgelerin bitki örtüsündeki farklılıklar araştırılarak hangi bitkilerden toplanan propolisin içerik açısından daha zengin olduğu saptanabilmektedir (Memmedov, 2017).

Propolisin yapısında mevcut olan uçucu bileşen, mineral ve şeker gibi komponentler propolis içeriğini zenginleştiren diğer etkenlerdir. Uçucu komponentler, propolis içeriğinde az miktarlarda bulunmasına rağmen, biyolojik aktiviteleri ile aromaları propolisi karakterize etmede önem teşkil etmektedir (Anonymous, 2016).

Propolisin kimyasal içeriğini belirlemek üzere, Türkiye'nin üç farklı coğrafik bölgesinden toplam 12 (Anzer-Rize, Gümüşhane, Bartın-Sinop, Kazan-Ankara, Mamak-Ankara, Kemaliye-Erzincan, Muğla, Mersin, Tahtaköprü-Bursa, Orhangazi-Bursa, Yalova, Trabzon), Brezilya'dan 4 ve Japonya'dan 1 propolis örneğinin etil alkol ekstraktlarında, GC-MS tekniği kullanılarak bileşen tayini gerçekleştirilmiştir. Bu bağlamda ülkemiz propolislerinin yüksek miktarda aromatik asit ve esterleri ile kafeik asit içerdiği ve Türkiye propolislerinin Brezilya ile Japonya propolislerine göre daha yüksek oranda flavanon içermekte olduğu bildirilmiştir (Sorkun vd., 2006).

Farklı coğrafik orijinli propolislerle ilgili yapılan bir başka araştırmada ise, Bursa, Gümüşhane (Söğütağlı), Trabzon (Çağlayan) ve Erzurum (Aşkale) yöresinden toplanmış propolis örnekleri üzerinde GC-MS ile bileşen analizi gerçekleştirilmiştir. Gümüşhane ile Trabzon örneklerinde benzer kimyasal kompozisyon saptanarak ana komponentlerin alifatik asitler ve esterleri, aromatik asitler ile ketonlar olduğu belirlenmiştir. Aynı çalışmada, Erzurum iline ait propolisin farkı ise aromatik asit esterleri ve alkollerden oluştuğu ve içeriğinde daha yüksek miktarda amino asit bulunduğu saptanmıştır. Bursa yöresine ait propolislerde de aromatik asit ve esterleri, flavanonlar, terpenoidler, ketonlar ve flavonların ana komponentler olduğu bildirilmiştir (Sorkun vd., 2001).

Propolisin antiviral, antibakteriyel, antifungal, antiülser, immünomodülatör, antioksidan, antiinflammatuar, antitümöral, anestezik, antikanser, nöroprotektif, radyoprotektif ve antiproliferatif olmak üzere farklı biyolojik aktiviteleri içerdiği yapılan çalışmalarla kanıtlanmıştır (Atik ve Gümüş, 2017).

Fenolik asitler ve flavonoidler gibi polifenoller, biyolojik aktiviteden sorumlu temel propolis komponentleri olarak tanımlanmaktadır (Memmedov vd.,2018).

Yapılan çalışmalarda, propolis ve ekstraktının gram pozitif bakterilerine karşı geniş spektrumda etkili olduğu ancak gram negatif basillere karşı kısıtlı etkide olduğu bildirilmektedir (Hegazi, 2000).

Propolis aktivitesinin *Escherichia coli* ve *E. coli* O157:H7 suşlarına karşı test edildiği bir araştırmada, %2 ve %5'lik propolis konsantrasyonlarının suşlar üzerinde anlamlı bir antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu saptanmıştır (Sağdic vd., 2007).

1.5.1. Propolisin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Propolis özellikle tıpta olmak üzere geçmiş dönemlerden beri çeşitli amaçlarda kullanılmaktadır. Yunanlılar tarafından ilk kez keşfedilerek antibiyotik olarak kullanılmıştır (Kumova, 2002). Yunan dilinde propolis yapıştırıcı ve arı kovanının çimentosu anlamına gelir. Propolisin bir diğer adı da "arı tutkalıdır" (Shakespeare, 2012).

Propolis, bal arıları tarafından çeşitli bitkisel kaynaklardan toplanan çeşitli renk ve kıvamlarda reçinemsî bir maddedir. Propolis toplanması sırasında, arılar bal mumu ve toplanan propolis ile tükürüklerinde bulunan α -glikozidaz enzimini karıştırır, flavonoidler glikozitlerini flavonoid aglikonlara hidrolize eder (Park vd, 1997). Daha sonra, toplanan materyal enzimatik ve tükürük salgıları ile güçlendirilir (Shakespeare, 2012).

Farklı 180 bileşik propolisin yapısında tanımlanmıştır. Bir propolis elde edildiği bitki kaynağına göre değişmekle birlikte ortalama olarak %5 arı poleni %10 aromatik yağ %30 bal mumu ve %50 reçineli bileşik ve balsam içermektedir. Kalan %5'lik bölümde ise vitaminler, flavonoidler ve amino asitler bulunmaktadır. Propolis %95'lik alkolde büyük oranda erime özelliği gösterirken genelde suda az oranda erimektedir (Moreno vd., 2000).

Propolisin, aseton, kloroform, eter ve diğer bazı organik çözücülerle kısmen çözüldüğü bildirilmiştir (Altay, 2016). Propoliste en önemli bileşikler farmakolojik olarak çeşitli fenolik ve aromatik gruplar ve flavonoid grubu (flavonlar, flavanollar ve flavanonlar)'dur. Yapısında kampferol, galangin, quersetin, pinosembirin ve pinobanksin gibi 38 flavonoid bulunmaktadır. Fenolikler içinde ise; benzil alkol, sinamik alkol, sinamik asit, benzoik asit, fenilik asit ve kafeik asit bulunmaktadır. Oluşan bileşik etkinin her bir bileşenin tek başına oluşturduğu etkilerin toplamından daha yüksek olması propolis içeriğinde çok sayıda bileşen bulunmasından kaynaklanmaktadır (Yücel vd, 2014).

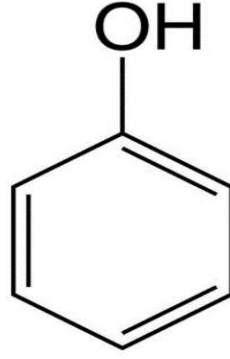
1.5.2. Propolislerin Toplam Fenolik Madde İçerikleri

Fenolik maddeler bitkisel kaynaklı besinlerin rengine etki etmekle birlikte lezzetine özellikle ağızda buruk bir tat bırakan sebze ve meyvelerde çok az miktarlarda bulunan önemli maddelerdendir. Ayrıca, bu bileşikler aromatik halkalarında bir ya da daha fazla hidroksil grubu içermektedir (Shahidi ve Naczki, 1995). Bu sebeple en basit bir şekilde bu bileşiklerin bir tane hidroksil grubu içerdiği, fenol yani benzen olduğu ve diğer fenolik maddelerin de bunlardan türediği bilinmektedir (Cemeroğlu vd., 1998).

Propolis, yapısında bulunan aktif bileşiklerin miktar ve çeşitliliğine bağlı olarak birçok biyolojik aktivite kazanmaktadır. Fenolik maddeler de propolis içerisinde bulunan ve propolise biyolojik etkinlik kazandıran en önemli madde gruplarındandır. Fenolik maddeler, bitkileri mantar, bakteri, zararlı böcek gibi patojenler ve UV ışınlarına karşı koruyan sekonder metabolitlerdir (Shohaib vd., 2011; Harborne ve Williams, 2000).

Fenolik maddeler oluşturmuş olduğu çeşitli renkler sebebiyle bitkilere polinatör böcekleri çekerek tozlaşmanın oluşmasına yardımcı olur. Bu etkilerin yanı sıra fenolik maddeler bitkilerde enerji transferi, fotosentez, yapı ve cinsiyetin belirlenmesi ile bitki büyüme hormonunun aktive edilmesi ve düzenlenmesi gibi birçok özelliklere sahiptir (Shohaib vd., 2011).

Fenolik maddeler; bitkilerde glukozit, metoksi, hidroksi, ester, metil ester gibi formlarda olmakla beraber bitkiler için karakteristiktir (Iwashina, 2000). Fenolik bileşikler bir hidroksil (OH) grubunun bir benzen (aromatik halka) halkasına bağlanmasıyla meydana gelen bileşiklerdir (Şekil 10) (Vermerris ve Nicholson, 2007; Giada Mdlr, 2013). Polifenoller ise, OH gruplarının bir veya daha fazla benzen halkasına bağlanmasına verilen isimdir (Vermerris ve Nicholson, 2007; Giada Mdlr, 2013). OH'lar, benzen halkasına bağlanması ile birçok fenolik bileşiğin diğer fonksiyonel yapıların oluşmasına sebep olmaktadır (Vermerris ve Nicholson, 2007).



Şekil 10. Fenolik halka (Vermerris, 2007)

Fenolik bileşikler günümüzde besin değeri olmayan ve aynı zamanda da esansiyel olmayan maddelerdir. Fakat insan sağlığı üzerine etkilerinin olduğunda bilinmektedir (Acar ve Gökmen, 1998). Yapılan farklı çalışmalarda, fenolik bileşiklerin; antialerjik, antienflamatuar, antidiyabetik, antipatojenik antimikrobiyal, antitrombotik ve antiviral özellikleri ile kanser, diyabet, osteoporoz, nörodejeneratif ve kardiyovasküler gibi hastalıkların koruyucu etkilerinden bahsedilmiştir. Fenolik maddelerin 2000’li yıllara kadar sekiz binden fazla olduğu ve bu sayının her geçen gün arttığı bilinmektedir. Bazı bitkilerdeki fenolik bileşikler son zamanlarda antioksidan olarak kabul edilmesi sebebi ile ticari olarak da üretilmektedir (Kolaç vd, 2017).

Fenolik madde olan lipid, polifenoller ve reaktif oksijen türleri (ROS) bağlarını kıran radikalleri (ROO-) aynı metal iyonları ile yaptığı şelat bağlarına benzer etkileşimler ile bağlayarak süpürebilen antioksidanlar olduğu da bilinmektedir (Pellegrini vd., 2009; Stahl vd, 2002).

Bitkisel kaynaklı olan gıdalar, oksidatif zararlara karşı vücut savunmasına katkıda bulunmasının sebebi; en güçlü antioksidan olan fenolik fitokimyasalları barındarmasından kaynaklanmaktadır. Bu fenolik maddelerin tüketilmesiyle vücudumuza antioksidan madde sağlamanın yanı sıra gıdaları bozulmalara karşı korumaktadır (Anıl, 2006; Kim vd, 2004; Cemeli vd, 2009; Fernandez vd, 2008).

1.5.3. Propolisin Antioksidan Aktivitesi

Serbest radikaller ve antioksidanlar son zamanlarda en fazla çalışılan konulardan olup, gün geçtikçe önemleri daha da artmaktadır. Antioksidanlar; serbest radikallerin oluşumunu önleyen, oluşmuş serbest radikallerin zararını en aza indirmeye çalışan bileşikler olarak bilinmektedir. Antioksidanlar, oksidasyonla mücadele ettikleri için bu ismi almışlardır. Bunlar, vücut kimyasallarını, serbest radikaller ve diğer reaktif oksijen türleri ile reaksiyona girerek oksidasyon sürecini engelleyen maddeler olarak bildirilmektedir. Antioksidanlar serbest radikal zincir reaksiyonunu durdurmak için kendilerini istikrarsızlaştırmadan elektron vererek serbest radikalın açığını kapatır (Szalay, 2016) (Şekil 11).

Reaktif oksijen çeşitlerinin meydana gelmesi ve bunlar tarafından oluşan oksidatif hasarı engelleyebilmek için vücutta birçok savunma mekanizması gelişmektedir (Akkuş, 1995). Antioksidanların içerisinde enzimler ve endojen maddeler bulunmuştur. Bunlar canlı organizmada meydana gelen oksidatif stresi önlemektedir. Eğer antioksidanlar yetersiz kalırsa ya da oksidanlar belirli seviyenin üstüne çıkarsa bu dengenin bozulmasıyla oksidan olan moleküller canlı organizmalarda temel yapı elemanları olarak bilinen; karbonhidratları, proteinleri, lipidleri, yararlı enzimleri ve nükleik asitleri bozarak zararlı etkilere neden olur. Oluşan zararlı etkilerin tamamı oksidatif stres olarak adlandırılmıştır. Bu sebeple vücudu dışarıdan iyileştirici, engelleyici ve koruyucu özelliklere sahip antioksidanların yeterli miktarda alınması gerekmektedir (Valko vd., 2007). Oksidanları, antioksidanlar dört ana yolla nötralize etmektedirler (Uğuzlar, 2009). Bu 4 yol;

- Antioksidan moleküller serbest oksijen radikallerinin ya elektronları tutarlar ya da onları daha zayıf olan yeni bir moleküle dönüştürürler. Antioksidanlar, mikromoleküllere ve enzimlere bu şekilde etki etmektedir.

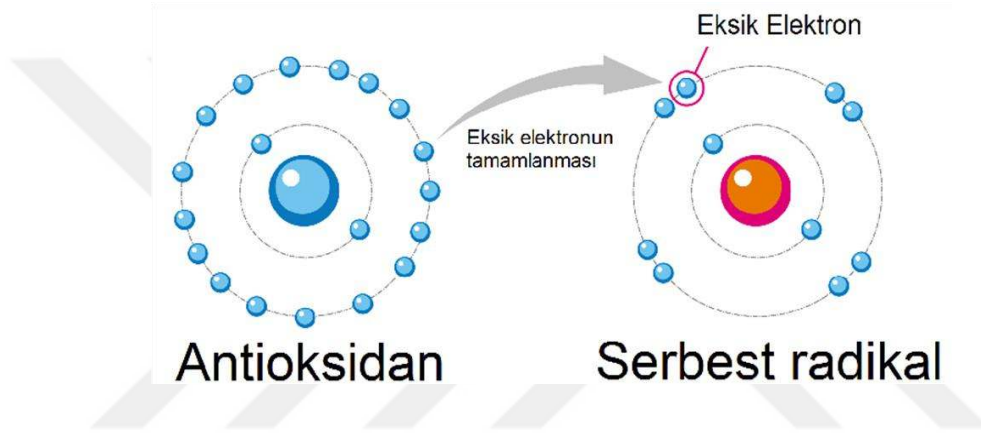
- Serbest radikallerden kaynaklanan hasar antioksidan moleküller tarafından onarılır.

- Antioksidan moleküller serbest oksijen radikallerine hidrojen vererek onların inaktivasyonunu sağlar. Vitaminler ve flavanoidler bu şekilde hareket eder.

- Antioksidan molekülleri serbest oksijen radikallerini bağlayarak peroksidasyon zincirini durdurarak zincir kırıcı etki gösterir. Mineraller, seruloplazmin ve hemoglobinler, zincir kırıcı etki göstermektedirler (Eymir, 2017).

Antioksidanlar, besin maddelerini ve bu besinleri tüketen canlıları reaktif oksijen ve nitrojen türü gibi serbest radikal moleküllerin oksidatif zararlarına karşı koruyan

kimyasallardır. Bitkisel gıdalar, antioksidan maddelerin en önemli kaynağıdır. Beslenmeyle alınan antioksidan bileşikler genellikle fitokimyasal antioksidanlar olarak adlandırılmaktadır. Gıdalardaki doğal antioksidan bileşenler; serbest radikal bağlayıcı, indirgen ajan, singlet oksijen tutucu ve serbest radikal bağlayıcı mekanizmalardan bir ya da birkaçı antioksidan etkileri göstermektedir (Lee vd, 2004). Antioksidan bileşikler, serbest radikallerle reaksiyona girerek tümör gelişimini önlemektedirler (Başer, 2002).



Şekil 11. Antioksidan ve serbest radikal (Başer, 2002)

Propolisin bugün büyük oranda kullanılması ile diyabet, kanser ve kalp hastalıkları gibi birçok hastalığa engel olduğu ve sağlığın korunmasına da önemli katkısı bulunduğu bilinmektedir (Burdock, 1998; Banskota vd; 2002). Flavonoidler, propoliste bulunan önemli bileşenlerden biridir. Propolisin yapısında bulunan bileşenlerin; antimikrobiyal, antikanser, antioksidan, antiinflamatuvar dâhil çoğu farmakolojik ve biyolojik aktiviteler için kullanılmaktadır (Tatlı Seven, 2012).

Flavanoidler, propolisin yapısında fazla miktarda bulunan önemli antioksidanlardır. Serbest radikallerin zararlı etkilerini, antioksidanlar engellemektedirler. Böylece C vitamini gibi bileşiklerin yıkılmasını ve oksitlenmesini engeller ve lipidleri korurlar (Russo vd; 2004). Antioksidanlar, savunma faktörü olarak kanda serbest radikallere karşı önemli katkı sağlamaktadırlar. Antioksidanlardan, süperoksit dismutaz, katalaz, glutathion peroksidaz ve redükte glutatyon gibi enzimler oksidasyona karşı çıkan temel maddelerdendir. Serbest radikal üretimine karşı enzimatik kapasite yetersiz kaldığında, ikinci kademe savunma etkenleri olan vitaminler devreye girmektedir (Tatlı

Seven, 2008; Seven, 2009). E ve C vitamini gibi antioksidanlar serbest radikallerin oksidan etkilerini durdurmaktadır (Halliwell ve Gutteridge, 1984; Seven, 2009). Propolis yapısında 300'den fazla değişik madde vardır. Bu sebeple günümüzde oksidatif stresin propolis ile ilişkisinin önemini daha fazla artırmaktadır (Tatlı Seven, 2012).

Propolis, antibakteriyel (Ghisalberti, 1979; Menezes vd, 1997) antiviral, antioksidan (İsla vd, 2001) gibi biyolojik özelliklere sahiptir. Propolis, antibakteriyel, antiviral, antifungal, antioksidan, antiinflamatuvar, özelliği nedeniyle yara iyileştirmede, doku yenilemede ve anestezi özelliği ile birlikte birçok biyolojik aktivitenin gerçekleşmesinde etkili olduğu bildirilmiştir (Eroğlu vd, 2004). Propolisin antioksidan özelliği, serbest radikalleri tutmak ya da daha zayıf yeni bir moleküle dönüştürmek sureti ile serbest radikalle etkileşime girip, oksidan maddelerin aktivitelerini azaltmaktadır. Böylelikle serbest radikaller etkilerini kendilerine bağlamak sureti ile reaksiyonun zincirini kırmak ya da onarım yapmak sureti ile göstermektedirler (Özalpan, 2001).

1.5.4. Propolisin Farklı Çözücülerde Ekstraksiyonları

Propolisin bileşimi esas olarak bitkiden toplandığı yere, ikincil olarak da ekstraksiyon için kullanılan yöntemle bağlıdır (Marcucci, 1995). Bu nedenle çözücü dikkatle seçilmiş olmalıdır (Cowan, 1999). Biyoaktif bileşiklerin ekstraksiyonu için kullanılan başlıca çözücüler ve elde edilen bileşenleri Tablo 2'de gösterilmektedir.

Tablo 2. Propolis ekstraksiyonu için kullanılan çözücüler ve elde edilen bileşenler (Cowan, 1999) (Koyu renkle yazılan bileşikler yaygın olarak yalnızca tek bir çözücü içinde elde edilmiştir.)

Su	Metanol	Etanol	Kloroform	Dikloroman	Eter	Aseton
Antosiyanin	Antosiyanin	Taninler	Terponoidler	Terpenoid	Alkoloid	Flavonollar
Nişastalar	Terponoidler	Polifenoller	Flavonollar	Taninler	Terpen	
Terpenler	Saponinler	Poliasetler		Polifenoller	Kumarier	
Saponinler	Taninler	Flavonollar		Flavonollar	Yağ asitleri	
Terponler	Ksantilin	Terponoidler		Steroller		
Poliipeptidler	Totarol	Steroller		Alkoloidler		
Lektinler	Quassinler	Alkoloidler				
	Laktonlar					
	Flavonlar					
	Fenonlar					
	Polifenoller					
	Poliipepler					
	Lektinler					

Ham propolis ahşap, balmumu, polen hatta ölü arılar gibi yabancı maddeler içerir, bu nedenle ekstraktları hazırlamadan önce elimine etmek ve saflaştırmak için propolis örneğinin, makroskobik olarak incelenmesi gerekmektedir. Test işleminde kritik bir adım, çalışmada kullanılacak propolis örneklerinin ekstraksiyonudur. Ekstraksiyon için kullanılan çözücüler genellikle metanol ve etanol gibi alkollerin olduğu bilinmektedir (Sforcin ve Bankova., 2011).

Propolisin sulu ekstraktı, sıvı etanol ekstraktı ya da yarı katı ekstraktı dâhil olmak üzere çeşitli formları kullanılabilmektedir. Propolis çok farklı kimyasal bileşimlere sahip olsa da antifungal, antibakteriyel ve diğer çeşitli aktivitelerinin benzer olması şaşırtıcı bir gerçektir. Ekstrakte propolis için, hayvansal yağ, balmumu, parafin, katı maddeler ve balmumu ile iyi karışabilir olması gibi olumlu özellikleri sebebiyle zeytinyağı propolis için bir seçenek çözücü olarak kullanılmaktadır. Yağ propolisten gelen biyoaktif bileşenleri ekstrakte edebilme yeteneğine sahiptir. Zeytin yağı, kozmetik ve farmasötik preparatların üretiminde hem yardımcı madde hem de aktif madde olarak kullanılmaktadır (Ramanauskiene vd., 2011).

Propolisin etanolik özütünün; antifungal, antibakteriyel, antiviral, antifungal, lokal-anestetik, antiprotozoal, antikarsinojenik, antiinflamatuvar, immünostimülatör, antikarsinojenik ve antioksidan özellikler göstermiş olduğu çeşitli çalışmalarla tespit edilmiştir (Tosi vd., 1996).

1.5.5. Propolis ile İlgili Yapılan Çalışmalar

Isla (2001), yaptığı bir çalışmada Arjantin propolislerini %80 etanol ile çözdüklerinde 13 propolis numunesinin oda sıcaklığında 24 saat karıştırılarak etanolik ekstraktlarını hazırlanmışlar ve en yüksek toplam flavanoid madde değerini 62,0 mg/g propolis ve en düşük toplam flavanoid madde değerini 13,3 mg/g propolis olarak bildirmiştir.

Nagai vd. (2003) yaptığı çalışmada Brezilya propolisinde su ekstraktının hazırlanması ve antioksidan özellikleri bir lipid peroksidasyon model sistemi kullanarak ölçmüştür. Antioksidan aktivitenin çok güçlü olduğunu ve 1 ve 5 mg/mL'de 5 mm askorbik asitinkinden daha yüksek olduğunu bildirmiştir. Propolisin su ekstraktının süperoksit anyon radikaline karşı temizleme aktivitesi yüksek olduğunu ve 50 ve 100 mg/mL'de ekstraktlar süperoksit üretimini tamamen inhibe etmiştir. Ekstraktlar, 50 ve 100 mg/mL'de hidroksil radikalini

tamamen inhibe ettiğini bildirmiştir. Bu, propolisin sulu ekstraktının kanser, kardiyovasküler hastalıklar ve diyabet gibi çeşitli hastalıkları olan hastalar için bir ilaç olma potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir.

Moreira (2008), Portekiz'den iki farklı bölgeden (Bornes ve Fundao) elde edilen propolisin antioksidan ve toplam fenol değerlerini belirlemek için yaptığı çalışmada DPPH yöntemine göre antioksidan aktivitesi Bornes bölgesinde $0.006 \pm 0,003$ (mg/mL) ve Fundao bölgesinde $0.052 \pm 0,003$ (mg/mL) olarak bulmuş ve toplam fenolik madde içeriğini Bornes bölgesinde $329.00 \pm 0,01$ (mg/mL) ve Fundao bölgesinde $151,00 \pm 0,01$ (mg/mL) olarak belirlemiştir.

Kalogeropoulos vd. (2009), yaptıkları bir çalışmada %70 etanol ile çözülmüş Yunanistan propolisin DPPH yönetimi göre toplam antioksidan aktivite değerini ($1110 \mu\text{mol}$ trolox/g) bildirmiştir.

Trabzon'da propolislerin yüksek performanslı sıvı kromatografi ile antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi ve fenolik bileşiklerinin belirlenmesi üzerinde yapılan bir çalışmada 17 farklı fenolik standart madde kullanılmış, 5 g propolis numunesi 35 mL metanolle muamele edilmiş, 6 saat boyunca 60°C 'de bekledikten sonra toplam polifenolik madde ve antioksidan aktivite tayini analizleri yapılmıştır. Sonuç olarak toplam polifenolik madde içeriği 25,40 mg GAE/g propolis olarak bulunmuştur. CUPRAC yöntemi ile antioksidan aktivite tayinindeki trolox standardına göre antioksidan madde değeri 3,92 mmol TEA/g propolis olarak bulunmuştur (Bekar, 2011).

Yavuz (2011), Türkiye'nin Van, Erzurum, Gümüşhane, Ordu, Rize ve Muğla şehirlerinden toplanan propolis örneklerini %95'lik etil alkolde iki gün süre ile bekletmiş ve CUPRAC metoduna göre analiz ederek toplam antioksidan aktivitelerini belirlenmiştir. Test sonuçlarına göre, en yüksek toplam antioksidan aktivite Erzurum ($3950 \mu\text{mol/g}$ propolis) ve Gümüşhane ($4150 \mu\text{mol/g}$ propolis) illerinden elde edilen propolis numunelerinde gözlemlendiğini bildirmiştir.

Karakaş (2012), Türkiye'nin değişik bölgelerinden toplanan propolislerin ayçiçek yağı, fındık yağı, mısır yağı ve zeytinyağı ile ekstraktlarını hazırlamıştır. Daha sonra toplam polifenol içeriği, toplam flavonoid içeriği ve demir indirgeyici güç tayinlerini yaparak, propolisin hangi yağ çeşidinde en iyi şekilde çözündüğü belirlemiştir. Çalışma sonucunda propolisin en iyi zeytinyağı içinde çözündüğü, daha sonra sırasıyla mısır yağı, fındık yağı ve

ayçiçek yağında çözündüğü belirlenmiştir. Propolisin zeytinyağlı ekstraktında toplam polifenol içeriği $63,52 \pm 3,46$ mg GAE/ g propolis olarak bildirilmiştir.

Andrade vd. (2017), yaptığı bir çalışmada Brezilya'nın kuzeydoğu bölgesinden kahverengi, yeşil ve kırmızı propolisin %70 etanolik ekstraktının toplam fenolik madde ve antioksidan aktivitesini değerlendirilmiştir. Sonuç olarak en düşük toplam fenolik madde değeri kahverengi propoliste $55,74$ mg GAE/ propolis olarak bulunurken, en yüksek değeri kırmızı propoliste $91,32$ mg GAE/ propolis olarak bulmuştur. En yüksek antioksidan aktivitesi kırmızı propoliste $2913,55$ μ mol Trolox/g propolis olarak, en düşük değer ise kahverengi propoliste $1868,45$ μ mol Trolox/g propolis olarak elde edilmiştir.

Kızıлтаş (2018), yaptığı bir çalışmada farklı kovanların (Ahşap, strafor ve plastik) propolis üretimine ve içeriğine (toplam fenolik bileşim) etkisi incelemiş, sonuç olarak plastik kovanlar için $413,274 \pm 212,910$ mg/g olarak en yüksek değeri bildirmiştir.

Mohammadzadeh vd. (2007) tarafından yapılan bir çalışmada İran'ın farklı bölgelerinden gelen etanolik propolis örneklerinin antioksidan aktivite değeri FRAP tahlili ile ölçülmüş ve sonuçları 100, 1000 μ g/mL konsantrasyonlarında trolox ile karşılaştırmış ve propolis etanolik ekstraktların FRAP değerlerini $31,5 \pm 14,6$ ila 1650 ± 72 μ mol trolox olarak gözlemiştir.

Sorucu (2015) tarafından yapılmış bir çalışmada Marmara bölgesindeki propolislerde, biyolojik etkisi olan fenolik madde ve miktarları mevsim farkına bağlı olarak belirlenmiştir. %70'lik etil alkol/su ile ekstraksiyonu yaparak galik asit standartını göre elde edilen sonuçlar sırası ile bahar, yaz, son bahar mevsimde $0,0560$ mg GAE/g, $0,174$ mg GAE/g, $0,11789$ mg GAE/g olarak bulunmuştur.

Escriche ve Juan-Borras (2018), yaptıkları bir çalışmada %70 etanol ile çözülmüş propolisin toplam fenolik madde içeriğini 286 mg GAE/g propolis olarak bulurken, en önemli fenolik maddelerin kaempferol, p-kumarik asit, m-kumarik asit, kafeik asit, ferulik asit, rutin, quersetin, apigenin ve pinosembrin olduğunu bildirmişlerdir.

Saroğlu (2018), yaptığı çalışmada en yüksek toplam fenolik madde içeriğini 11564 ± 178 mg GAE/ 100 g propolis olarak bulurken, en düşük toplam fenolik madde içeriğini $7206 \pm 120,8$ mg GAE/ 100 gram propolis olarak bulduğunu bildirmiştir. Aynı araştırmacı maksimum antioksidan aktivite DPPH analiziyle 470 μ mol/g Trolox olarak bildirirken CUPRAC analiziyle 890 μ mol/g Trolox olarak bildirmiştir.

Khalily (2019), yaptığı bir çalışmada %70 etanol ile çözülmüş propolisin antioksidan aktivite değerini 569,68 μmol trolox/g propolis olarak bulurken toplam fenolik madde içeriğini 593,31 mg GAE/g propolis olarak bildirmiştir.

Jansen-Alves vd. (2019), yaptığı bir çalışmada propolis potansiyel bir doğal koruyucu olarak kullanılmak üzere antioksidan ve antimikrobiyal aktivitesini göstermiştir. %80 etanol ile çözülmüş propolisin FRAP metodu (815,75 μmol trolox/g) ve DPPH metodu (51,12 μmol trolox/g) ile yüksek antioksidan kapasite bildirmiştir.

1.6. İlaç Tasarımı

20. yy'ın başlarına kadar yeni ilaçların keşfi ya da iyileştirilme çalışmaları, insan üzerindeki etkiler göz önüne alınarak deneme yanılma ile yürütülmekteydi. İlaçların keşfi bileşiklerin sentetik veya tamamen doğal özelliklerine göre yapılmaktaydı. Bu hedefi gerçekleştirmek için çok fazla sayıda bileşik sentezlenmekteydi. Tüm bu çalışmalar insana korkunç bir ekonomik yük getirmekle birlikte çevre açısından riskler taşımaktaydı. Son yıllarda genom bilimi, kombinatoryal kimya ve Yüksek Çıktılı Tarama (High Throughput Screening) kullanılması ile birçok bileşikler ilaç tasarımı kullanılmaktadır. Bu sebeple yeni ilaçların tasarımı son derece hızlı bir şekilde olmaktadır (Reddy ve Parrill, 1999).

Farmasötik endüstride araştırma-geliştirme açısından 1990'lı yıllardan itibaren farmasötik endüstride büyük değişimler oluşturmıştır. Yeni ilaç adaylarının tasarımı bilgisayarların kullanılıyor olması devrim sayılabilecek nitelikte olan bir gelişmedir (Smith vd., 2006).

Biyoteknoloji şirketleri, akademik araştırmacılar, düzenleyici kurumlar ve ilaç endüstrileri; yeni ilaçların geliştirilmesi ve tasarımı oldukça kompleks bir durum olması sebebiyle birlikte çalışmaktadır. Böylece, günümüzünde en çok ilgi çeken konulardan birisi haline gelmiştir (Alonso vd., 2006).

1.6.1. Bilgisayar Destekli İlaç Tasarımı

Bilgisayar Destekli İlaç Tasarımı (Computer Aided Drug Design) Yapı Temelli ve Ligand Temelli İlaç Tasarımı olarak iki temel başlık altında toplanabilir. İlaç hedeflerinin 3 boyutlu yapısının bilinip bilinmemesine göre hangisinin kullanılacağına karar verilir. Yapı

Temelli yaklaşımda; *de novo* ligand tasarımı ve moleküler docking benzeri yöntemler kullanılarak ilaç hedefinin aktif bölgesine fonksiyonel ve biçimsel özellikleri açısından uygun olan küçük moleküller ile çalışılmaktadır. Ligand Temelli yaklaşımda ise; bilinen etkin bileşikler yapıları bakımından fizikokimyasal ve şekilsel veritabanlarından yararlanılarak; farmakofor geliştirme, ComFA ve QSAR benzeri metotlar kullanılmaktadır (Griffith vd., 2005).

Ligand Temelli metotlara, ilaç hedef molekülünün yapısal bilgisi bulunamadığında yeni ilaç öncüllerini geliştirmek için hesaplamalı çalışan kimyacılar bu metotlara başvurumaktadırlar. Yüksek kan basıncı, depresyon ve ağrı gibi rahatsızlıkları ligand temelli ilaç tasarımı metotlar ile tedavi eden birçok ilacın gerçekleştirilmesinde kullanılmıştır (Cobb, 2007).

1.6.2. Ligand Yerleştirme

Reseptör-ligand kompleksinin yapı öngörüsü moleküler docking olarak adlandırılabilir. Reseptör çoğu zaman protein oligomeri ya da protein iken, ligand ise başka protein veya küçük bir moleküldür. Moleküler docking (kenetlenme), yaygın olarak ligand yerleştirme çalışmalarında tercih edilmektedir. Çoğu ligand yerleştirme metotları ise MM temellidir (Addock ve McCammon, 2006).

1980'lerde Kuntz ve arkadaşları tarafından ilk kez yerleştirme algoritmasının bulunmasından bu yana çok sayıda değişik yerleştirme araç ve yaklaşımlar gelişmiştir (Kuntz vd., 1982). Bununla beraber, birtakım çalışmalar çoğu aracın docking performansını dikkate alarak hedefe güçlü şekilde bağlanmış olduğunu göstermektedir. Bu sebeple elde olan bu durumda en iyi olan programı seçmek oldukça zordur. Deneme çalışmalarındaki kriterlerin farklı olmasından ve farklı hedeflerin, farklı şartlar altında, farklı araçlar için kullanılmasından dolayı zor olmaktadır (Wolf vd., 2007).

Moleküler docking programı ile sanal taramanın ilaç keşfinde olan önemi gün geçtikçe artmaktadır. Sanal tarama çoğunlukla üç basamak olarak gerçekleşmektedir. Birinci basamak, tarama kütüphanelerindeki bileşiğin kompleksi ve bir hedef proteinin için en uygun olan yapıyı moleküler docking programı tahmin etmektir. İkinci basamak, kompleksler bağlanma enerjisi kuvvetlerine göre skorlandırılmaktadırlar. Son basamak ise, yerleştirilme skorlarına göre sınıflandırma yapılarak sanal tarama sonuçlarından en iyi

derecede olanlar seçilmektedirler. Bu sebeple moleküler docking programı ile ilaç geliştirme basamaklarının en önemlilerinden biridir (Onodera vd., 2007).

Sonuç olarak; moleküler docking programının, gerçek performansını bir kaç hedef protein üzerindeki deneme sonuçlarına göre tahmin etmekte yetersiz kalmaktadır (Onodera vd., 2007). Hedef protein yapısına bağlı olarak yerleştirme programlarının performansları değişkenlik göstermektedir (Yang vd., 2000, Kontoyianni vd., 2004). Değişik ligand yerleştirme programlarının karşılaştırılması fazlaca çalışılmıştır (Wang vd., 2001, Kellenberger vd., 2004, J. Park vd., 2009, Hevener vd., 2009).



2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

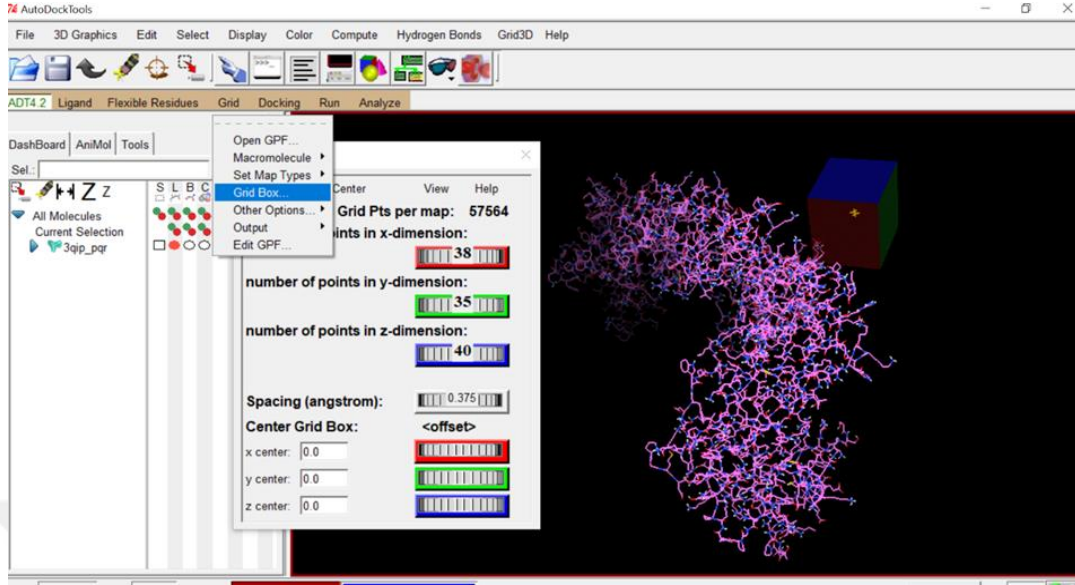
2.1. Kullanılan Programlar

2.1.1. AutoDock 4.0 ve AutoDockTools

AutoDock, 1998 yılında Morris ve ekibi tarafından geliştirilmiştir (Morris vd., 1998). Autodock, yarı empirik bir kuvvet alanı (force field) kullanarak küçük moleküllerin makromoleküllere bağlanmada serbest enerjisini öngörmeyi amaçlar. Lamarckian genetik algoritması (LGA), autodock'ın en çok kullanılmakta olan konformasyonel araştırma algoritmasıdır. İçerisinde geleneksel genetik ve benzetimli hibridizasyon algoritmaları da bulunmaktadır. Program, proteinin bazı özel kısımlarını ve de ligandın tümünün tamamen esnek yapıda olmasına izin vermektedir (Morris ve ark., 2009). Kolombik ile van der Waals etkileşimleri hesaplamak ve üç boyutlu yapıyı tanımlandırmak için AutoGrid tarafından AMBER kuvvet alan temelli bir dizi örgü seti kullanılmaktadır (Huang vd., 1998).

DOCK demirleme-ve-büyüme (anchor-and-grow) olarak isimlendirilen bir örnekleme algoritması kullanılmaktadır. Bunu, ligandı esnek olacak şekilde biyomoleküler hedefin aktif bölgesine inşa ederek yapmaktadır. Bu, algoritma içerisinde ligandın en büyük rijit parçası (anchor) olarak tanımlanır ve aktif bölgeye yönlendirilir. Geometrik çeşitliliği en üst seviyeye çıkaracak şekilde rijit yapı üzerinde tam bir molekül oluşuncaya kadar ligandın esnek kısımları büyümenin her tabakasında kümelenme yaparak sistematik bir şekilde büyütülür. Kısmi reseptör esnekliğinin yanı sıra, AMBER moleküler mekanik ile GB/SA skoru, DOCK, DOCK 3.5 skoru, Poisson-Boltzmann ile çözücü-ulaşabilir yüzey alanıyla (PB/SA) skoru, Hawkins-Cramer-Truhlar (HCT) genelleştirilmiş Born ile çözücü-ulaşabilir yüzey alanıyla (GB/SA) skoru gibi özelliklere de sahiptir (Lang vd., 2009).

AutoDockTools, AutoDock için geliştirilmiş grafiksel kullanıcı arayüzüdür. AutoDockTools ile tüm AutoDock hesaplamaları, grid kutusu, grid dosyaları ve docking parametre dosyaları ve tüm ligand ve protein moleküllerin hazırlanması görsel olarak gerçekleştirilebildiğinden kullanıcı için büyük kolaylık sağlar.



Şekil 12. AutoDockTools grafiksel kullanıcı ara yüzü

AutoDock program, kuvvet alanı temelli ve lineer regresyon analizine dayalı bir skorlama fonksiyonu olan Amber kuvvet alanını kullanır. Docking programları için ligand molekülün esnekliği de önemli bir parametredir. AutoDock esnekliği için önce ligand üzerinde bir kök atom seçilir ve bu atom docking boyunca sabit tutulur. Bu kök atom molekülündeki en büyük dallanmanın boyutu minimuma indirgenecek şekilde seçilir. Ligand esnekliği ise bu kök atoma bağlı atomların döndürülebilirliğiyle sağlanır. AutoDockTools aracından faydalanarak kullanıcı tanımlı ligand esnekliği mümkün olsa da genel olarak AutoDock docking hesaplamalarında ligand molekül içerisindeki amid ve aromatik bağlar hariç tüm bağlar döndürülebilir kabul edilir (Böhm, 1994).

2.1.2. BIOVIA Discovery Studio

BIOVIA Discovery Studio, moleküler analiz ve modelleme için kapsamlı bir yazılım paketidir. Temel veri analizini gerçekleştirmek için kullanılan araçlarla birlikte verileri görüntüleme ve düzenleme işlevi sunmaktadır. Discovery Studio Visualizer, başkaları tarafından oluşturulan verileri açmak için kullanılacak ücretsiz bir görüntüleyicidir. Discovery Studio, moleküler yapıları, dizileri, X-ışını yansıma verilerini, komut dosyalarını ve diğer verileri görüntüleme ve düzenleme gibi etkileşimli bir ortam sunmak üzere

tasarlanmıştır. Ayrıca, verilerin grafiklerini ve diğer grafiksel gösterimlerini görüntülemek için zengin bir izleyici kümesi sağlar (SystèmeS, 2017).

BIOVIA Discovery Studio, yaşam bilimlerinde tahmin, modelleme ve simülasyon bilimleri için BIOVIA'nın orijinal sürümüdür. BIOVIA Discovery Studio, oldukça verimli bir CHARMM moleküler mekanik simülasyon programı içerir. 30 yıldan fazla dikkatli bir akademik araştırma olan CHARMM, proteinler, peptidler, küçük moleküllü ligandlar, nükleik asitler, lipidler ve karbonhidratlar üzerinde birincil odak noktasıyla geliştirilmiştir. Kuantum mekaniğine dayalı çalışmalar için, bu yazılım DMol3 programını içerir. DMol3, başarılı ticari uygulamaların uzun bir geçmişine sahip bir DFT uygulamasıdır. Kuantum mekanik denklemleri çözmek için benzersiz yaklaşımını kullanan DMol3, hesaplama için mevcut en hızlı yöntemlerden biridir ve özellikle 500'den fazla atom içeren daha büyük sistemler için belirgin olan bir avantajdır. Discovery Studio Programı ile açık bir çözücü veya çözücü bazlı dinamik moleküler ve alan kuvvetine dayalı simülasyon modelleri geliştirilebilmektedir (SystèmeS, 2017).

2.2. HIV-1 Revers Transkriptaz Enziminin 3-boyutlu Protein Yapısının Belirlenmesi

HIV-1 Revers transkriptaz enziminin amino asit sekans bilgisi doğrultusunda PDB bankasında mevcut 120 adet yapı bulunmuştur (Tablo 3). Bu yapılarının arasında çözünürlüğü en düşük olan 3QIP kodlu protein yapısı seçilmiştir. Bu 3-boyutlu kristal yapının içersinde mevcut olan ligand molekülü de referans bileşik olarak belirlenmiştir.

Tablo 3. 120 Proteinin Çözünürlük Değerleri ve Uzunlukları

Protein (PDB ID) Kodu	Çözünürlük değeri (Angstrom)	Depolandığı Tarih	Uzunluk (Amino asit)
1C0T;	2,7	2000	A:560 B:440
1C0U;	2,52	2000	A:560 B:440
1DLO;	2,7	1996	A:556 B:427
1DTQ;	2,8	2000	A:560 B:440
1DTT;	3	2000	A:560 B:440
1FK9;	2,5	2000	A:543 B:440
1HMV;	3,2	1995	A:560 B:440
1HNI;	2,8	1995	A:558 B:427
1HNV;	3	1995	A:558 B:427
1HVU;	4,75	1999	A:554 B:423
1HYS;	3,0	2001	A:553 B:425

Tablo 3' ün devamı

Protein (PDB ID) Kodu	Çözünürlük değeri (Angstrom)	Depolandığı Tarih	Uzunluk (Amino asit)
1IKW;	3	2001	A:560 B:427
1JLQ;	3	2001	A:560 B:440
1KLM;	2,65	1998	A:560 B:440
1N5Y;	3,1	2003	A:558 B:430
1N6Q;	3	2003	A:558 B:430
1R0A;	2,8	2004	A:558 B:429
1REV;	2,6	1996	A:560 B:440
1RT1;	2,55	1997	A:560 B:440
1RT2;	2,55	1997	A:560 B:440
1RT4;	2,9	1999	A:560 B:440
1RT5;	2,9	1999	A:560 B:440
1RT6;	2,8	1999	A:560 B:440
1RT7;	3	1999	A:560 B:440
1RTD;	3,2	1998	A:554 B:440
1RTH;	2,2	1996	A:560 B:440
1RTI;	3	1996	A:560 B:440
1RTJ;	2,35	1996	A:560 B:440
1S6P;	2,9	2004	A:560 B:430

Tablo 3' ün devamı

Protein (PDB ID) Kodu	Çözünürlük değeri (Angstrom)	Depolandığı Tarih	Uzunluk (Amino asit)
1S6Q;	3	2004	A:560 B:430
1S9E;	2,6	2004	A:560 B:430
1S9G;	2,8	2004	A:560 B:430
1SUQ;	3	2004	A:560 B:430
1T03;	3,1	2004	A:558 B:437
1T05;	3	2004	A:558 B:437
1TKT;	2,6	2004	A:560 B:440
1TKX;	2,85	2004	A:560 B:440
1TKZ;	2,81	2004	A:560 B:440
1TL1;	2,9	2004	A:560 B:440
1TL3;	2,8	2004	A:560 B:440
1TV6;	2,8	2004	A:560 B:440
1TVR;	3	1997	A:558 B:427
1VRT;	2,2	1996	A:560 B:440
1VRU;	2,4	1996	A:560 B:440
2B5J;	2,9	2005	A:560 B:430
2B6A;	2,65	2005	A:560 B:430
2BAN;	2,95	2005	A:560 B:430

Tablo 3' ün devamı

Protein (PDB ID) Kodu	Çözünürlük değeri (Angstrom)	Depolandığı Tarih	Uzunluk (Amino asit)
2BE2;	2,43	2005	A:560 B:430
2HMI;	2,8	1998	A:558 B:430
2HND;	2,5	2006	A:534 B:422
2I5J;	3,15	2006	A:552 B:429
2JLE;	2,9	2009	A,B:566
2OPP;	2,55	2007	A:542 B:427
2RF2;	2,4	2008	A:563 B:443
2RKI;	2,3	2008	A:560 B:440
2VG5;	2,8	2007	A:557 B:428
2VG6;	3,01	2007	A:557 B:428
2VG7;	2,82	2007	A:557 B:428
2WON;	2,8	2010	A:560 B:440
2YKM;	2,9	2011	A: 562 B: 428
2YKN;	2,12	2011	A: 562 B: 428
2YNG;	2,12	2013	A: 563 B: 447
2YNH;	2,9	2013	A: 563 B: 447
2YNI;	2,49	2013	A: 563 B: 447
2ZD1;	1,8	2008	A:557 B:428

Tablo 3' ün devamı

Protein (PDB ID) Kodu	Çözünürlük değeri (Angstrom)	Depolandığı Tarih	Uzunluk (Amino asit)
3C6T;	2,7	2008	A: 563 B:443
3C6U;	2,7	2008	A: 563 B:443
3DI6;	2,65	2008	A: 561 B: 440
3DLE;	2,5	2008	A:560 B:440
3DLG;	2,2	2008	A:560 B:440
3DRP;	2,6	2008	A:563 B:443
3DYA;	2,3	2008	A:561 B:440
3E01;	2,95	2008	A:561 B:440
3FFI;	2,6	2009	A:561 B:441
3HVT;	2,9	1994	A:556 B.428
3I0R;	2,98	2009	A:563 B:443
3I0S;	2,7	2009	A:563 B:443
3IG1;	2,8	2010	A:555 B:428
3IRX;	2,8	2010	A:558 B:428
3IS9;	2,55	2010	A:558 B:428
3ISN;	2,5	2010	C:560 D:427
3ITH;	2,8	2010	A,C:560 B,D:427
3KJV;	3,1	2010	A:560 B:452

Tablo 3' ün devamı

Protein (PDB ID) Kodu	Çözünürlük değeri (Angstrom)	Depolandığı Tarih	Uzunluk (Amino asit)
3KK1;	2,7	2010	A:560 B:452
3KK2;	2,9	2010	A:560 B:452
3KK3;	2,9	2010	A:560 B:452
3KLF;	3,15	2010	A, E, I, M:557 B, F, J, N:444
3LAK;	2,3	2010	A,B:560
3LAL;	2,51	2010	A,B:560
3LAM;	2,76	2010	A,B:560
3LAN;	2,55	2010	A,B:560
3LP0;	2,79	2010	A:563 B:443
3LP1;	2,23	2010	A:563 B:443
3LP2;	2,8	2010	A:563 B:443
3M8P;	2,67	2010	A:561 B:440
3M8Q;	2,7	2010	A:561 B:440
3MEC;	2,3	2010	A:560 B:440
3MEE;	2,4	2010	A:560 B:440
3NBP;	2,95	2010	A:561 B:440
3QIP;	2,0926	2011	A:560 B:440
3T19;	2,6	2011	A,B:563
3V4I;	2,7983	2012	A,C:556 B,D:428

Tablo 3' ün devamı

Protein (PDB ID) Kodu	Çözünürlük değeri (Angstrom)	Depolandığı Tarih	Uzunluk (Amino asit)
3V6D;	2,7048	2012	A,C:556 B,D:428
3V81;	2,8503	2012	A,C:556 B,D:428
4B3O;	3,3	2013	A:560 B:441
4B3P;	4,839	2013	A:560 B:454
4B3Q;	5	2013	A:560 B:454
4I7F;	2,5	2013	A:560 B:440
4ID5;	1,95	2013	A:557 B:429
4KV8;	2,3	2013	A:564 B:442
4LSL;	2,69	2013	A:557 B:428
4NCG;	2,58	2014	A:563 B:443
4PQU;	2,508	2014	A,C:556 B,D:428
4PUO;	2,901	2014	A,C:556 B,D:428
4PWD;	3	2014	A,C:556 B,D:428
4Q0B;	3,3	2014	A,C:556 B,D:428
4R5P;	2,894	2015	A,C:556 B,D:428
5CYM;	2,1	2015	A:557 B: 428
5HLF;	2,95	2016	A,C:555 B,D: 444
1BQM	3,1	1999	A:556 B:430

2.3. Materyal ve Yöntem

Moleküler docking, ilaç keşfi için giderek daha önemli bir araç haline gelmiştir. Bununla birlikte yeni ilaçların keşfedilmesinde Autodock4 programı sıklıkla kullanılmaktadır. Yapı temelli ilaç tasarımında yapılan moleküler docking çalışmaları çoğunlukla CADD basamaklarından biridir. Bu çalışmada docking işlemleri için öncelikle önceki çalışmalar referans olarak alındı ve propolis içerisindeki fenolik bileşikler arasında uygun seçim yapılmıştır. Ardından moleküler docking yöntemi ile belirlenen bu fenolik bileşiklerle HIV-1 Ters transkriptaz enzimi arasındaki bağlanma affinitesi analiz edilerek enzimin aktif bölgesi belirlenmiştir.

Moleküler docking işlemi için ilk aşamada HIV-1 Ters transkriptaz enziminin NCBI veritabanındaki insana ait olan 3-boyutlu yapısı alındı. Daha sonraki aşamada ise, bu enzime ait olan 3-boyutlu yapı ile 8 adet fenolik bileşiğin AutoDock 4.2 programı ile docking işlemleri gerçekleştirildi. Bu işlem sonucunda enzim-ligand arasındaki bağlanma serbest enerji ve inhibisyon sabiti değerleri hesaplandı. Ayrıca bu enzim-ligand kompleks yapısının etkileşim bağlanma bölgesindeki önemli amino asitler belirlendi.

2.3.1. Reseptör ve Ligandların Yerleştirme İşlemi İçin Hazırlanması

İlk aşamada HIV-1 Ters transkriptaz enziminin NCBI veritabanındaki insana ait olan 3-boyutlu kristal yapısı alındı. Bunun için HIV-1 Ters transkriptaz enzimine ait 3-boyutlu protein yapılarının çözünürlük değeri açısından en iyi olan aynı zamanda mutasyon bölgesi olmayan 3QIP kodlu protein yapısı ile çalışılmaya başlandı. Ardından, su molekülleri Discovery Studio 2017 S2 (Systemes, 2017) programı kullanılarak çıkartılıp, PBD2PQR (Dolinsky vd., 2004) programı ile fizyolojik pH koşullarında protonlanma yapılarak docking (kenetlenme) işlemi için hazırlandı.

Propolisten elde edilen; Kafeik asit fenetil ester (Caffeic acid phenetyl ester (CAPE)), Klorojenik asit (Chlorogenic acid), p-Kummerik asit (p-Coumeric acid), (-)-Epikateşin ((-)-Epicatechin), Ferulik asit (Ferulic acid), p- Hidroksibenzoik asit (p-Hydroxybenzoic acid), Protokatekuik asit (Protocatechuic acid), Qersetin (Quercetin) olmak üzere toplam 8 adet fenolik bileşiklerin 3-boyutlu yapısına PubChem'den (Kim vd., 2019) erişilerek yapılar .sdf

formatında kaydedildi. Ardından bu bileşiklere, Discovery Studio 2017 S2 (Systemes, 2017) ile su molekülleri eklenerek, pdf formatında kaydedildi.

2.3.2. Moleküler Docking Yöntemi

Docking prosedürü, hedeflenmiş bir bağlanma bölgesinde, ligand yapısının konformasyonunun ve yönlendirmesinin tahminini içerir. Docking işlemi, bir ligand yapısı için hedef olarak seçilen proteine bağlanma modunun belirlenmesi olarak da tanımlanabilir. Docking işlemi için 3 boyutlu yapısı bilinen ligand ve proteinlere ihtiyaç duyulur. Docking programı kısaca 3 boyutlu yapılardan yola çıkarak, ligandı proteinin hedeflenen bölgesine yerleştirir ve bu yerleşim esnasında meydana gelen enerji terimlerini sıralar (Avaz, 2011). Bu çalışma için AutoDock 4.2 programı kullanılmıştır.

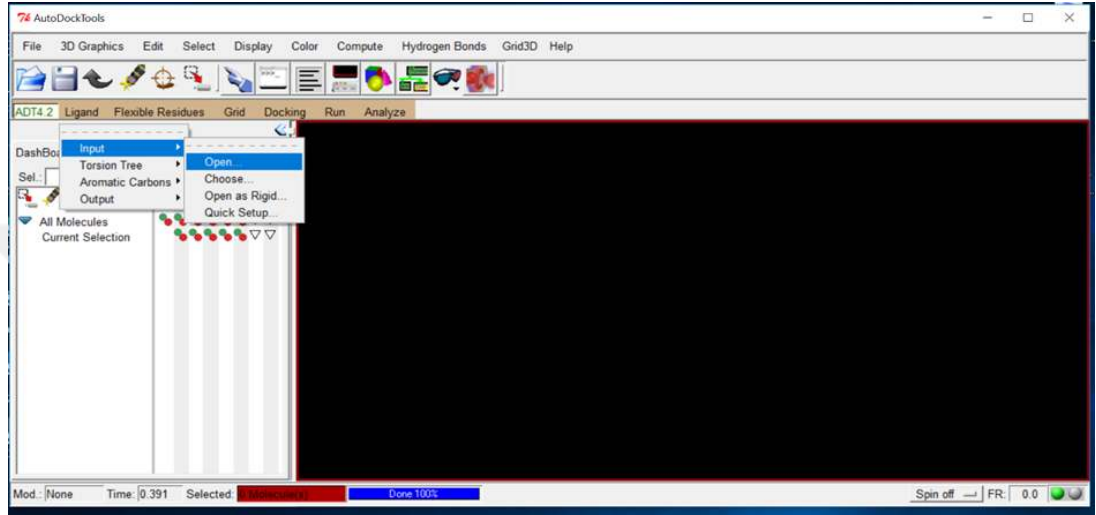
Atom temelli bir docking metodu olan AutoDock, algoritma olarak genetik bir algoritma kullanır. Genetik algoritmalar genel olarak molekülün yeni oluşturulan bir konformasyonu hakkındaki enerji ve geometri bilgilerini oluşturulacak bir sonraki konformasyona aktararak, en uygun konformasyonların elde eder. AutoDock ile docking hesaplamaları, hedef yapı için atoma özel affinite haritalarını oluşturmaya yarayan bir AutoGrid hesaplaması gerektirir. AutoGrid ile hedef molekül öncelikle karelere bölünmüş 3 boyutlu bir sisteme (grid) yerleştirilir ve sonrasında hedef moleküldeki tüm atom tipleri için affinite haritaları oluşturulur. AutoDock programı bundan sonra hedef proteini bu harita bilgileriyle tanıyacaktır. AutoDock programı ligandın bağlanma enerjisini hesaplamada yarı deneysel bir serbest enerji kuvvet alanı kullanır. Bu kuvvet alanı K_i değerleri bilinen çok sayıda protein-inhibitör kompleksi ile parametrize edilmiştir (Avaz, 2011).

Bu bilgiler doğrultusunda bu çalışmada, Lamanckian Genetik algoritma ile 100 çalışma adımıyla gerçekleştirilmiştir. Bu işlem sonucunda her bir olası konformasyon durum için bağlanma ilgisi (afinitesi) ve bağlanma serbest enerjisi (ΔG) hesaplanarak oluşan sonuçlar değerlendirilmiştir.

Bizim çalışmamızda ise ilk olarak referans (NVP) klasörü oluşturuldu. Klasör içerisine proteinin yapısı (3qip-pqr.pdb), referans (NVP) ve diğer 8 fenolik madde için ayrı ayrı ligandların yapısı; autodock4.exe ve autogrid4.exe çalışma komut dosyaları eklendi. Çalışacağımız 8 adet fenolik bileşik olması sebebiyle referans klasörle beraber 9 klasör

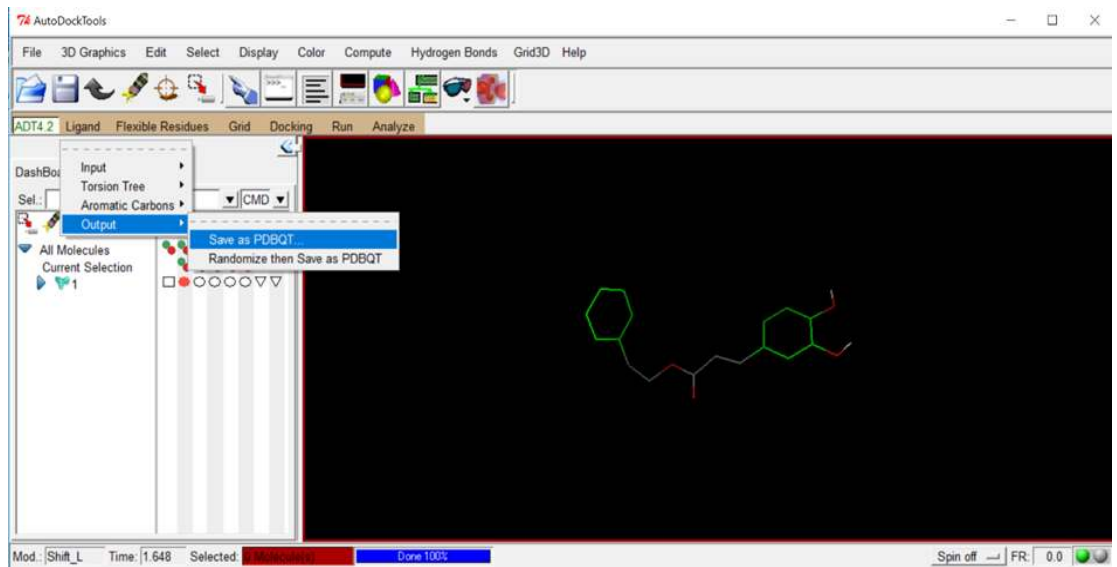
oluşturuldu. Her bir fenolik madde için 8 kez autodock tools programı kullanılarak docking başlatıldı.

Autodock programı açıldıktan sonra ligand seçildi.



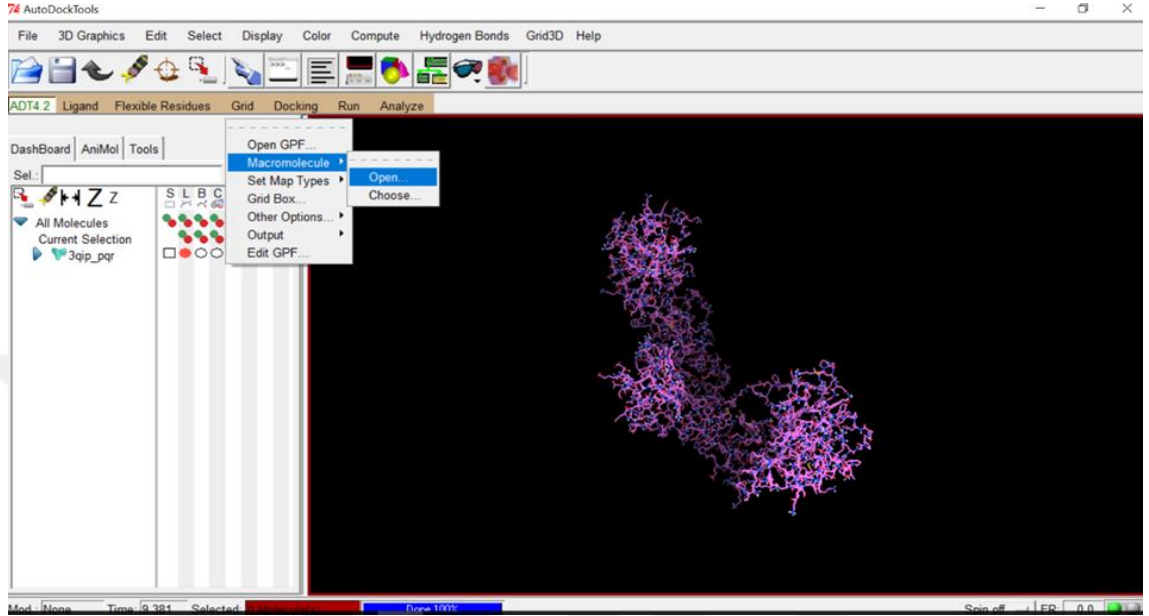
Şekil 13. AutoDockTools grafiksel kullanıcı ara yüzü ile docking başlangıcı

Ligand output ile PDBQT olarak aynı dosyaya kaydedilir. Daha sonra tüm moleküller silindi.



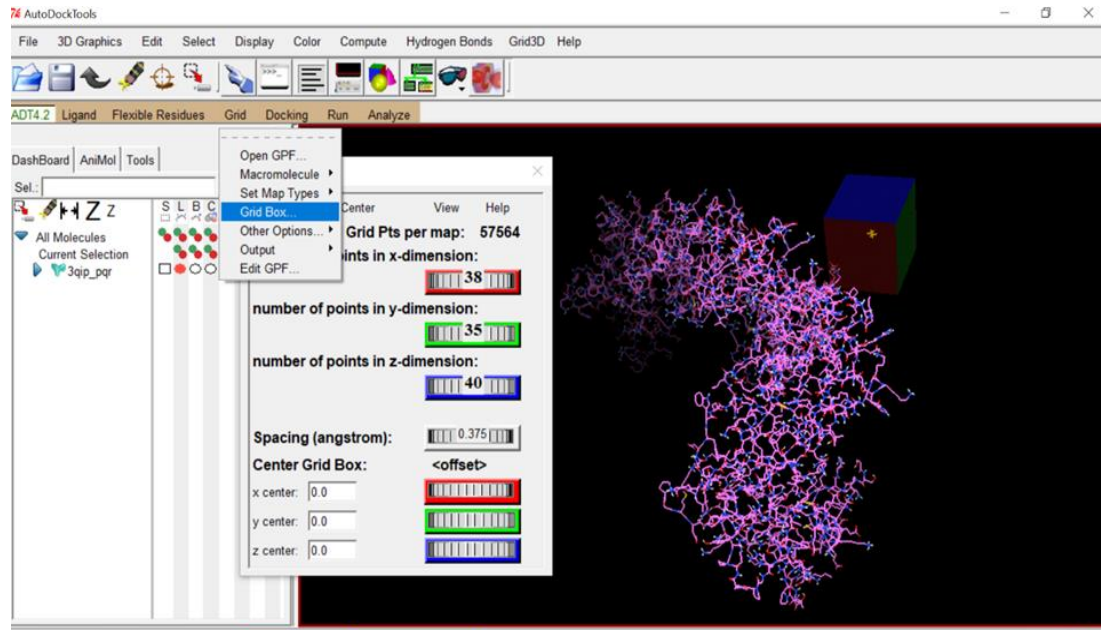
Şekil 14. AutoDockTools grafiksel kullanıcı ara yüzü ile ligand yükleme aşaması

3qip-protein açılır. 3qip-proteinde aynı klasöre kaydedildi.



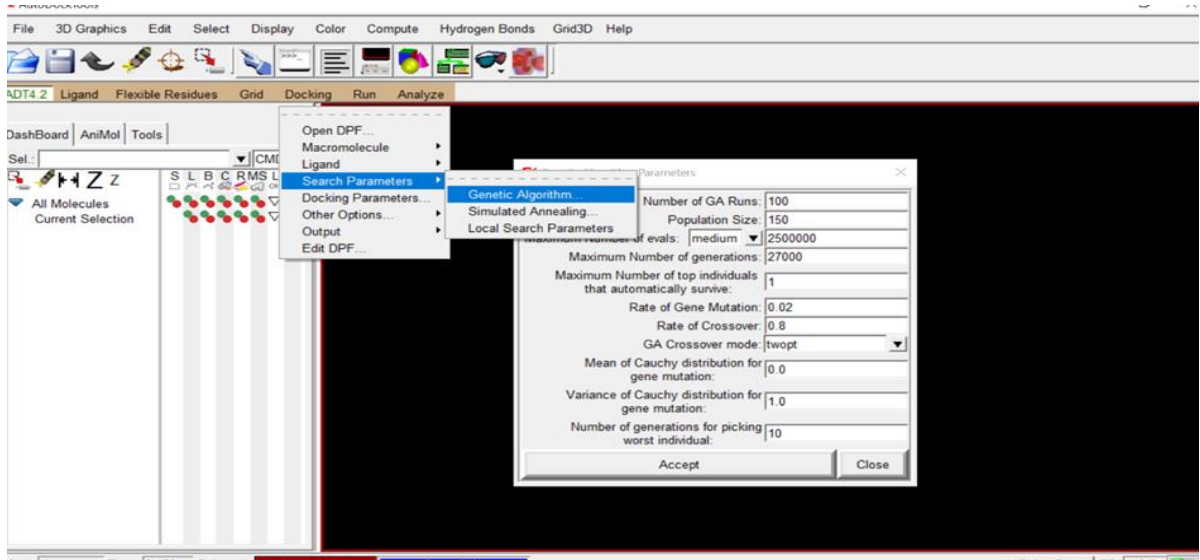
Şekil 15. AutoDockTools grafiksel kullanıcı ara yüzü ile protein yükleme aşaması

Grid box'tan boyutlar x=38 y=35 z=40 olarak dimensionlar ayarlandı.



Şekil 16. AutoDockTools grafiksel kullanıcı ara yüzü ile dimensionların seçilmesi

Dosya outputla dock.gpf formatında kaydedilir. Edit- Delete sekmesinden tüm moleküller silindi. Docking sekmesinden proteini ve daha sonra ligandı açılır, RUNS 100 olarak ayarlanır. Outputla Lamarckian GA (4.2) ile dock.dpf olarak dosya oluşturuldu.



Şekil 17. Lamarckian GA (4.2) ile dock.dpf dosyasının oluşturulması

2.3.3. Git Bash Programı ile Komut Dosyası Oluşturma:

Git bash programında aşağıda yazıldığı üzere ilgili komutlar verilerek dosya oluşturuldu.

```
cd Desktop/
ls
cd klasör adı/
ls
./autogrid4.exe -p dock.gpf -l dock.glg
./autodock4.exe -p dock.dpf -l dock.dlg
```



```

MINGW64:/c:/Users/zubeyde.coskun/desktop/ligand1
zubeyde.coskun@minint-2hac26a MINGW64 ~
$ cd desktop/

zubeyde.coskun@minint-2hac26a MINGW64 ~/desktop
$ ls
desktop.ini  'Git Bash.lnk'*  ligand1/

zubeyde.coskun@minint-2hac26a MINGW64 ~/desktop
$ cd ligand1/

zubeyde.coskun@minint-2hac26a MINGW64 ~/desktop/ligand1
$ ls
3qip_pqr.pdbqt  autodock4.exe*  dock.dlg  dock.glg
3qip-pqr.pdb    autogrid4.exe*  dock.dpf  dock.gpf

zubeyde.coskun@minint-2hac26a MINGW64 ~/desktop/ligand1
$ ./autogrid4.exe -p dock.gpf -l dock.glg

zubeyde.coskun@minint-2hac26a MINGW64 ~/desktop/ligand1
$ ./autodock4.exe -p dock.dpf -l dock.dlg

```

Şekil 18. Git Bash Programı ile komut dosyası oluşturma

Hazırlanan klasör içindeki ‘‘dock.dlg’’ dosyası, word pad ile açıldı.

Control F ‘‘rmsd table’’ yazılarak ilgili değerler tablo olarak oluşturuldu.

STATISTICAL MECHANICAL ANALYSIS			
Partition function, Q =	101.04	at Temperature, T =	
298.15 K			
Free energy, A ~	-2734.61 kcal/mol	at Temperature, T =	
298.15 K			
Internal energy, U =	-6.13 kcal/mol	at Temperature, T =	
298.15 K			
Entropy, S =	9.15 kcal/mol/K	at Temperature, T =	
298.15 K			

Şekil 19. Ligandların bağlanma enerjisi kcal/mol ve Ki(µM) cinsinden oluşturulması

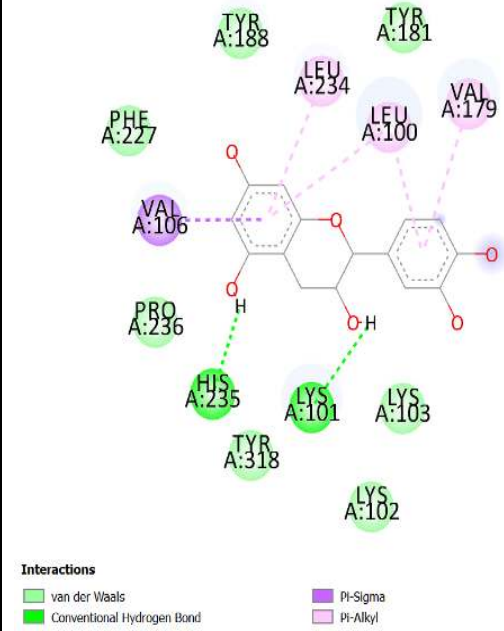
Klasörden 3qip protein metin dosyası ile açılarak 3qip protein–lig1.pdb olarak yeni bir dosya oluşturuldu.



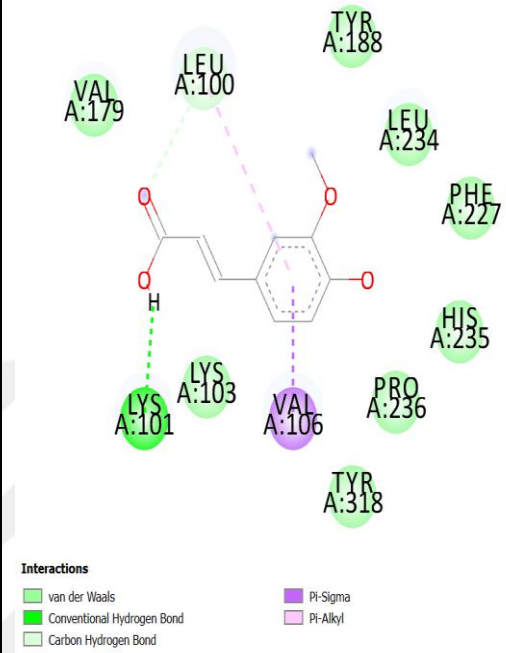
Şekil 20. DSV ile proteinin üçüncül yapısının gösterimi

Şekil 21' in devamı

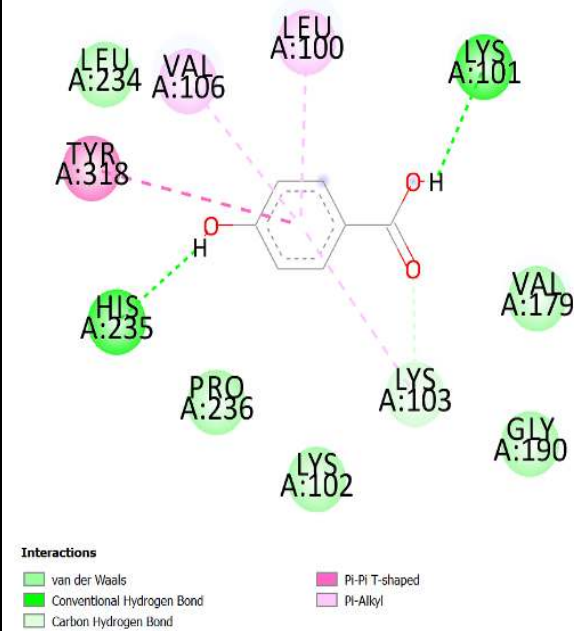
4-(-)-Epicatechin



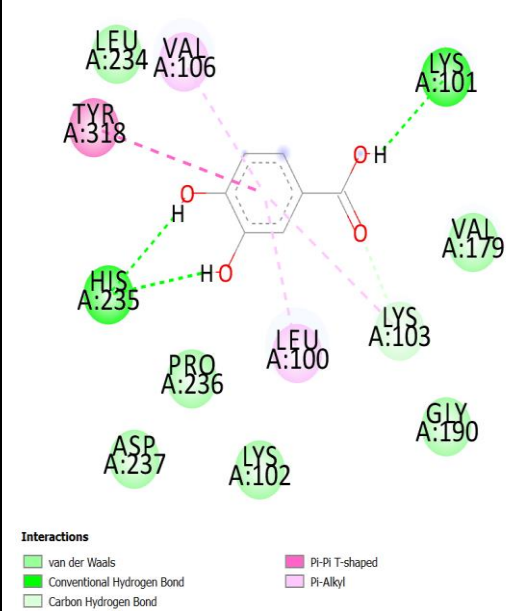
5- Ferulic acid



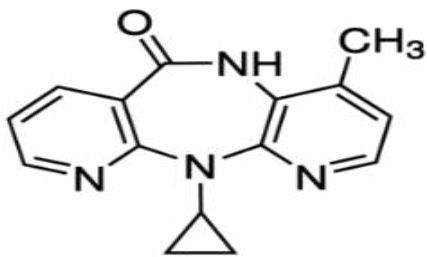
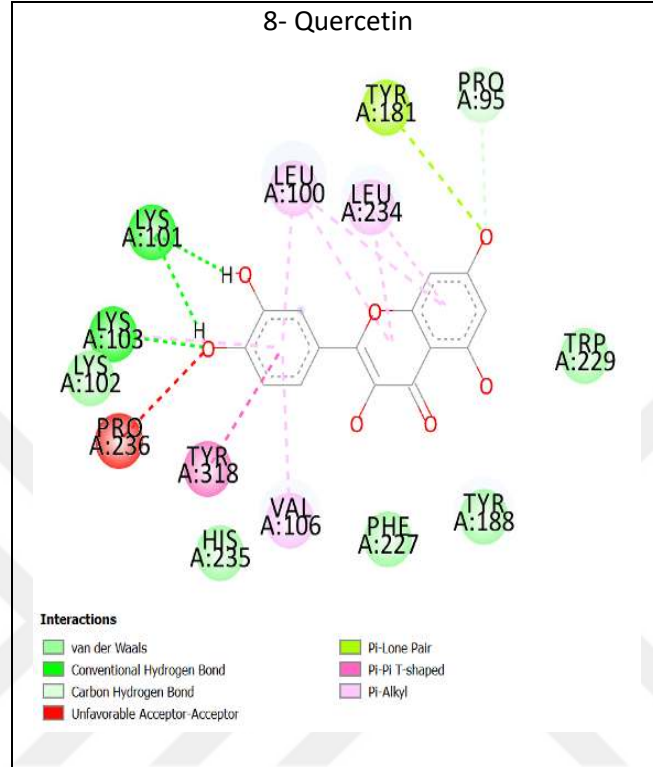
6- p-Hydroxybenzoic acid



7- Protocatechuic acid

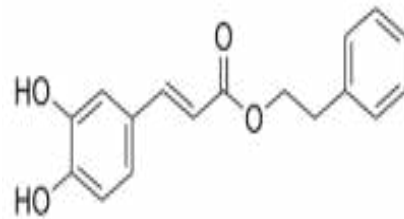


Şekil 21' in devamı



Nevirapine

(11-Cyclopropyl-5,11-dihydro-4-methyl-6H-dipyrido[3,2-b:2',3'-e]
[1,4]diazepin-6-one)

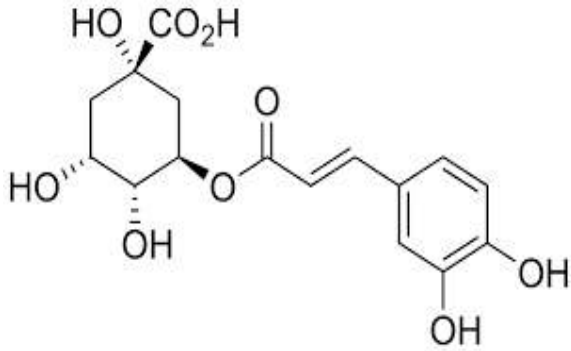


Caffeic acid phenethyl ester (CAPE)

(2-Phenylethyl (2E)-3-(3,4-dihydroxyphenyl)acrylate)

Şekil 22. NVP ve 8 Fenolik maddelerin kimyasal yapıları

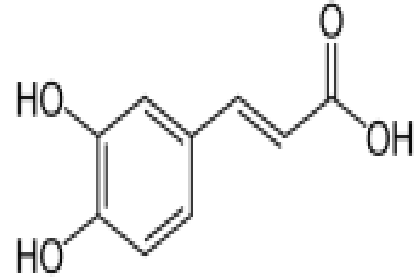
Şekil 22' in devamı



Chlorogenic acid

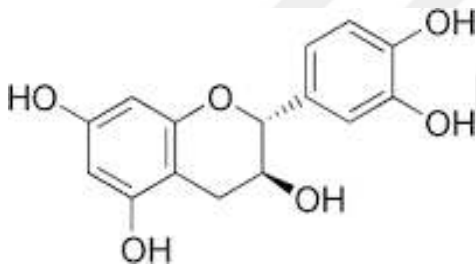
1,4,5-Trihydroxycyclohexanecarboxylic acid

3-(3,4-dihydroxycinnamate),3-(3,4-Dihydroxycinnamoyl)quinic acid



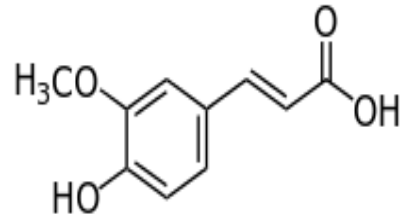
Coumaric acid

(trans-4-Hydroxycinnamic acid)



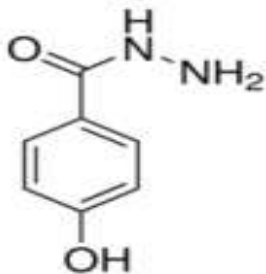
Epicatechin

((-)-cis-3,3',4',5,7-Pentahydroxyflavane)



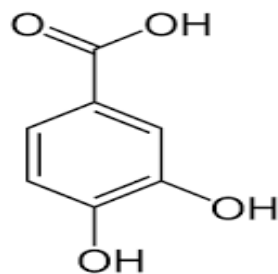
Ferulic acid

(trans-4-Hydroxy-3-methoxycinnamic acid)



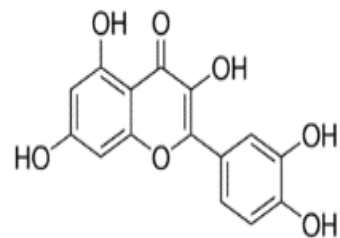
Hydroxybenzoic acid

(4-Hydroxybenzoic acid)



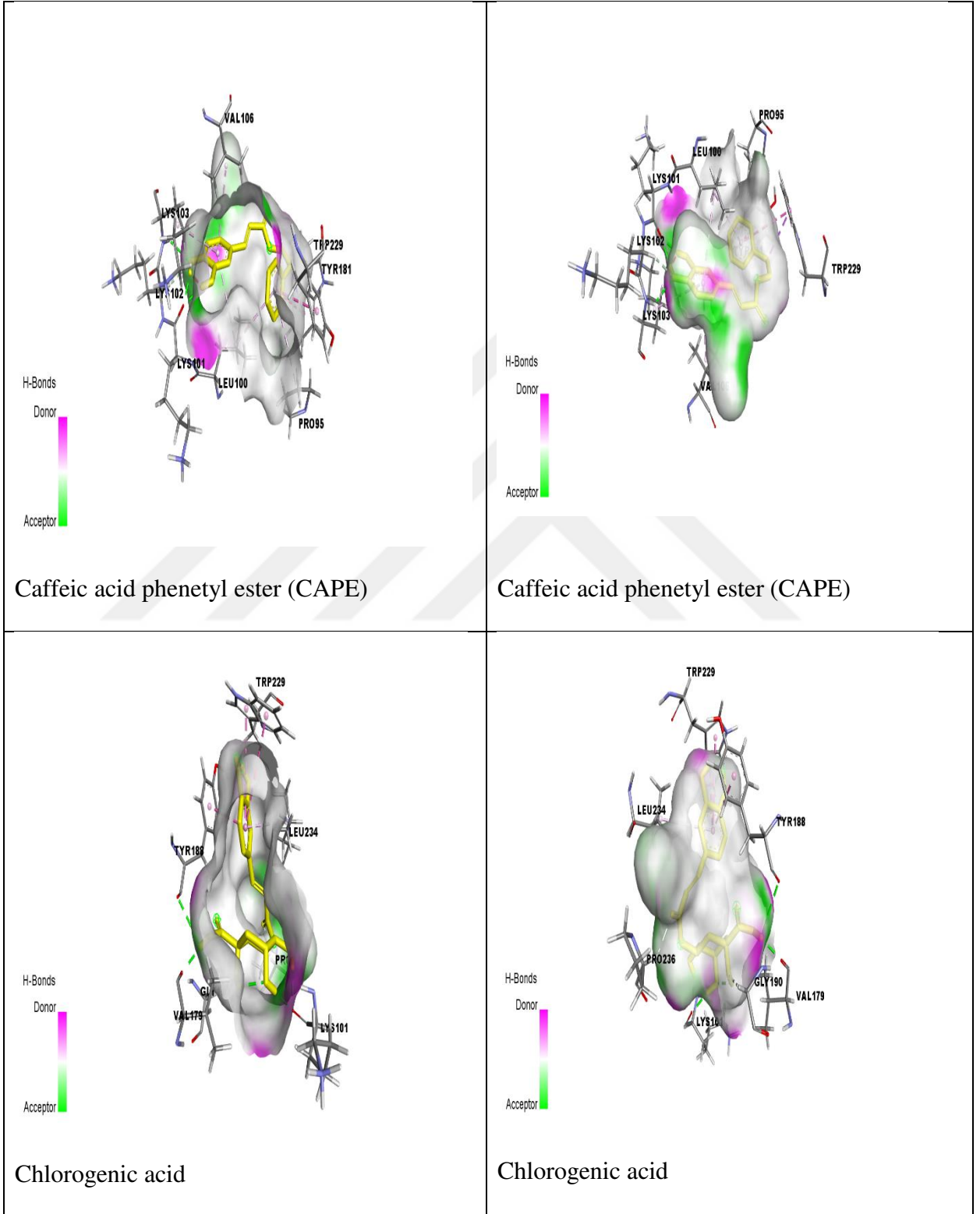
Protocatechuic acid

(Protocatechuic acid ethylester)



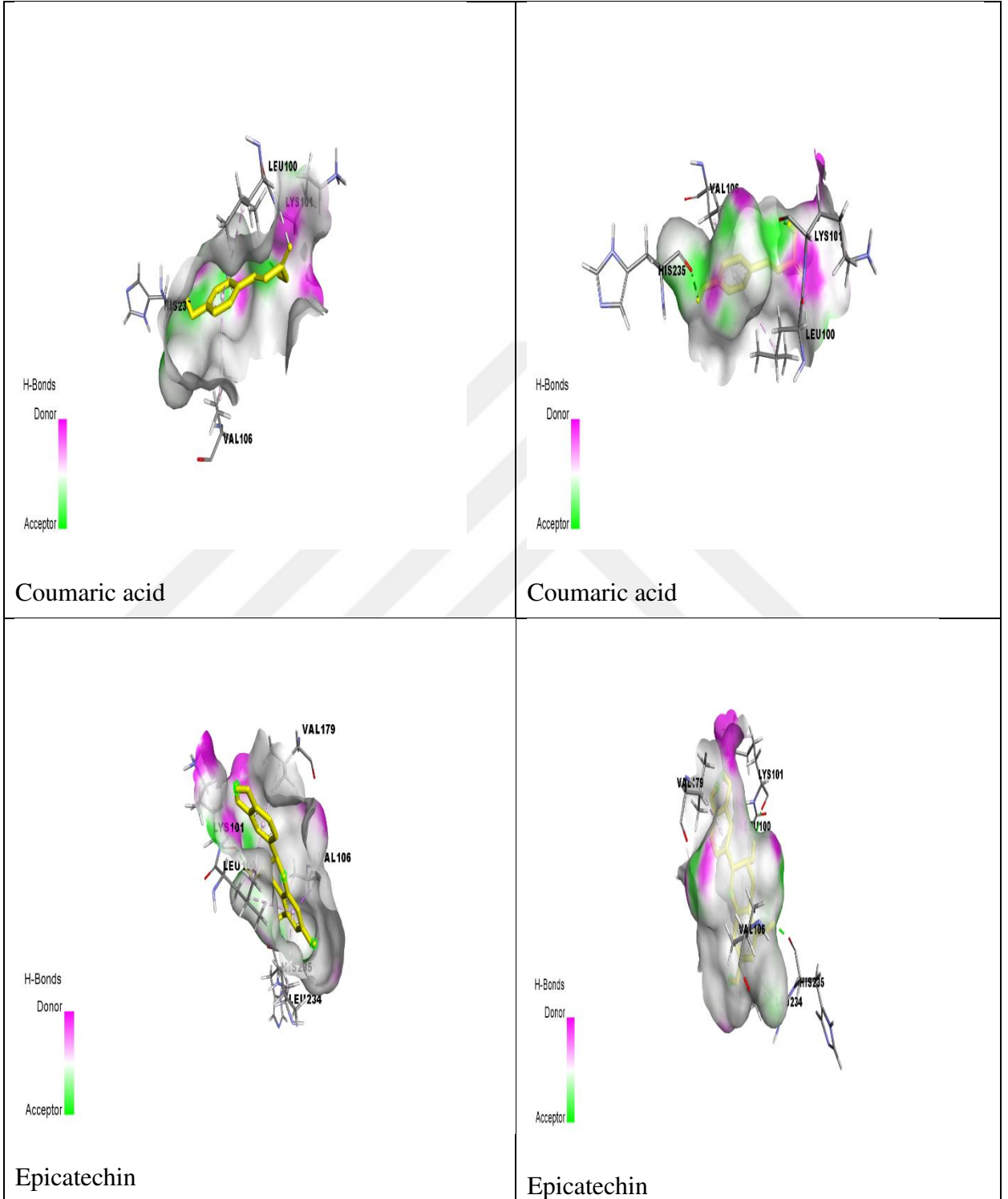
Quercetin

(2-(3,4-Dihydroxyphenyl)-3,5,7-trihydroxy-4H-1-benzopyran-4-one,3,3',4',5,6 Pentahydroxyflavone)

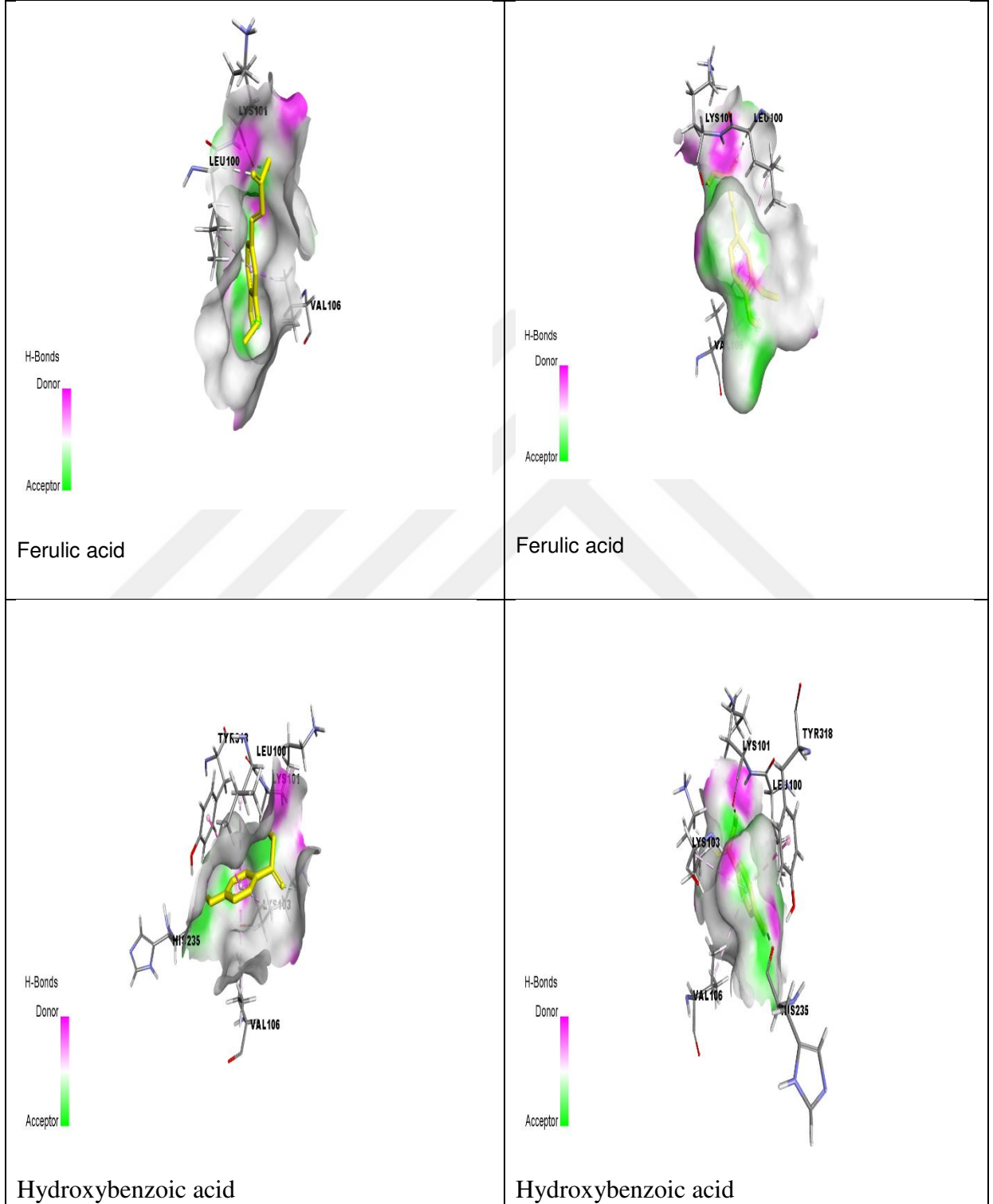


Şekil 23. RT enzimine yerleştirmede ligandların 3 boyutlu ligand-reseptör etkileşimleri

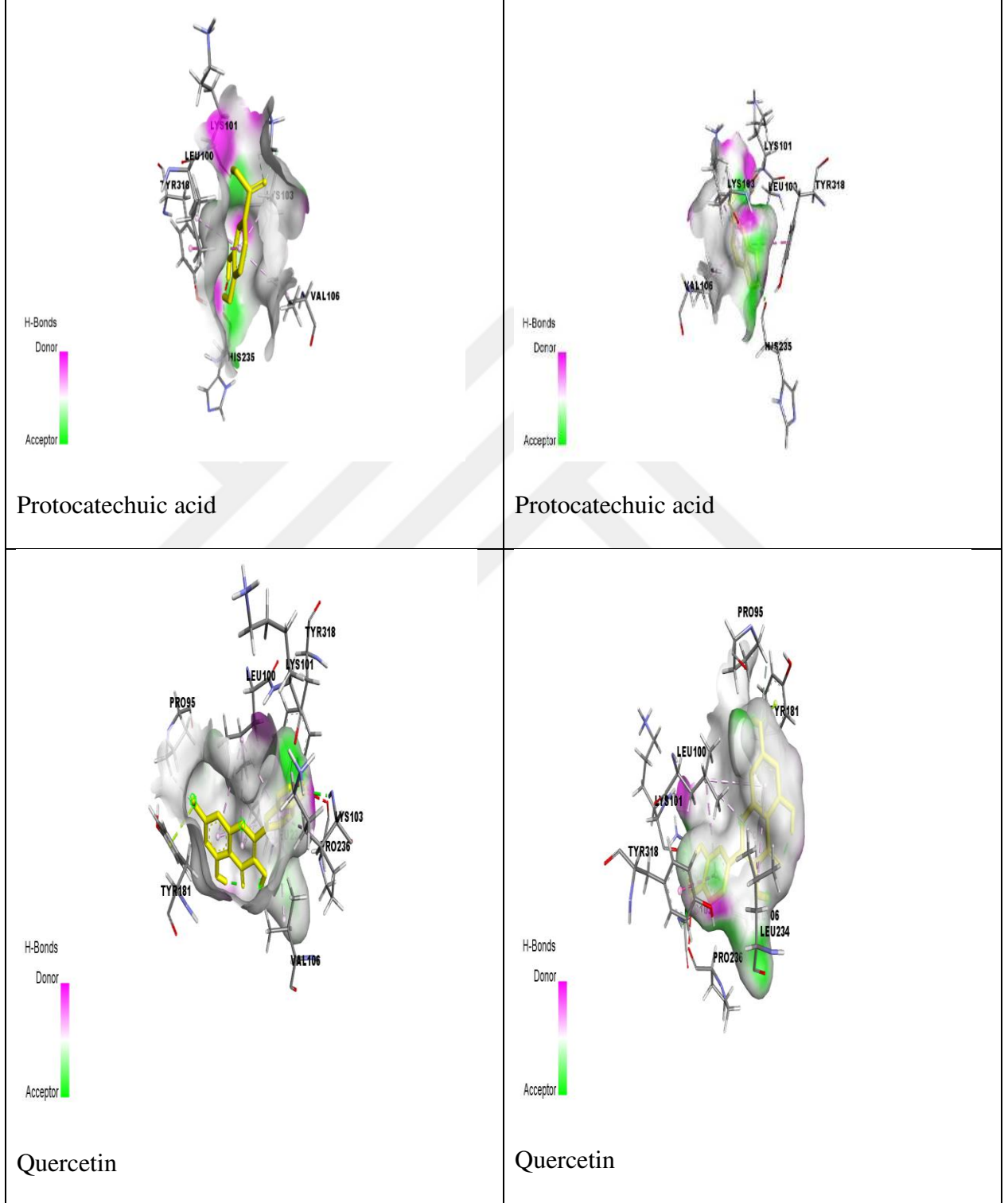
Şekil 23' ün devamı



Şekil 23' ün devamı



Şekil 23' ün devamı



3. BULGULAR VE TARTIŞMA

Yapılan çalışmalar sonucu, her bir ligand için aynı docking basamakları uygulanarak Tablo 4'teki değerler elde edildi.

Tablo 4. 3QIP yapısına yerleştirilen moleküllerin kcal/mol cinsinden skorları

Numarası	ADI	Bağlanma Enerjisi(kcal/mol)	Ki(μM)
Referans	NVP	-8,81 kcal/mol	34,773 μM
1	Caffeic acid phenetyl ester (CAPE)	-8,65 kcal/mol	45,852 μM
2	Chlorogenic acid	-7,14 kcal/mol	5,79 μM
3	p-Coumeric acid	-5,99 kcal/mol	40,33 μM
4	(-)-Epicatechin	-6,15 kcal/mol	31,21 μM
5	Ferulic acid	-6,00 kcal/mol	39,66 μM
6	p-Hydroxybenzoic acid	-4,99 kcal/mol	219,76 μM
7	Protocatechuic acid	-4,82 kcal/mol	292,02 μM
8	Quercetin	-7,15 kcal/mol	5,78 μM

Günümüzde AIDS ve buna sebep olan HIV virüsü ile ilgili birçok çalışma yapılmıştır. Yapılan inhibitör çalışmalarının sonucunda AIDS hastalığının tedavisi tam olarak bulunamamıştır. Sadece ilerlemesini durdurabilecek ya da etkilerini en aza indirmeye yönelik neticelere ulaşmışlardır. Bilgisayarlı kimya günümüzde birçok bilimsel alana hitap etmektedir. Moleküler docking programları da HIV üzerinde kullanılan bir başka yöntemdir. Aşağıda çalışmamıza konu olan moleküler docking ve belli bir süreden bu yana süre gelen çalışmalar ile ilgili çeşitli bilgiler verilmiş bulunmaktadır.

Delelis ve ark. (2008)'de yaptığı çalışmada komplementer DNA zincirinin çok özel Tetramerik HIV-1 integrazdan bahsetmişlerdir. Yapmış oldukları bu çalışmada integraz tarafından komplementer dizinin başarılı bir şekilde parçalandığından bahsetmişlerdir. Simetrik dizinin retroviral DNA dairelerinin 2-LTR birleşimine denk geldiğini bildirmişlerdir. Çıkan bu sonuçlarda integraz tetramerizasyonun DNA komplementer iç ayrımı sırasında 2-LTR bağı içerdiğini ve düzenlenmiş entegrasyon bölgesinde palindromik

zincirin sınırlandırılmış ayrımının retroviral integrazların genel fiziksel aktivitesi olabildiğini DNA tarafından güçlü bir şekilde desteklendiğini ifade etmişlerdir.

Marinello vd. (2008) yaptığı çalışmalarda Elvirtegravir ve Raltegravir'in HIV-1'in ilaçlara dirençli mutantlar ve integraz katalitik tepkimesi ile karşılaştırılması üzerinde çalışmışlardır. Çalışma sonrasında kataliz özelliğinde olan ilaçlar ile IN (integrax) mutantlarının direnci arasında ters ilişki olduğunu farketmişlerdir. Raltegravir'in Elvirtegravir'den daha güçsüz olduğunu açıklamışlardır. Fakat buna rağmen HIV' in vücuda dağılmasını engelleyemediklerini belirtmişlerdir.

Cocohoba ve ark. (2008) de yaptığı çalışmalarda raltegravirden bahsetmiştir. Raltegravirler, integraxın ilk inhibitörleridir. Çalışma sonucunda raltegravir'in HIV replikasyonundaki temel zincir-transfer aktivitelerinin engelleyip durdurduğunu açıklamışlardır.

Healy vd., (2009) çalışmalarında L-kikorik asit (L-CA) üzerinde durmuşlardır. Bidentate kateşol türevi olan L-kikorik asit (L-CA), aynı zamanda potansiyel bir HIV-1 IN inhibitörü olarak tanımlanmıştır. Bu potansiyeli Autodock4.0 serbest enerji fonksiyonunu kullanarak açıklamışlardır. Sonuçların da deneysel verilerle uyumlu olduğunu bildirmişlerdir. En iyi yerleşme skoru veren ve alfa, beta-doymamış esterinin s-cis konformasyonunun daha kararlı konformer olduğunu çalışma sonucunda belirtmişlerdir.

Craigie (2011) integrax enziminin fonksiyonları ve mekanizması üzerine çalışma yapmıştır. Bunun sonucunda integraxın DNA kesim ve birleştirme aşamaları ile yapay koşullardaki aktiviteleri hakkında bilgi vermiştir.

Anda vd. (2013) integrax inhibitörleri olan Elvitegravir ve Raltegravir dolutegravirin direncine değinmişlerdir. Bu viral çalışmayla, Elvitegravir ve Raltegravir dolutegravirin inhibitörlerinde önemli kat artışları olduğunu açıklamışlardır. Yapısal modelleri belirleyerek antivirüs güç üzerindeki etkileri tartışmışlardır (Felix De Anda vd. 2013).

Dow ve Bartlett (2014)'te yaptığı çalışmalarla Dolutegraviri ele almışlardır. HIV'in tedavisinde Dolutegravir, ikinci nesil zincir- transfer integrax inhibitörü olarak görev yapmaktadır. Dolutegravirin FDA onaylı tek ikinci kuşak entegre zincir transfer inhibitörü (INSTI) olduğunu açıklamışlardır. INSTI kullanmayan fakat tedavi görmüş hastalar ile yapılan klinik deneyler sonucunda doltegravirin günde 50 mg 'ı, günde iki defa 400 mg alana göre üstünlük kanıtladığı gözlemlenmiştir (Dorthy vd., 2014).

Costi vd., (2014) ise, HIV-1 inhibitörü olarak bazik kinolinonil diketo asit türevlerinin revers transkriptaz ve integrazın RnAz H fonksiyonuna göre aktiviteleri üzerinde durmuşlardır. HIV-1 inhibitörleri olarak antiviral temel kinolinonil diketonun bir dizi asit türevlerini şekillendirmişlerdir. İnhibitörlerin de HIV-1 RnAz H'yi düşük mikromolar ile inhibe ettiğini rapor etmişlerdir.

Shah ve ark. (2014)'da Raltegravir ve Elvitegravir üzerine çalışma yapmışlardır. Bu ilaçların tedavi amaçlı olarak, hastalığın başlangıç aşamasında seçildiğini bildirmişlerdir. İlaç dirençlerinin düşük olduğunu, yeni nesil ilaç olan Dolutegravirin direncinin daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Dolutegravir'in Uluslararası Gıda ve İlaç Yönetimi tarafından Ağustos 2013 yılında onaylandığını çalışmalarında ayrıca ifade etmişlerdir.

Smith vd. (2014) yılında revers transkriptaz ve integraz inhibitörlerinin hızlı görüntülenmesi üzerinde çalışmışlardır. Burada, bazı anti-HIV ilaçları onaylanmış olmasına rağmen, toksisite ve ilaç direnci ile ilgili problemler mevcuttur. Burada, bir bileşiğin WT (yaban tip) ve mutant viral suşlara karşı hücresel sitotoksitesini ve etkinliğini hızlı bir şekilde belirlemek için kullanılabilecek etkili bir tahlili tarif etmektedirler. İstenen hedef hücre hattını, 96 oyuklu bir plaka içine ekip ve 24 saat inkübasyondan sonra, test edilecek bileşiklerin seri olarak seyreltilerini ilave etmişlerdir. Anti-HIV analizleri için, hücrelere lusiferaz eksprese eden WT veya ilaca dirençli HIV-1 vektörünün önceden belirlenmiş bir miktarını eklemişlerdir. Sitotoksisite, bir ATP bağımlı lüminesans deneyi kullanılarak ölçülüp bileşiklerin enfeksiyon üzerindeki etkisi, varsayılan inhibitörlerin varlığında veya yokluğunda lusiferaz miktarının belirlenmesiyle ölçüldüğünü belirtmişlerdir. Bu tarama testinin tamamlanmasının dört gün sürdüğünü ve birden fazla bileşiğin paralel olarak taranabileceğini belirtmişlerdir. Bileşikler üç kopya halinde taranıp veriler hedef bileşiklerin yokluğunda enfeksiyon/ATP seviyelerine normalleştirilir. Bu tekniğin potansiyel anti HIV bileşiklerinin etkinliğinin ve toksisitesinin hızlı ve doğru bir şekilde ölçülmesini sağladığını göstermişlerdir.

Seki vd. (2015) yılında yaptığı çalışmalarda Raltegravir ve elvitegravirin etkilerinin gen mutasyonlarına karşı direnci ve laboratuvar ortamında dolutegravirin direncinden bahsetmişlerdir. Burada yeni onaylanan Dolutegravirinin, Raltegravir ve Elvitegravirden daha avantajlı olduğundan bahsetmişlerdir. HIV'in Raltegravir ve Elvitegravire karşı yüksek direnç gösterdiği, Dolutegravir'in ise daha sınırlı direnç gösterdiğini vurgulamışlardır.

Sonuç olarak dolutegravirin laboratuvar ortamında direncinin azaltılabildiğinden bahsetmişlerdir.

Ercan (2016), yeni tasarlanan ve daha önceden çalışılmış bazı anti-HIV integras ligandlarının Autodock vina programı ile HIV-1 integras enziminin katalitik öz bölgesine yerleştirilmesi ve analizleri ile ilgili çalışmalar yapmıştır. Bu çalışmada HIV-1 integras enziminin katalitik öz bölgesinin bir modelini hazırlayarak moleküler dinamik simülasyonu ile davranışlarını incelemiştir. Bu modeli hedef alarak, yeni geliştirilen 6 ligandın yanı sıra, bilinen ancak HIV-1 integras inhibitör adayları olarak ilk defa kullanılan 4 ligand ve daha önce teorik ve/veya uygulamalı olarak çalışılan 32 ligandı yerleştirmiştir. Bunun sonucunda proteinlerin ligandlarla olan etkileşimlerini incelemiştir. Yeni geliştirilen ligandlardan LGA, LGD ve LGE'nin ortalamanın üzerinde bir yerleştirme skoruna sahip olduğunu belirtmiştir.

Shuang-Xi Gu vd. (2016) yılında yaptığı çalışmalarda HIV'in tasarlanmış ikili inhibitörlerinden bahsetmişlerdir. Son zamanlarda çok hedefli ilaçlarla ilgili tasarlanmış inhibitörlerin daha öncelikli olduğunu belirtmişlerdir. Bunların yapı aktivite ilişkilerini araştırmışlardır. Revers Transkriptaz RNA'dan DNA üretmekte, İntegras ise HIV'in vücutta yayılmasını sağlamaktadır.

Sanna ve arkadaşlarının (2018) yılında yaptığı çalışmalarda araştırmacılar, HIV-1 revers transkriptaz ve integras inhibitörlerinin, endemik bir sardalya türü olan *limonium morisianum arrigoni* kaynaklı ilaçlarından bahsetmişlerdir. Sonuç olarak bu bitkinin potansiyelini ileri araştırmalara layık değerli bir HIV-1 ilaç kaynağı olarak önermişlerdir.

Carera ve ark. (2018) yılında HIV revers transkriptaz ve integras için potansiyel çift inhibitörlerin moleküler modellemesi ile ilgili çalışmalar yapmışlardır. Yapılan çalışmalar sonucunda 31 sentetik bileşiğe erişip bunları RT ve IN ikili inhibitörü olarak önermişlerdir. Önerilen bu bileşiklerin RT'yi inhibe ettiğini ve IN'in de katalitik aktivitesini dengesiz hale getirdiğini öne sürmüşlerdir.

Enzim ile ligand arasındaki bağlanma intermoleküler kuvvetler ile gerçekleşir. Bu etkileşimler güçlüden zayıfa doğru kovalent, iyonik veya elektrostatik, hidrojen bağı, Van der Waals ve hidrofobik etkileşimler olarak sıralanabilir. Katalitik olarak amino asitlerin karboksil grubuyla hidrojen bağı yapan hidroksil grubu birçok aspartik proteaz inhibitöründe bulunan ortak bir noktadır. Dipeptid taklitçisi (mimetik) olarak hidroksietilen izosterlerinin

(aynı sayıda atom ve değerlik elektronu içeren yapıların) yapıya eklenmesi yüksek seçicilikte ve etkin HIV proteaz inhibitörlerinin geliştirilmesini sağlamıştır (Carera vd., 2018).

2001 yılında Akao vd. tarafında gerçekleştirilen bir çalışmada, sentezlenmiş bir dizi HIV proteaz inhibitörünün üç boyutlu yapıları (Sybyl moleküler modelleme programı ile çizilip optimize edilerek) elde edildikten sonra AutoDock programı ile HIV proteaz yapısına doking yapılmış ve elde edilen bağlanma afinitesi değerlerinin deneysel olarak elde edilen Ki değerlerinden türetilen bağlanma enerjisi değerleri ile korelasyonu incelenmiştir. Düşük bağlanma enerjisi gösteren yapının kimyasal özelliklerinin protein yapısının aktif bölgesinin kimyasal yapısı ile uyumu incelenmiştir. Ligandın bağlanma modunda aktif bölge amino asitleri ile yaptığı hidrojen bağları ve hidrofobik etkileşimler tespit edilmiştir.

Genellikle, moleküler yerleştirme, HIV-1 direnci çalışmalarında iki ana amaç için kullanılır. İlk olarak, bu prosedürü kullanarak, yazarlar deneysel olarak test edilmiş inhibitörlerin bir protein ile etkileşimini açıklamaya çalışırlar. Şu anda, bu tür çalışmalar deneysel bulgularla birlikte yaygın olarak kullanılmaktadır ve ligand-protein etkileşimlerinin anlaşılmasında önemli görünmektedir. İkincisi, yeni ters transkriptaz inhibitörlerini bulmak için sanal taramada moleküler yerleştirme kullanılır. İkincisi genellikle diğer hesaplamalı ve/veya deneysel yöntemlerle kombinasyonu gerektirir. Burada, moleküler yerleştirmenin her iki uygulamasını da tartışıyoruz.

Bizim çalışmamızda ise, ligandların oluşturulması ve yerleştirilmesine başlamadan önce HIV-1 Revers transkriptaz enziminin amino asit sekans bilgisi doğrultusunda PDB veritabanında mevcut 120 adet yapı bulunmuştur. Bunun için HIV-1 Revers transkriptaz enzimine ait 3-boyutlu protein yapılarının çözünürlük değeri açısından en iyi olan aynı zamanda mutasyon bölgesi olmayan 3QIP kodlu protein yapısı ile çalışılmaya karar verilmiştir.

Yapılan docking analizlerine göre, referans bileşiğin (Nevirapin) bağlanma bölgesi literatürde HIV-1 Revers transkriptaz enzimi için tanımlanan bağlanma bölgesi ile uyumlu bulunmuştur (Lansdon vd., 2011). RT enzimine yerleştirilen ligandlar -4,82 kcal/mol ile -8,81 kcal/mol arasında skorlar elde etmiştir.

Sonuç olarak, AIDS tedavisinde ilaçlarda sıklıkla kullanılan Nevirapin değeri çalışmamızda -8,81 kcal/mol bulunurken ona en yakın skoru elde eden CAPE bileşiği -8,65 kcal/mol ile referans moleküle en yakın bağlanma affinitesi gösteren fenolik bileşik olmuştur.

Çalışmamızda ise, RT enzimine yerleşmede en iyi skoru elde eden CAPE ligandı aktif bölgeye bağlanarak LYS101 ile iki, LYS103 ile bir hidrojen bağı yapmaktadır. LYS101 1.91 Å uzunluğunda, LYS103 ise 1.66 Å uzunluğundadır. Hidrojen bağı, makromoleküler yapılarda her yerde bulunur ve hidrojen bağlarının sayısı ve tipinin ligand ile komplekslerin stabilitesi için belirleyici faktörler olduğu bilinmektedir. Hidrojen bağının atomik mesafeleri 2 Å' dan daha düşüktür. Diğer etkileşimler ise, VAL106, PRO95, LEU100 rezidüsü ile π -alkil (hidrofobik) etkileşimleri, TYR181 π - π (elektrostatik) etkileşimi yaparken, TRP229 rezidüsü ile π - π (elektrostatik) etkileşimi ve π - σ (hidrofobik) etkileşimi yapmaktadır. Pi-kasyon, Pi-anyon, Pi-sigma, Pi-Pi istifleme, Pi-akıl ve Pi-Pi-T şeklinde olan etkileşimler >3.0 Å' lık bağ uzunluğu ile karakterize edilir (Milanović ve diğerleri, 2021; Panigrahi ve Desiraju, 2007).

CAPE ligandını sırasıyla -7,15 kcal/mol ile Quercetin, -7,14 kcal/mol ile de Chlorogenic acid bileşiği referans moleküle en yakın bağlanma affinitesi gösteren diğer 2 fenolik bileşik olmuştur.

Quercetin, LYS101 ve LYS103 ile konvensiyonel hidrojen bağı, LEU100, LEU234 ve VAL106 ile π -alkil (hidrofobik) etkileşim, TYR181 ile π -lone pair (hidrofobik) etkileşim, TYR318 ile π - π T-shaped (hidrofobik) etkileşim, PRO95 ile Van Der Waals bağı yapmıştır.

Chlorogenic acid VAL179 ile bir, LYS101 ile iki hidrojen bağı, LEU234 ile π -alkil (hidrofobik) etkileşimi yapmaktadır. TYR181 ve TRP229 ile π - π (elektrostatik) etkileşimi yapmaktadır.

Bizim çalışmamıza benzer HIV-1 Revers transkriptaz enzimi ile yapılan docking çalışmasında (Ercan vd.,2020); ligand LYS101 ile konvensiyonel hidrojen bağı TYR181, TRP229 ve LEU234 ile π -alkil (hidrofobik) etkileşimi yaptığı görünürken;

Bir diğer yüksek lisans tez çalışmasında (Şenyiğit, 2019) ise, RT enzimine yerleşmede en iyi skoru elde eden B099 ligandı Lys 101 ile üç hidrojen bağı, Val106, Leu234, Pro225, Val179, Lys101 rezidüleri ile Alkil-Alkil etkileşimleri yapmıştır. Leu100, Lys101, Lys103, Pro236 rezidüleri ile karbon-hidrojen bağı, Leu100 rezidüsü π - σ etkileşimi, Tyr181, Tyr188, Phe227, Trp229, Val179, Val106, Pro225, Pro236 rezidüleri ile π -alkil etkileşimleri yapmıştır. Ayrıca Lys103 ve Pro236 rezidüleri ile halojen etkileşimi yaptığı görülmektedir.

Bir diğer benzer çalışmada (Vladimir P. vd., 2018) ise, bir dizi diarilpiridin türevi (DAPY'ler) sentezleyerek ve yaban tip RT ve beş RT mutant varyantına karşı test etmişlerdir (Yang J. vd., 2015). Yirmi bir bileşik, RT'nin yaban tip varyantına karşı orta derecede inhibe

edici aktivite gösterdiğini ve üç bileşik, hem yaban tip hem de K103N RT varyantlarına karşı aktif olduğunu bulmuşlardır. RT'nin yaban tip ve K103N mutant varyantlarındaki en aktif bileşiğin moleküler kenetlenmesi, olası bağlanma modunu netleştirmek için kullanarak elde edilen sonuçlara göre, incelenen bileşik, hidrofobik alt cebin içinde Tyr181, Tyr188, Phe227, Trp229, Leu234, Pro236, Tyr318 rezidülerinin yakınında yer almakta ve bunlarla etkileşime girdiğini belirtmişlerdir. Bu sonuçlar, NNRTI'lerin allosterik bağlanması için hidrofobik temasların önemi hakkındaki hipotezleri kısmen desteklemektedir. Ayrıca, yerleştirme sonuçları, çalışılan bileşiğin NNRTI bağlama cebinin girişinde Glu138 ve Lys101 ile etkileşime girdiğini ve böylece mutant K103N varyantlarında aktivite kaybını önlediğini varsaymayı mümkün kılmıştır.

Bizim çalışmamızda ise RT enzimine yerleşmede en iyi skoru elde eden CAPE ligandı ve diğer fenolik bileşik olan Chlorogenic acid, LYS101 ile iki hidrojen bağı, Quercetin ise LYS101 ile konvensiyonel hidrojen bağı yapmıştır. Ayrıca, LEU234 rezidüsü ile π -alkil (hidrofobik) etkileşimleri, TYR181 π - π (elektrostatik) etkileşimi yaparken, TRP229 rezidüsü ile π - π (elektrostatik) etkileşimi ve π - σ (hidrofobik) etkileşimi yapmaktadır. Ayrıca VAL106, PRO95, LEU100 rezidüsü ile π -alkil (hidrofobik) etkileşimleri yapması diğer çalışmalarla benzerlikler gösterdiğine kanıttır.

Vadivelan ve arkadaşlarının çalışmasında, 10.000 yapı kimyasal bileşikten oluşan bir kütüphaneyi taramak için yerleştirme dahil olmak üzere çeşitli hesaplama yöntemleri kullanıldı (Vadivelan S. vd., 2010). Moleküler yerleştirme, önceki aşamalarda filtrelenen 77 bileşik için bağlanma afinitesini araştırmak için taramanın en son aşamasında kullanıldı. Daha ileri testler için en güçlü bileşikler seçmek için uygun konformasyonlar analiz edildi. Bu çalışma, HIV RT'nin dirençli varyantlarını kullanan deneysel testler hakkında herhangi bir veri içermemektedir. Bununla birlikte, bu çalışma, sanal bir tarama prosedürü ile birleştirilmiş bir dizi hesaplama yöntemini içerdiğinden, daha fazla analiz için ilginçtir. Ayrıca, bilinen HIV RT inhibitörleri kullanılarak geriye dönük doğrulama ve yeni sentezlenmiş bileşikler kullanılarak ileriye dönük doğrulama gerçekleştirilmiştir.

Özellikle Tintori ve ark. (Tintori C. vd., 2016) moleküler yerleştirme Gold yazılımı (Verdonk ML. vd., 2003). RT p51-p66 dimerizasyonunun potansiyel inhibitörleri olan tetrahidropirimido[2,1-f]purindion analoglarının bir kimyasal kitaplığının sanal taramasını gerçekleştirmek için kullanıldı. Potansiyel bağlanma bölgesi, p66'nın triptofan açısından zengin bir bölgesine karşılık geldi ve bu, dimerizasyon sırasında p51-p66 etkileşiminde yer

aldığını düşündürdü. Bileşiklerin yapıları, yerleştirme puanlarına göre düzenlendi ve ayrıca manuel olarak incelendi. p51-p66 etkileşiminde yer alan en önemli kalıntıların W402 ve W410 olduğu varsayılmıştır. Bu kalıntılarla potansiyel olarak etkileşime giren bileşiklerin yapıları, daha ileri in vitro testler için seçildi. In vitro çalışmalar, yerleştirme prosedürünün sonuçlarını doğruladı.

Bu nedenle, moleküler yerleştirme algoritmalarının, RT'nin mutant varyantlarına karşı aktif olan bileşiklerin otomatik seçimine yönelik uygulamaları oldukça talep görmektedir. Daha önce bahsedildiği gibi, bir dizi ligandın, her proteinin bir dizi mutasyon içerdiği bir dizi proteine kenetlenmesi gerekiyorsa, ligand ve protein komplekslerinin sayısı oldukça yüksektir. Bu nedenle, RT inhibitörlerinin sanal taraması için moleküler yerleştirmenin sistematik uygulaması, önemli miktarda bilgi işlem kaynağı gerektirir ve bu nedenle büyük veri yaklaşımları ve bunların kimyasal bilişim alanındaki uygulamaları ile ilgilidir.

Özet olarak, HIV-1 RT ve HIV-1 IN ilaçlarını şablon olarak kullanmanın temelini oluşturabilir. Yerleştirme ile elde edilen bağlayıcı serbest enerjiler olmasına rağmen yöntemler önemlidir, sonuçlar daha da geliştirilebilir. Moleküler Dinamik Simülasyonları, MM/PBSA hesaplamaları ile test edilebilir. Ligandlar enzim bağlama bölgelerine başarıyla yerleştirildi. Yerleştirme sonuçları enzim için cesaret vericiydi. RT'deki amino asit ikameleriyle ilişkili HIV-1 direncinin ortaya çıkması, HIV-1 RT'nin belirli bir yapısı ile ilaç direnci arasındaki ilişkileri açıklayan yeni yaklaşımların geliştirilmesini gerektirir. Bu veriler, yeni HIV-1 RT inhibitörlerinin daha da geliştirilmesi ve/veya HIV-1'in antiretroviral ilaçlara karşı direncinin tahmini için uygulanabilir (Geronikaki A. vd., 2016).

Sonuç olarak, RT enzimi için ligandların aktif bölgelere uygun şekilde yerleştiği, yerleştirme skoru -8,65 kcal/mol olup diğer ligandların enzim ile etkileşimleri Tablo 4'te ve Şekil 23'te gösterilmiştir. Ligandın referans moleküle yakın olması ve enzimin tanımlanan bağlanma bölgesine uygun bulunduğu görünmektedir. Ligandların reseptöre bağlandığı amino asitler ise aşağıdaki Tablo 5'te gösterilmiştir.

Tablo 5. Ligandların reseptöre bağlandığı amino asitler

Numarası	ADI	Reseptöre Bağlandığı Amino asitler	
1	Caffeic acid phenetyl ester (CAPE)	LYS101 LYS103 VAL106 TRP229	PRO95 LEU100 TYR181
2	Chlorogenic acid	VAL179 LYS101 TRP229	LEU234 TYR181
3	p-Coumeric acid	LEU100 HIS235	LYS101 VAL106
4	(-)-Epicatechin	LEU100 LEU234 HIS235	VAL106 VAL179 LYS101
5	Ferulic acid	LEU100 LYS101	VAL106
6	p-Hydroxybenzoic acid	VAL106 LEU100 LYS101	TYR318 HIS235 LYS103
7	Protocatechuic acid	VAL106 TYR318 HIS235	LYS101 LYS103 LEU100
8	Quercetin	TYR181 LEU100 LEU234 LYS101	LYS103 PRO236 TYR318 VAL106

4. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Dünya genelinde birçok salgın hastalık bulunmaktadır. Bunlardan en önemlilerinden biri de şüphesiz AIDS hastalığıdır. HIV-1 virüsü bu hastalığa sebep olması sebebiyle yaşam döngüsünün belli basamakları hedef alınarak birçok ilaç tasarlanıp günümüzde kullanımı devam etmektedir.

Bilim insanları tarafından propolisin insan immün yetmezlik virüsü (HIV) kaynaklı hastalıklar üzerine etki çalışmaları yapılmıştır. Yapısında flavonoidler, fenolikler ve çeşitli aromatik bileşikler gibi çok sayıda biyokimyasal açıdan zengin bileşenleri barındıran propolis ekstraktlarının antimikrobiyal, antikanserojenik, antiviral, antioksidan, antikaryojenik, antiinflamatuvar, yara iyileştirici ve anestezi etkiler gibi sağlık açısından olumlu etkilere sahiptir. Propolisin viral hastalıkların tedavisinde kullanım potansiyeli üzerine yapılan çalışmalardan, viral bir hastalık olan ve küresel bir sorun haline gelen AIDS hastalığının tedavisi için oldukça ilgi çekici bir alan olarak karşımıza çıkması çalışmamızda etkili olmuştur.

AIDS hastalığının gerek tedavisinde gerek hastalara etkileri açısından birçok güçlüğü bulunmaktadır. Bunlardan en önemlilerini ilaçların yan etkileri ve virüsün ilaçlara karşı göstermiş olduğu direnç oluşturmaktadır. Bu sebeple bilim insanları bu iki olumsuz özelliği dikkate alarak ilaç tasarlama çalışmalarını sürdürmektedir.

HIV-1 ters transkriptaz, iki alt birimden oluşan bir heterodimerdir: p66 (560 amino asit, aa) ve p51 (440 aa). p51 alt biriminin, viral proteaz tarafından bölünme yoluyla p66 alt biriminden oluşturulduğu öne sürülmüştür (Wang J. vd., 1994). RT yapısal olgunlaşma ve dimerizasyon süreci incelenmiştir (Boso G. vd., 2015). RT alt birimlerinin dimerizasyonunun enzimin aktivitesi için bir ön koşul olduğu gösterilmiştir (Wapling J. vd., 2005, Morris MC. vd., 1999). Bu nedenle, RT yapısal olgunlaşması, terapötik müdahale için çekici bir hedef olarak kabul edilir (Boso G. vd., 2015, Wapling J. vd., 2005).

Moleküler kenetlenmenin bir amaç için kullanıldığı HIV-1 RT inhibitörleri hakkında birçok çalışma vardır. Çoğu çalışma, potansiyel inhibitörün yaban tip RT ile moleküler kenetlenmesine yöneliktir.

Bu tez çalışması ile tasarlanan ligandlar filtrelenerek ilaç olma özelliğine sahip olabilecek propolisin yapısında bulunan 8 fenolik madde ligand olarak Autodock4 programı ile bir RT kristal yapısı olan 3qip.pdb yerleştirildi.

1. Yerleştirme sonucunda CAPE ligandı -8,65 kcal/mol'lük skor ile RT enzimine en iyi bağlanan ligand olarak belirlendi. Diğer 7 ligandın da enzim için iyi yerleşme skorları verdiği gözlemlendi. Sonuç olarak HIV-1 revers transkriptaz için inhibitör adayları olan yeni ligandların tasarımı gerçekleştirildi.
2. Bu çalışmada ilk defa moleküler docking yöntemi ile bazı propolislerde tanımlanmış fenolik bileşiklerin HIV-1 Revers transkriptazı ile etkileşimleri ve inhibitör olabilirlikleri belirlenmiştir.
3. Ligand kütüphanesinin oluşturulması için, temel düşüncemiz moleküler docking çalışmaları sonuçlarına göre iyi inhibitör etki gösteren fenoliklerin *in vitro* etkilerini test edilmesine yönelik çalışmaların planlanmasını sağlayabilmektir.
4. Daha önceleri yapılmış olan çalışmalarda etki mekanizması çoğunlukla virüsün hücre içine girişini bloke etmeye yönelik iken bizim çalışma hedefimizde ise, HIV'nin tek zincirli RNA'sını kalıp olarak kullanarak komplementer DNA yapmaktan sorumlu olan HIV-1 Revers transkriptaz enziminin inhibisyonuna yönelik olmasıdır. Dolayısı ile hedeflediğimiz yön itibarıyla yenilikçi ve ümit vaat edicidir.

Bu tez kapsamında yapılan çalışmalara rağmen etkilerin tam olarak belirlenebilmesi için ek çalışmalara ihtiyaç vardır.

Aydınlatılabilecek husus olarak propolis içerisindeki fenolik bileşiklerin elektrokimyasal, fizikokimyasal ve ADMET (absorpsiyon, dağılım, metabolizma, dışarı atılım ve toksisite) özelliklerinin detaylı şekilde incelenip ilaç adayı olup olamayacakları yolunda daha net sonuçlara varılabilir.

5. KAYNAKLAR

- Abad, M.J, Bedoya, L.M. ve Bermejo P., 2011. “HIV-Screening Strategies for the Discovery of Novel HIV-Inhibitors, Recent Translational Research in HIV/AIDS”, Medicine, 22, 457-468.
- Aberg, J.A., Gallant, J.E., Anderson, J., Oleske, J.M., Libman, H., Currier, J.S., Stone, V.E. ve Kaplan, J.E., 2004. “Primary care guidelines for the management of persons infected with human immunodeficiency virus: recommendations of the HIV Medicine Association of the Infectious Diseases Society of America” Clin. Infect. Dis, 39, 609-629.
- Acar, J. ve Gökmen, V., 1998. “Fenolik Bileşikler ve Doğal Renk Maddeleri”, Gıda Kimyası 435-452.
- Afacan, Y., ve Menteş UT., 2007. "AIDS Tedavisi" J Int Med Sci, 3, 28.
- Ağaçfıdan, A., ve Anı Ö., 1999. Cinsel Temasla Bulaşan Hastalıklar (CTBH). Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayın 35. Faik Yolaç Ofset Basım.
- Akkuş, İ., 1995. “Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri”, 2. Baskı, Mimoza Yayınları Konya.
- Albayrak, S., 2008. Propolis: Doğal Antimikrobiyal Madde, Ankara Eczacılık Fakültesi Dergisi, 37, 3, 201-215.
- Alonso, H., Bliznyuk A. A. and Gready J. E., 2006. Combining Docking and Molecular Dynamic Simulations in Drug Design, First published: 06 June 2006 Wiley Periodicals, Inc. Med Res Rev, 26, 5, 531–568.
- Amoros, M., Sauvager F., Girre L. ve Cormier M. 1992a. “In vitro antiviral activity of propolis”. Apidologie 23, 231–240.
- Amoros, M., Simoes, C.M., Girre, L., Sauvager, F. ve Cormier, M., 1992. “Synergistic effect of flavones and flavonols against herpes simplex virus type 1 in cell culture. Comparison with the antiviral activity of propolis”. Journal of Natural Products, 55, 1732–1740.
- Amoros, M., Lurton, E., Boustie, J., Girre, L., Sauvager, F. ve Cormier, M., 1994. “Comparison of the anti-herpes simplex virus activities of propolis and 3-methyl-but-2-enyl caffeate”. Journal of Natural Products, 57, 644–647.
- Andrade, J. K. S., Denadai, M., de Oliveira, C. S., Nunes, M. L. and Narain, N., 2017. “Evaluation of bioactive compounds potential and antioxidant activity of brown, green and red propolis from Brazilian northeast region”, Food Research International, 101, 129-138.
- Anıl, M., “Antioksidan Olarak Tahıllar”, Proceeding Of The Hububat 2006-Hububat Ürünleri Teknolojisi Kongre ve Sergisi, 2006, 7-8.

- Atik, A., Gümüş T., 2017. Propolisin Gıda Endüstrisinde Kullanım Olanakları, Akademik Gıda, 15, 1, 60-65.
- Avaz, M.S., 2011. “ HIV-1 Proteaz Enziminin İnhibitörleriyle Etkileşimi Esnasındaki Konformasyonel Değişikliklerin Teorik İncelenmesi ve Yeni Analogların Tasarımı”, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Aygün, G., 2007. HIV enfeksiyonu Patogenezi. Türkiye Klinikleri J Int Med Sci, 3, 28.
- Baltas, N., Karaoglu, S. A., Tarakci, C. ve Kolayli, S., 2016. “Effect of propolis in gastric disorders: inhibition studies on the growth of *Helicobacter pylori* and production of its urease”. Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry, 1-5.
- Baltimore, D., 1970. Nature, 226, 1209–1211.
- Bankova, V., Castro, S.L. ve Marcucci, M.C., 2000. “Propolis: recent advances in chemistry and plant origin”. Apidologie, 31, 3–15.
- Bankova, V., 2005a. “Chemical diversity of propolis and the problem of standardization”. Journal of Ethnopharmacology, 100, 114–117.
- Bankova, V. 2005b. “Recent trends and important developments in propolis research”. Evidence-based Complementary and Alternative Medicine, 2, 29–32.
- Banskota, A.H., Tezuka, Y. ve Kadota, S., 2001. “Recent progress in pharmacological research of propolis”. Phytotherapy Research, 15, 561–571.
- Banskota, A. H., Nagaoka, T., Sumioka, L. Y., Tezuka, Y., Awale, S., Midorikawa, K., Matsushige, K. and Kadota, S., 2002. “Antiproliferative Activity Of The Netherlands Propolis and Its Active Principles In Cancer Cell Lines”, Journal Of Ethnopharmacology, 80, 67-73.
- Barré-Sinoussi, F., Chermann, J.C., Rey, F., Nugeyre, M.T., Chamaret, S., Gruest, J., Dauguet, C., Axler-Blin, C., Vézinet-Brun, F., Rouzioux, C., Rozenbaum, W., and Montagnier, L., 1983. “Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS)”, Science, 220, 868-871.
- Barre-Sinoussi, F., 1996. “HIV as the cause of AIDS”, Lancet 348, 31–35.
- Başer, H. K. C., 2002. “Fonksiyonel gıdalar ve nütrosötikler”. 14, Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Eskişehir.
- Batchelor, LT., Anton ED, Kudish P, Baker D, Bunville J, Krakowski K, Bolling L, Aujay M, Wang X, Ellis D, Becker MF, Lsut AL, George HJ, Spalding DR, Hollis G, and Abremski K., 2001. HIV-1 mutations selected in patients failing EFV combination therapy. Antimicrob Agents Chemother, 44, 475–484
- Beerenwinkel, N., Lengauer T, Selbig J. Fraunhofer Institute for Algorithms and Scientific Computing Schmidt B, Walter H., ve Korn K., 2001. German National Reference Center for Retroviruses, Kaiser R, University of Cologne Hoffmann D. Center of Advanced European Studies and Research Geno2pheno: Interpreting Genotypic HIV Drug Resistance Tests. IEEE Intelligent Systems, 16, 6, 35-41

- Bekar, A., 2011. "Trabzon Yöresi Propolisinin Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi İle Fenolik Bileşiklerinin Belirlenmesi ve Antioksidan Aktivitelerinin Tayini", Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Bell, F.W., Cantrell, A.S., Hoegberg, M., Jaskunas, S.R., Johansson, N.G., Jordan, C.L., Kinnick, M.D, Lind, P., ve Morin, J., 1995. Phenethylthiazoethiourea (PETT) compounds, a new class of HIV-1 reverse transcriptase inhibitors. Synthesis and basic structure-activity relationship studies of PETT analogs, J. Med. Chem. 38, 4929-4936.
- Bieniasz, P.D., 2006. Late budding domains and host proteins in enveloped virus release. Virology, 344, 1, 55-63.
- Boso, G., Örvell C., ve Somia NV., 2015. HIV-1 RNase H'nin N-terminal amino asit kalıntısının doğası, viral partiküllerde ters transkriptazın stabilitesi için kritiktir. J. Virol. 89, 1286–1297.
- Böhm, H. J., 1994. The development of a simple empirical scoring function to estimate the binding constant for a protein-ligand complex of known three-dimensional structure, Journal of Computer- Aided Molecular Design, 8, 243-256.
- Buchschacher, G.L., 2001. Jr.: Introduction to retroviruses and retroviral vectors. Somat. Cell Mol. Genet, 26, 1-11.
- Burdock, G.A., 1998. "Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis)", Food and Chemical Toxicology, 36, 347–363.
- Burdock, G. A., 1998. "Review Of The Biological Properties and Toxicity Of Bee Propolis (Propolis)", Food and Chemical Toxicology, 36, 4, 347-363.
- Can, Z., Yıldız O, Şahin H, Akyuz Turumtay E, Silici S, ve Kolaylı S., 2015. 2015/08/01/. An investigation of Turkish honeys: Their physico-chemical properties, antioxidant capacities and phenolic profiles. Food Chemistry, 180, 133-141.
- Can, Z., Yıldız, O., Şahin, H., Asadov, A. ve Kolaylı, S., 2015. "Phenolic Profile and Antioxidant Potential of Propolis from Azerbaijan". Mellifera, 15, 1, 16-28.
- Calmy, A., Pinoges, L., Szumilin, E., Zachariah, R., Ford, N., ve Ferradini, L., 2006. Médecins Sans Frontieres "Generic fixed-dose combination antiretroviral treatment in resource-poor settings: multicentric observational cohort", AIDS, 20, 1163-1169.
- Card, J.J., Amarillas, A., Conner, A., Akers, D.D., Solomon, J., ve DiClemente, R.J., 2008. The Complete HIV/AIDS Teaching Kit: With CD-ROM, Springer Publishing Company, New York, 25-71.
- Cardellina, J.H., Munro, M.H.G. ve Fuller, R.W., 1993. " A Chemical-Screening Strategy For The Dereplication And Prioritization Of Hiv-Inhibitory Aqueous Natural-Products Extracts", Journal Of Natural Products, 56, 7, 1123-1129.
- Cemeli, E., Baumgartner, A., and Anderson, D., 2009. "Antioxidants and The Comet Assay", Mutation Research/Reviews In Mutation Research, 681, 1, 51-67.
- Cemeroğlu, A.P. ve Cemeroğlu, B.S., 1998. "Sağlık Açısından Gıda Fenolikleri", Gıda Teknolojisi, 3, 9, 52-55.

- Chattopadhyay, D., Evans, D.B. ve Deibel, M.R., 1992. "Purification And Characterization Of Heterodimeric Human-Immunodeficiency-Virus Type-1 (HIV-1) Reverse-Transcriptase Produced By Invitro Processing Of P66 With Recombinant Hiv-1 Protease", Journal Of Biological Chemistry, 267, 20, 14227-14232.
- Chun, T.W., Engel, D., Berrey, M.M., Shea, T., Corey, L., ve Fauci, A.S., 1998. "Early establishment of a pool of latently infected, resting CD4 (+) T cells during primary HIV-1 infection" Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 95, 8869-8873.
- Cobb, K., 2007. DOCK THIS: In silico Drug Design. Feeds Drug Development. Biomedical Computation Review, 3, 20-3.
- Cocohoba, J. ve Dong, B. J., 2008. Raltegravir: The Frist HIV Integrase Inhibitor. Clinical Therapeutics, 30, 10, 1747-1765.
- Coffin, J., Haase, A., Levy, J.A., Montagnier, L., Oroszlan, S., Teich, N., Temin, H., Toyoshima, K., Varmus, H., Vogt, P., and Weiss, R.A., 1986. "What to call the AIDS virus?" Nature, 321, 10. Company, USA.
- Cowan, M.M., 1999. "Plant products as antimicrobial agents". Clinical Microbiology Reviews, 12, 564–582.
- Craigie, R., 2011. Integrase Mechanism And Function, in HIV-1 Integrase: Mechanism and Inhibitor Design (ed N. Neamati), John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA.
- Croteau, G., Doyon L, Thibeault D, McKercher G, Pilote L, and Lamarre D., 1997. Impaired fitness of human immunodeficiency virus type 1 variants with high-level resistance to protease inhibitors. J Virol, 71, 1089–1096.
- Çetinkaya, Y., ve Ünal, S., 1998. "HIV Enfeksiyonunda Antiretroviral Tedavi", in Güncel Bilgiler Işığında HIV/AIDS, Ünal S. (Ed.), 1. Baskı, Bilimsel Tıp Yayınevi, Türk Eczacılar Birliği, Ankara, 173-196.
- De Castro, S.L., 2001. Propolis: biological and pharmacological activities. Therapeutic uses of this bee-product". Annual Review of Biomedical Science, 3, 49–83.
- De Castro, S.L., ve Higashi, K.O., 1995. "Effect of different formulations of propolis on mice infected with Trypanosoma cruzi", Journal of Ethnopharmacology, 46, 55–58.
- De Clercq, E., 2000. "Current lead natural products for the chemotherapy of human immunodeficiency virus (HIV) infection", Medicine Research Reviews, 20, 323–349.
- De Clercq, E., 1996. "Toward improved anti-HIV chemotherapy: therapeutic strategies for intervention with HIV infections", J. Med. Chem. 38, 2491–2517.
- De Clercq, E., 2001. "New developments in anti-HIV chemotherapy", Curr. Med. Chem. 8, 1543–1572.
- De Clercq, E., 2009. "Anti-HIV drugs: 25 compounds approved within 25 years after the discovery of HIV" Int. J. Antimicrob. Agents, 33, 307-320.
- De Clercq, E., 2004. "Non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NNRTIs): past, present, and future" Chem Biodivers, 1, 44-64.

- Debiaggi, M., Tateo F., Pagani L., Luini M. ve Romero E., 1990. "Effects of propolis flavonoids on virus infectivity and replication", Microbiologica, 13, 207–213.
- Delelis, O. Carayon, K. Saib, A. Deprez, E. and Mouscadet, J-F., 2008. Integrase and integration: biochemical activities of HIV-1 integrase, Retrovirology, 5, 114.
- Demeter, LM, Shafer RW, Meehan PM, Holden-Wiltse J, Fischl MA, Freimuth WW, Para MF, Reichman RC., 2000. Delavirdine susceptibilities and associated RT mutations in HIV-1 isolates from patients in a Phase I/II trial of delavirdine monotherapy (ACTG 260). Antimicrob. Agents Chemother., 44,3, 794–797.
- Di Marzo, Veronese, F., Copeland, T. D., DeVico, A. L., Rahman, R., Oroszlan, S., Gallo, R. C. ve Sarngadharan, M. G., 1986. Characterization of highly immunogenic p66/p51 as the reverse transcriptase of HTLV-III/LAV. Science, 231, 1289–1291.
- Dobrowolski, J.W., Vohora, S.B., Sharma, K., Shah, S.A., Naqvi, S. ve Dandiya P.C., 1991. "Antibacterial, antifungal, antiamebic, antiinflammatory and antipyretic studies on propolis bee products", Journal of Ethnopharmacology, 35, 77–82.
- Dolinsky, TJ, Nielsen JE, McCammon JA, ve Baker NA., 2004. PDB2PQR: an automated pipeline for the setup of Poisson–Boltzmann electrostatics calculations. Nucleic acids research, 32, 665-667.
- Doms, R.W., 2000. "Beyond receptor expression: the influence of receptor conformation, density, and affinity in HIV-1 infection" Virology, 276, 229-237.
- Ercan, S., 2016. "Yeni Tasarlanan ve Daha Önceden Çalışılmış Bazı Anti-HIV İntegraz Ligandlarının Autodock Vina ile HIV-1 İntegraz Enzimi Katalitik Öz Bölgesine Yerleştirilmesi ve Analizleri" Batman Üniversitesi, Yaşam Bilimleri Dergisi; 6, 1.
- Eroğlu, H. E., Tatlışen, A., ve Özkul, Y., 2004. "Mesane Kanseri Doku Kültürlerindeki Mikronükleus Üzerine Propolis ve Mitomisin-C'nin Etkileri", Sağlık Bilimleri Dergisi, 13, 2, 15-21.
- Escriche, I., and Juan-Borrás, M., 2018. "Standardizing The Analysis Of Phenolic Profile İn Propolis", Food Research International, 106, 834-841.
- Eymir, A., 2017. "Bursa İlinde Yetişen Osmanoğlu ve Sariaşlama Kestanelerinin Toplam Fenolik Madde Miktarı, Fenolik Kompozisyonu ve Antioksidan Kapasiteleri Üzerine Haşlama ve Fırınlamanın Etkisi", Yüksek Lisans Tezi, Munzur Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tunceli.
- Farmerie, W.G., Loeb, D.D. ve Casavant, N.C., 1987. "Expression And Processing Of The Aids Virus Reverse-Transcriptase In Escherichia-Coli", Science, 236, 4799, 305-308.
- Fernandes, J.R., Leomil, L., Fernandes, A.A.H. ve Sforcin, J.M. 2001. "The antibacterial activity of propolis produced by Apis mellifera L. and Brazilian stingless bees". The Journal of Venomous Animals and Toxins, 7, 173– 182.
- Fernandez-Panchon, Ms, Villano D, Troncoso Am, ve Garcia-Parrilla Mc., 2008. "Antioxidant Activity Of Phenolic Compounds: From In Vitro Results To In Vivo Evidence", Critical Reviews İn Food Science and Nutrition, 48, 649-671.

- Freeman and Freed, E.O., 2001. HIV-1 replication, Somat Cell Mol Genet, 26, 1-6, 13-33.
- Freitas, S.F., Shinohara, L., Sforcin, J.M. ve Guimaraes, S., 2006. "In vitro effects of propolis on *Giardia duodenalis* trophozoites", Phytomedicine, 13, 170–175.
- Gekker, G., Hu, S., Spivak, M., Lokensgard, J.R. ve Peterson, P.K., 2005. "Anti- HIV-1 activity of propolis in CD4(+) lymphocyte and microglial cell cultures", Journal of Ethnopharmacology, 102, 158–163.
- Geronikaki, A., 2016. Eleftheriou P., Poroikov V. Anti-HIV Ajanları: Mevcut Durum ve Son Eğilimler. yaylı; Berlin/Heidelberg, Almanya.
- Ghisalberti, E.L., 1979. "Propolis: a review". Bee World, 60, 59–84.
- Gıada, Md., 2013. "Food Phenolic Compounds: Main Classes, Sources and Their Antioxidant Power", Oxidative Stress and Chronic Degenerative Diseases-A Role For Antioxidants, 87-112.
- Grange, J.M. ve Davey, R.W., 1990. "Antibacterial properties of propolis (bee glue)", Journal of the Royal Society of Medicine, 83, 159–160.
- Griffithb, R. Luua, T. Garnera J. ve Kellera, P. A., 2005. Combining structure-based drug design and pharmacophores, Journal of Molecular Graphics and Modelling, 23, 439–446.
- Halliwell, B., and Gutteridge, J. C., 1984. "Lipid Peroxidation, Oxygen Radicals, Cell Damage, and Antioxidant Therapy", The Lancet, 323, 8391, 1396-1397.
- Hammer, S.M., Eron, J.J. Jr., Reiss, P., Schooley, R.T., Thompson, M.A., Walmsley, S., Cahn, P., Fischl, M.A., Gatell, J.M., Hirsch, M.S., Jacobsen, D.M., Montaner, J.S., Richman, D.D., Yeni, P.G., ve Volberding, P.A., 2008. International AIDS Society-USA "Antiretroviral treatment of adult HIV infection: 2008 recommendations of the International AIDS Society-USA panel" JAMA, 300, 555-570.
- Harborne, J. B., and Williams C. A., 2000. "Advances in Flavonoid Research Since 1992", Phytochemistry, 55, 481-504.
- Harish, Z., Rubinstein, A., Golodner, M., Elmaliah, M. ve Mizrachi, Y., 1997. "Suppression of HIV-1 replication by propolis and its immunoregulatory effect". Drugs and Experimental Clinical Research, 23, 89–96.
- Hegazi, A. G., 2000. Propolis an overview, Congreso Internacional de Propóleos, Buenos Aires, Argentina, 1-2.
- Healy, E. F., Sander, J., King, P. J., ve Robinson Jr, W. E., 2009. A docking study of L-chicoric acid with HIV-1 integrase, Journal of Molecular Graphics and Modelling, 27, 584-589.
- Hevener, K.E., Zhao W., Ball D.M., Qi J., White S.W., Babaoğlu K. and Lee R.E., 2009. Validation of Molecular Docking Programs for Virtual Screening against Dihydropteroate Synthase, J. Chem. Inf. Model, 49, 2, 444-460, Publication Date: January 27.

- Higashi, K.O., ve De Castro, S.L., 1994. "Propolis extracts are effective against *Trypanosoma cruzi* and have an impact on its interaction with host cells", Journal of Ethnopharmacology, 43, 149–155.
- Hill, R. Huleihel, M. ve Isanu, V., 2002. "Anti-herpes simplex virus effect of an aqueous extract of propolis", The Israel Medical Association Journal, 4, 923–927. 1977." Propolis: The Natural Antibiotic", Thorsons Publish Ltd.,Wellingborough, UK.
- Hofacre, A., Fan H., 2010. Jaagsiekte sheep retrovirus biology and oncogenesis Dec; 2, 12, 2618-48.
- Horowitz, H.W., Telzak, E.E., Sepkowitz, K.A., ve Wormser, G.P., 1998. "Human immunodeficiency virus infection. Part I" Dis. Mon, 44, 545-606.
- Huang, H, Chopra R, Verdine GL, ve Harrison SC., 1998. Structure of a covalently trapped catalytic complex of HIV-1 reverse transcriptase: Implications for drug resistance. Science, 282, 1669–1675.
- Huber, H. E., McCoy, J. M., Seehra, J. S., and Richardson, C. C., 1989. J. Biol. Chem. 264, 4669–4678.
- Huleihel, M. ve Isanu, V., 2002. "Anti-herpes simplex virus effect of an aqueous extract of propolis", The Israel Medical Association Journal, 4, 923–927.
- HuW, Y., Bushman FD, ve Siva AC., 2004. RNA Interference Against Retroviruses. Virus Research 102, 59–64.
- Isaacs, S., Kashman, Y., ve Loya, S., 1993. "Petrosynol And Petrosolic Acid, 2 Novel Natural Inhibitors Of The Reverse-Transcriptase Of Human-Immunodeficiency-Virus From *Petrosia* sp.", Tetrahedron, 49, 45, 10435-10438.
- Isla, M. I., Moreno, M. N., Sampietro, A. R., and Vattuone, M. A., 2001. "Antioxidant Activity Of Argentine Propolis Extracts", Journal Of Ethnopharmacology, 76, 2, 165-170.
- Ito, J., Chang, F.R., Wang, H.K., Park, Y.K., Ikegaki, M., Kilgore, N. ve Lee, K.H., 2001. "Anti-AIDS agents. 48.(1) Anti-HIV activity of moronic acid derivatives and the new melliferone-related triterpenoid isolated from Brazilian propolis", Journal of Natural Products, 64, 1278–1281.
- Iwashina, T., 2000. "The Structure and Distribution Of The Flavonoids In Plants", Journal Of Plant Research, 113, 287-299.
- J., Park, B. Jun, K. Kim, P. Lee, J. Oh and Y. Lim., 2009. "Improvement of vision guided underwater docking for small AUV ISiMI," OCEANS 2009, Biloxi, MS, 1-5.
- Jacobson, JM., Kuritzkes DR, and Godofsky E., 2009. Safety, pharmacokinetics, and antiretroviral activity of multiple doses of ibalizumab (formerly TNX-355), an anti-CD4 monoclonal antibody, in human immunodeficiency virus type 1-infected adults. Antimicrob Agents Chemother, 53, 450–457.
- Jacobo-Molina, A., Ding, J., Nanni, R. G., Clark, A. D. Jr., Lu, X., Tantillo, C., Williams, R. L., Kamer, G., Ferris, A. L., Clark, P., Hizi, A., Hughes, S. H., and Arnold, E., 1993. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90, 6320–6324.

- Jansen-Alves, C., Maia, D. S., Krumreich, F. D., Crizel-Cardoso, M. M., Fioravante, J. B., da Silva, W. P., and Zambiasi, R. C., 2019. "Propolis microparticles produced with pea protein: Characterization and evaluation of antioxidant and antimicrobial activities", Food hydrocolloids, 87, 703-711.
- Jennifer, H., Sharan L., Jeffrey J. P., and Allan S., 2009. HIV Management in Australasia. Australasian Society for HIV Medicine.
- Kakiuchi, N., Hattori, M. ve Namba, T., 1985. "Inhibitory Effect Of Tannins On Reverse-Transcriptase From RNA Tumor-Virus", Journal Of Natural Products, 48, 4, 614-621
- Kalogeropoulos, N., Konteles, S. J., Troullidou, E., Mourtzinou, I., and Karathanos, V. T., 2009. "Chemical composition, antioxidant activity and antimicrobial properties of propolis extracts from Greece and Cyprus" Food chemistry, 116, 2, 452-461.
- Karakaş, S., 2012. "Türk Propolisinin Ticari Bitkisel Yağlarda Çözünürlüğünün İncelenmesi", Yüksek Lisans Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- Kars, A., 2004. XIII. TPOG Ulusal Pediatrik Kanser Kongresi, Non-Hodgkin Lenfoma. Mayıs, 18-22.
- Kaufmann, G.R., Perrin, L., Pantaleo, G., Opravil, M., Furrer, H., Telenti, A., Hirschel, B., Ledergerber, B., Vernazza, P., Bernasconi, E., Rickenbach, M., Egger, M., ve Battegay, M., 2003. Swiss HIV Cohort Study Group, "CD4 T-lymphocyte recovery in individuals with advanced HIV-1 infection receiving potent antiretroviral therapy for 4 years: the Swiss HIV Cohort Study" Arch. Intern. Med. 163, 2187-2195.
- Kaya, E., 2008. "HEPT bileşik serisinin HIV-1 inhibitörü olarak elektron konformasyon-genetik algoritma (EC-GA) yöntemi ile QSAR incelenmesi" Kimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kayseri.
- Kellenberger, E., Rodrigo J., Muller P. and Rognan D., 2004. Comparative Evaluation of Eight Docking Tools For Docking and Virtual Screening Accuracy, 225-242.
- Khalily, R., 2019. "Propolis Ekstrakti ile Zenginleştirilmiş Yenilebilir Filmlerin Alabalık Filetosu Kalitesi Üzerine Etkileri" Yüksek Lisans Tezi, Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Niğde.
- Kim, D. O., and Lee, C. Y., 2004. "Comprehensive Study On Vitamin C Equivalent Antioxidant Capacity (Vceac) Of Various Polyphenolics In Scavenging A Free Radical and Its Structural Relationship", Critical Reviews In Food Science and Nutrition, 44, 4, 253-273.
- Kim, S., Chen J, Cheng T, Gindulyte A, He J, He S, Li Q, Shoemaker BA, Thiessen PA, ve Yu B., 2019. PubChem 2019 update: improved access to chemical data. Nucleic acids research 47(D1): D1102-D1109.
- Kohlstaedt, L.A., Wang, J. ve Friedman, J.M. 1992. "Crystal-Structure At 3.5 Angstrom Resolution Of Hiv-1 Reverse-Transcriptase Complexed With An Inhibitor", Science, 256, 5065, 1783-1790.

- Kohlstaedt, L.A., Wang J, Friedman JM, Rice PA, ve Steitz TA., 1992. Crystal structure at 3.5 Å resolution of HIV-1 reverse transcriptase complexed with an inhibitor. Science, 256, 1783–1790.
- Kolaç, T., Gürbüz, P., ve Yetiş, G., 2017. “Doğal Ürünlerin Fenolik İçeriği ve Antioksidan Özellikleri”, İnönü Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu Dergisi, 5, 1, 26-42.
- Kolaylı, S., Çakır H.E., Şahin H., Can Z. ve Yıldız O., 2016. “Anti-Inflammatory Activities of some bee Products by Inhibition of Bovine Testes Hyaluronidase”. Current Enzyme Inhibition, 12, 2, 183-187.
- Kolaylı, S., Can, Z., Yıldız, O., Sahin, H. ve Karaoglu, S.A., 2016. “A comparative study of the antihyaluronidase, antiurease, antioxidant, antimicrobial and physicochemical properties of different unifloral degrees of chestnut (*Castanea sativa* Mill.) honeys”, Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry, 31, 3, 96-104.
- Kontoyianni, M., McClellan L.M. and Sokol G.S., 2003. Evaluation of Docking Performance: Comparative Data on Docking Algorithms, J. Med. Chem. 2004 47, 3, 558-565, Publication Date:December 31.
- Kumova, U., Korkmaz A., Avcı B.C., ve Ceyran G., 2002. Önemli Bir Arı Ürünü: Propolis, Uludag Bee Journal, 2, 2 10-24.
- Kuntz, I. D. Blaney, J. M. Oatley, S. J. Lange, R., and Ferrin, T. E., 1982. A geometric approach to macromolecule-ligand interactions. Journal of Molecular Biology, 161, 269-288.
- Kutluca, S., Genç F., ve Korkmaz A., 2006. Propolis, Samsun Tarım İl Müdürlüğü Çiftçi Eğitimi ve Yayım Şubesi, Samsun, Türkiye, 52.
- Küçükoğlu, K., Sulukan E.E., ve Gül H.İ., 2009. ‘‘ AIDS And Drugs in AIDS Treatment’’, Journal Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi, 47-78.
- Kujumgiev, A., Tsvetkova, I., Serkedjieva, Y., Bankova, V., Christov, R. ve Popov, S., 1999. “Antibacterial, antifungal and antiviral activity of propolis of different geographic origin”, Journal of Ethnopharmacology, 64, 235– 240.
- Lang, P.T., Brozell S.R., Mukherjee S., Pettersen E. F., meng E. C., Thoma V., Rizzo R. C., Case D. A., James T. L. and Kuntz I. D., 2009. DOCK 6: Combining Techniques to Model RNA–Small Molecule Complexes, 15, 1219-123.
- Lansdon, E. B., Qi L., Leavitt A. S., Balakrishnan M., Perry J.K., Candra L. M.,Kutty N., Xiaohong L., Squires N.H., Watkins W. J., and Kirschberg T., 2011. “Structural and binding analysis of pyrimidinol carboxylic acid and N-hydroxy quinazolinone HIV-1 RNase H inhibitors” 55, 6, 2905-15.
- Larder, B. A., Purifoy, D. J., Powell, K. L., and Darby, G. 1987. Nature, 327, 716–717.
- Lee, J., Koo, N and Min, D. B., 2004. “Reactive Oxygen Species, Aging, and Antioxidative Nutraceuticals”, Comprehensive Reviews In Food Science and Food Safety, 3, 1, 21-33.

- Lever, A.M.L., 2009. "HIV: the virus" Medicine, 37, 313-316.
- Lisa, B. ve Hightow-Weidman., 2011. Transmitted HIV-1 Drug Resistance Among Young Men of Color Who Have Sex With Men: A Multicenter Cohort Analysis. Journal of Adolescent Health, 48, 94–99.
- Lowe, D. M., Aitken, A., Bradley, C., Darby, G. K., Larder, B. A., ve Powell, K. L., 1988. HIV-1 reverse transcriptase: crystallization and analysis of domain structure by limited proteolysis. Biochemistry, 27, 8884–8889.
- Marcucci, M.C., 1995. "Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity", Apidologie, 26, 83–99.
- Marcucci, M.C., 1995. "Propolis: Chemical Composition, Biological Properties and Therapeutic Activity", Apidologie, 26, 2, 83-99.
- Masuda, N., Yamamoto, O, 2004. "Studies of nonnucleoside HIV-1 reverse transcriptase inhibitors. Part 1: Design and synthesis of thiazolidene benzenesulfonamides". Bioorgan. Med. Chem., 12, 6171-6182.
- Masuda, N., Yamamoto O., Fujii M., Ohgami T., Fujiyasu J., Kontani T., Moritomo A., Orita M., Kurihara H., Koga H., Nakahara H., Kageyama S., Ohta M., Inoue H., Hatta T., Suzuki H., Sudo K., Shimizu Y., Kodama E., Matsuoka M., Fujiwara M., Yokota T., Shigeta S. ve Baba M., 2004. "Studies of nonnucleoside HIV-1 reverse transcriptase inhibitors. Part 1: Design and synthesis of thiazolidenebenzenesulfonamides", Bioorg Med Chem., 12, 23, 6171-82.
- Mateescu, C., 2013. Propolis-a medicine, Institute for Apicultural Research and Development, Bucharest, Romania, 55.
- Matthee, G. Wright A.D. ve König G.M., 1999. "HIV Reverse Transcriptase Inhibitors of Natural Origin", Planta Medica, 65, 493-506.
- Melikyan, G.B., 2008. "Common principles and intermediates of viral protein-mediated fusion: the HIV-1 paradigm", Retrovirology, 5, 111.
- Memmedov, H., Aldemir O., ve Aliyev E., 2017. Propolisin Antioksidan ve Antiinflamatuvar Etkisi, Arıcılık Araştırma Dergisi, 9, 2, 56-62.
- Memmedov, H., Aldemir O., ve Aliyev E., 2018. Propolisin Antikanser Etkisi, Arıcılık Araştırma Dergisi, 10,1, 20-27.
- Menezes, H., Bacci Jr, M., Oliveira, S. D., and Pagnocca, F. C., 1997. "Antibacterial Properties Of Propolis and Products Containing Propolis From Brazil", Apidologie, 28, 2, 71-76.
- Midilli, K., 2007. Direnç Sorunu ve Direnç Testleri. Türkiye Klinikleri J Int Med Sci, 3, 28.
- Midilli, K., 2007. İnsan Bağışıklık Yetmezliği Virusu (HIV)'nun Biyolojisi. Türkiye Klinikleri J Int Med Sci, 3, 28.
- Mocroft, A., Vella, S., Benfield, T.L., Chiesi, A., Miller, V., Gargalianos, P., DiArminio Monforte, A., Yust, I., Bruun, J.N., Phillips, A.N., ve Lundgren, J.D., 1998. "Changing

- patterns of mortality across Europe in patients infected with HIV-1. EuroSIDA Study Group” Lancet, 352, 1725-1730.
- Mohammadzadeh, S., Sharriatpanahi, M., Hamed, M., Amanzadeh, Y., Ebrahimi, S. E. S. and Ostad, S. N., 2007. “Antioxidant Power Of Iranian Propolis Extract”, Food Chemistry, 103, 3, 729-733.
- Mohan, P., 1992. Pharm. Res., 9, 703–714.
- Molina, J.M., Marcelin, A.G., Pavie, J., Heripret, L., De Boever, C.M., Troccaz, M., Leleu, G., ve Calvez, V., 2005. A454-176 JAGUAR Study Team “Didanosine in HIV-1-infected patients experiencing failure of antiretroviral therapy: a randomized placebo-controlled trial” J. Infect. Dis., 191, 840-847.
- Moreno, M. I. N., M. I. Isla, A. R. Sampietro, and M. A. Vattuone., 2000. “Comparison of the freeradicalscavenging activity of propolis from several regions of Argentina”. J. Ethnopharmacol, 71, 109 -114.
- Moreira, L., Dias, L. G., Pereira, J. A., and Estevinho, L., 2008. “Antioxidant Properties, Total Phenols and Pollen Analysis Of Propolis Samples From Portugal”, Food and Chemical Toxicology, 46, 11, 3482-3485.
- Marinello, J., Christophe M., Bryan T. M., Anjali B., Craig J. T., ve Yves P., 2008. “Raltegravir ve Elvitegravirin HIV-1 Integrase Katalitik Reaksiyonları ve Bir Seri İlaça Dirençli Integrase Mutantları üzerinde Karşılaştırılması”, 47,36, 9345–9354.
- Morris, GM, Huey R, Lindstrom W, Sanner MF, Belew RK, Goodsell DS, ve Olson AJ., 2009. AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. J Comput Chem., 30, 16, 2785-91.
- Morris, G. M., Goodsell D. S., Halliday R. S., Huey R., Hart W. E., Belew R. K., ve Olson A. J., 1998. Automated docking using a Lamarckian genetic algorithm and an empirical binding free energy function, J. Comp. Chem., 19, 1639-1662.
- Morris, MC, Berduco C., Mery J., ve Heitz F., 1999. Divita G. P51-Alt Biriminin Başparmak Alanı, HIV Ters Transkriptazın Aktivasyonu için Esastır. Biyokimya, 38, 15097–15103. doi: 10.1021/bi9914558.
- Muller, B; Restle, T. ve Weiss, S. 1989. “Co-Expression Of The Subunits Of The Heterodimer Of Hiv-1 Reverse-Transcriptase In Escherichia-Coli”, Journal Of Biological Chemistry, 264, 24, 13975-13978.
- Murray, P. R., Rosenthal, K S, Kobayashi G S, ve Pfaller MA., 1998. Medical Microbiology. St Louis. Mobsy.
- Nagai, T., Inoue, R., Inoue, H., ve Suzuki, N., 2003. “Preparation and Antioxidant Properties Of Water Extract Of Propolis”, Food Chemistry, 80, 1, 29-33.
- Nakielnny, S., ve Dreyfuss G., 1999. Transport of Proteins and RNAs in and Out of the Nucleus. Cell., 99, 677-690.
- Oette, M., Kaiser, R., Daumer, M., Akbari, D., Fatkenheuer, G., Kurt Rockstroh, J., Stechel, J., Rieke, A., Mauss, S., Schmalöer, D., Göbels, K., Vogt, C., Wettstein, M., ve

- Haussinger, D., 2004. Primary Drug-Resistance in HIV-Positive Patients on initiation of first-line antiretroviral Therapy in Germany. Eur J Med Res, 9, 273-278.
- Okuda, T., Yoshida T. ve Hatano T. 1989. "Ellagitannins As Active Constituents Of Medicinal Plants", Planta Medica, 55, 2, 117-122.
- Onodera, K. Satou, K. and Hirota, H., 2007. Evaluations of Molecular Docking Programs for Virtual Screening against Dihydropteroate Synthase, Journal of Chemical Information and Modeling, 47, 1609-1618.
- Orsi, R.O., Sforcin, J.M., Funari, S.R.C., Fernandes Jr., A. ve Bankova, V. 2006b. "Synergistic effect of propolis and antibiotics on the Salmonella typhi", Brazilian, Journal of Microbiology, 37, 108–112.
- Orsi, R.O., Sforcin, J.M., Rall, V.L.M., Funari, S.R.C., Barbosa, L. ve Fernandes Jr., A. 2005c. "Susceptibility profile of Salmonella against the antibacterial activity of propolis produced in two regions of Brazil", The Journal of Venomous Animals and Toxins, 11, 109–116.
- Özalpan, A., 2001. "Temel Radyobioloji", Haliç Üniversitesi, İstanbul.
- Özbal, Y., 2007. "HIV-1 enfeksiyon patogenezi" Erciyes Tıp Dergisi, 29, 228-234.
- Öztürk, O., 2010. Arı Ürünlerinin Sağlık Üzerine Etkileri, Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Moleküler Tıp Anabilim Dalı, İstanbul Üniversitesi, 89.
- Öztürk, R., 2007. Akut HIV Enfeksiyonu. Türkiye Klinikleri J Int Med Sci, 3,28.
- Öztürk, R., 2007. HIV Enfeksiyonu : Koruma, Kontrol ve Aşılama. J Int Med Sci, 3, 28, 93-99.
- Pallela, F., Delaney KM., and Moorman AC., 1998. Declining morbidity and mortality among patients with advanced human immunodeficiency virus Infection. N. Engl J Med, 338, 853-60.
- Palella, F.J. Jr., Delaney, K.M., Moorman, A.C., Loveless, M.O., Fuhrer, J., Satten, G.A., Aschman, D.J., and Holmberg, S.D., 1998. "Declining morbidity and mortality among patients with advanced human immunodeficiency virus infection. HIV Outpatient Study Investigators" N. Engl. J. Med, 338, 853-860.
- Pauwels, R., Andries, K., Desmyter, J., Schols, D., Kukla, M.J., Breslin, H.J., Raeymaeckers, A., Van Gelder, J., Woestenborghs, R., Heykants, J., Schellekens, K., Janssen, M.A.C., De Clercq, E., and Janssen, P.A.J., 1990. "Potent and selective inhibition of HIV-1 replication in vitro by a novel series of TIBO derivatives" Nature, 343, 470-474.
- Pellegrini, N., Miglio, C., Del Rio, D., Salvatore, S., Serafini, M., and Brighenti, F., 2009. "Effect Of Domestic Cooking Methods On The Total Antioxidant Capacity Of Vegetables", International Journal Of Food Sciences and Nutrition, 60, 2, 12-22.
- Pengsuparp, T; Serit, M. ve Hughes, S.H., 1996. "Specific inhibition of human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase mediated by soulattrolide, a coumarin isolated from the latex of Calophyllum teysmannii", Journal Of Natural Products, 59, 9, 839-842.

- Pillay, D., Geretti AM., and Weiss RA., 2004. Human Immunodeficiency Virüs. In Zuckerman AJ, Banatvala EJ, Schoub BD, Griffiths PD, Mortimer P. Principles and Practice of Clinical Virology. 6th edition John Wiley & Sons Ltd, 896-937.
- Piot, P., Bartos, M., Ghys, P.D., Walker, N., ve Schwartländer, B., 2001. "The global impact of HIV/AIDS" Nature, 410, 968-973.
- Popova, M., Silici S., ve Kaftanoğlu O., 2005. Antibacterial activity of Turkish propolis and its qualitative and quantitative chemical composition, Phytomed, 12, 3, 221-228.
- Popovic, M., Sarngadharan MG, Read E, ve Gallo RC., 1984. Detection, isolation, and continuous production of cytopathic retroviruses (HTLV-III) From Patients With AIDS and Pre-AIDS. Science. 224, 497-500.
- Ramanauskienė, K., and Inkenienė, A. M., 2011. "Propolis Oil Extract: Quality Analysis and Evaluation Of Its Antimicrobial Activity", Natural Product Research, 25, 15, 1463-1468.
- Reddy, M. R., ve Parrill, A. L., 1999. Overview of Rational Drug Design, ACS Symposium Series American Chemical Society: Washington, DC.
- Rege, A., Dahake R., Roy S. ve Chowdhary A., 2015. "Screening of Natural Products for Anti- HIV Potential: An In vitro Approach", Journal of Immuno Virology, 1, 1-7.
- Roux, K.H., ve Taylor, K.A., 2007. "AIDS virus envelope spike structure" Curr. Opin. Struct. Biol, 17, 244-252.
- Russo, A., Cardile, V., Sanchez, F., Toroncoso, N., Vanella, A. ve Garbarino, J.A., 2004. "Chilean Propolis: Antioxidant Activity and Antiproliferative Action in Human Tumor Cell Lines", Life Sci., 76, 5, 545-558.
- Sağdic, O., Silici S., ve Yetim H., 2007. Fate of Escherichia coli and E. coli O157:H7 in apple juice treated with propolis extract, Annals of microbiology, 57, 3, 345-348.
- Sahin, H., Aliyazicioglu, R., Yildiz, O., Kolayli, S., Innocenti, A. ve Supuran, C. T., 2011. "Honey, polen, and propolis extracts show potent inhibitory activity against the zinc metalloenzyme carbonic anhydrase", Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry, 26, 3, 440-444.
- Sahin, H., Can, Z., Yildiz, O., Kolayli, S., Innocenti, A., Scozzafava, G., & Supuran, C. T. 2012. Inhibition of carbonic anhydrase isozymes I and II with natural products extracted from plants, mushrooms and honey. Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry, 27, 3, 395-402.
- Salatino, A., Teixeira, E.W., Negri, G., ve Message, D., 2005. Origin and chemical variation of Brazilian propolis. Evidence-based Complementary and Alternative Medicine 2, 33-38.
- Salomao, K., Dantas, A.P., Borba, C.M., Campos, L.C., Machado, D.G., Aquino Neto, F.R. ve De Castro, S.L., 2004. "Chemical composition and microbicidal activity of extracts from Brazilian and Bulgarian propolis", Letters in Applied Microbiology, 38, 87-92.

- Santos, F.A., Bastos, E.M.A.F., Maia, A.B.R.A., Uzeda, M., Carvalho, M.A.R., Farias, L.M. ve Morreira, E.S.A., 2003. "Brazilian propolis: physicochemical properties, plant origin and antibacterial activity of perodontopathogenes", Phytotherapy Research 17, 285–289.
- Sarafianos, SG., 2009. Structure and function of HIV-1 reverse transcriptase: Molecular mechanisms of polymerization and inhibition. J Mol Biol 385, 693–713.
- Saral, Ö., Yildiz, O., Aliyazıcıoğlu, R., Yuluğ, E., Canpolat, S., Öztürk, F. ve Kolaylı, S. 2016. "Apitherapy products enhance the recovery of CCL4-induced hepatic damages in rats", Turkish Journal of Medical Sciences, 46, 1, 194-202.
- Sarıkaya, A. O., Ulusoy, E., Öztürk, N., Tuncel, M. ve Kolaylı, S., 2009. "Antioxidant activity and phenolic acid constituents of chestnut (*Castania sativa* Mill.) honey and propolis", Journal of Food Biochemistry, 33(4), 470-481.
- Saroğlu, Ö., 2018. "Bayburt ve Türkiye'nin Çeşitli Bölgelerinden Elde Edilmiş Bal, Polen ve Propolis Gibi Arı Ürünlerinin Bazı Kalite Özelliklerinin ve Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi", Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Serkedjieva, J., Manolova, N. ve Bankova, V., 1992. "Anti-influenza virus effect of some propolis constituents and their analogues (esters of substituted cinnamic acids)", Journal of Natural Products, 55, 294–302.
- Sethi, M. L., 1979. "Inhibition Of Reverse Transcriptase Activity By Benzophenanthridine", Journal of Natural Products (Lloydia), 42, 2, 187-196.
- Sethi, M.L., 1983. "Enzyme-Inhibition .6. Inhibition Of Reverse-Transcriptase Activity By Protoberberine Alkaloids And Structure Activity Relationships", Journal Of Pharmaceutical Sciences, 72, 5, 538-541.
- Sethi, V.S., ve Sethi, M.L., 1975. "Inhibition Of Reverse-Transcriptase Activity Of Rna-Tumor Viruses By Fagaronine", Biochemical And Biophysical Research Communications, 63, 4, 1070-1076.
- Seven, İ., Seven, P. T. and Yilmaz, S., 2009. "Responses Of Broilers Under Cold Conditioning (15°C) To Dietary Triiodothyronine and İodine Combined To Antioxidants (Selenium and Vitamin C)", Kafkas Univ Vet Fak Derg., 15, 4, 499-504.
- Seven, P. T., Yilmaz, S., Seven, I., Cercı, I. H., Azman, M. A., and Yilmaz, M., 2009. "Effects Of Propolis On Selected Blood İndicators and Antioxidant Enzyme Activities İn Broilers Under Heat Stress", Acta Veterinaria Brno., 78, 1, 75-83.
- Sforcin, J.M., Fernandes Jr., A., Lopes, C.A.M., Bankova, V. ve Funari, S.R.C., 2000. "Seasonal effect on Brazilian propolis antibacterial activity", Journal of Ethnopharmacology, 73, 243–249.
- Sforcin, J.M., Fernandes Jr., A., Lopes, C.A.M., Funari, S.R.C. ve Bankova, V., 2001. "Seasonal effect of Brazilian propolis on *Candida albicans* and *Candida tropicalis*", The Journal of Venomous Animals and Toxins, 7, 139–144.

- Sforcin, J. M., and Bankova, V., 2011. "Propolis: Is There A Potential For The Development Of New Drugs?", Journal Of Ethnopharmacology, 133, 2, 253-260.
- Shafer, R.W., Dupnik, K., Winters, M. A., and Eshleman, S. H., 2001. HIV Seq. Compend. 1–51.
- Shahidi, F. and Naczki, M., 1995. "Food Phenolics, Chemistry, Effects, Applications" Technomic USA.
- Shakespeare, K. H., 2012. Propolis: "Composition, Health, Medicine" Bee Product Sci, 13, 1-29.
- Shohaib, T., Shafique M, Dhanya N. and Divakar M., 2011. "Importance Of Flavonoids In Therapeutics", Hygeia: Journal For Drugs and Medicines, 3,1-18.
- Shen, L., Shen J., Luo X., Cheng F., Xu Y., Chen K., Arnold E., Ding J. ve Jiang H., 2003. "Steered molecular dynamics simulation on the binding of NNRTI to HIV-1 RT". Biophys, 84, 3547-3563.
- Sierra, S., Kupfer, B., ve Kaiser, R., 2005. "Basics of the virology of HIV-1 and its replication" J. Clin. Virol, 34, 233-244.
- Silici, S., Unlu M., ve Vardar G., 2007. Antibacterial activity and phytochemical evidence for the plant origin of Turkish propolis from different regions, World J Microbiol Biotechnol, 23, 12, 1797-1803.
- Silici, S., 2015. Propolis üzerine ön klinik araştırmalar, Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 31, 3, 185-191.
- Smith, C. G., ve O'Donnella J. T., 2006. The Process of New Drug Discovery and Development (second edition), Informa Healthcare USA.
- Sorkun, K., Gençay Ö., ve Salih B., 2006. Türkiye, Brezilya ve Japonya'da 17 farklı lokasyondan toplanan propolis örneklerinin GC-MS analizi, Kafkas bal arısı çalıştayı, Camili-Artvin, Türkiye, Temmuz 14-23.
- Sorkun, K., Süer B., ve Salih B., 2001. Determination of chemical composition of Turkish propolis, Z. Naturforsch, 56, 666-668.
- Sorucu, A., 2015. "Marmara Bölgesindeki Propolislerde Biyolojik Etkisi Olan Fenolik Madde ve Miktarlarının Mevsim ve Rakım Farkına Bağlı Olarak Belirlenmesi" Doktora Tezi, Uludağ Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Bursa.
- Stahl, W., Berg H. and Arthur J., 2002. "Bioavailability and Metabolism", Mol Aspects Med., 23, 39–100.
- Stahlhut, M.W. ve Olsen, D.B., 1996. "Expression and purification of retroviral HIV-1 reverse transcriptase", Methods Enzymol, 275, 122-33.
- Sundquist, IW., ve Krausslich HG., 2012. HIV-1 Assembly, Budding, and Maturation. Cold Spring Harb Perspect Med., 2, 6924.
- Sverdlov, E. D., 2000. "Retroviruses and primate evolution." BioEssays, 22, 161-171.

- Szalay, J., 2016. "What Are Free Radicals", <https://www.livescience.com/54901-free-radicals.html> 29.04.2017.
- Systèmes, D., 2017. Biovia, discovery studio modeling environment. Dassault Systèmes Biovia: San Diego, CA, USA.
- Tan, G.T. ve Pezzuto J.M., 1991."Evaluation of natural products as inhibitors of HIV-1 reverse transcriptase", *J. Nat. Prod.*, 5, 143–154.
- Tantillo, C., Ding, J.P., ve Jacobomolina, A., 1994. "Locations Of Anti-Aids Drug-Binding Sites And Resistance Mutations In The 3-Dimensional Structure Of Hiv-1 Reverse-Transcriptase - Implications For Mechanisms Of Drug-Inhibition And Resistance". *Journal Of Molecular Biology*, 243, 3, 369-387.
- T.C. Sağlık Bakanlığı 1 Ekim 1985-31 Aralık 2010 HIV/AIDS verileri. Available at: pozitifyasam.org/assets/files/turkiye_verileri-2010.doc
- Tatlı Seven, P., Yılmaz, S., Seven, I. and Tuna Keleştemur G., 2012. "Effects Of Propolis İn Animals Exposed Oxidative Stres", In: Lushchak V1 (Ed): *Oxidative Stress-Environmental Induction and Dietary Antioxidants*, 267-288, 978-953, 51-5534, Rijeka, Croatia.
- Tian, L, Kima M.S, Lic H., Wangd J., and Yanga W., 2017. Structure of HIV-1 reverse transcriptase cleaving RNA in an RNA/DNA hybrid Contributed by Wei Yang, December 6, 2017 (sent for review November 15, 2017; reviewed by James Champoux and Dong Wang)
- Tintori, C., Corona A., Esposito F., Brai A., Grandi N., Ceresola ER, Clementi M., Canducci F., Tramontano E., and Botta M., 2016. Inhibition of HIV-1 Reverse Transkriptase Dimerization by Small Moleküller. *ChemBioChem*, 17, 683–688.
- Tosi, B., Donini, A., Romagnoli, C., and Bruni, A., 1996. "Antimicrobial Activity Of Some Commercial Extracts Of Propolis Prepared With Different Solvents", *Phytotherapy Research*, 10, 4, 335-336.
- Tuofu Zhu, MD., 2005. *Human Retrovirus Protocols*. Humana Press Totowa, New Jersey.
- Turner, BG., and Summers MF., 1999. Structural Biology of HIV. *J Mol Biol*, 285, 1-32.
- Uğuzlar, H., 2009. "Antalya'da Yetişen Areceae Arum Dioscorides Tohumlarının Antioksidan Aktivitesi ve Toplam Fenolik Madde Tayini" Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya.
- URL-1, https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/Mikrobiyoloji_Referans_Laboratuvarlari_ve_Biyolojik_Urunler_DB/rehberler/HIV-AIDS_Tani_Kilavuzu.pdf / 02/07/2020
- URL-2, <https://web.stanford.edu/group/virus/retro/2005gongishmail/HIV.html/> 10/09/2020.
- URL-3, <https://www.pozitifiz.org/hiv-yasam-doenguesue/07/10/2020>.
- URL-4, <https://www.niaid.nih.gov/diseases-conditions/hiv-replication-cycle/>11/10/2020
- URL-5, <https://www.microbe.tv/twiv/reverse-transcription/>15/10/2020

- URL-6, <http://www.hivaidsegitim.org/hivhakkinda4ilk.html/> 18/10/2020
- URL-7, <http://www.who.int/hiv/pub/guidelines/artadultguidelines.pdf/25/10/2020>
- Ustaçelebi, Ő., Ergünay K., 2002. HIV İlaç Direnci ve Saptama Yöntemleri. HIV/AIDS. 5, 2.
- Ustaçelebi, Ő., 1999. “İnsan İmmünyetmezlik Virüsleri”, Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, Güneş Kitabevi, Ankara, 987-1001.
- Ustaçelebi, Ő., 1999. İnsan İmmün Yetmezlik (HIV) Yapı ve Özellikleri ve Tanıda Kullanılan Laboratuvar Testleri. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı.
- Uygur, Ő. Ö., 2010. Polen ve Propolis Üretimi, Arıcılık Araştırma Dergisi, 2, 4, 24-28.
- Uzun, Ö., ve Ünal S., 2002. Güncel Bilgiler Işığında Enfeksiyon Hastalıkları Kitabından. Bilimsel Tıp, Ankara, 903-999.
- Vadivelan, S., Deeksha TN, Arun S., Machiraju PK, Gundla R., and Sinha BN., 2010. Jagarlapudi SARP Güçlü uçlar tasarlamak için HIV-1 ters transkriptaz inhibitörleri üzerinde sanal tarama çalışmaları. Avro. J. Med. Kimya, 46, 851-859.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M., and Telser, J., 2007. “Free Radicals and Antioxidants İn Normal Physiological Functions and Human Disease”, The International Journal Of Biochemistry and Cell Biology, 39, 1, 44-84.
- Vermerris, W., and Nicholson, R., 2007. “Phenolic Compound Biochemistry”, Springer Science and Business Media.
- Vittinghoff, E., Scheer, S., O’Malley, P., Colfax, G., Holmberg, S.D., and Buchbinder, S.P., 1999. “Combination antiretroviral therapy and recent declines in AIDS incidence and mortality” J. Infect. Dis, 179, 717-720.
- Vynograd, N., Vynograd, I. ve Sosnowski, Z., 2000. “A comparative multi-centre study of the efficacy of propolis, acyclovir and placebo in the treatment of genital herpes (HSV)”, Phytomedicine, 7, 1–6.
- Wang, J., Shackelford, J.M., Casella, C.R., Shivers, D.K., Rapaport, E.L., Liu, B., Yu, Wang, J. Y. Ling, H. Yang, W., ve Craigie, R., 2001. Structure of a two-domain fragment of HIV-1 integrase: Implications for domain organization in the intact protein. European Molecular Biology Organization Journal, 20, 7333-7343.
- Wang, J., Smerdon SJ, Jäger J., Kohlstaedt LA, Rice PA, Friedman JM.,and Steitz TA., 1994. İnsan immün yetmezlik virüsü tip 1 ters transkriptaz heterodimerinde asimetrinin yapısal temeli. Proc. Natl. Acad. bilim ABD, 91, 7242-7246.
- Wapling, J., Moore KL, Sonza S., Mak J., and Tachedjian G., 2005. İnsan immün yetmezlik virüsü tip 1 ters transkriptaz dimerizasyonunu iptal eden mutasyonlar, ters transkriptaz heterodimerinin olgunlaşmasını etkiler. J. Virol, 79, 10247–10257.
- Warnke, D. ve Barreto, J., 2007. “Antiretroviral drugs”. J. Clin. Pharmacol., 47, 12, (December 2007), 1570-1579, ISSN 0091-2700.

- Wisniewski, M., Palaniappan, C., Fu, Z., Le Grice, S. F., Fay, P., and Bambara, R. A., 1999. J. Biol. Chem., 274, 28175–28184.
- Wolf, A., Zimmermann M. and Hofmann M., 2007. Apitius, Alternative to Consensus Scoring- A New Approach Toward The Qualitative Combination of Docking Algorithms, J. Chem. Inf. Model. 2007, 47, 3, 1036-1044, Publication Date: May 11, 2007.
- Worobey, M., Gemmel M., and Teuwen DE., 2008. Direct evidence of extensive diversity in Kinshasa by 1960. Nature, 455, 661-64.
- Xiong, Y., ve Eickbush, T. H., 1990. EMBO J. 9, 3353–3362.
- Yang, J., Chen W., Kang D., Lu X., Li X., Liu Z., Huang B., Daelemans D., Pannecouque C., ve De Clercq E., 2016. NNRTI bağlama cebinin giriş kanalını hedefleyen yeni diarilpiridin türevlerinin tasarımı, sentezi ve anti-HIV değerlendirmesi. Avro. J. Med. Kimya, 109, 294–304.
- Yang, Z. N., Mueser, T. C.; Bushman, F. D., and Hyde, C. C., 2000. Crystal structure of an active two-domain derivative of rous sarcoma virus integrase. J. Mol. Biol. 296, 535-548.
- Yang, Z, Lasker K, Schneidman-Duhovny D, Webb B, Huang CC, Pettersen EF, Goddard TD, Meng EC, Sali A, ve Ferrin TE., 2012. J Struct Biol, 179, 3, 269-78.
- Yavuz, C., 2011. “Türkiye’nin Bazı İllerinden Toplanan Propolislerin Antimikrobiyal, Antioksidan Aktiviteleri ve Biyoaktif Bileşenlerinin Tayini” Yüksek Lisans Tezi, Ordu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ordu.
- Yenen, O.S., 2010. Tıbbi Mikrobiyoloji-Lange. İstanbul:Nobel Tıp Kitabevi.
- Yıldız, O., Karahalil F., Can Z., Sahin H. ve Kolaylı S. 2014. "Total Monoamine Oxidase (Mao) Inhibition By Chestnut Honey, Pollen And Propolis", Journal Of Enzyme Inhibition And Medicinal Chemistry, 29, 690-694.
- Yılmaz, G., Ağaçfıdan, A., ve Anı, Ö., 1999. “Human Immunodeficiency Virus” Cinsel Temasla Bulaşan Hastalıklar, Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti, İstanbul, 255-273.
- Yılmaz, G., 2001. Diagnosis of HIV infection and laboratory monitoring its therapy. Journal of Clinical Virology, 21, 187-196.
- Yılmaz, G., 2007. HIV Enfeksiyonunun Laboratuvar Tanısı. Türkiye Klinikleri, J Int Med Sci, 3, 28, 68-73.
- Yücel, B., Topal, E., Akçiçek, E. ve Kösoğlu, M., 2014. “Propolisin İnsan Sağlığına Etkileri”. Anadolu Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Dergisi, 24, 2, 41-49.
- Zhan, P., Lia, X. ve Li, Z., 2009. “Recent advances in the discovery and development of novel HIV-1 NNRTI platforms: 2006-2008 update”, Curr. Med. Chem., 16, 22, 2876-2889.
- Zhu, T., Korber, BT., and Nahmias, AJ., 1998. An African HIV-1 sequence from 1959 and implications for the origin of the epidemic. Nature, 391, 594-97.

ÖZGEÇMİŞ

Çocukluğu İstanbulda geçti. İlköğrenimini 2004 yılında Balıkesir - Erdek İstiklal İlköğretim Okulu'nda, liseyi Şiran Fatih Sultan Mehmet Çok Programlı Lisesi'nde tamamladı. 2009 yılında Erzurum Atatürk Üniversitesi, Kazım Karabekir Eğitim Fakültesi Biyoloji Öğretmenliği Bölümü'nde lisans öğrenimine başladı. 5 yıllık lisans öğreniminden 2014 yılında onur öğrencisi olarak mezun oldu. 2016 yılında Trabzon Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı bünyesindeki Moleküler Biyoloji Bilim Dalı'nda yüksek lisans eğitime başladı. Burada 2 öğretim dönemi devam ettikten sonra, T.C. Çalışma ve Sosyal Güvenlik Bakanlığı bünyesinde, Trabzon'a İş ve Meslek Danışmanı olarak atandı. Hala Trabzon'da İş ve Meslek Danışmanı olarak çalışmakta ve Biyoloji Anabilim Dalı, Moleküler Biyoloji Bilim Dalı'nda yüksek lisans eğitime Karadeniz Teknik Üniversitesi'nde devam etmektedir. Doğa, kitap, sanat ve bilimle ilgilenmektedir. Yabancı dili İngilizce'dir.