

ARTICLE TYPE: RESEARCH ARTICLE

Naringin ve Naringenin'in Kardiyovasküler Hastalıklar Üzerindeki Antioksidan Özelliği Moleküler Docking

Antioxidant Properties of Naringin And Naringenin on Cardiovascular Diseases Molecular Docking

Ömer GÖÇ^{1*}¹Harran Üniversitesi Sağlık Bilimleri Meslek Yüksek Okulu Biyomedikal Cihaz Teknolojisi, Şanlıurfa, Türkiye, omergoc@harran.edu.tr 0000-0002-3047-6232

ÖZET

Amaç: Flavanonlar olarak bilinen flavonoidlerin bir alt sınıfına ait olan Naringin ve Naringenin, turunçgillerdeki ana biyoaktif bileşiklerdir ve insan sağlığı üzerindeki yararlı etkileri bilinmektedir. Bu çalışmanın amacı; Naringin ve naringenin moleküllerinin antioksidan özelliklerinden dolayı kardiyovasküler sistem üzerindeki etkileri molekül yerleştirme ile incelemektir. Naringin ve Naringenin'in antioksidant proteinine (PDB ID:1HD2) karşı aktivitelerini değerlendirmek için moleküler yerleştirme hesaplamaları kullanılmaktadır.

Materyal ve Metot: Moleküler docking çalışmaları Chimera 1.17.3, Auto dock vina ve BIOVIA Discovery Studio 2021 Client programları kullanılarak gerçekleştirildi.

Bulgular: Naringin ve Naringenin'in 1HD2 hedef proteinine bağlanma afinitesi sırasıyla -6.4 kcal/mol ve -5.8 kcal/mol olarak hesaplanmıştır. Naringin ligandının GLY, CYS, ASN ve ARG ile H bağları gerçekleştirirken Naringenin ise ASN ve ARG ile gerçekleştirmiştir.

Tartışma ve Sonuç: Yapılan çalışma sonuçları moleküler yerleştirme analizinin sonuçları, hedef reseptör proteinlerinin ve Naringin'in bağlanma afinitesi için mükemmel bir potansiyele sahip olduğunu ve hedef proteinlere karşı bu bileşiğin aktif bölgeye olumlu bir şekilde bağlandığını göstermiştir. Buna göre docking sonuçları aromatik halkaya bağlı hidroksil grubu, hidrojen bağları ve sp² hibrit orbitaller gibi bazı kimyasal veriler, aktif cepte amino asit kalıntıları ile dipolar ve hidrofobik (tercihen pi-pi) olmak üzere farklı etkileşimlerin varlığını göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Naringin, Naringenin, Moleküler doking, Kardiyavüsküler, Antioksidant

ABSTRACT

Objective: Naringin and naringenin, which belong to a subclass of flavonoids known as flavanones, are the main bioactive compounds in citrus fruits, and they are known for their beneficial effects on human health. To investigate the effects of naringin and naringenin molecules on the cardiovascular system due to their antioxidant properties by molecular docking. To use molecular docking calculations to evaluate the activities of naringin and naringenin against antioxidant protein (PDB ID:1HD2).

Material and Methods: Molecular docking studies were performed using Chimera 1.17.3, Auto dock vina and BIOVIA Discovery Studio 2021 Client programmes.

Results: The binding affinity of Naringin and Naringenin to the 1HD2 target protein was calculated as -6.4 kcal/mol and -5.8 kcal/mol, respectively. Naringin ligand formed H bonds with GLY, CYS, ASN and ARG while Naringenin formed H bonds with ASN and ARG.

Discussion and Conclusion: The results of molecular docking analysis showed that the target receptor proteins and naringin have excellent potential for binding affinity and that this compound binds favourably to the active site against target proteins. Some chemical data such as hydroxyl group attached to the aromatic ring, hydrogen bonds and sp² hybrid orbitals indicate the presence of different interactions, dipolar and hydrophobic (preferably pi-pi), with amino acid residues in the active pocket.

Keywords: Naringin, Naringenin, Molecular docking, Cardiovascular, Antioxidant

Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Ömer GÖÇ Harran Üniversitesi Sağlık Bilimleri Meslek Yüksek Okulu Biyomedikal Cihaz Teknolojisi, Şanlıurfa,Türkiye, omergoc@harran.edu.tr ORCID: 0000-0002-3047-6232

Atıf /Cite: Göç Ö. Naringin ve Naringenin'in Kardiyovasküler Hastalıklar Üzerindeki Antioksidan Özelliği Moleküler Docking. Mehes Jounal. 2024(2);2:58-65.



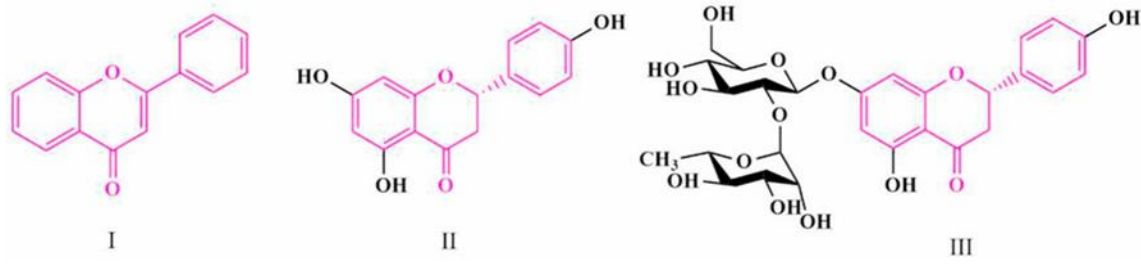
The journal is licensed under a [Attribution 4.0 International \(CC BY 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

GİRİŞ

Dünya sağlık raporuna göre kardiyovasküler hastalıklar dünyada önde gelen ölüm nedenlerinden biridir. Bu nedenle kardiyovasküler hastalıkların erken tespiti için nicel ve doğru yöntemlere büyük ihtiyaç vardır. Gelişmiş ülkelerde, iskemik kalp hastalığı ve serebrovasküler hastalıklar birlikte tüm ölümlerin %36'sını oluşturmaktadır. Kardiyovasküler sistemin karmaşıklığı sebebiyle kardiyovasküler hastalıkları teşhis etmek, önlemek ve tedavi etmek için işlevinin ölçülmesi zordur. Esas olarak oksidatif hasarın birikmesi nedeniyle kardiyovasküler hastalıkların görülme sıklığını artmaktadır. Kardiyovasküler hastalıklarda önemli bir risk faktörü yaşlanmadır. 2030 yılına kadar dünya nüfusunun beşte biri 65 yaşın üzerinde olacak ve kardiyovasküler hastalık oranı katlanarak artacaktır. Yaşla ilişkili kardiyovasküler hastalık ardındaki oksidatif stres mekanizmalarının anlaşılması, önleme konusunda bir dönüşüme yol açmıştır (1, 2). Oksidatif strese karşı bazı maddeler hasar oluşumu önceden kardiyovasküler hastalıklara karşı korunma sağlayabilmektedir.

Flavonoidler bitkilerde doğal olarak bulunan, polifenol bileşiklerin sekonder metabolitleridir. Epidemiyolojik çalışmalarda flavonoidlerden zengin besinlerin özellikle de turunçgillerin tüketiminin kardiyovasküler hastalık risk faktörlerini ve mortaliteyi azalttığı bildirilmektedir (3-6). Turunçgillerde flavonoid içerikleri oldukça yüksektir. Turunçgil tüketimindeki bu yararlı etki, turunçgil türlerinde bulunan polifenollere özellikle de flavonoidlere bağlanmaktadır (7). Naringin ve Naringenin bu flavonoidlerden bazılarıdır. Naringin ve Naringenin, tüketimi insan sağlığı için faydalı olan turunçgillerdeki ana biyoaktif polifenollerdir. Çok sayıda çalışma bu maddelerin antioksidan ve antiandrojenik özelliklerinin yanı sıra hayvanlarda ve insanlarda çeşitli in vitro ve in vivo deneysel modellerde birçok hastalıktan koruma yeteneklerini bildirmiştir (8).

Flavonoidler, bir aromatik halkaya (B) karbon-karbon bağı ile bağlı iki kaynaşmış halka (A ve C) içeren on beş karbonlu bir yapı ile tanımlanır (Şekil 1) (9). Naringin (4',5,7-trihidroksiflavanon-7-rhamnoglukozit) ve onun bir glikon formu olan Naringenin esas olarak limon, portakal, mandalina ve greylift gibi turunçgillerde bulunur (10). Flavonoidlerin ana yapısındaki 4', 5 ve 7 karbonlarına üç hidroksi grubunun eklenmesi Naringenin oluşumuyla sonuçlanır (9). Naringenin'in moleküler formülü $C_{15}H_{12}O_5$ olup 5,7-Dihidroksi-2-(4-hidroksifenil)kromon-4-on IUPAC ismine sahiptir. Flavonoidlerin potansiyel terapötik etkileri, serbest radikalleri temizleme ve oksidatif stresi azaltmaya dayanmaktadır. Flavanonlar, serbest radikal süpürme ve metal iyonu şelatlama faaliyetlerinden sorumlu fonksiyonel hidroksil gruplarının sayısına ve konfigürasyonuna bağlı olan güçlü antioksidan aktivite gösterirler (10).



Şekil 1. Flavonoidlerin iskelet yapısı (I), naringenin (II), ve naringin (III).

Oksidatif stres, hücrede reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimi ile antioksidan savunmalar arasındaki dengesizlik olarak tanımlanmış olup bu da lipidler, membranlar, proteinler ve DNA dahil olmak üzere hücre yapılarının oksidatif hasarına yol açmıştır (9, 12). Antioksidanlar ise oksidanları ortadan kaldırarak ROS'un neden olduğu hasarı onarır (13-15). Turunçgil flavonoidlerinin kan lipidlerini ve kolesterolü düşürücü, antiinflamatuvar ve antioksidan özellikleri bulunmaktadır (16).

LDL-kolesterolün (LDL-k) artması ve arteriyal damar duvarları içinde bulunan makrofajlarda birikmesi ateroskleroz gelişiminin ana sebebidir. Ateroskleroz gelişimi, kalp krizleri, iskemik inme, koroner arter hastalıkları gibi birçok kardiyovasküler hastalığın ortaya çıkmasına neden olmaktadır (17, 18).

Naringenin; LDL-k, Trigliserit (TG) ve glikoz düzeyini azaltmakta, HDL-kolesterolü (HDL-k) arttırarak antioksidan savunma sistemini geliştirmekte ve aterosklerozla ilişkili genlerin transkripsiyonunu azaltarak düzenlemektedir (16). Naringin ve Naringenin moleküllerinin antioksidan özelliklerinden dolayı kardiyovasküler sistem üzerindeki etkileri molekül yerleştirme ile incelenmiştir. Bu çalışmada Naringin ve Naringenin'in antioksidant proteinine (PDB ID:1HD2) karşı aktivitelerini değerlendirmek için moleküler yerleştirme hesaplamaları kullanılmıştır.

MATERYAL VE METOD

Moleküler Docking

Hedef proteinlerin protein kodları, <https://www.rcsb.org> adresindeki Yapısal Biyoinformatik Protein Veri Bankası Araştırma İşbirliği'nden (RCSB PDB) PDB formatında (3D Conformer) indirildi.

Moleküler docking çalışmaları Chimera 1.17.3, Auto dock vina ve Discovery Studio programları kullanılarak gerçekleştirildi. Ligand olarak tercih edilen naringenin yapısı

(PubChem SMILE: C1C(OC2=CC(=CC(=C2C1=O)O)O)C3=CC=C(C=C3)O) PubChem veri tabanından (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) elde edildi. Proteinlerin üç boyutlu kristal yapıları RCSB Protein Veri Bankasından (<https://www.rcsb.org>) elde edildi. Moleküler docking için protein yapıları hemen kullanıma uygun değildir. Proteinler ve ligand Chimera 1.17.3, programında Prepare a molecule for use as USCF input modülü kullanılarak Moleküler docking için hazırlandı. Moleküler docking hazırlık aşamalarında sırası ile sterik engeller ortadan kaldırıldı, eksik hidrojenlerin eklendi, kısmi yükler atandı, yan zincirler oluşturuldu ve eksik döngülerin dolduruldu, kristal yapılarıdaki bağlanma bölgesinden 5 Å'nin ötesinde konumlanan su molekülleri çıkarıldı, ligandın optimal enerji minimizasyonu gerçekleştirildi, proteinlerin potansiyel bağlanma bölgeleri belirlendi ve ızgara kutusu 30x30x30 hacimsel aralığa ayarlandı. Rapor edilen biyoaktif bileşikler PubChem veri tabanından SDF (Structure data file) formatında (3D conformer) indirilmiş (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>). In-silico çalışmayı gerçekleştirmek için AutoDock Vina kullanılmıştır (19). Hazırlanan yapılandırma dosyaları, yerleştirmeyi çalıştırmak için gereken tüm ayrıntılardan (protein ve ligand) oluşuyordu. AutoDock Vina'yı çalıştırma komutu Komut İstemi kullanılarak verildi. Çıktı dosyaları, kenetlenmiş pozları görselleştirmek için pdbqt formatında yapıldı. 2D ve 3D kenetlenmiş pozların görselleştirilmesi için BIOVIA Discovery Studio 2021 Client (BIOVIA, San Diego, CA, ABD) kullanılmıştır. Hazırlanan proteinler pdbqt formatında kaydedildi. Izgara bölgeleri, doğal ligandın bağladığı aktif bölgeye göre düzenlendi. Daha sonra XYZ öznitelikleri ayarlandı ve yerleştirme için gerekli tüm ayrıntıları içeren bir yapılandırma dosyası oluşturuldu.

BULGULAR

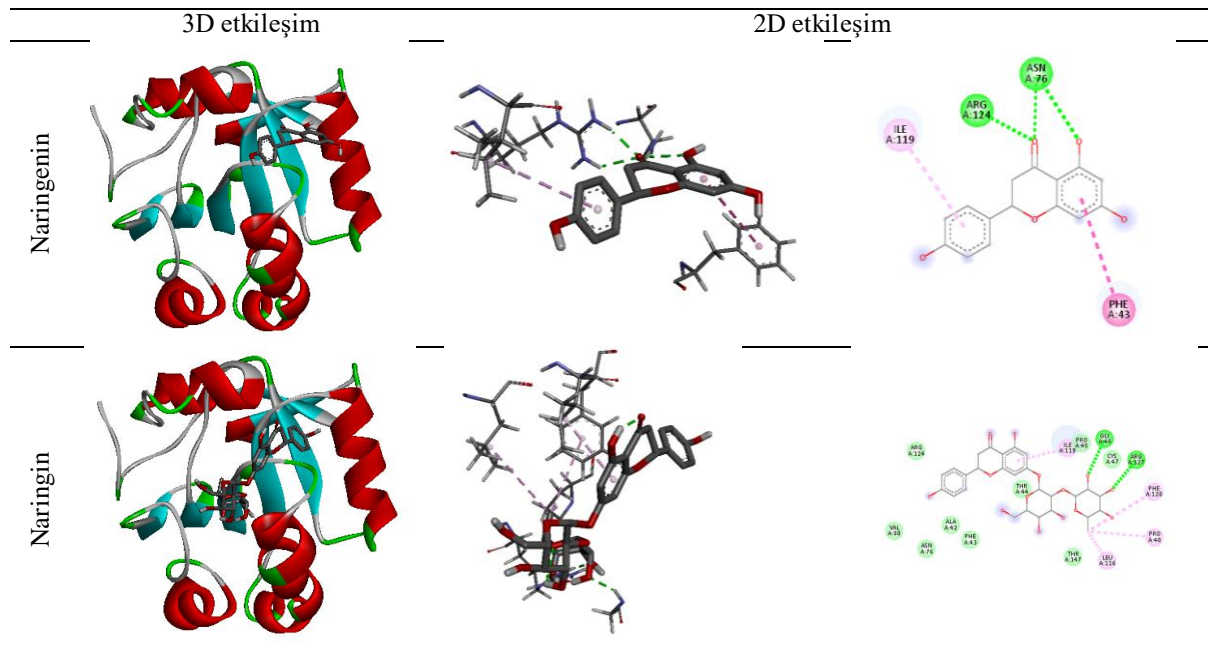
Moleküllerin aktivitelerini belirleyen ilk parametre docking score parametresidir. Ayrıca diğer parametreler moleküller ve proteinler arasındaki etkileşimlerin sayısal değerlerini vermektedir. Docking score molekül işlevselliğinin önemli bir ölçüsü olarak öne çıkmaktadır. Naringin ve Naringenin'in 1HD2 hedef proteinine bağlanma afinitesi sırasıyla -6.4 kcal/mol ve -5.8 kcal/mol olarak hesaplanmıştır. Hesaplanan parametre değerleri Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. Docking score değeri, H bağları ve Hidrofobik etkileşimler

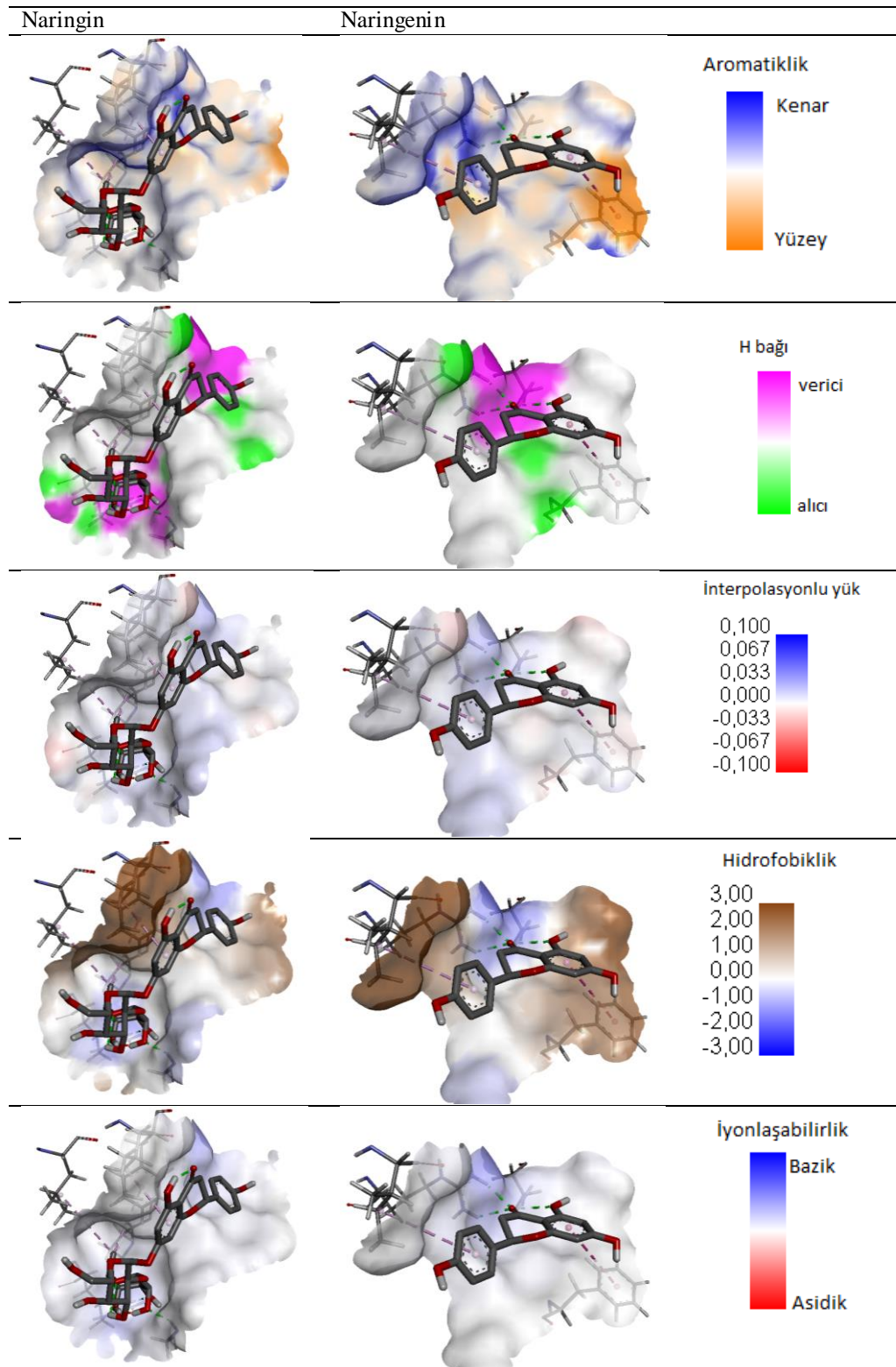
	Naringenin				Naringin			
Docking score	-5.8 kcal/mol				-6.4 kcal/mol			
H bağları	AA	Uzaklık H-A	Uzaklık D-A	Donor angle	AA	Uzaklık H-A	Uzaklık D-A	Donor angle
	ASN	2.24	3.12	148.76	GLY	2.17	3.11	157.88
	ARG	2.28	3.10	140.14	CYS	2.34	3.11	134.72

	ARG	2.05	2.93	147.74	ASN	3.17	4.01	143.76
					ARG	2.11	2.95	141.39
Hidrofobik etkileşimler	AA	Uzaklık			AA	Uzaklık		
	PHE	3.90			THR	3.76		
	PHE	3.64			PHE	3.70		
	THR	3.70			PHE	3.68		
	VAL	3.95						
	ILE	3.86						
	PHE	3.70						
	PHE	3.70						

Moleküller ve proteinler arasındaki etkileşim Şekil 2'de verilmiştir. Şekil 3'te ise Naringin ve Naringenin moleküllerinin 1HD2 hedef proteini ile aromatikliği, H bağı, interpolasyon yükü, hidrofobikliği ve iyonlaşabilirlik özelliği verilmiştir. Hesaplamalar sonucunda moleküllerin çeşitli proteinlere karşı aktiviteleri karşılaştırılır. Bu karşılaştırma için docking score parametresi sayısal değerine göre yapılır ve bu parametrenin sayısal değeri en negatif olan en yüksek aktiviteye sahiptir. Buna göre Naringinin, Naringenine kıyasla daha yüksek olduğu görülmektedir.



Şekil 2. Naringenin ve Naringin'in 2D ve 3D etkileşimleri



Şekil 3. Naringin ve Naringenin moleküllerinin 1HD2 hedef proteini ile aromatikliği, H bağı, interpolasyon yükü, hidrofbikliği ve iyonlaşabilirlik

TARTIŞMA

Moleküler modelleme, moleküler kenetlenme hesaplamaları yoluyla moleküllerin proteinlerle etkileşimlerini inceleyen önemli bir yöntemdir. Bu yöntem, moleküllerin proteinlere karşı

aktivitesini ve aralarındaki etkileşimi belirler ve bu etkileşim arttıkça moleküllerin aktivitesi de artar. Her bir parametre moleküllerin farklı özellikleri hakkında bilgi vermektedir.

Moleküllerin proteinlerle etkileşimi nedeniyle proteinlerin inhibe edildiği bilinmektedir. İyi bilinmelidir ki moleküller ve proteinler arasındaki etkileşim arttıkça moleküllerin aktivitesi de artmaktadır. Bu etkileşimler genellikle kimyasal etkileşimlerdir ve bunlar hidrojen bağları, polar ve hidrofobik etkileşimler, π - π ve halojendir. Bu modelde aktiviteyi belirleyen en önemli faktör molekül ile protein arasındaki etkileşimdir.

Moleküler yerleştirme analizinin sonuçları, hedef reseptör proteinlerinin ve Naringin'in bağlanma afinitesi için mükemmel bir potansiyele sahip olduğunu ve hedef proteinlere karşı bu bileşiğin aktif bölgeye olumlu bir şekilde bağlandığını göstermiştir. Docking sonuçları aromatik halkaya bağlı hidroksil grubu, hidrojen bağları ve sp² hibrit orbitaller gibi bazı kimyasal veriler, aktif cepte amino asit kalıntıları ile dipolar ve hidrofobik (tercihen pi-pi) olmak üzere farklı etkileşimlerin varlığını göstermektedir. Bu moleküler etkileşimler arasında hem kısa hem de geniş menzilli dipol-dipol ve güçlü pi-pi etkileşimleri vurgulanmaktadır. Bu sonuçlar, hidroksil grubunun ve pi bağlarının biyolojik aktivitesindeki rolünü doğrulamaktadır.

SONUÇ

Sonuç olarak, naringin ve naringenin'in kardiyoprotektif etkileri klinik ve deneysel çalışmalarla desteklenmiş ve muhtemel etki mekanizmaları tavsiye edilmiştir. Bu makale, KVH' yi tedavi eden farklı antioksidan tedavileri tartışan oksidatif stres ve KVH arasındaki ilişkiye odaklanmaktadır. Ek olarak, antioksidan özelliği kanıtlanmış olan Naringin ve Naringenin'in gelecekteki tedavi alanlarında KVH' yi iyileştirdiğini daha net anlamak için daha çok çalışmaya ihtiyaç vardır.

Bilimsel Sorumluluk Beyanı

Yazarlar, çalışma tasarımı, veri toplama, analiz ve yorumlama dahil olmak üzere makalenin bilimsel içeriğinden, yazımdan, ana çizginin bir kısmından veya içeriğinin hazırlanmasından, bilimsel olarak gözden geçirilmesinden ve makalenin son halinin onaylanmasından sorumlu olduklarını beyan ederler.

Etik Onay

Çalışmamızda etik onaya ihtiyaç duyulmamıştır.

Çıkar Çatışması

Yazar(lar), bu makalenin araştırılması, yazarlığı ve/veya yayınlanması ile ilgili herhangi bir potansiyel çıkar çatışması beyan etmemiştir.

Yazar Katkıları

Ömer GÖÇ: Makale hipotez, Literatür tarama, Yazma.

Mali Destek/Finansman

Yok

KAYNAKLAR

1. Necip A. Kardiyovasküler Hastalıklarda Doğal Ürünler: Kurkumin ve Quercetin Moleküler Docking. *Mehes Journal*. 2024;2(1), 1-9.
2. Senoner T, Dichtl W. Oxidative stress in cardiovascular diseases: still a therapeutic target?. *Nutrients*. 2019;11(9):2090.
3. Testai L, Calderone V. Nutraceutical Value of Citrus Flavanones and Their Implications in Cardiovascular Disease. *Nutrients*. 2017;9(5):502.
4. Cassidy A, Rimm EB, O'Reilly ÉJ, Logroscino G, Kay C, Chiuve SE, et al. Dietary Flavonoids and Risk of Stroke in Women. *Stroke*. 2012;43(4):946-51.
5. Chanet A, Milenkovic D, Manach C, Mazur A, Morand C. Citrus flavanones: what is their role in cardiovascular protection? *J Agric Food Chem*. 2012;60(36):8809-22.
6. Yamada T, Hayasaka S, Shibata Y, Ojima T, Saegusa T, Gotoh T, et al. Frequency of Citrus Fruit Intake Is Associated With the Incidence of Cardiovascular Disease: The Jichi Medical School Cohort Study. *J Epidemiol*. 2011;21(3):169-75.
7. Mulvihill E, Huff M. Citrus flavonoids and the prevention of atherosclerosis. *Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets*. 2012;12(2):84-91.
8. Stabrauskiene J, Kopustinskiene DM, Lazauskas R, Bernatoniene J. Naringin and Naringenin: Their Mechanisms of Action and the Potential Anticancer Activities. *Biomedicines*. 2022 (13);10(7):1686.
9. Panche AN, Diwan AD, Chandra SR. Flavonoids: an overview. *J Nutr Sci*. 2016;5:e47.
10. Manchope MF, Casagrande R, Verri WA. Naringenin: An analgesic and anti-inflammatory citrus flavanone. *Oncotarget*. 2017;8:3766–3767.
11. Nouri Z, Fakhri S, El-Senduny FF, Sanadgol N, Abd-ElGhani GE, Farzaei MH, Chen JT. On the neuroprotective effects of naringenin: pharmacological targets, signaling pathways, molecular mechanisms, and clinical perspective. *Biomolecules*. 2019; 9: 690.
12. Necip A, Işık M, Güzel A, Takim K, Kaygisiz F. LC-MS/MS analysis, antioxidant properties and inhibition effect on some important metabolic enzymes of *Nicotiana rustica* L. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*. 2021; 24(5): 930-938.
13. Necip A, Durgun M. Antioxidant properties, total phenolic content and LC-MS/MS analysis of *Mentha pulegium*, *Lepidium draba* and *Centaurea solstitialis*. *Journal of the Institute of Science and Technology*. 2020; 12(4), 2375-2385.
14. Rathore KI, Kerr BJ, Redensek A, López-Vales R, Jeong SY, Ponka P, David S. Ceruloplasmin protects injured spinal cord from iron-mediated oxidative damage. *J. Neurosci*. 2008;28:12736–12747.
15. Necip A, Işık M. Bioactivities of *Hypericum Perforatum* L and *Equisetum Arvense* L fractions obtained with different solvents. *International Journal of Life Sciences and Biotechnology*. 2019; 2(3), 221-230.
16. Halliwell B. Free radicals and antioxidants: Updating a personal view. *Nutr. Rev*. 2012;70:257–265.
17. Constans J, Bennetau-Pelissero C, Martin JF, Rock E, Mazur A, Bedel A, et al. Marked antioxidant effect of orange juice intake and its phytonutrients in a preliminary randomized cross-over trial on mild hypercholesterolemic men. *Clin Nutr*. 2015;34(6):1093-100.
18. Khan MK, Zill EH, Dangles O. A comprehensive review on flavanones, the major citrus polyphenols. *J Food Compost Anal*. 2014;33(1):85-104.
19. Allouche, A. R. (2011). Gabedit—A graphical user interface for computational chemistry softwares. *Journal of computational chemistry*. 32(1), 174-182.