



Covid-19’da Kullanılan İlaçların Hesapsal Çalışmaları

Fatma ALOĞLU¹, Zeynep Şilan TURHAN²

Makalenin Alanı: Kimya

Makale Bilgileri	Öz
Geliş Tarihi 29.05.2021	Bu çalışmada dünyayı etkisi altına alan Covid-19 hastalığının tedavisinde kullanılan ilaçların literatürde olan hesapsal çalışmaları bir araya getirilmiştir. Covid-19 için Favipiravir (F), Hidroksiklorokin (H) ve Oseltamivir (O) moleküllerinin kombinasyon çalışmaları incelenmiştir. Covid-19 için olası kombinasyonlar F + H, F + O, H + O ve F + H + O şeklindedir. İki inhibitörün kombinasyonu arasında, F + H kombinasyonun iyi bağlanma afinitesi gösterdiğine ulaşılmıştır. Benzer şekilde, üç kombinasyon ilaç için F + H + O, ilgili protein ile bağlanma afinitesinde daha fazla önemli artış gözlenmiştir. Sonuç olarak, moleküler yerleştirmenin, kombinasyon ilaçların daha güçlü bağlanma afinitesini doğrulayan verileri elde edilmiştir.
Kabul Tarihi 22.06.2021	
Anahtar Kelimeler Covid-19 Klorokin Hidroksiklorokin Favipiravir Oseltamivir	
Article Info	
Received 29.05.2021	In this study, computational studies in the literature of drugs used in the treatment of Covid-19 disease, which affects the world, are brought together. Combination studies of Favipiravir (F), Hydroxychloroquine (H) and Oseltamivir (O) molecules for Covid-19 were investigated. Possible combinations for Covid-19 are F + H, F + O, H + O and F + H + O. It was found that between the combination of the two inhibitors, the F + H combination showed good binding affinity. Similarly, for the three combination drugs F + H + O, more significant increases in binding affinity with the respective protein were observed. As a result, data of molecular insertion were obtained confirming the stronger binding affinity of combination drugs.
Accepted 22.06.2021	
Keywords Covid-19 Chloroquine Hydroxychloroquine Favipiravir Oseltamivir	
Abstract	

1. GİRİŞ

Tüm dünyayı etkisi altında bırakan Coronavirus 2 (SARS-CoV-2)’nin yol açtığı akut solunum sıkıntısı sendromuna karşı henüz bir tedavi yöntemi bulunamamıştır. 2019 aralık ayından bu yana dünya genelinde 3,8 milyondan fazla, ülkemizde ise 49 binden fazla can kaybına sebep olan Covid-19’un tedavisine alternatif olarak Klorokin ve Hidroksiklorokin ilaçlarının kullanılacağı dikkat çekmektedir. Klorokin ve Hidroksiklorokin moleküllerine ilginin artmasının sebebi 2000’li yılların başında ortaya çıkan SARS pandemisine karşı etkili olmaları ve klinik kullanımda benzer şekilde Covid-19’a karşı da etki göstermiş olmalarıdır. Klorokin ve Hidroksiklorokin’in *in vitro* antiviral etkisi bilinmektedir. Kinin türevi bileşikler olan Klorokin ve

¹ İğdir Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü-İğdir; e-mail: fatos.aloglu@gmail.com;
ORCID: 0000-0002-1226-7082

² İğdir Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Çevre Mühendisliği Bölümü-İğdir; e-mail: zeynepilanturhan@hotmail.com;
ORCID: 0000-0002-3587-2576 (Sorumlu Yazar)

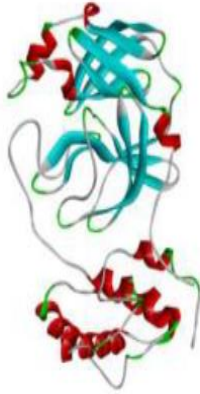
Hidroksiklorokin'in bu hastalıkla mücadelede yararlı olabileceğini göstermiştir. Yapılan çalışmalar bu moleküllerin viral DNA ve RNA polimeraz enzimlerini, viral protein glikozilasyonunu ve virüs çoğalmasını inhibe ettiğini göstermiştir. Söz konusu virüs hedef hücrelere anjiyotensin dönüştürücü enzim 2 (ACE2) aracılığı ile bağlanır (Velavan and Meyer, 2020). Klorokin ve Hidroksiklorokin ACE2'nin terminal glikozilasyonunu inhibe etmesinden ve sitokin salınımını modifiye etmesinden ötürü SARS tedavisinde tercih edilmiş ve bugün de Covid-19 tedavisinde kullanılabileceği öngörülmüştür (Hendaus, 2020; Chowdhury, 2020; Khan et al., 2020). Yapılan çalışmalarda, bazı kombinasyon ilaçlarının COVID-19'a uygulanabilirliği test edilmiştir. Amaca uygun bazı ilaçların etki mekanizmasını incelendiğinde; Favipiravir (F), Hidroksiklorokin (H) ve Oseltamivir (O) moleküllerinin etkinliği saptanmıştır. ADME analizi, SARS-CoV-2'nin 3CLpro reseptör proteinine karşı F, H, O kombinasyonunun güçlü inhibe edici olasılığının olduğu görülmüştür. Kuvvetli bağlanma afinitesi, inhibitör, reseptör arasındaki hidrojen bağı etkileşimi sayısı ve moleküler yerleştirmeden hesaplanan düşük inhibisyon sabiti, F + H + O: 3CLpro kombinasyonunun daha iyi kompleksleşme olasılığını doğrulamıştır. Potansiyel enerji (Eg), sıcaklık (T), yoğunluk, basınç, SASA enerjisi, etkileşim enerjileri, Gibbs serbest enerjisi (ΔG_{bind}) gibi moleküler dinamik (MD) simülasyonlarından elde edilen çeşitli termodinamik çıktılar da F + H + O arasındaki karmaşıklığı desteklemiştir.

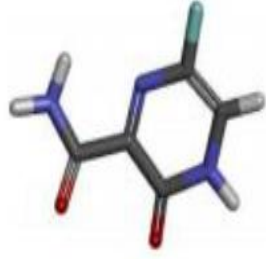

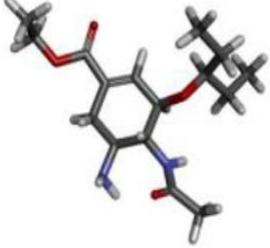
SARS-CoV2 enfeksiyonlarını hedeflemek için potansiyel bir kurşun inhibitörü olarak Favipiravir, Hidroksiklorokin ve Oseltamivir kombinasyon ilaçlarının güçlü etkileri görülmüştür. CoV-2 virüsüne karşı ilaçların yeniden kullanımının farklı seçenekleri arasında, özellikle İnfluenza, Ebola, HIV, Hepatit gibi diğer viral hastalıklar için halihazırda kullanımda olan antiviral ilaçlar, büyük ölçüde COVID-19 hastalığını tedavi etmek için kullanılmıştır (Panyod et al., 2020; Gupta et al., 2020; Chowdhury, 2020a). Genellikle herhangi bir antiviral ilaç, enfekte olan virüsü üç hayati aşamada hedefler; ilaç virüsün canlı hücreye girmesine direnebilir, virüsün hücre içinde çoğalmasını önleyebilir, enfekte eden virüsün insan organlarına verdiği zararı en aza indirebilir (Baron et. al., 1996). Tek bir antiviral ilaç birden çok proteini hedef alabilir. Mevcut tıp endüstrisinde, çok sayıda bulunan bu tür antiviral ilaçların birçok örneğine sahibiz. Örneğin, sofosbuvir, ribavirin ve remdesivir, hepatit C virüsü için iyi bilinen onaylanmış ilaçlardır (Fried et al., 2002). Remdesivir ayrıca Ebola, zika virüsleri ve şimdi de CoV-2 virüsüne karşı güçlü yeniden kullanım potansiyelini oluşturmuştur (Cao et al., 2020). Replikasyonunu bloke eden Favipiravir ve Oseltamivir, Ebola virüsü, Lassa virüsü ve İnfluenza virüslerinin tedavisinde araştırılmıştır. Benzer şekilde Lopinavir ve Ritonavir başlangıçta HIV hastalarının

tedavisi için geliŐtirilmiŐtir. Őu anda mevcut CoV-2 acil durumunda, yukarıda belirtilen tüm viral ilaçlar COVID-19 hastalarını tedavi etmek için kullanılmaktadır (Costanzo et al., 2020). Antibiyotik ilaçlar bir bakterinin çeperine saldırır. Ayrıca bu ilaçlar bakterilerin hce çeperinde peptidoglikan adı verilen bir molekülü sentezlemesini engeller. Peptidoglikan, insan vücudunda hayatta kalması için çepere ihtiyaç duyduğu gücü sağlar (Kapoor, 2017). Sıtma, romatoid artrit, kronik diskoid lupus eritematozun tedavisi için, Hidroksiklorokin aktif olarak kullanılmaktadır. COVID-19 tedavisi için bazı bireysel antiviral ve antibiyotik ilaçlar, hastalarda enfeksiyonlara karşı test edildiğinde daha düşük ila orta derecede etkinlik göstermiştir. Bunlardan bazıları: Klorokin, Hidroksiklorokin, Nafamostat (Muralidharana et al., 2020; Chowdhury and Pathak, 2020). Klinisyenlerin COVID-19'a karşı savaŐmak için kullandıkları bir diğer etkili tedavi yöntemi, COVID-19 hastalarını tedavi etmek için bilinen iki veya daha fazla farklı antiparazitik ilaç, immünomodülatör veya doğal ilaçların kullanıldığı kombinasyon ilaç tedavisidir (Dyall et al., 2014; Ter Meulen et al., 2006; Khan et al., 2020). Kombinasyon ilaçları, MERS-CoV enfeksiyonunun tedavisi için etkinliklerini göstermiştir. Lopinavir ve Ritonavir kombinasyonu, MERS-CoV enfeksiyonunun tedavisi için en çok test edilen ve amaca uygun kombinasyon ilaçlarından biridir (Chan, et al., 2015).

COVID-19 tedavisi için, Hidroksiklorokin ve Favipiravirin antibiyotik ve antiviral ilaç kombinasyonu halihazırda test edilmektedir (Costanzo et al., 2020). Benzer Şekilde, Hidroksiklorokin + Azitromisin, Favipiravir + Nafamostat Mesilat (Doi et, al. 2020) veya Lopinavir + Oseltamivir + Ritonavir SARS-CoV-2 enfeksiyonuna karşı halihazırda kullanılmaktadır (Muralidharan et al., 2020).

Tablo 1: Reseptör protein, Favipiravir, Hidroksiklorokin ve Oseltamivir bileŐiklerinin yapıları

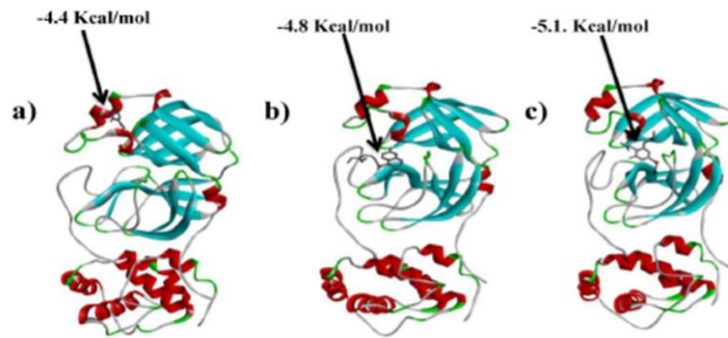
BileŐik İsmi	Yapı
Protease (6LU7)	

<p>Favipiravir (F) (C₅H₄FN₃O₂)</p>	
<p>Hidroksiklorokin (H) (C₁₈H₂₆ClN₃O)</p>	
<p>Oseltamivir (O) (C₁₆H₂₈N₂O₄)</p>	

Yapılan alışmalarda, COVID-19 için en çok önerilen bazı antiviral ve antibiyotik ilaç kombinasyonunun etki mekanizması anlaşılmaya çalışılmıştır. Önerilen kombinasyon yapıları tablo 1’de verilen Favipiravir + Hidroksiklorokin + Oseltamivir’dir (Furuta et al., 2002).

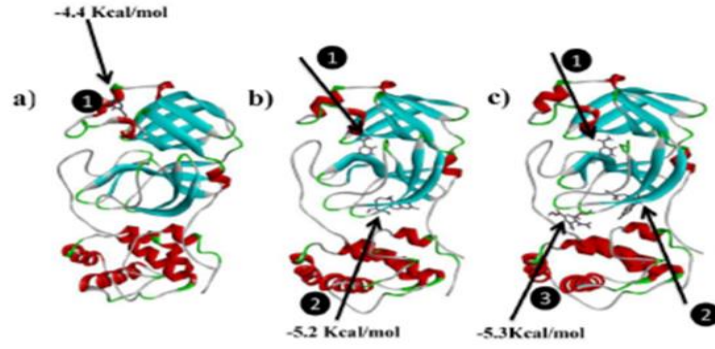
Sentetik bir n ilaç olan Favipiravir, İnfluenza virüsüne karşı antiviral aktivitesi için halihazırda test etmiştir. Zaten Ebola virüsünün, Lassa virüsünün ve Şimdi de COVID-19 tedavisinde kullanılmaktadır (Cai et al., 2020). Hidroksiklorokin, genellikle sıtma, romatoid artrit, kronik diskoid lupus eritematozus ve sistemik lupus eritematozus tedavisinde kullanılan FDA onaylı bir ilaçtır (Ben-Zvi et al., 2012). Oseltamivir, İnfluenza virüsleri A ve B ile enfeksiyonun tedavisi ve profilaksisinde kullanılan antiviral bir ilaçtır (Hurt et al., 2009). Mevcut alışmada Favipiravir, Hidroksiklorokin ve Oseltamivir ilaçlarının ayrı ayrı ve kombinasyon modlarında SARS-CoV-2 enfeksiyonlarına karşı uygulanabilirliği açısından yeniden kullanımı üzerine çalışılmıştır. Reseptör 3CLpro proteaz ve inhibitör ligand ilaçları arasındaki etkileşimi anlamak için enerji minimizasyonu, moleküler yerleştirme ve moleküler dinamik (MD) simülasyonları gibi teknikler kullanılmıştır. SARS-CoV-2, pozitif olarak algılanan tek sarmallı RNA’ya sahip bir virüstür. CoV-2’nin protein yapısı sivri u, zar, zarf ve

nükleokapsid içerir (Woo et al., 2005). CoV-2 virüsünün yapısı, virüsün genomik dizisi araştırma dünyasında zaten bilindiği için dünyaya görüldükten sonra çok hızlı bir şekilde karakterize edilmiştir (Wu, et al., 2020). Ortaya çıkan CoV-2 virüsünün ve halihazırda bilinen CoV virüsünün yapıları çok benzerdir. Benzerlik endeksi yaklaşık %95'tir (Yin et al., 2020). Dolayısıyla, CoV-2'nin 3-kimotripsin benzeri viral proteazının (3CLpro) tanımlama sürecinin çok daha hızlı olduğu görülmüştür. Hızlı ilaç keşfi için benzerlik endeksi önemli bir rol oynar (Jiang et al., 2020). Yapısal olmayan proteinleri oluşturmak için 3CLpro, poli-proteini 11 farklı bölgede böler. Süreç, viral replikasyon yolunda önemli bir rol oynar. 3CLpro, aşırı değişkenlik gösteren 3 uçta bulunur. Bu nedenle 3CLpro, taramada potansiyel bir hedef veya anti-koronavirüs inhibitörleridir (Deng et al., 2014). Burley'in çalışmasında, ilaç moleküllerinin ana hedef proteini olarak 3CLpro proteazları (6LU7) kullanılmıştır (Burley et al., 2019). Başka bir çalışmada, hedef protein varlığında bağımsız ligandlar (F, H, O) ve ayrıca kombinasyon modları (F + H, F + H + O) için MD simülasyonları gerçekleştirilmiş ve oluşum olasılığı incelenmiştir (Chowdhury, 2020b).



Şekil 1. İlaçlar için bağlanma enerjileri ve bağlanma yerleri a) F, b) H ve c) O, tek tek yerleştirme yoluyla protein 6LU7'ye doğru (Chowdhury, 2020b).

Şekil 1'de görülen moleküler yerleştirme sonuçlarından ilk olarak, F durumunda, poz 1 için en düşük bağlanma enerjisini (-4.4 kcal/mol), toplanan enerjiyi (53.0422) ve inhibisyon sabiti ($5.9 \times 10^{-4}M$) 300K'da ve bu nedenle poz 1 en uygun ligand: reseptör (F: 6LU7) karmaşık yapı olarak kabul edildi. Benzer Şekilde, H ve O durumunda, poz 1 için en düşük bağlanma enerjileri elde edildi (-4.8 kcal/mol ve -5.1 kcal/mol).



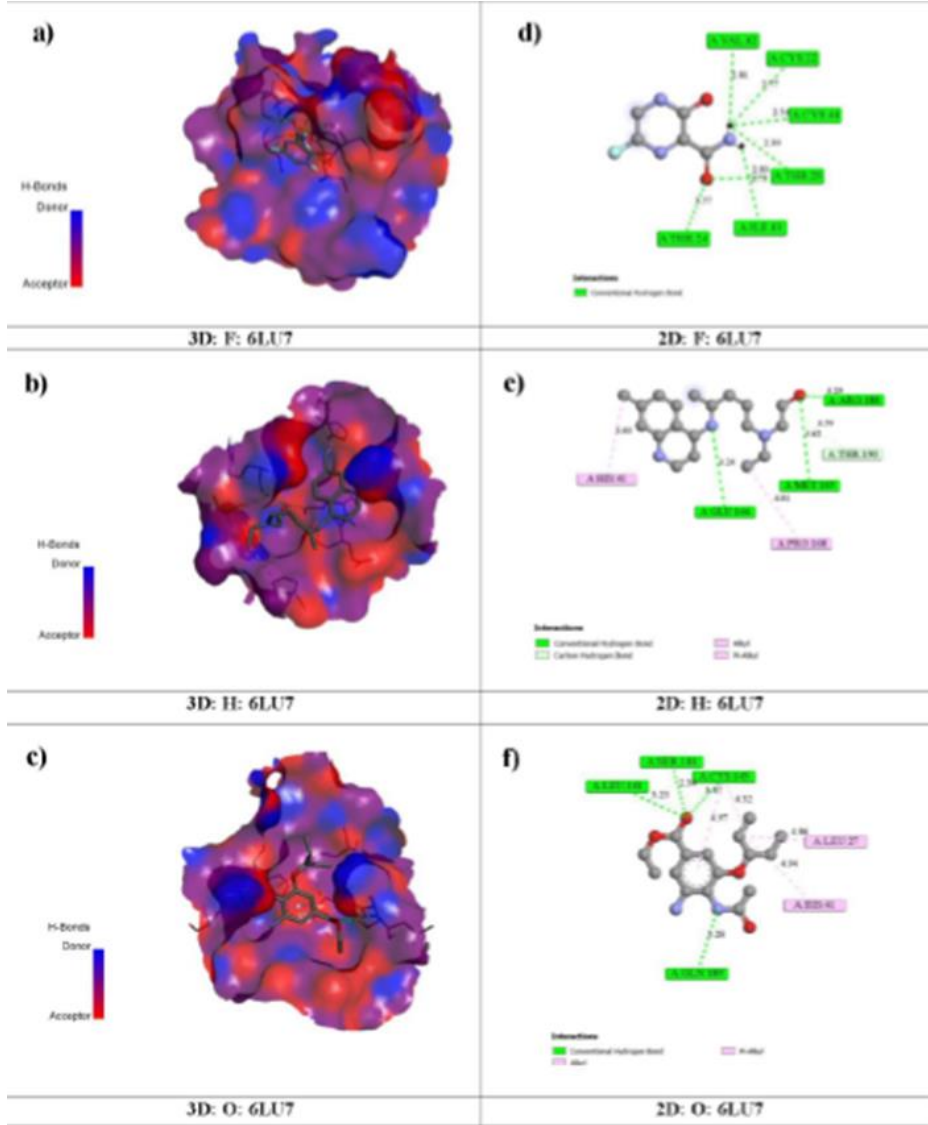
Şekil 2. İlaç için bağlanma enerjileri ve bağlanma bölgeleri a) F, b) F+H ve c) F+H+O, protein 6LU7'ye doğru sıralı yerleştirme ile (Chowdhury, 2020b).

Şekil 2'de görölen sıralı yerleştirme mekanizması, kombinasyon ilaçlarının reseptör proteini 6LU7 için inhibitörler olarak kullanılmıştır. Çalışmada çeşitli ilaç kombinasyonları kullanılmıştır. Bunlar: F + H, F + O, H + O ve F + H + O. İki inhibitörün kombinasyonu arasında, F + H kombinasyonu, sıralı yerleştirmeden 6LU7'ye karşı daha iyi bağlanma afinitesi göstermiştir. Kombinasyonunun bağlanma afinitesi iki ilaç F + H: 6LU7 kompleksi, 6LU7 ile bireysel kompleksleŐmelerinden bağlanma enerjisinde (-5.2 kcal/mol) önemli artış göstermiştir. Benzer şekilde, üç kombinasyon ilaç için F + H + O, 6LU7'ye doğru bağlanma afinitesinde (-5.3 kcal/mol) daha fazla önemli artış gözlenmiştir. Bu nedenle, bireysel ve sıralı yerleştirme sonuçlarından, bağlanmanın F + H + O kombinasyonu için afinite, F + H kombinasyonundan ve F, H ve O'nun ayrı formlarından daha iyidir.

Tablo 2. Alıcı protein 6LU7 ile F, F + H ve F + H + O'nun yerleşik yapısı için etkileşim parametreleri (Chowdhury, 2020b).

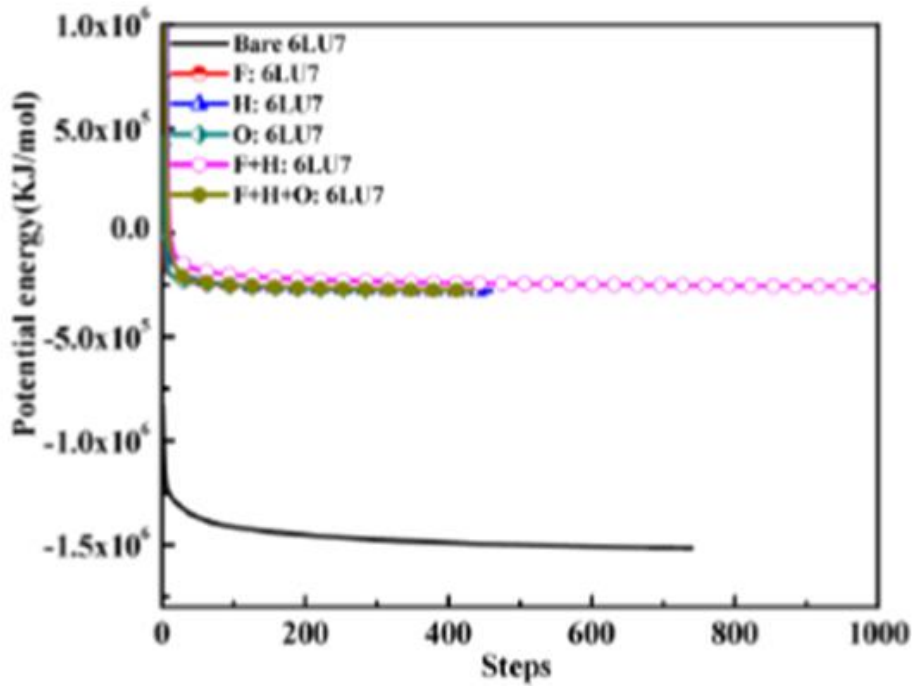
Ligand	Binding affinity (kcal/mol)	Hydrogen bonded interaction(donor: acceptor, distance in Å)[Type of bond]	Dreiding energy (ligand)	Dipole moment of ligand (Debye)	Inhibition Constant(M) $K_i=e^{-\Delta G/RT}$
F	-4.4	(A:THR24:HN -:UNK0:O, 2.00099)[C- H Bond] (A:THR24:HG1 -:UNK0:O,2.30365) [C-H Bond] (A:THR25:HN -: :UNK0:O,2.82701) [C-H Bond] (:UNK0:H -: A:CYS22:O,2.76702) [C-H Bond] (:UNK0:H -: A:THR25:OG1, 2.39306) [C-H Bond] (:UNK0:H -: A:VAL42:O, 2.80565) [C-H Bond] (:UNK0:H -: A:CYS44:O, 2.54365) [C-H Bond] (:UNK0:H -: A:ILE43:O,2.72896) [C-H Bond]	53.0422	2.437	5.9×10^{-4}
F+H	-5.2	(A:GLN110:HE21 -: :UNK0:N,2.70214) [C-H Bond] (A:GLN110:HE2 -: :UNK0:N,2.72991) [C-H Bond] (:UNK0:H -:A:THR111:O,2.5057) [C-H Bond]	171.402	2.444	1.5×10^{-4}
F+H+O	-5.3	(:UNK0:H30 -:A:LYS137:O, 2.4748) [C-H Bond] (:UNK0:H31 -: A:LYS137:O,2.26105) [C-H Bond] (:UNK0:H32 -:A:GLY138:O, 2.24204) [C-H Bond]	100.595	3.964	1.3×10^{-4}
C-H Bond- [Conventional Hydrogen Bond]					

Şekil 3'de ise bireysel protein ve ligand, farklı bir enerji düşüşü değeri gösterir. Ancak reseptör protein ve ligand kompleksi oluşturduğunda, enerjiden kurtulmanın bireysel değerden daha az değerini gösterir. En düşük moleküler simülasyonlar için genel bir kuvvet alanı enerjisi, proteinin en uygun yapısı, ligand kompleks yapısı anlamına gelir (Mayo et al., 1990).

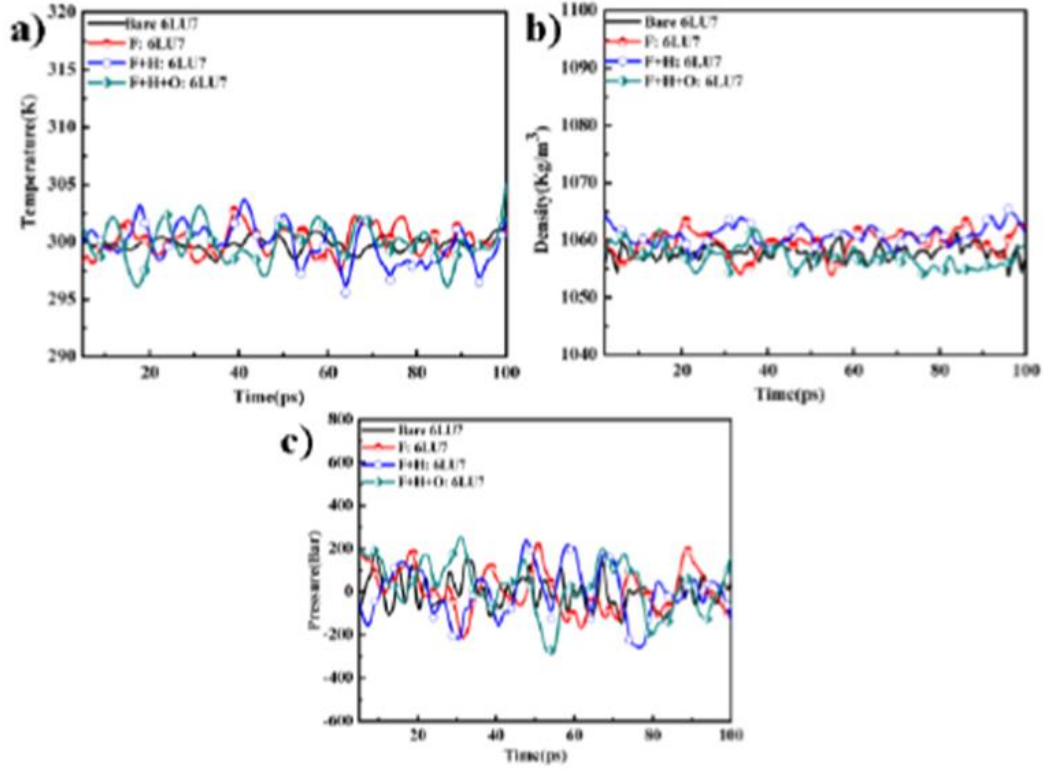


3. TARTIŐMA VE ÖNERİLER

Moleküler yerleştirmenin sonuçları, F + H + O kombinasyonunun, reseptör proteini 6LU7'nin uygun aktif bölgesine kolayca inhibe edilebileceğini ve kolaylıkla en iyi olası kararlı kompleks F + H + O:6LU7 oluşturabileceğini gösterir. Reseptör ve inhibitör arasında moleküller arası hidrojen bağının varlığı da inhibitör-reseptör kompleksi oluşumu için baskın bir rol oynar. F + H + O ve 6LU7 protein kalıntıları arasındaki hidrojen bağlı etkileşimlerin ortaya çıkması, F + H + O ve 6LU7 arasında kompleks oluşum olasılığını da doğrulamaktadır.



Şekil 4. 6LU7 reseptörünün potansiyel enerjisi ve 6LU7 ile F, H, O, F + H ve F + H + O'nun kompleks yapıları (Chowdhury, 2020b).



Şekil 5. a), b), c) ıplak durumda protein 6LU7 için Sıcaklık, Yoğunluk ve Basınç hesaplanan veriler, F: 6LU7, F + H: 6LU7, F + H + O: 6LU7 kompleksi (Chowdhury, 2020b).

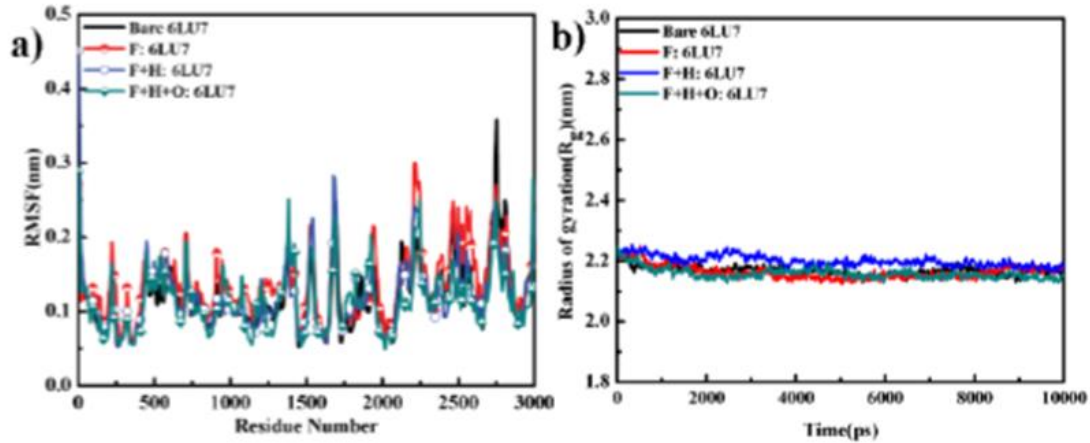
Karmaşık sistemin bu termodinamik parametreleri, kararlılığı bilmek ve reseptör proteininin çıplak durumda ve karmaşık yapıda olası konfigürasyon deđiŐikliklerini zaman özümlü simülasyon yörüngesinde gözlemlmek için kullanılır. Bazı önemli termodinamik parametreler, RMSD, RMSF, potansiyel enerji, Rg, moleküller arası H-bağları, SASA, protein ligand kompleks yapıları için bağlı olmayan etkileşim enerjileridir.

Tablo 3. Çıplak durumda reseptör proteini 6LU7 için ve F: 6LU7, F + H: 6LU7 F + H + O: 6LU7 kompleks yapısı için MD simülasyonlarından elde edilen istatistiksel veriler (Chowdhury, 2020b).

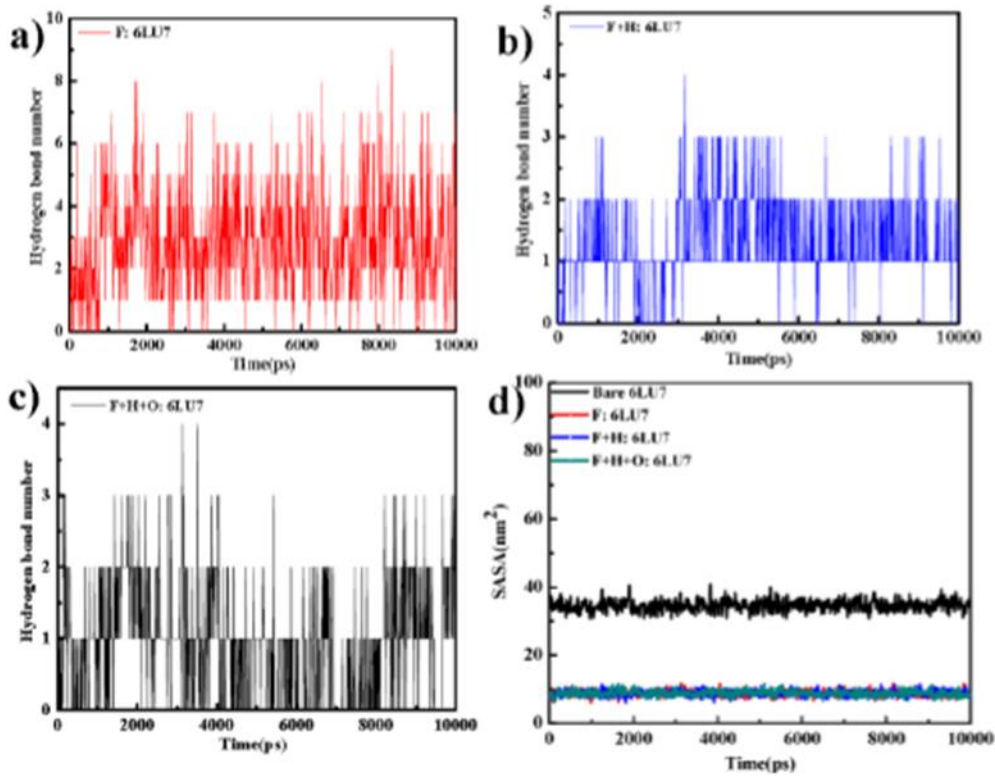
S. No	Parameter	Bare protease (6LU7)		F: 6LU7		F+H: 6LU7		F+H+O: 6LU7	
		Mean	Range	Mean	Range	Mean	Range	Mean	Range
1.	SR Coulombic Interaction Energy (KJ/mol)	NA	NA	-50±10	50-100	-29.5403±2.4	10-80	-61.5296±2.9	0-80
2.	SR LJ Interaction Energy (KJ/mol)	NA	NA	-85±13	10-60	-195.724±4.2	-130-220	-130.209±3.3	-30-70
3.	RMSD (nm)	0.22	0.13-0.32	0.25	0.10-0.40	0.21	0.12-0.29	0.22	0.14-0.31
4.	Inter H-Bonds:	NA	NA	5	0-9	2	0-3	3	0-4
5.	Radius of gyration	2.18±0.01	2.13-2.24	2.21±0.1	2.20-2.21	2.21±0.2	2.16-2.26	2.18±0.001	2.12-2.25
6.	SASA (nm ²)	30-35	33	6-10	8	6-10.5	8.2	6-9	7.5
7.	Potential Energy (KJ/mol)	1.26×10 ⁶ ±56.7	-7.0×10 ⁶ --3×10 ⁶	-0.25×10 ⁶ ±26.7	-3.4×10 ⁶ --2.8×10 ⁶	-0.25×10 ⁶ ±26.7	-3.4×10 ⁶ --2.8×10 ⁶	0.25×10 ⁶ ±26.7	-3.4×10 ⁶ --2.8×10 ⁶
8.	Binding energy(ΔG)(KJ/mol)	NA	NA	-16.871±27.987	NA	-123.684±67.977	NA	-214.372±47.627	NA
9.	Van der Waal Energy(ΔE _{vdw})(KJ/mol)	NA	NA	-0.011±0.011	NA	-146.525±87.807	NA	-296.393±45.034	NA
10.	Electrostatic Energy(ΔE _{elec})(KJ/mol)	NA	NA	-0.016±0.263	NA	-8.830±11.978	NA	-49.616±13.931	NA
11.	Polar Solvation Energy(ΔE _{polar})(KJ/mol)	NA	NA	-16.850±27.965	NA	45.328±47.037	NA	166.828±26.045	NA
12.	SASA Energy (ΔE _{sasa})(KJ/mol)	NA	NA	-0.006±2.088	NA	-13.657±67.977	NA	-27.191±4.325	NA

F + H + O:6LU7 (0.22nm) ve konakçı protein (0.22nm) için ortalama RMSD değeri, kombinasyon modunda en iyi stabil kompleks yapıyı teyit etmektedir. Ayrıca konakçı proteinin, F + H + O kombinasyon ligandının varlığında, F + H + O:6LU7 kompleksasyonunun kombinasyon modlarında veya bireysel olarak diğer komplekslere kıyasla daha iyi stabilitesini doğrulayan önemli bir değişiklik göstermediğini ortaya koymaktadır. Benzer şekilde, RMSF durumunda, tüm karmaşık yapılar arasında F:6LU7, H:6LU7, O:6LU7, F + H:6LU7 ve F + H + O: 6LU7, tüm karmaşık yapılarda reseptör ve inhibitörler arasında daha az dalgalanma gözlemlenmiştir. RMSF değerlerindeki mükemmel benzerlik, karmaşık yapının protein omurgasını etkilemediğini doğrulamıştır. Tüm grafikten, F + H + O: 6LU7 için RMSF değeri, yerleşik protein ile tamamen aynıdır, yerleştirilmiş yapıda çok daha az dalgalanma anlamına gelir. Dönme yarıçapı (Rg) bize karmaşık bir yapının veya omurga reseptör proteininin sıkıştırılmış doğasını anlatır. Toplam zaman yörüngesi boyunca (0 ps ila 10000 ps) Rg

değerlerinin değişimi, tüm karmaşık yapıların F:6LU7, H:6LU7, O:6LU7, F + H:6LU7 ve F + H + O:6LU7'nin oldukça kararlı ve sıkıştırılmış yapılar göstermektedir F + H + O:6LU7 ve çıplak 6LU7'nin Rg'si, 2.13 - 2.24 nm arasında bir dalgalanma ile ortalama 2.18 nm değerine sahip mükemmel bir eşleşme gösterir.



Şekil 6. a) Çıplak durum 6LU7 ve kompleks (F: 6LU7, F + H: 6LU7 ve F + H + O: 6LU7) yapısı için RMSF, b) Çıplak durum 6LU7 ve kompleks için Rg (F: 6LU7, F + H: 6LU7 ve F+H+O: 6LU7) yapısı (Chowdhury, 2020b).



Şekil 7. a), b), c): Toplam zaman yörüngesi için kompleks (F: 6LU7, F+H: 6LU7, F+H+O: 6LU7) yapısı için moleküller arası Hidrojen bağ sayıları ve d) 6LU7 proteini için SASA alanı çıplak durum ve karmaşık (F: 6LU7, F + H: 6LU7, F + H + O: 6LU7) yapı için (Chowdhury, 2020b).

Ligand: reseptör protein kompleks yapısının stabilitesi, bağlı olmayan etkileşimlerin katkısına bağlıdır. Ligand ve reseptör proteini, karmaşık yapının stabilitesini tanımlamak için baskın bir rol oynar. Bu çalışmada, F: 6LU7, F + H: 6LU7, F + H + O: 6LU7 farklı kompleks kombinasyonları için hidrojen bağlı etkileşim sayısının 0 ile 8, 0 ile 3 ve 0 ile 3 arasında değiştiği gözlenmiştir. MD simülasyonları aracılığıyla tüm kombinasyon ilaçları için inhibitör-reseptör arasında moleküller arası hidrojen bağlı etkileşimlerin elde edilen sayıları, moleküler yerleştirme sonuçlarıyla mükemmel bir şekilde eşleşmiştir. Tüm inhibitör kombinasyonları (F, H, O, F + H ve F + H + O) arasında en iyi bağlanma afinitesi F + H + O: 6LU7 dur. Moleküler yerleştirme, yalnızca protein-ligand kompleksinin bağlanma enerjisini tahmin eder. Kombinasyon ilacının F + H + O'nun reseptör 6LU7 proteini ile güçlü bir şekilde bağlandığı ve diğerleri arasında maksimum stabilite gösterdiği sonucuna varılabilir. Karma ilaçların yeniden kullanılması, daha önce HIV, Ebola ve diğer koronavirüsler gibi birçok viral hastalıkla mücadelede etkinliklerini kanıtlamıştır. Mevcut çalışmalar ile bazı kombinasyon ilaçlarının etki mekanizmasını, bazı yaygın antiviral ve antibiyotik ilaçları Favipiravir, Hidroksiklorokin ve Oseltamivir gibi COVID-19'a karşı yeniden kullanarak tanımaya çalışmışlardır. ADME analizinden elde edilen fizyokimyasal, tıbbi kimya ve farmakokinetik gibi özellikler, SARS-CoV-2 protein 3CLpro'ya karşı güçlü bir F, H, O inhibitör fırsatı bulmuştur.

Moleküler yerleştirmenin sonuçları, kombinasyon ilacının daha güçlü bağlanma afinitesini doğrulamıştır. (F + H + O inhibisyonu diğer kombinasyonlara kıyasla CoV-2 virüsüne (-5.3 kcal/mol) karşı.) F, H, O gibi bireysel inhibisyon en düşük inhibisyon sabitinin (1.3×10^{-4} M) varlığı da F + H + O'nun 6LU7 proteaz ile daha iyi kompleksleşmesi olasılığını ortaya koydu. Moleküler dinamik simülasyonları ile elde edilen farklı termodinamik parametreler F + H + O kombinasyonu ve CoV-2 proteini (6LU7) arasındaki en iyi karmaşık yapının kararlılığını da doğrulamıştır. Ortalama RMSD'nin F + H + O: 6LU7 (0.22 nm) ve konakçı protein (0.22 nm) arasındaki mükemmel yakınlığı, konakçı protein içinde önerilen kombinasyon ilacının aktifliğini doğrulamıştır. F + H + O: 6LU7 kompleksi için en düşük SASA enerjisi, F + H + O kombinasyonunun en iyi kararlılığını doğrulamıştır. Hidroksiklorokin + Oseltamivir, SARS-CoV-2 virüsünü hedef almak için umut verici bir potansiyel inhibitör olarak kullanılmak üzere güçlü adaylığını ortaya koymuştur. *In-silico* sonuçlarının SARS-CoV-2 enfeksiyonlarını hedeflemek için potansiyel bir kurşun inhibitörü olarak Favipiravir, Hidroksiklorokin ve Oseltamivir kombinasyon ilaçlarının güçlü adaylığına sahiptir.

KAYNAKLAR

- Baron S., Fons M., & Albrecht T. (1996). Viral Pathogenesis. *Medical Microbiology*, 4th edition.
- Ben-Zvi I., Kivity S., Langevitz P., & Shoenfeld Y. (2012). Hydroxychloroquine: From Malaria to Autoimmunity. *Clinical Reviews in Allergy & Immunology*, 42(2), 145-153.
- Burley S. K., Berman H. M., ... & Zardecki C. (2019). RCSB Protein Data Bank: Biological Macromolecular Structures Enabling Research and Education in Fundamental Biology, Biomedicine, Biotechnology and Energy. *Nucleic Acids Research*, 47(D1), D464–D474.
- Cai Q., Yang M., Li, D., Chen J., Shu D., Xia J., ... & Liu L. (2020). Experimental Treatment with Favipiravir for COVID-19: An Open-Label Control Study. *Engineering*, 6(10), 1192-1198.
- Cao Y. C., Deng Q. X., & Dai S. X. (2020). Remdesivir for Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Causing COVID-19: An Evaluation of the Evidence. *Travel Medicine And Infectious Disease*, 35, 101647.
- Chan J. F. W., Yao Y., Yeung M. L., Deng W., Bao L., Jia L., ... & Yuen K. Y. (2015). Treatment with Lopinavir/Ritonavir or Interferon- β 1b Improves Outcome of MERS-CoV Infection in a Nonhuman Primate Model of Common Marmoset. *The Journal of Infectious Diseases*, 212(12), 1904-1913.
- Chowdhury P., Pathak P. (2020). Neuroprotective Immunity by Essential Nutrient “Choline” for the Prevention of SARS CoV2 Infections: An In Silico Study by Molecular Dynamics Approach. *Chemical Physics Letters*, 761, 138057.
- Chowdhury P. (2020a). In silico Investigation of Phytoconstituents from Indian Medicinal Herb ‘*Tinospora cordifolia* (giloy)’ Against SARS-CoV-2 (COVID-19) by Molecular Dynamics Approach. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 1-18.
- Chowdhury, P. (2020b). Repurposing the Combination Drug of Favipiravir, Hydroxychloroquine and Oseltamivir as a Potential Inhibitor against SARS-CoV-2: A Computational Study. *ArXiv Preprint arXiv*, 2012.00652.
- Costanzo M., Giglio M. A. R. D., Roviello G. N. (2020). SARS-CoV-2: Recent Reports on Antiviral Therapies Based on Lopinavir/Ritonavir, Darunavir/Umifenovir, Hydroxychloroquine, Remdesivir, Favipiravir and other Drugs for the Treatment of the New Coronavirus. *Current Medicinal Chemistry*, 27, 4536-4541.
- Deng X., John S. E. St., Osswald H. L., ...& Bake S. C.(2014). Coronaviruses Resistant to a 3C-Like Protease Inhibitor are Attenuated for Replication and Pathogenesis, Revealing a Low Genetic Barrier but High Fitness Cost of Resistance. *Journal of Virology*, 88, 11886 –11898.
- Doi K., Ikeda M., Hayase N., Moriya K., Morimura N. (2020). Nafamostat Mesylate Treatment in Combination with Favipiravir for Patients Critically ill with Covid-19: A Case Series. *Critical Care*, 24(1), 1-4.
- Dyall J., Coleman C. M., Hart B. J., ... & Johansen L. M. (2014). Repurposing of Clinically Developed Drugs for Treatment of Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus Infection. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 58(8), 4885-4893.
- Fried M. W., Shiffman M. L., Reddy K. R., ... & Craxi A. (2002). Peginterferon Alfa-2a Plus Ribavirin for Chronic Hepatitis C Virus Infection. *New England Journal of Medicine*, 347(13), 975-982.
- Furuta Y., Takahashi K., Fukuda Y., ...& Shiraki K. (2002). In-Vitro and In-Vivo Activities of Anti-influenza Virus Compound T-705. *Antimicrob. Agents Chemother*, 46, 977–981.

- Gupta M. K., Vemula S., Donde R., Gouda G., Behera L., Vadde R. (2020). In-silico Approaches to Detect Inhibitors of the Human Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus Envelope Protein Ion Channel. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 1-11.
- Hendaus M. A. (2020). Remdesivir in the Treatment of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): A Simplified Summary. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 1-6.
- Hurt A. C., Ernest J., Deng Y. M., Lannello P., Besselaar T. G., Birch C., ... & Barr I. G. (2009). Emergence and Spread of Oseltamivir-resistant A (H1N1) Influenza Viruses in Oceania, South East Asia and South Africa. *Antiviral research*, 83(1), 90-93.
- Jiang F., Deng L., Zhang L., Cai Y., Cheung C. W., Xia Z. (2020). Review of the Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). *Journal of General Internal Medicine*, 35(5), 1545–1549.
- Kapoor G., Saigal S., Elongavan A. (2017). Action and Resistance Mechanisms of Antibiotics: A Guide for Clinicians. *J Anaesthesiol Clin. Pharmacol*, 33(3), 300-305.
- Khan R. J., Jha R. K., Amera G. M.,...& Singh A. K. (2020). Targeting SARS-CoV-2; A Systematic Drug Repurposing Approach to Identify Promising Inhibitors Against 3C-like Proteinase and 2'-o-ribose methyltransferase. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 1–14.
- Muralidharan N., Sakthivel R., Velmurugan D., Gromiha M. M. (2020). Computational Studies of Drug Repurposing and Synergism of Lopinavir, Oseltamivir and Ritonavir Binding with SARS-CoV-2 Protease against COVID-19. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 1-6.
- Mayo S. L., Olafson B. D., Goddard W. A. (1990). DREIDING: A Generic Force Field For Molecular Simulations. *Journal of Physical chemistry*, 94(26), 8897-8909.
- Panyod S., Ho C. T., Sheen L. Y. (2020). Dietary Therapy and Herbal Medicine for COVID-19 Prevention: A Review and Perspective. *Journal of traditional and complementary medicine*, 10,(4), 420–427.
- Ter Meulen J., Van Den Brink E. N., Cox F., ... & Goudsmit J. (2006). Human Monoclonal Antibody Combination against SARS Coronavirus: Synergy and Coverage of Escape Mutants. *PLoS Med*, 3(7), e237.
- Velavan T. P., Meyer C. G. (2020). The COVID-19 Epidemic. *Tropical Medicine & International Health*, 25(3), 278.
- Woo P. C., Lau S. K., Chu C. M., Chan K. H., Tsoi H. W., Huang Y., ... & Yuen K. Y. (2005). Characterization and Complete Genome Sequence of A Novel Coronavirus, Coronavirus HKU1, from Patients with Pneumonia. *Journal of Virology*, 79(2), 884-895.
- Wu F., Zhao S., Yu B., Chen Y. M., Wang W., Song Z. G., ... & Zhang Y. Z. (2020). A New Coronavirus Associated with Human Respiratory Disease in China. *Nature*, 579(7798), 265-269.
- Yin W., Mao C., Luan X., Shen D. D., Shen Q., Su H., ... & Xu H. E. (2020). Structural Basis for Inhibition of the RNA-dependent RNA Polymerase from SARS-CoV-2 by Remdesivir. *Science*, 368(6498), 1499-1504.