

KÜÇÜK HÜCRE DIŞI AKCİĞER KANSERİNDE PD-L1 İMMÜN KAÇIŞ YOLAĞININ APİGENİN İLE HEDEFLENMESİ

Aliye Demet Demirag¹, Ceren Ünek¹, Parisa Bolouri¹, Oğuz Bayındır², Mustafa Yıldırım³

¹Yeditepe Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Genetik Ve Biyomühendislik Bölümü, İstanbul

²İstanbul Sağlık Ve Teknoloji Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, İstanbul

³Sanko Üniversitesi Tıp Fakültesi, Onkoloji Bölümü, Gaziantep

Amaç: Küçük hücreli dışı akciğer kanserinde (NSCLC), tümör mikroçevresindeki PD-L1 aşırı ekspresyonu; antitümöral T lenfositlerin efektör fonksiyonlarını paralize ederek bağışıklık denetiminden kaçışı indüklemekte ve bu durum güncel onkolojik tedavilerin önündeki temel bariyer oluşturmaktadır. Bu çalışmada, tıbbi papatya (*Matricaria chamomilla*) çiçeklerinden standardize yöntemlerle ekstrakte edilen apigenin-zengin fraksiyonun, PD-L1 üzerindeki inhibitör etkisi ve selektif antitümöral potansiyeli çok boyutlu olarak incelenmiştir.

Yöntem: *Matricaria chamomilla* kaynaklı apigenin-zengin fraksiyon, HPLC-DAD sistemiyle karakterize edilerek saflığı teyit edildi. Kuantum mekaniksel düzeyde yoğunluk fonksiyonel teorisi (DFT) ile molekülün reaktivite indeksi hesaplandı. PD-L1 (PDB ID: 4ZQK) dimerizasyon arayüzeyi hedef alınarak kör kenetlenme protokolü uygulandı. İn vitro fazda, papatya türevli bu fraksiyonun etkinliği A549 ve BEAS-2B hücre hatlarında MTS analiziyle değerlendirildi. Protein konformasyonel değişimleri Raman ve FTIR-ATR spektroskopi sonuçları ile karşılaştırıldı.

Bulgular: Kuantum kimyasal hesaplamalar apigeninin yüksek reaktivite potansiyeline sahip olduğunu (ΔE : 4.20 eV) göstermiştir. Moleküler kenetlenme analizleri ile ligandın PD-L1 aktif cebine -7.3 kcal/mol serbest enerjiyle bağlandığı gözlemlenmiştir. Özellikle GLU136 aminoasit kalıntısıyla kurulan 2.01 Å mesafesindeki konvansiyonel hidrojen bağı, kompleksin termodinamik stabilitesini sağlayan kritik etkileşim olarak belirlenmiştir. Hücre kültürü verileri, papatya kaynaklı fraksiyonun A549 hücrelerinde doza bağlı sitotoksiteyi indüklerken, sağlıklı bronş epitel hücrelerinde proliferatif dengeyi koruduğunu kanıtlamıştır.

Spektroskopik analizlerde Amide I bandındaki yer değişimi, ligand etkileşimi sonrası PD-L1'in sekonder yapısındaki biyofiziksel destabilizasyonu doğrulamıştır.

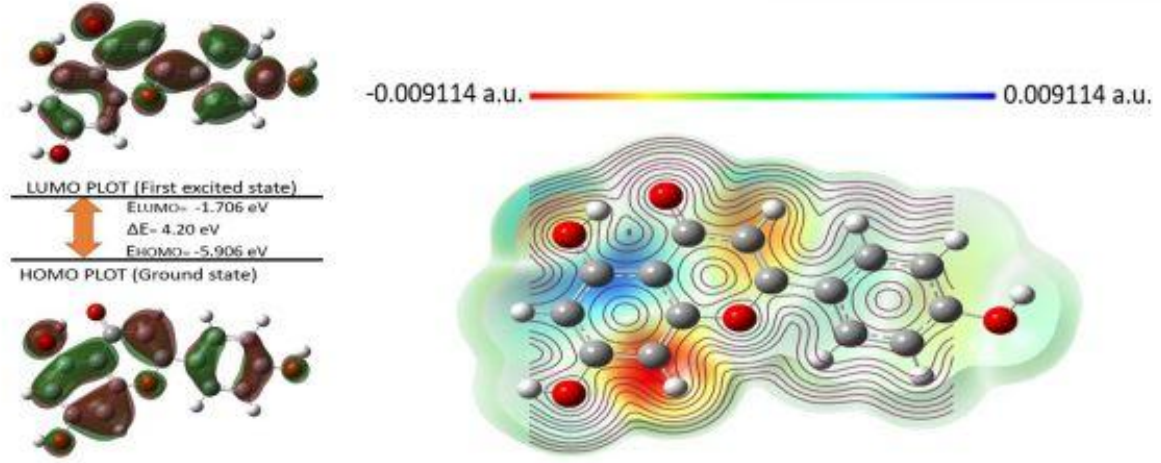
Sonuç: Bu çalışma, *Matricaria chamomilla* bitkisinin ana bileşenlerinden apigeninin, PD-L1'i atomik düzeyde "kilitleyerek" immün denetimden kaçışı bloke ettiğini ve hücresel düzeyde yüksek selektivite sergilediğini ortaya koymaktadır. Elde edilen bulgular, papatya kaynaklı bu doğal bileşiğin, düşük toksisite profilili yeni nesil bir "immune checkpoint" inhibitörü

adayı olarak onkoloji literatüründe yüksek translasyonel değer taşıdığı öngörülmektedir.

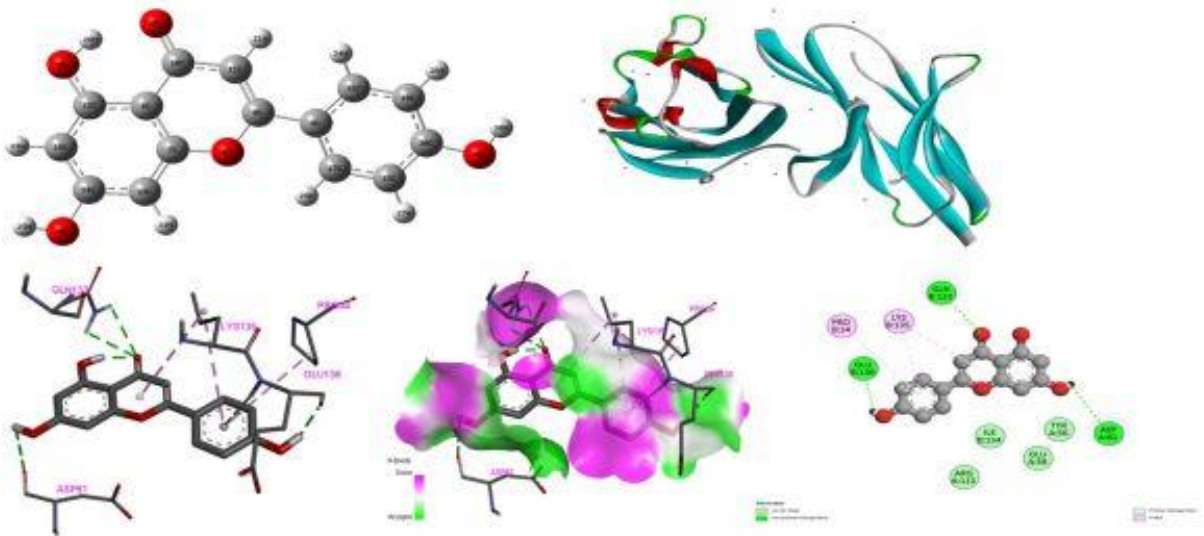
Anahtar Kelimeler : NSCLC, PD-L1, Apigenin, *Matricaria chamomilla*, İmmün kontrol noktası, Moleküler kenetlenme, Konformasyonel destabilizasyon, Spektroskopi.

Resimler :

Resim Açıklaması: Şekil 1. Apigenin molekülünün DFT/B3LYP/6-311+G(d,p) düzeyinde hesaplanan sınır orbital enerjileri (EHOMO: -5.906 eV; ELUMO: -1.706 eV; ΔE : 4.20 eV) ve nükleofilik bölgeleri tanımlayan moleküler elektrostatik potansiyel (MEP) haritası.



Resim Açıklaması: Şekil 2. PD-L1 kristal yapısı (PDB ID: 4ZQK) üzerinde yürütülen 100 bağımsız moleküler 'Kör Kenetlenme' simülasyonu; Apigenin-zengin fraksiyonun dimerizasyon arayüzündeki global minimum enerji pozunun (-7.3 kcal/mol) lokalizasyonu.



Tables :

Tablo1. Apigenin-PD-L1 etkileşimine ait termodinamik parametreler, kuantum kimyasal değerler, ligand-protein bağlanma mesafeleri, etkileşim türleri ve SwissADME/pkCSM tabanlı ADMET profil parametrelerinin kantitatif dökümü.

Parametre	Değer / Mesafe	Etkileşim Türü	Kalıntı	Biyolojik Önem
-----------	----------------	----------------	---------	----------------

Bağlanma Afinitesi	-7.3 kcal/mol	Termodinamik	GLU136	Yüksek Seçicilik
H-Bağı	2.01 Å	Konvansiyonel H-Bağı	ASP61	Kritik
H-Bağı	2.93 Å	Konvansiyonel H-Bağı	GLU136	Güçlü
Pi-Donor H-Bağı Pi-Alkili	3.00 Å	Pi-Donor H-Bağı	LYS135	Güçlü
Pi-Alkili	5.20, 5.21 Å	Pi-Alkili	PRO34	Stabilizasyon
Pi-Alkili	5.42	Pi-Alkili		Stabilizasyon
EHOMO	-6.12 eV	Kuantum Kimyasal		Elektron Verici
ELUMO	-1.92 eV	Kuantum Kimyasal		Elektron Alıcı
ΔE (HOMO-LUMO enerji farkı)	4.20 eV	Kuantum Kimyasal		Reaktivite
MEP Minimum	-0.009114 a.u.	Elektrostatik Potansiyel		Nükleofilik Bölge
Mol. Ağırlık	270.24 g/mol	ADMET – Absorpsiyon		Lipinski Uyumlu
LogP	1.46	ADMET – Dağılım		Elverişli
HIA	Yüksek	ADMET – Absorpsiyon		Oral Biyoyararlanım
BBB Geçirgenliği	Düşük	ADMET – Dağılım		Sistemik Güvenlik
hERG İnhibisyonu	Negatif	ADMET – Toksisite		Kardiyo güvenli
AMES Mutajenitesi	Negatif	ADMET – Toksisite		Güvenli
Hepatotoksisite	Negatif	ADMET – Toksisite		Güvenli