

Lippia citriodora L. (Limon Otu) Bitkisinin Antikanser Potansiyelinin *In Silico* Yöntemlerle Değerlendirilmesi

Evaluation of the Anticancer Potential of *Lippia citriodora* L. (Lemon Verbena) Using *In Silico* Methods

ÖZ

Amaç: Akciğer kanseri dünya genelinde en sık teşhis edilen ve mortalitesi en yüksek kanser türlerinden biridir. Mevcut tedavilerin sağlıklı dokular üzerindeki sitotoksik etkileri, bitkisel kökenli alternatif ajanlara ilgiyi artırmıştır. Bu çalışmada *Lippia citriodora* L. (limon otu) bitkisinin başlıca fitokimyasallarının ilaç adayı olma potansiyeli *tsilico* olarak değerlendirilmiştir.

Gereç ve Yöntem: Limon otu bitkisinde yaygın olarak bulunduğu rapor edilen altı bileşiğin (spatulenol, sitral, geraniol, limonen, ar-kurkumen, neral) yapıları PubChem'den alınmış; farmakokinetik, ilaç benzerliği ve toksisite parametreleri SwissADME, ADMETlab 3.0 ve ProTox 3.0 ile tahmin edilmiştir. ADMET profillerine göre seçilen limonen ve sitral, 53BP1 (PDB ID: 8SWJ) ile Kaspaz-3 (PDB ID: 6X8I) proteinlerine karşı SwissDock üzerinden AutoDock Vina ile kenetlenmiş; etkileşimler BIOVIA Discovery Studio Visualizer ile analiz edilmiştir.

Bulgular: Spatulenol, sitral, geraniol ve neral Lipinski'nin beşli kuralına tam uyum göstermiş; ar-kurkumen logP değeriyle (5.693) kuralı ihlal etmiştir. Limonen kuralla uymakla birlikte heteroatom içermemesi nedeniyle aşırı lipofilik bir profil sergilemiştir. En yüksek bağlanma afinitesi limonen-53BP1 kompleksinde (−6.108 kcal/mol) elde edilmiş; bunu limonen-Kaspaz-3 (−5.026), sitral-53BP1 (−4.990) ve sitral-Kaspaz-3 (−4.010 kcal/mol) izlemiştir. Limonenin bağlanması Pi-sigma ve Pi-alkil etkileşimleriyle sağlanırken sitral 53BP1 ile ilave bir hidrojen bağı kurmuştur.

Sonuç: Sitral, geraniol ve neral en uygun ADMET profillerini sergilerken limonen her iki hedefe de en güçlü bağlanmayı göstermiştir. Limonenin hem 53BP1 hem de kaspaz-3 ile

Melih GÜNAY¹

MG: [0000-0003-0336-3010](tel:0000-0003-0336-3010)

Elif Zeynep BENLİ¹

EZB: [0009-0002-1995-9548](tel:0009-0002-1995-9548)

Melike IŞIK¹

MI: [0009-0006-2575-3318](tel:0009-0006-2575-3318)

Abdulkadir Görkem ÇOŞKUN¹

AGÇ: [0009-0008-4006-7839](tel:0009-0008-4006-7839)

¹Istanbul Yeni Yüzyıl University, Faculty of Arts and Sciences, Department of Molecular Biology and Genetics, Istanbul, Turkey

Received/Geliş Tarihi:

07/08/2026

Accepted/Kabul Tarihi:

23/09/2026

Çıkar Çatışması

Çıkar çatışması bulunmamaktadır.

Sorumlu Yazar/Corresponding Author:

Melih Günay

E-posta: melih.gunay@yeniyuzyil.edu.tr

çift hedefli etkileşimi, bu molekülün deneysel antikanser araştırmaları için aday olabileceğini düşündürmektedir. Bulgular hesaplamalı öngörüler olup *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarla doğrulanmalıdır.

Anahtar Kelimeler: *Lippia citriodora*, akciğer kanseri, moleküler kenetlenme, ADMET, limonen, 53BP1

ABSTRACT

Objective: Lung cancer is among the most frequently diagnosed and most lethal malignancies worldwide. The cytotoxic effects of current therapies on healthy tissues have increased interest in plant-derived alternatives. This study evaluated the potential of the major phytochemicals of *Lippia citriodora* L. (lemon verbena) *in silico*.

Materials and Methods: The structures of six compounds reported to be the highest proportions in the *L. citriodora* (spathulenol, citral, geraniol, limonene, ar-curcumene, neral) were retrieved from PubChem; pharmacokinetic, drug-likeness and toxicity parameters were predicted with SwissADME, ADMETlab 3.0 and ProTox 3.0. Limonene and citral, selected from the ADMET profiles, were docked against 53BP1 (PDB ID: 8SWJ) and Caspase-3 (PDB ID: 6X8I) with AutoDock Vina via SwissDock; interactions were analysed with BIOVIA Discovery Studio Visualizer.

Results: Spathulenol, citral, geraniol and neral fully complied with Lipinski's Rule of Five, whereas ar-curcumene violated it with a logP of 5.693. Limonene complied but displayed an excessively lipophilic profile owing to its lack of heteroatoms. The highest binding affinity was obtained for limonene–53BP1 (–6.108 kcal/mol), followed by limonene–Caspase-3 (–5.026), citral–53BP1 (–4.990) and citral–Caspase-3 (–4.010 kcal/mol). Limonene bound through Pi-sigma and Pi-alkyl interactions, whereas citral formed an additional hydrogen bond with 53BP1.

Conclusion: Citral, geraniol and neral showed the most favourable ADMET profiles, while limonene bound most strongly to both targets. Limonene's dual-target interaction with both 53BP1 and caspase-3 suggests that this molecule could be a candidate for conventional anticancer research. The findings are computational predictions and require validation by *in vitro* and *in vivo* studies.

Keywords: *Lippia citriodora*, lung cancer, molecular docking, ADMET, limonene, 53BP1

1. GİRİŞ

Kanser, bir doku veya organdaki hücrelerin kontrolsüz çoğalmasıyla oluşan ve metastaz potansiyeli taşıyan bir hastalıktır. İki yüzden fazla kanser türü bulunmakla birlikte, kanserler genellikle geliştikleri dokuya göre adlandırılmaktadır [1]. Dünyada en sık görülen ve en ölümcül kanserlerden biri de akciğer kanseridir. Akciğer kanseri çoğunlukla belirti vermeden ilerlediğinden, vakalara hastalığın ileri evrelerinde tanı konulmaktadır. Bu kanser türünün gelişiminde genetik yatkınlık, çevresel faktörler ve yaşam tarzı gibi etkenlerin etkileşimi söz konusudur [2]. Tedavi yaklaşımları; kemoterapi, immünoterapi, radyoterapi, hormonoterapi ve cerrahi tedavi başta olmak üzere evreye ve histopatolojiye göre farklılık göstermektedir. Bu yaklaşımların sağladığı klinik faydaların yanı sıra kanserli hücrelerle birlikte sağlıklı hücrelerin de zarar görmesine yol açan yan etkilerinin bulunması, araştırmacıları farklı tedavi arayışlarına yöneltmiştir [3]. Söz konusu sitotoksik etkilerin en aza indirilmesi amacıyla son yıllarda fitoterapötik yöntemler yoğun biçimde araştırılmaya başlanmıştır. Yapılan araştırmalarda zencefil, zerdeçal ve rezene gibi bitki ekstraktlarının kanser tedavisinde kullanılan ilaçların sitotoksik etkilerini azalttığı, kemoterapötik etkinliklerini ise artırdığı gösterilmiştir [4].

Küresel Kanser Gözlemevi'nin (GLOBOCAN) 2024 verilerine göre akciğer kanseri, yaklaşık 2.6 milyon yeni vaka (%12.8) ile en sık teşhis edilen kanser türü olmuş; ikinci sırada %11.8'lik insidans oranıyla meme kanseri yer almıştır [5]. Akciğer kanserinin sık görülmesi ve mortalite oranının yüksek olması, bu hastalığı dünya üzerinde en çok araştırılan kanser türlerinden biri hâline getirmiştir. Akciğer kanseri, küçük hücreli akciğer kanseri (KHAK) ve küçük hücreli dışı akciğer kanseri (KHDAK) olmak üzere iki grupta incelenmektedir [6]. KHDAK ise adenokarsinom, yassı hücreli karsinom ve büyük hücreli karsinom olmak üzere üç alt gruba ayrılmaktadır [7]. Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı'nın (IARC) GLOBOCAN serisine göre akciğer kanseri vakalarının %80-85'i KHDAK olup, bu vakaların yaklaşık %85'inin düşük ve orta gelirli ülkelerde görüldüğü bilinmektedir [6].

Kanser hücrelerinin sağkalımı, kromozom bütünlüğünü koruyan DNA hasarı onarım (DDR)

mekanizmalarına olan bağımlılıklarıyla mümkün olmaktadır; bu nedenle DNA hasarı onarım yolları son yıllarda kanser tedavisinde umut verici hedefler hâline gelmiştir [8]. 53BP1 (TP53-binding protein 1), adını p53 ile etkileşen bir protein olarak tanımlanmasından alan, çift sarmalı kırık (DSB) onarımında görev alan kritik bir düzenleyicidir. 53BP1'in tandem Tudor domain'leri, hasar bölgesi kromatinindeki dimetil lizin kalıntılarını (özellikle H4K20me2) tanıyarak proteinin kırık bölgesine çekimini sağlar; bu çekim, hasarlı DNA uçlarının aşınmasını (resection) engelleyerek hatalı eşlenmemiş son uç birleşimi (NHEJ) onarımını destekler [8,9]. *BRCAl* fonksiyonunu yitirmiş tümörlerde 53BP1'in baskılanması, homolog rekombinasyon kapasitesini geri kazandırarak PARP inhibitörleriyle sentetik ölümlülük yaratmakta; 53BP1 kaybının PARP inhibitörü direncini tersine çevirdiği de gösterilmiştir [10,11]. Ayrıca Tudor domain'inin küçük molekül ligandlarıyla hedeflenebilmesi, bu proteinin ilaçlanabilirliğine ilişkin kanıt sunmaktadır [11]. Bu nedenle 53BP1 hem DNA onarım sürecini hem de radyoterapi/kemoterapi ve PARP inhibitörü duyarlılığını modüle eden meşru bir antikanser hedef olarak öne çıkmaktadır. Hedefin ikinci ayağını oluşturan Kaspaz-3 ise hem içsel (mitokondriyal) hem dışsal (ölüm reseptörü) apoptoz yollarında ortak olarak aktive olan yürütücü kaspazlardan en önemlisidir; aktive Kaspaz-3, PARP dahil çok sayıda substratı parçalayarak apoptozun geri döndürülemez son evresini yürütür [12, 13]. Kaspaz-3'ün katalitik bölgesini oluşturan Cys163-His121 katalitik çifti ile substrat bağlanma bölgesindeki Arg341 gibi kritik kalıntılar, bu sürecin işleyişi açısından belirleyicidir [13,14]. Bir doğal bileşiğin hem 53BP1 aracılı DNA onarımını hem de Kaspaz-3 aracılı apoptozu modüle edebilmesi, onarım hasar birikimi ile hücre ölümü yürütülmesini aynı anda hedefleyen çift yönlü bir antikanser strateji açısından çekicidir.

Sekonder metabolitler, bitkilerde bulunan biyolojik açıdan aktif doğal bileşiklerdir ve başta eczacılık olmak üzere tıbbi ve biyolojik bilimlerin pek çok alanında kullanılmaktadır [15]. Bu metabolitlerin antioksidan, antibakteriyel, antienflamatuvar, antifungal ve antiviral özelliklerine yönelik literatürde çok sayıda araştırma yürütülmektedir [16, 17]. Yürütülen çalışmalarda bazı bitki ekstraktlarının antikanser özellik taşıdığı; özellikle pro-apoptotik etki, antiproliferatif özellik ve

hücre döngüsünün uzamasını indüklemeye gibi etkilere sahip olduğu görülmüştür [18,19]. Daha önce yapılan bir çalışmada, Güney Amerika ve Afrika kökenli tıbbi bitki bileşiklerinin antikanser ilaç geliştirmede alternatif kaynak olabileceği potansiyeli ortaya konmuştur [20].

Verbenaceae familyasına ait *Lippia citriodora* L. (limon otu), Güney Amerika kökenli olup 17. yüzyılda İspanyol ve Portekizli denizciler tarafından Avrupa'ya getirilmiş, çiçekli çalı formunda bir bitkidir. Türkiye'de doğal olarak bulunmamakla birlikte son yirmi beş yıldır Akdeniz ve Ege'deki bazı kıyı bölgelerinde kültür bitkisi olarak yetiştirilmektedir. Ülkemizde üretimi zamanla artmasına karşın iç talebin bir bölümü hâlen Mısır ve İran gibi ülkelerden ithalat yoluyla karşılanmaktadır [21]. Boyu 1.5–3 m arasında değişen bitki, yapraklarında bulunan uçucu yağ nedeniyle yoğun bir limon kokusuna sahiptir ve genellikle bu kokulu yaprakları için yetiştirilmektedir [18]. Geleneksel tıpta anksiyete, uykusuzluk, diyabet, mide ağrısı, bağırsak iltihabı, astım, spazm, ateş ve soğuk algınlığı gibi durumların giderilmesinde kullanılmaktadır [22-24]. *L. citriodora*'nın antiproliferatif, antimikrobiyal ve antiviral özelliklere sahip olduğu önceki çalışmalarda gösterilmiştir. Kanser tedavisinde onaylanmış doğrudan bir kullanımı bulunmamakla birlikte, fenolik bileşikler ve terpenoidler açısından oldukça zengin olan bu bitki, içerdiği fitokimyasallar bakımından önemli bir potansiyel taşımakta ve kanser tedavileri için aday olarak değerlendirilmektedir [25].

Uçucu yağın kimyasal profili GC-MS analizleriyle ayrıntılı olarak belgelenmiş olan bu bitkide başlıca bileşenler monoterpen ve seskiterpen kökenli bileşiklerdir [19,23,24,26]. Literatürde en yüksek oranlarda bildirilen incelenen bileşikler kimyasal sınıf bakımından; limonen: siklik monoterpen hidrokarbonu; sitral: asiklik monoterpenoid aldehit (geranial/trans ve neral/cis izomerlerinin karışımı); neral: cis-citral (asiklik monoterpenoid aldehit); geraniol: asiklik monoterpenoid alkol; spatulenol: oksijenli seskiterpen ve ar-kurkumen: seskiterpen hidrokarbonu olarak sınıflandırılmaktadır. Söz konusu bileşiklerin antimikrobiyal [19], antioksidan [26] ve antiproliferatif [18,26] aktivitelerinin olduğu önceki çalışmalarda rapor edilmiştir.

Bu çalışmanın amacı, *L. citriodora* uçucu yağında en yüksek oranda bulunan altı fitokimyasal bileşiğin farmakokinetik, ilaç benzerliği ve toksisite profillerini üç bağımsız *in silico* platformda çapraz doğrulamalı olarak belirlemek ve bu profillere göre öne çıkan bileşiklerin DNA hasarı onarımında kritik rol oynayan 53BP1 ve apoprKaspaz-3 proteinleriyle moleküler düzeydeki etkileşimlerini moleküler kenetlenme yöntemiyle ortaya koymaktır. Böylece deneysel çalışmalara temel oluşturabilecek erken aşama bir hesaplamalı öncelik sıralaması elde edilmesi hedeflenmiştir.

2. GEREÇ VE YÖNTEMLER

2.1. Bileşiklerin Seçimi ve Yapısal Verilerin Elde Edilmesi

Çalışmaya, literatürde *L. citriodora* uçucu yağının başlıca bileşenleri olarak bildirilen altı fitokimyasal (spatulenol CID: 92231, sitral CID: 638011, geraniol CID: 637566 limonen CID: 22311, ar-kurkumen CID: 92139 ve neral CID: 643779) dâhil edilmiştir. Bu bileşikler; bitkinin uçucu yağ bileşimini GC-MS ile bildiren önceki çalışmalarda başlıca bileşenler arasında rapor edilenlerden, birden fazla bağımsız yayında tekrarlanan varlıkları dikkate alınarak seçilmiştir. Nitekim Yunanistan [26], Portekiz [23], Fransa [24] ve Meksika [19] kökenli örneklerde neral, geranial, geraniol, limonen ve spatulenol uçucu yağın baskın bileşenleri olarak belirlenmiş; ar-kurkumen de önemli oranlarda saptanmıştır. Seçim kriteri olarak, bir bileşiğin en az iki bağımsız GC-MS yayınında uçucu yağın başlıca bileşenleri arasında bildirilmiş olması esas alınmıştır. Bileşiklere ait iki ve üç boyutlu konformerler ile kanonik SMILES gösterimleri PubChem veri tabanından temin edilmiştir [27].

2.2. In Silico ADMET Analizi

Seçilen bileşiklerin biyoyararlanım ve ilaç benzerliği özellikleri ADME-Tox (absorpsiyon, dağılım, metabolizma, eliminasyon ve toksisite) çerçevesinde değerlendirilmiştir. Tek platforma dayalı tahminlerde doğal bileşik iskeletleri için bildirilen sapmaların sınırlandırılması amacıyla üç bağımsız çevrimiçi sunucudan yararlanılmış ve elde edilen çıktılar üç nokta bazında karşılaştırılmıştır.

2.2.1. SwissADME

Fizikokimyasal tanımlayıcıların hesaplanması, ilaç benzerliği filtrelerinin uygulanması ve medisinale kimya parametrelerinin tahmini SwissADME sunucusu üzerinden yürütülmüştür [28]. Bu platformdan Lipinski'nin beşli kuralına uygunluk [29], logP ve logS değerleri, gastrointestinal (GI) emilim sınıfı, kan-beyin bariyeri (KBB) geçirgenliği ve sentetik erişilebilirlik skoru kaydedilmiştir.

2.2.2. ADMETLab 3.0

Nicel uç nokta çıktılarının elde edilmesi amacıyla ADMETLab 3.0 platformundan yararlanılmıştır [30]. Bu platform üzerinden absorpsiyon, dağılım, metabolizma, eliminasyon ve toksisite parametreleri ile sitokrom P450 (CYP450) izoformlarına yönelik inhibisyon olasılıkları tahmin edilmiştir.

2.2.3. ProTox 3.0

Toksiste profillemesi ProTox 3.0 platformunda gerçekleştirilmiştir [31]. Bu aşamada bileşiklere ait LD50 değerleri, akut toksisite sınıfları ile hepatotoksiste, nörotoksiste ve karsinojenite uç noktalarına ilişkin sınıflandırmalar elde edilmiştir.

2.3. Moleküler Kenetlenme (Docking) Analizi

2.3.1. Hedef proteinlerin seçimi ve yapısal hazırlığı

Reseptör olarak, DNA hasarı onarımında görev aldığı bilinen 53BP1 proteininin tandem Tudor domain'ini içeren 8SWJ yapısıPi- ile apoptoz yollarında görev alan Kaspaz-3 (PDB ID: 6X8I) proteinleri tercih edilmiştir. 8SWJ yapısı, 53BP1 Tudor domain'inin H4K20me2 tanıma bölgesini oluşturan aromatik kafes (Trp1495, Tyr1502, Phe1519, Tyr1523) ve bu bölgeyle kompleks hâlinde kristallendirilmiş küçük molekül ligand (UNC8531) ile çözümlenmiş durumdadır [9,32,33]; hedef seçiminde bu metil-lizin bağlanma bölgesinin doğrudan ilaçlanabilir olması belirleyici olmuştur. Söz konusu protein yapıları RCSB Protein Data Bank (PDB) veri tabanından indirilmiştir [32]. Yapıların simülasyona hazırlanmasında UCSF Chimera yazılımı kullanılmıştır [34]. Hazırlık aşamasında, hesaplamayı etkileyebilecek su molekülleri, iyonlar ve ko-kristal ligandlar yapıdan uzaklaştırılmış; ardından moleküller arası etkileşimlerin hesaplanabilmesi için polar hidrojen atomları eklenerek uygun elektrostatik yük dağılımı sağlanmıştır.

2.3.2. Ligand seçimi ve geometrik optimizasyon

Ligand olarak, ADMET çıktıları bakımından spektrumun iki ucunu temsil eden limonen (PubChem CID: 22311) ve sitral (PubChem CID: 638011) belirlenmiştir. Moleküllerin üç boyutlu yapıları PubChem veri tabanından indirilmiş, dosya formatı dönüşümü Open Babel ile gerçekleştirilmiş [35] ve yapılar Avogadro yazılımında geometrik olarak optimize edilerek stabilize edilmiştir [36]. Bu işlemle, ligandların protein cebine bağlanma sırasında sergileyeceği yönelimin daha isabetli biçimde öngörülmesi amaçlanmıştır.

2.3.3. Kenetlenme simülasyonu

Bağlanma afinitelerinin hesaplanmasında, SwissDock sunucusu [38] üzerinden çalıştırılan AutoDock Vina algoritması kullanılmıştır [39]. Simülasyonlar, UniProt veri tabanı taraması sonucunda belirlenen aktif bölgeleri kapsayacak biçimde tanımlanan grid box koordinatları ile yürütülmüştür [40]; merkez koordinatları 53BP1 için metil-lizin bağlanma bölgesini kapsayacak biçimde 25.0/1.5/32.0, Kaspaz-3 için katalitik Cys163-His121 çiftini ve substrat bağlanma bölgesindeki Arg341 kalıntısını içerecek biçimde -1.0/14.0/-28.0 olarak ayarlanmıştır [9,13,14].

2.3.4. Etkileşim analizi ve görselleştirme

Simülasyonlardan elde edilen veriler ve atomik düzeydeki bağ profilleri BIOVIA Discovery Studio Visualizer programında incelenmiştir [41]. Kompleksler arasında kurulan etkileşim tipleri iki boyutlu diyagramlar üzerinden sınıflandırılmış; ligandların spesifik amino asit kalıntıları (rezidü) ile kurduğu temas noktaları ve bu temaslara ait mesafeler kaydedilmiştir.

2.4. İstatistiksel Değerlendirme

Çalışma tümüyle hesaplamalı (*in silico*) bir tasarıma dayandığından deneysel grup oluşturulmamış ve gruplar arası karşılaştırmaya dayalı bir p değeri hesaplanmamıştır; bu nedenle tanımlayıcı istatistik ölçülerinin ötesine geçen çıkarımsal bir istatistiksel yöntem uygulanmamıştır. Raporlanan değerler, ilgili platformların deterministik hesaplamalarından veya makine öğrenmesi tabanlı olasılık çıktılarından elde edilmiştir. Öngörülerin güvenilirliği, her bileşiğin üç bağımsız platformda değerlendirilmesi ve platformlar arasındaki uyum ile uyumsuzlukların ayrı ayrı

raporlanması yoluyla ele alınmıştır. Toksisite olasılık skorlarında sınıflandırma ölçütü olarak çalışılan programların önerdiği 0.5 eşik değeri esas alınmıştır.

3. BULGULAR

3.1. ADMET Bulguları

3.1.1. Fizikokimyasal özellikler ve ilaç benzerliği

İncelenen altı bileşiğe ait fizikokimyasal tanımlayıcılar ve ilaç benzerliği değerlendirmesi Tablo 1'de sunulmuştur. Moleküler ağırlıklar 136.13 g/mol (limonen) ile 220.35 g/mol (spatulenol) arasında hesaplanmış; tüm bileşiklerde Lipinski'nin beşli kuralında tanımlanan 500 Da sınırının altında kaldığı görülmüştür. Topolojik polar yüzey alanı (TPSA) değerleri 0 Å² (limonen ve ar-kurkumen)

ile 20.23 Å² (spatulenol ve geraniol) aralığında bulunmuştur. TPSA, hidrojen bağı donör ve akseptör sayıları ile döndürülebilir bağ sayıları bakımından iki platform arasında farklılık saptanmamıştır.

logP değerleri bakımından bileşikler arasında belirgin bir dağılım gözlenmiştir. Neral için 2.76–3.247, sitral için 3.03–3.284, geraniol için 3.428–3.56 ve spatulenol için 3.39–3.696 aralıkları kaydedilmiştir. Limonen için 3.53–4.541, ar-kurkumen için ise 5.20–5.693 değerleri elde edilmiş; ar-kurkumende logP < 5 ölçütünün aşıldığı ve tek kural ihlalinin bu parametreden kaynaklandığı belirlenmiştir. Sentetik erişilebilirlik skorları 2.31 ile 4.00 arasında değişmiştir. Yapısında heteroatom bulunmayan limonen ve ar-kurkumen, SwissADME tarafından düşük GI emilim sınıfına yerleştirilmiştir.

Tablo 1. Bileşiklerin fizikokimyasal parametreleri ve ilaç benzerliği

Bileşik	MA (g/mol)	logP	TPSA (Å ²)	HBD	HBA	DB	SE	Lipinski
Spatulenol	220.18 / 220.35	3.696 / 3.39	20.23	1	1	0	4.00 / 3.78	Uygun
Sitral	152.12 / 152.23	3.284 / 3.03	17.07	0	1	4	2.00 / 2.49	Uygun
Geraniol	154.14 / 154.25	3.428 / 3.56	20.23	1	1	4	2.00 / 2.58	Uygun
Limonen	136.13 / 136.23	4.541 / 3.53	0	0	0	1	Kolay / 3.46	Uygun
Ar-kurkumen	202.17 / 202.34	5.693 / 5.20	0	0	0	4	Kolay / 2.31	1 ihlal
Neral	152.12 / 152.23	3.247 / 2.76	17.07	0	1	4	Kolay / 2.49	Uygun

Değerler ADMETlab 3.0 / SwissADME sırasıyla verilmiştir. MA: moleküler ağırlık; logP: oktanol/su dağılım katsayısı; TPSA: topolojik polar yüzey alanı; HBD: hidrojen bağı donör sayısı; HBA: hidrojen bağı akseptör sayısı; DB: döndürülebilir bağ sayısı; SE: sentetik erişilebilirlik skoru. Lipinski'nin beşli kuralı: MA < 500 Da, logP < 5, HBD < 5, HBA < 10. Ar-kurkumendeki tek ihlal logP değerinden kaynaklanmaktadır. TPSA, HBD, HBA ve DB değerleri her iki platformda özdeş bulunduğu için tek değer olarak verilmiştir.

3.1.2. Farmakokinetik, dağılım ve toksisite parametreleri

Bileşiklere ait emilim, dağılım ve toksisite öngörülleri Tablo 2'de özetlenmiştir. Spatulenol, sitral, geraniol ve neral için SwissADME tarafından yüksek GI emilimi öngörülmüş; limonen ve ar-kurkumen ise düşük emilim sınıfında değerlendirilmiştir. Ar-kurkumen dışındaki tüm bileşikler için KBB geçirgenliği pozitif olarak bildirilmiştir.

Hepatotoksisite olasılıkları 0.401 (limonen) ile 0.681 (geraniol), nörotoksisite olasılıkları ise 0.432 (spatulenol) ile 0.689 (ar-kurkumen) aralığında hesaplanmıştır. ProTox 3.0 platformunda söz konusu uç noktalar, limonenin nörotoksisitesi dışında inaktif olarak sınıflandırılmıştır. CYP2C9 inhibisyonu bakımından platformlar arasında niteliksel bir uyumsuzluk saptanmıştır: spatulenol, sitral ve geraniol ProTox 3.0 tarafından aktif olarak bildirilirken, aynı



uç nokta için ADMETlab 3.0 tarafından hesaplanan olasılıklar 0.010–0.141 aralığında, yani 0.5 eşik değerinin belirgin biçimde altında kalmıştır.

Tablo 2. Bileşiklerin farmakokinetik ve toksisite parametreleri

Bileşik	Gİ emilim	KBB geçirg.	CYP2C9 inh.	CYP2C9 inh.	Hepatotok.	Nörotok.
Spatulenol	Yüksek	Geçirgen	0.012	Aktif	0.651	0.432
Sitral	Yüksek	Geçirgen	0.141	Aktif	0.478	0.666
Geraniol	Yüksek	Geçirgen	0.010	Aktif	0.681	0.597
Limonen	Düşük	Geçirgen (+++)	—	Aktif	0.401	0.636
Ar-kurkumen	Düşük	Geçirgen değil	—	—	0.642	0.689
Neral	Yüksek	Geçirgen (+)	—	—	0.419	0.600

Gİ emilim ve KBB geçirgenliği SwissADME; dördüncü sütundaki CYP2C9 inhibisyonu, hepatotoksiste ve nörotoksiste olasılık skorları ADMETlab 3.0; beşinci sütundaki CYP2C9 inhibisyon sınıflandırması ProTox 3.0 kaynaklıdır. Olasılık skorlarında 0.5 üzeri değerler artmış risk olarak yorumlanmıştır. Gİ: gastrointestinal; KBB: kan-beyin bariyeri; inh.: inhibisyon; Hepatotok.: hepatotoksiste; Nörotok.: nörotoksiste. ADMETlab 3.0 çıktılarında geçirgenlik derecesi + ile +++ arasında derecelendirilmektedir. ProTox|3.0, nörotoksiste yalnızca limonen için aktif; diğer tüm bileşikler ve uç noktalar için inaktif olarak sınıflandırmıştır. (—) ilgili platformun bu parametre için değer bildirmediğini göstermektedir.

3.2. Moleküler Kenetlenme Bulguları

ADMET çıktıları doğrultusunda seçilen limonen ve sitral moleküllerinin 53BP1 ve Kaspaz-3 proteinleriyle kenetlenmesinden elde edilen bağlanma serbest enerjileri Tablo 3'te, etkileşim tipleri ile

temas kurulan rezidüler Tablo 4'te verilmiştir. Her iki hedef proteinde de limonen için sitrale kıyasla daha negatif ΔG değerleri kaydedilmiştir. İncelenen dört kompleks içinde en düşük bağlanma serbest enerjisi limonen–53BP1 kompleksinde (–6.108 kcal/mol) elde edilmiştir.

Tablo 3. Kenetlenme analizinden elde edilen bağlanma afiniteleri (kcal/mol)

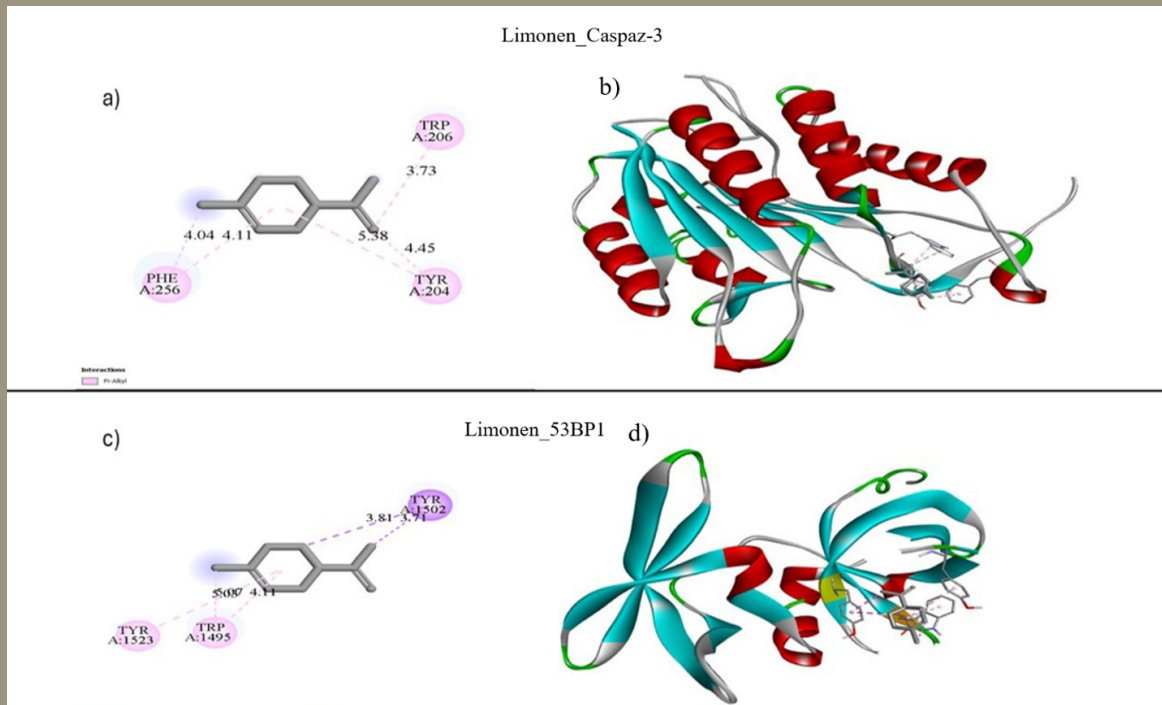
Ligand	53BP1 (PDB ID: 8SWJ)	Kaspaz-3 (PDB ID: 6X8I)
Limonen	–6.108	–5.026
Sitral	–4.990	–4.010

Değerler bağlanma serbest enerjisini (ΔG) göstermektedir; daha negatif değerler daha güçlü bağlanmaya işaret eder. Analizler SwissDock sunucusu üzerinden AutoDock Vina algoritması ile gerçekleştirilmiştir.

3.2.1. Limonen molekülünün etkileşim profili

Limonenin 53BP1 ve Kaspaz-3 ile oluşturduğu komplekslerde bağlanma serbest enerjileri sırasıyla -6.108 kcal/mol ve -5.026 kcal/mol olarak hesaplanmıştır. İki boyutlu etkileşim diyagramlarında, 53BP1 kompleksinde tirozin (TYR) ve triptofan (TRP) rezidüleri üzerinden Pi-sigma ve Pi-alkil bağları saptanmıştır. TYR A:1502 ile 3.81 ve 3.71 Å mesafelerde Pi-sigma, TYR A:1523 ile 5.03 Å mesafede Pi-alkil, TRP A:1495 ile 4.11 ve 5.07 Å mesafelerde Pi-alkil bağları kaydedilmiştir. Dikkat çekici biçimde bu üç kalıntı, 53BP1 Tudor domain'inin H4K20me2'yi tanıyan aromatik kafesinin

(Trp1495-Tyr1502-Phe1519-Tyr1523) parçasıdır [9-35]; limonenin bağlanma bölgesinin kafesle büyük ölçüde çakışması, bileşiğin doğal metil-lizin tanınmasına rakip olabileceğine ilişkin bir olasılık sunmaktadır. Kaspaz-3 kompleksinde ise fenilalanin (PHE), triptofan ve tirozin rezidüleri üzerinden Pi-alkil bağları belirlenmiş; PHE A:256 ile 4.04 ve 4.11 Å, TYR A:204 ile 4.45 ve 5.38 Å, TRP A:206 ile 3.73 Å mesafelerde temas tespit edilmiştir (Şekil 1). Kaspaz-3 ile etkileşime giren bu kalıntıların katalitik Cys163-His121 çiftini ve Arg341 kalıntısını içeren substrat bağlanma bölgesinde yer alması, ligand bağlanmasının enzimin aktif bölgesiyle çakıştığını göstermektedir [13,14].



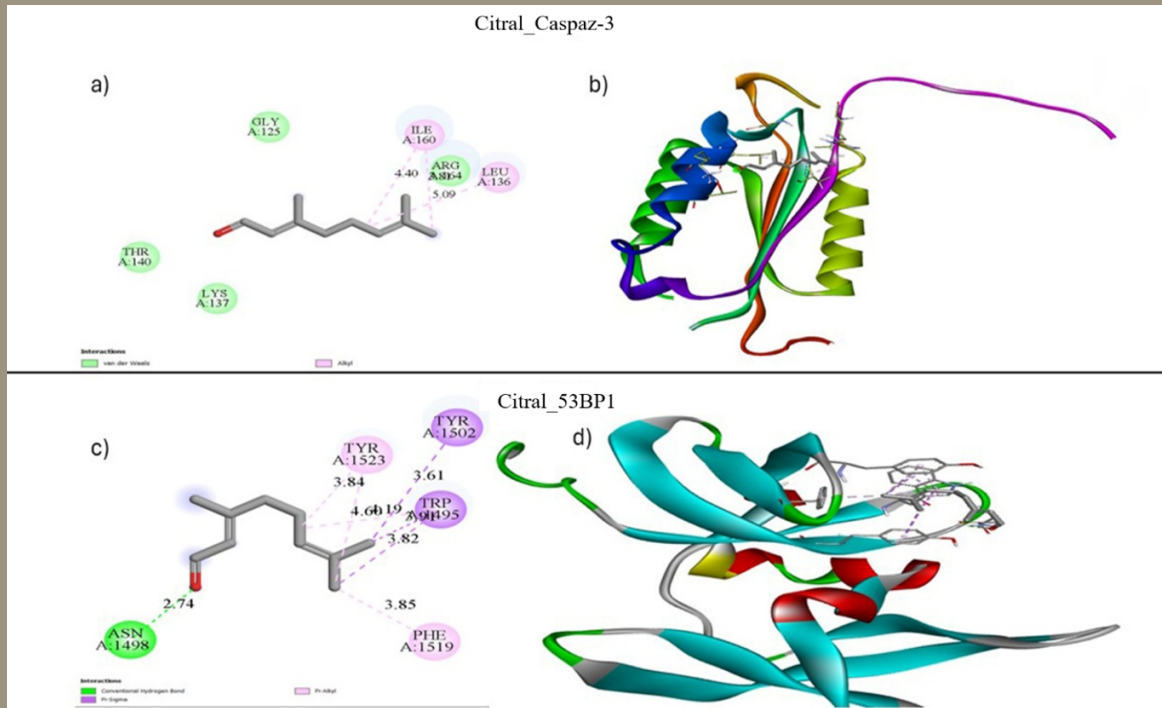
Şekil 1. Limonen molekülünün Kaspaz-3 (a, b) ve 53BP1 (c, d) proteinleriyle kurduğu etkileşimlerin iki boyutlu (a, c) ve üç boyutlu (b, d) gösterimi. İki boyutlu diyagramlarda etkileşime giren amino asit kalıntıları ve temas mesafeleri (Å) belirtilmiştir.

3.2.2. Sitral molekülünün etkileşim profili

Sitralin 53BP1 ve Kaspaz-3 ile oluşturduğu komplekslerde bağlanma serbest enerjileri sırasıyla -4.990 kcal/mol ve -4.010 kcal/mol olarak hesaplanmıştır. 53BP1 kompleksinde asparajin (ASN), fenilalanin (PHE), triptofan (TRP) ve tirozin (TYR) rezidüleri üzerinden hidrojen bağı, Pi-alkil ve Pi-sigma etkileşimleri belirlenmiştir. ASN A:1498 ile

2.74 Å mesafede konvansiyonel hidrojen bağı, PHE A:1519 ile 3.85 Å mesafede Pi-alkil, TYR A:1523 ile 3.84 ve 4.60 Å mesafelerde Pi-alkil, TYR A:1502 ile 3.81 Å mesafede Pi-sigma ve TRP A:1495 ile 4.19 , 3.82 ve 3.91 Å mesafelerde Pi-sigma bağları kaydedilmiştir. Sitralin temas kurduğu rezidülerin de 53BP1'in metil-lizin aromatik kafesi bölgesiyle büyük ölçüde çakıştığı görülmüştür [35]. Kaspaz-3

kompleksinde izolösın (ILE) ve lösın (LEU) rezidüleri üzerinden alkil ve van der Waals etkileşimleri saptanmış; ILE A:160 ile 4.40 ve 3.81 Å, LEU A:136 ile 5.09 Å mesafelerde alkil bağları belirlenmiştir (Şekil 2).



Şekil 2. Sitral molekülünün Kaspaz-3 (a, b) ve (c, d) proteinleriyle kurduğu etkileşimlerin iki boyutlu (a, c) ve üç boyutlu (b, d) gösterimi. İki boyutlu diyagramlarda etkileşime giren amino asit kalıntıları ve temas mesafeleri (Å) belirtilmiştir.

Tablo 4. Ligandların hedef proteinlerle kurduğu etkileşimler

Ligand	Protein	Rezidü	Etkileşim tipi	Mesafe (Å)
Limonen	53BP1	TYR A:1502	Pi-sigma	3.81; 3.71
		TYR A:1523	Pi-alkil	5.03
		TRP A:1495	Pi-alkil	4.11; 5.07
		PHE A:256	Pi-alkil	4.04; 4.11
	Kaspaz-3	TYR A:204	Pi-alkil	4.45; 5.38
		TRP A:206	Pi-alkil	3.73
Sitral	53BP1	ASN A:1498	Konvansiyonel hidrojen bağı	2.74
		PHE A:1519	Pi-alkil	3.85
		TYR A:1523	Pi-alkil	3.84; 4.60
		TYR A:1502	Pi-sigma	3.81
	Kaspaz-3	TRP A:1495	Pi-sigma	4.19; 3.82; 3.91
		ILE A:160	Alkil	4.40; 3.81
		LEU A:136	Alkil	5.09

TYR: tirozin; TRP: triptofan; PHE: fenilalanin; ASN: asparajin; ILE: izolösın; LEU: lösın. Birden fazla mesafe verilen satırlarda aynı rezidü ile kurulan farklı temas noktaları noktalı virgülle ayrılmıştır.

4. TARTIŞMA

Bu çalışmada *L. citriodora* bitkisinin başlıca fitokimyasal bileşenlerinin ilaç olabilirlik potansiyeli ADME-Tox kinetiği çerçevesinde bütünsel bir yaklaşımla ele alınmış; öne çıkan iki bileşiğin akciğer kanserinde kritik rol oynayan 53BP1 ve Kaspaz-3 proteinleriyle moleküler etkileşimleri incelenmiştir. *In silico* ADMET değerlendirmesi, yeni terapötik aday moleküllerin klinik öncesi geliştirme basamaklarında elenmesini veya öne çıkarılmasını sağlayan en kritik aşamalardan biridir.

Oral yoldan alınabilecek bir ilacın optimum farmakokinetik davranış sergileyebilmesi için Lipinski'nin beşli kuralına uyum sağlaması beklenir. İncelenen grupta spatulenol, sitral, geraniol ve neral tüm fizikokimyasal parametreleriyle bu kurallara uyum göstermiş; bu durum söz konusu moleküllerin ideal oral ilaç adayı potansiyelini desteklemektedir. Tüm bileşiklerde 21 Å²'nin altında kalan TPSA değerleri, membranlardan pasif difüzyonla emilimin fizikokimyasal düzeyde desteklendiğine işaret etmektedir. Buna karşın limonen, düşük moleküler ağırlığı sayesinde kuralı sağlamakta birlikte yapısında hiç heteroatom bulundurmaması nedeniyle aşırı lipofilik bir sınıra taşınmaktadır; SwissADME tarafından bu iki bileşik için bildirilen düşük Gİ emilim sınıfı, sulu fizyolojik sıvılardaki zayıf çözünürlüğün oral absorpsiyonu kısıtlayabileceğini düşündürmektedir. Ar-kurkumen ise logP değeriyle kuralın 5 sınırını doğrudan aşmakta; bu durum membrandaki lipid fazına aşırı afinite nedeniyle hücre içinde hapsolma ve plazma proteinlerine yüksek oranda bağlanma eğilimini beraberinde getirerek ilaç olma potansiyelini önemli ölçüde düşürmektedir. Ar-kurkumen dışındaki tüm bileşikler için öngörülen KBB geçirgenliği ise merkezi sinir sistemine (MSS) sızma potansiyeline ve olası nörolojik etkilere işaret etmektedir. Bütünsel değerlendirmede sitral, geraniol ve neral; düşük toksisite riski, iyi oral emilim kapasiteleri ve Lipinski kurallarına uyumları nedeniyle en yüksek ilaç potansiyeline sahip bileşikler olarak öne çıkmıştır. Spatulenol, uygun bir farmakokinetik profil sunmakla birlikte yüksek karaciğer hassasiyeti nedeniyle ikinci derece aday olarak değerlendirilebilir. Limonen, yüksek lipofilikliği ve düşük Gİ emilimi nedeniyle lokal uygulamalarda veya dikkatle sınırlandırılmış dozlarda ele alınmalıdır. Ar-kurkumen ise ilaç olabilirlik potansiyeli en düşük bileşik olarak konumlanmaktadır.

Moleküler kenetlenme sonuçlarına göre limonen, 53BP1'desitrале(-4.990kcal/mol)kıyasladahayüksek bir bağlanma afinitesi (-6.108 kcal/mol) göstermiştir. Dikkat çekici olan, her iki bileşiğin de 53BP1 ile temas kurduğu rezidülerin (Trp1495, Tyr1502, Asn1498, Phe1519, Tyr1523) proteinin metil-lizin aromatik bölgesiyle büyük ölçüde çakışmasıdır [9]. Bu gözlem, ligandların H4K20me2 tanıma cebiyle rekabet edebileceği yönündeki hesaplamalı öngörüyle desteklemektedir. Yazarların bilgisi dahilinde bu çalışma, limonen ve sitralın 53BP1 Tudor domain'ine yönelik ilk *in silico* değerlendirmesidir; bu yönüyle literatüre özgün bir katkı sunmaktadır. Alanın iyi karakterize edilmiş küçük molekül ligandlarından UNC2170'nin [12] fragman benzeri yapısına kıyasla, incelenen terpenoidlerin bağlanma bölgesinde daha geniş bir hidrofobik temas ağı kurması, bu doğal bileşiklerin 53BP1 bağlanma bölgesi açısından taşıdığı ilaçlanabilirlik potansiyeline işaret etmektedir. Öte yandan limonenin literatürde p53 (PDB ID: 1YCR) ile de -4.0 kcal/mol bağlanma enerjisiyle etkileşime girdiğinin bildirilmesi [42], molekülün DNA hasarı yanıtı düzeyinde çoklu hedef potansiyeline sahip olabileceğini düşündürmektedir.

İncelenen bileşiklerin antikanser literatürdeki durumu değerlendirildiğinde; limonenin akciğer kanseri başta olmak üzere çok sayıda kanser türünde deneysel olarak en geniş biçimde çalışılan bileşik olduğu görülmektedir. Yu ve arkadaşları [44], d-limonenin A549 ve H1299 akciğer kanseri hücrelerinde proliferasyonu doza ve süreye bağımlı olarak inhibe ettiğini, Bax ekspresyonunu artırıp Bcl-2'yi baskılayarak ve PARP'yi parçalayarak apoptoz indüklediğini, ayrıca otofagiye harekete geçirerek ksenograft modelde tümör büyümesini baskıladığını göstermiştir. Kamran ve arkadaşlarının [45] derlemesinde de D-limonenin çeşitli kanser hücrelerinde Bcl-2'yi aşağı düzenlediği, p53 ile ilişkili apoptotik düzeneği değiştirdiği ve pro-apoptotik Bax ekspresyonunu artırdığı bildirilmektedir. Bu deneysel bulgular, mevcut çalışmadaki limonen-53BP1 ve limonen-Kaspaz-3 kenetlenme sonuçlarıyla bütünlük içindedir: limonenin bu hedeflere moleküler düzeyde bağlanabilmesi, gözlenen antiproliferatif etkilerin olası yapısal temellerinden biri olarak değerlendirilebilir. Sitral ve geraniol de geniş bir kanser hücre panelinde antiproliferatif ve apoptoz indükleyici etkileriyle rapor edilmiştir; sitralın mitokondriyel depolarizasyon,

kaspaz kaskad aktivasyonu ve MAPK yolağı aracılı apoptoz indüklediği, geraniolün ise p53 ve STAT3 modülasyonu da dahil olmak üzere çoklu moleküler hedefleri düzenleyerek çeşitli kanserlerde anti-tümör aktivite sergilediği gösterilmiştir [46]. Buna karşılık neral'in antikanser literatürü görece sınırlı olup çoğunlukla sitral karışımı bağlamında incelenmiştir; spatulenol ve ar-kurkumenin doğrudan antikanser etkileri ise yalnızca az sayıda çalışmada ele alınmıştır. Bu durum, söz konusu bileşiklerin antikanser potansiyeline ilişkin çalışmaların literatürde bir boşluk oluşturduğunu ve mevcut çalışmanın bu eksikliğe özgün bir katkı sunduğunu göstermektedir. Kaspaz-3 ile yapılan analizlerde de limonen (-5.026 kcal/mol), sitralden (-4.010 kcal/mol) daha yüksek afinite göstermiştir. Limonenin Kaspaz-3 ile etkileşime girdiği PHE A:256, TYR A:204 ve TRP A:206 kalıntılarının katalitik bölgeyi çevreleyen substrat bağlanma bölgesinde yer alması [13,14], apoptoz yürütücüsü üzerindeki olası modülatör etkiye biyolojik bir bağlam kazandırmaktadır. Bera ve arkadaşları [43] tarafından yürütülen çalışmada antikanser bileşiklerin Kaspaz-3 üzerinde -6.2 kcal/mol gibi daha güçlü bağlanma enerjileri sergilediği ortaya konmuştur; incelenen terpenoidlerin skorlarının bu değerlerin altında ancak aynı büyüklük mertebesinde olması, bulguların literatürle uyumlu olduğunu göstermektedir. Sitral molekülü 53BP1 ile ASN A:1498 üzerinden yönlü bir hidrojen bağı kurmuş; bu tür yönlü etkileşimler, hidrofobik temas ağı daha dar olsa bile bağlanma özgüllüğü açısından avantaj sağlayabilmektedir.

ADMET ve kenetlenme bulguları birlikte değerlendirildiğinde, en yüksek bağlanma afinitesi gösteren limonen, aynı zamanda Gİ emilimi en düşük ve lipofilikliği en yüksek bileşiklerden biri olduğu görülmüştür. Buna karşılık en uygun ADMET profillerine sahip sitral, geraniol ve neral daha zayıf bağlanma afiniteleri sergilemektedir. Bu durum, ilaç geliştirmede yalnızca bağlanma afinitesine ya da yalnızca farmakokinetik uygunluğa dayanan bir seçimin yanıltıcı olabileceğini göstermektedir. Öte yandan limonenin 53BP1 (DNA onarımı) ve Kaspaz-3 (apoptoz yürütülmesi) düzeyindeki çift hedefli bağlanma profili, onarım hasarının birikmesi ile hücre ölümünün tetiklenmesini aynı anda hedefleyen çekici bir strateji sunmaktadır. Limonenin yüksek KBB geçiş kabiliyeti de göz önüne alındığında,

olası nörofizyolojik etkileşimlerinin ve doza bağlı nörotoksik sınırlarının ileri *in vivo* toksisite testleriyle doğrulanması gerekmektedir. Bileşiğin sistemik biyoyararlanım potansiyelini artırabilmek amacıyla lokal uygulama veya formülasyon stratejilerinin değerlendirilmesi uygun bir yaklaşım olabilir.

Bu çalışmanın bazı sınırlılıkları bulunmaktadır. Elde edilen tüm veriler *in silico* yöntemlere dayandığından teorik bir hesaplamalı öngörü niteliği taşımaktadır. Moleküler kenetlenme analizleri proteinleri esas olarak rijit yapılar kabul etmekte ve hücre içindeki doğal protein esnekliğini veya fizyolojik ortam koşullarını tam olarak yansıtmayabilmektedir. Bu nedenle bağlanan moleküllerin protein cebindeki yapısal kararlılığının zaman içinde gözlemlenebilmesi amacıyla ilerleyen çalışmalarda moleküler dinamik (MD) simülasyonlarına ihtiyaç duyulmaktadır. 53BP1 sonuçlarının yalnızca tandem Tudor domain'ine dayandığı, proteinin tam boy hâlindeki diğer düzenleyici bölgelerinin (ör. UDR motifleri, RNF168 bağımlı fosforilasyon siteleri) bu analiz kapsamında değerlendirilmediği unutulmamalıdır. Benzer biçimde ADMET öngörüler, eğitim veri kümeleri ağırlıklı olarak sentetik küçük moleküllerden oluşan modellere dayandığından, terpenoid iskeletli doğal bileşikler için sistematik sapmalar içerebilir; nitekim CYP2C9 inhibisyonu ve nörotoksisite uç noktalarında platformlararasında gözlenen niteliksel uyumsuzluklar bu sınırlılığın somut bir göstergesidir. Limonen ve sitralın 53BP1 aracılı etkilerinin doğrulanabilmesi amacıyla H4K20me2 rekabetinin *in vitro* ölçülmesi (ör. yüzey plazmon rezonans veya ELISA tabanlı rekabet deneyleri), Kaspaz-3 aktivasyon ölçümleri ile *BRCAl*-dışı kanser hücrelerinde PARP inhibitörü kombinasyon çalışmaları önerilmektedir.

Sonuç olarak, bu çalışmada *L. citriodora* L. bitkisinin altı başlıca fitokimyasal bileşeni çapraz platformlu ADMET tahmini ve moleküler kenetlenme yaklaşımlarıyla değerlendirilmiştir. Sitral, geraniol ve neral; Lipinski kurallarına tam uyum, yüksek Gİ emilimi ve kabul edilebilir toksisite profilleriyle en uygun ilaç benzeri özellikleri sergilemiştir. Moleküler kenetlenme analizinde ise limonen, hem 53BP1 (-6.108 kcal/mol) hem de Kaspaz-3 (-5.026 kcal/mol) proteinlerine sitralden daha güçlü bağlanmış ve apoptoz mekanizması üzerinde çift hedefli etki potansiyeli, bu doğal bileşiğin deneysel

antikanser programları için öncü aday olabileceğini düşündürmektedir. Bu bulgular, neral, spatulenol ve ar-kurkumen için literatürde bulunan antikanser çalışma boşluğunu doldurmaya yönelik olarak gelecekte yürütülecek in vitro ve in vivo çalışmalara temel oluşturmaktadır.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Çıkar çatışması bulunmamaktadır.

ETİK KURUL ONAYI

Bu çalışma tümüyle *in silico* yöntemlerle, kamuya açık veri tabanlarından elde edilen moleküler ve yapısal veriler kullanılarak yürütülmüştür. İnsan veya hayvan denekleri üzerinde herhangi bir deneysel uygulama içermediğinden etik kurul onayı gerektirmemektedir.

TEŞEKKÜR VE DESTEK

Yazarlar bu çalışma için herhangi bir finansal destek almamıştır.

KAYNAKLAR

1. Baudino, T. A. (2015). Targeted cancer therapy: The next generation of cancer treatment. *Current Drug Discovery Technologies*, 12(1), 3-20.
2. Wang, Z., Xing, Y., Li, B., Li, X., Liu, B., & Wang, Y. (2022). Molecular pathways, resistance mechanisms and targeted interventions in non-small-cell lung cancer. *Molecular Biomedicine*, 3(1), 42.
3. Kelleci, K., Gölebatmaz, E., Ihlamur, M., & Abamor, E. Ş. (2024). *Foeniculum vulgare* ekstraktının Altuzan ilacı kombinasyonu ile A549 akciğer kanseri hücrelerine karşı antikanser etkileri. *Çukurova Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Dergisi*, 39(1), 189-195.
4. Goyal, S., Gupta, N., Chatterjee, S., & Nimesh, S. (2017). Natural plant extracts as potential therapeutic agents for the treatment of cancer. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 17(2), 96-106.
5. Sung, H., Filho, A. M., Laversanne, M., Ferlay, J., Siegel, R. L., ve ark. (2026). Global cancer statistics 2024: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 34 cancers in 186 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 76(4), e70090.
6. Ferlay, J., Soerjomataram, I., Dikshit, R., Eser, S., Mathers, C., ve ark. (2015). Cancer incidence and mortality worldwide: Sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *International Journal of Cancer*, 136(5), E359-E386.
7. Yuan, M., Huang, L. L., Chen, J. H., Wu, J., & Xu, Q. (2019). The emerging treatment landscape of targeted therapy in non-small-cell lung cancer. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 4, 61.
8. Panier, S., & Boulton, S. J. (2014). Double-strand break repair: 53BP1 comes into focus. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 15(1), 7-18.
9. Botuyan, M. V., Lee, J., Ward, I. M., Kim, J. E., Thompson, J. R., Chen, J., & Mer, G. (2006). Structural basis for the methylation state-specific recognition of histone H4-K20 by 53BP1 and Crb2 in DNA repair. *Cell*, 127(7), 1361-1373.
10. Bunting, S. F., Callén, E., Wong, N., Chen, H. T., Polato, F., Gunn, A., Bothmer, A., Feldhahn, N., Fernandez-Capetillo, O., Cao, L., ve ark. (2010). 53BP1 inhibits homologous recombination in Brca1-deficient cells by blocking resection of DNA breaks. *Cell*, 141(2), 243-254.
11. Jaspers, J. E., Kersbergen, A., Boon, U., Sol, W., van Deemter, L., Zander, S. A., Drost, R., Wientjens, E., Ji, J., Aly, A., ve ark. (2013). Loss of 53BP1 causes PARP inhibitor resistance in Brca1-mutated mouse mammary tumors. *Cancer Discovery*, 3(1), 68-81.

12. Perfetti, M. T., Baughman, B. M., Dickson, B. M., Mu, Y., Cui, G., Mader, P., Dong, A., Norris, J. L., Rothbart, S. B., Strahl, B. D., ve ark. (2015). Identification of a fragment-like small molecule ligand for the methyl-lysine binding protein, 53BP1. *ACS Chemical Biology*, 10(4), 1072-1081.
13. Porter, A. G., & Jänicke, R. U. (1999). Emerging roles of caspase-3 in apoptosis. *Cell Death and Differentiation*, 6(2), 99-104.
14. Nicholson, D. W., Ali, A., Thornberry, N. A., Vaillancourt, J. P., Ding, C. K., Gallant, M., Gareau, Y., Griffin, P. R., Labelle, M., Lazebnik, Y. A., ve ark. (1995). Identification and inhibition of the ICE/CED-3 protease necessary for mammalian apoptosis. *Nature*, 376(6535), 37-43.
15. Rotonda, J., Nicholson, D. W., Fazil, K. M., Gallant, M., Gareau, Y., Labelle, M., Peterson, E. P., Rasper, D. M., Ruel, R., Vaillancourt, J. P., ve ark. (1996). The three-dimensional structure of apopain/CPP32, a key mediator of apoptosis. *Nature Structural Biology*, 3(7), 619-625.
16. Senthil-Nathan, S. (2020). A review of resistance mechanisms of synthetic insecticides and botanicals, phytochemicals, and essential oils as alternative larvicidal agents against mosquitoes. *Frontiers in Physiology*, 10, 1591.
17. Khan, M. R., & Omoloso, A. D. (2002). Antibacterial, antifungal activities of *Barringtonia asiatica*. *Fitoterapia*, 73(3), 255-260.
18. Owolabi, O. O., James, D. B., Sani, I., Andongma, B. T., Fasanya, O. O., & Kure, B. (2018). Phytochemical analysis, antioxidant and anti-inflammatory potential of *Feretia apodanthera* root bark extracts. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 18(1), 12.
19. Spyridopoulou, K., Aravidou, T., Lampri, E., Effraimidou, E., Pappa, A., & Chlichlia, K. (2021). Antitumor potential of *Lippia citriodora* essential oil in breast tumor-bearing mice. *Antioxidants*, 10(6), 875.
20. Fitsiou, E., Mitropoulou, G., Spyridopoulou, K., Tiptiri-Kourpeti, A., Vamvakias, M., ve ark. (2016). Phytochemical profile and evaluation of the biological activities of essential oils derived from the Greek aromatic plant species *Ocimum basilicum*, *Mentha spicata*, *Pimpinella anisum* and *Fortunella margarita*. *Molecules*, 21(8), 1069.
21. Betancur-Galvis, L., Saez, J., Granados, H., Salazar, A., & Ossa, J. (1999). Antitumor and antiviral activity of Colombian medicinal plant extracts. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 94(4), 531-535.
22. Karık, Ü., & Azkan, N. (2010). Farklı dikim aralıklarının limon otu (*Lippia citriodora* L.) bitkisinde herba ve uçucu yağ verimi ile uçucu yağın kalite özelliklerine etkisi. *Bahçe*, 39(1-2), 113-120.
23. Lee, Y. S., Yang, W. K., Kim, H. J., Min, B., Caturla, N., ve ark. (2018). Metaboloid combination of lemon verbena and hibiscus flower extract prevents high-fat diet-induced obesity through AMP-activated protein kinase activation. *Nutrients*, 10(9), 1204.
24. Santos-Gomes, P. C., Fernandes-Ferreira, M., & Vicente, A. M. S. (2005). Composition of the essential oils from flowers and leaves of vervain [*Aloysia triphylla* (L'Herit.) Britton] grown in Portugal. *Journal of Essential Oil Research*, 17(1), 73-78.
25. Carnat, A., Carnat, A. P., Fraisse, D., & Lamaison, J. L. (1999). The aromatic and polyphenolic composition of lemon verbena tea. *Fitoterapia*, 70(1), 44-49.
26. Villegas-Aguilar, M. C., Cádiz-Gurrea, M. L., Fernández-Moreno, P., Fernández-Ochoa, Á., Arráez-Román, D., ve ark. (2025). Select bioavailable metabolites from *Lippia citriodora* and *Olea europaea* extracts exhibit anticancer effects on pancreatic cancer cell lines. *Food & Function*, 16(19), 7749-7760.
27. Fitsiou, E., Mitropoulou, G., Spyridopoulou, K., Tiptiri-Kourpeti, A., Vamvakias, M., Pappa, A., & Chlichlia, K. (2018). Chemical composition and evaluation of the biological activities of the essential oil of *Lippia citriodora*. *Antioxidants*, 7(7), 91.
28. Kim, S., Chen, J., Cheng, T., Gindulyte, A., He, J., ve ark. (2023). PubChem 2023 update. *Nucleic Acids Research*, 51(D1), D1373-D1380.
29. Daina, A., Michielin, O., & Zoete, V. (2017). SwissADME: A free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Scientific Reports*, 7, 42717.
30. Lipinski, C. A., Lombardo, F., Dominy, B. W., & Feeney, P. J. (2001). Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 46(1-3), 3-26.
31. Fu, L., Shi, S., Yi, J., Wang, N., He, Y., ve ark. (2024). ADMETlab 3.0: An updated comprehensive online ADMET prediction platform enhanced with broader coverage, improved performance, API functionality and decision support. *Nucleic Acids Research*, 52(W1), W422-W431.
32. Banerjee, P., Kemmler, E., Dunkel, M., & Preissner, R. (2024). ProTox 3.0: A webserver for the prediction of toxicity of chemicals. *Nucleic Acids Research*, 52(W1), W513-W520.
33. Berman, H. M., Westbrook, J., Feng, Z., Gilliland, G., Bhat, T. N., ve ark. (2000). The Protein Data Bank. *Nucleic Acids Research*, 28(1), 235-242.
34. Pettersen, E. F., Goddard, T. D., Huang, C. C., Couch, G. S., Greenblatt, D. M., ve ark. (2004). UCSF Chimera - A visualization system for exploratory research and analysis. *Journal of Computational Chemistry*, 25(13), 1605-1612.

35. O'Boyle, N. M., Banck, M., James, C. A., Morley, C., Vandermeersch, T., & Hutchison, G. R. (2011). Open Babel: An open chemical toolbox. *Journal of Cheminformatics*, 3(1), 33.
36. Hanwell, M. D., Curtis, D. E., Lonie, D. C., Vandermeersch, T., Zurek, E., & Hutchison, G. R. (2012). Avogadro: An advanced semantic chemical editor, visualization, and analysis platform. *Journal of Cheminformatics*, 4(1), 17.
37. Bugnon, M., Röhrig, U. F., Goullieux, M., Perez, M. A. S., Daina, A., ve ark. (2024). SwissDock 2024: Major enhancements for small-molecule docking with Attracting Cavities and AutoDock Vina. *Nucleic Acids Research*, 52(W1), W324-W332.
38. Trott, O., & Olson, A. J. (2010). AutoDock Vina: Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *Journal of Computational Chemistry*, 31(2), 455-461.
39. UniProt Consortium. (2025). UniProt: The Universal Protein Knowledgebase in 2025. *Nucleic Acids Research*, 53(D1), D609-D617.
40. Dassault Systèmes BIOVIA. (2024). Discovery Studio Visualizer (v24.1.0.23298) [Bilgisayar yazılımı]. Dassault Systèmes.
41. Muthukaliannan, G. K., & Sankar, S. (2023). Combinatorial effect of diclofenac with piperine and D-limonene on inducing apoptosis and cell cycle arrest of breast cancer cells. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 13(2), 80-92.
42. Bera, T., Ghosh, M., & Ghosh, S. K. (2025). Elucidating the mycochemistry and anticancer efficacy of F5 fraction of ethanolic extract of *Dalmanella eschscholtzii*. *Scientific Reports*, 15(1), 34953.
43. Yu, X., Lin, H., Wang, Y., Lv, W., Zhang, S., Qian, Y., Deng, X., Feng, N., Yu, H., & Qian, B. (2018). d-limonene exhibits antitumor activity by inducing autophagy and apoptosis in lung cancer. *OncoTargets and Therapy*, 11, 1833-1847.
44. Kamran, S., Riaz, S., Javed, M. R., Suleria, H. A. R., Ikram, A., Siddeeg, A., Aslam, Z., & Zin, P. M. (2022). Therapeutic potential of certain terpenoids as anticancer agents: A scoping review. *Cancers*, 14(5), 1100.
45. Srivastava, G., Khan, M. F., Srivastava, A. K., Gupta, S., Dwivedy, A. K., Dar, A. A., ve ark. (2024). Geraniol and citral: Recent developments in their anticancer credentials opening new vistas in complementary cancer therapy. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 79(5-6), 213-226.
46. Wojtunik-Kulesza, K., Oniszczyk, T., & Waksmundzka-Hajnos, M. (2023). Potential effects of geraniol on cancer and inflammation-related diseases: A review of the recent research findings. *Molecules*, 28(9), 3669.