

Liken sekonder bileşiklerinin farklı insan kanser hücre tipleri üzerine antikanserojenik etkisi

Evaluation of the impact on different types of human cancer cell of lichen secondary compounds

Sinem ÖZENOĞLU¹, Gülizar AYDOĞDU², Adnan Berk DİNÇSOY¹, Afşar Abbasi TAGHİDİZAJ¹,
Kürşat DERİCİ³, Erkan YILMAZ¹, Sümer ARAS², Demet CANSARAN-DUMAN¹

ÖZET

Günümüzde kanser henüz çözümlenememiş önemli bir sağlık problemidir. Kanser tedavisinde temel olarak cerrahi, kemoterapi ve hormon tedavi yöntemleri kullanılmaktadır. Kanser tedavisinde kullanılan bu temel yöntemlerin ve ilaçların tedavide yetersiz olduğu düşünülmektedir. Bu tedavi yöntemleri bazı yan etkilere sahiptir ve tedaviler uzun sürmektedir. Son yıllarda kanser tedavisinde karşılaşılan sorunlar nedeniyle alternatif tedavi yöntemleri aranmaktadır. Bu amaç doğrultusunda son zamanlarda yapılan çalışmalarda çeşitli kanser tiplerine karşı sentetik, bitkisel ve fungus kaynaklı ilaçların antikanser etkileri araştırılmaya başlanmıştır. Yapılan bu araştırmalar sonucunda likenler ve sekonder metabolitlerinin de kanser tedavisinde çözüm olabilmesi için alternatif bir yöntem olarak kullanılması önerilmiştir. Likenler; mantarların alglerle bir araya gelerek meydana getirdikleri morfolojik ve fizyolojik birlikler olarak tanımlanmaktadır. Bu metabolitler yağlı asitler ve laktonlar, zeorin grubu bileşikler, pulvik asit türevleri, kumaron türevleri, depsidler, depsidonlar ve antrokinon türevleri olarak sınıflandırılabilirler. Son beş yıldır liken sekonder metabolitlerinin farklı kanser hücre tipleri üzerinde yapılan çalışmaları umut vericidir; ilaç aday moleküllü bulmayı hedeflemektedir.

Anahtar Kelimeler: Liken metabolitleri, kanser hücreleri, antikanserojenik etki

ABSTRACT

Today, cancer is appearing as a major unsolved health problem. Basically, surgery, chemotherapy and hormone therapy models are used in the treatment of cancer. Basic procedures and drugs used in the treatment of cancer are thought to be insufficient. These treatments have some side effects and they take a long time. Due to the problems encountered in the treatment of cancer in the recent years, alternative methods of treatment are being researched. For this purpose the effect of herbal, synthetic and fungus organisms against various types of cancer is being investigated. As a result of these investigations, lichens and their secondary metabolites are also proposed to be used as an alternative method in cancer treatment. Lichens are a symbiotic association of a fungus and a photosynthetic partner. These metabolites were identified as fatty acids, lactons, zeorin, pulvic acid, petroleum, depsids, depsidons and antrokinon derivatives. Impact of lichen secondary compound studies on different human cancer types, aims to find a promising drug Candidate molecule.

Key Words: Lichen metabolites, cancer cells, anticancer activity

¹ Ankara Üniversitesi, Biyoteknoloji Enstitüsü, Merkez Laboratuvarı, ANKARA

² Ankara Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, ANKARA

³ Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu, İlaç, Biyolojik ve Tıbbi Ürünler Laboratuvar Dairesi, ANKARA



İletişim / Corresponding Author : Demet CANSARAN-DUMAN

Ankara Üniversitesi, Biyoteknoloji Enstitüsü, Merkez Laboratuvarı, ANKARA

Tel : +90 312 222 58 20-120

E-posta / E-mail : dcansaran@yahoo.com

Geliş Tarihi / Received : 17.07.2013

Kabul Tarihi / Accepted : 19.09.2013

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2013.37167

Özenoğlu S, Aydoğdu G, Dinçsoy AB, Taghidizaj AA, Derici K, Yılmaz E, Aras S, Cansaran-Duman D. Liken sekonder bileşiklerinin farklı insan kanser hücre tipleri üzerine antikanserojenik etkisi. Türk Hij Den Biyol Derg, 2013; 70(4): 215-226.

GİRİŞ

KANSER

Kanser; ortaya çıkışı, gelişimi ve sonucu bir hastadan diğer hastaya oldukça değişkenlik gösteren karmaşık bir hastalıktır. Kanser hastalığı, hücrelerin köklü metabolik ve davranışsal değişiklikler geçirdiği çok aşamalı bir süreçtir. Kanser hücreleri aşırı ve zamansız bir şekilde çoğalırlar ve sonuçta uzaktaki dokuları bile istila ederler (1). Birçok kanser sadece bir hücreden (ya da az sayıda hücreden) ortaya çıkmaktadır (2). Kanser, hücrenin büyümesi ve hücre mitozunu kontrol eden hücre genlerinin mutasyonu veya anormal aktivasyonu sonucunda ortaya çıkmaktadır (3).

Tüm kanser hücreleri iki ortak özelliği paylaşırlar;

1. Anormal hücre büyümesi ve bölünmesi (hücre çoğalması),
2. Hücrelerin vücudun diğer bölümlerine yayılması ve istilası (metastaz) engelleyen normal sınırlamalardaki anormallikler (4).

Normal hücre ile kanser hücresi arasında büyük farklılıklar bulunmaktadır. Kanser hücresi hücrenin normal büyüme sınırına uymaz. Bunun nedeni tahminen normal hücrelerin büyümesi için gerekli büyüme faktörlerine bu hücrelerin gereksinimlerinin olmamasıdır. Normal hücrelere göre kanser hücreleri birbirlerine çok daha az tutunurlar. Bu yüzden bu hücrelerin dokular arasında gezmeye eğilimleri vardır. Kan dolaşımına girerek bütün vücuda dağılırlar, sayısız yeni kanser odakları oluştururlar. Bazı kanserler anjiyogenik faktörleri üretirler. Bunlar kanser içinde büyüyen çok sayıda damarların oluşmasına neden olarak kanserin büyümesi için ihtiyaç duyulan besin maddelerini sağlarlar (3).

Neden Kanser Oluyoruz ?

Kanser hücrelerinde genler ya mutasyona uğrar ya da uygun olmayan şekilde ifade edilir. Mutasyon oluşma olasılığı belli bazı kimyasal maddelerle, fiziksel ve biyolojik faktörlerin etkisiyle birkaç misli artmaktadır. Bunlardan bazıları;

1. X-ışınları, gama ışınları, ultraviyole ışınları kansere zemin hazırlar. Bu ışınların etkisi altında doku hücrelerinde oluşan iyonlar yüksek derecede reaktif olduklarından, DNA zincirini kopararak birçok mutasyonun oluşmasına sebep olurlar.

2. Belli tipteki kimyasal maddelerin mutasyon yaratmaya büyük eğilimi vardır. Çeşitli anilin boya türevlerinin kansere neden oldukları çok uzun süre önce keşfedilmiştir.

3. Fiziksel olarak tahriş edici maddeler de kansere neden olmaktadır. Tahriş edici maddeye temas sonucu dokuda oluşan harabiyet hızlı bir mitotik çoğalma ile zamanla kanserli doku oluşturabilmektedir.

4. Birçok ailede kansere yakalanmaya karşı kalıtsal eğilim vardır. Kansere özellikle yatkın olan ailelerin kalıtsal genomlarında bir veya daha fazla mutasyona uğramış gen bulunmaktadır. Bu yüzden böyle şahıslarda kanser büyümeye başlamadan önce çok daha az sayıda ilave mutasyon olması kanseri başlatmak için yeterlidir.

5. Laboratuvar hayvanlarında lösemi dahil bazı kanser tiplerinin oluşmasına belli tipte virüslerin neden olduğu gösterilmiştir. Bu sonuçları iki yoldan açıklamak mümkündür: DNA virüsleri örneğinde, virüse ait olan DNA zinciri direkt olarak kromozomlardan birine yerleşir. Mutasyona sebep olarak kanseri oluşturur. RNA virüsleri örneğinde bu virüslerin bazıları bünyelerinde ters transkriptaz enzimi taşırlar. Bu enzim DNA' nın RNA' dan kopyalama yapmasına neden olur. Daha sonra kopyalanan gen hayvan hücre genomuna kendini yerleştirerek kanserin oluşmasına yol açar (3).

Kanser Oluşum Mekanizması

Kanser DNA dizisinde mutasyon denilen küçük değişiklikler olduğu zaman başlayabilir (5). Kanser tiplerinin bazı formlarının hücre döngüsünde düzenlenemeyen özellikte olmasından dolayı, gen mutasyonları hücre döngüsünü etkileyerek kanser

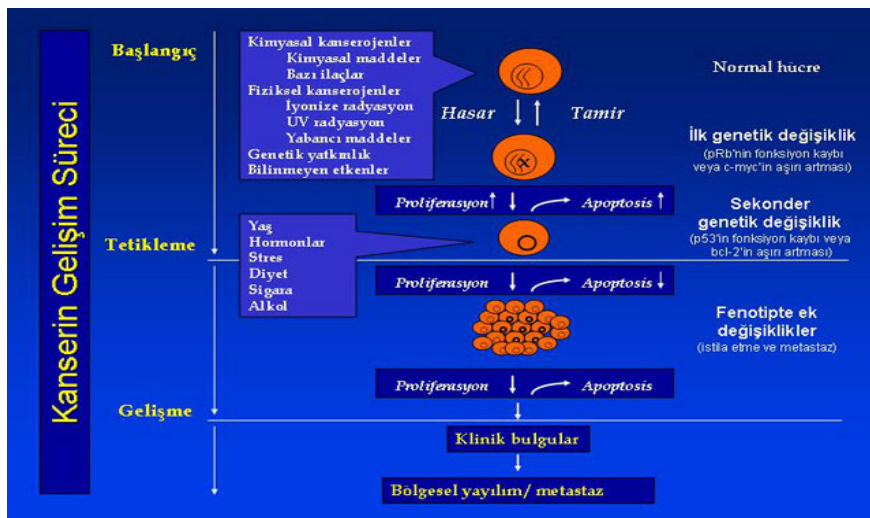
gelişmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Hücre döngüsünün kontrolünün kaybının sıklıkla gözleendiği yerlerden biri restriksiyon noktasıdır. Restriksiyon noktası, hücre döngüsünün G1 fazının sonlarında bulunan anahtar bir kontrol noktasıdır ve hücre bölünmeden önce DNA replikasyonunun yönlendirildiği yerdir. Bu kontrol noktasındaki hatalar önemli sonuçlar doğurur. İlk olarak, bu kontrol noktasının kontrolünün kaybı hücreyi anormal replikasyona yönlendirir. Bu kontrol noktası aynı zamanda kanser şekillenmesinde önemli olan iki yolağın bağlantı noktasıdır. pRb yolağı adını pRb tümör baskılayıcı proteinden almaktadır. pRb normalde hücrede fosforile değildir ve aktiftir. Aktif durumda pRb hücre bölünmesini önler. pRb proteini fosforlandığında (pRb) inaktif hale gelir ve hücre bölünmesine izin verir. pRb oluşumunu etkileyen mutasyonlar pRb inaktivasyonunu etkiler. Bu mutasyonu taşıyan hücreler fonksiyonel G1 restriksiyon noktasına sahip değildirler. G1'de kalmak ya da G0'a girmek için yetersizdirler, devamlı ve yetersiz replikasyon yaparlar. Diğer bir yolağı, c-Myc yolağıdır ve adını c-Myc proto-onkogeninden almaktadır. c-Myc yolağı hücre bir mitojen ile uyarıldığında aktiftir. c-Myc geninin ürünü bir transkripsiyon faktörüdür ve bu protein diğer genlerin ifade edilmesi için bir sinyal olarak işlev görmektedir. c-Myc bir proto-onkogen

olarak adlandırılmaktadır çünkü mutasyonlar c-Myc aktivitesini arttırarak hücre bölünmesinde artışa ve kansere neden olur (6).

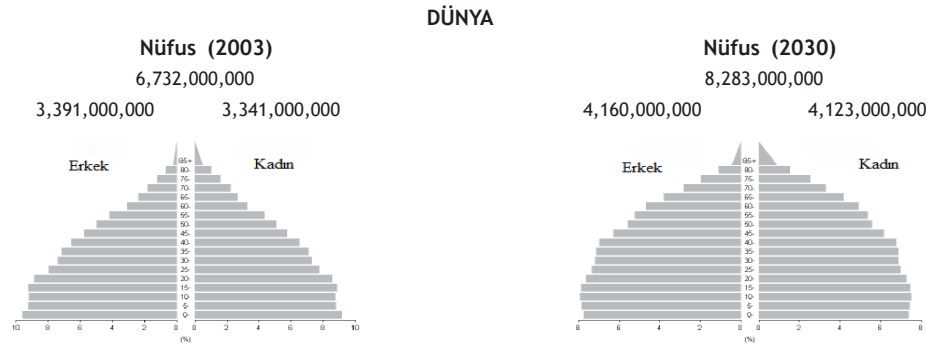
Apoptozis; gelişmiş organizmalarda hücreler arası ilişkilerin gereği olarak gereksinim duyulmayan ve fonksiyonları bozulan hücrelerin, çevreye zarar vermeden programlı ölümüdür (7). Apoptozis genetik olarak düzenlenir ve kanserli hücrelerde bozulabilir. DNA lezyonu saptandığında, p53 hücre siklusunu G1 fazında durdurur, böylece hücrenin S fazına girişini önler. Ardından, ya tamir mekanizması proteinlerini ya da apoptozise yol açan proteinleri indükler. Ayrıca Bcl-2 onkogeni ise apoptozisi inhibe eder (8). p53'ün fonksiyon kaybı veya Bcl-2'nin aşırı artması apoptozisi engeller ve kanser hücrelerinin proliferasyonu devam eder (Şekil 1).

Dünyadaki ve Ülkemizdeki Kanser Vakaları

Dünya nüfusunun süregelen artışı ve yaşlanması gelecekteki kanser yükünü büyük ölçüde etkileyecektir. Bu demografik değişimler (Şekil 2) göz önünde bulundurulduğunda ve kanser insidansı ile ölüm oranında yıllık %1'lik artış oranına göre hesap yapıldığında 2030'da yıllık 26,4 milyon yeni kanser vakasının ve 17,0 milyon kanser kaynaklı ölümün görülmesi beklenebilir (9).



Şekil 1. Kanser gelişim sürecinin şematik olarak gösterimi (8)



Şekil 2. 2003 ve 2030' da küresel popülasyonun cinsiyet ve yasa göre dağılım tahminleri (9)

Meme, akciğer, kolorektal, rahim ve deri kanserleri kadınlarda en sık görülen kanser türlerindedir. Özellikle meme kanseri kadınların, akciğer kanseride erkeklerin yaşamı üzerinde önemli risk oluşturmaktadır. Meme kanseri, kadınlarda görülen diğer kanser türlerinin yaklaşık %30'unu oluşturmaktadır (Şekil 3, 4) (10, 11).

Alternatif Kanser Tedavi Yöntemleri

Genel olarak bilinen kanser tedavileri dört yolla yapılır:

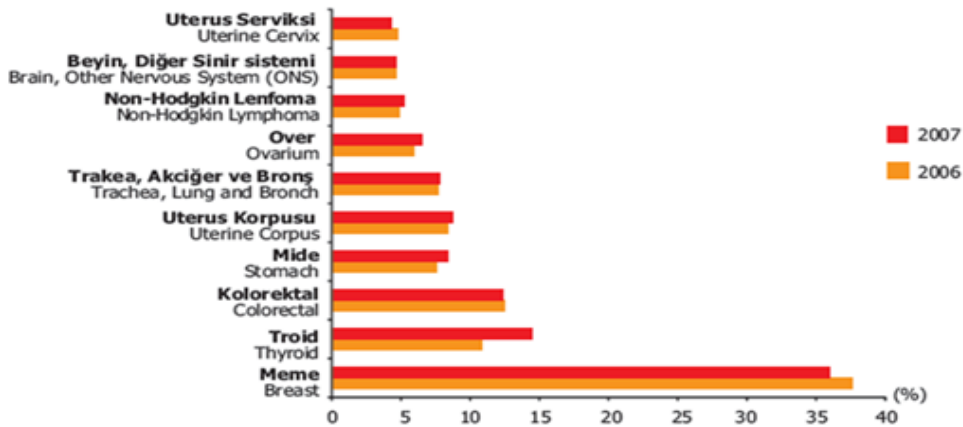
- **Cerrahi:** Kanserli dokuyu ve çevresindeki invazyon riski taşıyan bir miktar sağlıklı dokuyu alıp çıkartmak. Bazı durumlarda kanserli dokuyu cerrahi müdahale ile çıkartmak imkânsız olabilir. Bu durumda radyoterapi veya kemoterapi uygulanır.

- **Radyoterapi:** Uygun dozda ışın uygulayarak kanser hücrelerinin öldürülmesidir.

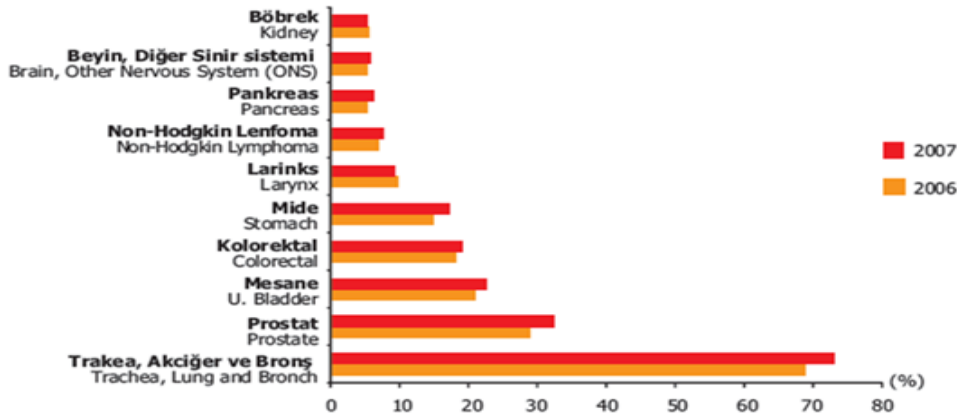
- **Kemoterapi:** Kanser hücrelerini öldürmek üzere ilaçlar kullanılmasıdır.

- **Alternatif Tıp:** Bağışıklık sistemine güç vermeyi, asıl tedaviye destek olmayı amaçlayan ancak marjinalliğe açık olması nedeniyle, güvenilirliği ve etkinliği kontrollü deneylerle ispatlanmamış ön-tıbbi yöntemlerdir (12, 13).

Kemoterapide uygulanan antikanser etkili ilaçların etki mekanizmaları kesin olarak bilinmemekte ancak güçlü antiproliferatif etkiye sahip oldukları belirtilmektedir (14-16). Kullanılan bu ilaçlar kanser hücresi üzerine toksik etki gösterirken, aynı zamanda sağlıklı hücreler üzerine



Şekil 3. 2006 - 2007 yıllarında Türkiye de kadınlarda en sık görülen 10 kanser türünün insidansı (100.000 nüfusta) (12)



Şekil 4. 2006 - 2007 yıllarında Türkiye de erkeklerde en sık görülen 10 kanser türünün insidansı (100.000 nüfusta) (12)

de toksik etki göstermekte ve etkilenen sağlıklı hücrelerin bulunduğu organların tahrip olmasına neden olmaktadır. Antikanser ilaçların istenmeyen bu yan etkileri ölüm ile sonuçlanabilmektedir. Bunun yanı sıra, yapılan çalışmalarda kanser kemoterapisi uygulanan hastalarda tedavide kullanılan antikanser ilaçlara karşı direnç oluştuğu belirlenmiştir. Yapılan bir çalışmada kemoterapi kanserli hastaların %80'ini iyileştirebilmekte, ancak %20'lik bölümdeki hastaların kanser hücreleri kemoterapötik ilaçlara karşı direnç geliştirmekte ya da ölümcül toksisite oluşturmaktadır olduğu tespit edilmiştir (17). Bu nedenlerden dolayı günümüzde kanser tedavisinde uygulanan temel yöntemler ve kullanılan ilaçların yetersiz olduğu düşünülmektedir.

Bitki Ekstrelerinin Kullanımı

Avrupa ülkeleri başta olmak üzere dünyanın birçok ülkesinde bitki ekstreleri kullanılarak farklı kanser hücrelerine karşı etkisi ile ilgili çalışmalar yoğun şekilde yürütülmektedir (6, 18-21). Tıbbi bitkilerin ekstraktlarının antikanser aktivitelerinin araştırılması konusunda günümüzde birçok çalışma yapılmıştır (22-24). Bu alanda yapılan çalışmalarda, *Lampetra tridentata* (gürçalılık) (Creosote Bush) ve *Juniperus communis* L. (Juniper Berry) (ardıç) gibi bitkiler meme kanseri hücreleri (MCF-7) üzerinde antikanser etkinliği araştırılmıştır. Araştırma sonuçları,

L. tridentata ve *J. communis* L. bitki ekstraktlarının meme kanser hücrelerinin çoğalmalarını önemli ölçüde yavaşlattığını ortaya koymuştur. Meme kanseri üzerinde etkinliği araştırılan ilaçlar olmasına rağmen şu ana kadar tedavide %100 etkili sentetik veya bitkisel ilaç bulunmamaktadır (25-27). Afaq ve ark. (2004), *Nerium oleander* yapraklarından elde edilen oleandrinin anti-inflammatuar ve tümör hücrelerinin büyümesi üzerine etkilerini araştırmışlardır. Araştırma sonuçlarına göre oleandrinin antitümör etkisini bulmuşlardır (28). Sreenivasan ve ark. (2006), yapmış oldukları çalışmada, bazı tümör hücrelerinde oleandrinin etkisini araştırmışlardır. Araştırmalarının sonuçlarında oleandrinin tümör hücrelerinde apoptoza neden olduğu belirlenmiştir (29). Smith ve ark. (2001), *N. oleander*'in bir ekstraktı olan anvirzel üzerine çalışmışlardır. Çalışma sonucunda, anvirzel ve oleandrinin; prostat kanser hücre serilerinde, antitümör aktivitelerinin, kanser tedavilerine katkı sağlayabileceğini belirlemişlerdir (30). Erdemoğlu ve ark. (2003), *Nerium oleander*'in kuru ve taze yaprakları ile *Rhododendron ponticum* bitkisinin yapraklarının, farede karrajene karşı güçlü bir anti-inflammatuar etki gösterdiğini bulmuşlardır (31). Sreenivasan ve ark. (2003), yapmış oldukları çalışmalarının sonucunda oleandrinin primer hücrelerde etkili olmadığını bulmuşlardır (32). Mc Conkey ve ark. (2000), anvirzelin insan tümör hücrelerinde etkili olduğunu klinik

çalışmaları sonucu belirlemişlerdir. Bu etkilerin *N. oleander*'in antitümör aktivitesinden kaynaklandığını söylemişler ve oleandrinin anvizelden 50 kat daha fazla etkili olduğunu belirtmişlerdir (33).

Günümüze kadar yapılan çalışmalar incelendiğinde, *N. oleander* ekstraları ve antikanser ilaç olan vepesidin toksik ve antikanserojenik etkileri üzerine özellikle MCF-7 hücre kültüründe yapılan pek fazla bir çalışmaya rastlanmamıştır. Gelişmiş ülkelerde gerek destek, gerek alternatif olarak bitkisel ilaçların kullanımı büyük bir hızla yayılmaktadır. Türkiye ve Asya tıbbında hastalıkların tedavisinde tek başına ya da karışık bitkiler kullanılmaktadır. Bitkisel tedavi kombinasyonları geleneksel Türk tıbbının da bir parçası olarak kullanılmıştır. Bazı insanlar bitkisel tedavilerin “doğal” ve “güvenli” olduğunu düşünmektedir (34, 35). Böylece tüketiciler bitkisel ilaçları, doktor reçetesi ile alınan ilaçlara destek olsun diye ilaveten veya alternatif olarak kendi istekleri ile kullanmaktadır. *Stachys* türlerinin fitokimyasal araştırılması sonucunda *Stachys* türlerinde flavonoid, diterpen, fenil etanoid glikozitleri ve saponinlerin varlığı belirlenmiştir (36-41). Bazı *Stachys* cinslerinin ekstraları üzerine yapılan çalışmalarda pek çoğunun iltihap önleyici, romatizma ve astım hastalıkları anti-inflammatory, antinephritic, hiyaluronik aktivite gibi çeşitli biyolojik aktivite gösterdikleri yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (42-45).

LİKENLER

Likenler; mantarların alglerle bir araya gelerek meydana getirdikleri morfolojik ve fizyolojik birlikler olarak tanımlanmaktadır. Likenler, mikobiyont olarak adlandırılan bir mantar ile fotobiyont bir fotosentetik yeşil alg ve/veya siyanobakterinin oluşturduğu kararlı ve sürekli ototrofik mutualistik birliklerdir. Liken birliklerinde mantar algi hayatta kalmak, büyümek ve üremek için gerekli olan karbon kaynağı olarak kullanır. Alg ise fotosentez için gereken mineral ve suyu mantardan almasının yanında, yüksek sıcaklık, zararlı ışınlar, yüksek nem gibi olumsuz koşullara karşı mantar tarafından korunur (46-48). Liken

oluşturan mantar bu birliktelikten daha fazla fayda sağlar. Alg ise serbest yaşayan formlarına göre daha zayıf gelişir. Bu nedenle günümüzde, liken birliğinin mutualizmden çok kontrollü parazitizm örneği olduğu kabul edilmektedir (46, 49).

Likenler çok eskiden beri pek çok ülkede tıbbi amaçlarla geleneksel ilaç olarak kullanılmıştır (50). Bilimsel anlamda likenlerle ilgili bilgilere ilk kez 15. yüzyılda rastlanılmakta (51) ve Avrupa ülkelerinde de 16. yüzyıldan itibaren çeşitli hastalıkların tedavisinde dekoksasyon (demleme) veya infüzyon şeklinde kullanıldığına dair birçok kanıt bulunmaktadır (52, 53). Örneğin, halk arasında ciğer likeni olarak bilinen *Lobaria pulmonaria* (L.) Hoffm. likeninin ortaçağda Avrupalılar tarafından akciğer hastalıklarının tedavisinde ve yine Kolombiya'da yaşayan Hesquiati halkı tarafından verem hastalığının tedavisinde kullanıldığına dair kayıtlar vardır (54). Likenlerin bu tedavi edici etkisi, onların stistik asit, giroforik asit ve norstistik asit gibi sekonder metabolitlerine atfedilmekte (55) ve günümüzde de bu metabolitlerin kullanılması ile artrit, egzema, solunum ve dolaşım yolu hastalıkları tedavi edilebilmektedir (56, 57). Ayrıca mekanizması üzerinde hala bilinmeyen noktaların bulunduğu yaşlanmanın da, likenlere ait sekonder metabolitler ile belli ölçülerde ertelenebileceği düşünülmektedir. Çeşitli organizmalarda, oksidanların vücut sistemlerindeki hasarı, yaşla birlikte artmakta ancak antioksidanlar tarafından bu hasar önlenmektedir (58, 59).

Liken Sekonder Metabolitleri

Fungus ve alglerin simbiyotik birlikteliğinin ürünü olan likenler, 'liken maddeleri' adı verilen ve pek çoğu likenlere özgü olan çeşitli metabolitler sentezlemektedirler (60). Yapılan araştırmalar sonucunda yapısı bilinen liken maddelerinin sayısı 1.000'e ulaşmıştır (61). Liken maddeleri aminoasit türevleri, şeker alkoller, alifatik asitler, γ , δ - ve makrosiklik laktonlar, monosiklik aromatik bileşikler, kinonlar, kromonlar, ksantonlar, dibenzofuranlar, depsidler, depsidonlar, depsonlar, terpenoidler,

steroidler ve karotenoidler gibi bileşikler içinde yer alırlar (61). Tipik liken maddeleri kristal yapıda mikroskobik ürünler olup, liken yapısında önemli ölçüde sabit ve kalıcıdır (62). Mantarlar liken içinde bu maddelerden bazılarını büyük miktarlarda, çoğunlukla toplam ağırlığın %5'ine kadar, üretebilmelerine rağmen tallustaki algden ayrı gelişen izole edilmiş mantarlar bu maddeleri az miktarda üretebilir (63, 64). Tallus korteksinde bulunan usnik asit, atranorin ile ksantonlar ve pulvinik asit türevleri gibi pigmentler hem liken tallusunda bulunan ışığa duyarlı algleri yoğun ışıktan korurlar hem de hoş olmayan tatları ile tallusun omurgasız hayvanlar tarafından yenilmesine engel olurlar.

Liken maddeleri metabolik orijinlerine göre primer metabolitler (intraselüler) ve sekonder metabolitler (ekstraselüler) olmak üzere iki ana gruba ayrılır. Likenlerde bulunan organik bileşiklerin büyük bir bölümü, mantar hücresi içinde veya hiflerin yüzeyinde depolanan sekonder metabolitlerdir (ekstraselüler). Bu bileşikler genelde suda çözünmez sadece organik çözücülerle ekstre edilirler (46). Liken maddeleri metabolik orijinleri dışında biyosentez yollarına göre de dört grup altında incelenebilir (46):

1. Poliketit yol ya da Asetil - Polimalonat yolu
2. Mevalonik Asit yolu
3. Şikimik Asit yolu
4. Fikobiyontların fotosentetik ürünleri

Mutualizmin en güzel örneklerinden olan likenler;

1. Likenler oldukça yavaş büyüyen organizmalar oldukları için basit yapılı ve yüksek organizasyonlu bitkilere karşı korunmaları gerekmektedir. Liken maddeleri aktif koruyucu ve antibiyotik özellikteki maddelerdir. Antibiyotik özellikteki maddeler toprak funguslarının gelişimini, hatta vasküler bitki tohumlarının çimlenmesini inhibe eder. Bu özellikler likenlere doğada diğer bitkilerle rekabet edebilme şansı kazandırır.

2. Aromatik liken maddeleri UV ışığını güçlü bir şekilde absorbe ederek çok yoğun ısıya karşı algleri korur.

3. Liken maddeleri, fikobiyontların hücre duvarının geçirgenliğini etkileyerek simbiyotik ilişkide önemli rol oynar.

4. Bazı liken maddeleri (Örneğin; Norstiktik, İzo-Usnik ve Usnik asitler) metallerle (Örneğin; K, Cu, Fe) kompleks oluşturur ve tallusun substrattan mineral sağlamasına yardım eder.

5. Liken maddeleri, böcekler, yılanlar ve nematodlar gibi bazı hayvanlar için zehirleyici özellik taşıdığından tallusun bu hayvanlar tarafından yenilmesini engeller.

6. Birçok liken ekolojik dağılımları nedeniyle sıcaklık, nem ve ışık faktörleri bakımından ekstrem şartlar altında büyümek zorundadır. Bu durumdaki likenlerde sentezlenen ve stres metabolitleri olarak adlandırılan bu maddeler ekstrem değişimlere karşı likenin adaptasyonunu sağlarlar.

7. Medulladan salgılanan liken maddeleri hidrofobik özellikte olup medullanın suya karşı doygunluğunu önler ve tallusun atmosfer ile devamlı gaz değişimine izin verir. Medulla hiflerinin suda çözünmeyen kristal materyalle çevrilmesi suyun aktarımına ve liken tallusunda fotosentezde gerekli olan gaz değişimi için hava boşluklarının kalmasına yardım eder (60-63). Yukarıdaki sıralanan nedenlerle likenlerin birçok metabolit üretme nedenidir.

Sekonder metabolitler; antiviral, antibakteriyel, antifungal, antiprotozoal, antiherbivore, mütajen, antioksidan, antitümör, antiülserojenik, antinosiseptif, ateş düşürücü ve anti-inflamatuvar faaliyetleri gibi önemli biyolojik etkilere sahiptirler (65).

Liken Sekonder Metabolitleri ve Kanser Çalışmaları

Bütün dünyada olduğu gibi Türkiye'de de tıbbi açıdan önemli, farmasötik özelliği olan bitkiler halk arasında yüzyıllardan beri hastalıkların tedavisinde kullanılmıştır. Bitkilerin yanında likenler de bu amaçla kullanılmaktadır. Liken sekonder metabolitlerinden en fazla çalışılan usnik asittir. Usnik asit [2,6-diasetil-

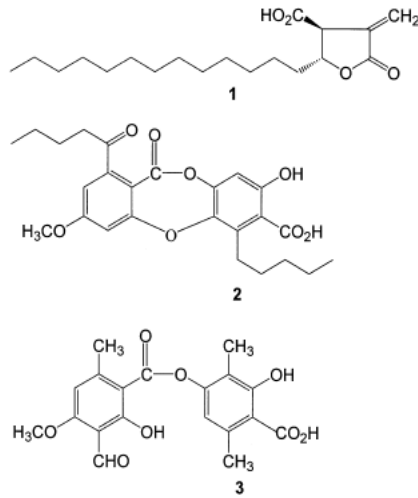
7,9-dihidroksi-8,9b-dimetil-1,3(2H9bH)-dibenzo-furandion] 1844'de ilk izolasyonundan bu yana en yoğun çalışılan ve ticari olarak üretilen liken metaboliti olmuştur (65). Saf usnik asit krem, diş macunu, deodorant, güneş koruma ürünlerinde aktif bileşen veya koruyucu madde olarak ilaç, parfümeri ve kozmetik endüstrisinde kullanılmaktadır. Bunun yanı sıra liken metabolitlerinin özellikle gram-pozitif bakterilere ve bazı funguslara antagonist aktivite gösterdiği bildirilmiştir (64-68). Lewis akciğer karsinomu, fare P388 lösemi ve birçok diğer kanser tipine karşı etkili olduğu bulunmuştur (72, 73).

Kanser hücrelerinde apoptosizi başlatmaktadır, ayrıca antimitotik etki göstermektedir. Usnik asit toksisitesinin mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Diğer liken metabolitleri, kanser hücrelerine karşı antiproliferatif etkileri test edilmesine rağmen elde edilen mevcut veriler oldukça azdır (74). Backorova ve ark. (2011) yaptığı çalışmada atranorin ve gyrophorik asidin usnik asit kadar olmasa da yüksek etkili oldukları ve sitotoksik etki gösterdikleri bulunmuştur. Ayrıca parietin sekonder metabolitinde sitostatik etkiye sahip olduğu bulunmuştur. Bu çalışmada A2780 (insan yumurtalık kanseri), HeLa (insan serviks adenokarsinoma), MCF-7 (insan meme adenokarsinoma), SK-BR-3 (insan meme adenokarsinoma), HT-29 (insan kolon adenokarsinoma), HCT-116 p53+/+, HCT-116 p53/ (insan kolon kanseri), HL-60 (insan promyelotik leukaemia) and Jurkat (insan T-hücre leukaemia) kanser hücre hatlarına karşı atranorin, gyrophorik asit, parietin ve usnik asit sekonder metabolitlerinin etkisini araştırmışlardır. Atranorinin 50 µM konsantrasyonunun 24 saatlik uygulamadan sonra HL-60 (insan promyelotik leukaemia) hücrelerine etkili olduğu bulunmuştur. Bu konsantrasyona diğer hücre hatları direnç göstermektedir. Bu konsantrasyondan daha yüksek atranorin seviyesinde ise HeLa (insan serviks adenokarsinoma) hücre hattı hariç diğer yedi hücre hattına sitotoksik etki gösterdiği belirtilmiştir. Usnik asit sekonder metaboliti en etkili metabolittir. 50 µM konsantrasyonda bile (HeLa

hücreleri ve HCT-116 p53+/+ hücreleri hariç) diğer tüm hücre hattına etki etmiştir. Usnik asidin yüksek konsantrasyonlarının hücreler üzerinde daha etkili olduğu görülmüştür. Gyrophorik asidin ise düşük konsantrasyonlarda etkisiz olduğu görülmüştür. 100 µM konsantrasyonda 24 saat inkübasyondan sonra HL-60 (insan promyelotik leukaemia) hücrelerine güçlü etki göstermiştir. Özellikle A2780 (insan yumurtalık kanseri), HL-60 (insan promyelotik leukaemia) ve Jurkat (insan T-hücre leukaemia) hücrelerine karşı etkili olduğu bulunmuştur (74).

Zeytinoglu ve ark. (2008), *Cetraria aculeata* likeninin ekstratının HeLa (insan serviks adenokarsinoma), 5RP7 (kanserli sıçan embriyo fibroblast hücre hattı) ve A549 (kanserli insan alveolar bazal epitel hücre hattı) kanser hücrelerine zayıf sitotoksik etki gösterdiğini bulmuşlardır (75). Haraldsdottir ve ark. (2004), protolichesterinic asit, lobarik asit ve baeomycesic asidin antiproliferatif etkisini 12 farklı insan kanser hücre hattında test etmişlerdir (Şekil 5) (75).

Bu üç liken metabolitinin in vitro ortamda önemli bir 5-lipoxygenase (LOX) inhibitörü olduğu önceden bilinmektedir. LOC yolları kasinogenesisde sorumludur. 5- ve 12- LOX hücre büyümesinde önemli ve prostat kanseri, pankreas kanseri, akciğer kanseri ve meme kanserinin de içinde olduğu çeşitli kanserlerin hayatta kalmasında önemli olduğu bulunmuştur. Meme kanser hücre hattı ve Capan-1 (pankreas kanser hücre hattı) hücrelerinin protolichesterinic asit ve lobarik aside daha hassas olduğu bulunmuştur. 5-LOX inhibisyonu protolichesterinic asitte lobarik asit ve baeomycesic aside göre daha yüksektir. Protolichesterinic asit ve lobarik asit 5- ve 12- LOX çeşitli kanser hücre hatlarına karşı önemli antiproliferatif etki gösterirken, baeomycesic asit 5- LOX' a daha az etkili olduğu bulunmuştur. Bu çalışma 5- ve 12- LOX inhibitörü olan protolichesterinic asit ve lobarik asidin birçok dokudaki kanser hücrelerine antiproliferatif etkisini doğrulamıştır (76).



- Acute promyelocytic leukemia (HL-60)
- Colorectal adenocarcinoma (WiDr)
- Erythro-leukemia (K-562)
- Gastric adenocarcinoma (AGS)
- Mammary carcinoma (T47-D)
- Ovarian adenocarcinoma (NIH:OVCA-3)
- Pancreas cancer (Capan-1)
- Pancreas cancer (Capan-2)
- Pancreas cancer (PANC-1)
- Prostatic adenocarcinoma (PC-3)
- Small cell lung cancer (NCI-H1417)
- T-cell leukemia (JURKAT)

Şekil 5. Protolichesterinic asit (1), lobarik asit (2), baeomycesic asit (3) ve insan kanser hücre hatları (57)

Einarsdottir ve ark. (2010), + ve - usnik asit metabolitinin meme kanseri (T-47D) ve pankreas kanseri (Capan-2) hücre hattına etkisini test etmişlerdir. Bu çalışma ile usnik asidin iki enantiyomerinde benzer antiproliferatif etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (77).

SONUÇ

Bu araştırmaların amacı en az toksisite ile daha etkin bir tedavi Yöntemi sağlamaktır. Bu amaç doğrultusunda son zamanlarda yapılan çalışmalarda çeşitli kanser tiplerine karşı sentetik, bitkisel ve fungus kaynaklı ilaçların antikanser etkileri araştırılmaya

başlanmıştır. Özellikle son yıllarda bitki ve fungus kaynaklı elde edilen ekstraktlar ile yapılan çalışmalar sonucunda ümit verici çıktılar ortaya konmaktadır. Yapılan literatür araştırmasında likenlerin antikanserojen etkileri ile ilgili gerçekleştirilmiş çalışmaları ülkemizde ve dünya literatüründe 2011 yılından itibaren yer almaya başlamıştır. Fakat gerçekleştirilen çalışmalarda sınırlı sayıda liken sekonder metaboliti kullanılmış ve sadece birkaç tipte kanser hücrelerine etkisi gözlemlenmiştir. Liken sekonder metabolitlerinin antikanserojen etkisinin tespiti ile farklı kanser tiplerinde umut verici ilaç aday moleküllerinin bulunması hedeflenmektedir.

KAYNAKLAR

1. Merlo LM, Pepper JW, Reid BJ, Carlo C. Maley Cancer as an evolutionary and ecological process. *Nat Rev Cancer*, 2006; 6: 924-35.
2. Nowell PC. The clonal evolution of tumor cell populations. *Science*, 1976; 194: 23-8.
3. Guyton AC, Hall JE. Protein sentezi, hücre fonksiyonu ve hücre çoğalmasının genetik kontrolü. In: Çavuşcuoğlu H, eds. *Tıbbi Fizyoloji*. 10th ed. Ankara: Nobel Tıp Kitapevleri Ltd Şti, 2001: 24-37.

4. Klug WS, Cummings MR, Spencer CA. Hücre döngüsünün düzenlenmesi ve kanser. In: Öner C, Sümer S, Öner R, Ögüş A, Açık L. Genetik Kavramlar. 8th ed. Ankara: Palme Yayıncılık, 2011: 434-56.
5. Herceg Z and Hainaut P. Genetic and epigenetic alterations as biomarkers for cancer detection, diagnosis and prognosis. *Mol Oncol*, 2007; 1: 26-41.
6. Anonim. Kanser Biyolojisini Anlamak. <http://www.stoma-seite.de/SiklusApoptozisKanser.pdf> (Erişim tarihi : 17.07.2013)
7. Öktem S, Özhan MH, Özol D. Apoptozisin Önemi. *Toraks Derg*, 2001; 2(1): 91-5.
8. Lowitz BB, Casciato DA. *Manual of Clinical Oncology*. Lippincott, Williams and Wilkins, 2000.
9. World Health Organization. *World Cancer Report*. 2008.
10. Anonim. Kanser nedir? www.cancervic.org.au/cancer1/multilingualInformation/pdfs/turkish/CancerWhatIs.pdf (Erişim tarihi : 17.07.2013)
11. Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK). *Türkiye İstatistik Yıllığı*. 2011.
12. Anonim. Sağlıklı Bilgiler-30: Meme Kanseri, www.mesahastanesi.com.tr (Erişim tarihi : 17.07.2013)
13. Anonim. Kanser, <http://tr.wikipedia.org/wiki/Kanser> (Erişim tarihi : 17.07.2013)
14. Mork CN, Faller DV, Spanjaard RA. Loss of putative tumor suppressor EI24/PIG8 confers resistance to etoposide. *FEBS Letters*, 2007; 581:5440-4.
15. Vetoshkina TV, Dubskaya TY, Fomina TI, Ermolaeva LA, Goldberg VE. Toxic effect of vepesid on morphology and function of the rat liver. *Bull Exp Biol Med*, 2007; 143: 21-3.
16. Borovskaya TG, Goldberg VE, Shchemerova YA, Perova AV, Timina EA, Pakhomova AV. Evaluation of the progeny of rats treated with topoisomerase II inhibitor vepesid. *Bull Exp Biol Med*, 2006; 141(5): 515-8.
17. Korkmaz S. Paklitaksel, Kersetin ve Berberinin, A549, HeLa, HT-29, MCF-7 ve NIH3T3 Hücre Kültürlerinde Sitotoksik Etkilerinin Değerlendirilmesi. *Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi*, 2002.
18. Turan N. *Nerium oleander* Bitkisinin, Kök, Yaprak ve Gövde Ekstrelerinin Lösemi Hücrelerine Sitotoksik Etkileri, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 2003.
19. Lee K. Anticancer drug design based on plant-derived natural products, *J Biomed Sci*, 1999; 6: 236-50.
20. El-Shazly MM, El-Zayat EM, Hermersdörfer H. Insecticidal activity, mammalian cytotoxicity and mutagenicity of an ethanolic extract from *Nerium oleander* (Apocynaceae), *Ann Appl Biol*, 2000; 136: 153-57.
21. Zhao Q, Li B, Weber N, Lou Y, Proksch P. Estrogen-like effects of ethanol extracts from several Chinese legumes on MCF-7 cell. *Europ Food Res Tech*, 2005; 221: 828-33.
22. Stagos D, Gregorios DA, Antonios M, Spyrou A, Tsatsakis AM, Kouretas D. Chemoprevention of liver cancer by plant polyphenols. *Food Chem Toxicol*, 2012; 50(6): 2155-70.
23. Kitdamrongtham W, Manosroi A, Akazawa H, Gidado A, Stienrut P, Manosroi W et al. Potent anti-cervical cancer activity: Synergistic effects of Thai medicinal plant in recipe N040 selected from the MANOSROI III database. *J Ethnopharm*, 2013; 149(1): 288-96.
24. Ziech D, Anestopoulos I, Hanafi R, Voulgaridou GP, Franco R, Georgakilas AG et al. Pleiotrophic effects of natural products in ROS-induced carcinogenesis: The role of plant-derived natural products in oral cancer chemoprevention. *Cancer Lett*, 2012; 327(1-2): 16-25.
25. Hostanska K, Nisslein T, Freudenstein J, Reichling J, Saller R. *Cimicifuga racemosa* extract inhibits proliferation of estrogen receptor- positive and negative human breast carcinoma cell lines by induction of apoptosis. *Breast Cancer Res Treat*, 2004; 84: 151-60.
26. Einbond LS, Shimizu M, Xiao D, Nuntanakorn P, Lim JTE, Suzui M, et. al. Growth inhibitory activity of extracts and purified components of black cohosh on human breast cancer cells. *Breast Cancer Res Treat*, 2004; 83: 221-31.
27. Sharma G, Tyagi KA, Singh RP, Chan DCF, Agarwall R. Synergistic anticancer effects of grape seed extract and conventional cytotoxic agent doxorubicin against human breast cancer cells. *Breast Cancer Res Treat*, 2004; 85: 1-12.
28. Afag F, Saleem M, Aziz MH, Mukhtar H. Inhibition of 12 otetradecanoylphorbol- 13-acetate-induced tumor promotion markers in CD-1 mouse skin by olenadrin. *Toxicol App Pharmacol*, 2004; 195: 361-69.

29. Sreenivasan Y, Rafhavendra PB, Manna SK. Oleandrin- Mediated expression of fas potentiates apoptosis in tumor cells. *J Clin Immun*, 2006; 26 (4): 308-10.
30. Smith JA, Madden T, Vijjswarapu M, Newman RA. Inhibition of export of fibroblast growth factor 2 (FGF-2) from the prostate cancer cell lines PC3 and DU145 by anvirzel and its cardiac glycoside component, oleandrin. *Biochem Pharmacol*, 2001; 62: 469-72.
31. Erdemoğlu N, Küpeli E, Yeşilada E. Antiinflammatory and antinociceptive activity assessment of plants used as remedy in Turkish folk medicine. *J Ethnopharm*, 2003; 89: 123-9.
32. Sreenivasan Y, Sarkar A, Manna SK. Oleandrin suppresses activation of nuclear transcription factor-kB and activator protein 1 and potentiates apoptosis induced by ceramide. *Biochem Pharmacol*, 2003; 66: 2223-39.
33. Mc Conkey DJ, Lin Y, Nutt LK, Ozel HZ, Newman RA. Cardiac glycosides stimulate Ca²⁺ increases and apoptosis in androgen independent, Metastatic human prostate adenocarcinoma cells. *Cancer Res*, 2000; 60 (14): 3807-12.
34. Gozum S, Tezel A, Koc M. Complementary alternative treatments used by patients with cancer in eastern Turkey. *Cancer Nurs*, 2003; 26: 230-6.
35. World Health Organization Geneva. WHO 2002-2005. Traditional Medicine Strategy. 29-74.
36. El-Ansari M.A.El, Nawwar MA, Saleh NA. Stachysetin, adiapigenine-7- glucoside-p-dihydroxy-truxinate from *Stachys Aegyptiaca*. *Phytochem*, 1995; 40: 1543-8.
37. Paternostro MP, Maggio AM, Piozzi F, Servettaz O. Labdane diterpenes from *Stachys plumosa*. *J Nat Produc*, 2000; 63: 1166-7.
38. Fazio C, Passannanti S, Paternostro MP, Arnold NA. Diterpenoids from *Stachys mucronata*. *Planta Med*, 1994; 60: 499.
39. Nishimura H, Sasaki H, Inagaki N, Chin M, Mitsuhashi H. Nine phenethyl alcohol glycosides from *Stachys seiboldii*. *Phytochem*, 1991; 30: 965-9.
40. Miyase T, Yamamoto R, Ueno, A. Phenyl ethanoid glycosides from *Stachys officinalis*. *Phytochem*, 1996; 43: 475-9.
41. Yamamoto R, Miyase T, Ueno A. Stachys saponins I-VIII, new oleananetype triterpene saponins from *Stachys riederi* Chamisso. *Chem Pharmacol Bull*, 1994; 42: 1291-6.
42. Hayashi K, Nagamatsu T, Ito M, Hattori T, Suzuki Y. Acotoside, a component of *Stachys sieboldii* MIQ, may be a promising antinephritic agent. Effects of acetoside on crescentic-type anti-GBM nephritis in rats. *Japan J Pharmacol*, 1994; 65: 143-51.
43. Skaltsa HD, Bermejo P, Lazari DM, Silvan AM, Skaltsounis AL, Sanz A et. al. Inhibition of prostaglandin E2 and leukotriene C4 in Mouse peritoneal macrophages and thromboxan B2 production in human platelets by flavonoids from *Stachys chrysantha* and *Stachys Candida*. *Bio Pharmacol Bull*, 2000; 23: 47 -53.
44. Maleki N, Garjani A, Nazemiyah H, Nilfouroushan N, Eftekhar Sadat AT, Allameh Z et. al. Potent anti-inflammatory activities of hydroalcoholic extract from aerial parts of *Stachys inflata* on rats. *J Ethnopharmacol*, 2001; 75: 213-8.
45. Takeda H, Ikeda Y. A model for the origin of basaltic achondrites based on the Ysmysyo 7308 howardite. *J Geophys Res Supp*, 1995; 90: 649-3.
46. Nash III TH. Lichen Biology, Cambridge: Cambridge University Press, 1996.
47. Dobson FS. Lichens: An Illustrated Guide to the British and Irish Species. England: The Richmond Publishing, 2000.
48. Dayan FE, Romagni JG. Lichens As a Potential Source of Pesticides. *Pesticide Outlook*, 2001; 12: 229-32.
49. Ahmadjian V. The Lichen Symbiosis. New York: John Wiley and Sons, 1993.
50. Shibata S, Ukita T, Tamura T, Miura Y. Relation between chemical constitutions and antibacterial effects of usnic acid and derivatives. *Jap Med J*, 1948; 1: 152-55.
51. Jahns HM. Collins guide to ferns, mosses and lichens of Britain and Northern and Central Europe. *Nordic J Bot*, 1984; 4: 260.
52. Toroğlu S, Çenet M. Tedavi amaçlı kullanılan bazı bitkilerin kullanım alanları ve antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi için kullanılan metodlar. *KSU J Sci Eng*, 2006; 9(2): 12- 20.
53. Schindler H. Zur Geschichte der Anwendung von Flechten (Lichenes) in der Medizin. *Carolinea*, 1988; 4631- 46.

54. Zeybek U, John V. Likenler, kimyasal bileşikleri ve tıbbi kullanımları. Pharmacia-JTPA, 1992; 32(1): 37- 48.
55. Asahina Y. Lichenologische Notizen. J Jap Bot, 1967; 42: 289-94.
56. Biswas K. Common medicinal plants of Darjeeling and the Sikkim-Himalayas, Sony Reprints Agency, New Delhi, 1956; 90.
57. Huneck S, Yoshimura I. Identification of lichen substances. Berlin; Springer, 1996; 304- 49.
58. Cook NC, Saman S, Flavonoids- Chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. J Nutr Biochem, 1996; 7: 66- 76.
59. Uysal H, Altun D, Aslan A. *Drosophila melanogaster*'de *Lobaria pulmonaria* (L.) Hoffm. Likenin ömür uzunluğu üzerine etkisi. TÜBAV Bilim, 2009; 2(3): 271-76.
60. Huneck S. The significance of lichens and their metabolites. Naturwissenschaften, 1999; 86: 559-70.
61. Miao V, Legal MFC, Brown D, Sinnemann S, Donaldson G, Davies J. Genetic approaches to harvesting lichen products. Trends in Biotechnol, 2001; 19: 349-355.
62. Oran S. Liken Maddeleri (I). Liken maddelerinin liken yaşamındaki önemi. TLT Bülteni 2006; 3: 8-11.
63. Brodo IM, Sharnoff SD, and Sharnoff S. Lichens of North America. London: Yale University Press, 2001.
64. Culberson WL. Chemosystematics and ecology of lichens-forming fungi. Ann Rev Ecol Sys, 1970; 1: 153-70.
65. Mitrović T, Stamenković S, Cvetković V, Tošić S, Stanković M, Radojević I et al. Antioxidant, antimicrobial and antiproliferative activities of five lichen species. Int J Mol Sci 2011; 12: 5428-48.
66. Knop W. Chemisch-physiologische Untersuchung über die Flechten. Ann Chem Pharm, 1844; 49:103-24.
67. Ahmadjian V, Hale ME. The Lichens. London: Academic Pres, 1973.
68. Manojlovic NT, Solujic S, Sukdolak S. Antimicrobial activity of an extract and anthraquinones from *Caloplaca schaeereric*. The British Lichen Society, 2002; 34:83-5.
69. Müller K. Pharmaceutically relevant metabolites from lichens. Appl Microbiol Biotechnol, 2001; 56:9-16.
70. Cansaran-Duman D. Türkiye'de bazı liken türlerindeki usnik asitin HPLC yöntemi ile değerlendirilmesi ve antimikrobiyal aktiviteleri. Turk Hij Den Biyol Derg, 2010; 66(4): 153-60.
71. Cansaran-Duman D. Farklı liken örneklerindeki usnik asit miktarlarının yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) yöntemi ile belirlenmesi ve antimikrobiyal aktiviteleri. Turk Hij Den Biyol Derg, 2007; 64(3): 17-21.
72. Kupchan SM, Kopperman HL. L-usnic acid: tumor inhibitor isolated from lichens. Experientia, 1975; 31: 625.
73. Takai M, Uehara Y, Beisler JA. Usnic acid derivatives as potential antineoplastic agents. J Med Chem, 1979; 22: 1380-84.
74. Backorova M, Backor M, Mikeš J, Jendzelovsky R, Fedorocko P. Variable responses of different human cancer cells to the lichen compounds parietin, atranorin, usnic acid and gyrophoric acid. Toxicol in Vitro, 2011; 25: 37-44.
75. Zeytinoglu H, Incesu Z, Ayaz Tuylu B, Turk AO, Barutca B. Determination of genotoxic, antigenotoxic and cytotoxic potential of the extract from lichen cetraria aculeata (Schreb.) Fr. in vitro. Phytother Res, 2008; 22: 118-23.
76. Haraldsdottir S, Gudlaugsdottir E, Ingólfssdottir K, Ogmundsdottir HM. Anti proliferative effects of lichen-derived lipoxygenase inhibitors on twelve human cancer cell lines of different tissue origin in vitro. Planta Med, 2004; 70: 1098-100.
77. Einarsdóttir E, Groeneweg J, Björnsdóttir GG, Harðardóttir G, Omarsdóttir S, Ingólfssdóttir K et al. Cellular mechanisms of the anticancer effects of the lichen compound usnic acid. Planta Med, 2010; 76: 969-74.