

See discussions, stats, and author profiles for this publication at: <https://www.researchgate.net/publication/317776554>

The Molecular Mechanisms of the effect of anticancer activity on lichen metabolites

Article in *Türk hijiyen ve deneysel biyoloji dergisi. Turkish bulletin of hygiene and experimental biology* · January 2017

DOI: 10.5505/TurkHijyen.2016.24650

CITATIONS

3

READS

467

3 authors:



Merve Sekerli

1 PUBLICATION 3 CITATIONS

SEE PROFILE



Nil Kilic

Bilkent University

7 PUBLICATIONS 51 CITATIONS

SEE PROFILE



Demet Cansaran-Duman

Ankara University

87 PUBLICATIONS 832 CITATIONS

SEE PROFILE

Liken metabolitlerinin antikanser aktivite etkisinin moleküler düzeydeki mekanizmaları

The molecular mechanisms of the effect of anticancer activity on lichen metabolites

Merve ŞEKERLİ¹, Nil KILIÇ¹, Demet CANSARAN-DUMAN¹

ÖZET

Tarih boyunca doğal ürünlerden elde edilen bileşenler; tıp, eczacılık ve biyoloji gibi pek çok alanda kullanılmıştır. Kanser alanında doğal moleküller model olarak kullanılarak yeni ve önemli bazı ticari ilaçlar elde edilmiştir. Sitotoksik ajanların geliştirilmesi için yapılan çalışmalar yeni antikanser ilaçlarının keşfi için de önemli bir adım olmuştur. Doğal bileşenlerin geniş yapısal çeşitliliği ve biyoaktivite potansiyeli moleküler modifikasyonlarla terapötik potansiyellerini geliştirmeye hizmet edebilir. Bu amaçla; özellikle son birkaç yılda liken kaynaklı bileşenlerin antikanser aktivitesiyle ilgili yapılan çalışmalar hızla artmaktadır. Likenler; fungus, alg veya siyanobakterilerin bir araya gelerek oluşturdukları simbiyotik birlikteliklerdir. Likenler, çoğu kendine özgü çok fazla sayıda sekonder metabolit sentezlerler. Liken sekonder metabolitleri antiviral, antitümör, antibakteriyel, antiherbivor ve antioksidan olmak üzere pek çok biyolojik aktiviteye sahiptirler. Son yıllarda liken sekonder metabolitlerinin tıbbi ve biyoteknolojik alanda dikkat çeken en önemli özelliklerinden birisi de kanser tedavisinde aday molekül olabileceklerine dair sonuçların ortaya çıkmasıdır. Kanser moleküler temelleri ve özellikle apoptoz yolağı ile ilişkili süreçlerin aydınlatılması kanser tedavisinde alternatif

ABSTRACT

The components obtained from natural products have been used in many fields such as medicine, pharmacy and biology throughout the history. Some new and important commercial drugs have been obtained by using as a natural molecule model in the cancer field. Studies for the development of cytotoxic agents were also an important step for the discovery of new anticancer drugs. Large structural diversity of natural components and their bioactivity potential may serve to improve the therapeutic potential with molecular modification. For this purpose, especially the number of studies on the anticancer activity of lichen components has increased in last few years. Lichens are symbiotic organisms compose of fungus and algae or cyanobacteria. Lichens synthesize a great variety of secondary metabolites specifically. Lichen secondary compounds have many possible biological activities such as antiviral, antitumor, antibacterial and antiherbivore and antioxidants. In recent years, one of the most important features of lichen secondary metabolites in medical and biotechnological field is the emergence of results that maybe candidate molecules in the treatment of cancer. Elucidation of the molecular basis of cancer related processes and especially apoptosis pathway

¹Ankara Üniversitesi, Biyoteknoloji Enstitüsü, Merkez Laboratuvarı, Tandoğan, Ankara, Türkiye



İletişim / Corresponding Author : Demet CANSARAN-DUMAN

Ankara Üniversitesi, Biyoteknoloji Enstitüsü Merkez Laboratuvarı Tandoğan Ankara - Türkiye

Tel : +90 533 344 47 44

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

Geliş Tarihi / Received : 10.07.2015

Kabul Tarihi / Accepted : 02.05.2016

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2016.24650

Şekerli M, Kılıç N, Cansaran-Duman D. Liken metabolitlerinin antikanser aktivite etkisinin moleküler düzeydeki mekanizmaları
Turk Hij Den Biyol Derg, 2017; 74(1): 95-102

ilaçların bulunmasında büyük bir yarar sunacağı düşünülmektedir. Bu derlemede; liken sekonder metabolitleri, kanser tedavisinde etkin kullanım potansiyelleri ve kanserleşme sürecinde özellikle apoptoz yolağı başta olmak üzere tüm moleküler mekanizmalar hakkında bilgi sunulmaktadır.

Anahtar Kelimeler: liken sekonder metabolitleri, kanser, moleküler mekanizmalar

are provide to great utility in finding alternative drugs for treating cancer. In this review provides information about lichen secondary metabolites, the potential for effective use in the treatment of cancer, all molecular mechanisms in cancerous processes and mainly apoptosis pathway.

Key Words: lichen secondary metabolites, cancer, molecular mechanisms

GİRİŞ

Kanser, hücre bölünmesinde DNA eşlenmesi sırasında hata oluşması sonucu hücrelerin kontrolsüz veya anormal bir şekilde büyümesi ve çoğalması olarak tanımlanmaktadır (1). Kanser oluşumu birçok sebebe dayanmaktadır. Bunların başında; X-ışınları, gama ışınları, radyoaktif maddelerden yayılan partikül radyasyonları, ultraviyole ışınları, kimyasal maddeler, kalıtsal eğilim ve viral faktörlerin etkisi bulunmaktadır (1). Bu derleme ile liken sekonder metabolitleri, kanser tedavisinde etkin kullanım potansiyelleri ve kanserleşme sürecinde özellikle apoptoz yolağı başta olmak üzere tüm mekanizmalar hakkında bilgi sunmak amaçlanmıştır.

Liken Sekonder Metabolitlerinin Kanser Tedavisinde Aday Biyolojik Moleküller Olarak Kullanımı

Son yıllarda, özellikle biyoteknoloji alanında alternatif bir biyolojik organizma kaynağı olarak likenlerin kullanımı oldukça dikkat çekmektedir. Likenler; mantarlar ve fotosentetik alglerden meydana gelen simbiyotik birlikteliklerdir (2). Şekil ve yaşayış bakımından kendilerini oluşturan alg ve mantarlardan tamamen ayrı bir yapı gösterirler. Likenler, “liken maddeleri” adı verilen ve birçoğu kendine özgü olan çeşitli metabolitleri sentezlemektedirler. Yapılan araştırmalar sonucunda; yapısı bilinen liken maddelerinin sayısı 1000’e ulaşmıştır (3). Liken maddeleri arasında 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 yer almaktadır (4). Likenlerde bulunan organik bileşiklerin büyük bir bölümü, mantar hücresi içinde veya hiflerin yüzeyinde depolanan genellikle suda çözünmeyen sadece organik çözücülerle ekstre edilebilen sekonder metabolitlerdir. Uzun zamandır hastalıkların tedavisinde kullanılan likenlerin iyileştirici özelliklerinin yapılarında bulunan asidik, çoğu fenolik karakterli depsit ve depsidon türevi liken metabolitlerinden kaynaklandığı düşünülmektedir (5).

Likenlerden elde edilen ve üzerinde en çok çalışılmış olan sekonder metabolit usnik asittir (6). Dibenzofuran türevi olan usnik asit 2,6-diasetil-7,9-dihidroksi-8,9b-dimetil-1,3(H,9bH)dibenzofurandion olup C₁₈H₁₆O₇ kimyasal yapısına sahiptir. Usnik asit, molekül yapısında bir kiral merkez içerdiği için doğada D- veya L- formlarında ya da rasemik karışım olarak bulunmaktadır ve her iki formunda aktif biyolojik özellik göstermektedir (6). Bu maddenin aynı zamanda antitüberküloz, antibakteriyel, antiprotazoal, antimikotik, antiviral, antiülser, antiproliferatif, antienflamatuvar, analjezik ve antipiretik etkinliklerini incelemek için yapılan çalışmalar mevcuttur (6). Bir diğer liken sekonder metaboliti olan atranorin likenlerden en çok elde edilen sekonder metabolitlerden biridir. Atranorin

birçok liken türünde bulunan depside grubuna ait önemli bir sekonder metabolittir (7). Atranorin sekonder metabolitinde yapılan çalışmalar sonucunda; antimikobakteriyal, antimikrobiyal, antiinflamatuvar özellikleri tespit edilmiştir (8-10).

Liken metabolitleri, kanser hücrelerine karşı antiproliferatif etkileri test edilmesine rağmen elde

edilen mevcut veriler oldukça kısıtlıdır (11). Liken sekonder metabolitlerinden en fazla çalışılan usnik asit ve atranorinin farklı kanser hücre hatları üzerine antikanser aktivitesini belirlemeye yönelik 2015 yılına kadar yapılan tüm çalışmalar Tablo 1’de gösterilmiştir (Tablo 1) (12-26).

Tablo 1. Liken sekonder metabolitlerinin in vitro antikanser aktivitesi ile ilişkili yapılan çalışmalar (12)

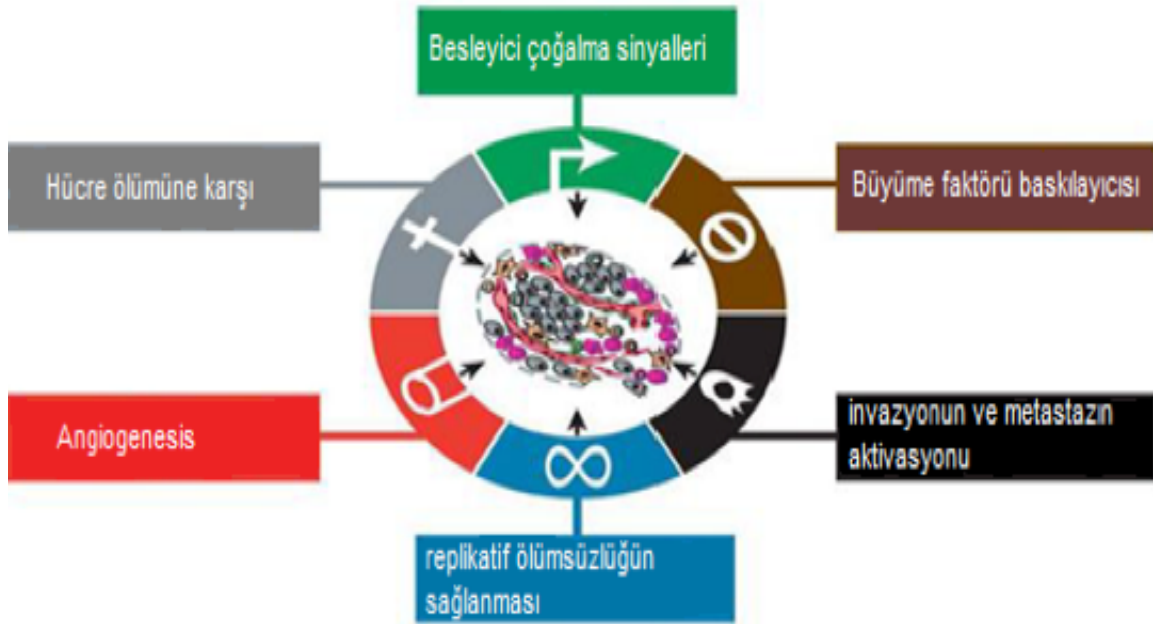
Liken Metabolit	Sekonder Metabolit İzolasyon Kaynağı	Test Edilen Hücre Hatları	Kaynak No
Usnik asit Atranorin	Ticari	İnsan ovaryum karsinoma A2780, İnsan kolon adenokarsinoma HT-29	13
Usnik asit	<i>Cladonia lepidophora</i>	İnsan meme adenokarsinoma MCF7, İnsan kolon adenokarsinoma HCT-116, İnsan serviks adenokarsinoma HeLa	14
Atranorin	<i>Bacidia stipata</i>	İnsan prostat kanser androjen (LNCaP), İnsan prostat kanser DU-145	15
Usnik asit Atranorin	Ticari	İnsan ovaryum A2780, İnsan meme MCF-7, İnsan kolon HT-29, İnsan T hücreleri, Jurkat İnsan serviks HeLa, İnsan meme SK-BR-3, İnsan kolon wild-type p53, HCT-116, p53+/+, İnsan kolon p53 HCT-116, p53-/-	13
(+) Usnik asit (-) Usnik asit	<i>C. arbuscula</i> <i>Alectoria ochroleuca</i>	Meme kanser T-47D, Pankreatik kanser hücreleri, Kapan-2	16
(-) Usnik asit	Ticari	Meme kanser hücreleri, MCF-7 ve H1299	17
(-) Usnik asit	<i>Xanthoparmelia somloensis</i>	MM98, A431, HaCaT	18
Usnik asit ve türevleri	Ticari	L 1210, 3LL, K-562, DU145, MCF 7, U251, Fare CHO ve CHO-MG	19
(+) Usnik asit (-) Usnik asit	<i>R. farinacea</i> <i>C. foliacea</i>	Fare fibroblast V79, V79, A549	20
Usnik asit	Ticari	MCF-7 , MDA-MB-231, H1299	21
(-) Usnik asit	Ticari	L1210, 3LL, U215, DU 145, MCF 7, RCB-0461	22
Atranorin, Sphaerophorin, Divarikatik asit, Difraktik asit, Gyrophorik asit, Usnik asit	Ticari	Hepatosist	23
Atranorin	Ticari	Fare dalağında lenfosit	24
(+) Usnik asit	Ticari	HaCaT	25
Usnik asit türevleri	Ticari	L1210	26

Liken Metabolitlerinin Antikanser Mekanizmaları

Kanserde değişikliğe uğramış genler, normalde doku homeostazisi ve hücre büyümesini düzenleyen üç ana biyolojik yol olan hücre döngüsü, apoptoz ve diferansiyasyonu etkiler (27). Kanser hücrelerinde, kontrolsüz proliferasyon, farklılaşmanın bloke edilmesi, azalmış apoptoz, değişmiş doku yapısı gibi kanser hücrelerinin karakteristik özelliklerine sebep olmak üzere bu yolların aktivitesi artmış veya inaktive edilmişlerdir. Bazı “kansere yolakları” spesifik bir kanser türüne dahil olurken, diğerleri malignan tümörlerin geniş bir aralığında kritik rollere sahip olabilirler. Her hücresel regülatör sistemi bir kanser yolağı olarak düşünmekten sakınmak için şöyle bir tanımlama formülü geliştirilebilir: Bir “kansere yolağı”, en azından bir insan kanserinin gelişimi için bir genetik veya epigenetik mutasyonla aktivasyonu veya inaktivasyonu gerekli olan bir hücresel regülatör sistemidir. Tipik olarak kansere yolları bir kanser

tipine veya farklı kanser tiplerine sahip bireylerde aynı regülatör sistemlerin farklı komponentlerindeki değişimlerle ortaya çıkabilirler (Şekil 1) (27).

Liken metabolitlerinin olası antikanser etkinliğinin moleküler mekanizması literatürde yapılan çalışmalar ile son yıllarda belirlenmeye başlamıştır (Tablo 2) (28-37). Bazı sekonder metabolitlerin antitümör immünitenin aktivasyonu, telomerez aktivitesini engellenmesi ile devamlı canlılığın sağlanabilmesi, vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) sinyal inhibisyonu, hücre döngüsü, apoptotik hücre ölümü, tümör üreten inflamasyon inhibisyonu, aerobik glikolizasyonun inhibisyonu üzerine çalışmalar olduğu gösterilmiştir (28). Ancak şu ana kadar metastazın engellenmesi, büyüme faktör sinyallerinin inhibisyonu ve genom değişikliğinin baskılanması üzerine çalışmalar literatürde yerini almamış olup bu alanlarda liken sekonder metabolitlerinin etkisi araştırılmamıştır (Şekil 2) (28).



Şekil 1. Kanser gelişim süreci (27)

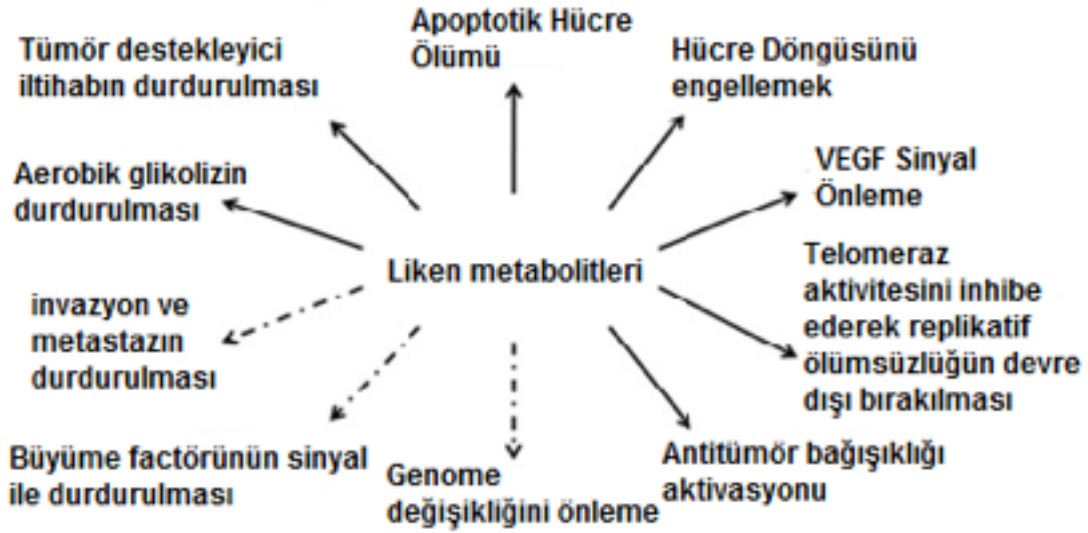
Tablo 2. Liken ürünleri ve mekanizmalar

Liken ürünleri	Moleküler Mekanizmalar	Kaynak No
SİTOTOKSİK		
• Hücre Döngüsü		
Usnik asit	G0/G1 -siklin D1 siklin-bağlı kinazlar (CDKs) ve siklin-bağlı kinaz inhibitör (CDK1) protein ifade düzeyi	30
(+) ve (-) Usnik asit	S fazı içinde hücre döngüsü sonlanma inhibisyonu	31
Usnik asit, Atranorin	S fazı içinde hücre döngüsü	32
• Apoptotik Hücre Ölümü		
Usnik asit	Mitokondriyal membran depolarizasyonu ile apoptotik hücre ölümü	30
Usnik asit, Atranorin	Programlı hücre ölümü aktivasyonu ve mitokondriyal membran potansiyelinin kütleli kaybı	33
• Anti-İnflammatör		
Usnik asit	TNF- α ve INOS ekspresyonu	34
• Anti-Tümör İmmunitesi		
Usnik asit	Endotelial hücre çoğalımı inhibisyonu, Endotelial hücrelerin morfolojisinde apoptotik hücrelerin belirlenmesi VEGFR-2	35
Anjiyogenesis		
Olivetorik asit	Fare adipoz doku endotel hücrelerindeki proliferasyonu durdurmuş	36
Usnik asit	VEGFR, ERK1/2 ve AKT/P706S6 K sinyal yollarını durdurmuş	35
Enerji Metabolizması Modulator		
<i>Lecidella carpathica</i>	PTP1B karşı inhibitör aktivite	37

Liken sekonder metabolitlerinin moleküler mekanizmalar üzerine en fazla detaylı araştırma apoptotik yolağı üzerine olmuştur. Usnik asit liken sekonder metaboliti kanser hücrelerinde apoptosizi başlatmaktadır ve ayrıca antimitotik etki göstermektedir (30). Bilindiğı üzere apoptoz genel olarak hücrelerin kendi kendilerini yok ettikleri, genlerle düzenlenen, programlı, RNA, protein sentezi ve enerjiye gereksinim duyan, organizmada

homeostazı koruyan bir olaydır (38). Genel olarak apoptozun düzenlenmesinde kalsiyum, seramid, Bcl-2 ailesi gibi moleküller, p53, kaspazlar, sitokrom-C gibi proteinler ve mitokondriyonlar rol oynar. Apoptotik süreç boyunca hücre içine sürekli kalsiyum girişi olur. Kalsiyum iyonları; endonükleaz, proteaz ve transglutaminaz aktivasyonunda, gen regulasyonunda ve hücre iskeleti organizasyonunda rol alır (39).

Basile ve ark.'nın (40) yaptıkları bir çalışmada;



Kesik çizgiler : Araştırmalar
Kesikli çizgiler: Hala üzerine çalışılmamış olan mekanizmalar

Şekil 2. Liken sekonder metabolitlerinin olası antikanser mekanizmasının şematik gösterimi (28)

Xanthoria parietina liken örneğinin aseton ekstraktında ve parietin sekonder metabolitinde antifungal, antibakteriyel ve antiproliferatif etkisini araştırmışlardır. Antiproliferatif etkiyi değerlendirmek amaçlı insan meme kanser hücre hatları üzerine *Xanthoria parietina* liken örneğinin aseton ekstraktında ve parietinin etkisini değerlendirmişlerdir. Çalışılan ekstratlar hücreler üzerinde kontrolsüz çoğalmayı durdurmuş ve apoptozu azaltmıştır bunu da hücre döngüsünü düzenleyen genlerin (p16, p27, siklin D1 ve siklin A) seviyesini düzenleyerek gerçekleştirmiş olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca apoptozu dış ve iç hücre yolların etkinleşmesi, tümör nekroz faktörü ilgili apoptosis indükleyici ligand (TRAIL) ve B-hücre lenfoması (Bcl-2) aralığıyla ilişkilendirmişlerdir (40).

Yapılan bazı çalışmalar ile usnik asit liken sekonder metabolitinin antikanser potansiyelini göstermiştir. Ancak etkinlik ve ilişkili mekanizmaları henüz tam olarak araştırılmamış olması nedeniyle Singh ve ark. (41) yaptıkları çalışmada; insan akciğer karsinomu

A549 hücrelerdeki usnik asidin antikanser etkisi ve olası moleküler değişiklikler değerlendirilmiştir. Usnik asit sekonder metaboliti A549 hücre hattının proliferatif etkisini önemli ölçüde baskılamıştır. Hücre büyüme inhibisyonu, hücre döngüsü tutuklama ile ilişkili G0 ve G1 evresi ile yer almıştır. Usnik asit ifade siklin bağımlı kinaz (CDK)4, CDK6 ve siklin D1'in ifadesini azaltmış ve CDK inhibitörü (CDKI) p21/cip1 proteinin ifadesini arttırmıştır. Böylece usnik asit iki katdan daha fazla apoptotik hücrelerde artışa yol açmıştır. Usnik asidin apoptotik etkisi artmış poly(ADP-ribose) polimeraz bölünmesi ile gerçekleşmiştir (41).

Nguyen ve ark. (42) gerçekleştirdikleri çalışmada; *Flavocetraria cucullata* liken türünden izole edilen usnik asit, salazinik asit, squamatik asit, baeomycesik asit, d-protolichesterinik asit ve lichesterinik asit MTT yöntemi ile birkaç insan kanser hücresi üzerine sitotoksik etkisi değerlendirilmiştir. Usnik asit için belirlenen IC50 değeri elde edilen hücreler spesifik apoptotik sinyal yolağını aktif ederek apoptotik hücre popülasyonunda artış gözlemlenmiştir (42).

SONUÇ

Likenler, fitokimyasal ve farmokokimyasal uygulamalarla ilişkili olarak pek çok araştırmacı için uzun zamandır ilgi çeken bir çalışma alanıdır. Güçlü ve seçici bir biyolojik aktiviteye sahip likenlerin ve sekonder metabolitlerinin çeşitli hastalıkların tedavisinde ve özellikle kanser tedavisinde bir kemoterapi ajanı olarak kullanımının araştırılmasında son dönemlerde büyük bir artış ve ilgi oluşmuştur. Yapılan çalışmalarda; likenlerin antikanserojen etkileri ile özellikle apoptoz yoluyla kanserli hücrelerde meydana gelen değişimler araştırılmıştır. Özellikle son yıllarda bitki ve fungus kaynaklı elde edilen ekstraktlar ile yapılan çalışmalar sonucunda tedaviye yönelik ümit verici sonuçlar ortaya konmaktadır. Bu çalışmalarda belirli liken sekonder

metabolitlerinin çok çeşitli sayıdaki kanser hücreleri üzerinde antiproliferatif etki gösterdiği saptanmıştır. Liken sekonder metabolitlerinin kullanımı ile yapılan antikanserojenik çalışmaların sayısı her geçen gün artmasına karşın, kanser spesifik sinyal hedef yolları henüz moleküler boyutta tamamen araştırılmamıştır. Gelecekteki çalışmalarda; liken sekonder metabolitlerinin antikanserojen etkisinin tespiti ile farklı kanser tiplerinde umut verici ilaç aday molekülleri olarak kullanımı hedeflenmektedir. Böylelikle en etkin bileşiğin büyük miktarlarda üretimi ile devam edilecek likene dayalı ilaç tedavisinin kullanılması ile genişletilmiş klinik denemeleri ve spesifik mekanizmaların etki yollarının tanımlanması üzerine odaklanarak kanser tedavisinde umut verici çözümler alınabileceği mümkün görülmektedir.

REFERENCES

- Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell*, 2000; 100: 57-70.
- Sharnoff S. Field guide to California lichens. New York: Yale Uni Pres, 2014.
- Nash III TH. Lichen Biology. Cambridge: Cambridge Uni Press, 1996.
- Huneck S, Yoshimura I. Identification of lichen substances. Berlin: Springer Verlag, 1996.
- Vartia KO. Antibiotics in lichens, In: The Lichens (Ahmadjian V and Hale ME. Academic Press., New York, 1973; 547-61.
- Ingolfsdottir K. Usnic acid. *Phytochem*, 2002; 61: 729-36.
- Kristmundsdottir T, Jonsdottir E, Ogmundsdottir HM, Ingolfsdottir K. Solubilization of poorly soluble lichen metabolites for biological testing on cellines. *Eur J Pharm Sci*, 2005; 24, 539-43.
- Honda NK, Pavan FR, Coelho RG, Leite SRD, Micheletti AC, Lopes TIB. Antimycobacterial activity of lichen substances. *Phytomed*, 2010; 17, 328-32.
- Bugni TS, Andjelic CD, Pole AR, Rai P, Ireland CM, Barrows LR. Biologically active components of a Papua New Guinea analgesic and anti inflammatory lichen preparation. *Fitoterapia*, 2009; 80, 270-3.
- Melo MGD, Araujo AAS, Rocha CPL, Almeida EMSA, Siqueira RD, Bonjardim LR. Purification, physicochemical properties, thermal analysis and antinociceptive effect of atranorin extracted from *Cladonia kalbii*. *Biol Pharm Bull*, 2008; 31: 1977-80.
- Özenoğlu S, Aydoğdu G, Dinçsoy AB, Taghidizaj AA, Deric K, Yılmaz E, et al. Liken sekonder bileşiklerinin farklı insan kanser hücre tipleri üzerine antikanserojenik etkisi. *Türk Hij ve Den Biyol Derg*, 2013; 70-4: 215-26.
- Stanojković T. Investigations of lichen secondary metabolites with potential anticancer activity. *Lich Sec Met*, 2015; 127-46.
- Bačkorová M, Jendželovský R, Kello M. Lichen secondary metabolites are responsible for induction of apoptosis in HT-29 and A2780 human cancer cell lines. *Toxicol in Vitro*, 2012; 26: 462-8.
- Brisdelli F, Perilli M, Sellitri D. Cytotoxic activity and antioxidant capacity of purified lichen metabolites: an in vitro study. *Phytother Res*, 2013; 27: 431-7.
- Russo A, Caggia S, Piovano M. Effect of vicanicin and on human prostate cancer cells: role of Hsp70 protein. *Chem Biol Interact*, 2012; 195: 1-10.
- Einarsdóttir E, Groeneweg J, Björnsdóttir GG. Cellular mechanisms of the anticancer effects of the lichen compound usnic acid. *Planta Med*, 2010; 76: 969-74.

17. O'Neill MA, Mayer M, Murray KE. Does usnic acid affect microtubules in human cancer cells? *Braz J Biol*, 2010; 70: 659-64.
18. Burlando B, Ranzato E, Volante A, Appendino G, Pollastro F, Verotta L. Antiproliferative effects on tumour cells and promotion of keratinocyte wound healing by different lichen compounds. *Planta Med*, 2009; 75: 607-13.
19. Bazin MA, Le-Lamer AC, Delcros JG. Synthesis and cytotoxic activities of usnic acid derivatives. *Bioorg Med Chem*, 2008; 16: 6860-6.
20. Koparal AT, Tüylü BA, Türk H. In vitro cytotoxic activities of (+) usnic acid and (-) usnic acid on V79, A549, and human lymphocyte cells and their non-genotoxicity on human lymphocytes. *Nat Prod Res*, 2006; 20 (14): 1300-7.
21. Mayer M, O'Neill MA, Murray KE. Usnic acid: a non-genotoxic compound with anti-cancer properties. *Anticancer Drugs*, 2005; 16: 805-9.
22. Bezin C, Tomasi S, Rouaud I, Delcros JG, Boustie J. Cytotoxic activity of compounds from the lichen: *Cladonia convoluta*. *Planta Med*, 2004; 70: 874-7.
23. Correche´ ER, Enriz RD, Piovano M. Cytotoxic and apoptotic effects on hepatocytes of secondary metabolites obtained from lichens. *Altern Lab Anim*, 2004; 32: 605-15.
24. Correche´ ER, Carrasco M, Giannini F. Cytotoxic screening activity of secondary lichen metabolites. *Acta Farm Bonaerense*, 2002; 21: 273-78.
25. Kumar KC, Muller K. Lichen metabolites. 2. Antiproliferative and cytotoxic activity of gyrophoric, usnic, and diffractaic acid on human keratinocyte growth. *J Nat Prod*, 1999; 62 (6): 821-3.
26. Takai M, Uehara Y, Beisler JA. Usnic acid derivatives as potential antineoplastic agents. *J Med Chem*, 1979; 22: 1380-84.
27. Corn PG, El-Deiry WS. Derangement of growth and differentiation control in onkogenesis. *Bioessays*, 2000; 1: 83-90.
28. Kim H, Keun Kim K, Hur JS. Anticancer activity of lichen metabolites and their mechanisms at the molecular level. In: Upreti DK, ed. *Recent Advances in Lichenology*. India. Springer, 2015: 201-8.
29. Haraldsdottir S, Gudlaugsdottir E, Ingolfsdottir 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.
30. Singh N, Nambiar D, Kale RK, Singh RP. Usnic acid inhibits growth and induces cell cycle arrest and apoptosis in human lung carcinoma A549 cells. *Nutr Cancer*, 2013; 65: 36-43.
31. Einarsdóttir E, Groeneweg J, Björnsdóttir GG. Cellular mechanisms of the anticancer effects of the lichen compound usnic acid. *Planta Med*, 2010; 76: 969-74.
32. Backorova M, Backor M, Mikes 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.
33. Bačkorová M, Jendželovský R, Kello M. Lichen secondary metabolites are responsible for induction of apoptosis in HT-29 and A2780 human cancer cell lines. *Toxicol In Vitro*, 2012; 26: 462-8.
34. Jin JQ, Li CQ, He LC. Down-regulatory effect of usnic acid on nuclear factor-kappa B-dependent tumor necrosis factor-alpha and inducible nitric oxide synthase expression in lipopolysaccharide-stimulated macrophages RAW. *Phytother Res*, 2008; 22: 1605-9.
35. Song Y, Dai F, Zhai D, Dong Y, Zhang J, Lu B, et al. Usnic acid inhibits breast tumor angiogenesis and growth by suppressing VEGFR2- mediated AKT and ERK1/2 signaling pathways. *Angiogenesis*, 2012; 15: 421-32.
36. Koparal AT, Ulus G, Zeytinoglu M, Tay T, Turk AO. Angiogenesis inhibition by a lichen compound olivetoric acid. *Phytother Res*, 2010; 24: 754-8.
37. Seo C, Yim JH, Lee HK, Oh H. PTP1B inhibitory secondary metabolites from the Antarctic lichen *Lecidella carpathica*. *Mycology*, 2011; 2: 18-23.
38. Letai AG. Diagnosing and exploiting cancer's addiction to blocks in apoptosis. *Nat Rev Canc*, 2008; 8: 121-32.
39. Riedl SJ, Salvesen GS. The apoptosome: signalling platform of cell death. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2007; 8: 405-13.
40. Basile A, Rigano D, Loppi S, Di Santi A, Nebbioso A, Sorbo S, et al. Antiproliferative, antibacterial and antifungal activity of the lichen *Xanthoria parietina* and its secondary metabolite parietin. *Int J Mol Sci*, 2015; 16 (4): 7861-75.
41. Singh N, Nambiar D, Kale RK, Singh RP. Usnic acid inhibits growth and induces cell cycle arrest and apoptosis in human lung carcinoma A549 cells. *Nutr Cancer*, 2013; 65: 36-43.
42. Nguyen TT, Yoon S, Yang Y, Lee HB, Oh S, Jeong MH, et al. Lichen secondary metabolites in *Flavocetraria cucullata* exhibit anti-cancer effects on human cancer cells through the induction of apoptosis and suppression of tumorigenic potentials. *PLoS One*, 2014; 31: 9 (10):e111575.