

6-SHOGAOL, 6-GİNGEROL VE KURKUMİN' İN A549 HÜCRELERİNDE CANLILIK ÜZERİNE ETKİLERİ\*

EFFECTS OF 6-SHOGAOL, 6-GINGEROL AND CURCUMIN ON CELL VIABILITY IN A549 CANCER CELL LINE

Eren DEMİRPOLAT<sup>1</sup>, Mükerrerem Betül YERER AYCAN<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Erciyes Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakoloji AD

**ÖZ**

Çalışmamızda A549 küçük hücreli olmayan akciğer kanseri hücrelerinde *Zingiber officinale*'de bulunan 6-gingerol ile 6-shogaolün antikanser etkileri canlılık üzerinden araştırılmıştır. Deneyler hem IL-1 $\beta$ ' ya maruz kalan hem de maruz kalmayan hücrelerde yürütüldü. *Curcuma longa*' da bulunan kurkumin bilinen doğal bir antikanser molekül olduğundan çalışmada pozitif kontrol olarak kullanıldı ve kurkumine yapıca benzer olan 6-gingerol ile 6-shogaolün canlılık üzerine olan etkileri kurkuminle kıyaslandı. MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolyum bromür) deneyleri öncelikle 6-gingerol ve 6-shogaolün birbirini logaritmik şekilde seyreden konsantrasyonlarında yapıldı. Daha sonra etki görülen konsantrasyon aralığını kapsayacak şekilde IC<sub>50</sub> değerini belirlemek için deneyler tekrarlandı. Sonuç olarak 6-shogaolün 24 sa IC<sub>50</sub> değeri IL- $\beta$ ' ya maruz kalmayan hücrelerde 62,5  $\mu$ M; IL- $\beta$ ' ya maruz kalan hücrelerde ise 63,2  $\mu$ M olarak bulundu. Kurkumin 100  $\mu$ M konsantrasyonu ile kıyaslandığında 6-shogaolün daha önceden antikanser özelliği gösterilmiş olan kurkumin kadar etkin olduğu görülürken; 6-gingerol için canlılığı azaltıcı yönde bir bulguya rastlanmadı. 6-shogaol' un canlılığı azaltıcı etkisinin altında yatan moleküler mekanizmalar araştırılmaya değerdir.

**Anahtar kelimeler:** A549, 6-gingerol, 6-shogaol, kurkumin, IL-1 $\beta$

**GİRİŞ**

Kanser, vücut hücrelerinin kontrolsüz bir şekilde çoğalıp, anormal formlarla vücutta dağılmasıdır. Kardiyovasküler rahatsızlıklar gelişmiş ülkelerde en önemli ölüm sebebinin oluştururken; kanser ikinci sırada gelmektedir ve ömrü boyunca her üç kişiden birine kanser tanısı konmaktadır (1).

Dünya Sağlık Örgütü ve Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı'na ait olan GLOBOCAN projesi ile 28 farklı kanserin 184 farklı ülkedeki insidansı, mortalitesi ve prevalansı ile ilgili veriler toplanmaktadır. Bu veriler sadece 15 yaş üzerindeki insanları kapsamaktadır ve 2012 ver-

\*Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TDK-2013-4297 koduyla doktora tez projesi olarak desteklenmiştir.

Makale Geliş Tarihi : 02.10.2014  
Makale Kabul Tarihi: 30.01.2017

**ABSTRACT**

In our study we investigated anticancer effects of 6-gingerol and 6-shogaol from *Zingiber officinale*. Anticancer effect was monitored by using cell viability assay. Experiments are performed on both A549 cells that are incubated with IL-1 $\beta$  (interleukin 1  $\beta$ ) and cells which are not incubated with it. Curcumin from *Curcuma longa*, a natural compound that is known for its anticancer effect, is used as a positive control and effects of 6-gingerol and 6-shogaol are compared with it. MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) assay was performed for wide range concentrations. Concentration changes were 10 fold. To obtain IC<sub>50</sub> values of 6-shogol and 6-gingerol, MTT assays were performed again, using the previous concentrations but in a narrower range. According to the assays 6-shogaol's 24 h IC<sub>50</sub> determined as 62,5  $\mu$ M for A549 cells which were not incubated with IL-1 $\beta$  and 63,2  $\mu$ M for the cells which were exposed to IL-1 $\beta$ . 6-shogaol's cytotoxic effect was as much as curcumin which is a known natural anticancer molecule, while 6-gingerol did not show any effect towards decreasing the cell viability. Mechanisms which underly 6-shogaol's cytotoxic effect are worth for further investigation.

**Keywords:** A549, 6-gingerol, 6-shogaol, curcumin, IL-1 $\beta$

ilerine göre dünya'da 14,1 milyon kanser vakası bulunmaktayken; kanser sebebiyle 8,2 milyon kişi yaşamını yitirmiştir. Dünya genelinde en çok görülen kanser tipi tüm kanser vakalarının % 13' ünü oluşturmakla birlikte, 1,8 milyon kişide görülen akciğer kanseridir. Bunu meme ve kolorektal kanser izlemektedir. 2012 yılında, akciğer kanseri 1,6 milyon kişinin ölümüne sebep olmuş ve kansere bağlı ölümler içerisinde de % 19,4' lük oranla birinci sırada yer almıştır (2).

Enfeksiyon hastalıklarının kemoterapötiklerle başarılı bir şekilde tedavi edilebilmesi, kanserin de kimyasal ajanlarla tedavi edilebileceği düşüncesini doğurmuştur;

**Corresponding Author:** Eren Demirpolat  
Erciyes Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakoloji AD KAY-SERİ

**e-posta:** erendemirpolat@yahoo.com  
**İş telefonu:** 0352 207 66 66 - 28276  
**Faks:** 0352 437 91 69

ancak patojen mikroorganizmalar hem kalitatif hem de kantitatif olarak insan hücrelerinden farklı özelliklere sahipken; kanser hücreleri ile sağlıklı hücreler pek çok açıdan birbirine benzemektedir. Dolayısıyla, biyokimyasal farklılıklara dayanarak ilaç geliştirme olanağı diğer kemoterapötik ilaç gruplarına göre daha zordur. Günümüzde kullanılan kanser ilaçlarının pek çoğu kanser hücreleri dışında, kıl folikülü, barsak ve kemik iliği hücresi gibi hızlı çoğalma yeteneğine sahip sağlıklı hücreleri de etkilemektedir (3). Bu eksikliklerden dolayı, kanser tedavisinde yeni yaklaşımlara ve daha seçici ilaçlara ihtiyaç duyulmaktadır. Bu amaçla çalışmaların ilk başmağında hücre kültüründe sitotoksitesite deneyleri gibi in vitro modeller kullanılmaktadır. Hedefe yönelik olarak sentezlenen moleküller gibi doğal moleküller üzerinde de kanserle ilgili çalışmalar devam etmektedir. Moleküllerin genel sitotoksik etkisini gözlemek amacıyla tetrazolyum deneyleri yaygın olarak kullanılmaktadır. Bunlar arasında yer alan MTT deneyi ile moleküllerin hücre canlılığı üzerindeki etkisi analiz edilebilmektedir (4). Canlı hücrelerin MTT' yi formazana dönüştürmesi ve sonrasında absorbansa dayalı bir ölçümle sitotoksitesite analizi yapılabilmektedir (5, 6).

Halk arasında hem tıbbi hem de baharat olarak kullanılan *Curcuma longa*' da bulunan kurkuminin A549 hücreleri üzerinde yapılan çalışmalarında, 100 µM düzeyinde sitotoksik etki gösterdiği bulunmuştur ve moleküler etki mekanizmaları ile ilgili pek çok çalışma bulunmaktadır (7). *Curcuma longa* ve *Zingiber officinale* bitkisi Zingiberaceae ailesinde bulunurlar ve her iki bitki benzer molekül içeriğine sahiptir. Çalışmamızda *Zingiber officinale*' nin içinde bulunan kurkumin ile yapıca benzerliğe sahip olan 6-gingerol ile 6-shogaol' ün (Şekil 1) sitotoksik etkileri küçük hücreli olmayan akciğer kanseri hücre hattında incelenmiş ve kurkumin ile kıyaslanmıştır (8, 9). Kurkuminin sitotoksik etkisini mPGES-1 (mikrozomal prostaglandin E sentaz-1) protein düzeylerini azaltarak gösterdiği düşünüldüğünden deney modelimizde hem A549 hem de mPGES-1 enzimini indüklemeye özelliği bulunan IL-1β' ya (interlökin 1 beta) maruz bırakılan hücreler kullanılmıştır (10). 6-gingerol ve 6-shogaol' ün mPGES-1' e bağlı olarak proliferasyon hızı, anjiyogenez mutagenez ve mitogenez olaylarını A549 hücrelerinde azalttığı Bia ve ark yaptığı çalışmayla gösterilmiştir (11).

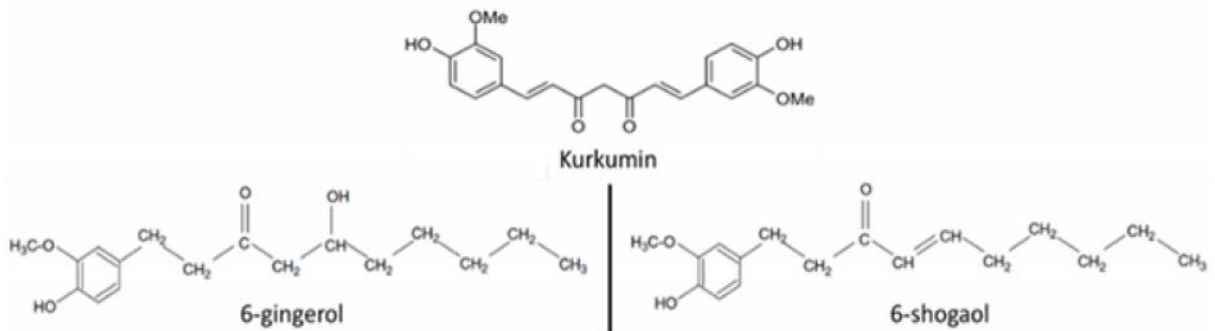
Böylece 6-gingerol ve 6-shogaol' ün IL-1β' ya maruz

muştur. mPGES-1' in karsinogenezde önemli bir role sahip siklooksijenaz 2 (COX-2) ile de ilişkisi olduğu bilinmektedir ve kanser hücrelerinde COX-2 enzimi mPGES-1 enzimi aracılığıyla indüklenmekte ve karsinogenez hızlanmaktadır (12). Hatta mPGES-1 enziminin ürünü olan prostaglandin E<sub>2</sub>' nin (PGE<sub>2</sub>) COX-2 indüksiyonunu, PGE<sub>2</sub> reseptörü üzerinden sağladığı gözlenmiştir ve yeni bir antikanser hedef olarak kabul edilen mPGES-1' e yönelik inhibitör olarak sentezlenen MK 886 isimli molekülün aynı zamanda mPGES-1 protein ekspresyonunu azalttığı bulunmuştur (13). Dolayısıyla bu çalışmada mPGES-1 ve onunla ilişkili diğer sinyal yolları üzerinde etkisi olduğu bilinen kurkumin ile yapıca benzerliği olan 6-shogaol ve 6-gingerolün antikanser etkilerinin araştırılması adına ön çalışma niteliğinde sitotoksitesite deneyleri yapılmıştır.

### GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma Erciyes Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Hadiye Kılıçer laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

ATCC' den satın alınan A549 küçük hücreli olmayan akciğer kanseri (CCL-185) hücresi F12K besin karışımı içeren Kaighn modifiyeli Ham (Gibco 21127) içinde çoğaltılmıştır. mPGES-1 enzimi indüksiyonu Thoren ve Jakobsson ile Saben ve ark. belirttiği şekilde 1 ng/ml IL-1β içeren besiyerinde yapılmıştır (14, 15). IL-1β ile 24 saat inkübe edilen hücreler A549IL1β(+) ve IL-1β' ya maruz kalmayanlar ise A549IL1β(-) olarak adlandırılmıştır. 96' lık plakalara 12,500 hücre/100 µL olacak şekilde dağıtım yapılmış ve hücrelerin yapışmaları için bir gece beklenmiştir. Eski besiyeri hücrelerin üzerinden uzaklaştırıldıktan sonra, 6-gingerol (Sigma G1046) ve 6-shogaol (Fluka 39303) logaritmik olarak değişen konsantrasyonlarda 0,1µM-1000 µM aralığında hücrelere uygulanırken; kurkumin (Merck 820354) 100 µM olarak uygulanmıştır. Kontrol grubu ise sadece besiyeri ile inkübe edilmiştir. Moleküllerin tamamı DMSO (dimetil sülfoksit) içinde çözülmüş ve 100 mM ana stoktan istenilen konsantrasyonlara besiyeri ile seyreltilmiştir. Moleküllerle 24 saatlik inkübasyondan sonra besiyeri plakadan uzaklaştırılmış, hücreler 0,5mg/ml konsantrasyonda MTT solüsyonu ile 4 sa inkübe edilmiş ve kuyu içeriği uzaklaştırıldıktan sonra her kuyuya 100 µL DMSO (Applichem A3672) eklenerek formazan çözünür hale getirilmiştir (16). Mikroplaka okuyucu kullanılarak 570 nm dalga boyunda absorbans



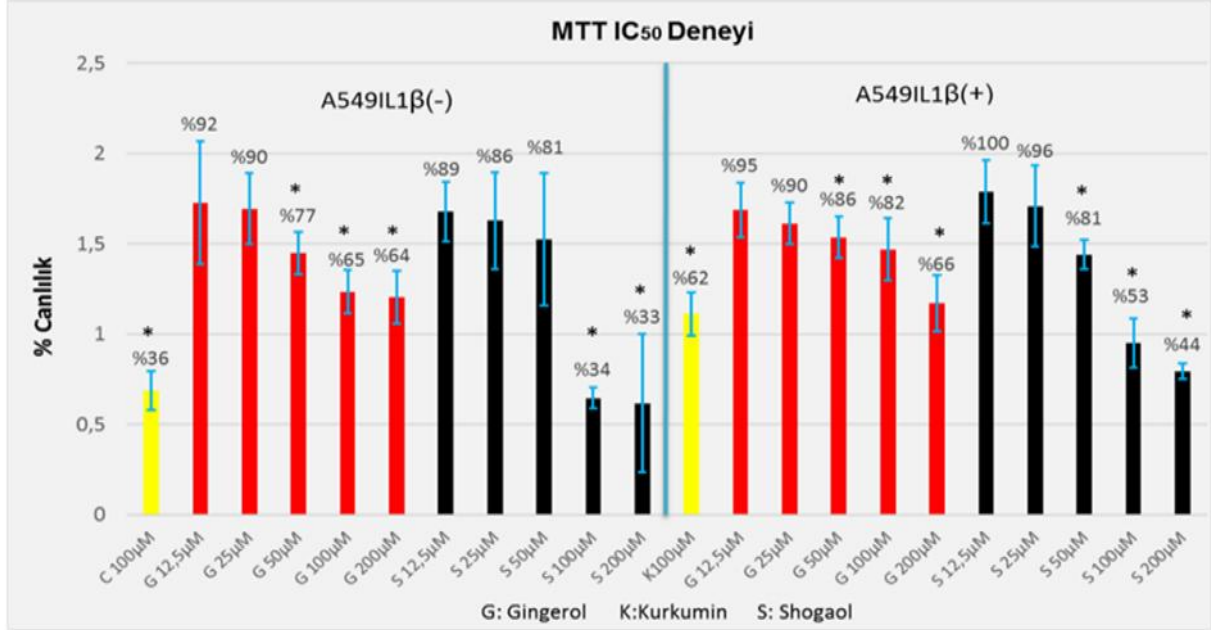
Şekil 1. Kurkumin, 6-gingerol ve 6-shogaol moleküler yapı (7,9)

kalan A549 hücrelerinin canlılığı üzerinde nasıl bir etkisi olduğu konusunda fikir sahibi olunması planlan-

ılmıştır. Numunelerin absorbansı kontrol grubu absorbansına bölünmüş ve % grafiği şeklinde sonuçlar

yorumlanmıştır. 6-shogaol için IC<sub>50</sub> değeri Systat Sigma plot v12.0 ile hesaplanmıştır. İstatistiksel hesaplama one way ANOVA-post hoc Dunnet ile yapılmıştır ve

üzere IC<sub>50</sub> değeri hesaplatılabilmektedir. Gruplar arasında istatistiksel olarak sitotoksik etki açısından anlamlılık olduğu saptanmıştır (p<0,001). Şekil 2' de yer alan MTT sonuçlarına göre, kurkumin A549IL1β(-) hücrelerinde

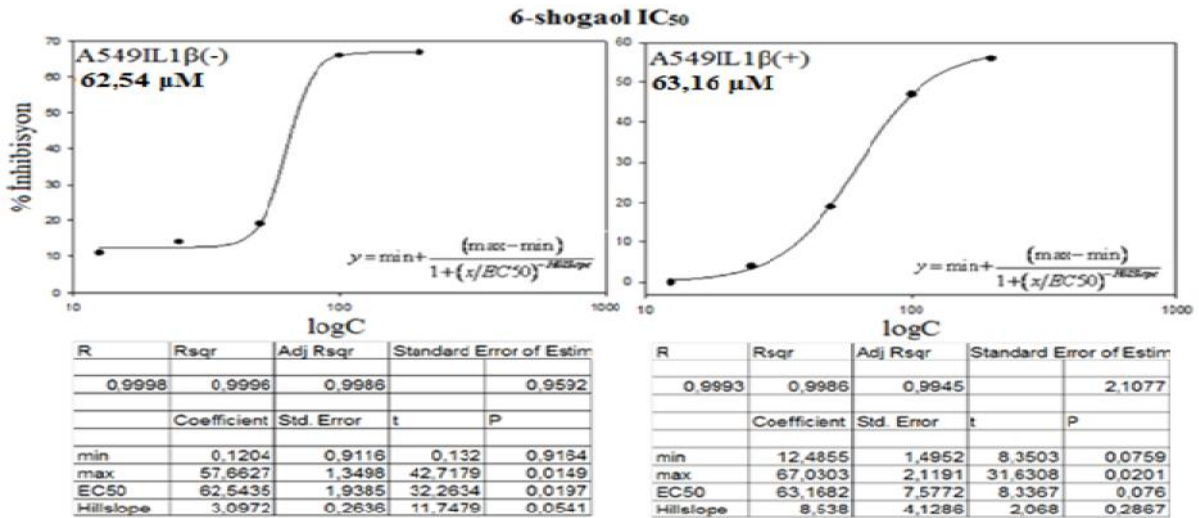


Şekil 2. A549IL1β(-) ve A549IL1β(+) sitotoksitesi 12,500 hücrede 24 saat sonundaki veriyi göstermektedir. Gruplar kontrole göre % değişim olarak verilmiştir. İstatistiksel anlamlılık sadece besiyeri uygulanmış kontrol grubuyla kıyaslanarak verilmiştir. One way Anova anlamlılık değeri p<0,001, Çoklu karşılaştırma testi için anlamlılık değeri \*p<0,05; anlamlılık Şekil 2' de p<0,05 olarak ifade edilmiştir.

## BULGULAR

0,1 µM' dan 1000 µM' a kadar logaritmik dozlarda yapılan genel tarama testlerinde 6-gingerol ve 6-shogaol 10 ile 1000 µM arasında hücre canlılığını azalttığı görülmüş; ancak 10 ile 1000 µM arasında sadece 100 µM' lık konsantrasyon bulunduğu için IC<sub>50</sub> değeri hesaplanamamıştır ve bunun üzerine moleküllerin etkin olduğu 10 ile 200 µM arasını kapsayacak 12,5-25-50-100-200µM konsantrasyonları için sitotoksitesite deneyleri 3 kez tekrarlanmış ve Şekil 3' te görüldüğü

canlılığı %64 azaltırken (p<0,05); bu etkisi A549IL1β(+) hücreleri için daha az olmakla birlikte %34 (p<0,05); düzeyinde kalmıştır. 6-gingerol her iki hücre grubunda sitotoksik etki göstermiş olsa da, canlılık %50' nin altına düşmediğinden molekül yeterince toksik olarak değerlendirilmemiştir. Dolayısıyla, 6- gingerol için IC<sub>50</sub> değeri hesaplanmamıştır. 6-shogaol ise kurkumine benzer bir sonuçla her iki hücre grubunda doza bağımlı olarak canlılığı azaltmıştır. 6-shogaol 100 ve 200µM konsantrasyonları için bu sonuç istatistiksel olarak anlamlıdır (p<0,05). Şekil 3'te görüldüğü gibi, 6-shogaolün 24 sa IC<sub>50</sub> değeri A549IL1β(-) hücreleri için 62,5 µM iken;



Şekil 3. 6-Shogaol IC<sub>50</sub> hesabı

A549IL1 $\beta$ (+) hücreleri için 63,16  $\mu$ M olarak hesaplanmıştır.

### TARTIŞMA VE SONUÇ

Halk arasında hem baharat hem de gastrointetinal şikayetler için kullanılan *Curcuma longa* bitkisinde çok miktarda bulunan kurkumin bilinen doğal bir antikanser moleküldür (17). Bu etkisini Chen ve ark. A549 hücrelerinde serbest radikal seviyelerini artırıp apoptozu tetikleyerek (18); Koeberle ve ark. ise yine A549 hücre hattında hem COX-2 hem de mPGES-1' in protein seviyelerini azaltarak gösterdiğini kanıtlamıştır (7). Buna ek olarak Yin ve ark. kurkuminin etkisini hem in vitro olarak A549 hücre hattında hem de in vivo olarak A549 ile kanser oluşturulan farelerde araştırmışlardır. Doseksel ile kombine verilen kurkuminin dosekselin antikanser etkisini artırdığını tespit etmişlerdir (19). Bu bitkiyle aynı aileden gelen *Zingiber officinale* bitkisinin içinde bulunan 6-gingerol ve 6-shogaol kurkumin ile yapısal benzerliğe sahiptir ve 6-gingerol ile 6-shogaol arasında ise moleküler fark çok azdır. Bu moleküler farklılık az olmasına rağmen 6-shogaol, 6-gingerole göre hücre canlılığını daha fazla azaltmıştır. Kurkumin ile kıyaslandığında en az onun kadar etkin olduğunu söylemek mümkündür; ancak akciğer ve diğer sağlıklı dokulara ait hücre hatlarında toksik olup olmadığını araştırılması gerekir; çünkü IMR-90 sağlıklı akciğer hücresinde yapılan çalışmalarda 6-shogaol' ün toksik olduğunu; ancak metabolitlerinin daha az toksisite gösterdiğini bulmuşlardır (20).

6-shogaol' ün sitotoksik olduğu daha önce farklı hücre hatlarında gösterilmiştir. Ishiguro ve ark ise hem 6-gingerol hem de 6-shogaol' ü Kato III, HGC ve AGC olmak üzere üç farklı gastrik kanserde ilk kez denemiş ve 6-gingerol' ün herhangi bir toksisite göstermediğini; ancak 6-shogaol' ün tek başına mikrotübüllere hasar vererek gastrik hücrelere sitotoksik olduğunu göstermişlerdir (21). Ling ve ark. ise 6-shogaol' ün MDA-MB-231 meme kanseri hücrelerinde NF-kB üzerinden MMP-9 transkripsiyonunu azalttığını göstermiş ve 6-shogaol' ün etkin bir antiinvazif ajan olduğu konusunda sonuca varmışlardır (22). 6-shogaol' ün antiinvazif etkisine ek olarak, Ling ve ark. kanser durumunda seviyeleri çok fazla artan enflamatuar medyatör kemokin ligand 2 seviyelerini azaltarak dentritik hücrelerin akciğere metastaz olmasını önlediğini ve antimetastatik özelliği olduğunu bulmuşlardır (23).

Çalışmamızda sitotoksik etki gösteren 6-shogaol' ün IL- $\beta$  ile mPGES-1 enzimi indüklenmiş A549 hücrelerinde bu etkisini nasıl gösterdiği araştırılmaya değerdir; çünkü 6-gingerol ün aksine 6-shogaol antikanser etkisi daha önceden bilinen kurkumin kadar sitotoksik etki göstermiştir. Daha önceki çalışmalara paralel olarak, A549IL- $\beta$ (+) ve (-) hücrelerindeki sitotoksik etkisine mikrotübül hasarı, MMP-9 seviyesini azaltması, kemokin ligand 2 seviyesini düşürmesi, COX-2 yolağında downregülasyon yapması gibi etkilerin eşlik etmediği konusunda daha fazla çalışma yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır. Buna ek olarak 6-shogaol' ün kurkuminle ilişkili olarak yapılan çalışmalarda doseksel gibi kemoterapide kullanılan ajanlarla kombine edilmesi de alternatifler arasında yer alabilir ve A549 ile oluşturulan in vivo kanser modellerindeki toksisitesi ve etki mekanizmalarının araştırılması da kıymetli olabilir.

### KAYNAKLAR

1. Rang H P, Dale M M, Ritter J M, Flower R J. Drugs used for the treatment of infections, cancer and immunological disorders, Anticancer drugs, In: Rang and Dale's Pharmacology (7th ed), Elsevier Churchill Livingstone, Spain, 2012; p 673-687.
2. IARC Press Release, Latest world cancer statistics, World Health Organization Report N°223, France, 2013; p 1-3.
3. Kayaalp O. Kanser Kemoterapisinin Esasları ve Antineoplastik İlaçlar, In: Rasyonel Tedavi Yönergesi Tıbbi Farmakoloji (12. baskı), Pelikan Yayıncılık, Ankara, 2009; p 315-342.
4. Celis E J. Cytotoxicity and Cell Growth Assays. In: Cell Biology A Laboratory Handbook (3rd ed), Elsevier Academic Press, 2006; s 315-324.
5. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. J Immunol Methods 1983; 65(1-2): 55-63.
6. Riss T L, Moravec R A, Niles A L, et al. Cell Viability Assays. In: Assay Guidance Manual. Bethesda (MD): Eli Lilly & Company and the National Center for Advancing Translational Sciences 2013; s e-kitap.
7. Koeberle A, Northoff H, Werz O. Curcumin blocks prostaglandin E2 biosynthesis through direct inhibition of the microsomal prostaglandin E2 synthase-1. Mol Cancer Ther 2009; 8(8): 2348-2355.
8. Gruenwald J, Brendler T, Jaenicke C, et al. PDR for Herbal Medicines. E-PDR Medical Economics Company 2000; p 339-342.
9. Shukla Y, Singh M. Cancer preventive properties of ginger: A brief review. Food Chem Toxicol 2007; 45: 683-690.
10. Koeberle A, Haberle E-M, Rossic A, et al. Discovery of benzo[g]indol-3-carboxylates as potent inhibitors of microsomal prostaglandin E2 synthase-1. Bioorg Med Chem Lett 2009; 17(23): 7924-7932
11. Bia X, Xia X, Mou T, et al. Anti-tumor activity of three ginsenoside derivatives in lung cancer is associated with Wnt/ $\beta$ -catenin signaling inhibition. Eur J Pharmacol 2014; 742; 145-152.
12. Shiroa T, Takahashia H, Kakiguchi K, et al. Synthesis and SAR study of imidazoquinolines as a novel structural class of microsomal prostaglandin E2 synthase-1 inhibitors. Bioorg Med Chem Lett 2012; 22(1): 285-288.
13. Li Y Q, Yin S M, Nie D N, et al. MK886 inhibits the proliferation of HL-60 leukemia cells by suppressing the expression of mPGES-1 and reducing prostaglandin E2 synthesis. Int J Hematol 2011; 94: 472-478.
14. Staffan T, Jakobsson P J. Coordinate up- and down-regulation of glutathione dependent prostaglandin E synthase and cyclooxygenase-2 in A549 cells Inhibition by NS-398 and leukotriene C. Eur J Biochem 2000; 267: 6428-6434.
15. Jakobsson P J, Thore N S, Morgenstern R, et al. Identification of human prostaglandin E synthase:

- A microsomal, glutathione-dependent, inducible enzyme, constituting a potential novel drug target. *Biochemistry* 1999; 96: 7220-7225.
16. Price P, McMillan T J. Use of the tetrazolium assay in measuring the response of human tumor cells to ionizing radiation. *Cancer Research* 1990; 50: 1392-1396
  17. American botanical council. *Therapeutic Guide To Herbal Medicines, Commission E Monographs* 1999; p: Turmeric root chapter.
  18. Chen Q, Wang Y, Xu K, et al. Curcumin induces apoptosis in human lung adenocarcinoma A549 cells through a reactive oxygen species-dependent mitochondrial signaling pathway. *Oncol Rep* 2010; 23(2): 397-403.
  19. Yin H, Guo R, Xu Y, et al. Synergistic antitumor efficiency of docetaxel and curcumin against lung cancer. *Acta Biochim Biophys Sin* 2012; 44: 147-153.
  20. Zhu y, Warin R F, Soroka D N, et al. Metabolites of ginger component [6]-shogaol remain bioactive in cancer cells and have low toxicity in normal cells: chemical synthesis and biological evaluation. *Plos One* 2013; 8 (1): 1-13.
  21. Ishiguroa K, Andob T, Maedab O, et al. Ginger ingredients reduce viability of gastric cancer cells via distinct mechanisms. *Biochem Bioph Res Co* 2007 ; 362 (1): 218-223.
  22. H Ling, H Yang, S-H Tan, et al. 6-Shogaol, an active constituent of ginger, inhibits breast cancer cell invasion by reducing matrix metalloproteinase-9 expression via blockade of nuclear factor-kB activation. *Brit J Pharmacol* 2010; 161: 1763-1777.
  23. Hsy Y L, Hung J Y, Tsai Y M, et al. 6-Shogaol, an active constituent of dietary ginger, impairs cancer development and lung metastasis by inhibiting the secretion of cc-chemokine ligand 2 (ccl2) in tumor-associated dendritic cells. *J Agric Food Chem* 2015: 63; 1730-1738.