

An Overview of Anticancer Chalcones with Apoptosis Inducing Activity

Hassan Mirzaei¹,
Masoud Keighobadi¹,
Saeed Emami²

¹ Ph.D Student, Pharmaceutical Sciences Research Center, Student Research Committee, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

² Professor, Department of Medicinal Chemistry and Pharmaceutical Sciences Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received November 29, 2016 ; Accepted January 31, 2017)

Abstract

Cancer is a complex and life-threatening disease involving uncontrollable cell proliferation, evading apoptosis, and metastasis. Despite recent developments in cancer chemotherapy, there are no effective broad spectrum anticancer agents that could selectively target cancer cells. Thus, designing and discovering new efficient and selective anticancer agents are urgent needs. It is important that new anticancer agents could act via apoptosis induction, since it has a critical role in control of cell proliferation. Chalcones are naturally occurring compounds possessing high degree of synthetic diversity for design of new leading bioactive compounds including anticancer agents. Chalcones are considered as promising anticancer agents against most human cancers with capability of inducing apoptosis in cancer cells. Furthermore, some clinically useful anticancer drugs show genotoxicity due to interaction with DNA, but chalcones with different mechanism may be devoid of this side effect. This review highlights the recently identified anticancer chalcones from naturally or synthetically origins that induce apoptosis in cancer cells. The diversity of scaffolds described in this review along with their structure-activity relationships could help medicinal chemists in development of new selective anticancer chalcones with improved potency.

Keywords: cancer, anticancer agents, apoptosis, chalcones, drug discovery

J Mazandaran Univ Med Sci 2017; 26 (146): 254-268 (Persian).

مروری بر چالکون‌های ضد سرطان القاکننده آپوتوز

حسن میرزایی^۱مسعود کیقبادی^۱سعید امامی^۲

چکیده

سرطان بیماری پیچیده و تهدید کننده حیات است که با تقسیم غیر قابل کنترل سلول‌ها، اجتناب از آپوتوز و متاستاز همراه است. علی‌رغم پیشرفت‌های حاصل شده در حیطه شیمی درمانی سرطان، هنوز داروی ضدسرطان با طیف گسترده و موثری که بتواند سلول‌های سرطانی را به طور اختصاصی هدف قرار دهد وجود ندارد. بنابراین طراحی و کشف داروهای جدید ضدسرطان با کارآیی بالا و اختصاصیت کافی الزامی است. به خاطر نقش اساسی آپوتوز و مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی در کنترل تقسیم سلول‌ها، داروهای ارائه شده جدیدتر جیحا باید بتوانند آپوتوز را در سلول‌های سرطانی القا نمایند. چالکون‌ها ترکیباتی با منشأ طبیعی هستند که از تنوع سنتتیک بالایی نیز برای طراحی ترکیبات فعال بیولوژیک جدید و به ویژه داروهای ضدسرطان برخوردار هستند. اخیراً مشخص شده که بسیاری از چالکون‌ها می‌توانند از طریق القای آپوتوز باعث مهار بسیاری از سرطان‌های انسانی شوند. علاوه بر این، بسیاری از داروهای ضدسرطان حاضر از طریق اختلال در کار DNA باعث عارضه مهم ژنوتوکسیسیتی می‌شوند ولی چالکون‌ها به دلیل مکانیسم متفاوتی که دارند ممکن است چنین عارضه‌ای را بروز ندهند. مقاله مروری حاضر به بررسی ترکیبات جدید چالکونی با منشأ طبیعی و یا سنتتیک می‌پردازد که از طریق القای آپوتوز از خود خاصیت ضدسرطانی نشان داده‌اند. تنوع و دست‌بندی ساختاری ارائه شده در این مقاله به همراه معرفی رابطه ساختمان-فعالیت ترکیبات می‌تواند به متخصصین شیمی دارویی کمک کند تا به طراحی و توسعه داروهای جدید قوی و هدفمند از نسل چالکون‌ها بپردازند.

واژه های کلیدی: سرطان، عوامل ضدسرطان، آپوتوز، مشتقات چالکون، کشف دارو

مقدمه

خود خارج شده و به سمت ایجاد سلول‌های توموری می‌روند(۲،۱). در حال حاضر ۱۳ درصد از مرگ و میرهای دنیا به سرطان اختصاص دارد و مطابق گزارش سازمان جهانی بهداشت ۸/۲ میلیون نفر بر اثر سرطان در دنیا جان خود را از دست می‌دهند. هم‌چنین در ایران نیز مطابق گزارش وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی سرطان سومین عامل مرگ و میر می‌باشد که سالانه بیش

سرطان در نتیجه تقسیم غیرقابل کنترل سلول‌ها به دلیل اختلالات ژنتیکی و محیطی به وجود می‌آید. چهار دسته از ژن‌ها در هدایت و ایجاد سلول‌های سرطانی نقش عمده‌ای دارند که شامل ژن‌های مرگ برنامه‌ریزی شده، ژن‌های مهارکننده توموری، ژن‌های ترمیم کننده DNA و آنکوژن‌ها می‌باشند. در صورت ایجاد موتاسیون ژنتیکی مخرب، سلول‌های نرمال از مسیر رشد طبیعی

E-mail: sd_emami@yahoo.com

مؤلف مسئول: سعید امامی - ساری: کیلومتر ۱۸ جاده فرح آباد، مجتمع دانشگاهی پیامبر اعظم (ص)، دانشکده داروسازی

۱. دانشجوی Ph.D پژوهشی، مرکز تحقیقات علوم دارویی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۲. استاد، گروه شیمی دارویی، مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۹/۹ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۳۹۵/۹/۲۴ تاریخ تصویب: ۱۳۹۵/۱۱/۱۲

پذیرنده مایکل (Michael acceptor) عمل نماید و عوامل نوکلئوفیل را آلكيله كند (۹،۸).

چالکون‌ها دارای فعالیت متنوعی مانند اثرات ضدالتهاب، ضدلیشمانیا، ضد مالاریا، ضد ویروس، ضد قارچ و... می‌باشند (۱۰). از مهم‌ترین اثرات چالکون‌ها خاصیت ضدسرطانی آن‌ها می‌باشد که این امر با مکانیسم‌های متنوعی صورت می‌گیرد (۱۱). یکی از مهم‌ترین مکانیسم‌های ضدسرطانی چالکون‌ها القاکنندگی آپوپتوز در سلول‌های سرطانی است. اگرچه تعداد بی‌شماری از ترکیبات چالکونی با اثرات سیتوتوکسیک و ضدسرطانی گزارش گردیده‌اند اما در بسیاری از موارد بررسی مکانیسمی بر روی آن‌ها صورت نگرفته است. لذا در این مقاله فقط به بررسی اثرات ضدسرطانی چالکون‌هایی خواهیم پرداخت که مکانیسم القاکنندگی آپوپتوز برای آن‌ها گزارش گردیده است.

آپوپتوز و اهمیت آن

آپوپتوز یک سری از وقایع برنامه‌ریزی شده درون سلولی می‌باشد که باعث مرگ سلول می‌شود. آپوپتوز باعث تغییر شکل مورفولوژیکی سلول، چروکیدگی حجم سلول، چروکیدگی هسته، قطعه قطعه شدن کروماتین و از دست دادن چسبندگی که با حمله ماکروفاژها از بین می‌رود، می‌باشد. آپوپتوز در سطح سلولی به وسیله پروتئین‌های خانواده Bcl-2، پروتئین پروآپوپتوتیک (Bcl-x1)، و پروتئین آنتی آپوپتوتیک (Bad، Bid، Bax) تنظیم می‌گردد (۱۲،۱۳).

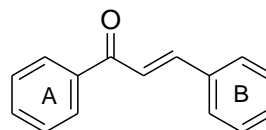
کاسپازها گروهی از پروتئازهای سیستمی هستند که از عوامل اصلی آپوپتوزیس محسوب می‌گردند و در اغلب سلول‌ها به شکل غیرفعال وجود دارند. القاء آپوپتوزیس توسط گیرنده‌های مرگ سلولی منجر به فعال شدن کاسپازهای آغازگر (کاسپاز ۸ و کاسپاز ۱۰) می‌شود که با فعال‌سازی کاسپازهای پایین دست و ایجاد آبشار پروتئولیتیکی همراه می‌گردد (۱۴). دو مسیر برای انتقال سیگنال درون سلولی آپوپتوز شناسایی شده‌است که عبارتند از ۱- مسیر خارجی ۲- مسیر داخلی.

از ۳۰۰۰۰ نفر از مردم در اثر سرطان جان خود را از دست می‌دهند. مطابق پیش‌بینی سازمان بهداشت جهانی بروز سرطان در ایران در سال ۱۳۹۹ خورشیدی به حدود ۸۶۰۰۰ مورد در کل جمعیت و نیز میزان مرگ و میر ناشی از سرطان به حدود ۶۳۰۰۰ مورد خواهد رسید (۴،۳).

در حال حاضر موفقیت در درمان سرطان حدود ۳۰ تا ۴۰ درصد می‌باشد، که این موضوع ناشی از کارایی پایین شیمی درمانی و عوارض جانبی نامطلوب آن می‌باشد. بنابراین بهبود کارایی و کاهش سمیت داروهای ضدسرطان یک عامل مهم و تعیین‌کننده در درمان سرطان می‌باشد که به عنوان یک استراتژی مهم در بین محققان شیمی دارویی مطرح می‌باشد (۵،۶). از این رو طراحی و سنتز ترکیبات ضدسرطان با کارایی بالا از اولویت‌های بسزایی برخوردار می‌باشد. این ترکیبات باید بتوانند با مکانیسم‌های مختلف باعث توقف رشد سلول‌های سرطانی و آپوپتوز در آن‌ها شوند ولی بر بقای سلول‌های نرمال تاثیری نداشته باشند.

معرفی چالکون‌ها

چالکون با نام شیمیایی ۱،۳-دی آریل-۲-پروپن-۱-اون (تصویر شماره ۱) شامل دو حلقه آروماتیک با یک زنجیره سه کربنه حاوی یک پیوند دوگانه و گروه کربونیل است. این ساختار هسته اصلی بسیاری از ترکیبات بیولوژیک بوده و به عنوان پیش‌ساز برای فلاونوئیدها و ایزوفلاونوئیدها به‌شمار می‌رود که به صورت گسترده‌ای در میوه‌جات، سبزیجات، ادویه و چای وجود دارند (۷).



تصویر شماره ۱: ساختار کلی چالکون

از لحاظ شیمیایی به دلیل این که چالکون دارای ساختار کربونیل α و β -ناشباعی است می‌تواند به عنوان

به عهده دارد. اثرات ضدسرطانی p53 در سه مسیر متفاوت صورت می‌گیرد: ۱- تحریک پروتئین‌های ترمیم کننده DNA ۲- تحریک مرگ برنامه‌ریزی شده سلول ۳- توقف چرخه سلولی در مرحله G1/S (۱۷، ۱۸). تجزیه p53 به وسیله اجزاء مختلف سلولی همانند MDM2 و Sirtuin-1 صورت می‌گیرد. بنابراین مهار تجزیه پروتئین p53 یک استراتژی مناسب برای درمان مبتلایان به سرطان می‌باشد. پروتئین p53 با افزایش بیان ژن‌های آپوپتوزی و کاهش بیان ژن‌های ضد آپوپتوزی مانند Bcl-2 موجب القای آپوپتوز در سلول‌های سرطانی می‌گردد. MDM2 به پروتئین p53 متصل گردیده و منجر به مهار فعالیت رونویسی p53 و افزایش تجزیه p53 از مسیر یوبی کویشتین-پروتئوزوم می‌گردد (۱۹).

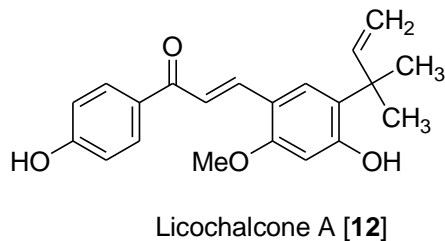
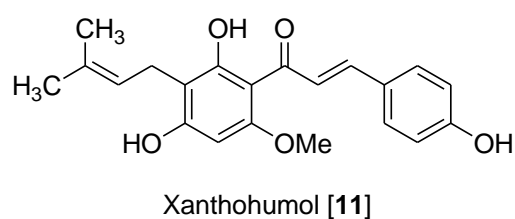
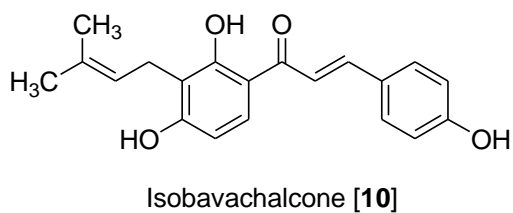
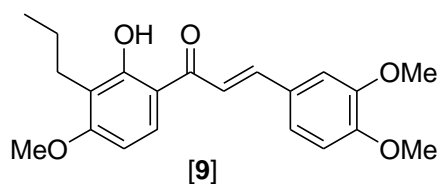
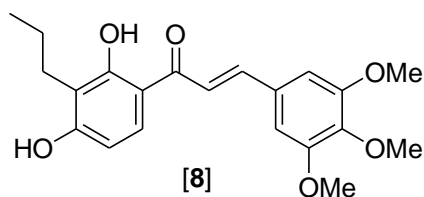
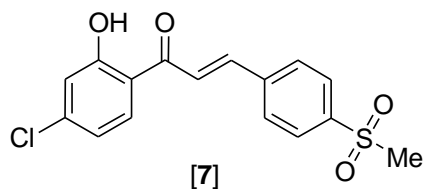
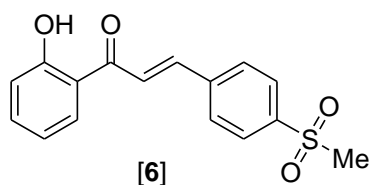
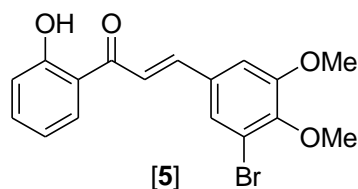
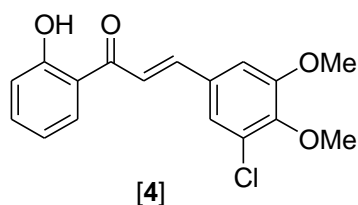
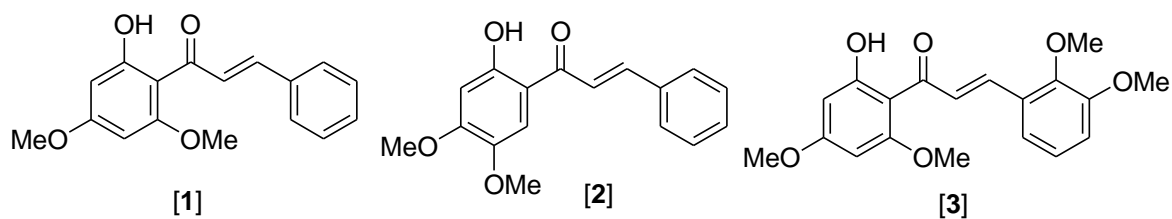
چالکون‌ها به عنوان القا کننده آپوپتوز

۲- هیدروکسی چالکون‌ها

۲- هیدروکسی چالکون‌ها منشأ طبیعی داشته و در واقع پیش‌ساز فلاونوئیدها محسوب می‌شوند. ساختار برخی از هیدروکسی چالکون‌های سیتوتوکسیک که خاصیت القای آپوپتوز از خود نشان داده‌اند در تصویر شماره ۲ به نمایش درآمده‌اند. یکی از چالکون‌های طبیعی فلاوکاووین B (Flavokawain B) [ترکیب ۱] می‌باشد که از گیاه کاوا (*Piper methysticum*) جدا می‌شود. این ترکیب با افزایش میزان پروتئین‌های پیش‌آپوپتوزی (PUMA و BIM) و کاهش میزان پروتئین آنتی‌آپوپتیک سبب مرگ سلول از طریق مکانیسم آپوپتوز مسیر خارجی می‌گردد. هم‌چنین این ترکیب با فعال سازی کاسپاز ۸، کاسپاز ۹، کاسپاز ۳، کاسپاز ۷ میزان بیان گیرنده‌های مرگ را افزایش داده و میزان بیان IAP (مهار کننده کاسپاز) را نیز کاهش می‌دهد (۲۰). ترکیب چالکونی دیگری نیز با منشأ طبیعی به نام ۲'-هیدروکسی-۴'،۵'-دی‌متوکسی چالکون [ترکیب ۲] از گیاه *Sarcandra hainansis* استخراج گردید که این ماده در طب سنتی چین به صورت وسیع

مسیر خارجی. معمولاً در غشاء پلاسمایی اکثر سلول‌ها گیرنده‌های مرگ سلولی وجود دارد. گیرنده‌های مرگ سلولی، اعضاء ابرخانواده TNF می‌باشند. در صورتی که این گیرنده‌ها توسط لیگاندهای مربوطه تحریک شوند، باعث فعالیت کاسپازها و القای آپوپتوز می‌گردند. گیرنده‌های مرگ در بخش سیتوپلاسمی شان توالی‌هایی به نام ناحیه مرگ دارند که در انتقال پیام آپوپتوز به داخل سلول نقش دارند. شناخته‌شده‌ترین گیرنده‌های مرگ عبارتند از DR4، DR5، Fas، TNFR1 و TNFR2. تحریک گیرنده‌های مرگ توسط لیگاندهای مربوطه، منجر به ترمیم‌ریزاسیون گیرنده و به کارگیری پروتئین‌های آداپتور (TRADD, FADD) و کاسپازهای آغازگر و اجرایی می‌گردد. کاسپازهای آغازگر (کاسپاز ۲، کاسپاز ۸، کاسپاز ۹ و کاسپاز ۱۰) سبب فعال شدن کاسپاز اجرایی ۳، کاسپاز اجرایی ۶ و کاسپاز اجرایی ۷ می‌شود که در نهایت باعث مرگ سلولی می‌گردد (۱۵).

مسیر داخلی: مسیر داخلی به وسیله اعضاء خانواده پیش‌آپوپتوزی (Bcl-2) شامل (Bak-Bax) تنظیم می‌شود. در پاسخ به پیام‌های مرگ سلولی نفوذپذیری غشای خارجی میتوکنندری باعث رها شدن مولکول‌های پیش‌آپوپتوزی شامل فاکتور القا کننده آپوپتوز (AIF) و سیتوکروم C به درون سیتوپلاسم سلول می‌گردد. در نتیجه آزاد شدن AIF، DNA هسته در مسیر مستقل از کاسپاز تخریب می‌شود. Apaf-1 در شرایط طبیعی و در سلول غیر فعال است که در صورت آزاد شدن سیتوکروم C از میتوکنندری فعال می‌گردد. Apaf-1 فعال شده، کاسپاز ۹ را فعال کرده و این کاسپاز نیز کاسپازهای اجرایی ۳ و کاسپازهای اجرایی ۷ را فعال و در نتیجه باعث مرگ سلولی می‌گردد (۱۶). از سوی دیگر، پروتئین p53 نوعی از پروتئین‌های سرکوبگر تومور (Tumor suppressor) می‌باشد که در حالت طبیعی وظایفی مانند تنظیم تقسیم سلول‌ها، خودکشی سلول‌ها، مسن شدن سلول‌ها، عروق‌سازی، تمایز یافتن سلول‌ها و متابولیسم DNA را



تصویر شماره ۴: ساختار برخی هیدروکسی‌چالکون‌های القاکننده آپوپتوز

ترکیب مذکور با افزایش میزان خارج سلولی گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) باعث توقف سیکل سلولی

در درمان استفاده می‌شود. این ترکیب دارای اثرات مهارتی روی سلول‌های سرطانی ریه (NSCLC) می‌باشد.

گرفته است اثرات سیتوتوکسیک ۴،۲'، ۴-دی هیدروکسی چالکون‌های استخلاف شده روی رده‌های سلولی سرطانی (MCF-7، NCI-H460 و A375-C5) با روش SRB مورد سنجش قرار گرفت. ترکیب ۸ با ریشه پروپیل اثرات سیتوتوکسیک مناسبی را نشان داد و نتایج آزمون‌های بیولوژیک، ایجاد آپوپتوز را در سلول‌های سرطانی MCF-7 تایید کرد ($GI_{50}=7.3 \mu M$) (۲۵).

Pereira و گروه تحقیقاتی‌اش با استفاده از روش غربال‌گری مجازی (virtual screening) تعدادی از ترکیبات چالکون را به عنوان مهارکننده MDM2 معرفی نموده و فعالیت ضدسرطانی بهترین ترکیبات را روی رده‌های مختلف سلول‌های سرطانی ارزیابی نمودند. نتایج آزمایشات نشان داد که ترکیب چالکون ۹ باعث مهار رشد سلول‌های سرطانی از طریق فعال‌سازی p53 می‌گردد (۲۶).

ترکیباتی مانند ایزوبواچالکون [۱۰]، گزانتومول [۱۱] و لیکوچالکون A [۱۲] چالکون‌های هیدروکسیله‌ای هستند که دارای ریشه آلکنیل روی حلقه A یا B می‌باشند. این ترکیبات اثرات سیتوتوکسیک و آپوپتوزی خود را از طریق گیرنده‌های مرگ (TRAIL-R2) و احتمالاً از مسیر خارجی اعمال می‌کنند (۲۷).

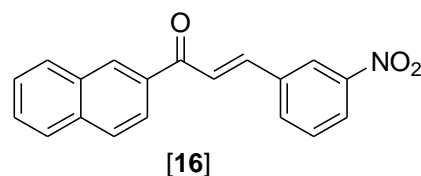
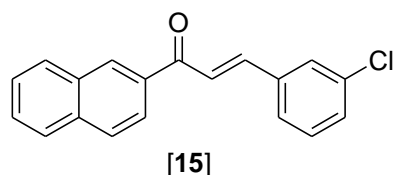
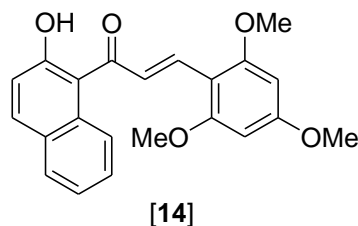
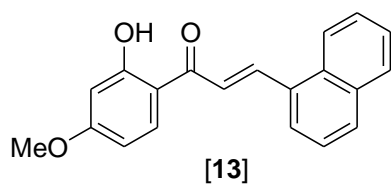
نفتوچالکون‌ها

در نفتوچالکون‌ها (یا بنزوچالکون‌ها) یکی از حلقه‌های فیل با حلقه بی‌سیکلیک نفتالن جایگزین شده‌است. اتصال ریشه نفتیل می‌تواند از ناحیه α یا β باشد، ضمن این‌که ناحیه ۲ نسبت به کربونیل نیز می‌تواند هیدروکسیله باشد.

ترکیب ۲-هیدروکسی چالکونی ۱۳ (تصویر شماره ۳) که دارای گروه لیوفیل نفتیل در محل حلقه B است، فعالیت سمی موثری را بر روی سلول سرطانی پانکراس نشان داده است ($IC_{50}=5.2 \mu M$). همچنین این ترکیب با افزایش فعالیت کاسپازها، توقف چرخه سلولی و تداخل با پروتئین فعال شده با میتوز MAPK باعث

گردیده و با افزایش میزان گیرنده‌های مرگ DR5 منجر به القای آپوپتوز از طریق مسیر خارجی می‌شود. علاوه بر این ترکیب مذکور باعث مهار C-flip شده و از این طریق باعث افزایش TRAIL و القای آپوپتوز می‌گردد (۲۱). لازم به ذکر است دو ترکیب ۱ و ۲ که از دو گیاه مختلف جداسازی و شناسایی شده‌اند، تنها در نحوه قرار گرفتن گروه‌های متوکسی روی حلقه A با هم تفاوت دارند؛ در واقع ترکیب ۱ مشتق ۴'، ۶'-دی‌متوکسی است در حالی که ترکیب ۲ مشتق ۴'، ۵'-دی‌متوکسی می‌باشد. آنالوگی دی‌متوکسیله از ترکیب ۱ با نام شیمیایی ۲'-هیدروکسی-۳،۴،۶'-تترامتوکسی چالکون [۳] با مهار پروتئین‌های مهارکننده فسفوریلاسیون cdc2 و Rb منجر به افزایش میزان بیان پروتئین p53 و القای آپوپتوز می‌گردد. هم‌چنین این ترکیب باعث توقف چرخه سلولی در فاز G1 نیز می‌شود که این امر موجب شناسایی این ترکیب به عنوان یک عامل سیتوتوکسیک روی سلول‌های سرطانی ریه (A549) گردیده است (۲۲). سمیت سلولی یک سری از آنالوگ‌های سنتتیک چالکونی روی رده‌های سلولی سرطانی MCF-7، MB-MDA، MC-N-SK ارزیابی گردیده‌است. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که ترکیبات ۴ و ۵ دارای بیش‌ترین اثر مهار روی سلول‌های سرطانی می‌باشند. مقادیر IC_{50} ترکیب ۵ کم‌تر یا معادل با ۱/۳ میکرومولار بوده است. علاوه بر این، ترکیب ۵ به طور قابل توجهی اثر سمی کم‌تری را روی سلول‌های نرمال MRC-5 نسبت به سلول‌های سرطانی نشان داد. آزمون فلوسایتومتری و میکروسکوپ فلورسنت مشخص کرد که این ترکیبات باعث القای آپوپتوز می‌گردند (۲۳). متیل سولفونیل چالکون‌های ۶ و ۷ با تنظیم مسیر هدایت سیگنالی Akt/NF- κ B/COX-2، باعث القای آپوپتوز می‌گردد. این چالکون‌ها هم‌چنین از طریق کاهش میزان بیان Bcl-2 باعث القای آپوپتوز در سلول‌های سرطانی پانکراس می‌گردند (۲۴).

بر اساس مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۲ صورت



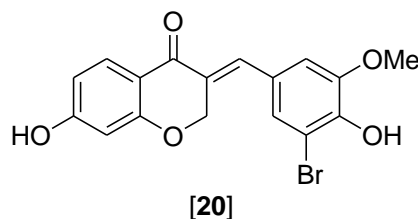
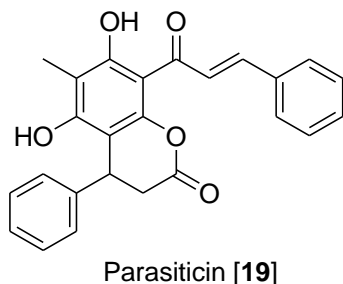
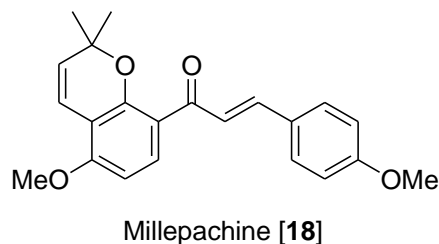
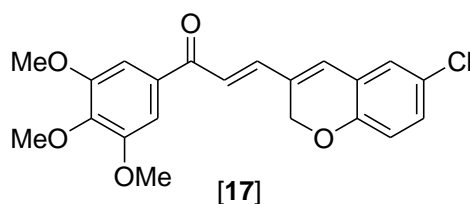
تصویر شماره ۳: ساختار نفتوچالکون‌ها

درواقع حلقه کرومن از حلقه کرومان یا حلقه دی‌هیدروبنزوپیران مشتق گردیده‌است و به همراه حلقه‌های مشابه مثل ۴-کرومنون، ۴-کرومانون و کومارین در بسیاری از ترکیبات طبیعی و یا سنتتیک ضدسرطان یافت می‌شود (۳۱، ۳۲). در گذشته ترکیبات سیتوتوکسیک مختلفی که دارای هسته کرومن بوده‌اند توسط گروه تحقیقاتی ما طراحی و سنتز گردیده‌است که برخی از آن‌ها خاصیت القاکنندگی آپوپتوز نیز داشته‌اند (۳۳، ۳۴). علاوه بر این، یک سری از مشتقات چالکون حاوی استخلاف کرومن توسط گروه تحقیقاتی ما طراحی و سنتز شده‌اند و اثرات سیتوتوکسیک آن‌ها روی رده‌های سلولی سرطانی K562 و SK-N-MC ارزیابی گردیده‌است. بر اساس نتایج به دست آمده، ترکیب شماره ۱۷ (تصویر شماره ۴) دارای بهترین اثر سیتوتوکسیک بوده و باعث مهار پلیمریزاسیون توبولین می‌گردد. علاوه بر این، مشاهدات مورفولوژیک میکروسکوپی و نتایج آزمون فلوسایتومتری (AnnexinV/PI) آپوپتوز را تایید کرده‌است (۳۵).

چالکون طبیعی میلپاچین [ترکیب ۱۸] دارای حلقه استخلاف شده کرومن بوده و باعث توقف چرخه سلولی و القای آپوپتوز در سلول Hep-G2 می‌شود. این ترکیب طبیعی پروتئین کیناز واسطه در مسیر آپوپتیک p53 (CHK2) را فعال می‌کند که سبب آسیب به DNA سلول می‌گردد. این ترکیب همچنین باعث افزایش

القای آپوپتوز می‌گردد. القای آپوپتوز این ترکیب به وسیله دو روش آزمون TUNEL و رنگ آمیزی با Annexin-V تایید گردیده‌است (۲۸).

یکی دیگر از ترکیبات ضد آپوپتوزی با ساختار نفتالنی ترکیب HMNC-74 [۱۴] می‌باشد که این ترکیب اثرات سمی خیلی خوبی روی سلول‌های سرطانی کولون (SW20) داشت. همچنین این ترکیب باعث مهار پلیمریزاسیون توبولین و توقف چرخه میتوتیک (trigger mitotic) با القای آپوپتوز وابسته به p53 و کاسپاز-۲ گردید. نتایج یافته‌های این مطالعه نشان داد که ترکیب مذکور باعث مرگ سلول‌های توموری می‌گردد که این امر نوید بخش رسیدن به داروهای موثرتری در درمان سرطان خواهد بود (۲۹). در مطالعه‌ای دیگر، اثرات چالکون‌های نفتالنی روی سلول‌های سرطانی لوکمی لنفوبلاستیک (L1210) بررسی گردید و مشاهده شد که ترکیبات ۱۵ و ۱۶ بهترین فعالیت آپوپتوزی را دارند ($CC_{50} = 30-40 \mu M$). بر اساس این مطالعه آپوپتوز از سه مسیر ایجاد گردیده بود: ۱- افزایش میزان TRAIL و گیرنده‌های مرگ، ۲- افزایش میزان سیتوکروم C و ۳- تغییر غلظت کلسیم و افزایش میزان پروتئین‌های Bcl-2. علاوه بر این چالکون‌های نفتیلی از طریق مسیر داخلی و خارجی نیز آپوپتوز را القا می‌کنند (۳۰). یکی از تغییراتی که در مولکول چالکون‌ها اعمال شده‌است جایگزینی حلقه فینیل با حلقه کرومن است.



تصویر شماره ۴: ساختار کرومنو و کرومانوچالکون‌ها

مورفولوژیک ناشی از القا آپوپتوز را تایید کرد (۳۹).

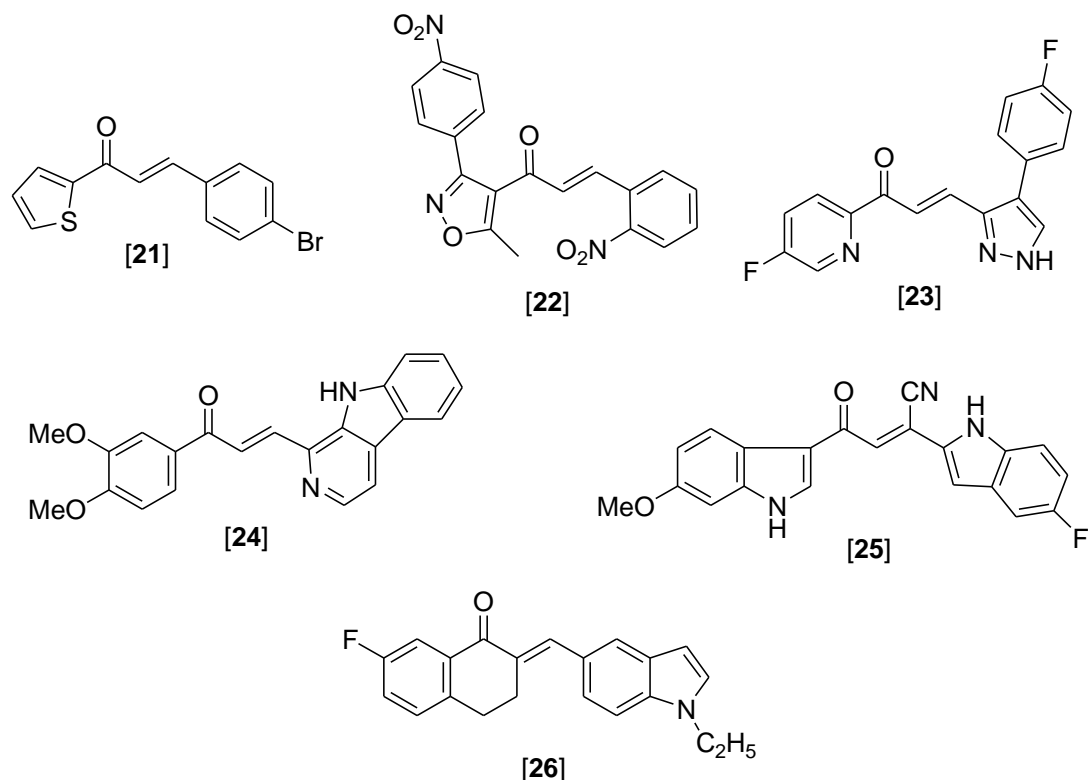
سایر مشتقات هتروسیکلیک چالکون‌ها

به منظور تغییر فعالیت بیولوژیک چالکون‌ها، بسیاری از حلقه‌های هتروسیکل در ساختار چالکون‌های سنتتیک تلفیق گردیده‌اند. از آن جمله می‌توان به هسته‌های تیوفن، پیرازول، ایزوکسازول، اکسادیازول، تiazول، ایندول، ایزاتین، کربولین و... اشاره کرد. از این حلقه‌ها در بسیاری از ترکیبات ضدسرطان غیرچالکونی هم استفاده شده است (۴۵-۴۰). در ادامه به نمونه‌ای از ترکیبات سیتوتوکسیک شبه‌چالکونی هتروسیکلیک که با مکانیسم القاکنندگی آپوپتوز عمل می‌کنند اشاره می‌شود (تصویر شماره ۵).

ترکیب ۲۱ از مشتقات چالکونی حاوی تیوفن می‌باشد با افزایش بیان Bax و کاسپازها باعث القای آپوپتوز می‌شود. آزمون‌های سمیت سلولی، فلوسایتمتری و بیان ژن، مرگ سلولی در اثر آپوپتوز را به خوبی نشان داده است (۴۶).

Wan و همکاران، یک سری از مشتقات ایزوکسازول-چالکون را سنتز نمودند و اثرات سیتوتوکسیک این ترکیبات را روی سلول‌های سرطانی ریه انسانی (NSCLC) مورد بررسی قرار دادند. با توجه

نسبت پروتئین Bax/Bak می‌شود که به دنبال آن آپوپتوز از طریق مسیر میتوکندریایی رخ می‌دهد (۳۶). پارازیتین [ترکیب ۱۹] یک ترکیب چالکونی طبیعی می‌باشد که از گیاه *Cyclosorus parasiticus* استخراج گردیده و نشان داده شده است که با IC_{50} معادل $1/60$ میکرومولار دارای اثرات سیتوتوکسیک مناسبی روی سلول سرطانی Hep-G2 است. آنالیز SAR نشان داد که وجود گروه متیل در ناحیه شماره ۶ باعث بهبود فعالیت فارماکولوژیک می‌گردد. آزمون فلوسایتمتری (رنگ آمیزی با Annexin V/PI) نیز وجود آپوپتوز قوی را تایید کرد (۳۷). یک سری از مشتقات ۳-بنزلیدن کرومانون به عنوان مشتقات چالکونی دارای محدودیت کنفورماسیونی، توسط تیم تحقیقاتی ما سنتز گردیده و اثرات سیتوتوکسیک آن‌ها مورد بررسی قرار گرفته است (۳۸، ۳۹). ارزیابی‌ها روی سلول‌های سرطانی SK-N-MC، MDA-MB-231 و K562 نشان داد ترکیب ۲۰ که حاوی گروه ۷-هیدروکسی روی حلقه کرومانون و استخلاف ۳-برمو-۴-هیدروکسی-۵-متوکسی روی گروه بنزلیدن است، دارای بیش‌ترین اثر مهارتی روی رده‌های سلولی سرطانی می‌باشد (مقادیر IC_{50} معادل یا کم‌تر از $3/86$ میکرومولار). نتایج رنگ آمیزی با آکریدین اورنژ-تیديوم برماید نیز تغییر شکل



تصویر شماره ۵: مشتقات هتروسیکلیک چالکون‌ها

گروه‌های الکترون دهنده متوکسی در حلقه فنیل می‌باشد باعث مهار تکثیر چندین رده از سلول‌های سرطانی می‌گردد. به عنوان نمونه، مقدار IC_{50} این ترکیب روی رده سلولی سرطان سینه MCF-7 در حدود ۲/۲۵ میکرومولار بود. بررسی این ترکیبات با استفاده از فلوسایتومتری و TUNEL مشخص کرد که این ترکیبات باعث القای آپوپتوز می‌گردند (۴۹). تعدادی از چالکون‌های بیس- ایندولی دارای استخلاف آلفا-سیانو با کمک روش مایکروویو سنتز گردیده و اثرات آن‌ها روی رده‌های سلولی سرطانی مورد مطالعه قرار گرفته است. نتایج به دست آمده حاکی از آن بود که ترکیب ۲۵ با IC_{50} برابر با ۰/۸ میکرومولار بیش‌ترین اثر سمی را روی سلول‌های سرطانی A-549 داراست. آنالیز SAR نشان داد که حضور گروه‌های متوکسی و فلئور روی حلقه ایندول باعث افزایش سمیت می‌گردد (۵۰).

سری دیگری از مشتقات چالکونی حاوی حلقه ایندول و با پایه تترالون سنتز گردیده و اثرات سیتوتوکسیک آن‌ها

به نتایج به دست آمده مشخص گردید که ترکیب ۲۲ سمیت موثری روی سلول‌های سرطانی مذکور دارد ($IC_{50} = 1.35-2.07 \mu M$). مطالعه رابطه ساختار-فعالیت (SAR) و مقادیر IC_{50} به دست آمده نشان داد که وجود گروه‌های الکترون کشنده در جایگاه C-2 حلقه فنیل باعث بهبود فعالیت می‌گردد (۴۷).

یک سری از مشتقات پیرازول-چالکون نیز که توسط Rai و همکاران سنتز گردیده، دارای اثرات سمی خوبی روی سلول‌های سرطانی سینه (MCF-7) و دهانه رحم (Hela) بوده‌اند. ترکیب ۲۳ که دو بخش ۴-فلوئوروفنیل و ۵-فلوئوروپیریدین را داشت به عنوان موثرترین ترکیب شناخته شد. مقادیر IC_{50} به دست آمده برای این ترکیب در محدوده ۰/۱۸ تا ۰/۴۷ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود (۴۸).

در مطالعه‌ای دیگر، سمیت سلولی مشتقات چالکونی حاوی بتاکربولین روی سلول‌های سرطانی ارزیابی شد و مشاهده گردید که ترکیب ۲۴ که دارای

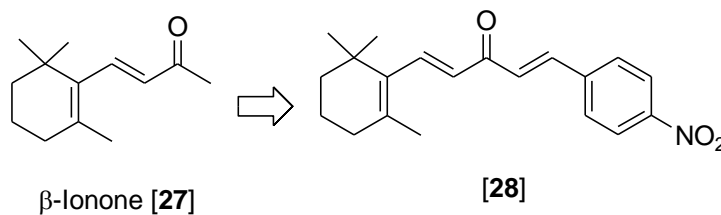
اثرات بهتر، روی سلول‌های سرطان پروستات (PC-3) حاصل شده است. تست Annexin-FITC وقوع آپوپتوز را در سلول‌هایی که با ترکیب ۲۸ تیمار شده بودند ثابت نمود. آنالیز فلوسیتومتری نشان داد که ترکیب ۲۸ چرخه سلولی را در فاز G₀ متوقف می‌کند (۵۳).

طی مطالعه‌ای، یک سری از مشتقات جدید چالکونی از ریشه گیاه *Flemingia philippinensis* جداسازی گردید و اثرات سیتوتوکسیک این ترکیبات روی رده‌های سلولی سرطانی PC-3 ارزیابی گردید. نتایج به دست آمده حاکی از آن بود که ترکیب ۲۹ (تصویر شماره ۷) با GI₅₀ برابر با ۱۴/۱۲ میکرومولار بهترین اثر مهاري را روی رده سلول سرطانی مذکور دارد. سمیت سلولی ترکیب یادشده بر روی رده‌های سلولی هپاتومای انسانی (Bel-7402) و سرطان معده انسانی (CaEs-17) نیز بررسی گردید. اثرات مهاري به دست آمده روی سلول‌های مذکور به ترتیب ۱/۹۱ و ۲/۵۸ میکرومولار بود. آنالیز فلوسایتومتری و رنگ آمیزی با AnnexinV/PI نشان می‌دهد که ترکیب ۲۹ باعث القای آپوپتوز از طریق کاهش پتانسیل غشای میتوکندری می‌گردد. هم‌چنین این ترکیب با تداخل در چرخه سلولی و توقف فاز S/G₂ باعث القای آپوپتوز می‌گردد (۵۴).

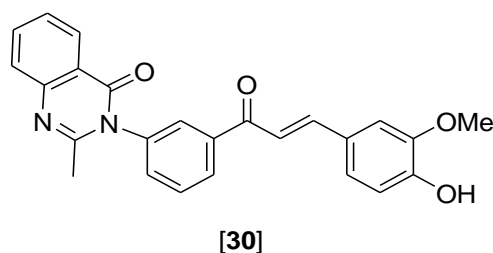
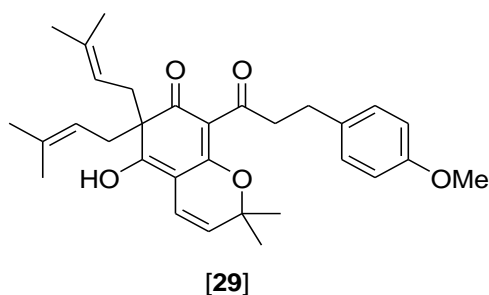
روی رده سلولی سرطانی A549 ارزیابی شده است. نتایج به دست آمده نشان داد که ترکیب ۲۶ نقش مهاري موثری (EC₅₀ معادل ۲۱۰ نانومولار) روی رده سلولی سرطانی مذکور نسبت به سایر رده‌ها داشته است. آنالیز چرخه سلولی و وسترن بلات نشان داد که این ترکیب باعث تداخل در چرخه سلولی G₂/M می‌گردد. نتایج آنالیز SAR بیانگر آن بود که استخلاف اتم ازت حلقه ایندول نقش موثری بر فعالیت ضد سرطانی دارد (۵۱).

سایر ترکیبات شبه چالکونی

بتایونون [ترکیب ۲۷] قطعه‌ای از ساختار بتاکارتنوئیدهاست که در میوه‌ها و سبزیجات یافت می‌شود. مطالعات گذشته نشان داده است که این ترکیب دارای اثرات مهاري روی سلول‌های سرطانی و دارای خواص ضدمتاستاز و القاکننده آپوپتوز است (۵۲). برای اساس مشتقات شبه چالکونی مختلفی از بتایونون سنتز و سیتوتوکسیسیته آن‌ها روی سلول‌های سرطانی مورد ارزیابی قرار گرفته است. از جمله در مطالعه‌ای که توسط Sharma و همکاران با استفاده از آزمون SRB صورت گرفته نشان داده شده است که ترکیب ۲۸ (تصویر شماره ۶) با مقادیر IC₅₀ برابر با ۱/۹ تا ۵۵/۵ میکرومولار دارای بهترین پروفایل اثر روی سلول‌های سرطانی است. البته



تصویر شماره ۶: طراحی مشتقات شبه چالکونی از بتایونون



تصویر شماره ۷: ساختار ترکیبات ۲۹ و ۳۰

می‌توانند اثر ضدسرطانی داشته باشند که یکی از آن‌ها القاکنندگی آپوپتوز است. مهم‌ترین دسته از چالکون‌ها که با این مکانیسم مانع رشد سلول‌های سرطانی می‌شوند ۲- هیدروکسی چالکون‌ها هستند که در واقع فرم حلقه باز فلاونون‌ها به شمار می‌آیند. به جز این ترکیبات، نفتوچالکون‌ها (بنزوچالکون‌ها)، کرومنوچالکون‌ها، کرومانوچالکون‌ها و سایر مشتقات هتروسیکلیک چالکون‌ها هم به عنوان القاکننده آپوپتوز معرفی شده‌اند. در اکثر این ترکیبات، الگوی استخلافی گروه‌های هیدروکسی و متوکسی نقش موثری را در فعالیت سیتوتوکسیک و القاکنندگی آپوپتوز ایفا می‌نماید. مهم‌ترین چالش روبرو برای چالکون‌ها، خواص فارماکوکینتیکی و ناپایداری متابولیکی آن‌ها می‌باشد که شاید با برخی تغییرات در ساختار آن‌ها قابل اصلاح باشد. ضمن این که هیبرید کردن چالکون‌ها با داروهایی که مکانیسم متفاوتی دارند شاید بتواند مانع از ایجاد مقاومت در سلول‌های سرطانی و کنترل موثرتر تومورها شود.

سپاسگزاری

این مقاله در راستای پایان‌نامه آقای حسن میرزایی دانشجوی PhD پژوهشی مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران می‌باشد که از حمایت مالی معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی مازندران برخوردار بوده است لذا از این طریق صمیمانه از معاونت متبوعه سپاسگزاری می‌نمایم.

References

1. Sonnenschein C, Soto AM. Theories of carcinogenesis: an emerging perspective. *Semin Cancer Biol* 2008; 18(5): 372-377.
2. William WN Jr, Heymach JV, Kim ES, Lippman SM. Molecular targets for cancer chemoprevention. *Nat Rev Drug Discov*

در تحقیقی که در سال ۲۰۱۶ توسط Wani و همکاران انجام گرفت مشتق چالکون کینازولینون ۳۰ با پتانسیل ضدسرطان سنتز شد و اثرات سیتوتوکسیک آن مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این مطالعه نشان داد که این ترکیب باعث مهار رشد سلول‌های سرطانی می‌گردد. همچنین این ترکیب باعث القای آپوپتوز وابسته به میتوکندری در سلول‌های سرطانی HCT-116 می‌شود. علاوه بر این، ترکیب مذکور باعث مهار مسیر سیگنالی PI3K/Akt/mTOR در سلول سرطانی کولون (HCT-116) نیز می‌گردد (۵۵).

در پایان لازم به ذکر است که دسته مهمی از چالکون‌ها مهارکننده توبولین هستند و از این طریق باعث توقف چرخه سلولی، القای آپوپتوز و اثرات ضدسرطانی می‌شوند. این نوع از ترکیبات به طور مفصل در مقاله مروری قبلی ما مورد کنکاش و بررسی قرار گرفته‌اند لذا در این مقاله به این نوع از ترکیبات پرداخته نشده است (۵۶).

نتایج کلی و رویکردهای آینده

القای آپوپتوز یا مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی نقش مهمی را در کنترل تقسیم سلولی و مهار سرطان برعهده دارد. لذا یافتن ترکیباتی که بتوانند از طریق القای آپوپتوز عمل نمایند می‌تواند ما را در کشف داروهای ضدسرطان موثر و منحصر به فرد یاری نماید. چالکون‌ها که از اسکلت ساده دی‌آریل α و β -انون برخوردار هستند منشأ طبیعی داشته و پیش‌ساز بسیاری از فلاونوئیدها هستند. این ترکیبات با مکانیسم‌های مختلفی

2009; 8(3): 213-225.

3. Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J Cancer* 2015; 136(5): E359-386.

4. Mousavi SM, Gouya MM, Ramazani R, Davanlou M, Hajsadeghi N, Seddighi Z. Cancer incidence and mortality in Iran. *Ann Oncol* 2009; 20(3): 556-563.
5. Viswas KC, Solomon VR, Lee H, Trivedi P. Design, synthesis and biological evaluation of some isatin-linked chalcones as novel anti-breast cancer agents: A molecular hybridization approach. *Biomed Prev Nutr* 2013; 3(4): 325-330.
6. Bates D, Eastman A. Microtubule destabilising agents: far more than just antimetabolic anticancer drugs. *Br J Clin Pharmacol* 2017; 83(2): 255-268.
7. Ducki S. Antimetabolic chalcones and related compounds as inhibitors of tubulin assembly. *Anticancer Agents Med Chem* 2009; 9(3): 336-347.
8. Nakhjiri M, Safavi M, Alipour E, Emami S, Atash AF, Jafari-Zavareh M, et al. Asymmetrical 2,6-bis(benzylidene) cyclohexanones: Synthesis, cytotoxic activity and QSAR study. *Eur J Med Chem* 2012; 50: 113-123.
9. Molaverdi F, Khoobi M, Emami S, Alipour M, Firuzi O, Foroumadi A, et al. Polyoxygenated cinnamoylcoumarins as conformationally constrained analogs of cytotoxic diarylpentanooids: synthesis and biological activity. *Eur J Med Chem* 2013; 68: 103-110.
10. Singh P, Anand A, Kumar V. Recent developments in biological activities of chalcones: a mini review. *Eur J Med Chem* 2014; 85: 758-777.
11. Das M, Manna K. Chalcone scaffold in anticancer armamentarium: A molecular insight. *J Toxicol* 2016; 2016: 7651047.
12. Elmore S. Apoptosis: a review of programmed cell death. *Toxicol Pathol* 2007; 35(4): 495-516.
13. Czabotar PE, Lessene G, Strasser A, Adams JM. Control of apoptosis by the BCL-2 protein family: implications for physiology and therapy. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2014; 15(1): 49-63.
14. Man SM, Kanneganti TD. Converging roles of caspases in inflammasome activation, cell death and innate immunity. *Nat Rev Immunol* 2016; 16(1): 7-21.
15. Hashemi M, Ghavami S, Tehrani KF. Apoptosis, programmed cell death. *Zahedan J Res Med Sci* 2003; 5(1): 71-82.
16. Ouyang L, Shi Z, Zhao S, Wang FT, Zhou TT, Liu B, et al. Programmed cell death pathways in cancer: a review of apoptosis, autophagy and programmed necrosis. *Cell Prolif* 2012; 45(6): 487-498.
17. Nooridaluie M, Abdollah Zadeh R. Role of p53 in apoptosis and cancer therapy. *Ofoghe Danesh* 2014; 20(3): 191-201.
18. Parsa N. Cellular and molecular basis of cancer in humans. *Cell & Tissue Journal* 2012; 2(2): 365-376.
19. Joerger AC, Fersht AR. The p53 pathway: origins, inactivation in cancer, and emerging therapeutic approaches. *Annu Rev Biochem* 2016; 85: 375-404.
20. Sakai T, Eskander RN, Guo Y, Kim KJ, Mefford J, Hopkins J, et al. Flavokawain B, a kava chalcone, induces apoptosis in synovial sarcoma cell lines. *J Orthop Res* 2012; 30(7): 1045-1050.
21. Yang L, Su L, Cao C, Xu L, Zhong D, Liu X. The chalcone 2'-hydroxy-4', 5'-dimethoxychalcone activates death receptor 5 pathway and leads to apoptosis in human nonsmall cell lung cancer cells. *IUBMB Life* 2013; 65(6): 533-543.
22. Rao YK, Kao TY, Ko JL, Tzeng YM. Chalcone HTMC causes in vitro selective

- cytotoxicity, cell-cycle G1 phase arrest through p53-dependent pathway in human lung adenocarcinoma A549 cells, and in vivo tumor growth suppression. *Bioorg Med Chem Lett* 2010; 20(22): 6508-6512.
23. Ketabforoosh SH, Kheirollahi A, Safavi M, Esmati N, Ardestani SK, Emami S, et al. Synthesis and anti-cancer activity evaluation of new dimethoxylated chalcone and flavanone analogs. *Arch Pharm* 2014; 347(11): 853-860.
 24. Ismail B, Ghezali L, Gueye R, Limami Y, Pouget C, Leger DY, et al. Novel methylsulfonyl chalcones as potential antiproliferative drugs for human prostate cancer: involvement of the intrinsic pathway of apoptosis. *Int J Oncol* 2013; 43(4): 1160-1168.
 25. Neves MP, Cravo S, Lima RT, Vasconcelos MH, Nascimento MS, Silva AM, et al. Solid-phase synthesis of 2'-hydroxychalcones. Effects on cell growth inhibition, cell cycle and apoptosis of human tumor cell lines. *Bioorg Med Chem* 2012; 20(1): 25-33.
 26. Pereira D, Lima RT, Palmeira A, Seca H, Soares J, Gomes S, et al. Design and synthesis of new inhibitors of p53-MDM2 interaction with a chalcone scaffold. *Arab J Chem* 2016; (in press).
 27. Szliszka E, Jaworska D, Ksek M, Czuba ZP, Krol W. Targeting death receptor TRAIL-R2 by chalcones for TRAIL-induced apoptosis in cancer cells. *Int J Mol Sci* 2012; 13(11): 15343-15359.
 28. Shin SY, Kim JH, Yoon H, Choi YK, Koh D, Lim Y, et al. Novel antimitotic activity of 2-hydroxy-4-methoxy-2',3'-benzochalcone (HymnPro) through the inhibition of tubulin polymerization. *J Agric Food Chem* 2013; 61(51): 12588-12597.
 29. Lee JM, Lee MS, Koh D, Lee YH, Lim Y, Shin SY. A new synthetic 2'-hydroxy-2,4,6-trimethoxy-5',6'-naphthochalcone induces G2/M cell cycle arrest and apoptosis by disrupting the microtubular network of human colon cancer cells. *Cancer Lett* 2014; 354(2): 348-354.
 30. Winter E, Chiaradia LD, Silva AH, Nunes RJ, Yunes RA, Creczynski-Pasa TB. Involvement of extrinsic and intrinsic apoptotic pathways together with endoplasmic reticulum stress in cell death induced by naphthylchalcones in a leukemic cell line: Advantages of multi-target action. *Toxicol in Vitro* 2014; 28(5): 769-777.
 31. Emami S, Ghanbarimasir Z. Recent advances of chroman-4-one derivatives: synthetic approaches and bioactivities. *Eur J Med Chem* 2015; 93: 539-563.
 32. Emami S, Dadashpour S. Current developments of coumarin-based anti-cancer agents in medicinal chemistry. *Eur J Med Chem* 2015; 102: 611-630.
 33. Azizmohammadi M, Khoobi M, Ramazani A, Emami S, Zarrin A, Firuzi O, et al. 2H-chromene derivatives bearing thiazolidine-2,4-dione, rhodanine or hydantoin moieties as potential anticancer agents. *Eur J Med Chem* 2013; 59: 15-22.
 34. Rahmani-Nezhad S, Safavi M, Pordeli M, Ardestani SK, Khosravani L, Pourshojaei Y, et al. Synthesis, in vitro cytotoxicity and apoptosis inducing study of 2-aryl-3-nitro-2H-chromene derivatives as potent anti-breast cancer agents. *Eur J Med Chem* 2014; 86: 562-569.
 35. Aryapour H, Riazi GH, Ahmadian S, Foroumadi A, Mahdavi M, Emami S. Induction of apoptosis through tubulin inhibition in human cancer cells by new chromene-based chalcones. *Pharm Biol* 2012; 50(12): 1551-1560.

36. Wu W, Ye H, Wan L, Han X, Wang G, Hu J, et al. Millepachine, a novel chalcone, induces G2/M arrest by inhibiting CDK1 activity and causing apoptosis via ROS-mitochondrial apoptotic pathway in human hepatocarcinoma cells in vitro and in vivo. *Carcinogenesis* 2013; 34(7): 1636-1643.
37. Wei H, Zhang X, Wu G, Yang X, Pan S, Wang Y, Ruan J. Chalcone derivatives from the fern *Cyclosorus parasiticus* and their anti-proliferative activity. *Food Chem Toxicol* 2013; 60: 147-152.
38. Noushini S, Alipour E, Emami S, Safavi M, Ardestani SK, Gohari AR, et al. Synthesis and cytotoxic properties of novel (E)-3-benzylidene-7-methoxychroman-4-one derivatives. *DARU J Pharm Sci* 2013; 21(1): 31.
39. Letafat B, Shakeri R, Emami S, Noushini S, Mohammadhosseini N, Shirkavand N, et al. Synthesis and in vitro cytotoxic activity of novel chalcone-like agents. *Iran J Basic Med Sci* 2013; 16(11): 1155-1162.
40. Barbosa VA, Baréa P, Mazia RS, Ueda-Nakamura T, Costa WF, Foglio MA, et al. Synthesis and evaluation of novel hybrids β -carboline-4-thiazolidinones as potential antitumor and antiviral agents. *Eur J Med Chem* 2016; 124: 1093-1104.
41. Ayati A, Emami S, Asadipour A, Shafiee A, Foroumadi A. Recent applications of 1,3-thiazole core structure in the identification of new lead compounds and drug discovery. *Eur J Med Chem* 2015; 97: 699-718.
42. Emami S, Raeesi M. Synthesis of ciprofloxacin-isatin conjugates as potential cytotoxic agents. *J Mazandaran Univ Med Sci* 2016; 26(138): 161-169 (Persian).
43. Ramazani A, Khoobi M, Torkaman A, Nasrabadi FZ, Forootanfar H, Shakibaie M, et al. One-pot, four-component synthesis of novel cytotoxic agents 1-(5-aryl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)-1-(1H-pyrrol-2-yl) methanamines. *Eur J Med Chem* 2014; 78: 151-156.
44. Aliabadi A, Shamsa F, Ostad SN, Emami S, Shafiee A, Davoodi J, et al. Synthesis and biological evaluation of 2-phenylthiazole-4-carboxamide derivatives as anticancer agents. *Eur J Med Chem* 2010; 45(11): 5384-5389.
45. Rajabalian S, Foroumadi A, Shafiee A, Emami S. Functionalized N (2-oxyiminoethyl) piperazinyl quinolones as new cytotoxic agents. *J Pharm Pharm Sci* 2007; 10(2): 153-158.
46. de Vasconcelos A, Campos VF, Nedel F, Seixas FK, Dellagostin OA, Smith KR, et al. Cytotoxic and apoptotic effects of chalcone derivatives of 2-acetyl thiophene on human colon adenocarcinoma cells. *Cell Biochem Funct* 2013; 31(4): 289-297.
47. Wan M, Xu L, Hua L, Li A, Li S, Lu W, et al. Synthesis and evaluation of novel isoxazolyl chalcones as potential anticancer agents. *Bioorg Chem* 2014; 54: 38-43.
48. Rai US, Isloor AM, Shetty P, Pai KS, Fun HK. Synthesis and in vitro biological evaluation of new pyrazole chalcones and heterocyclic diamides as potential anticancer agents. *Arab J Chem* 2015; 8(3): 317-321.
49. Chauhan SS, Singh AK, Meena S, Lohani M, Singh A, Arya RK, et al. Synthesis of novel beta-carboline based chalcones with high cytotoxic activity against breast cancer cells. *Bioorg Med Chem Lett* 2014; 24(13): 2820-2824.
50. Kumar D, Maruthi Kumar N, Tantak MP, Ogura M, Kusaka E, Ito T. Synthesis and identification of alpha-cyano bis (indolyl) chalcones as novel anticancer agents. *Bioorg Med Chem Lett* 2014; 24(22): 5170-5174.

51. Wang Y, Hedblom A, Koerner SK, Li M, Jernigan FE, Wegiel B, et al. Novel synthetic chalcones induce apoptosis in the A549 non-small cell lung cancer cells harboring a KRAS mutation. *Bioorg Med Chem Lett* 2016; 26(23): 5703-5706.
52. Ansari M, Emami S. β -Ionone and its analogs as promising anticancer agents. *Eur J Med Chem* 2016; 123: 141-154.
53. Sharma V, Chaudhary A, Arora S, Saxena AK, Ishar MP. β -Ionone derived chalcones as potent antiproliferative agents. *Eur J Med Chem* 2013; 69: 310-315.
54. Kang WJ, Li DH, Han T, Sun L, Fu YB, Sai CM, et al. New chalcone and pterocarpoid derivatives from the roots of *Flemingia philippinensis* with antiproliferative activity and apoptosis-inducing property. *Fitoterapia* 2016; 112: 222-228.
55. Wani ZA, Guru SK, Rao AV, Sharma S, Mahajan G, Behl A, et al. A novel quinazolinone chalcone derivative induces mitochondrial dependent apoptosis and inhibits PI3K/Akt/mTOR signaling pathway in human colon cancer HCT-116 cells. *Food Chem Toxicol* 2016; 87: 1-11.
56. Mirzaei H, Emami S. Recent advances of cytotoxic chalconoids targeting tubulin polymerization: Synthesis and biological activity. *Eur J Med Chem* 2016; 121:610-639.