

УДК 615.322

ББК 52.81

Н.А. АНДРЕЕВА, С.И. ПАВЛОВА

**ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ АКТИВНОСТЬ
СИНТЕТИЧЕСКОГО ФЛАВОНОИДА *IN VITRO***

Ключевые слова: флавоноиды, халкон, опухолевая культура, противоопухолевое действие, апоптоз, цитотоксичность.

С точки зрения изыскания новых таргетных противоопухолевых препаратов в последние годы внимание исследователей привлекают полифенолы растительного происхождения (флавоноиды). Исследования последних лет доказывают, что флавоноиды способны воздействовать на молекулярные механизмы регулирования онкогенных процессов. В связи с этим целью настоящего исследования стало изучение противоопухолевой активности синтетического халкона (СХ, флавоноида с раскрытым пирановым кольцом) 1-(2-гидроксифенил)-3-(4-метоксифенил)проп-2-ен-1-он в условиях *in vitro* с использованием культур опухолевых клеток человека MOLT-4 и HeLa. Влияние СХ на жизнеспособность опухолевых клеток оценивали в МТТ-тесте, а также путем подсчета абсолютного количества клеток при экспозиции с изучаемым агентом, проапоптогенный эффект – методом проточной цитофлуорометрии. Было обнаружено, что СХ время- и дозозависимо ингибирует рост и индуцирует апоптоз опухолевых клеток в исследуемых культурах. Анализ полученных данных позволяет предположить, что проапоптогенное действие связано с остановкой клеточного цикла в G2/M фазе под влиянием СХ. Таким образом, являются перспективными дальнейшие исследования противоопухолевых свойств 1-(2-гидроксифенил)-3-(4-метоксифенил)проп-2-ен-1-он с целью разработки нового противоопухолевого средства.

N. ANDREEVA, S. PAVLOVA

ANTY-CANCER ACTIVITY OF SYNTETIC FLAVONOID *IN VITRO*

Key words: flavonoids, chalcone, tumor cell culture, antitumor action, apoptosis, cytotoxicity.

In terms of the research and development of new targeted anticancer drugs in recent years plant polyphenols (flavonoids) have attracted much attention. Studies have recently shown that flavonoids can affect the molecular mechanisms of oncogenic processes. Therefore the aim of this paper was to study the antitumor activity of synthetic chalcone (SCh, flavonoid with open pyran ring) 1-(2-hydroxyphenyl)-3-(4-methoxyphenyl)prop-2-en-1-one in vitro using human tumor cell cultures such as MOLT-4 and HeLa. The impact of SCh to cell viability was tested by MTT test and by the evaluation of the absolute number of tumor cells during SCh exposition, proapoptogenic effect of SCh was tested by flow cytometry. It was found that the SCh time- and dose-dependent inhibits tumor cell grew and induces apoptosis in the test culture cells. Analysis of the data suggests that apoptogenic action of SCh is related to cell cycle arrest in G2 / M phase. Thus, further study of anticancer properties of 1-(2-hydroxyphenyl)-3-(4-methoxyphenyl) prop-2-en-1-one seems to be promising in terms of developing a new antitumor agent.

Несмотря на значительные достижения медицинских наук, смертность от онкологических заболеваний во всем мире остается на высоком уровне и, соответственно, актуальность разработки новых противоопухолевых лекарственных препаратов на сегодняшний день не вызывает сомнений. Детальное изучение молекулярных механизмов, возникновения злокачественных новообразований изменило стратегию поиска противоопухолевых лекарственных средств. В настоящее время считаются перспективными биотерапевтические методы фармакотерапии, позволяющих селективно воздействовать на опухоль. Они включают как стимуляцию дифференцировки опухолевых клеток,

так и сдерживание бесконтрольного деления опухолевых клеток за счет индукции и поддержания на высоком уровне апоптоза; блокирование на разных уровнях передачи сигнала с рецепторов факторов роста внутрь клетки; ингибирование ангиогенеза и др. [5, 6, 7, 11, 15–17].

С точки зрения такого подхода к лечению опухолевых заболеваний внимание современных исследователей привлекают препараты растительного происхождения, биологически активные вещества которых обеспечивают многогранные физиологические эффекты. Одними из таких веществ являются полифенолы растительного происхождения – флавоноиды. Исследования последних лет показывают, что некоторые классы флавоноидов (халконы, изофлавоны) способны ингибировать фосфорилирование и, как следствие, активацию ключевых молекул сигнальных путей в клетках, что может лежать в основе противоопухолевого эффекта [1, 2].

Среди флавоноидов одним из перспективных классов для изучения являются флавоноиды с раскрытым пирановым кольцом – халконы, или 1,2-дифенил-2-пропен-1-оны. Это низкомолекулярные природные соединения, которые легко синтезировать и модифицировать в связи с их простой структурой. Халконы состоят из двух ароматических колец, соединенных трехуглеродной α,β -ненасыщенной карбонильной системой [9]. Биологический потенциал халконов обусловлен их взаимодействием с различными белками, участвующими в канцерогенезе [10]. Эти природные соединения проявляют противоопухолевую активность *in vitro*, действуя на множество различных мишеней в системе клеточной сигнализации (протеинкиназы, ROS, TNF- α , NFkB, VEGF, TRAIL и др.) [3, 14]. Таким образом халконы могут влиять как на пролиферацию и апоптоз, так и на ангиогенез и метастазирование опухолевых клеток.

Кроме того, есть вероятность, что флавоноиды и их производные будут обладать меньшей токсичностью и проявлять меньше побочных эффектов, чем аналогичные лекарственные средства, полученные из других источников [3, 5]. α,β -ненасыщенный карбонил в структуре халконов является сильным электрофилом и с большей вероятностью взаимодействует со слабыми нуклеофилами, чем с аминокислотами и гидроксильными группами (сильные нуклеофилы), и, следовательно, халконы обладают меньшей мутагенностью и канцерогенностью по сравнению с алкилирующими агентами, используемыми в химиотерапии рака [10].

При использовании комбинации флавоноидов с цитостатическими средствами, механизм действия которых совершенно иной, наблюдаются синергизм, снижение токсичности последних, а также повышение чувствительности опухолевой клетки к цитостатикам [1,2].

Цель исследования – изучение противоопухолевой активности синтетического халкона (СХ) 1-(2-гидроксифенил)-3-(4-метоксифенил)проп-2-ен-1-она в условиях *in vitro*.

Материалы и методы исследования. Объектам настоящего исследования являлись:

1) *синтетический халкон* – 1-(2-гидроксифенил)-3-(4-метоксифенил)проп-2-ен-1-он (рис. 1) синтезирован и предоставлен для исследований сотрудниками кафедры органической и фармацевтической химии химико-фармацевтического факультета ФГБОУ ВПО Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова;

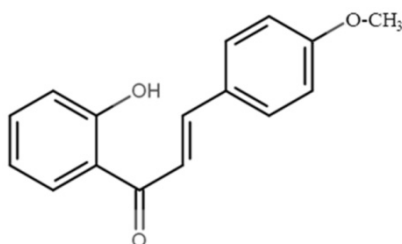


Рис. 1. Химическая структура
1-(2-гидроксифенил)-3-(4-метоксифенил)проп-2-ен-1-она

2) *человеческие линии опухолевых клеток MOLT-4 и HeLa*, полученные из банков глубокозамороженных опухолевых культур ФГБУ ФНКЦ Детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева и ГУ НИИ вирусологии имени Д.И. Ивановского. Характеристика опухолевых клеток представлена в табл. 1.

Таблица 1

Характеристики опухолевых линий

Наименование	Происхождение	Клеточная морфология	Характеристика роста, плоидность
MOLT-4 (ATCC: CRL-1582)	лимфолейкоз человека	Т-лимфобласт	суспензионная, гипертриплоидная
HeLa (ATCC® CCL-2™)	рак шейки матки	эпителиальные клетки	прилипающая, диплоидная

В настоящей работе были использованы следующие подходы и методы исследования:

Культивирование опухолевых клеток. Опухолевые клетки растили в пластиковых флаконах для культур клеток (Corning Costar, США) с использованием питательной среды RPMI-1640 (ПанЭко, Россия) с добавлением 10% эмбриональной телячьей сыворотки (ПанЭко, Россия), глутамина и антибиотиков (100 ЕД/мл пенициллина и 100 мкг/мл стрептомицина) при температуре 37°C, 5% CO₂, 100% влажности. Клетки засевали в культуральный флакон в концентрации 4×10⁵/мл. При достижении плотности клеток 2×10⁶ клеточную суспензию пассировали (1 раз в 2-3 дня). Все этапы работы проводились в ламинарном шкафу (Lamsystems, Россия) в потоке стерильного воздуха.

Подсчет абсолютного количества клеток. Для подсчета абсолютного количества клеток опухолевые клетки в логарифмической фазе роста засевали в культуральный 24-луночный планшет (Corning Costar, США) в концентрации 1,5×10⁵/мл. В опытные лунки добавляли СХ, в контрольные лунки – соответствующий объем растворителя (высокоочищенного этанола) так, чтобы концентрация этанола в лунках не превышала 1%. Через 24, 48 и 72 ч культивирования в контрольной и опытной лунках подсчитывали абсолютное количество клеток, используя камеру Горяева и световой микроскоп.

Оценка апоптоза методом проточной цитофлуориметрии. Для определения уровня апоптоза клеточной популяции использовали аликвоту, содержащую 10⁵ клеток. Клетки двукратно отмывали холодным (4°C) фосфатно-солевым буфером (ФСБ). Отмытые клетки ресуспендировали в 100 мкл ФСБ (4°C) и фиксировали.

сировали 900 мкл 70% глубоко охлажденного этанола в течение не менее 30 мин при -20°C . Фиксированные в этаноле клетки осаждали центрифугированием (300 g, 5 мин) и ресуспендировали с помощью пипетки с отсеченным наконечником в 500 мкл ФСБ и 500 мкл фосфат-цитратного буфера (0,192 моль/л Na_2HPO_4 , 0,004 моль/л лимонной кислоты, $\text{pH} = 7,8$). Затем пробы инкубировали в течение 5 мин при комнатной температуре. Далее повторно центрифугировали (300 g, 5 мин, 4°C) и ресуспендировали в 500 мкл «красящего» раствора, содержащего пропиций иодид (1 мг/мл РНКазы (Sigma, США) + 33 мкг/мл пропиций иодида + 0,2% раствор тритона X-100 (Sigma, США)). Пробы инкубировали в течение 30 мин при комнатной температуре в темноте. По окончании инкубирования образцы с клетками анализировали методом однолучевой проточной цитофлуориметрии (Coulter EPICS, США) при длине волны 488 нм.

Изучение прямой цитотоксичности. Цитотоксичность СХ оценивалась с помощью МТТ-теста [12]. Прилипающие к подложке опухолевые клетки линии HeLa засеивали в 96-луночный планшет (Corning Costar, США) в количестве 10^4 клеток/200 мкл в среде RPMI-1640, содержащей 10% эмбриональной телячьей сыворотки и культивировали при 37°C , 5% CO_2 , 100% влажности. Через 24 ч инкубации производилась замена среды на RPMI-1640 с низким (1%) содержанием сыворотки. После этого в опытные лунки добавляли СХ в различных концентрациях (0,1–20 мкг/мл), а в контрольные лунки – высокоочищенный этиловый спирт так, чтобы его концентрация в лунке не превышала 1%. Далее клетки культивировали в течение 24–48 ч. Для каждой концентрации эксперименты были выполнены в трех повторах. После инкубации с исследуемым соединением в каждую лунку было добавлено 20 мкл МТТ (бромид 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолия (Sigma, США)) в концентрации 5 мг/мл, и планшеты дополнительно инкубировали в течение 4 ч. Далее из лунок удаляли среду и добавляли по 100 мкл ДМСО для растворения образовавшихся кристаллов формазана. Жизнеспособность клеток оценивали по интенсивности окраски раствора формазана, измеряя его оптическую плотность при длине волны 492 нм с помощью планшетного фотометра (Immunochen 2100, США) за вычетом измеренного фонового поглощения.

Статистическую обработку результатов проводили с помощью пакета анализа данных программного комплекса «Microsoft Excel 2010». Вариабельность результатов подчинялась законам нормального распределения, что позволило отражать их в виде средней арифметической (M) и средней ошибки среднего значения (m). Для оценки достоверности различий использовали t -критерий Стьюдента, разницу считали достоверной при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение. В настоящей работе нами была исследована противоопухолевая активность синтетического халкона 1-(2-гидроксифенил)-3-(4-метоксифенил)проп-2-ен-1-он в культуре человеческих опухолевых клеток различного гистологического (гемобласты, эпителиальные опухоли) происхождения линий MOLT-4 и HeLa.

Опухолевая культура MOLT-4 характеризуется суспензионным ростом, поэтому простым методом изучения рост-ингибирующей активности может являться изменение абсолютного количества опухолевых клеток под влиянием исследуемого вещества. При добавлении СХ в концентрации 20 мкг/мл и экспозиции опухолевых клеток с этим агентом в течение 24 ч наблюдалась лишь незначительная тенденция к снижению количества опухолевых клеток в опытных лунках

по сравнению с контрольными, тогда как через 48 и 72 ч культивирования наблюдались достоверные различия. Так, через 48 ч культивирования в опытной лунке абсолютное число клеток было меньше в сравнении с контролем более чем в 3 раза, а через 72 ч — более чем в 5 раз (табл. 2).

Таблица 2

Влияние СХ на абсолютное количество клеток линии MOLT-4 *in vitro*

Время культивирования	Контроль ($M \pm m$) $\times 10^5$	Опыт ($M \pm m$) $\times 10^5$
24 ч	$2,0 \pm 0,8$	$1,8 \pm 0,9$
48 ч	$3,0 \pm 0,6$	$0,9 \pm 0,1^*$
72 ч	$4,0 \pm 0,5$	$0,7 \pm 0,2^*$

Примечание. * – $p < 0,05$.

На следующем этапе снижение жизнеспособности опухолевых клеток при воздействии СХ было подтверждено в МТТ-тесте, для проведения которого удобно использовать прилипающие к подложке клетки (нами была исследована линия опухолевых клеток HeLa). Полученные с помощью МТТ-теста данные свидетельствуют о том, что СХ вызывает достоверное дозо- и времязависимое снижение жизнеспособности клеток в концентрациях в диапазон концентраций 0,1–20 мкг/мл (рис. 2). При инкубировании опухолевых клеток с СХ достоверно подавлялась жизнеспособность клеток в концентрациях СХ 20 и 10 мкг/мл, при этом концентрации менее 1 мкг/мл не оказывали на клетки цитотоксического эффекта. При инкубировании с препаратом в течение 48 ч подавление жизнеспособности клеток СХ вызывал в концентрации вещества более 1 мкг/мл (табл. 3).

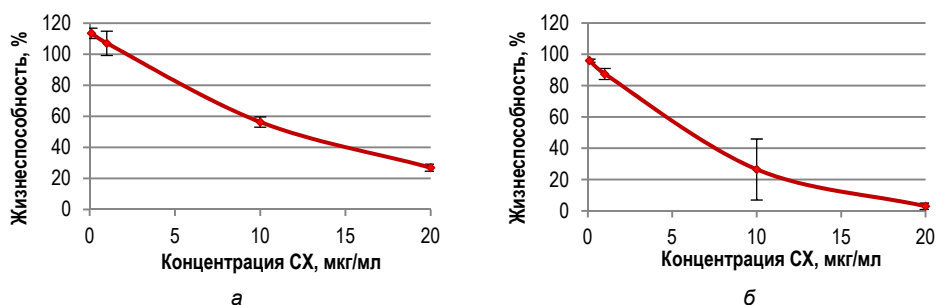


Рис. 2. Влияние синтетического халкона на жизнеспособность опухолевых клеток при инкубировании: а – в течение 24 ч; б – в течение 48 ч

Таким образом, концентрация полумаксимального ингибирования (IC_{50}) для СХ при 24 ч экспозиции приближалась к значению 10 мкг/мл, при инкубировании 48 ч – 5 мкг/мл, что свидетельствует о достаточно высокой рост-ингибирующей активности СХ в исследуемой опухолевой линии. Сопоставимый уровень цитотоксической активности флавоноидов получен на клеточной линии HepG2 ($IC_{50} = 7,5\text{--}46$ мкг/мл) [4], тогда так в исследованиях противоопухолевой активности других полифенолов растительного происхождения на этой же опухолевой культуре IC_{50} находилась в пределах 100–125 мкг/мл [13].

Таблица 3

**Доля жизнеспособных клеток опухолевой культуры HeLa
при экспозиции с различными концентрациями синтетического халкона**

Концентрация СХ, мкг/мл	Жизнеспособность клеток, ($M \pm m$), %	
	24 ч	48 ч
20	27,0 $\pm$ 2,3*	3,0 $\pm$ 2,0*
10	56,3 $\pm$ 3,3*	26,5 $\pm$ 19,5*
1	107,1 $\pm$ 7,9	87,5 $\pm$ 3,5
0,1	113,6 $\pm$ 3,3	96,0 $\pm$ 1,0

Примечание. * – $p < 0,05$.

Имея размеры, близкие к некоторым биологически важным регуляторам, флавоноиды могут влиять на функционирование ферментов и компонентов клеточной сигнализации [5, 17]. Вариации в расположении гидроксильных групп в молекуле флавоноидов, вероятно, позволяют создавать такие конфигурации в распределении зарядов на поверхности молекулы, которые способствуют их специфическому взаимодействию с регуляторными сайтами белков [3]. Как показывают литературные данные, рост-ингибирующий эффект синтезированного халкона мог быть реализован различными механизмами, включая индукцию апоптоза [6, 7, 14, 16]. На этом основании мы перешли к следующему этапу исследований и окрашивали клетки пропидий иодидом (специфическим ДНК-флуорохромом) для оценки уровня апоптоза в исследуемой клеточной популяции цитометрическим методом.

При обработке данных проточной цитофлуориметрии в соответствии с выделенной областью исследуемых клеток (захватывала более 90% событий) выводили гистограммы флуоресценции (канал FL4). Оценку уровня апоптоза проводили, анализируя гистограммы распределения флуоресцирующих клеток. Типичные гистограммы состояли из трех пиков, которые по интенсивности флуоресценции ДНК распределялись следующим образом: пик (C) – субдиплоидные клетки, вошедшие в апоптоз; пик (D) – диплоидные клетки; пик (B) – тетра- и полиплоидные клетки (рис. 3).

Указанные пики соответствуют распределению клеток по плоидности. Попадающие клетки (G0) и клетки в G1 фазе клеточного цикла содержат количество

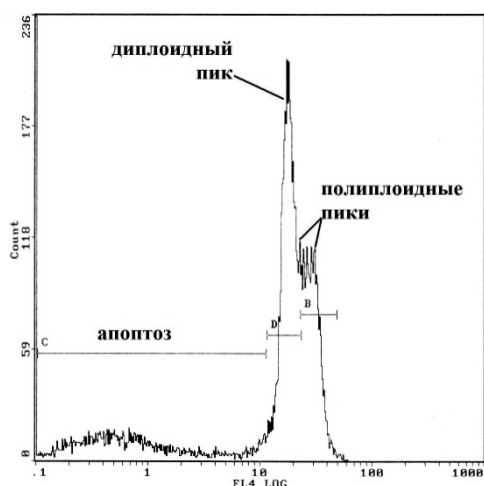


Рис. 3. Распределение пиков в типичной гистограмме флуоресценции

ДНК, соответствующее диплоидному набору хромосом (на гистограмме: диплоидный G0/G1 пик). В G2 фазе и во время митоза в клетках число хромосом удвоенное, что на гистограмме отражается в виде тетраплоидного G2/M пика. В синтетическую (S) фазу содержание ДНК промежуточное – колеблется от ди- до тетраплоидного. В апоптозирующих клетках уровень ДНК в результате межнуклеосомальной деградации снижается, и появляется субдиплоидный пик (C).

Инкубация клеток MOLT-4 с СХ приводила к изменению долевого распределения суб-, ди- и тетраплоидных клеток в культуре по срав-

нению с контролем. При 24-часовой экспозиции клеток с исследуемым веществом наблюдалось увеличение доли тетраплоидных клеток, а количество диплоидных клеток уменьшалось, при этом наблюдалась лишь недостоверная тенденция к росту апоптоза (табл. 4). Это может свидетельствовать о нарушении вхождения клеток в фазу митоза – остановке клеточного цикла в G2/M фазе.

Таблица 4

Долевое распределение пиков флуоресценции при экспозиции с СХ в течение 24–72 ч при окраске фиксированных клеток пропидий иодидом

Пик	Время, ч	Контроль ($M \pm m$), %	Опыт ($M \pm m$), %
C	24	22,8 $\pm$ 0,9	28,8 $\pm$ 4,2
	48	23,9 $\pm$ 1,6	60,0 $\pm$ 9,9*
	72	18,8 $\pm$ 9,3	63,5 $\pm$ 9,2*
D	24	51,6 $\pm$ 11,6	37,1 $\pm$ 4,5*
	48	46,4 $\pm$ 1,1	23,3 $\pm$ 8,3*
	72	54,0 $\pm$ 4,6	24,8 $\pm$ 1,6*
B	24	21,2 $\pm$ 9,1	27,0 $\pm$ 12,3
	48	27,4 $\pm$ 3,1	13,6 $\pm$ 3,3*
	72	28,6 $\pm$ 8,1	19,9 $\pm$ 8,9*

Примечание. * – $p < 0,05$.

Через 48 ч инкубации с СХ наблюдался достоверный рост доли апоптозирующих клеток: в опытной группе по сравнению с аналогом в контрольной более чем в 2,5 раза, диплоидных клеток – менее чем в 2 раза, тетраплоидных – 1,8 раза (рис. 4, а, б); через 72 ч апоптоза в опытной лунке – более чем в 3 раза, диплоидных клеток – менее чем в 2 раза, тетраплоидных – 1,4 раза (табл. 4).

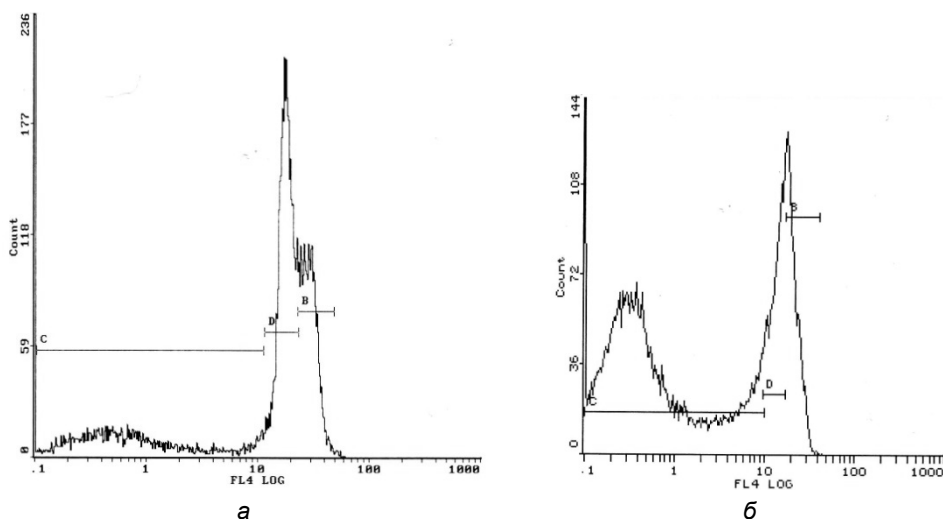


Рис. 4. Гистограмма флуоресценции при определении уровня апоптоза в культуре клеток при экспозиции с синтетическим халконом в течение 48 ч: а – контроль; б – воздействие синтетическим халконом

Обобщая данные результаты, можно предположить, что достоверное снижение абсолютного количества клеток в опытных лунках является следствием остановки клеточного цикла опухолевых клеток в G2/M фазе под влиянием СХ, вызывающей последующую апоптотическую гибель этих клеток. Выявленная биологическая активность и механизмы рост-ингибирующих эффектов нового

соединения коррелирует с литературными данными. Так, природные полифенольные соединения проявляли цитотоксическую активность в отношении различных опухолевых линий, при этом цитотоксический эффект был связан с остановкой клеточного цикла в G2/M фазе [13] и индукцией апоптоза [4, 13].

Таким образом, учитывая данные, полученные в рамках настоящего исследования и в ходе анализа литературы, можно рассматривать это вещество перспективным для доклинического испытания.

Выводы. 1. Синтетический халкон 1-(2-гидроксифенил)-3-(4-метоксифенил)проп-2-ен-1-он подавляет жизнеспособность опухолевых клеток MOLT-4 и HeLa in vitro.

2. Синтетических халкон 1-(2-гидроксифенил)-3-(4-метоксифенил)проп-2-ен-1-он индуцирует апоптоз в культуре опухолевых клеток MOLT-4 через 48-72 ч экспозиции.

Литература

1. Павлова С.И. Использование экстракта корня солодки для повышения эффективности терапии злокачественных новообразований: дис. ... канд. мед. наук. М., 2005. 120 с.
2. Павлова С.И. Иммуносупрессивные и противоопухолевые фармакодинамические эффекты флавоноидов корней солодки: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. М., 2012. 48 с.
3. Тараховский Ю.С., Ким Ю.А., Абдрашилов Б.С., Музафаров Е.Н. Флавоноиды: биохимия, биофизика, медицина. Путино: Synchronbook, 2013. 310 с.
4. Abu Bakar M.F., Ahmad N.E., Suleiman M., Rahmat A., Isha A. Garcinia dulcis Fruit Extract Induced Cytotoxicity and Apoptosis in HepG2 Liver Cancer Cell Line. *Biomed Res Int.*, 2015, doi: 10.1155/2015/916902.
5. Bosch-Barrera J., Menendez J.A. Silibinin and STAT3: A natural way of targeting transcription factors for cancer therapy. *Cancer Treat. Rev.*, 2015, vol. 41, no. 6, pp. 540–546.
6. Cheon S.Y., Chung K.S., Jeon E., Nugroho A., Park H.J., An H.J. Anti-inflammatory Activity of Saxifragin via Inhibition of NF- κ B Involves Caspase-1 Activation. *J. Nat. Prod.*, 2015, vol. 78, no. 7, pp. 1579–1585.
7. Gatouillat G., Magid A.A., Bertin E., El btaouri H., Morjani H., Lavaud C., Madoulet C. Medicarpin and millepurpan, two flavonoids isolated from *Medicago sativa*, induce apoptosis and overcome multidrug resistance in leukemia P388 cells. *Phytomedicine*, 2015, vol. 22, no. 13, pp. 1186–1194.
8. Harrison M., Holen K., Liu G. Beyond taxanes: a review of novel agents that target mitotic tubulin and microtubules, kinases, and kinesins. *Clin. Adv. Hematol. Oncol.*, 2009, no. 7, pp. 54–64.
9. Isa N.M., Abdelwahab S.I., Mohan S., Abdul A.B., Sukari M.A., Taha M.M., Syam S., Narrima P., Cheah S.Ch., Ahmad S., Mustafa M.R. In vitro anti-inflammatory, cytotoxic and antioxidant activities of boesenbergin A, a chalcone isolated from *Boesenbergia rotunda* (L.) (fingerroot). *Braz. J. Med. Biol. Res.*, 2012, vol. 45, no. 6, pp. 524–530.
10. Kommid D.R., Pagadala R., Rana S., Singh P., Shintre S.A., Koorbanally N.A., Jonnala-gadda S.B., Moodley B. Novel carbapenem chalcone derivatives: synthesis, cytotoxicity and molecular docking studies. *Org. Biomol. Chem.*, 2015, vol. 13, no. 14, pp. 4344–4350.
11. Leão M., Soares J., Gomes S., Raimundo L., Ramos H., Bessa C., Queiroz G., Domingos S., Pinto M., Inga A., Cidade H., Saraiva L. Enhanced cytotoxicity of prenylated chalcone against tumour cells via disruption of the p53-MDM2 interaction. *Life Sci.*, 2015, no. 142, pp. 60–65.
12. Mather J.P., Roberts P.E. Introduction to cell and tissue culture. Theory and technique. N.Y., Plenum Press, 1998, 241 p.
13. Olaru O.T., Venables L., VAN DE Venter M., Nitulescu G.M., Margina D., Spandidos D.A., Tsatsakis A.M. Anticancer potential of selected Fallopia Adans species. *Oncol Lett.*, 2015, vol. 10, no. 3, pp. 1323–1332.
14. Singh G., Arora A., Mangat S.S. Rani S., Kaur H., Goyal K., Sehgal R., Maurya I.K., Tewari R., Choquesillo-Lazarte D., Sahoo S., Kaur N. Design, synthesis and biological evaluation of chalconyl blended triazole allied organosilatrane as giardicidal and trichomonacidal agents. *Eur. J. Med. Chem.*, 2016, no. 108, pp. 287–300.
15. Wang L.H., Li H.H., Li M., Wang S., Jiang X.R., Li Y., Ping G.F., Cao Q., Liu X., Fang W.H., Chen G.L., Yang J.Y., Wu C.F. SL4, a chalcone-based compound, induces apoptosis in human cancer cells by activation of the ROS/MAPK signalling pathway. *Cell Prolif.*, 2015, vol. 48, no. 6, pp. 718–728.
16. Xia Y., Lian S., Khoi P.N., Yoon H.J., Han J.Y., Chay K.O., Kim K.K., Jung Y.D. Chrysin inhibits cell invasion by inhibition of Recepteur d'origine Nantais via suppressing early growth response-1 and NF- κ B transcription factor activities in gastric cancer cells. *Int. J. Oncol.*, 2015, vol. 46, no. 4, pp. 1835–1843.
17. Zhou B., Xing C. Diverse Molecular Targets for Chalcones with Varied Bioactivities. *Med. Chem. (Los Angeles)*, 2015, vol. 5, no. 8, pp. 388–404.

References

1. Pavlova S.I. *Ispol'zovanie ekstrakta kornya solodki dlya povysheniya effektivnosti terapii zloka-chesvtennykh novoobrazovaniy*: dis. ... kand. med. nauk [Use of licorice root extract to improve the efficiency of malignant tumor therapy. PhD Diss.]. Moscow, 2005, 120 p.
2. Pavlova S.I. *Immunosuppressivnye i protivopukhlevye farmakodinamicheskie efekty flavonoidov kornei solodki: avtoref. ... dis. d-ra med. nauk* [The immunosuppressive and anticancer pharmacodynamic effects of licorice root flavonoids. Doct. Diss.]. Moscow, 2012, 48 p.
3. Tarakhovskii Yu.S., Kim Yu.A., Abdrasilov B.S., Muzafarov E.N. *Flavonoidy: biokhimiya, biofizika, meditsina* [Flavonoids: biochemistry, biophysics, medicine]. Pushchino, Synchronbook Publ., 2013, 310 p.
4. Abu Bakar M.F., Ahmad N.E., Suleiman M., Rahmat A., Isha A. Garcinia dulcis Fruit Extract Induced Cytotoxicity and Apoptosis in HepG2 Liver Cancer Cell Line. *Biomed Res Int.*, 2015, doi: 10.1155/2015/916902.
5. Bosch-Barrera J., Menendez J.A. Silibinin and STAT3: A natural way of targeting transcription factors for cancer therapy. *Cancer Treat. Rev.*, 2015, vol. 41, no. 6, pp. 540–546.
6. Cheon S.Y., Chung K.S., Jeon E., Nugroho A., Park H.J., An H.J. Anti-inflammatory Activity of Saxifragin via Inhibition of NF- κ B Involves Caspase-1 Activation. *J. Nat. Prod.*, 2015, vol. 78, no. 7, pp. 1579–1585.
7. Gatouillat G., Magid A.A., Bertin E., El btaouri H., Morjani H., Lavaud C., Madoulet C. Medicarpin and millepurpan, two flavonoids isolated from *Medicago sativa*, induce apoptosis and overcome multidrug resistance in leukemia P388 cells. *Phytomedicine*, 2015, vol. 22, no. 13, pp. 1186–1194.
8. Harrison M., Holen K., Liu G. Beyond taxanes: a review of novel agents that target mitotic tubulin and microtubules, kinases, and kinesins. *Clin. Adv. Hematol. Oncol.*, 2009, no. 7, pp. 54–64.
9. Isa N.M., Abdelwahab S.I., Mohan S., Abdul A.B., Sukari M.A., Taha M.M., Syam S., Narri-ma P., Cheah S.Ch., Ahmad S., Mustafa M.R. In vitro anti-inflammatory, cytotoxic and antioxidant activities of boesenbergin A, a chalcone isolated from *Boesenbergia rotunda* (L.) (fingerroot). *Braz. J Med. Biol. Res.*, 2012, vol. 45, no. 6, pp. 524–530.
10. Kommididi D.R., Pagadala R., Rana S., Singh P., Shintre S.A., Koorbanally N.A., Jonnalagadda S.B., Moodley B. Novel carbapenem chalcone derivatives: synthesis, cytotoxicity and molecular docking studies. *Org. Biomol. Chem.*, 2015, vol. 13, no. 14, pp. 4344–4350.
11. Leão M., Soares J., Gomes S., Raimundo L., Ramos H., Bessa C., Queiroz G., Domingos S., Pinto M., Inga A., Cidade H., Saraiva L. Enhanced cytotoxicity of prenylated chalcone against tumour cells via disruption of the p53-MDM2 interaction. *Life Sci.*, 2015, no. 142, pp. 60–65.
12. Mather J.P., Roberts P.E. Introduction to cell and tissue culture. Theory and technique. New York: Plenum Press, 1998, 241 p.
13. Olaru O.T., Venables L., VAN DE Venter M., Nitulescu G.M., Margina D., Spandidos D.A., Tsatsakis A.M. Anticancer potential of selected *Fallopia* Adans species. *Oncol Lett.*, 2015, vol. 10, no. 3, pp. 1323–1332.
14. Singh G., Arora A., Mangat S.S., Rani S., Kaur H., Goyal K., Sehgal R., Maurya I.K., Tewari R., Choquesillo-Lazarte D., Sahoo S., Kaur N. Design, synthesis and biological evaluation of chalconyl blended triazole allied organosilatrane as giardicidal and trichomonocidal agents. *Eur. J. Med. Chem.*, 2016, no. 108, pp. 287–300.
15. Wang L.H., Li H.H., Li M., Wang S., Jiang X.R., Li Y., Ping G.F., Cao Q., Liu X., Fang W.H., Chen G.L., Yang J.Y., Wu C.F. SL4, a chalcone-based compound, induces apoptosis in human cancer cells by activation of the ROS/MAPK signalling pathway. *Cell Prolif.*, 2015, vol. 48, no. 6, pp. 718–728.
16. Xia Y., Lian S., Khoi P.N., Yoon H.J., Han J.Y., Chay K.O., Kim K.K., Jung Y.D. Chrysin inhibits cell invasion by inhibition of Recepteur d'origine Nantais via suppressing early growth response-1 and NF- κ B transcription factor activities in gastric cancer cells. *Int. J. Oncol.*, 2015, vol. 46, no. 4, pp. 1835–1843.
17. Zhou B., Xing C. Diverse Molecular Targets for Chalcones with Varied Bioactivities. *Med. Chem. (Los Angeles)*, 2015, vol. 5, no. 8, pp. 388–404.

АНДРЕЕВА НАТАЛЬЯ АЛЕКСАНДРОВНА – студентка VI курса медицинского факультета, Чувашский государственный университет, Россия, Чебоксары (andre180593@mail.ru).

ANDREEVA NATALYA – Student of the sixth course, Medical Faculty, Chuvash State University, Russia, Cheboksary.

ПАВЛОВА СВЕТЛАНА ИВАНОВНА – доктор медицинских наук, заведующая кафедрой фармакологии, клинической фармакологии и биохимии, Чувашский государственный университет, Россия, Чебоксары (flavonoid@yandex.ru).

PAVLOVA SVETLANA – Doctor of Medical Sciences, Head of Pharmacology, Clinical Pharmacology and Biochemistry Department, Chuvash State University, Russia, Cheboksary.
