تأثیر ماده ترانس چالکون بر سرطان سینه القا شده در موش‌های نژاد BALB/c

فاطمه صبری[۱]، پریچهره یغمایی[۱*]، آزاده ابراهیم حبیبی[۲]، شیوا ایرانی[۱]

۱- گروه زیست شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲- پژوهشکده علوم غدد و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران ،ایران

*مسئول مکاتبات: yaghmaei_p@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱/۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/٤/۱۰

چکیده

سرطان رشد غیرقابل کنترل سلول‌هاست که سرطان سینه یکی از انواع آن بوده و درمان اصلی آن که شیمی‌درمانی است با عوارض جانبی همراه است. امروزه استفاده از مواد طبیعی مانند چالکون‌ها در درمان سرطان گسترده شده است. هدف این بررسی القای آپوپتوز با داروهای ترانس چالکون در سلول‌های سرطان سینه 4T1 و روی موش‌های نژاد Balb/c بوده است. سمیت دارو با تست MTT در زمان‌های ٢٤ و ٤٨ ساعت و غلظت‌های ۲۰، ۳۰، ٤٠ و ۵۰ میکرومول (µM) سنجیده شد. پس از تیمار موش‌های توموری بررسی هماتوکسیلین- ائوزین انجام گرفت. سپس معناداری نتایج با SPSS و ANOVA با سطح معناداری p< ۰/۰۵ بررسی گردید. نتایج تست MTT ترانس چالکون میزان سمیت ۵۰ درصد دارویی را در زمان ٤٨ ساعت در تمامی غلظت‌ها نشان داده است. در بررسی هیستولوژیک نیز آپوپتوز مشاهده شد. بنابراین، می‌توان نتیجه گرفت که داروهای ترانس چالکون می‌توانند به عنوان روش مناسبی برای درمان سرطان سینه باشند.

کلمات کلیدی: ترانس چالکون، سرطان سینه، موش Balb/c..

مقدمه

سرطان سینه یکی از متداول‌ترین سرطان‌های شناخته شده در بین زنان سراسر دنیا است. در حال حاضر بیش از یک میلیون زن مبتلا به سرطان سینه در سراسر دنیا وجود دارد و دومین دلیل مرگ و میر در بین زنان می‌باشد. مطالعات نشان داده که سرطان سینه از رایج-ترین سرطان‌ها در بین زنان آمریکایی و شمال شرق اروپا است، تخمین زده شده که از هر هشت زن آمریکایی یک نفر به سرطان سینه مبتلا می‌شود و همچنین نرخ بروز آن در کشورهای صنعتی بیشتر است. تقریباً زنان مبتلا به سرطان سینه دچار متاستاز شده و سرانجام فوت خواهند کرد (۳، ۸). در ایران سرطان سینه یکی از رایج‌ترین سرطان هاست، یافته‌ها نشان دادند که سن بروز بیماری بین ۱۵ تا ٨٤ سال است که شیوع بیشتر را بین سنین ٤٠ تا ٤٩ سال می-توان مشاهده نمود. اخیراً گزارش شده که میزان بروز سرطان سینه در ایران حدود ۵۰۰۰ مورد در سال است که این تعداد به بیشتر از ۱۵۰۰۰ مورد در سال تا سال ۲۰۳۰ خواهد رسید. به منظور درمان سرطان سینه از گزینه‌های درمانی مثل شیمی درمانی، پرتودرمانی و جراحی استفاده می‌شود. اگرچه گزینه‌های درمانی

معمول از قبیل شیمی‌درمانی و پرتودرمانی در دهه گذشته پیشرفت داشته‌اند اما درمان سرطان هنوز به حد مطلوب نرسیده است.

سرطان سینه متاستاتیک معمولاً علاج ناپذیر است و به عنوان یک چالش بالینی اساسی مطرح است. مقاومت ذاتی یا کسب شده سلول‌های سرطانی به شیمی درمانی، مشکل اساسی است که در بیماران مبتلا به سرطان سینه منجر به مرگ می‌شود (۳، ۸).

در کشورهای غربی، سرطان پستان عمدتاً در سنین بالای ۵۰ سالگی دیده می‌شود، در حالی که طبق مطالعات انجام شده در کشور ما، تعداد مبتلایان در محدوده سنی ۴۹-۴۰ سال، بیشتر از سایر رده‌های سنی است. همچنین تعداد بیماران جوان‌تر بیشتر از کشورهای غربی است (۱).

در این مطالعه به دلیل اهمیت سرطان پستان وسونامی این سرطان در ایران و اهمیت زنان به عنوان محور مهم خانواده در جایگاه همسر و مادر رده‌ی سلولی مورد بررسی رده‌ی سلولی موشی سرطان سینه $4t_1$ انتخاب گردید و در نهایت به بررسی in vivo این نوع سرطان پرداخته شد.

به طور کلی بسیاری از داروهای شیمیایی که به منظور شیمی درمانی سرطان به کار برده می‌شوند، اغلب سبب تغییراتی در فرایند تقسیم سلولی شده و تکثیر و تمایز سلول سرطانی متوقف می‌شود. این امر به طرق مختلف از جمله القای آپوپتوز، تغییر ساختار DNA، مهار توپوایزومرازها، تیروزین‌کینازها، مهار تقسیم میتوز، مهار رونویسی، مهار همانندسازی و غیره انجام می‌گیرد (۲، ٦).

در سنتز این داروها علاوه بر آن که خاصیت سایتوتوکسیک آنها در برابر سلول‌های سرطانی حائز اهمیت است بلکه این ویژگی که کمترین اثرات جانبی را روی سلول‌های سالم فرد بیمار داشته باشد نیز از اهمیت بالایی برخوردار است (۱۷).

مشخصات مورفولوژیکی فرایند آپوپتوز سلولی شامل کاهش حجم سلول، متراکم شدن هتروکروماتین محیطی، جمع شدگی سیتوپلاسم و فاگوسیتوز شدن اجسام کروی سیتوپلاسمی قطعه قطعه شده توسط ماکروفاژ و یا سایر سلول‌های فاگوسیتیک است. آپوپتوز راه حل‌هایی را برای درمان ضد سرطانی مؤثر فراهم کرده است و تا کنون ترکیبات بسیاری گزارش شده‌اند که از طریق القای آپوپتوز اثرات ضد سرطانی دارند، بنابراین امروزه یکی از استراتژی‌های جالب توجه که در شیمی درمانی سرطان مورد توجه قرار گرفته است مداخلات دارویی است که بتوانند مرگ سلول‌های بدخیم را از طریق القای آپوپتوز میانجی کند. Kamesaki (۱۹۹۸)؛ Kerr و همکاران (۱۹۷۲) و Thompson (۱۹۹۵) در پژوهشی که بر روی عصاره‌ی توت فرنگی بر روی سرطان سینه در رده‌ی سلول T 47 D و موش توموری انجام گرفت نشان داده شد که مرگ ایجاد شده در پی سمیت عصاره توت فرنگی از نوع آپوپتوز می‌باشد. عصاره توت فرنگی دارای مواد آنتی اکسیدانی و نیز فلاونوییدی است. در این بررسی نشان داده شده است هنگامی که ژن TP53 دچار جهش شود عصاره‌ی توت فرنگی توانایی فعالسازی ژن P27 را دارد و در نهایت آبشار آپوپتوزی فعال می‌گردد (١٤).

با توجه به مطالعاتی مانند آنچه بیان گردید می‌توان با توجه به نتایج حاصل از تأثیر داروهای ترانس چالکون و نیترو چالکون به دست آمده از رنگ آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین اینگونه نتیجه گرفت که کاهش حجم سلول، متراکم شدن هتروکروماتین محیطی، جمع‌شدگی سیتوپلاسم و فاگوسیتوز شدن اجسام کروی سیتوپلاسمی قطعه قطعه شده به علت مرگ آپوپتوزی بوده باشد که حاصل از تیمار با چالکون‌ها است. برای ایجاد مرگ آپوپتوزی باید ژن‌های مرتبط با این مسیر فعال گردند که با توجه به نتایج این ژن‌ها

فعال شده‌اند اما تعیین نوع مسیر داخلی و خارجی آپوپتوز و نوع ژن‌های فعال شده نیازمند مطالعات کاملتری است. چالکون‌ها موادی از فلاونوئیدها و ایزوفلاونوئیدها هستند که به طور گسترده در گیاهان خوراکی یافت می‌شوند. از نظر شیمیایی این مواد (فلاونوئید) دارای زنجیره بازی هستند که دو حلقه آروماتیک دارند که به وسیله سه کربن غیراشباع به یکدیگر متصل شده‌اند. از میان فلاونوئیدها چالکون‌ها ترکیباتی هستند که بطور گسترده دارای فعالیت‌های بیولوژیکی هستند که شامل خواص ضد التهابی، ضد تهاجمی، ضد تومور و ضد باکتری هستند (۱۶).

چالکون‌ها می‌توانند باعث القای آپوپتوز و تنفس میتوکندری شوند. انواع چالکون‌ها در آزمایشگاه بر ضد سایتوتوکسیتی انواع Human cell lines شامل آدنوکارسینومای پستان (MCF-7)، آدنوکارسینومای ریه (A549)، سرطان پروستات (PC3)، آدنوکارسینومای کلون (HT-29) و سلول‌های نرمال کبد (WRL-68) مورد ارزیابی قرار گرفت. بیشتر ترکیبات عامل سایتوتوکسیک بودند. از میان چالکون ها ترکیبات ۲۳،۲۵،۱،۵ توانایی ایجاد آپوپتوز را دارند در سلول‌های MCF-7 به وسیله سنجش سمیت سلولی و فعالیت‌های کاسپاز (آنزیم‌های دخیل در آپوپتوز) ۳، ۷، ۸ و ۹ نشان داده شد، سطح ROS (Reactive oxygen species) افزایش پیدا می‌کند.

بدین گونه نتیجه گرفته‌اند که در این ترکیبات ROS افزایش پیدا می‌کند و باعث هدایت آپوپتوز در سلول-های MCF-7 می‌شود (۱۶).

یکی از انواع چالکون‌ها ترانس چالکون است. ترانس چالکون سبب حفاظت بر علیه استرس‌های اکسیداتیو ناشی از هیدروژن پراکساید (H_2O_2) می‌شود. رادیکال‌های آزاد و در راس آنها ترکیبات مشتق از اکسیژن فعال (ROS) مهمترین عوامل شکل‌گیری واکنش استرس اکسیداتیو هستند. امروزه آسیب رادیکالی به عنوان عامل موثری در بسیاری از بیماری-ها از جمله آلزایمر، آترواسکلروز و سرطان در نظر گرفته می‌شود (۱۱).

عمل ضد تکثیری در تعداد زیادی از ترکیبات چالکون مانند زانتامول (Xanthahumol) یافت شده و در سلول‌های سرطانی در مدل‌های آزمایشگاهی اثبات گردیده است. زانتامول به عنوان یک داروی ضدسرطان است که از طریق اعمال زیستی وسیع-الطیفی عمل می‌کند. ترکیبات فنولی دارای اثرات بسیار مفیدی بر سلامت است و دارای خاصیت ضدالتهابی، ضد تکثیری و فعالیت‌های ضدویروسی می‌باشد. بنابراین فلاونوئیدها جزء اصلی رژیم غذایی انسان هستند، ساختمان این آنتی‌اکسیدان‌ها شامل بیش از چهار هزار ساختار عملکردی (moiety) است، بنابراین احتمالاً از این ترکیبات در درمان سرطان می-توان سود برد (۱۵).

مواد و روش کار

در این مطالعه از سلولهای بافت اپیتلیالی سینه موش استفاده شده است که ویژگی‌های این رده‌ی سلولی در جدول ۱ توضیح داده شده است. سلول‌های مورد مطالعه در محیط RPMI1640 حاوی ۱۰ تا ۲۰ درصد سرم جنین گاوی رشد داده می‌شود. سلول‌ها در زمان رشد متابولیت‌های اسیدی تولید می‌کنند که باعث تغییر رنگ تدریجی محیط کشت از رنگ ارغوانی به زرد می‌شود، به همین دلیل معمولاً هر ٤٨-٢٤ ساعت یک بار محیط کشت سلول‌ها تعویض می‌گردد. روش‌های متعددی جهت سنجش غیرمستقیم میزان تکثیر و زنده ماندن سلول‌ها وجود دارد. اغلب این روش‌ها میزان فعالیت یک آنزیم سلولی را درون سلول زنده اندازه‌گیری می‌کنند. یکی از شناخته شده‌ترین این روش‌ها آزمون MTT است. تست MTT، آزمونی کمی برای اندازه‌گیری میزان تکثیر

سلول‌ها در مواجه با عوامل مختلف و تعیین میزان سمیت این عوامل بر روی سلول‌ها می‌باشد. اساس این روش بر پایه توانایی آنزیم ردوکتاز میتوکندریایی سلول‌های زنده در احیاء و تبدیل حلقه‌های تترازولیوم MTT زرد رنگ به کریستال‌های نامحلول و بنفش فرمازان است که قادر به عبور از غشاء سلول نیستند، می‌باشد. سپس این کریستال‌ها توسط شوینده‌ای به فرم محلول در می‌آیند (۸).

ضمن انجام تست MTT واکنشی مطابق شکل۱ در سلول‌های زنده رخ می‌دهد.

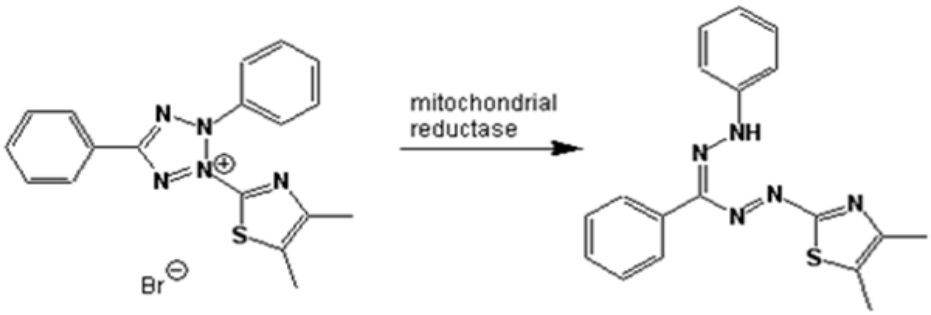
تراکم نوری محلول حاصل را می‌توان با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری و در طول موج ۵۷۰ نانومتر اندازه‌گیری کرد. واکنش احیاء که در بالا مطرح شد تنها در سلول‌های زنده رخ می‌دهد، مقدار عددی بدست آمده به طور مستقیم با تعداد سلول‌های زنده در تناسب است. در این سنجش میزان فرمازان تولید شده توسط سلول‌های تیمار شده را با میزان فرمازان تولید شده توسط سلول‌های کنترل که تیمار خاصی دریافت نکرده‌اند مقایسه می‌نمایند (۷).

وزن مولکولی ماده ترانس‌چالکون معادل ۲۰۸/۲۶ میکرومول می‌باشد. یعنی هر مول از این ماده معادل ۲۰۸/۲۶ گرم از این ماده است. در تهیه غلظت‌های دارویی برای کاهش میزان اشتباه ابتدا محلولی با غلظت بالاتر دارویی مثلا ۲۰۰ میکرومول بر لیتر تهیه می‌شود. مقدار ۰/۰۴۱۶۵۲ گرم از این ماده باید در ۱۰ میلی‌لیتر DMSO حل شود و تمام مراحل مانند روش قبل است.

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS 19 و روش آماری آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند و اختلاف در سطح احتمال کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

جدول ۱- شناسنامه رده سلولی $4T_1$ [http://www.atcc.org/]

ارگانیسم	عضله موش
نژاد	BALB/cfC3H
بافت	غده پستانی
بیماری	این تومور از سلول‌های مرحله ۵ سرطان سینه حیوانی است.
ریخت شناسی	اپتیلیال
ویژگی‌های رشد	به هم چسبیده



MTT فرمازان

شکل۱- واکنشی که ضمن انجام تست MTT در سلول‌های زنده رخ می‌دهد.

نتایج

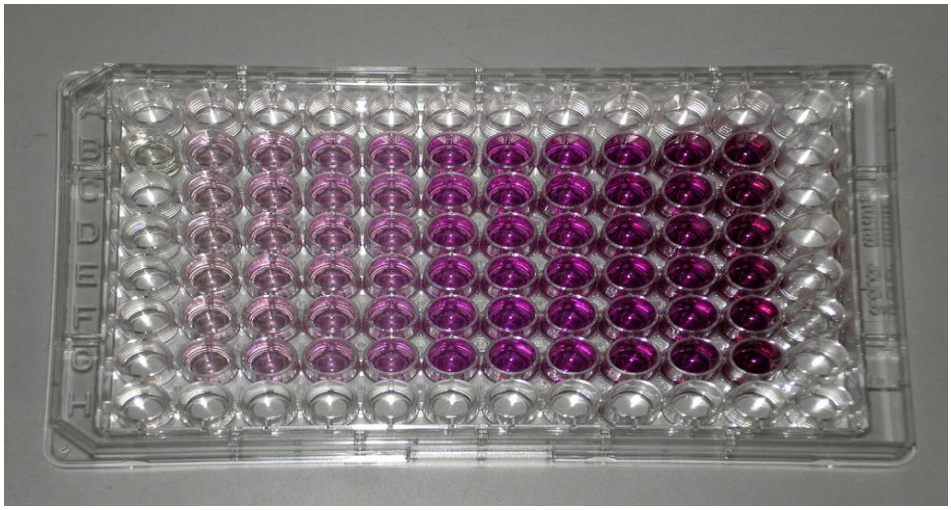
تست MTT داروی ترانس چالکون در زمان‌های مختلف: پس از تهیه‌ی سوسپانسیون سلولی و گذشت ٢٤ ساعت از کاشتن آنها در پلیت ٩٦ خانه سلول‌ها تحت تیمار غظت‌های ۲۰، ۳۰، ٤٠ و ۵۰ میکرومولار از داروی ترانس چالکون قرار گرفتند (شکل ۲). در ادامه تست MTT برای زمان‌های ٢٤ و ٤٨ ساعت انجام گرفت. در این تست نمونه کنترل تیمار نشده نمونه‌ی تیمار شده با داروی ترانس چالکون با غلظت‌های مختلف مورد بررسی قرار گرفتند. به ازای هر غلظت مربوط به کنترل داروی ترانس چالکون سه تکرار در نظر گرفته شد. در این تست میزان DMSO ۰/۵ درصد به عنوان حلال دارویی اعمال شد.

در این تست به ازای نمونه‌ی کنترل تیمار نشده نمونه‌ی تیمار شده با داروی ترانس‌چالکون با غلظت-های متفاوت سه تکرار در نظر گرفته شد. در این تست میزان DMSO ۰/۵ درصد به عنوان حلال دارو و غلظت‌های ۲۰، ۳۰، ٤٠ و ۵۰ uM از دارو اعمال گردید. سطح معنی‌داری p< ۰/۰۵ با آنالیز SPSS و ANOVA انجام شد که با * نشان داده شده است.

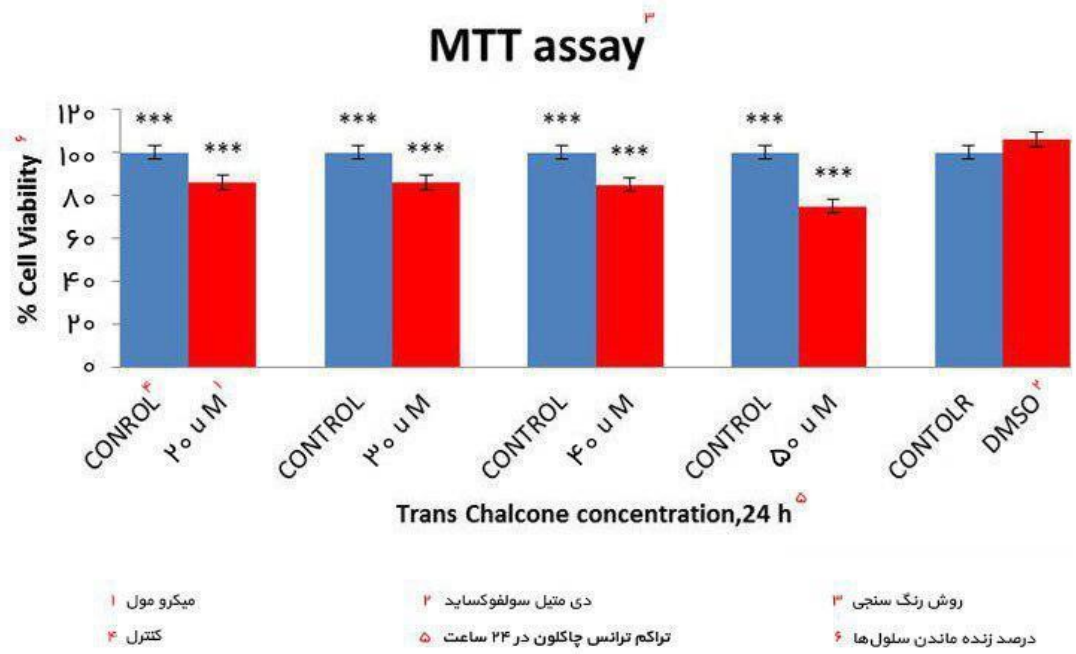
تست MTT داروی ترانس چالکون در زمان ٢٤ ساعت: ٢٤ ساعت پس از تیمار با غلظت‌های مختلف ترانس چالکون سمیت ۵۰ درصد دیده نشد؛ اما بیشترین سمیت مربوط به دوز دارویی ۵۰ میکرومولار بوده است. از نظر آماری داده‌ها دارای توزیع نرمال بودند و نتیجه‌ی معنی‌داری را نشان داده‌اند. در این تست به ازای نمونه‌ی کنترل تیمار نشده و نمونه‌ی تیمار شده با داروی ترانس چالکون با غلظت‌های متفاوت ۳ تکرار در نظر گرفته شد. در این تست میزان DMSO ۰/۵ درصد به عنوان حلال دارو و غلظت‌های ۲۰، ۳۰، ٤٠ و ۵۰ uM از دارو اعمال گردید. سطح معنی‌داری p<۰/۰۵ با آنالیز SPSS و ANOVA انجام شد که با * نشان داده شده است.

رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین بدون تیمار دارویی: تصاویر مربوط به موش‌هایی است که هیچ گونه دارویی را دریافت نکرده‌اند. در این موش‌ها آپوپتوز رخ نداده است (شکل ۳). در این بررسی رنگ آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین استفاده شده است و هیچ گونه مرگ سلولی آپوپتوزی رخ نداده است.

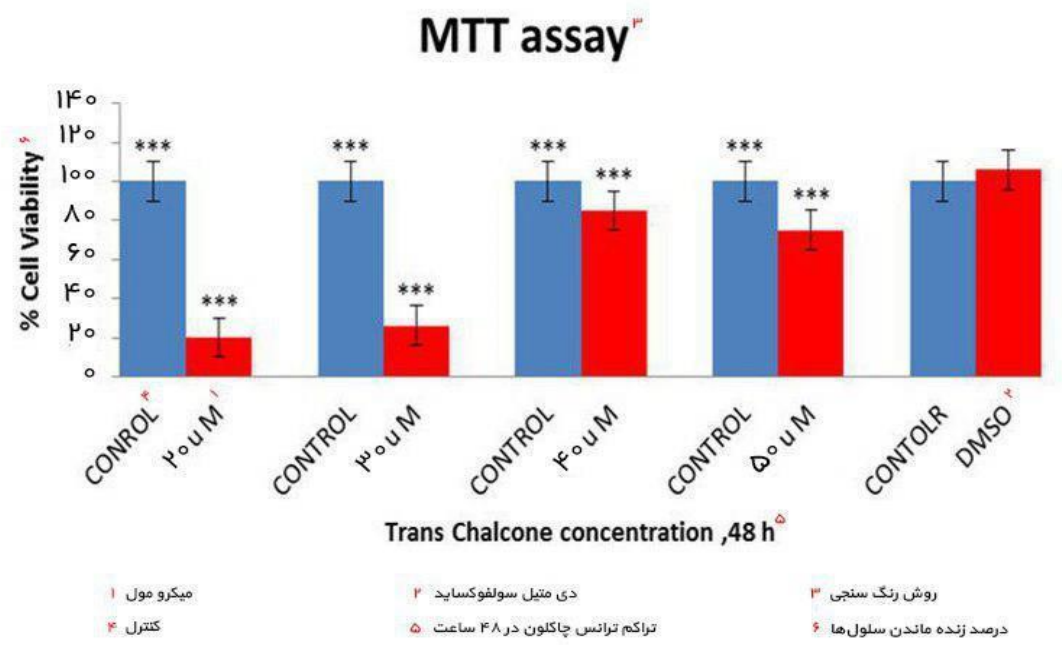
نتایج مربوط به رنگ آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین پس از تیمار با ترانس چالکون: موش‌ها در این مرحله میزان ۱۲ میلی گرم بر کیلوگرم داروی ترانس چالکون دریافت نمودند و در نهایت آپوپتوز در این سلول‌ها مشاهده گردید (شکل ٤). در این بررسی رنگ آمیزی هماتوکسیلین – ائوزین استفاده شده است و مرگ سلولی آپوپتوزی با فلش نشان داده شده است. میزان مصرفی دارو در این موش‌ها برابر با ۱۲ میلی گرم بر کیلوگرم بوده است.



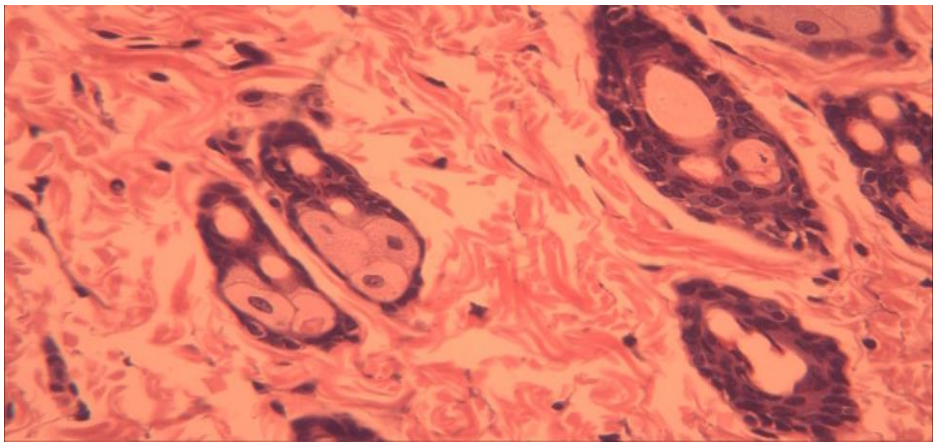
شکل ۲- تست MTT سلول های سرطانی سینه تیمار شده با داروی نیتروچالکون و ترانس چالکون در پلیت ۹۶ خانه



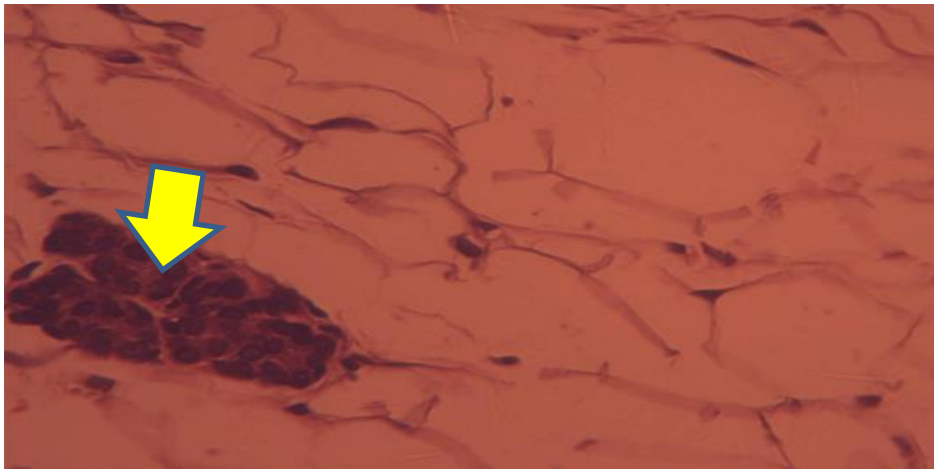
نمودار ۱- نتایج تست MTT مربوط به تیمار ۲٤ ساعت سلول های $4\ T_1$ بر اساس تغییرات غلظت داروی ترانس چالکون (محور افقی) و درصد زنده ماندن سلول‌های سرطان سینه ی تیمار شده با داروی ترانس چالکون (محور عمودی).



نمودار ۲- نتایج تست MTT مربوط به تیمار ٤٨ ساعت سلول‌های $4\ T_1$ بر اساس تغییرات غلظت داروی ترانس‌چالکون (محور افق) و درصد زنده ماندن سلول‌های سرطان سینه‌ی تیمار شده با داروی ترانس چالکون (محور عمودی).



شکل ۳- بررسی ایمونوهیستوشیمی مربوط به موش‌های بدون درمان دارویی با بزرگنمایی x40 .



شکل٤- بررسی ایمونوهیستوشیمی مربوط به موش‌های دریافت کننده ترانس چالکون با بزرگنمایی 40X.

بحث

در این مطالعه به بررسی اثر چالکون‌ها (ترانس چالکون) پرداخته شد زیرا ویژگی ضد سرطانی بودن این ترکیبات به اثبات رسیده است. اما از آنجا که چالکون‌ها در گیاهان وجود دارند و جز محصولات طبیعی هستند در صورتی که به عنوان دارو در شیمی درمانی به کار روند به علت عدم سمیت شان بر روی سلول های سالم اثرات جانبی بر جا نخواهند گذاشت البته در صورت داشتن اثرات جانبی این تأثیرات بسیار ناچیز خواهد بود و در مقایسه با داروهای سینتتیک این تأثیرات قابل چشم پوشی است. از آنجایی که در درمان سرطان یکی از چالش‌های اساسی گریز از فعال شدن سیستم ایمنی و جلوگیری از التهاب است استفاده از داروهایی با منشأ چالکون که دارای ویژگی-های ضد التهاب است گزینه‌ی مناسبی برای این هدف هستند. در سال ۲۰۱٤ نشان داده شد که ترکیبات فلائونوییدی دارای حلقه‌ی فوران در شرایط invitro بر روی سلول‌های آدنوکارسینومای سینه و کولون دارای فعالیت ضد سرطانی هستند (۹).

در مطالعه انجام گرفته شده بر روی داروهای ترانس چالکون نتایج تست MTT سمیت مناسب این دو دارو (IC50) را بر روی رده‌ی سلولی $4T_1$ نشان داده است که نشان دهنده‌ی توانایی ترانس چالکون در القای سیگنال‌های مرگ در شرایط In vitro است. اما در این مطالعه نتایج حاصل از دارو در زمان ٢٤ ساعت داروی ترنس چالکون سمیت کمتر از ٥٠٪ IC50 را نشان داده است. در زمان ٤٨ ساعت داروی ترانس چالکون سمیت کمتری را داشته است.

در پژوهشی که در سال ۲۰۱۱ بر روی سلول‌های کارسینومای کبدی Hep G2 پس از تیمار با ترانس چالکون انجام گرفت مشاهده شد که این دارو در دوزهای بالاتر از ۲۰ میکرومولار باعث کاهش H_20_2 گردید و در دنباله‌ی این فرایند ترانس چالکون توانست از سلول‌ها بر علیه استرس‌های اکسیداتیو محافظت نماید (۱۳).

نتایج حاصل از این مطالعه نیز در رابطه با داروی ترانس‌چالکون نتایج قابل قبولی را در مورد سمیت ترانس‌چالکون نشان داد به طوری که در زمان ٢٤ ساعت با افزایش دوز دارو میزان سمیت نیز افزایش پیدا نمود که شاید بتوان کاهش تعداد سلولی را به محافظت سلول‌ها در برابر استرس‌های اکسیداتیو و در نهایت کاهش پرولیفراسیون آنها ارتباط داد. در یک پژوهش که در سال ۲۰۰۷ در in vivo و in vitro

با تیمار ترانس‌چالکون ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم انجام گرفت سمیت مناسب این دارو مشاهده گردید و در نهایت نتایج حاصل از بررسی‌های ایمونوهیستوشیمی و وسترن بلات مرگ سلولی آپوپتوزی را تأیید نمود (۱۲).

نتیجه‌گیری

در مطالعه‌ی حاضر در شرایط in vivo و in vitro با تیمار ترانس چالکون ۱۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم انجام گرفت سمیت مناسب این دارو مشاهده گردید و نتایج ایمونوهیستوشیمی آپوپتوز را تایید نمود. به علت استفاده‌ی دوز کمتر ترانس‌چالکون می‌توان گفت این ساختار ترانس‌چالکون نسبت به ساختارهای مورد بررسی در مطالعات پیشین مناسب‌تر بوده است.

منابع

۱. کاویانی.، ا و همکاران. ۱۳۸۹. راهنمای جامع بیماری-های پستان، مرکز تحقیقات سرطان پستان جهاد دانشگاهی، صفحات ۵۰-۱.

2. Abeloff M.D., Armitage J.O., Niederhuber J.E., Kastan M.B., McKenna W.G., 2004. Review of Clinical Oncology.

3. Aljarrah K., Mhaidat N. M., Al-Akhras M. A., Aldaher A. N., Albiss B., Aledealat K., Alsheyab F.M., 2012. Magnetic nanoparticles sensitize MCF-7 breast cancer cells to doxorubicin-induced apoptosis. *World journal of surgical oncology*, 10 (1): 62.

4. Kamesaki H., 1998. Mechanisms involved in chemotherapy-induced apoptosis and their implications in cancer chemotherapy. *International Journal of Hematology*, 68, 29 – 43.

5. Kerr J.F., Wyllie A.H., Currie A.R., 1972. Apoptosis: A basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *British Journal of Cancer*, 26, 239 – 57.

6. Li J.J., Gribble G.W. eds., 2006. Palladium in heterocyclic chemistry: a guide for the synthetic chemist (Vol. 26). Elsevier.

7. Mokhtari M.J., Motamed N., Shokrgozar M.A., 2008. Evaluation of silibinin on the viability, migration and adhesion of the human prostate adenocarcinoma (PC-3) cell line. *Cell Biology International*, 32(8): 888-92.

8. Mosmann T., 1983. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological Methods*, 16; 65(1-2): 55-63.

9. Murti Y., Mishra P., 2014. Synthesis and evaluation of flavanones as anticancer agents. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 76(2), p.163.

10. Pegram M.D., Pienkowski T., Northfelt D.W., Eiermann W., Patel R., Fumoleau P., 2004. Results of two open-label, multicenter phase II studies of docetaxel, platinum salts, and trastuzumab in HER2-positive advanced breast cancer. *Journal of the National Cancer Institute*, 96 (10): 759-769.

11. Pérez-Garrido A., Helguera A.M., Ruiz J.M.M., Rentero P.Z., 2012. Topological sub-structural molecular design approach: Radical scavenging activity. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 49, 86-94.

12. Sasayama T., Tanaka K., Mizukawa K., Kawamura A., Kondoh T., Hosoda K., Kohmura E., 2007. Trans-4-lodo, 4′-boranyl-chalcone induces antitumor activity against malignant glioma cell lines in vitro and in vivo. *Journal of Neuro-oncology*, 85(2), 123-132.

13. Sikander M., Malik S., Yadav D., Biswas S., Katare D.P., Jain S.K., 2011. Cytoprotective activity of a trans-chalcone against hydrogen peroxide induced toxicity in hepatocellular carcinoma (HepG2) cells. *Asian Pacific* Journal of *Cancer Prevention*, 12(10), 2-10.

14. Somasagara R.R., Hegde M., Chiruvella K.K., Musini A., Choudhary B., Raghavan, S.C., 2012. Extracts of strawberry fruits induce intrinsic pathway of apoptosis in breast cancer cells and inhibits tumor progression in mice. *PloS one*, 7(10), p.e47021.

15. Strathmann J., Gerhauser C., 2012. Anti-proliferative and apoptosis-inducing properties of xanthohumol, a prenylated chalcone from hops (*Humulus lupulus* L.). In Natural compounds as inducers of cell death (pp. 69-93). Springer Netherlands.

16. Syam S., Abdelwahab S.I., Al-Mamary M.A., Mohan S., 2012. Synthesis of chalcones with anticancer activities. *Molecules*, 17(6), 6179-6195.

17. Takimoto C.H., Awada A., 2008. Safety and anti-tumor activity of sorafenib (Nexavar®) in combination with other anti-cancer agents: a review of clinical trials. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 61(4), 535-548.

18. Thompson C.B., 1995. Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease. *Science*, 267, 1456- 62.