زیست فناوری دانشگاه تربیت مدرس
دوره 6، شماره 2، پاییز و زمستان 1394

مطالعه تأثیر مشتق جدید تیازولیدینون بر مسیر التهابی با تأکید بر مهار فاکتور رونویسی NF-κB

فرحناز حسن زاده[1]، محمود رضا آقامعالی[2*]، حسین غفوری[2]، لیلا جمالزاده[3]، اسداله محمدی[4]

1- دانشجوی کارشناسی ارشد گروه زیست شناسی، دانشکده پردیس بین الملل، دانشگاه گیلان، رشت
2- استادیار گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گیلان، رشت
3- دانشجوی دکتری گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گیلان، رشت
4- استادیارگروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گیلان، رشت

* رشت، صندوق پستی 19141- 41335
aghamaali@guilan.ac.ir
(دریافت مقاله: 94/3/4 پذیرش مقاله: 94/6/17)

چکیده- اخیراً مشتق جدیدی از تیازولیدینون به نام 5- (2 و 4- بیس 4- اتوکسی فنیل آزو -3- هیدروکسی بنزیلیدین) - 2 و 4 تیازولیدینون ($TZD\text{-}OCH_2CH_3$) سنتز شده و خاصیت آنتی اکسیدانی آن به اثبات رسیده است. در این تحقیق اثرات ضدالتهابی این ترکیب ($TZD\text{-}OCH_2CH_3$) و توانایی آن در مهار NF-κB بر روی ردهٔ سلولی Raw264.7 بررسی شد .

ابتدا سلول‌ها در محیط حاوی DMEM، FBS و آنتی‌بیوتیک کشت داده شد و غربال‌گری سمیت ترکیب مورد مطالعه ($TZD\text{-}OCH_2CH_3$) با آزمایشMTT ، با غلظت‌های (120- 0) میکروگرم بر میلی‌لیتر انجام گرفت. سپس به منظور بررسی اثر مهاری ترکیب مورد مطالعه بر NF-κB از کیت مربوط به سنجش NF-κB استفاده شد. برطبق آزمایش‌ها غلظت مهار رشد 50 درصد (IC_{50}) سلول‌هایRaw264.7 تیمار شده با $TZD\text{-}OCH_2CH_3$، 115 میکروگرم بر میلی‌لیتر بدست آمد. از طرف دیگر سنجش مهار NF-κB بر روی رده سلولی Raw264.7 با غلظت‌های30 و 60 میکروگرم بر میلی‌لیتر از تیازولیدینون، حاکی از مهار این فاکتور التهابی توسط ترکیب فوق می‌باشد. بر طبق مطالعات صورت گرفته، نتایج نشان می‌دهند که ترکیب مذکور با توجه به مهار NF-κB با IC_{50}=48 میکروگرم بر میلی‌لیتر در رده سلولی Raw264.7، دارای اثرات ضد التهابی قابل ملاحظه‌ای است ومی‌تواند به عنوان یک عامل شیمی درمانی امیدوار کننده در درمان سرطان در نظر گرفته شود.

کلیدواژگان: تیازولیدینون، MTT، NF-kB، Raw264.7.

1- مقدمه

سرطان به معنای رشد، تکثیر و انتشار غیرطبیعی سلول‌های بدن می‌باشد. از میان عوامل و مسیرهای مختلفی که موجب بروزسرطان می‌شوند، می‌توان به مسیرهای التهابی اشاره کرد [1]. در دو دهه اخیر مولکول‌های متعددی شناسایی شده‌اند که نقش مهمی در التهاب دارند. این مولکول‌ها شامل فاکتور نکروزکننده تومور (TNF)، اینترلوکین 1 و 6، سیکلواکسیژناز 2

(COX)، متالوپروتئازهای ماتریکس (MMP) و فاکتور رشد اندوتلیال رگی (VEGF) می‌باشند. ویژگی مشترک تمامی مولکول‌های نامبرده این است که همگی به وسیله فاکتور رونویسیNF-κB تنظیم می‌شوند [2]. این فاکتور رونویسی، سلول‌های تأثیرگذار در التهاب و سرطان را به هم مرتبط کرده [3] و چندین فرایند مهم فیزیولوژی از قبیل واکنش‌های ایمنی و التهابی، رشد سلول و آپاپتوز را تنظیم می‌کند [4]. در بیشتر بافت‌های سرطانی میزان بیان NF-κB افزایش می‌یابد. از جمله فعالیت‌های NF-κB، القاء پیشروی سرطان پروستات و متاستاز تومور به غدد لنفاوی می‌باشد [5]. همچنین پیشروی سرطان ریه [6]، سرطان سینه [7] و پاسخ به شیمی‌درمانی در سرطان سینه [8] همگی با فعالیت NF-κB مرتبط می‌باشند.

مطالعات بیس واس و همکارانش در زمینه بررسی نقش NF-κB در سرطان سینه و تنظیم آپاپتوز و تکثیر سلول حاکی از آن است که سلول‌های سرطانی سینه برای تکثیر سلول به NF-κB وابسته‌اند و هم زمان از آپوپتوز اجتناب می‌نمایند [9]. NF-κB در سیتوزول به صورت یک کمپلکس غیرفعال که به پروتئین مهار کننده IκB متصل است، یافت می‌شود [4]. پروتئین IκB، سیگنال جابه‌جایی هسته‌ای هترودایمر را ایجاد می‌کند، بنابراین از انتقال NF-κB به داخل هسته جلوگیری می‌کند. همچنین این پروتئین مهار کننده، در پاسخ به عوامل مختلف همانند لیپوپلی ساکارید (LPS) ، توسط IKK فسفریله شده و از NF-κB جدا می‌شود، در این شرایط NF-κB، فعال و وارد هسته شده و روی پروموتور COX_2 و iNOS می‌نشیند و با القاء بیان آنها موجب بروز التهاب می‌شود [10].

مطالعات متعدد و گسترده‌ای که در زمینه مهار مسیر فعالیت فاکتور رونویسی NF-κB صورت گرفته است دلالت بر اهمیت مهار این کمپلکس پروتئینی دارد. تاکنون بیش از 750 مهارکننده مسیر NF-κB شناسایی شده‌اند [4] که انواع مختلف مولکول‌های طبیعی و سنتزی، اعم ازآنتی اکسیدان‌ها، پپتیدها، پلی‌پپتیدهای مهندسی شده و پروتئین‌های ویروسی و میکروبی را شامل می‌شوند. چندین داروی ضد التهابی غیراستروئیدی (NSAID) از جمله آسپرین، ایبوپروفن، سولینداک و ایندومتاسین نیز می‌توانند مانع فعالیت NF-κB در رده‌های سلولی شوند [11]. علاوه بر ترکیبات و داروهای نام برده که در مهار NF-κBنقش دارند، یک ترکیب سنتزی بسیار مؤثر از مشتقات تیازولیدین با خاصیت ضد التهابی و ضد سرطانی، تیازولیدینون می‌باشد که در موقعیت‌های2، 3 و یا 5 حاوی اتم سولفور است [12].

تیازولیدینون‌ها از ترکیبات مهم بیولوژیکی می‌باشند که طیف وسیعی از فعالیت‌ها از قبیل خاصیت آنتی‌اکسیدان، ضد باکتری، ضد ویروس، ضد توموری وضد دیابت را از خود نشان می‌دهند. مشتقات مختلفی از این ترکیب در رده‌های مختلف سلولی مورد بررسی قرار گرفت. یکی از مشتقات تیازولیدینون، 5-(4،2- بیس4-اتوکسی فنیل آزو-3-هیدروکسی بنزیلیدین)-4،2- تیازولیدینون (TZD- OCH_2CH_3)، می‌باشد که در سال 2014 در دانشکده شیمی‌دانشگاه گیلان سنتز شد و ویژگی‌های بیولوژیکی آن اثبات شد [13]. با توجه به خواص بیولوژیکی این مشتق جدید تیازولیدینون، در این پژوهش اثر ضد التهابی آن بر روی رده سلولی Raw264.7 با تأکید و تمرکز بر مهار فاکتور کلیدی التهابی NF-κB مورد بررسی قرار گرفت. هدف از این تحقیق، بررسی اثرضدالتهابی مشتق جدید تیازولیدینون به نام 5-(4،2- بیس4-اتوکسی فنیل آزو-3-هیدروکسی بنزیلیدین)-4،2-تیازولیدینون (TZD- OCH_2CH_3)، برروی رده سلولی Raw264.7 از طریق مهار فاکتور التهابی NF-κB می‌باشد.

2- مواد و روش‌ها

2-1- کشت سلول Raw264.7

در این پژوهش از رده سلولی ماکروفاژ موشی به نام

RAW264.7 که از بانک سلولی ایران (IBRC) خریداری شد، استفاده گردید. سلول‌های Raw264.7 در محیط کشت کامل (حاوی 90 درصد DMEM،10 درصد سرم جنین گاوی (FBS) و 1 درصد محلول استرپتومایسین/پنی‌سیلین) در فلاسک $25\ cm^2$ کشت داده شده و در دمای 37 درجه سانتی‌گراد و 5 درصد CO_2 و 95 درصد رطوبت سلول انکوبه شدند. همچنین سلول‌ها پس از رسیدن به تراکم مطلوب برای انجام تست‌ها مورد استفاده قرار گرفتند.

2-2- تست سنجش سمیت (MTT)

تست MTT که یکی از روش‌های رنگ‌سنجی متداول برای بررسی میزان سمیت مواد بر حیات سلول است، بر اساس احیای محلول زرد رنگ تترازولیوم به وسیله آنزیم سوکسینات دهیدروژناز میتوکندریایی در سلول‌های زنده وتشکیل بلورهای نامحلول و بنفش رنگ فورمازان انجام می‌شود. به منظور انجام این تست، ابتدا در هر چاهک از پلیت 96 خانه 10×10^3 سلول کشت داده شده و پس از 24 ساعت انکوبه شدن، با غلظت‌های مختلف (120 µg/ml، 100، 75، 50، 10، 0) ترکیب TZD-OCH_2CH_3 تیمار شدند. پس از 24 ساعت انکوباسیون، محیط کشت سلولی با 100 میکرولیتر محیط کشت تازه حاوی محلول MTT جایگزین و به مدت 4 ساعت انکوبه گردید. سپس به منظور حل نمودن کریستال‌های فورمازان، 100 میکرولیتر DMSO به هر یک از چاهک‌ها اضافه شد و میزان جذب نمونه‌های تیمار شده در طول موج 570 نانومتر به وسیله دستگاه الایزاریدر خوانده شد. لازم به ذکر است که برای حل نمودن TZD-OCH_2CH_3 از حلال DMSO استفاده شد. همچنین برای بررسی اثر حلالDMSO بر روی سلول‌های RAW264.7، در یک تست تکمیلی تأثیر غلظت‌های مختلف DMSO (0/0، 0/1، 0/2، 0/4، 0/6، 0/8، 1، 1/4% حجمی/حجمی) سنجیده شد. در صورتی که غلظت انتخابی0/6 درصد بر اساس تست تکمیلی تعیین شده است، لذا به منظور به حداقل رساندن اثر سمیت حلال، غلظت نهایی آن در تمام چاهک‌ها به میزان یکسان و کمتر از 0/6 درصد محاسبه گردید.

3-2- تحریک سلول‌های ماکروفاژی Raw264.7 با لیپو پلی ساکارید (LPS)

به منظور تحریک و فعال نمودن مسیرهای التهابی، سلول-های Raw264.7 به مدت 18 ساعت همراه با LPS (غلظت 1 µg/ml در محیط کشت سلول) انکوبه شدند. سپس به منظور مطالعه تأثیر ترکیب TZD-OCH_2CH_3 بر میزان مهار NF-kB در سلول تحریک شده با LPS و بر اساس نتایج حاصل از تست MTT، سلول‌ها با غلظت‌های 30 و60 µg/ml از ترکیب مورد نظر به مدت 24 ساعت تیمار شدند.

4-2- سنجش میزان اثر مهاری TZD-OCH_2CH_3 بر NF-kB(total)

به منظور بررسی تأثیر ترکیب مذکور بر میزان فاکتور NF-kB، از کیت NF-κB65 محصول شرکت Invitrogen استفاده گردید. به طور خلاصه، سلول‌های Raw264.7، پس از انجام تیمارهای لازم، با بافر لیزکننده لیز شدند و سوپرناتانت که محتوی پروتئین کل سلولی است جداسازی شد. سطح چاهک‌های مورد استفاده در این کیت توسط یک آنتی‌بادی منوکلونال اختصاصی علیه NF-κB پوشیده شده است که پس از اضافه کردن استانداردها و نمونه‌ها به چاهک‌ها درطی اولین انکوباسیون، آنتی‌ژن NF-κB به آن متصل می‌شود. ردیابی آنتی‌ژن‌های اتصال یافته، توسط آنتی‌بادی اختصاصی علیه NF-κB و به دنبال آن آنتی‌بادی ثانویهٔ کونژوگه به HRP ضد ایمونوگلوبولین خرگوشی، انجام شد. پس از افزودن

سوبسترای TMBو توقف واکنش با HCL، میزان جذب در طول موج 450 نانومتر بررسی گردید.

3- نتایج

3-1- نتایج اثر سمیت حلال (DMSO) بر روی رده سلولی RAW264.7

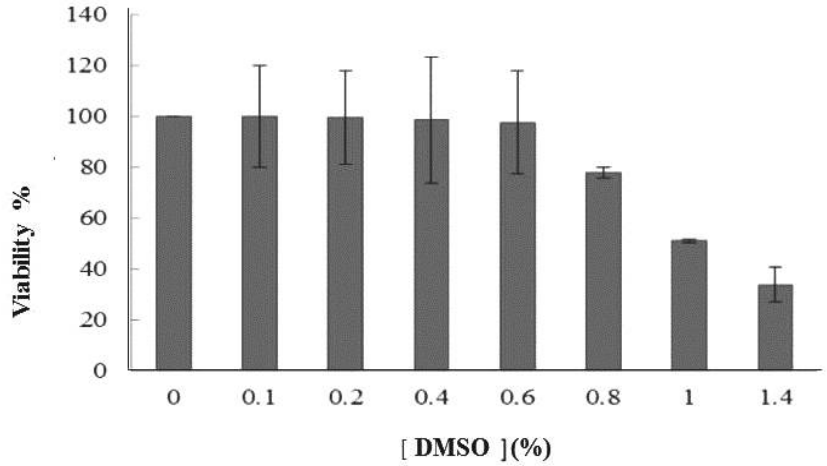
به منظور بررسی اثر سمیت حلال (DMSO) بر روی سلول‌های RAW264.7، تست MTT انجام شد. همان‌طور که در شکل 1 مشاهده می‌شود، نتایج حاکی از عدم سمیت معنادار حلال (DMSO) تا غلظت 0/6 درصد بوده و تنها در مقادیر بالاتر از این غلظت، اختلاف معناداری دیده می‌شود (P<0/01). بدین ترتیب با توجه به نتایج بدست آمده از اثرات سمیت DMSO، غلظت مناسب این ماده جهت استفاده به عنوان حلال $TZD\text{-}OCH_2CH_3$، 0/6% انتخاب شد.

3-2- نتایج بررسی سمیت سلولی مشتق 5-(2 و 4-بیس 4- اتوکسی فنیل آزو -3- هیدروکسی بنزیلیدین) - 2 و 4 تیازولیدینون ($TZD\text{-}OCH_2CH_3$)

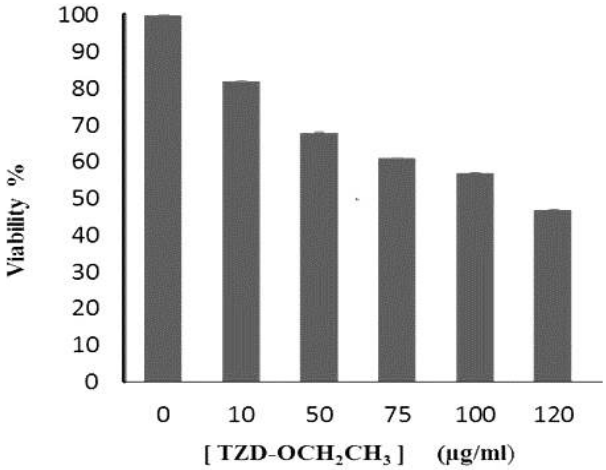
پس از تیمار سلول‌های RAW264.7 با غلظت‌های مختلف $TZD\text{-}OCH_2CH_3$، نتایج MTT اختلاف معناداری را در میزان مهار رشد سلول‌های تیمار شده نشان داد (شکل 2) و ترکیب مورد مطالعه، رشد سلول‌ها را به صورت وابسته به دوز مهار نمود. بر اساس این نمودار، غلظتی از ترکیب که توانایی از بین بردن پنجاه درصد سلول‌ها را دارد (IC_{50}) 115 µg/ml بدست آمد.

3-3- نتایج سنجش NF-κB

پس از تحریک سلول‌ها با LPS، بر اساس نتایج حاصل از تست MTT، سلول‌ها با غلظت‌های 30 و 60 µg/ml از $TZD\text{-}OCH_2CH_3$ به مدت 24 ساعت تیمار شدند، سپس میزان مهار فاکتورالتهابی NF-κB، با استفاده از کیت سنجش NF-κB مورد ارزیابی قرار گرفت. با استفاده از منحنی استاندارد NF-κB، میزان مهار NF-κB با غلظت‌های مختلف ترکیب مورد مطالعه به دست آمد، بطوری که در حضور غلظت‌های 30 و 60 µg/ml از $TZD\text{-}OCH_2CH_3$، غلظت NF-κB به میزان قابل ملاحظه‌ای و تا حدود 65 و86 درصد کاهش یافت . (شکل 3). به عبارتی نتایج نشان داد که با افزایش غلظت ترکیب، میزان مهار فاکتورالتهابی NF-κB نیز افزایش یافت.



شکل 1 درصد سلول‌های زنده Raw264.7 تیمار شده با غلظت‌های مختلف DMSO(p<0.01)

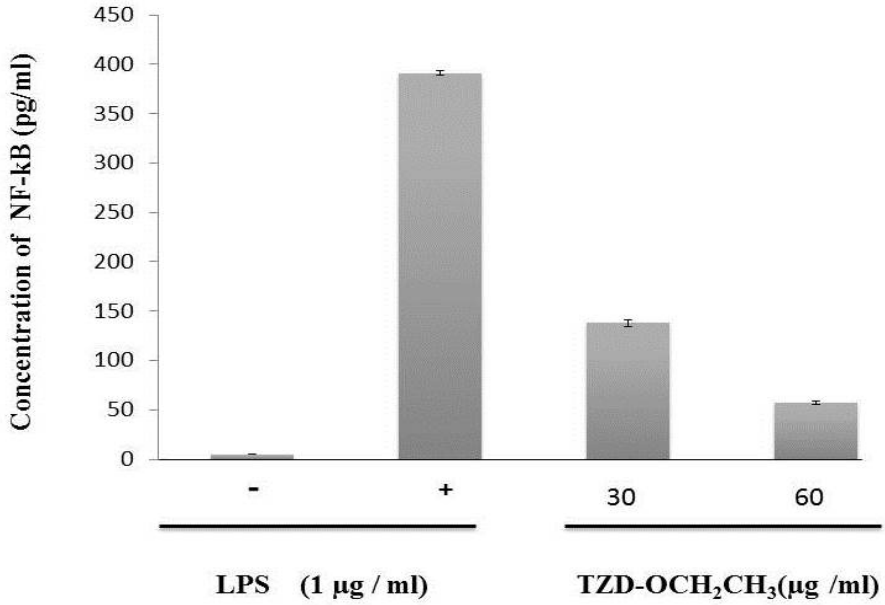


شکل 2 درصد زنده ماندن سلول‌های Raw264.7 تیمار شده با غلظت‌های مختلف $TZD\text{-}OCH_2CH_3$ (0-120) میکروگرم بر میلی‌لیتر

4- بحث

امروزه یکی از روش‌های اصلی درمان سرطان شیمی‌درمانی می‌باشد، ولی با توجه به عوارض جانبی این روش درمانی که از مهمترین آنها کاهش تعداد سلول‌های خونی است، به منظور طراحی ترکیبات کارامدتر در راستای درمان سرطان، تحقیقات بیوشیمیایی گسترده‌ای در سراسر جهان در حال انجام می‌باشد. تیازولیدینون‌ها از ترکیبات سنتزی هستند که به علت خواص ضد سرطانی و ضد التهابی که دارند بسیار حائز اهمیت‌اند. در گذشته مشتقات مختلفی از این ترکیب مورد مطالعه قرار گرفته است [14]. $TZD\text{-}OCH_2CH_3$ مشتق جدیدی از تیازولیدینون می‌باشد که در دانشکده شیمی‌دانشگاه گیلان سنتز شد و خصوصیات بیولوژی آن اثبات گردید [13].

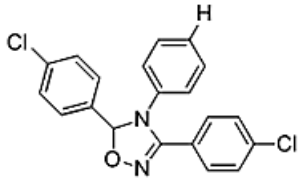
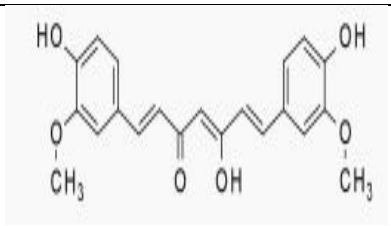
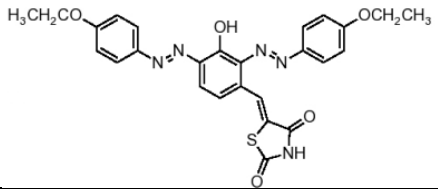
با توجه به توانایی‌های این مشتق جدید، در مطالعه حاضر به منظور بررسی مهار فاکتور التهابی NF-κB در رده سلولی Raw264.7 ، از این ترکیب استفاده شد. فاکتور رونویسی NF-κB، از فاکتورهای بسیار مهمی است که التهاب و سرطان را بهم پیوند می‌دهد [3]؛ در واقع میانNF-κB و سرطان رابطه تنگاتنگی دیده می‌شود. مطالعات روی مدل‌های موشی نشان داد ارتباط معناداری میان فعالیت NF-κB و گسترش و پیشروی تومور وجود دارد [16،15]. با توجه به اهمیت NF-κB در ایجاد التهاب، در مطالعه حاضر به منظور بررسی اثر التهابی از این فاکتور استفاده شد.



شکل 3 سنجش میزان NF-kB تولید شده توسط سلول‌های Raw264.7 در حضور و عدم حضور LPS. اثر غلظت‌های 30 و 60 µg/ml بر میزان مهار NF-kB بعد از 18 ساعت تیمار سلول‌ها با LPS

با توجه به غیرقطبی بودن $TZD\text{-}OCH_2CH_3$، از DMSO با (غلظت 6/ 0درصد) به عنوان حلال استفاده شد. در سایر مطالعات نیز از غلظت‌های کمتر از 1 درصد DMSO استفاده شده است [17،18]. به منظور تعیین میزان سمیت ترکیب مورد مطالعه آزمون MTT انجام شد، غلظت‌های بکار رفته (120- 0) µg/ml از ترکیب $TZD\text{-}OCH_2CH_3$ می‌باشد. نتایج بدست آمده حاکی از آن است که این ترکیب دارای پتانسیل مهار کنندگی مناسب بر روی سلول Raw264.7 می‌باشد؛ به طوری که IC_{50} ترکیب مورد مطالعه 115 µg/ml بدست آمد. در تحقیقات دیگر با موضوعات مشابه این آزمون (MTT) برای اندازه‌گیری میزان بقای سلول، به عنوان یکی از پرکاربردترین روش‌ها می‌باشد [19] در ادامه برای بررسی میزان مهار NF-κB توسط این ترکیب جدید، از کیت مربوط به سنجش NF-κB استفاده شد. میزان مهار این فاکتور التهابی با غلظت‌های مختلف $TZD\text{-}OCH_2CH_3$، در شکل 3، آورده شده است. در این شکل دیده می‌شود که در حضور غلظت‌های 30 و 60 µg/ml از $TZD\text{-}OCH_2CH_3$، غلظت NF-κB به میزان قابل ملاحظه‌ای و تا حدود 65 و86 درصد کاهش یافت. در مطالعه دیگری که در سال 2008 صورت پذیرفت و تأثیر داروی آرسنیک تری اکسید به عنوان مهار کننده NF-κB بررسی گردید، گزارش شد که بعد از تیمار سلول‌های تومور، با دوز 1µM این دارو، از میزان فعالیت فاکتور رونویسی NF-κB به میزان معناداری کاسته شد [20]. همچنین در سال 1392 تأثیر ترکیب سنتزی (3,5-bis(4-chlorophenyl-4,5-dihydro1,2,4-oxadiazole بر روی میزان بیان NF-κB مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج بدست آمده نشان داد که در سلول‌های K562 تیمار شده توسط این ترکیب، مقدار NF-κB نسبت به نمونه کنترل به میزان 50% کاهش یافت [21]. در پژوهش دیگری که در سال 1385 صورت پذیرفت اثر کورکومین به عنوان یک بازدارنده قوی NF-κB مورد بررسی قرار گرفت. نتایج بدست آمده از این مطالعه نشان داد که در محیط کشت، کورکومین به طور معناداری باعث کاهش NF-κB می‌شود [22]. در جدول 1 غلظت مؤثر این ترکیب دارویی در مهار فاکتور التهابی NF-κB، آورده شده است.

جدول 1 ساختاروغلظت مؤثر 3 مهارکننده فاکتور التهابی NF-κB

نام آیوپاک ترکیب	ساختار ترکیب سنتز شده	غلظت مؤثر	درصد مهار
3,5-bis (4-chlorophenyl)-4,5-dihydro-1,2,4-oxadiazole		7 µg/ml	50%
(1E,6E)-1,7-bis-(4-hidroxy -3-methoxyphenyl)-1,6-heptadiene-3,5-dion		8 µg/ml	60%
5(2,4-bis4-ethoxy phenyl azo-3-hydroxy benzylidene)-2,4 thiazolidinone		µg/ml 30 , 60	65% , 86%

در این مطالعه با توجه به نقشNF-κB به عنوان عامل پیش برنده سرطان، و با توجه به کاهش چشمگیر این فاکتور التهابی توسط $TZD\text{-}OCH_2CH_3$، بر طبق نتایج بدست آمده از آزمون MTT و همچنین درصد مهار NF-κB، می‌توان نتیجه گرفت که $TZD\text{-}OCH_2CH_3$ ترکیبی است که قدرت بالایی در مهار فاکتور التهابی NF-κB دارد و می‌تواند به عنوان یک عامل شیمی‌درمانی امیدوار کننده در درمان سرطان در نظر گرفته شود.

5- منابع

[1] Heidland, A., Klassen, A., Rutkowski, P. and Bahner, U. (2006) The contribution of Rudolf Virchow to the concept of inflammation: what is still of importance? *Journal of nephrology*. **19**, 102-109.

[2] Garg, A. and Aggarwal, B. B. (2002) Nuclear transcription factor-kappaB as a target for cancer drug development. *Leukemia*. **16**, 1053-1068.

[3] Pikarsky, E., Porat, R. M., Stein, I., Abramovitch, R., Amit, S., Kasem, S., Gutkovich-Pyest, E., Urieli-Shoval, S., Galun, E. and Ben-Neriah, Y. (2004) NF-kB functions as a tumour promoter in inflammation-associated cancer. *Nature*. **431**, 461-466.

[4] Gilmore, T. D. and Herscovitch, M. (2006) Inhibitors of NF-kB signaling: 785 and counting. *Oncogene*. **25**, 6887-6899.

[5] Lessard, L., Begin, L. R., Gleave, M. E., Mes-Masson, A. M. and Saad, F. (2005) Nuclear localisation of nuclear factor-kappaB transcription factors in prostate cancer: an immunohistochemical study. *British journal of cancer*.**93**, 1019-1023.

[6] Tang, X., Liu, D., Shishodia, S., Ozburn, N., Behrens, C., Lee, J. J., Hong, W. K., Aggarwal, B. B. and Wistuba, I. I. (2006) Nuclear factor-kappaB (NF-kappaB) is frequently expressed in lung and preneoplastic lesions. *Cancer*. **107**. 2637-2646.

[7] Lerebours, F., Vacher, S., Andrieu, C., Espie, M., Marty, M., Lidereau, R. and Bieche, I. (2008) NF-kappa B genes have a major role in inflammatory breast cancer. *BMC cancer*.**8**, 1471-1482

[8] Garg, A. K., Hortobagyi, G. N., Aggarwal, B. B., Sahin, A. A. and Buchholz, T. A. (2003) Nuclear factor-kappa B as a predictor of treatment response in breast cancer. *Current opinion in oncology*. **15**, 405-411.

[9] Biswas, D. K. and Iglehart, J. D. (2006) Linkage between EGFR family receptors and nuclear factor kappaB (NF-kappaB) signaling in breast cancer. *Journal of cellular physiology*. **209**, 645-652.

[10] Scheidereit, C. (2006) IKB kinase complexes: gateways to NF-kB activation and transcription. *Oncogene*. **25**, 6685-6705.

[11] Kopp, E. and Ghosh, S. (1994) Inhibition of NF-kappa B by sodium salicylate and aspirin. *Science*.**265**, 956-959.

[12] Jain, V. S., Vora, D. K. and Ramaa, C. S. (2013) Thiazolidine-2, 4-diones: Progress towards multifarious applications. *Bioorganic & medicinal chemistry*. **21**, 1599-1620.

[13] Mohammadi, A., Ghafoori, H., Ghalami-Choobar, B. and Rohinejad, R.(2014)Synthesis, solvatochromic properties and biological evaluation of some novel azo-hydrazone tautomeric dyes. *Journal of Molecular Liquids*. **198** , 44-50.

[14] Adki, N., Ravi, G., Naseem, S. K. S. and Rao, N. (2012) Synthesis of new biologically active compounds containing linked thiazolyl-thiazolidinone heterocycles. *Organic Communications*. **5** , 160-170.

[15] Karin, M. and Greten, F. R. (2005) NF-KB: linking inflammation and immunity to cancer development and progression. *Nature Reviews Immunology*. **5**, 749-759.

[16] Luo, J.-L., Kamata, H. and Karin, M. (2005) IKK/NF-KB signaling: balancing life and death a new approach to cancer therapy. *Journal of Clinical Investigation*.**115**, 2625-2632.

[17] Chapelsky, S., Batty, S., Frost, M. and Mogridge, J. (2008) Inhibition of anthrax lethal toxin-induced cytolysis of RAW264. 7 cells by celastrol. *PLoS One*. **3**, e1421.

[18] Singla, R. K., Paul, P., Nayak, P. G. and Bhat, V. G. (2012) Investigation of anthramycin analogs induced cell death in MCF-7 breast cancer cells. *Indo Global J. Pharm. Sci*. **2** 383-389.

[19] Ravichandiran, V. and Deepa, N. (2012) In-vitro anticancer activity of Solidago canadensis L. *Int. J. Res. Pharm. Sci*. **3**, 158-162.

[20] Tun-Kyi, A., Qin, J. Z., Oberholzer, P. A., Navarini, A. A., Hassel, J. C., Dummer, R. et all (2008) Arsenic trioxide down-regulates antiapoptotic genes and induces cell death in mycosis fungoides tumors in a mouse model. *Annals of oncology*. **19**, 1488-1494.

[21] شقایق نوروزی، مهناز نوروزی، سعید آیریان، محمد نبیونی، محسن امینی و مونا سلیمی (1392) بررسی مکانیسم سمیت سلولی دو مشتق مهار کننده آنزیم سیکلواکسیژناز 2 در سلول‌های سرطان خون، انجمن فیزیولوژی و فارماکولوژی **ایران 18** (1) ص.ص. 16-26.

[22] مهسا محمد آملی، روح‌اله موسوی‌زاده، پروین امینی و باقر لاریجانی (1385) استفاده از مهار کننده فاکتور نسخه‌برداری NF-κB در جزایر پانکراس، مجله دیابت و لیپید ایران، دوره 6 (شماره 2)، ص.ص. 125-133.