

А. Н. Пуськов¹, А. А. Лихова², М. А. Мунько¹

Противоопухолевые и антималярийные эффекты полиметоксилированных флавонов нобилетина и тангеретина

¹Государственное учреждение «Институт фармакологии и токсикологии Национальной академии медицинских наук Украины», г. Киев

²Институт экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии им. Р. Е. Кавецкого Национальной академии наук Украины, г. Киев

Ключевые слова: нобилетин, тангеретин, флавоны, рак, метастазирование, ангиогенез

Полиметоксилированные флавоны (PMF) – это уникальная, содержащая преимущественно в кожуре цитрусовых, группа флавоноидов, вторичных метаболитов растений. Благодаря широкому спектру фармакологических эффектов, PMF в последнее время привлекли повышенное внимание многих исследователей [1].

Результаты изучения PMF *in vitro* и *in vivo* показали, что многие из них обладают противовоспалительным, антиатеросклеротическим, противоопухолевым и антималярийным действием [2]. PMF функционируют, регулируя пролиферацию, дифференцировку, репарацию, метаболизм и гибель клеток, воздействуя на транскрипцию генов, функцию белков и активность ферментов [3].

На сегодняшний день из цитрусовых выделено и идентифицировано более 20 PMF, таких как нобилетин (5,6,7,8,3',4'-гексаметоксифлавоны), тангеретин (5,6,7,8,4'-пентаметоксифлавоны) и др. [4].

Нобилетин и тангеретин – PMF, которые проявляют противоопухолевую и антималярийную активность в отношении различных типов злокачественных клеток. Следует

отметить, что нобилетин является наиболее распространенным представителем группы PMF [5], именно поэтому, в первую очередь, мы бы хотели сосредоточить ваше внимание на его терапевтических эффектах.

Противоопухолевые и антималярийные эффекты нобилетина

В настоящее время показаны противовоспалительные [6–8], антиоксидантные [9–11], противомикробные [12, 13] и противовирусные [14, 15] свойства нобилетина.

Данные исследований, которые будут приведены ниже, демонстрируют, что нобилетин подавляет жизнеспособность злокачественных клеток простаты [16–18], толстого кишечника [4, 19, 20], молочной железы [21–23] и др., а также проявляет антималярийную активность в отношении опухолевых клеток разного гистогенеза.

Рак предстательной железы

Результаты исследований J. Chen et al. показывают, что нобилетин *in vitro* снижает жизнеспособность гормон-резистентных клеток рака предстательной железы (РПЖ) человека линий PC-3 и DU-145. Было обнаружено, что нобилетин в обеих клеточных линиях ингибировал экспрессию NF-κB и фосфорилирование Akt, которые, как известно, являются

одними из основных регуляторов выживания и пролиферации клеток. Кроме того, снижение уровня NF- κ B приводило к подавлению экспрессии транскрипционного фактора HIF-1 α в клетках PC-3 и DU-145. Снижение экспрессии этого фактора в клетках PC-3 было более выраженным, чем в клетках DU-145, и сопровождалось существенным понижением продукции VEGF [16]. Полученные результаты свидетельствуют о том, что нобилетин оказывает антипролиферативный, антиангиогенный и, следовательно, антиметастатический эффекты на клетки РПЖ.

A. Devenci Ozkan et al. *in vitro* изучили цитотоксическую активность нобилетина на модели гормонзависимых и гормон-резистентных клеток РПЖ человека. Результаты исследований показали, что гормонзависимые клетки РПЖ линии LNCaP более чувствительны к влиянию нобилетина, чем гормон-резистентные клетки линии PC-3. Было также показано, что нобилетин ингибирует TLR4- и TLR9-зависимые пути передачи сигналов в клетках РПЖ, а это приводит к снижению метаболической активности клеток (подавление синтеза мРНК и белка) и активирует в них продукцию IFN- α и IFN- β [17].

Анализ исследования G. Guney Eskiler et al. комплексного действия *in vitro* нобилетина и сорафениба на клетки PC-3 свидетельствует о синергическом цитотоксическом эффекте по сравнению с их влиянием в моноклеточном режиме [18]. Обработка клеток PC-3 комбинацией нобилетина и сорафениба приводила к повышению уровня апоптических клеток и остановке клеточного цикла в фазе G₀/G₁ за счет повышения экспрессии проапоптического фактора Вах и белков-регуляторов клеточного цикла Rb1 и CDKN1A. Следует отметить, что ком-

плексное использование нобилетина и сорафениба позволило снизить токсичность сорафениба в отношении нормальных клеток эндотелия человека HUVEC *in vitro* [18].

Рак молочной железы

Исследование J. Liu et al. показывает, что нобилетин *in vitro* подавляет жизнеспособность и пролиферацию клеток рака молочной железы (РМЖ) человека линии MCF-7. Изучение механизмов противоопухолевого действия нобилетина обнаружило, что в клетках MCF-7 он повышает активность митогена p38, снижает транслокацию транскрипционных факторов p53 и Nrf2 в ядро клетки, а это приводит к подавлению метаболической и пролиферативной активности этих клеток. Показано, что культивирование клеток MCF-7 в присутствии нобилетина приводило к повышению экспрессии проапоптических факторов Вах и p53 и снижению экспрессии антиапоптического белка Bcl-2. Кроме того, нобилетин подавляет экспрессию матриксной металлопротеиназы-2 (MMP2) и матриксной металлопротеиназы-9 (MMP9), что приводит к снижению миграционной активности этих клеток. Данное исследование демонстрирует, что нобилетин является многообещающим кандидатом в противоопухолевые препараты для лечения РМЖ [19].

N. Sp et al. было обнаружено, что нобилетин обладает также антиангиогенным действием при РМЖ. Обработка ER⁺ клеток РМЖ человека линий MCF-7 и T47D нобилетином приводила к подавлению экспрессии маркеров ангиогенеза (Src – коактиватор стероидного рецептора, FAK – киназа фокальной адгезии, STAT3 – транскрипционный фактор, PXN – паксиллин). В частности, нобилетин ингибирует активность связывания

STAT3/ДНК и активацию pXN, что приводит к снижению продукции VEGF и MMPs в клетках MCF-7 и T47D и, следовательно, подавлению их ангиогенной и метастатической активности. При этом модуляция сигнального пути Src/FAK/STAT3 играет ключевую роль в данном процессе [20].

В работе J. G. Wang et al. выявлено, что нобилетин дозозависимо подавляет пролиферацию клеток РМЖ человека линий MCF-7 и BT-549, а также индуцирует апоптоз и пироптоз в этих клетках путем влияния на сигнальный путь miR-200b/JAZF1/NF-κB [21]. МикроРНК – малые, некодирующие белок молекулы РНК, которые играют важную роль в процессах развития злокачественных новообразований. Сегодня известно, что микроРНК-200b – одна из ключевых молекул при развитии РМЖ. МикроРНК-200b принимает участие в регуляции эпителиально-мезенхимального перехода, инвазии, миграции и метастазирования. В клетках MCF-7 и BT-549 после их обработки нобилетином наблюдали повышение экспрессии микроРНК-200b, что сопровождалось снижением пролиферации клеток [21]. Таким образом, в данном случае микроРНК-200b функционирует как онкосупрессор.

Колоректальный рак

Эксперименты N. Li et al. показали, что нобилетин усиливает ингибирующее действие оксалиплатина на пролиферацию клеток колоректального рака человека линий HT-29 и SW480, подавляя сигнальный путь PI3K/Akt/mTOR [22]. Кроме того, нобилетин проявляет многообещающий химио-профилактический эффект в отношении колоректального рака, особенно для тех типов, которые индуцируются канцерогенами или связаны с такими заболеваниями, как колит [23].

Исследование X. Wu et al. продемонстрировало синергическое ингибирующее влияние на клетки колоректального рака HT-29 комбинации 4'-деметилнобилетина и аторвастатина. Данный эффект был связан с индукцией остановки клеточного цикла на стадии G₀/G₁ и активацией апоптоза в этих клетках [4].

Другие локализации

Нобилетин (а также в сочетании с цисплатином) подавляет жизнеспособность двух линий анапластического рака щитовидной железы человека T235 и T238, хотя клеточный цикл не был остановлен. В концентрации 100 мкмоль/л нобилетин снижает жизнеспособность указанных клеток так же эффективно, как цисплатин, но при этом менее токсичен для нормальных клеток щитовидной железы [24].

Значительное антипролиферативное действие нобилетин оказывает на клетки карциномы поджелудочной железы человека линии MIAPaCa-2. Он индуцирует аутофагию, задержку злокачественных клеток в G₀/G₁ фазе клеточного цикла и подавление передачи сигналов через ядерный сигнальный белок NF-κB [25].

Нобилетин также оказывает антилейкемический эффект в клетках хронического миелоидного лейкоза K562. Кроме того, он в сочетании с иматинибом может синергически снижать жизнеспособность клеток K562. Нобилетин способствует дифференцировке клеток K562 в мегакариоциты посредством зависимой от сигнального пути MAPK/ERK экспрессии фактора транскрипции EGR1 [26].

Данный флавоноид обладает способностью значительно ингибировать пролиферацию и вызывать апоптоз клеток назофарингеальной карциномы человека линии C666-1. Сигнальный путь PARP2/SIRT1/AMPK может

быть потенциальным молекулярным механизмом, лежащим в основе апоптоза, индуцированного нобилетином на этой модели [27].

Нобилетин усиливает химиочувствительность к адриамицину за счет модуляции сигнального пути Akt/GSK3 β / β -катенин/MYC/MRP1 в клетках немелкоклеточного рака легкого линии A549/ADR, устойчивой к адриамицину [28].

Также нобилетин снижает жизнеспособность клеток рака яичника человека линий OVCAR-3 и CP-70. При этом он не влияет на жизнеспособность нормальных эпителиальных клеток яичника при концентрации менее 40 мкмоль/л. Противоопухолевую активность нобилетина наблюдали и *in vivo* на моделях рака яичника человека у бестимусных мышей. Изучение механизмов отмеченных эффектов позволило выяснить, что противоопухолевое действие нобилетина обусловлено его способностью ингибировать ангиогенез путем подавления продукции и секреции клетками рака яичника ключевых медиаторов ангиогенеза: Akt, HIF-1 α , NF- κ B и VEGF [29].

Влияние на метастазирование

Анализ антиметастатического потенциала нобилетина показал, что он подавляет миграцию клеток карциномы поджелудочной железы человека линии MIAPaCa-2 [26]. Кроме того, нобилетин угнетает передачу сигналов через пути ERK и PI3K/Akt, что приводит к ингибции метастатической активности клеток рака печени человека линии HepG2, обработанных фактором роста гепатоцитов [30]. В клетках остеосаркомы человека флавоноид вызывал снижение экспрессии и функциональной активности сигнальных молекул NF- κ B и CREB, что приводило к снижению

метастазирования злокачественных клеток *in vitro* [31].

Нобилетин значительно подавляет способность к миграции/инвазии клеток назофарингеальной карциномы человека линий HONE-1 и NPC-BM. Он ингибирует в них фосфорилирование ERK1/2, а также снижает активность и уровень белка MMP2 [32]. Итоги изучения эффектов нобилетина *in vivo* на модели ксенотрансплантата назофарингеальной карциномы коррелировали с результатами, полученными на культуре клеток, введение нобилетина эффективно подавляло образование опухоли и ее метастазирование [32].

Наконец, нобилетин демонстрирует антиметастатическую активность в отношении клеток фибросаркомы человека линии HT-1080 за счет подавления экспрессии MMPs [33].

Противоопухолевые и антиметастатические эффекты тангеретина

Подобно нобилетину, тангеретин обладает множеством фармакологических свойств, включая антиоксидантные [34], противовоспалительные [34, 35] и антинеопластические [35]. Сегодня известно, что он проявляет противоопухолевую и антиметастатическую активность в отношении различных типов злокачественных клеток.

Результаты оценки *in vitro* и *in vivo* эффективности тангеретина свидетельствуют о том, что он снижает жизнеспособность и пролиферативную активность злокачественных клеток молочной железы, простаты, легкого, яичника и др.

Рак молочной железы

Было показано *in vitro*, что обработка клеток РМЖ человека линий MDA-MB-435 и MCF-7 тангеретином приводит к подавлению их пролифе-

рации до 80 % [36]. При исследовании механизмов цитотоксической активности тангеретина обнаружено, что клетки РМЖ человека MCF-7 и MDA-MB-468 метаболизируют тангеретин CYP1A1/CYP1B1-опосредованным путем в 4'-гидрокситангеретин [37]. Этот метаболит в клетках MCF-7 и MDA-MB-468 активирует комплекс p53/p21, что приводит к остановке клеточного цикла в фазе G₁/S. Кроме того, белок семейства цитохромов P450 CYP1A1, который экспрессируется в опухолевых клетках разного гистогенеза, снижает пролиферацию и выживаемость клеток MCF-7 и MDA-MB-468 посредством подавления передачи сигналов АМФ-активируемой протеинкиназы, регулирующей энергетические процессы в клетках [37].

Культивирование трижды негативных клеток РМЖ человека линии MDA-MB-231 в присутствии тангеретина *in vitro* сопровождалось снижением уровня общего и ядерного фосфорилированного Stat3, а также транскрипционного фактора Sox2. Таким образом, тангеретин подавляет Stat3/Sox2 сигнальный путь, что приводит к активации апоптоза в клетках MDA-MB-231 [38].

Антиметастатический и антиинвазивный эффекты тангеретина *in vitro* были показаны на модели клеток РМЖ человека линии MCF-7/6. Обработка этих клеток тангеретином приводила к повышению экспрессии проапоптотического белка p53, снижению экспрессии маркера пролиферации Ki-67 [39], матриксных металлопротеиназ MMP2 и MMP9, ассоциированных с процессами инвазии, ангиогенеза и метастазирования [40], а также подавлению продукции VEGF [41]. Еще один механизм антиметастатического действия тангеретина реализуется CYP1A1-опосредованным путем, поскольку этот фермент

участвует в передаче сигналов β-катенина [42]. Известно, что β-катенин участвует в механизмах метастазирования опухолей, усиливая способность клеток к миграции и инвазии. В частности, он регулирует экспрессию VEGF [43] и генов матриксных металлопротеиназ (MMP2, MMP7, MMP9), продукты которых играют важную роль в ремоделировании тканей, ангиогенезе, пролиферации, апоптозе, миграции и дифференцировке клеток [44].

Эффективность тангеретина *in vivo* была продемонстрирована в серии исследований на модели диметилбенз(а)антрацен(DMBA)-индуцированного РМЖ у крыс. Например, было обнаружено, что пероральное введение тангеретина крысам приводило к подавлению экспрессии маркеров клеточной пролиферации PCNA и Ki-67, а также продукции циклооксигеназы 2 (COX-2) в клетках РМЖ [45]. Известно, что COX-2 принимает участие в процессе синтеза простагландина, регуляции воспаления и обеспечивает миграционную и инвазивную активность опухолевых клеток [46]. Таким образом, снижение экспрессии COX-2 на фоне подавления экспрессии PCNA и Ki-67 свидетельствует об антипролиферативном и антиметастатическом действии тангеретина на клетки DMBA-индуцированного РМЖ. В этом исследовании также было показано, что тангеретин подавляет метастатическую активность клеток РМЖ путем ингибирования продукции MMP2, MMP9 и VEGF [45].

Результаты исследований H. F. Gul et al. свидетельствуют о том, что тангеретин снижает уровень экспрессии циклина D1 в ткани молочной железы крыс, которым вводили DMBA [47]. Циклин D1 – белок, регулирующий фазовый переход G₁/S в клеточном цикле. Снижение его уровня в ткани

указывает на задержку опухолевых клеток в G₁/S фазе и, соответственно, снижении их пролиферативной активности. Следует отметить, что подобный механизм действия тангеретина наблюдали также *in vitro* [37].

Кроме того, *in vivo* было показано, что тангеретин проявляет противоопухолевую активность путем подавления синтеза эстрогена и прогестерона, снижения уровня оксида азота и степени карбонилирования белков в тканях крыс с DMBA-индуцированным РМЖ [45]. Вместе с тем, в сыворотке периферической крови животных, которые получали тангеретин, отмечали снижение уровня пролактина [45] и нормализацию показателей биохимического анализа крови, в частности: ALT, AST, щелочных и кислых фосфатаз, γ -глутамилтрансферазы, лактатдегидрогеназы [48, 49].

Рак предстательной железы

W. B. Zhu et al. *in vitro* оценили влияние тангеретина на клетки РПЖ человека линий LNCaP (андрогенчувствительные) и PC-3 (нечувствительные к андрогенам). Тангеретин оказывал зависимое от дозы и времени инкубирования цитотоксическое действие на клетки РПЖ, при этом гормон-чувствительные и менее злокачественные клетки линии LNCaP оказались более чувствительны к действию флавона [50]. В результате исследования механизмов цитотоксического эффекта тангеретина на клетки PC-3 обнаружено, что он активирует программу апоптоза, о чем свидетельствуют повышение экспрессии проапоптотических маркеров (Вах, каспаза-3 и каспаза-9) и снижение экспрессии антиапоптотического белка Bcl-2. Также было показано, что тангеретин подавляет миграционную активность, автономность роста и

туморогенность *in vitro* гормон-резистентных клеток РПЖ [50, 51].

Обработка клеток РПЖ тангеретином приводила к существенному изменению экспрессии белков, ассоциированных с программой эпителиально-мезенхимального перехода – одним из ключевых индукторов злокачественного фенотипа клетки и прогрессии опухолевого процесса, включая основные этапы метастатического каскада: инвазию, миграцию и формирование новых опухолевых очагов [52]. Полученные результаты свидетельствуют о снижении экспрессии генов, кодирующих мезенхимальные белки (виментин, CD44, N-кадгерин) и повышении экспрессии эпителиальных белков (Е-кадгерин и цитokerатин-19) в клетках PC-3 [50].

Кроме того, тангеретин вызывает снижение уровня фосфорилированных форм Akt и mTOR в клетках PC-3 [50]. Сегодня известно, что серин/треониновая протеинкиназа Akt является ключевым регулятором апоптоза, тогда как протеинкиназа mTOR контролирует клеточный цикл и влияет на пролиферацию [51, 53], поэтому нарушение функционирования PI3K/Akt/mTOR сигнального пути в результате действия тангеретина коррелирует с представленными выше данными.

Следовательно, тангеретин активирует программу мезенхимально-эпителиального перехода в гормон-резистентных клетках РПЖ линии PC-3, что может свидетельствовать о снижении злокачественности этих клеток, и мишенью для противоопухолевой активности флавона является PI3K/Akt/mTOR сигнальный путь.

Рак легкого

Исследования X. Liu et al. показали, что тангеретин оказывает значительное цитотоксическое действие на немелко-

клеточный рак легкого человека линий H1299 и H1975. В этих клетках тангеретин вызывает повышение экспрессии проапоптотических белков Вах, каспазы-3, каспазы-8 и каспазы-9, а также подавление экспрессии антиапоптотических белков Bcl-2, Bcl-xL, xIAP, c-IAP1, c-IAP2. Кроме того, он стимулирует экспрессию рецепторов смерти DR4 и DR5 и подавляет экспрессию рецепторов-ловушек DcR1 и DcR2 на поверхности клеток рака легкого [54]. Также тангеретин провоцировал оксидативный стресс в клетках H1299 и H1975 путем повышения продукции ROS. Такие изменения в клетках приводили к активации протеинкиназ JNK, ERK и p38MAPKs, которые регулируют несколько важных клеточных функций, включая пролиферацию, дифференцировку, выживание и апоптоз [54].

К. Н. Chen et al. изучали влияние тангеретина на уровни экспрессии COX-2 в клетках рака легкого человека линий H1299 и A549. Было показано, что флавоноид ингибирует IL-1 β -индуцированную продукцию COX-2 в клетках A549 и уменьшает базальный уровень этого фермента в клетках H1299, подавляя пролиферативную активность. В клетках A549 IL-1 β активировал протеинкиназы ERK, p38MAPK, JNK и Akt, но обработка клеток тангеретином приводила к ингибированию фосфорилирования p38MAPK, JNK и Akt, но не ERK, и последующей активации транскрипционного фактора NF- κ B, что вызывало снижение экспрессии COX-2 [55].

Рак яичника

Оценить противоопухолевый эффект тангеретина *in vitro* на двух линиях рака яичника человека позволило исследование, проведенное Z. He et al. Полученные результаты свидетельствуют о том, что тангеретин снижает

жизнеспособность клеток рака яичника OVCAR-3 и A2780/CP70. Кроме того, было обнаружено, что обработка этих клеток тангеретином снижает ими продукцию VEGF [56].

Интересные данные об активности тангеретина в отношении рака яичника были получены E. S. A. Arafa et al. Исследование показало, что предварительная обработка тангеретином клеток рака яичника человека, устойчивых к цисплатину линий A2780/CP70 и 2008/C13, усиливала антипролиферативное действие цисплатина. В результате комплексного влияния на эти клетки цитостатика и флавоноид наблюдали остановку клеточного цикла в G₂/M фазе и активацию апоптоза путем ингибирования активности PI3K. Кроме того, обработка клеток A2780/CP70 и 2008/C13 тангеретином/цисплатином приводила к снижению уровня фосфо-Akt, NF- κ B, фосфо-GSK3 β и фосфо-BAD, что запускало программу апоптоза. Следует отметить, что такие синергические эффекты позволяют не только повысить эффективность цисплатина, но и снизить его дозу и, соответственно, токсичность [57, 58].

Другие локализации

Данные J. J. Lin et al. продемонстрировали, что тангеретин индуцирует апоптоз в клетках рака мочевого пузыря человека линии BFTC-905, и подтвердили, что митохондриальная дисфункция связана с апоптотическим ответом [59].

Эксперименты Y. Dong et al. показали, что тангеретин подавляет жизнеспособность и активирует апоптоз клеток рака желудка человека линии AGS, в основном, через p53-зависимую митохондриальную дисфункцию и внешний путь, опосредованный Fas/FasL [60].

Исследования, проведенные J. Zheng et al., позволили выяснить, что тангеретин подавляет пролиферацию клеток гепатоцеллюлярной карциномы человека линии HepG2, блокируя клетки в G₂/M фазе клеточного цикла. Также, он уменьшал миграцию злокачественных клеток и снижал экспрессию белка-регулятора аутофагии p62 в клетках HepG2. Вместе с тем, он индуцировал JNK1-опосредованное фосфорилирование Bcl-2 и, как следствие, разрушение комплекса Bcl-2/BECLIN1, который подавляет гибель клеток, ассоциированную с аутофагией. Таким образом, тангеретин ингибирует пролиферацию и миграцию клеток HepG2 посредством аутофагии через сигнальный путь JNK/Bcl-2/BECLIN1 [61].

Выводы

Нобилетин и тангеретин обладают значительным противоопухолевым и антиметастатическим действием в отношении опухолей различных локализаций. Указанные флавоны показывают большой потенциал в комбинированной терапии, повышая

противоопухолевую активность цитостатических средств с разными механизмами действия.

Нобилетин и тангеретин снижают жизнеспособность и пролиферативную активность злокачественных клеток, модулируя сигнальные пути PI3K/Akt/mTOR, NF-κB, p38MAPK, Stat3.

Указанные флавоны активируют апоптоз в опухолевых клетках путем повышения экспрессии проапоптотических факторов (Bax, p53, каспазы-3, каспазы-9) и снижения экспрессии антиапоптотических белков (Bcl-2, Bcl-xL, xIAP и др.). Кроме того, нобилетин может активировать апоптоз через митохондриальную дисфункцию.

Нобилетин и тангеретин вызывают гибель аутофагических злокачественных клеток и снижают их инвазию, миграцию и ангиогенез, подавляя продукцию матриксных металлопротеиназ (MMP2, MMP7, MMP9) и VEGF.

Нобилетин и тангеретин могут стать основой разработки новых современных антинеопластических препаратов, скорее всего, для лечения рака молочной железы и рака простаты.

1. Disease chemopreventive effects and molecular mechanisms of hydroxylated polymethoxyflavones. C. S. Lai, J. C. Wu, C. T. Ho, M. H. Pan. *Biofactors*. 2015. V. 41, № 5. P. 301–313.
2. Chemistry and health effects of polymethoxyflavones and hydroxylated polymethoxyflavones. S. Li et al. *J Funct Foods*. 2009. V. 1, № 1. P. 2–12.
3. Anticancer Activities of Citrus Peel Polymethoxyflavones Related to Angiogenesis and Others. L. Wang et al. *Biomed Res Int*. 2014. V. 2014. P. 453972.
4. A metabolite of nobiletin, 4'-demethylnobiletin and atorvastatin synergistically inhibits human colon cancer cell growth by inducing G0/G1 cell cycle arrest and apoptosis. X. Wu et al. *Food Funct*. 2018. V. 9, № 1. P. 87–95.
5. Chemopreventive effects of nobiletin and its colonic metabolites on colon carcinogenesis. X. Wu et al. *Mol Nutr Food Res*. 2015. V. 59, № 12. P. 2383–2394.
6. Nobiletin suppresses high-glucose-induced inflammation and ECM accumulation in human mesangial cells through STAT3/NF-κB pathway. Z. Liu et al. *J Cell Biochem*. 2019. V. 120, № 3. P. 3467–3473.
7. Nobiletin Protects against Systemic Inflammation-Stimulated Memory Impairment via MAPK and NF-κB Signaling Pathways. G. Qi et al. *J Agric Food Chem*. 2019. V. 67, № 18. P. 5122–5134.
8. Nobiletin Inhibits IL-1β-Induced Inflammation in Chondrocytes via Suppression of NF-κB Signaling and Attenuates Osteoarthritis in Mice. Z. Lin et al. *Front Pharmacol*. 2019. V. 10. P. 570.
9. Nobiletin suppresses oxidative stress and apoptosis in H9c2 cardiomyocytes following hypoxia/reoxygenation injury. F. Liu, H. Zhang, Y. Li, X. Lu. *Eur J Pharmacol*. 2019. V. 854. P. 48–53.
10. Protective effect of nobiletin on isolated human islets survival and function against hypoxia and oxidative stress-induced apoptosis. S. Keshkar et al. *Sci Rep*. 2019. V. 9, № 1. P. 1–13.
11. Nobiletin enhances the survival of random pattern skin flaps: Involvement of enhancing angiogenesis and inhibiting oxidative stress. R. Jiang et al. *Int Immunopharmacol*. 2020. V. 78. P. 106010.

12. Antimicrobial activity of nobiletin and tangeretin against *Pseudomonas*. X. Yao et al. *Food Chem.* 2012. V. 132, № 4. P. 1883–1890.
13. Flavonoids as Novel Efflux Pump Inhibitors and Antimicrobials Against Both Environmental and Pathogenic Intracellular Mycobacterial Species. J. Solnier, L. Martin, S. Bhakta, F. Bucar. *Molecules.* 2020. V. 25, № 3. P. 734.
14. Nobiletin, a novel inhibitor, inhibits HBsAg production and hepatitis B virus replication. Z. Hu et al. *Biochem Biophys Res Comm.* 2020. V. 523, № 3. P. 802–808.
15. Antiviral activity of nobiletin against chikungunya virus *in vitro*. S. C. Lin et al. *Antivir Ther.* 2017. V. 22. P. 689–697.
16. Nobiletin suppresses cell viability through AKT pathways in PC-3 and DU-145 prostate cancer cells. J. Chen et al. *BMC Pharmacol Toxicol.* 2014. V. 15, № 1. P. 59.
17. Anti-inflammatory effects of nobiletin on TLR4/TRIF/IRF3 and TLR9/IRF7 signaling pathways in prostate cancer cells. A. Deveci Ozkan et al. *Immunopharmacol Immunotoxicol.* 2020. V. 42, № 2. P. 93–100.
18. Synergistic Effects of Nobiletin and Sorafenib Combination on Metastatic Prostate Cancer Cells. G. Guney Eskiler, A. Deveci Ozkan, C. Bilir, S. Kaleli. *Nutr Cancer.* 2019. V. 71, № 8. P. 1299–1312.
19. Nobiletin inhibits breast cancer via p38 mitogen-activated protein kinase, nuclear transcription factor- κ B, and nuclear factor erythroid 2-related factor 2 pathways in MCF-7 cells. J. Liu et al. *Food Nutr Res.* 2018. V. 62. P. 1323.
20. Nobiletin Inhibits Angiogenesis by Regulating Src/FAK/STAT3-Mediated Signaling through PXN in ER⁺ Breast Cancer Cells. N. Sp et al. *Int J Mol Sci.* 2017. V. 18, № 5. P. 935.
21. Nobiletin promotes the pyroptosis of breast cancer via regulation of miR-200b/JAZF1 axis. J. G. Wang, W. J. Jian, Y. Li, J. Zhang. *Kaohsiung J Med Sci.* 2021. V. 37, № 7. P. 572–582.
22. Nobiletin sensitizes colorectal cancer cells to oxaliplatin by PI3K/Akt/mTOR pathway. N. Li et al. *Front Biosci.* 2019. V. 24. P. 303–312.
23. Nobiletin and Derivatives: Functional Compounds from Citrus Fruit Peel for Colon Cancer Chemoprevention. J. X. H. Goh et al. *Cancers.* 2019. V. 11, № 6. P. 867.
24. Nobiletin Alone or in Combination with Cisplatin Decreases the Viability of Anaplastic Thyroid Cancer Cell Lines. D. P. Sousa et al. *Nutr Cancer.* 2020. V. 72, № 2. P. 352–363.
25. Nobiletin flavone inhibits the growth and metastasis of human pancreatic cancer cells via induction of autophagy, G0/G1 cell cycle arrest and inhibition of NF- κ B signalling pathway. H. Jiang et al. *J Buon.* 2020. V. 25, № 2. P. 1070–1075.
26. Nobiletin Promotes Megakaryocytic Differentiation through the MAPK/ERK-Dependent EGR1 Expression and Exerts Anti-Leukemic Effects in Human Chronic Myeloid Leukemia (CML) K562 Cells. J. H. Yen et al. *Cells.* 2020. V. 9, № 4. P. 877.
27. Nobiletin induces growth inhibition and apoptosis in human nasopharyngeal carcinoma C666-1 cells through regulating PARP-2/SIRT1/AMPK signaling pathway. G. D. Zheng et al. *Food Sci Nutr.* 2019. V. 7, № 3. P. 1104–1112.
28. Nobiletin Enhances Chemosensitivity to Adriamycin through Modulation of the Akt/GSK3 β / β -Catenin/ MYCN/MRP1 Signaling Pathway in A549 Human Non-Small-Cell Lung Cancer Cells. J. Y. Moon, L. V. Manh Hung, T. Unno, S. K. Cho. *Nutrients.* 2018. V. 10, № 12. P. 1829.
29. The flavonoid nobiletin inhibits tumor growth and angiogenesis of ovarian cancers via the Akt pathway. J. Chen et al. *Int J Oncol.* 2015. V. 46, № 6. P. 2629–2638.
30. Nobiletin attenuates metastasis via both ERK and PI3K/Akt pathways in HGF-treated liver cancer HepG2 cells. M. D. Shi, Y. C. Liao, Y. W. Shih, L. Y. Tsai. *Phytomedicine.* 2013. V. 20, № 8–9. P. 743–752.
31. Nobiletin inhibits human osteosarcoma cells metastasis by blocking ERK and JNK-mediated MMPs expression. H. L. Cheng et al. *Oncotarget.* 2016. V. 7, № 23. P. 35208–35223.
32. Nobiletin inhibits invasion and migration of human nasopharyngeal carcinoma cell lines by involving ERK1/2 and transcriptional inhibition of MMP-2. S. Y. Chien et al. *Expert Opin Ther Targets.* 2015. V. 19, № 3. P. 307–320.
33. A citrus polymethoxyflavonoid, nobiletin, is a novel MEK inhibitor that exhibits antitumor metastasis in human fibrosarcoma HT-1080 cells. Y. Miyata et al. *Biochem Biophys Res Comm.* 2007. V. 366, № 1. P. 168–173.
34. Anti-Inflammatory and Antioxidant Mechanism of Tangeretin in Activated Microglia. Y. Y. Lee et al. *J Neuroimmune Pharmacol.* 2016. V. 11, № 2. P. 294–305.
35. *Benavente-Garcia O., Castillo J.* Update on uses and properties of citrus flavonoids: new findings in anticancer, cardiovascular, and anti-inflammatory activity. *J Agric Food Chem.* 2008. V. 56, № 15. P. 6185–6205.
36. *Morley K. L., Ferguson P. J., Koropatnick J.* Tangeretin and nobiletin induce G1 cell cycle arrest but not apoptosis in human breast and colon cancer cells. *Cancer Lett.* 2007. V. 251, № 1. P. 168–178.
37. Tangeretin inhibits the proliferation of human breast cancer cells via CYP1A1/CYP1B1 enzyme induction and CYP1A1/CYP1B1-mediated metabolism to the product 4' hydroxy tangeretin. S. Surichan, R. R. Arroyo, A. M. Tsatsakis et al. *Toxicol Vitro.* 2018. V. 50. P. 274–284.

-
38. Inhibitory Effects of Tangeretin, a Citrus Peel-Derived Flavonoid, on Breast Cancer Stem Cell Formation through Suppression of Stat3 Signaling. Y. C. Ko et al. *Molecules*. 2020. V. 25, № 11. P. 2599.
 39. Inhibition of tamoxifen's therapeutic benefit by tangeretin in mammary cancer. H. T. Depypere et al. *Eur J Cancer*. 2000. V. 36. P. 73.
 40. Hermawan A., Putri H. Integrative Bioinformatics Analysis Reveals Potential Target Genes and TNF α Signaling Inhibition by Brazilin in Metastatic Breast Cancer Cells. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2020. V. 21, № 9. P. 2751–2762.
 41. Citrus Peel Flavonoids as Potential Cancer Prevention Agents. N. Koolaji et al. *Curr Dev Nutr*. 2020. V. 4, № 5. P. nzaa025.
 42. Rodriguez M., Potter D. A. CYP1A1 Regulates Breast Cancer Proliferation and Survival. *Mol Cancer Res*. 2013. V. 11, № 7. P. 780–792.
 43. VEGF-A/Neuropilin 1 Pathway Confers Cancer Stemness via Activating Wnt/ β Catenin Axis in Breast Cancer Cells. L. Zhang et al. *Cell Physiol Biochem*. 2017. V. 44, № 3. P. 1251–1262.
 44. Differential Activation of Wnt- β -Catenin Pathway in Triple Negative Breast Cancer Increases MMP7 in a PTEN Dependent Manner. N. Dey et al. *PLoS One*. 2013. V. 8, № 10. P. e77425.
 45. Arivazhagan L., Pillai S. S. Tangeretin, a citrus pentamethoxyflavone, exerts cytostatic effect via p53/p21 up-regulation and suppresses metastasis in 7,12-dimethylbenz(a)anthracene-induced rat mammary carcinoma. *J Nutr Biochem*. 2014. V. 25, № 11. P. 1140–1153.
 46. COX-2 involvement in breast cancer metastasis to bone. B. Singh et al. *Oncogene*. 2007. V. 26. P. 3789–3796.
 47. The combined effect of pomegranate extract and tangeretin on the DMBA-induced breast cancer model. H. F. Gul et al. *J Nutr Biochem*. 2021. V. 89. P. 108566.
 48. Antitumor efficacy of tangeretin by targeting the oxidative stress mediated on 7,12-dimethylbenz(a)anthracene-induced proliferative breast cancer in Sprague–Dawley rats. K. Periyasamy et al. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2015. V. 75, № 2. P. 263–272.
 49. Lakshmi A., Subramanian S. Chemotherapeutic effect of tangeretin, a polymethoxylated flavone studied in 7, 12-dimethylbenz(a)anthracene induced mammary carcinoma in experimental rats. A. Lakshmi. *Biochimie*. 2014. V. 99. P. 96–109.
 50. Zhu W. B., Xiao N., Liu X. J. Dietary flavonoid tangeretin induces reprogramming of epithelial to mesenchymal transition in prostate cancer cells by targeting the PI3K/Akt/mTOR signaling pathway. *Oncol Lett*. 2018. V. 15, № 1. P. 433–440.
 51. Guo J. J., Li Y. J., Xin L. L. Tangeretin prevents prostate cancer cell proliferation and induces apoptosis via activation of Notch signalling and regulating the androgen receptor (AR) pathway and the phosphoinositide 3-kinase (PI3k)/Akt/mTOR pathways. *Bangladesh J Pharmacol*. 2015. V. 10, № 4. P. 937–947.
 52. Shibue T., Weinberg R. A. EMT, CSCs, and drug resistance: the mechanistic link and clinical implications. *Nat Rev Clin Oncol*. 2017. V. 14, № 10. P. 611–629.
 53. Acquisition of epithelial–mesenchymal transition and cancer stem cell phenotypes is associated with activation of the PI3K/Akt/mTOR pathway in prostate cancer radioresistance. L. Chang et al. *Cell Death Dis*. 2013. V. 4, № 10. P. e875–e875.
 54. Tangeretin sensitises human lung cancer cells to TRAIL-induced apoptosis via ROS-JNK/ERK-CHOP pathway-mediated up-regulation of death receptor 5. X. Liu et al. *Trop J Pharm Res*. 2017. V. 16, № 1. P. 17–29.
 55. Chen K. H., Weng M. S., Lin J. K. Tangeretin suppresses IL-1 β -induced cyclooxygenase (COX)-2 expression through inhibition of p38 MAPK, JNK, and AKT activation in human lung carcinoma cells. *Biochem Pharmacol*. 2007. V. 73, № 2. P. 215–227.
 56. Selecting bioactive phenolic compounds as potential agents to inhibit proliferation and VEGF expression in human ovarian cancer cells. Z. He et al. *Oncol Lett*. 2015. V. 9, № 3. P. 1444–1450.
 57. Tangeretin Sensitizes Cisplatin-Resistant Human Ovarian Cancer Cells through Downregulation of Phosphoinositide 3 Kinase/Akt Signaling Pathway. E. S. A. Arafa et al. *Cancer Res*. 2009. V. 69, № 23. P. 8910–8917.
 58. Proteins Associated with Cisplatin Resistance in Ovarian Cancer Cells Identified by Quantitative Proteomic Technology and Integrated with mRNA Expression Levels. J. J. Stewart et al. *Mol Cell Proteomics*. 2006. V. 5, № 3. P. 433–443.
 59. Proteomics analysis of tangeretin-induced apoptosis through mitochondrial dysfunction in bladder cancer cells. J. J. Lin et al. *Int J Mol Sci*. 2019. V. 20, № 5. P. 1017.
 60. Tangeretin, a citrus polymethoxyflavonoid, induces apoptosis of human gastric cancer AGS cells through extrinsic and intrinsic signaling pathways. Y. Dong et al. *Oncol Rep*. 2014. V. 31, № 4. P. 1788–1794.
 61. Tangeretin inhibits hepatocellular carcinoma proliferation and migration by promoting autophagy-related BECLIN1. J. Zheng et al. *Cancer Manag Res*. 2019. V. 11. P. 5231–5242.
-

А. Н. Пуськов, А. А. Лихова, М. А. Мунько
Противоопухолевые и антиметастатические эффекты
полиметоксилированных флавонов нобилетина и тангеретина

В обзоре представлено современное состояние изучения противоопухолевой и антиметастатической активностей полиметоксилированных флавонов нобилетина и тангеретина, содержащихся преимущественно в кожуре цитрусовых.

Приведены результаты экспериментальных исследований, которые демонстрируют, что нобилетин и тангеретин проявляют значительные противоопухолевое и антиметастатическое действие в отношении опухолей различного гистогенеза. Существенное внимание уделено описанию и обобщению механизмов противоопухолевых и антиметастатических эффектов указанных флавонов.

Многочисленные исследования свидетельствуют о том, что нобилетин и тангеретин показывают большой потенциал в комбинированной терапии, повышая противоопухолевую активность цитостатических средств с разными механизмами действия.

Нобилетин и тангеретин снижают жизнеспособность и пролиферативную активность злокачественных клеток, модулируя сигнальные пути PI3K/Akt/mTOR, NF-κB, p38MAPK, Stat3.

Указанные флавоны активируют апоптоз в опухолевых клетках путем повышения экспрессии проапоптотических факторов (Bax, p53, каспазы-3, каспазы-9) и снижения экспрессии антиапоптотических белков (Bcl-2, Bcl-xL, XIAP и др.). Кроме того, нобилетин может активировать апоптоз через митохондриальную дисфункцию.

Нобилетин и тангеретин вызывают гибель аутофагических злокачественных клеток и снижают их инвазию, миграцию и ангиогенез, подавляя продукцию матриксных металлопротеиназ (MMP2, MMP7, MMP9) и VEGF.

Нобилетин и тангеретин могут стать основой разработки новых современных антинеопластических препаратов, скорее всего, для лечения рака молочной железы и рака простаты.

Ключевые слова: нобилетин, тангеретин, флавоны, рак, метастазирование, ангиогенез

О. М. Пуськов, О. О. Лихова, М. А. Мунько
Протипухлинні й антиметастатичні ефекти поліметоксильованих флавонів
нобілетину та тангеретину

В огляді представлено сучасний стан вивчення протипухлинної та антиметастатичної активностей поліметоксильованих флавонів нобілетину й тангеретину, що містяться переважно в шкірці цитрусових.

Наведено результати експериментальних досліджень, які демонструють, що нобілетин і тангеретин виявляють значну протипухлинну та антиметастатичну дію щодо пухлин різного гістогенезу. Суттєву увагу приділено опису та узагальненню механізмів протипухлинних й антиметастатичних ефектів зазначених флавонів.

Численні дослідження свідчать про те, що нобілетин і тангеретин показують великий потенціал за комбінованої терапії, підвищуючи протипухлинну активність цитостатичних засобів з різними механізмами дії.

Нобілетин і тангеретин знижують життєздатність і проліферативну активність злоякісних клітин, модулюючи сигнальні шляхи PI3K/Akt/mTOR, NF-κB, p38MAPK, Stat3.

Зазначені флавоны активують апоптоз у пухлинних клітинах шляхом підвищення експресії проапоптотичних факторів (Bax, p53, каспази-3, каспази-9) і зниження експресії антиапоптотичних білків (Bcl-2, Bcl-xL, XIAP та ін.). Крім того, нобілетин може активувати апоптоз через митохондриальну дисфункцію.

Нобілетин і тангеретин викликають загибель аутофагічних злоякісних клітин і знижують їхню інвазію, міграцію й ангиогенез, пригнічуючи продукцію матриксних металлопротеїназ (MMP2, MMP7, MMP9) і VEGF.

Нобілетин і тангеретин можуть стати основою розробки нових сучасних антинеопластичних препаратів, швидше за все, для лікування раку молочної залози та раку простати.

Ключові слова: нобілетин, тангеретин, флавоны, рак, метастазування, ангиогенез

А. N. Puskov, A. A. Likhova, M. A. Munko
Antitumor and antimetastatic effects of polymethoxylated flavones nobiletin and tangeretin

The review presents the current state of study of antitumor and antimetastatic activities of the polymethoxylated flavones nobiletin and tangeretin, which are mainly contained in citrus peels.

The results of experimental studies are presented, which demonstrate that nobiletin and tangeretin exhibit significant antitumor and antimetastatic effects against tumors of various histogenesis. Considerable attention is paid to description and generalization of the mechanisms of antitumor and antimetastatic effects of these flavones.

Numerous studies indicate that nobiletin and tangeretin show great potential in combination therapy, increasing the antitumor activity of cytostatic agents with different mechanisms of action.

Nobiletin and tangeretin reduce viability and proliferative activity of malignant cells by modulating the signaling pathways PI3K/Akt/mTOR, NF- κ B, p38MAPK, Stat3.

These flavones activate apoptosis in tumor cells by increasing the expression of pro-apoptotic factors (Bax, p53, caspase-3, caspase-9) and decreasing the expression of anti-apoptotic proteins (Bcl-2, Bcl-xL, XIAP etc.). In addition, nobiletin can activate apoptosis through mitochondrial dysfunction.

Nobiletin and tangeretin cause the death of autophagic malignant cells and reduce their invasion, migration and angiogenesis, suppressing the production of matrix metalloproteinases (MMP2, MMP7, MMP9) and VEGF.

Nobiletin and tangeretin may become the basis for development of new modern antineoplastic drugs, most likely for the treatment of breast and prostate cancer.

Key words: nobiletin, tangeretin, flavones, cancer, metastases, angiogenesis

Надійшла: 25 травня 2021 р.

Прийнята до друку: 15 червня 2021 р.

Контактна особа: Пуськов Олексій Миколайович, кандидат медичних наук, лабораторія онкофармакології, ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМНУ», буд. 14, вул. Антона Цедіка, м. Київ, 03057. Тел.: + 38 0 44 456 94 65. Електронна пошта: puskov@ift.org.ua