مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی
دوره ۲۷، شماره ۲، تابستان ۹۶، صفحات ۱۱۳ تا ۱۱۸

Original Article

خاصیت ضدسرطانی تعدادی باز شیف بر پایه معرف گیرارد-P و کمپلکس دی متیل قلع (IV) آنها بر رده سرطانی U-87 در شرایط کشت آزمایشگاهی

الهام حویزی[۱]، زینب انصاری اصل[۲]

[۱] استادیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز
[۲] استادیار، گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز

چکیده

سابقه و هدف: *گلیوبلاستوما (U-87) شایع‌ترین و بدخیم‌ترین تومورگلیال است که در سیستم عصبی مرکزی بروز می‌کند. مطالعه حاضر اولین مطالعه در مورد اثر ضد سرطانی لیگاند های بازشیف مشتق شده از معرف گیرارد-P و کمپلکس های دی متیل قلع (IV) آنها بر میزان بقا رده سلولی سرطان گلیوبلاستوما است.*

روش بررسی: *در این مطالعه تجربی، رده سلولی سرطان گلیوبلاستوما در محیط کشت DMEM حاوی ۱۰ درصد سرم گاوی و پنی-سیلین/استرپتومایسین در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد و ۵ درصد CO2 کشت داده شد و سپس تاثیر رقت‌های مختلف لیگاندها و کمپلکس‌های آنها بر روی این سلول‌ها به روش های MTT، و رنگ آمیزی DAPI بررسی شد.*

یافته‌ها: *این ترکیبات دارای اثر سمی بر مرگ سلول‌های سرطانی گلیوبلاستوما بودند. کشنده ترین اثرات ضد سرطانی بازهای شیف و کمپلکس‌های قلع به صورت وابسته به غلظت مربوط به Me2Sn(L1) و H2L3 بود.*

نتیجه‌گیری: *نتایج این مطالعه نشان داد که لیگاند های بازشیف مشتق شده از معرف گیرارد-P و کمپلکس های دی متیل قلع (IV) آنها، توانایی القا مرگ سلولی روی سلول‌های سرطان گلیوبلاستوما در غلظت‌های در حد میلی‌گرم بر میلی‌لیتر را دارد و این یافته‌ها دیدگاه جدیدی را در زمینه استفاده از ترکیبات جدید در شیمی درمانی سرطان فراهم می‌آورد.*

واژگان کلیدی: *سرطان، باز شیف، کمپلکس دی متیل قلع، U-87.*

مقدمه

امروزه سرطان از مهم‌ترین عوامل مرگ و میر در دنیا محسوب می‌شود. محیط، مدت زمان باروری، رژیم غذایی و سیگار چهار عامل موثر در سرطان زایی به شمار می‌روند. بنابراین برای پیش گیری از سرطان‌ها، می توان این عوامل را در روند زندگی تغییر داد (۱). علاوه بر عوامل موثر در شیوه زندگی، عوامل خطرآفرین ذاتی در عملکرد اندام های بدن نیز وجود دارد. محصولات جانبی سوخت وساز بدن و خطاهایی که در طول همانندسازی DNA رخ می‌دهند، در سرطان زایی دخیل هستند. محصولات جانبی حاصل از متابولیسم هوازی، رادیکال‌های اکسیژن تولید می‌کنند که جهش‌زا هستند. همچنین مشخص شده است که چندین بیماری متابولیکی ارثی نیز، محصولات جانبی جهش زا تولید می‌کنند (۲).

علی رغم اینکه در زمینه‌های شناخت علل بروز سرطان، پژوهش‌های گسترده‌ای در جهان انجام شده است، اما هنوز جنبه‌های سبب شناسی و بیماری‌زایی این بیماری ناشناخته مانده است و در بیشتر موارد درمان قطعی برای سرطان‌ها وجود ندارد. از روش‌های درمانی سرطان می‌توان به جراحی، پرتودرمانی، شیمی درمانی، ژن درمانی و غیره اشاره کرد (۳). به طورکلی، بسیاری از داروهای شیمیایی که به منظورشیمی درمانی سرطان به کار برده می‌شوند، سبب تغییراتی در فرایند

آدرس نویسنده مسئول: اهواز، دانشگاه شهید چمران اهواز، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی، الهام حویزی (**email**: e.hoveizi@yahoo.com)

تاریخ دریافت مقاله: ۹۵/۹/۲۴
تاریخ پذیرش مقاله: ۹۵/۱۲/۱۶

تقسیم سلولی شده و تکثیر و تمایز سلول‌های سرطانی را متوقف می‌سازند. در صورت امکان، در بیشتر سرطان‌ها، اولین راهبرد درمانی مورد استفاده علیه سرطان، برداشتن آن به صورت عمل جراحی است. بدیهی است که این عمل برای برخی از انواع سرطان نسبتا ساده و برای سایر انواع آن غیر عملی است. این روش یک روش دقیق در سطح سلولی نیست و در مورد سلول‌هایی که از مکان اولیه خود تغییر مکان می‌دهند (سلول‌های متاستازشده) کارا نیست (۳). بنابراین از شیمی درمانی و پرتودرمانی، برای مهار یا ریشه کن کردن سلول‌های متاستاز شده، استفاده می‌شود. هدف اصلی در درمان سرطان، ممانعت از تکثیر (اثر سیتواستاتیکی) و کشتن (اثر سیتوتوکسیکی) سلول‌های سرطانی است (۴).

بنابراین توجه به مفهوم سلول‌های بنیادی سرطانی در طراحی و آزمایش داروهای جدید سرطان حائز اهمیت است. از آن جا که سلول‌های بنیادی سرطانی باعث رشد و مهاجرت تومور می‌شوند، داروهایی مورد نیاز هستند که جمعیت‌های کوچک سلولی در تومور را هدف قرار می‌دهند. بسیاری از داروهای سنتی موجود، که درابتدا پاسخ‌های امیدوار کننده‌ای نشان می‌دهند اما با بازگشت مجدد و عود بیماری همراه هستند، ممکن است بتوانند از بازگشت مجدد بیماری جلوگیری کرده و واقعاً سرطان متاستازی شده را درمان کنند. البته بهترین راه حل، یافتن داروهایی است که بتوانند سلول‌های بنیادی سرطانی را بدون تأثیر بر سلول‌های بنیادی طبیعی همان بافت، مورد هدف قرار دهند (۵، ۶).

امروزه زیر مجموعه‌ای از سلول‌های توموری با خصوصیات سلول-های بنیادی با روش‌های مشابه از تومورهای پستان، مغز، ملانوما، سرطان پروستات و استئوسارکوما جدا شده است. رده سلولی U-87از جمله رده های سرطانی گلیوبلاستومایی است که از گلیومای بدخیم انسانی مشتق شده است و می‌تواند به عنوان یک رده سلولی سرطانی به منظور بررسی اثرات سیتوتوکسیک داروها و ترکیبات مختلف مورد استفاده قرار گیرد (۷).

در سال‌های اخیر، بررسی خواص ضد سرطانی بسیاری از داروهای جدید سنتز شده از عناصر فلزی توجه بسیاری از بیوشیمیدان‌های معدنی را به خود معطوف کرده است. کشف خواص ضد سرطانی سیس پلاتین، آغازگر گسترش بررسی این دسته از داروها تلقی می‌شود. وجود معایبی از جمله پایداری و سمیت بالای این دارو، نیاز به تغییر لیگاند و بررسی کمپلکس‌های فلزی زیست سازگار دیگر را مبرم کرده است (۸). تاکنون بررسی‌های متعددی در زمینه خاصیت ضدسرطانی عناصر مختلف از جمله Au، Ag، Cu، Ti، Ga، Co، Ru و Sn صورت گرفته است که از بین آنها ترکیبات آلی قلع به دلیل سمیت نسبتاً پایین در برابر سلول‌های سالم بیشترین آمار بررسی را به خود اختصاص داده‌اند (۸، ۹). از آنجایی که خواص سیتوتوکسیک قسمت آلی قلع ثابت است، بنابراین طراحی لیگاند نقش اساسی در انتقال و کارآیی کمپلکس خواهد داشت. تاکنون لیگاندهای مختلفی از جمله بازهای شیف سنتز و مورد بررسی قرار گرفته‌اند. با این حال محدودیت اصلی برای استفاده گسترده از این ترکیبات، حلالیت پایین آنها در آب است (۸). بازهای شیف سنتز شده از معرف‌های گیرارد به دلیل یونی بودن و انحلال-پذیری در آب دارای پتانسیل کاربردی در زمینه های بیولوژیکی از جمله خاصیت ضدباکتری، ضد قارچ و ضدسرطان هستند (۹). از این رو، در این طرح تحقیقاتی به بررسی خاصیت ضدسرطانی تعدادی از کمپلکس های قلع (IV) سنتز شده با لیگاندهای باز شیف بر پایه ی معرف گیرارد پرداختیم. ویژگی آب دوستی/آب گریزی ترکیبات سنتز شده شیمیایی همواره به عنوان یکی از عوامل مهم در بررسی کاربردهای بیولوژیکی آنها در نظر گرفته می‌شود. خاصیت آب گریزی جهت عبور از غشاء سلولی و ویژگی آب دوستی برای پذیرش توسط سلول غنی از آب مورد نیاز است. از آنجایی که عدم حلالیت کافی ترکیبات آلی قلع (IV) در آب، نقص عمده‌ای برای بررسی‌های in vivo در نظر گرفته می‌شود، در این تحقیق به بررسی خاصیت ضد سرطانی سه لیگاند باز شیف محلول در آب حاصل از تراکم معرف گیرارد-P با ۵- برمو سالیسیل آلدهید (H2L1)، 2-هیدروکسی نفتالدهید (H2L2) و ۴- هیدروکسی سالیسیل آلدهید (H2L3) و کمپلکس های دی متیل قلع (IV) آنها پرداخته شد.

مواد و روشها

آماده سازی محلول‌های بازشیف و کمپلکس‌ها

ترکیبات (H2L1)، (H2L2)، (H2L3)،[SnMe2(L1)] ، [SnMe2(L2)]و [SnMe2(L3)] باغلظت های ۰/۱، ۱ و ۱۰ میلی گرم بر میلی لیتر (mg/ml) در محیط کشت تهیه شدند. سپس نمونه ها با غلظت های مختلف جهت حذف آلودگی های باکتریایی وقارچی بافیلتر۰/۲۲ میکرومتر فیلترشد.

کشت و پاساژ رده سلولیU-87

سلول‌های سرطانی رده سلولیU-87 از موسسه پاستور تهران خریداری شدند. سلول‌های U-87 در محیط کشت DMEM

(Gibco, USA) با ۱۰ درصد FBS (Gibco, USA) در انکوباتور حاوی ۵ درصد CO2 با ۹۰ درصد رطوبت و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. بعد از اینکه حدود ۸۰ درصد فلاسک پر شد، سلول‌ها پاساژ و حدود cells /cm2 ۵×۱۰۴ سلول در هر چاهک از ظروف کشت (bacterial Petri dishes) ۲۴ خانه در محیط معمول قرار داده شد. ۲۴ ساعت بعد سلول‌ها با غلظت‌های مختلفی از بازهای شیف و کمپلکس آن‌ها تیمار و به مدت سه روز در این شرایط نگهداری شدند.

ارزیابی میزان بقای سلولی با روشMTT

میزان بقای سلول‌های کشت داده شده با ترکیبات بازهای شیف با استفاده از۲ 3-(4, 5-di-methylthiazol-2-yl)-2, 5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT, Sigma, USA) با غلظت 5 mg/ml ارزیابی شد. این تست در روز های ۱، ۲ و ۳ بعد از قرار دادن سلول‌ها در معرض ترکیبات مذکور انجام شد. به این صورت که در زمان مناسب بعد از کشت سلول‌ها در پلیت‌های ۲۴ خانه، محیط کشت خارج و به هر خانه حدود ۳۰۰ میلی لیتر محیط تازه حاوی ۳۰ میکرولیتر از محلول MTT اضافه شد، بعد از ۳ تا ۴ ساعت انکوباسیون با دمای ۳۷ درجه سانتیگراد محلول MTT خارج و به هر خانه ۲۰۰ میکرولیتر (Dimethyl Sulfoxide, Merck, USA, 100%) DMSO اضافه و سپس جذب نمونه در طول موج ۵۷۰ با استفاده از دستگاه الیزا ریدر اندازه گیری شد.

رنگ آمیزی DAPI

برای بررسی مرگ سلولی، سلول‌های U-87 به مدت ۲۴ تا ۲۸ ساعت با محیط کشت حاوی کشنده‌ترین ترکیب بازهای شیف کشت شدند و سپس محیط رویی سلول‌ها خارج و سلول‌ها با PBS شسته و سلول‌ها با استفاده از پارافرمالدهید ۴ درصد تثبیت و با استفاده از رنگ دپی (DAPI) با غلظت ۳۰۰ نانومولار رنگ‌آمیزی شدند. برای شمارش سلولی در روز های معین، ۲۰ منطقه (با ابعاد (1mm2 به صورت اتفاقی انتخاب و شمارش و میانگین سلولی به دست آمد. سلول‌های آپوپتوز شده با مورفولوژی هسته چروکیده، قطعه قطعه شده و با شدت فلورسانس بالا به عنوان سلول های آپوپتوزشده گزارش شدند.

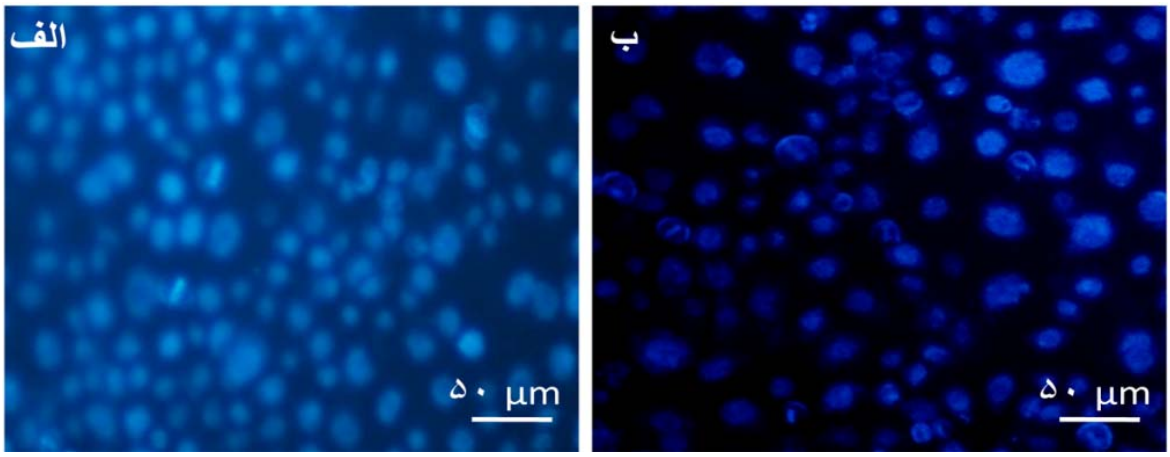
بررسی‌های آماری

داده‌ها به صورت میانگین و خطای معیار بیان می‌شوند. نتایج با استفاده از از نرم افزار SPSS(Ver.12) و آزمون‌های آماری ANOVA و T-test مورد ارزیابی قرار گرفتند. رسم نمودارها در نرم افزار Excel انجام شد. P<۰/۰۵ معنی‌دار درنظرگرفته شد.

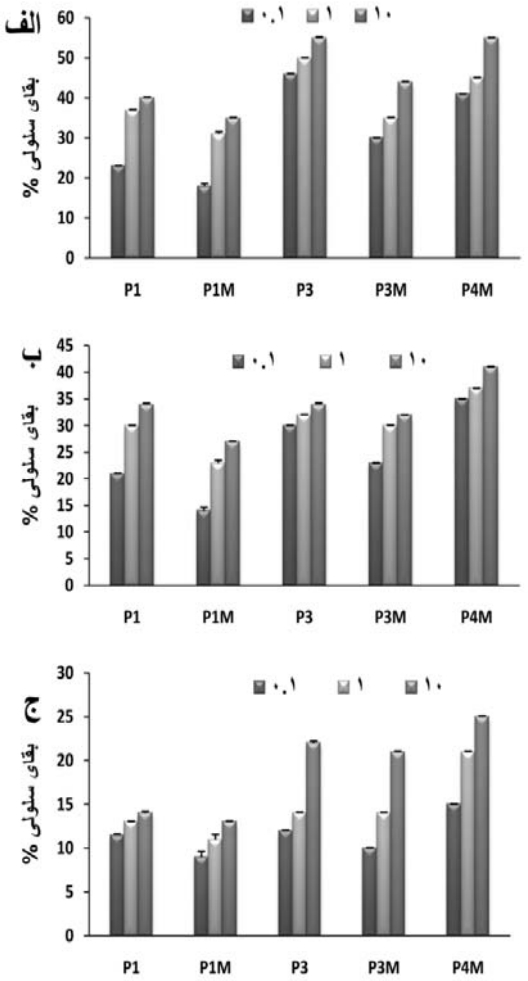
یافته‌ها

تغییرات مورفولوژیکی

تغییرات مورفولوژی سلول‌های U-87 با استفاده از میکروسکوپ نوری و همچنین رنگ آمیزی فلئورسنت DAPI بررسی شدند. همان طور که در شکل ۱ دیده می‌شود، سلول‌ها پس از تیمار با ترکیب باز شیف، دچار تغییراتی از جمله چروکیدگی، گرد شدن و برآمدن غشاء شدند. این تغییرات مورفولوژی نشان می‌دهد که ممکن است ترکیب باز شیف باعث القای فرآیند آپوپتوز در سلول‌های U-87 شود.



شکل۱. نتایج رنگ آمیزی با رنگ DAPI برای بررسی وضعیت سلول های گلیوبلاستومای تیمار شده با کشنده ترین ترکیب که در اینجا $Me_2Sn(L^1)$ با غلظت ۰/۱ میلی گرم بر میلی لیتر است. الف- نمونه کنترل که بدون تیمار است، ب- نمونه تیمار شده



شکل۲. اثرات ترکیبات لیگاندی و کمپلکس آنها بر بقای و تکثیر سلول‌های گلیوبلاستوما. الف- نمودار بررسی بقا با روش MTT یک روز بعد از تیمار. ب- نمودار بررسی بقا با روش MTT دو روز بعد از تیمار. ج- نمودار بررسی بقا با روش MTT سه روز بعد از تیمار. (H2L1)=P1، (H2L2)=P2، (H2L3)=P3، [SnMe2(L1)]=P1M، [SnMe2(L2)]= P2M و [SnMe2(L3)]= P3M

نتایج بررسی بقای سلولی با روشMTT

برای بررسی تأثیر سیتوتوکسیته ترکیب‌های باز شیف روی سلول های U-87، از روش MTT assay استفاده شد. شکل ۲ نشان دهنده تأثیر ترکیب های باز شیف با غلظت‌های مختلف بر رده سلولی سرطانیU-87 در سه بازه زمانی ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت است. برای کنترل از کشت هم زمان سلول‌هایی استفاده شد که هیچ تیماری روی آن ها صورت نگرفته بود. نتایج نشان داد که ترکیب های باز شیف باعث کاهش بقای سلولی در هر سه بازه زمانی شده است. البته در بازه زمانی ۷۲ ساعت، کاهش بقای سلولی نسبت به دو زمان دیگر شدیدتر و از نظر آماری معنی‌دار بود. نتایج نشان داد که کشنده‌ترین اثرات ضد سرطانی لیگاندهای بازشیف و کمپلکس‌های قلع (IV) آن‌ها به صورت وابسته به غلظت مربوط به ترکیبات Me2Sn(L1) و[SnMe2(L3)] است. همچنین غلظت کشنده ۵۰ درصد سلول‌ها به عنوان IC50 برای ترکیب‌های باز شیف در نظر گرفته شد.

بحث

ابتلای به سرطان یکی از معضلات مهم برای جامعه بشری محسوب می‌شود و متأسفانه در طی سال های اخیر روند رو به رشدی در ابتلا به این بیماری در دنیا و ایران مشاهده می‌شود. بنابراین یافتن اثرات درمانی ترکیبات جدید که بتوان از آنها به عنوان داروهایی برای از بین بردن سلول های سرطانی استفاده کرد، یکی از اولویت‌های کلیدی درمان سرطان محسوب می‌شود (۱۰). تحقیقات نشان می‌دهند که کمپلکس‌های قلع سنتز شده با لیگاندهای باز شیف بر پایه معرف گیرارد، می‌توانند خواص بیولوژیکی متعددی از جمله خاصیت ضد ویروسی و ضد توموری داشته باشند.

در این مطالعه به آنالیز تیمار سلول های U-87 با ترکیبات بازهای شیف و تأثیر آن‌ها بر مرگ سلولی و بقای این سلول‌ها پرداختیم. آنالیز بقای سلولی نشان داد که ترکیبات بازهای شیف باعث کاهش بقای سلول‌هایU-87 می‌شوند. همچنین مطالعه آنالیز آپوپتوز با استفاده از رنگ آمیزی هسته نشان داد که ترکیبات بازهای شیف به صورت معنی‌داری باعث القای مرگ سلولی سلول های سرطانی U-87 می‌شوند. نکته جالب در نتایج این تحقیق، تأثیر وابسته به زمان ترکیبات بازهای شیف است. بر اساس نتایج به دست آمده از سمیت سلولی این ترکیبات در طی ۲۴ ساعت اول تیمار، حدود ۸۰ درصد از سلول‌ها توسط ترکیب Me2Sn(L1) (موثرترین ترکیب با خاصیت کشندگی در این تحقیق) از بین می‌روند که می‌تواند بیانگر تأثیر موثر ماده روی بقای سلول‌ها باشد. در حالی که در زمان ۷۲ ساعت، میزان تأثیر گذاری ماده به بیش از ۸۸ درصد می‌رسد. به علاوه، آنالیز نتایج آپوپتوز نیز نشان دهنده تأثیر شدیدتر ترکیبات در زمان‌های طولانی‌تر است. به نظر می‌رسد که این ترکیبات دارای توانایی قابل توجهی برای استفاده بر ضد سلول‌های سرطانی باشند.

امروزه یکی از چالش‌های مهم شیمی کوئوردیناسیون جدید، سنتز ترکیبات با خواص ویژه جهت استفاده به عنوان پایه برای طراحی مواد فعال بیولوژیکی، داروها و غیره است. بازهای شیف لیگاندهای بسیار مهمی هستند که می‌توانند به راحتی

سنتز و به طیف وسیعی از فلزات کوئوردینه شوند (۸، ۹). به دلیل حضور گروه ایمین (C=N)، این ترکیبات نقش کلیدی در مطالعه مکانیسم انتقال و بررسی واکنش‌های مختلف در سیستم‌های بیولوژیکی دارند. تاکنون فعالیت‌های بیولوژیکی مهمی از جمله خاصیت ضدباکتری، ضد تومور و ضد سرطان برای کمپلکس‌های آلی قلع(IV) با لیگاندهای باز شیف گزارش شده است (۱۱). در ادامه، نمونه‌هایی از ترکیبات دارای خاصیت ضدتوموری آورده شده است. رحمان و همکارانش کمپلکس های دی اورگانوقلع(IV) از نوع R2SnL2 (R= Me, Et, Bu, Ph) را سنتز کرده و خواص ضد توموری آنها را مورد بررسی قرار دادند. از بین این ترکیبات، کمپلکس‌های دی اتیل قلع(IV) خاصیت ضدتوموری قابل توجهی را از خود نشان داده است (۱۲). حلالیت کم ترکیبات آلی قلع به عنوان مشکل جدی برای استفاده از آنها در تست‌های in vivo در نظر گرفته می‌شود. به منظور بهبود حلالیت در آب، استخلاف‌های قطبی مانند فلورین یا پلی اکساآلیل به ترکیبات آلی قلع (IV) متصل شده است. جیلین و همکارانش ترکیبات آلی قلع با استخلافات پلی اکساآلیل متصل شده به قلع توسط پیوند کربن-قلع یا اکسیژن-قلع را سنتز کرده‌اند. برخی از این ترکیبات در آب محلول و دارای خواص ضدتوموری قابل ملاحظه‌ای هستند (۱۳، ۱۴). اخیراً گروه تحقیقاتی لی آلیل هیدروکسامات های دی اورگانوقلع (IV) را سنتز کرده‌اند که در برخی موارد سمیتی مشابه یا حتی بهتر از سیس پلاتین را از نشان داده‌اند.

با توجه به نتایج بدست آمده در این تحقیق، خاصیت ضد سرطانی بودن کمپلکس‌ها در مقایسه با لیگاندها افزایش یافته است و ترکیب Me2Sn(L1) تاحدودی فعالیت سایتوتوکسیک بیشتری نسبت به سایر ترکیبات بر رده سلول سرطانی U-87 نشان داده است. البته به منظورتکمیل نتایج به دست آمده، مطالعه برروی تعداد بیشتری از رده‌های سلولی سرطانی پیشنهاد می‌شود. از طرفی می‌توان با قرار دادن لیگاندهای دیگر در ساختار این ترکیبات، آنها را به صورت هدف‌مند به سلول‌های سرطانی هدایت کرده و از این طریق اثرات جانبی آنها بر سلول‌های سالم را نیزکاهش داد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله مراتب سپاس و تشکر خود را از معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه شهیدچمران اهواز و مدیریت آزمایشگاه سلولی تکوینی گروه زیست شناسی این دانشگاه به واسطه حمایت‌هایشان برای انجام این پروژه اعلام می‌دارند.

REFERENCES

1. Borovski T, De Sousa EMF, Vermeulen L, Medema JP. Cancer stem cell niche: the place to be. Cancer Res 2011;71:634-39.

2. Zhao Y, Bao Q, Renner A, Camaj P, Eichhorn M, Ischenko I, et al. Cancer stem cells and angiogenesis. Int J Dev Biol 2011;55:477-82.

3. Sottoriva A, Verhoeff JJ, Borovski T, McWeeney SK, Naumov L, Medema JP, et al. Cancer stem cell tumor model reveals invasive morphology and increased phenotypical heterogeneity. Cancer Res 2010;70:46-56.

4. Oka N, Soeda A, Noda S, Iwama T. Brain tumor stem cells from an adenoid glioblastoma multiforme. Neurologia Med Chir (Tokyo) 2009;49:146-50.

5. Womeodu RJ, Bailey JE. Barriers to cancer screening. Med Clin North Am 1996;80:115-33.

6. Ramasamy TS, Yu JS, Selden C, Hodgson H, Cui W. Application of three-dimensional culture conditions to human embryonic stem cell-derived definitive endoderm cells enhances hepatocyte differentiation and functionality. Tissue Eng Part A 2013;19:360-67.

7. Roomi MW, Kalinovsky T, Rath M, Niedzwiecki A. A nutrient mixture inhibits glioblastoma xenograft U-87 MG growth in male nude mice. Exp Oncol 2016;38:54-56.

8. Gielen M, Biesemans M, de Vos D, Willem R. Synthesis, characterization and in vitro antitumor activity of di- and triorganotin derivatives of polyoxa- and biologically relevant carboxylic acids. J Inorganic Biochem 2000;79:139-45.

9. Kose M, Ceyhan G, Tumer M, Demirtas I, Gonul I, McKee V. Monodentate Schiff base ligands: their structural characterization, photoluminescence, anticancer, electrochemical and sensor properties. Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc 2015;137:477-85.

10. McDonald SA, Graham TA, Schier S, Wright NA, Alison MR. Stem cells and solid cancers. Virchows Arch 2009;455:1-13.

11. Chakraborty A, Kumar P, Ghosh K, Roy P. Evaluation of a Schiff base copper complex compound as potent anticancer molecule with multiple targets of action. Eur J Pharmacol 2010;647: 1-12.

12. Li Q, da Silva MF, Pombeiro AJ. Diorganotin (IV) derivatives of substituted benzohydroxamic acids with high antitumor activity. Chemistry 2004;10:1456-62.

13. El-Ayaan U, Kenawy IM, El-Reash YG. Synthesis, thermal and spectral studies of first-row transition metal complexes with Girard P reagent-based ligand. Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc 2007;68:211-19.

14. Rehman W, Badshah A, Khan S, Tuyet le TA. Synthesis, characterization, antimicrobial and antitumor screening of some diorganotin(IV) complexes of 2-[(9H-Purin-6-ylimino)]-phenol. Eur J Med Chem 2009;44:3981-85.