

ارزیابی تأثیر کمپلکس شیف باز Cu^{2+} N,N'-dipyridoxyl (1,2 diaminobenzene) بر فرآیند آنژیوژنز در پرده کوریوآلانتوتوئیک و بیان ژن های VEGF-R و VEGF

سهیلا یدامانی^۱، علی نعمتی*^۲، مسعود همایونی تبریزی^۳، سمیرا یدامانی^۴

تاریخ دریافت ۱۳۹۷/۰۵/۲۶ تاریخ پذیرش ۱۳۹۷/۰۸/۰۵

چکیده

پیش زمینه و هدف: آنژیوژنز نقش مهمی در رشد تومور و متاستاز سرطان دارد، بنابراین ترکیباتی که باعث مهار فرآیند آنژیوژنز شوند، می توانند از رشد تومور جلوگیری کنند. اخیراً کمپلکس های شیف باز به دلیل خواص ضد سرطانی، آنتی اکسیداتی و غیره که دارند، اهمیت پیدا کرده اند. در این پژوهش اثر ضد رگ زایی کمپلکس شیف باز مس بر روی پرده کوریوآلانتوتوئیک مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش ها: جهت انجام تحقیق از ۴۰ عدد تخم مرغ نطفه دار استفاده شد. بعد از ۴۸ ساعت انکوباسیون، پنجره بر روی تخم مرغ ها ایجاد شد و در روز هشتم با کمپلکس شیف باز تیمار شدند. روز دوازدهم از نمونه ها عکس تهیه شد. تعداد و طول عروق خونی و سپس وزن و طول جنین ها اندازه گیری شد. از فن Real Time PCR در بررسی تغییرات بیان ژن های VEGF-R و VEGF بر روی سلول های MCF7 استفاده شد.

یافته ها: بررسی نتایج نشان داد که کمپلکس شیف باز قادر است به طور معنی داری تعداد و طول عروق خونی را کاهش دهد. همچنین با افزایش غلظت کمپلکس وزن و طول جنین ها نیز کاهش یافت. بررسی بیان ژن ها (VEGF-R و VEGF) نشان داد که کمپلکس شیف باز مس (II) قادر به مهار بیان ژن ها می باشد.

بحث و نتیجه گیری: نتایج حاکی از آن است که این ترکیب می تواند فرآیند آنژیوژنز را کاهش و مهار کند. بنابراین می توان آن را به عنوان کاندیدایی در درمان بیماری های پاتولوژیک نظیر سرطان معرفی نمود.

کلمات کلیدی: کمپلکس شیف باز مس، آنژیوژنز، پرده کوریوآلانتوتوئیک، Real Time PCR

مجله پزشکی ارومیه، دوره بیست و نهم، شماره نهم، ص ۶۵۰-۶۴۲، آذر ۱۳۹۷

آدرس مکاتبه: مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد مشهد، گروه زیست شناسی، تلفن: ۹۸۹۱۵۵۰۴۶۹۴۰

Email: neamati.ali@gmail.com

مقدمه

باعث گشاد شدن رگ های خونی شده و بدین ترتیب مواد غذایی برای رشد تومور فراهم می شود. ولیکن امروزه اعتقاد دارند که سلول های توموری موادی را ترشح می کنند که باعث جوانه زدن رگ های قبلی و رگ زایی می شود (۲). مدل های آزمایشگاهی آنژیوژنز که از سال های پیش تا حال حاضر در تحقیقات بررسی فرآیند آنژیوژنز مورد استفاده قرار گرفته اند شامل مدل های *In vivo* و *In vitro* می شوند. مدل های *In vitro* به مدل های دوبعدی و سه بعدی تقسیم می شوند که به مسیر سازمان دهی دوباره سلول ها بستگی دارند (۳). متداول ترین مدل های *In vivo* شامل مدل پرده کوریوآلانتوتوئیک جوجه (CAM) (۴) و آنژیوژنز قرنیه (۵) می شوند. شیف بازها

آنژیوژنز یا رگ زایی، تشکیل مویرگ های جدید از عروق قبلی می باشد. رگ زایی در حالات متفاوت پاتولوژیک از قبیل رشد و متاستاز تومور، آرتریت روماتوئید و نیز در روندهای فیزیولوژیک نظیر رشد و نمو اندام ها، ترمیم زخم و تولیدمثل نقش مهمی دارد (۱). برای اولین بار در سال ۱۹۷۱ فولکمن فرضیه وابسته بودن رشد تومورها به رگ زایی را مطرح کرد. تحقیقات بعدی نشان داد که رشد و متاستاز تومورها بستگی به ایجاد رگ های جدید و رفع نیازهای تغذیه ای تومور دارد. تا پیش از دهه ۱۹۶۰ دانشمندان اعتقاد داشتند که سلول های توموری موادی را ترشح می کنند که

^۱ کارشناسی ارشد گروه زیست شناسی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران

^۲ دانشیار گروه زیست شناسی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران (نویسنده مسئول)

^۳ استادیار گروه زیست شناسی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران

^۴ کارشناسی ارشد گروه زیست شناسی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران

گردید. پس از اتمام، پنجره تخم‌مرغ‌ها بسته و مجدداً به دستگاه منتقل شدند. در روز دوازدهم، پنجره تخم‌مرغ‌ها برداشته و از تمامی آن‌ها توسط استرئومیکروسکوپ عکس تهیه شد. پس از عکس‌برداری از پرده کوریوآلاتوئیک کل نمونه‌ها، جنین‌ها را برداشته و وزن و طول فرق سری- نشیمنگاهی آن‌ها با ترازوی دیجیتال و کولیس اندازه‌گیری شد (۲۲).

کشت سلول، استخراج RNA و سنتز cDNA:

سلول‌های MCF7 از پژوهشکده بوعلی مشهد تهیه شد و به‌منظور بررسی بیان ژن‌های VEGF و VEGF-R، رده سلولی MCF7 کشت داده شد. سلول‌های MCF7 به مدت ۴۸ ساعت با غلظت‌های ۶۲/۵، ۱۲۵ و ۲۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از کمپلکس شیف باز مس تیمار شدند. غلظت ۱۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر، IC_{50} به‌دست‌آمده (غلظتی از کمپلکس شیف باز مس که سبب مهار بقای ۵۰ درصد سلول‌ها می‌شود) از تست MTT می‌باشد که دلیل انتخاب غلظت‌ها جهت تیمار است. جهت استخراج RNA از کیت High pure Roche کمپانی و جهت سنتز cDNA، از کیت سنتز cDNA فرمنتاز استفاده گردید. از فن Real-time PCR برای مطالعه تغییرات بیان ژن‌های مربوط به رگ زایی مورد استفاده شد. در این فن از ژن GAPDH به‌عنوان ژن کنترل استفاده گردید. بعد از سنتز cDNA با استفاده از پرایمرهای مخصوص، Real-time PCR به کمک دستگاه BioRad انجام گرفت.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها:

تصاویر به‌دست‌آمده به‌منظور شمارش و اندازه‌گیری تعداد و طول عروق خونی توسط نرم‌افزار ImageJ بررسی گردیدند. میانگین شاخص‌های اندازه‌گیری شده به کمک نرم‌افزار SPSS با آزمون آماری ANOVA و در سطح معنی‌داری $p < 0.05$ تحلیل شد.

یافته‌ها

بررسی اثرات مورفولوژیکی کمپلکس شیف باز مس (II) در تست CAM:

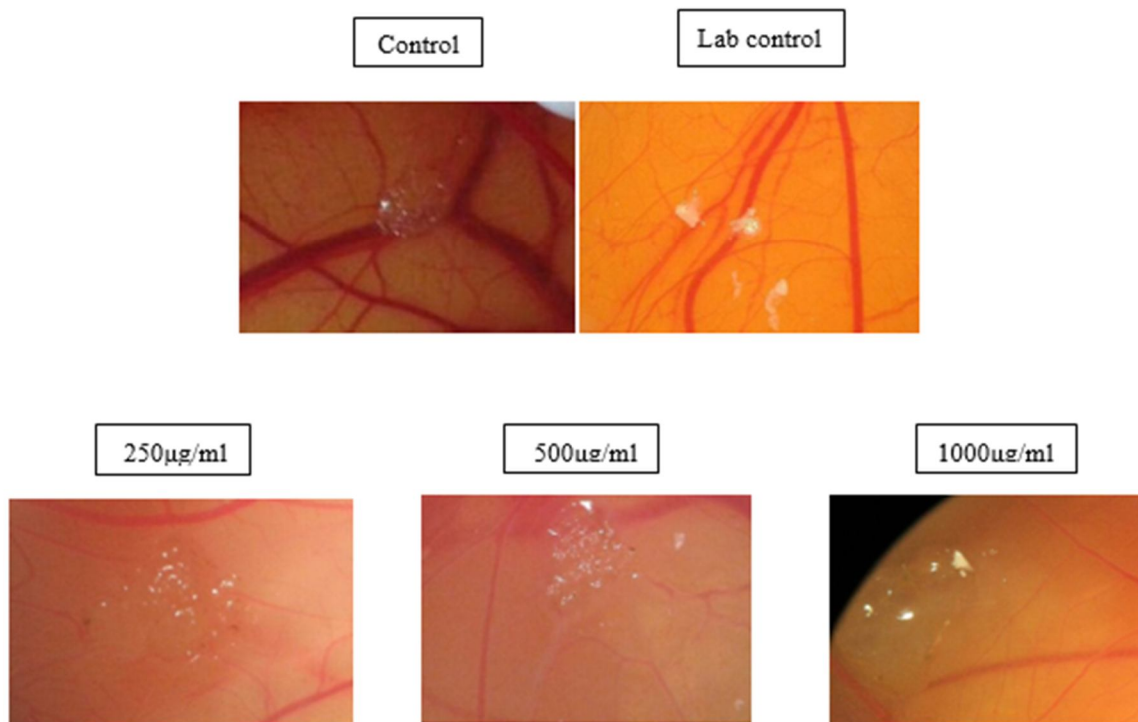
از تست CAM به‌منظور بررسی تأثیر شیف باز بر روی میزان رگ زایی استفاده گردید. تصاویر (شکل ۱) حاصل از این تست نشان می‌دهد که در گروه‌های تیمار شده توسط کمپلکس شیف باز مس (II)، تعداد و طول عروق نسبت به گروه کنترل کاهش قابل توجهی داشته است درحالی‌که بین گروه کنترل با گروه شاهد آزمایشگاهی تفاوتی وجود ندارد.

دسته‌ای از کی‌لیت‌ها می‌باشند که توانایی تشکیل پیوندهای کنوردیناتی را با بعضی از یون‌های فلزی (از طریق گروه آزومتین و گروه فنولیک یا هر دو گروه) دارند (۶-۹). شیف بازها دارای کاربردهای متنوعی در بسیاری زمینه‌ها از قبیل شیمی مواد (۱۰) شیمی آلی (۱۱)، علوم بیولوژیکی (۱۲) و شیمی معدنی (۱۳) هستند. شیمی لیگاند‌های شیف باز و کمپلکس‌های فلزی آن‌ها به دلیل سنتز آسان آن‌ها و طیف گسترده کاربردی آن‌ها از جمله در زمینه ضد سرطانی، ضد قارچی، ضد باکتریایی مورد توجه قرار گرفته‌اند (۱۴-۱۷). همچنین شیف بازهای پیریدوکسال (pyridoxal) و کمپلکس‌های فلزی آن‌ها در فعالیت‌های بیولوژیکی مفید واقع شده‌اند (۱۸-۲۰). پیریدوکسال آنالوگ نزدیک ویتامین B6 (پیریدوکسین) می‌باشد (۲۱). هدف از این پژوهش بررسی خاصیت ضد رگ‌زایی (پرده کوریوآلاتوئیک) ترکیب $Cu^{2+}N,N'$ -dipyridoxyl(1,2 diaminobenzene) می‌باشد که این ترکیب دارای حلقه پیریدوکسال است.

مواد و روش کار

تست CAM:

به‌منظور بررسی اثر ضد رگ زایی کمپلکس شیف باز مس در غلظت‌های متفاوت از تست CAM (chorioallantoic membrane) استفاده شده است. ابتدا ۴۰ عدد تخم‌مرغ نطفه‌دار نژاد ROSS از شرکت مرعداران طوس تهیه شد و سپس تخم‌مرغ‌ها توسط الکل تمیز و به دستگاه جوجه‌کشی (شرایط دستگاه شامل دمای ۳۸ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۶۰-۵۵٪) منتقل شدند. بعد از ۴۸ ساعت انکوباسیون، در شرایط استریل به‌وسیله پنس در سمت پهن تخم‌مرغ سوراخی کوچک و متعاقب آن در سمت پهلویی پنجره ایجاد کرده و محل آن را به‌وسیله چسب مخصوص و پارافین استریل پوشانده و مجدداً تخم‌مرغ‌ها به دستگاه جوجه‌کشی منتقل شدند. تخم‌مرغ‌ها به‌طور تصادفی در گروه‌های ۸ تایی شامل: گروه اول نمونه‌های کنترل (فاقد تیمار)، گروه دوم شاهد آزمایشگاهی (نرمال سالین)، گروه سوم تیمار با $1000 \mu\text{g/mL}$ کمپلکس شیف باز مس (II)، گروه چهارم تیمار با $500 \mu\text{g/mL}$ کمپلکس شیف باز مس (II)، گروه پنجم تیمار با $250 \mu\text{g/mL}$ کمپلکس شیف باز مس (II) تقسیم شدند. در زمان تیمار (روز هشتم انکوباسیون) تخم‌مرغ‌ها برش‌هایی از اسفنج ژلاتینی بر روی پرده کوریوآلاتوئیک جنین جوجه قرار گرفت و تیمار نمونه‌ها (در یک مرحله) در این محل انجام

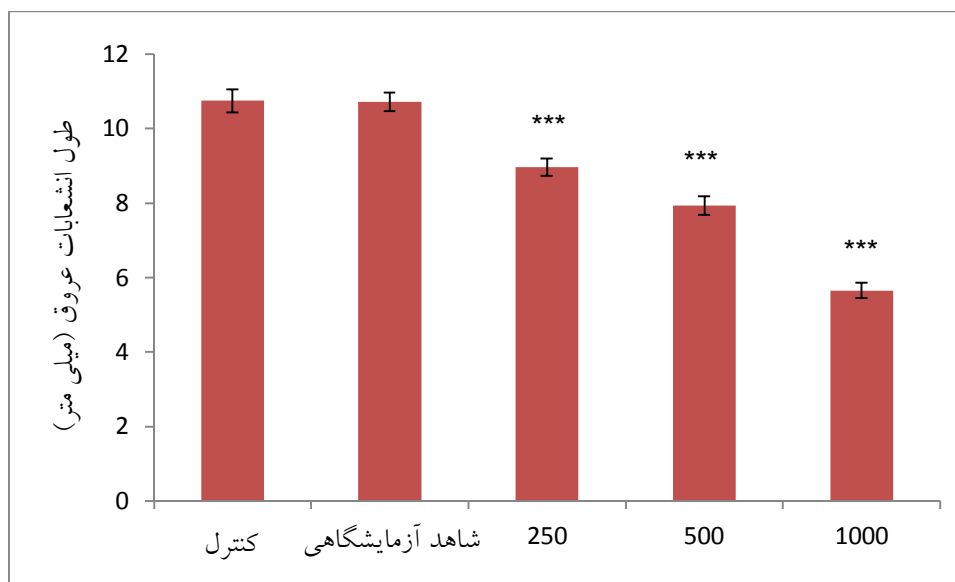


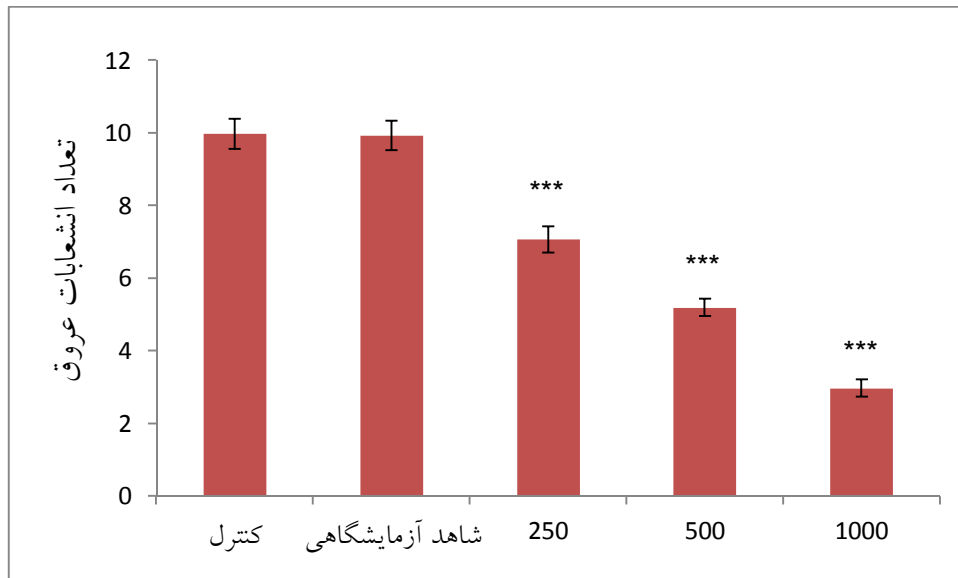
شکل (۱): تصاویر مورفولوژیک از میزان رگ زایی پرده کوریوالاتوتیک جوجه حاصل از تیمار با غلظت‌های مختلف کمپلکس شیف باز مس (II) می‌باشد.

قادر به کاهش یا مهار رگ زایی نیست ولیکن در گروه‌های تحت تیمار با کمپلکس شیف باز مس (II) به‌طور معنی‌داری ($P < 0.001$) تعداد و طول عروق خونی نسبت به گروه کنترل کاهش یافته است که این نشان‌دهنده خاصیت ضد رگ زایی این ترکیب می‌باشد (نمودار ۲).

بررسی طول و انشعابات عروق خونی در تیمار با کمپلکس شیف باز مس (II):

نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که تعداد و طول عروق خونی در گروه شاهد آزمایشگاهی در مقایسه با گروه کنترل تفاوت قابل توجهی وجود ندارد به‌عبارتی دیگر وجود نرمال سالیین به‌تنهایی



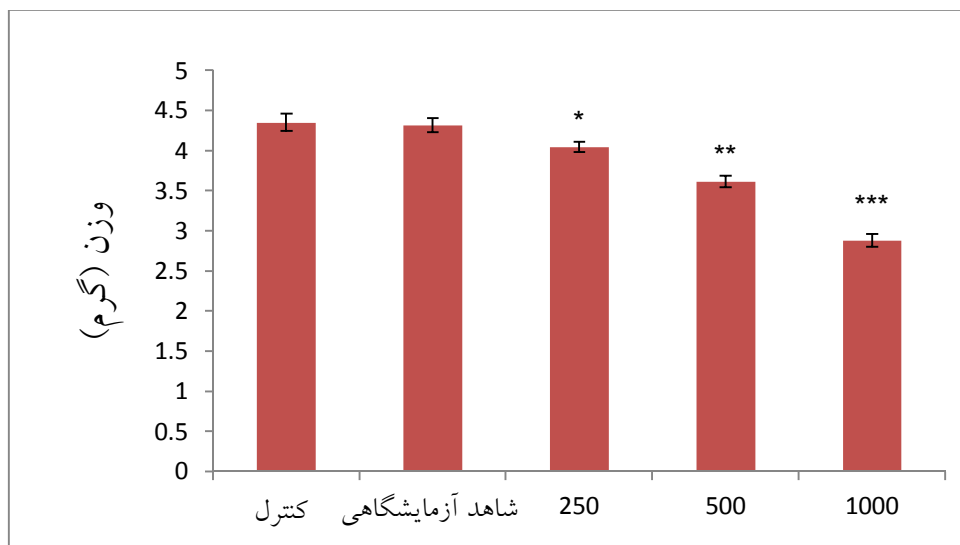


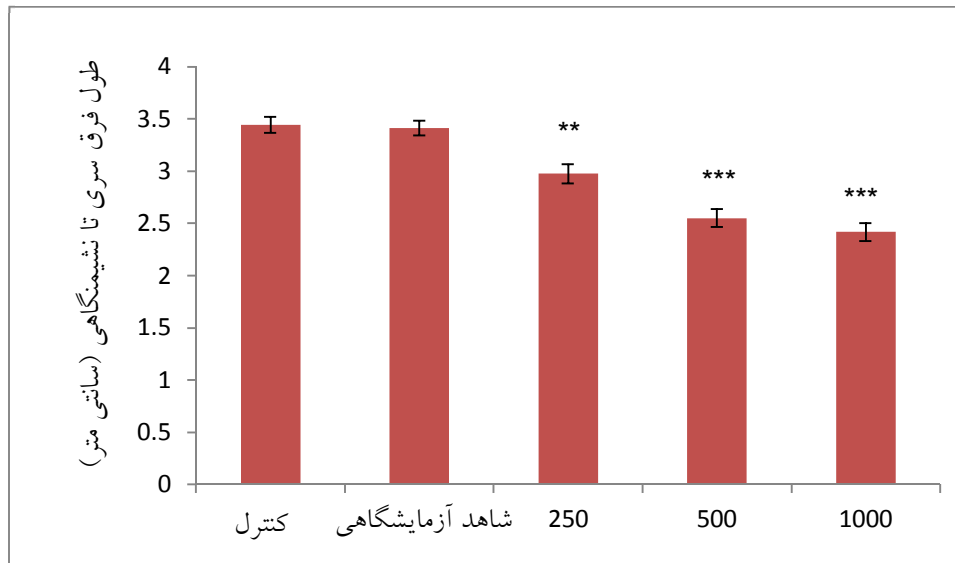
نمودار (۲): میانگین طول و تعداد عروق خونی پرده کوریوآلانتوییک جوجه تیمار شده با غلظت‌های مختلف کمپلکس شیف باز مس (II) (۱۰۰۰، ۵۰۰ و ۲۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) در مقایسه با گروه کنترل. تفاوت در سطح $P < 0.05$ ، $P < 0.01$ و $P < 0.001$ معنی‌دار می‌باشد.

بررسی طول و وزن جنین‌های جوجه تیمار شده با کمپلکس شیف باز مس (II): نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که کمپلکس شیف باز مس (II) بر روی اندازه و وزن جنین‌ها تأثیر معنی‌داری گذاشته است. در گروه اول (وزن جنین‌ها) نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری در حد $P < 0.05$ نشان می‌دهد. در حالی‌که با افزایش غلظت اثر بر روی وزن جنین‌ها نیز افزایش یافته است (گروه دوم $P < 0.01$ و گروه سوم $P < 0.001$). در بررسی طول جنین‌ها معنی‌داری در گروه اول در حد $P < 0.01$ است اما با افزایش غلظت کمپلکس شیف باز مس (II)، طول جنین کاهش بیشتری نسبت به گروه کنترل نشان داد (نمودار ۳).

بررسی طول و وزن جنین‌های جوجه تیمار شده با کمپلکس شیف باز مس (II):

نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که کمپلکس شیف باز مس (II) بر روی اندازه و وزن جنین‌ها تأثیر معنی‌داری گذاشته است. در گروه اول (وزن جنین‌ها) نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری در حد $P < 0.05$ نشان می‌دهد. در حالی‌که با افزایش غلظت اثر بر



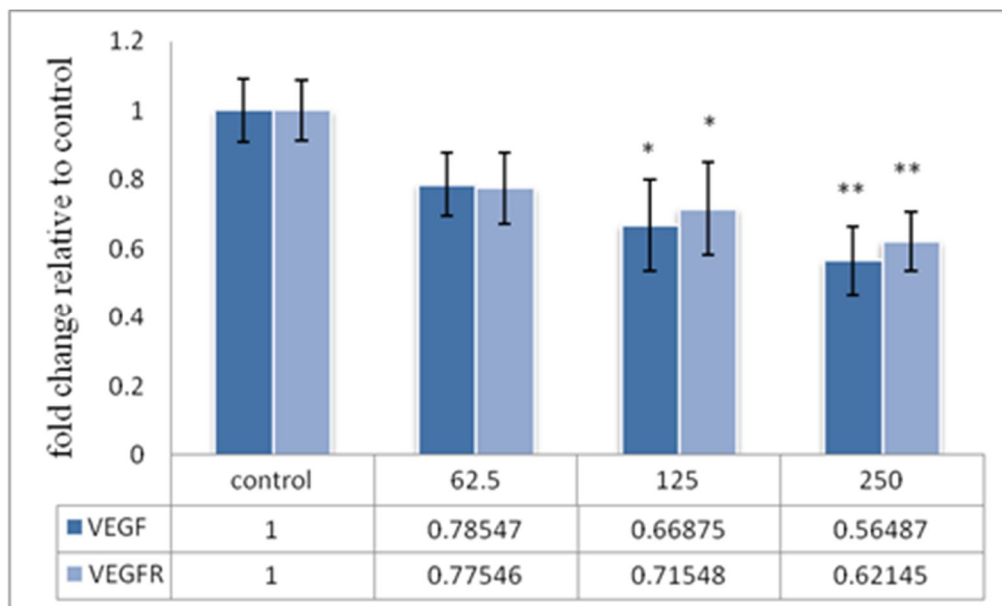


نمودار (۳): میانگین وزن و طول فرق سری تا نشیمنگاهی جنین‌های تیمار شده با غلظت‌های مختلف کمپلکس شیف باز مس (II) (۱۰۰۰، ۵۰۰ و ۲۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) در مقایسه با گروه کنترل. تفاوت در سطح $P < 0.05$ ، $P < 0.01$ و $P < 0.001$ معنی‌دار می‌باشد.

شیف باز مس (II) اثر مهارى بر بیان این ژن داشته است. اثر مهارى وابسته به غلظت است. کمپلکس شیف باز مس (II) همچنین قادر به مهار بیان ژن VEGF-R می‌باشد.

تغییرات بیان ژن‌های VEGF و VEGFR در سلول‌های MCF7 تحت تیمار با کمپلکس شیف باز مس (II):

ژن VEGF یکی از مهم‌ترین ژن‌های دخیل در پدیده رگ زایی می‌باشد که تغییرات بیان آن در سلول‌ها نشان می‌دهد که کمپلکس



شکل (۴): تغییرات بیان ژن VEGF و VEGFR در سلول‌های MCF7 تیمار شده با غلظت‌های مختلف کمپلکس شیف باز مس (II). تفاوت در سطح $P < 0.05$ ، $P < 0.01$ و $P < 0.001$ معنی‌دار می‌باشد.

یکی از مشخصه‌های تومورهای سرطانی، توانایی رگ زایی می‌باشد. رگ‌های خونی جدیدی توسط تومورها ایجاد می‌شود که

بحث و نتیجه‌گیری

مس (II) که یک شیف باز پیریدوکسال می‌باشد، می‌تواند تعداد و طول عروق خونی (شکل ۲) را در پرده کورواآلاتوئیک جوجه به‌طور معنی‌داری کاهش دهد. همچنین با افزایش غلظت، وزن و طول جنین‌ها کاهش پیدا کرد. با مقایسه نتایج مطالعه حاضر و مطالعه‌های پیشین که بر روی کمپلکس‌های شیف باز پیریدوکسال انجام شده است می‌توان این‌طور بیان کرد که کمپلکس شیف باز مس (II) به دلیل دارا بودن پیریدوکسال در ساختار خود دارای خاصیت ضد رگ زایی است و اثرات معنی‌داری بر فرآیند مهار رگ زایی دارد. در نتیجه می‌توان از این ترکیب به‌منظور مهار آنژیوژنز به‌عنوان یک روش درمانی استفاده نمود. بررسی تغییرات بیان ژن‌های VEGF و VEGF-R نشان داد که کمپلکس شیف باز مس (II) قادر به مهار بیان ژن‌های مذکور می‌باشد که تأییدی بر خاصیت ضد رگ‌زایی این ترکیب است.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله نویسندگان مقاله از کارشناسان آزمایشگاه زیست‌شناسی دانشگاه آزاد اسلامی مشهد کمال تشکر و قدردانی را دارند که در فراهم آوردن امکانات این تحقیق همکاری لازم را مبذول داشتند.

اکسیژن و مواد غذایی موردنیاز برای رشد خود را فراهم می‌کند. بنابراین درمانی که سبب جلوگیری از رگ زایی جدید توسط تومور سرطانی شود، باعث جلوگیری از تغذیه رسانی به تومور می‌شود و در نتیجه رشد تومور متوقف می‌گردد. لذا استفاده از داروهایی که قادرند رگ زایی را تحت کنترل قرار دهند روش شایعی جهت درمان بیماری‌هایی نظیر تومورهای پیشرفته، متاستاز، ورم مفاصل و غیره که رگ زایی در آن‌ها افزایش قابل‌توجهی دارد، محسوب می‌شود (۲۳، ۲۴). شیف بازها بالقوه داروهای ضد سرطانی نیز هستند و زمانی که از شیف بازها در تهیه کمپلکس‌های فلزی استفاده می‌گردد خاصیت ضد سرطانی این کمپلکس‌ها در مقایسه با لیگاند آزاد تقویت می‌شود (۲۵). ترکیبات ویتامین B₆ مانند پیریدوکسال ۵-فسفات، پیریدوکسال، پیریدوکسین و پیریدوکسامین دارای اثرات ضد رگ زایی و ضد سرطان هستند (۲۶). در مطالعه‌ای از ترکیبات پیریدوکسال ۵-فسفات، پیریدوکسال، پیریدوکسین و پیریدوکسامین به‌منظور مهار آنژیوژنز استفاده شد. نتایج حاصل از مطالعه مذکور اثر ضد رگ زایی پیریدوکسال ۵-فسفات و پیریدوکسال را نشان داد و می‌توان پیشنهاد کرد که اثر ضد توموری بالای ویتامین B₆ ممکن است از طریق سرکوب رگ زایی باشد (۲۷). نتایج حاصل از این پژوهش نشان می‌دهد که کمپلکس شیف باز

References:

1. Ruhrberg C. Endogenous inhibitors of angiogenesis. *J Cell Sci* 2001;114(18): 3215-6.
2. Weidner N, Folkman J, Pozza F, Bevilacqua P, Allred EN, Moore DH, et al. Tumor angiogenesis: a new significant and independent prognostic indicator in early-stage breast carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 1992;84(24): 1875-87.
3. Vailhé B, Vittet D, Feige J-J. In vitro models of vasculogenesis and angiogenesis. *Lab Invest* 2001;81(4): 439.
4. Auerbach R, Kubai L, Knighton D, Folkman J. A simple procedure for the long-term cultivation of chicken embryos. *Develop Biol* 1974;41(2): 391-4.
5. Gimbrone MA, Leapman SB, Cotran RS, Folkman J. Tumor dormancy in vivo by prevention of neovascularization. *J Experimen Med* 1972;136(2): 261-76.
6. Cozzi PG. Metal-Salen Schiff base complexes in catalysis: practical aspects. *Chem Soc Rev* 2004;33(7): 410-21.
7. Gupta K, Sutar AK. Catalytic activities of Schiff base transition metal complexes. *Coord Chem Rev* 2008;252(12-14): 1420-50.
8. Holm RH, Solomon EI, Majumdar A, Tenderholt A. Comparative molecular chemistry of molybdenum and tungsten and its relation to hydroxylase and oxotransferase enzymes. *Coord Chem Rev* 2011;255(9-10): 993-1015.
9. Jazdzewski BA, Tolman WB. Understanding the copper-phenoxyl radical array in galactose oxidase: contributions from synthetic modeling studies. *Coord Chem Rev* 2000;200: 633-85.
10. Bréfuel N, Vang I, Shova S, Dahan F, Costes J-P, Tuchagues J-P. Fe II Spin crossover materials based on dissymmetrical N 4 Schiff bases including 2-pyridyl and 2R-imidazol-4-yl rings: Synthesis,

- crystal structure and magnetic and Mössbauer properties. *Polyhedron* 2007;26(8): 1745-57.
11. Praveen C, Kumar KH, Muralidharan D, Perumal P. Oxidative cyclization of thiophenolic and phenolic Schiff's bases promoted by PCC: a new oxidant for 2-substituted benzothiazoles and benzoxazoles. *Tetrahedron* 2008;64(10): 2369-74.
 12. Li Y-F, Liu Z-Q. Ferrocenyl Schiff base as novel antioxidant to protect DNA against the oxidation damage. *Eur J Pharm Sci* 2011;44(1-2): 158-63.
 13. Nair MS, Arish D, Joseyphus RS. Synthesis, characterization, antifungal, antibacterial and DNA cleavage studies of some heterocyclic Schiff base metal complexes. *J Saudi Chem Soc* 2012;16(1): 83-8.
 14. Balasubramanian K, Karvembu R, Prabhakaran R, Chinnusamy V, Natarajan K. Synthesis, spectral, catalytic and antimicrobial studies of PPh3/AsPh3 complexes of Ru (II) with dibasic tridentate O, N, S donor ligands. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc* 2007;68(1): 50-4.
 15. Jayabalakrishnan C, Karvembu R, Natarajan K. Catalytic and antimicrobial activities of new ruthenium (II) unsymmetrical Schiff base complexes. *Transition Metal Chemistry* 2002;27(7): 790-4.
 16. Prabhakaran R, Geetha A, Thilagavathi M, Karvembu R, Krishnan V, Bertagnolli H, et al. Synthesis, characterization, EXAFS investigation and antibacterial activities of new ruthenium (III) complexes containing tetradentate Schiff base. *J Inorganic Biochemistry* 2004;98(12): 2131-40.
 17. Refat M, Sadeek S. Preparation and characterization of Tin (II) complexes with isomeric series of Schiff bases as ligands. *J Korean Chem Soc* 2006;50(2): 107-15.
 18. Elsayed SA, Noufal AM, El-Hendawy AM. Synthesis, structural characterization and antioxidant activity of some vanadium (IV), Mo (VI)/(IV) and Ru (II) complexes of pyridoxal Schiff base derivatives. *J Mol Structure* 2017;1144: 120-8.
 19. Mukherjee T, Pessoa JC, Kumar A, Sarkar AR. Formation of an unusual pyridoxal derivative: characterization of Cu (II), Ni (II) and Zn (II) complexes and evaluation of binding to DNA and to human serum albumin. *Inorganica Chim Acta* 2015;426: 150-9.
 20. Rosu T, Pahontu E, Reka-Stefana M, Ilies D-C, Georgescu R, Shova S, et al. Synthesis, structural and spectral studies of Cu (II) and V (IV) complexes of a novel Schiff base derived from pyridoxal. Antimicrobial activity. *Polyhedron* 2012;31(1): 352-60.
 21. Berg JM, Tymoczko JL, Stryer L, Stryer L. *Biochemistry*. 5th ed. WH Freeman and Company New York: 2002.
 22. Mousavi M, Baharara J, Zafar-Balanezhad S, Shaheokh-Abadi K. The effect of saffron aqua extract on angiogenesis in chick chorioalantoic membrane. *Zahedan J Res Med Sci* 2014;16(3): 55-8.
 23. Quesada AR, Muñoz-Chápuli R, Medina MA. Anti-angiogenic drugs: from bench to clinical trials. *Med Res Rev* 2006;26(4): 483-530.
 24. ZAFAR BS, Parivar K, Baharara J, MOHSENI KH. The effect of rapamycin on angiogenesis in chick chorioalantoic membrane. 2009.
 25. Basak S, Sen S, Banerjee S, Mitra S, Rosair G, Rodriguez MG. Three new pseudohalide bridged dinuclear Zn (II) Schiff base complexes: Synthesis, crystal structures and fluorescence studies. *Polyhedron* 2007;26(17): 5104-12.
 26. Mizushima Y, Xu X, Matsubara K, Murakami C, Kuriyama I, Oshige M, et al. Pyridoxal 5'-phosphate is a selective inhibitor in vivo of DNA

- polymerase α and ϵ . *Biochem Biophys Res Commun* 2003;312(4): 1025-32.
27. Matsubara K, Matsumoto H, Mizushima Y, Mori M, Nakajima N, Fuchigami M, et al. Inhibitory effect of glycolipids from spinach on in vitro and ex vivo angiogenesis. *Oncol Rep* 2005;14(1): 157-60.

EVALUATION OF EFFECT SCHIFF BASE COMPLEX Cu^{2+} N, N'-DIPYRIDOXYL (1,2 DIAMINOBENZENE) ON ANGIOGENESIS PROCESS ON CHORIOALLANTOIC MEMBRANE AND GENES EXPRESSION OF VEGF AND VEGF-R

Soheyla Yadamani¹, Ali Neamati^{2*}, Masoud Homayouni³, Samira Yadamani⁴

Received: 18 Aug, 2018; Accepted: 26 Oct, 2018

Abstract

Background & Aims: Angiogenesis plays an important role in tumor growth and metastasis of cancer; therefore, compounds that inhibit the angiogenesis process can prevent tumor growth. Recently, Schiff base complexes have become important due to properties such as anticancer, anti-oxidant, and the like. In this study, the angiogenesis effect of the copper Schiff base complex on the chorioallantoic membrane was investigated.

Materials & Methods: to do research from 40 egg spatula were used. After 48 hours of incubation, a window was cut on eggs and were treated by Schiff base complex on the eighth day. On the twelfth day, photographs were taken from the samples. The number and length of blood vessels, and then the weight and length of the embryos were measured. Technique of Real Time PCR were used to study the change genes expression of VEGF and VEGF-R on MCF7 cells.

Results: The results showed that the Schiff base complex was able to significantly reduce the number and length of blood vessels. Also, by increasing the complex concentration, the weight and length of the embryos decreased. Investigating the genes expression (VEGF and VEGF-R) showed that the Schiff base complex $Cu(II)$ were able to inhibit genes expression.

Conclusion: The results indicate that this combination can reduce and inhibit the process of angiogenesis. Therefore, it can be introduced as a candidate in treatment to pathological diseases such as cancer.

Keywords: Copper Schiff base complex, Angiogenesis, Chorioallantoic membrane, Real Time PCR

Address: Department of Biology, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran

Tel: +989155046940

Email: neamati.ali@gmail.com

SOURCE: URMIA MED J 2018; 29(9): 650 ISSN: 1027-3727

¹ MSc., Department of Biology, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran

² Associate Professor, Department of Biology, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran (Corresponding Author)

³ Assistant Professor, Department of Biology, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran

⁴ MSc., Department of Biology, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran