

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

وزارت علوم، تحقیقات و فناوری  
دانشگاه تحصیلات تکمیلی علوم پایه  
گاوزنگ - زنجان



بررسی اثر کمپلکس های فلزی کورکومین بر ساختار و  
عملکرد آنزیم پراکسیداز و اثرات سمی آنها بر باکتری و  
سلول سرطانی

پایان نامه کارشناسی ارشد  
نام دانشجو: پریسا جهانگشای آبرس

استاد راهنما: دکتر لیلا حسنی  
استاد مشاور: دکتر فخری السادات محمدی

مهر ۱۳۹۳

## تقدیم به دخترم غزل

که لحظه لحظه این پایان نامه متعلق به اوست

## تقدیم به همسر مهربانم

به کسی که به واقع بسان جویباری کوچک سنگ به سنگ راه را با  
من لمس کرد و در این وادی مرا تنها نگذاشت

## تقدیم به پدر و مادرم

آنانکه به من آموختند و دعای خیرشان بدرقه راهم بوده و هست

## تشکر و قدردانی

من به سرچشمه خورشید نه خود بردم راه

ذره‌ای بودم و مهر تو مرا بالا برد

نخستین سپاس و ستایش از آن خداوندی است که بنده کوچکش را در دریای بی‌کران اندیشه، قطره- ای ساخت تا وسعت آن را از دریچه اندیشه‌های ناب آموزگاران بزرگ به تماشا نشیند. لذا اکنون که در سایه سار بنده نوازی‌هایش پایان‌نامه حاضر به انجام رسیده است به خود لازم می‌دانم تا مراتب سپاس را از بزرگوارانی به جا آورم که اگر دست یاریگرشان نبود، هرگز این پایان‌نامه به انجام نمی- رسید.

با تشکر از استاد عالیقدر، سرکار خانم دکتر حسنی که زحمت راهنمایی این پایان‌نامه را بر عهده داشتند و در طی این مدت از همراهی و مساعدت بی‌دریغ ایشان بهره‌مند گشتم.  
با تشکر از استاد گرانقدر، سرکار خانم دکتر محمدی که مشاوره پایان‌نامه‌ی اینجانب را بر عهده داشتند و با ارائه نظرات ارزنده، مرا در پیشبرد اهداف این پایان‌نامه یاری نمودند.  
با تشکر از دوستان ارجمندم، اکرم حمیدی، مریم قهرمانی‌نسب، زهرا آل‌خمیس و دیگر دوستانم که مرا در این تحقیق یاری نمودند.  
و در خاتمه از تمام عزیزانی که نامی از آنها به میان نیامد و اگر حضور ایشان نبود، راه به جایی نمی- بردم قدردانی و تشکر می‌کنم.

نامشان زمزمه نیمه شب مستان باد

تا نگویند که از یاد فراموشانند

## چکیده

کورکومین ادویه طبیعی هندی است که به عنوان بخش فعال در گیاه زردچوبه وجود دارد. این ترکیب دارای خواص مفید گسترده‌ای مثل خواص ضد التهابی، ضد اکسیدانی، ضد باکتریایی، بازدارنده شیمیایی و همین‌طور فعالیت شیمی درمانی است. ارزیابی آنالوگ‌ها یا ترکیبات جدید کورکومین به خاطر خواص درمانی آن‌ها برای محققین جذاب است. کمپلکس‌های فلزی کورکومین یکی از موضوعات تحت بررسی است و تعدادی از ترکیبات دارای اجزا فعال دارویی با خواص بهبود یافته اخیراً سنتز شده است. گالیم کورکومین و گالیم دی-استیل کورکومین توسط خسرو محمدی در سال ۲۰۰۵ سنتز و ویژگی‌های آن‌ها تعیین شد. در این تحقیق خواص ضد باکتریایی و ضد سرطانی این دو کمپلکس کورکومینی بررسی شد. علاوه بر این اثر کمپلکس‌ها بر Horseradish peroxidase (HRP) در این تحقیق ارزیابی شد. تحقیقات آنزیمی نشان داد که هر دو کمپلکس، نه تنها باعث افزایش فعالیت آنزیم می‌شوند بلکه مقاومت آنزیم را نیز در شرایط اکسیداتیو افزایش می‌دهند. همچنین نتایج نشان دادند که تمایل HRP برای سوبسترای پراکسید هیدروژن کاهش می‌یابد، در حالی که تمایل برای فنول، سوبسترای دیگر آنزیم، در اثر میانکنش کمپلکس‌ها با آنزیم افزایش می‌یابد. انرژی فعال-سازی واکنش آنزیمی  $E_a^\#$ ،  $\Delta G^\#$  و  $\Delta H^\#$  به خصوص در حضور گالیم کورکومین کاهش می‌یابد. افزایش فعالیت آنزیم می‌تواند به علت تغییرات مشاهده شده در پارامترهای ترمودینامیکی باشد. علاوه بر این  $V_{max}$  و  $K_m$  را نیز می‌توان با تغییرات ساختمانی HRP که به علت میانکنش آنزیم با کمپلکس‌ها رخ داده تفسیر کرد. مطالعات دورنگ نمایی دورانی نشان دادند که این ترکیبات فشردگی ساختمان اطراف گروه کاتالیتیکی هم آنزیم را کاهش می‌دهند. نتایج اسپکتروسکوپی فلورسانس نشان دادند که فاصله بین گروه هم و اسیدهای آمینه احتمالاً در حضور کمپلکس‌ها افزایش می‌یابد. سنجش MTT نشان داد که گالیم کورکومین و گالیم دی‌استیل کورکومین بر رده‌های LNCap، Bladder و MCF-7 اثر سمیت سلولی دارد. اثر کمپلکس‌ها بر باکتری استافیلوکوکوس آرنوس و اشرشیا کولی آزمایش شد. هر دو کمپلکس اثر چندانی بر این باکتری‌ها نشان ندادند. کلمات کلیدی: گالیم کورکومین، گالیم دی‌استیل کورکومین، پراکسیداز تریچه کوهی، سمیت سلولی.

## فهرست

صفحه	عنوان
۱	مقدمه
۱	۱.۱ معرفی کورکومین
۴	۱.۱.۱ منشأ کورکومین
۵	۲.۱.۱ ساختمان کورکومین
۹	۳.۱.۱ ثابت اسیدی
۹	۴.۱.۱ دسترس پذیری زیستی پایین کورکومین
۱۱	۵.۱.۱ پایداری کورکومین
۱۳	۲.۱ کمپلکس‌های فلزی کورکومین
۱۵	۱.۲.۱ معرفی کورکومین
۱۶	۳.۱ کاربردها و فعالیت‌های کورکومین
۱۷	۴.۱ ویژگی ضد اکسیدکنندگی کورکومین
۱۸	۱.۴.۱ آنزیم‌های ضد اکسیدان
۲۰	۲.۴.۱ معرفی پراکسیداز تریچه کوهی
۲۰	۳.۴.۱ ساختمان پراکسیداز تریچه
۲۳	۴.۴.۱ مکانیسم عمل آنزیم
۲۵	۵.۱ فعالیت ضد سرطانی کورکومین
۲۸	۱.۵.۱ رده‌های سلولی
۲۹	۶.۱ خواص ضدباکتریایی کورکومین
۲۹	۱.۶.۱ ساختار باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی
۳۰	۱.۱.۶.۱ ساختمان مخصوص دیواره سلولی باکتری‌های گرم مثبت
۳۱	۲.۱.۶.۱ ساختمان مخصوص دیواره سلولی باکتری‌های گرم منفی
۳۳	۲.۶.۱ سویه‌های باکتریایی
۳۳	اهداف تحقیق

## فصل دوم بخش تجربی

۳۵	..... ۱.۲ دستگاه‌ها
۳۶	..... ۲.۲ مواد زیستی
۳۷	..... ۳.۲ روش‌ها
۳۷	..... ۱.۳.۲ آماده‌سازی و تعیین غلظت محلول پروتئین پراکسیداز تربچه کوهی و کمپلکس‌های کورکومینی
۳۸	..... ۲.۳.۲ سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز تربچه
۳۸	..... ۳.۳.۲ بررسی فعالیت آنزیم در شرایط اکسیداتیو
۳۹	..... ۴.۳.۲ محاسبه پارامترهای آنزیمی
۴۰	..... ۵.۳.۲ محاسبه پارامترهای ترمودینامیکی
۴۰	..... ۶.۳.۲ طیف‌سنجی فلورسانس
۴۱	..... ۱.۶.۳.۲ بررسی اثر کمپلکس‌های کورکومینی بر HRP با استفاده از روش فلوریمتری ذاتی و سینکرونس
۴۲	..... ۷.۳.۲ مطالعات دورنگ‌نمایی دورانی
۴۳	..... ۸.۳.۲ مطالعات سلولی و روش اندازه‌گیری سمیت سلولی
۴۳	..... ۱.۸.۳.۲ آزمون MTT برای بررسی اثر ضد سرطانی گالیم کورکومین و گالیم دی‌استیل کورکومین
۴۴	..... ۹.۳.۲ مطالعات آنتی‌باکتریال
۴۵	..... ۱.۹.۳.۲ محیط کشت LB
۴۵	..... ۲.۹.۳.۲ محیط کشت مولر هیتون
۴۵	..... ۳.۹.۳.۲ تهیه استاندارد مک-فارلند
۴۵	..... ۴.۹.۳.۲ آماده‌سازی باکتری برای انجام آزمایش
۴۶	..... ۵.۹.۳.۲ روش براث ماکرودیلوشن برای تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (MIC)

## فصل سوم نتایج

۴۸	..... کلیات و هدف
۴۹	..... ۱.۳ تعیین ضریب جذب گالیم کورکومین و گالیم دی‌استیل کورکومین
۴۹	..... ۲.۳ بررسی فعالیت آنزیم در حضور کمپلکس‌های کورکومین
۵۱	..... ۳.۳ فعالیت آنزیم در شرایط اکسیداتیو
۵۵	..... ۴.۳ اثر کمپلکس‌های کورکومینی بر بازده کاتالیتیکی HRP
۶۰	..... ۵.۳ محاسبه انرژی فعال‌سازی و پارامترهای ترمودینامیکی واکنش آنزیمی
۶۲	..... ۶.۳ بررسی تیتراسیون فلورسانس ذاتی HRP توسط $Ga(cur)_3$ و $Ga(DAC)_3$
۶۷	..... ۱.۶.۳ پارامتر خاموشی استرن-ولمر

۶۹	..... بررسی فلورسانس سینکرونس HRP در حضور $Ga(DAC)_3$ و $Ga(cur)_3$
۷۳	..... دورنگ نمایی دورانی
۷۴	..... نتایج دورنگ نمایی دورانی (CD)
۷۶	..... سمیت سلولی کمپلکس‌های $Ga(DAC)_3$ و $Ga(cur)_3$
۷۷	..... نتایج مربوط به بررسی سمیت $Ga(DAC)_3$ و $Ga(cur)_3$ بر سلول‌های سرطانی Bladder
۷۸	..... بررسی سمیت $Ga(DAC)_3$ و $Ga(cur)_3$ بر سلول‌های سرطانی پروستات (LNCap)
۷۸	..... بررسی سمیت $Ga(DAC)_3$ و $Ga(cur)_3$ بر سلول‌های سرطانی سینه (MCF-7)
۷۹	..... مطالعه اثرات ضد باکتریایی کمپلکس‌های $Ga(DAC)_3$ و $Ga(cur)_3$
۸۰	..... بررسی اثر $Ga(DAC)_3$ و $Ga(cur)_3$ بر رشد باکتری <i>S. aureus</i>
۸۱	..... بررسی اثر $Ga(DAC)_3$ و $Ga(cur)_3$ بر رشد باکتری <i>E. coli</i>

## فصل چهارم

۸۳	..... نتیجه‌گیری
۸۶	..... پیشنهادات
۸۷	..... مراجع
۱۰۰	..... واژه‌نامه

## فهرست جداول

۳۶	..... جدول ۱.۲: مواد شیمیایی
۵۵	..... جدول ۱.۳: $IC_{50}$ پراکسید هیدروژن در حضور $Ga(DAC)_3$ و $Ga(cur)_3$
۵۸	..... جدول ۲.۳: پارامترهای آنزیمی در حضور غلظت‌های ۰، ۰/۵ و ۳ میکرومولار گالیم کورکومین
۵۹	..... جدول ۳.۳: پارامترهای آنزیمی در حضور غلظت‌های ۰، ۰/۵ و ۳ میکرومولار دی‌استیل کورکومین
۶۱	..... جدول ۴.۳: $E_a$ ، $\Delta G^\#$ ، $\Delta H^\#$ و $\Delta S^\#$ آنزیم HRP در حضور غلظت $3 \mu M$ گالیم کورکومین و گالیم دی‌استیل کورکومین در محدوده دمایی ۳۰-۱۰ درجه سانتیگراد
۶۱	..... جدول ۵.۳: مقادیر ثابت استرن-ولمر ( $K_{sv}$ ) آنزیم HRP در حضور $Ga(DAC)_3$ و $Ga(cur)_3$ در $pH=6$
۶۸	..... در طول موج تحریک ۲۸۰ nm و ۲۹۵ nm



## فهرست شکل‌ها

- شکل ۱.۱: کورکومینوئیدهای موجود در زردچوبه ..... ۲
- شکل ۲.۱: خواص دارویی کورکومین ..... ۳
- شکل ۳.۱: نمایی از برگ‌ها و ریزومهای زردچوبه ..... ۴
- شکل ۴.۱: ساختمان کورکومین ..... ۵
- شکل ۵.۱: ساختار شیمیایی فرم کتو و فرم انول کورکومین ..... ۶
- شکل ۶.۱: اشکال ممکن سیس-ترانس و کتو-انول کورکومین ..... ۶
- شکل ۷.۱: حالت مسطح فرم انولی و حالت پیچ خورده فرم کتو ..... ۷
- شکل ۸.۱: پایداری بخش هپتا دی ان کورکومین در اثر خاصیت دهندگی اتم هیدروژن ..... ۸
- شکل ۹.۱: ثابت اسیدی کورکومین ..... ۹
- شکل ۱۰.۱: ساختمان کورکومین و محصولات متابولیکی آن ..... ۱۱
- شکل ۱۱.۱: محصولات ناشی از تجزیه کورکومین ..... ۱۲
- شکل ۱۲.۱: نمای کلی ساختمان گالیم کورکومین و گالیم دی‌استیل کورکومین ..... ۱۵
- شکل ۱۳.۱: ساختمان سه بعدی پراکسیداز تربچه کوهی. گروه هم در مرکز ساختمان بین دو قلمرو نزدیک و دور قرار دارد و با ماریچ‌های آلفا و صفحات بتا احاطه شده است. دو یون کلسیم نیز در هر قلمرو به صورت کره‌ای دیده می‌شوند ..... ۲۱
- شکل ۱۴.۱: موقعیت آهن در گروه هم پراکسیداز تربچه ..... ۲۲
- شکل ۱۵.۱: طرز قرار گرفتن اسیدهای آمینه در پاکت هم ..... ۲۴
- شکل ۱۶.۱: نمایش جایگاه فعال پراکسیداز و نحوه عمل کاتالیتیکی آن ..... ۲۵
- شکل ۱۷.۱: خواص ضد سرطانی کورکومین ..... ۲۷
- شکل ۱۸.۱: مقایسه دیواره سلولی باکتری های گرم مثبت (a)، با دیواره سلولی باکتری های گرم منفی (b) ..... ۳۲
- شکل ۱.۳: درصد فعالیت آنزیم در حضور گالیم کورکومین (—) و گالیم دی‌استیل کورکومین (----) در بافر فسفات ۰/۰۲ مولار با  $pH=6$  و دمای اتاق ..... ۵۰
- شکل ۲.۳: (a) درصد فعالیت آنزیم و (b) سرعت واکنش آنزیمی را در حضور گالیم کورکومین شرایط

- اکسید کننده (—) و شرایط بهینه (-----)، و گالیم دی‌استیل کورکومین در شرایط اکسید کننده (---) و شرایط بهینه (---) در بافر فسفات pH=6 دمای اتاق ..... ۵۲
- شکل ۳.۳: اثر غلظت‌های ۰ (—)، ۱ (-----)، ۲ (.....) و ۳ (---) میکرومولار گالیم کورکومین بر آنزیم HRP در غلظت‌های اکسید کننده پراکسید هیدروژن در بافر فسفات pH=6 دمای اتاق ..... ۵۳
- شکل ۴.۳: اثر غلظت‌های ۰ (—)، ۱ (-----)، ۲ (.....) و ۳ (---) میکرومولار گالیم داسیتیل کورکومین بر آنزیم پراکسیداز تریچه در شرایط اکسیداتیو ..... ۵۴
- شکل ۵.۳: نمودار ادی-هافستی HRP در غلظت ۰ (♦)، ۰/۵ (▲) و ۳ (✱) میکرومولار گالیم کورکومین در pH=6 و دمای اتاق (غلظت سوبسترای فنول ثابت و غلظت سوبسترای H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> متغیر است) ..... ۵۶
- شکل ۶.۳: نمودار ادی-هافستی HRP در غلظت ۰ (♦)، ۰/۵ (▲) و ۳ (✱) میکرومولار گالیم دی‌استیل کورکومین در pH=6 و دمای اتاق (غلظت سوبسترای فنول متغیر و غلظت سوبسترای H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ثابت است) ..... ۵۸
- شکل ۷.۳: نمودار ادی-هافستی HRP در غلظت ۰ (♦)، ۰/۵ (▲) و ۳ (✱) میکرومولار گالیم کورکومین در pH=6 و دمای اتاق (غلظت سوبسترای فنول متغیر و غلظت سوبسترای H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ثابت است) ..... ۵۹
- شکل ۹.۳: نمودار آرنیوس ۰ (♦)، ۳ μM Ga(cur)<sub>3</sub> (▲) و ۳ μM Ga(DAC)<sub>3</sub> (✱) ..... ۶۰
- شکل ۱۰.۳: نمودار ایرینگ ۰ μM (♦)، ۳ μM Ga(cur)<sub>3</sub> (▲) و ۳ μM Ga(DAC)<sub>3</sub> (✱) ..... ۶۱
- شکل ۱۱.۳: طیف نشری HRP در pH=6 در عدم حضور و حضور ۱-۲۰ μM Ga(cur)<sub>3</sub> و در طول موج تحریک ۲۸۰ nm ..... ۶۴
- شکل ۱۲.۳: طیف نشری HRP در pH=6 در عدم حضور و حضور ۱-۲۰ μM Ga(DAC)<sub>3</sub> و در طول موج تحریک ۲۸۰ nm ..... ۶۴
- شکل ۱۳.۳: طیف نشری HRP در pH=6 در عدم حضور و حضور ۱-۲۰ μM Ga(Cur)<sub>3</sub> و در طول موج تحریک ۲۹۵ nm ..... ۶۶
- شکل ۱۴.۳: طیف نشری HRP در pH=6 در عدم حضور و حضور ۱-۲۰ μM Ga(DAC)<sub>3</sub> و در طول موج تحریک ۲۹۵ nm ..... ۶۶
- شکل ۱۵.۳: نمودار استرن-وولمر مربوط به اثر خاموشی Ga(Cur)<sub>3</sub> (♦) و Ga(DAC)<sub>3</sub> (✱) بر HRP در pH=6 و در طول موج تحریک ۲۸۰ nm ..... ۶۸
- شکل ۱۶.۳: نمودار استرن-وولمر مربوط به اثر خاموشی Ga(Cur)<sub>3</sub> (♦) و Ga(DAC)<sub>3</sub> (✱) بر HRP در pH=6 و در طول موج تحریک ۲۹۵ nm ..... ۶۹

- شکل ۱۷.۳: طیف نشری سینکرونس HRP ( $\Delta\lambda=60$  nm) در  $\text{pH}=6$  و در عدم حضور و حضور غلظت‌های  $1-20 \mu\text{M}$  کمپلکس  $\text{Ga}(\text{cur})_3$  ..... ۷۰
- شکل ۱۸.۳: طیف نشری سینکرونس HRP ( $\Delta\lambda=60$  nm) در  $\text{pH}=6$  و در عدم حضور و حضور غلظت‌های  $1-20 \mu\text{M}$  کمپلکس  $\text{Ga}(\text{DAC})_3$  ..... ۷۰
- شکل ۱۹.۳: طیف نشری سینکرونس HRP ( $\Delta\lambda=15$  nm) در  $\text{pH}=6$  و در عدم حضور و حضور غلظت‌های  $1-20 \mu\text{M}$  کمپلکس  $\text{Ga}(\text{cur})_3$  ..... ۷۱
- شکل ۲۰.۳: تغییرات طول موج نشر بیشینه با افزایش غلظت  $\text{Ga}(\text{cur})_3$  ..... ۷۲
- شکل ۲۱.۳: طیف نشری سینکرونس HRP ( $\Delta\lambda=15$  nm) در  $\text{pH}=6$  و در عدم حضور و حضور غلظت‌های  $1-20 \mu\text{M}$  کمپلکس  $\text{Ga}(\text{DAC})_3$  ..... ۷۳
- شکل ۲۲.۳: نشر آنزیم در طول موج بیشینه و در غلظت‌های ۰ تا  $20 \mu\text{M}$   $\text{Ga}(\text{DAC})_3$  ..... ۷۳
- شکل ۲۳.۳: طیف CD آنزیم تنها و آنزیم در حضور  $\text{Ga}(\text{DAC})_3$  (- - -) و  $\text{Ga}(\text{cur})_3$  (.....)، در بافر فسفات با  $\text{pH}=6$  ..... ۷۵
- شکل ۲۴-۳: میکرو پلیت ۹۶ خانه‌ای برای سنجش سمیت کمپلکس‌های کورکومین بر رده‌های سلولی با روش MTT ..... ۷۶
- شکل ۲۵.۳: درصد مرگ سلول‌های سرطانی Bladder در حضور غلظت‌های ۰ تا  $50$  میکرومولار گالیم کورکومین (■) و گالیم دی‌استیل کورکومین (□) ..... ۷۷
- شکل ۲۶.۳: درصد مرگ سلول‌های سرطانی LNCap در حضور غلظت‌های ۰ تا  $50$  میکرومولار گالیم کورکومین (■) و گالیم دی‌استیل کورکومین (□) ..... ۷۸
- شکل ۲۷.۳: درصد مرگ سلول‌های سرطانی MCF-7 در حضور غلظت‌های ۰ تا  $50$  میکرومولار گالیم کورکومین (■) و گالیم دی‌استیل کورکومین (□) ..... ۷۹
- شکل ۲۸.۳: تست ضد باکتری حلال DMF برای باکتری اشرشیا کولی ..... ۸۰
- شکل ۲۹.۳: اثر گالیم کورکومین (■) و گالیم دی‌استیل کورکومین (□) بر باکتری *S. aureus* ..... ۸۱
- شکل ۳۰.۳: اثر گالیم کورکومین (■) و گالیم دی‌استیل کورکومین (□) بر باکتری *E. coli* ..... ۸۲



# فصل اول

## مقدمه

### کورکومین<sup>۱</sup> و کمپلکس‌های فلزی آن

#### ۱.۱ معرفی کورکومین

اگر چه پیشرفت علم منجر به افزایش قابل توجه تنوع داروئی شده است، با این حال تخمین زده می‌شود که ۸۰٪ جمعیت دنیا نمی‌توانند از عهده هزینه درمان‌های کنونی برای بیماری‌هایشان برآیند. عوارض جانبی و سمیت بسیاری از داروهای جدید، سنگین‌تر از منافعیست که برای بیماران است. بنابراین درمانی ایمن‌تر، مؤثرتر و ارزان‌تر، مورد نیاز است. مکانیسم عمل داروهای گیاهی سنتی حتی با وجود اینکه اثر آنها به خوبی معین شده است، به صورت راز باقی مانده است. اگر چه در این بین، کورکومین، ترکیب زرد موجود در پودر زردچوبه یا کاری<sup>۲</sup> یک استثنا است، و تقریباً ۲۰۰۰ مقاله در ارتباط با خواص متعدد داروئی کورکومین منتشر شده است.

کورکومین پلی‌فنولی طبیعی است [۱] و معمولاً در ریزومهای گیاه کورکوما لانگا لین<sup>۳</sup> که متعلق به زیر شاخه خانواده زینگیبیراسه<sup>۴</sup> یا خانواده زنجبیلیان است، یافت می‌شود [۲]. به طور معمول زردچوبه به عنوان ادویه در آشپزی هندی، عامل آرایشی برای مراقبت‌های پوستی و در صنعت دارویی سنتی هند و چین استفاده می‌شود [۳]. چندین گونه از کورکومین وجود دارد که در این میان ریزوم کورکوما لانگا شامل کورکومین به عنوان ترکیب اصلی و مقدار کمی دمتوکسی کورکومین و بیس دمتوکسی کورکومین است. این مشتقات دی آریل هپتان، مجموعاً تحت عنوان کورکومینوئیدها شناخته می‌شوند [۴].

---

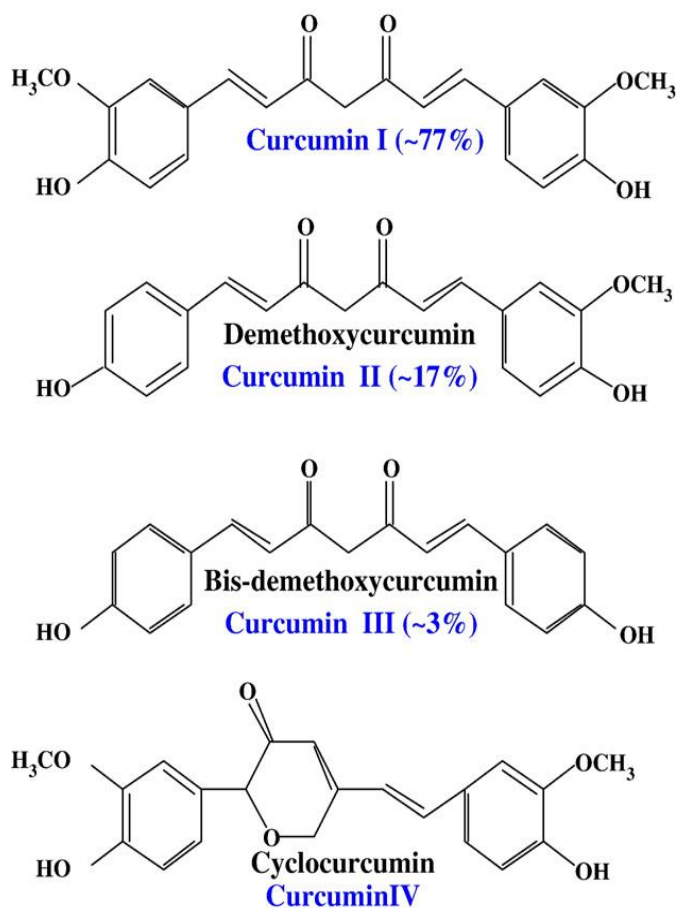
<sup>۱</sup> Curcumin

<sup>۲</sup> Curry

<sup>۳</sup> Curcuma longa linn

<sup>۴</sup> Zingiberaceae

کورکومینوئیدها شامل کورکومین به عنوان ترکیب اصلی، دمتوکسی کورکومین<sup>۱</sup>، بیس دمتوکسی کورکومین<sup>۲</sup> و سیکلکورکومین<sup>۳</sup> هستند. در شکل ۱-۱ ساختمان انواع کورکومینوئیدها دیده می‌شود [۵].

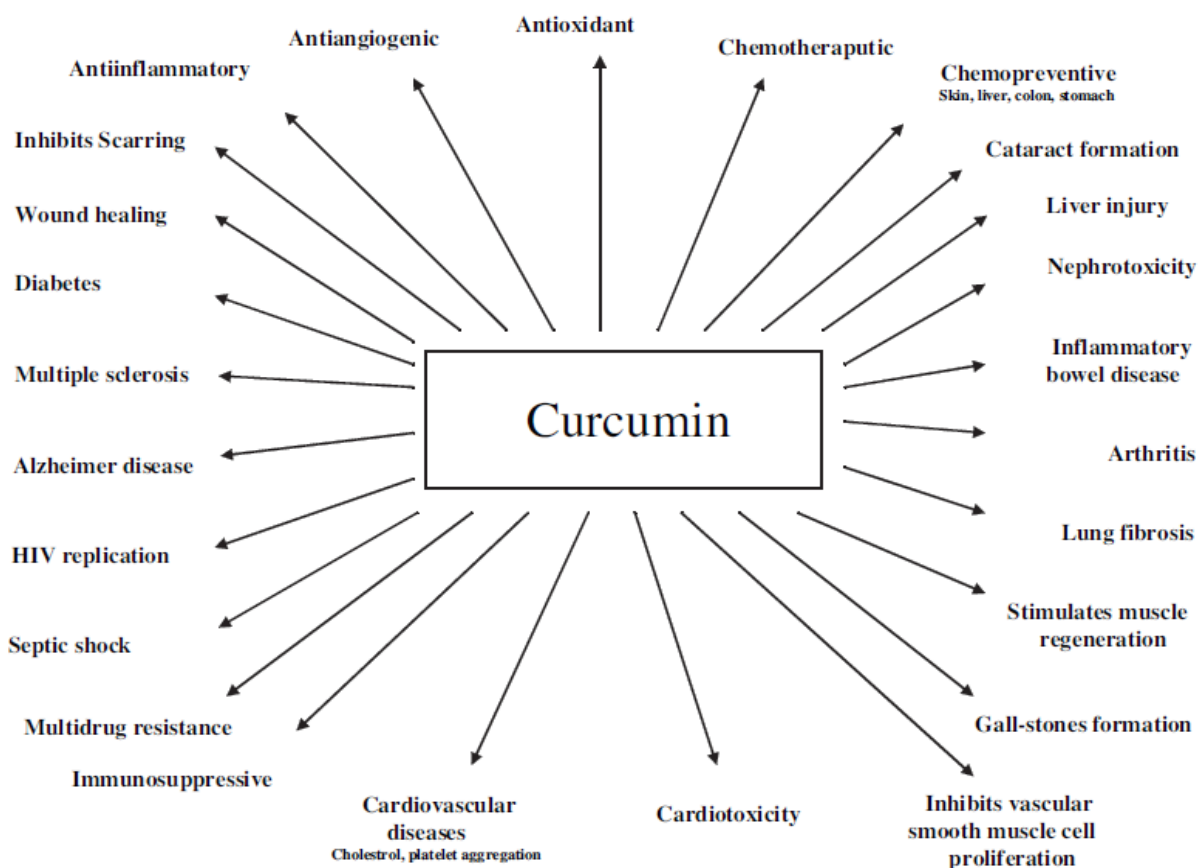


شکل ۱.۱: کورکومینوئیدهای موجود در زردچوبه [۶].

کورکومین از قرن‌ها پیش به خاطر فواید درمانی‌اش مورد استفاده بوده است، اما اولین مورد ثبت شده استفاده از آن به عنوان دارو در سال ۱۹۳۷ بود که برای درمان بیماری‌های صفراوی استفاده شد. پس

<sup>1</sup> Demethoxycurcumin  
<sup>2</sup> Bisdemethoxycurcumin  
<sup>3</sup> Cyclocurcumin

از آن پتانسیل درمانی آن در بیماری‌های التهابی، قلبی و عروقی، عصبی، دیابت، سیستیک فیبروز<sup>۱</sup> و دیگر ناهنجاری‌ها بررسی شد.



شکل ۲.۱: خواص داروئی کورکومین [۷].

در تحقیقات جدید اثر کورکومین بر علیه التهاب، سلول‌های سرطانی و آلودگی‌های قارچی، باکتریایی، ویروس و پروتوزوا به اثبات رسیده است. همچنین اثر مثبت آن در درمان و بهبود بیماری‌های قلبی، اچ. آی. وی، آلزایمر و صرع، آرتریت روماتوئید، افسردگی و زخم معده، کاهش کلسترول و چربی و قند خون مشخص شده است [۸]. علاوه بر این، مقالات زیادی وجود دارد که پیشنهاد می‌کند، کورکومین پتانسیل جلوگیری و درمان انواع مختلفی از بیماری‌های دیگر را دارد، این خواص به صورت شماتیک در شکل ۲.۱ نشان داده شده است.

<sup>1</sup> Cystic fibrosis

## ۱.۱.۱ منشأ کورکومین

زردچوبه به طور گسترده‌ای در آسیای جنوبی و جنوب شرقی کشت می‌شود. ارتفاع آن به یک متر می‌رسد و برگهای بیضوی با گل‌های سفید مایل به سبز و ریزوم‌های منشعب به رنگ زرد روشن دارد. زردچوبه معطر است، طبیعت آن گرم است و مزه‌ی تند دارد [۹و۲] (شکل ۳.۱).

ریزوم این گیاه که با عنوان ریشه نیز شناخته می‌شود مفیدترین بخش از این گیاه برای مصارف آشپزی و دارویی است [۱۰]. این گیاه سالانه به خاطر ریزوم‌هایش جمع‌آوری می‌شود. ریزومها چندین بار جوشانده شده (به مدت ۳۰ تا ۴۵ دقیقه) و سپس در اجاق خشک می‌شوند. سپس آنها آسیاب شده و معمولاً به عنوان ادویه در آشپزی هند، در ادویه کاری، برای رنگ آمیزی و برای انتقال رنگ به چاشنی خردل، استفاده می‌شوند [۱۱].



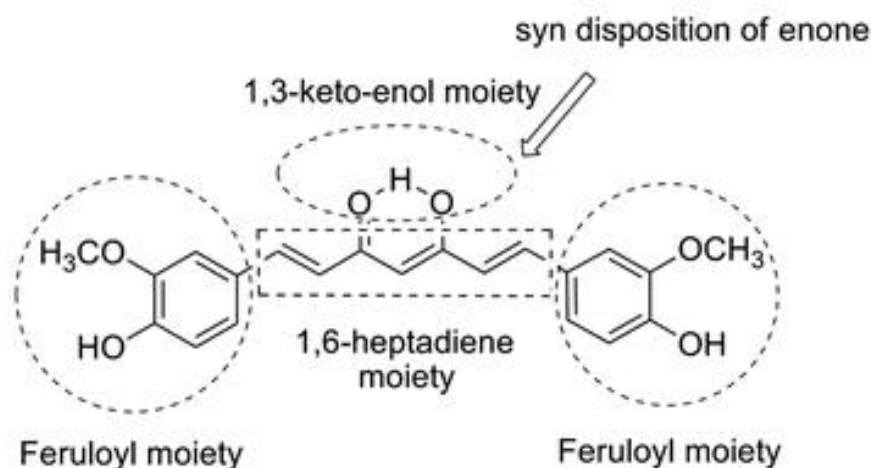
شکل ۳.۱: نمایی از برگها و ریزومهای زردچوبه [۱۲].



## ۲.۱.۱ ساختمان کورکومین

کورکومین در ابتدا، در سال ۱۸۱۵ توسط ووگل<sup>۱</sup> و پلتیر<sup>۲</sup> از زردچوبه جدا شد [۱۳] و در سال ۱۸۷۰ توسط دوبی<sup>۳</sup> به شکل کریستالی آماده شد [۱۴]. سپس در سال ۱۹۱۰ اسکلت دی فرولیل متان کورکومین با کار و تلاش ابتدایی لمپ<sup>۴</sup> و میلوبدسکا<sup>۵</sup> تأیید شد [۱۵].

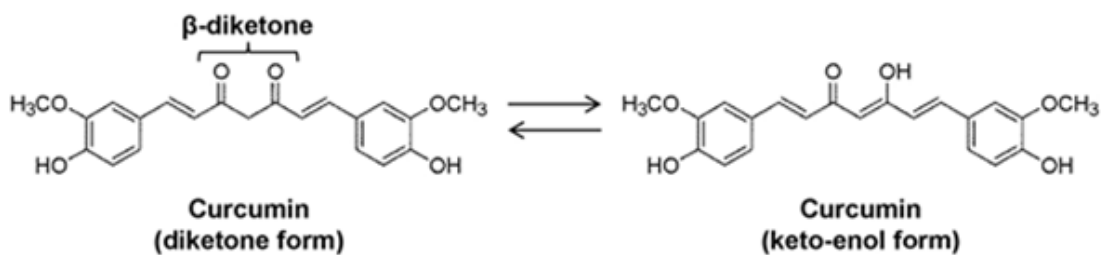
این ترکیب از نظر شیمیایی به عنوان دی فرولیل متان شناخته شده است. نام IUPAC آن 1,6-heptadiene-3,5-dione-1,7-bis(4-hydroxy-3-methoxyphenyl) (1E,6E) است. کورکومین از چندین گروه عملکردی تشکیل شده است و دارای دو گروه هیدروکسیل دو گروه کتون، دو گروه متوکسی، یک گروه متیلن فعال و دو پیوند دوگانه است [۱۶] (شکل ۴.۱).



شکل ۴.۱: ساختمان کورکومین [۱۷].

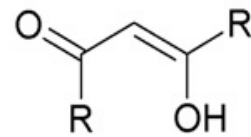
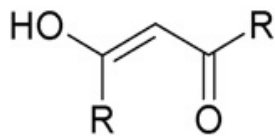
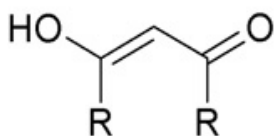
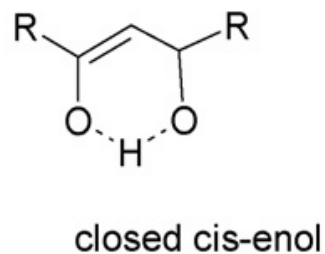
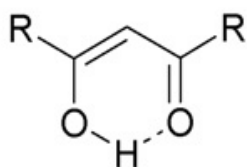
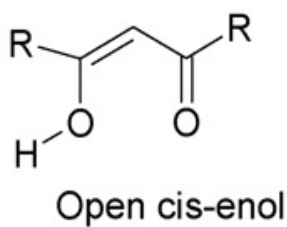
سیستم‌های حلقوی آروماتیک که فنولی هستند توسط ۲ گروه  $\alpha$  و  $\beta$  کربونیل به هم متصل شده‌اند. ۲ گروه کربونیل یک دی‌کتون را تشکیل می‌دهند. عامل  $\beta$ -دی‌کتون، مسئول انتقال اتم هیدروژن درون مولکولی است که منجر به کونفورماسیون کتو و انولی است [۱۵] (شکل ۵.۱).

<sup>1</sup> Vogel  
<sup>2</sup> Pelletier  
<sup>3</sup> Daube  
<sup>4</sup> Lampe  
<sup>5</sup> Milobedzka

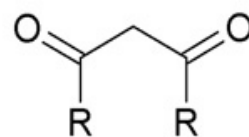
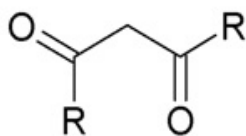
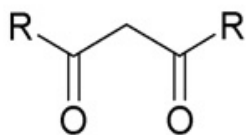


شکل ۵.۱: ساختار شیمیایی فرم کتو و فرم انول کورکومین [۱۸].

(A) Different enol forms



(B) Different keto forms

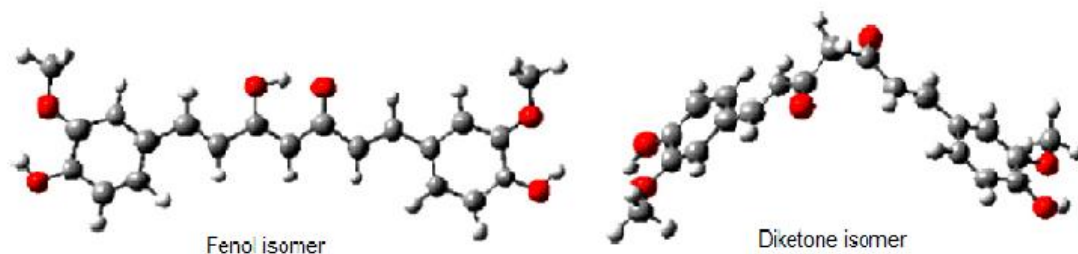


شکل ۶.۱: اشکال ممکن سیس-ترانس و کتو-انول کورکومین [۱۹].

این اشکال توتومری همین طور می‌توانند در فرم‌های مختلف سیس و ترانس وجود داشته باشند [۲۰-۲۱]، که این اشکال، شامل ۲ شکل سیس-انول بسته، ۱ شکل سیس-انول باز، ۳ شکل ترانس-انول، ۱ شکل سیس-دی‌کتو و ۲ شکل ترانس-کتو است (شکل ۶.۱).

سهم نسبی اشکال توتومری متفاوت و مختلف کتو و انولی به عواملی مثل دما، قطبیت حلال و جانشین‌های حلقه آروماتیک بستگی دارد. روشن نیست که کدام یک از ۹ شکل واقعاً در حالت پایه‌ای کورکومین در محلول وجود دارد. اگر چه مطالعات انکسار اشعه ایکس در حالت جامد کورکومین، مطالعات NMR در حالت محلول و مطالعات DFT<sup>۱</sup> در فازهای محلول و خلأ، دلالت می‌کند که شکل سیس-انولی، باعث پایداری زیاد مولکول می‌شود [۱۹].

مطالعه ساختمان انولی کورکومین هم در خلأ و هم در محلول از طریق مطالعات DFT نشان می‌دهد که شکل انولی مسطح، پایدارتر از شکل کتوننی غیر مسطح است [۲۲-۲۵]. شکل انولی با زاویه انحنای ۱۸۰°، دارای رزونانس کامل بین دو حلقه فنولی است و چگالی الکترونی در کل مولکول توزیع شده است. انرژی پایدارسازی شکل انولی بیشتر از شکل کتوننی است و مقدار آن ۵ و ۸ Kcal/mol گزارش شده است [۲۰ و ۲۳] (شکل ۷.۱).



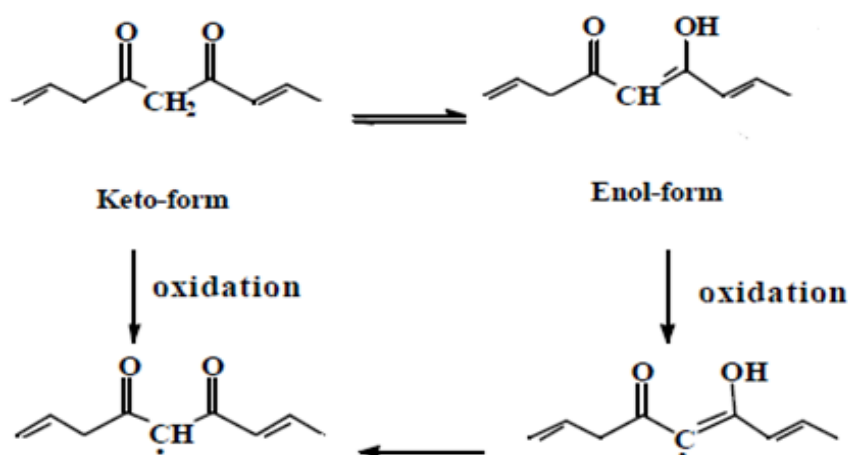
شکل ۷.۱: حالت مسطح فرم انولی و حالت پیچ خورده فرم کتو [۱۹].

در فرم انولی به دلیل مزدوج شدن سیستم الکترونی دو کروموفور فرولوئیل، جذب نور در ناحیه مرئی رخ می‌دهد و باعث رنگ زرد کورکومین می‌شود. در pH بالای ۸، فرم انولی زنجیر هپتا دی-انول غالب است و بخش فنولی کورکومین به طور عمده به عنوان یک دهنده الکترون عمل می‌کند. دی‌کتون‌ها، انولهای پایدار را تشکیل می‌دهند و به آسانی دی‌پروتونه شده و انولیت‌ها را تشکیل می‌-

<sup>۱</sup> Density functional theory

دهند. در تحقیق دیگری نشان داده شده است، در محلول‌های آبی اسیدی و خنثی و غشای سلولی فرم کتون کورکومین غالب است.

در محدوده pH ۳ تا ۷، کورکومین به عنوان یک دهنده اتم هیدروژن بسیار قوی عمل می‌کند. زیرا در فرم کتو بخش هپتا دی ان بین دو حلقه متوکسی فنیل شامل یک اتم کربن فعال شده است و پیوندهای C-H بر روی این کربن به دلیل غیر مستقر بودن الکترون بر روی اکسیژن‌ها بسیار ضعیف است [۲۶] (شکل ۸.۱).



شکل ۸.۱: پایداری بخش هپتا دی ان کورکومین در اثر خاصیت دهنده اتم هیدروژن [۲۶].

فرمول مولکولی کورکومین  $C_{21}H_{20}O_6$  است و وزن مولکولی آن ۳۶۸/۳۷ است. نقطه ذوب کورکومین  $183^{\circ}C$  است. در اسپکترومتری UV-Vis بالاترین جذب نوری کورکومین در ۴۲۰ nm است. این ترکیب در استون، دی متیل سولفوکساید، اتانول، متانول و کلروفرم حل می‌شود، ولی در آب و اتر حل نمی‌شود. تجزیه ساختمان شیمیایی کورکومین و فعالیت زیستی اش نشان داد که، حضور گروه هیدروکسیل روی حلقه فنول مسئول فعالیت آنتی‌اکسیدانتی کورکومین است، و همچنین حضور گروه‌های کتون و پیوند دوگانه برای فعالیت ضدالتهابی، ضد سرطانی و فعالیت علیه موتاسیون‌زایی ضروری است [۲۷ و ۲۸].

### ۳.۱.۱ ثابت اسیدی