



تهیه و مشخصه‌یابی نانو کمپلکس‌های Cr(II) , Zn(II) , Cu(II) با لیگاند کورکومین (زردچوبه) و بررسی خواص ضد باکتریایی آنها

نیلوفر اکبرزاده تربتی^{*}، نجمه رضایی^۱

۱- گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه سیستان و بلوچستان، زاهدان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۵/۰۳ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۵/۲۴

چکیده

در این تحقیق سه نانو کمپلکس از یون‌های مس (II)، روی (II) و کروم (II) با لیگاند کورکومین، پرداخته شده است. نانوذرات به روش التراسونیک پراب دار تهیه شدند و سپس توسط روش‌های رزنانس مغناطیسی هسته هیدروژن، پراکندگی اشعه ایکس، طیف سنجی فرا بنفش - مرئی، طیف سنجی مادون قرمز فوری، و میکروسکوپ الکترونی روبشی شناسایی شدند. مطالعات طیف مادون قرمز، نوارهای مربوط به گروه‌های عاملی لیگاندهای موجود در ساختار کمپلکس‌ها را تایید می‌کند. مطالعات حاصل از طیف فرابنفش، انتقالات الکترونی $d \rightarrow d$ برای فلزات و همچنین انتقالات درون لیگاندی $n \rightarrow \pi^*$ و $\pi \rightarrow \pi^*$ را تایید می‌نماید. تصاویر تهیه شده به کمک میکروسکوپ الکترونی روبشی نشان داد که ذرات دارای مورفولوژی یکنواختی هستند. محاسبات براساس الگوی اندازه ذرات را کمتر از ۱۰۰ نانومتر گزارش کرد که اثباتی بر تهیه نانوذرات می‌باشد. در نهایت فعالیت ضدباکتریال کمپلکس‌ها مورد بررسی قرار گرفت. با مقایسه نتایج بدست آمده، فعالیت ضد میکروبی لیگاند کورکومین مورد تایید قرار گرفت و همچنین نیز مشخص شد که با تشکیل نانو کمپلکس‌ها فعالیت ضدباکتری کورکومین افزایش یافته است.

واژه‌های کلیدی: التراسونیک، مورفولوژی، میکروسکوپ الکترونی روبشی

^{*} n.akbarzadeh@chem.usb.ac.ir

مقدمه

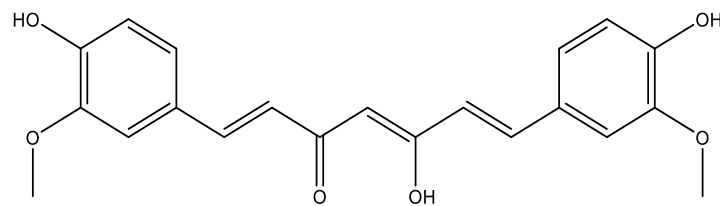
کورکومین با فرمول شیمیایی $(\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_6)$ یک ترکیب پلی فنوله آب‌گریز با رنگ دانه‌های زرد متمایل به نارنجی است که از ریزوم‌های زردچوبه استخراج و جداسازی می‌شود و به عنوان یک افزودنی توسط سازمان غذا و دارو تایید شده است [۱]. زردچوبه به نام علمی کورکوما لانگا از قدیم‌الایام در آسیا مورد استفاده قرار گرفته است. کورکومین از خانواده کورکومینوئیدها بوده و قرن‌هاست که در طب سنتی کارایی داشته و تاکنون اثر سمیتی از آن گزارش نشده است. این ماده در محیط با pH فیزیولوژیک پایدار بوده ولی در محیط بازی با pH بیش از ۸ به سرعت تخریب می‌شود [۲].

مطالعات انجام شده بیانگر توان درمانی این مولکول در گستره وسیعی از بیماری‌ها مانند سرطان، بیماری‌های ریوی، بیماری‌های مرتبط به شبکه عصبی، بیماری‌های کلیوی، متابولیسمی، بیماری‌های قلبی، و سایر بیماری‌های التهابی می‌باشد. مدارک و شواهد موجود نشان می‌دهد که کورکومین به شدت ضدالتهاب و آنتی‌اکسیدان التیام‌بخش زخم و دارای فعالیت ضد میکروبی است. مطالب ذکر شده نشان دهنده اثرات قابل توجه کورکومین بر روی مسیرهای التهاب آور و اثرات آنتی‌اکسیدانی این مولکول می‌باشد. مصرف کورکومین باعث کاهش التهاب بدن و در نتیجه ترشح انسولین در بدن و عملکرد آن شده است که در تعدیل دیابت موثر است [۳]. لذا به نظر می‌رسد که می‌توان آن را به عنوان یک مکمل ارزشمند در پیشگیری و درمان طیف وسیعی از بیماری‌های امروزی، مانند آلزایمر و مکملی مؤثر برای کنترل و مدیریت بیماری دیابت در نظر گرفت. توانایی کورکومین برای اتصال به مولکول‌های حامل، باعث افزایش حلالیت آن و استفاده بیولوژیکی بهتر

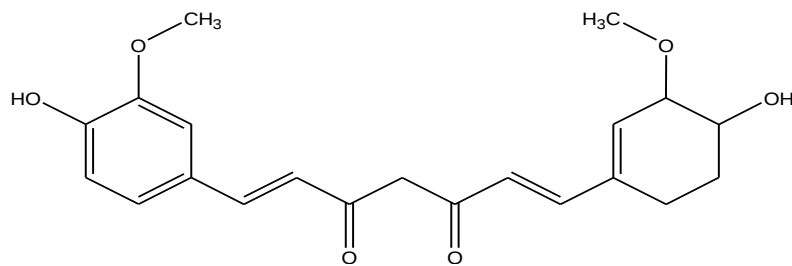
از این ماده می‌شود. اما اکثر یافته‌ها، مربوط به مطالعات آزمایشگاهی خارج از محیط سلول زنده می‌باشد و در برخی موارد، تاثیرات آن در محیط سلول زنده هنوز بررسی نشده و یا اثرات آن مشخص نیست [۴]. علیرغم گزارش‌های فراوانی که نشان‌دهنده فعالیت چندگانه کورکومین است، هنوز استفاده از این ماده برای درمان بیماری‌ها در انسان تأیید نشده است، اگرچه مصرف آن در مقیاس گرم برای انسان ایمن گزارش شده است. بنابراین مطالعات آینده باید بر روی درک عملکرد واقعی واکنش‌های مطالعه شده در محیط سلول زنده و استفاده از آن در درمان بیماری‌های انسانی متمرکز شود و با استفاده از فناوری‌های جدید و نانو فناوری، از این ماده با ارزش، در درمان بسیاری از بیماری‌ها بهره‌گیری شود. امروزه انواع شکل‌های مکمل دارویی کورکومین از جمله کپسول، پماد و کرم و یا حتی چسب کورکومین در داروخانه‌ها عرضه می‌شود [۵].

ساختار شیمیایی کورکومین باعث می‌شود که این مولکول قادر باشد در فرآیندهای فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی فراوانی شرکت کند. گروه‌های حلقوی موجود در کورکومین، محیطی آبریز ایجاد می‌کنند. ساختار تاتومری شامل فرم انولی در شکل (۱) و فرم کتونی در شکل (۲) می‌تواند بر روی آبریزی و قطبیت مولکول کورکومین تأثیرگذار باشد. این عوامل باعث می‌شود کورکومین قادر باشد با انواع زیادی از بیوماکرومولکول‌ها واکنش دهد. توانایی بالای کورکومین برای پیوند شدن مستقیم با پروتئین‌های متفاوت به علت ساختار و عملکرد مولکولی آن می‌باشد. از نظر شیمیایی کورکومین یک مولکول متان و اسیدفرولیک متصل‌شده با یک پل متیلن می‌باشد. کورکومین فنل خاصیت آب‌گریزی دارد که با یک پیونددهنده به هم متصل شده‌اند [۶]. مطالعات شبیه سازی مولکولی نشان می‌دهد که کورکومین ساختارهای متفاوتی را برای به حداکثر رساندن تماس نیروهای آب‌گریز با پروتئین‌هایی که با آن‌ها پیوند تشکیل می‌دهند را دارد. به

برهم کنش با حلقه‌های فنیل نیست بلکه این برهم کنش به وسیله پیوندهیدروژنی انجام می‌شود [۷]. تاتومریزه شدن کتو-انول باعث ایجاد عملکرد شیمیایی وسیعی برای مولکول کورکومین می‌شود. شکل انولی مولکول باعث می‌شود که میان مولکول‌های دهنده و پذیرنده پیوند هیدروژنی شکل بگیرد. فرم انولی کورکومین عامل کیلیت کننده مناسبی برای یون‌های فلزی دارای بار مثبت است که اغلب در جایگاه‌های فعال پروتئین‌های هدف دیده می‌شود.



شکل ۱. ساختار انولی مولکول کورکومین



شکل ۲. ساختار کتون مولکول کورکومین

مواد غذایی عمل‌آوری شده با حرارت، مورد استفاده قرار می‌گیرد [۸-۱۰].

اگرچه مصرف آن برای انسان ایمن گزارش شده است ولی مطالعات آینده باید بر روی درک عملکرد واقعی واکنش‌های مطالعه شده در محیط سلول زنده و استفاده از آن در درمان بیمای‌های انسانی متمرکز شود و با استفاده از فناوری‌های جدید و نانوفناوری، از این ماده با ارزش، در درمان بسیاری از بیماری‌ها بهره‌گیری شود [۱۱].

مطالعات زیادی برای استفاده بهینه از کورکومین، افزایش بازده آن در درمان بیماری‌ها انجام شده‌است. سیستم‌های تحویل دارو براساس نانوذرات برای استفاده از عوامل

عنوان مثال حلقه‌های فنیل کورکومین می‌توانند در اندرکنش‌های واندروالس $\pi-\pi$ با زنجیره‌های آمینواسیدهای حلقوی شرکت نمایند. در ساختار آب‌گریز کورکومین، گروه‌های کربونیل و فنلیک که در انتها مولکول واقع شده‌اند، می‌توانند در پیوندهای هیدروژنی با مولکول‌های هدف شرکت کنند این ساختار موجب واکنش الکترواستاتیک قوی و مستقیمی می‌شود که انرژی آزاد مطلوب پیوند را افزایش می‌دهد. در واقع اتصال کورکومین با DNA از طریق

با توجه به استفاده از کورکومین در صنایع غذایی، ارزیابی سمیت کورکومین توسط کارشناسان سازمان بهداشت جهانی در سازمان خواربار و کشاورزی بررسی شده است. در سال ۲۰۰۴ مقدار دریافت روزانه قابل قبول کورکومین ۳ mg/Kg گزارش شده است. همچنین مطالعات این ماده بیانگر عدم خاصیت سمیت و جهش‌زایی کورکومین می‌باشد. کورکومین در صنعت غذا به عنوان یک افزودنی رنگ دهنده به کار می‌رود. و در صنایع لبنی، روغن، چربی‌ها، ادویه‌جات، فرآورده‌های غلات و گوشتی استفاده می‌شود. میزان کورکومین در این مواد غذایی بین ۵ تا ۵۰۰ میلی گرم در کیلوگرم، بسته به نوع ماده غذایی می‌باشد. کورکومین ماده خشک پایداری بوده که به دلیل پایداری حرارتی آن در

Advance D8 Bruker، میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) EM 3200 و دستگاه اولتراسونیک Bruker AXS، استفاده شد.

سنتز نانو کمپلکس‌ها به روش اولتراسونیک پراب دار

جهت سنتز نانو کمپلکس (1) $[\text{Zn}(\text{Cur})_2(\text{H}_2\text{O})_2]$ در ابتدا بطور جداگانه 1.0 mmol لیگاند کورکومین در حداقل متانول حل شد. سپس 0.50 mmol روی (II) نیترات شش آبه در حداقل متانول حل شد. در ادامه محلول حاوی لیگاند، قطره قطره و همراه هم‌زدن به محلول فلزی اضافه گردید. در نهایت محلول بدست آمده به مدت ۱۰ دقیقه با ولتاژ ۱۵۰ وات و دمای ۵۰ درجه سلسیوس در دستگاه اولتراسونیک پرابدار تحت تابش قرار گرفت. رسوب بدست آمده پس از صاف شدن در دمای ۶۰ درجه سلسیوس خشک و جهت آنالیز مورد بررسی قرار گرفت.

نانو کمپلکس‌های (2) $[\text{Cu}(\text{Cur})_2(\text{H}_2\text{O})_2]$ و (3) $[\text{Cr}(\text{Cur})_2(\text{H}_2\text{O})_2]$ نیز طبق روش تهیه نانو ذره (۱) با نسبت‌های استیوکیومتری مربوطه ساخته شدند.

نتایج

طیف سنجی مادون قرمز (FT-IR)

شکل ۳ طیف مادون قرمز لیگاند کورکومین را نشان می‌دهد. مطابق این شکل فرکانس ارتعاش کششی در ناحیه cm^{-1} ۳۴۰۰ را می‌توان به هیدروژن گروه OH مولکول‌های آب نسبت داد و از طرفی ارتعاش در ناحیه cm^{-1} ۱۶۵۶ را می‌توان به فرکانس کششی C-H حلقه آروماتیک در نظر گرفت و همچنین پیک ارتعاشی در فرکانس cm^{-1} ۱۶۸۰ مربوط به گروه کربونیل می‌باشد. پیک ارتعاشی در فرکانس cm^{-1} ۱۵۲۰ می‌تواند مربوط به نوار کششی پیوند C-C حلقه آروماتیک باشد. پیک ارتعاشی در فرکانس cm^{-1} ۱۰۵۰ مربوط به گروه عاملی C-O در ساختار کورکومین است. ارتعاش دیده شده در محدوده cm^{-1} ۹۷۰ تا cm^{-1} ۸۸۶ می‌تواند مربوط به کششی‌های خارج از صفحه پیوند C-H حلقه باشد [۱۵].

آب‌گریز مانند کورکومین مناسب می‌باشد. کپسوله کردن این ماده و استفاده از نانوذرات از مطالعاتی است که به طور قابل توجهی مورد بررسی قرار می‌گیرد. الکترواکسید شدن داروهای غیر استروئیدی و ضدالتهابی مانند ایندومتاسین، مفنامیک‌اسید، دیکلوفناک با استفاده از الکتروکربن عمل‌آوری شده با نانوذرات ترکیب کورکومین و نیکل در محلول‌های قلیایی باعث افزایش کارایی داروهای مذکور شده است [۱۲].

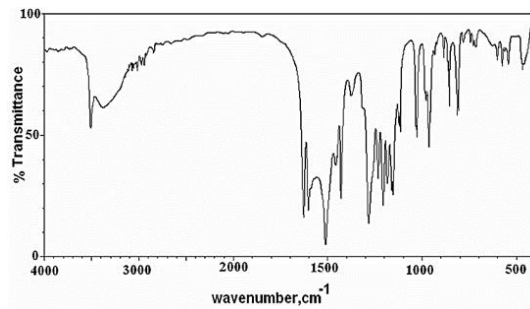
وجود فلزات واسطه در ترکیبات، منجر به ایجاد خاصیت درمانی شده همچنین کمپلکس‌های این فلزات با ترکیباتی مانند کورکومین به دلیل ساختار شیمیایی خاص، دارای خواص غذایی و دارویی گوناگون می‌باشند. کمپلکس حاوی مس و کورکومین بعنوان یک ترکیب آنتی‌بیوتیک موثر و کمپلکس روی با کورکومین دارای خاصیت ضدافسردگی و اثربخش در بیمای‌های گوارشی می‌باشد [۱۳ و ۱۴].

در این مقاله، ابتدا سه نانو کمپلکس $[\text{Zn}(\text{Cur})_2(\text{H}_2\text{O})_2]$ ، $[\text{Cu}(\text{Cur})_2(\text{H}_2\text{O})_2]$ و $[\text{Cr}(\text{Cur})_2(\text{H}_2\text{O})_2]$ با روش اولتراسونیک پراب دار سنتز و شناسایی شدند. سپس به بررسی خواص ضد باکتری و مقایسه این خواص در نانو ذرات و لیگاند اولیه پرداخته شد.

مواد و روش‌ها

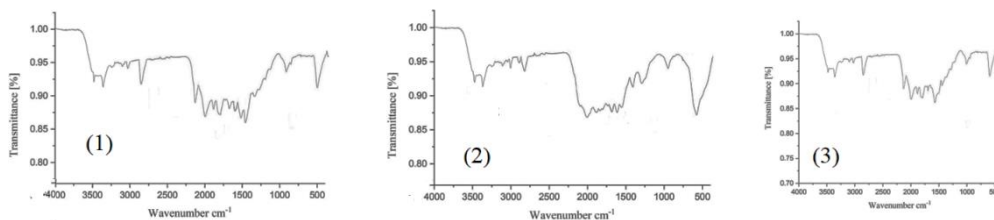
برای تهیه کمپلکس‌ها، از نمک روی (II) نیترات شش آبه $(\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O})$ ، مس (II) کلرید دو آبه $(\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O})$ و کروم (III) نیترات نه آبه $(\text{Cr}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O})$ و لیگاند بیولوژیکی کورکومین استفاده شد. همه مواد با خلوص ۹۹٪ و ساخت شرکت مرک آلمان بوده‌اند.

جهت شناسایی ترکیبات، ازطیف سنجی مادون قرمز (FT-IR) PERKIN ELMER (Spectrum Two)، دستگاه طیف الکترونی ماوراء بنفش و مرئی (UV-JASCO V-570)، رزونانس مغناطیسی هسته‌ای (Bruker $^1\text{H-NMR}$)، Vis، AVANC 300 MHz، پراش پرتو ایکس (XRD)



شکل ۳- طیف FT-IR مربوط به لیگاند کور کومین در محیط KBr

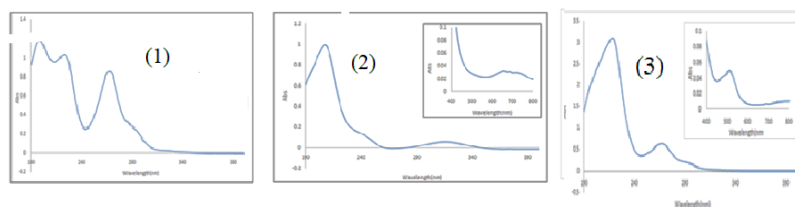
شکل ۴ طیف مادون قرمز نانو کمپلکس ها را نشان میدهد. که این امر نشان دهنده کنوردینه شدن کور کومین به یون های همانطور که دیده می شود کلیه ارتعاشات تغییر مکان داده اند
فلزی است. [۱۶]



شکل ۴- طیف FT-IR نانو ذرات

KBr محیط در (3) = $[\text{Cr}(\text{Cur})_2(\text{H}_2\text{O})_2]$, (2) = $[\text{Cu}(\text{Cur})_2(\text{H}_2\text{O})_2]$, (1) = $[\text{Zn}(\text{Cur})_2(\text{H}_2\text{O})_2]$

طیف الکترونی نانو کمپلکس ها در حلال متانول در شکل ۵ مشاهده می شود. نوارهای جذبی مشاهده شده در ناحیه nm ۲۰۰-۳۰۰ مربوط به انتقالات درون لیگاندی $\pi \rightarrow \pi^*$ و $n \rightarrow \pi^*$ می باشند. نوار جذبی که در ناحیه مرئی دیده می شود مربوط به انتقالات $d \rightarrow d$ یون ها است. از آن جا که یون فلزی Zn(II) دارای آرایش الکترونی d^{10} می باشد، لذا بدلیل پر بودن اوربیتال های d انتقال d-d در (1) مشاهده نمی شود. [۱۷]



شکل ۵- طیف UV-Vis نانو ذرات

(3) = $[\text{Cr}(\text{Cur})_2(\text{H}_2\text{O})_2]$, (2) = $[\text{Cu}(\text{Cur})_2(\text{H}_2\text{O})_2]$, (1) = $[\text{Zn}(\text{Cur})_2(\text{H}_2\text{O})_2]$

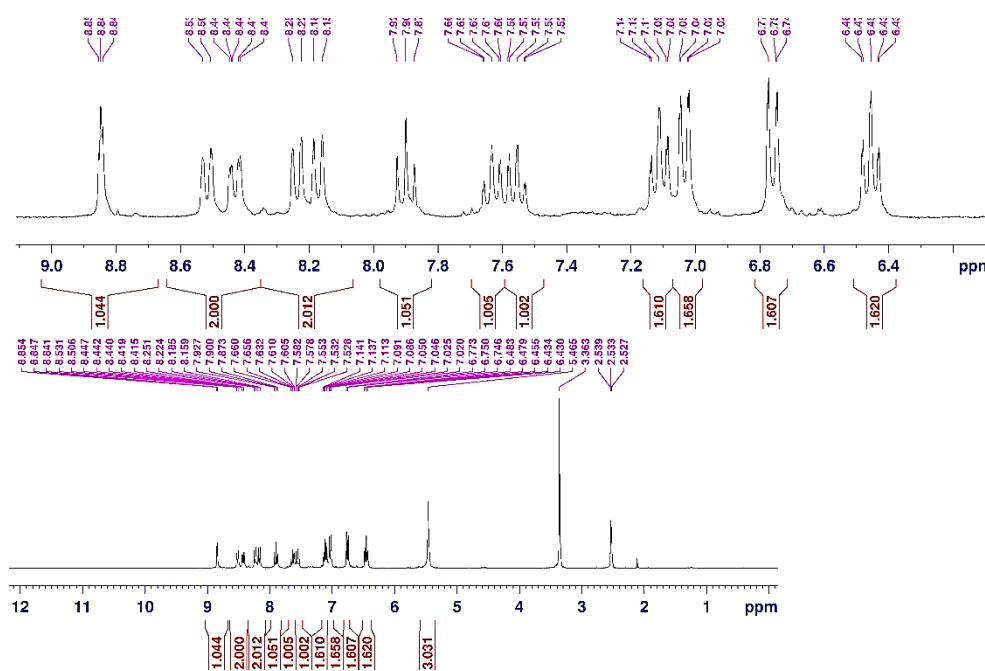
بررسی طیف رزونانسی مغناطیسی $^1\text{H-NMR}$

در میدان مغناطیسی متفاوتی رزنانس دارند. وجود ۹ پیک در شکل نشان دهنده ۹ هیدروژن متفاوت در ساختار می‌باشد. سیگنال موجود در نواحی ۳/۸ ppm مربوط به هیدروژن‌های مولکول آب می‌باشد و همچنین سیگنال مربوط به هیدروژن‌های حلال در ناحیه ۱/۸ ppm ظاهر شده و سایر هیدروژن‌های حلقه فنیل در محدوده ppm ۴/۶-۷/۶ می‌شوند همچنین برخی هیدروژن‌ها بدلیل شدت کم در طیف مشاهده نمی‌شود اما با پردازش به کمک نرم افزار می‌توان آن‌ها را مشاهده نمود [۱۸]. شکل ۶ طیف رزنانس مغناطیسی هسته را برای لیگاند کورکومین نشان می‌دهد.

بررسی طیف رزونانسی مغناطیسی $^1\text{H-NMR}$ لیگاند کورکومین

طیف لیگاند کورکومین در دمای اتاق در ۳۰۰ MHz و در حلال CDCl_3 ثبت شد.

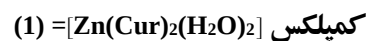
با توجه به ساختار کورکومین (شکل ۲) هیدروژن‌های متفاوتی با محیط شیمیایی مختلف وجود دارند که هر کدام



شکل ۶- طیف $^1\text{H-NMR}$ لیگاند کورکومین

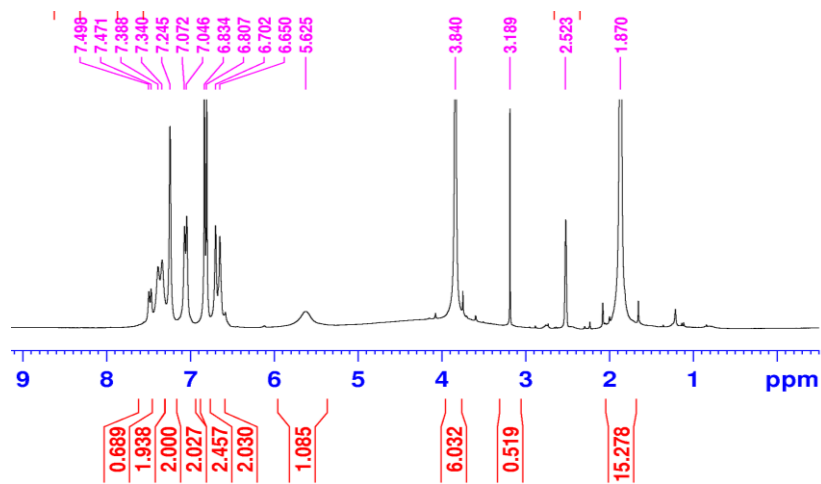
توجه به شکل ۷ در اثر اتصال لیگاند به فلز، هیدروژن‌ها جابجایی متفاوتی نسبت به لیگاند آزاد از خود نشان داده‌اند. مطابق شکل، پیک مشاهده در ناحیه ۳/۵ ppm را می‌توان به هیدروژن‌های آب نسبت داد و همچنین پیک نمایش داده شد در ناحیه ۲/۲ ppm مربوط به هیدروژن حلال می‌باشد و هیدروژن‌های حلقه هم در نواحی متفاوت از لیگاند قرار گرفته‌اند که بدلیل اینکه تعداد محیط‌های شیمیایی در اثر اتصال لیگاند بیشتر شده تعداد پیک‌ها هم بیشتر دیده می‌شوند

بررسی طیف رزونانسی مغناطیسی $^1\text{H-NMR}$ نانو کمپلکس



با توجه به خصلت دیامغناطیس بودن ترکیب $(1) = [\text{Zn}(\text{Cur})_2(\text{H}_2\text{O})_2]$ امکان ثبت طیف رزونانسی مغناطیسی هسته برای آن وجود دارد. طیف $^1\text{H-NMR}$ در دمای اتاق در ۳۰۰ MHz و در حلال CDCl_3 ثبت شد. با

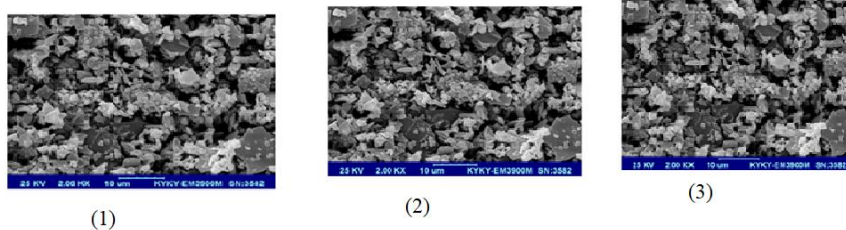
و همچنین برخی هیدروژن‌ها بدلیل شدت کم در طیف مشاهده نمی‌شود [۱۵] اما با پردازش به کمک نرم افزار می‌توان آن‌ها را مشاهده نمود.



شکل ۷. طیف ¹H NMR نانو کمپلکس $[Zn(Cur)_2(H_2O)_2]$ (1)

به صورت نانوذره و مورفولوژی تقریباً یکنواخت و یکسان می‌باشد.

تصاویر SEM نانو کمپلکس‌ها در شکل ۸ نشان داده شده است. همان‌طور که در شکل مشخص است نمونه تهیه شده



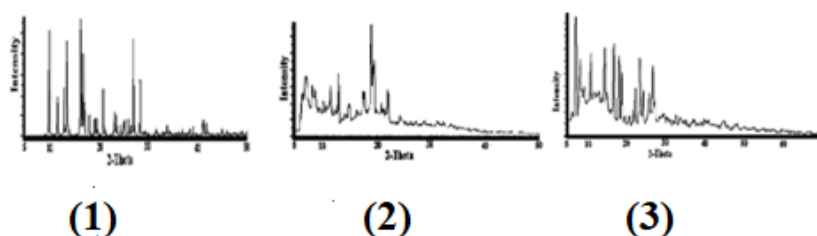
شکل ۸- تصاویر SEM نانو کمپلکس‌های

$(3) = [Mn(Cur)_2(H_2O)_2]$, $(2) = [Cu(Cur)_2(H_2O)_2]$, $(1) = [Zn(Cur)_2(H_2O)_2]$

الگوی XRD بدست آمده از پراش اشعه ایکس نانو کمپلکسها در شکل ۹ نشان داده شده است. از بررسی صورت گرفته در موقعیت 2θ ، پیک‌ها به صورت شارپ و

بررسی نتایج حاصل از الگوی XRD نانو کمپلکس‌ها

نانو کمپلکس دارای ساختار بلوری منظم و بصورت تک فاز مشاهده شد.



شکل ۹- تصاویر SEM نانو کمپلکس‌های

(3) = $[\text{Mn}(\text{Cur})_2(\text{H}_2\text{O})_2]$, (2) = $[\text{Cu}(\text{Cur})_2(\text{H}_2\text{O})_2]$, (1) = $[\text{Zn}(\text{Cur})_2(\text{H}_2\text{O})_2]$

میانگین اندازه ذرات که از معادله دبای شرر بدست آمده است در جدول ۱ نشان داده شده است.

جدول ۱- میانگین اندازه ذرات

Nano complex نانو کمپلکس	Particle size (nm) اندازه ذرات (نانومتر)
(1) = $[\text{Zn}(\text{Cur})_2(\text{H}_2\text{O})_2]$	60
(2) = $[\text{Cu}(\text{Cur})_2(\text{H}_2\text{O})_2]$	48
(3) = $[\text{Cr}(\text{Cur})_2(\text{H}_2\text{O})_2]$	54

کشنده باکتری (MBC) مورد ارزیابی قرار گرفتند. در این ارزیابی از دو نوع باکتری گرم منفی (اشریشیا کلائی و سودوموناس آئروژینوزا) و دو نوع باکتری گرم مثبت (استافیلوکوک اورئوس و اتروکوک فکالیس) استفاده شد. از دیسک‌های ۳۰ میکرو گرمی جنتامایسین و امیکاسین نیز به عنوان آنتی‌بیوتیک استاندارد جهت بررسی و مقایسه خواص ضدباکتری ترکیبات سنتز شده، استفاده شد. نتایج حاصل از

فعالیت ضد میکروبی لیگاند کورکومین و نانو کمپلکس‌های سنتز شده

جهت بررسی فعالیت ضد میکروبی لیگاند و نانو کمپلکس‌های سنتز شده، این ترکیبات توسط سه روش انتشار دیسک و غلظت مهار کننده‌ی رشد باکتری (MIC) و کمترین غلظت

آزمون‌های انتشار دیسک، MIC و MBC در جداول ۲ تا ۴ گزارش شده است.

جدول ۲. قطر محدوده بازدارنده لیگاند کور کومین و نانو کمپلکس‌های سنتز شده

		(1)	(2)	(3)		
	Curcumin	Zn [(Cur) ₂ (H ₂ O) ₂]	[Cu (Cur) ₂ (H ₂ O) ₂]	[Cr (Cur) ₂ (H ₂ O) ₂]	Gentamycin	Amikacin
<i>Escherichia Coli</i>	11	18.3	19.5	20	18.8	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	12	18.6	18.8	20.5	20.1	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	11	18.3	18.9	20.4	-	18.5
<i>Enterococcus faecalis</i>	14	16.5	18.2	20.5	-	19.7

آزمون تعیین غلظت مهار کننده رشد باکتری (MIC)

جهت اطمینان از نتایج این آزمون ۳ بار تکرار و هر ۳ بار نتایج اندازه گیری شده و میانگین آن در جدول ۳ آمده است.

جدول ۳. حداقل غلظت مهار رشد نانو کمپلکس‌های تهیه شده بر روی باکتری‌های مورد مطالعه

	Curcumin	(1)	(2)	(3)
		Zn [(Cur) ₂ (H ₂ O) ₂]	Cu [(Cur) ₂ (H ₂ O) ₂]	Cr [(Cur) ₂ (H ₂ O) ₂]
<i>Escherichia Coli</i>	0.125	0.005	0.003	0.002
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0.126	0.008	0.001	0.002
<i>Staphylococcus aureus</i>	0.258	0.008	0.002	0.003
<i>Enterococcus faecalis</i>	0.215	0.009	0.005	0.006

آزمون تعیین کمترین غلظت کشنده باکتری (MBC)

جهت اطمینان از نتایج این آزمون ۳ بار تکرار و هر ۳ بار

نتایج اندازه‌گیری شده و میانگین آن در جدول ۴ آمده

است.

جدول ۴- حداقل غلظت کشنده نانو کمپلکس‌های تهیه شده بر روی باکتری‌های مورد مطالعه

	Curcumin	(1)	(2)	(3)
		Zn	Cu	Cr
		$[(\text{Cur})_2(\text{H}_2\text{O})_2]$	$[(\text{Cur})_2(\text{H}_2\text{O})_2]$	$[(\text{Cur})_2(\text{H}_2\text{O})_2]$
<i>Escherichia Coli</i>	0.138	0.003	0.002	0.002
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0.139	0.005	0.002	0.002
<i>Staphylococcus aureus</i>	0.290	0.005	0.005	0.006
<i>Enterococcus faecalis</i>	0.245	0.012	0.007	0.009

انتقالات بار و انتقالات (d-d) برای نانو کمپلکس‌های فلزی مس و کروم مشاهده شدند. در ادامه، مطالعات الگوهای پراش XRD و محاسبه اندازه نانو ذرات با کمک معادله دبای شرا انجام شد. همچنین، تصاویر SEM نیز برای این ترکیبات ثبت شد.

با ارزیابی و مقایسه نتایج نانو کمپلکس‌ها مشاهده شد که میزان فعالیت ضد میکروبی آنها زیاد است که باعث افزایش فعالیت بیولوژیکی آنها می‌شود این امر بدلیل کاهش اندازه ذرات نانو کمپلکس و افزایش سطح آنها است که باعث نفوذ بهتر ترکیب به داخل غشای سلولی باکتری‌ها می‌شود. با مقایسه نتایج نانو کمپلکس‌ها مشاهده شد که با ثابت بودن لیگاند و تغییر یون فلزی، میزان فعالیت ضد میکروبی ترکیبات تغییر یافته است که این امر بیان کننده تاثیر نوع یون‌های فلزی در میزان خاصیت ضد باکتریایی کمپلکس‌ها دارد.

نتیجه‌گیری

در این کار تحقیقاتی به تهیه نانو کمپلکس‌هایی با یون‌های فلزی Zn(II) ، Cu(II) و Cr(II) به همراه لیگاند کورکومین با استفاده از روش اولتراسونیک پراب دار پرداخته شد. ساختار نانو کمپلکس‌ها توسط روش‌های FT-IR، UV-Vis، $^1\text{H-NMR}$ ، XRD و SEM شناسایی شد.

در طیف‌های FT-IR این ترکیبات، به خوبی پیک‌های مربوط به گروه‌های عاملی OH، C=O و C-H مشاهده شدند. طیف‌های الکترونی نانو کمپلکس‌ها نیز در ناحیه ۸۰۰-۲۰۰ nm در حلال متانول ثبت شد و انتقالات درون-لیگاندی ($\pi \rightarrow \pi^*$ ، $n \rightarrow \pi^*$) مربوط به لیگاند کورکومین و

پوشیده شده است اما باکتری گرم منفی از یک لایه پتیدوگلاایکنی نازک و همچنین یک غشای بیرونی شامل لیپولی ساکارید، فسفولیپید و پروتئین، ساخته شده است. بنابراین، باکتری‌های گرم منفی دیواره سلولی قطبی تری دارند و علاوه بر نازکی دیواره، قطبیت دیواره سلولی نیز دارای اهمیت است که باعث نفوذ راحت تر کمپلکس‌ها می‌شود.

تقدیر و تشکر

نویسندگان مقاله از حمایت های مالی دانشگاه سیستان و بلوچستان صمیمانه قدردانی می کنند.

با مقایسه میزان فعالیت ضد باکتری ترکیبات بر علیه هر دو نوع باکتری گرم منفی و گرم مثبت مشاهده شد که فعالیت نانو کمپلکس‌های سنتز شده در برابر باکتری گرم منفی بیشتر از گرم مثبت بوده است. این تفاوت عملکرد در برابر باکتری- های متفاوت را می‌توان ناشی از تفاوت ساختاری غشاء بیرونی باکتری‌ها دانست. از نظر ساختارهای درونی هر دو نوع باکتری گرم مثبت و گرم منفی مشابه هستند اما ساختار دیواره بیرونی آن‌ها متفاوت است. غشا بیرونی باکتری‌های گرم مثبت با یک لایه ضخیم شامل تکوئیک اسید و لیپوتکوئیک اسید که لایه پتیدوگلاایکنی نامیده می‌شود

1. Lan X, Liu Y, Wang L, Wang H, Hu Zh, Dong H, Yu Zh, Yuan Y, A review of curcumin in food preservation: Delivery system and photosensitization. *Food Chemistry*. 2023; 424: 136464.
2. Urošević M, Nikolić L, Gajić I, Nikolić V, Dinić A, Miljković V, Curcumin: Biological Activities and Modern Pharmaceutical Forms. *Antibiotics (Basel)*. 2022; 11(2): 135.
3. Ono K, Hasegawa K, Naiki H, Yamada M, Curcumin has potent anti-amyloidogenic effects for Alzheimer's betaamyloid fibrils in vitro. *Journal of Neuroscience Research*. 2004; 75: 742.
4. Pandey N, Strider J, Nolan W C, Yan S X, Galvin J E. Curcumin inhibits aggregation of alpha-synuclein *Acta Neuropathol. Acta Neuropathologica*. 2008; 115: 479.
5. Pullakhandam R, Srinivas P N, Nair M K, Reddy G B. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 2009; 485: 115.
6. Rabiee A, Ebrahim-Habibi A, Ghasemi A, NematGorgani M. How curcumin affords effective protection against amyloid fibrillation in insulin. *Food & Function Journal*. 2013; 4: 1474.
7. Liao J H, Wu T H, Chen W T, Lu Sh. Y, Wang Y H, Wang Sh P, Hsu Y M, Huang Y Sh, Huang Z Y, Lin Y C, Chang C M, Huang F Y, Wu Sh H. The Comparative Studies of Binding Activity of Curcumin and Didemethylated Curcumin with Selenite: Hydrogen Bonding vs Acid-Base Interactions. *Scientific Reports*. 2015; 04: 17614.
8. Mazaheri M, Moosavi-Movahedi A A, Saboury A A, Habibi Rezaei M, Shourian M, Farhadi M, Sheibani N. Curcumin mitigates the fibrillation of human serum albumin and diminishes the formation of reactive oxygen species. *Protein & Peptide Letters*. 2015; 22: 348.
9. Miura T, Suzuki K, Kohata N, Takeuchi H. Metal binding modes of Alzheimer's amyloid β -peptide in insoluble aggregates and soluble complexes. *Biochemistry*. 2000; 39: 7024.
10. Hongsprabhas P, Barbut S. Effects of N-ethylmaleimide and CaCl_2 on cold gelation of whey protein isolate. *Food Research International*. 1997; 30: 451.
11. Kondori T, Shahraki O, Akbarzadeh-T N, Aramesh-Boroujeni Z. Two Novel Bipyridine-based Cobalt (II) Complexes: Synthesis, Characterization, Molecular Docking, DNA-Binding and Biological Evaluation. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*. 2020; 1.
12. McFarland J, The nephelometer: an instrument for estimating the number of bacteria in suspensions used for calculating the opsonic index and for vaccines. *Journal of the American Medical Association*. 1907; 49(14): 1176.
13. Kannappan R, Gupta S C, Kim J H, S. Reuter, Aggarwal B B. Neuroprotection by spice-derived nutraceuticals: You are what you eat!. *Molecular Neurobiology*. 2011; 44: 142.
14. Gupta S C, Kim J H, Prasad S, Aggarwal B B. Regulation of survival, proliferation, invasion, angiogenesis, and metastasis of tumor cells through modulation of inflammatory pathways by nutraceuticals. *Cancer and Metastasis Reviews*. 2010; 29: 405.
15. Fu Y, Zheng S, Lin J, Ryerse J, Chen A. Curcumin protects the rat liver from CCl_4 -caused injury and fibrogenesis by attenuating oxidative stress and suppressing inflammation. *Molecular Pharmacology*. 2007; 73: 399.

Synthesis and identification of Cr(II), Zn(II), Cu(II) nano complexes with curcumin (turmeric) ligand and their antibacterial properties

Nilufar Akbarzadeh -T^{*1}, Najme Rezaei¹

1- Department of Chemistry, University of Sistan and Baluchestan, Zahedan, Iran

Abstract

In this research, three nanocomplexes of Copper (II), Zinc (II) and Chromium (II) ions with curcumin ligand have been studied. Nanoparticles were prepared by ultrasonic probe method and then identified by hydrogen nuclear magnetic resonance, X-ray scattering, ultraviolet-visible spectroscopy, Fourier infrared spectroscopy, and scanning electron microscopy. The infrared spectrum studies confirm the bands related to the functional groups of the ligands in the structure of the complexes. The studies obtained from the ultraviolet spectrum confirm d→d electron transitions for metals as well as n → π* and π→π* intra-ligand transitions. The images obtained with the help of scanning electron microscope showed that the particles have a uniform morphology. Calculations based on the model reported the size of the particles to be less than 100 nm, which is a proof of the preparation of nanoparticles. Finally, the antibacterial activity of the complexes was investigated. By comparing the obtained results, the antimicrobial activity of curcumin ligand was confirmed and it was also found that the antibacterial activity of curcumin increased with the formation of nanocomplexes.

Key words: Ultrasonic, morphology, scanning electron microscope

* n.akbarzadeh@chem.usb.ac.ir