دوماهنامه طبّ جنوب
پژوهشکده زیست- پزشکی خلیج فارس
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی بوشهر
سال بیست و یکم، شماره ۲، صفحه ۱۲۴ - ۱۱۶ (خرداد و تیر ۱۳۹۷)

Iran South Med J 2018; 21(2): 116-124

ارزیابی اثر کشندگی مشتقات مختلف کورکومین بر روی تریکوموناس واژینالیس در شرایط آزمایشگاهی

مرادعلی فولادوند (PhD)[۱*]، افشین برازش (PhD)[۲]، رحیم طهماسبی (PhD)[۳]، خسرو محمدی (PhD)[۴]، سلیمان خرمی (MSc)[۱**]

[۱] گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر، بوشهر، ایران
[۲] گروه میکروب و انگل‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر، بوشهر، ایران
[۳] گروه آمار زیستی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر، بوشهر، ایران
[۴] گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه خلیج‌فارس بوشهر، بوشهر، ایران

(دریافت مقاله: ۹۵/۱۲/۱۸- پذیرش مقاله: ۹۶/۹/۵)

چکیده

زمینه: تریکومونیازیس یکی از شایع‌ترین بیماری‌های ادراری- تناسلی در جهان می‌باشد. خط اول درمان این بیماری داروی مترونیدازول است که با توجه به وجود گزارشات مختلف از بروز مقاومت داروئی و عوارض جانبی نسبت به این دارو، تحقیقات برای یافتن داروی جدید ضروری به نظر می‌رسد. کورکومین ماده‌ای زرد رنگ است که از زردچوبه به دست می‌آید و دارای مشتقات مختلفی بوده که اثرات ضد سرطانی و آنتی‌اکسیدانی آن گزارش شده است. در پژوهش حاضر اثر کورکومین و مشتقات آن بر تریکوموناس واژینالیس مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها: از کورکومین خالص، کورکومین با خلوص ۷۰ و ۹۰ درصد، بیس دی متوکسی کورکومین BDMC، دی استیل کورکومین DAC، وانادیل کورکومین ۲(CUR)VO، وانادیل دی استیل کورکومین ۲(DAC)VO، ایندیوم کورکومین ۳In(CUR) و گالیوم کورکومین ۳Ga(CUR) تهیه شد. تعداد ۱۰۶ تریکوموناس واژینالیس در هر چاهک میکروپلیت ۹۶ خانه‌ای در مجاورت غلظت‌های مختلف ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۶۰۰ و ۸۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر در گلیسیرین کورکومین و مشتقات آن اضافه کرده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. برای سنجش میزان کشندگی غلظت‌های مختلف کورکومین از تست (MTT) استفاده گردید و تمامی تست‌ها ۳ بار تکرار شدند. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SPSS ویرایش ۱۶ استفاده شد.

یافته‌ها: میزان IC50 ضد تریکومونایی کورکومین با خلوص ۷۰ و ۹۰ درصد، بیس دی متوکسی کورکومین BDMC، دی استیل کورکومین DAC، وانادیل کورکومین ۲(CUR)VO، وانادیل دی استیل کورکومین ۲(CUR) VO، ایندیوم کورکومین ۳In(CUR) و گالیوم کورکومین ۳Ga(CUR) به ترتیب، ۴۵۰، ۴۰۰، ۴۴۱، ۴۵۳/۲، ۴۲۷/۳، ۴۱۷/۶، ۴۴۱ و ۴۴۹/۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر به‌دست آمد. اثرکشندگی این ترکیبات بر روی سلول‌های (vero) نیز به ترتیب ۳۳/۱، ۱۹، ۲۱، ۲۰/۳، ۱۷، ۲۱، ۲۵/۳، ۱۶ درصد حاصل گردید.

نتیجه‌گیری: کورکومین با خلوص ۹۰ درصد دارای بیشترین اثر ضد تریکومونایی بوده و گالیوم کورکومین دارای کمترین اثر سایتوتوکسیک بر روی سلول‌های vero می‌باشد. با توجه به نتایج به‌دست آمده، به نظر می‌رسد استفاده از کورکومین با فرمولاسیون لوسیونی و به صورت موضعی می‌تواند در درمان بیماران مبتلا به تریکومونیازیس مؤثر واقع شود.

واژگان کلیدی: تریکوموناس واژینالیس، کورکومین، ام تی تی، Vero

** بوشهر، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر، بوشهر، ایران.

Email: khorami_bu@yahoo.com-
ORCID- *0000-0001--7302-6840-
ORCID- **0000-0001-9408-621X

مقدمه

تریکوموناس واژینالیس یک تک یاخته تاژکدار می‌باشد که باعث ایجاد عفونت در دستگاه ادراری تناسلی در مردان و زنان می‌شود (۱). میزان ابتلا به این انگل در نقاط مختلف جهان بین (۶-۴) درصد می‌باشد. این میزان در هلند و آمریکا بین ۳-۱/۵ درصد بوده و در بعضی جوامع بیشتر از این میزان می‌باشد (۱ و ۲). تریکومونیازیس به وسیله تماس جنسی، استفاده از حوله مشترک، لباس زیر مشترک و یا با استفاده از وسایل پزشکی غیر استریل منتقل می‌شود. در زنان باعث واژینیت، التهاب مثانه، سوزش و خارش شده و در مردان باعث التهاب مجاری ادراری، سوزش و التهاب پروستات می‌شود. عواملی مانند فقر، کم سوادی، داشتن شرکای جنسی متعدد و افزایش سن می‌تواند باعث افزایش احتمال ابتلاء شود (۶-۳). مترونیدازول و تینیدازول دو داروی مؤثر بر ضدتریکومونیازیس می‌باشد. اما این داروها دارای عوارض هستند. یکی از مهم‌ترین عوارض جانبی مترونیدازول کارسینوژنیک بودن آن است. هر چند اثر سرطان‌زایی مترونیدازول در انسان اثبات نشده اما مقاومت به این آنتی‌بیوتیک بسیار گزارش شده است (۷). یکی از دلایل شکست درمان، عدم درمان مناسب و کامل شریک جنسی فرد می‌باشد اما دلیل مهم‌تر افزایش مقاومت به هر دو دارو می‌باشد (۸ و ۹).

تخمین زده می‌شود حدود ۵ درصد از عفونت‌های تریکوموناس واژینالیس به دلیل سویه‌های مقاوم این انگل باشد (۱۰). مترونیدازول برای باکتری‌ها موتاژن بوده و مطابق تحقیقات انجام شده دارای اثرات کارسینوژنیک در موش می‌باشد. اگرچه مطالعات اخیر رابطه‌ایی بین مصرف مترونیدازول و نقص جنین را نشان نمی‌دهد. ولی در زنان باردار به خصوص در سه ماه اول بارداری منع مصرف دارد (۱۳-۱۱) و در طول سال‌های اخیر استفاده از داروهای گیاهی برای درمان اغلب عفونت‌ها مورد توجه و علاقه بسیاری از دانشمندان قرار گرفته است. از سال ۱۹۹۶ تاکنون گیاهان حدود نیمی از داروها را در ایالات متحده تشکیل می‌دهد (۱۴).

کورکومین (دی فرول متان یا بیس (۴- هیدروکسی- ۳- متوکس فنیل) ۱ و ۶ – هپتادی ان – ۳ و ۵- دی ان) رنگدانه زرد رنگی است که از ریشه‌های گیاه Curcuma longa که از خانواده زنجبیل می‌باشد، به‌دست می‌آید. ریزوم زرد چوبه به طور وسیع برای رنگ و طعم دادن به غذا استفاده می‌شود. به صورت پودر به آن تورمریک می‌گویند و قدمت طولانی در استفاده پزشکی دارد (۱۵). از خواص کورکومین می‌توان به: اثرات ضدژیاردیا (۱۶)، اسپروزویت ایمریا تنلا (۱۷)، پلاسمودیوم (۱۸)، کریپتوسپوریدیوم پاروووم (۱۹)، لیشمانیا آمازوننسیس و لیشمانیا مکزیکانا (۲۰ و ۲۱)، تریپانوزوم بروسه‌ایی (۲۲)، شیستوزوما مانسونی (۲۳)، و حتی HIV (۲۴) اشاره کرد. از دیگر خواص آن همچنین می‌توان اثرات ضد التهابی (۲۵)، آنتی اکسیدانی (۲۶) ضدسرطانی آن را برشمرد (۲۷). مشتقی از کورکومین بنام ایندیوم کورکومین (کمپلکس فلز با کورکومین) دارای اثر ضد سرطانی می‌باشد (۲۸). سنتز ترکیبات جدید از کورکومین می‌تواند به تولید داروهای گیاهی با کارایی بیشتر بینجامد. گزارش سنتز ترکیب آنالوگ منوکربن کورکومین (۲۹) یا ساخت کونژوگه فعال زیستی از کورکومین توسط دابی (Dubey) و همکاران وجود دارد (۳۰). از این رو برای انجام مطالعه جامع بر روی انواع کورکومین و مشتقات به‌دست آمده کورکومین بر روی تریکوموناس از کورکومین با خلوص ۷۰ درصد، کورکومین با خلوص ۹۰ درصد، بیس دی متوکسی کورکومین BDMC، دی استیل کورکومین DAC، وانادیل کورکومین VO(CUR)۲، وانادیل دی استیل کورکومین VO(DAC)۲، ایندیوم کورکومین In(CUR)۳ و گالیوم کورکومین Ga(CUR)۳ استفاده شد. متأسفانه در ایران مطالعات کمی روی خواص این منابع ارزشمند انجام شده است و مطالعات زیست فناوری در این زمینه ضروری می‌باشد. لذا در این تحقیق به بررسی اثرات ضدتریکومونایی کورکومین خالص و مشتقات مختلف کورکومین پرداخته شد.

مواد و روش‌ها

کشت انگل

انگل تریکوموناس واژینالیس از بیماران مراجعه کننده به مراکز بهداشتی درمانی شهر بوشهر جداسازی شد. در این بیماران ابتدا واژن توسط متخصص زنان معاینه شده و در بیمارانی که دارای علایم مشابه ابتلا به تریکومونیازیس بودند مانند سندرم واژن توت فرنگی و نقاط پتشی، با استفاده از سواپ نمونه‌گیری شده و بلافاصله به محیط کشت (TYI-S-33) انتقال داده شد. محیط کشت به آزمایشگاه منتقل شده و در ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شد سپس یک قطره از محیط کشت روی لام ریخته شده و با عدسی ۴۰ بررسی شد اگر فرد به تریکوموناس واژینالیس مبتلا بود به‌راحتی شناسایی و در صورت ابتلا به سایر بیماری‌ها نمونه استریل شده دفع شد. تریکوموناس واژینالیس بعد از بررسی حدود ۶۰ نمونه شناسایی شد. تعداد ۱۰۶ انگل در حجم ۱۰۰ میکرولیتر به هر چاهک میکروپلیت ۹۶ خانه ریخته شده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید.

تهیه مشتقات مختلف کورکومین

کورکومین‌ها ماده مؤثره ریزوم گیاه زردچوبه با نام علمی Difeouloylmethane و فرمول شیمیایی (C12 H20 o6) است. علاوه بر کورکومین ترکیبات شیمیایی متعدد از جمله روغن فرار، زینجیبرن، آلفا و بتا تورمرین و مواد دیگر از جمله آرابینوز، فروکتوز، گلوکز و نشاسته در ریزوم گیاه زردچوبه وجود دارد. رنگ زردچوبه مربوط به مواد رنگی نظیر کورکومین، دی متوکسی کورکومین و بیس دی متوکسی کورکومین است (۳۱).

ترکیبات کورکومین را از زردچوبه با تکنیک‌های مختلفی از جمله امواج فراصوت استخراج می‌کنند. سپس از ترکیبات استخراج شده، کورکومین ۷۷ درصد، دی متوکسی کورکومین ۱۷ و ۳ درصد بیس دی‌متوکسی کورکومین به‌دست می‌آید که مولکول کورکومین از یک زنجیره اصلی آلیفاتیک تشکیل شده و گروه‌های غیر اشباع می‌توانند در آن جایگزین شوند (۳۲). در پژوهش انجام شده تمام مشتقات کورکومین از دانشگاه خلیج‌فارس بوشهر (جناب آقای دکتر خسرو محمدی) تهیه شد. نحوه سنتز و مشخص کردن ساختمان آنها با استفاده از مس اسپکترومتری، اسپکتروسکوپی جذب و فرو سرخ، و آنالیز عناصر انجام شد. این ترکیبات دارای اثرات ضد سرطانی و ضد باکتریایی نیز می‌باشند (۳۳ و ۳۴).

غلظت‌های مختلف ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۶۰۰ و ۸۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به صورت جداگانه از کورکومین با خلوص ۷۰ درصد، کورکومین با خلوص ۹۰ درصد و ترکیبات بیس دی متوکسی کورکومین BDMC، دی استیل کورکومین DAC، وانادیل کورکومین ۲VO(CUR)، وانادیل دی استیل کورکومین ۲VO(DAC)، ایندیوم کورکومین ۳In(CUR) و گالیوم کورکومین ۳Ga(CUR) با استفاده از گلیسیرین و به کمک شیکر و سونیکیشن تهیه گردید.

آزمایشات

تریکوموناس واژینالیس بعد از کشت انبوه در محیط (TYI-S-۳۳) و بررسی میکروسکوپی با لام نئوبار شمارش شده میزان ۱۰۰ میکرولیتر از هر یک از غلظت‌های تهیه شده به چاهک‌های حاوی انگل تریکوموناس واژینالیس بودند، اضافه گردید و پلیت به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. انجام آزمایشات به صورت سه بار تکرار Triplicate صورت پذیرفت. کنترل منفی دارای محیط کشت (TYI-S-۳۳) و تریکوموناس واژینالیس بوده، و کنترل مثبت حاوی محیط (TYI-S-۳۳)، تریکوموناس واژینالیس و همچنین داروی مترونیدازول با غلظت‌های مشابه کورکومین‌ها تهیه شده بود.

برای سنجش دقیق مرگ تریکوموناس واژینالیس و همچنین سلول‌های VERO از تست MTT استفاده شد. محلول MTT (Methylthiazolyldiphenyl-tetrazolium bromide) با غلظت ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در محیط کشت (TYI-S-33) بدون فنل رد تهیه و پس از فیلتر شدن، به میزان ۲۰ میکرولیتر به هر چاهک اضافه

گردید و مجدداً به مدت ۴ ساعت دیگر انکوبه شد، سپس به منظور حل شدن کریستال‌های فورمازان ۱۵۰ میکرولیتر دی متیل سولفوکساید به هر چاهک اضافه شد (۳۵). ۲۰ دقیقه پس از افزودن دی متیل سولفوکساید کریستال‌ها به‌طور کامل حل شدند، جذب نوری پلیت با استفاده از دستگاه الایزا مدل (USA، VT، Winooski، Park، Highland، Biotech) در طول موج ۵۷۰ نانومتر قرائت شد و درصد کشندگی ترکیبات مورد مطالعه با استفاده از نتایج به‌دست آمده از مقادیر جذب نوری محاسبه گردید.

کشت سلول

سلول‌های vero (اپیتلیال کلیه) از انستیتو پاستور تهیه شده و با استفاده از محیط کشت (RPMI-1640) همراه با سرم جنین گوساله ۱۰ درصد، ۱۰۰ میلی‌لیتر بر واحد پنی‌سیلین، ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر استرپتومایسین و در شرایط حاوی ۵ درصد CO2 و رطوبت ۹۵ درصد در دمای ۳۷ درجه کشت و به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند (۳۶).

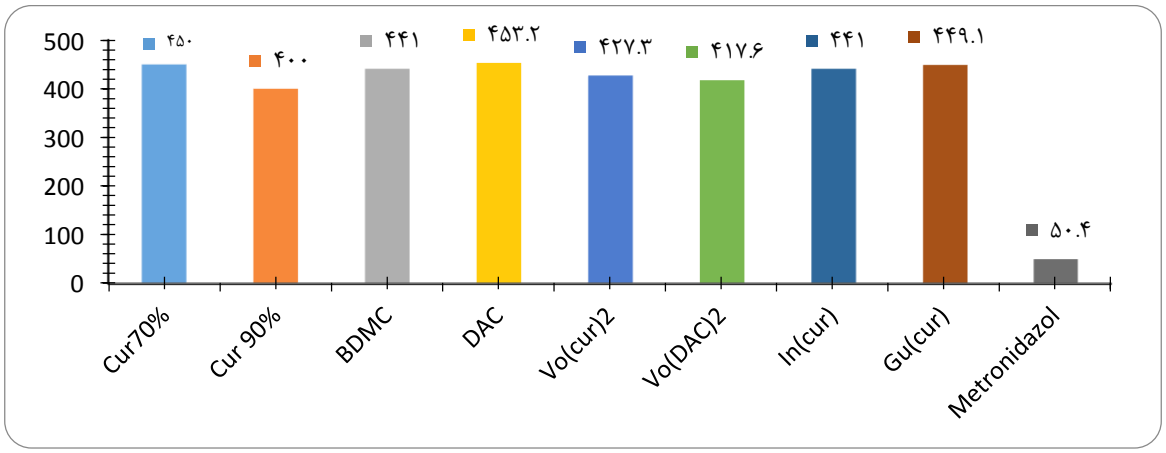
آزمایش سایتوتوکسیک

سلول‌های vero تکثیر شده، سپس محیط کشت رویی خالی شده، و با استفاده از سرم فیزیولوژی سلول‌ها شستشو داده شد، به کمک تریپسین سلول‌ها جداسازی و با استفاده از تریپان بلو، لام نئوبار شمارش شده و تعداد صد هزار سلول به هر چاهک اضافه گردید و در شرایط حاوی ۵ درصد CO2، رطوبت ۹۵ درصد، دمای ۳۷ به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شد پس از آن غلظت‌های تهیه شده از کورکومین‌ها در حجم ۰/۵ میلی‌لیتر به چاهک‌ها اضافه و به مدت ۲۴ ساعت انکوباسیون ادامه یافت، در پایان با استفاده از تست MTT میزان مرگ سلولی تعیین گردید (۳۷).

یافته‌ها

میزان IC_{50} کورکومین با خلوص ۷۰ درصد=۴۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر ، IC_{50} کورکومین با خلوص ۹۰ درصد=۴۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، IC_{50} بیس دی‌متوکسی کورکومین BDMC= ۴۴۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر، میزان IC_{50} دی استیل کورکومین DAC=۴۵۳/۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر، میزان IC_{50} وانادیل کورکومین $VO(CUR)_2$=۴۲۷/۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر، میزان IC_{50} وانادیل دی‌استیل کورکومین $VO(DAC)_2$=۴۱۷/۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر، میزان IC_{50} ایندیوم کورکومین $In(CUR)_3$=۴۴۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر و میزان IC_{50} گالیوم کورکومین $Ga(CUR)_3$= ۴۴۹/۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر می‌باشد (نمودار ۱).

بین مشتقات مختلف کورکومین اختلاف کشندگی معناداری وجود ندارد. میزان کشندگی سلولی (Cell cytotoxicity) مشتقات مختلف کورکومین بر روی سلول‌های (vero) انجام گرفت، به لحاظ آماری با آزمون من ویتنی با Sig (۰/۰۴) اختلاف بین کشندگی دوز ۵۰ و ۸۰۰ میکروگرم معنادار است (جدول ۱).



نمودار ۱) میزان IC_{50} کورکومین و مشتقات آن

Fig 1) IC_{50} of Curcumin and various derivatives

جدول ۱) درصد کشندگی مشتقات مختلف کورکومین بر روی سلول‌های (vero)

مشتقات مختلف کورکومین	غلظت (میکروگرم بر میلی‌لیتر)					
	۵۰	۱۰۰	۲۰۰	۴۰۰	۶۰۰	۸۰۰
کورکومین با خلوص ۷۰ درصد	٪۲/۶	٪۸	٪۱۴/۵	٪۱۷/۳۶	٪۲۴/۱۵	٪۳۳/۱
کورکومین با خلوص ۹۰ درصد	٪۵/۱	٪۸	٪۱۲	٪۱۴/۲	٪۱۸/۴۰	٪۱۹
بیس دی متوکسی کورکومین	٪۲/۲	٪۵	٪۱۱/۲	٪۱۳/۴۱	٪۱۶/۴۰	٪۲۱
دی استیل کورکومین	٪۳/۵	٪۷	٪۸/۵	٪۱۲/۵۲	٪۱۷/۱۵	٪۲۰/۳
وانادیل دی کورکومین	٪۴/۷	٪۵/۲	٪۱۳/۳	٪۱۴/۲۹	٪۱۶/۴۰	٪۱۷
وانادیل دی استیل کورکومین	٪۹/۳	٪۹/۴	٪۱۸	٪۱۸/۶	٪۱۹/۴۰	٪۲۱
ایندیوم کورکومین	٪۳/۹	٪۹	٪۱۵/۵	٪۱۲/۳۶	٪۲۴/۱۵	٪۲۵/۳
گالیوم کورکومین	٪۱/۸	٪۱۰	٪۱۲/۷	٪۱۳/۶	٪۱۵/۴۰	٪۱۶

بحث

مطالعات نشان می‌دهد که داروهای گیاهی به دلیل عوارض کم، قیمت ناچیز و دسترسی بالا می‌تواند در کنترل بسیاری از عفونت‌ها همچون تریکومونیازیس مؤثر باشند. مترونیدازول که داروی رایج برای درمان *تریکوموناس واژینالیس* می‌باشد یک داروی سمی بوده و قادر به ایجاد عوارض مختلفی چون خشکی دهان، طعم فلزی در دهان، وزوز کردن گوش، مورمور شدن بدن، سوزش و تیرگی ادرار می‌باشد. این دارو در باکتری‌ها جهش‌زا و در حیوانات کارسینوژن می‌باشد (۳۸ و ۳۹). نتایج این مطالعه نشان داد که کورکومین و مشتقات آن دارای اثر ضد تریکومونایی قوی می‌باشند. اثر ضد تریکومونایی کورکومین وابسته به تهاجم آن به داخل یاخته می‌باشد. پس از مواجهه انگل‌های *تریکوموناس واژینالیس* با کورکومین، به سرعت شروع به جذب کورکومین کرده و متورم و زرد رنگ می‌شوند. هر چند که اثر ضد انگلی خود را بعد از چند ساعت آغاز می‌کنند. تغییرات مورفولوژیکی القا شده در انگل به‌صورت تورم و چروکیدگی می‌باشد (۴۰). سپس از تحرک سلول‌ها کم شده و بعد از ۷-۵ ساعت سلول‌ها بی‌تحرک شده و می‌میرند. تغییر مورفولوژیکی و مرگ تریکوموناس‌ها احتمالاً شامل آپوپتوز و لیز سلولی می‌باشد. زیرا خاصیت القا آپوپتوز کورکومین‌ها بر ضد انگل‌های دیگر و سلول‌های سرطانی توصیف شده است (۴۱ و ۴۲). ساخت دارو با اثر قوی و مؤثر با عوارض کم برضد انگل‌ها با توجه به اینکه دارای ساختمان سلولی یوکاریوتیک می‌باشند بسیار دشوار است. در مطالعات مختلف ترکیبات گوناگونی در مرحله invitro بر روی انگل‌ها تأثیر داده می‌شود که ممکن است باعث کشندگی نیز بشود اما دارای اثرات سمی و کشندگی برای سلول‌های انسانی و حیوانی نیز می‌باشند و بعد از صرف هزینه و زمان فراوان در مرحله invivo متوجه این قضیه می‌شوند. ما در این مطالعه همراه با تأثیر کورکومین و مشتقات مصنوعی سنتز شده بر روی *تریکوموناس واژینالیس*، بر روی سلول پستاندار رده vero نیز با همان شرایط و دوز درمانی مطالعه انجام شد تا با بررسی همزمان آنها متوجه شویم که آیا کورکومین‌های مورد مطالعه دارای اثرات احتمالی سمی مشابه بر روی سلول‌های پستانداران می‌باشند؟ نتایج نشان داد گالیوم کورکومین دارای کمترین اثر کشندگی بر روی سلول‌های vero و در نتیجه نشان از سمیت پایین آن دارد، کرکومین با خلوص ۷۰ درصد نیز دارای دارای بیشترین سمیت برای سلول‌های vero بود (جدول ۱). هر چند در این مطالعه همه مشتقات کورکومین در مقایسه با مترونیدازول به دوز بسیار بالاتری برای کشتن تریکوموناس‌ها نیاز داشتند اما باید این نکته را نیز در نظر بگیریم که کورکومین دارای اثرات توکسیک و عوارض بسیار کمتری در مقایسه با مترونیدازول برای انسان دارد.

در مطالعه مشابهی که توسط بنجامین واچر (Benjamin wachter) انجام شد، نشان دادند کورکومین دارای اثر کشندگی بالایی روی سویه‌های حساس، نیمه حساس و مقاوم *تریکوموناس واژینالیس* به مترونیدازول

دارد و فقط از کورکومین خالص استفاده شد. ما در این مطالعه از ترکیبات فلزی کورکومین ساخته شده بر ضد *تریکوموناس واژینالیس* استفاده کرده و نشان دادیم که خلوص ۹۰ درصد کورکومین دارای اثرات ضد تریکومونایی قوی‌تری می‌باشد (۴۳). مترونیدازول به صورت خوراکی یا تزریقی می‌تواند عوارض سیستماتیک بسیاری داشته باشد. با توجه با تحقیق انجام شده امید است استفاده موضعی از کورکومین به عنوان لوسیون بتواند برای درمان تریکومونیازیس مؤثر باشد لوسیون ۲ درصد CURCUMAL که از کورکومین با غلظت ۲۰۰۰۰ میکروگرم/ میلی‌لیتر ساخته شده است بسیار مؤثر برای درمان موضعی زخم‌های دهانی بدون داشتن عوارض جانبی قابل توجه می‌باشد (۴۴ و ۴۵).

تحمل کورکومین برای انسان نیز بسیار بالا می‌باشد و عوارض جانبی نادر بوده و معمولاً در دوزهای ۸≤ گرم در روز برای چندین روز دیده می‌شود (۴۶). اگرچه در مورد درمان تریکومونیازیس، درمان موضعی ترجیح داده می‌شود، نه فقط به این خاطر که دارو حلالیت کمی در آب دارد بلکه می‌تواند غلظت بیشتری برای اپیتلیوم واژن با دوز درمانی کمتری فراهم سازد. در کنار محلول و ژل دارویی کورکومین اشکال میکروامولسیون و لیپوزومی کورکومین نیز قبلاً مورد پژوهش قرار گرفته است و بسیار مؤثر بوده است (۴۷). فرم لیپوزومی کورکومین با غلظت ۵۰ میکرومول می‌تواند سطح بالایی از غلظت کورکومین را در واژن، با جذب سیستمی بسیار کم فراهم سازد (۴۸). از فواید دیگر استفاده از کورکومین بر ضد *تریکوموناس واژینالیس* ضد التهاب و مسکن بودن کورکومین می‌باشد (۴۹ و ۵۰)، که می‌تواند به بهبود فیزیکی بیمار بدون استفاده از داروهای دیگر بشود.

نتیجه‌گیری

نتیجه‌گیری اینجانب از این تحقیق این است که کورکومین و مشتقات فلزی ساخته شده آن در آزمایشگاه بر روی *تریکوموناس واژینالیس* در محیط invitro با دوزهای قابل قبول ۴۰۰ تا ۴۵۳/۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر مؤثر هستند با توجه به سمیت پایین‌تر برای سلول‌های vero گزینه مناسبی برای درمان می‌باشد. هزینه نسبتاً بالای ساخت مشتقات فلزی کورکومین و تأثیر بالاتر کورکومین ۹۰ درصد باعث می‌شود کاندید بهتری برای ساخت دارو به نظر برسد. هر چند که دارای عوارض و سمیت بیشتری بر روی سلول‌های vero نیز می‌باشد. کرکومین معمولی در زردچوبه دارای غلظت ۷۰ درصد است و برای تبدیل به کرکومین ۹۰ درصد باید تخلیص شود.

سپاس و قدردانی

از حمایت‌های مالی معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی بوشهر و کارکنان محترم مرکز تحقیقات طب گرمسیری خلیج‌فارس که بدون کمک و مساعدت آنها انجام این تحقیق ممکن نبود، تشکر می‌نماید.

تضاد منافع

هیچ گونه تعارض منافع توسط نویسندگان بیان نشده است.

References:

1.Newman L, Rowley J, Vander Hoorn S, et al. Global estimates of the prevalence and incidence of four curable sexually transmitted infections in 2012 based on systematic review and global reporting PloS one 2015;10(12): e0143304.

2.Geelen TH, Hoebe CJ, Dirks A, et al. Low positivity rate after systematic screening for Trichomonas vaginalis in three patient cohorts from general practitioners, STI clinic and a national population-based chlamydia screening study. Sex Transm Infect 2013;89(6):532-4.

3.Shew ML, Fortenberry JD, Tu W, et al. Association of condom use, sexual behaviors, and sexually transmitted infections with the duration of genital human papillomavirus infection among adolescent women. Archives of pediatrics & adolescent medicine 2006; 160(2): 151-6.

4.Gottlieb SL, Douglas JM, Foster M, et al. Incidence of herpes simplex virus type 2 infection in 5 sexually transmitted disease (STD) clinics and the effect of

HIV/STD risk-reduction counseling. Journal of Infectious Diseases 2004; 190(6): 1059-67.
5.McClelland RS, Sangaré L, Hassan WM, et al. Infection with Trichomonas vaginalis increases the risk of HIV-1 acquisition. Journal of Infectious Diseases 2007; 195(5):698-702.
6.Van Der Pol B, Kwok C, Pierre-Louis B, et al. *Trichomonas vaginalis* infection and human immunodeficiency virus acquisition in African women. Journal of Infectious Diseases 2008; 197(4):548-54.
7.Kissinger P, Amedee A, Clark RA, et al. Trichomonas vaginalis treatment reduces vaginal HIV-1 shedding. Sexually transmitted diseases 2009; 36(1):11-6.
8.Schmid G, Narcisi E, Mosure D, et al. Prevalence of metronidazole-resistant Trichomonas vaginalis in a gynecology clinic. The Journal of reproductive medicine 2001;46(6):545-9.
9.Hager WD. Treatment of metronidazole-resistant Trichomonas vaginalis with tinidazole: case reports of three patients. Sexually transmitted diseases 2004; 31(6):343-5.
10.Petrin D, Delgaty K, Bhatt R, et al. Clinical and microbiological aspects ofTrichomonas vaginalis. Clinical microbiology reviews 1998; 11(2):300-17.
11.Connor TH, Stoeckel M, Evrard J, et al. The contribution of metronidazole and two metabolites to the mutagenic activity detected in urine of treated humans and mice. Cancer research 1977; 37(2):629-33.
12.Lindmark DG, Müller M. Antitrichomonad action, mutagenicity, and reduction of metronidazole and other nitroimidazoles. Antimicrobial agents and chemotherapy 1976;10(3):476-82.
13.Koss CA, Baras DC, Lane SD, et al. Investigation of metronidazole use during pregnancy and adverse birth outcomes. Antimicrobial agents and chemotherapy 2012; AAC-06477-11.
14.Clark AM. Natural products as a resource for new drugs. Pharmaceutical research 1996; 13(8): 1133-41.
15.Chattopadhyay I, Biswas K, Bandyopadhyay U, et al. Turmeric and curcumin: Biological actions and medicinal applications. CURRENT SCIENCE-BANGALORE 2004; 87(1): 44-53.
16.Perez-Arriaga L, Mendoza-Magana ML, Cortes-Zarate R, et al. Cytotoxic effect of curcumin on Giardia lamblia trophozoites. Acta tropica 2006; 98(2): 152-61.
17.Khalafalla RE, Müller U, Shahiduzzaman MD, et al. Effects of curcumin (diferuloylmethane) on *Eimeria tenella* sporozoites in vitro. Parasitology research 2011; 108(4): 879-86.
18.Mimche PN, Taramelli D, Vivas L. The plant-based immunomodulator curcumin as a potential candidate for the development of an adjunctive therapy for cerebral malaria. Malaria journal 2011; 10(1):S10.
19.Shahiduzzaman M, Dyachenko V, Khalafalla RE, et al. Effects of curcumin on Cryptosporidium parvum in vitro. Parasitology research. 2009;105(4):1155-61.
20.Koide T, Nose M, Ogihara Y, et al. Leishmanicidal effect of curcumin *in vitro*. Biological and Pharmaceutical Bulletin 2002; 25(1): 131-3.
21.Changtam C, de Koning HP, Ibrahim H, et al. Curcuminoid analogs with potent activity against *Trypanosoma* and *Leishmania* species. European journal of medicinal chemistry 2010; 45(3): 941-56.
22.Allam G. Immunomodulatory effects of curcumin treatment on murine schistosomiasis mansoni. Immunobiology 2009; 214(8): 712-27.
23.Jordan WC, Drew CR. Curcumin--a natural herb with anti-HIV activity. Journal of the National Medical Association 1996; 88(6): 333.
24.Barthelemy S, Vergnes L, Moynier M, Guyot D, Labidalle S, Bahraoui E. Curcumin and curcumin derivatives inhibit Tat-mediated transactivation of type 1 human immunodeficiency virus long terminal repeat. Research in virology 1998; 28;149(1):43-52.
25.Chainani-Wu N. Safety and anti-inflammatory activity of curcumin: a component of tumeric (Curcuma longa). The Journal of Alternative & Complementary Medicine 2044; 9(1): 161-8.
26.Wei QY, Chen WF, Zhou B, et al. Inhibition of lipid peroxidation and protein oxidation in rat liver mitochondria by curcumin and its analogues. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects 2006; 1760(1):70-7.
27.Devasena T, Rajasekaran KN, Gunasekaran G, et al. Anticarcinogenic effect of bis-1, 7-(2-hydroxyphenyl)-hepta-1, 6-diene-3, 5-dione a curcumin analog on DMH-induced colon cancer model. Pharmacological research 2003; 47(2):133-40.
28.Mohammadi K, Thompson KH, Patrick BO, et al. Synthesis and characterization of dual function vanadyl, gallium and indium curcumin complexes for medicinal applications. Journal of inorganic biochemistry 2005; 99(11): 2217-25.

29.Liang G, Yang S, Jiang L, et al. Synthesis and anti-bacterial properties of mono-carbonyl analogues of curcumin. Chemical and Pharmaceutical Bulletin 2008; 56(2): 162-7.
30.Dubey SK, Sharma AK, Narain U, et al. synthesis and characterization of some bioactive conjugates of curcumin with glycine, glutamic acid, valine and demethylenated piperic acid and study of their antimicrobial and antiproliferative properties. European journal of medicinal chemistry 2008; 43(9):1837-46.
31.Khan IA, Abourashed EA. Leung's encyclopedia of common natural ingredients: used in food, drugs and cosmetics. John Wiley & Sons 2011; 50.
32.Ammon HP, Wahl MA. Pharmacology of Curcuma longa. Planta medica 1991; 57(1): 1-7.
33.Hamidi A, Hassani L, Mohammadi F, et al. The biological effects of vanadyl curcumin and vanadyl diacetylcurcumin complexes: the effect on structure, function and oxidative stability of the peroxidase enzyme, antibacterial activity and cytotoxic effect. Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry 2016; 31(6): 1124-31.
34.Jahangoshaei P, Hassani L, Mohammadi F, et al. Investigating the effect of gallium curcumin and gallium diacetylcurcumin complexes on the structure, function and oxidative stability of the peroxidase enzyme and their anticancer and antibacterial activities. JBIC Journal of Biological Inorganic Chemistry. 2015;20(7):1135-46.
35.Zandi K, Ahmadzadeh S, Tajbakhsh S, et al. Anticancer activity of Sargassum oligocystum water extract against human cancer cell lines. European review for medical and pharmacological sciences 2010; 14(8):669-73. (Persian)
36.Mwololo SW, Mutiso JM, Macharia JC, et al. In vitro activity and in vivo efficacy of a combination therapy of diminazene and chloroquine against murine visceral leishmaniasis. Journal of biomedical research 2015; 29(3): 214-23.
37.Mahmoudvand H, Sepahvand P, Jahanbakhsh S, et al Evaluation of the antileishmanial and cytotoxic effects of various extracts of garlic (Allium sativum) on Leishmania tropica. Journal of Parasitic Diseases 2016; 40(2):423-6.
38.Arabsalmany M, Behzadifar M, Olyaeemanesh A, et al The prevalence of herpes simplex virus of pregnancy in Iran: A systematic review and meta-analysis. Iranian Journal of Child Neurology 2016; 11(2):11309. (Persian)
39.Sobel JD, Nyirjesy P, Brown W. Tinidazole therapy for metronidazole-resistant vaginal trichomoniasis. Clinical Infectious Diseases 2001; 15; 33(8): 1341-6.
40.Khalafalla RE, Müller U, Shahiduzzaman MD, et al. Effects of curcumin (diferuloylmethane) on *Eimeria tenella* sporozoites in vitro. Parasitology research 2011; 108(4): 879-86.
41.Fang HY, Chen SB, Guo DJ, et al. Proteomic identification of differentially expressed proteins in curcumin-treated MCF-7 cells. Phytomedicine 2011; 18(8-9): 697-703.
42.Wang L, Wang L, Song R, et al. Targeting sarcoplasmic/endoplasmic reticulum Ca2+-ATPase 2 by curcumin induces ER stress-associated apoptosis for treating human liposarcoma. Molecular cancer therapeutics 2011; 10(3): 461-71.
43.Wachter B, Syrowatka M, Obwaller A, et al. In vitro efficacy of curcumin on Trichomonas vaginalis. Wiener klinische Wochenschrift. 2014; 126(1):32-6.
44.Manifar S, Obwaller A, Gharehgozloo A, et al. Curcumin gel in the treatment of minor aphthous ulcer: A randomized, placebo-controlled trial. Journal of Medicinal Plants 2012; 15;1(41):40-5. (Persian)
45.Helson L. Curcumin (diferuloylmethane) delivery methods: a review. Biofactors 2013; 39(1): 21-6.
46.Patel BM, Mandal S, Rajesh KS. Formulation and kinetic modeling of curcumin loaded intranasal mucoadhesive microemulsion. Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences 2012; 4(5): S81-S83.
47.Berginc K, Škalko-Basnet N, Basnet P, et al. Development and evaluation of an in vitro vaginal model for assessment of drug's biopharmaceutical properties: Curcumin. AAPS PharmSciTech 2012; 13(4): 1045-53.
48.Di Pierro F, Rapacioli G, Di Maio EA, Appendino G, Franceschi F, Togni S. Comparative evaluation of the pain-relieving properties of a lecithinized formulation of curcumin (Meriva®), nimesulide, and acetaminophen. J Pain Res 2013; 6: 201-5.
49.Kulac M, Aktas C, Tulubas F, et al. The effects of topical treatment with curcumin on burn wound healing in rats. Journal of Molecular Histology 2013; 44(1): 83-90.
50.Mohammaddoust S, Salehi Z, Saeidi Saedi H. Analysis of Ala234Thr Polymorphism SEPP1 gene in Women with Breast Cancer in Guilan Province. ISMJ. 2018 Jan 15;20(6):519-26.

Original Article

Lethal Effect of Various Derivatives of Curcumin on *Trichomonas vaginalis in vitro*

MA. Fouladvand (PhD)[1*], A. Barazesh (PhD)[2], R. Tahmasebi (PhD)[3], K. Mohammadi (PhD)[4], S. Khorami (MSc)[1**]

[1] Department of Microbiology and Parasitology, School of Medicine, Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, Iran
[2] Department of Laboratory Sciences, School of Paramedicine, Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, Iran
[3] Department of Health, Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, Iran
[4] Department of Chemistry, College of Sciences, Persian Gulf University, Bushehr, Iran

(Received 8 Mar, 2017 Accepted 26 Nov, 2017)

Background: Trichomoniasis is a common urogenital disease in the world. The first line of treatment for Trichomoniasis is metronidazole. Drug resistance and side effects of metronidazole urge researchers to seek new medications. Curcumin is a yellow substance derived from turmeric and has different derivatives with anticancer and antioxidant effects. We evaluated the anti-trichomonas effects of curcumin and its derivatives.
Materials and Methods: Curcumin 70%, curcumin 90%, Bisdemethoxy curcumin, Diacetyl curcumin, Vanadyl curcumin, Vanadyl diacetyl curcumin, Indium curcumin and Gallium curcumin were prepared. Different concentrations (50, 100, 200, 400, 600, 800 µg/ml) of curcumin prepared with glycerin and 10^6 *Trichomonas vaginalis* were added to each well and incubated at 37°C for 24 h. The *in vitro* toxicity of different extracts against *Trichomonas vaginalis* was evaluated through MTT assay. All tests were performed in triplicate and SPSS software was used for data analysis.
Results: The IC_{50} was 450, 400, 441, 453.2, 427.3, 417.6, 441 and 449.1 µg/ml, respectively for curcumin 70%, curcumin 90%, Bisdemethoxy curcumin, Diacetyl curcumin, Vanadyl curcumin, Vanadyl diacetyl curcumin, Indium curcumin and Gallium curcumin against *Trichomonas vaginalis*. Cytotoxic effects of these compounds against vero cells were 33.1%, 19%, 21%, 20.3%, 17%, 21%, 25.3% and 16%, respectively.
Conclusion: Curcumin 90% had the most activity against *Trichomonas vaginalis* and Galium curcumin had the least cytotoxic effect against vero cells. It appears curcumin lotion can be used topically to treat trichomoniasis.

Keywords: *Trichomonas vaginalis*, Curcumin, MTT, Vero

©Iran South Med J. All rights reserved.

Cite this article as: Fouladvand MA, Barazesh A, Tahmasebi R, Mohammadi K, Khorami S. Lethal Effect of Various Derivatives of Curcumin on Trichomonas vaginalis in vitro .Iran South Med J 2018; 21(2): 116-124

Copyright © 2018 Fouladvand, et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-noncommercial 4.0 International License which permits copy and redistribute the material just in noncommercial usages, provided the original work is properly cited.

[**]*Address for correspondence:* Department of Microbiology and Parasitology, School of Medicine, Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, Iran. Email: khorami_bu@yahoo.com
ORCID: * 0000-0001--7302-6840
ORCID: **0000-0001-9408-621X