تحقیقی

اثر ضدباکتریایی بربرین و کمپلکس‌های کورکومین علیه باکتری‌های *اشریشیاکلی* و *باسیلوس پامیلوس* و مقایسه سمیت سلولی آنها بر رده سلول‌های سرطانی مثانه و معده

زهرا آل خمیس[۱]، مهدیه مصطفوی[۲]، دکتر لیلا حسنی*[۳]، دکتر فخری السادات محمدی[٤]، دکتر خسرو محمدی[٥]

۱- (به‌عنوان نویسنده اول) فارغ التحصیل کارشناسی ارشد رشته بیوشیمی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی علوم پایه زنجان، زنجان، ایران. ۲- (به‌عنوان نویسنده اول) فارغ التحصیل کارشناسی ارشد رشته بیوفیزیک، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی علوم پایه زنجان و دانشجوی دکتری بیوشیمی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس تهران، ایران. ۳- دانشیار، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی علوم پایه زنجان، زنجان، ایران. ٤- استادیار، دانشکده شیمی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی علوم پایه زنجان، زنجان، ایران. ٥- دانشیار، گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه خلیج فارس، بوشهر، ایران.

چکیده

زمینه و هدف : *کورکومین، ترکیب پلی‌فنول فعال از گیاه کورکوما لانگا است که فعالیت‌های زیستی گسترده‌ای از جمله اثرات ضدالتهابی، ضدباکتریایی و سمیت سلولی برای سلول های سرطانی متعدد را نشان می‌دهد. بربرین ایزوکینولین آلکالوئیدی است که در زرشک وجود دارد و باعث سرکوب رشد بسیاری از سلول‌های توموری می‌شود. این مطالعه به منظور تعیین اثر ضدباکتریایی بربرین و کمپلکس‌های ایندیوم کورکومین و ایندیوم دی‌استیل کورکومین علیه باکتری‌های اشریشیاکلی و باسیلوس پامیلوس و مقایسه سمیت سلولی آنها بر رده سلول‌های سرطانی مثانه و معده انجام شد.*

روش بررسی : *در این مطالعه توصیفی آزمایشگاهی اثر ضدباکتریایی و اثر سمیت سلولی بربرین و کمپلکس های ایندیم کورکومین (In(cur)3) و ایندیم دی استیل کورکومین (In(DAC)3) به ترتیب با استفاده از روش MTT (متیل تیازول تترازولیوم) و آزمون رقت ارزیابی شد. باکتری اشریشیاکلی ((BL21(DE3))، باکتری باسیلوس پامیلوس (PTCC 1529)، رده سلولی مثانه (٥٦٣٧) و رده سلولی سرطانی معده (AGS) مورد ارزیابی قرار گرفتند.*

یافته ها : *حداقل غلظت بازدارندگی بربرین برای باکتری اشریشیا کولی ۵ میلی‌مولار تعیین شد. در غلظت ۱۰۰ ماکرومولار بربرین تقریباً ۱۰۰ درصد سلول‌های سرطانی مثانه از بین رفتند. اثر سمیت سلولی کمپلکس های کورکومین بر دو رده سلولی سرطانی مثانه و معده نشان داد که هر دو کمپلکس به میزان مختلف اثر بازدارندگی بر حیات رده‌های سلولی دارند. سمیت سلولی ۲۰ میکرو مولار ایندیوم کورومین و ایندیوم دی استیل کورکومین برای سلول‌های سرطانی مثانه به ترتیب ۵۸ درصد و ۵۵ درصد و برای سلول‌های سرطانی معده ٦١ درصد و ٣٤ درصد به‌دست آمد. فعالیت ضدباکتریایی کمپلکس‌ها در برابر باکتری‌های باسیلوس پامیلوس و اشریشیاکلی نشان داد که هیچیک از کمپلکس ها، اثر ضدباکتریایی در برابر باسیلوس پامیلوس ندارند؛ ولی هر دو کمپلکس مانع رشد باکتری اشریشیاکلی شدند. جمعیت باکتری در حضور ایندیوم کورومین و ایندیوم دی استیل کورکومین به ترتیب ٤٠ درصد و ٢٤ درصد کاهش یافت.*

نتیجه‌گیری : *کمپلکس‌های ایندیوم کورکومین و ایندیوم دی استیل کورکومین به‌صورت بالقوه ویژگی درمانی ضدسرطانی و ضدباکتریایی دارند. علاوه بر این بربرین دارای اثر ضدباکتریایی و ضدسرطانی است.*

کلید واژه‌ها : *کورکومین ، بربرین ، ضدسرطانی ، ضدباکتریایی ، سمیت سلولی ، اشریشیا کلی ، باسیلوس پامیلوس*

* نویسنده مسؤول : دکتر لیلا حسنی ، پست الکترونیکی **hasani@iasbs.ac.ir**

نشانی: زنجان، بلوار استاد یوسف ثبوتی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی علوم پایه زنجان، دانشکده علوم زیستی، تلفن ۳۳۱۵۳۳۱۵-۰۲٤، نمابر ۳۳۱۵۳۳۲۰

وصول مقاله : ۱۳۹٦/۲/۱۹ ، اصلاح نهایی : ۱۳۹٦/۱۰/۳ ، پذیرش مقاله : ۱۳۹٦/۱۱/۸

مقدمه

گیاهان دارویی به علت دارا بودن مواد موثر گوناگون می توانند در درمان بسیاری از بیماری‌ها کاربرد داشته باشند؛ بدون آن که مجموعه مواد موثر آنها بر یکدیگر اثری گذاشته یا تدافعی ایجاد کنند. اگر بیمار همزمان دارای علایم مختلف چند بیماری باشد؛ می تواند فقط از یک داروی گیاهی با خواص گوناگون استفاده کند. علی‌رغم کشف و تولید تعداد زیادی از آنتی‌بیوتیک‌ها، همچنان مشکلات عمده‌ای در درمان عفونت‌های میکروبی به‌دلیل مقاوم شدن سویه‌های باکتری به داروهای شیمیایی، وجود دارد. لذا شناخت و معرفی منابع دارویی جایگزین از قبیل ترکیبات طبیعی

کد ارکید: زهرا آل خمیس: 0000-0002-3583-9258، مهدیه مصطفوی: 0000-0002-9223-0465، دکتر لیلا حسنی: 0000-0001-9447-9080، دکتر فخری السادات محمدی: 0000-0002-5255-5687، دکتر خسرو محمدی: 0000-0003-0861-0199

موجود در گیاهان از اهمیت خاصی برخوردار است (۱). در مطالعه حاضر خواص دارویی دو ترکیب گیاهی کورکومین و بربرین مورد بررسی قرار گرفت.

زردچوبه (*Turmeric*) به‌دست آمده از گیاه کورکوما لانگا (*Curcuma longa*) متعلق به خانواده زنجبیل، یک ادویه طلایی رنگ است که در شبه قاره هند، نه تنها برای مراقبت‌های بهداشتی بلکه برای حفظ مواد غذایی و به عنوان یک رنگ زرد برای رنگ‌آمیزی منسوجات استفاده می‌شود (۲). کورکومین با نام شیمیایی دی‌فرولیل‌متان (C21H20O6) یک پلی‌فنول آبگریز است که به عنوان جزء فعال زردچوبه مشخص شده است (۳). کورکومین دارای طیف گسترده‌ای از اثرات دارویی است که می‌توان به اثر ضداکسیدکنندگی، ضدسرطانی، ضدالتهابی، ضدباکتریایی و ضدویروسی آن اشاره نمود (۴). علاوه بر این کورکومین در درمان بیماری‌های آلزایمر، پارکینسون، دیابت، کاهش سطح کلسترول خون، ممانعت از ایجاد زخم، آب مروارید، جلوگیری از آسیب کبدی و سمیت کلیه نیز موثر بوده است (۵و۶). با وجود اثرات مثبت، کورکومین دسترس‌پذیری زیستی بسیار پایینی دارد که دلایل اصلی آن نامحلول بودن، جذب و توزیع بافتی پایین، متابولیسم سریع و حذف سریع سیستماتیک است که استفاده از آن را به عنوان یک دارو با محدودیت رو به رو کرده است (۷و۸). یکی از راه‌کارهای مفید بهبود فعالیت زیستی و افزایش پایداری کورکومین، شلاته‌کردن آن با فلزات است. ساختار کورکومین دارای بخش بتادی کتون است که قابلیت تشکیل کمپلکس با فلزات و شبه‌فلزات را دارد (۹). کمپلکس‌های فلزی کورکومین به‌عنوان یکی از راهکارهای مفید برای درمان بیماری آلزایمر و فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی در شرایط آزمایشگاهی بسیار مورد توجه بوده است. کمپلکس‌های فلزی کورکومین دارای پایداری بهتر و قابلیت حل شدن در محیط‌های زیستی بوده و دسترس‌پذیری زیستی و پایداری کورکومین را در بدن انسان افزایش می‌دهند (۱۰). از جمله این کمپلکس‌ها می‌توان به کمپلکس کورکومین - روی اشاره نمود که به عنوان یک عامل ضدزخم معده، آنتی‌اکسیدان و ضدالتهاب عمل می‌کند (۱۱). کمپلکس منگنز آن ترکیبی موثر در جلوگیری از تخریب عصبی و در مورد کمپلکس آهن افزایش خواص درمانی در بیماری‌هایی چون آلزایمر گزارش شده است (۱۲و۱۳). کمپلکس‌های مورد مطالعه در این مطالعه ایندیم کورکومین و ایندیم‌دی‌استیل کورکومین است که توسط محمدی و همکاران در سال ۲۰۰۵ سنتز شد (۱۴). ایندیم از عناصر گروه سه جدول تناوبی است که در سال ۱۸۶۳ میلادی توسط ریچر کشف گردید. ایندیم از جمله فلزاتی است که در پزشکی برای تعیین محل و همچنین درمان تومورها کاربرد دارد (۱۵). ایندیم همچنین از جمله فلزاتی است که به‌طور عمده فعالیت ضدباکتریایی دارد و می‌توان به اثر مهارکنندگی آن بر رشد باکتری مایکوباکتریوم توبرکلوزیس اشاره نمود (۱۶). تحقیقات نشان داده کمپلکس ایندیم کورکومین و ایندیم دی‌استیل کورکومین خواص ضدباکتریایی دارند. این نتایج نشان می‌دهد فعالیت ضدباکتریایی برای مشتقات مختلف کورکومین امیدوار کننده است (۱۷).

بربرین نوع دیگری از ترکیب گیاهی با خواص دارویی بسیار است. بربرین نمک آمونیوم از گروه پروتوبربرین از خانواده ایزوکینولین۴ آلکالوئید است. این آلکالوئید علاوه بر این که در گیاهان خانواده بربریداسه وجود دارند؛ در خانواده‌های گیاهانی مانند رانونکولاسه‌ها، پاپاوراسه‌ها و روتاسه نیز یافت می‌شوند. بربرین از گیاهانی مثل زرشک، زردچوبه و خشخاش استخراج می‌شود. بربرین آلکالوئیدی با خواص درمانی بالقوه است. در گذشته از بربرین در کشور چین به عنوان یک آنتی‌بیوتیک استفاده می‌گردید. بربرین به دلیل فعالیت ضدباکتریایی گسترده و دارا بودن سمیت کم در دوزهای بالا، کاربرد زیادی دارد (۱۸و۱۹).

سرطان‌های معده-روده‌ای از شایع‌ترین سرطان‌ها در سراسر دنیا هستند که علت توزیع این سرطان ها عوامل محیطی و ارثی است. عواملی نظیر عادت‌های غذایی، فعالیت فیزیکی و کشیدن سیگار نقش بسیار مهمی در ابتلا به این سرطان‌ها ایفا می‌کنند. سرطان معده چهارمین سرطان متداول و دومین سرطان مرگبار در دنیاست (۲۰). سرطان مثانه به عنوان یکی از تومورهای مقاوم به روش های رایج درمان سرطان شناخته شده است. افزایش بیان بسیاری از ژن‌های اختصاصی سلول‌های بنیادی در طیف وسیعی از سرطان‌ها از جمله سرطان مثانه گزارش شده است (۲۱).

این مطالعه به منظور تعیین اثر ضدباکتریایی بربرین و کمپلکس‌های ایندیوم کورکومین و ایندیوم دی‌استیل کورکومین علیه باکتری های اشریشیاکلی و باسیلوس پامیلوس و مقایسه سمیت سلولی آنها بر رده سلول‌های سرطانی مثانه و معده انجام شد.

روش بررسی

این مطالعه توصیفی آزمایشگاهی در واحد علوم زیستی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی علوم پایه زنجان در سال‌های ۹۴-۱۳۹۳ انجام شد.

مواد: از دو رده سلولی سرطان معده (AGS) و سرطان مثانه (۵۶۳۷) استفاده شد. رده‌های سلولی از بانک سلولی انستیتو پاستور ایران خریداری شدند. سویه‌های باسیلوس پامیلوس (PTCC1529) و اشریشیاکلی (DE3) BL21 به‌صورت لیوفیلیزه از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه شدند. بربرین از شرکت سیگما (ساخت امریکا) خریداری شد. ایندیم‌کورکومین و ایندیم‌دی‌استیل کورکومین توسط دکتر خسرو محمدی در دانشکده شیمی دانشگاه British Columbia, Vancouver سنتز شد. سپس کمپلکس‌های ایندیم‌کورکومین و ایندیم‌دی‌استیل کورکومین

ساخته شدند.

محیط کشت RPMI1640 از Bio IDEA، سرم جنین گاوی (FBS) و محلول آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین استرپتومایسین از GIBCO، تریپسین- EDTA(۲۵ درصد) از LAB BIO، تریپان‌بلو از INOCLON، دی‌متیل سولفوکساید (DMSO) از Sigma، MTT و محیط کشت مولرهینتون ازMerck، تریپتون و عصاره مخمر از Fluka تهیه شدند.

روش‌ها: برای بررسی سمیت سلولی از روش MTT استفاده شد. برای تهیه غلظت‌های مختلف کمپلکس کورکومین و بربرین از محیط کشت RPMI1640 استفاده گردید. برای بررسی اثر ضدباکتریایی ترکیبات از روش رقیق‌سازی سریالی استفاده شد.

آماده‌سازی سلول‌های سرطانی معده و مثانه: دو رده سلولی سرطان معده و مثانه در محیط کشت RPMI1640 حاوی ۱۰ درصد سرم جنین گاوی و یک درصد آنتی‌بیوتیک پنیسیلین-استرپتومایسین و در شرایط انکوباسیون ۳۷ درجه سانتی‌گراد، ۵ درصد دی‌اکسیدکربن رشد کردند. پس از گذشت بیش از ۲۴ ساعت و پوشیده شدن بستر فلاسک از سلول‌ها، لایه سلول چسبنده به کف فلاسک به روش آنزیمی و با استفاده از تریپسین جدا شد و به فالکون mL ۱۵ منتقل گردید. سپس سوسپانسیونی یکنواخت از سلول‌ها تهیه شد. برای مطالعه اثر سمیت سلولی مواد، سلول‌ها با تریپان بلو شمارش شدند و تقریباً به تعداد 10^4 سلول در پلیت‌های ۹۶ خانه‌ای کشت داده شدند. سپس به مدت یک شبانه‌روز در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد با ۵ درصد دی‌اکسیدکربن انکوبه شدند تا به رشد کافی رسیدند.

تیمار و ارزیابی بقای سلول‌ها: پس از آماده‌سازی دو رده سلول سرطانی معده و مثانه، سلول‌ها با غلظت‌های ۳/۷۵، ۵، ۵/۷، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵، ۳۰ و ۵۰ میکرومولار کمپلکس‌های ایندیم کورکومین و ایندیم‌دی‌استیل‌کورکومین و غلظت‌های ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میکرومولار بربرین تیمار شدند. سپس اثر سمیت سلولی این کمپلکس‌ها در بازه زمانی ۲۴ ساعت بررسی شد. بعد از گذشت ۲۴ ساعت به منظور بررسی بقای دو رده سلول سرطانی از تست MTT استفاده شد. تست MTT یکی از روش‌های رنگ‌سنجی متداول برای بررسی میزان سمیت مواد بر حیات سلول است. این مسأله با سنجش قدرت احیاء رنگ تترازولیوم (MTT) توسط آنزیم‌های میتوکندری سلولی و تبدیل آن به بلورهای فورمازان با رنگ بنفش مورد بررسی قرار می‌گیرد. در نتیجه فرآیند احیا، بلورهای بنفش رنگ فورمازون تشکیل می‌شود. سپس این بلورها در حلال مناسب حل شده و به وسیله روش‌های اسپکتروفوتومتری مقدارسنجی می‌شود. مقدار بلور فورمازون ایجاد شده می‌تواند نشان‌دهنده درصد سلول‌های زنده باشد (۲۲و۲۳).

به منظور بررسی بقای سلول‌ها با تست MTT بعد از گذشت ۲۴ ساعت، محیط کشت رویی سلول‌ها تعویض شد و به سلول‌ها محیط کشت جدید حاوی ۲۰ میکرولیتر MTT با غلظت ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اضافه شد. پس از آن سلول‌ها به مدت ۴ ساعت در انکوباتور و در شرایط تاریکی نگهداری شدند تا کریستال‌های نامحلول فورمازان تشکیل شدند. پس از گذشت مدت زمان مذکور، محتویات هر خانه با ۱۰۰ میکرولیترDMSO جایگزین و به دنبال آن محلول‌های بنفش رنگی با شدت‌های رنگ گوناگون ایجاد شدند. پلیت‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در تکان‌دهنده با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. سپس میزان جذب نوری هر خانه که معیاری از زنده ماندن سلول‌ها است؛ با دستگاه الایزاریدر با استفاده از نرم افزار Gen51.11 در طول موج ۶۳۰ نانومتر ثبت گردید (۲۴). لازم به ذکر است تمامی مراحل آزمایشات سه بار تکرار شد.

تهیه سوسپانسیون باکتریایی استاندارد: برای آماده‌سازی و داشتن کلنی از محیط کشت لوریا برتانی استفاده گردید. باکتری‌های باسیلوس پامیلوس و اشریشیاکلی روی آن کشت داده شدند. سپس پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت برای باکتری اشریشیاکلی در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و ۴۸ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد برای باکتری باسیلوس پامیلوس انکوبه شدند. برای تهیه سوسپانسیون میکروبی استاندارد از کلنی‌های سطح محیط کشت برداشته شد و در محیط کشت مولر هینتون براث کشت داده شدند. سپس به مدت ۵-۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و ۳۰ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور تکان‌دهنده با دور ۱۵۰ دور در دقیقه انکوبه شدند تا این‌که کدورت محیط به کدورت مک فارلند رسید. سوسپانسیون‌های حاصل برای مطابقت با مک‌فارلند توسط اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۲۵ نانومتر سنجیده شدند. در ادامه سوسپانسیون حاصل به مدت ۱۵ دقیقه با دور (g) ۳۰۰۰ سانتریفوژ شدند و سوپ رویی دور ریخته شد. در مرحله بعد حدود ۵-۲ میلی‌لیتر بافر فسفات استریل به رسوب موجود در لوله اضافه شد و مجدداً به مدت ۱۵ دقیقه با دور (g) ۳۰۰۰ سانتریفوژ گردید و سوپ رویی با احتیاط دور ریخته شد. این عمل ۲ بار دیگر تکرار شد. در پایان باکتری‌های رسوب کرده به خوبی با بافر جدید مخلوط گشته و به میزان ۱۰۰۰ برابر رقیق شدند.

تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC): با استفاده از روش رقت لوله‌ای، حداقل غلظت مهارکنندگی رشد کمپلکس‌های ایندیم‌کورکومین و ایندیم‌دی‌استیل‌کورکومین و بربرین تعیین شدند. منظور از MIC کمترین غلظت از یک آنتی‌بیوتیک است که می‌تواند رشد باکتری را در شرایط آزمایشگاهی مهار کند. برای تعیین MIC برای هر کمپلکس از یک سری ۷ تایی لوله آزمایش استریل استفاده شد. ۵ لوله برای آزمایش رقت‌های مختلف هر کمپلکس و ۲ لوله نیز به عنوان کنترل مثبت و منفی در نظر گرفته شدند. کنترل مثبت حاوی ۱۰۰ میکرولیتر باکتری رقیق شده، ۲۰۰

میکرولیتر بافر فسفات ۰/۲ مولار و ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت مولر هینتون براث و بدون کمپلکس بود. کنترل منفی حاوی ۳۰۰ میکرولیتر بافر فسفات و ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت مولر هینتون براث بود. در ادامه درون بقیه لوله‌ها ۱۰۰ میکرولیتر بافر فسفات استریل اضافه شد. به لوله اول ۱۰۰ میکرولیتر دیگر هم بافر اضافه شد تا پس از اضافه کردن کمپلکس برای رقیق سازی، بتوان ۱۰۰ میکرولیتر از آن را به لوله دوم اضافه کرد و رقیق‌سازی همینطور ادامه یافت (۱۷و۲۵). در این آزمایش اولین غلظت استفاده شده برای کمپلکس کورکومین ۲/۰میلی‌مولار بود و تا غلظت ۰/۱۲۵ میلی‌مولار رقیق‌سازی شد. برای کمپلکس بربرین اولین غلظت استفاده شده ۲۰ میلی‌مولار بود و تا غلظت ۰/۳۱۲ میلی‌مولار رقیق‌سازی گردید. علاوه بر ترکیب مورد آزمایش،۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت مولر هینتون براث و ۱۰۰ میکرولیتر باکتری رقیق شده به هر لوله اضافه شد. لازم به ذکر است حجم نهایی تمام لوله‌ها ۴۰۰ میکرولیتر بود. این لوله‌ها به مدت یک ساعت در دمای اتاق انکوبه شدند و پس از آن به انکوباتور تکان‌دهنده برای مدت ۲۴ ساعت منتقل شدند. پس از طی زمان انکوباسیون، لوله‌ها از نظر کدورت ناشی از رشد باکتری‌های تلقیح شده مورد بررسی قرارگرفتند. کمترین رقت از کمپلکس‌ها که مانع رشد باکتری‌ها شده بود و کدورت قابل مشاهده نداشت؛ به عنوان MIC در نظر گرفته شد. این روش برای هر دو کمپلکس کورکومین و بربرین و هر باکتری ۳ بار تکرار گردید.

آزمایشات با سه بار تکرار انجام شد و میانگین سه تکرار، نوار خطا (error bar) محاسبه شد.

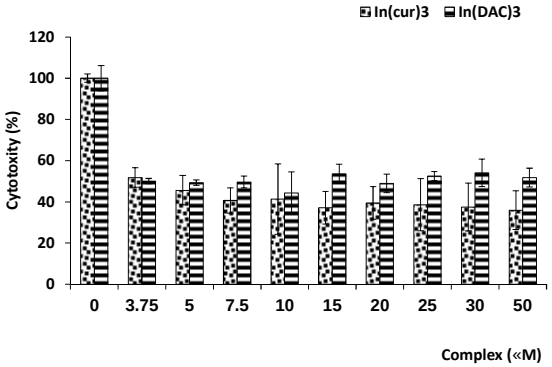
درصد سلول‌های زنده و درصد سمیت سلولی (درصد کشندگی) از فرمول‌های زیر محاسبه گردید.

$$\text{درصد سلول‌های زنده} = \frac{\text{میانگین جذب نمونه تیمار}}{\text{میانگین جذب نمونه کنترل}} \times ۱۰۰$$

$$\text{درصد سمیت سلولی} = \frac{\text{میانگین جذب نمونه کنترل} - \text{میانگین جذب نمونه تیمار}}{\text{میانگین جذب نمونه کنترل}} \times ۱۰۰$$

یافته‌ها

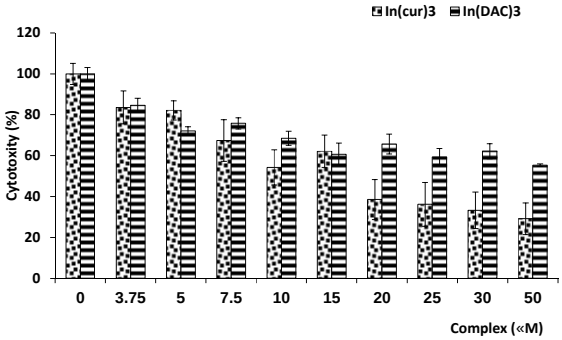
درصد مرگ سلول‌ها در حضور غلظت‌های مختلف کمپلکس‌ها در نمودار یک آمده است. هر دو کمپلکس باعث مرگ سلول‌های سرطانی مثانه شدند و از لحاظ میزان سمیت سلولی تفاوت زیادی بین دو کمپلکس دیده نشد؛ اما میزان سمیت کمپلکس دی استیل کورکومین بیشتر از کورکومین بود. در غلظت ۱۰ میکرو مولار از هر دو ترکیب سمیت ایندیوم کورکومین و ایندیوم دی استیل کورکومین به ترتیب ۵۸ درصد و ۵۵ درصد تعیین شدند. با افزایش غلظت کمپلکس ایندیم کورکومین، میزان مرگ سلولی افزایش یافت (نمودار یک). به‌طوری که در غلظت‌های ۳۰، ۲۵، ۲۰، ۱۵ و ۵۰ میکرومولار بیش از ۶۰ درصد سلول‌ها از بین رفتند؛ ولی در غلظت‌های ۳/۷۵ تا ۱۰ میکرومولار میزان مرگ سلولی کمتر از ۶۰ درصد بود. نتایج مجاورت رده سلولی سرطان مثانه با کمپلکس ایندیم دی‌استیل کورکومین در نمودار یک آمده است. در غلظت‌های ۳/۷۵ تا ۱۰ میکرومولار اثر سمیت سلولی افزایش یافت؛ اما در غلظت‌های ۱۵ تا ۳۰ میکرومولار اثر سمیت سلولی به مقدار کمی کاهش یافت. به‌دنبال انکوباسیون ۲۴ ساعته غلظت‌های مختلف کمپلکس های کورکومین با سلول‌های سرطانی مثانه، بیشترین میزان سمیت سلولی توسط غلظت ۵۰ میکرومولار (به میزان ۶۴ درصد) از کمپلکس ایندیم کورکومین و ۱۰ میکرومولار (به میزان ۵۵/۶۱درصد) از کمپلکس ایندیم دی‌استیل کورکومین مشاهده شد. همچنین درصد مرگ سلول‌ها در حضور هر دو کمپلکس حدود ۶۰-۵۰ درصد بود.



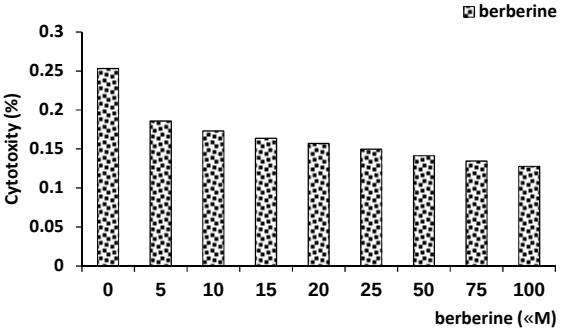
نمودار ۱ : اثر سمیت سلولی ایندیم کورکومین و ایندیم دی‌استیل‌کورکومین بر رده سلولی سرطان مثانه ۵۶۳۷

اثر غلظت‌های ۵۰-۰ میکرومولار کمپلکس‌های کورکومین بر رده سلول سرطانی معده در نمودار ۲ نشان داده شده است. با افزایش غلظت کمپلکس‌های کورکومین اثر سمیت سلولی آنها بر سلول‌های سرطانی معده افزایش یافت. به‌طوری که غلظت ۵۰ میکرومولار ایندیم‌کورکومین و ایندیم‌دی‌استیل‌کورکومین بیشترین اثر مهاری را بر رده سلولی AGS معده داشت. میزان مرگ سلولی در این غلظت ۷۱ درصد و ۴۴ درصد به ترتیب در حضور کمپلکس‌های ایندیم کورکومین و ایندیم‌دی‌استیل‌کورکومین بود. سمیت سلولی ایندیم‌کورکومین بیشتر از ایندیم‌دی‌استیل‌کورکومین بود. بین میزان کشندگی و افزایش غلظت کمپلکس های کورکومین رابطه مستقیم وجود داشت.

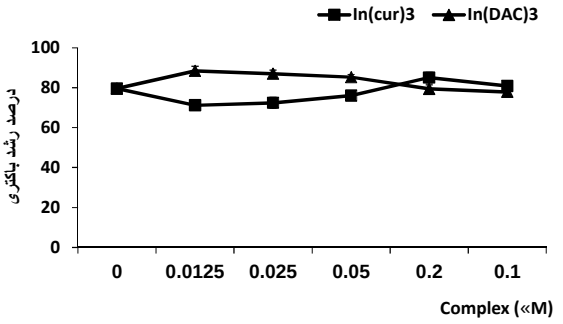
نتایج حاصل از اثر بربرین بر رده سلول سرطانی مثانه در نمودار ۳ آمده است. میزان سمیت سلولی در غلظت‌های ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میکرومولار بربرین به ترتیب ۳۶/۴۴، ۴۶/۴۳، ۵۴/۷۵، ۶۱/۳۵، ۶۹/۲۶، ۷۹/۲۴، ۸۸/۵۸ و ۹۸/۴۳ تعیین شد که نشان‌دهنده میزان مرگ سلولی با افزایش غلظت بربرین است. به‌طوری که در غلظت ۱۰۰ میکرومولار بربرین تقریباً تمام سلول‌های سرطانی از بین رفتند.



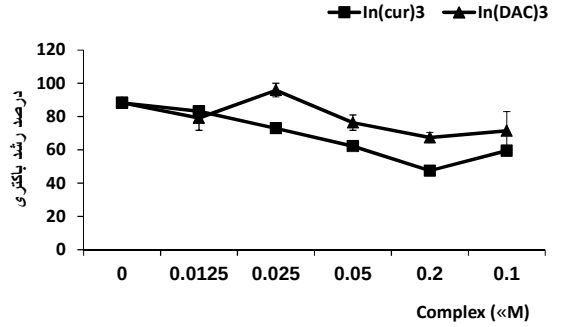
نمودار ۲ : اثر سمیت سلولی ایندیم کورکومین و ایندیم دی‌استیل‌کورکومین بر رده سلولی سرطان معده (AGS)



نمودار ۳ : اثر سمیت سلولی بربرین بر رده سلولی سرطان مثانه ۵۶۳۷



نمودار ٤ : درصد رشد باکتری باسیلوس پامیلوس در حضور غلظت‌های مختلف ایندیم کورکومین و ایندیم دی‌استیل‌کورکومین



نمودار ۵ : درصد رشد باکتری اشریشیاکلی در حضور غلظت‌های مختلف ایندیم کورکومین و ایندیم دی‌استیل‌کورکومین

در نمودار ۴ اثر غلظت‌های ۰/۲- ۰ میکرومولار کمپلکس‌های کورکومین بر باکتری باسیلوس پامیلوس نشان داده شده است. درصد رشد بر اساس اندازه‌گیری جذب و کدورت سنجی گزارش شده است. هیچیک از غلظت‌های کورکومین به‌طور کامل مانع رشد میکروارگانیسم نشدند. کمپلکس‌های ایندیم کورکومین و ایندیم دی‌استیل کورکومین اثر ضدباکتریایی قابل توجهی بر باکتری باسیلوس پامیلوس نداشتند.

نتایج حاصل از ارزیابی اثر ضدباکتریایی کمپلکس‌های کورکومین بر باکتری اشریشیاکلی در نمودار ۵ آورده شده است. هر دو کمپلکس باعث کاهش رشد باکتری اشریشیاکلی شدند؛ اما اثر ایندیم‌کورکومین بیشتر از ایندیم‌دی‌استیل کورکومین بود و در حضور غلظت‌های مختلف کمپلکس ایندیم دی استیل کورکومین کاهش قابل ملاحظه‌ای در رشد باکتری مشاهده نشد. اثر ضدباکتریایی کمپلکس‌ها وابسته به غلظت بود و با افزایش غلظت کمپلکس افزایش یافت. در مورد هر دو کمپلکس کورکومین حداقل غلظت مهارکنندگی رشد به دلیل این‌که لوله شفاف بود؛ مشخص نشد.

نتایج حاصل از ارزیابی اثر بربرین بر باکتری اشریشیاکلی نشان داد که بربرین اثر ضدباکتریایی وابسته به غلظت دارد. به‌طوری که با افزایش غلظت بربرین رشد باکتری‌ها کاهش یافت. میزان MIC ۵ میلی‌مولار تعیین شد و در این غلظت نمونه کاملاً شفاف بود.

بحث

با توجه به نتایج مطالعه حاضر، حداقل غلظت بازدارندگی بربرین برای باکتری اشریشیا کولی ۵ میلی‌مولار تعیین شد. در غلظت ۱۰۰ ماکرومولار بربرین تقریباً ۱۰۰ درصد سلول‌های سرطانی مثانه از بین رفتند. اثر سمیت سلولی کمپلکس‌های کورکومین بر دو رده سلولی سرطانی مثانه و معده نشان داد که هر دو کمپلکس به میزان مختلف اثر بازدارندگی بر حیات رده‌های سلولی دارند. فعالیت ضدباکتریایی کمپلکس‌ها در برابر باکتری‌های باسیلوس پامیلوس و اشریشیاکلی نشان داد که هیچیک از کمپلکس‌ها، اثر ضدباکتریایی در برابر باسیلوس پامیلوس ندارند؛ ولی هر دو کمپلکس مانع رشد باکتری اشریشیاکلی شدند.

بررسی خاصیت ضدسرطانی بربرین از دیرباز مورد توجه بسیاری از محققین بوده است (۱۹). در سال‌های اخیر مطالعات گسترده‌ای بر روی اثرات درمانی کورکومین به‌خصوص در زمینه انواع سرطان‌ها انجام شده است. این ترکیب می‌تواند در انواع مختلف سلول‌های سرطانی آپوپتوز را القا نماید و از سوی دیگر بر روی سلول‌های طبیعی اثر سوء نمی‌گذارد. اگرچه کورکومین در عمل می‌تواند به عنوان یک داروی هوشمند رفتار کرده و بسیاری از مسیرهای ایجاد سرطان را تعدیل نماید؛ اما کاربرد بالینی آن به واسطه نامحلول بودن و جذب بافتی کم محدود شده است (۲۶).

در مطالعه Thompson و همکاران اثر مهارکنندگی کورکومین و وانادیل کورکومین بر سلول‌های موش بررسی شد. کمپلکس وانادیل کورکومین در جلوگیری از رشد سلول‌های ماهیچه‌ای صاف، تکثیر سینویست (Synoviocyte) و رشد سلول‌های لنفوم موش نسبت به خود کورکومین بسیار موثرتر بود. IC50 مربوط به کورکومین در سلول‌های ماهیچه‌ای صاف ۱۳ میکرومولار بوده که نسبت به کمپلکس وانادیل کورکومین با IC50=2.9 µM برای اثرگذاری مشابه به غلظت چهار برابر بیشتر، نیاز دارد (۲۷). به‌دنبال این مطالعات اثر ضدسرطانی کمپلکس‌های کورکومین توسط محمدی و همکاران بر سلول‌های لنفوم موش بررسی شد (۱۴). آزمایش سمیت سلولی لیگاندها و کمپلکس‌های کورکومین بر سلول‌های لنفوم موش نشان داد که کمپلکس ایندیم کورکومین سمیت درون سلولی بیشتری نسبت به کمپلکس ایندیم دی‌استیل کورکومین دارد و نیز خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن قوی‌تر است (۱۴). در مطالعه حاضر ایندیم کورکومین و ایندیم دی‌استیل کورکومین به ترتیب ۶۳ درصد و ۵۵ درصد اثر سمیت سلولی بر رده سلولی سرطان مثانه نشان دادند. همچنین ایندیم کورکومین و ایندیم دی‌استیل کورکومین به ترتیب ۷۱ درصد و ۴۴ درصد اثر مهاری بر رده سلولی AGS معده داشتند. با توجه به این‌که سرطان معده در بدن از آسیب‌های پیش سرطانی التهابی به‌وجود می‌آید و از آنجا که کورکومین یک ترکیب ضدالتهاب نیز است؛ می‌توان انتظار داشت که کمپلکس‌های کورکومین می‌توانند در پیشگیری از وقوع سرطان نقش داشته باشند. به علاوه زردچوبه از مدت‌ها به عنوان یک ادویه در مواد غذایی استفاده شده و مطالعات نشان داده‌اند که مصرف مقادیر بالای آن نیز در فرد مسمومیت ایجاد نمی‌نماید (۲۸). لذا می‌توان انتظار داشت کمپلکس ایندیم کورکومین نیز این پتانسیل را دارد که به عنوان یک دارو با حداقل اثرات جانبی برای درمان سرطان معده به‌کار رود. همچنین در این مطالعه اثر سمیت سلولی بربرین نیز بر سلول‌های سرطانی مثانه نشان داد که بربرین اثر سمیت بر سلول‌های سرطانی دارد. به طوری که در غلظت ۱۰۰ میکرومولار بربرین، تقریبا ۹۸ درصد سلول‌ها از بین رفتند. با توجه به این که گیاه زرشک مصرف خوراکی هم دارد و غنی از بربرین است؛ درنتیجه با خواص درمانی بسیار مفید این ماده توصیه می‌شود تا در برنامه غذایی افراد گنجانده شود.

در مطالعه حاضر برخلاف بربرین، هیچ کدام از کمپلکس‌های کورکومین اثر ضدباکتریایی بسیار قوی نداشتند و مانع رشد باکتری باسیلوس پامیلوس نشدند. با افزایش غلظت کمپلکس ایندیم کورکومین رشد باکتری اشریشیاکلی کاهش یافت. در حالی که ایندیم دی‌استیل کورکومین فعالیت ضدباکتریایی نسبتاً مناسبی برای باکتری اشریشیاکلی نشان نداد. نتایج مطالعات پیشین نشان داده که ترکیباتی با منشأ گیاهی غنی از فنل خاصیت ضدمیکروبی خود را از طریق سازوکارهایی چون تجزیه دیواره سلولی (۲۹)، آسیب به غشای سلولی، نشت محتویات سلول به خارج، اختلال در نقل و انتقال پروتون و جلوگیری از متابولیسم باکتری اعمال می‌کنند (۳۰).

پیشنهاد می‌شود اثرات کمپلکس‌های فلزی کورکومین و بربرین بر رده های مختلف سلول‌های سرطانی مورد آزمایش قرار گیرند و همچنین مکانیسم مولکولی عملکرد آنها در درون سلول مورد بررسی قرار گیرند. بررسی‌های بیشتر در مورد آثار غلظت‌های مختلف کمپلکس‌های کورکومین و بربرین و انتقال آنها به حامل هایی از جنس نانوذرات و بررسی اثرات ضدسرطانی آنها و انجام مطالعات در مدل‌های حیوانی و کارآزمایی‌های بالینی می‌تواند در دستیابی به داروهای جدید ضدسرطان راهگشا باشد.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که کمپلکس‌های ایندیوم کورکومین و ایندیوم دی استیل کورکومین به‌صورت بالقوه ویژگی درمانی ضدسرطانی و ضدباکتریایی دارند.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان‌نامه (شماره ۲۲۲۲۷۳۹) خانم زهرا آل خمیس برای اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته بیوشیمی از دانشکده علوم زیستی دانشگاه تحصیلات تکمیلی علوم پایه زنجان و نیز حاصل پایان‌نامه (شماره ۲۲۲۰۲۷۱) خانم مهدیه مصطفوی برای اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته بیوفیزیک از دانشکده علوم زیستی دانشگاه تحصیلات تکمیلی علوم پایه زنجان بود.

References

1. Cowan MM. Plant products as antimicrobial agents. Clin Microbiol Rev. 1999 Oct; 12(4): 564-82.

2. Grant KL, Schneider CD. Turmeric. Am J Health Syst Pharm. 2000 Jun; 57(12): 1121-22.

3. Aggarwal BB, Sundaram C, Malani N, Ichikawa H. Curcumin: the Indian solid gold. Adv Exp Med Biol. 2007; 595: 1-75. doi:10.1007/978-0-387-46401-5_1

4. Shen L, Ji HF. The pharmacology of curcumin: is it the degradation products? Trends Mol Med. 2012 Mar; 18(3): 138-44. doi:10.1016/j.molmed.2012.01.004

5. Sharma RA, Gescher AJ, Steward WP. Curcumin: the story so far. Eur J Cancer. 2005 Sep; 41(13): 1955-68. doi:10.1016/j.ejca.2005.05.009

6. Aggarwal BB, Kumar A, Bharti AC. Anticancer potential of curcumin: preclinical and clinical studies. Anticancer Res. 2003 Jan-Feb; 23(1A): 363-98.

7. Shen L, Ji HF. Low stability remedies the low bioavailability of curcumin. Trends in Molecular Medicine 2012; 18(7): 363-64. https://doi.org/10.1016/j.molmed.2012.05.002

8. Ji HF, Shen L. Can improving bioavailability improve the bioactivity of curcumin? Trends Pharmacol Sci. 2014 Jun; 35(6): 265-66. doi:10.1016/j.tips.2014.04.001

9. Annaraj J, Srinivasan S, Ponvel KM, Athappan P. Mixed ligand copper(II) complexes of phenanthroline/bipyridyl and curcumin diketimines as DNA intercalators and their electrochemical behavior under Nafion and clay modified

electrodes. J Inorg Biochem. 2005 Mar; 99(3): 669-76. doi:10.1016/j.jinorgbio.2004.11.018

10. Subhan MA, Alam K, Rahaman MS, Rahman MA, Awal R. Synthesis and characterization of metal complexes containing curcumin (C_{21} H_{20} O_6) and study of their anti-microbial activities and DNA-binding properties. J Sci Res. 2014; 6(1): 97-109. http://dx.doi.org/10.3329/jsr.v6i1.15381

11. Mei X, Xu D, Xu S, Zheng Y, Xu S. Gastroprotective and antidepressant effects of a new zinc (II)–curcumin complex in rodent models of gastric ulcer and depression induced by stresses. Pharmacology Biochemistry and Behavior. 2011, 99: 66-74. doi:10.1016/j.pbb.2011.04.002

12. Bala K, Tripathy BC, Sharma D. Neuroprotective and anti-ageing effects of curcumin in aged rat brain regions. Biogerontology. 2006 Apr; 7(2): 81-89. doi:10.1007/s10522-006-6495-x

13. Vajragupta O, Boonchoong P, Watanabe H, Tohda M, Kummasud N, Sumanont Y. Manganese complexes of curcumin and its derivatives: evaluation for the radical scavenging ability and neuroprotective activity. Free Radic Biol Med. 2003 Dec; 35(12): 1632-44.

14. Mohammadi K, Thompson KH, Patrick BO, Storr T, Martins C, Polishchuk E, et al. Synthesis and characterization of dual function vanadyl, gallium and indium curcumin complexes for medicinal applications. J Inorg Biochem. 2005 Nov; 99(11): 2217-25. doi:10.1016/j.jinorgbio.2005.08.001

15. Seligman PA, Schleicher RB, Siriwardana G, Domenico J, Gelfand EW. Effects of agents that inhibit cellular iron incorporation on bladder cancer cell proliferation. Blood. 1993 Sep; 82(5): 1608-17.

16. David S, Barros V, Cruz C, Delgado R. In vitro effect of free and complexed indium(III) against Mycobacterium tuberculosis. FEMS Microbiol Lett. 2005 Oct; 251(1): 119-24. doi:10.1016/j.femsle.2005.07.044

17. Tajbakhsh S, Mohammadi K, Deilami I, Zandi K, Fouladvand M, Ramedani E, Asayesh G. Antibacterial activity of indium curcumin and indium diacetylcurcumin. Afr J Biotechnol. 2008; 7(21): 3832-35.

18. Birdsall TC, Kelly GS. Berberine: Therapeutic potential of an alkaloid found in several medicinal plants. Alt Med Rev. 1997; 2(2): 94-103.

19. Pinto-Garcia L, Efferth T, Torres A, Hoheisel JD, Youns M. Berberine inhibits cell growth and mediates caspase-independent cell death in human pancreatic cancer cells. Planta Med. 2010 Aug; 76(11): 1155-61. doi:10.1055/s-0030-1249931

20. Taghavi N, Nasrollahzadeh D, Merat S, Yazdanbod A, Hormazdi M, Sotoudeh M, et al. Epidemiology of upper gastrointestinal cancers in Iran: a sub site analysis of 761 cases. World J Gastroenterol. 2007 Oct; 13(40): 5367–70. doi:10.3748/wjg.v13.i40.5367

21. Gu J, Wu X. Genetic susceptibility to bladder cancer risk and outcome. Per Med. 2011 May; 8(3): 365-74. 10.2217/PME.11.15

22. Scudiero DA, Shoemaker RH, Paull KD, Monks A, Tierney S, Nofziger TH, et al. Evaluation of a soluble tetrazolium/formazan assay for cell growth and drug sensitivity in culture using human and other tumor cell lines. Cancer Res. 1988 Sep; 48(17): 4827-33.

23. Kumar SR, Priyatharshni S, Babu VN, Mangalaraj D, Viswanathan C, Kannan S, et al. Quercetin conjugated superparamagnetic magnetite nanoparticles for in-vitro analysis of breast cancer cell lines for chemotherapy applications. J Colloid Interface Sci. 2014 Dec; 436: 234-42. doi:10.1016/j.jcis.2014.08.064

24. Kunwar A, Barik A, Mishra B, Rathinasamy K, Pandey R, Priyadarsini KI. Quantitative cellular uptake, localization and cytotoxicity of curcumin in normal and tumor cells. Biochim Biophys Acta. 2008 Apr; 1780(4): 673-79. doi:10.1016/j.bbagen.2007.11.016

25. Hamidi A. [The biological effect of vanadyl curcumin complexes: cytotoxicity, antibacterial activity and the effect on peroxidase enzyme]. Master Thesis Department Biology Science, Institute for Advanced Studies in Basic Sciences Gava Zang. Zanjan, Iran. 2014. [Persian]

26. Kuo ML, Huang TS, Lin JK. Curcumin, an antioxidant and anti-tumor promoter, induces apoptosis in human leukemia cells. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease. 1996; 1317(2): 95-100. https://doi.org/10.1016/S0925-4439(96)00032-4

27. Thompson KH, Böhmerle K, Polishchuk E, Martins C, Toleikis P, Tse J, et al. Complementary inhibition of synoviocyte, smooth muscle cell or mouse lymphoma cell proliferation by a vanadyl curcumin complex compared to curcumin alone. J Inorg Biochem. 2004 Dec; 98(12): 2063-70. doi:10.1016/j.jinorgbio.2004.09.011

28. Panahi A, Nakhaei Sistani R, Sadeghizadeh M. [Evaluation of apoptosis induction on gastric cancer AGS cells made by polymer nano Curcumin]. Police Medicine. 2013; 1(3): 200-207. [Article in Persian]

29. Hammer KA, Carson CF, Riley TV. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. Journal of Applied Microbiology. 1999; 86(6): 985-990. https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.1999.00780.x

30. Lambert RJ, Skandamis PN, Coote PJ, Nychas GJ. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. J Appl Microbiol. 2001 Sep; 91(3): 453-62.

Original Paper

Antibacterial effect of Berberin and Curcumin complexes on *Escherichia coli* and *Bacillus pedillus* bacteria and comparison of their cytotoxicity on the cell line of bladder and stomach cancer cells

Zahra Alkhamis (M.A)[1], Mahdiye Mostafavi (M.A)[2], Leila Hassani (Ph.D)*[3]
Fakhrossadat Mohammadi (Ph.D)[4], Khosro Mohammadi (Ph.D)[5]

[1](First Author) M.A in Biochemistry, Department of Biological Sciences, Institute for Advanced Studies in Basic Sciences, Zanjan, Iran. [2](First Author) M.A in Biophysics, Department of Biological Sciences, Institute for Advanced Studies in Basic Sciences and Ph.D Candidate in Biochemistry, Department of Biological Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran. [3]Associate Professor, Department of Biological Sciences, Institute for Advanced Studies in Basic Sciences, Zanjan, Iran. [4]Assistant Professor, Department of Chemistry, Institute for Advanced Studies in Basic Sciences, Zanjan, Iran. [5]Associate Professor, Department of Chemistry, Faculty of Sciences, Persian Gulf University, Bushehr, Iran.

Abstract

Background and Objective: Curcumin is a combination of active polyphenol from the Curcuma Langa plant, which has extensive biological activities including effects anti-inflammatory, anti-bacterial and cytotoxic markers for multiple cancer cells. Berberine is an alkaloied isokinolin that is present in berberine and suppresses the growth of many tumor cells. This study was designed to determine the antibacterial effect of berberine and indium curcumin and indium diastile curcumin complexes against *E-coli* and *Bacillus pumilus* and comparison of their cytotoxicity on the cell lines of the bladder and stomach cancer cells.

Methods: In this descriptive-analytic study, antimicrobial activity and cytotoxicity effect of berberine and indium curcumin and indium diastile curcumin complexes was investigated by MTT and dilution test method respectively. *E-coli* [*BL21 (DE 3)*], *Bacillus pumilus* (*PTCC 1529*), cell lines of bladder (5637) and stomach (AGS) were evaluated.

Results: The minimum inhibitory concentration (MIC) of berberin for *E-coli* was determined 5 mM. At 100 micromolar concentration of berberine approximately 100% of the bladder cancer cells have disappeared. Cytotoxic effect of curcumin complexes on two bladder and stomach cancer cell lines showed that both complexes have different inhibitory effects on cell line life. Cytotoxicity of 20µM indium curcumin and indium diastile curcumin complexes for bladder cancer cells were 58% and 55%, respectively, and for stomach cancer cells were 61% and 34 %, respectively. Antibacterial activity of complexes against *Bacillus pumilus* and *E-coli* showed that none of the complexes has antimicrobial effect against *Bacillus Pamilus*, but both complexes inhibited the growth of *E-coli* bacteria. The bacteria population in the presence of indium curcumin and indium diastile curcumin complexes was reduced to 40% and 24%, respectively.

Conclusion: This study indicated that indium complexes of curcumin and diacetyl curcumin have a potential for anticancer and antibacterial therapy. Furthermore, berberine as an alkaloid has anticancer and antibacterial activity.

Keywords: Curcumin, Berberine, Anticancer, Antibacterial, Cytotoxicity, *E-coli*, *Bacillus pumilus*

*** Corresponding Author: Hassani L (Ph.D), E-mail: hasani@iasbs.ac.ir**

Received 9 May 2017 **Revised** 24 Dec 2017 **Accepted** 28 Jan 2018

Cite this article as: Alkhamis Z, Mostafavi M, Hassani L, Mohammadi F, Mohammadi Kh. [Antibacterial effect of Berberin and Curcumin complexes on *Escherichia coli* and *Bacillus pedillus* bacteria and comparison of their cytotoxicity on the cell line of bladder and stomach cancer cells]. J Gorgan Univ Med Sci. 2018 Autumn; 20 (3): 82-89. [Article in Persian]

Orcid id: Zahra Alkhamis: 0000-0002-3583-9258, Mahdiye Mostafavi: 0000-0002-9223-0465, Leila Hassani: 0000-0001-9447-9080, Fakhrossadat Mohammadi: 0000-0002-5255-5687, Khosro Mohammadi: 0000-0003-0861-0199