DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.4.2.2
مقاله پژوهشی

اثر ضدباکتریایی و سمیت سلولی میوه انجیر (*Ficus carica* L.) بر رده سلول های سرطانی کبد (Hepatocellular carcinoma)

محمدحسین معظمی[۱]، مهسا شاه بنده[۲] و مهسا امین صالحی[۳]*

[۱] ایران، کرج، شرکت البرز نانوتجهیز رایان، گروه پژوهشی لنترن.

[۲] ایران، ساوه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساوه، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان.

[۳] ایران، همدان، دانشگاه بوعلی سینا، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۸/۲۹ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۴/۰۳

چکیده

امروزه گیاهان دارویی دارای پتانسیل بالقوه برای کشف داروهای جدید هستند. سرطان کبد به عنوان یکی از شایع ترین سرطان‌ها در دنیا شناخته شده است. انجیر به عنوان یکی از مهمترین گیاهان دارویی در دنیا شناخته شده است. در مطالعه حاضر اثر ضد میکروبی و ضد سرطانی میوه انجیر در غلظت های مختلف سنجیده شد. در سنجش ضدمیکروبی، تمامی سویه های مورد مطالعه شامل استافیلوکوکوس اورئوس، ایکلای و سودوموناس آئروژینوزا به غلظت متانولی عصاره در برابر غلظت متانولی عصاره کاهش رشد را نشان دادند. مقدار MIC در بازه 8 µg/mL تا 16 µg/mL و مقدار MBC بین 16 µg/mL تا 32 µg/mL تعیین گردید. عصاره هیدروالکلی میوه گیاه انجیر با غلظت های مختلف (5/0 mg/mL، ۰/۷۵، ۱، ۱/۵) بر رشد سلول های سرطانی کبد رده HepG2 و سلول های فیبروبلاست رده L929 به عنوان کنترل در سه بازه زمانی ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت با آزمون MTT بررسی شد. نتایج نشان داد که تاثیر عصاره میوه انجیر وابسته به دوز و زمان است و با افزایش زمان از میزان زیستایی سلول ها کاسته شده است و در زمان انکوباسیون ۷۲ ساعت و غلظت 5/1 mg/mL زیستایی سلول ها ۸ درصد مشاهده شد. نتایج نشان داد که IC50 برای سلول های سرطانی در غلظت 5/0 mg/mL و زمان ۲۴ ساعت مشاهده شد. با توجه به نتایج می توان ادعا کرد عصاره میوه انجیر در غلظت های مختلف دارای اثر مهاری بر رشد باکتری ها و نیز سلول های سرطانی کبد است، لذا با مطالعات بیشتر می توان از این گیاه در درمان بهره جست.

واژه های کلیدی: سرطان، میوه انجیر، سرطان کبد، عصاره متانولی.

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۲۸۵۵۳۴۹۸ ، پست الکترونیکی: A.masha@sci.basu.ac.ir

مقدمه

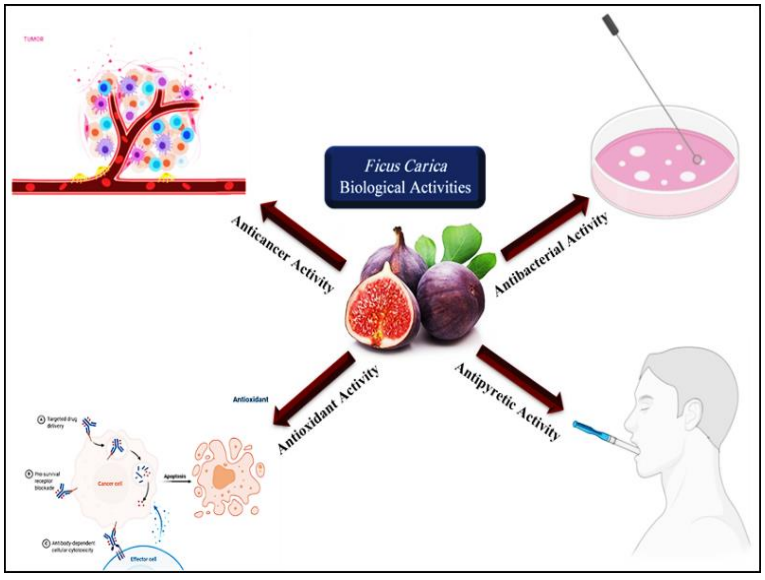
بر طبق آمار ارائه شده هرساله حدود ۷-۶ میلیون نفر در اثر ابتلا به بیماری سرطان جان خود را ازدست می دهند(۶). سرطان کبد یکی از ۶ سرطان با شیوع بالا در جوامع مختلف شناخته شده است. یکی از شایع ترین سرطان های کبد در جهان کارسینومای هپاتوسلولار که میزان بقای افراد مبتلا شده به این نوع سرطان کمتر از ۵ درصد گزارش شده است(۳). امروزه با توجه به معایب روش های درمان سرطان، نیاز به ترکیبات دارویی با اثرگذاری بهتر و محدودیت های کمتر بیشتر شده است(۲۱). گزارش شده است که گیاهان دارویی کاربردهای بسیاری در زمینه های مختلف غذایی، آرایشی و دارویی داشته و نیز سمیت سلولی را در برابر انواع مختلف سلول های سرطانی انجام می دهند(۱،۸،۲۰).

گیاه انجیر یکی از گیاهان دارویی است که امروزه بسیار

DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.4.2.2

مورد توجه قرار گرفته است. این گیاه جایگاه ویژه ای در طب سنتی به خود اختصاص داده است(۱۰ و ۱۲). این گیاه با نام علمی *Ficus carica* L. از خانواده Moraceae است که دارای بیش از ۷۰۰ گونه است (۱۴). گیاه انجیر بومی مناطق گرمسیری بوده که دارای انواع ترکیبات دارویی و مهم مثل انواع ویتامین ها، ترکیبات فنلی، املاح معدنی و اسیدهای ارگانیک است (۱۸).

مطالعات مختلف بیانگر آن است که فلانوئید این گیاه به نام لوتئولین دارای اثرمهاری در برابر باکتری ها و نیز ضد سرطان و ضد متاستاز است (۸ و ۱۱) و از کاربردهای آن در مطالعات مختلف یاد شده است (شکل ۱). در مطالعه ای تاثیر مثبت عصاره برگ و میوه های این گیاه در تحریک سیستم ایمنی تایید شده است (۱۳). مطالعات نشان داده است که عصاره برگ و میوه گیاه انجیر دارای اثرات سایتوتوکسیک برروی سلول های جدا شده از سرطان به صورت *in vitro* می باشد. برگ ها و میوه انجیر دارای ترکیبات فنولی فراوانی ازجمله از فورانوکومارین ها و فیتواسترول ها است که ویژگی های فارموکولوژیکی این گیاه را به همین ترکیبات نسبت داده اند (۱۶). در مطالعه ای تاثیر مثبت عصاره برگ و میوه های این گیاه در تحریک سیستم ایمنی تایید شده است (۱۴). در مطالعه ای که توسط Rasouli و همکاران (۲۰۱۰) انجام شد، نتایج نشان داد عصاره برگ انجیر منجر به کاهش میزان اسیدهای چرب کبد رت های دارای چربی خون شد (۱۹). در کنار خاصیت ضد سرطانی که برای فراورده های این گیاه گزارش شده است برخی از مطالعات نیز نشان داده است که این فراورده ها می توانند تاثیرات ضد میکروبی نیز داشته باشند.(۹ و ۲۴). در مطالعه ای تاثیر مثبت برگ های انجیر در مقابل باکتری های کاریوژنیک دهانی تایید شد (۱۰). طبقه یافته ها، استفاده از عصاره متانولی گیاه برگ انجیر (MICs, mg/mL 0.156 to 5)به عنوان یک ترکیب ضد باکتریایی قوی علیه باکتری های دهانی معرفی شد. همچنین ترکیب عصاره متانولی برگ انجیر با آنتی بیوتیک هایی مثل آمپی سیلین و جنتامایسین در برابر باکتری های دهانی اثر هم افزایی را نشان داد که نشان دهنده آن است که انجیر می تواند به عنوان یک ماده ضد باکتری طبیعی عمل کند (۱۰). در مطالعه دیگری تاثیر هگزان ، کلروفرم ، اتیل استات و عصاره ضد میکروبی میوه گیاه *F. carica* در شرایط *in vitro* در برابر پنج گونه باکتریایی و هفت سویه قارچ با استفاده از روش انتشار دیسک بررسی شد. نتایج نشان داد که میوه انجیر دارای تاثیر مهاری در غلظت ۵۰۰ میکروگرم در میلی لیتر بر *Candida albicans* و نیز دارای تاثیر منفی در برابر رشد *Cryptococcus neoforman* است (۱۴).



شکل ۱- فعالیت های بیولوژیکی گیاه انجیر (*F.carica*) (۱۴)

DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.4.2.2

باتوجه به سابقه استفاده از گیاهان دارویی و نیز تاثیرات مفید آن ها در درمان انواع مختلفی از بیماری ها نسبت به داروهای شیمیایی، کابرد این ترکیبات به عنوان داروهای ضدسرطان و ترکیباتی ضدباکتریایی بسیارحائز اهمیت است(۲۵). بنابراین در این مقاله اثر سمیت و آپوپتوزی عصاره الکلی گیاه انجیر بر رده سلولی سرطان کبد (HepG2) و نیز سلول نرمال فیبروبلاست (L929) مورد بررسی قرار گرفت. همچنین تست های میکروبی نیز علیه سه باکتری استافیلوکوکوس اورئوس، ایکلای و سودوموناس آئروژینوزا سنجیده شد.

مواد و روشها

تهیه عصاره گیاه: گیاه انجیر از پژوهشکده گیاهان دارویی کرج تهیه و استخراج عصاره هیدروالکلی میوه آن به روش روتاری انجام شد. جهت عصاره گیری ابتدا میوه گیاه انجیر پودر شده توسط آسیاب را داخل استوانه ریخته و سپس حلال هیدروالکلی شامل الکل اتانول ۹۰ درصد و ۱۰ درصد آب مقطر ریخته شد که پودر گیاه توسط حلال پوشانده شود. سپس محلول در دستگاه آون و در دمای۵۰ درجه سانتی گراد قرار داده شد. پس از ۷۲ ساعت محلول از کاغذ صافی عبور داده شد و به صورت متوالی در دستگاه روتاری استریک قرار داده شد که نهایتا با جداسازی الکل ازمحلول، مایع بدست آمده خشک شده و پودر حاصل به عنوان عصاره میوه انجیر حاصل شد. عصاره خشک شده برای تهیه غلظت های مختلف (۰/۵ ، ۰/۷۵، ۱ و ۱/۵ mg/mL) در اتانول و DMSO جهت آنالیزهای میکروبی و ضدسرطانی حل شد(۱۸) .

تهیه سوسپانسیون میکروبی با غلظت استاندارد: در این پژوهش از ۳ نمونه باکتری استاندارد ایکلای ، سودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوکوس اورئوس خریداری شده از سازمان پژوهش های علمی و صنعتی ایران به صورت لیوفیلیزه، جهت بررسی تاثیر خاصیت آنتی باکتریایی عصاره میوه انجیر استفاده شد. به منظور تهیه سوسپانسیون باکتریایی چندین کلنی از باکتری های تازه کشت شده به محیط کشت مولر هینتون براث منتقل شد. کدورت سوسپانسیون میکروبی تهیه شده معادل ۰/۵ مک فارلند تهیه و برای تایید، جذب نوری در طول موج ۶۳۰ نانومتر در محدوده ۰/۰۸تا ۰/۱ تنظیم گردید.

بررسی اثر ضدمیکروبی عصاره: حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) عصاره ها به روش میکرودایلوشن انجام شد. به هفت چاهک از میکروپلیت ۹۶ خانه ای میزان ۱۰۰ µL از محیط مولر هینتون براث اضافه شد. سپس به چاهک اول ۱۰۰ µL از محلول رقیق شده عصاره اضافه شده و پس از مخلوط کردن ۱۰۰ µL از چاهک اول برداشته به چاهک دوم اضافه کرده، بدین ترتیب تا آخرین چاهک این کار انجام داده شد (غلظت اولیه عصاره ۱۰۰ µL است که با وارد کردن ۱ میلی لیتر از عصاره به لوله اول که حاوی۱ میلی لیتر محیط کشت است غلظت ۵۰ µL به دست می آید). از چاهک آخر 100 µL محیط کشت خارج کرده و مقدار ۱۰۰ µL از سوسپانسیون میکروبی حاوی ۱۰۷ واحد در میلی لیتر معادل ۰/۵ مک فارلند اضافه شده و در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفت. اولین چاهکی که از رشد باکتری پس از قرار دادن در انکوباتور جلوگیری کرده است به عنوان (MIC) در نظر گرفته شد و برای اطمینان از چاهک های شفاف ۱۰µL برداشته و به محیط مولر هینتون آگار منتقل کرده و پس از ۲۴ ساعت اولین رقتی که توانسته ۹۹/۹ ٪ رشد باکتری را مهار کند به عنوان حداقل غلظت کشندگی در نظر گرفته شد (۱۳). به منظور تأیید نتایج حاصل، آزمایشات سه بار تکرار گردید.

آزمون MTT: سلول های سرطانی کبد (رده سلولی HepG2و فیبروبلاست (رده سلولیL929) از بانک سلولی انستیتو پاستور ایران تهیه و در محیط RPMI1640 به همراه ۱۰٪ FBS و با آنتی بیوتیک های پنی سیلین-

DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.4.2.2

استرپتومایسین به میزان ٪ ۱ (۱۰۰ U/mL پنی سیلین و ۱۰۰ µg استرپتومایسین) در فلاسک (T25) در انکوباتور ۵٪ CO2 کشت داده شدند. پس از گذشت ۴۸ ساعت و پوشیده شدن بستر فلاسک از سلول، لایه سلول های چسبیده به کف فلاسک به روش آنزیمی و با استفاده از تریپسین– EDTA 5% جدا گردید . سپس به مدت ۵ دقیقه در ۲۰۰۰ rpm سانتریفیوژ شد و پس از آن سلول ها به محیط کشت جدید منتقل شده و از آن ها سوسپانسیون سلولی به میزان 10^5 µg/mL تهیه شد. اثر سیاتوتوکسیک عصاره انجیر با استفاده از روش تغییر یافته آزمون رنگ سنجی MTT که به عنوان شاخص بقای سلولی است، مشخص گردید. در روش MTT با دخالت آنزیم های دهیدروژناز میتوکندری های سلول های زنده، کریستال های فورمازان می شود. این کریستال ها با حل شدن در ایزوپروپانول اسیدی حل منجر به تولید محلول بنفش رنگ می شوند(۱۸).

۴۰ میکرولیتر از سوسپانسیون سلولی($1/5\times10^8$ CFU/mL) با تهیه شده را درون چاهک های پلیت ۹۶ خانه ای ریخته و نهایتا حجم نهایی هر چاهک به استفاده از محیط ۱۰ درصد FBS به ۲۰۰ µg رسید. ردیف اول به عنوان کنترل منفی و حاوی سوسپانسیون سلولی در نظر گرفته شد. همچنین از دوکسوروبیسین با غلظت ۲۰۰ µg/mL به عنوان کنترل مثبت استفاده شد. پس از گذشت ۲۰–۲۴ ساعت انکوبه کردن، محیط رویی سلول ها خارج و به همه ردیف ها (بجز کنترل مثبت و منفی) عصاره رقیق شده با غلظت های ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ µg/mL به ترتیب به ردیف های سوم تا ششم اضافه شد. پلیت به مدت ۲۴، ۴۸ و۷۲ ساعت در انکوباتور CO_2 انکوبه شد. بعد از انکوباسیون، پلیت را از داخل انکوباتور خارج کرده و به همه چاهک ها MTT (شرکت سیگما) با غلظت۲۰ µl اضافه شد، و به مدت ۳ ساعت در انکوباتور قرار گرفت. سپس محیط رویی را خارج کرده ۲۰ µl DMSO رقیق شده جهت حل کردن فورمازان ارغوانی رنگ به چاهک ها اضافه شد.

میزان جذب نوری(OD) بر حسب شدت رنگ آبی فورمازان در طول موج ۵۷۰ نانومتر توسط الایزا ریدر قرائت شد. به منظور تبدیلOD به درصد سلول های زنده از فرمول زیر استفاده شد و درصد زنده مانی سلول ها در مورد هر غلظت، پس از ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت محاسبه گردید:

درصد توانایی زیستی = (ODتست /ODشاهد) ×۱۰۰

غلظتی از عصاره که درصد حیات سلولی را به نصف کاهش دهد به عنوان IC_{50} در نظر گرفته شد. همچنین سلول ها بدون تیمار با عصاره به عنوان کنترل در نظر گرفته شد(۲۲). سپس آنالیز آماری نتایج تجربی وتعیین IC_{50} با نرم افزار SPSS و آزمون آماری آنالیز واریانس یک راهه (ANOVA) انجام گردید.

نتایج

نتایج تاثیر ضد میکروبی عصاره: بررسی خاصیت ضد میکروبی غلظت های مختلف عصاره علیه سه باکتری مورد مطالعه نشان داد که عصاره دارای خواص انتی باکتریال می باشد و می تواند منجر به مهار رشد باکتری های فوق گردد. نتایج MIC و MBC عصاره بر روی سه سویه مورد ارزیابی در جدول ۱ ارایه شده است.

جدول ۱– نتایج بررسی فعالیت ضد میکروبی غلظت های مختلف عصاره انجیر بر روی سه سویه باکتریایی بر اساس MIC و MBC

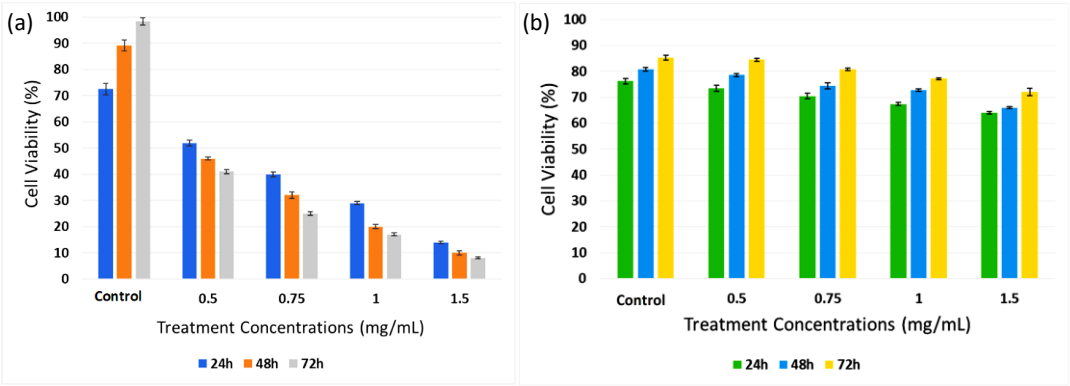
Bacterial Strains	MIC (µg/mL)	MBC (µg/mL)
P.aueroginosa	16	32
S. aureus	16	32
E.coli	8	16

DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.4.2.2

طبق نتایج بدست آمده عصاره انجیر با میزان MIC µg/mL 8 بهترین اثر ضدمیکروبی را علیه باکتری ایکلای داشته است و با غلظت بالاتر معادل 16 µg/mL دارای اثر مهاری علیه باکتری سودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوکوس اورئوس بوده است.

تأثیر غلظت های مختلف عصاره میوه انجیر، بر رشد و تکثیر سلول سرطانی کبد در زمان های مختلف با استفاده روش MTT: نتایج نشان می دهد تاثیر عصاره هیدروالکلی میوه انجیر بر رده سلولی HepG2 وابسته به غلظت عصاره و نیز زمان است، به طوری که با افزایش غلظت و زمان از درصد رشد و زیستایی سلول ها کاسته می شود. در تیمار کنترل میزان زیستایی سلول ها در زمان انکوباسیون ۷۲ ساعت ۱/۴۰ ± ۹۸,۴۳ درصد مشاهده شد (شکل ۲).

آنالیزهای آماری نشان می دهد که در زمان ۲۴ ساعت، با افزایش غلظت عصاره از میزان زیستایی سلول ها کاسته شده است، بدین معنی که در غلظت ۰/۵ میلی گرم بر میلی لیتر، میزان رشد سلول ها ۵۲ درصد مشاهده شد، در صورتی که با افزایش غلظت از این درصد کاسته شده و در غلظت ۱/۵ mg/mL میزان زیستایی سلول ها ۰/۴۴ ± ۱۴/۷۳ درصد مشاهده شد که از نظر آماری دارای اختلاف معنی داری در سطح ۰/۰۵ هستند. همچنین در زمان انکوباسیون ۴۸ ساعت، با افزایش غلظت از ۰/۵ mg/mL به ۱/۵ mg/mL میزان زیستایی سلول ها از ۴۶/۳۳ درصد به ۱۰/۹۱ درصد کاهش یافته است که از نظر آماری دارای اختلاف معنی داری در سطح ۰/۰۵ هستند. نتایج انکوباسیون ۷۲ ساعته نیز حاکی از آن است که درصد زیستایی سول ها دارای اختلاف معنی داری در سطح ۰/۰۵ است. با افزایش زمان و غلظت عصاره، درصد زیستایی سلول ها از ۹۸ درصد در نمونه کنترل و زمان ۷۲ ساعت، به ۰/۳۲ ± ۸/۲۴ درصد در تیمار ۱/۵ mg/mL کاهش یافته است (شکل ۲).

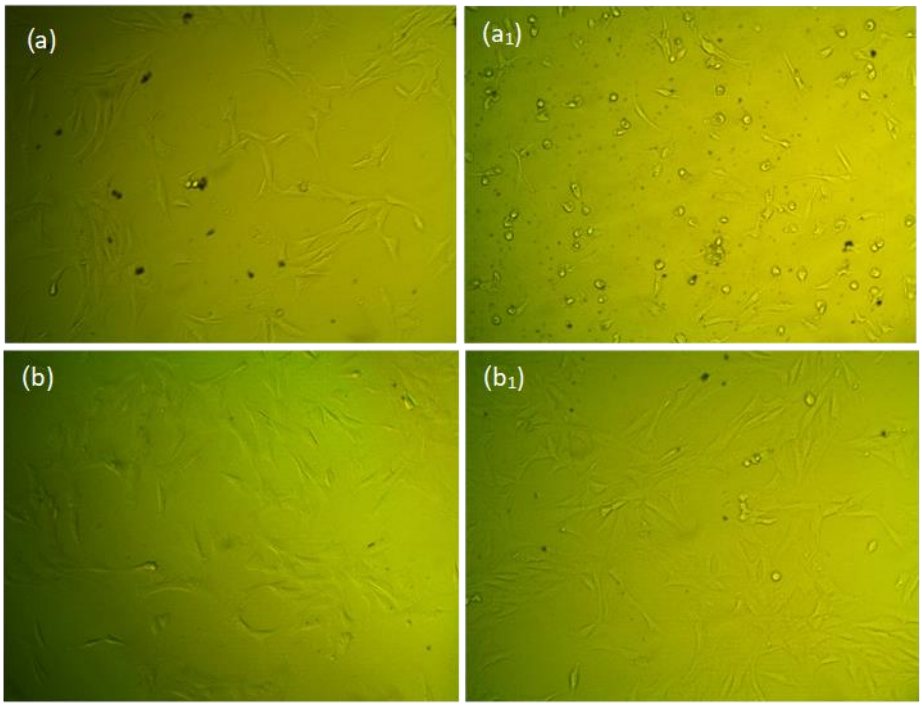


شکل ۲- اثر غلظت های مختلف عصاره گیاه انجیر، بر توانایی زیستی سلول های (a) رده HepG2 و (b) رده L929 در زمان های مختلف با استفاده روش MTT

همچنین نتایج نشان داد غلظت مهارکنندگی ۵۰ درصد رشد سلول ها (IC_{50}) برای سلول های سرطانی رده HepG2 ۰/۵ mg/mL در مدت زمان ۲۴ ساعت است که درصد زنده مانی سلول ها در این تیمار ۵۲ درصد مشاهده شد. بطور کلی شکل ۲ نشان می دهد با افزایش زمان انکوباسیون در تمامی غلظت ها، از درصد زیستایی کاسته شده است. به عبارت دیگر عصاره هیدروالکلی میوه انجیر به صورت وابسته به دوز و زمان باعث کاهش تکثیر سلول های سرطانی رده HepG2 شده است.

DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.4.2.2

همچنین تاثیر غلظت های مختلف عصاره بر سلول های سالم رده L929 نیز مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که تفاوت میزان رشد سلول ها در مقایسه با نمونه شاهد قابل توجه نیست (شکل۳). بدین معنی که در نمونه شاهد میزان رشد سلول ها پس از ۷۲ ساعت ۰/۷۱ ± ۸۵/۱۲ درصد مشاهده شد، درصورتی که در غلظت ۱/۵ mg/mL عصاره میزان رشد به ۱/۰۱ ± ۷۳/۳۳ کاهش یافت. بطور کلی می توان گفت با افزایش زمان و غلظت عصاره، تفاوت میزان رشد سلول ها چشمگیر نیست. نتایج حاصل از شکل ۳ نشان می دهد که افزایش زمان انکوباسیون و غلظت عصاره دارای تاثیر منفی بر سلول های نرمال در مقایسه با نمونه شاهد نمی باشد.



شکل ۳- اثر سمیت سلولی عصاره گیاه انجیر در دو حالت کنترل و تحت تیمار بر سلول های HepG2 (a) و L929 (b) در غلظت IC50 .

بحث و نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که در ۳ سویه باکتری حداقل غلظت مهارکنندگی و نیز حداقل غلظت کشندگی متفاوت است. بدین معنی که همانطور که در جدول ۱ گزارش شده است عصاره انجیر با میزان۸ MIC µg/mL دارای اثر ضدمیکروبی بیشتری علیه باکتری *E.coli* دارد و در غلظت ۱۶ µg/mL دارای اثر مهاری علیه باکتری سودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوکوس اورئوس است. همچنین با نتایج MBC ارائه شده، می توان ادعا کرد که عصاره میوه انجیر دارای تاثیر کشندگی بیشتری علیه باکتری ایکلای در مقایسه با دو سویه دیگر است. مطالعات قبل که از عصاره های گیاهی به عنوان ضد باکتری استفاده می کردند. غربالگری های فیتوشیمیایی عصاره میوه انجیر در گزارشات مختلف نشان داده شده است. Nirwana و همکاران (۲۰۱۸)، گزارش کرده اند که در عصاره برگ گیاه انجیر ترکیباتی مثل فلاوونوئیدها، تانن ها و ترپنوئیدها وجود دارد که فعالیت ضد میکروبی عصاره برگ انجیر ممکن است مربوط به وجود این ترکیبات باشد (۱۶). از میان ترکیبات ذکر شده لوتئولین و بیوکانین در این گیاه غنی هستند که دارای مکانیسم های خاص خود هستند (۲۴). Nirwana و همکاران (۲۰۱۸)، گزارش کرده اند که در عصاره برگ گیاه انجیر ترکیباتی مثل فلاوونوئیدها، تانن ها و ترپنوئیدها وجود دارد که فعالیت ضد میکروبی

DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.4.2.2

عصاره برگ انجیر ممکن است مربوط به وجود این ترکیبات باشد(۱۶). در مطالعه ای که توسط Shahbazi (۲۰۱۷) انجام شد، نتایج نشان داد که عصاره متانولی میوه انجیر منجر به مهار باکتری *Bacillus subtilis* و *Staphylococcus aureus* شده است که با نتایج حاصل از این مطالعه همسو است (۲۱). فلاونوئیدها به عنوان ترکیبات آنتی باکتریایی دارای اهداف سلولی متعددی هستند. فلاونوئیدها می توانند از طریق نیروهای غیر اختصاصی مانند پیوند هیدروژن و اثرات آبگریز و همچنین با تشکیل پیوند کووالانسی، با پروتئین ها کمپلکس تشکیل دهند. بنابراین ، نحوه عملکرد ضد میکروبی آنها ممکن است به فعالیت آنزیم ها و پروتئین های انتقالی مربوط باشد(۴). علاوه بر فلاونوییدها، در مطالعات دیگر نشان داده شده است که تانن های موجود در گیاه انجیر نیز در مهار رشد باکتری ها نقش بالقوه ای دارند (۲۶). تانن ها به عنوان یک ترکیب سمی برای باکتری ها در نظر گرفته می شوند و می توانند با ایجاد پیوندهای هیدروژنی با پروتئین ها در سلول های باکتری و در نتیجه تجزیه پروتئین ها، از رشد باکتری جلوگیری کنند تا متابولیسم باکتری ها مختل شود(۶ و ۲۳). هم چنین گزارشات قبل حاکی از آن است که برگ های انجیر میتواند به عنوان یک کاندید مناسبی برای درمان عفونت های *Staphylococcus aureus* که در برابر آنتی بیوتیک های سینتتیک مقاوم شده اند به کاررود (۱۳).

افزایش سرطان و معایب روش های درمان سرطان، استفاده از گیاهان دارویی را در مبارزه با انواع مختلفی از سرطان رواج داده است. سرطان کبد یکی از شایع ترین علت مرگ و میر در جهان به شمار می رود(۷ و ۸)،که یافتن روش های نوین در درمان این بیماری ضروری به نظر می رسد. یکی از رویکردهای مثبت که امروزه بسیار مورده توجه است استفاده از عصاره های گیاهی در کنترل رشد سلول های سرطانی و القای آپوپتوز در آن هاست (۲۴). مطالعات نشان داده است که عصاره برگ و میوه گیاه انجیر دارای اثرات سایتوتوکسیک برروی سلول های جدا شده از سرطان به صورت *in vitro* می باشد.. برگ ها و میوه انجیر دارای ترکیبات فنولی فراوانی ازجمله از فورانوکومارین ها و فیتواسترول ها است که ویژگی های فارموکولوژیکی این گیاه را به همین ترکیبات نسبت داده اند (۱۷ و ۱۸). مطالعات نشان داده اند که استفاده از ترکیباتی که منبع بالقوه ای از فلاونوئیدها هستند منجر به کاهش ابتلا به سرطان، و همچنین دارای فعالیت آنتی متاستازی، آنتی اکسیدانی و آنتی ویروسی می باشد. نقش موثر در کاهش رشد سلول های سرطان آن ها به دلیل تاثیر آن بر مسیرهای سیگنالیگ مرگ سلولی پیشنهاد شده است که با این امر می تواند از تکثیر سل.ل های سرطانی جلوگیری به عمل آورد (۱۴).

دراین مقاله به منظور بررسی تاثیر اثر سایتوتوکسیتی میوه گیاه انجیر از سلول های سرطان کبد HepG2 استفاده گردید و جهت ارزیابی میزان زنده ماندن سلول ها از تست MTT استفاده شد. نتایج حاکی از آن شد استفاده از عصاره میوه گیاه انجیر میزان رشد سلول های سرطانی رده HepG2 را به میزان قابل توجهی در مقایسه با نمونه شاهد کاهش می دهد. همچنین نتایج نشان داد که دو عامل غلظت عصاره و زمان در مهار رشد سلولهای سرطانی نقش مهمی دارند. این به این معنی است که با افزایش غلظت عصاره و زمان میزان رشد سلول ها از ۹۸ درصد در نمونه کنترل (۷۲ ساعت) به ۸ درصد در غلظت ۱/۵ mg/mLکاهش یافته است (شکل ۲). همچنین آنالیزها نشان داد IC_{50} در ۲۴ ساعت دوم و در غلظت ۰/۵ mg/mL بدست آمد. نتایج حاصل از تاثیر عصاره بر رشد و زنده مانی سلول های نرمال فیبروبلاست نشان داد که عصاره میوه انجیر دارای تاثیر منفی بر رشد این سلول ها ندارد (شکل ۳). گزارشات قبل حاکی از آن است که از تاثیر منفی عصاره های گیاهان دارویی بدلیل القا آپوپتوز در این سلول ها است که بـه صورت اختصاصی راهکار مفیدی برای کاهش حجم این سلول ها است. آپوپتوز فرآیندی است که طـی آن سلول ها

DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.4.2.2

در پاسخ بـه انواع مختلف محرک های خارجی و یا داخلی واکنش نشان داده و دستخوش خود تخریبی می شوند که این فرایند تحت تاثیر ژن ها است و از قبل برنامه ریزی می شود و زمانی رخ می دهد که تعداد سلول ها از حد طبیعی در بدن موجود پرسلولی زیادتر شود، سپس منجر به حذف آن ها می شود (۲۷).

با توجه به اینکه مطالعات جدید بر روی سلول ها ی تومور بدون داشتن اثرات توکسیک بر روی سلول های نرمال متمرکز شده است بنابراین استفاده از مواد طبیعی مستخرج از گیاهان دارویی نشان دهنده این امر است که بتوان به طور اختصاصی سلول های سرطانی را مورد هدف قرار داد و داروهایی را علیه آن ها تولید نمود. اثرات سمیت سلولی عصاره میوه گیاه انجیر بر رده های مختلف سلول های سرطانی در مطالعات مختلف مورد آنالیز قرار گرفته است. اثر ضد توموری و ضد تکثیری عصاره آبی-الکلی میوه گیاه انجیر بر روی سلول های سرطانی معده انسان AGS تایید شده است. همچنین مطالعات حاکی از آن است که این گیاه از طریق مهار متاستاز مانع پیشروی تومور می شود. مطالعات نشان داده است این تاثیر می تواند عملکرد پروتیئن هاو ایجاد تداخل با مکانیسم های ژنتیکی بر فعالیت سلول های سرطانی باشد (۲). Mostafaie و همکاران (۲۰۱۰) از عصاره لاتکس برگ انجیر جهت مهار رشد سلول های سرطانی سلول های اندوتلیال ورید ناف انسانی استفاده کردند که نتایج نشان داد عصاره لاتکس برگ انجیر به صورت وابسته به دوز باعث کاهش تکثیر سلول های اندوتلیال می گردد که با نتایج حاصل از این مقاله همسو است (۱۵).

نتایج این مطالعه نشان می دهد که عصاره میوه گیاه انجیر دارای خاصیت ضد باکتریایی که وابسته به غلظت عصاره و نوع باکتری است و همچنین دارای اثر مهاری در مقابل سلول های رده HepG2 است که این اثر مهاری با دوز عصاره و زمان تیماردهی رابطه مستقیم دارد. بنابراین باتوجه به عوارض مصرف آنتی بیوتیک ها و داروهای شیمی درمانی، می توان با تکیه بر داروهای گیاهی قدمی در جهت پیشبرد کاهش عوارض این داروها برداشت.

سپاسگزاری

بدینوسیله از همکاران محترم در شرکت البرز نانوتجهیز رایان به علت فراهم نمودن تجهیزات و شرایط مناسب برای انجام این پژوهش و همچنین سرکار خانم دکتر مرضیه آزادفلاح که در این طرح ما را یاری نمودند سپاسگزاری می گردد.

منابع

۱- معینی، ف؛ محمدی سیچانی، م؛ و شاهانی پور، ک. (۱۳۹۴). بررسی اثر ضد باکتریایی عصاره متانولی و آبی میوه گیاه *Vaccinium Arctostaphylos* بر برخی از گونه های سالمونلا در شرایط آزمایشگاهی. مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، ۱۴، ۲۵۷-۲۶۸.

2- Berrougui, H., López-Lázaro, M., Martin-Cordero, C., Mamouchi, M., Ettaib, A., & Herrera, M. D. (2005). Cytotoxic activity of methanolic extract and two alkaloids extracted from seeds of Peganum harmala L. *Journal of Natural Remedies*, *5*(1), 41–45.

3- Buranrat, B., Mairuae, N., & Kanchanarach, W. (2017). Cytotoxic and antimigratory effects of Cratoxy formosum extract against HepG2 liver cancer cells. *Biomedical Reports*, *6*(4), 441–448.

4- Cushnie, T. P. T., & Lamb, A. J. (2005). Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, *26*(5), 343–356.

5- Działo, M., Mierziak, J., Korzun, U., Preisner, M., Szopa, J., & Kulma, A. (2016). The potential of plant phenolics in prevention and therapy of skin disorders. *International Journal of Molecular Sciences*, *17*(2), 1–41.

6- Eghdami, A., Salehi, M. A., & Babakhani, M. (2014). Determination of physicochemical properties of capsaicin and cytotoxic effect of capsicum extract in breast cancer (MCF7) cell

DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.4.2.2

line International Journal of Biosciences | IJB |. *Int. J. Biosci*, *4*(8), 262–268.

7- El-Sayed, A. M., Ezzat, S. M., Salama, M. M., & Sleem, A. A. (2011). Hepatoprotective and cytotoxic activities of Delonix regia flower extracts. *Pharmacognosy Journal*, *3*(19), 49–56.

8- George, S., Bhalerao, S. V, Lidstone, E. A., Ahmad, I. S., Abbasi, A., Cunningham, B. T., & Watkin, K. L. (2010). *Cytotoxicity screening of Bangladeshi medicinal plant extracts on pancreatic cancer cells*. 1–11.

9- Hashemi, A., Abediankenari, S., Ghasemi, M., Azadbakht, M., Yousefzadeh, Y., & Dehpour, A. A. (2011). The effect of fig tree latex (Ficus carica) on stomach cancer line. *Iranian Red Crescent Medical Journal*, *13*(4), 272–275.

10- Hidayah Abu Bakar, N., Swethadri, G. K., Baig, A., A, I. M., & U, M. I. (2015). Non-toxic antiproliferative effect of Ficus carica fruit extracts on estrogen receptor positive breast cancer cell (MCF-7). *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, *7*(10), 815–821. Retrieved from http://www.jocpr.com/articles/nontoxic-antiproliferative-effect-of-ficus-carica-fruit-extracts-on-estrogen-receptor-positive-breast-cancer-cell-mcf7.pdf

11- Jeong, M. R., Kim, H. Y., & Cha, J. D. (2009). Antimicrobial activity of methanol extract from Ficus carica leaves against oral bacteria. *Journal of Bacteriology and Virology*, *39*(2), 97–102.

12- Lee, Y. S., & Cha, J. D. (2010). Synergistic antibacterial activity of fig (Ficus carica) leaves extract against clinical isolates of methicillin-resistant Staphylococcus aureus. *Korean Journal of Microbiology and Biotechnology*, *38*(4), 405–413.

13- Lianju, W., Weibin, J., Kai, M., Zhifeng, L., & Yelin, W. (2003). The production and research of fig (*Ficus carica* L.) in China. *Acta Horticulturae*, *605*, 191–196.

14- Mawa, S., Husain, K., & Jantan, I. (2013). Ficus carica L. (Moraceae): Phytochemistry, traditional uses and biological activities. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, *2013*(September). https://doi.org/10.1155/2013/974256

15- Mostafaie, A., Mansouri, K., Norooznezhad, A. H., & Mohammadi-Motlagh, H. R. (2011). Anti-angiogenic activity of Ficus carica latex extract on human umbilical vein endothelial cells. *Yakhteh*, *12*(4), 525–528.

16- Nirwana, I., Rianti, D., Helal Soekartono, R., Listyorini, R. D., & Basuki, D. P. (2018). Antibacterial activity of fig leaf (*Ficus carica* Linn.) extract against Enterococcus faecalis and its cytotoxicity effects on fibroblast cells. *Veterinary World*, *11*(3), 342–347.

17- Pèrez, C., Canal, J. R., & Torres, M. D. (2003). Experimental diabetes treated with ficus carica extract: Effect on oxidative stress parameters. *Acta Diabetologica*, *40*(1), 3–8.

18- Purnamasari, R., Winarni, D., Permanasari, A. A., Agustina, E., Hayaza, S., & Darmanto, W. (2019). Anticancer Activity of Methanol Extract of Ficus carica Leaves and Fruits Against Proliferation, Apoptosis, and Necrosis in Huh7it Cells. *Cancer Informatics*, *18*, 0–6.

19- Rasouli, A., Fatemi ardestani, A., Asadi, F., & Salehi, M. (2010). Effects of Fig tree (Ficus carica) leaf extracts on serum and liver cholesterol levels in hyperlipidemic rats. *Iranian Journal of Veterinary Medicine*, *4*(2), 3–6.

20- Shahbandeh, M., & Eghdami, A. (2017). Investigation of the anti-proliferative and apoptotic effects of Aloe vera extracts on hl60 human acute myeloid leukemia and MCF-7 breast cancer cell lines. *Journal of Applied Biotechnology Reports*, *4*(4), 701–706.

21- Shahbazi, Y. (2017). Antibacterial and antioxidant properties of methanolic extracts of apple (Malus pumila), grape (Vitis vinifera), pomegranate (Punica granatum L.) and common fig (Ficus carica L.) fruits. *Pharmaceutical Sciences*, *24*(4), 308–315.

22- Shameli Rajiri, M., Aminsalehi, M., Shahbandeh, M., Maleki, A., Jonoubi, P., & Rad, A. C. (2020). Anticancer and therapeutic potential of Delonix regia extract and silver nanoparticles (AgNPs) against pancreatic (Panc-1) and breast (MCF-7) cancer cell. *Toxicology and Environmental Health Sciences*, (0123456789).

23- Suhane, N., Shrivastava, R. R., & Singh, M. (2016). Gulmohar an ornamental plant with medicinal uses. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, *5*(6), 245–248.

24- Tchombé, L. N., & Louajri, A. (2015). Therapeutic Effects of *Ficus Carica* Leaves : A Brief Review. *ARPN Journal of Science and Technology*, *5*(1), 37–41.

25- VandenBergh, M. F. Q., Yzerman, E. P. F., Van Belkum, A., Boelens, H. A. M., Sijmons, M., & Verbrugh, H. A. (1999). Follow-up of Staphylococcus aureus nasal carriage after 8

مقاله پژوهشی
DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.4.2.2

years: Redefining the persistent carrier state. *Journal of Clinical Microbiology*, *37*(10), 3133–3140.

26- Yao, L. H., Jiang, Y. M., Shi, J., Tomás-Barberán, F. A., Datta, N., Singanusong, R., & Chen, S. S. (2004). Flavonoids in food and their health benefits. *Plant Foods for Human Nutrition*, *59*(3), 113–122. https://doi.org/10.1007/s11130-004-0049-7

27- Yin, S.-Y., Wei, W.-C., Jian, F.-Y., & Yang, N.-S. (2013). Therapeutic Applications of Herbal Medicines for Cancer Patients. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, *2013*(Table 1), 1–15.

Antibacterial and cytotoxicity effect of (*Ficus carica*) against HepG2 cells

Moazami M.H.[1], Shahbandeh M.[2] and Amin Salehi M.[3]*

[1] Lantern Research Group, Alborz Nano Tajhiz Rayan Company, Karaj, I.R. of Iran.

[2] Young Research and Elite Club, Islamic Azad University, Saveh, I.R. of Iran.

[3] Dept. of Plant Science, Faculty of Sciences, Bu-Ali Sina University, Hamedan, I.R. of Iran.

Abstract

Nowadays, medicinal plants have the potential to discover new drugs. Liver cancer is known as one of the most common cancers in the world. *F. carica* is known as one of the most important medicinal plants around the world. In the present study, the antimicrobial and anticancer effects of *F. carica* were measured at different concentrations. In the antimicrobial assay, all bacterial strains, including *Staphylococcus aureus*, *Ecoli*, and *Pseudomonas aeruginosa*, were sensitive to the methanolic concentration of the extract. The MIC value was 8 µg/mL to 16 µg/mL and the MBC value was 16 µg/mL to 32 µg/mL. Hydroalcoholic extract of fig fruit with different concentrations (0.5, 0.75, 1, 1.5 mg/mL) on the growth of HepG2 liver cancer cells and L929 fibroblasts as a control (24, 48 and 72h) were assessed by MTT test. The results showed that the effect of *F. carica* extract is dose and time-dependent and with increasing time the bioavailability of cells has decreased and at the time of incubation for 72 hours and a concentration of 1.5 mg/mL bioavailability of cells was observed to be 8%. The results demonstrated that IC_{50} was observed in 0.5 mg/mL (24h). According to the results, it can be claimed that *F. carica* extract in different concentrations has an inhibitory effect on the growth of bacteria and liver cancer cells, so with further studies, this plant can be used in treatment.

Key words: Cancer, Ficus carica, Hepatocellular, Antibacterial effect, Methanolic extract.