

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



محمدحسین معظمی<sup>۱</sup>، مهسا شاه‌بنده<sup>۲</sup> و مهسا امین‌صالحی<sup>۳\*</sup>

<sup>۱</sup> ایران، کرج، شرکت البرز نانو تجهیز رایان، گروه پژوهشی لنترن.

<sup>۲</sup> ایران، ساوه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساوه، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان.

<sup>۳</sup> ایران، همدان، دانشگاه بوعلی سینا، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی.

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 شایع‌ترین 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 غلظت‌های مختلف سنجیده شد. در سنجش ضد میکروبی، تمامی سویه‌های 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  $\mu\text{g/mL}$  تا 16  $\mu\text{g/mL}$  و مقدار MBC بین 16  $\mu\text{g/mL}$  تا 32  $\mu\text{g/mL}$  تعیین گردید. عصاره هیدروالکلی میوه گیاه انجیر با غلظت‌های مختلف (5/0 mg/mL، 1، 1/5) بر رشد سلول‌های سرطانی کبد رده HepG2 و سلول‌های 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 زیست‌تایی سلول‌ها کاسته شده است و در زمان انکوباسیون ۷۲ ساعت و غلظت 5/1 mg/mL زیست‌تایی سلول‌ها ۸ درصد مشاهده شد. نتایج نشان داد که IC50 برای سلول‌های سرطانی در غلظت 5/0 mg/mL و زمان ۲۴ ساعت مشاهده شد. با توجه به نتایج می‌توان ادعا کرد عصاره میوه انجیر در غلظت‌های مختلف دارای اثر مهارتی بر رشد باکتری‌ها و نیز سلول‌های سرطانی کبد است، لذا با مطالعات بیشتر می‌توان از این گیاه در درمان بهره جست.

واژه‌های کلیدی: سرطان، میوه انجیر، سرطان کبد، عصاره متانولی.

\* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۲۸۵۵۳۴۹۸، پست الکترونیکی: [A.masha@sci.basu.ac.ir](mailto:A.masha@sci.basu.ac.ir)

### مقدمه

سرطان، نیاز به ترکیبات دارویی با اثرگذاری بهتر و محدودیت‌های کمتر بیشتر شده است (۲۱). گزارش شده است که گیاهان دارویی کاربردهای بسیاری در زمینه‌های مختلف غذایی، آرایشی و دارویی داشته و نیز سمیت سلولی را در برابر انواع مختلف سلول‌های سرطانی انجام می‌دهند (۱۸، ۲۰).

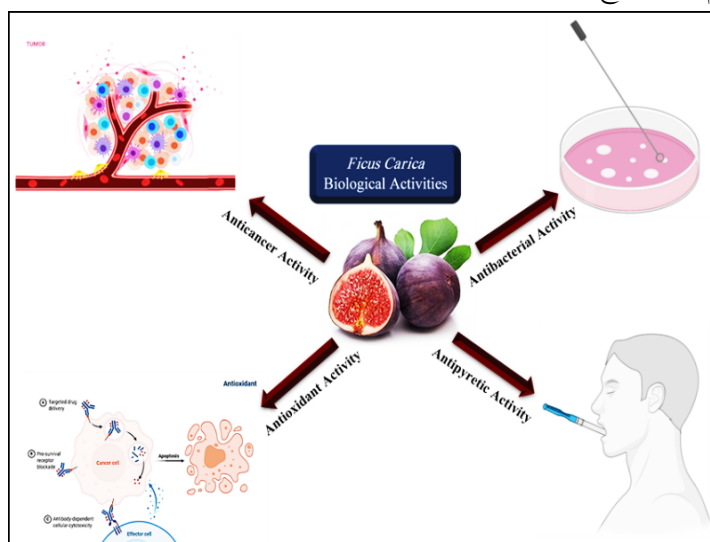
گیاه انجیر یکی از گیاهان دارویی است که امروزه بسیار

بر طبق آمار ارائه شده هر ساله حدود ۷-۶ میلیون نفر در اثر ابتلا به بیماری سرطان جان خود را از دست می‌دهند (۶). سرطان کبد یکی از ۶ سرطان با شیوع بالا در جوامع مختلف شناخته شده است. یکی از شایع‌ترین سرطان‌های 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 روش‌های درمان

نشان داد عصاره برگ انجیر منجر به کاهش میزان اسیدهای چرب کبد رت‌های دارای چربی خون شد (۱۹). در کنار خاصیت ضد سرطانی که برای فراورده‌های این گیاه گزارش شده است برخی از مطالعات نیز نشان داده است که این فراورده‌ها می‌توانند تأثیرات ضد میکروبی نیز داشته باشند (۹ و ۲۴). در مطالعه‌ای تأثیر مثبت برگ‌های انجیر در مقابل باکتری‌های کاربوژنیک دهانی تایید شد (۱۰). طبقه یافته‌ها، استفاده از عصاره متانولی گیاه برگ انجیر (MICs, mg/mL 0.156 to 5) به عنوان یک ترکیب ضد باکتریایی قوی علیه باکتری‌های دهانی معرفی شد. همچنین ترکیب عصاره متانولی برگ انجیر با آنتی‌بیوتیک‌هایی مثل آمپی‌سیلین و جنتامایسین در برابر باکتری‌های دهانی اثر هم‌افزایی را نشان داد که نشان‌دهنده آن است که انجیر می‌تواند به عنوان یک ماده ضد باکتری طبیعی عمل کند (۱۰). در مطالعه دیگری تأثیر 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 تأثیر مهارتی در غلظت ۵۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر بر *Candida albicans* و نیز دارای تأثیر منفی در برابر رشد *Cryptococcus neoformans* است (۱۴).

مورد توجه قرار گرفته است. این گیاه جایگاه ویژه‌ای 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 ویتامین‌ها، ترکیبات فنلی، املاح معدنی و اسیدهای ارگانیک است (۱۸).

مطالعات مختلف بیانگر آن است که فلاونوید این گیاه به نام لوتئولین دارای اثرمهارتی در برابر باکتری‌ها و نیز ضد سرطان و ضد متاستاز است (۸ و ۱۱) و از کاربردهای آن در مطالعات مختلف یاد شده است (شکل ۱). در مطالعه‌ای تأثیر مثبت عصاره برگ و میوه‌های این گیاه در تحریک سیستم ایمنی تایید شده است (۱۳). مطالعات نشان داده است که عصاره برگ و میوه گیاه انجیر دارای اثرات سایتوتوکسیک بر روی سلول‌های جدا شده از سرطان به صورت *in vitro* می‌باشد. برگ‌ها و میوه انجیر دارای ترکیبات فنولی فراوانی از جمله از فورانوکومارین‌ها و فیتواسترول‌ها است که ویژگی‌های فارموکولوژیکی این گیاه را به همین ترکیبات نسبت داده‌اند (۱۶). در مطالعه‌ای تأثیر مثبت عصاره برگ و میوه‌های این گیاه در تحریک سیستم ایمنی تایید شده است (۱۴). در مطالعه‌ای که توسط Rasouli و همکاران (۲۰۱۰) انجام شد، نتایج



شکل ۱- فعالیت‌های بیولوژیکی گیاه انجیر

(۱۴) (*F. carica*)

باکتریایی چندین کلنی از باکتری‌های تازه کشت شده به محیط کشت مولر هیتون 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 ۰/۸ تا ۰/۱ تنظیم گردید.

بررسی اثر ضد میکروبی عصاره: حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) عصاره‌ها به روش میکروداپلوشن انجام شد. به هفت چاهک از میکروپلیت ۹۶ خانه ای میزان ۱۰۰  $\mu\text{L}$  از محیط مولر هیتون براث اضافه شد. سپس به چاهک اول ۱۰۰  $\mu\text{L}$  از محلول رقیق شده عصاره اضافه شده و پس از مخلوط کردن ۱۰۰  $\mu\text{L}$  از چاهک اول برداشته به چاهک دوم اضافه کرده، بدین ترتیب تا آخرین چاهک این کار انجام داده شد (غلظت اولیه عصاره ۱۰۰  $\mu\text{L}$  است که با وارد کردن ۱ میلی لیتر از عصاره به لوله اول که حاوی ۱ میلی لیتر محیط کشت است غلظت ۵۰  $\mu\text{L}$  به دست می آید). از چاهک آخر ۱۰۰  $\mu\text{L}$  محیط کشت خارج کرده و مقدار ۱۰۰  $\mu\text{L}$  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 چاهک‌های شفاف ۱۰  $\mu\text{L}$  برداشته و به محیط مولر هیتون 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:** سلول‌های سرطانی کبد (رده سلولی HepG2) و فیروبلاست (رده سلولی L929) از بانک سلولی انستیتو پاستور ایران تهیه و در محیط RPMI1640 به همراه ۱۰٪ FBS و با آنتی بیوتیک‌های پنی سیلین-

باتوجه به سابقه استفاده از گیاهان دارویی و نیز تاثیرات مفید آن‌ها در درمان انواع مختلفی از بیماری‌ها نسبت به داروهای شیمیایی، کاربرد 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 فیروبلاست (L929) مورد بررسی قرار گرفت. همچنین تست‌های 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 عصاره‌گیری 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 دمای ۵۰ 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 نهایتاً با جداسازی الکل از محلول، مایع بدست آمده خشک شده و پودر حاصل به عنوان عصاره میوه انجیر حاصل شد. عصاره خشک شده برای تهیه غلظت‌های 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 پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران به صورت لیوفیلیزه، جهت بررسی تاثیر خاصیت آنتی باکتریایی عصاره میوه انجیر استفاده شد. به منظور تهیه سوسپانسیون

از داخل انکوباتور خارج کرده و به همه چاهک‌ها MTT (شرکت سیگما) با غلظت ۲۰ 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 چاهک‌ها اضافه شد.

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

$$100 \times (\text{OD شاهد} / \text{OD تست}) = \text{درصد توانایی زیستی}$$

غلظتی از عصاره که درصد حیات سلولی را به نصف کاهش دهد به عنوان IC<sub>50</sub> در نظر گرفته شد. همچنین سلول‌ها بدون تیمار با عصاره به عنوان کنترل در نظر گرفته شد (۲۲). سپس آنالیز آماری نتایج تجربی و تعیین IC<sub>50</sub> با نرم افزار SPSS و آزمون آماری آنالیز واریانس یک راهه (ANOVA) انجام گردید.

## نتایج

**نتایج تاثیر ضد میکروبی عصاره:** بررسی خاصیت ضد میکروبی غلظت‌های مختلف عصاره علیه سه باکتری مورد مطالعه نشان داد که عصاره دارای خواص انتی باکتریال می‌باشد و می‌تواند منجر به مهار رشد باکتری‌های فوق گردد. نتایج MIC و MBC عصاره بر روی سه سویه مورد ارزیابی در جدول ۱ ارائه شده است.

استرپتومایسین به میزان ۱٪ (۱۰۰ U/mL پنی سیلین و ۱۰۰ µg استرپتومایسین) در فلاسک (T25) در انکوباتور ۵٪ CO<sub>2</sub> کشت داده شدند. پس از گذشت ۴۸ ساعت و پوشیده شدن بستر فلاسک از سلول، لایه سلول‌های چسبیده به کف فلاسک به روش آنزیمی و با استفاده از تریپسین-۵٪ EDTA جدا گردید. سپس به مدت ۵ دقیقه در ۲۰۰۰ rpm سانتریفیوژ شد و پس از آن سلول‌ها به محیط کشت جدید منتقل شده و از آن‌ها سوسپانسیون سلولی به میزان ۱۰<sup>۵</sup> 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 آنزیم‌های دهیدروناز میتوکندری‌های سلول‌های زنده، کریستال‌های فورمازان می‌شود. این کریستال‌ها با حل شدن در ایزوپروپانول اسیدی حل منجر به تولید محلول بنفش رنگ می‌شوند (۱۸).

۴۰ میکرولیتر از سوسپانسیون سلولی (۱۰<sup>۸</sup> × ۱/۵ CFU/mL) با تهیه شده را درون چاهک‌های پلیت ۹۶ خانه ای ریخته و نهایتاً 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 سلول‌ها خارج و به همه ردیف‌ها (بجز کنترل مثبت و منفی) عصاره رقیق شده با غلظت‌های ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ µg/mL به ترتیب به ردیف‌های سوم تا ششم اضافه شد. پلیت به مدت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت در انکوباتور CO<sub>2</sub> انکوبه شد. بعد از انکوباسیون، پلیت را

جدول ۱- نتایج بررسی فعالیت ضد میکروبی غلظت‌های مختلف عصاره انجیر بر روی سه سویه باکتریایی بر اساس MIC و MBC

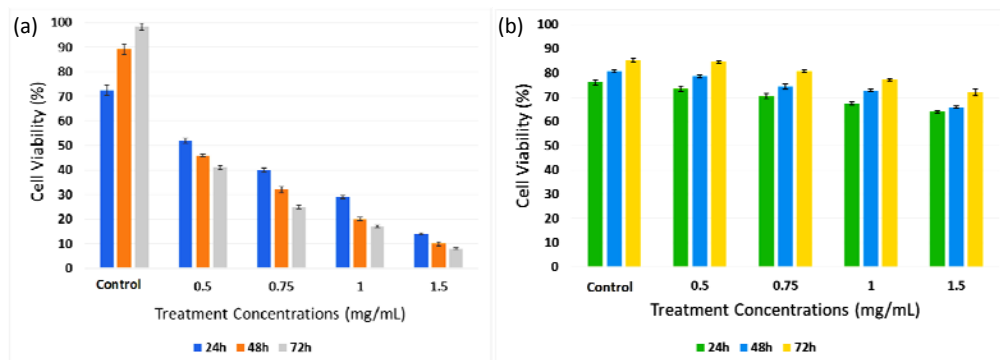
Bacterial Strains	MIC (µg/mL)	MBC (µg/mL)
<i>P.aeruginosa</i>	16	32
<i>S. aureus</i>	16	32
<i>E.coli</i>	8	16

لیتر، میزان رشد سلول‌ها ۵۲ درصد مشاهده شد، در صورتی که با افزایش غلظت از این درصد کاسته شده و در غلظت ۱/۵ mg/mL میزان زیستایی سلول‌ها  $0.44 \pm$  ۱۴/۷۳ درصد مشاهده شد که از نظر آماری دارای اختلاف معنی‌داری 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 سلول‌ها از ۴۶/۳۳ درصد به ۱۰/۹۱ درصد کاهش یافته است که از نظر آماری دارای اختلاف معنی‌داری در سطح ۰/۰۵ هستند. نتایج انکوباسیون ۷۲ ساعته نیز حاکی از آن است که درصد زیستایی سلول‌ها دارای اختلاف معنی‌داری در سطح ۰/۰۵ است. با افزایش زمان و غلظت عصاره، درصد زیستایی سلول‌ها از ۹۸ درصد در نمونه کنترل و زمان ۷۲ ساعت، به  $0.32 \pm 8/24$  درصد در تیمار ۱/۵ mg/mL کاهش یافته است (شکل ۲).

طبق نتایج بدست آمده عصاره انجیر با میزان ۸  $\mu\text{g/mL}$  MIC بهترین اثر ضد میکروبی را علیه باکتری ایکلای داشته است و با غلظت بالاتر معادل ۱۶  $\mu\text{g/mL}$  دارای اثر مهاری علیه باکتری سودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوکوس اورئوس بوده است.

**تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره میوه انجیر، بر رشد و تکثیر سلول سرطانی کبد در زمان‌های مختلف با استفاده روش MTT:** نتایج نشان می‌دهد 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 سلول‌ها کاسته می‌شود. در تیمار کنترل میزان زیستایی سلول‌ها در زمان انکوباسیون ۷۲ ساعت  $1/40 \pm 98,43$  درصد مشاهده شد (شکل ۲).

آنالیزهای آماری نشان می‌دهد که در زمان ۲۴ ساعت، با افزایش غلظت عصاره از میزان زیستایی سلول‌ها کاسته شده است، بدین معنی که در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم بر میلی



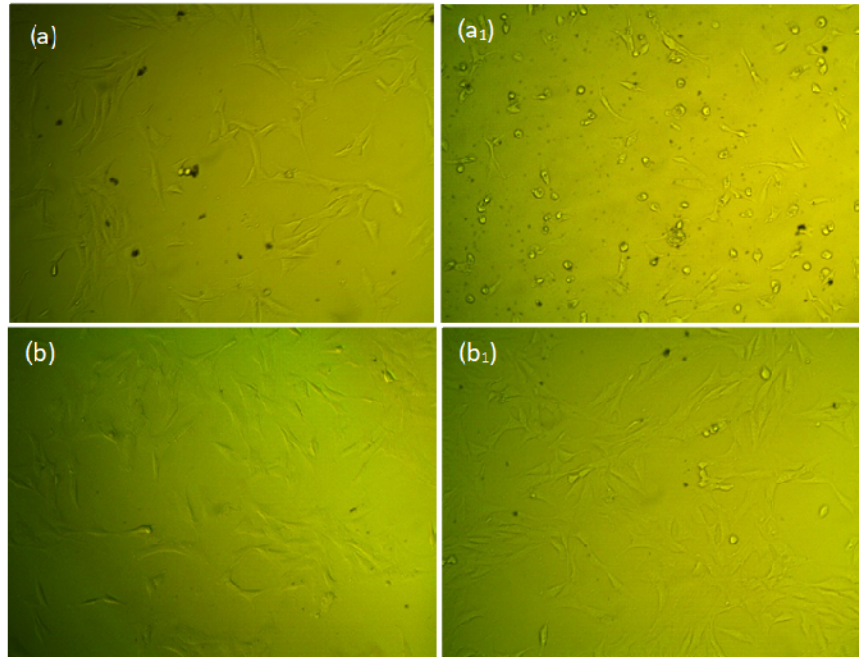
شکل ۲- اثر غلظت‌های مختلف عصاره گیاه انجیر، بر توانایی زیستی سلول‌های (a) رده HepG2 و (b) رده L929 در زمان‌های مختلف با استفاده روش MTT

انکوباسیون در تمامی غلظت‌ها، از درصد زیستایی کاسته شده است. به عبارت دیگر عصاره هیدروالکلی میوه انجیر به صورت وابسته به دوز و زمان باعث کاهش تکثیر سلول‌های سرطانی رده HepG2 شده است.

همچنین نتایج نشان داد غلظت مهارکنندگی ۵۰ درصد رشد سلول‌ها ( $IC_{50}$ ) برای سلول‌های سرطانی رده HepG2 ۰/۵ mg/mL در مدت زمان ۲۴ ساعت است که درصد زنده مانی سلول‌ها در این تیمار ۵۲ درصد مشاهده شد. بطور کلی شکل ۲ نشان می‌دهد با افزایش زمان

mg/mL عصاره میزان رشد به  $1/0.1 \pm 73/33$  کاهش یافت. بطور کلی می‌توان گفت با افزایش زمان و غلظت عصاره، تفاوت میزان رشد سلول‌ها چشمگیر نیست. نتایج حاصل از شکل ۳ نشان می‌دهد که افزایش زمان انکوباسیون و غلظت عصاره دارای تاثیر منفی بر سلول‌های نرمال در مقایسه با نمونه شاهد نمی‌باشد.

همچنین تاثیر غلظت‌های مختلف عصاره بر سلول‌های سالم رده L929 نیز مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که تفاوت میزان رشد سلول‌ها در مقایسه با نمونه شاهد قابل توجه نیست (شکل ۳). بدین معنی که در نمونه شاهد میزان رشد سلول‌ها پس از ۷۲ ساعت  $0/71 \pm 85/12$  درصد مشاهده شد، در صورتی که در غلظت  $1/5$



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

### بحث و نتیجه‌گیری

غربالگری‌های فیتوشیمیایی عصاره میوه انجیر در گزارشات مختلف نشان داده شده است. Nirwana و همکاران (۲۰۱۸)، گزارش کرده‌اند که در عصاره برگ گیاه انجیر ترکیباتی مثل فلاونوئیدها، تانن‌ها 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 لوتولین و بیوکائین در این گیاه غنی هستند که دارای مکانیسم‌های خاص خود هستند (۲۴). Nirwana و همکاران (۲۰۱۸)، گزارش کرده‌اند که در عصاره برگ گیاه انجیر ترکیباتی مثل فلاونوئیدها، تانن‌ها و ترپنوئیدها وجود دارد که فعالیت ضد میکروبی

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 میزان  $8 \mu\text{g/mL}$  MIC دارای اثر ضد میکروبی بیشتری علیه باکتری *E. coli* دارد و در غلظت  $16 \mu\text{g/mL}$  دارای اثر مهارتی علیه باکتری سودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوکوس اورئوس است. همچنین با نتایج MBC ارائه شده، می‌توان ادعا کرد که عصاره میوه انجیر دارای تاثیر کشندگی بیشتری علیه باکتری ایکلای در مقایسه با دو سویه دیگر است. مطالعات قبل که از عصاره‌های گیاهی به عنوان ضد باکتری استفاده می‌کردند.

دارای اثرات سایتوتوکسیک بر روی سلول‌های جدا شده از سرطان به صورت *in vitro* می‌باشد. برگ‌ها و میوه انجیر دارای ترکیبات فنولی فراوانی از جمله از فورانوکومارین‌ها و فیتواستروئیدها است که ویژگی‌های فارموکولوژیکی این گیاه را به همین ترکیبات نسبت داده‌اند (۱۷ و ۱۸). مطالعات نشان داده‌اند که استفاده از ترکیباتی که منبع بالقوه‌ای از فلاونوئیدها هستند منجر به کاهش ابتلا به سرطان، و همچنین دارای فعالیت آنتی‌متاستازی، آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌ویروسی می‌باشد. نقش موثر در کاهش رشد سلول‌های سرطان آن‌ها به دلیل تاثیر آن بر مسیرهای سیگنالینگ مرگ سلولی پیشنهاد شده است که با این امر می‌تواند از تکثیر سلول‌های سرطانی جلوگیری به عمل آورد (۱۴).

در این مقاله به منظور بررسی تاثیر اثر سایتوتوکسیتی میوه گیاه انجیر از سلول‌های سرطان کبد HepG2 استفاده گردید و جهت ارزیابی میزان زنده ماندن سلول‌ها از تست MTT استفاده شد. نتایج حاکی از آن شد استفاده از عصاره میوه گیاه انجیر میزان رشد سلول‌های سرطانی رده HepG2 را به میزان قابل توجهی در مقایسه با نمونه شاهد کاهش می‌دهد. 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 سلول‌ها از ۹۸ درصد در نمونه کنترل (۷۲ ساعت) به ۸ درصد در غلظت ۱/۵ mg/mL کاهش 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 ماندن سلول‌های نرمال فیروپلاست نشان داد که عصاره میوه انجیر دارای تاثیر منفی بر رشد این سلول‌ها ندارد (شکل ۳). گزارشات قبل حاکی از آن است که از تاثیر منفی عصاره‌های گیاهان دارویی بدلیل القا آپوپتوز در این سلول‌ها است که به صورت اختصاصی راهکار مفیدی برای کاهش حجم این سلول‌ها است. آپوپتوز فرآیندی است که طی آن سلول‌ها

عصاره برگ انجیر ممکن است مربوط به وجود این ترکیبات باشد (۱۶). در مطالعه‌ای 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 آنتی‌باکتریایی دارای اهداف سلولی متعددی هستند. فلاونوئیدها می‌توانند از طریق نیروهای غیر اختصاصی مانند پیوند هیدروژن و اثرات آگگریز و همچنین با تشکیل پیوند کووالانسی، با پروتئین‌ها کمپلکس تشکیل دهند. بنابراین، نحوه عملکرد ضد میکروبی آنها ممکن است به فعالیت آنزیم‌ها و پروتئین‌های انتقالی مربوط باشد (۴). علاوه بر فلاونوئیدها، در مطالعات دیگر نشان داده شده است که تانن‌های موجود در گیاه انجیر نیز در مهار رشد باکتری‌ها نقش بالقوه‌ای دارند (۲۶). تانن‌ها به عنوان یک ترکیب سمی برای باکتری‌ها در نظر گرفته می‌شوند و می‌توانند با ایجاد پیوندهای هیدروژنی با پروتئین‌ها در سلول‌های باکتری و در نتیجه تجزیه پروتئین‌ها، از رشد باکتری جلوگیری کنند تا متابولیسم باکتری‌ها مختل شود (۶ و ۲۳). هم‌چنین گزارشات قبل حاکی از آن است که برگ‌های انجیر می‌توانند به عنوان یک کاندید مناسبی برای درمان عفونت‌های *Staphylococcus aureus* که در برابر آنتی‌بیوتیک‌های سینتتیک مقاوم شده‌اند به کار رود (۱۳).

افزایش سرطان و معایب روش‌های درمان سرطان، استفاده از گیاهان دارویی را در مبارزه با انواع مختلفی از سرطان رواج داده است. سرطان کبد یکی از شایع‌ترین علت مرگ و میر در جهان به شمار می‌رود (۷ و ۸)، که یافتن روش‌های نوین در درمان این بیماری ضروری به نظر می‌رسد. یکی از رویکردهای مثبت که امروزه بسیار مورد توجه است استفاده از عصاره‌های گیاهی در کنترل رشد سلول‌های سرطانی و القای آپوپتوز در آن‌هاست (۲۴). مطالعات نشان داده است که عصاره برگ و میوه گیاه انجیر



مهار رشد سلول‌های سرطانی سلول‌های اندوتلیال ورید ناف انسانی استفاده کردند که نتایج نشان داد عصاره لاتکس برگ انجیر به صورت وابسته به دوز باعث کاهش تکثیر سلول‌های اندوتلیال می‌گردد که با نتایج حاصل از این مقاله همسو است (۱۵).

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که عصاره میوه گیاه انجیر دارای خاصیت ضد باکتریایی که وابسته به غلظت عصاره و نوع باکتری است و همچنین دارای اثر مهارى در مقابل سلول‌های رده HepG2 است که این اثر مهارى با دوز عصاره و زمان تیماردهی رابطه مستقیم دارد. بنابراین با توجه به عوارض مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها و داروهای شیمی‌درمانی، می‌توان 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 می‌گردد.

در پاسخ به انواع مختلف محرک‌های خارجی و یا داخلی واکنش نشان داده و دستخوش خودتخریبی می‌شوند که این فرایند تحت تاثیر ژن‌ها است و از قبل برنامه‌ریزی می‌شود و زمانی رخ می‌دهد که تعداد سلول‌ها از حد طبیعی در بدن موجود پرسلولی زیاده‌تر شود، سپس منجر به حذف آن‌ها می‌شود (۲۷).

با توجه به اینکه مطالعات جدید بر روی سلول‌های تومور بدون داشتن اثرات توکسیک بر روی سلول‌های نرمال متمرکز شده است بنابراین استفاده از مواد طبیعی مستخرج از گیاهان دارویی نشان‌دهنده این امر است که بتوان به طور اختصاصی سلول‌های سرطانی را مورد هدف قرار داد و داروهایی را علیه آن‌ها تولید نمود. اثرات سمیت سلولی عصاره میوه گیاه انجیر بر رده‌های مختلف سلول‌های سرطانی در مطالعات مختلف مورد آنالیز قرار گرفته است. اثر ضد توموری و ضد تکثیری عصاره آبی-الکلی میوه گیاه انجیر بر روی سلول‌های سرطانی معده انسان AGS تایید شده است. همچنین مطالعات حاکی از آن است که این گیاه از طریق مهار متاستاز مانع پیشروی تومور می‌شود. مطالعات نشان داده است این تاثیر می‌تواند عملکرد پروتئین‌ها و ایجاد تداخل با مکانیسم‌های ژنتیکی بر فعالیت سلول‌های سرطانی باشد (۲). Mostafaie و همکاران (۲۰۱۰) از عصاره لاتکس برگ انجیر جهت

#### 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 گونه‌های
- ۲- 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.
- ۳- 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.
- ۴- Cushnie, T. P. T., & Lamb, A. J. (2005). Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 26(5), 343-356.
- ۵- 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.
- ۶- Eghdami, A., Salehi, M. A., & Babakhani, M. (2014). Determination of physicochemical

سالمونلا در شرایط آزمایشگاهی. مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، ۱۴، ۲۵۷-۲۶۸.



- properties of capsaicin and cytotoxic effect of capsicum extract in breast cancer (MCF7) cell 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., Bhalariao, 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 h160 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. *ARPJN 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 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.<sup>1</sup>, Shahbandeh M.<sup>2</sup> and Amin Salehi M.<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup> Lantern Research Group, Alborz Nano Tajhiz Rayan Company, Karaj, I.R. of Iran.

<sup>2</sup> Young Research and Elite Club, Islamic Azad University, Saveh, I.R. of Iran.

<sup>3</sup> 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<sub>50</sub> 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.