در
امور دام و آبزیان شماره ۸۱ زمستان ۱۳۸۷
پژوهش سازندگی

مطالعه اثر عصاره های برگ انجیر (*Ficus carica*) بر ترشح و محتوای تری گلیسیرید در کشت سلولی *HepG2*

• **احمد فاطمی**
استادیار فارماکولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران
• **فرزاد اسدی**
دانشیار بخش بیوشیمی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران
• **علی رسولی**
استادیار فارماکولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران
• **محمدحسین صالحی**
دانشیار فارماکوگنوزی دانشگاه علوم پزشکی تهران
تاریخ دریافت: مرداد ماه ۱۳۸۵ تاریخ پذیرش: آذر ماه ۱۳۸۶
Email: afatemi@ut.ac.ir

چکیده

گیاهان دارویی منبع بالقوه ای محسوب می شوند که به منظور کشف ترکیباتی که دارای اثرات ارزش مند دارویی هستند، مورد توجه می باشند. به منظور بررسی اثرات عصاره های برگ انجیر (*Ficus carica*) بر ترشح و محتوای تری گلیسرید، از عصاره های مختلف برگ انجیر هیدروالکلی (متانولی)، کلروفرمی، اتردوپترولی، کلروفرم آبی و اتردوپترول آبی) در کشت سلول HepG2 استفاده شد. در آزمایش های انجام شده، مشخص شد که عصاره های کلروفرمی و اتر دوپترولی، سمی بودند و به همین دلیل از مطالعه حذف شدند. سپس غلظت های مختلف از عصاره هیدروالکلی (۰/۰۳، ۰/۰۵، ۰/۰۸ میلی رم بر میلی لیتر) عصاره کلروفرم آبی (۰/۰۷، ۰/۱، ۰/۱۵ میلی گرم بر میلی لیتر) و عصاره اتر دو پترول آبی (۰/۰۸، ۰/۱، ۰/۱۳ میلی گرم بر میلی لیتر) در حالت پایه و تحریک شده با گلوکز به محیط کشت اضافه و مدت ۴۸ ساعت انکوبه شدند. در حالی که گلوکز به طور معناداری موجب تحریک ترشح تری گلیسیرید (۲/۱±۲۰۱ میلی گرم بر دسی لیتر) در برابر حالت پایه (۸/۴ ±۷۶/۲ میلی گرم بر دسی لیتر) شد، انکوباسیون عصاره گیاهی موجب کاهش اثر گلوکز (ترشح تری گلیسیرید به سطح پایه و یا کمتر (عصاره هیدروالکلی ۶/۸± ۷۰/۷ میلی گرم بر دسی لیتر، عصاره کلروفرم آبی (۰/۶۶±۶۶/۳ میلی گرم بر دسی لیتر) و عصاره اتر دوپترول آبی (۱/۴±۱۰۹/۷ میلی گرم بر دسی لیتر) شد. علاوه بر آن محتوای تری گلیسیرید سلول های HepG2 در حالت تحریک شده با گلوکز (۷۱/۴۸± ۶۰۹ میلی گرم در هر خانه)، کاهش معناداری را نسبت به عصاره هیدروالکلی (۱۹/۸±۲۸۵ میلی گرم در دسی لیتر) کلروفرم آبی (۱۷/۷±۳۳۱/۵ میلی گرم در هر خانه) و اتر دوپترول آبی (۱۵/۷۵±۲۷۹ میلی گرم در هر خانه) نشان داد، در حالی که محتوای تری گلیسیرید در حالت پایه ۳۷/۴۳±۳۴۲/۷۵ میلی گرم در هر خانه بود. اگرچه عصاره های برگ انجیر موجب کاهش ترشح و محتوای تری گلیسرید در حالت تحریک شده با گلوکز شدند اما در حالت پایه تغییرات معناداری ایجاد نکردند . در نتیجه عصاره های برگ انجیر توانستند موجب تعدیل در ترشح و محتوای تری گلیسرید در سلول HepG2 شوند . علت این تغییرات با توجه به آزمایش های فیتو شیمیایی ، به حضور فلاونوئیدها در برگ انجیر نسبت داده می شود .

کلمات کلیدی: *Ficus carica* ، ترشح تری گلیسرید و سلول های HepG2

Pajouhesh & Sazandegi No 81 pp: 125 - 131

Effects of *Ficus caraca* leaf extracts on triglyceride secretion and content of HepG2 cell

By: S.Ahmad Fatemi: Assistant Professor of Pharmacology of Veterinary, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran. F. Asadi: Associate Professor of Biochemictry of Veterinary, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran. A. Rasouli: Assistant Professor of Pharmacology of Veterinary, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran. M. Hossein Salehi: Associate Professor of Pharmacognosy of Medicl Science of University of Tehran.

Plant material remain a source of potencial for discovery of new compounds With valuable pharmacological activities. To investigate the effects of *Ficus carica* leaf extract on triglyceride (TG) secretion and content, hydrometanolic (total), chloroform, etherdepetrol, aqueous chloroform, and aqueous etherdepetrol were used on HepG2 cell culture. chloroform and etherdepetrol Extracts were toxic and were eliminated from experiment. Different concentrations of total extract (0.03, 0.05 and 0.08 mg/ml) aqueos chloroform extract (0.07, 0.1, 0.15 mg/ml)aqueos etherdepetrol extract (0.08 ,0.1, 0.13 mg/ml) were added to the media in both basal and glucose-stimulated conditions and incubated for 48 h. While glucose significantly increased TG secretion (201±2.1mg/dl) vs. basal condition (76.2±-8.4 mg/dl), Co2 incubation with plant extracts, reduced glucose effect back to the basal levels or lower values (total extract up to 70.7±6.8 mg/dl, aqueos chloroform extract up to 66.3±0.66 mg/dl and aqueos etherdepetrol extract up to 109±1.4 mg/dl). Furthermore, TG content of HepG2 cells in glucose- stimulated condition (609±71.48 mg/dl) showed a significant decrease in response to total extract (up to 285±19.8 mg/well) aqueos chloroform extract (331.5±17.7 mg/well), aqueos etherdepetrol. Extract (279±15.75 mg/well) while basal TG content was 342.75±37.43 mg/dl. Although the extracts reduced the TG secretion and content in glucose stimulated conditions, they did not change significantly these parameters in basal conditions. In conclusion, Ficus carica leaf extracts could modulate stimulated TG secretion and content in HepG2 cells. The reason of these effects, in regard to Phytochemical experiments can contributed to presence of flavonoids in the leaf of fig.

Key words: *Ficus carica*, Triglyceride secretion, HepG2 cells.

مقدمه

یکـی از علـت های اصلی مرگ و میـر در جوامع امـروزی، اختلال در متابولیسم چربی ها است که منجر به آترواسکلروز و عواقب قلبی عروقی ناشی از آن می شود(۱۸، ۲۵، ۲۹) . در حال حاضر برای درمان اختلال لیپید که در انسـان به صورت افزایش تری گلیسـرید و کلسترول خون متجلی می شـوند ، داروهای متعددی از خانواده استاتین ها ، فیبرات ، پروبوکول، نیاسـین و کلستیرامین استفاده می‌شوند (۹). در دامپزشکی اختـلال در متابولیسـم لیپیدها به صورت افزایش تری‌گلیسـیرید خون در سـگ و گربه (۱۹)، هیپرلیپمی در تک سـمی (۳۲،۳۱)، سندرم کبد چـرب در گاو (۱۳)، افزایـش چربـی در محوطه بطنی طیـور (۵) و نیز سـندرم کبد چرب هموراژیک و آترواسکروز در طیور (۳۴) بروز می کند کـه درمان آنها با تصحیح جیره غذایی و تجویـز داروهای کاهنده چربی صورت می‌گیرد (۳۴،۳۲،۳۱،۱۹،۹). در این زمینه بررسـی‌های بسیاری در مـورد اثـرات عوامل کاهنده چربی خون در طب سـنتی انجام شـده اسـت. (۳۰،۲۹،۲۸،۱۱،۱۰) و گیاهان بسـیاری شناسـایی شده‌اند که دارای اثرات کاهنده بر تری گلیسـیرید و کلسـترول خون هسـتند. در بررسـی های مختلف اثـرات کاهنده چربی زغال اختـه (۱۵) زردچوبه (۳۷) دانه های اسـفرزه (۱۸) درخت مسـواک (۳، ۲۰) و سـیر (۱۸) و برخی دیگر از گیاهان نشـان داده شده است. بخش های مختلف انجیر خوراکـی (fig) با نام علمـی *Ficus carica* در درمان انواع بیماری ها استفاده شده است . انجیر تازه در رفع سوء هاضمه و یبوست و جوشانده برگ آن در از بین بردن التهاب مجاری تنفس و پوسـت آن، در درمان اسـهال مؤثر اسـت (۴،۲) . عصاره بـرگ آن دارای اثر ضـد کرم (۱۷) ضد سـرطان(۳۳) کاهش دهنده قند خون(۳۵،۳۰،۱۰) کاهش دهنده تری گلیسـیرید خون (۲۸) کاهش دهنده کلسترول خون (۱۱) و ضد پاپیلوماتوز پستان گاو (۲۲) است. در سال ۱۹۹۹ ، Perez و همکاران، اثر جوشـانده برگ انجیر را بر کاهش ترشـح تری گلیسیرید پلاسما در شرایط Post Prandial (۲۸) و اسدی و همکاران در سال ۲۰۰۶ اثر شیرابه (Latex) انجیر را بر کاهش ترشح و محتوای تری گلیسیرید در جوجه گوشتی در مدل Slice culture کبد نشان دادند (۵).

اگـر چه در مطالعـات فوق، تاثیر مفیـد برگ و شـیرابه انجیر بر پارامترهای لیپیدی نشان داده شد، اما جزء یا اجزای مؤثر در این ارتباط مشـخص نشدند. از این رو، در این مطالعه اثر عصاره های مختلف برگ انجیر بر ترشـح و محتوای تری گلیسـرید در کشـت سـلول HepG2 بررسی شد تا با توجه به آزمایش های فیتو شیمیایی انجام شده ، گامی در جهت مشخص شدن جزء یا اجزای مؤثر در برگ انجیر که در کاهش

تری گلیسیرید نقش دارند برداشته شود.

مواد و روش کار

الف : جمع آوری برگ

برگ انجیر در چهار نوبت در تیر ماه سال ۱۳۸۴ از سه درخت انجیر در مؤسسه تحقیقاتی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران در جنوب تهران، جمع آوری و در کیسه پارچه ای قرار داده شدند. سپس برگ ها به مدت یک هفته در دمای معمولی و در فضای آزاد، در سایه قرار گرفتند تا به تدریج خشک شدند. طی این مدت برای جلوگیری از بروز فساد، برگ ها در دو روز اول، سه تا چهار بار در روز و در روزهای بعد، یک تا دو بار در روز، زیر و رو می شدند. پس از اینکه برگ ها به طور کامل خشک شدند توسط آسیاب برقی خرد و به پودر تبدیل و سپس در ظروف شیشه ای درب دار نگه داری شدند.

ب : عصاره گیری از برگ و لیوفلیزه کردن عصاره ها

از برگ پودر شده با استفاده از متانول و دستگاه سوکسله مدل HP6-500، عصاره هیدروالکلی (متانولی) موسوم به عصاره تام تهیه و به کمک دستگاه تبخیر دوار مدل Heidolph تا حد امکان تغلیظ شد و سپس عصاره را در پلیت قرار داده تا حلال آن به طور کامل تبخیر شود. برای به دست آوردن عصاره های کلروفرم، ۱۵۰ سانتی متر مکعب کلروفرم و ۵۰ سانتی متر مکعب آب، بر روی عصاره متانولی ریخته و با استفاده از دکانتور ، فاز کلروفرمی و آبی آن جدا شد. این کار جمعا سه بار تکرار شد. سپس فاز کلروفرمی توسط دستگاه تبخیر دوار تغلیظ شد و عصاره آن در پلیت قرار گرفت و بعد از تبخیر شدن حلال آن، به عنوان عصاره کلروفرمی در پلیت و فاز آبی آن به عنوان عصاره کلروفرم آبی در بطری نگه داری شدند. برای تهیه عصاره های اتردوپترول و اتردوپترول آبی، عملیاتی که برای تهیه عصاره های کلروفرم انجام شده بود دنبال شد، اما به جای کلروفرم ،۱۵۰ سانتی متر مکعب اتردوپترول به عصاره متانولی اضافه شد. عصاره های به دست آمده در یخچال قرار گرفتند و سپس توسط دستگاه لیوفلیزاسیون مدل Epsilon-1-12D شرکت Christ، در پژوهشگاه مهندسی ژنتیک و تکنولوژی زیستی به صورت لیوفلیزه درآمدند. عصاره های لیوفلیزه شده در ورقه آلومینیوم قرار داده شدند و تا زمان آزمایش در فریزر ۷۶- درجه سانتی گراد قرار گرفتند.

ج : آزمایش های فیتو شیمیایی

آزمایش‌های مقدماتی فیتوشیمیایی بر روی عصاره متانولی به منظور تعیین حضور آلکالوئیدها، ساپونین، تانن، فلاونوئید و گلیکوزید انجام شد (۱).

د : مطالعه در کشت سلول

سلول های HepG2 از انستیتو پاستور ایران تهیه شدند و پس از کشت در فلاسک های مدل T75 و پس از رسیدن به تراکم معادل ۸۰ درصد، در پلیت های بیست و چهارخانه مدل nunc کشت داده شدند. محیط کشت (DMEM) مورد استفاده ، حاوی ۱۰ درصد FBS و یک درصد L گلوتامین بود . در ادامه غلظت های مختلفی از پنج عصاره متانولی، کلروفرمی، اتردوپترولی، کلروفرم آبی و اتردوپترول آبی تهیه شده به پلیت ها اضافه شدند و طی مطالعه دوز – پاسخ، مقادیر مناسب که فاقد اثر سمی بودند مشخص شدند. سمی بودن دوز، با آزمایش سنجش پروتئین سلول با استفاده از روش Brodford (۸) و رنگ آمیزی سلول با تریپان بلو به منظور اطمینان از مرگ یا حیات سلول مشخص شد. در نهایت معلوم شد که عصاره های کلروفرم و اتر دوپترول در مقادیر پایین تأثیری بر ترشح و محتوای تری گلیسیرید ندارند و در مقادیر متوسط و بالا که بر ترشح و محتوای تری گلیسیرید مؤثرند، موجب مرگ سلول می شوند . به این ترتیب این دو عصاره از مطالعه حذف شدند و مقادیر افزایش یابنده عصاره متانولی(هیدروالکلی) (۰/۰۳ ، ۰/ ۰۵ ، ۰/۰۸ میلی گرم بر میلی لیتر) عصاره کلروفرم آبی (۰/۰۷ ، ۰/۱، ۰/۱۵ میلی گرم بر میلی لیتر) و عصاره اتر دو پترول آبی (۰/۰۸ ، ۰/۱ ، ۰/۱۳ میلی گرم بر میلی لیتر) به پلیت ها اضافه و در حالت پایه و تحریک شده با گلوکز (۲۸ میکرولیتر) به مدت ۴۸ ساعت در انکو باتور حاوی ۵ درصد CO_2 انکوبه شدند. منظور از حالت پایه وضعیتی است که طی آن به محیط کشت سلول، فقط عصاره با غلظت های مختلف اضافه می شود و منظور از حالت تحریک شده، وضعیتی است که طی آن علاوه بر عصاره با غلظت های مختلف، گلوکز هم اضافه شده است. پس از این مدت پلیت ها از انکوباتور خارج و لیپید های موجود در سلول به روش Goldstein(۲۱) و Brown و لیپید های موجود در محیط کشت به روش Bligh و Dyer (۶) استخراج شدند . سپس مقدار تری گلیسیرید موجود در سلول و محیط کشت توسط Neri و همکاران (۲۷) سنجش شد . تکرار پذیری نتایج با آزمایش های متعدد مورد بررسی قرار گرفت.

پردازش آماری داده ها

نتایج مطالعه بوسیله آنالیز واریانس یکطرفه (one-way-ANOVA) جهت مقایسه میانگین ها مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.اختلاف بین میانگین ها در آزمایشات مختلف با سطح اطمینان $p< ۰/۰۵$ تعیین شد و کلیه عملیات مربوط توسط نرم افزار Sigma stat مورد ارزیابی قرار گرفت.

نتایج

نتایج آزمایش های فیتو شیمیایی

آزمایش های فیتو شیمیایی که بر روی عصاره متانولی انجام شد نشان داد، که برگ انجیر دارای آلکالوئید ناچیز، مقدار قابل توجهی تانن و مقادیر متوسط فلاونوئید بوده و فاقد ساپونین و گلیکوزید است.

اثر عصاره متانولی بر ترشح تری گلیسرید در حالت پایه و تحریک شده

همانطور که از نمودار شماره یک مشخص است عصاره متانولی با غلظت های (۰/۰۳ ، ۰/ ۰۵ ، ۰/۰۸ میلی گرم بر میلی لیتر) توانستند موجب کاهش معنادار ($p < ۰/۰۰۱$) در ترشح تری گلیسیرید به ترتیب ۶/۶±۱۰۶/۲، ۲/۳±۱۱۳/۹ و ۶/۸±۷۰/۷ میلی گرم بر دسی لیتر در مقابل حالت تحریک شده با گلوکز (۲/۱±۲۰۱ میلی گرم بر دسی لیتر) شوند. در حالی که همین غلظت‌ها در حالت پایه اثر معنا داری بر ترشح تری گلیسرید نداشتند.

اثر عصاره متانولی بر محتوای تری گلیسرید در حالت پایه و تحریک شده

همان‌طور که از نمودار شماره دو مشخص است عصاره متانولی با غلظت های (۰/۰۳ ، ۰/ ۰۵ ، ۰/۰۸ میلی گرم بر میلی لیتر) توانستند موجب کاهش معنادار (p < ۰/۰۰۱) در محتوای تری گلیسرید به ترتیب ۲۸۵±۱۹/۸ ، ۳۲۲/۵±۱۹/۵ ، ۳۶۷/۵±۶۹/۷۵ میلی گرم بر دسی لیتر در مقابل حالت تحریک شده با گلوکز (۶۰۹±۷۱/۴۸ گرم بر دسی لیتر) شوند . در حالی که همین غلظت ها در حالت پایه اثر معنا داری بر محتوای تری گلیسرید نداشتند.

اثر عصاره کلروفرم آبی بر ترشح تری گلیسرید در حالت پایه و تحریک شده

همان طور که از نمودار شماره سه مشخص است عصاره عصاره کلروفرم آبی (۰/۰۷ ، ۰/۰۱ ، ۰/۱۵ میلی گرم بر میلی لیتر) توانستند موجب کاهش معنادار (p < ۰/۰۰۱) در ترشح تری گلیسرید به ترتیب ۱۰۶/۲±۲/۴ ، ۶۷/۲±۱/۸ و ۶۶/۳±۰/۶۶ میلی گرم بر دسی لیتر درمقابل حالت تحریک شده با گلوکز (۲۰۱±۲/۱ میلی گرم بر دسی لیتر) شوند. در حالی که همین غلظت ها در حالت پایه اثر معناداری بر ترشح تری گلیسرید نداشتند.

اثر عصاره کلروفرم آبی بر محتوای تری گلیسرید در حالت پایه و تحریک شده

همانطور که از نمودار شماره چهار مشخص است عصاره کلروفرم آبی (۰/۰۷ ، ۰/۱ ، ۰/۱۵ میلی گرم بر میلی لیتر) توانستند موجب کاهش معنادار (p< ۰/۰۰۱) در محتوای تری گلیسرید به ترتیب ۳۷۲/۷۵±۵۷ ، ۳۲۲/۵±۱۰/۲ و ۳۸۷/۷۵±۵۱/۹۸ میلی گرم بر دسی لیتر در مقابل حالت تحریک شده با گلوکز ۶۰۹±۷۱/۴۸ گرم بر دسی لیتر) شوند. در حالی که همین غلظت ها در حالت پایه اثر معناداری بر محتوای تری گلیسرید نداشتند.

اثر عصاره اتردوپترول آبی بر ترشح تری گلیسرید در حالت پایه و تحریک شده

همانطور که از نمودار شماره پنج مشخص است عصاره اتر دو پترول آبی (۰/۰۸ ، ۰/۱ ، ۰/۱۳ میلی گرم بر میلی لیتر توانستند موجب کاهش معنادار (p < ۰/۰۰۱) در ترشح تری گلیسرید به ترتیب ۱۱۴/۲±۴/۸، ۱۱۰/۶۷±۴/۶ و ۱۰۹/۷±۱/۴ میلی گرم بر دسی لیتر در مقابل حالت تحریک شده با گلوکز (۲۰۱±۲/۱ میلی گرم بر دسی لیتر) شوند. در حالی که همین غلظت ها در حالت پایه اثر معنا داری بر ترشح تری گلیسرید نداشتند.

اثر عصاره اتردوپترول آبی بر محتوای تری گلیسرید در حالت پایه و تحریک شده

همانطور که از نمودار شماره شش مشخص است عصاره اتر دو پترول آبی (۰/۰۸ ، ۰/۱ ، ۰/۱۳ میلی گرم بر میلی لیتر توانستند موجب کاهش معنادار (p< ۰/۰۰۱) در محتوای تری گلیسرید به ترتیب ۳۲۲/۵±۱۹/۴۳ ، ۳۶۷/۵±۸/۷ و ۳۲۷/۷۵±۹/۵۳ میلی گرم بر دسی لیتر در مقابل حالت تحریک شده با گلوکز (۶۰۹±۷۱/۴۸ گرم بر دسی لیتر) شوند. در حالی که همین غلظت ها در حالت پایه اثر معناداری بر محتوای تری گلیسرید نداشتند.

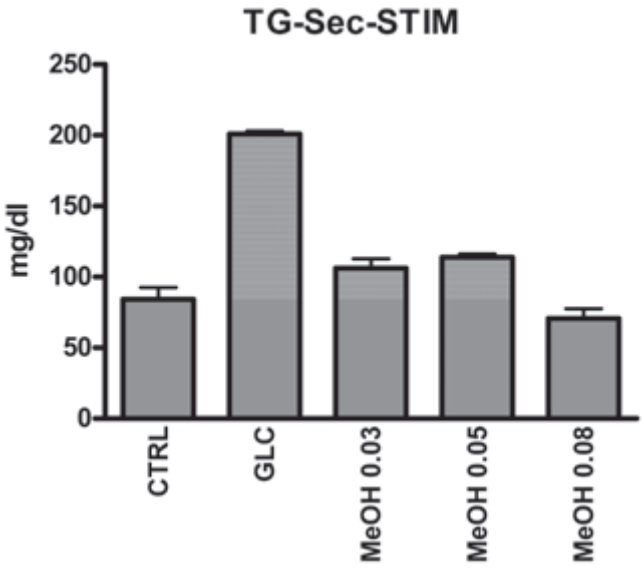
بحث

امروزه گیاهان بسیاری وجود دارند که در انسان و حیوانات تجربی به جهت اثرشان بر کاهش چربی و اثر ضد آترواسکلروز و ضد دیابتشان مورد بررسی قرار گرفته‌اند (۱۰،۱۱،۱۵،۲۰،۲۸،۳۰). در این ارتباط در مطالعه ای که توسط Perez و همکاران در سال ۱۹۹۹ انجام شد،نشان داده شد که تزریق داخل صفاقی، جوشانده برگ انجیر به موشهای Rat که توسط امولسیون تری گلیسرید با زنجیر بلند،به هیپرتری گلیسریدمی مبتلا شده بودند،موجب کاهش تری گلیسرید پلاسما شد،اما بر میزان کلسترول اثری نداشت (۲۸). اثر کاهش تری گلیسرید که در این مطالعه بدست آمد، در مطالعه ای که پیش از این توسط Campilo با برگ انجیر انجام شده بود، تایید شد (۱۰).Canal و همکاران نشان دادند که عصاره کلروفرمی حاصل از جوشانده برگ انجیر، موجب کاهش کلسترول و همچنین کاهش نسبت کلسترول تام به کلسترول HDL و همچنین کاهش قند خون در موش‌هایی شد که توسط استرپتوروسین به دیابت مبتلا شده بودند (۱۱). اسدی و همکاران نشان دادندکه شیرابه انجیر می‌تواند محتوای تری گلیسرید کبد و همچنین ترشح تری گلیسرید و کلسترول را در کبد جوجه ها، به طور معناداری کاهش دهد که این کاهش وابسته به دوز بوده است(۵).

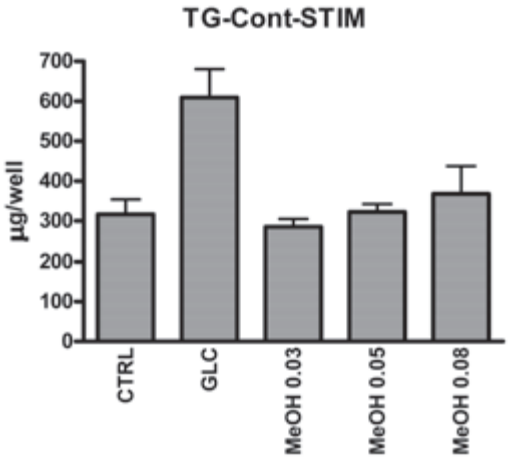
در مطالعه حاضر، نشان داده شده است که عصاره های متانولی، کلروفرم آبی و اتردوپترول آبی توانستند ترشح و محتوای تری گلیسرید را در کبد در حالت تحریک شده با گلوکز، که طی آن تولید و ترشح تری گلیسرید افزایش می یابد و شبیه به حالت هیپرلیپیدمیک در موجود زنده است،کاهش دهند و این کاهش در هر دو مورد (ترشح و محتوای تری گلیسرید) سلول های HepG2 معنادار بوده است (نمودارهای ۱تا۶). در ارتباط با نقش گلوکز، نشان داده شده است که تولید و ترشح تری گلیسرید در سلول های کبد، بدنبال افزایش کربوهیدرات ها افزایش می یابد(۱۴).اما عصاره های متانولی،کلروفرم آبی، اتردوپترول آبی نتوانستند در ترشح و محتوای تری گلیسرید، در حالت پایه تغییری ایجاد کنند. این نتیجه با نتایج سایر پژوهش‌ها که نشان می‌دهد اثر کاهندگی برگ و شیرابه انجیر بر لیپیدهای خون در موارد هیپرلیپیدمی (۲۹،۳۰) و یا در حیواناتی بوده است که توسط استرپتوزوسین به دیابت مبتلا شده و بدین ترتیب میزان گلوکز و به تبع آن ، چربی خون افزایش یافته است (۱۰،۱۱،۳۰)، هم خوانی دارد. در تمام این مطالعات ، نحوه اثر کاهندگی انجیر بر چربی مشخص نشد، در این راستا اسدی و همکاران پیشنهاد کردند که برگ درخت انجیر احتمالا حاوی موادی است که می تواند موجب افزایش اثر لیپولیتیک لیپوپروتئین لیپاز پلاسما شود(۵).

در آزمایش های فیتوشیمیایی که در این مطالعه برروی عصاره متانولی صورت گرفت، نشان داده شد که برگ انجیر علاوه بر آلکالوئید به مقدار کم، دارای مقدار متوسطی فلاونوئید است.

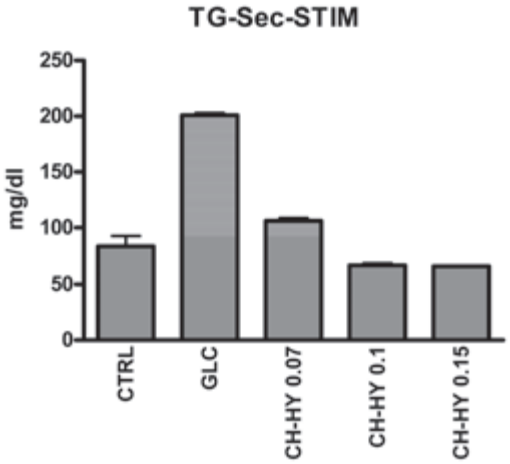
فلاونوئیدها ترکیبات مختلفی هستند که فلاونول، فلاون، کاتشین و ایزوفلاون ها در این دسته قرار می‌گیرند و از این گروه، فلاون ها در طیف وسیع تری از گیاهان موجودند. بیشترین فلاونول‌هایی که در گیاهان شناخته شده اند کوئرستین و کامپفرول هستند (۱۸، ۲۶). نتایج برخی تحقیقات نشان می‌دهد که فلاونوئید ها در کاستن از خطر بروز بیماری‌های عروقی نقش عمده‌ای دارند. در این ارتباط نشان داده شده است که ایزوفلووان حداقل مسئول بروز اثر کاهش دهنده تری گلیسیرید پروتئین سویا است که توصیه می شود در انسان های در معرض حملات قلبی استفاده شود (۱۶). از طرف دیگر در ساخت، ترشح و انتقال لیپیدها، آنزیم های بسیاری مثل ACAT، GAT ، FAS و MTP نقش دارند (۲۵). در این خصوص اثرات مهاری فلاونوئیدها مثل نارینجنین موجود در میوه گریپ فروت بر آنزیم های DGAT، MTP، ACAT و HMG-COA ردوکتاز گزارش شده است (۲۳،۱۶،۷). همچنین اثرات کاهنده فلاونوئید xanthohumols که یک پلی فنول موجود در گیاه رازک است بر ترشح apoB در سلول های HepG2 به کاهش فعالیت MTP، DGAT نسبت داده می‌شود (۷، ۱۲، ۳۶). یکی از آنزیم های کلیدی که در ساخت اسید چرب دخالت دارد FAS است که مهار آن توسط فلاونوئید موجب کاهش تولید اسید چرب و به دنبال آن کاهش ساخت تری گلیسیرید می شود (۲۴) . شاهد دیگر بر اثر مهاری فلاونوئید، toxifolin موجود در گیاه کنگر است که موجب مهار ترشح تری گلیسیرید و همچنین غلظت داخل سلولی آن در سلول های HepG2 و در ضمن با اثر مهاری بر آنزیم های DGAT2 و DGAT1، موجب کاهش تؤامان تری گلیسیرید در داخل سلول و فضای شبکه آندوپلاسمی می شود (۱۳).



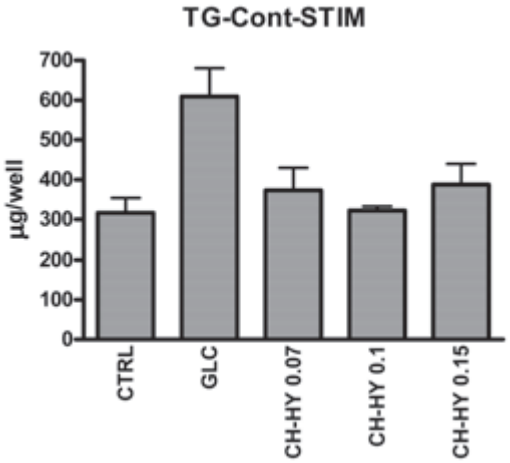
نمودار ۱- اثر غلظت های مختلف عصاره متانولی بر ترشح تری گلیسیرید در حالت تحریک شده



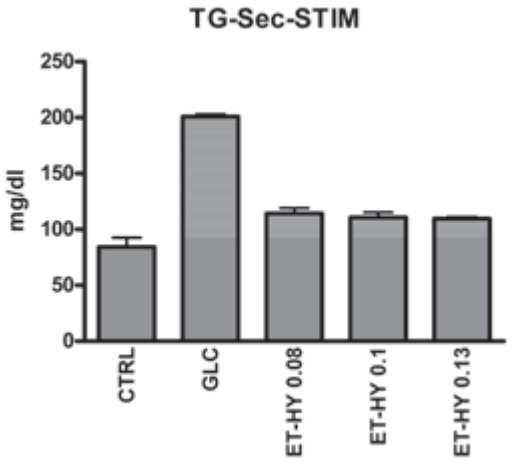
نمودار ۲- اثر غلظت های مختلف عصاره متانولی بر محتوای تری گلیسیرید در حالت تحریک شده



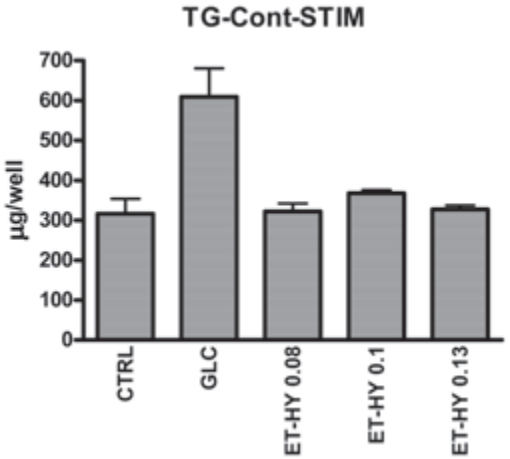
نمودار ۳- اثر غلظت های مختلف عصاره کلوفروم آبی بر ترشح تری گلیسیرید در حالت تحریک شده



نمودار ۴- اثر غلظت های مختلف عصاره کلوفروم آبی بر محتوای تری گلیسیرید در حالت تحریک شده



نمودار ۵- اثر غلظت های مختلف عصاره اتردوپترول آبی بر ترشح تری گلیسیرید در حالت تحریک شده



نمودار ۶- اثر غلظت های مختلف عصاره اتردوپترول آبی بر محتوای تری گلیسیرید در حالت تحریک شده

نتیجه گیری و پیشنهاد

بر اســاس یافته های محققین فــوق، در مورد اثر فلاونوئیدها در کاهش تری گلیسیرید، به نظر می رسد با توجه به شواهد موجود در آزمایشات فیتوشــیمیایی و مقدار نســبتا قابل توجه فلاونویید در عصاره‌های مورد اســتفاده، فلاونوئیدها می‌توانند در کاهش تولید و ترشح تری گلیسیرید مؤثر باشــند و به این ترتیب ممکن اســت بتوان از بــرگ انجیر، جهت کاهش تری گلیســیرید اســتفاده کرد. با این حــال در خصوص حضور فلاونوئیدهــا در عصاره های مختلف مورد اســتفاده و نوع فلاونوئیدهای موجود و همچنین ارتباط مقدار فلاونوئیدها و شــدت اثر این عصاره ها، لازم است تحقیقات بیشتری صورت گیرد.

پاورقی ها

1 - Fatty acid synthase

2 - diacyl glycerol acyl transferase

3 - acyl-CoA-Cholesterol acyl transferase

4 - microsomal triglyceride transfer protein

5- hydroxyl-methyl Glutaryl Coenzyme A reductase

منابع مورد استفاده

۱- ربیعی، مریم. (۱۳۷۷): بررسی فیتوشیمیایی برگ گیاه جینکو بیلوبا و تهیه فرآورده های آرایشــی و بهداشتی از آن. پایان نامه دکترای داروسازی دانشگاه علوم پزشــکی تهران، ســال تحصیلی ۷۷-۷۶. پایان نامه ۳۷۹۶ . صفحات ۶۲-۵۹.

۲- زرگری، علی. (۱۳۷۵): گیاهان دارویی. جلد چهارم، چاپ ششــم، انتشارات دانشگاه تهران، صفحات: ۴۴۷-۴۴۱.

۳- مظفریــان، ولی الله (۱۳۷۷): فرهنگ نام های گیاهــان دارویی. چاپ دوم، انتشارات فرهنگ معاصر، تهران، اکثر صفحات.

4- Ahmed, W., A.Q., Khan and Malik, A. (1998): Two triterpens from the leaves of *Ficus carica*. Plant Med., 54, 481.

5- Asadi, F., Pourkabir, M., Maclaren, R. and Shahriari, A. (2006): Alteration to lipid parameters in response to Fig tree (*Ficus carica*) leaf extract in chicken liver slices. Turk. J. Vet. Ani. Sci. 30: 315-318.

6- Bligh and Dyer (1959): Lipid extraction from media . Can. J. Biochem. Physio. 37:911.

7- Borradaile, N.M., deDreeu, L.E., Barrett, P.H., Behrsin, C.D. and Huff, M.W. (2003): Hepatocyte apoB- containing lipoprotein secretion is decreased by the grape fruit flavonoid, naringenin via inhibition of MTP-mediated microsomal triglyceride accumulation. Biochemistry 42: 1283-91.

8- Bradford, M. (1976): A rapid and sensitive method for the quantitation of protein utlising the principle of protein-dye binding. Anal. Biochem. 72, 245.

9- Brunton, Laurence L. Lazo, John, Parker and Keith L. (2006): Goodman and Gillman, S. the Pharmalogical basis of therapeutics.11th ed. McGraw hill. pp: 948-61.

10- Campillo, J.E., Torres, M.D., Dominguez, E., Romero, A. and Perez, C. (1994): *Ficus carica* Leaf administration reduces hypertriglyceridemia in streptozocin diabetic Rats. Diabetologia: 37 supp 1, A213.

11- Canal, J.R., Torres, M.D., Romero, A. and Perez, C. (2002). A chloroform extract obtained from a decoction of *Ficus carica* leaves, improve the chlosterolaemia of rats With streptozocin-induced diabetes.Act.Physio.Hung 87 71-76.

12- Casachi A., Maiyoh, G.K., Rubio, B.K., LI, R.W., Adeli, K. and Theriault, A.G. (2004): The Chalcone xanthohumol inhibit triglyceride and apolipoprotein B secretion in HepG2 cell. J. Nutr. 134:1340-6.

13- Cascchi A., Rubio, B.K., Maiyoh, G.K. and Theriault, A.G.

fect of querectin and rutin on serum and hepatic lipid concentration feed steroid extraction and serum Antioxidant properties J. Health. Sci., 46:229-40.

27- Neri Bruce, P. and Frings Christopher, S. (1973): Improved method for determination of triglyceride in serum. Clin-Chem 19:1201-2.

28- Perez, C., Canal, J.R., Campillo, J.E., Romero, A. and Torres, M.D. (1999): Hypotriglyceridemic activity of *Ficus carica* leaves in experimental hypertriglyceridemic rats. Phyto. Res. B: 188-91.

29- Perez, C., Canal, J.R., Romero, A. and Torres, M.D. (1999): Experimental hypertriglyceridemia and hypercholesterolaemia in rats. Acta Physiol Hung. 86(1): 57-68.

30- Perez, C., Canal, J.R. and Torres, M.D. (2003): Experimental diabetes treated with *Ficus carica*: Effect on oxidative stress parameters. Acta Diabetol Mar: 40(1): 3-8.

31- Radostits Otto, M., Gayclive, C., Hincheliffkennethw, W. and Constable, Peter, D. (2007): Veterinary medicine 10th ed Saunder, pp: 50, 267, 324, 1427.

32- Reed Stephan, M., Bayly Warwick, M. and Sellon Debrac (2004): Equine internal medicine 2th ed Saunders, 979-81.

33- Rubnov, S.Y., Kashman, R., Rabinowitz, M., Schlesinger, M. and Mcchoulam, R. (2000): Suppressor of cancer cell proliferation from fig (*Ficus Carica*)resin isolation and structure elucidation.J.Nut.Prod 64,993-6.

34- Saif, Y.M., Barnes, H.J., Glisson, J.R., Fadly, A.M., McDougald, I.R. and Swayen, D.E. (2003): Disease of poultry. 11th ed. Blackwell publishing Company. pp: 1079-84.

35- Serraclara, A.F., Hawkins, C., Perez, C., Dominguez, E., Campillo, J.E. and Torres, M.D. (1998): Hypoglycemic action of an oral fig-leaf decoction. In type-1 diabetic patients Dia. Res. Cli. Pra, 39: 19-22.

36-Tabata, N., Ito, M., Tomodo, H. and Omura, S. (1997): Xanthohumols diacylglycerol acetyltransfrase inhibitor Homulus lupulus. Phytochemistry 46:683-87.

37- Yansi,s, Imaizumi, K. (1991): Effect of Indonesian medicinal plants *Curcuma xanthorriza* Roxb, on the level of serum glucose and triglyceride, fatty acid desaturation bile acid excretion in streptozocin-induced diabetic rats. Agr. Biol. Chem: 55 supp 12, 3005-3010.

(2004): Inhibitory activity of diacylglycerol acylteransferase (DGAT) and microsomal triglyceride Transfer protein (MTP) by the flavonoid, toxifolin, in HepG2 cell: Potential role in the regulation of apolipoprotein B secretion. Atherosclerosis 176:247-53.

14- Cianflone, K., Dahan, S., Monge, J.C. and Sniderman A.D. (1992): Phatogenesis of carbohydrate-induced hypertriglyceridemia using HepG2 cells as a model system. Arterioscler Thromb, 12:271-7.

15- Cignarella, A., Nastasi, M., Caralli, E. and Puglisi, L. (1996): Novel lipid-lowering properties of vaccinium mytillus L.leaves, atraditional antidiabetic treatment, in several model of rats dyslipidaemic:a comparison with ciprofibrate.Thromb Res Dec. 1:84 (5) 311-22.

16- Cook, N.C. and Samrnan, S. (1996): Flavonoid-chemistry-metabolism cardio protective effects and dietary sources. J. Nut., Biochem. 7;66-76.

17- De-Amorin. A.H., Borba, H.R., Carauta Lopes, D. and Kaplan, M.A. (1999): Anthelmintic activity of the latex of *Ficus carica* .J. Ethnopharm, 64: 255-258.

18- Evans, William Charles (2002): Trease and evana pharmacognosy 2002 15th ed. pp: 214-248.

19- Ettinger Stephenj (2005): Textbook of veterinary internal medicine disease of the Dog and cat.6th ed Elsevier-Saunders, pp: 592-95,1156-58.

20- Galati, E.M., Monforte, M.T., Forestieri, A.M., Miceli, N., Bader, A., Trorato, A. (1999): Salvadora persica L: Hypolipidemic activity on experimental hypercholesterolemic in rat . phytomedicine, Jui: 6(3): 181-5.

21- Goldstein and Brown (1983): Lypid extraction from culthured HepG2 cells. Methods hn enzymology 98:241-261.

22- Hemmatzadeh, F., Fatemi, A. and Amini, F. (2003): Therapeutic effect of fig tree latex on bovine papilomatosis. J. Vet. Med. B. Infect. Dis. Vet. public health 50: 473-76.

23- Lee, M.K., Moon, S.S., Lee, S.E., Bok, S.H., Jeong, T.S., Park, Y.B. and Choi M.S. (2003): Naringenin,7- o – cetyl ether as inhibitor of HMG-Co reductase and modulator of plasma and hepatic lipids in high cholesterol-feed rats 6:11(3):393-8.

24- Li, B.H, Max, F., Wang, Y. and Tian, W. (2005): Structure –activity relationship of polyphenol that inhibit fatty acid synthase. J. Biochem (Tokyo) 138:679-85.

25- Murray Robert, K., Granner Darly, K. and Rodwell Victor, W. (2006): Harper's illustrated biochemistry 27th ed. MacGrawHill-LANGE most of the pages.

26- Nakamara, Y., Susumu, I. and Yasuhide, T. (2000): Ef-