



دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی رفسنجان  
دانشکده پزشکی  
گروه بیوشیمی بالینی

بررسی اثر عصاره هیدروالکلی دانه شنبلیله و مواد مؤثره آن (۴- هیدروکسی ایزولوسین و دیوسجنین) بر  
متابولیسم چربی در رده های سلولی HepG2 و SW480

اساتید راهنما:

دکتر محمدرضا حاجی زاده

دکتر مهدی محمودی

اساتید مشاور:

دکتر علیرضا خوشدل

دکتر محمد علی فهمیده کار

دکتر محمدرضا میرزایی

نگارش:

مریم محمدصادقی

تابستان ۱۳۹۷

## چکیده

مقدمه: اختلال در متابولیسم چربی یک اختلال در سوخت و ساز لیپید و لیپوپروتئین است که منجر به افزایش کلسترول تام (TC)، (LDL-C)، تری گلیسیرید (TG) و کاهش (HDL-C) می شود. اختلال در متابولیسم چربی با دیس لیپیدمی، دیابت، بیماری های قلبی عروقی، التهاب و چاقی و اختلالات ناشی از آنها ارتباط دارد. در حال حاضر، یکی از داروهایی که بیشتر برای درمان چاقی استفاده می شود، ارلیستات (Orlistat) (ORL) است که به عنوان یک مهارکننده قوی، خاص و طولانی لیپاز معده و روده است. اما این دارو نیز اثر نامطلوبی بر دستگاه گوارش (استئاتوره) دارد. داروهای گیاهی به دلیل اثرات محافظتی در برابر آسیب های اکسیداتیو و کاهش التهاب منجر به کاهش بروز بیماری های مختلف می شوند و می توانند نقش مهمی در مدیریت چربی خون و درمان چاقی و عوارض ناشی از آن داشته و جایگزین مناسبی برای داروهای شیمیایی باشند. شنبليله گیاهی با خواص دارویی فراوان است. ۴- هیدروکسی ایزولوسین و دیوسجنین دو ترکیب فعال موجود در شنبليله هستند که به تنظیم متابولیسم گلوکز و لیپید کمک می کنند.

مواد و روش ها: سلول های HepG2 و SW480 در محیط RPMI1640 کشت داده شدند. سپس به مدت ۲۴ و ۴۸ ساعت با عصاره دانه شنبليله، دیوسجنین، ۴-هیدروکسی ایزولوسین و ارلیستات تیمار شدند IC20. با استفاده از روش MTT محاسبه شد. قبل از استخراج RNA و سنتز cDNA سلول ها با غلظت های IC20 تیمار شدند. درصد میزان تغییر در بیان ژن های  $LXR\alpha$ ،  $PPAR\gamma$ ،  $SREBP-1C$ ،  $FAS$ ،  $ACC$ ،  $FGF21$  و ژن  $LDLR$  با استفاده از روش Real Time PCR مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج: نتایج نشان داد که در رده ی سلولی HepG2 پس از ۲۴ و ۴۸ ساعت تیمار با عصاره، دیوسجنین، ۴-هیدروکسی ایزولوسین و ارلیستات، کاهش بیان قابل توجهی در ژن های  $LXR\alpha$ ،  $SREBP-1C$  و ژن های هدف آن، از جمله  $FAS$  و  $ACC$  و افزایش بیان قابل توجهی در ژن های  $PPAR\gamma$ ،  $FGF21$  و  $LDLR$  مشاهده شد. ( $P<0/001$ ) همچنین در رده سلولی SW480 پس از ۲۴ و ۴۸ ساعت تیمار سطح بیان mRNA ژن های  $FAS$  و  $ACC$  کاهش و  $PPAR\gamma$  و  $LDLR$  افزایش معنی داری نشان دادند. ( $P<0/001$ ) این نتایج در رده ی سلولی SW480 برای اولین بار گزارش می شوند.

نتیجه گیری: داده های ما نشان می دهند که عصاره دانه شنبليله، دیوسجنین و ۴-هیدروکسی ایزولوسین دارای اثرات هایپولیپیدمیک بوده که شبیه ارلیستات عمل می کنند و از طریق تنظیم بیان ژن های درگیر در متابولیسم چربی اختلالات چربی و چاقی را بهبود می بخشند. بنابراین می توان پیشنهاد کرد به عنوان کاندیداهای مناسبی جهت بهبود دیس لیپیدمی و اختلالات متابولیسمی مرتبط با آن مورد استفاده قرار گیرند.

کلمات کلیدی: عصاره دانه شنبليله، دیوسجنین، ۴-هیدروکسی ایزولوسین، ارلیستات، دیس لیپیدمی

## **The effect of fenugreek seeds hydroalcoholic extract and its active Compounds (4-hydroxy Isoleucine and Diosgenin) on lipid metabolism in HepG2 and SW480 cell lines**

### **Abstract**

**Introduction:** Dyslipidemia is a disorder in the metabolism of lipids and lipoproteins, which leads to an increase in total cholesterol (TC), Low density lipoprotein (LDL-C), triglyceride (TG) and decreased High density lipoprotein (HDL-C). Disorders of lipid metabolism are associated with dyslipidemia, diabetes, cardiovascular disease and obesity, and their associated disorders. One of the medicines approved by Food and Drug Administration (FDA) for the treatment of obesity is Orlistat (ORL), with a commercial brand of Xenical, which acts as a potent, specific and irreversible inhibitor for pancreatic and gastrointestinal carboxyl ester lipase. This drug is used to manage obesity due to inhibition of lipases and the fatty acid synthase. However, it also has an untoward effect on the gastrointestinal tract (steatorrhea). Herbal remedies, through their protective effects against oxidative damage and reducing inflammation, can reduce the incidence of various diseases and can play an important role in the management of dyslipidemia and obesity and related complications, as well as can be a suitable alternative to chemical drugs. Fenugreek is a plant with many medicinal properties. Diosgenin and 4-Hydroxyisulosin are two active ingredients of Fenugreek, which that contribute to the regulation of glucose and lipid metabolism.

**Methods:** HepG2 & SW480 cells were cultured in RPMI1640 medium. The cells were treated for 24 and 48 hours with the Fenugreek seeds extract, Diosgenin, 4 hydroxyisulosin and Orlistat. IC50 was calculated using MTT method. The cells were then pre-treated with the IC20 concentrations for 24 and 48 hours before extracting RNA and synthesizing cDNA. The percent change in the expression of LXR $\alpha$ , PPAR $\gamma$ , SREBP-1C, FAS, ACC, FGF21 and LDLR genes was evaluated by Real Time PCR method.

**Results:** Based on the results of Real Time-PCR in HepG2 cell line, after 24 and 48 hours treatment with extract, diosgenin, 4-hydroxyisoleucine and orlistat, significantly down-regulation of LXR $\alpha$ , SREBP-1C genes, as well as the target genes, including ACC and FAS, and significantly up-regulation of PPAR $\gamma$ , FGF21, and LDLR genes were observed ( $P < 0.001$ ). Also in the SW480 cell line, after 24 and 48 hours of treatment, the mRNA expression level of FAS and ACC genes decreased and PPAR $\gamma$  and LDLR increased significantly ( $P < 0.001$ ). These results are reported for the first time in the SW480 cell line.

**Conclusions:** Our data show that fenugreek seeds, diosgenin, 4-hydroxyisoleucine and orlistat have potent hypolipidemic effects and improve lipid and obstructive disorders by regulating the expression of genes involved in lipid metabolism. Therefore, it can be suggested that they be used as suitable candidates for the improvement of dyslipidemia and related metabolic disorders.

**Key word:** Fenugreek seeds extract, Diosgenin, 4-Hydroxyisoleucine, Orlistat, Dyslipidemia.



**Rafsanjan University of Medical Sciences  
Medical School  
Clinical Biochemistry Department**

**(4-hydroxy The effect of fenugreek seeds hydroalcoholic extract and its active Compounds  
and SW480 cell lines Isoleucine and Diosgenin) on lipid metabolism in HepG2**

**Supervisors:**

Dr. Mohammad Reza Hajizadeh  
Dr. Mahdi Mahmoodi

**Advisors:**

Dr. Alireza Khoshdel  
Dr. Mohammad Ali Fahmideh Kar  
Dr. Mohammad Reza Mirzaei

**By:**

Maryam Mohammad Sadeghi

Summer 2018