فصل وتعيين الاوزان الجزيئية التقريبية للمركبات البروتينية الفعالة من بذور فول الصويا ودراسة تأثيراتها في ذكور الفئران السليمة والمصابة بداء السكر المستحدث بالالوكسان

ناهدة سعيد الجلبي ، حمزة نامق حميد

كلية التربية ، جامعة الموصل ، الموصل ، العراق

(تاريخ الاستلام: ٢٦ / ٤ / ٢٠٠٩ ---- **تاريخ القبول:** ١٤ / ٢ / ٢٠١٠)

الملخص

صممت هذه الدراسة لعزل المركبات البروتينية من المستخلص المائي البارد والمغلي لبذور نبات فول الصويا *Soybean* باستخدام التقنيات الحياتية المختلفة، ومن هذه التقنيات ترسيب الجزء البروتيني في كل مستخلص باستخدام الاسيتون البارد وفصله عن الجزء غير البروتيني ، وباستخدام تقنية الترشيح الهلامي تم فصل مركبين A و B من الراسب البروتيني الناتج من المستخلص المائي البارد والمغلي لبذور نبات فول الصويا ، فضلا عن ذلك تم تعيين الاوزان الجزيئية التقريبية لهذه المركبات باستخدام تقنية الترشيح الهلامي بمقارنتها مع مواد بروتينية معلومة الوزن الجزيئي ، وكانت الاوزان الجزيئية التقريبية للمركبين A و B الناتجة من مادة الراسب البروتيني المعزولة من المستخلص المائي البارد هي (٧٣٤٠٠) و(٧٤٠٠) دالتون على التوالي ، بينما كانت الاوزان الجزيئية التقريبية للمركبين A و B الناتجين من مادة الراسب البروتيني المعزولة من المستخلص المائي المغلي هي (٦٩٩٠٠) و(٦٩٠٠) دالتون على التوالي .

فضلا عن دراسة فعالية المواد البروتينية المعزولة من المستخلصات المائية الخام الباردة والمغلية على بعض المتغيرات الكيموحيوية في ذكور الفئران السليمة والمصابة بداء السكر المستحدث بالالوكسان عن طريق الحقن بالتجويف البريتوني ومقارنتها مع تأثير الانسولين . وقد اشارت النتائج بعد اسبوع من المعاملة الى ان الراسب البروتيني البارد والمغلي وبجرع (١٢,٥ و ١٧,٤٥) ملغم/كغم من وزن الجسم ادى الى انخفاض في مستوى (الكلوكوز، الكليسيريدات الثلاثية) وارتفاعاً معنوياً في مستوى (كوليستيرول البروتين الدهني عالي الكثافة) في مصل دم ذكور الفئران السليمة والمصابة بداء السكر المستحدث بالالوكسان .

اظهرت الحزمة البروتينية A المفصولة من الراسب البروتيني البارد وبجرعة (٣,٦) ملغم/كغم من وزن الجسم تاثيراً خافضاً في مستوى الكلوكوز والكوليستيرول الكلي والكليسيريدات الثلاثية وزيادة في مستوى الدهون البروتينية عالية الكثافة في مصل ذكور الفئران المصابة بداء السكر، فضلا عن امتلاكها اكبر تأثير خافض لمستوى الكوليستيرول الكلي في ذكورالفئران المصابة بداء السكر وذلك عند المقارنة مع مجموعة السيطرة C^+ العائدة لها ، كما أدى هذا المركب البروتيني وصول مستوى الكوليستيرول الكلي في مصل دم ذكور الفئران المصابة بداء السكر إلى مستوى التأثير المشابه لتأثير الأنسولين .

المقدمة

منذ القدم عرف الانسان اهمية النباتات في علاج قسم من الأمراض التي كان يشكو منها، وقد دلت الآثار المصرية والسومرية والبابلية على اهتمام الإنسان بالنباتات واستخدامها في علاج العديد من الحالات المرضية وفي الطقوس الدينية التي كانت سائدة آنذاك، وقد مرت البشرية بمراحل حضارية عديدة ساعدت على تطور علم التداوي بالأعشاب والنباتات[1] وللعرب الفضل في تاسيس أول مذاخر الأدوية، ويعزى اليهم فتح اول صيدلية لتحضير الدواء وبيعه في اوائل القرن الثامن الميلادي وكان ذلك في مدينة بغداد ومن أشهر علماء العرب بهذا المجال حنين بن اسحاق، الرازي، ابن سينا وابن البيطار[2].

إزداد الاهتمام حول استعمال النباتات الطبية في علاج الكثير من الأمراض فقد استخدمها الكثيرون من مختلف شعوب العالم في الطب البديل، اذ تم وصف مدى فاعليتها في خفض السكر وغالبية هذه النباتات لم تقيم تحت ظروف مسيطر عليها، ولايبدو واضحا كيف تعمل ولم تشخص المادة الفعالة بها وقد يكون البعض منها مؤثرا ضد حالة متخصصة [٣].

توالت البحوث العالمية والمحلية لدراسة النباتات الطبية الخافضة لسكر الدم فدرس الباحثون المستخلصات النباتية المائية او الكحولية، في حين ذهب البعض الاخر الى فصل مركب او اكثر ودراسة فاعليتها البايولوجية في معالجة مرضى داء السكر وذلك بتطبيقها على حيوانات التجارب السليمة والمصابة بداء السكر المستحدث بالالوكسان او الستربتوزوتوسين [٤]، اذ يمكن استخدام النبات كاملا أو جزءً منه كالبذور اوالاوراق اوالثمار على هيئتها الطبيعية او بشكل منقوع اومسحوق او غيرها من الاشكال [٥] .

من النباتات التي تم دراسة فاعليتها في خفض الكلوكوز في الدم، جذور نبات لحية الحية (Ophiopogonis tuber) فقد درست فعاليتها في خفض مستوى كلوكوزالدم عند اعطاء مستخلص البيوتانول الكحولي وبجرعة(١٠٠) ملغم/كغم في ذكور الفئران السليمة والمعاملة بالستربتوزوتوسين . وفي دراسة اخرى للنبات نفسه تم اعطاء المستخلص المائي للأرانب السليمة والمصابة بداء السكر المستحدث بالالوكسان وعن طريق الفم ، اذ ادى هذا المستخلص الى خفض مستوى الكلوكوزمما يشير الى فعالية هذا النبات في معالجة داء السكر

[٦] ، اما الباحثDay[٣] فقد ذكر أسماء مجموعة من النباتات ومنها ثمار الفواكه والخضراوات التي تستخدم مواد خافضة للسكر ومنها الخس ، الفطر، فول الصويا والشلغم فضلا عن عدد من انواع الفاكهة كالتفاح والليمون.

النبات المستخدم

نبات فول الصويا Soy bean plant

فول الصويا Glycine max محصول مهم زرع في اماكن مختلفة من العالم لاحتواءه على بروتينات وزيوت ذات فوائد صحية لعوامل الحياة .

ان موطن فول الصويا شمال الصين، ان فول الصويا يعد كمحصول تجاري في اكثر من ٣٥ بلد ، أدخل هذا المحصول للعراق عام ١٩٥٢ [7] ، ويعد فول الصويا محصولا صيفيا حوليا ، يتراوح ارتفاعه (٠,٧٥-١,٢٥م) يتفرع بشكل كثيف أو متناثر ، ذا جذر وتدي يسترسل بشكل عميق في التربة ويحوي جذورا ثانوية ، أما البذور فيتباين شكلها من الكروي الى الاهليلجي[8].

يساهم فول الصويا في منع الكثير من الامراض المزمنة، وقد اثبتت الدراسات ان لبذور فول الصويا تأثير للحد من الاصابة لكثير من امراض السرطان المختلفة مثل سرطان البروستات والثدي [9] كما ان بروتين الصويا يسبب انخفاضا ملحوظا في الكوليستيرول الكلي و كوليستيرول البروتين الدهني واطئ الكثافة و الكليسيريدات الثلاثية الامر الذي يساعد في الوقاية من امراض جهاز الدوران (القلب والاوعية الدموية) [10] ،

يعرف داء السكر على انه مرض مزمن يتسم باضطراب ايض السكريات على الاغلب بسبب نقص مستوى الانسولين مما يؤدي الى فرط الكلوكوز بالدم Hyperglycemia [١١] ويؤثر نقص الانسولين فيما اذا كان نسبيا اومطلقا في ايض السكريات والبروتينات والدهون والماء والالكتروليتات [١٢] .

داء السكر يمثل اضطرابات ايضية لاتشمل مستوى السكر في الدم فحسب وانما يشمل ايضا اضطرابات ايض الدهون والبروتينات ويمثل مستوى السكر الطبيعي في الدم التوازن الهرموني بين الانسولين والهرمونات المضادة له [13] تبقي هذه العملية المستوى الطبيعي للكلوكوز بين ٦٠-١٢٠ ملغم/١٠٠سم٣، فعندما يحصل نقص بالانسولين أو خلل في تركيبه يؤدي الى زيادة مستوى كلوكوز الدم عن ١٨٠ملغم/١٠٠سم٣ بالتالي سيكون هناك بول سكري ، وان التركيز العالي للكلوكوز في الادرار يسبب غزارة في البول التناضحي وبالتالي زيادة التبول الحاوي على الكلوكوز ، إذ ان الزيادة في التبول تعزى الى زيادة السكر في الدم الذي يسبب العطش [14] كما قد يسبب طول فترة احتواء البول على الكلوكوز فقدان شديد للالكتروليتات (Ca++ , K+ , Na+) ويؤدي الى هبوط في الدورة الدموية [15] .

الهدف من البحث Aim of the study

١. عزل الاجزاء البروتينية من المستخلص المائي الخام البارد والمغلي لبذور نبات فول الصويا باستخدام بعض التقنيات الحياتية المختلفة وايجاد الاوزان الجزيئية التقريبية للمركبات البروتينية المفصولة .

٢. دراسة تأثير المواد المعزولة اعلاه وفعاليتها في عدد من المتغيرات الكيموحيوية (الكلوكوز ، الكوليستيرول الكلي ، ثلاثي كليسرايد ، كوليستيرول البروتين الدهني عالي الكثافة) في مصل دم ذكور الفئران السليمة و المصابة بداء السكر المستحدث بالالوكسان ومقارنة تأثيرها بتأثير الانسولين .

المواد وطرائق العمل

النبات المستعمل

نبات فول الصويا Soybean

جمع النبات :

تم الحصول على البذور الجافة لنبات فول الصويا من الأسواق المحلية في مدينة الموصل وتم وضعها في اكياس بلاستيكية ، وصنفت في كلية التربية / قسم علوم الحياة .

الحيوانات المستخدمة

استخدمت في هذه الدراسة ذكور الفئران البيضاء السليمة male Albino mice المجهزة من كليتي (الطب البيطري،التربية/جامعة الموصل) وتراوحت أوزانها بين (25-35) غم وضعت في اقفاص خاصة معدة ومجهزة لهذا الغرض ، وزودت بالماء والعلف الحيواني الخاص بها باستمرار واخضعت جميع الحيوانات للظروف ذاتها من ضوء طبيعي ودرجة حرارة (25)°م.

طرائق العمل Methods

تحضير المستخلصات

تحضير المستخلص المائي البارد والمغلي لبذور نبات فول الصويا :

وزن (٩٠) غرام من بذور نبات فول الصويا، وطحنت باستخدام آلة الثرم (Blender) لمدة ١٠ دقائق ومزجت مع الماء المقطر بنسبة (1 وزن:7 حجم) . بعدها جمدت عند (٢٠-)°م ثم تركت تذوب عند درجة حرارة الغرفة، كررت العملية اربع مرات وبعدها استخدم جهازالامواج فوق الصوتية (Ultrasonic) لاتمام تكسيرالجدارالخلوي وذلك بتعريض النموذج لمدة (١٥) دقيقة للموجات فوق الصوتية، ثم ترك لمدة دقيقة وكررت العملية وقد اجريت العملية بدرجة حرارة (٤ مؤية). بعد ذلك حرك الخليط لمدة ساعتين تحت تأثير المحرك المغناطيسي الكهربائي مع مراعاة التبريد في حمام ثلجي . ورشح من خلال عدة طبقات من الشاش وفصل المستخلص بجهاز الطرد المركزي المبرد لمدة (15) دقيقة بسرعة (33520xg) للتخلص من المواد غير الذائبة وللحصول على راشح رائق [١٦] وقيس حجم الراشح (٣٧٥) سم٣ ، وقدرت كمية البروتين فيه حسب طريقة لاوري المحورة [١٧] وقلص حجم المستخلص المستحصل عليه تقريبا إلى الثلث

بواسطة جهاز التجفيف بالتبريد (التجفيد)(Lyophilizer) ،عندها يكون المستخلص معدا لاجراء العملية التالية وهي الترسيب بالاسيتون. كررت العملية نفسها لتحضير المستخلص المائي المغلي لبذور نبات فول الصويا سوى انه تم غلي الخليط بعد عملية التكسير للجدار الخلوي .

تحضير المستخلص المائي الخام البارد والمغلي لبذور نبات فول الصويا :

وزن(90) غرام من بذور نبات فول الصويا وأجريت عليها الخطوات نفسها في الفقرة اعلاه ثم جفف المستخلص الخام البارد الناتج بواسطة جهاز التجفيف بالتبريد إلى ان اصبح بشكل مسحوق ، وحفظ عند درجة حرارة (20–)°م في انبوب محكم الغطاء لحين اجراء العملية التالية عليه وهي الحقن في الحيوانات . تم اجراء نفس العملية لتحضير المستخلص المائي الخام المغلي .

عزل البروتينات وترسيبها بواسطة المذيب العضوي

أضيف الأسيتون البارد إلى كل من المستخلصات المحضرة بنسبة (3:2) حجم: حجم على التوالي ببطء مع التحريك المستمر عند درجة حرارة 4 °م ثم تركت إلى اليوم التالي لكي يتم الترسيب بصورة تامة ، واجريت بعد ذلك عملية الفصل بجهاز الطرد المركزي فائق السرعة المبرد وبسرعة (33520 xg) لمدة ٢٠ دقيقة . بعد ذلك وضع الراسب البروتيني في جهاز التجفيد لعدة ساعات للحصول على المادة بشكل مسحوق ، وحفظ في انبوبة محكمة الغطاء في المجمدة لحين اجراء عملية فصل مكوناته بكروموتوغرافيا الترشيح الهلامي وحقنه في الحيوانات بوصفه المادة المترسبة للبروتين الخام .

تجزئة المكونات البروتينية بتقنية كروماتوكرافية الترشيح الهلامي

حضر محلول مركز من المادة البروتينية المعزولة من المستخلص المائي البارد والمغلي لبذور نبات فول الصويا الذي تم تقدير كمية البروتين فيه بطريقة لاوري المحورة قبل امراره على العمود ، ثم مرر حجم 2 سم٣ منه على عمود الفصل ذي الابعاد (١٢٠ x ١,٨سم) الحاوي على الهلام من نوعSephadex G-50 وتبع ذلك اضافة 2 سم٣ من الماء المقطر لدفع النموذج داخل العمود ، بعدها تم استرداد المادة البروتينية بمعدل جريان (49.8 سم٣ /ساعة) و (46.2 سم٣ /ساعة) للراسب البروتيني البارد والمغلي على التوالي وبمعدل 10 دقائق لكل جزء من جامع الاجزاء الاوتوماتيكي الذي يعمل على نظام الدقائق وتم متابعة المحتوى البروتيني من خلال قراءة شدة الامتصاصية عند الطول الموجي(280) نانوميتر وباستخدام جهاز مطياف الاشعة فوق البنفسجية والمرئية، ثم جمعت كل حزمة (ناتجة عن فصل المادة البروتينية)على حدة حسب الرسم البياني للامتصاصية مقابل حجم الروغان ، وقدرت كمية البروتين في كل حزمة بطريقة العالم لاوري المحورة ، اعيدت عملية الفصل لهذه المادة البروتينية عدة مرات لجمع كمية كافية من الاجزاء البروتينية المفصولة بهذه التقنية ، وتم الحصول على المركبات البروتينية الجافة بشكل مسحوق وذلك بجمع هذه الحزم المتشابهة وتجفيفها بجهاز التجفيد وحفظت هذه المركبات في انابيب محكمة الغطاء عند درجة حرارة (20–)°م لحين الاستعمال.

تعيين الوزن الجزيئي التقريبي للحزم البروتينية المفصولة بتقنية الترشيح الهلامي

استخدم نفس عمود الفصل لغرض تعيين الوزن الجزيئي التقريبي للمركبات البروتينية المفصولة لبذور نبات فول الصويا واعتمادا على حجم العمود الذي يساوي (280) سم٣ الذي يكون جاهزا لإمرار النماذج وهي :

أ/ المواد القياسية :

1. الدكستران الازرق بتركيز ١ملغم/سم٣ وزنه الجزيئي٢٠٠٠٠٠٠ دالتون لتعيين الحجم الخالي الفارغ من الحبيبات Vo=Void volume .
2. البومين مصل البقربتركيز ١ملغم/ سم٣ وزنه الجزيئي ٦٧٠٠٠ دالتون.
3. الفا–اميليز بتركيز ١ملغم/سم٣ وزنه الجزيئي 58000 دالتون .
4. البومين البيض بتركيز ١ملغم/ سم٣ وزنه الجزيئي ٤٥٠٠٠ دالتون.
5. انزيم الببسين بتركيز ١ملغم/ سم٣ وزنه الجزيئي ٣٦٠٠٠ دالتون .
6. انزيم التربسين بتركيز ١ملغم/ سم٣ وزنه الجزيئي ٢٣٠٠٠ دالتون .
7. هرمون الانسولين ١٠٠ وحدة دولية/سم٣ وزنه الجزيئي ٥٧٣٤ دالتون.
8. الحامض الامينى التربتوفان بتركيز ١ملغم/ سم٣ وزنه الجزيئي ٢٠٤ دالتون لتعيين الحجم الداخلي للعمود Vi =Internal volume.

ب/ المركبات البروتينية المفصولة والمجهولة الوزن الجزيئي

تم امرار المواد القياسية والمركبات البروتينية كلا على حدة بحجم (2) سم٣ ، وحسب حجم الروغان للمركبات البروتينية والمواد القياسية بدقة من خلال متابعة المحتوى البروتيني المشار بعدها رسم لوغاريتم الوزن الجزيئي مقابل حجم الروغان .

النظام المستخدم في تقسيم الحيوانات

وزنت الفئران قبل يوم واحد من حقنها بالمستخلصات والمواد المستخدمة في الدراسة الحالية ووزعت عشوائيا على (6) مجموعات سليمة و (6) مجموعات مصابة بداء السكر المستحدث بالالوكسان تضم كل مجموعة (4) فئران ، فضلا عن ان هناك مجموعة لكل من الفئران السليمة والمصابة بداء السكر عدت مجموعة سيطرة (Control) حقنت بـ(0.2) سم٣من المحلول الملحي الفسلجي (Normal saline) فقط [١٨] ومجموعة اخرى لكل من الفئران السليمة

والمصابة بداء السكر حقنت بالانسولين (10) وحدة دولية /كغم من وزن الجسم .

تحديد الجرعة المؤثرة

استخدمت فئران سليمة تقاربت اوزانها (25-35)غم قسمت إلى مجاميع تضم كل مجموعة (4) فئران ، وعوملت كما ياتي :

تحديد الجرعة المؤثرة للمستخلص المائي الخام البارد والمغلي لبذور نبات فول الصويا

١. المجموعة الاولى حقنت في التجويف البريتوني (Intraperitoneally) بـ(0.2) سم٣ من المحلول الملحي الفسلجي وعدت مجموعة سيطرة .

٢. المجاميع من (2-6) حقنت في التجويف البريتوني بالجرع (١٠٠ ، ٢٠٠ ، ٣٠٠ ، ٤٠٠ ، ٥٠٠ ، ٧٥٠ ملغم/كغم) من وزن الجسم على التوالي من المستخلص المائي الخام البارد والمغلي لبذور نبات فول الصويا. وبعد ساعتين من حقن الحيوانات بالمستخلصات المذكورة آنفاً في التجويف البريتوني قيس مستوى الكلوكوز في الدم ، ثم اختيرت الجرعة الاكثر تاثيراً في خفض مستوى كلوكوز الدم وعدت جرعة مؤثرة .

الجرع المستخدمة لحقن الحيوانات

حقنت الفئران في التجويف البريتوني بجرع مقدارها(٣,٦ ، ١,٤٨ ، ٢,٠٣ ، ١,٧٤ ملغم/كغم) من وزن الجسم بالمركبات البروتينية المفصولة بتقنية الترشيح الهلامي في حين حقنت مجموعات اخرى بـ(مواد الرواسب البروتينية الخام) الباردة والمغلية وبجرع مقدارها (١٢,٥١ ، ١٧,٤٥ ملغم/كغم) من وزن الجسم على التوالي.

استحداث داء السكر

استخدمت ذكور الفئران البيض(male Albino mice) التي تقاربت اوزانها بين (25-35) غم ، قسمت عشوائيا على (٨) مجموعة تضم كل مجموعة (4) فئران ، فضلا عن مجموعة سيطرة سليمة ، حقنت المجموعات (8) بمادة الالوكسان في التجويف البريتوني (Intraperitoneally) [6] بعد تجويعها لمدة (24) ساعة لغرض استحداث داء السكر فيها [19] . كانت الجرعة المعطاة من الالوكسان بمقدار(180 ملغم/كغم) من وزن الجسم والمحضرة آنيا [19] باذابته في (0.2) سم٣ من المحلول الملحي الفسلجي واعطيت محلول الكلوكوز بتركيز(5%) كماء للشرب بعد الحقن بساعتين ولمدة يوم واحد لتجنب هلاكها من جراء النقص الحاد في السكر ، ثم سمح للفئران بتناول كفايتها من العلف والماء ، وتم التاكد من حدوث داء السكر بفحص الادرار يوميا ولمدة اسبوع بواسطة الشريط الكاشف (Test – Tape (R) , Eli – Lilly and Co., USA) .

حقن الحيوانات المصابة بداء السكر التجريبي

بعد التاكد من حدوث داء السكر في الحيوانات وزعت الفئران المصابة بداء السكر عشوائيا إلى(6) مجاميع تضم كل مجموعة (4) فئران. وزنت الفئران ، ثم حقنت في التجويف البريتوني يوميا ولمدة اسبوع بكل من (مواد الرواسب البروتينية الخام والمركبات البروتينية المفصولة بتقنية الترشيح الهلامي العائدة لهما) الباردة والمغلية وبجرع مقدارها(١٢,٥١ ، ١٧,٤٥، ٣,٦ ، ١,٤٨ ، ٢,٠٣ ، ١,٧٤ ملغم/كغم) من وزن الجسم على التوالي . فضلا عن (3) مجاميع تضم كل مجموعة (4) فئران وكما ياتي :

أ. مجموعة سيطرة سليمة حقنت في التجويف البريتوني بـ(0.2) سم٣ من المحلول الملحي الفسلجي (Normal saline) ولمدة اسبوع .

ب. مجموعة مصابة بداء السكر المستحدث بالالوكسان متروكة من غير معاملة .

جـ. مجموعة مصابة بداء السكر المستحدث بالالوكسان حقنت بالانسولين تحت الجلد (10) وحدة /كغم ولمدة اسبوع .

خدرت الحيوانات بالايثر وتم سحب الدم من جيب محجر العين وتم فصل المصل لاجراء التحاليل الكيميائية الحياتية .

التحاليل الكيميائية الحياتية

تقدير مستوى الكلوكوز في مصل الدم

قدرمستوى الكلوكوز في مصل الدم باستخدام عدة التحليل Kit من نوع (Biolabo , France) وهي طريقة انزيمية [20].

تقدير مستوى الكوليستيرول الكلي في مصل الدم

قدر مستوى الكوليستيرول في مصل الدم باستخدام عدة التحليل Kit من نوع (Biolabo , France) ، وهي طريقة انزيمية [20].

تقدير مستوى الكليسيريدات الثلاثية في مصل الدم

قيس مستوى الكليسيريدات الثلاثية في مصل الدم باستخدام عدة التحليل (Kit) نوع (Biolabo , France) وهي طريقة انزيمية [20].

تقدير مستوى كوليستيرول البروتين الدهني عالي الكثافة في مصل الدم

قيس مستوى كوليستيرول البروتين الدهني عالي الكثافة في مصل الدم باستخدام عدة التحليل (Kit) نوع (Biolabo , France) وهي طريقة انزيمية [21] .

التحليل الاحصائي :

حللت نتائج مستويات الكلوكوز والكوليستيرول الكلي والكليسيريدات الثلاثية وكوليستيرول البروتين الدهني عالي الكثافة احصائيا وذلك باستخدام تحليل التباين الاحادي One way analysis of variance كما تم تحديد الاختلافات الخاصة بين المجاميع باستخدام اختبار دنكن Duncan [22] وكان مستوى التمييز الاحصائي المقبول عند ٥% (P<0.05) .

النتائج والمناقشة Results and discussion

استخلصت المواد البروتينية الموجودة داخل خلايا بذور نبات فول الصويا باستخدام التجميد والتذويب (Freezing and Thawing) لعدة مرات ، إن إضافة الماء إلى اجزاء النبات تؤدي الى امتصاصه من قبل الخلايا ، وبعد تجميده يتمدد ويعمل هذا على تكسير جدران الخلايا ومن ثم خروج المادة الخلوية منها الى الماء ، كما تم استخدام

جهاز الموجات فوق الصوتية للحصول على معظم المكونات الموجودة داخل الخلايا النباتية اثناء تحضير المستخلصات .

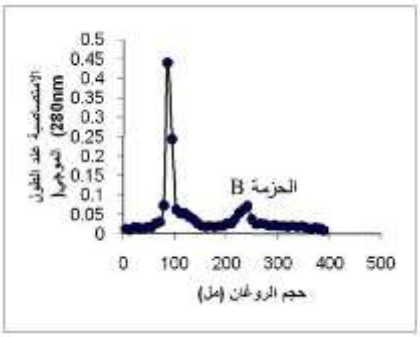
يوضح الجدول (١) كمية البروتينات المقدرة بطريقة العالم لاوري المحورة ونسبها المئوية وكفاءة ترسيبها بالاسيتون في المستخلص المائي الخام البارد والمغلي لبذور نبات فول الصويا .

الجدول(١) كمية البروتين الكلي والنسبة المئوية وكفاءة الترسيب بالاسيتون في المستخلص المائي الخام البارد والمغلي لبذور نبات فول الصويا .

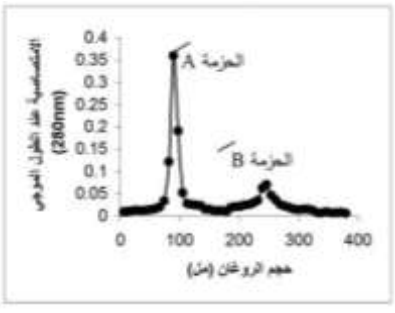
نوع المستخلص	تركيز البروتين (ملغم/سم^3)	الحجم الكلي للمستخلص (سم^3)	كمية البروتين الكلي في المستخلص (ملغم)	وزن النبات (غم)	نسبة البروتين في النبات (%)	وزن البروتين المحصل عليه عملياً (ملغم)	كفاءة الترسيب بالأسيتون(%)
المستخلص المائي الخام البارد لبذور نبات فول الصويا	٧,٥٠٩	٣٧٥	٢٨١٥,٩٠٩	٩٠	٣,١٢	٢٥٦١	٩٠,٩٤
المستخلص المائي الخام المغلي لبذور نبات فول الصويا	٩	٣٤٩	٣١٤١	٩٠	٣,٤٩	٢٨١١	٨٩,٤٩

فصل المواد البروتينية بتقنية كروماتوغرافيا الترشيح الهلامي

اعطى روغان مادة الراسب البروتينية المعزولة من المستخلص المائي البارد والمغلي لبذور نبات فول الصويا قمتين واضحتين عند امرار محلولها في عمود الفصل والمبينة في الشكلين (١) و (٢) .



الشكل(١) يبين المظهر الجانبي لروغان الراسب البروتيني البارد



الشكل(٢) يبين المظهر الجانبي لروغان الراسب البروتيني المغلي

الشكل (١) و (٢) : نمط لروغان الراسب البروتيني المعزول من المستخلص المائي الخام البارد والمغلي لبذور نبات فول الصويا بتقنية كروماتوغرافيا الترشيح الهلامي باستخدام عمود الفصل ذي الابعاد(١,٨x١٢٠) سم والحاوي على الهلام من نوع Sephadex G-50 ، الاسهم A و B تمثل حجم الروغان للقمم الاولى (٨٦,١) سم٣ والثانية (٢٤١,٥) سم٣ على التوالي للجزء البارد، حجم كل جزء (٨,٣) مل وبمعدل جريان (٤٩,٨ سم٣ /ساعة) للحزم البروتينية المفصولة ، والاسهم A و B تمثل حجم الروغان للقمم الاولى (٨٩,٤) سم^3 والثانية (٢٤٦,٤) سم^3 على التوالي للحزم البروتينية المفصولة بالنسبة للجزء المغلي ، حجم كل جزء (٧,٧) مل وبمعدل جريان (٤٦,٢ سم^3 /ساعة) .

الأوزان الجزيئية التقريبية للمركبات البروتينية المفصولة

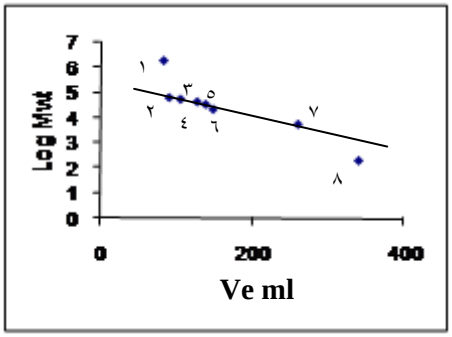
يوضح الجدول (٢) حجم الروغان للمواد المعلومة الوزن الجزيئي التي مررت على عمود الفصل ذي الابعاد (120x١,٨) سم والحاوي على الهلام Sephadex G-50 .

الجدول(٢) حجم الروغان للمواد المعلومة الوزن الجزيئي

	المادة		الوزن الجزيئي(دالتون)	حجم الروغان(سم^3)
١	الدكستران الازرق	Blue dextran	2000000	٨٤
٢	البومين مصل البقر	Bovine serum albumin (BSA)	٦٧٠٠٠	٩٠
٣	الفا–امايليز	α-amylase	٥٨٠٠٠	١٠٥
٤	البومين البيض	Eggs albumin	٤٥٠٠٠	١٢٧
٥	ببسين	Pepsin	٣٦٠٠٠	١٣٨

٦	تربسين Trypsin	٢٣٠٠٠	١٤٨
٧	هرمون الانسولين Insulin Hormone	٥٧٥٠	٢٦٠
٨	التربتوفان Tryptophan	٢٠٤	٣٣٣

وعند رسم حجم الروغان (Elution volume) لكل مادة مقابل الوزن الجزيئي تم الحصول على المنحني القياسي لتقدير الوزن الجزيئي كما هو مبين في الشكل (٣)



الشكل(٣) المنحني القياسي لتقدير الوزن الجزيئي التقريبي للبروتينات

ومن خلال اسقاط حجوم الروغان التي تم الحصول عليها للمركبات البروتينية المفصولة بتقنية الترشيح الهلامي على المنحني القياسي الشكل(٣). تم تقدير الاوزان الجزيئية كما مبين في الجدول (٣)

الجدول(٣): الاوزان الجزيئية التقريبية للحزم البروتينية المفصولة بتقنية الترشيح الهلامي

المادة	حجم الروغان(سم^3)	الوزن الجزيئي التقريبي(دالتون)
الحزمة البروتينية A المفصول من الراسب البروتيني للمستخلص المائي الخام البارد لبذور نبات فول الصويا	٨٦,١	٧٣٤٠٠
الحزمة البروتينية B المفصول من الراسب البروتيني للمستخلص المائي الخام البارد لبذور نبات فول الصويا	٢٤١,٥	٧٤٠٠
الحزمة البروتينية A المفصول من الراسب البروتيني للمستخلص المائي الخام المغلي لبذور نبات فول الصويا	٨٩,٤	٦٩٩٠٠
الحزمة البروتينية B المفصول من الراسب البروتيني للمستخلص المائي الخام المغلي لبذور نبات فول الصويا	٢٤٦,٤	٦٩٠٠

تحديد الجرعة المؤثرة في خفض مستوى الكلوكوز في الدم

يوضح الجدولان (٤ و٥) تحديد الجرعة الاكثر تأثيرا في خفض مستوى الكلوكوز في ذكور الفئران البيض السليمة لكل من المستخلص المائي الخام البارد والمغلي لبذور نبات فول الصويا وقد تبين من خلال هذين الجدولين ان قيمة الجرعة المؤثرة هي (٤٠٠) ملغم/غم من وزن الجسم للمستخلص المائي الخام البارد و(٥٠٠) ملغم/كغم من وزن الجسم للمستخلص المائي الخام المغلي لبذور نبات فول الصويا.

الجدول(٤): تحديد الجرعة المؤثرة للمستخلص المائي الخام البارد لبذور نبات فول الصويا في خفض مستوى الكلوكوز في مصل دم ذكورالفئران

تركيز الكلوكوز ملي مول/لتر	السيطرة	جرعة المستخلص المائي الخام البارد ملغم/كغم وزن الجسم					
		١٠٠	٢٠٠	٣٠٠	٤٠٠	٥٠٠	٧٥٠

	٠,٦٤±٥,٥٢	٠,٢٧±٣,٥٥	١,٢٩±٤,٤	٠,٦±٣,٤	٠,٢٥±*٢,٩٨	٠,٤٣±٤,٨٣	٠,٦٦±٥,١٧

تشير قيم الكلوكوز الى المعدل± الانحراف القياسي .

* تشير الى الجرعة الموثرة

الجدول(٥) تحديد الجرعة المؤثرة للمستخلص المائي الخام المغلي لبذور نبات فول الصويا في خفض مستوى الكلوكوز في مصل دم ذكورالفئران

تركيز الكلوكوز ملي مول/لتر	السيطرة	جرعة المستخلص المائي الخام المغلي ملغم/كغم وزن الجسم				
		١٠٠	٢٠٠	٣٠٠	٤٠٠	٥٠٠	٧٥٠
	٠,٦٤±٥,٥٢	٠,٦٢±٥,١٧	٠,٢١±٤,٥٢	٠,٤٣±٢,٨٩	٠,٣٥±٣,٥٣	٠,٣٦±*٢,٦٩	١,٣٧±٤,١

تشير قيم الكلوكوز الى المعدل± الانحراف القياسي .

* تشير الى الجرعة الموثرة

تم تحديد جرع الرواسب البروتينة الباردة والمغلية والحزم المفصولة منها من خلال حسابات رياضية بالاعتماد على الجرعة المؤثرة لكلا المستخلصين (البارد والمغلي) الموضحة في الجدول ٥،٤ .

تأثير الرواسب البروتينية والحزم البروتينية المفصولة من المستخلص المائي البارد والمغلي لبذور نبات فول الصويا في بعض المتغيرات الكيموحيوية في مصل ذكور الفئران السليمة والمصابة بداء السكر.

جدول(٦) تأثير الرواسب البروتينية والحزم البروتينية المفصولة منها لبذور نبات فول الصويا في بعض المتغيرات الكيموحيوية في مصل ذكور الفئران السليمة

المعاملات	الكلوكوز ملي مول/لتر	الكوليستيرول الكلي ملي مول/لتر	الكليسيريدات الثلاثية ملي مول/لتر	HDL-C ملي مول/لتر
فئران(سيطرة سليمةC) معاملة بالمحلول الملحي الفسلجي	٠,٢٥±٦,٧ h	±٣,١١ ٠,١٢ ef	٠,٠٣±٠,٧٨ f	٠,٠٥±٠,٩٨ a
فئران سليمة + الانسولين (١٠ وحدات دولية/كغم)	٠,٩٢±٢,٠١ a	٠,٠٣±٣,٢٢ f	٠,٠٨±٠,٤٧ abc	٠,٠٤±١,٢٧ bcde
فئران سليمة +الراسب البروتيني للمستخلص المائي البارد	٠,١٥±٢,٩٣ b	٠,١٥±٢,٨١ def	٠,٠٨±٠,٤٣٦ ab	٠,٢±١,٣ de
فئران سليمة + الراسب البروتيني للمستخلص المائي المغلي	٠,٠٨±٦,٤٣ gh	٠,٠٦±٢,٨٢ def	٠,٠٤±٠,٥٣ bcd	٠,١±١,٢٨ cde
فئران سليمة +الحزمة البروتينية A المفصول من الراسب للمستخلص المائي البارد	٠,٨٣±٤,٤٣ cde	٠,٣٣±٢,١٥ ab	٠,٠٨±٠,٦٢ de	٠,٢١±١,٠٤ abc
فئران سليمة +الحزمة البروتينية B المفصول من الراسب البروتيني للمستخلص المائي البارد	٠,٣±٥,٦٣ fg	٠,٢٤±٢,٦١ cd	٠,٠٤±٠,٦٨ ef	٠,١±١,٣٤ e
فئران سليمة +الحزمة البروتينية $\overline{A}$ المفصول من الراسب البروتيني للمستخلص المائي المغلي	٠,٣٩±٥,٠٣ ef	٠,٢±١,٩٢ a	٠,٠٨±٠,٥٦ cde	٠,٢٢±١,٠٢ ab
فئران سليمة +الحزمة البروتينية $\overline{B}$ المفصول من الراسب البروتيني للمستخلص المائي المغلي	٠,٧٤±٤,٧٧ def	٠,٦٢±٢,٤٢ bcd	٠,٠٤±٠,٦٥ de	٠,١٢±١,٠٥ abcd

الحروف المختلفة عموديا تعني وجود فرق معنوي عند مستوى احتمالية (٠,٠٥)

تشير القيم اعلاه الى المعدل± الانحراف القياسي

جدول(٧) يبين تأثير الرواسب البروتينية والحزم البروتينية المفصولة منها لبذور نبات فول الصويا في بعض المتغيرات الكيموحيوية في مصل ذكور الفئران المصابة بداء السكر المستحدث بالالوكسان

المعاملات	الكلوكوز ملي مول/لتر	الكوليستيرول الكلي ملي مول/لتر	الكليسيريدات الثلاثية ملي مول/لتر	HDL-C ملي مول/لتر
فئران(سيطرة سليمةC) معاملة بالمحلول الملحي الفسلجي	٠,٢٥±٦,٧ c	±٣,١٢ ٠,١٢ ab	٠,٠٤±٠,٧٨ ab	٠,٥±٠,٩٨ a
فئران (سيطرة مصابة بداء السكر C^+) من دون معاملة	١,٠٣±١٤,٣ g	٠,٠٤±٧,٥٦ f	٠,٣١±١,٧٦ g	٠,٠٢±٠,٨٩ a
فئران مصابة بداء السكر+الانسولين (١٠ وحدات دولية /كغم)	٠,٤١±٣,١٦ a	٠,٠٧±٣,٦١ abc	٠,٠٣٩±٠,٦٧ ab	٠,٠٩±١,٦٣ bcde
فئران مصابة بداء السكر+الراسب البروتيني للمستخلص المائي البارد	٠,٢٢±٥,٣٩ b	٠,٠٩±٦,٧٤ f	٠,٠٧±٠,٦٧ ab	٠,١٤±٢,٧٨ f
فئران مصابة بداء السكر+ الراسب البروتيني للمستخلص المائي المغلي	٠,٨٦±١١,٧٢ f	٠,٧٧±٤,١٣ bcd	٠,٢٧±١,٢٥ cde	٠٤.±١,٨٨ de
فئران مصابة بداء السكر+الحزمة البروتينية A المفصول من الراسب للمستخلص المائي البارد	٠,٢٧±5.65 b	٠,٦٩±٢,٩١ a	٠,١١±٠,٩١ abc	٠,١٩±١,٢٧ b
فئران مصابة بداء السكر+الحزمة البروتينية B المفصول من الراسب البروتيني للمستخلص المائي البارد	٠,٩٩±١٤,٧٨ g	٠,٥٥±٤,١٧ cd	٠,٤٦±١,٤٢ efg	٠,٠٢±١,٦٩ bcde
فئران مصابة بداء السكر+الحزمة البروتينية $\overline{\mathbf{A}}$ المفصول من الراسب البروتيني للمستخلص المائي المغلي	٠,٥٢±٥,٤٢ b	٠,٣٣±٣,٢٥ abc	٠,١٤±١,٦٨ fg	٠,٤٨±١,٤٦ bcd
فئران مصابة بداء السكر+الحزمة البروتينية $\overline{\mathbf{B}}$ المفصول من الراسب البروتيني للمستخلص المائي المغلي	٠,٧١±١٤,٩٤ g	٠,١٢±٣,٠٧ a	٠,٠٥±١,٥٥ efg	٠,٤٤±١,٤١ bc

الحروف المختلفة عموديا تعني وجود فرق معنوي عند مستوى احتمالية (٠,٠٥)
تشير القيم اعلاه الى المعدل± الانحراف القياسي

*** الكلوكوز :**

أدت المعاملة بالراسب البروتيني للمستخلص المائي البارد والحزم البروتينية A, B المفصولة من الرواسب البروتينية للمستخلصات المائية الباردة والمغلية بالتجويف البريتوني انخفاضاً معنوياً في مستوى الكلوكوز بينما أدت المعاملة بالراسب البروتيني المغلي انخفاضاً غيرمعنوي في مستوى الكلوكوز في الفئران السليمة وهذا لا يتفق مع دراسة عبدالمانع [16] إذ ادت المعاملة بالراسب البروتيني للمستخلص المائي البارد والحزمة البروتينية B المغلية انخفاضاً غيرمعنوي في مستوى الكلوكوز. واحدثت المعاملة بالراسب البروتيني للمستخلص المائي البارد والمغلي والحزمة البروتينية A الباردة والمغلية انخفاضاً معنوياً في مستوى الكلوكوز للفئران المصابة بداء السكر وهذا يتفق مع نتائج السعدون [٢٣]، يمكن ان يعزى هذا الانخفاض إلى تثبيط فعالية أنزيم كلوكوز–٦– فوسفاتيز [24] او ان هذه المواد البروتينية ربما تعمل على زيادة تكوين الكلايكوجين من الكلوكوز الزائد في الدم .

*** الكوليستيرول الكلي :**

احدثت المعاملة بالحزم البروتينية A , B الباردة والمغلية بالتجويف البريتوني في الفئران السليمة انخفاضاً معنوياً في مستوى الكوليستيرول الكلي ، في حين لم يؤد الراسب البروتيني للمستخلص المائي البارد والمغلي احداث تغيير معنوي في مستوى الكوليستيرول الكلي عند المقارنة مع مجموعة السيطرة السليمة . وقد ادت المعاملة بالراسب البروتيني للمستخلص المائي المغلي والحزم البروتينية A , B الباردة والمغلية في الفئران المصابة بداء السكر المستحدث بالالوكسان الى انخفاض معنوي في مستوى الكوليستيرول الكلي عند المقارنة مع مجموعة السيطرة +C وهذا يتفق مع احمد وجماعته[25] . قد يعزى الانخفاض في مستوى الكوليستيرول الى تثبيط الانزيم المنظم

والمسؤول عن بناء الكولسيتيرول ß-Hydroxy-ß-methyl glutaryl CoA reductase [26].

*** الكليسيريدات الثلاثية :**

أدت المعاملة بالراسب البروتيني للمستخلص المائي البارد والمغلي انخفاضاً معنوياً في مستوى الكليسيريدات الثلاثية في الفئران السليمة و المصابة بداء السكر المستحدث بالالوكسان عند المقارنة مع مجموعة السيطرة العائدة لهم . واحدثتر المعاملة بالحزمتين البروتينيتين **B, A** المغليتين والحزمة A الباردة انخفاضاً معنوياً في مستوى الكليسيريدات الثلاثية في الفئران السليمة وهذا يتفق مع نتائج ال فليح [٢٧] بينما لم تؤد الحزمة البروتينية B الباردة أي فرق معنوي في مستوى نفس المتغير . ، ان التأثير الخافض لمستوى الكليسيريدات الثلاثية للرواسب والمركبات المذكورة سابقاً قد يعزى الى زيادة نشاط فعالية انزيم لايبوبروتين لايبيز (Lipoprotein lipase) الذي يقوم بإزالة الكليسيريدات الثلاثية بتحويلها الى احماض دهنية وكليسرول والذي ينشط بوجود الانسولين [28] .

*** كوليستيرول البروتين الدهني عالي الكثافة (HDL-C) :**

أدت المعاملة بالراسب البروتيني للمستخلص المائي البارد والمغلي في التجويف البريتوني لذكور الفئران السليمة والمصابة بداء السكر المستحدث بالالوكسان والمركبات البروتينية المفصولة في الفئران المصابة ارتفاعا معنويا في مستوى كوليستيرول البروتين الدهني عالي الكثافة عند المقارنة مع مجاميع السيطرة C+,C العائدة لها على التوالي، وهذا لا يتفق مع نتائج ال فليح [27] إذ لم تؤد المعاملة بالمركبات البروتينية الباردة والمغلية المفصولة من المستخلص المائي للحاء نبات الدارسين الى أي تغيير معنوي في مستوى كوليستيرول البروتين الدهني عالي الكثافة .وقد يعزى السبب في قدرة هذه الرواسب والحزم البروتينية المفصولة منها على تنشيط انزيم لايبوبروتين لايبيز الذي يجهز جزيئات البروتين الدهني عالي الكثافة بالدهون الفوسفاتية و apoA-I اثناء سحب الكليسيريدات الثلاثية من الكايلومايكرونات والبروتين الدهني واطئ الكثافة جدا (VLDL) [30] .

المصادر

١. الراوي ، علي. " النباتات الطبية في العراق " . مؤتمر النباتات الطبية في الوطن العربي وافاق تطويرها، الامانة العامة، بغداد، (١٩٨٦) ص.٩ .

٢. الكاتب ، يوسف منصور." تصنيف النباتات البذرية " . الطبعة الثانية ، مديرية دار الكتب للطباعة والنشر ، جامعة الموصل ،(٢٠٠٠) ص. ٥٠٦،٥٠٥ .

3. Day C. " Hypoglycemic plant compound ". Pract. Diab. Internat., (1995)12(16): 269-271 .

٤. العبيدي ، صالح عويد. " دراسة تاثير خفض سكرالدم للمركبات البروتينية المعزولة من المستخلص المائي لنبات الشيح ". رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة الموصل(١٩٩٦) .

٥. جامعة الدول العربية ، المنظمة العربية للتنمية الزراعية. " النباتات الطبية والعطرية والسامة في الوطن العربي" . دار مصر للطباعة ، الخرطوم ، السودان ، (١٩٨٨) ص. ١٨-١٦ .

6. Kako M., Miura T., Usami M., Kato A. and Kodowaki S. " Hypoglycemic effect of the rhizomes of *Ophiopoganis tuber* in normal and diabetic mice ". Biol . Parm . Bull ., (1995) 18(5) : 785-787 .

٧. التميمي ،سعدي ،فاضل عبدالرضا حسن. " مقتطفات من بحوث المحاصيل الحقلية التي اجريت في العراق وفي الخارج ". وزارة الزراعة والاصلاح الزراعي/ مديرية التخطيط والمتابعة العامة ،مكتب المستشارين/نشرة دورية . ، (١٩٧٧) العدد١ . ص.٩٣.8

Organisation for Economic Co-operation and Development "Consensus document on the biology of glycine max (L.) merr (soybean) ". OECD., (2000) 15 : 1-22 .

9. Lee J., Koo N. and Min D.B. " Reactive oxygen species , Aging and antioxidative nutraceuticals " .Comprehensive reviews in food science and food safety ., (2004) 3 : 21-33 .

10. Novick, J. " Beans, Beans... ". Health Science is the publication of the National Health Association., http://www.healthscience.org(2002) .

11. Siddiqui R. M., Taha A., Moorthy K., Hussain E.and Baquer N. Z." Amelioration of altered antioxidants status and membrane linked functions by vanadium and trigonella in alloxan diabetic rat brains ". Ind. Acad. Scie. J. Biosci., (2005) 30(4) :101-108 .

١٢. مصيقر ، عبدالرحمن. " الغذاء والتغذية ". اكاديميا انترناشيونال، بيروت، لبنان، (١٩٩٩) ص. ٥٦١، ٦٩٩

١٣. ميرزا ، شيروان احمد. " داء السكر في الطب الحديث ". المكتبة الوطنية ببغداد ١٢٥٤ ، (١٩٨٣) ص.٨١،٨٢

14. Zilva J.F., Pannal P.R. and Mayne P.D. "Clinical chemistry in primary health care". 5th ed., Loyd-Luke Publication, London . , (1988) pp. 231-247 .

15. Whitby L. G., Smith A. F. and Bechett G. I. " Lecture notes on clinical chemistry ". 4th ed., Blackwell Scientific Publications, London, (1988) pp. 223-241 .

١٦. عبد المانع ، خالد صالح عمر " عزل البروتينات والاجزاء غيرالبروتينية من نباتي السبحبح وخس الزيت ودراسة تاثيرها على مستوى السكر في الدم ". رسالة ماجستير ، كلية التربية ، جامعة الموصل(٢٠٠٢).

17. Schacterle G.R. and Pollack J.K. (1973). "A simplified method for the quantitative assay of small amount of protein in biological materials ". Anal . Biochem ., 51: 654-655 .

١٨. Eno A.E and Item E.H. "Hypoglycemic agents leaves of *Elaeophorbia drupifera*".cPhytother. Res., (1996) 10 : 680-682

19. Miura T., Usami M., Tsuura Y., Ishida H. and Seino Y. "Hypoglycemic and hypolipidemic effect of *chitosan* in normal and neonatal streptozotocin induced diabetes mice". Biol. Pharm. Bull., (1995) 18(1): 1623-1625.

20. Burtis C.A. and ashwood E.R. " Tietz text book of clinical chemistry ". 3rd ed .,W.B . Saunders company, London , (1999) pp. 840 – 841 .

21. Kosner G.M."Enzymatic determination cholesterol in high density lipoprotein function prepared by polyanion ". Clin . Chem ., (1976) 22(5): 695-697.

22. Steel R.G. and Torrie J.H. "Principles and procedures of statistics biometrical approach". 2nd ed., Mc Graw .Hill Inc ., Singapore , (1984) p. 183 .

٢٣. السعدون ، محمد بحري حسن. "عزل المستخلصات من بذور نبات الكرفس Apium graveolens ودراسة تاثيرها في الفئران المعرضة للكرب التاكسدي" اطروحة دكتوراه ، كلية التربية ، جامعة الموصل(٢٠٠٥) .

24. Gupta R.K., Kesari A.N., Watal G., Murthy P.S., Chandra R., Maithal K. and Tandon V. "Hypoglycemic and antidiabetic effect of aqueous extract of leaves of Annona squamosa (L.) in experimental animal ". Current Science. , (2005) 88(8) :1244-1254 .

25. احمد، شهاب، السعدون، محمد بحري و العباسي، عمر يونس. "تأثير عدد من المستخلصات والاجزاء البروتينية المعزولة من ثمرة نبات الطماطم Solanaceae على مستوى الكلوكوز والدهون والكلوتاثايون والمالونداياليديهايد في الفئران المصابة بداء السكر المستحدث بالالوكسان ". مجلة التربية والعلم/جامعة الموصل، (٢٠٠٧) المجلد ١٩ العدد ٣ ، ص١٦-٢٩ .

26. Ingebritsen T.S., Geelen M.J.H., Parker R.A., Evenson K.J. and Gibson M.D. " Modulation of hydroxy methyl glutaryl- CoA reductase activity, reductase kinase activity and cholesterol synthesis in rat hepatocytes in response to insulin and glucagons ". J. Biol. Chem., (1979) 254(20) : 9986-9989 .

٢٧. آل فليح ، اسراء سهل احمد. " دراسة تاثير المركب البروتيني والاجزاء غير البروتينية المعزولة من المستخلص المائي البارد والمغلي للحاء الدارسين على بعض المتغيرات الكيموحيوية ". رسالة ماجستير ، كلية العلوم ، جامعة الموصل(٢٠٠٥).

28. Nasstrom, B. " Lipoprotein lipase in hemodialysis patients and healthy controls ". Umeå University Med. Dissertations . (2004) (921):1-65 .

29. آل فليح ، خولة احمد. " مدخل الى الكيمياء الحياتية ". دار الكتب للطباعة والنشر ، الطبعة الثانية ، جامعة الموصل ، (٢٠٠٠) ص ٤٦٧ .

30. Levak-Frank S., Hofmann W., Weinstock P. , Radner H., Sattler W., Breslow J. L., AND Zechner R. " Induced mutant mouse lines that express lipoprotein lipase in cardiac muscle, but not in skeletal muscle and adipose tissue, have normal plasma triglyceride and high-density lipoprotein-cholesterol levels". Med. Sci. Proc. Natl. Acad. Sci. USA , (1999) 96: 3165–3170.

Isolation and determination of the approximately molecular weight of the active proteinous compounds from Soybean seeds and studying their effects in normal , alloxan-induced diabetic mice

Hamza Namik Hamead AL-Hussieny , Nahida Saieed Hamoodi AL-Chalabi

College of Education ,Mosul Uinversity , Mosul , Iraq

(**Received:** 26 / 4 / 2009 ---- **Accepted:** 14 / 2 / 2010)

Abstract

Dept. of Chemistry, College of Education, University of Mosul, Mosul, Iraq his study was designed to isolate and study the proteinous compounds from cold and boiled aqueous extract of *Soybean* plant seeds using different biochemical techniques, and including precipitation of the proteinous part in each of the cold boiled aqueous extract using cold acetone. Using gel filtration technique , two compounds (A and B) from the proteinous precipitate of the cold and boiled aqueous extract of *Soybean* plant seeds were isolated. The approximate molecular weights for these compounds were determined using gel filtration technique. The approximate molecular weight for A and B which were isolated from cold aqueous extract were (73400) and (7400) dalton respectively, and the boiled extract were (69900) and (6900) Dalton.

The effects of cold , boiled proteinous precipitate obtained by acetone precipitation, were studied in normal , diabetic male mice The extracts were administrated intraperitoneally and their effects were compared with insulin. After one week of treatment the results indicated that proteinous precipitate cold and boiled, at the doses of 12.5 17.45 mg/Kg body weight respectively caused a significant decrease in serum glucose , triglycerid (TG)

الحزمة A

levels and a significant increase in serum high density lipoprotein cholesterol (HDL-C) in normal and alloxan diabetic mice.

The proteinous compound A which was isolated from cold precipitate at the dose (3.6) mg/Kg of body weight showed a decreasing effect in serum (glucose, T. Cho, TG) levels, and a significant increase in HDL-C level in diabetic mice. Furthermore this compound produce also a biggest decrease effects in total cholesterol (T.Col) level in, diabetic mice. At the same time this compound A reaching the level of T. Cho in diabetic of male mice was similar to insuline.