سنتز بتا کازئین توسط اسید پکتیک استخراج شده از عصاره گیاهان شیرزا

دکتر حوری سپهری
گروه زیست شناسی دانشکده علوم دانشگاه تهران

چکیده

پژوهشهای قبلی نشان داده است که عصاره‌گیاهان شیرزا بر ترشح هورمون پرولاکتین، هورمون نمو و کورتیزول مؤثر است . در کار حاضر نشان داده می‌شود که فراکسیون مؤثر این عصاره‌ها که از مشتقات پکتین ها می‌باشد، در بالا بردن سنتز بتا کازئین نقش قابل توجهی را دارا می‌باشند. این مطالعات در موش و خرگوش بصورت «In - Vivo» و «In - Vitro» انجام شده است .

تزریق پرولاکتین با مقدار UI ۲۰ واحد بین‌المللی به‌موشهای ماده بالغ باکره می‌تواند باعث ایجاد سنتز بتا کازئین گردد. گلوکوکورتیکوئیدها که بطور سینرژیک با پرولاکتین عمل می کنند، نیز قادر به‌اضافه کردن سنتز بتا کازئین در سلولهای اپی‌تلیال غدد شیرساز می‌باشند، بطوریکه هرگاه‌ماده‌ای نظیر؛ برموکریپتین (CB 154) را به‌حیوان تزریق کنیم، این سنتز قطع می‌شود زیرا این‌ماده مانع ترشح پرولاکتین آندوژن می‌گردد.

تزریق ماده‌ای نظیر سولپیرید Sulpiride که باعث هیپرپلازی غدد شیرساز می‌شود ، بر ترشح پرولاکتین اثر کرده، مقدار آن را بالا می‌برد و در نتیجه سنتز بتا کازئین نیز زیاد می‌گردد .

اثر فراکسیون مؤثرگیاهان شیرزا نظیر مواد ذکر شده می‌باشد و مقدار ترشح پرولاکتین و هورمون نمو آندوژن را زیاد می کند، بنابراین سنتز بتا کازئین را بالا می‌برد .

در آزمایشهای «In - Vitro» که در قطعات یک میلی‌متری غدد شیر ساز انجام داده‌ایم، اثر اسید پکتیک استخراج شده از عصاره‌گیاهان شیرزا را در نئوسنتز بتا کازئین نشان داده‌ایم.

J. of. Sc.. Univer. Tehran, Vol **20** (1991), *no*1, *p.* 61-72

La Synthèse de β - Caseine par l'acide Pectique obtenu des extraits des plantes lactogénes.

Houri Sepehri

Faculté des Sciences, Université de Téhéran

Abstract

Les premières études de ce travail montrent que l'extrait des plantes lactogénes agit sur la sécretion de la prolactine, la GH. (growth hormone) et la cortisol.

---

* محل پژوهش در انستیتوی کشاورزی فرانسه I.N.R.A می‌باشد که آقای هودبین Houdebine همکاری صمیمانه برای فراهم کردن همه امکانات پژوهشی داشته است .

Nous avons pu constaté que la fraction active de cet extratit est un derivé des pectines, et la synthèse de la β- caséine a une forte augmentation en présence de ce composé. ces experiences ont été effectués chez la ratte et chez la lapine «in- vivo» et «in- vitro».

Une injection de la prolactine en raison de 25UI à des rattes pubéres vièrges est capable d'induire la synthèse de la β-caséine. Les glucocorticoïdes, que l'on sait agir en synergie avec la prolactine Sont également capables de stimuler la glande mammaire pour la synthèse de la β-caséine. Cet effet est aboli lorsque la prolactine endogéne est supprimée par les injections simultanées de la bromocriptine (CB_{154}). De même, sulpiride qui est capable d'induire l'hyperplasie de la glande mammaire ainsi qu' une intense sécretion de la prolactine endogene peut provoquer l'augmentation de la synthèse de la β- caséine.

Des extraits aqueux des differentes plantes lactogénes se sont avéreés induire comme la prolactine, l'accumulation de la β- caséine dans la glande mammaire.

Par les études «In- Vitro» nous avons observé que l'acide pectique obtenu des fractions actives des plantes lactogénes agit sur la Néosynthèse de la β- Caséine.

مقدمه :

کازئین ها پروتئینهای شیر را تشکیل می‌دهند . Edery و همکاران در سال ۱۹۸٤ روشهای رادیوایمونواسه Radioimm- unoassay را برای سنجش بتا کازئین عرضه کردند . در هردوره جنسی که مقدار استروئیدهای مترشحه از تخمدان و ترشح پرولا- کتین تغییر می کند، غدد شیری تحریکی دریافت می کنند که باعث جمع شدن مقدار کمی شیر در آنها می‌شود . به همین جهت بتدریج حساسیت بافت مذکور نسبت به‌مواد گالاکتوژن کاهش می‌یابد. در این تجربیات موش هایی انتخاب شده‌اند که حدود ۷۰ تا ۸۰ روز بیشتر سن ندارند و بنابراین هنوز نسبت به‌مواد لاکتوژن حساسیت کافی را دارا می‌باشند .

تزریق پرولاکتین و استات هیدروکورتیزون (هورمون های لاکتوژن در همه انواع پستانداران شیرده) باعث القاء و سنتزبتا - کازئین و جمع‌شدن آن در غدد شیرساز موشهای مورد آزمایش می‌شود.

Houdebine در سال ۱۹۸٦ نشان می‌دهد که گلوکوکورتیکوئیدها به‌تنهایی اثری ندارند اما اگر همراه با پرولاکتین باشند مؤثر واقع می‌شوند . با تزریق ماده‌ای نظیربرموکریپتین (CB_{154}) به‌حیوان که ماده‌ای دوپامینرژیک است و باعث کم شدن و یا قطع ترشح پرولاکتین از هیپوفیز می‌گردد ، اثر استات هیدروکورتیزون به کلی قطع می‌شود. برعکس ماده‌ای نظیر سولپیرید Sulpiride که درترشح پرولاکتین مؤثر است ، سنتز بتا کازئین را بطور کاملا مشخص در غدد پستانی موش زیاد می کند .

Houdebine در سال ۱۹۸٤ نشان داد که ترشح شیر ، نتیجه عمل چندین هورمون است و عصاره‌های گیاهی بطور مستقیم روی مقدار ترشح پرولاکتین آندوژن اثر کرده و در نتیجه این - هورمون بطور مؤثر روی غدد پستانی اثر می کند. باتوجه به‌این مطلب که Kerdelhué و همکارانش نشان داده بودند که اسیدپکتیک قادر به تحریک ترشح پرولاکتین ، هورمون نمو ، LH و بالاخره بتا آندورفین از هیپوفیز موش است ، Sepehri وهمکاران در ۱۹۹۰ اثر مشتقات پکتینهای فراکسیون مؤثرگیاهان شیرزا را برافزایش مقدار ترشح پرولاکتین در فراگمانهای هیپوفیز گوسفند ماده نشان داده‌اند.

پس از آزمایشهای متعدد مشخص شد که مواد لاکتوژن گیاهی در آب محلول بوده و در الکل وکلروفرم غیرقابل حل ، می‌باشند ودر اثر حرارت وپروتئازها غیرفعال نمی‌شوند(Sawadogo درسال ۱۹۸۸). پژوهشهای مختلف مؤیداین نظر است که‌فراکسیون های فعال از جنس پلی‌ساکاریدها هستند.

در پژوهش حاضر ملاحظه می‌شود که فراکسیون‌های مؤثر عصاره گیاهان شیرزا که بطور اهم از مشتقات پکتینها می‌باشند ، به صورت « in Vitro » مقدار بتا کازئین‌را درسلولهای اپی‌تلیال غدد پستانی خرگوش شیرده بطور کاملا مشخص افزایش می‌دهند.

مواد وروش آزمایش:

حیوانات: دراین پژوهشها ازموش ماده باکره و خرگوشهای آبستن دروغین و شیرده (بیست‌وپنجمین روز لاکتاسیون) یعنی در آخر دوران شیردهی استفاده شده است . موشها از نوع Wistar می‌باشند که بوسیله نمونه‌برداری‌از واژن ، نظم دوره جنسی آنها مورد تائید بوده است. سن آنها حدود ۳ماه و وزن آنها بین ۲۸۰ تا ۳۰۰ گرم می‌باشد.

مقدار بتا کازئین در غدد شیرساز موشهایی که تحت اثر ـ عصاره‌های مؤثرگیاهان شیرزا قرارگرفته‌اند ، اندازه‌گیری شده است.

— خرگوشهای با آبستنی دروغین Pseudogestantes به پرولاکتین بسیار حساس می‌باشند. مقدار بتا کازئین حیوانات در پانزدهمین روز پس‌از آبستنی کاذب که تحت تأثیر فراکسیونهای مؤثرگیاهان شیرزا قرارگرفته‌اند درغدد شیرساز آنها اندازه‌گیری شده است. بدیهی است‌در هرگروه ، حیوانات شاهدبرای مقایسه انتخاب شده‌اند که تمام شرایط فیزیولوژیکی آنها برابر با حیوانات مورد آزمایش می‌باشند .

— خرگوشهای شیرده برای‌مطالعات «in-vivo» بکاربرده‌شده است. دراین حیوانات، پودر لیوفیلیزه عصاره‌گیاهی نظیر پنبه(۲گرم صبح، ۲گرم عصر) از راه دهان به‌مدت ٤ روز داده شده است و پس از این مدت حیوان کشته شده و غدد شیرساز آنها از بدن خارج‌گردیده و مقدار بتا کازئین در آنها اندازه‌گیری شده است.

روش بدست آوردنِ فراکسیون مؤثرگیاه شیرزا :

پس‌از بدست آوردن عصاره محلول درآب ازقسمتهای‌مختلف گیاهان موردنظر که آنرا عصاره اول نامیدیم، این‌عصاره را با کمک مقادیر مختلف الکل، کلرورسدیم M ۰/۱ خالص کردیم. تمام فراکسیونهای بدست آمده را ازنظر قدرت تحریک ترشح پرولاکتین تست کردیم. آنچه مورد توجه قرارگرفت. این است که‌فراکسیون‌های غیر محلول در الکل ، قدرت تحریک خود را همانطورکه در عصاره اول داشته‌اند ، حفظ کرده‌اند. اما فراکسیونهای محلول در الکل هیچگونه فعالیت مشابه را نشان نمی‌دهند . فراکسیونهای غیرمحلول در الکل بوسیله کلروفرم نیز مورد آزمایش قرارگرفته‌اند و فازکلروفرم آن حذف شده و فاز محلول در آب را جدا نمودیم و لیوفیلیزه کردیم .

فراکسیونهای بدست آمده دارای فعالیت لاکتوژن فراوان می‌باشند . عصاره اول حدود ٦ تا ۲۵ درصد وزن خشک اولیه را نشان می‌دهد در صورتیکه عصاره دوم که با الکل ، کلرور سدیم و کلروفرم عصاره‌گیری شده است، حدود ۱ تا ۵ درصد وزن خشک گیاه اولیه می‌باشد. مقدار عصاره‌ای که می‌تواند مؤثر در تحریک ترشح پرولاکتین باشد، درعصاره اول از یک گرم به‌بالاست و در عصاره دوم فقط حدود ۱۰۰ تا ٤۰۰ میلی‌گرم می‌باشد.

روش دیگری که برای بدست آوردن فراکسیونهای فعال از آن استفاده شده ،تد فراکسیونمانهای مولکولی بوده است که اساس این روش عبور دادن عصاره نوع اول از صافی‌های‌مخصوصی است که مولکولهای باوزن مولکولی معین را از خود عبورمی‌دهند پس از تزریق موادی که دارای مولکولهای بزرگ هستند، به ـ گوسفند ماده، روشن شد که مولکولهای کوچکتر از ۵۰۰۰ دالتون برای تحریک ترشح هورونهای پرولاکتین و نمو غیرفعال‌می‌باشند.

مراحل مختلف عصاره گیری را می‌توانیم بصورت زیر نشان دهیم :

گیاه+آب
جوشاندن |
سانتریفوژکردن
↙ ↘
محلول روئی ته نشین (حذف می‌شود)
الکل و ۰/۱MNaCl ↙ ↘
(عصاره اول) لیوفیلیزه
↓
سانتریفوژ ۳۰۰۰g/۲۰mn
↙ ↘
فاز محلول در الکل فاز محلول درآب
↓ + $\frac{1}{2}$ حجم $CHCl_3$ ↓
تبخیر بهم زدن
↓ سانتریفوژکردن |
ته نشین
↓ ↓
فاز محلول درآب فازکلروفرم (حذف می‌شود).
↓
(عصاره خالص) ⟵ ↓
لیوفیلیزه شدن

اندازه‌گیری هورمونها:

اندازه گیری هورمونها بوسیله روشهای رادیوایمونولوژیک RIA صورت گرفته است. بطوریکه می‌دانیم دراین روش ازرقابت بین دو آنتی کر رادیواکتیو وغیر رادیواکتیو استفاده می‌شود که واکنش آن مطابق فرمول زیر می‌باشد:

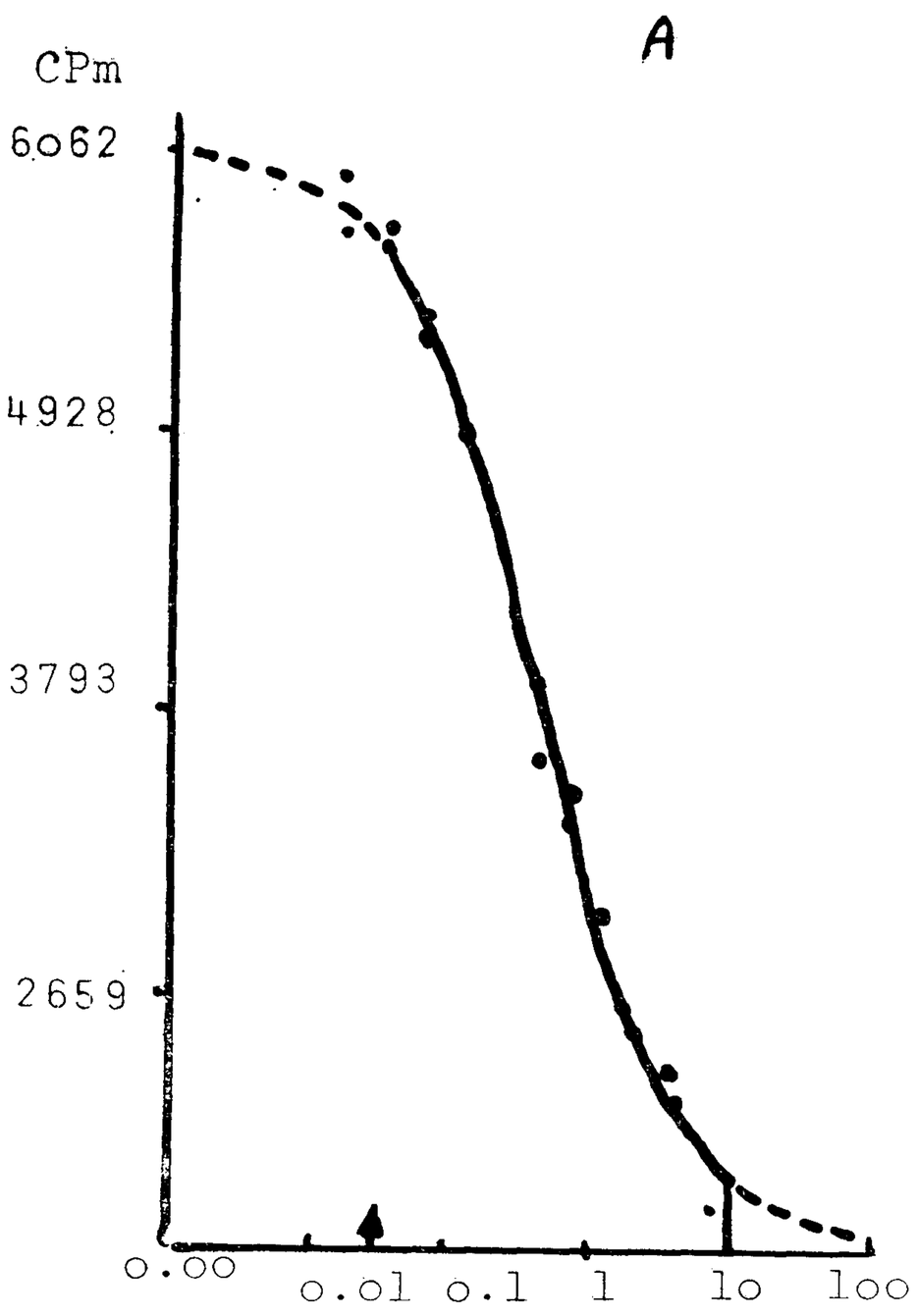
$$Ag^* + Ac \rightleftharpoons [Ag^* + Ac] + Ag^* \qquad (۱)$$

کمپلکس آنتی‌ژن-آنتی‌کر

در حضور آنتی‌ژن غیر رادیواکتیو، واکنش (۱) بصورت‌واکنش (۲) در می‌آید.

$$Ag^* + Ag + Ac \rightleftharpoons [Ag^* - Ac] + [Ag - Ac] + Ag^* + Ag \quad (۲)$$

وقتی تعادل دراین واکنش برقرار شد، بوسیله ایمونوسرم ویژه ، کمپلکس Ag*—Ac رسوب داده شده و بوسیله کنترسنتیلاسیون جامد، مقدارآنتی‌ژن رادیواکتیو دراین کمپلکس اندازه‌گیری‌می‌شود برای اندازه‌گیری از منحنی استاندارد که می‌توانیم آن را در شکل زیر مشاهده نمائیم، استفاده می‌گردد بطوریکه دراین منحنی‌ملاحظه می‌شود، هرقدر درصد آنتی‌ژن غیر رادیواکتیو در محیط زیادترباشد مقدار آنتی ژن رادیواکتیو که به‌آنتی کر ثابت می‌شود، کمتر است مقدار بکاربرده شده ازحساسیت فوق‌العاده برخوردار است بطوریکه میتوان مقدار هورمون را بین ٥ تا ١٠ نانوگرم (ng) اندازه‌گیری کرد. (Kann/١٩٧١). باید متذکر شد که حساسیت اندازه‌گیری با متد RIA بستگی کامل به ویژگی واکنش آنتی‌ژن ـ آنتی کر دارد. (شکل ١).



منحنی خطی، شکل A پس‌از تبدیل به‌فرم Logit

$$logity = log\frac{y}{1-y} \qquad y = B/B_0^*$$

مقدار درصد B/Bo با مقادیر مختلف کازئین غیررادیواکتیو .

نتایج :

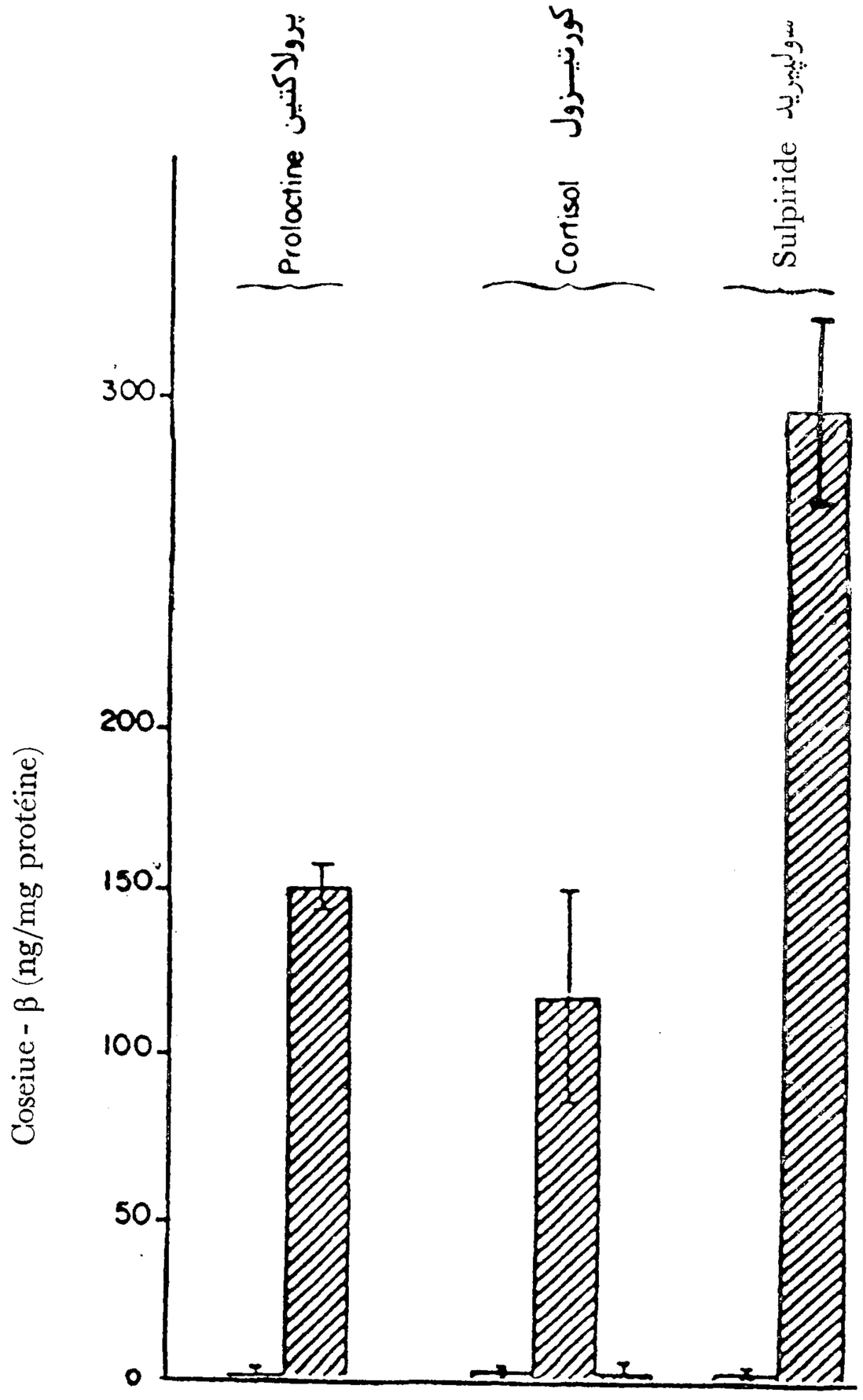
پژوهشهای گذشته که درآنها مقدار بتاکازئین در غدد شیری موشهای باکره ، حامله و شیرده اندازه‌گیری شده است ، (Hira / ١٩٧٩ و Edery/١٩٨٣) مقادیر مختلف این ماده را در دوره‌های مختلف فیزیولوژیکی‌نشان داده‌است. این‌نتایج درجدول زیـر خلاصه شده است.

موش ماده		مقداربتاکازئین بحسب ng/وزن‌بافت بحسب mg
بالغ باکره	دوماهه	٣/٧٤٥ ± ٠/٥٧٩
	سه‌ماهه	١٨/٧١±٥/٣٥ ویا ٢٩/٥٦±٢/١٩
حامله	٥ روزه	٢٠/٧ ±٣/٣
	٢٠ روزه	٢٣٢٦±١٨٧
شیرده	روز اول	٦١٢٥ ±٥٥٧
	آخرین روزها	٢٦٦٦±٣٠٤

بطوریکه می‌بینیم مقدار بتا کازئین در سلولهای غدد شیرساز موش، با سن و وضع فیزیولوژیکی حیوان بستگی کامل دارد. در هردوره جنسی ، یک Pic پرولاکتین وجود دارد که باعث تحریک سنتز بتا کازئین درغدد شیرساز میگردد وهمانطور که نتایج نشان‌می‌دهند حتی در موشهای بالغ باکره بتدریج که سن آنها بالامی‌رود، برمقدار تجمع بتا کازئین در غدد شیرساز افزوده می‌شود.

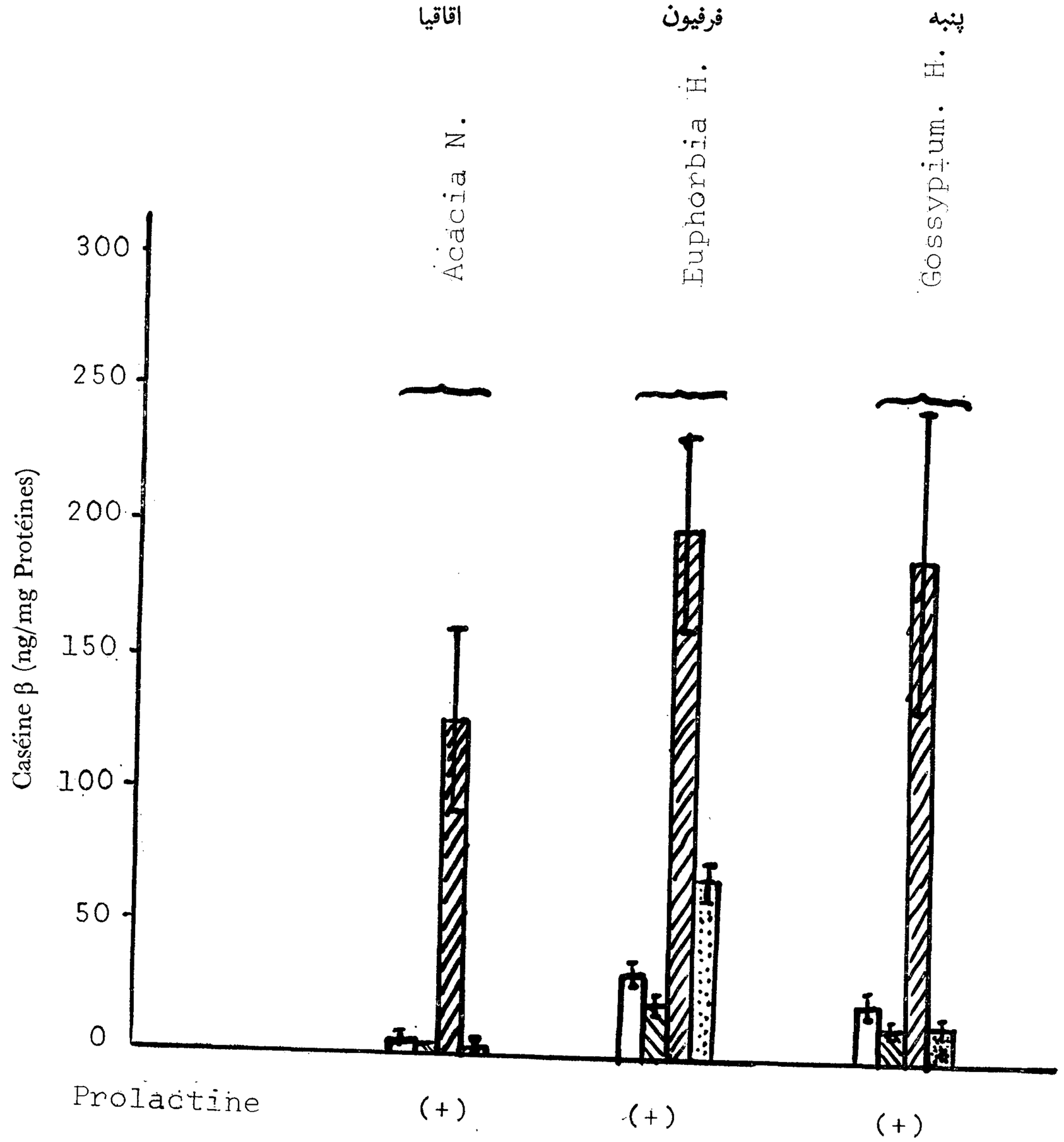
فعالیت فراکسیون‌های مؤثر عصاره گیاهان شیرزا در سنتز بتا کازئین قابل ملاحظه است. زیرا در پاره‌ای موارد در موشهای سه‌ماهه مقدار بتا کازئین از ۲/۱۹ ± ۲۹/۵٦ به‌مقدار ۲۸/۱۸ ± ۱۰۳/۱۳ و یا ۷۷ ± ۲۸۷/٦ نانوگرم بر میلی‌گرم پروتئین بافت افزایش یافته است. و تفاوت مقادیر بتا کازئین بین حیوانات شاهد و تجربی بسیار مشخص می‌باشد. بطوریکه $p < 0.001$ است . با دانستن مقدار بتا کازئین در دوره‌های مختلف فیزیولوژیکی حیوانات مورد آزمایش، پژوهش را ادامه دادیم.

شکل (۲) نشان می‌دهد که چگونه پرولاکتین، کورتیزول و سولپیرید می‌توانند برمقدار سنتز بتا کازئین در غدد شیرساز موش بیافزایند .



شکل ۲ ـ بالا رفتن سنتز بتا کازئین بوسیله پرولاکتین، استات هیدروکورتیزون و سولپیرید.
حیوان شاهد ▨ حیوان مورد آزمایش ▭ در ٤ حیوان (± SEM)

در مورد پاره‌ای از عصاره‌های گیاهان لاکتوژن نظیر اقاقیا ، پنبه و فرفیون نیز که از طریق دهان به‌موشهای مورد آزمایش داده شده به‌نتایجی نظیر موارد فوق رسیدیم به‌این‌شرح که اگربه‌این‌حیوانات برومو کریپتین (CB_{154}) یا آنتاگونیست پرولاکتین را تزریق نمائیم ، افزایش سنتز بتا کازئین بوسیله عصاره‌ها بسیار کم می‌شود و یا به‌حد صفر می‌رسد. (شکل ۳)



شکل ۳ ـ اثر عصاره‌گیاهان مختلف (اقاقیا ، فرفیون ، پنبه) بر سنتز بتا کازئین

حیوان شاهد

حیوانات شاهد + CB 154

عصاره گیاهان

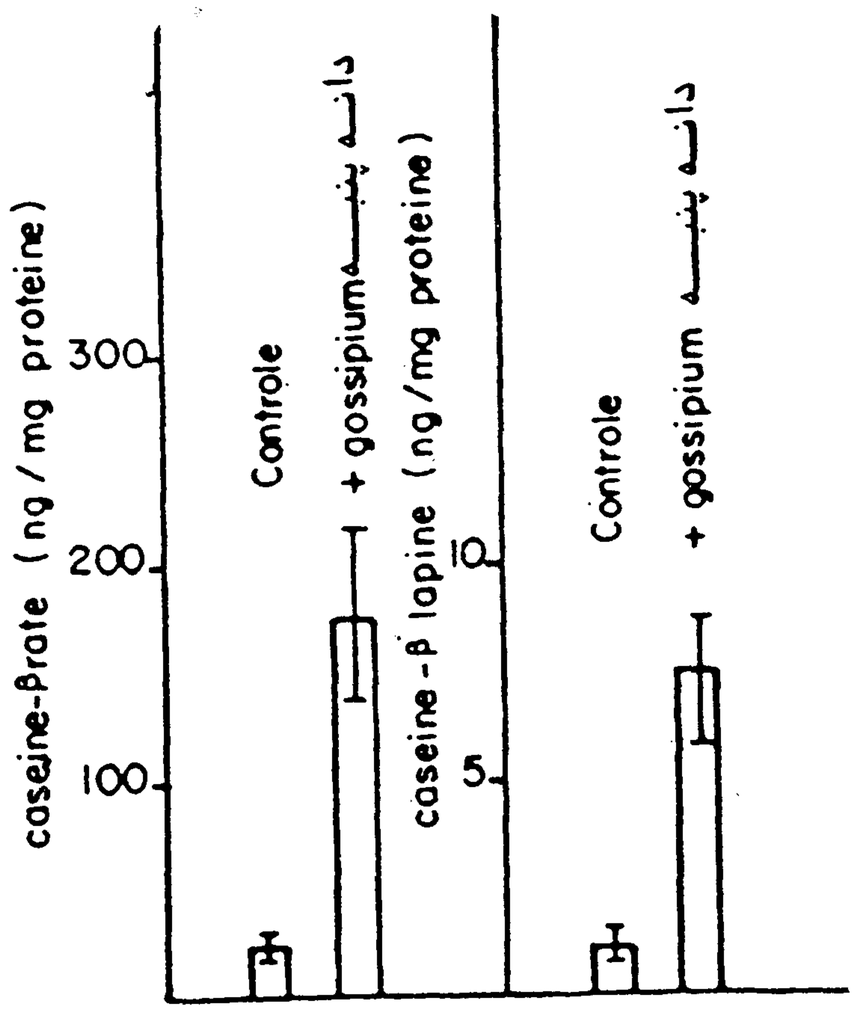
عصاره‌گیاهان + CB 154

علائم (+) نشاندهنده بالا رفتن مقدار ترشح پرولاکتین بوسیله همین عصاره‌ها می‌باشد .

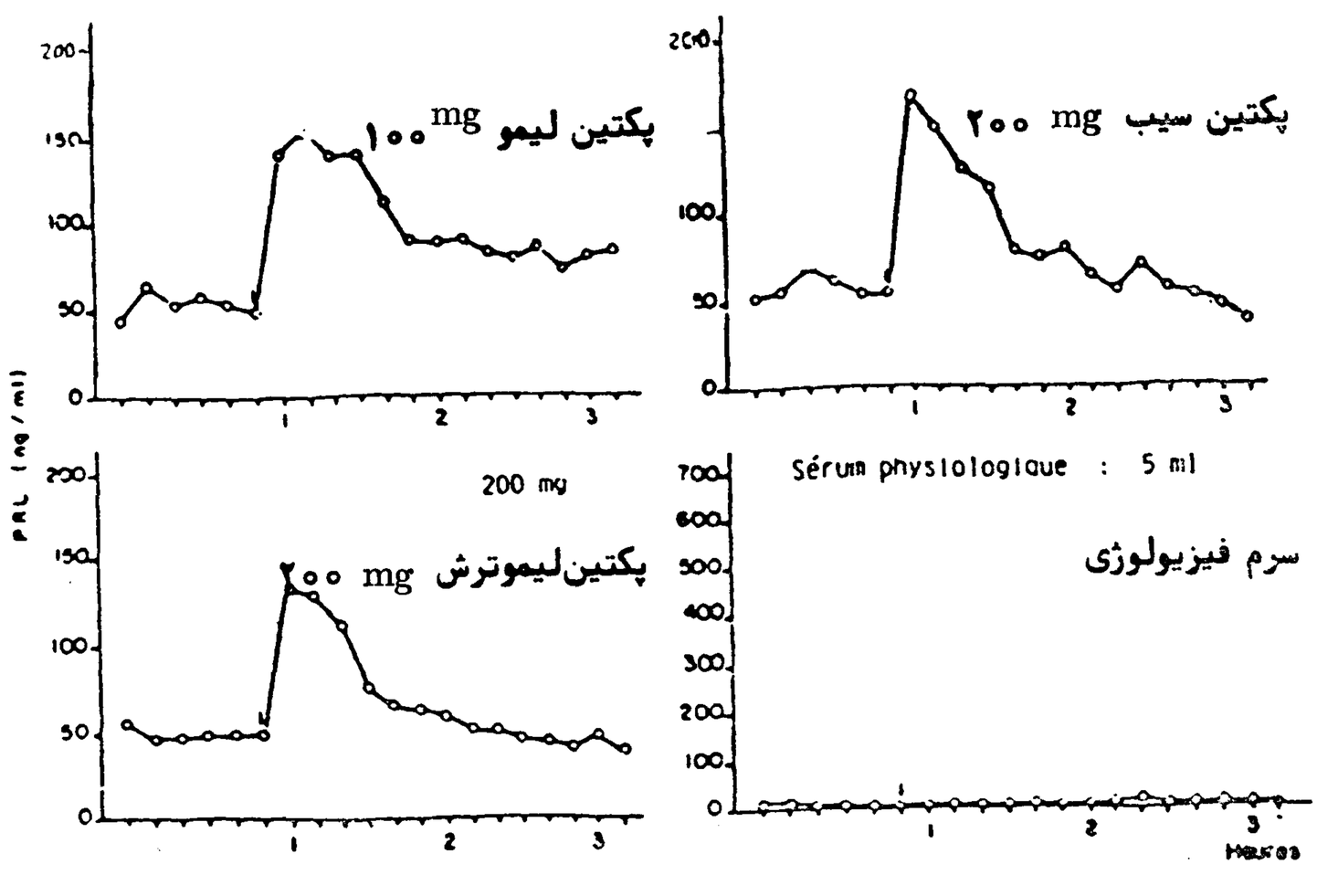
همچنین اگر عصاره دانه‌های پنبه را به‌خرگوش آبستن ـ دروغین در دوازدهمین روز به‌مقدار ۲g گرم و به‌مدت ٤ روزبخورانیم و مقدار بتا کازئین را در حیوانات شاهد وسورد تجربه‌اندازه‌بگیریم، نتایجی مطابق شکل زیر بدست می‌آید. (شکل ٤)

اثر پکتینها و مشتقات آنها روی ترشح پرولاکتین :

پکتین و مشتقات آن را که از منابع مختلف تهیه شده بود، برای تحریک ترشح پرولاکتین و هورمون نمو مورد آزمایش قرار دادیم. پکتین های مورد آزمایش عبارت بودند از پکتین سیب، لیمو که نتایج آن در شکل های زیر معرفی می‌شود. (شکل ٥) .

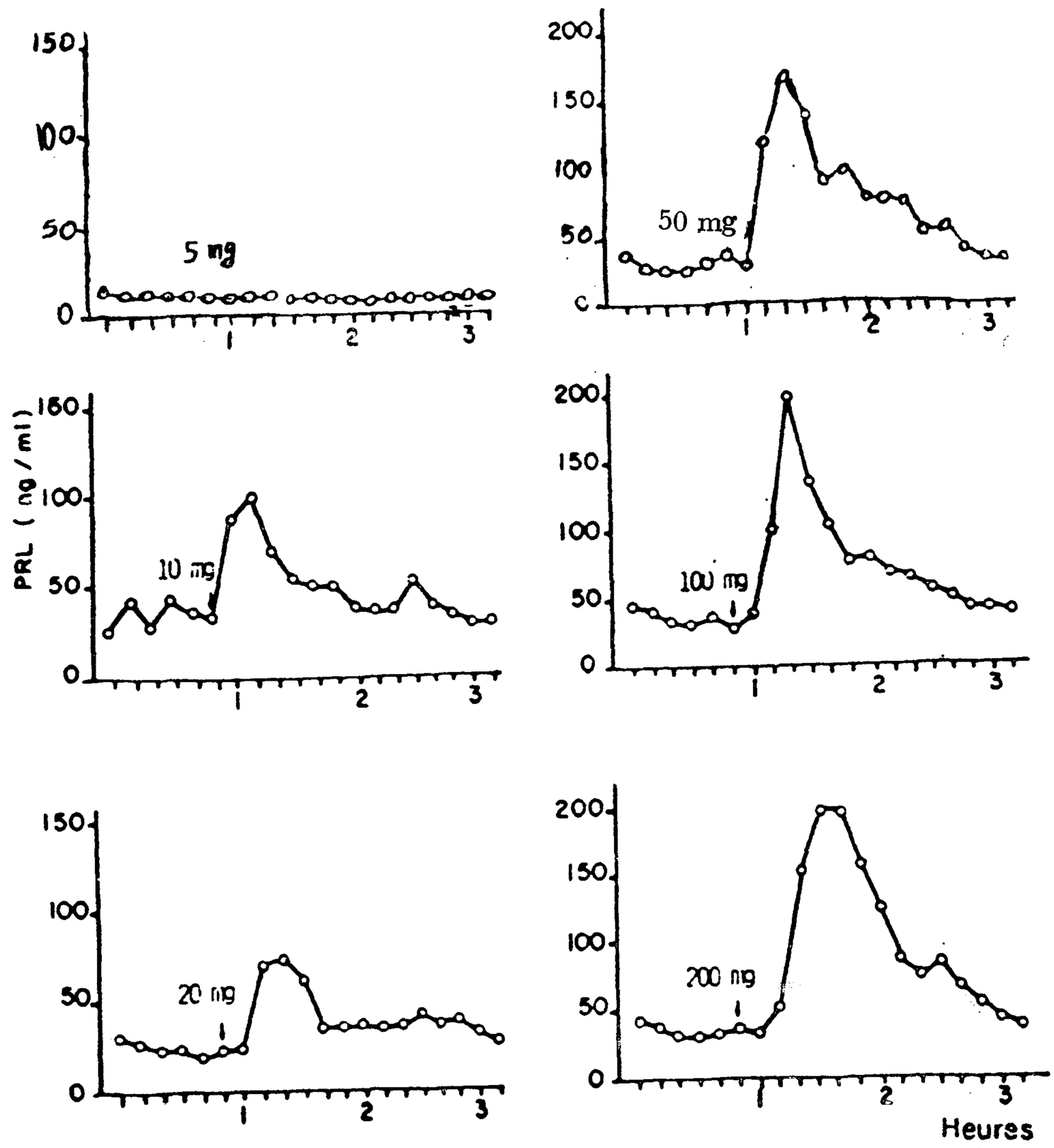


شکل ٤- اثر عصاره دانه پنبه در بیوسنتز بتا کازئین در خرگوش



شکل ٥ - اثر پکتینهای مختلف روی ترشح پرولاکتین

بطوریکه می‌بینیم حیواناتی که با سرم فیزیولوژی مورد - آزمایش قرار گرفته‌اند هیچگونه تغییر ترشح در آنها دیده نمی‌شود. پس از آزمایشهای مختلفی که در مورد اثر مشتقات پکتینها، قابلیت آنها در تحریک ترشح پرولاکتین و هورمون نمو و سایر هورمونها یی که در شیرزائی موثرهستند انجام شد، مشاهده‌گردید که‌مشتقات پکتینها کم‌و بیش در ترشح PRL پرولاکتین ، GH هورمون‌رشد و کورتیزول مؤثر می‌باشند و اسید پکتیک بیشترین اثر را دارد و بطوریکه از منحنی‌های شکل ٦ برمی‌آید، اسید پکتیک با مقدار mg . ١، قدرت تحریک ترشح PRL پرولاکتین را دارد.



شکل ٦- اثر مقادیر مختلف اسید پکتیک در ترشح پرولاکتین

در منحنیهای شکل ٦ (dose - Reponse) میتوان ملاحظه کرد که مقادیر بیش از mg ۱۰ میلی گرم اسید پکتیک میتواند محرك ترشح پرولاکتین باشد. بدیهی است مقدار اسید پکتیک خالص لازم برای این اثر بسیار کمتر از مقدار عصاره خالص گیاهی محتوی اسید پکتیک است.

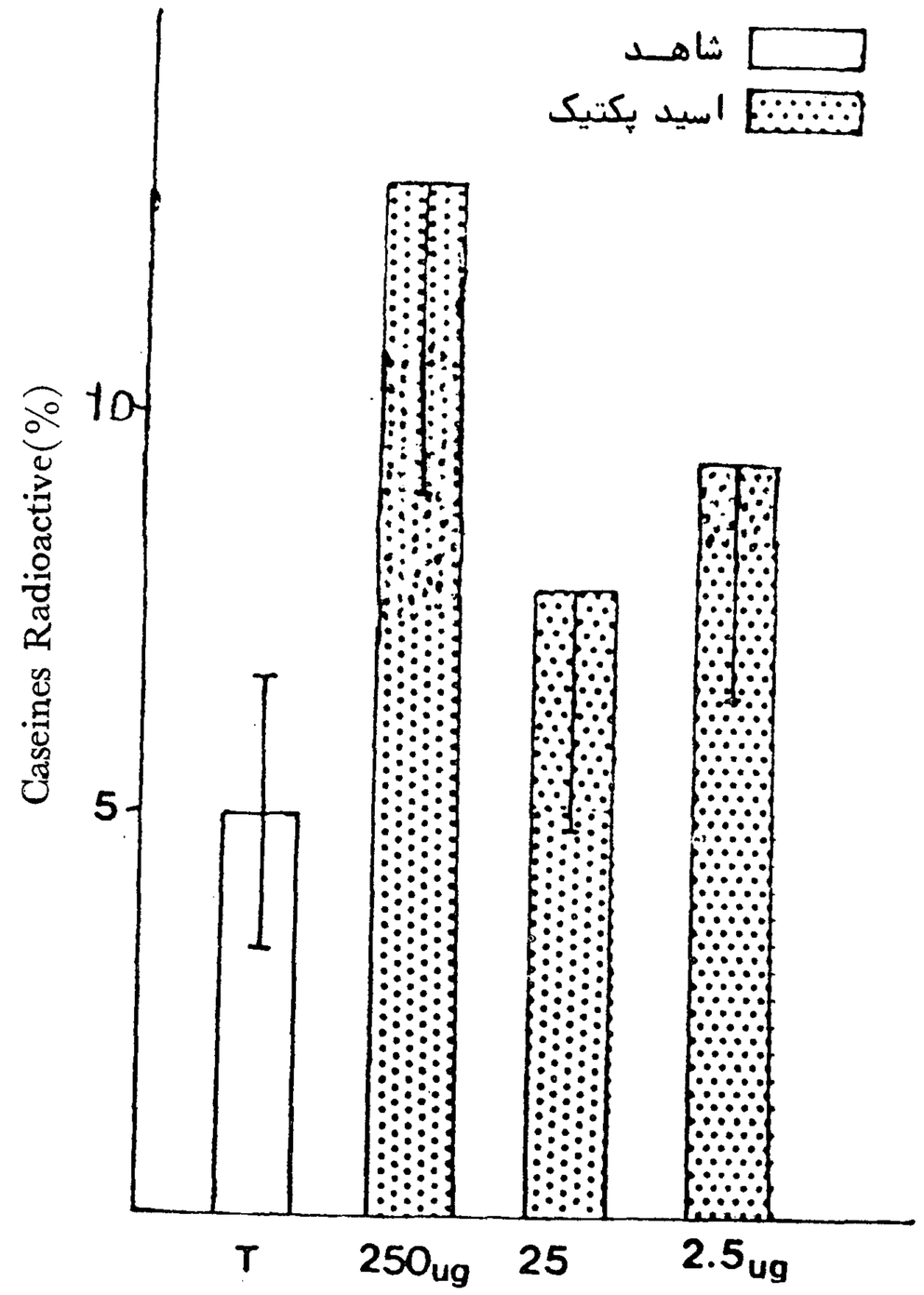
پس از نتایجی که بطور «In Vivo» در موش وخرگوش بدست آمد معلوم شد که فراکسیون مؤثر عصاره‌های گیاهی دوعمل تحریکی دارند:

۱- در بیوسنتز بتا کازئین غدد شیرساز

۲- در ترشح پرولاکتین، هورمون نمو و کورتیزول واحتمالا سایر هورمونهایی که درشیرزایی دخالت دارند، وهنوز موردمطالعه قرار نگرفته‌اند.

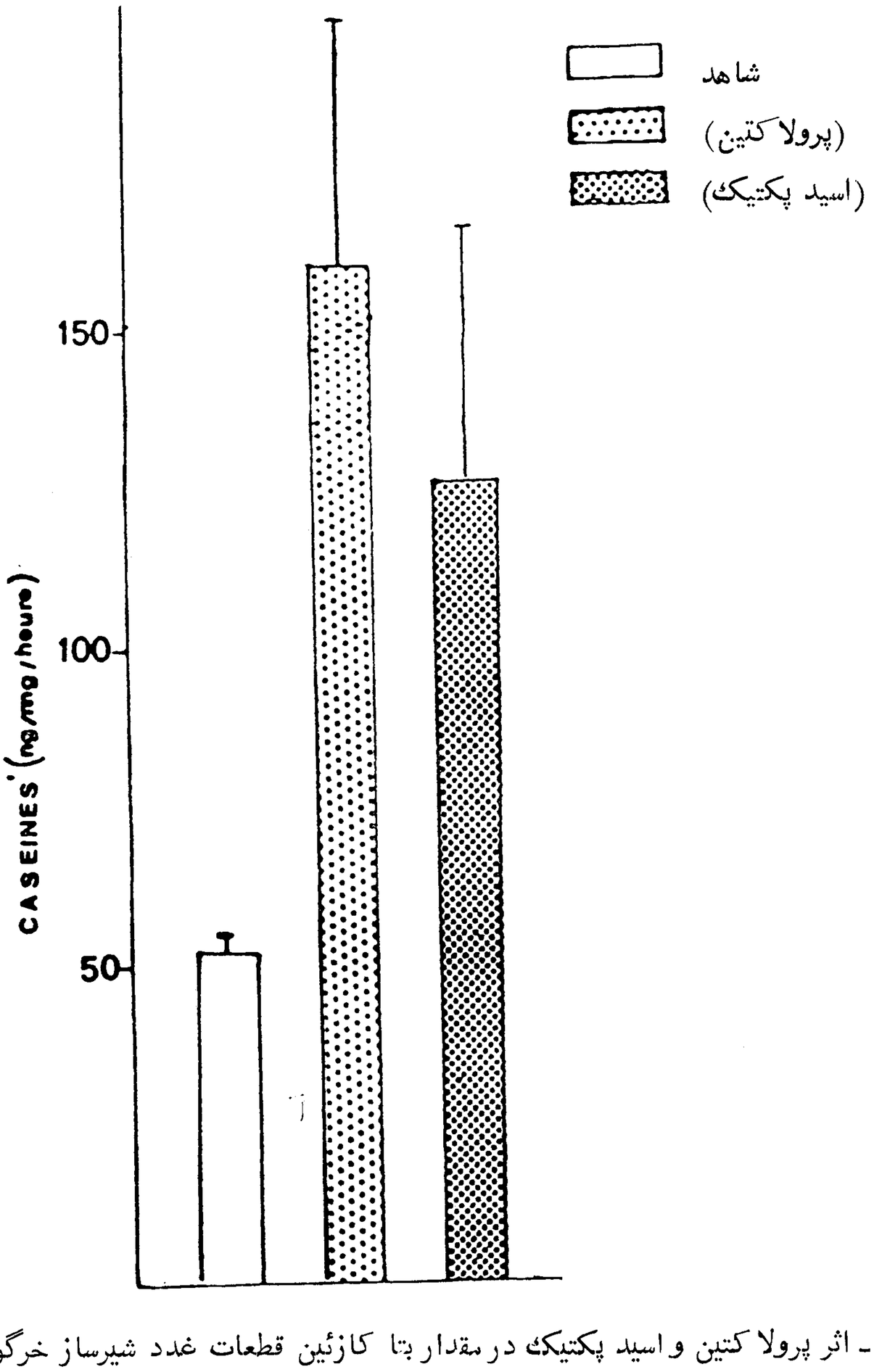
عمل اسید پکتیک روی قطعات غدد شیرساز خرگوش:

بوسیله لوسین رادیواکتیو نشان داده شد که مقادیر مختلف اسید پکتیک موجب نئوسنتز بتا کازئین درقطعات mm ۱ میلی‌متری غدد شیرساز و یا سلول‌های اپی‌تلیال غدد سینه‌ای خرگوش شیرده در محیط انکوباسیون می‌گردد بطوریکه پس از یکساعت انکوباسیون در محیط دارای لوسین رادیواکتیو مقدار درصد کازئین رادیواکتیو در محیط‌های واجد مقادیر مختلف اسیدپکتیک (میکروگرم ۰.۲۵- ۲/۰۵) به‌مراتب از محیط شاهد که فاقد اسیدپکتیک است بیشتر می‌باشد. (شکل ۷).

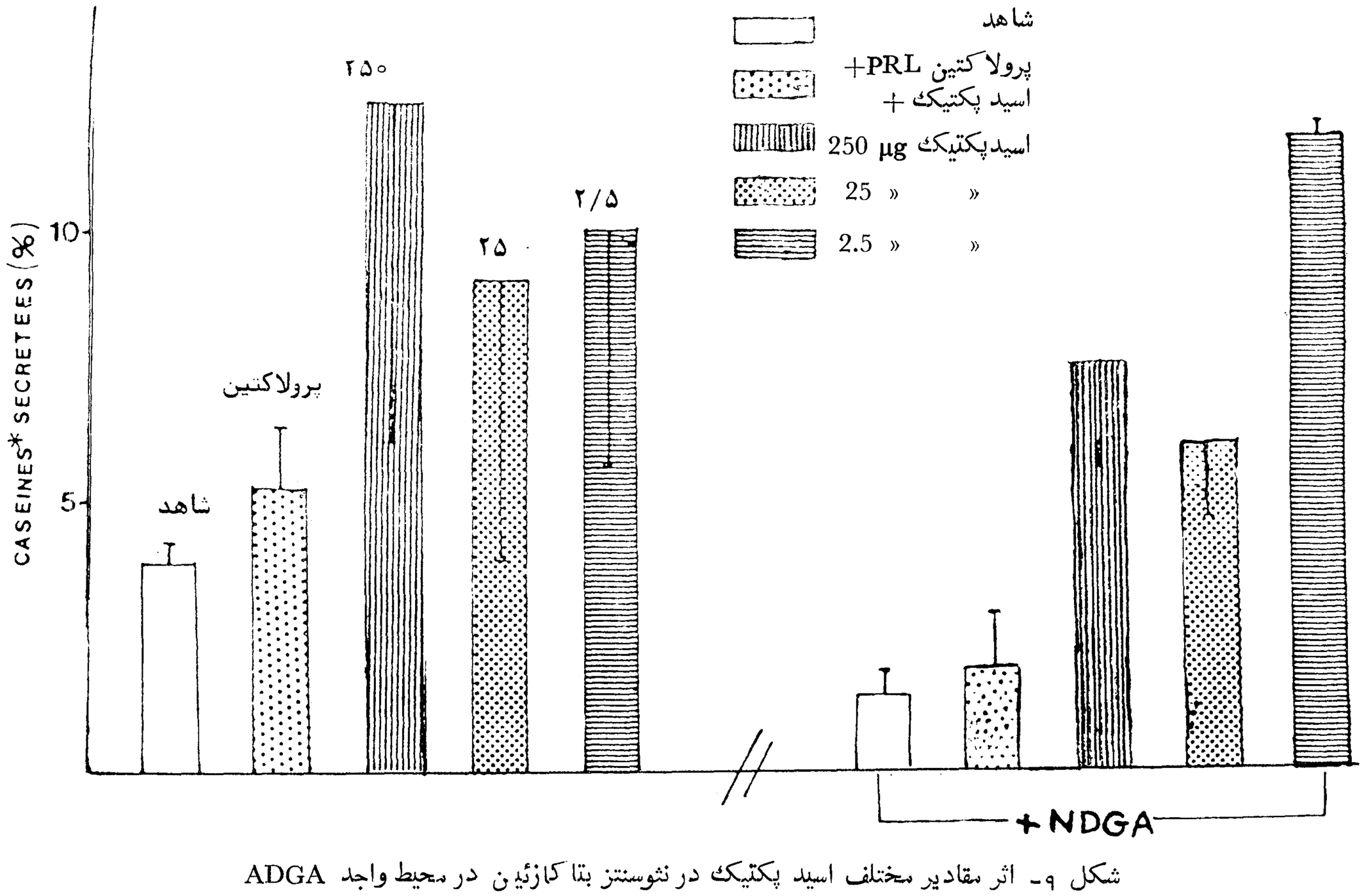


شکل ۷ ـ اثر مقادیر مختلف اسیدپکتیک (۲/۵، ۲۵، ۲۵۰) میکروگرم در ترشح بتا کازئین در قطعات غدد شیرساز درخرگوش

عمل اسید پکتیک در نئوسنتز بتا کازئین در محیط انکوباسیون نظیر اضافه کردن پرولا کتین درمحیط می‌باشد (در شکل ۸) اگردر محیط انکوباسیون که‌دارای‌پرولا کتین‌است‌یک‌بازدارنده ویژه پرولا کتین نظیر NDGA اسید نوردی‌هیدروگواارتیک اضافه کنیم ، از مقدار سنتز بتا کازئین کاسته می‌شود درحالیکه همین ماده مقدار سنتز بتا کازئین را در قطعات غدد شیرساز که درمحیط واجد اسیدپکتیک قرار دارند، تغییر نمی‌دهد (شکل ۹) بنابراین می‌توان تصور کرد که اگرچه فراکسیونهای مؤثر عصاره‌های گیاهی مانند اسیدپکتیک مثل پرولا کتین در سنتز بتا کازئین مؤثر هستند ، اما طریق عمل آنها یکسان نیست . کارهای آینده در سطح سلولی و مولکولی نشان خواهد داد که عمل فراکسیون فعال درچه‌محلی ازسلول ، کدام‌گیرنده‌ها و به‌چه صورت موجب افزایش نئوسنتز بتا کازئین می‌شود.



شکل ۸ - اثر پرولاکتین و اسید پکتیک در مقدار بتا کازئین قطعات غدد شیرساز خرگوش



شکل ۹- اثر مقادیر مختلف اسید پکتیک در نئوسنتز بتا کازئین در محیط واجد ADGA

بحث ونتیجه گیری:

بررسی گیاهان به‌علت پیچیدگی طبیعی ترکیبات آنها مشکل است و به‌همین دلیل بساری از پژوهشها در این زمینه ناتمام مانده است. مطالعه گیاهانی که بطور سنتی به‌لاکتوژن‌بودن شهرت‌دارند، بصورت علمی انجام نشده است و بیشتر اطلاعات موجود درباره گیاهان افریقائی است که بوسیله Adjanohoun انجام شده است. این بررسیها بیشتر جنبه مقایسه‌ای و مقداری دارند و از نظر علمی دارای ارزش زیاد نمی‌باشند. درسال ۱۹۸۰ Harold نشان داد که اگر زنی ml ۸۰۰آبجو بیاشامد، مقدار پرولاکتین پلاسما از ng/ml ۱۰ به ng/ml ۳۰۰-۲۵ می‌رسد و مدت ۲ ساعت این pic باقی می‌ماند. پژوهشهای بعدی نشان داد که قسمت الکلی این ماده هیچ تأثیری در بالا رفتن مقدار پرولاکتین ندارد وآزمایشهای انجام شده درگوسفند نشان داد که گیاهانی که در ساخته شدن آبجو بکار می‌روند، دراین امر دخالت کامل دارند (Sawadogo ۱۹۸۹) در مورد چگونگی تهیه فراکسیون‌های فعال درگیاهان آزمایشهای متعددی برای خالص کردن آنها صورت گرفته است که اهم آنها عبارت است از:

— رسوب دادن در مجاورت الکل در محیط واجد کلرور سدیم M ۱/۰ و سپس بکاربردن کلروفرم. در این نوع عصاره‌گیری همه پروتئینها و لیپیدها حذف می‌شوند بدون آنکه فراکسیون فعال اثری نامناسب دریافت کند.

— ازروشهای دیالیزبرای‌بدست آوردن‌فراکسیون فعال استفاده شد که همه آنها از مولکولهای بزرگ که وزن مولکولی بیش از ۵۰۰/۰۰۰ دالتون دارند، تشکیل شده‌اند.

— بالاخره آنچه در این فراکسیون فعال بیشترین مقدار رادارد پلی‌ساکاریدها می‌باشند که در آنها مقدار پکتین از همه بالاتر است همه آزمایشها این مطلب را تائید می‌کنند که:

۱- برخی ازگیاهان دارای فعالیت واقعی لاکتوژنی هستند زیرا بیوسنتز بتاکازئین را افزایش داده و هورمونهایی راکه دراین امر مؤثرند، تحریک می‌کنند (PRL ، GH، کورتیزول وغیره).

۲- جنس این فراکسیون به‌احتمال قوی پلی ساکارید است.

References

Adjanohoun E. et Ake Assi L. (1967) . Inventaire floristique des forêts claires subsoudanaises encôte d' Ivoire septentrionale. *Ann. Fac. Sci. Univ. Abj* n° 3.

Adjanohoun E., Ake Assi L., Floret J. J., Guinko S., Koumare M., Amyi A. M. R. Raynal J. (1979). Médecine traditionnelle et pharmacopée. Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au Mali. Ed. A. C. C. T. Paris.

Adjanohoun E. et Ake Assi L. (1979) : Contribution au recensement des plantes mêdicinales de côte d' Ivoire. Ed; Centre National de floristique, Univ. Abidjan.

Edery M., Houdebine L. M., Djiane J. and kelly P. A. (1983) : Studies of casein synthesis in normal and neoplastic rat mammary gland by homologous radio immunoassay. *Mol. Cell. Endocr.*, **34** 145-155.

Harold E. C., Harris L. W. and Reidel berger R. D. (1985) : Beer-Induced prolactin secretion: a clinical and Laboratory study of the role of salsolinol. *Journal of clin. Endocrinol. and metab.*, **60**, 4, 673-677.

Hira L. N. and Quasba P. K. (1979) : Quantification of milk proteins and their mRNA in rat mammary gland at various stages of gestation and lactation *J. of Biological Chemirtry*, **254**, **13**, 6016-6025.

Houdebine L. M., Djiane J., Kell P. A. Kathoh M., Dusanter-Fourt I., Martal p.(1984) :The mecanism of prolactin on casein gênes expression. *Proc. 7 th International congress of Endocrinology.*

Houdebine L. M. (1986) : La physiologie de la lactation humaine. *La revue du praticien* (Paris) **36**, 27, 1495-1507.

Kann G. (1971) : Dosage radioimmunologique de la prolactine plasmatique chez les ovins. *C. R. Acad. Sci., Paris*, **272**, 2808 - 2811.

Kann G. (1971) : Variations des concentrations plasmatiques de l'hormone lutéinisante et de la prolactine au cours du cycle oestrien chez la brebis. *C. R. Acad. Sci., Paris*, **272**, 2934- 2937.

Kerdelhué B., Kann G.et Justisz M. (1972) : Dosage radioimmunologique de la FSH chez le mouton et le rat. in : Hormones glycoproteiques hypophysaires, ed. Inserm, pp. 177-192.

Kerdelhué B. Catin S. and Justisz M. (1973) : New data concerning the plasma levels of prolactin and gonadotropins throughout the estrous cycle in the rat. In: Human prolactin, Pasteels. J. L. et Robyn C., eds, pp. 149 - 159, excerpta medica.

Sawadogo L. Houdebine LM. Thibault JF, Rouau X. (1988). Mise en évidence d'une activité lactogéne dans des extraits végétaux. *Bull Med Trad* **2**: 19-30.

Sawdogo L. Sepehri H, Houdebine LM (1989). Mise en évidence d'un facteur stimulant la sécrétion de prolactine et d' hormone de croissance dans les dréches de brasserie, reprod nutr dev 29: 193 - 146.

Houri sepehri, Catherine Renard. Louis-Marie Houdebine (1990) . β - Glucan and pectin derivatives stimulate prolactin secretion from hypophysis «in vitro». *Soci exper. Biol. Med vol.* **194**: 193- 197.