# التحري عن المواد الفعالة بايولوجيا ومثبطات انزيم اللايبيز البقري في المستخلصات المائية لبعض البقوليات ومقارنتها مع فاعلية عقار الاورلستات التثبيطية

# Detection of biological active substances and lipase inhibitors from aqueous extracts of some legumes in comparison with Orlistat drug

خلود عبد الاله الخفاجي سحرغازي عمران منال عبد اللطيف حسن سلمان عبود حمود صفاء عبد الرحيم محمود
وزارة العلوم والتكنولوجيا
K. A. A. Al- Khafaji S. G. Omran ManalAl-Latef Hasan A. S. Salman
S. A. Rheem Mahmood
Ministry of Science and Technology

**الملخص**

**تهدف الدراسة الحالية الى الكشف النوعي عن المواد ذات الفعالية البايولوجية في كل من الباقلاء والعدس والماش والحمص وفول الصويا والفاصولياء واللوبيا الحمراء والتحري عن فعالية مثبطات انزيم اللايبيز البقري ومقارنته مع عقار الاورلستات المستخدم في تثبيط انزيمات اللايبيز.وأوضحت احتواء المستخلصات المائية الباردة والحارة للانواع المدروسة على السابونين والتانين، واحتواءها على متعدد الفينول عدا الفاصولياء وفول الصويا، وانعدم الراتنج في الماش فقط ولم تظهر الستيرويدات في المستخلصات جميعها. استعملت مادة tween80 في التحري عن فعالية انزيمات اللايبيز وفعالية مثبط اللايبيز في المستخلصات المائية للنباتات قيد الدراسة حيث اعطى منطقة متلألأة حول المستخلص المائي البارد لكل من الباقلاء والعدس واللوبياء الحمراء والفاصولياء واحتواء المستخلص المائي الحار للباقلاء فقط على انزيمات لايبيز متحملة للحرارة وانعدمت فعالية انزيمات اللايبيز في كل من مستخلص الماش وفول الصويا والحمص.ظهرت فعالية لمثبط اللايبيز في المستخلصات المائية الباردة والحارة عند الفحص النوعي، وتفوق المستخلص البارد والحار لفول الصويا والحمص على بقية المستخلصات واظهر التحليل الكمي لمثبطات اللايبيز تفوق مستخلص فول الصويا والحمص اذ اعطت تثبيط 100% لانزيم لايبيز البنكرياس البقري وبفعالية تثبيط بلغت472.5 وحدة/ مل مقارنة مع نسبة 85% تثبيط لتركيز 12 ملغم/ مل من عقار الاورلستات.**

**الكلمات المفتاحية: البقوليات، انزيم اللايبيز، مثبط الايبيز، الاورلستات**

**Abstract**

**This research was aimed to determine biological active substances qualitatively in *vicia faba*, lentil, green peas, soybean, beans, redbean. Lipase inhibitors were screened and compared with orlistat drug. All cold and hot extracts contained both saponin and tannin while polyphenol did not exist in *vicia faba* and soybean; rating found in all extracts except greenbeas. Tween 80 was used in lipase and lipase inhibitors screening; lipases activity were detected at cold aqoueus extracts of *vicia faba*, lentil, redbean and beans while heat stable lipase detected at *vicia faba* hot extract only. Extracts of Green peas, soy beans and chick pea lacking lipase activity. Qualitative and quantitative determination of lipase inhibitors activity showed that soybean and chick pea gave the highest lipase inhibition. Each extract caused 100% inhibition with 472.5 unit/ml compared with 85% inhibition for 12 mg/ ml of orlistat.**

**Key words: Legume, lipase enzyme, lipase inhibitors, orlistat**

**المقدمة**

تنتج جميع الكائنات الحية في الطبيعة مجموعة من الانزيمات الذائبة في الماء والتي تعمل على تحليل الدهون وتعرف بالانزيمات المحلله للدهون lipase وتصنف بانها triacyl glycerol hydrolyase EC 3.1.1.3 وهي مجموعة من الانزيمات داخلية وخارجية الانتاج التي تعمل على اعادة تدوير recycling المواد العضوية في الطبيعة من خلال كسرها لأصرة الاستر للكاربوكسيل والموجودة في كليسرول اسيل لتحرير الاحماض الدهنية والكليسرول وتلعب تلك الانزيمات ادوارا مهمة في الطبيعة وتستعمل بصورة كبيرة وواسعة في مختلف التقنيات الاحيائية والصيدلانية والغذائية وقد شخص اكثر من 50 نوعاً من تلك الانزيمات من مصادر طبيعية مختلفة حيوانية ونباتية واحياء مجهرية[1،2]. تنتج البذور ذات المحتوى العالي من الدهون انزيمات اللايبيز بكثرة عند مرحلة الانبات لتحويل الدهون الى احماض دهنية وكليسرول لتدعيم نمو النباتات الفتية كما هو الحال في Conophor وCocchunt [3]. وعلى الرغم من اهمية انزيمات اللايبيز وانتاجها الواسع تم البحث لتطوير مجموعة من المواد تعمل على تثبيطهالاستخدامها في دراسة خواص وفعالية وتركيب الانزيم المحلل للدهون نفسه من مصادر انتاجه وكذلك في المجال الطبي كعلاج لامراض متعلقة بفرط انتاج انزيم اللايبيز مثل بعض امراض تصلب الشرايين والسمنة المفرطة والمساهمة في تقليل فوعة بعض الاحياء المجهرية المعتمدة في فوعتها على انزيمات اللايبيز مثل البكتريا المسببة لحب الشباب (acne) وبكتريا *Staphylococcus aureus* المسببة لالتهاب الضرع في الابقار[ 4،5]. كماتم تطوير مثبط اللايبيز واستخدم كعلاج تحت الاشراف الطبي وسمي العقار بالاورلستات orlistat ويعمل على التثبيط التنافسي لانزيم اللايبيز حيث يتصل مع المجاميع الفعالة لانزيم اللايبيز مانعا عمله وبالنتيجة يقلل من هضم وامتصاص الدهون [6] ووجد كذلك انتاج النباتات لمواد عديدة تعمل على تثبيط انزيمات اللايبيز مثل الصابونيات ومتعدد الفينول والتانين ومواد بروتينية التركيب [7،8] واستخلصت تلك المواد باستخدام طرائق عدة منها الاستخلاص المائي البارد والحار والاستخلاص الكحولي لتفتح تلك المواد الباب لتطوير علاجات جديدة لامراض مختلفة متعلقة بزيادة انتاج اللايبيز[9]. كان الهدف من الدراسة الحالية هوالتحري عن المواد الفعالة بايولوجيا في المستخلصات المائية الحارة والباردة لبعض انواع العائلة البقولية وتحديد فعالية انزيمات اللايبيز نوعيا وكميا وتحديد النبات الاكثر

انتاجا وقياس فعالية مثبطات انزيم اللايبيزفي هذه المستخلصات وكما تمت المقارنة بين النسب المئوية لتثبيط الانزيم عند معاملته مع المستخلصات النباتية وبين تراكيز مختلفة من عقار الاورلستات.

**المواد وطرائق العمل**

**النباتات وطرق الاستخلاص**

استخدمت بذور كل من العدس والباقلاء والفاصوليا والماش وفول الصويا واللوبياء الحمراء المتوافرة في الاسواق المحلية للتحري عن المواد الفعالة بايولوجيا وانزيمات اللايبيز ومثبطات انزيم اللايبيز فيها.

اعتمدت طريقة الاستخلاص المائي الموصوفة من قبل الخفاجي [10] حيث وزن 250 غرام من مسحوق كل من بذور العدس والماش والفاصولياء وفول الصويا واللوبيا الحمراء والباقلاء واضيف الى لتر من الماء المقطر البارد ووضع في الحاضنة الهزازة وبدرجة 37م ولمدة 18 ساعة للاستخلاص المائي البارد، واضيف لتر من الماء المغلي الى مسحوق البذور ووضع في الحاضنة الهزازة مدة30 دقيقة وبدرجة حرارة35م للاستخلاص المائي الحار. نبذت المستخلصات المائية الباردة والحارة مركزياً بسرعة 7000 دورة/دقيقة ولمدة 10 دقائق واستعمل الراشح للتحري عن المواد الفعالة بايولوجيا وفعالية انزيم اللايبيز ومثبط اللايبيز المستخلص وتحديد النسب المئوية للتثبيط.

**تحضير عقار الاورلستات**

حضر محلول خزين من عقار الاورلستات باذابة 120 ملغم/مل من الاورلستات في 10مل من الكحول الاثيلي وحسب طريقة Benarous [ 6].

**التحري عن المواد ذات الفعالية البايولوجية**

تم التحري النوعي عن متعدد الفينول والسابونين والتانين والكيومارين والراتنج والفلافون والتربينوالستيرويد في كل من المستخلصات المائية الباردة والحارة للنباتات قيد الدراسة [11].

**تقدير فعالية انزيم اللايبيز**

حضر انزيم اللايبيز البقري من شركة sigma بتركيز 5 و2.5 ملغم/مل بوساطة محلول كلوريد الكالسيوم ذي التركيز 20 ملي مولاري وذلك للتحري النوعي والتقديرالكمي لفعالية الانزيم على التتابع حيث اعتمدت المناطق المتلألأة لمادة tween80 ( polyethylene glycol sorbitanmonooleate) الشبيه المصنع للاحماض الدهنية [ 12] مع بعض التحويروكالاتي: اضيف 1% من tween 80 الى وسط مكون من بفر Trisبتركيز 0.1 مولاري ذي الرقم الهيدروجيني 7.5 والمحتوي على 20 ملي مولاري من كلوريد الكالسيوم و0.2 مولاري من ملح كلوريد الصوديوم و1.5 غرام اكار وقيست اقطار المناطق المحببة المتلألأة حول الحفر.

تم اعتماد الخفاجي [ 10] في تحديد فعالية مثبط اللايبيز نوعيا في المستخلصات النباتية قيد الدراسة وتراكيز 1.5، 3، 6 و12 ملغم/ مل من عقار الاورلستات حيث حضر مزيج من حجم لمحلول المستخلص النباتي او حجم من كل تركيز للعقار مع حجم من محلول انزيم اللايبيز البقري وحضن المزيج لمدة 10 دقائق ليتم اضافة 0.1 مل من المزيج الى الحفر وحضنت لمدة 18 ساعة لقياس اقطار التحبب المتلألأة وقورنت مع اقطار السيطرة لانزيم اللايبيز لوحده.

وقد تم تحديد فعالية مثبط اللايبيز والنسبة المئوية للتثبيط اعتمادا على الانخفاض الحاصل في فعالية انزيم اللايبيز البقري بتركيز 5 ملغم/مل واعتمادا على [ 13] مع بعض التحويرحيث اضيف 0.4 مل من مزيج انزيم اللايبيز البقري والمستخلص او مزيج الانزيم البقري والاورلستات بتركيز 6،12، 3 ملغم/مل الى 4.1 مل من محلول الترس الداريء ذي الرقم الهيدروجيني 7.5 والمدعم بتركيز3ملي مولاري كلوريد الكالسيوم و1% من tween 80 وحضن المزيج بدرجة 37م لمدة نصف ساعة ليتم قراءة الامتصاص الضوئي عند الطول 500 نانوميتر وحدد الاختلاف في قراءة الامتصاص الضوئي مقارنة مع قراءات انزيم اللايبيز البقري غير المعامل.

**النتائج والمناقشة**

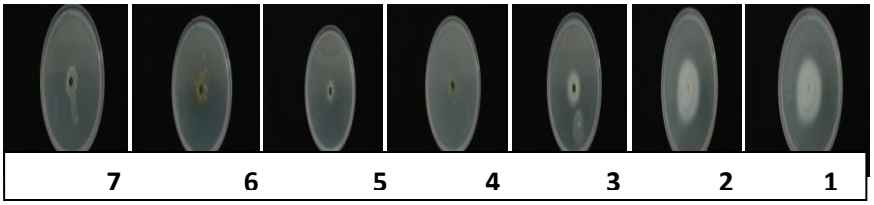
أوضحت النتائج احتواء المستخلصات المائية لنباتات العائلة البقولية المدروسة على العديد من المواد ذات الفعالية البايولوجية. واختلفت فيما بينها من حيث تركيز المادة الفعالة بايولوجيا ومن حيث نوعيتها وكما هو واضح في جدول (1) وتم تقييم النتائج نوعياً اعتمادا على شدة اللون المتكون وفترة ظهوره اذ احتوى المستخلص المائي الحار والبارد للوبياء الحمراء على الفينولات والتانين والسابونين والراتنج والفلافون وظهر التربين في مستخلصات فول الصويا فقط.كما ان الدراسة لم تظهراختلافا بين المستخلصات المائية الباردة والحارة من حيث محتواها من هذه المواد الفعالة. ان احتواء المستخلصات المائية الباردة والحارة لافراد العائلة البقولية على العديد من العوامل المضادة للتغذية يتوافق مع ما اشارت اليه العديد من البحوث من احتواء بذور البقوليات على العديد من العوامل المضادة للتغذية مثل الفينولات والتانين والسابونين في سبيل مقاومة النباتات للمسببات المرضية المختلفة والاصابة بالحشرات. وتختلف هذه المواد من حيث الكمية والنوعية اعتمادا على طريقة الاستخلاص المتبعة و اشارKhokhar [14] الى الدور الكبير لعمليات الاستخلاص في الحصول على المواد الفعالة بايولوجيا وان تطبيق طريقة واحدة قد لاتكفي وكما سجل اختلاف افراد العائلة البقولية بمحتواها من هذه المواد كما ونوعا.

**جدول(1): التحري عن المواد الفعالة بايولوجيا في المستخلصات المائية لبعض افراد العائلة البقولية**

| النبات | مستخلص بارد / مستخلص حار | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | فينول | تانين | صابونين | راتنج | فلافون | تربين | ستيرويد |
| الباقلاء | | | | لم تشخص | | | |
| لوبيا حمراء | +++ | ++ | +++ | ++ | + | - | - |
| | +++ | ++ | +++ | ++ | + | - | - |
| ماش | + | +++ | ++ | - | ++ | - | - |
| | + | +++ | ++ | - | ++ | - | - |
| فول الصويا | - | ++ | ++ | + | _ | + | _ |
| | - | ++ | ++ | + | _ | + | _ |
| عدس | + | + | + | + | - | - | - |
| | + | + | + | + | - | - | - |
| فاصولياء | - | ++ | ++ | + | - | - | - |
| | - | ++ | ++ | + | - | - | - |

**ملاحظة: + وجود مادة الاختبار، - عدم وجود مادة الاختبار**

أوضحت نتائج التحري عن انزيمات اللاييز باستخدام tween80 احتواء المستخلصات المائية الباردة لكل من الباقلاء والعدس كميات متقاربة جدا من انزيم اللاييز بدليل ظهور منطقة تحبب واسعة حول الحفرة تلتهما اللوبياء الحمراء ولم يلاحظ فعالية انزيمية لكل من الماش وفول الصويا شكل (1) وظهرت فعالية انزيم لاييز متحمل للحرارة في المستخلص المائي الحار لبذور البقلاء فقط وانعدمت الفعالية في مستخلصات الماء الحار الاخرى.




**شكل (1) : الكشف عن انزيمات اللاييز في المستخلصات المائية الباردة لعدد من النباتاتالبقولية باستخدام مادة tween80**
**1:انزيم اللاييز البقري 5مليغرام/مل(944وحدة/مل) 2- مستخلص الباقلاء:3- مستخلص اللوبياء الحمراء:4- مستخلص الماش:5- مستخلص فول الصويا:6- مستخلص العدس: 7- مستخلص الفاصولياء**

كما اظهر نتائج قياس اقطار مناطق التحبب المتلألأة ان المستخلص المائي البارد لكل من الباقلاء والعدس يعطي انزيم لاييز اعلى من المستخلصات الاخرى اذ وصلت اقطارهما الى 20 ملم تلتهما مستخلصات اللوبيا الحمراء والفاصوليا لتصل اقطار مناطق التحبب الى 15 ملم جدول (2).

**جدول(2):فعالية انزيمات اللاييز في مستخلصات مائية باردة وحارة لبعض بذور البقوليات**

| نوع النبات | نوع المستخلص: المستخلص المائي البارد القطر+ قطر الحفرة(ملم ) | المستخلص المائي الحار القطر+ قطر الحفرة(ملم ) |
|---|---|---|
| الباقلاء | 20 | 20 |
| لوبيا حمراء | 15 | - |
| ماش | - | - |
| فول الصويا | - | - |
| الحمص | - | - |
| عدس | 20 | - |
| فاصولياء | 15 | - |
| انزيم اللاييز البنكرياسي | 24 | |

**ملاحظة: (الحضن 18- 72 ساعة بدرجة 37°م)**

يستعمل النبات انزيمات اللاييز في تحليل الدهون المخزونة عند الانبات وقد يعزى سبب عدم ظهور فعالية انزيمية لعدة اسباب منها انه قد يثبط بوساطة بعض المثبطات والتي تستخلص جنبا الى جنب مع انزيمات اللاييز كما اشار Enujiugha [16] من ان انزيمات اللاييز في مستخلصات فول الصويا وبعض النباتات الدهنية تكون معدومة بسبب المثبطات الموجودة في النبات او انه يفقد فعاليته عند خروجه من الخلايا بسبب ان معظم انزيمات اللاييز تظهر عند عملية انبات البذور وقد تكون معدومة او قليلة في البذور غير النابتة ويلاحظ انعدام فعالية انزيمات اللاييز في كل من العدس والفاصوليا واللوبيا الحمراء عند الاستخلاص المائي الحار. وقد يعزى السبب الى حساسية بروتين انزيم اللاييز لدرجات الحرارة العالية وانه يتعرض الى مسخ البروتين بدرجات الحرارة العالية فاقدا فعاليته. ولوحظ بقاء فعالية اللاييز لمستخلص الباقلاء وقد يكون سبب ذلك لثبات بروتين الانزيم نفسه او لفعالية بعض المواد التي تعمل على المحافظة على التركيب الثلاثي لبروتين الانزيم مثل بروتينات الصدمة الحرارية heat shock protein و chaperons كما اشار Al-Whaibi [17] ان بروتينات الصدمة الحرارية قد يتم التعبير عنها

عند تعريض النبات الى عوامل الشد البيئي فقط وان البعض الاخر من هذه البروتينات يتم التعبير عنه بوجود عوامل الشد البيئي او عدمها لتوفر تلك البروتينات حماية للانزيمات وبروتينات الخلية الاخرى عند تعرض النبات المختلف عوامل الشد البيئي الخارجية.

اظهرت النتائج اعلاه امكانية استخدام tween 80 كمادة أساس في الكشف عن فعالية انزيم اللاييز المنتج من المستخلصات النباتية حيث يحتوي على الحامض الدهني الاوليت والذي يعطي عند تحلله وبوجود كلوريد الكالسيوم مناطق محببة متلألأة لفعالية انزيمات اللاييز الحقيقية ومن محاسن هذه الطريقةعدم تداخل الارقام الهيدوجينية للمستخلصات مع نتائج الاختبار سهولة اجراءه والكشف عن الفعالية وعدم احتياجه لمعاملات اضافية ومواد مكلفة ومن مساؤه الوقت اللازم لظهور نتيجة الاختبار حيث يصل 18-72 ساعةوان الكشف يعتمد على عامل الانتشار في الاكار وهذا يتناسب مع Slifkin [18] الذي استعمل وسطا مضافا اليه مادة tween80 في التحري عن انزيم اللاييز لخميرة *Candida* من خلال ظهور مناطق محببة حول النمو.

بين الكشف النوعي عن المثبطات احتواء المستخلصات المائية الباردة والحارة على كميات مختلفة من مثبط انزيم اللاييز بدليل انخفاض قطر منطقة التحبب حول الحفر وللمعاملات جميعها اذ لوحظ تفوق المستخلص المائي البارد والحار لكل من فول الصويا والحمص في تثبيط انزيم اللاييز حيث انخفض قطر فعالية اللاييز البنكرياسي من 34 ملم ليصل الى 20 ملم للمستخلصات الباردة و18ملم فقط للمستخلصات الحارة ولكلا النباتين. واظهرت المستخلصات المائية الباردة لكل من الباقلاء واللوبيا الحمراء والعدس والفاصوليا تقاربا في فعالية مثبط اللاييز ليصل قطرالفعالية الى 25ملم ثم يليهم الماش ليصل الى 28 ملم، ويوضح جدول (3) اقطار فعالية اللاييز المعامل مع المستخلصات المائية الباردة والحارة للنباتات قيد الدراسة مقارنة مع انزيم السيطرة غير المعامل.

**جدول(3): التحري عن مثبطات اللاييز في مستخلصات مائية باردة وحارة لبعض النباتات**

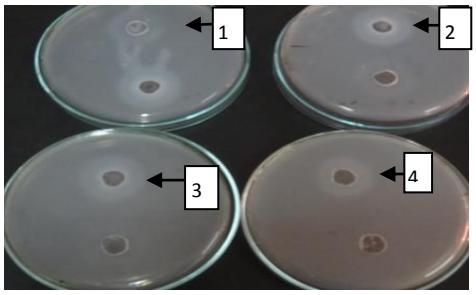
| نوع النبات | نوع المستخلص | |
|---|---|---|
| | المستخلص المائي البارد القطر+ قطر الحفرة(ملم ) | المستخلص المائي الحار القطر+ قطر الحفرة(ملم ) |
| الباقلاء | 25 | 26 |
| لوبيا حمراء | 25 | 23 |
| ماش | 28 | 20 |
| فول الصويا | 20 | 18 |
| الحمص | 20 | 18 |
| عدس | 25 | 19 |
| فاصولياء | 25 | 24 |
| انزيم اللاييز البنكرياسي | 34 | |

اظهر القياس الكمي لمثبط اللاييز اختلاف فعالية المثبط والنسب المئوية للتثبيط لمستخلصات النباتات قيد الدراسة وتبين ان المستخلصات المائية الباردة والحارة لفول الصويا اعطت تثبيط كامل حيث انعدمت فعالية انزيم اللاييز ذي التركيز 2.5ملغم/مل والحاوي على472.5 وحدة /مل واظهر المستخلص المائي البارد للحمص تثبيط بنسبة 100% بينما انخفضت نسبة التثبيط لتصل الى 85.1% في مستخلصه الحار وهذا يختلف عن نتائج الفحص النوعي وقد يعود السبب الى ان العديد من مثبطات اللاييز هي ذات طبيعة بروتينية حساسة للحرارة كما ان الوقت الطويل للفحص النوعي قد يعطي المجال لظهور الفعالية التثبيطية ولوحظ ان المستخلصات الباردة والحارة للباقلاء اعطت فعالية تثبيط منخفضة وقد يعود السبب الى احتواءها على انزيمات اللاييز داخلية مقاومة للحرارة كما اشير لذلك سابقا والتي تعمل على تحلل tween80 جنبا الى جنب مع انزيم اللاييز البنكرياسي او قد يكون المثبط ذي تركيب بروتيني حساس للحرارة التي تعمل على مسخه وتغيير فعاليته ويشير جدول (4) الى فعالية مثبطات اللاييز في المستخلصات المائية الباردة والحارة للبذور قيد الدراسة.اشارت العديد من المصادر على احتواء النباتات على مواد تعمل على تثبيط انزيمات اللاييز منها بروتينية التركيب مثل فول الصويا [15] ووجد DeSouza [19] ان نبات (Less) *Baccharistrimera* له تأثير مثبط على انزيم اللاييز كما اشار Validar [20]ان للكنين المستخلص من العدس دورا فعالا في تثبيط بعض الانزيمات حيث يعمل على الارتباط معها مانعا عملها.

**جدول(4):فعالية مثبطات اللاييز والنسب المئوية للتثبيط في مستخلصات باردة وحارة لبعض افراد العائلة البقولية**

| نموذج النبات | عدد وحدات انزيم اللاييز(وحدة/مل) | مستخلص مائي بارد مستخلص مائي حار عدد وحدات المثبط (وحدة/ مل) | النسبة المئوية للتثبيط(%) |
|---|---|---|---|
| انزيم اللاييز البقري 2.5 ملغم/مل | 472.5 | 0 | 0 |
| | 432 | 40 | 8.6 |
| الباقلاء | 452 | 20 | 4.3 |
| | 432 | 40 | 8.6 |
| لوبياء حمراء | 318.7 | 153.3 | 32.6 |
| | 91.5 | 380.5 | 80.7 |
| ماش | 153 | 319 | 67.7 |
| | 0 | 472 | 100 |
| فول الصويا | 0 | 472 | 100 |
| | 0 | 472 | 100 |
| حمص | 70.5 | 401.5 | 85.1 |
| | 411 | 61 | 17 |
| عدس | 230.2 | 241.8 | 51.3 |
| | 67.5 | 404.5 | 85.5 |
| فاصولياء | 58 | 414 | 81 |

اظهرت نتائج فعالية مثبط الاورلستات ان تركيز 12 ملغم /مل من العقار ادى الى تثبيط جزئي لانزيم اللايبيز ذي التركيز 5 ملغم/مل وبفعالية انزيمية قدرت 944 وحدة/مل حيث ظهرت المنطقة المتلألأة ذات كثافة اقل من السيطرة ولم تسجل تغييرا في قطرها وهذا يختلف مع نتائج الفحص النوعي للمثبط في المستخلصات النباتية وقد يعود السبب الى احتواء المستخلصات قيد الدراسة على خليط من المواد ذات الفعالية البايولوجية والتي يؤدي العديد منها الى تثبيط انزيم اللايبيز وقد ظهرت تراكيز 6،3،1.5 ملغم/مل اورلستات اقرب الى معاملة السيطرة. وبينت معاملة 12 ملغم/ مل من الاورلستات مع تراكيز نصفية لانزيم اللايبيز نفسه حصول تثبيط كامل لتركيزي 1.25 و 0.65 ملغم/مل من انزيم الايبيز بدليل اختفاء المنطقة المحببة المتلألأة حول الانزيم وتثبيط جزئي لتركيز2.5ملغم/مل شكل (2).




**شكل (2): تثبيط الاورليستات بتركيز 12 ملغم/ مل لتراكيز مختلفة من انزيم اللايبيز البنكرياسي البقري**

1- **تركيز 5ملغم/مل انزيم لايبيز بنكرياسي(اعلى): خليط الانزيم مع الاورليستات 12ملغم/مل(اسفل).**
2- **تركيز 2.5ملغم/مل انزيم لايبيز بنكرياسي(اعلى): خليط الانزيم مع الاورليستات 12ملغم/مل(اسفل).**
3- **تركيز 1.25ملغم/مل انزيم لايبيز بنكرياسي(اعلى): خليط الانزيم مع الاورليستات 12ملغم/مل(اسفل).**
4- **تركيز 0.65ملغم/مل انزيم لايبيز بنكرياسي(اعلى): خليط الانزيم مع الاورليستات 12ملغم/مل(اسفل).**

ومن نتائج الفحص النوعي تم اختيار تركيز 2.5 ملغم/مل (472.5 وحدة/ مل) من اللايبيز لمتابعة نسب التثبيط المئوية كميا باستخدام تراكيز مختلفة من عقار الاورلستات ولوحظ ان تركيز 12 ملغم/مل من عقار الاورلستات ادى الى تثبيط 85% من فعالية انزيم اللايبيز البقري وبفعالية مثبط وصلت الى 397.5 وحدة مثبط/ مل وانخفضت نسبة التثبيط المئوية للتراكيز الاخرى وكما هو واضح في جدول (5).

**جدول(5): فعالية تراكيز مختلفة من عقارالاورلستات في تثبيط اللايبيز البقري والنسب المئوية للتثبيط**

| التركيز ملغم/ مل | فعالية اللايبيز وحدة/ مل | فعاليةالمثبط وحدة/مل | النسبة المئوية للتثبيط % |
|---|---|---|---|
| انزيم اللايبيز البقري 2.5ملغم/مل | 472.5 | 0 | 0 |
| الاورليستات 12ملغم/مل | 75 | 397.5 | 85 |
| الاورليستات6ملغم/مل | 135 | 337.5 | 71.5 |
| الاورليستات3ملغم/مل | 225 | 247 | 48 |

اشارت العديد من المصادر الى التأثير المثبط لعقارالاورلستات على انزيمات اللايبيز البنكرياسية واستخدامه تحت الاشراف الطبي في علاج بعض الحالات كالسمنة ودراسة تأثيراته وتداخلاته الدوائية وكما اقترح استخدامه في تثبيط انزيم اللايبيز المهم في ضراوة *Candida* [6].
يلاحظ عند مقارنة التأثير المثبط لانزيم اللايبيز والمنتج من المستخلصات قيد الدراسة مع عقار الاورلستات تفوق المستخلصات المائية الباردة والحارة لبذور فول الصويا والمستخلص البارد للحمص على العقار حيث ادى استخدامها الى تثبيط 100% لفعالية 472.5 وحدة انزيم/ مل مقارنة مع تثبيط 85% من الانزيم باستخدام تركيز 12 ملغم/ مل من الاورلستات كما تعد بذور فول الصويا والحمص والافراد الاخرى من البقوليات من الاغذية المهمة والشائعة الاستخدام خصوصا لدى الشعوب الفقيرة وذلك لمحتواها العالي من البروتين وذلك على عكس عقار الاورلستات والذي يؤخذ تحت اشراف طبي ويؤدي استخدامه الى نقص في بعض الفيتامينات الضرورية حيث ينصح بأخذ ما يسد نقص هذه الفيتامينات. ومن سلبيات المستخلصات تحت الدراسة هي الحاجة الى تنقية المواد ذات الفعالية البايولوجية بشكل منفصل وقياس تراكيزها ودراسة تأثيرها والية عملها المثبط لانزيم اللايبيز.

**المصادر**


1. Abdul Hamid, N,S., Zen, H. B., Tein, O. B., Halifah, Y. M., Saari, N. and Abu Bakar, F. (2003). Screening and identification of extracellular lipase- producing thermophilic bacteria from a Malaysian hot spring. World J. of Microbiology and Biotechnology. 19: 961- 968.
2. Ejedegba, B.O., Onyeneke, E.C. and Oviasogie, P.O. (2007). Characterics of lipase isolated from coconut (*Cocosnucifera*linn) seed under different nutrient treatments. African J. of Biotechnology. 6(6): 723- 727.
3. Moreno, D. A., Ilic, N., Poulev, A., Brasaemle, D.L., Fried, S. K. and Raskin, I. (2003). Inhibitory effects of Grape seed extract on lipases. Nutrition. 19: 876- 879.
4. Ikarashi, N., Tekeda, R., Ito, K., Ochiai, W. and Sugiyama, K. (2011). The inhibition of lipase and glucosidase activities by Acacia polyphenol. Evidence Based Compllementary and Alternative Medicine, 10.

5. Nair, M. K. M., Joy, J., Vasudevan, P., Hinckley, L., Hoagland, T. A. and Venkitanarayanan, K. S. (2005). Antibaceial effect of caprylic acid and monocaprilin on major bacterial mastitis pathogens. J. Dairy Science. 88: 3488- 3495.
6. Benarous, K. and abderrahman, L. (2011). Selection of orlistat as a potential inhibitor for lipase from *Candida* species. Bioinformation. 7(3):125- 129.
7. Birari, R. B. and Bhutani, K.K. (2007). Pancreatic lipase inhibitors from natural sources: unexplored potential. Drug Discovery Today. 12(19/20): 979- 889.
8. Gholamhoseinian, A., Shahouzehi, B. and Sharifi- far, F. (2010). Inhibitory effect of some plant extracts on pancreatic lipase. J. pharmacology. 6: 18- 24.
9. Nakai, M. Fuki, Y., Toyoda-Ono, Y., Iwashita, T., Shibata, H., Mitsunaga, T. Hashimoto, F. and Kiso, Y. (2005). Inhibitory effects of oolong tea polyphenols on pancreatic lipase in vitro. J. Agricultural Food Chemistry. 53(11): 4593- 4598.
10. الخفاجي، خلود عبد الاله وسحرغازي عمران وعادل سعدي سلمان وميعاد عدنان عبد الرزاق وسلمان عبود حمود وعبود حيون. (2011). استخلاص مثبط التربسين من بعض افراد العائلة البقولية وتحديد الظروف المثلى لاستخلاص المثبط من بذور العدس *Lens culinaris*. مجلة الزراعة العراقية البحثية (عدد خاص)، مجلد 16(4).
11. الزبيدي، لبيب أحمد كاظم. ( 2005). الفعالية التثبيطية لمستخلصات قلف نبات القرفة (الدارسين) ضد بعض الأحياء الدقيقة لاستخدامها في حفظ اللحم المفروم. رسالة ماجستير، معهد الهندسة الوراثية والتقنيات الاحيائية للدراسات العليا، جامعة بغداد.
12. Samad, M. Y. A. Razak, C. N. A., Salleh, A., Yunus, W. M. Z. W., Ampon, K. and Basri, M. (1989). A plate assay for primary screening of lipase activity. J. Microbiological Methods. 9:51- 56.
13. Von Tigerstrom, R. and Stelmaschuk, S. (1989). The use of tween 20 in a sensitive turbidimetric assay of lipolytic enzymes. Canadian J. of Microbiology. 35(4): 511- 514.
14. Khokhar, S. and Apenten, R. K. O. (2011). Antinutritional factors in food legumes and effects of processing, in The role of food, agriculture, forestry, and fisheries in human nutrition- vol IV, Encyclopedia of life support systems (EOLSS).
15. Wang, S.M. and Huang, A. H. C. (1984). Inhibitors of lipase activities in Soybean and other oil seeds. Plant Physiology. 76, 929-934.
16. Enujiugha, V. N. (2009). Isolation and preliminary characterization of conophor nut (*Tetracarpidiumconophorum*) lipase. African J. Biochemistry Research. 3(2), 009- 012.
17. Al- Whaibi, M. H. (2010). Plant heat –shock proteins: A mini review. J. King Saud University(Science).
18. Slifkin, M. (2000). Tween 80 opacity test responses of various *Candida* species. J. Clin. Microbio. 38(12), 4626- 4728.
19. DeSouza, S. P., Pereira, L. L. S., Souza, A. L. and dos Santos, C. D. (2011). Inhibition of pancreatic lipase by extracts of Baccharistrimera (Less.) DC., Asteraceae: bevaluation of antinutrients and effecton glycosidases.Revista Brasileira de Farmacognosia. 21(3).
20. Validar, A. N., Lourenco, E. J. and Silva, M. A. (1997). Effect of lentil tannins on albumine hydrolysis by trypsin. CienciaeTecnologia de Alimentos. 17(3): 208-212.