مجلة جامعة بابل / العلوم / العدد (3) / المجلد (14) : 2007

تأثير تداخل المستخلص العضوي لبذور نبات الحلبة -*Trigonella foenum greacum L.* ومادة الاكريلامايد في بعض معايير الدم الهرمونية وأوزان الأعضاء التناسلية عند ذكور الجرذان البيض.

علاء الدين صبحي ألسلامي

كلية العلوم –جامعة الكوفة

الخلاصة

أجريت هذه الدراسة لمعرفة مدى تأثير مستخلصي خلات الاثيل والكحول الاثيلي لبذور نبات الحلبة بعد التداخل مع مادة الاكريلامايد عند ذكور الجرذان البيض التي حقنت بها في مستوى بعض معايير الدم الهرمونية والتي شملت هرمون الشحمون الخصوي والهرمون المحفز للجريب والهرمون اللوتيني وأوزان الخصى والبرابخ وقد أظهرت نتائج الدراسة وجود زيادة معنوية ($P<0.05$) في جميع المعايير المستخدمة وأوزان الأعضاء التناسلية عند الحيوانات المحقونة بمستخلصي الحلبة ومادة الاكريلامايد في حين وجود انخفاض معنوي ($P<0.05$) عند الجرذان المحقونة بمحلول الاكريلامايد فقط عند مقارنة المجاميع المدروسة مع مجموعة السيطرة .

Abstract

This study was accomplished to know the effect of two extracts ethyl acetate and ethyl alcohol for Trigonella foenum – graecum plant seeds after interacted with acryl amide material in white male rats after injected with it .

The hormonal criteria which includes testosterone ,floccules stimulating hormone (FSH) ,lutiliazing hormone (LH) and the weight of the testis ,epipdydims were estimated .

The results were showed a significant increase ($p <0.05$) in all of the critical using in this study and the weight of reproductive organs in the animals were injected by two extracts and acryl amide material whereas the study was showed a significant decrease ($p < 0.05$) in all rats that injected by acryl amide solutions only when compared the all animals groups with control group .

المقدمة

يعدُ نبات الحلبة ***Trigonella foenum-greacum L*** الذي ينتمي إلى العائلة القرنية (البقولية) **Liguomenacea (Fabasceae)** ذات الأوراق المركبة التي تكون ذات ثلاث وريقات بيضوية الشكل مقلوبة والأزهار بيضاء مائلة إلى الاصفرار أحيانا تخرج من إبط الورقة والثمار قرنية مفلطحة تحوي بذور معينية الشكل ملساء ذات رائحة نفاذة لونها قهوائي مصفر (ألحميدي ،2000 .; المياح ,2001) من النباتات والأعشاب التي لها أهمية طبية واسعة وذالك لاحتوائها على مركبات فعالة طبياً مثل ترايكوجنينين وبعض الحوامض الامينية والفيتامينات المهمة فقد ذكر **Raju** وجماعته (2004) إن بذور الحلبة تحتوي على الدايسوجنين **Diosogenin** الذي يعد المادة الأساس لتحضير الكورتيزون **Cortisone** والهرمونات الجنسية و**Prolamine** وتعد مصدراً للكالسيوم وفيتامين **D** و**C** وتحتوي بذور الحلبة على القلويدات وهي ترايكونيلين **Trigonellin** بنسبة 0.7% والكولين **Choline** والـ **Betaine** والتانين **Tanin** ومانوكالاكتان **Mannogalactan** و**Resin** و **Trigonellin** والتي تعزى إليه الفعالية الدوائية للنبات وحامض **Nicotinic**. والزيت المستخلص من بذور الحلبة يحتوي على العديد من الأحماض الدهنية مثل **Archidic** و **Oliec** و **Linoleic** و **Linolenic** و **Plamatic acid** و **Stearic** (**Tice** , 1997 .; **Edwards** وجماعته ,2002) كما تحتوي البذور على مواد صمغية 28% **Mucilage** و5% زيوت ثابتة **Fixed oil** و22% زيوت طيارة **Volatile oil**، كما تحتوي على الفلافونيدات مثل مركبات الفيتكسين **Vitexin** الايزوفيتكسين **Isovitexin** وكورسيتين **Querceitin**، وكما تحتوي على الفيتامينات والبروتينات منها **Albumin** والكلوبيولين و**Prolamine** وكذلك على مركبات الفوسفات والحديد واللسيثين **Lecithin**

والألبومين النووي **Nucleo-Albumin (Makal** وجماعته ,2004). أكدت دراسات متعددة امتلاك الحلبة صفات مدرة للبن الأم وقد لحظ ذلك من خلال زيادة كمية الحليب المطروحة لدى النساء اللواتي تناولن بذور الحلبة ووجد أيضا إن لها تأثيراً في زيادة هرمون البرولاكتين . **(Swaffowrd** و **Berens , 2000.; Hale , 2002)** . وأثبتت دراسة ألسلامي(2004) إن مستخلصي خلات الاثيل والكحول الاثيلي لبذور نبات الحلبة تؤدي إلى زيادة الخصوبة عند إناث الفئران البيض فقد وجد زيادة في أعداد الجريبات المبيضية الأولية والثانوية وحويصلات كراف وأوزان المبايض وأقطارها في جميع حيوانات التجربة المعاملة بمستخلصي الحلبة عن مجموعة السيطرة , وقد أكدت دراسة عوض(2006) في تحسين الكفاءة التناسلية للفئران البيض المعاملة بمستخلص خلات الاثيل لبذور الحلبة عن تلك الحيوانات المحقونة بهرمون البروجستون .

إن الجهاز التناسلي الذكري مكون من أعضاء أساسية منها الخصيتان **testes** والتي وظيفتها إنتاج هرمون الجنس الذكري (الشحمون الخصوي **testesteron**) والحيوانات المنوية وكذالك أعضاء ثانوية من بينها البربخ **epididymis** التي يكتمل عندها نضج الحيوانات المنوية وان النضج الجنسي لعمل اغلب الهرمونات الجنسية التي منها هرمون الشحمون الخصوي **Testosterone** والهرمون المحفز للجريب **FSH (Follicle Stimulating Hormone**) والهرمون المحفز للخلايا البينية **LH (Luteinizing Hormone)** يصبح فعال عند نضج الخصية والبربخ (المبروك والرحال ,1989.; عجام وجماعته,1990.; **Guyton** و **Hall** ,2006).وقد وجد **Hayashi** وجماعته (1989) إن مادة الاكريلامايد التي وزنها ألجزيئي (71.09) وصيغتها الكيميائية **(CH2CHONH2**) هي مادة كيميائية متبلورة عديمة اللون والرائحة وهي مادة مسرطنة وسامة للخلايا العصبية وان العديد من هذه المواد تحدث تنكساً خصويا وتغير في بعض معايير الدم,فقد أشار الدجيلي (2002) في دراسته إن مادة الاكريلامايد تعمل على استحداث عقم وتقلل من النسبة المئوية للنطف الحية وتزيد من النسبة المئوية للنطف الميتة عند ذكور الحيوانات المختبرية.ولذالك كان الهدف من البحث هو استحداث حالة العقم عند ذكور الجرذان البيض بواسطة محلول الاكريلامايد وإزالة هذا التأثير من خلال تداخله مع مستخلصي بذور الحلبة وقياس مستوى بعض معايير الدم الهرمونية وأوزان الأعضاء التناسلية ومقارنة جميع المعاملات مع مجموعة السيطرة .

المواد وطرائق العمل

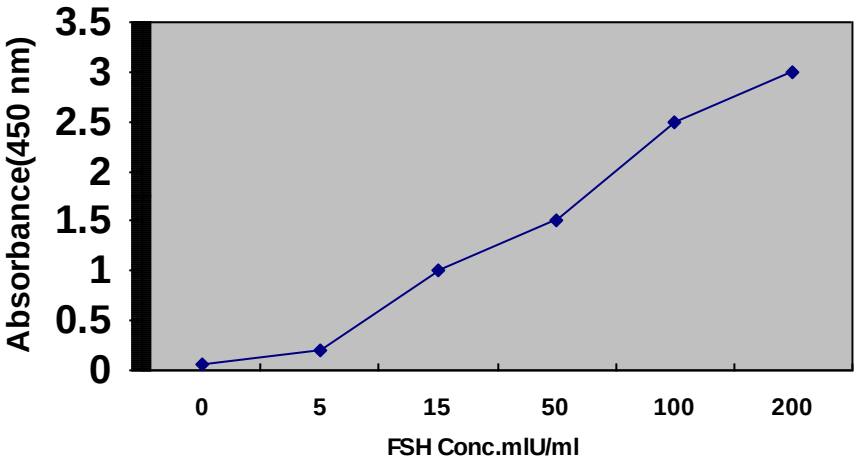
تم استخدام (40) جرذ ابيض مختبري في هذه التجربة ووزعت على أربعة مجاميع ,المجموعتان الأولى والثانية حقنت بمستخلصي خلات الاثيل والكحول الاثيلي على التتالي بالتعاقب مع حقنات مادة الاكريلامايد بتركيز 50ملغم/كغم من وزن الجسم واعتمدت طريقة الدجيلي (2001) باستخدام تراكيز الحقن , حيث قسمت هاتين المجموعتين على قسمين بواقع(5)حيوانات لكل قسم من كل مجموعة وللتركيزين (400,800) ملغم/كغم ولكلا المستخلصين ,أما المجموعة الثالثة حقنت بمحلول الاكريلامايد فقط وتركت المجموعة الرابعة كمجموعة سيطرة حيث حقنت بمحلول المحلول الفسلجي **normal Saline** وكان حجم الحقن المستخدم ولجميع المحاليل هو (0.25 مل) من كل محلول.

وتمّ تحضير مستخلصي المذيبات العضوية لبذور نبات الحلبة حسب طريقة **Ladd** وجماعته (1978) حيث بعد الحصول على محلول اصلي **stock solution** تركيزه 0.2 غم/ مل حضرت التراكيز (400,800) ملغم/كغم لمستخلصي خلات الاثيل والكحول الاثيلي لبذور الحلبة و 50 ملغم /كغم من محلول الاكريلامايد حسب المعادلة **(N1V1=N2V2)** وتمّ حقن جميع حيوانات التجربة لمدة 54 يوم تحت الجلد . بعد سحب الدم

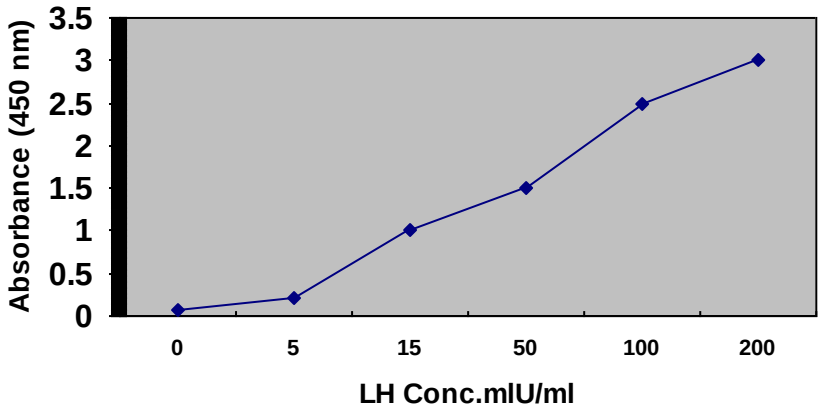
والتضحية بالحيوانات استؤصلت الأعضاء التناسلية (الخصية والبربخ)ووزنت بميزان حساس واستعملت طريقة فحص الامتصاص المناعي لوصلة الأنزيم **(Enzyme –Linked immunoabsorbent assay ELISA(** والتي وصفت من قبل**Wistom**(1976) و **Uotila** وجماعته(1981) لقياس معايير الدم الهرمونية**FSH , LH, Testosterone** وحسب الطريقة الاتية :-

1- يضاف 25-100 مايكرولتر **ul** (كل حسب طريقته) من المحاليل القياسية ذات الدلالة وبتراكيز وحدات مختلفة والنموذج والسيطرة في حفر الصفيحة ذات المعايير الدقيقة .
2- يضاف 100 مايكرولتر **ul** من كاشف الإنزيم الرابط (نفس الإضافة لجميع طرق عمل الهرمونات)
3- يتم الخلط بدقة لمدة 10-30 ثانية ويتم الحضن في درجة حرارة الغرفة 18-25 درجة مئوية أو في الحاضنة ضمن هذه الدرجة من 60-120 دقيقة(كل حسب طريقة عمله).
4- يتم إزالة الخليط المحضون من الحفر بواسطة النقر بالإصبع أو بأجهزة خاصة لسحب هذا الخليط وتغسل الصفيحة ذات المعايير الدقيقة خمس مرات بالماء المقطر .
5- تدق الصفيحة ذات المعايير الدقيقة بشدة على ورقة مجفف أو ممتصة **Paper towels or absorbent paper** لإزالة قطرات الماء المتبقية .
6- يضاف 100 مايكرولتر **ul** من المادة الأساس (إضافة ثابتة في كل طرق العمل)ثم يمزج بلطف لمدة 5-10 ثانية (كل حسب طريقة عمله)والحضن في درجة حرارة الغرفة وفي مكان مظلم لمدة 20 دقيقة.
7- يضاف 100 مايكرولتر **ul** من محلول إيقاف التفاعل **(1N Hcl) stop solution** والإضافة ثابتة في كل طرق العمل .
8- الخلط بلطف لمدة 30 ثانية (ثابتة لكل طرق العمل)وان هذه المرحلة مهمة جدا ويجب عملها بالضبط لإتمام تغيير كل اللون الأزرق إلى اللون الأصفر .
9- يتم قراءة الامتصاصية على طول موجي 450 نانومتر وخلال 15 دقيقة .
10- يتم ترتيب المنحني القياسي بواسطة رسم العلاقة بين الامتصاصية والتراكيز القياسية ذات الدلالة وبوحدات مختلفة لكل هرمون .
11- يتم استخراج قيمة مستوى كل هرمون من هذه الهرمونات من المنحني القياسي الخاص بكل هرمون.

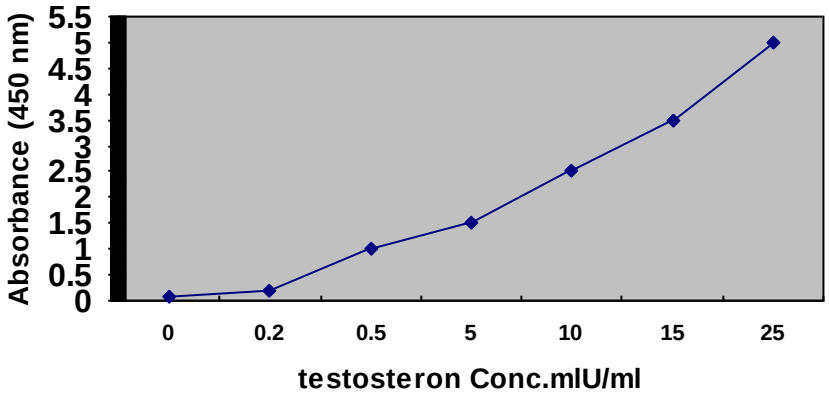
تمّ تحليل نتائج التجربة باستعمال التصميم تام التعشية **Factorial experiments with completely randomized design** والمتضمن تصميم التجربةالعاملية وقد تم استعمال اختبار اقل فرق معنوي **Least Significant difference L.S.D** المتضمن الخطاء القياسي وتحت مستوى احتمال 0.05 (**Daniel**, 1983).



شكل (1) يمثل المنحنى القياسي لهرمون FSH



شكل (2) يمثل المنحنى القياسي لهرمون FSH



شكل (3) يمثل المنحنى القياسي لهرمون testosterone

النتائج والمناقشة

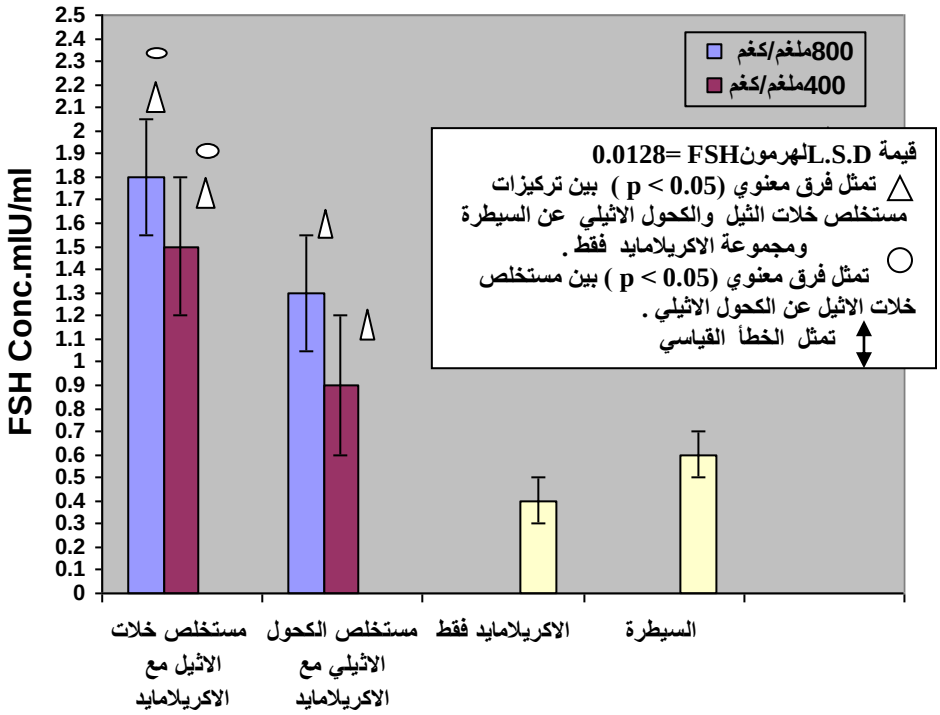
أظهرت نتائج الأشكال (6,5,4) زيادة معنوية واضحة (**P<0.05**) في جميع مستوى معايير الدم الهرمونية لدى ذكور الجرذان البيض المعاملة بمستخلصي المذيبات العضوية لبذور نبات الحلبة ومادة الاكريلامايد ,فقد يعود سبب الزيادة الحاصلة في هرمون الشحمون الخصوي **Testosterone** هو زيادة في عدد المستقبلات الخاصة بهذا الهرمون أو نتيجة التأثير على الغدة النخامية وزيادة في تطور خلايا سرتولي لإنتاج البروتين المرتبط بالاندروجين وهذا ما أشار إليه كل من **Parakash** وجماعته (1998) و **Lim** (2002) حيث أكد الأخير على إن نبات الحلبة تحتوي على مواد فعالة مثل الصابونيات والدهون والأحماض الامينية والزيوت فضلا عن عناصر معدنية أخرى تعمل على زيادة انقسام الخلايا وتكوين النطف ,فقد أكد كل من **EL-Bekairi (1990)** و الدجيلي (2002) والجبوري (2005)إن زيادة عدد النطف الناضجة في داخل النبيبات الناقلة للمني والبربخ والزيادة في أعداد ارو مات النطف وطلائع النطف أيضا هي نتيجة زيادة إفراز خلايا لايدك لهرمون الشحمون الخصوي مما يعمل على زيادة نضج النطف وتكوينها .

أما الزيادة الحاصلة في مستوى الهرمونين **FSH** و **LH** فقد يعود سبب ذالك إلى مساهمة مستخلصي الحلبة في زيادة مستوى هرمون **FSH** و **LH** من خلال تأثيره في الدماغ تحت المهاد لإفراز مستويات أعلى من **Gonadotropin Releasing Hormone** وهذه النتيجة جاءت مشابهة إلى ما ذكره **Miyake** وجماعته (1998) من خلال استعماله عشبا صينيا يدعى **ting-tung-weng** إذ لاحظ زيادة في مستويات هرمون **FSH** و **LH** , وشابهت هذه النتيجة أيضا إلى **Moundipa** وجماعته (1999) عندما درسوا تأثير المستخلص المائي للأوراق الطرية والجافة لنبات ***Hibiscus macranthus*** و ***Basella alba*** في الجهاز التناسلي الذكري ووجدوا إن استعمال هذا المستخلص مدة (15) يوم أدى إلى حدوث زيادة معنوية في أوزان الحويصلة المنوية عند دراسة الخصى نسيجيا لاحظوا زيادة في حزم النطف في داخل النبيب المنوي وزيادة في هرموني **LH** و **Testosterone** .

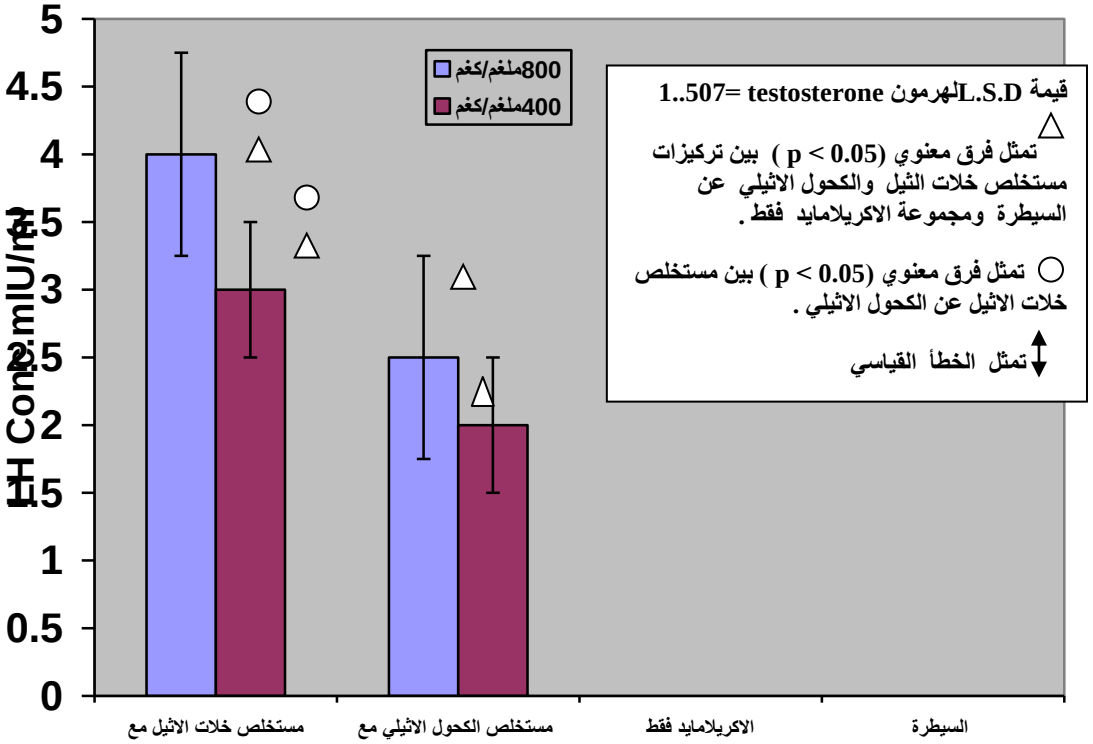
وقد أظهرت الأشكال أيضا فروق معنوية واضحة (**P<0.05**) بين التركيزين (400,800) ملغم/كغم لكل مستخلص مع مادة الاكريلامايد وكذالك بين مستخلص خلات الاثيل الذي أبدى تأثيرا معنوياً أعلى من مستخلص الكحول الاثيلي وأيضا عن مجموعتي السيطرة ومادة الاكريلامايد فقط حيث ذكر ألسلامي (2004) آن هذه النتيجة تفسر على أساس أن مستخلص خلات الاثيل يساعد على استخلاص المركبات ذات القطبية المتوسطة مثل المركبات الفينولية التي يمكن أن تعزى إليها الزيادة المذكورة أنفا .

لم تظهر النتائج أي فرق معنوي(**P<0.05**) بين التركيزين (400,800) ملغم /كغم في أوزان الأعضاء التناسلية (الخصية,البربخ) لذالك كانت نتائج الشكل (7) تمثل فروق معنوية واضحة(**P<0.05**) بين مستخلصي خلات الاثيل والكحول الاثيلي مع مادة الاكريلامايد وفي التركيز 800 ملغم /كغم فقط في وزن الخصية والبربخ بين نوعي المستخلص (خلات الاثيل والكحول الاثيلي) المتداخلة مع الاكريلامايد عند مقارنتها مع مجموعتي الاكريلامايد لوحدها والسيطرة ,لذا فان الزيادة الحاصلة في وزن الخصية قد تفسر على أساس الزيادة المتمثلة في هرمون **LH** وهذا الأخير من شانه يساعد على تمييز خلايا لايدك وتحفيزها وزيادة عددها والتي من شانها إفراز هرمون الشحمون الخصوي **testosterone** وزيادة هذا الهرمون تكون متزامنة مع الزيادة في وزن الخصية وماثلت هذه النتيجة إلى ما ذكره كل من الدجيلي (2001) والهلالي (2002) و **Lim** وجماعته (2002) ولكن باختلاف المادة أو العشب المستخدم للتحفيز ,أما ما يتعلق بزيادة وزن البربخ فقد أصبحت به زيادة معنوية واضحة (**P<0.05**) بعد المعاملة بنوعي المستخلصين المتداخلة مع مادة الاكريلامايد ويمكن إن تفسر هذه النتيجة على أساس الزيادة في هرمون الشحمون الخصوي أو زيادة في عدد المستقبلات الخاصة بهذا الهرمون **Testosterone** مما قد يعمل على زيادة استجابة هذا العضو ومن ثم زيادة في وزن البربخ وماثلت هذه النتيجة وباختلاف المادة المستخلصة للتحفيز إلى كل من **Pommerts** (1990) و **Parakash** وجماعته(1998) والجبوري (2005) .

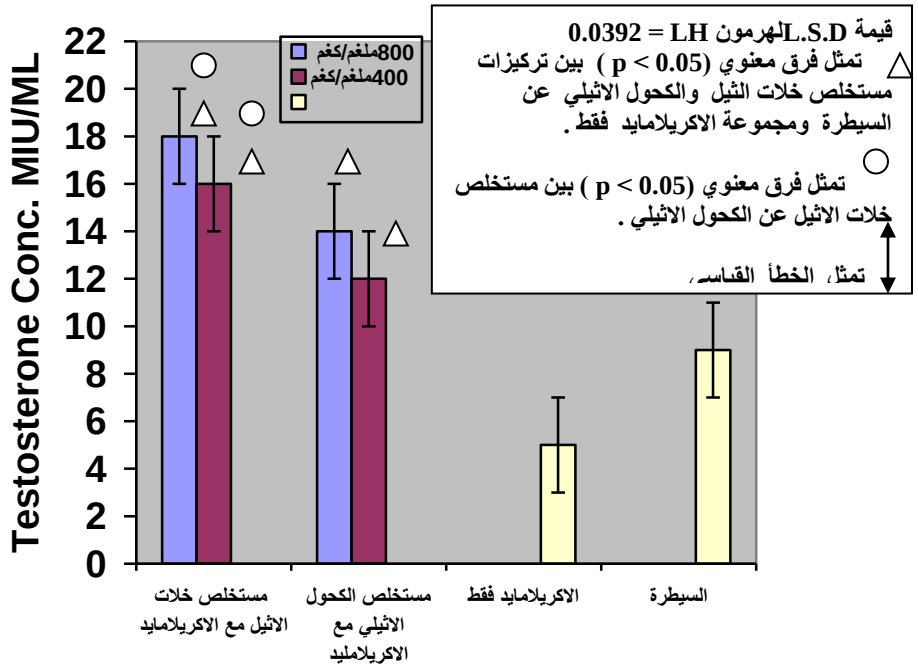
أما ما يتعلق بالانخفاض المعنوي (**P<0.05**) الواضح بمجموعة الاكريلامايد بمعايير الدم الهرمونية وأوزان الأعضاء التناسلية المدروسة في التجربة وفق ما أظهرته النتائج قد يعود ذالك نتيجة حدوث تنكس الخلايا الجرثومية بسبب التعرض الطويل الأمد لهذه المادة التي تسبب تلف الخلايا الجرثومية مما يقلل من أوزان الأعضاء التناسلية ومن مستوى معايير **FSH** و **LH** و **Testosterone** (**McCollister** وجماعته, 1964 . : الدجيلي ,2002) .



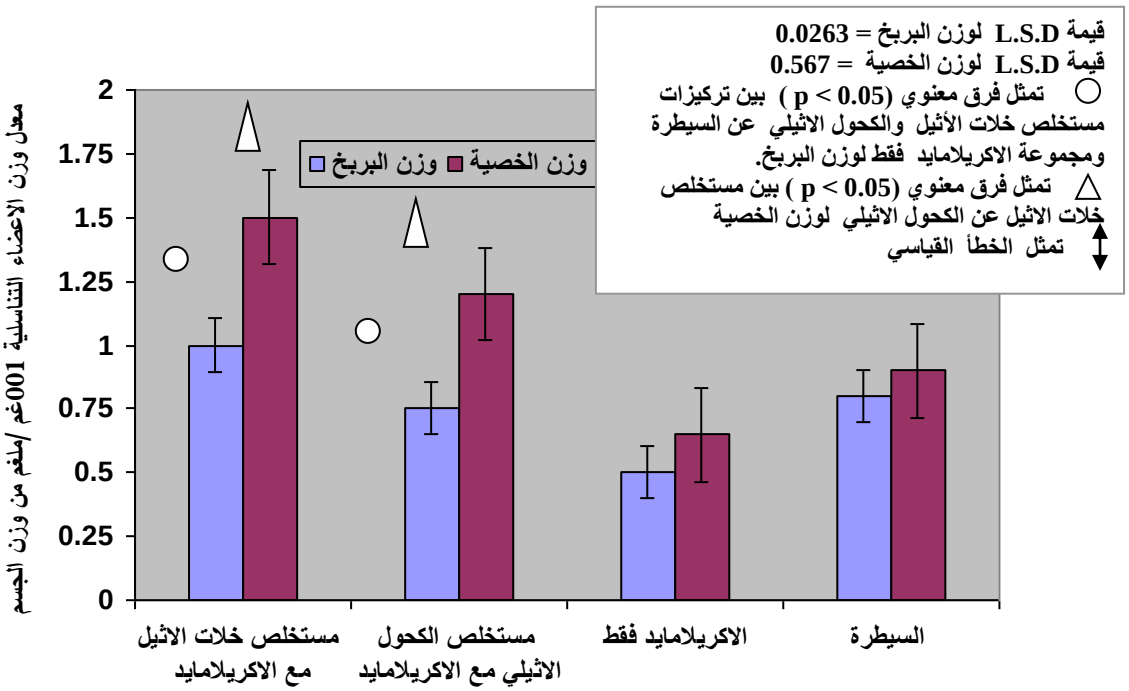
شكل (4) يمثل العلاقة بين تاثير التداخل لمستخلصي خلات الاثيل والكحول الاثيلي لبذور نبات الحلبة مع الاكريلامايد في مستوى هرمون FSH مقارنة مع مجموعتي الاكريلامايد فقط والسيطرة عند ذكور الجرذان البيض



شكل (٥) يمثل العلاقة بين تاثير التداخل لمستخلصي خلات الاثيل والكحول الاثيلي لبذور نبات الحلبة مع الاكريلامايد في مستوى هرمون LH مقارنة مع مجموعتي الاكريلامايد فقط والسيطرة عند ذكور الجرذان البيض.



شكل (٦) يمثل العلاقة بين تاثير التداخل لمستخلصي خلات الاثيل والكحول الاثيلي لبذور نبات الحلبة مع الاكريلامايد في مستوى هرمون Testoterone مقارنة مع مجموعتي الاكريلامايد فقط والسيطرة عند ذكور الجرذان البيض



شكل(7) يمثل العلاقة بين تاثير التداخل لمستخلصي خلات الاثيل والكحول الاثيلي لبذ ور نبات الحلبة ومادة الاكريلامايد في اوزان الاعضاء التناسلية (الخصية والبربخ)مقارنة مع مجموعتي الاكريلامايد فقط والسيطرة عند ذكور الجرذان البيض .

المصادر

الدجيلي,ارشد نوري غني .2001 . تأثير المستخلص القلواني والفينولي لنبات البصل الأحمر ***Allium cepa*** في خصوبة ذكور وإناث الفئران البيض . أطروحة دكتوراة ,كلية العلوم ,جامعة بابل .

الدجيلي,ارشد نوري غني .2002. تأثير المستخلص المائي والكحولي لنبات عرق السوس ***Glycyrhiza glabra*** **L** . في خصوبة الذكور وعلاج بعض حالات العقم المستحدث بمادة الاكريلامايد تجريبيا في الفئران البيض.كلية التربية للبنات /جامعة بغداد ,العدد 2 (30) الصفحة 101-105 .

الجبوري,حسن علي فرمان .2005 . تأثير مستخلصي خلات الاثيل والكحول الاثيلي لطلع النخيل ***Phoenix dactylifera L.*** في ذكور الفئران البيض.رسالة ماجستير ,كلية العلوم ,جامعة الكوفة.

الحميدي, اسامة حامد رمضان . **2000**. دراسة التأثير المشترك لخلطات من مستخلصات بعض النباتات الطبية المخفضة لمستوى السكر في الدم على الأرانب الطبيعية والمصابة بمرض السكر وتحضيرها على شكل أقراص. رسالة ماجستير – كلية العلوم – جامعة البصرة.

ألسلامي ,علاء الدين صبحي محسن .2004. تأثير مستخلصي خلات الاثيل والكحول الاثيلي لبذور نبات الحلبة ***Trigonella foenum-graecum*** في خصوبة ذكور الفئران البيض وإناثها. رسالة ماجستير ,كلية العلوم ,جامعة الكوفة.

المبروك,حسن سعد والرحال , احمد شامي .1989. فسيولوجي التناسل والتلقيح الاصطناعي .الطبعة الأولى ,الدار الجماهيرية للنشر والتوزيع والإعلان ,ص 11-17.

المياح, عبد الرضا علوان .2001. النباتات الطبية والتداوي بالأعشاب .الطبعة الأولى ,رقم الإيداع بدار الكتب صفار 200/46 صفحة 138 -137

الهلالي ,إخلاص علي حسين .2002. تأثير مستخلص بذور الحبة السوداء ***Nigella sativa* L.** قي خصوبة ذكور الفئران البيض وبعض معايير الدم الفسلجية .رسالة ماجستير ,كلية العلوم ,جامعة الكوفة.

عجام ,إسماعيل كاظم والسعدي, حسين عبد الكريم والحكيم ,مرتضى كمال.1990. فسلجة التناسل والتلقيح الاصطناعي .الطبعة الثانية ,وزارة التعليم العالي والبحث العلمي – جامعة بغداد.

عوض ,إيمان فاضل عباس .2006 .مقارنة استعمال هرمون **HMG** ومستخلص خلات الاثيل لبذور نبات الحلبة ***Trigonella foenum-graecum*** في تحسين الكفاءة التناسلية لإناث الفئران البيض المعاملة بهرمون البروجستون .رسالة ماجستير ,كلية العلوم,جامعة بابل .

Reference

Edwards, M.E.; Marchall, E.; Gidley, M.J. & Reid, J.S.G. 2000. Transfer specificity of Detergent-solubilized fenugreek galactomannan galactosyl-transferase. Plant physiology, 129: 1391-1397.

El- Bekairi , A. M. ; Shah , A. H. and Qureshi , S. 1990 . Effect of *Allium sativm* on epididymal spermatazoa , estradiol – treated mice and general toxicity . J. Ethnopharmacol. , 29 (2) : 117-25 .

Daniel ,W.W.1983.Biostatistcs. A foundation for analysis in the health sciences. Daniel WW .3ed . John Wiley and Sons ,New York.

Guyton . g.j and Hall .i.m. 2006 .Textbook of medical physiology. 11th Edition.pp .905-907.

Hale , T. 2002 . Medications and mother's milk , 10th Edition . pharmasoft

Hayashi, M.; Tanii, H.; Horiguchi, M. and Hashimoto,K.1989.Cytotoxic effect acryl amide and its related compound assessed by protein control ,LDH activity and cumulative glucose consumption of neuron - rich cultures in alchemically defined medium .Arch .Toxical .63:308-13.

Ladd , J.L.; Jacobson , M. and Buriffim, C.R. 1978 . Japane , beetles extracts prom neem tree as feeding deternts . J. Econ. Entomol , 71 : 810-3

Lim , Qu.W.; Wany, Y.; Wan , H. and Tian, C. 2002 . Hypoglycemic effect of saponin from Tribulus terrestris . J. Ethnopha – rmacol , 85 (2-3) : 257-60 .

Makal, P.S.; Makal, S. & Kismanyoky, A. 2004. Comparative test of fenugreek/ *Trigonella foenum-graecum* L./varieties. Central European of Journal Agriculture. 5: 259-262.

McCollister,D.D.;Oyea,F.andRowe,V.K.1964.Toxicologyofacrylamide.Toxicol.A ppl.Pharmaco.,6:172-81.

Miyake, M.D.; Lee , J.W. ; Kechi , M.D.; Shroa , M. and Aono , M.D. 1998 . *Wen–Jine– Tang* atradition at chinese herbel medicine increase lutinzin hormon release in Vivo , Am , J. China. Med. Rd. , nv. ,3-4 . 157-60 .

Moundipa , F.P.; Katchouing , P.; Koueto , N.; Tantchou , J.; Foyang, N.P. and Mabiapo , F.T. 1999 . Effect of equeous extracts of *Hibiscus macranthus* and Bosella alba in Mature rat testis function . J. of Ethnopharmacol, 65 (1):133-9 .Parakash , A.O.; Acupta, C.D. and Kabir, A.G. 1998 . Effect of oral odmin stration of extract of Dintharombium tinctor un in male rats, Probe, 27, 315-318

Pommerts, F.F.G. 1990 . Testosterone : An ovar view of biosy thesis transport, meta .5:29-30

Raju, J.; Patlolla, J.M.R.; Swany, M.V. & Rao, C.V. 2004. Diosgenin, a steroid saponin of *Trigonella foenum graecum* (fenugreek), inhibits azoxymethane-induced aberrant crypt foc: formation in F_{344} rats and induces apoptosis in HT-29 human colon cancer cells. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev., 13: 1392-1398.

Swafford, S. and Berens, B. 2000 . Effect of Fenugreek on breast milk production. ABM News and Views. 6 (3) : Annual metting abstracts sept. 11-13

Tice, R. 1997. Toxicological summary for Trigonelline. Toxicology, 22: 1-21.

Uotila, M.; Ruoslahti, E. and Engrall,E.1981.Follical Stimulating Hormone J. immmunol. Methods;42:11-15.

Wistom,G.B.1976.Enzyme-Immunoassay. Clin. Chem.22:1243-1245.