



جامعة الموصل  
كلية التربية للعلوم الصرفة

تأثير نواتج مستخلصة من الكرافيل على فعالية انزيم  
اللسيئين كوليستيرون اسيل ترانسفيريز المعزول من مرضى  
القلب والفئران المستحدث فيها تصلب الشرايين

أمل طه ياسين الجريسي

اطروحة دكتوراه

الكيمياء / الكيمياء الحياتية

بإشراف

الأستاذ المساعد

الأستاذ

الدكتورة نادية احمد صالح

الدكتورة أميرة عزيز محمود الجريسي

## الخلاصة

تهتم هذه الدراسة بالبحث في محاور عدة. فالمحور الأول يتناول الدراسة السريرية لأشخاص (ذكور وإناث) مصابين بأمراض القلب والأوعية الدموية بأعمار تراوحت بين 25-75 سنة، فقد تم تقدير فعالية إنزيم ليسيثين : كوليستيرول أسيل ترانسفيراز (LCAT) وفعالية إنزيم كلوتاثيون بيروكسيديز (GPx), كما تم تقدير مستوى كل من البروتين المرافق (apo AI) AI والبروتين المرافق B100 (apo B100) والكوليستيرول الكلي (TC) والكليسيريدات الثلاثية (TG) وكوليستيرول البروتين الدهني عالي الكثافة (HDL-C) و كوليستيرول البروتين الدهني واطيء الكثافة (LDL-C) والكلوتاثيون (GSH) والبيروكسي نايتريت (PN) والمالوندايديهايد (MDA) والكلوكوز (Glu), كذلك تم تقدير مستوى كل من العناصر الزنك Zn والنحاس Cu والكوبلت Co والمغنيسيوم Mg في مصل الدم.

بينت النتائج التي تم التوصل إليها وجود انخفاض معنوي في فعالية LCAT و GPx وفي مستوى كل من apo AI و HDL-C و GSH و Zn و Mg ، في حين كان هناك ارتفاع معنوي في مستوى كل من apoB100 و TC و TG و LDL-C و PN و Glu و Cu و Co لكلا الجنسين. أما بالنسبة لـ MDA فتشير النتائج الى وجود ارتفاع معنوي لدى الإناث في حين لم يكن الارتفاع معنويا لدى الذكور.

المحور الثاني من الدراسة تضمن تنقية جزئية لإنزيم LCAT من مصل دم شخص يعاني من أمراض الأوعية الدموية، إذ سبق أن أصيب بجلطة قلبية، وقد طبقت تقنيات عدة للتنقية ابتداء من الترسيب بكبريتات الامونيوم ثم الفرز الغشائي فكروماتوغرافيا التبادل الأيوني وأخيرا الهجرة الكهربائية. وتم التوصل الى ان لإنزيم LCAT متماثلا واحدا وأعلى فعالية كان مقدارها  $(10^{-3} \times 1073.46)$  وحدة انزيمية/مل, كما تم الحصول على حزمة منفردة عند تطبيق الهجرة الكهربائية على الانزيم المنقى من التبادل الأيوني ، وكان بوزن جزيئي تقريبي مقداره (62) كيلو دالتون.

اهتم هذا المحور كذلك بتوصيف الانزيم وامكانية تثبيطه بفعل الأدوية : الميتفورمين واللوزارتان، إذ وجد أن للإنزيم درجة حامضية مثلى مقدارها pH7 عند استخدام محلول البوتاسيوم داي فثاليت كمحلول منظم، وكانت درجة الحرارة المثلى (35°م). وتم التوصل إلى أنه عند استخدام الميتفورمين كان التثبيط تنافسيا وبلغت أعلى نسبة تثبيط (65.76%) عند تركيز (35) مايكروغرام/مل، أما عند استخدام اللوزارتان فقد كان التثبيط غير تنافسي وإن أعلى نسبة تثبيط بلغت (47.33%) عند تركيز (35) مايكروغرام/مل من هذه المادة.

تناول المحور الثالث من الدراسة فصل وتشخيص نواتج طبيعية مختلفة من ثمرة الكرافيل *Annona muricata.L* ، إذ تم فصل المادة الزيتية ، وأحماضها الدهنية التي تم تشخيصها بتطبيق تقنية كروماتوغرافيا الغاز ذو الأعمدة الشعرية (CGC). كذلك فصلت بعض الفلافونويدات والقلويدات وشخصت الفلافونويدات بتطبيق تقنية كروماتوغرافيا السائل عالي الأداء (HPLC)، وتناول هذا المحور دراسة تأثير هذه المواد على فعالية إنزيم LCAT ووجد ان لها تأثير ايجابي في تعزيز فعاليته.

اهتم المحور الرابع من الدراسة باختبار تأثير المواد الطبيعية المفصولة من ثمرة الكرافيل على فعالية LCAT ومتغيرات كيميوية أخرى في مصل دم الفئران المختبرية المستحدث فيها احد امراض الاوعية الدموية (تصلب الشرايين)، وقد استحدث هذا المرض نتيجة لمعاملة الحيوانات ببيروكسيد الهيدروجين لمدة ثلاثة اشهر وتم التأكد من الاصابة من خلال الدراسة النسيجية للأوعية الدموية وقلب الحيوانات، فضلا عن اختبار مستوى المتغيرات الكيميائية ذات العلاقة بالإصابة منها HDL-C و apo AI و apoB100 و TG و Glu وكذلك اختبار الإصابة من خلال التعرف على فعالية انزيم اسبارتيت ترانس امينيز (AST) وانزيم الانين ترانس امينيز (ALT) في متجانس انسجة كل من القلب والكبد. وقد أظهرت صور أنسجة الحيوانات المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين حدوث تصلب للشرايين (تحديدا الشريان الأبهر) بشكل واضح، كما أظهرت هذه الحيوانات إنخفاضا معنويا في فعالية LCAT ومستوى كل من apo AI و HDL-C وارتفاعا معنويا في مستوى كل من TC و apoB100 و TG و LDL-C و Glu. أما بعد معاملة هذه الحيوانات بالمواد المستخلصة من ثمرة الكرافيل (مستخلص الزيت والفلافونيدات والقلويدات) كل على حدى، فقد لوحظ ارتفاع معنوي في فعالية LCAT ومستوى apo AI و HDL-C وانخفاض معنوي في مستوى كل من LDL-C و TG و TC و Glu و apoB100 ، أما بالنسبة لفعالية أنزيمي AST و ALT فقد انخفضت في متجانس كل من أنسجة الكبد والقلب لدى الحيوانات المستحدث فيها الإصابة في حين عادت وارتفعت بشكل معنوي بعد معاملتها بمستخلصات ثمرة الكرافيل. نتيجة لما تم التوصل إليه، فيمكن القول إن انخفاض مستوى LCAT قد يعد مؤشرا على الإصابة بأمراض الأوعية الدموية، كما إن ثمرة الكرافيل، الغنية بالمواد الطبيعية ذات الأهمية الحيوية، قد يكون لها دور فعال في الوقاية أو العلاج من مضاعفات الإصابة بأمراض الأوعية الدموية.

## *Abstract*

The present study involves search for several axes. The first axis is a clinical study of individuals (males and females aged 25-75 y) with cardiovascular disease.

The activity of Lecithin: cholesterol acyl transferase (LCAT) and glutathione peroxidase (GPx) was estimated, in addition to the level of apolipoprotein AI (apoAI), apolipoprotein B100 (apoB100), total cholesterol (TC), triglyceride (TG), high density lipoprotein-cholesterol (HDL-C), low density lipoprotein-cholesterol (LDL-C), glutathione (GSH), peroxy nitrate (PN), malondialdehyde (MDA), glucose and certain elements (Zn, Cu, Mg and Co) in blood serum. The results showed that there was a significant decrease in the activity of LCAT and GPx, and the level of apoAI, HDL-C, GSH, Zn and Mg. On the other hand, it was shown that there was a significant increase in the level of apoB100, TC, TG, LDL-C, PN, Glu, Cu and Co but on insignificant change in the level of MDA for both male and females.

The second axis includes partial purification of LCAT from the blood serum of a person suffering from atherosclerosis. Several techniques were applied including ammonium sulphate precipitation, dialysis, ion exchange chromatography and electrophoresis. It was found that LCAT has one isoenzyme and optimum activity of  $1000.2 \times 10^{-3}$  unit/ml and a molecular weight of 62 KDa. The axis also deals with characterizing of LCAT and testing its inhibition by metopormine and losartan. It was found that the optimum pH and temp. of the enzyme were 7 and 35°C, respectively, and metopormin inhibits LCAT competitively but losartan inhibits it non-competitively and the higher inhibition was 65.76% and 47.33%, respectively at dose 35 µg/ml.

The third axis deals with the separation and identification of some natural products from the fruit of *Annona muricata.L.* The fatty acids were been separated from the oil extracted from the fruit then identified by applying capillary gas chromatography (CGC). On the other hand, flavonoide and alkaloids were separated from the aqueous extract of the fruit and then identified by HPLC. This axis also studies the effect of the

separated products on LCAT activity and it was found that these products have positive effect on its activity.

The fourth axis of the present study tests the effect of the separated natural products on LCAT –activity and on the level of certain biochemical parameters in mice blood-serum with induced atherosclerosis which occurred as a result of treating the animals with hydrogen peroxide for three months.

The affliction with atherosclerosis was tested by histological study of the tissues of the animals heart and blood vessels, as well as, the level of LDL-C, HDL-C, apoAI , apoB100, TC, TG and Glu and the activity of aspartate transaminase (AST) and alanine transaminase (ALT) in liver and heart tissues. It was found that there was a significant decrease in the LCAT activity and the level of apoAI and HDL-C but a significant increase in the level each of TC, TG, LDL-C, Glu and apoB100. The treatment of the animals by the products separated from *Annona muricata .L* (oil, flavonoids and alkaloids) led to the level of apoAI, HDL-C and a significant decrease in the level of apoB100, LDL-C, TC, TG and Glu. The induction of atherosclerosis decrease the activity of AST and ALT in both the liver and the heart tissues which then increased significantly after animal-treatment by natural products separated from *Annona muricata.L* fruit.

It was concluded that the decrease in LCAT activity may be considered as a risk factor of officiation with cardiovascular diseases, and the natural products of *Annona muricata.L* may have an effective role in preventing or treating of the complications of this injury.

**University of Mosul  
College of Education  
for Pure Sciences**



**Effect of Extracted Products from  
*Annona muricata .L* on Lecithin cholesterol  
acyl transferase isolated from Patients with  
Heart Diseases and Mice with Induced  
Atherosclerotic**

**Amel Taha Yassein Al-Juraisy**

**Ph .D. Thesis  
chemistry /Biochemistry**

**Supervised by**

**Prof.  
Dr.Ameera Aziz Mahmood Al-Juraisy**

**Asst.Prof.  
Dr.Nadia Ahmed saleh**

1440 A.H

2019 A.D