جامعة الموصل
كلية التربية للعلوم الصرفة

تأثير المستخلص القلوي لأوراق نبات البيزيا على فعالية أنزيم بولي أمين أوكسيديز داخل وخارج حيوانات التجارب المصابة بالأكياس العدرية

نوفل شيت محمد الجبوري

أطروحة دكتوراه
الكيمياء

بإشراف

الأستاذ	الأستاذ
الدكتور عمر يونس محمد	الدكتورة وثبة إدريس علي

١٤٤٤هـ ٢٠٢٢ م

الخلاصة

تضمنت الدراسة حقن ذكور الجرذان بـ 2000 رؤيس أولي حي لكل جرذ في المجاميع عدا مجموعة السيطرة السالبة ولمدة ثلاثة اشهر، وبعد تشريحها تبيّن إنَّ الإصابة بالأكياس العدرية ظهرت في نسيج الكلى. قيست بعض المتغيرات الكيموحيوية في مصل دم الجرذان المصابة والسليمة، وقد لوحظ وجود ارتفاع معنوي في مجموعة السيطرة الموجبة في كل من مستوى فعالية أنزيم بولي أمين أوكسيديز، الكرياتنين، الالبومين ومستوى فيتامين D_3 وانخفاض معنوي في كل من مستوى الكلوكوز، اليوريا، وحامض اليوريك مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة عند مستوى احتمالية $P\leq 0.01$.

عند تجريع المجموعتين المصابتين الثالثة والرابعة بمستخلص أوراق نبات البيزيا وعقار البيندازول على التوالي لمدة ثلاثة اشهر، تبيَّن وجود انخفاض معنوي في كل من مستوى فعالية أنزيم بولي أمين أوكسيديز، الكرياتنين، الالبومين ومستوى فيتامينD_3. بينما لوحظ وجود ارتفاع معنوي في كل من تراكيز الكلوكوز، اليوريا وحامض اليوريك مقارنة مع مجموعة السيطرة الموجبة عند مستوى احتمالية $P\leq 0.01$.

تضمَّنت الدراسة أيضاً تنقية أنزيم بولي أمين وأوكسيديز جزئياً من مستخلص كلى ومصل دم ذكور الجرذان المصابة بداء الاكياس العدرية، باستخدام بعض التقنيات الحياتية، وقد لوحظ أن الفعالية النوعية للأنزيم بعد اجراء تقنية الفرز الغشائي بلغت (2.113 و 5.409) وحدة أنزيمية/ ملغم بروتين، وبعدد مرات تنقية (3.739 و 6.653) مرة على التوالي. وبعد تطبيق تقنية التبادل الأيوني، بيَّنت النتائج وجود قمة إنزيمية واحدة لكل من نسيج كلى ومصل دم الجرذان، وبلغت الفعالية النوعية (26.127 و138) وحدة إنزيمية/ ملغم بروتين، وعدد مرات التنقية كانت (46.243 و 170) مرة على التوالي. بعدها قدرت الأوزان الجزيئية للقمتين المنقاة أعلاه بتقنية الهجرة الكهربائية، وتبين أن الوزن الجزيئي التقريبي لمتماثلي الأنزيم المُنقى من مصل الدم كان بحدود 60 كيلو دالتون.

باستخدام تقنية الامتصاص الذري، لوحظ وجود عنصر النحاس كمرافق أنزيمي للأنزيم المنقى جزئياً من مصل الدم في حين لم يلاحظ وجوده في الإنزيم المنقى من الكلى.

صممت تجربة ثانية لدراسة تأثير تراكيز مختلفة لمستخلص أوراق نبات البيزيا وعقار البيندازول، إذ حقنت ذكور الفئران بـ 2000 رؤيس أولي في المجاميع كلها لمدة شهرين ما عدا مجموعة السيطرة السالبة. شرحت الفئران وتبيَّن أنَّ الإصابة بداء الأكياس العدرية كانت موجودة في نسيج الكبد وقيست بعض

المتغيرات الكيموحيوية في مصل الدم. وجد ارتفاع معنوي في كل من فعالية انزيم بولي أمين أوكسيديز والالبومين وانخفاض معنوي في كل من تراكيز الكلوكوز، اليوريا وحامض اليوريك في مجموعة السيطرة الموجبة المصابة بداء الاكياس العدرية مقارنة مع مجموعة السيطرة السالبة عند مستوى احتمالية $P \leq 0.01$.

بعد تجريع المجموعتين المصابتين الثالثة والرابعة بمستخلص أوراق نبات البيزيا وعقار البيندازول على التوالي بتراكيز (0.05 mg/k، 0.1 mg/k، 0.2 mg/k ، 0.3 mg/k ، 0.4 mg/k) لمدة شهرين، لوحظ وجود انخفاض معنوي في مستوى انزيم بولي أمين أوكسيديز وتركيز الالبومين للتراكيز جميعها في المجاميع المعاملة بالمستخلص النباتي والبيندازول مقارنة مع مجموعة السيطرة الموجبة المصابة. مع وجود ارتفاع معنوي في مستوى الكلوكوز في المجاميع المعاملة بتركيز 0.3 mg/k للمستخلص النباتي والتركيز 0.2 mg/k للبيندازول مقارنة مع مجموعة السيطرة الموجبة. و وجود ارتفاع معنوي في مستوى اليوريا للتراكيز جميعها باستثناء التركيزين 0.2 mg/k و 0.1 mg/k المعاملة بالمستخلص النباتي والبيندازول على التوالي وكان الارتفاع غير معنوي مقارنة مع مجموعة السيطرة الموجبة. فضلاً عن ذلك، لوحظ وجود ارتفاع معنوي في مستوى تركيز حامض اليوريك في المجاميع المعاملة بتراكيز المستخلص النباتي البيندازول كافة مقارنة مع مجموعة السيطرة الموجبة.

درست إمكانية تثبيط مستخلص أوراق نبات البيزيا على أنزيم بولي أمين أوكسيديز المُنقى جزئياً من كلى ومصل دم ذكور الجرذان. بالنسبة للكلى كانت اعلى نسبة للتثبيط 77.81% عند تركيز 1 ملغم/ مللتر، في حين كانت أقل نسبة تثبيط 64.98% عند تركيز 0.1 ملغم/ مللتر. وكان نوع التثبيط لا تنافسياً وقيمة ثابت التثبيط 2.6 ملي مولار، أما في مصل الدم كانت أعلى نسبة للتثبيط 63% عند تركيز 0.9 ملغم/ مللتر، في حين كانت أقل نسبة للتثبيط 7.4% عند تركيز 0.2 ملغم/ مللتر وكان نوع التثبيط لا تنافسي أيضاً وقيمة ثابت التثبيط 3.2 ملي مولار.

تمت دراسة التأثير التثبيطي لعقار البيندازول على فعالية الانزيم المُنقى من كلى الجرذان وكانت اعلى نسبة تثبيط للأنزيم 54.36% عند تركيز 1 ملغم/ مللتر، في حين كانت أقل نسبة تثبيط 0.49% عند تركيز 0.1 ملغم/ مللتر وكان نوع التثبيط تنافسياً وقيمة ثابت التثبيط 0.72 ملي مولار. اما الانزيم المُنقى من مصل دم الجرذان، فقد كانت أعلى نسبة تثبيط له 63% عند تركيز 1 ملغم/ مللتر، وأقل نسبة تثبيط كانت

0.88% عند تركيز 0.1 ملغم/ مللتر باستخدام عقار البيندازول. ووجد أن التثبيط تنافسي وقيمة ثابت التثبيط 1.09 ملي مولار.

تم الكشف عن المركبات الفينولية الموجودة في مستخلص أوراق نبات البيزيا باستعمال تقنية كروماتوغرافيا السائل_عالي الأداء HPLC. ظهرت حزمة تعود إلى كروماتوكروم المركب الفينولي Rutin فقط بتراكيز واوقات احتجاز خاصة به مقارنة مع المركبات القياسية المستخدمة.

Abstract

Study included male rats were injected with 2000 live protozoa for each rat in all groups except the negative control group for a period of three months, and after autopsy it was found that hydatid cysts appeared in the kidney tissue. Some biochemical parameters were measured in the serum of infected rat. There was a significant increase in the positive control group in the level of polyamine oxidase activity, creatinine, albumin and vitamin D_3 level and a significant decrease in glucose, urea and uric acid level compared with negative control group at probability level $P \leq 0.01$.

When the third and fourth affected groups were dosed with Albizia leaf extract and Albendazole, respectively, for three months, it was found that there was a significant decrease in the level of polyamine oxidase activity, creatinine, albumin and vitamin D_3 level. While there was a significant increase in the concentrations of glucose, urea and uric acid compared with the positive control group at the probability level $P \leq 0.01$.

The current study also included partial purification of polyamine oxidase from kidney extract and blood serum of male rats infected with hydatid cyst disease, using some biotechniques. It was noted that the specific activity of the enzyme after performing the dialyses was (2.113 and 5.409) enzymatic unit/mg protein, and purification fold of (3.739 and 6.653), respectively. After applying the ion exchange technique, the results showed the presence of one enzymatic peak for each of the kidney tissue and blood serum of rats, and the specific activity was (26.127 and 138) enzymatic units/mg protein, and purification fold was (46.243 and 170) times, respectively. The molecular weights of the two purified peaks above were estimated by electrophoresis technique, and it was found that the approximate molecular weights of the purified isoenzymes from blood serum were about 60 kDa. Using the atomic absorption technique, the presence of copper was observed as a cotactor for the enzyme partially purified from blood serum while its presence was not observed in the enzyme purified from kidneys.

A second experiment was designed to study the effect of different concentrations of Albizia leaf extract and albendazole, where male mice were injected with 2000 live protozoa in all groups for two months except negative control group. The mice were autopsied and it was found that hydatid cyst disease was present in the liver tissue some biochemical parameters were measured in the blood serum. It was found that there was a significant increase in the activity level of the enzyme

polyamine oxidase and albumin and a significant decrease in the concentrations of glucose, urea and uric acid in the positive control group infected with hydatid cyst disease compared with the negative control group at the level of probability $P \leq 0.01$.

After the third and fourth affected groups were dosed with Albizia leaf extract and Albendazole, respectively, at concentrations (mg/k 0.05, mg/k 0.1, mg/k 0.2, mg/k 0.3, mg/k 0.4) for two months, a significant decrease in the enzyme level was observed. Polyamine oxidase and albumin concentration for all concentrations in groups treated with plant extract and albendazole compared with the positive control group.

While there was a significant increase in the level of glucose concentration in the groups treated with a concentration of mg/k 0.3 for the plant extract and a concentration of mg/k 0.2 for albendazole compared with the positive control group. Also, there was a significant increase in the level of urea concentration for all concentrations except for the concentrations of 0.2 mg/k and 0.1 mg/k treated with plant extract and albendazole, respectively, where the increase was not significant compared with the positive control group. In addition, a significant increase in the level of uric acid concentration was observed in the groups treated with all concentrations of albendazole plant extract compared with the positive control group.

The possibility of inhibition of Albizia leaf extract on the enzyme partially purified polyamine oxidase from kidneys and blood serum of male rats was studied. For kidneys, the highest inhibition rate was 77.81% at a concentration of 1 mg/ml, while the lowest inhibition was 64.98% at a concentration of 0.1 mg/ml. The type of inhibition was non-competitive and the value of the inhibition constant was 2.6 mM. In the blood serum, the highest percentage of inhibition was 63% at a concentration of 0.9 mg / ml, while the lowest percentage of inhibition was 7.4% at a concentration of 0.2 mg / ml. The type of inhibition was also non-competitive and the value of The damping constant is 3.2 mM.

The inhibitory effect of Albendazole on the activity of the purified enzyme from the kidneys of rats was also studied. The highest percentage of enzyme inhibition was 54.36% at a concentration of 1 mg / ml, while the lowest percentage of inhibition was 0.49% at a concentration of 0.1 mg / ml. The type of inhibition was competitive and the value of the inhibition constant was 0.72 ml. Molar. As for the enzyme purified from the serum of rats, the highest inhibition rate was 63%

at a concentration of 1 mg/ml, and the lowest inhibition was 0.88% at a concentration of 0.1 mg/ml using albendazole. The competitive inhibition was and the inhibition constant value was 1.09 mM.

The phenolic compounds present in Albizia extract were detected using HPLC-high-performance liquid chromatography technique. A band appeared that belongs to the chromatogram of the phenolic compound ,Rutin only with its own concentrations and retention times compared to the standard compounds used.

University of Mosul
College of Education
For Pure Science

Effect of albizia alkaloid extracts on polyamine oxidase activity in vivo and in vitro of induced experimental hydatid cyst animals.

Nawfal Sheet Mohammad Al-jiboury

Ph.D. Thesis

Chemistry

Subervised by

Prof.

Dr.Omar Younis Mohammad

Prof.

Dr.Wathba Idris Ali

2022 A.D **1444 A.H**