



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة العربي بن مهيدي - أم البواقي-

قسم علوم الطبيعة والحياة
رقم التسلسل:

كلية العلوم الدقيقة وعلوم الطبيعة والحياة
رقم الترتيب:

أطروحة

مقدمة لنيل شهادة دكتوراه في العلوم
شعبة: بيولوجيا نبات
تخصص: مواد حيوية فعالة

بعنوان:

تأثير بعض مركبات الميتابوليزم الثانوي لنبات الحرمل (*Peganum harmala* L.)
على بعض السلالات البكتيرية وبعض النواحي الفيزيولوجية، النسيجية
والسلوكية عند الفئران المخبرية.

تقديم: آمال بن بوط

لجنة المناقشة:

الأستاذ الدكتور: سنوسي محمد مراد	أستاذ بجامعة العربي بن مهيدي - أم البواقي - رئيسا
الأستاذ الدكتور: يحيى عبد الوهاب	أستاذ بالمركز الجامعي - ميله - مقررا
الأستاذ الدكتور: باقّة مبارك	أستاذ بجامعة منتوري - قسنطينة - ممتحنا
الأستاذ الدكتور: زلاقي عمار	أستاذ بجامعة العربي بن مهيدي - أم البواقي - ممتحنا
الدكتورة: مهدي جهيدة	أستاذة بجامعة العربي بن مهيدي - أم البواقي - ممتحنا

السنة الجامعية 2013 - 2014

الإهداء

إلى ..

من أخذ بيدي نحو طريق المستقبل .. والنور

والذي العزيز .. الغالي

إلى ..

التي غرست في قلبي المحبة

وفي عقلي المعرفة ..

أمي .. الحنونة

إلى ... زوجي الغالي و أطفالي الأحباء

محسن عبد الجليل وأية الرحمان ...

إلى شموع حياتي إخوتي فتحي، عبد الحكيم و زكريا

بسم الله الرحمن الرحيم

﴿لَنْ شَكَرْتُمْ لَأَزِيدَنَّكُمْ﴾

سورة إبراهيم - الآية ٧.

الحمد لله رب العالمين الذي جعل الحمد ثناء لنعمته، ومعاذ من بلائه والصلاة والسلام على رسول نبي الرحمة، وإمام الأئمة محمد المصطفى، وعلى آل بيته أجمعين.

يطيب لي وأنا انهي دراستي أن أتقدم بوافر الشكر والتقدير والاعتراف بالجميل إلى أستاذي الفاضل الأستاذ الدكتور يحيى عبد الوهاب لما أبداه من جهود كبيرة في إعداد خطة البحث، فضلاً عن توجيهاته وتوصياته طيلة فترة البحث، فله مني كل الامتنان والتقدير.

أتشرف جداً بحضور الأستاذ الدكتور سنوسي محمد مراد أستاذ بقسم البيولوجيا بجامعة العربي بن مهيدي - أم البواقي وأتوجه له بالشكر الخالص على دعمه المستمر وقبوله رئاسة المناقشة.

ويشرفني جداً حضور الأستاذ الدكتور باقة مبارك، أستاذ بقسم البيولوجيا بجامعة منتوري - قسنطينة عضواً في لجنة المناقشة.

ويستوقفني الشكر الجزيل للأستاذ الدكتور زلاقي عمار، أستاذ بقسم البيولوجيا بجامعة العربي بن مهيدي - أم البواقي على تشجيعاته و توجيهاته القيمة فيما يخص عملية النشر وقبوله عضوية المناقشة.

كما يسعدني حضور الأستاذة الفاضلة الدكتورة مهدي حميدة أستاذة بقسم البيولوجيا بجامعة العربي بن مهيدي - أم البواقي على قبولها المشاركة في المناقشة وإثراء البحث.

ويعجز اللسان عن الشكر عرفاناً وامتناناً إلى رئيس جامعة العربي بن مهيدي الأستاذ الدكتور بوراس أحمد و إلى عمادة كلية العلوم الدقيقة وعلوم الطبيعة والحياة / جامعة أم البواقي ممثلة بالأستاذ الدكتور بلعدي عبد الحكيم و إلى عمادة كلية العلوم / جامعة قسنطينة ممثلة بالأستاذ الدكتور دهيات العيد وكذلك إلى عميد كلية علوم الطبيعة والحياة / جامعة جيجل ممثلة بالأستاذ الدكتور لغنوشي السعيد على التسهيلات التي قدموها لانجاز البحث.

بكثير من الثناء والعرفان وأسمى معاني التقدير لجميع أساتذة قسم الكيمياء والبيولوجيا / جامعة أم البواقي لدورهم الجاد في دعم مسيرتي العلمية، على رأسهم الاستاذة مصباح كاميليا و الأستاذ الدكتور مالك رسول و الاستاذ الدكتور غراف نور الدين لما أبدوه من عون ومساعدة طوال فترة الدراسة - وفقهم الله -

ومن باب العرفان بالجميل أتقدم بعظيم الشكر والتقدير إلى الأستاذ المساعد مجري العيد، الأستاذة الدكتورة أمداح سعاد و الأستاذ الفاضل الدكتور بزرزور حمدة لما أبدوه من مساعدات و مجهودات في توفير مستلزمات الدراسة فجزأهم الله خير الجزاء.

ويطيب لي أن أقدم وافر الشكر والتقدير إلى الدكتورة **طبال حنان والدكتور بحري عبد العزيز** بمستشفى سليمان عميرات - عين مليلة- **والدكتورة ماكري كنزة** بمستشفى الجامعي -قسنطينة- على تقديم يد العون والمساعدة في قراءة المقاطع النسيجية - وفقهم الله - كما أشكر كل من الأستاذ **بجحة غاني** والأستاذ **بوعلي نبيل** (مخبر التحاليل الفيزيوكيميائية للمواد بعين مليلة) والأستاذة **لونة مسيكة** (مخبر التحليل الكروماتوغرافي بجيجل) على فتحهم لي أبواب مخابرتهم جزاهم الله كل خير.

وكيف لي أن أنسى المساندة و الجهد الجبار الذي قدمه لي **زوجي** طوال مشواري الدراسي والعملية - وفقه الله - في الدنيا والآخرة .

مع خالص وفائي وتقديري لكل يد امتدت لمساعدتي

أمال

قائمة الجداول

6	1. بعض قلويدات الكينازول المعزولة من نباتات تابعة لجنس <i>Peganum</i>
16	2. الخصائص الكيميائية والعلاجية لبعض المركبات القلويدية لنبات <i>P.harmala</i>
26	3. صيغ بعض القلويدات الأندولية البسيطة
27	4. صيغ بعض القلويدات الأندولية تحتوي على مجموعة بيتا الكربولين
47	5. توزيع القئران على المجموعات المختلفة حسب الجرعة المعالجة بها
52	6. الطريقة المتبعة في قياس إنزيمات AST و ALT
54	7. الطريقة المتبعة في تقدير فعالية إنزيم ALP
54	8. الطريقة المتبعة في قياس الكرياتينين
56	9. الطريقة المتبعة في قياس اليوريا
56	10. الطريقة المتبعة في قياس حمض اليوريك
57	11. الطريقة المتبعة في قياس الجلوكوز
61	12. نتائج اختبارات الحصر الكيميائي الأولي لنبات <i>P. harmala</i>
63	13. مميزات المركبات القلويدية المفصولة بـ (CCM)
65	14. النسبة المئوية للمساحة تحت المنحني وزمن الاحتجاز القياسي لقلويدي الحارمين والحارملين باستخدام تقنية HPLC
66	15. النسبة المئوية للمساحة تحت المنحني وزمن الاحتجاز القياسي لقلويدي الحارمين والحارملين في بعض مستخلصات القلويدية لنبات <i>P. harmala</i>
72	16. تحديد قيم CMI و CMB للمستخلصات القلويدية لبذور وجذور <i>P.harmala</i>
74	17. معدل الوفيات عند القئران في غضون 24 ساعة من إدارة المستخلص (EAG) عن طريق الحقن تحت الصفاق
76	18. الإحصاء الإنداري لحساب DL50 بطريقة المربعات الصغرى
77	19. الإحصاء الإنداري لحساب DL50 بطريقة Finney فيني (التوزيع الطبيعي)
103	20. تأثير المستخلص القلويدي الخام للبذور على مستويات السكر في الدم عند القئران خلال 4 أسابيع من المعالجة
104	21. المعايير الدموية للحيوانات الشاهدة والمعالجة بالقلويدات بذور الحرمل في حالة التسمم شبه المزمّن خلال الأسبوع الأول من المعالجة
105	22. المعايير الدموية للحيوانات الشاهدة والمعالجة بالقلويدات بذور الحرمل في حالة التسمم شبه المزمّن خلال الأسبوع الثاني من المعالجة
105	23. المعايير الدموية للحيوانات الشاهدة والمعالجة بالقلويدات بذور الحرمل في حالة التسمم شبه المزمّن خلال الأسبوع الثالث من المعالجة
106	24. المعايير الدموية للحيوانات الشاهدة والمعالجة بالقلويدات بذور الحرمل في حالة التسمم شبه المزمّن خلال الأسبوع الرابع من المعالجة

قائمة الأشكال

1. البنيات الكيميائية للقلويدات الاندولية المعزولة من نبات *P. harmala* 5
2. البنيات الكيميائية للفلافونويدات المعزولة من بذور نبات *P. harmala* 7
3. البنيات الكيميائية للفلافونويدات الجليكوسيدية المعزولة من اوراق نبات *P. harmala* 8
4. البنية الكيميائية للفلافونون الجليكوسيدي المعزول من نبات *P.nigellastrum* 8
5. البنيات الكيميائية للترينبات الثلاثية المعزولة من جذور. نبات *P.nigellastrum* 9
6. البنيات الكيميائية لبعض الستيروولات المعزولة من بذور نبات *P. harmala* 10
7. البنيات الكيميائية لبعض مركبات الانتراكينون المعزولة من بذور نبات *P. harmala* 11
8. البنيات الكيميائية لبعض الزيوت الطيارة المعزولة من ثمار نبات *P. harmala* 11
9. البنيات الكيميائية للأحماض الدهنية المشبعة لنبات *P. harmala* 12
10. البنيات الكيميائية للأحماض الدهنية الغير المشبعة لنبات *P. harmala* 13
11. صورة لنبات *P. harmala* 14
12. صورة لأوراق نبات *P. harmala* 14
13. صورة لأزهار نبات *P. harmala* 14
14. صورة لثمرة نبات *P. harmala* قبل النضج 14
15. صورة لثمرة نبات *P. harmala* بعد النضج 15
16. صورة لبذور نبات *P. harmala* 15
17. العلاقة بين الميتابوليزم الأولي والثانوي 17
18. المسارات المؤدية إلى التخليق الحيوي لمجموعات مختلفة من القلويدات 21
19. تخطيط لمكونات جهاز HPLC 23
20. التخليق الحيوي لبعض القلويدات الاندولية بسيطة التركيب 24
21. التخليق الحيوي لبعض القلويدات الاندولية معقدة التركيب 25
22. طريقة عمل المضادات الحيوية على البكتيريا 28
23. صورة توضيح بنية الكبد 33
24. صورة توضيح التركيب الداخلي للكلية 35
25. صورة توضيح منطقة الحرملية موقع الدراسة 37
26. صورة توضيح فصل القلويدات بـ CCM 42
27. صورة توضيح الحقن تحت الصفاق 49
28. بروتوكول يوضح تجارب التسمم شبه المزمن 50
29. صورة توضيح سحب الدم من الجيب الحجابي الخلفي للعين 51

53	منحنيات المعايرة الخاصة بتقدير فعالية إنزيمات Transaminase
63	النسبة المئوية لقلويدات أجزاء نبات <i>P. harmala</i>
64	كروماتوغرام كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة لفصل القلويدات في مستخلصات (جذور، ثمار وبذور) باستخدام كاشف دراجندروف
64	كروماتوغرام كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة لفصل القلويدات في مستخلصات (جذور، ثمار وبذور) تحت الأشعة فوق البنفسجية
65	كروماتوغرام قلويد الحارمين بتقنية HPLC
65	كروماتوغرام قلويد الحارميين بتقنية HPLC
67	كروماتوغرام المستخلص القلويدي الخام للجذور بتقنية HPLC
67	كروماتوغرام المستخلص القلويدي الخام للثمار بتقنية HPLC
67	كروماتوغرام المستخلص القلويدي الخام للبذور بتقنية HPLC
68	هيستوغرام النشاط الضد البكتيري للمستخلصات القلويدية الحامة لبذور وجذور <i>P.harmala</i> بتركيز 50ملغ/مل و 100ملغ/مل.
69	تأثير المستخلص القلويدي الخام للبذور على <i>S.aureus</i>
69	تأثير المستخلص القلويدي الخام للجذور على <i>S.saprophyticus</i>
70	تأثير المستخلص القلويدي الخام للبذور على <i>E.coli</i>
70	تأثير المستخلص القلويدي الخام للجذور على <i>K.pneumonia</i>
75	تحديد النسبة المئوية لموت الفئران بدلالة حقن الجرعات المتزايدة من القلويدات تحت الصفاق
76	التحليل الاحتمالي بطريقة المربعات الصغرى (التوزيع الطبيعي)
77	التحليل الاحتمالي بطريقة Finney فيني (التوزيع الطبيعي)
78	صورة للفئران في حالة نعاس
80	صور توضح جردان المجموعة الرابعة في حالة العدوان
80	صور توضح جروح على مستوى الأذن والبطن
80	صورتان توضحان حالي الخمول والانطواء
81	صورة توضح جردان المجموعة الشاهدة في حالتها الطبيعية
81	تغيرات أوزان الحيوانات خلال فترة العلاج
82	تقدير متوسطات أوزان أفراد المجموعة الثالثة (G_3) و أفراد المجموعة الشاهدة (G_1) خلال الأسابيع الأربعة
82	تقدير متوسطات أوزان أفراد المجموعة الرابعة (G_4) و أفراد المجموعة الشاهدة (G_1) خلال الأسابيع الأربعة
83	تقدير متوسطات أوزان أفراد المجموعة الثانية (G_2) و أفراد المجموعة الشاهدة (G_1) خلال الأسابيع الأربعة
83	تحليل التباين (ANOVA) بين أوزان أفراد المجموعات المعالجة والمجموعة الشاهدة
84	تقدير متوسطات ($X \pm SD$) الوزن النسبي لكبد الجردان بعد 4 أسابيع من المعالجة

58. تقدير متوسطات ($X \pm SD$) الوزن النسبي لخصيتي الجرذان بعد 4 أسابيع من المعالجة..... 85
59. تقدير متوسطات ($X \pm SD$) الوزن النسبي لكلى الجرذان بعد 4 أسابيع من المعالجة..... 85
60. تقدير متوسطات ($X \pm SD$) الوزن النسبي لمخ الجرذان بعد 4 أسابيع من المعالجة..... 86
61. تقدير متوسطات ($X \pm SD$) الوزن النسبي لطحال الجرذان بعد 4 أسابيع من المعالجة..... 86
62. تقدير متوسطات ($X \pm SD$) الوزن النسبي لرئتي الجرذان بعد 4 أسابيع من المعالجة..... 87
63. تقدير متوسطات ($X \pm SD$) الوزن النسبي لقلب الجرذان بعد 4 أسابيع من المعالجة..... 87
64. تقدير متوسطات ($X \pm SD$) قيم ALT لحيوانات المجموعة الشاهدة والمعالجة خلال الأسبوع الأول..... 88
65. تقدير متوسطات ($X \pm SD$) قيم ALT لحيوانات المجموعة الشاهدة والمعالجة خلال الأسبوع الثاني..... 89
66. تقدير متوسطات ($X \pm SD$) قيم ALT لحيوانات المجموعة الشاهدة والمجموعات المعالجة خلال الأسبوع الثالث..... 89
67. تقدير متوسطات ($X \pm SD$) قيم ALT لحيوانات المجموعة الشاهدة والمجموعات المعالجة خلال الأسبوع الرابع..... 90
68. تقدير متوسطات ($X \pm SD$) قيم إنزيم AST لحيوانات المجموعة الشاهدة والمجموعات المعالجة خلال الأسبوع الأول..... 90
69. تقدير متوسطات ($X \pm SD$) قيم إنزيم AST لحيوانات المجموعة الشاهدة والمجموعات المعالجة خلال الأسبوع الثاني..... 91
70. تقدير متوسطات ($X \pm SD$) قيم إنزيم AST لحيوانات المجموعة الشاهدة والمجموعات المعالجة خلال الأسبوع الثالث..... 91
71. تقدير متوسطات ($X \pm SD$) قيم إنزيم AST لحيوانات المجموعة الشاهدة والمعالجة خلال الأسبوع الرابع..... 92
72. تقدير متوسطات ($X \pm SD$) قيم إنزيم ALP لحيوانات المجموعة الشاهدة والمجموعات المعالجة خلال الأسبوع الأول..... 93
73. تقدير متوسطات ($X \pm SD$) قيم إنزيم ALP لحيوانات المجموعة الشاهدة والمجموعات المعالجة خلال الأسبوع الثاني..... 94
74. تقدير متوسطات ($X \pm SD$) قيم إنزيم ALP لحيوانات المجموعة الشاهدة والمجموعات المعالجة خلال الأسبوع الثالث..... 94
75. تقدير متوسطات ($X \pm SD$) قيم إنزيم ALP لحيوانات المجموعة الشاهدة والمجموعات المعالجة خلال الأسبوع الرابع..... 95
76. تقدير متوسطات ($X \pm SD$) قيم الكرياتينين لحيوانات المجموعة الشاهدة والمجموعات المعالجة خلال الأسبوع الأول..... 96
77. تقدير متوسطات ($X \pm SD$) قيم الكرياتينين لحيوانات المجموعة الشاهدة والمجموعات المعالجة خلال الأسبوع الثاني..... 96
78. تقدير متوسطات ($X \pm SD$) قيم الكرياتينين لحيوانات المجموعة الشاهدة والمجموعات المعالجة خلال الأسبوع الثالث..... 97
79. تقدير متوسطات ($X \pm SD$) قيم الكرياتينين لحيوانات المجموعة الشاهدة والمجموعات المعالجة خلال الأسبوع الرابع..... 97
80. تقدير متوسطات ($X \pm SD$) تركيز اليوريا لحيوانات المجموعة الشاهدة والمجموعات المعالجة خلال الأسبوع الأول..... 98
81. تقدير متوسطات ($X \pm SD$) تركيز اليوريا لحيوانات المجموعة الشاهدة والمجموعات المعالجة خلال الأسبوع الثاني..... 99
82. تقدير متوسطات ($X \pm SD$) تركيز اليوريا لحيوانات المجموعة الشاهدة والمجموعات المعالجة خلال الأسبوع الثالث..... 100
83. تقدير متوسطات ($X \pm SD$) تركيز اليوريا لحيوانات المجموعة الشاهدة والمجموعات المعالجة خلال الأسبوع الرابع..... 100
84. تقدير متوسطات ($X \pm SD$) تركيز حمض اليوريك لحيوانات المجموعة الشاهدة والمجموعات المعالجة خلال الأسبوع الأول..... 101
85. تقدير متوسطات ($X \pm SD$) تركيز حمض اليوريك لحيوانات المجموعة الشاهدة والمجموعات المعالجة خلال الأسبوع الثاني..... 101
86. تقدير متوسطات ($X \pm SD$) تركيز حمض اليوريك لحيوانات المجموعة الشاهدة والمجموعات المعالجة خلال الأسبوع الثالث..... 102
87. تقدير متوسطات ($X \pm SD$) تركيز حمض اليوريك لحيوانات المجموعة الشاهدة والمجموعات المعالجة خلال الأسبوع الرابع..... 102
88. صورة مجهرية لجزء من كبدة جرذ مجموعة شاهدة (H& E X400)..... 107
89. صورة مجهرية لجزء من كبدة جرذ معالج بـ 50ملغ/كغ من قلويدات البذور (H& E X 200)..... 108

110	90.	صور مجهرية لجزء من كبد جرد معالج بـ 100ملغ/كغ من وزن الجسم بقلويدات البذور ، توضح التغيرات المرضية في النسيج الكبدي (H& E X 400)
114	91.	صور مجهرية لجزء من كبد جرد معالج بـ 200ملغ/كغ من وزن الجسم بقلويدات البذور ، توضح التغيرات المرضية في النسيج الكبدي بتكبيرات مختلفة
116	92.	صور مجهرية لجزء من كلية جرد مجموعة شاهدة بتكبيرات مختلفة.....
117	93.	صور مجهرية لجزء من كلية جرد معالج بـ 50ملغ/كغ من وزن الجسم بقلويدات البذور ، توضح التغيرات المرضية في النسيج الكلوي بتكبيرات مختلفة.....
119	94.	صور مجهرية لجزء من كلية جرد معالج بـ 100ملغ/كغ من وزن الجسم بقلويدات البذور ، توضح التغيرات المرضية في النسيج الكلوي بتكبيرات مختلفة.....
123	95.	صور مجهرية لجزء من كلية جرد معالج بـ 200 ملغ/كغ من وزن الجسم بقلويدات البذور، توضح التغيرات المرضية في النسيج الكلوي (H& E X400)

قائمة المختصرات

A	: Absorbance
AAP	: 4-Amino Anti Pyrine
AC-COA	: Acetyl coenzyme A
ADP	: Adenosine diphosphate
ALP	: Alcaline phosphatase
ALT	: Alanine transaminase
ADN	: Acide désoxyribonucléique
ARN	: Acide ribonucléique
AST	: Aspartate transaminase
ATP	: Adenosine triphosphate
ATCC	: American Type Culture Collection
C°	: Degrés celcius
CCM	: Chromatographie couche mince
CMB	: Concentration minimale bactéricide
CMI	: Concentration minimale inhibitrice
COD	: Glucose oxidase
DHBS	: 3-5Dichloro-2- Hydroxy Benzéne Sulfonique
DL100	: Dose létale pour 100%
DL50	: Dose létale pour 50 %
DMA	: Diméthylamine
DMAPP	: Diméthyl allyl diphosphate
DMSO	: dimethylsulfoxide
EAG	: Extrait alcaloïdes grain
EDTA	: Ethylene diamine tetra acetic acid
FAA	: Formaline alcohol acetic acid
FNS	: Formule Numeration Sanguine
G	: Gram
GAL	: Galactoside
GAP	: Glycéraldéhyde 3-phosphate
GC-MS	: La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse
GB	: Globule Blancs
GR	: Globule rouges
HPLC	: La chromatographie en phase liquide à haute performance
GGPP	: géranylgeranyl-pyrophosphate
GLY	: Glucoside
GPP	: glycerol-3-phosphatase
HGB	: Hemoglobine
HTC	: Hematocrite

IP	: Intraperitoneal
IPP	: Isopentenyl diphosphate
MAO	: Mono amine oxydase
N	: Normalité
NM	: Nanometre
P	: Phosphore
PH	: Potentiel hydrogène
PM	: Poids moléculaire
POD	: Peroxidase
PPM	: partie par million
R	: Radicale
RF	: Retention factor
RHA	: Rhamnoside
SD	: Standard Deviation
UV	: ultra-violet

1 المقدمة

الجزء النظري

3 I- الدراسة النباتية

3 1-1-I العائلة الرطراطية

3 2-I الخصائص المرفولوجية للعائلة الرطراطية

4 3-I تصنيف نباتات العائلة الرطراطية

4 1-3-I أوراق متقابلة

4 1-1-3-I أوراق بسيطة

4 2-1-3-I أوراق مركبة من العديد من الوريقات

4 2-3-I أوراق متناوبة أو متعاقبة

4 1-2-3-I نباتات معمرة برية غير شوكية

4 2-2-3-I شجرة أو شجيرات شوكية

4 4-I الأهمية البيولوجية للعائلة الرطراطية

5 5-I جنس *Peganum* ومركباته الكيميائية الفعالة

5 1-5-I القلويدات

7 2-5-I الفلافونويدات و الفلافونويدات الجليكوسيدية

9 3-5-I التربينات الثلاثية

9 4-5-I الستيرويدات

11 5-5-I الانتراكينون

11 6-5-I الزيوت الطيارة

12 7-5-I الأحماض الأمينية

12 8-5-I الكاربوهيدرات

12 9-5-I الأحماض الدهنية

14 6-1 وصف نبات *P.harmala*

15 7-1 تصنيف نبات *P.harmala*

15 8-1 التوزيع الجغرافي لنبات *P. harmala*

16 9-1 الأهمية الفارماكولوجية و لطبية لنبات *P.harmala*

17 II-الدراسة الكيميائية

17 1-II مركبات الميتابوليزم الثانوي

18 2-II كيمياء القلويدات

18 تعريف القلويدات	1-2-II
18 أماكن تواجد القلويدات وتخليقها	2-2-II
18 الخصائص الفيزيائية والكيميائية	3-2-II
19 الاصطناع الحيوي للقلويدات	4-2-II
22 دور القلويدات في النبات	5-2-II
22 طرق استخلاص القلويدات	6-2-II
22 طرق تقدير القلويدات بكمياتوغرافيا السائل ذات الاداء العالي HPLC	7-2-II
23 طرق الكشف عن القلويدات	8-2-II
24 القلويدات الأندولية	9-2-II
26 تقسيم القلويدات الأندولية وفقا لهيكلها	10-2-II
28 دراسة النشاط الضد البكتيري	III
28 تعريف المضاد الحيوي	1-III
28 تعريف البكتيريا	2-III
29 تعريف السلالات البكتيرية المختبرة	3-III
29 بكتيريا <i>Escherichia coli</i>	1-3-III
29 بكتيريا <i>Klebsiella pneumonia</i>	2-3-III
29 بكتيريا <i>Staphylococcus aureus</i>	3-3-III
29 بكتيريا <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4-3-III
30 بكتيريا <i>Serratia sp</i>	5-3-III
30 بكتيريا <i>Proteus mirabilis</i>	6-3-III
30 بكتيريا <i>Staphylococcus saprophyticus</i>	7-3-III
31 إختبار الحساسية	4-III
31 التركيز الأدنى المثبط (CMI)	1-4-III
31 التركيز الأدنى القاتل (CMB)	2-4-III
32 دراسة السمية	IV
33 الأعضاء المستهدفة للمواد السامة	1-IV
33 الكبد	1-1-IV
33 تعريف الكبد	1-1-1-IV
33 وظائف الكبد	2-1-1-IV
34 مؤشرات حدوث خلل في الكبد	3-1-1-IV
35 الكلية	2-1-IV
35 تعريف الكلى	1-2-1-IV

36 وظيفة الكلى -2-2-1-IV

36 مؤشرات حدوث خلل في الكلية -3-2-1-IV

الجزء العملي

37	I- الدراسة الكيميائية.....
37	I-1- جمع وتهيئة العينات.....
37	I-1-1- جمع العينات النباتية.....
38	I-1-2- تهيئة العينات.....
38	I-2- الحصر الكيميائي الأولي لنبات.....
38	I-2-1- اختبار الأنتراكوينون.....
38	I-2-2- اختبار الفينولات.....
39	I-2-3- اختبار الراتنجات.....
39	I-2-4- اختبار Phlobatanins.....
39	I-2-5- اختبار الكومارينات.....
39	I-2-6- اختبار الفلافونويدات الجليكوسيدية.....
40	I-2-7- اختبار الأيمودول.....
40	I-2-8- اختبار المركبات المرجعة.....
40	I-2-9- اختبار القلويدات.....
40	I-2-10- اختبار البروتينات والأحماض الأمينية.....
40	I-2-11- اختبار الكاربوهدرات.....
41	I-3- التقدير الكمي لقلويدات نبات <i>P.harmala</i> بطريقة المعايرة.....
41	I-4- التحليل الكروماتوغرافي لقلويدات نبات <i>P.harmala</i>
41	I-4-1- تحضير المستخلصات.....
41	I-4-2- كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (CCM).....
42	I-4-3- كروماتوغرافيا السائل ذات الاداء العالي HPLC.....
44	II- الدراسة البيولوجية.....
44	II-1- دراسة النشاط ضد البكتيري.....
44	II-1-1- العينات البيولوجية.....
45	II-1-2- تحضير الأقراص بالمستخلصات القلويدية.....
45	II-1-3- طريقة الانتشار في وسط مغذي.....
45	II-1-4- تحديد قيم التركيز الأدنى المشط CMI والتركيز الأدنى القاتل CMB.....
46	II-2- دراسة التسمم الحاد وشبه المزمّن.....
46	II-2-1- الحيوانات المستعملة في التجربة.....
46	II-2-2- دراسة التسمم الحاد عند الفئران.....

46	1-2-2-II تحضير المستخلصات القلويدية لبذور <i>P.harmala</i>
46	2-2-2-II تعيين الملاحظات الإكلينيكية الناجمة عن سلوك الحيوان
47	3-2-2-II تعيين قيمة DL50 حسب علاقة (1939) Karber et Berhen
48	4-2-2-II تعيين قيمة DL50 إحصائياً
49	3-2-II دراسة التسمم شبه المزمّن عند الجرذان
49	1-3-2-II تحضير الحيوانات للمعالجة
49	2-3-2-II مدة المعالجة ونوعية الحقن
51	3-3-2-II جلب عينات الدم
52	4-3-2-II قياس بعض المعايير الفيزيائية
52	1-4-3-2-II تحديد وزن الحيوانات
52	2-4-3-2-II تحديد الوزن النسبي للأعضاء المعزولة
52	5-3-2-II قياس بعض المعايير البيوكيميائية المصلية
52	1-5-3-2-II تقدير فعالية إنزيمات Transaminase (ALT/AST)
54	2-5-3-2-II تقدير فعالية إنزيم الفوسفاتاز القاعدي (ALP)
54	3-5-3-2-II قياس الكرياتينين المصلي
55	4-5-3-2-II قياس اليوريا
56	5-5-3-2-II قياس حمض اليوريك
56	6-5-3-2-II قياس الجلوكوز
57	6-3-2-II قياس بعض المعايير الدموية
58	4-2-II الدراسة النسيجية
60	III- التحليل الإحصائي

النتائج

61	I-نتائج الدراسة الكيميائية
61	1-I- الحصر الكيميائي الأولي لنبات <i>P. harmala</i>
62	2-I- التقدير الكمي لقلويدات نبات <i>P.harmala</i> بطريقة المعايرة
63	3-I- التحليل الكروماتوغرافي لقلويدات نبات <i>P.harmala</i>
63	1-3-I- كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (CCM)
65	2-3-I- التقدير النوعي لبعض المركبات القلويدية باستخدام تقنية HPLC
68	II-نتائج الدراسة الميكروبية

68	1-II- النشاط الضد الميكروبي للمستخلصات القلويدية الحامة لبذور وجذور نبات <i>P.harmala</i>
72	2-II- تحديد قيم CMI و CMB للمستخلصات القلويدية لبذور وجذور <i>P.harmala</i>
72	III- نتائج دراسة السمية الحيوانية
74	1-III- التسمم الحاد عند الفئران الذكورية
74	1-1-III- المراقبة السلوكية للفئران
74	2-1-III- حساب قيمة DL50 بطريقة Berhens et Karber
75	3-1-III- حساب قيمة DL50 بالطريقة الإحصائية
75	1-3-1-III- طريقة المربعات الصغرى (التوزيع الطبيعي)
76	2-3-1-III- طريقة Finney (التوزيع اللوغاريتمي العادي)
78	2-III- التسمم شبه المزمع عند الجرذان الذكورية (<i>Albinos wistar</i>)
78	1-2-III- المظهر العام والملاحظات السلوكية للجرذان الشاهدة والمعالجة أثناء فترة المعالجة
81	2-2-III- تحديد وزن الحيوانات الشاهدة والمعالجة بالقلويدات خلال فترة المعالجة
84	3-2-III- نتائج الوزن النسبي للأعضاء الحيوانات الشاهدة والمعالجة بالقلويدات خلال فترة المعالجة
84	1-3-2-III- الكبد Foie
84	2-3-2-III- الخصيتين Testicules
85	3-3-2-III- الكلى Reins
86	4-3-2-III- المخ Cerveaux
86	5-3-2-III- الطحال Rate
87	6-3-2-III- الرئتين poumons
87	7-3-2-III- القلب Cœur
88	4-2-III- المعايير المصلية البيوكيميائية للحيوانات الشاهدة والمعالجة بالقلويدات طول فترة المعالجة
88	1-4-2-III- تقدير إنزيم ALT خلال الأسابيع الأربعة من المعالجة
90	2-4-2-III- تقدير قيم إنزيم AST خلال الأسابيع الأربعة من المعالجة
92	3-4-2-III- تقدير متوسطات قيم إنزيم ALP خلال الأسابيع الأربعة من المعالجة
95	4-4-2-III- تقدير مستويات الكرياتين للحيوانات الشاهدة والمعالجة بالقلويدات خلال فترة المعالجة
98	5-4-2-III- تقدير مستويات اليوريا للحيوانات الشاهدة والمعالجة بالقلويدات خلال فترة المعالجة
100	6-4-2-III- تقدير مستويات حمض اليوريك للحيوانات الشاهدة والمعالجة بالقلويدات خلال فترة المعالجة
103	7-4-2-III- تقدير مستويات الجلوكوز في الدم
104	5-2-III- تقدير بعض المعايير الدموية للحيوانات الشاهدة والمعالجة بالقلويدات خلال فترة المعالجة
107	6-2-III- دراسة التغيرات النسيجية المرضية للأعضاء الخاصة بإزالة السموم في ذكور الجرذان المعاملة بقلويدات البذور
107	1-6-2-III- الدراسة النسيجية للكبد
114	2-6-2-III- الدراسة النسيجية للكلى

المناقشة

124	I- مناقشة الدراسة الكيميائية.....
124	I-1- الحصر الكيميائي الأولي لنبات <i>P. harmala</i>
126	I-2- التقدير الكمي لقلويدات نبات <i>P.harmala</i> بطريقة المعايرة.....
126	I-3- التحليل الكروماتوغرافي بطريقة CCM.....
126	I-4- التحليل الكروماتوغرافي بطريقة HPLC.....
128	II-مناقشة نتائج الدراسة البكتيرية.....
128	II-1- النشاط ضد الميكروبي للمستخلصات القلويدية الخامة لبذور وجذو نبات <i>P.harmala</i>
130	II-2- قيم التركيز الأدنى المثبط CMI و قيم التركيز الأدنى القاتل CMB للمستخلصات القلويدية لبذور وجذور نبات <i>P.harmala</i>
130	III- مناقشة نتائج دراسة السمية الحيوانية.....
134	III-1- التسمم الحاد عند الفئران الذكورية.....
134	III-2- التسمم شبه المزمّن عند الجرذان الذكورية.....
140	الخاتمة.....
142	قائمة المراجع.....
	الملحق
	الملخص بالإنجليزية
	الملخص بالفرنسية

مقدمة

الجزء النظري

يتضمن :

- ❖ العنوان الأول : الدراسة النباتية
- ❖ العنوان الثاني : الدراسة الكيميائية
- ❖ العنوان الثالث: دراسة النشاط ضد البكتيري
- ❖ العنوان الرابع : دراسة السمية



I- الدراسة النباتية

I-1- العائلة الرطراطية

تعتبر الفصيلة الرطراطية من الفصائل النباتية الشائعة الانتشار، معظم نباتاتها عبارة عن أعشاب أو شجيرات ونادرا ما تكون أشجارا، تنتمي إلى نباتات ذوات الفلقتين، وتصنف ضمن رتبة القديسيات وتم تقسيمها إلى ستة تحت عوائل هي: Seetzenioideae، Balanitoideae، Zygothyloideae، Peganoideae، Tetradielidoideae و Tribuloideae (Kadry., 2012).

ذكر (Sheahan et Chase (2000) أن العائلة الرطراطية تحتوي على 27 جنس يندرج تحتها 285 نوع، تتواجد في جميع القارات، يكثر انتشارها في المناطق الاستوائية وشبه الاستوائية خاصة في المناطق شبه الجافة والجافة حيث تضم هذه الأخيرة على 7 أجناس و 27 نوع، أما (Mahmoudian et al. (2002 أشار أنها تنتشر بكثرة في آسيا الوسطى والجنوب الشرقي لأوروبا والشرق الأوسط وشمال أفريقيا.

I-2- الخصائص المورفولوجية للعائلة الرطراطية

تتميز العائلة الرطراطية حسب (Judd et al. (2002 بصفات وخصائص مورفولوجية أهمها:

الأوراق: بسيطة أو مركبة ذات تعرق ريشي شبكي، تحتوي على أذينات لحمية أو عصيرية.

الأزهار: خنثى، شعاعية الشكل (Actinomorpha) منتظمة سفلية ونادرا ما تكون ازدواجية (Zygomorpha)، لها كأس و تويج يتكون من 5 سبلات و 5 بتلات منفصلة، أما الأسدية تتوضع في محيط أو محيطان أو ثلاثة محيطات طلعية، تتكون من 5 أسدية كما في Zygothyllum و Fagonia، وعموما تكون الأسدية ضعف عدد البتلات أي من (10-15) سداة تلتحم بخيط على كرسي الزهرة.

المتاع: يتكون من (2-6) كرابل ملتحمة يعلوه قلم واحد وميسم واحد.

المبيض: يتربك من عدد من الحجرات في كل حجرة بويضتان أو أكثر وتكون إما مقلوبة (Anatrope) أو عمودية (Orthatrope) في وضع مشيمي محوري.

الثمار: إما أن تفتح مسكنيا (Loculicides) أو حاجزيا (Septicides) و أحيانا تكون نووية حسلية أو عنبية أو مشقة ونادرا ما تكون شوكية أو مجنحة.

البذور: تكون إما سويدائية (Albuminées) أو عديمة السويداء (Exalbuminées)



I-3- تصنيف نباتات العائلة الرطراطية

تصنف النباتات التابعة للعائلة الرطراطية حسب (Bruneton (2001) وفقا لشكل وعدد الوريقات إلى:

I-3-1- أوراق متقابلة: تنقسم إلى:

I-3-1-1- أوراق بسيطة : تشمل على:

- أوراق ذات وريقتان تكون لحمية وأزهارها بيضاء، نادرا ما تكون صفراء أو وردية مثل *Zygophyllum*.
- أوراق ذات ثلاثة وريقات تكون أزهارها إما بنفسجية، ذات أشطرة شوكية تملك 10 أسدية وهي نباتات حولية مثل *Fagonia* أو بيضاء مخضرة، ذات 5 أسدية وهي نباتات حولية معمرة زاحفة على الأرض، ذات أشطرة هدية مثل *Seetzenia*.

I-3-1-2- أوراق مركبة من العديد من الوريقات: أزهارها دائما صفراء مثل *Tribulus*.

I-3-2- أوراق متناوبة أو متعاقبة: تنقسم إلى:

I-3-2-1- نباتات معمرة برية غير شوكية: أوراقها مقسمة إلى أشطرة ضيقة وهي متعددة، الأزهار كبيرة بيضاء مثل *Peganum*.

I-3-2-2- شجرة أو شجيرة شوكية: أوراقها مكونة من ورقتين مثل *Balanite*.

I-4- الأهمية البيولوجية للعائلة الرطراطية

أنواع كثيرة من العائلة الرطراطية ذات خصائص علاجية ومن أهمها:

Balanites aegyptiaca: هذه النبتة غنية جدا بالأحماض الدهنية والصابونيات (Gardette et Baba, 2013)، ولها فوائد ضد الالتهاب، الأكسدة والآلام (Speroni et al., 2005)، ضد الفطريات والفيروسات (Bishnu et al., 2007) كما أشارت دراسة (Ya'u et al., 2011) أن مختلف مستخلصات هذا النبات مضادة للصرع ومهدئة.

Larrea divaricata: هي نبتة طبية شعبية تستخدم في علاج الالتهابات وأمراض الروماتيزم (Pedernera et al., 2006)

Larrea tridentata: هو نبات صحراوي، مستخلصات أوراقه قادرة على معالجة الالتهابات البكتيرية (Martins et al., 2013)

Peganum harmala: بين (Nafisi et al., 2011) أن أوراق هذا النبات تستخدم في علاج مرض السكري وفي ارتفاع ضغط الدم الشرياني.

Zygophyllum album: أشارت دراسات حديثة أن هذا النبات مضاد للأكسدة والالتهاب والسرطان (Ksouri et al., 2013).

Zygophyllum coccineum: أشار (Amin et al., 2013) أن هذا النوع غني بالصابونيات، الستيرويدات و الفلافونويدات الجليكوسيدية، كما أنه مضاد للفطريات والحشرات.



5-I- جنس Peganum و مركباته الكيميائية الفعالة

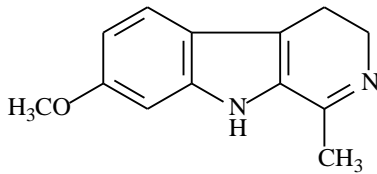
يدرج جنس Peganum تحت عائلة Peganoidae، ينتشر في المناطق القاحلة وشبه القاحلة من العالم، في الطب الصيني التقليدي، استخدمت النباتات التابعة لهذا الجنس والمتمثلة في:

P. nigellastrum Bunge و *P. multisectum* (Maxim) Bobr. *P. harmala* Linné في علاج السعال، ارتفاع ضغط الدم، مرض السكري، الربو، اليرقان، ألم الظهر وكثير من الأمراض الأخرى، وهذا لاحتوائه على العديد من المواد الفعالة (Zheng et al., 2011).

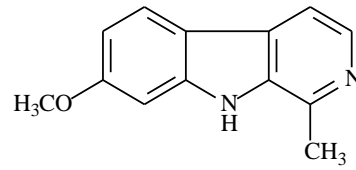
يعد نبات *P. harmala* من الأنواع الأكثر دراسة من الناحية الكيميائية لهذا الجنس وذلك لانتشاره في مختلف أنحاء العالم، مقارنة بباقي الأنواع نظرا لتوزيعها المحدد مثل نوع *P. multisectum* يتواجد في الصين فقط، أما النوع *P. nigellastrum* يقتصر تواجده في روسيا والصين (Aslam et al., 2014)، من بين المواد الكيميائية المحلقة من قبل هذا الجنس هي:

1-5-I- القلويدات: تعد مجموعة كبيرة جدا ذات هياكل وتوزيعات كيميائية وأنشطة بيولوجية مختلفة، تستخلص أساسا من النباتات الزهرية. أشار Zhao et al. (2011) أن جنس Peganum يحتوي على نوعين من القلويدات وهما:

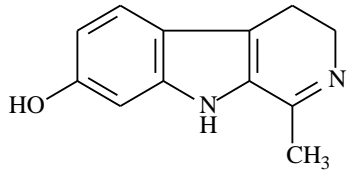
- قلويدات الأندول: تتمثل في مجموعة β -carboline، حيث بين الباحث Moloudizargari et al. (2013) أن نبات *P. harmala* يعد من أهم النباتات المنتجة لهذا النوع من القلويدات شكل (1).



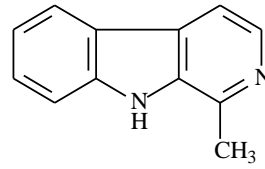
Harmaline



Harmine



Harmalol



Harmane

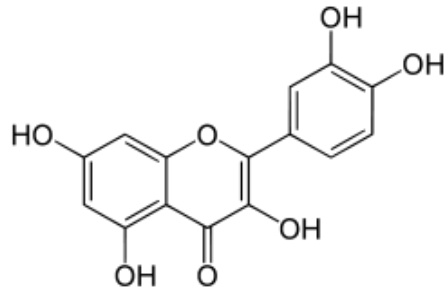
شكل 1: البنية الكيميائية للقلويدات الأندولية المعزولة من نبات *P. harmala*

- قلويدات الكينازول: يعد نبات *P. nigellastrum* و نبات *P. multisectum* من أهم النباتات المنتجة لهذا النوع من القلويدات جدول (1)

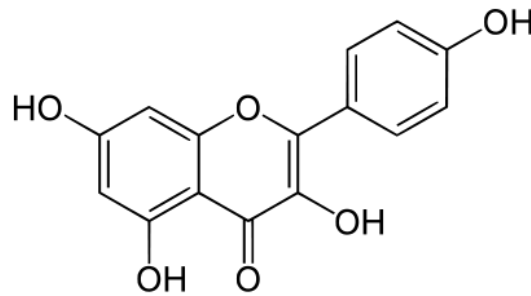
جدول 1: بعض قلويدات الكينازول المعزولة من نباتات تابعة لجنس *Peganum*

المرجع	البنية الكيميائية	اسم المركب المعزول	اسم النوع النباتي
(Ivanova <i>et al.</i> , 2011)		Deoxypeganine	<i>Peganum nigellastrum</i>
		Peganine	
		Luotonine	
(Zhao <i>et al.</i> , 2011)		Nigillastrine I	
		Nigillastrine II	
(Mhaske & Argade 2006)		Vasicinone	<i>Peganum multisectum</i>
		Deoxyvasicinone	
		Deoxyvasicine	

I-2-5- الفلافونويدات و الفلافونويدات الجليكوسيدية: الفلافونويدات هي احد أهم أقسام المركبات الفينولية، مسؤولة عن تلون النباتات بجانب الكلوروفيل و الكاروتين، بين الباحث (2011) Dube *et al.* أن بذور نبات *P.harmala* تحتوي على الفلافونويدات من نوع Quercetine و Kaempferol شكل(2).



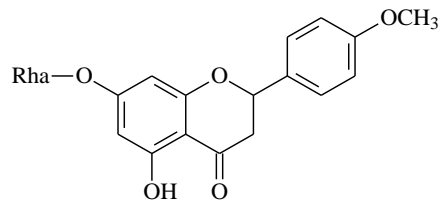
Quercetine



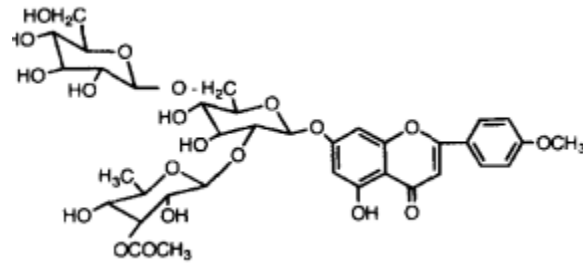
Kaempferol

شكل 2: البنيات الكيميائية للفلافونويدات المعزولة من بذور نبات *P. harmala*

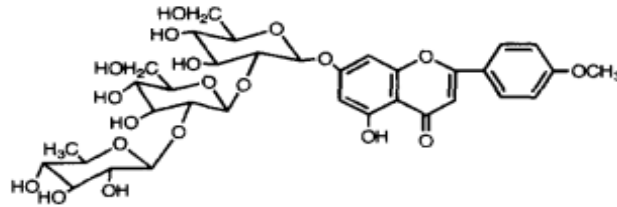
كما تمكن *sharaf et al.* (2003) من عزل 4 أنواع جديدة من الفلافونويدات ذات الطبيعة الجليكوسيدية من أوراق نبات *P.harmala* ممثلة في شكل 3، أما الباحث *Yang et al.* (2010) تمكن من اكتشاف مركب فلافون جليكوسيدي (flavone glycoside) جديد في الجزء الهوائي لنبات *P. nigellastrum* شكل(4).



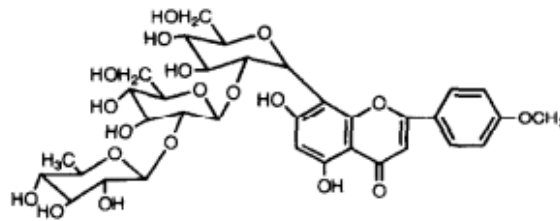
Acacetin 7-O-rhamnoside



acacetin 7-O-(6''-O-glucosyl-2''-O-(3'''-acetyl) rhamnosyl) glucoside

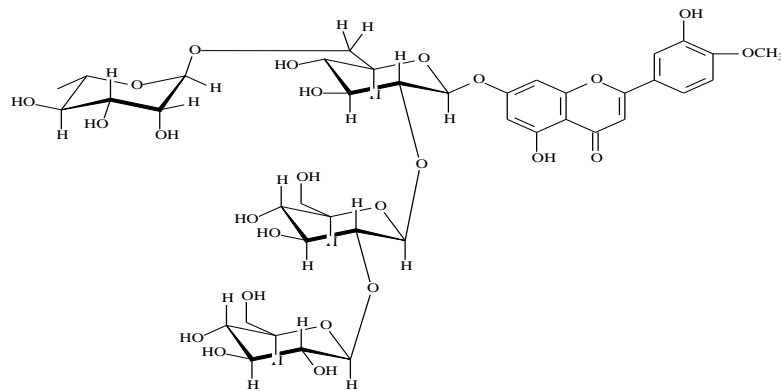


acacetin 7-O-(2'''-O-rhamnosyl-2''-O-glucosyl) glucoside



glycoflavone 2'''-O rhamnosyl-2''-O-glucosyl) cytisine

شكل 3: البنية الكيميائية للفلافونويدات الجليكوسيدية المعزولة من أوراق نبات *P. harmala*

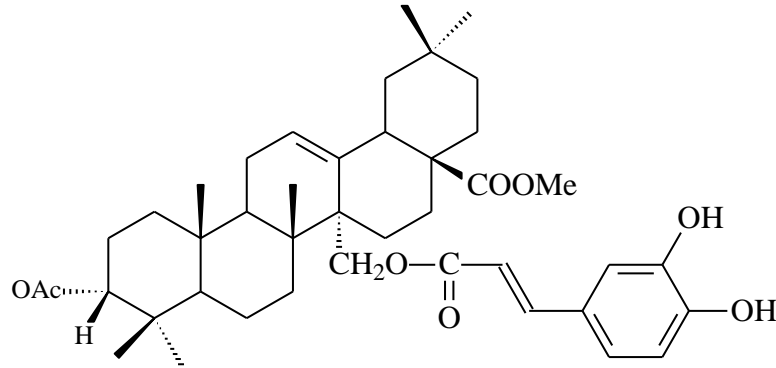


7-O-β-D-glucopyranosyl(1→2)-β-D-glucopyranosyl(1→2)-
[α-L-rhamnopyranosyl(1→6)]-β-D-glucopyranoside

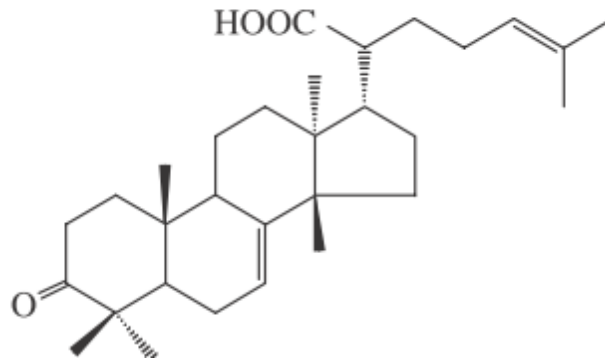
شكل 4: البنية الكيميائية للفلافون الجليكوسيدي المعزول من نبات *P. nigellastrum*



I-3-5-الترينينات الثلاثية: تتميز الترينينات الثلاثية بهياكل بنائية متعددة، يحتوي تركيبها البنائي على أربع أو خمس حلقات يدخل في تكوينها ستة وحدات أيزوبرين. تم عزل مركبين جديدين منها من جذور نبات *P. nigellastrum* من قبل (Zhong-Ze et al. (2007 شكل (5)



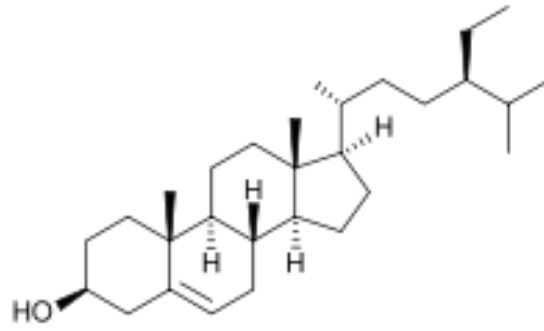
3 α -acetoxy-27-trans-caffeoyloxyolean-12-en-28-oic acid



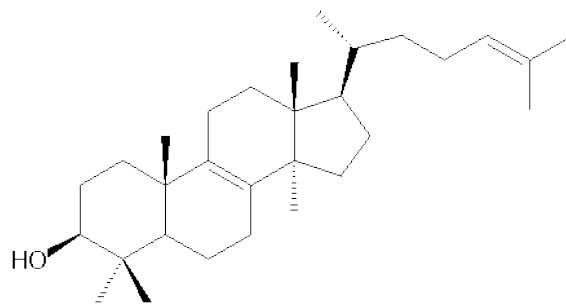
3-oxotirucalla-7, 24-dien-21-oic acid

شكل 5: البنات الكيميائية لترينات الثلاثية المعزولة من جذور نبات *P. nigellastrum*

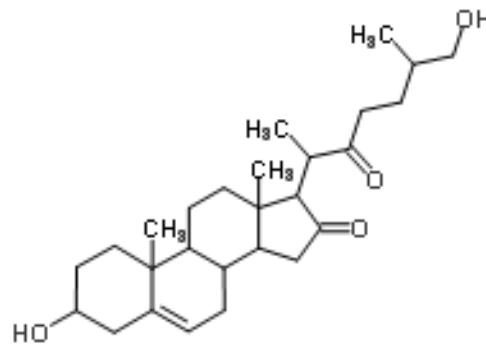
I-4-5-الستيروولات: هي مركبات ذات وزن جزيئي مرتفع تحتوي على عدد من الحلقات، وهي مواد غير قابلة للتصبن، بين الباحثان (Marwat and Rehman (2011 أن بذور نبات *P. harmala* غنية بالستيروولات مثل: β -Sitosterol ، Lanosterol و kryptogenin شكل (6)، هذه المركبات حسب (liu et al. (2007 و chung et al. (2010 لها فعالية ضد التسمم الخلوي و السرطان.



β -Sitosterol



Lanosterol

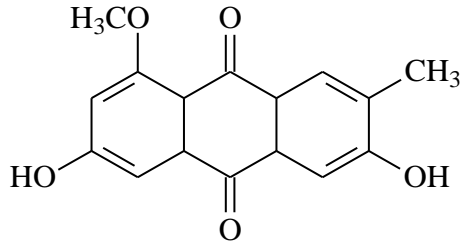


Kryptoginin

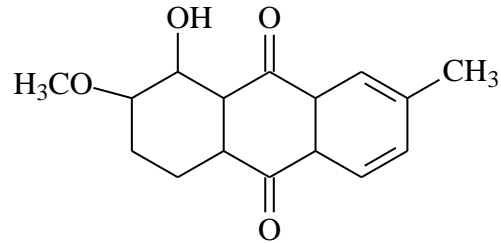
شكل 6: البنات الكيميائية لبعض الستيرويدات المعزولة من بذور نبات *P. harmala*



I-5-5-الانتراكينون: هي مركبات عضوية عطرية مشتقة من الانتراسين، أشار Lamchouri *et al.* (2013) أن جنس *Peganum* يحتوي على هذه المركبات، حيث تم عزل نوعين منها من بذور نبات الحرمل عام 1987 م من قبل Pitre et Srivastasa ممثلان في الشكل 7.



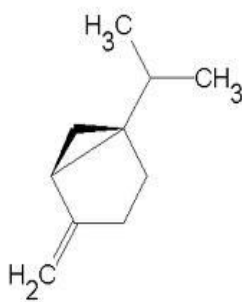
3,6-dihydroxy-8-methoxy-2-methylantraquinone



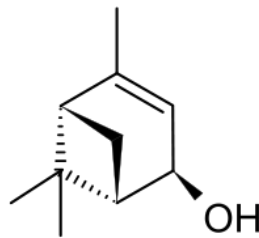
8-hydroxy-7-methoxy-2-methylantraquinone

شكل 7: البنات الكيميائية لبعض مركبات الانتراكينون المعزولة من بذور نبات *P. harmala*

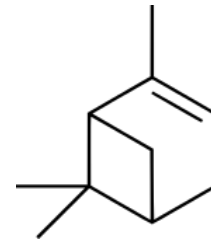
I-5-6-الزيوت الطيارة: هي مركبات لها رائحة، توجد في أقسام مختلفة من النبات، ففي جنس نبات *Peganum* بين faridi *et al.* (2013) أن ثمار نبات *P. harmala* تحتوي على 33 نوع من الزيوت الطيارة، أهمها: α -Pinene، Trans-Verbenole و Sabinene متواجدة بنسب 72.6%، 3.9% و 2.6% على الترتيب.



Sabinene



Trans-Verbenole

 α - Pinene

شكل 8: البنات الكيميائية لبعض الزيوت الطيارة المعزولة من ثمار نبات *P. harmala*



I-5-7- الأحماض الأمينية: هي مركبات عضوية تحتوي على مجموعتين وظيفيتين فعاليتين، هما مجموعة الكربوكسيل

(-COOH) الحمضية ومجموعة الأمين (-NH₂) القاعدية، عددها 20 تم مؤخرا الكشف عن 11 حمض أميني منها

في رحيق ازهار نبات *P. harmala* من قبل الباحث (Movafeghi et al. (2009)

I-5-8- الكربوهيدرات: هي مركبات كيميائية عضوية تتكون من الكربون، الهيدروجين و الأكسجين، أشارت الأبحاث

الأخيرة لـ (Movafeghi et al. (2009 أن رحيق أزهار نبات *P. harmala* يحتوي على سكريات بسيطة متمثلة في:

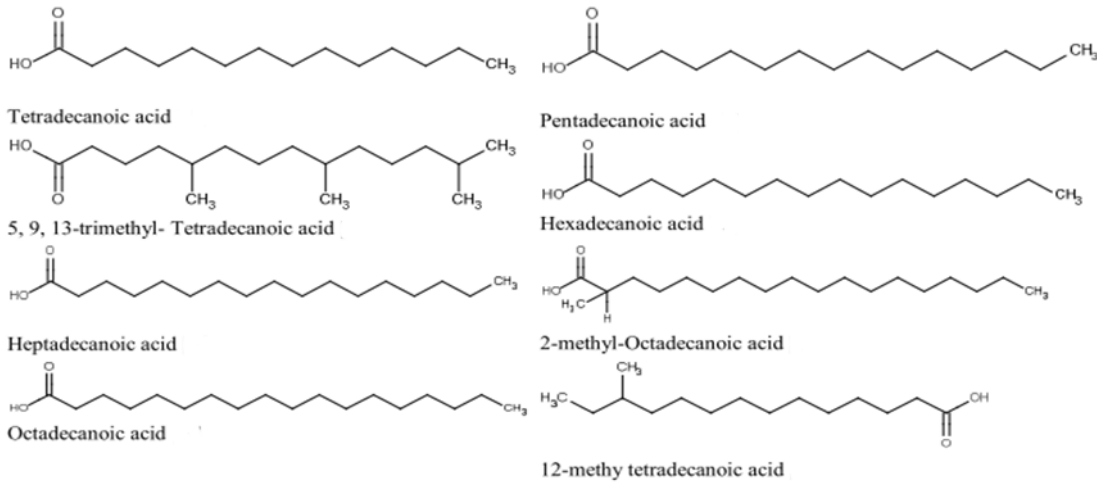
glucose ، fructose و saccharose بنسب 33.1% ، 39.8% و 27.4% على الترتيب.

I-5-9- الأحماض الدهنية: هي عبارة عن أحماض كربوكسيلية لديها سلسلة أساسية أليفاتية طويلة وغير متفرعة

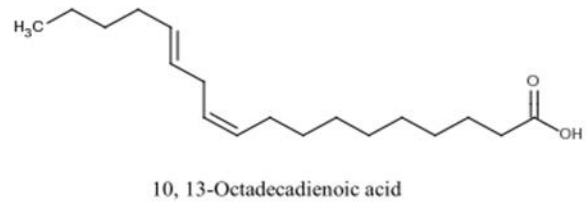
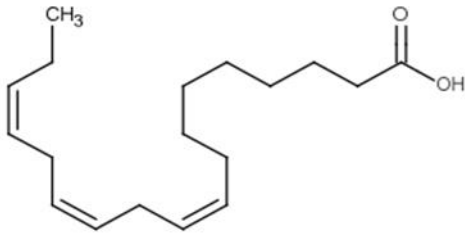
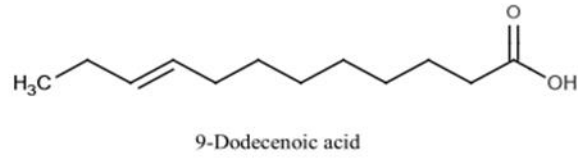
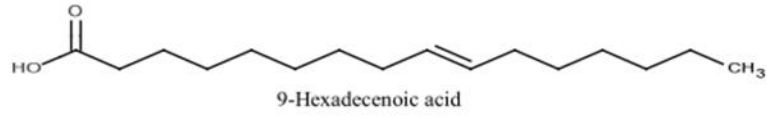
يمكن أن تكون مشبعة وغير مشبعة، بين الباحثان (Almaghrabi et Moussa (2012 أن نبات الحرمل يحتوي

على ثمانية أحماض دهنية مشبعة و خمسة أحماض غير مشبعة تم تشخيصها بتقنية GC-MS، ممثلة في الشكلين 9

و 10 على الترتيب.



شكل 9: البنات الكيميائية للأحماض الدهنية مشبعة لنبات *P. harmala*



شكل 10: البنيات الكيميائية للأحماض الدهنية الغير مشبعة لنبات *P. harmala*



I-6- وصف نبات *P. harmala*

يوصف نبات *P.harmala* بأنه نبات عشبي معمر، بري دائم الخضرة، أملس لا يحمل زوائد أو شعيرات، يأخذ الشكل المحذب أو الوسادي شكل(11)، يتراوح ارتفاعه بين (30-100) سم (Mahmoodian *et al.*, 2002). جذوره وتدنية عميقة و زاحفة، جزءه الخضرى يتكون من ساق رئيسة قصيرة يتفرع منها عدد من الأفرع في جميع الاتجاهات، أوراقه بسيطة متقابلة ومتطاولة يصل طولها من (2-5) سم أما عرضها يتراوح ما بين (0.5-1.3) سم، مقسمة إلى شرائح ضيقة شكل(12).



شكل 12: صورة لأوراق نبات *P.harmala*



شكل 11: صورة لنبات *P.harmala*

يتميز هذا النبات بأزهار كبيرة ذات قطر (2-3) سم، تتكون من 5 سبلات خضراء و 5 بتلات بيضاء اللون، عدد الأسدية 15 تتوضع في محيطان الأول ويسمى بالمحيط الخارجي به 10 أسدية والثاني داخلي به 5 أسدية شكل (13) (Khawar *et al.*, 2005)، المبيض بيضوي الشكل يتوضع فوق قرص غدي يعلوه القلم، يتكون من 3 إلى 4 حجات. الثمرة علبية دائرية تنفتح بـ (4-6) صامات طولية شكل(14 و15)، محررة بذلك بذور عديدة مضلعة الشكل، بنية اللون تميل إلى السواد شكل(16) (Asgarpanah and Ramezanloo, 2012)



شكل 14: صورة لثمرة نبات *P.harmala* قبل النضج



شكل 13: صورة لزهرة نبات *P.harmala*

شكل 16: صورة لبذور نبات *P. harmala*شكل 15: صورة لثمرة نبات *P. harmala* بعد النضجI-7- تصنيف نبات *P. harmala*

حسب ما جاء به (Ozenda (1991) فإن نبات *P. harmala* يتبع التصنيف التالي:

Kingdom	Plantae
SubKingdom	Vascular plants
Phylum	Spermatophyta
SubPhylum	Angiospermae
Class	Dicotyledonae
SubClass	Rosidae
Order	Geraniales
Family	Zygophyllaceae
Genus	Peganum
Species	<i>P. harmala</i>

I-8- التوزيع الجغرافي لنبات *P. harmala*

بينت الكثير من المراجع منها (Aslam et al. (2014)، (2002) Asghari et Lockwood و Ehsanpour (2002) أن نبات *P. harmala* يتوزع على نطاق واسع في :

- أوروبا: يتواجد في المناطق الجافة لإسبانيا وسهوب روسيا الجنوبية.
- إفريقيا: نجد في المناطق الجافة المطلة على البحر الأبيض المتوسط (شرق المغرب و الهضاب العليا الجزائرية والتونسية وصحاري وسهوب ليبيا والمناطق القاحلة بمصر).
- آسيا: يتواجد في إيران، العراق، سوريا، تركيا، الأردن، اليونان والسعودية كما يتوزع في سهوب إيران باكستان، تركستان، الصين والهند.

I-9- الأهمية الفارماكولوجية و الطبية لنبات *P.harmala*

منذ العصور القديمة يعد نبات *P. harmala* محطة طبية هامة وهذا لاستخدامه بكثرة في الطب الشعبي العالمي، فبذوره تملك خصائص مخفضة للحرارة، كما يعتبر عامل للهلوسة (Asgarpanah and Ramezanloo, 2012). هناك العديد من الأبحاث تشير إلى الأنشطة البيولوجية والفارماكولوجية المتنوعة لهذا النبات مثل نشاطه المضاد للاكتئاب (Mansouri et Farzin, 2009)، تثبيط إنزيم أحادي أمين أكسيداز (MAO) (Herraiz et al., 2010). كما أنه مضاد للبكتيريا، الفطريات والفيروسات (Edziri et al., 2010). بالإضافة إلى ذلك فهو فعال في علاج ارتخاء الجلد وضد السرطان (Lamchouri, 2013). كما تستخدم أوراقه كمسكن للألام والتخدير (Monsef et al., 2004) يعود التنوع في النشاط البيولوجي لنبات *P.harmala* حسب Moloudizargari et al. (2013) إلى المركبات الكيميائية النشطة وعلى رأسها القلويدات جدول(2).

جدول 2: الخصائص الكيميائية والعلاجية لبعض المركبات القلويدية لنبات *P. harmala*

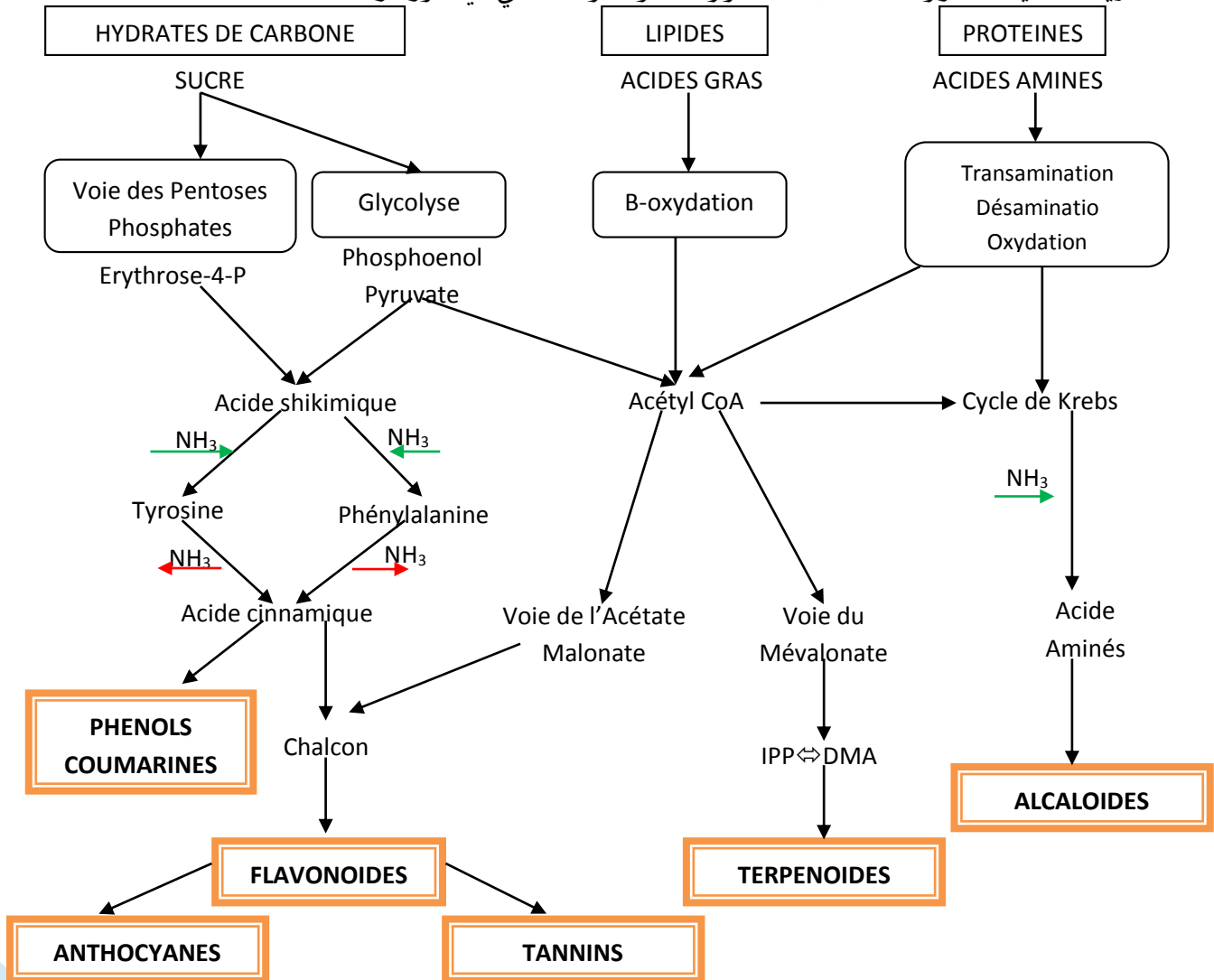
اسم القلويد	صيغته	الخصائص العلاجية	الخصائص الكيميائية	البنية الكيميائية
حارملين harmaline	$C_{13}H_{14}N_2O$	- تأثير مسكن - مخفض للحرارة	وزنه الجزيئي = 214.3 درجة الإنصهار = $(242-244C^{\circ})$ يذوب في الكحولات، محاليل أملاحه تظهر بفلورة زرقاء.	
حارمين Harmine	$C_{13}H_{12}N_2O$	- له نشاط ضد البكتيريا المسببة لمرض السل <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	وزنه الجزيئي = 212.25 درجة الإنصهار = $321^{\circ}C$ يذوب في الكحولات.	
حارملول harmalol	$C_{12}H_{12}N_2O$	- مضاد للأكسدة - مثبط للإنزيم (MAO)	وزنه الجزيئي = 200.24 درجة الإنصهار = $(105 - 100^{\circ}C)$ يذوب في الأستون ضعيف الذوبان في البنزين.	
حارمان harmane	$C_{12}H_{10}N_2$	- له دور في خفض نسبة السكر و الهلوسة	وزنه الجزيئي = 182.25 درجة الإنصهار $201C^{\circ}$ قابل للذوبان في الأستون و يتفكك في وجود الأحماض المعدنية.	
فازيسين Vasicine	$C_{11}H_{12}N_2O$	- يستخدم في علاج الربو	وزنه الجزيئي 186.23 درجة الإنصهار = $182C^{\circ}$	



II- الدراسة الكيميائية

1-II- مركبات الميتابوليزم الثانوي

تعرف مركبات الميتابوليزم الثانوي على أنها مركبات كيميائية عضوية تنتج بكميات ضئيلة في النبات خاصة منها الراقية، حيث تعتبر نواتج أبيض نهائية تخزن في أنسجة خاصة، تخلق أساسا من تفاعلات كيميائية مختلفة لمركبات الميتابوليزم الأولي المتمثلة في (السكريات، الأحماض الأمينية، الأحماض الدهنية..)، حيث يعتبر حامض الشيكيميك، الأحماض الأمينية والأسيتات وحدات البناء الرئيسية لمواد الأيض الثانوية الناتجة من عمليات الهدم و البناء داخل النبات ، كما هو مبين في شكل 17. يعرف حاليا حوالي 100.000 مركب أيضي ثانوي، هذه المركبات ليس لها دورا محدد في النبات مثل التكاثر والنمو، لكن رغم هذا فإنها تقوم بدور هام يتمثل في المحافظة على استمراره وبقائه فهي تستعمل في الدفاع، المقاومة والتأقلم مع الظروف غير الملائمة، كما لها فائدة في تركيب الدواء (Wink, 2010) من أهمها: التربينات،التنينات، الزيوت الأساسية، الفلافونويدات و القلويدات التي هي محور دراستنا.



شكل 17: العلاقة بين الميتابوليزم الأولي والثانوي (Verpoote et Alfermann, 2010)



II-2- كيمياء القلويدات

II-2-1- تعريف القلويدات

أطلق مصطلح القلويدات لأول مرة من قبل العالم (W.Meismer) عام 1819م، تعرف القلويدات بأنها مركبات عضوية آزوتية مركبة من (C, H, O, N) يحتوي الكثير منها في البنية التركيبية على حلقة غير متجانسة أو أكثر، تتشكل انطلاقاً من الأحماض الأمينية (Facchini *et al.*, 2004).

II-2-2- أماكن تواجد القلويدات وتخليقها

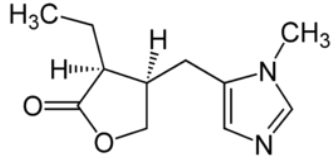
تعتبر النباتات المصدر الرئيسي للقلويدات حيث تتجمع في 300 عائلة نباتية تقريبا من أهمها الفصيلة الباذنجانية، الفصيلة الخشخاشية، الفصيلة الزنبقية، الفصيلة الباقولية، الفصيلة الدفلية والفصيلة الرطاطية. تم فصل أكثر من 16.000 نوع قلويدي، منها 10.000 نوع عرفت بنيتها الكيميائية وتخليقه الحيوي وتأثيره الفارماكولوجي، كما أن هناك عدد متزايد من القلويدات تم العثور عليها في الحيوانات والحشرات واللافقاريات البحرية والكائنات الحية الدقيقة (Verpoorte and Memlink, 2002).

بين (Lanoue *et al.* 2004) أن مقر تخليق القلويدات هو الجذور ثم تنتقل إلى باقي أجزاء نبات عبر الأوعية اللحاءية وتتراكم في الأنسجة في صورة أملاح للأحماض العضوية مثل حمض الطرطريك وحمض سيثيريك أو أنها تكون مرتبطة مع التينينات.

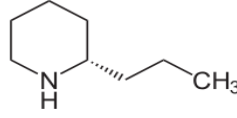
II-2-3- الخصائص الفيزيائية والكيميائية

أشار (Bruneton 2009) أن للقلويدات خواص عديدة منها:

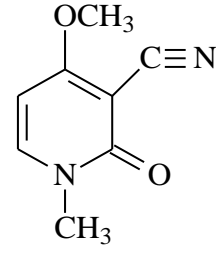
- ❖ كتلتها الجزيئية تكون محصورة بين 100-900.
- ❖ سهولة التأكسد عند تعرضها للهواء والأكسجين مما يسهل انحلالها وتكسرها.
- ❖ قاعدية القلويدات جد متغيرة وهذه الخاصية ترجع لوجود الزوج الإلكتروني الحر في ذرة الأزوت.
- ❖ غالبية القلويدات تحتوي على مراكز كيرالية (فعالة ضوئياً).
- ❖ ترسب القلويدات مع الأملاح مثل أملاح المعادن الثقيلة و أملاح البلاتين، وأيضا مع الأحماض مثل حمض البكريك، و مع التينينات، كما تظهر القلويدات تلونا خاصا مع الكواشف.
- ❖ يمكن للقلويدات أن تكون في صورة صلبة متبلورة مثل Ricinine، أو تكون في صورة سائلة متطايرة مثل Coniine أو غيرمتطايرة مثل pilocarpine.



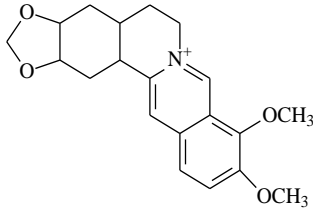
Pilocarpine



Coniine



Ricinine



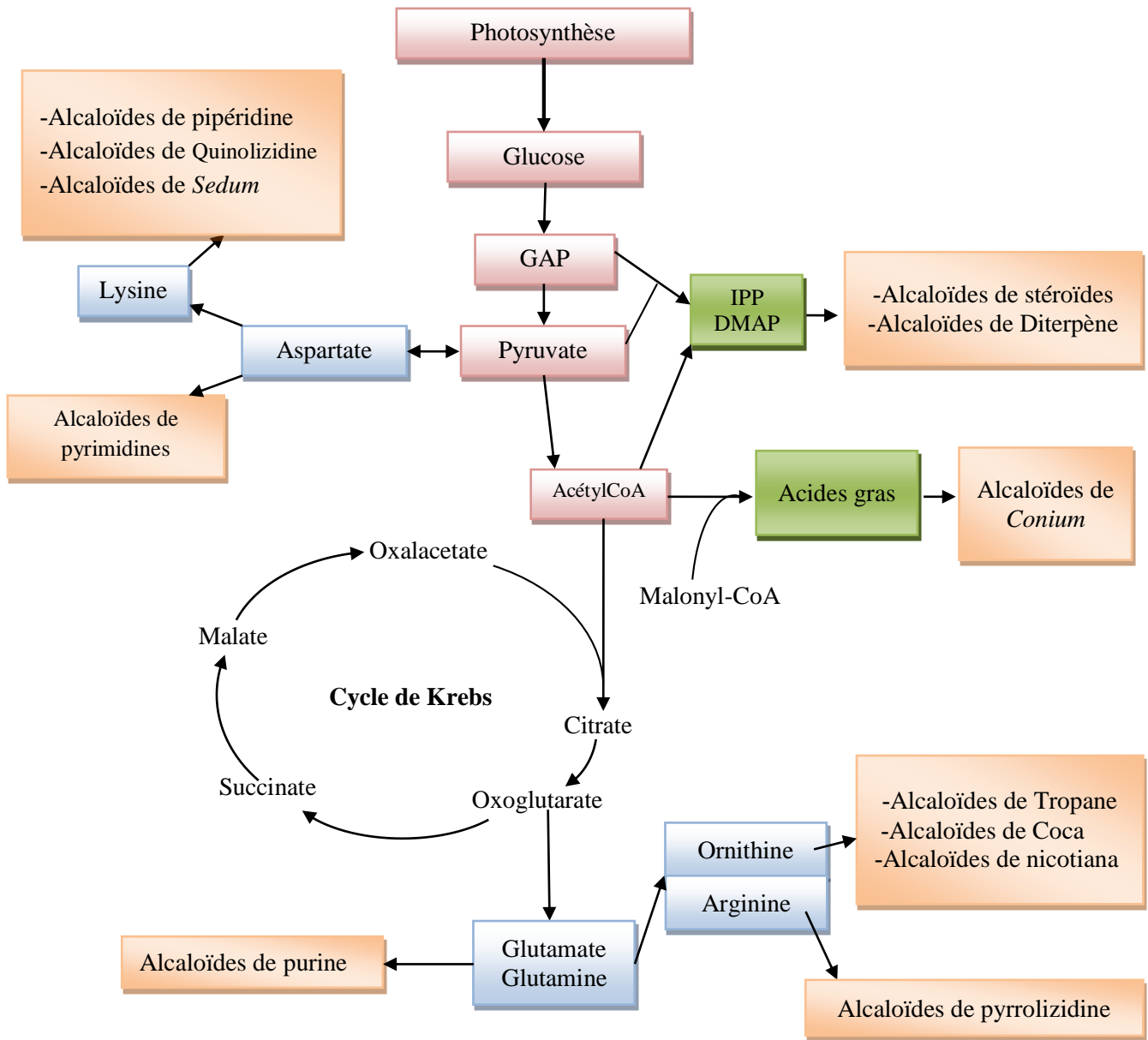
Berberine

❖ مرة الطعم، عديمة اللون والرائحة ما عدا Berberine لونه أصفر

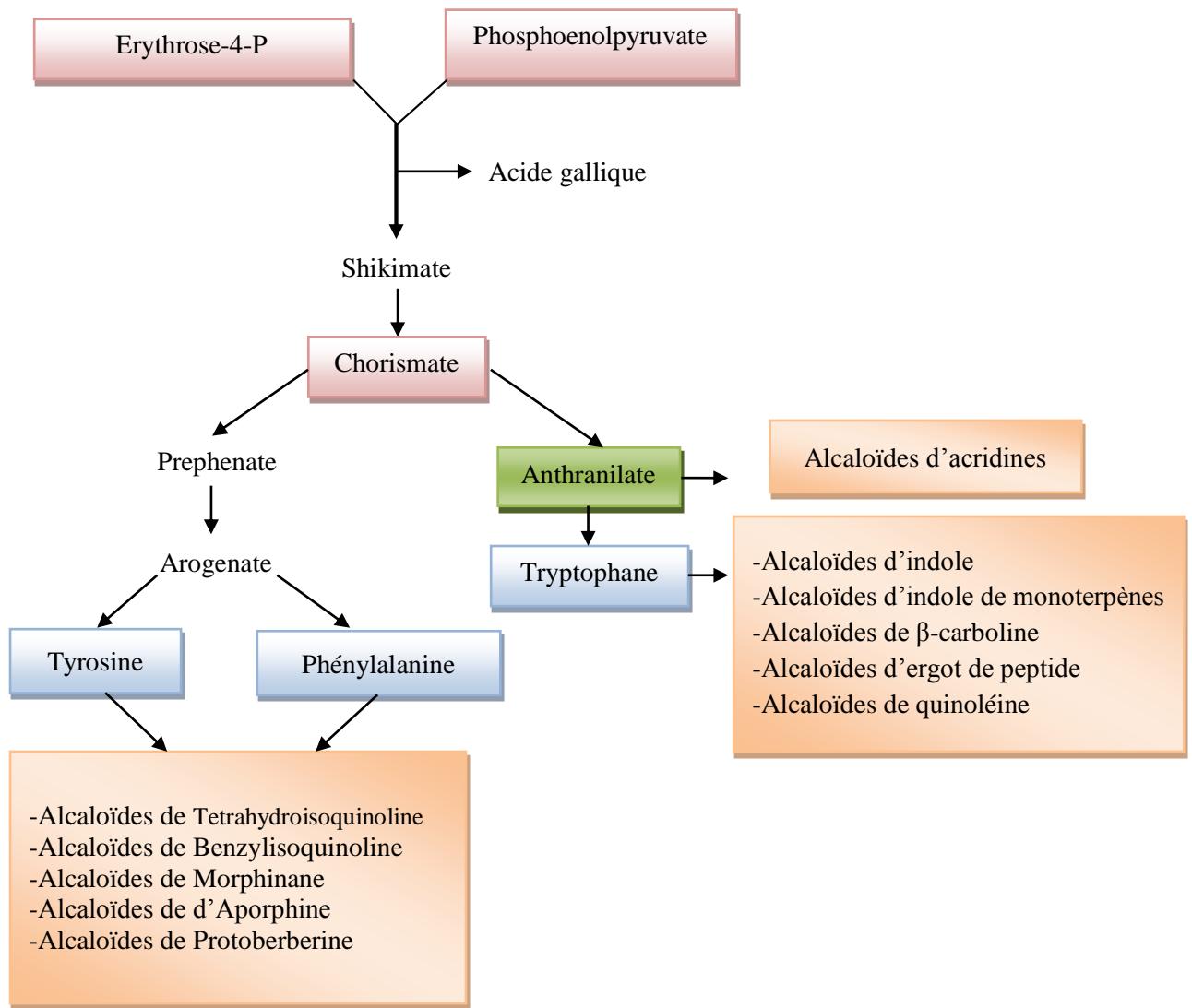
II-4-2- الاصطناع الحيوي للقلويدات

بعد أن تم التعرف على البنية التركيبية لكثير من القلويدات تبين أن المركبات الأم في الاصطناع الحيوي للعديد من هذه المركبات هي **الأحماض الأمينية**، علماً أن هناك قلويدات يمكن أن تتكون داخل المصدر الطبيعي من عديد **الآستات** ومن المسار الاصطناع الحيوي **للترينيات**، ومن أهم الأحماض الأمينية الأساسية التي تدخل في الاصطناع الحيوي للقلويدات هي: Phenylalanine ، Tryptophane ، Ornithine ، Tyrosine و Lysine (Facchini *et al.* 2004).

إن اختلاف التركيب البنائي للقلويدات يجعل وجود مسار موحد لتخليقها مستبعداً، لذا اقترح Wink (2003) العديد من الطرق التي يمكن أن تفسر على نهجها مسار الاصطناع الحيوي لعدد كبير منها داخل مصادرها الطبيعية شكل (18)



يتبع



شكل 18: المسارات المؤدية إلى التخليق الحيوي لمجموعات مختلفة من القلويدات (Wink 2003).



II-2-5- دور القلويدات في النبات

يبقى دور القلويدات غير معروف بدقة داخل النبات، ورغم هذا فقد تم حصر مجموعة من الأدوار حسب Wink (2003) تتمثل في:

❖ معظم القلويدات مواد شديدة السمية لذلك فإن وجودها في النبات يعتبر بمثابة عامل دفاعي لحمايتها من الحشرات وأكلات العشب من الحيوانات.

❖ تحمي النبات من التلف الذي تسببه الأشعة فوق البنفسجية.

❖ تعتبر القلويدات بمثابة مخزون احتياطي لعنصر النتروجين لإمداد النبات به وقت الحاجة إليه.

❖ بعض المركبات القلويدية تؤدي دور كمواد منظمة للنمو.

II-2-6- طرق استخلاص القلويدات

يعتمد استخلاص القلويدات حسب Bruneton (2009) على 3 طرق هي:

❖ **الإستخلاص بالمذيبات العضوية اللاقطبية:** يتم تحرير القلويدات بشكلها القاعدي باستعمال مسحوق نباتي جاف معالج بقاعدة ضعيفة مثل النشادر ثم تنقى القلويدات بمذيب عضوي مثل الكلوروفورم ($CHCl_3$) في جهاز (Soxhlet) مع أخذ بعين الإعتبار درجة الحرارة التي لا تؤثر على تحطيم القلويدات.

❖ **الإستخلاص بالمذيبات العضوية القطبية:** يعالج مسحوق النبات الجاف بالكحول ثم يجفف المستخلص والراسب يذاب في محلول حمضي ثم يستخلص المحلول الحمضي بمذيب عضوي.

❖ **الاستخلاص بالمحاليل الحمضية:** يعالج المسحوق النباتي الجاف بالمحاليل الحمضية حتى النفاذ فنحصل على قلويدات ملحية، ثم يحول المحلول الحمضي إلى محلول قاعدي بإضافة قاعدة مثل NH_4OH وبعده تستخلص القلويدات بمذيب عضوي مثل $CHCl_3$.

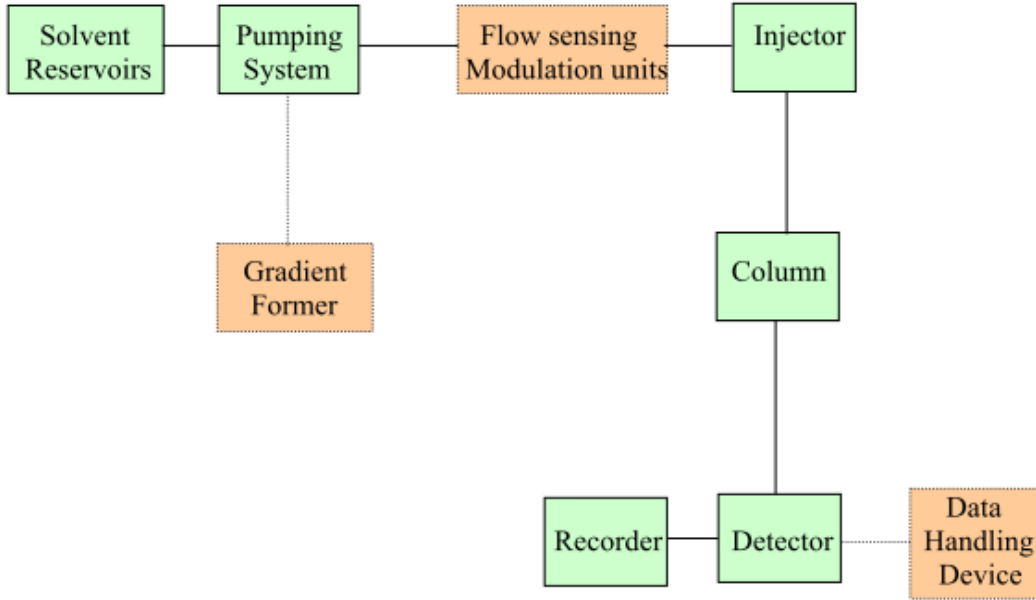
II-2-7- طرق تقدير القلويدات بكمروماتوغرافيا السائل ذات الأداء العالي HPLC

من خلال طريقة كروماتوغرافيا السائل ذات الأداء العالي HPLC نحصل على تقدير نوعي وكمي لمكونات المزيج المراد التعرف عليه، وغالبا ما تستخدم هذه التقنية في الكيمياء الصيدلانية والبيولوجية. يتلخص العمل على جهاز HPLC بحقن كمية صغيرة من العينة المذابة في مذيب ما في وسط سائل متدفق هو الطور المتحرك (Phase Mobile) الذي يمر في عمود معبأ بالطور الثابت (phase stationnaire) وتنفصل العينة إلى مكوناتها وذلك بسبب تفاوت مكونات العينة في زمن الاستبقاء الخاص لكل منها، وزمن الاستبقاء يحدد مدى التفاوت في الميل إلى الطور الثابت أم إلى الطور المتحرك اعتمادا على خواص القطبية (Bansal et al., 2010).

يوضح الشكل 19 رسما تخطيطيا لمكونات الجهاز الذي يتكون من مستودع للطور المتحرك أو مستودعات للسوائل المختلفة حيث يمكن استخدام خليط متدرج من السوائل، يلي ذلك مضخة لضغط السائل وإجباره على المرور في العمود الرفيع ثم يأتي الجزء الخاص بحقن العينة في العمود والذي غالبا ما يكون صغير جدا (عدة ميكرو لترات) مما



يؤدي إلى الحصول على أسنان حادة وبالتالي فصل جيد للمكونات، ويأتي الكاشف (détecteur) في نهاية العمود وغالبا ما يستخدم كاشفا في مجال الأشعة فوق البنفسجية (UV détecteur) مثبت عند الموجة 254nm أو عند 280nm وذلك لان اغلب المركبات العضوية تمتص بشكل قوي عند هذا الطول الموجي، يليها الجزء الخاص بإظهار وتسجيل النتائج والقيم المتحصل عليها.



شكل 19: تخطيط لمكونات جهاز HPLC.

II-2-8- طرق الكشف عن القلويدات

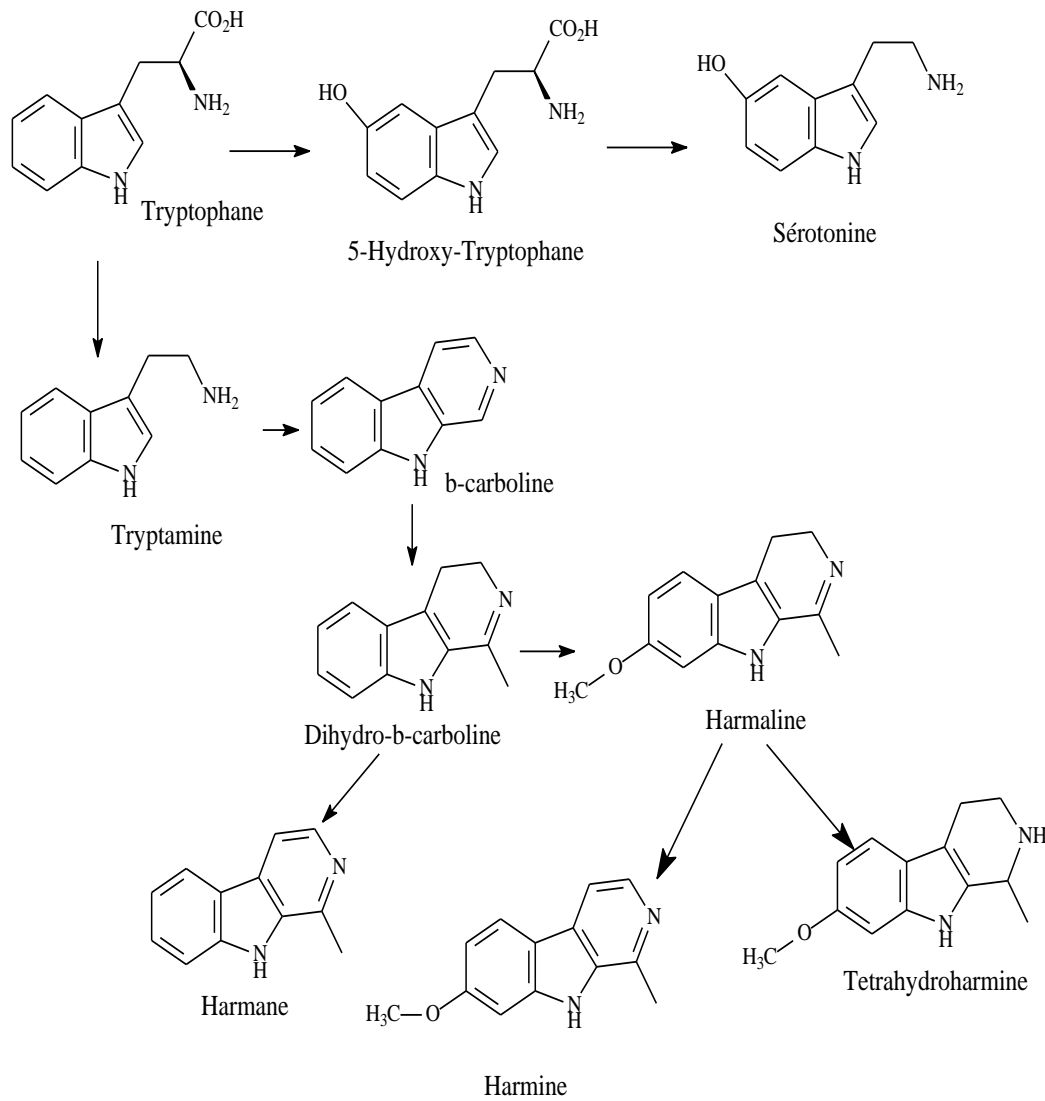
يتم الكشف عن القلويدات عن طريق عمليات الترسيب والتلوين (Bruneton, 2009) وهذا باستعمال محاليل أهمها:

- ❖ محلول ماير: يعطي راسب أبيض مصفر مع القلويدات.
- ❖ محلول دراجندروف: الأكثر استعمالا، يعطي اللون البرتقالي مع القلويدات.
- ❖ محلول واجنز: يعطي راسب بني محمر مع القلويدات.
- ❖ محلول إردمان: يعطي اللون الأزرق المخضر مع القلويدات.

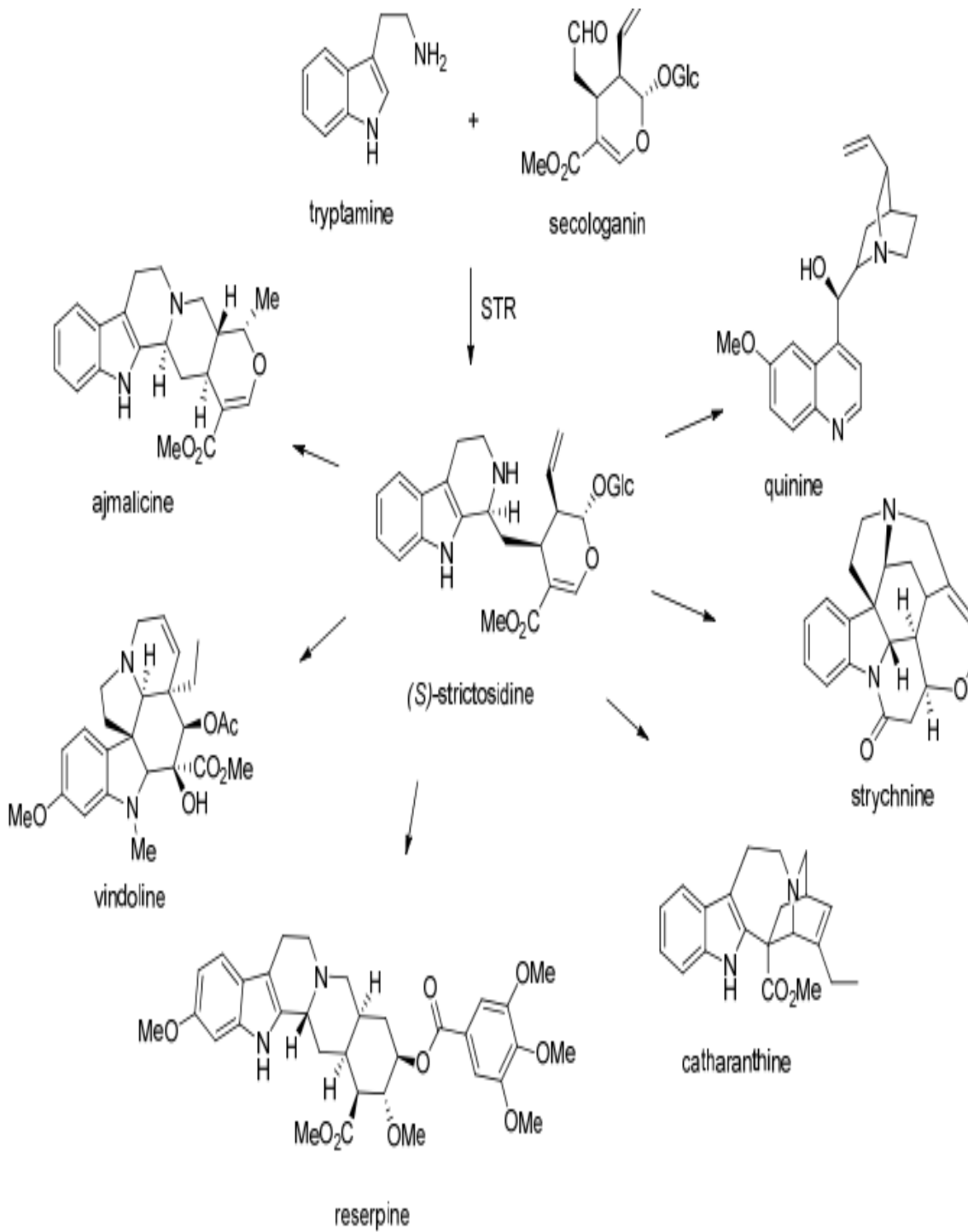


II-9-2- القلويدات الأندولية

القلويدات الأندولية هي واحدة من أكبر العائلات الكيميائية، تستخلص من عدة عائلات نباتية مثل: الفصيلة الرطراطية (Zygophylaceae)، الفصيلة الدفلية (Apocyanaceae)، الفصيلة اللوقانية (Loganiaceae) و الفصيلة البقولية (Loganiaceae)... إلخ، تضم أكثر من 2000 نوع، منها مركبات بسيطة التركيب تشتق من الحمض الأميني Tryptophane مثل قلويدات B- Carboline المتواجدة في مختلف أعضاء نبات *P.harmala* موضوع الدراسة و قلويد Sérotonine (الشكل 20) و منها مركبات معقدة التركيب تشتق من مركبي Segloganin و Tryptamine كما هو موضح في الشكل 21 (Stockigt *et al.*, 2011)، تعزى أهمية هذا النوع من القلويدات حسب (Laine, 2014) إلى الدور الفارماكولوجي الذي تحدثه على الكائن الحي مثل تأثيرها المضاد للفيروسات والسرطان.



شكل 20: التخليق الحيوي لبعض القلويدات الأندولية بسيطة التركيب



شكل 21: التخليق الحيوي لبعض القلويدات الأندولية معقدة التركيب (Stockigt *et al.*, 2011).

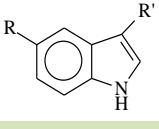


10-2-II- تقسيم القلويدات الأندولية وفقا لهيكلها (Hessn, 2002)

تم تقسيم القلويدات الاندولية وفقا لهيكلها إلى أربعة مجموعات هي:

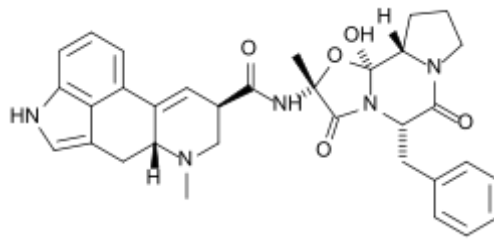
• قلويدات أندولية بسيطة تحتوي على مجموعة بديلة في الموضع رقم 3 الجدول (3)

جدول 3: صيغ بعض القلويدات الأندولية البسيطة

R'	R	
H	H	Indol
-CH ₂ -N-(CH ₃) ₂	H	Gramine
-CH ₂ -CH ₂ -NH ₂	H	Tryptamine
CH ₂ -CH ₂ -N-(CH ₃) ₂	H	N,N-diméthyltryptamine
-CH ₂ -CH-COO ⁻ N ⁺ —(CH ₃) ₃	H	Hypaphorine
CH ₂ -CH-COOH N—CH ₃ H	H	Abrine
-CH ₂ -CH ₂ -NH ₂	OH	Sérotonine
-CH ₂ -CH ₂ -N-(CH ₃) ₂	OH	Bufotenine

قلويدات اندولية تحتوي على نواة إرغولين: تحوي هذه القلويدات في بنائها الهيكلية على أربع حلقات تعرف بنواة

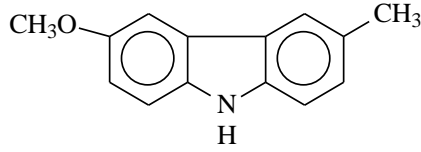
إرغولين مثل قلويد Ergotamine



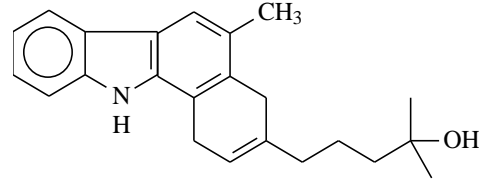
Ergotamine



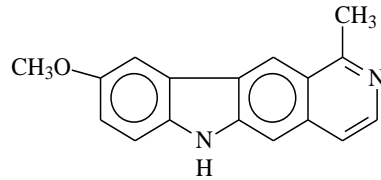
قلويدات أندولية تحتوي على نواة الكربازول مثل: Glycozoline، Mahanimbine و Olivacine



Glycozoline



Mahanimbine



Olivacine

- قلويدات أندولية تحتوي على مجموعة بيتا-كاربولين: يمكن توضيح بعض البنيات الكيميائية المختلفة لهذا النوع في الجدول (4)

جدول 4: صيغ بعض القلويدات الأندولية تحتوي على مجموعة بيتا-كاربولين

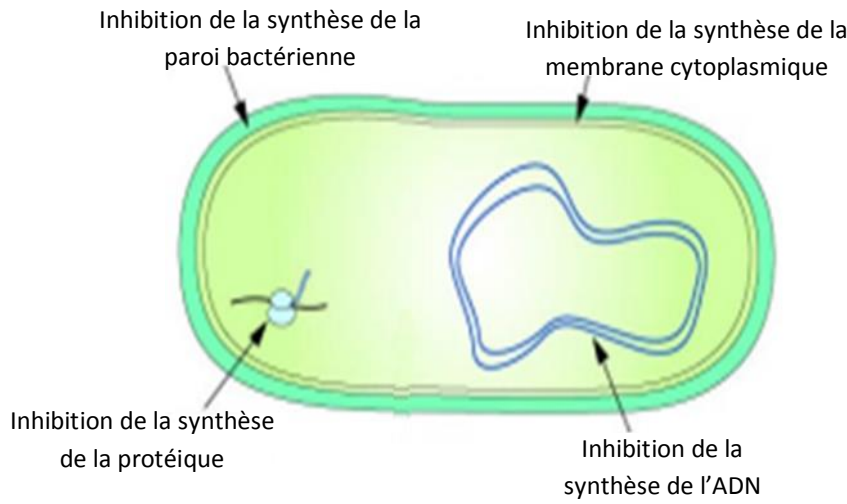
اسم النوع النباتي	اسم العائلة	الجزء النباتي الذي يحتوي على القلويدات	الاسم الكيميائي	البنية الكيميائية
<i>Peganum harmala</i>	Zygophylaceae	البذور	الحارمين Harmine	
<i>Rauwolfia Serpentina</i>	Apocynaceae	الجذور	ريساربين Réserpine	
<i>Corgnasche Yohimba</i>	Rubiaceae	قشرة اللحاء	يوهيمبين Yohimbine	
<i>Catharanthus Roseus</i>	Apocynaceae	الأوراق	سريندين Serpentine	



III- دراسة النشاط ضد البكتيري

III-1- تعريف المضاد الحيوي

تعرف المضادات الحيوية وفقا لـ (Norris 2008) بأنها كل مادة كيميائية منتجة من قبل الكائنات الحية الدقيقة لها القدرة على تثبيط أو إيقاف نمو الكائنات الحية الدقيقة الأخرى غير التي أنتجتها، من خلال التثبيط على مستوى بناء الجدار الخلوي أو بناء الغشاء البلازمي أو على مستوى تخليق البروتينات أو تخليق الحمض النووي (شكل 22). ومن بين الكائنات الحية الدقيقة المحلقة للمضادات الحيوية نجد: الفطريات، البكتيريا والأكتينومايستات كما يمكن إنتاجها صناعيا مثل: Sulfamide، Isoniazide.



شكل 22: طريقة عمل المضادات الحيوية على البكتيريا .

III-2- تعريف البكتيريا

تعرف البكتيريا على أنها كائنات حية دقيقة وحيدة الخلية، صغيرة البنية، يتراوح حجمها بين (3-5 ميكرون)، تتكون من ADN و سيتوبلازم، محدة بغشاء بلازمي وجدار خلوي المكون من بيتيد الغليكان (peptidoglycane). تلعب البكتيريا دورا هاما في الدورة الحياتية على سطح الأرض، حيث تتواجد في كل مكان (ماء، هواء، تربة والفتحات الطبيعية للإنسان والحيوان)، تبدي البكتيريا تنوع في قدرتها على إنتاج المرض إذا توفرت لها الظروف الملائمة، وتكون مفيدة في عمليات التخمر وتكوين الفيتامينات والهرمونات والإنزيمات (Fauchère et Avril, 2002).



III-3- السلالات البكتيرية المختبرة

III-3-1- بكتيريا *Escherichia coli*

عزلت لأول مرة من طرف العالم Escheriche سنة 1885، تنتمي إلى عائلة Enterobacteriaceae، وهي عبارة عن عصيات سالبة الجرام، أبعادها من (2-3 ميكرومتر طولاً و 0,6 ميكرومتر عرضاً)، تتواجد بشكل عادي في أمعاء الإنسان والحيوان حيث النوع الهوائي منها هو الأكثر تواجداً في الأنبوب الهضمي، تظهر القدرة الممرضة لهذا النوع في إحداث إلتانات على مستوى الجهاز البولي والبطن فتحدث الإسهال، كما تبدي مقاومة نسبية للعوامل الطبيعية فمثلاً تكون مقاومة عند تعرضها لدرجة حرارة 55°م لمدة ساعة أو 60°م لمدة 20 دقيقة (Avril et al., 2000).

III-3-2- بكتيريا *Klebsiella pneumoniae*

تتبع عائلة Enterobacteriaceae وتتواجد بكثرة في الطبيعة (ماء، تربة و غبار) كما تم عزلها من النباتات والأغذية والإنسان، سالبة لصبغة الجرام، أبعادها من (1-3 ميكرومتر طولاً و 0,5-1 ميكرومتر عرضاً)، تكون في شكل عصيات منفردة، وأحياناً على شكل ثنائيات غير متحركة، مستعمراتها ضخمة نوعاً ما، لامعة، تتميز بالزوجة لاحتوائها على كبسولة. تعد بكتيريا *K.pneumoniae* قاطنات طبيعية في الجهاز الهضمي للإنسان والحيوان، حيث لها القدرة على الهجرة عن طريق الدم مسببة تعفن دموي، كما تصيب الجهاز التنفسي والجهاز التناسلي، كما أنها تبدي مقاومات للعديد من المضادات الحيوية (Podschun and ullman, 2004).

III-3-3- بكتيريا *Staphylococcus aureus*

اكتشفت *S.aureus* لأول مرة في القيح من طرف العالم باستور سنة 1880، وهي عبارة عن بكتيريا موجبة لصبغة الجرام، تنتمي إلى العائلة Micrococaceae، لا تنتج أبواغاً ولا تحتوي على محفظة، تكون بشكل مكورات عنقودية ذهبية، يتراوح قطرها ما بين (0,8-1,4) ميكرومتر، غير متحركة تنمو عند مدى حراري قدر بين (10-42) م°، و تموت عند تعرضها للمطهرات مثل الفينول وكلوريد الزئبق. تتواجد هذه البكتيريا على مستوى الجلد، الأغشية المخاطية، الأمعاء والمعدة،... إلخ (Fauchère et avril, 2002).

III-3-4- بكتيريا *Pseudomonas aeruginosa*

عزل هذا النوع البكتيري سنة 1882م من قبل العالم Carle Gésard وهي عبارة عن بكتيريا عصوية سالبة مع صبغة جرام، يتراوح طولها من (1,5-3) ميكرومتر وعرضها (0,5 – 0,8) ميكرومتر. كثيرة الحركة وهذا راجع إلى امتلاكها لسوط واحد قطبي، غير منتجة للأبواغ ولا تحتوي على محفظة وهي في الأصل بكتيريا هوائية لكن تستطيع العيش في ظروف لا هوائية، ومن أهم خصائصها إفراز نوعين من الصبغات:

- صبغة pyocyanine: صبغة زرقاء اللون تذوب في الكلوروفورم والماء.
- صبغة pyoverdine: صبغة صفراء مخضرة تذوب في الماء ولا تذوب في الكلوروفورم.



تتواجد *P.aeruginosa* في التربة، الماء، وعلى مستوى الجلد، تصيب الجهاز البولي والجهاز التنفسي، وتتسبب في التهاب السحايا، وتعتبر كل من Gentamycine و Polymycine من المضادات الحيوية المؤثرة بشدة على هذه البكتيريا (Charles, 2006).

III-3-5- بكتيريا *Serratia sp*

تنتمي إلى عائلة Enterobacteriaceae تمتاز بأنها عصوية ذات أسواط، هوائية إجبارية و سالبة لصبغة الجرام. تعيش أفراد هذا الجنس رمية على بقايا نباتية وحيوانية، تنتج في بعض الأحيان مستعمرات ذات لون أحمر (Prodigiosine). تمتاز بمقاومتها الشديدة للمضادات الحيوية وكذلك غياب المحفظة وإفراز بعض أنواع الإنزيمات الخارجية مثل إنزيمات Lipase، Estérase و Désoxyribonucléase (Fauchère et avril, 2002).

III-3-6- بكتيريا *Proteus mirabilis*

تنتمي إلى عائلة Enterobacteriaceae وهي عصويات سالبة جرام، متحركة، هوائية لا هوائية اختيارية (aéro-anarobie)، لها سرعة نمو كبيرة، تمتاز بأنها متعددة الأشكال (Polymorphe) يمكن أن تظهر في أشكال قصيرة، ذات طول يتراوح ما بين (2-3) ميكرومتر في الأعضاء الممرضة أو تكون في أشكال طويلة ما بين (20-80) ميكرومتر في بعض شروط الزرع. يتواجد هذا النوع في الماء، التربة وعلى بعض أنواع النباتية، كما تعيش عادة في الأمعاء والمسالك البولية ولكن في بعض الأحيان تستعمر الجلد والغشاء المخاطي للفم، من خصائصها إنتاج كبريتيد الهيدروجين (H_2S) أثناء تخمرها للسكريات باستخدام سكر لاكتوز إلى جانب خاصية مقاومتها للمضادات الحيوية خاصة Tétracyclines و Colistine بينما تبدي حساسية معتبرة للمضادات الحيوية مثل (Céphalosporines، Quinoléines، Aminositides و Amino-Pénicillines) (Zunino, 1999).

III-3-7- بكتيريا *Staphylococcus saprophyticus*

تنتمي إلى عائلة Micrococcaceae وهي موجبة لصبغة الجرام، هوائية لاهوائية اختيارية، شكلها يشبه عنقيد العنب، تستوطن المسالك البولية للإنسان مسببة إتهاب المثانة خاصة عند النساء، سالبة للإنزيم المخثر لبلازما الدم Coagulase-négative، وهي بكتيريا انتهازية وذلك بإظهار قدرتها المرضية عند المرضى الذين يعانون من ضعف مناعي وحالات الأمراض المزمنة والمرضى الراقدين في المستشفى لمدة طويلة (Huebner et Goldman, 1999).

تمتاز بقدرتها على النمو في مديات حرارية بين (15-43)°م وتحملها لدرجة الملوحة ومقاومة لتراكيز المشبعة لبعض المطهرات الشائعة الإستعمال فضلا عن مقاومتها المتعددة للمضادات الحيوية مثل مضاد الحيوي Méthicilline (Gatermann et Meyer, 1994)



III-4- إختبار الحساسية

يعتمد العلاج الكيميائي على استعمال المواد الكيميائية لعلاج الأمراض، خاصة منها المتعفنة، إذ أن أول فعل مثبت للكائنات الحية الدقيقة تجاه المواد الكيميائية استعمل من طرف باستور سنة 1877م وبعدها اكتشف البنيسيلين من طرف Alexander Fleming عام 1928 الذي يعتبر أحسن المضادات الحيوية ومنه تم تطوير طرق لتقدير حساسية البكتيريا لهذه المضادات الحيوية فظهر ما يسمى بالاختبار البيولوجي Antibiogramme الذي يصنف البكتيريا إلى: حساسة، متوسطة و مقاومة للمضادات الحيوية (Eberlin et et Renaud, 1994)، و الذي يعتمد على تحديد كل من:

III-4-1- التركيز الأدنى المثبط (CMI) Concentration Minimale Inhibitrice

يعرف على أنه أقل تركيز للمضاد الحيوي له القدرة على تثبيط نمو المستعمرات البكتيرية في زمن أقصاه 24 ساعة من الحضان.

III-4-2- التركيز الأدنى القاتل (CMB) Concentration Minimale Bactéricide

يعرف على أنه أدنى تركيز من المادة الفعالة القادرة على قتل 99.99% من المجموعة البكتيرية بعد 18 ساعة في درجة حرارة 37°م.

يمكن تحقيق الاختبار البيولوجي بطريقتين:

- ❖ **طريقة التخفيف:** تجرى في وسط سائل أو صلب حيث تحدد قدرة الكائنات الدقيقة على النمو في وجود سلسلة من تراكيز معينة لمضاد حيوي معين.
- ❖ **طريقة الانتشار:** يستعمل فيها ورق واطمان لتقييم فعالية المضاد الحيوي من خلال القراءة المباشرة لقطر التثبيط على سطح الجيلوز.



IV- دراسة السمية

التسمم الخلوي هو علم يهتم بدراسة التغيرات التي تحدثها المواد الكيميائية السامة بالخلية الحية باعتبارها الوحدة الأساسية في تركيب جسم الكائن الحي وأداء وظائفه، كما أن استجابة الخلايا للمواد السامة تكون سريعة وتتضح من خلال التغيرات في معدلات الأيض ونمو الخلية ونسخ الجينات.

إن الضرر الخلوي قد يحدث وبأكثر من آلية في الوقت نفسه تبعاً لطبيعة المادة الكيميائية موضع الاختبار ومدى تعرض الخلية أو النسيج أو العضو لها. وبناءً على ذلك، فقد أمكن تقسيم جميع العمليات الأساسية المتعلقة بالفعل السام إلى قسمين أساسيين هما: التأثير على التركيب الخلوي والتأثير على الوظيفة الخلوية، وقد يؤثر أحد هذين التأثيرين على الآخر، حيث إن حدوث ضرر بأحد التراكيب الخلوية عادة ما ينتهي به الأمر إلى التأثير على الوظيفة الخلوية ومن ثم التأثير على سلامة التركيب الخلوي.

و من جهة أخرى، فإن التأثيرات الضارة الناتجة عن فعل المادة الكيميائية السامة قد تكون ناتجة عن ارتباط المركب الكيميائي السام بالجزيئات الحيوية. وقد أمكن تقسيم ذلك الارتباط إلى قسمين: الأول ارتباط عكسي (Réversible) أي قابل للانحلال تأثيره غير ميمت في الغالب لأنه يكون متركزاً على طبيعة الوظيفة الخلوية والثاني ارتباط غير عكسي (Irréversible) تأثيره ميمت للخلية في الغالب لأنه يتضمن التركيب الخلوي مسبباً العديد من التغيرات التي لا تتحملها الخلية، مما يؤدي في النهاية إلى موتها بواسطة النخر الخلوي (Necrosis) أو بواسطة الموت الخلوي المبرمج (Apoptosis) (Hasmall and Roberts, 1999).

هناك الكثير من التغيرات تطرأ على الوظيفة الخلوية نتيجة لتأثير تلك المركبات السامة وقد أمكن تقسيم هذه التغيرات إلى ثلاثة أقسام :

- تغيرات في نفاذية الغشاء الخلوي وما يترتب عليه من تأثير على انتقال المواد من وإلى الخلية.
- تغيرات في النشاط الإنزيمي في الخلية وما قد يترتب على ذلك من تغيرات في معدل العمليات التنفسية للخلية وبالتالي في معدل توفر جزيئات الطاقة.
- تغيرات في معدلات الانقسام الخلوي وتصنيع الأحماض النووية وما يوافق ذلك من تغيرات في طبيعة تصنيع البروتينات، وقد يتطور الأمر إلى حدوث طفرات (Eisenbrand *et al.*, 2002)



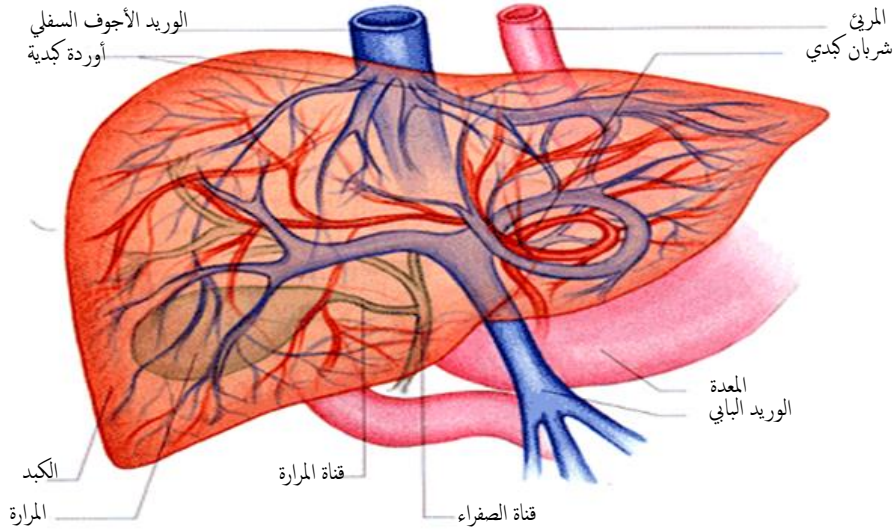
IV-1- الأعضاء المستهدفة للمواد السامة:

IV-1-1- الكبد:

IV-1-1-1- تعريف الكبد

هو أكبر أعضاء الجسم البشري، يقع في الجزء الأيمن من تجويف البطن تحت الحجاب الحاجز خلف الأضلع، يتكون من فصين رئيسيين هما الفص الأيمن والفص الأيسر وآخرين صغيرين، في أسفل الفص الأيمن تقع المرارة والتي تتصل بالكبد عن طريق قناة مرارية (شكل 23) والتي تقوم بتخزين العصارة الصفراوية المفرزة من الكبد.

يعد الفصيص الكبدي الوحدة الوظيفية الأساسية للكبد، ويتكون من الخلايا الكبدية إضافة إلى نوعين من الخلايا هما الخلايا البطانية النمطية وخلايا كوفر (Kupffer cells) الكبيرة وتسمى أيضاً الخلايا الشبكية البطانية، وهي بلعميات تتمكن من إلتهايم الجراثيم والمواد الغريبة الأخرى التي تدخل مع الدم.



شكل 23: صورة توضح بنية الكبد (Marieb, 1999).

IV-2-1-1- وظائف الكبد (Gérolani, 2005)

الكبد هو أكبر مصنع كيميائي في الجسم فالخلايا الكبدية تمثل حوالي 60% من نسيج الكبد، هذا المعمل الكيميائي الحيوي له القدرة على توفير الظروف الضرورية للملائمة لقيام جميع أعضاء وأنسجة الجسم بوظائفها الطبيعية الضرورية وهذا يقدم تفسيراً للوظائف الكيميائية والنوعية التي توجهه لإنتاج مركبات لازمة للجسم وتوفر خطاً دفاعياً لهذه الأعضاء ضد السموم التي تغزو الجسم، ومن أهم وظائفه انه:

- ❖ يقوم بدور رئيسي في التعامل مع السكريات والبروتينات والدهون في جسم الإنسان.
- ❖ يصنع مئات الأنواع من البروتينات التي يحتاج إليها الجسم في بناء خلاياه المتعددة في الأعضاء المختلفة.



- ❖ له دور في تكوين المادة الصفراء التي تفرزها العصارة الصفراوية الكبدية التي تقوم بدور رئيسي في هضم الطعام والمساعدة على امتصاصه وخاصة الدهون.
- ❖ يحول الأحماض الأمينية إلى يوريا.
- ❖ الكبد جزء مهم من أجزاء الجهاز المناعي في الجسم.
- ❖ بواسطة الأنزيمات المتنوعة والكثيرة جدا، الكبد لديه القدرة على التعامل مع آلاف المركبات الكيميائية والعقاقير المختلفة وتحويل أغلبها من مواد سامة إلى مواد غير سامة أو مواد نافعة.
- ❖ تكوين خلايا الدم الحمراء في الجنين داخل الرحم.
- ❖ تخزين الحديد وبعض المعادن الأخرى بالإضافة إلى الفيتامينات المهمة في الجسم.
- ❖ حفظ التوازن الهرموني في جسم الإنسان.

IV-1-1-3- مؤشرات حدوث خلل في الكبد (Wallace and Meyer, 2010)

إذا حدث التهاب بالكبد ولم يتم علاجه يؤدي ذلك إلى تلفه ومن أهم الأعراض التي نستدل بها على حدوث تلف في الكبد هي: ظهور خمول، ضعف عام، فقدان الشهية ونقص بالوزن، ومن أهم مؤشرات حدوث الخلل الكبدي هي:

- الإنزيمات:

تعد الإنزيمات إحدى المفردات المهمة في لغة الكيمياء داخل جسد الكائن الحي وهي تساعد على ترجمة الأوامر الصادرة في الخلية، وهي مسؤولة عن كل عمليات الهدم والبناء التي تقوم بها الأجسام الحية ومن هذا المنطلق هناك إنزيمات تدل على حدوث خلل في الكبد منها:

• إنزيم الفوسفاتاز القاعدي

الفوسفاتاز القاعدي هو الأنزيم الذي يحرق مجموعة الفوسفات غير العضوي من الأسترات أحادية الفوسفات ويظهر نشاطه في وسط قاعدي، والقسم الأكبر من الفوسفاتاز القلوي في المصل يأتي من النسيج العظمي والكبد ولذا فإن ارتفاع نشاط هذا الإنزيم في الحالات المرضية غالبا ما يرجع إلى مرض أحد هذين العضوين، حيث يلاحظ ارتفاع كبير في نشاط الإنزيم بمصل الدم في حالات انسداد القنوات المرارية و اليرقان الانسدادي.

• إنزيمات الترانس آميناز :

هي إنزيمات تدخل كعوامل مساعدة في نقل مجاميع الأمين من الأحماض الأمينية المتمثلة في Alanine و Aspartate ومنه نسجل نوعين هما :

Aspartate transaminase (AST) و Alanine transaminase (ALT)، حيث هذا الأخير يتواجد بنسبة كبيرة جدا في الكبد (2850 ضعف ما في المصل) ولذا فالتغير في نشاط هذا الإنزيم يعتبر من أكبر المؤشرات الدالة على حدوث ضرر في الكبد، أما بالنسبة لـ (AST) فأكثر نسبة منه توجد في القلب ثم الكلى .



ترجع الأهمية الإكلينيكية لإنزيمات Transaminase، أنه في حالة إصابة الكبد نجد أن مستوى نشاط هذه الإنزيمات في المصل مرتفع حتى قبل أن تبدأ ظهور الأعراض المرضية ويمكن أن تصل 100 ضعف المستوى الطبيعي.

- البيليروبين

هو صبغة صفراء توجد في مصل الدم عند الأشخاص الطبيعيين بكميات قليلة حيث يبلغ تركيز البيليروبين الكلي في مصل الدم بين (0.0-1.0 ملغ/100مل) وأما إذا زاد التركيز عن ذلك فيصفر لون الجلد و العين وتعرف هذه الحالة المرضية للكبد باليرقان (Jaundica) الناتجة عن تسمم خلايا الكبد مما يؤدي إلى انخفاض نشاط الكبد.

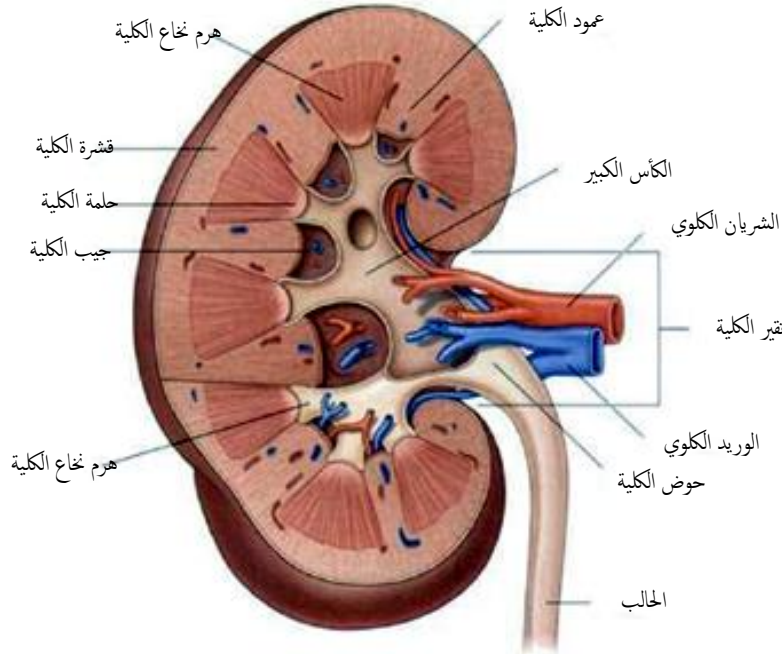
- الألبومين

يعتبر الألبومين من أهم البروتينات، عند وجود نقص في الألبومين يكون مؤشر لتشمع الكبد.

IV-1-2- الكلى

IV-1-2-1- تعريف الكلى

يولد الإنسان طبيعياً بكليتين، تقعان على جانبي العمود الفقري من الناحية الظهرية أسفل ضلع القفص الصدري، وهما عضوان يشبهان حبة الفاصولياء شكل (24) وتعملان كمرشح لإزالة الفضلات العضوية الناتجة من الدم ومن ثم تخلص الجسم من هذه الفضلات النيتروجينية ولاسيما اليوريا (Urea) في البول .



شكل 24: صورة توضح التركيب الداخلي للكلى (Marieb, 1999)



IV-2-2-1-2- وظيفة الكلى

من أهم وظائف الكلى حسب (Tarloff and Wallace 2010) هي:

- ❖ التخلص من المواد السامة وتنقية الدم.
- ❖ الحفاظ على توازن الماء والأملاح في الجسم.
- ❖ المحافظة على كون الدم متعادلا بين الحموضة و القلوية (pH=7)
- ❖ إفراز مادة البروستاجلاندين التي لها دور في خفض ضغط الدم ومادة الإيتروبيوتين (Erythropeotine) التي لها دور هام في تنشيط نخاع العظم ليقوم بتكوين المزيد من كريات الدم الحمراء.

IV-3-2-1-3- مؤشرات حدوث خلل في الكلية

تلعب التحاليل الطبية دور جد هام في تقييم الوظيفة الكلوية في الكثير من الأمراض التي تصيب الكلية وتمثل هذه التحاليل حسب (Tarloff and Wallace 2010) في:

- قياس ليوريا

اليوريا هي الناتج الرئيسي والنهائي لعمليات التمثيل الغذائي في الثدييات وتتكون في الكبد ثم تمر في الدم إلى الكلى حيث تخرج مع البول، ويزداد مستوى ليوريا في الدم في حالات إلتهاب الكلى الحاد والمزمن، الفشل الكلوي، الإنسداد البولي والتسمم .

- قياس الكرياتينين

ينتمي الكرياتينين إلى المواد النيتروجينية غير بروتينية وي طرح من الدم إلى البول بواسطة الكليتين، يساعد تقدير مستوى الكرياتينين في مصل الدم على تشخيص أمراض الكلية والجهاز البولي وكذلك تقدير مدى إصابة هذه الأعضاء والأنسجة حيث أن ازدياد مستوى الكرياتينين في الدم قد ينتج عنه حالة الفشل الكلوي الحاد والمزمن و الإنسداد البولي.

- قياس حمض اليوريك

يعتبر حمض اليوريك المنتج النهائي في عملية تمثيل مجموعة من المواد البيولوجية النيتروجينية والتي تعرف بالبيورينات التي تدخل في تركيب البروتينات النووية، يزداد مستوى حمض اليوريك في الدم في الحالات مرض النقرس، حالات تسمم الحمل، سرطان الدم، الفشل الكلوي و فرط في نشاط الغدة الدرقية، و يقل مستوى حمض اليوريك في الدم في حالات التهاب الكبد الحاد.

الجزء العملي

يتضمن :

- ❖ الدراسة الكيميائية
- ❖ الدراسة البكتيرية
- ❖ دراسة التسمم بنوعيه
- ❖ التحليل الإحصائي



I - الدراسة الكيميائية

لدراسة الكيميائية أهمية كبيرة في عمليات الكشف عن المنتجات الفعالة، حيث استعملنا في هذه الدراسة التكميلية لما توصلنا إليه في رسالة الماجستير بهدف الكشف عن عائلات كيميائية أخرى جديدة طرق سهلة وسريعة بواسطتها تمكنا من معرفة وجود وغياب هذه المواد في مختلف أجزاء النبات وهذا باستعمالنا مقادير صغيرة جدا من العينات النباتية، كما تم تركيزنا على استخلاص المادة القلويدية وتقديرها كيا في مختلف أجزاء النبات، باعتبارها المادة الحيوية الفعالة الأساسية التي يندرج منها تصنيف نبات *P.harmala* ضمن النباتات السامة.

وباستعمالنا لمختلف أنظمة المذيبات المطبقة على كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة تحصلنا على الفصل الجيد لقلويدات النبات المدروس، ومن خلال طريقة كروماتوغرافيا السائل ذات الأداء العالي HPLC تمكنا من فصل نوعي دقيق لمكونات المزيج القلويدي المراد التعرف عليه. تم إجراء الجانب التطبيقي من هذه الدراسة على مستوى مخبر الجزيئات الحيوية و تحسين النبات بجامعة العربي بن مهيدي بأم البواقي ومخبر البيولوجيا والكيمياء بجامعة العربي التبسي بتبسة، ومخبر التحليل الفيزيوكيميائية للمواد بعين مليلة و مخبر التحليل الكروماتوغرافي (HPLC-CPG) بكلية علوم الطبيعة والحياة بجامعة جيجل للسنوات الجامعية 2009-2014م.

I-1- جمع وتهيئة العينات:

I-1-1- جمع العينات النباتية

تم جمع مادة الدراسة و المتمثلة في نبات *P.harmala* عام 2009 من منطقة الحرملية، الواقعة جنوب شرق مدينة عين مليلة و التي تبعد بـ 57 كلم عن ولاية أم البواقي- الجزائر- يعرف النبات في هذه المنطقة باسم الحرمل و منه اشتقت تسميتها نتيجة لوجوده بكثرة، عملية الجني تمت على 3 فترات مختلفة وذلك للحصول على مختلف أجزاء النبات.



شكل 25: صورة توضح منطقة الحرملية موقع الدراسة



- المرحلة الأولى: قبل الإزهار أي المرحلة الخضرية، أخذت الجذور، السيقان والأوراق خلال شهر مارس.
- المرحلة الثانية: أثناء الإزهار التام أين تكون النورات الزهرية متفتحة وهذا خلال الفترة الممتدة بين شهري ماي وجوان.
- المرحلة الثالثة: أثناء الإثمار وهي المرحلة الخاصة بالنضج التام للبذور، تم الحصول عليها خلال أواخر شهر أوت وبداية شهر سبتمبر.

I-1-2- تهيئة العينات

بالنسبة لكل مرحلة من المراحل الثلاث قمنا بإتباع الخطوات التالية:

- تنقية وفصل الأجزاء النباتية كل على حدة.
- إتباع شروط التجفيف اللازمة وذلك بوضع الأجزاء النباتية في مكان جاف و مظلم.
- طحن الأجزاء المجففة للحصول على مسحوق ناعم.
- حفظ المساحيق النباتية في زجاجات داكنة محكمة القفل، معنونة حسب العضو النباتي ثم توضع في مكان بارد بعيدا عن الضوء.

I-2- الحصر الكيميائي الأولي لنبات *P.harmala*

تم إتباع جملة من التفاعلات الكيميائية للكشف على مختلف المركبات الفعالة لهذا النبات وتمثلت هذه الاختبارات في:

I-1-2-1 اختبار الأنتراكينون Combined anthraquinones

يتم غلي 5غ من المسحوق النباتي وفقا لـ (Abayomi (1996 مع 10مل من HCl 10% لبضع دقائق في حمام مائي، ثم يصفى ويترك الراشح ليبرد، يتم بعدها إضافة حجم مساوي له من الكلوروفورم، تعزل طبقة الكلوروفورم ثم يضاف لهل بعض قطرات من الأمونيا بنسبة (10%) إلى الخليط مع تسخينه.

← تشكل اللون الوردي في الطبقة السفلى للأمونيا يدل على وجود مركبات الأنتراكينون.

I-2-2-1 اختبار الفينولات

يذاب 2غ من المسحوق النباتي كل جزء على حدة في 10 مل من الإيثانول (70%) ثم يرشح ويعرض الراشح إلى الاختبارات التالية حسب (Martinez & Valancia (2003 :

- اختبار كلوريد الحديدك: يعالج الراشح بـ 3-4 قطرات من محلول كلوريد الحديد 5%.

← تشكل اللون الأسود المزرق دلالة على وجود الفينولات.

- اختبار الآسيتات: يعالج الراشح بـ 3 مل من آسيتات الرصاص (10%).

← تشكل الراسب الأبيض الكثيف مؤشر على وجود الفينولات.



- اختبار الجيلاتين: يعالج المستخلص بـ 2 مل من محلول الجيلاتين المضاف إليه 10% من كلوريد الصوديوم.
← تشكل الراسب الأبيض دال على وجود المركبات الفينولية .

I-2-3- اختبار الراتنجات

أجريت اثنين من الفحوصات للكشف عن الراتنجات في النبات وفقا لـ (2002) Evans والمتمثلة في:
- اختبار الراسب: يعامل 0.2 غ من كل جزء مع 15 مل من الإيثانول 96%، يرشح ويعالج المستخلص الكحولي بـ 20 مل من الماء المقطر.

← ظهور راسب أبيض مؤشر على وجود الراتنجات.

- اختبار اللون: يستخلص 0.2 غ من كل جزء مع 10 مل من الكلوروفورم يرشح و يبخر الراشح حتى الجفاف، يعامل المتبقي مع 3 مل من الأسيتون و 3 مل من HCl المركز، يسخن المزيج على حمام مائي لمدة 30 دقيقة.

← ظهور اللون الوردي ثم يتحول إلى الأحمر دال على وجود الراتنجات.

I-2-4- اختبار Phlobatanins

يتم إذابة 0.5 غ من مسحوق *P.harmala* كل جزء على حدة في 10 مل من الميثانول (50%)، ثم يصفى الراشح ويغلى مع محلول HCl (1%).

← ظهور الراسب الأحمر يدل على وجود Phlobatanins (Sofowora,1993).

I-2-5- اختبار الكومارينات

ينقع 10 غ من المادة النباتية كل جزء على حدة في الميثانول داخل أنبوب اختبار، يتم غطاء فوهة الأنبوب بورق ترشيح يعامل بمحلول NaOH (1N)، يوضع أنبوب الإختبار لبضع دقائق في حمام مائي، تسحب ورقة الترشيح و تفحص تحت أشعة UV.

← ظهور اشعاع أصفر دال على وجود الكومارينات (Trease and Evans, 1989).

I-2-6- اختبار الفلافونويدات الغليكوسيدية

تنقع 5 غ من المادة الجافة في 100 مل من HCl (1%) ليلة كاملة، ترشح و يبخر جزء من الراشح حتى الجفاف، ويذاب الراسب في 2 مل من HCl (1%) مع التسخين بلطف، يبرد المحلول ويضاف إليه 2.5 مل من الكحول الإيثيلي.

← ظهور اللون الأصفر دال على وجود الفلافونويدات الغليكوسيدية.

I-2-7- اختبار الإيمودول

ينقع 5 غ من مسحوق *P.harmala* كل جزء على حدة في الايثر البترولي ثم يرشح ويؤخذ 3 مل من الراشح في أنبوبة الاختبار ويضاف له 1 مل من محلول الأمونيا 25% مع الرج ثم يضاف له كاشف Borotrager.

← ظهور اللون الأحمر دلالة على وجود مركبات الإيمودول.



I-2-8- اختبار المركبات المرجعة

ينقع 5 غ من المادة النباتية كل جزء على حدة في الميثانول، يرشح المستخلص ويركز الراشح ويضاف له 2 مل من الماء المقطر ثم 0.5 مل من محلول فيهلينغ (أ+ب) (ملحق 1) مع التسخين
← ظهور اللون الأحمر الأجوري دلالة على وجود المركبات المرجعة.

I-2-9- اختبار القلويدات

ينقع 5 غ من مسحوق *P. harmala* كل جزء على حدة في 50 مل من حمض HCl المخفف 2% يرشح كل مستخلص حمضي، ثم يجعل قلويا بواسطة الأمونيا ويستخلص بالكوروفورم ثلاث مرات، تجمع المستخلصات وتبخر حتى الجفاف، الراسب يذاب في 8 مل من HCl المخفف، يرشح ويعالج 2 مل من الراشح مع كاشف Mayer (ملحق 1).
← تشكل راسب أبيض في الحال مع كاشف Mayer مؤشر على وجود القلويدات.

I-2-10- اختبار البروتينات والأحماض الآمنية

ينقع 0.1 غ حسب (Evans 2002) من المسحوق النباتي كل جزء على حدة في 10 مل من الماء المقطر ثم يرشح، يعرض الراشح للاختبارات الخاصة بالكشف عن البروتينات والأحماض الآمنية.

- اختبار **Millon**: يضاف لـ 2 مل من الراشح بضع قطرات من كاشف Millon (ملحق 1).

← ظهور راسب أبيض وبعد تسخينه يتحول إلى اللون الأحمر الأجوري، هذا يدل على وجود البروتينات.

- اختبار **Buiuret**: يعالج 2 مل من الراشح بقطرة واحدة من محلول كبريتات النحاس 2% ثم يضاف 1 مل من الإيثانول (95%) يليها 3 قطرات من هيدروكسيد البوتاسيوم.

← تشكل اللون البنفسجي مؤشر على وجود البروتينات.

- اختبار **Ninhydrine**: يتم إضافة 2 مل من الراشح قطرتين من محلول نينهدرين

← ظهور لون أزرق بنفسجي دال على وجود الأحماض الآمنية.

I-2-11- اختبار الكربوهيدرات

ينقع 0.1 غ من المسحوق النباتي كل جزء على حدة في 5 مل من الماء المقطر، يرشح المستخلص ويعرض للاختبارات التالية:

- اختبار **Molish**: يضاف لـ 2 مل من الراشح، قطرتين من محلول α -Naphthol، يرح الخليط بشكل جيد ثم يضاف 1 مل من حمض الكبريتيك المركز ببطئ على جانب جدار الأنبوب.

← تشكل الحلقة البنفسجية دالة على وجود الكربوهيدرات.

- اختبار **Fehling**: يسخن 1 مل من الراشح مع محلول فيهلينغ (أ+ب) على حمام مائي.



← تشكل راسب أحمر مؤشر على وجود الكربوهيدرات

- اختبار Barfoed: يسخن على حمام مائي 1 مل من الرشاحة مع 1 مل من كاشف Barfoed (ملحوق 1) لمدة دقيقتين.

← ظهور راسب أحمر مؤشر على وجود الكربوهيدرات (Harborne, 1973).

I-3- التقدير الكمي لقلويدات نبات *P.harmala* بطريقة المعايرة (Balbaa, 1981)

تم استخلاص 10 غ من مسحوق (جذور، أوراق، أغصان، أزهار، ثمار وبدور) نبات *P.harmala* كل على حدة بطريقة النقع في الإيثانول 70%، ييخر المستخلص الكحولي في جهاز التبخير الدوراني Rotavapour إلى خمس الحجم الأصلي يضاف للخلاصة المركزة المحصل عليها 20 مل من حمض هيدروكلوريد HCl (0.1 عياري)، ثم يرشح المحلول الحمضي ويستخلص بـ 20 مل من الكلوروفورم على مرتين يعامل هذا الأخير مرتين بـ 10 مل من حمض HCl (0,1N) ثم يضم المحلول الثاني إلى الأول ويجعل قلويا بواسطة الأمونيا NH₃، يضاف له 3 مرات 30 مل من الكلوروفورم، ييخر المستخلص الكلوروفورمي ويذاب الراسب في حمض HCl (0,02 عياري) و يعاير بهيدروكسيد البوتاسيوم (KOH) (0,02 عياري) مع استعمال أحمر الميثيل كدليل، ثم تحسب النسبة المئوية لقلويدات النبات المدروس وفقا للعلاقة التالية:

$$\% \text{القلويدات} = \frac{\text{حجم الحمض } N/50 - \text{حجم القاعدة المستهلكة } N/50}{\text{وزن العينة}} \times 100 \times 0,0046X$$

I-4- التحليل الكروماتوغرافي لقلويدات نبات *P.harmala*:

I-4-1- تحضير المستخلصات

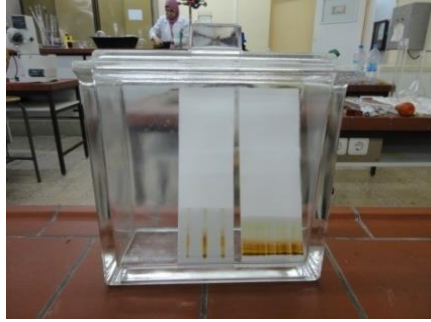
لأجراء التحليل الكروماتوغرافي للقلويدات تم اختيارنا للعينات التي سجلت فيها أكبر نسبة مئوية للقلويدات والتي تمثلت في (الجذور، الثمار والبدور)، حيث استخلصت بنفس الطريقة السابقة إلى غاية الوصول إلى المستخلص الكلوروفورمي تذاب المستخلصات القلويدية في أقل كمية من الميثانول تمكننا من إجراء التحليل.

I-4-2- كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (CCM)

لتقدير قلويدات نبات *P. harmala* نوعيا استعملنا ألواح كروماتوغرافيا جاهزة مغطاة بهلام سيليكاجيل من نوع (Silica-Gel 254) ذات سمك 0.2 ملم وأبعاد 20x20 سم، نشطت داخل فرن حراري لمدة 3 إلى 5 دقائق على درجة حرارة 110°م قبل الاستعمال. بواسطة أنبوب شعري يتم سحب كمية من القلويدات القياسية (حارمين و حارملين) وكذلك من المستخلصات القلويدية الخامة لجذور، ثمار وبدور كل على حدة وعلى بعد 2 سم من الطرف السفلي للوح الكروماتوغرافي، توضع بقع صغيرة مع تجفيفها بواسطة مجفف حيث المسافة بين بقعة و أخرى 1.5 سم. يوضع اللوح الكروماتوغرافي داخل إناء الفصل الحاوي على نظام مذيب (MeOH -CHCl₃ -NH₄OH) بحجم (80/20/1,5) (Bouzidi et al., 2011) بعد نهاية الفصل، تجفف الألواح تحت درجة حرارة 45°م لمدة 10 دقائق،



بعدها تعين تحت الأشعة فوق البنفسجية ثم ترش بكاشف دراجندروف الذي يتفاعل مع القلويدات معطيا اللون البرتقالي، تقاس المسافات و يحسب معامل الإنسياب R_f وفقا للعلاقة التالية:



$$\text{معامل الإنسياب } R_f = \frac{\text{المسافة المقطوعة من طرف البقعة}}{\text{المسافة المقطوعة من طرف المذيب}}$$

شكل 26: صورة توضح فصل القلويدات بـ CCM

I-4-3- كروماتوغرافيا السائل ذات الأداء العالي HPLC

تم تجهيز جميع المواد، الأدوات والأجهزة اللازمة لهذه التقنية حيث استخدم من اجل التحليل جهاز الفصل الكروماتوغرافي السائل ذات الأداء العالي ماركة (Shimaduz, Germany) من نوع (Prominence) والذي يحتوي على الوحدات التالية:

- وحدة التحكم System controller ، موديل (C-R -8A)
- وحدة طرد الغازات Degasser unit، موديل (DGU – 20A) .
- كاشف UV detector، موديل (SPD-20A) .
- مضخة pump، موديل (LC – 20AT) .
- عمود الفصل column من نوع (Nucleosil 100-5 C18) قطره الداخلي 4.6 mm وطوله mm 125 و حجم حبيباته 5 μm
- حارس للعمود Guard column، قطره الداخلي 4 mm وطوله 20 mm.
- وحدة لطررد السوائل waste unit.
- وحدة كمبيوتر Computer متكاملة.
- أما بالنسبة للأدوات الأخرى المستخدمة فكانت:
- إبرة دقيقة للحقن Micro-syringe حجمها 25 μL ، موديل (Hamilton 702-LC) .
- ميزان حساس، موديل (Denver Instrument, U.S.A).
- محرك مغناطيسي لاتمام عملية الخلط
- pH mètre



المواد المستخدمة: استخدمت مواد قياسية ذات نقاوة عالية (99.8%) متمثلة في القلويدات من نوع:

harmine (Sigma; H-286044) -

harmaline(Sigma; H-51330) -

وهي منتجات أوروبية من شركة SIGMA للمواد الكيميائية تم جلبها من منطقة بلجيكا بمساعدة فرعها المتواجد بمدينة تلمسان. أما المذيبات المستخدمة فهي عالية النقاوة من صنف HPLC grade تتمتع بنقاوة ما بين (99.7-100)% متمثلة في (Isopropyl alcohol ، Acetonitrile ، Acid Formic ، Methanol ، Triethylamine).

تحضير المحاليل: قبل البدء بتحضير عيناتنا كان من الضروري تحضير محاليل قياسية للقلويدات الشاهدة من اجل تحديد زمن الحجز الدقيق للقلويدات، لهذا يتم تحضير تراكيز معلومة من محلول قياسي لكل من قلويد الحارمين والحارملين وذلك بوزن 0.01غ بدقة من كل قلويد واذابته في 10مل بواسطة الميثانول HPLC grade وذلك للحصول على تركيز 1مل/مغ (1000 ppm)، حيث لهذه العينات القلويدية القياسة زمن حجز معلوم لمقارنتها بالعينات المختارة للتحليل.

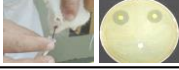
اختيار الطور المتحرك: استخدم كطور متحرك المزيج المؤلف من:

Isopropyl alcohol / Acetonitrile / Water / Formic acid (100:100:300:0.1) (v/v/v/v)

مع تعديل درجة الحموضة 8 pH بواسطة triethylamine يرشح الطور المتحرك على المرشحة قطر مسامها لا يتجاوز 0.45µm، اختير هذا المزيج كطور متحرك لملائمته لتحليل هذه المركبات.

طريقة العمل: أثناء عملية التحليل طبقت الشروط الكروماتوغرافية الآتية:

- العمود المستخدم هو من نوع (Nucleosil 100-5 C18) قطره الداخلي 4.6 mm وطوله 125 mm و حجم حبيباته 5 µm.
- درجة الحرارة المستخدمة هي درجة حرارة الغرفة.
- الكاشف المستخدم هو كاشف الاشعة فوق البنفسجية ويعمل عند طول الموجة $\lambda = 330$ نانومتر .
- زمن التحليل الكلي 10 دقيقة.
- حجم خلية الحقن 10 ميكرو لتر.
- المذيب المستخدم لجميع العينات هو الميثانول HPLC grade .
- الطور المتحرك المستخدم هو مزيج مكون من:
Isopropyl alcohol / Acetonitrile / Water / Formic acid (100:100:300:0.1) (v/v/v/v)
- تدفق الطور المتحرك هو 1.5 مل/دقيقة.



II- الدراسة البيولوجية

قمن بدراسات تجريبية على التأثيرات البيولوجية لنبات *P. harmala* النامي بشرق الجزائر ضد بعض السلالات البكتيرية الموجبة والسالبة جرام (*In vitro*)، وعلى حيوانات تجارب ممتثلة في فئران وجرذان من نوع *Albinos wistar* (*In vivo*) وهذا لغرض رئيسي يتمثل في إيجاد قاعدة معلومات أساسية عن هذا النبات الهام ونشاطه البكتيري وأثاره الحيوية على مختلف أعضاء وأنسجة وخلايا الجسم، وتشكل هذه المعلومات أساسيات ضرورية لأي دراسات قد تجرى على البشر الأصحاء أو المرضى ولأي محاولات لتصنيع مستخلصات هذا النبات وتطويرها لتصبح كمضاد حيوي أو كدواء آخر للاستعمال البشري أو البيطري.

- شملت هذه الدراسات البيولوجية التجريبية تأثير المستخلصات القلويدية لنبات *P. harmala* على 7 سلالات بكتيرية وذلك بإتباع طريقة الانتشار في الوسط المغذي (*Antibiogramme*) وتحديد التركيزين الأدنىين المشط والقاتل (*CMI*) و (*CMB*) للمستخلصات القلويدية.
 - تحديد الجرعة نصف القاتلة لقلويدات بذور *P. harmala* الجزائري.
 - كذلك تم تسليط الضوء على تأثير قلويدات النبات المدروس على بعض النواحي السلوكية والفيزيولوجية للفئران و الجرذان.
 - تحديد بعض المعايير البيوكيميائية المتعلقة بوظائف الأعضاء مثل: الكبد، الكلى.
 - دراسة تأثير هذه المواد الفعالة (القلويدات) على الأعضاء المعزولة من الجرذان من نوع (*Albinos wistar*) وهذا من خلال الدراسة النسيجية للكبد و الكلى.
- تمت هذه الأبحاث على مستوى البيت الحيواني التابع لكلية العلوم الطبيعية و الحياة جامعة قسنطينة1، مخابر الميكروبيولوجيا، مخابر علم الدم، مخابر البيوكيمياء ومخابر علم الأمراض بالمستشفى الجامعي ومستشفى حي البير بقسنطينة و مستشفى سليمان عميرات ومخابر خاصة تابعة لمستشفى الأمل بعين مليلة.

II-1- دراسة النشاط ضد البكتيري:

II-1-1- العينات البيولوجية:

تمثل العينات البيولوجية في المستخلصات القلويدية النباتية و الكائنات الحية الدقيقة :

❖ **المستخلصات النباتية:** تشمل على مستخلصين مختلفين هما المستخلص القلويدي الخام للجزور والآخر للبذور.

❖ **السلالات البكتيرية المستهدفة:** تم الحصول على السلالات المرجعية المختبرة من معهد باستور بالجزائر العاصمة، تحفظ هذه السلالات في درجة حرارة 4°م وتجدد بداية كل أسبوع في وسط مغذي، بحضنها على درجة حرارة 37°م لمدة 18 ساعة، قبل إستعمالها في دراسة الفعالية البيولوجية، وتمثل فيما يلي:



- السلالات النقية الموجبة جرام: *Staphylococcus saprophyticus* ، *Staphylococcus aureus* ATCC25923 ، ATCC49453

- السلالات النقية السالبة جرام: *Escherichia coli* ATCC25922 ، *Klebsiella pneumoniae* ATCC700603 ، *Serratia sp* ATCC39006 ، *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 ، *Proteus mirabilis* ATCC29245 ،

II-1-2 - تحضير الأقراص بالمستخلصات القلويدية

تعمم الأقراص من نوع واتمان رقم 3 ذات قطر 6 مم بوضعها في انبوبة اختبار تحتوي على 10 مل من الماء المقطر في جهاز أوتوكلاف (Autoclave) لمدة 20 دقيقة على درجة حرارة 120°م، بعدها يتم التخلص من الماء وتجفف الأقراص في الحاضنة ثم تشرب بـ 100 ميكرو لتر من كل مستخلص قلويدي.

II-1-3 - طريقة الإنتشار في وسط مغذي

تم تقييم النشاط المضاد للبكتيريا لمختلف المستخلصات عن طريق الانتشار في وسط الأجار، انطلاقاً من مستعمرات بكتيرية فنية (18-24^س) يتم الزرع البكتيري في الماء الفيزيولوجي المعقم لكل سلالة، التعكر الناتج لهذا المعلق يضبط إما بأنبوب (McFarland 0.5) أو بجهاز خاص بقياس الكثافة البكتيرية (McFarland densitometer)، يزرع اللقاح البكتيري المقدر بـ 10⁶ خلية بكتيرية/مل على أطباق بيتري المحتوية على وسط مغذي من نوع Mueller-Hinton (ملحق 2)، توضع الأقراص الشاهدة و الأقراص المشبعة بمختلف المستخلصات القلويدية لكل من الجذور والبنور بتركيز (50 و 100) ملغ/مل بلطف على مساحة الجيلوز، تحضن على درجة حرارة 37°م لمدة 24 ساعة، يحدد النشاط البكتيري من خلال قياس أقطار مناطق التثبيط حول كل قرص (Doughari et al., 2007).

II-1-4 - تحديد قيم التركيز الأدنى المثبط CMI والتركيز الأدنى القاتل CMB

لتحديد التركيزين الأدنىين المثبط والقاتل (CMI ، CMB) على الترتيب، لا بد من إعداد سلسلة من التخفيفات للمستخلصات القلويدية في حدود (0,78 ، 1,56 ، 3,12 ، 6,25 ، 12,5) ملغ/مل، وكذلك يحضر لقاح بكتيري لكل سلسلة بمقدار 10⁶ خلية بكتيرية/مل، مع وضعه في وسط مغذي لـ Mueller-Hinton، بعدها تقوم بإضافة 1 مل من كل تركيز مع 1 مل من اللقاح البكتيري في أنابيب hémolyse، كما يتم تحضير أنبوبين شاهدين، الأول يحتوي على 1 مل من اللقاح البكتيري + 1 مل من H₂O معقم، والثاني يحتوي على 1 مل من الوسط المغذي + 1 مل من H₂O معقم. تحضن جميع الأنابيب الشاهدة والمعالجة على 37°م لمدة 24^س، بعدها يتم فحص النمو البكتيري لكل أنبوب، يترجم التعكر الكثيف على نمو السلالات البكتيرية، من خلال هذه النتائج يتم تحديد CMI على أنها أصغر تركيز لا يظهر فيه نمو مرئي للبكتيريا. تتم قراءة قيمة التركيز الأدنى القاتل (CMB) لكل سلالة بعد إعادة زرع المجموعات السابقة لـ CMI على أطباق بيتري جديدة حاوية على جيلوز جديد، ثم تحضن على 37°م لمدة 24^س. تسجل النتائج بفحص الأطباق التي ظهرت بها المستعمرات البكتيرية من عددها، ثم تحدد CMB على أنها أدنى تركيز لا يظهر فيه أي نمو للبكتيريا المزروعة (Bolou et al., 2011).



II-2- دراسة التسمم الحاد وشبه المزمن

II-2-1- الحيوانات المستعملة في التجربة

الأبحاث التجريبية المتعلقة بدراسة السمية لنبات الحرمل الجزائري، تمت على الفئران البيضاء الذكورية من نوع (*Albinos wistar*) بوزن يتراوح بين (20-40) غ وكذلك الجرذان الذكورية من نوع (*Albinos wistar*) بوزن يتراوح بين (164 و 184) غ، تم الحصول عليها من معهد باستور بالجزائر العاصمة، وضعت في أقفاص بلاستيكية شفافة ذات طول 55سم وعرض 33سم وارتفاع 19سم، مزودة بماء الحنفية وتغذية نظامية ممتثلة في (*Croquettes, Ets*) (*ONABEL Kseur, Béjaia*)، الأقفاص يتم تنظيفها ثلاث مرات في الأسبوع، توضع الحيوانات في شروط عادية بمكان خاص بتربية الحيوانات بجامعة قسنطينة، بعد مضي فترة أسبوعين وهي الفترة اللازمة للتأقلمها مع الظروف العملية يتم بعدها الشروع في التجارب.

II-2-2- دراسة التسمم الحاد عند الفئران:

II-2-2-1- تحضير المستخلصات القلويدية لبذور *P.harmala*

يتم حقن الحيوانات بجرعات مختلفة من المستخلص القلويدي تحت الصفاق (*Intraperitoneal* (IP) بمقدار جرعة واحدة لكل فرد من المجموعة وهذا بعد وزن الحيوانات وتعليمها وتقسيمها إلى 7 مجموعات مكونة من 8 حيوانات لكل منها، واحدة من هذه المجموعات تمثل المجموعة الشاهدة يعطى لها الماء المقطر او الماء الفزيولوجي المضاف اليه بعض القطرات من كحول الايثانول (Benouadah et al., 2012) اما المجموعات الستة الاخرى تعامل بجرعات متزايدة من القلويدات بمقدار (100، 200، 300، 400، 500 و 600) ملغ/كغ من وزن الحيوان، يتم حساب حجم المستخلص المعطى للفئران والموافق لكل جرعة من العلاقة التالية:

$$\text{حجم المستخلص (مل)} = \frac{\text{الجرعة} \times \text{الوزن}}{\text{التركيز}}$$



II-2-2-2-2- تعيين الملاحظات الإكلينيكية الناجمة عن سلوك الحيوان

بعد إعطاء المستخلص القلويدي، تتم عملية المراقبة الفردية للحيوانات كل ساعة مدة ثمانية ساعات بدءاً من اليوم الأول للعلاج ثم مرة واحدة كل يوم لمدة 14 يوم، يتم تسجيل السلوك والأعراض الظاهرة على الحيوان خلال فترة التجربة ضمن جدول إكلينيكي (ملحق 3).

II-2-2-2-3- تعيين قيمة DL50 حسب علاقة (Karber et Berhen 1935)

تم تحديد الجرعة نصف القاتلة DL50، بحقن الحيوانات المخبرية بجرعات وحيدة متدرجة من المستخلص القلويدي بمقدار يتراوح بين (100-600) ملغ/كغ، بمعدل 8 فئران لكل مجموعة عن طريق الحقن تحت الصفاق (IP) وهذا بعد فترة صيام تقدر بـ 16 ساعة.

جدول 5: توزيع الفئران على المجموعات المختلفة حسب الجرعة المعالجة بها

عدد الحيوانات في المجموعة	المادة المعالجة	الجرعة	المجموعة
8	قلويدات	100 ملغ/كغ	المعالجة 1
8	قلويدات	200 ملغ/كغ	المعالجة 2
8	قلويدات	300 ملغ/كغ	المعالجة 3
8	قلويدات	400 ملغ/كغ	المعالجة 4
8	قلويدات	500 ملغ/كغ	المعالجة 5
8	قلويدات	600 ملغ/كغ	المعالجة 6

تتم تغذية الحيوانات بعد 1/2 ساعة من إعطاء الجرعة، يراقب الموت ابتداءً من 15 دقيقة إلى غاية 48 ساعة، بعدها يتم انتشار جميع الناجين مع إدلال عدد القتلى لكل مجموعة (جرعة) يتم حساب قيمة DL50 وفقاً لطريقة Karber (1939) et Behrens التي أبلغ عنها من قبل (Lohoues et al. 2006) وفقاً للعلاقة التالية :

$$DL50 = DL100 - \sum \frac{a.b}{n}$$

a: معدل الوفيات بين جرعتين

b: الفرق بين جرعتين متتاليتين

n: عدد الحيوانات في كل مجموعة

DL₅₀ = الجرعة التي تسبب الموت بـ 50%

DL₁₀₀ = الجرعة التي تسبب الموت بـ 100%



II-2-2-4-تعيين قيمة DL50 إحصائيا

العلاقة بين الجرعات المتزايدة للقلويدات ومعدل الوفيات للفئران تم تحديدها بطريقة احتمالية استنادا للبرنامج الإحصائي (Ver.2009 Build 5.8.4.3© 2010) [Software StatPlus ® professional] وهذا باستخدام نوعين من الطرق:

❖ طريقة المربعات الصغرى (التوزيع الطبيعي) (Least Squares method)

❖ طريقة Finney (التوزيع اللوغاريتمي العادي) (Log-normal distribution) Finney



II-2-3- دراسة التسمم شبه المزمن عند الجرذان:

II-2-3-1- تحضير الحيوانات للمعالجة

استخدمت في هذه التجربة جرذان من نوع (*Albinos wistar*) عددها 16 ذات وزن يتراوح بين (164-184)غ تقسم إلى 4 مجموعات منها مجموعة شاهدة G1 وثلاث مجموعات معالجة، كل مجموعة تحتوي على 4 جرذان يتم معالجتها كالتالي:

- المجموعة المعالجة الثانية G₂: يعطى لها 50ملغ/كغ من مستخلص قلويدات البذور.
- المجموعة المعالجة الثالثة G₃: يعطى لها 100ملغ/كغ من مستخلص قلويدات البذور.
- المجموعة المعالجة الرابعة G₄: يعطى لها 200ملغ/كغ من مستخلص قلويدات البذور.

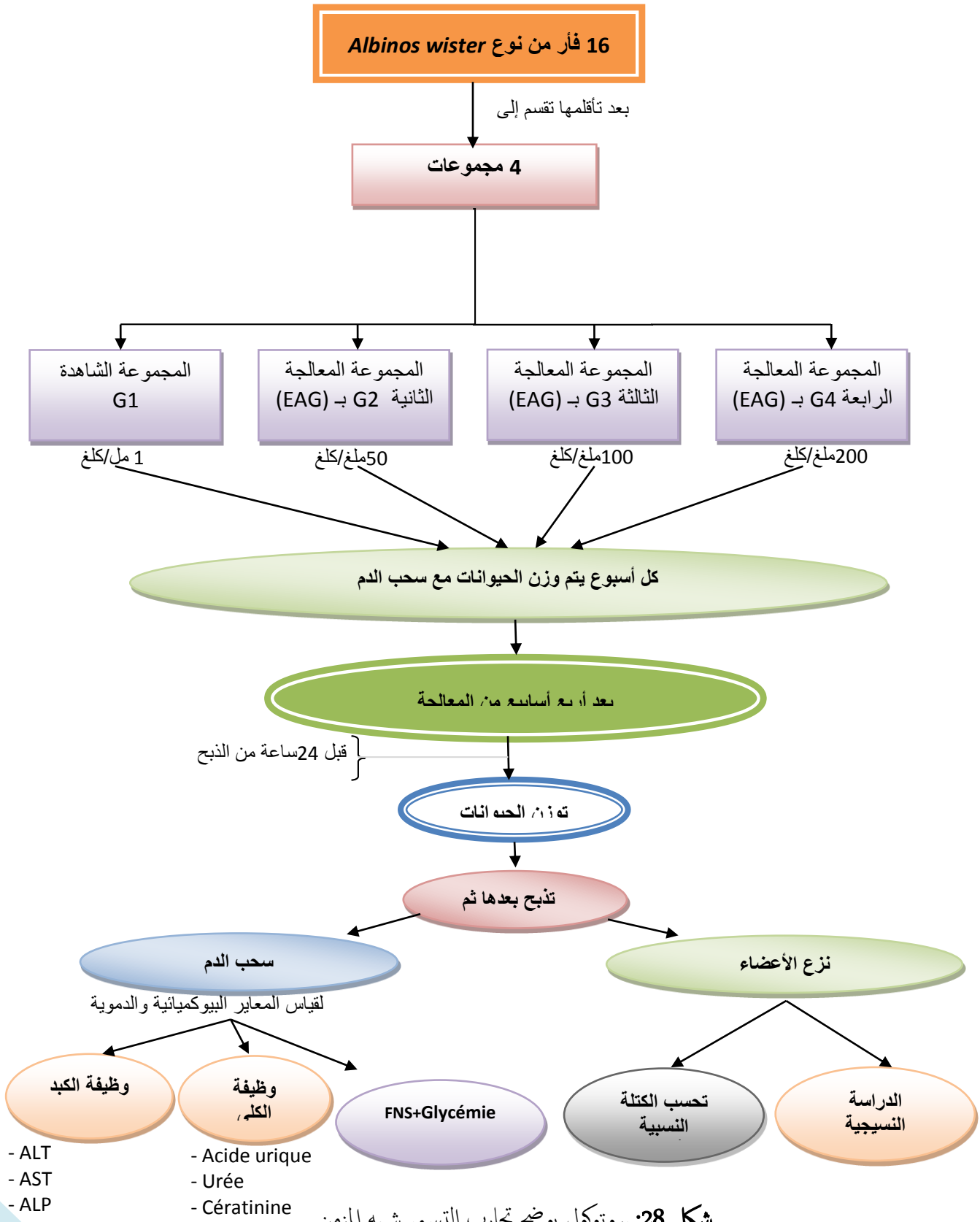
II-2-3-2- مدة المعالجة ونوعية الحقن

المعالجة بالجرعات المتزايدة من القلويدات تتم مرة واحدة في اليوم خلال 6 أيام في الأسبوع مدة 30يوما، وذلك بحقن الحيوانات تحت الصفاق (IP) الشكل (27)، وهذا بعد فترة صيام تدوم 16ساعة، كما يتم وزن الحيوانات وجلب الدم أسبوعيا، وبعد 04 أسابيع يتم ذبح الحيوانات ونزع الأعضاء المتمثلة في (الكبد، الطحال، الكلى، الخصيتين، المخ، الرئتين والقلب) وملاحظتها ميكروسكوبيا ثم غسلها جيدا بالماء الفسيولوجي من أجل التخلص من الدهون الزائدة ثم تجفف بواسطة ورق الترشيح في الأخير يتم وزنها كما هو مبين في البروتوكول الشكل (28).

ملاحظة: يتم الاحتفاظ بالكبد و الكلى داخل المحلول المثبت من أجل الدراسة النسيجية.



شكل 27: صورة توضح الحقن تحت الصفاق (IP)



شكل 28: بروتوكول يوضح تجارب التسمم شبه المزمن



II-2-3-3- جلب عينات الدم

يتم جلب عينات الدم كل نهاية أسبوع لكل فرد من المجموعة (G_1, G_2, G_3, G_4) وهذا بسحب الدم من الجيب الحجابي الخلفي للعين (retro-orbital sinus de l'œil) ، باستخدام أنابيب شعرية حاوية على مادة Héparine لمنع تخثر الدم أثناء عملية السحب وهذا بعد تخدير الحيوانات لمدة 5 دقائق عن طريق حقنها تحت الصفاق بمادة l'uréthane بتركيز (1.5ملغ/كغ) شكل (29).



شكل 29: صورة لعملية سحب الدم من الجيب الحجابي الخلفي للعين.

- يوضع الدم المتزوع في أنابيب اختبار من نوع EDTA الخاصة بتحليل المعايير الدموية (FNS)، والأخرى من نوع Héparine خاصة بتحليل نسبة السكر في الدم و تحديد بعض المعايير الكلوية و الإنزيمية للكبد.
- أنابيب Héparine تخضع لعملية الطرد المركزي حيث يتم تدوير الأنابيب بسرعة 3000 دورة/دقيقة لمدة 10 دقائق، المصل المتحصل عليه بعد عملية النبد يستخدم في تحديد تركيز كل من :
 - إنزيم ألانين ترانسفيراز (ALT) Alanine Transférase
 - أنزيم آسبارتات ترانسفيراز (AST) Aspartate Transférase
 - أنزيم الفوسفاتاز القلوي (ALP) Phosphatase Alcaline
 - كيرياتين (Cératine) ، اليوريا (Urée)، حمض اليوريك (Acide Urique)
 - الجلوكوز (Glucose) في الدم.



II-2-3-4- قياس وزن الحيوانات و أعضائها:

II-2-3-4-1- تحديد وزن الحيوانات

يتم وزن كل من الحيوانات المعالجة بالجرعات المتزايدة من قلويدات و الشاهدة كل بداية أسبوع خلال الفترة المحددة للعلاج.

II-2-3-4-2- تحديد الوزن النسبي للأعضاء المعزولة

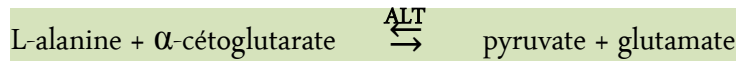
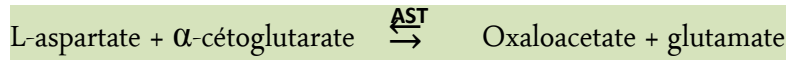
يتم حساب الوزن النسبي للأعضاء المعزولة من الجرذان المعالجة بالقلويدات والجرذان الشاهدة حسب العلاقة التالية:

$$\text{الوزن النسبي للعضو (\%)} = \frac{\text{وزن العضو}}{\text{وزن الجسم}} \times 100$$

II-2-3-5- قياس بعض المعايير البيوكيميائية المصلية:

II-2-3-5-1- تقدير فعالية إنزيمات Transaminase (ALT/AST)

تتمثل إنزيمات Transaminase في ALT و AST المحفزة لنقل مجموعة الأمين NH_2 من الحمض الأميني Alanine و Aspartate على مركب كيتوني α -cétoglutarate ليتشكل لنا Oxaloacetate و pyruvate على الترتيب مع تكوين glutamate مع كليهما وفقا للمعادلات التالية:



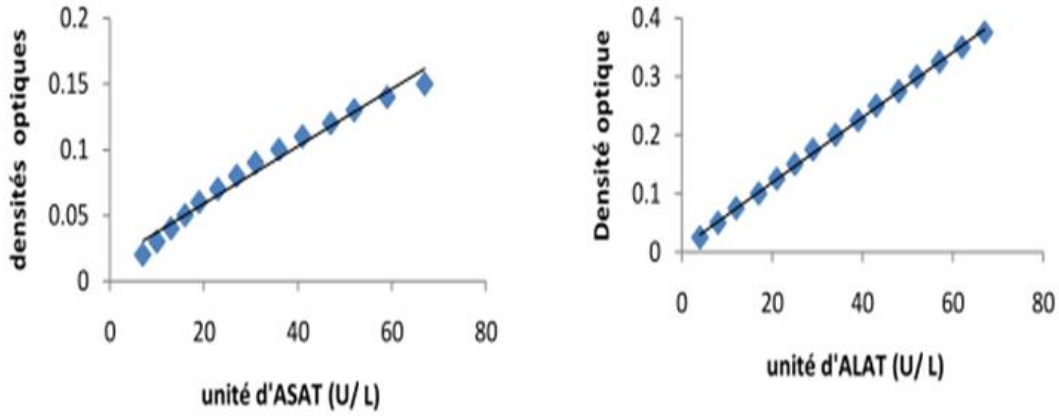
المركبات الناتجة من هذه التفاعلات تتفاعل مع مركب (2,4-DNPH) 2,4-dinitrophenyl hydrazine ليتشكل في الأخير معقد (pyruvate-hydrazine) أو (Oxaloacétate-hydrazine) ذو اللون البني الذي يمتص الأشعة الضوئية عند طول 500nm وهذا في وجود هيدروكسيد الصوديوم (NaOH) حسب الجدول 6.

جدول 6: الطريقة المتبعة في قياس انزيمات ALT و AST

Pipeter dans les tubes à essais	Blanc	Echantillon
Echantillon	-	20 µL
Tampon d'ALAT/d'ASAT	100µL	100µL
Les tubes sont agités et incubés à 37°C : 30 mn : ALAT et 60 mn : ASAT		
2,4-dinitrophénylhydrazine	100µL	100µL
Echantillon	100µL	100µL
Les tubes sont incubés pendant 20 minutes à température ambiante		
Hydroxyde de sodium	10µL	10µL
Agitation et incubation pendant 5 min (25°) l'absorbance lue à 500 nm		



باستخدام جهاز الطيفي من نوع (Spectronic 20) تتم قراءة طيف الامتصاص عند طول موجة 500nm، ثم يحسب الفرق في طيف الامتصاص بين امتصاصية العينة (نموذج) وامتصاصية السيطرة (الشاهد Blanc) ومن ثم يسقط الفرق في الامتصاص على قيم منحنى قياس الإنزيمات المذكورة في العدة (Kit) المجهزة من شركة Randox البريطانية كما هو مبين في الشكل 30.

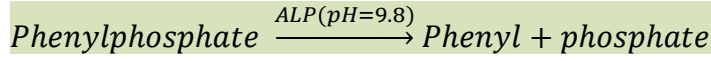


شكل 30: منحنيات المعايرة الخاصة بتقدير فعالية إنزيمات Transaminase



II-2-3-5-2- تقدير فعالية إنزيم الفوسفاتاز القاعدي (ALP)

تم تقدير فعالية إنزيم الفوسفاتاز القاعدي في المصل باستخدام الطريقة اللونية لـ (1972) Bartels et Bohmer وذلك بحساب كمية الفينول المتحررة من المادة الأساسية وفقاً للتفاعل التالي:



ويأتبع الطريقة الموضحة في الجدول 7 يتم حساب قيم ALP

جدول 7: الطريقة المتبعة في تقدير فعالية إنزيم (ALP)

Pipeter dans les tubes à essais	Blanc	Echantillon
Echantillon	-	10 µL
Solution de travail (ملحق 4)	1ml	1 mL

تمزج الأنابيب وبعد دقيقة من تفاعلها تقرأ الامتصاصية عند درجة امتصاص 405nm كل دقيقة مدة ثلاث دقائق، ومن ثم يحسب نشاط إنزيم ALP من العلاقة التالية:

$$\text{Activité(ALP)} = \frac{\left(\frac{\Delta Abs}{min}\right)_{\text{Dosage}}}{\left(\frac{\Delta Abs}{min}\right)_{\text{calibrant}}} \times \text{Concentration du calibrant} (2750)$$

II-2-3-5-3- قياس الكرياتينين المصلي

تم تحديد تركيز الكرياتينين في المصل باستخدام الطريقة اللونية لـ (1972) Bartels et Bohmer، وتعتمد على تفاعل الكرياتينين في وسط قلوي مع مركب حمض البكريك ليشكل لنا مزيج لونه أحمر برتقالي، سرعة تشكله تتناسب مع تركيز الكرياتينين في المصل، يتم قياسه عند طول موجة امتصاص 500nm جدول (8)، يتم التحليل في درجة حرارة ملائمة 25°م.

جدول 8: الطريقة المتبعة في قياس الكرياتينين

Pipeter dans les tubes à ssais	Blanc	Créatinine standard	Echantillon
Hydroxyde de soduim	1000 µL	1000 µL	1000 µL
Echantillon	-	-	50 µL
Créatinine standard	-	50 µL	-
Mélange et incubation pendant 5min (20-25°C)			
L'acide picrique	250 µL	250 µL	250 µL
Mélange et incubation pendant 5min (20-25°C)			
1 ^{ère} mesure de l'absorbance (A ₁) (500 nm)			
Mélange et incubation pendant 5min (20-25°C)			
2 ^{ème} mesure de l'absorbance (A ₂) (500 nm)			



بعد قياس موجات الامتصاص A_1 و A_2 لمختلف العينات الشاهدة والمعالجة (Blanc et Tests) فإن الفرق بين القياسين يحسب من العلاقات التالية:

$$\Delta A \text{ de l'échantillon} = [(A_2 - A_1) \text{ des échantillons}] - [(A_2 - A_1) \text{ du blanc}]$$

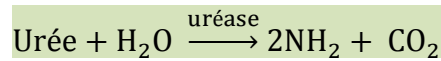
$$\Delta A \text{ du Créatinine standard} = [(A_2 - A_1) \text{ du standard}] - [(A_2 - A_1) \text{ du blanc}]$$

ومنه يتم حساب تركيز الكرياتينين لكل أنبوب من العلاقة:

$$\text{Concentration de la créatinine (mg/dL)} = \frac{\Delta A \text{ de l'échantillon}}{\Delta A \text{ de la créatinine standard}} \times [\text{standard}](\text{mg/dL})$$

II-2-3-5-4- قياس اليوريا

تم قياس اليوريا بإتباع الطريقة الإنزيمية لـ *Traynor et al.* (2006) حسب التفاعل التالي:



يتفاعل أيون الأمونيوم المتشكل في وجود Salicylate و Hypochlorite de sodium مشكلا لنا مركب (Dicarboxylindophenol) ذو اللون الأخضر، كثافة لونه تتناسب طرديا مع تركيز اليوريا في المصل وهذا عند طول موجة امتصاص 580nm في درجة حرارة تتراوح بين 20 و 25 درجة مئوية جدول (9)

جدول 9: الطريقة المتبعة في قياس اليوريا

Pipeter dans les tubes à essais	Blanc	Urée standard	Echantillon
Echantillon	-	-	10 µL
Urée standard	-	10 µL	-
Réactif 1 (4 ملحق)	1000 µL	1000 µL	1000 µL
Mélange et incubation pendant 10min (20-25°C)			
Réactif 2 (4 ملحق)	1000 µL	1000 µL	1000 µL
Mélange et incubation pendant 10min (20-25°C)			
Lecture absorbance (A) de l'échantillon et du standard à 580 nm contre le blanc.			

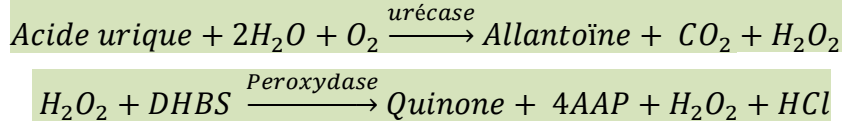
تركيز اليوريا في كل أنبوب يحسب من علاقة:

$$\text{Concentration de l'urée (mg/dL)} = \frac{A \text{ de l'échantillon}}{A \text{ de l'urée standard}} \times [\text{standard}](\text{mg/dL})$$



II-2-3-5-5- قياس حمض اليوريك

يتم قياس حمض اليوريك في المصل باستخدام الطريقة الإنزيمية اللونية لـ Fossati *et al.* (1982) باتباع التفاعلين التاليين:



طريقة العمل:

استخدمت (3) أنابيب اختبار تحوي كل منها على المواد المبينة في الجدول 10.

جدول 10: الطريقة المتبعة في قياس حمض اليوريك

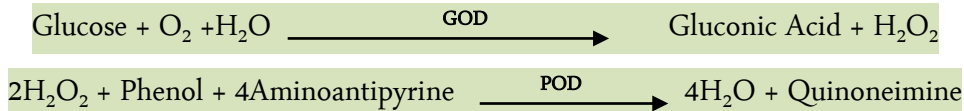
Pipeter dans les tubes à essais	Blanc	Acide urique standard	Echantillon
Echantillon	-	-	20 µL
Acide urique standard	-	20 µL	-
Réactif de travail (ملحق 4)	1000 µL	1000 µL	1000 µL
Mélange et incubation pendant 10min (20-25°C)			
Lecture absorbance (A) de l'échantillon et du standard à 520 nm contre le blanc.			

تركيز حمض اليوريا في كل أنبوب يحسب من علاقة:

$$\text{Concentration de Acide urique (mg/dL)} = \frac{\text{A de l'échantillon}}{\text{A de l'urée standard}} \times [\text{standard}] (\text{mg/dL})$$

II-2-3-5-6- قياس الجلوكوز

استخدمت الطريقة الإنزيمية (GOD - POD) Enzymatic Colorimetric حسب Tietz (1995) لتقدير مستوى الجلوكوز في مصل الدم وباستخدام العدة التحليلية المجهزة من شركة Biocon الألمانية، تم أكسدة مجموعة الأدهيد الموجودة في جزئية الجلوكوز بواسطة أنزيم جلوكوز اوكسيداز (Glucose Oxydase)، الذي يعطي حامض الكلوكونيك ويبروكسيد الهيدروجين وتحت تحفيز أنزيم البيروكسيداز (Peroxydase) يتفاعل بيروكسيد الهيدروجين الناتج من التفاعل الأول مع مركب الفينول (phenol) و-4-امينوأنتيبيري (4-aminoantipyrine) ليتشكل محلول ذلون وردي لمركب Quinoneimine وفقاً للمعادلات الآتية:





جدول 11: الطريقة المتبعة في قياس الجلوكوز

Pipeter dans les tubes à essais	Blanc	Glucose standard	Echantillon
Réactif de travail	1000 µL	1000 µL	1000 µL
Échantillon	-	-	10 µL
Glucose standard	-	10 µL	-
Mélange et incubation pendant 5min (20-25°C)			
Lecture absorbance (A) de l'échantillon et du standard à 505 nm contre le blanc.			

تركيز الجلوكوز في كل أنبوب يحسب من العلاقة التالية:

$$\text{Concentration du glucose (mg/dL)} = \frac{A \text{ de l'échantillon}}{A \text{ du glucose standard}} \times [\text{standard}] (\text{mg/dL})$$

6-3-2-II- قياس بعض المعايير الدموية

استخدم جهاز (Beckman coulter Medonic) في قياس المعايير الدموية المتمثلة في :

HTC: Hematocrite, HGB: Hemoglobin, GR: Globules Rouge, GB: Globule Blancs,
Lymphocytes, Monocyte, Basophile



II-2-4- الدراسة النسيجية

اشتملت الدراسة النسيجية على أخذ نماذج من عضو الكبد وعضو الكلية بعدما تمت تضحية الحيوانات، وهذا بهدف دراسة التغيرات النسيجية المرضية فيها، حيث نتبع في هذه الدراسة عدة خطوات متتالية نستعمل خلالها مواد كيميائية وصبغية لتوضيح أجزاء القطاعات المجهرية المختلفة ويمكن تلخيص هذه الخطوات فيما يلي:

التثبيت: وضعت النماذج في مثبت بوان الكحولي Bouin alcoolique (ملحق 5) وهذا من اجل المحافظة عليها قدر المستطاع بحالة أقرب ما تكون إلى الحالة الحية، ومن ثم إيقاف عمليات التفسخ التي تنتج عن نشاط البكتيريا وإيقاف عملية التحلل الذاتي للنسيج بفعل إنزيمات الحالة، ومن ثم جعلها قابلة للتلوين بصورة اصطفاائية.

غسل العينات بعد التثبيت: إن الهدف من غسل العينات بعد التثبيت هو التخلص من المثبت الفائض، والذي لم يمتزج مع الأنسجة وكذلك التخلص من الرواسب التي خلفها المثبت. يتم الغسل إما بالماء العادي، أو بماء مقطر، أو بالكحول، وهذا يتعلق بنوع المثبت المستخدم. في حالة مثبت بوان تغسل العينات بالكحول 50% عدة حمامات حتى زوال اللون الأصفر.

نزع الماء والترويق: إن بقاء الماء في العينة يسبب تلفها وتعفنها، كما أنه يعيق عملية التشرية بالبارافين، ولهذا يجب نزع الماء منها من أجل متابعة المراحل التالية، ويتم ذلك باستعمال كحولات متفاوتة التركيز.

عملية نزع الماء: وضعت قطع الأعضاء المثبتة في جهاز التمرير النسيجي (Histokinette) من شركة (LEICA TP 1020) ومررت بحمامات كحولية بالمراحل التالية وعلى التوالي:

- حمامان من الكحول الايثيلي 70% مدة كل منهما ساعة ونصف.
- حمام من الكحول الايثيلي 80% مدته ساعة ونصف.
- حمام من الكحول الايثيلي 90% مدته ساعة ونصف.
- ثلاث حمامات من الكحول الايثيلي 100% مدة كل واحد منها ساعة.

الترويق: هو مرحلة وسط بين نزع الماء و التشرية بالبارافين، وحتى يتم تشرية العينة يجب تخليصها من الكحول وهذا باستعمال مواد قابلة للانحلال مع الكحول من جهة ومع البارافين من جهة أخرى. لذلك فان محلول الكزيبان Xylen أو محلول التولوين Toluene يفي بالغرض. وهذا بنقل العينات في حمام الكزيبان لمدة ساعة ولترتين متتاليتين.

التشرية بالبارافين و الطمر: تتم عملية التشرية بإجراء 3 حمامات من البارافين المنصهر مدة كل واحد منها (1.5-2) ساعة، وننوه الى ضرورة غمر العينة تماما بالبارافين. تلي هذه العملية عملية الطمر والتي تعتبر المرحلة الأخيرة في تشكيل القوالب البارافينية ويستخدم لهذا الغرض قوالب معدنية مدهونة بطبقة رقيقة من الغليسرين، بعدها يسكب البارافين المنصهر باستخدام جهاز خاص بالطمر من شركة (LEICA EG 1160) في القالب، يسخن رأس الملقط، ثم يمسك بالعينة من آخر حمام بارافين ويتم وضعها في القالب الذي يتجمد بعد دقائق، فنحصل على قالب من الشمع مطمور فيه العينة.



التقطيع: تم تقطيع النماذج المثبتة بكتل الشمع تقطيعاً متتابعاً بواسطة جهاز التقطيع الدوار (Rotary Microtome) من شركة (LEICA RM 2125RT) لتحضير شرائح نسيجية بسمك خمسة ميكرون.

تحميل المقاطع: يؤخذ مقطع أو أكثر من شريط المقاطع المتسلسلة، ويوضع على الصفيحة الزجاجية عليها قطرة من الماء الزلالي، ثم توضع الصفيحة فوق الساخنة ومجراة 45 درجة مئوية من اجل تمديد المقطع وفرده، بعد ذلك يزال الماء الزائد بورق النشاف، وتوضع الشرائح في فرن درجة حرارته 45 درجة مئوية لمدة 24 ساعة، ليتم تجفيف المقاطع والتصاقها بشكل جيد على الصفايح.

الصبغ: تصبغ الشرائح الزجاجية بصبغتي الهيماتوكسيلين (Harris Haematoxylin) والأيوزين (Eosine) (ملحق 5) بإتباع خطوات وصفها Humason (1967) كالآتي:

وضعت الشرائح في 3 حمامات من الكزيران لمدة 5 دقائق لكل منها، ثم نقلت الى خليط من الكزيران والكحول الايثيلي المطلق بنسبة (1:1) لمدة ثلاث دقائق ومررت لمدة دقيقتين في كل من التراكيز الكحولية الإيثيلية الآتية : 100%، 90%، 80%، 70%، وهذا يهدف لإزالة آثار الكزيران وتمييع المقاطع. بعدها توضع في الماء المقطر لمدة 5 دقائق ثم في صبغة الهيماتوكسيلين من أربع إلى خمس دقائق، ثم غسلت الشرائح بالماء الجاري لمدة عشرة دقائق، بعدئذ نقلت الى صبغة الأيوزين لمدة 1-2 دقيقة، ثم مررت لمدة 3 دقائق في كل من 70% و 100% و 100% من الكحول الايثيلي، ثم 4 دقائق في محلول الكزيران والكحول الايثيلي المطلق بحجم متساوي، وضعت بعدها في الكزيران لمدة 4 دقائق ولمرتين متتاليتين وذلك لترويق المقاطع وجعلها شفافة ليسهل فحصها بالمجهر. بعد ذلك تثبت الساترة على المقاطع باستعمال بلسم كندا.

تم تصوير بعض الشرائح لتوثيق نتائج الدراسة عن طريق التقاط صور فوتوغرافية لبعض المقاطع النسيجية للأعضاء التي أخذت من المجموعات الشاهدة والمعالجة بتراكيز القلويدات المتزايدة التي اشتملتها هذه الدراسة، حيث تم التصوير باستعمال نوعين من المجاهر الضوئية مزودة بكاميرا داخلية، الأول من نوع (OLYMPUS BH2, LEICA)، والثاني من نوع (Motic Image 2000).

III- التحليل الإحصائي

تم حساب مختلف المقاييس الإحصائية الوصفية مثل: الوسط الحسابي (Mean)، الانحراف المعياري (Standard deviation)، التباين (Variance)... الخ، لمختلف التجارب المخبرية (المعملية) وذلك إستنادا على برنامج التحليل الإحصائي (Logiciel Minitab-16) التابع للمنتج:

[Minitab®16.1.0] (Ver.2010 Core: 16.1.0.0© 2010 Minitab Inc)

من بين إختبارات هذا البرنامج أختارنا إختبار Student's t-test في حالة عينتين (2-simple- t-test) لأن شروط هذا الإختبار تتوافق مع تجاربنا (ملحق 6) والمتمثلة في:

شروط الإستقلالية: الذي يعتمد على أن كل مجموعة مختبرة سواء من السلالات البكتيرية أو الحيوانات مستقلة تماما عن المجموعة الأخرى، وكذلك وجود مجموعة ضابطة كمرجع للإختبار في حالة التسمم شبه المزمّن.

شروط الإعتدالية، البيانات المترية، شرط التجانس بالنسبة لـ ANOVA.

وبما أننا نملك شرط التجانس، ارتأينا إلى تدعيم إختبارات t-test بإختبار تحليل التباين ANalysis Of VAriance في إتجاه واحد (one way ANOVA) بين تراكيز قلويدات البذور و الجذور في دراسة الفعالية ضد الميكروبية، وكذلك بين جميع المجموعات المعالجة بالجرعات المتزايدة من القلويدات و المجموعة الضابطة في حالة التسمم شبه المزمّن.

هذه الإختبارات تعطينا مستوى دلالة الإحتمال p حيث يقال أن الفرق:

- ✓ غير معنوي إذا كان $P > 0.05$ (NS).
- ✓ معنوي إذا كان $0.01 < p < 0.05$ (*).
- ✓ معنوي كبير إذا كان $0.001 < p < 0.01$ (**).
- ✓ معنوي بدرجة كبيرة جدا إذا كان $p < 0.001$ (***) .

النتائج والمناقشة

النتائج

يتضمن :

- ❖ الدراسة الكيائية
- ❖ الدراسة البكتيرية
- ❖ دراسة التسمم الحاد
- ❖ دراسة التسمم شبه المزمن

I- نتائج الدراسة الكيميائية

I-1- الحصر الكيميائي الأولي لنبات *P. harmala*

يوضح الجدول 12 نتائج اختبارات الحصر الكيميائي الأولي لنبات *P. harmala* الخاضع لمسح فيتو كيميائي عن 12 عائلة كيميائية حيث يتضح جليا أن هذه النبتة بإمكانها تخليق مختلف المنتجات الطبيعية الفعالة، كما نلاحظ اختلاف في بعض نتائج الاختبارات بين أعضاء النبات حيث نجد:

- الفينولات، pholobatanins، القلويدات، الأحماض الأمينية، البروتينات، السكريات والمركبات المرجعة في جميع أجزائها.

- الفلافونويدات الجليكوسيدية تتواجد في جميع أجزاء النبات ما عدا في الجذور تكون بشكل آثار.

- مركبات الأنتراكينون تتواجد في الثمار والبذور دون الأعضاء الأخرى.

- نسجل خلو هذا النبات من المواد الكومارينية، الراتنجية والإيمودولية.

بصفة عامة بلغ عدد الاختبارات الإيجابية 80 من بين 108 اختبار أي بنسبة 74.07%.

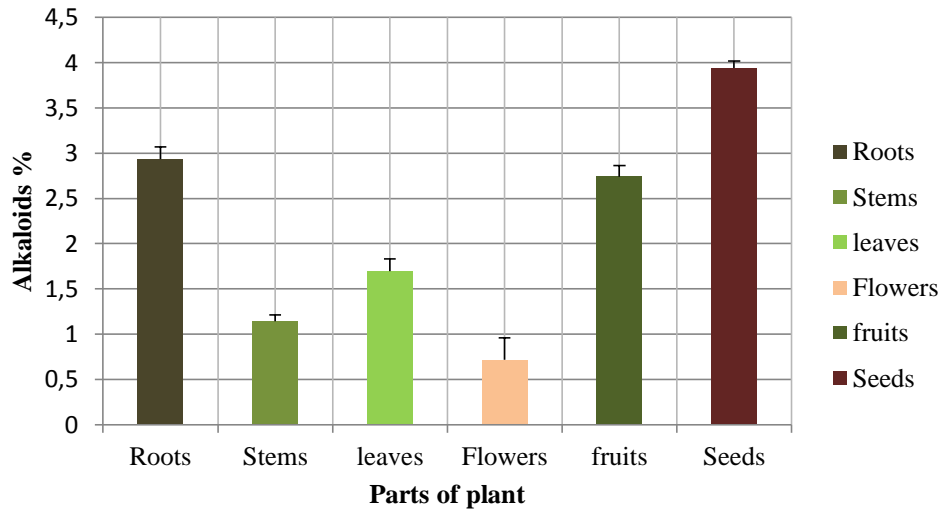
جدول 12: نتائج اختبارات الحصر الكيميائي الأولي لنبات *P. harmala*

بذور Graines	ثمار Fruits	أزهار Fleurs	أوراق Feuilles	سيقان Tiges	جذور Racines	أقسام النبات المنتجات الطبيعية
-	-	-	-	-	-	الكومارينات Coumarins
+	+	+	+	+	+	الفينولات phynoles
+	+	+	+	+	+	Teste d'Acetate
+	+	+	+	+	+	Teste de FeCl ₃
+	+	+	+	+	+	Teste de gélatine
-	-	-	-	-	-	Teste de précipité
-	-	-	-	-	-	Teste de couleurs
+	+	+	+	+	+	المركبات المرجعة réduire composés
+	+	+	+	+	+	Pholobatanins
+	+	-	-	-	-	الأنتراكينون Antraquinones

-	-	-	-	-	-	الإيمودول Emodoles	
+	+	+	+	+	±	الفلافونويدات الجليكوسية Flavone glucosides	
+	+	+	+	+	+	القلويدات Alcaloides Teste de Mayer	
+	+	+	+	+	+	Teste de buiret	البروتينات
+	+	+	+	+	+	Teste de millon	proteines
+	+	+	+	+	+	Teste de ninhydrine	الأحماض الأمينية Aminoacide
+	+	+	+	+	+	Teste de Molish	الكاربوهيدرات
+	+	+	+	+	+	Teste de Feeling	Hydrate de
+	+	+	+	+	+	Teste de Barfoed	carbone

-2-I- التقدير الكمي لقلويدات نبات *P. harmala* بطريقة المعايرة

- يبين الشكل 31 هيستوغرام النسب المئوية للقلويدات في مختلف أعضاء نبات *P. harmala* الناتجة من التقدير الكمي للقلويدات بطريقة المعايرة حيث يتضح أن:
- ❖ المحتوى القلويدي متغير في كل أعضاء النبات.
 - ❖ تحتوي البذور، الجذور و الثمار على أعلى نسبة مئوية للقلويدات والتي قدرت بـ 3,94%، 2,93%، 2,74%
 - على الترتيب.
 - ❖ نسجل أقل نسبة مئوية للقلويدات مع الأزهار بـ 0,71%



شكل 31: النسب المئوية لقلويدات أجزاء نبات *P. harmala*

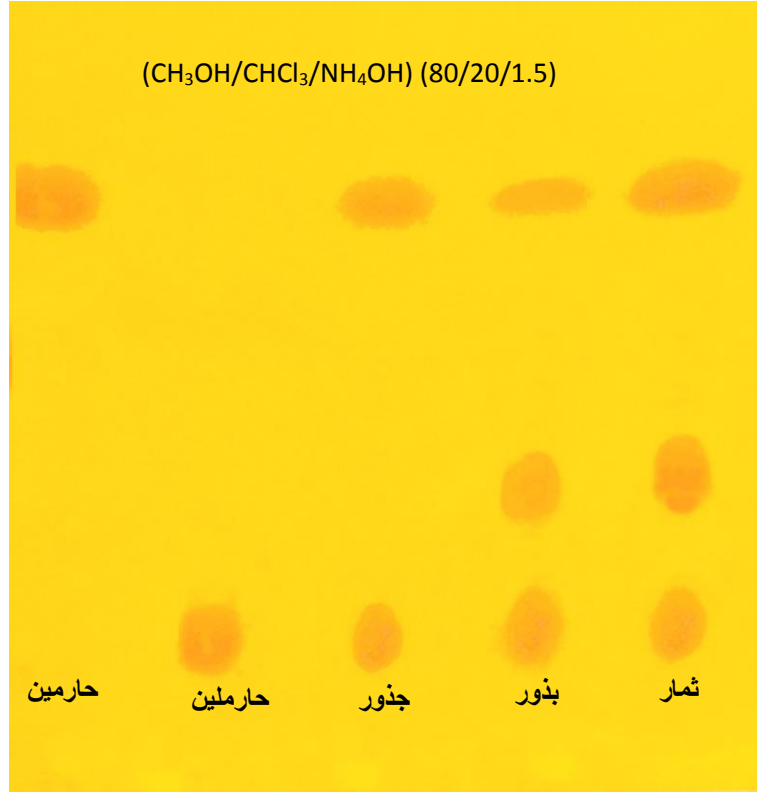
I-3- التحليل الكروماتوغرافي لقلويدات نبات *P. harmala*:

I-3-1- كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (CCM)

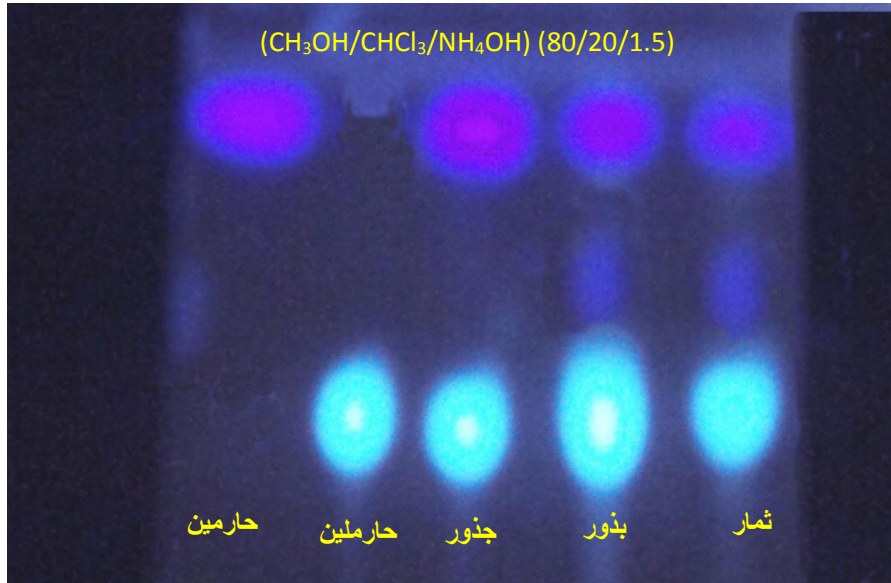
يمكن توضيح السلوك الكروماتوغرافي للمركبات المفصولة من المستخلصات القلويدية للجذور، ثمار و بذور نبات *P. harmala* من خلال تحديد معامل الإنسياب و ولون البقع القلويدية تحت UV وكذلك مع كاشف دراجندروف، حيث يتبين من الجدول 13 والشكلين (32،33) أن البذور والثمار تحتوي على 3 قلويدات في الحين الجذور تحتوي على نوعين فقط، كما لوحظ أيضا ان جميع هذه المستخلصات تحتوي على قلويدات الحارمين والحارملين وهذا بمقارنة لون بقعها و قيم جريانها النسبي (R_f) مع لون و قيم انسياب القلويدات القياسية.

جدول 13: مميزات المركبات القلويدية المفصولة ب (CCM)

نظام المذيب	اسم القلويد	معامل الانسياب R_f	بذور	ثمار	جذور	اللون تحت UV_{365}	اللون مع كاشف دراجندروف
(MeOH - CHCl ₃ - NH ₄ OH) بجزم (80/20/1,5)	الحارمين	0.34	يوجد	يوجد	يوجد	اخضر مزرق مشع	برتقالي
	قلويد مجهول	0.46	يوجد	يوجد	لا يوجد	بنفسجي	برتقالي
	الحارملين	0.82	يوجد	يوجد	يوجد	بنفسجي مشع	برتقالي



شكل 32: كروماتوغرام كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة لفصل القلويدات في مستخلصات (جذور، ثمار وبذور) باستخدام كاشف دراجندروف.



شكل 33: كروماتوغرام كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة لفصل القلويدات في مستخلصات (جذور، ثمار وبذور) تحت الأشعة فوق البنفسجية.

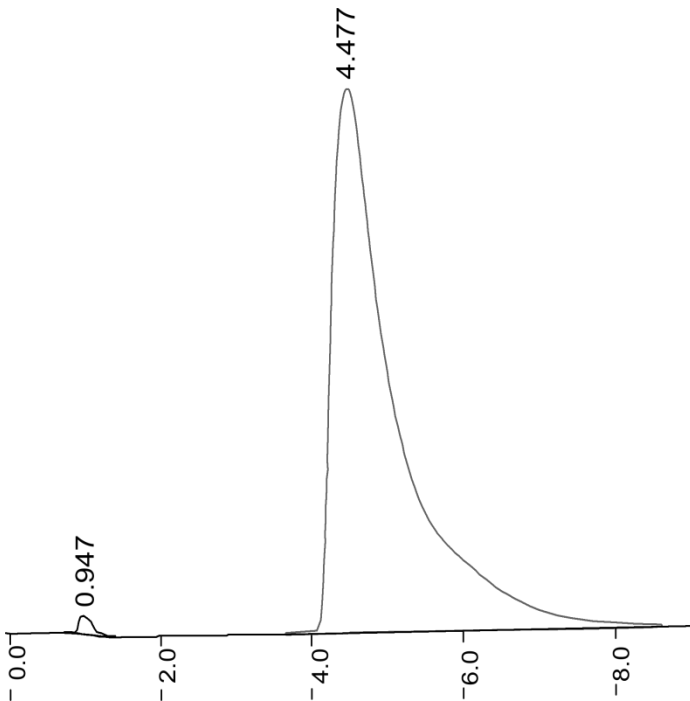
I-3-2- التقدير النوعي لبعض المركبات القلويدية باستخدام تقنية HPLC

المنحنيات القياسية لمركبي الحارمين والحارملين:

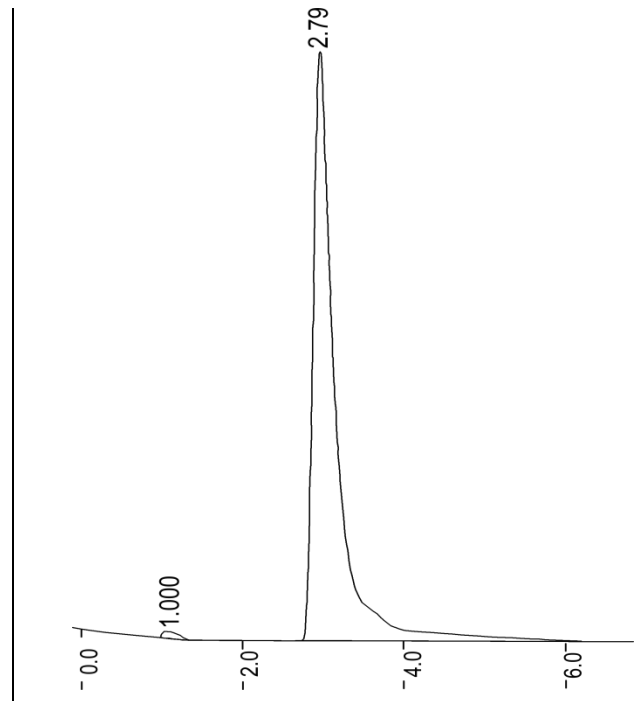
لوحظ من خلال نتائج الجدول (14) أن النسبة المئوية للمساحة تحت المنحني للمركب القياسي الحارمين بلغت 99.16% خلال زمن احتجاز بلغ 2.79 دقيقة، في حين كانت النسبة المئوية للمساحة تحت المنحني للمركب القياسي الحارملين 99.24% وخلال زمن احتجاز بلغ 4.47 دقيقة (الشكل 34-35)

جدول 14: النسبة المئوية للمساحة تحت المنحني وزمن الاحتجاز القياسي لقلويد الحارمين والحارملين حسب ظهورهما باستخدام تقنية HPLC.

المركبات القلويدية القياسية	النسبة المئوية للمساحة تحت المنحني % Area	زمن الاحتباس القياسي retention time (min)
الحارمين	99.162	2.79
الحارملين	99.239	4.47



N°	Peak Name	RT (min)	Area (uv* Sec)	% Area	Heigh (uv)	%Heigh
1		0.947	51902	0.761	3992	3.289
2	Harmaline	4.477	6695658	99.239	117403	96.711
Total			6747560	100	121395	100



N°	Peak Name	RT (min)	Area (uv* Sec)	% Area	Heigh (uv)	%Heigh
1		1.00	56790	0.837	3608	1.035
2	Harmine	2.790	6725802	99.162	344767	98.964
Total			6782592	100	348375	100

شكل 35: كروماتوغرام قلويد الحارملين بتقنية HPLC

شكل 34: كروماتوغرام قلويد الحارمين بتقنية HPLC

تقدير المركبات القلويدية في مستخلصات نبات *P. harmala*

تبين من خلال نتائج الجدول (15) و الأشكال (36، 37، 38) أن المستخلصات القلويدية لكل من الجذور، الثمار والبذور تحتوي على قلويدي الحارمين و الحارملين، وذلك بمقارنة زمن احتباسها بزمن احتباس القلويدات القياسية. حيث سجل أعلى تركيز لمركب **الحارمين** في المستخلص القلويدي للجذور مقارنة ببقية المستخلصات القلويدية للعينات الأخرى، إذ بلغت النسبة المئوية لمساحته بـ 70.59% وخلال زمن احتباس بلغ 2.68 دقيقة، كما كان تركيز هذا المركب عاليا أيضا في الثمار بلغت نسبة مساحته بـ 42.13% خلال زمن احتباس بلغ 2.67 دقيقة، في حين أن أقل تركيز لهذا المركب ظهر في المستخلص القلويدي للبذور بـ 17.13% خلال زمن قدره 2.7 دقيقة.

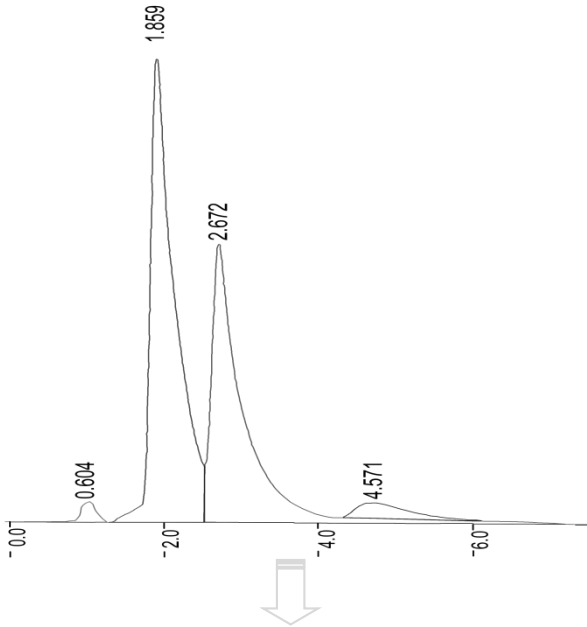
أما بالنسبة لمركب **الحارملين** تبين أن أعلى تركيز له ظهر في المستخلص القلويدي للبذور إذ بلغت النسبة المئوية لمساحته بـ 78.33% خلال زمن احتجاز قدره 4.40 دقيقة، يليه المستخلص القلويدي للجذور بمساحة نسبتها 28.76% خلال زمن احتباس 4.50 دقيقة وكان أقل تركيز للمركب مع المستخلص القلويدي للثمار بمساحة نسبتها 3.72% خلال زمن احتباس قدره 4.57 دقيقة.

جدول 15: النسبة المئوية للمساحة تحت المنحني وزمن الاحتجاز لمركبي الحارمين والحارملين في بعض

المستخلصات القلويدية لنبات *P. harmala*

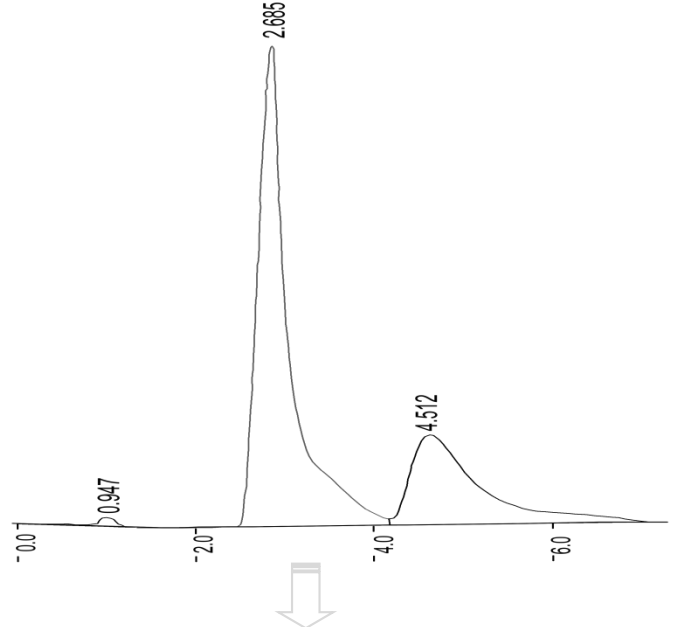
زمن الاحتباس retention time (min)		النسبة المئوية للمساحة تحت المنحني Area%		العينة النباتية
الحارملين	الحارمين	الحارملين	الحارمين	
4.40	2.70	78.33	17.13	بذور
4.50	2.68	28.56	70.59	جذور
4.57	2.67	3.72	42.13	ثمار

تبين من خلال كروماتوغرام الشكل 36 أن المسخلص القلويدي للجذور يحتوي على نوعين من المركبات القلويدية وهما الحارمين والحارملين، في حين أن كل من المسخلص القلويدي للثمار والبذور شكل (37، 38) يحتويان على ثلاث مركبات قلويدية هي الحارمين والحارملين و مركب آخر نسبة مساحته تحت المنحني بلغت 52.47% خلال زمن احتجاز بلغ 1.85 دقيقة مع مستخلص الثمار، أما مع مستخلص البذور فالنسبة المئوية لمساحته قدرت بـ 4.02% خلال زمن احتباس بلغ 1.88 دقيقة.



N°	Peak Name	RT (min)	Area (uv* Sec)	% Area	Heigh (uv)	%Heigh
1		0.604	61686	1.554	4106	2.573
2		1.85	2087123	52.586	95155	59.638
3	Harmine	2.672	1672186	42.131	57121	35.80
4	Harmaline	4.571	147971	3.728	3172	1.988
Total			3968966	100	159554	100

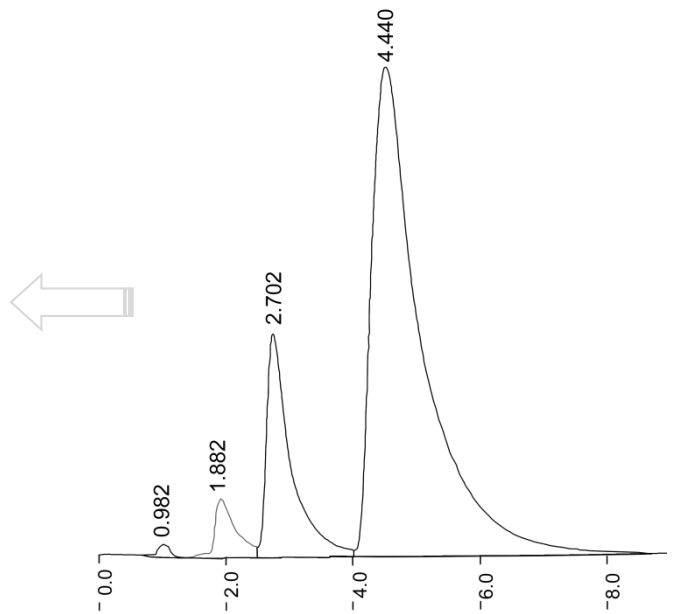
شكل 37: كروماتوغرام المستخلص القلويدي الخام للثمار بتقنية HPLC



N°	Peak Name	RT (min)	Area (uv* Sec)	% Area	Heigh (uv)	%Heigh
1		0.947	45550	0.640	3469	1.04
2	Harmine	2.685	5037220	70.593	205976	83.163
3	Harmaline	4.512	2052720	28.767	38232	15.832
Total			7135490	100	247677	100

شكل 36: كروماتوغرام المستخلص القلويدي الخام للجذر بتقنية HPLC

N°	Peak Name	RT (min)	Area (uv* Sec)	% Area	Heigh (uv)	%Heigh
1		0.982	49995	0.496	3520	1.55
2		1.882	405647	4.026	16958	7.469
3	Harmine	2.70	1726291	17.136	64810	28.548
4	Harmaline	4.44	7891620	78.339	141732	62.431
Total			10073553		227020	100

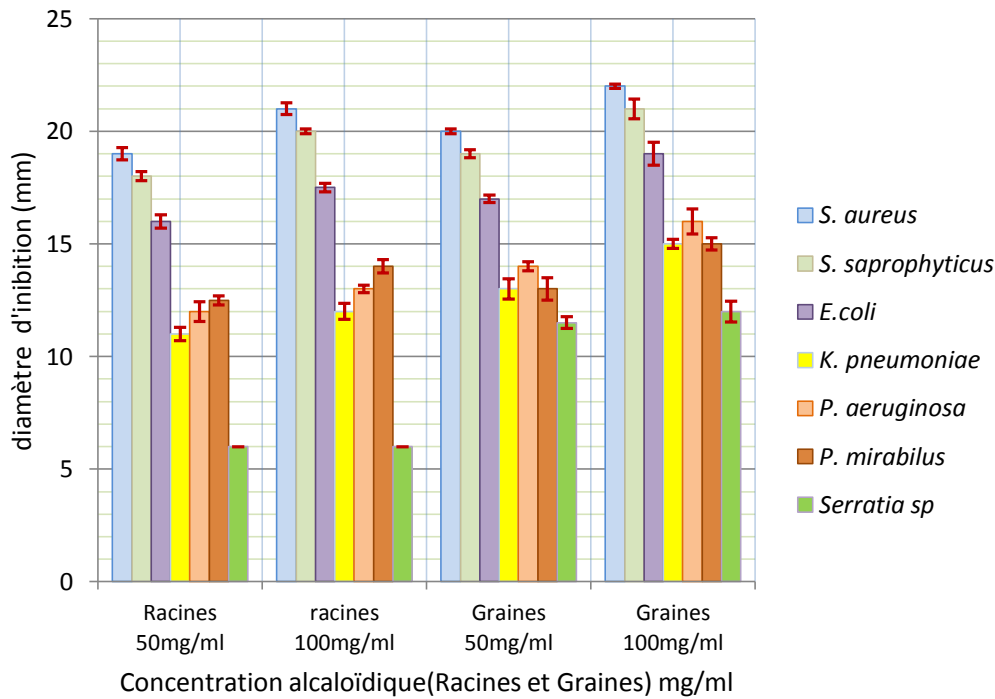


شكل 38: كروماتوغرام المستخلص القلويدي الخام للبذور بتقنية HPLC



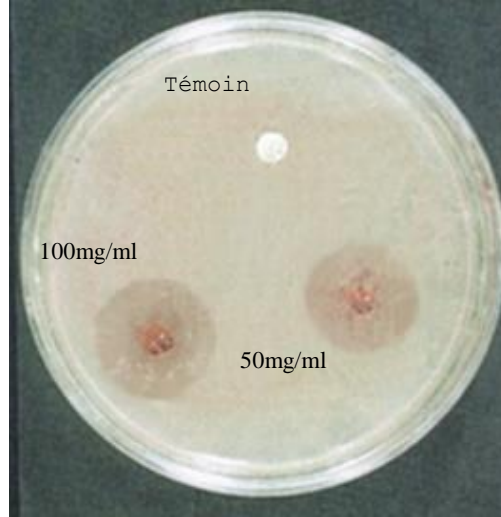
II- نتائج الدراسة البيكتيرية

II-1- نتائج النشاط الضد البيكتيري للمستخلصات القلويدية الحامة لبذور وجذور نبات *P. harmala* مدونة في الشكل (39)، نلاحظ جليا من خلال تجارب (Antibiogramme) مدى تأثير المستخلصات القلويدية الحامة للبذور والجذور على مختلف السلالات البكتيرية المختبرة.

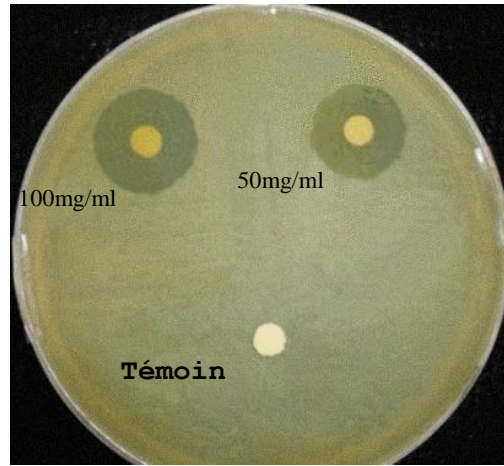


شكل 39: هيستوغرام النشاط الضد البكتيري للمستخلصات القلويدية الحامة لبذور وجذور *P.harmala* بتركيز 50ملغ/مل و 100ملغ/مل.

حيث سجلنا متوسطات أقطار متباينة، تختلف باختلاف السلالات البكتيرية المختبرة، مع قيم مهمة بالنسبة للعصيات الموجبة جرام، سجل أعلى متوسط قطر منطقة التثبيط مع *S. aureus* بـ 22مم وهذا مع المستخلص القلويدي الخام للبذور بتركيز 100ملغ/مل و أقل متوسط قطر منطقة التثبيط سجل مع *S. saprophyticus* بـ 18مم بتركيز 50ملغ/مل من المستخلص القلويدي للجذور كما هو مبين في صورتني الشكلين 40 و 41.



شكل 40: تأثير المستخلص القلويدي الخام للبدور على *S. aureus*

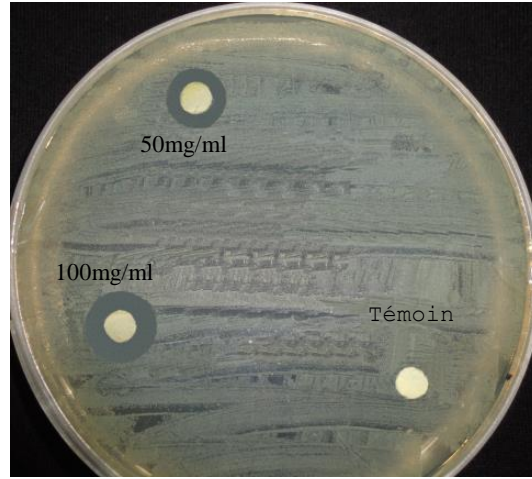


شكل 41: تأثير المستخلص القلويدي الخام للبدور على *S. saprophyticus*

أما السلالات السالبة جرام، سجل أعلى متوسط قطر منطقة التثبيط بـ 19 مم مع *E. coli* للمستخلص القلويدي الخام للبدور، بتركيز 100 ملغ/مل وأقل متوسط قطر منطقة التثبيط كان مع السلالة *K. pneumoniae* بـ 11 مم بتركيز 50 ملغ/مل للمستخلص القلويدي الخام للبدور، كما هو مبين في صورتني الشكلين 42 و 43.



شكل 42: تأثير المستخلص القلويدي الخام للبذور على *E. coli*



شكل 43: تأثير المستخلص القلويدي الخام للجذور على *K. pneumoniae*

نلاحظ من خلال الشكل 39 أن المستخلص القلويدي للجذور نشط على 6 سلالات بكتيرية من أصل 7، وكذلك أن الزيادة في متوسطات أقطار التثبيط مرتبط بالزيادة في تركيز المستخلصات.

أخضعت دراسة النشاط الضد الميكروبي للمستخلصات القلويدية الخامة لبذور وجذور نبات *P.harmala* إلى تحليل إحصائي أستعمل فيه برنامج (Minitab-16)، بينت نتائجه الخاصة باختبار T.test (ملحق 7) وجود فروق معنوية في حساسية السلالات البكتيرية المختبرة بمتوسطات أقطار تثبيط متفاوتة تبعا لنوع السلالة البكتيرية وحسب تركيز كل من المستخلص القلويدي للجذور والبذور حيث:

عند التركيز (50 و 100) ملغ/مل من مستخلص قلويدات الجذور (ملحق 7- جدول 1، 2) سجلنا:



- فروق معنوية كبيرة جدا ($P < 0.001$) بين *S. aureus*، *S. saprophyticus*، *E. coli* مع *P. mirabilis*، *P. aeruginosa*، *K. pneumoniae*، *E. coli*.
 - فروق معنوية كبيرة ($0.001 < P < 0.01$) بين *S. aureus*، *K. pneumoniae* مع *S. saprophyticus* و *P. mirabilis* على الترتيب. وكذلك بين *P. aeruginosa* مع *P. mirabilis* عند التركيز 100 ملغ/مل.
 - فرق معنوي ($P < 0.05$) بين *K. pneumoniae* مع *P. aeruginosa*.
 - عند التركيز (50) ملغ/مل من مستخلص قلويدات البذور (ملحق 7- جدول 3) سجلنا:
 - فروق معنوية كبيرة جدا ($P < 0.001$) بين *S. aureus*، *S. saprophyticus*، *E. coli* مع *Seratia sp*، *P. mirabilis*، *P. aeruginosa*، *K. pneumoniae*. كذلك بين *S. aureus*، *S. saprophyticus* مع *E. coli*.
 - فروق معنوية كبيرة ($0.001 < P < 0.01$) بين *K. pneumoniae*، *P. mirabilis* مع *Seratia sp* و بين *S. aureus* مع *S. saprophyticus*.
 - فرق معنوي ($P < 0.05$) بين *K. pneumoniae* مع *P. aeruginosa* و بين *P. aeruginosa* مع *P. mirabilis*.
 - لا يوجد فرق معنوي ($P > 0.05$) بين *K. pneumoniae* و *P. mirabilis*.
 - عند التركيز 100 ملغ/مل من مستخلص قلويدات البذور (ملحق 7- جدول 4) سجلنا:
 - فروق معنوية كبيرة جدا $P < 0.001$ بين *S. aureus*، *S. saprophyticus* مع *Seratia sp*، *P. mirabilis*، *P. aeruginosa*، *K. pneumoniae*. كذلك بين *E. coli* مع *P. mirabilis*، *P. aeruginosa*، *K. pneumoniae*، *Seratia sp* و بين *K. pneumoniae* مع *Seratia sp*.
 - فروق معنوية كبيرة ($0.001 < P < 0.01$) بين *S. aureus*، *S. saprophyticus* مع *E. coli*، كذلك بين *P. mirabilis*، *P. aeruginosa* مع *P. aeruginosa*، *Seratia sp* مع *E. coli*.
 - فرق معنوي ($P < 0.05$) بين *S. aureus* مع *S. saprophyticus*، *K. pneumoniae* مع *P. aeruginosa* و بين *P. aeruginosa* مع *P. mirabilis*.
 - لا يوجد فرق معنوي ($P > 0.05$) بين *K. pneumoniae* و *P. mirabilis*.
- بينت كذلك نتائج الدراسة الإحصائية لكل من اختبار T.test و اختبار ANOVA (ملحق 7- جدول 5) أنه لا توجد فروق معنوية ($P > 0.05$) بين تركيزي كل من مستخلصي قلويدي الجذور والبذور (50 و 100) ملغ/مل على السلالات البكتيرية المختبرة .



II-2- تحديد قيم التركيز الأدنى المثبط CMI و قيم التركيز الأدنى القاتل CMB للمستخلصات

القلويدية لبذور وجذور *P. harmala*

يتبين من الجدول 16 أن المستخلصات القلويدية لبذور وجذور نبات *P. harmala* تؤثر بصورة متباينة على مختلف السلالات البكتيرية المختبرة.

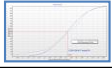
حيث تبدي كل من *S. aureus*، *S. saprophyticus* و *E. coli* حساسية كبيرة اتجاه هذه القلويدات، إذ يتوقف نموها بدءاً من التركيز 0,78 ملغ/مل، أما السلالتان *K. pneumoniae* و *P. aeruginosa*، يبدأ توقف نموها عند التركيز 3,12 ملغ/مل و 6,25 ملغ/مل مع المستخلص القلويدي الخام للبذور والجذور على الترتيب، أما السلالة *P. mirabilis* يبدأ توقف نموها عند التركيز 3,12 ملغ/مل مع كلا المستخلصين، السلالة البكتيرية *Serratia sp* يبدأ توقف نموها عند التركيز 6,25 ملغ/مل مع المستخلص القلويدي الخام للبذور، عكس المستخلص القلويدي الخام للجذور فإن CMI يكون أكبر من 12,5 ملغ/مل.

جدول 16: تحديد قيم CMI و CMB للمستخلصات القلويدية لبذور وجذور *P. harmala*

التركيز (ملغ/مل)				المستخلصات Extraits	الأحياء الدقيقة micro-Organisme
الخام للبذور القلويدي المستخلص		الخام القلويدي المستخلص للجذور			
CMB	CMI	CMB	CMI		
0.78	0.78	0.78	0.78	<i>S. aureus</i> ATCC25923	
0.78	0.78	1.56	0.78	<i>S. saprophyticus</i> ATCC49453	
0.78	0.78	1.56	0.78	<i>E. coli</i> ATCC25922	
6.25	3.12	6.25	6.25	<i>K. pneumoniae</i> ATC700603	
6.25	3.12	6.25	6.25	<i>P. aeruginosa</i> ATCC27853	
6.25	3.12	3.12	3.12	<i>P. mirabilis</i> ATCC29245	
12.5	6.25	12.5<	12.5<	<i>Serratia sp</i> ATCC39006	



التركيز الأدنى القاتل CMB للسلاات البكتيرية *S. aureus*، *S. saprophyticus* و *E. coli* يساوي 0,78 ملغ/مل مع المستخلص القلويدي الخام للبذور، اما قيم CMB للسلاات الأخرى تتراوح بين (3,12-12,5) ملغ/مل ما عدا *Serratia sp* فإنه يكون أكبر من 12,5 ملغ/مل وهذا مع المستخلص القلويدي الخام للجذور.



III- نتائج دراسة السمية الحيوانية III-1- التسمم الحاد عند الفئران الذكورية

III-1-1- المراقبة السلوكية للفئران

طول فترة العلاج وخاصة مع الجرعات العالية لقلويدات البذور سجلنا عند الفئران بطاقة إكلينيكية، تضم أعراض خطيرة أدت بعضها إلى الموت متمثلة في: زيادة ضربات القلب، اهتزازات، هيجان، صعوبة التنفس، إفراز اللعاب بكثرة وإغماء.

أما الأعراض الثانوية تمثلت في النعاس، فقدان الشهية، انتصاب الشعر و انخفاض النشاط الحركي. الموت يراقب ابتداء من 15 دقيقة إلى غاية 48 ساعة، بعد 72 ساعة الحيوانات التي تبقى على قيد الحياة يكون عندها سلوك عادي مقارنة بالشاهدة وهذا مع الجرعات (200، 300، 400) ملغ/كغ من وزن جسم الحيوان، أما مع الجرعة 500 ملغ/كغ فإن الحيوان الوحيد الذي بقي على قيد الحياة يستعيد نشاطه بعد اليوم السادس من العلاج، كما هو مبين في الجدول الإكلينيكي (ملحق 3)

III-1-2- حساب قيمة DL50 بطريقة Berhens et karber

بعد إعطاء جرعات تتراوح بين (100-600) ملغ/كغ من المستخلص الخام لقلويدات البذور عن طريق الحقن تحت الصفاق للمجموعات المختلفة للفئران، تم تسجيل عدد الوفيات والنسب المئوية لها اعتمادا على الجرعة في الجدول 17.

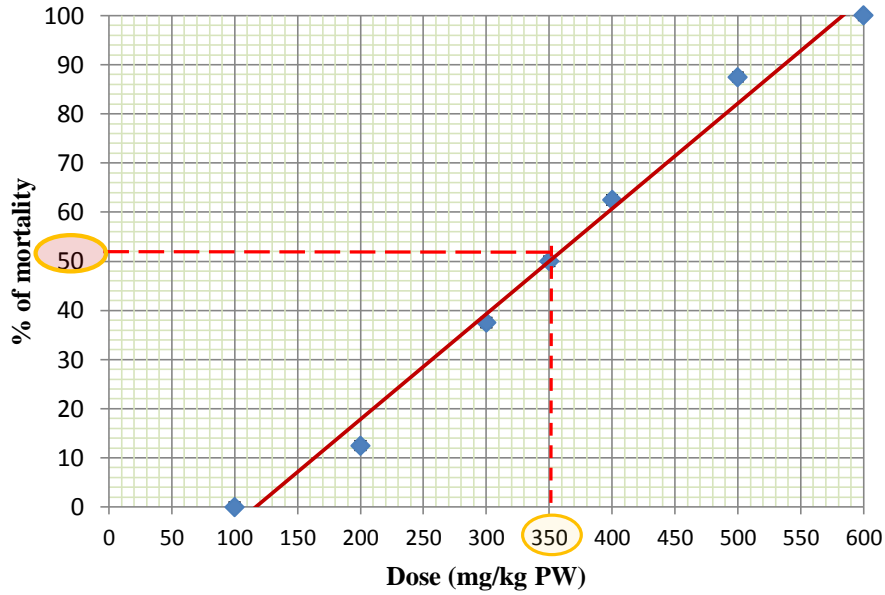
جدول 17: معدل الوفيات عند الفئران في غضون 24 ساعة من إدارة المستخلص القلويدي عن طريق الحقن تحت الصفاق.

المجموعات	1	2	3	4	5	6
الجرعة (ملغ/كغ)	100	200	300	400	500	600
عدد الحيوانات	8	8	8	8	8	8
عدد الوفيات	0	1	3	5	7	8
% الوفيات	0	12,5	37,5	62,5	87,5	100
الفرق بين جرعتين متتاليتين b	100	100	100	100	100	/
متوسط الوفيات بين جرعتين a	0,5	2	4	6	7,5	/
Axb	50	200	400	600	750	/

$$DL50 = DL100 - \sum a.b/n$$

$$DL50 = 350\text{mg/kg b.w.}$$

استنادا لقيم الجدول 17 تم تحديد قيمة DL50 بيانيا وهذا بتقدير العلاقة بين الجرعة والنسب المئوية للوفيات. أسفرت النتائج أن قيمة DL50 البيانية مساوية لقيمة DL50 الحسائية الناتجة من علاقة Berhens et karber (شكل (44)).

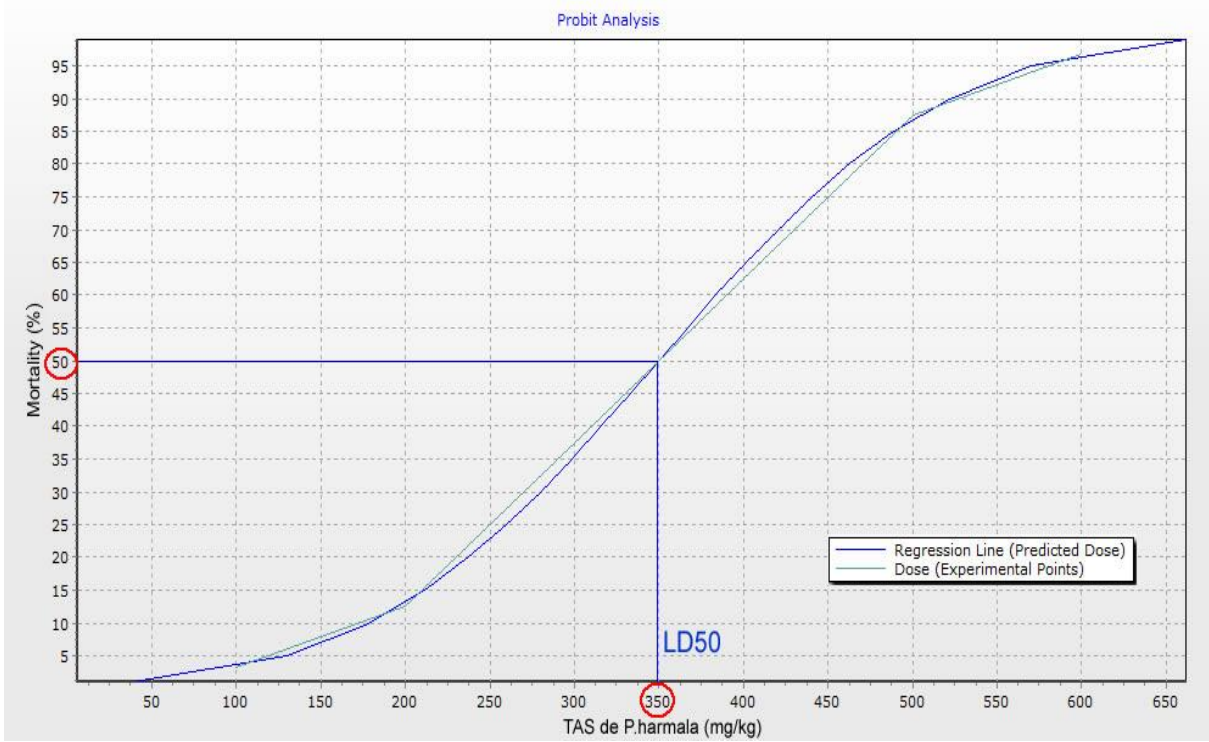
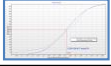


شكل 44: تحديد النسبة المئوية لموت الفئران بدلالة حقن الجرعات المتزايدة من القلويدات تحت الصفاق.

III-1-3- حساب قيمة DL50 بالطريقة الإحصائية

العلاقة بين الجرعات المتزايدة لقلويدات البذور ومعدل الوفيات للفئران تم تحديدها أيضا بطريقة احتمالية استنادا للبرنامج الإحصائي (Ver.2009 Build 5.8.4.3 © 2010) [Software StatPlus ® professional] وهذا باستخدام نوعين من الطرق:

III-1-3-1- طريقة المربعات الصغرى (التوزيع الطبيعي) (Least Squares method): قدرت من خلالها قيمة DL50 بـ 350 ملغ/كغ كما هو مبين في الشكل 45 والجدول 18.

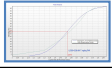


شكل 45: التحليل الاحتمالي بطريقة المربعات الصغرى (التوزيع الطبيعي)

أما الدراسة الإحصائية للانحدار جدول (18)، فقد بينت لنا أن أقل وأعلى تركيز مميت بنسبة 50% من حيوانات التجارب تساوي 281, 70 ملغ/كغ و 418, 29 ملغ/كغ على الترتيب، كما تم تحديد قيم كل من (DL10، DL84، DL16، DL90، DL100).

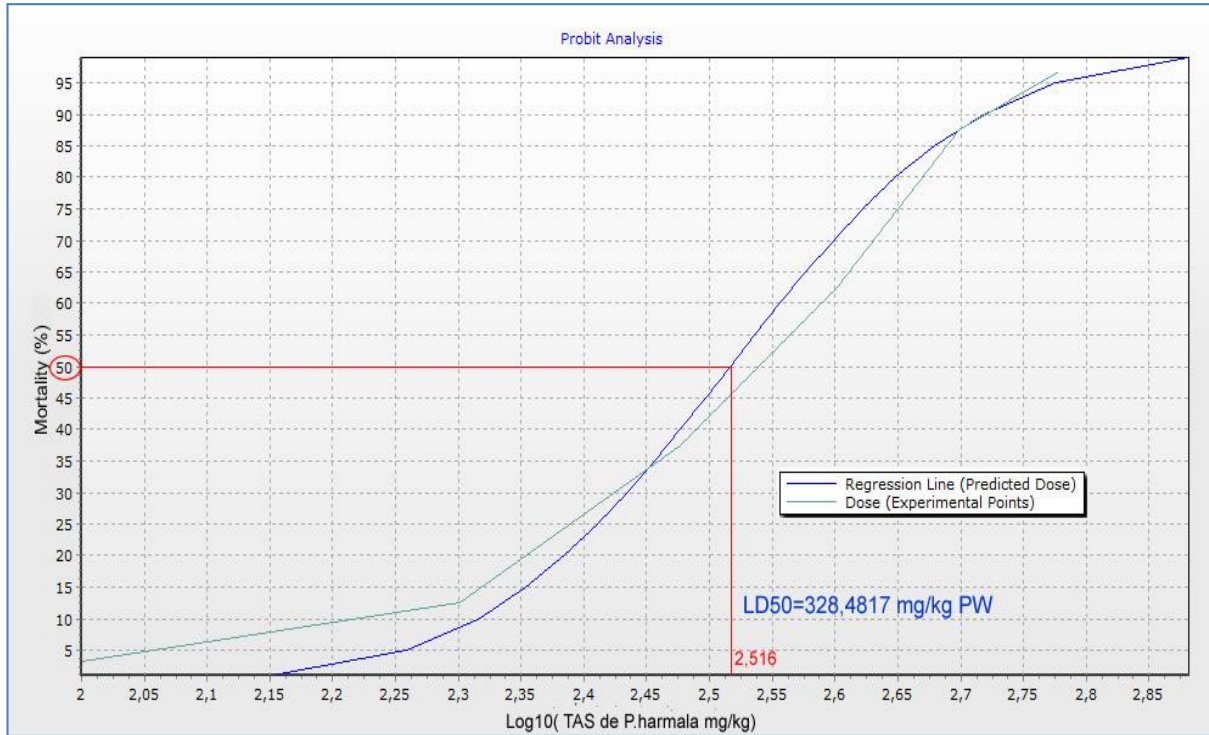
جدول 18: الإحصاء الإنحداري لحساب DL50 بطريقة المربعات الصغرى

LD (lethal concentration) 50	350	LD (lethal concentration) 50 Standard Error	33,4851
LD50 LCL (low concentration lethal)	281,7065	LD50 UCL (upper concentration lethal)	418,2934
Beta	0,0074	Intercept	2,3869
Beta Standard Error	0,0017		
LD (lethal concentration) 10	178,3243	LD (lethal concentration) 16	216,059272
LD (lethal concentration) 84	483,9407	LD (lethal concentration) 90	521,675683
LD (lethal concentration) 100	550,9110		



III--1-3-2 - طريقة Finney (التوزيع اللوغاريتمي العادي) (Finney (Log-normal distribution):

يتضح من الشكل 46 والجدول 19 أن قيمة $DL_{50}=328,48$ ملغ/كغ من وزن الحيوان.



شكل 46: التحليل الاحتمالي بطريقة فيني Finney (التوزيع الطبيعي)

التحليل الإحصائي للانحدار (Regression statistics) الجدول 19 بين أن التركيز الأدنى والأعلى لـ DL_{50} بطريقة Finney يساوي 258, 47 ملغ/كغ و 392, 59 ملغ/كغ من وزن جسم الحيوان على الترتيب.

جدول 19 : الإحصاء الانحداري لحساب DL_{50} بطريقة Finney (التوزيع الطبيعي)

LD50	328,4817	LD50 Standard Error	35,0924
LD50 LCL	258,4716	LD50 UCL	392,5942
Log10 [LD50]	2,5165	Standard Error	0,04630
Beta	6,3724	Intercept	-11,0363
Beta Standard Error	1,6518		



III-2- التسمم شبه المزمن عند الجرذان الذكورية (*Albinos wistar*)

III-2-1- المظهر العام والملاحظات السلوكية للجرذان الشاهدة والمعالجة أثناء فترة المعالجة

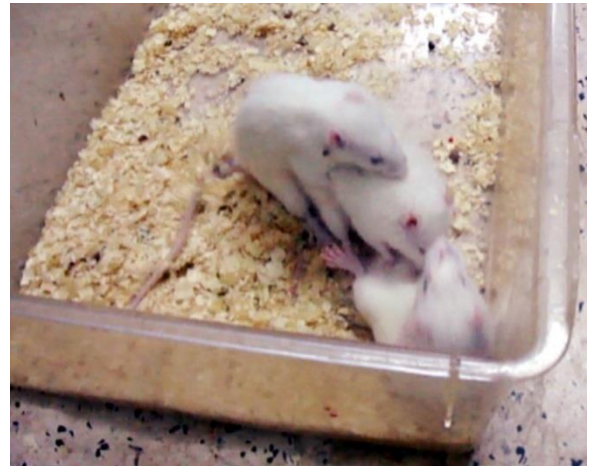
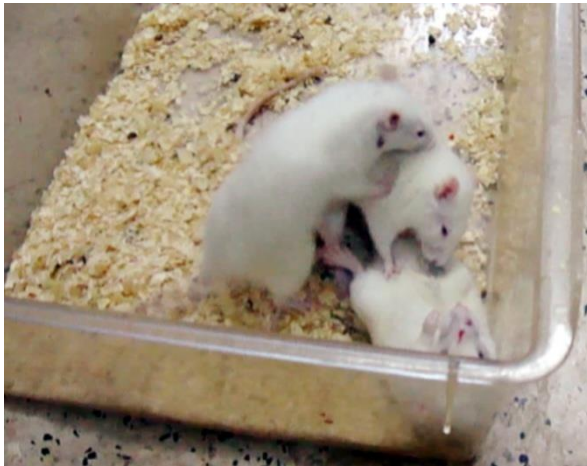
دراسة السمية شبه المزمنة للمستخلصات القلويدية بجرعات متزايدة (50، 100 و 200) ملغ/كغ لم تسفر عن أي حالة وفاة خلال فترة المعالجة، لكن لوحظ بعض الانحرافات في سلوك حيوانات المجموعة الثالثة (G_3) والرابعة (G_4) خلال الأسبوع الثالث والرابع تمثلت في:

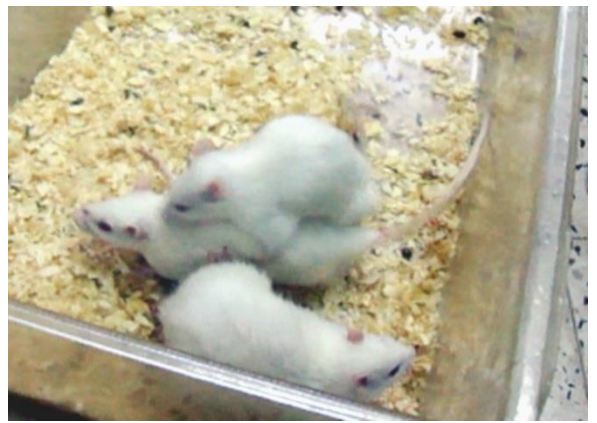
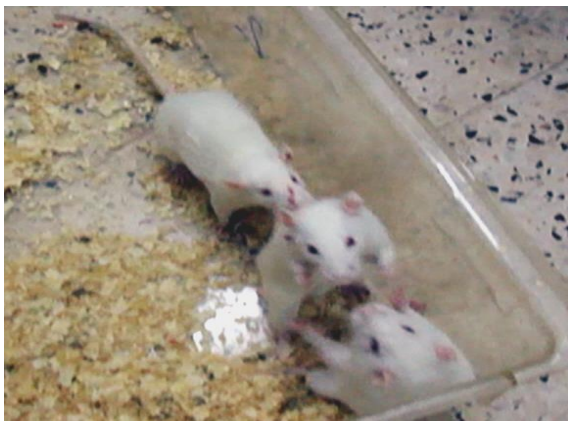
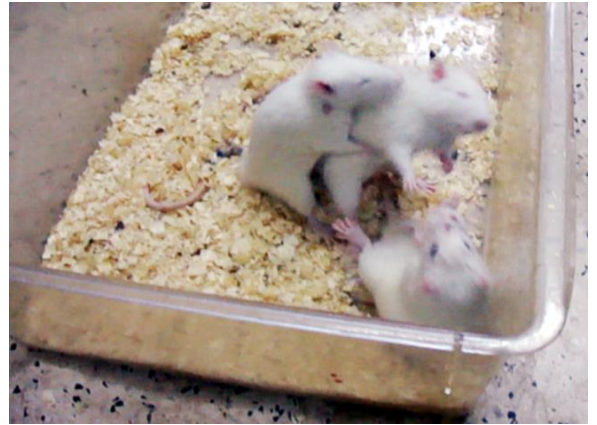
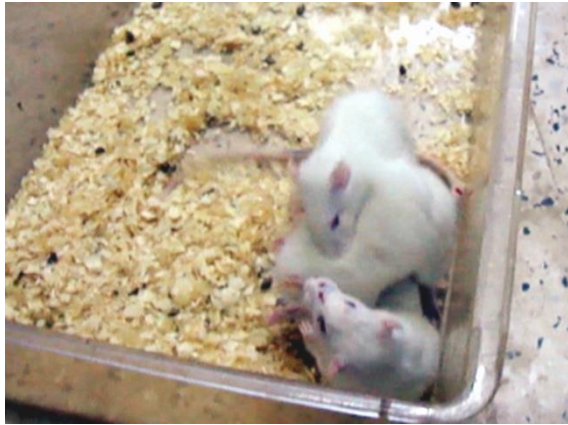
انخفاض النشاط الحركي (*activité locomotrice*)، فقدان الشهية (*anorexie*)، انخفاض في استهلاك الماء والغذاء، إسهال، نعاس (*Somnolence*) شديد أو حالة من سبات (*léthargie*) مباشرة بعد (3-5) دقائق من أخذ الجرعة تدوم من (20 إلى 25) دقيقة شكل (47).



شكل 47: صورة توضح جرذان في حالة نعاس

لوحظ بين أفراد جرذان المجموعة الرابعة انتصاب الشعر (*piloérection*) و حالات من العدوان شكل (48)







شكل 48: صور توضح جردان المجموعة الرابعة في حالة العدوان.

نتجت عنها خدوش جلدية على مستوى الأذن والبطن شكل (49)



شكل 49: صور توضح جروح على مستوى الأذن و البطن.

بعدها لوحظ علامات الحمول العام تجسد بقلّة الحركة والآنزواء في إحدى زوايا مكان التربية وهذا خلال الأيام الثلاث الأخيرة من إنهاء فترة المعالجة شكل (50).



شكل 50: صورتان توضحان حالتي الحمول والإنطواء.



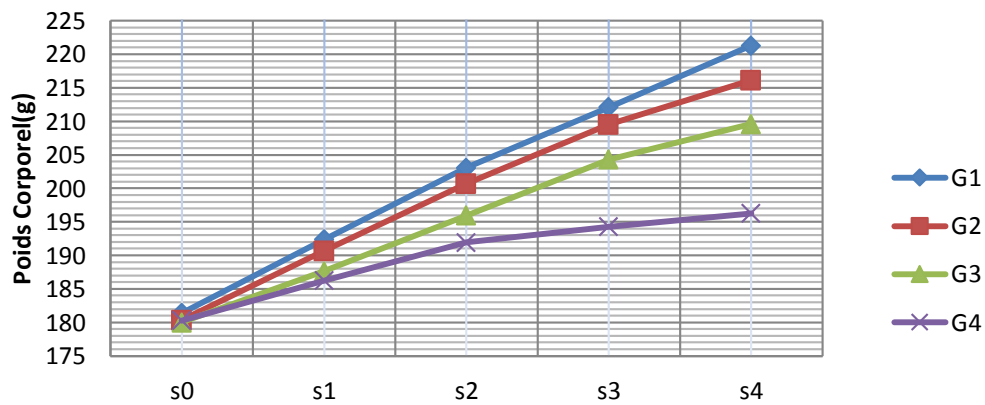
على عكس حيوانات مجموعة السيطرة أظهرت سلوكاً طبيعياً طيلة مدة التجربة من حيث درجة النشاط واستهلاك الماء والغذاء كما هو مبين في صورة الشكل 51.



شكل 51: صورة توضح جردان المجموعة الشاهدة في حالتها الطبيعية.

III-2-2- تحديد وزن الحيوانات الشاهدة والمعالجة بالقلويدات خلال فترة المعالجة

قدت زيادات طبيعية في وزن الحيوانات الشاهدة بنسبة 22% مقارنة بالوزنها الابتدائي (S_0) قبل المعالجة، في حين نسجل زيادات في وزن الحيوانات المعالجة تقدر بنسبة 19,86% ، 16,31% ، 9,14% خلال فترة المعالجة مع الجرعات (50، 100 و 200) ملغ/كغ على الترتيب، مقارنة بأوزانها الأولية (S_0) شكل (52).



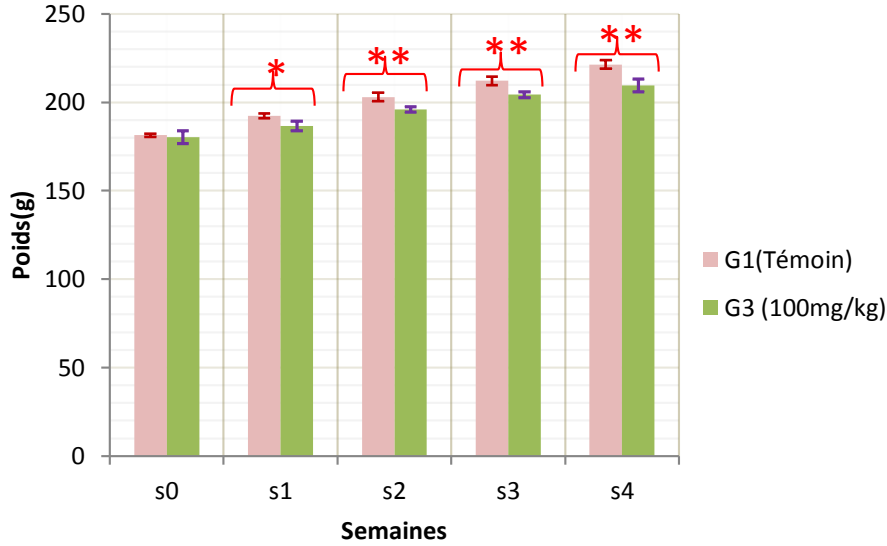
↑ Avant le traitement ↑ Après le traitement Semaines

شكل 52: تغيرات أوزان الحيوانات خلال فترة المعالجة.

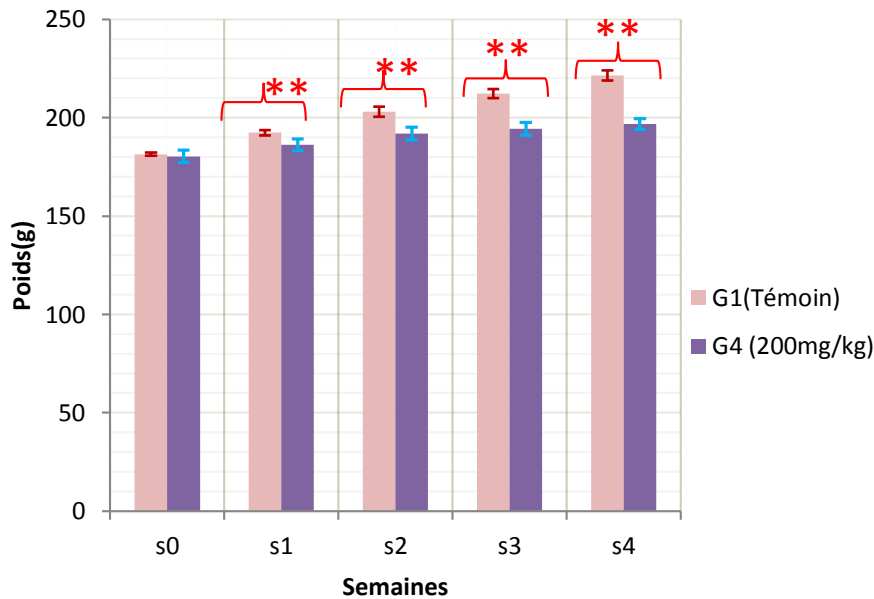


سجل مع التحليل الإحصائي لـ T.test بين مجموعتين وجود:

- إنخفاض معنوي في وزن حيوانات المجموعة الثالثة (G_3) خلال الأسبوع الأول من المعالجة بـ ($0.01 < p < 0.05$) أما في الأسبوع الثاني، الثالث والرابع سجل انخفاض معنوي كبير قدر بـ ($0.001 < P < 0.01$) مقارنة بالمجموعة الشاهدة (G_1) شكل (53).



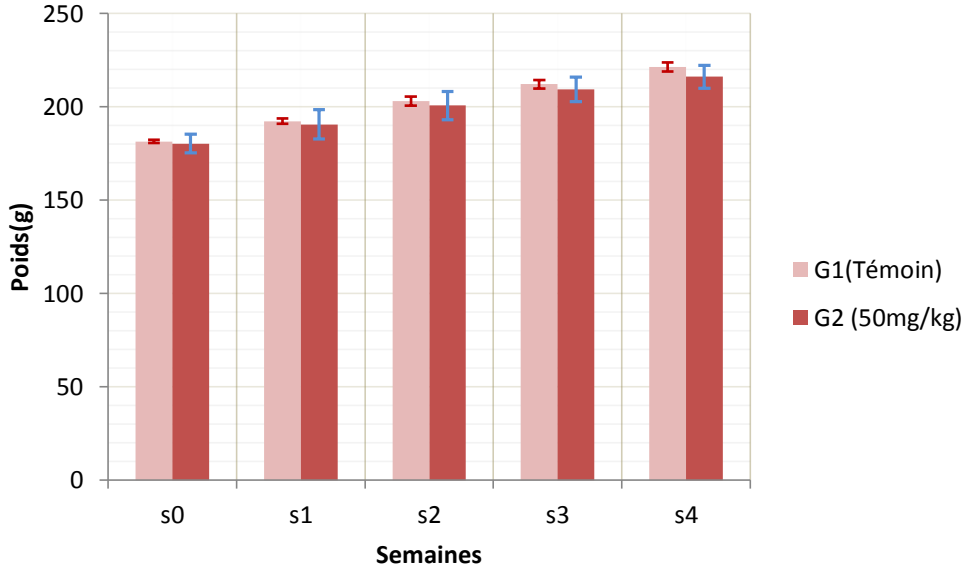
- شكل 53: تقدير متوسطات أوزان أفراد المجموعة الثالثة (G_3) و أفراد المجموعة الشاهدة (G_1) خلال أربعة أسابيع.
- سجلت فروق معنوية كبيرة في وزن حيوانات المجموعة الرابعة (G_4) خلال الأسابيع الأربعة بـ ($0.001 < P < 0.01$) مقارنة بالمجموعة الشاهدة (G_1) شكل (54).



- شكل 54: تقدير متوسطات أوزان أفراد المجموعة الرابعة (G_4) و أفراد المجموعة الشاهدة (G_1) خلال أربعة أسابيع.

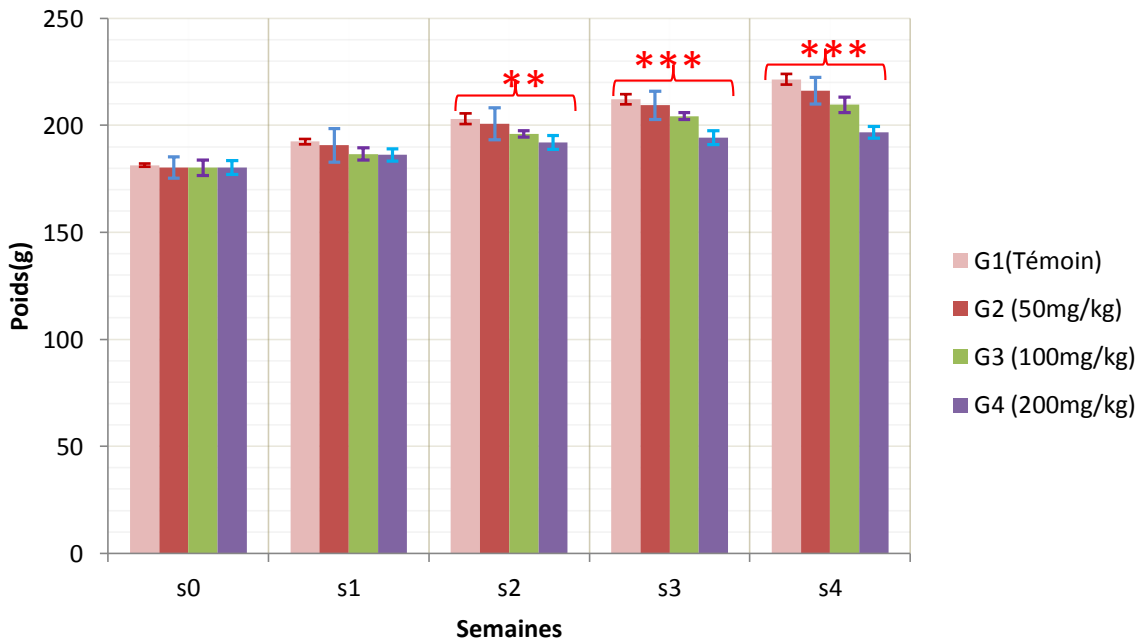


- أما المجموعة الثانية المعالجة بجرعة 50 ملغ/كغ من القلويدات لم تسفر عن أي تغير معنوي خلال أربعة أسابيع (P > 0.05) شكل (55).



شكل 55: تقدير متوسطات أوزان افراد المجموعة الثانية (G₂) و أفراد المجموعة الشاهدة (G₁) خلال أربعة أسابيع

تحليل التباين في إتجاه الواحد (ANOVA) بين أن هناك فروقات معنوية كبيرة في انخفاض وزن الحيوانات بين المجموعات الأربعة خلال الأسبوع الثاني بـ ($0.001 < P < 0.01$) أما مع الأسبوع الثالث والرابع سجلت فروقات معنوية كبيرة جدا بـ ($P < 0,001$) شكل (56).



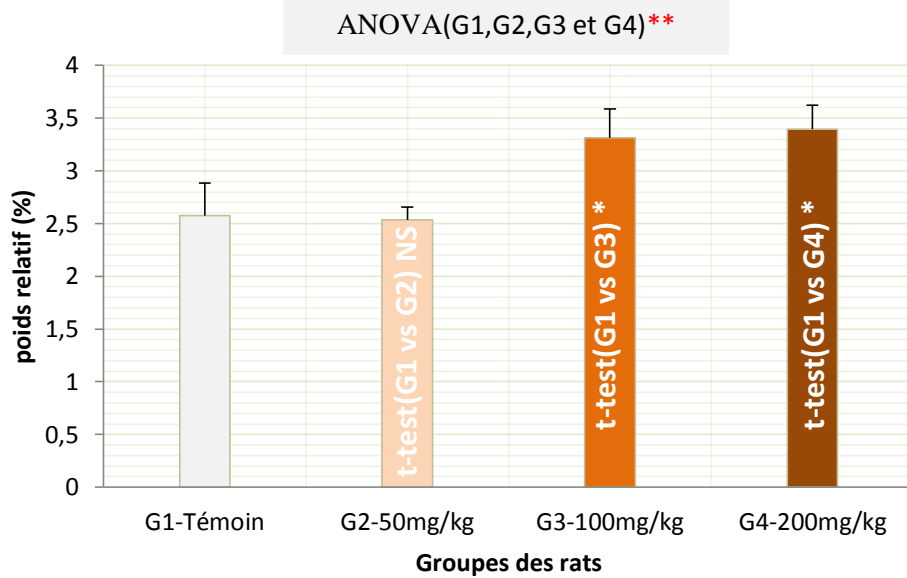
شكل 56: تحليل التباين (ANOVA) بين أوزان أفراد المجموعات المعالجة والمجموعة الشاهدة.



III-2-3--3- نتائج الوزن النسبي للأعضاء الحيوانات الشاهدة والمعالجة بالقلويدات خلال فترة المعالجة

III-2-3-1- الكبد Foie

يوضح الشكل 57 نتائج التحليل الإحصائي للوزن النسبي للكبد، حيث بين اختبار T.test زيادة معنوية بـ (0.05 < p < 0.01) في الكتلة النسبية لكبد المجموعتين الثالثة (100ملغ/كغ) و الرابعة (200 ملغ/كغ) مقارنة بالمجموعة الشاهدة، أما المجموعة الثانية (50 ملغ/كغ) لم تسفر عن أي تغير إحصائي (P>0.05) مقارنة بالمجموعة الشاهدة. في حين بين تحليل التباين في اتجاه واحد (ANOVA) عن وجود فرق معنوي كبير في زيادة الكتلة النسبية للكبد بين أفراد المجموعات المعالجة والمجموعة الشاهدة بـ (0.01 < P < 0.001).



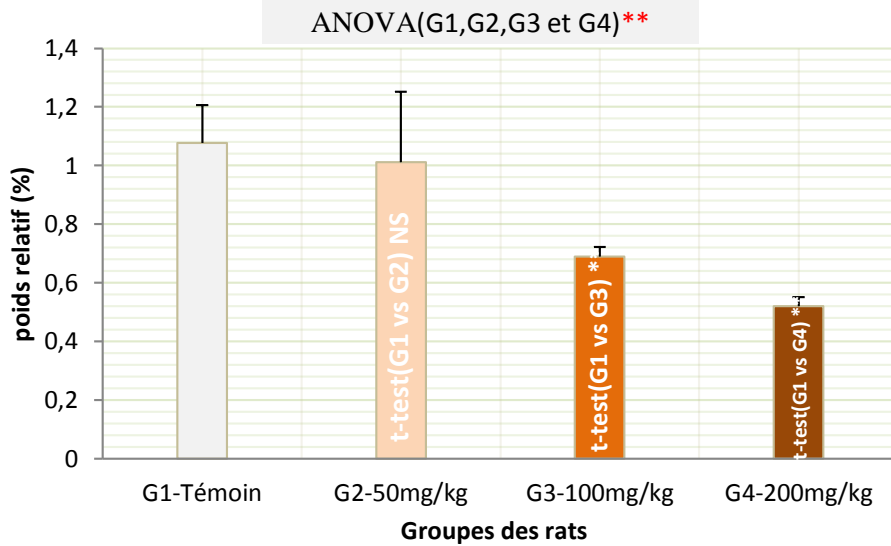
شكل 57: تقدير متوسطات (X±SD) الوزن النسبي لكبد الجرذان بعد 4 أسابيع من المعالجة.

III-2-3-2- الخصيتين Testicules

يبين الشكل 58 نتائج التحليل الإحصائي للوزن النسبي للخصيتين حيث يتضح من خلال دراسة T.test أنه يوجد:

- ❖ انخفاض معنوي كبير (0.01 < P < 0.001) في الكتلة النسبية للخصيتين عند المجموعتين الثالثة والرابعة مقارنة بالمجموعة الشاهدة.
- ❖ نسجل كذلك انخفاضا طفيفا في الوزن النسبي للخصيتين للمجموعة الثانية (50 ملغ/كغ) لكنه غير معنوي (P>0, 05).

بين تحليل التباين (ANOVA) عن وجود فرق معنوي كبير في انخفاض الكتلة النسبية للخصيتين بين أفراد المجموعات المعالجة والمجموعة الشاهدة (0.01 < P < 0.001).

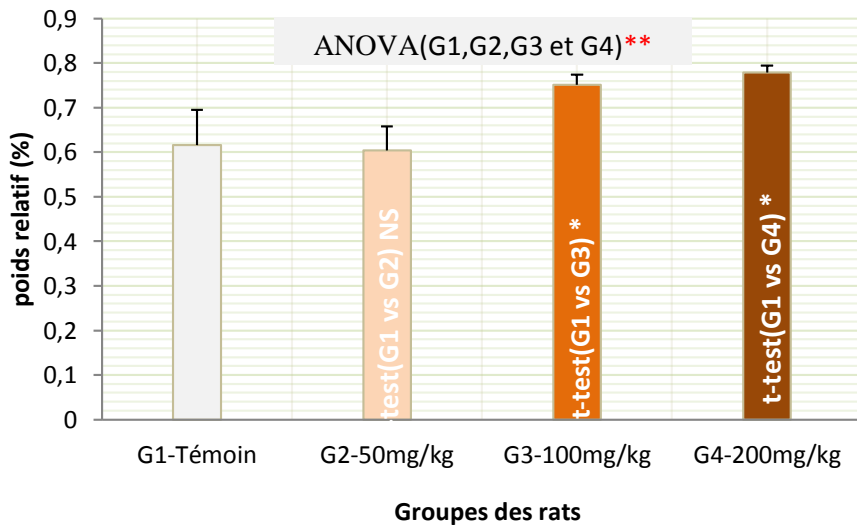


شكل 58: تقدير متوسطات (X±SD) الوزن النسبي لحصيتي الجرذان بعد 4 أسابيع من المعالجة.

Reins الكلى 3-3-2-III

نتائج التحليل الإحصائي لاختبار T.test للوزن النسبي للكلى مدونة في الشكل 59، حيث تبين من الشكل وجود:

- ❖ زيادة في الكتلة النسبية للكلى عند المجموعتين الثالثة (100ملغ/كغ) والرابعة (200ملغ/كغ) مقارنة بالمجموعة الشاهدة نتج عنها فروق معنوية ($0.01 < P < 0.05$).
 - ❖ المجموعة الثانية لم تسفر عن أي تغير معنوي ($P > 0,05$).
- تحليل التباين بين وجود فرق معنوي كبير ($0.001 < P < 0.01$) في زيادة الكتلة النسبية للكلى المجموعات المعالجة مقارنة مع المجموعة الشاهدة.

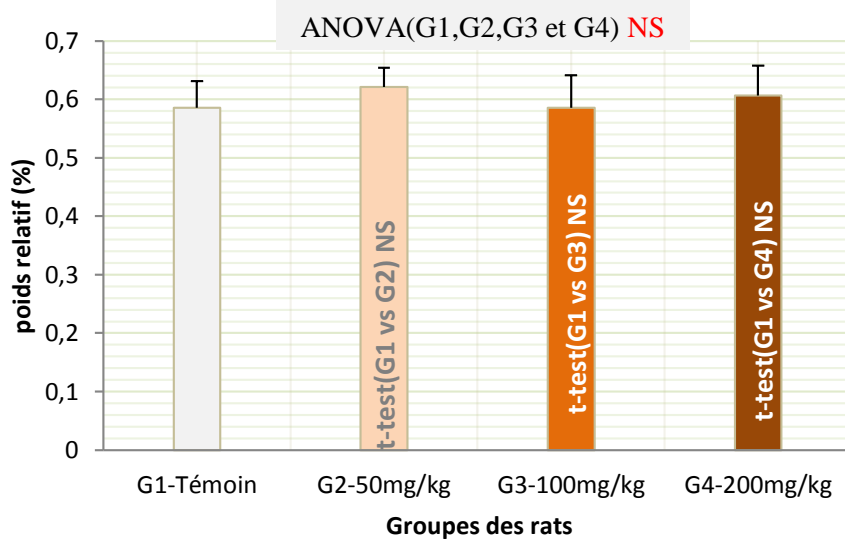


شكل 59: تقدير متوسط (X±SD) الوزن النسبي لكلى الجرذان بعد أربعة أسابيع من المعالجة.



Cerveaux 4-3-2-III

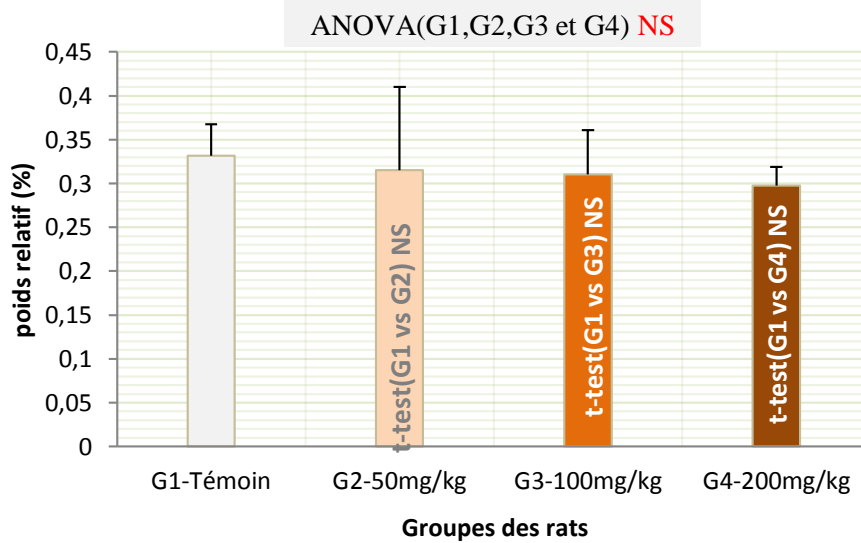
بينت نتائج شكل 60 زيادة طفيفة في الوزن النسبي للمخ للمجموعتين الثانية والرابعة مقارنة بالمجموعة الأولى الشاهدة، وبرغم من هذا فإن كلا التحليلين الإحصائيين (ANOVA و T.test) لم يسفران عن أية فروق معنوية ($P>0,05$).



شكل 60: تقدير متوسطات (X±SD) الوزن النسبي لمخ الجرذان بعد أربعة أسابيع من المعالجة.

Rate الطحال 5-3-2-III

نسجل انخفاض في الوزن النسبي للطحال في جميع المجموعات المعالجة بالجرعات المتزايدة من القلويدات (200،100،50) ملغ/كغ من وزن الحيوان، لكن التحليل الإحصائي لكل من ANOVA و T.test لم يسفران عن أي تغير معنوي شكل (61).

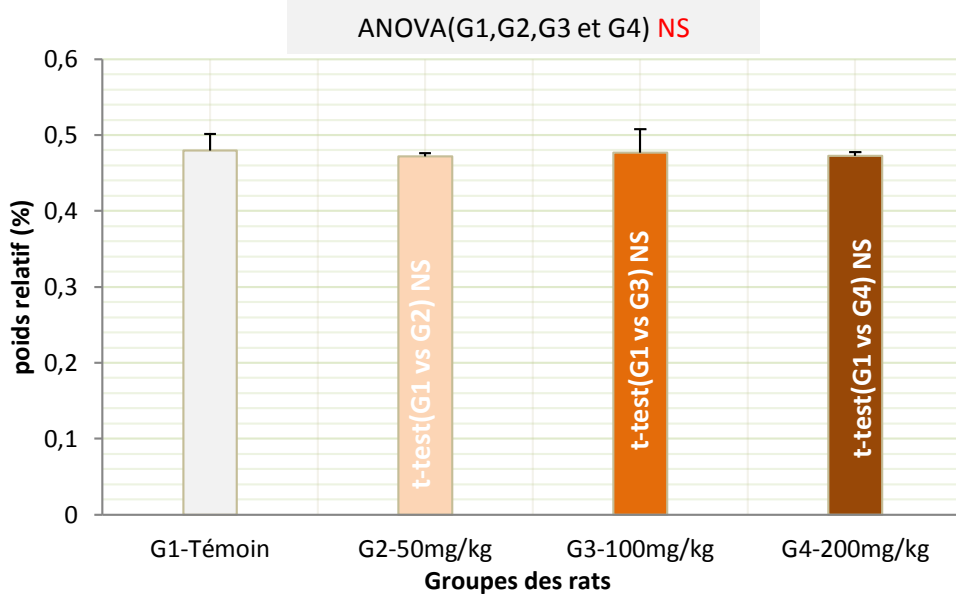


شكل 61: تقدير متوسطات (X±SD) الوزن النسبي لطحال الجرذان بعد أربعة أسابيع من المعالجة.



III-2-3-6- الرئتين poumons

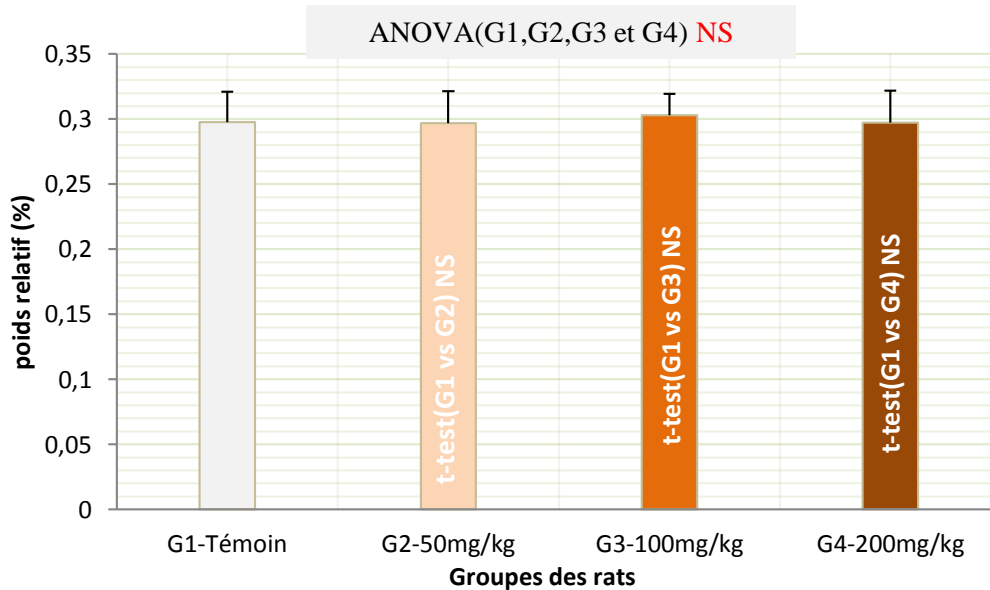
التحليل الإحصائي لـ T.test و ANOVA لم يسفرا عن أي تغير معنوي في وزن الرئتين الشكل (62).



شكل 62: تقدير متوسطات ($X \pm SD$) الوزن النسبي لرئتين الجرذان بعد أربعة أسابيع من المعالجة.

III-2-3-7- القلب Cœur

يبين الشكل 63 أنه لا توجد زيادة أو انخفاض في الوزن النسبي للقلب مع المجموعتين الثالثة والرابعة، لكن سجل انخفاض طفيف جدا مع المجموعة الثانية وهذا مقارنة مع المجموعة الشاهدة، رغم هذا لا توجد فروق معنوية مع كلا التحليلين الإحصائيين T.test و ANOVA.



شكل 63: تقدير متوسطات ($X \pm SD$) الوزن النسبي لقلب الجرذان بعد أربعة أسابيع من المعالجة.

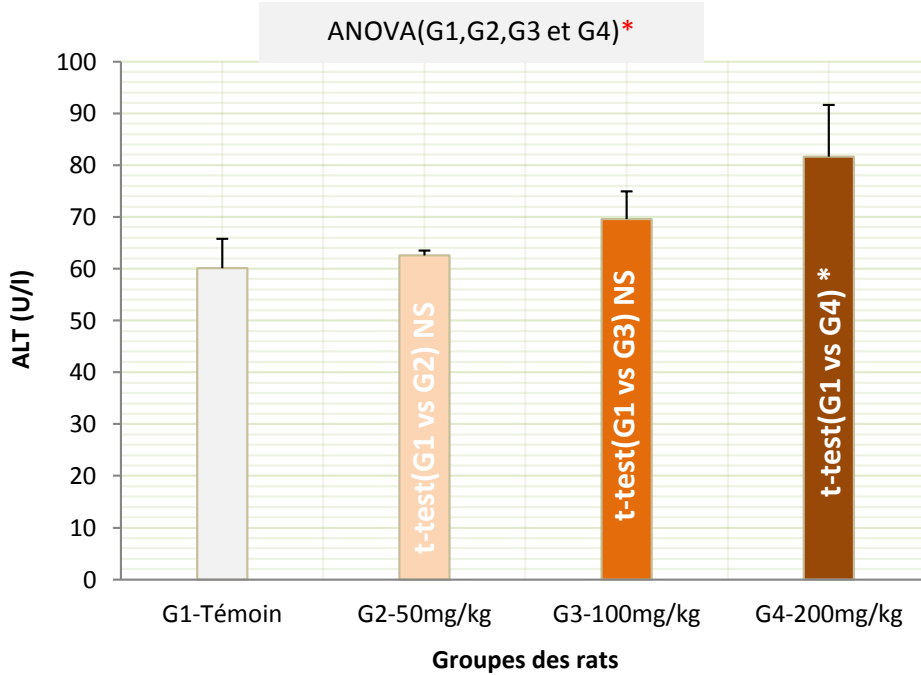


III-4-2- المعايير المصلية البيوكيميائية للحيوانات الشاهدة والمعالجة بالقلويدات طول فترة المعالجة

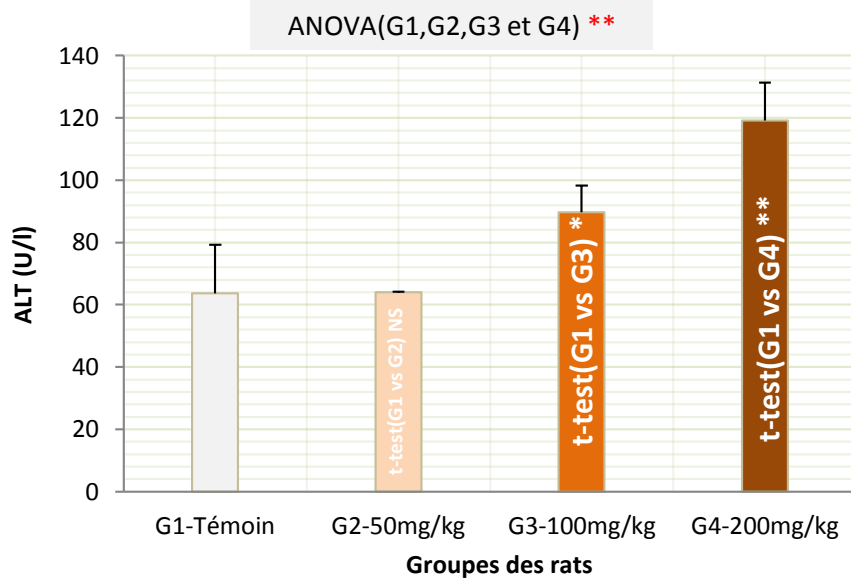
III-4-2-1- تقدير إنزيم ALT خلال الأسابيع الأربعة من المعالجة

يلاحظ من الشكلين 64 و 65 وجود:

- ❖ فروق معنوية في قيم إنزيم ALT بـ ($0.01 < p < 0.05$) و ($0.001 < P < 0.01$) للمجموعة الرابعة مقارنة بالمجموعة الشاهدة في كلا الأسبوعين الأول والثاني على الترتيب.
- ❖ فرق معنوي في زيادة قيم إنزيم ALT بـ ($0.01 < p < 0.05$) للمجموعة الثالثة مقارنة بالمجموعة الضابطة خلال الأسبوع الثاني.
- ❖ المجموعة الثانية لم يظهر معها أي تغير معنوي مقارنة بالمجموعة الشاهدة خلال الأسبوع الأول و الثاني.
- ❖ أسفر تحليل التباين لـ ANOVA خلال الأسبوع الأول والثاني للمجموعات الأربعة ($G_4 \times G_3 \times G_2 \times G_1$) فرق معنوي قدر بـ ($0.01 < P < 0.05$) و ($0.001 < P < 0.01$) في قيم إنزيم ALT على الترتيب.

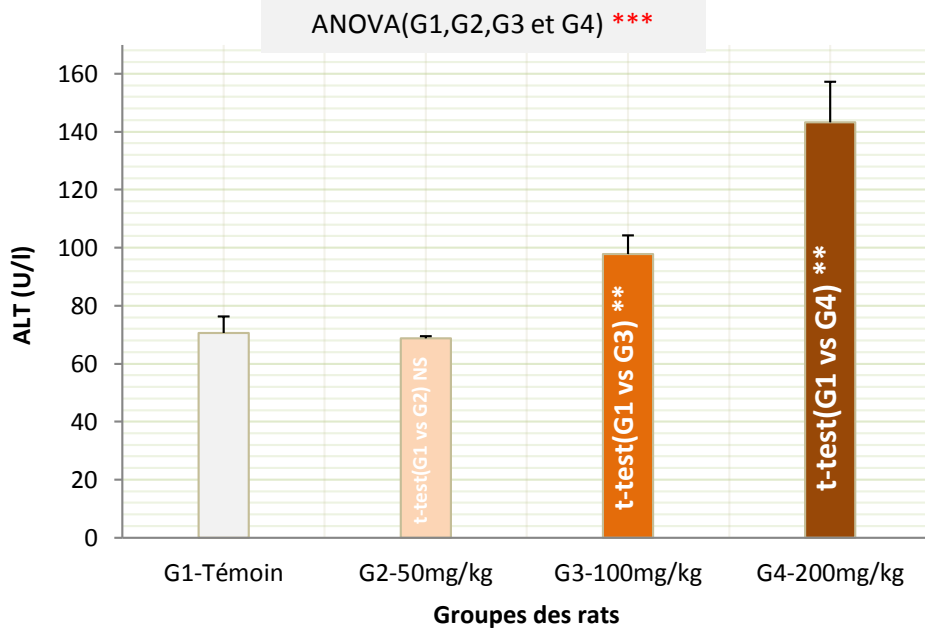


شكل 64: تقدير متوسطات ($X \pm SD$) قيم ALT لحيوانات المجموعة الشاهدة والمجموعات المعالجة خلال الأسبوع الأول



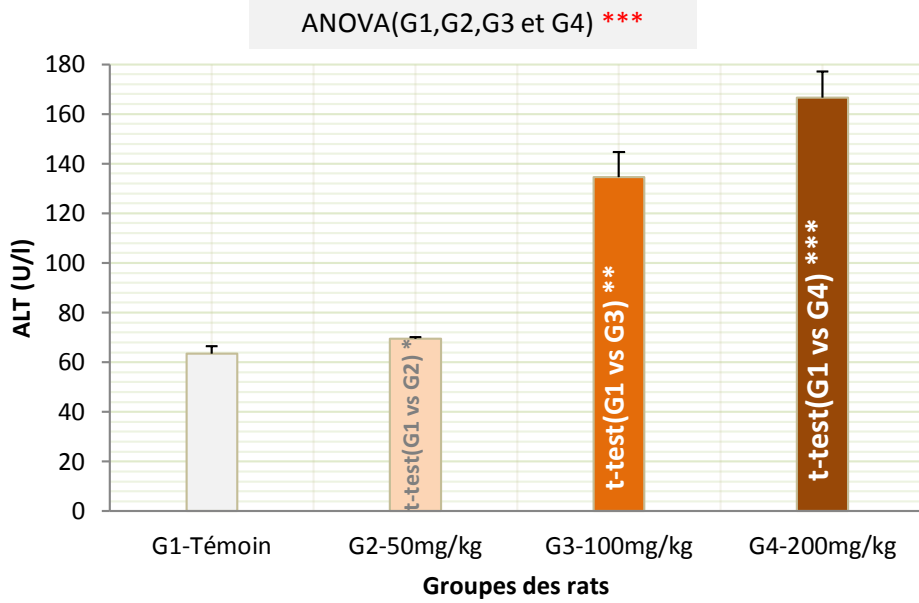
شكل 65: تقدير متوسطات قيم ALT لحيوانات المجموعة الشاهدة والمجموعات المعالجة خلال الأسبوع الثاني.

بين اختبار T.test لمتوسطات قيم ALT للأسبوع الثالث من المعالجة وجود فروق معنوية كبيرة في زيادة قيم هذا الإنزيم بـ ($0.001 < p < 0.01$) مع المجموعة الثالثة والرابعة شكل (66).



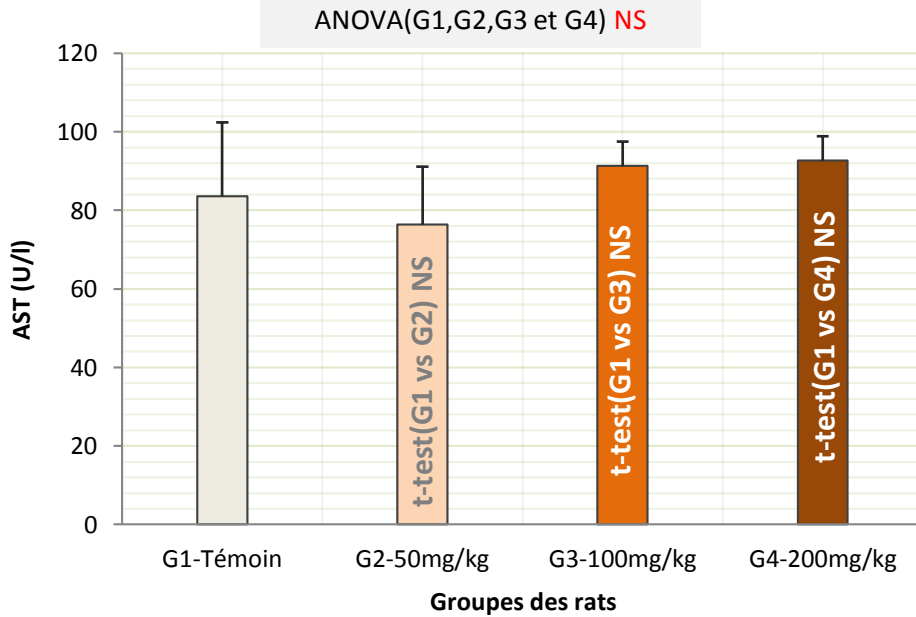
شكل 66: تقدير متوسطات قيم ALT لحيوانات المجموعة الشاهدة والمعالجة خلال الأسبوع الثالث

أما في الأسبوع الرابع لوحظت زيادة كبيرة جدا في قيمة ALT للمجموعة الرابعة أسفرت إلى فرق معنوي كبير جدا يقدر بـ ($P < 0.001$)، في الحين سجل مع المجموعة الثانية والثالثة زيادة معنوية ملموسة تقدر بـ ($0.01 < p < 0.05$) و زيادة معنوية كبيرة تقدر بـ ($0.001 < P < 0.01$) على الترتيب، وهذا مقارنة مع المجموعة الضابطة شكل (67).

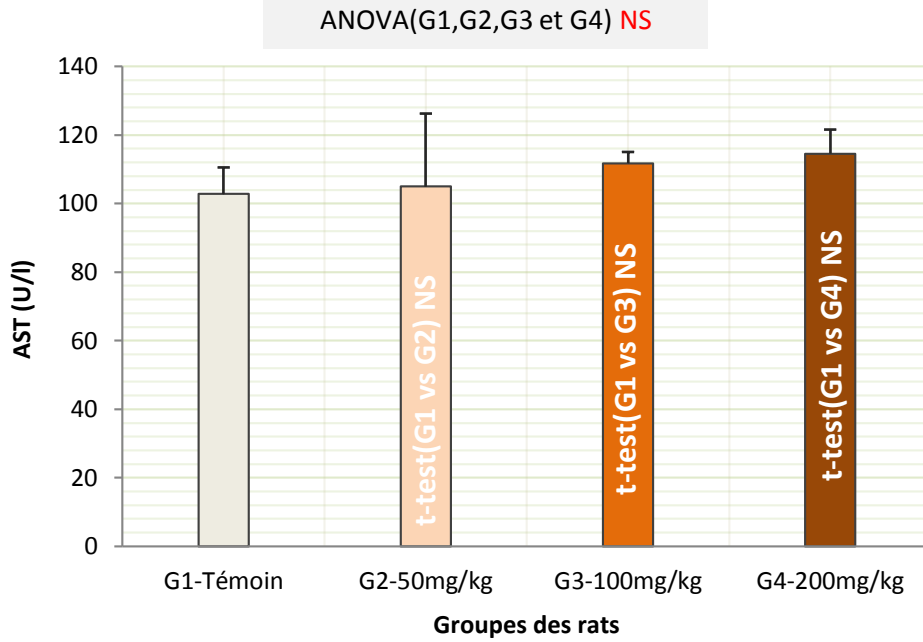


شكل 67: تقدير متوسطات (X±SD) قيم ALT لحيوانات المجموعة الشاهدة والمجموعات المعالجة خلال الأسبوع الرابع بين تحليل التباين ل ANOVA وجود فروق جد معنوية في قيم ALT بـ (P < 0.001) بين المجموع الأربعة (G₄×G₃×G₂×G₁) خلال الأسبوع الثالث والرابع.

III-2-4-2- تقدير قيم إنزيم AST خلال الأسابيع الأربعة من المعالجة يلاحظ من الشكلين 68 و 69 عدم وجود فروقات معنوية في قيم إنزيم AST للمجموعات الأربعة سواء مع تحليل T.test أو مع تحليل ANOVA في كلا الأسبوعين الأول والثاني.

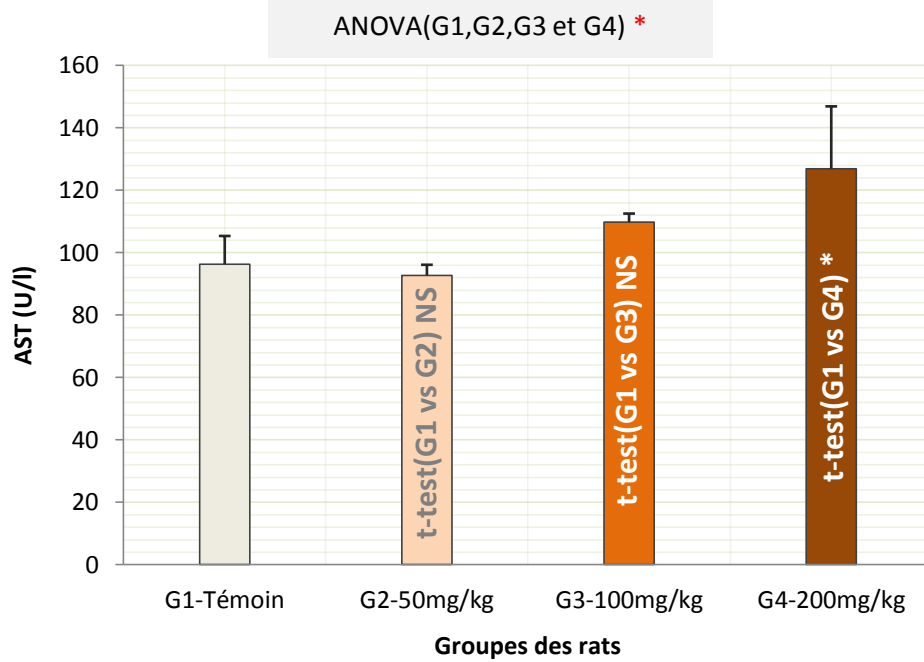


شكل 68: تقدير متوسطات (X±SD) قيم إنزيم AST لحيوانات المجموعة الشاهدة و المجموعات المعالجة خلال الأسبوع الأول.

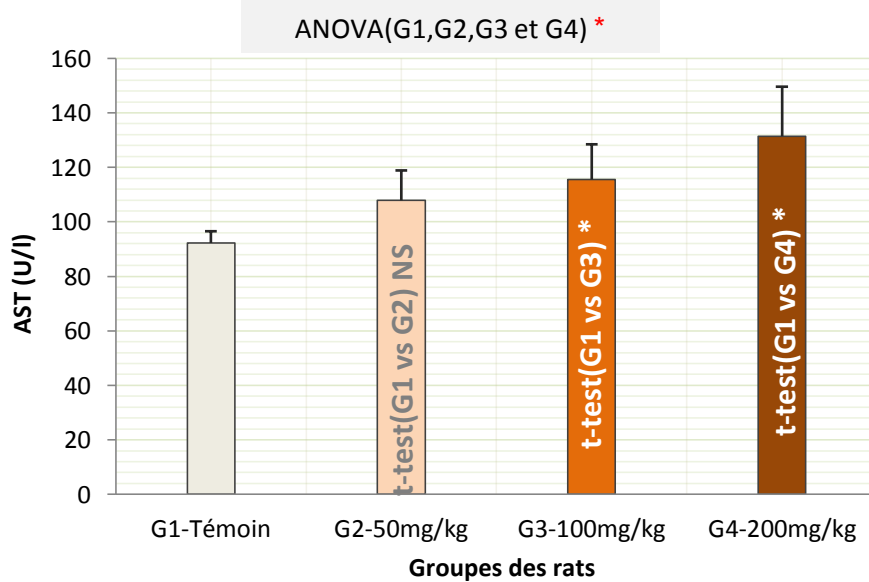


شكل 69: تقدير متوسطات ($X \pm SD$) قيم إنزيم AST لحيوانات المجموعة الشاهدة و المجموعات المعالجة خلال الأسبوع الثاني.

- ❖ يلاحظ من الشكل 70 زيادة في قيم إنزيم AST للمجموعة الرابعة مقارنة بالمجموعة الشاهدة نتج عنها تغير معنوي ($0.01 < p < 0.05$) في الأسبوع الثالث، في حين المجموعتين الثانية و الثالثة لا تعاني أي تغير معنوي ملموس ($P > 0, 05$).
- ❖ نسجل من الشكل 71 زيادة ذات دلالة إحصائية ($0.01 < p < 0.05$) في قيم إنزيم AST للمجموعة الثالثة والرابعة، أما المجموعة الثانية لا تعاني أي تغير معنوي ($P > 0, 05$) مقارنة بالمجموعة الشاهدة وهذا خلال الأسبوع الرابع.
- ❖ تحليل ANOVA للشكلين 70 و 71 أسفر عن فروق معنوية في قيم إنزيم AST بين المجموع الأربعة خلال الأسبوع الثالث والرابع ب ($0.01 < p < 0.05$).



شكل 70 : تقدير متوسطات (X±SD) قيم إنزيم AST لحيوانات المجموعة الشاهدة و المجموعات المعالجة خلال الأسبوع الثالث.



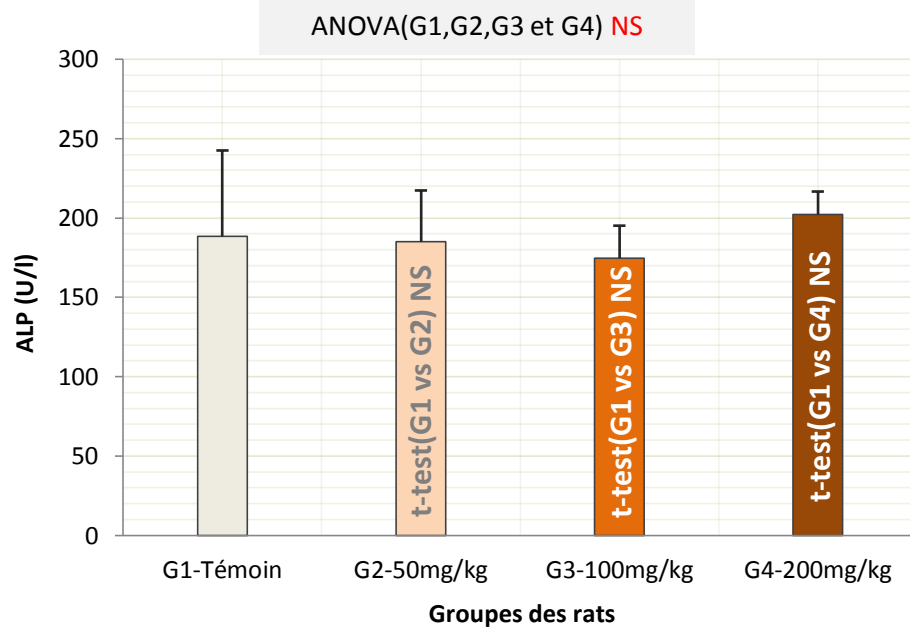
شكل 71: تقدير متوسطات (X±SD) قيم إنزيم AST لحيوانات المجموعة الشاهدة و المجموعات المعالجة خلال الأسبوع الرابع.

III-2-4-3- تقدير متوسطات قيم إنزيم ALP خلال الأسابيع الربعة من المعالجة

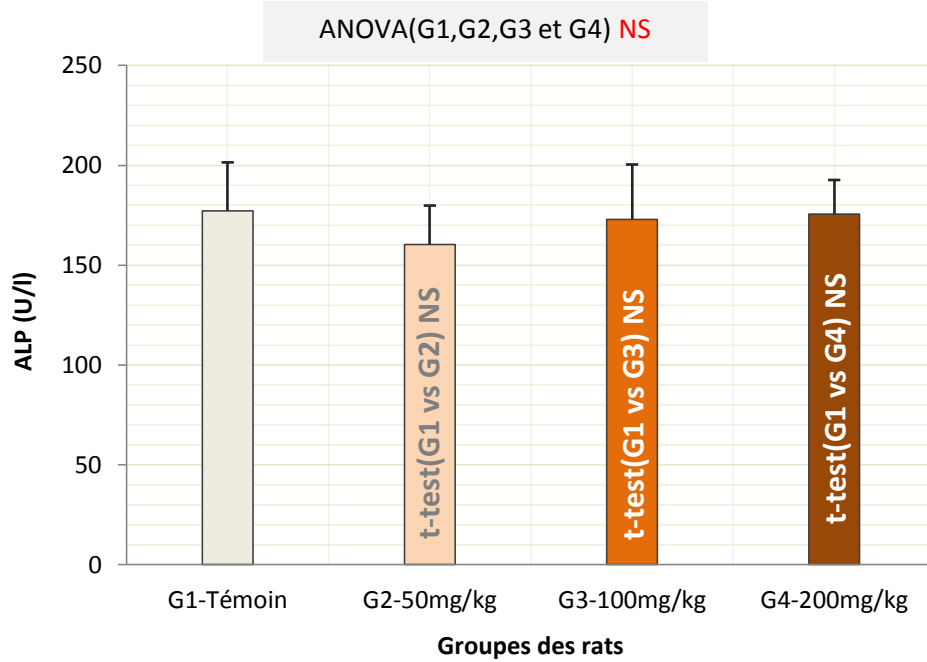
يلاحظ من تحليل الإحصائي لـ T.test للأشكال 72، 74.73 و 75 ما يلي:
❖ المجموعة المعالجة الثانية (G2) لم يسجل معها أي تغير معنوي في قيم إنزيم ALP مقارنة بالمجموعة الشاهدة .



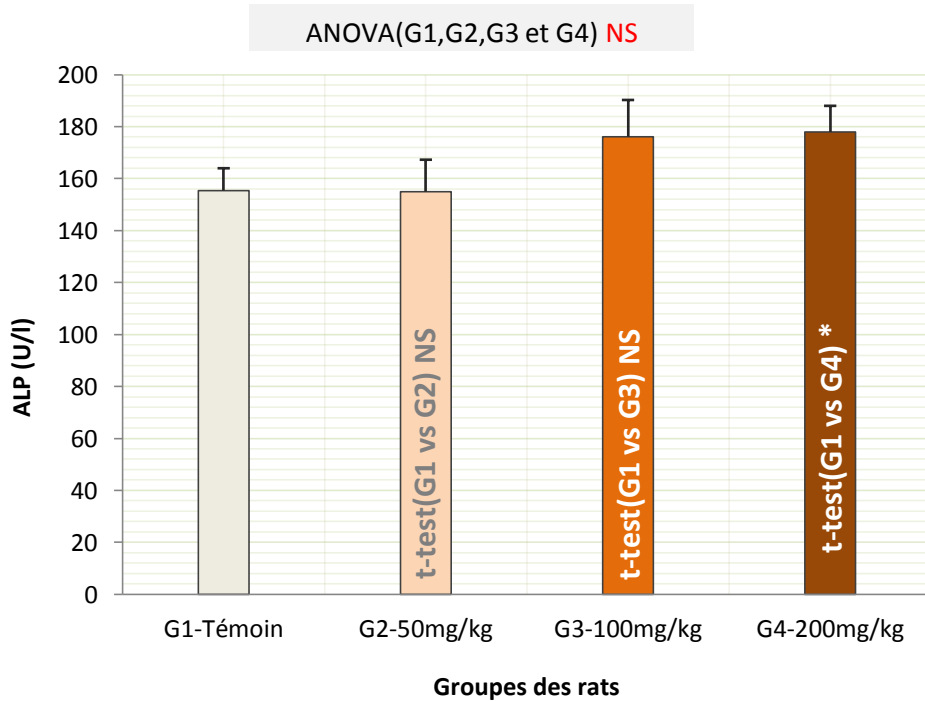
- ❖ المجموعة المعالجة الثالثة (G3) سجلت معها زيادة في متوسط قيم إنزيم ALP أسفرت عن فرق معنوي وحيد ($0.01 < P < 0.05$) في الأسبوع الرابع.
- ❖ المجموعة المعالجة الرابعة (G4) سجلت معها زيادة في متوسطات قيم إنزيم ALP نتجت عنها فروق معنوية في الأسبوع الثالث والرابع من المعالجة قدرت بـ ($0.01 < P < 0.05$)
- ❖ تحليل ANOVA لم يسفر عن أي تغير معنوي ذو دلالة إحصائية بين المجموعات الأربعة مدة 04 أسابيع من العلاج ($P > 0, 05$)



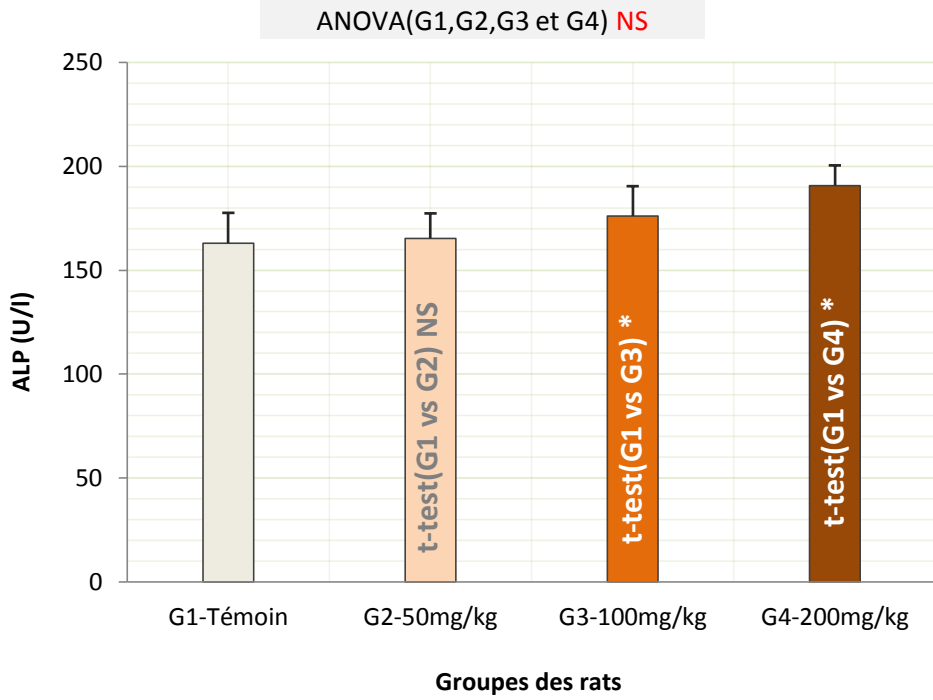
شكل 72: تقدير متوسطات ($X \pm SD$) قيم إنزيم ALP لحيوانات المجموعة الشاهدة و المجموعات المعالجة خلال الأسبوع الأول.



شكل 73: تقدير متوسطات (X±SD) قيم إنزيم ALP لحيوانات المجموعة الشاهدة و المجموعات المعالجة خلال الأسبوع الثاني



شكل 74: تقدير متوسطات (X±SD) قيم إنزيم ALP لحيوانات المجموعة الشاهدة و المجموعات المعالجة خلال الأسبوع الثالث.

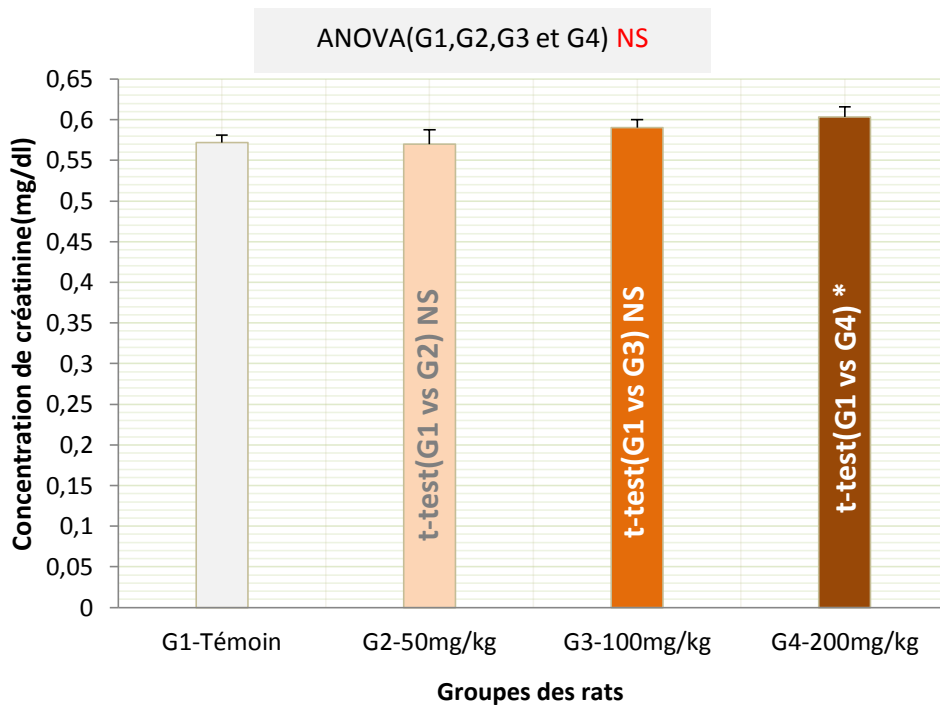


شكل 75: تقدير متوسطات ($X \pm SD$) قيم إنزيم ALP لحيوانات المجموعة الشاهدة و المجموعات المعالجة خلال الأسبوع الرابع.

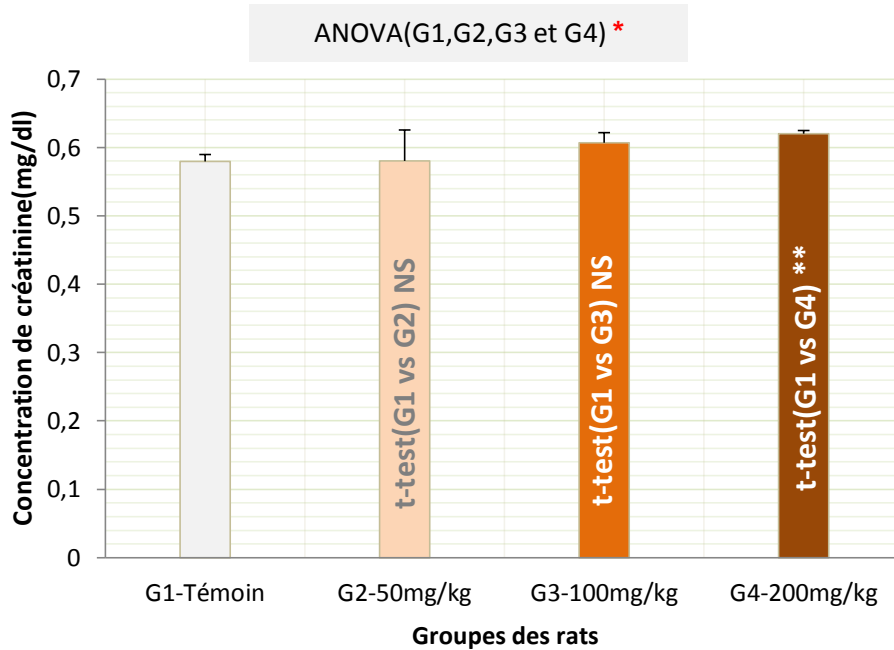
III-4-4-2- تقدير مستويات الكرياتينين للحيوانات الشاهدة والمعالجة بالقلويدات خلال فترة المعالجة

يلاحظ من تحليل الإحصائي لـ T. test للأشكال 76، 77، 78 و 79 ما يلي:

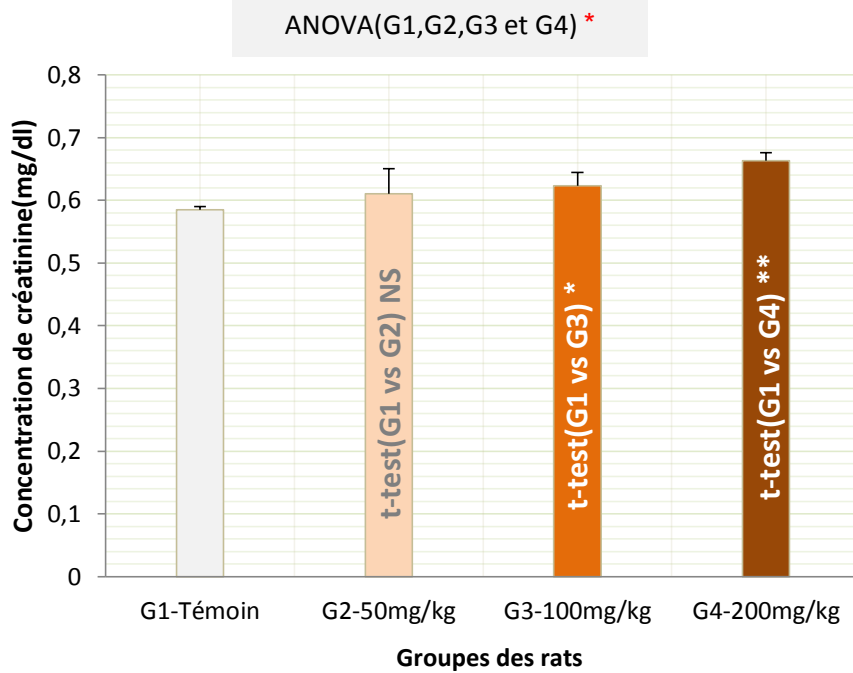
- ❖ المجموعة الثانية لم يسجل معها أي تغير معنوي في قياس مستوى الكرياتينين مقارنة بالمجموعة الشاهدة .
- ❖ المجموعة الثالثة سجلت معها زيادة في تركيز مستويات الكرياتينين نتج عنها فرق معنوي قدر بـ ($0.01 < P < 0.05$) خلال الأسبوع الثالث، أما في الأسبوع الرابع نتج عنها فرق معنوي كبير قدر بـ ($0.001 < P < 0.01$)، مقارنة بالمجموعة الشاهدة.
- ❖ المجموعة الرابعة سجلت معها فروقات معنوية كبيرة في تركيز مستويات الكرياتينين في جميع أسابيع العلاج قدرت بـ ($0.01 < P < 0.05$) خلال الأسبوع الأول و ($0.001 < P < 0.01$) خلال الأسبوع الثاني، الثالث والرابع مقارنة بالمجموعة الشاهدة.
- ❖ بين تحليل ANOVA عن وجود تغير معنوي ذو دلالة إحصائية ($0.01 < P < 0.05$) في مستويات الكرياتينين بين المجموعات المعالجة والمجموعة الشاهدة خلال الأسبوع الثاني، الثالث والرابع مقارنة بالمجموعة الشاهدة.



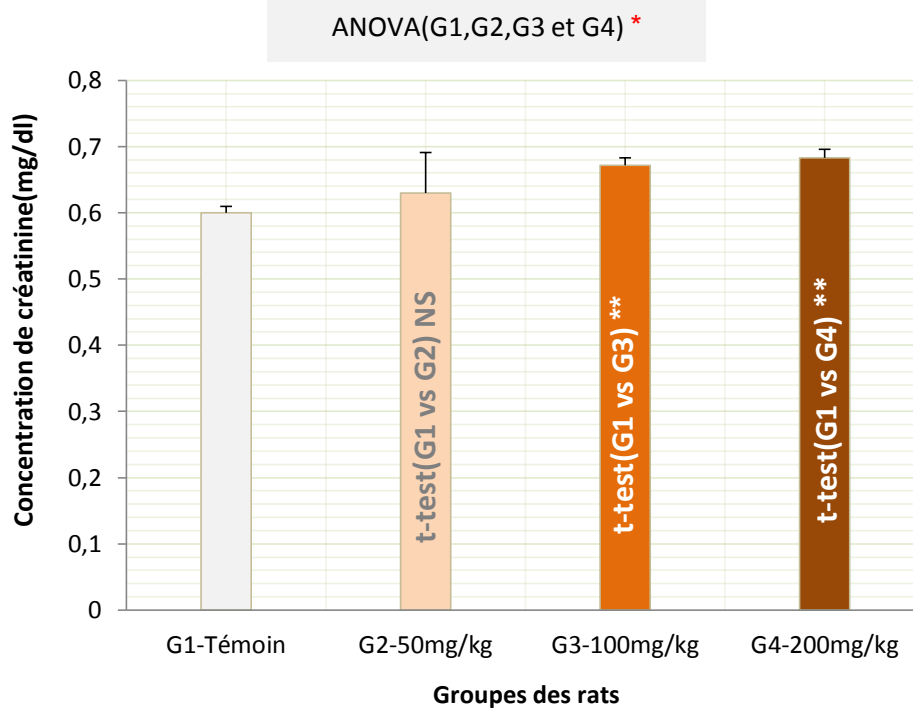
شكل 76 : تقدير متوسطات (X±SD) قيم الكرياتينين لحيوانات المجموعة الشاهدة و المجموعات المعالجة خلال الأسبوع الأول.



شكل 77 : تقدير متوسطات (X±SD) قيم الكرياتينين لحيوانات المجموعة الشاهدة و المجموعات المعالجة خلال الأسبوع الثاني.



شكل 78: تقدير متوسطات ($X \pm SD$) قيم الكرياتينين لحيوانات المجموعة الشاهدة و المجموعات المعالجة خلال الأسبوع الثالث.



شكل 79: تقدير متوسطات ($X \pm SD$) قيم الكرياتينين لحيوانات المجموعة الشاهدة و المجموعات المعالجة خلال الأسبوع الرابع.

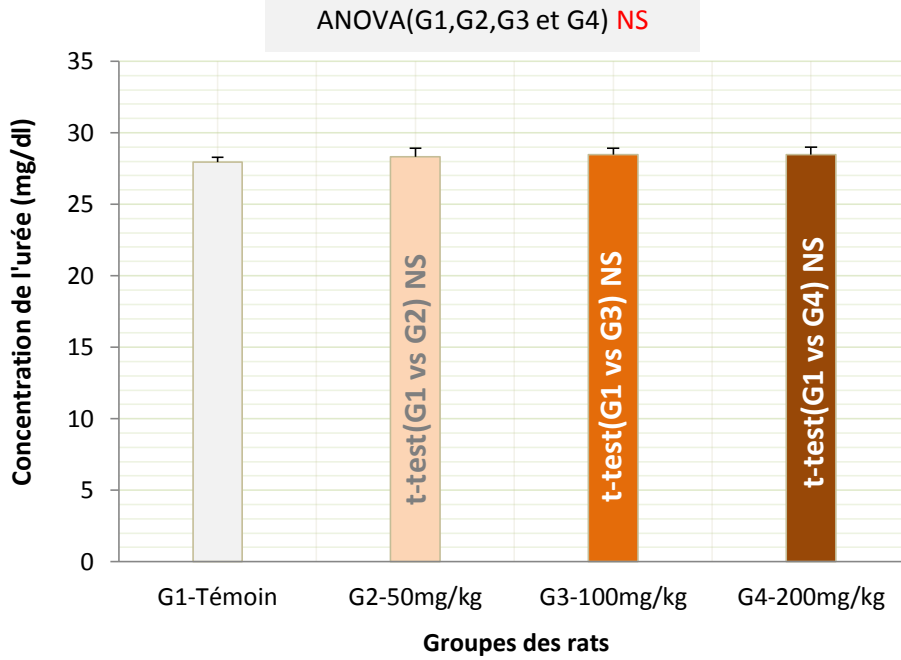


III-2-4-5- تقدير مستويات اليوريا للحيوانات الشاهدة والمعالجة بالقلويدات خلال فترة المعالجة

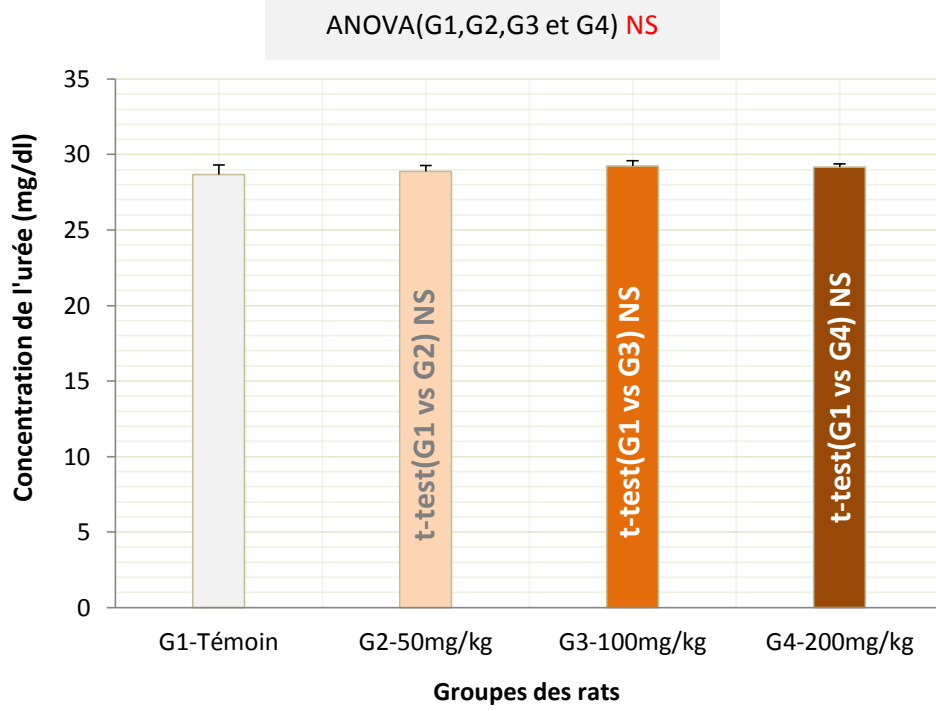
يلاحظ من تحليل الإحصائي لـ T.test الخاص بتقدير مستويات اليوريا للمجموعات المعالجة بالتركيزات المتزايدة من القلويدات مقارنة بالمجموعة الشاهدة ما يلي:

- ❖ المجموعة الثانية لم يسجل معها أي تغير معنوي في قياس مستويات اليوريا شكل (80)، (81)، (82) و (83).
- ❖ المجموعة الثالثة سجلت معها زيادة في تركيز مستويات اليوريا أسفر عنها فرق معنوي كبير ووحيد قدر بـ $(0.001 < P < 0.01)$ خلال الأسبوع الرابع شكل (83).
- ❖ المجموعة الرابعة سجلت معها فروق معنوية كبيرة في تركيز مستويات اليوريا خلال الأسبوع الثالث والرابع بـ $(0.001 < P < 0.01)$ شكل (82) و (83).

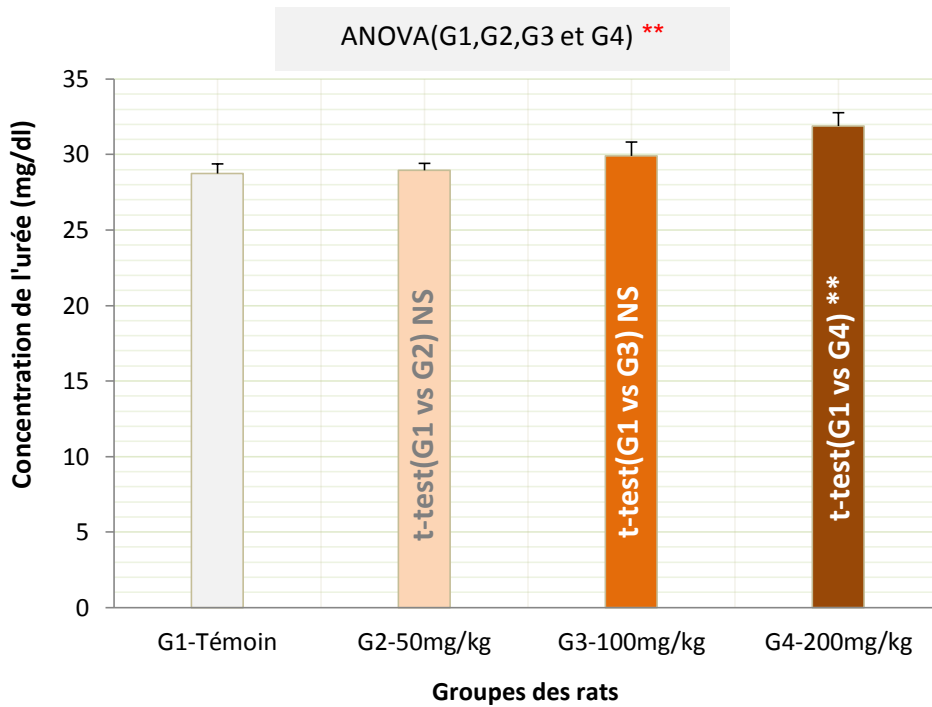
أسفر تحليل التباين لـ ANOVA عن وجود تغير معنوي كبير في تركيز مستويات اليوريا بين المجموعات الأربعة خلال الأسبوع الثالث والرابع بـ $(0.001 < P < 0.01)$ شكل (82) و (83).



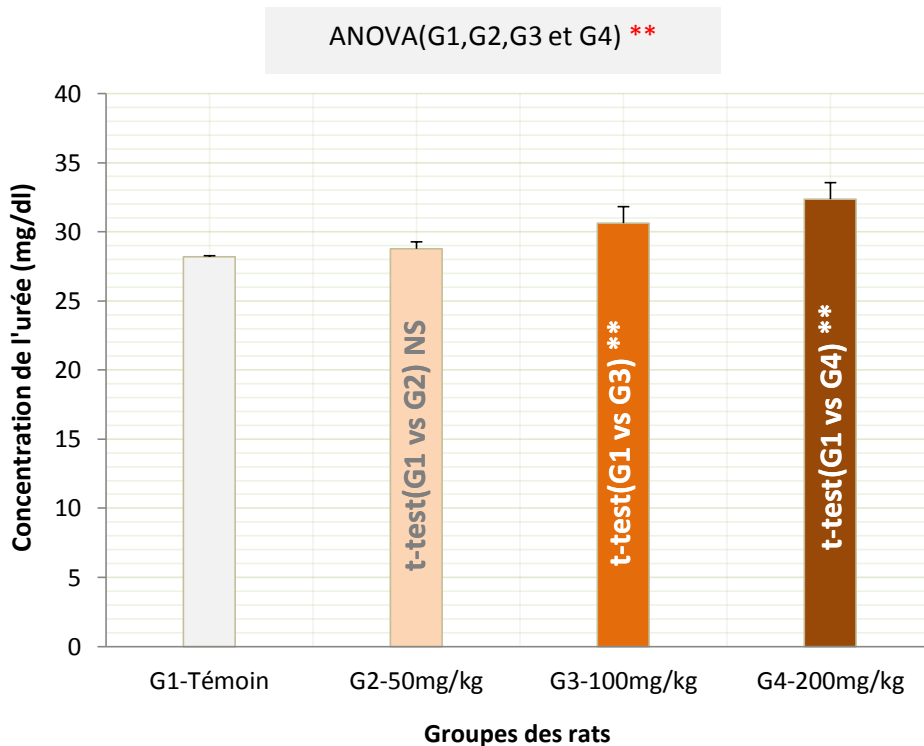
شكل 80: تقدير متوسطات ($X \pm SD$) تركيز اليوريا لحيوانات المجموعة الشاهدة و المجموعات المعالجة خلال الأسبوع الأول.



شكل 81: تقدير متوسطات ($X \pm SD$) تركيز اليوريا لحيوانات المجموعة الشاهدة و المجموعات المعالجة خلال الأسبوع الثاني.



شكل 82: تقدير متوسطات ($X \pm SD$) تركيز اليوريا لحيوانات المجموعة الشاهدة و المجموعات المعالجة خلال الأسبوع الثالث.

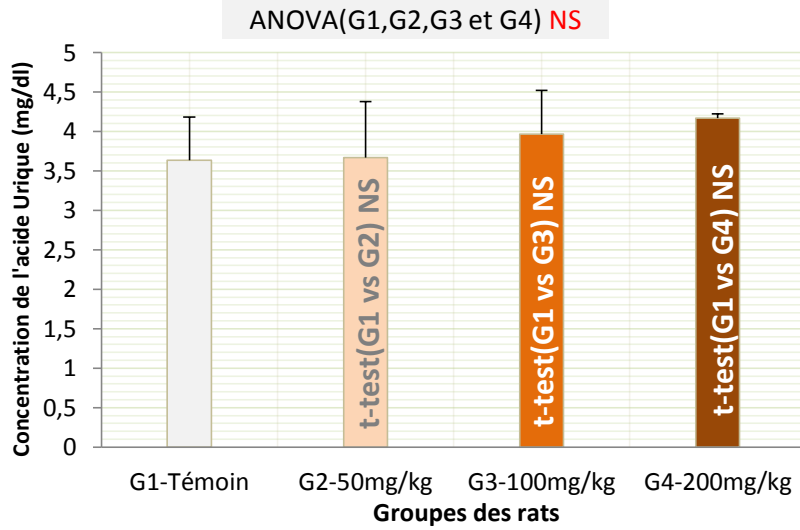


شكل 83: تقدير متوسطات ($X \pm SD$) تركيز اليوريا لحيوانات المجموعة الشاهدة و المجموعات المعالجة خلال الأسبوع الرابع.

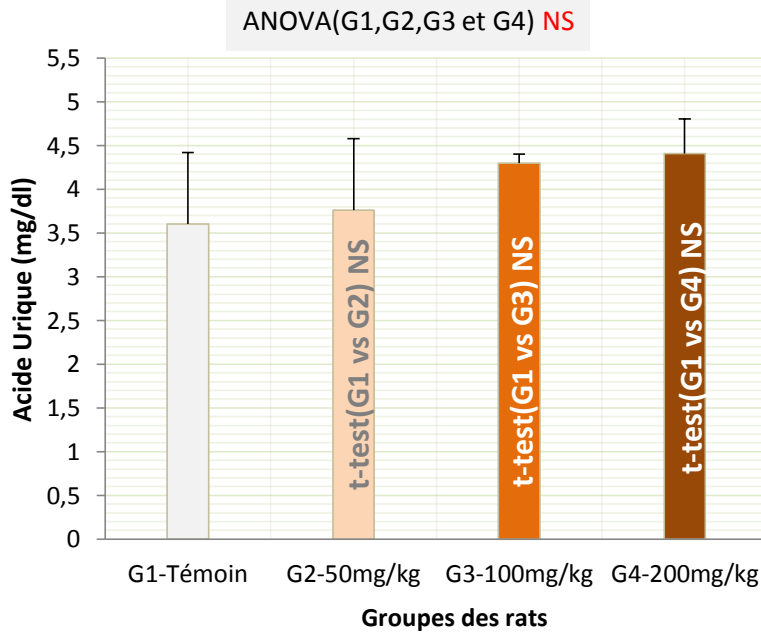


III-2-4-6- تقدير مستويات حمض اليوريك للحيوانات الشاهدة والمعالجة بالقلويدات خلال فترة المعالجة

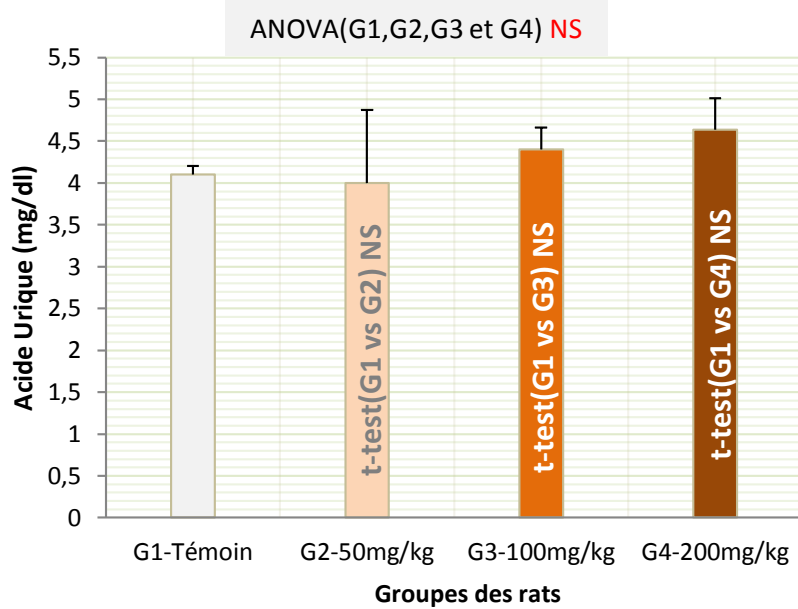
بينت هستوغرامات الأشكال 84، 85، 86 و 87 الخاصة بتقدير مستويات حمض اليوريك في المصل أنه بالرغم من الزيادات الطفيفة في تركيز هذا الحمض إلا أنه لا توجد أية فروقات معنوية للمجموعات الثلاثة المعالجة بالجرعات المتزايدة (50-100-200) ملغ/كغ من المستخلص القلويدي الخام للبذور خلال 30 يوما من المعالجة مقارنة بالمجموعة الضابطة وهذا مع اختبار T.test وكذلك مع اختبار ANOVA



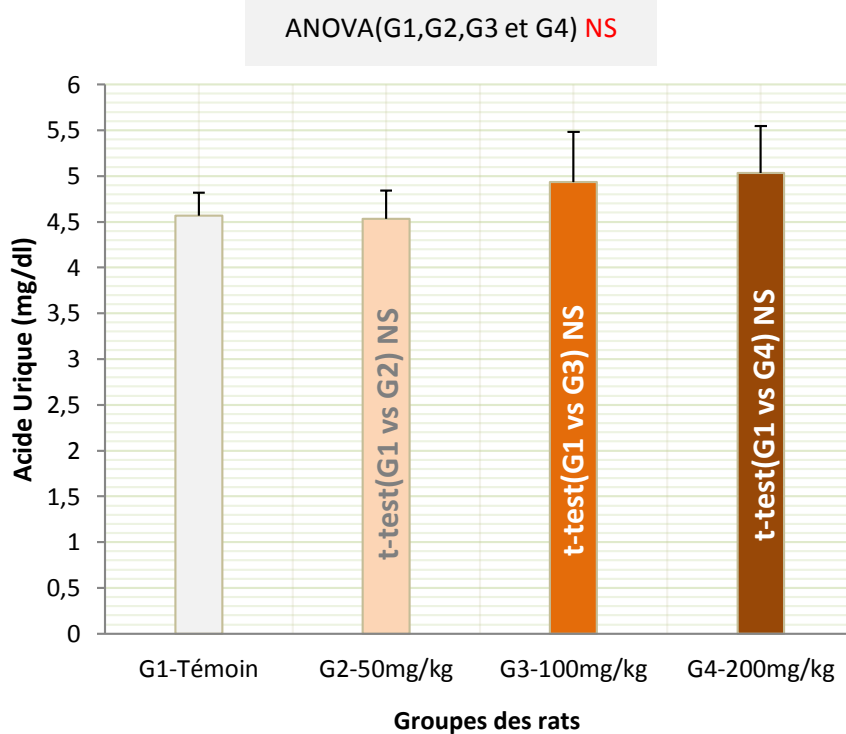
شكل 84: تقدير متوسطات ($X \pm SD$) تركيز حمض اليوريك لحيوانات المجموعة الشاهدة و المجموعات المعالجة خلال الأسبوع الأول.



شكل 85: تقدير متوسطات ($X \pm SD$) تركيز حمض اليوريك لحيوانات المجموعة الشاهدة و المجموعات المعالجة خلال الأسبوع الثاني.



شكل 86: تقدير متوسطات ($X \pm SD$) تركيز حمض اليوريك لحيوانات المجموعة الشاهدة و المجموعات المعالجة خلال الأسبوع الثالث.



شكل 87: تقدير متوسطات ($X \pm SD$) تركيز حمض اليوريك لحيوانات المجموعة الشاهدة و المجموعات المعالجة خلال الأسبوع الرابع.



III-2-4-9- تقدير مستويات الجلوكوز في الدم

نسجل من الجدول 20 ما يلي:

- ❖ عدم وجود تغيرات معنوية في مستويات الجلوكوز للمجموعة الثالثة و الرابعة المعالجة بالجرعات (100-200)ملغ/كغ على الترتيب من المستخلص القلويدي الخام للبذور خلال الأسبوع الأول والثاني من المعالجة.
- ❖ عدم وجود تغيرات معنوية في مستويات الجلوكوز للمجموعة الثانية المعالجة بجرعة 50 ملغ/كغ من المستخلص القلويدي الخام للبذور خلال الأسابيع الأربعة من المعالجة.
- ❖ انخفاض معنوي كبير في مستويات الجلوكوز للمجموعة الثالثة المعالجة بجرعة 100ملغ/كغ من المستخلص القلويدي الخام للبذور خلال الأسبوع الرابع بـ ($0.01 < p < 0.05$).
- ❖ انخفاض في مستويات الجلوكوز للمجموعة الرابعة المعالجة بجرعة 200ملغ/كغ من المستخلص القلويدي الخام للبذور نتج عنه فرق معنوي كبير ($0.01 < p < 0.05$) خلال الأسبوع الثالث و فرق معنوي جد كبير خلال الأسبوع الرابع ($p < 0.001$).

جدول 20: تأثير المستخلص القلويدي الخام للبذور على مستويات السكر في الدم عند الجرذان خلال 4 أسابيع من المعالجة.

تركيز glucose في الدم (mg/dl)				الجرعة المعالجة بالقلويدات (mg/kg)	المجموعة (n=4)
الأسبوع الرابع	الأسبوع الثالث	الأسبوع الثاني	الأسبوع الأول		
0,78±0,065	0,76± 0,04	0,826±0,077	0,786±0,036	-	1
0,763± 0,025	0,756± 0,04	0,81±0.097	0,763±0,035	50	2
0,646 ^b ±0,055	0,73± 0,015	0,76 ± 0,02	0,756±0,03	100	3
0.55 ^c ±0,33	0,66 ^c ±0,02	0,69± 0,02	0.72± 0,01	200	4
c (P<0,001) b (P<0,05)	c (P<0,05)	NS	NS	P-Value	

a: Normal control vs Group2; b: Normal control vs Group3; c: Normal control vs.Group4



III--2-5- تقدير بعض المعايير الدموية للحيوانات الشاهدة والمعالجة بقلويدات خلال فترة المعالجة

نسجل من الجداول الأربعة 21، 22، 23، و 24 :

❖ عدم وجود تغيرات معنوية في مؤشرات المعايير الدموية المتمثلة في الهيموجلوبين (Haemoglobine) ، الإيماتوكريت (Hématocrite)، عدد الكريات الحمراء (GR) ، عدد كريات الدموية البيضاء وحيدة الخلايا (Monocyte) و عدد كريات الدموية البيضاء القاعدية (Basophile) خلال الأسابيع الأربعة من المعالجة بالجرعات المتزايدة من قلويدات البذور.

❖ زيادة في عدد الكريات البيضاء (GB) وعدد الخلايا اللمفاوية (Lymphocyte) للمجموعة الرابعة أدى إلى فرق معنوي ($0.01 < P < 0.05$) خلال الأسبوع الثالث وكذلك فرق معنوي كبير ($0.001 < P < 0.01$) خلال الأسبوع الرابع.

❖ زيادة معنوية ب ($0.01 < P < 0.05$) في عدد الكريات البيضاء (GB) وعدد الخلايا اللمفاوية (Lymphocyte) للمجموعة الثالثة خلال الأسبوع الرابع

❖ المجموعة الثانية المعالجة بجرعة 50 ملغ/كغ من قلويدات البذور لا تعاني أي تغير ملموس في عدد الكريات البيضاء (GB) وعدد الخلايا اللمفاوية (Lymphocyte) خلال الأسابيع الأربعة من العلاج.

الجدول 21: المعايير الدموية للحيوانات الشاهدة والمعالجة بقلويدات بذور الحرمل في حالة التسمم شبه المزمن خلال الأسبوع الأول من المعالجة.

P-value	المجموعة الرابعة	المجموعة الثالثة	المجموعة الثانية	المجموعة الأولى الشاهدة	المعايير الدموية
NS	42± 0,26	41,23± 1,00	42,53±1,25	41,46±1,35	Hématocrite%
NS	12,93±0,55	12,63± 0.40	13,16±0,30	12.86 ±0.55	Haemoglobin (g/dl)
NS	7,17±0.39	7,00 ±0,19	7,04± 0,15	6,93± 0,02	Totale GR count($\times 10^6/\text{mm}^3$)
NS	9,49±0,61	8,84±0.64	8,96± 0.63	9,57± 0.03	Totale GB. count($\times 10^6/\text{mm}^3$)
NS	53±1,15	53,33± 1,43	52,44± 1.14	50,05± 2,50	Lymphocytes%
NS	7,14±0,27	7,13± 0.21	7,07± 0,51	7,2± 0.13	Monocyte%
NS	1,97±0.33	1,93± 0.22	1,68± 0.32	1,83± 0,41	Basophile%



الجدول 22: المعايير الدموية للحيوانات الشاهدة والمعالجة بالقلويدات بذور الحرمل في حالة التسمم شبه المزمن خلال الأسبوع الثاني من المعالجة.

P-value	المجموعة الرابعة	المجموعة الثالثة	المجموعة الثانية	المجموعة الأولى الشاهدة	المعايير الدموية
NS	42,06± 1,61	41,43± 1,27	41,85± 1,75	41,63± 0,57	Hématocrite%
NS	13,04± 0,31	13,06 ±0,15	12,98± 0,60	12,76± 0,61	Haemoglobin (g/dl)
NS	7,13 ±0,45	6,96± 0,18	6,99± 0,26	6,91± 0,021	Totale GR count($\times 10^6/\text{mm}^3$)
NS	10,11± 0,76	8,94 ±0,44	8,93± 0,49	9,60± 0,12	Totale GB count($\times 10^6/\text{mm}^3$)
NS	54,46± 1,04	53,76± 1,15	52,53± 0,69	53,15± 1,14	Lymphocytes%
NS	7,23± 0,22	7,15± 0,17	7,11± 0,50	7,23± 1,16	Monocyte%
NS	2,11± 0,35	1,94 ±0,21	1,69± 0,35	1,85± 0,48	Basophile%

الجدول 23: المعايير الدموية للحيوانات الشاهدة والمعالجة بالقلويدات بذور الحرمل في حالة التسمم شبه المزمن خلال الأسبوع الثالث من المعالجة.

P-value	المجموعة الرابعة	المجموعة الثالثة	المجموعة الثانية	المجموعة الأولى الشاهدة	المعايير الدموية
NS	42,4 ± 1,44	41,48±0,61	41,56 ±2,56	41,13 ± 1,02	Hématocrite%
NS	13,5 ± 0,14	13,2 ±2,66	12,95± 0,85	12,93 ± 0,80	Haemoglobine (g/dl)
NS	7,19 ±0,35	6,91 ± 0,11	7,08 ± 0,16	7,05 ± 0,11	Totale GR. count($\times 10^6/\text{mm}^3$)
c (P<0,05)	12,36 ±1,3 6	10,67 ±1,20	9,78 ± 0,40	9,51 ± 0,20	Totale GB count($\times 10^6/\text{mm}^3$)
c (P<0,05)	57,00 ± 1,80	55, 33± 1,30	53,14 ± 0,80	53,01 ±0,39	Lymphocytes%
NS	7,22± 0,18	7,22± 0,14	7,09 ± 0,44	7,29±0,20	Monocyte%
NS	2,16± 0,34	2,00 ±0,36	1,7 2± 0,34	1,85± 0,45	Basophile%



الجدول 24: المعايير الدموية للحيوانات الشاهدة والمعالجة بالقلويدات بذور الحرمل في حالة التسمم شبه المزمن خلال الأسبوع الرابع من المعالجة.

P-value	المجموعة الرابعة	المجموعة الثالثة	المجموعة الثانية	المجموعة الأولى الشاهدة	المعايير الدموية
NS	42,3 ± 1,32	41,33±1,30	41,30 ± 0,85	41,03 ± 0,47	Hématocrite%
NS	13,14 ± 0,11	13,19 ± 0,29	13,03 ± 0,54	13,00 ± 0,60	Haemoglobine (g/dl)
NS	7,07 ± 0,30	7,02 ± 0,17	7,49 ± 0,65	7,11 ± 0,07	Totale GR count($\times 10^6/\text{mm}^3$)
b (P<0,05) c (P<0,01)	13,17 ± 0,93	14,66 ± 2,02	10,2 ± 0,54	9,56 ± 0,17	Totale GB count($\times 10^6/\text{mm}^3$)
b (P<0,05) c (P<0,01)	58,4 ± 1,68	60, 83± 4,20	53,35 ± 0,27	52,68 ± 0,51	Lymphocytes%
NS	7,24± 0,13	7,23± 0,26	7,10 ± 0,26	7,31±0,16	Monocyte%
NS	2,35 ± 0,33	2,04 ± 0,22	1,7 9± 0,14	1,86± 0,1 5	Basophile%

a: Normal control vs.Group2; b: Normal control vs. Group3; c: : Normal control vs. Group4



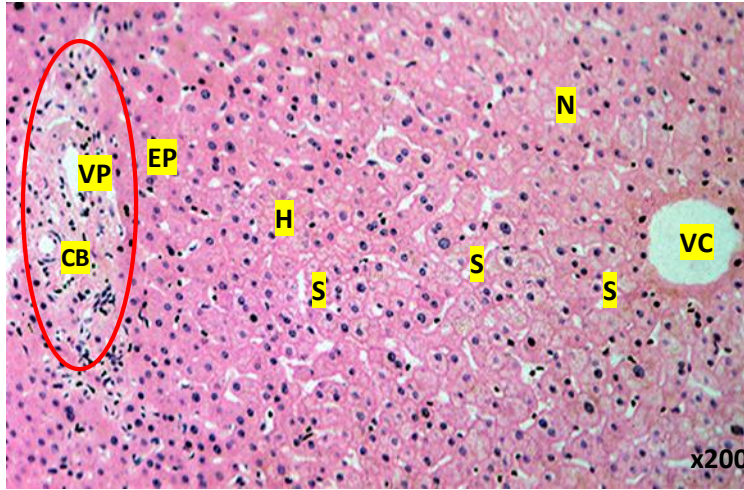
III-2-6- دراسة التغيرات النسيجية المرضية للأعضاء الخاصة بإزالة السموم في ذكور الجرذان المعاملة بقلويدات البذور

III-2-6-1- الدراسة النسيجية للكبد

كشفت صور الفحص المجهرى لمقاطع من نسيج الكبد عند الجرذان المعالجة بالقلويدات بعد 4 أسابيع من المعالجة حدوث تغيرات مرضية واضحة في أنسجة كبد الجرذان المعملية للمجموعة الثالثة (G₃) والرابعة (G₄) ولمعرفة هذه التغيرات لابد من استعراض التركيب الطبيعي للكبد.

• التركيب النسيجي الطبيعي لكبد جرذ مجموعة شاهدة

يتركب الكبد من مجموعة الفصيصات الكبدية حيث يتضح من الشكل 88 أن الفصيص الكبدي يتكون من حبال كبدية منتظمة مكونة من خلايا كبدية مكعبة الشكل مرتبة بشكل شعاعي حول الوريد المركزي (Veine centrale) في منتصف الفصيص وكذلك يحتوي على الفتحة البوابية (Espace porte) التي تحتوي على تفرعات من الوريد البوابي (Veine porte)، الشريان الكبدي (Artère hépatique) والقناة المرارية (Canal biliaire)، أما الجيوب الدموية (Sinusoïde) تمتد بين صفوف الخلايا الكبدية، تحتوي هذه الأخيرة على أنوية (Noyaux) مستديرة ووسطية .

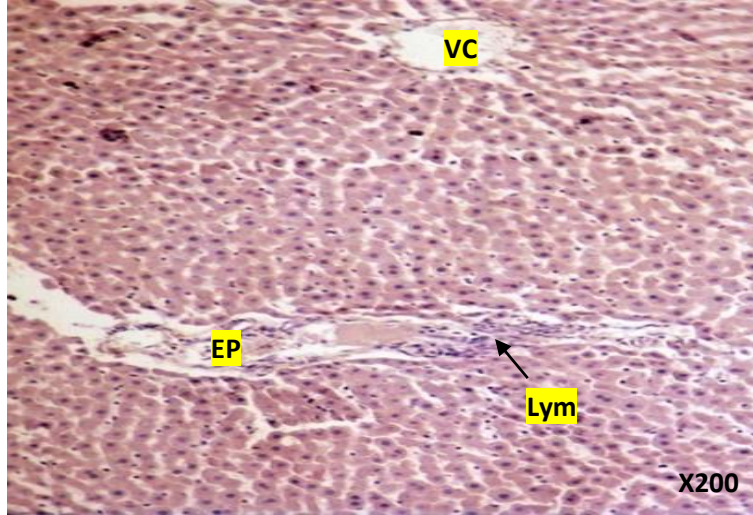


شكل 88: صورة مجهرية لجزء من كبد جرذ مجموعة شاهدة (H& E X200)

EP : Espace porte; **VC** : Veine centrale ; **S**: sinusoïde ; **VP**: veine porte ;
H: Hépatocyte ; **N** : Noyau ; **CB** : canal Biliaire.



- التركيب النسيجي لكبد جرذ من المجموعة الثانية (G₂) المعالجة بـ 50 ملغ/كغ من وزن الجسم بقلويدات البنور بين الفحص المجهرى عدم وجود تغيرات جوهرية بين التركيب النسيجي للكبد عند الجرذان الطبيعية و الجرذان المعالجة بـ 50 ملغ/كغ من القلويدات، فيما عدا ظهور نسبة غير معتبرة (قليلة جدا) من الخلايا اللمفاوية ضمن الفتحة البوابية كما هو مبين في شكل 89.



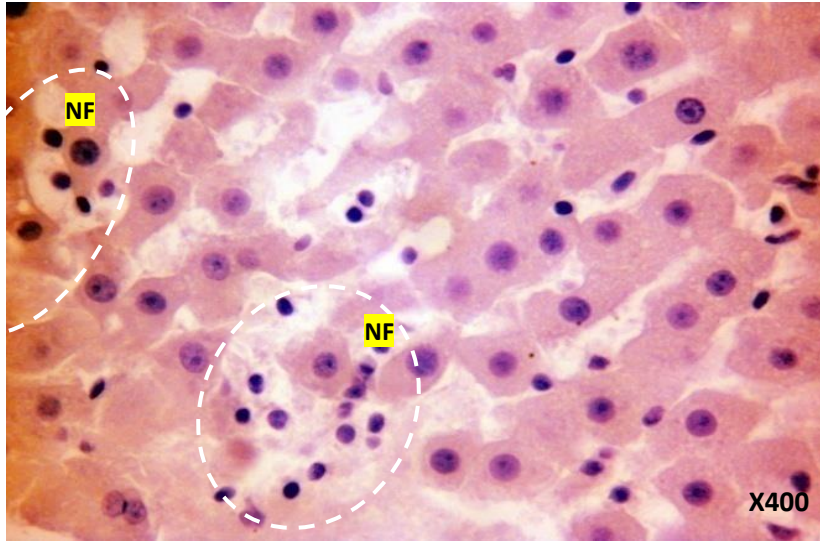
شكل 89: صورة مجهرية لجزء من كبد جرذ معالج بـ 50 ملغ/كغ من قلويدات البنور (H& E X 200)

Lym: Lymphocyte ; VC : Veine centrale ; EP : Espace porte

- التركيب النسيجي لكبد جرذ من المجموعة الثالثة (G₃) المعالجة بـ 100 ملغ/كغ من وزن الجسم بقلويدات البنور. يلاحظ من الفحص المجهرى لقطع من كبد جرذ معالج بـ 100 ملغ/كغ من وزن الجسم بقلويدات البنور ظهور التهاب وتلف في النسيج الكبدي، تمثل في تواجد نسبة كبيرة من الخلايا اللمفاوية على مستوى الفتحة البوابية (EP) شكل 90 (A)، نخر بؤري (Nécrose focale) في مستوى الفصيص شكل 90 (B)، نخر مجزأ (Nécrose parcellaire) شكل 90 (C)، كما لوحظ زيادة في حجم بعض الخلايا الكبدية واحتوائها على أكثر من نواة Binucléée شكل 90 (D).

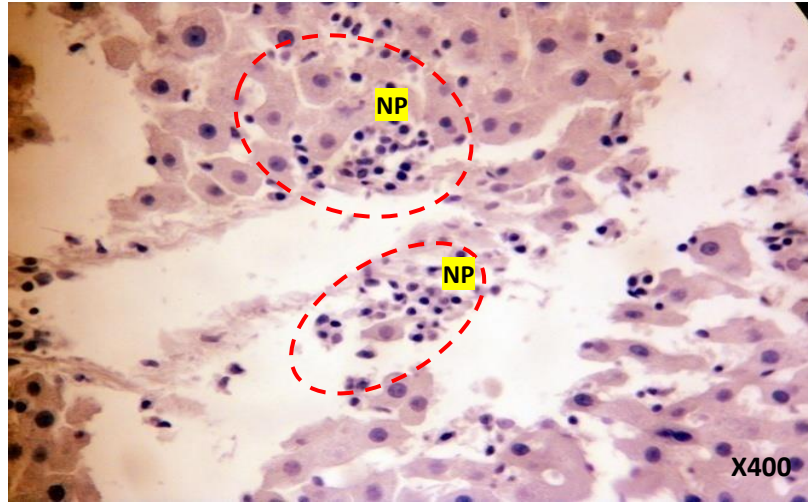


شكل 90 (A): صورة توضح تواجد الخلايا لمقاوية (Lym) في مستوى الفتحة البوابية (H& E X200)



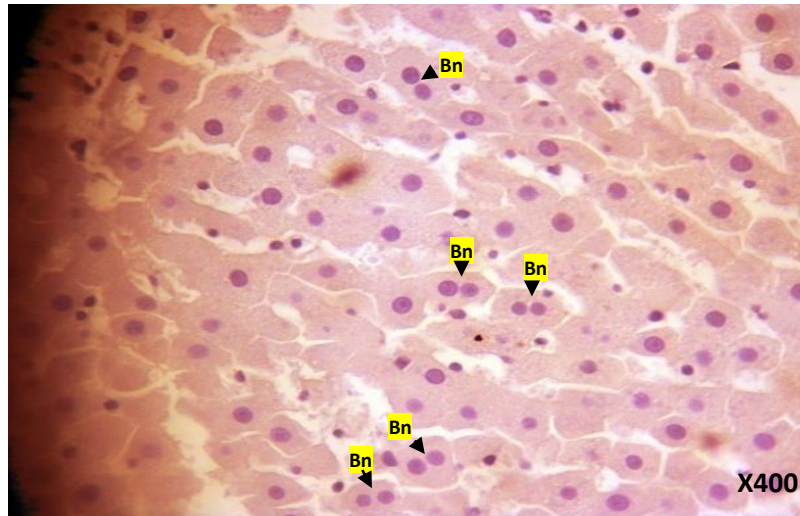
شكل 90 (B): صورة توضح نخر بؤري في مستوى الفصيص (H& E X400)

NF : Nécrose focale



شكل 90 (C): صورة توضح نخر مجزأ (H& E X400)

NP : Nécrose parcellaire



شكل 90 (D): صورة توضح زيادة في حجم بعض الخلايا الكبدية واحتوائها على أكثر من نواة (H& E X400)

Bn : Binucléée

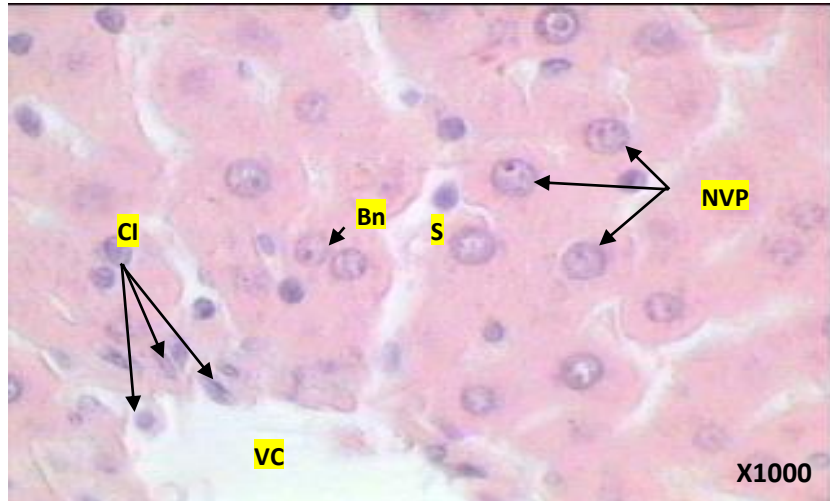
شكل 90: صور مجهرية لجزء من كبد جرذ معالج بـ 100 ملغ/كغ من وزن الجسم بقلويدات البنور، توضح التغيرات المرضية في النسيج الكبدي (H&E X 400).

● التركيب النسيجي لكبد جرذ من المجموعة الرابعة G₄ المعالجة بـ 200 ملغ/كغ من وزن الجسم بقلويدات البنور

تبين من الفحص المجهرى لنسيج كبد جرذ معالج بـ 200 ملغ/كغ من وزن الجسم بقلويدات البنور وجود ضرر أو تلف كبدي تضمن ما يلي :



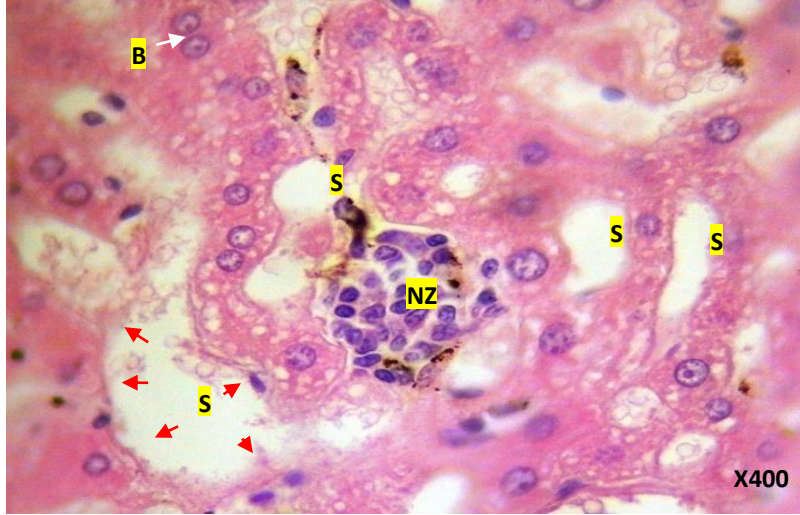
- ❖ تغير في التركيبة الهندسية النسيجية للكبد حيث يلاحظ فقدان انتظام الحبال الكبدية، فراغات واسعة بين صفوف الخلايا الكبدية المتواجدة في منتصف الفصيص و المتصلة بالوريد المركزي، مع إحتواء بعض خلاياها على أكثر من نواة، كما تظهر الأنوية بحجم أكبر و بلون شاحب، كما نسجل تحلل الكروماتين في بعض أنويتها. وكذلك وجود خلايا مناعية بالقرب من الوريد المركزي شكل 91 (A).
- ❖ نخر على مستوى الوريد المركزي يسمى بـ (Nécrose zonale) و توسع في جيوب الشعيرات الدموية شكل 91 (B).
- ❖ نلاحظ تضخم (hypertrophy) في بعض الخلايا الكبدية، و ظهور سيتوبلازماها بلون رائق نتيجة لوجود الكثير من التجاويف (Vacuoles)، كما تظهر في الصورة بعض الأنوية الداكنة الدالة على موت الخلايا المبرمج (apoptosis) شكل 91 (C).
- ❖ نسجل تجمع خلايا مناعية من نوع Lymphocyte على مستوى الفتحة البوابية وبالأخص على القناة المرارية شكل 91 (D، E) وكذلك نخر فصيصي (Nécrose lobulaire) شكل 91 (D).
- ❖ وجود نوع آخر من الخلايا مناعية متمثلة في histiocyte داخل الفتحة البوابية شكل 91 (E).
- ❖ وجود خلايا مناعية من نوع polynécléole وكذلك plasmocyte داخل لمعة الوريد، كما نسجل زيادة حجم النواة وفقدانها لصبغ مع ظهور نوية بارزة (Nucléole proéminente) وكذلك تفتت الكروماتين في إحدى الأنوية شكل 91 (F).



شكل 91 (A): صورة توضح إحتواء بعض الخلايا الكبدية على أكثر من نواة، كما تظهر الأنوية بحجم أكبر و بلون الشاحب مع تسرب خلايا مناعية نحو الوريد المركزي (H& E X1000).

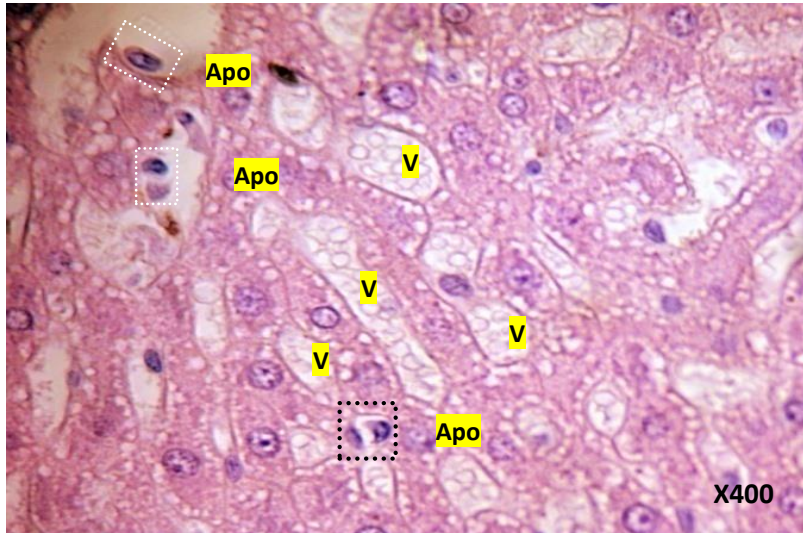
NVP : Noyau volumineux et pale ; CI : Cellules immunitaires ; VC : Veine centrale ;

S : sinusoïde ; Bn : Binucléée



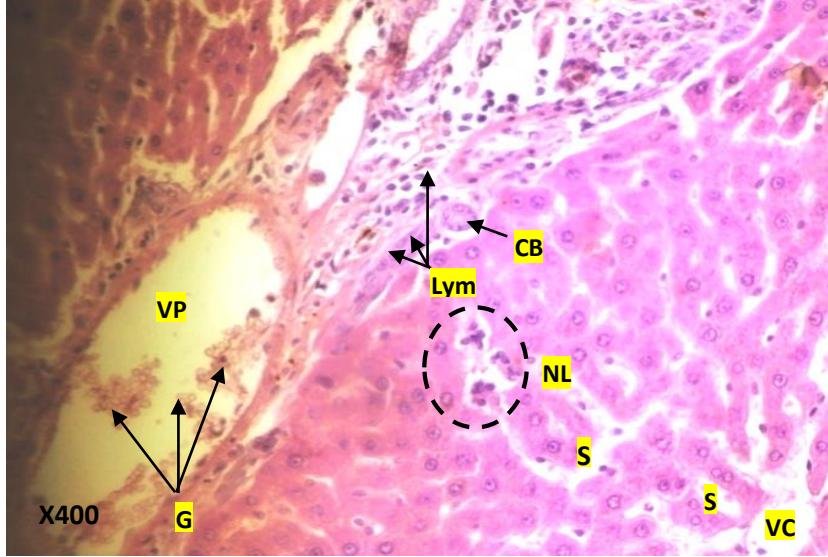
شكل 91 (B): صورة توضح Nécrose zonale و توسع في الجيوب الدموية (H& E X400).

NZ : Nécrose zonale ; S: sinusoire ; Bn : Binucléée.



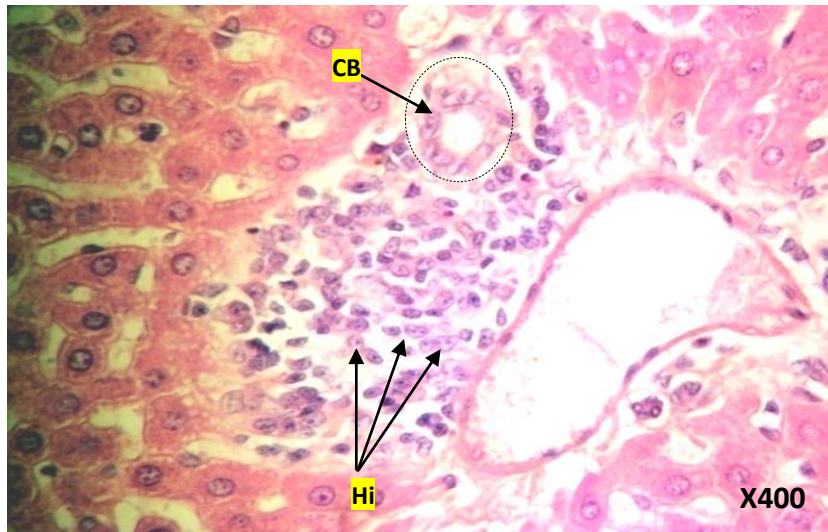
شكل 91 (C): صورة توضح موت الخلايا المبرمج وظهور التجايف (H& E X400).

Apo : Apoptosis ; V : Vacuoles



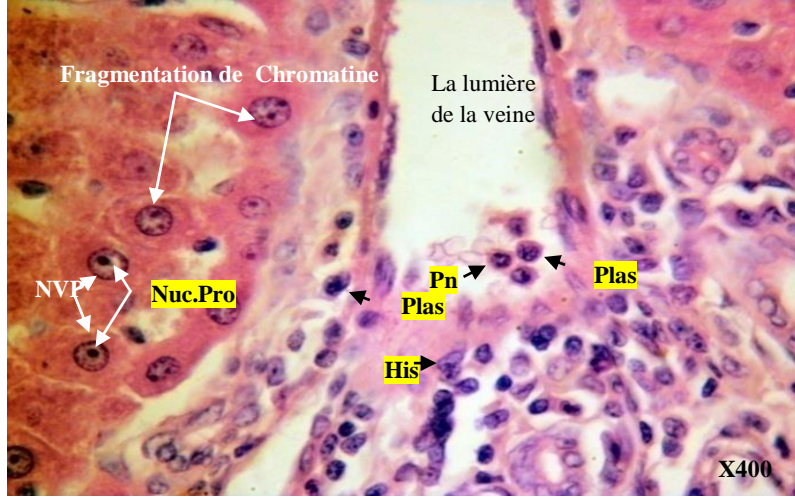
شكل 91 (D): صورة توضح تجمع الخلايا اللمفاوية في مستوى الفتحة البوابية وبالأخص على القناة المرارية وظهر نخر فصيصي (H& E X400)

NL : Nécrose lobulaire ; CB : canal Biliaire ; S: sinusöide ; VC : Veine centrale;
Lym: Lymphocyte



شكل 91 (E): صورة توضح خلايا مناعية من نوع histiocyte (H& E X400)

His : Histiocyte; CB : canal Biliaire



شكل 91 (F): صورة توضح وجود أنواع مختلفة من الخلايا المناعية داخل لمعة الوريد، كبر الأنوية وظهور نويات بارزة مع تفتت الكروماتين في بعض الأنوية (H& E X400).

Nuc.Pro: Nucléole Proéminent Plas: Plasmocyte His: Histocyte Pn: Polynucleole

شكل 91: صور مجهرية لجزء من كبد جرد معالج بـ 200 ملغ/كغ من وزن الجسم بقلويدات البذور، توضح التغيرات المرضية في النسيج الكبدي بتكبيرات مختلفة

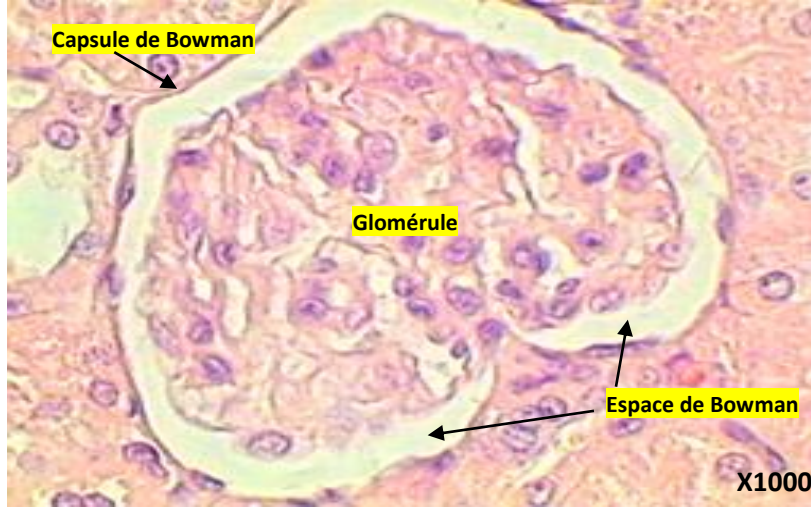
III-2-6-2- الدراسة النسيجية للكلبي

بينت صور الفحص المجهرى لمقاطع من أنسجة الكلبي عند الجرذان بعد 4 أسابيع من المعالجة بالقلويدات، حدوث تغيرات مرضية واضحة في أنسجة كلبي الجرذان المجموعة الثانية (G_2)، الثالثة (G_3) والرابعة (G_4) ولمعرفة هذه التغيرات لابد من استعراض التركيب الطبيعي للنسيج الكلوي.

• التركيب النسيجي الطبيعي لكلبي جرد مجموعة شاهدة :

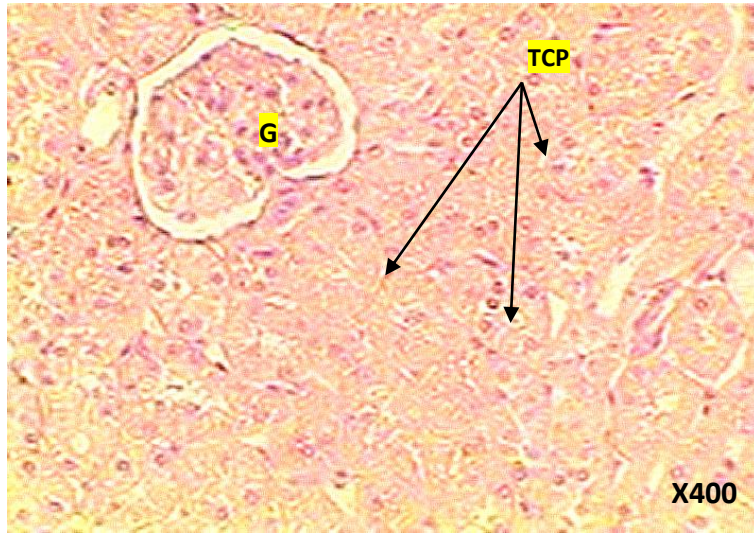
يظهر الفحص المجهرى أن التركيب النسيجي لكلبي الجرذان يشبه إلى حد كبير مثيله في الثدييات الأخرى، حيث تحتوي الكلبي على وحدات وظيفية وتركيبية تسمى بالنفريدات (néphrons) المتكونة من الكريات البولية (corpuscule rénal) والأنبيبات البولية (tubules rénaux).

يتضح من الشكل 92 (A) أن الكرية البولية أو كرية ملبيجي تتكون من محفظة بومان (Capsule de Bowman) وكبيبة (Glomérule)، كما يلاحظ أيضا فراغ بولي واضح (espace de Bowman) بين الكبيبة والطبقة الجدارية لمحفظة بومان والتي تتكون من خلايا طلائية حشوية بسيطة (Paritalepithelium couche).



شكل 92 (A): صورة توضح شكل ومكونات الكرية البولية عند جردان المجموعة الشاهدة (H& E X1000).

أما الأنبيبات الملتفة القريبة (TCP) تظهر في قطاعات الكلوية دائرية أو بيضاوية الشكل وتمتاز تجاوبها الداخلية بصغر حجمها ومبطنة بطبقة واحدة من الخلايا الطلائية المكعبة، كما تتميز الخلايا بسيتوبلازم محبب شديد الاصطباغ بالأيوسين نتيجة لاحتوائه على العديد من الميتوكوندريا شكل 92 (B).



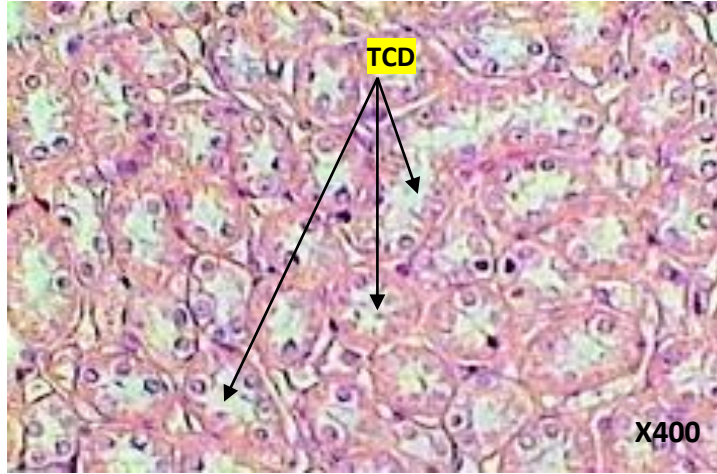
شكل 92 (B): صورة توضح بنية الأنبيبات الكلوية القريبة والكرية البولية عند جردان المجموعة الشاهدة

(H& E X400)

G: Glomérule; TCP: Tubules contounés proximaux



بينما تبدو الأنبيبات الملتفة البعيدة (TCD) مبطنة بخلايا مكعبة ذات أنوية كروية تقع غالباً في الجزء القمي وتحتوي الخلايا أيضاً على سيتوبلازم شديد الإصطباغ بالأيوسين، و تتميز بتجاويفها الداخلية بأنها أوسع بكثير من التجاويف الأنبيبات الملتفة القريبة، ويلاحظ أن الخلايا أكثر عدداً والحدود بين الخلايا تبدو أكثر وضوحاً في الأنبيبات البعيدة منها في القريبة شكل 92 (C).



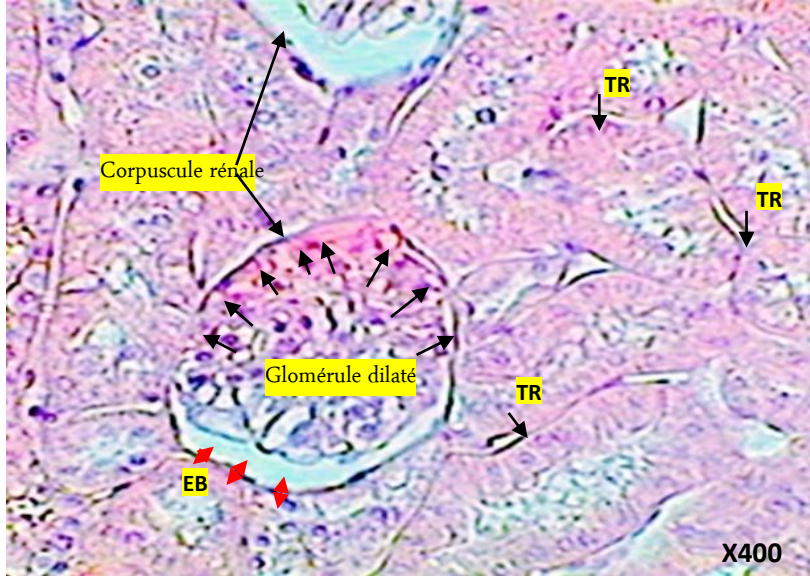
شكل 92 (C): صورة توضح بنية الأنبيبات الكلوية البعيدة عند جرذان المجموعة الشاهدة (H& E X400).

TCD: Tubules contounés distaux

شكل 92: صور مجهرية لجزء من كلية جرذ مجموعة شاهدة بتكبيرات مختلفة

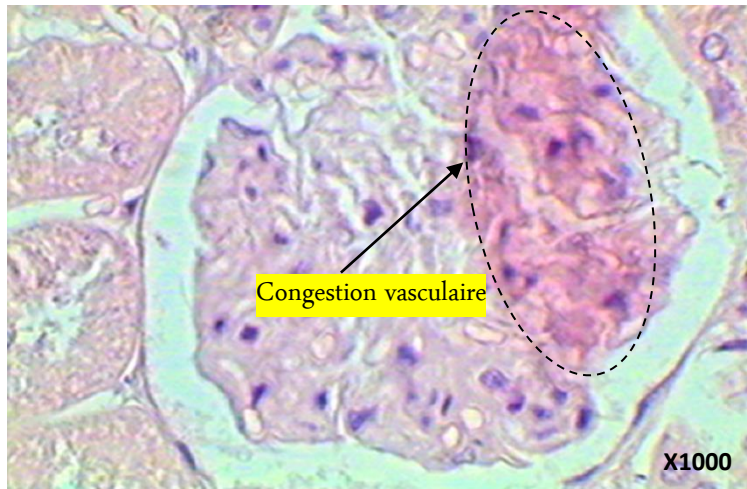
• التركيب النسيجي لكلية جرذ من المجموعة الثانية (G_2) المعالجة بـ 50 ملغ/كغ من وزن الجسم بقلويدات البنور

بين الفحص المجهرى عدم وجود تغيرات جوهرية بين التركيب النسيجي لكلا الأنايب الكلوية القريبة والبعيدة عند الجرذان الطبيعية و الجرذان المعالجة بجرعة 50ملغ/كغ من القلويدات، لكن على مستوى الكرات البولية لوحظ إحتقان في إحدى الكبيبات مع زيادة حجمها (Glomérule dilaté) شكل(93).



شكل 93 (A): صورة توضح البنية الطبيعية للأنيبيات الكلوية مع وتوسع في حجم الكبيبة وتقلص فراغ محفظة بومان (H& E X400)

TR: Tubules rénaux; EB: Espace de Bowman



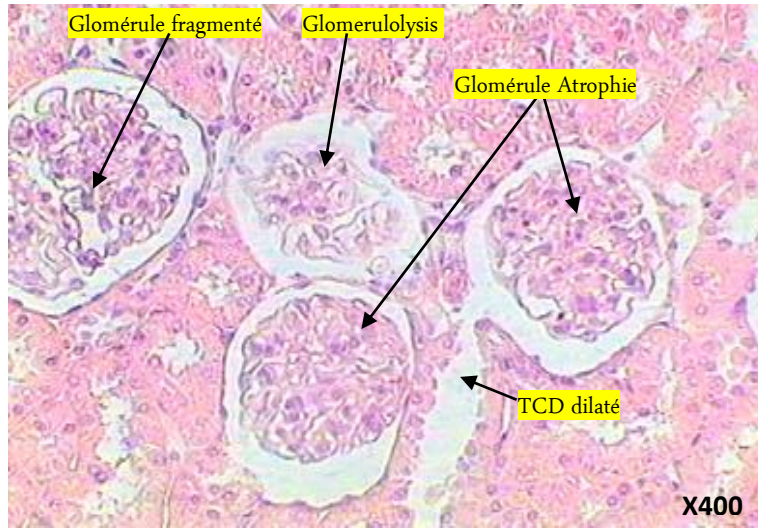
شكل 93 (B): صورة توضح احتقان دموي في الكبيبة (H& E X1000).

شكل 93: صور مجهرية لجزء من كلية جرد معالج بـ 50 ملغ/كغ من وزن الجسم بقلويدات البذور، توضح التغيرات المرضية في النسيج الكلوي بتكبيرات مختلفة.

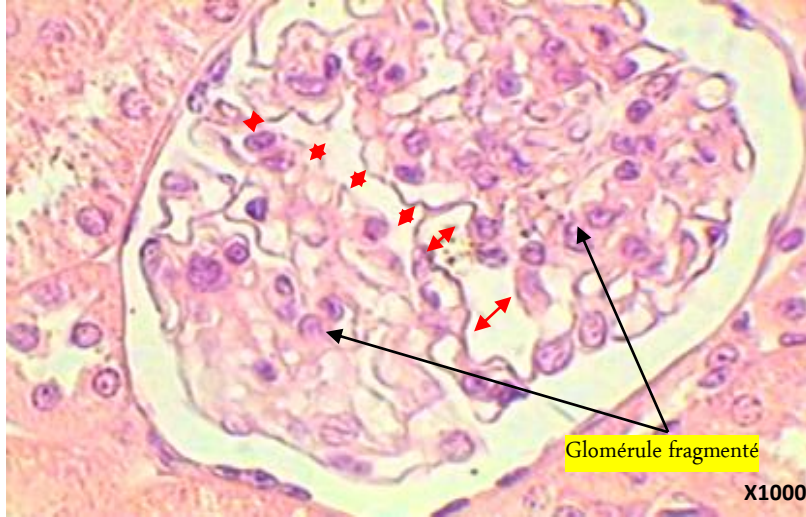


• التركيب النسيجي لكلىة جرذ من المجموعة الثالثة (G₃) المعالجة بـ 100 ملغ/كلغ من وزن الجسم بقلويدات البذور

لوحظ زيادة حدة التغيرات النسيجية بالكلىة خاصة على مستوى الكرات البولية، حيث تظهر معظم الكبيبات في صورة غير طبيعية حيث نسجل تجزئة (Fragmentation) شكل 94 (A، B) وضمور (Atrophie) يصاحبه زيادة في سمك محفظة بومان وتحلل بالكبيبات (Glomerulosis) مما يؤدي إلى فقد الكريات البولية لشكلها الكروي المميز. كما يلاحظ تمدد في إحدى الأنبيبات البعيدة وإتساع تجاوبفها شكل 94 (A).



شكل 94 (A): صورة توضح التغيرات النسيجية المرضية على مستوى كل من الكرات البولية و الأنبيبات الكلوية البعيدة (H& E X400).



شكل 94 (B): صورة توضح كيبية في حالة تفصص (H& E X1000)

شكل 94: صور مجهرية لجزء من كلية جرد معالج بـ 100 ملغ/كغ من وزن الجسم بقلويدات البنذور، توضح التغيرات المرضية في النسيج الكلوي بتكبيرات مختلفة.

● التركيب النسيجي لكلية جرد من المجموعة الرابعة (G₄) المعالجة بـ 200 ملغ/كغ من وزن الجسم بقلويدات البنذور

عند فحص القطاعات النسيجية لكلية جرد معالج بـ 200 ملغ/كغ من وزن الجسم بقلويدات البنذور لوحظ العديد من التغيرات النسيجية المرضية شملت:

❖ تهتك الأنابيب الكلوية القريبة وذلك بفقدان شكلها الطبيعي مع إختفاء بعض أنويتها وسقوط البعض الآخر ضمن التجايف شكل 95 (A).

❖ تهتك الحافة الفرغونية للأنيبيبات المتلفة القريبة وظهور احتقان شديد في بعض الأنابيب الكلوية القريبة المحيطة بالكرة البولية شكل 95 (B).

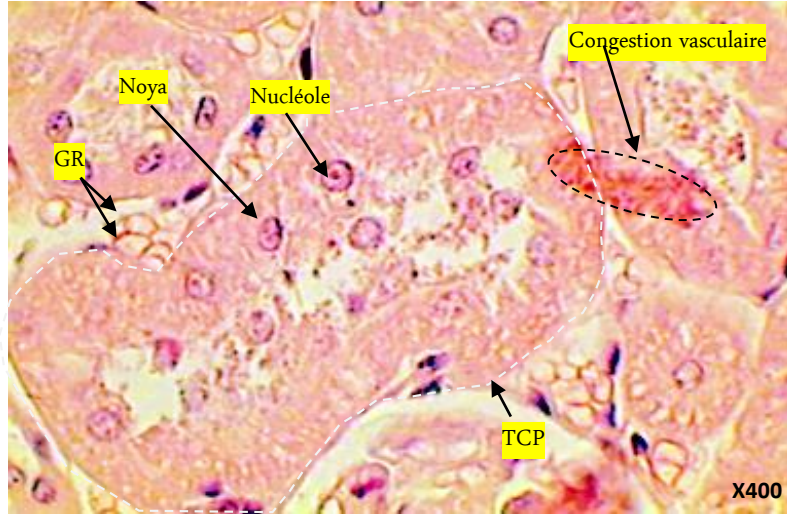
❖ لوحظت تغيرات غير طبيعية بكرات ملبيجي من حيث الشكل والتركيب وفقدت الكثير من الكبيبات شكلها المنتظم فظهرت في حالة انكماش مما تسبب في إتساع الفراغ البولي شكل 95 (C) وحالة إتساع مع ظهور إحتقان شديد في الشعيرات الدموية وركود الدم بها شكل 95 (D).

❖ لوحظ نخر في بعض الكبيبات (glomérule nécrosé) شكل 95 (E).

❖ كما يلاحظ ضهور في بعض الأنبيبات البعيدة مع تحلل العديد من أنوية الخلايا المبطنة لها وإندفاع البعض الآخر داخل التجويف وتحلل سيتوبلازمي، كما تظهر الأنوية بلون شاحب، أما النوية تظهر بشكل بارز، كما نسجل إحتواء بعض الأنوية على نويتين مع تفتت الكروماتين في البعض منها 95 (F) ومن جهة أخرى نلاحظ في نفس المقطع النسيجي تمدد طولي في أحد الأنبيبات الكلوية البعيدة و بروز علامات الإلتهاب الخلوي في النسيج البيني وظهور احتقان دموي (Congestion) بأحد الأنبيبات شكل 95 (G).

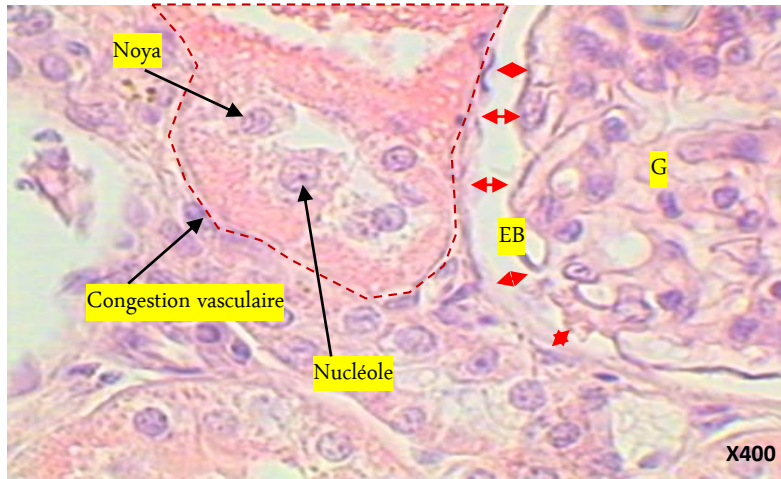


- ❖ حدوث نوع من النخر يتمثل في النخر البؤري (Nécrose focale) شكل 95 (H).
- ❖ نسجل تمدد في محفظة بومان وكذلك تمدد واحتقان للأوعية الدموية شكل 95 (I).

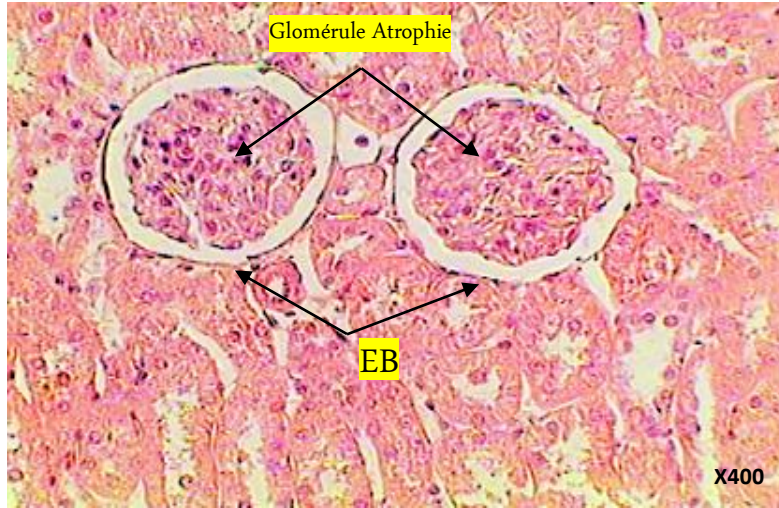


شكل 95 (A): صورة توضح تهتك الأنابيب الكلوية القريبة واختفاء بعض أنويتها وسقوط البعض الآخر ضمن التجايف (H& E X400)

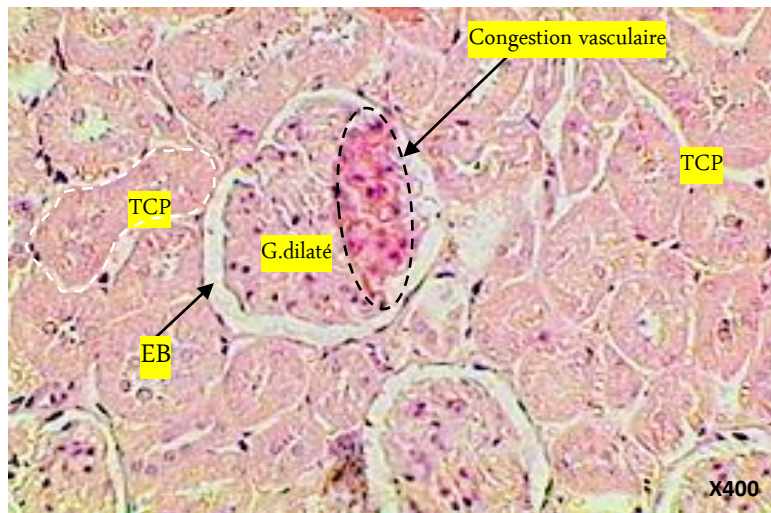
GR: Globule rouge; **TCP:** Tubules contounés proximaux



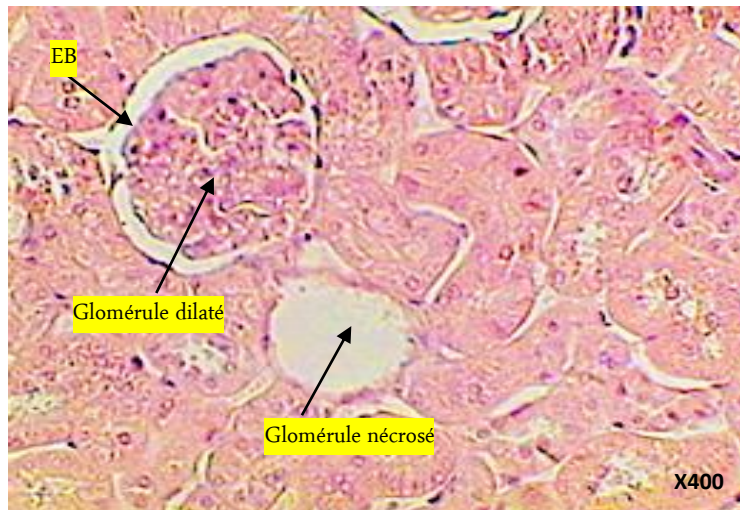
شكل 97 (B): صورة توضح تهتك الحافة الفرغونية للأنيبيبات وظهور احتقان (H& E X400).



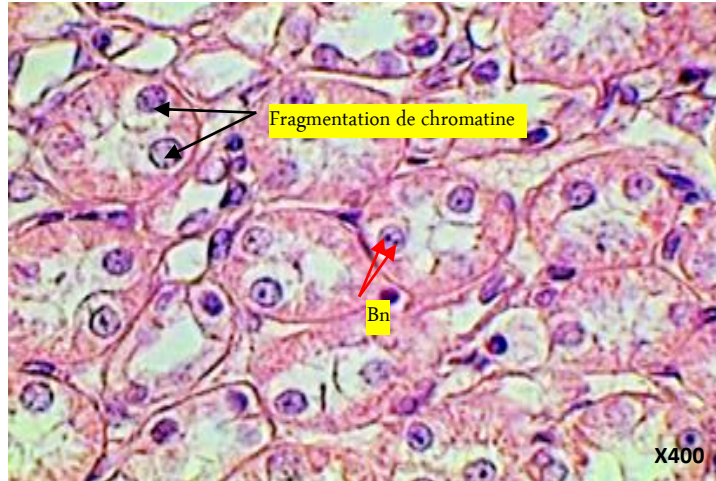
شكل 95 (C): صورة توضح حالة انكماش مع اتساع الفراغ البولي (H& E X400).



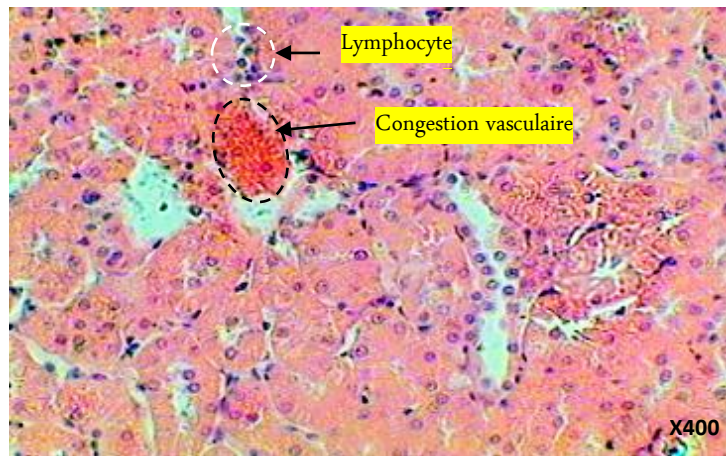
شكل 95 (D): صورة توضح اتساع الكبيبة مع ظهور احتقان شديد في الشعيرات الدموية (H& E X400).



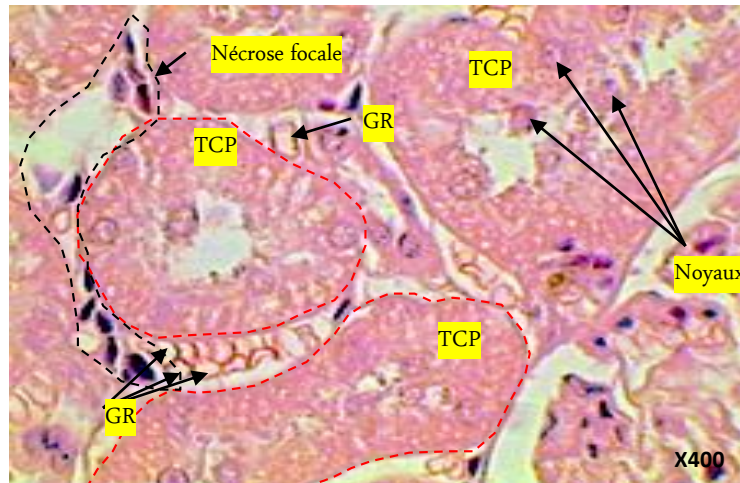
شكل 95 (E): صورة توضح نخر في بعض الكبيبات (H& E X400).



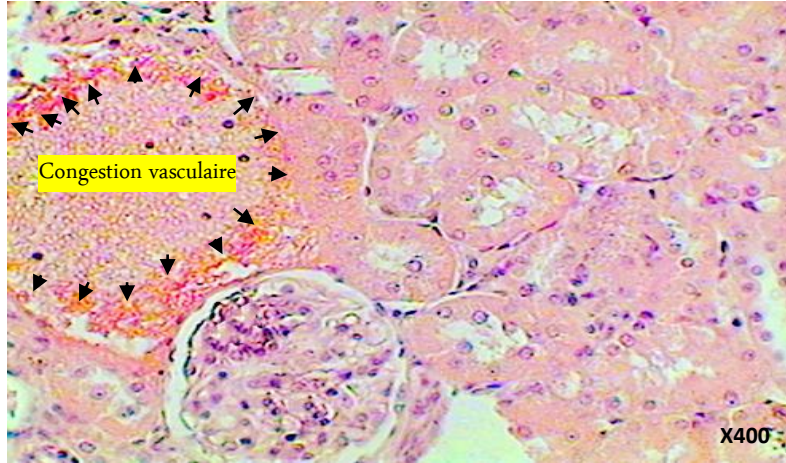
شكل 95 (F): صورة توضح إحتواء بعض الأنوية على نويتين مع تفتت الكروماتين في الخلايا المشككة للأنايب الكلوية البعيدة (H& E X400).



شكل 95 (G): صورة توضح تمدد طولي في أحد الأنبيبات الكلوية البعيدة و بروز علامات الإلتهاب خلوي في النسيج اليبني وظهور احتقان دموي بأحد الأنبيبات (H& E X400).



شكل 95 (H): صورة توضح النخر البوؤري (Nécrose focale) (H& E X400).



شكل 95 (I): صورة توضح تمدد واحتقان في الوعاء الدموي (H& E X400).

شكل 95: صور مجهرية لجزء من كلية جرد معالج بـ 200 ملغ/كغ من وزن الجسم بقلويدات البذور، توضح التغيرات المرضية في النسيج الكلوي (H& E X400).

المناقشة

I- مناقشة الدراسة الكيميائية

I-1- الحصر الكيميائي الأولي لنبات *P. harmala*

أسفرت نتائج المسح الفيتوكيميائي التي أجريت على نبات *P. harmala* الجزائري المنتمي إلى الفصيلة الرطراطية بهدف الكشف عن 12 عائلة كيميائية متمثلة في:

Flavone glycoside, Emodoles, Alcaloides, Coumarines, Reduire Composés, Pholopatanins, Phenoles, Anthraquinones, aminoacides, Resins, , Proteines, Carbohydrate.

وهذا بعدما فردت كل أعضاء النبتة: جذور، أوراق، سيقان، أزهار، ثمار ويزور أي مجموع 6 عينات، أدى هذا إلى الحصول على 80 اختبار إيجابي من بين 108 اختبار كشف باعتبار نتائج الآثار (\pm) تفاعل إيجابي أي بنسبة 74.07% وهي نسبة تدل على أن نبات *P. harmala* النامي بمنطقة الحرملية -ولاية أم البواقي- يعتبر مصدرا هاما للمنتجات الطبيعية وبالتالي يعد أرضية جيدة لفصل أنواع مختلفة من المركبات الكيميائية التي تدخل في صناعة العديد من الأدوية العلاجية و التجميلية، ومن الملاحظات التي تستوجب الإشارة إليها وجود اختلاف من حيث تواجد المواد بين مكونات أعضائه وهذا يعزى أساسا إلى نوعية المادة المختبرة، أماكن تخليقها وتراكمها، وسيوضح ذلك أكثر عند تفصيل كل مادة كيميائية على حدة:

سجل تواجد الفلافونويدات الجليكوسيدية في جميع أجزاء النبات ما عدا في الجذور تكون بشكل آثار وهي نتائج موافقة لـ (Kan et al. (2011 حيث بين هذا الأخير أن أوراق نبات *P. harmala* غنية جدا بالفلافونويدات، حيث قام Sharaf et al. (2003 من عزل 4 أنواع جديدة من الفلافونويدات الجليكوسيدية من الجزء الهوائي لنبات *P. harmala* متمثلة في:

acacetin 7-O-rhamnoside, 7-O-[6-O-glucosyl-2-O-(3- acetylramnosyl) glucoside.

7-O-(2-O-rhamnosyl-2-O-glucosyl)glucoside), glycoflavone2-O-rhamnosyl-2-O-glucosylcytisoside.

تعتبر القلويدات من أهم أقسام الميتابوليزم الثانوي وهي ذات أهمية كبيرة في علم الصيدلة، سجل تواجدها في جميع الإختبارات مع كافة الأعضاء حيث تم مؤخرا عزل مركب قلويدي جديد من القسم الهوائي لنبات *P. harmala* من قبل Abdel-aziz et al. (2010) ممثل في مركب:

1-Thioformyl-8- β -O-D-glucopyranoside-bis-2,3-dihydroisopyridinopyrrol

وهناك الكثير من الأبحاث الحديثة القائمة على فصل القلويدات من نبات *P. harmala* واستخدامها في العلاج المضاد للآلام (antinoiceptive) (Farouk et al., 2009).

سجل غياب مركبات الأنتراكينون في جميع أجزاء النبات ما عدا في الثمار و البذور فهي متواجدة بشكل بارز، حيث بين Baytop (1999) أن نبات *P. harmala* يحتوي على مواد ملونة طبيعية متمثلة في الانتراكينون المتواجدة في البذور حيث تستخدم في المغرب وتركيا وإيران في صباغة وتلوين السجاد الفارسي، أشار Lamchouri *et al.* (2013) أنه تم عزل نوعين من هذه المركبات من بذور هذا النبات من قبل Pitre et Srivastasa عام 1987 م متمثلة في:

3,6-dihydroxy-8-methoxy-2-methylanthraquinone (peganone; 1)،

8-hydroxy-7-methoxy-2-methylanthraquinone (peganone; 2)

سجل إحتواء الأجزاء النباتية بالمركبات الكيميائية الفعالة مثل الفينولات، المركبات المرجعة، Pholopatanins، هذا يفسر الاستخدام التقليدي لهذا النبات في علاج العديد من الأمراض مثل: الإمساك، الملاريا، ارتفاع درجة الحرارة، علاج مضاد للميكروبات و الالتهابات ومرض السكري (Aslam *et al.*, 2014)، كما بين Mazandarani *et al.* (2013) أن بذور نبات *P. harmala* غنية بالمركبات الفينولية، حيث تلعب هذه المركبات دور مضاد للأكسدة.

سجل غياب الكومارينات في جميع أجزاء نبات *P. harmala*، حيث أفاد Khan *et al.* (2011) في دراسته للمسح الفيتوكيميائي عن 13 نوع نباتي نامية بمنطقة الباكستان من بينها نبات *P. harmala* أن أوراق هذا النبات تفتقر للمركبات التالية: Coumarines، Anthraquinones، Terpenoides و تتميز بوجود كل من: Saponines، Alcaloides، Flavonoides، Phlobatanins، Tanins و Cardiac glycosides وهي نتائج موافقة لبحثنا حول الحصر الكيميائي الأولي لأوراق نبات *P. harmala* النامي بمنطقة الحرملية / شرق الجزائر.

نسجل غياب مادة الإيمودول (Emodole) في جميع أجزاء النبات، حيث بين Zellagui (2006) في دراسته حول المسح الفيتوكيميائي لثلاثين نوع نباتي منتمية لثلاثة عشرة فصيلة نباتية نامية بمنطقة القرام- ولاية ميلة- غياب مادة Emodole في معظم الأنواع النباتية المدروسة.

لوحظ غياب كلي لمادة الراتنجات (Resins) في نبات *P. harmala*، هذه النتيجة توافق ما جاء به Khan (1990) في دراسته للمكونات الكيميائية لنبات *P. harmala* المتواجد بالباكستان حيث بين ان اوراق نبات *P. harmala* تخلو من مادة الراتنجات.

كشفت النتائج عن وجود مواد الأيض الأولى المتمثلة في: السكريات، البروتينات و الأحماض الأمينية في جميع أعضاء النبات، هذا يفسر أن النبات الأخضر يقوم باصطناع المواد العضوية انطلاقا من مواد لا عضوية بعملية التمثيل الضوئي، كما تعتبر نواتج الأيض الأولى مواد أساسية تدخل في تركيب جدر الخلايا النباتية وكذلك تدخل في الاصطناع الحيوي لنواتج الأيض الثانوي (Wink, 2010)، وهي نتائج موافقة لأبحاث Movafeghi *et al.* (2009) حيث بين ان ازهار نبات *P. harmala* تحتوي على مركبات الأيض الأولى.

I-2- التقدير الكمي لقلويدات نبات *P. harmala* بطريقة المعايرة

كشفت دراسة التقدير الكمي للقلويدات أن أعلى نسبة مئوية للقلويدات كانت مع البذور (3.94%) مقارنة بالأعضاء الأخرى المختبرة، هذا يفسر حسب (Walton & Brown 1999) أن البذور تمثل أماكن تراكم و تخزين مركبات الميتابوليزم الثانوي من بينها القلويدات في النباتات، كما أشار (Ben salah *et al.* 1986) أن القلويدات تعتبر نواتج أيض نهائية ومخزن للنتروجين في النبات المدروس، نسبتها ترتفع في فصل الصيف أثناء فترة نضج الثار و جني البذور، كما بين (Mahmoudian *et al.* 2002) أن معدل القلويدات مرتفع جدا في بذور نبات *P. harmala* مقارنة بالجذور، السيقان والأوراق، في حين بين (Abbassi *et al.* 2005) أن نبات *P. harmala* غني بالقلويدات الأندولية وخاصة في البذور. أما (Herraiz *et al.* 2010) أشار أن محتوى القلويدات في بذور نبات *P.harmala* يختلف من منطقة إلى أخرى إذ تتراوح كميته ما بين (2-7%).

I-3- التحليل الكروماتوغرافي بطريقة CCM

باستخدام نظام مذيب يتكون من: méthanol /chloroforme/hydrxyde ammonium بنسب (80/20/1.5) تمكنا من الفصل الجيد للقلويدات، حيث سمح هذا الاختبار من الكشف عن ثلاث قلويدات في البذور والثار في حين احتوت الجذور على نوعين، تمثل هذه القلويدات في الحارمين الذي يكون تحت (UV) باللون البنفسجي المشع و بمعامل انسياب (0.82) والحارملين يكون باللون أزرق و بمعامل انسياب (0.34) R_f وذلك استنادا للقلويدات القياسية، اما في نتائج سابقة بين (Mayed *et al.* 2003) عند فصله لقلويدات سيقان و أوراق نبات *P. harmala* النامي بمنطقة شيشاوة -المغرب - ان هذه المستخلصات تحتوي على أربع أنواع من المركبات القلويدية ذات معاملات إنسياب (0.82 ، 0.71 ، 0.25 ، 0.21) تختلف عن معاملات الإنسياب المتحصل عليها في بحثنا والاختلاف يرجع إلى نوع العضو وكذلك إلى نوعية نظام مذيب المستخدم في الفصل حيث استخدم الباحث نظام فصل يتكون من: Méthanol /Acétate d'éthyle / NH₄OH بنسب (9:1:1).

I-4- التحليل الكروماتوغرافي بطريقة HPLC

تعتبر تقنية HPLC من افضل تقنيات الفصل المستخدمة في فصل القلويدات وذلك لما يتميز به الجهاز من بساطة وسرعة عالية في الفصل والدقة المتناهية، كل هذه الأسباب جعلتنا نفضل استخدام جهاز HPLC في تقدير قلويدات الحرمل موضوع بحثنا، حيث بينت النتائج أن جميع المستخلصات القلويدية جذور، ثمار و بذور تحتوي على قلويدي الحارمين والحارملين، وذلك بمقارنة زمن احتباسها بزمن احتباس القلويدات القياسية (الحارمين والحارملين) الذي نتج عنه تطابق كبير في أزمنة الاحتفاظ وهذا ما يؤكد دقة القياس العالية في هذا النوع من التحليل.

النتائج المتحصل عليها مماثلة لنتائج تقنية HPLC لكل من (Rahimi-Moghaddam *et al.* 2011) و Monsef- (Esfahani *et al.* 2008) حيث بين الباحثان أن بذور نبات الحرمل تحتوي على قلويدي الحارمين والحارملين بحيث يكون تركيز الحارملين أكبر من تركيز الحارمين وهذا ما جاء في نتائجنا حول مستخلص البذور حيث قدرت النسبة

المئوية لمساحة الحارملين بـ 78.34 % اما الحارمين قدرت مساحته بـ 17.13 %، كما بين الباحثان أن هذه القلويدات موجودة بأكثر كمية (Alcaloides majoritaires) في نبات الحرمل.

الشروط المستعملة في كروماتوغرافيا HPLC هي عمود من نوع (Nucleosil 100-5 C18) قطره الداخلي 4.6 mm وطوله 125 mm و حجم حبيباته 5 μ m، و طور متحرك مكون من:

Isopropyl alcohol / Acetonitrile / Water / Formic acid (100:100:300:0.1) (v/v/v/v)

مع تعديل درجة الحموضة pH = 8، بواسطة triethylamine و سرعة جريان 1.5 مل / دقيقة و طول موجة 330 نانومتر، من أفضل الشروط المستخدمة التي سمحت بفصل قلويدات مستخلص البذور في زمن تحليل كلي لا يتجاوز 5 دقائق، حيث ظهر كل من الحارمين والحارملين في أزمنة حجز تقدر بـ 2.70 و 4.44 دقيقة على الترتيب مقارنة بأبحاث Monsef-Esfahani *et al.* (2008) حيث نتج من دراسته أن زمن التحليل الكلي لقلويدات مستخلص البذور تم في 16 دقيقة حيث ظهر الحارمين في زمن حجز بلغ 7.52 دقيقة أما الحارملين ظهر في زمن حجز قدره 15.87 دقيقة وهذا باستخدامه عمود فصل من نوع (ODSA 150mm x4.6 mm i.d., 5 μ m particles) و طور متحرك مكون من:

potassium phosphate (10mM, pH 7.0): acetonitrile (100/30, v/v) اما سرعة الجريان و طول الموجة فهي ماثلة لبحثنا. أما الباحث Rahimi-Moghaddam *et al.* (2011) فقد تحصل على زمن تحليل كلي لقلويدات الحرمل في 10 دقائق حيث ظهر الحارمين والحارملين في أزمنة حجز تقدر بـ 7.33 و 7.75 دقيقة على الترتيب، وهذا باستخدامه عمود فصل من نوع (Nucleosil 100-10 C18 (250 mm x 4.6 mm I.D., 5 μ m) و طور متحرك مكون من acetonitrile-water-trifluoroacetic acid (TFA) (25:75:0.1) (v/v/v) مع تعديل درجة الحموضة pH = 8.4 بواسطة triethylamine و سرعة جريان 1 مل / دقيقة و طول موجة 254 نانومتر. لان عملية تقدير المركبات بواسطة جهاز HPLC تتحكم فيها عدة ظروف مهمة وهي (درجة الحرارة - نوع العمود و حجمه - تركيب الطور المتحرك - سرعة تدفق الطور المتحرك - طول موجة الكاشف) (Hanoon and Kharnoob (2013)، حيث يسعى الباحثون على تغيير احد هذه الظروف مع تثبيت الظروف الأخرى للحصول على امثل الشروط لتقدير وفصل المركبات في زمن قصير جدا.



II- مناقشة نتائج الدراسة البكتيرية

II-1- النشاط الضد البكتيري للمستخلصات القلويدية الخامة لبذور وجذور نبات *P.harmala*

في السنوات الأخيرة أصبح انتشار مقاومة البكتيريا المسببة للأمراض المتعددة للمضادات الحيوية مصدر قلق بالغ في جميع أنحاء العالم من حيث الصحة العمومية و التأثيرات الاقتصادية، ولذلك لجأت الأبحاث الحديثة إلى دراسات كيميائية للنباتات الطبية التي من شأنها أن تكون مصدرا جديدا للمنتجات الطبيعية الصيدلانية المقاومة للميكروبات، ولهذا اعتمدنا في هذا البحث، على دراسة النشاط الضد البكتيري للمستخلصات القلويدية لجذور و بذور نبات *P.harmala* ، حيث بينت نتائج الدراسة أن هذا النبات يمنع تقريبا نمو جميع الكائنات الحية الدقيقة التي قمنا باختبارها، وهذا بدرجات متفاوتة من الفعالية.

إن تركيز 100 ملغ/مل من المستخلص القلويدي الخام للبذور و الجذور يمنع نمو جميع السلالات البكتيرية المدروسة، في حين أن نفس التركيز من المستخلص القلويدي الخام للجذور يمنع نمو 6 سلالات بكتيرية مختبرة من أصل 7 تعزى هذه النتيجة الى عدة احتمالات منها ان البذور تحتوي على ثلاث مركبات قلويدية في حين أن الجذور تحتوي على نوعين فقط وهذا ما أظهره التحليل الكروماتوغرافي لـ HPLC و CCM ويمكن ان يعود هذا التأثير الى النسبة العالية لتواجد قلويد الحارملين في البذور بـ 78.34% مقارنة بنسبة تواجده في الجذور بـ 28.76% وهذا ما بينه تحليل الكروماتوغرامات لتقنية HPLC من خلال حساب النسبة المئوية لمساحتها، حيث بين تقرير Moshiri *et al.* (2013) ان قلويد الحارملين سميته اقوى بمرتين من سمية الحارملين.

أعلى نشاط ميكروبي سجل مع المستخلص القلويدي الخام للبذور ضد السلالات البكتيرية الموجبة جرام، مقارنة بالسلالات البكتيرية السالبة جرام، باستثناء *E. coli*، هذا راجع لطبيعة السلالات البكتيرية السالبة جرام التي تميل إلى المقاومة العالية للمضادات الحيوية، وقد تم التحقيق حديثا في ذلك من قبل (Darabpour *et al.* 2011) في دراسته لنشاط المضاد للبكتيريا للمستخلصات الايثانولية لأجزاء مختلفة من بذور، جذور، أزهار، أوراق و سيقان نبات *P. harmala* النامي بتلال المحيطة بمدينة بههان (جنوب شرق محافظة خوزستان / إيران)، حيث أظهرت نتائج أن أفضل فعالية بكتيرية كانت ضد الأنواع البكتيرية الموجبة الجرام المتمثلة في:

Bacillus anthracis, Bacillus cereus, Bacillus pumilus, Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, Listeria monocytogenes and Streptococcus pyogenes.

مقارنة بالأنواع البكتيرية السالبة الجرام المتمثلة في:

Pseudomonas aeruginosa, Brucella melitensis, Proteus mirabilis, Salmonella typhi, Escherichia coli and Klebsiella pneumonia



كذلك تبين من دراسته أن البذور والجذور تملك نشاطا بكتيريا عاليا ضد الأنواع البكتيرية الموجبة جرام مقارنة بالأعضاء النباتية الأخرى هذا راجع أن البذور والجذور تمثل أعضاء تخزين نواتج الميتابوليزم الثانوي كما ذكر أنفا.

أما (Prashanth and John (2009) بين أن المستخلصات المتتابة بدءا بنيتروليوم إيثر، كلوروفورم و الميثانول لبذور *P. harmala* لها نشاط وأثر كبير ضد بكتيريا موجبة جرام المتمثلة في *Staphylococcus aureus* MTCC-737. وفي دراسة لـ (Xing et al. (2012 بين أن قلويدات β -Carboline لنبات *P.harmala* لها تأثير مثبت لسلسلة *Staphylococcus aureus*، كما أفادت دراسة (Ogundiya et al. (2008 أن أعلى نشاط مضاد للجراثيم يكون مع المستخلصات الجذرية لنبات *Terminalia glaucescens* ضد السلالات البكتيرية الموجبة مثل *Streptococcus mutans* و *Staphylococcus saprophyticus* مقارنة بالسلالات البكتيرية السالبة.

وذكر أيضا (Minan (2010 أن أعلى نشاط مضاد للجراثيم يكون مع مستخلصات بذور نبات *P. harmala* ضد *Lactobacillus* و *Candida albicans*.

لاحظنا وجود علاقة بين زيادة تركيز مستخلصات القلويدات مع زيادة قطر منطقة التثبيط، هذا يفسر أن قلويدات β -Carboline هي مركبات نيتروجينية حلقيه غير متجانسة لديها القدرة على اقتحام ADN للكائنات الحية الدقيقة خاصة منها قلويد Harmaline (Nafisi et al., 2010 ; Cao et al. 2005). كما أظهرت الأبحاث المخبرية لـ (Sobhani et al. (2002 و (Song et al. (2004 أن قلويدات β -Carboline المستخلصة من بذور نبات *P. harmala* يمكنها اقتحام ADN من خلال تثبيط إنزيم ADN topoisomérase I في الخلايا البشرية ومن نتائج هذا التثبيط موت الخلايا السرطانية، حيث يلعب هذا الإنزيم دورا هاما في النسخ، إعادة التركيب، تكاثف الكروموزومات والحفاظ على الاستقرار الجينوم.

وفي الآونة الأخيرة، أفاد الباحث (Jimenez et al. (2008 بأن قلويدات β -Carboline الموجودة في الأطعمة المطبوخة ودخان السجائر والمشروبات الكحولية لها تأثير كالج ب شكل خاص على إنزيم Topoisomerase للحمض النووي البشري. كما بين (Rosenkranz et Wink (2011 في دراسته أن القلويدات لها دور في تثبيط التخليق الحيوي للبروتينات عند الحيوانات الأولية من نوع trypanosomes.

وبالتالي نستنتج من هذه الدراسات ومن بحثنا و أبحاث الحديثة لكل من (Khan et al. (2011، (Salari et al. (2012 و (Edziri et al. (2010 أن نواتج الايض الثانوي لنبات الحرمل وعلى رأسها القلويدات تعتبر كمواد مضادة للبكتيريا، الأكسدة، الفيروسات وقاتلة لبعض أنواع حشرات المن، كذلك تعتبر كأدوية مضادة أو مانعة للأورام (Lamchouri et al., 2013).



II-2- قيم التركيز الأدنى المثبط CMI و قيم التركيز الأدنى القاتل CMB للمستخلصات القلويدية

لبذور وجذور نبات *P. harmala*

بينت نتائج تحديد التركيز الأدنى المثبط للنمو CMI والتركيز الأدنى القاتل CMB للمستخلصات القلويدية الخامة للبذور والجذور أن قيمتي CMI وCMB تساوي 0,78 ملغ/مل مع سلالة *S. aureus* المعروفة بحساسيتها الشديدة للمضادات الحيوية المختلفة، هذه النتائج توافق تقريبا إلى ما توصل إليه (Darabpour et al. (2011 عند دراسته للنشاط البكتيري لمستخلصات نبات *P. harmala* ضد أنواع بكتيرية متعددة المقاومة أين وجد أن قيمة CMI تساوي 0,62 ملغ/مل مع السلالة *S. aureus*.

وكذلك بين (Verdian & Hadjiakhoondi (2007 أن قيم CMI للمركبات القلويدية (harmalol, harmaline, harmol, harmine) تتراوح بين (0,6-2) ملغ/مل مع السلالة *S. aureus*.

كما تم مخبريا تقييم فعالية المستخلص الكحولي لبذور *P. harmala* ضد النشاط المضاد للفطريات من أنواع *Candida* من قبل (Diba et al. (2011 من خلال تحديده لقيم CMI، حيث بين الباحث أن أدنى تركيز مثبط للمستخلص الكحولي لبذور كان مع *Candida glabrata* بـ 0.321 ملغ/مل، وأشار الباحث أن فعالية مستخلصات البذور ضد نشاط البكتيريا والفطريات ترتبط أساسا بالقلويدات.

نتائج هذه الدراسة تؤكد أن نبات *P. harmala* يمكن اعتباره مصدر طبيعي محتمل للأدوية المضادة للجراثيم المسببة للالتهابات والأمراض المختلفة والمتمثلة في:

S. aureus ، *S. saprophyticus* ، *E. coli* ، *K. pneumoniae* ، *P. aeruginosa* ، *P. mirabilis* و *Serratia sp*. لهذا الأمر أهمية في مكافحة الاتجاه الحديث في ظهور كائنات حية مضادة للأدوية المتعددة، مزيد من الدراسات لهذه النبتة ضروري لتطوير مضادات جديدة للجراثيم.



III- مناقشة نتائج دراسة السمية الحيوانية

III-1- التسمم الحاد عند الفئران الذكرية

تميزت البطاقة الإكلينيكية للفئران الذكرية المعالجة بالقلويدات الكلوية لبذور نبات *P. harmala* في حالة التسمم الحاد ببداية ظهور أعراض سريعة، والتي تعود إلى تأثير أحد المركبات القلويدية (**Harmine** أو **Harmaline**) أو إلى تعاون هذه المركبات فيما بينها على مختلف وظائف الجسم، تتميز هذه المركبات بالامتصاص السريع وتوزعها بسرعة فائقة في أنسجة وأعضاء الجسم وقد يعزى ذلك إلى قدرتها على عبور الأغشية الخلوية بسرعة كبيرة، أدى ذلك إلى **زيادة في نبضات القلب** عند الحيوانات المعالجة بجرعة (400 و 500) ملغ/مل، تعود هذه الظاهرة إلى إنسداد مستقبلات المسكارين من فئة M_2 المتواجدة في مستوى العضلة القلبية والأذينات ونهاية الأعصاب الودية قبل المشبك وفي الفجوة المشبكية، يؤدي هذا الإنسداد إلى تثبيط عمل العصب المبهم (*Tonus vagale*) المسؤول في تحكم سرعة ضربات القلب، حيث أن تنبيه العصب المبهم من قبل مستقبلات المسكارين يؤدي إلى قيام المخ بإصدار أوامره للقلب بتخفيض في معدل ضربات القلب (Benouadah et al. 2012). وفي دراسة سابقة أشار (Bensalah et al. 1986) أن قلويدات نبات *P. harmala* لها قدرة على تثبيط عمل إنزيم Na/k ATPase المسؤول عن عمليات النقل النشط الخلوي، كما تعمل القلويدات على الزيادة في أيونات الكالسيوم المتواجدة في مستوى لييفة العضلية (*Myofibrille*)، تنجم عن كل هذه التفاعلات اضطرابات في نبضات القلب.

هذه المعطيات تطابق أبحاث (Broadley et Kelly (2001) على أن القلويدات الأندولية (موضوع دراستنا) والقلويدات التروبانية تؤثر على مستقبلات المسكارين مؤدية إلى **الزيادة في نبضات القلب**. بالإضافة إلى ذلك أفاد الباحث Bing (2009) أن قلويد **Pilocarpine** المستخرج من أوراق نبات *Pilocarpus gaborandi* يملك تأثيرات على مستقبلات المسكارين من فئة M_2 مؤدية إلى تحرير الأدرينالين الذي ينجم عنه **زيادة في نبضات القلب** وكذلك يزيد من إفراز الغدة اللعابية وبالتالي يعمل على **الزيادة في سيلان اللعاب**.

نتأجنا حول زيادة في نبضات القلب للحيوانات المعالجة بقلويدات بذور الحرمل جاءت مطابقة لنتائج Benouadah et al. (2012) حيث بين هذا الأخير أن قلويدات بذور نبات *Datura stramonium* L. المتمثلة في *Atropine* و *Scopolamine* المنتمية إلى القلويدات التروبانية تزيد من سرعة نبضات القلب عند الفئران المعالجة بجرعة 280 ملغ/كغ و 300 ملغ/كغ من المستخلص الخام لقلويدات هذه النبتة.

و مخالفة لنتائج (Rezzague (2012) حيث بينت دراستها أن تعاطي جرعة 1000 ملغ/كغ عن طريق الفم من المستخلص الميثانولي لبذور نبات *P.harmala* النامي بمنطقة شلغوم العيد أدى إلى انخفاض في نبضات قلب الجرذان، يعود الاختلاف في النتائج إلى نوعية و جرعة المادة المتناولة و كيفية تعاطيها، لأن المستخلص الكحولي لنبات الحرمل يحتوي



على العديد من المواد الفعالة مثل: الفلافونويدات، التينينات، التربينات الثلاثية، القلويدات و المركبات المرجعة (Benbott *et al.*, 2013)، هذه المواد تتعاون فيما بينها وتلغي عمل تأثير القلويدات على إنسداد مستقبلات المسكارين M_2 و على تثبيط عمل العصب المبهم.

كما لوحظ أيضا صعوبة التنفس، اهتزاز العضلات و هيجان لدى الحيوانات المعالجة بالجرعات العالية من القلويدات، هذه الأعراض حسب Bellakhdar (1997) ناجمة عن ضرر في الجهاز العصبي المركزي حيث بين هذا الباحث أن نبات *P. harmala* مسئول عن شلل في الجهاز العصبي وضرر في الجهاز التنفسي عند الفقريات.

كما بين (Gouille *et al.*, 2004) أن صعوبة التنفس ترجع إلى توقف إنتاج أستيل كولين في المشابك الخاصة بالجهاز العصبي المركزي، في هذا السياق أفاد الباحثان Adhami *et al.* (2011) و Zheng *et al.* (2011) أن بعض قلويدات نبات *P. harmala* لها تأثير كإحلال لعمل إنزيم أستيل كولين إستيراز (acetylcholinesterase)، بالإضافة إلى ذلك أثبت كل من Patel *et al.* (2012) و Bensalah *et al.* (1986) أن قلويدات نبات *P. harmala* المتمثلة في (Harmaline و Harmine، Harmane) تعمل على تثبيط المستقبلات الدماغية (GABAergic Acide) (Gamma Amino Butyrique)، ينتج عن هذا التثبيط زيادة في قوة العضلات وبالتالي الزيادة في اهتزاز العضلات، كما تسهل هذه القلويدات من نفاذية وصول مادة A_2 thromboxane المشتقة من Prostaglandine إلى مستقبلات GABAergic، ينجم عن هذه الظاهرة حالات من الهيجان، لأن مادة A_2 thromboxane تلعب دورا هاما في تنظيم حركات الكالسيوم في الخلايا العصبية. بالإضافة إلى ذلك، فقد بينت أبحاث كل من (O'hearn & Molliver, 1993) و (Spletstoeser *et al.*, 2005) أن القلويدات تتسبب في ضمور الخلايا العصبية (Purkinje cells) في مخيخ الفئران، هذا يؤدي إلى تحريض هزات في العضلات (Tremblement musculaires) هذه النتائج توافق نتائج (Zuhair *et al.*, 2008).

تم الإبلاغ عن تواجد قلويد Harmine وبعض المركبات الأخرى من قلويدات B-carboline في السوائل و الأنسجة البشرية، هذه المجموعة القلويدية حسب Patel *et al.* (2012) لها آثار نفسية، سلوكية و كيموحيوية متنوعة عند البشر والحيوانات الأخرى.

كما تمت مناقشة تأثير قلويد harmaline على سمية الجهاز العصبي (neurotoxicité) وعلى الأعصاب الحامية (neuroprotecteurs) من قبل العديد من الباحثين لعدة سنوات وقد تم الإبلاغ أن هذا القلويد فعال في تثبيط تدفق بروتونات (nH^+/K^+) داخل الأغشية القمية لحوصلات الخلايا الكأسية عند حشرة *Manduca sexta*، كما أنه يحدث تغيرات في توصيل الصوديوم والكالسيوم على مستوى أغشية هذه الخلايا (Bonnet *et al.*, 2000; Spletstoeser *et al.*, 2005).

نسجل انخفاض النشاط الحركي، هدوء ونعاس للفئران في بداية أخذ الجرعات القلويدية، هذا يفسر حسب كل من



(Glennon *et al.*, 2000 ; Farzin *et al.*, 2011) أن قلويدات B-carboline تقوم بعمل منشط لنظام الدوبامين الذي ينجم عنه نعاس واضطرابات في النوم، كذلك بين Bergner (2001) أن احد قلويدات B-carboline المتمثل في harmaline يستخدم كمادة مخفزة للنوم حيث يدخل في صناعة الأدوية المحرضة للنوم عند الأطفال والمسنين.

في المقابل الحيوانات التي تزال على قيد الحياة تكون بمظهر عادي، هذا راجع إلى القدرة الكبيرة للفئران على قيامها بعملية الميتابوليزم لتخلص من القلويدات.

هذه الأعراض (صعوبة التنفس، إهتزازات، هيجان، انخفاض النشاط الحركي، انتصاب الشعر ونعاس) التي تمت ملاحظتها على الفئران المعالجة بالقلويدات بذور الحرمل مشابهة للملاحظات التي درست من قبل Rezzague (2012) على الفئران، و كذلك من قبل الباحثين (El-Bahri et Chemli 1991 ; An *et al.*, 2010) على الماشية، الحمير و الجمال أثناء تناولها لنبات الحرمل خاصة في فترة الجفاف.

كما أفادت بعض الدراسات مثل دراسة Hamouda *et al.* (2000) التي أجريت في المركز التونسي للسموم عن ورود العديد من حالات التسمم (Poisoning Cases) نتيجة تعاطي النباتات الطبية من خلال طب الأعشاب (تبين من خلال هذه الدراسة أن بذور *P. harmala* كانت مسؤولة عن إحداث 7% من مجمل حالات التسمم التي رصدتها هذه الدراسة) حيث تسبب هذا النبات في تسمم الجهاز العصبي و الجهاز المعدي المعوي (gastro-intestinal) و نظام الأوعية القلبية (Système cardio-vasculaire) عند الأشخاص الماكثين في المستشفى.

وفي دراسة حديثة أشار Moshiri *et al.* (2013) أن تناول 50غ من بذور الحرمل النامي بمنطقة إيران من قبل امرأة عمرها 45 عام أدى بها إلى غثيان، تقيؤ، دوخة، ارتعاش، وانخفاض ضغط الدم (TA = 90/60 mm Hg) وضعف في الحركة، حيث أفاد التقرير الطبي أن هذه العلامات تؤكد مدى سمية نبات الحرمل.

في ضوء نتائج التسمم الحاد قدرت الجرعة النصف مميتة (DL50) لقلويدات بذور الحرمل الجزائري المحقونة تحت صفاق الفئران بـ **350 ملغ/كغ** وهذا يتابع طريقة Berhens et Karber والطريقة الاحتمالية للمربعات الصغرى، أما مع طريقة Finney قدرت (DL50) بـ 328.48 ملغ/كغ، هذه القيمتان محصورتان ما بين (50 < DL₅₀ < 500) ملغ/كغ، وبالتالي يتم تصنيف قلويدات B-carboline المتواجدة في نبات *P. harmala* ضمن المنتجات المتوسطة السمية وفقا لتصنيف سمية المواد الكيميائية من قبل العالم Diezi (1992)، نتيجة هذا التصنيف مطابقة لنتائج المؤشرات الإكلينيكية المتحصل عليها، ومدعمة لنتائج دراسة Muhi-eldeen *et al.* (2008) حيث صنف قلويدات بذور الحرمل الإيراني بأنها متوسطة السمية (DL50 = 420 ملغ/كغ) وذلك عن طريق حقنها تحت العضلة للجرذان من نوع (Albino Wister) يتابعه طريقة Litchfield et Wilcoxon، وكذلك تؤكد دراسة Benouadah *et al.* (2012)



على أن القلويدات المتواجدة في بذور نبات *Datura stramonium* هي كذلك ذات سمية متوسطة لأن قيمة (DL50) قدرت بـ 298.22 ملغ/كغ.

أما نتائج (2012) Rezzague بينت أن قيمة (DL50) للمستخلص الكحولي لبذور الحرمل تساوي 2858.5 ملغ/كغ هذه القيمة تصنف المستخلص الخام الكحولي للبذور بسمية ضعيفة، يفسر هذا الاختلاف في قيمة (DL50) لنبات الحرمل الجزائري بأن هناك مواد فعالة متواجدة ضمن هذا المستخلص تبطل مفعول سمية القلويدات.

III-2- التسمم شبه المزمن عند الجرذان الذكورية

بينت لنا دراسة التسمم شبه المزمن أن حقن قلويدات بذور الحرمل تحت صفاق الجرذان لمدة 30 يوماً أدى إلى انخفاض معنوي كبير في نسبة زيادة وزن الحيوانات المجموعة الثالثة والرابعة بـ ($0.01 < P < 0.001$) مقارنة بحيوانات المجموعة الشاهدة، هذا راجع إلى حالات كل من الإسهال وفقدان الشهية التي تم ملاحظتها خلال التجربة، تفسر هذه النتيجة حسب (Bensalah et al. 1986) أن قلويدات B-carboline والمتمثلة في harmine و harmaline والتي تم تشخيصها ضمن مستخلص البذور لها تأثيرات مضادة على عمل الكولين المركزي (anti cholinergique central)، هذا يؤدي إلى اضطرابات في الجهاز الهضمي. نتأجنا حول انخفاض وزن الحيوانات توافق نتائج كل من Ahmed et al. (2013) الذي بين أن إدارة المستخلص الكلوروفوري لنبات الحرمل عن طريق الحقن العضلي أدى إلى انخفاض معنوي ($P < 0.05$) في وزن الأرناب مقارنة بحيوانات المجموعة الشاهدة، وكذلك نتائج Qazan (2009) الذي أفاد في دراسته أن إضافة نسبة (10%) من أوراق نبات *P.harmala* إلى الوجبات الغذائية للفراخ أدى إلى انخفاض معنوي في وزن الحيوانات بـ ($P < 0.05$) مقارنة بحيوانات المجموعة الشاهدة، كما بين (Abbassi et al. 2005) أن تعاطي مستخلصات أوراق هذا النبات يوقف من الاستهلاك الغذائي للجراد من نوع *Schistocerca gregaria* (1775) وفي دراسة أخرى لـ (Bouayad et al. 2011) بين أن إضافة قلويدات B-carboline إلى النظام الغذائي لحشرة *Plodia interpunctella* أدى إلى انخفاض محسوس في وزن اليرقات.

سجلت زيادة معنوية في الكتلة النسبية لكل من الكبد والكلى لأفراد المجموعة المعالجة بـ 100 و 200 ملغ/كغ من المستخلص القلويدي بـ ($0.01 < P < 0.05$)، تعزى هذه الزيادة إلى استجابة التكيف (التهاب أو نقص النشاط هذان العضوان) المتعلق بتراكم المواد السامة و نواتج تفاعلاتها نتيجة عمليات الأيض البطيئة لإفراز هذه المواد، هذا ما يؤكد تلف الكبد والكلى.

كما فسر الباحث (Rasekh et al. 2008) أن زيادة في وزن الأعضاء الداخلية يكون مرتبط بظهور احتقان دموي في هذه الأعضاء، أما (Betti et al. 2012) بين أن زيادة في وزن الأعضاء تعود إلى ظهور التهابات على مستوى هذه الأعضاء، هذه التفسيرات تطابق نتائج دراستنا النسيجية للكبد و الكلى حيث لوحظ احتقان دموي شديد على



مستوى الكيبيبة و الأنابيب الكلوية والتهاب حاد في الفتحة البوابية للكبد. تم الإبلاغ عن مثل هذه النتائج من قبل (Jimoh *et al*, 2008) الذي وجد أن هناك زيادة في الأوزان النسبية للكبد و الكلى في إدارة مستخلصات *Arctotis arctotoides*، وكذلك نتائج Boussahel (2011) التي بينت زيادة نسبية في أوزان الكبد و الكلى الفئران المعالجة بنبات *Retama sphaerocarpa* L. المتواجد بمنطقة سطيف.

كذلك سجل انخفاض معنوي كبير قدر ب ($0.01 < P < 0.001$) في الكتلة النسبية للخصيتين عند المجموعتين الثالثة والرابعة مقارنة بالمجموعة الشاهدة، هذه النتائج تؤكد وتدعم الابحاث التي قام بها كل من (El-Dwairi & Banihani 2007) حيث بين هذان الباحثان أن إدارة المستخلص المائي لنبات الحرمل بجرعة 300 ملغ/كغ من وزن جسم الحيوان (male albino rats) لمدة 60 يوما أدى إلى انخفاض كبير في وزن الأعضاء التناسلية ($0.01 < P < 0.001$) بالمقارنة مع الضوابط، وبالتالي نستنتج من مقارنة نتائج هذه الدراسة ومن بحثنا أن القلويدات هي المادة الفعالة السامة المتواجدة ضمن المسخلص المائي و المسؤولة عن انخفاض الكتلة النسبية للأعضاء التناسلية الذكورية.

كما لوحظ انخفاض معنوي في مستويات الجلوكوز للمجموعة الثالثة و الرابعة المعالجة بجرعة (100-200) ملغ/كغ من المستخلص القلويدي الخام ب ($0.01 < P < 0.05$) و ($p < 0.001$) على الترتيب، هذا يفسر حسب (Bhushan *et al.* 2010) أن القلويدات تثبط من عمل إنزيم alpha-glucosidase كما تقوم بتحفز إفراز الأنسولين وتمنع من تشكيل الجلوكوز في مجرى الدم.

نتائجنا حول انخفاض مستويات الجلوكوز توافق نتائج كل من (Fortunato *et al.* 2009) و (Waki *et al.* 2010) حيث بينوا في دراستهم أن قلويدات نبات الحرمل لها دور هام في مكافحة مرض السكري، كذلك أفادت تقارير كل من (Nafisi *et al.* 2011) و (Singh *et al.* 2008) أن المستخلصات الإثانولية لنبات *P.harmala* لها دور في تخفيض نسبة السكر في الدم حيث تلعب المركبات الفعالة المتواجدة في هذه المستخلصات على قمع مستوى السكر، وخفض الكوليسترول والدهون الثلاثية في البلازما بشكل ملحوظ وتعمل على زيادة نشاط إنزيم glucokinase في الكبد من خلال تعزيز إفراز الأنسولين من جزر البنكرياس.

يعتبر تحليل مكونات الدم من المؤشرات الدالة على سمية المواد الكيميائية، لأنها تمثل علامات هامة تحدد الحالة الفسيولوجية والمرضية للإنسان والحيوان (Li *et al.*, 2010)، فيما يخص المعايير الدموية لم يلاحظ أي تغير معنوي في مؤشرات المتمثلة في الهيموجلوبين، الإيماتوكريت، عدد كريات الدم الحمراء، عدد كريات البيضاء القاعدية وعدد كريات البيضاء وحيدة الخلية، ما عدا عدد الكريات البيضاء وعدد الخلايا المفاوية، هذه النتائج جاءت مماثلة لنتائج



(2008) *Muhi-eldeen et al.* وغير مطابقة لنتائج (2012) *Rezzague* الذي بينت دراسته انخفاض معنوي في عدد الكريات الدم الحمراء والهيموجلوبين، اختلاف في النتائج يعود إلى نوعية المادة المحقونة، حيث فسر الباحث أن الانخفاض في هذه المعايير يعود إلى مادة الصابونين المتواجدة في المستخلص المائي لنبات الحرمل.

تعاطي المستخلصات القلويدية بعد 30 يوماً، أدى إلى زيادة معنوية في نشاط إنزيمات الكبد المتمثلة في ALT بـ (0.01 < P < 0.05)، (0.001 < P < 0.01) و P < 0.001 للمجموعات المعالجة بـ (50-100-200) ملغ/كغ على الترتيب، وكذلك زيادة معنوية في كل من إنزيم AST و ALP بـ (0.01 < P < 0.05) للمجموعات المعالجة بـ 100 و 200 ملغ/كغ، هذه الزيادات تدل على حدوث نخر على مستوى الأنسجة الخلوية و تلف الغشاء البلازمي لخلايا الكبد الذي أدى إلى تسرب مجموعة متنوعة من هذه الإنزيمات (ALT، AST، ALP) الموجودة في cytosole إلى الدم، حيث يستعمل تحليلها في المصل كعلامات لقياس ضرر الكبد، النتائج التي توصلنا إليها حول ارتفاع مستويات إنزيمات الكبد توافق نتائج (2008) *Al-Hazmi* في دراسته حول تأثير المستخلص المائي لبعض النباتات الطبية على الفئران، نتج عن هذه الدراسة زيادة معنوية في مستويات ALT، AST و ALP للفئران البيضاء المعالجة بـ 100 ملغ/كغ من المستخلص المائي لأوراق كل من نبات *P. harmala* و نبات *Anchusa affinis* (وردة لسان الثور) ونبات *Fumaria parviflora* (الباقلاء)، حيث أشار الباحث أن هذه النباتات غنية بالمركبات القلويدية.

كذلك دراستنا النسيجية للكبد أكدت من حدوث تغيرات في نشاط هذه الإنزيمات، حيث بين المجهر الضوئي وجود تلف كبدي عند المجموعات المعالجة بـ 100 و 200 ملغ/كغ، من نتائج أنواع مختلفة من النخر الخلوي، تفسر هذه النتائج أن المركبات القلويدية لها القدرة على تثبيط الفسفرة التأكسدية (تمنع تشكل ATP انطلاقاً من ADP) داخل العضيات الخلوية خاصة على مستوى الميتوكوندريّة والشبكة الأندوبلازمية، حيث أفادت أبحاث كل من

(2002) *Boeira et al.* و (2009) *El Gendy et El-Kadi* أن القلويدات لها تأثير مثبط لأنزيم السيستوكروم (Cytochrome P450) في الميتوكوندريا، ومن المعروف أن هذا الإنزيم يدخل ضمن الإنزيمات المسؤولة عن عمليات الميتابوليزم في الكبد.

وأشار (2002) *Boeira et al.* أيضاً أن الخلايا الأكثر عرضة لهذا التثبيط الإنزيمي هي التي تتميز بنسيج ذو نشاط أيضي عالي مثل أنسجة عضو: الكبد، الكلى، البنكرياس و عضلة القلب.

نسجل وجود خلايا مناعية من نوع Histiocyte، Poly nucléole، Lymphocyte و Plasmocyte على مستوى الفتحة البوابية مما يدل على وجود التهاب حاد في هذه المنطقة، هذا يعزز نتائج الزيادة المعنوية في عدد الكريات البيضاء (GB) وعدد الخلايا اللمفاوية (Lymphocyte) في مجرى الدم المجموعة الثالثة والرابعة خلال الأسبوع

الثالث والرابع من المعالجة، يعود سبب زيادة إرتشاح الخلايا الالتهابية إلى انجذاب هذه الخلايا للمناطق المتضررة و المحاولة في إصلاح وترميم تلك المنطقة.

لوحظ توسع الجيوب الدموية بسبب عقار القلويدات الذي قد يعزى إلى تحرر حامض الاريكيدونيك الموجود في الدهون الفوسفورية الذي يدخل ضمن تركيب الخلايا الكبدية مما يؤدي إلى تنشيط التصنيع الحيوي لإنزيم Cyclooxygenase هذا بدوره يؤدي إلى تنشيط Prostaglandine الذي يتسبب في توسع الاوعية الدموية (Ahmed Alsalman, 2012).

لوحظ ايضا زيادة حجم بعض الخلايا الكبدية وبعض أنويتها، واحتواء بعض الخلايا على أكثر من نواة، تضخم الخلايا الكبدية ربما يعود إلى تأثير القلويدات على انخفاض مضخة الصوديوم والبوتاسيوم حيث يؤدي هذا إلى احتباس الصوديوم نتيجة لزيادة الضغط التناظفي داخل الخلية وانتفاخها (Ahmed Alsalman, 2012)، كذلك لوحظ وجود فجوات صغيرة وكبيرة داخل السيتوبلازم أدت هذه الأخيرة إلى ابتعاد النواة إلى المحيط و ظهور السيتوبلازم بشكل رائق، هذه الفجوات دالة على تراكم الدهون وهي مؤشر لبداية التنكس الدهني *stéatose* عند المجموعة المعالجة بـ 200ملغ/كغ.

لوحظ فقدان لبعض الخلايا الكبدية وبالأخص النواة للصبغ وظهور النوية بشكل بارز، يمكن تفسيره في ضوء دراسة قام بها (Sahapong *et al.* 1992) أن ارتباط أي مادة سامة بالحمض النووي تؤدي إلى تحلل الريبوسومات التي تقوم بتصنيع البروتين في خلايا الكبد، مما يفقد الخلايا صباغها الطبيعية، هذا التفسير يؤكد مرة أخرى على مدى سمية القلويدات.

بعض هذه الملاحظات جاءت مماثلة لملاحظات ناتجة عن دراسة حديثة لـ (Sallal Mohamed *et al.* 2013) حول تأثير تناول بذور نبات *P. harmala* العراقي على كبد الفئران، حيث بنت نتائجها أن تعاطي جرعة 150 ملغ/كغ من المستخلص الكحولي لبذور الحرمل أدت إلى تأثيرات سامة شديدة على عضو الكبد تمثلت في تضخم في بعض الخلايا الكبدية وزيادة في حجم أنويتها، احتقان الأوردة المركزية، اتساع في الجيوب الكبدية، تسرب وحيدات النوى (mononucléaires)، نخر بؤري في خلايا الكبد.

النتائج المتحصل عليها حول الدراسة النسيجية للكبد تؤكد ما جاء في أبحاث (Qazan 2009) عن وجود تسمم كبدي عند الفراخ التي تناولت نسبة 10% من أوراق الحرمل، نجم عنه نخر في خلايا الكبد و تحوصل في سيتوبلازم الخلايا الكبدية بسبب التنكس الدهني في الكبد، و تدعم كذلك نتائج (Rezzague 2012) التي بنيت تمدد واحتقان الجيوب الدموية عند الفئران التي تناولت جرعة 285.8 ملغ/كغ من مستخلص الايثانولي للحرمل عن



طريق الفم. لكنها لا تتفق مع نتائج (Muhi-eldeen *et al.* (2008) الذي بين انه لا يوجد تشوهات هيكلية في أنسجة كبذ الفئران المعالجة بمستخلص بذور الحرمل الإيراني عن طريق حقنها تحت العضلة.

لوحظ زيادة معنوية في تركيز كل من الكرياتينين واليوريا في المصل عند المجموعتين الثالثة والرابعة مقارنة بالمجموعة الشاهدة، تفسر هذه الزيادة بزيادة تحلل مركبات البروتينية، وأيضا اختلال وظائف الكلى، لأن قياس الكرياتينين و اليوريا يعتبران من المؤشرات الأكثر صدقا على سلامة وظيفة الكلية.

حيث أكد فحص القطاعات النسيجية لعضو كلى الحيوانات المصابة نتائج تحاليل الكيمياء الحيوية ، حيث لوحظ العديد من التغيرات النسيجية المرضية فظهرت كريات ملبيجي غير طبيعية من حيث الشكل والتركيب وفقدت الكثير من الكبيبات شكلها المنتظم فظهرت في حالة إتساع والأخرى في حالة انكماش وضمور مما تسبب في اتساع الفراغ البولي وظهر احتقان شديد في الشعيرات الدموية وركود الدم بها، كما لوحظ تشوه وتحطم بعض الأنبيبات المتلفة القريبة وظهور احتقان شديد بها، كما برز في النسيج البيني علامات التهاب خلوي متمثلة في ظهور الخلايا اللمفاوية وتمدد واحتقان للأوعية الدموية، كذلك لوحظ نخر كبيبي ونخر بؤري.

تتفق نتائج هذه الدراسة مع نتائج الدراسات الحديثة حول التسمم الكلوي للفئران المعالجة بجرعات مختلفة من نبات الحرمل، فقد ذكر (Sallal Mohamed *et al.* (2013) في دراسته أن التسمم النسيجي يظهر في القطاعات النسيجية على شكل تحلل خلوي مصحوبا بتكوين فجوات ونخر بالنسيج. كما أعزى التغيرات النسيجية المرضية بالكلية إلى نقص أو ازدياد معدل الترشيح وخاصة عند تعاطي المواد السامة. كما لاحظ الباحث إحتقان شديد في النسيج البيني وعلامات نزف داخلي بالإضافة إلى ظهور علامات الرشح الخلوي للخلايا اللمفاوية حول كريات ملبيجي وبين الأنبيبات البولية والذي يدل على الالتهاب الكلوي حيث تفرز الكبيبات والأنبيبات الكلوية المحطمة والأوعية الدموية وسائط كيميائية لها جاذبية للخلايا الإلتهابية، لتساعد على الرشح الإلتهابي، اما تحلل الكبيبات يعزى إلى تحلل الخلايا الوسطية التي تدعم جدران الشعيرات الدموية بالكبيبة وتؤدي إلى تدهورها.

اما (Qazan (2009 بين من وجود إحتقان واسع ونزيف وضرر في الأنابيب الكلوية القريبة عند الفراخ التي تناولت نسبة 10% من أوراق الحرمل، يعود النزيف الحاد والإحتقان في أنسجة الكلى المصابة إلى التحطم المباشر للخلايا الطلائية المبطنة للأوعية الدموية.

لاحظ (Sahaphong *et al.* (2005) في دراسة أجراها حول تأثير aflatoxin B1 على الفئران نخر في الانبيبات و ضمور أنوية الخلايا مما يشير إلى هلاكها، حيث يعزى النخر الأنبوبي في كلى الحيوانات المصابة إلى التأثيرات المباشرة للمواد السامة على الكلى و المتمثلة في إعاقه العمليات الأيضية، كما تكون الخلايا الطلائية المبطنة للأنبيبات البولية والخلايا الطلائية الداخلية المبطنة لجدار محفظة بومان والمحيطة بالكبيبة أهدافاً لتلك السموم.



دراستنا المفصلة سواء من الناحية البيوكيميائية او النسيجية دالة على تسمم كل من الكبد والكلى بقلويدات بذور الحرمل الجزائري، هذه النتائج تدعم ما جاء في ابحاث كل من:

Benouadah *et al.* وكذلك أبحاث (Sallal Mohamed *et al.* 2013; Rezzague, 2012; Qazan 2009) (2012) حيث بين الباحث توسع واحتقان الأوردة الدموية في الفصيصات المركزية و نخر بؤري في الكبد كما سجل إنتفاخ أنبوبي وكذلك نخر بؤري في الكلى وهذا عند الفئران المعالجة بقلويدات بذور نبات *Datura stramonium*.

في ختام مناقشة هذه النتائج تبين لنا أن قلويدات بذورالحرمل والمتمثلة في الحارمين و الحارملين و المركب القلويدي الغير المعروف تمارس تأثيرات سامة و قوية على أنسجة كبد وكلى الفئران المعالجة بجرعة 100 ملغ /كغ وما فوق، وبالتالي لا يجوز استخدامها في غذاء الإنسان وغيرها من الحيوانات.

الخاتمة

الخاتمة

تعتبر النباتات الطبية من أقدم النباتات التي عرفها واستخدمها الإنسان بغرض الغذاء والدواء على مر العصور حتى عصرنا الحاضر، الذي تجلت فيه مدى أهمية هذه النباتات وتعددت استخداماتها فبدأت تدخل في بعض الصناعات الغذائية كمواد حافظة ومكسبات للطعم وفاتحات للشهية وغيرها من الاستخدامات ذات الأهمية الاقتصادية الكبيرة.

وتعتبر بلادنا الجزائر غنية بهذا المورد الطبيعي الهام لما لها من مساحات واسعة ومناخات عديدة بحرية، قارية، صحراوية ولما تتمتع به من دفء و سطوع شمسي وطقس جميل، وتربة متنوعة وخصبة في معظمها. ولاشك أن لهذه المناخات والتربة من اثر بالغ ليس فقط على شدة التنوع النباتي ولكن أيضا على تركيب النباتات وإعطائها المميزات الخاصة، ويعد نبات *P.harmala* التابع للفصيلة الرطراطية واحد من هذه النباتات و بناء على هذا ركزنا في دراستنا البحثية على إجراء مسح فيتو كيميائي لهذا النبات بغرض الكشف عن 12 عائلة كيميائية في مختلف أعضائه، وقد أسفرت نتائج المسح الفيتو كيميائي عن وجود 80 اختبار ايجابي من ضمن 108 اختبار تم الكشف عنها أي ما يعادل 74.07% وهي نسبة جد معتبرة تدل على غنى هذا النبات بالمنتجات الطبيعية، وتشجع على الاستمرار في البحث فيها، كما تم إستخلاص وتقدير القلويدات كيميا حيث تبين أن البذور تحتوي على أكبر نسبة من القلويدات والتي قدرت بـ 3.94%، أما الفصل الكروماتوغرافي بواسطة (CCM) بين ان مسخلص الجذور والبذور والثمار يحتوي على قلويدي الحارمين و الحارملين ذات معاملات إنسياب مساوية لـ (0.34، 0.82) وهذا مع نظام مذيب مكون من (CH₃OH/CHCl₃/NH₄OH) بحجم (80/20/1.5) تم تشخيصها بواسطة القلويدات القياسية. كما جاء التحليل الكروماتوغرافي الدقيق بواسطة تقنية HPLC مؤكدا لكروماتوغرافيا (CCM) على ان مسخلص الجذور والبذور والثمار يحتوي على قلويدي الحارمين و الحارملين بازمنة حمز مطابقة الى حد كبير ازمنة حمز القلويدات القياسية وهذا باستخدام شروط كروماتوغرافية ممتثلة في عمود من نوع (Nucleosil 100-5 C18) قطره الداخلي 4.6 mm وطوله 125 mm و حجم حبيباته 5 um، واستخدام طور متحرك مكون من: Isopropyl alcohol / Acetonitrile / Water / Formic acid بحجم (100:100:300:0.1) مع تعديل درجة الحموضة pH=8 بواسطة triethylamine و سرعة جريان 1.5 مل / دقيقة وطول موجة 330 نانومتر. كما بين التحليل الكروماتوغرافي ايضا من وجود قلويد اخر في مستخلص البذور والثمار له معامل انسياب يساوي 0.46 وزمن حمز بلغ مع البذور بـ 1.88 دقيقة اما مع الثمار قدر بـ 1.86 دقيقة.

تعتبر القلويدات الاندولية المادة الرئيسية والفعالة في نبات الحرمل لذا قمنا باختبارها ضد النشاط البكتيري على بعض السلالات الموجبة الجرام مثل *Staphylococcus aureus*، *Staphylococcus saprophyticus*، والسالبة الجرام مثل *Serratia* و *Proteus mirabilis*، *Pseudomonas aeruginosa*، *Klebsiella pneumoniae*، *Escherichia coli*، وهذا باستخدام طريقة الانتشار في الوسط المغذي، أظهرت المستخلصات القلويدية الخامة للبذور والجذور نشاط ملموس ضد جميع الكائنات المختبرة، حيث يبدي المستخلص القلويدي الخام للبذور نشاط عالي عند التركيز 100 مل/مغ ولكنه غير معنوي ($P>0.05$) مقارنة بفعالية المستخلص القلويدي للجذور بنفس التركيز خاصة على السلالات الموجبة الجرام، إذ تراوحت أقطار مناطق التثبيط لهذه المستخلصات بين (11 و 22) ملم، كما تم تحديد

قيم التركيز الأدنى المثبط CMI والتركيز الأدنى القاتل CMB، حيث لوحظ أن كلا التركيزين CMI و CMB للمستخلصات القلويدية الحامة للبذور و الجذور تساوي **0,78 ملغ/مل** مع سلالة *S. aureus*.

كما تم من خلال هذه الدراسة الحالية تحقيق الأهداف المقترحة لخطوة البحث حول التأثيرات السلبية الناجمة عن التعاطي الحاد و شبه المزمّن لقلويدات البذور من خلال تحديدنا للجرعة النصف القاتلة (**DL50**)، حيث تبين أن مقدار **DL50 = 350 ملغ/كغ** من وزن جسم الحيوان وهذا بإتباع طريقة Berhens et Karber والطريقة الاحتمالية للمربعات الصغرى، أما مع طريقة Finney قدرت (**DL50**) بـ **328.48 ملغ/كغ**، هذه التراكيز تصنف قلويدات بذور الحرمل ضمن المواد الكيميائية المتوسطة السمية، بالإضافة إلى هذا تمت ملاحظة بعض التغيرات السريرية منها: زيادة ضربات القلب، هيجان، هزات في العضلات، صعوبة التنفس، انخفاض النشاط الحركي، فقدان الشهية ونعاس.

أما دراسة السمية شبه المزمّنة تركزت على التأثيرات الفسيولوجية لوظائف الكبد والكلية ودراسة التغيرات النسيجية المرضية في هذه الأعضاء، حيث أظهرت هذه الدراسة أن الحقن في حالة التسمم شبه المزمّن ولمدة 4 أسابيع بالمستخلص القلويدي للبذور خاصة مع الجرعة **200 ملغ/كغ**، قد أحدث انخفاضاً معنوياً في وزن الحيوانات المجموعة الثالثة والرابعة مقارنة بالزيادة الطبيعية في جردان المجموعة الشاهدة، كذلك لوحظ زيادة معنوية (**P<0,05**) في الوزن النسبي لعضو الكبد وعضو الكلى أما الخصيتين سجل معها انخفاض معنوي (**P<0,01**) في الوزن النسبي لكلا المجموعتين الثالثة والرابعة مقارنة بالمجموعة الشاهدة.

كما بينت هذه الدراسة وجود تأثير إيجابي للقلويدات في خفض نسبة السكر في الدم بتغير معنوي قدر بـ (**p<0.001**) مع الجرعة **200 ملغ/كغ**، أما نتائج التحليل الكيموحيوي مع نفس الجرعة أدى إلى ارتفاع معنوي في بعض انزيمات الكبد في الدم مثل انزيم **ALT** بـ (**P<0,001**) أما إنزيمي **AST** و **ALP** قدر بـ (**P<0,05**).

كذلك سجل ارتفاع معنوي (**P<0,01**) في مؤشرات الكلية منها الكرياتينين و اليوريا وهذا بعد 30 يوماً من المعالجة، وهذا ما أكدّه الفحص النسيجي، حيث أظهرت المقاطع النسيجية حدوث تلف في نسيج الكبد تضمن التهاب على مستوى الفتحة البوابية، تضخم بعض الخلايا الكبدية مع زيادة في حجم أنويتها، ظهور أنواع مختلفة من النخر و بداية ظهور مرض التشحم الكبدي (**stéatose**) الناتج من ظهور الفجوات المخزنة للدهون في سيتوبلازم الخلايا الكبدية. أما فيما يخص مقاطع عضو الكلية لوحظ ضمور واحتقان دموي وكذلك نخر على مستوى الكلية مع إحترقان في بعض الأنابيب الكلوية المحيطة بالكرة البولية وتغير بنيتها و ظهور حالة نخر بؤري.

بالرغم من النسبة المئوية العالية لنتائج المسح الفيتوكيميائي، والفعالية الجيدة للقلويدات ضد النشاط البكتيري، إلا أن بعض النتائج المشار إليها في التسمم الحاد و شبه المزمّن، تؤكد سمية قلويدات بذور الحرمل الجزائري على حيوانات التجارب لذا يستوجب الحذر الشديد عند تعاطي هذا النبات لأغراض علاجية في الطب البديل.

قائمة المراجع

Bibliographie**A**

- Abayomi, S. (1996)** plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique. Edition : Académie suisse des sciences naturelles, pp: 191-193.
- Abbassi, K., Mergaoui, L., Atay-Kadiri, Z., Stambouli, A., et Ghaout S. (2005)** Activités biologiques des feuilles de *Peganum harmala* (Zygophyllaceae) en floraison sur la mortalité et l'activité génésique chez le criquet pèlerin, *J. Zoologica baetica*, **16** : 31- 46.
- Abdel-Aziz, H.G., Abdel Kader, S.M., El-Sayed, M.M., EL-Malt, E.A., Shaker, E.S. (2010)** Novel beta-carboline alkaloid from *Peganum harmala* as antibacterial agent. *Tenth Radiation Physics and Protection Conference*, **4(1)**: 27-30.
- Adhami, HR., Farsam, H., Krenn, L. (2011)** Screening of medicinal plants from Iranian traditional medicine for acetylcholine esterase inhibition. *J. Phytother Res.*, **25(8)**: 1148-1152.
- Ahmad, M., Ashraf, M., Khan, M. S., Javeed, A., Durrani, Z. A., Khan M. R., Altaf, I., Ijaz M, Malik, N. A (2013)** Toxic Effects of Chloroform and Aqueous Extracts of *Peganum harmala* on Hematological and Growth Parameters in Rabbits, Pakistan *J. Zool.*, vol., **45 (4)**: 989-995.
- Ahmed Alsalman, M.A.A. (2012)** Effect of tamoxifen on hepatic cell of femals albine mice the electron microscopical study, *Iraqi Journal of Science*. **35 (1)**: 68-76.
- AL-Hazmi, M. A. (2008)** Effect of some medicinal plants extract on aggressive behaviour of laboratory mice. *J. KAU. Sc.i*, **14**: 13-23.
- Almaghrabi, O.A., Moussa, T.A.A. (2012)** GC–MS analysis of liposoluble constituents of *Peganum harmala* plant in Saudi Arabia. *Journal of Sciences*. **65(11)**: 658-673
- Amin, E., Wang, Y.H., Avula, B., El-Hawary, S.S., Fathy, M.M., Mohammed, R., Khan, I.A.(2013)** Simultaneous determination of saponins and a flavonoid from aerial parts of *Zygophyllum coccineum* L. *Journal of AOAC International*. **95(3)**:757-62.
- An, D., Zhu, Y., Tang, J., Ye, Y. AND Zeng, X. (2010)** Screening of harmine tolerance/degrading bacteria from camel rumen. *Wei Sheng Wu Xue Bao.*, **50**: 1001-7.
- Asgarpanah, J and Ramezanloo, F. (2012)** Chemistry, pharmacology and medicinal properties of *Peganum harmala* L. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*. **6 (22)**: 1573-1580.
- Asghari, G., Lockwood, G.B (2002)**. Stereospecific biotransformation of (±) phenylethyl propionate by cell cultures of *Peganum harmala* L. *Iran Biomed. J.* **6**: 43-46.
- Aslam, N., Wani A. A., Nawchoo, I. A., Bhat, M. A. (2014)** Distribution and Medicinal importance of *Peganum harmala*- A review. *International Journal of Advanced Research* (2) **2**: 751-755

Avril, J.L., Dabernat, H., Denis, F., Monteil, H. (2000) Bacteriologies Clinique. 3^{eme}ed. Paris, ellipses. pp: 152 – 153.



Balbaa, S, I., Hilal, S H., Zaki, A.Y (1981) medicinal plant constituent Egyptain – General organisation for university and school book. pp: 424 – 437.

Bansal, V., Malviya, R., Pal O.P and Sharma, P.K. (2010) Hich Performance Liquid Chromatography. *Journal of Global Pharma Technology*, 2(5): 22-26.

Bartels, H., Bohmer. M. (1972) Estimation of creatinine clearance in patient with instable renal function. *Clim.Chem. Art.* 37: 173.

Baytop, T. (1999) Herbal treatments in Turkey, (Past and Present) 2. Baski, [Tükiye'deBitkilerleTedavi (GecmisteveBugün)] Nobel Tip Kitapevleri Ltd. Sti., Istanbul Turkey, (In Turkish) 35-90

Bellakhedar, J.(1997) La pharmacopée marocaine (Médecine arabe et ancienne et savoirs populaires). *Ibis Press. Saint Etienne*, 746 pp.

Ben sallah, N., Amamou M., Jerbi, Z., Ben salah, F. Et yacoub, M. (1986). Un cas de surdosage en *Peganum harmala* L.*Journal de Toxicologie Clinique et Expérimentale*, 6: 319-322.

Benbott, A., Bahri, L., Boubendir, A., Yahia, A. (2013) Study of the chemical components of *Peganum harmala* and evaluation of acute toxicity of alkaloids extracted in the Wistar albino mice. *J. Mater. Environ. Sci.*, 4 (4): 558-565.

Benouadah, Z., Mahdeb, N., Bouzidi. A., Rouabah, A. (2012) Toxicité Aigüe des Alcaloïdes Totaux des Graines de Datura Stramonium Chez les Souris Femelles, *European Journal of Scientific Research.*, 73 (3): 310-321

Bergner, P. (2001) Passiflora: Passion flower. Medical Herbalism. *Ajournal for the clinical practitioner.*, (12): 13-15

Betti, HA., Stein, AC., Dallegrove, E., Barth Wouters , AT., Negrão Watanabe, TT., Driemeier D., Buffon, A & Kuze Rates, MS. (2012) Acute and repeated-doses (28 days) toxicity study of *Hypericum polyanthemum* Klotzsch ex Reichardt (Guttiferare) in mice. *Food and Chemical Toxicology*, 50 (7) :2349-55

Bhushan, M.S., Rao, C.H.V., Ojha, S.K, Vijayakumar, M., Verma A. (2010) An analytical review of plants for anti diabetic activity with their phytoconstituent& mechanism of action. *IJPSR* (1): 29-46.

Bing, Q., Takanori, N., Hiroshi, S and Masataka, M. (2009) Pilocarpine-induced salivary fluid secretion in the per-fused submandibular gland of the rat . *The Journal of Medical Investigation.*, 56: 281-283

Bishnu, P.C., Zeev, W., Leah, t. (2007) In vitro study of the antifungal activity of saponin-rich extracts against prevalent phytopathogenic fungi. *Industrial crops and products.*, 26: 109-115.

- Boeira, J.M, Viana, A.F, Picada, J.N, and Henriques, J.A (2002)** Genotoxic and recombino-genic activities of the two beta-carboline alkaloids harman and harmine in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mutat Res*, **50**: 39–48.
- Bolou, G.E.K., Attioua, B., N'guessan, A.C., Coulibaly A., N' guessan, J.D.et Djaman A.J. (2011)** Évaluation in vitro de l'activité antibactérienne des extraits de *Terminalia glaucescens* planch. sur *Salmonella typhi* et *Salmonella typhimurium*. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, **80** : 772 – 790
- Bonnet, U., Leniger, T and. Wiemann, M. (2000)** Moclobemide reduces intracellular pH and neuronal activity CA3 neurones in guinea-pig hippocampal slices, implication for its neuroprotective properties. *Neuropharmacology*, **39**: 2067-2074.
- Bouayad N, Rharrabe K, Lamhamdi M, Nourouti NG, Sayah F. (2011)** Dietary effects of harmine, a B-carboline alkaloid, on development, energy reserves and a amylase activity of *Plodiain terpunctella* H ü bner [Lepidoptera: Pyralidae]. *Saudi Journal of Biological Sciences* ., **19(1)**: 73-80.
- Boussahel, S (2011)** Étude biochimique et histologique de l'effet de quelques extraits des plantes toxiques dans la région de Sétif. Thèse pour l'obtention du diplôme magister en Biologie et Physiologie végétale de l'université *Ferhat Abbas – Sétif*, p: 47 – 77.
- BOUZIDI, A ., MAHDEB, N. , KARA, N. et BENOUDAH, Z. (2011)** Analyse qualitative et quantitative des alcaloïde totaux des graines de *datura stramonium* L. *Journal of Agriculture*, **2**: 79-88.
- Broadley, J.K., Kelly, D.R. (2001)** Review: Muscatine Receptor Agonists and Antagonists. *Molecules*; **6**: 142-193.
- Bruneton J. (2009)** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 4ème édition. Ed. Lavoisier Tec & Doc., Paris, pp: 1.270.
- Bruneton, J. (2001)** plante toxique, végétaux dangereux pour l'homme et les animaux. 2^{ème} edit. *tec doc. Lavoisier, paris*. Pp : 481-710.

C

- Cao, R., Peng, W., Chen, H. (2005)** “DNA binding properties of 9-substituted harmine derivatives,” *Biochemical and Biophysical Research Communications*.,(**338**) **3**: 1557–1563.
- Charles, S. (2006)** la lectine PA- IIL de *pseudomonasaeruginosa*: structure, affinité et spécificité pour des ligands naturels et glucomimétique. These pour l'obtention du diplôme docteur de l'université *Joseph Fourier*, p: 14 – 29.
- Chung, M.J., Chung C. K., Jeong, Y., and Ham, S. S (2010)** Anticancer activity of subfractions containing pure compounds of Chaga mushroom (*Inonotusobliquus*) extract in human cancer cells and in Balbc/c mice bearing Sarcoma-180 cells. *Journal of Nutr Res Pract*. **4(3)**:177-182.

D

- Darabpour, E., Bavi, A.P., Matmedi, H and Nejd ,S.M.S. (2011)** Activité antibacterienne des différentes parties de *Peganum harmala* L. croissance en Iran contre bactéries multi-résistant. *Excli journal*, **10** : 252-263.
- Diba, K., GeramiShoar, M., Shabatkhori, M and Khorshivand, Z. (2011)** Anti fungal activity of alcoholic extract of *Peganum harmala* seeds ,*Journal of Medicinal Plants Research*.,**5(23)**: pp. 5550-5554.
- Diezi, J. (1992)** Toxicologie: principes de base et répercussions cliniques. In: Slatkine-Genève, editor. Pharmacologie des concepts fondamentaux aux applications thérapeutiques. risque. Paris : Masson, pp. 33–44.
- Doughari, J.h and pukumia, M.S. (2007)** antibacterial effect of *blanite saegyptiacal Drel*. And *Moringa oleifera* L am.on *salmonella typhi*. *African Journal of biotechnology*., **6(19)**: 2212-2215.
- Dube, A., Misra, P., Khaliq, T., Tiwari, S., Kumar, S., Narender, T. (2011)** Therapeutic Potential of Harmala (*Peganum harmala* L.) Seeds with an Array of Pharmacological Activities, *Journal of Nuts and Seeds in Health and Disease Prevention*., 601–609

ع

- Eberlin, T., Renaud, F. (1994)** Etude de la *sensibilité des bactéries* aux antibiotiques, in Manuel de bactériologie clinique. Editions Scientifiques Elsevier, paris. Pp : 431-456.
- Edziri, H., Mastouri, M., Mahjoub, M.A., Patrich, G., Matieu, M., Ammar,S., Ali, S.M., Laurent, G., Zine, M.&Aouni, M. (2010)** Antibacterial, antiviral and antioxidant activities of aerial part extracts of *Peganum harmala* L. grown in Tunisia, *Toxicological & Environmental Chemistry*., (**92**) **7**: 1283–1292.
- Edziri, H., Mastouri, M., Mahjoub, M.A., Patrich, G., Matieu, M., Ammar,S., Ali, S.M., Laurent, G., Zine, M.&Aouni, M. (2010)** Antibacterial, antiviral and antioxidant activities of aerial part extracts of *Peganum harmala* L. grown in Tunisia, *Toxicological & Environmental Chemistry*., (**92**) **7**: 1283–1292.
- Ehsanpour, A.A., Saadat, E (2002)**. Plant regeneration from hypocotyl culture of *Peganum harmala*. *Pak. J. Bot.* **34**: 253-256.
- Eisenbrand, G., Pool-Zobel, B., Baker, V., Balls, M., Blaauboer, B.J. (2002)** Méthodes de toxicologie in vitro. *Journal of Food and Chemical Toxicology*, **40** (**3**): 193-236.
- El- Gendy, MA., El-Kadi, AO. (2009)** *Peganum harmala* L. Differentially modulates cytochrome P450 gene expression in human hepatoma HepG2 cells. *Drug MetabLett* **3**:212-6.
- El-Bahri L, Chemli R. (1991)** *Peganum harmala* L: a poisonous plant of North Africa. *Vet Hum Toxicol.*, **33**:276-277
- EL-Dawairi, Q.A and Banihani, S.A (2007)** histo-functional effects of *Peganum harmala* on male rats spermatogenesis and fertility. *NeuroEndocrinolLett.*, **28(3)**: 305-10
- Evans, W.C. (2002)** pharmacognosy 15th ed Elsevier science limited, New York, pp: 156-200.

F

- Facchini, P.J., bird, D.A., St- pierre, B. (2004)** can arabidospsis make complex alkaloids. *Journal of Trentd plant sci.*, **9(3)**:116-122.
- Faridi, P., Ghasemi, Y., Mohagheghzadeh, A (2013)** Chemical Composition of *Peganum harmala* Smoke and Volatile Oil. *Journal of TEOP*.**16(6)**: 850 – 854
- Farouk, L., Laroubi, A., Aboufatima, R., Benharref, A and Chait, A. (2009)** Evaluation of the analgesic effect of alkaloid extract of *Peganum harmala* L.: Possible mechanisms involved. *J. Ethnopharmacol*, 115: 449-454.
- Farzin D., Haghparast A., Motaman S., Baryar F., Mansouri N. (2011)** Effects of harmane and other β -carbolines on apomorphine induced licking behavior in rat. *Pharmacol Biochem Behav.*, **98(2)**: 215-219.
- Faucher, J.L., Avril, J.L. (2002)** Bactériologie générale et médicale, édition ellipses, paris. P : 151-165.
- Fortunato, J.J., Réus, GZ., Kirsch, TR., Stringari, RB., Stertz, L., Kapczinski, F., et al. (2009)** Acute harmine administration induces antidepressive-like effects and increases BDNF levels in the rat hippocampus. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.*, **33**: 1425-30.
- Fossati, P., Principe, L. (1982)** Serum triglycerides determined calorimetrically with an enzyme that produces hydrogen peroxide-clinical chemistry, 28, 2077-2080.

G

- Gardette, J-L., Baba, M. (2013)** FTIR and DSC studies of the thermal and photochemical stability of *Balanitesaegyptiaca* oil (Toogga oil). *Journal of Chemistry and Physics of Lipids.*, 171: 1-7.
- Gatermann, S., Meyer, H.G. (1994)** *Staphylococcus saprophyticus* hémagglutinine se lie la fibronectine. *Journal of Infect Immun.*, 62 (10) :4556-63.
- Gérolani, R (2005)**. Manifestations de l'action des toxiques au niveau hépatique. In: Toxicologie. 2nded. Lavoisier (Paris), 167-172.
- Glennon, R.A., Dukat, M., Brella, B., Hongs, S. (2000)** Binding of β -carbolines and related agents at serotonin (5-HT₂ and 5-HT_{1A}), dopamine (D₂) and benzodiazepine receptors, *Drug Alcohol Depend.*, **60**: 121-13
- Gouille, J.P., Gilbert, P., DUMESTRE-TOULET, V., LACROIX, C. (2004)** Botanique, chimie et toxicologie des solanacées hallucinogènes : belladone, datura, jusquiame, mandragore. *Ann Toxicol Anal*; **16** : 22-35

H

- Hamouda, C., Amamou, M., Thabet, H., Yacoub, M., Hedhili, A., Bescharnia, F., Ben Salah N., Zhioua, M., Abdelmoumen, S., El Mekki Ben Brahim, N. (2000)** Plant poisonings from herbal medication admitted to a Tunisian toxicologic intensive care unit, 1983-1998. *J. Vet Hum Toxicol* ;**42(3)**: 137-41
- Hanoon, I. T. and Kharnoob, H. H. (2013)** Determination of Nitrofurantoin in Drug Formulations by High Performance Liquid Chromatography. *Kerbala Journal of Pharmaceutical Sciences.*, 6 :164-178
- Harborne, J.B. (1998)** phytochemical Methods- A Guide to Modern techniques of plant analysis chapman and hall, london, pp: 182-190.
- Hasmall, S.C., Roberts, R.A. (1999)** "The perturbation of apoptosis and mitosis by drugs and xenobiotics". *Journal of PHARM THERA*, 82(1): 63-70.
- Herraiz, T., Gonzalez, D., Ancin-azpiliceta, C., Aran, V.J., Guillen H. (2010)** beta-Carbolinealkaloids in Peganumharmala and inhibition of human monoamine oxidase (MAO). *Journal of FoodChemToxicol.*, 48(3): 839-45.
- Hess, M. (2002)** Alkaloids – Nature's curse or blessing., *J. Verlag Helvetica ChimicaActa.* 411-413
- Huebner, J., Goldmann, D.A. (1999)** Staphylocoques à coagulasse négative: rôle des agents pathogènes. *Journal of AnnuRev Med.*, 50:223-36.
- Humason, G.L. (1967)** Animal tissue Techniques. 2nd ed., Freeman, W.H. & Company. USA.

I

- Ivanova, A., Serly, J., Christov, V., Stamboliyska, B., Molnar, J. (2011)** Alkaloids derived from genus Veratrum and Peganum of Mongolian origin as multidrug resistance inhibitors of cancer cells, *Journal of Fitoterapia.*, **82**: 570–575.

J

- Jimenez, J., Rivero 'n-Negrete, L., Abdullaev, F., Espinosa-Aguirre, J., guez-Arnaiz, R. R (2008)** Cytotoxicity of the b-carboline alkaloids harmine and harmaline in human cell assays in vitro, *Experimental and Toxicologic Pathology.* **60**: 381–389.
- Jimoh, F. O., Adedapo, A. A., Sofidiya, M. O., Masika, P. J., and Afolayan, A. J. (2008).** Safety evaluation of the extract from the shoots of *Arctotis arctotoides* in rats and mice. *African journal of biotechnology.* **7 (18)**: 3173-3177.
- Judd, W., Campbell, C.S., Kellogg, E.A., Stevens (2002)** Botanique systematique, une perspective phylogénétique. 1^{ère} édition, *De Boeck universisté.* pp : 264-266.

K

Kadry, A.K. (2012) A numerical taxonomic study of th family Zygophyllaceae from Egypt .*Acta Bot. Brasilica.*, 26(1): 165-180.

Kartal, M., ML Altun et S. Kurucu. (2003) Méthode HPLC pour l'analyse des HARMOL, harmalol, harmine et harmaline dans les graines de *Peganum harmala*. *J. Pharm. Biomed. Anal*, **31**: 263-269

Khan, A.M., Qureshi R.A., Ullah F., Gilani S.A., Nosheen A., Sahreen S., Laghari M.K., Laghari M.Y.,Rehman S.U., Hussain I. and Murad W. (2011) Phytochemical analysis of selected medicinal plants of MargallaHills and surroundings, *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(25): 6017-6023

Khan, O.F. (1990) Études dans les constituants chimiques de *Peganum harmala*, Thèse doctorat, Université de Karachi, pp : 1-191

Khawar, KM., Ozel, CA., Balci, S., Ozcan, S., Arslan O (2005). Efficient shoot regeneration in Syrian rue (*Peganum harmala* L.) under in vitro Conditions. *Int. J. Agric. Biol.* **7(5)**: 790-793.

Ksouri, W. M, Medini, F., Mkadmini, K., Legault, J., Magné, C, Abdelly, C, Ksouri, R (2013) LC–ESI-TOF–MS identification of bioactive secondary metabolites involved in the antioxidant, anti-inflammatory and anticancer activities of the edible halophyte *Zygophyllum album* Desf. *Journal of Food Chemistry.*, **139 (4)** :1073-1080

L

Laine, A. E., Lood, C., Koskinen, A.M. P. (2014) Pharmacological Importance of Optically Active Tetrahydro- β -carbolines and Synthetic Approaches to Create the C1 Stereocenter, *Journal of Molecules.*, **19**:1544-1567.

Lamchouri, F., Zemzami, M., Jossang, A., Settaf, A., I sraili, Z. H and Lyoussi, B (2013) Cytotoxicity of alkaloids isolated from *Peganum harmala* seeds, *Pak. Journal of Pharm. Sci.*,**26(4)**:699-706

Lanoue, A., Boitel- Conti, M., Dechaux, C., Laberche, J., Christen, P., and Sangw,A.N., Norreel, B. (2004) Comparison of growth propreties, alkaloid production and water uptake of two selected datura hairy root lines , *Journal of ACTA BIOLOGICA CRACOVENSIA Series Botanica*,**46**: 185–192.

Li, X., Luo, Y., Wang, L, Li Y, Shi, Y., Cui, Y., &Xue, M. (2010). Acute and subacute toxicity of ethanol extracts from *Salvia przewalskii* Maxim in rodents. *Journal of Ethnopharmacology*, **131**: 110-115.

Liu, Y., Zhao, D. M., Lu, X. H., Wang, H., Chen, H., Ke, Y., et al. (2007) Synthesis of bisdesmosidi ckryptogenyl saponins using the 'random glycosylation' strategy and evaluation of their antitumor activity. *Journal of Bioorg. Med. Chem.* **17 (1)**: 156-60.

Louhousse, E.E., Amin, N. C., Manda, P., Monde, A., Sess., E. D. (2006) Propriétés toxicologiques standard du latex de *calotropis procera* plante médicinale d'Afrique occidentale. *J. sci. pharm. biol.*, (7)1: 47-54.

M

Mahdeb, N., Mayouf, S., Boukhari, F., Souilah, S and Bouzidi, A. (2013) Hemolytic effect of total alkaloids from the seeds of *Peganum harmala* in vitro on erythrocytes of ruminants: Sheep, cattle and goats. *Asian Journal of Plant Science and Research*, 3(6): 53-59.

Mahmoudian, M., Jalilpour, H., Salehian, P, (2002) toxicity of *pegnum harmala* :Review and a case report. *Iranian Journal of of pharmacology and therapeutics.*, 1(1):1-4.

Mansouri, N and Farzin, D. (2009) Antidepressant-like effect of harmane and other β -carbolines in a mouse forced-swim test. *Eur. J. Neurol.*, 16(3): 451

Marieb, E.N (1999). Anatomie et physiologie humaines. *Renouveau pédagogique Inc.* Département de Boeck université. Paris. Bruxelles.

Martinez, A and valancia, G. (2003) Manuel de practicas de farmacognosie y Fitoquimia : 1999.1. medellin : universidad de Antiquia ; Marcha Fotiquimica, pp.59-65.

Martins, S., Amorim, E.L.C. Sobrinho, T.J.S.P, Saraiva, A. M., Pisciotano M.N.C., Aguilar, C. N., Teixeira, J. A., Mussatto, S. I. (2013) Antibacterial activity of crude methanolic extract and fractions obtained from *Larrea tridentata* leaves. *Journal of Industrial Crops and Products.*, 41: 306-311.

Marwat, S.K., Rehman, F. (2011) Medicinal and pharmacological potential of harmala (*Peganum harmala* L.) seeds. In: Preedy VR, Watson RR, Patel VB, eds. *Nuts and Seeds in Health and Disease Prevention. London, England: Academic Press*, 585-599.

Mayad, E.H., Chebli, B., Tahrouche, S., Rouhi, R., Idrissi Hassani, L.M.(2003) Optimisation de la germination et suivi des principaux métabolites secondaires au cours du développement chez *Peganum harmala* L. (Zygophyllaceae). *Biologie & Santé*, 3 (1) : 182-189.

Mazandarani, M., Sepehr, K.S., Baradaran, B., Khuri, V. (2013) Autecology, Phytochemical and Antioxidant Activity of *Peganum harmala* L. Seed Extract in North of Iran (Tash Mountains) *Journal of Medicinal Plants and By-products.*, 2: 151-156

Mhaske, S.B and Argade, N .P(2006) The chemistry of recently isolated naturally occurring quinazolinone alkaloids, *Journal of Tetrahedron.*, 62: 9787–9826.

Minan, y.h AL-IZZY. (2010) antimicrobial effects of aqueous and Alcoholic Extract of on Two Types of Salivary Isolated Micro organisms in Al-Ramadi City. *JKAU: Med. Sci.*, 17 (4) :3-17

Moloudizargari, M., Mikaili, P., Aghajanshakeri, S., Asghari, M. H., Shayegh, J. (2013) Pharmacological and therapeutic effects of *Peganum harmala* and its main alkaloids. *Journal of Phcog Rev*:7: 199-212.

Monsef, H. R., ghhobadi, A., Iranshahi, M and Abdallahi, M. (2004) Antinociceptive effects of *peganum harmala* L. alkaloid extract on mouse formalin test. *Journal of pharmacent sci.* **14**: 221 – 222.

Monsef-Esfahani, H.R., Mohammad, A.F., Vénus, M., Mohsen, A et Mohammad Reza, R, (2008) Détermination de Harmine et Harmaline dans *Peganum harmala* graines par chromatographie en phase liquide à haute performance. *Journal of Applied Sciences*, 8: 1761-1765.

Moshiri, M., Etemad, L ., Javidi, S , Alizadeh, A. (2013) *Peganum harmala* intoxication, a case report, *Avicenna Journal of Phytomedicine*, **3(3)**: 288-292.

Movafeghi, A., Abedini, M., Fathiazad, F., Aliasgharpour, M and Omid, Y. (2009) Floral nectar composition of *Peganum harmala* L. *Journal of Natural Product Research.* **23(3)**: 301–308

Muhi-eldeen Z, Al-Shamma KJ, Al- Hussainy TM, Al- Kaissi EN, Al-Daraji AM, & Ibrahim H (2008). Acute Toxicological Studies on the Extract of Iraqi *PeganumHarmala* in Rats. *European Journal of Scientific Research*, **22**: 494-500.

N

Nafisi, S., Bonsaii , M., Maali, P., Khalilzadeh, MA and Manouchehri, F. (2010a) β -Carbolinealkaloidsbind DNA. *J. Photochem. Photobiol.*, 100: 84-91.

Nafisi, S., Asghari, M.H., Mohammad Nezhadi, M.A., Soleimaniekhtiari, M. (2011) Possible antidiabetic effect of *Peganum harmala* on streptozocine-induced mouse. *World Appl. Sci. J.*, **14(6)**: 822-824.

Norris, S. (2008) Antibiotic Resistance, *journal of science and tecnology division, DRB.*, **99(10e)**: 1-9.

O

Ogundiya, M.O., Kolapo, A.L., Okunade, M.B. and Adejumobi, J. (2008) Evaluation of Phytochemical Composition and Antimicrobial Activity of *Terminalia glaucescens* Against Some Oral Pathogens. *Adv. Nat & Appl. Sc.*, **2(2)**:89-93.

O'HEARN, E., MOLLIVER, M.E. (1993) Degeneration of Purkinje cells in parasagittal zones of the cerebellar vermis after treatment with ibogaine or harmaline. *Neuroscience.*, **55**: 303–310..

Ozenda, P. (1991) flore du sahara, Ed. du centre national de la recherche scientifique (CNRS), pp : 312-322

P

Patel, K., Gadewar, M., Tripathi, R., Prasad, SK., Patel, D K (2012) A review on medicinal importance, pharmacological activity and bioanalytical aspects of beta-carboline alkaloid "Harmine". *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 660-664

Pedernera, A. M., Guardia, T., Calderón, C.G, Rotelli, A. E., Genaro, S.D., Pelzer, L.E (2006) Anti-ulcerogenic and anti-inflammatory activity of the methanolic extract of *Larrea divaricata* Cav. in rat. *Journal of Ethnopharmacology*, 105 (3) : 415-420

Podschun, R., Ullmann, U. (2004) *Klebsiella* spp. as nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenic factors, *Journal of Clin. Microbiol.*, 11: 589 - 603.

Prashanth, D., John, S., (2009) Antibacterial activity of *Peganum harmala*. *Fitoterapia*, 70: 438 - 439 .

Q

Qazan, W. S. (2009) The Effect of Low Levels of Dietary *Peganum harmala* L. and *Ballotaun dulata* or Their Mixture on Chicks. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 8 (8): 1535—1538

R

Rasekh, H.R., Nazari, P., Kamli-Nejad, M., Hosseinzadeh, L. (2008) Acute and subchronic oral toxicity of *Galega officinalis* in rats. *Journal of Ethno pharmacology*, 116: 21-26.

Rezzagui, A. (2012) Evaluation de l'effet toxique de l'extrait brut et de l'activité antioxydante des différents extraits des graines de *Peganum harmala* L. Thèse pour l'obtention du diplôme magister en Biochimie et physiologie expérimentale de l'université *Ferhat Abbas – Sétif*, p: 47 – 77.

Rosenkranz V, Wink M. (2011) Alkaloids induce programmed cell death in bloodstream forms of trypanosomes [*Trypanosoma b. brucei*]. [*Special Issue: Spiro compounds*]. *Molecules*; 13 (10): 2462-2473.

S

Salari, E., Ahmadi, K., Dehyagobi, R. Z., Purhematy, A., Takaloozadeh., H. M. (2012) Toxic and repellent effect of harmal (*Peganum harmala* L.) acetonic extract on several aphids and *Tribolium castaneum* (HERBST). *JOURNAL OF AGRICULTURAL RESEARCH*, 72(1): 147-151

Sallal Mohamed, A. H., AL- Jammali, S M J., Naki Z.J.(2013) Effect of repeated administration of *Peganum harmala* alcoholic extract on the liver and kidney in Albino mice: A histo-pathological study, *Journal of Scientific & Innovative Research*, 2 (3): 585-597.

Sahaphong, S., Toskulkao, C. and Glinsukon, T. (2005) Enhanced hepatotoxicity of aflatoxin B1 in the rat by ethanol: ultrastructural changes. *Toxicol. Lett.* 61(1):89-98.

- Sharaf, M., El-Ansari, M, A., Matin, S.A., Saleh, N.A.M. (2003)** Four flavonoids glucosides from *Peganum Harmala*. *Journal of Phytochemistry*, **44**: 533-536.
- Sheahan, M.C. & Chase, M.W. (2000)** Phylogenetic relationships within Zygophyllaceae based on DNA sequences of three plastid regions, with special emphasis on Zygophylloideae. *Systematic Botany*, **25**: 371-384.
- Singh, A.B, Chaturvedi, J.P, Narender, T., Srivastava, A.K. (2008)** Preliminary studied on the hypoglycemic effect of *Peganum harmala* seeds ethanol extract on normal and streptozocine induced diabetic rats. *Indian J. Clin. Biochem.*, **23**(4): 391-393.
- Sobhani, A.M., Ebrahimi, S.A. and Mahmoudian, M. (2002)** An In Vitro Evaluation of Human DNA Topoisomerase I Inhibition by *Peganum harmala* L. Seeds Extract and Its Carboline Alkaloids. *J. Phar. Pharmaceut. Sci.*, **5**: 19-2.
- Sofowora, A. (1993)** Medical plants and traditional medicine in Africa. Spectrum books Ltd, Ibadan, Nigeria, p.289.
- Song, Y., Kesuma, D., Wang, J., Deng, Y., Duan, J., Wang, JH and Qi, RZ. (2004)** Specific inhibition of cyclin dependent kinases and cell proliferation by harmine. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **3**(17): 128-132.
- Speroni, E., Cervellati, R., Innocenti, G., Costa, S., Guerra, M.C., Dall'Acqua, S., Govoni, p. (2005)** Anti-inflammatory, anti-nociceptive and antioxidant activities of *balanites aegyptiaca*. (L) Delile. *Journal of Ethno pharmacology.*, **98**(2): 117-125.
- Spletstoesser, F., Bonnet, U., Wiemann, M., Bingmann, D and Busselberg D. (2005)** Modulation of voltage-gated channel currents by harmaline and harmane. *Br. J. Pharmacol.*, **144**: 52-58.
- Stöckigt, J., Antonchick, A.P., Wu, F., Waldmann, H. (2011)** The pictet-spengler reaction in nature and in organic chemistry. *Journal of Angew., Chem. Int.* (**50**) 8538-8564.

T

- Tarloff, J.B & Wallace, A.D. (2010)** Nephrotoxicity. In: A Textbook of Modern Toxicology. 4th ed. John Wiley & Sons. Inc (Hoboken, New Jersey), 291-302.
- Tietz, N.W. (1995)** Clinical guide to laboratory tests, 3rdedn. Wa Saunders, philadepphia.
- Traynor, J., Mactier, R., Geddes, C. (2006)** How to measure renal function in clinical practice, *B M J*: 333-337.
- Trease, G.E and Evans, W.C. (1989)** pharmacognosy, 11thedn, Brailliantiridel Can., MacmillianPublisger.

V

Verdian, R.M and Hadjiakhoondi, A. (2007) cytotoxicity and Antimicrobial activity of Harman alkaloids. *Journal of pharmacology and toxicology.*,**2(7)**, 677-680.

Verpoote, R., Alfermann., A.W (2010) Metabolic Engineering of Plant Secondary Metabolism. *Dordrecht, Boston, London: Kluwer Academic Publishers*, 286 pp.

Verpoorte, R and Memelink, J. (2002) Engineering secondary, toxicology production in plants. *Journal of Currentopinion in biotechnology.*, **13(2)**:181- 187.

W

Waki, H., Park, K.W., Mitro, N., Pei, L., Damoiseaux, R., Wilpitz, D.C, et al. (2010) The small molecule harmine is an antidiabetic cell-type-specific regulator of PPAR gamma expression. *CellMetab*,**5**:357-70.

Wallace, A. D& Meyer, S.A (2010) Hepatotoxicity. In: A Textbook of Modern Toxicology. 4th ed. John Wiley & Sons. Inc (Hoboken, New Jersey), 277-290.

Walton, H & Brown, D.E. (1999) Chemicals from plants: Perspectives on plant secondary products. London: Imperial College press.

Wink, M. (2010) Biochemistry of Plant Secondary Metabolism; *Annual Plant Reviews* 40; Ed: *WILEY-BLACKWELL*, p: 1-23.

Wink, M.(2003) Alkaloids/oxicology. *Journal of food sciences annatrition*pp: 126-134.

X

Xing, M., Shen, F., Liu, L., Chen, Z., Guo, N., Wang, X., Wang, W., Zhang, K., Wu, X., Wang, X., et al. (2012) Antimicrobial efficacy of the alkaloid harmaline alone and in combination with chlorhexidine digluconate against clinical isolates of *Staphylococcus aureus* grown in planktonic and biofilm cultures. *Lett. Appl. Microbiol.*, **54**: 475–482.

Y

Ya'u, U.N. Abdulmalik, A.H. Yaro, B.A. Chindo, J.A. Anuka, I.M. Hussaini. (2011) Behavioral properties of Balanite saegyptiaca in rodents. *Journal of Ethnopharmacology.*, **135(3)** :725-729

Yang, F., Feng, L., Li, H.D., Zhang, H., Chen, R. (2010) A NEW FLAVONE GLYCOSIDE FROM THE AERIAL PART OF *Peganum nigellastrum*. *Chemistry of Natural Compounds.*, 46 (4):520-522.

Yu, A.M., Idle J.R., Krausz K.W., KupferAand Gonzalez F.J. (2003) Contribution of individual cytochrome P450 isozymes to the Odemethylation of the psychotropic beta-carboline alkaloids harmaline and harmine. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **305**: 315-322 .

Z

- Zellagui, A. (2006)** Phytochemical and antimicrobial study of alkaloids and sesquiterpene of *Genista microcephala* Coss.et Dur and *Ferula vesceritensis* Coss.et Dur plants, thèse présentée en vue de l'obtention du grade de docteur en sciences, Université de costantine, Faculté des sciences, pp: 123-125.
- Z hong- Ze, M.A., Hano, Y., Qiu., F, Shao, G ., Chen, Y.IE and Nomura, T.(2007)** Triterpenoids from *Peganum nigellastrum*, *Journal of Asian Natural Products Research.* **9 (6):** 575–578
- Zhao, T., Wang, Z.-T., Branford-White, C.J., Xu, H., Wang, C.-H. (2011)** Classification and differentiation of the genus *Peganum* indigenous to China based on chloroplast trnL-F and psbA-trnH sequences and seed coat morphology. *Plant Biology.* **13(6):** 940-947
- Zheng, X. Y., Zhang, L., Cheng, X.-M., Zhang, Z.-J., Wang, C.-H. , Wang, Z.-T. (2011)** Identification of acetylcholinesterase inhibitors from seeds of plants of genus *Peganum* by thin-layer chromatography-bioautography. *Journal of Planar chromatography- modern TLC.,* **24 (6):** 470-474.
- Zuhair, M., Kassim, J., AL-shamma, S., Tawfik, M., AL hussainy, N. (2008)** Acute toxicological studies on the extract of Iraqi *peganum harmala* in rats. *Europ. J. scient. Res.,* **22:**494-500.
- Zunino, P., Piccini, C ., Legnani-Fajardo C. (1999)** La croissance, la différenciation cellulaire et l'expression de facteur de virulence par *Proteus mirabilis* in vitro et in vivo. *Journal of Medical Microbiology.,* **48(6):** 527-34.

الملاحق

يتضمن :

- ❖ ملحق 1: الكواشف المستعملة في المسح الفيتوكيميائي
- ❖ ملحق 2: : تركيبة بيئة Muller-Hinton
- ❖ ملحق 3: تعيين الملاحظات الإكلينيكية الناجمة عن سلوك الحيوان
- ❖ ملحق 4: مكونات الكواشف الخاصة بفحص بعض المعايير البيوكيميائية
- ❖ ملحق 5: مكونات المحاليل و الصابغات الخاصة بالدراسة النسيجية
- ❖ ملحق 6: أنواع الاختبارات الإحصائية والشروط الخاصة بها.
- ❖ ملحق 7: برامج الإعلام الآلي المستعملة في عمليات الإحصاء

ملحق 1: الكواشف المستعملة في المسح الفيتوكيميائي

الكمية	التركيب	الكاشف
0.85 غ 10 مل 40 مل 8 غ 20 مل	محلول أ:- نترات البرموث - حمض الخل الثلجي - ماء مقطر محلول ب:- إيوديد البوتاسيوم - ماء مقطر يمزج المحلول أ مع المحلول ب بنفس الحجم (v/v) ويضاف للمزيج 20 مل من حمض الخل ومن ثم تخفف بإضافة 100 مل من الماء المقطر	دراجن درروف Dragen Droff
188 مل 10 مل 1000 مل	- حمض النتريك (d= 1.42) - الزئبق - ماء مقطر	ميلو Millon
40 غ 1000 مل 200 غ 150 غ 100 مل	محلول أ:- كبريتات النحاس - ماء مقطر محلول ب:- طرطرات الصوديوم البوتلسيوم - هيدروكسيد الصوديوم - ماء مقطر يمزج المحلول أ مع المحلول ب بنفس الحجم (v/v)	فهلينغ Fehling
13.3 مل 8 مل 200 مل	- أسيتات النحاس - حمض الخل الثلجي - ماء مقطر	بارفود Barfoed
1.36 غ 5 غ 100 مل	- كلوريد الزئبق - إيوديد البوتلسيوم - ماء مقطر	ماير Mayer

ملحق 2: تركيبة بيئة Muller-Hinton

- Infusion de viande de bœuf	300g
- peptone de caséine	17,5 g
-Amidon de mais	1,5 g
-Agar	17 g
-Eau distillée	1 L

grpe	Souris	Poids		Doses		Jours d'observation																			
						1°jour						2°j	3°j	4°j	5°j	6°j	7°j	8°j	9°j	10°j	11°j	12°j	13°j	14°j	
						0-1h	1-2h	2-3h	3-4h	4-5h	5-6h														6-7h
GROUPE D	E1	36	g	400 mg/kg	An,P	P,Sy,Sa	A,Dr,Arc,T	M																	
	E2	26	g		An,P	So,P	P,T	P	H,P	H,P	H,P	H,P	P	P	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅
	E3	25	g		So,An,P,H	H,P	H,P	H,P	H,P	H,P	H,P	H,P	P	P	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅
	E4	24	g		An,H,P	Sa,Sy,P	A,Dr,T,Arc	M																	
	E5	30	g		An,H,P,Sy	A,T,Dr,Sa	M																		
	E6	40	g		An,H,P	Sa,P,H	P,H	P,H	P,H	P,H	P,H	P,H	P	P	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅
	E7	29	g		An,H,P	H,P,Sy,Sa	Arc,T,A,Dr,Sa	M																	
	E8	27	g		An,H,P	H,P	Arc,T,A,Dr,Sa	M																	
GLOBAL	237	g	400																						
GROUPE E	F1	25	g	500 mg/kg	A,Dr,P,Arc	M																			
	F2	28	g		Sy,Sa,T,P,Arc,Dr	M																			
	F3	29	g		Sa,P,T,Dr,Ex,Arc	M																			
	F4	30	g		Sa,P,T,Dr	H,P,Sy	Sy,P,H,An	H,P,An	So,P,H	So,P,H	So,P,H	So,P,H	So,P,An,H	P,H	P,H	H	H	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅
	F5	30	g		A,Sa,P,T,Dr,Arc	M																			
	F6	31	g		H,Sy	P,A,T,Sa,Arc	M																		
	F7	40	g		A,Sa,P,T,Dr,Arc	M																			
	F8	30	g		A,Sa,P,T,Dr,Arc	M																			
GLOBAL	243	g	500																						
GROUPE F	G1	25	g	600 mg/kg	M																				
	G2	27	g		M																				
	G3	30	g		M																				
	G4	32	g		M																				
	G5	40	g		M																				
	G6	33	g		M																				
	G7	28	g		M																				
	G8	20	g		M																				
GLOBAL	235	g	600																						

An Anorexie

A Agitation

Sa Salivation

Sy Syncope

H Hypoactivité

P Piloerection

T Tremblement

Dr déféculer de respiration

So Sommdence

Acr Accélération de rithme cardiaque

M Mort

∅ Aucun effet

ملحق 4: مكونات الكواشف الخاصة بفحص بعض المعايير البيوكيميائية

● مكونات الكواشف الخاصة بفحص اليوريا:

Réactif 1	- Tampon	Tris pH 7,9±0,1	80 m.mol/l
		Oxoglutarate	5 m.mol/l
	- EDTA	2 m.mol/l	
	- Salicylate de sodium	60 m.mol/l	
	- Uréase	30000µ mol/l	
	-Nitroprussiate de sodium	32 mmol/l	
Réactif 2	- Phosphate pH 6,7	60 m.mol/l	
	- Hydrochlorite de sodium	40 m.mol/l	
Standard	- Hydroxyde de sodium	150 m.mol/l	
	Urée	5 mg/l	

● مكونات الكواشف الخاصة بفحص حمض اليوريك.

- يتكون كاشف العمل Réactif de travail الخاص بفحص حمض اليوريك من مزيج بين Réactif2 + Réactif1

Réactif 1	- Tampon phosphate pH 7,4	50m.mol/l
	3-5-dichloro- 2- hydroxybenzène sulfonique	4 m.mol/l
Réactif 2	- Amino-4Antipyrine	1 m.mol/l
Enzymes	- Peroxydase	660 u/l
	-Uricase	70 u/l
Standard	- Acide urique	6 mg/dl

- تركيز Standard الخاص بفحص الكرياتين هو 2mg/dl

- مكونات الكواشف الخاصة بفحص نسبة السكر في الدم.
- يتكون كاشف العمل Réactif de travail الخاص بفحص السكري من مزيج بين Réactif1 و Réactif 2

Réactif 1	- tampon Tris pH=7	100m.mol/l
	- Phénol	0,3 m.mol/l
Enzymes	- Glucose oxydase	10000 U/l
	- Peroxydase	100 U/l
Réactif 2	- Amino 4- Antipurine	2,6 m.mol/l
Standard	- Glucose	100mol/l

- تركيز Standard الخاص بفحص السكر هو 100 mg/dl

- مكونات tampon الخاصة بـ AST هي :

- tampon phosphate pH=7,5	85 m.mol/l
- L-aspartate	200 m.mol/l
- 2- oxoglutarate	2 m.mol/l

- مكونات Tampon الخاصة بـ ALT هي:

- tampon phosfate pH=7,5	85 m.mol/l
- L-alanine	200 m.mol/l
- 2- oxoglutarate	2 m.mol/l

- مكونات محلول العمل (Solution de travail) الخاصة بـ ALP هي:

Réactif 1 tampon	- Tampon diethanolamine (pH 9.8)	1.mol/l
	-Chlorure de magnésium	0,5 m.mol/l
Réactif 2 substrate	-Nitro 4 phénylphosphate	10mmol/l

ملحق 5: مكونات المحاليل و الصابغات الخاصة بالدراسة النسيجية
مكونات مثبت بوان الكحولي:

75 مل	كحول ايثيلي مشبع بحمض البكريك
20 مل	فورمالين
5 مل	حامض الخل الثلجي

مكونات صبغة الهيماتوكسيلين Harris Hematoxylm:

1 غ	هيماتوكسيلين (Harris)
10 مل	كحول ايثيلي مطلق
20 غ	الامونيا Amonia
200 مل	ماء مقطر
0.5 غ	أكسيد الزئبق

مكونات صبغة الايوزين Eosin:

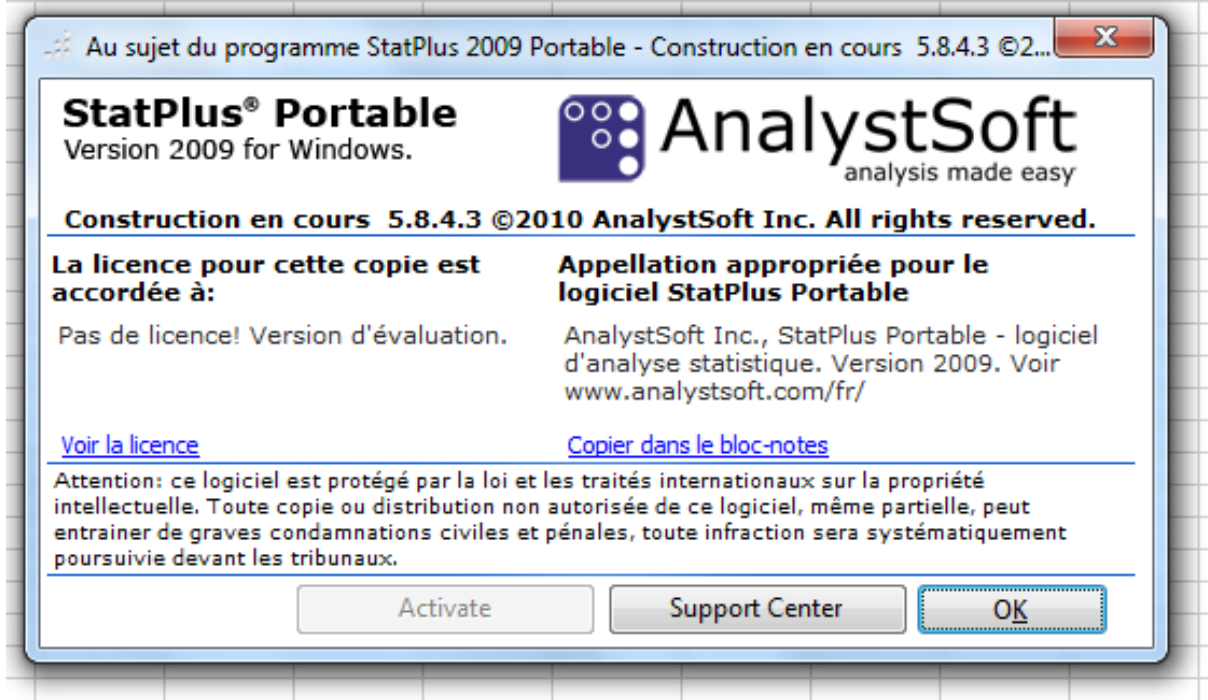
1 غ	صبغة الايوزين
100 مل	ماء مقطر

ملحق 6: أنواع الاختبارات الإحصائية والشروط الخاصة بها

الاختبار	الإعتدالية	التجانس	العشوائية	الاستقلال	البيانات المترية
اختبار (ت) في حالة عينة واحدة One - Sample T Test	✓		✓		✓
اختبار (ت) في حالة عينتين مستقلتين Independent -Samples T Test	✓		✓	✓	✓
اختبار (ت) في حالة عينتين مستقلتين Independent -Samples T Test	✓		✓		✓
تحليل التباين في اتجاه واحد One - Way ANOVA	✓	✓	✓	✓	✓

ملحق 7: برامج الإعلام الآلي المستعملة في عمليات الإحصاء

1- برنامج : 5.8.4.3 ; 2009 StatPlus Software

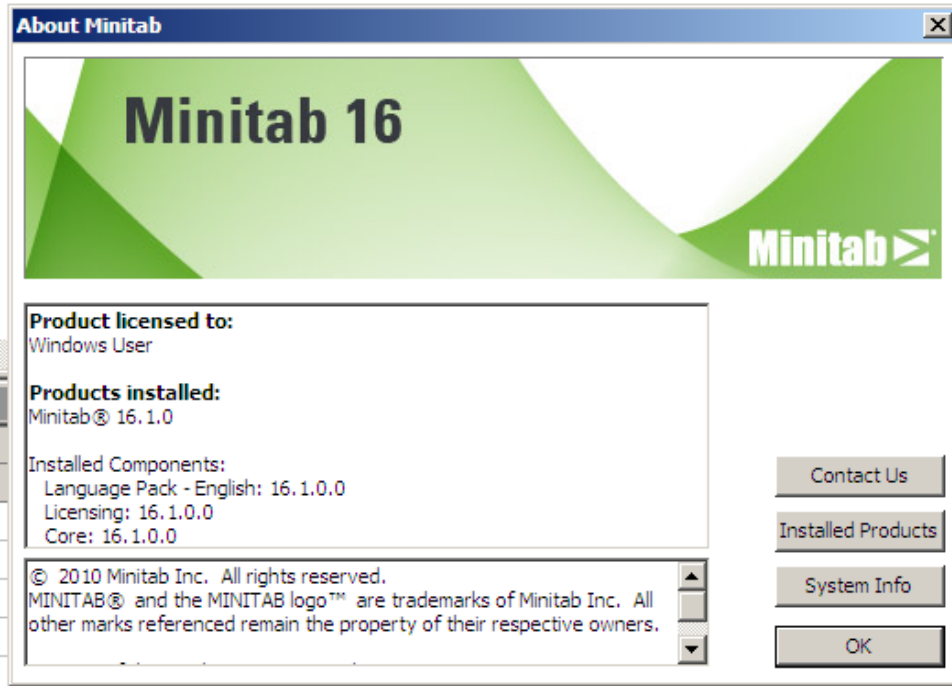


الاختبار الإحصائي المنجز:

- Teste de mortalité

- 1- طريقة المربعات الصغرى (التوزيع الطبيعي) least Squares method
- 2- طريقة Finney (التوزيع اللوغاريتمي العادي) (Log-normal distribution) Finney

برنامج : Minitab



الاختبارات الإحصائية المنجزة:

- التحليل الإحصائي لنتائج النشاط ضد الميكروبي

- 1- تعيين قيم P-Value بين السلالات البكتيرية عند التركيزي (50-100) ملغ/كغ من مستخلص قلويدات الجذور والبنور

جدول 1: تعيين قيم P-Value بين السلالات البكتيرية عند التركيز 50 ملغ/مل من مستخلص قلويدات الجذور

<i>S. aureus</i>	<i>S. saprophyticus</i>	<i>E. coli</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. mirabilis</i>	micro-Organisme
-	P=0,006 (**)	p=0,000 (***)	p=0,000 (***)	p=0,000 (***)	p=0,000 (***)	<i>S. aureus</i>
-	-	P=0,000 (***)	p=0,000 (***)	p=0,000 (***)	p=0,000 (***)	<i>S. saprophyticus</i>
-	-	-	p=0,000 (***)	p=0,000 (***)	p=0,000 (***)	<i>E. coli</i>
-	-	-	-	p=0,031 (*)	p=0,002 (**)	<i>K. pneumoniae</i>
-	-	-	-	-	p=0,145 (NS)	<i>P. aeruginosa</i>
-	-	-	-	-	-	<i>P. mirabilis</i>

جدول 2: تعيين قيم P-Value بين السلالات البكتيرية عند التركيز 100 ملغ/مل من مستخلص قلويدات الجذور

<i>S. aureus</i>	<i>S. saprophyticus</i>	<i>E. coli</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. mirabilis</i>	micro-Organisme
-	P=0,004 (**)	p=0,000 (***)	p=0,000 (***)	p=0,000 (***)	p=0,000 (***)	<i>S. aureus</i>
-	-	p=0,000 (***)	p=0,000 (***)	p=0,000 (***)	p=0,000 (***)	<i>S. saprophyticus</i>
-	-	-	p=0,000 (***)	p=0,000 (***)	p=0,000 (***)	<i>E. coli</i>
-	-	-	-	p=0,012 (*)	p=0,002 (**)	<i>K. pneumoniae</i>
-	-	-	-	-	p=0,007 (**)	<i>P. aeruginosa</i>
-	-	-	-	-	-	<i>P. mirabilis</i>

جدول 3: تعيين قيم P-Value بين السلالات البكتيرية عند التركيز 50 ملغ/مل من مستخلص قلويدات البذور

<i>S. aureus</i>	<i>S. saprophyticus</i>	<i>E. coli</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. mirabilis</i>	<i>Serratia sp</i>	micro-Organisme
-	P=0,001 (**)	p=0,000 (***)	p=0,000 (***)	p=0,000 (***)	p=0,000 (***)	p=0,000 (***)	<i>S. aureus</i>
-	-	p=0,000 (***)	p=0,000 (***)	p=0,000 (***)	p=0,000 (***)	p=0,000 (***)	<i>S. saprophyticus</i>
-	-	-	p=0,000 (***)	p=0,000 (***)	p=0,000 (***)	p=0,000 (***)	<i>E. coli</i>
-	-	-	-	p=0,026 (*)	p=1.000 (NS)	p=0,008 (**)	<i>K. pneumoniae</i>
-	-	-	-	-	p=0,032 (*)	p=0,000 (***)	<i>P. aeruginosa</i>
-	-	-	-	-	-	p=0,010 (**)	<i>P. mirabilis</i>
-	-	-	-	-	-	-	<i>Serratia sp</i>

جدول 4: تعيين قيم P-Value بين السلالات البكتيرية عند التركيز 100 ملغ/مل من مستخلص قلويدات البنور

<i>S. aureus</i>	<i>S. saprophyticus</i>	<i>E. coli</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. mirabilis</i>	<i>Serratia sp</i>	micro-Organisme
-	p=0,018 (*)	p=0,001 (**)	p=0,000 (***)	p=0,000 (***)	p=0,000 (***)	p=0,000 (***)	<i>S. aureus</i>
-	-	p=0,006 (**)	p=0,000 (***)	p=0,000 (***)	p=0,000 (***)	p=0,000 (***)	<i>S. saprophyticus</i>
-	-	-	p=0,000 (***)	p=0,002 (**)	p=0,000 (***)	p=0,000 (***)	<i>E. coli</i>
-	-	-	-	p=0,043 (*)	p=1.000 (NS)	p=0,000 (***)	<i>K. pneumoniae</i>
-	-	-	-	-	p=0,048 (*)	p=0,001 (**)	<i>P. aeruginosa</i>
-	-	-	-	-	-	p=0,001 (**)	<i>P. mirabilis</i>
-	-	-	-	-	-	-	<i>Serratia sp</i>

2- تحليل التباين في اتجاه واحد بين تراكيز قلويدات البنور والجذور المؤثرة على السلالات المختبرة
 جدول 5: تعيين قيم P-Value باستعمال اختبار T-test لعينتين مستقلتين عند التركيزين (50 و 100) ملغ/مل من
 المستخلص القلويدي حسب كل عضو نباتي (البنور والجذور)

المستخلص القلويدي الخام للبنور		المستخلص القلويدي الخام للجذور		تراكيز القلويدات حسب العضو النباتي	
50mg/ml	100mg/ml	50mg/ml	100mg/ml	50mg/ml	100mg/ml
-	p=0.354 (NS)	p=0.397 (NS)	p=0.810 (NS)	50mg/ml	المستخلص القلويدي الخام للبنور
-	-	p=0.122 (NS)	p=0.344 (NS)	100mg/ml	
-	-	-	p=0.630 (NS)	50mg/ml	المستخلص القلويدي الخام للجذور
-	-	-	-	100mg/ml	

Résumé :

La Plante *Peganum harmala* L. est l'une des plantes la plus importante dans la famille Zygophyllaceae, riche en composés efficaces qui possède la propriété médical et pharmaceutique, et cela a été confirmé par notre étude chimique, où le pourcentage des tests positifs pour le criblage phytochimique est environ de 74.07%. Les alcaloïdes sont des uns de ces produits, on a été estimé le pourcentage d'accumulation le plus élevé dans les graines à 3,94%, l'étude de l'analyse de la chromatographie HPLC et la chromatographie CCM a montré que tous les extraits de la plante (racines, fruits et graines) contient des alcaloïdes (harmine et harmaline).

Les extraits bruts des alcaloïdes des racines et des graines ont montré une activité considérable contre tous les organismes testés, que l'extrait brut alcaloïdique des graines à montré une haute activité à la concentration de 100mg/ml comparé à l'extrait brut alcaloïdique des racines de la même concentration, surtout aux souches Gram⁺. Ainsi nous avons déterminé les valeurs de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB). On a fait observer que la CMI et la CMB des extraits bruts d'alcaloïde des graines et des racines sont : 0,78mg/ml, avec la souche bactérienne *S. aureus*.

L'étude de la toxicité aiguë des alcaloïdes totaux de graines chez les souris mâles par voie intra péritonéale a montré que l'alcaloïde est une substance modérément toxique (dose létale 50%: 350 mg/kg de poids corporel). Observation des changements cliniques tels que tachycardie, essoufflement, tremblements, diminution de l'activité locomotrice, l'agitation, la somnolence et l'anorexie au cours de la période de traitement (14 jours) ce qui confirme l'hypothèse selon laquelle les alcaloïdes ont un effet sur les systèmes nerveux et respiratoire centrale.

L'administration journalière des alcaloïdes par voie IP, pendant 30 jours a entraîné une diminution significative du poids des animaux et la masse relative des testicules avec une augmentation significative de la masse relative des reins et foie chez les groupes 3 et 4. Test (Student) a montré une diminution significative du taux de glucose dans le sang, ainsi qu'une augmentation significative des Certains paramètres immunitaires (nombre de globules blancs, nombre de lymphocytes), de l'activité des enzymes transaminases (ALT, AST), de l'enzyme phosphate alcaline (ALP) et de la concentration de créatinine et l'urée, chez les groupes 3 et 4. On a renforcé ces résultats par une étude histologique du foie et les reins des rats (*Albinos wistar*), a conduit à de graves dommages dans les tissus, ce qui représente une inflammation du foie, nécrose cellulaire, une augmentation du volume des certaines hépatocytes à contenir plus d'un noyau et contenir cytoplasme des micro-vacuoles, ce qui indique le début de la maladie de stéatose. D'autre part nous avons constaté des lésions au niveau de corpuscule rénal, comprenaient une augmentation de l'espace de la capsule du bowman, congestion vasculaire et une nécrose dans certains glomérules, ainsi que la nécrose focale et congestion vasculaire observées au niveau des cellules qui tapissent les tubes rénaux avec des noyaux volumineux et l'émergence des contenus et tomber dans les cavités, qui est considéré comme le début de la possibilité de tumeurs dans les cellules qui tapissent les tubes rénaux.

Mots clés : *Peganum harmala*, Alcaloïdes, HPLC, Activité antimicrobienne, toxicité aiguë, toxicité subaiguë.

Summary:

The plant *Peganum harmala* L. is one of the largest plants in the Zygophyllaceae family, rich in effective compounds that has the medical and pharmaceutical property. It was confirmed by our chemical study, where the percentage of positive tests for phytochemical screening was about 74.07 %. Alkaloids are one of these products, it was estimated the percentage of the highest accumulation in the seeds to 3.94%, study analysis of HPLC and TLC chromatography showed that all extracts of the plant (roots, fruits and seeds) contain alkaloids (harmine and harmaline).

The crude extracts of alkaloids in roots and seeds showed significant activity against all organisms tested, the crude alkaloid extract of seeds showed high activity at the concentration of 100mg/ml compared to the crude extract alkaloid roots the same concentration, especially Gram⁺ strains. Thus we determined the values of the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC). It was noted that the MIC and MBC of the crude extracts alkaloid seeds and roots are: 0.78 mg / ml, with the bacterial strain *S. aureus*.

The study of the acute toxicity of total alkaloids of seeds in male mice intraperitoneally showed that the alkaloid is a moderately toxic (50% lethal dose: 350 mg / kg body weight). Observation of clinical changes such as tachycardia, shortness of breath, trembling, decrease in locomotors activity, agitation, drowsiness and anorexia during the treatment period (14 days) confirms the hypothesis that the alkaloids have a effect on the central nervous and respiratory systems.

The daily administration of alkaloids intraperitoneally for 30 days resulted in a significant decrease in the weight of the animals and the relative weight of the testes with a significant increase in relative liver and kidney weights in groups 3 and 4. Test (Student) showed a significant decrease in blood glucose and a significant increase in some immune parameters (white blood cell count, lymphocyte count), the activity of transaminase enzymes (ALT, AST), of the enzyme alkaline phosphatase (ALP) and the concentration of creatinine and urea in the groups 3 and 4. These findings were reinforced by histological study of the liver and kidneys of rats (*Wistar albino*), has led to severe tissue damage, which is an inflammation of the liver, Cell necrosis, an increase in the volume of some hepatocytes to contain more than one nucleus and cytoplasm contain micro vacuoles, indicating the onset of steatosis. on the other hand we found lesions in the renal corpuscle, included an increase in the space of the bowman capsule, vascular congestion and necrosis in some glomeruli and focal necrosis and vascular congestion observed in cells lining the renal tubules with large nuclei and the development of content and fall into the cavity, which is considered the beginning of the possibility of tumors in the cells lining the renal tubules.

Keywords: *Peganum harmala*, alkaloids, HPLC, Antimicrobial activity, acute toxicity, subchronic toxicity

العنوان: تأثير بعض مركبات الميتابوليزم الثانوي لنبات الحرمل (*Peganum harmala L.*) على

بعض السلالات البكتيرية وبعض النواحي الفيزيولوجية، النسيجية والسلوكية عند الفئران المخبرية

طبيعة الشهادة: دكتوراه في العلوم - شعبة: بيولوجيا النبات - تخصص: مواد حيوية فعالة

المخلص:

نبات *Peganum harmala L.* واحد من أهم نباتات العائلة الرطراطية Zygophylaceae الغني بالمركبات الفعالة التي تعزى إليها الخاصية الطبية والصيدلانية، وهذا ما أكدته لنا الدراسة الكيميائية إذ بلغت نسبة الإختبارات الإيجابية للمسح الفيتوكيميائي **74.07%** إذ تعتبر القلويدات إحدى هذه المنتجات، قدرت أعلى نسبة تراكم لها في البذور بـ **3,94%**، بينت دراسة التحليل الكروماتوغرافي لـ (HPLC و CCM) أن جميع المستخلصات النباتية (جذور، ثمار وبذور) تحتوي على قلويدي الحارمين والحارملين.

أسفرت نتائج دراسة النشاط البيولوجي على مدى فعالية المستخلص القلويدي للبذور والجذور ضد السلالات البكتيرية المختبرة، حيث يبدي المستخلص القلويدي للبذور نشاط عالي عند التركيز **100 ملغ/مل** مقارنة بالمستخلص القلويدي للجذور من نفس التركيز خاصة مع السلالات الموجبة جرام، كما تم على إثرها تحديد قيم التركيز الأدنى المشبط (CMI) والتركيز الأدنى القاتل (CMB)، حيث لوحظ أن كلا التركيزين (CMI، CMB) للمستخلصات القلويدية للبذور والجذور تساوي **0,78 ملغ/مل** مع *S. aureus*.

دراسة السمية الحادة نتجت عنها أعراض خطيرة على الفئران البيضاء المعالجة بالجرعات العالية من القلويدات تمثلت في زيادة سرعة نبضات القلب، صعوبة التنفس، اهتزاز العضلات، فقدان النشاط الحركي، هيجان، نغاس وحالة من الإغماء، أيضا تم من خلال هذه الدراسة حساب قيمة الجرعة النصف القاتلة للقلويدات والتي قدرت بـ **DL50 = 350 ملغ/كغ** من وزن جسم الحيوان، هذا التركيز يصنف قلويدات بذور الحرمل ضمن المركبات المتوسطة السمية. أدى التعاطي اليومي عن طريق الحقن تحت الصفاق (IP) للقلويدات ولمدة **30 يوما** إلى انخفاض معنوي في وزن الحيوانات وارتفاع معنوي في الكثافة النسبية لعضو الكبد والكلى مع انخفاض معنوي في الكثافة النسبية للخصيتين وهذا مع الجرعتين **100 و 200 ملغ/كغ**، سجل مع اختبار (Student) انخفاض معنوي ذو دلالة إحصائية في نسبة السكر في الدم مع ارتفاع معنوي لبعض المؤشرات المناعية (عدد الكريات البيضاء وعدد الخلايا اللمفاوية)، كما سجل ارتفاع معنوي في نشاط إنزيمات ناقلات الأمين (ALT، AST) وإنزيم الفوسفاتاز القلوي (ALP) وكذلك ارتفاع ذو دلالة إحصائية في تركيز مستويات الكرياتينين واليوريا وهذا مع الجرعتين المتوسطة والقصوى، دعمت هذه النتائج بدراسة نسيجية للكبد والكلى للجردان البيضاء نتج عنها تلف شديد في أنسجة الكبد والكلى تمثل في التهاب كبدى، موت بعض الخلايا الكبدية (Necrosis)، زيادة حجم بعض الخلايا الكبدية مع احتوائها على أكثر من نواة واحتواء سيتوبلازمها على فجوات مما يدل على بداية مرض تشحم الكبد (Stéatose) ومن جهة أخرى وجد تلف ملحوظ في الكرات البولية شمل زيادة و تقلص في سمك محفظة بومان، احتقان دموي و نخر في بعض الكبيبات، كذلك لوحظ نخر بؤري واحتقان دموي على مستوى الخلايا المبطنة للأنايب الكلوية مع كبر أنويتها وظهور محتويات بها وسقوطها داخل التجاويف، مما يعتبر بداية إمكانية حدوث أورام في الخلايا المبطنة للأنايب الكلوية.

الكلمات المفتاحية: نبات الحرمل الجزائري، القلويدات، HPLC، الفعالية ضد الميكروبية، التسمم الحاد، التسمم شبه المزمن

معهد: العلوم و التكنولوجيا

المركز الجامعي - ميلة -

مدير البحث: الأستاذ يحيى عبد الوهاب

لجنة المناقشة:

رئيسا	أستاذ بجامعة العربي بن مهيدي - أم البواقي -	سنوسي محمد مراد	الأستاذ الدكتور :
مقررا	أستاذ بالمركز الجامعي - ميلة -	يحيى عبد الوهاب	الأستاذ الدكتور :
ممتحنا	أستاذ بجامعة منتوري - قسنطينة -	باقة مبارك	الأستاذ الدكتور :
ممتحنا	أستاذ بجامعة العربي بن مهيدي - أم البواقي -	زلاقي عمار	الأستاذ الدكتور :
ممتحنا	أستاذة بجامعة العربي بن مهيدي - أم البواقي -	مهدي حميدة	الدكتورة :