م ج/ أ ب/ 0061

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

المركز الجامعي العربي بن مهيدي -أم البواقي-

معهد علوم الطبيعة

مذكرة مقدمة لنيل شهادة الماجستير

تخصص

المواد الحيوية الفعالة: المنتجات الطبيعية من أصل نباتي

الموضوع:

مساهمة لدراسة النشاط الحيوي لمستخلصات المادة الفعالة في نبات الحرمل *Peganum harmala L.*

تقديم:

الطالبة: بلبوط أمال

تحت إشراف:

د. يحي عبد الوهاب

لجنة المناقشة:

- مالك رسول ياسين الحلو أستاذ بالمركز الجامعي العربي بن مهيدي *أم البواقي* (رئيسا)
- عبد الوهاب يحي أستاذ محاضر بالمركز الجامعي العربي بن مهيدي *أم البواقي* (مقررا)
- سنوسي محمد مراد أستاذ محاضر بالمركز الجامعي العربي بن مهيدي *أم البواقي* (ممتحنا)
- دهيمات العيد أستاذ محاضر بجامعة منتوري *قسنطينة* (ممتحنا)

السنة الجامعية 2005/2004

تشكرات

الحمد لله الذي كرم الإنسان بالسوا، في الخلقة والخلق وزوده بالعقل ليدرك أسرار الوجود ومبررات الموجود ، وما سخر له من أكوان وما أودعه من حكم وأحكام فيعي حقيقته الكونية ،ويسمو بطموحه كي يرقى من حضيض الحيوانية إلى أرقى المراتب الربانية.

والصلاة والسلام على من أرسل منقذا للإنسان والإنسانية في خطر الظلال والظلالة والظلم والجهالة.

في مستهل هذا البحث لا يسعني إلا أن أعبر عن عميق شكري لأستاذي الكريم تحيى عبد الوهاب الذي أنار لي طريق البحث و سهل لي الكثير من الصعاب وعلمني الصبر والاجتهاد من أجل الإشراف الجاد على هذا البحث.

كما أتقدم بأسمى معاني الشكر وعظيم الامتنان لأستاذي الفاضل مالك رسول ياسين الحلو ، الذي هداني بعد الله عز وجل الطريق وذلل أمامي أصعب خطوات هذا البحث ، فشكرا جزيلا.

أشكر أعضاء اللجنة رئيسا والأعضاء على قبولهم مناقشة هذا البحث ووجهوني بآرائهم الصائبة.

كما لا يفوتني أن أقدم جزيل الشكر والامتنان إلى كل عمال المخبر البيولوجي F و الميكروبيولوجيا وعمال المكتبة على تشجيعهم وصبرهم معي.

أشكر جميع أفراد عائلتي وصديقاتي على تشجيعهم وإلى كل من الذين أمدوني بالعون والمساعدة سوا، من قريب أو بعيد لإنجاز هذا البحث .

قائمة الأشكال

الرقم	العنوان	الصفحة
1	تصنيف بعض نباتات العائلة الرطراطية حسب المملكة النباتية	[illegible]
2	صورة نبات P. harmala L.	[illegible]
3	صور أقسام نبات P. harmala L.	[illegible]
4	العلاقة بين الميتابوليزم الأولي و الثانوي	[illegible]
5	مصادر التخليق الحيوي لمختلف أنواع القلويدات	[illegible]
6	الأحماض الأمينية التي تدخل في التخليق الحيوي للقلويدات	[illegible]
7	طرق التخليق الحيوي للقلويدات	14-23
8	مسار التخليق الحيوي للحمض الأميني تربتوفان	25
9	التركيبة البنائية للقلويدات الأندولية	26
10	مسار الإصطناع الحيوي لقلويد الحارمين	32
11	شروط التجفيف والتخزين	36
12	الكشف عن القلويدات	40
13	الاستخلاص النوعي للقلويدات في جميع أجزاء النبات	42
14	مستخلصات أجزاء نبات P. harmala L. الحاوية على القلويدات	43
15	جهاز الأشعة فوق البنفسجية	44
16	الطور المائي والعضوي لكل من البذور، الأوراق والجذور	45
17	المستخلصات الكلوروفورمية لكل من البذور، الأوراق والجذور قبل عملية التبخر	46
18	هيستوغرام النسبة المئوية للقلويدات في مختلف الأعضاء لمختلف مراحل نمو نبات P. harmala L.	53
19	كروماتوغرام كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة للاستخلاص النوعي للقلويدات في مختلف الأعضاء تحت الأشعة فوق البنفسجية	55
20	كروماتوغرام كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة للاستخلاص النوعي للقلويدات في مختلف الأعضاء بالرش بكاشف دراجندروف	56
21	النسبة المئوية لقلويدات جذور، أوراق وبذور نبات P. harmala L.	58
22	كروماتوغرام كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة لبذور P. harmala L. تحت الأشعة فوق البنفسجية. نظام المذيب كلوروفورم- ميثانول 4:1	59
23	طيف الأشعة تحت الحمراء IR للمركب الأول	61

[illegible]	طيف الأشعة تحت الحمراء [illegible]	[illegible]
[illegible]	طيف الأشعة تحت الحمراء [illegible]	[illegible]
[illegible]	صور مناطق تأثير المستحضرات على [illegible]	[illegible]
[illegible]	صور مناطق تأثير المستحضرات على [illegible]	[illegible]
[illegible]	صور مناطق تأثير المستحضرات على [illegible]	[illegible]
[illegible]	صور مناطق تأثير المستحضرات على [illegible]	[illegible]

الفهرس

مقدمة 01

الجزء النظري

I. الدراسة النباتية 03
I.1. العائلة الرطراطية Zygophyllaceae 03
I.2. تصنيف نباتات العائلة الرطراطية 03
I.2.1. الأوراق المتقابلة Feuilles opposées 03
I.2.1.1. أوراق بسيطة (غالبا ما تكون من 2 إلى 3 وريقات) 03
I.2.1.2. الأوراق المركبة من العديد من الوريقات 04
I.2.2. الأوراق المتناوبة أو المتعاقبة 04
I.2.2.1. نباتات معمرة برية غير شوكية 04
I.2.2.2. شجرة أو شجيرة شوكية 04
I.3. وصف نبات *Peganum harmala L.* 05
I.4. تصنيف نبات *P.harmala L.* 06
I.5. الأسماء المشتركة أو المرادفات لنبات *P.harmala L.* 06
I.6. أماكن تواجد نبات *P.harmala L.* 06
I.7. انتشار نبات *P.harmala L.* في الجزائر 07
I.8. المركبات النشطة لنبات *P.harmala L.* 07
I.9. الأجزاء السامة في نبات *P.harmala L.* 08
I.9.1. حركية المادة السامة في الجسم 08
I.9.2. حالات التسمم 08
I.10. الخصائص الكيميائية و الصيدلانية للمركبات النشطة لنبات *P.harmala L.* 08
I.10.1. الحرمالين 08
I.10.2. الحارمين 09
I.10.3. الحرمالول 09
I.10.4. الحرمان 09

III. النشاط البيولوجي 33
III.1. تعريف المضادات الحيوية 33
III.2. السلالات البكتيرية 33
III.2.1. تعريف البكتيريا 33
III.2.2. الخواص العامة للسلالات البكتيرية المختبرة 33
III.2.2.1.*Escherichia coli* 33
III.2.2.2.*Pseudomonas aeruginosa* 34
III.2.2.3.*Staphylococcus aureus* 34
III.2.2.4.*Klebsiella pneumonia* 34

الوسائل والطرق

I. الدراسة الكيميائية 35
I.1. المادة النباتية 35
I.2. الحصر الكيميائي الأولي لنبات *P.harmala L.* 37
I.2.1. اختبار القلويدات 37
I.2.2. اختبار الجليكوسيدات 37
I.2.3. اختبار الكاردينوليدات 37
I.2.3.1. تفاعل Killer-Kiliani 37
I.2.3.2. تفاعل Pelget 38
I.2.4. اختبار الستيرولات غير المشبعة أو التربينات الثلاثية 38
I.2.4.1. تفاعل Lieberman-Bucchard 38
I.2.4.2. تفاعل Salkowski 38
I.2.5. اختبار الصابونيات 38
I.2.6. اختبار التنينات 38
I.2.7. اختبار الفلافونويدات 39
I.2.8. اختبار الزيوت الأساسية 39
I.3. طرق الكشف عن القلويدات في جميع المستخلصات 40
I.4. التقدير النوعي للقلويدات 41

I.5. كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة للاستخلاص النوعي 43
I.6. التقدير الكمي لقلويدات نبات *P.harmala L.* 44
I.7. تنقية قلويدات نبات *P.harmala L.* بواسطة كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة 47
I.8. الدراسة الطيفية للقلويدات المفصولة بواسطة IR 47
I.9. بعض التحاليل الصيدلانية الثابتة لمختلف أعضاء نبات *P.harmala L.* 48
I.9.1. تعيين بعض الثوابت الدستورية Pharmacopoeal constants 48
I.9.2. المستخلصات المتتابعة للأعضاء المختلفة لنبات *P.harmala L.* 48
II. اختبار الفعالية البيولوجية لقلويدات نبات *P.harmala L.* 49
II.1. السلالات البكتيرية المختبرة 49
II.2. Antibiogramme بطريقة الانتشار في وسط مغذي 49
II.2.1. تحضير الأقراص و الأوساط المغذية 49
II.2.2. زرع السلالات البكتيرية 49
II.2.3. تطبيق الأقراص على المزارع البكتيرية 50

النتائج والمناقشة

I. الدراسة الكيميائية 51
I.1. نتائج الحصر الكيميائي لمختلف اعضاء نبتة *P.harmala L.* 51
I.2. الكشف عن القلويدات في جميع المستخلصات المتتابعة لنبتة *P.harmala L.* 52
I.3. الاستخلاص الكمي لمختلف أعضاء نبات *P.harmala L.* في مختلف مراحل النمو 52
I.4. الدراسة الكروماتوغرافية للاستخلاص النوعي لقلويدات نبات *P.harmala L.* 54
I.5. التقدير الكمي لقلويدات جذور،أوراق وبذور *P.harmala L.* باستعمال طريقة المعايرة 58
I.6. تنقية قلويدات نبات *P.harmala L.* 59
I.7. التحاليل الصيدلانية الثابتة لمختلف أعضاء نبات *P.harmala L.* 67
I.7.1. النسبة المئوية لبعض الثوابت الدستورية 67
I.7.2. المستخلصات المتتابعة للأعضاء المختلفة لنبات *P.harmala L.* 68
II. الفعالية البيولوجية 69
الخلاصة 75

قائمة المراجع

قائمة المراجع العربية 77
قائمة المراجع الأجنبية 78
الملحق 87

مقدمة

مقدمة

لقد عرفت البشرية منذ فجر التاريخ المرض والألم والأوجاع بسبب العوامل الطبيعية، وأذى البشر والحيوانات، وكانوا يسعون جاهدين لمعالجة أمراضهم وجروحهم بشتى الوسائل ويستعملون في ذلك المواد المتوافرة لديهم، وكانت النباتات الطبية المكان الأول في المداواة لأثارها الخارقة في جسم الإنسان، وقد اشتركت كافة الشعوب القديمة من الصينيين والمصريين والهنود واليونانيين في بناء الحضارة وتوصلت بفضل الصدف والتجارب إلى معرفة عدد كبير من العقاقير النافعة او الضارة، ولا زال البحث مستمرا إلى يومنا هذا.

وفي العصر الحديث يعتبر الكيميائي Paracelse أول من حاول استخراج المواد الفعالة، إلا أن أول من استطاع أن يحقق عزل بعض المركبات الكيميائية من النبات هو العالم Scheek (1742-1787) فاستخلص بعض الحموض كحمض التفاح والطرطير، وفي مطلع القرن التاسع عشر عزل Derson النيكوتين والمورفين من الأفيون، وفي عام 1818 عزل العالمان Cavontou و Pelletier الستركين والكينين.

تعتبر هذه المواد الكيميائية الجواهر المؤثرة الموجودة في النبات ويتغير مقدارها حسب الشروط المناخية والوراثية وكلما كان مقدارها كبير في العقار كلما اشتد تأثيره الدوائي، لذلك وجب معرفة كميتها في العقاقير لغرض تقييم قدرته الدوائية.

وتعتبر القلويدات إحدى هذه المنتجات الطبيعية المميزة لمختلف أفراد العائلة الرطراطية Zygophylaceae، والمسؤولة عن عدد من التأثيرات الطبية، حيث تتميز بقدرتها على تثبيط بعض الانزيمات، إضافة إلى نشاطها المضاد للميكروبات .

وتعتبر نبتة الحرمل *Peganum harmala L.* من بين الأنواع النباتية المنتمية إلى هذه العائلة والتي يمكنها إنتاج مختلف مركبات الأيض الثانوي، وقد تركزت مجمل الدراسات على الاستعمال الشعبي التي يفيد مغلي ومستحلب المجموع الخضري في الهلوسة ومعالجة الإقزيمة وفي مداواة شفاء الصداع وآلام الرأس، لذلك كان لابد من خلق نوع من التعاون بين الكيمياء والبيولوجيا لاستخلاص، عزل وتحديد أنواع المركبات المسؤولة عن هذه التأثيرات واختبار فعاليتها الطبية، الشيء الذي شجعنا على محاولة دراسة هذه النبتة من الجانبين الكيميائي والبيولوجي.

وقـــد تركـــز عملـــنا علـــى استخلاص، عزل القلويدات الأندولية اعتمادا على الطرق الكيميائية لنبتـــة *Peganum harmala L.* واختبار فعاليتها المضادة للبكتيريا وينقسم هذا العمل إلى ثلاثة فصول :

- الفصل الأول: خصص للدراسة النظرية، حيث قسم إلى ثلاثة عناوين رئيسية :
  - العنوان الأول : يتضمن الدراسة النباتيـــة لـــ *Peganum harmala L.*، مركبات الأيض الثانوي التي تنتجها إلى جانب الخواص الطبية لها.
  - العنوان الثاني: يشمل عموميات على القلويدات و دراسة خاصة على القلويدات الأندولية.
  - العنوان الثالث: يتمثل في تعيين النشاط البيولوجي لبعض السلالات البكتيرية المختبرة.
- الفصل الثاني: يتمثل في الجزء العملي والذي يتطرق إلى:
  - الدراســـة الكيميائية للمجموع الهوائي والجذري للنبتة (الحصر الكيميائي لمركبات الأيض الثانوي، تعيين بعض الثوابت الدستورية واستخلاص وعزل القلويدات وتقديرها كميا).
  - الدراسة البيولوجية المتمثلة في اختبار فعالية المركبات المعزولة ضد بعض السلالات البكتيرية المختبرة.
- الفصل الثالث : يشمل تحليل النتائج المحصل عليها ومناقشتها.

I.الدراسة النباتية

I . 1 . العائلة الرطراطية Zygophyllaceae

أشار Ronse et al (1996) أن العائلة الرطراطية تحتوي على أكثر من 25 جنس و 500 نوع تنتشـــر في جميع القارات، خاصة في المناطق الجافة: كالصحراء حيث تلاحظ 7 أجناس و27 نوع، وقد بين Bruneton (1994) أنها تغطي أكثر من 3% من المناطق القاحلة في العالم.

وحســـب Bellakhdar (1997) فإن أكثـــر الأجناس التابعـــة للعائلة الرطراطية موطنها الصحراء والمجموعة الأكثر أهمية في العالم تلك المتواجدة في شمال أفريقيا.

وقـــد قام Ozenda (1977) بدراسة هذه العائلة وقد بين أنها صعبة جدا، إذ أنها تشمل على 3 أجناس أساســـية وهـــي *Zygophyllum*، *Fagonia* و *Tribulus* وتعتـــبر أجناس حرجة بسبب وجود التقارب بين الأنواع .

من خصائص العائلة الرطراطية ما يلي:

- وجود الأوراق المتقاربة باستثناء أنواع *Peganum*، *Nitraria* و *Balanites*.
- أوراق منتظمة نادرا ما تكون بسيطة على شكل شرائط شوكية وهو ما نجده في أنواع: *Fagonia* و *Balanites*.
- الأزهار منتظمة تحتوي من 5 إلى 10 أسدية، كتلك الموجودة في عائلة Géraniacées.
- الثمار تكون على شكل كبسولة .

I . 2 . تصنيف نباتات العائلة الرطراطية

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

I . 1 . 2 . الأوراق المتقاربة Feuilles opposées:

I . 1 . 1 . 2 . أوراق بسيطة (غالبا ما تكون من 2 إلى 3 وريقات):

أ- **الأوراق ذات ثلاث وريقات:**

- الأزهار وردية أو بنفسجية و في حالات استثنائية تكون بيضاء ، ذات أشرطة شوكية تملك 10 اسدية وهي نباتات حولية معمرة مثل: *Fagonia*.
- الأزهار بيضاء مخضرة، ذات 5 أسدية، نبات حولي زاحف على الأرض ذات أشرطة هدبية مثل: *Seetzenia*.

ب- **أوراق ذات وريقتان**، باستثناء الأوراق البسيطة تكون لحمية و الأزهار بيضاء نادرا ما تكون صفراء أو وردية مثل: *Zygophyllum*

I.2.1.2. الأوراق المركبة من العديد من الوريقات: الأزهار دائما تكون صفراء مثل:*Tribulus*

I.2.2. الأوراق المتناوبة أو المتعاقبة:

I.2.2.1. نباتات معمرة برية غير شوكية

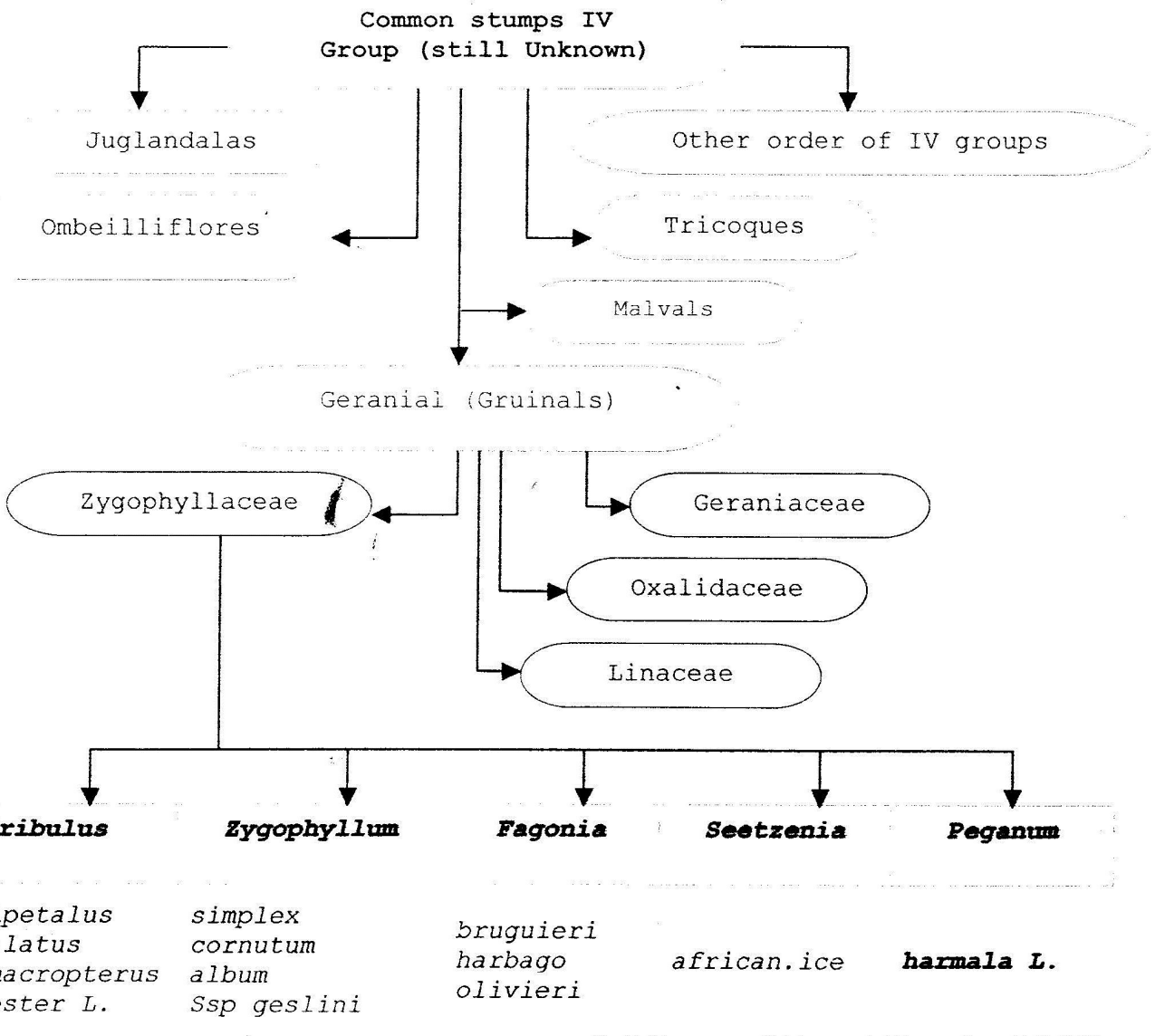
نباتات ذات أوراق مقسمة إلى أشرطة ضيقة وهي متعددة، الأزهار كبيرة وبيضاء مثل :*Peganum*.

I.2.2.2. شجرة أو شجيرة شوكية:

أ- أوراق بسيطة مثل: *Nitraria*.

ب- أوراق مكونة من وريقتين مثل: *Balanite*.

يمكن تصنيف بعض الأنواع والأجناس التابعة للعائلة الرطراطية ضمن المملكة النباتية في الشكل (1).



شكل (1): تصنيف بعض نباتات العائلة الرطراطية ضمن المملكة النباتية (Grim, 1991)

I.3. وصف نبات *Peganum harmala L.*

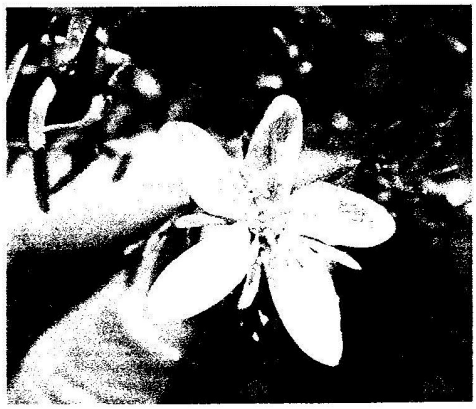
وفقـــا لكثير من المراجع: Chobra et al (1960)، Quezel et Santa (1963) وأحمد شمس الدين (1998)، يتصف نبات *P.harmala L.* بأنه نبات معمر، أملس ولا يحمل زوائد أو شعيرات، السيقان كثيرة التفرع، تصل إلى 50سم في الارتفاع، تموت وتندثر هذه الأغصان في فصل الشتاء في المناطق الباردة كالهضاب العليا وشمال الصحراء.

الأوراق مقسمة إلى فصوص رقيقة، **الأزهار** كبيرة، 2سم في القطـــر، ذات بـــتلات بيضاء مصفرة، عدد **الأسدية** 10، الخيط أبيض مصفر ذو قاعدة واسعة ونهاية دقيقة.

المبـــيض كروي، يحتوي على ثلاث أو أربعة مساكن يعطي عـــند النضـــج كبسولة كروية محاطة بالسبلات الدائمة، وتفتح الكبسولة بواسطة ثلاثة إلى أربعة صمامات.

البذور عديدة، مضلعة و سوداء.

شكل (2):صورة لنبات *P.harmala L.*



الأزهـــــــار

الأوراق

البـــــــذور

الثمـــــــار

شكل (3): صور أقسام نبات *P.harmala L.*

I.4. تصنيف نبات *P.harmala L.*

حسب Ozenda (1977) فإن نبات *P.harmala L.* يتبع التصنيف التالي :

Kingdom	Plants
SubKingdom	Vascular Plants
Phylus	Spermatophyta
Sub Phylus	Angiospermae
Class	Dicotyledons
Sub Class	Rosidae
Order	Geranials
Family	Zygophyllaceae
Genus	*Peganum*
Species	*harmala*

I.5. الأسماء المشتركة أو المرادفات لنبات *P.harmala L.*

جدول (1): التسميات المختلفة لنبات *P.harmala L.* في مختلف أنحاء العالم (Bruneton,1994)

التسمية والمرادفات	الموقع (أماكن التواجد)
الحرمل (Harmel)، أرمال(Armel)، لحرمل(Lharmel)	المغرب العربي
الإسبند(Espand)،الإسفاند(Esfand)، السبيلان(Spelaine)	أفغانستان و إيران
Rue sauvage, Rue verte, pegane	فرنسا
Rue mexican, Rue turkish	الولايات المتحدة
حرمل الصحراء	صحاري الجزائر
Bendef tiffin	التوارق
Rue Syria	سوريا
بدر الحرمل (Bizr el harmel)	مصر

I.6. أماكن تواجد نبات *P.harmala L.*

أشـــار Le Floch (1983) أن نـــبات *P.harmala L.* متوفر خاصة في المناطق الجافة وشبه الجافة من العالم، على الأراضي الصحراوية وقليلا على المناطق التي تحتوي على نترات البوتاسيوم ففي:

أوروبا: جد متواجد في المناطق الجافة لإسبانيا و سهوب روسيا الجنوبية.

أفريقيا : لا نجده إلا في المناطق الجافة للبلدان المطلة على البحر الأبيض المتوسط (المغرب، صحراء و الهضاب العليا الجزائرية والتونسية، سهوب وصحارى ليبيا و المناطق القاحلة لمصر)

أسيا: متواجد في سهوب إيران وباكستان وتركستان إلى غاية تيبيت و سيبريا.

I.9. الأجزاء السامة في نبات *P.harmala L.*

وضح Mclean et al (1956) أن النبتة بأكملها سامة أين يكون معدل القلويدات مرتفع جدا في البذور من 2 إلى 4% مقارنة بالجذور، السيقان و الأوراق.

أثبت Ben Salah et al (1996) أن نسبة القلويدات ترتفع تقريبا في فصل الصيف أثناء فترة نضج الثمار و جني البذور

I.9.1. حركية المادة السامة في الجسم

بعد إدخال البذور إلى المعدة يتم امتصاص القلويدات في بضع دقائق بواسطة الأمعاء الدقيقة، تصل القلويدات إلى الأعضاء المستهدفة خاصة الجهاز العصبي المركزي والقلب في وقت زمني يتراوح ما بين 15 إلى 30 دقيقة وهذا عن طريق الفم ومن 5 إلى 10 دقيقة عن طريق الاستنشاق (Salah et al, 1986).

I.9.2. حالات التسمم

التسممات هي ناجمة أساسا من المقادير العالية المستهلكة، عند امتصاص كمية من البذور و التي تقدر بملعقة قهوة (2.5غ ما يعادل 800 بذرة) ينجم عنها ما يلي:

- **من 10 إلى 30 دقيقة** : بعد إدخال الجرعة إلى المعدة تظهر الأعراض الأولية المتمثلة في: تقيئات، دوار(إغماء)، غثيان و إسهال.
- **وبعد مرور 4 ساعات:** من ابتلاع الحبوب يظهر على المريض ارتعاش مع وجود تقلصات عضلية وهلوسات بصرية واضطرابات تنفسية.
- **وخلال 7 ساعات:** يلاحظ آلام رأسية شديدة، أوجاع بطنية انخفاض في نبضات القلب (Bradycardie) بحيث تكون أدنى من 60 نبضة، انخفاض الضغط الدموي الشرياني، انخفاض درجة حرارة الجسم مع ظهور قصور كلوي ينجم عنه تراكم الآزوت في الدم (Puzzi et al,1980).

I.10. الخصائص الكيميائية و الصيدلانية للمركبات النشطة لنبات *P.harmala L.*:

I.10.1. الحرمالين

صيغته الكيميائية $C_{13}H_{15}ON_2$ ويعتبر القلويد الأول . الذي تم عزله سنة 1841 من قبل العالم Goebel من بذور وجذور نبات *P.harmala L.*، ويعتبر القلويد الأساسي في النبتة، ويكون بشكل بلوري عديم اللون أو يكون بلون أصفر شاحب غير فعال ضوئيا.

وحسب Budavari et al (1996) فإن هذا المركب قليل الذوبان في الإيثر وسريع الذوبان في الماء و الكحولات الساخنة والأحماض المخففة، يتبلور قلويد الحرمالين من هيدروكلوريد دى هيدرات (Hydrochloride dihydrate) وهذا الأخير يعطيه اللون الأصفر.

بـــين كـــل من Agel et Hadidi (1991) أن الـــجرعات المتوسطة لقلويد الحرمالين تسبب ارتجافات وتقلصات عضلية.

أمـــا الجـــرعات العالية لهذا القلويد تؤدي إلى اهتزازات وتشنجات تصل تقريبا إلى شل الحركة مع انخفاض مســـتوى نشـــاط الجهاز العصبي المركزي والجهاز التنفسي وارتفاع درجة حرارة الجسم وانخفاض الضغط الدموى الذى يؤدى إلى وهن وضعف عضلات القلب .

I.10.2. الحارمين

حسب Glasby (1978) فإن صيغته الكيميائية هي: $C_{13}H_{12}ON_2$، تم عزله من قبل العالم J.Fritzsche سنة 1847 من نبات *P.harmala L.* وبعض الاجناس المتمثلة في:

Banisteia, Caapi, Spruce, Lutea and *Metallicolor.*

هذا القلويد غير فعال ضوئيا، عديم اللون يتبلور من الميثانول في شكل صفائح موشورية وهو قليل الذوبان في الكحول و الماء والإيثر لكنه يذوب في الماء الساخن، محاليل أملاحه تظهر بفلورة زرقاء براقة.

في علم الصيدلة أشـــــار Lamchouri et al (1999) أن تأثير فعل الحارمين يشبه الحرمالين لكنه أقل سمية، في وجـــود الهيدروكلوريد يتضح أن الحارمين له دور ضد نشاط البكتيريا المتمثل في Mycrobacterium Tuberculosis.

I.10.3. الحرمالول

صيغته الكيميائية $C_{12}H_{12}ON_2$، تم عزله سنة 1901 من طرف العالم Fisher، يتبلور من الماء في شكل ثلاثي الهيدرات (Glasby, 1978).

يذوب بشكل جيد في الآستون والماء الساخن والكلوروفورم، لكنه ضعيف الذوبانية في البنزين، هذا القلويد غير مستقر عند تعريضه للهواء.

I.10.4. الحرمان

هـــذا المركب مرتبط بقلويـــد **بيتا-كاربولـــين**، تم عزلـــه سنـــــة 1960 مـــــن طرف العـــــالمين A-Schipper and OH volk صيغتـــه الكيميائيـــــة $C_{12}H_{10}N_2$ ويعتـــبر من القلويدات الأولى التي عزلت من لحاء نبات *Arariba rubra* الموجودة في البرازيـــــل.

يتـــبلور من قبل المذيبات العضوية في شكل صفائح موشورية عديمة اللون، يذوب في الميثانول والكلوروفورم والأســـيتون ومتوسط الذوبانية في الماء الساخن، يتفكك أو ينحل في وجود الأحماض المعدنية، فلورته تكون بلون أزرق بنفسجي. (Glasby, 1978)

I.10.5. الفازيسين

هذا القلويد ينتمي إلى مجموعة القلويدات الكوينازولية، صيغته الكيميائية $C_{13}H_{15}ON_2$ تم عزله اول مرة من أوراق *Adhatoda vasicanees* من طرف العالم Hooper، كذلك ظهر في نبات *P.harmala L.* باسم بغانين Peganine.

- بينت الدراسات الكيميائية أن مركب الفازسين غير فعال ضوئيا، تم عزله من الأوراق الطازجة لنبات *A.vasica* وأزهار وسيقان نبات *P.harmala L.* (Gupta et al,1980)..

- الأملاح تكون بشكل بلوري، يستعمل في الهند لعلاج الربو و **توسيع القصبات الرئوية** (Gasby,1978).

I.10.6. الفازيسينون

صيغته الكيميائية $C_{11}H_{10}O_2N_2$، هذا القلويد يتواجد في نبات *A.vasica* ونبات *P.harmala L.* عديم اللون، يتبلور مع الكحول بنسبة (95%) والدوران النوعي لهذا القلويد يساوي $[\alpha]^{24}_{D}=100°$.

وفي أطياف الأشعة فوق البنفسجية (UV) يكون الامتصاص الأعظمي لهذا القلويد عند أطوال موجات 227 و272 و 302، 315 نانومتر، أملاحه متبلورة في وجود الأحماض العضوية، له دور في تنشيط القصبات الرئوية ويعتبر عامل للإجهاض (Lamchouri et al,1999).

I.11. الأهمية الطبية لنبات *P.harmala L.*

ترجع الأهمية الطبية لنبات *P.harmala L.* إلى عهد قدماء اليونان الذين استعلموا مسحوق البذور في علاج الديدان الشريطية ولا تزال البذور تستعمل لهذا الغرض حتى الآن. وكان **ديسكورريديس** أول من استعملها، أثبتت التجارب والدراسات العلمية الحديثة على هذه القلويات على أنها قاتلة للكائنات الحية الدقيقة Protozoacidal ولذلك فإنها تؤثر بالشلل على الديدان الشريطية وتفقدها القدرة على الحركة فيسهل التخلص منها (سعد محمد الخفاجي، 1995).

كما تستعمل بذور نبات *P.harmala L.* في علاج الملاريا المزمنة وليست الملاريا الحادة وذلك في بعض البلدان الحارة التي ينتشر بها هذا النوع من الملاريا (Acron et al,1977).

ويعتبر نبات *P.harmala L.* جد مستعمل في مجال الطب التقليدي الجزائري والمغرب العربي لمعالجة مختلف الاضطرابات منها:

في طب النساء: يستعمل في علاج العقم الأنثوي وغياب الدورة الشهرية ويعتبر كعامل للإجهاض، كما يعمل على تقوية الناحية الجنسية عند الرجل (Shapiraz et terkel, 1989).

قد أشار Bellakhdar(1997)، أن قلويد الحرمالين ينشط الجهاز العصبي المركزي عند الإنسان

في الطب الشعبي :يلعب نبات *P.harmala L.* دورا في الوقاية ضد السحر والشعوذة، يتم حرق الأوراق واستنشاق الأبخرة المتصاعدة الناتجة عن الأوراق الساخنة لشفاء الصداع وآلام الرأس، وفي بعض الأحيان عملية التبخير تحدث الثمل (السكر) والهلوسة والنعاس العميق عند الأشخاص الذين يستعملونه كل يوم (El-Bahri et Chamli,1991).

في الأمراض الجلدية :يتم استخراج الزيوت المتمثلة في حمض الأوليك (Acide Oleique)، وحمض لينوليك (Acide Linoleique) والباليتيك (Palmitique) من البذور لعلاج الأمراض الجلدية المتمثلة في الإقزيمة والحروق وأمراض العيون المتقيحة (Ben Salah et al,1996).

II. الدراسة النظرية للقلويدات

II.1. الأيض الثانوي

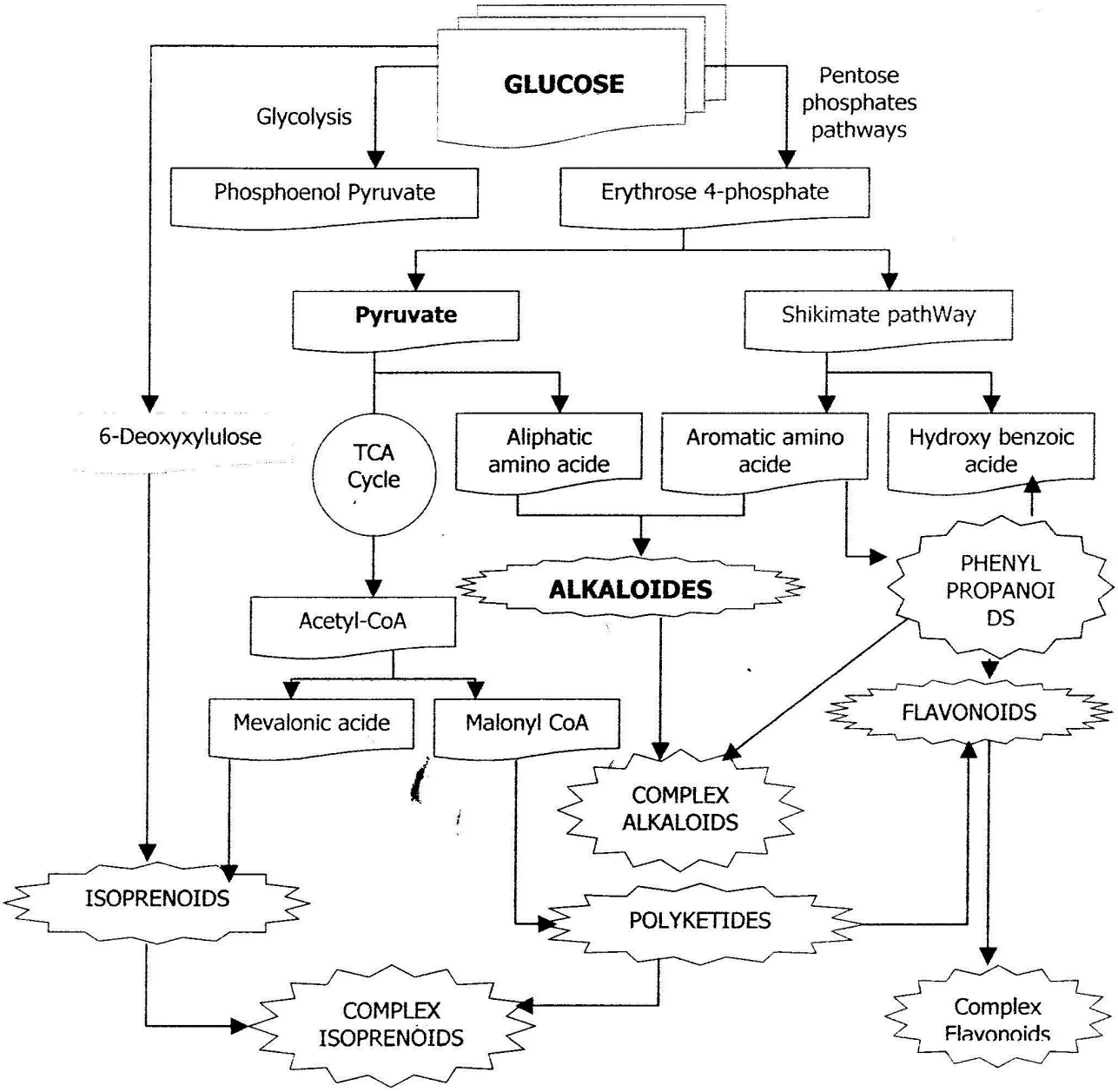
يصنع الكائن الحي مركبات كيميائية، تنكسر بواسطة سلسلة من التفاعلات، تتم بمساعدة الإنزيمات تسمى هذه العماليات Metabolism وتتضمن عمليات البناء Anabolism و عمليات الهدم Catabolism و أشار كل من Hegnauer(1986) و Guinerd(1996) أن الخلايا النباتية تصنع العديد من المركبات مثل: اللبيدات، البروتينات والسكريات، تطلق عليها تسمية (مركبات الأيض الأولي)، وبواسطة هذه المركبات ينتج النبات مركبات أخرى، دورها غامض على مستوى النبات، تعرف بـــ(مركبات الأيض الثانوي).

وقـــد عـــرف حاليا 100.000 مركب من نواتج الأيض الثانوي (Verpoort,1988)، هذه المـــركـــبات لاتـــدخل في الـــــــدور المباشر على مستوى الفعالية الأساسية في العضو النباتي مثل النمو (Binet et Brunel,1968)، هـــذا لا يمنع أيضا أن تقوم بدور هام في النبات من أجل المحافظة على اســـتمراره وبقائـــه وهي تستعمل من أجل الدفاع والمقاومة، كما لها فائدة طبية بالنسبة للإنسان من أهمها القلويدات، التربينات والفلافونويدات و غيرها (Nultch et Trduc,1969).

هناك ثلاث مواد أولية رئيسية أو وحدات البناء المواد الأيضية الثانوية المتمثلة في:

- **حامض الشيكيميك.**
- **الأحماض الأمينية.**
- **الأسيتات.**

ويمكن توضيح العلاقة الموجودة بين الأيض الأولي و الأيض الثانوي في الشكل (4)



شكل (4): العلاقة بين الميتابوليزم الأولي و الثانوي (Richter, 1993)

II.2. تعريف القلويدات

يعرف Bruneton(1999) القلويدات بأنها منتجات كيميائية مستخلصة من نباتات طبية، وهي عبارة عن مواد عضوية آزوتية مركبة من C, H, N, O، ويوضح Oztekin(1994) بأنه توجد ذرة **النيتروجين** في غالبية القلويدات على هيئة نيتروجين ثالثي، يحوي التركيب البنائي لكثير من هذه المركبات على مجموعات فعالة بها ذرة **الأكسيجين** مثل : المجموعة الهيدروكسيلية، كما يحوي الكثير منها في البنية التركيبية على حلقة غير متجانسة أو أكثر .

يتصف الكثير من القلويدات حسب Cordell, (1981) بالفعالية الضوئية وذلك إذا ما وجدت ذرة **كربون** أو أكثر في تركيبها البنائي.

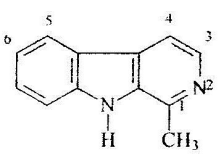
وقد ذكر Alexander(1969) أن الصفات الوراثية ربما تتحكم في ظهور هذه المواد، أي أنها تنجم عن طفرات أثناء نمو النبات .

وتبرز أهمية القلويدات من تأثيراتها الفيزيولوجية على الرغم من أن معظمها إن لم يكن جميعها مواد سامة حيث أن لها استعمالات طبية مختلفة ولكن تأخذ بجرعات يسيرة حسب كل من Hostege et seiber(1995).

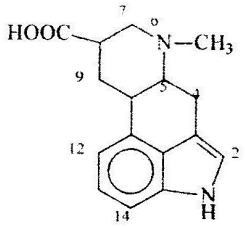
II.3. تسمية القلويدات

حسب Battersby(1971) يتعذر توافر نظام تسمية موحد لهذه المركبات الطبيعية نظرا للعدد الكبير للقلويدات، وكما أشار Redder (1972) أنه يستحيل وجود هذه التسمية النظامية حتى بين أفراد المجموعة الواحدة من القلويدات، وأيضا حسب كل من Philipson et zenk(1980) فإنه لايوجد نظام ثابت للتسمية والترقيم حتى في داخل المجموعة الواحدة، فمثلا: تحتوي مجموعة الأندول على عدد كبير من تحت المجموعات وجميعها ذات هياكل كيميائية مختلفة كما يتضح من المثال التالي:

Harmane



Lysergic acide



ووفقا للقواعد الكيميائية فقد اتفق على أن جميع أسماء القلويدات تنتهي بالمقطع (ine-) مثل Nicotine (Bruneton, 1999).

حسب ما أشار له Balbaa et al(1981) وبصورة عامة تسمى القلويدات حسب:

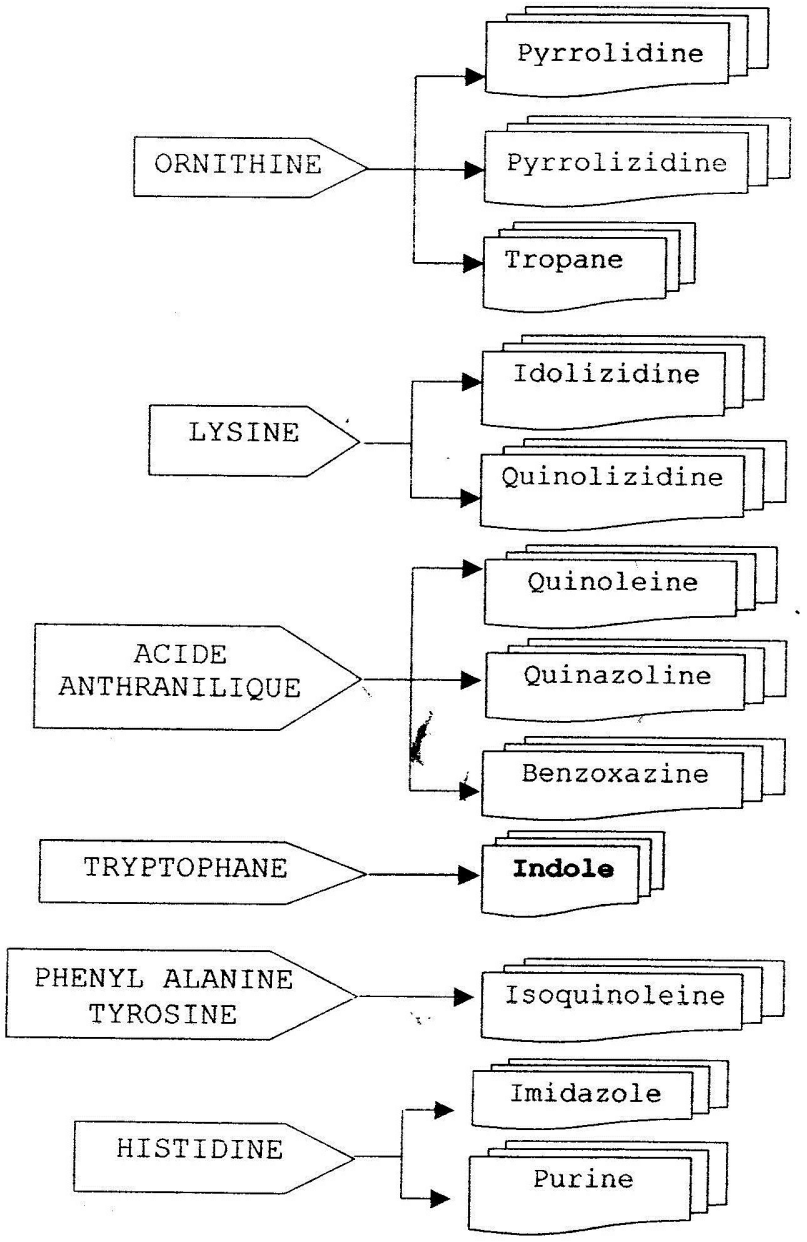
- **التأثير الفيزيولوجي** للقلويد ذاته، فقد يسمى Emetine لأنه مقيئ Emetic.
- **الاشتقاق من اسم الجنس** Genus النباتي مثل Nicotine من الدخان *Nicotina*.
- **الاشتقاق من اسم النوع** Species النباتي الحامل للقلويد مثل Harmaline من الحرمل *harmal*.

II.4. تصنيف القلويدات:

بالنسبة لتقسيم القلويدات كان متباينا وذلك حسب ما توضحه كثير من المراجع: Mahran(1964)، Alexander(1969)، Hesse(1981)، Balbaa et al(1981)، الشحات (1986).

حيث يعتمد تصنيف المركبات القلويدية على معيارين رئيسيين :

- **المعيار الأول**:حسب مصدر النواة التي تشتق منها القلويدات و الاصطناع الحيوي لها:

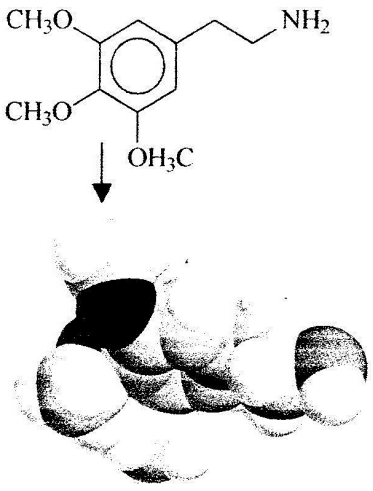


شكل (5): مصادر التخليق الحيوي لمختلف أنواع القلويدات (Hesse,1981)

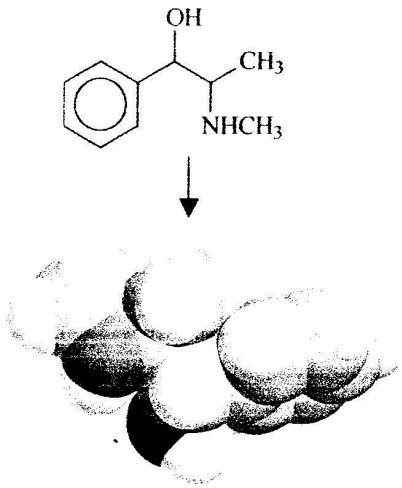
- **المعيار الثاني:** وضعه هيجانور Heganour حسب ما بينه cordell (1981) الذي يقسم فيه القلويدات إلى المجموعات الثلاث التالية :

❖ **القلـــويدات الحقيقية** :هي مشتقات من الأحماض الأمينية، عادة تكون سامة، وذات تأثيرات فيزيولوجية متباينة وهى قاعدية بدرجات متفاوتة، وتحتوي على ذرة آزوت واحدة أو أكثر في حلقات متباينة (Heterocyclic Ring)

❖ **القلـــويدات الأولـــية:** يتم تخليق قلويدات هذه المجموعة من الأحماض الأمينية وهى قلويدات قاعدية وذرة الآزوت بها ليست فى حلقة متباينة و من أمثلة هذه الـــمجموعة :Mescaline و Ephedrine (Rauffauf,1970)

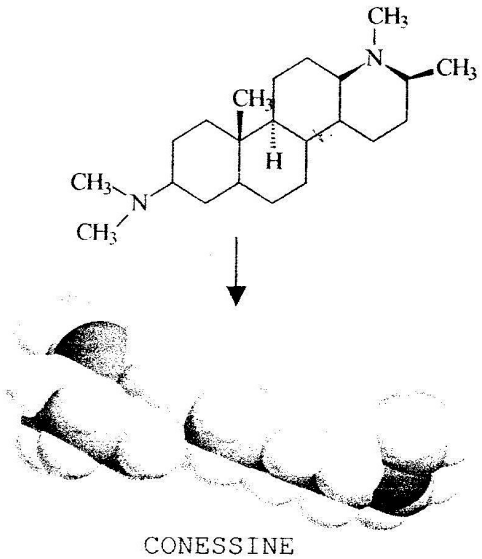


MESCALINE

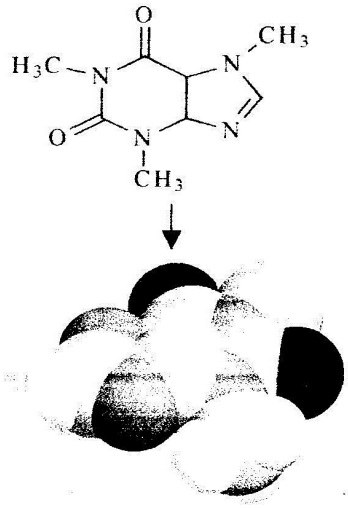


EPHEDRINE

❖ **القلويدات الكاذبة:** لا يتم تخليقها حيويا داخل الأنسجة النباتية من الأحماض الأمينية ومن بين هـــذه المجمـــوعة: القلـــويدات الإســـتيرودية مثل:Conessine والقلويدات البيورينية مثل Caffeine



CONESSINE



CAFFEINE

II.5. أماكن تواجد القلويدات في النبات

تتواجد القلويدات عادة بالعصير الخلوي لخلايا الأنسجة البشرية في صورة أملاح للأحماض العضوية التي تتواجد بالنباتات مثل : (Tartaric,Lactic,Citric) وغيرها من الأحماض، أو أنها تكون مرتبطة مثلا مع التنينات (Rauffauf,1970).

بين Guignard et al (1985) بأن الكيمياء الدقيقة تسمح بتحديد موقع القلويدات في الأنسجة المحيطية بحيث تتواجد في الجهة الخارجية لقلف السيقان والجذور و أغلفة البذور و البشرة وتحت البشرة للأوراق، إلا أن Auriola et al (1991) يرى بأن تخليق القلويدات يتم في الكلوروبلاست أو في الخلايا البرانشيمية وغالبا ما يتم تخليقها في مواقع محددة كالجذور وهذا أثناء نموها، وبعدها يتم تخزينها مباشرة في مواقع التخزين المتمثلة في الفجوات الخلوية أو القنوات اللبنية، حسب Perlic (1997).

II.6. دور القلويدات في النبات

مثل العديد من الميتابوليزمات الأخرى، عمليا فإننا لا نعرف أي شيء عن دور القلويدات داخل النبات (Bruneton,1999).

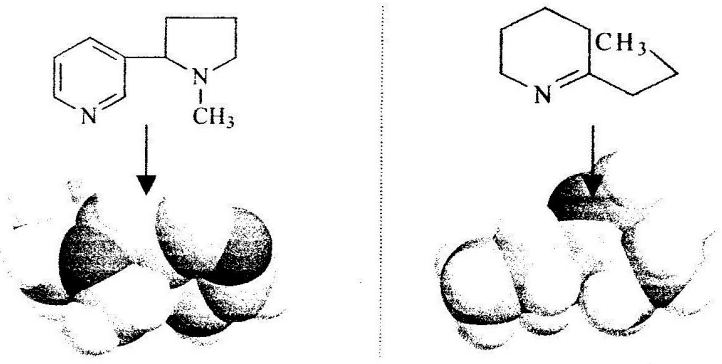
لكن يفترض أنها تدخل في آلية الدفاع وذلك باعتبارها مواد حماية النباتات ضد الحشرات أو العاشبات بسبب سميتها، غير أن بعض العلماء يعتبرون أن القلويدات هي عبارة عن نواتج نهائية (فضلات غير مفيدة). وهذا احتمال ضعيف جدا، لأن في العديد من الحالات تبين أنها مركبات ثانوية لتفاعلات وسطية وتنتشر في النباتات (Bruneton,1987).

و السؤال يبقى مطروح حسب Paris et hurabielle(1980) هل هي : عبارة عن منظمات للنمو ؟، أو أنها مواد احتياطية تستطيع أن تعطي عنصر الآزوت وغيره من المواد الأخرى للنبات؟.

II.7. الخواص الفيزيوكميائية للقلويدات:

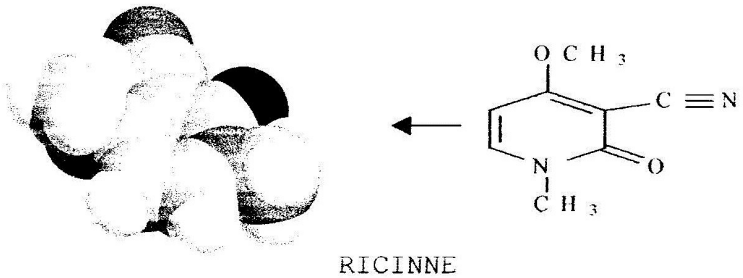
II.7.1. الخواص الفيزيائية

- يتراوح الوزن الجزيئي للقلويدات ما بين 100- 900 حسب ما ذكره Bruneton(1999)
- في الحالة النقية يمكن للقلويدات أن تكون في صورة سائلة وهذا في درجات حرارة العادية ويرجع هذا لغياب الأكسجين مثل (Coiinine, Nicotine).



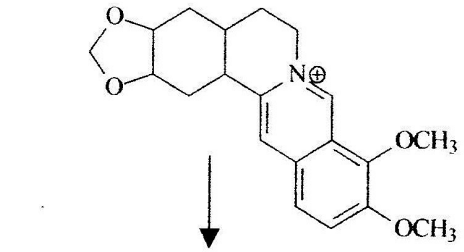
NICOTINE COIININE

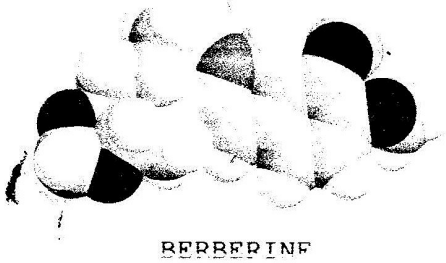
كما يمكن أن تتواجد في صورة بلورية صلبة لاحتوائها على الأكسجين مثل:Ricinne (Goto, 1975)



RICINNE

- عديمة الرائحة ومرة الطعم وغير متطايرة ونادرا ما تكون ملونة مثل Berbérine ذو اللون الأصفر.





BERBERINE

- القلويدات القاعدية لا تذوب في الماء ولكن تذوب في المذيبات العضوية القطبية أو متوسطة القطبية.
- قلويدات الأملاح تذوب في الماء، وبدرجة أقل في الكحول ولا تذوب في المذيبات العضوية سواء كانت قطبية أو غير قطبية (Balbaa et al, 1981).
- **الإيزوميرية:** كثير من القلويدات تحوي على ذرة أو أكثر لكاربون غير المتناظر (كيرالية) في الجزيئة لهذا تظهر الفعالية الضوئية (Paris et Hurabielle, 1980).

II.2.7. الخواص الكيميائية:

II.2.7.1.ذرة الآزوت في الجزيء

يشـــير Glasby (1978) إلى أن قاعدية القلويدات جد متغيرة وهذه الخاصية تكون جد محدودة وهذا لوجود الزوج الإلكتروني الحر في ذرة الآزوت وهذا ما يجعلها أقل ثباتا وأكثر قابلية للتحلل والتكسير وخاصة بالتعرض للحرارة والضوء وفي وجود الأكسجين، بينـــما يوضـــح Tedder et al (1982) أن قاعدية القلويدات تزداد بازدياد المجموعات المرتبطة مع ذرة الآزوت والتي تكون دافعة للزوج الإلكتروني مـــثل مجمـــوعة الألكيل، حيث يلاحظ أن ثلاثي إثيل أمين (1) أكثر قاعدية من ثنائي إثيل أمين (2) وهذا الاخير يكون أكثر قاعدية من إثيل أمين (3). $(C_2H_5)_3N > (C_2H_5)_2N > (C_2H_5NH_2)$

(1) (2) (3)

أمـــا إذا كانـــت المجموعات ساحبة للزوج الإلكتروني فإن القاعدية تقل مثل الكاربونيل وهذا ما أشار إليه Cordell (1981).

II.2.7.2. تفاعلات الترسيب

تترســـب القلويدات مع العديد من المحاليل تسمى محاليل القلويدات، وهناك العديد من هذه المحاليل وأكثرها أهمية هي المحاليل التي تحوي عنصر اليود وأهمها:

- **محلـــول مايـــر** (Mayer's Reagent) والذي يعتبر من أكثر المرسبات شيوعا، يحتوي على كلوريد الزئبق ($HgCl_2$) ويود البوتاسيوم (KI) « مادة صلبة بيضاء مصفرة ».
- **محلول دراجندروف** (Dragendroff's Reagent)، يحتـــوي علـــى نترات البزموت ويود البوتاسيوم في حامض الخليك المخفف (مادة صلبة برتقالية)
- **محلـــول بوخاردت** (Bouchardat's Reagent) يحتوي على يود البوتاسيـــوم(KI) واليود(I) ويتفاعل من طريق هلجنة القلويدات (مادة صلبة صفراء).

تترسب القلويدات مع الأملاح مثل أملاح المعادن الثقيلة، أملاح البلاتين، والموليبدان، و أيضا مع الأحماض مثل حمض البكريك، وتترسب مع التانينات. (Tedder et al,1982)

II.2.7.3.إستقرارية القلويدات

عمـــوما القلويدات تتفكك تحت الحرارة، لكن هناك مركبات لا تتفكك مثل الكافيـــين Caffeine الذي يتفكك عادة عند درجات حرارة 70°م فما فوق في فترة زمنية طويلة. (cordell,1981).

II.8. التأثير الدوائي أو الصيدلاني للقلويدات

يشير كل من وليم نظير (1970) و Pelt (1971) إلى أن تأثير القلويدات كيميائيا يختلف حسب نوع القلويد نفسه فمثلا **المورفين** مسكن ومخدر، **والستركنين** منشط للجهاز العصبي المركزي **والآتروبين والهيماتروبين** موسعان لحدقة العين **والإيفيدرين** يسبب ارتفاع ضغط الدم **والحارمين** يستخدم لطرد الديدان الشريطية، كما يسبب بعضها أيضا تقلصا عضليا أو أحيانا تشنجات الحمى وسرعة ضربات القلب، واحتقان البول كما هو الحال في **الأتروبين**.

وقد تستعمل القلويدات في معالجة أمراض الجهاز التنفسي والتشنجات الهضمية (الروابدة،1980)، كما تستعمل أوراق النباتات الطبية المحتوية عليها كسجائر التدخين قصد التخفيف من مرض الربو الشعبي وتخفيف آلام الأسنان، حيث أنه عند استعمال الجرعات من 5-10 ملغ أو أكثر قد يصل صاحبها إلى الجنون أو الموت .

زد على ذلك فإن قلويدات **البيريدين و البيرين والبيريميدين** تلعب دورا هاما في الوظائف الحية إذ تدخل في تركيب النيكليوتيد و البولينكليوتيد و بالتالي تدخل في تركيب (DNA) و (RNA)، فهي أيضا تدخل في الصفات الوراثية (farnsworth et Bingel, 1977).

جدول (2): أهم القلويدات وتأثيراتها الدوائية (Godman et al,1970)

Common name	Chemical name	Formula	Origin	Use
Atropine	A[Hydroxymerhyl] bezeneacetic acid 8-methyl-8-azabicyclo[3.2.1]oct-3-yl-ester	$C_{17}H_{23}NO_3$	Deadly nightshade ***Atropa belladonna***	Eye surgery (dilative),pa in relief
Caffeine	1,3,7-Trimethylxanthine	$C_8H_{21}N_4O_2$	Coffee ***Coffea arabica*** and Tea ***Camellia sinensis***	Stimulant
Cocaine	Methyl 3-ß-hydroxy-1-α-H, 5-α-H-tropane-2-ß-carboxylate	$C_{17}H_{21}NO_4$	Coca leaves ***Erythroxylon coca***	Stimulant Local anaesthetic
Codeine		$C_{18}H_{21}NO_3$	Opium poppy ***Papaver somniferum***	Sedative
Coniine	2-Propylpiperidine	$C_8H_{17}N$	Hemlock ***Conium maculatum***	Sedative, Poison
Curare	Mixture of various Alkaloids		Bark fo ***Strychnos toxifica***	Poison for arrow tips
Curarine			Curare derivative	Muscle relaxant
Ergot alkaloids	Mixture of various Alkaloids		Fungus ***Claviceps purpurea*** Parastic on Rye Secale cereale	Child birth
Heroin	Diacetylmorphine		Opium poppy	Hallucinogen
LSD	Lysergic acid deithylamide	$C_{20}H_{55}N_3O$	Ergot derivative	Hallucinogen
Mescaline	3,4,5-Trimethoxyphenethylamine	$C_{11}H_{17}N_3O$	***Lophophora sp.etc.***	Hallucinogen
Morphine	7,8-Didehydro-4.5epoxy-17-methyl-(5α,6α)-morphinan-3,6-diol	$C_{17}H_{19}NO_3$	Opium poppy	Pain relief
Nicotine	[-]-1-Methyl-2-[3-pyridyl]-pyrrolidine	$C_{10}H_{14}N_2$	Tobacco leaves ***Nicotiana tabacum***	Cigarettes
Quinine	A-(6-Methoxy-4-quinolyl)-5-vinyl-2-quinuclidinemethonol	$C_{20}H_{24}N_2O_2$	***Cinchina*** bark	Anti Malarial
Strychnine	4,6-Methano-6H,14H-indolo[2.3.4-de]pyrrolo[2,3-h,]quinoline,strychnidin-10-one **derivative**	$C_{21}H_{22}N_2O_2$	**Seeds** of genus Strychnos e.g ***S.nox vomica***	Poison

II.9. الاصطناع الحيوي للقلويدات

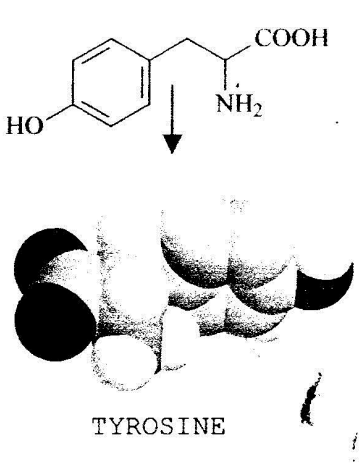
بعد أن تم التعرف على البنية التركيبية لكثير من القلويدات تبين أن المركبات الأم في الاصطناع الحيوي للعديد من هذه المركبات هى **الأحماض الأمينية** (Beevers,1967).

علما بأن هناك قلويدات يمكن أن تتكون داخل المصدر الطبيعى من عديد **الآسيتات** ومن المسار الاصطناع الحيوي **للتربينات** (Phillipson et zenk,1980) مثل قلويدات ثنائية التربين.

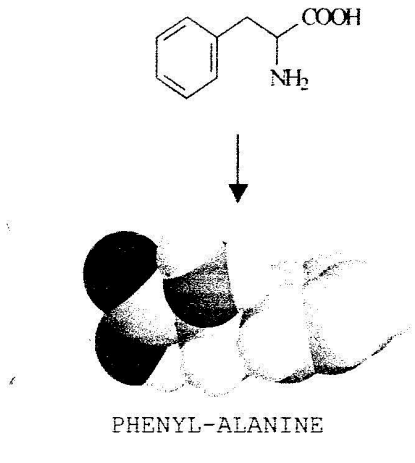
ومما لا شك فيه أن اختلاف التركيب البنائي للقلويدات يجعل وجود مسار موحد لاصطناعها الحي مستبعدا. لذا فقد اقترح كل من Battersby et Brunett(1980) العديد من الطرق التي يمكن أن تتكون بواسطتها هذه المركبات داخل المصدر الطبيعى وكل طريقة أو مسار يمكن أن يفسر على نهجها مسار الاصطناع الحيوي لعدد كبير منها (Han et al,1990) .

وأهم الأحماض الأمينية الأساسية التي تمثل الأم في الاصطناع الحيوي للقلويدات الأحماض التالية:

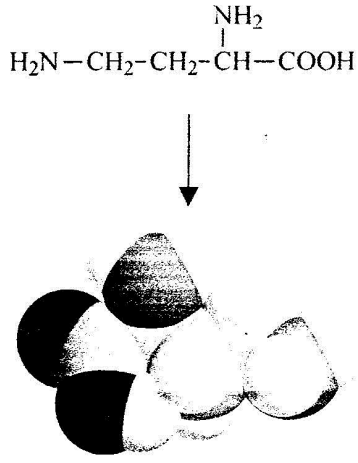
فنيل الآلانين،تربتوفان، أورنيثين، تيروسين، لايسين و الميثيونين (Mann,1987) .



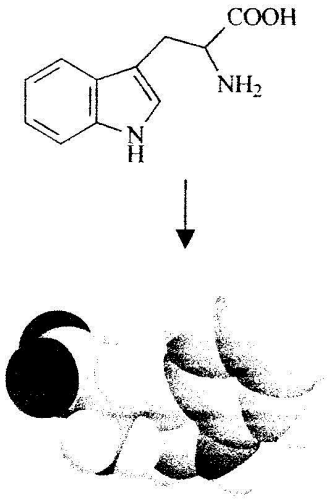
TYROSINE



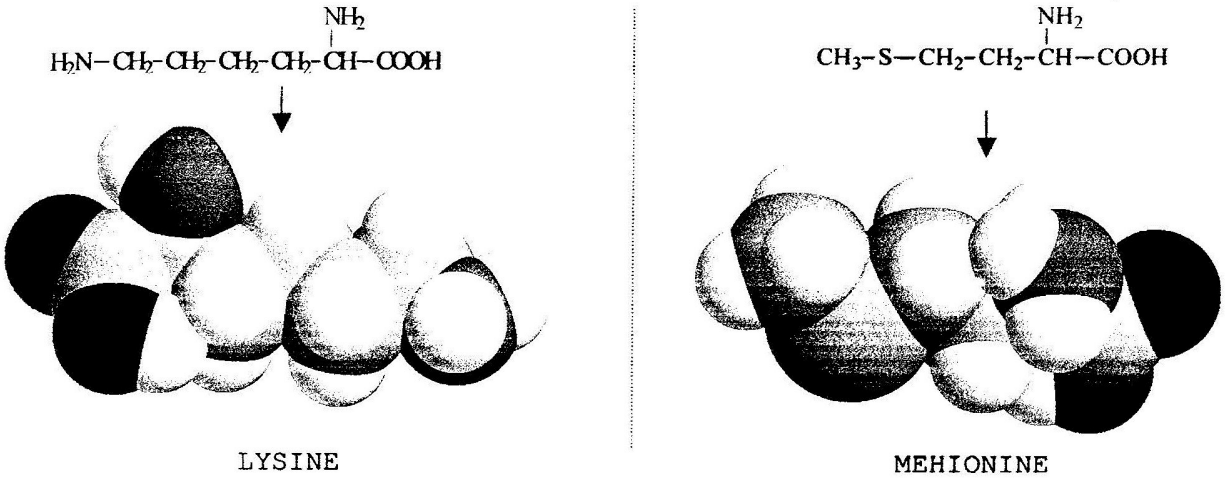
PHENYL-ALANINE



ORNITHINE

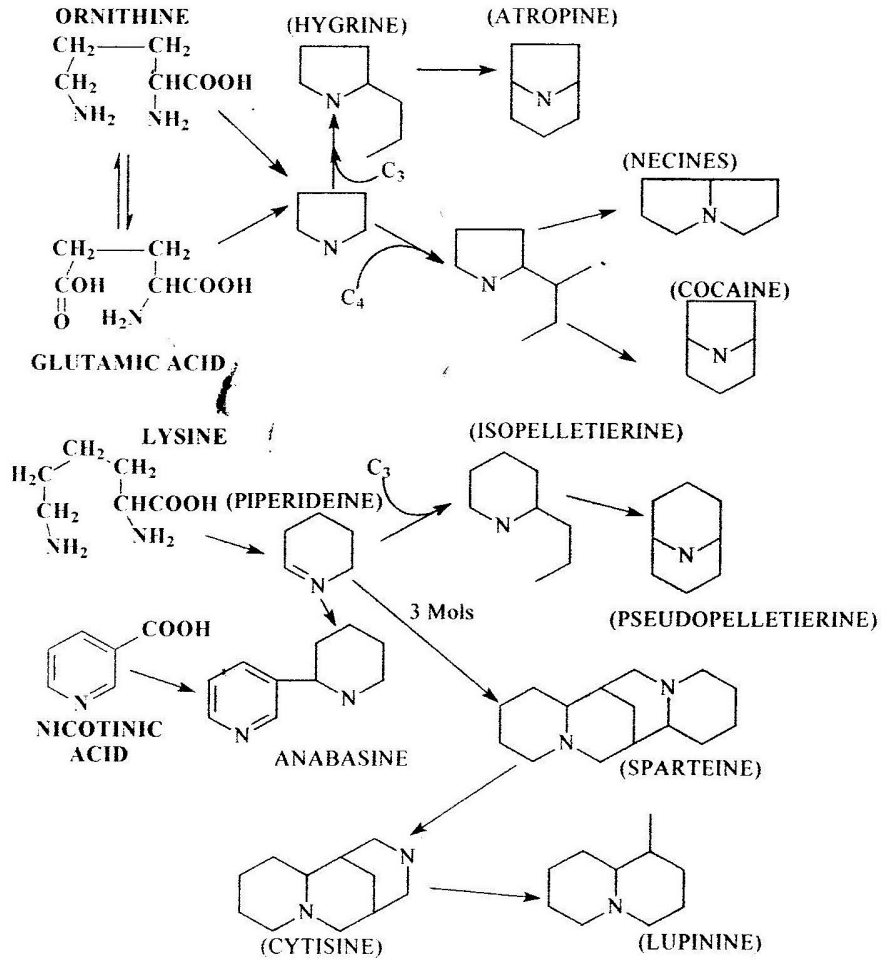


TRYPTOPHANE

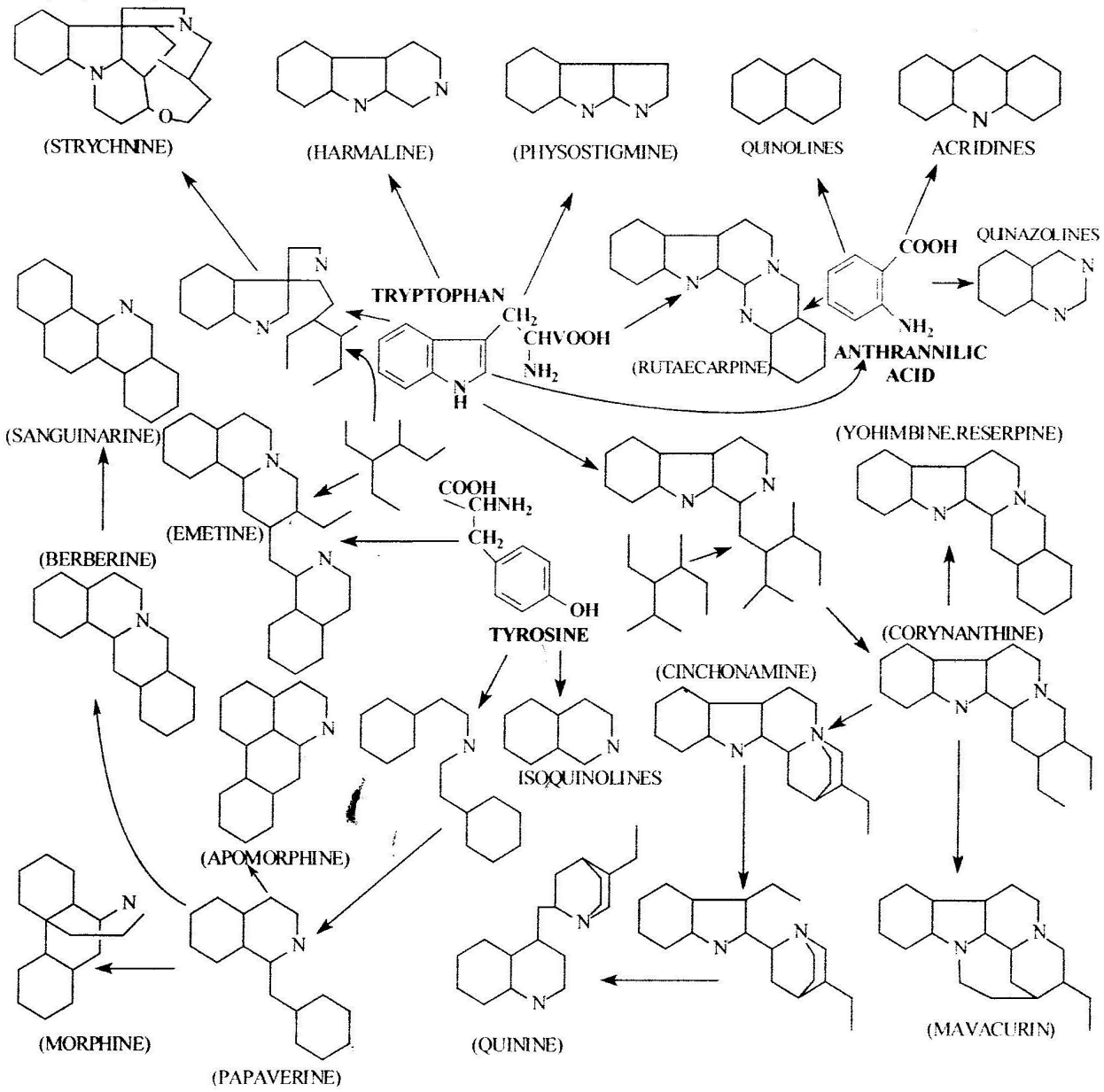


شكل (6): الأحماض الآمنية التي تدخل في التخليق الحيوي للقلويدات

بين كل من Kojinakanishi (1975) و Phillipson et zenk(1980) على أنه يشتمل تحويل الأحماض الأمينية، داخل جسم الكائن الحي إلى قلويدات على تفاعلات عديدة أهمها انتزاع ثاني أكسيد الكربون والأكسدة و الاختزال



شكل (7): طرق التخليق الحيوي للقلويدات.

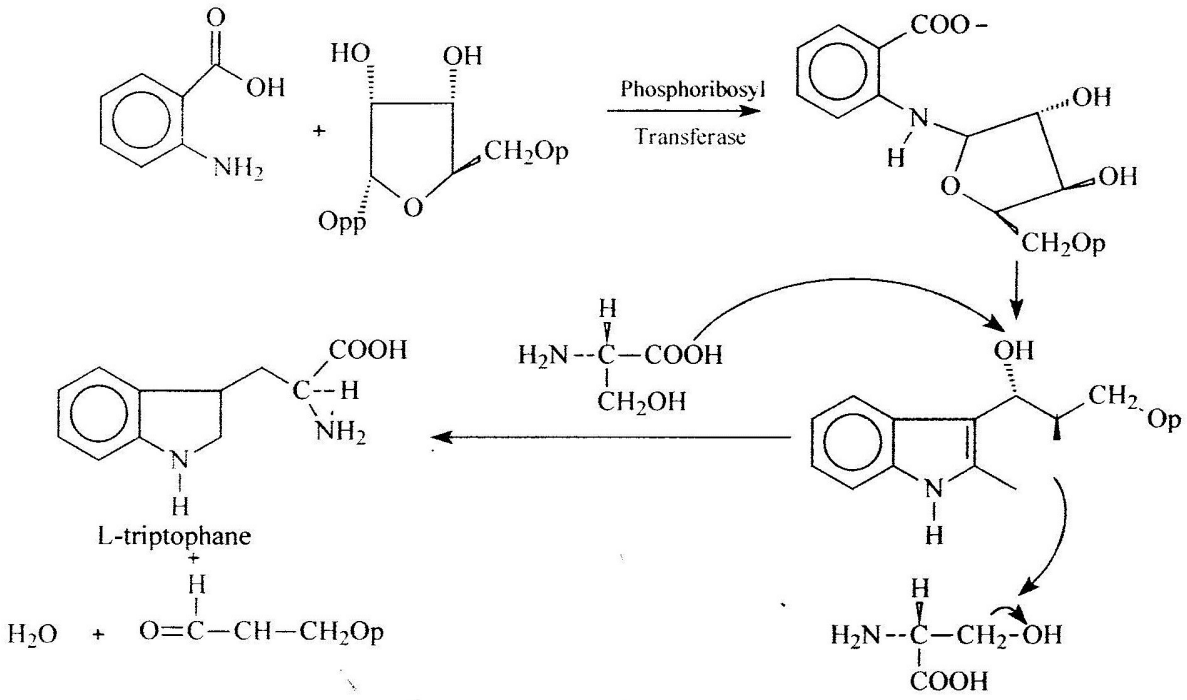


تابع للشكل (7): طرق التخليق الحيوي للقلويدات.

II.10. القلويدات المشتقة من التريبتوفان

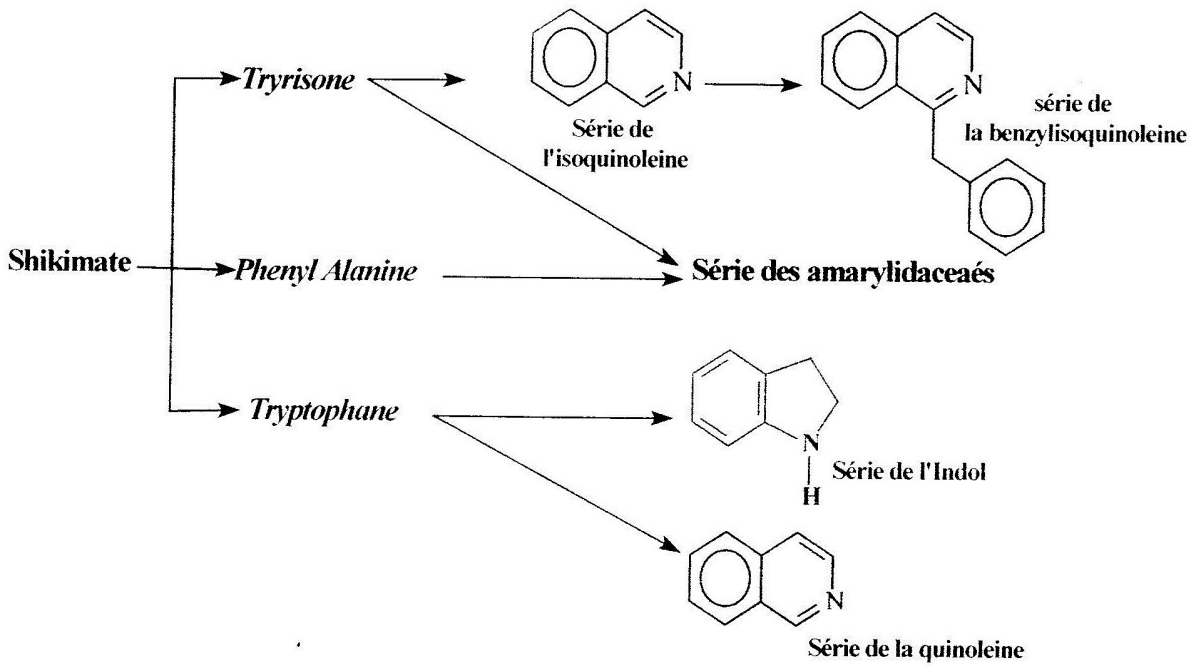
هـــناك عدد هائل و مهم جدا من القلويدات المشتقة من الحمض الأميني تريبتوفان الذي تم دراسته خصيصا بعملية العزل من قلويد Reserpine المتواجد في جذور *Rauvolfia serpentina*، التابعة لفصيلة الدفلية وذلك في سنة 1953م (Michall, 1994).

ويمكن توضيح مسار التخليق الحيوي للحمض الأميني تربتوفان في الشكل(8).



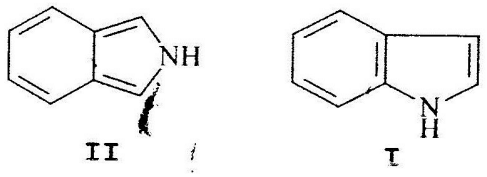
شكل(8): مسار التخليق الحيوي للحمض الأميني تربتوفان (Michall, 1994).

- تشتق معظم القلويدات الأندولية من الحمض الأميني تربتوفان، وفي الحقيقة فإن هنالك قلويدات أخرى غير قلويدات الأندول (أي لا تحوي في بنائها حلقة الأندول) يمكن أن تشتق من الحمض الآميني تربتوفان، وذلك عن طريق تحوير الحلقة الأندولية، يمكن توضيح التركيبة الحيوية للقلويدات الأندولية في الشكل(9).



شكل(9): التركيبة البنائية للقلويدات الأندولية حسب العالم Gérard (1993)

II.11. مجموعة الأندول



أعتبر Saxton(1965a) أن النظام الأندولي هو إتحاد حلقة البيرول (Pyrrole) وحلقة البترين (Benzene) ليشكل لنا إثنان من الإيزوميرات البتروبيرول (Isomerie Benzopyrole)

(I)– الأندول و (II)– الإيزوأندول، و قد بين Neuss(1987) أن حلقة الأندول تعتبر من أكبر المجموعات من حيث عدد أفرادها التي تم فصلها من المصادر الطبيعية. وتنتشر القلويدات الأندولية في فصائل نباتية متعددة، غير أن الكثير من الأجناس التابعة للفصائـــل التالية تعتبر أهمها من ناحية محتوى القلويدات :

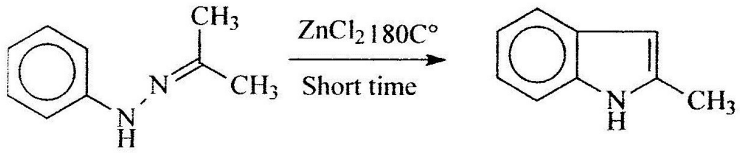
- **الفصيلة الدفلية** Apocynaceae
- **الفصيلة البقولية** Leguminosae
- **الفصيلة اللوقانية** Loganiaceae
- **الفصيلة الغوبية** Rubiaceae
- **الفصيلة السذبية** Rutaceae
- **الفصيلة الرطراطية** Zygophylaceae

وتـــندرج القلويدات الأندولية من ناحية بنائها من مركبات بسيطة التركيب إلى مركبات بالغة التعقيد، كما أشـــار إليه Battersby (1971)، قلويدات الأندول البسيطة تنتشر في أكثر من ثلاثين 30 فصيلة نباتية بيـــنما قلويدات الأندول المعقدة يقتصر وجودها على فصائل نباتية محدودة أهمها الفصيلة البقولية و الفصيلة اللوقانية.

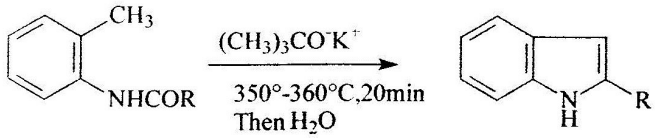
II.1.11.طرق تحضير مركب الأندول

حسب Gérard (1998) فإن الكثير من القلويدات الأندولية تكون مستبدلة في الموضع رقم 3 لحلقة الأندول أو تكون مستبدلة بمجموعة أخرى في الموضع رقم 4 أو 5.

ومن أهم الطرق المخبرية و الملائمة لتحضير الأندول أو مشتقاته البسيطة هي تلك التي أشار إليها Farnswarth(1968) والمتمثلة في طريقة فيشر (Ficher) التي ترتكز على تسخين مركبات الهيدرازونات في وجود وسيط كلوريد الزنك أو حمض الفسفور، إذ تخضع هذه المركبات لحادثة تحويل موضعي، وينتج مركبات وسطية لا تلبث أن تفتقد في المرحلة الأخيرة جزيء النشادر، كما يتضح من المعادلة التالية:



و هناك طريقة أخرى أشار إليها Saxston(1965 b) تعرف بطريقة مادلنغ (Madelang) و التي تعتمد على تسخين مركبات آرثو-أسيل تولوئين إلى درجة حرارة عالية في وجود قاعدة قوية حيث ينشأ الأندول أو مشتقاته.

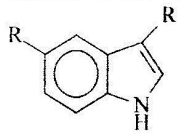


II.11.2. تصنيف القلويدات الأندولية

تحتوي القلويدات الأندولية على أكثر من 2000 قلويد و التي تنقسم بدورها إلى مجموعات جزئية :

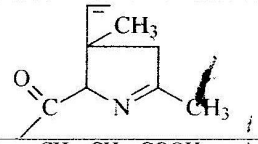
II.11.2.1. قلويدات أندولية تحوي مجموعة بديلة في الموضع رقم 3

وضح كل من Saxston (1965b) و Saxston (1968) أن الكثير من القلويدات الأندولية البسيطة في بنائها الكيميائي تستخلص من مصادر نباتية مختلفة، أبسط هذه القلويدات مركب الأندول نفسه، الذي يتوافر في أزهار كثير من النباتات، يضم الجدول (3) العديد من الأمثلة على هذه القلويدات كما بينه Stowe(1959) .



جدول (3): صيغ بعض القلويدات الأندولية

	R`	R
إندول	H	H
جرامين	H	$-CH_2-N-(CH_3)_2$
تربتامين	H	$-CH_2-CH_2-NH_2$
N،N-ثنائي مثيل تريبتامين	H	$CH_2-CH_2-N-(CH_3)_2$
هيبتافورين	H	$-CH_2-CH(N^+-(CH_3)_3)-COO^-$
بوريلين	H	
أبرين	H	$CH_2-CH(N(H)-CH_3)-COOH$
سيروتيتين	OH	$-CH_2-CH_2-NH_2$
بوفوتينين	OH	$-CH_2-CH_2-N-(CH_3)_2$

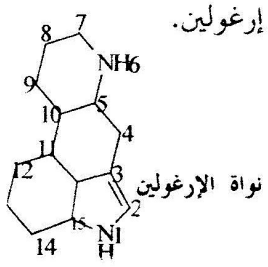


II.11.2.2. قلويدات تحوي نواة إرغولين

طبقا لما جاءت به مراجع Eich(1994) و Ninomiya(1990) أن العشرات من القلويدات الطبيعية تحوي في بنائها هيكلا بنائيا يتألف من أربع حلقات تعرف بنواة إرغولين.

وترقم هذه النواة وفقا لما جاء به Stadler(1975)

نواة الإرغولين

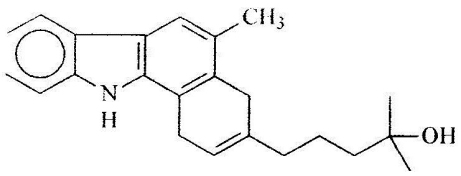


II.11.2.3.قلويدات تحوي نواة الكربازول:

- **قلويدات الكربازول**

مثال عن هذا النوع من القلويدات هو جليكوزولين Glycozoline المستخلـــــص من جنس *Glycosmis SP* (التابع للفصيلة السذبية) وفقا لما جاء به Kapil (1971).

كما بين Stoll (1978) أن هناك مشتقات أخرى من كربازول تم عزلها من نبات *Genus Murraga* مثل Mahanimbine ومشتقات أخرى من الكربازول يتم الحصول عليها بإضافة نواة البريدين Pyridine على سبيل المثال Olivacine .



Glycozdine

Olivacine

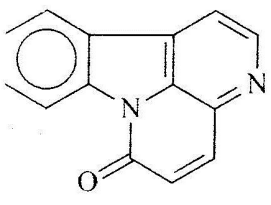
- **قلويدات الأسبيدوسبارما**

وضح Kapil (1971) أن هذه المجموعة تحتوي على أكثر من 250 قلويد معظمها مستخلصة من العائلة الدفلية على سبيل المثال Aspidospermindine

Aspidospermidine

II.11.2.4.قلويدات من نوع كونيتين

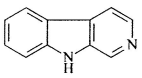
بين manske (1971) أن هذه المجموعة الصغيرة من القلويدات متمثلة في Canthionine المستخلص من *Pentacerase* الذي ينتمي إلى الفصيلة السذبية.



Canthinonine

5.2.11.II.قلويدات مجموعة بيتا–كاربولين

أثبت Balbaa et al(1981) أن هناك العديد من القلويدات تحتوي على نواة الكاربولين كجزء من بنيتها.

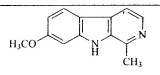
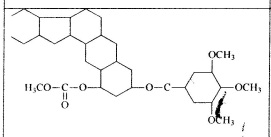
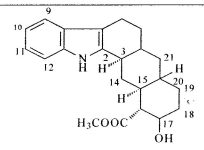
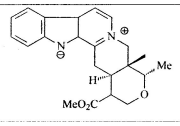


B-CARBOLINE

ومن بين هذه القلويدات : **قلويدات** (*P.harmala L.*)، قلويدات (*Yohimba*)، قلويدات (*Rauwlfia*) وقلويدات (*Vinca*)

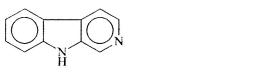
يمكن توضيح بعض البنيات الكيميائية المختلفة لبعض القلويدات المحتوية على مجموعة بيتا–كاربولين لبعض الأجناس النباتية في جدول (4)

جدول (4): صيغ بعض القلويدات الكربولينية

اسم الجنس النباتي	اسم العائلة	الجزء النباتي الذي يحوي على القلويدات	الاسم الكيميائي	البنية الكيميائية
Peganum harmala	Zygophylaceae	البذور Seeds	الحارمين Harmine	
Rauwlfia Serpentina	Apocynaceae	الجذور Roots	ريسارين Reserpine	
Corgnasche yohimba	Rubiaceae	قشرة اللحاء Bark	يوهيمبين Yohimbine	
Catharanthus roseus	Apocynaceae	الأوراق	سربنتين Serpentine	

II.12. الإصطناع الحيوي لـ β-كاربولين

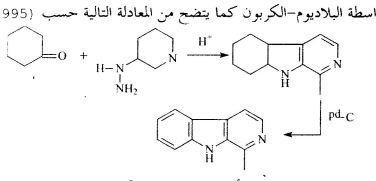
بـــين Farnsworth(1968) أن هـــناك الكثير من القلويدات التي تحتوي في بنائها حلقة تعرف بحلقة **بيتا-كاربولين** وقد تكون حلقة البريدين في بيتا-كاربولين مختزلة كليا أو جزئيا في كثير من القلويدات الطبيعية .



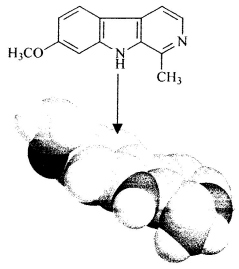
B-Carboline (Tetra-hydro-β-Carboline)
حلقة البريدين مختزلة جزئيا

B-Carboline
حلقة البريدين مختزلة كليا

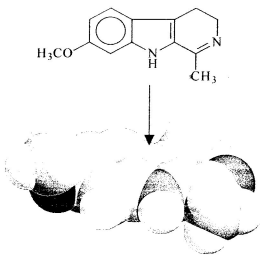
وقد أشار Abdel-Fattah et al(1996) أن هناك العديد من الطرق المخبرية تحوى حلقة بيتا-كربولين، ومن بين هذه الطرق تلك التي تعتمد على طريقة فيشر لتحضير الأندول ومشتقاته . تتلخص هذه الطريقة في تكثيف سيكلوهيكسانون مع مشتق البريدين في الوسط الحمضي ومن ثم انتزاع الهيدروجين من المركب الناتج بواسطة البلاديوم-الكربون كما يتضح من المعادلة التالية حسب William(1995).



بين Tathrouch et al(2002) أن القلويدات التي تحوي في بنائها هذه الحلقة هي تلك المركبات التي تم استخلاصها من (*P.harmala L.*) التابع للفصيلة الرطراطية ومعظم القلويدات المستخلصة من هذا النبات تكون في الغالب مستبدلة بمجموعة ميثيل على ذرة الكاربون رقم (1) وأهمها: Harmine و Harmaline



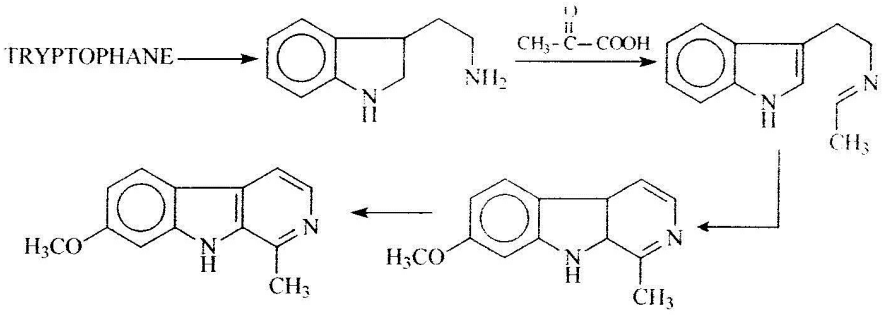
البنية الكيميائية و الفراغية لقلويد الحارمين



البنية الكيميائية و الفراغية لقلويد الحرمالين

بالـــرغم مـــن أن المصـــدر الطبيعي الرئيسي للحارمين هو نبات *P.harmala L.* كما أشار إليه Siddiqui et al(1987) إلا أنـــه قد تم استخلاصه من نباتات كثيرة تنتمي إلى فصائل نباتية مختلفة مثل Loguminosea (*Xtalostylise*) و Malphigiaceae (*Banisteria caapii*)

حســـب Gordell, (1981) فإن قلويد الحارمين ينشأ من تكثيف حمض التربتوفان مع حمض البيروفيك كما يتضح من هذا المسار:



شكل(10):مسار الاصطناع الحيوي لقلويد الحارمين

III. النشاط البيولوجي

1.III. تعريف المضادات الحيوية

تعرف المضادات الحيوية وفقا لـ Serge et Pieri, (1986) بأنها كل مادة كيميائية منتجة من قبل الكائنات الحية الدقيقة ولها القدرة على تثبيط أو إيقاف نمو البكتيريا وكائنات حية دقيقة أخرى في محلول مخفف، نتحصل على المضادات الحيوية عن طريق عملية تخليقية أو نصف تخليقية داخل مخابر البحث الخاصة ومن بين الكائنات الحية الدقيقة المنتجة للمضادات الحيوية نجد: الفطريات والبكتيريا، كما تعد actinomycetes الأكثر استعمالا في هذا المجال كما يمكن إنتاجها من مشتقات صناعية (sulfamide isomiozide)

2.III. السلالات البكتيرية

1.2.III. تعريف البكتيريا

البكتيريا عبارة عن كائنات حية دقيقة وحيدة الخلية يطلق عليها مصطلح protiste- procaryote، جدارها خالي من السيليلوز ماعدا Acétobacter، تتميز بغياب الـPectine، Algine، Chitine و Lignine وغياب Stéroïde ماعدا عند بعض الأجناس

تلعب البكتيريا دورا هاما في الدورة الحياتية على سطح الأرض،حيث تتواجد في كل مكان (ماء، هواء، تربة والفتحات الطبيعية للإنسان والحيوان)،كما تلعب دورا كبيرا في التحلل البكتيري الذي قد يكون مفيدا في (عمليات التخمر، المناعة،تكوين الفيتامينات، الهرمونات والإنزيمات (Clement, 1968).

2.2.III. الخواص العامة للسلالات البكتيرية المختبرة :

Escherichia.coli.1.2.2.III

عزلت لأول مرة من طرف Escheriche سنة 1885، تنتمي هذه البكتيريا إلى عائلة Enterobacteriaceae وهي عصيات متحركة بدون أبواغ، تملك غشاء بها أهداب قطبية سالبة الجرام (Gram-)، تعمل بطريقة هوائية ولا هوائية، تتواجد E.coli في الأنبوب الهضمي للإنسان والحيوان وتتواجد بكثرة في الأمعاء، حيث تمثل $10^7 - 10^9$ خلية بكتيرية في الغرام من الفضلات، هذه المستعمرة البكتيرية لاتمثل سوى 1‰ مقارنة مع الجراثيم اللاهوائية

بعض الأنواع من E.coli خطيرة قادرة على إحداث بعض الإصابات للمجاري البولية عند الإنسان وبعض الأنواع الحيوانية خاصة عند الأشخاص ذوي الجهاز المناعي الضعيف (Avril, 1992)

Pseudomonas aerogenosa.2.2.2.III

عـــزلت Pseudomonas ســـنة 1882 مـــن قبل العالم Géssard و النوع *Pseudomonas aerogenosa* عـــبارة عـــن بكتيريا عصوية سالبة الجرام (Gram−)، تنمو بسهولة في الأوساط المغذية، مكـــونة مســـتعمرات ملساء، دائرية، ذات رائحة عطرية ولون أخضر مزرق، تنتج البكتيريا صبغة صفراء تذوب في الماء والأخرى خضراء مزرقة تذوب في الكلوروفورم.

تـــتواجد *Pseudomonas aerogenosa* في الـــتربة، الماء وعلى مستوى الجلد وتسبب التهاب السحايا والجروح، وينتج عنها قيح أزرق مخضر كما تحدث عدوى للجهاز البولي و الجهاز التنفسي ويعتبر كل من Gentamycine و Polymycine مـــن المضـــادات الحـــيوية المؤثـــرة بشـــدة علـــى هـــذه البكتيريا (Lecler.1995)

Staphylococus aureus.3.2.2.III

أكتشـــفت Staphylococus في القـــيح مـــن طـــرف باســـتور عام 1880، تنتمي إلى عائلة Micrococaceae وهـــي عـــبارة عن بكتيريا كروية موجبة الجرام (Gram+) ، قطرها من 0.5-2.5 نانومتـــر، تتجمع في شكل عنقود غير منتظم وإليه تعود التسمية Staphylococus، يمكن لهذه البكتيريا الـــنمو بســـهولة في مختلف الأوساط المغذية ومعظمها يتواجد طبيعيا على مستوى الجلد والأغشية المخاطية للإنسان، تنتج بعض أنواع Staphylococus صبغة بيضاء والبعض ينتج صبغة صفراء، هذه الأخيرة تميز *Staphyllococus aureus* (*aureus* = ذهبي)، المتـــــواجد في الأنسجة الجلدية ، المجاري التنفسية والبولـــية، وتفرز مواد خارج خلوية منها Exo-tonique تساعد على اختراق الأعضاء والأنسجة الميتة بحـــدوث ثقب وتخرب موضعي للجلد، كما تحدث الإلتهابات على مستوى الرئة، كما يمكن لهذا النوع من البكتيريا أن يكون سببا في التسممات الغذائية (Jawetz et al,1973) .

Klebsiella pneumonia.4.2.2.III

تنتمـــي إلى عائلة Enterobacteriaceae، عصيات سالبة الجرام (Gram-)، غير متحركة، تحـــتوي علـــى كبسولات، عدد من هذه البكتيريا قادر على تثبيت الآزوت الجوي، نجدها في التربة والمياه، كـــذلك توجد متطفلة على الوسط المضيف بعد مدة زمنية، كما تؤدي إلى إصابة القصبات الهوائية والجهاز التناســـلي والأوعية الدموية وبالتالي لها القدرة على الهجرة عن طريق الدم من الأحشاء، مسببة تعفن دموي، تبدي هذه البكتيريا مقاومات لعديد من المضادات الحيوية (بكيستون وفريزر، 1997).

الوسائل

والطرق

I. الدراسة الكيميائية

للدراســـة الكيميائية أهمية كبيرة في عمليات الكشف عن المواد الفعالة، حيث تستعمل فيها طرق سهلة و سريعة إذ بواسطتها نتمكن من معرفة وجود وغياب هذه المواد في مختلف أجزاء النبات، وهذا باستعمال مقادير صغيرة جدا من العينات.

وباستعمالنا لمختلف أنظمة المذيبات المطبقة على كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (CCM)، تمكنا من الحصول على الفصل الجيد لقلويدات النبات المدروس.

I . 1. المادة النباتية

تتـــــــــعلق المادة النباتية المراد دراستها بنبات *P.harmala L.* التابع للعائلة الرطراطية Zygophylaceae الذي تم جنيه سنة 2003م بمنطقة **الحرملية**، الواقعة جنوب شرق عين مليلة

هذا النبات تم جنيه على ثلاث مراحل و المبينة كما يلي:

- **المرحلة الأولى**

قـــبل الإزهار بتاريخ : *15 مارس 2003م* على الساعة الثامنة صباحا، حيث تم جنى كل من الجذور، السيقان و الأوراق .

- **المرحلة الثانية**

أثناء الإزهار بتاريخ : *18 ماي 2003م* على الساعة الثامنة صباحا، تم جنى كل من الجذور السيقان، الأوراق و الأزهار.

- **المرحلة الثالثة**

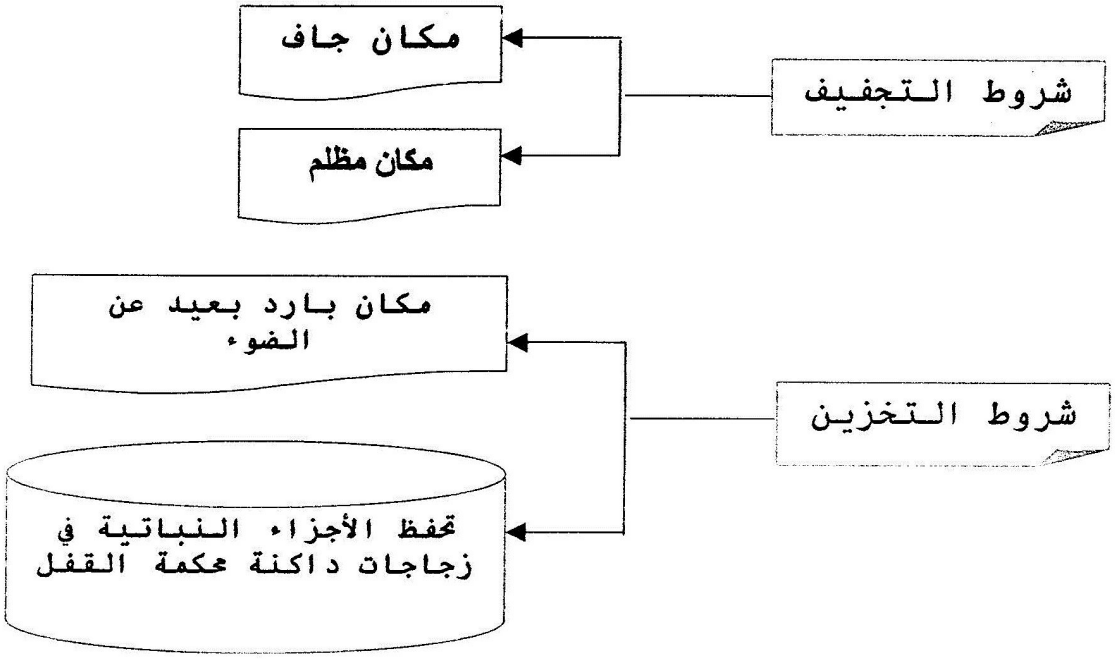
أثـــناء الإثمـــار بـــتاريخ : *25 جوان 2003م* على الساعة السابعة صباحا حيث تم جني كل من:الجذور، السيقان، الأوراق و الثمار.

وبتاريخ *15 أوت 2003م* تم جني البذور على الساعة السادسة مساء.

ملاحظة:

1- بالنســـبة لكـــل مرحلة من المراحل الثلاث قمنا بتنقية وفصل الأعضاء ثم تجفيف، سحق وتخزين كل عضو على حدا لحين إجراء التحاليل المخبرية عليها.

2- شروط التجفيف و التخزين



شكل (11): شروط التجفيف والتخزين

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

I.2.1. اختبار القلويدات

تؤخذ 5غ من مسحوق *P.harmala L.* الجزء الخضري والجزء الجذري كل على حدة حسب ما ورد عن Balbaa et al (1981) ويستخلص بواسطة 50 مل من حمض كلور الماء المخفف ويرشح كل مستخلص حمضي، ثم يجعل قلويا بالأمونيا ثم يستخلص بواسطة الكلوروفورم ثلاث مرات، في كل مرة بـ20 مل، يجمع المستخلص الكلوروفورمي، يبخر حتى الجفاف والراسب يذاب في 2 مل من حمض كلور الماء المخفف ويكشف فيه عن القلويدات بواسطة كاشف ماير (ملحق 4)، حيث تضاف بضع قطرات منه للمحلول الحمضي، وكنتيجة : إن ظهور الراسب بلون أبيض في الحال فهذا يدل على وجود القلويدات.

I.2.2. اختبار الجليكوسيدات

تؤخذ 5غ من مسحوق *P.harmala L.* كل جزء على حدة، وفق لما ذكره Gonzloez et Delgado(1962) ، يضاف لها 25 مل من حمض الطرطريك 2% في الإيثانول، ثم يسخن الخليط على حمام مائي تحت مكثف راد لمدة ساعتين، يرشح و يغسل الراسب على ورقة الترشيح عدة مرات بكميات قليلة من الإيثانول، يضم الراشح لبعضه في جفنة خزفية ويبخر على حمام مائي لدرجة الجفاف ثم يذاب الراسب من كل جفنة في أقل كمية من الماء المقطر الساخن ثم يضاف لـ2مل من المستخلص المائي المحصل عليه، قطرات من محلول فهلنج (ملحق 4) ويغلى على حمام مائي فإن حدوث اختزال لمحلول فهلنج، يدل على وجود الجليكوسيدات.

I.2.3. اختبار الكاردينوليدات:

I.2.3.1. تفاعل Killer-Kiliani

- ينقع 1 غ من المادة الجافة في 20 مل من الماء المقطر ثم ترشح، نأخذ 10 مل من الراشح و يضاف لها 10مل من مزيج الكلوروفورم –الميثانول (1:1).
- تبخر الطبقة العضوية حتى الجفاف، يضاف للراسب 2مل من حمض الخل الثلجي ثم قطرات من كلوريد الحديد $FeCl_3$، يتبع مباشرة باضافة 1مل من حمض الكبريت المركز بحذر على جدار الأنبوب

← النتيجة الإيجابية تكون بظهور لون أخضر مزرق في الطبقة الحمضية .

I.2.3.2. تفاعل Pelget

- يضاف إلى 1مل من الخلاصة الكحولية 1مل من كاشف Pelget (ملحق 4)

← اللون البرتقالي دلالة على وجود الكاردينوليدات.

I.2.4. اختبار الستيرولات غير المشبعة أو التربينات الثلاثية

ينقع 10 غ من مسحوق *P.harmala L.*، كل جزء على حدة حسب Tador (1979) وتستخلص بالإيثانول 70%، المستخلص الكحولي يبخر حتى الجفاف والراسب يذاب في 20مل من الكلوروفورم ثم يرشح ويقسم الراشح إلى قسمين:

I.2.4.1. تفاعل Liéberman-Bucchard

يضاف للجزء الأول 1مل من حمض الخليك اللامائي، ويتبع بإضافة 1مل من حمض الكبريتيك المركز بحذر على جدران الأنبوبة، اللون الأحمر البنفسجي في منطقة الاتصال بين الطبقتين والمحلول يصبح أخضر يدل على وجود المركبات الستيرولية غير المشبعة أو التربينات الثلاثية.

I.2.4.2. تفاعل Salkowski

يضاف إلى الجزء الثاني حجم مساوي له من حمض الكبريتيك المركز، ظهور اللون الأصفر يتحول إلى اللون الأحمر يدل على وجود مشتقات الستيرولية غير المشبعة أو التربينات الثلاثية.

I.2.5. اختبار الصابونيات

نغلي 2 غ من مسحوق *P.harmala L.* لكل جزء على لحدا حسب Balbaa (1969) مع 80مل من الماء المقطر، يرشح، يبرد والراشح يرج رجا قويا، ظهور الرغوة الثابتة يدل على وجود الصابونيات.

I.2.6. اختبار التنينات

تؤخذ 5غ من مسحوق الجاف *P.harmala L.* كل جزء على حدة وفقا لما ذكره كل من Trease et Evans (1978) ويستخلص بالإيثانول 50%، والراشح يضاف له قطرات من $FeCl_3$.

← ظهور اللون الأخضر الغامق يدل على وجود التنينات.

I.2.7. اختبار الفلافونويدات

تنقع 5غ من المادة الجافة في 100مل من HCl (1%) ليلة كاملة، ترشيح:

- يجعل 5مل من الراشح قلويا باستعمال هيدروكسيد الأمونيوم NH_4OH.

← ظهور اللون الأصفر الفاتح دلالة على وجود الفلافونويدات .

- نضيف إلى 5مل من الراشح 2.5مل من الكحول الآميلي.

← تكون الطبقة الكحولية بالأصفر دلالة على وجود الفلافونويدات الحرة .

- تبخر الطبقة المائية للاختبار السابق، يذاب الراسب في 2مل من HCl (1%) مع التسخين ببطء، يبرد وتضاف له 2.5مل من الكحول الآميلي.

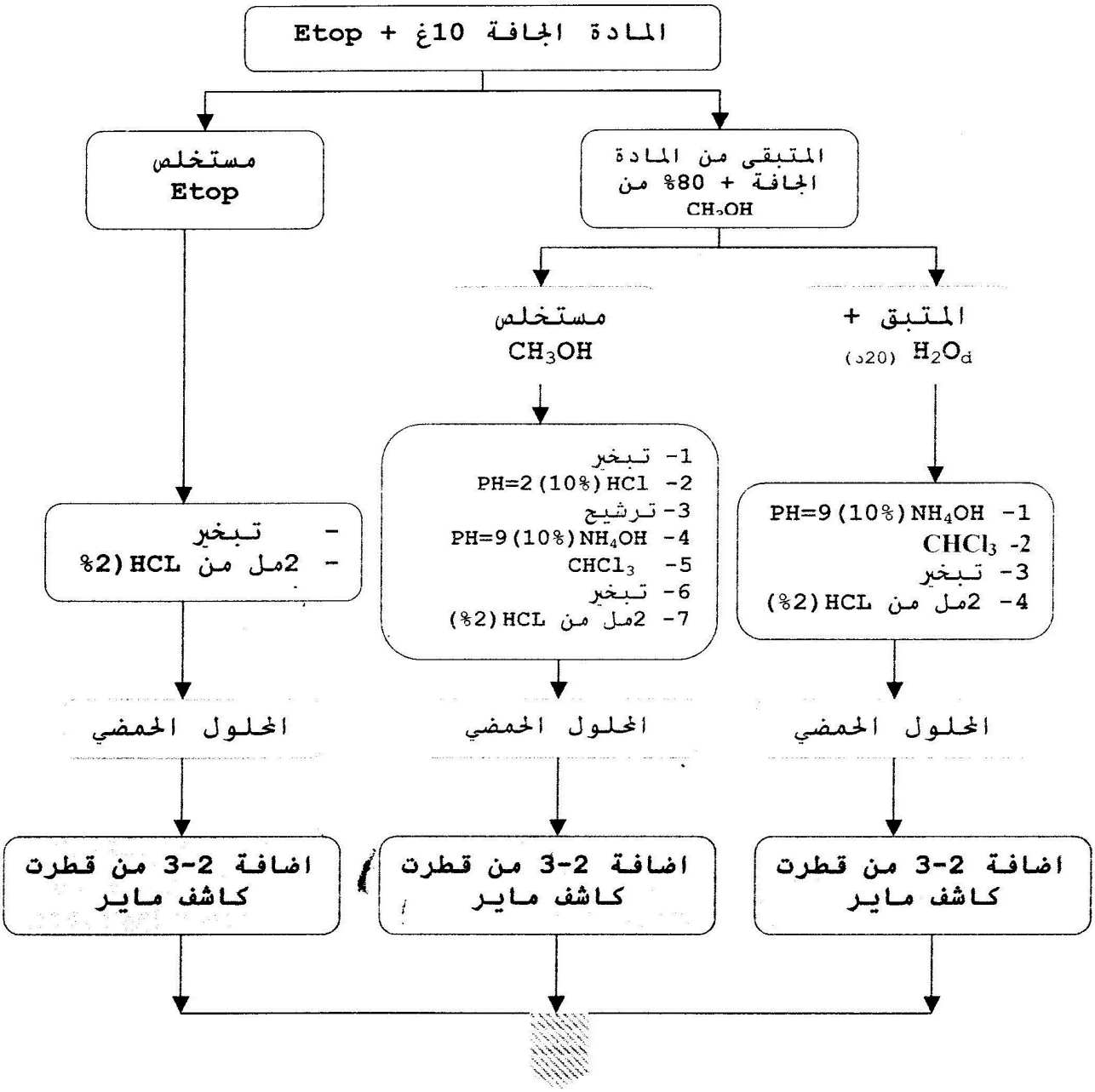
← ظهور اللون الأصفر، مؤشر لوجود الجليكوسيدات الفلافونويدية (Tadors,1979).

I.2.8. اختبار الزيوت الأساسية

توضع كمية من مسحوق المادة النباتية الجافة في جهاز تقطير الزيوت ويجرى عليها عملية الاستخلاص بالماء المقطر.

← ظهور الطبقة الزيتية يدل على وجود الزيوت الأساسية (Lucheroni,1996)

I.3. طرق الكشف عن القلويدات في جميع المستخلصات



شكل (12): الكشف عن القلويدات (Chaabi,2003)

Etop: الإيثر البترولي	H_2O: ماء مقطر	HCl: حمض كلور الماء
CH_3OH: الميثانول	CH_2Cl : الكلوروفورم	NH_4OH: هيدروكسيد الأمونيوم.

I.4. التقدير النوعي للقلويدات

تعامل الأجزاء النباتية المتمثلة في الجذور، السيقان، الأوراق، الأزهار، الثمار والبذور وهذا في مختلف المراحل، أولا بالإيثر البترولي، وذلك للتخلص من المركبات غير القطبية الموجودة مثل الدهون والشموع، ثم يتم استخلاص القلويدات بعد التخلص من الدهون باستخدام المذيبات المناسبة وأنسب المذيبات المستخدمة هنا هي (90%) كحول الإثيلي، كما هو مبين في الشكل (13) حيث أن معظم القلويدات تتوافر في الطبيعة على هيئة أملاح لها خاصية الذوبان في الكحول المخفف.

- يركز حجم المحلول الكحولي، ومن ثم يعامل بمحلول حمض مخفف (HCl في العادة) ومذيب عضوي مثل الكلوروفورم، حيث تبقى المركبات القلويدية في الطبقة الحمضية، بينما تستخلص المركبات المتعادلة و المركبات ذات الخاصية القاعدية الضعيفة في الطبقة العضوية.
- تضاف القاعدة إلى الطبقة الحمضية حتى يصبح المحلول قاعديا حيث تتحول عندئذ القلويدات إلى حالتها الحرة، ومن ثم تستخلص بالمذيبات العضوية المناسبة ويستخدم في معظم الحالات الكلوروفورم.
- ومن ثم يجفف المستخلص الكلوروفورمي بترشيحه من خلال كبريتات الصوديوم اللامائية ثم يبخر تحت ضغط منخفض على حمام مائي، ويذاب الراسب في 10 مل كلوروفورم، لحين دراستها كروماتوغرافيا (Massoud et al,2002)

I.5. كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة للاستخلاص النوعي

- **مادة المدمصة المستعملة**

ألـــواح مغطاة بملام السيليكا من نوع Sillica-Gel G ذات سمك 0.2 ملم محضرة بمحلول (0.5 عـــياري) من هيدروكسيد البوتاسيوم (KOH) .قبل استعمال الألواح نشطت داخل فرن حراري لمدة 10 دقائق تحت درجة حرارة 60م°.

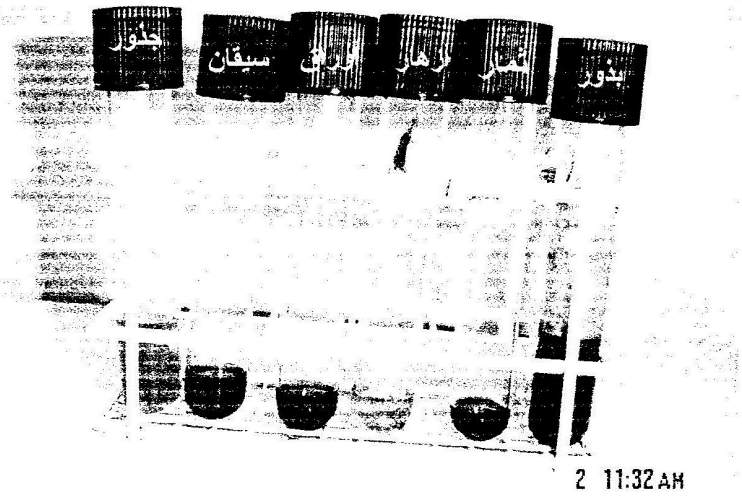
- **نظام المذيب المستعمل**

استعملنا لفصل قلويدات نبات *P.harmala L.* حوالي 8 أنظمة لمذيبات مختلفة (ملحق 5) جمـــيعها أعطـــت نتائج جيدة (ملحق 5،جدول(14)) إلا أن نظام المذيب كلوروفورم-ميثانول (1:4) أعطى فصل جيد للقلويدات في جميع أجزاء النبات.

- **فصل القلويدات بواسطة كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة**

بواســـطة أنـــبوب شـــعري يتم سحب كمية من المستخلصات النوعية لكل الأقسام في مرحلة الإزهـــــار كل على حدة وعلى بعد 2سم من الطرف السفلي للوح الكروماتوغرافي ،توضع بقعة صغيرة مع تجفيفها بواسطة مجفف حيث المسافة بين البقعة والأخرى 1.5 سم، يوضح اللوح الكروماتوغرافي داخل إنـــاء الفـــصل الحـــاوي علـــى المذيب لإجراء عمـــليات الفصـــــل وتتـــرك إلى صـــعود المذيـــــــب مســـافة 16.5سم.

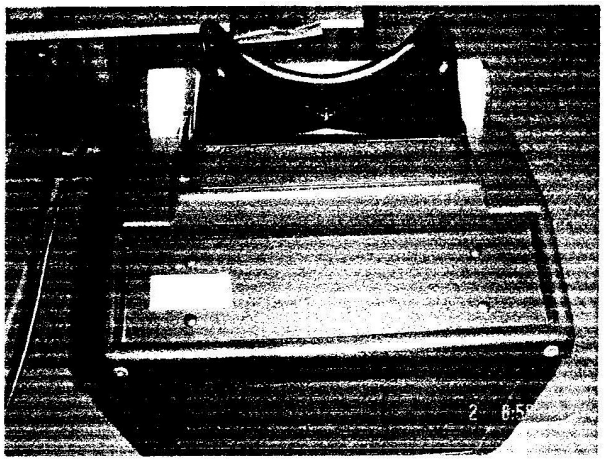
- بعد صعود المذيب إلى المسافـــــة المذكورة سالفا تسحب الألـــــواح وتجفف في الهواء ثم في الفرن الحراري على درجة 45م° لمدة 10 دقائـــــق ثم تترك حتى تبرد.



شكل (14): مستخلصات أجزاء نبات *P.harmala L.* الحاوية على القلويدات

تعـــاين الألـــواح تحت الأشعة فوق البنفسجية أين تظهـــر الـــبقع القلويدية مزهرة ثم ترش بكاشف دراجندروف (تفاعله مع القلويدات يعطي لونا أحمرا برتقاليا) (ملحق 4).

يحســـب معامل الاستبقاء البقع القلويدية R_f وفقا للعلاقة التالية:



شكل (15): جهاز الأشعة فوق البنفسجية

$$\text{معامل الاستبقاء } R_f = \frac{\text{المسافة التي تقطعها البقعـــــة}}{\text{المسافة التي يقطعها المذيـــــب}}$$

I.6. التقدير الكمي لقلويدات نبات *P.harmala L.*

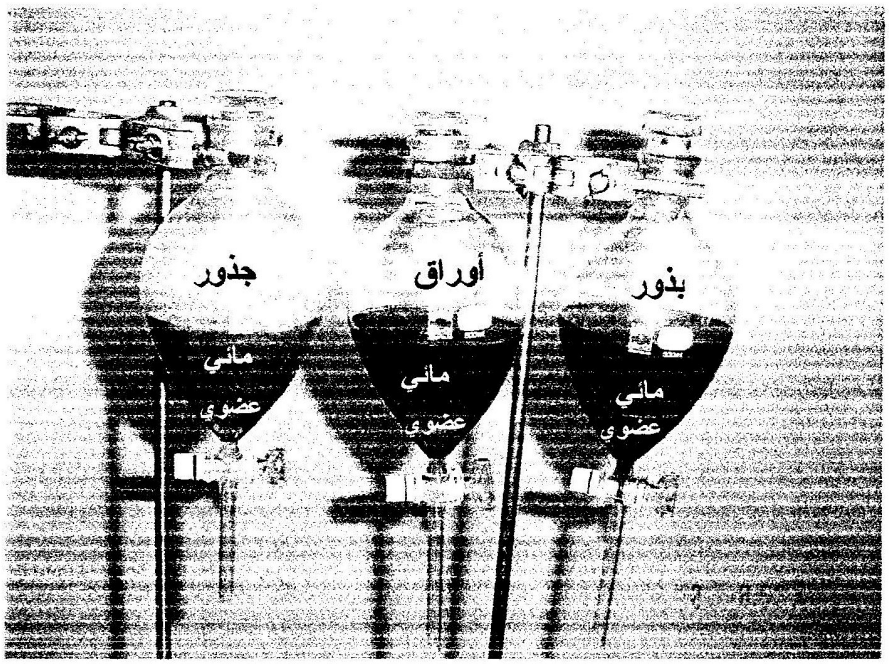
تؤخذ 100غ من مسحـــوق *P.harmala L.* (الجذور، الأوراق، البذور) كل على حدة وتغمر بالإيـــثانـــــول 70% داخـــــل جهـــاز الاستخلاص ذو سدادة من القطن لمدة ليلة كاملة حسب Balbaa et al(1981).

يتم بعدها تقطير كل عينة وتستمر العملية بإضافة الكحول 70% إلى غاية استخلاص كل القلويدات (يمكن التأكد من ذلك بسلبية كاشف ماير).

يبخـــر المستخـــلص الكحـــولي في جـــهاز التبـــخير الـــدوراني (Rotavapeur) مـــن نوع (Buchi Rotavapor R.200 Switzeland) إلى خـــمس الحجـــم الأصلـــي يضـــاف للخلاصـــة المركـــزة المحصـــل علـــيها 20مل من حمض كلور الماء (0.1 عياري) مع التقليب لإذابة القلويدات الموجودة بها.

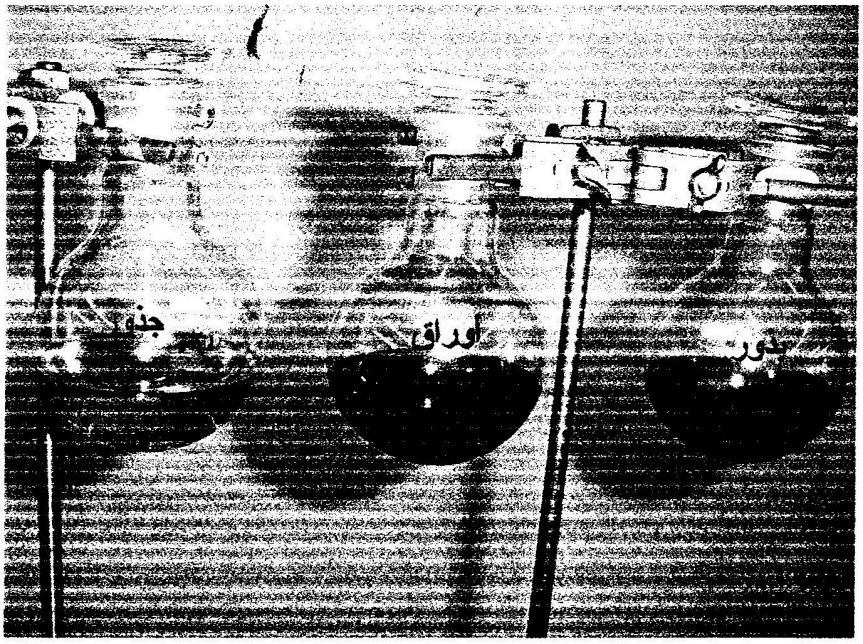
يرشـــح المحلول الحمضي من خلال قطعة قطن في قمع الفصل، ويغسل القطن والطبق المستعملان في الترشـــيح ثـــلاث مرات بواسطة 20 مل حمض كلور الماء (0.1 عياري) في كل مرة، ثم تغسل بالماء

المقطـــر عـــدة مـــرات في كل مرة بحوالي 5مل ويستخلص المحلول الحمضي المرشح بواسطة 20 مل كلوروفـــورم على مرتين والمستخلص الكلوروفورمي يغسل ثانية، مرتين بـــ10مل حمض كلور الماء (0.1عياري) ثم يضم المحلول الحمضي الثاني إلى الأول ثم يجعل قلويا بواسطة الأمونيا، يضاف له 30مل كلوروفورم ويستخلص .



شكل(16): الطور المائي والعضوي لكل من البذور، الأوراق والجذور

تعاد العملية ثلاث مرات إلى الإستخلاص الكلي للقلويدات.



شكل(17): المستخلصات الكلوروفورمية لكل من البذور، الأوراق والجذور قبل عملية التبخير

يبخـــر المستخلص الكلوروفورمي في جهاز التبخير الدوراني ويذاب الراسب في 20 مل حمض كلور الماء (0.02عياري) وتمت عملية المعايرة بواسطة (0.02عياري) من هيدروكسيد البوتاسيوم باستعمال أحمر الميثيل كدليل تحسب النسبة المؤوية للقلويدات لكل من الجذور والبذور والأوراق وفقا لما ذكره Ghourraf (1995)

$$\%\text{القلويدات} = \frac{\text{حجم الحمض N/50} - \text{حجم القاعدة المستهلكة N/50}}{\text{وزن العينة المستعملة من المسحوق الجاف X الوزن الجزيئي لقلويد الحارمين (PM=216.279)}} \times 100$$

I . 7 . تنقية قلويدات نبات *P.harmala L.* بواسطة كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة

يـــتم تنقـــية القلويدات الموجودة في البذور بواسطة كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة حيث يتم استعمال ألواح زجاجية مغطاة بهلام السيليكا جال (Sillica-gel G) ذات سمك 0.2 ملم.

قـــبل استعمال الألواح يتم تنشيطها في فرن حراري لمدة 10دقائق تحت درجة حرارة 60°م. وبواســـطة ماصـــة باستور يتم سحب كمية من المستخلص الخام للبذور وعلى بعد 2سم من الطرف الســـفلى للوح الكروماتوغرافي يوضع شريط من المستخلص على اللوح بشكل أفقي وبعد ذلك يتم تجفيفه، يوضع اللوح داخل الحوض الكروماتوغرافي الحاوي على المذيب المختار كلوروفورم-ميثانول (1:4) وهـــذا لإجراء عملية الفصل، بعد صعود المذيب يسحب اللوح ويجفف هوائيا لمدة 10 دقائق يعاين اللوح تحت الأشعة فوق البنفسجية (UV) أين تظهر الشرائط القلويدية مزهرة.

يتم أخذ جزء صغير من اللوح (CCM) ويرش بكاشف دراجندروف وهذا لمعرفة القلويدات وبعـــدها نقـــوم بكشـــط الأشرطة القلويدية بدقة، كل شريط على حدة، ثم يتم إذابة القلويدات في الكلوروفـــورم، ترشح وأخيرا تبخر في جهاز التبخير الدوراني وهذا من أجل إجراء الاختبار الطيفي للأشعة تحت الحمراء (IR) .

ملاحظة :

للتأكد من نقاوة المركبات القلويدية المفصولة يتم إجراء (CCM) مرة أخرى.

I . 8 . الدراسة الطيفية للقلويدات المفصولة بواسطة IR

لقد تم اختبار القلويدات المفصولة من بذور نبات *P.harmala L.* وذلك بواسطة الدراسة الطيفية للأشعة تحت الحمراء، باستعمال جهاز IR من نوع (IRJ-Jasco FT/IR-460plus) (حسن، 1995).

I.9. بعض التحاليل الصيدلانية التابعة لمختلف أعضاء نبات *P.harmala L.*:

I.9.1. تعيين بعض الثوابت الدستورية Pharmacopoeal constants

تم في هـذه التجـربة تعـريف أو تعيين النسبة المئوية للرطوبة، الرماد والرماد غير القابل الذوبان في الحمض لمختلف أعضاء نبات *P.harmala L.* وذلك طبقا لطرق دستور الأدوية المصري (1972).

I.9.2. المستخلصات المتتابعة للأعضاء المختلفة لنبات *P.harmala L.*

- **تعين النسبة المئوية للمادة المستخلصة لكل مذيب**

نأخذ 30 g من المسحوق الجاف لكل من الجذور، الأوراق، البذور لنبـات *P.harmala L.* كل على حدا، مع العلم أن عملية الاستخلاص تتم بواسطة جهاز السوكسليت SOXHLET بالمذيبات العضوية المتتابعة، ابتداء بالإيثر البيترولي ثم الإيثر ثم الكلوروفورم وأخيرا الإيثانول.

قـبل استعمال المذيب الموالي يجفف المسحوق من المذيب الأول تمام التجفيف والمستخلص العضوي يبخـر في جهـاز التـبخير الدوراني لغاية الجفاف والراسب يحفظ داخل مجفف يحتوي على كلوريد الكلسـيوم اللامائي، ثم يتم حساب وزن المادة المستخلصة، والنسبة المئوية للخلاصات الجافة لمختلف أعضاء النبات السابقة الذكر.

II. اختبار الفعالية البيولوجية لقلويدات نبات *P.harmala L.*

الأبحاث المتعلقة بدراسة الأهمية البيولوجية لنبات *P.harmala L.* تظهر أن هذه النبتة تملك خواص مضادة للبكتيريا.

وللتسليط الضوء على هذه الخاصية البيولوجية للمواد المستخلصة من نبتة *P.harmala L.*، اتبعنا طريقة الانتشار في وسط مغذى (باستعمال الأقراص).

وقد تم إجراء هذا الاختبار على مستوى مخبر الميكروبيولوجيا بمستشفى عين مليلة ولاية أم البواقي .

II.1. السلالات البكتيرية المختبرة

تم الحصول على السلالات البكتيرية المختبرة من مخبر علم الأحياء الدقيقة بكلية العلوم الطبيعية بجامعة منتوري بقسنطينة من طرف الأستاذ دهيمات وتمثلت في :

Pseudomonas aerogenosa، Staphylococus aureus ،Escherichia coli
Klebsiella pneumonia،

II.2. Antibiogramme بطريقة الإنتشار في وسط مغذي :

II.2.1. تحضير الأقراص و الأوساط المغذية

تكون المضادات الحيوية المستعملة في مخابر الميكروبيولوجيا بشكل أقراص قطرها 5 ملم، لذلك تم تحضير عدد من الأقراص المتجانسة بنفس القطر انطلاقا من ورق وتمان 3 (Papier wattman N°3)، ثم تعقم بوضعها في علبة بتري زجاجية بها 10 مل من الماء المقطر، و تحفظ في جهاز autoclave مدة 20 دقيقة على درجة حرارة 120م°، بعدها يتم التخلص من الماء ثم توضع الأقراص في الحاضنة حتى تجف (Carbonelle et al, 1997)

أما أوساط الزرع التي تطبق عليها الأقراص فتحضيرها يكون بإذابة جيلوز Milleur Hinton (**MH**) في حمام مائي (ملحق 7)، ثم يسكب في علب بتري، حيث لا يزيد سمك الجيلوز عن 4 ملم، تترك العلب لتجف مدة 30 دقيقة في حرارة 37م° في شروط معقمة.

II.2.2. تحضير السلالات البكتيرية

- السلالات البكتيرية تزرع في أوساط Bouillons Nutritifs وتحفظ عند درجة حرارة 37°م لمدة 18 ساعة، قبل استعمالها في دراسة الفعالية البيولوجية.

- تغمس écouvillon في المعلق البكتيري المحضر مسبقا على سطح الجيلوز (MH) من الأعلى إلى الأسفل بشكل خطوط مستمرة و متراصة، مع تدوير طبق بتري 60° في كل مرة، و إعادة تحميل écouvillon عند الزرع في عدة أطباق بترية.

II.3.2. تطبيق الأقراص على المزارع البكتيرية

انطلاقا من نواتج الاستخلاص المحصل عليها و المتمثلة في:

- المستخلصات الخام كل من الجذور الأوراق والبذور الناتجة عن تبخر الكلوروفورم.
- المركب القلويدي الثالث المعزول من البذور والذي أعطى وزن أكبر من بين القلويدات المفصولة.

يتم تحضير عدة تخفيفات بإذابة 0.2 غرام من كل ناتج في 5مل ماء مقطر ثم تخفف المحاليل الناتجة إلى النصف، الربع و الثمن.

تشبع الأقراص المعقمة بالمحاليل الناتجة و ذلك بوضع 0.5مل من كل تخفيف في كل قرص بواسطة ملقط معقم يوضع في كل علبة بتري مزروعة مسبقا بالبكتيريا 04 أقراص مختلفة التراكيز لنفس المركب.

تترك علب بتري مدة 15 دقيقة في جو المختبر قبل حفظها في الحاضنة (37م°، 18ساعة) بشكل مقلوب. ليلاحظ بعدها ظهور مناطق التثبيط حول الأقراص ثم قياس أقطارها عموديا وأفقيا ونأخذ المتوسط بالملمتر (ملم) (Paul et Jean, 1999).

النتائج والمناقشة

I. الدراسة الكيميائية

I. 1. نتائج الحصر الكيميائي لمختلف أعضاء نبتة *P.harmala L.*

يوضح الجدول (5) نتائج الاختبارات المجرات عـــلى *P.harmala L.*، هذه النبتة يمكنها تخليـــق مخـــتلف المنـــتجات الطبيعية و المتمثلة في الفلافونويدات، القلويدات، الصابونيات، الزيوت الأساســـية، التنينات، الجليكوسيدات في جميع أعضائها فيما عدا الكاردينوليدات التي تغيب كليا، أما التربينات فهي متواجدة على شكل أثار في كل من السيقان و الأوراق و الأزهار .

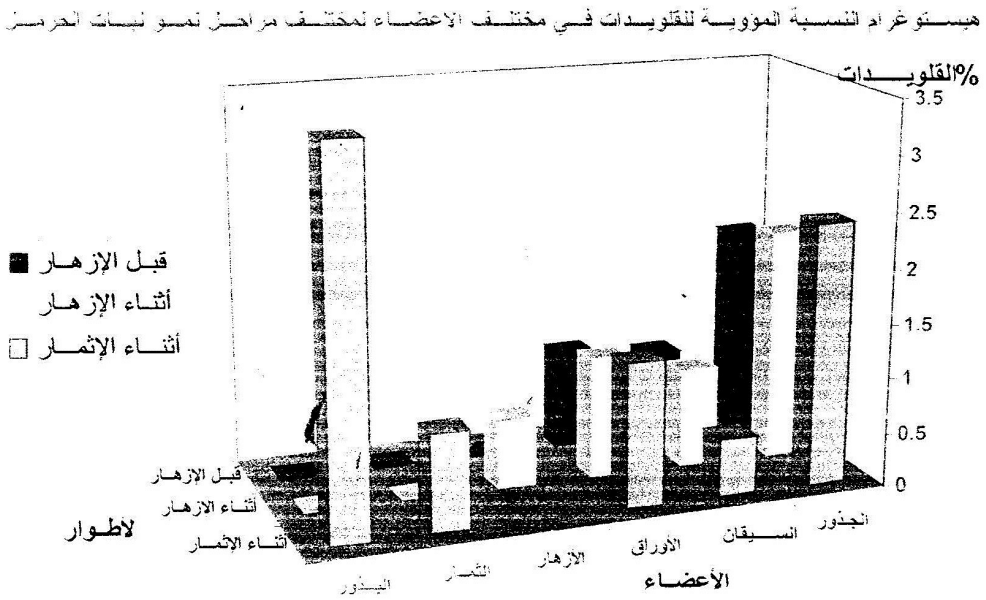
جدول (5): المسح الكيميائي الأولي لمختلف أعضاء نبات *P.harmala L.*

أقسام النبات / المواد الفعالة		الجذور	السيقان	الأوراق	الأزهار	الثمار	البذور
الفلافونويدات		+	+	+	+	+	+
القلويدات		+	+	+	+	+	+
الصابونيات		+	+	+	+	+	+
الزيوت الأساسية		+	+	+	+	+	+
التنينات		+	+	+	+	+	+
الجليكوسيدات		+	+	+	+	+	+
التربينات أو (الستيرولات) غير المشبعة	Liberman bucchard	+	±	±	±	+	+
	Salhawski	+	±	±	±	+	+
الكاردينوليدات	Killer kiliani	−	−	−	−	−	−
	Peljet	−	−	−	−	−	−

+ : وجـــود | − : غياب | ± : آثـــــــــــــــــار

- احتوت الأوراق في مرحلة الإثمار نسبة عالية من القلويدات، مقارنة بمرحلة الإزهار.
- النسبة المئوية للقلويدات في الأوراق تتزايد في مرحلة قبل الإزهار حتى تصل إلى أعلى نسبة في مرحلة الإثمار، بينما نسبته في السيقان تكون منخفضة في مرحلة قبل الإزهار ثم ترتفع لتصل إلى أعلى نسبة في مرحلة الإزهار ثم تعو لتنخفض في مرحلة الإثمار.

ويمكن تفسير هذه النتائج بصفة عامة على أن القلويدات تعتبر نواتج تخليق نهائية، تخزن في أعضاء التخزين كالجذور و البذور (الشحات، 1986)، وهذا ما تحصلنا عليه من خلال النتائج التي تتوافق مع نتائج Ghorraf(1995). الذي توصل إلى النسبة المؤوية للقلويدات في البذور والجذور كانت 4.20% و 2.30% على الترتيب.

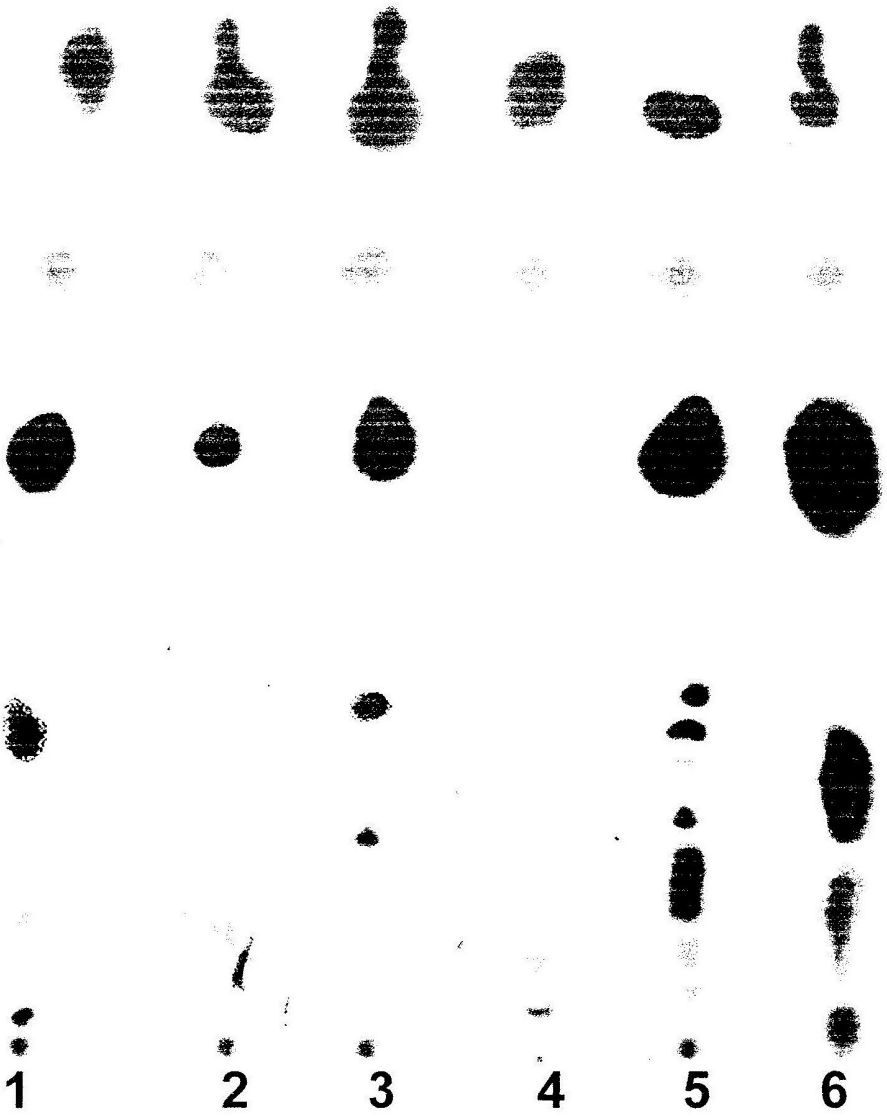


شكل (18) : هيستوغرام النسبة المئوية للقلويدات في مختلف الأعضاء لمختلف مراحل نمو نبات *P.harmala L*.

I . 4 . الدراسة الكروماتوغرافية للاستخلاص النوعي لقلويدات نبات *P.harmala L.*

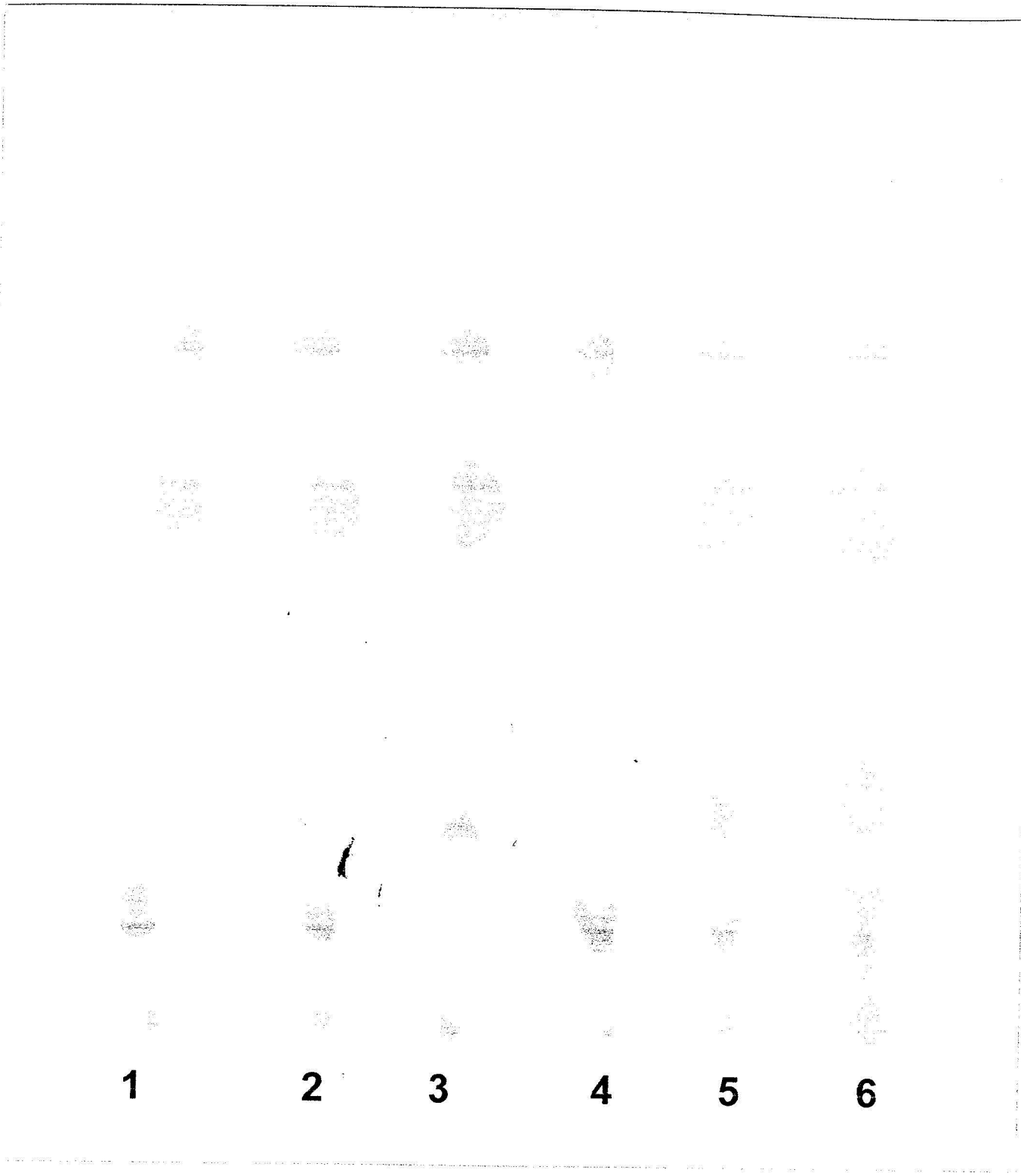
يبين الشكلين (19) و(20) والجدول (7) نتائج كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة لقلويدات نبتة *P.harmala L.* لكافة أجزاء النبات، خلال مرحلة الإزهار، وفي مجمل النتائج المتحصل عليها نجد:

- عند ملاحظة اللوح الكروماتوغرافي تحت الأشعة فوق البنفسجية UV كما هو مبين بالشكل (19) نشاهد عدة مركبات غير معروفة سجلت معاملات الاستبقاء R_f في الجدول (7) مع تسجيل لون البقع.
- أما عند الرش بكاشف دراجندروف تظهر لنا البقع القلويدية ذات اللون الأحمر البرتقالي، المبينة في شكل (20) موزعة حسب معامل الاستبقاء كما يلي (0.18، 0.24، 0.48، 0.63) ظهرت في كل من البذور والثمار على شكل بقع كبيرة خاصة المركبين ذو : R_f=0.18و R_f= 0.48.
- المركبات ذات R_f (0.18, 0.48,0.63) ظهرت في خلاصة كل من الجذور والأوراق.
- أما الأزهار بها نوعين من قلويدات ذات معاملات استبقاء :0.63، 0.18.
- احتوت السيقان كذلك على 3 قلويدات ذات معاملات استبقاء 0.63، 0.48، 0.24.
- نستنتج من هذه النتائج أن المركب ذو R_f=0.63 متواجد في جميع الأعضاء و بالتالي يعتبر القلويد الأساسي لنبتة *P.harmala L.*، هذه النتائج المتحصل عليها موافقة لما ذكره Ghourraf(1995).



شكل(19): كروماتوغرام كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة للاستخلاص النوعى للقلويدات في مختلف الأعضاء تحت الأشعة فوق البنفسجية.

1: جذور	4: أزهار
2: أوراق	5: ثمار
3: سيقان	6: بذور



شكل (20): كروماتوغرام كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة للاستخلاص النوعي للقلويدات في مختلف الأعضاء بالرش بكاشف دراجندروف.

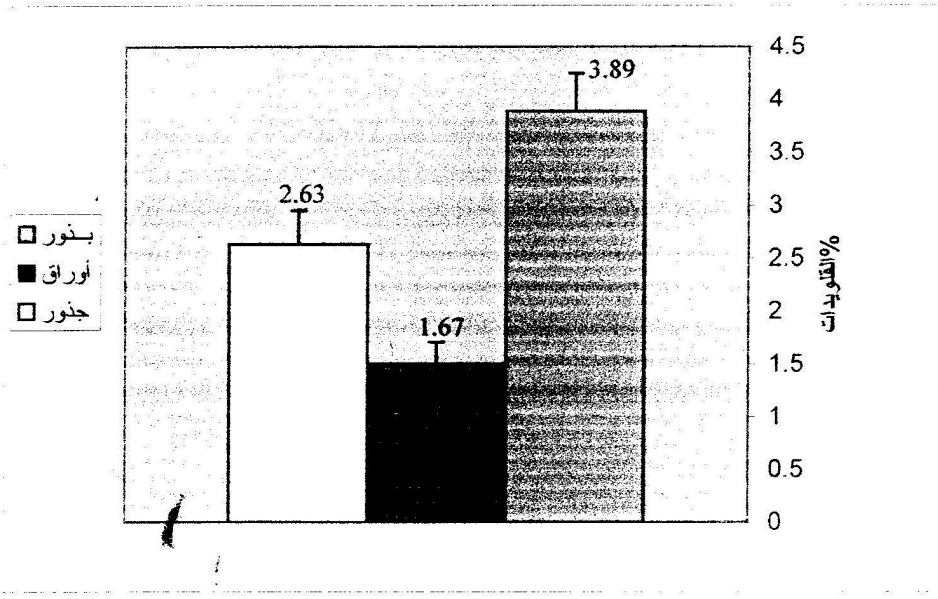
جدول (7): كروماتوغرافيا الفصل لقلويدات مختلف أعضاء نبات *P.harmala L.*

نظام المذيب كلوروفورم –ميثانول (1:4).

نوع القلويد	Rf	لون البقع تحت UV	لون البقع أثناء الرش بكاشف دراجن دروف	الجذور	السيقان	الأوراق	الأزهار	الثمار	البذور
غير معروف	0.02	أزرق بنفسجي	سلبي	+	–	–	–	–	–
غير معروف	0.03	أصفر	سلبي	–	–	–	–	+	–
غير معروف	0.06	أصفر بني	سلبي	+	+	–	+	+	–
غير معروف	0.18	أخضر مزرق مشع	إيجابي	+	–	+	+	+	+
غير معروف	0.20	أخضر بني	سلبي	–	–	–	–	–	+
غير معروف	0.24	أخضر مزرق	إيجابي	–	+	–	–	+	+
غير معروف	0.26	أصفر بني	سلبي	–	–	–	–	+	–
غير معروف	0.32	أخضر مزرق	سلبي	–	–	–	–	+	–
غير معروف	0.34	بنفسجي مزرق	سلبي	+	+	–	–	–	+
غير معروف	0.40	أصفر	سلبي	–	–	–	–	–	+
غير معروف	0.48	أزرق بنفسجي مشع	إيجابي	+	+	+	–	+	+
غير معروف	0.63	أزرق مشع	إيجابي	+	+	+	+	+	+
غير معروف	0.77	أصفر	سلبي	–	–	–	–	–	+
غير معروف	0.85	أحمر بني	سلبي	+	+	+	+	+	+

I.5. التقدير الكمي لقلويدات جذور،أوراق وبذور *P.harmala L.* باستعمال طريقة المعايرة

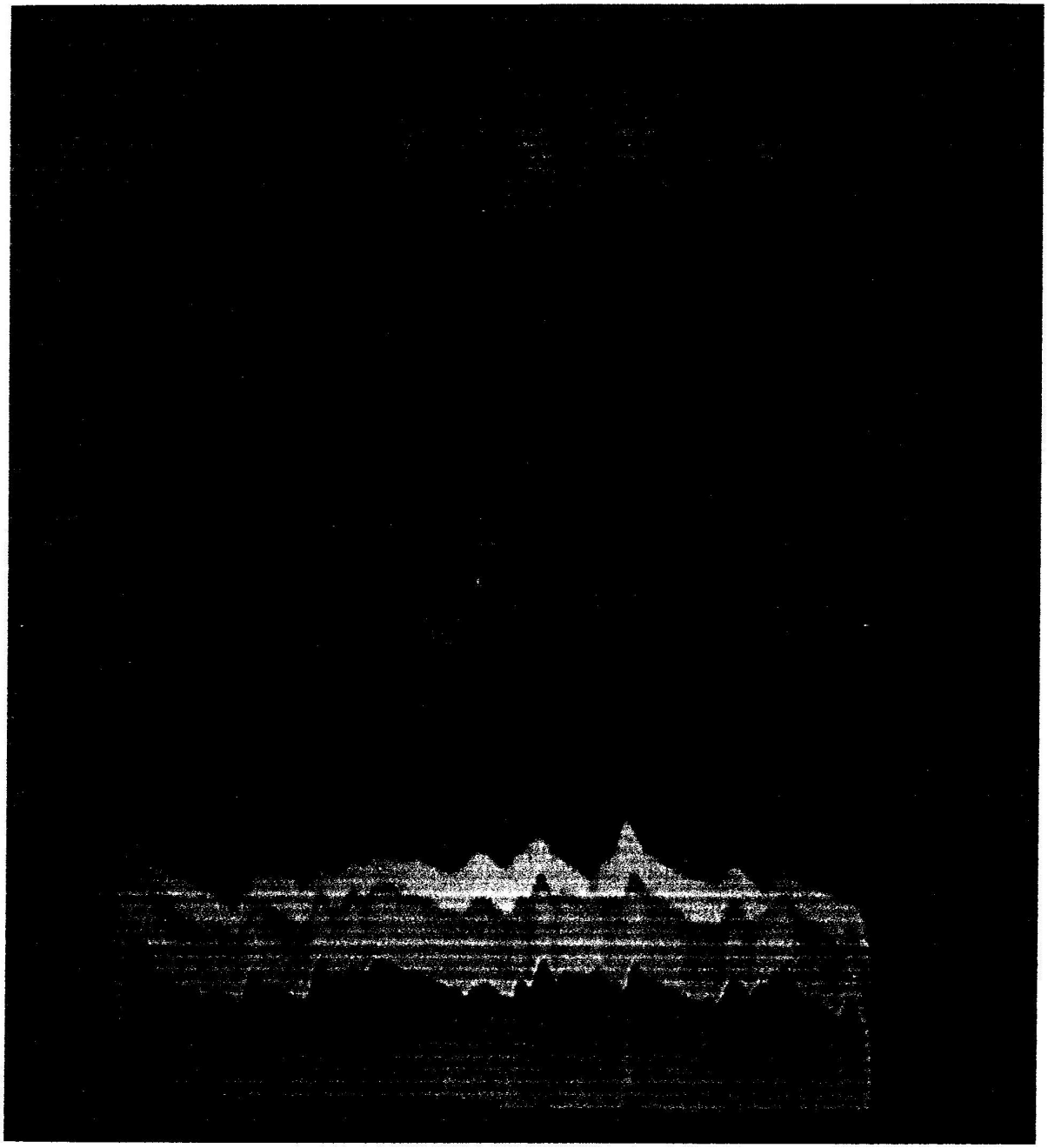
يلاحظ من الشكل (21)، (ملحق 6، جدول(16)) والذي يعبر على النسبة المئوية لقلويدات جذور، أوراق وبذور نبات P.harmala L.، بأن أكبر نسبة مئوية لها كانت في البذور والتي بلغت 3.89%، تليها الجذور بـ2.63% ،أقلها نسبة كانت في الأوراق بـ1.67%، ويمكن تفسير هذه النسبة بقوتها في البذور والجذور مقارنة مع الأوراق بأن الأولى تعتبر أماكن تخزين لمركبات الأيض الثانوي ومنها القلويدات التي تعتبر نواتج تخليق نهائية، تخزن في أعضاء تخزين النبات وهذا ما أشار إليه الشحات (1986)، كما أن Ghorraf(1995) قدر النسبة المئوية لقلويدات نفس النبات ووجد أن أكبر نسبة مؤوية لها كانت في البذور، حيث بلغت 4.20%.



شكل(21):النسبة المئوية لقلويدات جذور، أوراق وبذور نبات *P.harmala L.*

I.6. تنقية قلويدات نبات *P.harmala L.*

يوضـــح الشكـــل (22) كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة لبذور نبات *P.harmala L.*، أين تظهـــر 4 قلويدات على شكل شرائط مزهرة، أمكن عزل 3 مركبات منها مع تعيين بعض خواصها: معامـــل الاستبقاء، لون البقع وخاصية الذوبان في الكلوروفورم، الميثانول، الإيثانول، الماء والأحماض المخففة



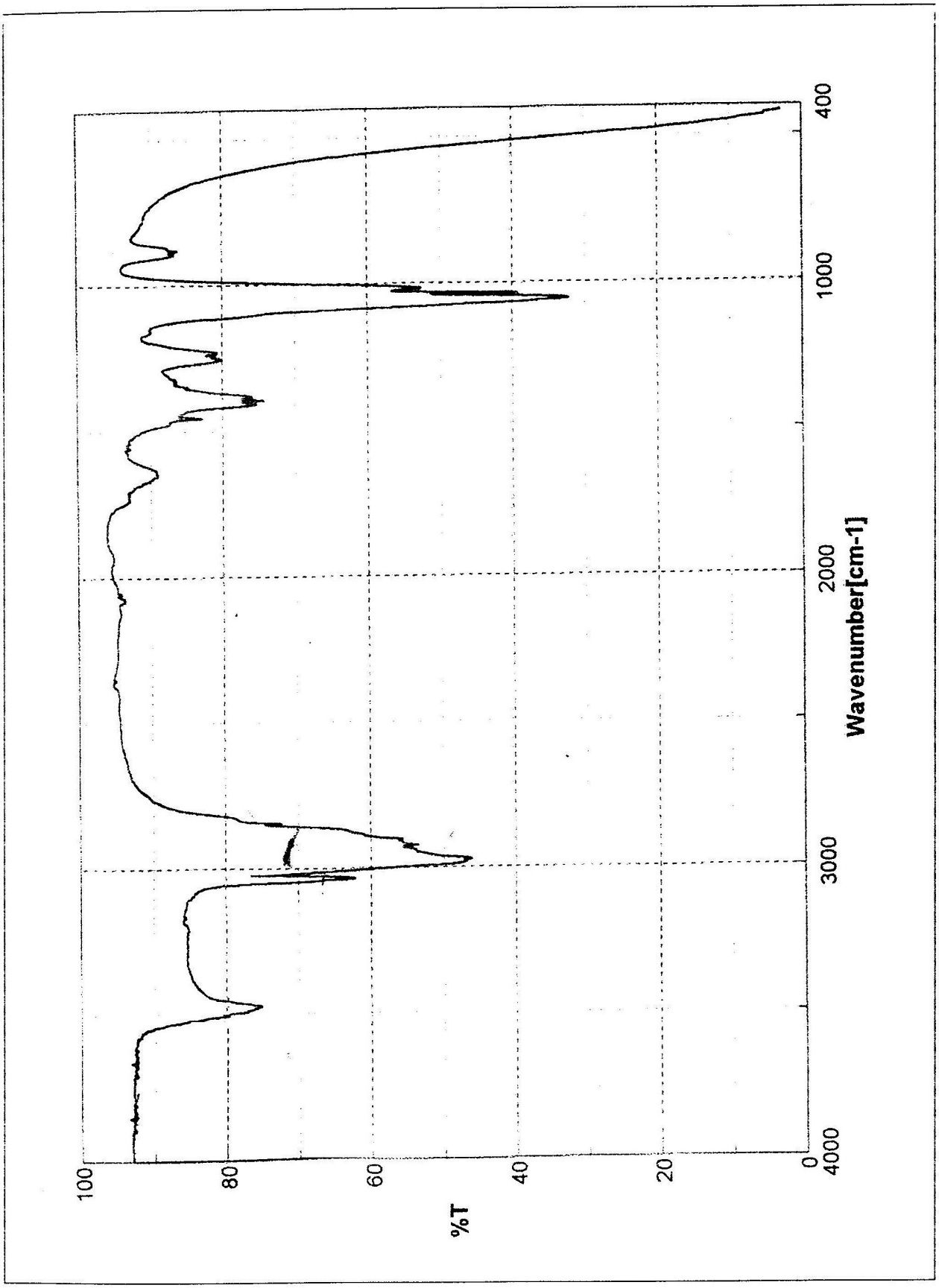
شكل (22): كروماتوغرام كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة لبذور *P.harmala L.* تحت الأشعة فوق البنفسجية، نظام المذيب كلوروفورم- ميثانول (1:4)

المركب الأول :

يأخذ اللون أخضر مزرق مشع، ذو معامل استبقاء R_f= 0.18، يتميز هذا المركب بالذوبان في الإيثانول و الميثانول و الكلوروفورم.

يبين طيف الأشعة تحت الحمراء IR شكل (23) وذلك باستعمال مركب ذائب في الكلوروفورم، وجود المجاميع الوظيفية التالية :

- الوظيفة الهيدروكسيلية (O-H) توافق الحزمة الامتصاصية في المنطقة 3480سم$^{-1}$
- الوظيفة الامينية (N-H) توافق الحزمة الامتصاصية في المنطقة 3060سم$^{-1}$
- المجموعة (C-H) الحلقية تظهر حزمة امتصاصها في المنطقة 2990سم$^{-1}$
- المجموعة ($Ar-CH_3$) تظهر حزمة امتصاصها في المنطقة 2930سم$^{-1}$
- المجموعة (C=C) العطرية، توافق الحزمة الامتصاصية في المنطقة 1471 سم$^{-1}$.
- المجموعة (C=N) توافق الحزمة الامتصاصية في المنطقة 1290 سم$^{-1}$
- المجموعة (C-O) توافق الحزمة الامتصاصية في المنطقة 1054.87 سم$^{-1}$
- امتصاص عند المنطقة 890.93 سم$^{-1}$ يرجع إلى المجموعة (Ar-H)، اهتزاز خارج المستوى.



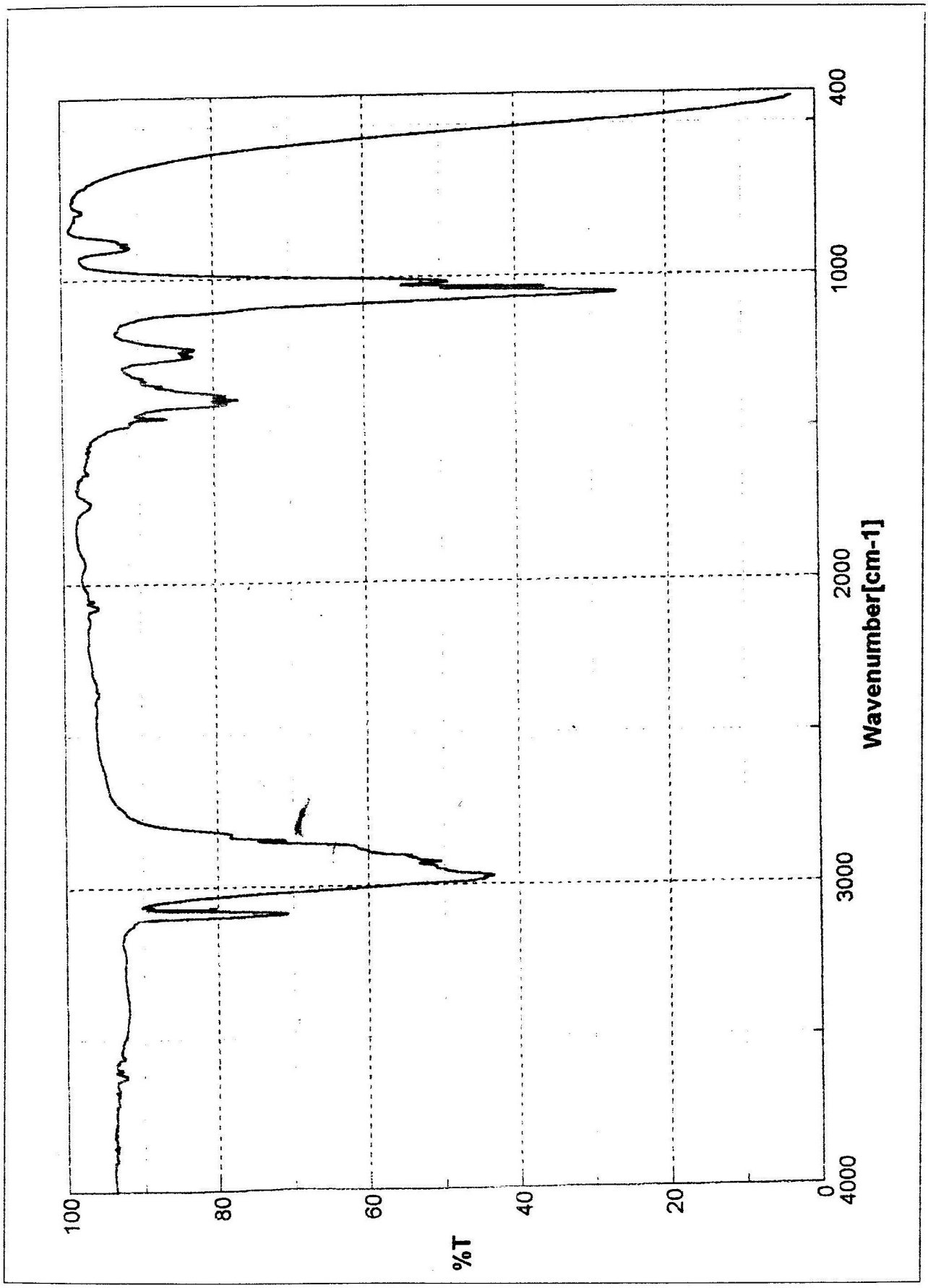
شكل (23): طيف الأشعة تحت الحمراء IR للمركب الأول

المركب الثاني:

يأخذ اللون الأخضر المزرق، يذوب في الماء الساخن والميثانول والإثانول والكلوروفورم، ذو معامل استقاء $R_f = 0.24$

يظهر من خلال طيف الأشعة تحت الحمراء الشكل (24)، بإذابة المركب في الكلوروفورم، حيث نجد المجاميع الوظيفية التالية:

- الوظيفة الأمينية (N-H) توافق الحزمة الامتصاصية في المنطقة 3060سم$^{-1}$
- المجموعة (C-H) الحلقية تكون لها حزمة امتصاصية في المنطقة 2981.41سم$^{-1}$
- المجموعة ($Ar-CH_3$) تظهر حزمة امتصاصها في المنطقة 2930سم$^{-1}$
- المجموعة (C=C) العطرية، توافق الحزمة الامتصاصية في المنطقة 1470 سم$^{-1}$.
- المجموعة (C=N) توافق الحزمة الامتصاصية في المجال [1300-1200] سم$^{-1}$
- الامتصاص عند المنطقة 1054.87 سم$^{-1}$ يوافق المجموعة (C-O) الإيثيرية
- الامتصاص في المجال [690-900] سم$^{-1}$ يرجع إلى الوظيفة (Ar-H)، اهتزاز خارج المستوى.

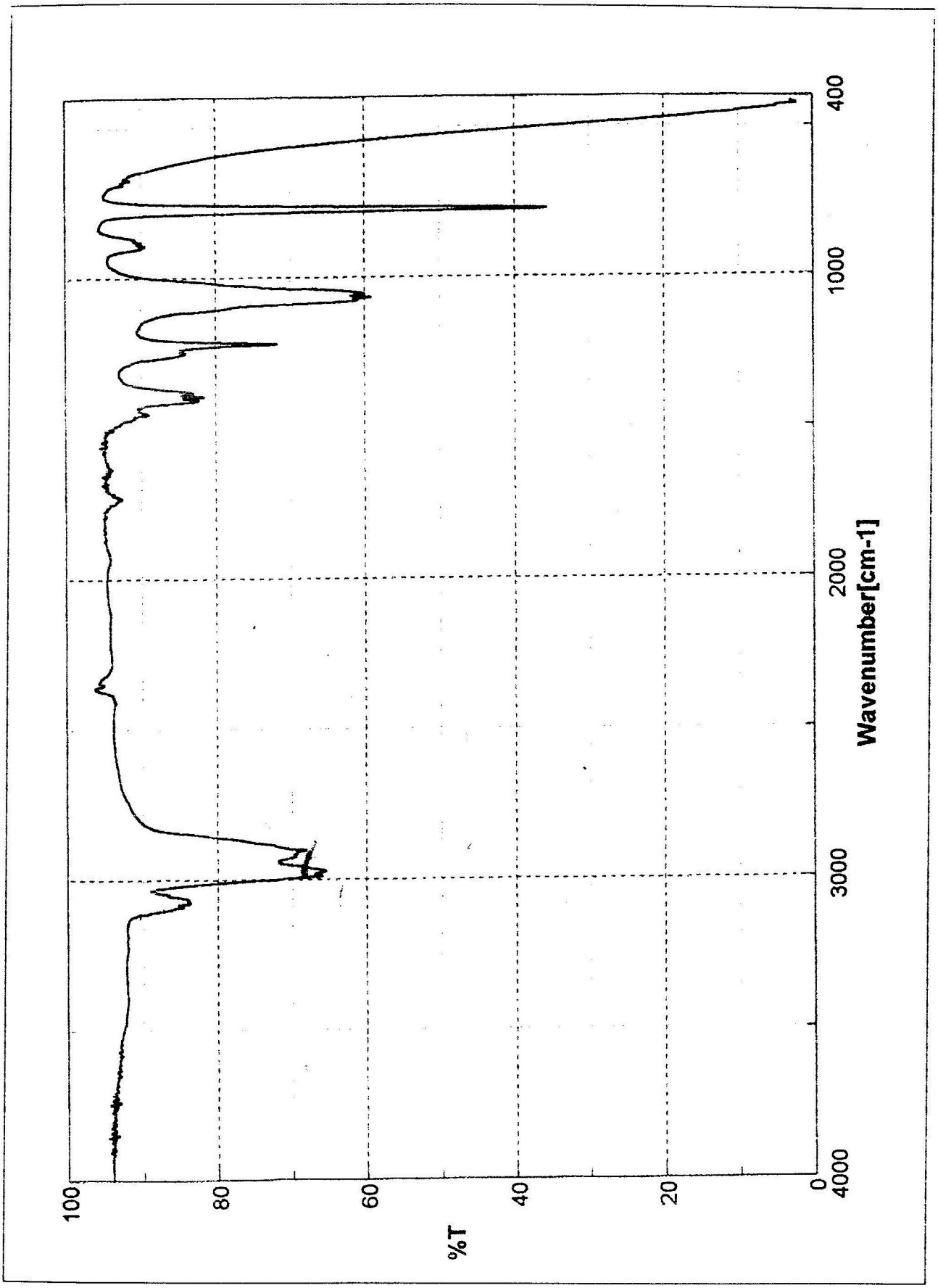


شكل (24): طيف الأشعة تحت الحمراء IR للمركب الثاني

المركب الثالث:

يأخذ اللون الأزرق البنفسجي المشع ذو معامل استبقاء R_f =0.48 ،يذوب في الماء الساخن والأحمـــاض المخففة والميثانول والإيثانول والكلوروفورم، يحمل المجامع الوظيفية لهذا المركب أمكن التعرف عليها وتحديدها من خلال طيف الأشعة تحت الحمراء الشكل (25).

- امتصاص في المجال[3500-3050]سم$^{-1}$ يعود إلى الوظيفة الأمينية(N-H)
- امتصاص بالمنطقة 2987.2سم$^{-1}$ يعود إلى المجموعة (C-H) العطرية
- امتصاص في المنطقة 2930سم$^{-1}$ يعود إلى المجموعة ($Ar-CH_3$)
- امتصاص في المجال [1470-1430] سم$^{-1}$ يعود المجموعة (C=C) العطرية
- امتصاص في المجال [1300-1200] سم$^{-1}$ يعود إلى المجموعة (C=N)
- الامتصاص عند المنطقة 1056.80 سم$^{-1}$ يعود إلى المجموعة (C-O) الإيثيرية
- الامتصاص في المجال [900-690] سم$^{-1}$ يرجع إلى المجموعة (Ar-H)، اهتزاز خارج المستوى.



شكل (25): طيف الأشعة تحت الحمراء IR للمركب الثالث

يظهـــر مـــن خلال طيف IR وجود المجاميع الوظيفية المميزة لقلويدات بيـــتا-كاربولـــــــــين (β-carboline) التي تشتق منها قلويدات نبات *P.harmala L.* مثل

(C=C,N-H, C=N,Ar-H) الـــتي تدخل في بنية المركـــــبات الثلاثة التي تم عزلها من بذور نبات *P.harmala L.*، إلا أن المركب الأول يحتوي على مجموعة كاربوكسيلية تميزه عن المركب الثاني والثالث.

ومن خلال قيمة R_f= 0.18 ولون البقـــع (أخضر مزرق مشع) ووجود المجموعة (O-H) عـــند حـــزمة الامتصـــاص 3480 سم$^{-1}$، نستنتج أن المركب الأول هو الحرملول لأنه هو القلويد الوحيد الذي يحتوي على مجموعة (O-H) من بين قلويدات نبات *P.harmala L.* .

ورغم تشابه المركبات من حيث خاصية الذوبان في الكلوروفورم، الميثانول، الإيثانول، الماء الساخن و الأحمـــاض المخففـــة، إضافة إلى طيف IR، إلا أن نتائج الاختبارات المجرات عليها تبين اختلافها بصـــورة واضحة في عدد من الخواص الفيزيائية والكيميائية والمتمثلة في كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة إذ تختـــلف المـــركبات من حيث معامل الاستبقاء، لون وشكل البقع المرتبطة بالتركيب الكيميائي للنبات.

حســـب هيكل (1993) فإن مركبات الأيض الثانوي تتغير كميا ونوعيا خلال مراحل النمو وتطـــور النـــبات، فمـــثلا قلويدات نبات *lupin* لا تظهر إلا بعد أسبوعين من الإنتاج وتبقى حتى الإزهار أين تقل كمياتها بصورة واضحة.

هـــذه المعطيات تتوافق مع النتائج المتحصل عليها وبالتالي يوجد تغير نوعي وكمي لقلويدات نبات *P.harmala L.* المنتجة خلال مراحـــــــل النمو، مع العلم أن عملية الاستخلاص وعزل المركبات تمت في ظروف تجريبية متماثلة، تمت دراسة نبات *P.harmala L.* عام 1999، أخذت من منطقة طهران وذلك باتباع نفس طريقة الاستخلاص (70% إيثانول، 25% أمونيا، 02% HCl) حـــيث وجـــد أن النسبة العالية من القلويدات تتركز في البذور بمقدار 4.75% ،حيث تم عزل 06 مركبات مختلفة ومن خلال التحاليل البنيوية لها (IR، UV، RMN) بينت أن هذه المركبات تتمثل في الحرمالول، الحارمين، الحرمالين، الحرمان، الفازيسين، والفازيسينون، (Hamid et al 2004).

I.7. التحاليل الصيدلانية الثابتة لمختلف أعضاء نبات *P.harmala L.*:

I.7.1. النسبة المئوية لبعض الثوابت الدستورية

يتضـــح من خلال الجدول(8) الخاص بتعيين النسبة المئوية لبعض الثوابت الدستورية لمختلف أعضاء نبات *P.harmala L.* أن النسبة المئوية **للرطوبة** قد بلغت أقصاها في الأوراق (12) بينما كانت أقـــل نسبة مئوية في البذور (9)، في حين أن النسبة المئوية **للرماد** كانت مرتفعة في كل من الأوراق والأزهـــار، حـــيث بلغت (32-25) على الترتيب، أما النسبة المئوية **للرماد غير القابل للذوبان في الحمـــض** كانـــت منخفضة في جميع الأعضاء حيث تراوحت بين (0.92) و(7) في الثمار والأوراق على الترتيب

جدول (8):النسبة المئوية لبعض الثوابت الدستورية في المجموع الخضري و الجذري لنبات *P.harmala L.*

أقسام النبات / الثوابت	الجذور	السيقان	الأوراق	الأزهار	الثمار	البذور
% للرطوبة	10.1	10.9	12	9.5	9.7	9
% للرماد	13.9	13	32	25	16	4
% للرماد غير قابل للذوبان في الحمض	1.3	1.2	7	6	0.92	1.5

هذه النتائج المحصل عليها موافقة لما ذكره يحي (1989) على نبات السكران الأبيض لينيه بما جـــاءت به في دساتير الأدوية المصرية (1972) حيث سجلت أعلى نسبة مئوية للرطوبة (10) وأقل نسبة له (8) ،وكانت النسبة المئوية للرماد مرتفعة في المجموع الخضري خصوصا في الأوراق والأزهار وقـــد وصلت (22)، أما النسبة المئوية للرماد غير قابل للذوبان في الحمض فكانت منخفضة في جميع الأعضـــاء خصوصـــا في الـــثمار و الـــتي قدرت ب(0.4) هذا يبين لنا بأن المركبات النيتروجينية (القلويدات قابلة للذوبان في الحمض) تمثل أعلى نسبة لها في الجذور والبـــذور كمـــا بين YAHIA (2000) أن القلـــويدات قاعدية التفاعل لها القدرة على تكوين الأملاح مع الأحماض العضوية وغير العضوية.

I.1.7. المستخلصات المتتابعة للأعضاء المختلفة لنبات *P.harmala L.*

يبين الجدول (9) النسبة المئوية للمادة المستخلصة الجافة لكل من الجذور، الأوراق والبذور ويتضح من خلاله أن جميع المذيبات الأربعة لها القدرة على استخلاص المواد من المسحوق الجاف لكل عضو، ويظهر أن الكحول الإثيلي هو المذيب الذي استخلص أكبر نسبة في كل من الجذور والأوراق حيث سجلت (6.93% -39%) على الترتيب ما عدا في البذور فكانت أكبر نسبة لمستخلص الكلوروفورم حيث بلغت 16.56% ومن خلال جمع النسب المئوية للمستخلصات المتتابعة الجافة (الخلاصات الكلية) نجد أن أعلى نسبة مئوية كانت في الأوراق حيث بلغت (47.8%) ثم البذور (45.58%) وأخيرا الجذور (15.92%) .

ونفسر ذلك حسب ما بينه Balbaa et al(1981) ويحى (1989)، إذ يعتبر أحسن المذيبات العضوية المستخلصة للمادة الجافة بطريقة التتابع هو مذيب كحول الإيثانول بينما الاختلاف في نسبة المادة الجافة المستخلصة بين المجموع الخضري (أوراق وبذور) والجذري يرجع إلى أن نسبة المواد الفعالة (القلويدات) في المجموع الخضري أكبر من المجموع الجذري .

جدول(9): النسبة المئوية للمستخلصات المتتابعة

المذيبات	أقسام النبات		
	الجذور	الأوراق	البذور
الإيثر البيترولي %	4.86	3.1	14.33
الإيثر%	1.73	1.2	1.3
كلوروفورم%	2.7	4.4	16.56
الإيثانول%	6.63	39	13.56
المجموع%	15.92	47.8	45.58

II. الفعالية البيولوجية

نلاحظ من خلال النتائج المحصل عليها، أن المركبات المستخلصة من نبتة *P.harmala L.* تملك نشاطا مضادا للبكتيريا، مع اختلاف في درجة تأثيرها على الأنواع البكتيرية، فبالنسبة للنوع *Pseudomonas aerogenosa*، الجدول (10) تظهر حساسيتها الكبيرة لمستخلص القلويدي الخام للبذور، حيث وصلت درجة تأثير هذا الأخير إلى ظهور منطقة تثبيط قطرها 17 ملم، التي تتناقص مع انخفاض تركيز المادة، في حين نجد أن تأثير قلويد (المركب الثالث) المعزول من هذا المستخلص (البذور) كان أقلا، حيث ظهرت مناطق التأثير في التركيز الأول والثاني بمقدار 10ملم و7ملم على الترتيب، ويلاحظ هنا أن المستخلص الخام كان له فعالية ضد ميكروبية أقل من القلويد المعزول من نفس المستخلص، مما يدل على أن هناك قلويدات أخرى يحويها المستخلص الخام والتي يرجع لها هذا الدور الفعال وهذا ما تبينه نتائج كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة على أن المستخلص يحتوي على أربع قلويدات، وهناك بعض التشابه في درجة تأثير المستخلص الخام لكل من الجذور والأوراق وذلك بتشكل مناطق تثبيط متقاربة، غير أن مستخلص الخام للجذور يظهر فعالية في التخفيف الأدنى له بمنطقة تثبيط قدرها 6.5 ملم ، الشكل (26).

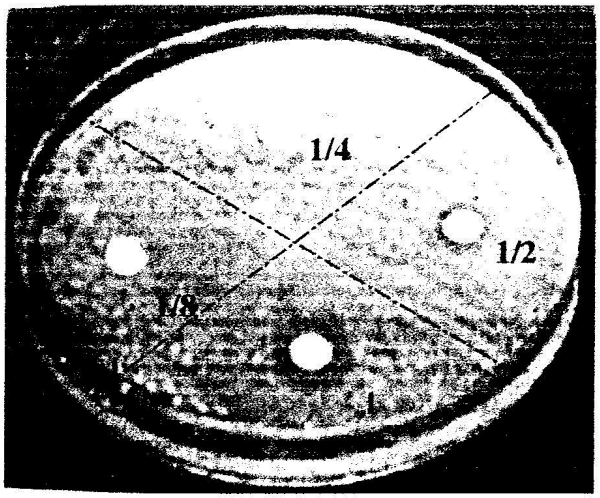
- يتضح من الجدول (11) والشكل(27) أن السلالة البكتيرية *Staphylococus aureus* تبدي حساسية كبيرة اتجاه هذه المواد الفعالة حيث سجل أعلى متوسط قطر منطقة تثبيط بـ 19 ملم لدى مستخلص الخام للبذور، وأقل متوسط 9 ملم لدى المركب الثالث عند التركيز الثاني (1/2)، حيث وجدت بن ثلجون (2005) أن قلويد نبات الترميس الأبيض لينيه للعائلة الباقولية، لها تأثير كبير على البكتيريا *Staphylococus aureus* أين وصل متوسط قطر منطقة التأثير 20 ملم عند التركيز الأول وهي متقاربة مع النتائج التي تحصلنا عليها.
- بالنسبة لحساسية السلالات البكتيرية *Ecsherichia coli* و *Klebsilla pneumonia* للمستخلصات النباتية التي يبينها الجدولين (12-13) والشكلين (28-29)، فإن هذه الحساسية تنخفض بزيادة التخفيف للمواد الفعالة للنبتة، حيث كانت النتائج متقاربة، إلا أن أعلى قيمة لمتوسط قطر التأثير 16 ملم سجل مع السلالة *Klebsilla pneumonia* عند التركيز الأول للمستخلص الخام للبذور وأقل متوسط قطر منطقة تثبيط 7 ملم لسلالة *Esherichia coli* عند التركيز الرابع لكل من مستخلص الخام للأوراق والمركب الثالث المعزول من البذور.
- وتجدر الإشارة إلى أن القلويدات بصفة عامة لها تأثير في تثبيط عددا كبيرا من السلالات البكتيرية الممرضة وغير الممرضة والموجبة والسالبة مع صبغة جرام، وقد ذكر الباحث Hamid et al(2004) من كلية الصيدلة بجامعة طهران بإيران أن المستخلصات القلويدية

للجذور و السيقان والأوراق و الأزهار والثمار والبذور لنبـــات P.harmala L. لها القدرة على تثبيط النشاط البكتيري والفطري وكذلك الإنزيمي خاصـــة إنزيم (MAO) Mono Amino Oxydase وبصفة خاصة المستخلص القلويدي للبذور لاحتوائه على نسبة عالية من القلويدات ذات فعالية مضادة للبكتيريا.

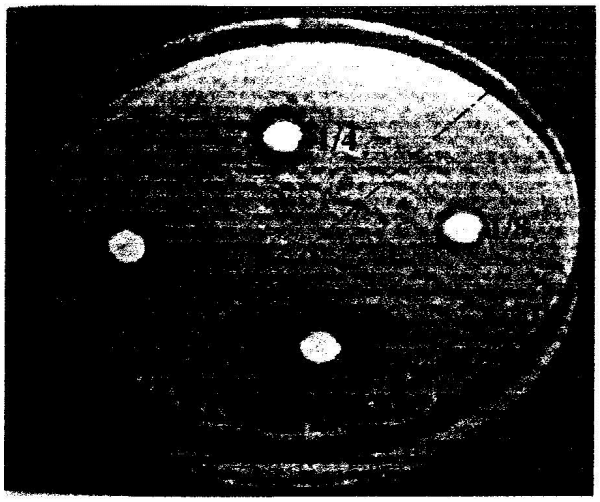
إن هذه الدراسة تعطي انطبـــاعا وبشكـــل قطـــعي بأن أعضاء نبات P.harmala L. توجد بها قلويدات متشابهة كقلويدات حارمين، حرمالين، حرمان و الحرمالول.

جدول(10): تأثير المستخلصات على *Pseudomonas aerogenosa*

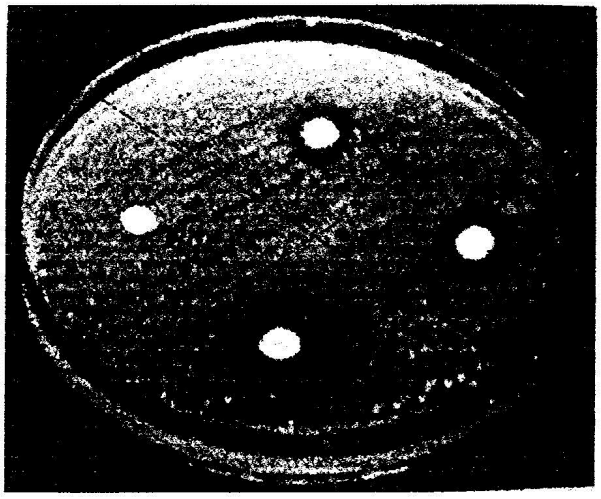
القطر بملم	تركيز المستخلص			
	1	1/2	1/4	1/8
مركب الثالث	10	7	/	/
المستخلص القلويدي الخام للجذور	12	9	8	6.5
المستخلص القلويدي الخام للأوراق	12	9	7	/
المستخلص القلويدي الخام للبذور	17	9	7	/



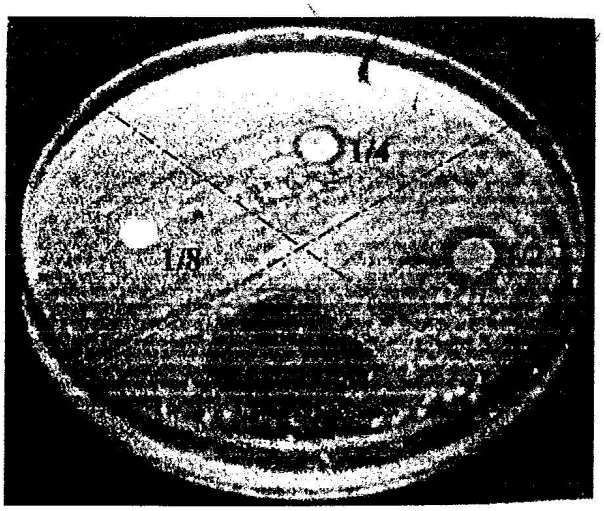
المركب الثالث



المستخلص القلويدي الخام للجذور



المستخلص القلويدي الخام للأوراق

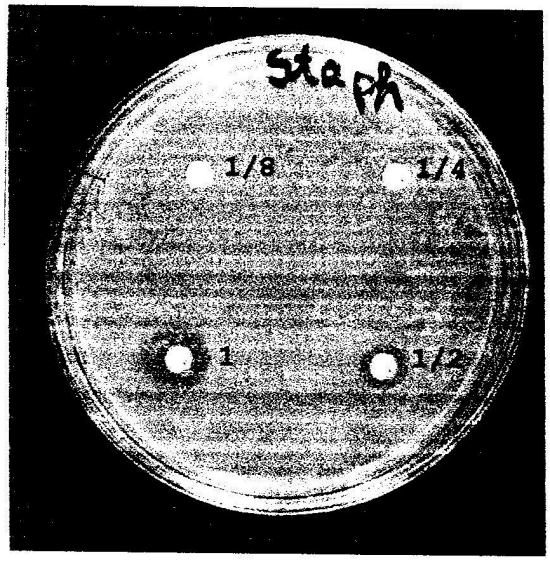


المستخلص القلويدي الخام للبذور

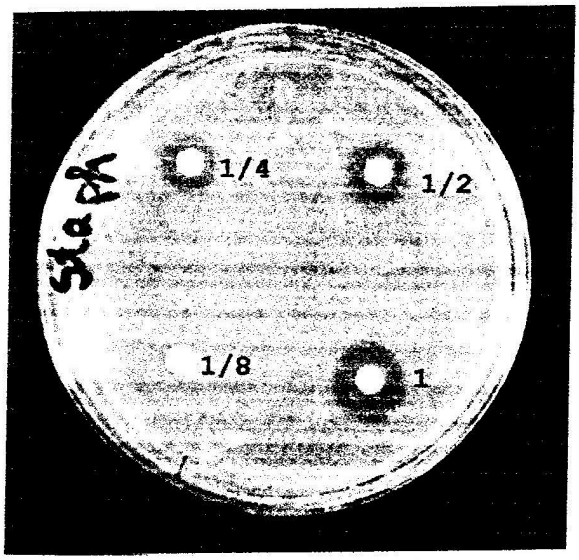
شكل (26): صور مناطق تأثير المستخلصات على *Pseudomonas aerogenosa*

جدول(11): تأثير المستخلصات على *Staphylococus aureus*

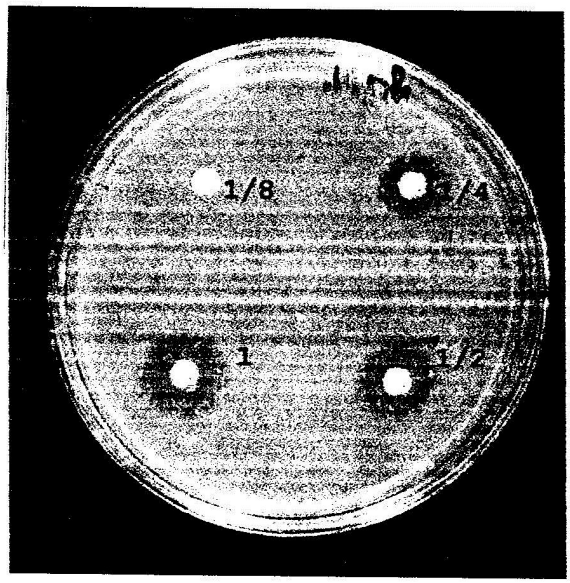
القطر بملم	تركيز المستخلص			
	1	1/2	1/4	1/8
المركب الثالث	13	9		
المستخلص القلويدي الخام للجذور	14	12	11	
المستخلص القلويدي الخام للأوراق	15	13	11	
المستخلص القلويدي الخام للبذور	19	17	13	



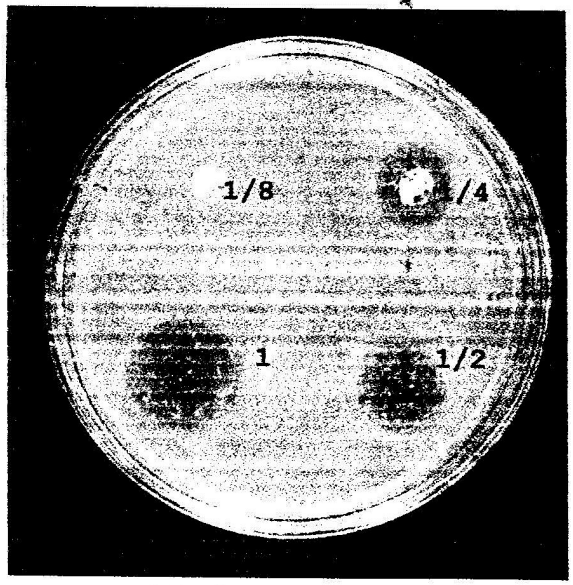
المركب الثالث



المستخلص القلويدي الخام للجذور



المستخلص القلويدي الخام للأوراق

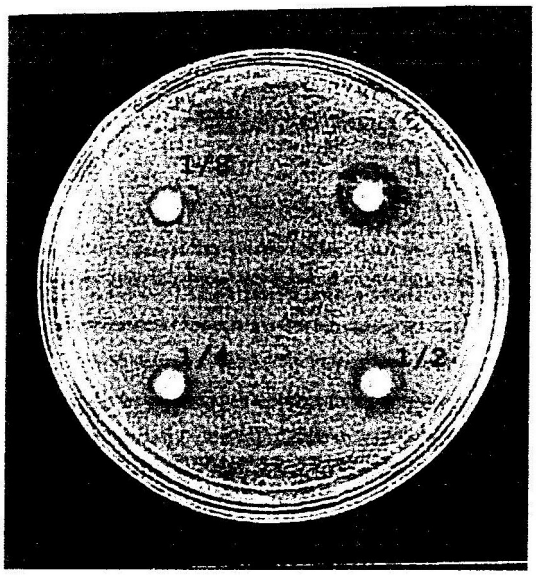


المستخلص القلويدي الخام للبذور

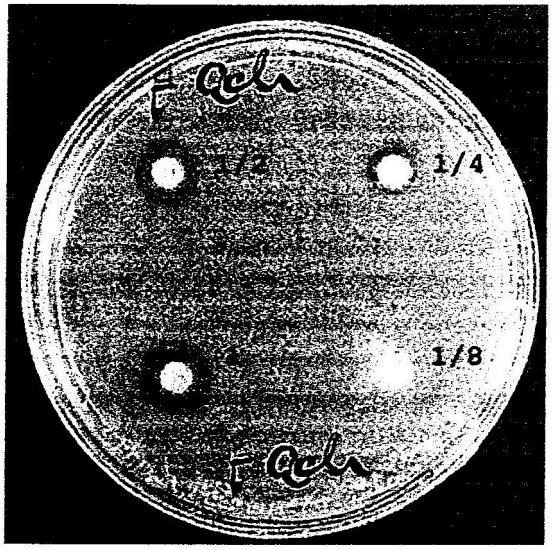
شكل (37): صور مناطق تأثير المستخلصات على *Staphylococus aureus*

جدول (12): تأثير المستخلصات على *Escherichia coli*

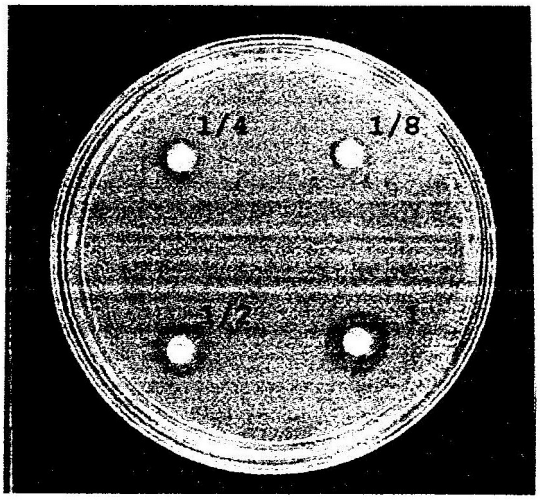
القطر بملم	1	1/2	1/4	1/8
	تركيز المستخلص			
مركب الثالث	13	11	9	7
المستخلص القلويدي الخام للجذور	14	11	9	[illegible]
المستخلص القلويدي الخام للأوراق	14	11.5	9	7
المستخلص القلويدي الخام للبذور	15	12	10	8



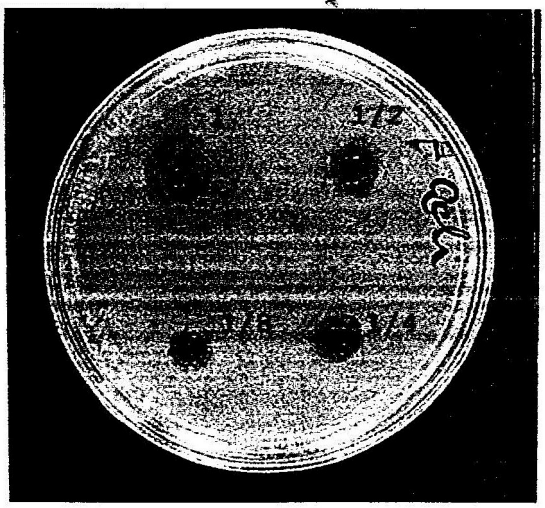
المركب الثالث



المستخلص القلويدي الخام للجذور



المستخلص القلويدي الخام للأوراق

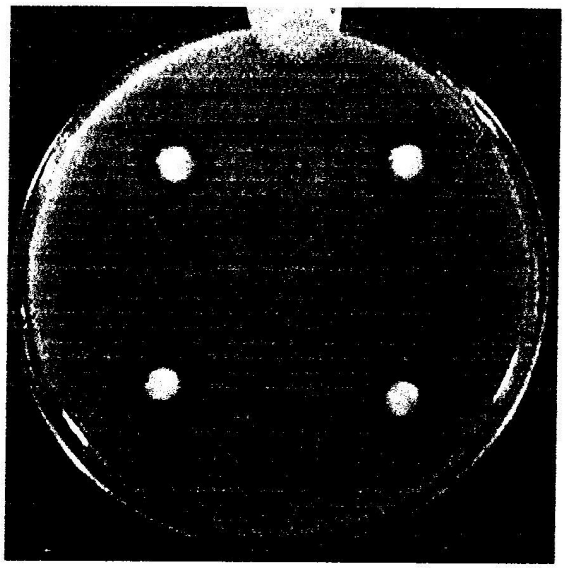


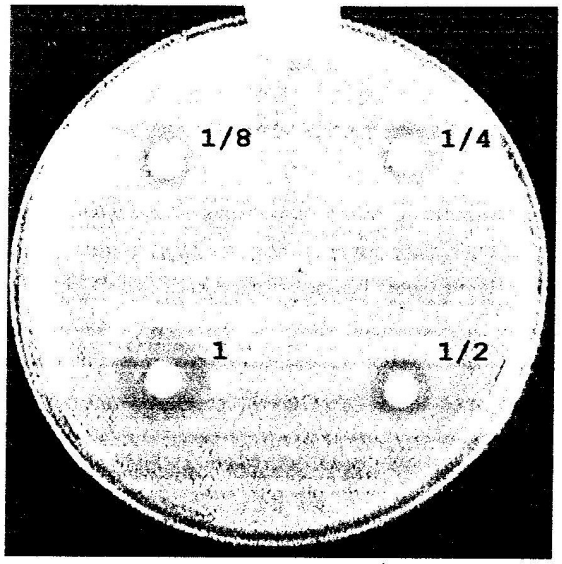
المستخلص القلويدي الخام للبذور

شكل ([illegible]): صور نتائج تأثير المستخلصات على *Escherichia coli*

جدول(13): تأثير المستخلصات على Klebsiella pneumonia

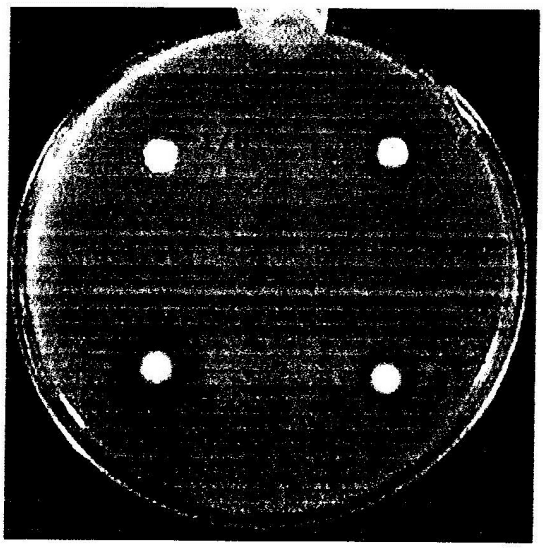
	تركيز المستخلص			
القطر بملم	1	1/2	1/4	1/8
مركب الثالث	13	12	10	9
المستخلص القلويدي الخام للجذور	14	11	10	8
المستخلص القلويدي الخام للأوراق	12	11	9	7
المستخلص القلويدي الخام للبذور	10	14	13	9

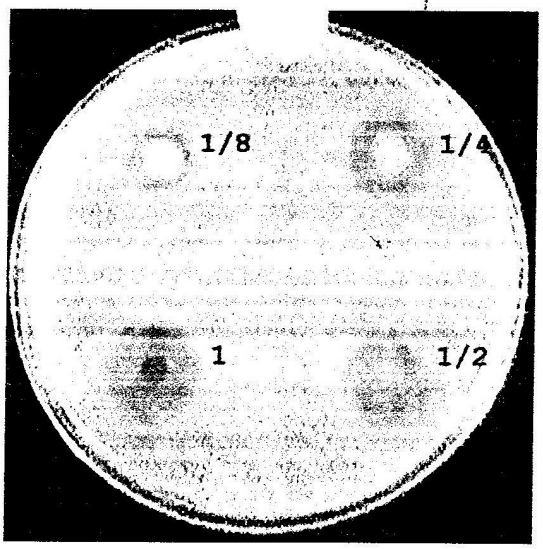




مركب الثالث

المستخلص القلويدي الخام للبذور





المستخلص القلويدي الخام للأوراق

المستخلص القلويدي الخام للبذور

شكل (13): صور توضح تأثير المستخلصات على Klebsiella pneumonia

خلاصة

الخلاصة

نظـــرا للمكانة الهامة التي احتلتها النباتات والأعشاب الطبية في حياة الإنسان خاصة لاحتوائها على المـــواد الفعالة، ومـــن هذه الأعشاب نبات *Peganum harmala L.* مـــن العائـــلة الرطراطية Zygophylaceae واحتوي على القلويدات الأندولية.

ونظـــرا للكمـــية غـــير الكافية من هذه المواد التي تمثل مشكلة أساسية بسبب الحاجة الدائمة إليها والمستعملة في الطب والصيدلة في ظل تفاقم الأضرار الناتجة عن استعمال المركبات الصناعية كيميائيا ولمحاولة إدراك هذا العجز تعددت البحوث الهادفة إلى الرفع من نسبة هذه المواد الفعالة.

قد بينت الكشوفات النوعية على أن جميع أعضاء نبات *P.harmala L.* تحتوي على القلويدات كما تم التوصل إلى استخلاص القلويدات الخام من جميع أعضاء النبات خلال مراحل النمو المختلفة بكميات معتبرة مختلفة كميا ونوعيا باختلاف العضو.

مـــن خلال التقدير الكمي للقلويدات اتضح أن البذور تحتوي على نسبة عالية من القلويدات بلغت 3.89%، أثبـــتت الدراســـة الكروماتوغـــرافيا للطـــبقة الرقيقة (CCM) وباستعمال نظام المذيب: كلوروفورم-ميثانول (1:4) على أن نبـــات *P.harmala L.* يحتوي على أربعة قلويدات، كما تم فصـــل ثـــلاث قلويدات منها، تم تحليلها باستعمال الدراسة الطيفية للأشعة تحت الحمراء، حيث بين طـــيف IR وجـــــود المجامـــيع الوظيفية المميزة للقلويدات بيتا-كربولين التي تشتق منها قلويدات *P.harmala L.* (C-O، N-H، C=N، C-C الحلقية، Ar-H).

تـــبين مـــن دراسة بعض الثوابت الدستورية لبعض العينات (جذور، أوراق وبذور) اختلاف في قيم الـــثوابت الدســـتورية (% للرطوبة، %للرماد و%للرماد غير القابل الذوبان في HCl) حيث كانت أعلى النتائج مسجلة عند الأوراق (12%، 32% و7%) على الترتيب.

أما بالنسبة للمستخلصات الكلية والمتابعة لمختلف العينات باستعمال المذيبات العضوية المختلفة، مع تعـــيين النسبة المئوية لهذه المستخلصات في كل حالة، تم التوصل إلى أن الكحول الإيثيلي هو المذيب الأفضل لاستخلاص القلويدات، وأبدت أحسن النتائج في الأوراق بـــ39%.

كمـــا أظهر اختبار الفعالية البيولوجية للمركب المعزول من قلويدات البذور والمستخلص القلويدي الخـــام لكـــل من الجذور، الأوراق والبذور وذلك بتطبيق الانتشار في وسط مغذي (تقنية الأقراص) علـــى أربع ســـــــلالات بكتيرية: (*Pseudomonas aerogenosa*، *Staphylococcus aureus*، *Klepsiella pneumonia*، *Escherichia coli*) أن هـــذه المركبات تملك

فعالية مضادة للبكتيريا، سجلت أعلى قيمة 19 ملم لمتوسط قطر منطقة التأثير على البكتيريا *Staphylococcus aureus* بالنسبة للمستخلص القلويدي الخام للبذور، أما أقل قيمة 6.5 ملم لمتوسط قطر منطقة التأثير على البكتيريا *Pseudomonas aeruginosa*، للجذور عند التركيز الرابع (1/8).

قائمة

المراجع

قائمة المراجع الأجنبية

- Abdel-Fettah A; Matsumoto K;Murakani; El-Hady K and Mohamed M.(1996). Facilitate Inhibitory effects of harmaline on the tryptophan induced 5-hydroxyt syndrome and body temperature changes in pargyline pretreated rad. Jp nj. Pharmacol;72:39-47.
- Acrons D;Ronssi G and Orochewski R.(1977).Cardiovascularations of three harmala alcaloides :harmine, harmaline and harmalol.J. Pharmaci;66:124[illegible]-1249.
- Agel M and Hadidi M.(1991).Direct relaxant effect of Peganum harmala seed extract on smooth muscles of rabbit an Guinea pig.Inj.Pharmacogn; 29:179-181.
- Alexander M.K (1969).Introduction to the chemistry of the alkaloid butter warths, London,P.336.
- Alyahya M.(1986). Phytochemical studies of the plant used in traditional medicine of Saudi Arabia. Fitoterapia; 5[illegible]:179-182.
- Auriola S;Martinsen A and Oksman K.(1991). Analyses of tropane alkaloids withmaspary high. Performance liquid chromatography -Mass spectrometry. J. Chromatogr; 72:7 [illegible].
- Avril J.L ; Dabernat H ; Denis F et Honteil H.(1992).Bacteriologie clinique.
- Balbaa S.I ; Helal A and Kaki Y.(1981). Medicinal plant. Constituent Vol.1.Cairo Univsity Press,91.
- Balbaa S.I. (1969). Medicinal plant. Constituent vol.1. Cairo Universitey press,3[illegible].

- Battersby A.R and Brunett A.R.(1980).
- Battersby A.R.(1971).
- Beevers L.(1967).
- Bellakhdar J.(1997).
- Ben salah N ; Amamou M et Ben Salah F.(1996).
- Binet P.et Brunel J.(1968).
- Bruneton J.(1978).
- Bruneton J.(1994).
- Bruneton J.(1999).
- Bruneton J.(2001).
- Budavari S ; Oneil M and Chemli S.(1996).

- Carbonelle B ; Denis E ;Marmonier A ; Pinon G et varguas R.(1987).Bacteriologie médicales :Techniques usuelles.Ed :SIMEP [illegible] tirage:Paris.

- Chaabi M.(2003). Etude phytochimique et activité antimicrobienne de T.arabicum, [illegible]. Thèse de Magister en science exacte, Univ.Constantine,p.2.

- Chopra I ; Abral B and Handa K.(1960). Les plantes Medicinales des régions arides considérées surtout du point vue botanique.Edit. Unisco, Paris, p.46.

- Clément N.L.(1968) Note in Microbiological assay for, aflatoxcin B_1. Arapid conformato by effect on bacillus megaterium.

- Cordell G.A. (1981). Introduction to alkaloids Abiogenetic approach. Jhon Willey and Son, pp.1-21.

- Eich E.(1994). Ergot alkaloids as lead structures for differencial receptor systems, Pharmazie; 49:867-877.

- Elbahri L and Chemli R.(1991). Peganum harmala :apoisonous plants of North Africa. Vet Hum toxical;33:276-277.

- Farnswarth N.R. (1968). Hallucinogenic plants science; 162: 1086 - 1092.

- Farnswarth N.R and Bingel A.S (1977) . New Natural products and plants drugs with pharmacological, Biological or therapeutic activity Wagner. H; Wolff .P,eds .Argnein . Forsch ; 26: 1905 1907.

- Gerardr J.(1993). Metabolisme des vegetaux physiologie et biochimie. Press Vol,technique et Universitaire Boumerdes. P.439.

- Gerard M. (1998). Biosynthesis of indol alkaloids. Pans [illegible],p.111.

- Ghourraf N. (1995). Investigation on alkaloids constituents of Algerian Peganum harmala. Thèse de magister, Jueima, pp. [illegible].

- Glasby J. (1978). Encyclopedia of the alkaloids. plenum. press, London, [illegible].

- Godman L.S ; Gilman A and Gaillard Y. (1970). The pharmacological basis of therapeutic, [illegible] ed. The [illegible] Millen co, London; p. [illegible].

- Gonzloez E.E and Delgado J.N. (1962). J.Pharm.Sci ; 51 :[illegible]-786.

- Goto T. (1975). Natural products. Chemistry-Vol.2, pp. 155-288.

- Grim F. (1991). Etude biosystématique de population de Zygophyllum L. pp. [illegible].

- Guignar J.L ; Casson L et Henzy M. (1985). Abrégé des phytochimie. Masson. pp.175-179.

- Guinerd J.I. (1996). Biochimie végétal ; Masson, Paris ; p. 235.

- Gupta O.P and Zuski U and Saari A. (1980). Absorption and distribution of vasicine, a moderuterotonic abortifacient. Indian J.expbiol; 18:1075-1077.

- Hamid R;Monsef H and Mehrdad I. (2004). Antinociceptive effects of peganum harmala. Alkaloid extract on mouse formalintes department of toxicology et pharmacology Tehran university of medical science. Iran; 7:65-69.

- Han B.H ; park M.H and Han Y.N. (1990). Phytochemistry; 29; 3315-3319.

- Hegnauer R. (1986). Phytochemistry and plants taxonomy. An essay on the chemotaxonomy of higher plants. Phytochem; 25; 1519-1535.

- Hess M.(1981). Alkaloids chemistry.p.[illegible].

- Hostege D.H and Seriber J.(1995).Rapid Multiresidue Screen for alkaloids in plant Material and biological samples.J.Agric. Fd. Chem; [illegible].

- Jawelz G; Melnick J.L et Adelberg G.A.(1973). Microbiologie Medical Librairie Maloine S.A.Paris, pp.[illegible].

- Kamel S ; Ibrahim L and Affifi A (1679). Major alkaloidal constituants of the Egyptian plant-peganum harmala. UARJ.V et Sci; 7:71-86.

- Kapil R.S(1971). The carbazole alkaloids. Dans [illegible]:[illegible]-[illegible].

- Kojmakanishi J.(1975). Naturel products chemistry. Vol.1 ; pp.'365-381.

- Kusmenogla S ; Turkoz S and Koen U.(1995). Constituents in the seed oil of peganum harmala.J. Fac.Pharm. Bari ;12 :141-145.

- Lacheroni M.t.(1996). Le grand livre des huiles essentielles. Ed. Vecchis.A; paris.p.140.

- Lamchouri F ; settfa A and cherrach Y. (1999). Antitumor principles from peganum harmala seeds.Terapie: 54:[illegible]-[illegible].

- Lecler H et Bruttion R. (1976). Microbiologie appliquée .p.05.

- Lefloch G. (1983). Contribution à une étude ethnobotanique de la flore tunisienne. Ed. Publication scientifique tunisiennes, pp.[illegible]-[illegible].

- Mahran G.H.(1964). Medicinal plant anglo Egyptian book shop, Cairo, Ist; Ed, p.435.

- Mann J. (1987). Secondary metabolism. in [illegible] science [illegible]

- Mann J.(1978). Secondary. in [illegible] chemistry series, [illegible] press, [illegible].

- Mansk R.H.(1971). The [illegible] alkaloids dans [01] :8-47.

- Massoud M;Hossein J and Piroof S.(2002). Toxicity of peganum harmal ; Review and a case Report. Razi institute for drug reseach (R.I) Department of pathology (H.J), Iran university of Medical sciences tehran, Iran; p: 6-11.

- McLean M ; Cook W.R and I Vimey K; (1956). Text book of theorical botany, ed. Longmans,green and co,vol. 1. p [illegible].

- Michall B. (1994). Biosynthesis of alkaloids, dans [01]; pp.1-4.

- Neuss N.(1978). The Indole alkaloids. vol (42);p.213.

- Ninomiya I.(1990). Ergot alkaloids in « the alkaloids, chemistry and pharmacology ». Brossi A; ed. Academic press San, Diego (vol [38] ; p.1-156.

- Nultch W et Traduc M; (1969). Botanique générale. Masson ; Paris, 310-311.

- Ozenda P.(1977).flore du sahara, 2e ed. Centre national de la recherche scientifique, Paris.

- Oztekin A.(1994). Les intoxications d'origines végétales en Turquie. ANN. Pharm. Françaises ;52 : 260-262.

- Paris M et Hurzabielle J.(1980).abregé de matière de pharmacognosie. Tome 1.Généralités monographies. Masson ; pp.161-276.

- Paul S et Jean D. (1999). Bactériologie. – éd. [illegible], Paris, p.[illegible].

- Pelt J.M. (1971). Drogue et plante magique horizon de France.

- Perlik I. (1997). Atropa belladonna poisoning suggestive [illegible] ; 47 : 461-466.

- Phylipson J.D and Zenk M.H. (1980). Indol and Biogenetically Related alkaloids, Phytochemical society of Europe; N°17, pp.143-156.

- Puzzi A ; Vecherkin S and Tribenki M. (1980). toxicity of the combined alkaloids of harmala (Peganum harmala, Zygophyllaceae). Vet. Moscow ; 4 :57-55.

- Quezel P et Santa S. (1963). Nouvelle Flore de l'Algérie et des région désertique Méridionales. Tome II. Ed: Centre National de Recherche Scientifique. Paris.

- Raffauf A. (1970). Hand book of alkaloids. Alkaloid. Containing plant; 10:551-561.

- Redder J.M. (1972). Basic Organic Chemistry part 4. Natural product; 4:434-446.

- Richter G. (1993). Métabolism des végétaux Physi et Biochem; press, P.I, p.326.

- Ronse L.P ; Smets E.F et Delact J. (1996). Morphological studies et zygophyllaceae. The floral development and vascular anatomy of peganum harmala .A.M.J.BOL; 83:201-215.

- Salah N: Amamou M et Salah F. (1986). Un cas de sur dosage en peganum harmala . toxical clin exp ;6 : 319-322.

- **Paul S et Jean D.(1999).** [illegible] 4 [illegible] India, p.[illegible].

- **Pelt J.M.(1971).** Drogue et plante magique horizon de France.

- **Perlik I.(1997).** Atropa belladonna poisoning suggestive [illegible] post [illegible] poisoning. [illegible] ;48 : [illegible].

- **Phylipson J.D and Zenk M.H.(1980).** Indol and Biogenitically Related alkaloids, Phytochemical society of Europe; N°17, pp.14[illegible]-156.

- **Puzzi A ; Vecherkin S and Tribenki M.(1980).** Toxicity of the combined alkaloids of harmala Peganum harmala, Zygophyllaceae). Vet. Moscow ; 4 :5[illegible]-58.

- **Quezel P et Santa S.(1963).** Nouvelle Flore de l'algérie et des région désertique Méridionales. Tome II. Ed; Centre National de Recherche Scientifique. Paris.

- **Raffauf A.** (1970). Hand book of alkaloids. Alkaloid. Containing plant; [illegible]:551-561.

- **Redder J.M.(197[illegible]).** Basic Organic Chemistry part 4. Natural product; 4:434-448.

- **Richter G.(1993).** Metabolism des végétaux Physi et Biochem; press, P.U, p.526.

- **Ronse L.P ; Smets E.F et Delact J.(1996).** Morphological studies et zygophyllaceae. The floral development and vascular anatomy of peganum harmala .A.M.J.BOL; 83:201-215.

- **Salah N; Amamou M et Salah F. (1986).** Un cas de sur dosage en peganum harmala . toxical clin exp ;6 : [illegible]-[illegible].

- **Trease E.T and evans A.W(1978).** Text book of pharmacognosy. Baillière Tindall and Cox. London, 11 th ed; 53d.
- **Verpoort R; Varder H.R and tenHoppen H.J Memlink J.(1988).** Metabolic engineering for the improvement of plants secondary metabolic production .plant tissue culture and biotechnology; 4:3-21.
- **William S.(1995).** Chemical and Biological perspectives. Vol.10; pp. 358-366.
- **Yahia A.(2000).** Contribution à l'étude d'effecteurs de l'accumulation des métabolites secondaires dans les cellules végétales. Thèse de docteur en sciences naturelles.univ.Constantine ; p.114.

الملحق

1/المواد الكيميائية:

- الإيثانول
- الميثانول
- الأسيتون
- الكلوروفورم
- البيتانول
- الإيثر
- الإيثر البترولي
- حمض البكريك
- إيثر أسيتات
- ثنائي إيثر إيثيل

2/الزجاجيات:

- بيشر
- أنابيب إختبار
- قمع
- أطباق بيتري زجاجية وبلاستيكية
- ماصة باستور
- حوجلة (250 مل و 500 مل)
- ماصة مدرجة

3/الأجهزة والأدوات:

- Chauffe ballon.
- Autoclave
- مبخر دوار
- صفائح الكروماتوغرافيا
- موقد بنزين
- حمام مائي
- مصباح الأشعة فوق البنفسجية (UV) N036286
- حاضنة
- فرن
- جهاز طيف الأشعة تحت الحمراء (IR) Jasco FT/IR-460 plus

قائمة الكواشف

الكاشف	التركيب والتحضير		
شولتز	- كلوريد الزنك	[illegible]	
	يوديد البوتاسيوم	[illegible]	
	- ماء مقطر	[illegible]	
[illegible]	- حمض البكريك	[illegible]	في الإيثانول
	- هيدروكسيد البوتاسيوم	0.5 غ	
فهلنغ	أ: كبريتات النحاس 40 غ/ل		في 1 ل ماء مقطر
	ب: طرطرات الصوديوم-البوتاسيوم 200 غ		
	- هيدروكسيد البوتاسيوم 150 غ (خلط المحلولين أ و ب)		
	يحضر مزيج متساوٍ مباشرة قبل الاستعمال		
دراجن دروف	- يوديد البزموت		في الحمض المخفف
	- يوديد البوتاسيوم		

3. المذيبات المستعملة في عملية الفصل

تم إجراء فصل كروماتوغرافي على طبقة رقيقة على مستخلصات [illegible]

حسب (أعطاء [illegible] (Chouvrat, 1990)

النسبة	اسم المذيبات	رقم
[illegible]	كلوروفورم-ميثانول	01
[illegible]	ميثانول-كلوروفورم	02
[illegible]	إثيل أسيتات-ميثانول	03
[illegible]	دي إيثيل إيثر-أسيتات	4
[illegible]	كلوروفورم-أسيتون	05
[illegible]	D-بيتانول	06
[illegible]	ميثيل إيثيل-أسيتون	07
[illegible]	كلوروفورم-إيثانول-أسيتون	08

6. التقدير الكمي للفلويدات بطريقة المعايرة

جدول (15): التقدير الكمي للفلويدات بطريقة المعايرة

المعاملات / % الفلويدات	الجذور	الأوراق	البذور
التكرارات	[illegible]	1.62	3.49
	3	1.91	4
	2.4	1.5	4.2
المتوسط	2.63	1.67	3.89
Ecart type	0.32	0.21	0.36

7. بيئة Muller Hinton:

المحلول A:

المركب	الكمية
Hydrolysate des caseine	17.5 غ
Bouillon de beuf	300 غ
Amidon	1.5 غ
Agar Agar	7 غ
Eau distillée	480 مل

محلول B:

المركب	الكمية
Hymoglobine	30 غ
Eau distillée	440 مل

Enrichement:

المركب	الكمية
Isovitale	20 مل

تم إذابة المكونات مع التسخين ببطء والتحريك حتى الغليان معا، يضبط pH عند 7.4 ثم يوزع في دوارق سعة 250مل وتعقم في Autoclave تحت (1) ضغط جوي، درجة حرارة 121°م، الزمن 15 (عبد ... وآخرون، 1987)، (Paul et Jean, 1996).

عدد البقع الفلافونية المفصولة وقيم R_f مدونة في الجدول (١٤)

جدول (١٤): يشمل أنظمة المذيبات المستعملة في CCM وقيم R_f المتحصل عليها

نظام المذيب	الجذور		الأوراق		السيقان		الأزهار		الثمار		البذور	
أقسام النبات	R_f	N_s	R_f	N_s	R_f	N_s	R_f	N_s	R_f	N_s	R_f	N_s
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]

قائمة الجداول

الصفحة	العنوان	رقم
[illegible]	التسميات المختلفة لنبات P. harmala L. في مختلف [illegible]	1
[illegible]	أهم الفلافونات والتأثيرات الدوائية	2
[illegible]	صيغ بعض القلويدات الأندولية	3
[illegible]	صيغ بعض القلويدات الكربولينية	4
51	المسح الكيميائي الأولي لمختلف أعضاء نبات P. harmala L.	5
52	نتائج الكشف عن القلويدات في جميع المستخلصات	6
57	كروماتوغرافيا الفصل لقلويدات مختلف أعضاء نبات P. harmala L. نظام المذيب كلوروفورم –ميثانول (1:4)	7
67	النسبة المئوية لبعض المواد الدستورية في المجموع الخضري و الجذري لنبات . P. harmala L.	8
68	النسبة المئوية للمستخلصات المتتابعة	9
[illegible]	تأثير المستخلصات على Pseudomonas aeruginosa	10
72	تأثير المستخلصات على Staphylococcus aureus	11
73	تأثير المستخلصات على Escherichia coli	12
74	تأثير المستخلصات على Klebsiella pneumonia	13
89	أنظمة المذيبات المستعملة في CCM وقيم R_f المحصل عليها	14
90	التقدير الكمي للقلويدات بطريقة المعايرة	15

الملخص

أجرينا في هذه الدراسة، استخلاص وعزل القلويدات لنبتة *Peganum harmala L.*، من منطقة عين مليلة (الحرملية) واختبار إحدى خواصها الطبية. قمنا بعزل ثلاث مركبات قلويدية مختلفة، باستعمال المذيبات العضوية وتقنيات كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة، كما بينت الدراسة الطيفية للأشعة تحت الحمراء (IR) وجود المجاميع الوظيفية الموافقة لقلويدات بيتا-كربولين (C-O، N-H، C=N، Ar-H، C=C).

أما اختبار الفعالية البيولوجية،باستعمال طريقة الانتشار في وسط مغذي،فقد بينت أن المركب المعزول من البذور والمستخلصات الخام لكل من الجذور، الأوراق والبذور ذات فعالية مضادة للسلالات البكتيرية المختبرة.

الكلمات المفتاحية: *Peganum harmala L.*، القلويدات الأندولية، CCM، IR، النشاط الميكروبي.

RESUME.

- Le but de cette Etude est l'extraction et l'isolement des alcaloïdes de la plante *Peganum harmala L.*, qui a été récolté dans les environs de la région d'Ain M'lila (Harmelia). Pour examiner l'un de ces caractéristiques médicinales, Nous isolons trois (3) composés alkaloïdiques différents, en utilisant des solvants organiques et des techniques de la Chromatographie sur couche mince.
- La présence des groupements fonctionnels a été montré par le spectre IR, ou le résultat était identique aux alcaloïdes de type β-carboline (C=C, Ar-H, C=N, N-H, C-O).
- En revanche, le teste de l'activité biologique en appliquant la méthode de diffusion dans un milieu nutritif, montre que les composés isolés à partir des grains de la plante, et leurs extraits brutes des racines, des feuilles et des grains ont un effet anti-bacterien.

- **Mots clés** : *Peganum harmala L.*, alcaloïdes indoliques, CCM, IR et activité anti-bactérienne.