الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Université Ferhat Abbas Sétif 1
Faculté des Sciences de la
Nature et de la Vie

جامعة فرحات عباس، سطيف 1
كلية علوم الطبيعة و الحياة

N°...../SNV/**2014**

قسم: البيوكيمياء

مذكرة

مقدمة من طرف

بطيحي سارة

للحصول على شهادة

ماجستيـر في البيولوجيا

تخصص: بيوكيمياء؛ علم السموم، البيئة و الصحة.

الموضوع

السمية الحادة و شبه الحادة لقلويدات لبذور نبتة ***Peganum harmala* L.**

نوقشت يوم .....\.....\2014

أمام لجنة المناقشة

الرئيس	بونشادة مصطفى	أستاذ جامعة فرحات عباس سطيف 1
المشرف	بوزيدي عبد الوهاب	أستاذ جامعة فرحات عباس سطيف 1
الممتحنون	عادل شاكر نجيب	أستاذ محاضر أ جامعة فرحات عباس سطيف 1
	هوشار بخوش	أستاذ محاضر أ جامعة فرحات عباس سطيف 1

الإهداء

بسم الله الرحمن الرحيم

«وقل اعملوا فسيرى الله عملكم ورسوله والمؤمنون»

صدق الله العظيم

الصلاة و السلام على سيد البشرية محمد و على آله و صحبه أجمعين

أهدي هذا المجهود المتواضع

إلى من جرع الكأس فارغاً ليسقيني قطرة حب، إلى من كلّت أنامله ليقدم لنا لحظة سعادة

إلى من حصد الأشواك عن دربي ليمهد لي طريق العلم

أبـــي العزيز

إلى من أرضعتني الحب والحنان، إلى رمز التسامح وبلسم الشفاء، إلى القلب الناصع

أمـــي الحبيبة

إلى القلوب الطاهرة الرقيقة والنفوس الصافية، إلى رياحين حياتي إلى من حبهم يجري في

عروقي و يلهج بذكراهم فؤادي إلى إخوتي و أخواتي

إلى زوجات إخوتي

إلى شموع بيتنا نور، يحيى، يونس، ملاك، يوسف و ياسمين

إلى الذين بذلوا كل جهدٍ وعطاء لكي أصل إلى هذه اللحظة أساتذتي في الحياة

و خاصة حمزة سفيان

إلى توأم روحي ورفيقة دربي .. إلى صاحبة القلب الطيب والنوايا الصادقة منى

إلى من رافقتني منذ أن حملنا حقائب صغيرة

ومعها سرت الدرب خطوة بخطوة

صديقتي نضرة

شكر و تقدير

أتقدم بجزيل الشكر، و خالص التقدير لأستاذي الفاضل

الأستاذ الدكتور

عبد الوهاب بوزيدي

الذي آمن بقدراتي العلمية و سعى لإعطائي فرصة

في مواصلة البحث العلمي، و الذي يعد الطريق ذو الأجرين

و لم يبخل بجهد أو وقت في قراءة البحث، و تقييمه و تقويمه

أشكره على دعمه و صبره و توجيهه لي بخلاصة علمه، على سعة

صدره و تحمل المشاق التي تسببت له فيها خلال فترة

البحث، و الذي كان خيِّر قدوة للمشرف الصديق

جعل الله ذلك في ميزان حسناته،

و جزاه خير الجزاء

آمين

و ردا للفضل إلى أهل الفضل،

و عرفانا بالجميل و المعروف أتوجه بالشكر لكل من ساعدني

و شجعني و أرشدني إلى الطريق الصحيح في سير هذا البحث،

بصورة مباشرة أو غير مباشرة من الأساتذة القائمين على برنامج الماجستير

بكلية العلوم الطبيعية و الحياة و أعضاء لجنة المناقشة من رئيس اللجنة الأستاذ الدكتور بونشادة مصطفى، و الممتحنون الأستاذ الدكتور بخوش هوشار و عادل شاكر نجيب الذين خصوا لي من وقتهم واهتمامهم في قراءة مذكرتي و تقييمها.

كما أتقدم بالشكر الخاص إلى الدكتور عبدلوش رئيس قسم التشريح بالمستشفي الجامعي سعادنة محمد عبد النور و دعموش زهرة اليوم على مساعدتهما لنا،

و أتقدم بجل الاحترام و الامتنان

إلى الأستاذ الدكتور غرزولي رشيد عميد الكلية على اهتمامه البالغ بمشاغلنا

و تيسيرها لنا بعون الله، الأستاذة محدب نادية و الأستاذة بوسواليم نوال

الذين قدم لي كل الاحترام و الدعم.

و ختاما خالص الشكر و الدعاء لمن سبق ذكرهم و لكل

من وقف بجواري مشجعا و مرشدا و موجها،

أن يجعل الله ذلك في موازين حسناتهم

و آخر دعوانا أن الحمد

لله رب العالمين.

الملخص.

تعتبر نبتة *Peganum harmala* من النباتات السامة، تنتمي إلى عائلة Zygophyllaceae. ترجع سمية نبتة *Peganum harmala* إلى احتوائها على القلويدات الإندولية من نوع β-Carbolines.

سمحت دراسة السمية الحادة لمستخلص القلويدات الكلية لبذور نبتة *Peganum harmala* على إناث جرذان من نوع Albinos Wistar بتحديد قيمة DL_{50} و قدرت ب 69.34 مغ/ كلغ.

بينت دراسة السمية الحادة لمستخلص القلويدات الكلية لبذور نبتة *Peganum harmala* على إناث الجرذان المعالجة بجرعة 60 مغ/ كلغ و بمسلك إعطاء تحت صفاقي ظهور أعراض سريرية حادة و تغير في الكتلة النسبية للكبد و الدماغ بعد اليوم الخامس من المعالجة. بينت دراسة العوامل البيوكيميائية التي تعكس الهيئة و الحالة الوظيفية للكبد و الكلية ارتفاع معنوي في نشاطية PAL و bilirubine الكلية و انخفاض معنوي في تركيز bilirubine المرتبطة في اليوم الأول، ثم رجعت إلى الحالة العادية في اليوم الخامس، ارتفاع معنوي في تركيز البروتينات الكلية في اليوم الخامس و انخفاض معنوي في تركيز ASAT و ALAT، كما ارتفع تركيز Urée في اليوم الخامس من المعالجة على الترتيب. بين تحليل العوامل الدموية ارتفاع في تركيز كل من GR و HCT و HGB في اليوم الخامس من المعالجة.

بينت دراسة السمية شبه الحادة لمستخلص القلويدات الكلية لبذور نبتة *Peganum harmala* على إناث الجرذان المعالجة بجرعة 50 مغ/ كلغ، و بمسلك إعطاء تحت صفاقي لمدة 4 أسابيع ظهور أعراض سريرية حادة و تسجيل حلات وفاة و تغير في الكتلة النسبية للدماغ. بينت العوامل البيوكيميائية لكل من الكبد و الكلية انخفاض معنوي لكل من ASAT و bilirubine الكلية و ارتفاع معنوي في تركيز Urée على الترتيب. أظهر التحليل الدموي انخفاض معنوي في معدل كل من HGB و HCT و GR.

أظهرت الدراسة النسيجية لكل من الكبد و الكلية و الدماغ وجود تلف موضعي للخلايا و احتقان دموي و نقص حجم عدد محدود من وحدات الترشيح الكبيبية على الترتيب و انتشار الأذيمات في أنسجة الدماغ في ظروف دراسة السمية الحادة و شبه الحادة.

كلمات المفاتيح: *Peganum harmala*، القلويدات الكلية، السمية ، الجرذ، œdème، السلوك.

Abstract.

Peganum harmala is a toxic plant, belonging to the Zygophyllaceae family. Its toxicity is due to indolic alkaloids type β-Carbolines.

The study of acute toxicity of total alkaloid seeds of *Peganum harmala* on female Albinos Wistar rats Allowed determining the value of DL_{50} which is 69.34 mg / kg.

The study of acute toxicity in rats treated with total alkaloid seeds of *Peganum harmala* by intra-peritoneal injection and simple application with a dose of 60 mg / kg showed heavy clinical symptoms, changes in the relative weights of liver and brain after the 5th day of treatment. Serum parameters related to the structure and hepatic and renal function showed a significant increase in PAL, total bilirubin and a significant decrease in bilirubin after 1st day and normalize after the 5th day of treatment and a significant increase in Total protein, significant reduction of AST and ALT after the 5th day and a significant increase in urea after the 5th day of treatment respectively. The behavior of rats in the test of hole board, recorded a significant increase in exploration of holes after the 5th day in treated rats. Hematological parameters such as hematocrit, hemoglobin and erythrocytes showed a significant increase on the 5th day of treated animals.

The study of sub-acute toxicity in rats treated with total alkaloid seeds of *Peganum harmala* by intra-peritoneal daily injection with 50 mg / kg for 4 weeks showed severe clinical symptoms, cases of lethality were recorded in animals treated and changes in the relative weight of brain. Serum parameters related to the structure and the renal and hepatic function were recorded significant decreases ASAT and total bilirubin and a significant increase in urea respectively. Hematological parameters such as hematocrit, hemoglobin and erythrocytes showed significant decreases.

Histological sections of organs liver, kidney and brain showed localized necrosis, blood congestion, limited glomerular atrophy and edema respectively under conditions of acute and sub-acute toxicity.

Pass word: *Peganum harmala*. tal alkaloids, toxicity, atrophy, hemolysis, edema and behavior.

Résumé.

Peganum harmala est une plante toxique appartenant à la famille de Zygophyllaceae. Sa toxicité est due aux alcaloïdes indoliques de type β-Carbolines.

L'étude de la toxicité aigüe des alcaloïdes totaux des graines de la plante *Peganum harmala* a permis de déterminer la DL_{50} chez les rats femelles d'Albinos Wistar estimé 69.34 mg/kg.

L'étude de la toxicité aigüe chez les rats traités avec les alcaloïdes totaux des graines de *Peganum harmala* par voie intra-péritonéale, et par simple application avec la dose de 60 mg/kg a montré des symptômes cliniques lourds, des modifications dans les masses relatives du foie et du cerveau après le 5ème jour du traitement. Les paramètres sériques liés à la structure et à la fonction hépatique et rénale ont enregistré une augmentation significative de PAL, de la bilirubine totale et une diminution significative de la bilirubine conjuguée après le 1ier jour et se normalisent après le 5ème jour du traitement et une augmentation significative des protéines totales, diminution significative d'ASAT et ALAT après le 5ème jour et une augmentation significative de l'urée après le 5ème jour du traitement respectivement. Le comportement des rats soumis à test de la planche à trous, a enregistré une augmentation significative de l'exploration des trous après le 5ème jour chez les rats traités. Les paramètres hématologiques tels que l'hématocrite, hémoglobine et les érythrocytes ont enregistré une augmentation significative au 5ème jour des animaux traités.

L'étude de la toxicité subaigüe chez les rats traités avec les alcaloïdes totaux des graines de *Peganum harmala* par voie intra-péritonéale avec la dose de 50 mg/kg pendant 4 semaines a montré des symptômes cliniques lourds, des cas de létalité ont été enregistrés chez les animaux rats traités et des changements dans les masses relatives du cerveau. Les paramètres sériques liés à la structure et à la fonction hépatique et rénale ont enregistrée une diminution significative de l'ASAT et de la bilirubine totale et une augmentation significative de l'urée respectivement. Les paramètres hématologiques tels que l'hématocrite, hémoglobine et les érythrocytes ont enregistré une diminution significative chez les animaux traités.

Les coupes histologiques des organes du foie, du rein et du cerveau ont montré des nécroses localisées, des congestions sanguines, des atrophies glomérulaires limitées et des œdèmes respectivement dans les conditions de la toxicité aigüe et subaigüe.

Mots Clés : *Peganum harmala*, alcaloïdes, toxicité, rat, comportement.

قائمة المختصرات.

(*): الفرق المعنوي من أجل $P < 0.05$.

ALAT: Alanine AminoTrasférase.

5.HT: مستقبلات Sérotonine.

$5.HT_{2A}$: مستقبلات Sérotonine من النوع A2.

$5.HT_{I2}$: مستقبلات Sérotonine من النوع I2.

ACHEI: انزيم Acétylcholinestérase.

AMPc: Adénosine monophosphate cyclique.

ANOVA: اختبار احصائي لمقارنة متوسطي المجموعتين المختلفتين في عامل واحد (one-way ANOVA suivi de Turkey's test).

ASAT: انزيم Aspartate AminoTransférase.

bcl-2: مسرى الموت الخلوي المبرمج.

Bili Dir: المرتبطة جزيئات Bilirubine.

Bili Total: جزيئات Bilirubine الكلية.

Caspase-3 Protease: بروتين الموت الخلوي المبرمج.

CCM: كورماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (Chromatographie sur Couche Mince).

CDKS: انزيمات الفسفرة Cycline-Dependent Kinases.

Cyt P450: انزيم Cytochrome P450.

D.M.T: جزيء Diméthyltryptamine.

DL_{16}: الجرعة القاتلة لنسبة 16 % من الحيوانات في المجموعة.

DL_{50}: الجرعة القاتلة لنصف عدد حيوانات التجربة (Dose Létale de 50%).

DL_{84}: الجرعة القاتلة لنسبة 84 % من الحيوانات في المجموعة.

DYR. K: انزيمات الفسفرة Dual Specify Tyrosine Phosphorylation Regulate Kinase.

EDTA: Ethylene Diamine Tetraacetic Acid.

f_{DL50}: معامل علاقة المنحني.

HCT: هيماتوكريت (Hématocrite).

HGB: معدل الهيموغلوبين (Hémoglobine).

I_1 و I_2: مستقبلات Imidazoline.

IDR: مؤشر تحلل كريات الدم الحمراء (Indice de Destruction de Globule Rouge).

MAO: انزيم Monoamine Oxidase.

MAO-A: انزيم Monoamine Oxidase من النوع A.

MAO-B: انزيم Monoamine Oxidase من النوع B.

MCH أو **TCMH**: المعدل المتوسط للهيموغلوبين بالنسبة لكريات الدم الحمراء (Teneur Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine).

MCHC أو **CCMH**: المعدل المتوسط للهيموغلوبين في الحجم المشغول بكريات الدم الحمراء من الدم (Le Taux Moyen d'hémoglobine dans le volume occupé par les globules rouges dans le sang).

MCV أو **VGM**: الحجم الكروي المتوسط (moyenne des volumes de toutes les hématies mesurées) أو Volume Globulaire Moyen).

MPV: المحتوى المتوسط للهيموغلوبين (Teneur Corpusculaire moyenne en hémoglobine).

P53: بروتين الموت الخلوي المبرمج.

PAL: Phosphatase Alcaline.

PLT: الصفائح الدموية (Plaquettes).

RBC أو **GR**: كريات الدم الحمراء (Red Blood Cell أو Globule Rouge).

S: ميل المنحنى.

SD: الخطأ المعياري (Standard Deviation).

V/V/V: حجم/ حجم/ حجم (Volume/Volume/Volume).

W/W: الكتلة على الكتلة (Weight/Weight).

WBC أو **GB**: كريات الدم البيضاء (White Blood Cells أو Globule Blanc).

قائمة الجداول.

الجدول رقم 1: التصنيف النباتي لنبتة *Peganum Harmala*.....**3**

الجدول رقم 2: أهم أسماء نبتة *Peganum Harmala* حسب المناطق الجغرافية التي تنمو فيها **6**

الجدول رقم 3: الجرعات القاتلة حسب مسلك الإعطاء و الحيوان التجريبي لأهم قلويدات β- Carboline.....**17**

الجدول رقم 4: سمية مستخلص القلويدات الكلية لبذور نبتة *Peganum Harmala* على إناث جرذان Albinos Wistar بمسلك إعطاء تحت صفاقي في مدة 7 أيام.....**29**

الجدول رقم 5: تأثير السمية الحادة لقلويدات الكلية لبذور نبتة *Peganum Harmala* على سلوك إناث جرذان Albinos Wistar المعالجة بجرعة 60 مغ/ كلغ في إطار السمية الحادة.....**32**

الجدول رقم 6: وزن المجموعتين الشاهدة و المعالجة لمدة 5 أيام بجرعة 60 مغ/ كلغ في ظروف السمية الحادة.....**33**

الجدول رقم 7: الكتلة النسبية لأعضاء إناث جرذان Albinos Wistar المعالجة بجرعة 60 مغ/ كلغ في ظروف دراسة السمية الحادة بمستخلص القلويدات الكلية لبذور *نبتة.Peganum Harmal*.....**34**

الجدول رقم 8: العوامل الدموية لكل من المجموعتين المعالجتين لمدة 24 ساعة و 5 أيام بجرعة 60 مغ/كلغ و المجموعة الشاهدة في ظروف السمية الحادة.....**38**

الجدول رقم 9: تأثير القلويدات الكلية على سلوك إناث جرذان Albinos Wistar المعالجة بجرعة 50 مغ/ كلغ و بمسلك إعطاء تحت صفاقي في ظروف السمية شبه الحادة.....**43**

الجدول رقم 10: الكتلة النسبية لأعضاء الجرذان المعالجة بجرعة 50 مع/ كلغ لمدة 4 أسابيع في إطار دراسة السمية شبه الحادة.....**44**

الجدول رقم 11: العوامل الدموية للمجموعتين المعالجة و الشاهدة بجرعة 50 مغ/كلغ في ظروف السمية شبه الحادة.....**48**

قائمة الأشكال.

الشكل رقم 1: شكل نبتة *Peganum Harmala* و الأجزاء التركيبية من الأوراق، البذور و الأزهار.....5

الشكل رقم 2: رسم توضيحي لأهم المركبات الزهرية التكاثرية لزهرة نبتة *Peganum Harmala*.....6

الشكل رقم 3: بذور نبتة *Peganum Harmala*.....6

الشكل رقم 4: البناء الحيوي لقلويدات β- Carboline.....11

الشكل رقم 5: الصيغة الكيميائية لجزيء Harmaline.....12

الشكل رقم 6:الصيغة الكيميائية لجزيء Harmine.....13

الشكل رقم 7: الصيغة الكيميائية لجزيء Harmol.....15

الشكل رقم 8: الصيغة الكيميائية لجزيء Harmalol.....15

الشكل رقم 9: الصيغة الكيميائية لجزيء Harman.....16

الشكل رقم 10: التحويل الحيوي لجزيء: Harmaline و Harmine.....18

الشكل رقم 11: بذور نبتة *Peganum Harmala*.....19

الشكل رقم 12: طريقة استخلاص القلويدات الكلية لبذور نبتة *Peganum Harmala*..... 22

الشكل رقم 13: اختبار الحقل المكشوف (Planche à trous).....25

الشكل رقم 14: كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة باستخدام هلام السليس للمستخلص القلويدات الكلية لبذور نبتة *Peganum Harmala*المتحصل عليه من عملية الاستخلاص.....28

الشكل رقم 15: منحنى العلاقة لوغاريتم الجرعة بدلالة Probit لمستخلص القلويدات الكلية لبذور نبتة *Peganum Harmala* 31

الشكل رقم 16 : العوامل المصلية ALAT، ASAT، ALP لإناث الجرذان المعالجة بجرعة 60 مغ/كلغ في ظروف السمية الحادة.....35

الشكل رقم 17: العوامل المصلية Glucose، Urée و Créatinine لإناث الجرذان المعالجة بجرعة 60 مغ/كلغ في ظروف السمية الحادة 36

الشكل رقم 18: تركيز البروتينات الكلية لإناث الجرذان المعالجة بجرعة 60 مغ/كلغ في إطار السمية الحادة.....36

الشكل رقم 19: تركيز Bilirubine الكلية و مرتبطة في المصل لإناث الجرذان المعالجة بجرعة 60 مغ/كلغ في ظروف السمية الحادة. 37

الشكل رقم 20: المقاطع النسيجية لكبد الجرذان المعالجة بالقلويدات الكلية بجرعة 60 مغ/كلغ في ظروف السمية الحادة.....40

الشكل رقم 21: المقاطع النسيجية لكلية الجرذان المعالجة بالقلويدات الكلية بجرعة 60 مغ/كغ في ظروف السمية الحادة.....**41**

الشكل رقم 22: المقاطع النسيجية لدماغ الجرذان المعالجة بالقلويدات الكلية بجرعة 60 مغ/كغ في ظروف السمية الحادة.....**42**

الشكل رقم 23: تأثير السمية شبه الحادة للقلويدات الكلية لبذور نبتة *Peganum Harmala* على الكتلة المطلقة لجرذان معالجة بجرعة 50 مغ/كلغ لمدة 4 أسابيع في ظروف دراسة السمية شبه الحادة.....**44**

الشكل رقم 24: العوامل المصلية ALAT، ASAT، ALP لإناث الجرذان المعالجة بجرعة 50 مغ/كلغ في ظروف السمية شبه الحادة.....**45**

الشكل رقم 25: العوامل المصلية من Glucose، Urée و Créatinine لإناث الجرذان المعالجة بجرعة 50 مغ/كلغ في ظروف السمية شبه الحادة **46**

الشكل رقم 26: تركيز البروتينات الكلية لإناث الجرذان المعالجة بجرعة 50 مغ/كلغ في ظروف السمية شبه الحادة.....**46**

الشكل رقم 27: تركيز Bilirubine الكلية و مرتبطة في المصل لإناث الجرذان المعالجة بجرعة 50 مغ/كلغ في ظروف السمية شبه الحادة.....**47**

الشكل رقم 28: المقاطع النسيجية لكبد إناث الجرذان المعالجة لمدة 4 أسابيع في ظروف السمية شبه الحادة بالقلويدات الكلية بجرعة 50 مغ/كلغ **49**

الشكل رقم 29: المقاطع النسيجية للكلية في مجموعة إناث الجرذان المعالجة لمدة 4 أسابيع في ظروف السمية شبه الحادة بالقلويدات الكلية بجرعة 50 مغ/كلغ **50**

الشكل رقم 30: المقاطع النسيجية للدماغ في مجموعة إناث الجرذان لمدة 4 أسابيع في ظروف السمية شبه الحادة بالقلويدات الكلية بجرعة 50 مغ/كلغ.....**51**

الفهرس.

المقدمة.....1

الجزء النظري

I. عموميات حول نبتة *Peganum harmala.* L.....2

I. 1. نبتة الحرمل أو *Peganum harmala.* L.....2

I. 2. أصل نبتة *Peganum harmala.* L و مصدر التسمية.....2

I. 3. التصنيف النباتي لنبتة *Peganum harmala.* L.....3

I. 4. الخصائص المرفولوجية لنبتة *Peganum harmala.* L.....3

I. 4. 1. الأوراق.....3

I. 4. 2. الأزهار.....4

I. 4. 3. الثمار.....4

I. 5. التوزيع الجغرافي لنبتة *Peganum harmala.* L.....4

I. 6. التسميات الشائعة لنبتة *Peganum harmala.* L.....6

I. 7. المركبات الكيميائية في بذور نبتة *Peganum harmala.* L.....7

I. 8. تركيز قلويدات β-Carboline في نبتة الحرمل.....7

I. 9. استعمالات نبتة *Peganum harmala.* L من الناحية التقليدية.....7

I. 10. حالات و أعراض التسمم بنبتة *Peganum harmala.* L.....7

I. 11. أهم الخصائص الصيدلانية لنبتة *Peganum harmala.* L.....8

- **عامل للإجهاض**.....8
- **تثبيط إنزيم Acétylcholinestérase (ACHEI)**.....8
- **مضاد اللشمانيا**.....8
- **مضاد البكتيريا**.....8
- **مخدر و مسكن للألم**.....8
- **مضاد الملاريا**.....9
- **توسيع الأوعية الدموية**.....9
- **مضاد للأورام و الأورام السرطانية**.....9

➢ التأثيرات السمية على المستوى العصبي.....9
II. القلويدات الاندولية أو قلويدات الحرملة (β– Carboline).....10
II. 1. مصدر القلويدات الاندولية من نوع β– Carboline.....10
II. 2. التخليق الحيوي لقلويدات β– Carboline.....10
II. 3. مركب Harmaline.....12
II. 4. التأثيرات البيوكيميائية و الصيدلانية لمركب Harmaline.....12
II. 5. مركب Harmine.....13
II. 6. التأثيرات البيوكيميائية و الصيدلانية لمركب Harmine.....13
II. 7. التأثيرات البيوكيميائية و الصيدلانية المشتركة لكل من Harmine و Harmaline.....13
II. 8. مركب Harmol.....15
II. 9. مركب Harmalol.....15
II. 10. مركب Harman.....16
II. 11. الحركية الصيدلانية لقلويدات β– Carboline.....16
II. 12. الجرعات القاتلة لقلويدات β– Carboline.....17

الجزء التطبيقي

I. المادة البيولوجية.....19
I. 1. المادة النباتية.....19
I. 2. الدراسة الفيتوكيميائية للقلويدات الكلية في بذور نبتة *Peganum harmala*. L.....20
I. 2. 1. استخلاص القلويدات الكلية من بذور نبتة *Peganum harmala*. L.....20
I. 2. 2. التحليل النوعي للقلويدات الكلية في بذور نبتة *peganum harmala*. L.....21
I. 3. المادة الحيوانية.....21
I. 3. 1. تحديد DL_{50} عند إناث جرذان Albinos Wistir.....23
I. 3. 2. السمية الحادة للمستخلص القلويدات الكلية لبذور نبتة *Peganum harmala*. L على إناث جرذان Albinos Wistar.....23
I. 3. 3. السمية شبه الحادة للمستخلص القلويدات الكلية لبذور نبتة *Peganum harmala*. L على إناث جرذان Albinos Wistar.....24
I. 3. 4. دراسة العوامل الدموية و البيوكيميائية.....25

I. 3. 5. الدراسة النسيجية للأعضاء.....26
I. 3. 6. الدراسة الاحصائية.....27

النتائج و المناقشة

I. النتائج.....28
I. 1. التحليل النوعي للقلويدات الكلية لبذور نبتة *Peganum harmala*. L.....28
I. 2. تحديد قيمة DL_{50}.....29
I. 3. السمية الحادة.....30
I. 4. السمية شبه الحادة.....42
II. المناقشة.....52
الخاتمة.....58
قائمة المراجع.

المقدمة

المقدمة.

يهدف تزايد الاهتمام و استعمال النباتات الطبية في البحث العلمي بشكل مكثف إلى استبدال الأدوية الكيميائية ذات التأثيرات الجانبية الجسيمة على الجسم و الأعضاء الحيوية كالكبد و الكلية بمستخلصات نباتية و بأقل ضرر، لكن و رغم هذه الدراسات يظل استعمال النباتات الطبية عشوائي من طرف العامة بهدف التداوي دون مراعاة التأثيرات السمية لها، مما يؤدي إلى تسممات خطيرة قد تصل إلى الموت (Sharma *et al*., 2011؛ Mahmoudian *et al*., 2002).

تعتبر نبتة *Peganum harmala* من النباتات العشبية المزهرة، تنتمي إلى عائلة Zygophylaceae، و تتميز بانتشار جغرافي واسع (Movafeghi *et al.,* 2009؛ Frison *et al*., 2008؛ Boullard, 2001؛ Jahier *et al*., 1992؛ Lucienne *et al*., 1980). يتعرض الإنسان من جراء الاستعمال العشوائي للنبتة إلى التسمم، و تتمثل الأعراض في إنهاك و تعب شديد و توتر و اضطراب في حركة العضلات الإرادية و زيادة إفراز اللعاب و غثيان و اسهال، و في الغالب تكون الأعراض الناتجة عن اصابة الجهاز العصبي هي السائدة، كما يلاحظ زيادة معدل التنفس و تغير في درجة الحرارة و فقدان الشهية (Asgarpanah et Ramezanloo, 2012؛ Frison *et al*., 2008).

تعد نبتة الحرمل مصدر غني بقلويدات β-Carboline و Quinazoline و يرجع الاهتمام الكبير بها أساسا إلى قلويدات β-Carboline بالدرجة الأولى، و الموجودة بتركيز عالي في البذور و بنسبة أقل في الجذور (Salari *et al*., 2012؛ Kartal *et al*., 2003). تتنوع التأثيرات الصيدلانية لقلويدات *Peganum harmala* على المستوى الفيزيولوجي بين تخفيض درجة الحرارة و تغيير الحالة النفسية؛ محدثة بذلك حالة هلوسة أو قد تعمل كمهدئات، و تثبيط الانزيمات مثل انزيم MAO، كما تستعمل كمضاد للبكتيريا (Benbott *et al*., 2013؛ Nasehi *et al*., 2012؛ Gomah, 2010؛ Qazan, 2009؛ Hamden *et al.,* 2008؛ Mirzaie *et al*., 2007). تستعمل نبتة *Peganum harmala* من الناحية التقليدية كمنقوع للشرب بهدف تسكين الآلام و آلام الدورة الشهرية و الإجهاض، كما تستعمل في علاج العديد من الأمراض الجلدية (Gomah, 2010).

تم التركيز في دراستنا للسمية الحادة و شبه الحادة لمستخلص القلويدات الكلية لبذور *Peganum harmala* على إناث جرذان Albinos Wistar على التأثير السمي على كل من الكبد و الكلية و الدماغ من خلال الدراسة النسيجية و تحليل العوامل البيوكيميائية و الدموية، كما تم دراسة التأثير السمي على الجهاز العصبي المركزي من خلال دراسة التغيرات السلوكية للحيوانات التجريبية.

الجزء النظري

I. عموميات حول نبتة *Peganum harmala*.

I. 1. نبتة الحرمل أو *Peganum harmala*.

تعتبر نبتة *Peganum harmala* من النباتات العشبية المزهرة أو الشجيرات المعمرة (Kubitzki, 2011؛ Mahmoudian *et al.*, 2002؛ Boullard, 1997). تنتمي إلى عائلة النباتات القديسية (Zygophyllaceae) (Abdel Fattah *et al.*, 1995؛ Koyuncu *et al.*, 2008)، و تتميز بالانتشار جغرافي واسع حيث تنمو تلقائيا في المناطق ذات الخصائص المناخية القاسية Kubitzki, 2011 (Berrougui *et al.*, 2006؛ Bézanger, 1980).

عرفت نبتة *Peganum harmala* منذ القدم، و استعملت في علاج العديد من الاضطرابات الصحية، كما استعملت للسحر و الشعوذة و الإجهاض، و لها أهمية صيدلانية و اقتصادية كبيرة نظرا إلى احتوائها على مركبات كيميائية تدعى بقلويدات β-Carboline، و المدرجة ضمن عائلة القلويدات الإندولية (Preedy *et al.*, 2011؛Berrougui *et al.*, 2006 ؛Endrews et Rindsberg, 2010؛Boullard, 2001؛ Bruneton, 1999). تتنوع مستويات تأثيرت قلويدات β-Carboline على المستوى الفيزيولوجي، هذا التأثير من شأنه أن يغير وتيرة النشاط العادي مؤديا بذلك إلى حالة التسمم أو الهلوسة (Endrews et Rindsberg, 2010).

تعد جميع أجزاء نبتة الحرمل سامة و تتفاوت درجة السمية حسب الجزء النباتي و طور النمو، إلا أن البذور الجزء الأعلى تركيزا للمركبات القلويدية و الأكثر استعمالا (Preedy *et al.*, 2011؛ Mahmoudian *et al.*, 2002؛Bruneton, 1999).

I. 2. أصل نبتة *Peganum harmala* و مصدر التسمية.

يرجع أصل نبتة *Peganum harmala* إلى المناطق الوسطى و الشرقية الجنوبية لآسيا و شمال إفريقيا و جنوب شرق أوربا، فضلا عن انتشارها الواسع في العديد من المناطق الجغرافية الجافة الأخرى (Preedy *et al.*, 2011؛ Kothe, 2007).

يعود اسم الجنس "Peganum" إلى اسم كلاسيكي يوناني لإحدى الشوارع في اليونان و الذي كان يعتقد أنه يشبه شارع سوري، أما النوع "harmala" فهو اسم مستمد من أراضي بلدة لبنانية تدعى "Harmal" (Bruneton, 2002).

I. 3. التصنيف النباتي لنبتة *Peganum harmala*.

تدرج نبتة *Peganum harmala* ضمن عائلة النباتات القديسية و تنتمي حسب تصنيف Cartini لعام 1971 إلى التسلسل النباتي التالي (الجدول رقم 1).

الجدول رقم 1: التصنيف النباتي لنبتة *Peganum harmala.* L.

المملكة	النباتية	Plantae
تحت المملكة	النباتات الوعائية	Trachiobionta
التفرع الأعلى	النباتات ذات البذور	Spermatophyta
التفرع	النباتات المزهرة	Magnoliophyta
القسم	النباتات ثنائية الفلقة	Magnoliopsida
تحت القسم		Rosida
الرتبة		Zygophyllalée/ Sapindales
العائلة	النباتات القديسية	Zygophyllaceae
الجنس		Peganum
النوع		*Peganum harmala*

I. 4. الخصائص المرفولوجية لنبتة *Peganum harmala*.

تعتبر نبتة الحرمل من النباتات العشبية المزهرة، تمتد دورة حياتها بين شهري أفريل و أكتوبر، تنمو في هيئة شجيرات و يتراوح معدل طولها بين 30 سم إلى 100 سم، تتميز بساق عشبية قصيرة و كثيفة التفرع (على الأقل 4 فروع) و ذات هيئة مضلعة، تخلو فروعها من لواحق الزغب و الأشواك (Frison *et al.*, 2008؛ Mahmoudian *et al.*, 2002). تمنح الكثافة الناتجة عن التغصن النبتة شكلا دائريا فتنبسط على سطح الأرض بعرض 120 سم، كما تتميز برائحة قوية لاذعة و بطعم مر (Preedy *et al.*, 2011؛ Kubitzki, 2011؛ Ayad, 2008) (الشكل رقم 1).

I. 4. 1. الأوراق.

تتوضع الأوراق بشكل تقابلي على طول الفروع، التي تنتهي بأزهار بيضاء منفردة (Mahmoudian *et al.*, 2002). تتميز الأوراق بلون أخضر فاتح و بشكل شبه بيضوي أو طولي رمحي و نهاية حادة، يبلغ طولها بين 4 سم إلى 8 سم (Asgarpanah et Ramezanloo, 2012؛ Preedy *et al.*, 2011). تكون الأوراق سميكة

ومفصصه إلى عدة فصوص ريشية الشكل، غير منتظمة و ضيقة و يتراوح طول الفصوص بين 3 سم إلى 5 سم و عرضها 2 سم إلى 3 سم و تلتحم في قاعدة النصل الذي يتميز بتواجد تركيبة أذينيه دائمة في أسفله (Brisseau *et al.*, 1806) (الشكل رقم 1).

I. 4. 2. الأزهار.

تنتهي الفروع بأزهار بيضاء منفردة، صغيرة و نجمية الشكل بعرض 2 إلى 2.5 سم، و تضم الزهرة تركيبة قاعدية دائمة تدعى بالقرص، الذي ترتكز عليه جل التراكيب الزهرية الأخرى (Boullard, 1997). تحتوي الزهرة على 5 بتلات تامة غير ملتحمة في هيئة متجاورة، تنتشر على سطحها أوردة خضراء دقيقة و 4 إلى 5 سبلات ضيقة، مكونة كأسا دائمة (Asgarpanah et Ramezanloo, 2012؛ Mahmoudian *et al.* 2002؛ Boullard, 2001؛ Brisseau *et al.*, 1806). تحتوي الأزهار ثنائية الجنس عادة على 15 سداة و نادرا ما تكون أقل، يصل طول خيوط المئبر المتصل بالقاعدة إلى 1.2 سم و طول السداة من 4 إلى 5 ملم و المبيض علوي مثلث الشكل بثلاث حجرات، يتراوح طوله من 8 ملم إلى 10 ملم و علوه 6 ملم و بذلك تتمثل معادلة الزهرية في 5 بتلات + 5 سبلات+ 15 سداة+ مبيض (Preedy *et al.*, 2011) (الشكل رقم 2).

I. 4. 3. الثمار.

تمتد فترة الإزهار بين شهري جوان و أوت، تتطور الزهرة خلالها معطية ثمرة في هيئة كبسولة مضغوطة مثلثة الشكل بعرض 6 ملم إلى 10 ملم، تحتوي على ثلاث إلى أربع حجرات مفصولة بثلاث مصارع، و تنتهي بقمة غير مستدقة مع ثلم ضئيل (الشكل رقم 3)، و تحتوي على أزيد من 50 بذرة (Asgarpanah et Ramezanloo, 2012؛ Preedy *et al.*, 2011؛ Mahmoudian *et al.*, 2002) (الشكل رقم 3).

I. 5. التوزيع الجغرافي لنبتة ***Peganum harmala***.

تنتشر نبتة الحرمل جغرافيا بشكل كثيف في العديد من مناطق العالم الجافة عموما و الحارة، و تنمو تلقائيا في ظروف مناخية و شروط بيئية صعبة من حرارة عالية و جفاف و تربة ملحية و متصحرة و شبه المتصحرة و أخرى غنية بأملاح البوتاسيوم و المغنزيوم (kubitzki, 2011؛ Matevski *et al.*,2008؛ Jahier et al., 1992).

- في شمال افريقيا:

تتمركز خاصة في المناطق الجافة المتصحرة للبحر الأبيض المتوسط و الهضاب العليا للجزائر و تونس و سهول ليبيا و المغرب الأقصى و الصحراء الغربية و مصر (Jahier *et al.*, 1992؛ Boullard, 1997).

❖ في أوربا:

تنتشر في المناطق الجافة لكل من إسبانيا و سهول روسيا الجنوبية (Endrews et Rindsberg, 2010؛ Jahier *et al.*, 1992؛ Bruneton, 1999).

❖ في أسيا:

تنمو في المناطق الشرقية الوسطى و سهول كل من إيران و باكستان و في مناطق تركستان و غابة التبت و سيبيريا و المناطق الجافة لشمال الهند و شمال الصين (Asgarpanah et Ramezanloo, 2012؛ Patel *et al.*, 2012؛ Jahier et al., 1992).

❖ المكسيك.

الشكل رقم 1: تبين الجهة اليمنى من الشكل الأوراق. أما الجهة العلوية و السفلية اليسرى فتمثل الثمار و الأزهار البيضاء على الترتيب (Endrews et Rindersberg, 2010).

الشكل رقم 2: يبين الرسم التوضيحي أهم المركبات الزهرية التكاثرية لزهرة نبتة الحرمل ثنائية الجنس (Boullard, 1997).

الشكل رقم 3: بذور نبتة الحرمل (Bruneton, 2001).

I. 6. التسميات الشائعة لنبتة *Peganum harmala*.

تتعدد أسماء نبتة *Peganum harmala* حسب المناطق الجغرافية التي تنمو فيها (Mahmoudian *et al.*, 2002) (الجدول رقم 2).

الجدول رقم 2: أهم أسماء نبتة *Peganum harmala* حسب المناطق الجغرافية التي تنمو فيها.

البلد	التسمية	المرجع
الجزائر	الحرمل الصحراوي	Mahmoudian *et al.*, 2002
إيران	Espoend ،Espand ،Esfond	Frison *et al.*, 2008
مصر	بزر الحرمل	Arab, 2000
فرنسا	Pégane و Rue sauvage	Asgarpanah et Ramezanloo, 2012
تركيا	Yüzerlik و Üzerli	Frison *et al.*, 2008
الولايات المتحدة الأمريكية	Maxican Rue و Turkish Rue و African Rue	Mahmoudian *et al.*, 2002
مناطق شمال إفريقيا	Harmal	Asgarpanah et Ramezanloo, 2012

I. 7. المركبات الكيميائية في بذور نبتة *Peganum harmala*.

بين التحليل الكيميائي لمستخلص بذور نبتة الحرمل تنوع و اختلاف المركبات الكيميائية فيها من قلويدات و مشتقاتها و Anthraquinone و مشتقاته، الفلافونويدات و مشتقاتها، Oxamide و البروتينات و السكريات و الدهون و الستيرويدات و التربينات الثلاثية و الأحماض الأمينية و الزيوت الطيارة و عناصر معدنية و اختلاف تأثيراتها الصيدلانية (Preedy *et al.*, 2011).

I. 8. تركيز قلويدات β-Carboline في نبتة الحرمل.

تختلف نسبة القلويدات في نبتة الحرمل حسب الأجزاء و حسب طور النمو و عليه فإن النبتة الفتية تحتوي أعلى نسبة من القلويدات مقارنة بالنبتة الصغيرة، بحيث تكون كمية القلويدات في البذور غير الناضجة أقل إذا ما قورنت بالكمية الموجودة في البذور الناضجة، كما أن البذور و الجذور الجزئين الأعلى تركيزا لها مقارنة بباقي الأجزاء. تبلغ نسبة القويدات في النبتة في المتوسط 5.9 % (Asparganah et Ramezanloo, 2012؛ Maeda *et al.*, 2010؛ Mohmoudian *et al.*, 2002).

- ❖ الساق ⟸ 0.36 %.
- ❖ الأوراق ⟸ 0.52 %.
- ❖ الجذور ⟸ 2.50 %.
- ❖ البذور تحتوي على أعلى نسبة للقلويدات (تتراوح النسبة في البذور و الجذور معا بين 1 % و4 %) (Maya *et al.*,2003؛ Maeda *et al.*, 2010).

I. 9. استعمالات نبتة *Peganum harmala* من الناحية التقليدية.

تستعمل مختلف أجزاء نبتة الحرمل بشكل واسع في ميدان التداوي بالأعشاب الطبية و علاج العديد من الاضطرابات الصحية مثل تسكين آلام أسفل الظهر و تخفيف أعراض الربو و القولون و اليرقان و يستعمل منقوع كل من البذور و الثمار كمشروب مسهل للهضم و مدر للبول، كما يستعمل كعامل للإجهاض (Azizi *et al.*,1998).

I. 10. حالات و أعراض التسمم بنبتة *Peganum harmala*.

يتعرض الإنسان إلى التسمم من الاستعمال العشوائي لنبتة *Peganum harmala*، أما الحيوانات الأليفة فتتسمم بها خلال عملية الرعي في المواسم الجافة، و تتمثل أعراض التسمم في الإنهاك و التعب الشديد و التوتر و اضطراب في حركة العضلات الإرادية، الذي ينجم عنه عدم القدرة على الوقوف بسبب ضعف الأطراف الخلفية و زيادة إفراز اللعاب و الغثيان و الاسهال و تكون غالبا الأعراض الناتجة عن اصابة الجهاز العصبي هي

السائدة، كما يلاحظ زيادة معدل التنفس و تغير في درجة الحرارة و فقدان الشهية (Asgarpanah et Mahmoudian *et al.*, 2002 ؛Frison *et al.*, 2008 ؛Ramezanloo, 2012).

I. 11. أهم الخصائص الصيدلانية لنبتة *Peganum harmala*.

تحتوي بذور نبتة الحرمل على العديد من المركبات الكيميائية ذات الخصائص الصيدلانية المهمة و التأثيرات البيوكيميائية و الفيزيولوجية على الجهاز العصبي المركزي و المحيطي (Goel *et al.*, 2009)، و أهم هذه التأثيرات:

- **عامل للإجهاض.**

تحتوي بذور نبتة الحرمل على قلويدات quinazoline مثل vasicine و vasicinone المسببة للإجهاض، حيث تعتبر هذه المركبات الكيميائية المسؤولة عن تهييج جدار الرحم من خلال تحفيز إفراز مركبات prostaglandine (Shapira *et al.*, 1989 ؛Azizi *et al.*, 1998).

- **تثبيط إنزيم Acétylcholinestérase (ACHEI).**

تحتوي بذور نبتة الحرمل على مركبات β- Carboline، التي تتميز بنشاطية التثبيط العكسي لأنزيم ACHEI، حيث يقلل من تهديم جزيئات acétylcholine و dopamine مما يزيد من فعالية علاج مرض فقدان الذاكرة Alzheimer (Zheng *et al.*, 2009 ؛Nikam *et al.*, 2013).

- **مضاد اللشمانيا.**

تم تجريبيا اثبات قدرة المستخلص القلويدي لبذور نبتة الحرمل على تثبيط نمو و تطور الطفيلي من جنس *Leishmaniasis* spp إلى الطور المعدي لجنس *Leishmania major* المسببة للشمانيا الجلد (Mirzaie *et al.*, 2007؛ khoshzabah *et al.*, 1989).

- **مضاد البكتيريا.**

يستعمل مستخلص بذور نبتة الحرمل كمضاد حيوي نظرا إلى قدرته العالية على تثبيط البكتيريا و الفطريات في الوسط البيولوجي (Asgarpanal et Ramezanloo, 2012؛ Gomah, 2010).

- **مخدر و مسكن للألم.**

يتميز مركب harmaline في مستخلص بذور نبتة الحرمل بقدرة عالية على تثبيط استجابة الألم بشكل معنوي من خلال التأثير على الجهاز العصبي المركزي و المحيطي حيث يرتبط بمستقبلات النظام الأفيوني (Spindola *et al.*, 2012).

- **مضاد الملاريا.**

تم تقرير فعالية قلويدات نبتة الحرمل (harmaline و harmine) تجريبا في تثبيط طفيلي *Plasmodium falciparum* (Nikam *et al.*, 2006 ؛Preedy *et al.*, 2011).

- **توسيع الأوعية الدموية.**

تعمل كل من قلويدات β-Carboline ومشتقات Quinazoline على توسيع الأوعية الدموية من خلال تثبيط إنزيم إماهة رابطة ثنائية الأستر لجزيء الأدنين أحادي الفسفات (cAMP Phosphodiesterase)، كما يعمل مركب harmine على زيادة معدل ضربات القلب مما يؤدي إلى إرهاقه (Preedy *et al.*, 2011؛ Berrougui *et al.*, 2006).

- **مضاد للأورام و الأورام السرطانية.**

تقلل المركبات القلويدية من نوع β- Carboline في المستخلص الميثانولى لبذور نبتة الحرمل تضاعف و تكاثر الخلايا الورمية على المستوى التجريبي للعديد من الأنواع الخلوية، حيث ينخفض معدل التضاعف بشكل معنوي خلال 24 ساعة الأولى، و تموت الخلايا بعد 48– 72 ساعة (Xin *et al.*, 2012؛ Lamchouri *et al.*, 2000).

تتمثل آلية التأثير في أن القلويدات تدمج ضمن المادة الوراثية للخلية خلال عملية التضاعف مما يحدث تلفا يؤدي إلى تحفيز الموت الخلوي المبرمج. تبقى هذه الآلية مجرد فكرة نظرية، في حين أن التفسير الأكثر تقبلا هو أن القلويدات تعمل على تحفيز نسخ عوامل الموت بواسطة تنشيط جزيئات داخلية المنشأ مثل P53، تنشيط Caspase-3Protease من خلال مسرى bcl-2 (Maeda *et al.*, 2010).

- **التأثيرات السمية على المستوى العصبي.**

تتميز قلويدات β-Carboline بالتأثير السمي على مستوى الجهاز العصبي، حيث يولد انتشارها في جسم الانسان و العديد من الحيوانات التجريبية حالة ارتعاش شديدة. يعد قلويد harmane ضمن مجموعة قلويدات β-Carboline القلويد المسبب لحالة الرعاش المتولدة و يستعمل بكثافة في الدراسات المتعلقة بالأمراض الوبائية و معظم الاضطرابات الحركية، كما يعد مركب harmane من بين القلويدات الأكثر تواجدا في الغذاء مقارنة بجميع الأمينات غير متجانسة الحلقات، و تسبب خاصيته المتمثلة في الذوبانية االعالية في الدهون إلى تراكمه في أنسجة الدماغ (Nikam *et al.*, 2013).

II. القلويدات الاندولية أو قلويدات الحرملة (β- Carboline).

تعد قلويدات β- Carboline مركبات أمينية غير متجانسة الحلقات على هيئة 9- H- Pyrido [3, 4, B] Indole. تشتق من الحمض الأميني الأساسي Tryptophane، عزلت أول مرة من نبتة الحرمل وتعرف أيضا بقلويدات الحرملة. تعتبر القلويدات الإندولية من نوع β- Carboline مستقلبات ثانوية نشطة من الناحيتين الصيدلانية و السمية و تدرج النباتات الحاوية عليها ضمن النباتات المهلوسة، و تتميز باستعمالها الواسع في الطب التقليدي (Drummer et Maurer., 2009؛ Airaksien et kari, 1981).

II. 1. مصدر القلويدات الاندولية من نوع β- Carboline.

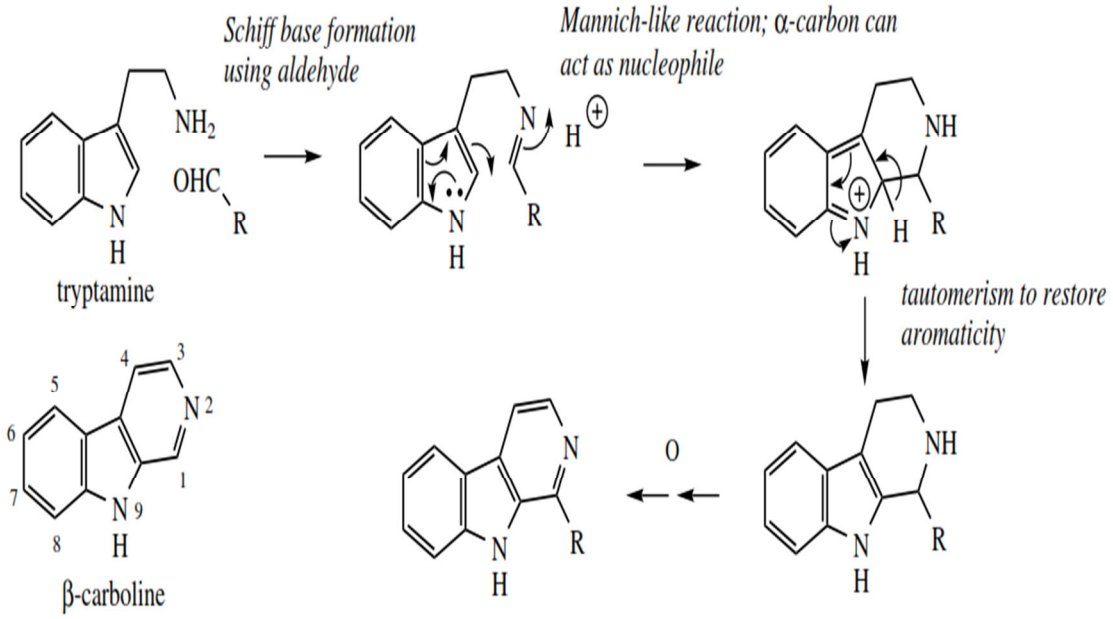
تتواجد قلويدات β- Carboline بشكل أساسي في النظام النباتي المتضمن نباتات من تفرعات Gymnosperm و Pteridophyte و Bryophyte و Angiosperms و العديد من الأنواع الفطرية و أنسجة بعض الحيوانات و بعض الكائنات البحرية، كما تتواجد ضمن محتوى العديد من المواد الغذائية التجارية من بذور البقوليات و الفواكه و الخضر و المشروبات الكحولية و الخمائر (Nikam *et al.*, 2013؛ Santos, 2011).

II. 2. التخليق الحيوي لقلويدات β- Carboline.

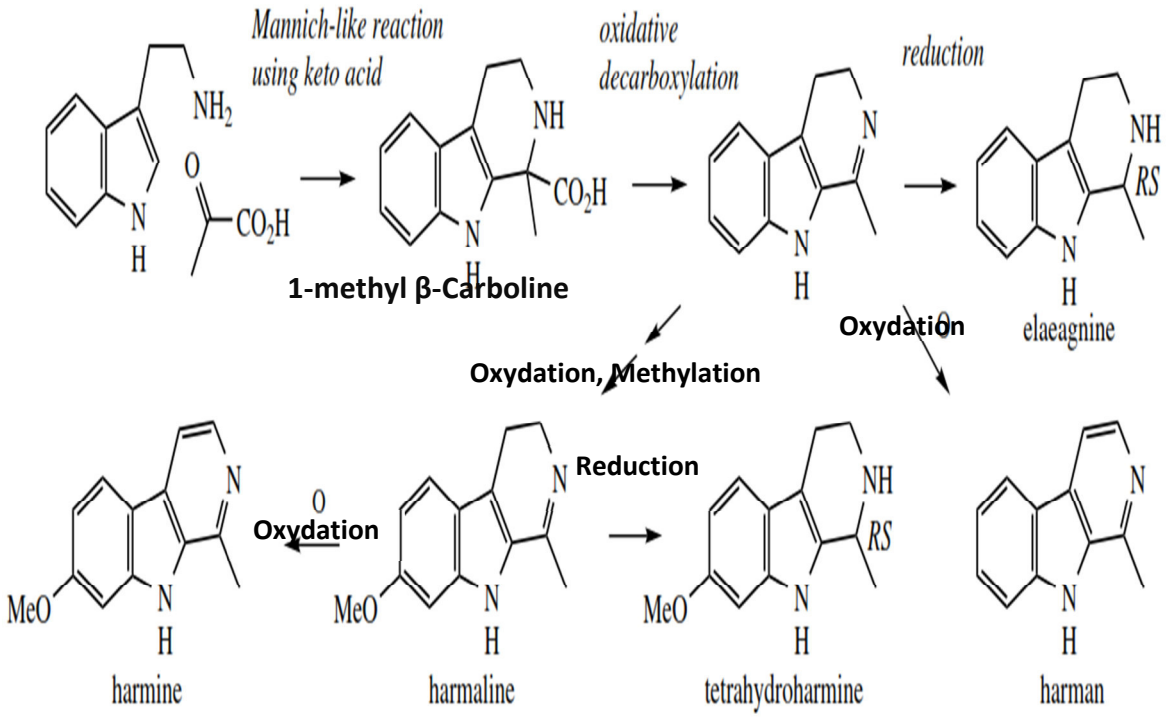
القلويدات الاندولية من نوع β- Carboline هي أمينات غير متجانسة الحلقات، تخّلق من اتحاد خمس إلى ستة حلقات ذات أضلاع مكونة من ذرات الكربون و مجموعة أمين. تتضمن الهيئة الفراغية لقلويدات β- Carboline ثلاث حلقات و تشتق من الحمض الأميني L-Tryptophane و هو حمض أميني متعادل غير متجانس الحلقات يحتوي أساسا على حلقة إندول ضمن نظامه التركيبي (Nikam *et al.*, 2013).

تنطلق عملية البناء الحيوي لقلويدات β- Carboline بإزالة مجموعة الكربوكسيل (CO_2) من جزيء L-Tryptophane فينتج جزيء tryptamine (Nikam *et al.*, 2013 ; Drummer et Maurer, 2009). تتميز ذرة الكربون رقم 2 في النواة الإندولية بقابلية إعطاء الكترون أو التفاعل مع بروتون (Nucléophilique) و تسمح هذه الخاصية بارتباط ذرة نتروجين بجزيء tryptamine بواسطة تفاعل من نوع Mannich/ Pictet-Spengle. تسمح التفاعلات السابقة بتشكيل قاعدة Schiff المشتقة من جزيء typtamine و التفاعل مع الألدهيد أو الحمض الكيتوني لإنتاج مركب كربوكسيلي لقلويد β- Carboline، و الذي ينتج عن أكسدته بنزع مجموعة الكربوكسيل مركب 1-Methyl β- Carboline (Dewick, 2002) (الشكل رقم 4؛ 1). ينتج عن اضافة مجموعة هيدروكسيل إلى المركب 1-Methyl- β-Carboline و مثيلته جزيء harmaline في حين ينتج مركب harman عن عملية الأكسدة الخفيفة للمركب 1-Methyl- β-Carboline. ينتج عن عملية أكسدة جزيء harmaline

مع فقدان جزيء ماء جزيء harmine و ينتج عن إرجاعه جزيء tetrahydroharmine (Nikam *et al.*, 2013؛ Dewick, 2002) (الشكل رقم 4؛ 2).



(1)



(2)

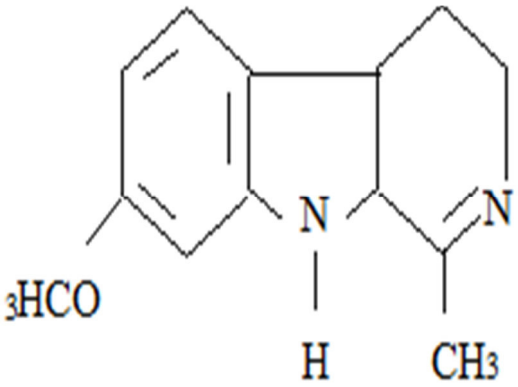
الشكل رقم 4: البناء الحيوي لقلويدات β- Carboline (Dewick, 2003).

II. 3. مركب Harmaline.

يعد قلويد harmaline و يسمى أيضا harmidine من قلويدات β-Carboline، صيغته الكيميائية العامة $C_{13}H_{15}ON_2$ و صيغته الكيميائية المفصلة 3.4 Dihydro-7- Methoxy-1- Methyl- β- Carboline (Mahmoudian *et al.*, 2002 ؛Wu *et al.*, 2009 ؛Asgarpanah et Ramezanloo, 2012) (الشكل رقم 5).

يعد harmaline من قلويدات β- Carboline الأعلى تركيزا في بذور نبتة الحرمل، حيث تبلغ نسبته 5.6 % (Mahmoudian *et al.*, 2002).

يعد harmaline مركب غير نشط ضوئيا و يتبلور في هيئة إبر عديمة اللون أو ذات لون أصفر شاحب إذا تمت إماهته في محلول الهيدروكلوريد (Hydrochloride)، كما يتميز بذوبانية ضعيفة في الماء، الكحول و الإثر في حين تكون ذوبانيته عالية في الكحول الساخن و الأحماض المخففة (Mahmoudian *et al.*, 2002).



الشكل رقم 5: الصيغة الكيميائية لجزيء harmaline (Mahmoudian *et al.*, 2002).

II. 4. التأثيرات البيوكيميائية و الصيدلانية لمركب Harmaline.

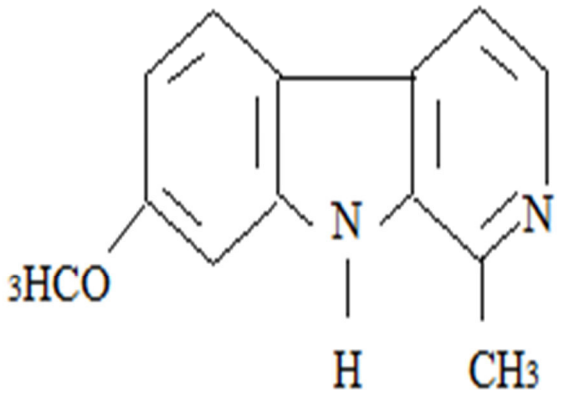
يتميز مركب harmaline بسمية عالية مقارنة بمركب harmine و تطبيق جرعات متوسطة من مركب harmaline على الجرذان يولد استجابات صيدلانية متنوعة مثل الرعاش و انقباضات حركية بسيطة دون زيادة تحريض ارتداد النخاع، في حين أن الجرعات العالية القاتلة تسبب انقباضات شديدة تظهر من خلال شل الحركة و ضعف النشاط نتيجة التأثير على الجهاز العصبي المركزي و شلل وظيفي لعملية التنفس و انخفاض درجة حرارة الجسم و تثبيط النشاط العام لعضلة القلب و توسيع الأوعية الدموية مما يؤدي إلى انخفاض الضغط الدموي (Wu *et al.*, 2009 ؛Drummer et Maurer, 2009 ؛Santos, 2011).

يؤدي تأثير جزيء harmaline في النواة الزيتونية (Olivo-Cerebellar) على مستوى الجهاز العصبي المركزي إلى اضطراب تناسق الحركة، حيث يعمل النظام الزيتوني أساسا على تنظيم الحركة، كما يؤدي التأثير على مستواها إلى رعاش و خلل في الوضعية (Troy, 2000 ؛Wu *et al.*, 2009).

II. 5. مركب Harmine.

يدرج قلويد harmine ضمن قلويدات β- Carboline، تتكون هيئته الفراغية من ثلاث حلقات غير متجانسة، صيغته الكيميائية العامة $C_{13}H_{12}ON_2$ و تتمثل صيغته الكيميائية المفصلة في 7- Methoxy-1- Methylyl- 9H- Ryridol [3. 4- b] indol (Gadewar *et al.*, 2012؛ Nasehi *et al.*, 2010؛ Mahmoudian., 2002) (الشكل رقم 6).

يعتبر قلويد harmine جزيء غير نشط ضوئيا و عديم اللون و ذو شكل موشور في محلول الميثانول و قليل الذوبانية في الماء و الكحول و الإيثر (Mahmoudian *et al.*, 2002).



الشكل رقم 6: الصيغة الكيميائية لجزيء harmine (Mahmoudian *et al.*, 2002).

II. 6. التأثيرات البيوكيميائية و الصيدلانية لمركب Harmine.

يتميز جزيء harmine من الناحية الصيدلانية بتأثيرات متنوعة كمضاد تراص الصفائح الدموية و مضاد للميكروبات و الطفيليات و نشاطيتهما و مضاد للأكسدة (Nasehi *et al.*, 2010؛ Drummer et Maurer, 2009). يعمل مركب harmine على رفع درجة حرارة الجسم و رفع مستوى السكر الدموي و زيادة وتيرة التنفس و انخفاض ضغط الدم الشرياني و إفراز اللعاب بالإضافة إلى قدرته على قتل خلايا الأورام المتشكلة و يستغل هذا الجانب في ايجاد علاج للأنواع المختلفة من الأورام عند الإنسان (Gadewar *et al.*, 2012؛ Santos, 2011؛ Nasehi *et al.*, 2010).

II. 7. التأثيرات البيوكيميائية و الصيدلانية المشتركة لكل من Harmine و Harmaline.

يتشابه التأثير الصيدلاني لجزيء harmine تأثير جزيء harmaline إلا أنه أقل سمية منه (Drummer et Maurer, 2009؛ Mahmoudian *et al.*, 2002). يؤثر كل من جزيء harmaline و harmine على المستوى الجزيئي مباشرة من خلال الارتباط بالعديد من مستقبلات النواقل العصبية وحيدة الأمين كمستقبلات جزيء

sérotonine (5.HT) و imidazoline (I_1– I_2) و benzodiazépine (Brierley et Davidson, 2012؛ Gadewar *et al.*, 2012؛ Cossi *et al.*, 2009؛ Braestrup *et al.*, 1980). ينفرد تأثير قلويد harmine في تثبيط تخزين جزيء norépinephrine في حويصلات الأدرنالين و تثبيط نقل و إعادة التقاط dopamine (Santos, 2011؛ Brierley et Davidson, 2012).

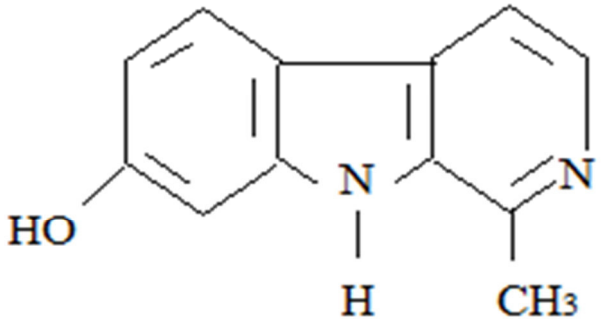
يتميز جزيء harmine بشراهة معتدلة تجاه مستقبلات $5.HT_{2A}$ و $5.HT_{I2}$ و imidazoline و شراهة أقل تجاه المستقبلات من نوع $5.HT_{2C}$ و نواقل جزيئات dopamine، في حين تعد شراهة ارتباط جزيء harmaline معتدلة إلى عالية بالمستقبلات من نوع $5.HT_{2A}$ أو $5.HT_{2A/C}$ (Brierley et Davidson, 2012؛ Santos, 2011؛ Kim *et al*., 1997؛ Buckholtz et Boggan, 1977).

يتمثل تأثير كل من جزيء harmaline و harmine بشكل غير مباشر في تثبيط مجموعة من بروتينات الفسفرة مثل انزيم الفسفرة Cycline–Dependent Kinases (CDKS) و نظائره CDK_1 و CDK_2 و CDK_5، و ذلك بتثبيط عملية فسفرة الحمض الأميني Tyrosine المزدوج في انزيمات الفسفرة Dual Specify Tyrosine Phosphorylation Regulate Kinase (DYR. K) من نوع DYR. K_{1A} و انزيم استقلاب النواقل العصبية وحيدة الأمين النوع A (Monoamine Oxydase A أو MAO-A) (Brierley et Davidson, 2012؛ Drummer et Maurer, 2009؛Gadewar *et al.*, 2012). يعمل harmine كمثبط ضعيف لمشابهات إنزيم الأكسدة MAO_B الذي يكون dopamine هو مادة استقلابها المفضلة، و قد تم اختبار شراهة harmine و مشابهاته على مواقع إنزيم MAO-A و وجد أن له شراهة عالية تجاهها (Brierley et Davidson, 2012).

تؤثر مركبات β- Carboline من harmine و harmaline و tetrahydroharman على الجانب النفسي من خلال التثبيط النوعي و التنافسي و العكسي لإنزيم أكسد و إرجاع النواقل العصبية وحيدة الأمين MAO و خاصة تحت النوع MAO- A، الذي تتمثل مادة تفاعله في كل من sérotonine و norépinephrine و بعض مشتقات tryptamine مثل diméthyltryptamine (D.M.T)، مما يؤدي إلى تحريض حالة هلوسة و اضطرابات سمعية و بصرية، في حين يعمل tetrahydroharman على تثبيط آلية إعادة التقاط جزئ sérotonine (Nikam *et al.*, 2013؛ Kubitzki, 2011؛ Wu *et al.*, 2009؛ Frison et al., 2008). تتباين شراهة ارتباط قلويدات β- Carboline بإنزيم MAO حيث يتميز بشراهة قليلة لإنزيم MAO الكبدي مقارنة بنظيره على مستوى الدماغ. يستغل التأثير الصيدلاني المثبط لإنزيم MAO على مستوي الجهاز العصبي المركزي في تعديل مستوى النواقل العصبية الأمينية و علاج الاضطرابات النفسية المتعلقة بنشاطية النواقل العصبية (Santos, 2011).

II. 8. مركب Harmol.

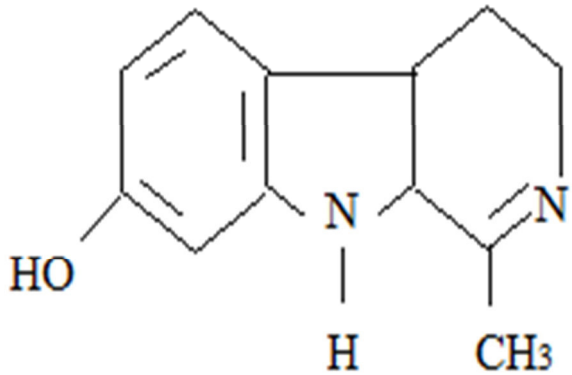
تتمثل الصيغة الكيميائية المفصلة لمركب harmol في 1- Methyl- 7- Hydroxy- Bêta- Carboline. ينتج مركب harmol من استقلاب مركب harmine (الشكل رقم 7). يتواجد harmol في نبتتي الحرمل و *Banisteriopsis Caapi* و يعتبر المركب الأقل تركيز من باقي قلويدات β- Carboline في نبتة الحرمل، حيث تقدر نسبته في الجذور 1.4 % (Asgarpanah et Ramezanloo, 2012؛ Nasehi *et al.*, 2010؛ Frison *et al.*, 2008).



الشكل رقم 7: الصيغة الكيميائية لجزيء harmol (Preedy *et al.*, 2011).

II. 9. مركب Harmalol.

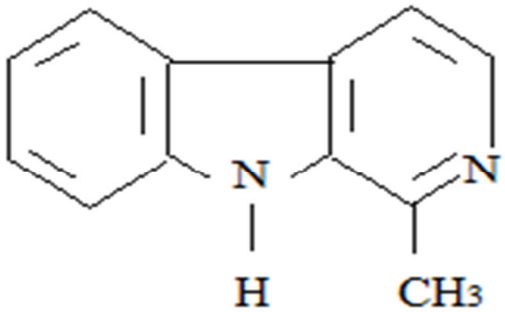
يعتبر مركب harmalol من قلويدات β- Carboline، تتمثل الصيغة الكيميائية في $C_{12}H_{12}ON_2$ (Asgarpanah et Ramezanloo, 2012) (الشكل رقم 8). يتبلور مركب harmalol في الماء على هيئة ثلاثية الهيدرات و يتميز بذوبانية كاملة في الماء الساخن و acétone و chloroforme، في حين أنه ضعيف الذوبانية في benzène بالإضافة إلى أنه عديم الاستقرار عند تعريضه إلى الهواء (Mahmoudian *et al.*, 2002). يتواجد مركب harmlol في بذور نبتة الحرمل بنسبة تصل إلى 0.6 % (Asgarpanah et Ramezanloo, 2012).



الشكل رقم 8: الصيغة الكيميائية لجزيء harmalol (Mahmoudian *et al.*, 2002).

II. 10. مركب Harman.

يعتبر مركب harman من قلويدات β- Carboline، تتمثل صيغته الكيميائية المفصلة في 1- Methyl- β- Carboline (Mahmoudian *et al.*, 2002؛ Troy, 2000) (الشكل رقم 9). يتبلور مركب harman في العديد من المحاليل العضوية على هيئة موشور عديم اللون و يتميز الذوبانية عالية في الميثانول و الكحول و acétone و chloroforme و الإثر و معتدل الذوبانية في الماء الساخن، كما يتفكك في الأحماض المعدنية (Mahmoudian *et al.*, 2002).



الشكل رقم 9: الصيغة الكيميائية لجزيء harman (El Gendy *et al.*, 2012).

II. 11. الحركية الصيدلانية لقلويدات β- Carboline.

تتعدد مسالك الإعطاء لجزيء كيميائي خارجي و تختلف مسارات التحويل الحيوي الخاصة به و عليه فإن قلويداتβ- Carboline يتم إعطاؤها بالمسلك الوعائي و داخل وعائي و تحت الجلدي أو الشفوي (Santos, 2011).

يتم امتصاص جزيء harmine و harmaline على مستوى المعدة و الأمعاء بالامتصاص حلولي (Osmose) (Nakagawa *et al.*, 2010). يتحول جزيء harmine و harmaline على مستوى الحويصلات المجهرية في الكبد و أنسجة أخرى إلى harmol و harmalol على الترتيب بعد نزع مجموعة أكسيد المثيل (O- Methyl) منهما بواسطة إنزيمات الأكسدة و الارجاع من نوع cytochrome P450 (Cyt P450) (Brierley et Davidson, 2012؛ Zhao *et al.*, 2012؛ Kubitzki, 2011؛ El- Kadi *et al.*, 2009) (الشكل رقم 10).

تتم عملية إقصاء harmol و harmalol من خلال ضمهما بجزيئات gluguronate و sulfate لتسهيل عملية طرحهما على مستوى الكلية و يتمثل ناتج عملية الضم في harmol–monosulfate و harmol– monoglucuronide (Kubitzki, 2011) (الشكل رقم 10). تكون قابلية ضم harmol بجزيء sulfate أعلى

من ضمه بجزيء glucuronide على مستوى الخلايا الكبدية، كما يلاحظ أن جزيء harmol الحر يتحول إلى harmine بعملية المثيلة على مستوى مجموعة الهيدروكسيل في جزيء harmol (Nakagawa *et al.*, 2010).

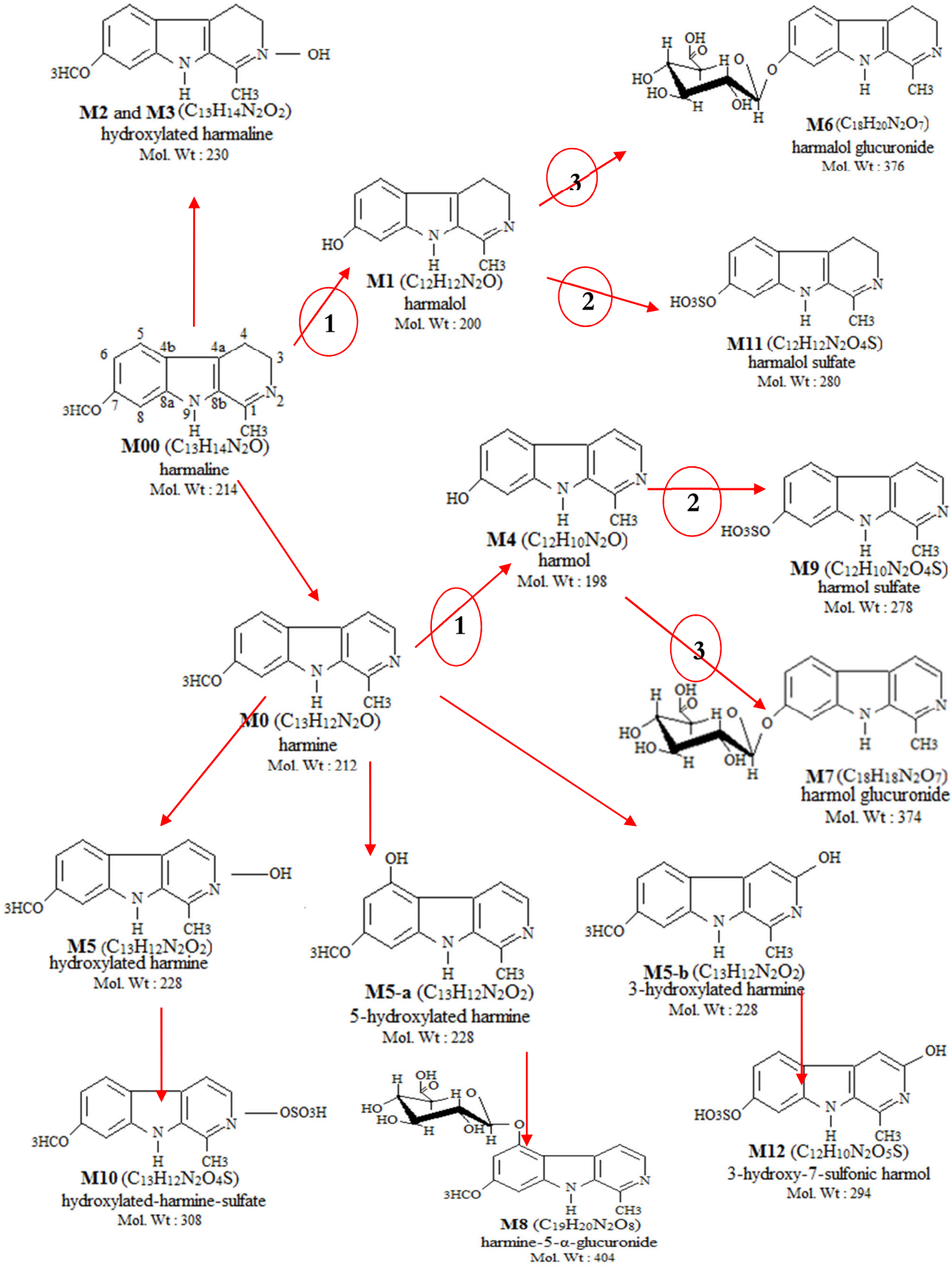
يعتبر harmaline أعلى تركيز لأنه المصدر باقي القلويدات، حيث يتعرض إلى عدة عمليات استقلابية (Mahmoudian *et al.*, 2002) (الشكل رقم 10).

II. 12. الجرعات القاتلة لقلويدات β- Carboline.

إن الحقن الوريدي للحيوان التجريبي لكل من المركبين harmaline و harmine بتركيز 9 مغ/ كغ تظهر أعراض التسمم مباشرة و يمثل الجدول رقم 3 أهم الجرعات القاتلة (Mahmoudian *et al.*, 2002).

الجدول رقم 3: الجرعات القاتلة حسب مسلك الإعطاء و الحيوان التجريبي لأهم قلويدات β- Carboline (Mahmoudian *et al.*, 2002).

القلويد	نوع الحقن	الحيوان	الجرعة المطبقة مغ/كلغ
Harmaline	تحت الجلد	الجرذان	120
Harmine	داخل الوريد	الفئران	38
Harmane	تحت الجلد	الأرانب	200
Harmine	تحت الجلد	الجرذان	200



الشكل رقم 10: التحويل الحيوي لجزيء harmaline و harmine. (1) تفاعل نزع مجموعة الميثيل و (2) تفاعل الضم بواسطة جزيء sulfate و (3) تفاعل الضم بواسطة جزيء gluguronate (Zhao *et al*., 2012).

الجزء التطبيقي

I. المادة البيولوجية.

I. 1. المادة النباتية.

تم الحصول على بذور نبتة *Peganum harmala* من منطقة برج بوعريريج الواقعة على بعد 65 كلم غرب مدينة سطيف. جففت البذور بعد تنقيتها من الشوائب ومن البذور غير الناضجة في درجة حرارة المخبر بين 20 °C إلى 25 °C في الظل و بعيدا عن الضوء لمدة لا تقل عن شهر، و تم تخزينها في علب محكمة الاغلاق إلى غاية استعمالها (الشكل رقم 11).

الشكل رقم 11: بذور نبتة *Peganum harmala*.

I. 2. الدراسة الفيتوكيميائية للقلويدات الكلية في بذور نبتة *Peganum harmala*.

تم الاهتمام في دراستنا للسمية الحادة و شبه الحادة بالبذور نظرا إلى كونها الأكثر استعمالا من طرف العامة و الأغنى بالمادة الفعالة.

I. 2. 1. استخلاص القلويدات الكلية من بذور نبتة *Peganum harmala*.

استعملت البذور الناضجة لنبتة *Peganum harmala* في عملية استخلاص القلويدات الكلية نظرا إلى احتوائها على أعلى تركيز للقلويدات (Mayad *et al.*,2003 ؛Maeda *et al.*, 2010). تمت عملية الاستخلاص حسب طريقة الفصل بين طورين سائلين المرتكز على تباين الذوبانية للمركبات في المحاليل العضوية و المائية إثر التغيير في درجات الأس الهيدروجيني بين حامضي و قاعدي و ذلك استنادا إلى طريقة Bruneton (1999) (الشكل رقم 12).

تتمثل خطوات عملية الفصل في:

1. طحن 100 غ من بذور الحرمل الجافة بواسطة مطحنة كهربائية للحصول على مسحوق ناعم.
2. يضاف إلى مسحوق البذور حوالي 200 مل من éther de pétrole أو héxane، و يرج لمدة ساعتين لإزالة الدهون.
3. يرشح المحلول تحت الضغط و يحتفظ بالثفالة (marc).
4. يضاف 20 مل من محلول ammoniaque (NH_4OH) (N0.5) إلى الثفالة و تترك على الأقل لمدة 8 ساعات. تسمح هذه المعالجة بتحويل القلويدات من الهيئة الملحية إلى الهيئة العضوية.
5. توضع الثفالة في خرطوشة من السيليلوز في جهاز الاستخلاص Soxhlet الحاوي على 250 مل من محلول chloroforme و يتم الاستخلاص لمدة 4 ساعات (هذه المدة تسمح بحدوث 5 دورات) ثم يسترجع المحلول العضوي.
6. يغسل الطور العضوي (المحلول chloroforme) بمحلول حمض الكبريت (N0.5) ثلاث مرات بحجم 100 مل في كل مرة من أجل تحويل القلويدات من الهيئة العضوية إلى الهيئة الملحية.
7. يضاف محلول ammoniaque (N0.5) إلى المحلول المائي (محلول حمض الكبريت). تتحول القلويدات بعد المعالجة إلى الهيئة العضوية.
8. يتم استخلاص القلويدات بغسل المحلول المائي بواسطة 100 مل من محلول dichlorométhane و تعاد العملية ثلاث مرات.

9. ينزع الماء من محلول dichlorométhane بواسطة مسحوق sodium de sulfate anhydre، ثم يبخر في بيشر موزون مسبقا على صفيحة للتبخير (Plaque chauffante)، و يتم الحصول على مسحوق أحمر قرميدي اللون. يمثل الفرق في الوزن بين البيشر قبل و بعد التبخير مردود القلويدات الكلية.

I. 2. 2. التحليل النوعي للقلويدات الكلية في بذور نبتة *Peganum harmala*.

قبل دراسة سمية القلويدات الكلية في بذور نبتة *Peganum harmala* على حيوانات المخبر يتم استعمال كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة لتحقق من وجود القلويدات الأعلى تركيز بعد عملية الاستخلاص، و تستعمل لذلك صفائح هلام السيليس الجاهزة (Gel Plates Alugram Sel G/UV254) ذات الأبعاد 20 x 20 و المتحصل عليها من Nagel– Macherey (Germany).

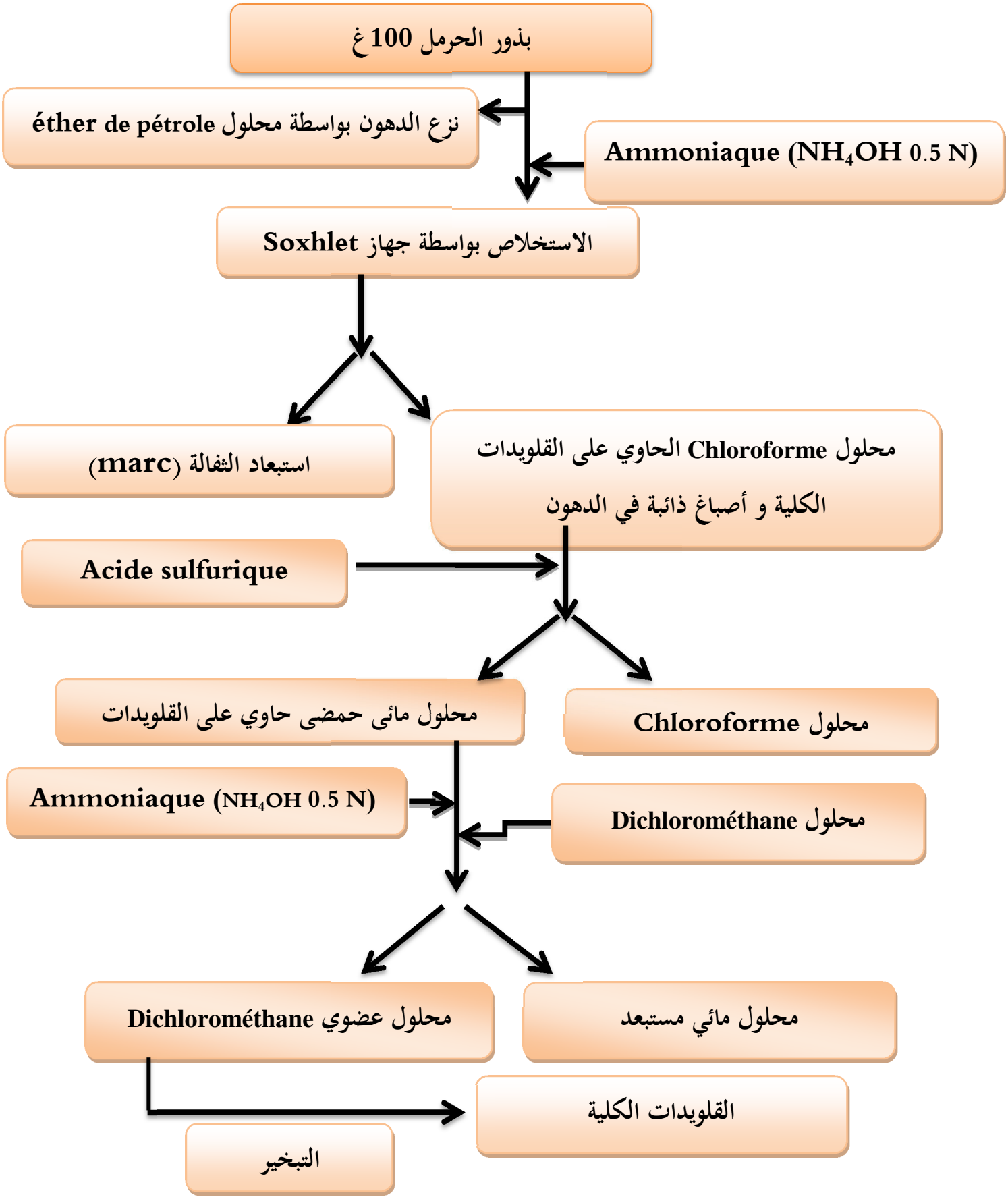
يتم إذابة كمية من مستخلص القلويدات الكلية لبذور نبتة *Peganum harmala* في حجم من محلول méthanol و توضع 10 ميكرو لتر من المستخلص الذائب على خط بداية الهجرة، و المحدد بقلم الرصاص على بعد 1 سم من الحافة السفلية للصفيحة المنشطة مسبقا في درجة حرارة 110°م لمدة 3 إلى 5 دقائق. تجفف البقعة بواسطة مجفف الشعر ثم توضع الصفيحة في حجرة الهجرة المشبعة بالطور المتحرك المتكون من chloroforme، méthanol و ammoniaque بالأحجام التالية 20 مل، 78.5 مل، 1.5 مل (V/V/V) على الترتيب.

تترك عملية الهجرة وقت كافي يقدر تقريبا بساعتين و عند وصول الطور المتحرك على بعد 2 سم من الحافة العلوية للصفيحة يتم استرجاعها، تقدر مسافة الهجرة بحوالي 15 سم. تجفف الصفيحة و ترش بالكاشف Dragendorff مما يسمح بظهور بقع برتقالية اللون و التي تمثل القلويدات (طريقة Kurt، 1971 مع بعض التعديلات).

I. 3. المادة الحيوانية.

استعملت في دراسة السمية الحادة و السمية شبه الحادة إناث جرذان Albinos Wistar و التي تم الحصول عليها من حظيرة حيوانات معهد Pasteur بالجزائر العاصمة.

وضعت الجرذان في أقفاص بلاستيكية شفافة و أخرى معدنية طولها 55 سم، عرضها 33 سم و ارتفاعها 19 سم، و زودت الجرذان التي تتراوح أوزانها بين 190 غ و 240 غ بماء الحنفية و العلف المكعب النموذجي من مجمع الدواجن للشرق DRAVIE ص ب 379 طريق قسنطينة، أم البواقي مع تغيير الفرش مرتين في الأسبوع. تركت الجرذان لمدة لا تقل عن أسبوعين قبل إجراء التجربة لتتأقلم مع الظروف التجريبية.



الشكل رقم 12: طريقة استخلاص القلويدات الكلية لبذور نبتة *Peganum harmala* (Bruneton, 1999).

I. 3. 1. تحديد قيمة DL_{50} عند إناث جرذان من نوع Albinos Wistir.

تم تحديد الجرعة القاتلة لنسبة 50 % من الجرذان في المجموعة (Dose létale de 50%، DL_{50}) تجريبيا من خلال حقن جرعات مختلفة محدد مسبقا تحت الصفاق على 48 جرذ، تم وزنها و التفريق بينها عن طريق تعليمها بمحلول bleu de méthylène في أماكن مختلفة من الجسم بعد أن قسمت بالتساوي إلى مجموعات تحتوي كل مجموعة على 8 جرذان.

تمت إذابة مستخلص القلويدات الكلية لبذور نبتة *Peganum harmal* في الماء الفيزيولوجي الحاوي على 50 مل من acide acétique و تم تسخين المحلول المتحصل عليه لتبخير acide acétique قبل عملية المعالجة.

قسمت الجرذان إلى مجموعة شاهدة و خمسة مجاميع معالجة بالجرعات 100 مغ/كلغ، 75 مغ/ كلغ، 70 مغ/كلغ و 60 مغ/كلغ و 50 مغ/ كلغ، و حرمت هذه المجموعات من الأكل لمدة 24 ساعة قبل التجربة ووزنت أثناها، ثم حقنت مرة واحدة في حين حقنت المجموعة الشاهدة بالماء الفيزيولوجي فقط.

سجلت الملاحظات السريرية و تغير سلوك الجرذان بعد عملية المعالجة في كل ساعة من اليوم الأول، ثم كل يوم و لمدة 7 يوم خلال مدة التجربة و تم تقدير DL_{50} حسب طريقة Litchfeild و Wilcoxon.

I. 3. 2. السمية الحادة للمستخلص القلويدات الكلية لبذور نبتة *Peganum harmala* على إناث جرذان Albinos Wistar.

تمثل أهمية دراسة السمية الحادة في تقدير التأثيرات السمية للقلويدات الكلية لبذور نبتة *Peganum harmala* بعد دخولها سواء بجرعة واحدة أو بجرعات متكررة في زمن لا يتعدى 24 ساعة.

استعملت في دراسة السمية الحادة للقلويدات الكلية ثلاث مجاميع من الجرذان تحتوي كل مجموعة على 10 جرذان. تمثل المجموعة الأولى و الثانية المجموعتين المعالجة أما الثالثة فتمثل المجموعة الشاهدة. يقدر متوسط وزن الجرذان 180± 10.814 غ في كل مجموعة.

- ❖ حقنت المجموعة الأولى المعالجة بجرعة 60 مغ/كلغ بالقلويدات الكلية لبذور نبتة *Peganum harmala* و تم قتلها بعد 24 ساعة من الحقن.
- ❖ حقنت المجموعة الثانية المعالجة بجرعة 60 مغ/كلغ بالقلويدات الكلية لبذور نبتة *Peganum harmala* و تم قتلها بعد 5 أيام من الحقن. تمثل هذه المدة الحد الأقصى للسمية الحادة للكبد (Szymanowicz et Danel, 2005).
- ❖ حقنت المجموعة الشاهدة بالماء الفيزيولوجي مع بضع قطرات من méthanol.

تعد جرعة 60 مغ/كلغ جرعة عالية و غير قاتلة ذلك بهدف تحديد الأعضاء المستهدفة للمادة الفعالة في المستخلص القلويدي و تم إذابتها في الماء الفيزيولوجي مع قطرات من الميثانول (Antov *et al.*, 1991). تم ملاحظة و تسجيل جميع التغيرات السلوكية و المرفولوجية للجلد، الشعر، العينين، الأغشية المخاطية، وتيرة نشاط الجهاز التنفسي خلال الساعات الأولى، ثم تكون الملاحظة يوميا مرة واحدة بعد عملية المعالجة. تتراوح مدة الاستشفاء و الانتعاش عند الإنسان بالتسمم الحاد بواسطة نبتة ما بين يوم إلى 5 أيام (Bouzidi *et al.*, 2002).

I. 3. 3. السمية شبه الحادة للمستخلص القلويدات الكلية لبذور نبتة *Peganum harmala* على إناث جرذان Albinos Wistar.

استعملت في دراسة السمية شبه الحادة للقلويدات الكلية لبذور نبتة *Peganum harmala* مجموعتين من إناث الجرذان في كل مجموعة 12 جرذا يقدر متوسط وزنها 200± 10.917 غ. حقنت المجموعة التجريبية يوميا بجرعة 50 مغ/كلغ بمسلك الإعطاء تحت الصفاقي (Inter-péritonéal)، حيث تم إذابة القلويدات الكلية في الماء الفيزيولوجي مع قطرات من الميثانول للحصول على محلول متجانس. تم تغيير الجرعة المحقونة من 50 مغ/ كلغ إلى 40 مغ/ كلغ بعد اليوم الرابع عشر من بداية التجربة نظرا إلى تسجيل حالات الوفاة (ثلاث وفياة)، و رغم تخفيض الجرعة المطبقة اضطررنا إلى إيقاف التجربة بسبب حالات الوفاة المتتالية بعد ذلك.

الخطوات التجريبية.

تحرم الجرذان من الغذاء قبل المعالجة بوم واحد و يقدم بعد الحقن مباشرة في دراسة السمية الحادة، و توزن و تسجل قيم أوزان الجرذان قبل المعالجة و قبل القتل بالنسبة للسمية الحادة و في كل أسبوع و قبل القتل بالنسبة للسمية شبه الحادة، و يتم تدوين التغيرات سلوكية للجرذان خلال فترة المعالجة.

تؤثر القلويدات الكلية لبذور نبتة *Peganum harmala* على الجهاز العصبي مما ينتج تغيرات سلوكية على الجرذان بعد المعالجة، و يتم إثبات هذه التغيرات بإجراء اختبار السلوك في نهاية كل فترة تجريبية للسمية الحادة وشبه الحادة قبل قتل الجرذان. تتم دراسة التغيرات السلوكية باستعمال اختبار الحقل المكشوف (planche à trous) حيث يتمثل في لوح خشبي مربع طول ضلعه 60 سم مقسم إلى 30 مربع متساويا يحتوي على 16 ثقبا بقطر 2.5 سم في زوايا هذه المربعات مرتفع عن سطح الأرض ب 20 سم (الشكل رقم 13).

الشكل رقم 13: اختبار الحقل المكشوف لدراسة التغيرات السلوكية للجرذان المعالجة.

يوضع الجرذ في وسط الصفيحة و يتم تسجيل عدد المربعات و الثقوب التي تم استكشافها و عدد مرات الوقوف و عمليات التنظيف التي قام بها في مدة ثلاث دقائق (Nasehi *et al.*, 2010؛ Khinkova, 1985).

يتم تقييم الحركة و التوجه لدى الجرذ المعالج حيث تمثل:

- عدد المربعات المجتازة من طرف الجرذ النشاطية الحركية.
- عدد الثقوب المكتشفة من طرف الجرذ الفعل التوجيهي.
- عدد عمليات التنظيف الحالة الانفعالية للجرذ (Khinkova, 1980).

I. 3. 4. دراسة العوامل الدموية و البيوكيميائية.

تم وضع و تخدير الجرذ في حجرة زجاجية مشبعة بواسطة diéhyléther و نزع الدم بواسطة أنبوب شعري hématocrite من الوريد المداري للعين، ثم وضع مباشرة في أنابيب حاوية على مضاد التخثر EDTA من أجل دراسة العوامل الدموية، و أنابيب حاوية على مضاد التخثر héparine من أجل تقدير النشاطية الإنزيمية في المصل.

تخضع الأنابيب الحاوية على مادة héparine إلى عملية الطرد المركزي بسرعة دوران 2000 دورة/دقيقة لمدة 8 دقائق. يحتفظ بالمصل لمعايرة النشاطية الإنزيمية لكل من إنزيم:

- Aspartate AminoTransférase (ASAT) و Alanine AminoTrasférase (ALAT) و créatinine و urée و glucose و Phosphatase Alcaline (PAL) باستعمال طقم تجاري (Biosystems S. A. Costa Brava 30, Barcelona, Spain).
- جزيئات bilirubine الكلية (Bilirubine Total) و المرتبطة (Bilirubine Dir) و جزيئات البروتينات الكلية (SpinReact. S. A./ S. A.U. Ctra Santa Colona, Spain) باستعمال طقم تجاري بواسطة جهاز Technicon RA-1000-USA.

تمت معايرة أهم العوامل الدموية في الدم الموجود في الأنابيب الحاوية على مضاد التخثر EDTA و المتمثلة في كريات الدم الحمراء (RBC)، البيضاء (WBC)، الصفائح الدموية (PLT)، معدل الهيموغلوبين (HGB)، الحجم الكروي المتوسط أو VGM (Volume Globulaire Moyen)، MPV، المحتوى المتوسط للهيموغلوبين (Corpusculaire moyenne en hémoglobine MCH/TCMH Teneur)، التركيز المتوسط للهيموغلوبين (Concenration corpusculaire moyenne en hémoglobine MCHC/CCMH) بواسطة جهاز MEDONIC (USA– Beckman Coulter).

يشَرح الحيوان بعد القتل و تفحص الأعضاء (الكلية و الطحال و الكبد و المبيضين و الرئتان و القلب و الدماغ) بشكل دقيق *in situ* و تسجل مختلف التغيرات على العضو المشاهد و تجرد الأعضاء من الشحوم الزائدة. يتم غسل الأعضاء بالماء الفيزيولوجي و تجفف بورق الترشيح ثم توزن. يحفظ الدماغ و الكليتين و أجزاء من الكبد في محلول Formol 10 % لإجراء مقاطع نسيجية.

I. 3. 5. الدراسة النسيجية للأعضاء.

تم تحضير المقاطع النسيجية لكل من الدماغ و الكليتين و لأجزاء من الكبد المثبتة مسبقا في محلول formol المخفف بنسبة 10% تبعا للخطوات التالية.

❖ عملية التثبيت.

- يقطع الدماغ و أجزاء الكبد و الكليتين بشكل طولي للحصول على شرائح رقيقة، ثم توضع في علب بلاستيكية خاصة بها (Unicassettes). توضع العلب في محلول formol لمدة 24 ساعة من أجل التثبيت.
- تمرر العلب المثبتة على7 أحواض من الكحول بدرجة إماهة متزايدة، حيث تبقى العلب في الأحواض الثلاثة الأولى لمدة ساعتين في حين تبقى في الأحواض المتبقية لمدة ساعة واحدة.

- تمرر العلب بعد ذلك في ثلاث أحواض من xylène، حيث تبقى في الحوض الأول لمدة ساعة، الحوضين الثاني و الثالث لمدة ساعة ونصف، ثم تمرر في آخر مرحلة في حوضين من paraffine لمدة ساعتان في كل حوض.

❖ تحضر قوالب paraffine من العينات الخاضعة مسبقا لعملية التثبيت، ثم تقطع إلى شرائح نسيجية جد رقيقة سمكها 5 ميكرون بواسطة microtome. تمدد الشرائح النسيجية على شرائح زجاجية و تجفف لمدة 24 ساعة ثم تخضع إلى عملية التلوين.

❖ عملية التلوين.

تمرر الشرائح النسيجية في الأحواض التالية:

- ثلاث أحواض من xylène مدة كل حوض 10 دقائق.
- أربع أحواض من éthanol لمدة دقيقة في كل حوض.
- حوض من الماء من أجل عملية الغسل.
- توضع في حوض حاوي على صبغة hémalin (Hématoxyline de Mayer) لمدة 10 دقائق.
- حوض من الماء لمدة 5 دقائق.
- حوض حاوي على صبغة éosine (1%) لمدة 10 دقائق ثم تغسل بالماء.
- أربع أحواض من الكحول لمدة 30 ثانية في كل حوض.
- ثلاث أحواض xylène لمدة 3 دقائق في كل حوض.

بعد انهاء عملية التلوين تثبت الساترة على الشريحة بواسطة Eukitt و تصبح الشرائح جاهزة للقراءة.

I. 3. 6. الدراسة الاحصائية.

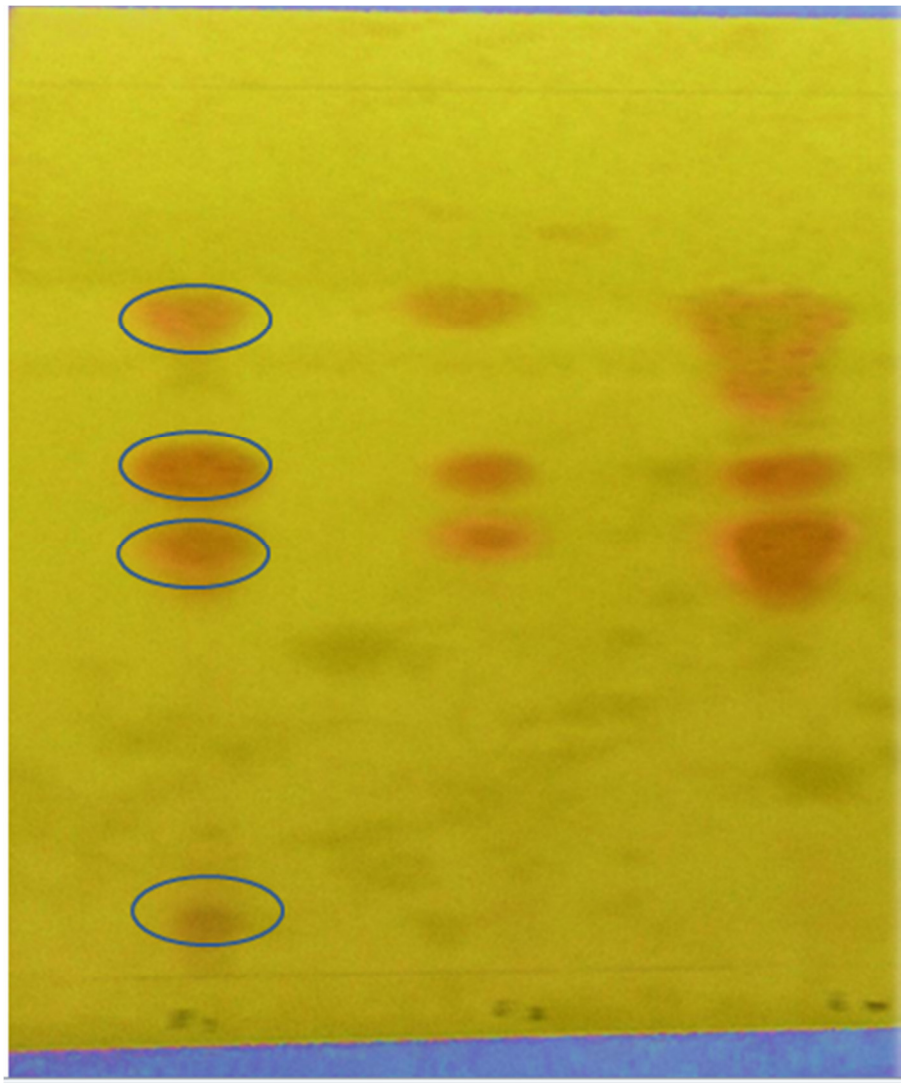
تمت معالجة النتائج التجريبية المتحصل عليها بواسطة اختبار الاحصائي ANOVA (one-way ANOVA suivi de Tukey's test)، حيث قورنت نتائج المجموعة المعالجة بنتائج المجموعة الشاهدة من خلال مقارنة متوسطي المجموعتين المختلفتين في عامل واحد (حالة السمية الحادة و شبه الحادة). و قدمت النتائج في هيئة متوسط± الخطأ المعياري من أجل اختلاف معنوي $P < 0.05$.

النتائج و المناقشة

I. النتائج.

I. 1. التحليل النوعي للقلويدات الكلية لبذور نبتة L. *Peganum harmala*.

سمحت عملية الاستخلاص بواسطة طريقة الفصل بين سائلين غير قابلين للامتزاج (سائل- سائل) لبذور نبتة *Peganum harmala* بالحصول على مسحوق بلون أحمر داكن بمعدل 1.312± 0.448 غ لكل 100 غ من البذور (w/w) أي بنسبة 1.3 %، كما بين التحليل النوعي للقلويدات الكلية بكروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة باستخدام هلام السليس و كاشف Dragendorff ظهور أربع بقع مع العلم أن التحليل النوعي تم في غياب الشواهد (الشكل رقم 14).



الشكل رقم 14: كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة باستخدام هلام السليس لمستخلص القلويدات الكلية لبذور نبتة *Peganum harmala*.

الطور المتحرك: Méthanol/Chloroforme/Ammoniaque 78.5/20/1.5 (V/V/V). كاشف Dragendorff.

I. 2. تحديد قيمة DL_{50}.

تمت دراسة DL_{50} لمستخلص القلويدات الكلية لبذور نبتة *Peganum harmala* على إناث جرذان Albinos Wistar من خلال تسجيل عدد الوفيات في كل مجموعة لمدة سبعة أيام (الجدول رقم 4) مع ملاحظة جميع الأعراض السريرية. من المهم ذكر أن قيمة DL_{50}، التي تم حسابها في دراستنا لسمية مستخلص القلويدات الكلية لبذور نبتة *Peganum harmala* و المجال الذي تنتمي إليه تمت في ظروف تجريبية نوعا ما مضطربة نظرا إلى أن إناث جرذان Albinos Wistar التي أجريت عليها التجربة كانت صغيرة و لم تتأقلم مع الظروف التجريبية التي وضعت فيها رغم إبقاءها مدة لا تقل عن 15 يوما قبل إجراء التجربة و علية يمكن أن ينسب موت بعض الجرذان إلى عدم القدرة على التأقلم بالإضافة إلى تأثير القلويدات الكلية عليها.

لوحظ عند إناث الجرذان المعالجة بجرعات متزايدة بين 50 مغ/كلغ و 100 مغ/كلغ بمسلك إعطاء تحت صفاقي في إطار تحديد الجرعة القاتلة DL_{50} الأعراض السريرية المتمثلة في إنهاك و ارتعاش حاد و شلل تام في الحركة، كما سجلت حالات الوفاة ابتداء من الساعة الأولى بعد الحقن.

الجدول رقم 4: سمية مستخلص القلويدات الكلية لبذور نبتة *Peganum harmala* على إناث جرذان Albinos Wistar بمسلك إعطاء تحت صفاقي في مدة 7 أيام.

الجرعة مغ/كلغ	عدد الجرذان الميتة	لوغاريتم الجرعة (log)	البروبيت الملاحظ Probit observé		البروبيت النظري Probit théorique		≠ce %	X^2
			%	Probit	%	Probit		
100	8/7	2	87.5	6.15	87.5	6.15	0	0.0015
75	8/6	1.87	75	5.67	58.1	5.20	16.9	0.2
70	8/3	1.84	37.5	4.68	47.9	4.94	10.4	0.05
60	8/2	1.77	25	4.33	27.5	4.40	2.5	0.004
50	8/0	1.69	2	2.95	6.1	3.45	4.1	0.02

اعتمد في دراسة السمية الحادة و تقدير قيمة DL_{50} بطريقة Litchfeild و Wilcoxon على القيم التالية و التي تم تقديرها من المنحنى (الشكل رقم 15):

- قيمة الجرعة القاتلة لنسبة 50 % في المجموعة (DL_{50}): 69.34 مغ/كلغ.
- قيمة الجرعة القاتلة لنسبة 16 % في المجموعة (DL_{16}): 52.48 مغ/كلغ.
- قيمة الجرعة القاتلة لنسبة 84 % في المجموعة (DL_{84}): 92.69 مغ/كلغ.

قدر ميل المنحنى S (pente) بالقيمة 1.328 من خلال حسابها بالعلاقة التالية:

$$S = \frac{\frac{DL84}{DL50} \quad \frac{DL50}{DL16}}{2}$$

تم حساب معامل العلاقة f_{DL50} (facteur de corrélation أو f_{DL50}) و قدرت قيمته ب 1.174.

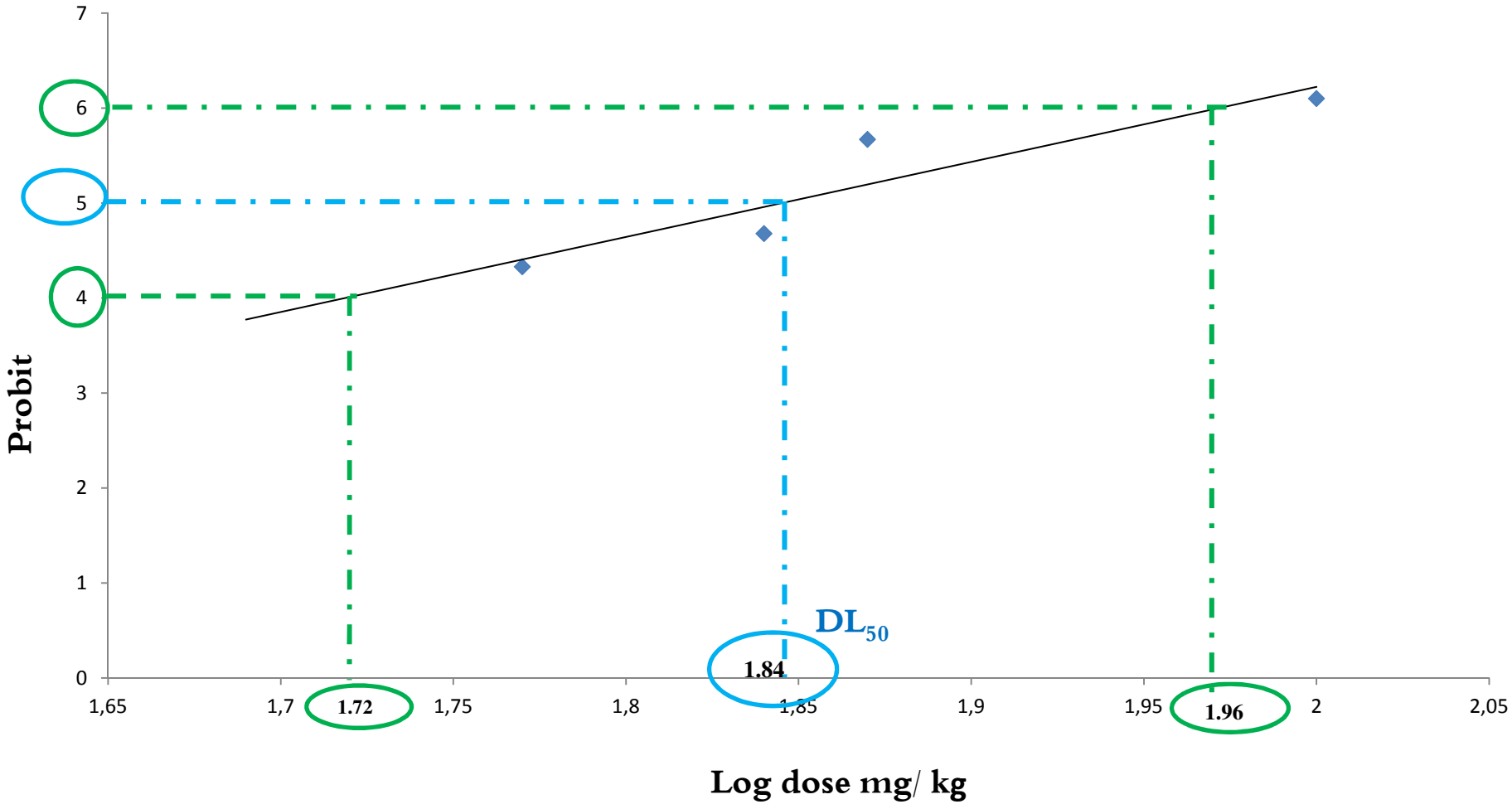
$$f_{DL50} = S \frac{2.77}{\sqrt{N'}}$$

تم حساب المجال الذي تنتمي إليه DL_{50} و هو [59.06- 81.40].

I. 3. السمية الحادة.

تمثلت الأعراض السريرية بعد عملية معالجة إناث جرذان Albinos Wistar بجرعة 60 مغ/كلغ من القلويدات الكلية و بمسلك إعطاء تحت صفاقي في تويلد حالة من الارتعاش الشديد و انتفاش الشعر و شلل في الحركة مع عدم قدرة الجرذان على الوقوف على القائمتين الخلفيتين لمدة لا تقل عن 4 ساعات بالإضافة إلى تجمع الجرذان في زاوية من زوايا الأقفاص، و انخفاض نشاطها العام مقارنة بالمجموعة الشاهدة و المحقونة بالماء الفيزيولوجي فقط.

تبين من خلال دراسة سلوك الجرذان باستعمال اختبار الحقل المكشوف و قبل عملية القتل مباشرة، ارتفاعا معنويا في عدد الثغور المكتشفة بنسبة 13.95 % و 127.90 % لدى إناث الجرذان في المجموعتين المعالجتين و المقتولة بعد 24 ساعة و 5 أيام على الترتيب مقارنة بالمجموعة الشاهدة و ارتفاع معنوي بنسبة 164.86 %



الشكل رقم 15: منحنى العلاقة لوغاريتم الجرعة بدلالة Probit لمستخلص القلويدات الكلية لبذور نبتة *Peganum harmala*

لدى مجموعة إناث الجرذان المعالجة و المقتولة بعد 5 أيام مقارنة بالمجموعة المعالجة و المقتولة بعد 24 ساعة. تميز معدلي عدد مرات الوقوف و عدد مرات التنظيف بانخفاض معنوي بنسبة 50 % و 53.84 % على التوالي مع في مجموعة إناث الجرذان المعالجة و المقتولة بعد 5 أيام مقارنة بالمجموعة المعالجة و المقتولة بعد 24 ساعة، في حين لم يلاحظ أي تغير معنوي في معدل عدد المربعات المجتازة للمجاميع الثلاث (مع الفرق المعنوي *P<0.05) (الجدول رقم 5).

لوحظ ارتفاع للوزن المكتسب لجرذان المجموعة المعالجة و المقتولة بعد 5 أيام بمستخلص القلويدات الكلية لنبتة *Peganum harmala* بجرعة 60 مغ/كلغ قبل و بعد المعالجة بنسبة 11.98 % إلا أنه وزن مكتسب ضعيف مقارنة بالمجموعة الشاهدة(مع الفرق المعنوي *P<0.05). لم يؤخذ وزن جرذان المجموعة المعالجة و المقتولة بعد 24 ساعة بعين الاعتبار كمؤشر للسمية الحادة لأن مدة 24 ليست مدة كافية لظهور انخفاض الوزن (الجدول رقم 6).

الجدول 5: تأثير القلويدات الكلية لبذور نبتة *Peganum harmala* على سلوك إناث جرذان Albinos Wistar المعالجة بجرعة 60 مغ/كغ في ظروف السمية الحادة.

	عدد المربعات المجتازة	عدد الثغور المكتشفة	عدد مرات الوقوف	عدد مرات التنظيف
المجموعة المعالجة و المقتولة بعد 24 ساعة	**40.300 ± 19.227**	**7.400[*2] ± 4.142**	**1.200[*2] ± 1.398**	**1.300 ± 1.418**
المجموعة المعالجة و المقتولة بعد 5 أيام	**33.600 ± 10.416**	**19.600[*1] ± 15.981**	**0.600 ± 1.075**	**0.600 ± 0.699**
المجموعة الشاهدة	**39.900 ± 15.609**	**8.600 ± 2.413**	**1.200 ± 1.687**	**0.800 ± 0.632**

النتائج ممثلة بالمتوسط± الخطأ المعياري (SD) مع الفرق المعنوي *P< 0.05. [1] الاختلاف المعنوي بين المجموعة المعالجة و المقتولة بعد 5 أيام و المجموعة الشاهدة، [2] الاختلاف المعنوي بين المجموعة المعالجة و المقتولة بعد 5 أيام و المجموعة المعالجة و المقتولة بعد 24 ساعة.

الجدول رقم 6: وزن المجموعتين الشاهدة و المعالجة و المقتولة بعد 5 أيام بجرعة 60 مغ/ كلغ في ظروف السمية الحادة.

	الوزن المطلق قبل المعالجة (غ)	الوزن المطلق بعد المعالجة (غ)
المجموعة المعالجة و المقتولة بعد 5 أيام	**161.500 ± 10.288**	**183.500 ± 10.814**[1]*
المجموعة الشاهدة	**200.00 ± 9.428**	**184.00 ± 8.433**

النتائج ممثلة بالمتوسط± الخطأ المعياري (SD) مع الفرق المعنوي *P< 0.05. [1]الاختلاف المعنوي بين المجموعة المعالجة و المقتولة بعد 5 أيام و المجموعة الشاهدة.

لم يلاحظ بعد عملية قتل و تشريح جرذان المجموعة الشاهدة و المجموعتين المعالجة و المقتولة بعد 24 ساعة و 5 أيام أي تغير في شكل و حجم الأعضاء *in situ*، أما فيما يتعلق بالكتلة النسبية للأعضاء فقد شهدت انخفاضا معنويا للكبد في المجموعة المعالجة و المقتولة بعد 5 أيام دون المجموعة المعالجة و المقتولة بعد 24 ساعة مقارنة بالمجموعة الشاهدة بنسبة 17.10 % مع الفرق المعنوي *P< 0.05، و انخفاض معنوي للكتلة النسبية للكبد في المجموعة المعالجة و المقتولة بعد 5 أيام مقارنة بالمجموعة المعالجة و المقتولة بعد 24 ساعة بنسبة 19.39 % مع الفرق المعنوي *P< 0.05، و ارتفاع معنوي في الكتلة النسبية للدماغ عند جرذان المجموعة المعالجة و المقتولة بعد 5 بنسبة 88.24 % و 88.23 % مقارنة المجموعة المعالجة و المقتولة بعد 24 ساعة و المجموعة الشاهدة على الترتيب في حين لم تتغير الكتلة النسبية للأعضاء المتبقية (مع الفرق المعنوي *P<0.05) (الجدول رقم 7).

بينت نتائج تحليل العوامل المصلية للجرذان المعالجة بجرعة 60 مغ/ كلغ في ظروف السمية الحادة ارتفاع ضئيل في نشاطية انزيم ASAT بنسبة 6.62 % مع في المجموعة المعالجة و المقتولة بعد 24 ساعة مقارنة بالمجموعة الشاهدة و انخفاض معنوي معتبر لنشاطية الانزيم في المجموعة المعالجة و المقتولة بعد 5 أيام بنسبة 38.13 % مقارنة بالمجموعة المعالجة و المقتولة بعد 24 ساعة و بنسبة 41.98 % مقارنة بالمجموعة الشاهدة. انخفضت نشاطية الانزيم ALAT بشكل معنوي في المجموعة المعالجة لمدة 24 ساعة بنسبة 24.23 % مقارنة بالمجموعة

الشاهدة كما انخفضت النشاطية في المجموعة المعالجة و المقتولة بعد 5 أيام بنسبة 5.54 % مقارنة بالمجموعة المعالجة و المقتولة بعد 24 ساعة و بنسبة 28.83 % مقارنة المجموعة الشاهدة (مع الفرق المعنوي *P<0.05) (الشكل رقم 16).

لوحظ ارتفاع معنوي في نشاطية الانزيم PAL في المجموعة المعالجة لمدة 24 ساعة بنسبة 44.96 % مقارنة بالمجموعة الشاهدة ثم انخفضت النشاطية بنسبة 7.71 % في المجموعة المعالجة و المقتولة بعد 5 أيام مقارنة بالمجموعة المعالجة و المقتولة بعد 24 ساعة ، و رغم هذا الانخفاض في المجموعة المعالجة و المقتولة بعد 5 أيام، إلا أنه يبقى مرتفع مقارنة بالمجموعة الشاهدة حيث قدرت النسبة ب 33.77 % (مع الفرق المعنوي *P<0.05) (الشكل رقم 16).

الجدول رقم 7: الكتلة النسبية لأعضاء إناث جرذان Albinos Wistar المعالجة بجرعة 60 مغ/ كلغ في ظروف دراسة السمية الحادة بمستخلص القلويدات الكلية لبذور *نبتة Peganum Harmal*.

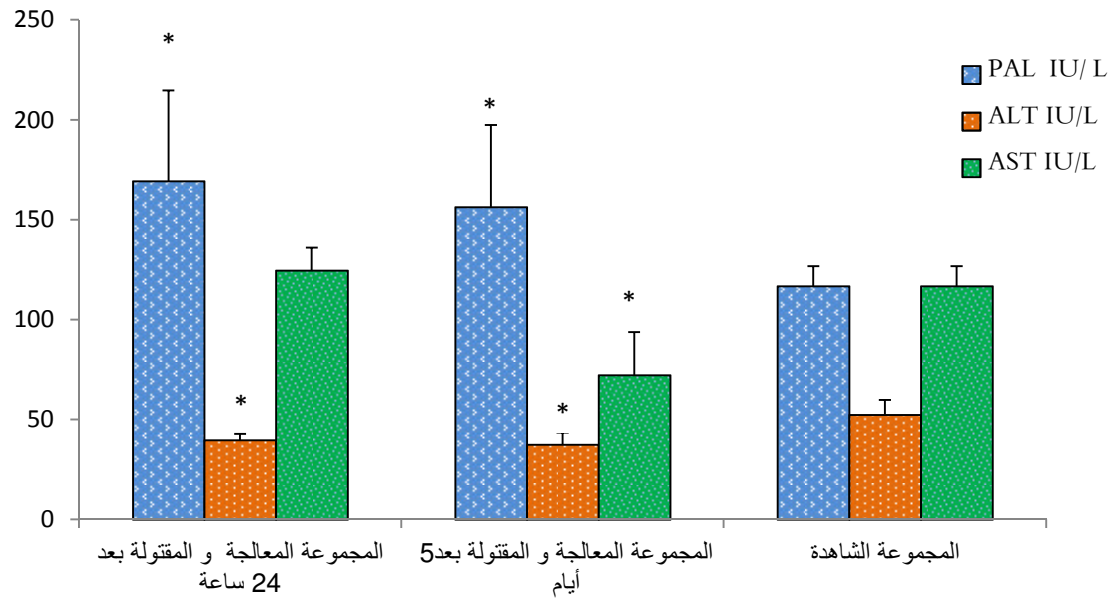
	الكبد	الدماغ	الطحال	الكليتين	القلب	الرئتين
المجموعة الشاهدة	**0.0421 ± 0.0062**	**0.00901 ± 0.000580**	**0.00373 ± 0.000585**	**0.00696 ± 0.00115**	**0.00329 ± 0.000185**	**0.00774 ± 0.000850**
المجموعة المعالجة و المقتولة بعد 24 ساعة	**0.0433 ± 0.0305**	**0.00902 ± 0.000573**	**0.00341 ± 0.000595**	**0.00672 ± 0.000413**	**0.00326 ± 0.000602**	**0.00704 ± 0.000868**
المجموعة المعالجة و المقتولة بعد 5 أيام	***[2]0.0349 ± 0.0109**	***[1,2]0.0106 ± 0.000643**	**0.00388 ± 0.000541**	**0.00845 ± 0.00111**	**0.00320 ± 0.000194**	**0.00797 ± 0.00103**

النتائج ممثلة بالمتوسط± الخطأ المعياري (SD) مع الفرق المعنوي *P< 0.05. [1]الاختلاف المعنوي بين المجموعة المعالجة و المقتولة بعد 5 أيام و المجموعة الشاهدة، [2] الاختلاف المعنوي بين المجموعة المعالجة و المقتولة بعد 5 أيام و المجموعة المعالجة و المقتولة بعد 24 ساعة.

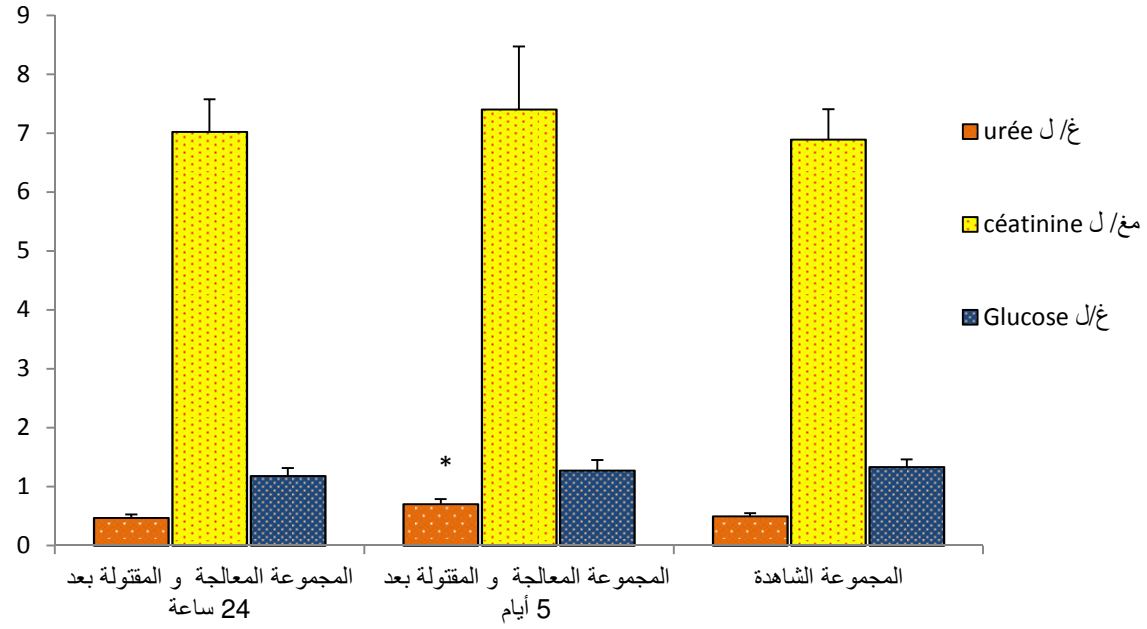
لم يشهد معدل كل من glucose و créatinine أي تغير، في حين ارتفع معدل urée معنويا في المجموعة المعالجة و المقتولة بعد 5 أيام بنسبة 49.46 % و 41.33 % مقارنة بالمجموعة المعالجة و المقتولة بعد 24 ساعة و المجموعة الشاهدة على التوالي (مع الفرق المعنوي *P<0.05) (الشكل رقم 17).

لوحظ انخفاض التركيز المصلي للبروتينات الكلية بنسبة 6.3 % في المجموعة المعالجة و المقتولة بعد 24 ساعة مقارنة بالمجموعة الشاهدة ثم ارتفع مجدد بنسبة 12.98 % في المجموعة المعالجة و المقتولة بعد 5 أيام مقارنة بالمجموعة المعالجة و المقتولة بعد 24 ساعة و بنسبة 5.8 % مقارنة المجموعة الشاهدة (الشكل رقم 18)، و ارتفع معنويا التركيز المصلي لجزيئات bilirubine الكلية (Bili Total) في المجموعة المعالجة و المقتولة بعد 24 مقارنة بالمجموعة الشاهدة، مع استمرار ارتفاعه معنويا في المجموعة المعالجة و المقتولة بعد 5 أيام مقارنة بالمجموعة المعالجة و المقتولة بعد 24 و المجموعة الشاهدة بنسبتي 10.53 % و 10.14 % على الترتيب (مع الفرق المعنوي *P<0.05) (الشكل رقم 19).

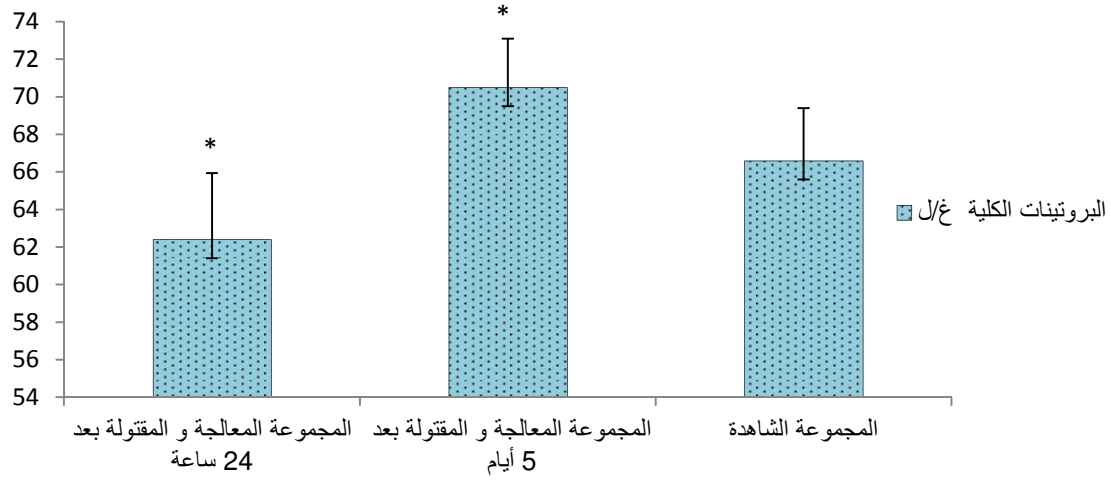
سجل التركيز المصلي لجزيئات bilirubine المرتبطة (Bili Dir) انخفاضا معنويا بنسبة 26.86 % في المجموعة المعالجة و المقتولة بعد 24 مقارنة بالمجموعة الشاهدة و استمر انخفاضه بشكل معنوي و بنسبة 74.82 % في المجموعة المعالجة و المقتولة بعد 5 أيام مقارنة بالمجموعة المعالجة و المقتولة بعد 24 و بنسبة 81.59 % مقارنة بالمجموعة الشاهدة (مع الفرق المعنوي *P<0.05) (الشكل رقم 19).



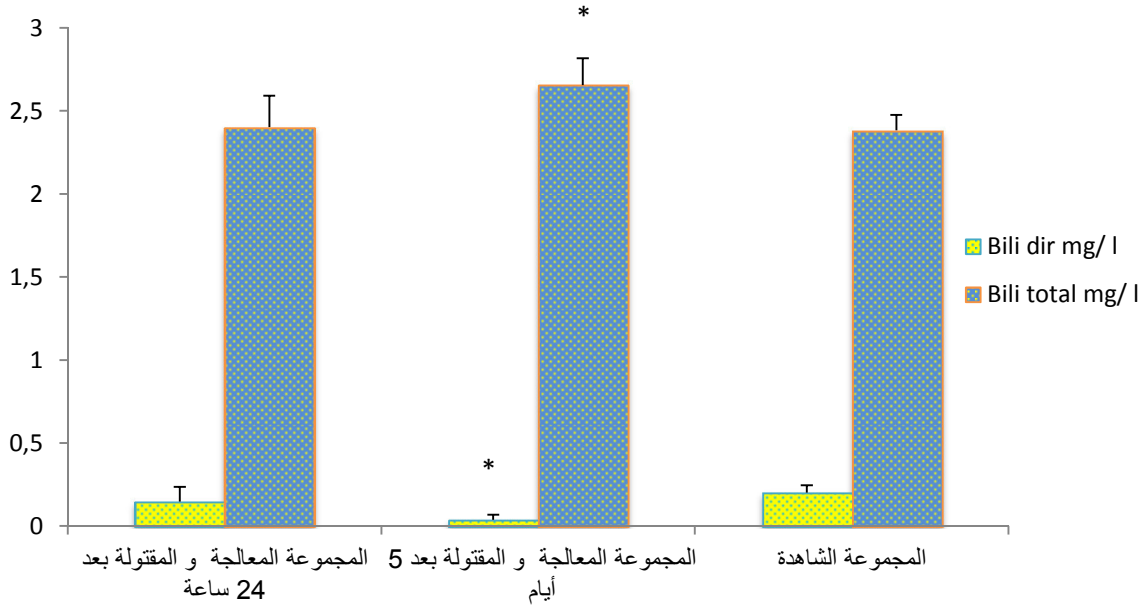
الشكل رقم 16: العوامل المصلية ALAT، ASAT، PAL لإناث الجرذان المعالجة بجرعة 60 مغ/كلغ في ظروف السمية الحادة. النتائج ممثلة بالمتوسط± الخطأ المعياري (SD) مع الفرق المعنوي *P<0.05.



الشكل رقم 17: العوامل المصلية glucose و urée و créatinine لإناث الجرذان المعالجة بجرعة 60 مغ/كلغ في ظروف السمية الحادة. النتائج ممثلة بالمتوسط± الخطأ المعياري (SD) مع الفرق المعنوي *P<0.05.



الشكل رقم 18: تركيز البروتينات الكلية لإناث الجرذان المعالجة بجرعة 60 مغ/كلغ في ظروف السمية الحادة. النتائج ممثلة بالمتوسط± الخطأ المعياري (SD) مع الفرق المعنوي *P<0.05.



الشكل رقم 19: تركيز bilirubine الكلية و مرتبطة في المصل لإناث الجرذان المعالجة بجرعة 60 مغ/كلغ في ظروف السمية الحادة. النتائج ممثلة بالمتوسط± الخطأ المعياري (SD) مع الفرق المعنوي *P<0.05.

بينت نتائج تحليل العوامل الدموية لكل من المجموعتين المعالجتين و المقتولة بعد 24 ساعة و 5 أيام بجرعة 60 مغ/كلغ مقارنة بالمجموعة الشاهدة ارتفاع معنوي في معدل كريات الدم الحمراء (GR) في المجموعة المعالجة و المقتولة بعد 5 أيام بنسبة 6.45 % مقارنة المجموعة المعالجة و المقتولة بعد 24 ساعة و بنسبة 6.45 % مقارنة بالمجموعة الشاهدة، في حين أن معدل كريات الدم البيضاء (GB)، لم يشهد أي تغير (مع الفرق المعنوي *P<0.05) (الجدول رقم 8).

ارتفع معنويا معدل الهماتوكريت (HCT) في المجموعة المعالجة و المقتولة بعد 5 أيام مقارنة بالمجموعة المعالجة و المقتولة بعد 24 ساعة بنسبة 10.67 % و بنسبة 5.44 % مقارنة بالمجموعة الشاهدة (مع الفرق المعنوي *P<0.05) (الجدول رقم 8).

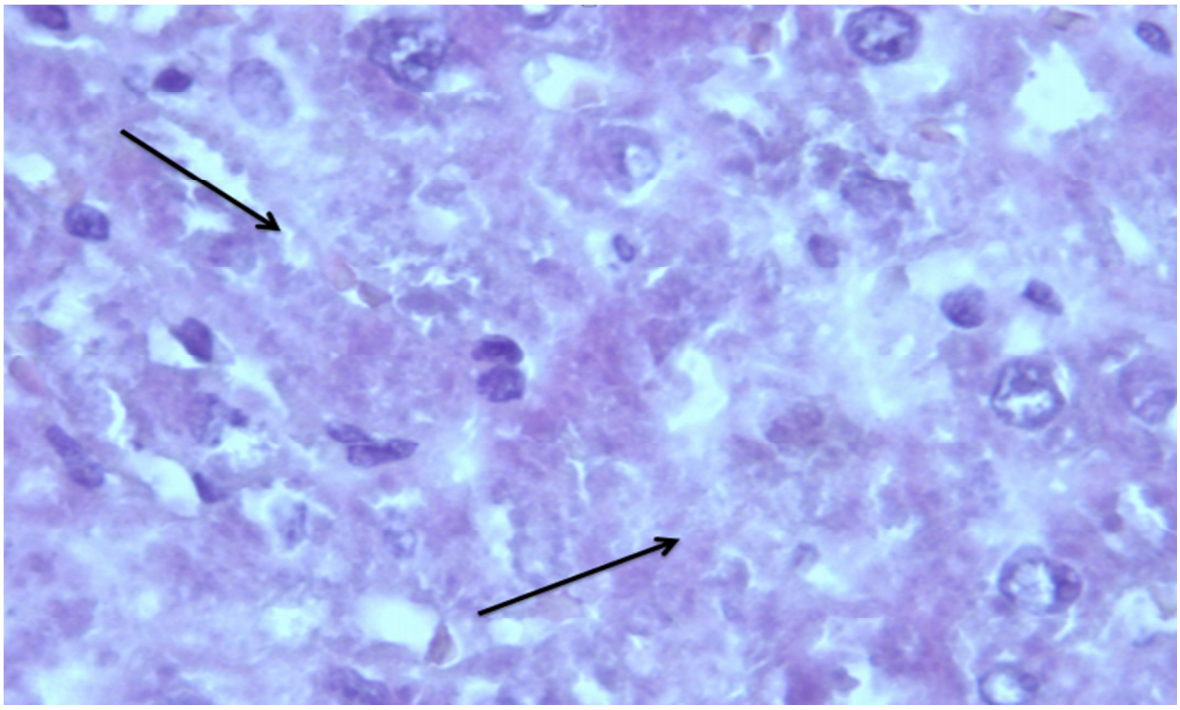
ارتفع معنويا معدل الهيموغلوبين (HGB) في المجموعة المعالجة و المقتولة بعد 5 أيام بنسبة 8.63 % مقارنة بالمجموعة المعالجة و المقتولة بعد 24 ساعة (الجدول رقم 8). ارتفع معنويا كل من التركيز المتوسط لجزيئات الهيموغلوبين (MCHC/CCMH) و المحتوي المتوسط للهيموغلوبين (MCH/TCMH) في المجموعة المعالجة و المقتولة بعد 5 أيام مقارنة بالمجموعة الشاهدة، كما ارتفع معدل IDR و IDRa في المجموعة المعالجة و القتولة بعد 5 أيام بنسبة 20.67 % و 7.55 % على الترتيب مقارنة بالمجموعة الشاهدة (مع الفرق المعنوي *P<0.05) (الجدول رقم 8).

الجدول رقم 8: العوامل الدموية لكل من المجموعتين المعالجتين و المقتولة بعد 24 ساعة و 5 أيام بجرعة 60 مغ/كلغ و المجموعة الشاهدة في ظروف السمية الحادة.

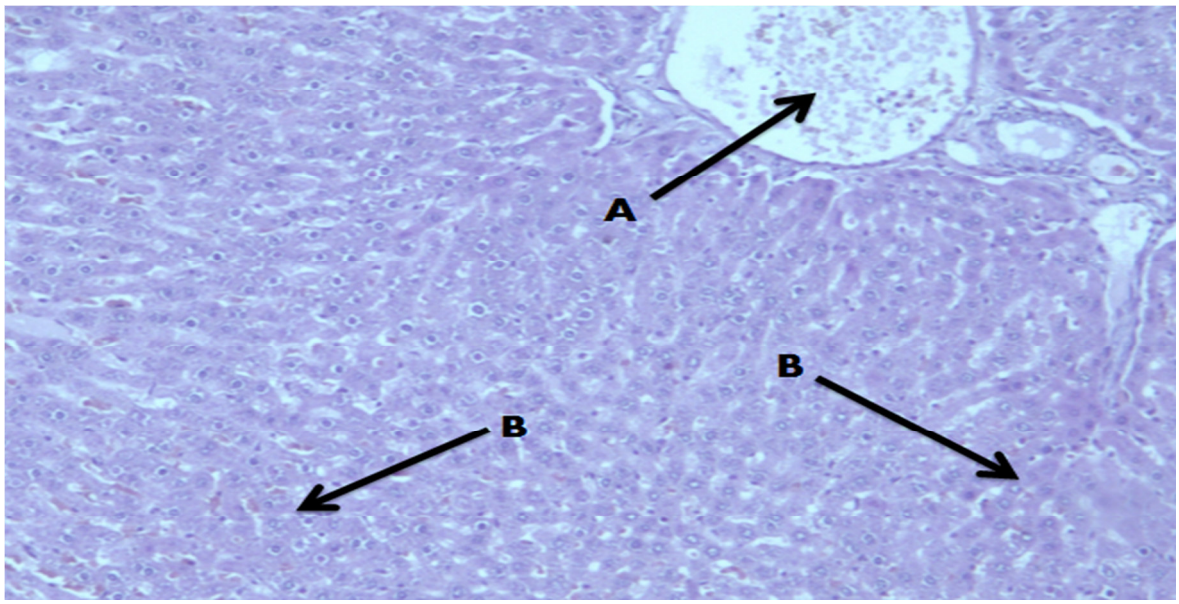
	PLT ($10^6/Mm^3$)	HGB غ/دل	HCT (%)	GB ($10^6/Mm^3$)	GR ($10^6/Mm^3$)	MCHC (pg)	TCMH (غ/ دل)	LPCR (%)	PTC (%)	IDP (Um^3)	VPM (Um^3)	MCV (Um^3)	IDRa (Um^3)	IDR (%)
المجموعة الشاهدة	509.10 ± 90.698	15.16 ± 0.560	43.00 ± 1.575	9.260 ± 3.370	8.274 ± 0.324	35.150 ± 0.414	18.250 ± 0.389	10.25 ± 2.668	0.343 ± 0.0633	8.850 ± 0.536	6.780 ± 0.374	51.960 ± 0.943	34.810 ± 1.044	13.390 ± 0.695
المجموعة المعالجة و المقتولة بعد 24 ساعة	528.100 ± 70.401	14.94 ±[*2] 0.670	40.967 ± 1.883	6.460 ± 1.898	8.124 ± 0.334	[*3]36.53 ± 0.395	[*2]18.36 ± 0.363	9.900 ± 1.270	0.366 ± 0.0384	8.470 ± 0.980	6.770 ± 0.170	50.280 ± 0.789	[*2]34.36 ± 1.062	14.913 ± 0.790
المجموعة المعالجة و المقتولة بعد 5 أيام	[*2]605.7 ± 82.187	16.23 ± 0.923	[*2]45.34 ± 3.739	7.600 ± 3.044	[*2]8.808 ± 0.846	35.390 ± 0.530	18.260 ± 0.617	9.010 ± 1.158	0.393 ± 0.0525	8.550 ± 0.295	6.500 ± 0.183	51.520 ± 1.346	[*3]37.44 ± 2.529	[*1]16.16 ± 2.536

النتائج ممثلة بالمتوسط± الخطأ المعياري (SD) مع الفرق المعنوي *P< 0.05. [1]الاختلاف المعنوي بين المجموعة المعالجة و المقتولة بعد 5 أيام و المجموعة الشاهدة، [2] الاختلاف المعنوي بين المجموعة المعالجة و المقتولة بعد 5 أيام و المجموعة المعالجة لمدة 24 ساعة، [3]الاختلاف المعنوي بين المجموعة المعالجة لمدة 24 ساعة و المجموعة الشاهدة.

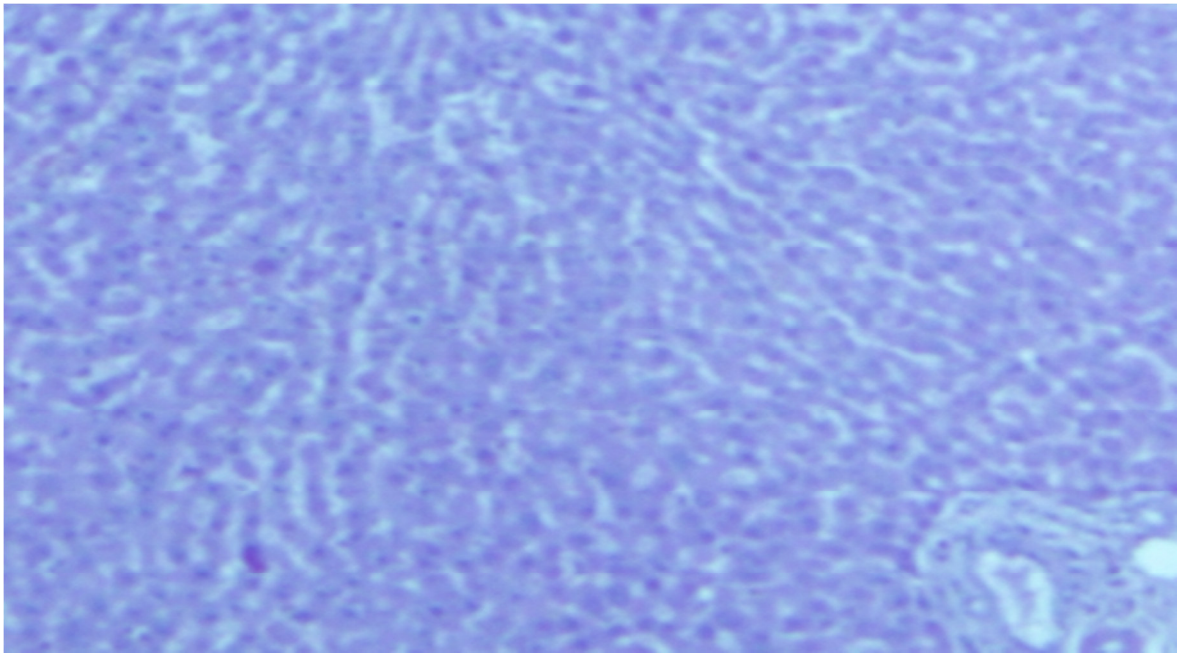
تبين من خلال دراسة المقاطع النسيجية لكل من كبد و دماغ و كلية الجرذان المعالجة في ظروف السمية الحادة وجود احتقان دموي في بعض المناطق على مستوى الكبد (congestion sanguine) و الأوعية الدموية (congestion sanguine sinusoïdale)، و انتفاخ موضعي للخلايا (ballonnement) في المقاطع النسيجية للكبد في المجموعة المعالجة و المقتولة بعد 5 أيام، كما وجد تلف موضعي في الخلايا الكبدية (nécrose) مقارنة بالمقاطع النسيجية للمجموعة الشاهدة (الشكل رقم 20) في حين تمثلت الأضرار التي مست الكلية في نقص حجم عدد محدود من وحدة الترشيح الكبيبة (glomérulaire atrophie) و اتساع الفراغ بين الكبيبة محفظة Bowman (الشكل رقم 21) و انحصرت الأضرار التي مست الدماغ في وجود أديمات (œdèmes) (الشكل رقم 22).



(1)

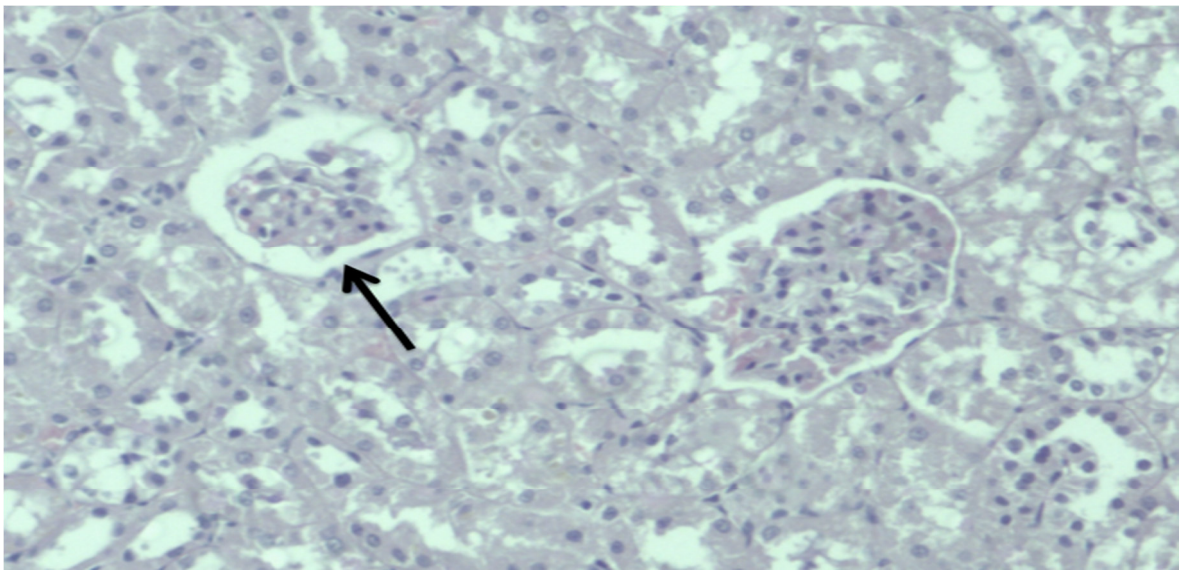


(2)

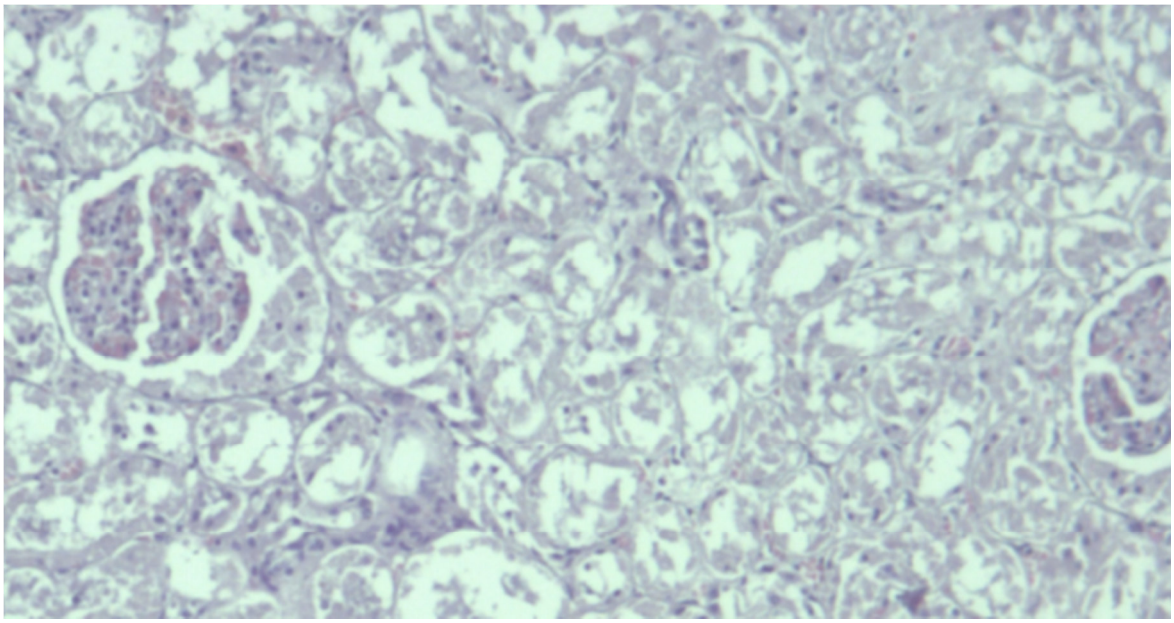


(3)

الشكل رقم 20: المقاطع النسيجية لكبد الجرذان المعالجة في ظروف السمية الحادة بالقلويدات الكلية بجرعة 60 مغ/كغ . تلف للخلايا (nécrose) في أنسجة الكبد المجموعة المعالجة و المقتولة بعد 24 ساعة (1) بالتكبير x 630 و احتقان دموي في بعض المناطق على مستوى الكبد (congestion sanguine) و الأوعية الدموية (congestion sanguine sinusoïdale) (A) و انتفاخ موضعي للخلايا (ballonnement) (B) المجموعة المعالجة و المقتولة بعد 5 أيام بتكبير X 250 (2) و المجموعة الشاهدة بتكبير x 250 (3). التلوين باستعمال Eosine hématoxyline.

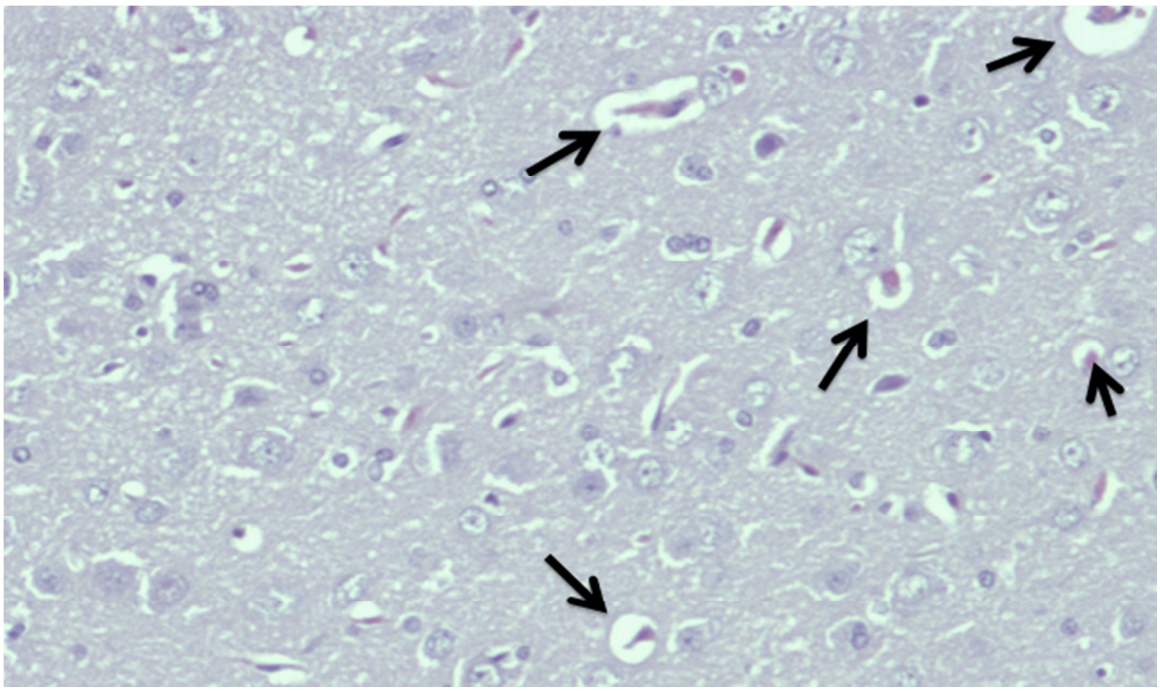


(4)



(5)

الشكل رقم 21: المقاطع النسيجية للكلية. نقص حجم وحدة الترشيح الكبيبة في المجموعة المعالجة و المقتولة بعد 5 أيام بتكبير x 200 (4) و المجموعة الشاهدة بتكبير x 200 (5) في ظروف السمية الحادة بالقلويدات الكلية بجرعة 60 مغ/كغ. التلوين باستعمال Eosine hématoxyline.



(6)

الشكل رقم 22: المقاطع النسيجية للدماغ. ظهور œdème في المجموعة المعالجة لمدة 24 ساعة بتكبير x 250 (6) في ظروف السمية الحادة بالقلويدات الكلية بجرعة 60 مغ/ كغ. التلوين باستعمال Eosine hématoxyline.

I. 4. السمية شبه الحادة.

تمثلت الأعراض السريرية للسمية شبه الحادة بعد عملية معالجة إناث جرذان Albinos Wistar بجرعة 50 مغ/كلغ من القلويدات الكلية و بمسلك إعطاء تحت صفاقي في حالة ارتعاش شديد و انتفاش الشعر و شلل في الحركة مع عدم قدرة الجرذان على الوقوف على القائمتين الخلفيتين، بالإضافة إلى تجمع الجرذان في زاوية من زوايا الأقفاص و انخفاض نشاطها العام مقارنة بالمجموعة الشاهدة، و هي نفس الأعراض المشاهدة في حالة السمية الحادة. لوحظ انتفاخ الجزء البطني للجرذان المعالجة و تسجيل حالات وفاة بعد 14 يوم من بداية التجربة.

لم تبين دراسة سلوك إناث جرذان Albinos Wistar المعالجة بالقلويدات الكلية لبذور نبتة *Peganum harmala* بجرعة 50 مغ/ كلغ يوميا، و بمسلك إعطاء تحت صفاقي في ظروف دراسة السمية شبه الحادة لمدة 4 أسابيع باستعمال الحقل المكشوف أي فرق معنوي في كل من عدد المربعات المجتازة و عدد الثغور المكتشفة و عدد مرات التنظيف و عدد مرات الوقوف مقارنة بالمجموعة الشاهدة (الجدول رقم 9).

الجدول رقم 9: تأثير القلويدات الكلية على سلوك إناث جرذان Albinos Wistar المعالجة بجرعة 50 مغ/ كلغ و بمسلك إعطاء تحت صفاقي في ظروف السمية شبه الحادة.

	عدد المربعات المجتازة	عدد الثغور المكتشفة	عدد مرات التنظيف	عدد مرات الوقوف
المجموعة المعالجة لمدة 4 أسابيع	**25.143 ± 14.276**	**5.000 ± 1.915**	**0.571 ± 0.976**	**1.143 ± 1.345**
المجموعة الشاهدة	**29.750 ± 16.158**	**7.625 ± 5.317**	**0.875 ± 1.808**	**0.625 ± 0.916**

النتائج ممثلة بالمتوسط± الخطأ المعياري معالفرق المعنوي *P< 0.05.

انخفض وزن الجرذان المعالجة في ظروف دراسة السمية شبه الحادة بالقلويدات الكلية لبذور نبتة *Peganum harmala* بشكل غير معنوي خلال الأسبوعين الأول و الثاني بعد المعالجة، ثم ارتفع مجددا بشكل تدريجي خلال الأسبوع الثالث، إلا أنه انخفض في الأسبوع الرابع و ذلك مقارنة بالمجموعة الشاهدة مع العلم أن هذه التغيرات لم تكن معنوية (الشكل رقم 23).

تبين من النتائج الاحصائية للكتلة النسبية لأعضاء الجرذان المعالجة بجرعة 50 مغ/ كلغ لمدة 4 أسابيع في ظروف دراسة السمية شبه الحادة انخفاض معنوي في الكتلة النسبية للدماغ بنسبة 12.54 % مقارنة بالمجموعة الشاهدة في حين لم تتغير الكتلة النسبية للأعضاء المتبقية (مع الفرق المعنوي *P<0.05) (الجدول رقم 10).

الشكل رقم 23: تأثير القلويدات الكلية لبذور نبتة *Peganum harmala* على وزن الجرذان المعالجة بجرعة 50 مغ/ كلغ لمدة 4 أسابيع في ظروف السمية شبه الحادة. النتائج ممثلة بالمتوسط± الخطأ المعياري مع الفرق المعنوي *P< 0.05.

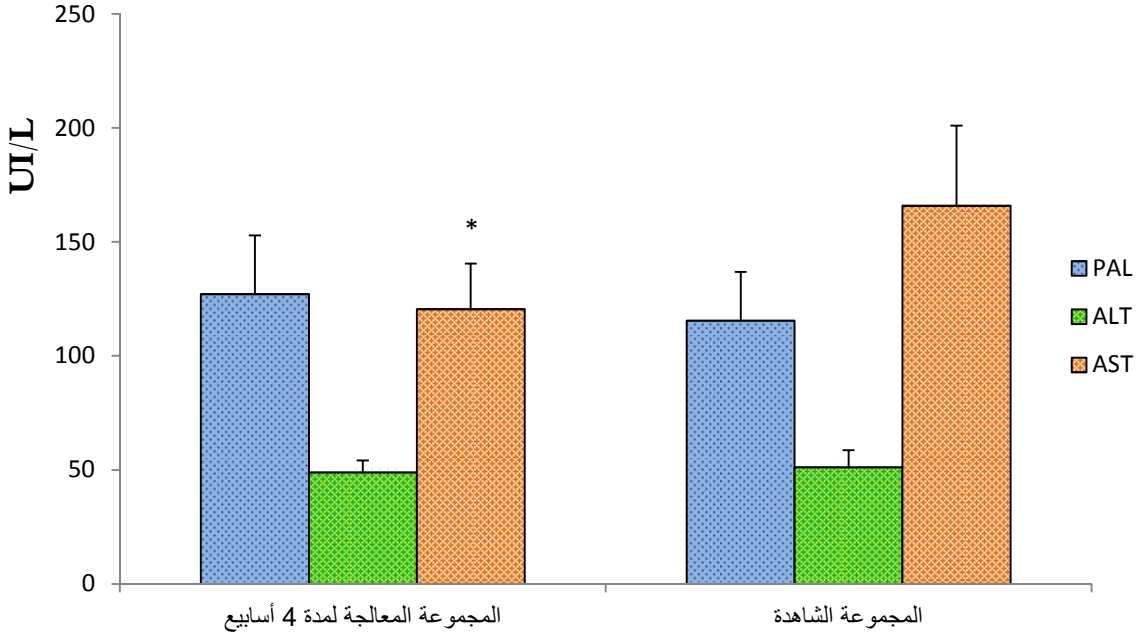
الجدول رقم 10: الكتلة النسبية لأعضاء الجرذان المعالجة بجرعة 50 مع/ كلغ لمدة 4 أسابيع في إطار دراسة السمية شبه الحادة.

	القلب	الدماغ	الكليتين	الطحال	الرئتين	الكبد
المجموعة المعالجة لمدة 4 أسابيع	**0.00306 ± 0.000347**	**0.00768* ± 0.000796**	**0.00705 ± 0.000728**	**0.00396 ± 0.000863**	**0.00737 ± 0.00126**	**0.0964 ± 0.154**
المجموعة الشاهدة	**0.00318 ± 0.000362**	**0.00875 ± 0.000545**	**0.00691 ± 0.000508**	**0.00372 ± 0.000746**	**0.00739 ± 0.000775**	**0.0343 ± 0.0121**

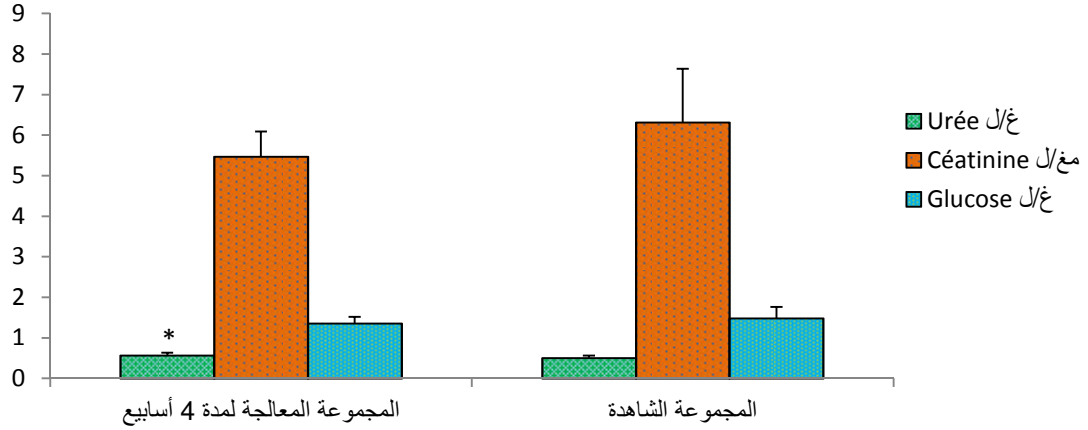
النتائج ممثلة بالمتوسط± الخطأ المعياري (SD) مع الفرق المعنوي *P<0.05.

بينت نتائج تحليل العوامل البيوكيميائية المصلية للجرذان المعالجة بجرعة 50 مغ/ كلغ في ظروف السمية شبه الحادة انخفاض معنوي بنسبة 27.34 % في نشاطية انزيم ASAT في المجموعة المعالجة لمدة 4 أسابيع، في حين أن النشاطية الانزيمية لكل منALAT و PAL لم تسجل أي تغيير مقارنة بالمجموعة الشاهدة (مع الفرق المعنوي *P<0.05) (الشكل رقم 24).

ارتفع تركيز urée في المصل بشكل معنوي بنسبة 13.46 % في المجموعة المعالجة مقارنة بالمجموعة الشاهدة في حين لم تتغير العوامل الأخرى من glucose و créatinine (الشكل رقم 24).

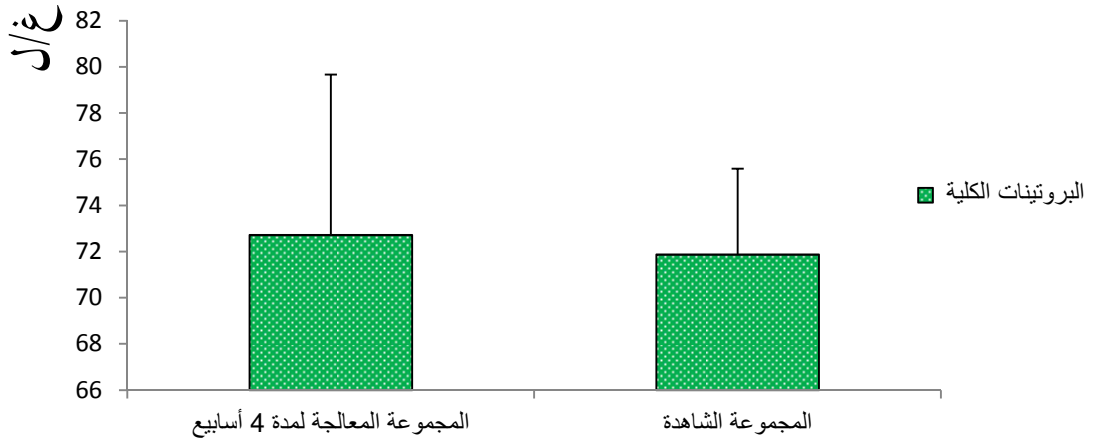


الشكل رقم 24: العوامل المصلية ALAT، ASAT، PAL لإناث لجرذان المعالجة بجرعة 50 مغ/كلغ في إطار السمية شبه الحادة. النتائج ممثلة بالمتوسط± الخطأ المعياري (SD) مع الفرق المعنوي *P<0.05.

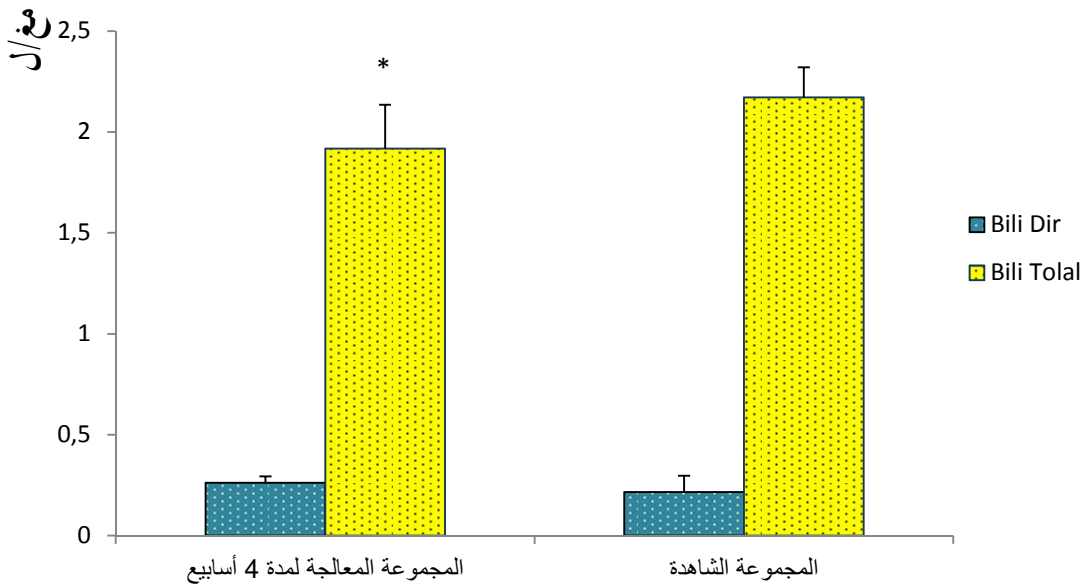


الشكل 25 :العوامل المصلية منglucose، urée و créatinine لإناث لجرذان المعالجة بجرعة 50 مغ/كلغ في إطار السمية شبه الحادة. النتائج ممثلة بالمتوسط± الخطأ المعياري (SD) مع الفرق المعنوي *P<0.05.

لم يشهد تركيز البروتينات الكلية في المصل لمجموعة إناث الجرذان المعالجة لمدة 4 أسابيع مقارنة بالمجموعة الشاهدة أي تغير ملموس (الشكل رقم 26) في حين انخفض التركيز المصلي لجزيئات bilirubine الكلية (Bili Total) للمجموعة المعالجة مقارنة بالمجموعة الشاهدة بنسبة 11.66 % و لم يتغير التركيز المصلي لجزيئات bilirubineالمرتبطة (Bili Dir) (مع الفرق المعنوي *P<0.05) (الشكل رقم 27).



الشكل رقم 26: تركيز البروتينات الكلية لإناث لجرذان المعالجة بجرعة 50 مغ/كلغ في ظروف السمية شبه الحادة. النتائج ممثلة بالمتوسط± الخطأ المعياري (SD) مع الفرق المعنوي *P<0.05.



الشكل رقم 27: تركيز bilirubine الكلية و مرتبطة في المصل لإناث الجرذان المعالجة بجرعة 50 مغ/كلغ في ظروف السمية شبه الحادة. النتائج ممثلة بالمتوسط± الخطأ المعياري (SD) مع الفرق المعنوي *P<0.05.

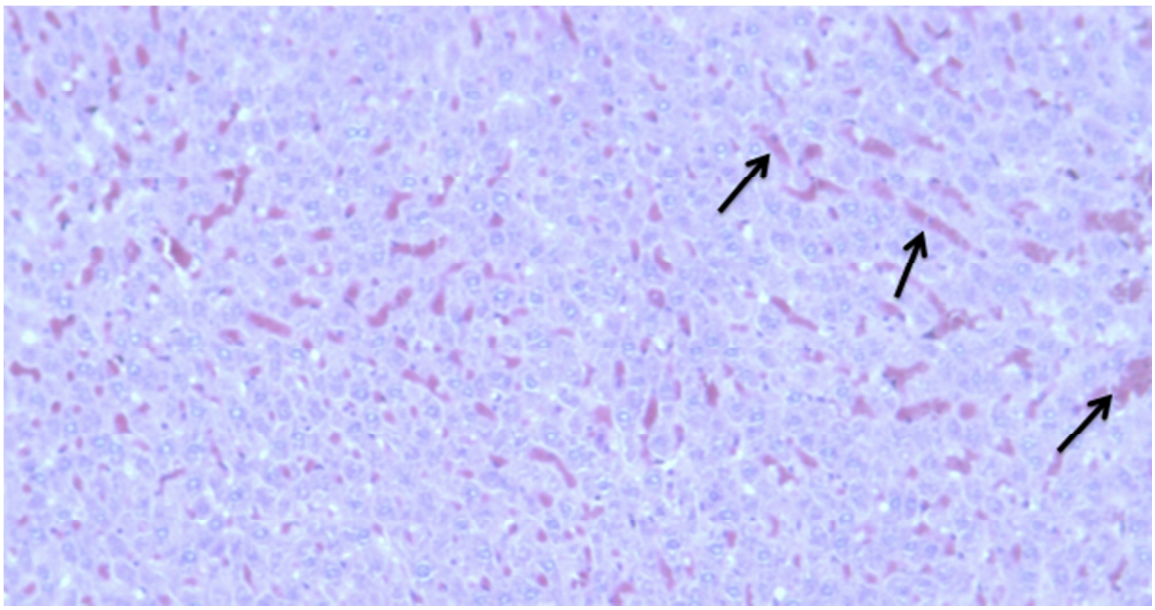
بينت دراسة العوامل الدموية لإناث جرذان Albinos Wistar المعالجة بجرعة 50 مغ/ كلغ في ظروف دراسة السمية شبه الحادة (الجدول رقم 11) انخفاض معنوي معتبر في معدل GR في المجموعة المعالجة بنسبة 69.35 % مقارنة بالمجموعة الشاهدة و انخفاض معنوي كبير في معدل GB في المجموعة المعالجة بنسبة 70.54 % مقارنة بالمجموعة الشاهدة. انخفض معدل HCT بشكل معنوي في المجموعة المعالجة بنسبة 69.35 % مقارنة بالمجموعة الشاهدة بالإضافة إلى انخفاض معنوي في معدل HGB في المجموعة المعالجة بنسبة 68.34 % مقارنة بالمجموعة الشاهدة (مع الفرق المعنوي *P<0.05) (الجدول رقم 11).

تبين من خلال دراسة المقاطع النسيجية للكبد، الدماغ و الكلية للجرذان المعالجة في ظروف السمية شبه الحادة وجود احتقان دموي في بعض المناطق على مستوى الكبد (congestion sanguine) و الأوعية الدموية (congestion sanguine sinusoïdale) و انتفاخ موضعي لبعض الخلايا في المجموعة المعالجة لمدة 4 أسابيع (الشكل رقم 28)، في حين تمثلت الأضرار التي مست الكلية في نقص حجم عدد محدود من وحدة الترشيح الكبيبة (glomérulaire atrophie) (الشكل رقم 29) أما في ما يتعلق بالدماغ فقد انحصرت الأضرار في وجود أديمات (œdèmes) (الشكل رقم 30).

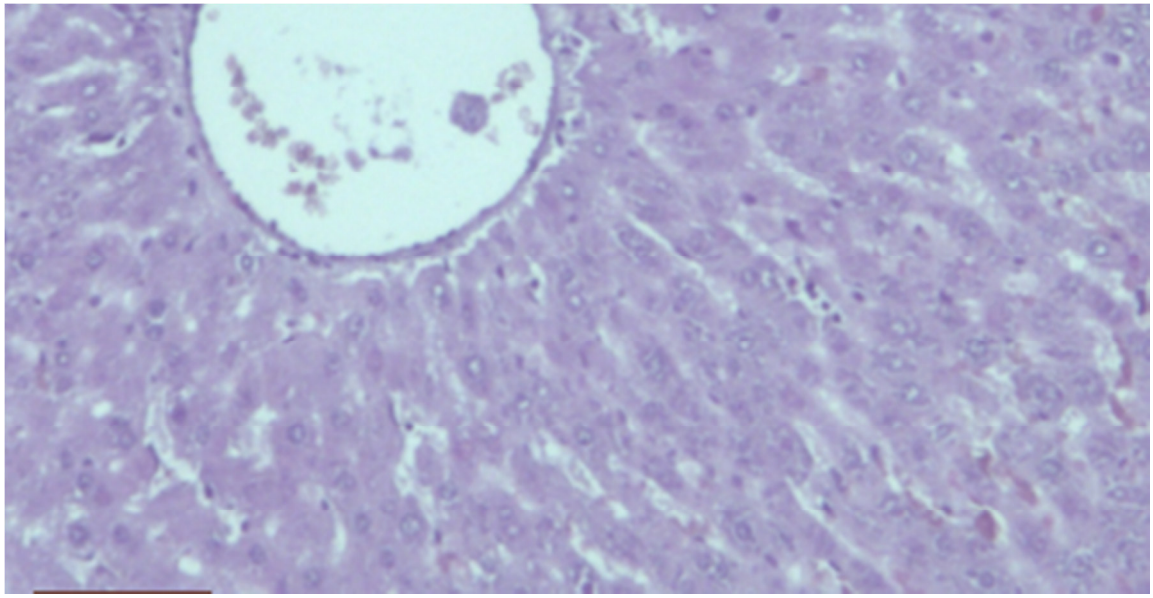
الجدول رقم 11: العوامل الدموية للمجموعتين المعالجة و الشاهدة بجرعة 50 مغ/كلغ في ظروف السمية شبه الحادة.

	GR ($10^6/Mm^3$)	HGB (غ/دل)	GB ($10^3/Mm^3$)	HCT (%)	LPCR (%)	PTC (%)	IDP (Um^3)	VPM (Um^3)	PLT ($10^3/Mm^3$)	CCMH (غ/دل)	IDRa (Um^3)	IDR (%)	TCMH (Pg)	VGM (Um^3)
المجموعة المعالجة لمدة 4 أسابيع	5.686* ± 1.296	10.50* ± 2.390	6.129* ± 2.560	29.129* ± 6.791	9.386 ± 3.280	0.679 ± 0.980	8.486 ± 0.965	6.571 ± 0.774	471.371 ± 140.915	36.171 ± 0.634	34.414 ± 1.899	13.529 ± 1.435	18.486 ± 0.339	51.214 ± 1.410
المجموعة الشاهدة	8.179 ± 0.237	15.363 ± 0.573	8.688 ± 1.759	42.000 ± 1.741	11.387 ± 1.775	0.358 ± 0.0552	9.125 ± 0.399	6.950 ± 0.239	518.375 ± 73.069	36.625 ± 1.240	36.000 ± 1.631	15.250 ± 1.281	18.788 ± 0.671	51.35 ± 2.687

النتائج ممثلة بالمتوسط± الخطأ المعياري (SD) مع الفرق المعنوي *P< 0.05. * الاختلاف المعنوي بين المجموعة المعالجة و المجموعة الشاهدة.

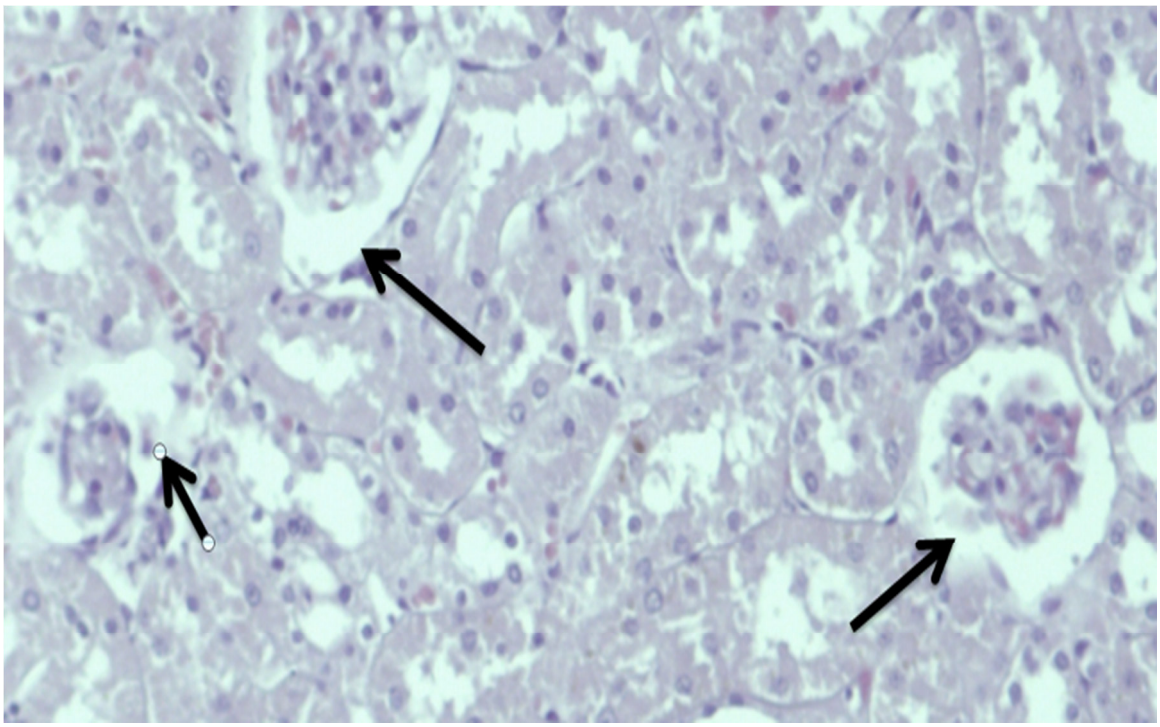


(7)

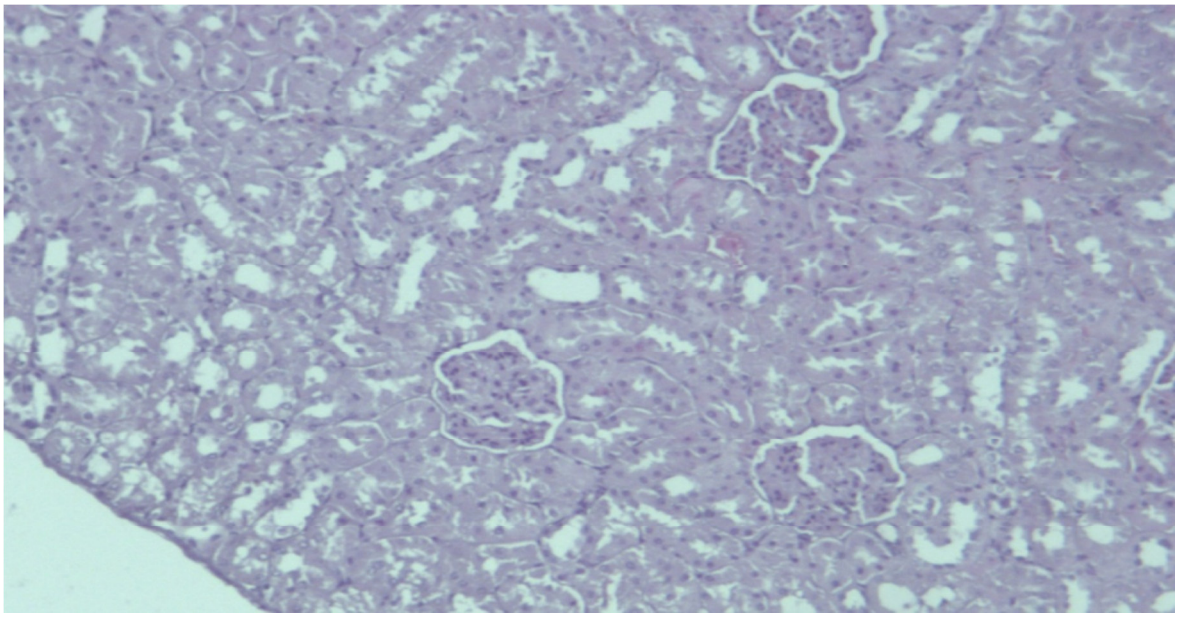


(8)

الشكل رقم 28: المقاطع النسيجية لكبد الجرذان المعالجة لمدة 4 أسابيع بتكبير x 100 (7) و المجموعة الشاهدة بتكبير x 100 (8) في ظروف السمية شبه الحادة بالقلويدات الكلية بجرعة 50 مغ/كلغ. التلوين باستعمال Eosine hématoxyline.

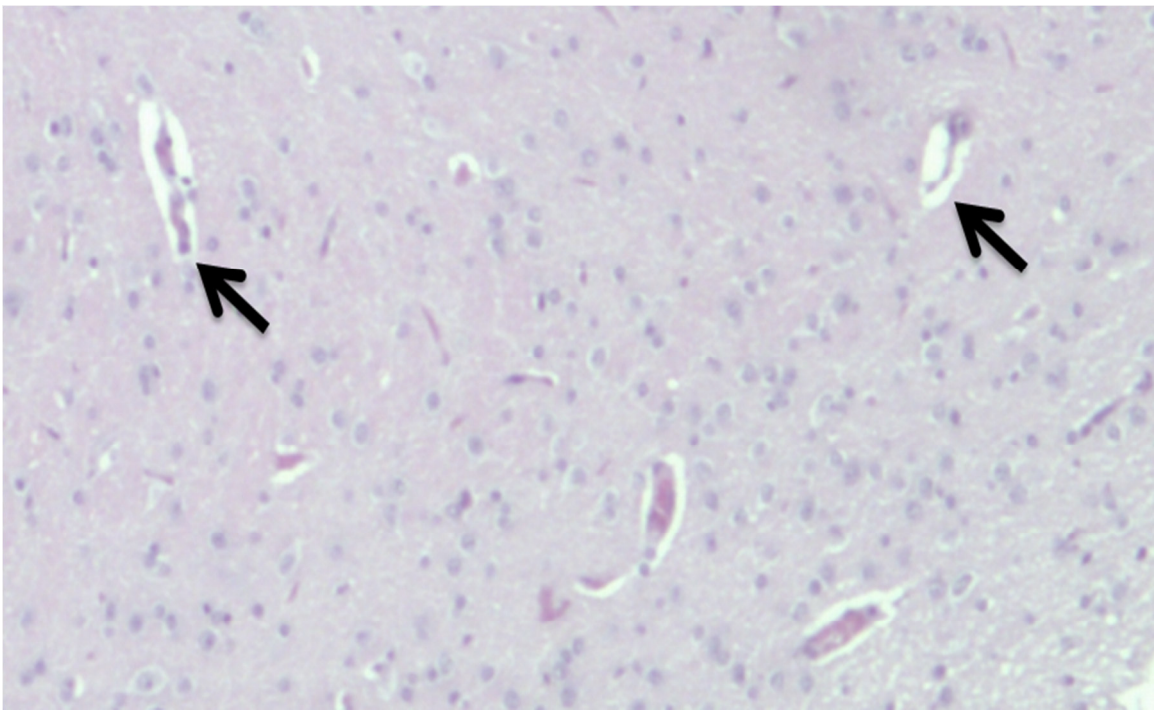


(9)

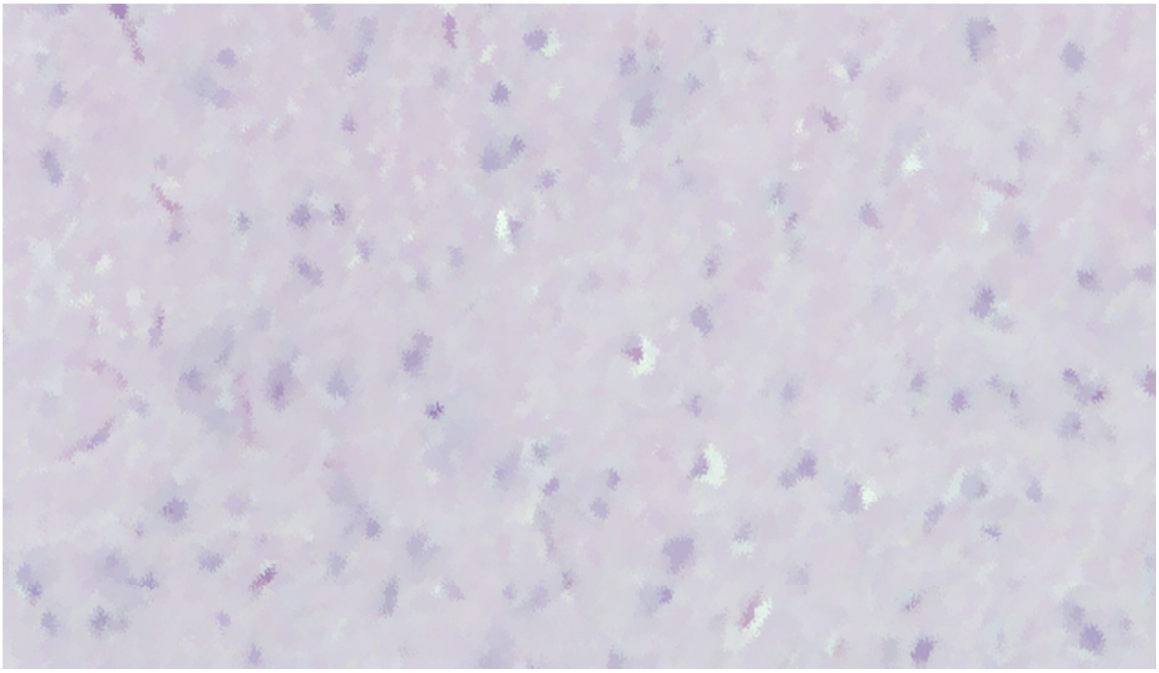


(10)

الشكل رقم 29: المقاطع النسيجية للكلية في المجموعة المعالجة لمدة 4 أسابيع بتكبير x 200 (9) و المجموعة الشاهدة بتكبير x 100 (10) في ظروف السمية شبه الحادة بالقلويدات الكلية بجرعة 50 مغ/كلغ. التلوين باستعمال Eosine hématoxyline.



(11)



(12)

لشكل رقم 30: المقاطع النسيجية للدماغ في المجموعة المعالجة لمدة 4 أسابيع (11) و المجموعة الشاهدة (12) بتكبير x 100 في ظروف السمية شبه الحادة بالقلويدات الكلية بجرعة 50 مغ/كلغ. التلوين باستعمال Eosine hématoxyline.

II. المناقشة.

تم التعرف على نبتة *Peganum harmala* من خلال الخصائص المرفلوجية للأوراق، البذور و الثمار (Boullard, 1997 ؛Bruneton, 1999). تستعمل نبتة *Peganum harmala* من الناحية التقليدية في علاج العديد من الاضطرابات الصحية و لها أهمية صيدلانية و اقتصادية معتبرة كتثبيط إنزيم acétylcholinestérase المستعمل في علاج مرض فقدان الذاكرة (Alzheimer)، و كمضاد اللشمانيا (leishmania) و مضاد بعض الأنواع البكتيرية مثل *Staphylococcus Aureus* و *Bacillus Anthracis* و مخدر و مسكن للألم، كما تستعمل كعامل للإجهاض و في السحر و الشعوذة (Asgarpanal et Ramezanloo, 2012؛ Yousefi *et al*., 2009؛ khoshzabah *et al*., 1989 ؛Monsef *et al*., 2004 ؛Berrougui *et al*., 2006؛Zheng *et al*., 2009).

تحتوي نبتة *Peganum harmala* على مركبات كيميائية تدعى بقلويدات β-Carboline المدرجة ضمن عائلة القلويدات الإندولية و مجموعة Quinazoline (في هيئة آثار)، و تتنوع مستويات تأثيرها بين تثبيط الأنزيمات و تغيير تركيز النواقل العصبية في الجهاز العصبي المركزي، هذا التأثير من شأنه أن يغير وتيرة النشاط العادي مؤديا بذلك إلى حالة تسمم أو هلوسة (Endrews et Rindsberg, 2010). تعد جميع أجزاء النبتة سامة (Preedy *et al*., 2011).

سمحت عملية استخلاص القلويدات الكلية من البذور بالحصول على مردود 1.3 % لكل 100 غ من البذور، و يعتبر المردود منخفض مقارنة بالعديد من المنشورات العلمية (Asparganah et Ramezanloo, 2012؛ Maeda *et al*., 2010 ؛Mohmoudian *et al*., 2002). بينت المعالجة لصفيحة الهجرة وجود أربع بقع برتقالية تمثل القلويدات الكلية، و نظرا إلى عدم توفر الشواهد في عملية الهجرة كان من الصعب تحديد هوية هذه القلويدات، إلا أنها قد ترجع إلى كل من harmine، harmaline، harmol و harmane استنادا إلى نتائج كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة للباحثة Maya و مرافقيها (2003) أو قد ترجع إلى harmine، harmaline و harmalol مقارنة بنتائج الهجرة لكل من Hassani و El Hadek (2013) مع اختلاف الطور المتحرك و المتمثل في ammoniaque، acétate d'éthyle و méthanol.

تشابهت الأعراض السريرية بعد عملية معالجة إناث جرذان Albinos Wistar بجرعة 60 مغ/كلغ من القلويدات الكلية في ظروف دراسة السمية الحادة و بجرعة 50 مغ/كلغ في ظروف دراسة السمية شبه الحادة بمسلك إعطاء تحت صفاقي و المتمثلة في الارتعاش الشديد و انتفاش الشعر و شلل في الحركة مع عدم قدرة الجرذان على الوقوف على القائمتين الخلفيتين و تجمعها في زاوية من زوايا الأقفاص و انخفاض نشاطها العام

بالإضافة إلى انتفاخ الجزء البطني للجرذان المعالجة و تسجيل حالات وفاة بعد 14 يوم من بداية المعالجة في السمية شبه الحادة.

نسبت حالة الارتعاش و انتفاش الشعر في دراسة السمية الحادة و شبه الحادة للباحث Muhi-Eldeen و رفقائه (2008) للمستخلص المائي لنبتة الحرمل على جرذان Albinos Wistar إلى تحريض القلويدات للجهاز العصبي المركزي، كما بينت نتائج دراسة التأثير المثبط لمادة caffeine لحالة التوتر المحدثة بواسطة مركب harmaline دور هذا الأخير في توليد حالة رعاش حادة نتيجة ارتباطه بمستقبلات الناقل العصبي sérotonine على مستوى الجهاز العصبي المركزي، مع العلم أن sérotonine يتدخل في تنظيم العديد من الوظائف الفيزيولوجية بما في ذلك تنظيم النشاطية و التوتر و تنظيم درجة حرارة الجسم (Al- Deeb *et al.*, 2002).

قد يرجع تجمع الجرذان في زاوية الأقفاص إلى انخفاض الحرارة و ذلك استنادا إلى نتائج دراسة عبد الفتاح محمد و رفقائه (1995) على جرذان Albinos Wistar، التي بينت تأثير مستخلص القلويدات الكلية لبذور نبتة الحرمل في خفض درجة حرارة الجسم من خلال ارتباط قلويدي harmine و harmaline بمستقبلات sérotonine من نوع $5\text{-}HT_{2A}$ في الجهاز العصبي المركزي و خاصة في منطقة hypothalamus وتنشيطها. لوحظت نفس الأعراض السريرية من زيادة النشاطية و الارتجاف العضلات في نتائج الحقن داخل الوريدي للماشية لكل من harmine وharmaline بتركيز 9 مغ/كلغ، كما بينت نتائج بعض الدراسات حول التأثيرات السمية لقلويدات نبتة الحرمل على الجهاز العصبي إحداث اضطرابات حركية و خمول و إنهاك و عدم القدرة على الوقوف، زيادة وتيرة التنفس و تغير في درجة الحرارة إثر التسمم العشوائي للحيوانات الأليفة بهذه النبتة (Mahmoudian *et al.*, 2002).

قد يرجع موت الجرذان في المجموعة المعالجة لمدة 4 أسابيع في ظروف السمية شبه الحادة بجرعة 50 مغ/كلغ ابتداء من اليوم الرابع عشر من بداية التجربة إلى أن الجرعة المستعملة (50 مغ/كلغ) كبيرة نوعا ما فالغرض من التجربة تحديد العضو المستهدف دون موت الجرذان.

يمكن من خلال اختبار الحقل المكشوف للجرذان تقييم كل من قدرة الحيوان على الاكتشاف و الحركة في مدة 3 دقائق، حيث تعكس عدد الثغور التي يقوم بها الحالة الذهنية و عدد المربعات التي يجتازها الجانب الحركي بعد عملية المعالجة (kanyonga *et al.*, 2009).

أظهرت دراسة سلوك الجرذان باستعمال اختبار الحقل المكشوف في ظروف السمية الحادة ارتفاعا معنويا في عدد الثغور المكتشفة لدى إناث الجرذان في المجموعتين المعالجة و المقتولة بعد 24 ساعة و 5 أيام مقارنة بالمجموعة الشاهدة، في حين تميز معدلي عدد مرات الوقوف و عدد مرات التنظيف بانخفاض معنوي في مجموعة

إناث الجرذان المعالجة و المقتولة بعد 5 أيام مقارنة بالمجموعة المعالجة و المقتولة بعد 24 ساعة. لم يلاحظ أي تغير معنوي في معدل عدد المربعات المجتازة.

ارتفع في دراستنا معدل الثغور المكتشفة دون عدد المربعات المجتازة مقارنة بالنتائج المتحصل عليها من دراسة Kanyonga و رفقائه (2009) لمادة picrotoxin على سلوك الجرذان، حيث أدت (picrotoxin) إلى خفض عدد الثغور المكتشفة و المربعات المجتازة و اعتبرت مادة مهدئة. يمكن في هذه الحالة القول أن مستخلص القلويدات الكلية لنبتة الحرمل أدى إلى خمول و خفض النشاط العام للجرذان المعالجة من خلال خفض عدد مرات الوقوف و عدد مرات التنظيف و بالتالي اعتبار القلويدات الكلية مواد مهدئة نظرا إلى امكانية هذه الأخيرة للارتباط بمستقبلات benzodiazépine على مستوي الجهاز العصبي المركزي و خفض نشاطه (Molero *et al.*, 1995).

يرجع ارتفاع معدل الثغور المكتشفة أساسا إلى الحالة الذهنية المضطربة للجرذان المعالجة حيث لوحظ خلال زمن التجربة أن الجرذان تعيد اكتشاف الثغور مرتين أو أكثر و هذا يدل على تأثير القلويدات الكلية على ذاكرتها و مدى تعلمها استنادا إلى ما بينته نتائج دراسة Nasehi و رفقائه (2010) من تآثر القلويدات مع نظام dopamine المركزي المسئول عن الذاكرة و التعلم. هذا التآثر يضعف ذاكرة الجرذان المعالجة مؤقتا و يؤدي إلى اضطراب وظيفة التعلم لديها من خلال ارتباطها كمنافسات لمستقبلات dopamine المركزية من النوع D_1 و D_2 و sérotonine و benzodiazépine.

يعكس التغير في الوزن المكتسب للحيوانات التجريبية و كتلة الأعضاء في دراسة سمية مادة ما الحالة الفيزيولوجية و المرضية للحيوان، و يعد مؤشر واضح و دقيق للتأثير السمي لبعض الأدوية و المواد الضارة، بالإضافة إلى أن الكتلة النسبية للأعضاء تعد مؤشر جوهري في تشخيص العضو المستهدف من طرف المادة السامة (Carol, 1995؛Mukhtar *et al.*,2013). يعتبر كل من القلب و الكبد و الرئتين و الكليتين و الطحال الأعضاء المستهدفة و الأكثر تضررا من تفاعلات استقلاب المواد السامة (Dybing *et al.*,2002).

سجلنا في دراستنا ارتفاع في الوزن المكتسب للجرذان المعالجة في ظروف السمية الحادة للمجموعة المعالجة و المقتولة بعد 5 أيام بمستخلص القلويدات الكلية لنبتة *Peganum harmala* بجرعة 60 مغ/ كلغ إلا أنه يعد وزن مكتسب منخفض مقارنة بالمجموعة الشاهدة، في حين انخفض وزن الجرذان المعالجة في ظروف دراسة السمية شبه الحادة بشكل غير معنوي خلال الأسبوعين الأول و الثاني ثم ارتفع مجددا بشكل تدريجي خلال الأسبوع الثالث و ذلك مقارنة بالمجموعة الشاهدة أيضا.

لم يلاحظ بعد عملية قتل و تشريح الجرذان أي تغير في شكل و حجم الأعضاء، أما فيما يتعلق بالكتلة النسبية للأعضاء فقد شهدت الكتلة النسبية للكبد انخفاض معنوي في المجموعة المعالجة (مجموعة 5 أيام) مقارنة بالمجموعة الشاهدة و المجموعة المعالجة و المقتولة بعد 24 ساعة في ظروف السمية الحادة. ارتفعت الكتلة النسبية للدماغ عند جرذان المجموعة المعالجة و المقتولة بعد 5 أيام و انخفضت في ظروف دراسة السمية شبه الحادة في حين لم تتغير الكتلة النسبية للأعضاء المتبقية.

بينت نتائج دراسة الباحث Zuhair و رفقائه (2008) للسمية الحادة و شبه الحادة للمحلول المائي لنبتة *Peganum harmala* عدم تغير في وزن الجرذان من نوع Albinos Wistar المعالجة بجرعة 420 مغ/ كلغ، 210 مغ/ كلغ و 105 مغ/ كلغ لمدة 6 أسابيع. قد يرجع انخفاض وزن الجرذان في السمية شبه الحادة و استنادا إلى ما بينته نتائج دراسة Ahmad و رفقائه (2013) على الأرانب المعالجة بالمحلول المائي و محلول chloroforme لأزهار نبتة *Peganum harmala* إلى احتواء النبتة على مكونات كيميائية أثرت على نشاط الغدة الدرقية، التي تلعب دورا مهما في عملية استقلاب البروتينات، الدهون و الكربوهيدرات و كبح شهية الجرذان للغذاء (Jothy *et al.*, 2011). يمكن أن يرجع انخفاض الوزن المكتسب إثر التسمم بنبتة *Peganum harmala* إلى تأثير القلويدات على الجهاز العصبي المركزي (Brunton *et al.*,2005).

يعد الكبد عضو الاستقلاب الأول للأغذية و المواد الخارجية السامة الممتصة من طرف المعدة و الأمعاء نظرا إلى غنى خلاياه بإنزيمات الاستقلاب و التحويل الحيوي، و ينتج عن تضرره تسرب محتوي الخلايا التالفة إلى الدم، كما يعد العضو الأكثر قابلية للتضرر بهذه المواد لكونه أول عضو في مسار المواد السامة (Nakagawa *et al.*, 2010؛ Atici *et al.*,2005؛ Atici *et al.*,2005).

تغير الكتلة النسبية للكبد في دراستنا يبين أنه العضو المستهدف من طرف مستخلص القلويدات الكلية لبذور نبتة *Peganum harmala* و ذلك استنادا إلى نتائج دراسة Nakagawa و رفقائه (2010) لتأثير قلويدي harmine و harmamline على خلايا كبدية للجرذان مخبريا من خلال تثبيط النشاط الفيزيولوجي للميتوكوندريا في إنتاج الطاقة، الذي يؤدي إلى انحلالها. لم يلاحظ زيادة الكتلة النسبية للكبد في ظروف دراسة السمية شبه الحادة رغم وجود انتفاخ موضعي للخلايا الكبدية (ballonnement) في المقاطع النسيجية للكبد و التي قد تؤدي إلى زيادة حجم الكبد ككل (hypertrophie) و هذا عكس ما بينته نتائج دراسة محمد و رفقائه (2013) للمستخلص الكحولي لبذور نبتة الحرمل على الفئران. أظهرت المقاطع النسيجية للدماغ وجود œdème بكثافة و التي من شأنها أن تزيد من الوزن المطلق للدماغ. قد ترجع زيادة الكتلة النسبية للدماغ و تشكل œdème

إلى تتراكم قلويدات β-Carboline على مستوى الدماغ و التأثير على نفاذية الأغشية، كما يمكن أن تؤثر œdème المتشكلة على السلوك و القدرات الذهنية للجرذان.

يستعمل الدم بشكل واسع في تحديد مختلف التغيرات الفيزيولوجية و المرضية للحيوان التجريبي من خلال التحليل البيوكيميائي لنشاطية بعض الانزيمات و العوامل الدموية، التي تعد مؤشرات حساسة و دقيقة في معرفة الحالة الصحية بعد ظهور الأعراض السريرية و يعتمد على نتائج تحليل هذه المؤشرات في فهم النظام المحتمل للتأثير السمي، حيث تمثل نشاطية انزيمات كل من ALAT، ASAT و PAL في البلازما أو المصل مؤشر لتضرر الأنسجة و تمزق الخلايا الكبدية (Saravanan *et al.*, 2011 ؛Kubrak *et al.*, 2013 ؛Xue *et al.*, 2014). يتواجد انزيم ALAT في سيتوبلازم الخلايا الكبدية فقط و يتم افرازه في الدم في حالة واحدة نتيجة تلف الخلايا الكبدية؛ أي أنه المؤشر الحاسم في تقدير سمية الكبد، كما يعتبر ASAT أيضا مؤشر لضرر الكبد إلا أنه يمكن ايجاده في القلب و الرئتين و العضلات الهيكلية و الكليتين و ارتفاع كل من ALAT و ASAT في المصل يعدان مؤشر لتلف الكبد (Atici *et al.*, 2005 ؛Gome *et al.*, 2011).

ارتفعت نشاطية انزيم ASAT بشكل طفيف بعد 24 ساعة للجرذان المعالجة بجرعة 60 مغ/ كلغ في ظروف دراسة السمية الحادة ثم سجلت انخفاضا بعد 5 أيام مقارنة بالمجموعة الشاهدة، كما انخفضت نشاطيته أيضا في ظروف دراسة السمية شبه الحادة بجرعة 50 مغ/كلغ، في حين استمرت نشاطية انزيم ALAT بالانخفاض بعد 24 ساعة و إلى غاية اليوم الخامس من المعالجة و لم تشهد نشاطيته في ظروف دراسة السمية شبه الحادة أي تغير. ارتفعت نشاطية انزيم PAL في 24 ساعة الأولى ثم انخفضت بعد 5 أيام من المعالجة و لم تبدي أي تغير في ظروف دراسة السمية شبه الحادة.

لم تظهر نتائج التحليل البيوكيميائي للعوامل المصلية للباحث Zuhair و رفقائه (2008) في دراسة سمية المستخلص المائي لنبتة الحرمل على الأرانب أي تغير في نشاطية الانزيمات مقارنة بالنتائج المتحصل عليها في دراستنا لسمية المستخلص الكلي للقلويدات في بذور نبتة الحرمل، في حين تشابهت نتائجنا مع نتائج دراسة Shima و رفقائه (2011) للسمية الحادة لمركب methamphetamine و الذي يتميز بنفس الخصائص التأثيرية على المستوى الفيزيولوجي حيث أدى إلى ارتفاع في نشاطية ASAT دون ALAT المنسوبة إلى تلف أنسجة القلب و العضلات الهيكلية دون ضرر الكبد.

يمكن أن ينسب ارتفاع نشاطية كل من ASAT و PAL بعد 24 ساعة من المعالجة إلى ضرر الكبد ثم انخفاضها بعد 5 أيام إلى اصلاح و ترميم الكبد للخلايا التالفة و ذلك استنادا إلى أن الكبد يمكنه استعادة نشاطه العادي بعد 5 أيام من السمية الحادة بمادة ما (Szymanowicz et Danel, 2005).

لم تتغير نشاطية انزيم ALAT في السمية الحادة و شبه الحادة مقارنة بالمجموعة الشاهدة و يمكن أن يفسر ذلك بقدرة قلويدات الحرمل على زيادة حماية الخلايا الكبدية و منع تلفها استنادا إلى ما توصل إليه Khaled و رفقائه (2008) بعد معالجة الخلايا الكبدية بمادة thioura المسرطنة و تتبع نشاطية كل من ALAT، ASAT و bilirubine في الدم التي شهدت انخفاض معنوي لها بعد المعالجة بالمستخلص المائي و مستخلص chloroforme لنبتة الحرمل (Asgarpanah et Ramezanloo, 2012) و هذا ما أكدته نتائج دراسة Diwan (2013) أيضا.

تعكس معدلات البروتينات الكلية و جزيئات bilirubine المرتبطة و الكلية في المصل و العوامل الدموية من الهيموغلوبين و الهيماتوكريت و كريات الدم الحمراء الحالة الوظيفية للتخليق الحيوي للكبد و تعكس كريات الدم البيضاء الاستجابات المناعية (Saravanan *et al.*, 2011 ; Jothy *et al.*, 2011).

انخفض معدل البروتينات الكلية في المصل بعد 24 ساعة من المعالجة، ثم ارتفع مجددا في اليوم الخامس في حين لم يتغير معدله في دراسة السمية شبه الحادة. انخفض معدل bilirubine المرتبطة في اليوم الأول و إلى غاية اليوم الخامس في السمية الحادة دون أن يشهد تغير في السمية شبه الحادة و صاحب انخفاض معدل جزيئات bilirubine المرتبطة ارتفاع في معدل جزيئات bilirubine الكلية في السمية الحادة و انخفاض معدلها في السمية شبه الحادة.

قد يرجع ارتفاع المحتوي المصلي للبروتينات الكلية بعد 5 أيام من المعالجة إلى زيادة وتيرة تخليقها من أجل التأقلم مع حالة التوتر الناتجة و زيادة إفرازها إلى الدم لترميم الضرر في الأنسجة الأخرى (Kubrak *et al.*, 2013؛ Saravanan *et al.*, 2011)، أما تزامن ارتفاع معدل جزيئات bilirubine الكلية في السمية الحادة مع انخفاض معدل جزيئات bilirubine المرتبطة فقد يرجع إلى تثبيط انزيمات عمليات الضم في الخلايا الكبدية، و التي تعد مرحلة مهمة في عملية اقصاء المستقلبات النهائية (Xue *et al.*, 2014؛ El Gendy *et al.*, 2012). يمكن أن ترجع زيادة نشاطية انزيم PAL في اليوم الأول من المعالجة ثم رجوعها إلى الحالة العادية في اليوم الخامس إلى حدوث انسداد على مستوي القنوات المسؤولة عن طرح الصفراء (Harrill *et al.*,2014).

يستعمل تركيز جزيئات créatine و urée في المصل في تقدير الحالة الفيزيولوجية لعملية الترشيح للوحدة الوظيفية في الكلية (néphron) (Xue *et al.*, 2014؛ Yuan *et al.*, 2014؛ Shima *et al.*, 2011).

ارتفع معدل urée في مصل الجرذان في ظروف دراسة السمية الحادة و شبه الحادة في حين أن معدل كل من glucose و créatinine لم يشهد أي تغير. يمكن أن يرجع ارتفاع urée إلى تضرر النفرون على مستوى الكلية من خلال انكماش عدد من وحدات الترشيح للأنسجة الكلوية (atrophie) و هذا ما بينته نتائج Mohamed

و رفقائه (2013) في الدراسة النسيجية لكلية فئران معالجة بمستخلص كحولي لنبتة الحرمل، حيث بينت نقص و انكماش في حجم الكبيبة المسؤولة عن الترشيح و تلف (nécrose) على مستوى خلايا الأنيبيب القريب و البعيد في الكلية في حين بينت نتائج Diwan (2013) في دراسة التأثير السمي لمادة MTX على الكلية قدرة قلويدات الحرمل على حماية الأنسجة الكلوية.

بينت نتائج تحليل العوامل الدموية ارتفاع معدل GR و معدل HCT في اليوم الخامس من المعالجة في ظروف دراسة السمية الحادة و انخفض معدلي GR و HCT في ظروف دراسة السمية شبه الحادة ، و ارتفع معدل HGB في اليوم الخامس في إطار السمية الحادة و ارتفع معدله في إطار السمية شبه الحادة. انخفض معدل كريات الدم البيضاء GB في المجموعة المعالجة في ظروف السمية شبه الحادة دون أن يشهد تغير في إطار السمية الحادة.

يمكن أن ينسب انخفاض معدل GR و HCT في الدراسة السمية شبه الحادة إلى تحلل GR بسبب التآثر المباشر لقلويدات الحرمل أو مستقلباتها مع مكونات أغشيتها، مما يؤدي إلى اضطراب نفاذيتها التي قد تؤدي إلى انحلالها و ذلك استنادا إلى نتائج دراسة Mahdeb و رفقائها (2013) على كريات الدم الحمراء لبعض الحيوانات الأليفة و هذا ما أكده Ahmad و رفقائه (2013) و Saravanan و رفقائه (2011). قد يعود ارتفاع معدل GR و الهيموغلوبين و HCT في اليوم الخامس إلى زيادة معدل تخليق GR في الطحال و ربما الكبد لزيادة كمية O_2 مما يؤدي إلى زيادة انتاج الطاقة الخلوية الضرورية لترميم الأضرار الناتجة عن تأثير قلويدات الحرمل أو مستقلباتها على الأنسجة المحيطية أو انتفاخ كريات الدم الحمراء بعد حالة التوتر الحاصلة أو إفراز كريات دموية حمراء ضخمة في الدم نظرا إلى زيادة معدلي MCHC و MCH.

الخاتمة.

1. تعتبر نبتة *Peganum harmala.* L من النباتات السامة للإنسان و الحيوان لاحتوائها على القلويدات الإندولية من نوع β– Carboline.
2. تمثلت نتائج دراسة السمية الحادة لمستخلص القلويدات الكلية لبذور نبتة *Peganum harmala* في:
   - ✓ قيمة DL_{50} تساوي 69.34 مع/كلغ و تنتمي إلى المجال [59.06- 81.40].
   - ✓ تغير سلوك الجرذان المعالجة و الخاضعة إلى اختبار الحقل المكشوف يمكن يرجع إلى تفاعل القلويدات الكلية مع مستقبلات خاصة على مستوى الجهاز العصبي المركزي فيؤدي إلى تغيير الحالة السلوكية و الذهنية للجرذان، كما يمكن أن يرجع تغير سلوك الجرذان إلى الأذيمات المتشكلة.
   - ✓ ارتفعت نشاطية انزيم PAL و انخفضت نشاطية ASAT و نشاطية ALAT نظرا لضعف سمية القلويدات الكلية على الكبد.
   - ✓ ارتفع معدل urée في مصل الجرذان في حين لم يتغير معدل كل من glucose و créatinine مع نقص في حجم عدد من وحدات الترشيح (néphron).
   - ✓ ارتفع معدل HCT و معدل HGB و GR في اليوم الخامس من المعالجة يعزى إلى زيادة تخليق GR من أجل زيادة الطاقة الحيوية اللازمة للنشاط الفيزيولوجي.
3. تمثلت نتائج دراسة السمية شبه الحادة لمستخلص القلويدات الكلية لبذور نبتة *Peganum harmala* في:
   - ✓ لم تتغير نشاطية كل من ASAT و PAL و ALAT مما يبين ضعف سمية القلويدات الكلية على الكبد رغم وجود تلف موضعي في الأنسجة الكبدية.
   - ✓ ارتفع معدل urée في مصل الجرذان و لم يتغير معدل كل من glucose و créatinine مع نقص في حجم عدد من وحدات الترشيح (néphron).
   - ✓ انخفاض معدل GR و HCT و HGB الناتج عن تحلل كريات الدم الحمراء، كما انخفض معدل GB.
   - ✓ وجود أذيمات على مستوى أنسجة الدماغ.

المراجع

قائمة المراجع.

Abdel-Fattah Mohamed Abdel-Fattah, Kinzomatsumoto, Hatim Abdel-Khalik Gammaz, Hiroshi Watanabe. (1995). Hypothermic effect of harmala alkaloid in rats: involvement of serotonergic mechanism. *Phamacology, Biochemestry And Behavior* 52, 2: 421-426.

Abdul Hadi Sallal Mohamed, Sahar Mahmood Jawad Al- Jammali, Zainb Jawad Naki. (2013). Effect of repeated administration of Peganum harmala alcoholic extract on the liver and kidney in Albino mice: A histo-pathological study. *Journal of Scientific & Innovative Research*: 2, 3, 585-597

Airaksien M. M., Kari I. (1981). β-Carboline psychoactive compounds in the mammalian body. Part I: occurence, origine and metabolism. *Med Biol* 59: 21-34.

Alison Harrill A. H., John Eaddy S., Kelly Rose, John Cullen M., Lakshmi Ramanathan, Stephen Collins, Yu Ho, Paul Watkins B., Edward LeCluyse L., Stephen Wanaski. (2014). Liver biomarker and in vitro assessment confirm the hepatic origin of aminotransferase elevations lacking histopathological correlate in beagle dogs treated with GABA receptor antagonist NP260. *Toxicology and Applied Pharmacology* 277: 131-137.

Antov, **G., Zaikov, C., Bouzidi, A., Mitova, S., Michaelova, A., Halkova, J., Choumkov, N.** (1991). Biochemical and histological changes after acute oral poisoning with the acetanilide herbicide acetochlor. *Journal de toxicologie clinique et expérimentale*: 11, 349-356.

Arab Radhia. (2008). Effet insecticide des plantes melia azedarach l. et *Peganum Harmala* L. sue l'insecticide des céreales stochées tribolium castaneum herbest (coleoptera, tenebrionidae). mémoire, option de valorisation des ressourses végétales, universite Ferhat Abbas-Sétif. Pp: 20-22, 33-37.

Ayad Radia. (2008). Recherche et determination structurale des métabolites secondaires de l'espèce: zygophylum cornutum (zygophyllaceae). mémoire. option phytochimie, universite Ferhat Abbas-Sétif. Pp: 14-15.

Azizi A., Akbari- Javar H., Salehi M.H., Jalali N. (1998). Evaluation of toxic alkaloids of seeds of *Peganum harmala L.* as an abortion agent in pregnant rat. *Pathophysiologie* 5, 1: 94.

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

Bernard Boullard. (1997). Dictionnaire plantes et chompinons. Pp: 390.

Bernard Boullard. (2001). Plantes médicinales du monde réalités et croyances. Paris: Estem. Pp: 395.

Bouzidi A., Mahdeb N., Allouche L., Houcher B. (2002). Etudes épidémiologiques sur les plantes toxiques dans les régions de Sétif et Bordj Bou Arreridj. Algérie. *Bulletin d'information Toxicologique* 18: 5-10.

Bruneton Jean. (1999). Pharmacognosie phytochimie plantes médicinales. 3 éd. Paris: TEC & DOC. Pp. 973-783.

Bruneton Jean. (2001). Plantes toxiques végétaux dangeraux pour l'homme et les animaux. 2 éd. Paris: TEC & DOC. Pp: 529-534.

Bruneton Jean. (2002). Plantes toxiques végétaux dangereux pour l'homme et l'animaux.4 éd. Paris: TEC & DOC. Pp: 577-581.

Brunton L.L, Lazo J.S, Parker K. L. (2005). The pharmacological basis of therapeutics. 11 éd. McGraw-Hill companies. goodman & gilman's.

Buckholtz, N.S., Boggan W.O. (1977). Monoamine oxidase inhibition in brain and liver produced by beta-carbolines: structureactivity relationships and substrate specificity. *Biochemical Pharmacology* 26:1991-1996.

Charles Francois Brisseau De Mirbel, Nicolas Jolyclerc, Georges Louis Leclerc De Buffon (Conte), Charles Nicolas Sigisbert Sonnini De Manoncour. (1806). Histoire naturelle générale et particulière des plantes. (f. dufart) tome 18: 102-103.

Claus Braestrup, MogeNS Nielsent, Carl Erik Olsen Proc. (1980). Urinary and brain of β-carboline-3-carboxylates as potent inhibitors of brain benzodiazepine receptors. *Neurobiology* 77, 4: 2288-2292.

Colin Davidson, Daniel Brierley I. (2012). Developments in harmine pharmacology - implications for ayahuasca use and drug- dependence treatment. *Progress In Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* 39: 263-272.

David Troy B. (2000). The science and practice of pharmacy. Vol. 21. USA: Lippincott Williams & Wilkins. Pp: 510-511.

Elham Salari, Kamal Ahmadi, Reza Zamani Dehyaghobi, Amin Purhematy and Haji Mohammad Takalloozadeh. (2012). Toxic and repellent effect of harmal

(*Peganum harmala* l.) Acetonic extract on several aphids and *tribolium castaneum* (herbst). *CHILEAN JOURNAL OF AGRICULTURAL RESEARCH* 72, 1: 147-151.

El-Kadi, Mohamed El Gendy A. M., Ayman O. S. (2009). *Peganum Harmala* diffrentially modulates cytochrome P450 gene expression in human hepatoma Hepg 2 cells. *Drug Metabolism Letters* 3: 212-296.

Fereshteh Ramezanloo, Jinous Asgarpanah. (2012). Chemistry, pharmacology and medicinal properties of *Peganum harmala.L. African Journal of Pharmacy And Pharmacology* 6, 22: 1573-1580.

Ghao Wu, Xi- Ling Jiang, Hong_ Wu Shen, Ai- Miny Yu. (2009). Effects of CYT P4502D6 status on harmaline metabolism pharmacokinetics, pharmacodynamics and pharmacogenetics- based pharmacokinetics model. *Biochemical Pharmacology* 78: 617-624.

Giampietro Frison, Donato Favretto, Flavio Zancanaro, Giorgio Fazzin, Santo Davide Ferrara. (2008). A case of β- Carboline alkaloid intoxication following ingestion of *Peganum Harmala* seed extract. *Forensic Science International* 179: 37-43.

Guan Y., Louis E.D., Zheng W. (2001). Toxicokenitic trimono- genic natural products harmane and harnine in male sprague dawley rats. *Toxicol Environ Health* 64: 645-660.

Guiping Yuan , Shujun Dai, Zhongqiong Yin, Hongke Lu, Renyong Jia, Jiao Xu , Li Li, Yang Shu, Xinghong Zhao, Xu Song. (2014). Toxicological assessment of combined lead and cadmium: Acute and sub-chronic toxicity study in rats. *Food and Chemical Toxicology* 65: 260-268.

Hamden K. H., Masmoudi H. F., Ellouz Elfeki A., S. Carreau, (2008). Protective effects of *Peganum harmala* extracts on thiourea-induced diseases in adult male rat. *J. Environ. BioI* 29, 1: 73-77.

Hicham Berrougui, Carmen Martin-Cordero, Abdelouahed Khalil, Mohammed Hmamouchi, Abdelkader Ettaib, Elisa Marhuenda, Maria Dolores Herrera. (2006). Vasorelaxant effects of harmine and harmaline extracted from *Peganum Harmala L.seed's in isolated rat aorta.Pharmacological Research* 54: 150-157.

Humberto Spindola M., Dédora Vendramini-Costa B., Manoel Rodrigues J R T., Mary Foglio A., Ronaldo Pilli A.,Joao Carvalho E. (2012). The antinociceptive activity of harmacine on chemical-induced neurgenic and inflamatory pain models in mice. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 102: 133- 138.

Jahier J., Chevrea. M., Eberf., Delourmer., Tanguya. M. Téchniques de cytogénetique végétale.2 éd. Paris: INRA. Pp: 5-13.

Jean Bruneton. (2002). Plantes toxiques végétaux dangereux pour l'homme et l'animaux. 3 éd. Paris: TEC & DOC. Pp: 577-581.

Jochen Beyer Olfa Drummer H.,Hans Maurer H. (2009). Analysis of toxic alkaloids in body samples. *Forensic Science International* 185: 1-9.

Kanyonga P. M., Faouzi M. Y. A., Zellou A., Essassi M. E., Cherrah Y. (2009). Evaluation de l'activité anxiolytique de la 4-phenyl-1,5-benzodiazepin-2-one. *Int. J. Biol. Chem. Sci* 3, 4: 646-652.

Kartal M., Altun M.L. Kurucu S. (2003). HPLC method for the analysis of harmol, harmalol, harmine and harmaline in the seeds of *Peganum harmala* L. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 31: 263-269.

Katrinia Rindsberg, Steve Endrews. (2010). Herbs of the northern shaman. guide to mind-altering plantes of northern hemisphere. 2 éd. U.K: du boeck. Pp: 114-116.

Khaled H. K, Masmoudi H, Ellouz F, El-Feki A, Carreau S. (2008). Protective effects of *Peganum harmala* extracts on thiourea-induced diseases in adult male rat. *J. Environ. Biol* 29,1: 73-77.

Khinkova, L. (1985). Système nerveux méthodes physiologiques. IN : Kalayanova, F. Toxicologie hygiénique. Medicina i fiskoultoura, Sofia.

Kim H., Sablin S.O., Ramsay R.R. (1997). Inhibition of monoamine oxidase A by beta-carboline derivative. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 337: 137-142.

Kothe Hans W. (2007). 1000 plantes aromatiques et médicinales. Paris: Terres. Pp: 229.

Kubitzki Kalaus. (2011). The famillies and genera of vascular plants. Vol. X(5). Germany: DIO. Pp: 417-431.

Kurt, R. 1971. Chromatographie sur couches minces, 2 éd. Paris. Gauthiers Villars.

Lamchouri F., settaf A., cherrah Y., EL- hamadi m., tligui N., lyoussi B., hassar M. (2002). Experimental toxicity of peganum harmala seeds. *Ann. Pharm. Fr* 60: 123-129.

Lamchouri F., Settaf A., Cherrah Y., Hassar M., Zemzemi M., Atif N., Nadori E. B., Lyoussi B.,. (2000). In Vitro cell toxicity of Peganum Harmala alkaloids on cancerous cell- lines. *Phytotherapia* 71: 50-54.

Li-Ming Xue, Qiao-Yan Zhang, Ping Han, Yi-Ping Jiang, Rong-Di Yan ,Khalid Rahman, Min Jia, Ting Han, Lu-Ping Qin, Yang Wang. (2014). Hepatotoxic

constituents and toxicological mechanism of *Xanthium strumarium* L. fruits. *Ethno-pharmacology* 152: 272-282.

l**ucienne Bézanger-Beauquesne, Madeleine Pinkas, Monique Torck, Francis Trotin.** (1980). Plantes médicinales des régions tempérées. Paris: Maloine S.A. Pp: 156-223.

Maeda Mohammad H., Hussam Edenm. Kadhum, Zaid Abdelmuniam Ali. (2010). Cytotoxiceffect of *Peganum Harmal*. L extract and induction of apoptosis on canceous cell line. *Iraq Journal of Cancer and Medicinal Genetics* 3, 1: 11-16.

Mahammad Nasehi, Morteza Piri, Mojgan Abdollahian, Mohammad Reza Zarrindast. (2012). Involvement of nitrergic system of CA1 in harmane induced learning and memory deficits. *Physiology & Behavior* xxx: xxx-xxx.

Mahammad Nasehi, Morteza Piri,Maryam Nouri, Davood Farzin, Touraj Nayer-Nouri, Mohammad Reza Zarrindast. (2010). Involvement of dopamine D1/D2 receptors on harmane- induced amnesia in the step- down passive avoidance test. *European Journal of Pharmacology* 634: 77-83.

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

Mahmoudian Massoud, Hossin Jalilpour, Pirooz Salehian. (2002). Toxicity of *Peganume Harmala*: review and case report. *Iranan Journal of Pharmacology & Therapeutics* 1, 1: 1-4

Maria Luisa Molero, Maria José Hazen, Ina Isabel Pérez Gorrono, Juan Carlos Stockert. (1995). simple β- carboline alkaloids as nucleic acids fluorochromes. *Acta Histochemie* 97: 165- 173.

Maya E. H., Chebli B., Sotah Rouch, Rouchi R., Idrissi Hassani L.M. (2003). optimisation de la germination et suivi des principaux métabolites secondaires au cours du développement chez *Peganum Harmala.* L (zygophyllaceae). *Biologie et Santé* 3, 1: 182- 189.

Michel Bleu Gome, Koffi Kouakou, Alassane Toure, Flavien Traore. (2011). Etude de la toxicité aiguë et subchronique de l'extrait aqueux de *Passiflora Foetida*. L (Passifloraceae) chez les rats et les souris. *Int. J. Biol. Chem. Sci*: 5, 5, 1777-1789.

Mohamed EL- Gendy A. M., Anatory Soshilov A., Michael Denison S., Ayman EL-Kadi O.S. (2012). Transcriptional and posttranslation of dioxin- mediated

induction of CYP 1A1 by harmine and harmol. *Toxicology Letters* 208: 51-61.

Mohammed Mirzaie, Seyyed Jafar Nosratabadi, Amin Dera Khshan Far, Iraj Sharifi. (2007). Antileishmanial activity of *peganum harmala* extract on the in vitro groth of leishmania major promastigotes in comparison to a trivalent antimony drug. *Veterinarski Arhiv* 77, 4: 365-375.

Movafeghi A. M., Abedini F., Fathiazad M., Alisgh arpour, Omidi Y., (2009). Floral nectar composition of *Peganum harmala.* L. *Nat. Prod. Res* 23, 3: 301-308.

Mukhtar Ahmad, Muhammad Ashraf, Muhammad Sarwar Khan, Aqeel Javeed, Aneela Zameer Durrani, Muti-Ur-Rehman Khan, Imra Altaf, Muhammad Ijaz And Naeen Akram Malik. (2013). Toxic effecs of chloroform and aqueous extracts of peganum harmala on hematological and growth parameters in rabbits. *Pakistan j* 45, 4: 989-995.

Mukhtar Ahmad, Muhammad Ashraf, Muhammad Sarwar, Aqeel javeed, Aneela Zameer Durrani, Muti-Ur-Rhaman Khan, Imranaltaf, Muhammad Ijaz Etnaeemakrammalik. (2013). Toxic effects of chloroform and aqueous extracts of PeganumHarmala on hematological and growth parameters in rabbits. *Pakistan J. zool* 45, 4:989-995.

Neha Goel, Narender Singh, Raman Saini. (2009). Efficient in vitro multiplication of syrian (*Peganum Harmala.* L) using 6- benzyl-aminopurine preconditioned seedling explants. *Nature et Science* 7, 7: 129-134.

Nenaah Gomah. (2010). Antibacterial and antifungal activities of (Beta) β- Carboline alkaloids of *Peganum Harmala (L)* seeds and their combination effects. *Fitoterapia* 81: 779-782.

Nicholas Cossi V., Anupama Gopalakrishnan, Lyndsey Anderson L., Joel Feihi T., Alexander Shulgin T., Paul Daley F., Arnold Ruoho E.. (2009). Dimethyl-tryptamines exhibit substrate behavior at the serotonin uptake transporter and the vesicle monoamine transporter. ***Neural transm* 116: 1591-1599.**

Nikam T. D., Nitraware K. M., Ahiere M.L. (2013). Alkaloids derived from tryptophan: harmine and related alkaloids. *Natural Products* 553- 569.

Noriaki Shima, Izuru Miyawaki, Kiyoko Bando, Hiroshi Horie, Kei Zaitsu Takeshi Bamba, Hitoshi Tsuchihashi, Eiichiro Fukusaki, Munehiro Katagi. (2011). Influences of methamphetamine- induced acute intoxication and plasma metabolic profiles in the rat on urinary. *Toxicology* 28, 7: 29-37.

Olga Kubrak I., Tetiana Atamaniuk M., Kenneth Storey B., Volodymyr Lushchak I. (2013). Goldfish can recover after short-term exposure to 2,4 dichlorophenoxy acetate: Use of blood parameters as vital biomarkers. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C* 157: 259-265.

Onur Koyuncu, Dervis Ozturk, Ismuhan Potoglu Erkara, Ayse Kaplan. (2008). Anatomical and palynological studies on economically important *Peganum Harmala. L* (zygophylaceae). *Biological Diversity and Conservation* 1, 1: 108-115.

Patel K., Gadewar M., Tripathi R., Prasad S. K, Dinesh Kumar Patel. (2012). A review on medicinal importance, pharmacological activity and bioanalytical aspect of beta- carboline alkaloid * harmine*. *Asian Pacific Journal Of Tropical Biomedicinale* 660-664.

Paul M. Dewick. (2002). Medicinal Natural Products, A Biosynthetic Approach. 2 éd. India: Congress. Pp. 149

Ruhallah Yousefi, Fatemeh Ghaffarifar, Abdolhosein Dalimi Asl. (2009). The Effect of Alkanna tincturia and Peganum harmala Extracts on Leishmania major (MRHO/IR/75/ER) in vitro Iranian. *J Parasitol* 4, 1: 40-47

Saddam Yahya Diwan. (2013). Effect of *Peganum Harmala* Methanol Extract on Liver and Kidney of Mice Administered MTX Drug. *Journal of Al-Nahrain University* 164: 161-166.

Sahel Al-Deeb, Khalaf Almoutaery, Mohammed Arshaduddin, Nabil Biary, Mohammed Tariq. (2002). Effect of acute caffeine on severity of harmaline induced tremor in rats. *Neuroscience Letters* 325: 216-218.

Santos Rafael Guimaraes Dos. (2011). Ayahuasca: Physiological and subjective effects comparison with D. amphetamine and repeated dose assessment . Mémoire. Universite Autonoma de Barcelona. Pp. 15-28

Saravanan M., Prabhu Kumar K., Ramesh M. (2011). Haematological and biochemical responses of freshwater teleost fish Cyprinus carpio (Actinopterygii: Cypriniformes) during acute and chronic sublethal exposure to lindane . *Pesticide Biochemistry and Physiology* 100: 206-211.

Sebnem Atici, Ismail Cinel, Leyla Cinel, Nurcan Doruk, Gulcin Eskandari, Ugur Oral. (**2005**). Liver and kidney toxicity in chronic use of opioids: An experimental long term treatment model. *J. Biosci. Sciences* 30, 2: 245–252.

Sharma Akhilesh, Mayank Swaroop Sharma, Anurag Mishra, Sanjay Sharma, Brijesh Kumar, Anil Bhandari. (2011). A review on thar plants used in liver diseases. *IJRPC* 1, 2: 224-236.

Subramanion Jothy L., Zuraini Zakaria, Yeng Chen, Yee Ling Lau, Lachimanan Yoga Latha, Sreenivasan Sasidharan. (2011). Acute oral toxicity of methanolic extract of cassia fistula in mice. *Molecules* 16: 5286-5282.

Szymanowicz A., Danel V. (2005). Bio marqueurs de toxicité dans les principales intoxications graves Toxicological biomarkers in acute intoxications. *Immuno-analyse & Biologie spécialisée* 20: 144-160.

Ting Zhao, Shan-Song Zheng, Bin Feng Zhang, Yuan-Tao Wang. (2012). Metabolic pathways of psychotropic β-Carboline alkaloids harmaline and harmine by liquid chromatography/ mass spectrometry and NMR spectroscopy. *Food Chemistry* 134: 1096-1105.

Victor Preedy R., Ronald Ross Watson, Vinood Patel B. (2011). Nuts and seeds in health and disease prevention, 1 éd; chapter 70 and 71. USA: DOI. Pp: 585-599, 601-608.

Vlado Matevski, Andraz Carni, Mitko Kostadinovski, Petra Kosir, Urban Silk, Igor Zelnic. (2008). Flora and vegetation of the macedonia steppe. Ljubljana. Pp: 80-82.

Walid Qazan S. (2009)**.** The Effect of Low Levels of Dietary *Peganum harmala* L. and *Ballota undulata* or Their Mixture on Chicks. *Journal of Animal and Veterinary Advances* 8, 8: 1535-1538.

Yoshio Nakagawa, Toshimri Suzuki, Hidemi Ishii, Aki Ogata, Dai Nakae. (2010). Mitochondrial dysfonction and biotranformation of β- carboline alkaloids, harmine and harmaline on isolated rat hepatocytes. *Chemico- Biological Intrection* 188: 393-403.

Zuhair Muhi-Eldeen, Kassim J. Al-Shamma, Tawfik M. Al-Hussainy, Alham N. Al-Kaissi, Ali M. Al-Daraji, Hassan Ibrahim. (2008). Acute toxicological studies on the extract of iraqi peganum harmala in rats. *European J of Scientific Research* 22: 4, 494-500.

Zvia Shapira, Terkel J., Egozi Y., Nyska A., Friedman J. (1989). Abortifacient potential for the epigeal parts of Peganum Harmala. *Ethnopharmacology* 27: 319-325.

Résumé.

Peganum harmala est une plante toxique appartenant à la famille de Zygophyllaceae. Sa toxicité est due aux alcaloïdes indoliques de type β-Carbolines.

L'étude de la toxicité aigüe des alcaloïdes totaux des graines de la plante *Peganum harmala* a permis de déterminer la DL_{50} chez les rats femelles d'Albinos Wistar estimée 69.34 mg/kg.

L'étude de la toxicité aigüe chez les rats traités avec les alcaloïdes totaux des graines de *Peganum harmala* par voie intra-péritonéale, et par simple application avec la dose de 60 mg/kg a montré des symptômes cliniques lourds, des modifications dans les masses relatives du foie et du cerveau après le 5ème jour du traitement. Les paramètres sériques liés à la structure et à la fonction hépatique et rénale ont enregistré une augmentation significative de PAL, de la bilirubine totale et une diminution significative de la bilirubine conjuguée après le 1ier jour et se normalisent après le 5ème jour du traitement et une augmentation significative des protéines totales, diminution significative d'ASAT et ALAT après le 5ème jour et une augmentation significative de l'urée après le 5ème jour du traitement respectivement. Le comportement des rats soumis au test de la planche à trous, a enregistré une augmentation significative de l'exploration des trous après le 5ème jour chez les rats traités. Les paramètres hématologiques tels que l'hématocrite, hémoglobine et les érythrocytes ont enregistré une élévation significative au 5ème jour des animaux traités.

L'étude de la toxicité subaigüe chez les rats traités avec les alcaloïdes totaux des graines de *Peganum harmala* par voie intra-péritonéale avec la dose de 50 mg/kg pendant 4 semaines a montré des symptômes cliniques lourds, des cas de létalité ont été enregistrés chez les animaux rats traités et des changements dans les masses relatives du cerveau. Les paramètres sériques liés à la structure et à la fonction hépatique et rénale ont enregistrée une diminution significative de l'ASAT et de la bilirubine totale et une augmentation significative de l'urée respectivement. Les paramètres hématologiques tels que l'hématocrite, hémoglobine et les érythrocytes ont enregistré une diminution significative chez les animaux traités.

Les coupes histologiques des organes du foie, du rein et du cerveau ont montré des nécroses localisées, des congestions sanguines, des atrophies glomérulaires limitées et des œdèmes respectivement dans les conditions de la toxicité aigüe et subaigüe.

Mots clés : *Peganum harmala***,** alcaloïdes, toxicité, rat, comportement.

الملخص.

تعتبر نبتة *Peganum harmala* من النباتات السامة، تنتمي إلى عائلة Zygophyllaceae. ترجع سمية نبتة *Peganum harmala* إلى احتوائها على القلويدات الإندولية من نوع β-Carbolines.

سمحت دراسة السمية الحادة لمستخلص القلويدات الكلية لبذور نبتة *Peganum harmala* على إناث جرذان Albinos Wistar بتحديد قيمة DL_{50} و قدرت ب 69.34 مغ/كلغ.

بينت دراسة السمية الحادة لمستخلص القلويدات الكلية لبذور نبتة *Peganum harmala* على إناث الجرذان المعالجة بجرعة 60 مغ/كلغ و بمسلك إعطاء تحت صفاقي ظهور أعراض سريرة حادة و تغير في الكتلة النسبية للكبد و الدماغ بعد اليوم الخامس من المعالجة. بينت دراسة العوامل البيوكيميائية التي تعكس الهيئة و الحالة الوظيفية للكبد و الكلية ارتفاع معنوي في نشاطية PAL و bilirubine الكلية و انخفاض معنوي في تركيز bilirubine المرتبطة في اليوم الأول ثم رجعت إلى الحالة العادية في اليوم الخامس و ارتفاع معنوي في تركيز البروتينات الكلية في اليوم الخامس و انخفاض معنوي في تركيز ASAT و ALAT، كما ارتفع في تركيز urée في اليوم الخامس من المعالجة على الترتيب. بينت العوامل الدموية ارتفاع في تركيز كل من GR و HCT و HGB في اليوم الخامس من المعالجة.

بينت دراسة السمية شبه الحادة لمستخلص القلويدات الكلية لبذور نبتة *Peganum harmala* على إناث الجرذان المعالجة بجرعة 50 مغ/كلغ و بمسلك إعطاء تحت صفاقي لمدة 4 أسابيع ظهور أعراض سريرة حادة و تسجيل حلات وفاة في فترة المعالجة و تغير في الكتلة الدماغ. بينت العوامل البيوكيميائية لكل من الكبد و الكلية انخفاض معنوي كل من ASAT و bilirubine الكلية و ارتفاع معنوي في تركيز urée على الترتيب. أظهر التحليل الدموي انخفاض معنوي في معدل كل من HGB و HCT و GR.

أظهرت الدراسة النسيجية لكل من الكبد و الكلية و الدماغ وجود تلف موضعي للخلايا و احتقان دموي و نقص حجم محدد من وحدات الترشيح الكبيبية على الترتيب و انتشار الأديمات في أنسجة الدماغ في ظروف دراسة السمية الحادة و شبه الحادة.

كلمات المفاتيح: *Peganum harmala*، القلويدات الكلية، السمية ، الجرذ، œdème، السلوك.