عزل أشباه القلويدات الكلية من بذور نبات *Datura metel* L. واختبار فعاليتها المضادة على بعض الجراثيم ومهدبات طفيلي *Fasciola gigantica* وأختبار تأثيرها السام في الفئران المختبرية

مسلم عبد الرحمان محمد الطعمة م.أيمان حسين عبد الصاحب م. سحر عبد العباس مالك
قسم علوم الحياة - كلية العلوم – جامعة البصرة

الخلاصة

ضمن الاهتمام بالنباتات و الاعشاب الطبية ذات الفعالية الحيوية ،فقد تم في هذة الدراسة اختيار نبات *Detura metel* ،اذ عزلت منه اشباه القلويدات الكلية وتم اختبار تاثيرها المضاد على بعض الجراثيم الموجبة والسالبة لصبغة كرام، كما اختبرت فعاليتها المضادة على مهدبات طفيلي Fascial gigantic وعلية تم دراسة تاثيرها السام في الفئران عن طريق التجريع الفموي مع دراسة الاستجابة السمية النسيجية حيث اظهر اختبار السمية الحادة ان قيمة الجرعة القاتلة الوسطى كانت 0.18 غم/كغم وان الاناث اكثر تحملا للمادة من الذكور اما في ما يخص التغرات النسيجية فقد تباينت شدتها من ترسب المادة في الانسجة كما في القلب و الطحال الى حدوث الالتهاب الشديد والنخر في انسجة الكبد و الكلية والرئة ووجود التقرحات في المعدة و الامعاء الدقيق والغليظ .

المقدمة

يعود النوع Datura Meter L. الى العائلة الباذنجانية Solanaceae (Linnaeus 1735؛ Averyوجماعتة،١٩٥٩) ، وهو واسع الانتشار في المناطق الاستوائية وشبة الاستوائية (Leete,1959). نظرا لاستخداماتها الطبية أصبح من المحاصيل المهمة التي تنتج تحت نظام الزراعه المكثفة أو المنظمة في الدول العربية و غيرها من بلدان العالم و لاسيما أوربا (الدجوي ،١٩٩٦) . منذ القدم كان لهذا النبات أهمية في مجال العلاج بالاعشاب الطبية و استخدامة في العقاقير ،إذ وجد بأنة يحتوي على المركبات شبة القلويديةAlkaloids و اكثرها أهمية مركبات Hyoscine) Scopolamine) و الهيوسيامين Hyosyamine والاتروبين atropioe و تستخدم هذة المركبات شبة القلويدية كمضادات للتشنج و في علاج حالات الإسهال و كمواد مسكنة (al-rawi و Chakravarty, 1964؛ Evans, 1979؛الشماع، ١٩٨٩).

يستخدم النبات في علاج البواسير و الأورام و الصداع و السعال ألديكي و تشنج المثانة. يستخدم موضعيا لتخفيف الام العضلات و المفاصل و الأوجاع العصبية و في تخفيف آلام الأسنان النخرة ولعلاج الربو (الدليمي، ١٩٧٦؛Miller و 1988 , Morris؛ الشماع،١٩٨٩؛الدجوي ،١٩٩٦) . ذكر الدجوي (١٩٩٦) بان خلاصة النبات تدخل في كثير من الادوية المسكنة ، أما المياح (٢٠٠١) فقد أشار إلى استعمال النبات في المستحضرات الطبية لعمليات التخدير الصغرى و استعمالها كمسكنات و لتخفيف ألام الصدر

والتقلصات المعدية و المعوية و في توسيع حدقة العين .

ان المركب الأساسي في نبات D. metel. هو Hyoscine اذ يشكل ٩٤% من محتوى اشباه القلويدات الكلية الموجودة في النبات (السعدي،١٩٩٩) ، ويستخدم هذا المركب على هيئة Scopolamine Hydrbromine كعقار للأشخاص المصابين بحالات عصبية حادة (Glaus و جماعتة ، ١٩٧٤)، اذ يعمل كمثبط للجهاز العصبي المركزي ويستعمل أيضا في علاج قرحة الاثنى عشري و التشنجات المعوية و التهاب القولون التشنجي و التهابات المعدة و الأمعاء. أما Hydrbromine فانه يستخدم كمضاد للكولين أي في حالات التسمم بالمواد المثبط للانزيمات المحللة للاستيل كولين Cholinesterase Inhibitors (الشماع،١٩٨٩).

لقد اعطى حديثاً اهتماماً كبيراً للاستخدام العلاجي لأدوية معزولة من الأعشاب الطبية لعوامل الفعالية والامان و الاقتصادية. ان النباتات الطبية ظلت لقرون السلاح الأول في العلاج ولا زالت في الخط الامامي لعلاج كثير من الأمراض، فضلاً عن ذلك فأن الحقيقة الملموسة وهي أن هناك صيغ في الطبيعة لا يمكن إيجاد بديل عنها سواء بالطرق الكيميائية أو الصيدلانية، لذا فقد استهدفت هذه الدراسة ما يأتي:

١. عزل أشباه القلويدات الكلية واختبار تأثيرها المضاد على بعض الجراثيم الموجبة والسالبة لصبغة كرام وعلى مهدبات طفيلي F.gigcantica خارج الجسم الحي In vitro.

٢. دراسة التأثير السمي لاشباه القلويدات الكلية في أنسجة الفئران المختبرية وتحديد الجرعة القاتلة الوسطة LD50.

المواد وطرائق العمل:

استخلاص اشباه القلويدات الكلية Total Alkaloids

تم استخلاص اشباه القلويدات الكلية وفقاً لطريقة Harborne (1984) المحورة وكما يأتي:

١. أخذ ٢٠ غم من المادة النباتية المجففة بدرجة حرارة المختبر وطحنت طحناً جيداً بالمطحنة نوع Moulinex صنع فرنسا.

٢. استخلصت العينات باضافة ايثر النفط Petroleum ether لسحب الدهون لمدة ٢٤ ساعة وذلك باستخدام جهاز الاستخلاص Soxhelet، استبعدت الدهون أما المسحوق النباتي فجفف بدرجة حرارة الغرفة لغرض استخلاص اشباه القلويدات منه.

٣. أعيدت عملية الاستخلاص باستخدام جهاز استخلاص العينات Soxhelet باضافة ١٠% من حامض الخليك في الكحول المثيلي ٩٥% بمقدار ٢٥٠ مل لمدة ٢٤ ساعة.

٤. ركز المحلول إلى ١٠ مل بواسطة المبخر الدوار Rotary evaporator.

٥- اضيف محلول هيدروكسيد الامونيوم المركز بشكل قطرات الى المحلول ألحامضي لحين بلوغ الاس الهيدروجيني9 pH باستخدام ورقة قياس الاس الهيدروجينيpH-paper .

٦-.رشح المحلول ووضع الراشح في قمع فصل Separating Funnel وأضيف اليه١٠٠مل من الكلوروفورم ورج عدة مرات ثم ترك ليستقر وينفصل الى طبقتين، اخذت الطبقة المذابة فيها اشباه القلويدات .

٧-استخدام انبوب زجاجي Glass tube واضيف بطول٣٠ سم وقطر٣سم ووضع فية صوف زجاجي Glass Wool واضيف فيه ١٠غم من الفحم الحيواني ثم اضيفت اليه الطبقة الحاوية على اشباه القلويدات لغرض التخلص من بقايا الكلوروفيل.

٨-ركز المحلول الناتج باستخدام المبخر الدوار لغرض عمل التراكيز المختلفة.

٩-اجري اختبار مايرMayer' test واختبار دراجندروف Dragndroff's test (1984,Harborn)) للمحلول المذكور باضافة عدة قطرات من الكاشف الى مليمتر واحد من المستخلص للتاكد من وجدود القلويدات ويدل تكون راسب ابيض او مضبب عند اضافة قطرة من كاشف ماير أو راسب اصفر عند اضافة من كاشف دراجندروف على وجود اشباه القلويدات وثم تحضيرالكاشفين كالاتي :

ا-كاشف دراجندروف:

المحلول الأول(١):وزن ٠.٦ غم من نترات القاعديةBismuth Subnitrate ثم اضيف لة ٢ مل من حامض الهيدروكلوريك المركز، خفف بعدها باضافة ١٠ مل من الماء المقطر .

المحلول الثاني(٢):اضيف١٠ مل من الماء المقطر الى ٦ غم من ايوديد البوتاسيمPotassium Iodide مزج كل من المحلول رقم(١) و (٢) معا مع إضافة ٧ مل من حامض الهيدروكلوريك المركز و ١٥ مل من الماء المقطر ، خفف بعدها بإضافة ٤٠٠مل من الماء القطر .

ب-كاشف ماير :

حضر باضافة ١٣.٥غم من كلوريد الزئبق HgCL2 و ٥٠ غم من ايوديد البوتاسيم إلى لتر من الماء المقطر .

تحديد الفعالية المضادة للجراثيم Determination of Antibacterial Activity

١-الغربلة الأولية Primary Screening
تم اختبار الغربلة الأولية لاشباه القلويدات الكلية المضادة للجراثيم حيث تم اختبار نوعين من العزلات الجرثومية احداهما اسالبة لصبغة كرام (Gr-ve)وهي Shigella dysenteriae و (٤٥٠٣٧٣) ١٠٨ Aci calcoaceticus Acinetobacter و A haemolyticus Aci 014(320565) و marcescens serratia و الاخرى موجبة لصبغة كرام (ve+Gr) وهي Staphylococcus aureus و Bacillus sabtilis .
استخدمت تقنية الانتشار خلال الاكار diffusion Agar (Cruickshank و جماعتة ١٩٧٥) اذ وضع١.٠ من العزلات الفتية (٦ساعات) والنامية في ٥ مل من الوسط الزرعي المغذي broth Nutrien (oxoid (NB)) في أطباق حاوية على الوسط الزرعي Agar Muller-Hinton (Difco)ونشرت بوساطة الناشر المعقم و بشكل يضمن انتشارها بالتساوي على سطح الوسط الزرعي ، ثم تركت الاطباق لمدة ١٠ دقائق لكي تجف .
ثقب سطح الاكار الملقح بوساطة ثاقب الفلين cork porer المعقم بقطر ٦ ملم ثم ملات ثقوب الوسط الزرعي بمستخلص اشباه القلويدات اكلية (بتركيز ٥٠٠ مايكروغرام/١.٠مل) وبمقدار ١.٠ مل بوساطة ماصة معقمه ، ثم حضنت الاطباق في ٣٧م لمدة ٢٤ ساعه وسجلت النتيجه بقياس قطر التثبيط بالمليمتر بوساطة ألمسطره .
٢-تحديد التركيز المثبط الادنى Determination of minimum inhibitory (MIC) concentration (Begum،وجماعته،١٩٩٦)
حدد التركيز المثبط الادنى لأشباه القلويدات الكليه بعد ان اظهرت فعالية مضاده للجراثيم الموجبه و السالبه لصبغه كرام ، واستخدمت طريقه التخافيف tube dilution technicqe اذ حضرت تراكيز مختلقه من المستخلص تراوحت مابين (١٠٠-١) مايكروغرام/ مل في انابيب تحتوي على ٥ مل من الوسط ألزرعي NB ، ولقحت هذه الانابيب بانواع الجراثيم المستخدمه بمعدل نمو (٥١٠٦-١٠) خليه / مل ، ثم حضنت بدرجة ٣٧٥م لمدة ٢٤ ساعه وسجلت النتائج بملاحظة العكوره Turbidity والتركيز الذي لم يظهر عكوره يمثل التركيز المثبط الادنى.
٣- تحديد التركيز القاتل الأدنى Determination of Minimum Bacterial (MBC)Concentration (Begum)وجماعته،١٩٩٦)
تم نقل ١٠مايكرولتر من كل تركيز لم يظهر عكوره في اختبارMIC الى وسط NA وزرع بطريقه التخطيط، ثم حضنت الاطباق في درج ٣٧٥م لمدة ٢٤ ساعه ، و التركيز الذي لم يظهر نمو جرثومي يمثل التركيز القاتل الأدنى .
فعالية اشباه القلويات الكليه المضادة لمهدبات طفيلي. Gigantica F
تم اختبار فعالية اشباه القلويدات الكليه على على مهدبات طفيليF.gigantica والتي تم الحصول عليها بتعريض بيوض الطفيلي المعزوله من اكياس الصفراء للجاموس والابقار الى مصباح كهربائي وتفقيسها الى مهدبات بعد مرور ١٧ يوما على حضانتها في الظلام بدرجة حراره ٢٥ م إذ استعملت ٤٠ مهدبه قسمت الى ٤ مجاميع، احتوت كل مجموعه على ١٠ مهدبات ، ثم أضيفت التراكيز ألتاليه من المستخلص (٠.٢٥ ،٠.١، ٠.٠١) ملغرام /مل أما المجموعه الرابعه فقد عدت مجموعه سيطره واستعملت ثلاث مكررات لكل تركيز ، حيث سجل متوسط الزمن المميت LT٥٠ لمهدبات الطفيلي بعد مرور ١٥ دقيقه من التعرض الى التراكيز المختلفه من اشباه القلويدات الكليه ، اذ عدت المهدبه ميته في حالة عدم قدرتها على الحركه (شعبان و الملاح،١٩٩٣) .
اختبار السميه الحاده (قصير الامد) Acute (Short-term) Toxicity
١- حيوانات التجربة
استخدم في هذا الاختبار ٤٠ فأر مختبري albino mice من كلأ الجنسين و كانت أوزانها (٢٥±٥)¬ غم وبعمر شهرين تقريبا وقد قست عشوائيا الى ٤ مجاميع للذكور واخرى للأناث وتتكون كل مجموعه من ٥ حيوانات من الجنس نفسه .
٢- تعيين الجرعة القاتلة الوسطى (LD50) Median Leathal Dose
أعطيت إحدى المجاميع ومن كلا الجنسين ٠.٥ مل من محلول الملح الفسيولوجي Normail Saline بوساطة حقنة خاصة Stomach tube عن طريق الفم Oral Administration واعتبرت هذه مجموعة السيطرة (C) Control بينما أعطيت بالطريقة نفسها جرع متدرجة من أشباه القلويدات الكلية (٠.٢ ،٠.١٥ ،٠.١) غم /كغم لحيوانات المجاميع الأخرى (t3,t2,t1) على التوالي من كلا الجنسين ، وقد تم مراقبة الحيوانات لمدة ٧٢ ساعة ، إذ سجلت بيانات حول الوفيات الحاصلة وتم تشريح كل حيوان حال موته ، أما الحيوانات غير المتوفاة فقد تم قتلها بالخلع العنقي وتشريحها عند انتهاء فترة المراقبة من اجل دراسة الاستجابة النسيجية للسمية الحادة (Klaassen و1980, Doull) .
٣-التحليل الإحصائيStatistical Analysis

اجري التحليل الإحصائي لنتائج اختبار LT50 وLC50 وLD50 بطريقة Probit Analysis (Armitage, 1971)؛ Klaassen وDoull,1980)، إذ تم حساب قيم متوسط الزمن المميت LT50 للمهدبات من خلال رسم العلاقة البيانية بين قيم وحدة الاحتماليه Probit Unit ألمقابله للنسب المئوية للوفيات Mortality% لكل تركيز وبين قيم الزمن وقد حسب أيضا متوسط التركيز المميت LC50 للمهدبات من خلال رسم العلاقة البيانية بين وحدة الاحتماليه المقابلة للنسب المئوية للوفيات مع التركيز، أما قيمة الجرعة القاتلة الوسطى LD50 فقد تم الحصول عليها من رسم العلاقة البيانية بين قيم وحدة الاحتماليه المقابلة للنسب المئوية للوفيات مع قيم الجرع المعطاة لاشباه القلويدات الكلية على ورقة خاصة Probit paper وذلك بتحويل قيم نسب الوفيات إلى القيم المقابلة من وحدة الاحتماليه باستخدام جدول تحويلات النسب، فقد تم الحصول على خط مستقيم يتقاطع مع الخط الأفقي المرسوم بين قيمتي Probit unit=٥ و probit scale=٥٠ ومن نقطة التقاطع رسم خط عمودي على المحور السيني فحصل على قيم LT50 وLC50 وLD50 .

الدراسه النسيجية المرضية Histopathological Study

لغرض دراسة التأثيرات السمية لمستخلص أشباه القلويدات على أنسجة الفئران المستخدمة في اختبار LD50 أخذت الأعضاء الآتية: الكبد Liver و الكلية Kidnye و القلب Heart والطحال Spleen والرئة Lung و المعدة Stomach والأمعاء الدقيقة Small Intestine والأمعاء الغليظة Large Intestine ، إذ قطعت هذه الأعضاء عرضيا ثم حضرت المقاطع النسيجية بإتباع طريقة شمع البارافين للفحص بالمجهر الضوئي (Luna،١٩٦٠).

١- التثبيت Fixation

ثبتت العينات في محلول الفورمالين المنظم المتعادل Neutral Formaline (10%) buffered والمحضر من إذابة :

صوديوم ثنائي الهيدروجين اورثوفوسفيت NaH2PO4 4 غم .

ثنائي الصوديوم-هيدروجين اورثوفوسفيت NaHPO4 6.5 غم .

في ماء مقطر D.W 900 مل .

ثم ضبطت قيمة الاس الهيدروجيني عند (pH=٧) وقد كانت فترة تثبيت العينات ٢٤ ساعة.

٢- الغسل Washing

غسلت العينات المثبتة بالمحلول المنظم ولعدة مرات.

٣- سحب الماء (الانكاز) Dehydration

مررت العينات بعد غسلها بسلسله تراكيز من الكحول الاثيلي(١٠٠,٩٥,٨٠,٧٠,٥٠)% ولمدة ساعتين لكل تركيز .

٤-الترويق Clearing

عوملت العينات بعد انكازها بمحاليل من مزيج الكحول المطلق Absolute Ethanol مع الزايلين Xylene وبالنسب الحجمية (٣:١ ،١:١ ،١:٣) ولمدة ساعة لكل مزيج ثم وضعت في الزايلين النقي ولمدة ثلاث ساعات .

٥- التشريب Infiltration

لغرض طمر الأنسجة في شمع البرافين Paraffin Wax لابد أن تشرب أولا بالشمع نفسه وذلك باستخدام مزيج من زايلين :برافين (٣:١ ،١:١ ١:٣) ولمد ثلاث ساعات لكل مزيج بدرجة حرارة ٦٠°م ثم نقلت إلى برافين نقي لمدة ٢٤ ساعة بالدرجة الحراريه نفسها.

٦- الطمر Embedding

بعد أن شربت عينات الأنسجة بالبرافين نقلت إلى قوالب من اللدائن Plastic Blocks تحتوي شمعا ذائبا بدرجة٦٠°م إذ تم توجية العينة بالشكل المناسب، عندها تركت القوالب في درجة حرارة المختبر حتى يتصلد الشمع، بعدها بردت إلى ١٠-°م لتكون جاهزة للقطع .

٧- التقطيع Sectioning

قطعت النماذج باستخدام المشراح الدوار Rotary Microtome (Reichertjung) بسمك ٥ مايكرون بشكل مقاطع شريطية Ribbon ونقلت الى حمام مائي water bath (Medax) بدرجة حرارة (٥٠-٤٥)م لحين تسطحها ثم نقلت الى شرائح زجاجية Slides نظيفة وجافة ومطلية بمادة لاصقة هي البومين ماير Mayer's Albumin بعدها تركت الشرائح على صفيحة ساخنة hot plate(Fisher slide warmer) بدرجة حرارة ٥٠°م لحين جفاف الشريحة .

٨- التصبيغ Staining

صبغت المقاطع بصبغة Haematoxlin –Eosin (H.E) (1967,Dury) ثم حملت بمادة Distrine (Plastisizer Xylene (D.P.X وفحصت وصورت باستخدام مجهر ضوئي متباين الاطوار Phase contrast تصويري نوع Olympus.

النتائج والمناقشه:

تحديد الفعالية المضادة للجراثيم

اظهرت الدراسة الحاليه فعالية مستخلص اشباه القلويدات الكلية في تثبيط نمو نوعين من الجراثيم الموجبة لصبغه كرام و ٨ أنواع من الجراثيم السالبة لصبغة كرام وبصورة متباينة اختلفت باختلاف العزلات الجرثومية، اذ ثبط المستخلص جميع العزلات الجرثومية وتراوحت اقطار التثبيط ما بين(٢٣-١٤) ملم، في حين تراوحت التراكيز المثبطة الدنيا للمستخلص ما بين (١٠٠-١) مايكروغرام/مل، أما التراكيز القاتله الدنيا فقد كانت أعلى من التراكيز المثبط الدنيا وتراوحت قيمتها ما بين(١٠٠>-٥) مايكروغرام/مل (جدول-١).

و يتضح من ذلك أن للمستخلص تأثير في نمو الجراثيم المستخدمة لأن تثبيط النمو قد حصل فعلا(Difco،1977)مما يجعل أمكانية أستخدامها كبدائل دوائية بعد أجراء الدراسات السريرية عليها و تحديد جرعاتها الدوائية.

جدول-١: الغربلة الأولية و التراكيز المثبطة الدنيا MIC والتراكيز القاتلة الدنيا MBC لمستخلص اشباه القلويدات الكلية

الجراثيم الموجبة لصبغة كرام	اقطار التثبيط (مقاسة بالملم)	MIC (مايكروغرام/مل)	MBC (مايكروغرام/مل)
Bacillus subtitis	١٤	٥٠	٦٠
Staphylococcus aureus	١٨	٢٠	٢٥
الجراثيم السالبة لصبغة كرام			
Acintobacter calcoceticus Aci 108 (450373)	٢٠	٥	١٠
Acintobacter baumanni Aci 001 (180265)	٢٣	١	٥
Acinetobacter haemolyticus Aci 014 (320565)	١٩	٢٠	٢٥
Shigella dyesnteriae	١٥	٢٥	٢٥
Pseudomonas aeruginosa	١٢	١٠٠	١٠٠ <
Klebsiella pneumoniae	١٨	١٠	١٥
Escherichia coli	٢٠	٥	١٠
Serratia marcescens	٢٣	٥	١٠

فعالية أشباه القلويدات الكلية المضادة لمهدبات طفيلي F.gigantica :

تم اختبار فعالية اشباه القلويدات الكلية وبتراكيز مختلفة على ألنسبه المئوية لقتل مهدبات الطفيلي وذلك باستخراج قيم متوسط الزمن المميت LT50 وقيم متوسطالتركيز المميت LT50 للمهدبات ،فقد أظهرت نتائج LT50 إن أوطأ تركيز(٠.٠١ملغم/مل) قد سجل أعلى متوسط زمن والذي بلغ ٢٠.٦ دقيقة (شكل-١-أ) في حين اختزل متوسط الزمن المميت للمهدبات مع زيادة التركيز (شكل-١-ب) بينما بلغت النسبة المئوية لقتل المهدبات ١٠٠% عند التركيز ٠.٢٥ ملغم/مل (جدول-٢)، أما نتائج LC50 للمهدبات بعد ١٥ دقيقه من التعرض لاشباه القلويدات الكلية ، فقد سجلت متوسط تركيز بلغ ٠.٠٦٢ ملغم/مل (شكل-٢).

جدول٢: النسب المئوية لقتل مهدبات طفيلي *F.gigantica* في اختبار LT_{50} و LC_{50} لاشباه القلويدات الكلية

النسب المئوية لقتل التركيز (ملغم/مل)	زمن المعاملة (دقيقة)						
	١	١٠	١٥	٢٠	٣٠	٤٠	٥٠
C	-	-	-	-	-	-	-
0.01	-	-	١٠ %	٣٠ %	٥٠ %	٨٠ %	100 %
0.1	-	٢٠ %	٦٠ %	٧٥ %	١٠٠ %		
0.25	١٠٠ %						

اختبار السمة الحادة:

اجري اختبار السمة الحادة لمستخلص اشباه القلويدات الكلية بعد إن اظهر تأثير واضح مضاد للجراثيم ألموجبه و السالبة لصبغة كرام المستخدمة في هذة الدراسة ، ويوضح الجدول-٣ إن التأثير السمي في الإناث اقل من مما هو عليه عند الذكور، كما أظهرت نتائج التحليل الإحصائي باستخدام ورقة وحدة الاحتماليه إن قيمة LD50 للمستخلص ٠.١٨ غم/كغم(شكل-٣).

وفقاً لمخطط تصنيف السمية الذي الذي وضعه Klaassen و Doull (1980) فأن قيمة LD50 للمستخلص تظهر بأنه عالي السمية very toxic.

الدراسة النسيجية المرضية

تم دراسة التغيرات التسيجية المرضية التي احدثها مستخلص اشباه القلويدات الكلية في الكبد والكلية والقلب والطحال والرئة و المعدة والامعاء الدقيق والغليظ في الفئران اثناء اختبار السمية الحادة وقد اختلف التاثير من نسيج الى اخر ومن منطقة الى اخرى في النسيج وكما ياتي:

١ –الكبد: اظهر الفص المجهري للمقاطع النسيجية المأخوذة من اكباد الحيوانات المعاملة عدة تغيرات نسيجيه منها احتقان الاوعية الدموية وظهور علامات الالتهاب واضحة تمثلت بحدوث

ارتشاح ونزف دموي اذ لوحظ وجود اعداد كبيرة من الكريات البيض فضلا عن الاعداد الهائلة من الكيريات الحمر(شكل4-A) ، كما لوحظ تنخر necrosis النسيج بسبب انحلال السايتوبلازم او انحلال الانوية (شكل.4-B)، وأظهرت الخلايا المجاورة والقريبة من الاوردة المركزية قابلية صطباغ اعلى من الخلايا البعيدة .

٢-الكلية: اوضحت المقاطع النسيجية لكلى الحيوانات المعاملة تلف في معظم الأنيبيبات الكلوية نتيجة لانكماش السايتوبلازم او انحلال الانوية كما لوحظ حدوث التنخر في بعض الكبيبات وانحلال كبيبات اخرى مما ادى الى ظهور مناطق نخر واسعة في نسيج الكلية مع ظهور احتقان دموي ونزف شديد (شكل.5-A) فيما ظهرت معظم الكبيبات منكمشة والمادة المترسبة متجمعة بين الكبيبات والانيبيبات الكلوية (شكل5-B).

ان احتقان الأوعية الدموية يشير إلى بداية حدوث الالتهاب الحاد Acute inflammation وقد يعزى ذلك إلى حدوث فرط الدم الفاعل Active hyperaemia (ازدياد جريان الدم) نتيجة للتوسع الشرياني فقد ذكر Anderson (1980) ان ارتخاء الشرينات الذي يعقبه ارتفاع في ضغط الدم يؤدي إلى زيادة في معدل مرور الدم من الحيز الشرياني إلى الحيز الوريدي مسبباً احتقانها وعليه فأن الشرينات والوريدات تتوسع كثيراً في فرط الدم الفاعل لأنها تمتلئ بكاملها بالدم.
ان خروج الكريات الحمر بأعداد كبيرة خلال الفراغات بين الخلايا الطلائية الداخلية يدل على وجود اصابة حادة في الطبقة الطلائية كما يعد الصفقة السائدة للالتهاب.
ان النخر قد يحصل عند موت (تحلل) خلايا النسيج بصورة بطيئة بسبب الانتفاخ الأوزموزي ثم انفجار الغشاء البلازمي وأخيراً اختفاء الشبكة الكروماتينية

جدول ٣: أعداد ونسب وفيات الفئران في اختبار الجرعة القاتلة الوسطي LD_{50} لمستخلص اشباه القلويدات الكلية

رمز المجموعة	الجرعة غم/كغم	الإنـــاث عدد الوفيات			الذكـور عدد الوفيات			النسبة المئوية للوفيات	العدد الكلي للفئران عدد الوفيات			النسبة المئوية للوفيات	متوسط الوزن (غم)
		اليوم الأول%	اليوم الثاني %	اليوم الثالث %	اليوم الأول %	اليوم الثاني %	اليوم الثالث %		اليوم الأول	اليوم الثاني	اليوم الثالث		
C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
t_1	٠.١	-	-	-	-	-	١			-	1	%١٠	٣.٧٢
t_2	٠.١٥	-	-	١	%٢٠	-	٢			-	٣	%٣٠	٤.٤٨
t_3	٠.٢	-	-	١	%٢٠	١	٢			-	٦	%٦٠	٥.٢٥

٣-الرئة: ظهرت علامات الالتهاب واضحة في رئات الحيوانات المعاملة تمثلت بحدوث احتقان في الاوعية الدموية (شكل.٦) وارتشاح مع وجود تلف في نظام الحويصلات الرئوية .

٤-المعدة: و الامعاء الدقيقة و الغليظة: تمثلت التغيرات النسيجيه في المعدة و الامعاء الدقيقة والغليظة بحدوث تقرحات Ulceration في الطبقة المخاطية Mucosa وخاصة السطوح الحرة (شكل.7-C,B,A على التوالي) في حين لم يظهر القلب (شكل.٨) والطحال (شكل.٩) تغيرات نسيجية واضحة ما عدا وجود المادة المترسبة .

وان من بين أسباب النخر العديدة المركبات العضوية السامة التي تنتجها بعض النباتات والتي تسبب تلف الخلايا وتنخرها حتى وان وجدت بكميات قليلة جداً.
أن وجود نخر شامل في النسيج خلافاً لنخر الخلايا المنفردة ينفي احتمال العودة إلى الوضع السوي (Anderson، 1980).

Abstract:

In this study, isolated of the total alkaloid has been done from *Dauura metal, in vitro* antibacterial activity was evaluated against negative and positive Gram bacteria, in addition to testing of their activity against meracidia *ofFascioIa gigantica.* The toxicity test and histological study were examined and the result showed that the total alkaloid was very toxic with oral LD_{50} as 0.18 g/kg, the results also indicated that females were more tolerant than males. The pathological changes were clearly evident, dose dependent and varying in severity from precipitate of alkaloid in the spleen and heart to the acute inflammation and nercosis in the liver, kidney and lung in addition to ulceration of small and large intestine.

مصادر

المصادر العربية

الدجوي، علي (١٩٩٦) موسوعة النباتات الطبية والعطرية، مكتبة الدجوي، جمهورية مصر العربية، ص ٢٨٥-٢٩٢.

الدليمي، خلف صوفي (١٩٧٦). التسمم الغذائي، مطبعة الشعب، بغداد، ص ٢٢٩.

السعدي، سحر عبد العباس (١٩٩٩). دراسة تصنيفية لجنس *Datura* L. (Solanaceae) في العراق، أطروحة ماجستير، جامعة البصرة.

الشماع، علي عبد الحسين (١٩٨٩). العقاقير وكيمياء النباتات الطبية، وزارة التعليم العالي والبحث العلمي، بيت الحكمة.

المياح، عبد الرضا علوان (٢٠٠١). النباتات الطبية والتداوي بالأعشاب، مركز عبادي للطباعة والنشر- صنعاء- اليمن. ص ٢٢٥.

شعبان، عواد والملاح، نزار مصطفى (١٩٩٣). المبيدات. دار الكتب للطباعة والنشر، الموصل.

المصادر الأجنبية

Al-Rawi, A. and Chakravarty, H.L. (1964). Medicinal plants of Iraq. Government Press, Baghdad.

Armitage, P. (1971). Statistical Method in Medical Research. Blackweel Scientific Publi USA.

Anderson , J. R. (1980). Muir's Text BooK of pathology 11th ed. Edward Aronold Norwich .

Avery, M.G.; Satina, S. and Rietsema, J. (1959). Blakeslee: The genus *Datura.* The Ronald Press Company. New York: 289pp.

Begum, S., Usmani, S.B., Siddiqui, B.S. Saeed, S.R., Fanaz, S., Ali Khan, K., Ahmed-Khan, S., Khalid, S.M. and Zia, A. (1996). Chemistry and biological activity of a tryptamine and B-carboline series of bases. Arzneim-Forch. Drug Res. 46:1163-1168.

Cruickshank, R., Duguide, G.P., Marmion, B.P. and Swain, R.H.A. (1975). Medical Microbiology. Vol. 2. 12th ed. Churchill, Living stone, Edinburgh, London

Difco . (1977). Difco Manual of Dehydrated Culture Media and Reagents . 9th ed ., Detroit, Michigan

Dury, R.A.B. (1967). Cariltons Histological Technique. 4th ed. Oxford Univ. Press. New York, Toronto.

Evans, W.C. (1979). Tropane alkaloids of the Solanaceae in: Hawkes *et al.* The biology and taxonomy of the Solanaceae. Academic Press. London.

Glaus, E.P.; Tyler, V.E. and Brady, L. (1974). Pharmacognosy. 6th ed. Indian: 234-240.

Harrbon, J.B. (1984). Phytochmical Methods: A Guide to modern Techniq-use of Plant Analysis. 2nd ed. Chapman and Hall, London, U.K.

Hill, A.F (1952). Economic botany. 2nd ed. McGraw-Hill Book Company, New York, London: P. 256-258.

Klaassen, C.D. and Doull, J. (1980). Evaluation of safty: Toxicologic evaluation. In: Casarett and doulps Toxicology: The Basic Science of Poisonous. Doull, J., Klaassen, C.D. and Amder, M.O. (eds.). 2nd ed. Macmillan Pubishing Co., Inc., New York, USA.

Leete, E. (1959). The alkaloids of *Datura* in: Avery etal., Blakeslee : The *genus Daura*. The Ronald Press Company, New York: P. 48-56.

Linnaeus, C. (1753). Species plantarum. London. Vol. 2: P. 179-189.

Luna, L.C. (1960). Mannual of Histologic Stainning Methods of Armed Forced Institute of Pathology. 3th ed. Graw- Hill BookCompany, New York, London.

Miller, A.G. and Morris, M. (1988). Plants of Dhofar. The office of the Adviser for Conservation of the Environment, Diwan of Royal Court. Sultanate of Oman.

Sim, S.K. (1970). Medicinal plant alkaloids. University of Toronto Press: 176pp.

Tylar,A. (1988). Pharmacognay. 9th ed: P. 186-202.