دراسات خلوية وراثية وجزيئية للسمية الوراثية والتأثير المسرطن لجزء القلويدات من المستخلص المائي لأوراق حرمل الرازي

سونهام بنت سامي يغمور

أ.د. نبيه بن عبد الرحمن باعشن، أ.د. حسن بن ممدوح العشماوي، أ.د. طه بن عبد الله قمصاني

المستخلص

أجريت العديد من الأبحاث على القلويدات بهدف التعرف على الأنواع ذات الأهمية الطبية أو السمية أو المواد المنتجة للتأثيرات الدوائية، حيث كانت من اهتمامات الباحثين في مجال الكيمياء النباتية لأكثر من 150 عاما. يعتبر حرمل الرازي *Rhazya stricta* من النباتات الشائعة الاستعمال في منطقة الخليج وبعض المناطق الآسيوية الأخرى لأغراض طبية عديدة. وكان الهدف من هذه الدراسة تقييم تأثير القلويدات المعزولة من المستخلص المائي للنبات والجزء اللاقلويدي للمستخلص كذلك، من نبات الحرمل الذي تم جمعه من المملكة العربية السعودية، من حيث التأثيرات الطفورية والسمية الوراثية والتأثير على الوظائف البيوكيميائية.

اجريت اختبارات السمية الوراثية واثبات التأثير المضاد للتسرطن، للقلويدات المعزولة من المستخلص المائي لنبات الحرمل باستخدام تقنية الرابيد والمذنب جزيئيا وتجربة اختبار الانوية الدقيقة خلويا. بالإضافة الى اختبارات بيوكيميائية للتأثير على مستويات الدهون والسكر ووظائف الكلى والكبد، على 105 جرذان وستر البيضاء البالغة، بثلاثة تراكيز مختلفة هي 0.11 ملجم / كلجم و0.22 ملجم / كلجم، و0.33 ملجم / كلجم من وزن الجسم، ومقارنتها مع مجموعات اخرى تجرعت الجزء اللاقلويدي المعزول من المستخلص المائي لنبات الحرمل بثلاث جرعات هي 0.12 ملجم / كلجم و0.25 ملجم / كلجم، و0.37 ملجم / كلجم من وزن الجسم، ومجموعات تجرعت ثلاث جرعات 4 جم / كلجم، و 5 جم / كجم، و 6 جم / كجم من المستخلص المائي الكامل لنبات الحرمل.

اظهرت نتائج التحاليل البيوكيميائية ارتفاعا معنويا في مستويات كل من الأنسولين وإنزيم الالانين امينوترانسفيريز في المجموعات المعالجة بالقلويدات المعزولة من المستخلص المائي لنبات الحرمل، والمجموعات المعالجة بالمستخلص المائي الكامل للنبات، وانخفاضا معنويا في الدهون الثلاثية ونسبة حساسية الأنسولين خلال الخمسة أشهر من مدة العلاج.

وقد اظهرت نتائج الدراسات الوراثية الجزيئية موضحة في صور هلام الأجاروز، تغيرا معنويا في اطوال وأعداد حزم الحمض النووي المعالج بالبادئات

العشوائية بتقنية الرابيد في المجموعات المعالجة بالقلويدات المعزولة من المستخلص المائي لنبات الحرمل، والمجموعات المعالجة بالمستخلص المائي الكامل للنبات، وأظهرت صور الشرائح الخاصة بتقنية المذنب نتائج معنوية لأعداد الخلايا التي يظهر بها طول ذيل المذنب في المجموعات المعالجة بالقلويدات المعزولة من المستخلص المائي لنبات الحرمل، والمجموعات المعالجة بالمستخلص المائي الكامل للنبات. وقد أظهرت صور الشرائح الخاصة بتجربة اختبار الانوية الدقيقة نتائج معنوية لأعداد الخلايا التي تظهر بها الانوية في المجموعات المعالجة بالقلويدات المعزولة من المستخلص المائي لنبات الحرمل، والمجموعات المعالجة بالمستخلص المائي الكامل للنبات. واتضح من نتائج الدراسة أن القلويدات المعزولة من المستخلص المائي لنبات الحرمل، تعمل على تحسين مستويات الدهون، التي تشمل تركيز كل من الكولسترول وكولسترول البروتينات الدهنية مرتفعة الكثافة (HDL-c)، وكولسترول البروتينات الدهنية منخفضة الكثافة (LDL-c)، والدهون الثلاثية (TG)، إضافة إلى وظائف الكبد والكلى. بالإضافة إلى تأثيرها على كل من سكر الدم والأنسولين ومقاومة الجسم للأنسولين. إلا انه يؤثر على الحمض النووي بعد اشهر من العلاج، اضافة الى تأثير المستخلص على اظهار التنكرز على الخلايا. وقد اشارت النتائج الى تراجع معنوي في دالة الانقسام Mitotic index في جميع التراكيز المستخدمة في المجموعات المعالجة بالمستخلص المائي لنبات الحرمل (4، و5، و6 جم/كجم من وزن الجسم) والمجموعات التي عولجت بالجزء اللقلويدي المعزول من المستخلص المائي للنبات (0.11، و0.22، و0.33 جم/ كجم من وزن الجسم)، وبعلاقة طردية مع تعاقب الفترات الزمنية مقارنة بالمجموعة الضابطة. كما سجلت النتائج العديد من الاختلافات الكروموزومية مثل الكسور والفجوات الكروموزومية، واللزوجة. وقد كشف الفحص المجهري عن شيوع الموت الجماعي للخلايا Necrosis عند جميع التراكيز المستخدمة من المستخلص، وعلى المدى البعيد يمكن الاستفادة من تطبيق هذه الخاصية على الخلايا السرطانية (التأثير المضاد للسرطان).

مما قد يجعل هذا النبات في المستقبل علاجاً للمتلازمة الأيضية ولكن بشرط أن يقنن استخدامه وتجزئة القلويدات واختبارها، كل على حده، لتحديد المادة ذات التأثير الطفوري من بين القلويدات الموجودة في المستخلص المائي للنبات. كما يمكن دمج اكثر من نوع معاً للحصول على تأثيرات تعاضدية سواء بين أنواع القلويدات أو مزيج من القلويدات واللاقلويدات. ولا زالت الحاجة ماسة لإجراء المزيد من البحوث لدراسة علاقة قلويدات نبات الحرمل وأيض الدهون والكربوهيدرات إضافة إلى سميتها الوراثية وتأثيرها المضاد للتسرطن.

CYTOGENETIC AND MOLECULAR STUDIES OF GENOTOXICITY AND CARCINOGENICITY OF ALKALOID FRACTION OF *RHAZYA STRICTA* LEAVES WATER EXTRACT

Soonham Sami Yaghmoor

Prof. Nabih A. Baeshin, dr. Hasen M. al Ashmaoi, Prof. Taha A. Kumosani

ENGLISH ABSTRACT

Several researches were conducted on alkaloids in order to identify species with medical significance or toxic effects or producing pharmacological effects. This has been the interests of researchers in the field of phytochemistry for more than 150 years. *Rhazya stricta* is a plant commonly used in the Gulf region and some other Asian regions for many medical purposes. The aim of this study was to evaluate the genotoxicity of alkaloids isolated from the aqueous extract of *Rhazya stricta* to find out components of this extract responsible for genotoxicity. Alkaloids and non-alkaloids fractions were isolated from the aqueous extract of *Rhazya stricta* which was collected from Saudi Arabia to evaluate their mutagenic and genotoxic effects. Alkaloids and non-alkaloids fractions were isolated from the aqueous extract of *Rhazya stricta* which was collected from Saudi Arabia to evaluate their mutagenic and genotoxic effects.

The genotoxicity and carcinogenicity for the alkaloid fraction isolated from the aqueous extract of *Rhazya stricta* was done molecularly by RAPD and Comet and cytogenetically by micronucleus test. The biochemical assay for Lipids, Glucose and Liver and Kidney functions was detected in adult 105 male wistar rats with three doses 0.11, 0.22 and 0.33 mg/Kg body weight and compared with non-alkaloid fraction isolated from the aqueous extract of *Rhazya stricta,* and other groups that take three doses 0.1, 0.12, and 0.15 of aqueous whole extract of *Rhazya stricta*.

The biochemical results showed that there were significant increases in insulin and ALT levels and significant decreases in TG and HOMA-IR insulin

resistance levels in the groups treated by *Rhazya stricta* whole water extract and the groups treated by alkaloid isolated from the aqueous extract of this plant after five months of the treatment. The molecular analysis by RAPD technique for testing the genotoxicity showed that there were significant changes in length and number of DNA bands after the treatment by RAPD primers in the groups treated by *Rhazya stricta* whole water extract and that treated by alkaloid isolated from the aqueous extract of this plant. The COMET slides showed a significant increase in the total number of tailed cell in the groups treated by *Rhazya stricta* whole water extract and that treated by alkaloid isolated from the plant aqueous extract. This showed also a necrosis in the cells in both strand of DNA. Results of this study indicated that the alkaloid isolated from the aqueous extract of *Rhazya stricta* improved lipid blood profiles [cholesterol, high density lipoproteins- cholesterol (HDL-c), low density lipoproteins- cholesterol (LDL-c), triglyceride (TG)] and the functions of liver and kidney. Moreover, this extract had affect in blood sugar, insulin and insulin resistance. However, its effect on DNA appeared after months of the treatment which may indicate its future use in the treatment of metabolic syndrome. The results indicate significantly decrease in cell Mitotic index in all concentrations used in the treated groups by whole water extract (4, 5, and 6 g / kg of body weight) and groups treated by Alkaloids isolated from the aqueous extract of the plant (0.11, and 0.22, and 0.33 g / kg of body weight), and a proportional relationship with the succession of time periods compared to the control group. The results also recorded many chromosomal aberrations such as fractures and gaps and viscosity. The microscopic examination revealed the prevalence of mass death of the cells Necrosis at all concentrations used, this can be benefit from the application of this property to the cancer cells (anti-cancer effect). However, such use should be under control. Moreover, alkaloids fractions should be identified and tested separately to determine the component of alkaloids presented in the water extract which are responsible for its mutagenic effect. Integration of more than one component for synergistic effect is also possible either from different alkaloids or from mixture of alkaloid or non-alkaloid components. Further researches are needed to evaluate the relationship between alkaloids of *Rhazya stricta* and fat and carbohydrate metabolisms as well as the genotoxicity and carcinogenicity of this plant.