



دراسة فعالية المستخلص المائي و الكحولي لبذور الحرمل *Peganum harmala* ضد طفيلي الأميبا *Entamoeba histolytica* خارج الجسم الحي

*فوزية أحمد الشنوي، هبة محمد علي العبيدي

falshanawi@yahoo.com

* قسم علوم الحياة ، كلية العلوم ، جامعة بغداد . بغداد-العراق

الخلاصة

تم اختبار كل من فعالية مستخلصي بذور الحرمل المائي و الكحولي ضد طفيلي الأميبا الحالة للنسيج خارج الجسم الحي و بواقع ثلاثة تراكيز لكل مستخلص 1000 ، 1500 و 2000 مايكروغرام/مليتر و ضمن مدة ساعتين، كما تم إجراء تحليل أولي لبعض المواد الكيميائية التي تحتويها بذور الحرمل. أظهرت النتائج فعالية كلا المستخلصين ضد الأميبا و كانت نسب القتل بأستعمال المستخلص الكحولي أفضل من نسب المستخلص المائي عند جميع التراكيز و لعل سبب ذلك يعود للمحتوى العالي للمستخلص الكحولي من الفلوييدات و كانت أعلى نسبة قتل بأستعمال المستخلص الكحولي 97,5% قابلتها 90.1% للمستخلص المائي عند تركيز 2000 مايكروغرام / مليتر .

الكلمات المفتاحية:-الاميبا الحالة للنسيج، مستخلص بذور الحرمل، تأثيره.

STUDY THE EFFECT OF THE AQUATIC AND ALCOHOLIC EXTRACTS OF *Peganum harmala* SEEDS ON *Entamoeba histolytica* IN VITRO

*Fawzia A. Al-Shanawi; Heba M. A. Al-Obaidi

falshanawi@yahoo.com

* Department of Biology , College of Sciences , University of Baghdad. Baghdad-Iraq

Abstract

In vitro test has been made to find out the efficacy of aqueous and ethanolic extract of *Peganum harmala* seeds against *Entamoeba histolytica* in three concentrations (1000, 1500, 2000 µg/ml) in an exposure time of 2hrs, preliminary chemical analysis has been performed for some chemical groups which may exist in the seeds.

Results showed that all concentrations of alcohol extracts caused high mortality against parasite by using the alcohol extract in all used concentrations, this may due to the high containing of alkaloids. The highest mortality percentage achieved by alcohol extract was 97.5% while it was 90.1% by aqueous extract at 2000 µg/ml.

Keywords:- *Entamoeba histolytica*, *Peganum* seed extract, effect

المقدمة

يعد داء الأميبا amoebiasis واحداً من الأسباب الرئيسية للمرض و الوفيات حول العالم، وهو ينتج من إصابة القناة المعوية المعوية للأنسان بطفيلي الأميبا الحالة للنسيج *E. histolytica* و هو طفيلي أولي *protozoan parasite* قادر على اجتياح الطبقة المخاطية المعوية و الانتشار الى أعضاء أخرى خصوصا الكبد و الذي يؤدي عادة الى الأصابة بخراج الكبد الأميبي amoebic liver abscess [1] و غالبا ما تكون ناشطات الطفيلي trophozoites الأجتياحية مصحوبة بتخثر شديد.

يعزى ذلك الى عوامل عدة مثل تحفيز النشاط الألتهابي لخلايا المضيف، أنتاج أنزيم cystein protease من ناشطات و حث التدمير الخلوي لخلايا المضيف apoptosis [2]. و تنتشر الأصابة بالأميبا الحالة للنسيج في العالم أجمع الا أن أعلى نسب للانتشار سجلت في الدول النامية و مناطق شبه القارة الهندية و أجزاء من وسط و جنوب أمريكا و المناطق الأستوائية في أفريقيا [3].

و لأهمية داء الأميبا بوصفه مشكلة صحية عالمية ؛ أتجهت بحوث عدة لأيجاد علاج للمرض من المستخلصات النباتية منها الدراسة التي قام بها [4] حول خصائص نبات *Helianthemum glomeratum* المضادة للأوالي، أذا وجد أن مستخلص الأوراق و الجذور ذو قدرة عالية ليس فقط في القضاء على الأميبا الحالة للنسيج بل على الطفيلي الجيارديا *Giardia lamblia* أيضا

في هذه الدراسة تم أستعمال نبات الحرمل و الذي ترجع أهميته الطبية الى عهد قدماء اليونان الذين أستعملوا مسحوق البذور للتخلص من الديدان الشريطية [5] يحتوي الحرمل على العديد من القلويدات التي توجد بصورة خاصة في البذور و الجذور مثل harmaline و harmine و harman [6,7]. و لبذور الحرمل و قلويداته تأثيرا مضادا للأوالي الطفيلية اذ وجد للمستخلص المائي للبذور تأثيرا واضحا في تثبيط طفيلي الملاريا *Plasmodium falciparum* خارج الجسم الحي [8] ، و في دراسة أجرتها [9] وجد أن قلويد harmaline فعال في علاج الليشمانيا الجلدية، كما وجد أن مستخلص القلويدات الكلي total alkaloids فعالية مضادة للسبوريات الدموية Heamosporidia [10].

طرائق العمل:

١- تحضير المستخلص المائي و الكحولي لبذور الحرمل
حضر مستخلصي بذور الحرمل بأستعمال الماء و الكحول الأيثلي ٧٠% بوصفهما مذيبين مختلفي القطبية؛ اذ حضر المستخلص المائي بوزن ٢٥ غرام من مسحوق بذور الحرمل و اضيف ١٢٥ مليلتر من الماء المقطر المغلي بحيث يكون معلق سهل الترشيح بعدها وضع المعلق النباتي على جهاز المحرك الكهربائي (Electric stirrer) لمدة ساعتين ثم رشح عبر ٤ قطع شاش، و وضع الراشح الناتج في أنابيب الطرد المركزي و طرد مركزيا بسرعة ٣٠٠٠ دورة / دقيقة لمدة ١٥ دقيقة، وضع الرائق بعدها في أطباق بتري و أدخل في فرن التجفيف بدرجة ٤٠ م. بعد تمام التجفيف، قشط مسحوق مستخلص البذور و وضع في وعاء زجاجي نظيف و محكم الغلق و حفظ في درجة حرارة الغرفة لحين الأستعمال. و لتحضير المستخلص الكحولي تم وزن ٢٥ غرام أيضا من مسحوق بذور الحرمل و أضيف إليه ١٢٥ مليلتر من الكحول الأيثلي ٧٠% ثم وضع المعلق الناتج في حمام مائي بدرجة ٥٠ لمدة ٢٤ ساعة ثم وضع في جهاز المحرك الكهربائي لمدة ساعتين و أكملت الخطوات الأتية كما في تحضير المستخلص المائي المذكورة أعلاه [11].

٢- التحليل الأولي للمجاميع الكيميائية النباتية

أجري تحليل نوعي للمجاميع الكيميائية النباتية ألتى تحويها بذور الحرمل و ذلك بأتباع إجراءات قياسية متبعة في أغلب البحوث العالمية و المحلية؛ اذ أجريت أختبارات للكشف عن قلويدات حسب طريقة [12] ، و الفلافونويدات حسب طريقة [13]، و الكلايكوسيدات و الراتنجيات و الصابونينات و التانينات حسب طريقة [14]، و للفينولات حسب طريقة المستخدمة [15] ، و للترينينات و الستيرويدات حسب طريقة (١٦) و للزيوت الطيارة حسب الطريقة المتبعة (١٧).

٣- أختبار فعالية المستخلص المائي و الكحولي لبذور الحرمل ضد الأميبا الحالة للنسيج خارج الجسم الحي.

لأجراء الأختبار لكل من المستخلص المائي و الكحولي، تم أولا تهيئة التراكيز المطلوبة من كل مستخلص و هي ١٠٠٠، ١٥٠٠، ٢٠٠٠ مايكروغرام/مليلتر و ذلك بعمل محلول خزين stock solution لكل مستخلص بأذابة ٥٠٠ ملليغرام من المسحوق المجفف له في ١٠٠ مليلتر من الماء المقطر ثم طبق قانون التركيز الأول X الحجم الأول = التركيز

وزعت بشكل أربع مجاميع تحتوي كل مجموعة على ثلاثة أنابيب اختبار. عوملت المجموعة الأولى بالتركيز الأول للمستخلص ١٠٠٠ مايكروغرام/مليتر، و عوملت المجموعة الثانية بتركيز ١٥٠٠ مايكروغرام/مليتر و عوملت المجموعة الثالثة بتركيز ٢٠٠٠ مايكروغرام/مليتر أما المجموعة الرابعة فتركت الأميبا فيها بدون معاملة كونها مجموعة سيطرة سالبة، رجت الأنابيب برفق لتوزيع المستخلص بشكل متساوي داخل الوسط الزرعي للأميبا ثم وضعت الأنابيب في حاضنة بدرجة ٣٧م لمدة ساعتين بعدها أخذت الأنابيب و قدرت النسب المئوية للأميبا المقتولة عند أستعمال شريحة عد كريات الدم و صبغة الأيوسين ١% اذ استخرجت النسب المئوية للأميبا المقتولة من القانون الآتي:

النسبة المئوية للأميبا المقتولة = عدد الأميبا المصطبغة
بالأيوسين / عدد الأميبا الكلي $\times 100$

النتائج:

١- التحليل الأولي للكيميائيات النباتية

دلت نتائج التحليل الأولي احتواء بذور الحرمل على بعض المجاميع الكيميائية كما مبين أدناه:

الكيميائيات النباتية	قلويدات	فلافونويدات	كلايكوسيدات	فينولات	راتنجات	صابونينات	تربينات و ستيريديات	تانيينات	زيوت طيارة
بذور الحرمل	+	-	+	-	-	+	-	+	-

وصلت نسبة قتل التركيز الأول إلى ٤٤.٢%، و نسبة القتل في التركيز الثاني إلى ٦٦.٨%، فيما أرتفعت نسبة القتل إلى ٩٧% عند أستعمال التركيز الثالث. و لم تحدث هلاكات تذكر في مجموعة السيطرة السالبة التي لم يضاف الى الوسط فيها أي عامل مضاد للأميبا (شكل ١).

الثاني \times الحجم الثاني $C_1V_1=C_2V_2$ للحصول على التراكيز أعلاه، و لضبط الكثافة العددية و الحيوية للأميبا المزروعة خارج الجسم الحي لأجراء الأختبار؛ تم أستعمال شريحة كريات الدم و صبغة الأيوسين ١% اذ وضعت قطرة من وسط الأميبا الزرعي على شريحة زجاجية نظيفة ثم أضيفت قطرة من صبغة الأيوسين ١% و بعد المزج الجيد سحبت منها ١٠ مايكروليترات بواسطة ماصة دقيقة و وضعت على شريحة عد كريات الدم و فحصت تحت المجهر بقوة تكبير 40X اذ استخرج العدد الكلي للطفيليات [18] بتطبيق المعادلة الآتية:

عدد الطفيليات الكلي = عدد الطفيليات في ٤ مربعات كبيرة $\times 2500$

و لحساب النسبة المئوية للعدد الحي للطفيليات أستعملت المعادلة أعتقادا على عدم نفاذية صبغة الأيوسين الى داخل الخلية الطفيلية الحية و هي:

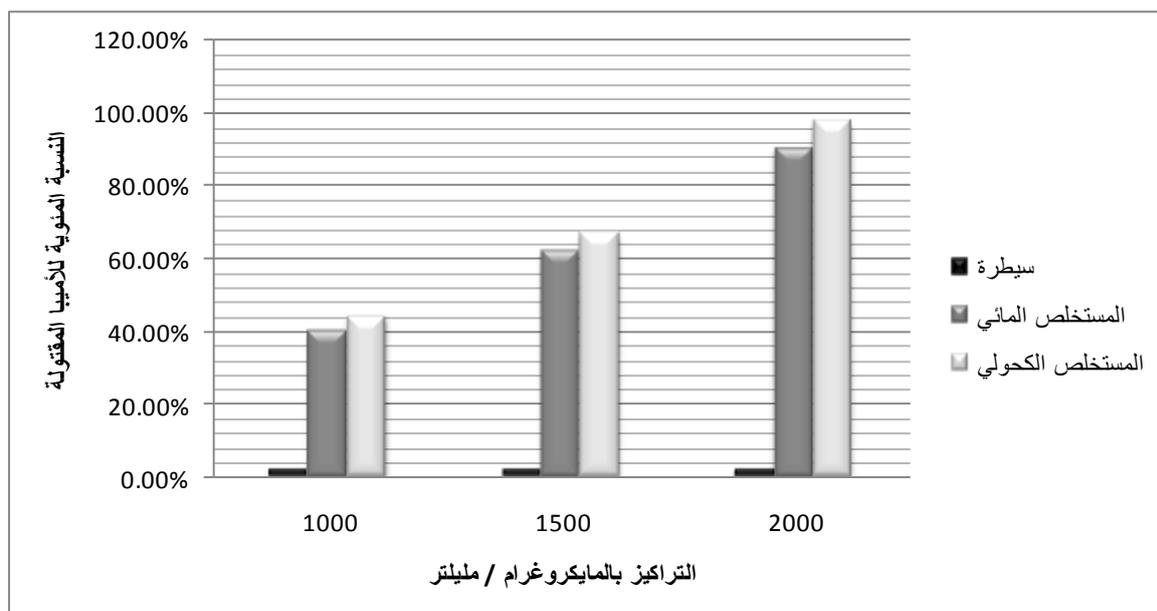
النسبة المئوية للأميبا الحية = عدد الأميبا غير المصطبغة
بالأيوسين / عدد الأميبا الكلي $\times 100$

كررت عملية العد ثلاث مرات عند كل تجربة و أعتد المتوسط الحسابي للمكررات الثلاثة و أستعملت الأميبا بكثافة عددية ٥٠٠٠٠٠٠ أميبا/مليتر و حيوية لا تقل عن ٩٥%.

أجري الأختبار بأضافة ١ مليتر من مزرعة الأميبا في وسط لوك البيض (LE) Locke-Egg [19] المعزولة من عينة براز لأحد المصابين بداء الأميبا الى كل من أنابيب الأختبار التي

٢- أختبار فعالية المستخلص المائي و الكحولي لبذور الحرمل ضد الأميبا الحالة للنسيج خارج الجسم الحي

أظهرت نتائج الأختبار فعالية مستخلصي الحرمل المائي و الكحولي في قتل الأميبا الحالة للنسيج، اذ كانت أعداد الأميبا المقتولة و النسب المئوية للقتل الخاصة بالمستخلص المائي للحرمل ضمن زمن التجربة، و عند التركيز ١٠٠٠ مايكروغرام /مليتر كانت نسبة القتل ٤٠.٣%، أما التركيز ١٥٠٠ مايكروغرام /مليتر فقد وصلت نسبة القتل الى ٦٢.١% و أزدادت هذه النسبة لتصل عند التركيز ٢٠٠٠ مايكروغرام /مليتر إلى ٩٠.١%. أما المستخلص الكحولي للحرمل فقد أظهر فعالية أفضل من المستخلص المائي في قتله للأميبا إذ



شكل ١: النسب المئوية للأميبيا الحالة للنسيج المقتولة بعد معاملتها بالتركيز ٢٠٠٠، ١٥٠٠، ١٠٠٠ مايكرو غرام/مليلتر من مستخلصي بذور الحرمل المائي و الكحولي لمدة ساعتين خارج الجسم الحي

المناقشة:

و بين الباحثان سبب هذا التأثير الى محتوى هذا المستخلص من القلويدات. و في دراسة أخرى أشار [21] الى أن تأثير المستخلص الأيثانولي لثمار نبات الفلفل الطويل *Piper longum L.* المضاد للأميبيا الحالة للنسيج ربما يكون بسبب احتواء المستخلص لقلويد *Piperine*. يتضح من النتائج المبينة أن المستخلص الكحولي الأيثلي كان الأفضل من المستخلص المائي في فعاليته ضد الأميبيا؛ و قد يرجع سبب ذلك بصورة عامة الى كون الكحول الأيثلي قادر على اذابة القلويدات بشكل أفضل من الماء [22]، و على الرغم من ذلك فان الماء في هذه البحث و بحسب نتائج تحليل الكيمياء النباتية كان فعالاً أيضاً في استخلاص القلويدات. و هو ما يتفق مع ما بينه [23] من أن الماء كان فعالاً أيضاً في أستخلاص المركبات الفعالة من بذور الحبة السوداء مثل التانينات و القلويدات و غيرها. و في سياق ذلك يشير [24] الى أن قلويد *harmaline*، و هو القلويد الرئيس للحرمل؛ يذوب بشكل قليل في الماء الا انه يذوب تماماً في الكحول الحار و الحوامض المخففة. فيما يؤكد [25] ان قلويد *Harmin* يذوب بسهولة في الكحول، و الأسيتون *acetone*، و الكلوروفورم *chloroform* و الإيثر *ether*، و يذوب بشكل معتدل في الماء الحار. أما قلويد *Harmine* فهو قليل الذوبان عموماً في الماء و الكحول و الإيثر و هو مشابه لقلويد *Harmaline* عقاقيرها من ناحية الفعالية؛ لذا و بناء على ما تقدم، يبدو ان فعالية مستخلص الحرمل المائي و الكحولي

أن هذه النتائج تؤكد فعالية الحرمل بمستخلصه المائي و الكحولي ضد الأميبيا خصوصاً عند التركيز ٢٠٠٠ مايكروغرام/مليلتر، و قد تعزى هذه الفعالية المضادة للأميبيا الى ما تحتويه بذور الحرمل من قلويدات بالدرجة الأساس، و التي تم الكشف عنها بالتحليل الأولي للكيمياء النباتية فضلاً عن وجود التانينات و الصابونيات و الكلايكوسيدات. بين تأثير قلويدات الحرمل في الأوالي الطفيلية أن النتائج كانت متفقة مع ما وجدته [10] في دراسته لتأثير مستخلص القلويدات الكلي للحرمل (*total alkaloid*) بأستعمال *hydrochloride* على مجموعة من الموشى المصابة طبيعياً بطفيليات السبوريات الدموية (*haemosporidia*) التي تضم طفيليات *Babesia* ، *T. annulata*، *Theileria sergentie* ، *Anaplasma marginate*، *bigemina*؛ إذ أظهر المستخلص فعالية مضادة لهذه الطفيليات و بمعدلات شفاء ٨٦%، ٨٥%، ٨٨%، ١٠٠% على التوالي، و هي أفضل من معدلات الشفاء التي تم الحصول عليها باستخدام العقار الكيمائي *diminazene aceturate* و بأقل التأثيرات الجانبية. و تتسجم الدراسة من ناحية تأثير القلويدات في قتل الأميبيا الحالة للنسيج مع ما توصلت اليه [20] في دراستهما لتأثير المستخلص الكحولي ٥٠% لبذور نبات *Javanica* في أباد الأميبيا الحالة للنسيج خارج الجسم الحي؛ إذ أظهرت نتائج هذه الدراسة فعالية هذا المستخلص ضد الأميبيا.

٥. سعد، شكري إبراهيم؛ القاضي، عبد الله و محمد، صالح عبد الكريم. ١٩٩٨. النباتات الطبية و العطرية و السامة في الوطن العربي. جامعة الدول العربية، المنظمة العربية للتنمية الزراعية، الخرطوم - السودان. ٤٧٧ صفحة.

6. El-Bahri, L. and Chemli, R. 1991. *Peganum harmala* L. : A Poisonous plant of North Africa. *Vet. Hum. Toxicol.* **33**:276-277.
7. Wazzan, N.N.B. 2009 Study the effect of plant extracts mixture from seed of *Pegonum harmala* and cones of *Cupressus sempervirens* on viability of protoscolices of *Echinococcus granulosus* in vitro and in vivo, M.Sc. thesis, College of Science University of Baghdad; Iraq; P161
8. Sathiyamoorthy , P. ; Lugasi-Evgi , H. ; Schlesinger , P. ; Kedar , L ; Gopas , J. ; Pollock , Y. and Golan-Goldhirsh , A. 1999 Screening for cytotoxic and antimalarial activities in desert plants of the Negev and Bedouin in market plant products . *Pharmaceutical Biology* **37**(3): 188-195.
9. Iwu , M. M. ; Jackson , J. E. and Schuster , B. G. 1994 . Medical plants in the fight against leishmaniasis . *Parasitol. Today.* **10**:65-68 .
10. Hu , T. ; Fan , B. ; Liang , J. ; Zhao , S. ; Dang , P. ; Gao , F. and Dong , M. 1997 . Observations on the treatment of natural haemosporidia infection by total alkabid of *Peganum harmala* L. in cattle . *Trop. Anim. Health Prod.* **29**(4): 72-76 . [Abstract].

١١. العبيدي شيماء صباح مهدي ٢٠٠٤. تأثير بعض المستخلصات النباتية الخام على الأنقسام الخلوي. رسالة ماجستير، كلية العلوم للنبات، جامعة بغداد، العراق. ص ١٤٦

12. Fahmy , L 1933. *Constituents of plants and crude drug.* 1st ed., Poul barby , Cairo.
13. Jaffer , H. ; Mahmoud, M. ; Jawad, A. ; Naji, A. and AL-Nab, A. 1983. Phytochemical and biological screening of some Iraq plants. *Fitoterapia ; Lix.*, 299. **59**:229-233.
14. Shihata , I. 1951. A pharmacological study of *Anagallis arvensis* . M. D. Vet. Thesis, Cairo University.

ترجع بصورة رئيسية الى قلويدي Harmin و Harmaline ثم قلويد Harmine و باقي القلويدات الأخرى. و يعزز هذا الرأي النتائج التي قدمها [9] و التي تؤكد فعالية قلويد Harmaline ضد طفيلي الشمانيا الجلدية. و ذلك بوصفه أحد الطفيليات الأولية أيضا، كما يشير [26] الى أن قلويد Harmane ذو تأثير مضاد لطفيلي *Trypanosoma lewisi* ، فيما ترجع الدراسات المصرية ان فعالية مستخلص الحرمل الواضحة ضد البكتريا و الفطريات ترجع غالبا الى قلويد Harmine [27] . ان آلية عمل القلويدات في قتل الخلايا الحية ترجع الى قدرتها على التداخل مع المركبات الأساسية للخلية و تدميرها؛ إذ يشير [28] الى ان آلية عمل بعض القلويدات مثل Harmane تتسبب الى قابليتها على التداخل مع الحامض النووي الرايبوس منقوص الأوكسجين DNA. كما يفسر [29] آلية عمل قلويد Harmine في دراسته لتقويم فعالية هذا القلويد ضد طفيلي الشمانيا الأحشائية *Leishmania donovani* ؛ إذ يبين أن Harmine يتداخل في مرحلة الأنقسام الخلوي للطور أمامي السوط للطفيلي (promastigote) ، الا أنه لا يحفز قتلا ذاتيا في الخلايا و أنما قد يكون موت الخلية ناتجا من تتخر يحصل في الغشاء الخلوي.

يبين هذا البحث أهمية المستخلصات الخام (المائية و الكحولية) لبذور نبات الحرمل في الكشف عن فعاليتها المضادة ضد الأميبا الحالة للنسيج، و ذلك أملا في الحصول على علاج آمن و فعال لداء الأميبا بعيدا عن الأضرار الجانبية التي يمكن أن تحدث نتيجة أستعمال العقار الكيميائي

المصادر:

1. Samuel, L.; Stanley, J.; Sharon, L. and Reed, I. 2001 Microbes and microbial toxin: paradigms for microbial mucosal interactions VI. *Entamoeba histolytica*: parasite - host interactions. *Am. J. Phy. Gastrointest. Liver Physiol.* **28**(06):1049-1054.
2. Stanley, S. L. 2001. Pathophysiology of amebiasis . *Trends Parasitol.* **17**:280-285.
3. Li, E. and Stanley, S. L. 1996. Protozoa: Amebiasis . In: Parasitic diseases of the liver and intestines. *Gastroenterol. Clin. N. Am.* **25**:471-492
4. Meckes , M. ; Calzada , F. ; Tapia-Contreas , A. and Cedillo-Rivera , R. 1999. Antiprotozoal properties of *Helianthemum glomeratum*. *Phyther. Res.* **13**(2):102-105.

28. Philipson , J. D. and O'Neil , M. J. **1987**. New leads of the treatment of Protozoal infections based on natural product molecules . *Acta Pharm. Nord.* **1**:131-144.
29. Lala , S.; Parmanick, S.; Mukhopadhyay , S. ; Bandyadhyay , S. and Basu , M. **2004**. Harmine : Evaluation of its antileishmanial properties in various vesicular delivery systems. *J. Drug Target* **12**(3): 165-175.
15. Harborne , J. **1973** . *Phytochemical methods, a guide to modern techniques of plant analysis*. Chapman and Hall publications, Ltd., London. pp. 159-165.
16. AL-bid, M. **1985**. *Zusammensetzung der Absushlub Memtrame in Phoenix dactilyfra* . Wurzburg Univ. Wurzburg F. R. of Germany. (Cited by AL-Khafagi, 2000).
17. Indian herbal pharmacopoeia **1998**. A Joint publication of regional research laboratory. Concl of Scintific & Industrial Research, *Jammutawi* **1**:1-10 .
18. Hansen, P. **2000**. Use of a hemocytometer. <http://animal.ufl.edu/Hansen/protocols/>.
19. Brand , T. Von ; Rees , C. R. ; Jacobs , L. and Reardon, L. V. **1943** . Studies on reducing substances and gas formation in cultures of *Entamoeba histolytica* and single species of symbiotic bacterium. *Am. J. Hyg.***37**:310-319.
20. Lwin, K. and Myint, O. **2004**. *InVitro* Antiamoebicidal activity of "Dysenzi" on *Entamoeba histolytica in vitro*. FAME Pharmaceuticals Co.; Ltd.: <http://famepharma.com/>.
21. Ghoshal , S. ; Prasad , B. and Lakshim , U. **1996** . Antiamoebic activity of *Piper longum* fruits against *Entamoeba histolytica in vitro* and *in vivo* . *J. Ethno. Pharmacol.* **50**:167-170.
22. Cowan , M. M. **1999**. Plant products as antimicrobial agents . *Clin. Microbiol. Rev.* **12**(4):564-582.
٢٣. التميمي، أريج عدنان يوسف. ٢٠٠١. فعالية مستخلصات الحبة السوداء المحلية . *E. coli* ضد الأصابة المرضية ببكتريا *Nigella sativa L* في الفئران البيض. رسالة ماجستير، كلية العلوم ، جامعة بغداد، العراق، ص ٧٦.
24. Budavari, S. and O'Neil, M. J. **1996** . *The Merck Index* . 12th ed., CRC Press. Boca Raton , Fla . pp. 4644-4645 .
25. Glosby , J. S. **1978** . *Encyclopedia of the alkaloids* . Plenum Press . London, UK.
26. Hopp , K. H.; Cunningham , L. V.; Bromel, M. C.; Schermeister , L. J.; khalil , S. K. **1976** . *In vitro* antitrypanosomal activity of certain alkaloids against *Trypanosome lewisi*. *Lloydia* **39**:375-377.
27. Leda/Lycaeum Entheogen Database **2000**. *Peganum harmala* -Syrian rue. <http://www.leda.lycaeum.org/>.