مجلة جامعة النهرين المجلد ١٤ العدد(3) أيلول، ٢٠١١ ص ٧٤-٨٢
العلوم

دراسة تاثير المستخلص المائي والكحولي لبذور الحرمل ومخاريط السرو في حيوية الرؤيسات الاولية للمشوكة الحبيبية *Echinococcus granulosus* خارج الجسم الحي.

فوزية احمد الشنوي و نور نهاد باقر
قسم علوم الحياة ، كلية العلوم ، جامعة بغداد.

الخلاصة

تضمنت الدراسة تحضير المستخلصات المائية لبذور الحرمل بالتراكيز ١٠، ٢٠ أو ٣٠ مليغرام/مليليتر، ومخاريط السرو بالتراكيز ٥٠ ،١٠٠ أو ٢٠٠مليغرام/ مليليتر. اما المستخلصات الكحولية لبذور الحرمل ومخاريط السرو فكانت التراكيز ١، ٢ او ٣ مليغرام/ مليليتر و ٥٠، ١٠٠ او ٢٠٠ مليغرام/ مليليتر. على التوالي؛ وذلك لدراسة تاثيرها في حيوية الرؤيسات الاولية لطفيلي المشوكات الحبيبية *Echinococcus granulosus* في الزجاج *(in vitro)* من اجل الوصول الى التركيز الفعال في قتل الرؤيسات خلال اقصرمدة زمنية اوضحت النتائج انخفاض الحيوية عند المعاملة بالمستخلص المائي لبذور الحرمل ومخاريط السرو فحصل القتل التام للرؤيسات الأولية عند التراكيز ٣٠، ٢٠٠ مليغرام/ مليليتر في الزمن ٣٠ دقيقة على التوالي. بينما تميزت المستخلصات الكحولية لبذور الحرمل ومخاريط السرو اذ أحدثت القتل التام للرؤيسات في الزمن صفر دقيقة عند التراكيز ٣، ٢٠٠ مليغرام / مليليتر على التوالي.

الكلمات المفتاحية: دودة المشوكة الحبيبية ، نبات الحرمل ، نبات السرو

المقدمة

ان داء الأكياس العدرية (Hydatidosis) معروف في الاقطار العربية باسماء متعددة فهو داء مرض الاكياس المائية Hydatid Cyst disease، ومرض الاكياس المائية احادية الفجوة (Unilocular Hydatid disease)، ومرض المشوكات الكيسي Echinococcosis (Cystic) (٥). ويتسبب المرض عن الطور اليرقي (Hydatid cyst) وهو تابع لطفيليات شريطية تعود لجنس *Echinococcus*الذي يشمل أنواع عدة اهمها: النوع الحبيبي *E.granulosus*، والنوع السنخي *E. multilocularis* (٢٣) وهو من الامراض المتوطنة endemic في العراق ومعظم الدول العربية المجاورة لوجود اعداد كبيرة من الكلاب السائبة المصابة بالديدان البالغة التي تكون بتماس مباشر مع المضائف الوسطية والتي تشمل كثيرا من الحيوانات الداجنة (١٣). ونظرا للنجاح الجزئي للعقاقير المستعملة في علاج الاكياس العدرية فضلا عن أعراضها الجانبية على المريض (٣٠). لذلك جرت محاولات في توظيف المستخلصات النباتية لبيان تاثيرها في حيوية الرؤيسات الاولية.

نبات الحرمل *Peganum harmala*

الحرمل نبات عشبي معمر ينتمي الى العائلة الرطرطية Zygophyllaceae يبلغ ارتفاعه ٣٠- ١٠٠ سم، وتكون السيقان متفرعة له اوراق خطية متفرعة عميقة التشقق الازهار بيضاء خماسية البتلات والثمار بشكل علب ثلاثية الحجرات تحوي كل حجرة على عدد كبير من البذور (٦). وينتشر بريا في الاراضي الصحراوية القاحلة وموطنه الاصلي الشرق الاوسط وشمال افريقيا وجنوبي اوربا. ويحتوي نبات الحرمل على عدد كبير من القلويدات الموجودة خاصة في البذور والجذور وتبلغ نسبتها حوالي ٤%، تشمل قلويدات بيتا – كاربولين β -Carboline وهي من قلويدات الاندول مثل:Harmaline، و Harmalol، و Harmine(٧). ويحتوي الحرمل على:resin (الراتنجات)، Banisterin alkaloid، Fatty oil، والصبغة الحمراء، Harmala (١٠). و الحرمل وله تاثير مضاد للديدان الشريطية (١١). وبين (12) ان قلويد Harmaline، Harmine في مستخلص بذور الحرمل يعزى اليهما التاثير الخافض للحرارة . ووجد للحرمل تاثيرا واقياً ضد اكسدة(LDL) Low- density Lipo protein (١٦). واستخدم الحرمل مضاداً

للالم (٢٦). وبين (٩) ان الحرمل مدر للحليب عند السيدات وزيادة اشتهاء الطعام ويستخرج زيت لعلاج التهاب العيون والامراض الجلدية ومضاد للبكتريا الممرضة والفطريات.

نبات السرو *Cupressus sempervirens*

السرو شجرة طويلة دائمة الخضرة مخروطية الشكل تنتمي الى العائلة السروية (Cupressaceae) تعلو ٣٠ متراً (٧). الاوراق حرشفية ملتصقة بالفروع والمخاريط الانثوية كروية والثمار صغيرة وعند النضج تصبح متخشبة كانها الدروع الصغيرة والبذور مجنحة صغيرة (١١). ينتشر في تركيا ويزرع في حوض البحر المتوسط (٧) ويحوي النبات على تانينات Tanins و Camphor و Piperitone و Flavone وزيوت طيارة تتكون من: Phellendrene و Lemonene و Terpineol (٢٢) واحتواءها ايضاPinene، Cadinene، d-Sylvesterne، Cymene Camphene، -d (١٠) ويهدئ الضيق المؤقت الناتج من السعال الديكي وله تاثير مضاد للديدان والاسهال فهو مادة قابضة ويستخدم بشكل مرهم في حالات النزيف و مضاد لبكتريا*Bacillus subtilis Staphylococcus aureus* (٢٢). و يستخدم مطهرا ًوخافضاً للحرارة ومزيلاً للتسمم ومضادا للروماتيزم (٢). ولاحظ (14) تاثير السرو في تثبيط نمو طفيلي *Giardia lamblia* خارج الجسم الحي وكان فعالا.

المواد وطرائق العمل

مصدر الأكياس العدرية وطريقة عزلها

تم الحصول على الاكياس العدرية الكبدية من اصل اغنام من احد القصابين في بغداد ومن ثم تم نقلها الى المختبر مباشرة لاجراء عملية العزل التي تمت بوضع الكبد الحاوي على اكياس عدرية في طبق معقم كبير وتم تعقيم السطح الخارجي للكبد بقطنة مبللة بالكحول الاثيلي بتركيز ٧٠% ثم ثقب الكيس بأستخدام محقنة طبية سعة ١٠ مليليتر بحجم 23G وسحبت اكبر كمية ممكنة من السائل الكيسي ونقل الى دورق معقم لاستخدامها في تحضيرالوسط الحافظ المكون من السائل الكيسي +محلول كرب رنجر بنسبة ١:٤، وبعدها تم القيام بفتح الكيس بالمقص، واخذت الطبقة المولدة الحاوية على عدد اكبر من الرؤيسات الاولية وقطعت الى قطع صغيرة وتم غسلها بمحلول رنجر ووضع السائل الناتج من الغسل في مصفاة معقمة بثقوب ٢٠٠ مايكروميتر تسمح بمرور الرؤيسات الاولية ثم ترك الراشح لدقائق عدة لحين ترسب الرؤيسات ثم ازيل الراشح ونقل الراسب الحاوي على الرؤيسات الاولية الى الوسط الحافظ الذي حضر مسبقا (٢٨).

عملية التهيئة والعد للرؤيسات الاولية

تمت عملية التهيئة بأخذ الرؤيسات الاولية والموجودة في الوسط الحافظ حيث تم وترسيبها بجهاز الطرد المركزي Centrifuge لمدة ١٥ دقيقة بسرعة ٣٠٠٠ دورة/ دقيقة ثم التخلص من الراشح واجراء عملية غسل الرؤيسات بمحلول الملح الفسيولوجي (Phosphate Buffer Saline) ورجت الانابيب جيدا و وضعت مرة اخرى في جهاز الطرد المركزي بالمدة والسرعة نفسيهما ثم التخلص من الراشح، وأعيدت عمليةغسل الرؤيسات مرتين اخرى بالطريقة نفسها ثم اجراءعملية العد للرؤيسات وذلك بسحب ١٠ مايكرليترات بوساطة الماصة الدقيقة Micropipette من المحلول بعد رجه جيدا ثم وضعت على شريحة زجاجية واضيف اليها المقدار نفسه من صبغة الايوسين المائية بتركيز ٠.١% لغرض معرفة حيوية الرؤيسات الاولية في الزمن صفر قبل التعريض للمستخلصات النباتية اذ تظهر الرؤيسات الاولية الحية باللون الاخضر البراق وباللون الاحمر في حالة موتها نتيجة لنفاذ صبغة الايوسين عبر جدار الرويس (28). تم حساب الحيوية بقسمة عدد الرؤيسات الحية على عدد الرؤيسات الكلية × ١٠٠ واخذ معدل ثلاث قراءات واستخدمت في هذه الدراسة رؤيسات اولية ذات حيوية ٩٠% فاكثر.

تحضير المستخلصات المائية والكحولية

حضرت المستخلصات المائية لبذور الحرمل ومخاريط السرو بوزن ١٠٠ غرام من مسحوق البذور او مسحوق المخاريط واضيف اليها ٥٠٠ مليليتر من الماء المقطر المغلي لمدة ساعة ووضع في المحرك الكهربائي لمدة ساعتين ورشح بعد ذلك من خلال اربع قطع من الشاش الطبي. ووضع الراشح الناتج في انابيب الطرد المركزي وطرد مركزيا بسرعة ٣٠٠٠ دورة/ دقيقة لمدة ١٥ دقيقة ووضع الرائق

بعدها في اطباق بتري زجاجية داخل فرن تجفيف بدرجة ٤٠م°. بعد تمام التجفيف قشطت مساحيق المستخلصات النباتية وجمعت في أوعية زجاجية نظيفة ومحكمة الغلق وحفظت في درجة حرارة الغرفة أو في الثلاجة لحين الاستخدام. أما المستخلصات الكحولية فحضرت بنفس الطريقة لكن استخدم كحول اثيلي ٧٠% كمذيب بدل الماء المقطر ثم وضع في حمام مائي بدرجة حرارة ٥٠ م° لمدة ٢٤ ساعة وأكملت الخطوات كما في الاستخلاص المائي.

اختبار افضل تركيز للمستخلصات النباتية المائية والكحولية لكل من نباتي الحرمل والسرو للقضاء على اكبر عدد ممكن من الرؤيسات وفي اقصر مدة زمنية

لغرض بيان تأثير المستخلصات المائية والكحولية لنباتي الحرمل والسرو في حيوية الرؤيسات الاولية المعزولة من اكباد الاغنام في الزجاج *In vitro* ضمن مدة زمنية معينة وتركيز معين بحيث تضمن كل تركيز ٣ مكررات ثم عزل الرؤيسات الاولية وعدها واحتساب حيويتها ووضع في كل انبوب ما يعادل ٣٠٠٠ رؤيس/ مليليتر. وحسبت النسبة المئوية للحيوية عند الزمن صفر ثم اضيفت التراكيز المختلفة من المستخلصات للنباتات وفي الاوقات الزمنية المحددة فحصت الرؤيسات الاولية المضاف اليها المستخلصات النباتية، وتم حساب حيوية الرؤيسات بحسب اصطباغ الرؤيسات الاولية بصبغة الايوسين لبيان تأثير فعالية هذه المستخلصات ومن اجل الوصول الى افضل تركيز يؤدي الى القضاء على اكبر عدد ممكن من الرؤيسات وفي اقصر مدة زمنية تم اجراء الاتي:

١-معاملة الرؤيسات الاولية من الانابيب المهياة الحاوية على عالق الرؤيسات حاوية على ٣٠٠٠ رؤيس في ١ مليليتر بالمستخلص المائي والكحولي للسرو بتركيز 50، ١٠٠، ٢٠٠ مليغرام/ مليليتر.

٢-معاملة الرؤيسات الاولية بالمستخلص المائي للحرمل بتركيز 10، ٢٠، ٣٠ مليغرام/ مليليتر.

٣-معاملة الرؤيسات الاولية بالمستخلص الكحولي للحرمل بتركيز 1،2،3 مليغرام/ مليليتر.

النتائج

تاثير المستخلص المائي لبذور نبات الحرمل في حيوية الرؤيسات الاولية

يبين جدول (١) ان التركيز ٣٠ مليغرام/مليليتر احدث قتل تام للرؤيسات الاولية بنسبة ١٠٠% عند الزمن ٣٠ دقيقة، وعند الزمن صفر (بعد المعاملة مباشرة) انخفضت الحيوية الى ٤٥.٥٣% قياسا مع السيطرة الموجبة اذ بلغت حيويتها ٩٥.٣%. واختلفت هذه الأزمنة معنويا عن الزمن صفر دقيقة عند المستوى ($p\leq0.05$). واما التركيز ٢٠ مليغرام/ مليليتر اظهر تاثيراً قاتلاً للرؤيسات بنسبة ١٠٠% عند الزمن ٩٠ دقيقة، وعند الزمن صفر كانت الحيوية ٥٥.٣٣% والزمن ٣٠ دقيقة ٤٣.٦٧% والزمن٦٠ دقيقة ٢٦.٤٣%. وظهر فرق معنوي لكل من الزمن ٩٠، ١٢٠ دقيقة عن بقية الاوقات، كما اختلف الزمن ٦٠ دقيقة معنويا عن الزمن صفر دقيقة عند مستوى احتمالية ($p\leq0.05$)، بينما اظهر التركيز ١٠مليغرام/مليليتر تاثيراً قاتلاً للرؤيسات عند الزمن ١٢٠ دقيقة اذ بلغت نسبة الحيوية ٠% واختلفت الاوقات جميعها معنويا عن بعضها عند مستوى احتمالية ($p\leq0.05$).

تاثير المستخلص الكحولي لبذور نبات الحرمل في حيوية الرؤيسات الاولية

يوضح جدول(٢) ان التركيز ٣ مليغرام/ مليليتر حقق القتل التام للرؤيسات الاولية عند الزمن صفر دقيقة (بعد المعاملة مباشرة) وكذلك بقية الاوقات قياسا مع مجموعة السيطرة الموجبة التي بلغت نسبة حيويتها ٩٥.٣%، ولم تختلف الأوقات معنويا عن بعضها عند مستوى احتمالية ($P\leq0.05$). واما التركيز ٢ مليغرام/ مليليتر فحدث القتل التام للرؤيسات عند الزمن ٦٠ دقيقة، واختلف معنويا عن الزمن صفر، ٣٠ دقيقة فكانت الحيوية ٥٣.٣٣ ، ٣٩.٣٣% على التوالي عند مستوى احتمالية ($P\leq0.05$). بينما احدث التركيز ١ مليغرام/ مليليتر القتل التام للرؤيسات عند الزمن ٩٠ دقيقة، واختلف معنويا عن الزمن صفر ،٣٠،٦٠ دقيقة فكانت الحيوية ٦٠.١٧ ، ٥٠ ، ٢٠.٥٣ % على التوالي كما

اختلف الزمن ٦٠ دقيقة معنويا عن الزمن صفر، ٣٠ دقيقة عند مستوى احتمالية ($P\leq0.05$).

تاثير المستخلص المائي لمخاريط نبات السروفي حيوية الرؤيسات الاولية

يبين الجدول (٣) ان التركيز ٢٠٠ مليغرام/ مليليتر حقق القتل التام للرؤيسات الاولية ابتداء من الزمن ٣٠ دقيقة، وانخفضت الحيوية في الزمن صفر الى ٢٠.٠% مقارنة مع السيطرة الموجبة ٩٥.٣%، واختلفت الاوقات جميعها معنويا عن الزمن صفرعند مستوى احتمالية ($p\leq0.05$) بينما التركيز ١٠٠ مليغرام/ مليليتر احدث القتل التام للرؤيسات عند الزمن ٩٠ دقيقة الذي اختلف معنويا عن الزمن صفر، ٣٠ ، ٦٠ دقيقة، كما واختلف الزمن ٦٠ دقيقة معنويا عن الزمن صفر دقيقة عند مستوى احتمالية ($p\leq0.05$). اما التركيز ٥٠ مليغرام/ مليليتر فحدث القتل التام للرؤيسات عند الزمن ١٢٠ دقيقة، بينما انخفضت حيوية الرؤيسات عند الزمن صفر، ٣٠، ٦٠، ٩٠ دقيقة لتصل الى ٥١.٣٥، ٤٣.٦٧، ٢٧.٧٣، ٥.٥٣% على التوالي واختلف الزمن ٩٠، ١٢٠ دقيقة معنويا عن بقية الاوقات، بينما اظهر الزمن ٦٠ دقيقة فرق معنوي عن الزمن ٠، ٣٠ دقيقة عند مستوى احتمالية ($p\leq0.05$).

تاثيرالمستخلص الكحولي لمخاريط نبات السروفي حيوية الرؤيسات الاولية

يتبين من الجدول(٤) ان التركيز ٢٠٠ مليغرام/ مليليتر احدث القتل التام للرؤيسات عند الزمن صفر دقيقة، اما التركيز ١٠٠ مليغرام/ مليليتر حدث القتل التام للرؤيسات عند الزمن ٦٠ دقيقة وانخفضت الحيوية في الزمن صفر،٣٠ دقيقة لتصل الى ٤٤.٦٧ ، ٧.٧٠% على التوالي قياساً بالسيطرة الموجبة ٩٥.٣%، واختلف الزمن ٣٠، ٦٠ دقيقة معنويا عن الزمن صفر دقيقة عند مستوى احتمالية ($p\leq0.05$). بينما التركيز ٥٠ مليغرام/ مليليتر حدث القتل التام للرؤيسات عند الزمن ٩٠، ١٢٠ دقيقة اللذين اختلفا معنويا عن بقية الاوقات بينما انخفضت الحيوية عند الزمن صفر، ٣٠، ٦٠ دقيقة لتصل الى ٢٣.٦٧،٣١.٩٣،٤٧.٠% على التوالي واختلف الزمن ٦٠ دقيقة معنويا عن الزمن ٠ دقيقة عند مستوى احتمالية ($p\leq0.05$).

جدول (١)

النسبة المئوية لحيوية الرؤيسات عند المعاملة بالمستخلص المائي للحرمل خارج الجسم الحيٌ في الزجاج.

التركيز	التوقيتات				
	٠ دقيقة	٣٠ دقيقة	٦٠ دقيقة	٩٠ دقيقة	١٢٠ دقيقة
السيطرة الموجبة	٩٥.٣± ٠.٤٩a				
10mg/ ml	٦٤.٠± ١.١٥a A	٥١.٣٣± ١.٣٣a B	٣٨.٩٣± ٥.٤٧a C	٢٧.٥٣ ٥.٤٦±a D	٠.٠٠± ٠.٠ a E
20mg/ ml	٥٥.٣٣ ± ١٤.٢٥ b A	٤٣.٦٧± ٣.٧٥a AB	٢٦.٤٣± ٣.٦٢a B	٠.٠٠± ٠.٠a C	٠.٠٠± ٠.٠a C
30mg/ ml	٤٥.٥٣ ± ١٣.٦٣ b A	٠.٠٠± ٠.٠b B	٠.٠٠± ٠.٠b B	٠.٠٠± ٠.٠b B	٠.٠٠± ٠.٠ a B

جدول (٢)

النسبة المئوية لحيوية الرؤيسات عند المعاملة بالمستخلص الكحولي للحرمل خارج الجسم الحي في الزجاج.

التركيز	التوقيتات				
	٠ دقيقة	٣٠ دقيقة	٦٠ دقيقة	٩٠ دقيقة	١٢٠ دقيقة
السيطرة الموجبة	٩٥.٣± ٠.٤٩a				
1mg/ ml	60.17± 5.32b A	50.0± 0.00 a A	20.53± 10.36 a B	0.00±0 .00 a C	٠.٠٠± ٠.٠ a C
2mg/ ml	53.33± 8.82 b A	39.33± 19.77ab A	٠.٠٠± ٠.٠٠a B	٠.٠٠± ٠.٠a B	٠.٠٠± ٠.٠a B
3mg/ ml	٠.٠٠± ٠.٠c A	٠.٠٠± ٠.٠ b A	٠.٠٠± ٠.٠a A	٠.٠٠± ٠.٠a A	٠.٠٠± ٠.٠ a A

جدول (٣)

النسبة المئوية لحيوية الرؤيسات عند المعاملة بالمستخلص المائي للسرو خارج الجسم الحيٌ في الزجاج.

التركيز	التوقيتات				
	٠ دقيقة	٣٠ دقيقة	٦٠ دقيقة	٩٠ دقيقة	١٢٠ دقيقة
السيطرة الموجبة	±٩٥.٣ ٠.٤٩a				
50mg/ ml	±٥١.٣ ١.٣٣b A	±٤٣.٦٧ ٣.٧٥a A	±٢٧.٧٣ ٥.٥٦ a B	±٥.٥٣ ٥.٥٣a C	±٠.٠٠ ٠.٠ a C
100mg /ml	±٤٦.٢ ٢.٦١c A	±٣٧.٠ ٨.٥٠a AB	±٢٦.٤٣ ٣.٦٢a B	±٠.٠٠ ٠.٠a C	±٠.٠٠ ٠.٠a C
200mg /ml	±٢٠.٠٠ ٠.٠d A	±٠.٠٠ ٠.٠b B	±٠.٠٠ ٠.٠b B	±٠.٠٠ ٠.٠a B	±٠.٠٠ ٠.٠ a B

جدول (٤)

النسبة المئوية لحيوية الرؤيسات عند المعاملة بالمستخلص الكحولي للسرو خارج الجسم الحيٌ في الزجاج.

التركيز	التوقيتات				
	٠ دقيقة	٣٠ دقيقة	٦٠ دقيقة	٩٠ دقيقة	١٢٠ دقيقة
السيطرة الموجبة	±٩٥.٣ ٠.٤٩a				
50mg/ ml	±٤٧.٠ ١٣.٠b A	±٣١.٩٣ ٣.٦٧a AB	±٢٣.٦٧ ١.٨٥ a B	.0±0.0 0a C	±٠.٠٠ ٠.٠ a C
100mg /ml	±٤٤.٦٧ ٢.٩٠b A	±٧.٧٠ ٧.٧٠b B	±٠.٠٠ ٠.٠٠b B	±٠.٠٠ ٠.٠a B	±٠.٠٠ ٠.٠a B
200mg /ml	±٠٠.٠٠ ٠.٠c A	±٠.٠٠ ٠.٠b A	±٠.٠٠ ٠.٠b A	±٠.٠٠ ٠.٠a A	±٠.٠٠ ٠.٠ a A

❖ الحروف المتشابهة (الصغيرة) في العمود الواحد يعني عدم وجود فروق معنوية عند مستوى معنوية $P\leq 0.05$ بين التراكيز حسب اختبار دنكن متعدد الحدود اما الحروف المتشابهة (الكبيرة) في الصف الواحد يعني عدم وجود فروق معنوية عند مستوى معنوية $P\leq 0.05$ بين التوقيتات حسب اختبار دنكن متعدد الحدود.

المناقشة

تاثير المستخلص المائي لبذور الحرمل

ان معاملة الرؤيسات الاولية في الزجاج بالمستخلص المائي لبذورنبات الحرمل ادت الى انخفاض الحيوية الى الصفر عند التركيز ٣٠ مليغرام/ ملليتر بعد ٣٠ دقيقة وحدث ايضا قتل تام للرؤيسات الاولية عند الزمن ٩٠ و١٢٠ دقيقة عند المعاملة بالتركيزين ٢٠ و١٠ مليغرام/ ملليترعلى التوالي. واتفقت هذه الدراسةمع (٤) عند اضافتها المستخلص المائي لبذور الحرمل بالتركيزين ١٠ و١٥ مليغرام/ ملليتر حدث القتل التام للرؤيسات عند الزمن ١٢٠ و٩٠ دقيقة على التوالي. واكدت هذه الدراسة ما توصل اليه (١) عند اضافته المستخلص المائي للحرمل بتركيز ٠.٥ مليغرام/ ملليترالذي قتل الرؤيسات الاولية خارج الجسم الحي في الزجاج بعد ٤٨ ساعة وبتركيز ٠.١٢٥ مليغرام/ ملليتر حدث القتل التام للرؤيسات بعد ٧٢ ساعة، وتعود الفعالية التثبيطية للحرمل لاحتوائه على قلويدات β–Carboline التي تشمل قلويد الحرملين والحرمين التي تعمل على تثبيط انزيمات DNA Topoisomerase التي لها اهمية في تخليق DNA (٢٩) كما بين (٨) حدوث انخفاض في حيوية الرؤيسات الاولية عند اضافته المستخلص المائي لنباتي الحنظل *Citrullus colocynthis*، والخرنوب *Prosopis fracta* خارج الجسم الحي وذلك راجع الى احتواء هذين النباتين على مواد فعالة من ضمنها القلويدات التي تعمل على خفض السكر داخل الرؤيسات، ومن ثم خفض الفعاليات الايضية التي تؤدي الى موت الطفيلي وان العديد من القلويدات لها تاثير مضاد للحشرات وللديدان الخيطية اذ تعمل في تثبيط الايض فيها مسببة موتها لذا فان تاثير هذه المركبات القلويدية في الرؤيسات قد يكون نتيجة لتداخل هذه المركبات مع سلسة التفاعلات الايضية

للبروتينات الضرورية لاستمرار حيوية الرؤيسات الاولية مؤدية الى تحطم الجدار الخلوي ومايحويه من بروتينات ودهون حتى هلاك الطفيلي (١٥). واجرى (.24) دراسة على قلويد معزول من نبات *Sophora moorcoftiana* حصل قتل تام للرؤيسات بعد ٧ أيام من الحضن عند التركيز ٦ غرام/ لتر وكانت نسبة القتل ٩٧% عند التركيز ٣ غرام/ لتر واما التركيز ١.٥ و ٠.٧٥ غرام/ لتر فكانت نسبة القتل ٩٥، ٧٦% على التوالي.

تاثير المستخلص الكحولي لبذور الحرمل

ادت معاملة الرؤيسات بالمستخلص الكحولي لنبات الحرمل بالتراكيز ١، ٢ او ٣ مليغرام/ مليليتر الى انخفاض في الحيوية اذ كانت صفر في الزمن صفر دقيقةعند المعاملة بالتركيز ٣ مليغرام/ مليليتر، اما التركيزين ٢ و١ مليغرام/ مليليتر حصل القتل التام للرؤيسات عند الزمن ٦٠ و ٩٠ دقيقة على التوالي. وهذا يوضح التأثير القاتل للمستخلص الكحولي للحرمل عند اضافته بتراكيز قليلة قياسا بالمستخلص المائي للنبات وهذا راجع الى كون المستخلص الكحولي يمتاز بوجود الراتنجات فضلا عن وجود القلويدات اذ إن الراتنجات لاتذوب في الماء ولكنها تذوب في الكحول اما القلويدات تذوب بشكل جزئي في الماء لكنها تذوب جيدا في الكحول (11). وتعود فعالية الراتنجات الى كونها مركبات مؤكسدة سامة للاحياء المجهرية لها القابلية على الارتباط مع المكونات الدهنية لغشاء الخلية مؤدية إلى إعاقة عمله ومن ثم تثبيط نشاط الخلية وموتها (١٧). وأشار (٨) في دراسته ان المستخلص الكحولي لنبات الحنظل الذي عزا تاثيره التثبيطي في حيوية الرؤيسات الاولية الى احتواء هذا النبات على مركبات فعالة عدة من بينها القلويدات والراتنجات التي اثرت في حيوية الرؤيسات الاولية خارج الجسم الحي فحصل هلاك الرؤيسات بعد ٢٤ ساعة عند التركيز ١٠٠ مليغرام/ مليليتر قياسا بالمستخلص المائي للنبات. وبينت (٤) ان حيوية الرؤيسات الاولية كانت صفراعند معاملتها بالمستخلص الكحولي لبذور الحرمل بالتركيز ١ مليغرام/ مليليتر عند الزمن ٣٠ دقيقة وانخفضت حيوية الرؤيسات في التركيزين ٠.٥، ٠.٢٥ مليغرام/ مليليتر لتصل ٢٦%، ٥٦% على التوالي.

تاثير المستخلص المائي لمخاريط السرو

ادت معاملة الرؤيسات الاولية بالمستخلص المائي للسرو بالتراكيز 50، ١٠٠ او ٢٠٠ مليغرام/ مليليتر اذ حصل القتل التام للرؤيسات بعد مرور ٣٠ دقيقة عند التركيز ٢٠٠ مليغرام/ مليليتر اما التركيزين ١٠٠ و ٥٠ مليغرام/ مليليتر فحصل القتل التام للرؤيسات عند الزمن ٩٠، ١٢٠ دقيقة على التوالي فان التاثير القاتل للمستخلص المائي يعود الى وجود التانينات، والصابونين، والفلافونيدات، والزيوت الطيارة (19) اذ ان التانينات لها القدرة على الارتباط بالبروتينات الموجودة في سايتوبلازم الخلية الذي يمنع تحللها فتتعرقل بسبب ذلك عمليات الايض المتعلقة بالنيتروجين والاحماض الامينية ذات الاساس في بناء غشاء المايتوكندريا والنوية وجسم كولجي المهمة في استمرار حيوية الاحياء المجهرية. وقد تفسر الية تثبيط التانينات للطفيلي على اساس قدرته على ترسيب البروتينات الموجودة في جدار الخلية بسبب قابليتها على الاتحاد بالبروتينات مما تؤدي الى حدوث تغيرات في الصفات الكيميائية للجدار الخلوي او تغير شكل الخلية باكملها وهذا يؤدي بالنتيجة الى موتها (20). بينما تعمل مادة الصابونين على خفض السكر داخل الرؤيسات الاولية ومن ثم خفض الفعاليات الايضية التي تؤدي بالطفيلي الى الهلاك ،واثبت ذلك (21) اذ ان مادة الصابونين في نبات الحنظل لها تأثير فعال في خفض نسبة السكرفي دم الارانب. وبالنسبة للفلافونيدات فهي مواد مضادة للاحياء المجهرية لقدرتها على تكوين الارتباطات مع المركبات البروتينة والسكرية ومن ثم تؤدي الى الاخلال في العمليات الايضية مؤدية الى تثبيط نشاط الكائن الحي (٣١). اما المركبات الفينولية فلها القابلية على تثبيط الانزيمات بوساطة مركبات الاكسدة من تفاعلات غير نوعية مع البروتينات في الخلية وبذلك تكون لها القدرة على احداث الضرر بغشاء الخلية اذ تعمل على ايقاف فعل الانزيمات المسؤولة عن سلسلة التفاعلات الايضية؛ وبذلك تفقد الكائن المجهري قدرته على النمو (٢٥). وبينت (٣) عند اضافتها المستخلص المائي لنبات الأس حدث انخفاض في حيوية الرؤيسات الاولية بعد ثلاثة ايام لتصل الى ٥٥.٢٠ و٤٢.٠٠% عند اضافة التركيزين ٣٠ و ٣٥ مليغرام/ مليليتر، وحصل قتل تام للرؤيسات عند التركيزين ٤٥ و ٥٠

ملیغرام/ ملیلیتر ویعزى ذلك الى احتواء الاس على التانینات والفینولات والفلافونات.

تاثیر المستخلص الكحولي لمخاریط للسرو

ادت معاملة الرؤیسات الاولیة بالمستخلص الكحولي للسرو الى قتل تام للرؤیسات في الزمن صفر عند التركیز ٢٠٠ ملیغرام/ ملیلیتر، اما التركیزین ١٠٠ او ٥٠ ملیغرام/ ملیلیتر فحصل القتل التام للرؤیسات عند الزمن ٦٠ او ٩٠ دقیقة على التوالي. وعلى الرغم من تشابه التراكیز في المستخلص المائي والكحولي الا انه المستخلص الكحولي اكثر تاثیرا في حیویة الرؤیسات الاولیة خارج الجسم الحي؛ وقد یعود السبب لكون المستخلص الكحولي یحوي على المواد نفسها التي یحویها المستخلص المائي لكن بنسب اكبر واتفقت النتائج مع ما بینه (٨) في كون المستخلص الكحولي للزعتر الاكفا في تثبیط حیویة الرؤیسات قیاسا بمستخلصه المائي ویعود هذا التأثیر إلى احتواءه على مادة الثایمول Thymol التي تشكل ٦٤.٨% من المركبات الفینولیة في الزعتر (٢٧). واشار (١٨) الى تاثیر مادة الثایمول في حیویة الرؤیسات خارج الجسم وبتراكیز ١، ٥ او ١٠ مایكروغرام/ ملیلیتر اذ حفز على تحطم الرؤیسات بعد ١-٤ ایام من الحضن اذ انخفضت الحیویة عند التركیز ١٠ مایكروغرام/ ملیلیتر الى ٥٣.٥ % بعد ١٢ یوما من الحضن والى ١١.٥% بعد ٤٨ یوما، وحصل القتل التام للرؤیسات في التركیز نفسه بعد ٨٠ یوما من الحضن اذ اثرت في جدار الطفیلي وحصل انكماش في جسم الطفیلي وتشویه للخطم وتحطیم للاشواك.

الاستنتاجات

١. اثرت المستخلصات المائیة والكحولیة لبذور الحرمل ومخاریط السرو الخلط المائي والكحولي لهما وبالتراكیز اجمع تأثیرا معنویا في تثبیط حیویة الرؤیسات الاولیة لطفیلي المشوكة الحبیبیة *Echinococcus granulosus* في الزجاج *in vitro*.

٢. ان المستخلص الكحولي لبذور الحرمل ومخاریط السرو كان الافضل في تضعیف حیویة الرؤیسات الاولیة في الزجاج قیاسا بالمستخلص المائي للنباتین.

التوصیات

١- فصل المواد الفعالة في كل نبات والخلط بینها ومعرفة تأثیرها التثبیطي في حیویة الرؤیسات الاولیة لإمكانیة استخدامها في المجال الطبي.

٢- ملاحظة التغیرات الحاصلة في طبقات الكیس العدري عند المعاملة بهذه المستخلصات النباتیة والخلط المائي والكحولي في الزجاج باستخدام المجهر الالكتروني.

المصادر

[١] محمد عبد الله الاریاني، دراسة مقارنة لتاثیر عقار الایفرمكتین (Ivermectin) والمستخلص المائي لبذور الحرمل *Peganum harmala* على الرؤیسات الاولیة للدیدان المسببة للاكیاس العدریة، رسالة ماجستیر/ كلیةالعلوم /الجامعة المستنصریة،(٢٠٠٢)، ٨٣ صفحة

[٢] ابراهیم بدران، موسوعة نباتات العالم، الطبعة الثانیة، دار أسامة للنشر والتوزیع عمان-الأردن، (٢٠٠٠)، صفحة ٧٥.

[٣] خلود ناجي رشید التكریتي، دراسة أولیة لتقدیر فعالیة مواد نباتیة، كیمیائیة ومستضدیة في خمجیة طفیلي الاكیاس المائیة *Echinococcus granulosus* كمحاولة لاستخدامها علاجیا، رسالة ماجستیر/ كلیة العلوم- الجامعة المستنصریة، (٢٠٠٤)، ١٨٧ صفحة.

[٤] میساء سعدي الجبوري .دراسة تاثیر بعض المستخلصات النباتیة في حیویة الرؤیسات الاولیة لطفیلي المشوكة *Echinococcus granulosus* في الزجاج وفي الحي في الفئران البیض سلالة Balb/C رسالة ماجستیر/ كلیة العلوم/ جامعة بغداد،(٢٠٠٧)، ١٢٣صفحة.

[٥] محمد عبد الله الدباغ وطلال عبود الجنابي، علم الاكياس العدرية، الطبعة الثانية. شركة الاعتدال للطباعة الفنية المحدودة. بغداد، (١٩٩٠)، صفحة ٦٣.

[٦] علي الراوي، النباتات السامة في العراق. الهيئة العامة للبحوث الزراعية والموارد المائية. المعشب الوطني العراقي. الطبعة الثالثة، (١٩٨٨)، صفحة ٩٣.

[٧] اندرو شوفالييه، الطب البديل: التداوي بالاعشاب والنباتات الطبية، ترجمة عمر الايوبي. اكاديميا انترناشونال للطباعة والنشر.بيروت – لبنان، (٢٠٠٣) صفحة، ١٩٥،٢٤٣.

[٨] عبد الحكيم عبد الرحمن اللامي، تاثير بعض المستخلصات النباتية في حيوية الرؤيسات الاولية لطفيلي المشوكات الحبيبية *E. granulosus* المسبب لمرض الاكياس المائية، رسالة ماجستير كلية العلوم/ الجامعة المستنصرية، (٢٠٠٤)، ١٢٤ صفحة.

[٩] مهند جميل محمود. كيمياء النباتات الطبية، الطبعة الاولى. مطبعة انوار دجلة–بغداد، (٢٠٠٨)، صفحة ٥٥–٥٦.

[١٠] سامي هاشم مجيد و مهند جميل محمود النباتات والاعشاب العراقية بين الطب الشعبي والبحث العلمي – مجلس البحث العلمي مركز بحوث علوم الحياة. قسم العقاقير وتقيم الادوية، (١٩٨٨)، صفحة ٣٦،٧٦–٧٧.

[١١] المنظمة العربية للتنمية الزراعية، النباتات الطبية والعطرية و السامة في الوطن العربي، الخرطوم، (١٩٨٨)، صفحة ٥٦– ١٨١،٥٨–١٨٢.

[12] A.F, Abdel-Fattah; K. Matsumoto; H.A. Gammaz and H. Watanabe Hypothermic effect of Harmala alkaloid in rats: involvement of serotonergic mechanis .Pharmacolog Biochemistry and Behavior, (1995), 2:6-421.

[13] I.A. Abdullah and M.T. Jarjees, The status of *Echinococcus granulosus* infection in stray dog of Mousel City .Iraq. Riv. di. Parasitol., (1999), 3:267-272.

[14] F.M.M. Amaral; M.N.S. Riberio; J.M. Barbosa-Filho; A.S. Reis; F.R.F. Nascimento and R.O. Macedo ,Plant &chemical constituents with giardicidal activity. Brazilian.J.of Pharmacognosy., (2006), 16:696-720.

[15] H.R. Anthony, Chemical microbiology. An introduction to microbial physiology .3rd ed. Butter Worth and Co. (publishers) London, (1976), pp.242-245.

[16] H. Berrougui; M. Isabelle; M. Hmamouchi M. Cloutier and A. Khalil, Protectiv effect of *Peganum harmala* extract, harmine and harmaline against human low-density lipoprotein oxidation. J. Pham.Pharmacol., (2006), 58:967-974.

[17] M.M. Cowan, Plant products as anti-microbial agents. Clin. Microbiol .Rev., (1999), 12 (4): 564-582.

[18] M.C. Elissondo; C.M. Al-Bani;,L. Genado; M. Eguaras and C. Denegri, Efficacy of thymol against *Echinococcus granulosus* protoscolice. Parasitol.Int., (2008), 57(2): 185-90

[19] S.A. Emami; J. Asili; Z. Mohagheghi and M.K. Hassanzadeh, Antioxidant Activityof leaves & fruits of Iranian Conifers.eCAM., (2007),. 4:313-319.

[20] A.. Guseva, Determination of aucubin in Eucommia Chemical Abstract, (1953), 47:1243

[21] I.A. Hassan; J.A. Abdel-Barry and S.T. Mahemmeda, Thehypoglyc emic and antihyperglycaemic effect of *Citrullus colocynthis* fruit aqueous extract in normal and alloxan diabetic rabbits.J. Ethanopharmacol., (2000), 71:325-330.

[22] F.T.K. Hussein, Medicinal plant in Libya. Copyrite Arab Encyclopedia House, Beirut-Lebanon., (1985), p: 370,648.

[23] M.S. Khuroo, Hydatid Disease: Current Status and Recent Advances. Annals of Saudi Medicine., (2002), 22:56-64.

[24] X.M. Ma; G.S.H Bao.; J.M. Wan; D.J. Yin, S.H.F.; X.Q. Meng; G.K. Zhou; X. M. Lu and H.Y. Li, Therapeutic effect of *Sophora moorcroftiana* alkaloids in combination with albendazole in mice experimentally infected with protoscolices of *Echinococcus granulosus* Brazilian J. of Medical Research, (2007), 41:1403-1408.

[25] Mason, T.L. and Wasserman, B.P., Inactivation of red beet beta-glucan synthase by native and oxidative phenolic compounds Phytochemistry, (1987), 26:2197-2202.

[26]H.R. Monsef; A.; M. Iransha and M. Abdollahi, Antinociceptive effect of *Peganum harmala* alkaloid extract mouse formalin test.J. Pharma.Pharmaceut .Sci.,, (2004), 7:65 -69.
[27]F.M. Rada.; H.H. Al-Rawi and N. K. Al-Kazraji, The constitution of essential oils from Iraqi Plants Proc .5th Sci.Conf. SRC. Iraq,. (1989),.250-251.
[28]J.D Smyth, *In vitro Culture of Echinococcus Spp*.Proc. 13th. In. Corg. Hydit. Madrid, (١٩٨٥)، PP.84-95.
[29]A.M. Sobhani; S.A. Ebrahimi and M. Mohamoudian, AnInVitro Evaluation of Human DNATopoisomerase I inhibitory *Peganum harmala.seeds extract and Its β-carboline alkaloids* .J. Pharm. Pharmaceut. Sci., (2002), 5:19-32.
[30]R.C.A. Thompson and J.A. Reynoldson, *In Vitro* and in vivo efficacy of epsiprantel against *Echinococcus granulosus*. Res. Vet .Sci., (1991).51:332-334.
[31]H. Tsuchiya; M. Sato; T. Miyazaki; S. Fujiwara; S. Tanigaki; M. Ohyama.;,T. Tanaka and M. Linuma, Comparative study on the antibacterial activity of phytochemical flavanones against methic - illin resistant *Staphylococcus aureus* J.Ethanopharmacol., (1996), 50:27-34.

Abstract

This study included the preperation of the aquatic extracts of *Peganum harmala* seeds and cones of *Cupressus sempervirens* at concentrations (10, 20 or 30) mg/ml and (50, 100 or 200) mg/ml respectively and alcoholic extracts of the seeds *P. harmala* and cones *C.sempervirens* at concentrations (1, 2 or 3) mg/ml and (50, 100 or 200) mg/ml respectively. The influence of plant extracts on the percentage of vitality of the protoscolices of *Echinococcus granulosus In vitro* for the purpose of arriving to the active concentration in killing of protoscolices during the shortest period of time possible as the vitality of protoscolices had caused complete death at the time 30 minute when using the aquatic extracts of seeds *P. harmala* and cones *C. sempervirens* at the concentration {30,200} mg/ml respectively. the alcoholic extracts of seeds *P. harmala* and cones *C. sempervirens* at concentrations {3,200} mg/ml these had differ to be distinguished with higher inhibition on the vitality of protoscolices and shown complete killing of protoscolices at the time zero minute .