



الارتقاء بالبحوث العلمية طريقنا لخدمة المجتمع

تأثير المستخلص الكحولي لثمار نبات الدبق *Viscum album* على نمو أمامية السوط لليشمانيا الاحشائية خارج الجسم الحي

مقصود عادل محمود الدوري¹، توفيق إبراهيم محمد الالوسي²، عبد الله حسين عبد الله الجبوري³

¹ قسم التحليلات المرضية، المعهد التقني - الدور، الجامعة التقنية الشمالية، الدور، العراق

² كلية الطب البيطري، جامعة تكريت، تكريت، العراق

³ كلية الطب، جامعة تكريت، تكريت، العراق

الملخص

صممت الدراسة الحالية لاختبار كفاءة المستخلص الكحولي لثمار نبات الدبق *Viscum album* في علاج اليشمانيا الاحشائية *Leishmania donovani* تجريبيا خارج الجسم الحي *In vitro*. وقد أدى استعمال التركيز 0.92 ملغم/مليلتر إلى تثبيط بنسبة 50 % (LC50) من أمامية السوط خلال 96 ساعة والتي بلغ معدلها 37.9 مقارنة مع مجموعة السيطرة (79.8)، بينما أدى التركيز 1.38 ملغم/مليلتر إلى تثبيط بنسبة 70 % (LC70) خلال المدة الزمنية نفسها. ظهر التأثير التثبيطي لمستخلص الدبق الكحولي جلياً من خلال انعكاسه على عدد وزمن الجيل؛ فقد أدى استعمال هذا المستخلص إلى انخفاض في عدد الأجيال وزيادة زمنها مقارنة مع مجموعة السيطرة، نتيجة الانخفاض الذي حصل في نمو هذه الطفيليات، حيث بلغ عدد الأجيال 107.97 جيلا خلال فترة 96 ساعة عند استعمال التركيز 0.92 ملغم/مليلتر مقارنة مع مجموعة السيطرة، والتي بلغت 247.17 جيلا عند نفس المدة الزمنية. واما زمن الجيل فقد ازداد تدريجيا وبعلاقة عكسية مع زيادة التركيز.

معلومات البحث

الكلمات المفتاحية:

الاسم: مقصود عادل محمود الدوري

البريد الإلكتروني:

رقم الهاتف:

المقدمة

إن تزايد مقاومة الكائنات الحية الدقيقة microorganisms للمضادات الحيوية جعل من الضروري استبدالها بمصادر أخرى [4]، خاصة وقد سجلت العلاجات الكيميائية المستعملة حالياً في علاج اليشمانيا مقاومة من قبل بعض السلالات بالإضافة إلى سميتها العالية [5,6]. لذلك فمن المهم جدا البحث عن علاجات ذات سمية وكلفة منخفضة، فظهر اهتمام كبير بالنباتات الطبية medicine herbal لمحاولة استخداماتها مع الأدوية الكيميائية الحديثة أو بديلا عنها؛ لكون كلفتها واطنة وكونها أدوية مقاومة للمسببات المرضية، وذلك بسبب التنوع الكيميائي لموادها والتمثيل الغذائي الواسع [7]. نبات الدبق *Viscum album* أو الهدال mistletoe نبات شبه متطفل semiparasitic plant ينمو في أوروبا واسيا وشمال أفريقيا غالباً على أشجار البلوط oak والكستناء chestnut وخشب الحور الأسود black poplar وأشجار الفواكه fruit trees [8]، وقد وجد في شمال العراق نامياً على أشجار التفاح [9]. يستعمل نبات الدبق

داء اليشمانيا leishmaniasis من الأمراض الاستوائية التي تفتك بالفقراء من بني البشر [1]، حيث يتركز المرض في البلدان التي تعاني من الفقر كمنطقة جنوب شرق آسيا وشرق أفريقيا وأمريكا اللاتينية، كما أنه متوطن في بلدان عدة للبحر الأبيض المتوسط، وعلى نطاق عالمي، هنالك ما يقرب من 350 مليون شخص مهددين بالخمج؛ كونهم يعيشون في المناطق التي تتميز بوجود الطفيل ووجود الحشرة الناقلة له، وهناك 14 مليون شخص قد خمجوا بالطفيل [2]. تعد اليشمانيا الإحشائية visceral leishmaniasis أو الكلا ازار kala-azar الناجمة عن الخمج بطفيل *Leishmania donovani* المرض الأكثر أهمية وفتكا مقارنة بالأمراض الناجمة عن بقية أجناس اليشمانيا. وتأتي نسب الوفيات الناجمة عنه بالمرتبة الثانية بعد الملاريا، وكذلك يعد المرض قاتل على الدوام إذا لم يتم تشخيصه وعلاجه بصورة مبكرة [3].

وقد استعملت التراكيز 0.23 و 0.46 و 0.69 و 0.92 و 1.15 و 1.38 ملغم/مليلتر .

حسب عدد الجيل وزمن الجيل وفقاً لـ (Benjamin and german 1993). [14]

طفيل الليشمانيا ، تنميته ودراسة تأثير المستخلص عليه:

تم الحصول على المزارع الأصلية stock cultures لطفيل الليشمانيا الاحشائية (MHOM/IQ/2005/MRU15) المعزولة من مخمجين على الأراضي العراقية للطور أمامي السوط Promastigote، والمخصصة إنزيمياً بطريقة المتناظرات الأنزيمية Isoenzymes من مركز البحوث الطبية في كلية الطب / جامعة النهرين.

استخدم الوسط الزرعي RPMI 1640 وهو وسط زرعي سائل جاهز [15]، وأضيف له مصل جنين العجل fetal calf serum [16]

، والمضاد الحيوي Gentamycin . وكالاتي:

9 مل من RPMI 1640 + 1 مل fetal calf serum + 3

مايكروليتر من Gentamycin

رشحت المكونات الثلاث عن طريق إمرارها خلال أغشية ترشيح filter membrane بقياس 0.22 مايكروليتر لضمان نقاوة المستنبت.

تمت تنمية الطفيل خارج الجسم الحي ودراسة تأثير التراكيز المختلفة لمستخلص ثمار نبات الدبق عليه بحسب الخطوات التالية:

1- أخذ مقدار 0.1 مل من المزارع الأصلية حاوية 2×10^3 خلية /سم³ وأضيف إلى أنبوب معقم ومفرغ من الهواء يحتوي على 0.9 مل من الوسط الزرعي وتركت في جهاز الحاضنة بدرجة حرارة تتراوح بين 23 - 26 م° ولمدة 72 ساعة.

2- لوحظ النمو الطفيلي وخلوه من التلوث البكتيري والفطري عن طريق أخذ 20 مايكرو ليتر تقريباً على شريحة زجاجية slide وتغطيتها بغطاء شريحة cover slide وفحصها على المجهر الضوئي تحت العدسة $10 \times$.

3- وضع مقدار 2.6 مل من الوسط الزرعي في 21 أنبوبة اختبار معقمة ومفرغة من الهواء وقسمت إلى 7 مجموعات.

4- أضيف مقدار 0.3 مل من التراكيز المختلفة للمستخلص إلى 6 مجموعات وتركت المجموعة الأولى كمجموعة سيطرة.

5- أضيف مقدار 0.1 مل من الوسط (يحتوي على 5.4×10^3 كائن / سم³) إلى المجموعات المختلفة.

6- وضعت الأنابيب في جهاز الحاضنة بدرجة حرارة تتراوح بين 23 - 26 م°.

7- تمت مراقبة النمو الطفيلي في جميع الأنابيب كل 24 ساعة وذلك بأخذ 0.02 مليلتر من المستنبت وإضافته إلى 0.4 مليلتر من المحلول الفسليجي normal saline الحاوي على الفورمالين بتركيز 1% لقتل الطفيليات ونشيتها أثناء العد وفي حالة النمو الكثيف للطفيل فقد استخدم المحلول الفسيولوجي في التخفيف، وتم حساب عدد

في الطب الشعبي Popular medicine أو ما يسمى بالطب البديل Alternative medicine ، وذلك بسبب المركبات التي يحتويها والتي تكون ذات نشاط حيوي bioactive ، وهي آمنة الاستعمال؛ كونها تحتوي على مستويات سمية toxicity منخفضة [10] . ويستخدم مستخلص الدبق في أوروبا في تحسين الحالة الصحية لمرضى السرطان cancer care، فهو يقوي الجهاز المناعي وله تأثير إيجابي على الورم tumour واستعماله يكون آمناً وتحمله tolerance في الجسم جيد [11]. وهو ينتمي لعائلة Viscaceae والتي تنتمي إلى رتبة الصندليات Santalales [12]. هدفت الدراسة الحالية إلى دراسة تأثير المستخلص الكحولي لثمار الدبق على الطفيل في الزجاج in vitro، بغية التمهيد لإيجاد علاج بديل عن العلاجات الكيميائية المستعملة حالياً وتكون أرخص ثمناً وأقل سمية.

المواد وطرائق العمل Materials and Methods :

أجريت الدراسة في جامعة تكريت مختبرات كلية التربية للعلوم الصرفة ومختبرات كلية التربية للنبات ومختبر الأبحاث ومختبر البلمس الطبي الألهي، للمدة من 2/ 1/ 2016 ولغاية 1/ 12/ 2017.

النبات قيد الدراسة، جمعه وتحضيره واستخلاصه:

أخذت ثمار نبات الدبق المستعمل في هذه الدراسة من السوق المحلية، وغسلت الثمار بالماء المقطر لإزالة ما علق بها من أتربة أو أوساخ، ثم جففت عن طريق وضعها على أوراق كبيرة في جهاز الحاضنة بدرجة حرارة 37 م° مع تقليبها كل ساعتين إلى ثلاث ساعات تقريباً لحين جفافها، تم الحصول على المستخلص الكحولي لثمار نبات الدبق بحسب طريقة Taskin وجماعته (2005) [13] وكما يلي:

1 تم إضافة 50 غرام من ثمار نبات الدبق المسحوق بالهاون إلى 500 مل من الأثير البترولي petroleum ether ، وذلك لإزالة الدهون defatted.

2 وضع الخليط في بيكر سعة 1000 مل، وغطيت فوهته بورق سيليفون، ووضع على جهاز المحرك المغناطيسي magnetic stirrer بسرعة متوسطة وبدرجة حرارة 40 - 45 م° وترك لمدة 72 ساعة.

3 رشح المزيج بورق ترشيح قياس 0.3 ملم وأخذت الرايب ووضع في بيكر سعته 1000 مل وتم إضافة 500 مل من الكحول الأيثلي المطلق، ومن ثم غطت فتحته بورق السيليفون.

4 وضع المزيج على جهاز المحرك المغناطيسي بسرعة متوسطة وبدرجة حرارة 40 - 45 م° وترك لمدة 72 ساعة ايضاً.

5 رشح المزيج بورق ترشيح وأخذ الراشح ووضعت في جهاز المبخر الدوار Rotary evaporator وضبط الجهاز على السرعة المتوسطة وبدرجة حرارة 45 م° إذ تم تبخير الكحول الأيثلي المطلق.

6 جمع المستخلص النباتي في قارورة صغيرة، وحفظ لحين الاستعمال.

7 تم تجفيف المستخلص وذلك بأمرار النيتروجين السائل liquid nitrogen عليه.

الطفيليات فيها 27.2، 39.3، 43.0، 79.8 $\times 10^3$ كائن / سم³، خلال فترات التعريض والبالغة 24، 48، 72 و 96 ساعة على التوالي (صورة 4) . وانخفاض في عدد الطفيليات بعلاقة عكسية مع التركيز فكلما زاد التركيز قل معه معدل الطفيليات إذ أدى التركيز 0.23 ملغم/مليلتر إلى انخفاض طفيف في معدل الطفيليات حيث كان 26.8، 38.7، 42.1 و 78.6 $\times 10^3$ كائن / سم³ على التوالي مقارنة مع مجموعة السيطرة. وهذا التثبيت قد ازداد تدريجياً بعلاقة عكسية مع زيادة التركيز، والذي بلغ اقصاه عند التركيز 1.38 ملغم/مل، إذ بلغت معدلات الطفيليات 7.8، 13.2، 13.8 و 79.8 $\times 10^3$ كائن / سم³ على التوالي خلال نفس فترات التعريض اعلاه، وبالمقارنة مع مجموعة السيطرة. وقد اظهر التركيز 0.92 ملغم/مل تثبيطاً بنسبة 50 % (LC50) من أمامية السوط خلال 96 ساعة من النمو مع المقارنة بمجموعة السيطرة، وان التركيز 1.38 ملغم/مل قد أدى إلى تثبيط بنسبة 70 % (LC70) خلال نفس الفترة. ربما تعود قدرة مستخلص ثمار الدبق الكحولي في تثبيط نمو الطفيل إلى ما يحتويه من قلويدات مثبطة لانزيم topoisomerase الذي يشارك في مختلف الفعاليات الخلوية ومنها تضاعف الدنا، أو قد يعود إلى احتواء المستخلص على العديد من المواد الكيميائية الأخرى والتي أثرت على نفاذية الغشاء الخلوي مما جعله تام النفاذية الأمر الذي سمح بدخول مواد مسممة للخلايا cytotoxic أو ان المواد الداخلة قد يحدث لها اندماج مع مواد ومركبات طفيلية و يؤدي بالتالي إلى تعطيل عملها أو تحويلها إلى مواد ومركبات ضارة، أو وقد تؤدي نفاذية الغشاء الخلوي إلى خروج مواد ضرورية لا ينبغي لها الخروج، أو قد يعود التأثير التثبيطي للمستخلص إلى حدوث تنخر في أغشية الطفيل.

الطفيليات باستخدام شريحة عد كريات الدم الحمراء Heamocytometer من نوع Neubaure.

النتائج والمناقشة

يتبين من النتائج التي توصلت لها الدراسة الحالية أن مستخلص ثمار الدبق الكحولي تأثيراً تثبيطياً سميماً على عدد أمامية السوط لليشمانيا الإحشائية، مقارنة مع مجموعة السيطرة.

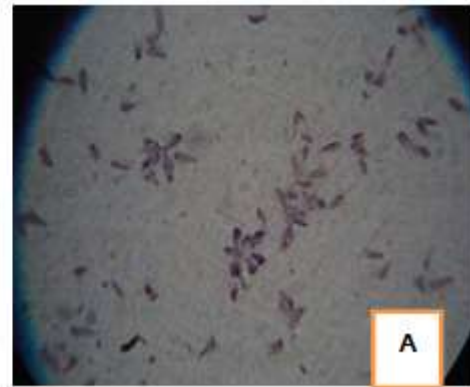
جدول 1: تأثير مستخلص نبات الدبق الكحولي على عدد أمامية السوط

لليشمانيا الإحشائية ($\times 10^3$) في فترات نمو مختلفة				
فترة التعريض بالساعات	24	48	72	96
المعدل * المعدل	المعدل	المعدل	المعدل	المعدل
المعاملة	المعدل	المعدل	المعدل	المعدل
ملغم/مل	ملغم/مل	ملغم/مل	ملغم/مل	ملغم/مل
السيطرة	27.2 e**	39.3 d	43.0 D	79.8 a
0.23	26.8 ef	38.7 d	42.1 D	78.6 a
0.46	22.5 fg	31.6 e	30.8 E	62.4 b
0.69	15.2 ghi	28.8 e	27.6 E	51.6 c
0.92	13.6 I	20.6 Fg	19.8 G	37.9 d
1.15	9.1 Jk	18.2 gh	17.3 Gh	31.8 e
1.38	7.8 k	13.2 I	13.8 I	18.3 gh

* يمثل المعدل لثلاث مكررات.

** الاحرف الانكليزية المختلفة تدل على وجود فروقات معنوية، اما الاحرف المتشابهة والمشاركة فتدل على عدم وجود فروقات معنوية بحسب اختبار دنكن عند مستوى احتمالية $p \geq 0.05$.

كما لوحظ من الجدول (1) زيادة اعداد الطفيليات في الطور أمامية السوط لمجموعة السيطرة بعلاقة طردية مع الوقت حيث بلغت معدلات



صورة (4) طفيليات الليشمانيا الإحشائية أمامية السوط: A بعد 24 ساعة من الزرع، B بعد 48 ساعة من التمنية في الوسط الزرع RPMI لمجموعة السيطرة مصبوغة بصبغة جمزا تحت العدسة 100 x.

الكحولي alcoholic extract أكثر كفاءة من الاستخلاص المائي aqueous extract.

اتفقت النتائج التي جاءت بها الدراسة الحالية مع دراسة الخان (2001) [18] والتي اشار فيها إلى حدوث تأثير تثبيطي لأمامية

ان استعمال المستخلص الكحولي في الدراسة الحالية أدى إلى نتائج جيدة من خلال احتوائه على مواد فعالة قد ظهر دورها بشكل واضح في تثبيط الطفيل في الطور أمامي السوط، وذلك قد وافق دراسة Vlad وجماعته (2016) [17] والذين اشاروا إلى ان الاستخلاص

على المواد الطبيعية الفعالة بآيولوجيا bioactive، حيث انهم قد حصلوا على نتائج جيدة حيال ذلك.

اما عن عدد الجيل فقد ظهر التأثير التثبيطي لمستخلص ثمار الدبق الكحولي واضحاً من خلال انعكاسه على عدد الجيل، حيث ادى استعمال هذا المستخلص إلى انخفاض في عدد الأجيال بالمقارنة مع مجموعة السيطرة والتي ازداد عدد الجيل فيها بعلاقة طردية مع الوقت جدول 2، حيث بلغ معدله 72.42، 112.62، 124.91 و 247.17 جيلاً خلال 24، 48، 72 و 96 ساعة على التوالي. و أدت إضافة التراكمز من 0.23 – 1.38 غم/ مل إلى انخفاض عدد الجيل وبالعلاقة عكسية مع زيادة التركيز. وقد حدث انخفاض طفيف في عدد الأجيال عند إضافة التركيز 0.23 ملغم/مل، واما بقية التراكمز فقد شهدت انخفاضاً تصاعدياً واضحاً، ابتداءً من التركيز 0.46 ملغم/ملليتر حيث اثر ذلك على عدد الأجيال ليلبلغ معدلها 56.81، 87.04، 84.38 و 189.34 جيلاً، على التوالي. وأقصى تثبيط لعدد الأجيال كان في التركيز الاعلى المستخدم في هذه الدراسة وهو التركيز 1.38 ملغم/مل حيث بلغ عدد الأجيال 27.90، 26.24، 7.97 و 42.85 جيل، خلال الفترات 24، 48، 72 و 96 ساعة على التوالي.

جدول (2) تأثير تراكيز مختلفة لمستخلص نبات الدبق على عدد الأجيال لأمامية السوط لطفيل الليشمانيا الاحشائية في فترات نمو مختلفة. (عدد أمامية السوط المستخدم في الزرع 5.4×10^3 كائن / سم³)

فترة التعرض بالساعات	24	48	72	96
المعدل	المعدل	المعدل	المعدل	المعدل
السيطرة	72.42 g**	112.62 E	124.91 D	247.17 A
0.23	71.09 G	110.63 E	121.92 D	243.18 A
0.46	56.81 H	87.04 F	84.38 F	189.36 b
0.69	32.55 L	77.74 G	73.75 G	153.48 C
0.92	27.24 L	50.49 Hi	47.84 Ij	107.97 E
1.15	12.29 M	42.52 Jk	39.53 K	87.70 f
1.38	7.97 M	26.24 I	27.90 I	42.85 jk

* يمثل المعدل لثلاث مكررات.

** الاحرف الانكليزية المختلفة تدل على وجود فروقات معنوية، اما الاحرف المتشابهة والمشاركة فتدل على عدم وجود فروقات معنوية بحسب اختبار دنكن علماً ان $p \geq 0.05$.

سجل التركيز 0.92 ملغم/مل انخفاضاً في عدد الأجيال ليصل إلى 107.97 جيلاً بعد مرور 96 ساعة، والذي يعد LC50 تقريباً، مقارنة مع مجموعة السيطرة والذي كان عدد الأجيال فيها 247.17 جيلاً بعد مرور الفترة ذاتها، وبالمقارنة مع مجموعة السيطرة نجد ان عدد الأجيال قد تأثر شديداً بالمستخلص الكحولي، إن التأثير التثبيطي لهذه المستخلصات يتبين من انعكاسه على عدد الأجيال نتيجة التعويق الذي حصل في نمو هذه الطفيليات وذلك قد يعود إلى كبح المادة

السوط لطفيل *major* L. المعاملة بتركيز 4.25 ملغم/سم³ لمستخلص الشفلح *Capparis spinosa* و 2.5 ملغم/سم³ لمستخلص الحنظل *Citrullus colocynthis* بنسبة 73% و 79 % على التوالي ومع ما توصل اليه الجبوري (2005) [19] إذ لاحظ وجود تأثير تثبيطي لأمامية السوط لليشمانيا الاستوائية المعاملة بتركيز 5 ملغم/سم³ لثمار السحيج *Melia azedarach* و 2.5 ملغم/سم³ لأوراق الدفلة *Nerium oleander* و 5 ملغم/سم³ لثمار الدفلة بنسبة 97 % و 71.9 % و 80.5 % على التوالي خلال الطور اللوغارتمي. كما اتفقت الدراسة مع ما توصلت اليه الفهادي وجماعته (2007) [20] إلى وجود تأثير تثبيطي لمستخلصي نبات ذنب الخيل *Equisetum arvense* والقريص *urtica puluifera* بعلاقة عكسية على عدد أمامية السوط لطفيل الليشمانيا الاستوائية *L.tropica* بتركيز ما بين 0.1 – 2.55 ملغم/سم³، وأيضاً تلك التي توصلت لها الباحثة AL-Hammoshi (2010) [21] في مدينة الموصل والتي اشارت فيها إلى دور القلويدات التثبيطي للشمانيا و المعزولة من مستخلص بذور نبات الحرمل *Peganum harmala* حيث أشارت إلى أن التركيز 50 مايكرو غرام من القلويدات يؤدي إلى قتل 50 % من الطفيليات بعد 96 ساعة. واتفقت النتائج مع الدراسة التي اجراها Ghosh وجماعته (2011) [22] والتي أظهرت فوائداً كبيرة ضد نشاط الليشمانيا antileishmanial activity باستعمال مستخلص نبات *Valeriana officinalis* حيث بينت النتائج ان التركيز 225 مايكروغرام/ مليلتر يسبب تثبيطاً بنسبة 50% (LC50) من أمامية السوط خلال 96 ساعة. وأيضاً وافقت الدراسة التي قامت بها الباحثة Hiro وجماعته (2012) [23] والتي استعملت فيها مستخلص نبات الدبق في معالجة طفيل *Cryptosporidium* الذي يصيب الإنسان و بالأخص الأطفال مسبباً لهم الإسهال لفترات طويلة prolonged diarrhea والجفاف dehydration حيث أظهرت في دراستها بأن المستخلص الكحولي هو أفضل من المستخلص المائي لنبات الدبق في معالجة هذا الطفيل. كما وافقت نتائج الدراسة التي قام بها Glaser (2015) [24] والذي قام باختبار عدة مكونات معزولة من نفس نبات *Valeriana officinalis* في معالجة *L.major* والتي أظهرت فعالية جيدة ضدها. وأظهرت النتائج موافقة لما قام به Shemshadi وجماعته (2015) [25] حيث استعملوا المستخلص الكحولي لجذور نبات *Caparis spinosa* في معالجة *L. major* المسببة لليشمانيا الجلدية وقد اثبتوا بأن لهذا النبات فعالية ضد الابتدائيات، حيث يقوم هذا المستخلص بتحليل الطفيل في الطور أمامي السوط عند إضافة 0.9 ملغم/مل مكعب من الوسط الزرعي السائل. وافقت ايضا الدراسة التي قام بها Sharquie وجماعته (2016) [26] والتي تركزت على معالجة الليشمانيا الجلدية في الزجاج باستعمال مستخلص نبات *Loranthus europaeus* والذي يعد من النباتات الطفيلية التي تحتوي

جدول (3) تأثير تراكيز مختلفة للمستخلص على زمن الجيل (ساعة) لأمامية السوط لطفيل الليشمانيا الاحشائية في فترات نمو مختلفة (عدد أمامية السوط المستخدم في الزرع 5.4×10^3 كائن / سم³)

الوقت بالساعات	24 المعدل*	48 المعدل	72 المعدل	96 المعدل
السيطرة	0.33 E	0.43 E	0.58 e	0.38 E
0.23	0.34 E	0.44 E	0.59 e	0.39 E
0.46	0.42 E	0.55 E	0.85 de	0.51 E
0.69	0.74 De	0.62 De	0.97 de	0.63 De
0.92	0.88 De	0.95 De	1.50 bc	0.89 De
1.15	1.95 B	1.13 Cd	1.82 bc	1.09 Cd
1.38	3.01 A	1.83 Bc	2.58 ab	2.24 Ab

* يمثل المعدل لثلاث مكررات.

** الاحرف الانكليزية المختلفة تدل على وجود فروقات معنوية، اما الاحرف المتشابهة والمشاركة فتدل على عدم وجود فروقات معنوية بحسب اختبار دنكن علما ان $p \geq 0.05$

ان التأثير التثبيطي لمستخلص ثمار الدبق الكحولي قد ظهر من خلال انعكاسه على زمن الجيل، جدول 3، وقد ادى استعمال هذا المستخلص إلى زيادة في الزمن اللازم لإنتاج الأجيال، بالمقارنة مع مجموعة السيطرة نتيجة التعويق الذي حصل في نمو هذه الطفيليات وهذا قد وافق ما توصل اليه الخان (2001) و (2002) [27,18] عند استعماله المستخلص المائي لنباتي الشفاح والحنظل للحد من نمو أمامية السوط للليشمانيا الجلدية *L.major* والمشعرات المهبليّة *T.vaginals* وكذلك وافق ما توصل اليه الجبوري سنة 2005 [19] عند استعماله المستخلصات المائية لنبات السبجج وثمار وأوراق الدفلة ضد أمامية السوط للليشمانيا الاستوائية *L.tropica*. كذلك ما توصلت اليها الفهادي وجماعتها سنة (2007) [20]، والتي أظهرت دراساتها وجود تأثير تثبيطي للمستخلصات، مما أدى إلى إطالة زمن الجيل خلال فترات التعريض.

يستنتج من هذه الدراسة بأنه يمكن استخدام المستخلص الكحولي لثمار نبات الدبق في معالجة الليشمانيا الاحشائية لما تحتويه من مركبات وعناصر، بعد دراسة خلوها من التأثيرات الجانبية على الجسم الحي فضلا عن امكانية عزل تلك المواد والعناصر الفعالة في علاج الليشمانيا الاحشائية ودراسة تأثيراتها على الطفيل وعلى المضيف سواء أكانت بصورة منفردة او مجتمعة.

الوراثية للطفيل مما أدى إلى قلة تضاعفها وبالتالي قلة إنتاجها لأجيال جديدة، أو قد يعود إلى عدم توفير الظروف المثلى optimum conditions لتكاثر الطفيل بوجود مواد سامة للخلية والتي أثرت سلبا على تضاعف الطفيل.

ان التأثير التثبيطي لمستخلص ثمار الدبق الكحولي يتبين من انعكاسه على عدد الأجيال وهذا ما أكد عليه الخان (2001) و (2002) [27,18] عند استعماله لمستخلص نباتي الشفاح والحنظل للحد من نمو أمامية السوط للليشمانيا الجلدية *L.major* والمشعرات المهبليّة *T.vaginals* وكذلك الجبوري (2005) [19] عند استعماله المستخلصات المائية لنبات السبجج وثمار وأوراق الدفلة ضد أمامية السوط للليشمانيا الاستوائية *L.tropica*. كذلك ما توصلت اليها الفهادي وجماعتها (2007) [20] والتي أظهرت دراساتها وجود تأثير على عدد الاجيال، اذ أدت التراكيز العالية إلى خفض عدد الأجيال خلال فترات التعريض.

اما عن علاقة التأثير السمي للمستخلص الكحولي للدبق على زمن الجيل، فقد ادى المستخلص إلى زيادة في زمن الجيل مقارنة مع مجموعة السيطرة. جدول 3، وقد ظهر هذا التأثير بشكل واضح ابتداءً من التركيز 0.46 ملغم/مليلتر صعودا. وأما التركيز 0.23 ملغم/مليلتر فقد ادى إلى حدوث تغيرات طفيفة في زمن الجيل. وقد انعكس الدور التثبيطي على الوقت اللازم لإنتاج أجيال جديدة، وأقصى زمن احتاجه الطفيل كان عند أعلى تركيز والبالغ 1.38 ملغم/مليلتر، حيث احتاج إلى 3.01، 1.83، 2.58 و 2.24 ساعة، مقارنة بمجموعة السيطرة التي احتاج الطفيل فيها إلى 0.33، 0.43، 0.58 و 0.38 ساعة خلال فترات التعريض 24، 48، 72 و 96 ساعة على التوالي. وأما التركيز 0.92 ملغم/مليلتر فقد أدى إلى زيادة بمقدار 0.89 ساعة بعد مرور 96 ساعة مقارنة بمجموعة السيطرة والتي احتاج الطفيل فيها إلى 0.38 ساعة عند ذات الوقت، ان زيادة التركيز بشكل تدريجي أدى إلى زيادة في زمن الجيل بعلاقة طردية مع التراكيز. حيث يتبين من النتائج وجود تأثير سمي وتثبيطي على عدد أمامية السوط، ويتجلى ذلك من خلال اطالة الوقت اللازم لتكوين اجيال جديدة.

المصادر

- 1- WHO. (2013). Sustaining the drive to overcome the global impact of neglected tropical diseases: second WHO report on neglected diseases. WHO Library Cataloguing-in-Publication Data.
- 2- Pace, D. (2014). Leishmaniasis. J Infect; **69**: 10–18.
- 3- Alvar, J.; Velez, I.D; Bern, C.; Herrero, M.; Desjeux, P.; Jannin, J.; den Boer, M. and WHO Leishmaniasis Control Team. (2012). Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence. PLoS **One** (7): 35671.
- 4- Spellberg, B.; Guidos, R.; Gilbert, D.; Bradley, J.; Boucher, H.W. and Scheld, W.M. (2008). The epidemic of antibiotic-resistant infections: A call to action for the medical community from the Infectious Diseases Society of America. Clinical Infectious Diseases. **(46)**:155-164.
- 5- Ayatollahi, J.; Fattahi B. A. and Shahcheraghi, S.H. (2014). Rare variants of cutaneous leishmaniasis presenting as eczematous lesions. Med. J. Islam Repub. Iran, **(28)**: 71.
- 6- Vanaerschot, M.; De Doncker, S.; Rijal, S.; Maes, L.; Dujardin, J.C. and Decuyper, S. (2011). Antimonial resistance in *L. donovani* is associated with increased *in vivo* parasite burden. PLoS **One** (6): 23120.
- 7- Walasek, M.; Grzegorz, k. A.; Malm, A. and Skalicka - Woz, K. (2015). Bioactivity-guided isolation of antimicrobial coumarins from *Heracleum mantegazzianum* sommier and levier (Apiaceae) fruits by highperformance counter - current chromatography. **(186)**:133-138.
- 8- Mills, S. (1994) The complete guide to modern Herbalism. Great Britain: Thorsons.
- 9- Al-Abbasi M LT. (2009). Comparison of watery and alcoholic extracts of *Artemisia aherba –alba* and *V. album* on cutaneous leishmaniasis *in vitro* and *in vivo*. M. Sc. thesis. Tikrit University.
- 10-Taiga, A. (2013). Quantitative phytochemical properties of mistletoe (*V. album*) from five different plants. J, Agricultural and Environmental Management **2(6)**: 150-153.
- 11-Ernst, E. and CAM-Cancer Consortium. (Updated March 30, 2011). Mistletoe (*V. album*). www.cam-cancer.org.
- 12-Bremer, K; Chase, M. W.; Stevens, P.F. (1998). An ordinal classification for the families of flowering plants. - Ann. Missouri Bot. Gard. **(85)**: 531-553.
- 13-Taskin, M.K.; Caliskan, O.A.; Abou – Gazar, H.A.A.; Khan, I.A. and Bedir, E. (2005). Triterpene Saponins from *Nigella sativa* L., Turk J. Chem, **(29)**: 561 – 569.
- 14-Benjamin, C. L. and German, G. R.(1993). Students Study Guide Microbiology: Concepts and Application. Mc. Grow Hill Books Company.
- 15-Moore, G.E. and Woods, L.K. (1976). Culture Media for Human Cells- RPMI 1603, RPMI 1634, RPMI 1640 and GEM 1717. Tissue Culture Association Manual. **(3)** : 503-508.
- 16-Sundar, S.; Pai, K.; Kumar, R.; Tripathi, K. P.; Gam, A. A.; Roy, M. and Kenny, R.T.(2001). Resistance to treatment in kala-azar: speciation of isolates from Northeast India. Am. J. Trop. Med. Hyg. **(65)**:193–196.
- 17-Vlad, D.C.; Popescu, R.; Dumitrascu, V.; Cimporescu, A.; Vlad, C.S., Vagvolgyi, C.; Krisch, J.;Dehelean, C. and Horhat, F.G. (2016). Phytocomponents identification in Mistletoe (*V. album*) young leaves and branches , by GC – MS and Antiproliferative effective on HEPG2 and MCF7 Cell lines. J. FARMACIA, **64 (1)**.
- 18- الخان، حسين اسماعيل ارتين نزار (2001). تأثير المستخلصات المائية لنباتي الشفلح *Capparis spinosa* والحنظل *Citrullus colocynthis* على نمو وايض امامية السوط لطفيليات الليشمانيا الجلدية *L. major* promastigotes خارج الجسم الحي، اطروحة دكتوراه، كلية العلوم، جامعة الموصل.
- 19- الجبوري، شيما عبد الله مديد (2005). تأثير المستخلصات المائية لثمار نبات السبج *Melia azedarach* وثمار واوراق الدفلة *Nerium oleander* على نمو وايض امامية السوط للليشمانيا الاستوائية *L. tropica* Promastigote خارج الجسم الحي *In vitro*، رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة الموصل.
- 20- الفهادي، بلسم قبيس؛ حسن، حسين فاضل وارتن، حسين اسماعيل (2007). تأثير مستخلصات نباتي ذنب الخيل *Equisetum arvense* والقريص *Urtica piluifera* على نمو امامية السوط للليشمانيا الاستوائية *L. tropica* خارج الجسم الحي. مجلة علوم الراقدين، المجلد 18 ، العدد 12 ، خاص بعلوم الحياة، 119 – 132.
- 21-AL-Hammoshi, M.H. (2011) Effects of Crude Alkaloids Isolated from *Peganum harmala* Seeds on the Growth and Metabolism of *L. tropica* Promastigotes. Jou. Raf. Sci., **22(1)**: 17- 32.

Effect of alcoholic extract of *Viscum album* on growth of *leishmania donovani* promastigotes *In vitro*

Maksood A.M. Al-Doori¹, Tawfiq I. Al-Alousi², Abdulla H. Al-Jboori³

¹ Technical institute in Al-Dour , Northern Technical University , Al-Dour , Iraq

² Veterinary Medicine College , Tikrit University , Tikrit , Iraq

³ Medicine College Tikrit University, Tikrit , Iraq

Abstract

The present study was conducted to examine the efficiency of alcoholic extract of *Viscum album* on experimental treatment of visceral leishmaniasis *In vitro*. The use of the concentration of 0.92 mg / ml was 50% (LC50) inhibition of promastigotes during 96 hours, which was 37.9 compared with the control group (79.8), while the concentration of 1.38 mg / ml was inhibited by 70% (LC70) during the same duration.

The inhibitory effect of alcoholic extract of *Viscum* was clearly demonstrated by its effect on the number and time of generation compared to the control group, due to the decrease in the growth of these parasites, with the number of generations 107.97 generation during the period of 96 H when the concentration was 0.92 mg / ml compared with the control group, which reached 247.17 generation at the same time period. The age of the generation has increased gradually and with an inverse relationship with increased concentration.