تأثير مستخلصات العكبر Propolis في بعض المذيبات العضوية في حيوية الرؤيسات الأولية للمشوكات الحبيبية *Echinococcus granulosus* من أصل أغنام خارج الجسم الحي

أرقم محمد أزهر العمري
قسم العلوم الأساسية / كلية الزراعة
جامعة الموصل

الاستلام	القبول
١٠ / ١٠ / ٢٠١٠	١٢ / ٠٤ / ٢٠١١

Abstract

The results of the present study revealed significant inhibitory effect of propolis extraction in organic solvents: petroleum ether, chloroform, ethyl acetate and alcohol at the concentrations of 5, 10 and 15 mg/ml in periods of 10, 15 and 20 minutes on the viability of the protoscoleces of *Echinococcus granulosus* of sheep origin *in vitro*. The concentration of 15 mg/ml of alcohol extraction of propolis inhibited the viability of protoscoleces completely 100% in 20 minutes. In general, the effects of propolis extraction in these organic solvents increased proportionally with the increase in concentration and the period of exposure. Also, the compound quercetin had been separated and diagnosed in this study from alcoholic extraction of propolis for the first time.

الخلاصة

بينت نتائج الدراسة الحالية التأثير التثبيطي المعنوي لمستخلص العكبر في المذيبات العضوية: بترولي وم أيثر، كلوروفوم، ايثايل استيت، الكحول الاثيلي بالتراكيز ١٥،10،5ملغم/مل من مستخلص العكبر لكل مذيب في المدد الزمنية 10، ١٥، ٢٠ دقيقة في حيوية الرؤيسات الأولية للمشوكة الحبيبية *Echinococcus granulosus* من أصل أغنام في الزجاج. إذ ثبط مستخلص الكحولي للعكبر بالتركيز ١٥ ملغم/مل حيوية الرؤيسات الأولية

تثبيطاً تاماً بنسبة ١٠٠% في مدة ٢٠ دقيقة. على العموم، فقد تناسب تأثير مستخلص العكبر في هذه المذيبات العضوية تناسباً طردياً مع زيادة التركيز وزيادة مدة التعريض. كما تم فصل وتشخيص مركب الكورسيتين من المستخلص الكحولي للعكبر في هذه الدراسة لأول مرة.

المقدمة

يعد مرض الأكياس العدرية Hydatid disease او داء العدريات Hydatidiasis او Hydatidosis من الأمراض الطفيلية المشتركة المهمة بين الإنسان والحيوان Cyclo-zoonotic disease الذي يسببه الطور اليرقي للديدان الشريطية التابعة لدودة المشوكات الحبيبية *Echinococcus granulosus*[١]. وهو من الأمراض الطفيلية المتوطنة في الشرق الأوسط وفي أجزاء أخرى من العالم منها الهند، أفريقيا، جنوب أمريكا، استراليا، جنوب أوروبا، تركيا، باكستان والعراق [٢،٣،٤]. تمر دورة حياة طفيل المشوكات الحبيبية *E. granulosus* بمضيفين، إذ تعمل كل من افراد العائلة الكلبية Canids وغيرها من أكلات اللحوم كمضائف نهائية للديدان البالغة وأنواع من الظلفيات فضلا عن الإنسان كمضائف وسطية للطور اليرقي للدودة[٥].

ولأهمية هذا الداء وتأثيره على صحة الإنسان فقد مورست طرق شتى لعلاج هذا المرض والقضاء عليه، منها الاستئصال الجراحي الذي يعد من الطرق المفضلة على الرغم من صعوبة إجرائه أحيانا أو تعذره أو قد يتسبب في حدوث اصابات ثانوية في الجسم[٦]. ثم العلاج الكيمياوي المتمثل في مشتقات البزيميدازول Benzimidazoale derivatives[٧] والتي قد تأخذ وقتا طويلا وتتسبب في زيادة انزيمات نقل امين المصل وتسمم نخاع العظم Bone morrow toxicity وفقدان الشعر Alopecia وحمى Fever وغيرها من الاعراض[٨]. كما ان الاستخدام الشائع للعقاقير في الوقت الحاضر ادى الى تطور مقاومتها من قبل العديد من الكائنات التي تسبب الاصابة[٩]. لذا فقد اتجهت البحوث نحو استعمال النباتات الطبية والمركبات والمنتجات الطبيعية والتي لها العديد من الوظائف البيولوجية المهمة[١٠،١١] ومنها العكبر propolis الذي هو راتنج طبيعي شمعي يجمع من قبل شغالات نحل العسل *Apis mellifera L.* من لحاء الأشجار وبراعم الإزهار وينتج بعد معاملته بالإنزيمات والعصارات المعدية والإفرازات اللعابية لنحل العسل[١٢]. ويقوم النحل بطلاء العيون السداسية الداخلية بطبقة رقيقة من العكبر لحماية البيوض من العوامل الممرضة ويستخدمه النحل في لصق الإطارات وسد الثقوب، وتضييق مدخل الخلية ودفاعاً عن نفسها ضد أعداءها وفي تحنيط وتغليف الأعداء التي تدخل إلى الخلية [١٣]. وهو واسع الاستخدام في الطب الشعبي التقليدي وهو مصدر مهم للعديد من الاستخدامات الصيدلانية والدوائية التي

يمكن أن تعالج الكثير من الأمراض والإصابات الجرثومية والطفيلية، ويعد ذا قيمـة غذائيـة وصحية مهمة في كثير من بلدان وشعوب العالم ويقلل من حدوث العديد من الأمـراض[١٤]. يتكون العكبر الخام تقريبا من ٥٠% مواد راتنجية، ٣٠% من الشمع، ١٠% مـن الزيـوت، ٥% من حبوب اللقاح و ٥% من المركبات العضوية وغير العضوية والمتضمنة العديد مـن الفيتامينات والمعادن[١٥]. يعتمد التركيب الكيميائي للعكبر على موقع ووقت جمعه من خلايـا النحل، ويعد العكبـر قـاتلاً للبكتريـا bactericidal والفطريـات fungicidal ومـضاداً للفايروسات antiviral والاوالي antiprotozoal وله نشاط ضـد الـسرطان anticancer activities ومضاد للتأكسد antioxiodant والالتهابات anti-inflammatory وله نشاط معدل مناعي immumodulatory activity في الجسم[١٨،١٧،١٦]. وقد تم تشخيص اكثر مـن ١٦٠ مركباً من العكبر، منها المركبات الفينوليـة Phenolic compounds التـي تتـضمن الفلافونيدات التي لها فعاليات بايولوجية عديدة[١٩]، إحداها الكورستين[٢٠] الذي له العديد مـن الاستخدامات البايولوجية المهمة إذ يمنع الخلايا المناعية من تحرير انزيم الهستامين ويقلل من اعراض الحساسية والمتضمنة الرشح الأنفي وانتفاخ الوجه والشفاه وحمى الطلع وفي عـلاج الربو والاكزيما[٢٢،٢١]، كما له القابلية في تخفيض العدوى بالانفلونزا، ويـساعد فـي حمايـة الخلايا القلبية ضد الأمراض والسرطان وحماية القلب من النوبات القلبية وانخفاض ضغط الدم للأشخاص الذين يعانون من فرط ضغط الدم الشرياني[٢٥،٢٤،٢٣] . ويثبط التورمـات الخبيثـة المتقدمة في الجلد في الفئران[٢٦]. ونظرا لعدم وجود دراسة سابقة حول تاثير العكبـر علـى الرؤيسات الاولية للمشوكات الحبيبية، فقد جاءت الدراسة الحالية لبيان تأثير مستخلص العكبر في المذيبات العضوية في حيوية الرؤيسات الأولية للمـشوكات الحبيبيـة *Echinococcus granulosus* من أصل أغنام خارج الجسم الحي وفصل الكورستين من المستخلص الكحولي له لأول مرة.

المواد وطرائق العمل

مصدر الأكياس

تم الحصول على الاكياس العدرية الكبدية المصابة من اصل اغنام من مركز مدينـة الموصل من منطقة باب الطوب.

جمع الرؤيسات الاولية

تم جمع الرؤيسات الاولية من الاكياس العدرية بواسطة محقنة طبية سعة ١٠ مل ذات ابرة قياس ٢١ G في قنينة زجاجية. غسلت هذه الرؤيسات الاولية التي جمعت بمحلول دارئ

الفوسفات الملحي (PBS) ذي الرقم الهيدروجيني ٧,٢ ثم جمعت في انابيب اختبار وأجريـت له عملية غسل بجهاز المنبذة ثلاث مرات بسرعة ٣٠٠٠ دورة/الدقيقة لمـدة خمـس دقـائق وحددت فعالية حيوية الرؤيسات الاولية بواسطة اختبار صد الايوسين وذلك باخذ نصف مـل من الرؤيسات الاولية واضيف اليه نفس الحجم من صبغة الايوسـين بتركيـز ٠,١% علـى شريحة زجاجية وفحصت تحت المجهر، فعدت الرؤيسات الأولية ذات اللون الأخضر البـراق حية في حين عدت الحمراء ميتة لاصطباغها بالصبغة الحمراء وحفظت في درجـة حـرارة ١٥م الى حين الاستخدام.

مادة العكبر

قد جمع مادة العكبر الخام من تنظيف الإطارات والألواح والغطاء الـداخلي والفـراغ الواقع بين إطارات خلايا بيوت النحل من حدائق كلية الزراعة والغابات في جامعة الموصـل في شهر أيار لسنة ٢٠١٠.

استخلاص العكبر

حضرت مستخلصات العكبر بإتباع الطريقة التي استخدمها الداؤودي[٢٧]، وذلك باخـذ ٢٠ ملغم من العكبر وأذيب في ٢٥٠ مل لكل من المذيبات العضوية الاتية: الايثر البترولـي، كلوروفوم، ايثايل استيد، الكحول الاثيلي ٩٠% وباسـتخدام جهـاز الاسـتخلاص المـستمر Soxhlet. اجريت عملية الفصل لمدة ١٠ ساعات بدرجات حرارية مختلفة بحـسب درجـة غليان كل مذيب، تم التخلص من المذيب باستخدام جهاز المبخر الدوار وبدرجـة (٥٠-٦٠)م أخذت الطبقة المتكونة وحفظت في الثلاجة لحين الاستخدام.

فصل الكورستين والتحلل الحامضي لمستخلص الكحولي للعكبر

للحصول على الكورستين من المستخلص الكحولي للعكبر والتي قد ترتبط تآصريا مع السكريات لتكوين الكلايكوسيدات فقد حلل حامضيا للحصول على المركبات الفلافونيدية الحرة aglucon الخالية من السكريات وبالاعتماد على طريقة الباحث Harborne[٢٨] وذلك باضـافة ١٠٠ مل من حامض الهيدروكلوريك (HCL) بتركيز ٢ مولاري الى ٢٠ مل من المستخلص الكحولي للعكبر وسخن المزيج في حمام مائي بدرجة ٩٠-١٠٠م لمدة نصف سـاعة، بـرد المزيج وأضيف له خلات الاثيل، ولوحظ تكوين طبقتين وفصلت بواسطة قمع الفصل، وذلـك باخذ الطبقة العليا (خلات الاثيل) التي تحتوي على الفلافونيدات الحرة ثـم ركـزت بجهـاز المبخر الدوار، وحفظت بعد ذلك في الثلاجة الى حين الاستخدام.

الكشف عن الكورستين المستخلص من العكبر باستخدام تقنية كروماتوكرافيا الطبقة الرقيقة (TLC).

كشف عن الكورستين باستخدام تقنية كروماتوكرافيا الطبقة الرقيقة (TLC) باستخدام الألواح المعدنية المغطاة بهلام السليكا بالابعاد ٢٠*٢٠ سم، تم تحميل العينات على احد طرفي اللوح بعينة السيطرة القياسية للكورستين للمقارنة مع عينة مستخلص خلات الاثيل aglucon وعلى هيئة بقع على امتداد خط وهمي، حدد كنقطة بداية وذلك باستخدام الأنبوبة الشعرية ووضع اللوح داخل الوعاء Tank الحاوي على نظام المحلول Solvent system المتكون من: بيوتانول: إستيك أسيد: ماء مقطر وبالنسب (٤: ١: ٥ ، V:V:V) بشكل عمودي بحيث يكون طرف اللوح الحاوي على البقعة ملامسا لنظام المحلول وتغطى بالغطاء الخاص بها وتترك في درجة حرارة المختبر لحين اكتمال صعود محلول الفصل مسافة لاتقل عن ١٣ سم وبعدها رفع اللوح من الحاوية وترك افقيا لمدة ٥ دقائق في المختبر بعدها يتم اظهار البقع بواسطة رش اللوح بكاشف الامونيا[٢٨].

النتائج والمناقشة

أظهرت نتائج الدراسة الحالية التأثير التثبيطي لمستخلص العكبر في المذيبات العضوية في حيوية الرؤيسات الاولية من اصل اغنام خارج الجسم الحي. ويتضح من جدول تحليل التباين (٧،٥،٣،١) وجود فروقات معنوية بين المعاملات عند مستوى احتمالية ($P<0.01$) بين التراكيز المختلفة والأوقات المختلفة لمستخلص العكبر.

وعند اجراء اختبار دنكن (الجداول ٦،٤،٢) لم تظهر فروقات معنوية عالية عند استخدام مذيبات: بتروليوم ايثر، كلوروفوم، ايثايل استيت مقارنة بالجدول (٨) والذي استخدم فيه المستخلص الكحولي للعكبر فيما يتعلق بنسبة القتل في حيوية الرؤيسات الاولية بالنسبة للتراكيز والاوقات. إذ تميز المستخلص الكحولي للعكبر (الجدول، ٨) في تأثيره الفعال للرؤيسات الاولية بتركيز ١٥ملغم/مل في زمن ٢٠ دقيقة، والذي تفوق تأثيره القاتل على جميع التراكيز والمستخلصات الاخرى للعكبر مقارنة بمجموعة السيطرة والتي كانت نسبة الحيوية للرؤيسات الاولية فيها ٩٠%.

اما بالنسبة لتاثير المتوسط العام للتراكيز المستخدمة لمستخلص الكحولي العكبر فقد تميز التركيز ١٥ ملغم/مل اذ انخفضت نسبة الحيوية فيها الى ٢٥,٥٦% والذي تفوق على التراكيز المستخدمة الأخرى. وكذلك بالنسبة لتأثير المتوسط العام للوقت فقد تميزت جميع الأوقات فيما بينها معنويا عند مستوى احتمالية ($P>0.01$).

وعلى العموم فقد تناسب تاثير هذه المذيبات العضوية لمستخلص العكبر تناسبا طرديا مع زيادة التركيز وزيادة مدة التعريض.

كذلك تم فصل وتشخيص مركب الكورستين من المستخلص الكحولي للعكبر والتي حدد عند الـ Rf (٠,٦٠) باستخدام المذيب (BAW) مقارنة بالكورستين القياسي عند الـRf(٦٤) وبنفس المذيب[٢٨] لما له من فعالية واهمية طبية وبايولوجية (انظر شكل ١،٢).

في هذه الدراسة تشابهت نتائج معاملة الرؤيسات الاولية من أصل أغنام خارج الجسم الحي لمستخلص العكبر في البتروليوم ايثر والتي كانت نسبة حيوية الرؤيسات الاولية فيها ٦٩,٠٠% بتركيز ١٠ ملغم/مل في زمن ٢٠ دقيقة مع النتائج التي حصل عليها الربيعي[٢٩] باستعمال مستخلص نبات الثوم والشيح بالتراكيز ٥% و ١٠% و ٢٠% خلال الاوقات ٦ و ١٢ و ٢٤ ساعة مع تفوق الدراسة الحالية في الوقت. واختلفت هذه الدراسة من حيث التركيز مع نتائج العمري[٣٠] الذي استخدم مستخلص المائي لثمار الشفلح في حيوية الرؤيسات الاولية من اصل اغنام خارج الجسم الحي بتركيز٢٠٠ملغم/مل في زمن ٦٠ دقيقة والتي كانت نسبة القتل للرؤيسات الاولية ٥٧,٦٧% مقارنة بالتراكيز المستخدمة في الدراسة الحالية.

بلغت نسبة حيوية الرؤيسات الاولية بالنسبة لمستخلص العكبر في الكلوروفوم هي ٣١,٦٧% بتركيز ١٥ ملغم/مل في الوقت ٢٠ دقيقة وبالنسبة للايثايل استيت فكانت ٢٦,٦٧% عند التركيز ١٥ ملغم/مل في الوقت ٢٠ دقيقة والتي تقاربت مع النتائج التي حصل عليها الربيعي[٣١] باستعمال المستخلص المائي لبذور الحبة السوداء والتي كانت نسبة الحيوية للرؤيسات الاولية من أصل أغنام خارج الجسم الحي فيها ٢٢,٦٦% بتركيز ١٥ ملغم/مل خلال ١٥ دقيقة. إلا أن نتائج مستخلص العكبر في الكلوروفوم والايثايل استيت اختلفت بالنسبة للوقت والتركيز عن الدراسة التي اجراها AL-Eryani[٣٢] عند استعماله المستخلص المائي لبذور نبات الحرمل في تضعيف حيوية الرؤيسات الاولية خارج الجسم الحي الى ٠,٠٠% بتركيز ٥٠٠ملغم/مل بعد مرور ٤٨ ساعة.

وتشابهت نتائج المستخلص الكحولي للعكبر والتي كانت نسبة القتل للرؤيسات الاولية فيها إلى ١٠٠% بتركيز ١٥ملغم/مل في وقت ٢٠ دقيقة مع النتائج التي حصل عليها الربيعي[٣١] والتي استعمل فيها المستخلص الكحولي لعفص البلوط والتي كانت نسبة القتل للرؤيسات الاولية الى ١٠٠% بتركيز ١٥ملغم/مل في زمن ٤٥ دقيقة. كما أن نتائج الدراسة الحالية للمستخلص الكحولي للعكبر تقاربت مع نتائج دراسة النوري[٣٣] والتي استعملت فيها المستخلص الكحولي لثمار نوم البصرة والذي خفض حيوية الرؤيسات الاولية الى ١٠,٣٣% بتركيز ١٥ملغم/مل وفي وقت ٦٠ دقيقة.

كما تفوقت نتائج هذه الدراسة من حيث الوقت والتركيز على نتائج AL-Sudani[٣٤] الذي استخدم مستخلص ثمرة الزيتون Olive المائي وثمرة السدر (النبك) Christs thorn المائي بتراكيز ٥٠، ١٠٠، ٢٥٠، ٥٠٠، ١٠٠٠ ملغم/مل والذي حصل على الموت الكامل للرؤيسات الاولية في مدة ٧٢ ساعة بالنسبة لثمرة الزيتون و٩٦ ساعة بالنسبة لثمرة السدر في

التركيز ١٠٠٠ ملغم/مل لكل منهما،على التوالي. وقد يعزى التأثير التثبيطي لمستخلص للعكبر إلى احتوائه العديد من المركبـات الكيميائيـة المعقـدة ومنهـا الفلافونيـدات Flavonoids والحوامض الاروماتية Aromatic acids والاسـترات الفينوليـة phenolic acid esters والترتيبينات Triterpenes واللكنينات Lignaus[٣٥] والتي قد أثرت بـشكل او بـأخر فـي حيوية الرؤيسات الاولية عن طريق التداخل في الفعاليات الايـضية Metabolic activites داخل الخلية أو مع الأنزيمات والبروتينات والحوامض النووية وغيرها او انها تحلل اجـزاء من الغشاء البلازمي مما يفقدها وظيفتها، ومن الملاحظات التي تم ملاحظتهـا عنـد معاملـة الرؤيسات الاولية بمستخلص العكبر في بعض المذيبات العضوية هو حدوث تشوه في شـكل الرؤيس الاولي وانكماش الخطم وكذلك انتفاخ الرؤيس الاولي واستطالته في بعض الحـالات ودخول صبغة المستخلص داخل الرؤيس الاولي دليل على فقدان الغشاء البلازمـي لوظيفتـه وتحوله من اختياري النفوذية الى تام النفوذية، وقد يعود السبب الى حدوث خلل فـي تبـادل الايونات على جهتي الغشاء البلازمي[٣٦].

جدول (١): تحليل التباين ANOVA لتأثير مستخلص العكبر في البتروليوم ايثر في حيوية الرؤيسات الأولية من أصل أغنام خارج الجسم الحي عند مستوى احتمالية .(P<0.01)

Source	Df	Sum of squares	Mean Square	F Value
Con.	2	2464.074	1232.03	2546.376
Minute	2	1519.185	759.592	17.360
Con.*Min.	3	857.537	285.845	
Error	19	226.833	11.938	
Total	26	5067.629		

جدول (٢): تاثير مستخلص العكبر في البتروليوم ايثر في حيوية الرؤيسات الاولية من اصل اغنام خارج الجسم الحي وحسب اختبار دنكن

Mean of Con.	Control	**20**	**15**	**10**	Minute / **Con.**
81.67 A	90	**80.00** AB	**81.67** AB	**84.33** A	5 mg/ml
72.33 B		**69.00** C	**75.67** B	**80.67** AB	10 mg/ml
59.71 C		**39.33** E	**63.37** D	**78.33** AB	15 mg/ml
		62.78 C	73.00 B	81.11 AB	Mean of Time

جدول (3): تحليل التباين ANOVA لتأثير مستخلص العكبر في الكلوروفوم في حيوية الرؤيسات الاولية من اصل اغنام خارج الجسم الحي عند مستوى احتمالية .(P<0.01)

Source	Df	Sum of squares	Mean Square	F Value
Con.	2	45086.11	2043.05	172.65
Minute	2	2354.66	1177.33	99.49
Con.*Min.	3	1249.05	416.351	35.18
Error	19	224.83	11.803	
Total	26	7914.667		

جدول (٤): تأثير مستخلص العكبر في الكلوروفوم في حيوية الرؤيسات الاولية من اصل اغنام خارج الجسم الحي وحسب اختبار دنكن

Mean of Con.	Control	20	15	10	Minute / Con.
81.50 A	90	76.67 CB	81.67 A	86.33 A	5 mg/ml
72.33 B		70.60 D	74.00 CD	81.33 AD	10 mg/ml
53.44 C		31.67 F	49.33 E	79.33 CB	15 mg/ml
		59.67 C	68.33 B	82.6 A	Mean of Time

جدول (٥): تحليل التباين ANOVA لتأثير مستخلص العكبر في الايثايل استيت في حيوية الرؤيسات الاولية من اصل اغنام خارج الجسم الحي عند مستوى احتمالية .(P<0.01)

Source	Df	Sum of squares	Mean Square	F Value
Con.	2	7457.37	3728.68	162.49
Minute	2	1341.62	670.81	29.23
Con.*Min.	3	145.95	4865	2.12
Error	19	436.000	22.947	
Total	26	9380.962		

جدول (٦): تأثير مستخلص العكبر في الايثايل استيت في حيوية الرؤيسات الاولية من اصل اغنام خارج الجسم الحي وحسب اختبار دنكن

Mean of Con.	Control	20	15	10	Minute / Con.
78.25 A	90	70.00 B	79.00 A	84.00 A	5 mg/ml
73.67 A		70.00 B	78.33 AB	80.66 A	10 mg/ml
41.67 B		26.67 E	45.00 D	53.33 C	15 mg/ml
		55.56 C	67.11 B	72.44 A	Mean of Time

جدول (7): تحليل التباين ANOVA لتأثير مستخلص العكبر في الكحول الاثيلي في حيوية الرؤيسات الأولية من أصل أغنام خارج الجسم الحي عند مستوى احتمالية .(P<0.01)

Source	Df	Sum of squares	Mean Square	F Value
Con.	2	13532.12	6766.06	244.63
Minute	2	3568.96	1784.48	64.52
Con.*Min.	3	715.25	238.41	8.62
Error	19	525.500	27.65	
Total	26	1834.851		

جدول (٨): تأثير مستخلص العكبر في الكحول الاثيلي في حيوية الرؤيسات الأولية من اصل أغنام خارج الجسم الحي وحسب اختبار دنكن

Mean of Con.	Control	**20**	**15**	**10**	Minute / **Con.**
74.67 A	90	**61.67** C	**74.00** AD	**81.67** A	5 mg/ml
72.76 B		**64.33** CB	**74.00** AB	**80.00** A	10 mg/ml
25.56 C		**0.00** F	**30.00** E	**46.67** D	15 mg/ml
		42.00 C	59.33 B	69.89 A	Mean of Minute

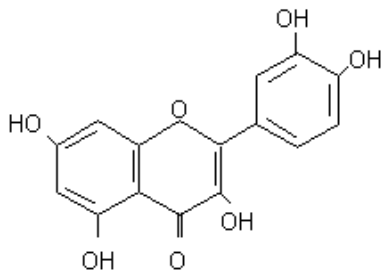
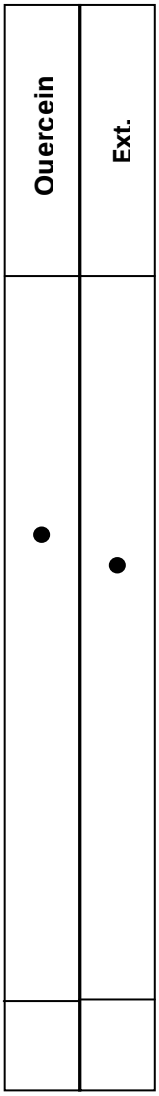


Fig. (1) Quercetin



Quercetin using BAW

Fig. (2): Chromatogram of Quercetin (Aglycone) in ethyl acetate extraction

*EXT : ethyl acetate extraction.

Reference

1) **Rausch R.L.** Parasitology, 127: 573-585 (2003).
2) **Abdullah IA. and Jarjees MT**. Riv. Di. Parassitol., XVL(LX)-N. 3: 267-272(1999).
3) **Tang C.T., Quian Y.C., Rang Y.M., Gui G.W., Shu L.M., Wang Y.H. and Tang L.Y.** Parasitology, 128: 94-187(2004).
4) **Jones A. and Pybus M.J.** Press., Am., IA. Pp. 150-192(2001).
5) **McManus D.P., Zhang L., Castrodale L.J., Phearson T. H. Le. M. and Blair D.** Am. J. Trop. Med. Hyg., 67: 296-298(2002).
6) **Abdulhameed Biomy and Tarek Malatoni S.** Med. Bull. Bahrain, 23(1): 49-51(2001).
7) **Dandan, I. S., Soweid, A. M. and Abiad, F.** Hyddatid cysts. Medicine J., 1-20(2007).

8) **Tghavi, S.A.** J. Iran, 1-33(2000)
9) **Cragg GM. and Newman DJ.** J. Products, 70: 461-477(2007).
10) **Abas F., Lajis N.H., Shaari K. Israf D. A. Stanslas J. Yusuf U. K. and Raof S.M. J.** Nat. Prod., 68: 1090-1093(2005).
11) **Chees brough M.** Medical Laboratory Manual for Tropical Countries. Butterworth, Oxford, PP: 260(2000).
12) **Bankova V. J.** Ethnopharmacol., 100 : 114-117(2005).
13) **Bankova V.S., Dc castro S.L. and Marucci.** Apidology, 31: 3-15 (2000).
14) **Banksnota A.H., Tezuka Y. and Kadota S.H.** Phytoter. Res., 15: 561-571(2001).
15) **Chang C.C., Yang M.H., Wen H.M. and Chern J.C.J.** Food and Drug Analysis, 10: 178-182(2002).
16) **Russo A., Lonoo R., and Vanella A.** Fitoterapia, 73: 21-29(2002).
17) **Heim K.E., Tagliaferro A.R., Bobilya D.J.** Nutr. Biochem., 13: 572-584(2002)
18) **Femia A.P., caderni G., Buzzigoli C., Cocca E., Salvadori M. and Dolarap.** Nutrition and Cancer, 41: 107-110(2001).
19) **Bankova V.G., Boudourova-Krasteva S. and Popov J.M.** Apidology, 29: 361-367(1998).
20) **Marucci M.C., Ferreres F., Garcia-viguerg C., Bankova V.S., De Castro S.L., Dantas A.P., Valente P.H. and Paulino N. J.** Ethanopharmacol., 74 : 105-112(2001).
21) **Mackraj I, Govender T, Ramesar S. J.** Cardiovasc Pharmacol., 51(3):239-45 (2008).
22) **Boots AW., Haenen GR. and Bast A.** Eur J Pharmacol., 582(2-3):325-37(2008).
23) **Mark Davis J., Murphy E.A., McClellan J.L., Carmichael M.D. and Gangemi J.D. J.** Am. Phy-Reg., (2008).
24) **Ramos S. J.** Nut. Biochem.,18(7):427-442 (2007).
25) **Miller AL.** Altern Med. Rev., 6(1): 20-47 (2001).
26) **Kato K., Mori H, Tanaka T., Fujii M., Kawai T., Nishikaw A., Takahashi M., and Hirono I.** Ecotoxical Environ_Safety, 10: 63-69(1985).
27) **AL-Daody A.Ch.** Ph. D. Thesis. Mosul. Univ. Iraq. (1998).
28) **Haborne J. B.** Phytochemical Methods. Chapman and Hall. Ltd. New York, U.S.A., (1973).
٢٩) **الربيعي، ساوى صبر محسن.** رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة بغداد (١٩٩٩).
٣٠) **العمري، ارقم محمد ازهر.** رسالة ماجستير، كلية التربية، جامعة الموصل (٢٠٠٥).
٣١) **الربيعي، فؤاد سالم اسماعيل،** رسالة ماجستير، كلية التربية، جامعة الموصل (٢٠٠٦).
32) **AL-Eryani MA.** M. Sc. Thesis, Coll. Sci. Univ. AL-Mustansiriy (2003).
٣٣) **النوري، اسيل عصام جمال الدين.** رسالة ماجستير، كلية التربية، جامعة الموصل(٢٠٠٨).
34) **AL-Sudani NM.** The Internet J. Parasit. Dis., 2 (1), Issn: 1559-4629 (2007).
35) **Fontana J.D., Passos M., Santos M.H.R., Fontna c.K., Oliveria B.H., Schause L., Pontaralo R., Barbiratoo M.A., Ruggiero M.A. and Laucas F.M.** Chromatograpohia 52: 147-151(2000).
٣٦) **الكناني، انتصار رحيم وعلي، فواز فاضل.** مجلة القادسية لعلوم الطب البيطري، المجلد(٣)، العدد (١): ٦٤- ٦٨.