بسم الله الرحمن الرحيم

**SUDAN UNIVERSITY OF SCIENCE & TECHNOLOGY**
**COLLEGE OF GRADUATE STUDIES**

# ASSESSMENT OF THE POTENTIAL EFFICACY OF BEE VENOM AS AN ANTILEISHMANIAL CHEMOTHERAPEUTIC (*IN VITRO*)

**BY:**

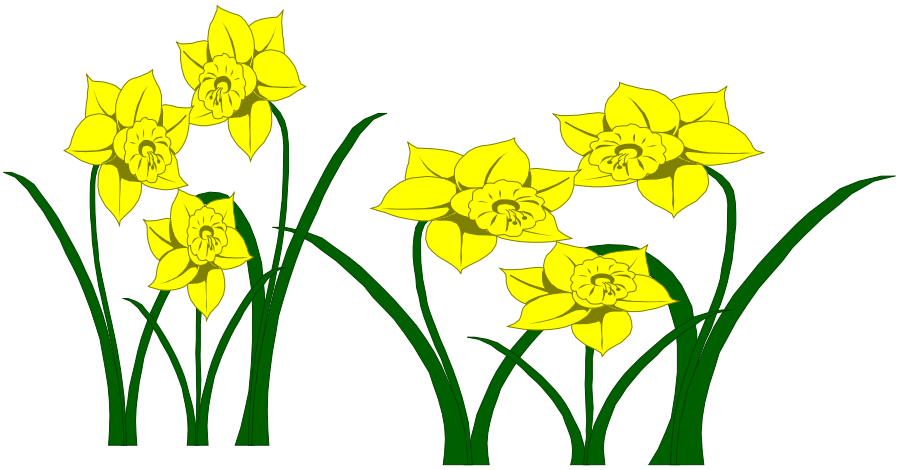
**HOYAM MAHGOUB IBRAHIM**

**B.SC. (HON.) OMDURMAN ISLAMIC UNIVERSITY**
**HIGHER DIPLOMA (CLINICAL BIOCHEMISTRY)**
**SUDAN UNIVERSITY OF SCIENCE & TECHNOLOGY**

***A thesis submitted in partial fulfillment of***
***MSc. Degree in Clinical Biochemistry***

**SUPERVISOR: DR. ADIL M. IBRAHIM**
**DEPARTMENT OF CLINICAL BIOCHEMISTRTY**
**SUDAN UNIVERSITY OF SCIENCE & TECHNOLOGY**

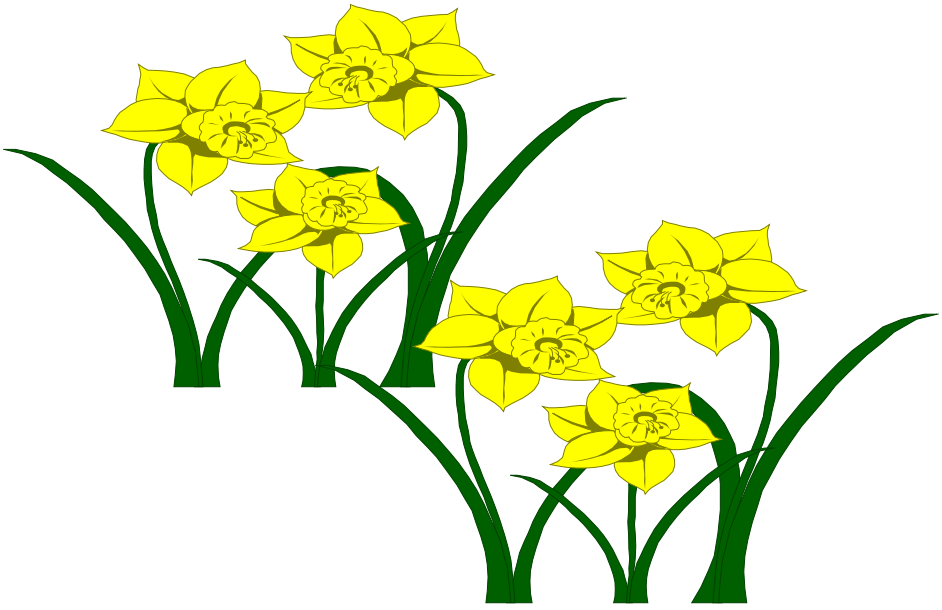
**2005**

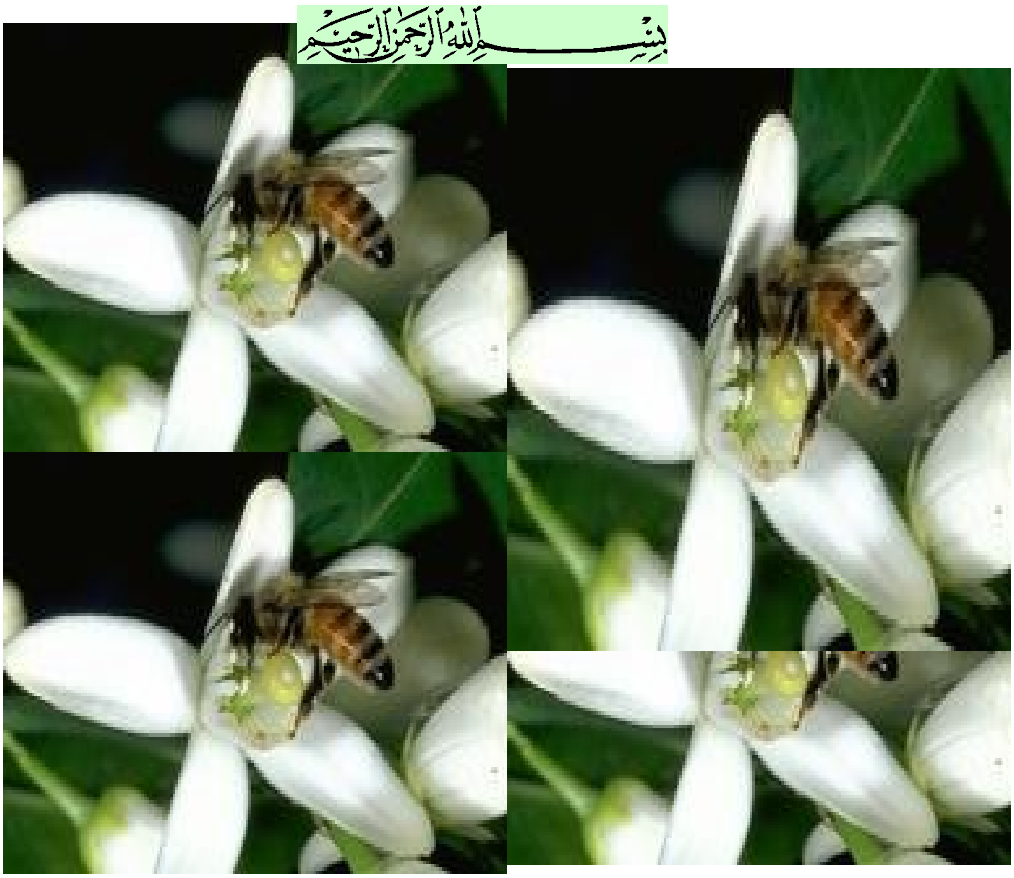


# Dedication

To my dear parents, sisters and brothers.

With my best regards, respect and love






## بِسْمِ اللّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

## قال الله تعالى

**وَأَوْحَى رَبُّكَ إِلَى النَّحْلِ أَنِ اتَّخِذِي مِنَ الْجِبَالِ بُيُوتًا وَمِنَ الشَّجَرِ وَمِمَّا يَعْرِشُونَ (68) ثُمَّ كُلِي مِنْ كُلِّ الثَّمَرَاتِ فَاسْلُكِي سُبُلَ رَبِّكِ ذُلُلًا يَخْرُجُ مِنْ بُطُونِهَا شَرَابٌ مُخْتَلِفٌ أَلْوَانُهُ فِيهِ شِفَاءٌ لِلنَّاسِ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً لِقَوْمٍ يَتَفَكَّرُونَ (69) وَاللَّهُ خَلَقَكُمْ ثُمَّ يَتَوَفَّاكُمْ وَمِنْكُمْ مَنْ يُرَدُّ إِلَى أَرْذَلِ الْعُمُرِ لِكَيْ لَا يَعْلَمَ بَعْدَ عِلْمٍ شَيْئًا إِنَّ اللَّهَ عَلِيمٌ قَدِيرٌ (70**

## صدق الله العظيم

**سورة النحل الآيات 68-70**

# DECLARATION

The work prescribed in this thesis has been conducted by the undersigned in the Department of Clinical Biochemistry at the College of Medical Laboratory Science, Sudan University for Science & Technology.

It has not been previously accepted in substances and is not being concurrently submitted in candidature for any other degree.

**Signature (Candidate) …….**
**Signature (Supervisor) ……..**

Date June 2005

# CONTENTS

**PAGES**

## ملخص الدراسه

اجريت هذه الدراسه على سم النحل بغرض قياس مدى كفاءته كمضاد لطفيل الليشمانيا دونافانى اللذى يصيب الانسان .كما ان كثير من الدراسات اثبتت مؤخرامقاومة الطفيل لعدد من انواع الادويه العلاجيه المستخدمه .
اجريت التجارب باستخدام الطفيل *L .donavani archabadli* Mon 82 الذى تم تزريعه فى نوعين من اللاوساط الغذائية وهما Hamin agar و NNN فى درجة حراره 25م لمدة اسبوعين . وجد ان معدل نمو الطفيل فى الوسط الغذائى Haemin agar اسرع من نموءه فى الوسط الغذائىNNN . وقد اجريت التجربه على طفيل الليشمانيا الذى تم اخذ 50 ميكروليتر منه بعد ضبط تركيزه الى (3 X $10^{6}$) خليه, واضافته الى تراكيز مخففه من سم النحل بمعدل التخفيف 10 وتتراوح ما بين $10^{-3}$ X175الى0017. 0 $X10^{-3}$ ميكروجرام /ملليتر فى درجة حراره 25 لمدة 24 ساعه . وقد لوحظ ان اعلى معدل تثبيط الطفيل >70% عند تركيز اعلى من $^{-3}$ X 110 ميكروجرام /ملليتر, وعند القيام باعادة التجربه بمعدل تخفيف يساوى 3 وجد ان اعلى معدل تثبيط للطفيل عند تركيز $19X10^{-3}$ ميكروجرام /ملليتر. وعند استخدام التحليل الأحصائى Probit regression analysis لحساب التركيز ذو الفعالية المتوسطة ($IC_{50}$) وجد انه يعادل $3X10^{-3}$ ميكروجرام /ملليتر ومقارنة مع دواء البنتوستام الذى تبلغ 41.7 $IC_{50}$ ميكروجرام /ملليتر . مما يثبت درجة فعالية سم النحل .كما قامت الدراسة ايضا بقياس مدى سمية سم النحل مقارنة مع البنتوستام على على الخلايا الليمفاوية المستخلصة من دم الإنسان تحت نفس الظروف بمعدل التخفيف 10 تحت درجة 37 لمدة 48 ساعه . وقد لوحظ ان هنالك درجة سميه تبلغ 40% عند تركيز اعلى من $1X10^{-3}$ ميكرجرام/ملليترمقارنة مع البنتوستام الذى ليس له درجة سميه حتى عند تركيز 500 ميكروجرام ملليتر بينما اظهرت الدراسة ان هنالك زيادة فعلية($P<0.05$) فى معدل انقسام الخلايا الليمفاويه يتراوح ما بين (50%-100%) عند تركيزات تتراوح ما بين (0.001-0.1 ) ميكروجرام /ملليتر.

## ABSTRACT

This study essentially evaluated the antileishmanial activity and toxicity of the bee venom using in vitro techniques. The study also compared *in vitro* the maintenance of *L.donovani* promastigotes in 2 types of culture media, 3N and Hamin- agar media .The preliminary *in vitro* examination of the potential antileishmanial effect of bee venom upon *L. donovani* promastigotes when treated with 10-fold dilutions of this chemotherapeutic agent ($175X10^{-3}$- $0.0017X10^{-3}$µg/ml) for 24h at 25Cº. The highest response of growth inhibition (>70%) was obtained when the parasite subjected to bee venom concentrations >$1.0X10^{-3}$µg/ml but a total inhibition of parasite population growth was only recorded at concentration $175X10^{-3}$µg/ml. $IC_{50}$ was calculated as 3.0µg/ml.

The lymphocyte proliferation assay for toxicity was used to compare the bee venom toxicity with Pentostam (Wellcome, UK), a standard antileishmanial drug. The cytotoxic effect of bee venom has been expressed as the mean percent inhibition of cell proliferation after 48h treatment with bee venom. About 40% inhibition of lymphocyte proliferation was observed when the lymphocytes were subjected *in vitro* to the highest concentration of this therapeutic agent ($175X10^{-3}$µg/ml) , Pentostam had no effect even at maximum tested concentration 500µg/ml whereas bee venom appeared to have some toxicity at concentrations <$0.1X10^{-3}$µg/ml only. On the other hand treatment of PMBC with low concentrations ($0.001\text{-}0.1X10^{-3}$µg/ml) of bee venom significantly stimulated PMBC proliferation ($P<0.05$).

## ACKNOWLEDGMENT

*I would like to express my deepest thanks and gratitude to my supervisor Dr. Adil Mahgoub Ibrahim (Department of Biochemistry, Faculty of Medical Laboratory Science, Sudan University of Science & Technology), for his close-supervision, patience, encouragement, and follow-up throughout this study. My appreciation is also due to Dr. Ahmed Babiker, Director of Tropical Medicine Research Institute (TMRI) for his kind permission to use lab facilities. Nevertheless, this effort could not have been possible without the cooperation of Dr. ATif El Agib Head Dep of Immunology& Biotechnology at TMRI.*

*I am also grateful to all staff member of Michigan laboratory for their help and encouragement especially to Dr Abdalla Sharef & Mrs Samia Omer for their help throughout this work. I would like to thank members of Tuberclosis & Malaria Department of The National Centre laboratory for their valuable help and support. Finally I wish to express my thanks to all colleagues specially, Dr .Ali El Zubair , Ms Maha Mahgoub for their friendly cooperation.*

# LIST OF TABLES

# LIST OF FIGURES