

## داروهای گیاهی ۵ ضد تک یاخته شایع

محمد آزادبخت<sup>۱</sup> مسعود آزادبخت<sup>۲</sup>

## چکیده

طبق آمار سازمان بهداشت جهانی (WHO) در حال حاضر حدود ۸۰ درصد از جمعیت جهان از داروهای گیاهی در درمان استفاده می کنند. فراورده های طبیعی حاصل از گیاهان دارویی یک منبع وسیع تهیه داروها و پایه اصلی توسعه ترکیبات دارویی جدید می باشند. تک یاخته ها (پروتوزوا) یا آغازیان سبب مرگ و میر و شیوع بیماری در جوامع مختلف به ویژه در کشورهای در حال رشد می شوند. برای درمان مالاریا، گیاهان دارویی متعددی معرفی شدند. که بعضی از آنها در درمان بیماری مورد استفاده قرار گرفته و برخی نیز مراحل تحقیق را می گذرانند. اولین داروی گیاهی ضد مالاریا، کینین بوده است که از پوست درخت گنه گنه بدست می آید. در سالهای اخیر داروی آرتیمیزینین توسط دانشمندان چینی برای درمان مالاریا معرفی شده که در حال حاضر بطور وسیعی استفاده می شود. لیشمانیوز جلدی (سالک) یکی از بیماریهای بومی اکثر نقاط ایران است. داروهای رایج برای درمان سالک (مانند گلوکانتیم) عوارض شدیدی دارد و در ۲۵-۱۰ درصد موارد احتمال عود بیماری وجود دارد. امتین یکی از داروهایی است که از ریشه گیاه ایپکا بدست می آید و بصورت زیر جلدی در درمان سالک بکار می رود. ژیاردیازیس یک عفونت حاد پروتوزوایی است که اغلب بدون نشانه بالینی می باشد ولی ممکن است بصورت اسهال حاد و یا مزمن تظاهر نماید طبق اعلامیه WHO، بیش از  $\frac{۲}{۳}$  جمعیت کره زمین به انگلهای روده ای آلوده هستند و شیوع ژیاردیا از سایر انگلهای روده ای بیشتر است. گیاهان دارویی مثل موسیر، اوکالیتوس و آویشن از جمله گیاهانی هستند که توانایی از بین بردن کیست ژیاردیا را دارند. سالیانه ۷۵/۰۰۰ تا ۱۰۰/۰۰۰ نفر در اثر آمیبیازیس (اسهال خونی) در جهان می میرند. عامل آمیبیازیس بلعت دارا بودن قابلیت تخریب فوق العاده، سبب تغییرات پاتولوژیک زیاد و در بعضی مواقع کشنده از قبیل زخم کولون می گردد و در صورت ورود به جریان خون بصورت آبسه کبدی و مغزی تظاهر می نماید. گیاهان دارویی مانند ایپکا، انبه و خربزه درختی از جمله گیاهان ضد آمیب (انتاموبا هیستولیتیکا) می باشند. تریکومونیاژیس یک عفونت تک یاخته ای مجاری ادراری - تناسلی در مردان و زنان می باشد که از طریق تماس جنسی منتقل می شود موثرترین داروی کشنده تریکوموناس، مترونیدازول است. گزارش های متعددی مبنی بر شیوع مقاومت و عوارض آن (سرگیجه و تهوع، پانکراتیت، سمیت سیستم عصبی مرکزی، نوتروپنی، موتاژنیستی و کارسینوژنیستی) وجود دارد. گیاهان دارویی مانند مورد واسطوخودوس از جمله گیاهانی است که اسانس و عصاره آنها بر تریکوموناس واژینالیس موثر است.

واژه های کلیدی: تک یاخته، داروهای گیاهی، مالاریا، آمیب، لیشمانیا، ژیاردیا، تریکوموناس

## مقدمه

تاریخچه مصرف داروهای گیاهی در درمان بیماریها، به سالیان نخستین زندگی بشر بر می گردد که طی قرون

متممادی تکامل و توسعه یافته است (۱). امروزه نسبت تعداد داروهای گیاهی رسمی مورد استفاده در

مؤلف مسئول: دکتر محمد آزادبخت: ساری، کیلومتر ۱۸ جاده خزر آباد، مجتمع دانشگاهی پیامبر اعظم، دانشکده داروسازی

Email: azadbakht@hotmail.com

۱ استاد فارماکوگنوزی، دانشکده داروسازی و مرکز تحقیقات علوم دارویی دانشگاه علوم پزشکی مازندران

۲ دانشجوی کارشناسی ارشد سیستماتیک گیاهی، دانشگاه تربیت معلم تهران

تاریخ دریافت: ۸۷/۴/۱ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۸۷/۶/۹ تاریخ تصویب: ۸۷/۸/۲۲

گیاه ایپکا) از داروهای ضد پروتوزوایی معروف می باشند که در درمان این گونه بیماریها استفاده می شوند (۹).

#### بیماری مالاریا

مالاریا یک بیماری عفونی است که توسط تک یاخته انگلی از جنس پلاسمودیوم ایجاد شده و از طریق گونه های بخصوصی از پشه های آنوفل ماده منتقل می شود. این بیماری یکی از مهمترین بیماریهای عفونی مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری به شمار می رود. در اواسط دهه ۱۹۵۰ میلادی پیش بینی شده بود که قطعاً بیماری مالاریا ریشه کن می شود اما در دهه ۱۹۹۰ بیماری مزبور در سراسر مناطق استوایی بصورت واگیر در آمد. عدم موفقیت در ریشه کن کردن مالاریا به علت فاکتورهایی مانند مقاومت پلاسمودیوم بوجود آورنده بیماری در برابر داروهای ضد مالاریا، مقاومت پشه های آنوفل ماده ناقل بیماری در برابر حشره کش هایی مانند د.د.ت، عدم استفاده از حشره کش ها به علت سمیت آنها و آلوده شدن محیط زیست توسط آنها بوده است. گونه هایی از انگل پلاسمودیوم که به انسان سرایت می کنند عبارتند از: فالسیپاروم، ویواکس، مالاریه، و اواله (۱۱، ۱۰).

مطالعات مختلفی برای ارزیابی تاثیر مهار کنندگی عصاره گیاهان گوناگون روی پلاسمودیوم فالسیپاروم (۱۳، ۱۲) و پلاسمودیوم برگیی (۱۴) در محیط کشت انجام شد. خاصیت ضد مالاریایی عصاره برخی از گیاهان در شرایط این ویو روی موشهای آلوده به پلاسمودیوم برگیی (۱۶، ۱۵) و پلاسمودیوم وینکی (۱۷) و پلاسمودیوم بویلی (۱۸) مطالعه شده است.

در پژوهشی، اثرات ۴ غلظت  $12/5$ ،  $25$ ،  $50$ ،  $100$  عصاره الکلی دانه اسپند روی ایزوله های انسانی پلاسمودیوم فالسیپاروم در محیط کشت بررسی شد. نتایج نشان داد که هر ۴ غلظت بکار رفته عصاره دانه اسپند، قادر به جلوگیری از حداقل رشد ۵۰ درصد

درمان بیماریها در مقایسه با تعداد کل داروهای رسمی در جهان در حال فزونی است این نسبت در کشورهای همچون چین و هند با حدود بیش از ۷۰ درصد در بالاترین مقدار و در کشورهای همچون آمریکا با حدود ۲۰ درصد در حد پائینی قرار دارد (۲، ۳). متأسفانه در ایران این نسبت در حد بسیار پائینی است بطوریکه در دهه ۱۳۸۰-۱۳۷۰ کمتر از ۱ درصد و در حال حاضر در حدود ۵ درصد می باشد (۴، ۵، ۶).

طبق آمار سازمان جهانی بهداشت (WHO) در حال حاضر حدود ۸۰ درصد از جمعیت جهان از داروهای گیاهی در درمان استفاده می کنند که این آمار در کشورهای توسعه نیافته بالاتر و در کشورهای توسعه یافته کمتر است. در سال ۱۹۹۷ بالغ بر ۲۲ میلیارد دلار صرف محصولات گیاهی شده که از این رقم، ۵۰ درصد مربوط به داروهای بدون نیاز به نسخه (OTC) و ۵۰ درصد متعلق به داروهای تجویز شده با نسخه بوده است. بازار جهانی داروهای گیاهی در سال ۲۰۰۲ بالغ بر ۳۰ میلیارد دلار بوده است که این رقم حدود ۲۰ درصد کل بازار دارویی دنیا را تشکیل می دهد (۷، ۸).

فراوردهای طبیعی حاصل از گیاهان دارویی یک منبع وسیع تهیه داروها و پایه اصلی توسعه ترکیبات دارویی می باشند. داروهای گیاهی پذیرش عمومی بیشتر و بطور کلی عوارض جانبی کمتری دارند و بیشتر از داروهای شیمیایی در درمان بیماریهای مزمن استفاده می شوند (۳). حدود ۵۰۰/۰۰۰ گونه گیاهی در جهان وجود دارد که فقط ۱ درصد آنها جهت تهیه داروها مورد تحقیق قرار گرفته اند لذا گیاهان دارویی یک منبع بالقوه بزرگ کشف ترکیبات جدید دارویی می باشند (۹). تک یاخته ها (پروتوزوا) یا آغازیان سبب مرگ و میر و شیوع بیماری در جوامع مختلف به ویژه در کشورهای در حال رشد می شوند. داروهای گیاهی زیادی جهت درمان بیماریهای پروتوزوایی کشف و مورد استفاده قرار گرفته اند. داروهای همچون کینین (ضد مالاریا، از گیاه گنه گنه)، امتین (ضد آمیب از

شده با انگل در گروه‌های آزمایش و کنترل، تعیین شده و ارزش ED50 آن محاسبه می‌شود (۱۰).

#### داروهای گیاهی ضد مالاریا

از گذشته تاکنون، در ارتباط با بیماری مالاریا، گیاهان دارویی متعددی معرفی شده که بعضی از آنها در درمان این بیماری مورد استفاده قرار گرفته‌اند و برخی نیز مراحل تحقیق را می‌گذرانند. اولین داروی گیاهی ضد مالاریا، کینین بوده است. این آلکالوئید از پوست گونه‌های درختان گنه گنه (سنکونا) بدست می‌آید. درختان گنه گنه، بومی کشورهای آمریکای جنوبی به ویژه پرو می‌باشند. در سالهای اخیر داروی آرتیمیزین توسط دانشمندان چینی از یک گونه درمنه (*Artemisia annua*) معرفی شده که در حال حاضر بطور وسیعی استفاده می‌شود. آرتیمیزین یک سزکوئی ترپن لاکتون است که تاکنون برای درمان بیش از ۱/۵ میلیون بیمار مبتلا به مالاریا مخصوصاً مالاریا مغزی مورد استفاده قرار گرفته است (۱۰). آرتیمیزین در گونه‌های دیگر *Artemisia* از خانواده *Asteraceae* مانند *A. aucheri* وجود دارد (۲۲، ۲۳). در جدول شماره ۱، بعضی از گیاهان دارویی موثر در بیماری مالاریا که مورد مطالعه قرار گرفته‌اند ارائه شده است (۱۰).

( IC50 ) پلاسمودیوم فالسیپاروم در محیط کشت شده‌اند (درصد ممانعت از رشد انگل در هر ۴ غلظت بیش از ۹۰ درصد بود) (۱۹). در مطالعه دیگری اثر عصاره الکلی دانه اسپند بر پلاسمودیوم برگی در موش سوری مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که غلظت ۱۰۰ mg/ml عصاره به نحو چشمگیری سبب کاهش تعداد انگل در موش‌های آلوده شد (۲۰). در مطالعه‌ای که در زمینه همه‌گیری شناسی بیماری مالاریا در استان مازندران در سال ۱۳۸۲-۱۳۷۸ انجام شد میزان شیوع ۲۸٪ در ۱۰۰۰ بود. از نظر نوع انگل بیشترین موارد ابتلا با ۹۶/۹ درصد مربوط به انگل پلاسمودیوم ویواکس بوده است (۲۱).

#### آزمایش بررسی داروهای گیاهی ضد مالاریا

جهت بررسی اثر ضد مالاریایی عصاره گیاهان دارویی، معمولاً از روش پیتر (Peter) استفاده می‌شود در این آزمایش، موشها را با گلبولهای قرمز حاوی پلاسمودیوم برگی آلوده می‌کنند. دوزهای مختلف عصاره گیاه، به مدت چهار روز به گروه‌های پنج تایی موش از راه خوراکی یا داخل صفاقی (IP) تجویز می‌شود. در روز پنجم، نمونه خون از هر موش گرفته شده و گسترش نازکی بر روی اسلاید تهیه می‌شود. سپس آنرا رنگ آمیزی می‌نمایند. درصد گلبولهای قرمز خون آلوده

جدول شماره ۱: بعضی از گیاهان دارویی استفاده شده بعنوان ضد مالاریا

| مرجع | IC50 (µg/ml) | مواد مؤثره                     | خانواده       | نام علمی                     | نام فارسی (عمومی)      |
|------|--------------|--------------------------------|---------------|------------------------------|------------------------|
| ۱۱   | ۰/۲۱         | کینین، کینیدین                 | Rubiaceae     | <i>Cinchona succirubra</i>   | گنه گنه                |
| ۲۲   | ۰/۰۰۰۰۳      | آرتیمیزین، سانتونین            | Asteraceae    | <i>Artemisia annua</i>       | گندواش                 |
| ۱۰   | ۰/۰۱         | اینگزا اوسو c,a                | Annonaceae    | <i>Arabotrys unciatus</i>    | گیاه چینی اونی سیاتوس  |
| ۱۰   | ۲۳           | بربرین، برابامین               | Berberidaceae | <i>Berberis vulgaris</i>     | زرشک                   |
| ۱۱   | ۰/۱          | لیمونوئیدها مثل گدونین         | Meliaceae     | <i>Azadirachta indica</i>    | آزاددرخت               |
| ۱۱   | ۰/۰۲         | کوآسی نوئیدها مثل پروزاتول     | SimarubIaceae | <i>Quassia excelsa</i>       | کوآسیا                 |
| ۱۰   | ۰/۰۲۳        | اندول آلکالوئید مثل ویلاستونین | Apocynaceae   | <i>Alstonia angustifolia</i> | گیاه مالزیایی آلستونیا |

## بیماری سالک (لیشمانیوز جلدی)

عامل این بیماری گونه های مختلف لیشمانیا است که توسط پشه خاکی به انسان منتقل می شود تک یافته لیشمانیا برای اولین بار بصورت جداگانه در سال ۱۹۰۳ توسط Donovan و Leishman شناخته شد (۲۴). طی سالهای بعد مشخص شد که تنوع این انگل ها زیاد است و حداقل ۲۰ نوع آن باعث گرفتاری انسان می شود. بعضی از انواع این انگل فقط پوست را درگیر (سالک) می کند (۲۵). در آمریکای جنوبی سالک توسط لیشمانیا مکزیکانا و لیشمانیا برازیلینس بوجود می آید در حالیکه در اروپا و آسیا عامل بیماری مذکور لیشمانیا تروپیکا و لیشمانیا ماژور می باشد (۲۶، ۲۷). تعداد مبتلایان به لیشمانیوز در حال حاضر در سراسر جهان بیش از ۲۰ میلیون نفر در ۸۸ کشور جهان می باشد و تخمین زده می شود که ۳۵۰ میلیون نفر در معرض خطر آلودگی به انواع لیشمانیا باشند (۱۰، ۲۷). لیشمانیوز جلدی یکی از بیماریهای بومی اکثر نقاط ایران بشمار می آید (۲۸). میزان آن در بین دانش آموزان شهرستان اردستان ۳/۲ در هزار گزارش شده است (۲۹). داروهای رایج برای درمان انواع لیشمانوز ترکیبات آنتیموان ۵ ظرفیتی، گلو کانتیم و پنتوستام است که در ۱۰-۲۵ درصد موارد عود بیماری و عدم موفقیت مشاهده می شود و همچنین عوارض این داروها شدید است (۳۰). مطالعات متعددی در زمینه تاثیر عصاره های گیاهان دارویی روی سالک انجام شده است. در مطالعه ای که توسط کاظمی و همکاران انجام شد عصاره الکلی ریشه گیاه زرشک بر زخم ناشی از لیشمانیا ماژور در موش BALB/C مورد بررسی قرار گرفت. در غلظت ۲۰ درصد کاهش قطر زخم، افزایش میانگین وزن موش ها و کاهش بار انگلی به میزان ۸۰ درصد مشاهده شد (۳۱).

در یک کار آزمایشی بالینی روی ۱۶۵ نفر از بیماران، جعفری و همکاران اثر عصاره جوشانده و هیدروالکلی میوه گیاه فلوس را بر لیشمانیوز جلدی مورد بررسی

قرار دادند در این مطالعه، در گروه جوشانده فلوس ۴۰ درصد، در گروه هیدروالکلی ۴/۳۶ درصد و در گروه گلو کانتیم ۵/۶۵ درصد از بیماران بهبودی کامل یافتند (۳۲).

احمدی و همکاران، اثر عصاره سیر بر لیشمانیوز جلدی از طریق افزایش نیتریک اکساید را مورد بررسی قرار دادند نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که درمان ۱۰، ۲۰، و ۳۰ روز با عصاره سیر توانایی کنترل زخم لیشمانیایی را دارد ولی رضایت بخش نیست این محققین هنگامیکه عصاره سیر را بصورت توام با ویتامین آ استفاده نمودند، طی درمان ۳۰ روز از گسترش زخم لیشمانیوز پوستی جلوگیری بعمل آمد و سبب بهبودی زخم شد (۳۳).

## آزمایش بررسی داروهای گیاهی ضد سالک

پروماستیکوت های لیشمانیا در مرحله ایستایی رشد همراه با محیط کشت RPMI 1640 غنی می شود با سرم جنین گاوی (FBS) ۱۰ درصد در پلیت های کشت سلولی ۲۴ خانه ای کشت داده میشوند سپس غلظت های مختلف عصاره در حلال مناسب در گروههای ۵ تایی تهیه شده با گروه کنترل مثبت (گلو کانتیم) و کنترل منفی (محیط کشت) مقایسه می شود و در نهایت تاثیر آنها بر پروماستیکوت های انگل در زمانهای مختلف (مثلاً در بدو کشت، ۲۴، ۴۸، و ۷۲ ساعت) مورد بررسی قرار میگیرد. در این روش ها، انگل ها توسط لام هموسیترمتر بصورت کور یکسویه شمارش میشوند (۲۲، ۲۳، ۲۴، ۲۵، ۲۶).

## داروهای گیاهی ضد سالک

عصاره های گیاهی و یا ترکیبات مشتق شده از گیاهان یک منبع با ارزش برای یافتن داروهای جدید ضد سالک می باشند (۳۴). یک برنامه غربالگری برای یافتن گیاهان دارویی با اثر بالقوه ضد سالک در سال ۱۹۸۴ بر اساس

قرار گرفتند (۲۷). در جدول شماره ۲ بعضی از گیاهان دارویی استفاده شده بعنوان ضدسالک ارائه شده است.

دانش افراد بومی انجام شد. چندین عصاره گیاهی بصورت این ویترو واین ویوو، در موش مورد آزمایش

جدول شماره ۲: بعضی از گیاهان دارویی استفاده شده بعنوان ضد سالک

| مرجع | IC50(mg/ml) | مواد موثره                 | خانواده    | نام علمی            | نام فارسی  |
|------|-------------|----------------------------|------------|---------------------|------------|
| ۳۵   | ۰/۰۱        | امتین ، سفالین             | Rubiaceae  | Cephalis ipecacuana | ایپکا      |
| ۲۶   | ۰/۳۸        | آزارزینول ، ترکیبات گوگردی | Apiaceae   | Ferula assafoatida  | انفوزه     |
| ۲۲   | ۰/۴۶        | آرتمیزینین ، ساتونین       | Asteraceae | Artemisia aucheri   | نوعی درمنه |
| ۳۶   | ۲۵          | لیکوجالکون ، فلاوئوئیدها   | Fabaceae   | Glycyrrhiza glabra  | شیرین بیان |
| ۳۷   | ۰/۵۷        | آلیسین                     | Liliaceae  | Allium sativum      | سیر        |
| ۳۸   | ۰/۱۷        | سینئول                     | Myrtaceae  | Eucalyptus globulus | اوکالیپتوس |

#### بیماری ژیا ردیا

مطالعات متعددی روی عصاره گیاهان دارویی در شرایط برون تنی و درون تنی روی ژیا ردیازیس انجام شده است. در مطالعه ای که توسط سجادی و مولف صورت گرفت اثر ۵ ماده خوراکی شامل آلبیمو، سرکه، سیر، موسیر و پیاز روی کیست های ژیا ردیا در شرایط این ویترو مورد بررسی قرار گرفت بیشترین اثر مربوط به موسیر بود (۴۴). در مطالعه دیگری توسط مولف و همکاران، اثر پنچ اسانس گیاهی روی کیست های ژیا ردیا در این ویترو بررسی شد که بیشترین اثر مربوط به اسانس اوکالیپتوس گلوبولوس بوده است (۴۳).

هریس و همکاران به طور مستدل اعلام کردند که غلظت ۰/۳ میلی گرم در هر میلی لیتر از عصاره آبی سیر در محیط کشت ژیا ردیا، توانایی کشتن ۵۰ درصد از تروفوزوئیت های ژیا ردیا لامبلیا را طی ۲۴ ساعت دارد (۴۵). نتیجه پژوهش شعبانی و همکاران در منطقه نکا در سال ۱۳۷۷ پیرامون درمان کودکان مبتلا به هایمنولیس نانا و ژیا ردیا با قرص های سیر (گارلت) به مدت یک هفته با دوز دو تا سه قرص در روز در کودکان زیر ۱۰ سال و تا ۴ قرص برای بالای ۱۰ سال حکایت از اثر

ژیا ردیا لامبلیا در سطح دنیا گسترش فراوانی دارد و ایران یکی از مناطق اندمیک ژیا ردیازیس است (۳۹). انسان با خوردن غذا و آبهای آلوده به کیست ژیا ردیا بصورت مستقیم آلوده می شود. ژیا ردیازیس یک عفونت حاد پرتوزوآبی روده باریک است و اغلب بدون نشانه بالینی می باشد و ممکن است بصورت اسهال حاد و یا مزمن تظاهر نماید. اسهال سالیانه سبب مرگ ۵-۲ میلیون کودک می شود (۴۰).

این انگل دارای دو شکل، تروفوزوئیت (شکل فعال و زنده) و فرم کیست (مقاوم) است (۴۱). کیست ژیا ردیا در روده باریک از فرم کیستی خارج شده و بصورت تروفوزوئیت در می آید و سبب ناراحتی گوارشی به ویژه اسهال و سوء جذب می شود (۳۹). بیشترین گروه در معرض خطر عفونت، کودکان کمتر از ۱۰ سال می باشند و میزان شیوع آن بین ۲ تا ۵۰ درصد متفاوت می باشند (۴۲). بطوریکه طبق اعلامیه سازمان بهداشت جهانی بیش از  $\frac{2}{3}$  جمعیت کره زمین به انگلهای روده ای آلوده هستند و شیوع ژیا ردیا از سایر انگل های روده ای بیشتر است (۴۳).

بخشی ۷۱ و ۳۴/۶ درصدی در بهبودی از هایمنولیس نانا و ژیا ردیا داشت (۴۶،۴۷).

#### آزمایش بررسی داروهای گیاهی ضد ژیا ردیا

کیستهای ژیا ردیا از نمونه های تازه مدفوع بیماران ، با روش تغییر یافته بینگهام و روبرت تهیه میشود بدین صورت که ۵ گرم از نمونه های مدفوع را در یک لیوان یکبار مصرف با ۱۰ میلی لیتر آب مقطر مخلوط کرده و از یک فیلتر ۴ لایه ای گاز غیر استریل عبور داده می شود سپس به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۶۰۰-۱۰۰۰ rpm سانتریفوژ شده و رسوب حاوی کیست جمع آوری و خالص سازی می شود . کیست در بیج های جداگانه ( هر بیج حاوی حدود ۳×۱۰۴ کیست می باشد ) در دمای ۴°C نگهداری می شود. در زمان آزمایش ، در لوله های آزمایش ۲ میلی لیتری ، مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از غلظتهای مختلف عصاره گیاه اضافه می شود و سپس ۱۰۰ میکرولیتر نیز از سوسپانسیون حاوی کیست ( که تعداد آن مشخص است ) به آن اضافه شده و پس از

تکان دادن ، نمونه ها را در دمای مورد نظر قرار می گیرد. در زمانهای ۰/۵ ، ۱ ، ۲ و ۳ ساعت از هر کدام ، نمونه برداری کرده و روی لام قرار می گیرد. نمونه های هر لایه بوسیله ائوزین رنگ آمیزی شده و در زیر میکروسکوپ ، تعداد کیست ها شمارش می شود و پس از مقایسه با کنترل ، درصد موثر بودن غلظتهای مختلف گیاهان محاسبه می شود (۳۹).

#### داروهای گیاهی ضد ژیا ردیا

عفونت ژیا ردیایی بوسیله کیست منتقل و شیوع پیدا می کند ، برای از بین بردن کیست ژیا ردیا روشهای مختلفی پیشنهاد شده است که یکی از راههای پیشنهادی توسط WHO ، استفاده از مواد خوراکی طبیعی و گیاهان دارویی می باشد (۴۸) در جدول شماره ۳ بعضی از گیاهان دارویی استفاده شده بعنوان ضد ژیا ردیا ارائه شده است .

جدول شماره ۳ : بعضی از گیاهان دارویی استفاده شده بعنوان ضد ژیا ردیا

| مرجع | IC50 (mg/ml) | مواد موثره                   | خانواده       | نام علمی                 | نام فارسی (عمومی) |
|------|--------------|------------------------------|---------------|--------------------------|-------------------|
| ۳۹   | ۰/۲          | ترکیبات گوگردی (دی سولفیدها) | Liliaceae     | Allium ascalonicum       | موسیر             |
| ۴۹   | ۰/۰۱۵        | تیمول ، ترکیبات فنلیک        | Labiatae      | Ziziphora clinopodioides | آویشن باریک       |
| ۵۰   | ۰/۰۱         | تیمول و کارواکرول            | Labiatae      | Zataria multiflora       | آویشن شیرازی      |
| ۴۳   | ۰/۰۲۲        | سینئول                       | Myrtaceae     | Eucalyptus globulus      | اوکالیپتوس        |
| ۵۰   | ۲۱۲          | ترکیبات رزینی                | Anacardiaceae | Mangifera indica         | انبه              |
| ۵۱   | ۱۷           | تانن ، پله تیرین             | Punicaceae    | Punica granatum          | انار              |
| ۵۱   | ۰/۸۵         | وربنالین ، تانن              | Verbenaceae   | Lippia berlandieri       | نوعی شاه پسند     |

## بیماری اسهال خونی (آمیبیازیس)

اسهال خونی (دیسانتری آمیبی) در اثر عفونت حاصل از انتامبا هیستولیتیکا بوجود می آید. در صورت عدم درمان این بیماری عوارض خطرناکی مانند آبسه یا ورم چرکی کبد ایجاد می شود (۱۰). حدود ۵۰۰ میلیون نفر در دنیا به این انگل آلوده می باشند (۵۲). بیش از ۸۰ درصد از مبتلایان هیچگونه علامتی از خود نشان نمی دهند با این حال، سالانه ۷۵/۰۰۰ تا ۱۰۰/۰۰۰ نفر در اثر آمیبیازیس می میرند. این بیماری بعد از مالاریا و شیستوزومیا، سومین عامل انگلی کشته در دنیا می باشد (۵۳). بیماریهای عفونی انگلی مانند دیسانتری آمیبی، ژiardیازیس، مالاریا و لیشرمانیازیس همواره در جنگ ها، بعثت آلودگی مواد غذایی، آب آلوده و ناقلین خطرانی را به همراه دارد (۵۴). در نقاط مختلف ایران، میزان شیوع در شهرها در حدود ۶ تا ۸ درصد و در روستاها ۵ تا ۳۰ درصد گزارش شده است. اهمیت آمیبیازیس آن است که به لحاظ پایداری در محیط و بعثت داشتن دیواره ضخیم کیست انگل، خارج از بدن میزبان ماهها زنده می ماند و در محیط اسیدی معده و در مقابل کلریزاسیون معمولی آب مقاومت می کند. عامل آمیبیازیس به علت قابلیت تخریب فوق العاده بافت های انسانی، سبب تغییرات پاتولوژیک زیاد و در برخی مواقع کشنده از قبیل زخم های کولون می شود. در صورت ورود به جریان خون، به کبد و سایر اندام ها وارد شده و بصورت آبسه کبدی و مغزی ظاهر می کند (۵۵). از میان گیاهان دارویی که برای درمان آمیبیازیس به کار رفته، چندین گونه از آنها به صورت گسترده مورد بررسی قرار گرفته اند و با جداسازی و شناسایی ترکیبات فعال این گونه ها مشخص شده است که آنها به گروه های شیمیایی متفاوتی تعلق دارند (۵۶، ۵۷، ۵۸، ۵۹).

در سال ۱۹۹۸ در کشور کنگو، یک برنامه تحقیقاتی برای ارزیابی فعالیت بیولوژیکی چندین گیاه دارویی استفاده شده در درمان بیماریهای انگلی همچون آمیبیازیس انجام شد (۶۰). در میان این گیاهان، گیاه

Morinda morindoides از خانواده روناس که در تمامی روستاها و شهرهای کنگو برای درمان بیماریهای انگلی استفاده می شود (۶۱) نیز مورد تحقیق قرار گرفت. در این تحقیق، ابتدا عصاره آبی به صورت جوشانده از برگ های تازه تهیه شد و سپس عصاره های متانلی (۸۰٪)، کلروفرمی، اتیل استاتی، بوتانلی و فراکسیون آبی از آن و همچنین هر یک از فلاونوئیدها و ایریدوئیدهای موجود در برگها بصورت این ویترو بر ضد *Entamoeba histolytica* مورد بررسی قرار گرفت. بیشترین IC50 مربوط به عصاره بوتانلی  $1/7 \pm 3/1 \mu\text{g/ml}$  و کمترین مربوط به کوپرستین  $105 \mu\text{g/ml}$  بوده است. نتایج این تحقیق نشان داد که مترونیدازول با دوز  $0/04 \mu\text{g/ml}$  نیز برضد آمیب موثر بوده است (۶۱).

در تحقیق دیگری فعالیت ضد آمیبی عصاره های آبی ۵ گیاه *Lepidium virginicum* L. (Cruciferae)، *Acacia farnesiana* L. (Leguminosae)، *Acacia rigidula* Benti (Leguminosae)، *Parkinsonia aculeate* L. and *Carlowrightia cordifolia* A.Gray (Acanthaceae) مورد بررسی قرار گرفت. در این تحقیق، گیاه *Acacia rigidula* با  $82/9$  درصد بیشترین و گیاه *Parkinsonia aculeate* با  $45/5$  درصد کمترین اثر مهار کنندگی رشد آمیب را در محیط کشت داشت (۶۲). همچنین در تحقیق دیگری آلیسین جداسازی شده از سیر توانست اثر ضد آمیبی قوی خود را از طریق مهار سیستمین پروتياز و اثرات سیتوپاتیک اعمال نماید (۶۳).

## آزمایش بررسی داروهای گیاهی ضد آمیب

آزمایش این ویوو: موش صحرایی برای تعیین فعالیت عصاره های گیاهی بر ضد عفونت های روده ای و موش بزرگ جهت ارزیابی فعالیت بر ضد عفونت های کبدی مورد استفاده قرار می گیرد. انتامبیا هیستولیتیکا را داخل روده کور از راه رکتوم وارد نموده و روده را از نظر حضور آمیب و زخمی شدن مورد بررسی قرار می دهند.

تعداد آنها متناسب است و با روش اسپکتروفتومتری تعیین می شود (۶۴).

داروهای گیاهی ضد آمیب

گیاه ایپکا توسط سرخ پوستان آمریکای جنوبی به عنوان درمان اختصاصی دیسانتری استفاده می شد. در نتیجه تحقیق روی ایپکا مشخص شده است که ، امتین به عنوان یک ایزوکیونلین آلکالوئید که در درمان آمیباز روده ای و کبدی بسیار موثر می باشد. ترکیب دهیدروامتین موجود در گیاه ایپکا به علت دفع سریعتر از بدن ، سمیت کمتری دارد (۱۰). در جدول شماره ۴ برخی از گیاهان دارویی استفاده شده بعنوان ضد آمیب دیسانتری ارائه شده است.

عفونت کبدی را از طریق تزریق آمیب بداخل بافت های کبدی بوجود می آورند (۱۰).

آزمایش این ویترو:

انتامبا هیستولیتیکا را در ظرف های حاوی ۹۶ حفره، در حضور یک سری از غلظتهای عصاره کشت می دهند. در پایان آزمایش ، رشد آمیب را می توان از راه جدا کردن محیط کشت و به جا گذاشتن آمیب های زنده چسبیده به انتهای حفره ها ارزیابی نمود. ضمناً آمیب های مرده در اثر شستشو از ظرف جدا می شوند. جهت تعیین تعداد آمیب های زنده و باقیمانده در حفره ها، از روش فیکس کردن و رنگ آمیزی استفاده می شود. مقدار رنگ جذب شده توسط آمیب ها ، با

جدول شماره ۴؛ بعضی از گیاهان دارویی استفاده شده بعنوان ضد آمیب

| مرجع | IC50(µg /ml) | مواد موثره                 | خانواده         | نام علمی                  | نام فارسی (عمومی) |
|------|--------------|----------------------------|-----------------|---------------------------|-------------------|
| ۱۰   | ۰/۰۲         | امتین، دهیدروامتین         | Rubiaceae       | Cephalis ipecacuana       | ایپکا             |
| ۶۴   | ۰/۵۹         | پاپاین، کیموپاپاین         | Caricaceae      | Carica papaya             | خرنیزه درختی      |
| ۶۴   | ۱۲۰/۷        | ترکیبات رزینی              | Anacardiaceae   | Mangifera indica          | انبه              |
| ۴۳   | ۳/۱          | سینئول، تانن               | Myrtaceae       | Eucalyptus globulus       | اوکالیپتوس        |
| ۶۴   | ۶۲/۵         | رزربین، رسینامین           | Apocynaceae     | Rauwolfia obscura         | گونه های راولینا  |
| ۶۵   | ۷/۴          | سایونین های تری تریپنوییدی | Caryophyllaceae | Acanthophyllum squarrosum | چوبک              |

بیماری واژینیت تریکومونایی

از عوارض مهم مترونیدازول می توان به سردرد ، سرگیجه ، تهوع ، احساس طعم فلزی در دهان ، پانکراتیت ، سمیت سیستم عصبی مرکزی ، نوتروپنی ، موتاژنیستی (در باکتری) ، و کارسینوژنیستی (در موش) اشاره نمود (۶۸). تریکومونیاژیس یک عفونت تک یاخته ای مجاری ادراری - تناسلی در مردان و زنان می باشد که معمولاً طی سالهای باروری روی می دهد. و تقریباً همیشه از طریق تماس جنسی منتقل می شود (۶۹) . تخمین زده می شود که در سال ، ۱۸۰ میلیون زن در

واژینیت تریکومونایی از متداولترین تشخیص های ژینکولوژی است. بطوری که ۲۵-۲۰ درصد علت واژینیت ها ، تریکوموناس واژینالیس (Trichomonas vaginalis) می باشد که عوارض شناخته شده و متعددی در هر دو جنس مرد و زن دارد (۶۶). در سالهای اخیر موثرترین داروی کشنده تریکوموناس ، مترونیدازول بود ولی گزارشهای متعدد از اکثر مناطق دنیا بر شیوع مقاومت و عوارض آن ، بخصوص در سه ماهه اول بارداری دلالت دارد (۶۷) .

Mentha piperita از تریکوموناسایدهای قوی می باشند (۷۶).

آزمایش بررسی داروهای گیاهی ضد تریکوموناس ترشحات واژینال زنان دارای علائم واژینیت مراجعه کننده به مراکز درمانی، به روش مستقیم مشاهده شده و پس از تأیید، انگل تریکوموناس در محیط دورسه (تهیه شده از تخم مرغ) کشت داده می شود. لوله های آزمایش ۵ تایی حاوی مترونیدازول و انگل تریکوموناس (شاهد مثبت)، حلال عصاره های گیاهی و انگل تریکوموناس (شاهد منفی) و عصاره هایی با غلظت های مختلف که هر کدام حاوی انگل تریکوموناس واژینالیس می باشند، آماده می شوند و همه لوله ها در انکوباتور ۳۷ درجه سانتیگراد قرار داده می شوند. نمونه ها در بدو کشت و در فواصل زمانی تا ۱۲ ساعت، هر ساعت و سپس ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت بعد بصورت کاملاً ناآگاهانه (Blind) مورد بررسی قرار می گیرند (۷۷، ۶۶ و ۴).

#### داروهای گیاهی ضد تریکوموناس

بعضی از گیاهان دارویی که در کتب سنتی ایران به عنوان داروهای ضد انگلی معرفی شده اند روی تریکوموناس واژینالیس مؤثر بوده اند (۷۶). در جدول شماره ۵ بعضی از گیاهان دارویی استفاده شده بعنوان ضد تریکوموناس واژینالیس ارائه شده است.

سراسر جهان به تریکومونیاژیس مبتلا شوند (۷۰). میزان آلودگی در تهران ۳/۶ درصد و در ساری ۲/۷ درصد برآورد شده است (۷۱). افراد آلوده فاقد علائم بالینی به عنوان حامل عمل می کنند و سبب گسترش بیماری میشوند. این افراد از نظر اپیدمیولوژیک اهمیت فوق العاده ای دارند (۷۲).

در دهه های اخیر تلاش های بیشمار جهت انتخاب، استخراج و چگونگی مکانیسم اثر ترکیبات گیاهی بر پاتوژن های بیماریهای منتقله جنسی (STDs) انجام شده و تاثیر درمان چندین گیاه بر روی تریکومونیاژیس ثابت شد. تحقیقات مورای و همکاران، به منظور تاثیر عصاره گیاهان اکیناسه- آنجلیک روی انگل تریکوموناس واژینالیس نشان داد که این عصاره ها سبب توقف رشد تریکوموناس می شوند (۷۳). پنا از اسانس ۰/۴ درصد گیاه *Melaleuca alternifolia* در یک لیتر آب به صورت دوش واژینال جهت درمان تریکومونیاژیس استفاده کرد. (۷۴). سرانو اثر عصاره های گیاهان آمریکا را به صورت این ویترو روی تریکوموناس بررسی نمود در این بررسی عصاره گیاهان *Micana cordifolia* و *Scutia buafolia* (از خانواده Asteraceae) و *Lobalia neurolarea* (از خانواده Rhamnaceae) بیشترین اثر را روی تریکوموناس واژینالیس داشتند (۷۵). جانکوف و همکاران گزارش نمودند اسانس گیاهان *Lavandula angustifolia* و

جدول شماره ۵: بعضی از گیاهان دارویی استفاده شده بعنوان ضد تریکوموناس واژینالیس

| مرجع | IC50(mg/ml) | مواد مؤثره                    | خانواده    | نام علمی                      | نام فارسی (عمومی)         |
|------|-------------|-------------------------------|------------|-------------------------------|---------------------------|
| ۶۶   | ۰/۳۴        | سینئول، تانن                  | Myrtaceae  | <i>Myrtus communis</i>        | مورد                      |
| ۴    | ۰/۱۲        | تیمول و ترکیبات فنلیک         | Labiataeae | <i>Zataria multiflora</i>     | آویشن شیرازی              |
| ۷۸   | ۳/۲         | بارتریسین، ایزویاوا<br>چالکون | Moraceae   | <i>Dorstenia barteri</i>      | گیاهی از خانواده<br>انجیر |
| ۷۹   | ۰/۰۱۷       | لینالیل استات                 | Labiatae   | <i>Lavandula angustifolia</i> | اسطوخودوس                 |
| ۷۹   | ۰/۰۵۱       | منتول، منتوفوران              | Labiatae   | <i>Mentha piperita</i>        | نعناع                     |
| ۷۵   | ۱۲/۵        | تریپنئیدها                    | Asteraceae | <i>Micana cordifolia</i>      | گیاهی از خانواده<br>کاسنی |

## نتیجه گیری

گونه ای که این هدف در میزبان وجود نداشته باشد در آن صورت دارو دارای اثر انتخابی خواهد بود. بعنوان مثال کینین که از پوست درخت گنه گنه بدست می آید دارای اثر ضد مالاریا انتخابی می باشد. بدین ترتیب که آنزیم هم پلیمرز پلاسمودیم (که در پستانداران وجود ندارد) را مهار می کند (۹). در تحقیقات روی گیاهان دارویی با اثر ضد پروتوزوآ به منظور دست یافتن به داروی با ایندکس درمانی بالا لازم است ابتدا از طریق تست های غربالگری و سپس فراکسینه کردن عصاره های موثر و نهایتاً بررسی مکانیسم اثر آنها اقدام نمود.

موثر بودن هر ترکیب کموتراپیک به ایندکس درمانی (فاصله اثر درمانی تا سمیت دارویی) آن ترکیب بستگی دارد. بدین معنی که دارو باید انگل را از بین برده و یا آنرا مهار کند و از طرفی فاقد سمیت باشد و یا اثر کمی بر روی میزبان داشته باشد. اگرچه تا به حال نشان داده شده که تعداد زیادی از گیاهان دارویی رشد یک یا بیش از یک گونه از پروتوزوآ را مهار میکنند اما تعداد انگشت شماری از آنها بطور انتخابی برای انگل سمی هستند. ویژگی اثر یک دارو به تفاوت های موجود در بیوشیمی انگل و میزبان بستگی دارد. اگر دارو بتواند روی هدف بیوشیمیایی خاص در انگل عمل کند به

## References

1. Azadbakht M, Classification of medicinal plants. Taimorzadeh publisher, Tabib 1999: 2-3.
2. Seddighi J, Maftoon F, Ziaie G. Herbal medicine: Knowledge, attitude and performance in population of Tehran city. *J Med Plants* 2004; 4(14): 60-67.
3. Calixto J.B. Efficacy, safety, quality control. Marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). *Brazilian J Med Biol Res* 2000; 38(2): 179 – 189.
4. Azadbakht M, H, Ziaei F, Abdollahi B, Shabankhani: Effect of essential oils of *Artemisia*, *Zataria* and *Myrtus communis* on *Trichomonas vaginalis* *J Med Plant* 2003; 2(8): 35-40.
5. Ministry of health, office of drug and narcotics. Information and application of officinal herbal drugs. Daru Gostar Razi Company 2001; 1-15
6. Bagheri A, Naghdi bavi J, Movahedian F, Mottakizadeh tafti M, Hemmati moghaddam A. Evaluation on approach of Esfahan city women for using of herbal medicine. *J Med Plants* 2005; 4(15): 81-92.
7. Raskin L, Ribnicky DM, Komarnytsky S, Llic N, Poulev A, Borisjuk N, et al. Plants and human health in the twenty-first century, *Trends in Biotechnol* 2002; 20 : 522-531.
8. Kim H.S. Do not put too much value on conventional medicines. *J Ethnopharmacol* 2005 ; 100 : 37-39.
9. Palombo E.A. Phytochemicals from traditional medicinal plants used in the treatment of diarrhea: Modes of action and effects on intestinal function *Phytotherap Res* 2006; 20: 717 – 724.

10. Evans W. C. Trease and Evans pharmacognosy. Translated by Afsharipour S. Esfahan Univ Med Sci. 2007; 410-435.
11. Rosenthal P. J. Antimalarial drug discovery : Old and new approaches. J J Exp Biol 2006: 3735- 3744.
12. Boyon FF, Ngouna V, Zollo PH, Menut C, Bessiere JM, Gut J. Composition and anti-plasmodial activities of essential oils from some Comeronian Med plants. Phytochem 2003;64(7):1269-1275.
13. Simonsen H T, Nordskjold J B, Smitt IJ W, Nyman U, Palpu P, Joshi P. In vitro screening of Indian medicinal plants for antiplasmodial activity, J Ethnopharmacol 2001; 74(2): 195-204.
14. Mesia G K, Tona G L, Penge O, Lusakibanza M, Nanga T M, Cimanga RK. Antimalarial activities and toxicities of three plants used as traditional remedies for malaria in the Democratic Republic of Congo: *Croton mubango*, *Nauclea pobeguini* and *Pyrenacanth staudtii*. Ann Trop Med Parasitol 2005; 99( 4): 345-357.
15. Hilou A Nacoulma OG, Guiguemde TR, In vivo antimalarial activities of extracts from *Amaranthus spinosus* L. and *Boerhaavia erecta* L in mice. J Ethnopharmacol 2006; 103(2):236-240
16. Tchoumboungang F, Zollo PH, Dagne E, Mekonnen Y, In vivo antimalarial activity of essential oils from *Cymbopogon citrates* and *Ocimum gratissimum* on mice infected with *Plasmodium berghei*. Planta Med 2005; 71(1): 20- 23.
17. Beha E, Jung A, Wiesner J, Rimpler H, Lanzer M, Heinrich M, Antimalarial activity of extracts of *Abutilon grandiflorum* G. Don – a traditional Tanzanian medicinal plant. Phytother Res 2004; 8(3): 236 - 240 .
18. Nwabuisi C. Prophylactic effect of multiherbal extract, Agbo-Iba , on malaria induced mice. East Afr Med J 2002; 79(7): 343- 346.
19. Sharbat khori M, Nategh pour M, Edrisian G, Sori E, Mohebali M, Akbarzadeh K, et al. Effect of alcoholic extract of *Peganum harmala* seed on *Plasmodium falsiparum* and its comparison with chloroquine (In Vitro). Eur Med J 2006; 7(2):101-108.
20. Motevalli Haghi A, Nategh pour M, Edrisian G, Sori E, Satvat M Effect of alcoholic extract of *Peganum harmala* seed on *Plasmodium bergei* in mice and its comparison with chloroquine. J Facult Health Healthy Res Inst 2003; 2(1):47-54.
21. Najafi N, Ghasemian R, Farahmand M. Epidemiology of malaria in Mazandaran province (1997-2003). J Mazand Univ Med Sci ;2005; 15(50): 125-134.
22. Sharif M, Ziaei H, Azadbakht M, Daryani A, Ebadattalb A, Rostami M. Effect of methanolic extract of *Artemisia auchori* and *Camellia sinensis* on *Leishmania major* (in vitro) Turk Sci 2006; 36 (6) : 365 -369.
23. Rostayan A, Khavarinejad R, Lari yazdi A. Quantitative analysis of artemisinin as

- antimalaria substance in *Artemisia anua* from north Iran. *J Med Plants* 2002;2(11): 37-41.
24. Herwaldt BL. Leishmaniasis. *Lancet* 1999; 354 : 1191-1199 .
25. Ayatollahi J. Cutaneous leishmaniasis (salak). *J Yazd Uuniv Med Sci* 2005; 12(5): 96-104.
26. Alborzi A, Namjoian F, Azadbakht M, Obodi B, Panjehshahin M, Rasoli M, et al. Effects of *Ferula assa-foetida* and its effective fractions on *Leishmania* (in vitro). *Infect Tropic Dis Iran* 2003; 8(12): 36-40.
27. Rocha L.G, Almeida J.R, Macedo R.O , Barbosa-fiho J.A. A review of natural products with antileishmanial activity. *Phytomedicine* 2005; 12,512-533.
28. Mohebbali M, Tavana A, Javadian A, Esfahani A, Hajaran H, Akhondi B. Preparation of standard leishman inoculum and its evaluation for leishmaniasis in animal lab modele. *J Hakim* 2003; 6(3): 15-20
29. Yagoobi- ershadi M.R, Hanafi-bojd A.A. Epidemiological studies in a new focus of cutaneous leishmaniasis due to *leishmania major* in ardestone town. Central Iran. *Acta Trop* 2001; 79: 115-210
30. Saldanha A. C , Romero G.A, Guerra C. Comparative study between sodium stibogluconate and meglumine antimoate in cutaneous leishmaniasis treatment. *Med Trop* 2006; 33 :383-388.
31. Kazemi E, Talari S, Hoshiar H. Effect of alcoholic extract of *Berberis vulgaris* on *leishmania major* in BALB/C mice. *J Facult Health Healthy Res Inst* 2007; 3(5): 35-42
32. Jafari F, Moradi S, Nilfroshzadeh M, Derakhshan R, Ansari N. Comparison effect of concentrated decoction extract and hydroalcoholic fruit extract of *Cassia fistula* with local injection of glucantim on cutaneous leishmaniasis. *Skin Disease*. 2006; 9(3): 211-216
33. Ahmadi K, Mahmoodzadeh A, Cheraghali A, Esfehiani A. Effect of Garlic extract on cutaneous leishmaniasis by increasing nitric oxide. *J Shar kord Univ Med Sci* 2002; 4(2): 1-7
34. Kayser O , Kiderlen A. F. In vitro leishmanicidal activity of naturally occurring chalcones. *Phytother Res* 2001; 15: 148-152.
35. Neal R . A. Effect of emetine and related compounds on experimental cutaneous leishmaniasis . *Ann . Trop . Med Parasitol* 1970; 64: 159-165.
36. Chen M, Christensen S.B, Blom J , Lemmich E , Nadelmann L , Fich K , Theander T. G , Kharazmi A. Lichochalcone A , A novel antiparasitic agent with potent activity against human pathogenic protozoan species of leishmania. *Antimicrob Agents Chemother* 1993; 37: 2550-2556.
37. Ghazonfari T, Hassani Z. M , Ebtekar M , Ahmadiani A , Naderi G , Azar A. Garlic induces a shift in a *Leishmania major* – infected balby mice *Scand J Immunol* 2000; 52: 491-495.
38. Tahir A .E , Ibrahim A.M , Satti G.M.H , Theander T. G , Kharazmi A ,

- Khslid A.S. The potential antileishmanial activity of some Sudanese medicinal plants. *Phytother Res* 1998; 12 : 576-579.
39. Azadbakht M, Sajjadi S.M, Rostami J. Giardiacidal activity of three *Allium* species on *Giardia intestinalis* cysts. *Iran J Basic Med sci* 2003; 3, 184-188.
40. Thapar N, Sanderson IR. Diarrhoea in children: An interface between developing and developed countries. *Lancet* 2004; 363 641-653
41. Merg C.T, Hetsko L.M, Gillin D.F. Inhibition of *Giardia lamblia* excystation by antibodies against cyst walls and by wheat germ agglutinating. *Inf Immun* 1996, 2151-2157.
42. M. Sharif, H. Ziaei, M. Azadbakht, S. Gholami, A.R. Khalilian: Relationship between Giardiasis and amount of Zinc, Iron elements in babies below 12 years old. *J Gorg Univ Med Sci* 2005; 14; 87-91.
43. Saiedi A. Evaluation of some essences from medicinal plants on *Giardia lamblia* and *Entamoeba histolytica* cysts as in vitro. Pharmacy thesis. Shiraz Univ Med Sci 1999.
44. S.M. Sadjadi, J. Rostami, M. Azadbakht: Giardiacidal activity of lemon juice, viniferr and vinegar on *Giardia intestinalis* cysts, *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2006; 37(3): 2006, 24-27.
45. Harris JC, Plummer S, Turner MR. The microaerophilic flagellated *Giardia intestinalis*. *Allium sativum* (Garlic) is an effective anti-giardia. *J Microbiol* 2000; 146: 3119-3127.
46. Shabani M. Effect of the Garlic drug on *Giardia* disease and effect of praziquantle on *Himnolepis nana* in Neka city. Pharmacy thesis in Tehran Univ Med Sci. 1998.
47. Saffar harandi M, Dalimi asl A, Ghaffari far F. Effect of *Allium sativum* extract on *Giardia lamblia* and *Giardia moris* ( In vitro and In vivo). *Hakim* 2006; 9(3): 58-64
48. World Health Organization (WHO) WHO/PAHO informal consultation on intestinal protozoal infections. WHO/CDS. IPI. 1992; 92: 2.
49. Bahri Najafi R, Motazedian M, Azadbakht M, Sodagar R: Effect of essential oils from some medicinal plants on *giardia lamblia* cyst in comparison with metronidazol. *Esfahan Univ Res J* 2003; 17(2):199-206.
50. Farsangi M, Sahebani N, Movahed A, Tahmasbi R, Rayani M. Effect of *Thymus vulgaris* on *Giardia lamblia* cyst (In vitro). *J Teb Jonoob* 2001; 4(2): 88-95
51. Ponce M. H, Navarro A, Martines G.M, Alvarez C.R. In vitro effect of 14 plant extracts against *Giardia lamblia*. *Rev. Invest. Clin* 1994 44(5) : 343-347
52. Strickland G T. Hunter, S. Tropical medicine and emerging infectious diseases 3th ed w.b. Saunders company. 2000 PP 580-588.
53. Estanley SL. IR. Protozoa amebiasis in : Parasitic diseases of the liver and

- intestines. *Gastroenterol Clin Am* 1996; 25 : 471-492.
54. Harison DL , Fauci AS, Braunwold E, Issel Bacher KJ, Wilson JD, Martin JB, Kasper DL. Principles of internal medicine. 14th ed . 1998; 1: PP 1176-1180.
55. Krimi zarchi A, Mahmoodzadeh pournak A, Vatani H, Shirbazoo S. Epidemiologic study on amoebiasis disease in Sarakhs city villages. *J Teb Nezami* 2003; 5(1): 27-31.
56. Anturlikar SD, Goquimadhaven SR, Mitea, SK, Chauhan BL, Kulkani, BD , Antiamoebic activity of *Cassia fistula*: in vitro and in vivo study. *Indian Drug*. 1993; 30, 582-585.
- 57- Calzada F, Alanis, AD, Meckes M, Tapia-Contreras A, Cedillo-Rivera, R. In vitro susceptibility of *Entamoeba histolytica* and *Giardia lamblia* to some medicinal plants used by the people of Southern Mexico. *Phyt Res* 1998; 12, 70-72.
58. Calzada F, Meckes M, Cedillo -Rivera R. Antiamoebic and anti-giardial activity of plant flavonoids. *Planta Medica* 1999; 65, 78-80.
59. Calzada F, Barbosa E, Cedillo-Rivera R. Antiamoebic activity of benzyl glucosinolate from *Lepidium virginicum*. *Phyt Res* 2003; 17: 618-619.
60. Tona L, Kambo K, Ngimbi N, Cimanga K, Vlietinck AJ. Antiamoebic and phytochemical screening of some Congolese medicinal plants. *J Ethnopharmacol* 1998; 6: 57-65
61. Cimanga R.K, Kambo K, Tona L, Hermans N, Apers S, Totte J, Pieters L, Vlietinck AJ. Cytotoxicity and in vitro susceptibility of *Entamoeba histolytica* to *Morinda morindoides* leaf extract and isolated constituents. *J Ethnopharmacol* 2006; 107: 83-90.
62. Cruz-Vega DE, Aguilar A, Castro-Carza J, Gonzalez-Garza MT. Antiamoebic activity of aqueous extracts from five medicinal plants from northeastern Mexico. *Arch Med Res* 2000; 31: 517-518.
63. Ankri S, Miron T, Rabinkov A, Wilchek M, Mirelman D. Allicin from Garlic strongly inhibits cysteine proteinases and cytopathic effects of *Entamoeba histolytica*. *Antimicrobial Agents Chem* 1997; 41(10): 2286-2288
64. Tona L, Kamba K, Ngimbi N, Cimanga K, Vlietinck AJ. Antiamoebic and phytochemical screening of some Congolese medicinal plants. *J Ethnopharmacol* 1998; 1: 51-65
65. Azadbakht M, Ziaei H, Yosofi Z, Shabankhani B, Mehralian A. Evaluation of Chubak aqueous extract in parasite decontamination on vegetables and comparison with commercial detergent in Sari. *J Med Plants* 2005 15: 51-58.
66. Azadbakht M, Ziaei H, Abdollahi F, Shabankhani B. Effect of essential oil and methanolic extract of *Myrtus communis* on *Trichomonas vaginalis*. *J Gillan Univ Med Sci* 2004; 48: 8-12.

67. Muller M. Three metronidazole – resistant of *Trichomonas vaginalis* from the united states. *Am J Obstet Gynecol* 1980; 138 : 808- 812.
68. Gardner T.B, Hill D.R. Clinical microbiology reviews. *Am Soc Microb*, 2001; 14(1); 114 - 128
69. Dailey DC , Chang TH, Alderete JF . Characterization of *Trichomonas vaginalis* haemolysis, *Parasitology* 1990; 101 : 171-175
70. Weinstock HS, Berman W. C. Sexually transmitted disease among Am youth incidence and prevalence estimate. *Sex Rep Health* 2004; 39: 6-10.
71. Ziaie H, Rezaian M. Trichomoniasis in patients in Sari city hospitals and comparison between direct, culture and coloring for its diagnosis. MS thesis. Health Faculty Tehran Uuniv Med Sci 1994.
72. Habibi pour R, Amirkhani A, Matin nia N. Prevalance infections with *Trichomonas vaginalis* in women referring to Tamin ejtemaie hospitals of Hamedan city. *J Tabib Shargh* 2006; 8(4): 245-251.
73. Mury MT, Pizzono JC. Textbook of natural medicine. 2<sup>nd</sup> ed. Churchill livengstone, London. 1999; pp: 240-261
74. Pena Ef. *Melaleuca alternifolia* oil- its use for *Trichomonas vaginalis* and other vaginal infections. *Obstet Gynecolo* 1992; 19: 793-795.
75. Serano M. In vitro screening of American plant extracts on *Trypanosoma cruzi* and *Trichomonas vaginalis* . *J Ethnopharmacol* 2000; 71: 101-107.
76. Jankov N, Boltova E, Topalov V. Action of some essential oils on *Trichomonas vaginalis*. *Folia Medica* 1988; 10: 308-309.
77. H.Ziaye, M.Azadbakht, F.Abdollahi and B.Shabankhani: Effect of methanolic extract of *Artemisia aucheri* Boiss, *Zataria multiflora* Boiss and *Myrtus communis* L. on *Trichomonas vaginalis* (In Vitr) *J Gorgan Univ Med Sci* 2006; 1: 34-38.
78. Omisore NOA, Adewanmi CO, Iwalewa EO Antitrichomonal and antioxidant activities of *Dorstenia barteri* and *Dorstenia convoxa*. *Brazillian J Med Bio Res* 2005; 38: 1087-1094.
79. Jankov N, Boltova E, Topalov V. Action of some essential oils on *Trichomonas vaginalis*. *Folia Medica* 1988; 10(5): 308-310.