----- مجلة علوم الرافدين، المجلد 18، العدد 2، ص16-25، 2007-----

تأثير المستخلصات المائية لنباتي الشفلح والحنظل على نمو أمامية السوط للشمانيا الجلدية *Leishmania major* promastigotes خارج الجسم الحي

حسين إسماعيل الخان قصي عبدالقادر الجلبي

قسم علوم الحياة

كلية العلوم

جامعة الموصل

(تاريخ الاستلام 2002/8/28 ، تاريخ القبول 2003/1/25)

الملخص

درس التأثير السمي للمستخلصات المائية لنباتي الشفلح *Capparis spinosa* والحنظل *Citrullus colocynthis* تأثيراً سمياً على عدد أمامية السوط لطفيليات اللشمانيا الجلدية *Leishmania major*، أظهرت المستخلصات المائية لنبات الشفلح المستخدمة بالتركيز (1.75 - 4.25) ملغم / سم^3 وما بين (1.25 - 2.5) ملغم / سم^3 من مستخلص الحنظل، انخفاضاً تدريجياً في عدد أمامية السوط بصورة عكسية مع ازدياد التركيز خلال فترات النمو. لقد ادت التراكيز العالية (4.25) ملغم / سم^3 للشفلح و (2.5) ملغم / سم^3 للحنظل إلى تثبيط ما يقرب من (73 %) و (79 %) من أمامية السوط على التوالي خلال فترة (96) ساعة من النمو.

Effect of Aqeous Extracts of *Capparis spinosa* and *Citrullus colocynthis* Plants on Growth of *Leishmania major* Promastigotes in Vitro

Hussain I. Al - Khan Kusia A. Al - Chalabi

Department of Biology

College of Science

Mosul University

ABSTRACT

The poisnous effect of *Capparis spinosa* and *citrullus colocynthis* aqeous extracts were investigated on the growth of *Leishmania major* promastigotes in vitro .

The results indicate that these extracts affect greatly the number of *Leishmania major* promatigotes at concentration between (1.75 − 4.25) mg / ml for *Capparis*.

and (1.25 − 2.5) mg / ml for *citrullus* respective. The decrease was gradual during the growth period. High concentration (4.25) mg / ml of *Capparis* plant extract caused about (73 %) decrease in the number and (79 %) at concentration on (2.5) mg / ml of *Citrullus* extract at (96) hours of growth.

المقدمة

استخدمت مستخلصات بذور أو أوراق أو سيقان نباتات طبية مختلفة في الاستعمالات الطبية الشعبية لعلاج أنواع عديدة من الكائنات المسببة للأمراض كالجراثيم والأبتدائيات الطفيلية والفطرية، فقد تم إستخدام بعض المستخلصات النباتية كمواد مضادة للأبتدائيات الطفيلية كالمشعرات المهبلية *Trichomonus vaginalis* وطفيلي الملاريا *Plasmodium falciparum* وأنواع اللشمانيا *Lieshmania*. فقد استخدمت القلويدات المعزولة من نبات باربارس المشوكه *Barbaris aristota* ضد بعض الطفيليات الابتدائية مثل الجيارديا *Giardia lamblia* والمشعرات المهبلية *Trichomonas vaginalis* والاميبا الحالة للنسيج *Entamoeba histolytica* (Kaneda et al., 1990). كماستخدمت مادتي الصابونين واللكّنان المفصولين من جذورنبات هليون الأفريقي *Asparagus africanus* ضد اللشمانيا الجلدية *L. major* والمصورة المنجلية *Plasmodium falciparum* خارج الجسم الحي (Oketchrabah et al., 1997).

وأظهر استخدام القلويدات المعزولة من نبات *Galipea Longiflora* ضد اللشمانيا الجلدية تثبيطاً في نموها (Fournet et al., 1994). وتم فصل مركبات مضادة للابتدائيات وهي 5- methylcomaricins من جذور نبات الـ *Vernonia brachycalyx* فأظهرت هذه المركبات فعالية تثبيطية ضد اللشمانيا الجلدية *L. major* أمامية السوط، وضد الطور الفصامي للملاريا المنجلية *Plasmodium falciparum* schizonts (Oketchrabah et al., 1997). ووجد بان للمركبات الكوينولية quinonens المعزولة من نبات *Piperomia galioides* فعالية تثبيطية ضد أشكال أمامية السوط للشمانيا الاحشائية والبرازيلية والامازونية. (Mahiou et al., 1996).

واستهدفت الدراسة الحالية الى الحد من نمو امامية السوط للشمانيا الجلدية *L. major* خارج الجسم الحي بالمستخلصات النباتية كمحاولة لايجاد علاج لداء اللشمانيا الجلدية.

المواد وطرائق العمل

تم الحصول على أمامية السوط لطفيليات اللشمانيا الجلدية *Leishmania major* MHOM / IQ / 1992 / MREC3 من قسم علوم الحياة/ كلية العلوم/ جامعة بغداد المشخصة أنزيمياً بطريقة المتناظرات الانزيمية Isoenzymes المتبعة من قبل (AL-Jeboori and Evans, 1980).

نميت طفيليات اللشمانيا في وسط توبيز (Tobie et al., 1950) زرعت طفيليات اللشمانيا بإضافة (0.1) سم^3 من اللقاح إلى القناني الحاوية على (1.9) سم^3 من الوسط السائل، وفي الطور اللوغارتيمي Log phase بعمر (4) أيام بمقدار (1×105) خلية/سم^3 تحت ظروف معقمة. حضنت القناني بدرجة حرارة (26) م° لمدة (4) أيام. ثم حدد عدد الكائنات في كل مزرعة بحساب عدد أمامية السوط باستخدام شريحة عد كريات الدم Haemocytometer من نوع Neubauer بأخذ (0.9) سم^3 من المزرعة وأضيفت إليه قطرة من الفورمالين (10 %) لتثبيت الطفيليات، وفي حالة النمو الكثيف خففت بالمحلول الفسيولوجي.

جمعت ثمار الشفلح *Capparis spinosa* من أطراف مدينة الموصل قبـــل نضج الثمار، أما ثمار الحنظل*Citrullus colocynthis* فقد جمعت من منطقة ربيعة أخذت الثمار الخضراء قبل الإصفرار، وتم تعقيمها تعقيماً أولياً بغمر الثمار لمدة دقيقة واحدة في الماء المقطر الحاوي على القاصر (1 %) ثم جففت في حاضنة معقمة بدرجة حرارة (30م) ومن ثم حفظت في ظروف خالية من الرطوبة في مغلفات ورقية لحين البدء بتحضير المستخلصات. حضرت المستخلصات المائية لثمار النباتات المستخدمة بالاعتماد على طريقة Riose وجماعته (1987). استخدمت التراكيز (1.75، 2.25، 2.75، 3.25، 3.75، 4.25) ملغم / سم^3 من مستخلص الشفلح و (1.25، 1.5، 1.75، 2.0، 2.25، 2.5) ملغم / سم^3 من مستخلص الحنظل.

النتائج والمناقشة

تبين من الجدول (1) تأثير تراكيز مختلفة لمستخلص الشفلح على عدد أمامية السوط مقارنة باللشمانيا غير المعاملة وكما يتضح من الجدول فإن العلاقة بين التركيز ومعدل النمو هي علاقة عكسية، إذ إنخفض عدد الطفيليات بزيادة التركيز بين (1.75–4.25) ملغم/سم^3 من المستخلص، وأدى التركيز (3.25) ملغم / سم^3 الى تثبيط 50 % (LC50) لطفيليات اللشمانيا الجلدية خلال (96) ساعة من النمو بالمقارنة مع المجموعة الضابطة. وانخفضت النسبة المئوية للنمو من (85 % – 44 %) عند إضافة المستخلص بتراكيز تتراوح ما بين 1.75 – 4.25 ملغم /سم^3 خلال (24) ساعة وبعد مرور (48) ساعة تراوحت هذه النسبة بين (75 % – 26 %)، في حين تراوحت بين (64 % – 23 %) بعد مرور (72) ساعة و(73 % – 27 %) بعد مرور(96) ساعة.

الجدول 1 : تأثير تراكيز مختلفة لمستخلص الشفلح *Capparis spinosa* على عدد أمامية السوط للشمانيا الجلدية *L. major* لفترات نمو مختلفة (عدد أمامية السوط المستخدم في الزرع 1×10^5 / سم^3).

فترة التعرض ساعة / المعاملة (ملغم / سم^3)	24		48		72		96			
	المعدل ± الخطأ القياسي	% نمو	المعدل ± الخطأ القياسي	% تثبيط	المعدل ± الخطأ القياسي	% نمو	% تثبيط	المعدل ± الخطأ القياسي	% نمو	% تثبيط
الضابط	0.03 ± 0.61	100	0.29 ± 2.7	--	0.29 ± 12.7	100	--	0.23 ± 31.5	100	--
1.75	0.02 ± 0.52	85	0.12 ± 2.03	15	0.29 ± 8.1	75	25	0.34 ± 23.0	64	36
2.25	0.017 ± 0.43	71	0.17 ± 1.8	29	0.29 ± 6.4	67	33	0.11 ± 18.1	50	50
2.75	0.29 ± 0.33	54	0.06 ± 1.5	46	0.12 ± 5.7	56	44	0.17 ± 17.5	45	55
3.25	0.02 ± 0.32	52	0.12 ± 1.2	48	0.17 ± 4.8	44	56	0.29 ± 14.6	38	62
3.75	0.017 ± 0.29	47	0.06 ± 0.9	53	0.098 ± 4.6	33	67	0.57 ± 10.7	36	64
4.25	0.01 ± 0.27	44	0.12 ± 0.7	56	0.2 ± 2.9	26	74	0.17 ± 8.4	23	77

* المعدل والخطأ القياسي لثلاث مكررات.

يتبين من الجدول (2) تأثير تراكيز مختلفة لمستخلص الشفلح على عدد الأجيال لأمامية السوط اللشمانيا الجلدية *L. major*، إذ أدت التراكيز المختلفة إلى الحد من عدد الأجيال وبعلاقة عكسية مع زيادة التركيز. في حين يتبين من الجدول (3) بأن زيادة تركيز (1,75 – 4,25) ملغم /سم^3 يؤدي إلى زيادة في زمن الجيل بعلاقة طردية مع التراكيز.

يتبين من الجدول (4) تأثير تراكيز مختلفة لمستخلص ثمار الحنظل على عدد أمامية السوط مقارنة باللشمانيا غير المعاملة. ويتضح من الجدول إن زيادة تراكيز المستخلص ما بين (1.25 – 2.5) ملغم/ سم^3 أدى إلى اختزال عدد اللشمانيا بشكل واضح خلال فترات التعريض، بعلاقة عكسية بين معدل النمو والتراكيز. ويبدو واضحاً أن تركيز مستخلص الحنظل (1.75) ملغم /سم^3 المسبب لتثبيط 50 % (LC50) لطفيليات اللشمانيا الجلدية خلال (96) ساعة من النمو مقارنة بالضابط. ويبدو واضحاً من الجدول أن النسبة المئوية للنمو انخفضت من (67 % - 26 %) عند إضافة المستخلص بتراكيز تتراوح ما بين (1.25 –2.5) ملغم / سم^3 خلال (24) ساعة وبعد مرور (48) ساعة تراوحت هذه النسبة بين (79 % – 21%)، في حين تراوحت بين (85 % – 22 %) بعد مرور(72) ساعة و(79 % – 21 %) بعد مرور (96) ساعة.

الجدول 2: تأثير تراكيز مختلفة لمستخلص الشفلح *Capparis spinosa* على عدد الأجيال لأمامية السوط للشمانيا الجلدية *L. major* لفترات نمو مختلفة (عدد أمامية السوط المستخدم في الزرع 1×10^5 / سم^3).

فترة التعرض ساعة / المعاملة (ملغم / سم^3)	24	48	72	96
	المعدل ± الخطأ القياسي	المعدل ± الخطأ القياسي	المعدل ± الخطأ القياسي	المعدل ± الخطأ القياسي
الضابط	0.08 ± 2.6	0.15 ± 4.75	0.04 ± 6.99	0.01 ± 8.3
1.75	0.07 ± 2.37	0.1 ± 4.3	0.04 ± 6.3	0.02 ± 7.84
2.25	0.05 ± 2.1	0.14 ± 4.17	0.07 ± 6.00	0.05 ± 7.5
2.75	0.13 ± 1.7	0.05 ± 3.9	0.03 ± 5.8	0.02 ± 7.4
3.25	0.1 ± 1.67	0.17 ± 3.58	0.04 ± 5.58	0.03 ± 7.19
3.75	0.07 ± 1.5	0.09 ± 3.17	0.03 ± 5.5	0.11 ± 6.7
4.25	0.06 ± 1.4	0.25 ± 2.8	0.2 ± 4.86	0.03 ± 6.3

* المعدل والخطأ القياسي لثلاث مكررات.

الجدول 3 : تأثير تراكيز مختلفة لمستخلص الشفلح *Capparis spinosa* على زمن الأجيال (ساعة) لأمامية السوط للشمانيا الجلدية *L. major* لفترات نمو مختلفة (عدد أمامية السوط المستخدم في الزرع 1×10^5/ سم^3).

فترة التعرض ساعة / المعاملة (ملغم / سم^3)	24	48	72	96
	المعدل ± الخطأ القياسي	المعدل ± الخطأ القياسي	المعدل ± الخطأ القياسي	المعدل ± الخطأ القياسي
الضابط	0.29 ± 9.2	0.3 ± 10.1	0.03 ± 10.3	0.03 ± 11.5
1.75	0.29 ± 10.1	0.26 ± 11.1	0.07 ± 11.4	0.03 ± 12.2
2.25	0.26 ± 11.4	0.4 ± 11.51	0.1 ± 12.0	0.09 ± 12.8
2.75	1.0 ± 14.1	0.17 ± 12.3	0.09 ± 12.4	0.04 ± 12.9
3.25	0.9 ± 14.5	0.6 ± 13.4	0.1 ± 12.9	0.06 ± 13.3
3.75	0.7 ± 16.0	0.4 ± 15.1	0.05 ± 13.1	0.24 ± 14.3
4.25	0.8 ± 17.1	1.7 ± 17.1	0.07 ± 14.8	0.08 ± 15.0

* المعدل والخطأ القياسي لثلاث مكررات.

استخدمت تراكيز مختلفة من مستخلص نبات الحنظل ما بين (1.25– 2.5) ملغم / سم^3 لحساب تأثيرها على عدد الأجيال لأمامية السوط للشمانيا الجلدية ووجد بأن التراكيز جميعها أدت إلى تثبيط في عدد الأجيال كما في الجدول (5)، وبعلاقة عكسية، ويبدو واضحاً بأن هناك علاقة طردية بين زمن الجيل والتراكيز المختلفة من مستخلص نبات الحنظل المستخدمة كما في الجدول (6).

الجدول 4: تأثير تراكيز مختلفة لمستخلص الحنظل *Citrullus colocynthis* على عدد أمامية السوط للشمانيا الجلدية *L. major* لفترات نمو مختلفة (عدد أمامية السوط المستخدم في الزرع 1×10^5/ سم^3).

فترة التعرض ساعة / المعاملة (ملغم / سم^3)	24		48		72		96		
	المعدل ± الخطأ القياسي	% نمو	المعدل ± الخطأ القياسي	% تثبيط	المعدل ± الخطأ القياسي	% نمو	المعدل ± الخطأ القياسي	% تثبيط	% نمو	% تثبيط
الضابط	0.046 ± 0.54	100	0.1 ± 2.39	--	0.7 ± 11.18	100	0.6 ± 33.5	--	100	--
1.25	0.04 ± 0.36	67	0.1 ± 1.9	33	0.3 ± 9.45	85	0.8 ± 26.5	15	79	21
1.5	0.03 ± 0.28	52	0.1 ± 1.55	48	0.27 ± 7.5	67	0.38 ± 21.67	33	65	35
1.75	0.025 ± 0.24	44	0.1 ± 1.3	56	0.25 ± 6.4	57	0.6 ± 17.7	43	53	47
2.0	0.01 ± 0.19	35	0.15 ± 0.96	65	0.1 ± 4.7	42	0.5 ± 13.4	48	40	60
2.25	0.009 ± 0.15	28	0.05 ± 0.61	72	0.06 ± 3.03	27	0.1 ± 8.6	73	26	74
2.5	0.01 ± 0.14	26	0.02 ± 0.51	74	0.15 ± 2.5	22	0.2 ± 7.2	78	21	79

* المعدل والخطأ القياسي لثلاث مكررات.

الجدول 5 : تأثير تراكيز مختلفة لمستخلص *Citrullus colocynthis* على عدد الأجيال لأمامية السوط للشمانيا الجلدية *L. major* لفترات نمو مختلفة (عدد أمامية السوط المستخدم في الزرع 1×10^5/ سم^3).

فترة التعرض ساعة / المعاملة (ملغم / سم^3)	24	48	72	96
	المعدل ± الخطأ القياسي	المعدل ± الخطأ القياسي	المعدل ± الخطأ القياسي	المعدل ± الخطأ القياسي
الضابط	0.1 ± 2.4	0.07 ± 4.57	0.06 ± 6.8	0.02 ± 8.38
1.25	0.16 ± 1.8	0.1 ± 4.2	0.05 ± 6.56	0.03 ± 8.0
1.5	0.17 ± 1.5	0.095 ± 3.95	0.05 ± 6.2	0.04 ± 7.76
1.75	0.15 ± 1.26	0.13 ± 3.7	0.06 ± 6.0	0.05 ± 7.47
2.0	0.04 ± 0.9	0.2 ± 3.26	0.04 ± 5.5	0.055 ± 7.07
2.25	0.055 ± 0.59	0.11 ± 2.6	0.02 ± 4.9	0.02 ± 6.4
2.5	0.12 ± 0.48	0.06 ± 2.35	0.09 ± 4.6	0.05 ± 6.1

* المعدل والخطأ القياسي لثلاث مكررات.

الجدول 6: تأثير تراكيز مختلفة لمستخلص *Citrullus colocynthis* على زمن الأجيال (ساعة) لأمامية السوط للشمانيا الجلدية *L. major* لفترات نمو مختلفة (عدد أمامية السوط المستخدم في الزرع 1 × 10^5/ سم^3).

فترة التعرض ساعة / المعاملة (ملغم / سم^3)	24	48	72	96
	المعدل ± الخطأ القياسي	المعدل ± الخطأ القياسي	المعدل ± الخطأ القياسي	المعدل ± الخطأ القياسي
الضابط	0.49 ± 10.0	0.17 ± 10.5	0.09 ± 10.58	0.03 ± 11.4
1.25	1.55 ± 13.3	0.27 ± 11.4	69ز0 ± 10.97	0.05 ± 12.0
1.5	1.3 ± 16.0	0.29 ± 12.15	0.1 ± 11.61	0.06 ± 12.4
1.75	1.8 ± 19.2	0.46 ± 12.97	0.1 ± 12.0	0.09 ± 12.85
2.0	1.7 ± 26.7	0.9 ± 14.7	009 ± 13.1	0.1 ± 13.58
2.25	1.5 ± 40.7	0.8 ± 18.5	0.09 ± 14.69	0.04 ± 15
2.5	3.4 ± 50.0	0.5 ± 20.4	0.29 ± 15.65	0.1 ± 15.56

- المعدل والخطأ القياسي لثلاث مكررات.

يتبين من النتائج أن للمستخلص المائي لنباتي الشفلح والحنظل تأثيراً تثبيطياً (سمياً) على عدد أمامية السوط. وأن زيادة التركيز لكليهما أدت إلى انخفاض تدريجي في العدد. وبلغت قيمة LC50 مقدار (3.25) ملغم /سم^3 لنبات الشفلح في الطور اللوغارتمي مقارنة بـ (1,75) ملغم / سم^3 لنبات الحنظل، (الجدول 1 و 2)، ونسبة التثبيط بمقدار (73 %) و (79 %) لأعلى التراكيز على التوالي. وربما يعود التثبيط إلى احتواء المستخلصات المائية لنبات الشفلح والحنظل مواد عضوية تؤثر بشكل خاص على نمو اللشمانيا أمامية السوط عن طريق التداخل في الفعاليات الإيضية المختلفة داخل الخلية من الانزيمات، البروتينات، الحوامض النووية، الكاربوهيدرات والدهون .. إلخ، إذ وجد في دراسة أن لمستخلص الحنظل تأثيراً اختزالياً على عدد الديدان الخيطية الطفيلية على النبات *Helicotylenchus dihystera* (Korayem et al., 1993).

وكما وجد Fournet وجماعته (1994) على أن تركيز (100) مايكرو غرام / سم^3 من المركبات القلويدية المستخلصة من ساق وجذور وأوراق نبات *G. longiflora* أظهر تثبيطاً واضحاً ضد اللشمانيا البرازيلية والاحشائية والامازونية خارج الجسم الحي. وأن مركبات Grifolic acid و Grifolin و Piperomia المعزولة من نبات *Piperomia galioides* أظهرت تثبيطياً معنوياً عند تركيز (10) مايكرو غرام / سم^3 ضد اللشمانيا البرازيلية والامازونية (Mahiou et al., 1995). وأكد Oketchrabah وجماعته (1997) أن تركيز الـ LC50 (12-20) مايكرو غرام /سم^3 من مركبات الصابونوجين Saponogen المعزولة من جذور نبات *Asparagus africanus* يثبط نمو اللشمانيا الجلدية أمامية السوط *L. major*. وللمركبات الصابونينية المعزولة من نبات *Agave sisalana* و *Smilax officinalis* تأثير تثبيطي ضد اللشمانيا الاحشائية (Santos et al., 1997). وأن المركبات الفلافونويدية flavonoids المعزولة من نبات *Piper aduncum* و *Saracha punctata* مثبطة لنمو اللشمانيا البرازيلية أمامية السوط (Moreira et al., 1998 ; Moretti et al., 1998).

لاحتواء المستخلصات المائية لنباتي الشفلح والحنظل المستخدمة في هذه الدراسة على المركبات الفعالة كالقلويدات والفلافونيدات والمركبات الصابونية والكلايكوسيدات فضلاً عن مركبات أخرى مثل إنزيم المايروسنيز وبكتين ومركبات استرويدية (Evans, 1997 ; Hussein, 1985) لذلك قد يعود التثبيط في عدد أمامية السوط *L. major* خارج الجسم الحي لتأثير هذه المركبات. ويعتمد مدى التأثير على تركيز المركبات القلويدية والصابونية والفلافونويدية وأنواعها. وتوضحت من النتائج أن تأثير الحنظل أعلى من الشفلح، (الجدول 1 و 2)، وجاءت هذه النتائج بصورة مشابهة لتأثير الكلوروبرومايزين على نمو اللشمانيا الجلدية والاحشائية (الحيالي، 2000).

يستنتج من هذه النتائج بانه يمكن استخدام مستخلص الشفلح والحنظل كمادة مضادة للشمانيا الجلدية بعد دراسة خلوها من التأثيرات الجانبية داخل الجسم الحي فضلاً عن امكانية عزل المواد الفعالة المؤثرة في علاج داء اللشمانيا عن المستخلصين الشفلح والحنظل.

المصادر العربية

الحيالي، هيثم لقمان، 2000. تأثير دواء الكلوروبرومازين على نمو وأيض بروميستيكوت طفيليات اللشمانيا. رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة الموصل.

المصادر الأجنبية

AL-Jeboori, T.I. and Evans, D.A., 1980. *Leishmania spp.* in Iraq. Electrophoretic Isoenzyme Pattern II. Cutaneous leishmaniasis. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., Vol. 74, pp.178-184.

Evans, W.C., 1997. Trease and Evan's. Pharmacognosy. 4rth ed. W.B. Saunders Company. Asia PTE Ltd.

Fournet, A., Barrios, A.A., Munoz, V., Hocquemiller, R., Cave, A., Roblot, F., Richomme, P. and Bruneton, J., 1994. Antiprotozoal Activity of Quinoline Alkaloids Isolated from *Galipea longiflora* Abolivian Plant Used as a Treatment for Cutaneous Leishmaniasis. Phytother. Res., Vol. 8, pp.174-178.

Hussein, F.T.K., 1985 . Medicinal Plants in Libya. Arab Encyclopedia House.

Kaneda, Y., Tanaka, T. and Saw, T., 1990. Effect of Berberine, a Plant Alkaloids on the Growth of an Aerobic Protozoa in Axenic Culture. Taka. J. Exp. Clin. Med., Vol. 15, pp.417-432.

Korayem, A.M., Hasabo, S.A. and Ameen, H.H., 1993. Effects and Mode of Action of Some Plant Extracts on Certain Plant Parasitic Nematodes. Anzeiger fur Schadlingskunde Pflanzenschutz Umweltschutz. Vol. 66, No. 2, pp.32-36.

Mahiou, V., Roblot, F., Hocquemiller, R., Cave, A., Barrios, A., Fournet, A. and Ducrot, P., 1995. Piperogalin a New Prenylated Diphenol from *Piperomia galioides*. J. Nat. Prod., (Lloydia)., Vol. 58, No. 2, pp.324-328.

Mahiou, V., Robdot, F., Hocquemiller, R., Cave, A., Rojas De Arias, A., Inchausti, A. Yaluff, G. and Fournet, A., 1996. New Prenylated Quinones from *Peperomia galioides*. J. Nat. Prod., Vol. 59, pp.694-697.

Moreira, D.D., Guimaraes, E.F. and Kaplan, M.A., 1998. A Chromene from *Piper aduncum*. Phytochemistry, Vol. 48, No. 6, pp.1075-1077.

Morreti, C., Sauvain, M., Lavaud, C., Massiot, G., Bravo, J.A. and Munoz, V., 1998. Anovel Antiprotozoal Aminosteroid from *Saracha punctata*. J. Nat. Prod., Vol. 61, No. 11, pp.1390-1393.

Oketchrabah, H.A., Dossaji, S.F., Brogger, C.S., Frydenvang, K., Lemmich, E., Cornett, C., Olsen, C. E., Chen, M., Kharazmi, A. and Theander, T., 1997. Antiprotozoal Compounds from *Asparagus africanus*. J. Nat. Prod., Vol. 60, No. 19,pp1017-1022.

Oketchrabah, H.A., Brogger, C.S., Frydenvang, K., Dossaji, S.F., Theander, T.G., Cornett, C., Watkins, W.M., Kharazmi, A. and Lemmich, E., 1998. Antiprotazoal Properties of 16, 17-Dihydrobrachy Calyxolide from *Vernonia brachycalyx*. Planta. Med., Vol. 64, No. 6, pp.559-562.

Riose, J.L., Recio, M.C. and Villar, A., 1987. Antimicrobial Activity of Selected Plants Empolyed in the Spanish Mediterranean Area. J. Ethnopharmacol., Vol. 21, pp.139-152.

Santos, W.R., Bernardo, R.R., Pecanha, L.M., Palatnik, M., Parente, J.P. and Desousa, C.B., 1997. Haemolytic Activities of Plant Saponins and Adjuvants. Effect of *Periandra mediterranea* Saponin on the Humoral Response to the FML Antigen of *Leishmania donovani.* Vaccine, Vol. 15, No. 9, pp.1024-1029.

Tobie, E.J., Brand, T.V. and Mehlman, B., 1950. Cultural and Physiological Observations on *Trypanosoma rhodesiense* and *Trypanosoma gambiense.* J. Parasitol., Vol. 36, pp.48-54.