

Original Article

The therapeutic effect of *Marrubium vulgare*, *Salvia officinalis* and *Lippia citriodora* in killing of *Toxoplasma gondii* tachyzoite and evaluation by MTT assay

Ehsan Shariat Bahadory^{1*}, Abdolhosein Dalimi Asl¹, Seyedeh Somayyeh Mosavipoor², Ali Dalir Ghaffari¹, Somayyeh Namroodi³, Sekhavat Ghaffari Novin⁴

¹Department of Medical Parasitology, School of Medicine, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

²Department Nursing, School of Nursing, Iran Medical University, Tehran, Iran

³Department of Small Animal Sciences, Veterinary University, Gorgan University, Gorgan, Iran

⁴School of Medicine, Sepah Enghelab Eslami University, Tehran, Iran

*Corresponding author; E-mail: e_shari2000@yahoo.com

Received: 12 December 2015 Accepted: 12 April 2016 First Published online: 9 December 2017
Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2018 February-March; 39(6):44-50

Abstract

Background: *Toxoplasma gondii* is intracellular parasites that cause many symptoms such as encephalitis and congenital disorders. *Marrubium vulgare*, *Salvia officinalis* and *Lippia citriodora* are herbal drugs that used to kill this organism. Our objective were to evaluate the therapeutic effect of *Marrubium vulgare*, *Salvia officinalis* and *Lippia citriodora* in killing of *Toxoplasma gondii* tachyzoite and evaluation by MTT assay

Methods: In this survey we used *Marrubium vulgare*, *Salvia officinalis* and *Lippia citriodora* suspension plus RPMI medium containing peritoneal tachyzoite after incubation at 37 °C. The measurement done by MTT assay and statistical assesment done by spss19 software. Our investigation based on two mediam (invitro and invivo) to approve our results.

Results: In RPMI medium the killing with three herbal drugs were seen and the decrease of Absorbance were seen by MTT assay. The means of OD were 0.05 to 0.16 in presence of herbal drugs but the means of OD were 0.9 to 2.3 in absence of herbal drugs.

Conclusion: *Marrubium vulgare*, *Salvia officinalis* and *Lippia citriodora* are herbal drugs that are very useful to kill *Toxoplasma* tachyzoite in invitro condition.

Keywords: *Toxoplasma Gondii*, *Marrubium Vulgare*, *Salvia Officinalis*, *Lippia Citriodora*, MTT Assay

How to cite this article: Ehsan Shariat Bahadory, Abdolhosein Dalimi Asl, Seyedeh Somayyeh Mosavipoor, Ali Dalir Ghaffari, Somayyeh Namroodi, Sekhavat Ghaffari Novin. [The therapeutic effect of *Marrubium vulgare*, *Salvia officinalis* and *Lippia citriodora* in killing of *Toxoplasma gondii* tachyzoite and evaluation by MTT assay]. Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2018 February-March;39(6):44-50. Persian.

مقاله پژوهشی

اثرات درمانی ترکیب گیاهان *lippia citriodora* + *Salvia officinalis* + *Marrubium vulgare* بر روی تاکی زوئیت انگل توکسوپلازما گوندی و تشخیص با روش MTTاحسان شریعت بهادری^{۱*}، عبدالحسین دلیمی اصل^۱، سیده سمیه موسوی پور^۲، علی دلیر غفاری^۱، سمیه نمرودی^۳، سخاوت غفاری نوین^۴^۱گروه انگل شناسی پزشکی دانشکده پزشکی دانشگاه تربیت مدرس تهران^۲گروه پرستاری دانشکده پرستاری دانشگاه علوم پزشکی ایران^۳گروه کلینیکال حیوانات کوچک دانشکده دامپزشکی دانشگاه گرگان^۴گروه پزشکی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی سپاه پاسداران انقلاب اسلامی ایران

*ایمیل؛ نویسنده رابط: e_shari2000@yahoo.com

دریافت: ۱۳۹۴/۹/۲۱ پذیرش: ۱۳۹۵/۱/۲۴ انتشار برخط: ۱۳۹۶/۹/۱۸

مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز، بهمن و اسفند ۱۳۹۶؛ ۳۹(۶): ۴۴-۵۰

چکیده

زمینه: انگل توکسوپلازما از خانواده توکسوپلاسماتیده آ می باشد که اولین بار در جوندہ کینو داکتیلوس گوندی مشاهده شد. یکی از راههای انتقال بیماری توکسوپلاسموزیس مادرزادی، انتقال از طریق جفت به جنین می باشد که تشخیص این بیماری را در این مرحله بسیار حائز اهمیت می نماید. توکسوپلاسموزیس مادرزادی چنانچه در سه ماهه اول بارداری رخ دهد به سقط جنین و اختلالات اعصاب مرکزی و چشمی منجر می شود. لذا روشهای تشخیصی دقیق در بررسی زنان مبتلا به عفونت توکسوپلاسموز حائز اهمیت می باشد که شامل روشهای سرولوژی مانند الایزا اویدیتی هستند. روشهای درمانی هم در مراحل مختلف بیماری توکسوپلاسموزیس متفاوت است. داروهای گیاهی مختلفی برای درمان توکسوپلاسموزیس قابل استفاده هستند که از آن جمله می توان فراسیون، مریم گلی و برگ به لیمو را نام برد.

روش کار: در این راستا سعی شد از جمع آوری نمونه های مختلف و بررسی مقایسه ای آنها در درمان توکسوپلاسموزیس مانند نمونه های صفاقی بهره جست. مایع صفاقی موش سفید حاوی تاکی زوئیت توکسوپلازما، نمونه اصلی ما بود که در محیط RPMI به دو قسمت حاوی داروهای گیاهی و فاقد داروهای گیاهی تقسیم شدند. داروی گیاهی در سه دوز تهیه گردید و نتایج آزمایش با روش MTT بررسی گردید. همچنین در این مطالعه میزان EC50 داروی ترکیبی فوق نیز مورد بررسی قرار گرفت. بررسی آماری با نرم افزار SPSS18 صورت پذیرفت. در مطالعه فوق از تعدادی موش زنده (invivo) به صورت شاهد نیز استفاده گردید که تکمیل کننده مطالعه در شرایط آزمایشگاهی نیز بود.

یافته ها: میانگین OD بررسی شده در حضور ترکیب داروئی گیاهی ۰/۵ تا ۰/۱۶ و میانگین OD بررسی شده در غیاب ترکیب گیاهان داروئی ۰/۹ تا ۲/۳ بود که کاهش تاکی زوئیت انگل توکسوپلازما گوندی در حضور ترکیب داروئی گیاهی فوق دیده شد (invitro). ضمناً EC50 ترکیب داروئی فوق در دوز ۵۰ mg/ml دیده شد.

نتیجه گیری: تفسیر این مقایسه حاکی از آن بود که داروهای فراسیون، مریم گلی و برگ به لیمو به صورت ترکیبی (mix) خاصیت ضد انگلی علیه تاکی زوئیت توکسوپلازما دارند و به میزان قابل توجهی از شدت و حدت بیماری می کاهند و این ویژگی هم در شرایط invitro و هم در اثبات رسید.

کلید واژه ها: توکسوپلازما گوندی، فراسیون، مریم گلی و برگ به لیمو، MTT

نحوه استناد به این مقاله: شریعت بهادری، دلیمی اصل، موسوی پور، دلیر غفاری، نمرودی، غفاری نوین. اثرات درمانی ترکیب گیاهان *Marrubium vulgare* + *lippia citriodora* + *Salvia officinalis* بر روی تاکی زوئیت انگل توکسوپلازما گوندی و تشخیص با روش MTT. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز. ۱۳۹۶؛ ۳۹(۶): ۴۴-۵۰

حق تألیف برای مؤلفان محفوظ است.

این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تبریز تحت مجوز کرییتیو کامنز (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>) منتشر شده که طبق مفاد آن هرگونه استفاده تنها در صورتی مجاز است که به اثر اصلی به نحو مقتضی استناد و ارجاع داده شده باشد.

مقدمه

فراسیون با نام علمی (*Marrubium vulgare*) گیاهی چند ساله با ارتفاع حدود ۵۰ سانتیمتر، ساقه گوشه دار، برگ‌های مودار با رگ‌های مشخص و به رنگ سبز متمایل به خاکستری می‌باشد. گل‌های این گیاه کوچک، سفید و دولبه بوده و بصورت خوشه-های مدور در قسمت گره ساقه قرار گرفته اند. قسمت‌های مورد استفاده این گیاه قسمت‌های هوایی بصورت تازه یا خشک شده هستند گروه درمانی: صفرابری و خلط‌آوری. موارد استفاده و خواص: فراسیون سفید عمدتاً برای دو حالت بکار می‌رود که عبارتند از: دردهای گوارشی (فقدان اشتها، سوء هاضمه، ناراحتی‌های صفرآوری و نفخ) و سرفه‌های خشک (التهاب‌های حاد یا مزمن برونشیتی) (۶-۱). مریم گلی گیاهی است چند ساله و علفی، ریشه راست و دارای انشعابات فراوان. ساقه راست و ارتفاع آن بین ۸۰-۵۰ سانتی متر می‌باشد. ساقه‌های جوان به رنگ سبز تیره و پوشیده از کرک‌های انبوه و خاکستری رنگ است. با افزایش عمر گیاه، ساقه چوبی و رنگ آن قهوه‌ای می‌شود. برگ‌ها بلند و نیزه‌ای شکل می‌باشند. برگ‌های پایینی دارای دمبرگ بلند هستند در حالی که برگ‌های قسمت فوقانی ساقه، دمبرگ کوتاهی دارند. سطح فوقانی و تحتانی برگ‌ها پوشیده از کرک‌های ظریف می‌باشد. گل‌ها به رنگ بنفش متمایل به آبی، صورتی یا سفید و به صورت مجتمع در قسمت فوقانی ساقه‌ها روی چرخه‌های مخصوصی مشاهده می‌شوند. روی هر چرخه ۸-۵ گل وجود دارد میوه فندقه و به رنگ قهوه‌ای روشن یا تیره است. قطر تاج گیاه حدود ۵۵ سانتی متر است. وزن هزار دانه ۵۵/۶۱ گرم و طول دوره جوانه زنی ۱۲ روز می‌باشد (۷ و ۸). گیاه به لیمو *lippia citriodora* گیاهی است درختچه‌ای به ارتفاع ۶-۳ متر با برگ‌های ساده سرنیزه‌ای به طول ۱۰-۷ سانتی متر، نوکدار، در قاعده گره‌ای و عموماً به صورت دسته‌های سه تایی در هر گره، برگ‌های له شده این گیاه بوی خوشایند لیمو را دارد. برگ این گیاه در رفع تپش قلب، سردردهای یک طرفه، سرگیجه، حالات عصبی و خستگی‌های روحی بسیار مفید است. به لیمو برای تقویت معده در ردیف بهترین داروها قرار می‌گیرد که برای این منظور بهتر است همیشه به صورت دم کرده مانند چای مصرف شود. برگ‌ها بخش دارویی این گیاه را تشکیل می‌دهد و بویی شبیه به بوی لیمو دارد. برگ‌ها را در اواخر تابستان جمع‌آوری می‌کنند. پودر برگ گیاه به لیمو به رنگ سبز مات و دارای بوی معطر، طعم آن تند و کمی تلخ است (۹-۱۱).

انگل توکسوپلازما از خانواده توکسوپلاسماتیده آ می‌باشد که اولین بار در جوندۀ کینو داکتیلولس گوندی مشاهده شد. یکی از راه‌های انتقال بیماری توکسوپلاسموزیس مادرزادی از طریق جفت به جنین می‌باشد که تشخیص این بیماری را در این مرحله بسیار حائز اهمیت می‌نماید. توکسوپلاسموزیس مادرزادی چنانچه در سه ماهه اول بارداری رخ دهد به سقط جنین و اختلالات اعصاب مرکزی و چشمی منجر می‌شود. لذا روش‌های تشخیصی دقیق و

متعاقباً درمان به موقع این عفونت انگلی حائز اهمیت می‌باشد. این انگل دارای دو مرحله فعال تاکی زوئیت و غیر فعال برادی زوئیت است که در مطالعه فوق سعی شده است اثر درمانی ترکیب فوق بر علیه مرحله فعال انگل توکسوپلازما گوندی (تاکی زوئیت) بدست آمده از مایع صفاقی موش در دو محیط آزمایشگاهی (*invitro*) و موجود زنده (*invivo*) بررسی گردد (۱۲-۱۸). هدف از این آزمایش اثرات درمانی ترکیب گیاهان *Marrubium vulgare* + *lippia citriodora* + *Salvia officinalis* بر روی تاکی زوئیت انگل توکسوپلازما گوندی و تشخیص با روش MTT بود که این تأثیرات هم در شرایط آزمایشگاهی و هم در بدن موجود زنده بررسی گردید (۱۸).

روش کار

در تعیین EC50 سه دوز دارویی گیاهی به طور تجربی به محیط اضافه گردید که شامل دوزهای ۵۰، ۱۰ و ۵۰ میلی‌گرم در میلی لیتر بود که بیشترین کشندگی تاکی زوئیت انگل در دوز ۵۰ mg/ml دیده شد (*invitro*). مطالعات آماری نتایج فوق شامل میانگین داده‌ها و انحراف معیار داده‌ها بود. نوع مطالعه فوق مطالعه مقایسه‌ای بود.

با استفاده از روش MTT میزان تأثیر داروهای گیاهی فوق را در زنده بودن (*viability*) تاکی زوئیت انگل توکسوپلازما گوندی مورد ارزیابی قرار می‌دهیم. بررسی‌ها آماری با استفاده از نرم افزار spss18 صورت پذیرفت.

انتخاب نمونه شامل مایع صفاقی موش سفید سوری بود که ابتدا با استفاده از تاکی زوئیت انگل توکسوپلازما آلوده شدند و بعد از یک هفته از مایع صفاقی آنها نمونه برداری صورت گرفت که این نمونه برداری در حضور آنتی بیوتیک‌های پنی سیلین و استرپتومایسین و PBS صورت گرفت. سپس تاکی زوئیت انگل در محیط RPMI منتقل و بعد از ۲ تا ۳ روز برای انجام روش MTT آماده گردید. سپس سوسپانسیونی از داروهای مریم گلی، فراسیون و برگ به لیمو به ۱۶ خانه از چاهک‌های مورد آزمایش اضافه گردید و در برابر ۱۶ خانه از چاهک‌های فاقد داروی فوق به عنوان شاهد مورد بررسی قرار گرفت.

روش MTT مشتمل است بر:

۱. سانتریفیوژ کردن نمونه‌ها بعد از انکوباسیون ۷۲ ساعته
۲. دور ریختن مایع روئی
۳. اضافه کردن ۱۰۰ میکرولیتر RPMI و ۱۰ میکرولیتر رنگ MTT
۴. انکوباسیون ۴ ساعته در ۳۷ درجه سانتی گراد
۵. سانتریفیوژ و دور ریختن مایع روئی
۶. اضافه کردن ۵۰ میکرولیتر DMSO
۷. انکوباسیون ۱ ساعته در ۳۷ درجه سانتی گراد
۸. خوانش در دستگاه الیزا ریدر با طول موج ۵۷۰ نانومتر

جدول ۱. جذب نوری ۱۶ خانه از چاهک های حاوی تاکي زوئیت توکسوپلازما در حضور و غیاب داروی گیاهی در $EC_{50}=50\text{mg/ml}$

شماره چاهک	جذب نوری در حضور داروی گیاهی	جذب نوری در غیاب داروی گیاهی
۱	۰/۱۴	۱/۶۰
۲	۰/۱۳	۱/۷۰
۳	۰/۱۶	۱/۶۰
۴	۰/۱۳	۱/۹۰
۵	۰/۰۹	۲/۱۰
۶	۰/۰۶	۲/۰۰
۷	۰/۰۵	۲/۲۰
۸	۰/۰۵	۲/۲۰
۹	۰/۰۵	۱/۸۰
۱۰	۰/۱۰	۱/۴۰
۱۱	۰/۰۵	۱/۸۰
۱۲	۰/۰۷	۱/۹۰
۱۳	۰/۰۵	۱/۹۰
۱۴	۰/۰۵	۲/۳۰
۱۵	۰/۰۵	۰/۹۰
۱۶	۰/۰۵	۱/۶۰
مجموع	۱۶	۱۶
تعداد کل		

به منظور بررسی در موجود زنده (invivo)، تعداد ۲۰ موش زنده سوری آلوده به تاکي زوئیت توکسوپلازما گوندی، به دو بخش مساوی تقسیم و در گروه اول به عنوان بررسی تاثیر دارویی، ترکیب فوق به صفاق ۱۰ موش تزریق گردید در حالیکه به گروه دوم (گروه شاهد) ترکیب فوق تزریق نگردید. بعد از گذشت یک هفته از صفاق هردو گروه آسپیراسیون مایع صورت گرفت و با رنگ آمیزی گیمسا، کاهش تعداد تاکي زوئیت توکسوپلازما گوندی در گروه اول که ترکیب دارویی فوق را دریافت نموده بودند به طور واضحی دیده شد.

یافته ها

میانگین OD بررسی شده در حضور ترکیب دارویی گیاهی ۰/۰۵ تا ۰/۱۶۰ و میانگین OD بررسی شده در غیاب ترکیب گیاهان دارویی ۰/۹ تا ۲/۳ بود که کاهش تاکي زوئیت انگل توکسوپلازما گوندی در حضور ترکیب دارویی گیاهی فوق دیده شد. در ضمن EC_{50} ترکیب دارویی فوق در دوز ۵۰mg دیده شد.

از جداول فوق اینگونه بدست می آید که میانگین جذب نوری تاکي زوئیت در حضور داروهای گیاهی فوق ۰/۰۷ و میانگین جذب نوری تاکي زوئیت توکسوپلازما گوندی در غیاب داروهای گیاهی فوق ۱/۸ بود. در ضمن EC_{50} ترکیب گیاهی فوق نیز بر روی تاکي زوئیت انگل توکسوپلازما گوندی در دوز ۵۰mg/ml مشاهده گردید (جدول ۱ و ۲).

جدول ۲. بررسی میانگین و انحراف معیار بدست آمده از جذب نوری چاهک های حاوی تاکي زوئیت توکسوپلازما در $EC_{50}=50\text{mg/ml}$

میانگین	حد بالا	حد پایین	تعداد	انحراف معیار
۰/۰۷۹۸	۰/۱۶	۰/۰۵	۱۶	۰/۰۳۹۱۳
۱/۸۰۶۳	۲/۳۰	۰/۹۰	۱۶	۰/۳۴۹۲۳
•	•	•	۱۶	تعداد

بحث

داروهای گیاهی *Salvia officinalis*+ *Marrubium vulgare* و *lippia citriodora* بر روی تاکي زوئیت انگل توکسوپلازما گوندی اثر مخرب داشته و در درمان توکسوپلاسموزیس قابل استفاده است. ترکیب دارویی به لیمو، فراسیون و مریم گلی در در محیط آزمایشگاهی و زنده مورد تجویز قرار گرفت و نشان داده شد که در هردو محیط (invitro, invivo)، باعث کاهش چشمگیری در تعداد تاکي زوئیت توکسوپلازما می گردد. این کاهش در تعداد تاکي زوئیت انگل به علت اثر سینرژیسم در مواد تشکیل دهنده ترکیبات گیاهی است. شش ساعت بعد از تلقیح داخل صفاقی تاکي زوئیت، انگل وارد سلول های مختلف موش شده در آنها تکامل پیدا می کنند و سلول های اندوتلیال، ماکروفاژ، پلازما سل ها، نوتروفیل ها، ائوزینوفیل ها، ماست سل ها و سلول های ماهیچه معده فیبروبلاست ها را آلوده می کنند (۱۹-۲۱).

بدون توجه به سویه آلوده کننده، عفونت های پایدار تنها با خوردن ۱۰۰۰ برادی زوئیت در موش ها ایجاد می شود. این نتایج نشان می دهد که تعدادی از برادی زوئیت ها در معده از بین می روند. برادی زوئیت ها طی ۱۷ ساعت بعد از وارد شدن به بدن، در داخل روده باریک به تاکي زوئیت تبدیل می شوند و تاکي زوئیت ها به اندام های خارج روده ای مهاجرت می کنند (۲۲-۲۴). در موش ها و رات ها کیست ها بیشتر در مغز ولی در پستانداران بزرگ مثل گاو و گوسفند بیشتر در بافت های ماهیچه ای تشکیل می شود (۲۵-۲۷). یکی از مناطقی که تاکي زوئیت توکسوپلازما گوندی در موش به طور فراوان یافت می شوند، مایع صفاقی موش است که بررسی این تاکي زوئیت های فعال در شرایط آزمایشگاهی با روش های مختلفی صورت می گیرد. یکی از این روش ها، آزمایش MTT یا بررسی زنده بودن (viability) تاکي زوئیت توکسوپلازما گوندی است که خصوصاً در مطالعات دارویی استفاده می گردد (۲۷-۲۵).

کلیندامایسین (۱۲۰۰-۳۰۰ میلی گرم وریدی هر ۶ ساعت) همانند پیریمتامین به همراه کلاریترومایسین مؤثر می باشد. می توان آتوواکون (۷۵۰ میلی گرم هر ۶ یا ۸ ساعت) را نیز انتخاب نمود. برای پیشگیری از بیماری در بیماران مبتلا به ایدز که CD4 آنها زیر $100/\mu\text{L}$ است می توان از کوتریموکسازول تنها یا ترکیب پیریمتامین، داپسون و لوکوورین استفاده نمود. ترکیب دارویی استاتین ها به همراه داروهای ضد پوکی استخوان هم در درمان توکسوپلاسموزیس مؤثر هستند (۲۷-۲۵).

ترکیب اصلی شیمیایی فراسیون شامل: (1) oxomarrubiin, vulgarcoside A (2) and 3-hydroxyapigenin-4'-O-(6 "O-p-coumaroyl)-beta-D-glucopyranoside است که ماده oxomarrubiin. ماده مؤثره اصلی و عامل مهار کننده سیستم فعال کننده اکسیژنی میکروارگانیزم ها است. ماده مؤثره اصلی در گیاه مریم گلی که دارای خواص آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی است، ترکیب فنلی است که تحت عنوان methanol/water در این گیاه نام برده می شود که دارای خواص سمی علیه تاکی زوئیت توکسوپلاسم گوندی است. گیاه به لیمو دارای روغن ضروری lemon می باشد که قادر به نفوذ داخل سلولی در انگل توکسوپلاسم گوندی و اختلال در متابولیسم انگل می باشد (۳۰-۲۸).

نتیجه گیری

از یافته های فوق نتیجه می شود که ترکیب گیاهان *Marrubium lippia citriodora* + *Salvia officinalis* + *vulgare* بر روی تاکی زوئیت انگل توکسوپلاسم گوندی اثر تخریبی داشته و باعث از بین رفتن این ارگانیزم در حالت فعال خود می گردد.

افراد دارای ایمنی سالم که لنفادنوپاتی ناشی از توکسوپلاسموزیس دارند، به طور کلی نیازی به درمان ندارند. در بیماران دچار ضعف ایمنی، رژیم پیریمتامین (در ابتدا یک دوز خوراکی ۲۰۰ میلی گرم و سپس روزانه ۵۷-۵۰ میلی گرم) با سولفادایزین (روزانه ۴-۶ گرم خوراکی، منقسم در چهار دوز، به همراه لوکوورین (روزانه ۱۵-۱۰ میلی گرم) توصیه می شود. ۲۰ درصد از افرادی که تحت درمان با این رژیم دوگانه قرار می گیرند، دچار افزایش حساسیت و ۴۰ درصد آنها دچار توکسیسیته می شوند. پیریمتامین (روزانه ۷۵ میلی گرم) با کلیندامایسین (۴۵۰ میلی گرم هر ۸ ساعت) رژیم جایگزین می باشد. گلوکوکورتیکوئیدها اغلب برای درمان ادم داخل مغز مورد استفاده قرار می گیرند. پس از ۶-۴ هفته (یا پس از آشکار شدن بهبود ضایعات رادیوگرافی) می توان بیمار را تحت درمان سرکوب کننده مزمن با پیریمتامین روزانه ۵۰-۲۵ میلی گرم) به همراه سولفادایزین (روزانه ۲-۴ گرم) یا پیریمتامین (روزانه ۷۵ میلی گرم) به همراه کلیندامایسین (۴۵۰ میلی گرم هر ۸ ساعت) قرار داد؛ پیریمتامین تنها (روزانه ۷۵-۵۰ میلی گرم) ممکن است کافی باشد (۲۷-۲۵).

بیماران مبتلا به عفونت چشمی را می توان به مدت یک ماه درمان نمود. نوزادانی که به طور مادرزادی آلوده شده اند درمان روزانه پیریمتامین (۱-۰/۵ mg/kg) و سولفادایزین (۱۰۰ mg/kg) را به مدت یک سال دریافت می کنند. در افرادی که توکسیسیته باعث محدودیت استفاده از رژیم های بلندمدت می شود، می توان از رژیم های گوناگون دیگری استفاده نمود، داپسون را می توان جایگزین سولفادایزین نمود. در بیماران دچار ایدز و آنفالت توکسوپلاسمائی، پیریمتامین (روزانه ۷۵-۲۵ میلی گرم) به همراه

References

- Zerbe P, Chiang A, Dullat H, O'Neil-Johnson M, Starks C, Hamberger B, et al. Diterpene synthases of the biosynthetic system of medicinally active diterpenoids in *Marrubium vulgare*. *Plant J* 2014; **79**(6): 914-927. doi: 10.1111/tpj.12589
- Yousefi K, Fathiazad F, Soraya H, Rameshrad M, Maleki-Dizaji N, Garjani A. *Marrubium vulgare* L. metabolic extract inhibits inflammatory response and prevents cardiomyocyte fibrosis in isoproterenol-induced acute myocardial infarction in rats. *Bioimpacts* 2014; **4**(1): 21-27.
- Molina-Garza ZJ, Bazaldúa-Rodríguez AF, Quintanilla-Licea R, Galaviz-Silva L. Anti-Trypanosoma cruzi activity of 10 medicinal plants used in northeast Mexico. *Acta Trop* 2014; **136**: 14-18. doi: 10.1016/j.actatropica.2014. 04.006
- Yousefi K, Soraya H, Fathiazad F, Khorrami A, Hamedeyazdan S, Maleki-Dizaji N, et al. Cardio protective effect of methanolic extract of *Marrubium vulgare* L. on isoproterenol-induced acute myocardial infarction in rats. *Indian J Exp Biol* 2013; **51**(8): 653-660.
- Ohtera A, Miyamae Y, Nakai N, Kawachi A, Kawada K, Han J, et al. Identification of 6-octadecynoic acid from a methanol extract of *Marrubium vulgare* L. as a peroxisome proliferator-activated receptor γ agonist. *Biochem Biophys Res Commun* 2013; **440**(2): 204-209. doi: 10.1016/j.bbrc.2013.09.003

6. Salama MM, Taher EE, El-Bahy MM. Molluscicidal and Mosquitocidal activities of the essential oils of *Thymus capitatus* Hoff. et Link. and *Marrubium vulgare* L. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 2012; **54**(5): 281-286. doi: 10.1590/S0036-46652012000500008
7. Nicolella HD, Oliveira PF, Munari CC, Costa GF, Moreira MR, Veneziani RC, et al. Differential effect of manool - A diterpene from *Salvia officinalis*, on genotoxicity induced by methyl methanesulfonate in V79 and HepG2 cells. *Food Chem Toxicol* 2014; **72**: 8-12. doi: 10.1016/j.fct.2014.06.025
8. Nikmehr B, Ghaznavi H, Rahbar A, Sadr S, Mehrzadi S. In vitro anti-leishmanial activity of methanolic extracts of *Calendula officinalis* flowers, *Datura stramonium* seeds, and *Salvia officinalis* leaves. *Chin J Nat Med* 2014; **12**(6): 423-427. doi: 10.1016/S1875-5364(14)60066-2
9. Quirantes-Piné R, Herranz-López M, Funes L, Borrás-Linares I, Micol V, Segura-Carretero A, et al. Phenylpropanoids and their metabolites are the major compounds responsible for blood-cell protection against oxidative stress after administration of *Lippia citriodora* in rats. *Phytomedicine* 2013; **20**(12): 1112-1118. doi: 10.1016/j.phymed.2013.05.007
10. Stashenko EE, Martínez JR, Cala MP, Durán DC, Caballero D. Chromatographic and mass spectrometric characterization of essential oils and extracts from *Lippia* (Verbenaceae) aromatic plants. *J Sep Sci* 2013; **36**(1): 192-202. doi: 10.1002/jssc.201200877
11. Portmann E, Nigro MM, Reides CG, Llesuy S, Ricco RA, et al. Aqueous extracts of *Lippia turbinata* and *Aloysia citriodora* (Verbenaceae): assessment of antioxidant capacity and DNA damage. *Int J Toxicol* 2012; **31**(2): 192-202. doi: 10.1177/1091581812436726
12. Oz HS. Toxoplasmosis complications and novel therapeutic synergism combination of diclazuril plus atovaquone. *Front Microbiol* 2014; **5**: 484. doi: 10.3389/fmicb.2014.00484
13. Yang Z, Ahn HJ, Nam HW. Gefitinib Inhibits the Growth of *Toxoplasma gondii* in HeLa Cells. *Korean J Parasitol* 2014; **52**(4): 439-441. doi: 10.3347/kjp.2014.52.4.439
14. Valentini P, Buonsenso D, Barone G, Serranti D, Calzedda R, Ceccarelli M, et al. Spiramycin/cotrimoxazole versus pyrimethamine/ sulfonamide and spiramycin alone for the treatment of toxoplasmosis in pregnancy. *J Perinatol* 2014; **11**: 58-62. doi: 10.1038/jp.2014.161
15. Harrell M, Carvounis PE. Current treatment of toxoplasma retinochoroiditis: an evidence-based review. *J Ophthalmology* 2014; **2014**: 273506. doi: 10.1155/2014/273506
16. Chen J, Li ZY, Huang SY, Petersen E, Song HQ, Zhou DH, et al. Protective efficacy of *Toxoplasma gondii* calcium-dependent protein kinase 1 (TgCDPK1) adjuvated with recombinant IL-15 and IL-21 against experimental toxoplasmosis in mice. *BMC Infect Dis* 2014; **14**: 487. doi: 10.1186/1471-2334-14-487
17. Cornelissen JB, van der Giessen JW, Takumi K, Teunis PF, Wisselink HJ. An Experimental *Toxoplasma gondii* Dose Response Challenge Model to Study Therapeutic or Vaccine Efficacy in Cats. *PLoS One* 2014; **9**(9): e104740. doi: 10.1371/journal.pone.0104740
18. Van Meerloo J, Kaspers GJ, Cloos J. Cell sensitivity assays: the MTT assay. *Methods Mol Biol* 2011; **731**: 237-245. doi: 10.1007/978-1-61779-080-5_20
19. Fu X, Wu B, Huang B, Zheng H, Huang S, Gan Y, et al. The correlation of Tim-3 and IFN- γ expressions in mice infected with *Toxoplasma gondii* during gestation. *Parasitol Res* 2014; **25**: 36-42. doi: 10.1007/s00436-014-4167-3
20. Xu Y, Zhang NZ, Tan QD, Chen J, Lu J, Xu QM, et al. Evaluation of immuno-efficacy of a novel DNA vaccine encoding *Toxoplasma gondii* rhoptry protein 38 (TgROP38) against chronic toxoplasmosis in a murine model. *BMC Infect Dis* 2014; **14**(1): 525. doi: 10.1186/1471-2334-14-525
21. Wang HL, Zhang TE, Yin LT, Pang M, Guan L, Liu HL, et al. Partial Protective Effect of Intranasal Immunization with Recombinant *Toxoplasma gondii* Rhoptry Protein 17 against Toxoplasmosis in Mice. *PLoS One* 2014; **9**(9): e108377. doi: 10.1371/journal.pone.0108377
22. Hassan IA, Wang S, Xu L, Yan R, Song X, XiangRui L. Immunological response and protection of mice immunized with plasmid encoding T. *gondii* glycolytic enzyme Malate Dehydrogenase. *Parasite Immunol* 2014; **15**: 64-72. doi: 10.1111/pim.12146
23. Mathur G, George AE, Sen P. Pediatric choroidal neovascular membrane secondary to toxoplasmosis treated successfully with anti-vascular endothelial growth factor. *Oman J Ophthalmol* 2014; **7**(3): 141-143. doi: 10.4103/0974-620x.142598
24. Mota LA, Roberto Neto J, Monteiro VG, Lobato CS, Oliveira MA, Cunha Md, et al. Culture of mouse peritoneal macrophages with mouse serum induces lipid bodies that associate with the parasitophorous vacuole and decrease their microbicidal capacity against *Toxoplasma gondii*. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2014; **109**(6): 767-774. doi: 10.1590/0074-0276140119
25. Oz HS. Novel Synergistic Protective Efficacy of Atovaquone and Diclazuril on Fetal-Maternal Toxoplasmosis. *Int J Clin Med* 2014; **5**(15): 921-932. doi: 10.4236/ijcm.2014.515124

26. Dolgikh TI, Goncharov DB, Sokolova TF, Chekmarev GV, Turok NE. The patterns of immune and behavioral disorders in *Toxoplasma gondii* antigen-sensitized rat posterity in the postnatal period. *Med Parazitol (Mosk)* 2014; 2: 33-36.
27. D'Ascenzio M, Bizzarri B, De Monte C, Carradori S, Bolasco A, Secci D, et al. Design, synthesis and biological characterization of thiazolidin-4-one derivatives as promising inhibitors of *Toxoplasma gondii*. *Eur J Med Chem* 2014; 86: 17-30. doi: 10.1016/j.ejmech.2014.08.046
28. Shaheen F, Rasoola S, Shah ZA, Soomro S, Jabeen A, Mesaik MA, et al. Chemical constituents of *Marrubium vulgare* as potential inhibitors of nitric oxide and respiratory burst. *Nat Prod Commun* 2014; 9(7): 903-906.
29. Martins N, Barros L, Santos-Buelga C, Henriques M, Silva S, Ferreira IC. Evaluation of bioactive properties and phenolic compounds in different extracts prepared from *Salvia officinalis* L. *Food Chem* 2015; 170C: 378-385. doi: 10.1016/j.foodchem.2014.08.096
30. Gómez LA, Stashenko E, Ocazone RE. Comparative study on in vitro activities of citral, limonene and essential oils from *Lippia citriodora* and *L. Alba* on yellow fever virus. *Nat Prod Commun* 2013; 8(2): 249-252.