



il Naturalista campano

pubblicazione aperiodica

Proprietà alternative dei fitoestratti di *Artemisia* (Asteraceae):
effetti tossici su Protisti eterotrofi non micoti.
Contributo sulla agro-ecologia delle colture oggetto del progetto Co.Al.Ta.

Salvatore Vicidomini

Progetto *Co.Al.Ta./2*: C.R.A. - I.S.T. sede di Scafati, via Vitiello 108, 84018 Scafati (SA); e-mail: vicidomini@freeweb.org. - salvatore.vicidomini@unina.it

Fondazione Iridia, Museo Naturalistico, Via Forese, 84020 Corleto Monforte (SA); e-mail: biodidattica@freemail.it

Abstract

The aim of this paper was to summarize literature data about anti-protozoa activity of *Artemisia* (Asteraceae) phytoextracts.

The following *Artemisia* species have been for bioessay: *abrotanum*, *absinthium*, *annua*, *aucheri*, *herba-alba*, *indica*, *japonica*, *ludoviciana*, *maritima*, *nilagirica*, *persica*, *sieberi*, *tridentata*.

The following molecules have been recognized as active versus protozoa: 1,8-cineol, 1-butyl-ether-artemisinin, 1-propyl-ether-artemisinin, 4-Fl-phenyl-artemisinin, *alfa*-artether, artelinate, artemether, artemetin, artemisinin, artemisone, artesunate, artether, ascaridol, *beta*-artether, canfor, CH₃-ether-artemisinin, chrysoplenetin, chrysosplenol-D, cirsillineol, davanone, dehydro-artemisinin, deoxy-artelinate, 49 synthetic-derived from artemisinin; 4 Br-phenyl- artemisinin-derived; epy-deoxy-dihydro-artemisinin, friedeline, scopoletine.

The protozoa taxa recognized are as follows: *Babesia*, *Cryptosporidium*, *Eimeria*, *Neospora*, *Plasmodium*, *Toxoplasma*, (Apicomplexa); *Leishmania*, *Trypanosoma* (Euglenozoa); *Acanthamoeba*, *Entamoeba* (Amoebozoa); *Trichomonas* (Metamonada); *Naegleria* (Percolozoa); *Giardia* (Diplomonadida).

Consideration about multilevel actions on etiopathological agents and dipter vectors, of *Artemisia* phytoextracts, were carried out on malaria, leishmania pathology and African trypanosomiasis.

Introduzione

Questo contributo rappresenta la naturale prosecuzione della check-list pubblicata sugli effetti anti-virali, anti-batterici, anti-micotici ed allelopatici dei fitoestratti di *Artemisia* (Asteraceae) (Vicidomini, 2007a, 2007b). Sono state seguite le medesime metodiche di ricerca già menzionate nei due precedenti lavori. Questo contributo rappresenta il sesto contributo sugli utilizzi alternativi a quelli antimalarici dei fitoestratti di *Artemisia*.

Cito-tossici: Eucarya Protista (ex-Protozoa)	
Genere	Posizione Sistemática
<i>Cryptosporidium</i>	Alveolata: Apicomplexa: Eucoccidiorida
<i>Eimeria</i>	Alveolata: Apicomplexa: Eucoccidiorida
<i>Neospora</i>	Alveolata: Apicomplexa: Eucoccidiorida
<i>Toxoplasma</i>	Alveolata: Apicomplexa: Eucoccidiorida
<i>Plasmodium</i>	Alveolata: Apicomplexa: Haemosporida
<i>Babesia</i>	Alveolata: Apicomplexa: Piroplasmata
<i>Acanthamoeba</i>	Amoebozoa: Acanthopoda
<i>Entamoeba</i>	Amoebozoa: Amoebida
<i>Leishmania</i>	Excavata: Euglenozoa: Kinetoplastida: Trypanosomatida
<i>Trypanosoma</i>	Excavata: Euglenozoa: Kinetoplastida: Trypanosomatida
<i>Trichomonas</i>	Excavata: Metamonada: Trichomonadida
<i>Naegleria</i>	Excavata: Percolozoa: Schizopyrenida
<i>Giardia</i>	Metamonada: Diplomonadida

Artemisia: abrotanum, absinthium, annua, aucheri, herba-alba, indica, japonica, ludoviciana, maritima, nilagirica, persica, sieberi, tridentata.

Principi attivi: 1,8-cineolo, 1-butil-etere-artemisinina, 1-propil-etere-artemisinina, 4-Fl-fenil-artemisinina, alfa-artetere, artelinate, artemeter, artemetina, artemisinina, artemisone, artesunate, artetere, ascaridolo, beta-artetere, canfora, CH₃-etere-artemisinina, crisoplenetina, crisosplenolo-D, cirsilinolo, davanone, deidro-artemisinina, deossi-artelinate, oltre a 49 derivati sintetici più attivi dell'artemisinina ed elencati in Avery et al. (2003: tab.3); 4 derivati bromo-fenilici dell'artemisinina in Jones-Brando et al. (2006); epi-deossi-diidroartemisinina, friedelina, Scopoletina.

Bibliografia: Carlson et al., 1946; Jiang et al., 1985; Cooke et al., 1987; Chang & Pechere, 1988; Bajpai et al., 1989; Dutta et al., 1989; Ke et al., 1990; Pollack et al., 1990; Tawfik et al., 1990; Amato et al., 1991; Mendiola et al., 1991; Caillard et al., 1992; Liu et al., 1992; Torres et al., 1993; Yang & Liew, 1993; Holfels et al., 1994; Khalifa et al., 1994; Valecha et al., 1994; Gupta et al., 1995, 1998; Oh et al., 1995a, 1995b; Tripathi et al., 1996; Woods et al., 1996; You et al., 1996; Allen et al., 1997, 1998; Marley et al., 1997; Noh et al., 1997; Berens et al., 1998; Same-Eboko et al., 1999; Benoit-Vical et al., 2000; Dhingra et al., 2000; Sarciron et al., 2000; Chimanuca et al., 2001; Hatimi et al., 2001; Kiaei et al., 2001; Youn & Noh, 2001; Allen & Fetterer, 2002; Jung et al., 2002; Kim et al., 2002; Nacapunchai et al., 2002; Tjitra et al., 2002; Avery et al., 2003; Azadbakht et al., 2003; Kumar et al., 2003; Nagai et al., 2003; Fidalgo et al., 2004; Goodarzi et al., 2004; Jung et al., 2004; Ma et al., 2004; Moritz et al., 2004; Sciram et al., 2004; Dardonville, 2005; Fernandez et al., 2005; Tian et al., 2005; VanderMersh, 2005; Arab et al., 2006; Ganguly et al., 2006; Jones-Brando et al., 2006; Sadeghpour et al., 2006; Sharif et al., 2006; Li et al., 2007; Mishina et al., 2007.

Commento

Sono state censite 13 specie diverse di *Artemisia* utilizzate per i biosaggi contro i protozoi, identificando 20 diverse molecole attive oltre a quasi 60 derivati sintetici o semisintetici dell'artemisinina.

Diverse specie di Protisti non autotrofi e non Micoti (ex-protozoi) risentono negativamente dei fito-estratti di *Artemisia*, particolarmente **artemisinina** e suoi derivati sintetici. Tra questi vi sono certamente i sarco-flagellati *Acanthamoeba* (group II e *A. polyphaga*: in vitro), *Entamoeba histolitica* (in vitro), *Giardia lamblia* (in vitro), *Naegleria fowleri* (in vitro; in vivo), *Trichomonas vaginalis* (*A. abrotanum*, *A. absinthium*, *A. vulgaris*: Mendiola et al., 1991; Torres et al., 1993; Fidalgo et al., 2004. *A. annua*: Cooke et al., 1987; **alfa-artetere**, **beta-artetere**, Gupta et al., 1995, 1998; Dhingra et al., 2000; Nacapunchai et al., 2002; Tian et al., 2005. *A. aucheri*: Azadbakht et al., 2003. *A. ludoviciana*: Fernandez et al., 2005).

I due generi principali di Kinetoplastida risentono ugualmente dei fitoestratti, sia mediante saggi in vitro che in vivo, ovvero *Leishmania* (*amazonensis*, *braziliensis*,

donovani, infantum, major, mexicana, tropica. *A. abrotanum*: Fidalgo et al., 2004. *A. annua*: Yang & Liew, 1993; 49 derivati sintetici più attivi dell'artemisinina elencati tab.3 in Avery et al., 2003; **deidro-artemisinina**, Ma et al., 2004. *A. aucheri*: Sharif et al., 2006. *A. herba-alba*: Hatimi et al., 2001. *A. indica*: Ganguly et al., 2006) e diversi taxa di *Trypanosoma* (*brucei, cruzi, evansi, rhodesiense*. *A. annua*: Moritz et al., 2004; Dardonville, 2005; **artemisone, artemisinina, 4-Fl-fenil-artemisinina, deidroartemisinina**, Mishina et al., 2007).

Ovviamente un cospicuo numero di generi di Apicomplexa subiscono gli effetti tossici della **artemisinina** e derivati (**artelinate, artesunate, artemeter, artetere**, ecc.: *A. annua*), quali:

- *Toxoplasma gondii* (in vitro; in vivo), agente eziologico della toxoplasmosi (**artemisinina**, e derivati quali **CH3-etere-, 1-propil-etere-, 1butil-etere-**, Chang & Pechere, 1988; Ke et al., 1990; Amato et al., 1991; Tawfik et al., 1990; Holfels et al., 1994; Berens et al., 1998; Sarciron et al., 2000; **artemisinina, artemeter, 4 derivati bromo-fenilici**, Jones-Brando et al., 2006);

- *Babesia* che attacca equini e uomo (*B. caballi, B. equii, B. microti*: in vitro e in vivo);

- *Cryptosporidium parvum* (in vitro);

- *Eimeria* che infesta il pollame (*E. acervulina, E. tenella*; limitati effetti anche su *E. maxima, E. necatrix*; in vivo. *A. absinthium*: Zafar et al., 1990. *A. annua*: **artemisinina**, Oh et al., 1995a, 1995b; Woods et al., 1996; You et al., 1996; **artemisinina, canfora, 1,8-cineolo**, Allen et al., 1997; **artesunate**, Marley et al., 1997, **artemether** Chimanuca et al., 2001; Allen & Fetterer, 2002; **deossi-artelinato** Jung et al., 2002; Nagai et al., 2003; **artetere, artesunate**, Kumar et al., 2003; Goodarzi et al., 2004. *A. japonica, A. maritima A. nilagirica*: Valecha et al., 1994. *A. maritima*: Dreyfuss & Allais, 1987. *A. sieberi*: Kiaei et al., 2001; **artemisinina**, Arab et al., 2006. *A. tridentata*: Carlson et al., 1946; Noh et al., 1997; Allen et al., 1998; Youn & Noh, 2001; Kim et al., 2002; Jung et al., 2004; Sciram et al., 2004; VanderMersh, 2005);

- *Neospora caninum* (in vitro) che attacca diverse specie di mammiferi allevati (artemisinina da *A. annua*: Kim et al., 2002);

- *Plasmodium* (diversi agenti eziologici delle malarie, forse tutte le specie, sia in vitro che in vivo: *berghei, chabaudi, cynomolgi, falciparum, inui, knowlesi, ovale, petteri, vinckei, vivax*; Jiang et al., 1985; Bajpai et al., 1989; Dutta et al., 1989; Tripathi et al., 1996; Same-Eboko et al., 1999; Caillard et al., 1992; Benoit-Vical et al., 2000; Tjitra et al., 2002; Li et al., 2007). Attivo su *Plasmodium* è stato recentemente testato l'olio essenziale estratto da *A. persica*, attribuendo l'attività anti-plasmodica (più debole di quella dell'artemisinina) ai seguenti composti (estratti con metanolo): **Davanone, Friedelin, Ascaridolo, Scopoletin** (Sadeghpour et al., 2006). Del resto l'ascaridolo era già noto per i suoi effetti anti-*Plasmodium* (Pollack et al., 1990) ed anti-elmintici (*Ascaris, Necator, Trichuris*: Kliks, 1985). Coadiuvanti dell'artemisinina contro *Plasmodium* sono poi i fito-estratti di *A. annua* **artemetina, crisoplenetina, crisosplenolo-D, cirsillineolo**, estratti con cloroformio (Liu et al., 1992).

Conclusioni

Il gruppo maggiormente indagato è quello degli Apicomplexa, con ben 6 generi e 10 taxa in totale, oltre tutti quelli appartenenti a *Plasmodium*. Poichè essi condividono elementi cito-strutturali e metabolismo estremamente simili è molto plausibile che il numero di specie sensibili ai fitoestratti di *Artemisia* sia notevolmente superiore e diffuso a tutti i principali gruppi di Apicomplexa. Le principali molecole individuate sono tutte sesquiterpeni della famiglia dell'artemisinina e suoi derivati, sia naturali che modificati, anche se su *Eimeria* e

Plasmodium sono stati riconosciuti e saggiati positivamente anche componenti attivi degli olii essenziali.

L'importantissimo taxon degli Euglenozoa, con *Leishmania* (7 taxa) e *Trypanosoma* (4), rappresentano certamente la novità più interessante emersa negli ultimi anni dai biosaggi anti-microbici con fitoestratti di *Artemisia*, soprattutto per gli imponenti risvolti economici che si potrebbero ottenere verso i ceppi multi-resistenti. Sono i derivati dell'artemisinina a mediare i migliori effetti tossici su tali complesse cellule.

Le restanti 6 specie indagate appartengono a 5 generi differenti di 4 taxa molto diversi tra essi; i dati sono ancora pochi ma le prove di efficacia in vitro permettono di ampliare notevolmente il fronte tassonomico di azione contro i Protista non autotrofi, mediati dai fitoestratti di *Artemisia*. Anche in tal caso sono i derivati dell'artemisinina i responsabili degli effetti tossici.

Prospettive

I fitoestratti di *Artemisia* si sono già dimostrati potenzialmente ad elevato impatto economico per quanto concerne possibili trattamenti anti-microbici contro svariati agenti eziologici animali, vegetali e addirittura umani (Vicidomini, 2007a, 2007b), spaziando da target quali virus, batteri, cianobatteri e micoti. Con la presente rassegna si evidenziano ancor più i possibili risvolti economici di una eventuale produzione industriale di tali fitoestratti in quanto i target individuati sono tra i più noti protozoi parassiti dell'uomo e degli animali domestici. Infatti solo negli Apicomplexa si annidano diversi miliardi di dollari annui perduti a causa delle diverse coccidiosi aviarie, babesiosi equine, malarie varie e toxoplasmosi; se poi a ciò vi aggiungiamo target quali *Giardia*, *Trichomonas* e i Kinetoplastida si raggiungono livelli davvero ragguardevoli, anche se confinati nelle aree meno sviluppate del mondo.

Un aspetto molto interessante che riguarda Kinetoplastida e *Plasmodium* è la possibilità di intervenire a più livelli nel ciclo biologico della malattia e del suo agente eziologico. È teoricamente possibile un impiego dei fitoestratti di *Artemisia* nella profilassi anti-dittero come dimostrato in Vicidomini (2007c) in quanto sono risultati tossici e repellenti per gli adulti (mosche e zanzare), tossici e teratogenetici per le rispettive larve, particolarmente per le zanzare. Pertanto è plausibile un loro impiego preventivo nei confronti del vettore malarico, che è bene ricordare trattasi dell'adulto femmina delle zanzare *Anopheles* (Culicidae) per i *Plasmodium* con ospite finale l'uomo (malaria dell'uomo) e di *Culex* e *Aedes* (Culicidae) per i *Plasmodium* con ospite finale uccelli e altri mammiferi. Proprio su questi generi di zanzare infatti i fitoestratti di *Artemisia* si sono dimostrati particolarmente efficaci (Vicidomini, 2007c). Si può quindi ipotizzare che tramite sprai, fumigazioni e/o i diretti principi attivi individuati, si possa giungere ad una protezione delle popolazioni soggette ai vettori malarici tramite le proprietà repellenti dimostrate. Pertanto mediante semplici trattamenti di finestre, camere da letto, eventuali teli anti-zanzara e stalle per animali, con questi fitoestratti, è possibile ottenere un'ottima repellenza contro gli stadi immaginali dei Culicidae. Il potere larvicida di tali fitoestratti poi dona la possibilità di attaccare anche gli stadi acquatici delle zanzare, rafforzando ulteriormente la possibile lotta preventiva ai vettori malarici, mediante la bonifica delle circostanti raccolte d'acqua stagnante di città e villaggi in territori malarici. Si intravede quindi la possibilità di realizzare una lotta totale alle malarie agendo sia verso l'adulto del dittero vettore con i repellenti, sia verso le sue larve con le molecole larvicide e teratogenetiche, che contro l'agente eziologico stesso (*Plasmodium*) con la ben nota attività cito-tossica dell'artemisinina e suoi derivati. Gli effetti anti-*Anopheles* sono maggiormente importanti in quanto in un recente studio su tali zanzare in Francia meridionale è emerso che almeno una specie (*A.*

hyrcanus), presente anche in tutta Italia (<http://www.faunaitalia.it/>), potrebbe efficientemente fungere da vettore malarico (Vicidomini, 2007c).

Anche in altre due classi di malattie protozoarie sono coinvolti ditteri vettori: leishmaniosi e trypanosomiasi africane (e.g.: malattie del sonno). I ditteri coinvolti sono: *Phlebotomus* (Psychodidae) largamente presenti anche in Italia (<http://www.faunaitalia.it/>) e con larve acquatiche (leishmaniosi); *Glossina* (Glossinidae), presenti solo in Africa a sud del Sahara, con stadi larvali ritenuti nell'addome della madre e poi impupantisi al suolo (trypanosomiasi africane). Dai dati passati in rassegna in Vicidomini (2007c) è pertanto molto probabile che anche le leishmaniosi siano attaccabili a livello del vettore coi fitoestratti di *Artemisia*, e sarebbe estremamente utile poter eseguire biosaggi su queste specie, da estendere poi anche ai Glossinidae.

Ringraziamenti

Per l'insostituibile aiuto nella raccolta della bibliografia si ringraziano S. Aceto (Ist. Genetica, Federico II, Napoli), M. Gebiola, U. Bernardo, G. Parrella (IPP-CNR Portici), G. Russo (Ist. Silvestri, Federico II, Portici), S. Perucci e M. Macchioni (Pisa), S. Predieri, R. Baraldi, G. Marconi (IBiMet-CNR Bologna), C. Vender (C.R.A. Villazzano), Prof. N.C. Sukul (India) e Prof. J. Keiser (Svizzera). Inoltre si ringrazia il Dr. Moraldo per la consulenza sul genere *Artemisia* in Campania. Un ringraziamento particolare va al Dr. M. Forrest (J. of Chemotherapy) per la consulenza bibliografica fornita e al Dr. F. Raimo (I.S.T., sede di Scafati) per il supporto logistico. Questo lavoro è parte del progetto Co.Al.Ta. (Reg.CEE2182/02) fase II.

Bibliografia

Allen P.C., Danforth H.D., Augustine P.C., 1998 - Dietary modulation of avian coccidiosis. - *Internat. J. Parasitol.*, 28(7): 1131-1140.

Allen P.C., Fetterer R.H., 2002 - Recent advances in biology and immunobiology of *Eimeria* species and diagnosis and control of infection with these coccidian parasites of poultry. - *Clin. Microbiol. Rev.*, 15(1): 58-65.

Allen P.C., Lyndon J., Danforth H.D., 1997 - Effects of components of *Artemisia annua* on coccidia infections in chickens. - *Poultry Sci.*, 76: 1156-1163.

Amato N.V., Braz I.M., Campos R., Pinto P.L., Moreira A.A., Boulos M., Nahkle M.C., 1991 - Eventual effect of artemisinin on the experimental infection of mice by *Toxoplasma gondii*. - *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, 24(3): 141-143.

Arab H.A., Rahbari S., Rassouli A., Moslemi M.H., Khosravirad F., 2006 - Determination of artemisinin in *Artemisia sieberi* and anticoccidial effects of the plant extract in broiler chickens. - *Trop. Anim. Health Prod.*, 38(6): 497-503.

Avery M.A., Muraleedharan K.M., Desa P.V., Bandyopadhyaya A.K., Furtado M.M., Tekwani B.L., 2003 - Structure-activity relationships of the antimalarial agents artemisinin. 8. Design, synthesis, and CoMFA studies towards the development of artemisinin-based drugs against leishmaniasis and malaria. - *J. Med. Chem.*, 46(20): 4244-4258.

Azadbakht M., Ziai H., Abdollahi F., Shabankhani B., 2003 - Effect of essential oils of *Artemisia aucheri* Boiss., *Zataria multiflora* Boiss. and *Myrtus communnis* L. on *Trichomonas vaginalis*. - *J. Med. Plant*, 8: 35-40.

Bajpai R., Dutta G.P., Vishwakarma R.A., 1989 - Blood schizontocidal activity of a new antimalarial drug, artheeter (alpha/beta), against *Plasmodium knowlesi* in rhesus monkeys. - *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 83(4): 484.

- Benoit-Vical F., Robert A., Meunier B., 2000 - In vitro and in vivo potentiation of artemisinin and synthetic endoperoxide antimalarial drugs by metalloporphyrins. - *Antimicrob. Ag. Chemother.*, 44(10): 2836-2841.
- Berens R.L., Krug E.C., Nash P.B., Curiel T.J., 1998 - Selection and characterization of *Toxoplasma gondii* mutants resistant to artemisinin. - *J. Infect. Dis.*, 177(4): 1128-1131.
- Caillard V., Beaute L.A., Chabaud A.G., Landau I., 1992 - *Plasmodium vinckei petteri*: identification of the stages sensitive to arteether. - *Exper. Parasitol.*, 75(4): 449-456.
- Carlson H.J., Bissell H.D., Mueller M.G., 1946 - Antimalarial and antibacterial substances separated from higher plants. - *J. Bacteriol.*, 52(2): 155-168.
- Chang H.R., Pechere J.C., 1988 - Arteether, a qinghaosu derivative, in toxoplasmosis. - *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 82: 867.
- Chimanuca B., Francois G., Timperman G., VanderHeyden Y., Holenz J., Plaizier V.J., Bringmann G., 2001 - A comparison of the stage-specific efficacy of cloroquine, artemether and dioncophylline B against rodent malaria parasite *Plasmodium chabaudi chabaudi* in vivo. - *Parasitol. Rev.*, 87: 795-803.
- Cooke D.W., Lallinger G.J., Durack D.T., 1987 - In vitro sensitivity of *Naegleria floweri* to qinghaosu and dihydroqinghaosu. - *J. Parasitol.*, 73: 411-413.
- Dardonville C., 2005 - Recent advances in antitrypanosomal chemotherapy: patent literature 2002-2004. - *Expert Opin. Ther. Patents*, 15(9): 1241-1257.
- Dhingra V., Pakki S.R., Narasu M.L., 2000 - Antimicrobial activity of artemisinin and its precursors. - *Curr. Sci.*, 78(6): 708-713.
- Dutta G.P., Bajpai R., Vishwakarma R.A., 1989 - Comparison of antimalarial efficacy of artemisinin (qinghaosu) and arteether against *Plasmodium cynomolgi* B infection in monkeys. - *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 83(1): 56-57.
- Fernandez S.S., Guerra R.M.C., Mata C.B.D., Vargas V.J., Villareal-Trevino L., 2005 - In vitro antiprotozoal activity of the leaves of *Artemisia ludoviciana*. - *Fitoterapia*, 76(5): 466-468.
- Fidalgo L.M., Ramos I.S., Alvarez A.M.M., Lorente N.G., Lizama R.S., Payrol J.A., 2004 - Propiedad antiprotozoarias de aceites esenciales extraídos de plantas cubanas. - *Rev. Cubana Med. Trop.*, 56(3): 230-233.
- Ganguly S., Bandyopadhyay S., Bera A., Chatterjee M., 2006 - Antipromastigote activity of an ethanolic extract of leaves of *Artemisia indica*. - *Indian J. Pharmacol.*, 38(1): 64-65.
- Goodarzi M.T., Yeganehparast M., Esmailinia K., 2004 - Anticoccidial effects of *Artemisia annua* on *Eimeria tenella* in broilers and comparison with salinomycin and amprolium. - *Anim. Fish. Sci.*, 61: 70-75.
- Gupta D., Dutta G.P., Vishwakarma R.A., 1998 - Effect of alfa-, beta-artether against primary amoebic meningoencephalitis in Swiss mice. - *Indian J. Exper. Biol.*, 36(8): 824-825.
- Gupta S., Ghosh P.K., Dutta G.P., Vishwakarma R.A., 1995 - In vivo study of artemisinin and its derivatives against primary amoebic meningoencephalitis caused by *Naegleria fowleri*. - *J. Parasitol.*, 81(6): 1012-1013.
- Hatimi S., Boudouma M., Bichichi M., Chaib N., Idrissi N.G., 2001 - Evaluation in vitro de l'activité antileishmanienne d'*Artemisia herba-alba* Asso. - *Bull. Soc. Pathol. Exot.*, 94(1): 29-31.
- Holfels E., McAuley J., Mack D., Milhous W.K., McLeod R., 1994 - In vitro effects of artemisinin ether, cycloguanil hydrochloride (alone and in combination with sulfadiazine), quinine sulfate, mefloquine, primaquine phosphate, trifluoperazine hydrochloride, and verapamil on *Toxoplasma gondii*. - *Antimicrob. Ag. Chemother.*, 38: 1392-1400.

Jiang J.B., Jacobs G., Liang D.S., Aikawa M., 1985 - Qinghaosu-induced changes in the morphology of *Plasmodium inui*. - Amer. J. Trop. Med. Hyg., 34(3): 424-428.

Jones-Brando L., D'Angelo J., Posner G.H., Yolken R., 2006 - In vitro inhibition of *Toxoplasma gondii* by four new derivatives of artemisinin. - Antimicrob. Agr. Chemother., 50(12): 4206-4208.

Jung M., Lee K., Kendrick H., Robinson B.L., Croft S.L., 2002 - Synthesis stability and antimalarial activity of a new hydrolytically stable and water soluble (+)-deoxoartelinic acid. - J. Med. Chem., 45(22): 4940-4944.

Jung M., Lee K., Kim H., Park M., 2004 - Recent advances in artemisinin and its derivatives as antimalarial and antitumor agents. - Curr. Med. Chem., 11(10): 1265-1284.

Ke O.Y., Krug E.C., Marr J.J., Berens R.L., 1990 - Inhibition of growth of *Toxoplasma gondii* by qinghaosu and derivatives. - Antimicrob. Ag. Chemother., 34(10): 1961-1965.

Khalifa S.I., Baker J.K., Rogers R.D., ElFeraly F.S., Hufford C.D., 1994 - Microbial and mammalian metabolism studies of the semisynthetic antimalarial anhydrodihydroartemisinin. - Pharma. Res., 11(7): 990-994.

Kiaei M.M., Rahbari S., Modirsanei M., Rahimi R., Aref P.R., 2001 - The effect of *Artemisia sieberi* and a chemical anti-coccidial drug on control of coccidiosis and broiler chicks performance. - J. Fac. Veter. Med. Univ. Tehran, 56(4): ar53-ar57.

Kim J.T., Park J.Y., Seo H.S., Oh H.G., Noh J.W., Kim J.H., Kim D.Y., Youn H.J., 2002 - In vitro antiprotozoal effects of artemisinin on *Neospora caninum*. - Veter. Parasitol., 103(1/3): 53-63.

Kliks M.M., 1985 - Studies on the traditional herbal antihelmintic *Chenopodium ambrosioides* L.: ethnopharmacological evaluation and clinical field trials. - Soc. Sci. Med., 21(8): 879-886.

Kumar S., Gupta A.K., Pal Y., Dwivedi S.K., 2003 - *In-vitro* therapeutic efficacy trial with artemisinin derivative, buparvaquone and imidocarb dipropionate against *Babesia equi* infection in donkeys. - J. Vet. Med. Sci., 65(11): 1171-1177.

Li Q., Xie L.H., Johnson T.O., Si Y., Haerberle A.S., Weina P.J., 2007 - Toxicity evaluation of artesunate and artelinate in *Plasmodium berghei*-infected and uninfected rats. - Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 101(2): 104-112.

Liu C.S.C.K., Yang S.L., Roberts M.F., Elford B.C., Philipson J.D., 1992 - Antimalarial activity of *Artemisia annua* flavonoids from whole plants and cell cultures. - Plant Cell Rep., 11(12): 637-640.

Ma Y.A.O., Lu D.M.A., Lu X.J.A.D., Liao L.A.A., Hu X., 2004 - Activity of dihyartemisinin against *Leishmania donovani* both in vitro and in vivo. - Chinese Med. J., 117(8): 1271-1273.

Marley S.E., Eberhard M.L., Steurer F.J., Ellis W.L., McGreevy P.B., Ruebush T.K.II, 1997 - Evaluation of selected antiprotozoal drugs in the *Babesia microti*-hamster model. - Antimicrob. Ag. Chemother., 41: 91-94.

Mendiola J., Bosa M., Perez N., Hernandez H., Torres D., 1991 - Extracts of *Artemisia abrotanum* and *A. absinthium* inhibit growth of *Naegleria fowleri* in vitro. - Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 85(1): 78-79.

Mishina Y., Krishna S., Haynes R.K., Meade J.C., 2007 - Artemisinin inhibit *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma brucei rhodense* in vitro growth. - Antimicrob. Ag. Chemother., 51: in press.

Moritz E., Seidensticker S., Gottwald A., Maier W., Hoerauf A., Njuguna J.T., Kaiser A., 2004 - The efficacy of inhibitor involved in spermidine metabolism in *Plasmodium falciparum*, *Anopheles stephensi* and *Trypanosoma evansi*. - Parasitol. Res., 94: 37-48.

- Nacapunchai D., Phadungkul K., Kaewcharus S., 2002 - In vitro effect of artesunate against *Acanthamoeba* spp. - S.E. Asian J. Trop. Med. Pub. Health., 33(suppl.3): 49-52.
- Nagai A., Yokoyama N., Matsuo T., Bork S., Hirata H., Xuan X., Zhu Y., Claveria F.G., Fujisaki K., Igarashi I., 2003 - Growth-inhibitory effects of artesunate, pyrimethamine, and pamaquine against *Babesia equi* and *Babesia caballi* in in vitro cultures. - Antimicrob. Ag. Chemoth., 47(2): 800-803.
- Noh J.W., Youn H.J., Jang D.H., 1997 - The anticryptosporidial effects of sulfadimethoxine, toltrazuril and the extracts of herbs for *Cryptosporidium parvum* isolated from mouse in Korea. - Kor. J. Lab. Anim. Sci., 13: 161-165.
- Oh H.G., Youn H.J., Noh J.W., Jang D.H., Kang Y.B., 1995a - Anticoccidial effects of an extract of *Artemisia annua* on *Eimeria tenella*. - Korean J. Veter. Res., 35(1): 115-121.
- Oh H.G., Youn H.J., Noh J.W., Jang D.H., Kang Y.B., 1995b - Anticoccidial effects of artemisinin on *Eimeria tenella*. - Korean J. Veter. Res., 35(1): 123-130.
- Pollack Y., Segal R., Golenser J., 1990 - The effect of ascaridole on the in vitro development of *Plasmodium falciparum*. - Parasitol. Res., 76(7): 570-572.
- Sadeghpour O., Asghari G., Ardekani M.R.S., Jaroszewski J.W., 2006 - Phytochemical study of *Artemisia persica* Boiss. and evaluation of its antiplasmodial activity. - Planta Med., 72(11): p.136.
- Same-Eboko A., Iohoue J., Essono E., Ravinet L., Ducret J.P., 1999 - Rapid resolution of *Plasmodium ovale* malarial attacks using artesunate (Arsumax). - Med. Trop., 59(1): 43-45.
- Sarciron M.E., Saccharin C., Petavy A.F., Peyron F., 2000 - Effects of artesunate, dihydroartemisinin, and an artesunate-dihydroartemisinin combination against *Toxoplasma gondii*. - Amer. J. Trop. Med. Hyg., 62(1): 73-76.
- Sciram D.R.V.S., Chandrasekhara K.V., Yogeewari P., 2004 - Progress in the research of artemisinin and its analogues as antimalarials: an update. - Nat. Prod. Res., 18(6): 503-527.
- Sharif M., Ziaei H., Azadbakht M., Daryani A., Ebadattalab A., Rostami M., 2006 - Effects of methanolic extracts of *Artemisia aucheri* and *Camellia sinensis* on *Leishmania major* (in vitro). - Turk. J. Med. Sci., 36(6): 365-369.
- Tawfik A.F., Bishop S.J., Ayalp A., El-Ferally F.S., 1990 - Effects of artemisinin, dihydroartemisinin and arteether on immune response of normal mice. - Internat. J. Immunopharma., 12: 385-389.
- Tian X.F., Lu S.Q., Liu Y.M., Wang F.Y., Huang S., 2005 - Effect of dihydroartemisinin on ultrastructure of *Giardia lamblia* in vitro. - Zhongguo Ji Sheng Chong Xue Ji Sheng Chong Bing Za Zhi, 23(5): 292-295.
- Tijtra E., Baker J., Suprianto S., Cheng Q., Anstey N.M., 2002 - Therapeutic efficacies of artesunate- sulfadoxine- pyrimethamine and chloroquine- sulfadoxine- pyrimethamine in *vivax* malaria pilot studies: relationships to *Plasmodium vivax* dhfr mutations. - Antimicrob. Ag. Chemother., 46(12): 3947-3953.
- Torres D., Perez N., Bosst M., Menidola J., Hernandez H., 1993 - Sensibilidad de *Giardia lamblia* a extractos de *Artemisia absinthium* y *Artemisia vulgaris* in vitro. - Rev. Cubana Med. Trop., 45(3): 170-172.
- Tripathi R., Puri S.K., Dutta G.P., 1996 - Sodium beta-artelinate: a new potential gametocytocide. - Exper. Parasitol., 82(3): 251-254.
- Valecha N., Biswas S., Badoni V., Bhandari K.S., Sati O.P., 1994 - Antimalarial activity of *Artemisia japonica*, *Artemisia maritima* and *Artemisia nilagirica*. - Indian J. Pharmacol., 26(2): 144-146.
- VanderMersh H., 2005 - Review of the use of ertemisinin and its derivatives in the treatment of malaria. - J. Pharmacol. Belg., 60: 23-29.

Vicidomini S., 2007a - Proprietà alternative dei fitoestratti di *Artemisia* (Asteraceae): check-list di Virus, Procarioti, Micoti, trattabili con fitoestratti di *Artemisia*. Contributo sulla agro-ecologia delle colture oggetto del progetto Co.Al.Ta. - Natur. Campano (Pubbl. Aperiod. Mus. Nat. Alburni, C. Monforte), n.10.

Vicidomini S., 2007b - Proprietà alternative dei fitoestratti di *Artemisia* (Asteraceae): allelopatia. Contributo sulla agro-ecologia delle colture oggetto del progetto Co.Al.Ta. - Natur. Campano (Pubbl. Aperiod. Mus. Nat. Alburni, C. Monforte), n.13.

Vicidomini S., 2007c - Proprietà alternative dei fitoestratti di *Artemisia* (Asteraceae): possibile impiego a monte nel controllo della malaria grazie agli effetti repellenti, tossici e teratogenetici sui Diptera. Contributo sulla agro-ecologia delle colture oggetto del progetto Co.Al.Ta. - Natur. Campano (Pubbl. Aperiod. Mus. Nat. Alburni, C. Monforte), n.12.

Woods K.M., Nesterenko M.V., Upton S.J., 1996 - Efficacy of 101 antimicrobials and other agents on the development of *Cryptosporidium parvum in vitro*. - Ann. Trop. Med. Parasitol., 90(6): 603-615.

Yang D.M., Liew F.Y., 1993 - Effects of qinghaosu (artemisinin) and its derivatives on experimental cutaneous leishmaniasis. - Parasitol., 106: 7-11.

You X., Arrowood M.J., Lejkowski M., Xie L., Schinazi R.F., Mead J.R., 1996 - In vitro evaluation of anticryptosporidial agents using MDCK cell culture and chemoluminescence immunoassay. - J. Eucar. Microbiol., 43(5): 87S.

Youn H.J., Noh J.W., 2001 - Screening of the anticoccidial effects of herb extracts against *Eimeria tenella*. - Veter. Parasitol., 96(4): 257-263.