

Screening for Herbs Having Inhibitory Effect on Egg Hatching of *Strongyloides venezuelensis*

Byeong-Soo Kim[†] and Byeong-Kirl Baek¹

Department of Clinical Pathology, Sohae College, Kunsan 573-717, Korea,

¹College of Veterinary Medicine, Chonbuk National University, Chonju 561-756, Korea

In vitro bioassays of aqueous extracts of 25 herbal species were performed by ovicidal activity against *Strongyloides venezuelensis*. 500 mg of feces from Mongolian gerbil infected with *S. venezuelensis* were placed into polyvinyl culture with extracts of herb and anthelmintic drugs in triplicates. Larval activity inside the polyvinyl bag was recorded microscopically at 12 hours, and every 24 hours thereafter for up to 72 hrs incubation. Eggs were not hatched within 72 hrs and degeneration was evident in the presence of extracts. The ovicidal activity characterized by the absence of L₃ in fecal cultures inside the polyvinyl bag.

1. Among 25 herbs, 12 herbs had ovicidal effects and caused degeneration of larvae in egg. *S. angustifolia*, *I. helenium*, *A. korenum*, *P. tenuifolia*, *F. virridissima*, *A. asiatica*, *S. chinensis*, *A. tataricus*, *S. baicalensis*, *M. rimosa*, *S. glabra* and *Z. piperitum* were the most ovicidal effect. However, *P. thunbergiana*, *T. chinensis*, *C. flos*, *G. uralensis*, *C. obtusifolia*, *C. fortunei*, *A. koreana*, *P. grandiflorum*, *P. tenuifolia* (*Radix*), *P. mume* and *A. asphodelodes* showed no ovicidal effects in vinyl bag culture.

2. Of 25 herbs, 4 herbs had ovicidal and wormicidal effects, *P. thunbergiana*, *C. flos*, *B. striata* and *T. chinensis* were characterized by degeneration of larvae.

Key Words: *Strongyloides venezuelensis*, Wormicidal activity, Herbs

서 론

Strongyloides venezuelensis (Brumpt, 1934)는 쥐에 기생하는 인수공통선충류의 하나로서 시험관내 배양이 가능하여 기생충 관련 연구에 적합한 모델로서 제시된 바 있다^{9,19,20}. *S. venezuelensis*의 생활사는 기생형과 자유생활형으로 구분되며, 기생형의 경우는 감염형인 사상형 자충 (filarial form)이 경피 감염 등을 통해 숙주에 감염된 후 폐, 기관 그리고 인두를 이행한 뒤 장에 이르게 되며, 숙주동물이나 감염경로에 따라서 그 생활사가 다양한 것으로 보고된 바 있다^{9,19}. 국내에서는 저자 등^{6,7}이 자유생활형 자충의 성장과 발육상태를 *in vitro* 상에서 배양하여 개대할 수 있는 조건을 확립하고, 발육단계별 생존율과 형태적 변화 그리고 *Nippostrongyloides brasiliensis*와의 부분적 교차저항관계에 대한 연구를 수행한 바 있다⁸.

본 연구에서는 저자 등^{17,18}이 간흡충에 대한 살충성 약제를 색출하기 위하여 사용된 바 있는 223여종의 한약제 중에서 간흡충에 살충 효과가 확인된 25종의 한약제를 *S. venezuelensis* 충란과 함께 polyvinyl bag에 넣어 배양한 후 이들 한약제의 충란 부화 억제 효과를 확인하였기에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 기생충체의 유지

기생충의 유지 보존을 위하여 *S. venezuelensis*를 Mongolian gerbil에 감염시킨 뒤 전보^{6,7}의 방법으로 사육장에서 고형사료와 물을 자유 급식하여 사육하였고, 매일 청소하여 사육장내 청결을 유지하였다.

2. 충란의 회수 및 생약의 접종

*S. venezuelensis*의 충란이 함유된 mongolian gerbil의 분변을 vinyl bag에 넣은 다음, 생리식염수와 25종의 생약 추출물 1 ml를 넣은 후 밀봉하여 20°C BOD 배양기에 넣은 후 24시간 단위로 72시간 관찰하였다. 즉, *S. venezuelensis*를 mongolian

*논문 접수: 2002년 11월 7일

수정제 접수: 2002년 11월 21일

[†]별책 요청 저자: 김병수, (우) 573-717 전북 군산시 오룡동 832-1, 서해대학 임상병리과

Tel: 063-460-9255, 9259, e-mail: bskim@sohae.ac.kr

Table 1. The Ovicidal effects against the Egg of *Strongyloides venezuelensis* in herb extracts

Scientific Names	Time (Hrs)	Time (Hrs)				
		6	12	24	48	72
<i>Pueraria thunbergiana</i> (Radix)	갈근	○	○	○	◆	
<i>Trichosanthis semen</i>	과루인	×	×	×	○	○
<i>Chrysanthemum flos</i>	제충국	×	×	○	○	◆
<i>Glycyrrhiza uralensis</i>	감초	×	○	○	○	○
<i>Cassia obtusifolia</i>	결명자	×	○	○	○	○
<i>Sophora angustifolia</i>	고삼	×	×	×	×	×
<i>Cryptomium fortunei</i>	관중	×	×	○	○	○
<i>Angelica koreana</i>	강활	×	×	○	○	○
<i>Platycodon grandiflorum</i>	길경	×	×	○	○	○
<i>Inula helenium</i>	토목향	×	×	×	×	×
<i>Aconitum korenum</i>	백부자	×	×	×	×	×
<i>Bletilla striata</i>	백급	×	○	○	○	◆
<i>Polygala tenuifolia</i> (Herb)	소초	×	×	×	×	×
<i>Polygala tenuifolia</i> (Radix)	원지	×	×	×	○	○
<i>Forsythia virridissima</i>	연교	×	×	×	×	×
<i>Artemisia asiatica</i>	쑥	×	×	×	×	×
<i>Prunus mume</i>	오매	×	×	×	○	○
<i>Schizandra chinensis</i>	오미자	×	×	×	×	×
<i>Aster tataricus</i>	자원	×	×	×	×	×
<i>Anemarrhena asphodelodes</i>	지모	×	×	○	○	○
<i>Scutellaria baicalensis</i>	황금	×	×	×	×	×
<i>Machilus rimosa</i>	후박	×	×	×	×	×
<i>Thesium chinensis</i>	하고초	○	○	○	○	◆
<i>Smilax glabra</i>	토복령	×	×	×	×	×
<i>Zanthoxylum piperitum</i>	천속	×	×	×	×	×
Saline solution		×	○	○	○	○

○: Hatching of Eggs, ×: Did not hatching until 72 hrs, ◆: Death after hatching

gerbil에 감염시켜 유지해온 총란 함유 분변 0.1 mg를 취하여 탈지면 (4×10 cm)을 얇게 펴 넣은 polyvinyl bag에 넣고 생약 추출물 넣은 후 밀봉하여 20℃ 배양기에서 72시간 동안 배양하면서 매 24시간 간격으로 제3기 자충의 운동성을 광학현미경으로 관찰하였다.

3. 자충 부화 억제 효과 관찰

Polyvinyl bag에 배양하여 얻은 자유생활 감염형 자충 (L₃)의 운동성을 6시간마다 광학현미경하에서 Satou 등¹⁹⁾의 방법을 보완하여 motility (자유운동성)과 velocity (운동속도)를 측

Table 2. Comparison the hatching time of *Strongyloides venezuelensis* egg with 28 herb extracts

Hatching Time	Name of Herbs
≤6 hrs	<i>P. thunbergiana</i> , <i>T. chinensis</i>
≤12 hrs	<i>G. uralensis</i> , <i>C. obtusifolia</i> , <i>B. striata</i>
≤24 hrs	<i>P. grandiflorum</i> , <i>C. flos</i> , <i>A. koreana</i> , <i>A. asphodelodes</i>
≤48 hrs	<i>T. semen</i> , <i>P. tenuifolia</i> , <i>P. mume</i>
Survive more than 72 hrs	<i>T. semen</i> , <i>G. uralensis</i> , <i>A. koreana</i> , <i>C. obtusifolia</i> , <i>C. fortunei</i> , <i>A. koreana</i> , <i>P. tenuifolia</i> , <i>A. asphodelodes</i>
Nonhatch within 72 hrs	<i>S. angustifolia</i> , <i>I. helenium</i> , <i>A. korenum</i> , <i>P. tenuifolia</i> , <i>F. virridissima</i> , <i>A. asiatica</i> , <i>S. chinensis</i> , <i>M. rimosa</i> , <i>S. glabra</i> , <i>Z. piperitum</i>

정하여 다음 식에 의하여 수행하였다. 즉, 한약제 추출물 1 ml와 자충 1 ml를 시계접시에 취하여 기생충의 운동성과 속도를 현미경에서 관찰하였으며, 그 공식은 motility (%) × velocity (%) / 100 이었다. 대조실험으로 약제 대신 생리적 식염수만을 넣어 같은 방법으로 관찰하여 이를 100% 기준으로 하였다.

4. 총란 부화 억제 생약제 선발 및 수용성 추출액 준비

Rhee 등 (1982)¹⁷⁾에 의해 간흡충의 살충성 물질 분석에 사용된 바 있는 한약제들 중에 효과가 있는 것으로 보고한 갈근 외 25종의 생약제를 시중 한약제 상에서 구입하여 각 한약제 25 g를 증류수 100 ml에 가하고 100℃에서 3시간 동안 냉각 환류 장치에서 추출한 액 50 ml을 냉장 보관하여 분석 실험에 사용하였다.

결 과

1. 총란에 대한 부화 억제 생약 검색

본 실험에 사용된 한약제는 Table 1에 표시한 25종의 생약으로 그 수용성 추출액을 vinyl bag에 넣은 후 72시간 부화 여부를 관찰하였던 바, *P. thunbergiana*과 *T. chinensis*는 6시간째에 부화하여 몇 시간 생존하였으며, 이후 자충이 사멸한 예는 Table 1에서 ◆로 표시한 바와 같이 *P. thunbergiana*에서는 48시간 이후에는 거의 모든 자충이 사멸되었으며, 부화된 후 몇 시간 생존 후에 *C. flos*, *B. striata* 그리고 *T. chinensis* 등은 72시간 이후에 모두 사멸하였다.

2. 총란의 부화를 억제시킨 생약

25종의 생약의 수용성 추출물에서 *S. venezuelensis*의 총란

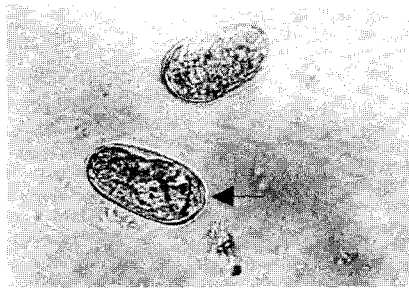


Fig. 1. Light Photomicrographs of Normal Egg of *S. venezuelensis*. Arrow: Larvae in Embryonated Egg

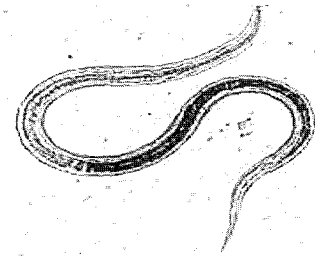


Fig. 3. Light Photomicrographs of free living L₃ filaria larvae after Egg hatched of *S. venezuelensis* in the vinylbag culture.

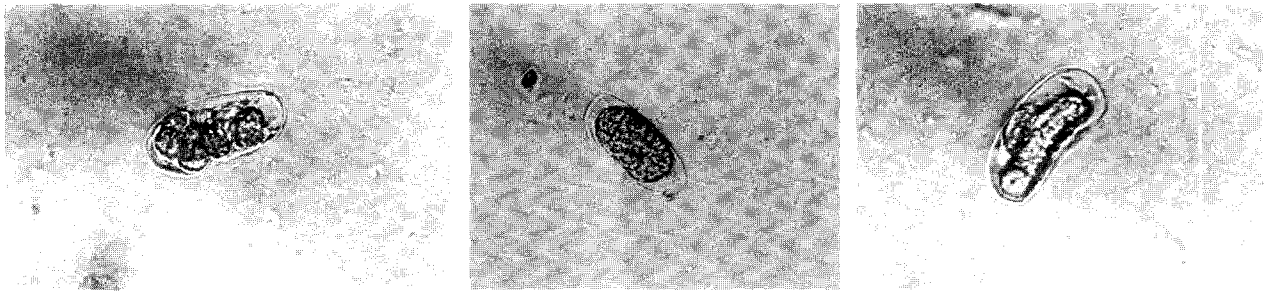


Fig. 2. Light Photomicrographs of Abnormal Egg of *S. venezuelensis*. Unhatched egg; Exposed to Herbs

을 전혀 부화시키지 못하였거나 부화를 시켰지만 즉시 살충함으로서 광학현미경하에서 72시간이 경과하여도 부화를 관찰하지 못했던 생약으로서는 Table 1에서 보는 바와 같이 12종이 있었다. 즉, *S. angustifolia*, *I. helenium*, *A. korenium*, *P. tenuifolia*, *F. virridissima*, *A. asiatica*, *S. chinensis*, *A. tataricus*, *S. baicalensis*, *M. rimosa*, *S. glabra*, *Z. piperitum* 등을 색출할 수 있었다.

3. 총란의 부화 시간 비교

생약제 중에는 부화한 시간은 각기 달라서 Table 2에서 보는 바와 같이 *P. thunbergiana*과 *T. chinensis*의 경우는 6시간째부터 총란의 부화에 따른 자충의 활발한 운동성을 나타내었으며, *G. uralensis*, *C. obtusifolia*와 *B. striata* 등은 12시간째부터, *C. flos*, *A. koreana*, *P. grandiflorum*와 *A. asphodelodes* 등은 24시간째부터 그리고 *T. semen*, *P. tenuifolia* 그리고 *P. mume* 등은 48시간째부터 총란의 부화에 따른 자충의 활동성을 확인할 수 있었다.

4. 부화 자충에 대한 살충 효과

25종의 생약의 수용성 추출을 넣은 polyvinyl bag 내에서 총란이 부화된 후, 몇 시간 생존을 하였다가 살충된 예는 Table 1에 보는 바와 같이 *P. thunbergiana*, *C. flos* 그리고 *B. striata* 등에서 관찰할 수 있었다.

5. 부화 억제된 총란의 형태

12종의 총란 부화를 억제시켰던 생약들을 대부분 총란의 퇴행성 변화를 가져왔다. 즉, *I. helenium*을 넣은 예에서는 정상적인 발육 (생리식염수 군)한 총란 (Fig. 1)에 비하여 심한 퇴행성 변화를 가져왔다 (Fig. 2). 또한 총란 부화 (egg-hatch)된 예에 있어서는 자유형의 3기 자충이 활발한 운동성을 나타내고 있었다 (Fig. 3).

고 찰

동양의학에서의 기원전 300여 년경의 황제내경 (皇帝內經) 영추경 (靈樞經)에 장내 기생충을 기록 (양유절편 1997)과 752년경에는 인체기생충을 구충 (九蟲), 五臟蟲, 그리고 삼척충 (三尺蟲)으로 구분된 바도 있으며, 생약으로부터 살충성 물질을 분리하여 구충제로 사용한 역사 기록이 있으며, 현재 이용되고 있는 약용식물은 형태적인 특징, 구조, 유효성분, 약효 등이 각기 달라 식물학적 분류와 약용부위에 따른 분류, 유효성분에 따른 분류, 약효에 따른 분류 및 산지에 따라 다양하게 분류하고 있다²³⁾.

국내에서 그 동안 생약을 이용한 구충 효과 시험으로는 Rhee 등^{17,18)}이 한약제 223종을 선정하여 간흡충에 대한 살충성 시험을 수행한 결과 31종에서의 살충 효과를 입증한 바

있으며, 한편, 범의귀과 (Saxifragaceae) 식물인 상산 (*Dichroa febrifuga*)의 뿌리 중의 febrifugine과 iso-febrifugine alkaloids 성분 및 그 유도체들은 *Plasmodium falciparum*에 대해 효과가 있는 것으로 널리 알려져 있다^{21,22}). 또한 Mefod'ev 등¹⁴)은 미루나무껍질 추출액에 대한 모간흡충에서의 구충 효과 시험을 한 결과 72시간내에 100% 살충 효과가 있었음을 보고한 바 있으며, 닭 *Eimeria tenella*에 대한 인도싸리나무 (*Dichroa febrifuga*)의 항록시듬 작용²³), 소 *Babesia*와 *Theileria* 감염에 대한 *Peganum harmala*의 치료 시험¹⁰) 그리고 사람 말라리아 및 아메바에 대한 항원충성 작용, 질편모충에 대한 성장 억제 효과 연구 등 생약제에 대한 구충제 개발을 위한 연구는 지속적으로 이루어지고 있는 실정이다^{1,5,12,19,21,25}).

가축에서의 선충류에 대한 구충제 내성 연구를 위해서 활용되는 대표적인 방법으로는 시험관내에서의 충란 부화 시험 (egg-hatch assay), 분변내 충란수 감소 (Fecal egg count reduction: FECR) 그리고 자충배양법 등이 알려져 있다^{4,11,24}).

사람에 있어서 *Strongyloides stercoralis*는 인수공통전염기생충병으로서 엄격히 분류되어 있지는 않지만, 동물에 기생하고 있는 종이 사람에게 감염된 자충이 체내 이주할 때 강한 알리지 반응을 일으키는 바, 최근에는 인수공통전염병으로 취급되고 있다^{9,20}). 특히 이 기생충은 숙주체내 기생형, 토양이나 수중에서의 자유생활형 그리고 체내 감염의 경우 폐와 심장을 이행하여 최종적으로 소장내 기생하는 과정을 취하기 때문에 폐에서의 특이 임상 증세를 나타내게 된다. 따라서 AIDS와 같은 면역 결핍자, 장기 이식자, 암 환자 등에서는 이 분선충으로 인한 환자의 증가로 인해 이의 감별 진단, 분변 검사 및 혈청학적 진단 등의 연구가 활발히 이루어지고 있으며, 이의 구충을 위한 합성 구충제가 대부분 사용되고 있으나 약제 내성 문제가 대두되고 있는 현실이기 때문에 음료수와 같은 개인 위생을 중요시 하고 있는 실정이다²⁰).

본 연구에서는 자유생활형 인수공통기생충인 *S. venezuelensis*에 대한 살충성 시험을 위해 간흡충에 살충 효과가 있었던 약제를 포함하여 일반적으로 살충 작용을 가진 생약 25종을 대상으로 *S. venezuelensis*에 대한 효과를 확인하고자 충란의 부화 여부와 L₃ 자충의 생존 시간을 in vitro 내에서 관찰하고자 배변한 지 24시간 이내의 분변내 충란을 증류수와 함께 vinyl bag에 배양시키면서 생약 추출액을 넣고 충란에서 자충으로의 발육능력을 관찰하였던 바, 12종의 생약에서는 Fig. 2에서 보는 바와 같이 자충으로 발육하지 못하면서 심한 퇴행성 변화를 가져왔다.

한편, 닭에 있어서 항록시듬제로 널리 사용되고 있는 Ionophorous는 식육내에 잔존하기 때문에 공중위생학적으로 안전한 대치 생약이 필요하다고 생각되어 15종의 생약 추출물을 이용 *E. tenella*에 대한 구충 효과를 관찰하였던 바, *Sophora flavescens*은 가장 충란 배란에 영향을 끼쳤으며 *Pulsatilla ko-*

reana, *Sinomenium acutum*, *Ulmus macrocarpa* 그리고 *Quisqualis indica* 등에서 구충제로서의 가치를 확인한 바 있다²³). 생약을 활용한 또 다른 예로서 최근 박 등¹¹)은 메트로니다졸 내성 질편모충의 치료제를 개발하기 위하여 사군자, 조협, 행인, 상백피, 길경, 저근백피, 백부근, 백자인, 용뇌, 승마에 대한 약제 효능 시험 결과 조협, 행인 그리고 길경이 성장 억제 효과가 있었으며 조협은 가장 강한 억제 효과를 나타낸 것으로 보고한 바 있다.

생약의 기생충에 대한 구충 작용 기전은 아직 분명치 않은 실정이며, 최근 *S. ratti*와 *S. venezuelensis*에 대한 isoquinoline alkaloids의 구충 효과를 시험관내에서 HL60 cell을 이용하여 확인한 연구 보고 예가 있으며¹⁹), 저자 등^{17,18})이 간흡충에 대한 살충성 생약 중 후박과 오매에서의 작용 물질의 화학적 특성을 규명한 바 있다. 즉, 후박에서는 간흡충의 성충을 2분 이내 살충 작용을 나타내는 meso-dihydroguajaretic acid 내 1,4-diphenyl-2,3,-dimethylbutane 골격을 갖고, phenyl 기 중 하나에는 4-hydroxy-3-methoxy, 3-hydroxy-4-methoxy 또는 3,4-dihydroxyphenyl가 활성을 나타내는 필수 구조로 판명하였으며 오매에서는 2-hydroxymethylfurfural로 밝힌 바 있다¹⁷).

본 연구에서는 실험동물을 모델로 한 선충류의 연구에 일반적으로 사용되고 있는 선충류인 *S. venezuelensis*를 이용하여 Table 1의 25종의 생약에 대한 약제 실험을 통하여 생약에 대한 구충 효과를 파악함에 있어서 간흡충 시험^{17,18})과 비교할 때 더욱 용이하였음을 알 수 있었다. 그 이유는 간흡충에 있어서 살충 효과 시험을 위하여서는 왜우렁이의 채집, 종숙주에서 감염 등의 복잡한 단계를 거쳐야 하였지만 *S. venezuelensis*의 경우에는 충란의 수집과 부화 배양 그리고 성충의 회수 등이 비교적 용이하였기 때문이었으며, 앞으로 각 종 구충제 효과 시험을 위하여 광범위하게 활용될 수 있을 것으로 사료되었다.

결 론

인수공통기생충으로 알려지고 있는 *Strongyloides venezuelensis* 이에 의한 피해는 알리지 발생이나 면역 결핍증 환자에서의 폐염 발생과 같은 증세를 일으키고 있어 같은 위 25종의 수용성 추출액을 준비하여 *S. venezuelensis*의 충란과 3기 자충에 대한 살충성을 vinyl bag에서 그리고 성충에 대한 살충성은 시계접시에서 관찰하였던 바 25종의 생약 중 *S. venezuelensis*의 충란과 3기 자충에 살충 효과를 나타낸 것은 *P. thunbergiana* (*Radix*) 등 4종이었으며, 충란의 부화 시간은 각기 달라서 *P. thunbergiana*과 *T. chinensis*의 경우는 6시간째부터 *G. uralensis*, *C. obtusifolia*와 *B. striata* 등은 12시간째부터, *C. flos*, *A. koreana*, *P. grandiflorum*와 *A. asphodelodes* 등은 24시간째부터 그리고 *T. semen*, *P. tenuifolia* 그리고 *P. mume* 등은

48시간째부터 충란의 부화에 따른 자충의 활동성을 확인할 수 있었다. 한편, *S. venezuelensis*의 충란을 전혀 부화시키지 못하였거나 부화를 시켰지만 즉시 살충함으로써 광학현미경 하에서 72시간이 경과하여도 부화를 관찰하지 못했던 생약으로 *S. angustifolia*, *I. helenium*, *A. korenium*, *P. tenuifolia*, *F. virridissima*, *A. asiatica*, *S. chinensis*, *A. tataricus*, *S. baicalensis*, *M. rimosa*, *S. glabra*, *Z. piperitum* 등을 색출할 수 있었다.

따라서 본 연구에서 충란 부화의 억제와 자충에 대한 구충 효과가 확인된 한약제에 대해서는 향후 생체내에서의 효과 검증을 거친 뒤, 그 효과와 안정성이 입증되면 저렴하면서도 구충제 내성 문제를 걱정할 필요가 없기 때문에 산업동물에 대해 널리 유용하게 활용될 수 있을 것이다.

참 고 문 헌

- 1) 박원식, 조유정, 주종필, 황선경 (2002): 메트로니다졸 내성 질편모충에 대한 수종의 한약제제의 성장 억제 효과. 2002년도 대한기생충학회발표 초록.
- 2) 육창수, 김성만, 정진모, 정명숙, 김정서, 김승배 (1982): 한약의 약리·성분·임상응용. 계유문화사.
- 3) 약품식물학연구회 (1980): 약품식물학개론. 한국학술교재사.
- 4) Agyei AD (2000): A study on the time of ovicidal effect of some anthelmintics in Djallonke sheep and its implication for the control of parasitic helminth infections. *Ann N Y Acad Sci*, **916**: 388-395.
- 5) Aswal BS, Goel AK, Kulshrestha DK, Mehrotra BN and Patnaik GK (1996): Screening of Indian plants for biological activity: Part XV. *Indian J Exp Biol*, **34(5)**: 444-467.
- 6) Baek BK, Islam MK and Kim JH (1998): Development of an *in vitro* culture method for harvesting the free-living infective larvae of *Strongyloides venezuelensis*. *Korean J Parasitol*, **36(1)**: 15-22.
- 7) Baek BK, Islam MK and Matsuda K (1998): Viability of eggs, filariform larvae and adults of *Strongyloides venezuelensis* (Nematoda: Strongyloidea) maintained *in vitro*. *Korean J Parasitol*, **36(2)**: 99-107.
- 8) Baek BK, Islam MK, Kim JH, Lee JH and Hur J (1999): Partial cross-resistance between *Strongyloides venezuelensis* and *Nippostrongylus brasiliensis* in rat. *Korean J of Parasitol*, **37(1)**: 101-107.
- 9) Hasegawa H, Orido Y, Sato Y and Otsuru M (1988): *Strongyloides venezuelensis* Brumpt, 1934 (Nematoda: Strongyloididae) collected from *Rattus norvegicus* in Naha, Okinawa, Japan. *Japanese J Parasitol*, **37**: 429-434.
- 10) Hu T, Fan B, Liang J, Zhao S, Dang P, Gao F and Dong M (1997): Observations on the treatment of natural haemosporidia infections by total alkaloid of *Peganum harmala L.* in cattle. *Trop Anim Health Prod*, **29 (4 Suppl)**: 72S-76S.
- 11) Jenkins DC (1982): *In vitro* screening tests for anthelmintics. In Animal Models in Parasitology (ed. D. Owen), Macmillan, London, pp. 173-186.
- 12) Kirby GC (1996): Medicinal plants and the control of protozoal disease, with particular reference to malaria. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, **90(6)**: 605-609.
- 13) McDiarmid SS and Matthews BE (1982): Survival and behavior of *Onchocerca gutturosa* microfilariae *in vitro*. *J Parasitol*, **68**: 470-477.
- 14) Mefod'ev VV, Krasnov EA, Stepanova TF and Sozonova TA (1996): The results of an experimental study of an anti-Opi-sthorchis preparation made from plant raw material. *Med Parazitol (Mosk)*, **Jul-Sep (3)**: 42-45.
- 15) Prichard RK (1994): Anthelmintic resistance. *Vet Parasitol*, **54**: 259-268.
- 16) Rew RS, Urban JF Jr and Douvres FW (1986): An *in vitro* screen for anthelmintics using larvae of *Ascaris suum*. *Am J Vet Res*, **47**: 869-873.
- 17) Rhee JK, Woo KJ and Baek BK (1982): Screening of the wormicidal chinese Raw Drugs on *Clonorchis sinensis*. *Am J Chin Med*, **9(4)**: 277-284.
- 18) Rhee JK, Baek BK and Ahn BZ (1985): Alternations of *Clonorchis sinensis* EPG by administration of herbs in rabbits. *Am J Chin Med*, **13(1-4)**: 65-69.
- 19) Sato T, Koga M, Matsushashi R, Koike K, Tada I and Nikaido T (2002): Assay of nematocidal activity of isoquinoline alkaloids using third-stage larvae of *Strongyloides ratti* and *S. venezuelensis*. *Vet Parasitol*, **104**: 131-138.
- 20) Singh S (2002): Human strongyloidiasis in AIDS era: its zoonotic importance. *J Assoc Physicians India*, **50**: 415-422.
- 21) Tagboto S and Townson S (2001): Antiparasitic properties of medicinal plants and other naturally occurring products. *Adv Parasitol*, **50**: 199-296.
- 22) van Agtmael MA, Eggelte TA and van Boxtel CJ (1999): Artemisinin drugs in the treatment of malaria: from medicinal herb to registered medication. *Trends Pharmacol Sci*, **20(5)**: 199-205.
- 23) Youn HJ and Noh JW (2001): Screening of the anticoccidial effects of herb extracts against *Eimeria tenella*. *Vet Parasitol*, **96(4)**: 257-263.
- 24) Yadav CL, Kumar R, Uppal RP and Verma SP (1995): Mul-

tiple anthelmintic resistance in *Haemonchus contortus* on a sheep farm in India. *Vet Parasitol*, **60(3-4)**: 355-360.

25) Willcox ML (1999): A clinical trial of 'AM', a Ugandan her-

bal remedy for malaria. *J Public Health Med*, **21(3)**: 318-324.
