

بررسی اثرات ضدباروری روغن میوه سنجد تلخ (*Melia azedarach L.*) موجود در ایران بر

موش‌های صحرایی نر

حمیدرضا صادقی پور رودسری^{۱*}، سیدعلی حائری روحانی^۲، رحمت‌اله پرنندین^۳، محسن وثوقی^۴، حوری سپهری^۲، عباس حاجی آخوندی^۵، مهناز خانوی^۶

- ۱- استاد، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران
- ۲- استاد، گروه زیست‌شناسی، بخش فیزیولوژی جانوری، دانشکده علوم، دانشگاه تهران
- ۳- دانشجوی کارشناسی ارشد، فیزیولوژی جانوری، دانشکده علوم، دانشگاه تهران
- ۴- استادیار، گروه شیمی دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران
- ۵- دانشیار، گروه فارماکولوژی، دانشکده داروسازی و مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی تهران
- ۶- استادیار، گروه فارماکولوژی، دانشکده داروسازی و مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

* آدرس مکاتبه: تهران، دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی

تلفن: ۶۶۴۱۹۴۸۴ (۰۲۱)، نمابر: ۶۶۴۱۹۴۸۴ (۰۲۱)
پست الکترونیک: sadeghipour@tums.ac.ir

تاریخ تصویب: ۸۴/۲/۲۵

تاریخ دریافت: ۸۳/۳/۲۵

چکیده

مقدمه: روش‌های آسان و موثر جلوگیری، در خلال پنجاه سال گذشته موضوع تحقیقات گسترده و متنوعی بوده است. در این رابطه، استفاده از اجزای فعال گیاهی، یکی از عناوین مورد استفاده در این زمینه تحقیق و جستجو بوده است. هدف: در این مطالعه فعالیت ضدباروری عصاره روغنی دانه گونه ایرانی درخت سنجد تلخ (*Melia azedarach L.*) موجود در نواحی شمالی کشور بر روی موش‌های صحرایی در دو مرحله پیاپی مورد بررسی قرار گرفت. روش بررسی: عصاره روغنی دانه براساس روش‌های متداول تهیه گردید و به صورت دوزهای خوراکی و روزانه ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم به ازای وزن بدن حیوان برای مدت ۶۰ روز تجویز گردید. در مرحله اول اثرات مهار بر شاخص باروری، درصد اسپرم‌های زنده^۱، درصد تحرک اسپرم‌ها^۲، ذخیره اپیدیدیمی اسپرم^۳، تولید روزانه اسپرم^۴، نسبت وزن بیضه به کل وزن حیوان، میزان باروری، تغییرات غلظت سرمی تستوسترون مورد ارزیابی قرار گرفت. در مرحله بعدی، سه ماه پس از آخرین روز تجویز عصاره برگشت‌پذیری شاخص‌های پیش گفته مجدداً بررسی شد. یافته‌ها: در مرحله اول، کاهش معنی‌دار شاخص‌های باروری نسبت به کنترل، به ویژه در گروه دوز بالاتر (۱۰۰ میلی‌گرم) مشاهده گردید. در خلال مرحله بعدی افزایش معنی‌دار شاخص‌های باروری، دلیلی منطقی بر بازگشت‌پذیری اثرات ضدباروری عصاره می‌باشد. نتیجه‌گیری: به طور اختصار آنکه نتایج این مطالعه نشان داد که عصاره روغنی دانه سنجد (*Melia azedarach L.*) دارای فعالیت ضدباروری در موش صحرایی نر بوده و این اثرات برگشت‌پذیر می‌باشند.

کل واژگان: ضدباروری مردانه، موش صحرایی نر، زیتون تلخ، *Melia azedarach L.*

¹ Viability

⁴ DSP

² Motility

⁵ GSI

³ ESR



مقدمه

تحقیقات جدید معلوم ساخته که اثر گیاهان دارویی به خاطر وجود تعداد نسبتاً کمی از ترکیبات شیمیایی به نام مواد موثره می‌باشد که گیاه تولید می‌کند. با انجام تحقیقات بسیار هنوز هم مواد موثر تعداد قابل توجهی از گیاهان ناشناخته مانده است [۱]. در همین رابطه طی سال‌های اخیر مطالعات مربوط به خواص ضدباروری مشتقات گیاهی مورد توجه قرار گرفته است [۲، ۳، ۴].

تیره ملیاسه شامل درخت یا درختچه‌هایی با برگ‌های شانهای هستند که از این تیره فقط جنس ملیا با دو گونه در فلور ایران شناسایی شده است [۵]. گونه سنجد تلخ^۱ در شمال ایران در نواحی مختلف با نام‌های محلی سنجد تلخ، سنجد وحشی، زیتون تلخ، زیتون وحشی، شالسنجان، شغال پسته، دیوزیت، شیطان زیتونی و غیره خوانده می‌شود. این درخت بومی نواحی هیمالیا است ولی در شمال کشور در جنگل‌های ساحلی دریای خزر از لاهیجان تا گرگان یافت می‌شود [۶، ۷].

تاکنون مطالعات مختلفی در رابطه با اثرات ضدباروری گونه *Melia azedarach* L. از خانواده ملیاسه موجود در هند صورت گرفته است. از جمله اپادهای (Upodhay) و همکاران نشان دادند که تجویز عصاره دانه *Melia azedarach* L. به یکی از دو واژودفران موش‌های صحرایی سبب اختلال در فرایند اسپرماتوزنز در همان سمت تجویز و در نتیجه توقف باروری برای یک مدت طولانی می‌شود [۸]. همچنین شارما و همکاران نشان دادند که روغن دانه نیم با اثر بر روی اسپرم و تغییرات در غشای سلولی آن سبب اسپرم‌کشی می‌شود [۹]. کاسوتری (Kasutri) و همکاران نیز اثر پودر برگ گیاه *M. azedarach* را بر پروستات و سمینال و زیکول موش‌های صحرایی بررسی کردند و نشان دادند که دارای اثرات آنتی‌آندروژنیک است [۱۰]. همچنین اثرات ضدقارچ و ضدنماتد عصاره میوه و برگ این گیاه به اثبات رسیده است [۱۱، ۱۲].

با توجه به اینکه گونه *Melia azedarach* L. از خانواده ملیاسه جزء فلور شمال کشور می‌باشد و با عنایت به اینکه تاکنون اثرات ضدباروری آن در کشورمان مورد مطالعه قرار

نگرفته است، در این تحقیق اثرات ضدباروری عصاره روغنی دانه درخت سنجد تلخ موجود در ایران را با استفاده از تجویز دهانی در موش‌های صحرایی نر در دو زمان مختلف یکی بلافاصله پس از ۶۰ روز تجویز دارو و دیگری سه ماه پس از آخرین تجویز ۶۰ روزه دارو، مورد مطالعه و بررسی قرار دادیم.

مواد و روش‌ها

حیوانات

موش‌های صحرایی از جنس نر نژاد ویستار با محدوده وزنی ۲۵۰-۳۰۰ گرم از حیوان‌خانه دانشکده علوم دانشگاه تهران تهیه گردید و در قفس‌های پلاستیکی در همان محل تحت شرایط دمایی 26 ± 2 ، سیکل روشنایی/تاریکی ۱۲ ساعته و دسترسی آزادانه به آب و غذا نگهداری شدند.

عصاره‌گیری

استخراج مواد موثر موجود در گیاه به وسیله حلال‌های مختلف انجام می‌پذیرد. به طور کلی روش استخراج مواد موثر موجود در گیاهان به نوع بافت‌های گیاهی و ترکیبات گیاه بستگی دارد. البته رایج‌ترین حلال برای عصاره‌گیری تام گیاهان اتانل یا متانل ۸۵-۸۰ درصد می‌باشد [۱۳]. در مورد گیاهان جنس فوق ترکیبات ترپنوییدی موثر در فاز قطبی و اسیدهای چرب آزاد در فاز غیرقطبی وجود دارد. بدین منظور عصاره‌گیری با استفاده از حلال‌های قطبی اتانل و غیرقطبی هگزان انجام شد که با توجه به بیشترین گزارش‌های موجود در مورد اثرات عصاره اتانلی (قطبی) و هگزانی (غیرقطبی) گیاه فوق در منابع علمی بهترین عصاره به نظر می‌آید [۱۴، ۱۵]. دانه‌های گیاه *Melia azedarach* L. پس از جمع‌آوری از جنگل‌های اطراف شهرستان گرگان توسط بخش هرباریوم گروه فارماکولوژی دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی تهران شناسایی شدند (شماره هرباریوم 6640-TEH). و عصاره‌گیری به روش زیر انجام گرفت: مقدار ۵۰ گرم دانه مورد نظر پس از ساییدن در هاون به خوبی له و سپس با ۱۵۰ میلی‌لیتر اتانل ۸۰ درجه خیسانده شد. آنگاه به مدت ۴۸ ساعت

^۱ *Melia azedarach* L.



گیوتین کشته و خون آنها در لوله آزمایش جهت تعیین غلظت هورمون تستوسترون سرم جمع‌آوری گردید. سپس شکم حیوانات را باز کرده و اندام‌های تولید مثلی خارج شدند و شاخص‌های زیر بر اساس روش‌های مرسوم مورد ارزیابی قرار گرفتند [۱۶،۱۷،۱۸،۱۹]:

(۱) تعیین درصد تحرک اسپرم‌ها: که نسبت اسپرم‌های متحرک به اسپرم‌های غیرمتحرک است.

(۲) تعیین درصد حیات اسپرم‌ها: اسپرم‌های زنده رنگ نگرزین ائوزین را جذب نمی‌کنند ولی اسپرم‌های مرده رنگ را جذب می‌کنند.

(۳) تعیین میزان ذخیره اسپرم اپیدیدیم: بر طبق روش راب^۱ و سایر محققین انجام گرفت.

(۴) تعیین میزان تولید روزانه اسپرم توسط بیضه‌ها: جهت تعیین میزان تولید روزانه اسپرم توسط بیضه از روش راب با اندکی تغییرات استفاده شد. چون در موش‌های صحرایی نر رشد اسپرماتوزوئیدها تقریباً ۶/۳ روز در حین اسپرماتوزنر طول می‌کشد. بنابراین از تقسیم تعداد اسپرم‌های هر بیضه به ۶/۳، میزان تولید کل اسپرم برای یک روز به دست می‌آمد.

(۵) بررسی تغییرات وزن بیضه‌ها نسبت به وزن بدن^۲.

(۶) بررسی میزان تستوسترون سرم با استفاده از روش (RIA) Radioimmunoassay [۲۰].

(۷) بررسی میزان باروری موش‌های نر: میزان باروری براساس روش ابرلاندر و همکاران تعیین شد که عبارت است از نسبت نقاط لانه‌گزینی جنین‌ها در رحم به کل تعداد جسم‌های زرد موجود در تخمدان [۲۱].

(۸) بررسی تغییرات وزن بدن: با توجه به اینکه میزان وزن موش‌های صحرایی یکی از شاخص‌های مهم در رابطه با سلامتی حیوان است.

تجزیه و تحلیل داده‌ها: تمامی داده‌ها در بررسی حاضر به صورت $Mean \pm ESM$ بیان شده است و آنالیزهای آماری به کمک برنامه کامپیوتری INSTAT انجام گرفت. جهت رسم نمودار نیز از برنامه Microsoft Excel 2000 استفاده گردید.

به کمک دستگاه همزن مخلوط و صاف نمودیم. سپس به کمک دستگاه تقطیر در خلا، حلال به دست آمده تغلیظ شد (در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد). عملیات فوق دوبار دیگر تکرار شد و عصاره حاصل در یخچال نگهداری گردید. تفاله گیاه، توسط حلال هگزان به روش فوق مجدداً مورد عصاره‌گیری قرار گرفت و عصاره حاصل، قبل از تغلیظ نهایی به عصاره اتانلی اضافه و در نهایت پس از تغلیظ تا زمان انجام آزمایش در یخچال نگهداری شد.

روش انجام کار

تعداد ۳۶ موش صحرایی نر که از توانایی باروری آنها اطمینان حاصل شده بود به طور تصادفی به ۳ گروه ۱۲ تایی تقسیم شدند. گروه اول یا گروه کنترل موش‌هایی بودند که روزانه روغن ذرت خوراکی را با دوز ۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به مدت ۶۰ روز به صورت دهانی دریافت می‌کردند. گروه‌های دوم و سوم موش‌هایی بودند که عصاره گیاهی را به ترتیب با دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به مدت ۶۰ روز به همان روش دریافت می‌کردند.

از آنجا که هدف از این تحقیق بررسی اثرات ضدباروری عصاره دانه درخت سنجد تلخ در دو مرحله یکی بلافاصله پس از اتمام ۶۰ روزه تجویز دارو و دیگری ۳ ماه پس از اتمام ۶۰ روزه تجویز دارو جهت تعیین مدت زمان بازگشت به حالت اولیه^۲ بود، پس از اتمام ۶۰ روز تجویز دارو، تعداد ۶ موش از هر گروه را به روش تصادفی انتخاب کرده و در شرایط آزمایشگاهی فوق‌الذکر به مدت ۳ ماه جهت آزمایش‌های مرحله دوم نگهداری نمودیم.

برای ارزیابی شاخص‌های باروری در مرحله اول و دوم به صورت یکسان عمل شد. به نحوی که در هر مرحله هر موش نر را با دو موش ماده جوان و بالغ که از توانایی باروری آنها اطمینان حاصل شده بود به مدت ۱۰ روز هم قفس کرده تا میزان باروری موش‌های نر مطالعه شود. بعد از طی این مدت موش‌های نر را جدا کرده، بعد از توزین، آنها را به وسیله

¹ Motility

² Viability

³ ESR

⁴ Robb

⁵ DSP

⁶ GSI

⁷ Fertility

¹ Oral administration

² Recovery period



نتایج

نتایج مرحله اول

الف) اثر بر وزن بدن و اندام‌های جنسی: نتایج به دست آمده از بررسی وزن اپیدیدیم و افزایش وزن بدن نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های دریافت‌کننده عصاره و گروه کنترل وجود ندارد. در صورتی که اختلاف معنی‌داری در نتایج به دست آمده از GSI (نسبت وزن بیضه‌ها به وزن کل بدن) بین گروه‌های دریافت‌کننده عصاره و گروه کنترل مشاهده شد (جدول شماره ۱).

ب) اثر بر شاخص‌های فیزیولوژیکی: همان‌گونه که در جدول شماره ۱ مشاهده می‌کنیم ارزیابی این شاخص‌ها نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های دریافت‌کننده عصاره و گروه کنترل وجود دارد و کاهش معنی‌داری در درصد تحرک اسپرم‌ها^۱، درصد اسپرم‌های زنده^۲، تعداد اسپرم‌ها در هر گرم اپیدیدیم^۳، تولید روزانه اسپرم^۴، غلظت تستوسترون و میزان باروری به ویژه در گروه دریافت‌کننده عصاره با دوز بالاتر مشاهده می‌شود.

نتایج مرحله دوم

الف) اثر بر وزن بدن و اندام‌های جنسی: نتایج به دست آمده از بررسی GSI، وزن اپیدیدیم و افزایش وزن بدن نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های دریافت‌کننده عصاره و گروه کنترل وجود ندارد (جدول شماره ۲). همچنین نتایج GSI در این مرحله نشان داد که در گروه‌های دریافت‌کننده عصاره اختلاف معنی‌داری نسبت به مرحله اول وجود دارد (جدول شماره ۳).

ب) اثر بر شاخص‌های فیزیولوژیکی: به طوری که در جدول شماره ۲ مشاهده می‌کنیم ارزیابی شاخص‌های *Viability*، *ESR*، *Motility* و *DSP* و میزان باروری^۵ نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های دریافت‌کننده عصاره و گروه کنترل وجود دارد که البته این اختلاف نسبت به مرحله اول کمتر است. همچنین به نحوی که در جدول شماره ۳ مشاهده می‌کنیم در گروه دریافت‌کننده عصاره با دوز ۵۰ میلی‌گرم بر

کیلوگرم افزایش معنی‌داری در شاخص‌های *ESR*، *Viability*، غلظت تستوسترون و میزان باروری مشاهده می‌کنیم و در گروه دریافت‌کننده عصاره با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم افزایش معنی‌داری در شاخص‌های *ESR*، *Viability*، *Motility*، *DSP*، تستوسترون سرم و میزان باروری در مقایسه با مرحله اول وجود دارد.

میزان باروری موش‌های صحرایی در مراحل اول و دوم در نمودار شماره ۱ نشان داده شده است.

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که تجویز دهانی عصاره روغنی درخت سنجد تلخ به موش‌های نر با دوزهای ۱۰۰ و ۵۰ mg/kg به مدت ۶۰ روز سبب کاهش قابل ملاحظه‌ای در میزان باروری به ویژه در گروه دریافت‌کننده عصاره با دوز بالاتر می‌شود.

همچنین تحقیق حاضر نشان داد که ۳ ماه پس از اتمام آخرین تجویز ۶۰ روزه عصاره گیاهی میزان باروری افزایش چشمگیری پیدا می‌کند. که این خود حکایت از دایمی نبودن اثرات این عصاره گیاهی بر باروری است.

لازم به یادآوری است که تفاوت‌هایی در میزان شاخص‌های باروری در مطالعات قبلی با مطالعه حاضر مشاهده می‌شود که می‌تواند مربوط به شرایط اقلیمی متفاوت، روش‌های متفاوت اندازه‌گیری، میزان دوز مصرفی و طرز تهیه عصاره گیاهی باشد. البته تاکنون مطالعاتی در مورد تاثیر ترکیبات شیمیایی و عصاره‌های گیاهی دیگری بر باروری صورت گرفته است که در برخی موارد اثرات مشابهی مشاهده می‌شود [۲۰، ۴، ۳، ۲]. چنانچه استفاده از عصاره ساقه گیاه *Sacostemma acidum* در موش‌های نر با کاهش در تحرک اسپرم‌ها و تعداد آنها سبب اختلال در فرایند اسپرماتوزن و در نتیجه کاهش میزان باروری شده است [۴]. از آنجا که اسپرماتوزن فرایندی است که با تغییر سنتز آندروژنیک و تستوسترون مترشحه از سلول‌های لایدیگ فعال می‌شود [۱۸] به نظر می‌رسد عصاره نامبرده با تاثیر بر بافت بیضه سبب اختلال در سنتز آندروژن‌ها و به دنبال آن اختلال در فرایند

¹ Motility
² Viability

³ ESR
⁴ DSP

⁵ Fertility Rate



جدول شماره ۱- اثر عصاره روغن میوه سنجید تلخ بر وزن اندام‌های جنسی و شاخص‌های فیزیولوژیک در مرحله اول

شاخص‌ها	اختلاف وزن (گرم)	وزن اپیدیم (گرم)	GSI (گرم)	Modility (درصد)	Viability (درصد)	ESR/g (millions)	DSP/g.t (million)	تستوسترون Ng/dl	Fertility (درصد)
کنترل	74.00 ± 2.76	77.00 ± 0.87	7.73 ± 0.31	78.00 ± 0.88	81.00 ± 0.88	77.11 ± 2.08	76.77 ± 1.47	49.00 ± 3.67	79.00 ± 4.07
عصاره گیاهی با دوز 50 mg/kg	76.80 ± 0.76	77.00 ± 0.37	7.76 ± 0.09	82.00 ± 1.37	89.00 ± 1.60	88.00 ± 1.01	88.00 ± 0.88	49.00 ± 4.07	79.00 ± 4.07
عصاره گیاهی با دوز 100 mg/kg	74.80 ± 3.78	77.80 ± 0.37	7.98 ± 0.31	81.00 ± 1.37	88.00 ± 1.60	88.00 ± 1.01	88.00 ± 0.88	49.00 ± 4.07	79.00 ± 4.07

n = 6, Mean ± SEM, *p < 0.05, **p < 0.01, ***p < 0.001

جدول شماره ۲- اثر عصاره روغن میوه سنجید تلخ بر وزن اندام‌های جنسی و شاخص‌های فیزیولوژیک در مرحله دوم

شاخص‌ها	اختلاف وزن (گرم)	وزن اپیدیم (گرم)	GSI (گرم)	Modility (درصد)	Viability (درصد)	ESR/g (million)	DSP/g.t (million)	تستوسترون Ng/dl	Fertility (درصد)
کنترل	113.80 ± 3.68	97.80 ± 0.17	9.04 ± 0.09	90.00 ± 1.81	91.00 ± 1.81	78.00 ± 2.00	76.77 ± 1.47	67.00 ± 1.00	81.00 ± 2.70
عصاره گیاهی با دوز 50 mg/kg	108.00 ± 3.98	98.00 ± 0.09	8.04 ± 0.09	97.00 ± 2.87	91.00 ± 1.81	88.00 ± 1.01	88.00 ± 0.88	67.00 ± 1.00	81.00 ± 2.70
عصاره گیاهی با دوز 100 mg/kg	108.00 ± 3.98	98.00 ± 0.09	8.04 ± 0.09	97.00 ± 2.87	91.00 ± 1.81	88.00 ± 1.01	88.00 ± 0.88	67.00 ± 1.00	81.00 ± 2.70

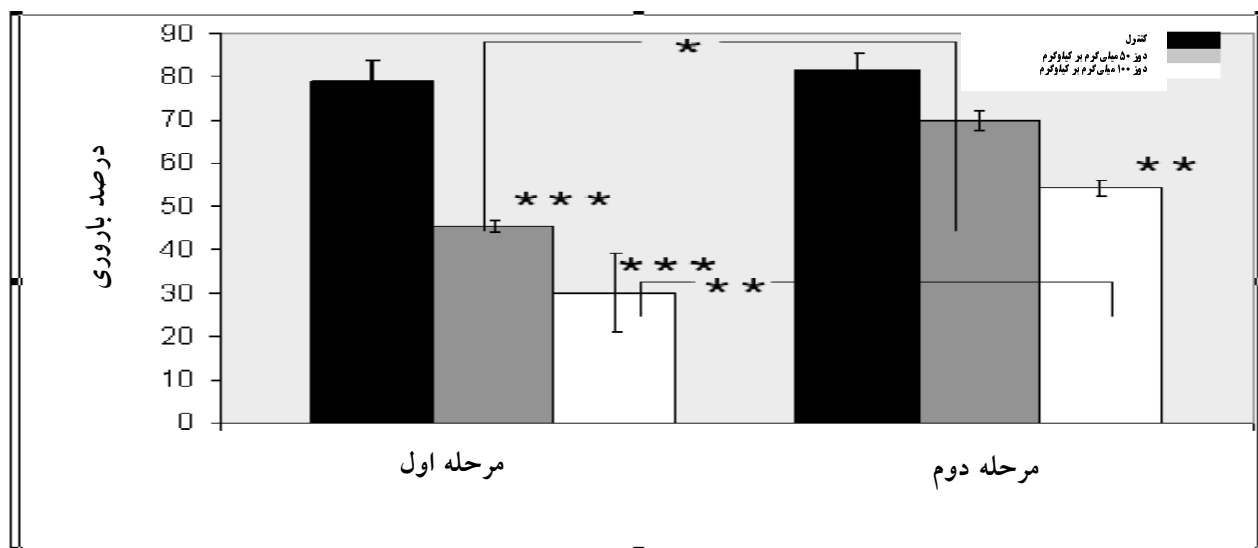
n = 6, Mean ± SEM, **p < 0.01, ***p < 0.001

جدول شماره ۳- مقایسه شاخص‌های باروری در مراحل اول و دوم با یکدیگر پس از مصرف خوراکی عصاره میوه سنجید تلخ

شاخص‌ها	مرحله	GSI (گرم)	Modility (درصد)	Viability (درصد)	ESR/g (million)	DSP/g.t (million)	تستوسترون Ng/dl	Fertility (درصد)
عصاره گیاهی با دوز 50 میلی‌گرم بر کیلوگرم	اول	7.79 ± 0.09	86.00 ± 1.37	89.00 ± 1.60	88.00 ± 1.01	88.00 ± 0.88	49.00 ± 3.67	79.00 ± 4.07
	دوم	8.04 ± 0.09	97.00 ± 2.87	91.00 ± 1.81	88.00 ± 1.01	88.00 ± 0.88	67.00 ± 1.00	81.00 ± 2.70
عصاره گیاهی با دوز 100 میلی‌گرم بر کیلوگرم	اول	7.98 ± 0.31	81.00 ± 1.37	88.00 ± 1.60	88.00 ± 1.01	88.00 ± 0.88	49.00 ± 4.07	79.00 ± 4.07
	دوم	8.04 ± 0.09	97.00 ± 2.87	91.00 ± 1.81	88.00 ± 1.01	88.00 ± 0.88	67.00 ± 1.00	81.00 ± 2.70

n = 6, Mean ± SEM, *p < 0.05, **p < 0.01, ***p < 0.001





n=6, Mean ±SEM *p<0/05, **p<0/01, ***p<0/001

نمودار شماره ۱- تاثیر عصاره روغنی گیاه سنجد تلخ بر میزان باروری (Fertility)

(DSP) تاییدی بر اختلال ایجاد شده در فرآیند اسپرماتوژنز و رشد و تکثیر اسپرماتوگونی‌ها می‌باشد. بنابراین با توجه به نتایج این پژوهش می‌توان گفت که عصاره گیاهی تجویز شده به موش‌های نر با تاثیر بر فرآیند اسپرماتوژنز و بلوغ اسپرم‌ها، سبب کاهش میزان باروری می‌گردد که برگشت‌پذیر نیز می‌باشد.

اسپرماتوژنز می‌گردد که با توجه به کاهش غلظت تستوسترون سرم در مطالعه حاضر و از بررسی سایر مطالعات استنباط می‌شود. همچنین کاهش درصد تحرک اسپرم‌ها و تعداد اسپرم‌های زنده خود موید وجود اختلال در فرآیند اسپرماتوژنز در بیضه و تحولات بعدی بلوغ اسپرم در اپیدیدیم می‌باشد [۲،۳،۴،۲۰]. این مشاهدات همراه با کاهش معنی‌دار در میزان ذخیره اسپرمی اپیدیدیم (ESR) و میزان تولید روزانه اسپرم

منابع

4. Verma PK and et al. Effects of *Sacostemma acidum* stem extract on spermatogenesis in male albino rats. *Asian J. androl.* 2002; 4: 43-47.
5. مظفریان ولی‌الله. فرهنگ نام‌های گیاهان ایران. انتشارات فرهنگ معاصر. ۱۳۷۵، صفحه ۳۴۳.
6. ثابتی حبیب‌الله. جنگل‌ها، درختان و درختچه‌های ایران. چاپ دوم. نشر دانشگاه یزد. ۱۳۷۳، صفحات ۶۷-۴۷۰.
7. مبین صادق. رستنی‌های ایران، فلور گیاهان آوندی. چاپ اول. انتشارات دانشگاه تهران. ۱۳۷۴، جلد چهارم، صفحات ۶-۲۳۵.

1. فلوک هانس. گیاهان دارویی. ترجمه توکلی صابری محمدرضا و دکتر محمدرضا صداقت. چاپ سوم. انتشارات روزبهان. ۱۳۶۸، صفحات ۸-۱۰.
2. Choudhary DN, Singh JN and Singh BP. Effects of some medicinal plants on fertility of Albino rats. *Indian pharmacy.* 1991; 23: 253-257.
3. Adhinkary P, Banerji J, Choudhary D, Das AK, Deb CC, Mukherjee SR and Chatterjee A. Effect of piper linn (stalk) extract on male rat fertility. *Indian pharmacy.* 1990; 22: 145-149.



8. Upadhyay S, Dhawan S and Talwa G P. Antifertility effects of neem oil in male rats by single Intra-vas administration: A alternate approach vasectomy. *J. Andrology*. 1993; 14: 137-142.
9. Sharma K, et al. Mechanism of action of Nim-76: A Novel vaginal contraceptive from Neem oil. *Contraception*. 1996; 54: 373-378.
10. Kasutri M and et al. Effects of *Azadirachta indica* leaves on the seminal vesicles and ventral prostates in albino rats. *Indian J. physiol. pharmacol.* 1997; 41: 234-240.
11. Natarajan V, Venugopal PV and Menon T. Effect of *Azadirachta indica* (Neem) on the growth pattern of dermatophytes. 2003; 21: 98-101.
12. Sharma V, Walia S and Kumar J. An efficient method for the purification and characterization of nematocidal azadirachtins A, B and H, using MPLC and ESIMS. 2003; 51: 3966-3972.
۱۳. صمصام شریعت هادی. عصاره گیری و استخراج مواد موثر گیاهان دارویی و روش های شناسایی و ارزشیابی آنها. چاپ اول. انتشارات مانی اصفهان. ۱۳۷۱، صفحات ۵۴-۱۴.
14. Grag S, Dencef G, Chabra S, Upadhyay SN and Talwar GP. Synergistic spermicidal activity of Neem seed extract, Reetha saponins and Quinine hydrochloride. *Contraception*. 1994; 50: 185-190.
15. Ktattak MKh, khan L, Awan MN and Hussain ASH. Evaluation of some insecticidal combinations and Neem (*Azadirachta indica* A. Juss) extracts against Jassids and Whitefly on cotton and their effect on the yield. *Pakistan J. Biological. Sciences*. 2001; 4: 419 - 421.
16. Awoniyi C A and et al. The effects of chronic administration of pyrimethamine in spermatogenesis and fertility in male rats. *J. Andrology*. 1993; 14, 174 - 179.
17. Cosentino. MOJ & ETAL, Pyramethamine: An approach to the development of a male contraceptive. *Proc. Natl. Acad. Sca.* 1990; 87: 1431 - 1435.
18. Ghosh PK, Biswas NM and Ghosh D. Effect of lithium chloride on testicular steroidogenesis and gametogenesis in immature male rats. *Acta endocrinol.* 1991; 124: 76-82.
19. Ribb GW, Amann RP and Killian GJ. Daily sperm production and epididymal sperm reserve of pubertal and adult rats. *J. Reproduction fertility*. 1978; 54: 103-107.
20. Richard EF, Valbandov AV. Radio immunoassay of peripheral plasma testosterone in male from eight species using a spesific antibody with out chromatography. *Endocrinology*. 1974; 95:1466-1468.
21. Oberlander G, Yeung CH and Cooper TG. Induction of reversible infertility in male rats by oral ornidazole and its effects on sperm motility and epididymal secretions. *Journal of Reproduction & Fertility*. 1994; 100: 551-559.
۲۲. صادقی پور رودسری حمیدرضا، وثوقی محسن، رضایی بخش مجتبی. اثرات ضدباروری فورازولیدون در موش صحرائی نر. مجله دانشگاه علوم پزشکی کرمان. ۱۳۷۸. شماره ۲، صفحات ۶۶ - ۶۱.
23. Sharpe RM. Testosterone and spermatogenesis. *J. endocrinol.* 1987; 113: 1-2.

