

الفعالية الضد ميكروبية للمستخلصات المائية والكحولية والزيت الطيار لبلاط ورد الجوري

### *Rosa damascena L.*

بشرطی علی کاظم

جامعة بغداد - كلية العلوم

[bushraa45@yahoo.com](mailto:bushraa45@yahoo.com)

٢٠١١/٢/٢٢: تاريخ استلام البحث

٢٠١٣/٥/١٩: تاريخ قبول النشر

## الخلاصة

استخدمت في هذا البحث بذلت ورد الجوري *Rosa damascena L.* في تحضير ثلاثة أنواع من المستخلصات هي المائية والكحولية والزيت الطيار. أجريت على المستخلصات المحضرة مجموعة من الكشوفات الكيميائية فضلاً عن استخدام جهاز مطياف الأشعة تحت الحمراء لتحديد الموضع الفعال فيهما. أشارت النتائج إلى وجود المركبات الفعالة (الدباغيات والقلويات والصابونيات والفلافونيدات والتربيتات والستيرويدات والزيت الطيار) في المستخلصات المحضرة من ورد الجوري، كما اختبرت الفعالية الضد ميكروبية لهذه المستخلصات لأحد عشر نوعاً من الاحياء المجهرية (شملت سبعة أنواع من البكتيريا واربعة أنواع من الفطريات) المعزولة من أحماق الجروح والحرائق، أثبتت نتائج التحليل الاحصائي باستخدام اختبار *L.S.D* عند مستوى احتمالية 0.05 أن التركيزين 100 و 250 ملغم/مل من المستخلص المائي هما *—MIC* على التوالي لكل من *Candida albicans* و *Escherechia coli* و *Proteus mirabilis* و *MBC* على التوالي لكل من *Burkholderia mallei* و *Staphylococcus aureus* و *Burkholderia mallei* و *MIC* على التوالي كل من *Candida tropicalis* و *Epidermophyton floccosum* و *Proteus vulgaris* فقد كان التركيز 125 ملغم/مل مثبطاً فيما فيما كان التركيز 250 ملغم/مل قاتلاً لهما. أكدت النتائج عدم وجود أي تأثير يذكر للمستخلص المائي على كل من *Pseudomonas aeruginosa* و *Trichophyton mentagrophytes* و *Trichophyton mentagrophytes* و *aeruginosa* فيما كان التركيزان (المثبط والقاتل) على التوالي من المستخلص الكحولي لكل من *Pseudomonas floorescence* و *Proteus mirabilis* و *Proteus mirabilis* و *Burkholderia mallei* و *Burkholderia mallei* و *Candida tropicalis* و *Candida albicans* و *Escherechia coli* بالإضافة إلى *Epidermophyton floccosum* و *Staphylococcus aureus* و *Trichophyton mentagrophytes* و *Trichophyton mentagrophytes* و *Epidermophyton floccosum* قد ثبط نموها وقتلت عند التركيز (8 ، 16) و (8 ، 32) و (4 ، 16) و (8 ، 32) ملغم/مل من المستخلص الكحولي على التوالي. إضافة إلى ذلك فقد أشارت النتائج إلى الفعالية التثبيطية للمستخلص الزيتي على نمو الاحياء المجهرية قيد الدراسة كافة ويتراوح ما بين (1:2) و (1:3) فيما كانت التراكيز القاتلة لها تراوigh ما بين (1:3) و (4:1).

## الكلمات الدالة:

بثلاث ور د الجوري ، المستخلصات الكحولية والمائية والزيت الطيار ، الكشوفات الكيميائية.

# The anti- microbial activity of the aquatic, alcoholic and volatile oil extracts of *rosa damascena l.* Petals

Bushra Ali Kadhim

University of Baghdad/College of Science

Received date:22/2/2011

Accepted date:19/5/2013

## Abstract

The Petals of *Rosa damascena L.* had used in this research to prepare three types of extracts which were aquatic, alcoholic and volatile oil. A set of chemical tests were made on these prepared extracts, as well as, using the Fourier Transform Infrared spectrophotometer to detect the active positions in these extracts. The results showed the foundation of some active compounds (Tannines, Alkaloides, Saponins, Flavonoides, Terpens, Steroids and Volatile Oil) in prepared extracts of *Rosa damascena L.*, as well as, the anti-microbial activity of these extracts was tested on eleven types of microorganisms (contain seven types of bacteria and four types of fungi) which were isolated from burns and wound infections. The results of stastical analysis by using L.S.D. test at probability level 0.05 had proved that the concentrations 100, 250 mg/ml of aquatic extract had considered as the MIC and MBC for *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli* and *Candida albicans* respectively, while the two concentrations 50, 250 mg/ml of aquatic extract had considered as the MIC and MBC for *Staphylococcus aureus*, *Burkholderia mallei* and *Candida tropicalis* respectively, and about the concern of *Proteus vulgaris* and *Epidermophyton floccosum*, the concentration 125 mg/ml had inhibited their growth and the concentration 250 mg/ml had killed them. Also the results affirmed there was no affect of aquatic extracts on *Pseudomonas aeruginosa* and *Trichophyton mentagrophytes* in all prepared concentrations. The results showed that the two concentrations 16, 32 mg/ml of alcoholic extract were inhibited and killed for *Proteus mirabilis* and *Pseudomonas flourescence* respectively, while the two concentrations 4, 32 mg/ml of the same extract were inhibited and killed for *Burkholderia mallei*, *Escherichia coli*, *Candida albicans*, as well as, *Candida tropicalis* respectively. The results of this research also indicated that the growth of *Epidermophyton floccosum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Staphylococcus aureus* and *Proteus vulgaris* was inhibited and killed by the alcoholic extract at the concentrations (8, 16), (8, 32), (4, 16) and (8, 32) mg/ml respectively. As well as, the results reffered to the inhibitory activity of volatile oily extract on the growth of all microorganisms under study at the concentrations between (1:2) and (1:3), while the killed concentrations between (1:3) and (1:4).

**Keywords:** The Petals of *Rosa damascene* aquatic, alcoholic and volatile oil , chemical test,

## المقدمة

بعد ورد الجوري *Rosa damascena L.* ملك الورد Queen of Roses لما يتمتع به من منظر جميل ورائحة

فواحة، يعود هذا النبات الى رتبة Rosales عائلة Rosaceae جنس *Rosa* الذي يضم أنواعاً وأصنافاً تصل الى 75 نوع

[1]. بدأ استخدام ورد الجوري من سكان حضارات العالم القديم مثل حضارات مصر والاغريق والرومان، وكان يستخدم

في بادئ الامر للتعبير عن الحب والابتهاج والسلام لجمال منظره، بالإضافة الى استخدامه لعلاج حالات الاغماء والغيبوبة

والاكتئاب لرائحته الفواحة، كما استخدمت بتلات الورد منذ القدم لخصائصها القابضة والمؤدية في علاج حالات نزف

الرئتين والسعال وأمراض الحلق والفم المتقرح [2]. يملك ورد الجوري خصائص علاجية عديدة منها خصائص مهدئه Anti-depressant، حيث أكدت الدراسات والابحاث العلمية التي أجريت في مؤسسة شيكاغو لبحوث وعلاجات الطعم والرائحة وجامعة نيوجيرسي الاميريكية أن زيت الورد تأثيراً مهدهاً للاعصاب ومزيلاً للأكتئاب و يجعل الشخص أكثر قدرة على التواصل مع الاخرين لاحتواءه على مركبات كيميائية خاصة تهدىء نبضات القلب وتهدىء العصبية مما يهدىء من القدرة الشفائية عن طريق تحفيز وتنشيط قدرات الجسم العلاجية الذاتية الكامنة فيه ويدخل الزيت الطيار الى الجسم عن طريق الجلد والاستنشاق ويؤثر بشكل رئيسي في الخلايا الدماغية خصوصاً تلك المتخصصة بالذاكرة والعواطف مما يؤدى الى تحسن في الجسم والنفس والعواطف ويزيل التوتر والاكتئاب وقد وجد ان تأثير زيت الورد يفوق تأثير دواء (Philodendron) المستخدم لعلاج الحالات النفسية مثل التوتر والشد العصبي والاكتئاب [3]، فضلاً عن ذلك فأن للورد خصائص مضادة للالتهاب Anti-inflammatory ومضادة للفايروسات والبكتيريا Anti-viral and Anti-bacterial ومضادة للتشنجات spasmodic وينقي الدم من السموم وله قدرة عالية في معالجة الجفاف وتغذية وشد البشرة وازالة إحمرار الجلد والاكز ما والالتهابات الجلدية الناجمة من الاصابة بفايروس الهربس Herpes virus ووقف النزف الدموي، كما يستخدم في معالجة الاضطرابات المغوية وكسل الامعاء وتحفيز آلام الدورة الشهرية في النساء ومعالجة حصيات الصفراء وأوجاع الرأس والظهر وكمادة مسهلة Laxative، ويعود الاستخدام الطبي الواسع للورد لاحتواءه على 300 مركب عضوي كيميائي مثل الصابونينات والفلافونويدات والمساعدة الانزيمي Q1 وفيتامين E ومضادات الاكسدة Anti-Oxidant [4] لهذا أرتأينا في هذا البحث تحضير مستخلصات مائية وكحولية والزيت الطيار لورد الجوري ودراسة فعاليتها ضد ميكروبية ضد بعض أنواع الاحياء المجهرية المعزولة من أحماق الجروح والحرائق.

### المواد وطرق العمل

تحضير العينات النباتية:

استخدمت في هذا البحث الاوراق التويجية (Petals) لورد الجوري حيث جمعت الازهار في فترة الربيع من تاريخ 2011/4/1 ولغاية 2011/5/20 من مجمع الجادرية بعدها فرزت الاجزاء الزهرية وأخذت الاوراق التويجية للورد وغسلت بالماء المقطر للتخلص من الغبار والاجزاء العالقة بها وحفظت في علبة زجاجية نظيفة وجافة ومعقمة في الثلاجة

لحين الاستخدام، وقبل بدء عملية الاستخلاص بدقائق قطعت الاوراق التويجية بواسطة سكين صغيرة الى قطع صغيرة واستخدمت مباشرة في عملية الاستخلاص حفاظاً على زيتها الطيار.

### تحضير المستخلصات النباتية

#### 1- تحضير المستخلص المائي:

وزن (100 غم) من الاوراق التويجية المقطعة آنیاً الى قطع صغيرة ووضعت في دورق زجاجي وأضيف اليها (500 مل) من الماء المقطر المغلي وترك ليبرد مع التحريك المستمر، ثم رشح المحلول عبر طبقات من الشاش ومن ثم بورق ترشيح Whatmann No.2، وأخذ الراشح وبخر جهاز المبخر الدوار Rotary Evaporator بدرجة حرارة (40)°م لحين الحصول على سائل كثيف، بعدها جفف السائل في حاضنة بدرجة حرارة (37)°م ولمدة ثلاثة أيام الى ان يتكون مسحوق مجفف، حفظ هذا المسحوق في قنينة زجاجية نظيفة جافة ومعتمة ووضع في الثلاجة لحين الاستخدام [5].

#### 2- تحضير المستخلص الكحولي:

وزن (100 غم) من الاوراق التويجية المقطعة آنیاً الى قطع صغيرة ووضعت في دورق زجاجي وأضيف لها (200 مل) من الكحول الاثيلي بتركيز (80%)، ترك الدورق في حاضنة هزاردة لمدة (24) ساعة بدرجة حرارة (37)°م ، ثم نبذ المستخلص بجهاز الطرد المركزي بقوة (2500) دوره/دقيقة لمدة (10) دقائق بعدها رشح الراشح بورق ترشيح Whatmann No.2 سائل كثيف، بعدها جفف السائل بدرجة حرارة (37)°م لمدة ستة أيام للحصول على مسحوق مجفف حفظ بقنينة زجاجية نظيفة جافة ومعتمة في الثلاجة لحين الاستخدام [6].

#### 3- تحضير المستخلص الزيتي:

وزن (200 غم) من الاوراق التويجية المقطعة آنیاً بواسطة سكين الى قطع صغيرة ووضعت في دورق زجاجي وأضيف اليها (500 مل) من الماء المقطر، ثم وضع الدورق في جهاز الاستخلاص البخاري الكلافجر (Klafinger) من نوع Gerhardt صيني المنشأ ، وتم تشغيل الجهاز حيث تمت عملية الاستخلاص لمدة (4) أيام وبواقع أربع ساعات لكل يوم، تم خلال هذه المدة استخلاص الزيت الطيار من الاوراق التويجية وأعيدت عملية الإستخلاص للحصول على أكبر

كمية من الزيت المستخلص من ماء الورد ووضع في قنينة زجاجية ولفصل الزيت الطيار عن باقي المواد المستخلصة والموجود في ماء الورد استخدمت طريقة الفصل الملحي، حيث وضعت كميات متساوية من المستخلص المتجمد ومحول ملحي (NaCl) بتركيز 1% وخلطت جيداً بعدها لوحظ تجمع طبقة الزيت الطيار للاعلى، سحبت بواسطة سرنجة معقمة، جمع بعدها في قنينة زجاجية نظيفة ومحكمة الغلق وحفظت في الثلاجة لحين الاستخدام [7].

#### الكشفات الكيميائية للمجاميع الفعالة في ورد الجوري

لأداء هذه الكشفات حضر محلول من مستخلص الاوراق التويجية قيد الدراسة وذلك بوزن (10 غم) من مسحوق المستخلصات الثلاث المحضرة في الفقرات السابقة كل على حدى، وأذيب في (50 مل) من الماء المقطر المعقم وسخن الى درجة الغليان ثم رش محلول وترك الراشح ليبرد ووضع في بيكر زجاجي نظيف واستخدم لأداء الفحوصات التالية:-

##### ١- الكشف عن التаниنات :Tannins

أخذ ١ مل من محلول النباتي المحضر سابقاً وأضيف له ١ مل من ١% خلات الرصاص واستدل على وجود الدباغيات بظهور راسب هلامي القوام، كما أخذ ١ مل من محلول النباتي وأضيف له ١ مل من محلول كلوريد الحديديك ١% واستدل على وجود الدباغيات بظهور اللون الاحضر المزرق [٨].

##### ٢- الكشف عن الصابونينات :Saponins

تم الكشف عن هذه المادة باتباع طريقة [٩] وكما يأتي :-

أ- وضع ٣ مل من محلول النباتي في أنبوبة اختبار و ٣ مل من محلول كحولي ورجت الأنبوبة بشدة ، ان ظهور رغوة كثيفة ولمدة طويلة دليل على جود الصابونينات.

ب- أضيف ١ مل من محلول كلوريد الزئبق الى ٥ مل من محلول النباتي ، ان ظهور راسب أبيض دلالة على النتيجة الموجبة.

ج- اخذت أنبوبتي اختبار ووضع في كل واحدة منها ٥ مل من محلول الدم، ثم أكمل الحجم في كل أنبوبة الى ١٠ مل بالإضافة ٥ مل من محلول الفسيولوجي لاحداهما ، وللأخرى ٥ مل من محلول النباتي، ان تغير اللون وتحلل كريات الدم الحمر والذي يتم تأكيده بفحص قطرة من كل أنبوب على شريحة زجاجية بواسطة المجهر دلالة على النتيجة الموجبة.

### ٣- الكشف عن الفلافونويدات :Flavonoids

اذيب ١٠ غم من المسحوق النباتي في ٥ مل من الكحول الاليلي ٩٥٪ ثم رشح المحلول، واضيف له كمية متساوية من مزيج من الكحول الاليلي مع هيدروكسيد البوتاسيوم بتركيز ٥٪ ، وظهور اللون الاصفر هو دلالة على ايجابية الكشف [10].

### ٤- الكشف عن القلويات :Alkaloids

باستخدام كاشف مایر Mayer ، حيث وضعت كميات متساوية من كاشف مایر مع المحلول النباتي ومزجت جيداً في زجاجة ساعة وان ظهور جزيئاتِ لراسبِ أبيض هو دلالة على ايجابية الفحص [11].

### ٥- الكشف عن الكلابicosيدات :Glycosides

أخذت كمية من المحلول النباتي ووضعت في أنبوبة اختبار واضيف اليها بضع قطرات من حامض HCl ووضعت في حمام مائي مغلي لمدة ٥ دقائق ثم اضيف اليها (٢ مل) من كاشف بندكت ووضع المحلول في حمام مائي مغلي لمدة ٥ دقائق وظهور راسب أبيض دلالة على ايجابية الفحص [12].

### ٦- الكشف عن التريبينات والستيرويدات:

اذيب ١ غم من المستخلص النباتي في قليل من الكلوروفورم (١-٢ مل) واضيفت اليه قطرة من حامض الخليك اللامائي و قطرة من حامض الكبريتيك المركز و ظهور اللون البني دلالة على ايجابية الفحص [13].

### ٧- تقدير الأُس الهيدروجيني (pH):

قدرت قيمة الدالة الحامضية للمحلول النباتي (pH) وذلك باستخدام جهاز pH meter عند درجة حرارة المختبر [9].

### ٨- الكشف عن الزيوت الطيارة:

أخذ (١٠ مل) من كل من المستخلصات النباتية المحضره ورشحت بعد ذلك وشبت بها اوراق الترشيح وعرضت الى مصدر للاشعة فوق البنفسجية إذ يدل ظهور اللون الوردي البراق على وجود الزيوت الطيارة [13].

### ٩- الكشف عن المجاميع الفعالة في المستخلص النباتي باستعمال جهاز (FTIR):

اضافة الى اجراء الفحوصات الكيميائية المذكورة في الفقرات السابقة، استخدم جهاز مطياف الاشعة تحت الحمراء (FTIR- 8300) والمجهر من شركة Fourier Transform Infra Red Spectrophotometer (Shi-)

MADZU) لتحديد وجود بعض المجاميع الفعالة في المستخلصات ( المائية والكحولية والزيتية)المحضر ، حيث تم الحصول على منحنيات بيانية وسجلت نتائجها.

### تحضير التراكيز المختلفة للمستخلص المائي والكحولي والزيتى لورد الجورى

حضرت التراكيز المختلفة للمستخلص المائي والكحولي والزيت الطيار لورد الجورى لغرض استخدامها في دراسة تأثيراتها على مجموعة من البكتيريا والفطريات الممرضة وكما يأتي:

#### **1- المستخلص المائي:**

حضر محلول خزين Stock Solution من المستخلص المائي وذلك بأذابة (30) غم من المستخلص المحضر في (100) مل من الماء المقطر المعقم ، ثم عقم محلول باستخدام أوراق ترشيح غشائية (Millipore Filter) وبقطر  $\mu\text{m}$  0.45 وبإستخدام جهاز التفريغ Vaccum لإتمام عملية التعقيم، ثم حضرت منه التراكيز التالية:-

(50، 100، 125، 250) ملغم/مل.

#### **2- المستخلص الكحولي:**

حضر محلول خزين من المستخلص المحضر بأذابة (8) غم منه في (100) مل من الماء المقطر المعقم، ثم عقم محلول باستخدام أوراق ترشيح غشائية (Millipore Filter) وبقطر  $\mu\text{m}$  0.45 وبإستخدام جهاز التفريغ Vaccum لإتمام عملية التعقيم ، ثم حضرت منه التراكيز التالية:- (4، 8، 16، 32) ملغم/مل.

#### **3- مستخلص الزيت الطيار:**

حضرت تراكيز مختلفة (حجم/حجم) من المستخلص الزيتي بأسعمال زيت عباد الشمس لغرض التخفيف وهذه التراكيز هي (1:1، 2:1، 3:1، 4:1) وضعت بعدها في أنابيب محكمة الغلق [14] .

### الجراثيم المستخدمة

استخدم في هذا البحث أحد عشر نوعاً من الاحياء المجهرية الممرضة والمعزولة من حالات التهابات الجروح والحرائق من المرضى الرافدين في ردهات (الحرائق والجراحية) في مستشفى الامام علي (عليه السلام) في مدينة بغداد، حيث أخذت المسحات بطريقة معقمة وزرعت على اوساط (اكار الدم وأكار الماكونكي) لعزل الانواع البكتيرية المسببة للالتهاب ووسط سابرويد دكستروز اكار Sabouraud's dextrose Agar للتحري عن الفطريات المسببة للالتهاب، حيث عزلت هذه الاحياء المجهرية وشخصت مختبرياً وأعتماداً على [15 ، 16] وهي:-

Proteus mirabilis , Proteus vulgaris, Pseudomonas aeruginosa, Pseudomonas flouresence, Staphylococcus aureus, Burkholderia mallei, Escherichia coli, Candida albicans, Candida tropicalis, Epidermophton floccosum, Trichophyton mentagrophytes.

#### تحضير العالق البكتيري

حضر عالق جرثومي لكل من الانواع البكتيرية السبعة وذلك بنقل (3-1) مستعمرات مفردة الى أنابيب اختبار حاوية على (5 مل) من محلول الملح الفسيولوجي ورج الانبوب جيداً، بعدها تم معایرة عکورة هذا الانبوب مع الانبوب الثالث لمکفر لاند والمجهز من شركة Becton الامريكية والحاوي على ( $10^8 \times 1.5$ ) خلية بكتيريا/مل لاستخدامه لاحقاً وكما جاء في [17].

#### تحضير العالق الفطري

حضر عالق فطري لكل من الانواع الفطرية الاربعة وذلك بأخذ (3) حملات بالعروة (Loop) من المستعمرات الفطرية النامية ووضعت في انبوب حاوي على (10) مل من محلول الملح الفسيولوجي ورج جيداً ثم حضرت من هذا الانبوب تخفيف عشري ولغاية التخفيف الثالث ( $10^{-3}$ ) والذي استخدم في التجربة القادمة [18].

#### تأثير التراكيز المختلفة للمستخلصات المحضرة في نمو الاحياء المجهرية قيد الدراسة

لدراسة التأثير استخدمت طريقة الانابيب (tube method) [19] هو التالي:-

1- حضرت مجموعة من الانابيب لكل من التراكيز المختلفة للمستخلصات المائية والكحولية والزيتية حيث وضع في كل منها (0.5 مل) من التركيز المراد اختباره.

2- أضيف لكل انبوب (0.5 مل) من العالق المعاير والمحضر سابقاً لكل نوع من الاحياء المجهرية قيد الدراسة.

3- حضر انبوب السيطرة السالب الذي يحتوي على (0.5 مل من التراكيز المختلفة للمستخلصات الثلاث كل على حدی مع 0.5 مل من محلول الملح الفسيولوجي)، كما حضر انبوب السيطرة الموجب الذي يحتوي على (0.5 مل من عالق الاحياء المجهرية قيد الدراسة كل على حدی مع 0.5 مل من محلول الملح الفسيولوجي) لمقارنة النمو.

4- حضنت الانابيب في حالة البكتيريا عند درجة حرارة 37° مدة (18) ساعة، اما في حالة الفطريات فحضرت عند درجة حرارة 25° مدة أسبوع.

5- قرئت النتائج بملاحظة العكورة ومقارنتها مع أنبوب السيطرة (الموجب والسلاب)، ففي حالة البكتيريا أخذ حجم 0.01 مل) من كل أنبوب بضمنها أنابيب السيطرة الموجب والسلاب وزرعت على أطباق حاوية على وسط الاكار المغذي بطريقة النشر وباستعمال الناشر Spreader وحضرت بدرجة حرارة 37 ° مدة (18) ساعة، بعدها حسب عدد المستعمرات النامية

ومن خلالها حدد التركيز المثبط الادنى (MIC) والتركيز القاتل الادنى (MBC) لكل مستخلص وسجلت النتائج [20]، أما في حالة الفطريات فقد حسب الوزن الجاف لكل الانابيب المحسنة بضمنها انابيب السيطرة الموجب والسلاب [21]، أما في حالة الفطريات فقد حسب الوزن الجاف لكل الانابيب المحسنة بضمنها انابيب السيطرة الموجب والسلاب بعد ترشيح محتوياتها وتجفيفها في الفرن الكهربائي عند درجة حرارة 40 ° مدة (6) ساعات ومن خلال الفرق في الوزن حدد التركيز المثبط الادنى والتركيز القاتل الادنى لكل مستخلص وسجلت النتائج [22].

6- أجري التحليل الاحصائي للنتائج كافة باستخدام إختبار L.S.D وعند مستوى احتمالية [23, 24].

#### النتائج والمناقشة

درست في هذا البحث الفعالية الضد ميكروبية للمستخلصات الثلاث المحضرة من ورد الجوري وهي المستخلص المائي والكحولي والزيت الطيار حيث استخدم أحد عشر نوعاً من الاحياء المجهرية المعزولة من أخماق الجروح والحرائق بضمنها سبعة انواع من البكتيريا وأربعة انواع من الفطريات والجدولان (1) و (2) يوضحان نتائج تشخيص البكتيريا والفطريات المعزولة على التوالي.

**جدول (١): نتائج تشخيص الأنواع البكتيرية قيد الدراسة**

E. col	P. flourescence	B. mallei	P. aeruginosa	S. aureus	P. vulgaris	P. mirabilis	11
-	-	-	-	+	-	-	Gram stain
Bacilii	Bacilii	Bacilii	Bacilii	Cocci	Bacilii	Bacilii	Shape of bacterial cell
+	-	-	-	+	+	-	Indol
+	-	+	-	-	+	+	Methyl red
-	-	-	-	+	-	-	Voges-Proskauer
-	+	+	+	+	+	+	Citrate utilization
+	-	-	+	+	+	+	Motility
B-haemolysis	B-haemolysis	B-haemolysis	B-haemolysis	B-haemolysis	B-haemolysis	B-haemolysis	Growth on blood agar
-	-	-	-	+	+	+	Urease

-	-	+	-	+	-	-	-	Mannitol fermentation
-	-	-	-	+	-	-	-	Coagulase
+	+	+	+	-	+	+	+	Catalase
-	+	+	+	-	-	-	-	Oxidase
+	-	+	+	+	-	-	-	Growth at 42°C
-	+	-	-	-	-	-	-	Growth at 40°C

جدول (2) نتائج تشخيص الاواع الفطرية قيد الدراسة

الفطر	لون المستعمرات	الصفة المميزة للسيبورات	تكوين الانبوب الجرثومي	تحليل اليوريا عند درجة 37°C	تخمر الكلكوز مع انتاج غاز	تخمر الكالاكتوز مع انتاج غاز	تخمر السكروز مع انتاج غاز
<i>Candida albicans</i>	كريمي او أبيض	سيبورات برعمية صغيرة وسبورات كلاميدية كبيرة سميكية	+	+	+ مع غاز	+ بدون غاز	+ بدون غاز
<i>Candida tropicalis</i>	كريمي او أبيض	سيبورات برعمية صغيرة وسبورات كلاميدية كبيرة سميكية	-	-	+ بدون غاز	+ بدون غاز	+ بدون غاز
<i>Epidermophyton floccosum</i>	بيضاء و بتقدم العمر صفراء شاحبة	كونيدات كبيرة صولجانية والصغريرة لم تلاحظ	-	-	+ بدون غاز	-	+ بدون غاز
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	بيضاء قطنية	كونيدات كبيرة اسطوانية وصغريرة صولجانية	-	-	+ بدون غاز	+ بدون غاز	+ بدون غاز

أجريت للمستخلصات الثلاث المحضرة كشوفات كيميائية لمعرفة محتواها من المواد الفعالة، إذ أشارت نتائج هذه الكشوفات إلى احتواء كل من المستخلصات المائية والكحولية والزيتية لورد الجوري على المركبات الفعالة مثل الدباغيات والصابونينات والفلاقونيدات والقلويدات والتربينات والسيرويدات إضافة إلى الزيت الطيار الفعال إذ تعد جميع هذه المركبات فعالة جداً ولها استخدامات طبية وهذه النتيجة تتفق مع [27, 26, 25] إذ تعد التربينات مواد فعالة جداً لامتلاكها لخصائص قطبية وقابضة لها فعلاً سريعاً في معالجة الجروح وتكوين أنسجة جديدة، بينما كانت نتائج الكشف عن الكلايكوسيدات سالبة إذ ان المستخلصات الثلاث (المائية، الكحولية والزيتية) لورد الجوري أعطت نتيجة سالبة لهذا الفحص،

أما بالنسبة لقياس الأس الهيدروجيني للمستخلصات المحضرة فقد كانت جميعها حامضية إذ كان المستخلص المائي ذو أنس هيدروجيني (pH=5.8) والمستخلص الكحولي (pH=4.9)، فيما كان المستخلص الزيتي ذو أنس هيدروجيني (pH=5.5) وهذه صفة مهمة جداً إذ أنه من المعروف أن غالبية البكتيريا الممرضة تحبذ pH متعادل 7.2 فضلاً عن أن الفطريات الممرضة للأنسان تحبذ pH الحامضي إذ يضبط pH وسط سابرويد دكستروز أكار عند (6.5) لذا

فإن أي تغيير في الأنس الهيدروجيني الملائم لنمو الأحياء المجهرية يؤدي إلى تثبيط نموها لانخفاض الفعالية الحيوية لأنزيماتها الأيضية [28]، والجدول (3) يوضح هذه النتائج.

**جدول (3) نتائج الكشوفات الكيميائية النوعية للمركبات الفعالة في المستخلصات المحضرة**

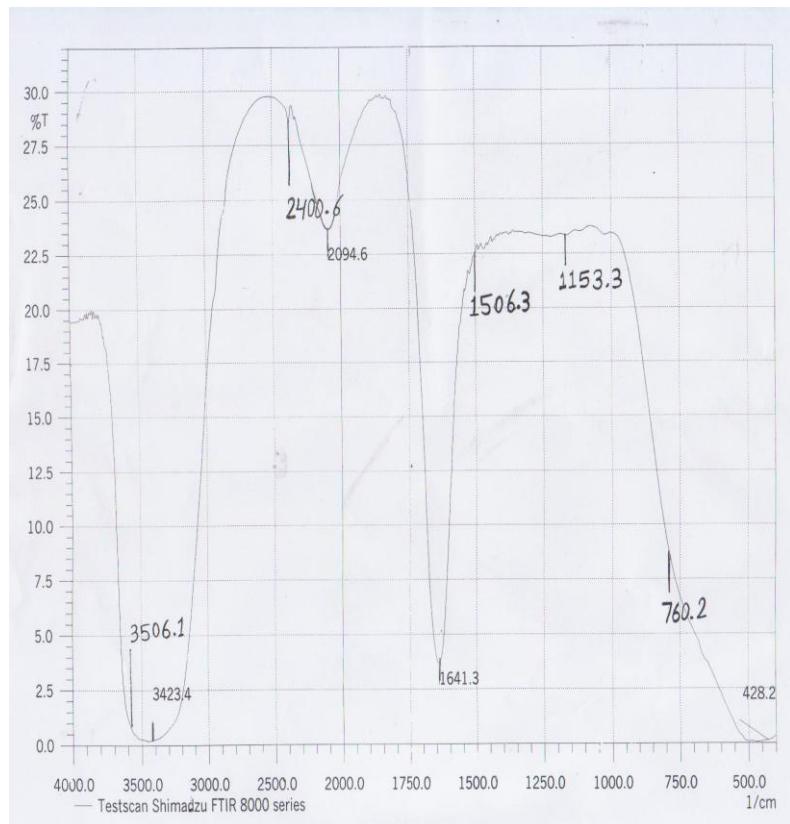
مستخلص ورد الجوري			المركب الفعال
الزيتي	الكحولي	المائي	
+	+	+	الدباخيات
+	+	+	الصابونيات
+	+	+	الفلافونويدات
+	+	+	تاقلويات
+	+	+	التربيبات
+	+	+	الستيرويدات
-	+	-	الكلارicosيدات
+	-	+	الزيت الطيار
5.5	4.9	5.8	الأنس الهيدروجيني

(+) : تعني احتواء المستخلص على المركب الفعال

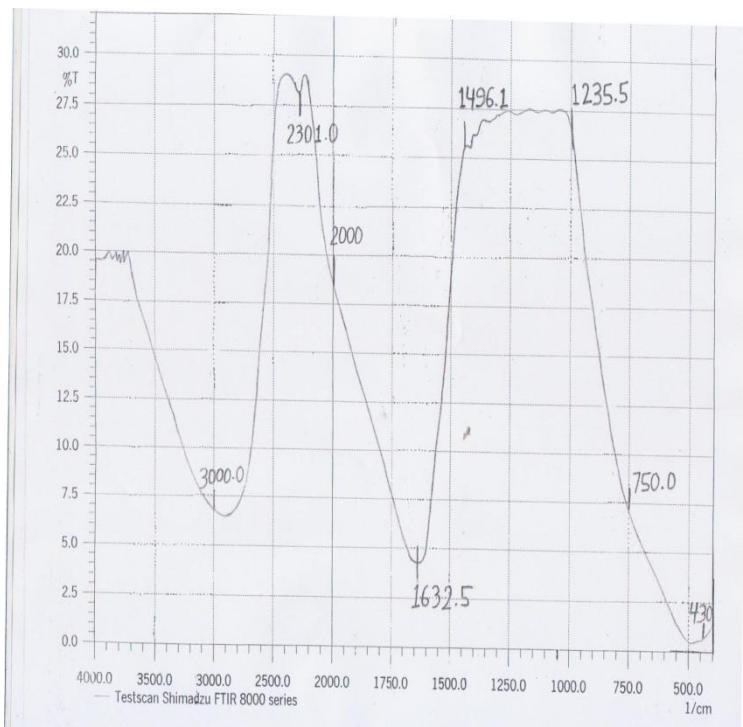
(-) : تعني عدم احتواء المستخلص على المركب الفعال

أما فيما يخص الكشف عن المجاميع الفعالة للمستخلصات الثلاث باستخدام جهاز (FTIR)، فقد أظهرت منحنيات تحليل طيف الأشعة تحت الحمراء أن المستخلصات المائية والكحولية والزيتية لوردالجوري أظهرت نتائج متقاربة من حيث إحتواها على مجاميع فعالة فقد لوحظ وجود مجموعة الهيدروكسيل الفعالة (OH) عند إمتصاصية تراوحت مابين (3506-3000)، كما لوحظ ظهور متميز لمجموعة الامينات الفعالة (C=N) وبإمتصاصية تراوحت مابين (2200-2000)، كما وجد ظهور المجموعة الاسترية ذات الاصرة المزدوجة (O=C-O=C) عند إمتصاصية تراوحت مابين (1902-1641)، و مجموعة (C=C) الالروماتية عند إمتصاصية حزمية تراوحت مابين (1301-1235)، فضلاً عن ظهور مجموعة الاستر المفردة (C-O-C) وبإمتصاصية محصورة مابين (820-1200)، وأخيراً لوحظ وجود إمتصاصية

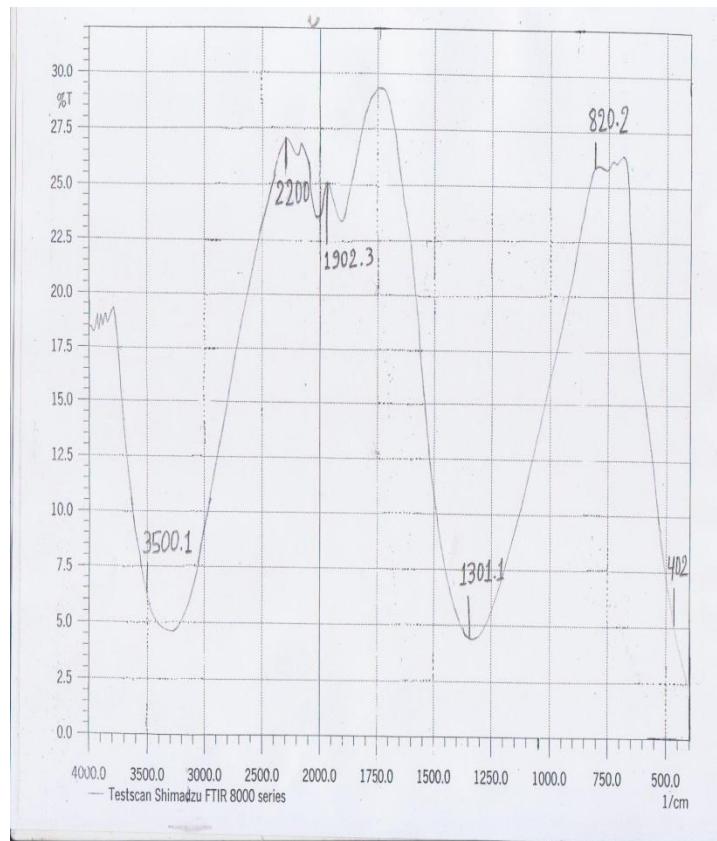
تراوحت مابين (٤٠٢-٧٦٠) مما يدل على وجود المجاميع الاروماتية الفعالة وجميع هذه النتائج تتفق مع [29]، والذي يوضح الامتصاصية الحزمية المثالية لكل من المجاميع الفعالة السابقة الذكر، هذه النتائج فضلاً عن نتائج الكشوفات الكيميائية النوعية تؤكد وجود مركبات ومجاميع فعالة في المستخلصات المحضرة من ورد الجوري والأشكال (١) و (٢) و (٣) توضح هذه النتائج.



الشكل (١): منحني تحليل طيف الاشعة تحت الحمراء للمستخلص المائي لورد الجوري



الشكل (٢): منحني تحليل طيف الأشعة تحت الحمراء للمستخلص الكحولي لورد الجوري



**الشكل (٣): منحني تحليل طيف الاشعة تحت الحمراء للمستخلص الزيتي لورد الجوري**

اما فيما يتعلق بدراسة تأثير التراكيز المختلفة المحضرة من المستخلصات الثلاث لورد الجوري على الاحياء المجهرية الممرضة والمعزولة من ا xmax; الجروح والحرائق فقد اوضحت نتائج التحليل الاحصائي باستعمال إختبار L.S.D عند مستوى احتمالية 0.05 ما يلي:-

#### ١- تأثير المستخلص المائي:

كان لهذا المستخلص تأثيراً على الاحياء المجهرية قيد الدراسة حيث وجد ان التراكيز 100 ملغم/مل منه هو التراكيز المثبط الادنى لكل من *P. mirabilis* و *E. coli* و *C. albicans* و *E. floccosum* و *P. vulgaris* و *S. aureus* و *B. mallei* و *C. tropicalis* فيما كان التراكيز 250 ملغم/مل هو التراكيز القاتل لها، كما تبين ان التراكيز 50 ملغم/مل مثبطاً لنمو كل من *E. floccosum* و *P. vulgaris* و *S. aureus* و *B. mallei* و *C. tropicalis* فيما كان التراكيز 250 ملغم/مل قاتلاً لها، اما فيما يخص *P. aeruginosa* و *T. mentagrophytes* فقد كان التراكيز 125 ملغم/مل مثبطاً لنموهما فيما كان التراكيز 250 قاتلاً لهما، فيما يتجلى لنا بوضوح عدم تأثير كل من *P. aeruginosa* و *T. mentagrophytes* برأي من تراكيز المستخلص المائي المحضرة في هذا البحث.

## ٢- تأثير المستخلص الكحولي:

تبين من النتائج ان نمو كل من *C. tropicalis* و *E. coli* و *B. mallei* و *C. albicans* قد ثبّط عند التركيز ٤ ملغم/مل فيما كان التركيز ٣٢ ملغم/مل قاتلاً لهم، كما يتضح ان التركيز ٨ ملغم/مل كان مثبّطاً لنمو كل من *P. vulgaris* و *P. mirabilis* فيما كان التركيز ٣٢ ملغم/مل قاتلاً لهما، اما فيما يخص كل من *T. mentagrophytes* فقد كانت التراكيز (١٦ و ٣٢) ملغم/مل هي التراكيز المثبّطة والقاتلة لها على التوالي، فيما تظهر النتائج ان التركيز ٨ ملغم/مل هو التركيز المثبّط لنمو كل من *E. floccosum* و *P. aeruginosa* فيما كان التركيز ١٦ ملغم/مل تركيزاً قاتلاً للفطر *E. floccosum* فيما لم يبدِ أي تركيز قاتل لجرثومة *P. aeruginosa*.

## ٣- تأثير المستخلص الزيتي:

كان لهذا المستخلص تأثيراً على الاحياء المجهرية قيد الدراسة فقد كان التركيز ٢:١ مثبّطاً لنمو كل من *C. tropicalis* و *E. coli* و *B. mallei* و *P. aeruginosa* فضلاً عن *C. albicans* فيما كان التركيز ١:٤ قاتلاً لهم، كما يتبيّن ان التركيز ٢:١ هو التركيز المثبّط لنمو *P. floresens* فيما عد التركيز ١:٣ قاتلاً لها، اما فيما يخص *P. floresens* فقد عد التركيز ١:٣ بالاضافة الى *T. mentagrophytes* *S. aureus* و *E. floccosum* و *P. vulgaris* و *P. mirabilis* مثبّطاً لنموهم فيما كان التركيز ١:٤ قاتلاً لهم.

ما تقدّم من النتائج يتبيّن ان مستخلص الزيت الطيار لورد الجوري كان أفضل وأكثر تأثيراً على الاحياء المجهرية قيد الدراسة من المستخلص المائي والكحولي، حيث أنه قد ثبّط نمو الاحياء المجهرية قيد الدراسة كافة بما فيها البكتيريا والفطريات كما أنه استطاع ان يقتلها عند التركيز MBC، فيما استطاع المستخلص المائي ان يؤثّر (تشبيط وقتل) على تسعه انواع من مجموع احد عشر نوعاً من الاحياء المجهرية قيد الدراسة، بينما لوحظ ان المستخلص الكحولي استطاع ان يثبّط نمو الاحياء المجهرية قيد الدراسة عند التركيز MIC فيما استطاع ان يقتل عشرة من مجموع الاحياء المجهرية المستخدمة في البحث عند التركيز MBC، ان سبب هذه الاختلافات في القدرة على التشبيط والقتل يعود الى اختلاف طريقة الاستخلص، كما قد يعزى الى ان مستخلص الزيت الطيار يحتوي على نسبة ١٠٠% من المواد البايولوجية القاتلة المثبّطة لنمو الاحياء المجهرية كالدباغيات والصابونينات والفلاغونيدات والقلويديات والتربينات والسترويدات (كما اثبتته نتائج الكشوفات الكيميائية وتحليل طيف الاشعة تحت الحمراء) فيما يحتوي المستخلص الكحولي والمائي على أقل من نسبة

١٠٠% من هذه المواد الفعالة البايولوجية والتي أدت الى هذا الاختلاف في التأثير على الاحياء المجهرية الممرضة قيد الدراسة، كما تشير النتائج ان فاعلية المستخلص المائي والكحولي والزيتي في علاج اخماق الجروح والحرائق التي تسببها *C. albicans* و *E. coli* و *B. mallei* و *S. aureus* و *P. flourescence* و *P. vulgaris* و *P. mirabilis* كلاً من *C. tropicalis* و *E. floccosum* و *C. tropicalis* ، إذ أظهرت هذه المستخلصات الثلاث من التأثير على هذه الاحياء المجهرية (البكتيريا والفطريات ) وعند تراكيز مختلفة من MIC و MBC والتي اختلفت بحسب طبيعة كل كائن مجهرى وهذا يعود الى احتواء تلك المستخلصات على مواد فعالة بايولوجياً كالقلويات (كما اثبتته نتائج الكشوفات الكيميائية وتحليل طيف الاشعة تحت الحمراء) إذ أن لهذه المواد تأثيراً مضاداً للاحياء المجهرية من خلال ايقافها صنع الاحماض النوويه في الخلية الحية المجهرية بتنبيط عمل انزيم gyrase DNA كما تؤثر في الوقت نفسه على المساعدات الانزيمية Co-enzyme [31,30] التي تنتج في داخل الخلية المجهرية مثل folic acid ، فضلاً عن احتواء هذه المستخلصات على الانزيمات والكلايوكسیدات والزيت الطيار والتي تعد من المواد البايولوجية الفعالة في علاج الحروق ونزف الجروح لتأثيرها القابض للاوية الدموية والمسكن للالم فضلاً عن ان لزيت الورد الطيار ترددات تترواح ما بين ٣٢٠ - ٥٢ هيرتز والتي لها تأثيراً قاتلاً للاحياء المجهرية [34,33,32] مما تقدم نستنتج ان المستخلص المائي والكحولي والزيت الطيار لورد الجوري يمكن استخدامه في علاج اخماق الجروح والحرائق التي تسببها مجموعة من البكتيريا والفطريات ولاسيما قيد الدراسة، فيما بينت نتائج هذا البحث عدم تأثر كلاً من بكتيريا *P. aeruginosa* والفطر *T. mentagrophytes* بأي من التراكيز المحضرة من المستخلص المائي لورد الجوري حصراً على الرغم من وجود المركبات الفعالة فيه وهذا قد يعزى الى كون هذين الكائينين المجهريين يتاثران بتراكيز اعلى من المستخلص المائي لورد الجوري من تلك المحضرة في دراستنا الحالية او أن هذا قد يعزى الى تعرض تلك الاحياء المجهرية الى مؤثرات خارجية فضلاً عن تعرضها الى مضادات حياتية وبجرع مختلفة اثناء علاج الانسان للامراض والاصابات التي تحدثها مما يكسبها المقاومة تجاه التأثير التبيطي او القاتل للمضادات المايكروبية سواء كانت مضادات حياتية أم مركبات طبيعية فعالة مثل المستخلصات النباتية، كما ان ذلك قد يعود الى طبيعة البناء الخلوي للكائن المجهرى والميكانيكية التي يمتلكها هذا الكائن في مقاومة تأثير المواد العلاجية المختلفة مثل الادوية

والمستخلصات النباتية [29] ، أو أن سبب هذه المقاومة أو عدم التأثير يعود إلى قدرة تلك الاحياء المجهرية لانتاج انزيمات ايضية لها القدرة على تحليل المركبات الفعالة الموجودة في هذه المستخلصات كالاوامر

الاروماتية والامينية والهيدروكسيلية التي بتحلتها تنتج طاقة حيوية تستفاد منها الاحياء المجهرية نفسها في تكاثرها ونموها[32]، والجدولان (٤) و(٥) يوضحان هذه النتائج.

**جدول (٤): نتائج اختبار MIC و MBC للمستخلصات الثلاث لورد الجوري على الانواع البكتيرية قيد الدراسة\***

المستخلص الزيتي ٣		المستخلص الكحولي ٢		المستخلص المائي ١		البكتيريا
MBC	MIC	MBC mg/ml	MIC mg/ml	MBC mg/ml	MIC mg/ml	
٤:١	٣:١	٣٢	١٦	٢٥٠	١٠٠	<i>P. mirabilis</i>
٤:١	٣:١	٣٢	٨	٢٥٠	١٢٥	<i>P. vulgaris</i>
٤:١	٢:١	-	٨	-	-	<i>P. aeruginosa</i>
٣:١	٢:١	٣٢	١٦	١٢٥	٥٠	<i>P. flourensens</i>
٤:١	٣:١	١٦	٤	٢٥٠	٥٠	<i>S. aureus</i>
٤:١	٢:١	٣٢	٤	٢٥٠	٥٠	<i>B. mallei</i>
٤:١	٢:١	٣٢	٤	٢٥٠	١٠٠	<i>E. coli</i>

-: لا يوجد تركيز قد أثر على البكتيريا

\*: استخدام اختبار L.S.D عند مستوى احتمالية 0.05

١: الانحراف المعياري لمعدل عدد المستعمرات في حالة المستخلص المائي يساوي ٠,٤٧

٢: الانحراف المعياري لمعدل عدد المستعمرات في حالة المستخلص الكحولي يساوي ٠,٨١٦

٣: الانحراف المعياري لمعدل عدد المستعمرات في حالة المستخلص الزيتي يساوي ٠,٤١

MIC: التركيز المثبط الادنى

MBC: التركيز القاتل الادنى

**جدول (٥) نتائج اختبار MIC و MBC للمستخلصات الثلاث لورد الجوري على الانواع الفطرية قيد الدراسة\***

المستخلص الزيتي ٣		المستخلص الكحولي ٢		المستخلص المائي ١		الفطر
MBC	MIC	MBC mg/ml	MIC mg/ml	MBC mg/ml	MIC mg/ml	
٤:١	٢:١	٣٢	٤	٢٥٠	١٠٠	<i>C. albicans</i>
٤:١	٢:١	٣٢	٤	٢٥٠	٥٠	<i>C.tropicalis</i>
٤:١	٣:١	١٦	٨	٢٥٠	١٢٥	<i>E.floccosum</i>
٤:١	٣:١	٣٢	٨	-	-	<i>T.mentagrophytes</i>

-: لا يوجد تركيز قد أثر على الفطر

\*: استخدام اختبار L.S.D عند مستوى احتمالية 0.05

١: الانحراف المعياري لمعدل الوزن الجاف في حالة المستخلص المائي يساوي ١,٢٤

٢: الانحراف المعياري لمعدل الوزن الجاف في حالة المستخلص الكحولي يساوي ١,٦٩  
٣: الانحراف المعياري لمعدل الوزن الجاف في حالة المستخلص الزيتي يساوي ١,٥٣  
MIC: التركيز المثبط الانئي  
MBC: التركيز القاتل الانئي

#### المصادر

1. A. H. A.Al- Musawi: Plant Taxonomy. Dar Al- Kuttub for Printing and Publishing/Mosul- Iraq (1987).
2. Rose and Rose Legand: Therapeutical Application and New Finding.. Herbalist of MDidea Extracts Professional, 20<sup>th</sup>, Dec. (Article) (2010).
3. T. Blanks, S. Brown, B. Cosgrave, J. Woody, V. Bentley, N. O'sullivan, and N. Graydon,: The Body Shop Book of Well Being Mind, Body and Soul. London: Ebury Press. PP. (173-192) (2007) .
4. S. S. Garg,: Essential Oil As Therapeutics Natural Products Radiance. Amer. J. Pharmaco., 4: (18-26 (2005)).
5. H. M. Ali, Effect of Some plant Extracts Against *Entamoeba histolytica* That Growing in Culture Media. M. Sc. Thesis. Baghdad. Iraq (2007).
6. S. A. Zokian, Study of Biological Efficiency of Water and Ethanolic Extracts of Local *Equisetum arvense L.* M. Sc. Thesis. Baghdad- Iraq(2005).
7. A. S. Meklef,: Effect of Nitrogen Fertilizer on Growth, Volatile Oil Yield and Quality of Lemon Grass Plant *Cymbopogon citratus* (D. C.) Stapf. and the Effect of Its' Oil on Growth of Number of Fungi. Ph. D. Sc. Thesis. Baghdad- Iraq (2000).
8. I. M. Shihata, Apharmacological Study of *Anagallis arvensis*. M. D. Vet. Thesis. Cairo- Egypt (1951).
9. W. C. Evans,: Trease and Evans Pharmacognosy. London. Philadelphia. Bailliere Tindall (1999)
10. H. J. Jaffer, M. J. Mahmod, A. M. Jwad, A. Naji, and A. Al- Nab: Phytochemical and Biological Screening of Some Iraqi plants. Fitoterapia, LIX, 299(1983) .

11. B. Fuhrman, M. Rosenblat, T. Tayek, K. Colemon, and M. Aviram: Ginger Extract Consumption reduces plasma Cholesterol, Inhibits LDL Oxidation and Attenuates. The medical Sciences and Ramabam Medical Center. Palestine; 130: 1124- 1131 (2000).
12. B. Abu- Shanab, G. Adwan, D. Abu- Safiyam and K. Adwan: Antibacterial Activities of some plant Extracts Utilized in Popular Medicine in Palestine. Turk. J. Bio., 28: 99-102 (2004).
  
13. Indian Herbal Pharmacopeia.: A joint Puplication of Regional Research Laboratory, Council of Scientific and Industrial Research. Janmutawi, 1: (1-10) (1998) .
14. S.M Hadi: The Anti-microbial Activity of *Rosmatinus officinalis L.* Volatile Oil on Some Pathogenic Microorganisms . M. Sc. Thesis. Baghdad- Iraq . (2007)..
15. E. Jawetz, J. L. Melnic, and E. A. Adelberg,: Review of Medical Microbiology. 22<sup>th</sup> ed. Lange Medical Publications, Los Altos, California(2010) .
16. B. A. Forbes, D. F. Sahm, and A. S. Weissfeld,: Baily and Scotts' Diagnostic Microbiology. 18<sup>th</sup> ed. The C. V. Mosby Company ( 2005).
17. National Committee for Clinical Laboratory Standards.: Approved Standard: M7- A6. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Test for Bacteria That Grow Aerobically, 6<sup>th</sup> ed. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Pa(2003).
18. J. A. Morello, H. E. Mizer and P. A. Granato,: Laboratory Manual and Workbook in Microbiology, Applications to Patient Care. 8<sup>th</sup> ed. McGrawHill, 269-272(2006) .
19. R. M. Perz, G. Y. Lagunam and A. Walkowski: Diuretic Activity of Mexican Equisetum. J. Ethano Pharmacol., 14 (2-3) , (1995)
20. S. Trakulsomboon, T. Kummalue, and W. Tiratcharriyakul,: Antibacterial Plants, J. Med. Assoc.Thia, 98 (9): 1466- 1473(2006) .
21. E. W. Koneman, S. D. Allen, W. M. Janade, P. C. Schreckenberger, and W. C Winnm: Koneman's Color Atlas and Text book of Diagnostic Microbiology. 6<sup>th</sup> ed. Pub. Lippincott William and Wilkins. (2005).
22. K. S. Bilgrami, and R. N. Verma: Physiology of Fungi. 2<sup>nd</sup>. ed. National Book Trust of India for Printing and Publishing(1988) .

23. A. Saleh, and M. Samer The Stastical Analysis by using SPSS Program. Al- Shorooq for Publishing and printing. Oman- Jordin (1998).
24. K. M. Al- Rawi: Introduction to Stastistics. Dar Al- Kuttub for Printing and Pablishing- Mosul/Iraq(2000).
25. D. H. Taylor, D. L. Morris, D. Reffin, and K. S. Richards: Comparison of Albendazole, Mebendazole and Paraziquantel Chemotherapy of *E. histolytica* in Gerbil Model. Gut, 30: 1401- 1405(1999).
  
26. A. A. Latef,: The Antagonism Activity of some Local plant Extracts on Pathogenic Bacteria. M. Sc. Thesis. Babylon- Iraq (1998).
27. F. A. Mustafa, and A. Habash: The Antimicrobial Activity of Some Medical Plants. 5<sup>th</sup> Scientific Conference, College of Science- University of Babylon 19-20 May, CSASC Ar. V., 5: (243- 259) (2010).
28. M. R. Al- Saad: The Principle of Microbial Physiology. Dar Al- Kuttub for printing and publishing, Mosul- Iraq (1982).
29. Pantida, Kahwal; M. S. Bhatia, R. K. Thappa and K. L. Dhar: Sesonal Variation of Active Compound of Some Medical Plants. Ind. J. planta Medical., 48: 81- 82(1983) .
30. M. M. Cowan: Plant Products As Antimicrobial Agent. 12 (4): 564- 574, (1999).
31. G. Bertram and J. Anthony: Pharma- cology (Examination and Board Review). Appleton and Lange. Los Altos- California- USA. P. (267- 270) (1993).
32. F. T. Kuttub: The Medical Plants: Agriculture and Component. Dar Al- Marik for publishing and Printing, Suadia Arabia(1981) .
33. A. A. Al- Shamaa: Chemotherapy and Medical plants Chemistry. Dar Al- Kuttub for Printing and Publishing- Mosul/Iraq(1989):.
34. Pioneer Enterprise Company, :Medical Plants, J. P. Herbal. 1:16-20 (2001)

