

تقييم الكفاءة التثبيطية لبعض المستخلصات المائية والكحولية لنبات البابونج , الصبار والحلبة في نمو بكتريا *Staphylococcus aureus* المعزولة من الجروح

..... م. م. زينة هاشم شهاب

تقييم الكفاءة التثبيطية لبعض المستخلصات المائية والكحولية لنبات البابونج , الصبار والحلبة في نمو بكتريا *Staphylococcus aureus* المعزولة من الجروح

م. م. زينة هاشم شهاب

قسم علوم الحياة / كلية العلوم للنباتات

جامعة بغداد

الخلاصة

تضمنت الدراسة الحالية اختبار الفعالية الحياتية الطبيعية للمستخلصات المائية لنبات البابونج والصبار والمستخلصات الكحولية لنبات البابونج والحلبة لتقييم قدرتها على تثبيط نمو بكتريا المكورات العنقودية *Staphylococcus aureus* المعزولة من الجروح لإحدى مستشفيات بغداد باستخدام طريقة الانتشار بالحفر، أظهرت النتائج إن المستخلصات المائية كانت أكثر فعالية في تثبيط نمو البكتريا من المستخلصات الكحولية وسجل أعلى معدل تثبيط عند تركيز 40 ملغم/مل وكانت 13,2 و 12,8 ملغم لنبات البابونج والصبار على التوالي , مقارنة بمعدل أقطار تثبيط المستخلصات الكحولية التي كان أقصاها عند التركيز 40 ملغم/مل وهي 10,4 و 9,2 ملغم لمستخلص البابونج والحلبة على التوالي , وعند إجراء فحص حساسية البكتريا للمضادات الحياتية كان أكثرها تأثيرا Gentamycin & Clindamycin فقد بلغ قطر النمو 12,4 و 10 ملغم على التوالي وهي أقل فعالية لمعدل تثبيط أقطار البكتريا باستخدام المستخلصات المائية للبابونج والصبار بتركيز 40 ملغم/مل.

المقدمة

في السنين الأخيرة الماضية ظهر اهتمام واضح باستخدام النباتات الطبية والعطرية مع تطور البلدان بسبب دخول مشتقات هذه النباتات في صناعة الأدوية , التي وجد إنها آمنة ولا يؤدي استخدامها إلى ظهور أعراض جانبية(15). فالنباتات تعد المصدر الرئيس والبدل لمعالجة

تقييم الكفاءة التثبيطية لبعض المستخلصات المائية والكحولية لنبات البابونج , الصبار والحلبة في نمو
بكتريا *Staphylococcus aureus* المعزولة من الجروح

..... م. م. زينة هاشم شهاب

الأمراض المعدية وبذلك فإن المستخلصات النباتية تقدم جهودا مستمرة لإيجاد مركبات فعالة جديدة ضد العديد من البكتريا المقاومة (6) لا سيما بكتريا *S. aureus* التي تعد المسبب الرئيس لعدوى المستشفيات أو الإصابات المرتبطة بتلوث الأجهزة الطبية وكذلك تسبب الإصابات القيحية للإنسان والتسممات منها الإصابات الجلدية السطحية كالفقاقيع والدمامل والعديد من الإصابات الخطيرة الأخرى لأعضاء وأنسجة الجسم (26). ومن أشهر هذه النباتات وأكثرها استخداما نبات البابونج *Matricaria chamomilla* وهو من أهم النباتات العشبية الطبية حيث ينتمي إلى العائلة المركبة Compositae ويعرف بالانكليزية Chamomile (3) حيث يستعمل كل من شاي وزيت البابونج في تحضير غسول الجلد للمساعدة على الشفاء من الجروح العميقة cuts والقشط scrapes والتاكلات abrasions فالكريمات الحاوية على البابونج هي مضادة للالتهاب والبكتريا حيث تعمل على تجديد أنسجة الجلد ويعمل منه ضمادة لتخفيض الورم وتخفيف الألم. (18) أما نبات الصبار فهو نبات صحراوي ينتمي إلى العائلة الزنبقية Liliaceae واسمه العلمي *Aloe vera* ويعرف هذا النوع بالصبار العادي (1) ويسمى أيضا بالالوة يرجع أصله إلى أفريقيا , فالأوراق عسارية تنتج مادتان هما الهلام والعصير latex , ينتزع المر الأصفر من مناطق متخصصة من جلد الورقة عند تجفيفه ويعرف بالصبرة المرة وهو ملين قوي, أما الهلام يستحصل من الأجزاء الداخلية للورقة ويستعمل بشكل موضعي كدواء فعال للجروح والحروق ويسرع الشفاء وملطف للبشرة (4), كما يحفز *A. vera* خلايا الجلد المسؤولة عن شفاء الجرح وصناعة الكولاجين، ويسيطر على العملية المعمرة للجلد ويقيه من التجعد. حيث يمتص الجلد صبار *Vera* بحدود أربع مرات أسرع من الماء (9). أما نبات الحلبة هو من النباتات العائدة إلى العائلة البقولية Leguminosae واسمه العلمي *Trigonella foenum graecum* L. ويعرف fenugreek وتأتي أهميته نظرا لاحتوائه على العديد من المركبات الفعالة مثل القلويدات والكلايكوسيدات والصابونينات (24) واستعملت بذور الحلبة لعمل لبخات موضعية لعلاج الدمامل والخراجات وبعض الأمراض المعدية (11), كما وجد أن الزيوت الطيارة للحلبة لها صفات مضادة للفطريات والبكتريا مثل بكتريا *Escherichia coli* (21) لذا استخدمت مستخلصات هذه الأعشاب المذكورة أعلاه مضادات ميكروبية نظرا لأهميتها العلاجية وأيضا لتحديد التراكيز المثبطة لبعض

تقييم الكفاءة التثبيطية لبعض المستخلصات المائية والكحولية لنبات البابونج , الصبار والحلبة في نمو بكتريا *Staphylococcus aureus* المعزولة من الجروح

..... م. م. زينة هاشم شهاب

المستخلصات المائية والكحولية لنبات البابونج و الصبار والحلبة في نمو بكتريا *S. aureus* المعزولة من الجروح .

2- المواد وطرائق العمل.

2-1 العزلات البكتيرية.

تم الحصول على العزلات البكتيرية المشخصة والنقية من مستشفى اليرموك المعزولة من الجروح الملوثة ببكتريا *S. aureus* للمرضى الراقدين, وتم تنشيط العزلات على وسط أكار الدم .

2-2 العينات النباتية.

تم الحصول على الأزهار المجففة للبابونج وبذور الحلبة من محلات العشابين في الأسواق المحلية لمدينة بغداد أما نبات الصبار تم الحصول على سنادين النبات من مشاتل بغداد والجزء المستخدم منه أوراقه الطرية .

2-3 المستخلصات المائية.

2-3-1 مستخلص البابونج .

تم وزن 10 غم من الأزهار المجففة والمطحونة ونقعها في 100 مل من الماء المقطر المعقم المغلي ثم تم تغطية فوهة الدورق للنعق لمدة (1-3) ساعات للحصول على شاي البابونج (4) , ثم نرشح المحلول باستخدام ورق الترشيح (0.2)Mm حيث تم عمل التراكيز القياسية المدروسة بنسبة حجم احجم وهي:

(20-25-30-35-40) ملغم/مل وحفظ بالثلاجة لحين الاستخدام .

2-3-2 مستخلص الصبار .

تم تقطيع الأوراق الغضة لنبات الصبار التي تم غسلها وتعقيمها مسبقا بالمحلول القاصر لمدة 3 دقائق حيث تم هرس الأوراق بالجفنة الخزفية لإخراج المادة الهلامية الشفافة قيد الدراسة ثم رشح الهلام بواسطة قطعة من الشاش المعقمة ثم حضرت منه التراكيز القياسية من المستخلص المائي للصبار بنسبة حجم احجم وكانت (20-25-30-35-40) ملغم/مل وعقمت الخلاصة بواسطة الفلاتر الميكروبيولوجية (0.22)Mm وحفظ بالثلاجة لحين الاستخدام .

2-4 المستخلصات الكحولية .

حضرت المستخلصات الكحولية باستخدام جهاز Soxhlet extractor حيث تم وزن 50 غم من مسحوق أزهار البابونج المجففة وأضيف إليه 250 مل من الكحول الايثيلي 95% بنسبة 1:5 وزن/ حجم واستمر الاستخلاص لمدة 6 ساعات وبدرجة حرارة (60-70)م ثم رشح المستخلص باستخدام ورق الترشيح ثم وزع المستخلص في أطباق بتري التي تم وضعها في الحاضنة بدرجة 37م لتركيز المستخلص, حفظ المستخلص بالثلاجة لحين الاستخدام.(7) كذلك استخدمت نفس الخطوات السابقة لتحضير المستخلص الكحولي لبذور الحلبة ,وبعدها تم تحضير المستخلصات الكحولية للبابونج والحلبة وذلك بإذابة 1غم من المستخلص النباتي المركز في 25مل من dimethyl sulfoxide(DMSO) وبذلك أصبح لدينا مستخلص بتركيز 40ملغم/مل كتركيز قياسي والمستخدم في تحضير التخافيف اللاحقة (30-20-10-5)ملغم/مل.

2-5 دراسة تأثير المستخلصات المائية والكحولية للنباتات المدروسة في نمو بكتريا *S. aureus* .

تمت دراسة تأثير المستخلصات المائية والكحولية للنباتات المدروسة في نمو بكتريا *S. aureus* والمحضرة سابقا باستخدام طريقة الحفر agar well method حيث تم تلقيح 10مل من وسط المرق المغذي المعقم لكل العزلات البكتيرية المدروسة وحضنت بدرجة 37م لمدة (16-18)ساعة وباستخدام مسحة قطنية معقمة تم تلقيح سطح أطباق الاكار المغذي بزروعات المرق المغذي ثم تم عمل حفر الاكار باستعمال الثاقب الفليني بقياس قطر 10ملم وباستخدام الماصات الدقيقة تم وضع 0,1مل من التراكيز المختلفة لكل نوع من المستخلصات المائية (20-25-30-35-40) ملغم/مل وبتركيز (5-10-20-30-40) ملغم/مل للمستخلصات الكحولية للنباتات المدروسة وبواقع ثلاث مكررات لكل تركيز, ثم حضنت الأطباق بدرجة 37م لمدة 24 ساعة وتم حساب قطر منطقتي التثبيط بالملم مطروحا منه قطر الحفرة.(13)

2-6 اختبار الحساسية للمضادات الحيوية .

تم اختبار حساسية العزلات البكتيرية للمضادات الحيوية ,حيث تم استخدام ثلاثة أنواع منها وهي Gentamycin (Gn)10mcg , Clindamycin(Cm) 2mcg & Ceftriaxon(Cro)30mcg باستخدام طريقة انتشار الأقراص the disk diffusion

تقييم الكفاءة التثبيطية لبعض المستخلصات المائية والكحولية لنبات البابونج , الصبار والحلبة في نمو
بكتريا *Staphylococcus aureus* المعزولة من الجروح

..... م. م. زينة هاشم شهاب

method حيث تم تلقيح أطباق أكار مولر هنتون بواسطة مسحة قطنية معقمة بمرق الاكار
الحاوي على العزلات البكتيرية ,وباستخدام الملاقط المعقمة تم وضع أقراص المضادات الحياتية
على سطح أكار مولر هنتون ثم حضنت الأطباق بدرجة 37م لمدة 24 ساعة وقطر منطقة التثبيط
تم حسابه بالمليمتر. (8)

تقييم الكفاءة التثبيطية لبعض المستخلصات المائية والكحولية لنبات البابونج , الصبار والحلبة في نمو بكتريا *Staphylococcus aureus* المعزولة من الجروح

..... م. م. زينة هاشم شهاب

2-7 التحليل الإحصائي .

تم تحليل نتائج دراسة الفعالية المضادة للمستخلصات المائية والكحولية في نمو بكتريا *S. aureus* بواسطة البرنامج الإحصائي (SAS) statistical analysis system (22) وقورنت الفروق المعنوية بين متوسطات اقطارمنطقة التثبيط باختبار اقل فرق معنوي Least significant difference (LSD) تحت مستوى احتمالية ($P < 0.05$).

3- النتائج والمناقشة.

3-1 تأثير المستخلص المائي لأزهار البابونج والصبار في نمو بكتريا *S. aureus* .

أظهرت نتائج التحليل الإحصائي وجود علاقة طردية بين التركيز وقطر التثبيط وكذلك وجود فروق معنوية بين جميع تراكيز مستخلص البابونج وبين التراكيز (35-40) ملغم/ل لمستخلص الصبار كما بين في الجدول (1) , إذ أدت معاملة بكتريا *S. aureus* بالمستخلص المائي لأزهار البابونج إلى تثبيط النمو إلى 4,8 ملم عند تركيز 20 ملغم/ل وارتفعت هذه النسبة إلى (2,11- 2,13) ملم عند التراكيز (35-40) ملغم/ل على التوالي, أما بالنسبة إلى المستخلص المائي لأوراق الصبار فقد سجل أدنى تثبيط 4,4 ملم عند تركيز 20 ملغم/ل في حين بلغت أقصاها (6,11 - 8,12) ملم عند التراكيز (35-40) ملغم/ل على التوالي. ولم يظهر التحليل الإحصائي أي فروق معنوية بين استخدام المستخلصين فكلاهما فعالين في التثبيط. جدول (1) تأثير الفعالية التثبيطية لتراكيز مختلفة من المستخلصات المائية للنبات البابونج والصبار في نمو بكتريا *S. aureus*.

المستخلص المائي للصبار					المستخلص المائي للبابونج					التراكيز ملغم/ل
40	35	30	25	20	35	30	25	20	40	العزلات
12	10	0	0	0	12	12	10	8	6	1
16	9	8	0	0	14	12	12	10	4	2
14	13	12	8	6	12	10	8	6	4	3
12	12	0	10	8	14	10	8	8	5	4
10	14	12	11	8	14	12	10	4	5	5
12.8*	11.6*	6.4	5.8	4.4	*13.2	*11.2	*9.6	*7.2	*4.8	قيمة أ.ف.م (LSD)
± 1.02	± 0.93	± 2.7	± 2.41	± 1.8	± 0.48	± 0.84	± 0.74	± 1.02	± 0.37	

تقييم الكفاءة التثبيطية لبعض المستخلصات المائية والكحولية لنبات البابونج , الصبار والحلبة في نمو بكتريا *Staphylococcus aureus* المعزولة من الجروح

..... م. م. زينة هاشم شهاب

* وجود فرق معنوي ، متوسط قطر التثبيط \pm الخطأ القياسي , قيمة أ.ف.م (LSD) لتراكيز مستخلص البابونج: 1.965 ولتراكيز مستخلص الصبار: 5.668 .

3-2 تأثير المستخلص الكحولي لأزهار البابونج والحلبة في نمو بكتريا *S. aureus* .

أظهرت نتائج التحليل الإحصائي وجود فروق معنوية بين زيادة قطر التثبيط مع تراكيز مستخلص البابونج والحلبة وكانت أقصاها عند التركيز 40 ملغم/مل وهي (4,10 - 2,9) ملم على التوالي, ومما يلاحظ في

جدول (2) إن معدل أقطار تثبيط المستخلص الكحولي للبابونج تفوق على ما سجله المستخلص الكحولي للحلبة وظهرت فروق معنوية تدل على ذلك عند التركيز 30 ملغم/مل في حين لم تظهر فروق معنوية مع باقي التراكيز .

جدول (2) تأثير الفعالية التثبيطية لتراكيز مختلفة من المستخلصات الكحولية لنبات البابونج والحلبة

في نمو بكتريا *S. aureus*

المستخلص الكحولي للحلبة					المستخلص الكحولي للبابونج					التركيز ملغم/مل العزلات
40	30	20	10	5	40	30	20	10	5	
10	7	6.5	6	4.5	10	8	6	6	4	1
8	7	5	5.8	3	8	8	6	4	3	2
12	6	5.5	4	3.5	12	8	6	4	4	3
9	7.5	5	5	3	12	12	10	8	2	4
7	6	6	4	2	10	8	8	6	4	5
*9.2 \pm 0.86	6.7 \pm 0.30	5.6 \pm 0.29	4.96 \pm 0.42	3.2 \pm 0.40	*10.4 \pm 0.74	*8.8 \pm 0.80	7.2 \pm 0.80	5.6 \pm 0.74	3.4 \pm 0.40	قيمة أ.ف.م (LSD)

* وجود فرق معنوي ، متوسط قطر التثبيط \pm الخطأ القياسي , قيمة أ.ف.م (LSD) لتراكيز مستخلص البابونج:

2.110 ولتراكيز مستخلص الحلبة: 1.481

3-3 تأثير بعض المضادات الحيوية في نمو بكتريا *S. aureus* .

يتضح من الجدول (3) وجود فرق معنوية في تأثير بعض المضادات الحيوية في نمو بكتريا *S. aureus* وهي: Ceftriaxon(Cro) & Clidamycin(Cm) , Gentamycin(Gn) وكانت

تقييم الكفاءة التثبيطية لبعض المستخلصات المائية والكحولية لنبات البابونج , الصبار والحلبة في نمو
بكتريا *Staphylococcus aureus* المعزولة من الجروح

..... م. م. زينة هاشم شهاب

أعلاها (10-12,4) ملم بالنسبة ل (Gn) و (Cm) على التوالي, أما (Cro) فقد اظهر أدنى معدل
تثبيط لم يتجاوز 2 ملم.

تقييم الكفاءة التثبيطية لبعض المستخلصات المائية والكحولية لنبات البابونج , الصبار والحلبة في نمو بكتريا *Staphylococcus aureus* المعزولة من الجروح

..... م. م. زينة هاشم شهاب

جدول (3) معدل تثبيط أقطار بكتريا *S. aureus* باستخدام بعض المضادات الحياتية .

Cm	Cro	Gn	المضادات العزلات
6	0	10	1
10	4	8	2
10	2	14	3
12	0	14	4
12	4	16	5
$\pm 10^*$ 1.09	± 2 0.89	$\pm 12.4^*$ 1.46	قيمة أ.ف.م (LSD)

* وجود فرق معنوي ، متوسط قطر التثبيط \pm الخطأ القياسي ، قيمة أ.ف.م (LSD) الكلية للمضادات الحياتية: 3.628

يستنتج من ذلك إن بكتريا المكورات العنقودية كانت حساسة لجميع المستخلصات المدروسة وبصورة متفاوتة، حيث وجد أن المستخلصات المائية كانت أكثر فعالية في تثبيط نمو البكتريا من المستخلصات الكحولية وذلك ينطبق أيضا بمقارنتها مع متوسطات اقطار تثبيط المضادات الحياتية فنجد أن المستخلص المائي للبابونج والصبار سجل أعلى معدل تثبيط عند تركيز 40 ملغم/مل وكانت 13,2 و 12,8 ملم على التوالي. ويعزى ذلك لاحتواء أزهار البابونج على مدى واسع من المركبات الكيميائية الفعالة كالراتنج، التانينات، الكومارينات، الفينولات، الفلافونات والكلايكوسيدات (2) فان الهيدروكسي كومارين له القدرة على تحفيز البلاعم الكبيرة macrophages ومن ثم تثبيط أو إبادة الكائن الحي (10). وأكدت الدراسات الفلافونات لها فعالية مضادة للبكتريا والالتهاب من خلال تمزيق الأغشية الخلوية عن طريق تكوين معقدات مع البروتينات الخارجية الموجودة فيها (23)، أما الفينولات تعمل على تثبيط الإنزيمات المسؤولة عن التفاعلات الايضية الأساسية بتداخلها الغير متخصص مع البروتينات مما يؤدي إلى مسخ البروتين ومن ثم عدم قدرة البكتريا على الاستمرار (12). أما الفعالية التثبيطية لنبات الصبار تعود بالدرجة الأساس إلى الهلام الذي له دور مضاد للجراثيم والفطريات (14) فالهلام يعمل على تخفيض الالتهاب لاحتوائه على anthraquinones والسكريد المتعدد والراتنج وحامض التانيك وله خصائص مقاومة للجراثيم والفيروسات (5) ومادة mannose polymer التي تنظم وظائف

تقييم الكفاءة التثبيطية لبعض المستخلصات المائية والكحولية لنبات البابونج , الصبار والحلبة في نمو
بكتريا *Staphylococcus aureus* المعزولة من الجروح

..... م. م. زينة هاشم شهاب

الجهاز المناعي خصوصا تنشيط macrophages وإنتاج cytokines مما يعجل من شفاء الجروح والحروق (20). أما بالنسبة لبذور الحلبة فهي تحتوي على الفلافونات التي تحمي الطبقة المخاطية للجلد من خلال منع تكوين lesions بواسطة عوامل النخر المختلفة(19), وان أهم المركبات الفعالة للحلبة التي لها أساس شفاء الجروح هي القلويدات والستيرويدات , فالقلويدات لها فعالية قاتلة للأحياء المجهرية وذلك لقدرتها على التداخل مع DNA الخلية (17) وأوضح تحليل الكروماتوغرافيا لزيت الحلبة احتوائه على أحماض دهنية مشبعة وغير مشبعة وكذلك palmitic acid , stearic acid , linoleic acid , oleic acid & metalinic acid وهي تعد من المضادات البكتيرية والفطرية الطبيعية (25). إن نتائج الدراسة الحالية لا تتفق مع ما ذكرته (2) بان المستخلص الايثانولي للبابونج كان أكثر فعالية من المائي ضد بكتريا *S. aureus* في حين اتفقت مع (25) في كفاءة نبات الحلبة في تثبيط بكتريا *S. aureus* و *Pseudomonas* وكذلك تثبيط نمو الفطريات.

المصادر

- 1- الشحات , نصر أبو زيد.(1986).النبات والأعشاب الطبيعية. دار البحار - بيروت .
- 2 - أنعمي, حنان عدنان شاكر(2005). تقييم فعالية بعض المستخلصات النباتية على نمو البكتريا المرضية الوجبة الصبغة المعزولة من حالات التهاب البلعوم واللوزتين . رسالة ماجستير , معهد الهندسة الوراثية والتقنية الإحيائية :144ص.
- 3- جامعة الدول العربية.(1989) النباتات الطبية والعطرية والسامة في الوطن العربي - المنظمة العربية للتنمية الزراعية , الخرطوم.
- 4- شوفا ليه, اندرو.(2003). الطب البديل , التداوي بالأعشاب والنباتات الطبية , ترجمة : عمر الأيوبي , أكاديمية انترناشيونال, بيروت - لبنان.
- 5- غريفيث, وينتر.(2000).الفيتامينات- الأعشاب والمعادن والمكملات (الدليل الكامل), الطبعة الأولى , ترجمة: مركز التعريب والترجمة , الدار العربية للعلوم , بيروت - لبنان.
- 6-Al-bayati,F.A.&Al-mola,H.F.(2008).Antibacterial and antifungal activity of different parts of *Tribulus terrestris* L. growing in Iraq.J. Zhejiang univ. sci.,9(2):154-159.
- 7- Atlas,R.M.;Brown,A.E. & Parks,L.C.(1995)Laboratory manual of experimental microbiology . mobsy company - yearbook ,inc.,st. Louis:563pp.

تقييم الكفاءة التثبيطية لبعض المستخلصات المائية والكحولية لنبات البابونج , الصبار والحلبة في نمو
بكتريا *Staphylococcus aureus* المعزولة من الجروح

- م. م. زينة هاشم شهاب
- 8- Brown,A.E.(2005).Bensons microbiological applications.9th (ed.), complete version, laboratory manual in general microbiology, Mc. Graw Hill ,ISBN 0-07-282394-4.
 - 9 - Caroline, J.(2008) *Aloe Vera* the Miracle Plant, Renaissance Magazine – For the renewal of body and soul - Cutting edge consciousness , 22:32.\ <http://www.renmag.co>.
 - 10- Casely, Smith, J.R. and. Casely, Smith J.R. (1997). Coumarin in the treatment of lymphoedema and other high protein oedemas, in R.O. Kennedy and R.D. Thornes(ed). Coumarins; Biology applications and mode of action John Wiley& Sons. Inc. New York. N. Y. 348.
 - 11 - Cherallies,A.(1996). The encyclopedia of medicinal plant ,Dorling Kindersley. London, 89pp.
 - 12 - Hamburger, H.& Hostettmann, K.(1991).The link between phytochemistry and Medicine.Phytochemistr,30:3864-74.
 - 13 - Idue,M.N.;Hatha,A.A.;Abirosh,C.;Harsha,H.&Vivekanandan,G. (2006).Anti microbial activity of some of the south Indian spices against serotype of *Escherichia coli* , *Salmonella Listeria monocytogens* &*Aeromonas hydrophila*. Brazilian J.of microbiology ,37:153-158.
 - 14 - McGuffin, M.; Hobbs C.; Upton, R.& Goldberg, A. (1997). Botanical Safety Handbook. Boca Raton, Fla: CRC Press.
 - 15- Pandey,A.K.;Rai,M.K.(2003).Plant-derived antimycotics :Potential of asteraceous plants. In: plant derived antimycotics. (Eds. Rai, M. K. & Mares, D.):343-344PP.
 - 16 - Pandian,A.S.;Annradha,C.V.&Vismanathan,P.(2002).Gastro protective effect of fenugreek seeds(*Trigonella foenum graecum*) on experimental gastric ulcer in rats.J,Ethnopharmzcol.,18:393-97.
 - 17- Phillipson, J.D and Oneill , M.J. (1987) . Newleads to the treatment of protozoal infections based on natural product molecules Acta.Pharm. Nord; 1; 131-144.
 - 18- Remedy, A.(2008).Medicinal healing herbs : properties and uses oils and herbs .\www.mountain rose herbs.com.
 - 19- Saurez.J.;Herrere,M.D.&Marhenda,E.(1996).Hesperdine and neohesperdine dihydrochalc Induced gastric ulcer. Phytotherapy research ,10:616-18.
 - 20 - Shelton,R.M.(1991).Aleo vera its chemical and therapeutic. Int.J.dermatol.,4(2):67-70.
 - 21 - Shahidi Bonjar,G.H.(2004).Screening for antibacterial properties of some Iranian plants against two strains of *Escherichia coli* .Asian. J.of plant sciences .,3(3):310-314. ISSN 1682-3974
 - 22 - Statistical Analysis System (SAS).(2004)stat users guide for personal computers. Release 7.0 (SAS)institute inc. Cary ,nc.,usa.
 - 23- Tsuchiya, H.; Sato, M.; linum, M. ; Yokoyama, J. ; Ohyama, M.; Tanaka, T; Takasa, I .and Naimkawa, I. (1994). Inhibition of the growth of cariogenic bacteria in vitro by plant Flavones. Expermentia 50; 846-849.
 - 24- Verpoorte,R.& Alfermann,A.(2000).Metabolic engineering of plant secondary metabolism kluwer academic publisher.,London.
 - 25- Wagh,P.;Rai,M.;Deshmukh,S.K.&Durate,M.C.(2007).Bio-activity of oil of *Trigonella foenum graecum* and *Pongamia piñata* .African J.of biotechnology,6(13):1592-96.
 - 26- Yok- Aque;Jacquen,A.;Lionel,P.;Patrice,F.; Eleoneorn ;Joes,M.; Bhann,S.&Pierre,V.(2005).Fibrinogen and fibronectin binding cooperate for value

