تحديد التأثير التثبيطي لمستخلصات الأجزاء القمية لنبات أُم الحليب (الفربيون) *Euphorbia helioscopia* وتأثير الرقم الهيدروجيني pH لهذه المستخلصات في نمو بعض الجراثيم الموجبة والسالبة لصبغة گرام

ذكرى صديق ذنون الطائي

فرع الصيدلة السريرية / كلية الصيدلة

جامعة الموصل

الاستلام	القبول
٢٩ / ٠٦ / ٢٠١٠	٠٣ / ١١ / ٢٠١٠

ABSTRACT

This research aim to study antibacterial activity of aqueous, alcoholic and methanolic extracts of aerial parts of *Euphorbia helioscopia* which belong to Euphorbiaceae family against some pathogenic bacteria. The results showed that aqueous extract was more active than alcoholic and methanolic extracts on growth of *Staphylococcus aureus* , *Bacillus subtilis, Klebsiella pneumoniae, Escherichia coli* , *Pseudomonas aeruginosa and Salmonella typhi*, comparing with Amoxycillin as a typical antibiotic. Methanolic extract showed no antibacterial activity against all bacteria studied except in *Bacillus subtilis* and *Salmonella typhi*.

Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum bactericidal concentration (MBC) value ranged from (25 – 200) mg/cm³, The antibacterial activity of the extracts are enhanced under acidic condition at pH = 2 and basic condition at pH = 10.

الملخص

أُجري هذا البحث بهدف دراسة الفعالية التثبيطية للمستخلص المائي والكحولي والهيثانولي لنبات أُم الحليب (الفربيون) *Euphorbia helioscopia* الذي يعود للعائلة السوسبية *Euphorbiaceae* تجاه عدد من الجراثيم ، حيث أثبتت النتائج بأن ل لمستخلص المائي للنبات

فعالية تثبيطية عالية أكثر من المستخلص الكحولي والميثانولي في تثبيط نمو جراثيم *Staphylococcus aureus* و *Bacillus subtilis* و *Klebsiella pneumoniae* و *Escherichia coli* و Pseudomonas aeruginosa و *Salmonella typhi* مقارنة بالمضاد الحيوي Amoxycillin ، كما أن المستخلص الميثانولي لم يظهر فعالية تثبيطية في نمو الجراثيم قيد الدراسة بإستثناء الجرثومتين *Bacillus subtilis* و *Salmonella typhi* قيم التركيز المثبط الأدنى (MIC) و التركيز القاتل الأدنى (MBC) تراوحت ما بين (25-200) ملغم/ سم^3، إضافة إلى أن الفعالية التثبيطية للمستخلصات عُززت عند الرقم الهيدروجيني الحامضي (pH) 2 وعند الرقم الهيدروجيني القاعدي(pH) 10 .

المقدمــة

نظرا لأهمية النباتات الطبية في حياة الإنسان فقد بدأت تحتل مكانة بارزة في مجال الانتاج والبحث العلمي لاحتوائها على الكثير من المركبات ذات القيمة الطبية والصناعية والتي تنتج بوصفها مركبات ايضية ثانوية وبالرغم من ان بعض هذه المركبات تم تصنيعها ، إلا أن هناك العديد منها يتعذر تحضيرها مختبريا أو تكون غير فعالة إلا إذا استخلصت من مصادرها النباتية(1).

يعود نبات أُم الحليب (الفربيون) *Euphorbia helioscopia* الى العائلة السوسبية Euphorbiaceae وهو نبات عشبي منتشر على نحو واسع في قارة اسيا وخصوصا شمال العراق والصحراء الغربية والسهل الرسوبي الأوسط (3,2)، يسمى ايضا بحلبوب الشمس (4).

تعود الأهمية الطبية للنبات الى وجود المركبات الايضية الثانوية مثل القلويدات والفلافونيدات و gallic acid و ellagic acid و flavellagic acid التي استخدمت في معالجة الاصابات الجلدية و الجروح الناجمة عن الفلورا الطبيعية والفايروسات (7,6,5) إضافة الى احتوائها على التانين وثنائي التربين (9,8) ومعادن كثيرة كالحديد والرصاص والنيكل والكوبلت بنسب متفاوتة (10).

استخدمت العشبة في العديد من العلاجات ، حيث استخدمت الأوراق والسيقان كملطف للحمى وطاردة للديدان كما استخدمت بذوره في معالجة الكوليرا (12,11,3)، اما عصيره فقد استخدم في معالجة الثآليل (14,13)، إضافة الى استخدام العشبة في معالجة الربو الرطب والتهاب القصبات والتهاب الاحليل(17,16,15).

وتهدف الدراسة الحالية الى التعرف على فاعلية المستخلص ات المائية والكحولية والميثانولية لزيات أُم الحليب على نمو مجموعة من الجراثيم الموجبة والسالبة لصبغة گرام والتي تسبب العديد من الامراض للانسان.

مواد وطرائق العمل :-

1- أنواع الجراثيم المستخدمة

Staphylococcus aureus
Bacillus subtilis
Klebsiella pneumoniae
Escherichia coli
Pseudomonas aeruginosa
Salmonella typhi

وتم الحصول عليها من قسم علوم الحياة/ كلية العلوم/ جامعة الموصل، وقد تم تأكيد تشخيصها استنادا إلى (19,18).

2 – نبات أُم الحليب *Euphorbia helioscopia*

جُمعَ نبات أُم الحليب من حدائق غابات الموصل (صورة 1)، وقد تم تصنيفه في قسم علوم الحياة/ كلية العلوم بالاستفادة من الأساتذة المختصين و(2).

الصورة 1 : نبات أُم الحليب (الفربيون) *Euphorbia helioscopia*

3- تحضير المستخلصات

*** المستخلص المائي**

حُضِيِرِ المستخلص المائي اعتماداً على طريقة Riose وجماعته (20) وذلك بإضافة (40) غم من النبات المجفف الى (160) سم³ الى الماء المقطر وسحقه بإستخدام جهاز السحق الكهربائي Blendor، حُرك المزيج بإستخدام المحرك الكهربائي لمدة (60) دقيقة وتُرك في درجة (4) مْ لمدة 24 ساعة،ثم رُشِح بأستخدام قطع من الشاش ، بعدها رُشِح بواسطة قمع بخنر بإستخدام ورق الترشيح نوع (Whatmann No.1).

*** المستخلص الكحولي**

اعتمدت طريقة Grand وجماعته (21) وذلك بسحق (20) غم من النموذج النباتي في (200) سم³ من االكحول الاثيلي (95 %) داخل حمام ثلجي ، ثم رُشح بعد ذلك خلال عدة طبقات من الشاش ، ومن ثم أُس تخدم جهاز المبخر الدوار للتخلص من الاي ثانول. تم تحضير المستخلص الميثانولي بنفس الطريقة الآنفة الذكر،جُففت بعدها المستخلصات بالتبريد تحت ضغط مخلخل بجهاز التجفيد وحًفظت النماذج جيدا بالتجميد لحين إستخدامها.

تحضير تراكيز المستخلصات :-

لِغرض إجراء تجارب التثبيط تم اعتماد طريقة (20) وذلك بأخذ (1)غم من المستخلص المائي الجاف وتم إذابته في (5) سم³ من الماء المقطر والمعقم، بعدها تم تمريره خلال مرشحات غشائية (22مايكرون)، ليصبح تركيزه (200) ملغم/ سم³، اما المستخلص الكحولي والميثانولي فقد تم إذابة (1)غم من المستخلص في (5) سم³ من مادة Dimethyl sulfuoxid، وعُقم المزيج بطريقة البسترة بدرجة حرارة (62) مْ لمدة (10) دقائق .

إختبار الفعالية التثبيطية :-

تم اعتماد طريقة إختبار الحساسية (الإنتشار بالأقراص) (22) في إختبار الفعالية التثبيطية ، وذلك بأخذ (0.1) سم ³ من المستخلص النباتي المعقم الى قنينة حاوية على (10) أقراص معقمة (23)، وثبتت الأقراص على أطباق الوسط الغذائي الملقح بالجراثيم وحُضنت عند درجة حرارة (37) مْ لمدة (14 – 16) ساعة ، ولبيان الحساسية للمستخلصات المستخدمة ، حُسِب حِوِزام التثبيط مقارنة

بالمضاد الحيوي Amoxycillin (25 µg) المجهزة اقراصه من شركة (BIOANALYSE) LTD Ankara / TURKEY، بِوصفها عينة سيطرة موجبة للجراثيم وإستناداً إلى (24).

تحديد التركيز المثبط الأدنى Minimum inhibitory concentration (MIC)

حُددت هذه الت راك يز بإست خدام طريقة الإنتشار بالأقراص ، حيث حُضرت التراكيز (6.125,12.25,25,50,100,200) ملغم/ سم³ من المستخلص المائي والكحولي ، وحُدد التركيز الأدنى المثبط الذي هو أعلى تخفيف (الأقل تركيزاً) يثبط نمو الجراثيم.

تحديد التركيز القاتل الأدنى Minimum Bactericidal Concentration (MBC)

ت م تحديد هذه التراكيز بإستخد ام طريقة العك .ارة (26,25)، اذ حُضرت التراكيز (6.125,12.25,25,50,100,200) ملغم/ سم³من كل مستخلص وبحجم (1) سم³ في كل انبوب ، في حين أُضيف (1) سم ³من المذيب المستخدم إلى الأنبوب السابع كعينة سيطرة سالبة للجراثيم،عنده .ا أُضيف (1) سم³من وسط المرق المغذي المزروع بالجراثيم بعمر (18) ساعة بعد مقارنتها بأنابيب ماكفرلاندّ (10³ /سم³) إلى كل انبوب من الأنابيب وبعد رجِ.ها بشكل جيد حُضنت بدرجة (37) مْ لمدة 24 ساعة، بعدها تُلاحظ الأنابيب التي لا يوجد فيها نمو وينقل (0.1) سم³من معلق هذه الأنابيب التي لم يظهر فيها النمو إلى وسط الاكار المغذي لإعادة زراعتها وتحضينها بدرجة (37) مْ لمدة 24 ساعة ، ويُحدد التركيز القاتل الأدنى الذي هو التركيز الخالي من النمو الجرثومي.

تأثيرات الرقم الهيدروجيني pH effects

تم إعتماد طريقة El-mahmmod وجماعته (27) وذلك بنقل (1) سم³من المستخلص بتركيز (200) ملغم/ سم³ إلى ثلاثة أنابيب إختبار ثم إضافة (1) سم³من المُعلق الجرثومي إلى كل إنبوبة وبعد رجّها بشكل جيد تم إضافة قطرات من ح ام ض الهيدروكلوريك (1N)، إلى أن يصل pH الى (2)، أما الأنبوب الثاني فقد أُضيف له قطرات من محلول هيدوكسيد الصوديوم NaOH (1N) لحين الحصول على مُ علق برقم هيدروجيني مساوٍ إلى (10)، أما الأنبوب الثالث فقد تُرك بدون إضافة كعينة سيطرة ، بعدها حُضنت الأنابيب الثلاثة في درجة (37) مْ لمدة 24 ساعة، تم قياس الفعالية التثبيطية بنفس الطريقة السابقة.

النتائج والمناقشة :-

يُلاحظ بصورة عامة من خلال النتائج إن كافة الجراثيم قيد الدراسة قد تأثرت بدرجات متفاوتة في حالة المستخلص المائي والكحولي بينما تأثر نوعين منها فقط في حالة المستخلص الميثانولي كما هو موضح في الجدول رقم (1).

اظهر المستخلص المائي فعالية تثبيطية عالية في نمو جرثومة *Staphylococcus aureus* مقارنة بالمضاد الحيوي Amoxycillin، في حين أظهر فعالية تثبيطية جيدة في نمو جرثومة *Klebsiella pneumoniae* مقارنة بالمضاد الحيوي Amoxycillin، بينما أظهرت الجراثيم *Bacillus subtilis , Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa , Salmonella typhi* حساسية معتدلة تجاه المستخلص المائي مقارنة بنفس المضاد الحيوي ، وهذا قد يعود إلى إحتوائها على مركبات فعالة ذائبة بالماء مثل الفلافونيدات التي تضم quecetin و kaempferol و myricetin المعروفة بفعاليتها المضاد ة للجراثيم (29,28) إضافة الى قابلية هذه المركبات على تكوين معقد مع بروتينات الجدار الخلوي للبكتريا ، كما ان الفلافونيدات المحبة للده ون معروفة بإمكانيتها العالية على تفجير الاغشية الجرثومية (30).

كما أظهر المستخلص الكحولي فعالية تثبيطية جيدة في نمو جرثو مة Staph. aureus مقارنة بالمضاد الحيوي Amoxycillin وفعالية معتدلة في نمو الجراثيم *B.subtilis* ، *E.coli* ، *Kleb.pneumoniae*، *Pse. aeruginosa* ، في حين أظهرت جرثومة *Sal. typhi* حساسية ضعيفة تجاه المستخلص الكحولي مقارنة بنفس المضاد الحيوي، وهذا يتفق مع ما توصل إليه (31) الذي أشار الى امتلاك النبات فعالية تثبيطية في نمو جراثيم *B. Subtilis* و *Staph. aureus* و *E. coli* . وقد تشير هذه النتائج إلى إحتواء المستخلص على مركبات فعالة كمتعدد الفينول التي اثبتت فعاليتها المضادة للجراثيم والفايروسات والالتهاب والا ميبا وكونها م ضادات للاكسدة (34,33,32) إضافة اعتبار مركبات الفينول كمادة مطهرة لا متلاكها القابلية على مسخ denaturation التركيب البروتيني لجدار الخلية البكتيرية (36,35)، كما ان الفعالية المضادة للجراثيم لهذه المستخلصات قد يعزى الى احتوائها على مادة التانين (38,37).

كما توصل Jabeen وجماعته (39) إلى أن كلا المستخلصين المائي والكحولي يساعدان على إلتئام الجروح في الفئران حيث انهما يحفزان على تكوين الكولاجين.

ام ا بالنسبة للمستخلص الميثانولي فقد كانت جميع الجراثيم قيد الدراسة مقاومة للمستخلص بإستثناء الجرثومتين *Sal. typhi* , *B.subtilis* اللتين أظهرتا حساسية ضعيفة تجاه المستخلص مقارنة بالمضاد الحيوي Amoxycillin وهذا يتفق مع ما أشار إليه (41,40) وكما هو موضح في الجدول رقم (١) أيضاً.

إن اغلب أنواع الجراثيم المستخدمة قيد الدراسة كانت من النوع السالب لصبغة گرام المعروفة بمقاومتها للفعالية المضادة للجراثيم التي تمتلكها العديد من المستخلصات النباتية (42) وهذا يعود الى احتوائها على غلاف خارجي من اللبيدات الفوسفاتية والسكريات الدهنية التي تجعل الجدار غير نفاذ للمواد المضادة للميكروبات (43).

جدول (1): يبين الفعالية التثبيطية للمستخلصات النباتية المائية والكحولية والميثانولية على الأنواع الجرثومية قيد الدراسة (قطر دائرة التثبيط مقاساً بالملم) .

نوع المعاملة 200 ملغم/ سم³		الأنواع الجرثومية					
		Staph. aureus	*B. subtilis*	*E. coli*	*Pse. aeruginosa*	*Kleb. pneumoniae*	*Sal. typhi*
المستخلص المائي		22	19	19	17	19	16
المستخلص الكحولي		20	16	15	15	16	11
المستخلص الميثانولي		-----	9	-----	-----	-----	11
Amoxycillin	عينة السيطرة 25 µg	20	24	22	21	19	24

(----) تشير إلى عدم وجود فعالية تثبيطية.

تعيين التركيز المثبط الأدنى Determination of Minimum inhibitory concentration (MIC)

أظهرت النتائج بأن التركيز المثبط الادنى (MIC) للمستخلص المائي في جرثومتي *Staph. aureus* و *B.subtilis* كان مساوياً لـ (25) ملغم/ سم³، بينما كانت مساوية لـ (50) ملغم/ سم³ في الجراثيم *E. coli* و *Kleb. pneumoniae* و *Pse. aeruginosa* و *Sal. typhi* وكما هو موضح في الجدول رقم (2).

أما بالنسبة للمستخلص الكحولي فقد كانت قيمة (MIC) مساوية لـ (50) ملغم/ سم³ في جراثيم *Staph. aureus* و*B. subtilis* و *E. coli* و *Kleb. pneumoniae*، بينما كانت مساوية لـ (100) ملغم/ سم³ في جرثومتي *Pse. aeruginosa* و *Sal. typhi* .

تعيين التركيز القاتل الأدنى Determination of Minimum bactericidal concentration (MIC)

فقد أظهرت النتائج بأن قيمة (MBC) للمستخلص المائي في جراثيم *Staph. aureus* و *B. subtilis* و *E. coli* كانت مساوية لـ (50) ملغم/ سم³ في حين كانت تساوي (100) ملغم/ سم³ في الجراثيم *Kleb. pneumoniae* و *Pse. aeruginosa* و *Sal. typhi* وكما هو موضح في الجدول رقم (2).

اما بالنسبة للمستخلص الكحولي فقد كانت قيمة (MBC) مساوية لـ (50) ملغم/ سم³ بالنسبة لجرثومة *Staph. aureus* في حين كانت مساوية لـ (100) ملغم/ سم³ في الجراثيم *E. coli* و *B. subtili* و *Kleb. pneumoniae* و *Pse. Aeruginosa* بينما كانت مساوية لـ (200) ملغم/ سم³ في جرثومة *Sal. typhi* .

ومن هنا يتضح بأن قيمة MBC قد تكون مساوية أو أعلى من قيمة MIC وهذا ما أشار إليه (45,44).

جدول (2): يبين التركيز المثبط الأدنى (MIC) والتركيز القاتل الأدنى (MBC) للمستخلصات المائية والكحولية لنبات أم الحليب على الأنواع الجرثومية قيد الدراسة.

الأنواع الجرثومية	المستخلصات المائية ملغم/ سم³		المستخلصات الكحولية ملغم/ سم³	
	MIC	MBC	MIC	MBC
Staph.aureus	25	50	50	50
subtilis B.	25	50	50	100
E. coli	50	50	50	100
Pse. Aeruginosa	50	100	100	100
Kleb.pneumoniae	50	100	50	100
Sal. typhi	50	100	100	200

تأثيرات الرقم الهيدروجيني (pH)

يوضح الجدول رقم (3) تأثير الرقم الهيدروجيني على الفعالية التثبيطية للجراثيم لمستخل صات نبات ام الحليب ، فقد أظهرت النتائج بأن جميع المستخلصات ارتفعت فعاليتها التثبيطية عند الرقم الهيدروجيني الحامضي (2) أكثر من إرتفاعها عند الرقم الهيدروجيني القاعدي (10) وهذا يتفق مع ما توصل إلي ته (46)، وهذه الثب اتية للفعالية التثبيطية للمستخلصات عند ال رقم الهيدروجيني الحامضي يفيد في إمكانية إستخدام هذه المستخلصات كبدائل للأدوية التي تتأثر وتفقد فاعليتها عند تناولها عن طريق الفم (orally) بفعل أحماض المعدة والقناة المعوية.

جدول (3): يبين تأثيرات الرقم الهيدروجيني pH على الفعالية التثبيطية للمستخلصات المائية والكحولية لنبات أُم الحليب على الأنواع الجرثومية قيد الدراسة (قطر دائرة التثبيط مقاساً بالملم).

الأنواع الجرثومية	المستخلصات المائية		المستخلصات الكحولية	
	pH =**2**	pH =**10**	pH =**2**	pH = **10**
Staph.aureus	**28**	**24**	**27**	**22**
Subtilis B.	**25**	**22**	**22**	**18**
E. coli	**24**	**22**	**26**	**21**
Pse. aeruginosa	**24**	**23**	**22**	**19**
Kleb.pneumoniae	**25**	**22**	**24**	**21**
Sal. typhi	**22**	**20**	**19**	**16**

ونستنتج مما تقدم بأنه يمكن إعتماد هذه النتائج كأساس لدراسة تأثيرها على جراثيم أُخرى ، وإستخدام الحيوانات المختبرية لغرض تحديد التراكيز الفعالة ، كما يمكن إجراء دراسات عديدة لغرض التعرف على المواد الفعالة للمستخلصات المستخدمة ودراسة آلية وإمكانية تأثيرها على الجراثيم لِيتم الاستفادة منها في المجالات التطبيقية.

المصادر :

١) **باذيب** ، علي سالم . (١٩٩١) النباتات الطبية في اليمن . حقوق الطبع محفوظة للمؤلف ، مكتبة الرشاد، صنعاء، اليمن.

٢) **الكاتب** ، يوسف .(1988). تصنيف النباتات البذرية. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي ، كلية التربية، جامعة بغداد.

٣) **مجيد**، سامي هاشم ومحمود، مهند جميل . (1988). النباتات والأعشاب العراقية بين الطب الشعبي والبحث العلمي. ط١، مجلس البحث العلمي، مطابع دار الثورة، بغداد.

٤) **محمد جاد** ، عبد المجيد؛ عمر ، محسن؛ قاسم ، ام ين وكريم ، سعداوي .(1975). وصف وتركيب نباتات المحاصيل والحشائش . دار المطبوعات الجديدة ، كلية الزراعة ، جامعة الاسكندرية.

5) **Ikram**, N., Khattack, SG. And Gilani. (1987). Antipyretic studies on some indigenous Pakistani medicinal plants. J. Ethnopharmacology., 19:185-192.

6) **Kapoor**, M., Howard, R., Hall, I. and Appleton, I. (2004). Effect of epicatchin gallate on wound healing and scar formation in a full thickness incision wound healing model in rats. American Journal of pathology.105:299-307.

7) **Ramezani**, M., Behravan, J., Arab, M. and Farzad, SM. (2008). Antiviral activity of *E. helioscopia* extracts. J. Boil . Sci., 8: 809-813.

8) **Hegnauer**, R. (1989). Euphorbiaceae. In: Chemotaxonomie der Pflanzen, Birkhauser Verlag, Basel. pp.8,440-474.

9) **Jassbi,** A. R. (2006). Chemistry and biological activity of secondary metabolites in Euphrbia from Iran. Phytochemistry.67(18):1977-1984.

10) **Khan,** SA., Khan, L., Hussain, I., Shah H. and Akhtar, N. **(2008).** Comparative assessment of heavy metals in ***Euphorbia helioscopia* L.** Pak. J. Weed Sci. Res. 14(1-2): 91-100.

11) **Duke**, J. A., and Ayensu, E.S. (1985). Medicinal plants of China Reference Publications 2v (Medicinal plants of the World, no. 4).

12) **Chopra**, R. N., Nayar, S. L. and Chopra, I. C. (1986). Glossary of Indian Medicinal plants (Including the Supplement). Council of scientific and Industerial Research, New Delhi.

13) **Sosath**, S. and Hecker, E. (1988). Irritant principles of the spurge family. J. Natl. Prod.51(6): 1062-74.

14) **Swarbrick**, J. T. 1997. Weeds of the pacific islands , 209 , 124p.

15) **Ghen**, Y., Tang, Z. J., Jiang, F. X., Zhang, X. X., and Lao, A. N. (1979). [Studies on the active principles of Ze-Qi (***Euphorbia helioscopia*** L.), adrug used for chronic bronchitis (I) (author's transl)]. *Yao Xu e Xue Bao*, 14(2): 91- 95.

16) **Park**, H., Koh, D., Lee, S., et al. (2001). Anti –allergic and anti – asthmatic activity activity of Heioscopinin– A, a polyphenol compound isolated from ***Euphorbia helioscopia***. J. Microbial Biotech 11:138- 142.

17) **Ha,** P. K., Dongsoo, K. and Seungho L. (2001). Anti – allergic and antiasthmatic activity of helioscopinin – A polyphenol compound, isolated from ***E. helioscopia***. J. Microbiol. Biotechnol. 11(1):138-142.

18) **Cruickshauk**, R., Duguid, J. P., Marmion, B. P. and Swain, R. H. A. (1975). Medical Microbiology. Vol. 2, The paracite of Microbiology. 12th ed. Churchill Livingstone, Edinburgh.

19) **Finegold**, SM., Martin, W.J. and Scott, E. G. (1978). Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology, 5th ed. The C. V. Mosby Company, St-Louis. Missouri.

20) **Riose**, J. L., Recio, M. c. and Villar, A. (1987). Antimicrobial activity of selected plant employed in the Spanish Mediterranean area. J. Ethnopharmacol., 21: 139-152.

21) **Grand**, A., Woudergem, P. A., Verpoortes, R. and Pousset, J. L. (1988). Anti- infections phytotherapies of Tree savannah sengal (west-africa), II-Antimicrobial activity of 33 species. J. Ethnopharmacol., 22: 25-31

22) **Bauer**, A. W., Kirbay, W. A. W., Sherris, J. S. and Turk, M . (1966). Antibiotic susceptibility by a standardized single disc method. Am. J.Clin. Pathol.,45: 493-496.

23) **Waage**, S. K. and Heddin, P. A. (1985). Quercetin 3-0-Galactosyl (1-6) Glucoside a compound from narrow leafleted with antimicrobial activity. Phytochemistry. 24: 243-245.

24) **Garrod**, LP., Lambert, H. P. & Grady, F.O. (1981). Antibiotic & Chemotherapy 5th ed. Churchill Livingstone, New york .

٢٥) **النعمان**، اديبة يونس شريف .(1998). التأثير الجزئي لبعض مستخلصات النباتية على نمو وأيض عدد من الجراثيم الموجبة والسالبة لصبغة كرام. أطروحة دكتوراه، كلية العلوم، جامعة الموصل.

26) **Sahm**, DF. And Washington, JA . (1990). Antibacterial susceptibility tests: Dilution methods In: Manual of clinical Microbiology. Lennette, EH (ed), 5th American Society of Microbiology, Washington, DC. pp.1105-1118.

27) **El-Mahmood**, AM., Doughari, JH., Chanji, FJ. (2008). *In-vitro* antibacterial activities 0f *Nauclea latifoli* and *Daniella oliveri*. Sci.Res. Essay 3(3):102-105.

28) **Pohl**, R., Janistyn, B., Nahrstedt, A. (1975). Flavonol glycosides from ***Euphorbia helioscopia***, *E.stricta*, *E, verrucosa* and *E.dulcis*. Planta Med.27(4):301-303.

29) **Gatto,** M.T., Falcocchio S., Grippa E., Mazzanti G., Battinelli L., Nicolosi G., Lambusta D., Saso L. (2002). Antimicrobial and antilipase activity of quercetine and its C2-C16 3-O-Acyl-Esters. Bioorganic & Medicinal Chemistry. 10: 269-272.

30) **Tsuchiya**, H., Sato, T., Miyazaki, S., Fujiwara, S., T anigaki, M., Ohyama, T., Tanaka, and Linuma .(1996). Comparitive study on the Antibacterial activity of cariogenic bacteria *in vitro* by plants flavanones. Experientia 50:846-849.

31) **Papp,** N.(2004). Antimicrobial activity of extracts of five Hungarian Euphorbia species and some plant metabolits. Acta Botanica Hungarica. 46(3-4): 363-371.

32) **Semple**, SJ., Reynolds, GD., O' Leary, MC., Flower, RL. (1998). Screening of Australian medicinal plants for antiviral activity. J. Ethnopharmacol., 60(2):163-172.

33) **Bani**, S., Kaul, A., Jaggi, BS.S., Suri, OP. and Sharma, OP.(2000). Anti-inflamatory activity of the hydrosoluble fraction of *Euphorbia* royleana latex. Fitoterapia 71(6):655-662.

34) **Kim**, J. Y., Lee, J. A., Kim, KN., Song, GP. And Park, SY. (2007). Antioxidative and Antimicrobial Activities of *EUPHORBIA HELIOSCOPIA* extracts. J. korean Society of food Science and Nutrition. V 36(9):1106-1112.

35) **Farag**, R. S., Daw, z. y., Hewedi, F. M. and El-Baroty, G.S.A. (1989). Antimicrobial activity of some activity of some Egyptian spices essential oils. J. Food Prot. 52:665-667.

36) **Feeny**, P.(1998). Inhibtory effect of oak leaf tannins on the hydrolysis of protein by trypsin. J. Phytochemistry. 8:2119-2126.

37) **Ahmad**, I., Mehmood, Z. and Mohammad, F.(1998). Screening of some Indian medicinal plants for their antimicrobial properties. Journal of Ethnopharmacology. 62: 183-194.

38) **Bairy**, KL. (2002). Wound healing potential of plant products. Journal of Natural Remedies. 2: 11-20.

39) **Jabeen**, N., Khanum, R., Shakuat, S., Mehmood, S., and Gulfraz, M. (2008). Protective effects of ***Euphorbia helioscopia*** on different wound models in rats. Vol. 2, No.(1):. 175-178.

40) **Chaudhry**, B.A., Janbaz, K.H., Uzair, M. and Ejaz, A.S. (2001). Biological studies of Conyza and Euphorbia species. Journal of Research (Science), Multan, Pakistan. Vol.12, No.1,: 85-88.

41) **Uzair**, M., Loothar B A., Choudhary B A. (2009). Biological screening of Euphorbia Helioscopia **L.** Pak J Pharm Sci, 22(2):184-186.

42) **Geyid**, A. (2002). A study of surface proteins, other adhesins and iron acquiring Mechanisms in the pathogenesis of *Neisseria gonorrhea* strains isolated from STD patients in Ethiopia. J. Ethiopia Med. Pract 4:14-20.

43) **Nikaido,** H.and Vaara, M. (1985). Molecular basis of bacterial outer membrane permeability. Microbiol. Rev. 1:1-32.

44) **Hugo**, WB. and Russell, AD. (1984). Pharmaceutical microbiology. Blackwell Scientific Publications. Third edition, pp.179-200 .

45) **Karou**, D., Savadogo, A. Canini, A., Yameogo, S., Montesano, C., Simpore, J., Colizzi, V. and Traore, AS. (2006). Antimicrobial activity of alkaloids from *Sida acuta*. Afr.J.Biotechnol.5(2):195-200.

46) **Doughhari,** JH., El-Mahmood, AM., Tyoyina, I. (2008). Antibacterial activities of leaf extracts of Senna obtusifolia. Afr. J. Pharm. Pharmacol. 2(1):700-713.