

المحتوى الكيميائي لنبات الصفصاف

وتأثير مستخلصه الإيثانولي *L. Salix acmophylla*

Candida albicans على خميرة المبيضات

أنعام فؤاد حسين الزهيري

جامعة ديالى / كلية العلوم/قسم علوم الحياة

الخلاصة

تضمنت الدراسة تحضير المستخلص الكحولي (الإيثانولي) البارد لخليط أوراق وقلف نبات الصفصاف *Salix acmophylla L.* والذي بلغت نسبته المئوية (26.3%) من الوزن الجاف وكان ذو قوام لزج ذائب بالماء . تم الكشف عن المركبات الكيميائية في المستخلص الخام فوجد أنه يحتوي على الفلويديات ؛ التانينات ؛ الكلايكوسيدات ؛ الصابونينات ؛ الزيوت طيارة ؛ التربينات ؛ الكومارينات ومواد فينولية عند pH 5.3 0 قدرت العناصر المعدنية والغذائية وهي الكالسيوم ، البوتاسيوم المغنيسيوم ، الفوسفور ، الحديد ، المنغنيز ، الصوديوم ، الرصاص والكاديوم في رماد خليط أوراق وقلف النبات . كما قدرت النسبة المئوية لعنصر النتروجين للعينة النباتية الجافة . بينت النتائج بان خليط أوراق وقلف نبات الصفصاف يحتوي على الرماد ، الدهون الكلية والبروتين الخام بنسب مئوية 5.6 و 1.97 و 2.6 على التوالي اشتملت الدراسة أيضاً على اختبار أثر الفعالية التثبيطية للمستخلص الكحولي الخام ضد خميرة *Candida albicans* عند التراكيز (25, 50, 75, 100, 200) ملغم/مل فأظهر الفعالية التثبيطية ضد الخميرة بحساب أعداد المستعمرات في الطبق إذ كلما زاد التركيز قلت أعداد المستعمرات فكانت عند التراكيز أعلاه (0,20,37,38,40) مستعمرة على التوالي 0 كما تم اختبار السمية الخلوية للمستخلص خارج الجسم الحي *In vitro* فلم يظهر السمية لخلايا الدم الحمر للإنسان والحيوان. يستنتج من هذه الدراسة إحتواء خليط أوراق وقلف الصفصاف على المركبات الكيميائية الفلويديات ، التانينات ، الكلايكوسيدات ، الصابونينات ، الزيوت الطيارة ، التربينات ، الكومارينات ومواد فينولية وتأثيره التثبيطي في نمو مستعمرات الخميرة *Candida albicans* .

المقدمة

ينتمي نبات الصفصاف *Salix acmophylla* L إلى العائلة الصفصافية Salicaceae والاسم الشائع له Willow أو Sallow، تحتوي هذه العائلة على أربعة أجناس يوجد اثنان منها في العراق هما جنسي *Salix* و *populus* [27]. وهو عبارة عن شجيرة ذات ارتفاع 3-5 متر. الأوراق بيضوية بطول 6-15 سم وعرض 0.7 – 3.5 سم، ملساء، السطح العلوي أخضر لامع والسطح السفلي باهت. الزهرة الذكورية ذات 2-4-5-7 أسدية، تكون حراشف السنبله الهيرية الشكل بيضوية بقطر 1.3 – 1.5 ملم أما الأزهار الأنثوية فتكون دائماً ذات سنابل حشفية أطول وأكثر حدة. قلف الساق بني محمر [27]. ينتشر جنس الصفصاف في المناطق المعتدلة والباردة من أوروبا وأمريكا الشمالية [26] والدول المجاورة للعراق أما محلياً فإن خمسة أنواع من هذا الجنس تنتشر في العراق وهي *S.aegyptiaca* و *S.babylonica* و *S.alba* و *S.acmophylla* [7، 27]. يعد نبات الصفصاف من النباتات المهمة اقتصادياً فقد استخدم من قبل العراقيين القدامى في المناطق الجنوبية لصناعة السلال لكون أغصانه مطاطية وأستعمله النجارون في الربط كما استعمل كحطب ويعد من الأشجار التي يتم تكثيرها كمصدات للرياح وأسيجة للبساتين. [24] يشمل الجزء الطبي من النبات على الأوراق والقف إذ يحتوي على مركبي *Salicin* و *Tannin* بمختلف أنواع جنس *Salix* [8]. فضلاً عن الشموع والصمغ ومواد ملونة ونشأ، يستخدم النبات كقابض ومقو ولعلاج الروماتزم، ويستخدم مستخلص القلف كمادة مهدئة [13] وللنوع *S.acmophylla* فعالية ضد خميرة *C.albicans* [3]. أما الأنواع الأخرى الموجودة فلها فوائد علاجية عديدة منها استخدام مستخلص القلف كمادات للجروح والحروق والمغلي للغرغرة وفي حالات التهاب اللوزتين واللثة وكونه طارد للديدان وضد الحمى أما الصمغ فهو مطهر كما يعمل كخافض للحرارة [8]. ويستخدم الجنس *Salix* في مصر لعلاج الملاريا كخافض الحرارة كبديل للكينين ونظراً لإحتوائه على التانينات فقد أستخدم في علاج بعض الأمراض الجلدية المزمنة باستخدام مغلي القلف [9].

يستخدم النوع *S.alba* الذي يتشابه كثيراً من الناحية المورفولوجية مع النوع قيد الدراسة في تحضير عقار الأسبرين الذي يستخدم على نطاق واسع في علاج آلام الرأس والصداع [29] كما إن لمستخلص قلفه المائي فعالية مضادة للحشرات [12]. كما أستخدم مركب الـ *Flavonoid* المستخلص من قلف النوع *S.caprea* كمثبط لفطريات *Sporotrichum* و *Trichoderma viridae* [22]، أما النوع *S.sachalinensis* فقد أعطى مستخلص أوراقه تأثيراً ضد الفطريات بسبب إحتوائه على مركب *Ampelopsin* [23]. نظراً لقلة الدراسات على هذا النوع وانتشاره بصورة واسعة في العراق فقد نفذت هذه الدراسة بهدف الكشف عن المركبات الكيميائية من نواتج الأيض الثانوي ومعرفة تأثيرها التثبيطي في خميرة *Candida albicans*، بالإضافة إلى تقدير محتوى النبات من بعض العناصر المعدنية والمغذية.

المواد وطرائق العمل

جمعت أغصان من نبات الصفصاف من بساتين مدينة الخالص (65 كم شمال شرق بغداد) خلال شهر نيسان لعام 2008. تم تصنيفه في معشب جامعة بغداد BUH في كلية العلوم في الجادرية من قبل الأستاذ الدكتور علي حسين الموسوي

. جفف النبات بعد غسله بالماء المقطر من المحتوى الرطوبي بفرن من نوع Gallen kamp BS oven 300 درجة حرارة 40 م حتى جف تماماً من الرطوبة وقدرت النسبة المئوية للرطوبة .

أخذت أوزان متساوية من مسحوق الأوراق والقلف (25 غم أوراق+25 غم قلف) إذ تم استخلاصها بكحول الايثانول المطلق إذ أخذ الـ 50 غم في دورق زجاجي سعة 1000 مل وأضيف له 500 مل من الكحول وحفظ بشكل محكم بعيداً عن الضوء لمدة أسبوع بعدها رشح بقطع من الشاش ثم أخذ الراشح وتم ترشيحه مرة أخرى بجهاز الطرد المركزي (3000 دورة/دقيقة) ، تم تبخير المذيب باستخدام جهاز المبخر الدوار تحت الضغط المخلخل بدرجة حرارة (45) م للحصول على المستخلص الكحولي الجاف [21] وقدرت النسبة المئوية للمستخلص الجاف [2]. تم الكشف عن المركبات الفعالة وكالاتي:

القلويدات Alkaloids: وذلك بإضافة بضع قطرات من كاشف دراكندوف إلى 5 مل من المستخلص إذ يستدل على ايجابية الكشف بظهور راسب بني محمر [26].

الكلايكوسيدات Glycosides: تم اخذ 1 مل من المستخلص النباتي في أنبوبة اختبار وأضيف له 2 مل من كاشف بندكت ثم نقلت إلى حمام مائي لمدة 5 دقائق إذ يدل ظهور اللون الأحمر على ايجابية الكشف [26].

الصابونينات Saponins : أضيف 5 مل من المستخلص النباتي إلى 3 مل من محلول كلوريد الزئبقيك (5%) ويشير ظهور الراسب الأبيض إلى وجود الصابونيين [26].

الكومارينات Coumarins: إذ وضع قليل من المستخلص النباتي في أنبوبة اختبار ثم غطيت الأنبوبة بورقة ترشيح مبللة بهيدروكسيد الصوديوم المخفف ووضعت الأنبوبة في حمام مائي لمدة 10 دقائق بعدها عرضت أوراق الترشيح إلى مصدر للأشعة فوق البنفسجية إذ يدل ظهور اللون الأصفر على ايجابية الكشف [19].

المركبات الفينولية Phenolic Compounds: وذلك بإضافة 3 مل من المستخلص النباتي إلى 2 مل من محلول كلوريد الحديدك (1%) ان ظهور اللون الأخضر المزرق دليل ايجابية الكشف [19].

الزيوت الطيارة Volatile oils: وذلك بتعريض ورقة ترشيح مشبعة بالمستخلص للأشعة فوق البنفسجية إذ يدل ظهور اللون الوردي البراق على ايجابية الكشف [11].

التربينات Terpens والستيرويدات Steroids: تم الكشف عن الستيرويد بإذابة 1 غم من المستخلص الكحولي الجاف بقليل من الكلوروفورم وأضيف له قطرة من حامض الخليك اللامائي المركز ثم قطرة من حامض الكبريتيك المركز ، ان تلون المستخلص بلون بني دليل على وجود التربين واذا تكون لون ازرق داكن بعد 5 دقائق دل ذلك على وجود الستيرويدات [11] قدرت العناصر المعدنية والمغذية البوتاسيوم والصوديوم والكالسيوم والفوسفور والمغنيسيوم والحديد والكاديوم والرصاص باستخدام مطياف الامتصاص الذري نوع Atomic absorption spectrophotometer إذ حضرت النماذج بطريقة الترميد في فرن حرق Muffle furnace بدرجة حرارة 550 م ولمدة 1-2 ساعة (14) ثم قدرت النسبة المئوية للرماد ، اما عنصر النتروجين فقد قدرت نسبته المئوية بإتباع طريقة كدال الدقيقة باستخدام جهاز [20] Mikrokjeldahl

100

حجم الحامض المسحوق x عياريته x الوزن الذري للنتروجين

$$\frac{\text{وزن المسحوق النباتي}}{1000} \times x = N\%$$

وزن المسحوق النباتي

1000

كما تم تقدير النسبة المئوية للدهون الكلية اذ استخدم جهاز الاستخلاص المستمر Soxhlet وذلك بإضافة 200 مل من الايثر النفطي إلى جهاز السوكسلت ، ثم وضع كشتبان Thumble يحوي 10 غم من مسحوق النبات في الجهاز وتم تشغيله لمدة 8 ساعات ثم رشح المستخلص وتم تبخير المذيب بجهاز المبخر الدوار وحسب الوزن الكلي للدهون وقدرت نسبته المئوية (10) أما البروتين الخام فقد تم حساب نسبته المئوية كالتالي : البروتين الخام % = قيمة النتروجين x 6.25 [20]

أما الرقم الهيدروجيني فقد قدر وذلك بأخذ 10 غم من المسحوق النباتي في ورق زجاجي وأضيف له 50 مل ماء مقطر ثم مزجت بالخلاط المغناطيسي لمدة عشر دقائق بعدها رشح المزيج وتم قياس pH الراشح بجهاز pH-meter [26]

تم اختبار فعالية المستخلص الكحولي (الايثانولي) الخام تجاه خميرة *Candida albicans* المعزولة من حالات مرضية مختلفة والتي تم الحصول عليها مشخصة من مختبر الأحياء المجهرية في مستشفى الخالص العام والتي امتازت بمقاومتها العالية لمضادات الحياة اذ زرع 0.1 مل من عالق الخميرة المحضر من اخذ عروة ناقل Loop full من خميرة المبيضات المنماة على وسط Sabraud Dextrose Agar (SDA) ولقحت بـ 2 مل من الوسط الغذائي السائل (SDB) Sabraud Dextrose Broth وحضنت بدرجة حرارة 25 م لمدة ثلاث أيام ثم زرع 0.1 مل من عالق الخميرة بعد مجانسته في أنابيب زجاجية تحتوي على 5 مل من الوسط السائل والحاوي على التراكيز المختلفة للمستخلص (200,100,75,50,25) ملغم-مل-1 وحضنت لمدة ثلاث أيام بحرارة 25 م ، زرع 0.1 مل من عالق الخميرة بعد مجانسته وإجراء التخفيفات العشرية عليه حيث استخدم 6-10 وذلك بنشره على وسط SDA ثم الحضن لمدة أسبوع لتحسب عدد المستعمرات . [6]

أختبرت السمية الخلوية Cellular toxicity للمستخلص لخلايا الدم الحمر للإنسان والحيوان خا رج الجسم الحي Invitro إذ وضع 0.8 مل من المستخلص في أنبوبة اختبار معقمة ونظيفة وأضيف له 0.2 مل من خلايا الدم الحمر للإنسان ليصبح الحجم النهائي 1 مل ثم حضن بالحاضنة بعد رجه قليلا لمدة (30) دقيقة وبدرجة حرارة 37 م ثم اجري بعد ذلك الطرد المركزي باستخدام جهاز Universal centrifuge ولمدة 5 دقائق بمعدل 1000 دورة/دقيقة ليلاحظ بعدها التحلل الدموي Hemolysis واستخدمت معاملة السيطرة (أنبوبة اختبار تحوي دم فقط) لملاحظة الفرق في التحلل الدموي ، ثم أعيدت التجربة باستخدام خلايا الدم الحمر للأغنام [28] .

النتائج والمناقشة :

لوحظ ان لون المستخلص الايثانولي للنبات أخضر غامق ذو قوام لزج سهل الذوبان بالماء ، ويعود السبب لوجود المواد الفينولية في النبات [8] كما قدرت النسبة المئوية للمستخلص الجاف فكانت %26.3 (جدول 2) وهي نسبة جيدة وكبيرة مقارنة بنباتات أخرى مثلاً نبات القطن *Tribulus terrestris* نسبة المستخلص الايثانولي منه %014 [4] وان الكحول مذيب جيد لكثير من المواد الفعالة التي تكون قليلة الذوبان بالماء كما أن نسبة الرطوبة الواطئة في النبات %23(جدول 2) تعد مؤشراً لتركيز المواد الفعالة ونسبتها العالية 0 إذ وجد انه يحتوي على الكلالكوسيدات والصابونينات والكومارينات والتانينات الزيوت الطيارة والتربينات ومواد فينولية وهذه النتائج مماثلة لما ذكر Cowan [18] وجاءت نتيجة احتواءه على المواد الفينولية متوافقة مع ما وجدته Karl [22] .

يلاحظ من جدول (1) احتواء خليط أوراق وقلف نبات الصفصاف على عناصر الكالسيوم والبوتاسيوم والصوديوم بكميات جيدة إذ يدخل الكالسيوم في تركيب العظام وهو ضروري للعمليات الأيضية [15] . وان وجود المغنسيوم بكمية قليلة (%0.13) ربما يفسر اللون الباهت للأوراق إذ انه يدخل في تركيب الكلوروفيل [26] . يتبين ان نسبة الحديد والمغنيز في النبات عالية اذ يشكل الحديد عنصراً مهماً لعمل الهيموغلوبين وبعض الانزيمات في الجسم . ويعد المغنيز أيضاً عنصراً مهماً لعمل بعض الانزيمات [16] فيما كانت نسبة النتروجين والفوسفور مناسبة في النبات وهما من العناصر الضرورية لعملية البناء الضوئي [26] . إن النسبة المتدنية من العناصر الثقيلة ، الرصاص(0.04)ppm وانعدام الكاديوم تعد مؤشراً لكون النبات أميناً في الاستخدام الغذائي والدوائي إذ استخدم النبات منذ القدم على شكل شراب لعلاج حالات الروماتزم وغيره [13] . و يبين جدول (2) ان الرقم الهيدروجيني للنبات 5.3 إذ أن الحموضة تعتمد على الجزء النباتي وما يحتويه من مركبات فعالة تحدد بدورها قيمة pH وممكن ملاحظة ذلك بمقارنة قيمة pH مع نواتج الايض الثانوي التي تم الكشف عنها . أما نسبة الرماد فهي جيدة وهذا واضح من خلال العناصر الغذائية المعدنية في النبات إذ بين أبو زيد [1] ان العناصر الغذائية من العوامل المؤثرة في خصوبة التربة لذا نجد أن معظم النباتات الطبية في العالم تنتشر في العراق لخصوبة التربة [13] إذ أن الصفصاف قيد الدراسة *S. acmophylla* لم يذكر وجوده في أماكن أخرى غير العراق [27] . يحتوي النبات على نسبة %1.97 من الدهون وهذه النسبة ضئيلة اذا ما قورنت بنباتات اخرى ذات فوائد علاجية وغذائية مثل نبات الحبة السوداء *Nigella sativa* الذي يحتوي بذوره على الدهون بنسبة %38.1 [5] . تعد نسبة البروتين الخام في النبات %2.6 جيدة إذا ما أخذنا بنظر الاعتبار كون النبات غير مستزرع وغير بقولي .

لوحظ ان هنالك علاقة عكسية بين تراكيز المستخلص وعدد المستعمرات إذ تزداد نسبة التثبيط أي تقل عدد المستعمرات بزيادة التراكيز فعند التركيز الأعلى 200 ملغم-مل-1 قل عدد المستعمرات الى الصفر (جدول 3) ذكر أن مستخلص نبات الصفصاف النوع *Salix caprea* يحتوي على مركب Flavonoid ذو فعالية تثبيطية للخمائر [23] كما ان للمركب الكلايكوسيدي Ampelopsin المستخلص من النوع *S.sachalinensis* فعالية مضادة للفطريات وقد ذكر Cowan [18] احتواء نبات الصفصاف على مركبات Salicin وTannin وTerpens والتي لها فعالية في تثبيط الإنزيمات والبروتينات الناقلة الموجودة في غشاء خلية الخميرة [24] إذ انه من المعروف ان الايثانول يذيب الزيوت العطرية والتربينات والمواد الفعالة الأخرى أكبر مقارنة بالماء [1] إذ ذكر ان مستخلص النبات قيد الدراسة بالأثير النفطي أعطى

فعالية مثبتة ضد خميرة *Candida albicans* [3] وبينت دراسات عديدة أجريت على نباتات طبية تحتوي على الكلايكوسيدات والتربينات والمواد الفينولية تأثر هذه الخميرة بها بشكل كبير مثل نبات الحبة السوداء *Nigella Sativa* [5] والشاي الأخضر *Camellia Sinensis* والبابونك *Marticaria camomilla* [6] والميرمية *Salvia officinalis* وسم الفراخ *Withania somnifera* [3] وباستخدام مذيبيات عضوية مختلفة. لم يظهر المستخلص فعالية سمية لخلايا الدم الحمر للإنسان أو الحيوان رغم أن نتائج الكشف عن المركبات الفعالة للنبات اظهرت احتوائه على الصابونين إذ أن هذا المركب يمتلك فعالية تحليلية لخلايا الدم الحمر من خلال ألفتة لسيتيرلات Sterol الغشاء البلازمي في الخلية إذ يزال الغشاء ويتحرر الهيموغلوبين [17] وربما يعزى ذلك الى أن نسبة الصابونين في المستخلص قليلة جداً فضلاً عن أن النبات لا يحتوي على العناصر السامة في العينات المدروسة (جدول 1) وربما هذا يجعل من النبات آميناً في الاستخدام الدوائي والغذائي .

نستنتج من هذه الدراسة احتواء خليط أوراق وقلف نبات الصفصاف على المركبات الكيميائية : القلويدات ، التانينات، الكلايكوسيدات ، الصابونينات ، الكومارينات، الزيوت الطيارة ، التربينات و مواد فينولية، وأثره التثبيطي في نمو مستعمرات خميرة *Candida albicans*.

جدول (1) : محتوى خليط أوراق وقلف نبات الصفصاف من بعض العناصر المعدنية والغذائية

العنصر	المحتوى
النتروجين	0.41%
الفوسفور	0.15%
الكالسيوم	0.49%
البوتاسيوم	0.88%
المغنيسيوم	0.13%
الصوديوم	0.054%
الحديد	140 (ppm)
المنغنيز	70.41 (ppm)
الرصاص	0.04 (ppm)
الكاديوم	لا يوجد

جدول (2) : نتائج بعض الفحوصات الكيميائية العامة لخليط أوراق وقلف نبات الصفصاف

النسبة المئوية	اسم الفحص
23	الرطوبة
26.3	المستخلص الكحولي الخام
* 5.3	الرقم الهيدروجيني
5.6	Ash الرماد
1.97	Total lipids الدهون الكلية
2.6	Crude protein البروتين الخام

* : الرقم الهيدروجيني لا يعبر عنه بنسبة مئوية .

جدول (3) : تأثير المستخلص الكحولي (الإيثانولي) لخليط أوراق وقلف نبات الصفصاف في خميرة *Candida albicans* .

معدل عدد المستعمرات	التركيز ملغم/ مل
40	(Control)
40	25
38	50
37	75
20	100
0	200

المصادر

1. أبو زيد ، شحات نصر (1968) النباتات والأعشاب الطبية . دار البحار ، بيروت .
2. البالاني ، ماجد رشيد (2003) تأثير المستخلصات النباتية الخام وقلويد الفازيسين (vasicine) لنبات حلق السبع الشجيري *Adhatoda vasica L.* في بعض الجراثيم المرضية . رسالة ماجستير -كلية العلوم -جامعة بغداد.
3. الخفاجي ، باسمة ربيع احمد (2000) . تأثير بعض نباتات سم الفراخ والميرمية والصفصاف على نمو بعض الفطريات الجلدية 0 رسالة ماجستير- كلية العلوم - الجامعة المستنصرية .

4. الزهيري، أنعام فؤاد حسين (2005) دراسة بعض الجوانب البيولوجية والكيميائية لنبات القطن *Tribulus terrestris* و *Galium aparine L.* وحشيشة الافرعى وتأثير مستخلصاتها في نمو بعض مسببات أخماج المجاري البولية . كلية العلوم - الجامعة المستنصرية .
5. العاني ، أوس هلال (1998) دراسة مكونات الحبة السوداء المحلية *Nigella Sativa* وتأثير مستخلصاتها في بعض الأحياء المجهرية . رسالة ماجستير - كلية العلوم - الجامعة المستنصرية .
6. العاني ، رعد عبد الهادي نايف (2005) دراسة التأثير التآزري لمستخلص الشاي الاخضر *Camellia Sinensis L.* والبابونك *Matri caria camomilla* مع بعض المضادات الفطرية تجاه خميرة *Candida albicans* . رسالة ماجستير - كلية التربية ابن الهيثم - جامعة بغداد .
7. الموسوي ، علي حسين عيسى (1987) 0 علم تصنيف النبات . الطبعة الاولى ، مديرية دار الكتب للطباعة والنشر ، جامعة الموصل .
8. محمود ، سامي هاشم ومهند جميل محمود (1988) . النباتات والأعشاب العراقية بين الطب الشعبي والبحث العلمي . الطبعة الأولى ، مجلس البحث العلمي .
9. هيكل ، محمد السيد وعبد الله عبد الرزاق عمر (1993) . النباتات الطبية والعطرية : كيميائها ، انتاجها ، فوائدها . الطبعة الثانية ، منشأة المعارف - الاسكندرية .
- 10.A.A.C.C. (American Association of Cereal Chemists) . (1984) Method. 08-01. The association St . paul , M . N.
- 11.AlBid , M.R. (1985) Zurr Zusammen mesturungder Abschla Bmembrane in phoenix dactylifera wurzburj uni .
12. Ali ,A. and Al- Quraishy,S.(2008) . Effect of natural and chemical insecticides on *Hyalopterus pruni* and *America vulgaris* . African J.Biotechnology . 7 (12) , :1865- 1869
- 13.Al - Rawi , A .(1988).Wilds plants of Iraq with their distribuution .3rd .ed Baghdad .
14. A.O.A.C. (Association of Official Analytical Chemists) . (1980) . Official methods of analysis. 13th ed . Washington . D.C.
15. Aurand , L.W. and wood , A.E.(1973) food Chemistry . The Avi publishing company , Inc . Westport , connecticut , U.S.A.
16. Bike , R .L . and Brown, M . L . (1984) Nutrition An . Integrated Approach . 3rd . Macmill , Newyork . London .
17. Butler , G.W. and Baily , R.W. (1973) . Chemistry and Biochemistry of Herbage Vol.1 Academic Press . London .

18. Cowan , M.M. (1999) . Plant products as antimicrobial agents . Clinical Microbiology Reviews , 12(4) : 564 - 582 .
19. Harbon , J.B. (1973) . phytochemical methods. 2nd .ed . Champan and Hall . p.288.
20. Heilenz , S.w. Hotner and K.H. Neumann . (1972) Biochemiches . partikumandas In In stitute fure plansenerahrung der Justs - Liebig Uni. In Giessen west Germany .
21. Janovaska, D. , Kubikova , K . and kokoska , L . (2003) Screening for antimicrobial activity of some medicinal plants spieces of traditional Chinese medicine. Czeeh. J. food sci ., 21 (3) : 107 - 110.
22. Karl , E.; Torgunn, E. ; Agnete, F. ; Turid, M . and Eva , K. (1985) Flavonoids from the wood of Salix caprea as inhibitant of wood destroying fungi J. Natural products 48(4): 559-563 .
23. Matsumoto, T. (2001) Ampelopsin , amajor antifungal constituent from Salix sachaninensis J. Nippon Nogeikagaku . kai shi. 75(6) : 659-667.
24. Phil pson , J.D. and Neill , M.G. (1987) . New Leads to the treatment of protozoal infections based on natural product molecles .
25. Salisburg , B. , Ross ,W .(1985) plant physiology. International Student (3rd) ed . ISBN 0.534-98117-98118
26. Shihata , I . M . (1951) Apharmacological study of Anagallis arvensis . M . D. Vet . the thesis . Cairo Uni .
27. Townsend , C.C. and Guest , E. (1980) . Flora of Iraq . Vol . 4 , Glasgow uni .
28. Xin - guo , H . and Ursella , M . (1994) Anti fungal Compounds from Solanum nigrescens , J . Ethnopharm , 43: 174-177.
29. WWW. alriyadh. com