تأثير مزيج من مستخلص بذور الحرمل *Peganum harmala* واوراق نبات الشيح *Artemisia herba-alba* ضد الاميبا الحالة للنسيج *Entamoeba histolytica* في الزجاج.

فوزية احمد الشنوي
قسم علوم الحياة، كلية العلوم ، جامعة بغداد. بغداد – العراق

الخلاصة

تم عزل طفيلي الاميبا الحالة للنسيج *E. histolytica* في عينات الاسهال الدموي المخاطي للمرضى المصابين بداء الزحار الاميبي (amoebic dysentery) وتمت تنميته في وسط لوك – البيض (LE) المحور مضافاً اليه مصل الانسان. اظهرت النتائج نجاح الزرع في هذا الوسط بمصاحبة البكتريا. استمر النمو لمدة اسبوعين تخلل هذه المدة عمل مزارع ثانوية لادامة الاميبا.

اختبرت فعالية بعض النباتات الطبية ضد الاميبا الحالة للنسيج وذلك بتحضير مستخلصات نباتية خام بالماء أو بالكحول الاثيلي 70 % لكل من بذور الحرمل *Peganum harmola* واوراق نبات الشيح *Artemisia herba-alba*.

درس تأثير مزيج من المستخلص المائي لكلا النباتين وكذلك مزيج من المستخلص الكحولي لهما ضد الاميبا الحالة للنسيج في الزجاج وبالتراكيز 1000 و 1500 مايكروغرام / مليلتر لكل منهما خلال ساعتين.

اوضحت النتائج تأثير كلا المزيجين المائي والكحولي لكلا النباتين ضد الاميبا الحالة للنسيج في الزجاج وتتناسب فعالية مزيج المستخلصين طردياً مع الزيادة في التركيز ، حيث جاءت اعلى نسبة للقتل باستعمال تركيز 1500 مايكروغرام / مليلتر للمستخلص الكحولي لمزيج كلا النباتين وبنسبة 98.5 % يقابلها مزيج المستخلص المائي بنسبة قتل 89 %. وقد يرجع التأثير المضاد للاميبا الى المحتوى العالي من القلويدات ، وصابونينات لبذور الحرمل والى الزيوت الطيارة والفينولات لاوراق نبات الشيح.

THE EFFECT OF A MIXTURE OF EXTRACTS OF *PEGANUM HARMALA* SEEDS AND *ARTEMISIA HERBA-ALBA* LEAVES ON *ENTAMOEBA HISTOLYTICA IN VITRO.*

Fawzia A. Al-Shanawi
Department of Biology, College of science, University of Baghdad, Iraq – Baghdad.

Abstract

Entamoeba histolytica was isolated from bloody mucoid stools of patients with amebic dysentery and cultivated on Lock-egg medium to which human serum was added. The parasites were maintained in culture for two weeks during which separate subcultures were prepared.

The effect of a water extract and of an alcoholic extract of seeds of *Peganum harmala* and leaves of *Artemisia herba-alba* on the viability of *E. histolytica* was tested. The effect of a combination of the water extracts and of the alcoholic extracts of both plants on amebic viability was also tested at concentrations of 1000 mg / ml and at 1500 mg / ml for two hours.

The results showed a marked effect of both combinations of water extracts and of alcoholic extracts on viability of *E. histolytica* in vitro. The effect was greater at the higher concentration. The highest killing effect was obtained when the extract concentration was 1500 mg / ml , reaching 98.5 % for the alcoholic extracts and 89 % for the water extract. The anti-amebic effect may be due to the high content of alkaloids and saponoids in *Peganum* seeds complemented by the volatile oils and phenols in *Artemisia* leaves.

المقدمة

تسبب الاميبا الحالة للنسيج *Entamoeba histolytica* داء المتحولات الاميبي Amebiasis او الزحار الاميبي Amoebic dysentery ، ينتشر الطفيلي في كل انحاء العالم وخاصة في المناطق الاستوائية (tropics) وشبه الاستوائية (sub-tropics) ، وتنتشر بين الطبقات الفقيرة وربما يعود ذلك لسؤ التغذية او الظروف غير الصحية. ويعد هذا الداء واحداً من اكثر الامراض الطفيلية شيوعاً في العالم (1) ويقدر عدد الافراد المصابين بالاميبا الحالة للنسيج عالمياً بنحو 40 – 50 مليون فرد سنوياً (2) فيما نشير الـ WHO(3) الى ان طفيلي الاميبا الحالة للنسيج مسؤولة عن وفاة ما يزيد عن 100.000 فرداً سنوياً ، وهو بهذا يقع في المرتبة الثانية بعد الملاريا في ارتفاع معدل الوفيات الناتج عن الاصابة بطفيلي اولي.

الاميبا الحالة للنسيج طفيلي اولي قادر على اجتياح المخاطية المعوية والانتشار الى اعضاء اخرى خصوصاً الكبد مسبباً خراج الكبد الاميبي (amoebic liver abscess) (4) وغالباً ما تكون ناشطات (trophozoites) الطفيلي الاجتياحية مصحوبة بتنخر شديد ، يعزى ذلك الى عوامل عدة مثل تحفيز النشاط الالتهابي لخلايا المضيف ، وانتاج الانزيم cystein – protease في الناشطات وحث التدمير الخلوي لخلايا المضيف (apoptosis) (5).

ولاهمية داء الاميبا بوصفه مشكلة صحية عالمية ، اتجهت بحوث عدة لايجاد علاج للمرضى من النباتات الطبية ، علماً بانه ازداد الاهتمام حديثاً بالقيمة العلاجية للنباتات الطبية وذلك لفاعليتها وامنها ولقلة كلفتها قياساً بالعقاقير الكيميائية.

في هذه الدراسة تم استعمال المستخلص المائي والكحولي لمزيج من مستخلص بذور الحرمل ومستخلص اوراق نبات الشيح حيث يحتوي الحرمل على العديد من القلويدات التي توجد بصورة خاصة في البذور والجذور منها قلويد حرمان وحرمين وحرمالين (harmaline و harmine و harman) (6). ولبذور الحرمل وقلويداته تأثيراً مضاداً للاوالي الطفيلية إذ وجدت (7) بان المستخلص المائي والكحولي حقق نسب قتل للاميبا الحالة للنسيج *E.histolytica* 62.1 % و 66.8 % على التوالي عند استخدامه بتركيز 1500 مايكروغرام / مليلتر في الزجاج. كما وجد ان للمستخلص المائي لبذور الحرمل تأثير واضح في تثبيط طفيلي الملاريا *Plasmodium falciparum* في الزجاج (8).

اما نبات الشيح فهو نبات طبي معروف وكثيراً ما يستعمل في الطب الشعبي في الشرق الاوسط بوصفه طارداً للديدان ومضاداً للاحياء المجهرية (9 و 10) وفي دراسة في الزجاج اظهر المستخلص المائي والكحولي لاوراق نبات الشيح تأثيراً على الاميبا الحالة للنسيج حيث سجل نسبة قتل 51 % و 58.2 % عند استخدامه بتركيز 1500 مايكروغرام / مليلتر في الزجاج (7).

وفي دراسة ايضاً في الزجاج اظهر الشيح تأثيراً مضاداً لطفيلي اللشمانيا الجلدية *Leishmania major* and *L. tropica* (11) وتعود فعالية الشيح الى احتوائه على مركبين طيارين اساسين عزلا من الاوراق الغضة للشيح هما بايبريتون وكارفون (Carvone و Piperitone) (12).

طرائق العمل

1- مصادر الحصول على الطفيلي

تم الحصول على الاميبا الحالة للنسيج من عينات براز لبعض المرضى المراجعين لمستشفى الطفل في الاسكان وذلك بعد التاكد من اصابتهم بالطفيلي بالتشخيص المختبري للعينات ، وقد اختيرت عينات الاسهال الدموي المخاطي حصراً بوصفها مصدراً مثالياً للحصول على اعداد كبيرة من الناشطات (trophozoite) الاميبية الملتهمة لكريات الدم ويأتي ذلك استناداً الى تقرير WHO (3).

2- التشخيص العياني

أ – الفحص العياني

تم ملاحظة عينات البراز من حيث القوام (consistency) واللون (colour) ووجود دم او مخاط مع البراز.

ب- الفحص المجهري

تم الفحص المجهري تحت القوة الكبرى (40 X) باستعمال طريقة الشرائح الرطبة (wet mounts) (13) والتي تشمل الشرائح الرطبة غير المصبوغة والشرائح الرطبة المصبوغة باليود ، فالاولى ساعدت في التحري عن الناشطات الحية المتحركة اما الثانية ساعدت في تاكيد وجود الاكياس اذ انها تصبغ الفجوات الكلايكوجينية والانوية بصورة واضحة.

3- تقدير حيوية الطفيلي

استعمل محلول الايوسين المائي 1 % إذ ان صبغة الايوسين تصبغ المحتويات جميعها ما عدا البروتوبلازم الحي (13).

4- الوسط الزرعي المستخدم

استخدم وسط لوك – البيض ثنائي الطور [Locke – Egg Diphasic medium (LE)]. حضر هذا الوسط طبقاً لما اورده Brand *et al.* (14) مع اجراء بعض التحويرات وعلى النحو الآتي :

بعد نوزيع مستحلب البيض الى كل انبوبة زرع بواقع 5 مليلترات وعمل منها منحدر مناسب بحمام مائي مغلي لمدة 15 – 20 دقيقة ثم بردت الانابيب بعدها واضيف لها 6 مليلترات من محلول اللوك ثم عقم الوسط ثنائي الطور في الموصدة لمدة 15 دقيقة.

لاكمال الوسط الزرعي وجعله جاهزاً لزرع الاميبا الحالة للنسيج اضيفت المواد الآتية لكل انبوبة زرع :

1 مليلتر من مصل الانسان مثبط المتمم.

0.2 مليلتر من محلول كل من المضادات الحيوية الامبسلين ، الستربتومايسين والنستاتين.

5- تحضير المستخلصات النباتية المائية والكحولية

أ- حضر المستخلص المائي للنباتين بذور الحرمل واوراق نبات الشيح بوزن 25 غرام من كل مسحوق نباتي واضيف له 150 مليلتر من الماء المغلي وحضر منه معلق يسهل ترشيحه. وبعدها وضع المعلق النباتي على جهاز المحرك الكهربائي لمدة ساعتين ثم رشح عبر 4 قطع شاش ووضع الراشح الناتج في انابيب الطرد المركزي وطرد مركزياً بسرعة 3000 دورة / دقيقة لمدة 15 دقيقة ووضع الرائق بعدها في اطباق بتري وادخل فرن تجفيف بدرجة 40 م. بعد التجفيف قشطت مساحيق المستخلصين النباتيين وحفظت في اوعية زجاجية نظيفة محكمة الغلق بدرجة حرارة الغرفة لحين الاستخدام.

ب- اما المستخلص الكحولي فقد تم باستعمال الكحول الاثيلي 70 % بوصفه مذيباً بدل الماء في الفقرة (أ) ووضع المعلق النباتي في حمام مائي بدرجة حرارة 50 م لمدة 24 ساعة ثم وضع في جهاز المحرك الكهربائي لمدة ساعتين واكملت الخطوات كما في الفقرة (أ).

6- اختبار فعالية مزيج المستخلصات النباتية

تم تهيئة التراكيز المطلوبة وهي 1000 و 1500 مايكروغرام / مليلتر لكلا النباتين وذلك بعمل محلول خزين (Stock solution) لكل مستخلص باذابة 500 مليغرام من المسحوق المجفف في 100 مليلتر من الماء المقطر ثم طبق قانون التركيز الاول × الحجم الاول = التركيز الثاني × الحجم الثاني ($C_1V_1 = C_2V_2$) للحصول على التراكيز اعلاه.

ولضبط الكثافة العددية والحيوية للاميبا المزروعة في الزجاج لاجراء الاختبار تم استعمال شريحة عد كريات الدم وصبغة الايوسين 1 % اعتماداً على عدم نفاذية صبغة الايوسين الى خلية الطفيلي الحي (13) واستعملت الاميبا بكثافة 400.000 اميبا / مليلتر وبحيوية لا تقل عن 95 %.

اجري الاختبار باضافة 1 مليلتر من مزرعة الاميبا في الوسط الزرعي (LE) الى كل من انابيب الاختبار التي تم تهيئتها حيث وزعت بثلاثة مجاميع تحتوي كل مجموعة على خمسة انابيب اختبار ، عوملت المجموعة الاولى بالتركيز الاول لمزيج المستخلصين 1000 مايكروغرام / مليلتر لكل منهما وعوملت المجموعة الثانية بتركيز 1500 مايكروغرام / مليلتر لمزيج كلا المستخلصين اما المجموعة الثالثة فتركت الاميبا فيها بدون معاملة كونها مجموعة سيطرة سالبة ، رجت الانابيب برفق لتوزيع مزيج المستخلصين بشكل متساوي داخل الوسط الزرعي للاميبا ثم وضعت في الحاضنة بدرجة 37 مْ لمدة ساعتين. بعدها اخذت الانابيب وقدرت النسبة المئوية للاميبا المقتولة حسب القانون الآتي :

النسبة المئوية للاميبا المقتولة = عدد الاميبا المصطبغة بالايوسين / عدد الاميبا الكلي × 100

كررت عملية العد لخمس مرات عند كل تجربة واعتمد المتوسط الحسابي للمكررات الخمسة.

7- التحليل الاولي للكيميائيات النباتية

استخدمت الطرق التي اتبعتها (7) لتأكيد نتائج التحليل الاولي للكيميائيات النباتية التي يحتويها كل من مستخلص بذور الحرمل واوراق نبات الشيح.

1- التحليل الاولي للكيميائيات النباتية

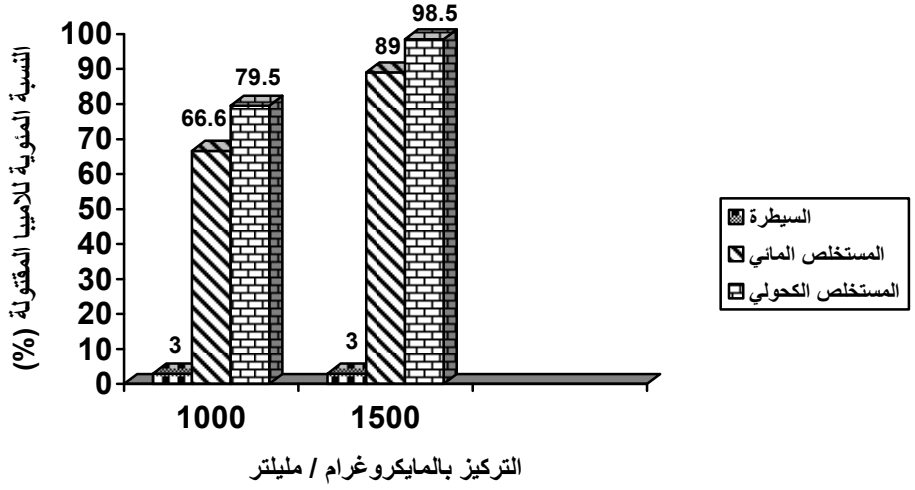
دلت نتائج التحليل الاولي احتواء بذور الحرمل وأوراق نبات الشيح على الكيميائيات الآتية :

جدول 1: كيميائيات نبات الحرمل واوراق نبات الشيح.

الكيميائيات النباتية	قلويدات	فلافونويدات	كلايكوسيدات	فينولات	راتنجات	صابونينات	تربينات ستيرويدات	تانينات	زيوت طيارة
بذور الحرمل	+	-	-	-	-	+	-	+	-
اوراق نبات الشيح	-	+	+	+	-	+	+	+	+

2- اختبار فعالية مزيج المستخلصات النباتية المائية والكحولية ضد الاميبا

اظهرت نتائج الاختبارات فعالية مزيج المستخلص المائي والكحولي لبذور الحرمل واوراق نبات الشيح في قتل الاميبا الحالة للنسيج ، إذ كانت اعداد الاميبا المقتولة والنسب المئوية للقتل الخاصة بمزيج المستخلص المائي للحرمل والشيح ضمن زمن التجربة وعند التركيز 1000 مايكروغرام / مليلتر لكل منهما هي قتل 266.400 اميبا / مليلتر بنسبة 66.6 % ، وعند المعاملة بالتركيز 1500 مايكروغرام / مليلتر كان اكثر فعالية في القتل 318.000 اميبا / مليلتر وبنسبة 79.5 %. اما نتائج مزيج المستخلص الكحولي للحرمل والشيح فقد اظهرت فعالية متميزة افضل من مزيج المستخلص المائي في قتله للاميبا وبالتراكيز نفسها لكل نبات إذ قتل التركيز الاول 356.000 اميبا / مليلتر بنسبة 89 % اما التركيز الثاني فقد قتل 394.000 اميبا / مليلتر بما يعادل نسبة 98.5 % ولم نجد هلاكات تذكر في مجموعة السيطرة السالبة التي لم تعامل باي عامل مضاد للاميبا (شكل 1).



شكل 1: النسبة المئوية للاميبا الحالة للنسيج المقتولة بعد معاملتها بمزيج من المستخلص المائي او الكحولي لبذور الحرمل واوراق الشيح بالتراكيز 1000 و 1500 مايكروغرام / مليلتر لكل نبات ولمدة ساعتين في الزجاج.

النتائج والمناقشة

تم في هذه الدراسة استعمال الماء والكحول الاثيلي 70 % بوصفهما مذيبين نظراً لكون الماء هو المذيب الاكثر استعمالاً على المستوى العالمي في الاستخلاص (15) ، اما الكحول الاثيلي فهو المذيب الاكثر امناً من الناحية الصحية لتحضير المستخلصات النباتية (16).

عند النظر الى جدول (1) نجد ان المستخلصين احدهما اكمل الكيميائيات الضرورية للاخر عند مزجهما فالحرمل يحتوي على القلويدات بالدرجة الاساسية (6) بالاضافة الى احتوائه على التانينات والصابونينات في حين يفتقد مستخلص نبات الشيح على القلويدات ولكنه يحتوي على الفلافونويدات والكلايكوسيدات والفينولات والزيوت الطيارة التي يفتقدها مستخلص بذور الحرمل.

يتضح من النتائج المبينة في الشكل (1) ان المستخلص الكحولي كان افضل من المستخلص المائي في قتل الاميبا الحالة للنسيج وقد يرجع سبب ذلك الى كون الكحول الاثيلي قادراً على اذابة القلويدات بشكل افضل من الماء (15) وهذا ما اكده (17) في ان قلويد حرملين (harmaline) وهو القلويد الرئيسي للحرمل يذوب بشكل قليل في الماء الا انه يذوب تماماً في الكحول.

اما نبات الشيح فقد اظهر بمستخلصيه المائي والكحولي طيف واسع من الكيميائيات النباتية فالكحول الاثيلي فعال في استخلاص الزيوت الطيارة فضلاً عن الفينولات المتعددة مثل الكومارينات والفلافونويدات والفلافونات.

اظهرت نتائج الاختبارات فعالية مزيج المستخلص المائي والكحولي لبذور الحرمل واوراق نبات الشيح في قتل الاميبا الحالة للنسيج وكان مزيج المستخلص الكحولي بتركيز 1500 مايكروغرام / مليلتر لكل منهما الافضل حيث سجل نسبة قتل للاميبا 98.5 % يمكن ان نعزي ذلك الى تأثير قلويدات الحرمل على الاميبا حيث تأتي هذه النتيجة متفقة مع ما وجدوه هو وجماعته (17) في دراستهم عن تأثير مستخلص القلويدات للحرمل على السبوريات الدموية ومنها *Theileria* و *Babesia* و *Anaplasma* إذ اظهر المستخلص فعالية مضادة لهذه الطفيليات كما جاءت النتائج متفقة مع العبيدي (7) بكون جرعة المستخلص المائي والكحولي لبذور الحرمل بتركيز 1500 مايكروغرام / مليلتر اعطت نسبة قتل للاميبا الحالة للنسيج في الزجاج 62.1 % و 66.8 % على التوالي.

كما وجد للمستخلص المائي لبذور الحرمل تأثير واضح في تثبيط طفيلي الملاريا *P. falciparum* في الزجاج (8) ، اما مستخلص نبات الشيح الذي يحتوي على الزيوت الطيارة والفلافونات وغيرها من المحتمل أي يكون لهذه المركبات دوراً مهماً في التاثير المضاد للاميبا ويتفق ذلك مع ما توصل اليه مكز وجماعته (18) إذ وجد ان لبعض المركبات متعددة الفينولات المعزولة من جذور نبات *Heleanthemum glomeratum* فعالية مضادة للاميبا الحالة للنسيج والجيارديا خارج الجسم الحي فضلاً عن كبحها لنمو الجيارديا في الاوساط الزرعية.

ان الالية التي يرجح كونها المسؤولة عن سمية الفينولات للاحياء المجهرية تتضمن تثبيط الانزيمات بوساطة المركبات المؤكسدة (oxidizing compounds) ربما عن طريق التفاعل مع مجاميع محددة او عن طريق تفاعل عشوائي مع البروتينات (19).

اما الفلافونويدات فان عملها يتضمن قدرتها على التداخل مع البروتينات الغشائية او التداخل مع جدران الخلية البكتيرية ، كما انها الاكثر الفة للدهون (Lipophilic) وقد تعمل ايضاً على تمزيق الاغشية الخلوية للاحياء المجهرية (20).

من نتائج هذا البحث وجدنا امتلاك كل من المستخلصات المائية الحارة والكحولية لكل من بذور الحرمل واوراق نبات الشيح فعالية مضادة للاميبا الحالة للنسيج خارج الجسم الحي وتزداد هذه الفعالية المضادة عند مزج مستخلص بذور الحرمل واوراق الشيح ويتفوق مزيج المستخلص الكحولي على المائي حتى تصل نسبة القتل فيه الى 99 %.

References

1. Haque, R. ; Ali, I. K. ; Akther, S. and Petri, W. A. **1998,** Comparison of PCR , Isoenzyme analysis and antigen detection for diagnosis of *Entamoeba histolytica* infection *J. Clin. Microbiol.* **36** : 449– 452 .
2. Walsh, J. A. **1986,** Problems in recognition and diagnosis of amebiasis estimation of the global magnitude of morbidity and mortality. *Rev. Infect. Dis.* **8** : 228 – 238 .
3. WHO / World Health Organization. **1997**, "*Amoebiasis. Weekly epidemiological records*". 72 : 97 – 100. ,. Geneva , Switzerland.
4. Samuel, L. ; Syanley, J. ; Sharon, L. and Reed, I. **2001**. Microbes and microbial toxin :Paradigms for microbial mucosal

interactions VI. *Entamoeba histolytica* : parasite – host interactions. *Am. J. Phy. Gastrointestinal liver Physiol*. **2806** : 1049 – 1054.

5. Stanley, S. L. **2001.** Pathophysiolgy of amebiasis. *Trends Parasitol*. **17** : 280 – 285.
6. El-Bahri, l. and Chemli, R. **1991.** *Peganum harmala* L. : A poisonous plant of North Africa. *Vet. Hum. Toxicol*. **33** : 276 – 277.
7. Al-Obaidi, H. M. **2007**. Effect of some plant extracts against *Entamoeba histolytica* that grown in culture media. M. Sc. Thesis , University of Baghdad pp. 138.
8. Sathiyamoorthy, P. ; Lugasi – Evgi, H. ; Schlesinger, P. ; Kedar, I. ; Gopes, J. ; Pollock, Y. and Golan-Goldhirsh, A. **1999,** Screening for cytotoxic and antimalarial activities in desert plants of the Negev and Bedouin market plant products. *Pharmaceutical Biology*. **37** (3) : 188 – 195 .
9. Ziyyat, A. ; Legssyer, A. ; Mekhfi, H. ; Dassouli, A. ; Serhrouchna, M. and Benjelloun, W. **1987.** Phytotherapy of hypertension and diabetes in oriental Morocco *J. Ethnopharmacol*. **58** : 45 – 50.
10. Boriky, D. ; Berrada, M. ; Talbi, M. ; Keravis, G. and Rouessac, F. **1996.** Eudesmanolides from *Artemisia herba-alba*. *Phytochem*. **43** : 309 – 311.
11. Hatimi, S. ; Boudouma, M. ; Bichichi, M. ; Chaib, N. and Idrissi, N. **2001.** In vitro evaluation of antileishmania activity of *Artemisia herba-alba*. *Bull. Soc. Pathol. Exot*. **94** (1) : 29 – 31.
12. Saleh, M. ; Belal, M. and El-Baroty, G. ; **2006.** Fungicidal activity of *Artemisia herba-alba* Asso (Asteraceae). *J. Environ. Sci. Health. B*. **41**(3):237–244 [Abstract] .
13. Paniker, C. K. **1989.** *Textbook of Medical Parasitology*. 2nd ed., Joypee Brothers , Daryaganj. New Delhi , India. pp. 224.
14. Brand, I. Von ; Rees, C. R. ; Jacobs, L. and Reardon, I. V. **1943.** Studies on reducing substances and gas formation in cultures of *Entamoeba histolytica* and single species of symbiotic bacteria. *Am. J. Hyg*. **37**:310– 319
15. Cowan, M. M. ; **1999.** Plant products as antimicrobial agents. *Clin. Microbiol. Rev*. **12** (4) : 564 – 582.
16. Almeida-Doria, R. F. and Regitano-D'Arce, M. **2000.** Antioxidant activity of rosemary and oregano ethanol extracts in soybean oil under thermal oxidation. *Cienc. Tecnol. Aliment*. **20** (2) : 197 – 203 .
17. Hu, T. ; Fan, B. ; Liang, J. ; Zhao, S. ; Dang, P. ; Gao, F. and Dong, M. **1997.** Observations on the treatment of natural haemosporidia infection by total alkaloid of *Peganum harmala L*. in cattle. *Trop. Anim. Health Prod*. **29** (4) : 72 – 76 .
18. Meckes, M. ; Calzada, F. ; Tapia-Contreas, A. and Cedillo-Riviera, R. **1999.** Antiprotozoal properties of Helianthemum glomeratum. *Phytother. Res.* **13**(2):102– 105
19. Mason, T. L. and Wasserman, B. P. **1987.** Inactivation of red beet beta – glycan synthesis by native and oxidized phenolic compound. *Phytochem*. **26** : 2197 – 2202.
20. Tsuchiya, H. ; Sato, M. ; Miyazaki, T. ; Fujiwara, S. and Linum, M. **1996.** Comparative study on the antibacterial activity of the phytochemical flavonones against methicillin – resistant *Staphylococcus aureus* . *J. Ethopharmacol*. **50** : 27 – 34.