مجلة تكريت للعلوم الصرفة، 23 (5) 2018

ISSN: 1813 – 1662 (Print)
E-ISSN: 2415 – 1726 (On Line)

مجلة تكريت للعلوم الصرفة

Journal Homepage: http://main.tu-jo.com/ojs/index.php/TJPS/index

الفعالية المضادة للفطريات للمستخلصات الفلافونويدية Flavonoids والتانينات Tannins لنبات *Geranium lucidum L* ضد بعض الفطريات المرضية

مصطفى قحطان مصطفى[1] ، طالب عويد الخزرجي[1] ، سيروان حسن صالح [2]

[1]قسم علوم الحياة ، كلية التربية للعلوم الصرفة ، جامعة تكريت ، تكريت ، العراق

[2]قسم علوم الحياة ، كلية التربية للعلوم الصرفة ، جامعة كرميان

معلومات البحث

تأريخ الاستلال: 6 / 3 / 2017

تأريخ القبول: 23 / 8 / 2017

الكلمات المفتاحية:

المراسلة مع:

الاسم: مصطفى قحطان مصطفى

البريد الاليكتروني:

رقم الهاتف:

الملخص

هدفت الدراسة الحالية الى التعرف على الفعالية المضادة للفطريات لمستخلصات (مائية و ايثانولية و ميثانولية) نبات *Geranium lucidum* النامي شمال العراق على اربعة انواع فطرية ممرضة (*Microsprum canis* و *Trichophyton mentagrophytes* و *Pencillium chrysogenum* و *Fusarium oxysporeum*) وعلى المحتوي الدباغي Tannins والفلافونويدي Flavonoids باستخدام تقنية الكروماتوغرافيا عالية الاداء HPLC ، و هدفت الى استخلاص المحتوى الكلايكوسايدي Glycoside content و الدباغي Tannin content واختبار فعاليته ضد الفطريات انفة الذكر ومقارنة ذلك بفعل المستخلصات ، وبينت النتائج احتواء النبات المدروس على جميع المركبات الفعالة التي تم الكشف عنها ، كما تبين فعالية جميع المستخلصات المدروسة ضد الفطريات المختبرة على ان المستخلص المائي (الساخن بمتوسط 11.19ملم والبارد بمتوسط 10.27ملم) والمستخلص الميثانولي بمتوسط 10.66 ملم هي الاكثر فعالية مقارنة بالسيطرة السالبة وبقية المستخلصات المدروسة ، كما بينت النتائج ان الفطرين *T.mentagrophytes* بمتوسط 12.11 ملم و *F.oxysporeum* بمتوسط 11.48 ملم هما الاكثر تأثرا بالمستخلصات النباتية مقارنة ببقية الفطريات المختبرة . كما تبين وجود تراكيز مختلفة من المركبات الفلافونويدية Quercetin و Catechim و Rutin و Kampferol والدباغ Tannins على ان المركبين Quercetin و Catechim بتركيز 0.2 ppm و 0.36 على التوالي هما الاكثر تركيزاً من بقية المركبات المدروسة .

المقدمة

يضم جنس *Geranium* 430 نوع والذي يعود الى عائلة الجيرانيوم Geraniaceae التي تعود الى رتبة geraniales من ذات الفلقتين وتوصف افرادها بانها معمرة perennials او حولية annuals ، شجيرية او عشبية لها انتشار واسع في المناطق المعتدلة وشبه الاستوائية من الكرة الارضية ولكثير منها قيمة اقتصادية كنباتات زينة او كمصادر صناعية ، و الجنس *Geranium* له انتشار واسع في شمال العراق[1 ، 2] ، وتستخدم انواع الجنس *Geranium* في مجال الطب التقليدي لشعوب ودول مختلفة من العالم فضلاً عن بعض صفاتها الطبية وبالتحديد على زيوتها الطيارة Ethereal oils وادوارها الفسلجية [3] ، كما تستخدم انواع جنس Geranium ضد الاحياء المجهرية وفي دراسة [4] التي بينت ان للمستخلص الايثانولي لكامل نبات *G.stepporum* فعالية تثبيطية ضد الفطريات *Candida albicans* و *C. parapsilosis* و *C. krusei* وضد بعض انواع البكتريا ([مثل *Staphylococcus aureus* و *Enterococcus faecalis* الموجبة لصبغة كرام وبكتريا *Escherichia coli* و *Pseudomonas aeruginosa* السالبة لصبغة غرام) ودراسة [5] التي بينت ان للمستخلص الميثانولي [لكامل النبات] للانواع *G.tubersum* و *G.lasiopus* و *G.purpureum* فعالية مضادة لفطريات الخميرة *Candida albicans* و *C.kusei* و *C .parapsilosis* كما بينت دراسة [3]

ISSN: 1813 – 1662 (Print)
E-ISSN: 2415 – 1726 (On Line)

على المحتوى الفعال للاجزاء الهوائية للنوع *G. lucidum.L* انه يحتوى على انواع من الزيوت الطياره (مثل Chrysanthenone و trans-Pinocarveol و Camphor و [E,Z-2,6-Nonadienal و Pinocamphone و Benzoic acid و Octanoic acid و Borneol و [cis-Linalool oxide [pyranoid و trans- و [Linalool oxide [pyranoid و Isopinocamphone و Terpinen-4-ol و p-Cymen-8-ol و α–Terpineol و Dodecane و Myrtenol و Decanal و Phenylacetic acid و Nonanoic acid و Tridecane و Decanoic acid و 1- Tetradecene و Tetradecane و Tetrahydrogeranyl acetone و Dodecanal و Monoerpenoid) كما اوضح فعالية مستخلصات الزيوت العطرية للنوعين سالفي الذكر في تثبيط عدة انواع ميكروبية (بكتريا *S.aureus* و *Clostridium perfringens* و *C. sporogenes* و *Bacillus subtilis* و *Sarcina lutea* و *Micrococcus flavus* الموجبة لصبغة كرام وبكتريا *E. coli* و *Klebsiella pneumoniae* و *K. pneumoniae* و *Pseudomonas aeruginosa* و *Proteus vulgaris* و *Salmonella enterica* السالبة لصبغة كرام والفطريات *Candida albicans* و *Saccharomyces cerevisiae* و *Aspergillus restrictus* و *A. fumigatus* و *Penicillium chrysogenum*) وبين ان النشاط ضد الميكروبي ناتج عن الزيوت الطياره بصورة عامة . وفي ضوء ما تقدم فقد هدفت الدراسة الحالية الى :-

التعرف على الفعالية المضادة للفطريات للمستخلصات المائية والكحولية ضد الفطريات الممرضة على الانسان ، و فصل بعض المركبات الفعالة ودراسة تأثيرها المضاد للأنواع الفطرية المنتخبة ، و التعرف على المحتوى الكيميائي الفعال الفلافونويدي Flavonoid و الدباغي Tannin لنبات *G.lucidum* باستخدام تقنية HPLC .

المواد وطرائق العمل

جمع العينات النباتية :

تم جمع عينات نبات *G.lucidum* النامي في محافظة السليمانية(بيرة مكرون و طويلة) خلال الفترة من اذار – حزيران 2015 /2016 وذلك خلال مرحلة التزهير وشملت هذه العينات كامل النبات فوق التربة وبعدها غسلت العينات بالماء المقطر وجففت بدرجة حرارة الغرفة بعيداً عن الضوء (منعاً للاكسدة الضوئية) وطحنت ووضعت في علب معتمة محكمة الغلق وحفظت في المجمدة لحين الاستخدام.

الاستخلاص المائي Aqueous Extraction

تمت عملية الاستخلاص بالماء وذلك بحسب ما ورد في دراسة [6] مع بعض التحوير عند الحاجة ، وكم في ادناه :

1- الاستخلاص بالماء الحار بمزج 40 غم من المسحوق النباتي (كامل النبات فوق التربة) مع 160 مل من الماء المقطر (أي بنسبة 1 : 4 وزن : حجم) الذي سخن لدرجة الغليان 100° م وبعدها رفع عن مصدر الحرارة واضيف اليه المسحوق النباتي.

2- حرك بعدها المزيج ثم ترك ليبرد

3- وضع في الثلاجة لمدة 24 ساعة ، ورشح بعد ذلك خلال عدة طبقات من الشاش الطبي، ورشح مرة ثانية بوساطة قمع بخنر باستخدام اوراق ترشيح Whatmann No. 1 للتخلص من الاجزاء غير المسحوقة والالياف للحصول على المستخلص النباتي الخام السائل .

4- وضع بعدها في جهاز المبخر الدوار بدرجة حرارة لا تزيد عن 40° م إذ يعمل على اساس التبخير تحت ضغط مخلخل تم الحصول على طبقة كثيفة من المستخلص .

5- جفف المستخلص بدرجة حرارة المختبر (30–35° م) ثُمَّ وُضِعَ المستخلص بعد جفافه في قناني ذات غطاء محكم وحُفِظَتْ بالتجميد لحين استخدامها .

وفي الاستخلاص بالماء البارد تم إتباع الخطوات السابقة نفسها في تحضير وحفظ المستخلصات المائية الساخنة عدا استعمال الماء البارد بدلاً من الماء الساخن .

الاستخلاص الإيثانولي Ethanolic Extracts

تم تحضير المستخلص الايثانولي والميثانولي بحسب طريقة [6] ، و كما يلي :

1- تم تحضير المستخلص الايثانولي وذلك باذابة 20 غم من المسحوق النباتي (كامل النبات فوق التربة) في 200 مل من كحول الايثانول بتركيز 80% مع التحريك (أي بنسبة 1: 10 وزن: حجم)

2- ترك المزيج في الثلاجة لمدة [24] ساعة للنقع

3- بعد ذلك رشح المستخلص خلال عدة طبقات من الشاش ثم رُشِّحَ ثانيةً باستخدام أوراق الترشيح (Whatman . No. 1) للتخلص من الأجزاء النباتية غير المسحوقة والألياف المتبقية

4- بعدها وضع في جهاز المبخر الدوار بدرجة حرارة لا تزيد عن40° م وبعد تبخير الكحول الموجود في المزيج ، تم الحصول على طبقة كثيفة من المستخلص

5- جفف المستخلص على الهواء وبدرجة حرارة المختبر (30–35° م) ثُمَّ وُضِعَتِ المستخلصات بعد جفافها في قناني ذات غطاء محكم وحُفِظَتْ بالتجميد لحين استخدامها.

تم إتباع الخطوات نفسها في تحضير وحفظ المستخلصات الايثانولية عدا استعمال الكحول الميثانولي Methanol بدلاً من الماء الكحول الايثانولي

استخلاص الكلايكوسايدات Glycosidic Extraction:

اتبعت طريقة [7] في استخلاص الكلايكوسايدات **وكما يلي :**

1- أضيف 10 غم من المسحوق النباتي الى 100 مل من الكحول الاثيلي بتركيز 80 % وترك المزيج مدة 24 ساعة في الثلاجة بدرجة حرارة (4–7° م) ورشح للحصول على المستخلص الايثانولي.

2- ركز المستخلص إلى ثلث حجمه بواسطة المبخر الدوار، وأضيف إليه 50 مل من الايثر و5 مل من محلول خلات الرصاص 0.3 مولاري في قمع الفصل مع الرج وسحبت الطبقة المائية. 3-

كررت العملية ثلاث مرات وجففت الطبقة المائية المسحوبة في درجة حرارة 30° م حتى تمام الجفاف ثُمَّ وُضِعَتِ المستخلصات في قناني ذات غطاء محكم وحُفِظَتْ بالتجميد لحين استعمالها

استخلاص التانينات Tannic extract

اتبعت طريقة [8] في استخلاص الكلايكوسايدات. وكما يلي :

1- حضر المستخلص المائي بغلي 0.5 غم من مسحوق العينة النباتية في 50 مل من الماء المقطر لمدة 30 دقيقة.

2- رشح المستخلص وعرض الى النبذ المركزي(2000 دورة/دقيقة) مدة 20 دقيقة.

3- نقل الجزء الطافي الى دورق حجمي سعة 100 مل وأضيف 20 مل من محلول خلات الرصاص بتركيز 4% واكمل الحجم بالماء المقطر الى 100 مل.

4- رشح المستخلص وجفف في فرن كهربائي Oven بدرجة حرارة 60° م حتى تمام الجفاف ثُمَّ وُضِعَتِ المستخلصات في قناني ذات غطاء محكم وحُفِظَتْ بالتجميد لحين استعمالها

الكشوفات الكيميائية للمركبات الفعالة

تم الكشف عن المركبات الفعالة في النوع *G.lucidum* ، عن الكلايكوسايدات Glycosides والدباغيات Tannins استنادا الى [9] والراتنجات Resins والفلافونات Flavones [10] و القلويدات Alkaloids [11] و الصابونيات Saponins والفينولات Phenols [12].

تحضير العينات لتقدير المحتوى الفلافونويدي والتانين :

تم اخذ 1 ملغم من العينة النباتية الجافة و اذيبت في 150 مل كلوروفورم و وضعت على هيتر هزاز stirrer hotplate لمدة 10 ساعات واضيف اليها 0.5 غم حامض الترتريك، ونقلت الى جهاز ultrasonic لمدة ساعتين ورشح النموذج باستخدام ورق ترشيح 0.45 ملم ونقل الى جهاز المبخر الدوار للتخلص من المذيب واخذ المتبقي وأضيف اليه كمية من الميثانول للحقن في جهاز HPLC وتم فحص العينات في مختبر كلية العلوم اوالتكنولوجيا – بغداد ثم قدرت تراكيز المكونات المفصوله اعتمادا على المركبات القياسية وحسب المعادلة ادناه :[13].

$$\text{تركيز العينة المجهولة مايكروغرام / غرام} = \frac{\text{تركيز المحلول القياسي} \times \text{مساحة العينة}}{\text{مساحة المحلول القياسي}} \times \text{عدد مرات التخفيف}$$

ظروف الفصل Separation conditions

1- عمود الـ HPLC : C18 (25×4.6mm I.D. 5µm).

2- الطور المتحرك

ml) A = MeOH:Acitic Aci d:D.W (10:2:88
B= MeOH:Acitic Acid:D.W (90:3:7) ml

3- الطول الموجي 348 نانوميتر

4- نسبة الجريان 1 مل / دقيقة .

5- درجة الحرارة 28 م

6- التركيز القياسي 3 ملغم / مل (الاشكال 1-6)

دراسة الفعالية المضادة للفطريات Antifungal activity study

اعْتُمِدَتْ طريقة [14] في تحضير المحلول الخزين Stock solution وتعقيمه وذلك لغرض استخدام المستخلصات في تجارب التثبيط اذ تم أُخِذَ 1 غرام من مسحوق المستخلص النباتي الجاف وأُذيبَ في 5 مل من الماء المقطر المعقم ، فأصبح لدينا محلول خزين بتركيز 200ملغم/مل . وعُقِّمَ المحلول بالترشيح (ورق ترشيح قطر 0.45 مايكرون) والحصول على محلول خزين معقم ، واستُخدِمَ هذا المحلول كمصدر لتحضير التخافيف 25 و 50 و 100 ملغم/مل. تم في هذه الدراسة استخدام اربعة انواع من الفطريات الممرضة وهي *Microsprum canis* و *Trichophyton mentagrophytes* و *Pencillium chrysogenum* و *Fusarium oxysporum* ، وتم الحصول عليها مشخصة من قسم علوم الحياة / كلية العلوم / جامعة ديالى وقد تم التنشيط المباشر لها قبل الإستخدام على وسط PDA البطاطا دكستروز اكار . واستخدمت طريقة الانتشار في الاكار (agar diffusion method) بواسطة الحفر well وفق ما جاء في [15] لملاحظة حساسية الفطريات لمستخلصات النبات المدروس عند التراكيز اعلاه، وتم تحضير معاملتين للسيطرة Control (الاولى سالبة والثانية موجبة) هي:

1- بالطريقة السابقة باستثناء عمل حفرة بدلاً من 3 حفر واخذ 0.5 مايكرولتر/حفرة من الماء المقطر المعقم ووضعه بالحفرة المخصصة له وبواقع ثلاثة اطباق (ثلاثة مكررات للمعاملة الواحدة)(سيطرة سالبة)

2- الطريقة الاولى نفسها باستثناء اخذ 0.5 مايكرو لتر/حفرة من مضاد النستاتين Nystatin (100 ملغم/مل) الذي يعمل كمضاد فطري وبكتيري (السيطرة الموجبة للفطريات).

النتائج والمناقشة

نتائج الكشف الكيميائي عن المركبات الفعالة في *G.lucidum*

بينت نتائج الكشف الكيميائي لبعض المواد الفعالة احتواء العينة النباتية المدروسة لكامل النبات فوق التربة على كل من الكلايكوسايدات و التانينات والراتنجات والفلافونات والصابونين والفينولات والقلويدات (جدول 1) .

ISSN: 1813 – 1662 (Print)
E-ISSN: 2415 – 1726 (On Line)

جدول (1) نتائج الكشف الكيميائي عن المركبات الفعالة في *G.lucidum*

مجاميع المركبات الفعالة	طرق الكشف	النتيجة الموجبة للكشف	*G.lucidum*
	الكاشف المستخدم		
الكلايكوسايدات	كاشف بندكت	راسب احمر	+
	كاشف فهلنك	راسب احمر	+
الدباغيات	خلات الرصاص 1%	راسب ابيض هلامي	+
الراتنجات	غلي المستخلص الكحولي واضافة ماء محمض	عكارة	+
الفلافونات	كحول اثيلي 50% وهيدروكسيد البوتاسيوم 50%	ظهور لون اصفر	+
القلويدات	دراجندروف	راسب برتقالي	+
	ماير	راسب ابيض	+
	واكنر	راسب بني	+
الصابونين	رج المستخلص المائي	رغوة كثيفة لفترة طويلة	+
	كلوريد الزئبقيك	راسب ابيض	+
الفينولات	كلوريد الحديديك	ظهور لون اخضر	+

الفعالية التثبيطية للمستخلصات المائية (مائي ساخن وبارد) والكحولية (ايثانولية وميثانولية) والكلايكوسايدية والتانين للنوع *G.lucidum* ضد بعض الفطريات الممرضة

اظهرت نتائج الدراسة الحالية فعالية المستخلصات المختلفة وبالتراكيز 25 و 50 و 100 ملغم /مل في تثبيط فطر *M.canis* و *T.mentagrophytes* و *P. chrysogenum* و *F. oxysporeum* ، مقدرة بقطر منطقة التثبيط (ملم) مقارنة بمعاملة السيطرة (1 و 2). (جدول 2).

يلاحظ من الجدول ان التركيز 100 ملغم/مل من المستخلص المائي الساخن والمستخلص التانيني هو الاكثر فعالية في تثبيط الفطريات مقارنة بالسيطرة (1) و جميع تراكيز المستخلصات بمتوسط تركيز 12.16 ملم و 12.92 ملم على التوالي ، وان معاملة السيطرة 2 هي الاكثر فعالية في تثبيط الفطريات بقطر تثبيط 33 ملم.

كما تبين ان التراكيز 25 و 50 و 100 ملغم/مل من المستخلص المائي الساخن والمستخلص المائي البارد والتركيز 100 ملغم/مل من المستخلص التانيني هي الاكثر فعالية في تثبيط فطر *M.canis* مقارنة بالسيطرة 1 وجميع تراكيز المستخلصات وان معاملة السيطرة 2 هي الاكثر فعالية في تثبيط الفطر اعلاه ، علاوة على ذلك فان التركيز 100 ملغم/مل من المستخلص التانيني هو الاكثر فعالية في تثبيط فطر *T.mentagrophytes* و *P.chrysogenum* مقارنة بالسيطرة (1) وجميع تراكيز المستخلصات بقطر تثبيط 15.33 ملم و 13.67 ملم على التوالي ،وان معاملة السيطرة 2 هي الاكثر فعالية في تثبيط الفطر ، اما في *F.oxysporeum* فانه لا توجد فروق معنوية بين التراكيز 25 و 50 و 100 ملغم/مل من طرائق الاستخلاص المختلفة (المائي الساخن والمائي البارد والايثانولي والميثانولي والكلايكوسايدي والتانيني) في فعاليتها التثبيطية ضد الفطر اعلاه مقارنة بالسيطرة 1، وان معاملة السيطرة 2 هي الاكثر فعالية في تثبيط الفطر بقطر تثبيط 33 ملم.

ويبين الجدول ان في المستخلص المائي الساخن بتركيز 25 ملغم/مل فطر *M.canis* هو الاكثر تأثرا مقارنة بالفطرين *P.chrysogenum* و *F.oxysporeum* بقطر تثبيط 12.67 ملم ، اما عند التركيز 50 ملغم/مل فان الفطر *M.canis* هو الاكثر تأثرا مقارنة بالفطر *P.chrysogenum* بقطر تثبيط 11.67ملم وعدم وجود فرق معنوي بين الفطر اعلاه والفطرين *T.mentagrophytes* و *F.oxysporeum* ، وعند التركيز 100 ملغم/مل الفطرين *M.canis* و *F.oxysporeum* هما الاكثر تأثرا مقارنة بالفطر *P.chrysogenum* بقطر تثبيط 11.67 ملم و 12.33 ملم على التوالي ، وتبين في الفطريات *M.canis* و *T.mentagrophytes* و *P.chrysogenum* و *F.oxysporeum* لا توجد فروق معنوية بين التراكيز 25 و 50 و 100 ملغم/مل في تثبيط الفطريات اعلاه.

ويلاحظ من الجدول في المستخلص المائي البارد بتركيز 25 ملغم/مل الفطرين *M.canis* و *T.mentagrophytes* هما الاكثر تأثرا مقارنة بالفطر *P.chrysogenum* بقطر تثبيط 10.67 ملم و 10.33 ملم على التوالي ، وعند التركيزين 50 و 100 ملغم/مل لا يوجد فرق معنوي بين الفطريات *M.canis* و *T.mentagrophytes* و *P.chrysogenum* و *F.oxysporeum* في تأثرها بالتركيزين اعلاه ، وتبين في الفطريات *M.canis* و *T.mentagrophytes* و *P.chrysogenum* و *F.oxysporeum* لا يوجد فرق معنوي بين التراكيز 25 و 50 و 100 ملغم/مل في تثبيط الفطريات اعلاه.

وتأتي فعالية المستخلصات المائية للنبات المنتخب الى وجود المواد الفعالة التي هي من نوع الذائبة بالماء لا سيما المركبات الفلافونويدية و الكلايكوسايدات اذ تبين ان انواع الجنس *Geranium* تحتوي انواع عدة من المركبات الفلافونويدية التي تمتاز بفعاليتها المضادة للمايكروبات [16] اما بالنسبة للمستخلص المائي الساخن فان الفعالية ضد البكتريا والفطريات قد تعود الى الدباغيات Tannins كون الماء الساخن هو افضل مذيب يستخدم لعزلها ، كما قد تعود الفعالية ضد

ISSN: 1813 – 1662 (Print)
E-ISSN: 2415 – 1726 (On Line)

المايكروبات الى حامض Gallic acid الذي وجد في *G.lucidum* الذي يذوب في الماء الساخن 60° م ويمتاز بفعاليته المضادة للبكتيريا والفطريات [17] ، وتتفق نتائج الدراسة الحالية مع دراسة [4] التي بينت فعالية المستخلص المائي لكامل نبات *G.stepporum* ضد الفطريات *Candida albicans* و *C. parapsilosis* و *C. krusei* ونتائج دراسة [9] التي بينت ان للمستخلص المائي[كامل النبات] للانواع *G.tubersum.lasiopus* و *G.purpureum* فعالية مضادة لفطريات الخميرة *Candida albicans* و *C.kusei* و *C .parapsilosis*

ويبين الجدول في المستخلص الايثانولي بتركيز 25 ملغم/مل الفطر *T. mentagrophytes* هو الاكثر تأثراً مقارنة بالفطريات *M.canis* و *P.chrysogenum* و *F.oxysporeum* بقطر تثبيط 13 ملم ، وعند التركيزين 50 و 100 ملغم/مل الفطرين *T. mentagrophytes* و *F.oxysporeum* هما الاكثر تأثرا مقارنة بالفطرين *M.canis* و *P.chrysogenum* ، علاوة على ذلك في الانواع الفطرية *M.canis* و *T.mentagrophytes* و *F. oxysporeum* لا يوجد فرق معنوي بين التراكيز 25 و 50 و 100 ملغم/مل في تثبيط الفطريات اعلاه ، اما في النوع *P. chrysogenum* فان التركيز 100 ملغم/مل هو الاكثر فعالية في التثبيط مقارنة بالتركيزين 25 و 100 ملغم/مل بقطر تثبيط 8 ملم .

ويلاحظ من الجدول في المستخلص الميثانولي بتركيز 25 ملغم/مل الفطر *M.canis* هو الاكثر تأثرا مقارنة بالفطريات *T.mentagrophytes* و *P.chrysogenum* و *F. oxysporeum* بقطر تثبيط 13 ملم ،اما عند التركيزين 50 و 100 ملغم/مل فان الفطرين *T.mentagrophytes* و *F.oxysporeum* هما الاكثر تأثرا بالتركيزين اعلاه ، وتبين في الفطريات *M.canis* و *T.mentagrophytes* و *F. oxysporeum* لا يوجد فرق معنوي بين تأثير التراكيز 25 و 50 و 100 ملغم/مل في تثبيط الفطريات اعلاه ، اما في فطر *P.chrysogenum* التركيز 100 ملغم/مل هو الاكثر فعالية في تثبيط الفطر مقارنة بالتركيز 100 ملغم/مل اكثر فعالية في تثبيط الفطر مقارنة بالتركيزين 25 و 50 ملغم/مل بقطر تثبيط 8 ملم. وتأتي الفعالية التثبيطية للمستخلصات الكحولية الايثانولية و الميثانولية للنبات المختبر وبصورة رئيسة الى وجود المواد الذائبة في الايثانول والميثانول لا سيما الفينولات Phenols مثل الفلافونويدات Flavonoids (مثل Quercetin و Kampferol) او الدباغيات Tannins والكلايكوسايدات الفلافونويدية (مثل الروتين Rutin) او تداخلها فيما بينها او مع مركبات فعالة اخرى ذائبة بالكحولات وفي هذا الخصوص اشار [17] الى ان الفعالية المضادة للبكتريا والفطريات تعود الى المحتوى الفلافونويدي للمستخلص الايثانولي من الدباغيات Tannins والروتين Rurin و Quercetin و Kampferol . كما اشارت دراسة [18] الى ان هذه الفعالية تعود الى المركبات متعددة الفينول polyphenols [الدباغيات Tannins و flavonoids] .وتجدر الاشارة الى ان دراسة [17 و19] ذكرت ان الفعالية المضادة للميكروبات Antimicrobial التي تظهرها المستخلصات الميثانولية تعود الى محتوى الزيوت الطيارة من المواد الفعالة (مثل Previfolin Carboxylic acid و Ellagic acid و previfolin protocatechuice acid و gallic aciod و Methyl gallate ester و caffeic acid و Perivilin و Carboxylic acid). على ان ذلك لا يستبعد تأثير القلويدات الذائبة في الكحولات [20].

ويبين الجدول في المستخلص الكلايكوسايدي بتركيز 25 و 100 ملغم/مل فطر *F.oxysporeum* هو الاكثر تأثرا مقارنة بالفطريات *M.canis* و *T.mentagrophytes* و *P.chrysogenum* بقطر تثبيط 11 ملم و 12.67 ملم على التوالي ، اما عند التركيز 50 ملغم/مل فان الفطرين *T.mentagrophytes* و *F.oxysporeum* هما الاكثر تأثرا مقارنة بالفطرين *M.canis* و *P.chrysogenum* بقطر تثبيط 10.33ملم و 11.67 ملم على التوالي، علاوة على ذلك تبين في الفطرين *M.canis* و *T. mentagrophytes* التركيزين 50 و 100 ملغم/مل هما الاكثر فعالية في تثبيط الفطرين مقارنة بالتركيز 25 ملغم/مل ، وفي الفطرين *P.chrysogenum* و *F.oxysporeum* لا يوجد فرق معنوي بين التراكيز 25 و 50 و 100 ملغم/مل في فعاليتها التثبيطية ضد الفطرين اعلاه . وتعود فعالية المستخلص الكلايكوسايدي المائي ضد الفطريات المختبرة الى دور الكلايكوسايدات لا سيما الفلافونويدية منها مثل الروتين Rutin المشخص في هذه الدراسة. وتجدر الاشارة الى ان هناك ندرة في الدراسات على المحتوى الكلايكوسايدي وفعالياته البيولوجية مما يستدعي مزيدا من البحث والتقصي.

كما يتضح من الجدول في المستخلص التانيني بتركيز 25 و 50 و 100 ملغم/مل الفطريات *T.mentagrophytes* و *P.chrysogenum* هي الاكثر تأثراً مقارنة بالفطرين *M.canis* و *F.oxysporeum* ، وتبين في الفطريات *M.canis* و *T.mentagrophytes* و *F.oxysporeum* التركيز 100 ملغم/مل هو الاكثر فعالية في تثبيط الفطريات مقارنة بالتركيزين 25 و 50 ملغم/مل بقطر تثبيط 12.67 ملم و 15.33ملم و 10 ملم على التوالي، اما في الفطر *P. chrysogenum* فانه لا يوجد فرق معنوي بين التراكيز 25 و 50 و 100 ملغم/مل في تثبيط الفطر اعلاه.

يلاحظ من الجدول ان المستخلص المائي الحار والمستخلص المائي البارد والمستخلص الايثانولي لنبات *G.lucidum* بمتوسط 11.195 و 10.279 و 10.663 ملم هي الاكثر فعالية في تثبيط الفطريات مقارنة بجميع المستخلصات المدروسة على ان السيطرة 2 هي الاكثر فعالية في التثبيط بمتوسط 16.5 ملم .

ويبين الجدول ان الفطرين *T.mentagrophytes* و *F.oxysporeum* هما الاكثر تأثرا بتراكيز مستخلصات نبات

G.lucidum مقارنـــة بـــالانواع *M.canis* و *P.chrysogenum* بمتوسط قطر 10.54ملم و 11.93 ملم على التوالي.

جدول (2) تأثير مستخلصات نبات *G.lucidum* في الانواع الفطرية المدروسة [قطر منطقة التثبيط مقاس بالملمتر]

المستخلص	التركيز ملغم/مل	الفطريات				متوسط التركيز	متوسط المستخلص
		M.canis	*T. mentagrophytes*	*P. chrysogenum*	*F. oxysporeum*		
مائي ساخن	**25**	A12.67 b	AB11 cd	C8.33 c	B10.67 b	10.668 bc	b 11.195
	50	A11.67 b	AB11 cd	B9.33 c	AB11 b	10.750 bc	
	100	A12.67 b	AB12 cd	B10.67 bc	A13.33 b	12.168 b	
مائي بارد	**25**	A10.67 b	A10.33 d	B8.67 c	AB10 b	9.918 cd	b10.279
	50	A10.33 b	A10.33 d	A9.67 c	A10.67 b	10.250 bc	
	100	A10.67 b	A10.67 d	A9.67 c	A11.67 b	10.670 bc	
ايثانولي	**25**	B10 b	A13 bcd	C3.33 d	B10.33 b	9.16 cd	b10.663
	50	B10.67 b	A12.33 cd	C7.33 cd	A13.33 b	10.91 bc	
	100	B11.67 b	A14.33 bc	C8 c	A13.33 b	11.92 bc	
ميثانولي	**25**	B9.33 bc	A13 bcd	C2 d	B11 b	8.83 de	bc 9.773
	50	B9.33 bc	A13 bcd	C3.33 d	A12.67 b	9.58 cd	
	100	B9.33 bc	A13.33 bcd	B8 c	A 13 b	10.91 bc	
كلايكوسايدي	**25**	C2 ef	B6.67 e	B7.33 cd	A11 b	6.75 e	c8.467
	50	C6 cd	A10.33 d	B8.33 c	A11.67 b	9.08 cd	
	100	C6 cd	B10.33 d	B10 bc	A12.67 b	9.75 cd	
تانيني	**25**	B 5.33 d	A 10.67 de	A10 bc	B 4.33 c	7.58 e	bc 10
	50	B 9 bc	A 12 cd	A 10.33 bc	C 6.67 c	9.50 cd	
	100	B 12.67 b	A 15.33 b	B 13.67 b	C10 b	12.92 b	
السيطرة	**ماء مقطر [1]**	A 0 f	A 0 f	A 0 d	A 0 d	0.000 e	d 0
	100 [Nystatine [2 ملغم/مل	A 33 a	A 32.67 a	A 33.33 a	32 A a	33.000 a	a 32.75
	متوسط الفطر	10.150 B	12.116 A	9.066 B	11.484A		

*الارقام تمثل متوسط ثلاثة مكررات

– الاحرف الكبيرة المتشابهة الافقية تعني عدم وجود اختلافات معنوية بينها عند مستوى الاحتمالية [0.05].

– الأحرف الصغيرة المتشابهة العمودية تعني عدم وجود اختلافات معنوية بينها عند مستوى الاحتمالية [0.05] .

المحتوى الكيميائي الفعال لنبات *G.lucidium*

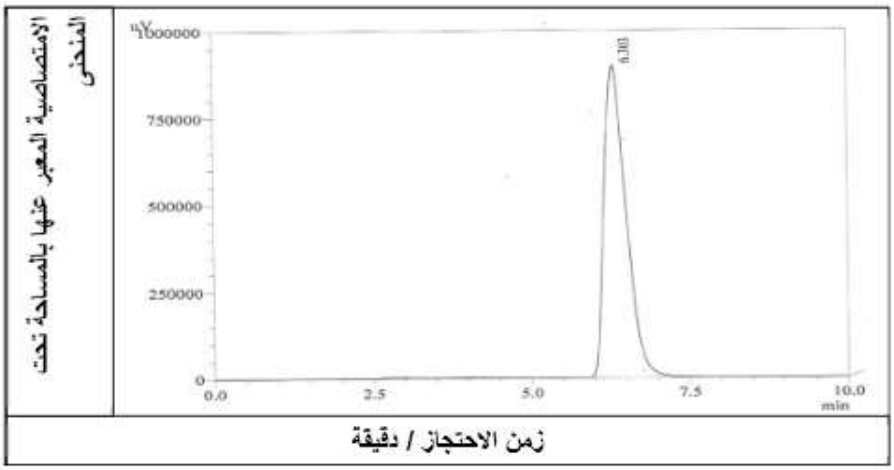
بينت نتائج الدراسة الحالية احتواء النوع *G.lucidium* على جميع المركبات الفعالة المدروسة ، [جدول 3] ، ويلاحظ من الجدول ان Quercetin بتركيز 0.2 ppm و Catechin بتركيز 0.36 ppm هي الاكثر مقارنة Tanninsو Rutin و Kampferol التي توجد بتراكيز قليلة (اقل من 0.001 ppm>) . [شكل 1–6].

جدول (3) المحتوى الكيميائي الفعال للنوع *Geranium lucidum*

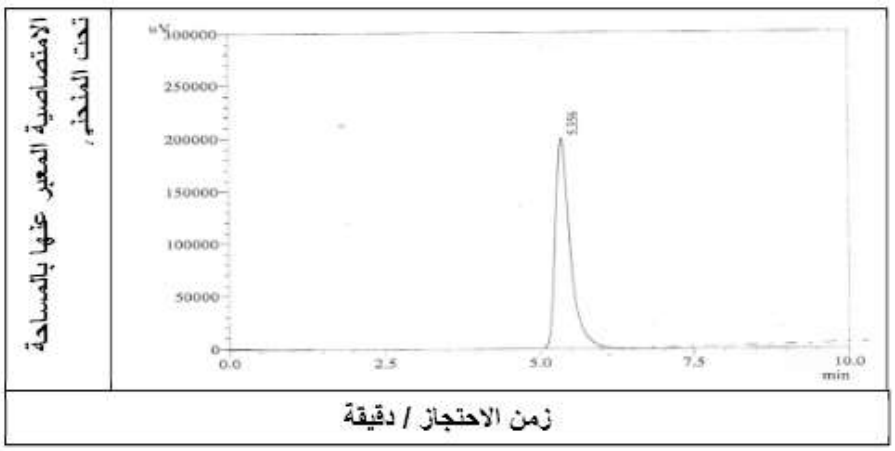
ت	نوع النبات	المركب الفعال ppm				
		Tannins	Quercetin	Catechin	Rutin	Kampferol
1	*G.lucidum*	+	0.2	0.36	+	+

علامة [+] تعني وجود المركب الفعال بتركيز اقل من 0.001>

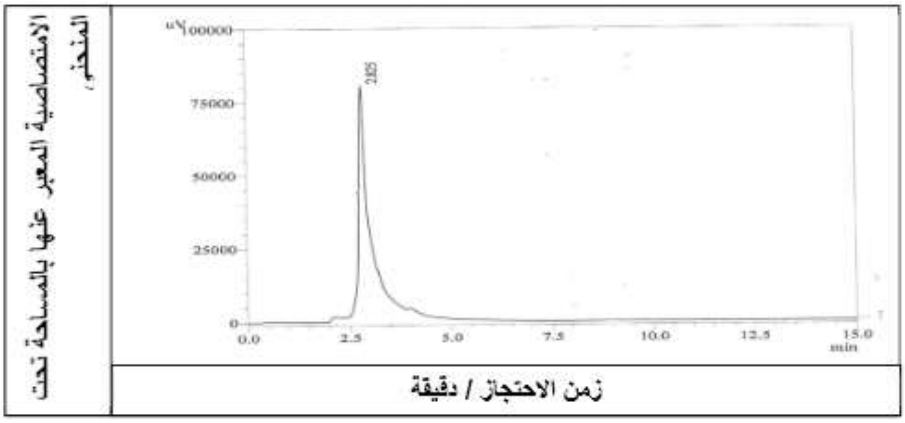
شكل1. منحنى مركب الدباغ Tannin القياسي بتقنية HPLC المستخدم مع النبات المدروس



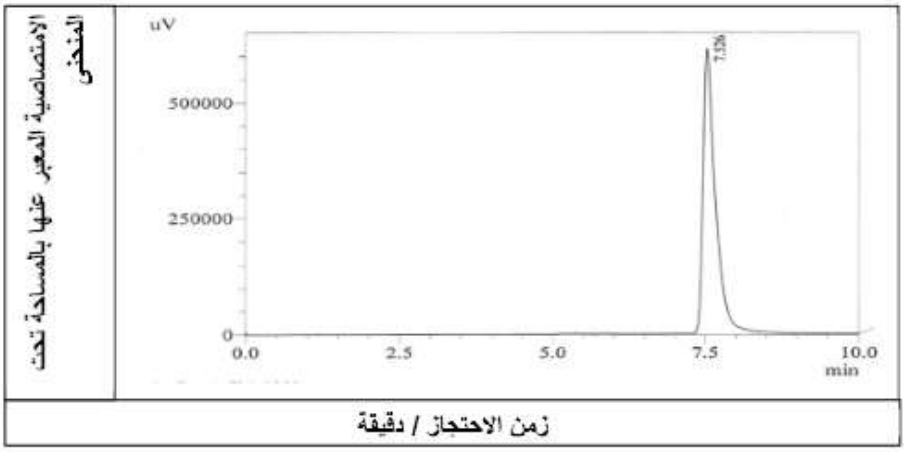
شكل2.منحنى مركب الكيرستين Quercetin القياسي بتقنية HPLC المستخدم النبات المدروس



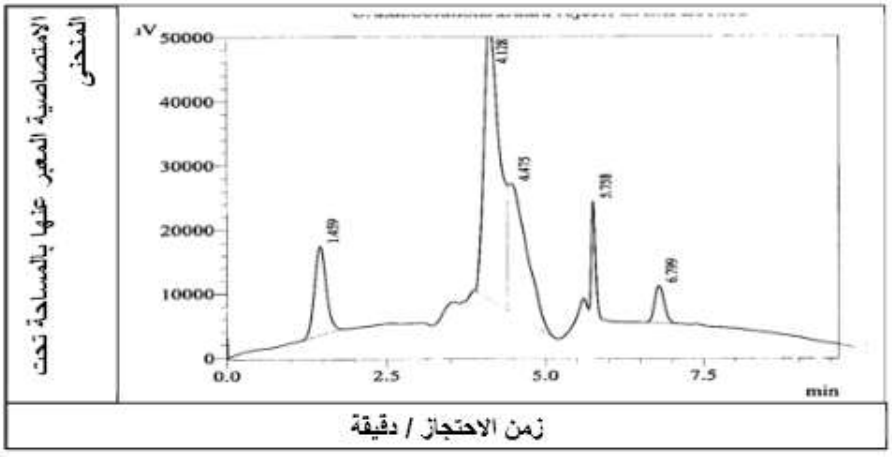
شكل3.منحنى مركب Catechin القياسي بتقنية HPLC المستخدم مع النبات المدروس



شكل4.منحنى مركب Rutin القياسي بتقنية HPLC المستخدم مع النبات المدروس



شكل5.منحنى مركب Kaempferol القياسي بتقنية HPLC المستخدم النبات المدروس



شكل 6 . منحنى المركبات الفلافونويدية Flavonoids ومركب التانين Tannin بتقنية HPLC المستخدم مع النوع *G.lucidium* [كامل النبات]

وتتفق نتائج الدراسة الحالية ودراسات عدة على انواع من جنس *Geranium* مثل دراسة [4] التي بينت ان كامل النبات فوق التربة للنوع *G.stepporum* يحتوي على quercetin-3-O-(3″-O-galloyl)-β-glucopyranoside و quercetin-3-O-(3″-O-galloyl)- β-galactopyranoside و فلافونويدات في الاجزاء الهوائية هي quercetin 3-O-β- glucopyranoside و quercetin 3-O-β-galactopyranoside و quercetin 3-O-(6″-O-galloyl)-β-glucopyranoside و quercetin 3-O-(6″-Ogalloyl)-β-galactopyranoside . كما وبينت نتائج دراسة [21] ان كامل النبات فوق التربة *G.purpureum* يحتوي على على المركبات:

Geranioside A(kaempferol3-(3-)α-rhamnopyranosyl)-methyl-3,4-dihyropyran-2H -2-−4-oxy-5-hydroxy-6 Geranioside B quercetin3-3-(α- و pyranoside oxy-5-hydroxy-6-methyl-3,4-−rhamnopyranosyl)-4 و quercetin و [[dihyropyran-2H-2-pyranoside و quercetin 4-O-β-glucopyranoside و kaempferol aemferol-3-O-β- و quercetin3-O-β-glucopyranoside

gallic acid derivative (methyl و glucopyranoside ، tannin (pusilagin hydrolysable و gallate ودراسة [22] التي بينت ان كامل النبات فوق التربة *Geranium* يحتـــــــــــــــوي *pusillum* hexahydroxybiphenyl-D- . 1−O-galloyl− 3,6− galactopyranoside

المصادر

1- Miller. D.M. (2002). The taxonomy of Pelargonium species and cultivars, their origins and growth in the wild. *Geranium* and *Pelargonium*. The genera *Geranium* and *Pelargonium*. In Maria Lis-Balchin [ed.]. Medicinal and Aromatic Plants-Industrial Profiles. Published by Taylor and Francis, London. pp. 49-79.
2- Meran . S.H.S.(2009) . Systematic study of the genera Biebersteinia Stephan and *Geranium* L. [Geraniaceae] in Iraqi Kurdistan Region. Doctoral thesis , University of Sulaimany .Iraq.
3- Radulovic . N, Dekic . M , Stojanovic Radi´ C. Z .(2011). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Geranium columbinum* L. and *G.lucidum* L. [Geraniaceae]. Turk J Chem. Tubitak. 499 – 512
4- Öhretoulu. D. Sakar. M.K. Ekizoulu. M. Özalp. M. (2007). Free Radical Scavenging and Antimicrobial Activities of Three *Geranium* Species Growing in Turkey. Fabad J. Pharm. Sci., 32, 59-63.
5- Şöhretoğlu. D, Ekizoğlu. M, Özalp. M, Sakar.M.K.(2008). Free Radical Scavenging and Antimicrobial Activities of Some *Geranium* Species . Hacettepe University Journal of the Faculty of Pharmacy Volume 28 . Number 2 . pp. 115-124
6- Grand, A ., Verpoort , R., Wondergem, P.A . and Pousset , J.L.(1988). Anti-infection phytotherapies of tree-Sarannah Sengal [west-africa]. 11-Antimicrobial activity of 33 species. J. Ethanopharmacol., 22:25-31.
7- Ukida, M.; Akihisa, T.; Yasukawa, K.; Tokuda, H.; Suzuki, T. & Kimura, Y.(2006). Anti- in flammatory, anti- tumor promoting and cytotoxic activities of constituents of Marigold [Calendul aofficinallis] flowers. J. Nat. Prod., 96:1692- 1696.
8- Ahmad, M. & Nazil, S. (1989). Studies on tannins from bark of pinus roxburghi. J . Chem. Soc. Pakis., 15: 213- 217.
9- Shihata, I.M.(1951).Apharmacolo-gical study of Anagallis arvensis M.D. vet. Thesis Cairo University.
10-Newall, C. A.; Anderson, L. A. and Phillipson, J. D. (1996). Herbal Medicines . A guide for Health care Professionals. The Pharmaceutical Press. London . pp:69-70.
11-Fahmy, I.R.(1933). "Constituents of plant crud drugs. Ist". Ed-Poul Barbey-Cairo. Egypt.
12-Harborne, J.B. (1973). Phtochemica methods, Aguide to modern techniques of plant analysis chapman and Hall Ltd. London. pp: 159-165.
13-Seal .T.(2016). Quantitative HPLC analysis of phenolic acids, flavonoids and ascorbic acid in four different solvent extracts of two wild edible leaves, Sonchus arvensis and Oenanthe linearis of North-Eastern region in India. Journal of Applied Pharmaceutical Science Vol. 6 (02), pp. 157-166
14-Mitscher, L.A. ,Leu, R. ,Bathala, M.S. ,Beal, J.L. and White, R.(1972). Antimicrobial agents from higher plants. lioydia ; 35:157-166 .
15-Egorove, N.S. [1985]. Antibiotics a scientific approach. Mir Publishers. Moscow.
16-Leyton, S,M; Beltramino. J.B. (2015). Evaluation of a Nipple Sealer Based on Brad Infusion. "Science Stays True Here .Biological and Chemical Research, Volume, 345-355 | Science Signpost Publishing
17-Pantev. A., Ivancheva. S., Staneva. L And Serkedjieva. J. (2006). Biologically Active Constituents of a Polyphenol Extract from *Geranium sanguineum* L. with Anti-Influenza Activity . Verlag der Zeitschrift für Naturforschung, Tübingen . Naturforsch. 61c, 508-516
18-Fazary, A. E., Taha, M., & Ju, Y. H. (2008). Iron complexation studies of gallic acid. Journal of Chemical & Engineering Data, 54(1), 35-42
19-Fecka. I. Kowalczyk. A. Cisowski. W. (2001). Phenolic Acids and Depsides from Some Species of the Erodium Genera. Z. Naturforsch. 56c, 943-950
20-Igwenyi, I. O. & Elekwa, A. E.(2016). Phytochemical Analysis and Determination of Vitamin Contents of Geranium Robertianum. IOSR Journal of Dental and Medical Sciences [IOSR-JDMS]. e-ISSN: 2279-0853, p-ISSN: 2279-0861.Volume 13, Issue 6 Ver. , PP 44-47.
21-Öhretoulu. D. Sakar. M.K. Sterner. O. (2011). Polyphenolic compounds from Geranium purpureum Vill. growing in Turkey. Turk J Chem 35, 809 – 814..0420
22-Bautista.M; Madrigal –Santillán.E; Morales-González. A; Gayosso–del ucio. J.A; Madrigal-Bujaidar.E; Chamorro -Cevallos. G; Álvarez -G onzález.I; Benedi.J; Aguilar -Faisal.J.L; Morales–González. J.A. (2015). An Alternative hepatoprotective and Antioxidant agent: The Geranium . Afr J Tradit Complement Altern Med. . 12(4): 96-105.

ISSN: 1813 – 1662 (Print)
E-ISSN: 2415 – 1726 (On Line)
مجلة تكريت للعلوم الصرفة، 23 (5) 2018

Antifungal activity of Flavonoids and Tannins Extracted from *Geranium lucidum* L against some pathogenic fungi

Mostafa Q. Mostafa , Talib O.H. Al-Khesraji , Sirwan H. Salih
[1] *Department of Biology, College of Education for Pure Sciences, Tikrit University, Tikrit, Iraq*
[2] *Department of Biology , College of Education for Pure Sciences, University of Karamian*

Abstract
The present study aimed to identify the effectiveness of anti-fungal extracts Aqueous[hot and cold water] and alcoholic (ethanolic and Methanolic) plant *Geranium lucidum* developing northern Iraq on four types innate nurse (*Microsprum canis*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Pencillium chrysogenum* and *Fusarium oxysporeum*) and the content Tannins content and Flavonoids content using HPLC technique, and aimed to draw Glycoside content and Tannin content and test its effectiveness against fungi aforementioned and compared it by extracts, The results showed that the studied plant contained all the active compounds that were detected. The effectiveness of all studied extracts against the tested fungi showed that the water extract (hot at an average of 11.19 mm and cold with an average of 10.27 mm) and the methanol extract at an average of 10.66 mm were the most effective compared to the negative control and the rest of the extracts, The results showed that *T.mentagrophytes* with an average of 12.11 mm and *F.oxysporeum* with an average of 11.48 mm were the most affected by plant extracts compared to other tested fungi .
as demonstrated by the presence of different concentrations of flavonoids vehicles and Catechim , Quercetin , Rutin , Kampferol and Tannins and that the two compounds Quercetin and Catechim two most focused ppm 0.2 and 0.36, respectively.