دراسة محتوى مستخلص أزهار الإزدرخت الطازجة بالإيثانول المطلق ودراسة تأثيره على بعض الفطريات النباتية

د. سوسن سعد*

د. علا مصطفى*

(تاريخ الإيداع 5 / 1 / 2020. قُبِل للنشر في 28 / 6 /2020)

□ ملخّص □

استخلصت أزهار الإزدرخت الطازجة بالإيثانول المطلق لأول مرّة ثمّ حدّدت محتويات المستخلص بتقانة GC/MS.

إن النسبة المئوية للمواد المستخلصة هي 5% من وزن الأزهار المدروسة. تم تحديد 39 مركباً في المستخلص تشكل هذه المركبات 88.42% من المستخلص الإيثانولي.

لوحظ أن أهم المركبات الموجودة في المستخلص هي:

L- تريبتوفان غليسيل (8.98%)، ثنائي حلقي هكسيل هكساندیوات (8.2%)، 3 ,17- ثنائي [(ثلاثي إيثيل سيليل) أوكسي] أندروستا - 5, 3- ديئين (7.89%)، 6 ,5- حلقي بروبا – 6 ,'3- ثنائي هيدرو (3- بيتا.، 5- بيتا.، 6- ألفا) كولستان – 3- ول (6.23%)، N- ميثيل – 1-4-[2- (1- بيبيريديل) إيتوكسيل] فنيل] بروبان أمين (4.89%)

كما لوحظ أيضاً وجود مركبات أخرى بنسب أدنى مما سبق أهمّها:

2- إيثيل – 3- بروبيل أوكسيران (4.31%)، 9- (1 ,2- ثنائي ميثيل بروبيل) بورا ثنائي حلقي [3 ,3 ,1] نونان (3.54%)، ثنائي (3- ميثيل فيتيل -1) 4- برومو فينيل فوسفانوات (3.48%)، إيثان أمين – N- ميثيل – 1- (ميثيل ثيو) – 2- نترو (3.43%)، ثنائي إيثيل أمين – 2 ,'2- ثنائي ميتوكسي – N- نتروزو (3.25%)

درس تأثير المستخلص على خمسة أنواع من الفطريات النباتية حيث وجد أن له تأثير سمّي فعّال عليها عند جميع التراكيز **المدروسة** هي:

Aspergillus niger (A.n), Alternaria citri (A.c), Fusarium oxysporum (F.o), Botrytis cinerea (Ascomycota) (B. C), و Rhizopus stolonifera (Rh.s).

الكلمات المفتاحية: نواتج طبيعية، أزهار الإزدرخت، ، مستخلص الإيثانول المطلق، الفطريات النباتية، مبيدات فطرية طبيعية.

*مدرسة- كلية العلوم- جامعة تشرين- اللاذقية- سورية

*مدرسة- كلية الصيدلة- جامعة البعث- حمص- سورية

Determination of the content of fresh flower extracts With absolute Ethanol and study its toxicity on some phyto fungi

Dr. Sawsan saad*
Dr. Oula Moustapha*

(Received 5 / 1 / 2020. Accepted 28 / 6 /2020)

□ ABSTRACT □

Fresh Melia Azdrecht flowers were extracted with absolute Ethanol for the first time in Syria, and then the contents of the extract were determined using technology of GC/MS.
The percentage of extracted substances is 5% of the weight of the studied flowers. 39 compounds were identified in the extract. These compounds constitute 88.42% of the Ethanol extract.

It is noted that the most important compounds discovered in the extract are: Glycyl-L-tryptophan (8.98%)، Dicyclohexylhexanedioate (8.2%)، 3,17-Bis[(trimethylsilyl) oxy]androsta-3,5-diene (7.89%)، 5,6-Cyclopropa,3',6-dihydro (3.beta.,5.beta.,6.alpha) cholestan-3-ol (6.23%) ،N-methyl-1-[4-[2-(1piperidyl) ethoxy] phenyl] Propanamine (4.89%).

It was also noted that there were other compounds with less appearance , the most important of them were: 2-ethyl-3-propyl Oxirane (4.31%)، 9-(1,2 dimethylpropyl) Borabicyclo[3.3.1]nonane (3.54%)، bis(3-methylpheny l) 4-bromophenyl Phosphanoat (3.48%), N-methyl-1-(methylthio)-2-nitro Ethenamine (3.43%) and, 2,2'-dimethoxy-N-nitroso Diethylamine (3.25%).
The toxicity influence of the extract was experimented on five types of plant fungi, where we discovered effective toxic Impact on them at all concentrations experimented: Rhizopus stolonifera (Rh.s), Alternaria citri (A.c), Fusarium oxysporum (F.o), Aspergillus niger (A.n), Alternaria citri (A.c) and Botrytis cinerea (B. C).

Keywords: Natural products, flower of Ezdracht, absolute Ethanol extract, the plant fungi, natural fungicides.

* **Assistant Professor- Faculty department of chemistry, - Tishreen University- Lattakia- Syria**
***Assistant Professor - Faculty of pharmacy, department of toxicity - Al Baath University- Syria.**

مقدمة:

الزنزلخت أو الإزدرخت ، التمر الأخرس ، الليلك الفارسي ، مظلة الصين، الآس، الأرز الأبيض كلها أسماء للنبات حسب بلد المنشأ. الاسم العلمي له *Melia azedarach* ينتمي جنس الإزدرخت إلى الفصيلة الإزدرختية *(Meliaceae)* سريعة النمو، انتقلت هذه الشجرة من بلاد فارس والهند إلى العديد من المناطق، أزهارها بنفسجية صغيرة لها رائحة مميزة تظهر في فصل الربيع. أما الثمار فهي كروية الشكل صغيرة الحجم، تحتفظ الشجرة بالثمار بعد نضجها واصفرارها، تكون ثمارها على شكل عنقود حباته متباعدة تشبه حبات الحمص عندما تنضج وهي طبعاً لا تؤكل، وتستعمل حبات الإزدرخت لصنع السبحات في بعض المناطق [1,2]

الإزدرخت عائلة متعددة الاستخدامات ذات أهمية كبيرة في مجال البحوث البيولوجية العضوية، والتي تضم خمسين جنساً و 550 نوعاً، في المناطق المدارية وشبه المدارية من العالم [3, 4]. ذات منافع طبية وبيئية [5,6]. فمثلاً يعد المزيج من مسحوق الثمار المجففة مع هذا النبات علاجاً فعالاً لمرض السكري [7]. تستخدم أوراق الإزدرخت لمعالجة فقر الدم والحصبة واليرقان والجروح والبثور والأكوام الدموية [8] يعتبر لب الثمرة علاجاً مفضلاً للمغص وكمضاد للديدان [9]. يوجد عدة أبحاث حول التطبيقات الإثنولوجية الطبية للإزدرخت في علاج الأمراض الجلدية مثل الأكزيما والجروح التقرحية والقرحة الزهامية والجذام [9,10]. قام عدة باحثين بدراسة التركيب الأساسي للزيوت المستخلصة من أوراق وثمار وأزهار الإزدرخت [11,12].

أجرى مجموعة من الباحثين في الهند دراسة على أزهار الإزدرخت ، وحصلوا على مستخلص أصفر شاحب اللون بالتقطير البخاري. درست الفعالية المضادة للميكروبات في المختبر على السلالات الميكروبية تضمنت بكتريا واحدة من إيجابية الجرام وخمسة أنواع سلبية الجرام [13].

درس باحثون إيرانيون مستخلص أزهار الإزدرخت المائي بتقانة (GC-MS) للزيت العطري الناتج [14]. تمّت الدراسة على أزهار الإزدرخت المجفّفة في درجة حرارة الغرفة 30 – 21 بعد طحنها وغربلتها، باستعمال مذيبات مختلفة هي ميثانول، ثنائي كلورو ميتان، خلات الإيثيل ونظامي بوتانول.

استخدمت في الدراسة الكيميائية الاختبارات التالية: السابونين، العفص، الدهون والزيوت، الفينول، ، التربينات والفلافونيدات واختبار الجليكوسيدات. ثمّ درست فعالية المستخلصات كمضادات للفطريات، أظهر مستخلص الميثانول لأزهار الإزدرخت المجفّفة أعلى فعالية كمضاد للفطريات مقارنة مع مستخلصات ثنائي كلورو ميثان ، خلات الإيثيل و نظامي البوتانول [15, 16].

أهمية البحث وأهدافه:

يهدف البحث إلى دراسة وتحديد أهم مكونات مستخلص أزهار الإزدرخت الطازجة *Melia azedarach* بمذيب الإيثانول المطلق بطريقة النقع ودراسة تأثيره على الفطريات التالية:

Aspergillus niger (A.n), Alternaria citri (A.c), Fusarium oxysporum (F.o), Botrytis cinerea (Ascomycota) (B. C), و *Rhizopus stolonifera (Rh.s).*

نظراً للأضرار البالغة التي تسببها هذه الفطريات على المحاصيل الزراعية فإن هذه الدراسة تأخذ أهمّية علمية وتطبيقية واقتصادية من حيث اكتشاف مبيدات فطرية طبيعية واستخدامها حقلياً.

طرائق البحث ومواده:

جمعت أزهار الإزدرخت في شهر أيار عام 2019 من محافظة اللاذقية. تمّ الحصول على المستخلص بطريقة النقع، حيث تمّ وضع كمّية مقدارها 200 gr من أزهار الإزدرخت الطازجة وغمرت بالإيثانول المطلق ثمّ وضعت في مكان معتم لمدة 24 ساعة مع رج المزيج على فترات متقطعة مدة 24 ساعة ثم رشّحت (كرّرت العملية على مدار أسبوع)، تم جمع الرشاحات وتبخير المذيب باستخدام المبخّر الدوّار Rotary Evaporater عند درجة الحرارة 40 . حفظ المستخلص الناتج في زجاجة عاتمة محكمة الإغلاق في الثلاجة بدرجة حرارة 4 إلى حين إجراء التحليل.

تحليل الخلاصة العضوية:

أنجز التحليل من خلال حقن 2 μl من المستخلص في جهاز GC – MS من نوع SHIMADZU طراز GCMS-QP2010 plus وباستخدام عمود شعري من النوع (TRB-WAX) بأبعاد مقدارها (Lengh 60m* diameter 0.25 mm* thickness 0.25 μm) وغاز حامل هو الهيليوم نقاوته 99.9999% بمعدل تدفق 1 Ml/min أما المذيب المستخدم كان الأسيتون. ثم ضبطت درجة حرارة الحاقن عند 250 ودرجة حرارة مصدر التأين عند 225 ، درجة حرارة رباعي الأقطاب 150 – 130 .

بدأ البرنامج الحراري من الدرجة 200 حيث كانت درجة حرارة عمود الفرن وتمّ الإبقاء على هذه الدرجة لمدة دقيقة واحدة (1 min) ثم رفعت إلى الدرجة 270 بمعدّل 5 لكل دقيقة وتمّ الإبقاء على هذه الدرجة مدّة 35 min كما سجلت أطياف الكتلة من 15 m\z حتى 450 m\z.

تمّ تحديد المركبات الكيميائية للمستخلص العضوي لأزهار الإزدرخت الطازجة بمقارنة أطياف الكتلة الناتجة لكل قمّة مع أطياف الكتلة للمركبات الموجودة في مكتبة جهاز HP Mass sperliral library Nist Wiley.

سجّل طيف الـ UV – Visb لإيضاح قرينة فيزيائية خاصة بالمستخلص وتحديد عصابات الامتصاص للمركبات الموجودة فيه.

دراسة تأثير المستخلص:

تمت دراسة تأثير المستخلص الإيثانولي على خمسة أنواع من الفطريات باتباع طريقة زرع السطوح باستخدام خلاصة البطاطا Potat – Dextrose – Agar (P.D.A) [17] هي:

- **A. n (داء الرشاشية السوداء):** يسبب مرضًا يسمى "العفن الأسود" على بعض الفواكه والخضروات مثل العنب والمشمش والبصل والفول السوداني ، وهو ملوث شائع للغذاء، ويسبب بعض حالات الالتهاب الرئوي.
- **Rh. s:** الممرض للفواكه الناضجة، مثل الفراولة والبطيخ والخوخ، يمكن أن يؤثر المرض أيضًا على فواكه صحية مجاورة أخرى عند توزيعها عن طريق الرياح أو نشاط الحشرات.
- **A. c:** هو أحد العوامل المسببة للأمراض النباتية الفطرية التي تسبب التعفن الأسود في نباتات الحمضيات [18].
- **F. o:** يعيش في التربة وهو ممرض لعدة مئات من الأنواع النباتية، بما في ذلك المحاصيل الغذائية المهمة اقتصاديًا مثل البطاطا الحلوة والطماطم والبقوليات والبطيخ والموز والهليون، يؤثر على القصبة الهوائية عند الإنسان مسبباً داء الرغامى [19, 20].
- **B. c:** يصيب أكثر من 200 نوع من النباتات، مما يتسبب في ظهور العفن الرمادي، وهو واضح على السطح مثل النخاع الرقيق الرمادي. مثل البندورة والفراولة والعنب، وينتشر في البيئات الرطبة.

تحضير الوسط المغذي للفطريات:

حضّر الوسط المغذي باستخدام خلاصة البطاطا الجاهزة، حيث أخذ 39 غرام من مسحوق الوسط ووضع في 1 ليتر ماء مقطر.

- وضع على الهزاز المغناطيسي حتى الذوبان ثم وضع على النار حتى الغليان.
- وضع في الأوتوغلاف للتعقيم في درجة حرارة 121 مْ وضغط 1.5 مليبار لمدة 20 دقيقة.
- ننتظر بعد التعقيم حتى يبرد الوسط للدرجة 40 مْ ثم يضاف له المضاد الحيوي (Amoxicillin) بمعدل 0.05 ملغ/ل).

دراسة تأثير المستخلص الإيثانولي:

درس تأثير المستخلص الإيثانولي على الفطريات النباتية المدروسة (A. n), (B. c), (F. o), (A.c) و (Rh. S) باستعمال آجار جيد بتراكيز مختلفة من المستخلص الإيثانولي هي:

(0.01, 0.025, 0.05, 1) mg باستخدام الوسط المغذي .P.D.A (Potato – Dextrose – Agar) كما يلي:

- تمّ وضع 10 مل وسط PDA في كل طبق بتري ثم إضافة 1 مل من كل تركيز كل على حدا قبل أن يتصلب ونحرك الأطباق حركة رحوية لضمان توزع الخلاصة جيداً.
- تركت الأطباق حتى تصلبت. ثم أضيف لكل طبق قرص بقطر 5 ملم من المستعمرة الفطرية بعمر أسبوع وزرع وسط الطبق.
- حضّر الشاهد لكن بدون وجود خلاصات.
- تمّ وضع الأطباق في الحاضنة عند الدرجة 22 مْ لمدة أسبوع.
- أخذت قراءات أقطار النمو في المستعمرات للمعاملات والشاهد وأخذت المتوسطات لها.

وحسبت النسبة المئوية للتثبيط اعتماداً على العلاقة [17]:

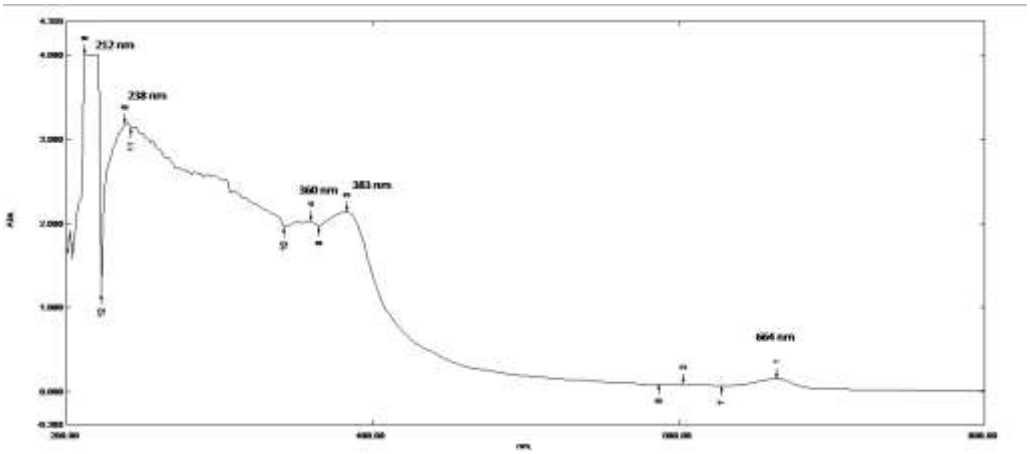
$$\text{النسبة المئوية للتثبيط} = \frac{\text{متوسط قطر نمو المستعمرات الشاهدة} - \text{متوسط قطر نمو المستعمرات المعاملة}}{\text{متوسط قطر نمو المستعمرات الشاهدة}} \times 100$$

تمّ إجراء التحاليل على جهاز GC – MS الموجود في البحوث البحرية – جامعة تشرين. وجهاز الـ UV – Visb في بحوث البيئة – جامعة تشرين.

تمت دراسة تأثيرالمستخلص على الفطريات في مختبر الفطريات في قسم علم الحياة النباتية في كلية العلوم.

النتائج والمناقشة:

1- سجّل طيف UV للمستخلص الإيثانولي ضمن مذيب شاهد إيثانول باستخدام جهاز UV – 1700 Pharmaspec Shimadzu تم الحصول على الطيف المبين في الشكل (1) من أجل توصيف المستخلص ككل وليس لتحديد هوية المركبات الموجودة فيه.



الشكل (1) طيف UV لمستخلص الإيثانول من أزهار الإزدرخت الطازج Melia azedarach Flower

لوحظ وجود عصابات امتصاص عند λ_{max} = 212nm, 238nm, 360nm, 383nm تدل على أنّ المركبات المكونة للمستخلص تحتوي على حلقات عطرية، مجموعات ثيول، كيتون، إسترات، إيثيرات، أمينات وروابط مزدوجة ولوحظ أيضاً وجود عصابة امتصاص في المجال المرئي λ_{max} = 664nm تدل على وجود مركب ملوّن. يتفق هذا الطيف مع نتائج تحليل GC – MS الذي يبيّن وجود هذه المجموعات الوظيفية في المركبات المحدّدة ضمن الجدول (1).

2- يبيّن الكروماتوغرام { الشكل (2) والجدول (1) }، وجود 38 مركباً في المستخلص، تمثل 88.42% من المجموع الكلي للمستخلص الإيثانولي. المركبات ذات النسب الأعلى في المستخلص هي:

L- تريبتوفان غليسيل (8.98%)، ثنائي حلقي هكسيل هكساندیوات (8.2%)، 17، 3- ثنائي] (ثلاثي إيثيل سيليل) أوكسي[أندروستا 5، 3 -- ديئين (7.89%)، 5، 6- حلقي بروبا – 3'، 6- ثنائي هيدرو (3- بيتا.، 5- بيتا.، 6- ألفا) كولستان – 3- ول (6.23%)، N- ميثيل – 1-4-] 2- (1- بيبيريديل) إيتوكسيل[فنيل[بروبان أمين (4.89 %)

كما لوحظ أيضاً وجود مركبات أخرى بنسب أدنى مما سبق أهمّها :

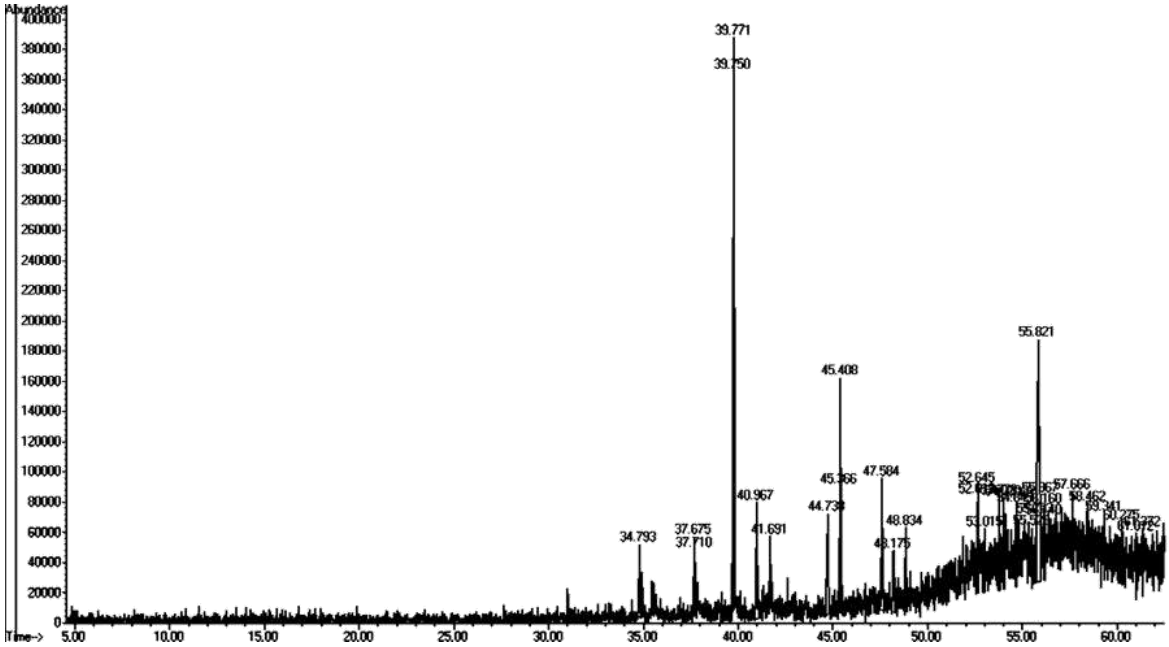
2- إيثيل – 3- بروبيل أوكسيران (4.31%)، 9- (2، 1- ثنائي ميثيل بروبيل) بورا ثنائي حلقي [1، 3، 3] نونان (3.54%)، ثنائي (3- ميثيل فيتيل -1) 4- برومو فينيل فوسفانوات (3.48%)، إيثان أمين – N- ميثيل – 1- (ميثيل ثيو) – 2- نترو (3.43%)، ثنائي إيثيل أمين – 2'، 2- ثنائي ميتوكسي – N- نتروزو (3.25%)

ويبيّن الجدول ا(1) مكونات المستخلص الإيثانولي لأزهار الإزدرخت الطازجة

الجدول (1) مكونات المستخلص الإيثانولي لأزهار الإزدرخت الطازجة

االرقم	اسم المركب	الصيغة المجملة	الكتلة الجزيئية g/mol	زمن الاحتفاظ	النسبة المئوية %
1	Pyrrolidinol	C_4H_9NO	88	31.102	0.21
2	Butanamide	C_4H_9NO	87	34.450	0.17
3	Menthyl isovalerate	$C_{15}H_{28}O_2$	240	34.793	2.16
4	3,5-difluorophenyl nonyl Oxalicanoat	$C_{17}H_{22}F_2O_4$	328	37.675	2.03

5	3,4-dicarboxylic acid Thiadiazole	$C_4H_2N_2SO_4$	174	37.710	2.17
6	Dicyclohexyl hexanedioate	$C_{18}H_{30}O_4$	310	39.750	8.2
7	Glycyl-L-tryptophan	$C_{13}H_{15}N_3O_3$	261	39.771	8.98
8	N-methyl-1-(methylthio)-2-nitro Ethenamine	$C_4H_8N_2\ O_2S$	148	40.967	3.43
9	3-methylamino-1-methyl Azacyclohexane	$C_7H_{16}N_2$	128	41.691	2.51
10	2,2'-dimethoxy-N-nitroso Diethylamine	$C_6H_{14}N_2O_3$	162	44.739	3.25
11	2-ethyl-3-propyl Oxirane	$C_7H_{12}O$	100	45.366	4.31
12	5,6-Cyclopropa,3',6-dihydro (3.beta.,5.beta.,6.alpha) cholestan-3-ol	$C_{28}H_{50}O$	400	45.408	6.23
13	N-methyl-1-[4-[2-(1piperidyl) ethoxy] phenyl] Propanamine	$C_{17}H_{29}N_2O$	277	47.584	4.89
14	N-[4,6-Dimethoxynaphthylmethyl] veratrylamine	$C_{22}H_{25}NO_4$	367	48.175	1.38
15	Promazine	$C_{17}H_{20}N_2S$	284	48.834	2.99
16	2,3-Bis[trimethylsil)oxy]-1,3,5(10)-estratrien-17-one	$C_{24}H_{38}Si_2O_3$	430	52.190	0.99
17	tetrakis(phenylethynyl) Silane	$C_{32}H_{20}Si_2$	432	52.617	0.08
18	9-(1,2 dimethylpropyl) Borabicyclo [3.3.1] nonane	$C_{13}H_{25}B$	192	52.645	3.54
19	bis(3-methylpheny l) 4-bromophenyl Phosphanoat	$C_{20}H_{18}PBrO_4$	433	52.649	3.48
20	trans-4,4'-Dimethoxy-beta-methylchalcone	$C_{18}H_{18}O_3$	282	52.910	0.21
21	1,3,4-trimethyl Carbazole	$C_{15}H_{15}N$	209	53.013	0.46
22	Methoxy-3-methyl-1,5-dinitro-3-azabicyclo[3.3.1] non-6-ene	$C_{10}H_{15}N_3O_5$	257	53.774	1.39
23	6-one, oxime- Cholestan	$C_{27}H_{47}NO_2$	401	54.023	0.91
24	1,2-dihydro-6-methoxy Naphthalene	$C_{11}H_{12}O$	160	54.645	0.73
25	Benzophenone (2,4-dinitrophenyl) hydrazone	$C_{13}H_{12}N_4O_2$	256	54.667	0.96
26	Dibromo-4-chloroaniline	$C_6H_4Br_2ClN$	285	55.531	0.46
27	2-Nitro-5-[[4-chlorophenyl] thio] benzonitrile	$C_{13}H_7ClN_2O_2S$	291	55.782	0.51
28	3,17-Bis[(trimethylsilyl)oxy] androsta-3,5-diene	$C_{25}H_{44}O_2Si_2$	432	55.821	7.89
29	, [1,2-bis[(trimethylsilyl) amino] ethyl]-, Phosphonoat	$C_{14}H_{40}PSi_4NO_4$	430	55.971	0.54
30	Methyl-2-[[4-nitro-3-[trifluoromethyl] phenyl]thio] pyrimidine	$C_{14}H_{10}F_3SN_3O$	343	56.139	0.32
31	Dihydroepinatalensine	$C_{17}H_{21}NO_4$	303	56.791	1.17
32	, 2,3-dihydroxypropyl Hexadecanoat	$C_{19}H_{38}O_4$	330	57.091	0.70
33	Benzoimidazol-1-yl-3-(4-iodo-phenoxy)-propan-2-ol	$C_{16}H_{15}\ I\ N_2O_2$	394	57.662	0.58
34	Fucosterol	C29H48O	412	58.460	2.08
35	1,4-dichloro-2-(2-chloroethenyl) Benzene	$C_8H_7Cl_3$	209	59.339	2.10
36	, 5, 6, 8 trimethyl 2-acetonoicThiocoumarin-7-ol-	$C_{12}H_{13}SO_2$	221	60.276	2.45
37	2,6-diamino-3-((2,5-dichlorophenyl) azo Pyridine	$C_{11}H_9\ Cl_2N_5$	282	61.008	1.48
38	Azadirachin	$C_{35}H_{44}O_{15}$	697	61.374	1.24
39	Reserpine	$C_{33}H_{40}N_2O_9$	609	62.436	1.24
	Total				88.42



الشكل (2) كروماتوغرام الـ GC / MS لمستخلص أزهار الإزدرخت الطازجة بالإيثانول المطلق

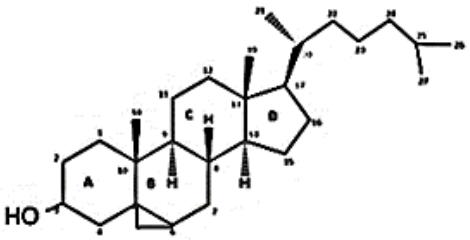
كما يبيّن الجدول (2) صيغ أهم 10 مركبات رئيسة موجودة في المستخلص الإيثانولي لأزهار الإزدرخت الطازجة

الجدول (2) المكونات الرئيسة الموجودة في المستخلص الإيثانولي لأزهار الإزدرخت الطازجة

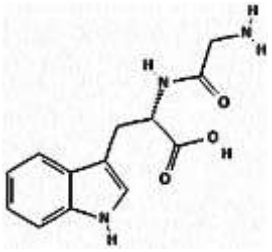
االرقم	اسم المركب	الصيغة المجملة	الكتلة الجزيئية g/mol	زمن الاحتفاظ	النسبة المئوية %
1	Dicyclohexyl hexanedioate	$C_{18}H_{30}O_4$	310	39.750	8.2
2	Glycyl-L-tryptophan	$C_{13}H_{15}N_3O_3$	261	39.771	8.98
3	N-methyl-1-(methylthio)-2-nitro Ethenamine	$C_4H_8N_2SO_2$	148	40.967	3.43
4	2,2'-dimethoxy-N-nitroso Diethylamine	$C_6H_{14}N_2O_3$	162	44.739	3.25
5	2-ethyl-3-propyl Oxirane	$C_7H_{12}O$	100	45.366	4.31
6	5,6-Cyclopropa,3',6-dihydro (3.beta.,5.beta.,6.alpha) cholestan-3-ol	$C_{28}H_{50}O$	400	45.408	6.23
7	N-methyl-1-[4-[2-(1piperidyl) ethoxy] phenyl] Propanamine	$C_{17}H_{29}N_2O$	277	47.584	4.89
8	9-(1,2 dimethylpropyl) Borabicyclo[3.3.1]nonane	$C_{13}H_{25}BO$	208	52.645	3.54
9	bis(3-methylpheny l) 4-bromophenyl Phosphanoat	$C_{20}H_{18}PBrO_4$	433	52.649	3.48
10	3,17-Bis[(trimethylsilyl)oxy]androsta-3,5-diene	$C_{25}H_{44}O_2Si_2$	432	55.821	7.89
	Total				54.2

تبين بالمقارنة مع نتائج الدراسات السابقة أن مكونات المستخلص الإيثانولي جميعها جديدة لم يتم الحصول عليها بالطرائق الأخرى المتبعة [13, 14].

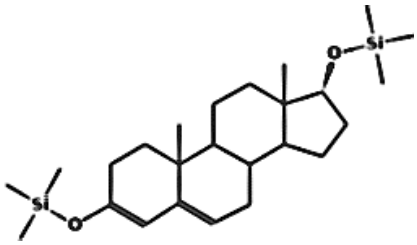
دراسة طيف الكتلة لبعض المركبات الأساسية الموجودة في المستخلص وهي:



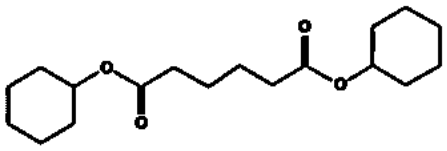
5,6- Cyclopropa,3',6-dihydro
(3.beta.,5.beta.,6.alpha) cholestan-3-ol



Glycyl-L-tryptophan



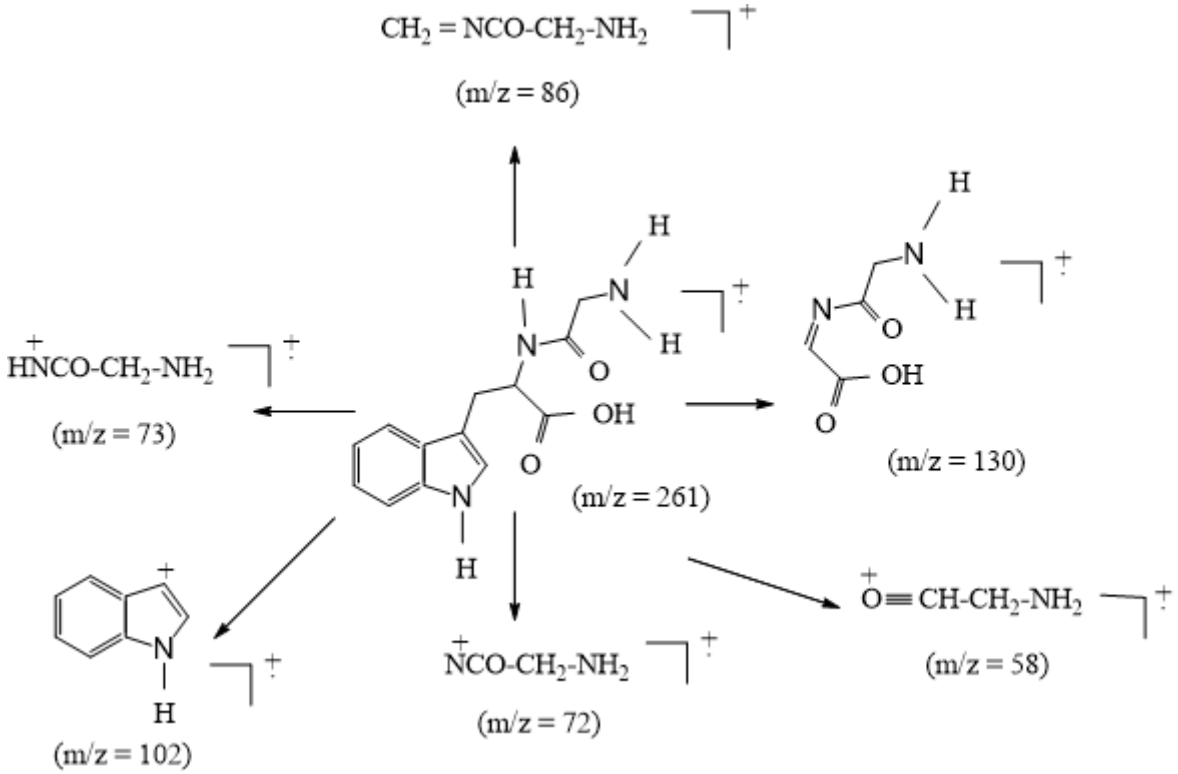
3,17-Bis[(trimethylsilyl)oxy]androsta-3,5-diene



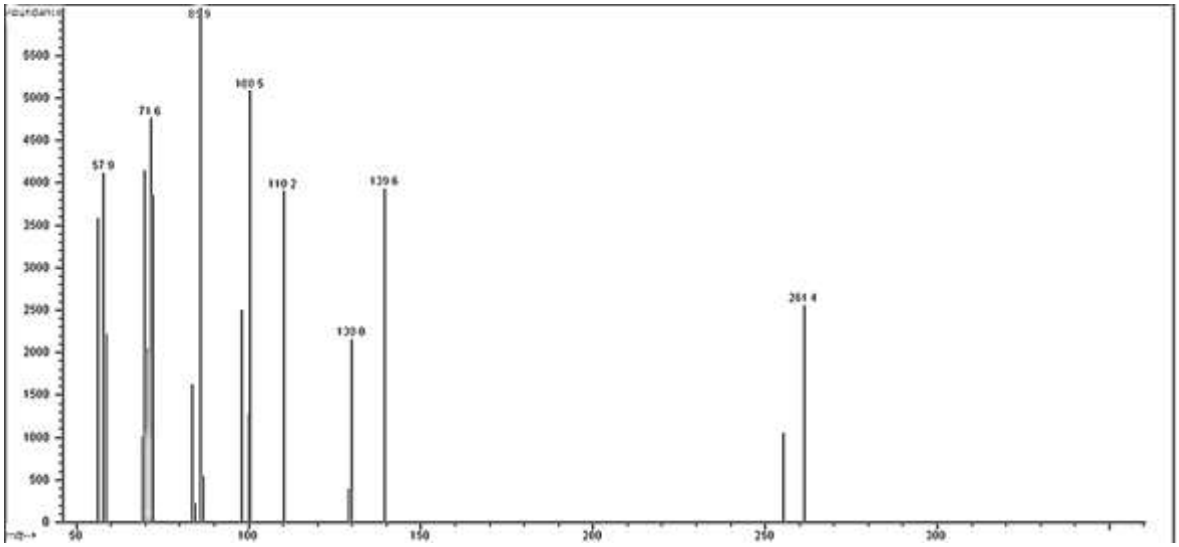
Dicyclohexyl hexanedioate

الشكل (3) الصيغ الكيميائية لبعض المركبات الأساسية

1- يبيّن المخطط التالي آلية تشظية المركب Glycyl-L-tryptophan وتشكّل القمم الموافقة للشظايا:



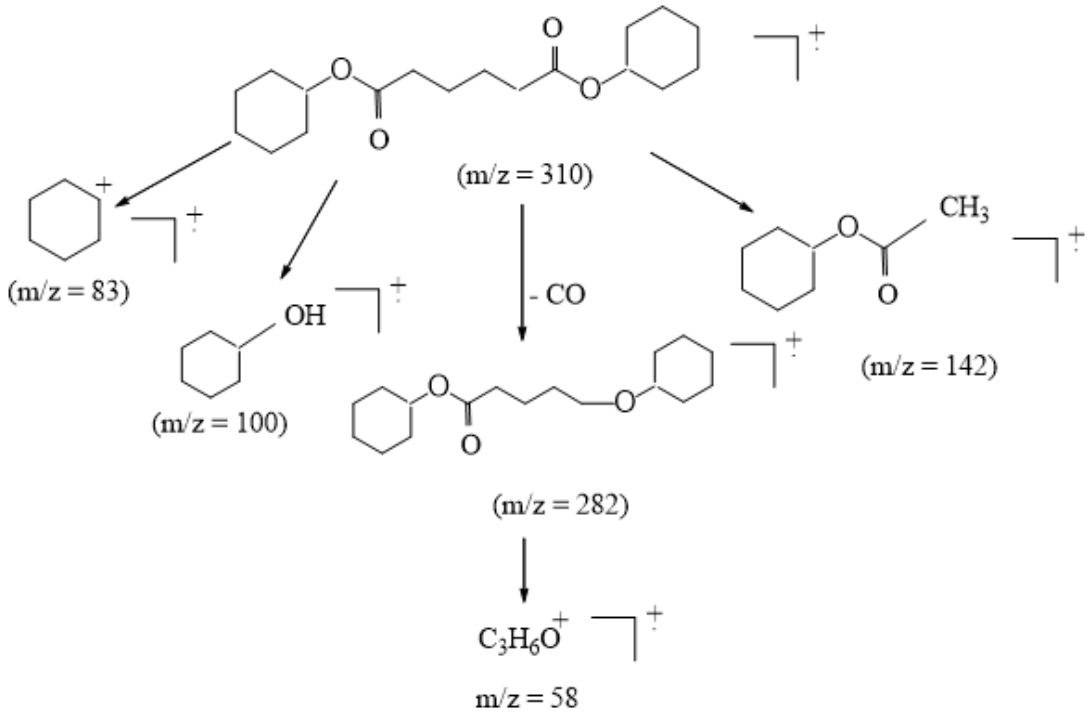
نستنتج من هذا المخطّط أنّ الطيف شكل (4) يوافق المركب المذكور



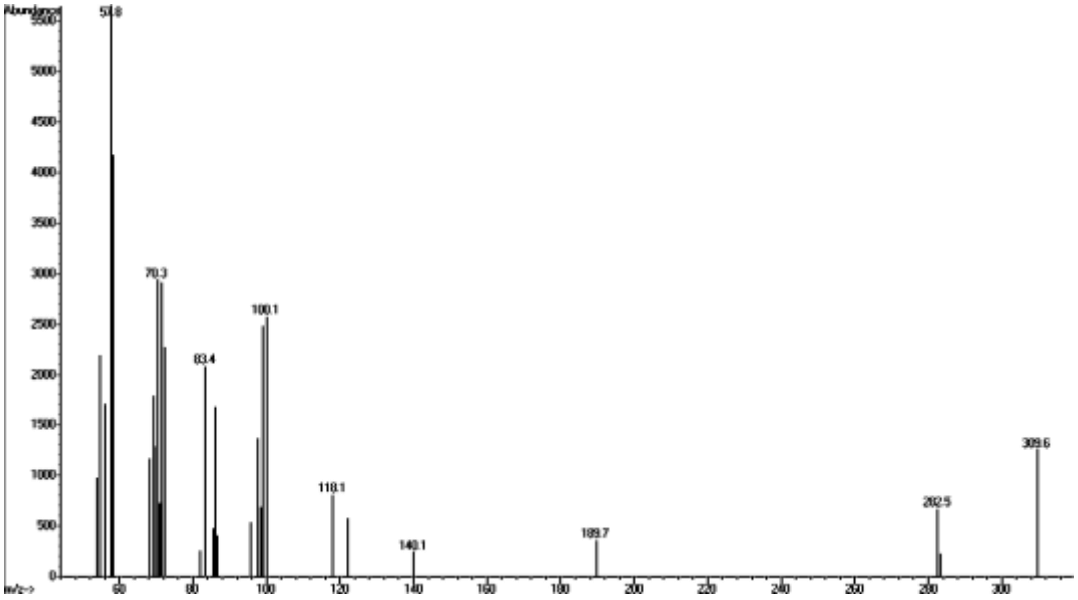
الشكل (4) طيف الكتلة للمركب Glycyl-L-tryptophan

في مستخلص أزهار الإزدرخت الطازجة بالإيثانول المطلق

2- يبيّن المخطط التالي آلية تشظية المركب Dicyclohexyl hexanedioate وتشكّل القمم الموافقة للشظايا



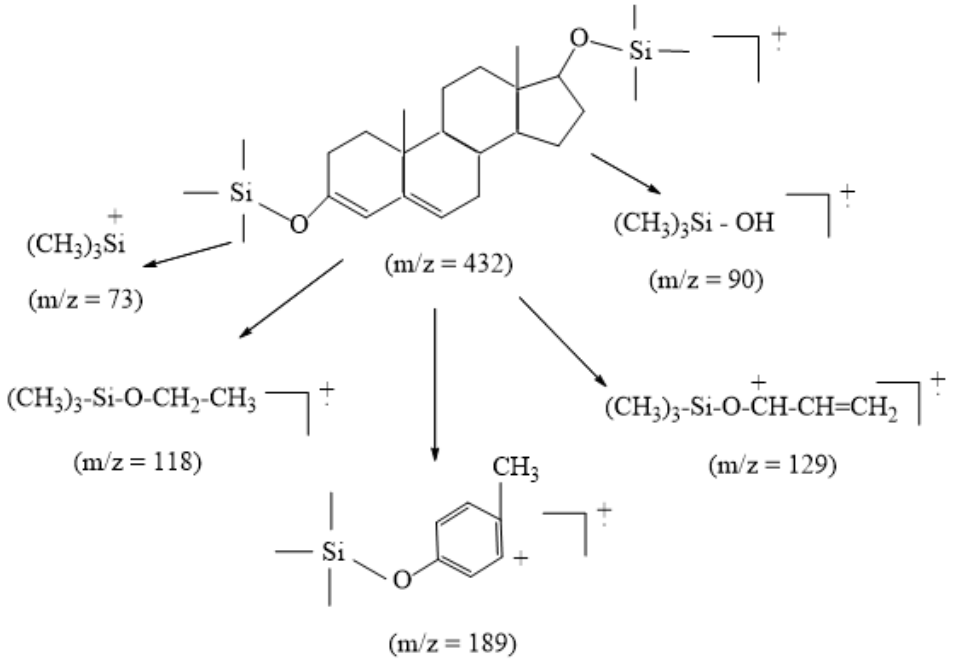
نستنتج من هذا المخطّط أنّ الطيف شكل (5) يوافق المركب المذكور



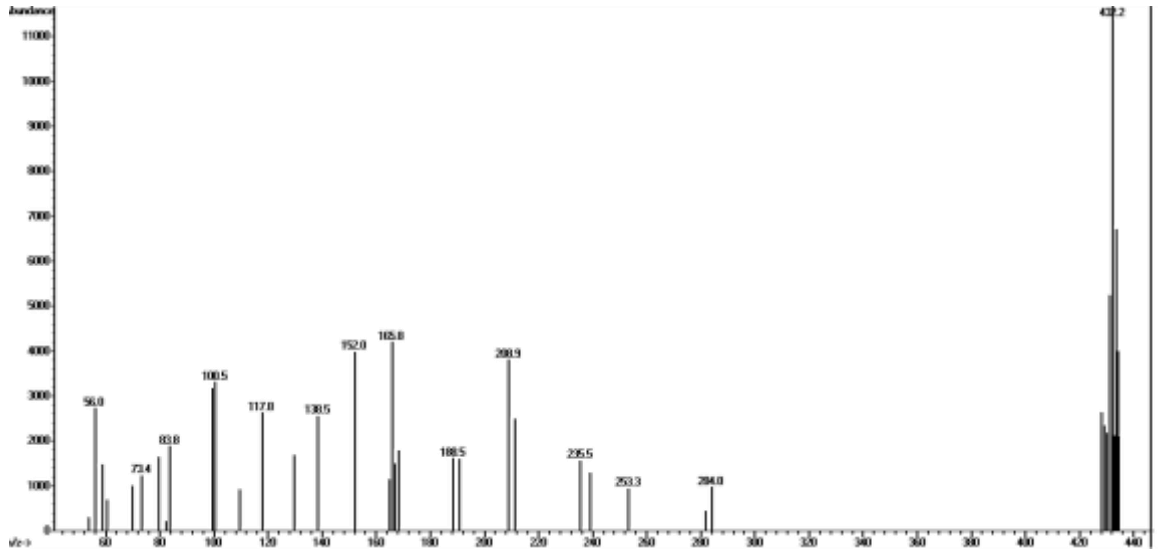
الشكل (5) طيف الكتلة للمركب Dicyclohexyl Hexanedioatec

في مستخلص أزهار الإزدرخت الطازجة بالإيثانول المطلق

3- يبيّن المخطط التالي آلية تشظية المركب 3,17-Bis[(trimethylsilyl)oxy]androsta-3,5-diene وتشكّل القمم الموافقة للشظايا. تظهر للسليكون نظائر بقمم ذات وفرات نسبية منخفضة إلى جانب القمة الجزيئية، وتظهر قمة ذات وفرة عالية بسبب وجود 2Si



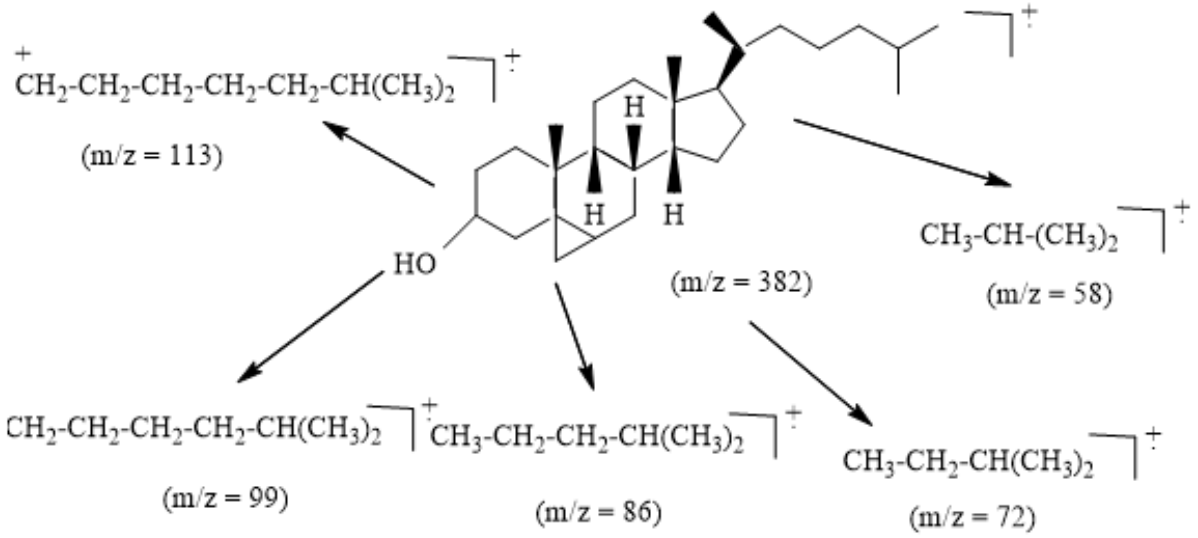
نستنتج من هذا المخطّط أنّ الطيف شكل (6) يوافق المركب المذكور



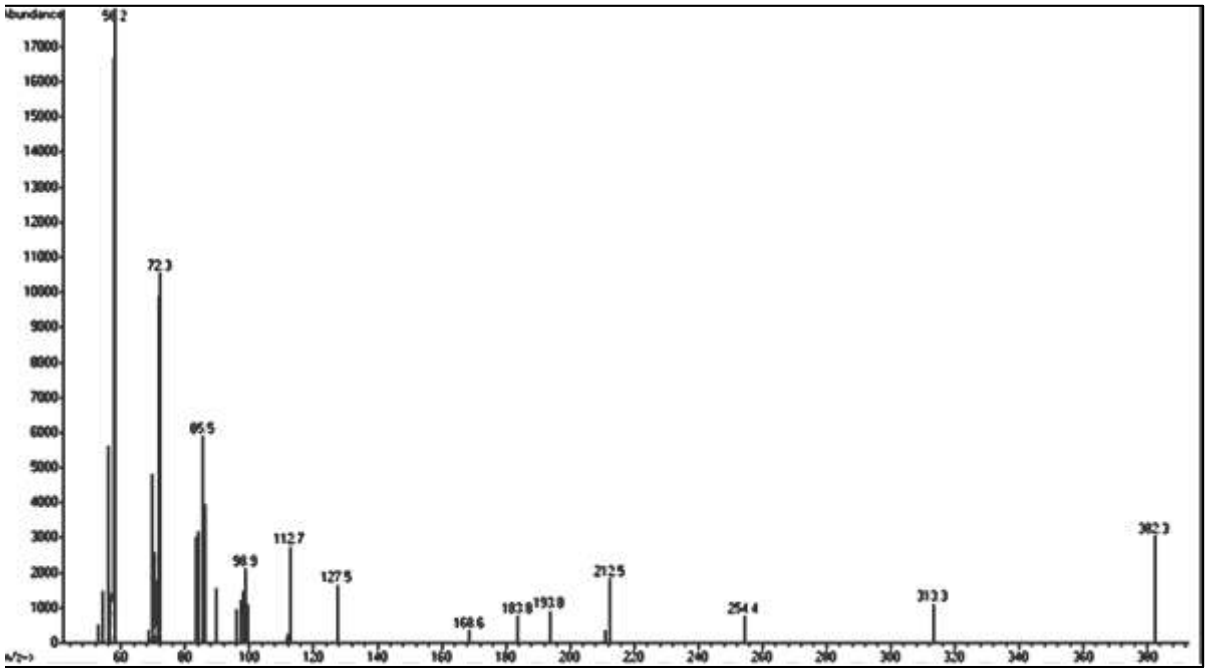
الشكل (6) طيف الكتلة للمركب 3,17-Bis[(trimethylsilyl)oxy]androsta-3,5-diene
في مستخلص أزهار الإزدرخت الطازجة بالإيثانول المطلق

4- يبيّن المخطط التالي آلية تشظية المركب 5,6-Cyclopropa,3',6-dihydro (3.beta.,5.beta.,6.alpha) cholestan-3-ol وتشكّل القمم الموافقة للشظايا.

تظهر القمة عند M/Z = 382.2 توافق القمة الجزيئية وهي تعبر عن الوزن الجزيئي للمركب الذي وزنه الجزيئي 400 g لكنه فقد جزيئة ماء بسبب الحرارة العالية لأن الكحولات الثانوية تفقد جزيئة ماء أثناء سحب الطيف نتيجة للشروط التجريبية المستخدمة فأصبح 382 g.



نستنتج من هذا المخطّط أنّ الطيف شكل (7) يوافق المركب المذكور



الشكل (7) طيف الكتلة للمركب (5,6 – Cyclopropa,3',6–dihydro (beta.,5.beta.,6.alpha.3 cholestan–3–ol في مستخلص أزهار الإزدرخت الطازجة بالإيثانول المطلق

3– دراسة تأثير المستخلص الإيثانولي على الفطريات:

يبين الجدول التالي متوسط قطر نمو المستعمرات المعاملة ومتوسط قطر نمو المستعمرات الشاهدة.

الجدول (3) متوسط قطر نمو المستعمرات المعاملة ومتوسط قطر نمو

المستعمرات الشاهدة الناتجة عن تأثير المستخلص الإيثانولي لأزهار الإزدرخت الطازجة بتراكيز مختلفة

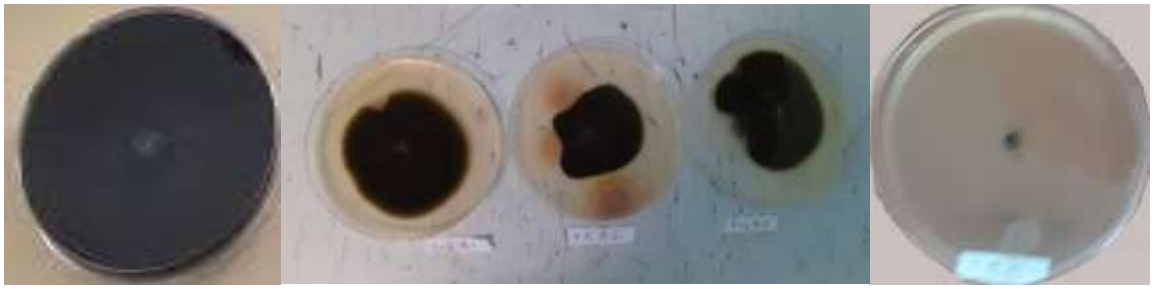
اسم الفطر	متوسط قطر نمو المستعمرات المعاملة				متوسط قطر نمو المستعمرات الشاهدة (Cm)
	تركيز المستخلص الإيثانولي (mg/ml)				
	0.01	0.025	0.05	1	
Aspergillus niger (A. n)	3.14	2.73	2.35	0	8
Alternaria citri (A.c)	5.53	4.05	2.8	0	7
Fusarium oxysporum (F. o)	6	4.1504	2.5	0	8
Botrytis cinerea (Ascomycota) (B. c)	–	–	–	0	7.5
Rhizopus stolonifera (Rh. S)	–	–	–	0	8.5

يبيّن الجدول التالي النسب المئوية لتثبيط الفطريات المدروسة الناتجة عن التأثير السمّي للمستخلص الإيثانولي لأزهار الإزدرخت الطازجة بتراكيز مختلفة

الجدول (4) النسب المئوية لتثبيط الفطريات المدروسة الناتجة عن تأثير المستخلص الإيثانولي لأزهار الإزدرخت الطازجة بتراكيز مختلفة

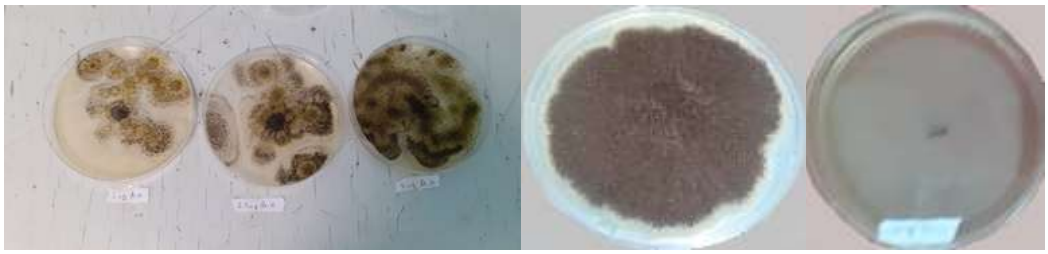
اسم الفطر	النسبة المئوية للتثبيط %			
	تركيز المستخلص الإيثانولي(mg/ml)			
	0.01	0.025	0.05	1
Aspergillus niger (A. n)	60.75	65.87	70.62	100
Alternaria citri (A.c)	21	42.14	60	100
Fusarium oxysporum (F. o)	30	48.12	66.87	100
Botrytis cinerea (Ascomycota) (B. c)	100	100	100	100
Rhizopus stolonifera (Rh. S)	-	-	-	100

تبيّن الأشكال التالية تأثير سمّية المستخلص على الفطريات المدروسة



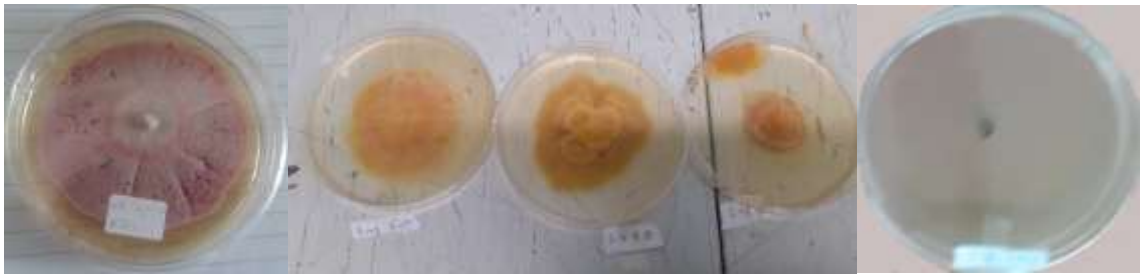
الشاهد **0.01 mg/ml** **0.025 mg/ml** **0,05 mg/ml** **1 mg/ml**

الشكل (8) تأثير المستخلص على فطر A. n الشاهد



الشاهد **0.01 mg/ml** **0.025 mg/ml** **0,05 mg/ml** **1 mg/ml**

الشكل (9) تأثير المستخلص على فطر A. c مع الشاهد



الشاهد **0.01 mg/ml** **0.025 mg/ml** **0,05 mg/ml** **1 mg/ml**

الشكل (10) تأثير المستخلص في فطر F. o

الشاهد 0,05 mg/ml 0.025 mg/ml 0.01 mg/ml 0.001 mg/ml

الشكل (11) تأثير المستخلص في فطر B. c مع الشاهد

الشاهد 0.01 mg/ml 0.025 mg/ml 0,05 mg/ml 1 mg/ml

الشكل (12) تأثير المستخلص في فطر Rh. s مع الشاهد

يلاحظ في الجدول (3) والأشكال (8, 9, 10, 11, 12) أن المستخلص الإيثانولي لأزهار الإزدرخت الطازجة له تأثير سمّي على جميع الفطريات المدروسة في جميع التراكيز المدروسة حيث أظهر المستخلص أعلى تأثير سمّي في فطر (B. c) (شكل 11) فكانت نسبة التثبيط 100/100 في جميع التراكيز المدروسة. بينما لا يوجد تثبيط لنمو فطر (Rh. S) (شكل 12) بوجود التراكيز mg/ml (0.01, 0.025, 0.05) لكن هناك تأثير في شكل ولون وكثافة المستعمرة فأصبحت المستعمرات أقل كثافة، هشّة، قليلة الإنتاج للأبواغ، عدم وجود الصباغ الأرجواني المميّز لها. فكانت المستعمرة بشكل خيوط بلون بيج مصفر، وكانت النتائج متدرجة بازدياد التركيز. لكن أعطت نسبة تثبيط عالية 100/100 في التركيز mg/ml 1.

لوحظ أيضاً التثبيط التام لجميع الفطريات المدروسة في التركيز mg/ml 1 الأشكال (8, 9, 10, 11, 12)

الاستنتاجات والتوصيات:

تشير نتائج هذه الدراسة إلى:

1- أن دراسة مستخلص أزهار الإزدرخت بالإيثانول المطلق جديدة ولم نحصل من الدراسة المرجعية على أية دراسة موافقة لهذا المستخلص.

2- احتواء أزهار الإزدرخت على مكونات فعالة وبكمية جيدة حيث كانت النسبة المئوية للمستخلص بالإيثانول المطلق 5%من وزن العينة.

3- حددت المركبات الأساسية المكونة للمستخلص باستخدام تقانة GC/MS وتبين أن معظم هذه المركبات هي مركبات آزوتية، والمركب ذو النسبة الأكبر من مكونات المستخلص هو Glycyl-L-tryptophan وهو من المركبات المهمة حيوياً.

4- بينت دراسة تأثير المستخلص على بعض الفطريات النباتية (B. c), (F. o), (A.c), (A. n) و (Rh. S) التي تؤدّي إلى تلف الخضروات والفواكه بشكل فعّال وواضح.

5- لوحظ وجود اختلاف في تأثير المستخلص على الفطريات تبعاً لدرجة التركيز المستخدم حيث وجد أن التركيز 1 mg/ml يبيد تماماً الفطريات ويمنع تكاثرها.

6- بيّنت هذه الدراسة ضرورة استخدام هذا المستخلص في مكافحة الفطريات المذكورة لأنّه مادّة طبيعية تتفكك بيئياً ولا تؤدي إلى التلوث.

7- نوصي أخيراً بمتابعة الدراسة حقلياً لأنّ التجربة التي أجريناها تمّت في المختبر.

Reference:

(1) Radford, A.E., H.E. Ahles, and C.R. Bell. *Manual of the vascular flora of theCarolinas*, University of North Carolina Press. Chapel Hill, NC .1968.

(2) Burks, K.C. Melia azedarach. *Fact sheet prepared by the Bureau of Aquatic Plant Management*, Department of Environmental Protection, State of Florida, Tallahassee, FL. 1997.

(3) M. Ahmedulla and M. P. Nayar, *Endemic plants of the Indian region*, BSI, Calcutta, 1986.

(4) M. R. Khan, M. Kihara and A. D. Omoloso, Antimicrobial activity, *Fitoterapia*, 2001, 72, 575 575.

(5) G. M. Watt and B. Brandwijk, *The medicinal and Poisonous plants of Southern and Eastern Africa*, E. S. Livingstone Ltd., Edinburgh, London, 1962, p. 745.

(6) S. R. Baquar, *Medicinal and poisonous plants of Pakistan*, Printas, Karachi, Pakistan, 1989, p. 279.

(7) M. Ahmad, R. Qureshi, M. Arshad, M. A. Khan and M. Zafer, pakistan. *Plant and Human Health, Volume 1* J. Botany, 2009, 41, 2777.

(8) S. Z. Husain, R. N. Malik, M. Javaid and S. Bibi, *Traditional knowledge on plant resources of Ashezai and Salarzai Valleys, District Buner, Pakistan* J. Botany, 2008, 40.

(9) W. D. Dymock, C. J. H. Warden and D. Hooper, "*Pharmacographia Indica*"*Traditional knowledge on plant resources of Ashezai and Salarzai Valleys, District Buner, Pakistan*, 1890.

(10) G. Watt, *Dictionary of the economic products of India*, Office of the Superintendent, Government of India, Calcutta,1893 , p. 221.

(11) M. A. H. Nagalakshmi, D. Thangadurai, T. Anuradha and T. Pullaiah, *Essential oil constituents of Melia dubia, a wild relative of Azadirachta indica growing in the Eastern Ghats of Peninsular India*. Flavour and Fragrance Journal, 2001, 16, 241.

(12) J. S. Ghomi, T. Ahmadi and H. Batooli, *Volatile terpenoid composition and antimicrobial activity of flowers of Melia azedarach Linn. from north west Himalayas*,J. IndiaChem. Nat. Comp., 2010, 46, 816.

(13) G. C. Kharkwala, C. Pande, G. Tewari, A. Panwar and V. Pande. *Chemistry of platinum and iridium complexes of thioethers : contributions of P. C. Rây and related later developments* J. Indian Chem. Soc., Vol. 92, January 2015, pp. 141-145.

(14) M. K. Abbas, M. Ahmad, K. Barkat, N. Aslam, Journal of Pharmaceutical Research International20(1): 1-12, 2017; Article no.JPRI.38246 ISSN: 2456-9119.
(15) R. Saleem, S.I. Ahmad, S.M. Shamim, S. Faizi, , B.S. Siddiqui, *Phytomedicine international* journal of phytotherapy and phytopharmacology 16 (2002), pp. 762–764.
(16) R. Saleem, , R. Rani, M. Ahmed, F. Sadafc, S. I. Ahmad, N. ul Zafar, S. S. Khan, B. Sh. Siddiqui, Lubna, F. Ansari, Sh. A. Khan, Sh Faizie. *Effect of cream containing Melia azedarach flowers on skin diseasesin children* Phytomedicine international journal of phytotherapy and phytopharmacology 15 (2008) pp.231–236.
(17) Suarez - Jimenez, G. M., Cortez - Rocha, M. O., Rosas - Burgos, E. C., Burgos - Hernandez, A., Placencia - Jatomea, M., Cinco - Moroyoqui, F. J., 2007. *Actividad antifungica de extracttos vegetales sobre Fusarium verticillioides (sacc.) Nirenb*. Y Produccion de Fumonisina B_1. Revista mexicana de Fitopatologia. 25, 134 - 142.
(18) Ellis, M. B. *Dematiaceous hyphomycetes. The Commonwealth mycological instituts, UK*, 1993. P: 1 - 608.
(19) SINGH, R. et al.. *Biological control of fusarium with disease of pigeonpe*a, *Plant Pathol*. 2019. J. 18, 279 - 283.
(20) Ph. Bouchet, J. L. Guignard, G. Madulo- Leblond, P. Regli, *Mycologie generale et medicale* (1989).