جامعة الموصل

كلية التربية للعلوم الصرفة

الفعالية البيولوجية للمركبات المفصولة من الفطرين *Aguricus bisporus* و *Pleurotus ostreatus* كمضادات أكسدة وسرطان

إنعام جاسم محمد الحمداني

أطروحة دكتوراه

علوم الحياة

بإشراف

الأستاذ	الأستاذ
الدكتور عبد الكريم سليمان حسن النعيمي	الدكتور مثنى جاسم محمد الطائي

١٤٤٤هـ ٢٠٢٢م

الخلاصة

يطلق على الفطريات المتقدمة ذات الأحجام الكبيرة والأجسام الثمرية اللحمية بالعراهين Mushrooms، ينتمي أفرادها إلى رتبة Agaricales شعبة الفطريات البازيدية Basicdiomycota، معيشتها متباينة فالقسم الأكبر منها له القدرة على تحليل المواد العضوية واعادتها مرة أخرى إلى الطبيعة وتسمى رمية Saprophytic. تضمنت الدراسة الحآلية اختيار نوعين من الأجناس الفطرية هماجنس *A. bisporus* تم الحصول عليها من أسواق مدينة الموصل والجنس الثاني *p. ostreatus* تم زراعته في غرفة أعدت لهذا الغرض على أوساط مختلفة وسط كوالح الذرة وسط تبن الحنطة وسط نشارة الخشب، وكانت أعلى إنتاجية على وسط كوالح الذرة حيث بلغت حاصل القطفات للإجسام الثمرية 5.5 كغم/ وسط زرعي ومدة النمو الخضري 18 يوم بينما ظهرت الاجسام الثمرية بعد24 يوماً، تعد هذه الاجناس من الفطريات الغذائية صالحة للأكل وكذلك تتميز بقدرتها على تحليل المخلفات العضوية ذات المحتوى السليلوزي بفعل نشاطها الإنزيم. أجريت الدراسة في مختبر النواتج الطبيعة /قسم علوم حياة /كلية التربية للعلوم الصرفة /جامعة الموصل. وبهدف التعرف على محتوى هذه الأجناس الفطرية من النواتج الطبيعية تم تهيئة ثلاثة مستخلصات (الهكسان، خلات الأثيل والإيثانول) بأستخدام جهاز الاستخلاص المستمر Soxhlet وباستعمال نظام تسلسل المذيبات المتعاقبة، ثم ركزت المستخلصات بجهاز المبخر الدوار (RVE) للحصول على المستخلص الخام Crude Extract، باستخدام عمود الفصل (CC) جزئت المستخلصات بعدها باستخدام كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (TLC) لتشخيص مركبات الاجزاء المفصولة من العمود، كما استخدمت تقنية كروماتوغرافيا الغاز – مطياف الكتلة (GC-MS)لفصل وتشخيص الأحماض الدهنية، اما تقنية كروماتوغرافيا السائل عالي الأداء (HPLC) فقد استخدمت في فصل وتشخيص المركبات الفينولية وذلك من خلال احتساب زمن الاحتجاز(Rt) للمركبات الفينولية المفصولة ومقارنتها مع زمن الاحتجاز(Rt) للمركبات الفينولية القياسية.

درست فعآلية الأحماض الدهنية والمركبات الفينولية على نوعين من البكتريا هما*aurous Staphylococcus* و *Escherichia coli* ونوعين من الفطريات *Candida albicans* و*Aspergillus niger* والتي تعد من المسببات المرضية للإنسان من خلال قياس قطر التثبيط بطريقة الحفر(Wells)، إذ ظهر أعلى تأثير للأحماض الدهنية المفصولة من فطر *A. bisporus* في فطر *Aspergillus niger* بقطر 25ملم عند التركيز 100 ملغم /مل،بينما أظهرت المركبات الفينولية المشخصة في الجزء (I) من هذا الفطر *A. bisporus* تأثيراً معنويا موجباًتجاه فطر *A. niger* بلغ قطر التثبيط 25.33 ملم عند تركيز 100 ملغم /مل،في حين

أظهرت الأحماض الدهنية المشخصة من فطر *P. ostreatus* تأثيراً تجاة فطر A. niger بقطر تثبيط30ملم بتركيز 100 ملغم /مل، وكانت المركبات الفينولية المشخصة من الجزء(I) من فطر *P. ostreatus* الأكثر تثبيطاً تجاه فطر *A.niger* فقد بلغ قطر التثبيط 25.33 ملم عند تركيز 100 ملغم /مل.

فيما اختبرت الفعآلية البايولوجية خارج الجسم الحي بأستخدام الأختبارات (DPPH,MTT) وتم تقييم الفعآلية المضادة للأكسدة للمركبات المفصولة بأستخدام اختبار DPPH إذ بينت النتائج ان جميع المركبات ذات فعآلية مضادة للأكسدة وبنسب مختلفة، بلغ أقصى تأثير للمركبات الفينولة المفصولة من جزء(II) من فطر *A. bisporus* 88.12 %عند تركيز 400 مايكروغرام /مل، فيما بلغ أقصى تأثير للأحماض الدهنية المفصولة من فطر *P. ostreatus* 84.84 %عند تركيز 400 مايكروغرام /مل، مقارنة مع مضاد الأكسدة القياسي Vitamine C بلغت 85.03% عند التركيز نفسه، كما وتم التحري عن تأثيرها على نوعين من الخطوط الخلوية السرطانية وهي خلايا سرطان الثدي MCF-7 وخلايا سرطان البروستات PC3 بأستخدام اختبار (MTT). والسمية الخلوية للمركبات المفصولة من الفطريات قيد الدراسة وبالتراكيز 400، 200، 100، 50، 25، 12.5 مايكروغرام / مل مقارنة مع خط الخلايا الطبيعية WRL68، وأظهرت النتائج ان المركبات الفينولية (I) من فطر *P. ostreatus* أعطى أعلى نسبة تثبيط على PC3 بلغت 74.92 %عند التركيز 400 مايكروغرام / مل فيما بلغت أعلى نسبة تثبيط للمركبات الفينولية (II) من فطر *P. ostreatus* على MCF −7 التي بلغت 61.27 % عند التركيز 400 مايكروغرام / مل، فيما لم يلاحظ وجود تأثير واضح معنوي في خط الخلايا WRL68. فضلاً على ما تقدم، توصلت الدراسة الحآلية إلى تباين فعآلية المركبات الفطرية المفصولة من كلا الجنسين مع اختلاف نسب التثبيط حسب نوع الخط الخلوي السرطاني ونوع المركبات والتركيز مع وجود علاقة طردية بين تركيز المركبات والفعآلية المضادة للسرطان.وبشكل اكثر وضوحا ان فطر *P. ostreatus* ابدى فعآلية تثبيط أعلى من فطر *A. bisporus*، وبهذا يمكن أستخدامه كعلاج بديل للأمراض السرطانية.

Summary

The advanced fungi with large sizes and fleshy fruiting bodies are called mushrooms. Their members belong to the order *Agaricales*, in the phylum Basidiomycota. Their lives are varied. The largest part of them has the ability to decompose organic matter and return it back to nature, and is called the Saprophytic. In this study, two genera of fungi were chosen: *A. bisporus*, which was found in the markets of the city of Mosul, and *P. ostreatus*, which was grown in a room set up for this purpose on different types of media The highest productivity was on the medium of corn kernels, where the harvesting yield of the Fruiting bodies was 4.914 Kg/planting Medium, the period of vegetative growth was 18 days, and the period of emergence of the Fruiting bodies was 24 days. These genera are both edible food fungi and living saprophytes. They can break down organic waste with cellulosic content because they have enzymes that do this. The study was done at the Natural Products Laboratory / Department of Biology / College of Education for Pure Sciences / University of Mosul. In order to identify the content of these fungal genera from the natural products, three extracts (hexane, ethyl acetate, and ethanol) were made using the Soxhlet continuous extraction device and the successive solvent sequence system. After each extraction, the extracts were concentrated with a rotary evaporator (RVE) to get the Crude Extract. Then, the Crude Extract was fractionated using the column chromatography (CC) technique to get several different compounds. Also used was gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). High-performance liquid chromatography (HPLC) was used to separate and identify phenolic compounds in order to separate and identify fatty acids. This was done by figuring out the retention time (Rt) of the separated phenolic compounds and comparing them to the retention time (Rt) of standard phenolic compounds.

The effects of fatty acids and phenolic compounds on two types of pathogenic bacteria, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*, and two types of pathogenic fungi, *Candida albicans* and *Aspergillus niger*, were investigated. Studies were conducted by measuring the diameter of inhibition. The highest effect of separated fatty acids came from *A. bisporus* in *Aspergillus niger* with a diameter of 25 mm at a concentration of 100 It worked against *Aspergillus niger*. At a concentration of 100 mg/ml, the diameter of inhibition was 25.33 mm, while the fatty acids found in *P. ostreatus* at a concentration of 100 mg/ml, it had an effect on *Aspergillus niger* with an inhibition diameter of 30 mm, and the phenolic compounds found were from part of *P. ostreatus* At a concentration of 100 mg/ml, the diameter of the area where *Aspergillus niger* was most stopped was 25.33 mm.

While the biological activity was tested in vivo using tests (DPPH and MTT), the DPPH test was used to test the antioxidant activity of the separated compounds. The results showed that all of the compounds have antioxidant activity in different amounts. The maximum effect of phenolic compounds separated from fraction (II) of *A. bisporus* was 88.12 % at a concentration of 400 µg/ml, while the maximum effect of separated fatty acids from *P. ostreatus* was 84.84 % at a concentration of 400 µg/ml. This is compared to the standard antioxidant Vitamine C, which reached 85.03 % at the same concentration. Using the (MTT) test, its effect on two types of cancer cell lines, MCF-7 breast cancer cells and PC3 prostate cancer cells, was also looked at. The results showed that the cytotoxicity of the isolated compounds from the fungi under study at concentrations of 400, 200, 100, 50, 25, and 12.5 µg/ml was similar to that of the normal cell line WRL68The results showed that the phenolic compounds (I) from *P. ostreatus* It had the highest inhibition rate on PC3 at a concentration of 400 µg /ml, which was 74.92 %. However, phenolic

compounds (II) from *P. ostreatus* had the highest inhibition rate. On 7-MCF, which was 61.27 % at a concentration of 400 µg/ml, while the WRL68 cell line showed no clear effect. The current study also found that the effectiveness of fungal compounds from two different genera was different depending on the type of cancer cell line, the type of compounds, and the concentration. There was a direct link between the concentration of compounds and the anti-cancer activity. More clearly, *P. ostreatus* showed a higher ability to stop growth than a fungus called *A. bisporus* This means that it can be used as an alternative treatment for cancer.

University of Mosul

College of Education

For Pure Science

Biological activity of compounds separated from fungi as *Aguricus bisporus and Pleurotus ostreatus*, antioxidants and anticancer

Inaam Jasim Mohamad AL-Hamadani

Ph.D. Thesis

Biology

Supervised by

Prof.
Dr. Muthanna Jasim AL-Taee

Prof.
Dr. Abdul Karim Suleiman Hassan AL-Nuaimi

2022 A.D. **1444 A.H.**