



جامعة الموصل
كلية التربية للنبات
قسم علوم الحياة

فصل وتشخيص عدد من النواتج الطبيعية لازهار نبات الكجرات العراقي وانعكاسها على نمو نوعين من البكتريا الممرضة

سها سعيد راشد زيدان

رسالة ماجستير

علوم في علوم الحياة

ياشرف

أستاذ الدكتور

أياد جاجان الداودي

الخلاصة :

شملت الدراسة الحالية كيمياء النبات من خلال فصل وتشخيص عدد من النواتج الطبيعية من ازهار نبات الكجرات *Hibiscus sabdariffa* L. ومدى انعكاسها على نمو نوعين من البكتريا الممرضة *Acinetobacter baumannii* و *Streptococcus pneumoniae* . بلغ عدد المركبات المشخصة 42 مركباً، 5 منها أحماض دهنية، 8 زيوت طيارة، 6 مركبات فينولية من التحلل الحامضي، و 5 مركبات فينولية من عمود الفصل الكروماتوغرافي و 18 حامضاً أمينياً.

وذلك بتحضير بعض المستخلصات النباتية باستعمال جهاز الاستخلاص المستمر Soxhlet وفق نظام المذيبات المتعاقبة، والذي يعتمد أساساً على الاختلاف في درجات القطبية وهي الإيثر البترولي (60-80)°م (HS1)، الكلوروفوروم (HS2)، الأستيون (HS3)، IMS (HS4)، فضلاً عن استعمال الماء الحار (HS5).

وُصِّلت عدد من الزيوت الطيارة Volatile Oils لأزهار نبات الكجرات العراقي، باستعمال جهاز التقطير المحور (كليفنجر) للزيت الخفيف وشُخِّصت بوساطة تقنية السائل-الغازي الكروماتوغرافي (GLC) وهي (Linalool، Limonene، α -Pinen، Terpinene، Sabinene، Camphor، Cymene، Camphene) وظهر مركب α -Pinen بأعلى تركيز (12.0%) بينما ظهر مركب Camphene بأقل تركيز (1.5%).

وتم الحصول على الاحماض الدهنية الحرة من خلال عملية الصبونة Saponification للمستخلصات النباتية الخام (HS1, HS2, HS3, HS4, HS5) التي شخّصت بوساطة تقنية السائل - الغازي الكروماتوغرافي (GLC) وهي كالأتي: (Palmitic acid، Linolenic acid، Stearic acid، Linoleic acid، Oleic acid).

وقد لوحظ بأن Linoleic acid ظهر بأعلى تركيز بينما كان Linolenic acid أقلها تركيزاً في المستخلصات النباتية الخام لامتلاكه أعلى قطبية.

ومن خلال عملية التحلل الحامضي Acid hydrolysis التي أجريت على المستخلصات الخام للأستيون (HS3) و IMS (HS4) والماء الحار (HS5) تم الحصول على عدد من المركبات الفينولية الحرة وهي (Chlorogenic acid، Caffeic acid، Rutin، Gallic acid، Ferulic acid، Quercetin، acid) وذلك باستعمال (HPLC) تقنية السائل عالي الأداء

الكروماتوغرافي، وقد ظهر Ferulic acid بأعلى تركيز في مستخلص (HS4) (IMS) من بقية المستخلصات الأخرى، في حين ظهر Rutin بأقل تركيز في مستخلص الاستون (HS3). واستعملت تقنية العمود الكروماتوغرافي Column Chromatography من أجل فصل بعض المركبات الفينولية لأزهار نبات الكجرات للمستخلص الخام (FA) (HS4) IMS ومستخلص الماء الحار (FB) (HS5)، وتم الحصول على أربعة أجزاء هي (F1، F2، F3، F4) لكل من FA و FB وظهرت ثلاث مركبات فينولية بالجزء FA وهي (Apigenin، Kaempferol، P-hydroxybenzoic acid)، في حين ظهر مركبان فقط بالجزء FB وهما (Ellagic acid و Quercetin).

وشُخِّصَتْ أيضاً عدد من الأحماض الأمينية الموجودة في أزهار نبات الكجرات، وفصلت باستخدام تقنية محلل الأحماض الأمينية (A.A.A) Amino Acid Analyzer وهي ثمانية عشر مركبا (Histidine، Alanine، Arginine، Asparagine، Aspartic acid، Cysteine، Glutamic acid، Glutamine، Glycine، Isoleucine، Leucine، Lysine، Methionine، Phenylalanine، Proline، Serine، Threonine، Tyrosine) وقد ظهر Cysteine بأعلى تركيز وقدره 11.25 ملغم/غم في حين ظهر Histidine بأقل تركيز وقدره 2.58 ملغم/غم.

كما استعملت بعض المستخلصات النباتية الخام لأزهار نبات الكجرات على نوعين من البكتريا (*Streptococcus pneumoniae*، *Acinetobacter baumannii*) والممرضة للإنسان لبيان تأثير هذه المستخلصات في البكتريا من خلال التثبيط الحاصل في نموها، إذ كان أعلى تثبيط للمستخلصات النباتية الخام هو (17.26) ملم سببه مستخلص الخام للأسيتون (HS3) وأقل تثبيط للمستخلصات النباتية الخام (13.21) ملم سببه مستخلص الخام IMS (HS4) في بكتريا *A. baumannii*، في حين كان أعلى تثبيط للمستخلصات النباتية الخام (17.05) ملم سببه مستخلص الخام للأسيتون (HS3) وأقل تثبيط للمستخلصات النباتية الخام هو (7.83) ملم سببه مستخلص الخام للكلوروفورم (HS2) في بكتريا *Streptococcus pneumoniae*.

وكان أعلى تثبيط للفينولات هو (43.65) ملم سببه مستخلص الماء الحار (HS5) عند تركيز 100% وأقل تثبيط هو (14.54) ملم والذي سببه مستخلص IMS (HS4) عند تركيز

25% في بكتريا *Acinetobacter baumannii*، في حين كان أعلى تثبيط (38.63) ملم سببه مستخلص الماء الحار (HS5) عند تركيز 100% وأقل تثبيط هو (10.36) ملم سببه مستخلص الأستون (HS3) عند تركيز 25% في بكتريا *Streptococcus pneumoniae*.
أما بالنسبة للأحماض الدهنية والزيوت الطيارة فلم يظهر لها أي تأثير معنوي يذكر.

Abstract

The current study focused on plant chemistry through the isolation and identification of several natural products from the calyces of *Hibiscus sabdariffa* L. and their impact on the growth of two pathogenic bacterial species, *Acinetobacter baumannii* and *Streptococcus pneumoniae*.

A total of 42 compounds were identified, including 5 fatty acids, 8 volatile oils, 6 phenolic compounds from acid hydrolysis, and 5 phenolic compounds from column chromatography. Additionally, 18 amino acids were detected. The plant extracts were prepared using continuous extraction with sequential solvents: petroleum ether (60-80)°C (HS1), chloroform (HS2), acetone (HS3), IMS (HS4), and hot water (HS5).

Volatile oils were extracted from the Iraqi calyces of *Hibiscus sabdariffa* using the steam distillation apparatus (Clevenger) and characterized by gas-liquid chromatography (GLC). The main components identified were linalool, limonene, α -pinene, terpinene, sabinene, camphor, cymene, and camphene. α -Pinene compound appeared at the highest concentration (12.0%), while Camphene appeared at the lowest concentration (1.5%).

Free fatty acids were obtained by saponification of the raw plant extracts (HS5, HS4, HS3, HS2, HS1) and analyzed by gas-liquid chromatography (GLC). The identified fatty acids included linolenic acid, palmitic acid, stearic acid, linoleic acid, and oleic acid. It was observed that linoleic acid appeared at the highest concentration in the raw plant extracts, while linolenic acid appeared at the lowest concentration in the raw plant extracts due to its higher polarity.

Phenolic Acid hydrolysis was performed on the raw extracts of acetone (HS3), IMS(HS4) and hot water) HS5) to obtain some free phenolic compounds, including (Chlorogenic acid, Caffeic acid, Rutin, Gallic acid, Quercetin, Ferulic acid) using high-performance liquid

chromatographic (HPLC) technique. Ferulic acid appeared at the highest concentration in the IMS (HS4) extract compared to other extracts, while Rutin appeared at the lowest concentration in the acetone extract (HS3).

Column chromatography technique was used to separate some phenolic compounds from the flowers of the *Hibiscus sabdariffa* L. plant, for the raw extract IMS (HS4) (FA) and the hot water extract (FB) (HS5) and four parts were obtained: (F1, F2, F3, F4) for both FA and FB, three phenolic compounds appeared in the FA part, including (Apigenin, P-hydrobenzoic acid and Kaempferol) while only two compounds appeared in the FB part, including (Ellagic acid, Quercetin).

A number of amino acids found in the flowers of *Hibiscus sabdariffa* L. were identified using the Amino Acid Analyser (A.A.A) technique, which is eighteen compounds (Histidine, Alanine, Arginine, Asparagine, Aspartic acid, Cysteine, Glutamic acid, Glutamine, Glycine, Isoleucine, Leucine, Lysine, Methionine, Phenylalanine, Proline, Serine, Threonine, Tyrosine) Cysteine was found to have the highest concentration (11.25 mg/g) while histidine had the lowest (2.58) mg/g.

Raw plant extracts from *Hibiscus sabdariffa* L. flowers were also tested for their effect on two types of bacteria, *Streptococcus pneumoniae* and *Acinetobacter baumannii*, commonly found in human infections. The extracts were found to inhibit bacterial growth, with the highest inhibition (17.26 mm) caused by the acetone extract (HS3) and the lowest inhibition (13.21 mm) caused by the IMS extract (HS4) in *A.baumannii*. Similarly, the highest inhibition in *S. pneumoniae* (17.05) mm was caused by the acetone extract (HS3) and the lowest inhibition (7.83mm) was caused by the chloroform extract (HS2).

Phenolic compounds were also identified in the extracts, with the highest inhibition (43.65 mm) caused by the hot water extract (HS5) at

%100concentration, and the lowest inhibition (14.54 mm) caused by theIMS extract (HS4) at 25% concentration in *A. baumannii*. In *S. pneumoniae*, the highest inhibition (38.63 mm) was caused by the hot water extract (HS5) at 100% concentration and the lowest inhibition (10.36) mm was caused by the acetone extract (HS3) at 25% concentration.

No significant effect was observed for fatty acids and essential oils.

University of Mosul
College of Education for Girls
Biology Department



Separation and identification of a number of natural products from the flowers of the iraqi *Hibiscus sabdariffa* L. Plant and their reflection on the growth of two types of pathogenic bacteria

A Thesis submitted

By

Suha Saeed Rashid zidan

M. Sc. Thesis

Biology

Supervised By

Prof.

Dr. Ayad Chachan Al-Daody

2023A.D

1444 A.H
