جامعة الموصل

كلية التربية للبنات

فصل وتشخيص عدد من النواتج الطبيعية لبذور وقشور نبات الحنظل *Citrullus colocynthis* (L.) Schrad الذي ينمو في العراق ودراسة تأثيرها المضاد للأكسدة

صفاء مسعود بلال الطائي

رسالة ماجستير

علوم الحياة

بإشراف

الاستاذ الدكتور

أياد جاجان الداؤدي

1444هـ 2022م

الخلاصة:-

شملت الدراسة الكيميائية للنبات فصل وتشخيص عدد من النواتج الطبيعية من بذور وقشور ثمرة نبات الحنظل العراقي *Citrullus colocynthis* (L) Schrad باستعمال جهاز الاستخلاص المستمر Soxhlet وباستعمال نظام المذيبات المتعاقبة والمعتمد على اختلاف القطبية، فقد تم استعمال المذيبات الآتية في البذور:-

الهكسان $CH_3(CH_2)_4CH_3$ والكلوروفورم $CHCl_3$ وخلات الاثيل $CH_3COOCH_2CH_3$ والايثانول CH_3CH_2OH والماء الحار H_2O، وأما في عملية الاستخلاص التي أجريت على القشور استعملت المذيبات الآتية:

الهكسان وخلات الاثيل والإيثانول والماء الحار.

وكذلك أجريت عملية الصوبنة Saponification للمستخلصات الخامة جميعها لكل من البذور والقشور كلاً على حدى، وحصلنا على مركبات الأحماض الدهنية الحرة التي شخصت بتقنية كروماتوغرافيا السائل الغاز Gas-Liquid Chromatography وأثبت التشخيص إحتواء جميع المستخلصات الخامة لكل من البذور والقشور على عدد من الاحماض الدهنية (Palmatic acid، Stearic acid، Oleic acid، Linoleic acid، Elaidic acid) إذ ظهر Linoleic acid باعلى تركيز في المستخلص الخام للهكسان في البذور (39.25%) مقارنة مع بقية الاحماض الدهنية التي تم تشخيصها في البذور والقشور.

وتم فصل عدد من الزيوت الطيارة في البذور والقشور باستعمال جهاز التقطير البخاري المحور كليفنجر للزيت الخفيف، ثم شخصت بتقنية كروماتوغرافيا السائل الغاز Gas-Liquid Chromatography، وأظهر التشخيص أن عينات الدراسة تماثلت في محتواها من مركبات الزيوت الطيارة المشخصة في البذور والقشور، وهي: (α-Pinene، Limonene، Camphene، Carvacrol، Camphor، P-Cymene، Terpinene، Menthol، Linalool، Sabinen، phellandrene) والتركيز العالي ظهر في Terpinene في القشور (16.58%) مقارنة مع الزيوت العطرية الاخرى المشخصة في البذور والقشور.

ومن عملية التحلل الحامضي Acid hydrolysis التي اجريت على المستخلصات الخامة لخلات الأثيل والإيثانول والماء الحار لكل من البذور والقشور كلاً على حدى، تم الحصول على عدد من المركبات الفينولية الحرة، وقد أظهر التشخيص بتقنية كروماتوغرافيا السائل-العالي الاداء High-Performance Liquid Chromatography احتواء هذه المستخلصات الخامة على المركبات الاتية:

(Rutin، Ellagic acid، Caffeic acid، Quercetin، Myricetin، Luteolin) في كل من البذور والقشور لثمرة نبات الحنظل العراقي، فضلاً عن Gallic acid الذي ظهر فقط في البذور بينما ظهر (Catechin، Ferulic acid) في القشور فقط، وظهر Ellagic acid باعلى تركيز في المستخلص الخام للماء الحار في البذور (0.491984 ملغم/ غم) مقارنة مع بقية المركبات الفينولية التي تم تشخيصها في البذور والقشور.

كذلك تم اجراء الفصل باستعمال العمود الكروماتوغرافي Column Chromatography لمستخلص الإيثانول الخام لكل من البذور والقشور لثمرة نبات الحنظل العراقي كلاً على حدى، والحصول على ثلاثة اجزاء (Fraction1، Fraction2، Fraction3)، وباستعمال تقنية كروماتوغرافيا السائل-العالي الأداء High-Performance Liquid Chromatography للاجزاء المفصولة، تم تشخيص (5) مركبات فينولية في الجزئين (Fraction2، Fraction3) وهي: (Quercetin، Caffeic acid، Ellagic acid، Myricetin، Luteolin)، إذ سجل Ellagic acid اعلى تركيز في(Fraction2، Fraction3) في البذور (0.12636 ملغم/غم) مقارنة مع بقية المركبات الفينولية المشخصة في البذور والقشور.اما الجزء (Fraction1) فكان خاليا من اي مركب فينولي.

فضلاً عن ذلك اثبت التشخيص الكروماتوغرافي بتقنية High-Performance Liquid Chromatography، ظهور مركب الأتروبين Atropine في كل من البذور والقشور، اذ ظهر بتركيز عالٍ نسبياً في البذور مقارنة مع القشور.

واثبتت نتائج الدراسة الحالية أيضاً فعالية المركبات المفصولة من المستخلصات الخامة لكل من البذور والقشور بوصفها مضادات للأكسدة لتثبيط الجذر الحر (2.2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl)، وأشارت الى انه بزيادة تراكيز المواد الفعالة في المستخلصات الخامة تزداد نسبة قنص الجذور الحرة، فكانت اعلى نسبة قنص لمركبات الأحماض الدهنية المفصولة من المستخلص الخام للايثانول في القشور (76.3%) عند تركيز 400 مايكروغرام/ مل. في حين ان الزيوت الطيارة المفصولة من القشور تفوقت معنوياً في تثبيط الجذر الحر (2.2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl) على الزيوت الطيارة المفصولة من البذور عند تركيز (300 و 400) مايكروغرام/ مل فقد وصلت الى (76.1 و 76.8)% على التوالي.

بينما ظهرت أعلى نسبة قنص للمركبات الفينولية المفصولة بالتحلل الحامضي للمستخلص الخام للماء الحار في البذور (91.3%) عند تركيز 400 مايكروغرام/مل.

أما أعلى نسبة قنص للمركبات الفينولية المفصولة من المستخلص الخام للايثانول بوساطة عمود الفصل الكروماتوغرافي كانت في الجزء (Fraction1) في البذور عند تركيز 400 مايكروغرام/مل فقد بلغت(78.3%).

بينما ظهرت أعلى نسب قنص لأشباه القلويدات المفصولة من المستخلص الخام للايثانول للقشور إذ تفوقوا معنوياً فيما بينهم في تثبيط الجذر الحر (2.2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl) على أشباه القلويدات المفصولة من المستخلص الخام للايثانول للبذور عند التراكيز (200 و 300 و 400) مايكروغرام/مل فقد بلغت (73.3 و74.5 و75.3)% على التوالي.

Abstract

The Phytochemical study included the separation and identification of a number of natural products from the seeds and the peels of the fruit of the Iraqi *Citrullus colocynthis* (L.) Schrad plant, by using a soxhlet apparatus and using the sequence of solvents system based on the different polarity, the following solvents were used in the seeds:

Hexane $CH_3(CH_2)_4CH_3$, Chloroform $CHCl_3$, Ethyl acetate $CH_3COOCH_2CH_3$,, Ethanol CH_3CH_2OH,Hot water H_2O, as for the extraction process that was carried out on the peels were used the following solvents Hexane, Ethyl acetate, Ethanol, Hot water.

Then a saponification process was carried out for all the crude extracts of both the seeds and the peels separately, and we got the free fatty acid compounds and the identification by using Gas-Liquid Chromatography technique confirmed that the all crude extracts for the seeds and the peels contain a number of the fatty acids:

(palmatic acid, Stearic acid, Oleic acid, Linoleic acid and Elaidic acid),where Linoleic acid was appeared in the highest concentration in the crude extract of hexane in the seeds (39.25%) , compared to the rest of the fatty acids that were identified in the seeds and the peels .

A number of the volatile oil compounds were separated from the seeds and the peels by using clevenger apparatus, and the identification by using Gas-Liquid Chromatography technique showed that the study samples agreed in their contents of volatile oil compounds which identified in the seeds and the peels and included:

(α-pinene, Limonene, Camphene, Carvacrol, Camphor,

P-cymene, Terpinene, Linalool, Menthol, Sabinen and phellanolrene), the highest concentration was appeared in Terpinene in

the peels (16.58%) , compared to the other volatile oils that identified in the seeds and the peels .

From the acid hydrolysis process that conducted on the crude extracts of ethyl acetate, ethanol and hot water for both the seeds and the peels separately, obtained the free phenolic compounds, and the identification by using High Performance Liquid Chromatography technique showed that they contained the following phenolic compounds:

(Rutin, Ellagic acid, caffeic acid, Quercetin, Myricetin, Luteolin) in both the seeds and the peels of the fruit of the Iraqi *Citrullus colocynthis* (L.) Schrad plant, as well as Gallic acid appeared in the seeds only, while Ferulic acid ,Catechin only appeared in the peels, and Ellagic acid was appeared in the highest concentration in the crude of the hot water in the seeds (0.491984 mg /g), compared to the rest of the phenolic compounds that identified in the seeds and the peels .

The separation was also carried out using column chromatography of the crude Ethanol extract for both the seeds and the peels of the fruit of the Iraqi *Citrullus colocynthis* (L.) Schrad plant separately, and obtaining three fractions (Fraction 1, Fraction 2, Fraction 3), and by using High Performance Liquid Chromatography technique for the separated fractions (5) phenolic compounds were identified in the two fractions (Fraction 2, Fraction 3) which are as follows: (Quercetin, Caffeic acid, Ellagic acid, Myricetin and Luteolin), where Ellagic acid was recorded the highest concentration in (Fraction 2, Fraction 3) in the seeds (0.12636 mg/g), compared to the rest of the phenolic compounds that identified in the seeds and the peels, but the Fraction (Fraction 1), It was free phenolic compounds.

As well as the chromatographic identification of High Performance Liquid Chromatography technique confirmed the presence Atropine

compound in the seeds and the peels, that it was appeared in the relatively high concentration in the seeds compared to the peels.

The results of the current study was also confirmed the efficiency of the separated compounds from the crude extracts of both the seeds and the peels as antioxidants to free radical inhibition of 2.2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl, and the results were indicated that when the concentrations of the active substances was increased, the percentage of free radicals inhibition was increased, the highest inhibition percentage of the separated fatty acid compounds was from the crude extract of ethanol in the peels (76.3%)at a concentration of 400 µg/ml.

Whereas, the separated volatile oils from the peels were Significantly superior of the free radical inhibition of 2.2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl on the separated volatile oils from the seeds at a concentration (300, 400) µg/ml at reached (76.1,76.8)% respectively. While the highest percentage of inhibition for separated phenolic compounds from acid hydrolysis was appeared for the crude extract of the hot water in the seeds(91.3%) at a concentration 400 µg/ml. While the higher percentage of inhibition for the separated phenolic compounds from the crude extract of ethanol by the column chromatography technique was in fraction 1 in the seeds at a concentration of 400 µg/ml at reached (78.3%).

Whereas, the highest percentages of inhibition for the separated alkaloids from the crude extract of ethanol for the peels, it was they Significantly superior among themselves in inhibition of free radical of 2.2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl on the separated alkaloids from the crude extract of ethanol for the seeds at concentrations (200, 300, 400) µg/ml at reached (73.3,74.5,75.3)% respectively.

University of Mosul

College of Education for Girls

Separation and Identification of Many Natural Products from the Seeds and Peels of *Citrullus colocynthis* (L.) Schrad Growing in Iraq and Studying its Antioxidant Effect.

Safaa Masood Bilal Al-Taee

M.Sc. Thesis

In

Biology

Supervised By

Professor Dr

Ayad Chachan Al-Daody

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