

## فصل وتشخيص بعض المركبات الفينولية وحامض الماليك من أزهار الكجرات *Hibiscus sabdariffa* L. ودراسة تأثيرها على بعض أنواع البكتريا الممرضة

أياد جاجان خورشيد

فاطمة إبراهيم سلطان

قسم علوم الحياة/ كلية التربية للبنات/ جامعة الموصل

الكلية التقنية الزراعية/ الجامعة التقنية الشمالية

E-mail: [ayadchachaniraq@yahoo.com](mailto:ayadchachaniraq@yahoo.com)

E-mail: [i\\_education@yahoo.com](mailto:i_education@yahoo.com)

(أُستلم 2018/7/22 ؛ قُبِل 2018/11/1)

### الملخص

فصلت بعض المركبات الفينولية الحرة من أزهار الكجرات باستخدام عمود الفصل الكروماتوغرافي، أجريت عملية تحليل حامضي للمستخلص الاسيتوني والايثانولي والجزء الايثانولي لهما والجزء الايثانولي والاسيتوني للمستخلص المائي، أظهرت نتائج التشخيص الكروماتوغرافي بجهاز كروماتوغرافيا السائل عالي الأداء HPLC ان جميع الأجزاء المفصولة من الأزهار احتوت على مركب البار-هيدروكسي حامض البنزويك و  $H_3b$  و  $H_4F_2b$  احتوى على مركب الثايمول، فضلاً عن وجود حامض الفانيليك في جزء الـ  $H_3b$ ، كما تم تشخيص حامض السيناميك، وقد سُخِّص مركب الكومارين في جزء  $H_3F_2b$  ومركب الثايمول في جزء  $H_5F_2b$ ، فضلاً عن تشخيص الحامض الكاربوكسيلي Maleic acid في كل من الأجزاء  $H_3b$  و  $H_3F_2b$ . وأظهرت المستخلصات الخام والمستخلصات الحاوية على الفينولات الحرة المفصولة تأثيراً تثبيطياً متبايناً ضد بعض أنواع البكتريا باستخدام طريقة الانتشار بالاقراص مقارنة مع بعض المضادات الحيوية القياسية.

الكلمات الدالة: أزهار الكجرات، المركبات الفينولية، الفعالية البايولوجية، HPLC.

---

## Separation and Identification of some Phenolic Compounds and Maleic Acid from *Hibiscus sabdariffa* L. and Study its Effect on the some Types of Pathogenic Bacteria

Fatimah I. Sultan

College of Technical Agricultural  
Northern Technical University

Ayad Ch. Khorsheed

Department of Biology  
College of Education for Girls  
University of Mosul

### ABSTRACT

Separated of some free phenolic compounds from flowers of *Hibiscus Sabdariffa* L. by column chromatography (CC). So, the acid hydrolysis was carried out for acetonic, ethanolic and ethanolic fraction for them and the ethanolic-acetonic fraction for aqueous extract, the results of chromatographic identification were appeared by High Performance Liquid Chromatography (HPLC) that all separated parts of Rosella contained on P-hydroxybenzoic acid, also  $H_3b$  and  $H_4F_2b$  contained of thymol as well as of the presence of vanillic acid in  $H_3b$ , so cinnamic acid also was appeared, and coumarin compound in  $H_3F_2b$  were appeared, and thymol in  $H_5F_2b$ , as well as the identification of Maleic acid in all fractions  $H_3b$ ,  $H_3F_2b$ . The crude extracts and which contained on free isolate phenolic compounds were showed various inhibitory effect against of some bacteria under study, using disc diffusion method compare with some antibiotic standard.

**Keywords:** Flower of *Hibiscus sabdariffa*, Phenolic compounds, Biological activity, HPLC-analysis.

### المقدمة

أدت التطورات التي حصلت في كيمياء النواتج الطبيعية Natural Products إلى تطوير المجال الاحيائي، مما حدى بعلماء تصنيف النبات إلى وضع الأنواع النباتية في مراتب تصنيفية اعتماداً على المركبات الكيميائية التي تنتجها خاصة تلك التي يتم تخليقها خلال عمليات الأيض الثانوي وتحتوي بعض نباتات الأعشاب البرية والطبية على مركبات كيميائية ذات فائدة وأهمية كبيرة تكون نواتج ثانوية من عمليات الأيض داخل النبات تستخدم لأغراض ديمومة حياتها أو الحماية والدفاع ضد كائنات حية أخرى وتسمى بالنواتج الطبيعية أو الثانوية أو العرضية وغالباً ما يطلق عليها المواد الفعالة Active Ingredients (Fang et al., 2001). أظهرت العديد من مستخلصات النباتات الطبية تأثيرات مضادة للعديد من الاحياء المجهرية كالقرنفل Clove والثوم Garlic والقرفة Cinnamon والمريمية Sage والاقحوان Marigold والكجرات Roselle والزعتر Thyme. تتواجد معظم الجراثيم المسببة للعديد من الأمراض في أماكن مختلفة من جسم الإنسان إذ تعد جرثومة المكورات العنقودية *Staphylococcus aureus* والاشيريكيا القولونية *Escherichia coli* والزائفة الزنجارية *Pseudomonas aeruginosa* والمتقلبات الرائحة *Proteus mirabilis* من أكثر مسببات العدوى والتي تصيب أماكن مختلفة من جسم الإنسان والعديد منها جراثيم انتهازية Opportunistic microbes (Goering et al., 2008).

تمتلك المضادات الحيوية عدداً من المحددات Limitations مثل فعاليتها وذوبانيتها الواطئة وتأثيراتها السمية فضلاً عن مقاومة البكتريا لفعالها بواسطة أنظمة الدفق والتغيير في موقع الهدف فضلاً عن امتلاك بعض الجراثيم مثل الزائفة الزنجارية للغشاء الخارجي الذي يحتوي على قنوات بروتينية، إذ إن أي تغيير أو تحوير أو قلة في عدد هذه القنوات يؤدي إلى مقاومة هذه البكتريا للعديد من المضادات الحيوية (Lambert, 2002)، لذا ازداد البحث عن النواتج الطبيعية الفعالة ضد الجراثيم مؤخراً، ولاسيما مركباتها الفعالة الحيوية المستخلصة من أصل طبيعي مثل النباتات الطبية المألوفة والرائجة (Mahalingam et al., 2011).

ركزت بحوث الفعالية التثبيطية جل اهتمامها على المركبات الفعالة المفصولة بشكل مجاميع مثل الأحماض الدهنية والمركبات الفينولية والقلويدية إذ استخدمت هذه المركبات بشكل مجاميع في المستخلصات الخام كعقاقير، إلا أن تنقية وتشخيص العديد من هذه المواد الفعالة النقية ذات التأثير الاحيائي لا يزال يشغل علماء الصيدلة والكيمياء وعلوم الحياة ولا تزال الدراسات قليلة حول التنقية (Dalirsani et al., 2011).

نالت المركبات الفينولية اهتماماً بالغاً من العديد من الباحثين في مجال الأدوية وصناعة الأغذية وحتى مكافحة الحشرات، لما لها من تأثيرات على صحة الإنسان إيجاباً وسلباً ولما لها من قابلية على ان تغير التفاعلات الانزيمية والكيميائية ومن هذه الفينولات حامض السالساليك والكاليك والثايمول (Jelena et al., 2007).

### المواد وطرائق العمل

#### جمع وتصنيف ازهار الكجرات

تم جمع أزهار الكجرات (الكردييه) *Hibiscus sabdariffa* L. من حدائق جامعة الموصل، وتم التحقق من صنفها في مديرية مشروع تطوير النباتات الطبية في سد الموصل التابع لوزارة الزراعة والإصلاح الزراعي العراقية وذلك بالاعتماد على مصادر تصنيف النبات (Townsend et al., 1980؛ الكاتب، 2000). نظفت الازهار مما علق بها من أتربة وشوائب وتم تجفيفها في ظروف ظلام على أوراق ترشيح مع مراعاة تقلبيها يوميا وملاحظة عدم تعفنها أو إصابتها بالأمراض الفايروسية أو الفطرية ثم جمعت في أكياس ورقية جافة وخزنت في ظروف خالية من الرطوبة لحين استخدامها.

### تحضير بعض المستخلصات النباتية باستخدام جهاز الاستخلاص المستمر

تم تحضير المستخلصات النباتية باتباع الطريقة التي ذكرها (Al-Daody, 1998) إذ تعتمد هذه الطريقة على طبيعة المكونات الفعالة المفصولة من النباتات وطبيعة المذيب المستخدم في عملية الفصل وباستخدام نظام المذيبات المتعاقبة لذا استخدم في عملية الاستخلاص خمسة مذيبات مختلفة القطبية وهي الايثر البترولي  $^{\circ}\text{C}$  (60-80) Petroleum ether، الكلورفورم، الاسيتون، الايثانول 95% و (Methylated spirit industrial (IMS).

أجريت عملية الاستخلاص في درجات حرارية مختلفة بحسب درجة غليان كل مذيب على ان لا تزيد عن  $80^{\circ}\text{C}$  إذ تم وضع 100 غم من مسحوق أزهار النبات في الباج Bach في جهاز الاستخلاص المستمر وباستخدام 500 سم<sup>3</sup> من المذيب. تم الاستخلاص بمعدل 10 ساعات يوميا إذ تستمر عملية الاستخلاص إلى ان يصبح المذيب المستخدم في السكسوليت عديم اللون ثم يوضع المذيب الثاني ويبدأ الاستخلاص بنفس العملية وتكرر العملية على بقية المذيبات المستخدمة وعلى النموذج النباتي نفسه. ويتم تركيز المذيب باستخدام جهاز المبخر الدوار RVE وفي درجة  $40^{\circ}\text{C}$  ثم توضع المستخلصات الخام في قناني معتمة محكمة الغلق وتحفظ في الثلاجة لحين استخدامها لاحقاً. تم استخراج الباج من الجهاز ونقعت المادة النباتية في الماء للحصول على المستخلص المائي (Harborne, 1984).

الكشف عن المكونات الفعالة وتحديد الطور المتحرك لعمود الفصل (هلام السليكا) باستخدام تقانة كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة

### Thin Layer Chromatography (TLC)

استخدمت صفائح هلام السليكا Silica Gel المجهز من شركة Mercke الألمانية المنشأ وبسبك 0.25 ملم وبالأبعاد  $20 \times 20$  سم، إذ تم تحميل العينات لمرة واحدة على أحد طرفي اللوح وعلى هيئة بقع على امتداد خط البداية بوساطة الأنبوبة الشعرية ووضع اللوح في الحاوية Tank بشكل عمودي إذ تكون النهاية المحملة بالعينات في الأسفل وغير ملاصقة لنظام المحلول Solvent System والذي يتم اختياره وبقطبية معينة بالاعتماد على الحصول على أفضل فصل للمستخلص (الايثر البترولي: خلات الاثيل إما 5:1 أو 10:1) المراد فصل مكوناته، وغطت الحاوية بالغطاء الخاص بها وتركت في درجة حرارة المختبر لحين صعود محلول الفصل مسافة ما قبل النهاية وبعدها رفع اللوح من الحاوية وجففت بوساطة غاز النتروجين ثم تم اظهار البقع عن طريق غسلها بكاشف Phosphomolybdic acid hydrate واعتمدت الطريقة نفسها في تحديد الطور المتحرك لعمود الفصل لجميع المركبات المفصولة (Kirchner, 1978).

### فصل وتنقية الفينولات من أزهار الكجرات بعملية التحلل الحامضي Acid hydrolysis

أخذ 5 مل من كل من المستخلص الاسيتوني والايثانولي الخام المركز كلا على حدى فضلا عن جزء الايثانولي الناتج من عمود الفصل لمستخلص الاسيتوني والايثانولي وأضيف إليه 25 مل من حامض الهيدروكلوريك (HCl 1N). اجري له تصعيد حراري في درجة  $100^{\circ}\text{C}$  ولمدة ساعة ثم تبريد المحلول في قمع الفصل وأضيف إليه  $2 \times 15$  مل من خلات الاثيل مع الرج جيداً وبعد ذلك فصلت الطبقة العليا (العضوية)، ثم جففت باستعمال كبريتات المغنيسيوم اللامائية، وأهملت الطبقة المائية السفلى، بخر خلات الاثيل بجهاز المبخر الدوار تحت الضغط المخلخل ومن ثم حفظت الفينولات الحرة داخل قناني زجاجية معتمة في الثلاجة لحين استخدامها في تجربة الفعالية الاحيائية والتشخيص بجهاز HPLC (Harborne, 1998). وتم حساب تركيز المركب الفينولي المفصول من العينة باتباع القانون التالي:

$$\text{تركيز المركب المفصول من العينة (ملغم/غم)} = \frac{\text{المساحة تحت المنحني للمركب المفصول}}{\text{المساحة تحت المنحني للمركب القياسي}} \times \text{تركيز المركب القياسي} \times \frac{\text{حجم المستخلص (مل)}}{\text{وزن العينة المطحونة (غم)}}$$

### جهاز كروماتوغرافيا السائل عالي الأداء HPLC

شخصت المركبات الفينولية بجهاز الـHPLC من نوع Shimadzo, LC-2010 AHT بعد تنقيتها بمرشحات غشائية قطر 0.1 مايكروميتر وباستخدام الطول الموجي 320 نانوميتر، وسرعة جريان 1 مل/دقيقة وطور متحرك (85% Acetonitrile + H<sub>2</sub>O 15%) وباستخدام العمود C18 وبأبعاد 240×4 ملم، وفي درجة حرارة 30°م والمجهز من شركة Macherey-Naged الأمريكية المنشأ، تمت القياسات في كلية التربية/ جامعة الموصل. وتم تشخيص مركب الفينازين بجهاز الـHPLC والمجهز من شركة Shimadzo, LC-2010 AHT وتم تشخيص الفينازين في شركة الكندي التابعة لوزارة الصناعة والمعادن/ الموصل. وكانت ظروف العمل بطول موجي 375 نانوميتر وسرعة جريان 0.5 مل/دقيقة وطور متحرك (100% Acetonitrile) وباستخدام عمود C18 وبأبعاد 240×4.6 ملم وفي درجة حرارة 30°م.

### العزلات البكتيرية

تم الحصول على العزلات البكتيرية الممرضة من البنك الجرثومي لمختبرات مستشفى السلام في الموصل وبنك سلالات الأحياء المجهرية لقسم علوم الحياة/ كلية العلوم في جامعة الموصل. أخذت العزلات الجرثومية الممرضة بمعدل 6 عزلات/نوع واختيرت عزلات موجبة وسالبة لصبغة كرام وهي كالاتي: العزلات الموجبة لصبغة كرام *Corynebacterium diphtheriae* و *Staphylococcus aureus* و *Staphylococcus capitis*، أما العزلات السالبة لصبغة كرام *Pseudomonas aeruginosa* و *Proteus mirabilis*.

تم التأكد من تشخيص العزلات في العراق بالاعتماد على الفحص المجهرى والصفات الزرعية وبعض الاختبارات الكيموحيوية.

### اختبار الفعالية التشبثية للمستخلصات النباتية والمكونات الفعالة باستخدام طريقة اختبار الحساسية (الانتشار بالاقراص)

اتبعت طريقة (CLSI, 2011) في إجراء هذا الاختبار، إذ تم نقل 3-5 مستعمرات فتية من الجراثيم قيد الدراسة إلى وسط المرق المغذي، وحضنت في درجة 37°م ولمدة 24 ساعة، خفف المعلق الجرثومي بالمحلول الملحي الفسلجي وبالمقارنة مع أنبوب السيطرة القياسي لمحلول ماكفرلاند الذي يعادل 10<sup>8</sup> خلية/سم<sup>3</sup>، بعدها نقل 0.1 سم<sup>3</sup> من المعلق الجرثومي المخفف إلى وسط أكار مولر هينتون ونشر على سطح الوسط بشكل متجانس باستعمال ماسحة قطنية معقمة، حضنت الاطباق في درجة حرارة 37°م ولمدة 30 دقيقة لكي يحصل التشرب، في هذه الأثناء تم اعداد الاقراص المشبعة بالمستخلصات النباتية والمكونات الفعالة إذ يتم تحضير اقراص من ورق ترشيح نوع (1 Watmann No.) وبقطر 6 ملم وإضافة 0.1 سم<sup>3</sup> من تركيز (800، 400، 200، 100، 50، 25 و12.5) ملغم/سم<sup>3</sup> من المستخلصات والمكونات الفعالة إلى قنينة حاوية على 10 أقراص معقمة، إذ تم تحضير تركيز 800 ملغم/سم<sup>3</sup> من المستخلصات النباتية وذلك بإذابة 1 غم من كل مستخلص في 1.25 سم<sup>3</sup> من مادة (DMSO) Dimethyl sulfoxid ومادة الـ Ethylene Glycol بالنسبة للزيت الطيار والماء المقطر بالنسبة للمستخلص المائي ثم عقم المزيج بطريقة البسترة في درجة 62°م ولمدة 10-15 دقيقة وبطريقة المرشحات الغشائية 0.22 µg بالنسبة للمستخلص المائي والزيت الطيار لمنع مرور الجراثيم من خلاله وبهذا تم الحصول على التركيز القياسي والمعتمد في تحضير التراكيز المخففة المتسلسلة للمستخلصات (Shareef, 1998; Miladinovic and Miladinovic, 2000).

ثبتت الاقراص المشبعة بالتراكيز المختلفة بوساطة ملقط معقم في وسط الاكار المغذي وبمعدل ثلاث مكررات وحضنت في درجة حرارة 37°م ولمدة 14-16 ساعة، قدرت منطقة التثبيط أو حزام التثبيط باستخدام مسطرة مدرجة ودونت النتائج. وبعدها تم تحديد التركيز المثبط الأدنى الذي هو أعلى تخفيف للمستخلص النباتي الذي يمنع نمو البكتريا (Forbes et al., 2007).

قورنت النتائج مع عدد من المضادات الحيوية المختارة قيد الدراسة كونها عينة سيطرة موجبة للجراثيم وذلك بالاعتماد على ما يستعمل في مختبرات الصحة العامة والمعتمدة على فحوصات منظمة الصحة العالمية (CLSI, 2011).

### النتائج والمناقشة

#### تشخيص عدد من المركبات الفينولية لأزهار الكجرات بجهاز HPLC

رمز لمستخلص الاسيتون والايثانول بعد إجراء عملية التحلل الحامضي لهما H<sub>3</sub> و H<sub>4</sub> على التوالي، أما الأجزاء المفصولة بعمود الفصل الكروماتوغرافي فقد تم إجراء عملية تحلل حامضي لهم ورمز للجزء الايثانولي للمستخلص الاسيتوني E<sub>3</sub>F<sub>2</sub>b والجزء الايثانولي للمستخلص المائي E<sub>5</sub>F<sub>2</sub>b.

تم إعداد المركبات الفينولية القياسية وهي (حامض السيناميك، بارا-هيدروكسي حامض البنزويك، الفانيليك، الكومارين والثايمول).

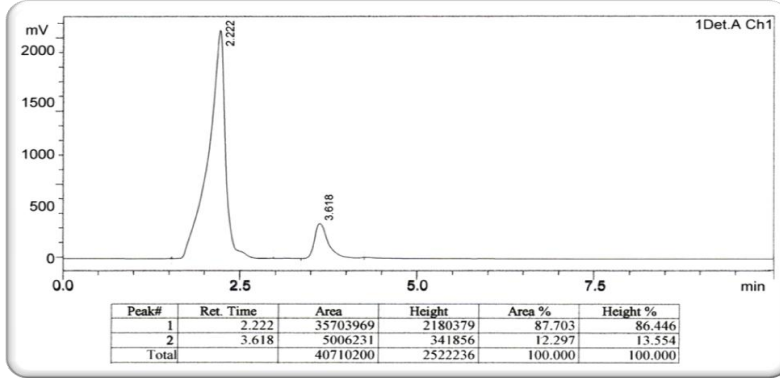
حقنت المركبات الفينولية القياسية والمستخلصات النباتية الحاوية على الفينولات والمذكورة أعلاه بواقع 1 مايكروليتر في جهاز HPLC بعد إذابة 0.1 غم من المركب القياسي أو المستخلص في 10 مل من الايثانول، ونتج عن عملية الفصل والتشخيص رسم منحنى Peak لكل مركب فينولي قياسي كان أم خاصاً بالعينة مقروناً بزمن الاحتجاز الخاص به إذ كان زمن الاحتجاز لحامض السيناميك 2.22 دقيقة، بارا-هيدروكسي حامض البنزويك 2.84 دقيقة، الفانيليك 3.06 دقيقة، الكومارين 3.19 دقيقة والثايمول 3.31 دقيقة، كما موضح في (الجدول 1) والأشكال (1-5).

احتوت مستخلصات أزهار الكجرات على المركب الفينولي بارا-هيدروكسي حامض البنزويك بتركيز أعلى من باقي الفينولات المشخصة فيها يليه حامض الفانيليك الكومارين والثايمول ثم حامض السيناميك. وهذا ما وجد في دراسة (Olaleye, 2007; Mahadevan and Kamboj, 2009).

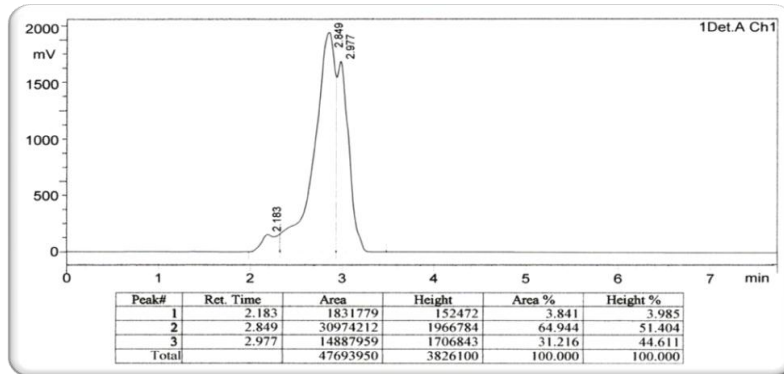
الجدول 1: المركبات الفينولية التي شخّصت باستخدام تقانة HPLC بعد التحلل الحامضي لمستخلصات وأجزاء مستخلصات

#### أزهار الكجرات المفصولة بعمود الفصل الكروماتوغرافي CC

الثايمول		الكومارين		حامض الفانيليك		بارا-هيدروكسي حامض البنزويك		حامض السيناميك		المركبات الفينولية	
3.31		3.19		3.06		2.84		2.22		زمن احتجاز المركبات القياسية/دقيقة	
التركيز (ملغم/غم)	زمن الاحتجاز (دقيقة)	التركيز (ملغم/غم)	زمن الاحتجاز (دقيقة)	التركيز (ملغم/غم)	زمن الاحتجاز (دقيقة)	التركيز (ملغم/غم)	زمن الاحتجاز (دقيقة)	التركيز (ملغم/غم)	زمن الاحتجاز (دقيقة)	العينات	النبات
0.267	3.49			0.983	3.06	1.232	2.88			H <sub>3</sub> b	أزهار الكجرات
						3.477	2.93	0.201	2.12	H <sub>4</sub> b	
		0.755	3.12			0.210	2.93			H <sub>3</sub> F <sub>2</sub> b	
0.032	3.47					0.334	2.92			H <sub>5</sub> F <sub>2</sub> b	

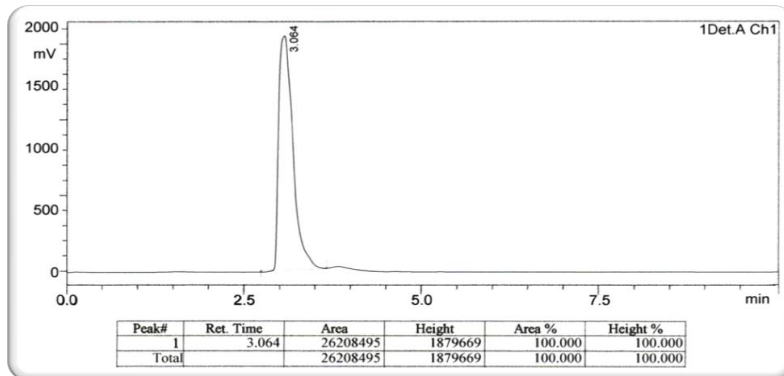


الشكل 1: المنحنى القياسي لحمض السيناميك Cinnamic acid باستخدام تقانة الـHPLC

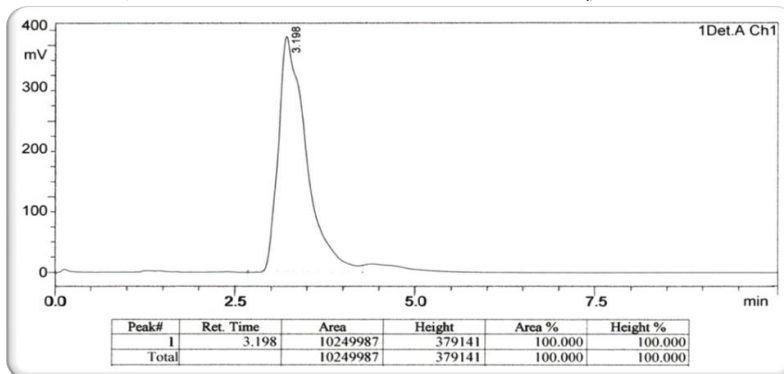


الشكل 2: المنحنى القياسي لمركب البار-هيدروكسي حامض البنزويك P-hydroxybenzoic acid باستخدام تقانة

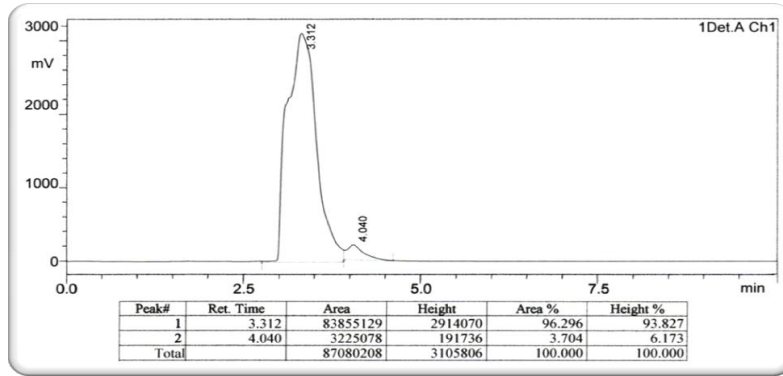
## HPLC



الشكل 3: المنحنى القياسي لحمض الفانيك Vanillic acid باستخدام تقانة الـHPLC



الشكل 4: المنحنى القياسي لمركب الكومارين Coumarin باستخدام تقانة الـHPLC



الشكل 5: المنحنى القياسي لمركب الثايمول Thymol باستخدام تقانة الـHPLC

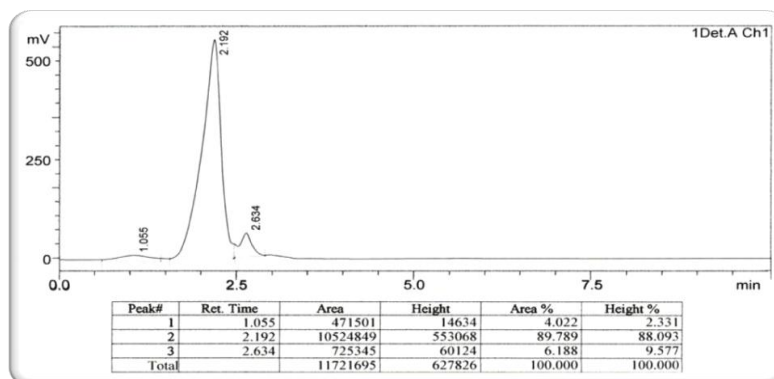
## تشخيص حامض المالك العضوي Maleic acid من مستخلصات أزهار الكجرات بجهاز الـHPLC

أظهرت نتائج تشخيص الأحماض الكربوكسيلية للدراسة الحالية إن بعض مستخلصات وأجزاء مستخلصات أزهار الكجرات حاوية على الحامض الكربوكسيلي المالك وبتراكيز متفاوتة إذ كان أعلى تركيز له في المستخلص الاسيتوني H<sub>3</sub>b وبنسبة 11.040 يليه جزء الايثانولي للمستخلص المائي H<sub>3</sub>F<sub>2</sub> وبنسبة 3.510 وأخيرا في الجزء الايثانولي للمستخلص الاسيتوني H<sub>3</sub>F<sub>2</sub> وبنسبة 3.343.

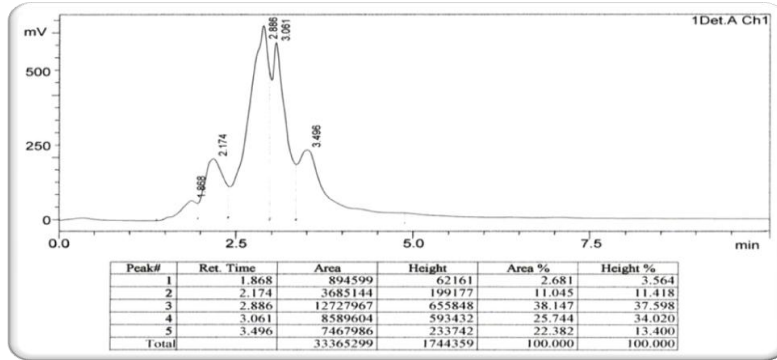
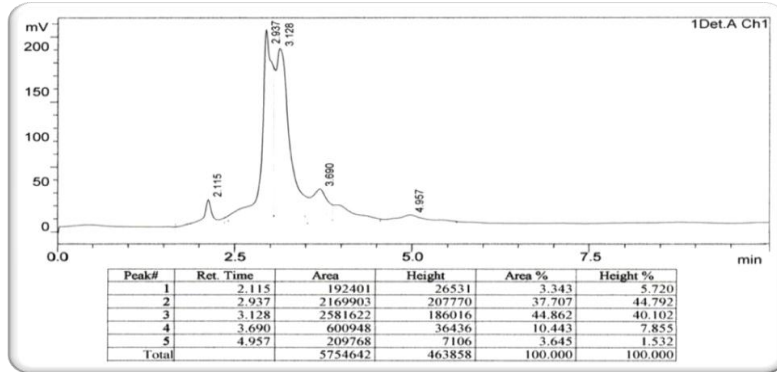
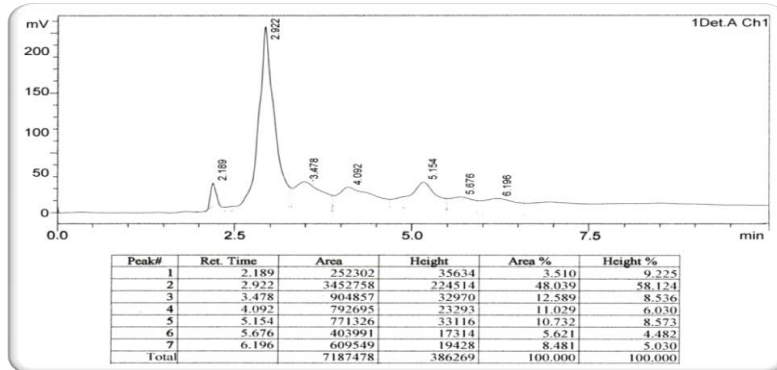
وكما هو مبين في الشكل (6) إذ يوضح المنحنى القياسي لمركب Maleic acid كما يوضح (الجدول 2) زمن احتجاز كل مستخلص والمساحة تحت المنحنى له مقارنة مع عينة السيطرة القياسية لحامض المالك وكما هو مبين في الأشكال (7 و8 و9). جاءت نتائج الدراسة الحالية مماثلة مع ما توصل إليه (Amin *et al.*, 2008; Mahadevan and Kamboj, 2009).

الجدول 2: قيم زمن الاحتجاز والنسب المئوية لمساحات تحت المنحنى للحامض الكربوكسيلي المالك Maleic acid في مستخلصات أزهار الكجرات مقارنة مع عينة السيطرة القياسي باستخدام تقانة الـHPLC.

Maleic acid		الحامض الكربوكسيلي
2.192		زمن الاحتجاز القياسي (دقيقة)
التركيز (ملغم/غم)	زمن الاحتجاز/دقيقة	العينات
1.050	2.174	H <sub>3</sub> b
0.054	2.115	H <sub>3</sub> F <sub>2</sub> b
0.07	2.189	H <sub>5</sub> F <sub>2</sub> b



الشكل 6: المنحنى القياسي لحمض المالك Maleic acid باستخدام تقانة الـ HPLC

الشكل 7: منحنيات المركبات الفينولية المستخلصة من جزء H<sub>3</sub>b للكجرات باستخدام تقانة الـ HPLCالشكل 8: منحنيات المركبات الفينولية المستخلصة من جزء H<sub>3</sub>F<sub>2</sub>b للكجرات باستخدام تقانة الـ HPLCالشكل 9: منحنيات المركبات الفينولية المستخلصة من جزء H<sub>5</sub>F<sub>2</sub>b للكجرات باستخدام تقانة الـ HPLC

تأثير المستخلصات النباتية وبعض مكوناتها الفعالة في الجراثيم المستخدمة قيد الدراسة مقارنة مع المضادات الحيوية القياسية وباستخدام طريقة اختبار الحساسية (الانتشار بالأقراص)

يوضح (الجدول 3) ومجموعة الصور (1) الفينولات المفصولة من المستخلص الاسيتوني H<sub>3</sub>b والحاوية على حامض الفانيليك والبارا-هيدروكسي حامض البنزويك والثايمول والحامض الكاربوكسيلي المالك Maleic acid فقد أعطت فعالية تثبيطية جيدة مقارنة مع المضادات الحيوية القياسية ولكنها أقل تأثيراً مما هو عليه من المستخلص الاسيتوني الخام.

أما الفينولات الموجودة في الجزء الايثانولي للمستخلص الاسيتوني والحاوي على الكومارين والبارا-هيدروكسي حامض البنزويك والحامض الكاربوكسيلي المالك فقد أعطت تأثيراً تثبيطياً عالياً ضد الجراثيم المستخدمة قيد الدراسة مقارنة بالمضادات الحيوية القياسية وكان الفعل التثبيطي مساوياً أو أكثر بقليل للمستخلص الاسيتوني الخام.

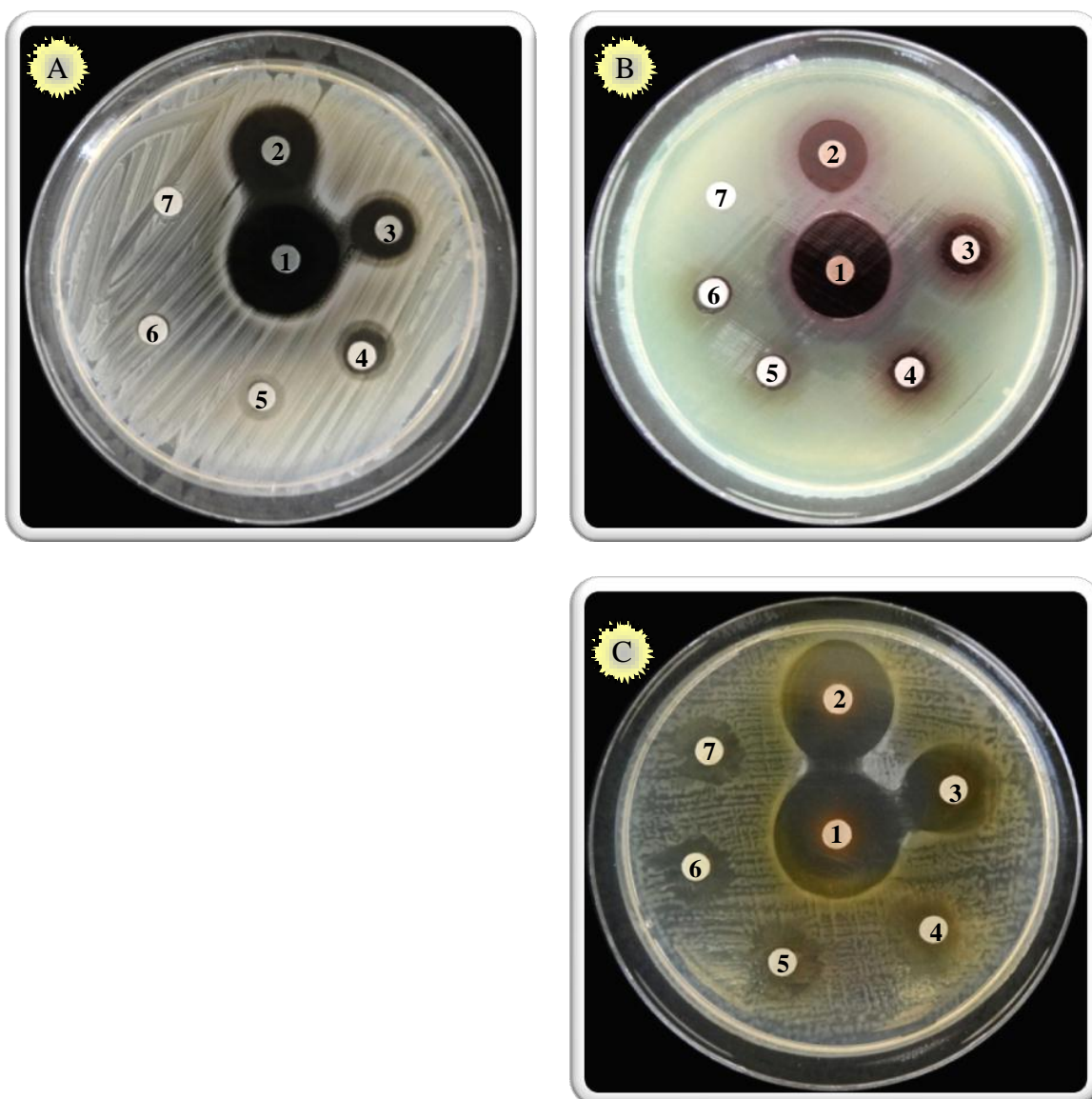


كذلك الحال بالنسبة لفينولات المستخلص الايثانولي H<sub>4</sub>b والحاوي على حامض السيناميك والبارا-هيدروكسي حامض البنزويك فقد كان التأثير التثبيطي له ضد الجراثيم الموجبة لصبغة كرام أعلى من التأثير التثبيطي للمستخلص الايثانولي H<sub>4</sub>a الخام نفسه وأقل من المستخلص الايثانولي الخام تجاه الجراثيم السالبة لصبغة كرام مقارنة بالمضادات الحيوية القياسية كما موضح في مجموعة الصور (2)، إذ تؤثر الفينولات في تثبيط نمو البكتريا من خلال تثبيط الانزيمات المسؤولة عن التفاعلات الايضية الأساسية بتداخلها غير المتخصص مع البروتينات مما يؤدي إلى مسخ البروتين ومن ثم عدم قدرة الجرثومة على الاستمرار (Mason and Wasserman, 1987).

الجدول 3: الفعالية التثبيطية للفينولات الحرة وحامض الماليك المفصولة من أزهار الكجرات ضد الجراثيم المستخدمة قيد الدراسة مقارنة بالمضادات الحيوية القياسية (تركيز المستخلص 800 ملغم/سم<sup>3</sup>).

ت	نوع المعاملة	الجراثيم				
		<i>Pr. mirabilis</i>	<i>Pseudo. aeruginosa</i>	<i>Staph. capitis</i>	<i>Staph. aureus</i>	<i>Cory. diphtheriae</i>
	أزهار الكجرات					
1	المستخلص الاسيتوني H <sub>3</sub> a	1.7±26	1.5±26	2.01±35	1.5±26	1.5±27
2	المستخلص الايثانولي H <sub>4</sub> a	1.5±20	1.5±22	2.5±40	1.5±24	1.5±21
3	فينولات المستخلص الاسيتوني الحاوي على (حامض الفانيليك، الثايمول والبارا-هيدروكسي حامض البنزويك) H <sub>3</sub> b والحاوي أيضاً على الحامض الكاربوكسيلي الماليك Maleic acid	0.5±18	1.8±16	1.8±23	1.5±20	1.5±17
4	فينولات المستخلص الايثانولي الحاوي على (حامض السيناميك والبارا-هيدروكسي حامض البنزويك) H <sub>4</sub> b	1.7±18	1.8±21	2.8±44	2±26	0.5±23
	المقارنة	14	16	24	16	15
		18	10	25	18	19
		18	15	17	12	22

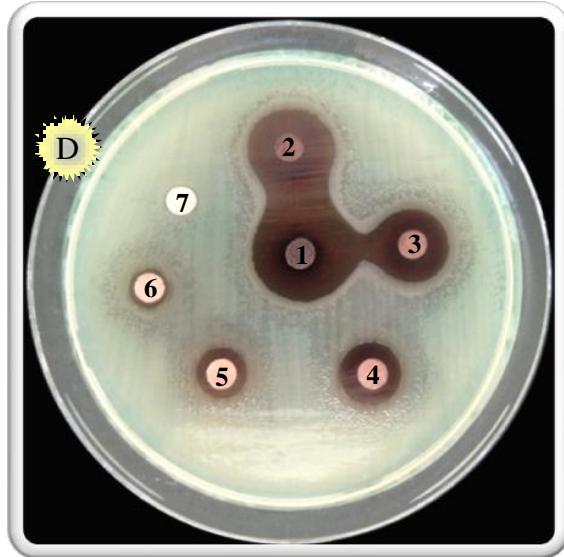
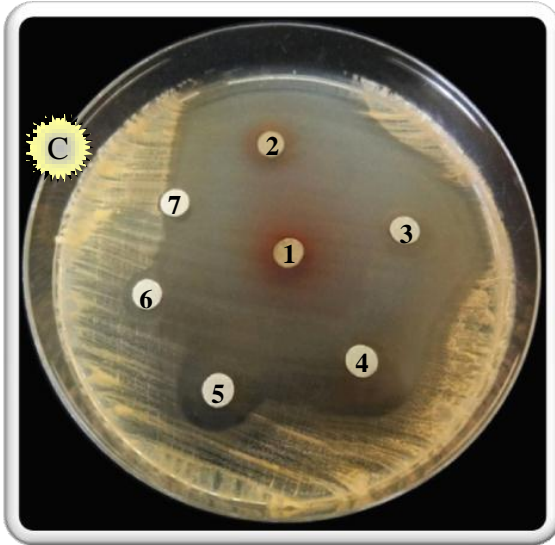
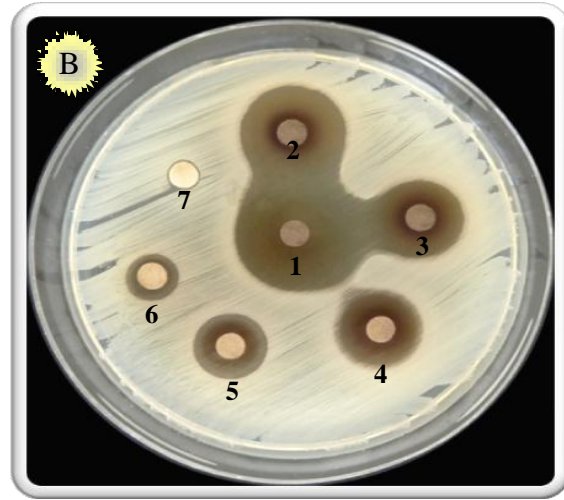
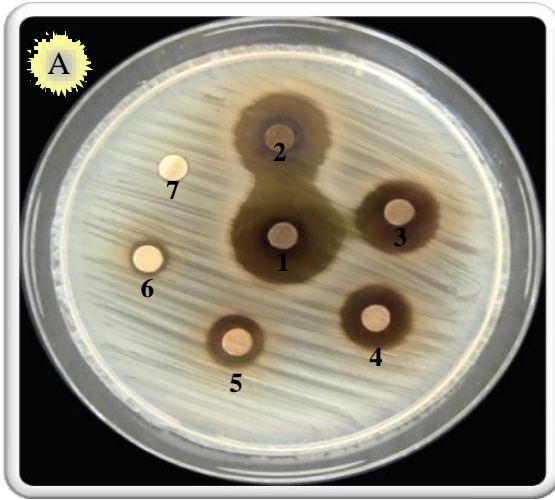
الأرقام بعد الإشارة (±) تمثل الخطأ التجريبي، قطر القرص (6) ملم، معدل قطر التثبيط لثلاث عزلات لكل جرثومة، قطر دائرة التثبيط أكبر من قطر دائرة التثبيط لمضاد المقارنة (تثبيط عال)، قطر دائرة التثبيط مساوٍ لقطر دائرة التثبيط لمضاد المقارنة (تثبيط جيد)، قطر دائرة التثبيط أقل من قطر دائرة التثبيط لمضاد المقارنة (6-12) ملم حساسية معتدلة (MS)، قطر دائرة التثبيط للمستخلص أقل من قطر دائرة التثبيط للمضاد الحيوي المقارنة بأكثر من (12) ملم مقاومة (R). (Vandepitte et al., 2003)



مجموعة الصور 1: تأثير الفينولات (الثايمول، البار-هيدروكسي حامض البنزويك، الفانيلك للمستخلص الالاسيتوني H<sub>3</sub>b لأزهار الكجرات بتركيز مختلفة في الجراثيم:

A. *Staph. aureus* B. *Pseudo. aeruginosa* C. *Pr. mirabilis*

- 1 (800 ملغم/سم<sup>3</sup>)، 2 (400 ملغم/سم<sup>3</sup>)،
- 3 (200 ملغم/سم<sup>3</sup>)، 4 (100 ملغم/سم<sup>3</sup>)،
- 5 (50 ملغم/سم<sup>3</sup>)، 6 (25 ملغم/سم<sup>3</sup>)،
- 7 (12.5 ملغم/سم<sup>3</sup>).



مجموعة الصور 2: تأثير الفينولات (حامض السيناميك والبارا-هيدروكسي حامض البنزويك) المفصولة من المستخلص الايثانولي H<sub>4</sub>b لأزهار الكجرات بتراكيز مختلفة في الجراثيم:

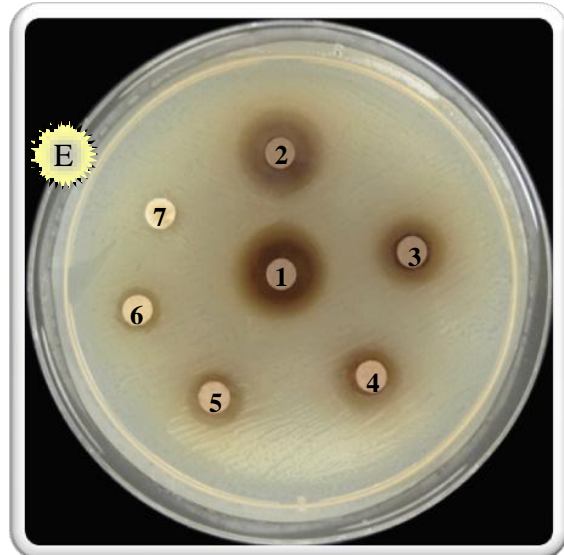
A. *Cory. diphtheriae* B. *Staph. aureus*  
C. *Staph. capitis* D. *Pseudo. aeruginosa*  
E. *Pr. mirabilis*

1 (800 ملغم/سم<sup>3</sup>)، 2 (400 ملغم/سم<sup>3</sup>)،

3 (200 ملغم/سم<sup>3</sup>)، 4 (100 ملغم/سم<sup>3</sup>)،

5 (50 ملغم/سم<sup>3</sup>)، 6 (25 ملغم/سم<sup>3</sup>)،

7 (12.5 ملغم/سم<sup>3</sup>).



## المصادر العربية

الكاتب، يوسف منصور (2000). تصنيف النباتات البذرية. دار الكتب للطباعة والنشر، جامعة الموصل، العراق.

## المصادر الأجنبية

- Al-Daody, A.Ch. (1998). "Chemical Study on some Iraqi Plants". Ph.D. Thesis, College of Science, University of Mosul. 112-113.
- Amin, I.; Emmy, H.K.I.; Halimatual, S.M.N. (2008). Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) seeds – Nutritional composition, protein Quality and Health Benefits. *J. Global Science Books. Malaysia.*
- Behbahani, M.; Shanehazzadeh, M.; Hessami, M.J. (2011). Optimization of callus and cell suspension cultures of *Barringtonia racemosa* (Lecythidaceae family) for lycopene production". *Sci. Agric. (Piracicaba, Braz).* **68**, 69-76.
- CLSI, Clinical Laboratory Standards Institute. (2011). Performance standards for Antimicrobial susceptibility Testing 21 Informational Supplement. Mo2 and Mo7. **31**(1), 68-80.
- Dalirsani, Z.; Adibpour, M.; Aghazadeh, M.; Amirchaghmaghi, M.; Falaki, F.; Mozafari, P.M.; Hamzei, F.M. (2011). *In vitro* Comparism of inhibitory activity of 10 plant extracts against *Candida albicans*. *Aust. J. Basic. Appl. Sci.*, **5**(5), 930-935.
- Fang, N.R. Lai., Bahorun, T.; Khittoo, G. (2001). "Chemosystematic: A new source of evidence for the classification of the endemic flora of Mauritius". Food and Agricultural Research Council, Reduit, Mauritius. pp. 73-79.
- Forbes, B.A.; Sahm, D.F.; Weissfeld, A.S. (2007). "Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology". 12<sup>th</sup> ed., Mosby Elsevier Inc., Houston, Texas.
- Goering, R.V.; Dochrell, H.M.; Wokelin, D.; Zucherman, M.; Chiodini, P.L.; Roitt, I.M.; Mims, C. (2008). "Mims Medical Microbiology". 4<sup>th</sup> ed., Mosby, Elsevier Ltd., China.
- Harborne, J.B. (1984). *Phytochemical Methods*. 2<sup>nd</sup> ed., Chapman & Hall.
- Harborne, J.B. (1998). *Phytochemical Methods*. 3<sup>rd</sup> ed., Chapman & Hall.
- Jelena, J.; Sevetlana, T.; Yatjana, (2007). "Flavonoids in plants" proceeding of the 9<sup>th</sup> symposium of flora of southeastern Serbia and Neighbouring Regions, proceeding, **3**, 153-156.
- Kirchner, J.C. (1978). "Thin-Layer chromatography". XTV, 2<sup>nd</sup> Arnold Weissberger, ed, editoz, Printed in USA.
- Lambert, P.A. (2002). Mechanisms of antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *J. R. Soc. Med.*, **95**(41), 22-26.
- Mahadevan, S.N.; Kamboj, P. (2009). *Hibiscus sabdariffa* Linn. An overview. *Nut. Prod. Rad., Punjab, India.* **8**(1), 77-83.
- Mahalingam, R.; Ambikapathy, V.; Pauneerselvam, A. (2011). Studies on antifungal activities of some medicinal plants against *Ceratocystis paradoxa* causing pineapple disease work. *J. Sci. Tech.*, **1**(7), 10-13.
- Mason, T.L.; Wasserman, B.P. (1987). Inactivation of red beta Glucan synthase by native and oxidized phenolic compounds. *Phytochemistry*. **26**, 2197-2202.
- Miladinovic, D.; Miladinovic, L. (2000). Antimicrobial activity of essential oil of sage from Serbia. *Phys. Chem. and Technol.*, **2**(2), 97-100.
- Olaleye, M.T. (2007). Cytotoxicity and antibacterial activity of Methanolic extract of *Hibiscus sabdariffa*. *J. Medicinal Plants Research, UK.* **1**(1), 009-013.
- Shareef, A.Y. (1998). The molecular effect of some plant extract on the growth and metabolism of some gram positive and gram negative bacteria. Ph.D. Thesis, Coll. Sci., Univ. Mosul, Iraq.
- Townsend, C.C.; Geuest, E.; Omar, S.A.; Al-Khayat, A.H. (1980). "Flora of Iraq". Vol. 8, Ministry of Agriculture and Agrarian Reform, Baghdad.
- Vandepitte, J.; Engnack, K.; Rohner, P.; Piot, P.; Heuck, C.C. (2003). "Basic Laboratory Procedures in Clinical Bacteriology". World Health Organization, Geneva.