

تقدير الفلافونيدات في اوراق نبات الغار Bay Laurel ودراسة فعاليتها الحيوية

نهى علي هادي السامرائي

قسم الكيمياء ، كلية التربية ، جامعة سامراء ، سامراء ، العراق

Nuhaali690@gmail.com

الملخص

تهدف الدراسة الحالية الى استخلاص وتقدير بعض مركبات الايض الثانوية من اوراق الرند لما لها من فوائد مهمة لصحة الانسان ,حيث قدرت الفلافونيدات فسلجت 12.7% و القلويدات 7.8% وقدرت بعض القيم التغذوية في اوراق الرند- الرطوبة, المواد الصلبة الكلية, الرماد, الزيت, الالياف فكانت 5.7%, 94.3%, 20%, 1.7%, 15.1%, على التوالي, كما قدرت انواع الفلافونيدات الموجودة في اوراق الرند بتقنية HPLC فكانت 11.3, 11.1, 14.198, 11.5, Hesperetin, Kaempferol, Myricetin, Chrysin, Quercetin, Luteolin, Apigenin, 10.9, 10.65, 8.49 على التوالي بوحدة $\mu\text{g/ml}$ بالمقارنة مع انواع الفلافونيدات القياسية. كما درست الفعالية البيولوجية للمستخلص الفلافونيدي ضد البكتريا وتم تحضير اربع تراكيز من المستخلص الفلافونيدي هي (200,150,100,50) mg/ml, وقد اعطت التراكيز (200,150) mg/ml تثبيط اتجاه البكتريا السالبة للموجبة والسالبة لصبغة كرام ضد القياسي Gentamicin sulfate بينما التركيز 100 mg/ml لم يعطي تثبيط اتجاه البكتريا السالبة لصبغة كرام بينما اعطى تثبيط قليل اتجاه البكتريا الموجبة مقارنة بالمضاد القياسي اما التركيز 50mg/ml لم يعطي اي تثبيط اتجاه البكتريا السالبة والموجبة لصبغة كرام بالمقارنة مع المضاد القياسي.

الكلمات المفتاحية: الرطوبة, المواد الصلبة الكلية, الالياف, الرماد, الفلافونيدات المستخلصة, القلويدات المستخلصة, التقدير الكمي للفلافونيدات, الفعالية الحيوية.

المقدمة

تأثيراتها المثبطة على بعض الإنزيمات ونشاطها المضاد للأكسدة^[4] اوراق الغار لها العديد من الاستخدامات الطبية منها تعالج أمراض الجهاز التنفسي كالرشح، وتخفف أعراض الإنفلونزا والالتهابات المختلفة و تعزز نشاط الجهاز الهضمي، تُخفف من ألم الروماتيزم والتهابات المفاصل، تحتوي على مواد مضادة للأكسدة تُقلل من خطر الإصابة بمرض السرطان بأنواعه وخاصةً سرطان عنق الرحم عند النساء، تفتت حصى الكلى، وتخلصها من الترسبات والالتهابات^[5].

المواد وطرائق العمل

1- الاجهزة المستخدمة:

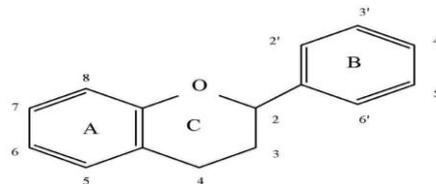
استعملت في الدراسة الحالية الاجهزة التالية المزودة من الشركات المبينة في ادناه.

الجدول (1) الاجهزة والشركات المجهزة ومنشأها

ت	اسم الجهاز	الشركة المصنعة والمشأ	مكان العمل
1	جهاز كروماتوغرافيا السائل عالي الاداء HPLC	Shimadzu/اليابان	مختبرات وزارة العلوم والتكنولوجيا /دائرة بحوث المواد
2	فرن تجفيف	Termaks/النرويج	مختبرات كلية التربية /جامعة سامراء
3	خلاط كهربائي Blender	U.V.P /الولايات المتحدة الامريكية	مختبرات كلية التربية /جامعة سامراء
4	طاحونة كهربائية Grinder	Moulinex/فرنسا	مختبرات كلية التربية /جامعة سامراء

2- المواد الكيميائية المستخدمة: استعملت في الدراسة الحالية المواد الكيميائية عالية النقاوة المجهزة من الشركات المبينة في الجدول رقم (2).

ورق الرند او ورق الغار او ورق سيدنا موسى هي عبارة عن اشجار كبيرة معمرة اسمها العلمي Laurus nobilis وقد استخدمها اليونانيون والرومانيون كمادة طبية بسبب احتواء الاوراق على زيوت طيارة. موطنه الأصلي دول البحر الأبيض المتوسط. هو نبات عطري من فصائل متهددة من الفصيلة اللورية. وتستعمل أوراق الغار الطازجة أو المجففة كنوع من التوابل في الطبخ للاستفادة من الرائحة والنكهة المميزة لذلك النبات. تجود زراعة الغارفي البيئات المتوسطة ذات التربة الغنية والمحمية من الرياح^[1] ما المكونات الفعالة في ورق الغار والتي تدعى بمركبات الايض الثانوية التي يعزى لها التأثير الطبي والفسيوولوجي للنبات ولها قيمتها الدوائية^[2] ومن هذه المكونات هي الفلافونيدات مركبات كيميائية طبيعية توجد في النباتات على شكل فينولات متعددة، وهي صنف من الصبغات الغير محتوية على نيتروجين ولاسيما في أعضاء النبات وهي مركبات ذائبة في الماء، ذات وزن جزيئي واطى نسبياً والفلافونيدات صنف رئيس من مواد الايض الثانوية وتؤلف (5-10) % من النواتج الثانوية المعروفة في النباتات^[3].



وقد عرفت هذه المنتجات الطبيعية بتأثيراتها المفيدة للصحة منذ مدة طويلة، وقد تم عزلها كونها مركبات فعالة ونسبت التأثيرات العلاجية للعديد من الأدوية التقليدية إلى هذه المجموعة من المركبات بسبب

تم وزن المادة وحساب النسبة المئوية.

$$\text{النسبة المئوية للزيت} = \frac{\text{وزن الزيت}}{\text{وزن العينة}} \times 100$$

التقديرات الكمية للمركبات قيد الدراسة

1- القلويدات [8]

تم وضع 2.5 غم من أوراق الغار في بيكر سعة 250 سم³ ثم اضيف له 50 سم³ من 25% حامض الخليك المخفف بالايثانول تدريجياً وترك المزيج لمدة 4 ساعات في درجة حرارة الغرفة، ثم رشح وركز الراشح بالتبخير الى ان يبقى ربع الحجم الاصلي، ثم اضيف اليه وبالتدريج محلول هيدروكسيد الامونيوم المركز قطرة قطرة الى ان اكتملت عملية الترسيب، وجمع الراسب باستعمال جهاز الطرد المركزي وبسرعة 1000 دورة لمدة 20 دقيقة ثم غسل الراسب بـ 10 سم³ من محلول 50% هيدروكسيد الامونيوم. جمع الراسب بالترشيح وجفف عند درجة حرارة 40 م° ثم تم وزنه.

$$\text{النسبة المئوية للقلويدات} = \frac{\text{وزن القلويد}}{\text{وزن العينة}} \times 100$$

2- الفلافونيدات [9]

تؤخذ 10 غم من العينة النباتية وتضاف الى 100 مل من كحول الميثانول 80% ويرشح المحلول بورقه ترشيح من نوع 42 NO Whatman ييخر المستخلص ووزن الراسب والذي يمثل الفلافونيدات الموجودة بالعينة (11).

$$\text{النسبة المئوية للفلافونيد} = \frac{\text{وزن الفلافونيد}}{\text{وزن العينة}} \times 100$$

- تقدير الفلافونيدات بتقنية HPLC [10]

تم الفصل (في وزارة العلوم والتكنولوجيا /دائرة بحوث المواد) باستعمال كروموتوغرافيا السائل عالي الاداء HPLC باستعمال العمود Octadecyl Sililca بأبعاد (50x2.0mm I.D) وبحجم جزيئات 3مايكروميتر (الطور الثابت)، أما الطور المتحرك الناقل يتكون من المذيب الأول (A) 0.1% حامض الفورميك المحضر في ماء خالي من الأيونات، المذيب الثاني (B) يتكون من أسيتونتريل: ميثانول: 0.1% حامض الفورميك بنسبة (6:3:1) وتم قياس القمم بواسطة UV-Vis 10 A-SPD spectrophotometer عند الطول الموجي 338 وتم حقن 0.025 سم³ من كل من المواد الفلافونيدية القياسية بعد تخفيفها وتم تسجيل زمن الاحتجاز والمساحة تحت المنحني لكل حزمة، اما العينة فحضرت من سحق 1غم من أوراق الغار باستخدام الهاون وذوب في 5 سم³ من مزيج إيثانول- ماء (80:20v/v) في أنبوب زجاجي ورج المزيج بجهاز الأمواج فوق الصوتية Ultrasonic لمدة 25 دقيقة بدرجة 25 م° ثم فصل باستخدام جهاز الطرد المركزي بسرعة 7500 دورة لمدة 15 دقيقة تم فصل المحلول الرائق وعرض للفحم لإزالة اللون منه، جففت العينة وذوبت في 1 سم³ ميثانول ويرج المحلول، رشحت العينة باستخدام مرشح ثم حقن في جهاز HPLC حساب تركيز المركبات الفلافونيدية كما في المعادلة التالية:

جدول (2) يبين اسم المادة الكيميائية والشركات المجهزة ومنشأها

ت	اسم المادة	الشركة المصنعة ومنشأها
1	إيثر بترولي (40-60)م°	Sigma- Aldrich الولايات المتحدة الأمريكية
2	حامض الكبريتيك المركز	Biosolve/ هولندا
3	حامض النتريك المركز	BDH/ بريطانيا
4	حامض الهيدروكلوريك المركز	GCC/ بريطانيا
5	حامض الخليك	GCC/ بريطانيا
6	الكحول الميثيلي	GCC/ بريطانيا
7	كلوروفورم	Fluka/سويسرا
8	هيدروكسيد الامونيوم	BDH/ بريطانيا
9	هيدروكسيد الصوديوم	Fluka/سويسرا

تقدير المكونات الكيميائية:

- اختيار العينة وتهيتها: تم شراء عينة ورق الغار من المعاشب المحلية في مدينة سامراء، تم تنظيفها من الاتربة و الاوساخ وتنقيتها جيدا وتجفيفها وطحنها

- الرطوبة:

قدرت في فرن حراري على درجة حرارة (130) م° لمدة ساعة واحدة ولحين ثبات الوزن [6]

$$\text{النسبة المئوية للرطوبة} = \frac{\text{وزن العينة بعد التجفيف}}{\text{وزن قبل العينة}} \times 100$$

- المكونات الصلبة الكلية :-

قدرت بعد فقدان الرطوبة من العينة [6]
%المكونات الصلبة الكلية = 100 - النسبة المئوية للرطوبة

- الرماد

قدرت في 2 غرام من أوراق الغار وحسب ما ذكر [6]

$$\text{النسبة المئوية للرماد} = \frac{\text{وزن الرماد}}{\text{وزن العينة}} \times 100$$

- الألياف [6]

تم وزن مسحوق ورق الغار المستخلص منه الدهن ثم أضيف إليه 50 سم³ من 1.25% حامض الكبريتيك الساخن، وعلو المزيج لمدة نصف ساعة مع مراعاة وضع حجر الغليان، ورشح المحلول وغسل الراسب بالماء المقطر الساخن لإزالة الحامض. تم إضافة 50 سم³ من 1.25% هيدروكسيد الصوديوم الساخن إلى الراسب ثم غلي لمدة 15 دقيقة. رشح المزيج وغسل الراسب بالماء المقطر الساخن ثم غسل بـ 1% حامض النتريك ومرة ثانية بالماء المقطر الساخن و جفف الراسب في فرن التجفيف بدرجة 80 °C ثم وزن وحسبت النسبة المئوية.

$$\text{النسبة المئوية للقلويدات} = \frac{\text{وزن الرماد}}{\text{وزن العينة}} \times 100$$

-الزيت [7]

تم وزن 10غم من مسحوق أوراق الغار وضعت في جهاز السكسوليت Soxhlet بوجود 180 سم³ من البتروليوم إيثر Petroleum ether كمذيب، سخن المزيج في حمام مائي عند درجة 40م° لمدة 10 ساعات. بعدها بخر المذيب باستعمال جهاز المبخر الدور Rotary evaporator عند درجة 35م° حتى الجفاف.

قدرت كمية الزيت المستخلص من نبات اوراق الغار فكانت 1.7% وهذه النتيجة لا تتفق مع ما توصل اليه (Said و Hussein) [11] والسبب يعود ربما الى طبيعة الاستخلاص ودرجة غليان المذيب.

اما الرطوبة فسجلت 5.7% وهذه النتيجة لا تتفق مع ما توصل اليه (Said و Hussein) [11] حيث توصل الاخير ان الرطوبة هي 10% ويعود السبب طبيعة المنطقة ودرجة حرارتها لان (Hussein و Said) [11] جمع اوراق الغار من اشجارها من اربعة مناطق مختلفة من لبنان بينما العينة قيد الدراسة تم شرائها من المعاشب المحلية وهي جافة. اما الالياف فكانت نسبته 15.1% ان هذه النسبة معتدلة حيث تكون مفيدة لخفض مستويات الكوليسترول في الدم و كذلك كلكوز الدم بالاضافة الى دور الالياف في خفض سرطان القولون تمتلك الالياف تأثيرات حيوية في امتصاص وإعادة امتصاص أحماض الصفراء ومن ثم امتصاص الدهون الغذائية والكوليسترول إن استهلاك كميات مناسبة من الالياف الغذائية يمكن أن يخفض مستوى الكوليسترول في مصل الدم ومخاطر أمراض القلب التاجية وارتفاع ضغط الدم والإمساك ومرض السكري وسرطان القولون اما الرماد فسجل 20% وجود مستوى العناصر المعدنية العالية في اوراق الغار والضرورية لحياة الانسان [12] اما الفلافونيدات فسجلت 12.7% هي نسبة جيدة لان الفلافونيدات هي المسؤولة عن مضادات الأكسدة بسبب قدرتها على منح الهيدروجين أو الإلكترون المفرد اذ لها القابلية على اختزال الجذور الحرة وتثبيت الانزيمات المسؤولة عن توليد انواع الاوكسجين التفاعلية كما تعمل الفلافونيدات ايضا على ربط العناصر وبالتالي توقف سلسلة التكاثر أثناء عملية الأكسدة مما يؤدي الى حماية الجزيئات البيولوجية الداخلة في تركيب الخلية الحية ضد الأكسدة [13] وهذه النتيجة لا تتفق مع ما توصل اليه (Capanoglu وآخرون) [14] حيث وجد ان النسبة المئوية للفلافونيدات المستخلصة من اوراق الغار هي 9.5% وكذلك لا تتفق مع ما توصل اليه (Mojca Skerget وآخرون) [15] حيث وجد ان نسبة الفلافونيدات هي 80.1 ملغم /كغم للمستخلص الميثانولي والسبب قد يعود الى نوع ورق الغار المستخدم وطبيعة البيئة حيث جمع (Mojca Skerget وآخرون) [15] العينات من اشجار الغار في مناطق البحر المتوسط باختلاف البيئات، اما العينة قيد الدراسة تم شرائها من المعاشب المحلية.

- فصل الفلافونيدات باستخدام جهاز كروماتوغرافيا السائل عالي

الاداء HPLC

يبين الشكل (1) الفلافونيدات القياسية المفصولة بواسطة جهاز HPLC لغرض المقارنة وحساب تركيزها في النماذج المدروسة وبيين الجدول رقم (4) زمن الاحتجاز ومساحة الحزمة واسم الفلافونيدات القياسية.

$$\text{Conc. of flavonoids } (\mu\text{g/ml}) = \frac{\text{Area of sample}}{\text{Area of standar}} \times C$$

$$C = \text{تركيز المحلول القياسي} = 25 \text{ مايكروغرام/سم}^3$$

تعقيم المادة المستخلصة

تم اذابة المواد المستخلصة في ثنائي ميثيل سلفوكسيد (DMSO) بنسبة (5:1)(V/W) للحصول على تركيز (200) ملغم/مل والذي استخدم في تحضير التراكيز (50, 100, 150) ملغم /100مل. ثم عقم المزيج بطريقة البسترة ودرجة حرارة (62)م³ لمدة (10) دقائق.

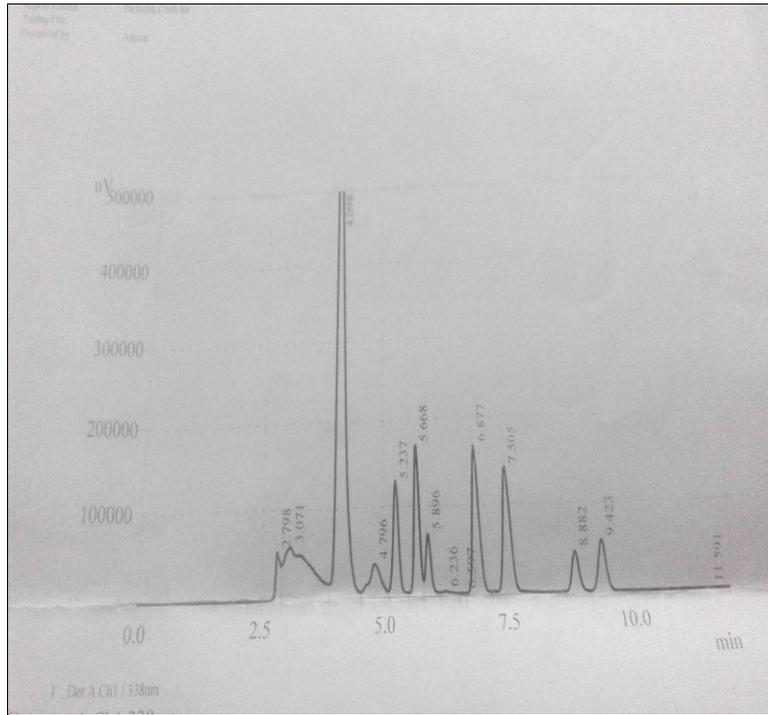
اختبار الفعالية التثبيطية

اختبرت الفعالية للمستخلص المحضر على البكتريا بطريقة الانتشار في الحفر (Agar-well diffusion method)، حيث صُب (1.5ml) من العزلات البكتيرية المستعملة والمنشطة في الوسط المغذي في ورق مخروطي يحتوي على (250ml) من الوسط الزرعي بحالته السائلة عند درجة حرارة (40°C) ثم حرك بشكل جيد لضمان التلوث بشكل كامل، وصُب في أطباق بتري بكمية (18ml) لكل طبق وُثِرَ ليتصلب بدرجة حرارة الغرفة بعد التصلب تم عمل حفر في الأطباق بطريقة Cylinder metric method (وفقاً لدستور الأدوية الأمريكي USP 35) بواسطة الثاقب الفليني (Cork borer)، اما العزلات البكتيرية أُختبر نوعان من العزلات الجرثومية تم الحصول عليها من شعبة الأحياء المجهرية/ دائرة المختبرات المركزية/ الشركة العامة لصناعة الأدوية والمستلزمات الطبية-سامراء، أحدهما سالبة لصبغة كرام (Gr^{-ve}) وهي *Escherichia coli* والأخرى موجبة لصبغة كرام (Gr^{+ve}) وهي *Staphylococcus aureus* وقد تم اختيار حساسية البكتريا للمستخلص بطريقة الانتشار في الحفر إذ تم وضع (40µl) من المركبات المحضرة للتراكيز الاربعة (200,150,100,50mg/ml) في كل حفرة من الحفر ووضع (40µl) من المضاد القياسي (Gentamicin sulfate) بتركيز (5mg/ml)، وتم حضن الأطباق في الحاضنة تحت درجة حرارة (37°C) لمدة (24hrs)، وتم قياس أقطار مناطق تثبيط النمو الميكروبي بواسطة جهاز Zone reader .

النتائج والمناقشة

الجدول رقم (3) النسبة المئوية لبعض القيم التغذوية في اوراق الغار

القيم التغذوية	النسبة المئوية
الرطوبة	5.7%
المكونات الصلبة الكلية	94.3%
الالياف	15.1%
الرماد	20%
الزيت	1.7%
الفلافونيدات	12.7%
القلويدات	7.8%



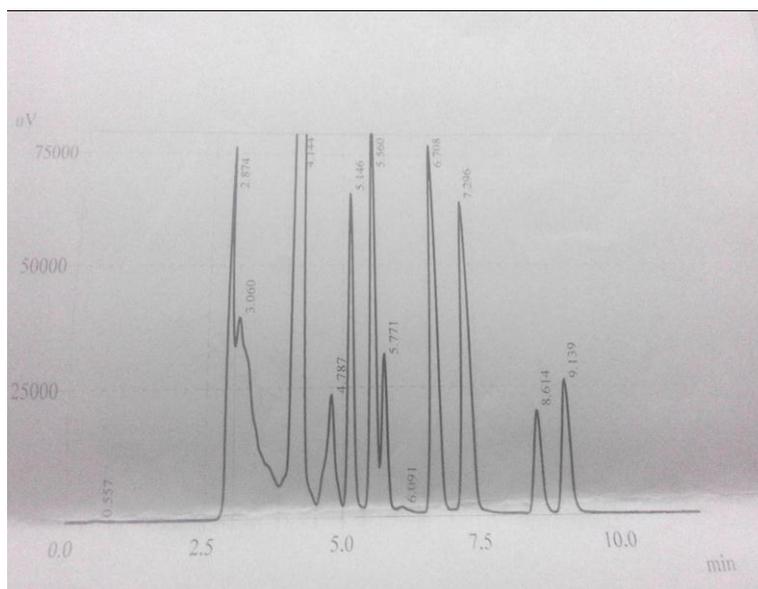
الشكل رقم (1) الفلافونيدات القياسية المفصولة بجهاز HPLC وباستخدام عمود الفصل (50x2.0mm I.D)

جدول رقم (4) زمن احتجاز ومساحة تحت القمة للفلافونيدات القياسية المفصولة بجهاز HPLC

Seq	Flavonoids	R.t	Area	Con. µg/ml.
1-	Apigenin	4.796	657628	µg/ml.25
2-	Luteolin	5.237	1054059	
3-	Quercetin	5.89	531675	
4-	Chrysin	6.877	158867	
5-	Myricetin	7.505	1643715	
6-	Kaempferol	8.882	483895	
7-	Hesperetin	9.423	861172	

ويبين جدول رقم (4) زمن الاحتجاز ومساحة تحت الحزمة للفلافونيدات القياسية المفصولة بجهاز HPLC من اجل المقارنة مع العينات.

ويبين الشكل رقم (2) الفلافونيدات المفصولة من جهاز HPLC في اوراق الغار.



الشكل رقم (2) الفلافونيدات المفصولة بجهاز HPLC وباستخدام عمود الفصل (50x2.0mm I.D) في اوراق الغار

والسالبية لصبغة كرام، اما التركيز 150 ملغم /مل اعطى اعلى تثبيط بقطر 18–22mm بالنسبة لبكتريا موجبة لصبغة كرام بينما اعطى تثبيط بقطر 12-17mm للبكتريا سالبة لصبغة كرام، اما التركيز 100ملغم /مل اعطى تثبيط قليل لبكتريا موجبة الصبغة 7-11mm بينما لى يعطي اي تثبيط للبكتريا سالبة لصبغة كرام وكذلك التركيز 50ملغم /100مل لم يعطي اي تثبيط لبكتريا موجبة وسالبة لصبغة كرام.

اظهرت النتائج ان التركيز 200 ملغم /مل للفلافونيدات المستخلصة اعلى تثبيط للبكتريا الموجبة والسالبة لصبغة كرام، اما التركيز 150 ملغم /مل فقد اعطى اعلى تثبيط بالنسبة لبكتريا الموجبة لصبغة الكرام قيد الدراسة، ان كفاءة المستخلص الفلافونيدي في قتل الجراثيم والفطريات تعود الى ان المركبات الفلافونيدية تحوي مجاميع كاربوكسيل (COOH) ومجموعة او اكثر من مجاميع ال هيدروكسيل (OH) مما يزيد من تركيز الشحنة السالبة في المركب وتصبح اكثر فعالية اذ تستطيع ترسيب بروتينات الجدار الخلوي وبذلك تزداد قدرتها التثبيطية، كما تعمل مجاميع الهيدروكسيل الموجودة في المركب على تكوين اواصر هيدروجينية مع بروتينات الجدار الخلوي مما يؤدي الى تحطيم الجدار الخلوي^[16] وقد بينت العديد من الدراسات السابقة ان للمركبات الفلافونيدية اهمية ضد مايكروبية عدد كبير من الاحياء المجهرية وأن القدرة التثبيطية للمركبات الفلافونيدية تزداد بزيادة مجاميع الهيدروكسيل ان مجاميع الهيدروكسيل تمتلك القدرة على الارتباط بواسطة اواصر هيدروجينية مع المجاميع الفعالة للانزيمات المساعدة وتعمل المجاميع الهيدروكسيلية كذلك على ترسيب البروتينات بسبب تكوينها اواصر هيدروجينية مع تلك البروتينات وبذلك تعمل على تثبيط انزيمات ضرورية في الكائنات المجهرية^[17] واكدت دراسات اخرى ب أن المركبات الفلافونيدية تمتلك فعلا بايولوجيا قويا فهي تعد كمضادات للالتهابات والحساسية كما تعمل على تثبيط الالتهابات البكتيرية عن طريق تقليل اطلاق الوسائط الالتهابية والعمل على زيادة ثباتية الغشاء الخلوي وتمتلك المركبات الفلافونيدية قدرة على اقتناص الجذور الحرة (antioxidant) وبالتالي فهي تملك فعالية ضد تأكسدية ان الخاصية العالية لاقتناص الجذور الحرة لبعض المركبات مضادات جيدة للالتهابات الجرثومية والفطرية و اشارت دراسة^[18] الى ان المركبات الفلافونيدية تعد ذات فائدة في معالجة الالتهابات، وانها تعمل على تخفيف الالتهابات والاستجابة المناعية خلال تثبيطها لمنظمات الانزيمات المهمة، الدراسة اشارت كذلك الى ان المركبات الفلافونيدية ذات قدرة تثبيطية على تثبيط بعض الجزيئات المحفزة على بدء الالتهابات (prostaglandins)^[19].

ويبين الجدول رقم (5) تركيز وزمن الاحتجاز وعرض الحزمة واسم الفلافونيدات المفصولة في اوراق الرند وذلك بالمقارنة مع زمن احتجاز وعرض الحزمة للفلافونيدات القياسية.

جدول رقم (5) تركيز و زمن احتجاز ومساحة تحت القمة للفلافونيدات المفصولة بجهاز HPLC في اوراق الغار بالمقارنة مع زمن ومساحة

احتجاز الفلافونيدات القياسية

Seq	Flavonoids	R.t	Area	Con. µg/ml.
1-	Apigenin	4.786	302620	11.5
2-	Luteolin	5605.	598633	14.198
3-	Quercetin	5.771	237692	11.1
4-	Chrysin	6.708	719320	11.3
5-	Myricetin	7.29	716834	10.9
6-	Kaempferol	8.614	206171	10.65
7-	Hesperetin	9.139	292494	8.49

تتراوح تراكيز الفلافونيدات المفصولة من اعلى تركيز µg/ml 14.198 في Luteolin الى اقل تركيز µg/ml 8.49 سجل Hesperetin اما Apigenin و Chrysin و Quercetin و Myricetin و Myricetin و Kaempferol فسجلت 11.5، 11.3، 11.1، 10.9، 10.65 على التوالي بوحدة µg/ml وذلك بالمقارنة مع زمن احتجاز القياسي. من خلال النتائج وجد ان انواع الفلافونيدات المفصولة بتقنية HPLC تتفق مع النتائج التي حصل عليها (Mojca Skerget) واخرون^[14] حيث وجد الاخير بالتحليل للمستخلص الميثانول نوعين من الفلافونيدات هي Quercetin، kaempferol ولكن نسب التراكيز التي حصل عليها مختلفة.

دراسة الفعالية الحيوية

جدول رقم (6) بين الفعالية التثبيطية للفلافونيدات المفصولة من اوراق الغار في نمو عدد من البكتريا السالبة و الموجبة لصبغة كرام حيث قورنت النتائج بالمضاد القياسي (Standard) والمذيب المستخدم (Control).

نوع البكتريا	200mg/ml	150mg/ml	100mg/ml	Mg 50/ml
<i>Escherichia coli</i>	18 – 22	12 – 17	لا يوجد	لا يوجد
<i>Staphylococcus aureus</i>	18 – 22	18 – 22	7 – 11	لا يوجد

❖ قطر التثبيط مقاس ب ملم للعزلات البكتيرية

❖ المضاد القياسي هو (Gentamicin sulfate)

❖ المذيب المستخدم DMSO

❖ (-) = لا يوجد تثبيط

❖ (+) = تثبيط بقطر 7 - 11mm

❖ (++) = تثبيط بقطر 12 - 17mm

❖ (+++) = تثبيط بقطر mm

اظهرت النتائج ان التركيز 200 ملغم /مل من الفلافونيدات المستخلصة اعطى اعلى تثبيط بقطر 18–22mm للبكتريا الموجبة

المصادر

- 1- الحكيم وسيم، النباتات الطبية والعطرية (جامعة دمشق 1997).
- 2- Rebello CJ, Liu AG, Greenway FL, Dhurandhar NV: Dietary strategies to increase satiety. Adv Food Nutr Res. 2013, 69: 105-182.

- 3- Madhuri, G. , Reddy, A.R. Plant Biotechnology Of Flavonoids . (Review) .Plant Biotechnology 1999;16(3):179–199.
- 4- Prey, J.O.; Brown, J.; Fleming, J., Harrison, P.R.. Effect of dietary flavonoids on major signal

- transduction pathways in human epithelial cells. J. Biochem. Pharmaco. 2003; 66(11): 2075-2088.
- 5- Simic, M; Kundaković, T; Kovacević, N (September 2003). "Preliminary assay on the antioxidative activity of Laurus nobilis extracts". Fitoterapia **74** (6): 613–6.
- 6- AOAC. *Official methods of analysis of the association of analytical Chemists, Washington D.C. 1990* : 12-13.
- 7- AOAC. *Official methods of analysis of the association of official's analytical chemists, 17th edn. Association of official analytical chemists, Arlington, Virginia. 2003.*
- 8-Mattila, P.; Hellström, J. "Phenolic acids in potatoes, vegetables, and some of their products" . *J. Food Compos. Anal.*2007; 20: 152-60.
- 9- سرکيس، جورج جونائان والراوي، قاسم محمد وكاطع محمد. (تشخيص المركبات العضوية بالطرق الكيمائية). مطبعة جامعه بغداد 1980
- 8- Soares B., Palacios N., Fraga N., Rodrigues R.. Liquid chromatographic method for quantifying polyphenols in ciders by direct injection. *Journal of chromatography A* 2005; 1066(1) : 105-110
- 11- Said Chmit Mohammad; Hussein Kanaan. Determination of the chemical and genetic differences of lauras collected from their different geographic and climatic areas in Lebanon. *European Scientific Journal* 2014 edition vol.2 ISSN: 1857 – 7881
- 12- Bhat R., Kiran K., Arun A and Karim A. Determination of mineral composition and heavy metal content of some nutraceutically valued plant products. *Food Analytical methods* 2010; 3. 181-187.
- 13- Okwu, D. E.. Phytochemicals and vitamin content of indigenous spices of Southeastern (2004)6: 1249-1270. *Nigeria. J. Sustain. Agric. Environ.*, 6(1): 30-37.
- 14- Capanoglu, Esra; Boyacioglu, Dilek; Hallb, c; and Jules, Beekwilderb Procyanidins in fruit from Sour cherry (*Prunus cerasus*) differ strongly in chainlength from those in Laurel cherry (*Prunus lauracerasus*) and Cornelian cherry (*Cornus mas*). (2011) *Journal of Berry Research* 1137–146
- 15 -Skerget Mojca; Kotnik Petra; Ri, Majda Hadolin; Marjana Si. Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food Chemistry* (2005) 191–198
- 16- Kumar, G., L. Karthik, K.V.B. Rao.. A Review on Pharmacological and Phytochemical Properties of *Zingiber officinale* Roscoe (Zingiberaceae). *Journal of Pharmacy Research* 2011;4(9): 2963-66 .
- 17- N. Azu and R. Onyeagba. *The International Journal of Tropical Medicine*. 3: (2) . (2007).
- 18- Manthey K. S.; Bimlesh, K.; Sunil, P.; Prashant T.; Manoj, S. and Pardeep, S. A. Review of Phytochemistry and Pharmacology of Flavonoids. *Inter. Pharmaceutica. Sci.* 2011;1(1):25-41.
- 19- P. Feeny. *J. Phytochemistry*, 8: 2119-2126 . (1998).

Estimate of the flavonoids in the Leaves of Bay Laurel Studying their Bio-activity

Teacher :Nuha Ali Hadi AL-Samarrai

Department of Chemistry, College of Education, University of Samarra , Samarra , Iraq

Email: Nuhaali690@gmail.com

Abstract

The recent study aimed at extracting and estimating some of the secondary metabolic compounds taken from Leaves of Bay Laurel due to their important benefits for the human health. The flavonoids were and registered 12.7% and alkaloids 7.8%. Some of the dietary value in the leaves of Bay Laurel—moisture, total solids material, ash, oil, fiber were 5.7%, 94.3%, 20%, 1.7%, 15.1%, respectively. The kinds of flavonoid in leaves of Bay Laurel were estimated also by the HPLC technique. They were as following: Apigenin, Luteolin, Quercetin, Chrysin, Myricetin, Kaempferol and Hesperetin. So they registered their values: 11.5, 14.19, 11.1, 11.3, 10.9, 10.65, 8.49 respectively by unit $\mu\text{g}/\text{ml}$. By comparison with the standard flavonoid kinds as well as studying the bio-activity of the flavonoid extract against bacteria, four concentrations from the flavonoid extract were prepared: (50, 100, 150, 200) mg/ml. Concentrations (150, 200) mg/ml gave an inhibition against positive and negative gram bacteria against normal Genamicin Sulfate whereas the concentrations 100 mg/ml did not give any inhibition against negative gram bacteria but give a little inhibition against the positive-gram bacteria compared with normal inhibition. The concentrations 150 mg/ml did not give any inhibition against the negative and positive gram bacteria compared with normal inhibition Genamicin Sulfate.

Key words: Moisture, total solids materials, fiber, the extracted flavonoids, Quantitative value to flavonoids bio-activity.