التقييم النوعي والكمي للفلافونويدات المستخلصة من بذور نبات الكراويا (*Carum carvi* L.)
Qualitative and Quantitative Estimation of Flavonoids Extracted from Caraway (*Carum carvi* L.) Seeds

نصر عفت العبيدي حميد حسين علي زيد اكرم ثابت*
كلية العلوم/ جامعة الانبار
*مركز بحوث التقنيات الاحيائية/ جامعة النهرين
Naser A. Alobaidy Hamid H. Ali Zaid A. Thabit*
College of Science/ AL-Anbar University
*Biotechnology Research Center/ AL-Nahrain University

E-mail: Naseraafet@yahoo.com

الملخص

الكراويا من النباتات الطبية المهمة والتي تحتوي على مجموعة من نواتج الايض الثانوي ذات الفعالية الحيوية الواسعة. استخلصت بذور النبات الجافة باستخدام اربع مذيبات منفصلة هي: الميثانول %70, الايثانول%70, الهكسان%70 والماء بالاستخلاص المستمر باستخدام جهاز السكسليت Soxhlet لثلاث مذيبات. تم الكشف الكيميائي للمكونات الفعالة في المستخلصات الخام. وقد استخلصت الفلافونويدات من بذور نبات الكراويا باستخدام الـ Reflex وتعريضها الى صفيحة TLC. استخلص الجزء غير السكري aglycon بالكلوروفورم. تم الكشف عن الفلافونويدات للمستخلص باستخدام تقنية HPLC. نتائج هذه الدراسة بينت ان كل المستخلصات تختلف مكوناتها عن الاخرى وان النبات غني بالفلافونويدات وبالأخص الروتين والكوارستين والكامفيرول واليوتيولين وكميات قليلة من الكومارين. الفلافونويدات الكلية لكل غرام من مسحوق بذور الكراويا الجافة تساوي 0.78 ملغم.

الكلمات المفتاحية: الكراويا، بذور، الاستشراب السائل الفائق الاداء، كروموتوغرافيا الفصل بالطبقة الرقيقة، الروتين

Abstract

Caraway *(Carum carvi* L.*)* was an important medicinal plant, which contains a lot of secondary metabolites with wide bioactivity. The dried seeds plant was extracted overnight with four solvents separately: 70% methanol, 70% ethanol, 70% n-hexane and water by continuous hot extraction using Soxhlet apparatus for the three solvents and by maceration with the last. Chemical detection for major active constituents in the four extracts was performed. The flavonoids was isolated from the crud plant using reflux, and subjected to thin layer chromatography (TLC). The aglycon moiety was extracted with chloroform.The extracted material was augmented by using high performance liquid chromatography (HPLC).The result of this study was indicated that each solvent extracts different compounds than the other and the plant was rich with flavonoids specially Rutin, Quarecetin kaempferol, Luteolin and less amount of Cumarins. The total flavonoid in each one gram dried caraway seed is 0.78mg.

Key words: caraway, Seeds, HPLC technique, TLC, Rutin

المقدمة

الكراويا .*Carum carvi* L من النباتات المعمرة من الفصيلة الخيمية تتميز بجذورها الغليظة واوراقها المركبة وازهارها البيض الصغيرة وثمارها قليلة الانتشار وهي نباتات عشبية ثنائية الحول لها جذر وتدي وساق قائمه متفرعة واوراقها كثيرة التفصيص مجنحة الشكل ثمارها اقاويحيه [1]. عرفت زراعة نبات الكراويا في العصور الوسطى في صقلية وشبة الجزيرة الاسكندنافية. استخدمت كعقار بشكل واسع وتستخدم حديثاً لأغراض صناعية متعددة. تزرع تجارياً في هولندا والمانيا وبولندا واوكرانيا وهنغاريا ورومانيا والسويد والنرويج واسبانيا والنمسا وكذلك يزدهر انتاجها في مناطق اخرى من العالم مثل كندا والولايات المتحدة وفلندا وسوريا والمغرب، ففي سوريا والمغرب تزرع الاصناف الحولية. بينما ينتشر انتاج الطرز المحولة في بلدان اوربا الوسطى والغربية لاحتياجاتها البيئية البسيطة و حاصلها العالي وكذلك يزدهر انتاجها في ايران والعراق [2]. وتزرع ايضا في اسيا وشمال افريقيا واوربا وكاليفورنيا وإندونيسيا وشمال امريكيا وروسيا والهند كما تعد الولايات المتحدة اكبر منتج للكراويا للعام 2006 [4,3]. تسمى الكراويا بـ Carvi, Cumin des press في (فرنسا وايطاليا) وKummel في (المانيا) وAlcaravea في (اسبانيا) وKarriy في (هولندا) وKminek في (بولندا) و Komeny في (هنغاريا) ، فلكل بلد اوربي تسميته الخاصة به إلا انها مشتقة من الكلمة العربية كراوية [5,1]. القيمة الطبية والغذائية لبذور الكراويا تعتمد على طبيعة المكونات الموجودة في بذور هذا النبات حيث تحتوي بذور النبات على البروتينات والراتنجات والكلايكوسيدات والتانينات و الصابونينات والفلافونويدات, والفينولات التي من اهمها(الثيمول, الاوجينول, او Carvacrol) [7,6].

المواد وطرائق العمل

A- جمع النبات واستخلاصه

تم جمع عينات من بذور نبات الكراويا من معشب النباتات الطبية في الباب المعظم – بغداد – العراق وتم تصنيفه في معشب كلية العلوم جامعة بغداد. جلبت عينات من بذور نبات الكراويا الى المختبر حيث تم تنظيفها من الأتربة العالقة بها بصورة جيدة, وبعد تجفيفها بدرجة حرارة

الغرفة 25م طحنت بمطحنة كهربائية ثم عبئت في حاويات معقمة وذات سداد محكم وحفظت بعيدا عن الضوء المباشر في الثلاجة لحين الاستخدام. وزن 50 غم من مسحوق بذور الكراويا الجافة, وضعت في الكثبان Thampel في جهاز السكسليت Soxhlet واستخدم 400مل من المذيبات الاتية كل على انفراد (ميثانول70%, ايثانول70% وهكسان) ولمدة ثماني ساعات, وتم تنقيع 50 غم اخرى في 400مل ماء مقطر لمدة 48 ساعة. ثم رشحت المستخلصات باستخدام الضغط المخلخل وورق ترشيح. بعدها تم تركيز المستخلصات باستخدام المبخر الدوار بدرجة حرارة45م لجميع المستخلصات عدا المائية حيث تم تجفيفها بفرن بدرجة 65 م. تم نقل المستخلصات المركزة, ووزنت وقدرت نسبتها المئوية ونقلت الى حاويات معقمة ملائمة وحفظت في الثلاجة بدرجة 4 م لحين الاستخدام [9].

B- الاختبارات الكيميائية

تم أجراء كشوفات نوعية للتعرف على المكونات الكيميائية للنبات قيد الدراسة

1- الكشف عن التانينات Tannins test

تم الكشف بإضافة بضع قطرات من محلول 1% كلوريد الحديديك إلى المستخلص المائي للنبات وان تكون لون أزرق مخضر دلالة على وجود التانينات [10] .

2- الكشف عن الكلايكوسيدات والسكريات Glycosides test

اجري الكشف بمزج 1 مل من المستخلص المائي للنبات مع 2 مل من كاشف بندكت ، ووضع المزيج في حمام مائي مغلي لمدة 5 دقائق و ترك المحلول ليبرد عند تكون راسب أحمر دلالة على وجود الكلايكوسيدات [11] .

3- الكشف عن القلويدات Alkloids test

تم الكشف بإضافة 1-2 مل من كاشف دراكندروف إلى 5 مل من المستخلص المائي وان ظهور لون برتقالي محمر دلالة على وجود القلويدات [12].

4- الكشف عن الصابونين Saponin test

اجري الكشف بإضافة 3 مل من محلول 1% كلوريد الزئبقيك إلى 3 مل من المستخلص المائي وترك لمدة 5-10 دقائق تكون راسب ابيض دلالة على وجود الصابونين [13].

5- الكشف عن الفلافونيدات Flavonoids test

اجري الكشف بإضافة 5مل من الامونيا المخففة (3M) إلى 10 مل من المستخلص المائي للنبات ثم إضافة بضع قطرات من حامض الكبريتيك المركز وعند تكون لون اصفر دلالة على وجود الفلافونويدات [14].

6- الكشف عن الفينولات Phenolic test

يتم الكشف بإضافة 2 مل من 1% كلوريد الحديديك إلى3 مل من المستخلص المائي ثم اضافة 2 مل من 1% سيانيد البوتاسيوم الحديديكي الى المزيج يتكون لون اخضر مزرق قاتم دلالة على وجود الفينولات [15] .

7- الكشف عن الراتنجات Resin test

يتم بإضافة 50 مل من الكحول الاثيلي إلى 5 غم من مسحوق النبات وتركه في حمام مائي مغلي لمدة دقيقتين، يرشح بعدها ويضاف للمحلول 20 مل من الماء المقطر المحمض بـ (4%) حامض الهيدروكلوريك حيث يلاحظ تكون عكوره دلالة على وجود الراتنجات [13].

8- الكشف عن التربينات Terpenoides

أضيف 5 مل من المستخلص المائي إلى 2 مل من الكلوروفورم تبعها إضافة 3 مل من حامض الكبريتيك المركز بحذر على الجدار الداخلي لأنبوبة الاختبار حيث تكونت طبقة فاصلة ذات لون احمر مسمر دلالة على وجود التربينات [15].

9- الكشف عن الأحماض الامينية Amino acids

أضيفت قطرتان من 0.2 % ننهايدرين إلى 1 مل من المستخلص النباتي ووضعت أنبوبة الاختبار في حمام مائي مغلي لمدة دقيقتين، تكون لون أرجواني أو أصفر دلالة على وجود الأحماض الامينية [11].

C- استخلاص الفلافونويدات الكلية من بذور نبات الكراويا Extraction of total flavonoids from Caraway

وزن 75غم من مسحوق بذور الكراويا ووضعت في دورق زجاجي سعته 1 لتر ثم اضيف 600 مل ماء مقطر مضافا اليه 10% ح/ح من حامض HCl. تم الاستخلاص الانعكاسي Reflex extraction لمدة 8 ساعات متواصلة لضمان كسر الاصرة الكلايكوسيدية للفلافونويدات والحصول على الجزء غير السكري aglycon.

رشح المستخلص وبرد الراشح, يتم استخلاص الجزء غير السكري aglycon وهو الجزء الفعال للفلافونويدات بواسطة مذيب عضوي مثل الكلوروفورم بإضافة 50 مل كلوروفورم لكل 35 مل مستخلص وتكرر العملية ثلاث مرات باستخدام قمع فصل. تجمع طبقة الكلوروفورم في قمع الفصل مرة اخرى ويضاف اليها كمية مساوية من الماء المقطر لإزالة بقايا حامض HCl المستخدم في الاستخلاص. وتم اخيرا تجفيف طبقة الكلوروفورم باستعمال المبخر الدوار Rotary evaporator بدرجة 45مْ. وحفظ الناتج لإكمال اجراء بقية التحاليل [16].

D- تحديد الفلافونويدات الكلية

- الفحص النوعي Qualitative assay

اذيبت الفلافونويدات الكلية Total Flavonoids المستخلصة بالخطوة اعلاه في 25 مل من الكحول الاثيلي بتركيز 50%. وحضرت نماذج للفلافونويدات القياسية بالايثانول Standards Flavonoids solution والتي تشمل: الروتين (Rutin, الكوارستينQuercetin والبوتيولينLuteolin. اجريت عملية كروموتغرافيا الطبقة الرقيقة Thin layer chromatography (TLC) باستعمال صفيحة المنيوم مغطاة بمادة السليكا 60 رقيقة بسمك 0.1 ملم والذي يمثل الطور الثابت في عملية الفصل الملون . اما الطور المتحرك فتم استخدام الطور (n-Hexan, Ethyl Acetate , Glacial acetic acid) بنسب (6 : 4 : 0.3). طبقت عملية (TLC) ووضع الصفيحة في الجار المشبع بالطور المتحرك المذكور اعلاه وتفصل الفلافونويدات Flavonoids اعتمادا على مدى ارتباطها بالطور الثابت وكفائتها للذوبان في الطور المتحرك وعندما وصل الطور المتحرك الى ثلاث ارباع الصفيحة او اكثر حيث يعلم الخط الذي يقف عنده الطور المتحرك بـ (خط تقدم المذيب

(Solvent front). وكشف عن نوع الفلافونويدات Flavonoids المفصولة بالمقارنة مع نقاط الفلافونويدات القياسية وما قطعته من مسافة تسمى R_F value وهذه القيمة يتم حسابها من تقسيم قيمة قياس المسافة, للمسافة التي يقطعها كل نموذج على المسافة التي قطعها الطور المتحرك:

$$R_f = \frac{\text{المسافة التي قطعها كل نموذج}}{\text{المسافة التي قطعها الطور المتحرك}}$$

اما البقع (Spots) للفلافونويدات Flavonoids المفصولة فيتم الكشف عنها بتعريض صفيحة الالمنيوم لضوء الاشعة فوق البنفسجية U.V كون مادة السليكا المغطاة للصفيحة مضاف اليها مادة متفلورة Florecent تتألق عند ارتباطها بالمجاميع الفعالة للفلافونويدات Flavonoids باستخدام U.V بطول موجي 254nm وتظهر النتيجة بشكل نقاط او بقع متألقة تحت اشعة U.V المستعملة [17].

- الفحص الكمي Quantitative Assay

حضرت عدة تراكيز للفلافونويد Flavonoid القياسي روتين Rutin وتشمل (0.2 , 0.5 ,1 ,2.5 ,5) ملغم/مل في محلول الايثانول بتركيز 50%. ويتم اجراء التفاعل التالي:

يؤخذ 1 مل من مستخلص الفلافونيدات Flavonoids الكلية لنبات الكراويا وكذلك 1 مل من كل تركيز من المحاليل القياسية المحضرة للروتين Rutin وتوضع كل من هذه المحاليل في انابيب زجاجية كل على حدة, يضاف 0.75 مل من محلول نتريت الصوديوم sodium nitrite بتركيز 5% مذاب في 50% ايثانول. ويحرك ثم يترك في حرارة الغرفة لمدة 5 دقائق, بعدها يضاف لكل انبوب 1.5 مل من مادة كلوريد الالمنيوم بتركيز 10% مذاب في 50% ايثانول. يحرك المزيج ويترك لمدة 5 دقائق اخرى في درجة حرارة الغرفة. واخيرا يضاف 5 مل من محلول هيدروكسيد الصوديوم بتركيز 1N ويحرك المزيج ليتم بعد ذلك قراءة اللون الناتج من التفاعل بجهاز المطياف الضوئي spectrophotometer وبطول موجي 510nm [18].

يتم بعد ذلك عمل منحني قياسي بين قراءة كل محلول قياسي بتركيز معلوم وبين الامتصاصية ليتم بعد ذلك استخراج معادلة الخط المستقيم ومن ثم حساب تركيز الكمية الكلية للفلافونويدات في نبات الكراويا.

E- التقدير النوعي والكمي للفلافونويد باستخدام تقنية الـ HPLC

استعملت تقنية HPLC للفلافونويدات لقياس اليوتيولينLuteolin والروتينRutin واالكوارستينQuercetin بتركيز(1ملغم/مل, 1ملغم/مل, 1ملغم/مل) والفلافونويدات الكلية لمستخلصات الكراويا بتركيز (4 ملغم/مل). والظروف المستخدمة في هده التقنية هي :

Mobile phase : Methanol: Water (70:30)
Column : C18
Flow rate : 0.5 ml/min
Injected volume : 10 µl
Wave length : 280 nm
Instrument : Waters/487 USA

النتائج

A- جمع بذور النبات واستخلاصه Plant Collection and Extraction

كل 50غم من مسحوق بذور نبات الكراويا الجافة بعد استخلاصها تم الحصول على وزن 6.06غم متبقي للمستخلص المائي البارد, و1غم متبقي للمستخلص المائي الحار, و2.6غم متبقي للمستخلص الميثانولي, و2.2غم متبقي للمستخلص الايثانولي و0.9غم متبقي للمستخلص الهكساني.

B– الاختبارات الكيميائية phytochemical tests

اظهرت نتائج التحاليل والكشوفات الكيميائية الاستدلالية للمستخلصات المائية الخام لبذور نبات الكراويا, ان المستخلص المائي البارد يحتوي على المواد الفعالة (الصابونينات, والكلايكوسيدات والكربوهيدرات, التانينات, القلويدات, الفلافونويدات, الراتنجات, التربينات, الفينولات), إما المستخلص المائي الحار لبذور نبات الكراويا فيحتوي على المواد الفعالة (التانينات, الفلافونويدات, الراتنجات, الاحماض الامينية, الفينولات) كما في جدول (1). بينما المستخلصات الكحولية الخام لبذور نبات الكراويا تحتوي على المواد الفعالة كما في جدول (1) حيث يحتوي المستخلص المثيلي على المواد الفعالة (الصابونينات, التانينات, الفلافونويدات, الراتنجات, التربينات, الاحماض الامينية, الفينولات), بينما يحتوي المستخلص الاثيلي على المواد الفعالة (الصابونينات, التانينات, الفلافونويدات, الراتنجات, الاحماض الامينية, الفينولات), اما مستخلص الهكسان لبذور نبات الكراويا فيحتوي على المواد الفعالة (الصابونينات, القلويدات, الراتنجات التربينات, الاحماض الامينية).

جدول (1): الكشف عن المركبات الفعالة في بذور نبات الكراويا باستعمال المستخلصات المائية والكحولية

ت	المركبات الفعالة	نتيجة الكشف				
		مستخلص مائي		مستخلص كحولي		
		ماء بارد	ماء حار	ميثانول	ايثانول	هكسان
1	الصابونينات	+	-	+	+	+
2	الكلايكوسيدات والكربوهيدرات	+	-	-	-	-
3	التانينات	+	+	+	+	-
4	القلويدات	+	-	-	-	+
5	الفلافونويدات	+	+	+	+	-
6	الراتنجات	+	+	+	+	+
7	التربينات	+	-	+	-	+
8	الاحماض الامينية	-	+	+	+	+
9	الفينولات	+	+	+	+	-

العلامة (+) تدل على ظهور المركب العلامة (—) تدل على اختفاء المركب

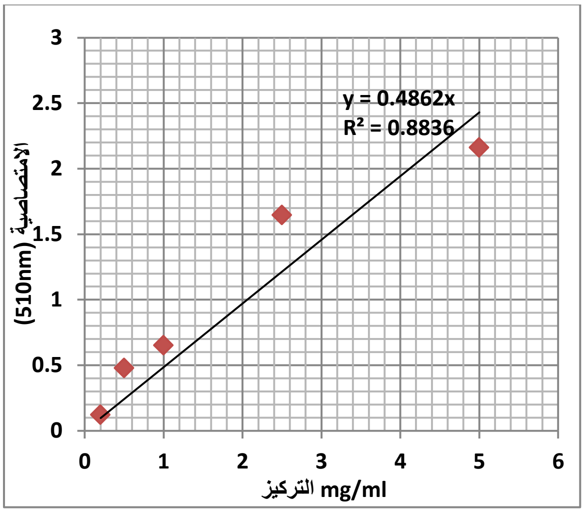
C- استخلاص الفلافونويدات الكلية Extraction of total flavonoids

1- الفحص الكمي Quantitative Assay

قدرت كمية الفلافونويدات الموجودة في بذور نبات الكراويا باستخدام جهاز (UV سبيكترو) عند الطول الموجي 510 nm بالاعتماد على تراكيز محلول الروتين القياسي جدول (2) حيث تم الحصول على معادلة الخط المستقيم كما في شكل (1).

جدول (2): قيم الامتصاصية للفلافونويد القياسي الروتين عند تراكيز مختلفة و الفلافونويدات الكلية في بذور نباتي الكراويا

تركيز Rutin (Mg/ml)	الامتصاصية (510 nm)
0.2	0.12
0.5	0.478
1	0.65
2.5	1.645
5	2.159
مستخلص الفلافونويدات الكلية للكراويا	1.137



شكل (1): المنحني القياسي للفلافونويد القياسي الروتين Rutin

من معادلة الخط المستقيم للمنحني القياسي للفلافونويد القياسي الروتين Rutin بتراكيز مختلفة يكون تركيز الفلافونويدات الكلية لمستخلص نبات الكراويا كلاتي:

$$\mathbf{Y = 0.4862\ X_1}$$
$$\mathbf{1.1377 = 0.4862\ X_1}$$
$$\mathbf{X_1 = 2.339\ mg/ml}$$

بما ان المستخلص مذاب في 25 مل في المذيب الكحولي (50 % كحول) فالتركيز الكلي للفلافونويدات لكل 75 غم من مسحوق بذور الكراويا يكون

$$\mathbf{2.339 \times 25 = 58.49\ mg}$$

اما التركيز الكلي للفلافونويدات لكل 1 غم من مسحوق بذور الكراويا فيكون:

$$\frac{58.49}{75} = \mathbf{0.779\ mg}$$

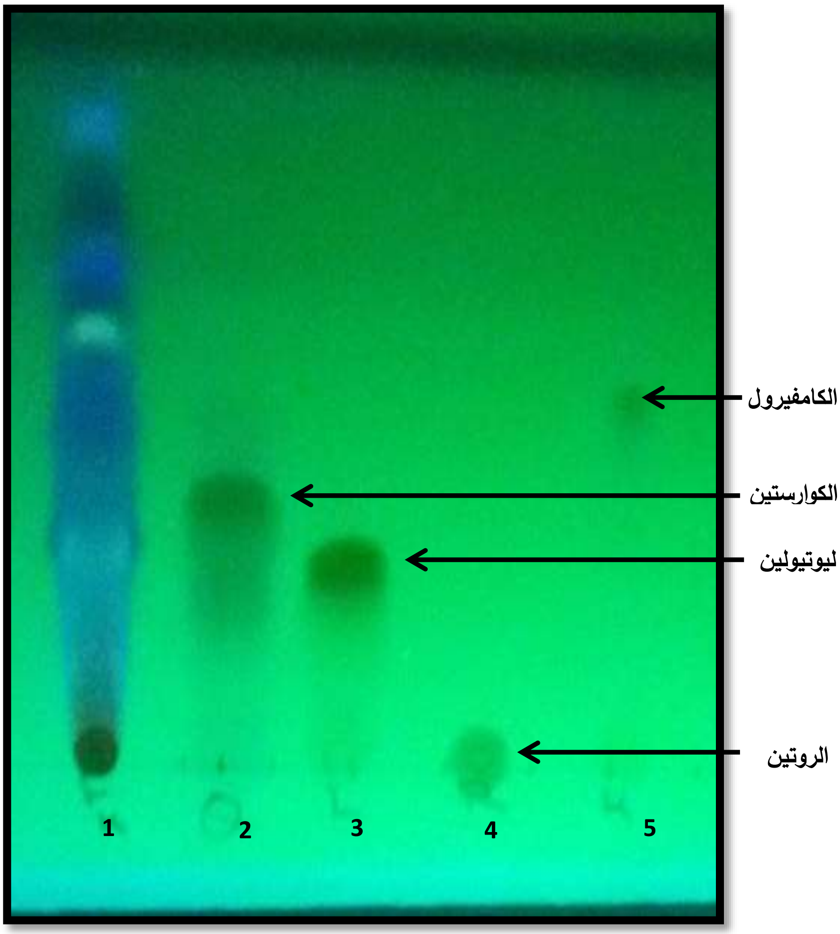
Y= الامتصاصية   X= التركيز

2- الفحص النوعي Qualitative assay

فصلت الفلافونويدات من بذور نبات الكراويا باستعمال كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة Thin layer chromatography (T.L.C) فتم الحصول على بقع (Spots) والتي ظهرت بواسطة الاشعة فوق البنفسجية U.V بتعريض الصفيحة اليها عند طول موجي 254nm بالمقارنة مع سلسلة من الفلافونويدات القياسية, وشكل (2) يبين الفلافونويدات المفصولة من بذور نبات الكراويا وجدول (3) يبين قيم (R_f) للفلافونويدات التي تم تشخيصها في نبات_الكراويا.

جدول (3): الفلافونويدات التي شخصت في نبات الكراويا وقيم R_f لها

نوع الفلافونويد	معدل الجريان النسبي R_f
Rutin	خط الاساس (Baseline)
Quarecetin	0.312
Luteolin	0.25
Kaempferol	0.5
فلافونويدات الكراويا المستخلصة	كل القيم اعلاه مع قيم الفلافونويد المجهول 0.812



شكل (2): تقنية (TLC) المستخدمة في عملية فصل الفلافونويدات مع محاليل قياسية تتضمن (1) مستخلص فلافونويد الكراويا, (2) الكوارستين, (3) ليوتيولين, (4) الروتين, (5) الكامفيرول.

E - التقدير النوعي والكمي للفلافونويد باستخدام تقنية الـ HPLC

اظهرت نتائج كروموتغرافيا (HPLC) لمستخلصات فلافونويدات الكراويا ثلاث قمم حادة مع زمن احتجاز للكراويا (2.384, 2.960, 3.484) كما في شكل (3). وقورن زمن احتجاز فلافونويدات المستخلصات النباتية مع زمن احتجاز الفلافونويدات القياسية المستخدمة ووجد انها متطابقة. وقد استخدمت الفلافونويدات القياسية (الروتين, الكوارستين, الكومارين) وكان زمن الاحتجاز لكل منها في الدقيقة (2.602, 3.041, 3.372) على التوالي كما في الاشكال (4 - 6).

وعندما طبقت مساحة تحت المنحني عند زمن احتجاز نوع الفلافونويد القياسي والمستخلص, فأن التركيز الكلي لنوع الفلافونويد يحسب كالتالي:

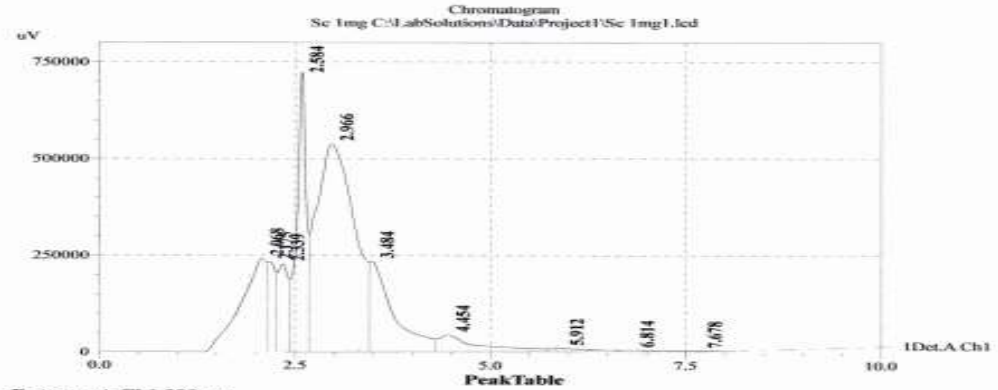
- الفلافونويد الكلي (ملغم) في 1غم من مسحوق بذور نبات الكراويا

$$\frac{\text{مساحة تحت المنحني للمستخلص}}{\text{مساحة تحت المنحني للقياسي}} \; x \; \text{تركيز المحلول القياسي} \; x \; \frac{\text{الحجم الكلي للمستخلص}}{75}$$

$$\text{الروتين} = \frac{6063069}{8050528} \; x \; 1 \; \text{ملغم/مل} \; x \; \frac{25\ \text{مل}}{75} = 0.251 \; \text{ملغم}$$

$$\text{الكوارسيتين} = \frac{18258079}{52494016} \; x \; 1 \; \text{ملغم/مل} \; x \; \frac{25\ \text{مل}}{75} = 0.119 \; \text{ملغم}$$

$$\text{الكومارين} = \frac{4913091}{26715986} \; x \; 0.062 \; \text{ملغم/مل} \; x \; \frac{25\ \text{مل}}{75} = 0.0038 \; \text{ملغم}$$

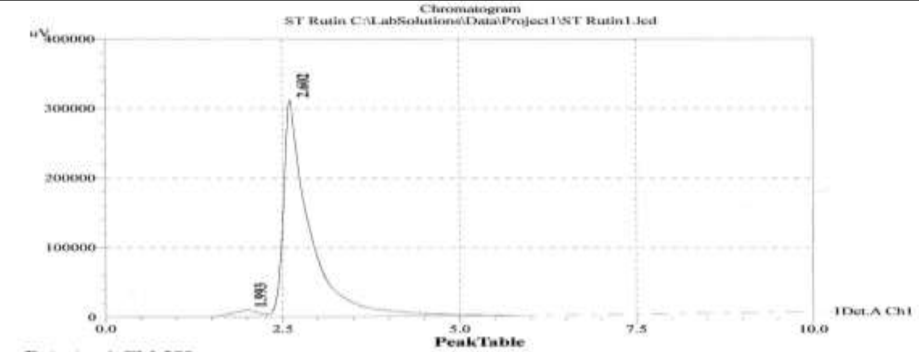


PeakTable

Detector A Ch1 280nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	2.068	5565888	242399	13.764	10.763
2	2.175	1556957	232261	3.850	10.313
3	2.339	2111886	227414	5.223	10.098
4	2.584	6063069	722908	14.994	32.100
5	2.966	18258079	537856	45.151	23.883
6	3.484	4913091	233765	12.150	10.380
7	4.454	1542678	43443	3.815	1.929
8	5.912	309858	8137	0.766	0.361
9	6.814	104324	3259	0.258	0.145
10	7.678	11853	638	0.029	0.028
Total		40437682	2252079	100.000	100.000

شكل (3): كروموتوغرافيا (HPLC) لمستخلص فلافونيدات الكراويا

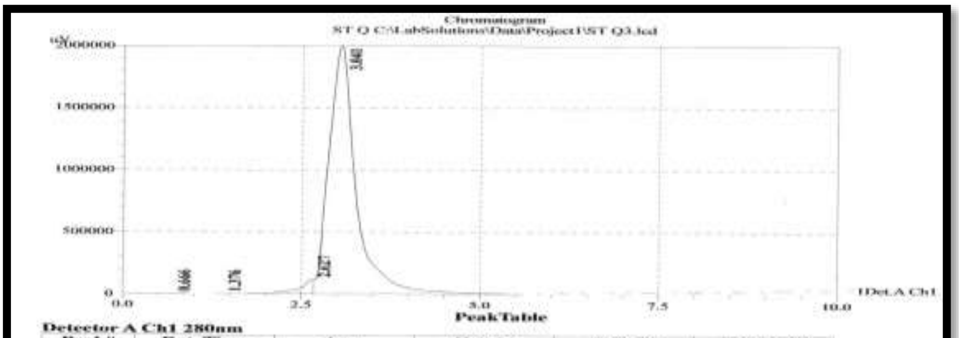


PeakTable

Detector A Ch1 280nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	1.993	272950	10146	3.279	3.153
2	2.602	8050528	311595	96.721	96.847
Total		8323479	321741	100.000	100.000

شكل (4): كروموتغرافيا (HPLC) للفلافونويد القياسي الروتين

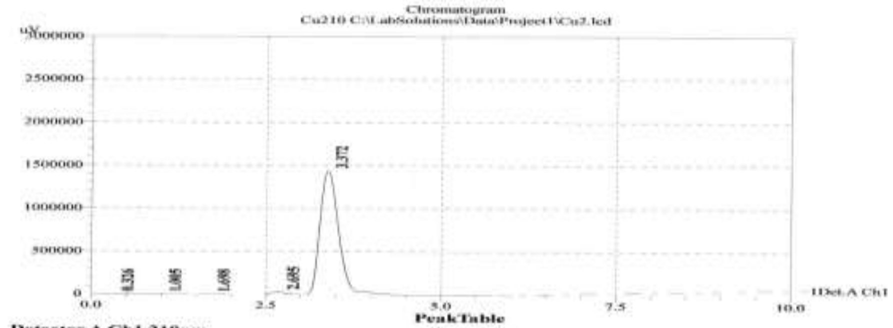


PeakTable

Detector A Ch1 280nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	0.666	5481	216	0.010	0.010
2	1.376	11699	1309	0.022	0.062
3	2.627	1692615	115996	3.123	5.459
4	3.041	52494016	2007182	96.846	94.469
Total		54203811	2124702	100.000	100.000

شكل (5): كروموتغرافيا (HPLC) للفلافونويد القياسي الكوارستين



PeakTable

Detector A Ch1 210nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	0.326	15030	820	0.055	0.055
2	1.005	56000	2211	0.205	0.150
3	1.698	51002	3251	0.187	0.220
4	2.695	495319	32451	1.812	2.195
5	3.372	26715986	1439630	97.741	97.380
Total		27333337	1478362	100.000	100.000

شكل (6): كروموتغرافيا (HPLC) للفلافونويد القياسي الكومارين

المناقشة

اثبتت الدراسة بان بذور نبات الكراويا غنية بالفلافونويدات وتحوتي على77.99ملغم من الفلافونويدات الكلية لكل 100غم من مسحوق بذور نبات الكرايا, حيث توجد عادة الفلافونويدات في النباتات بشكل تتحد احدى مجموعات الهيدروكسيل الفينولية مع مركبات سكرية, وتتصف الفلافونويدات الحاوية على مجموعة هيدروكسيل قليلة بانها تستعمل كمدرر, وتمنع اكسدة المواد الدهنية [19]. وجدول (3) يوضح نوع الفلافونويدات التي تم تشخيصها بتقنية TLC وقيم R_F لها وكانت اعلى قيمة R_F للفلافونويد القياسي الكامفيرول Kaempferol (0.5) حيث يلعب هذا المركب الفلافونويدي دورا رئيسيا بقدرته الدوائية فهو مضاد للفيروسات والسرطان والالتهابات ومضادة للأكسدة وجائت هذه النتائج مطابقة للدراسات السابقة [20]. ووجد ان الفلافونويد الروتين Rutin له فوائد فسيولوجية عديده منها المفعول المنشط للقلب [19]. كما وتحتوي الفلافونويدات المستخلصة من بذور نبات الكراويا على اليوتيولين Luteolin والكوارستين Quercetin التي تلعب دورا رئيسيا في الفعالية البايلوجية, وكذلك وجود هذه الفلافونويدات له دورا رئيسيا في منع تجلط الدم من خلال منعها استخدام فيتامين K بواسطة خلايا الكبد لتكوين عوامل التجلط [21] ويعد مركب Dicumarol اول مركب استعمل مانعا للتجلط طبيا [22]. كما وتم تطبيق تقنية HPLC للكشف عن نوع الفلافونويدات الموجودة في بذور نبات الكراويا وبوجود عدد من الفلافونويدات القياسية (الكومارين, الكوارستين, الروتين) كما في الاشكال (4-6) حيث اظهرت جميع هذه المركبات قمم احتجاز مطابقة لقمم الاحتجاز التي ظهرت في قياس الفلافونويدات الكلية للكراويا شكل (3) وكانت نسبة هذه الفلافونويدات (0.0038ملغم, 0.119 ملغم, 0.251 ملغم) للـ(الكومارين, الكوارستين, الروتين) على التوالي لكل 75 غم من بذور الكراويا وكانت اعلى نسبة لأنواع الفلافونويدات المفصولة هو الروتين وهذ يتفق مع الدراسات السابقة [23]. وتعد الفلافونويدات من اهم اصناف المركبات الموجودة في نبات الكراويا وبلاخص الروتين Rutin الذي يعتبر الفلافونويد الاكثر وفرة في النباتات والذي يمتلك فعالية حيوية متعددة في الطب كدواء, حيث يستعمل في علاج الحالات المتمثلة بنزيف الشعيرات الدموية Capillary Frogility [25,24] . تحتوي بذور الكراويا على 3-7% من الزيت الاساسي , وتحتوي على كميات كبيره d-carvone 50- 65% و limonene اكثر من45% , واقل من 1.5% carveol و dihydrocarveol, وكذلك تحتوي10-18% من الزيت الثابت الذي يتكون من30-43% من حامض petroselinic و 34-37% من حامض linoleic و 15-25% من حامض oleic و4-5%من حامض palmitic وتحتوي على الماء بنسبة 9-13%, والدهون بنسبة13-21% ومركبات نتروجينيه بنسبة 25-36% 13-19% الياف, 5-7% رماد و 1.5% شموع وكميات قليله من التانينات والرزن. بالاضافه الى انها تحتوي على مكونات اخرى 2% بروتين و5% كاربوهيدرات, والحوامض الفينوليه. وكميات من الفلافونويدات مثل (quercetin, kaempferol) والكلايكوسيدات [8].

اشارت هذه الدراسة بان بذور نبات الكراويا غنية بالفلافونويدات. الفلافونويد الكلي مكون بشكل رئيسي من الروتين والكوارستين وكميات من الكومارين والكامفيرول واليوتيولين.

المصادر

1. ابو حجاج, يوسف. (2000). المعجم الاخضر للأعشاب والنباتات الطبية, مكتبة الايمان, المنصورة.
2. Keshavarz, A., Minaiyan1, M., Ghannadi, A. and. Mahzouni, P. (2013). Effects of *Carum carvi* L. (Caraway) extract and essential oil on TNBS-induced colitis in rats. Vol. 8(1), pp: 1-8.
3. Nicola, S., Iacobellis, Pietro, Lo., Cantore, Francesco Capasso, and Felice Senatore. (2005). Antibacterial Activity of *Cuminum cyminum* L. and *Carum carvi* L. Essential Oils. J. Agric. Food Chem. Vol. 53, pp. 57-61.
4. Johri, R. K. (2011). *Cuminum cyminum* and *Carum carvi*. Jan-Jun; Vol.5 (9), pp: 63–72.
5. المحمدي, علي فدعم. (2011). تأثير مواعيد الزراعة والجبرلين والمستخلصات النباتية والفيتامينات في نمو وحاصل صنفين من الكراويا. رسالة دكتوراه في المحاصيل الحقلية, كلية الزراعة, جامعة بغداد.
6. Katarzyna Seidler-Łożykowska, Bogdan Kędzi, Elżbieta Karpińska and Jan Bocianowski. (2013). Microbiological activity of caraway (*Carum carvi* L.) essential oil obtained from different origin. V. 35, n. 4, p. 495-500.
7. Sedlakova, J., Kocourkova, B., Lojkova, L., Kuban, V. (2003). The essential oil content in caraway species (*Carum carvi* L)", Hort. Sci. (PRAGUE). Vol. 30(2), pp: 73–79.

8. Rui Fang , Cai Hong Jiang , Xiu Yi Wang , Hai Ming Zhang , Zhi Long Liu , Ligang Zhou, Shu Shan Du , and Zhi Wei Deng. (2010). Insecticidal Activity of Essential Oil of Carum Carvi Fruits from China and Its Main Components against Two Grain Storage Insects. Molecules. Vol.15.pp. 9391-9402.

9 . البالاني, ماجد رشيد مجيد. (2003). تأثر المستخلصات النباتية الخام وقلويد الفازيسين لنبات حلق السبع الشجيري *Adhatoda Vasica*, رسالة ماجستير , كلية العلوم , جامعة بغداد,23.

10. Kelmanson, J.E., Jager, A.K. and Staden, T.V. (2000). Zulu medicinal plant with antibacterial activity. J.Ethno pharmcal, 69: 241 – 246.

11. القطان, منال .(2009). تاثير القسط الهندي على فطر *Aspergillus* و *A.Fumigatus* وخميرة *Candida albicans* التي تصيب الجهاز التنفسي في الانسان. المجلد الاول, العدد الثاني. الناشر. جامعة ام القرى للعلوم التطبيقية.

12. Bouaklin, A., Lacroix, C., Roux, N., Gangheux, J.P. and Deronin, F. (2000). Fungal contamination of food in Dermatology units. J. Clin. Microbilogy. Vol.38, pp. 4272- 4273.

13. Melvinjoe, M., Jayachiyral, J. and viyayaprixa, M. (2000). Candida and Candisis. 3rded. Journal of medicinal and plant Research Vol. 3(11), pp.1134- 1136.

14. Wainstein, M.A., Graham, R.C., and Resnick, M.I. (1995). Prdispasing factors of systemic fungal in fections of genitourinary tract"; J. Vol.154, PP.160-163.

15. Roberts, M., Wink, M. (1998). Alkaloids Biochemistry Ecology and Medicinal application. Plenums press NewYork- London. pp.435-459.

16. Harborne, J.B. (1984). Phytochemical methods, A guide to modern techniques of plant analysis. Second edition, Chapman and Hall, London. pp. 169-172.

17. Kato, M., Mizuna, K., Fujimura, T., Iwama, M., Irie, M., Krozier, A., Ashihara, H. (1999). Purification and characterization of caffeine syntheses from tea leaves. Plant physiology. Vol.12. pp: 579 – 586.

18. Marcica, M.S., Vesna, R., Mirza, B. and Zelijan, M. (2012). From functional food to medicinal product systematic approach in analysis of polyphenolic, from popolis and wine. Nutrition Journal. Vol.8. pp.33.

19. Koshte, V. L., Van-Dijk, W. and Aalers, R. (1990). Isolation and Characterization of Ban Iection. Amonoside binding Iection frommusa paradiside barana Biochem. 272(3):721-725.

20. Johri, R.K. (2011). Cuminum cyminum and Carum carvi: An update. Pharmacogen Rev. 5(9):63-72.

21. Keshavarz, A., Minaiyan1, M., Ghannadi, A. and Mahzouni, P. (2013). Effects of *Carum carvi* L. (Caraway) extract and essential oil on TNBS-induced colitis in rats. Vol. 8(1). pp: 1-8.

22. Dipalma, J.R., Digregorio, G.H., Barbieri, E.J., and Ferko, A.P. (1994). Basic pharmacology in medicine. 4th ed. Medical Survellance Inc.USA.

23. Cook, N. C. and Samman, S. (1996). Flavonoids-Chemistry, metabolism, cardioprotective effects and dietary sources. 7(2): 66-76.

24. Reynolds, J. Elan. (1993). "Mareindal the Extra pharmaco poeia", 30thed London, the pharma ceutical press, 1342.

25. Koshte, V.L. , Van-dijk, W. and Aalers, R. (1990). "Isolation and characterization of ban ictin ", Amonoside Lectin from musa paradiside barana Biochem.Vol.772 (3), pp: (721-725).