A chemical study (Ascorbic acid and essential oil) of *Ballota nigra* L. (Lamiaceae) .

Dr.Abeer Sultan*

(Received 7 / 4 / 2023. Accepted 28 / 6 /2023)

□ ABSTRACT □

Ballota nigra L. (black horehound) has a medical importance because it contains a wide variety of compounds which used to treat many of diseases. It is known for many countries as a traditional medicine especially for its mild sedative and tranquilizer properties.
A chemical study of leaf and flowering aerial parts extract showed presence of ascorbic acid (Vit. C) in leaves more than in flowering aerial parts. The extraction of essential oil from the flowering aerial parts of *B.nigra* has been done by dry evaporation using GC/MS technique , chromatographic analysis of these extracts have showed the presence of several compounds including terpenes , hydrocarbons , carboxylic acids , esters ….
The main compound of the oil was Phytol (41.21%) .

Key words : Aromatic and medical plants, *Ballota nigra*, Ascorbic acid, Essential oils.

Copyright **:**Tishreen University journal-Syria, The authors retain the copyright under a CC BY-NC-SA 04

* **Assistant Professor-- Department of Botany - Faculty of Science - Tishreen University - Lattakia - Syria**

دراسة كيميائية (فيتامين C والزيت العطري) لنبات الفراسيون الأسود *Ballota nigra* L (Lamiaceae)

د. عبير علي سلطان*

(تاريخ الإيداع 7 / 4 / 2023. قبل للنشر في 28 / 6 / 2023)

□ ملخّص □

يتمتع نبات الفراسيون الأسود .*Ballota nigra* L بأهمية طبية لاحتوائه مركبات متنوعة تفيد في علاج العديد من الأمراض ، ويعرف في العديد من الدول كدواء تقليدي خاصة لخصائصه المعتدلة المسكنة والمهدئة للأعصاب . بينت الدراسة وجود فيتامين C في الأوراق بنسبة أعلى منها في القمم المزهرة للنبات. استخلص الزيت العطري من القمم المزهرة للنبات بطريقة الجرف بالبخار ، وباستخدام تقانة الكروماتوغرافيا الغازية المرتبطة بمطيافية الكتلة GC/MS تمت معرفة هوية ونسب المركبات التي تدخل في تركيبه ، إذ لوحظ وجود مركبات متنوعة كالفحوم الهيدروجينية ، الأحماض الكربوكسيلية ، التربينات ، الكيتونات والأستيرات. وكان المركب الأساس هو Phytol بنسبة % 41.21 .

الكلمات المفتاحية : نباتات طبية وعطرية - الفراسيون الأسود - فيتامين C - الزيوت العطرية .

حقوق النشر : مجلة جامعة تشرين- سورية، يحتفظ المؤلفون بحقوق النشر بموجب الترخيص CC BY-NC-SA 04

* **مدرسة- قسم علم الحياة النباتية- كلية العلوم- جامعة تشرين- اللاذقية- سورية**

مقدمة :

يهتم علماء الصيدلة والكيمياء وعلم الأحياء بدراسة تأثير المستخلصات النباتية على عدد من الجراثيم والفطور الممرضة، وبإيجاد طرق محددة لاستخلاص المواد الفعالة حيث تختلف هذه الطرق ما بين مستخلصات كحولية (ميتانول أو إيتانول) ومائية ، وحتى استخدام العصير النباتي أحياناً لأغراض العلاج بالإضافة إلى تغير طرق الاستخلاص بحسب الجزء النباتي [1] .

إن استخدام المركبات الطبيعية الموجودة في النباتات الطبية لعلاج الأمراض أصبح اتجاهاً استثنائياً في البحث السريري، فالمركبات الفينولية وخاصة الفلافونوئيدات والتي توجد تقريباً في كل النباتات تمتلك مجالاً واسعاً من التأثيرات الصيدلانية والكيميائية الحيوية كمضاد أكسدة، مضاد للسرطان، مضاد للالتهابات، مضاد جرثومي، مضاد فطري، مضاد فيروسي... وتأثيرات أخرى عديدة [2]

ينتمي نبات الفراسيون الأسود .L *Ballota nigra* إلى الفصيلة الفاغرة Lamiaceae (الشفوية Labiatae) [5,4,3] وهو نبات عشبي معمر مكسو بكثافة بأوبار متنوعة شأنه في ذلك شأن معظم نباتات الفصيلة الفاغرة، ذو ساق قائمة مربعة المقطع العرضي ومتفرعة بكثرة من الأسفل، وأوراق بسيطة بيضوية إلى قلبية الشكل مجعدة ومسننة الحافة وتنتهي بقمة ضيقة تتوضع بشكل متقابل متصالب ويقصر العنق بدءاً من الأوراق الساقية باتجاه الأوراق الزهرية، الأزهار صغيرة شفوية، يتكون التويج من شفتين عليا مستقيمة مكونة من التحام

الشكل (1) نبات *Ballota nigra*

بتلتين وسفلى منحنية للأسفل ومكونة من التحام ثلاث بتلات ذات لون زهري إلى بنفسجي تتوضع في دوارات على عقد الساق، يصل عدد الأزهار في الدوارة الواحدة إلى 30 زهرة (الشكل1) [6] يعرف النبات في الكثير من البلدان كدواء تقليدي ويستخدم لخصائصه المسكنة والمهدئة للأعصاب [3] كما أنه يملك تأثيرات مطهرة، مضادة للالتهابات والروماتيزم والميكروبات، وهو مضاد أكسدة وتكمن الاهمية الرئيسية له في الفعالية المهدئة للأعصاب [5]، بالإضافة لاحتوائه على مركبات كيميائية عديدة ومتنوعة ، وقد أشارت دراسات كثيرة لاحتوائه على : تربينات، فلافونوئيدات، ستيروئيدات، أحماض كربوكسيلية، وفينولات [4] وتانينات [7,6,5] .

تعد دراسة الزيوت العطرية الطيارة من الدراسات الهامة حيث أن القسم الأكبر منها يستخدم في مجال تصنيع العقاقير ومستحضرات التجميل وكمحسنات لطعم ورائحة أغلب المستحضرات الصيدلانية ، كما أن بعضاً من النباتات التي تحتويها تستخدم كتوابل ومشروبات [8]. هذا وتتكون الزيوت الطيارة في النباتات أثناء عملية الاستقلاب كنواتج ثانوية وتتجمع في تراكيب خاصة كالأوبار أو الشعيرات الغدية أو الغدد الزيتية أو القنوات الزيتية ، ولما كانت هذه الزيوت متطايرة ويسهل فقدها في درجة حرارة الجو فإن التراكيب التي تحويها تكون مجهزة بجدر مناسبة تمنع تطايرها [9]. في دراسة لـ [5] استخلصت الزيوت العطرية من الأجزاء الهوائية لتحت نوعين من نباتات *B.nigra* هما *B.nigra* subsp. *uncinata* and subsp. *anatolica* ينموان في الأراضي التركية وتم تحديد 22 مركب في الأول أهمها

مركب caryophyllene oxide بنسبة % 21.2 . و40 مركب في الثاني أهمها hexadecanoic acid بنسبة % 40.9 .

تمت دراسة التركيب الكيميائي للزيت العطري المستخلص من نباتات *B.nigra* ssp. *foetida* و *B.undulata* و *B.saxatilis* والتي جمعت خلال مرحلة الإزهرار في كل من عمان ونور (الأردن) وبيزا (إيطاليا) ، وقد بينت الدراسة أن التركيب الكيميائي للزيت العطري المستخلص من النوع *B.nigra* والنوع *B.undulata* كان متشابهاً وقد وجد المركب Monoterpenes بكمية قليلة في حين وجد المركب Sesquiterpens بكميات كبيرة ، وفي الاثنين كان المركب germacrene D هو المركب الرئيس ، كما بينت نفس الدراسة أن الزيت العطري المستخلص من النوع *B.saxatilis* مختلف تماماً عنه في النوع *B.nigra* .10]

وفي دراسة أخرى استخلص الزيت العطري من جذور، سوق وأوراق نبات *B.nigra* الذي ينمو في صربيا ، وتبين أن المركب الرئيس للزيت العطري المستخلص من سوق وأوراق النبات كان sesquiterpene وبنسبة عالية بلغت 78.17% ، أما المركب الرئيس في مكونات الزيت العطري المستخلص من جذور النبات فهو P-vinylguiacol بنسبة 9.24% ، وأشارت الدراسة إلى أن الزيت العطري المستحصل من الجذور يملك صفات مطهرة فهو فعال تجاه سبعة أنواع من الجراثيم ونوع من الفطريات [11].

وكان المركب beta-caryophyllene هو المركب الرئيس في الزيت العطري المستخلص من نبات *B.nigra* ssp. *foetida* [12] وأن هذا الزيت فعال تجاه الجراثيم موجبة وسلبية الغرام بالإضافة لثلاثة أنواع من فطور الكانديدا . هذا ويتمتع النبات بتأثير مضاد للأكسدة عرف من خلال عدة اختبارات مثل DPPH , SAFQ , FRAP والجذور الحرة مثل O_2 , H_2O_2 , OH [13,3] . وبين [14] أن منقوع النبات يعمل ككاسح للجذور الحرة وأنواع الأكسجين الارتكاسي وأكسيد النيتريك.

كما أشارت دراسة أخرى إلى احتواء الزيت العطري المستخلص من الأجزاء الهوائية المزهرة لبعض أنواع نباتات الجنس Ballota على مركب تربيني واحد هو 13-hydroxyballonigrinolide ، و4 مركبات غليكوزيدات فينولية هي verbascoside , forsythoside B , arenarioside and ballotetroside ، وهذه المركبات الأربعة التي تم عزلها تثبت وتسوغ استعمال نبات *B.nigra* كعقار مهدئ للأعصاب .[15]

وبينت إحدى الدراسات وجود مركب فينولي غير غليكوزيدي هو caffeoyl- L-malic acid بالإضافة إلى المركبات الأربعة سابقة الذكر [16] . كما تأكدت الفعالية الكبرى للنبات كمهدئ للأعصاب وكمضاد أكسدة بفضل المركبات الفينولية الخمسة الموجودة في نبات *B.nigra* [17]. كان Phytol - (E) المركب الرئيس للزيت العطري المستخلص من الأجزاء الهوائية لنبات *B.nigra* الموجود في مناطق جنوب إيطاليا وبنسبة 20%. [18]

أهمية البحث وأهدافه :

أظهرت دراسات عديدة تمتع نبات الفراسيون الأسود *B.nigra* بالكثير من الخصائص العلاجية كمضاد للجراثيم، للفطور، للروماتيزم، وكمضاد أكسدة، وكعقار محتمل للسرطان . كما أن النبات المدروس موضع اهتمام كبير لاحتوائه على العديد من المركبات الفعالة تجاه الكثير من الحالات المرضية ، لذلك وقع الاختيار على هذا النبات . يهدف البحث إلى:

1- تحديد كمية فيتامين C الموجودة في أوراق النبات والقمم المزهرة كل على حده .

2- استخلاص الزيت العطري من قمم الفوارع المزهرة للنبات .
3- تحديد أهم مكونات الزيت العطري المستخلص ونسبها .

طرائق البحث ومواده :

تم إجراء البحث في مخابر قسم علم الحياة النباتية في كلية العلوم ومخابر المعهد العالي للبحوث البحرية بجامعة تشرين .
جمع النبات من مدينة اللاذقية أول طريق دمسرخو ، وأجريت عليه دراسات كيميائية كالتالي :

أولاً- تحديد كمية فيتامين C :

تم تحديد كمية فيتامين C في أوراق نبات الفراسيون وفي القمم المزهرة للنبات كل على حده كما يلي :
1- فصلت الأوراق الخضراء الغضة عن باقي أجزاء النبات ونظفت جيداً مما علق بها من غبار وحشرات وقطعت إلى قطع صغيرة، وكذلك الأمر بالنسبة للقمم المزهرة.
- وضع 20gr من العينة المقطعة في هاون وأضيف إليها 10ml من Hcl (2%) وكمية قليلة من الرمل وطحنت جيداً .
3- نقل الناتج إلى أنبوب مدرج بدون أي فاقد، وغسل الهاون جيداً وبشكل متكرر بكميات قليلة من الماء المقطر وأضيف إلى الأنبوب .
4- أكمل الحجم إلى 100 ml بالماء المقطر ، ومزج جيداً ثم ترك لمدة نصف ساعة ورشح بعدها . الرشاحة الناتجة تحوي مستخلص فيتامين C .
5- أخذ 10ml من الرشاحة مقاسة جيداً في كأس معايرة (أرلنماير) ، وتمت معايرته بوساطة كاشف تيلمانس (2 , 6 - كلورفينول اندوفينول) حتى تلون باللون الزهري والذي يجب أن يثبت لمدة 30 ثانية .
6- سجلت الكمية المستهلكة من محلول المعايرة . وتكون كمية فيتامين C في المادة النباتية معبرة بـ:
mgr فيتامين C / 10gr مادة نباتية .
وبحسب [19] يتأكسد حمض الاسكوربيك إلى حمض الاسكوربيك منقوص (منزوع) الأكسجين .

ثانياً- استخلاص الزيت العطري وتحديد أهم مكوناته ونسبها :

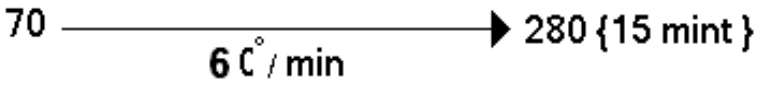
درس الزيت العطري الطيار الموجود في قمم الفوارع المزهرة للنبات كالتالي :
1- جمع النبات ونظف بشكل جيد من الغبار والحشرات والأوساخ العالقة به .
2- فصلت قمم الفوارع المزهرة عن باقي النبات .
3- جففت في مكان نظيف مهوى وبعيد عن أشعة الشمس
4- طحنت المادة النباتية واستخلص الزيت العطري منها بجهاز استخلاص الزيوت العطرية بطريقة الجرف بالبخار (Nickerson apparatus) .
تتلخص هذه الطريقة بالآتي :
تخلط المادة النباتية المطحونة أو المقطعة (أوراق أو أزهار أو غيرها) مع الماء في حوجلة وتوضع على اللهب مباشرة، عندما يتم غليان الماء ، يحمل بخاره الزيت إلى حيث يتم تكثيفه بوساطة مكثفات خاصة ، يتم فصل الزيت الطيار المستخلص عن الماء وتجميعه في مصيدة الزيت (سحاحة مدرجة) التي يوجد منها نوعان ، أحدهما لاستخلاص الزيوت الطيارة الأقل كثافة من الماء إذ يطفو فوق سطح الماء ، والأخرى للزيت الطيار الأعلى كثافة من الماء وهي قليلة الاستخدام لندرة الزيوت الثقيلة .

5- جمع الزيت العطري المستخلص من المادة النباتية المدروسة في أنبوب اختبار وحل بالمحل العضوي المناسب (ثنائي إيتيل الإيتر diethyl ether) وجفف بكبريتات الصوديوم اللامائية للتخلص من الرطوبة .

6- حللت عينة الزيت العطري بتقانة الكروماتوغرافيا الغازية المرتبطة بمطيافية الكتلة GC/MS والتي تعد التقانة الأنسب في تحليل الزيوت العطرية الطيارة [20] .

تم استخدام جهاز الكروماتوغرافيا الغازية Hewlett – Packard نوع 5890 والمرتبط بمطيافية الكتلة موديل 6972 وباستخدام عمود شعري نوع HP-5 قطره الداخلي 0,32 mm وسماكة الطور الساكن 0.25µm وطوله 30m .

تم فصل المركبات باستخدام البرنامج الحراري :



درجة حرارة الحاقن C° 250 وبتدفق طور متحرك (غاز الهيليوم) بمعدل 2ml / min ، ودرجة حرارة منبع الإيونات Ion source 230C° ورباعي الأقطاب 130C° وكمون التشرد 70 ev. .

تم مطابقة الأطياف الكتلوية الناتجة من مركبات العينة مع المكتبة الطيفية لمطيافية الكتلة باستخدام المكتبتين Wiley و Nist 98 .

النتائج والمناقشة :

أولاً- تحديد كمية فيتامين C :

تم تحديد كمية فيتامين C في أوراق نبات *B.nigra* وفي قمم الفوارع المزهرة كل على حده ، وكانت كميته كما هو مبين في الجدول (1).

جدول (1): كمية فيتامين C في النبات

الجزء النباتي	كمية فيتامين C / ملغ/100غ
الأوراق	66.34
القمم المزهرة	15.12

يظهر من الجدول احتواء الأوراق على نسبة عالية من فيتامين C ، كانت كمية هذا الفيتامين في الأوراق أعلى منه في القمم المزهرة حيث بلغ تركيزه وسطياً في الأوراق 66.34 ملغ/100غ و 15.12 ملغ /100غ في القمم المزهرة، مما يجعل من إضافتها بحالتها الطازجة إلى السلطات أو شربها كالشاي أمراً مفيداً، ففيتامين C ضروري جداً للإنسان وبما أن جسم الإنسان غير قادر على تصنيعه ذاتياً يتم تزويد الجسم به عن طريق الخضراوات والفواكه . وهو مضاد أكسدة فعال يقلل من خطر الإصابة بالسرطان بالإضافة إلى دوره المهم في الاستقلاب كونه عامل مساعد في تنشيط العديد من الأنزيمات. [23,22,21]

ثانياً- نسبة الزيت العطري :

استخلص الزيت العطري الطيار من قمم الفوارع المزهرة للنبات المدروس واستغرق ذلك أربع ساعات وكان الزيت ذا لون أصفر فاتح، وقد بلغت نسبته (0.87 %) .

ثالثاً– هوية ونسب مركبات الزيت العطري :

بينت نتائج تحليل الزيت العطري المستخلص من القمم المزهرة لنبات *B.nigra* احتواءه مزيجاً معقداً من المركبات (الشكل 2) ومنها التربينات كمركبي Isophytol , Phytol، والأحماض الكربوكسيلية كالمركب 1.2–Benzenedicarboxylic acid ، بالإضافة إلى الهيدروكربونات والأستيرات ... (الجدول 2) .

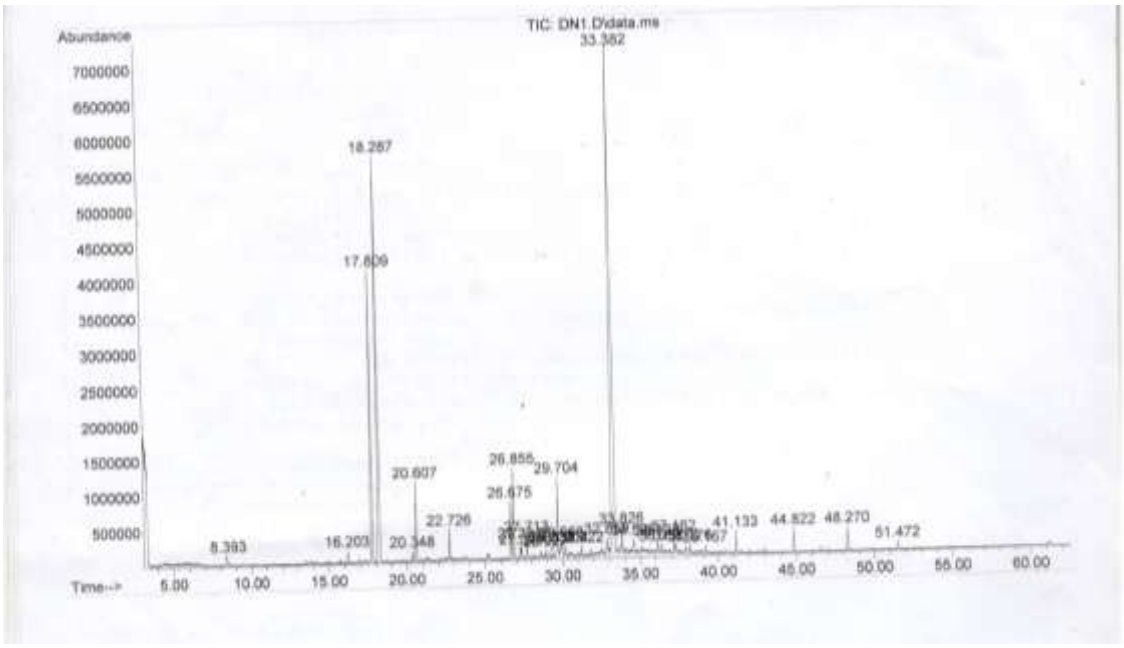
وبعض هذه المركبات يملك خصائص مضادة للجراثيم كمركبي Phytol و 1.2–Benzenedicarboxylic acid في حين يملك بعضها الآخر خصائص مضادة للأكسدة كمركبي Tridicanoic acid و Phytol . بمقارنة نتائجنا هذه مع نتائج الأبحاث الكثيرة التي حددت مركبات الزيت العطري للنبات تبين وجود بعض المركبات المشتركة كالـ Phytol الذي ظهر في معظم الدراسات ، مع اختلاف النسب وهذا عائد طبعاً لاختلاف البيئات التي تنمو فيها النباتات. كما ظهر المركب Isophytol في دراستنا في حين سجل وجود المركب (E)–Phytol في دراسة أخرى [17]. هذا وتؤكد دراستنا من خلال وجود هذه المركبات في الزيت العطري المستخلص من النبات ، الدراسات السابقة والتي بينت الخصائص المطهرة والمضادة للجراثيم والفطور وكذلك خصائصه كمضاد للأكسدة. ويظهر الجدول (2) بعض مكونات الزيت العطري لنبات *B.nigra* .

جدول (2) : هوية ونسب المركبات في الزيت العطري المستخلص من القمم المزهرة للنبات المدروس

اسم المركب	النسبة المئوية
1,6,10-dodecatriene, 7,11-dimethyl- 3- methlene	13.07
Undecane-2,8-dimethyl	0.7
Octadecane	0.26
Eicosane	0.53
Tridicanoic acid	1.1
1.2- Benzenedicarboxylic acid	3.14
Trans-Cyclohexanecarboxylic acid , 4-octyl-	0.53
Isophytol	0.5
Phytol	41.21
2-Pentadecanone,6-10-14-trimethyl	3.04
Ledol	0.39
Butanoic acide,3 methyl,1-ethenyl-1,5dimethyl ester	2.57
Propanoic acid,2-metylester	21.63
2-Propenoic acid, 2-methyl-,phenyl ester	21.63
Acetic acid,2-acetoxymethyl-1,2,3-trimethylbutyl ester	0.9
Methoxyacetic acid,3-tridecyl ester	0.81

1.9	Tridecanedial
0.97	6-11-Dimethyl- 2,6,10- dodecatrien-1-01
0.49	1,2-Dihexylcyclopropene
0.79	8-Dodecen-1-01,acetate
0.77	Tritetra contane
0.33	Bornyl bromide
0.80	Geranyl isovalerate

ويبين (الشكل 2) كروماتوغرام فصل مركبات الزيت العطري المستخلص من قمم الفوارع المزهرة لنبات *B.nigra* .



الشكل (2) : كروماتوغرام فصل مركبات الزيت للنوع المدروس

الاستنتاجات والتوصيات :

الاستنتاجات :

– احتوت أوراق النبات على كمية كبيرة من فيتامين C بلغت 66.34 ملغ/ 100 غ ، في حين كانت كميته في قمم الفوارع المزهرة أقل حيث بلغت 15.12 ملغ/100 غ .

– بلغت نسبة الزيت العطري المستخلص من القمم المزهرة للفوارع 0.87% ،

– احتوى هذا الزيت العطري مزيجاً معقداً من المركبات كالأحماض الكربوكسيلية ، الهيدروكربونات والتربينات . وكان المركب الرئيس هو الـ Phytol والذي بلغت نسبته أكثر من 41% ، والذي يتمتع بخواص مطهرة وخصائص مضادة للأكسدة.

التوصيات :

1- إجراء دراسات معمقة على الزيت العطري المستخلص من نبات *B.nigra* للاستفادة منه في المجالات الطبية والصيدلانية والصناعية .

2- دراسة المركبات الأخرى الموجودة في النبات .

3- البحث عن أنواع أخرى تتبع الجنس *Ballota* ودراستها بسبب الأهمية الطبية الكبيرة له .

References:

1- محمد ص. ، الدليمي ع. ، ساعور ي. ، (2009) – الكشف عن المركبات الكيميائية والتنقية الجزيئية للقلويدات في مستخلصات ثمار وأوراق وجذور نبات عنب الذيب *Solanum nigrum* . المجلة العراقية للعلوم ، المجلد 50، العدد 3 .

2- Al-Snafi A E. , (2020). Phenolics and flavonoids contents of medicinal plants, as natural ingredients for many therapeutic purposes- A review. 10 SR Journal of pharmacy, vol.10 m Issue 7 Series.11, pp. 42-81 .

3- SAHIN F. , TOKER M. , EZER N. , 2005- Botanical Properties of a Mild Sedative : *Ballota nigra* L. Subsp. *nigra* . FABAD J. Pharm. sci. , 30 , 94-99 .

4- Przerwa F. , Kukowka A. , Uzar I. , 2020- *Ballota nigra* L. - an overview of pharmacological effects and traditional uses . International journal edited by the Institute of Natural Fibres and Medicinal plants . vol.66 No.3 .

5- Majdi M. , Dastan D. , Maroofi H. , 2017- Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils of Ballota nigra subsp. kurdica from Iran. Jundishapur J Nat Pharm Prod. August; 12(3) .

6- سلطان، ع.، (2023)- الخصائص النباتية للفراسيون الأسود *Ballota nigra* L. (Lamiaceae) . مجلة جامعة البعث، رقم 896 تاريخ 5/10 .

7- Al-Snafi A E. (2015). The pharmacological importance of *Ballota nigra*- A review. Indian journal of pharmaceutical, vol.5 .

8- عمر ع. ، هيكل م.، (1993)- النباتات الطبية والعطرية ، كيمياؤها ، إنتاجها فوائدها ، الطبعة الثالثة ، الإسكندرية .

9 – العودات م. ، لحام ج.، (1994)- النباتات الطبية واستعمالاتها ، الطبعة الرابعة .

10- Bader A. , Caponi C. , Cioni PL. , Flamini G. , Morelli I. , 2003- Composition of the essential oil of *Ballota undulata*, *B.nigra* ssp. *foetida* and *B.saxatilis* ; Flavour and fragrance journal 18(6) .

11- Vukovic N. , Sukdolak S. , Solujic S. , Niciforovic N. , 2009- Antimicrobial activity of the essential oil obtained from roots and chemical composition of the volatile constituents from the roots, stems, and leaves of *Ballota nigra* from Serbia ; Journal of medicinal food 12(2) .

12- Fraternale D. , Bucchini A. , Giamperi L. , Ricci D. , 2009- Essential oil composition and antimicrobial activity of *Ballota nigra* L. ssp. *foetida*_. Nat prod commun. Apr; 4(4) .

16- Kumar S. , Kumari R. (2021). Pharmacological Activities of *Ballota nigra* (L.) Benth: A Mini Review. International Journal of Pharma Medicine and Biological Sciences. Vol.10 , No.3 .

13- Vrchovska V. , Spilkova J. , Valentao P. , Sousa C. , Andrade P.B, Seabra R.M. (2007). Antioxidative properties and phytochemical composition of Ballita nigra infusion. Food chemistry 105(4), 1396- 1403 .

14- Seidel V. , Bailleul F. , Tillequin F. , 1998- Diterpene and Phenylpropanoid heteroside esters from *Ballota nigra* L. Ann Pharm Fr. , 56(1): 31-5 .

15- Seidel V. , Verholle M. , Malard Y. , Tillequin F. , Fruchart JC. , Duriez P. , Bailleul F. Teissier E. , 2000- Phenylpropanoides from Ballota nigra L. inhibit in vitro LDL Peroxidation . Wiley & Sons, Ltd.
16- Daels- Rakotoarison DA. , Seidel V. , Gressier B. , Brunet C. , Tillequin F. , Bailleul F. Luyckx M. , Dine T. , Cazin M. , Cazin JC. ,2000- Neurosedative and antioxidant activities of Phenylpropanoids from Ballota nigra . Arzneimittelforschung. Jan ; 50(1): 16-23 .

17- Rigano D. , Formisano C. , Rosseli S. , Badaldmenti N. , Bruno M. , (2020). GC and GC-MS Analysis of Volatile Compounds From *Ballota nigra* subsp. uncinata collected in Aeolian Island, Sicily (southern Italy).
18- دفع الله م.، تطبيق التقدير الكمي لفيتامين (ج) باستخدام كرومات البوتاسيوم ثنائي فينيل كاربازيد ، (2019)- أطروحة ماجستير في الكيمياء الصناعية ، جامعة إفريقيا العالمية ، كلية العلوم البحتة والتطبيقية.
19- Kalina, A. ; Ljubka, E.; Nedjalka, H. ; Simeon, P. , *Comparative Analysis of the composition of flower volatiles from Lamium L. species and Lamiastrum galeobdolon* Heist. ex Fabr. Sofia , Bulgaria , (2003) .
20- Mohammed Q. , Hamad W. M., Mohammed E. K. , (2009), Spectrophotometric Determination of Total Vitamin C in Some Fruits and Vegetables at Koya Area - Kurdistan Region/ Iraq, Journal of Kirkuk University- Scientific Studies, 4, 46-54.
21- AL Majidi M. H., Y-ALQubury H., (2016), Determination of Vitamin C (ascorbic acid) Contents in various fruit and vegetable by UV-spectrophotometry and titration methods, Journal of Chemical and Pharmaceutical Sciences, 9, 2972-2974 .
22- Kapur,A., Haskovic, A., Copra-Janicijevic, A., Klepo, L., Topcagic, A., Tahirovic, I., Sofic, E., (2012), Spectrophotometric analysis of total ascorbic acid content in various fruits and vegetables, Bulletin of the Chemists and Technologists of Bosina and Herzegovina, 38, 39-42 .