دراسة عقاقيريّة في نبات الملّيسة

الدكتور عماد الحداد–أستاذ مساعد في كلية الصيدلة – جامعة البعث

ملخص البحث:

تم جني الأوراق لنبات المليسة Melissa Officinalis في شهر تشرين الأول من عام 2014 في محافظة حمص. استخلص الزيت العطري من الأوراق الطازجة بطريقتين، العينة الأولى بالنقع بالهكسان النظامي وعينة أخرى بطريقة الجرف ببخار الماء ، وتبين ان نسبة الزيت العطري يساوي 2,7% من وزن العينة الاولى ، و2,4% من وزن العينة الثانية، تم اختيار شروط مناسبة لفصل مكونات الزيت العطري على جهاز ال GC/MS وتبين: أن الزيت العطري المستخلص بالنقع بالهكسان النظامي يحوي على 25 مركب، المركبين الرئيسين هما ألفا سيترال وبيتا سيترال ويشكلان نسبة 52,03% وهما مركبين ألدهيدين ، كما تشكل المركبات التربينية نسبة عالية وهي 44,88%، وهذه المركبات إما غولية حلقية أو غولية ثنائية التربين أو من زمرة السيسكي تربينات ، كما وجد مركبين من طبيعة استرية بنسبة 2,12% ومركب حمضي بنسبة 0,97%.

كما تبين أن الزيت العطري المستخلص بطريقة الجرف ببخار الماء يحوي على 21 مركب، يشكل المركبان ألفا سترال وبيتا سيترال واللذان هما مركبين ألدهيدين نسبة 25,85% المركبين الرئيسين في العينة، بينما تشكل المركبات التربينية وعددها 18 مركب نسبة 70,95% وهي مركبات إما غولية أحادية التربين حلقية أو حلقية أحادية التربين أو من زمرة السيسكي تربينات، كما وتحوي الخلاصة على مركب خلوني بنسبة 2,9%.

وأيضاَ تبين لدى دراسة تأثير الزيت العطري المستخلص بكلتا الطريقتين أنّ له تأثير مثبط لجراثيم العنقوديات المذهبة والعصيات القولونية.

كلمات مفتاحية: نبات المليسة، زيت عطري، الجرف ببخار الماء.

Pharmacognostic study of Melissa officinalis

Abstract:

In October 2014 the collected air-green samples of melissa officinalis were gathered. Then the volatile oil from fresh samples was extracted with N-hexane and other samples with steam distillation.

Suitable conditions were chosen to separate the components of the volatile oil by GC-MAS and we noticed :

(25) compounds were found in the extracted volatile oil of the first sample (extraction by N-hexane).

3 compounds of them are alcohol noncyclic MonoTerpine class and they form 3,46% of the volatile oil weight, 1 alcohol cyclic Monoterpine compound forms 1,83% of the volatile oil total weight, 1 compound from cyclic DeTerpine class and it forms 2.31%, 2 compounds from cyclic MonoTerpine class and they form 3,14%, 2 compounds from Aldyhol group which form 52.03% from the volatile oil's weight.

13 compounds from SesquieTerpine class with a 35,14% of the total weight, 2 Ester compounds and they form 2,12%, and 1 acetic compound which is Lenolenic acid with a 0,97% form the volatile oil total weight.

Also volatile oil of the second sample (extraction by steam distillation) contain (21) compounds.

5 compounds are from alcohol noncyclic Monoterpine class and they form 23,34% from the volatile oil weight.

4 compounds are alcohol cyclic Monoterpine and they are 10,13%, 1 cylcic MonoTerpine compound and is 2,17% from the total weight, 2 compounds from Aldyhol group and they form 25,85%, 8 compounds from SesquieTerpine and they forms 35,31%.

And 1 compound from Keton group which forms 2,9% from the volatile oil weight.

Key words: Melissa officinalis, volatile oil, extraction, extraction by steam distilleation.

1- المقدمة :

ما زالت المركبات الدوائية ذات المنشأ الطبيعي تحتّل الصدارة بين المستحضرات الدوائية المستخدمة في الوقاية والعلاج والقسم الاعظم منها مأخوذ من النباتات الطبيّة، وكما هو معروف أنّ العالم النباتي هو مصدر لأنواع جديدة من المركبات الدوائية لمعالجة الأمراض المستعصية مثل السرطان وغيره، ومن بين الشائع استخدامه هو استخدام الزيوت العطرية والتي وجد لها تأثيرات متنوعة وتطبيقات كثيرة في المستحضرات الدوائية.

نتطرق في هذه البحث لدراسة مكونات الزيت العطري المستخلص من نبات الملّيسة Melissa Officinalis من الفصيلة الشفوية Laminaceae، وله أسماء عديدة مثل Lemon Balm، وبلسم النحل Bee Balm، البلسم الحلو Sweet Balm. [1,2,3,4,5,8,9].

المليسة نبات معمر من الفصيلة الشفوية، أصلها من جنوب أوروبا ولكنها تنتشر حول العالم وتنمو في منطقة حوض البحر الأبيض المتوسط . [6,7] ، هو نبات منتصب، أوراقه متقابلة بيضاوية الشكل، مسنّنة الحواف، وعليها غدد اذا ما هرست بالأصابع تنطلق منها رائحة الليمون الحامض المنعش مما يسهل التعرّف عليها.

إن الاستخدام النباتي للمليسة يعود إلى أكثر من 2000 عام، حيث استخدمها اليونانيون والرومان القدامى طبياً واعتبروها اكسير الحياة حيث تمنح القدرة على الحياة بسبب خواصها المنعشة للقلب والمقوية للجسد.

حالياً يباع الزيت العطري في الصيدليات بأشكال صيدلانية مختلفة [11]، حيث تستخدم المليسة في تنعيم البشرة وتخليصها من الأوساخ والبثور كما تدخل في العديد من مستحضرات الشعر والكريمات المرطبة للبشرة [15].

وقد تم استخدام المليسة الطبية في إنقاص الانفعال عند الأشخاص حيث تستخدم كمهدئ ومزيل للقلق ومخفضة للتوتر [10,12,14,16]، حيث لها تأثير قوي في الجسم لتثبيط

إنزيم ترانس أميناز والتي توضح التأثير المزيل للقلق [17]، كما تعمل الخلاصة على تثبيط امتصاص التيروكسين المفرز من الدرق [13]، وقد وجد أن للزيت العطري تأثير في منع ومعالجة مرض الزهايمر حيث أن له القدرة على ربط المستقبلات الكولينية الموسكارينية [18,19,20]، كما أن له تأثير مضاد للهيستامين ومضاد للتشنج ومضار للأكسدة [22]، ومن تأثيرات الزيت العطري أنه يرخي العضلات الملساء وله تأثير مضاد للجراثيم والفطريات والخمائر [21]، كما وأن له فعالية مضادة لفيروس الحلأ البسيط Herpes، والانفلونزا، والايدز HIV [21].

2-هدف البحث:

دراسة الزيت العطري المستخلص من أوراق نبات المليسة الطازجة بعد استخلاصها بطريقة الهكسان النظامي ومقارنتها بالاستخلاص بالجرف ببخار الماء ، مع دراسة تأثير الزيت العطري على جراثيم العنقوديات الذهبية وجراثيم العصيات القولونية.

3-مواد وطرق البحث :

الأجهزة:

1- جهاز مطياف الكتلة مربوط بكروماتوغرافيا غازية 2- جهاز مقياس الدوران النوعي

3- طرق الاستشراب على الطبقة الرقيقة

الأدوات:

1- جهاز تقطير موصول على مبرد صاعد 2- بياشر- 3-حواجل مصنفرة للعمل

المواد: ايتانول – ايتر- ماء مقطر – كلوروفورم – خلات الايتيل.

الاستخلاص : أولا: تم جمع المجموع الخضري لنبات المليسة من محافظة حمص في شهر تشرين الأول لعام 2014.

تم أخذ 450غ من الاوراق ونقعت بالهكسان النظامي لثلاثة ايام بدرجة حرارة المخبر ، ونقلت الخلاصة ثم رشحت على قمع بوخنر وأعيدت العملية عدة مرات.

تم تبخير المذيب من الرشاحة بواسطة المبخر الدوراني وتحت الضغط المنخفض ،وتم الحصول على الخلاصة النباتية الجافة حيث وضعت في فيال مناسب ضمن البراد.

ثانيا: تم أخذ 450غ من الاوراق واستخلصت بالجرف ببخار الماء حيث حصلنا على الخلاصة المائية ،وأضيف الهكسان النظامي واستخلصت بقمع الاستخلاص حيث تشكل لدينا طبقتين: (مائية –عضوية) ، الطبقة العضوية تحوي الهكسان النظامي ساحبةً معها الزيت العطري، ثم كررت العملية 3 مرات، وأضيف سلفات الصوديوم لسحب الرطوبة المتبقية ، ثم وضعت الخلاصة ببيشر ورشحت للتخلص من سلفات الصوديوم.

أما الطبقة المائية فقد وضعت في قمع الاستخلاص وأضيف لها الكلوروفورم واستخلصت من جديد ، وكررت العملية أكثر من مرة حيث حصلنا على طبقتين (طبقة عضوية كلوروفورمية وطبقة مائية) تم جمع الطبقة العضوية ووضعت في المبخر الدوراني ،حيث تم تبخير كامل المذيب واخذ ناتج التبخير ووضع في فيال في البراد بدرجة حرارة (+8)

– تميز الزيت العطري من العينة الاولى المستخلص بالهكسان بلون أصفر غامق ورائحة عطرية، ووزن نوعي(0.9091) ، ودوران نوعي (+24,1) ، وهو ينحل في الايتانول ويعطي محلول أصفر مائل للاخضرار غير شفاف .

– الزيت العطري المستخلص من العينة الثانية (بالجرف ببخار الماء) لا يمتزج مع الماء ووزنه النوعي (0,9074) ، ودورانه النوعي (+24) ، وينحل في الايتانول ويعطي محلول غير شفاف.

الكروماتوغرافيا TLC للخلاصة:

تم إجراء كروماتوغرافيا للعينتين لحمل جرف مختلفة، حيث تم وباستخدام كاشف حمض الكبريت بعد حلها بخلات الايتيل:

1- الخلاصة المائية باستخدام الميتانول: (الشكل رقم -1-).

2- خلاصة الهكسان باستخدام الكلوروفورم: (الشكل رقم -1-).

3- خلاصة مائية بعد حلها بالكلوروفورم بمذيب جرف (اسيتون) : (الشكل رقم -1-).

4- خلاصة هكسان بمذيب خلات الايتيل: (شكل رقم -1-).

دراسة تأثيرات الخلاصة على الجراثيم :

تم دراسة تأثيرات الخلاصات على نوعين من السلاسل الجرثومية وهي:

1- Staphylococus Aurues العنقوديات الذهبية .

2- Escerehia Coli العصيات القولونية .

تمت الدراسة كما يلي:

اولاً : طريقة الزرع على جراثيم العصيات الكولونية E.Coli :

يؤخذ بإبرة الزرع عينة من الزرعة الجرثومية توضع في 3مل مصل فيزيولوجي وتمزج العينة جيدا، يؤخذ بماسحة قطنية عينة من المعلق الجرثومي ويتم فرش العينة على كامل طبق بتري حاوي على (نتريت آغار)، يتم حفر حفرة صغيرة في منتصف طبق بتري، وتوضع العينة المراد منها كشف الفعالية المؤثرة للقضاء على الجراثيم .

توضع بالمخبر في درجة حرارة 37°م لمدة (24-48) ساعة ، وبعدها تُقرأ النتائج حيث يلاحظ هالة من عدم النمو واضحة في أكثر من طبق تم زرعه (الشكل رقم -2-) حيث تم تسجيل الفعالية المضادة للجراثيم بقياس عرض منطقة تثبيط النمو الجرثومي حول مكان إضافة الزيت العطري.

ثانياَ : طريقة الزرع على جراثيم العنقوديات الذهبية :

يؤخذ باستخدام إبرة الزرع عينة من الزرعة الجرثومية وتمدد في 1مل ماء مقطر ، ثم توضع العينة بأنبوب يحوي 9مل ماء مقطر، يؤخذ 1مل من الانبوب ويوضع في أنبوب آخر يحوي 9مل ماء مقطر، وهكذا حتى ثامن تمديد، تؤخذ ماسحة قطنية من الانبوب الثامن (الاخير) وتفرش على طبق بتري حاوي نتريت آغار محضر سابقا بطريقة عقيمة.

ايضاَ يتم تجهيز (حفر) حفرة صغيرة في وسط الطبق ، وتوضع العينة المراد دراستها وتوضع بالحاضنة بدرجة 37°م لمدة 24 ساعة ، ثم يتم قياس قطر الهلالة من عدم النمو التي كانت واضحة في اكثر من طبق. (الشكل –3–) حيث تم تسجيل الفعالية المضادة للجراثيم بقياس عرض منطقة تثبيط النمو الجرثومي حول مكان إضافة الزيت العطري.

ثالثاَ: تحديد الحد الأدنى MIC والتركيز القاتل MBC لمستخلص الزيت العطري لأوراق نبات المليسة:

حضرت سلسلة من التراكيز للزيت الطيّار بلغت قيمتها(10–5–2–1–0,6–0,3)% حجم/حجم وقد استخدم وسط (Tryptom Soy Broth) T.S.B.

أضيف 10مل من معلق الجراثيم المجهرية قيد الدراسة الحاوية على $1,5\times10^8$ خلية/مل إلى الأنابيب جميعها، رجّت الأنابيب جيداَ وحضنت عند درجة حرارة 37° لمدة 24 ساعة في حاضنة، قرأت النتائج على أساس ملاحظة العكر بعد مقارنتها بالشاهد (1) وهو عبارة عن الوسط الملقح بالبكتريا فقط، والشاهد رقم (2) عبارة عن الوسط مع الزيت الطيّار فقط.

حددت قيمة الMIC وذلك بأخذ 0,1 من الأنابيب التي لم تظهر أي عكورة ونشره على سطح وسط الآغار المغذي بواسطة ناشر زجاجي معقم، ثم حضنت الأطباق بدرجة حرارة 37° لمدة 24 ساعة وسجلت النتائج على أساس وجود نمو إيجابي لأقل عدد من المستعمرات .

حددت قيمة الMBC بأخذ 0,1 من الأنابيب المحضرة ونشرت على وسط الآغار بواسطة ناشر زجاجي معقم وتحضن بدرجة حرارة 37° لمدة 24 ساعة، سجلت النتائج على أساس عدم وجود نمو.

اختيار شروط الفصل المناسبة :

تم اختيار شروط الفصل المناسبة على جهاز ال GC/MS في كلية العلوم بجامعة دمشق بأسلوب الاستفادة من الخطأ للتصويب وذلك بتغيير تدفق الغاز الخامل ، وتدرج الحرارة والبارامترات الاخرى.

وتم بعد محاولات كثيرة اختيار شروط الفصل المناسبة لكل من عينتي الزيت العطري المستخلص من المجموع الخضري الغض بالهكسان النظامي والعينة الثانية بعد الاستخلاص بالجرف ببخار الماء.

يشاهد من الشكل –4– GC/MS كروماتوغرافيا شروط الفصل على GC وشروط تسجيل اطياف الكتل على MS لمكونات الزيت العطري المستخلص من العينة الغضة بواسطة الهكسان النظامي.

ويشاهد من الشكل –5– كروماتوغرافيا شروط الفصل على GC وشروط تسجيل اطياف الكتل على ال MS لمكونات الزيت العطري المستخلص من العينة الغضة بعد استخلاصها بالجرف ببخار الماء

التحليل وإثبات الهوية:

إن حاسوب جهاز ال GC/MS مزود بمكتبة أطياف كتلة للمركبات العضوية الطبيعية، ومزود ايضا ببرنامج لحساب النسبة المئوية لوزن المكونات .

ان كل قمة من قمم GC/MS تقابل مكونا موافقا من الزيت العطري ، سجلت أطياف الكتلة لكل القمم (المكونات) وتمت مقارنتها حاسوبيا بالأطياف المخزنة في المكتبة.

لتوضيح إثبات الهوية على (الشكل رقم –4–) طيف المكون رقم (1) وهو احد مكونات الزيت العطري للعينة الغضة المستخلصة بالهكسان النظامي .

وفي (الجدول –1–) اعطتنا للمركب الأول زمن الاحتباس RT واسم المركب ونسبته المئوية، حيث نجد أن المكون رقم (1) هو: 1–اوكتن–3–اول الذي أعطى زمن احتباس على (الجدول –1–) يساوي 5,917 ونسبته المئوية 0,65%

أيضاً اذا أخذنا الطيف رقم (8) من الشكل (–4–) والذي له أكبر قيمة واضحة وزمن الاحتباس له RT يساوي 14,835، نجد وبالعودة إلى المكتبة أي (الجدول رقم –1–) أن هذا المركب هو ألفا سيترال ونسبته المئوية بالعينة 31,46% حيث يعتبر المركب الأساسي في هذه العينة.

بالنسبة لمكونات العينة لثانية الغضة المستخلصة بالجرف ببخار الماء:

نجد من (الشكل رقم –5–) أن الطيف رقم (1) الذي له زمن احتباس 5,931 وبالعودة إلى الجدول (1) فإن هذا المركب هو 1–اوكتن–3–اول ونسبته المئوية 1,37%.

وأيضاً في (الشكل –5–) اذا أخذنا المركب الذي له زمن احتباس يساوي 14,806 وعدنا إلى المكتبة في الجدول(1) نجد أن هذا المركب هو ألفا سيترال ونسبته 14,4% وهو أيضاً من المركبات الرئيسية في هذه العينة.

4–النتائج و المناقشة:

1–تبين ان نسبة الزيت العطري من عينة المجموع الخضري لأوراق نبات المليسة المستخلص بواسطة النقع بالهكسان النظامي تساوي 2,7% من وزن العينة ، بينما نسبة الزيت العطري من عينة المجموع الخضري المستخلص باستخدام الجرف ببخار الماء تساوي 2,4% من وزنه.

2-تبين أن الزيت العطري المستخلص بالهكسان النظامي يحوي على 25مركب، 13 مركب منها من زمرة السيسكي تربينات، وثلاثة مركبات غولية أحادية التربين غير حلقية، ومركب غولي أحادي التربين حلقي، وأيضاً مركب غولي ثنائي التربين غير حلقي، ومركبين من زمرة أحاديات التربين الحلقية، وأيضاً مركبين ألدهيدين واثنين من طبيعة استرية بالإضافة إلى حمض هو حمض اللينولينيك.

بينما في العينة الثانية المستخلصة بالجرف ببخار الماء ان الزيت العطري يحوي على 14 مركب كيميائي ،اربع مركبات وحيدة التربين حلقية وثلاثة مركبات من الايترات الفينولية ومركب من مجموعة السيسكي تربينات بالاضافة لوجود ثلاثة مركبات من طبيعة استرية ومركب غولي ثنائي التربين ومركب حمضي ومركب غولي.

3-تبين أن المركبين الألدهيدين ألفا سيترال وبيتا سيترال هما المركبين الرئيسين في العينة المستخلصة بالهكسان النظامي، وأيضاً في العينة المستخلصة بالجرف ببخار الماء.

4-تبين أن نسبة المركبات الغولية أحادية التربين الحلقية في العينة الأولى هي ثلاثة مركبات، بينما في العينة الثانية هي خمس مركبات.

5-تم إثبات وجود مركب غولي أحادي التربين حلقي في العينة الأولى المستخلصة بالهكسان بالنظامي، بينما عدد المربكات الغولية أحادية الحلقة التربينية الحلقية في العينة الثانية هي أربع مركبات.

6-يوجد مركبين أحادي التربين حلقي في العينة الأولى هما الأوكاليبتول والليمونين، بينما يوجد مركب أحادي التربين حلقي وحيد في العينة الثانية هو الأوكاليبتول.

7-هناك عدد من المركبات من زمرة السيسكي تربينات وعددها 13 مركب في العينة الأولى، يوجد منها ثلاثة مركبات غولية من من زمرة السيسكي تربينات وتشكل هذه المركبات نسبة كبيرة من المركبات.

بينما نجد في العينة الثانية المستخلصة بالجرف ببخار الماء أن عدد المركبات هو ثماني مركبات يوجد منها خمس مركبات غولية وأيضاً تشكل نسبة عالية من المركبات

8-تبين وجود مركبين من طبيعة استرية أحادية التربين في العينة الأولى بينما لا توجد مثل هذه المركبات في العينة الثانية.

9-يوجد مركب حمضي في العينة الأولى وغير موجود في العينة الثانية هو حمض اللينولينيك.

10- ويوجد مركب خلوني في العينة الثانية وغير موجود في العينة الأولى.

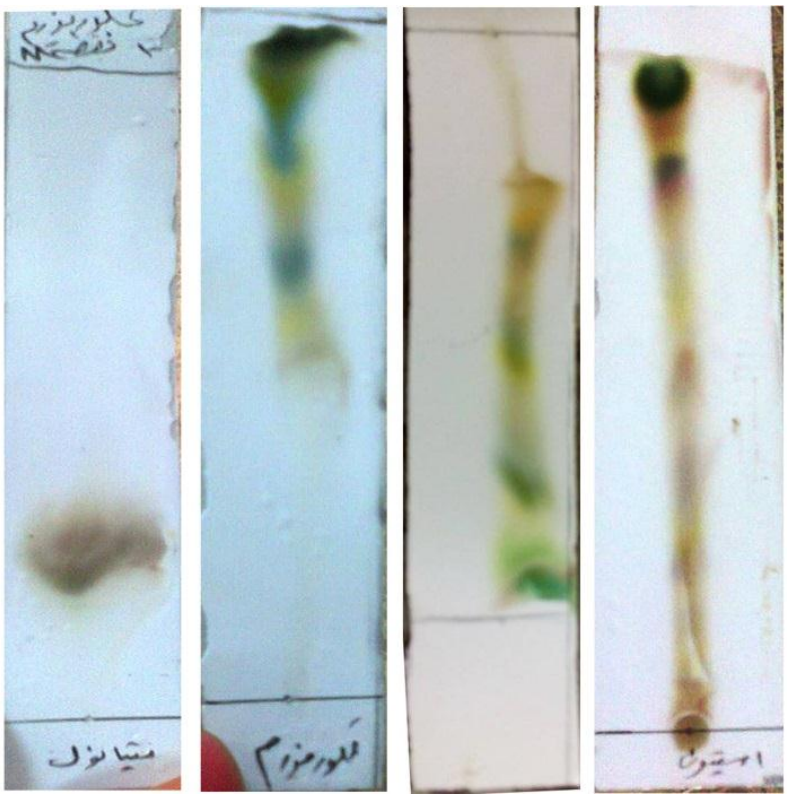
11- تبين بعد إجراء كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة لكلا عينتي الزيت العطري وباستخدام أطوار جرف مختلفة: أن الخلاصة المائية باستخدام طور جرف هو الميتانول كان الفصل بين المكونات غير واضح، بينما باستخدام طور جرف هو الاسيتون نجد أن الفصل كان أوضح ويمكن استخدامه لفصل المكونات.

أيضاً نلاحظ من خلاصة الهيكسان وباستخدام طور جرف هو الكلوروفورم أن فصل المكونات جيد، واذا استبدلنا طور الجرف بخلات الايتيل أيضاً نجد أن الفصل جيد

12- أظهرت النتائج أن للزيت الطيّار تأثير مضاد لنمو الأحياء المجهرية (العنقوديات المذهبة والعصيات القولونية) حيث وجد أن البكتريا موجبة الغرام هي الأكثر تأثراً بالزيت الطيار،حيث بلغ معدل قطر التثبيط لبكتريا العنقوديات المذهبة 20 ملم وقد

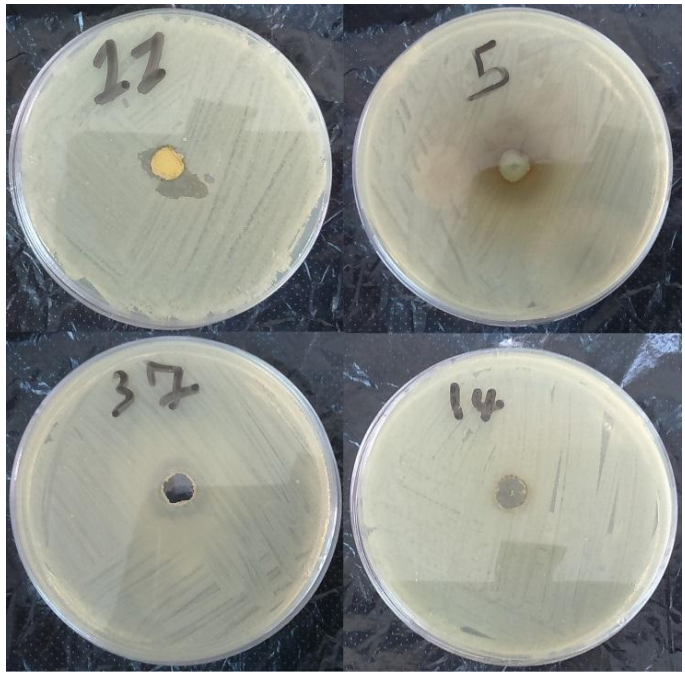
يعزى هذا إلى كون طبقة الببتوغليكان الموجودة في إيجابية الغرام معرضة للاتصال أكثر بالزيت الطيار ولا تمتلك البكتريا حماية من قبل أي مادة خارج هذه الطبقة.

أما بالنسبة للجراثيم سلبية الغرام (العصيات القولونية) كان التاثير أقل فعالية بتاثير الزيت العطري الطيار إذ بلغ معدل قطر التثبيط من 7–11 ملم.

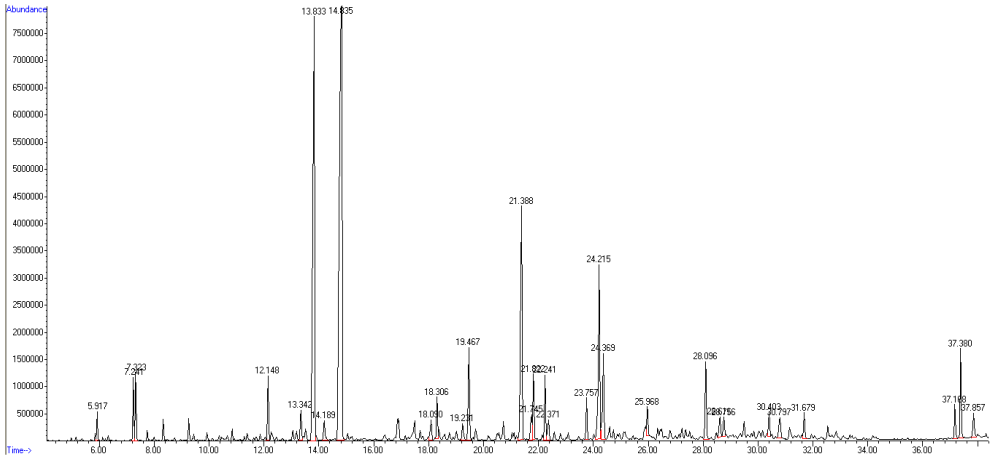


الشكل رقم (1) كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة للزيت العطري لنبات المليسة

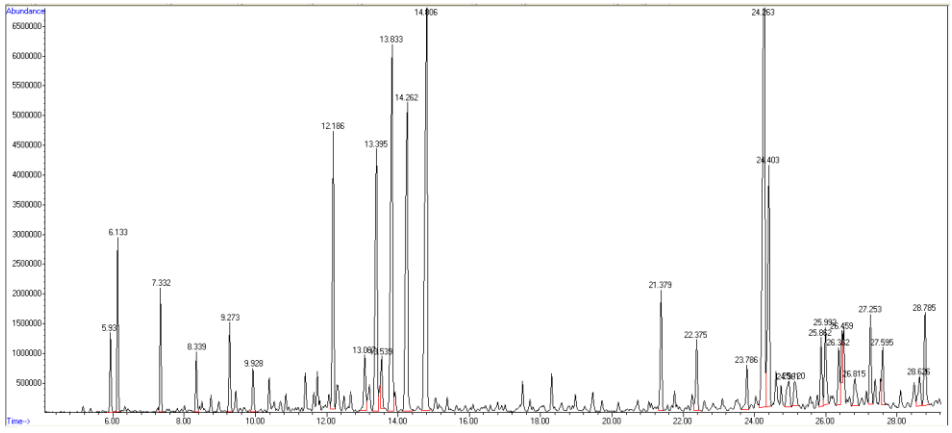
الشكل رقم (2) تأثير الزيت العطري للمليسة على جراثيم العصيات القولونية



الشكل رقم (3) تاثير الزيت العطري للمليسة على العنقوديات الذهبية



الشكل رقم (–4–) : الطيف الخاص بالعينة المستخلصة بالهكسان النظامي



الشكل (-5-): الطيف الخاص بالعينة المستخلصة بالجرف ببخار الماء

الجدول (1) : مكتبة أطياف كروماتوغرافيا الغازية

R.T.	Pct% Total	sampl1 Name components
5.917	0.65	1-Octen-3-ol
7.241	1.51	D-Limonene
7.323	1.63	Eucalyptol
12.148	1.83	α-Terpineol
13.342	1.03	cis-Geraniol
13.833	20.57	Beta-Citral
14.189	0.78	trans-Geraniol
14.835	31.46	Alpha-Citral
18.09	0.82	Alpha-Copaene
18.306	1.12	Acetic acid, geraniol ester
19.231	0.66	Alpha-Cedrene
19.467	3.18	beta-Caryophyllene
21.388	10.07	Alpha-Curcumene
21.745	1.03	.(-)-Zingiberene
21.822	1.97	Elixene
22.241	1.88	β-Himachalene
22.371	0.86	Germacrene D-4-ol
23.757	1.23	.±-trans-Nerolidol
24.215	6.70	Spathulenol
24.369	3.25	Caryophyllene oxide
25.968	0.89	tau.-Cadinol
28.096	2.60	(-)-Spathulenol
37.168	1.00	Linolenic acid, methyl ester
37.38	2.31	Phytol
37.857	0.97	Linolenic acid

تتمة الجدول (1): مكتبة أطياف كروماتوغرافيا الغازية

R.T.	Pct Total	sampl2
5.931	1.37	1-Octen-3-ol
6.133	2.90	5-Hepten-2-one, 6-methyl-
7.332	2.17	Eucalyptol
8.339	1.13	Terpineol, cis-β-
9.273	1.82	Linalol
9.928	0.94	trans-p-Mentha-2,8-dienol
12.186	6.55	α-Terpineol
13.067	1.51	trans-Carveol
13.395	8.59	cis-Geraniol
13.539	1.18	.Isogeraniol
13.833	11.45	Beta-Citral
14.262	10.38	Guaniol
14.806	14.40	Alpha-Citral
21.379	2.81	Alpha-Curcumene
22.375	1.74	Germacrene D-4-ol
23.786	1.09	.±-trans-Nerolidol
24.263	17.28	Spathulenol
24.403	6.51	Caryophyllene oxide
25.992	2.13	tau.-Cadinol
26.362	1.43	α-Cadinol
28.785	2.32	Dihydrocurcumene

بعد التحليل وإثبات الهوية لكل من مكونات الزيت العطري للعينتين المستخلصتين من النبات الغض بواسطة النقع بالهكسان النظامي وبواسطة الجرف ببخار الماء تبين ما يلي:

أولا: إن الزيت العطري المستخلص من أوراق المليسة بالنقع بالهكسان النظامي يحوي 25 مركب، وقد تم إثبات هوية هذه المركبات وهي :

1- 1-أوكتن-3-اول 1-Octen-3-ol نسبته 0,65% وصيغته المجملة هي $C_8H_{16}O$، وهو مركب غولي أحادي التربين سلسلة مفتوحة.

2- دي ليمونين D-Limonene ، ويسمى أيضاً Carvene وهو: 1- ميتيل -4- ميتينيل سيكلو هيكسان وصيغته $C_{10}H_{16}$ ونسبته 1,51% وهو مركب أحادي التربين حلقي.

3- أوكاليبتول Eucaliptol، $C_{10}H_{18}O$ ، وهو 8,1- سينيئول ونسبته 1,63% وهو مركب أحادي التربين حلقي.

4- ألفا تربينول α-Terpineol وهو 4- ميتيل سيكلو هيكسن-3-إن ايل بروبان-2-أول ونسبته 1,83%، وصيغته $C_{10}H_{18}O$ وهو غول أحادي التربين حلقي.

5- سيس جيرانيول (المقرون) Cis-Geraniol، C10H18O، وهو 7,3-دي ميتيل 6,2- أوكتادين- اول، ونسبته 1,03% وهو مركب غولي أحادي التربين سلسلة مفتوحة.

6- ترانس جيرانيول (المفروق) Trans-Geraniol، وهو 7,3-دي ميتيل 6,2- أوكتادين- اول، ونسبته 0,78% وهو مركب غولي أحادي التربين سلسلة مفتوحة.

7- بيتا سيترال Citral-β وهو 7,3-دي ميتيل 6,2- أوكتادنيال أو يسمى نيرولي الدهيد، صيغته المجملة $C_{10}H_{16}O$ ونسبته 20,57% وهو مركب ألدهيدي.

8- ألفا سيترال Citral-α وهو 7,3-دي ميتيل 6,2- أوكتادنيال أو يسمى ليمونال Lemonal، صيغته المجملة $C_{10}H_{16}O$ ونسبته 31,46% وهو مركب ألدهيدي.

9- ألفا كوباين Copaene-α، أو ما يسمى Trivial وهو 8-ايزوبروبيل 3,1- دي ميتيل تري سيكلو ديك -3-ين ، صيغته $C_{15}H_{24}$ وهو مركب من زمرة السيسكي تربينات ونسبته 0,82%.

10- استر خلات الجيرانيول Aceticacid Geraniol ester هو: 6,2- اوكتادن-اول-7,3- تري ميتيل اسيتات ونسبته 1,12% وهو مركب استر مركب أحادي التربين.

11- ألفا سيدرين Cedrene-α، هو: 8,6,6,2- تترا ميتيل تري سيكلو ميتا زولين، ونسبته 0,66% وهو من مركبات السيسكي تربينات.

12- بيتا كاريوفيللين Caryophyellene-β وهو: 11,11,4- تري ميتيل -8- ميتيلين بيسكلونديك -4-ين، $C_{15}H_{24}$، ونسبته 3,18% زهز من مركبات السيسكي تربينات.

13- ألفا كوركومين Curcumene-α ، ونسبته 10,07% وصيغته $C_{15}H_{22}$ وهو من السيسكي تربينات.

14- زينجيبرين الميسر Zingiberene(–) ونسبته 1,03% وهو: 2–ميتيل–5(–6 ميتيل هيبت –5–إن–2–ايل سيكلو هيكسا 3,1– دي إن، صيغته $C_{15}H_{25}$ وهو من السيسكي تربينات.

15- إليكسين Elixene وهو 2– ايزو بروبينيل –1– ميتيل –4 (1– ميتيل ايتيل دين) ، $C_{15}H_{24}$ ، نسبته 1,97% وهو من السيسكي تربينات.

16- بيتا هيما تشالين β–Himachalene وهو 9,5,5,3– تترا ميتيل– 7,6,5,4,2– هيكس هيدرو بيزو أمنولين ، نسبته 1,88%، وهو من السيسكي تربينات.

17- جيرماكرين D–4–أول Germacrene D–4–ol ونسبته 0,86% وهو 5,1– دي ميتيل –8 (بروبلين –2– ايل) سيكلو ديكا –5,1–دي إن، وهو غول سيسكي تربيني.

18- ± ترانس نيروليدول Trans Nerolidol± ونسبته 1,23% وهو: 11,7,3– تري ميتيل –10,6,1– دو ديكاترين 3–اول، $C_{15}H_{26}O$، وهو غول سيسكي تربيني.

19- سباثولينول Spathulenol ونسبته 6,70% ، $C_{15}H_{24}O$، وهو غول سيسكي تربيني.

20- كاريوفيللين أوكسيد Caryophyllene Oxide، $C_{15}H_{24}O$، نسبته 3,25% وهو من السيسكي تربينات.

21- تاو كادينول Tau Cadinol نسبته 0,89%، وهو غول سيسكي تربيني.

22- (−) سباثولينول (الميسر) Spathulenol(−) ، $C_{15}H_{24}O$، ونسبته 2,60% وهو غول سيسكي تربيني ميسر.

23- حمض اللينولينييك ميتيل استر Linolenic Acid methyl ester، ونسبته 1% وهو مركب استري.

24- فيتول Phytol ونسبته 2,31% وهو تترا ميتيل −2− هيكساديكن −1− اول ، $C_{19}H_{32}O_2$ وهو غول ثنائي التربين سلسة مفتوحة.

25- حمض اللينولينيك Linolenic Acid نسبته 0,97% وهو مركب حمضي.

في هذه العينة المستخلصة بالنقع بالهكسان النظامي نجد أن هناك مركبين الدهيدين يشكلان نسبة عالية تبلغ 52,03% من وزن الزيت العطري وهما مركب ألفا سيترال ومركب بيتا سيترال وهما المركبان الرئيسيان في هذه العينة، بينما نلاحظ أن زمرة السيسكي تربينات تشكل نسبة 35,14% من وزن الزيت العطري وهي مجموعة مكونة من 13مركب منها 3 مركبات غولية سيسكي تربينية.

بينما نلاحظ أن المركبات أحادية التربين الغولية الحلقية تشكل نسبة 1,83%، بينما أحادية التربين الحلقية تشكل نسبة 3,14%، والمركبات الغولية ثنائية التربين المفتوحة تشكل نسبة 2,31% ، كما وهنالك مركبين من طبيعة استرية بنسبة 2,12% ومركب حمضي وحيد بنسبة 0,97%.

ثانياً: الزيت العطري المستخلص من الأوراق الغضّة بطريقة الجرف ببخار الماء، يحوي على 21 مركب هي:

1- 1-أوكتن-3-اول 1-Octen-3-ol نسبته 1,37% وصيغته المجملة هي $C_8H_{16}O$، وهو غول أحادي التربين غير حلقي.

2- 5-هيبتن-2- أون،6 ميتيل 5-Hepten-2-one,6-methyl، نسبته 2,90%، صيغته $C_8H_{14}O$ وهو من الخلونات.

3- الأوكاليبتول Eucalyptol، هو: 8,1-سينيئول، نسبته 2,17% وصيغته $C_{10}H_{18}O$، وهو مرب أحادي التربين حلقي.

4- بيتا تربينول المقرون β-Terpineol Cis وهو: 4- ميتيل سيكلو هيكسن-3-إن ايل (بروبان-2-أول) ونسبته 1,13%، وصيغته $C_{10}H_{18}O$ وهو مركب غولي تربيني حلقي.

5- اللينالول Linalol بنسبة 1,82% وهو: 7,3- دي ميتيل اوكتا -6,1- دي ميتين -3- أول، غول تربيني ذات سلسلة مفتوحة.

6- بارا مينتا-8,2- دينول المفروق Trans-p-Menta-2,8-dienol ، نسبته 0,94% وهو غول أحادي التربين حلقي.

7- ألفا تربينول α-Terpineol وهو 4- ميتيل سيكلو هيكسن-3-إن ايل بروبان-2-أول ونسبته 6,55%، وصيغته $C_{10}H_{18}O$ وهو مركب غول أحادي التربين حلقي.

8- جيرانيول المقرون Cis-Geraniol، $C_{10}H_{18}O$، وهو 7,3-دي ميتيل 6,2-أوكتادين- اول، ونسبته 8,59% وهو مركب غولي أحادي التربين غير حلقي.

9- كارفيرول المفروق Trans Carverol نسبته 1,5% ، صيغته $C_{10}H_{16}O$، وهو: ايزوبروبينيل-2-ميتيل -2- سيكلو هيكسن-1-أول، مركب غولي أحادي التربين حلقي.

10- ايزو جيرانيول Iso Geraniol، هو: (ترانس)-7,3-دي ميتيل-6,2-اوكتاديين، نسبته 1,18%، وهو مركب غولي أحادي التربين غير حلقي.

11- بيتا سيترال β-Citral وهو 7,3-دي ميتيل 6,2- أوكتادنيال ، صيغته المجملة $C_{10}H_{16}O$ ونسبته 11,45% وهو مركب ألدهيدي.

12- ألفا سيترال α-Citral وهو 7,3-دي ميتيل 6,2- أوكتادنيال أو يسمى ليمونال Lemonal، صيغته المجملة $C_{10}H_{16}O$ ونسبته 14,40% وهو مركب ألدهيدي.

13- غوانيول Guaniol أو ما يسمى Germiol، أو Lemonol، نسبته 10,38% وهو: 6,2-اوكتادين-اول- 7,3- دي ميتيل وهو مركب غولي أحادي التربين غير حلقي.

14- ألفا كوركومين α-Curcumene ، ونسبته 2,81% وصيغته $C_{15}H_{22}$ وهو: 1-(5,1-دي ميتل-4- هيكسينيل)-4-ميتيل بيزين، من السيسكي تربينات.

15- جيرماكرين D-4-أول (الميمن) Germacrene D-4-ol ونسبته 1,74% وهو 5,1- دي ميتيل -8 (بروبلين -2- ايل) سيكلو ديكا -5,1-دي إن، وهو من السيسكي تربينات.

16- ± ترانس نيروليدول Trans Nerolidol± ونسبته 1,9% وهو: 11,7,3- تري ميتيل -10,6,1- دو ديكاترين 3-اول، $C_{15}H_{26}O$، وهو من زمرة السيسكي تربينات.

17- سباثولينول Spathulenol ونسبته 17,28%، $C_{15}H_{24}O$، وهو: تري ميتيل-4-ميتيل دين-7,7,4,3,2,1-اوكتا هيدروسيكلو بروبا(أدزولين-7-اول)، مركب غولي من زمرة السيسكي تربينات.

18- كاريوفيللين أوكسيد Caryophyllene Oxide، $C_{15}H_{24}O$، نسبته 6,51% وهو من السيسكي تربينات.

19- تاو كادينول Tau Cadinol نسبته 2,13%، وهو: 6,1-دي ميتيل -4-بروبان-2-ايل -8,8,7,4,4,3آ-هيكسا هيدرو-4,4-نافتالين أول، مركب غولي من السيسكي تربينات.

20- ألفا كادينول α-Cadinol نسبته 1,43% ، $C_{15}H_{26}O$، هو: 6,1-دي ميتيل -4- بروبان-2-ايل- 8,8,7,4,3آ- هيكسا هيدرو-2-H-نافتالين، مركب غولي من السيسكي تربينات.

21- دي هيدرو كركومين Dihydro Curcumene نسبته 2,32%، هو: 1(5,1- دي ميتيل هيكسيل 4-ميتيل)، من السيسكي تربينات.

في هذه العينة المستخلصة بواسطة الجرف بخار الماء تبيّن أن المركبات الرئيسية هما مركبين ألدهيدين هما ألفا سيترال وبيتا سيترال ويشكلان نسبة 25,85% من وزن الزيت العطري، بينما نلاحظ أن المركبات من زمرة السيسكي تربينات وهي ثمانية مركبات تشكل نسبة 35,30% من وزن الزيت العطري، وهناك مركبات تربينية مختلفة خمسة

منها احادية التربين غولية غير حلقية تشكل نسبة 23,34%، وأربع مركبات غولية أحادية التربين حلقية بنسبة 10,13%، ومركب حلقي أحادي التربين ومركب خلوني وحيد أيضاً بنسبة 2,9 من وزن الزيت العطري

5-الاستنتاجات والتوصيات:

1- ان الزيت العطري المستخلص من أوراق نبات المليسة المأخوذ من البيئة السورية يمكن ان يعطي مركبات مختلفة وبنسب مغايرة حسب طريقة الاستخلاص .

2- ان طريقة النقع بالهكسان هي من أفضل من طريقة الجرف ببخار الماء لاستخلاص الزيت العطري من أوراق نبات المليسة حيث نستطيع الوصول إلى كمالية الاستخلاص، بمعنى ان نحصل على أكبر عدد ممكن من المركبات.

3- تم الحصول على المركبات الفعالة وهي المركبات الالدهيدية ألفا سيترال وبيتا سيترال بطريقة النقع بالهكسان النظامي بكميات أكبر منها بطريقة الجرف ببخار الماء.

4- يوجد فوائد وتأثيرات عديدة للمركبات المستخلصة من أوراق نبات المليسة، ومن هذه التأثيرات هي تأثير الزيت العطري على جراثيم العنقوديات الذهبية والعصيات القولونية القاتلة لها.

5- يوجد العديد من المركبات التي لها تأثيرات مهمة جداً غير الزيت العطري ضمن هذا النبات والغير مدروسة والتي يجب دراستها.

References:

[1] "Melissa officinalis information from NPGS/GRIN". www.ars-grin.gov. Retrieved 2008-03-04

[2] "Lemon balm". University of Maryland Medical Center. Apr 5, 2011. Retrieved Oct 18, 2014.

[3] Chisholm, Hugh, ed. (1911). "Balm". Encyclopædia Britannica **3** (11th ed.). Cambridge University Press.

[4] "Melissa officinalis". Natural Resources Conservation Service PLANTS Database. USDA. Retrieved 6 July 2015.

[5] Kewe World Checklist of Selected Plant Families

[6] Herb Society of America. 2007 Lemon Balm: An Herb Society of America Guide

[7] United States Department of Agriculture, "PLANTS Profile for Melissa officinalis," http://plants.usda.gov/java/profile?symbol=MEOF2. Retrieved July 2, 2010.

[8] Theophrastus, Enquiry into Plants, VI.1.4, identified as "M. officinalis" in the index of the Loeb Classical Library edition by Arthur F. Hort, 1916 etc.

[9] As "Melissa" (Common Blam) in both issues of Gerard's Catalogus, 1596, 1599: Benjamin Daydon Jackson, A catalogue of plants cultivated in the garden of John Gerard, in the years 1596-1599, 1876

[10] Vogl, S; Picker, P; Mihaly-Bison, J; Fakhrudin, N; Atanasov, AG; Heiss, EH; Wawrosch, C; Reznicek, G; et al. (2013). "Ethnopharmacological in vitro studies on Austria's folk medicine-An unexplored lore in vitro anti-inflammatory activities of 71 Austrian traditional herbal drugs". Journal of Ethnopharmacology **149** (3): 750–71. doi:10.1016/j.jep.2013.06.007. PMC 3791396. PMID 23770053.

[11] Hiller, Sabine (September 6, 2010). "FOOD Using lemon balm in the kitchen". The Mayo News. Retrieved May 2, 2012.

[12] Kennedy DO, Little W, Scholey AB (2004). "Attenuation of laboratory-induced stress in humans after acute administration of Melissa officinalis (Lemon Balm)". Psychosom Med **66** (4): 607–13. doi:10.1097/01.psy.0000132877.72833.71. PMID 15272110.

[13] University of Maryland Medical Centre, "Lemon Balm"

[14] Zeraatpishe A., Oryan S., Bagheri M.H., Pilevarian A.A., Malekirad A.A., Baeeri M., Abdollahi M. (2011). "Effects of Melissa officinalis L. on oxidative status and DNA damage in subjects exposed to long-term low-dose ionizing radiation". Toxicology and Industrial Health **27** (3): 205–212. doi:10.1177/0748233710383889. PMID 20858648.

[15] Jeong-Kyu KIM, Chang-Soo KANG, Jong-Kwon LEE, Young-Ran KIM, Hye-Yun HAN, Hwa Kyung YUN (2005). "Evaluation of Repellency Effect of Two Natural Aroma Mosquito Repellent Compounds, Citronella and Citronellal". Entomological Research **35** (2): 117–120. doi:10.1111/j.1748-5967.2005.tb00146.x.

[16] Kennedy, D. O.; Little, W; Scholey, AB (2004). "Attenuation of Laboratory-Induced Stress in Humans After Acute Administration of Melissa officinalis (Lemon Balm)". Psychosomatic Medicine **66**

(4): 607–13. doi:10.1097/01.psy.0000132877.72833.71. PMID 15272110.

[17] Awad, Rosalie; Muhammad, Asim; Durst, Tony; Trudeau, Vance L.; Arnason, John T. (2009). "Bioassay-guided fractionation of lemon balm (Melissa officinalis L.) using an in vitro measure of GABA transaminase activity". Phytotherapy Research **23** (8): 1075–81. doi:10.1002/ptr.2712. PMID 19165747.

[18] Kennedy, D O; Wake, G; Savelev, S; Tildesley, N T J; Perry, E K; Wesnes, K A; Scholey, A B (2003). "Modulation of Mood and Cognitive Performance Following Acute Administration of Single Doses of Melissa Officinalis (Lemon Balm) with Human CNS Nicotinic and Muscarinic Receptor-Binding Properties". Neuropsychopharmacology **28** (10): 1871–81. doi:10.1038/sj.npp.1300230. PMID 12888775.

[19] Akhondzadeh, S; Noroozian, M; Mohammadi, M; Ohadinia, S; Jamshidi, AH; Khani, M (2003). "Melissa officinalis extract in the treatment of patients with mild to moderate Alzheimer's disease: a double blind, randomised, placebo controlled trial". Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry **74** (7): 863–6. doi:10.1136/jnnp.74.7.863. PMC 1738567. PMID 12810768.

[20] Chaiyana W., Okonogi S."Inhibition of cholinesterase by essential oil from food plant". Phytomedicine. 19 (8-9) (pp 836-839), 2012

[21] Nascimento, Gislene G. F.; Locatelli, Juliana; Freitas, Paulo C.; Silva, Giuliana L. (2000). "Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria". Brazilian Journal of Microbiology **31** (4): 247–56. doi:10.1590/S1517-83822000000400003.

[22] Dastmalchi, K; Damiendorman, H; Oinonen, P; Darwis, Y; Laakso, I; Hiltunen, R (2008). "Chemical composition and in vitro antioxidative activity of a lemon balm (Melissa officinalis L.) extract". LWT - Food Science and Technology **41** (3): 391–400. doi:10.1016/j.lwt.2007.03.007