الجمـهورية الجـزائريـة الديمقراطيـة الشـعبية
People's Democratic Republic of Algeria
وزارة التعليـم العالـي والبـحث العلمـي
Ministry of Higher Education and Scientific Research
جامعـة الشهيـد حمـه لخضر الوادي
University of Echahid Hamma Lakhdar -El OUED
كليـة علـوم الطبيعـة والحيـاة
Faculty of Natural and Life Sciences
قسـم البيـولـوجيـا الخلوية والجزيئية
Department of Cellular and Molecular Biology

أطروحة لنيـل شهـادة دكتوراه الطور الثالث (LMD)

شعبة: العلوم البيولوجية

تخصص: بيولوجيا وفيزيولوجيا النبات

المـوضـوع

# التثمين البيولوجي والصياغة الصيدلانية لمادة اللبن النباتي المستخلص من نباتي *Euphorbia* *guyoniana* Boiss. & Reut. و*Pergularia tomentosa* L. النامیین في منطقة واد سوف

من إعداد الطالبة: خـولـة سـقـنـي

نوقشت علناً يوم 2025/03/13 والموافق لـ 13 رمضان 1446 هـ

لجنة المناقشة.

| | | | |
|---|---|---|---|
| أ.د. درويـش سـميـر | أستاذ التعليم العالي | رئيسـا | جامعة الشهيد حمه لخضر – الوادي |
| أ.د. شـويـخ عـاطـف | أستاذ التعليم العالي | مؤطـرًا | جامعة الشهيد حمه لخضر – الوادي |
| د. تليلي محمد العيد | أستاذ محاضر "أ" | مساعداً | جامعة الشهيد حمه لخضر – الوادي |
| أ.د. حليس يوسـف | مدير بحـث | مناقشاً | مركز البحث العلمي والتقني للمناطق القاحلة – تقرت |
| د. زروال سميـر | أستاذ محاضر "أ" | مناقشاً | جامعة محمـد خيضـر – بسكرة |
| د. الأعوج حسـن | أستاذ محاضر "أ" | مناقشاً | جامعة الشهيد حمه لخضر – الوادي |

الموسم الجامعي:2024-2025

بسم الله الرحمن الرحيم

# شكر وتقدير..

﴿ وما توفيقي إلا بِاللهِ عليه توكلت واليه أنيبُ ﴾ سورة هود

أشكر الله تعالى حمدًا عظيمًا طيبًا مباركًا، يملأ السموات والأرض، على ما منحني إياه من إرادة لإتمام هذا العمل رغم الصعوبات التي اعترضتني، فأنعم عليَّ بهذا النجاح والذي طال انتظاره والصلاة والسلام على نبيه محمد وعلى آله وصحبه أجمعين.

كل الشكر والتقدير لعائلتي على وقوفها معي، فها أنا وقد وصلت إلى ما حلمت به طويلاً، وما كان ذلك ليحدث لولا توفيق الله ودعمكم لي.

أتقدم بأسمى آيات الشكر والعرفان إلى أستاذي الفاضل والمشرف على الأطروحة الأستاذ الدكتور عاطف شويخ، والمشرف المساعد الدكتور محمد العيد تليلي على السماح لي بإجراء هذا العمل للحصول على الدكتوراه تحت إشرافهم؛ وعلى تشجيعهم ودعمهم المستمر والمرافقة عن كثبٍ منذ اللحظات العملية الأولى إلى إخراجه في هذه الصورة؛ راجيةً من المولى عز وجل أن يمدهم بوافر الصحة والعافية وبركة العمر ولا أجد في قلبي ما أحمله لكم إلا الحب والعرفان.

أود أن أتقدم بخالص الشكر لجميع أعضاء لجنة المناقشة الخاصة بأطروحتي والمتمثلة في: الأستاذ الدكتور سمير درويش، أستاذ بجامعة الوادي، لقبوله رئاسة مناقشة أطروحتي. أعضاء اللجنة: الأستاذ الدكتور يوسف حليس، والدكتور سمير زروال، والدكتور حسن الأعوج لموافقتهم على فحص عملي والحكم عليه.

للنجاح أناس يقدرون معناه، وللإبداع أناس يحصدونه. تتجمع العبارات معًا، لتنتظم عقد الشكر للأستاذة الدكتورة. عايدة بوصبيع إبراهيم، والأستاذ الدكتور أحمد الخليفة شمسة، الدكتور يحى خلف والأستاذ الدكتور يوسف حليس والدكتورة ابتسام العايب أقدم لكم كل الثناء والتقدير، على تشجيعكم المستمر وتوجيهكم العلمي القيم. كما أود أن أعبر عن خالص الشكر والتقدير لمدير مخبر البيولوجيا، المحيط والصحة، الأستاذ الدكتور عاطف شويخ على كل ما بذله من جهد لتوفير المتطلبات اللازمة للإنجاز العمل التطبيقي في مخبر البيولوجيا، المحيط والصحة بجامعة حمه لخضر. الوادي. كما أتقدم بجزيل الشكرللدكتور مهدي سلمان والدكتورة بيه بوراس على جميع التسهيلات الإدارية التي ساعدت في سيرورة إنجاز الأطروحة؛ ولا يفوتني أن أقدم أسمى عبارات الشكر والتقدير إلى كل تقنيي المخابر بكلية علوم الطبيعة والحياة، جامعة الشهيد حمه لخضر الوادي. كما أتوجه بأسمى وأبلغ عبارات الشكر والتقدير إلى كل أساتذتي الآكارم الذي آشرفوا على تكويني طيلة مساري الدراسي. والشكر موصول لكل من ساعدني من قريب أو من بعيد في إنجاز وإتمام هذا العمل.

خولة سقني

# الملخص.

تهدف هذه الدراســـة التجريبية إلى تثمين الثروة النباتية الجزائرية من خلال تقييم الإمكانات البيولوجية والعلاجية والصياغة الصيدلانية لمادة اللبن النباتي لكل من نباتي اللبين.*Euphorbia guyoniana* Boiss. & Reut (Euphorbiaceae) والغلقة *Pergularia tomentosa* L. (Asclepiadeceae) الناميين في منطقة واد سوف.

من خلال تقييم التأثيرات البيولوجية والدوائية في المخبر، وفي الجســم الحي من أجل النظر في الإمكانات العلاجية المحتملة في إدارة جروح الاســتئصــال وجروح الحرق في الجرذان. ولهذا الغرض؛ تم إجراء دراســة تشـريحية لنبات *E. guyoniana* لتحديد توزع القنوات الافرازية لمادة اللبن النباتي، كما تحديد بعض الخصـائص الفيزيو-فيتوكيميائية، إضـافة إلى ذلك، تم تقييم بعض الأنشـطة والتأثيرات البيولوجية والمتمثلة في تحديد النشـاط المضادة للأكسدة، النشاط المضاد للالتهاب والنشاط المضاد للبكتيريا تجاه ستة سلالات ممرضة، كما تم حساب عامل الحماية من أشعة الشمس، بالإضافة إلى تدعيمها بدراسة في الجسم الحي، وتضمنت اختبار السمية الحادة للجلد لتركيبات الصيدلانية المحضرة من مستخلص اللبن النباتي الخام للأنواع المختبرة، وتقييم تأثيراتها الدوائية في إدارة علاج الجرح في الجرذان المستحث بالاستئصال والحرق.

وإســـتناداً إلى النتائج المتحصـــل عليها كشـــف الفحص الفيتوكيميائي على العديد من المكونات النباتية بالإضـــافة إلى محتوى معتبر من عديدات الفينول، الفلافونويد والتانينات المكثفة وإلى وجود العديد من المركبات الفينولية ذات الخصائص العلاجية المتنوعة، كما تظهر الفحوصات في المخبر، أن مستخلص اللبن النباتي لنباتي *E. guyoniana* و*P. tomentosa*، ذو كفاءة عالية كنشاطاً مضاداً للأكسدة وخاصة في مقايسة انحلال الدم واختبار بيتا- كاروتين وإمكانات ناجعة كمضـــاداً للالتهابات، وإلى توفير حماية مقبولة لعامل الحماية من أشـــعة الشـــمس (SPF) والنشـــاط المضـــاد للبكتيريا تجاه الســـلالات البكتيرية المختبرة. ووفقًا للنتائج التي تم الحصـــول عليها في الجســـم الحي، أظهرت الجرذان المعالجة بمراهم EGLI وEGLII المحضـــرة من اللبن النباتي لنبات *guyoniana E.* في نموذج الاســـتئصـــال أقصـــر فترات تكوين الظهارة، حيث بلغت 16 و12 يومًا على التوالي. وكان معدل انكماش الجرح أعلى بشكل ملحوظ مقارنة بمجموعة الشـاهد السـلبي والمرهم البسـيط (*Vaseline*®)، على الرغم من هذه الاختلافات لم تكن ذا دلالة إحصـائية. كما أظهرت الجرذان المعالجة بمراهم PTLI و PTLII المحضـرة من اللبن النباتي لنبات الـ *P . tomentosa*. في نموذج الحرق إلى شفاء جرح حرق وإعادة إنبات بصيلات الفراء في مجموعتي PTLI وPTLII مقارنة بمجموعة الشـاهد السـلبية والمرهم البسـيط (*Vaseline*®). وقد أسـفرت عن وجود اختلافات ذات دلالة إحصائية جد عالية المعنوية بين PTLI وNC ($p<0.01$) وOS ($p<0.01$) وPTLII وNC ($p<0.01$) OS & ($p<0.01$).

في الختام، تقودنا النتائج المسـتخلصـة من الدراسـات في المخبر وفي الجسـم الحي بأن مسـتخلص اللبن النباتي لكل من نباتي *E. guyoniana* و*P. tomentosa* ذا إمكانات بيولوجية واعدة، مما يعكس تأثيراته العلاجية الفعّالة في تسريع شفاء وترميم الجروح الجلدية مما قد يفتح آفاقًا جديدة كمصدر بديل فعّال وآمن لعلاج الجروح.



**الكلمـات المفتـاحيـة:** *Pergularia tomentosa* L.؛ *Euphorbia guyoniana* Boiss. & Reut.؛ اللبن النبـاتي؛ HPLC؛ النشـاط المضـاد للأكسـدة؛ النشـاط المضـاد للالتهاب؛ النشـاط المضـاد للبكتريا؛ الصـياغة الصـيدلانية الغالينوسية؛ التئام الجروح.

# Abstract.

This experimental study aims to valorize Algeria's plant wealth by evaluating the biological and therapeutic potentials and pharmaceutical formulation of the latex obtained from the plants *Euphorbia guyoniana Boiss.* & Reut. (Euphorbiaceae) and *Pergularia tomentosa* L. (Asclepiadaceae) growing in the Oued Souf region.

The study involved assessing the biological and pharmacological effects in vitro and in vivo to explore potential therapeutic applications in the management of excisional and burn wounds in mice. To this end, an anatomical study of *E. guyoniana* was conducted to determine the distribution of the secretion channels of the latex, alongside identifying some physicochemical properties. Additionally, various biological activities and effects were evaluated, including antioxidant activity, anti-inflammatory activity, and antibacterial activity against six pathogenic strains, as well as calculating the sun protection factor (SPF). This was complemented by in vivo studies, including acute skin toxicity testing for the pharmaceutical formulations prepared from the raw latex extract of the tested species and evaluating their pharmacological effects in managing excisional and burn wound healing in mice.

Based on the obtained results, phytochemical screening revealed numerous plant components, along with moderate contents of polyphenols, flavonoids, and concentrated tannins, as well as the presence of several phenolic compounds with diverse therapeutic properties. Laboratory tests demonstrated that the latex extract of *E. guyoniana* and *P. tomentosa* exhibited high efficacy as an antioxidant, particularly in hemolysis assays and beta-carotene testing, with effective anti-inflammatory potential and acceptable sun protection factor (SPF) values against the tested bacterial strains. According to in vivo results, mice treated with EGLI and EGLII ointments prepared from the latex of *E. guyoniana* showed the shortest epithelialization periods in the Excisional Model, reaching 16 and 12 days, respectively. The wound contraction rate was significantly higher compared to the negative control group and simple ointment (Vaseline®), although these differences were not statistically significant. Additionally, mice treated with PTLI and PTLII ointments prepared from the latex of *P. tomentosa* demonstrated enhanced healing of Burn Wounds and regeneration of hair follicles in groups PTLI and PTLII compared to the negative control group and simple ointment (Vaseline®). Highly significant statistical differences were observed between PTLI and NC ($p < 0.01$), OS ($p < 0.01$), and PTLII and NC ($p < 0.01$) & OS ($p < 0.01$).

In conclusion, the results derived from studies in the laboratory and in vivo suggest that the plant milk extracts of *E. guyoniana* and *P. tomentosa* have promising biological potentials, reflecting their effective therapeutic effects in accelerating the healing and repair of skin wounds. This may open new horizons as a safe and effective alternative source for wound treatment.



**Keywords**: *Pergularia tomentosa* L.; *Euphorbia guyoniana* Boiss. & Reut.; latex; HPLC; antioxidant activity; anti-inflammatory activity; antibacterial activity; galenic pharmaceutical formulation; wound healing.

# Résumé

Cette étude expérimentale vise à valoriser la richesse végétale algérienne en évaluant les potentiels biologiques et thérapeutiques ainsi que la formulation pharmaceutique du latex obtenu à partir des plantes *Euphorbia guyoniana* Boiss. & Reut. (Euphorbiacées) et *Pergularia tomentosa* L. (Asclépiadacées) croissant dans la région de Oued Souf.

L'étude a impliqué l'évaluation des effets biologiques et pharmacologiques in vitro et in vivo pour explorer les applications thérapeutiques potentielles dans la gestion des plaies d'excision et des brûlures chez la souris. À cet effet, une étude anatomique d*'E. guyoniana* a été réalisée pour déterminer la distribution des canaux de sécrétion du latex, ainsi que pour identifier certaines propriétés physico-chimiques. De plus, diverses activités biologiques et effets ont été évalués, y compris l'activité antioxydante, l'activité anti-inflammatoire et l'activité antibactérienne contre six souches pathogènes, ainsi que le calcul du facteur de protection solaire (FPS). Cela a été complété par des études in vivo, y compris des tests de toxicité cutanée aiguë pour les formulations pharmaceutiques préparées à partir de l'extrait brut de latex des espèces testées et l'évaluation de leurs effets pharmacologiques dans la gestion de la cicatrisation des plaies d'excision et des brûlures chez la souris.

Sur la base des résultats obtenus, le dépistage phytochimique a révélé de nombreux composants végétaux, ainsi que des teneurs modérées en polyphénols, flavonoïdes et tanins concentrés, ainsi que la présence de plusieurs composés phénoliques aux propriétés thérapeutiques diverses. Les tests en laboratoire ont démontré que l'extrait de latex de *E. guyoniana* et de *P. tomentosa* présentait une efficacité élevée en tant qu'antioxydant, notamment dans les tests d'hémolyse et de bêta-carotène, avec un potentiel anti-inflammatoire efficace et des valeurs acceptables de facteur de protection solaire (FPS) contre les souches bactériennes testées. Selon les résultats in vivo, les souris traitées avec les onguents EGLI et EGLII préparés à partir du latex de *E. guyoniana* ont montré les périodes d'épithélialisation les plus courtes dans le modèle d'excision, atteignant 16 et 12 jours, respectivement. Le taux de contraction des plaies était significativement plus élevé par rapport au groupe témoin négatif et à l'onguent simple (Vaseline®), bien que ces différences n'étaient pas statistiquement significatives. De plus, les souris traitées avec les onguents PTLI et PTLII préparés à partir du latex de P. tomentosa ont démontré une cicatrisation améliorée des plaies de brûlure et une régénération des follicules pileux dans les groupes PTLI et PTLII par rapport au groupe témoin négatif et à l'onguent simple (Vaseline®). Des différences statistiques hautement significatives ont été observées entre PTLI et NC ($p < 0,01$), OS ($p < 0,01$) et PTLII et NC ($p < 0,01$) & OS ($p < 0,01$).

En conclusion, les résultats issus des études en laboratoire et in vivo suggèrent que les extraits de lait végétal de *E. guyoniana* et *P. tomentosa* possèdent des potentiels biologiques prometteurs, reflétant leurs effets thérapeutiques efficaces dans l'accélération de la guérison et de la réparation des plaies cutanées. Cela pourrait ouvrir de nouveaux horizons en tant que source alternative sûre et efficace pour le traitement des plaies.

**Mots-clés :** *Pergularia tomentosa* L.; *Euphorbia guyoniana* Boiss. & Reut.; latex; HPLC; activité antioxydante; activité anti-inflammatoire; activité antibactérienne; formulation pharmaceutique galénique; cicatrisation des plaies.

# الفهرس.


| العنوان | الصفحة |
|---|---|
| شكر وتقدير | |
| الملخص باللغة العربية | |
| الملخص باللغة الإنجليزية | |
| الملخص باللغة الفرنسية | |
| قائمة الجداول | |
| قائمة الأشكال | |
| قائمة الاختصارات | |
| المقدمة | |
| **الجزءI. الجزء النظري** | |
| **الفصلI. دراسة بيبليوغرافية حول نباتي *Euphorbia guyoniana* Boiss. & Reut. و *Pergularia tomentosa* L.** | |
| I.نبات الـ *Euphorbia guyoniana* Boiss. & Reut..... | 6 |
| 1. الوصف العام للعائلة اللبنية (Euphorbiaceae)..... | 6 |
| 2. جنس *Euphorbia*. ..... | 6 |
| 3. نبات الـ *Euphorbia guyoniana* Boiss. & Reut..... | 7 |
| 1.3.التسمية المحلية..... | 7 |
| 2.3. الوصف النباتي..... | 7 |
| 3.3. التوزيع الجغرافي..... | 8 |
| 4.3. النظام التصنيفي..... | 8 |
| 5.3. الاستخدامات التقليدية والتأثيرات الدوائية..... | 8 |
| II. نبات الـ *Pergularia tomentosa* L..... | 10 |
| 1. الوصف العام للعائلة Asclepiadeceae…… | 10 |
| 2. جنس *Pergularia* ……..……..…… | 10 |
| 3. نبات الـ *Pergularia tomentosa*..... | 10 |
| 1.3.التسمية المحلية..... | 10 |
| 2.3. الوصف النباتي..... | 10 |
| 3.3. التوزيع الجغرافي..... | 11 |
| 4.3. النظام التصنيفي..... | 12 |
| 5.3. الاستخدمات التقليدية والتأثيرات الدوائية .....…… | 12 |

**الفصل II. دراســـــة بيبليوغرافية حـول اللبن النباتي**


I. القنوات الإفرازية ..... 15
II.الخلايا اللبنية (Laticifer)..... 15
1. تعريفها..... 15
2. أنواعها..... 16
III. اللبن النباتي(Latex)..... 17
1. تعريفه..... 17
2. التوصيف الكيميائي لمادة اللبن النباتي..... 17
3. الأنشطة البيولوجية والإمكانات الدوائية لـ لمادة اللبن النباتي..... 19


**الفصل III. نشاط التئام الجرح.**


I. الجلد..... 22
1. تعريفه..... 22
2. مكوناته..... 22
II. الحرق..... 24
1. تعريفه..... 24
2. أنواعه..... 24
3. طرق استحداث جروح الحرق على الحيوانات ..... 25
4. استراتيجيات التئام الجروح الناتجة عن الحروق..... 25
III. التئام الجروح ..... 27
1. الجروح الجلدية..... 27
2. التئام الجروح الجلدية..... 27
3. مراحل التئام الجروح الجلدية..... 27
4. التأثيرات الدوائية والبيولوجية لنباتات في علاج الجروح الاستئصالية والحروق..... 29


**الجزءII. الجزء التجريبي**

**الفصلI. مواد وطرائق**


أهمية الدراسة وأهدافها ..... 32
I. مواد وطرائق العمل ..... 33
1. مواد والكواشف المستخدمة ..... 33
1.1. المادة النباتية ..... 33
2.1. الحيوانات..... 34
3.1. السلالات البكتيرية..... 34
4.1. المضادات الحيوية..... 34

5.1. المواد والكواشف الكيميائية..... 34
6.1. المواد الصيدلانية..... 34
7.1. البرامج المستخدمة..... 34
2. طرائق العمل..... 36
I. في المخبر، *In Vitro*..... 36
1.الدراسة التشريحية ..... 36
2.التحليل الفيزيوكيميائي..... 36
3. التحليل الفيتوكيميائي..... 37
1.3. الكشف الفيتو كيميائي..... 37
2.3. تحديد المحتوى الفيتو كيميائي ..... 37
1.2.3. نواتج الأيض الأولي..... 37
1.1.2.3. تقدير محتوى الكربوهيدرات..... 38
2.1.2.3. تقدير محتوى الدهون..... 38
3.1.2.3. تقدير محتوى البروتينات..... 38
2.2.3. تقدير نواتج الأيض الثانوي..... 40
1.2.2.3. تقدير محتوى عديدات الفينول..... 40
2.2.2.3. تقدير محتوى الفلافونويد الكلي ..... 40
3.2.2.3. تقدير محتوى التانينات المكثفة..... 40
3.3. التحليل النوعي باستخدام كروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء HPLC..... 40
4. الأنشطة البيولوجية والدوائية في المخبر ..... 41
1.4.النشاط المضادة للأكسدة لمستخلص اللبن النباتي لكل من الـ *P. tomentosa* L. و*E. guyoniana*..... 41
1.1.4. اختبار القدرة الكلية المضادة للأكسدة(TAC)..... 41
2.1.4. اختبار اقتناص جذر الحر DPPH* ..... 41
3.1.4. اختبار اقتناص جذر الهيدروكسيل Capture of Hydroxyl Radical Assay..... 42
4.1.4. اختبار القدرة الإرجاعية لشوارد الحديد Ferric-Reducing Antioxidant Power Assay..... 42
5.1.4. اختبار بيتا كاروتين-حمض اللينوليك ß-carotene-linoleic acid Assay (βCB)..... 42
6.1.4. اختبار انحلال كريات الدم الحمراء Hemolysis assay..... 43
2.4. اختبار النشاط المضاد للالتهابات لمستخلص اللبن النباتي للأنواع المختبرة في تثبيط تمسخ زلال البيض حرارياً.. 44
3.4. تحديد عامل الحماية ضد الأشعة فوق البنفسجية لمستخلص اللبن النباتي لنباتي *P. tomentosa L.* و *E. guyoniana* (SPF)..... 44
4.4. تقييم النشاط المضادة للبكتيريا لمستخلص اللبن النباتي لكل من الـ *P. tomentosa* L. و *E. guyoniana* باستخدام طريقة الإنتشار في الآبار على الآجار..... 45
II. في الجسم الحي *In Vivo*، تقييم الإمكانات العلاجية والدوائية لمستخلص اللبن النباتي لكل من *E. guyoniana* و*P. tomentosa* L. في تعزيز التئام الجروح باستخدام نموذج الاستئصال والحرق، على التوالي..... 46
1. تحضير الصياغة الصيدلانية للمراهم..... 46
2. اختبار السمية الجلدية الحادة..... 46

3. التصميم التجريبي..... 46

**الفصل II. النتائــج والمناقشة**

I. النتائج..... 50
1. الدراسة التشريحية Anatomical study لـــ *E. guyoniana* Boiss. & Reut. (Euphorbiaceae) و *P. tomentosa* L. (Asclepiadeceae)..... 50
2. الخصائص الفيزيو كيميائية لمستخلص اللبن النباتي لكل من نبات *E. guyoniana* و *P. tomentosa*..... 50
3. الكشف الفيتو كيميائي لبعض نواتج الأيض الثانوي لمستخلص اللبن النباتي لـ *E. guyoniana* و *P. tomentosa* 51
4. التقييم الكمي لمحتوى نواتج الأيض الأولي لمستخلص اللبن النباتي لكل من *E. guyoniana* و *P. tomentosa* 51
5. التقييم الكمي لبعض نواتج الأيض الثانوي لمستخلص اللبن النباتي لكل من *E. guyoniana* و *P. tomentosa*.... 52
6. التحليل النوعي للمركبات الفينولية لمستخلص اللبن النباتي لكل من *P. tomentosa* و *E. guyoniana* باستخدام تحليل الـ HPLC..... 53
7. الأنشطة البيولوجية في المخبر *In Vitro* Biological & pharmacological activities..... 56
1.7. تقييم النشاط المضاد للأكسدة لمستخلص اللبن النباتي لكل من نباتي *P. tomentosa* L. و *E. guyoniana*.... 56
2.7. تقييم النشاط المضاد للالتهاب باستخدام تمسخ البروتين (زلال البيض) حرارياً لمستخلص اللبن النباتي لكل من نباتي *P. tomentosa* و *E. guyoniana*..... 58
3.7. تحديد عامل الحماية من الأشعة الفوق البنفسجية (الشمس) لمستخلص اللبن النباتي لكل من نبات الـ *P. tomentosa* و *E. guyoniana* (SPF)..... 58
4.7. تقييم النشاط المضادة للبكتيريا لمستخلص اللبن النباتي لكل من الـ *P. tomentosa* و *E. guyoniana*. ..... 59
8. في الجسم الحي *In Vivo*، الدراسة التجريبية لتقييم الفعالية العلاجية في التئام الجروح الاستئصالية والحرق باستخدام مستخلص اللبن النباتي لكل من *P. tomentosa* و *E. guyoniana*..... 61
1.8. دراسة السمية الجلدية الحادة..... 61
2.8. تقييم إمكانات التئام الجرح باستخدام اللبن النباتي لـ *E. guyoniana* في نموذج الاستئصال في الجرذان..... 61
3.8. تقييم إمكانات التئام جرح باستخدام اللبن النباتي لنبات *P. tomentosa* في نموذج جرح الحرق في الجرذان.... 63
9. تحليل المكونات الأساسية لبيانات الدراسة التجريبية..... 66
II. المناقشة..... 71
1. الدراسة التشريحية لـ *E. guyoniana* Boiss. & Reut. (Euphorbiaceae)..... 71
2. دراسة الخصائص الفيزيو كيميائية (المادة الجافة، الرطوبة، المادة المعدنية والرقم الهيدروجيني) - الكشف الفيتو كيميائي النوعي والكمي لبعض فئات نواتج الأيض الأولي والثانوي بالإضافة إلى تحديد المركبات الفينولية لمستخلص اللبن النباتي لكل من الـ *E. guyoniana* و *P. tomentosa* باستخدام تحليل الـ HPLC..... 71
3. في المختبر *In Vitro*، الأنشطة البيولوجية..... 74
1.3. تقييم النشاط المضادة للأكسدة لمستخلص اللبن النباتي لكل من *P. tomentosa* L. و *E. guyoniana*..... 74
2.3. تقييم النشاط المضاد للالتهاب لمستخلص اللبن النباتي لـ *P. tomentosa* و *E. guyoniana*..... 78
3.3. معامل الحماية ضد الأشعة فوق البنفسجية لمستخلص اللبن النباتي لكل من *P. tomentosa* و *E. guyoniana*. 79
4.3.تقييم النشاط المضادة للبكتيريا لمستخلص اللبن النباتي الخام لنبات *P. tomentosa* L. و *E. guyoniana*..... 79

4. الأنشـــطة البيولوجية في الجســـم الحي *In Vivo*، دراســـة الفعالية العلاجية للمســـتخلص اللبن النباتي لكل من *Euphorbia guyonian* Boiss. & Reut (Euphorbiaceae) و *Pergularia tomentosa* L. (Asclepiadeceae) 81

1.4. التئام جرح الاستئصال..... 81

2.4.التئام جرح الحرق..... 84

**الخاتمة**

**المراجع**

**الملاحق**

**المنشورات العلمية، المشاركات وبراءات الاختراع**

# قائمة الجداول.


| الرقم | العنوان | الصفحة |
|---|---|---|
| 01 | التأثيرات البيولوجية لمادة اللبن النباتي لبعض الأنواع النباتية. | 20 |
| 02 | العلاقة بين التأثير الاحمرار (EE) وشدة الإشعاع (I) عند كل طول موجي (λ). | 45 |
| 03 | الخصائص الفيزيوكيميائية لمستخلص اللبن النباتي لـنباتي الـ *E. guyoniana* و *P. tomentosa* | 51 |
| 04 | الكشـــف الفيتو كيميائي لبعض نواتج الأيض الثانوي في اللبن النباتي لـــــــنباتي الـــــ *E. guyoniana* و *P. Tomentosa* | 51 |
| 05 | المركبات الفينولية المحددة باستخدام الـ HPLC في مستخلص اللبن النباتي لـنباتي الـ *E. guyoniana* و *P. tomentosa* | 55 |
| 06 | قيم الامتصاص عند أطوال موجية مختلفة لمستخلص اللبن النباتي لـنباتي الـ *E. guyoniana* و *P. tomentosa* | 59 |
| 07 | النشاط المضاد للبكتيريا لمستخلص اللبن النباتي لـنباتي الـ *E. guyoniana* و *P. tomentosa* | 60 |
| 08 | مصفوفة الارتباط ((Pearson(n)، للمعايير المدروسة ومستخلص اللبن النباتي لـــــنباتي الـــــ *E. guyoniana* و *P. tomentosa* | 67 |

# قائمة الأشكال


| الرقم | العنوان | الصفحة |
|---|---|---|
| 01 | الشكل العام لنبات *Euphorbia guyoniana* Boiss. & Reut. ومختلف أجزائه | 7 |
| 02 | خريطة توضح توزع نبات الـ *Euphorbia guyoniana* في العالم | 8 |
| 03 | الشكل العام لنبات *Pergularia tomentosa* L. ومختلف أجزائه | 11 |
| 04 | خريطة توضح توزع انتشار نبات الـ *Pergularia tomentosa* L. في العالم | 11 |
| 05 | الشكل العام لتوزع الخلايا اللبنية ومادة اللبن النباتي في ورقة نبات *Carica papaya* | 16 |
| 06 | رسم تخطيطي لبنية الجلد | 23 |
| 07 | رسم تخطيطي لأنواع الحرق | 24 |
| 08 | مخطط تخطيطي لمراحل التئام الجرح | 28 |
| 09 | مخطط توضيحي لجمع اللبن النباتي لنباتي (أ) *E. guyoniana* Boiss. & Reut. و(ب) *P. tomentosa* L. | 33 |
| 10 | مخطط ملخص لجميع فحوصات الأنشطة البيولوجية المنفذة في هذه الدراسة على مستخلص اللبن النباتي لنباتي *Euphorbia guyoniana* و *Pergularia tomentosa* L. | 35 |
| 11 | رسم توضيحي لاختبار انحلال كريات الدم الحمراء | 44 |
| 12 | رسم توضيحي لاختبار النشاطية المضادة للبكتريا اباستخدام طريقة لانتشار على الآجار | 46 |
| 13 | المخطط التوضيحي لخطوات استخلاص اللبن النباتي لتقدير الكربوهيدرات، الدهون والبروتين. | 39 |
| 14 | المخطط التوضيحي لتجربة التئام جرح باستخدام (نموذج الاستئصال والحرق). | 48 |
| 15 | يوضح المقاطع العرضية لنباتي *E. guyoniana* لـ (1) الساق (أ) النسيج الكولنشيمي (ب) النسيج البرانشيمي (ت) اللحاء (ج) خلايا لبنية و(2) الجذر (أ) خلايا لبنية (ب) القشرة (ت) النسيج الكولنشيمي (ث) اللحاء وفي نبات الـ*P . tomentosa*. (3) الساق (أ') النسيج البرانشيمي (ب') النسيج الكولنشيمي (ت') اللحاء (ث') اللب (ج') خلايا لبنية بها اللبن النباتي. | 50 |
| 16 | محتوى نواتج الأيض الأولي: (أ) كمية محتوى الكربوهيدرات؛ (ب) كمية البروتينات و(ت) محتوى الدهون في مستخلص اللبن النباتي نباتي *P. tomentosa* و*E. guyoniana* | 52 |
| 17 | المحتوى الإجمالي للعديدات الفينول والفلافونويد والتانينات المكثفة في مستخلص اللبن النباتي نباتي *P. tomentosa* و*E. guyoniana* | 53 |
| 18 | المركبات الفينولية المحددة في مستخلص اللبن النباتي لنباتي (أ)*P. tomentosa* L. و(ب)*E. guyoniana* | 54 |
| 19 | مخططات اختبارات النشاط المضاد للأكسدة: (أ) اختبار القدرة الكلية المضادة للأكسدة TAC، (ب) اختبار جذر حر الـ DPPH•، (ت) اختبار القدرة الارجاعية FRAP و(ث) اختبار اقتناص الجذر الـ$^{\bullet}$OH (ج) اختبار النشاط المضاد لانحلال الدم و(ح) اختبار حمض بيتا- كاروتين لينوليك لمستخلص اللبن النباتي لكل من الـ *P. tomentosa* L. و*E. guyoniana* | 57 |
| 20 | النشاط المضاد لتمسخ زلال البيض حرارياً باستخدام مستخلص اللبن النباتي لكل من *P. tomentosa* و*E. guyoniana* | 58 |

| | | |
|---|---|---|
| 21 | قيم عامل الحماية من الشمس (SPF) لمستخلص اللبن النباتي لـ *P. tomentosa* و*E. guyoniana* | 59 |
| 22 | التغيرات المورفولوجية في نموذج جرح الاستئصال المستحث في الجرذان يوضح تغيرات انكماش الجرح بعد الاستئصال في فترات زمنية مختلفة في المجموعات التجريبية. (NC) مجموعة التحكم السلبية. (SO) مرهم بسيط، (PC) تحكم إيجابي (مرهم MEBO 0.25٪). تم علاج مجموعتي EGLI وEGLII بـ (1 و2٪ من اللبن النباتي لنبات *E. guyoniana*). | 62 |
| 23 | مخطط يوضح تأثير التطبيق الموضعي لمراهم EGLI وEGLII وباقي المعالجات على مدار 16 يومًا. حيث NC (مجموعة التحكم السلبية)، SO مرهم البسيط (الفازلين®)، MEBO (مجموعة الشاهد الإيجابي)، EGLI وEGLII (1% و2% من اللبن النباتي لنبات *E. guyoniana*). | 63 |
| 24 | التغيرات المورفولوجية في نموذج جرح الحرق المستحث في الجرذان يوضح تغيرات انكماش الجرح بعد الحرق من درجة الأولى وقد رُصدت في فترات زمنية مختلفة في المجموعات التجريبية بحيث: (NC) مجموعة التحكم السلبية. (OS) مرهم بسيط، (PC) الشاهد إيجابي مرهم MEBO®. تم علاج مجموعتي PTLI وPTLII بـ (2 و7٪ من اللبن النباتي لنبات *P. tomentosa*). | 64 |
| 25 | مخطط يوضح تأثير التطبيق الموضعي لمراهم PTLI وPTLII والمعالجات الأخرى خلال 21 يومًا على جروح الحروق معبراً عنه كنسبة مئوية لتقلص الجرح. NC (مجموعة التحكم السلبية)، مرهم البسيط SO (الفازلين®)، مجموعة الشاهد الإيجابي (MEBO 0.25% من بيتا سيتوستيرول)، PTLI وPTLII (2% و7% من اللبن النباتي لنبات *P. tomentosa*). | 65 |
| 26 | تحليل المكونـات الأساسية (PCA) للمعايير المدروسة لمستخلص اللبن النباتي لنباتي *E. guyoniana* و*P. tomentosa*. | 66 |

# Liste des abréviations.

# قائمة الإختصارات.

**APG:** Angiosperm phylogeny group

**ATCC:** American Type Culture Collection

**BSA:** Bovin Serum Albumin

**CFU:** Colony forming units

**DPPH:** 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

**E:** Equivalent

**$EC_{50}$:** Effective Concentration at which the absorbance was 0.5

**EDTA:** Ethylenediaminetetraacetic acid

**EGL:** *Euphorbia guyoniana latex*

**EGLI:** *Euphorbia guyoniana latex* (1%)

**EGLII:** *Euphorbia guyoniana latex* (2%)

**FRAP:** Ferric reducing antioxidant power assay

**HPLC:** High Performance Liquid Chromatography

**I (%):** Inhibition percentage

**$IC_{50}$:** Inhibition Concentration at 50%

**OH:** Hydroxyl radical

**PCA:** Principal components analysis

**PTL:** *Pergularia tomentosa* Latex

**PTLI:** *Pergularia tomentosa* Latex (2%)

**PTLII:** *Pergularia tomentosa* Latex (7%)

**Rt:** Retention time

**SEM:** Scanning Electron Microscope

**SPF:** Sun Protected Factor

**TCA:** Trichloroacetic Acid

**UVB:** Ultraviolet B

# المقدمة

# مقدمة.

منذ العصور القديمة، كان الإنسان على علاقة وثيقة مع الطبيعة، حيث استغل الموارد الطبيعية المتاحة له لتعزيز صحته وعلاج أمراضه. حيث يشكل استخدام الإنسان للنباتات الطبية إحدى أقدم الطرق التي لجأ إليها في رحلة البحث عن الشفاء ويرجع ذلك إلى تنوع العناصر الكيميائية التي تحتوي عليها هذه النباتات. والتي أظهرت الأبحاث العلمية الحديثة خصائصها العلاجية المتعددة **(Haidan et *al*., 2016؛ Scherera et *al*.,2019؛ Abdel-Aty et *al*., 2019؛ Shahidul et *al*.,2019؛ Hafsia et *al*., 2020؛ Tinpun et *al*.,2020؛ Lia et *al*.,2020؛ Tyavambiza et *al*.,2022).**

في هذا السياق، تتوزع النباتات اللبنية على نطاق واسع في العالم، حيث يوجد أكثر من 20.000 نوع منتج لمادة اللبن النباتي، بحيث يتم إنتاج هذه المادة في خلايا متخصصة تُعرف باسم"laticifer"، والتي تمتاز بتنوعها الكيميائي الفريد الذي يميزها عن باقي الإفرازات النباتية الأخرى**(Konno., 2011؛ Abdel-Aty et *al*., 2019؛ Salomé Abarca et *al*., 2019؛ Ramos et *al*., 2020؛ Castelblanque et *al*., 2020؛ Gracz Bernaciak et *al*.,2021)**. مثل التربينات، الفينولات، الفلافونويد، العفص، والقلويدات، إضافةً إلى البروتينات والإنزيمات المختلفة، مما يمنحه مجموعة واسعة من التأثيرات البيولوجية بما في ذلك خصائصها المضاد للأكسدة والمضاد للبكتيريا ومكافحة السرطان والتي قد تم توثيق بعضاً منها في إدارة العديد من الأمراض **(Roy et *al*., 2005؛ Hua et *al*., 2015؛ Abdel-Aty et *al*., 2019؛ Yıldırım et *al*., 2019؛ Lahmar et *al*.,2022)**. إضافة إلى هذه التأثيرات البيولوجية عُرف اللبن النباتي استخداما شائعاً في الطب الشعبي لعلاج العديد من الأمراض الجلدية كإزالة الثآليل **(Haba et *al*.,2007؛ Boumaza et *al*.,2018؛ Lahmar et *al*., 2022)**. بالإضافة إلى ذلك، تم الإبلاغ عن استخدام اللبن النباتي لنبات *Euphorbia Caducifolia* في وقف نزيف الجروح **(Goyal et *al*., 2012)**. كما تم إثبات استخدام اللبن النباتي المستخلص من نباتي *Calotropis gigantea* و*Euphorbia arbuscula* في تسريع إغلاق الجروح **(Saratha et *al*., 2010؛ Al-Ansi et *al*.,2024)**. علاوة عن ذلك، تُشير الدراسات السابقة، عن النشاط المضاد للبكتيريا لمستخلص اللبن النباتي لكل من نباتي *Euphorbia hirta* و *Euphorbia thymifolia* **(Hussain et *al*., 2014)**. والنشاط المضاد لليشمانيا لـ *Euphorbia Cactus* latex **(Shahinuzzaman et *al*., 2020)**، إضافة إلى ذلك، ذكرت دراسة لـ **Al-Rajhi وفريقه (2022)**، بأن تطبيق اللبن النباتي لنبات *Thevetia peruviana* فعال في علاج القرحات المزمنة.

ومع ذلك، لا تزال هناك فجوات كبيرة في الأبحاث المتعلقة بالأنشطة البيولوجية للبن النباتي المستخلص من نبات *Euphorbia guyoniana*، حيث لم تُجرَ أي دراسات شاملة عن إمكاناته العلاجية. وفيما يخص *Pergularia tomentosa* L.، ووجدنا عدد محدود من الدراسات التي تدرس خصائصه العلاجية. من هنا، تأتي أهمية هذه الدراسة لتسليط الضوء على القيمة العلاجية للبن النباتي المستخرج من نباتي *Euphorbia guyoniana* Boiss. & Reut، المعروف محليًا باسم "اللبين" (Loupina)، و*Pergularia tomentosa* L.، المعروف باسم "الغلقة" (Ghalka) في منطقة وادي سوف. وبالتالي، تعرض هذه الدراسة آفاقًا جديدة ومذهلة في عالم الشفاء

الطبيعي، حيث تهدف إلى تقديم رؤى أولية استثنائية حول إمكانات التئام الجروح. من خلال إجراء تقييم دقيق لبعض الأنشطة البيولوجية في المختبر (*In Vitro*)، والمتمثلة في نشاطها المضاد للأكسدة، والمضاد للالتهابات، والمضاد للبكتيريا. بالإضافة إلى توسيع آفاق المعرفة العلمية حول الاستخدامات التقليدية لمادة اللبن النباتي من خلال استكشاف طرق بديلة لعلاج جروح الاستئصال والحرق. ومن أجل تنفيذ الأهداف المسطرة لتثمين مادة اللبن النباتي الخام المستخلص من *Euphorbia guyoniana* Boiss. & Reut و*Pergularia tomentosa* L، والمستوطنة بولاية الوادي، تم تطبيق العمل التجريبي في مخبر البيولوجيا، المحيط والصحة بكلية علوم الطبيعة والحياة بجامعة الوادي ، شملت الدراسة على جزئين:

**الجزء الأول**شملت الدراسة التجريبية جزئين رئيسيين، حيث كان الجزء الأول مخصصًا للجوانب النظرية **: الجزء النظري.** التي تتعلق بالنباتات المدروسة واللبن النباتي، ونشاط التئام الجروح. تم تقسيم هذا الجزء إلى ثلاثة فصول:

- **الفصل I: دراسة بيبليوغرافية حول نباتي *E. guyoniana* و *P. tomentosa*:** يستعرض هذا الفصل عموميات حول نباتي *E. guyoniana* و *P. tomentosa*.
- **الفصل II: دراسة بيبليوغرافية حول اللبن النباتي.** نستعرض في هذا الفصل، توصيف كيميائي لمادة اللبن النباتي بالإضافة إلى عرض تأثيراته البيولوجية والدوائية.
- **الفصل III: نشاط التئام الجرح:** يتسعرض هذا الفصل نشاط التئام الجرح والتأثيرات الدوائية والبيولوجية لنباتات في علاج الجروح الاستئصالية والحروق.

**الجزء الثاني:** يتناول الجزء التجريبي والذي يهدف إلى تقييم فعالية اللبن النباتي المستخرج من نباتي *E. guyoniana* و *P. tomentosa* في تعزيز التئام الجروح. ويتكون هذا الجزء من فصلين:

- أولاً، في المخبر *In Vitro*: بداية، تم إجراء دراسة تشريحية لنبات *Euphorbia guyoniana* Boiss. & Reut (Euphorbiaceae)، ونظراً لوجود دراسة سابقة للباحثة **Lahmar** لسنة **(2022)**، فقد تم الاستشهاد بها لنبات *Pergularia tomentosa* L.(Asclepiadeceae). بالإضافة إلى، دراسة خصائصه الفيزيوكيميائية، وذلك من خلال الكشف عن بعض المركبات الكيميائية النباتية من خلال الكشف النوعي وذلك بإجراء تحليل كروماتوغرافي باستخدام جهاز HPLC، بالإضافة إلى تحديد القيمة الغذائية من خلال تقدير محتوى الكمي لنواتج الأيض الأولي وكذلك تقدير بعض نواتج الأيض الثانوية. بالإضافة إلى ذلك، تم تقييم بعض الأنشطة البيولوجية، من خلال دراسة النشاط المضاد للأكسدة، بالإضافة إلى مقايسة النشاط المضاد للالتهاب، كما تم تقييم النشاط المضاد للبكتيريا وتحديد الفعالية الوقائية لعامل الحماية من أشعة الشمسSPF.
- ثانياً، في الجسم الحي *In Vivo*: تم تحضير مراهم صيدلانية باستخدام مستخلص اللبن النباتي الخام لكل من *E. guyoniana* و*P. tomentosa* كما تم تقييم السمية الحادة للجلد بتطبيق الموضعي للمراهم الصيدلانية المحضرة من EGL وPTL وإجراء تجربة التئام جروح الاستئصال بالإضافة إلى إجراء تجربة التئام جروح الحرق باستخدام تركيزين من مراهم PTLI & PTLII.

# الجزءI. الجزء النظري

# PartI. Bibliographic Synthesis

# الفصلI. دراســـــة بيبلوغرافية حـول.

***Bibliographic Synthesis of***

***Euphorbia guyoniana* Boiss. Reut. & *Pergularia tomentosa* L.**

## دراسة بيبلوغرافية حول نباتي. ***Pergularia tomentosa*** **L. &** ***Euphorbia guyoniana*** **Boiss. & Reut.**

### I. نبات الـ *Euphorbia guyoniana* Boiss. & Reut.

#### 1. الوصف العام للعائلة اللبنية (Euphorbiaceae).

تعد العائلة Euphorbiaceae واحدة من أكثر عائلات كاسيات البذور تعقيدًا وتنوعًا **(Ramalho et al.,2018)**، ورابع أكبر الفصائل النباتات المزهرة تحتوي على ما يفوق 322 جنسًا و8.910 نوعًا، والتي قد تكون عشبية أو كروم متسلقة أو شجيرات أو أشجار، تتوزع نباتات الـ Euphorbiaceae على البيئات القاحلة وشبه القاحلة وفي جميع أنحاء العالم باستثناء القارة القطبية الجنوبية. منها 4.500 نوع يحتوي لمادة اللبن النباتي وهو مزيج معقد من البروتينات والإنزيمات والتربينات والأحماض الأمينية والمركبات الأخرى ( **Haba., 2008؛ Gupta et al., 2013؛ Deveci et al.,2018؛ Ramalho et al.,2018؛ Castelblanque et al.,2020؛ Boutoub et al.,2022؛ Chamkhi et al,2022)** تمتاز نباتات عائلة Euphorbiaceae بتنوعها وثرائها الكيميائي **(Haba et al., 2007؛ Zellagui et al., 2012؛ Shahidul et al.,2019)** وبأنشطتها البيولوجية والدوائية المتنوعة والمثيرة للاهتمام كمضادات الأورام ومضادات الأكسدة والمضادة للالتهابات الجلدية-**Betancur (Galvis et al.,2003؛ Aichour et al.,2014)** والمضادة للإسهال والمضادة للبكتيريا ومضادات السرطان( **Sangha et Mantri., 2013)**.بعضها ذو أهمية اقتصادية كبيرة، كنبات *Manihot esculenta* ونبات *Ricinus communis* L. وشجرة *Hevea brasiliensis*؛ وكنباتات زينة كنبات: *Euphorbia milli*، *Euphorbia pulcherrima*، *Euphorbia obesa* و*Euphorbia tirucalli* **(Ramalho et al.,2018)**

#### 2. جنس ***Euphorbia***.

تم تسمية *Euphorbia* على اسم جراح يوناني يدعى Euphorbus طبيب الملك جوبا الثاني ملك موريتانيا**(Boutoub et al.,2022)**. يُعد *Euphorbia* أكبر جنس لعائلة Euphorbiaceae يحتوي ما يفوق 2.150 نوعًا في العالم **(Deveci et al.,2018)**. وهو ثالث أكثر جنس شيوعًا بين النباتات المزهرة( **Boumaza et al.,2018؛ Smeriglio et al., 2021)** ويتوزع على أعشاب وشجيرات وأشجار(**Haba et al., 2007؛ Ahmed et al., 2006؛ Boudiara et al., 2010؛ Younus et al.,2019)**. تمتاز جميع الأنواع النباتية التي تنتمي إلى جنس بوجود اللبن النباتي الغنية بالمواد الكيميائية النباتية **(Boutoub et al.,2022؛ Se.,2021)** وعلى ضوء ذلك، تُعزى الأنشطة الدوائية التي تمتلكها أنواع هذا الجنس بشكل أساسي إلى تنوع استثنائي في مكوناتها الفيتوكيميائية كالتربينات والفلافونويدات والعفص والدهون والقلويدات والتي تتسم بخصائص بيولوجية متنوعة بما في ذلك التأثير المضاد للسرطان، المضاد للفيروسات، المضاد للأكسدة، المضاد للبكتيريا والمضاد للالتهابات وإمكانات التئام الجروح وعلاج الأمراض الجلدية وأمراض الشعب الهوائية والجهاز التنفسي **(Ahmed et al., 2006؛ Younus ؛Deveci et al.,2018؛ Hernandez et al., 2017؛ Aichour et al., 2014؛ Boudiara et al., 2010؛ Mavundza et al., 2022؛ Smeriglio et al., 2021؛ et al.,2019)**.

**3. نبات الـ *Euphorbia guyoniana* Boiss. & Reut.**

**1.3.التسمية المحلية.** يطلق عليه سكان الصحراء اسم أم اللبينة أو لبينة أوالعماية بسبب احتوائه على مادة لبنية تدعى باللبن النباتي تفرز في أماكن إتلافها والتي تسبب تهيج للعين **(حليس.، 2007؛ Kemassi et *al.*, 2013)**.

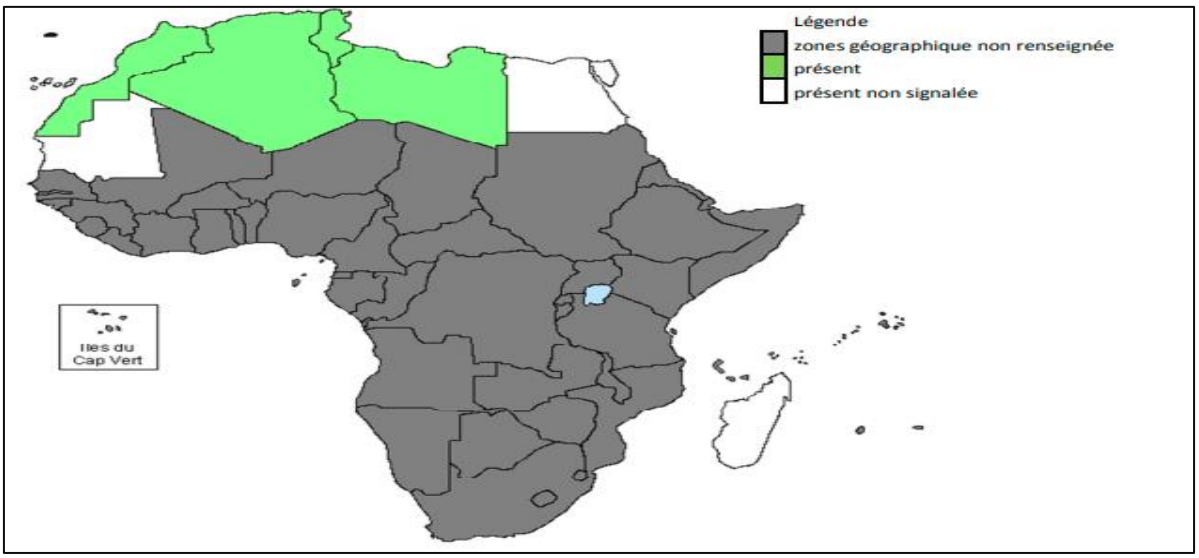
**2.3.الوصف النباتي.**

ينتمي نبات الـــ *Euphorbia guyoniana* Boiss. & Reut. إلى العائلة Euphorbiaceae وهو نبات معمر متواجد بالجزائر وينمو في الرمال والصـــحراء الكبرى **(Ozenda, 1991 ؛Quezel & Santa, 1963)**. يتراوح ارتفاعه ما بين 30~100 سم، به نظام جذر متطور، وله سيقان أسطوانية، متفرعة، قائمة وملساء لونها أخضر مزرق وأوراق لاطئة، خضراء وملساء متبادلة على الساق. أما الأزهار تتجمع في نورات نهائية صفراء كثيرة التفرع، الغـــلاف الزهـــري ملتحـم ينتهـي بأربعـــة فصـــوص خضراء تزهر في الربـــيع. تأخذ الثمار شـكل كبسـولة ثلاثية الفصـوص، له أهمية في تثبيت الرمال وباحتوائه على مادة اللبن النباتي البيضـاء ويسـتخدمها البدو في علاج لدغات الثعابين**(حليس.،2007؛ Boudiara et *al.*, 2010؛ Zellagui et *al.*,2012؛ Lakhdari et *al.*, 2016)**.

**الشـكل01.** الشـكل العام لنبات *E. guyoniana* ومختلف أجزائه **(1):** نبات *Euphorbia guyoniana* Boiss. & Reut أخذت في فصل الشتاء **(صورة أصلية سقني.، 2023). (2و3)،(4)** و**(5)**: الجزء الهوائي، أزهار وأوراق نبات*E.guyoniana* (**https://www.teline.fr/fr/photos/euphorbiaceae/euphorbia-guyoniana**).

### 3.3. التوزيع الجغرافي.

موطنها الأصـــلي شـــمال إفريقيا ليتوزع على كل من دول الجزائر، المغرب، تونس، ليبيا، مالي وموريتانيا، وفي المناطق الرملية والعرق يتواجد في مجموعات صـــغيرة ويختفي في الترب الملحية والقاســـية (حليس،2007؛ Kemassi et *al.*,2013).




**الشكل02.** خريطة توضح التوزيع الجغرافي لنبات *Euphorbia guyoniana* في الصحراء الكبرى الشمالية وفقا لقـــواعـــد بـــيـــانـــات الـــنـــبـــاتـــات الأفـــريـــقـــيـــة (http://www.tela-botanica.org/eflore/BDAFN/1.00/nn/143100/chorologie)

### 4.3. التصنيف النظامي.

وفقاً لتصنيف APG IV حسب **(Plants of the World Online).**

| Règne | Plantae | المملكة |
|---|---|---|
| **Embranchement** | Streptophyta | **الشعبة** |
| **Classe** | Equisetopsida | **القسم** |
| **Sous classe** | Magnoliidae | **تحت القسم** |
| **Ordre** | Malpighiales | **الرتبة** |
| **Famille** | Euphorbiaceae | **العائلة** |
| **Genre** | *Euphorbia* | **الجنس** |
| **Espèce** | *Euphorbia guyoniana* Boiss. & Reut.<br>*Tithymalus guyonianus* Boiss. & Reut.(مرادف) | **النوع** |

### 5.2. الاستخدامات التقليدية والتأثيرات الدوائية.

لا يزال الطب التقليدي يحتل مكانته في إدارة العديد من الأمراض خاصـة في البلدان النامية فهو قديم قدم الجنس البشري وفي هذا الصدد تشير الدراسات السابقة على استخدام أنواعاً كثيرة كما تم عزل العديد من

- المركبات والتي أثبتت خصائصها البيولوجية المتنوعة لهذا تعد مصدرًا لا غنى عنه في إعداد مستحضرات وعقاقير طبيعية. ومن بينها مادة اللبن النباتي والتي استخدمت في علاج الأمراض الجلدية ولدغات الثعابين وترميم كسور العظام كما استخدم في إزالة الثآليل، وتخفيف الصرع وآلام الأسنان(**Gupta et *al*, 2013**؛ **Mavundza et *al*.,2022**) ووفقا لدراسة لـــ **Boumaza** وفريقه في سنة **(2018)**، وثُقت استخدام اللبن النباتي لنبات *E. guyoniana* ضد اللدغات وفي علاج الالتهابات المختلفة؛ كما ووردت دراسة لـ **Haba** في سنة **(2008)** ، عن استخدام اللبن النباتي في إزالة الأشواك واللسعات السامة علاوة عن ذلك، يتم استخدامه من طرف سكان صحراء الجزائر في إزالة الثآليل وعلاج الحزاز ولسعات العقارب **(موروث شعبي).**

- كما أظهرت دراسة لـــ **(Otmani et *al*., 2022).** أن نبات *Euphorbia guyoniana* Boiss. & Reut يمتلك العديد من الخصائص والتاثيرات البيولوجية: كالنشاط المضاد للأكسدة والمضاد للبكتيريا والمبيد الحشرات؛

- إضافة إلى ذلك، أثبتت دراسة لـــ **Zellagui** وفريقه في سنة **(2012)**، على احتواء نبات *E. guyoniana* العديد من الفئات الكيميائية كالفلافونويدات والستيرولات أو التربينات والسابونين والعفص والكاروتينات والقلويدات. بالإضافة إلى نشاطه المضاد للبكتيريا تجاه كل من (*Proteus*؛ *Pseudomonas Aeruginosa*؛ *Vulgaris*؛ *Klebsiella Pneumonia*؛ *Enterobacter*؛ *Escherichia Coli*؛ *Staphylococcus Aureus*)، كما استخدم في إزالة الثآليل؛

- أيضاً، أسفرت دراسة لـــ **Hegazy** وفريقه في سنة **(2010)**، عن وجود مركبين من نوع الجاتروفان في نبات *Euphorbia guyoniana* وهما الجايونينيانين E وF وقد أظهرت هذه المركبات سمية خلوية ضد خلايا الكلى الجنينية البشرية (HEK293).

## II. نبات الـ *Pergularia tomentosa* L.

### 1. الوصف العام للعائلة (Asclepiadeceae).

تعد عائلة Asclepiadeceae من العائلات الكبيرة تضم ما يفوق 200 جنساً و3.000 نوعاً موزعة بين أعشاب وأشجار في جميع أنحاء العالم. تمتاز نباتاتها بوجود مادة اللبن النباتي **(Leulmi et *al.*, 2023)**. أغصانها متسلقة وتلتف حول بعضها البعض أما الأوراق قلبية أو مستديرة الشكل، بينما الأزهار تتجمع في نورات **(حليس.،2007).**

**2. جنس *Pergularia*.** يحتوي جنس *Pergularia* على نوعين **(Tlili., 2019)** وهما:

- نبات *Pergularia tomentosa* و*Pergularia daemia*.

### 3. نبات الـ *Pergularia tomentosa* L.

#### 1.3. التسمية المحلية.

تمتلك *P. tomentosa* L. العديد من الأسماء الشعبية:حسب (**Chehma., 2006؛ حليس.،2007؛ Ads et al., 2021؛ Lahmar et *al.*,2022**):

- عند العرب: تعرف باسم الغلقة، الغُلقة، دمي، لبن، بوهلية، حمير وفتّاقة، أم لبينة؛ الحر؛
- اللغة الإنجليزية: Pergulaire واللغة الفرنسية: Pergularia. شائع الاستخدام في الطب التقليدي لخصائصه الدوائية المتعددة ويتميز بإنتاج مادة اللبن النباتي البيضاء المسببة لتهيج الجلد(**Tlili et *al.*,2020؛ Belakehal et *al.*, 2021**).
- **أصل الكلمة *Etymologie*:** حسب **(Kahnouj et *al.*, 2017؛ Tlili.,2019؛ Belakehal et *al.*, 2021)**

- كلمة *Pergularia* وهي من الكلمة لاتنية لـــ *Pergula* والتي تعني الكرمة. لقدرة النبات على التثبت بأي بيئة؛ و*tomentosa*: والتي تعني مُشْعَرة (لأن النبات مغطى بالشعيرات والزغبات صغيرة).

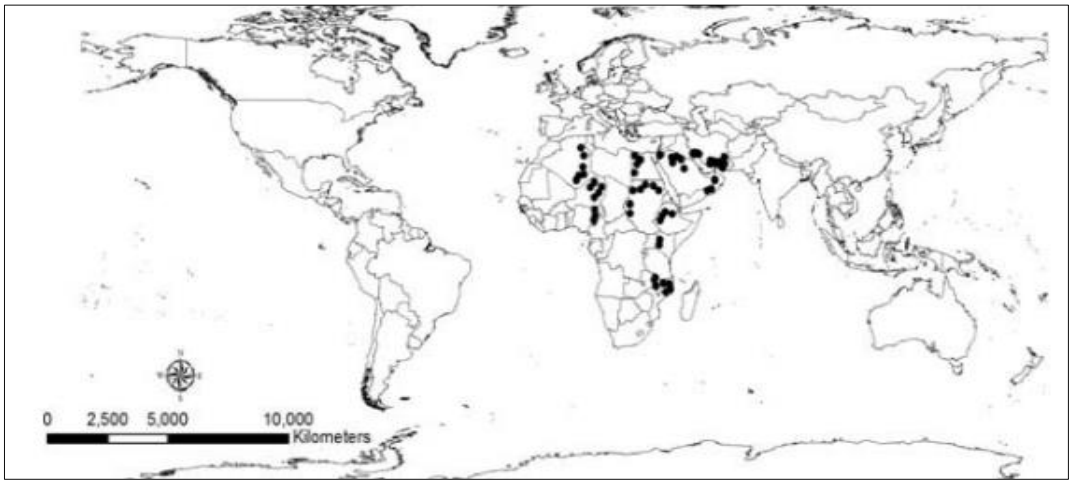
#### 2.3.الوصف النباتي.

نبات *Pergularia tomentosa* هي شجيرة معمرة دائمة الخضرة **(Kahnouj et *al.*, 2017؛ Lahmar et *al.*,2022)**. تنتمي إلى عائلة (Asclepiadaceae) وتحت الفصيلة (Asclepiadoideae) تمتاز برائحة غريبة **( Ads et *al.*, 2021)**، المنتشرة على نطاق واسع في جنوب الجزائر قد يصل ارتفاعها إلى أكثر من متر واحد والجذور 30 سم. تحمل فروعًا صغيرة ملتفة حول الأفرع الأكبر سناً، مما يعطيها مظهرًا كثيفًا. يغطي الزغبات النبات كله. الأوراق متقابلة، خضراء لوزية، بيضاوية أو على شكل قلب في القاعدة. ويتراوح طول الأوراق ما بين 2.5~3.2 سم والثمار4.9~5.4 سم والنورة في مجموعات في نهاية السويقات الطويلة، متعددة الأزهار والزهرة تكون خماسية مكونة من خمس سبلات صغيرة وخمس بتلات خضراء ملتحمة من الأسفل وتنتهي بفصوص واسعة تزهر في الربيع ، الثمار مكونة من جريبتين، تحمل أشواك صغيرة وعندما تنضج، تطلق البذور **(Ozenda, 1991؛ Chehma., 2006؛ حليس.، 2007؛ Kahnouj et *al.*, 2017)**.

**الشكل03.** الشكل العام لنبات *Pergularia tomentosa* L. ومختلف أجزائه**(1):** نبات *Pergularia tomentosa* L. (Asclepiadeceae). أخذت في فصل الشتاء **(سقتي، 2022).(2)، (3)،(4) و(5):** أزهار، أوراق، بذور وجريبات نبات *P.tomentosa* **(https://atlas-sahara.org).**

### 3.3. التوزيع الجغرافي.

حيث يتوزع نبات *Pergularia tomentosa* L. في منطقة جغرافية واسعة ليضم دول القرن الأفريقي والشرق الأوسط وشبه الجزيرة العربية (المغرب والجزائر وتونس والنيجر وكينيا ومصر شمال السودان وإثيوبيا والأردن وإيران وعمان وباكستان وأفغانستان والمملكة العربية السعودية) ويتواجد في الأراضي المستوية الشمالية والمناطق شبه القاحلة والصحراوية والصحراء الكبرى ولا ينمو في الرمال**(Chehma., 2006؛ حليس.،2007؛ Kahnouj et *al*.,2017؛ Al-Hinai et *al*., 2018؛ Ads et *al*., 2021؛ Al-Lahmar et *al*.,2022؛ Al-Dalahmeh et *al*.,2022).**




**الشكل04.** خريطة توزع نبات الـ *P. tomentosa* L. في العالم **(Kahnouj et *al*.,2017)**

### 4.3.التصنيف النظامي.

وفقاً لتصنيف APG IV حسب **(Plants of the World Online).**

| | | |
|---|---|---|
| **الشعبة** | **Streptophyta** | **Embranchement** |
| **القسم** | Equisetopsida | **Classe** |
| **تحت القسم** | Magnoliidae | **Subclass** |
| **الرتبة** | Gentianales | **Ordre** |
| **العائلة** | Apocynaceae | **Famille** |
| **الجنس** | *Pergularia* | **Genre** |
| **النوع** | *Pergularia tomentosa* L. | **Espèce** |

### 5.3. الاستخدامات التقليدية والتأثيرات الدوائية.

ويُعرف *Pergularia tomentosa* بأنه ينتج مادة اللبن النباتي البيضـــاء المســـببة لتهيج الجلد. بالرغم من كونها سامة، فإنها تستخدم على نطاق واسع في الطب التقليدي من قبل سكان شمال الصحراء الكبرى وجنوب الصـــحراء الكبرى. لعلاج التهاب الشـــعب الهوائية علاج الإمســـاك وأمراض الجلد **(Lakhdari et *al.*, 2016؛ Belakehal et *al.*, 2021)**. وكما يتم اســـتخدامه من طرف البدو في صـــحراء الجزائر لعلاج الحزاز ولســـعات العقارب، علاوة عن ذلك، يتم اســـتخدامه في إزالة الثآليل وعلاج أمراض الجلدية **(موروث شـــعبي)** كما ثبت أن القلويدات المســـتخلصـــة من *P. tomentosa* لها تأثيرات كبيرة في مكافحة يرقات الجراد *Locusta migratoria* وقتل وطرد الرخويات الحشـرات، **(حليس،2007؛ Lahmar et *al.*,2017؛ Al Hinai et *al.*,2018؛ Ads et *al.*, 2021)**. إضـــافة إلى اســـاخدامه في علاج البواســـير والرئتين والروماتيزم وكما تم اســـتخدام اللبن النباتي المستخرج من الأوراق *P. tomentosa* لعلاج التهابات وتقرحات الجلد ومشـاكل الجهاز الهضـمي **( Ads et *al.*, 2021؛Lahmar et *al.*,2022؛ Leulmi et *al.*,2023)**. كما يمتلك خصائص مضادة للميكروبات. علاوة عن ذلك، يستخدم مغلى الأوراق والسيقان لعلاج التهاب الشعب الهوائية والسل**(Al-Hinai et *al.*, 2018؛ Belakehal et *al.*,2021)**. وقد استُخدم كمزيل للشعر ومضاد للديدان وفي علاج الربو والإمساك **(Kahnouj et *al.*,2017؛ Al-Dalahmeh et *al.*,2022)**

- وفقًا للمراجعات الســـابقة، يحتوي *Pergularia tomentosa* على العديد من نواتج الأيض الثانوي والتي لها أنشـطة بيولوجية متنوعة كالخصـائص المضـادة للأورام وخافضـة لسـكر الدم والسـامة للخلايا **(Al Hinai et *al.*,2018)** وكعامل مضاد للروماتيزم **(Belakehal et *al.*, 2021)**. ونشاط مضاد لسرطان بالإضافة إلى ذلك؛ تم عزل مركبات هامة من *P. tomentosa* كالجليكوسيدات pergularoside وD-glucopyranosylcalactin والتي لها نشـــاط مقوي للقلب **(Lahmar et *al.*,2017؛ Lahmar et *al.*,2022)**. وكمضـــادات للأكســـدة والبكتيريا **(Belakehal et *al.*, 2021؛Kahnouj et *al.*, 2017)؛**

# الفصلII. دراســة بيبليوغرافية حـول اللبن النباتي

# Chapter II.

# A Bibliographical Study of Latex

تمتلك النباتات الوعائية أنظمة أنبوبية ناقلة Conducting Systems والتي بدونها لا يمكن بأن يقوم بالأنشــطة الأيضــية الأســاســية اللازمة للبقاء والمتمثلة في الخشــب (Xylem) واللحاء (The Phloem). حيث غالبًا ما يتم استكمال هذين النظامين بتركيب ثالث أقل شيوعًا وهو النسيج الخلوي Aerenchyma. لستكتمل بنظامين ثانويين عند بعض الأنواع النباتية وهي: القنوات الإفرازية The Secretory Duct والخلايا اللبنية The Laticifer ويُقترح بأنها تعمل كأنظمة دفاعية ضد الحشرات العاشبة **(Pickard.,2008)** وفي هذا الصدد، تمتلك المملكة النباتية على ما يفوق 35.000 نوع من النباتات الوعائية الناضــحة بالإفرازات النباتية، والتي يتم تصــنيفها بناءًا على تركيبها الكيميائي **(Salomé Abarca et *al*.,2019)**

**I. القنوات الإفرازية Secretory Ducts.** تتواجد القنوات الإفرازية في أكثر من 50 عائلة من النباتات الوعائية. وهي عبارة عن غدد داخلية مكونة من خلايا إفرازية تطلق الإفرازات بين الخلايا. تنشــأ من الكامبيوم الأولي والكامبيوم والنسيج المرستيمي، يحدث تكوينها من خلال انقسام الخلايا، أو تحلل الخلايا (انحلالها)، أو من خلال عملية نمو تتضــمن كل من المســارات الانقســامية والانحلالية. يتم تحديد نوع الخلايا الإفرازية غالباً على طبيعة مفرزتها فقط **(Medina et *al*.,2021؛ Costa et *al*.,2021؛ Tölkeet *al*.,2021)** لتنتج مجموعات متنوعة للغاية من المركبات الكيميائية في مخاليط معقدة، وهي:

**1. الصمغ Gum.** عبارة عن بوليمرات متعددة السكاريد غير نشوية قابلة للذوبان في الماء تتدفق بشكل طبيعي عند نقاط التلف لتتصــــلب عند تعرضــــها للهواء؛ كما لها كالقدرة على الذوبان في الماء، والعكس في المذيبات العضوية**(Salomé Abarca et *al*.,2019؛ Tölke et *al*.,2021؛ Kipo et *al*.,2023).**

**2. الراتنج Resin.** عبارة عن مخاليط معقدة غير متطايرة (تربينويدات وفلافونويدات ومواد دهنية) غير قابلة للذوبان في الماء قابل للذوبان في المذيبات العضوية (**Tölkeet *al*.,2021**).

**3. المواد المخاطية Mucilages.** تُعد كمخزن للمياه في النباتات**(Salomé Abarca et *al*.,2019).**

**4. الزيوت العطرية Essential oils.** تتكون من مركبات عضــــوية متطايرة تنتمي إلى فئات كيميائية مختلفة كالكحولات، الإيثرات، الألدهيدات، الكيتونات، الإســـترات، الأمينات، والفينولات، والتربينات الأحادية بشـــكل أساسي والتي تمنحها خصائصها المميزة مثل الرائحة والكثافة ونقاط الانصهار المنخفضة **(Salomé Abarca et *al*.,2019)**.

**II. الخلايا اللبنية (Laticifer).**

تنتشـــر النباتـات اللبنيـة في أكثر من 40 عـائلـة بين النبـاتـات الوعـائيـة في كـل من *Gymnospermae* و*Angiospermae* **(Medina et *al*.,2021)** وفي أكثر من 20.000 نوع نباتي **(Konno.,2011؛ Hua et *al*.,2015؛ Merchán-Gaitán et *al*.,2024؛ Nawrot.,2017).**

**1. تعريفها.**

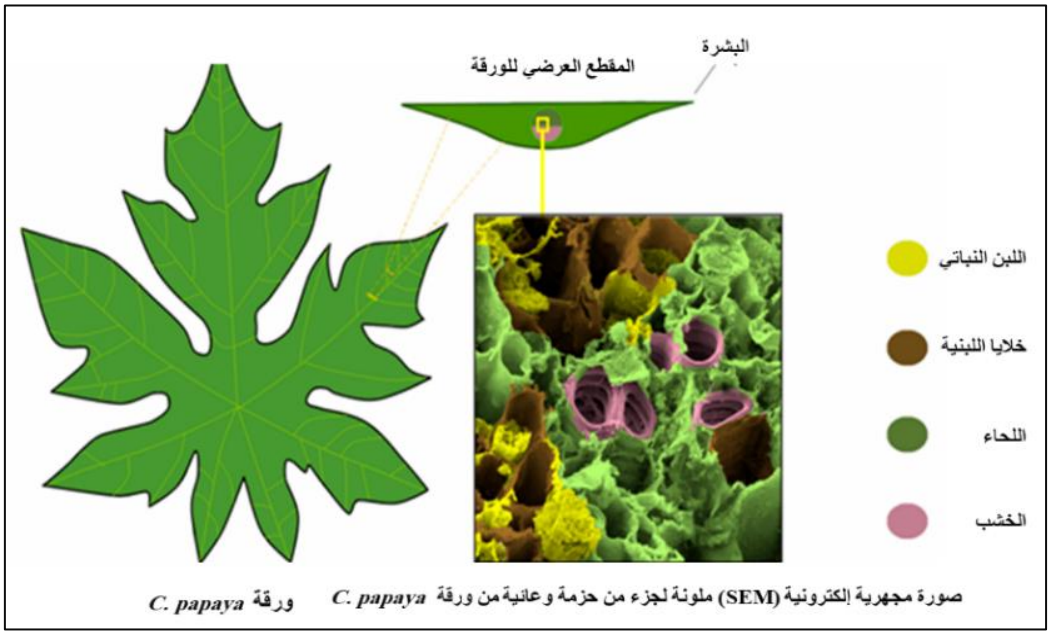
تعد خلايا اللبنية Laticifer نوعًا متخصصًا من الخلايا اللبنية الإفرازية وهي عبارة عن خلية او صف من الخلايا الطويلة المتخصصة للغاية **(Leme et *al*.,2021؛Ramos et *al*.,2019)** تنشأ من أنسجة مرستيمية وخلايا

بروكامبيوم لتنتشر في جميع الأنسجة الوعائية **(Medina et *al*.,2021 ؛Naidoo et *al*.,2020)** مُشكلة بنية أنبوبية شــبكية خطية داخلية ومرتبة في حلقات موازية للكامبيوم الوعائي **(Cheng et *al*.,2024)** أو متفرعة لتنمو وتســتطيل عبر امتداد النبات من الجذور وصــولا بالســيقان والأوراق والفواكه والســبلات والبتلات والســداة والمبيض لتصــبح أطول نوع من الخلايــا في النبــات لتنضــح بمــادة اللبن النبــاتي (latex) عنــد نقــاط تلفِه **(Konno.,2011 ؛Hegazy et *al*.,2012 ؛Nawrot.,2017 ؛Salomé Abarca et *al*.,2019 ؛Castelblanque et *al*.,2020 ؛Medina et *al*.,2021 ؛Gracz-Bernaciak et *al*.,2021)**. ويُفترض أنه يصــنع باســتخدام الموارد التي يتلقاها من اللحاء، والذي يتمتع بأهمية اقتصـــادية كبيرة، كإنتاج المطاط الطبيعي ومكافحة الحيوانات العاشبة**(Pickard.,2008 ؛Guillén et *al*.,2017 ؛Long et *al*.,2021).**

## 2. أنوعها.

**تصنف الخلايا اللبنية Laticifer إلى نوعين:**

- **الخلايا الغير المفصـــلية (Non-Articulated Laticifers).** وهي خلايا تســتطيل وتدفع طريقها عبر خلايا أخرى كما في نبات *Jatropha dioica* **(Konno.,2011).**
- **الخلايا المفصـــلية (Articulated Laticifers).** تتكون من مجموعة من الخلايا والتي تندمج لتشـــكل أنابيب طويلة، أو حلقات أو شبكات كما في نبات *Papaver somniferum* **(Merchán-Gaitán et *al*.,2024)**




**الشكل05.** الشكل العام لتوزع الخلايا اللبنية ومادة اللبن النباتي في ورقة *Carica papaya* **( Merchán-Gaitán et *al*.,2024)**

**III.اللبن النباتي(Latex):** وبناءً على الأصـل التشـريحي أو التخزين أو الأدوار البيئية هناك العديد من المفاهيم حول اللبن النباتي:

تشـريحيًا، ينشـأ اللبن النباتي من فجوات من خلايا laticifer تكون عادةً حليبية أو بيضـاء اللون، وقد تكون ملونة أحيانًا باللون الأصفر أو البرتقالي أو الأحمر أو البني أوعديمة اللون **(Salomé Abarca et *al*.,2019)**

حسب ***Konno*** **(2011) "**يُعتبر اللبن النباتي عبارة عن عصارة بيضاء، تتواجد في قنوات تدعى بالأوعية اللبنية Vaisseaux Laticiferes، يتم تخزينها في نسيج يسمى laticifer والتي تنضـح من أجزاء نباتية مختلفة بعد إصـــابة الأنســـجة مباشـــرة**"**. كما يمكن تعريفه، على أنه إفراز يتم تصـــنيعه في ســـيتوبلازم الخلايا laticifer **(Florez-Velasco et *al*.,2024 ؛Ismawanto et *al*.,2024)** وبالتحديد في البلاســتيدات والشــبكة الإندوبلازمية مشـكلة مسـتحلباً **(Ramos et *al*.,2019 ؛Tölkeet *al*.,2021)**، لتتجمع وتخزن في خلايا ممتدة على طول النبات مما يولد ضـغطًا مسـتمر في هذه الخلايا على امتداد طول أعضـاء النبات ليتم إطلاقه فورًا وبغزارة من الأنسـجة التالفة. كما يعرف على أنه عبارة عن ناتج ثانوي أو بوليمر نباتي أو معلق مائي أو مســـتحلبًا لمزيج معقد من الجزيئات مُكون من مجموعة متنوعة من نواتج الأيض والتي تنقســـم لنواتج الأولية كالبروتينات إنزيمية والغير إنزيمية، والكربوهيدرات والدهون بالإضـــافة إلى النواتج الثانوية كالتربينات والفلافونويد والأحماض الفينولية، **(Konno.,2011 ؛Upadhyay., 2011 ؛Hegazy et *al*.,2012 ؛Salomé Abarca et *al*.,2019 ؛Castelblanque et *al*.,2020)**

**1. التوصيف الكيميائي لمادة اللبن النباتي.**

يعود استخدام النباتات البرية الحاملة لـــمادة اللبن النباتي داخل المملكة النباتية الى تاريخ طويل في الطب الشـعبي لتأثيراتها البيولوجية والدوائية المتعددة والتي لا تفيد النباتات فحسـب، بل وحتى الإنسـان، لتشـمل حوالي 2.0000 نوع تتوزع بين النباتات أحادية وثنائية الفلقة والتي تمثل ما بين 8 و10٪ من كاسيات البذور لتشمل 43 عـائلـة تنتمي أغلبهـا إلى Asclepiadaceae؛Apocynaceae وEuphorbiaceae **(Salomé Abarca et *al*.,2019؛ Gracz-Bernaciak et *al*.,2021)**. يمكن التمييز بين مجموعتين رئيسـيتين من المركبات النشـطة بيولوجيًا لمادة اللبن الذباتي، وهي نواتج الأيض الأولي وأهمها البروتينات ونواتج الأيض الثانوي كالتربينات والقلويدات..الخ تعمل هذه المركبات بشـــكل تآزري لتمنحها نظام كيميائي دفاعي وفي التفاعل مع تغيرات بيئته، كالإجهادات الحيوية والتي يمكن أن تفســـر الكمية الكبيرة من المركبات الســـامة في اللبن الذباتي **Salomé Abarca et *al*.,2019)؛ Merchán-Gaitán et *al*.,2024)** وبالرغم من إمكاناته الاقتصـادية والدوائية المتنوعة إلا أنه لايزال استغلالها محدود لحد الآن**(Naidoo et *al*.,2022 ؛Gracz- Bernaciak et *al*.,2021) .**

وبناءً على خصـائصـها الفيزيائية والكيميائية، هناك أنواع فرعية عديدة من اللبن النباتي، وأشـهرها اللبن النباتي المطاط، حيث يمكن أن تصـل الجسـيمات الدقيقة البوليمرية إلى أكثر من 50٪ من وزن اللبن النباتي. بالإضـافة إلى، درجة عالية من التنوع الكيميائي، ومجموعة واسـعة من الفئات الكيميائية كالتربينات والفينولات والقلويدات والكـاردينوليدات، والفينولات، والنشـا، والفورانوكومـارين، والأحمـاض الأمينيـة، البروتينـات، السـكريات، الزيوت، العفص، مما يميزه عن باقي الإفرازات النباتات الأخرى **(Andréa et *al*.,2014؛ Hua et *al*.,2015؛ Salomé Abarca et *al*.,2019؛ Ramos et *al*., 2019؛ Merchán-Gaitán et *al*.,2024).**

ومن أهم المنتجات الحيوية القيمة التي تصـنع في مادة اللبن النباتي المطاط في نبات الـ *Hevea brasiliensis*، والمواد الأفيونية في نبات *Papaver somniferum*، والبابـاين (البيتيداز) في نبات *Carica papaya*، **(Castelblanque et *al*.,2021 ؛ Gracz-Bernaciak et *al*.,2021).**

- **البروتينـات والإنزيمـات** تم تحديد وعزل مجموعة متنوعة من البروتينات والإنزيمات من اللبن النباتي كبروتينات السيستين، السيرين، الكيتيناز، مثبطات البروتياز والأوكسيدازات والتي أثبت الدراسات أدوارها الفسيولوجية المتنوعة كالخصائص المضادة للبكتيريا وللفيروسات **(Salomé Abarca et *al*.,2019).**
- **الفينولات وعديدات الفينول.** بحيث تتراوح التعقيدات الكيميائية لهذه المركبات من الأحماض الفينولية البسيطة إلى العفص المعقد والليجنين. والتي تلعب أدوراً في العديد من العمليات البيولوجية والفسيولوجية للنباتات كتحمل الإجهادات الحيوية والدفاع ضـد الحشـرات العاشـبة والاجهادات اللاحيوية **( Merchán-Gaitán et *al*.,2024).**
- **التربينات:** أحد أكثر المسـتقلبات الثانوية وفرة وانتشـارًا في اللبن النباتي وهوالأكثر أهمية ويمتاز بأنشـطة بيولوجية متعددة كالنشاط المضاد للبكتيريا والفطريات والفيروسات **(Salomé Abarca et *al*.,2019؛ Long et *al*.,2021؛ Merchán-Gaitán et *al*.,2024).**
- **الكـاردينوليـدات**: وهو نوع من جليكوسـيدات كـارديـاك. تلعـب دورا في الحفـاظ على الجهـد الكهربـائي للخلايا**(Salomé Abarca et *al*.,2019؛ Merchán-Gaitán et *al*.,2024).**
- **القلويدات**: وأكثرها شهرة هو الأفيون في اللبن النباتي لـ *Papaver somniferum* والذي يستخدم في التخدير. بالإضافة إلى استخدمها كمركبات دفاع ضد الحيوانات العاشبة والقوارض والنشاط المضاد للأعشاب الضارة **(Salomé Abarca et *al*.,2019؛ Merchán-Gaitán et *al*.,2024).**

**2. الأنشطة البيولوجية والإمكانات الدوائية لـمادة اللبن النباتي.**

تزايدت في السـنوات الأخيرة، الأبحاث العلمية حول اللاتكس النباتي بشـكل هائل لاسـتكشـاف فوائده الصـناعية والصـيدلانية **(Das et *al*.,2022)**. والذي يُعد مصـدرًا للعديد من المكونات النباتية النشـطة بيولوجيًا والتي تتسم بخصائص بيولوجية ودوائية متنوعة لاحتوائها على مجموعة من المواد الكيميائية النشطة والتي

أظهرت فعاليات علاجية مختلفة كالنشاط المضاد للسرطان والنشاط المضاد للأكسدة والمضاد البكتيريا وكمبيدات للحشــرات **(Naidoo et *al*.,2022 ؛Upadhyay., 2011)**. وفي إيقاف النزيف وتعزيز التئام الجروح وكمضــاد للالتهـابـات من خلال التحكم في إنتــاج أكســيـد النيتريـك **(Fernandez-Arche et *al*.,2010؛ Naidoo et *al*.,2022؛ Das et *al*.,2022)**.

علاوة عن ذلك، يحتوي اللبن النباتي على مجموعة واســعة من نواتج الأيض المتخصــصــة والتي تمتلك أنشـطة مضــادة للفطريات والديدان وكمبيدات حشـرية عن طريق إعاقة أداء الحشـرات وذلك بحجز أجزاء من أجســامها، أو كدفاع كيميائي بســبب التأثيرات المحتملة للمركبات الأيضــية الثانوية المكونة باللبن النباتي كالإنزيمات وبروتينات والتي قد تلعب أدوارًا دفاعية ضد المتطفلين **(Konno., 2011)**

كما أظهر اللاتكس المستخرج من نبات *Ficus carica* فعالية تجاه أنواع مختلفة من السرطان، بما في ذلك سرطان المعدة والقولون **(El Fawal et *al*.,2024)**.

أيضــاً، تم الإبلاغ عن اســتخدام اللبن النباتي لكل من نباتي *Ficus carica* و*Ficus insipida* و *Ficus glabrata* في قتل الديدان. كما أظهر اللبن النباتي لــشجرة *Hevea brasiliensis* تأثيرًا مضادًا للفطريات تجاه كل من *Cryptococcus neoformans* و*Trichosprum cutaneum*، كمـا أظهر اللاتكس الخـام لـــــ *Argemone ochroleuca* نشاطًا مضادًا للبكتيريا **(Das et *al*.,2022)**.

تقليديًا، استخدم اللبن النباتي لـــ *Gomphocarpus physocarpus* لعلاج الثآليل والقضاء على حب الشباب والســل وتحفيز وظائف الكبد وشــفاء الجروح وفي علاج القرحة والربو وآلام الروماتيزم والأذن **(Naidoo et *al*.,2022)** وعن اســتخدام اللبن النباتي المســتخرج من نبات *Calotropis procera* في تقليل الألم **(Muthu et *al*.,2024)**

**الجدول01: التأثيرات البيولوجية لمادة اللبن النباتي لبعض الأنواع النباتية.**

| النبات | الأنشطة البيولوجية |
|---|---|
| ***Calotropis procera*** | - يمتلك نشـــاط مضـــاد للالتهابات وللفطريات كما يســـتخدم في الحماية من الإجهاد التأكسدي وفي تخفيف الألم وفي علاج الإسـهال **(Kumar et *al*.,2001؛ Hegazy et *al*.,2012؛ Abdel-Aty et *al*.,2019؛ Das et *al*.,2022).** |
| ***Ficus sycomorus*** <br> ***Ficus carica*** | - له نشاط مضاد للسرطان**(Abdel-Aty et *al*.,2019)** |
| ***Hancornia speciosa Gomes*** | - يمتلك نشـاط مضـاد للالتهاب وفي علاج حب الشباب وإزالة الثآليل **(Marinho et *al*.,2011)** |
| ***Euphorbia woodii*** | - يستخدم في علاج الجروح**(Mavundza et *al*.,2022)** |
| ***Euphorbia tirucalli*** | - يمتلك نشاط مضاد للسرطان **(Abdel-Aty et *al*.,2019)** |
| ***Hevea bransilensis*** | - له نشاط مضاد للفطريات **(Hegazy et *al*.,2012؛ Abdel-Aty et *al*.,2019)** |
| ***Garcinia mangostana*** | - يمنع انتشار خلايا سرطان الثدي البشري **(Upadhyay , 2011)** |
| ***Euphorbia officinarum*** | - يمتلك نشاط مضاد للبكتيريا كما له نشاط مبيد للحشرات **(Boutoub et *al*.,2022).** |
| ***Carica papaya*** | - له تأثير ســـام على يرقات *Plutella xylostella* **(Merchán-Gaitán et *al*.,2024؛ Upadhyay., 2011)** |
| ***Euphorbia lactea*** <br> ***Populus laurifolia*** | - له نشـاط مضـاد للالتهاب والفيروسـات **(Merchán-Gaitán et *al*.,2024؛ Upadhyay., 2011)** |

# الفصلIII. نشاط التئام الجرح

# Chapter III.

# Wound Healing Activity

تعد الجروح الناتجة عن الحروق والصدمات، بالإضافة إلى الاضطرابات الأيضية، من القضايا الصحية الشائعة التي يصعب تجنبها **(Ang et *al*., 2019; Yaseen et *al*., 2020)**. وتمثل هذه المشاكل تحديات كبيرة، خصوصًا في الدول النامية، حيث يصاحبها ارتفاع في معدل المضاعفات الشديدة، مع محدودية الموارد المالية المتاحة. في ظل هذه الظروف، يصبح من الضروري البحث عن علاجات آمنة وفعّالة، تتميز بسهولة استخدامها وتكلفتها المنخفضة. من هنا تبرز أهمية العودة إلى الأدوية التقليدية، خاصة الأدوية العشبية، التي تمتلك خصائص متعددة تدعم عملية الشفاء. فهذه الأدوية تتميز بقدرتها على مكافحة الأكسدة، وتحفيز تكوين الأوعية الدموية، فضلاً عن فعاليتها كمضادة للبكتيريا والالتهابات. جميع هذه الخصائص تساهم بشكل رئيسي في تسريع شفاء الجروح والتئامها، مما يجعلها خيارًا واعدًا في علاج الحروق والصدمات **(Gurung & Skalko-Basnet.,2009 ؛ Silva et *al*.,2015؛Ang et *al*.,2019 Yaseen et *al*.,2020 Sideek et *al*.,2022؛؛ Singh et *al*.,2024، ؛ Kim et *al*.,2024).**

## I. الجلد.

### 1. تعريفه.

يُعد الجلد من أكبر الأعضاء الحسية في جسم الإنسان ذا بنية معقدة تتراوح مساحته ما بين 1.2~2.0م$^2$ وسمك ما بين 0.5~4 مم لدى البالغين ويتكون من ثلاث طبقات: البشرة والأدمة والأدمة تحت الجلد تلعب كل منهم دورًا في الحفاظ على سلامة الجلد **(Choudhary et *al*.,2024 ؛Lopes et *al*.2024)**. وكحاجز مناعي ضد المخاطر البيئية، ومسببات الأمراض، والإصابات الجسدية وفي الحفاظ على توازن سوائل الجسم **(Jahromi et *al*.,2017؛ Qadir et *al*.,2021؛ Zhang et *al*.,2023؛ Chopra et *al*,2023؛Ruting et *al*.,2023؛ Choudhary et *al*.,2024)** والقدرة في الحفاظ على إدراك المنبهات الخارجية بواسطة المستقبلات الحسية والتي لها أهمية في حمايته من الإصابات الخارجية المختلفة كالحروق والجروح وما إلى ذلك والتي تعطل بنيته التشريحية الطبيعية **(Zhang et *al*.,2023؛ Choudhary et *al*.,2024؛ Yang et *al*.,2024).**

### 2. مكوناته.

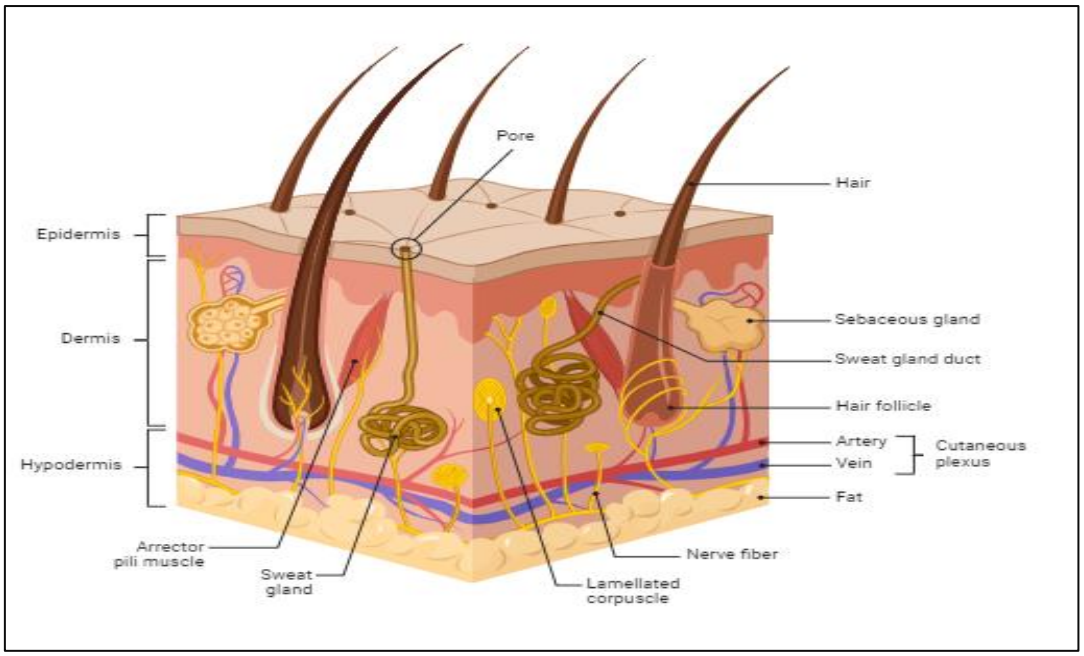
- يتكون الجلد من ثلاث طبقات مميزة كما موضح في **الوثيقة06**. بما في ذلك البشرة والأدمة والأدمة تحت الجلد:**(Choudhary et *al*.,2024)**

- **البشرة Epidermis:** وهي الطبقة الخارجية من الجلد، مكونة من بنية متعددة الطبقات تتكون من أنواع مختلفة من الخلايا المناعية وغير المناعية مثل الخلايا الكيراتينية وخلايا ميركل وخلايا لانجرهانس وخلايا

الصـــبغية.التي تتشـــكل من خلال التكاثر وتمايز التدريجي للخلايا الكيراتينية، والتي تنتقل من الطبقة القاعدية العميقة المجاورة للغشـــاء القاعدي إلى الطبقات العليا المتمايزة الشـــوكية والحبيبية. تظهر كل طبقة مورفولوجيا مميزة. ولها نمط تعبيري محدد من الجينات وتُعد كحاجز دفاعي تمنع دخول الكائنات الحية الدقيقة الضـــارة (**Choudhary et *al*.,2024 ؛Jahromi et *al*.,2017**).

- **الأدمة Dermis:** تقع الأدمة تحت البشـرة، وهي طبقة من النسـيج الضـام غنية بالأوعية الدموية والأعصـاب وأنواع مختلفة من الخلايا. والكولاجين والأوعية الدموية والغدد وجذور الشـــعر والخلايا العصـــبية والأوعية اللمفاوية والخلايا الجذعية **(Jahromi et *al*.,2017)** تساهم الخلايا الليفية في إصلاح والتئام الأنسجة، كما تساهم الخلايا الليفية العضلية في انكماش الجرح. كما تلعب دوراً من خلال اطلاق عوامل النمو والهيستامين والتي تؤثر على الالتهاب وإصـــلاح الأنســـجة في مرحلة إعادة البناء إضـــافة إلى، البلعميات والخلايا البطانية؛ كما تكمن وظيفتها الأساسية في توفير الصلابة البنيوية للجلد **(Choudhary et *al*.,2024)**.

- **الأدمة تحت الجلد Hypodermis:** تقع أسفل الأدمة وتتكون من النسيج الضام يضم الخلايا الدهنية والبلعميات والأوعية الدموية والأعصـــاب والخلايا الجذعية والخلايا الليفية، ووظيفتها هي دعم وتثبيت الطبقات الجلدية **(Jahromi et *al*.,2017)** حيث توفر هذه الخلايا الدهنية الطاقة والعزل الحراري، ويمكن أن يؤثر وجودها على التئام الجروح بشكل غير مباشر من خلال التأثير على صحة الجلد بشكل عام. كما تعمل الأعصاب بالاشتراك مع الأوعية دموية في إمداد الأنسجة المحيطة بالعناصر المغذية والأكسجين، الضرورية لإصلاح الجلد التالف. كما تفرز الأنســـجة الدهنية الســـيتوكينات وعوامل النمو التي تعدل الاســـتجابة المناعية المهمة في عملية التئام الجروح(**Choudhary et *al*.,2024**).



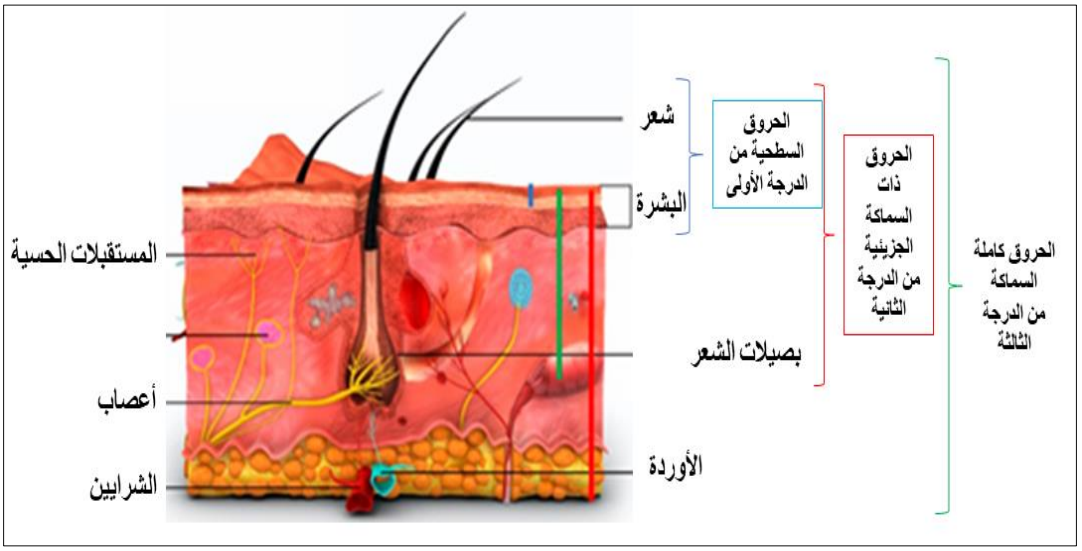

**الشكل06.** رسم تخطيطي لبنية الجلد **(Biorender.19/09/2024)**

## II. الحرق.

**1. تعريفه.** تُعرَّف الحروق عمومًا بأنها جروح جلدية ناتجة عن فقدان حاجز الجلد، مؤدية بذلك لفقدان السوائل، والتغيرات الأيضية الشديدة، والمضاعفات المعدية. الناجمة عن التعرض للحرارة أو النار أو الغازات أو الكهرباء أو المواد الكيميائية (كالقواعد /الأحماض القوية) أو التعرض للإشعاع كالأشعة فوق البنفسجية كما تؤدي الحروق الحادة إلى تدفق مفاجئ للسيتوكينات الالتهابية، والتشوهات، وفقدان العضلات والوظيفة. كما يمكن أن ينجر عنه ألماً شديداً وأثار نفسية وربما الموت ولذا تعد هذه الآفات الجلدية من بين أكثر الآفات تعقيدًا في تقييم وإدارة الجروح سريريًا(**Jahromi et *al*.,2017؛ Surowiecka et *al*.,2022؛ Lopes et *al*.2024**).

**2. أنواعه**.

ووفقاً لـ (**Jahromi et *al*.,2017؛ Qadir et *al*.,2021**) يتم تصنيف الجروح الناتجة عن الحروق بناءً على عمق طبقات الجلد المصابة كما موضح في **الوثيقة07.**




**الشكل07.** رسم تخطيطي للأنواع الحرق (**Surowiecka et *al*.,2022**)

**1.2.الحروق من الدرجة الأولى:** وهي الجروح السطحية التي تنطوي على البشرة فقط احمرارًا وألمًا في موقع الضرر وجفافًا (سطح الجلد فقط)؛

**2.2.الحروق من الدرجة الثانية:** وهي الجروح ذات السماكة الجزئية تشمل البشرة والأدمة وبصيلات الشعر تصحبها أعراض كتقرحات في الجلد؛

**3.2.الحروق من الدرجة الثالثة:** وهي الجروح ذات السماكة الكاملة، يحدث تدمير كامل لسمك كل من البشرة والأدمة والادمة العميقة (الأنسجة العميقة)، فتحدث أضرارًا كارثية في الأنسجة الأساسية والعضلات والأوتار والأربطة وحتى العظام.

**3.طرق استحداث جروح الحرق على الحيوانات.** حسب **(Jahromi et *al*.,2017)** يمكن إحداث الحروق بـ:

- **استحداث الحرق باستخدام لهب الغاز**. في هذا النموذج، يتم وضع قالب مزود بنافذة مقاس 2.5 × 3.5 سم على ظهر الفئران المحلوق، وبعد ذلك، يتم تسخين الموقع المكشوف على الجلد لمدة 9 ثوانٍ باستخدام لهب الغاز. يمكن لنموذج الحرق الناتج عن اللهب أن يسبب حرقًا من الدرجة الثالثة بنسبة 15% تقريبًا من مساحة سطح الجلد على فئران؛
- **استحداث الحرق باستخدام حمام الإيثانول.** في هذا النموذج، يستخدم الإيثانول لعمل لجرح حروق. في هذا النموذج، يتم استخدام الفئران المخدرة والمحلوقة من الظهر وتعريضها من الخلف لصفائح الأسبستوس التي تحتوي على نافذة، ويتم الضغط عليها بقوة على الظهر ومن ثم يتم رش الإيثانول بالتساوي على المنطقة المحددة بواسطة النافذة، ثم يتم إشعالها وتركها تحترق لمدة 10 ثوانٍ؛
- **استحداث الحرق باستخدام قطعة معدنية مسخنة مسبقًا.** في هذا نموذج، يتم استخدام صفيحة من ألومنيوم مسخن مسبقًا. يتم تسخينه إلى حوالي 98 إلى 100 درجة مئوية لمدة 10 دقائق. بعد ذلك، يتم الضغط على صفيحة الألومنيوم المسخنة على ظهر ذكور الفئران المحلوق لمدة 15 ثانية؛
- **استحداث الحرق باستخدام بالماء المغلي.** وهو نموذج قياسي لحروق الماء المغلي المستخدم في تحقيقات متنوعة. يتم استخدام ذكور فئران في هذا النموذج، ويتم استخدام قالب معدني على شكل نصف أسطوانة رقيق تناسب ظهر الفأر. بها فتحة بأبعاد محسوبة في المنطقة المركزية من نصف الأسطوانة. يتم تحديد حجم الفتحة بحيث تتوافق مع حجم الحرق في الفأر بنسبة لا تزيد عن 30 % من حجم الفار. من خلال تخدير الحيوان المحلوق ووضعه مستلقيًا في القالب. يتم غمر المنطقة المكشوفة لمدة 3 إلى 10 ثوانٍ بالماء المغلي على التوالي؛
- **استحداث الحرق باستخدام كتلة نحاسية مزدوجة مسخنة مسبقًا.** يستخدم في هذا نموذج كتلتين نحاسيتين مسخنتين مسبقًا(في 92-95 درجة مئوية) تبلغ مساحتها حوالي 1.8 سم$^2$ أي ما يقرب من 5% من مساحة سطح الجلد يتم وضعهما على ظهر الفئران المحلوقة لمدة تتراوح بين 3 إلى 10 ثوانٍ اعتمادًا على عمق الحرق المطلوب على جانبي طية الجلد على ظهر الفئران.

**3. استراتيجيات التئام الجروح الناتجة عن الحروق.**

يعد التئام الجروح الناتجة عن الحروق عملية معقدة، تتضمن أحداث خلوية وجزيئية متتابعة لتساعد في إعادة تكوين الجلد التالف وتتكون من أربع مراحل متداخلة، مرحلة التوازن الداخلي (وقف النزيف) ومرحلة الالتهاب، ومرحلة التكاثر ومرحلة إعادة البناء **(Qadir et *al*.,2021)**.

- **المرحلة الأولى(وقف النزيف).** تحدث بعد دقائق من حدوث الإصابة الحرارية، تبدأ كاستجابة ذاتية لمحاولة تقليل الضرر. فيها تحدث عدة ظواهر بما في ذلك تراكم الصفائح الدموية وتنشيط المناعة وتجلط الدم والتي توفر مصفوفة لهجرة الخلايا الليفية والكريات البيضاء والخلايا الكيراتينية والخلايا البطانية بالإضافة إلى تراكم عوامل النمو**(Jahromi et *al*.,2017)**؛

▪**المرحلة الثانية (المرحلة الالتهابية).** تحدث بعد 1 إلى 3 أيام من حدوث الحرق. والتي تتجند فيها الخلايا البلعمية لتنتج عوامل النمو (TGF-α وTGF-β)، وعامل نمو الخلايا الليفية (FGF)، لتحفز توسع الخلايا وهجرتها في حين تنتج خلايا Neutrophils عوامل المنشطة للاستجابة الالتهابية وتحفيز تكوين الأوعية الدموية **(Jahromi et *al.*,2017)**؛

▪**المرحلة الثالثة(إعادة تكوين الظهارة).** تحدث مرحلة التكاثر ما بين 3إلى 10 أيام من الإصابة تلي الاستجابة الالتهابية، وتتضمن ثلاث خطوات؛ إعادة الظهارة(Epithelium)، وتكوين الأوعية الدموية وتكوين نسيج التحبيب. تتوسع الخلايا الكيراتينية والخلايا الظهارية والخلايا الجذعية والليفية لتحفيز إعادة الظهارة عن طريق تنشيط السيتوكينات وعوامل النمو والتي تعمل على تنشيط وانتاج الخلايا الكيراتينية، الظهارية، الجذعية والليفية. لتهاجر الخلايا الكيراتينية والخلايا الليفية والخلايا البلعمية المشتقة إلى الجرح وتزداد أثناء تجديد الأنسجة التالفة في نهاية هذه المرحلة، يحدث تمايز الخلايا الليفية إلى خلايا ليفية عضلية لتصنع الكولاجين الذي يكون الندبة **(Jahromi et *al.*,2017)**؛

▪**المرحلة الرابعة(إعادة البناء).** تبدأ عملية إعادة بناء الجرح بعد 2-3 أسابيع من تلف الحرق، ويحدث فيها تعزيز التحبيب النسيجي بواسطة الخلايا الليفية والحبيبات والبلعميات وإنتاج الكولاجين والإيلاستين وكذلك الخلايا الليفية التي تنضج إلى الخلايا الليفية العضلية في وجود الخلايا التائية والبلعميات تسمى هذه الخطوة الأخيرة من التئام الجروح بمرحلة إعادة البناء. خلال هذه الخطوة، بجانب تحول الخلايا الليفية، يلعب موت الخلايا الكيراتينية والخلايا الالتهابية (مثل الخلايا التائية والبلعميات) دورًا حيويًا في إنهاء الاستجابة للإصابة تستمر مرحلة إعادة البناء في التغير على مدار الأسابيع القليلة الأولى إلى عدة سنوات بعد حدوث الإصابة **(Qadir et *al.*,2021 ؛Jahromi et *al.*,2017)**

## III. التئام الجروح.

### 1. الجروح الجلدية.

تُعرَّف الجروح عادةً بأنها تلف يصيب الجلد وكذلك هياكل البشر أو الجلد. ويمكن تصنيفها على أنها جروح حادة أو مزمنة اعتمادًا على مدتها لتجديد أنسجة تعمل على إصلاح الجلد التالف والأنسجة الرخوة الأخرى. لتشمل أربع مراحل متتابعة: وقف النزيف والالتهاب والتكاثر وإعادة البناء**(Siti Nor Najihah et *al*.,2023)**

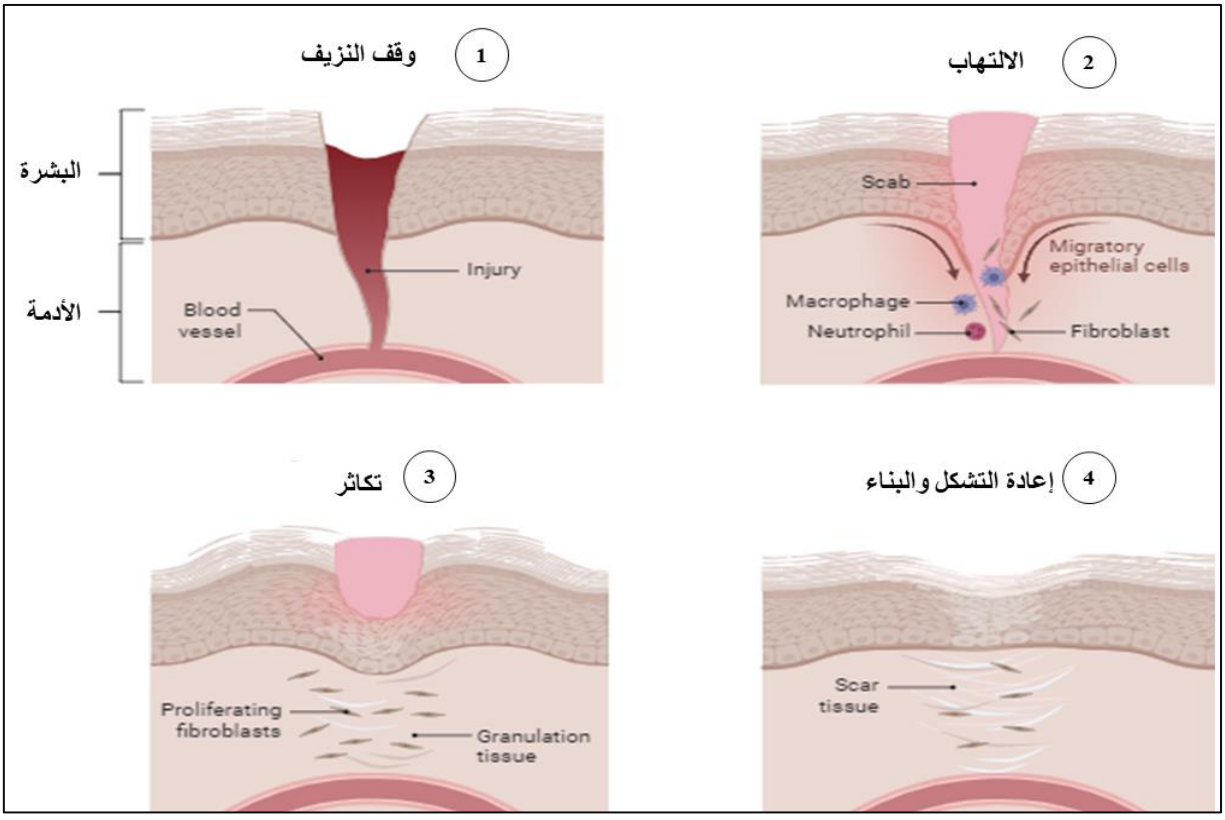
### 2. التئام الجروح الجلدية.

هو عملية بيولوجية وديناميكية ومنظمة من التفاعلات الخلوية يتم تنسيقها بواسطة عوامل النمو والسيتوكينات تهدف لاستعادة الهياكل الخلوية وطبقات الأنسجة في الأنسجة التالفة إلى أقرب ما يمكن إلى حالتها الطبيعية. تتضمن عملية التئام الجروح سلسلة من الأحداث التي تنظمها مكونات خلوية وجزيئية منسقة للغاية من الاستجابات الخلوية التي تشمل تفاعل العديد من أنواع الخلايا على مدى فترات طويلة من الزمن( **Saratha et *al*.,2010**). لذا إن قدرة الجلد على التئام الجروح بكفاءة أمر بالغ الأهمية للحفاظ على التوازن الداخلي وحماية الجسم من العدوى والغزو الخارجي ويتم تصنيفها بناءً على طبقات ومناطق الجلد المصابة. إلى جروح سطحية وتشمل سطح الجلد فقط؛ والجروح ذات السماكة الجزئية وهي التي تؤثر على البشرة والطبقات الجلدية العميقة والأوعية الدموية والغدد العرقية وبصيلات الشعر والجروح ذات السماكة الكاملة هي تلك التي تصاب فيها الدهون تحت الجلد أو الأنسجة العميقة والبشرة والأدمة (**Lopes et *al*.2024**) والتي تتضمن سلسلة من المراحل المترابطة والمتداخلة. تتميز كل مرحلة بأحداث خلوية وجزيئية محددة تعمل بشكل تآزري في استعادة سلامة الأنسجة (**Sun et *al*.,2024 ؛Choudhary et *al*.,2024؛Zielinska et *al*.,2023 ؛Mimi Leong.,2006**) تعمل هذه المراحل على استعادة الجلد التالف و غالباً ما تتراوح فترة الالتئام ما بين 10-20 يومًا **Bădăluță et *al*.,2024 ؛(Yang et *al*.,2024)**

**3. مراحل التئام الجروح الجلدية:** إن عملية التئام الجروح ديناميكية ومعقدة، وتتكون من أربع مراحل متداخلة ومتتالية وهي: مرحلة وقف النزيف، ومرحلة استجابة للالتهاب، ومرحلة تكاثر الخلايا وإعادة تشكيل وبناء الأنسجة كما موضح في **الوثيقة08.**

- **المرحلة الأولى (وقف النزيف):** تبدأ عملية التئام الجروح الجلدية بإيقاف فقدان الدم بسرعة عن طريق تضييق الأوعية الدموية وتنشيط الصفائح الدموية والتخثر لتكوين جلطات الفيبرين واحتجاز خلايا الدم في موقع الجرح( **Sun et *al*.,2024 ؛Lopes et *al*.,2024 ؛Zielinska et *al*.,2023**) وتشارك فيها الخلايا الليفية والبلعميات، وإطلاق عوامل النمو والتنشيط الكيميائي لإكمال باقي الأحداث لالتئام الجرح (**Siti Nor Najihah et *al*.,2023؛ Bădăluță et *al*.,2024 ؛Choudhary et *al*.,2024**).
- **المرحلة الثانية (الالتهاب):** تبدأ بعد 24 ساعة من الإصابة وقد تستمر لستة أيام من حدوث تلف الجلد. لتنطلق الاستجابات المناعية ضد مسببات الأمراض، تعمل عوامل التنشيط الكيميائي كإفراز السيتوكينات الالتهابية وإطلاق عوامل النمو المسؤولة على تجنيد وتنشيط الخلايا المناعية لإزالة بقايا الأنسجة والجسيمات الغريبة بالإضافة إلى الإنزيمات الضرورية لتحفيز الخلايا الليفية والعضلية لتوفير الرطوبة اللازمة لتعزيز تجديد الأنسجة (**Mimi Leong.,2006 ؛Qadir et *al*.,2021 ؛Zielinska et *al*.,2023 ؛Sun et *al*.,2024 ؛Lopes et *al*.,2024 ؛Choudhary et *al*.,2024**).

- **المرحلة الثالثة(المرحلة التكاثرية):** تستمر من 4 إلى 21 يومًا تتضمن تكاثر الخلايا وهجرتها حيث تتميز بإعادة الظهارة وتكوين وتجديد أنسجة حبيبية لملء المنطقة المصابة**(Lopes et *al*.,2024)** وتخللها مجموعة من الأحداث المتسلسلة من هجرة الخلايا الليفية وتكوين الأوعية الدموية **(Sun et *al*.,2024)** وتكاثر الخلايا الكيراتينية عند حواف الجرح، مما يساعد في انكماش المنطقة المصابة بتنسيق عوامل النمو لتكتمل بإغلاق الجرح من خلال إعادة الظهارة **(Mimi Leong., 2006؛ Qadir et *al*., 2021؛ Siti Nor Najihah et *al*., 2023؛ Choudhary et *al*., 2024).**
- **المرحلة الرابعة(إعادة البناء):** تبدأ بعد أسابيع وتستمر لأشهر**(Siti Nor Najihah et *al*.,2023)** يتم فيها استعادة واستبدال الأنسجة التالفة بالكامل بنسيج حبيبي أكثر تنظيمًا ووظيفية. يغطي المنطقة المصابة بالكامل، ويكتسب القوة والمرونة ببطء**(Sun et *al*.,2024)**، حيث يتضمن تنشيط الخلايا الليفية العضلية التي تساهم في تشكيل الندبة وإعادة تنظيم ألياف الكولاجين، لإعادة الشد في الأنسجة الجديدة فضلاً عن تعديل تصبغ الندبة والأوعية الدموية**(Bădăluță et *al*.,2024)**، وتجديد وتمايز الخلايا الجذعية لبصيلات الشعر وهو ضروري لانكماش الجرح ولإعادة إصلاح الجلد والمساهمة في تجديد الغدد الدهنية **(Zielinska et *al*.,2023)**. وبينما يمكن أن تستمر مرحلة إعادة التشكيل لفترة طويلة، والتي تنطوي على مراحل متعددة، وتنسيق وسطاء خلويين، وجزيئات إشارات**(Mimi Leong.,2006؛ Choudhary et *al*.,2024؛ Lopes et *al*.,2024).**




**الشكل08.** مخطط تخطيطي لمراحل التئام الجروح، (1): يتضمن وقف النزيف وتكوين الجلطة؛ (2): مرحلة الالتهاب وتجنيد الكريات البيضاء إلى موقع الجرح لإطلاق السيتوكينات؛ (3): تتضمن مرحلة التكاثر وإعادة الظهار (4): تتضمن مرحلة إعادة البناء (**Biorender.19/09/2024**)

**4. التأثيرات الدوائية والبيولوجية للنباتات في معالجة الجروح الاستئصالية والحروق.**

منذ العصور القديمة، استخدمت البشرية المنتجات الطبيعية من أصل نباتي في علاج الجروح، بسبب احتوائها على مركبات فعالة نظرًا لأنشطتها البيولوجية المتنوعة كالنشاط المضاد للبكتيريا، والمضادة للأكسدة، والمضاد للالتهابات والتي تتشارك بشكل مباشر في عملية التئام الجروح؛ حيث أشارت الدراسات التي أجريت على الحيوانات إلى أن المركبات الكيميائية النباتية ومن بينها هذه الفلافونويد، التربينات، التانينات، الصابونين والقلويدات بالإضافة إلى الفيتامينات( C.E.K) والتي لها تأثير على عملية التئام الجروح من خلال خصائصها المضادة للالتهابات وللبكتيريا والإمكانات المضادة للأكسدة والتي تساهم بشكل مباشر في تعزيز تجديد خلايا الجلد وتسريع الشفاء؛

وفي هذا السياق، آشارت الدراسات عن استخدام نبات *Centella asiatica* في التئام جروح الناجمة عن الشق وهذا يرجع لمحتواه من مضادات الأكسدة المشاركة في تحسين الشفاء. كما تشير إلى دور نبات *Quercus infectoria* في تعزيز شفاء الجروح والذي يعود إلى تأثيراته المضادة للالتهاب والمضادة للبكتيريا والمضادة للأكسدة. أيضاً، تم الإشارة في دراسة سابقة عن فعالية استخدام أوراق نبات *Chromolaena odorata* في نشاط التئام الجروح من خلال تحفيز تكاثر الخلايا الليفية والكيراتينية والخلايا البطانية. علاوة عن ذلك، تم الاشارة عن امكانات نبات *Buddleja globasa* في علاج جروح الحرق والقرح الداخلية والخارجية وفي إصلاح الأنسجة من خلال تحفيز نمو الخلايا الليفية **(Lopes et *al*.2024 ؛Qadir et *al*.,2021).**

# الجزءII. الجزء التجريبي

# PartII. Experimental Part

# الفصلI. مواد وطرائق

# Chapter I. Material & Methods

- **أهمية الدراسة وأهدافها.**

ومن أجل تنفيذ الأهداف المسطرة لتثمين مادة اللبن النباتي الخام المستخلص من نوعين من النباتات الصحراوية وهما: *Euphorbia guyoniana* Boiss. & Reut. و*Pergularia tomentosa* L. والمتواجدة بولاية الوادي. تم تطبيق العمل التجريبي في مخبر البيولوجيا، المحيط والصحة بكلية علوم الطبيعة والحياة بجامعة الوادي.

⇐ تم اعتماد خطة العمل التالية.

⇚ أولاً، في المخبر *In Vitro*،

- بداية تم إجراء دراسة تشريحية لنبات *Euphorbia guyoniana* Boiss. & Reut. (Euphorbiaceae) ونظراً لوجود دراسة سابقة للباحثة **Lahmar لسنة (2022)**. فقد تم الاستشهاد بها لنبات *Pergularia tomentosa* L. (Asclepiadeceae).

- دراسة الخصائص الفيزيو كيميائية من خلال تحديد بعض الخصائص الفيز وكيميائية عن طريق تحديد المادة الجافة، المحتوى المائي والمادة المعدنية وقياس الرقم الهيدروجيني؛

- كما تم الكشف وتحديد بعض المركبات الكيميائية النباتية عن طريق الكشف النوعي وإجراء تحليل كروماتوغرافي باستخدام جهاز HPLC باستخدام مركبات قياسية، بالإضافة إلى تحديد القيمة الغذائية من خلال تقدير محتوى الكمي لنواتج الأيض الأولي (الكربوهيدرات، الدهون والبروتينات)، بالإضافة إلى تقدير لبعض نواتج الأيض الثانوي والمتمثلة في المحتوى الإجمالي لعديدات الفينول والفلافونويد والتاتنينات المكثفة؛

- إضافة إلى ذلك، تم تقييم بعض الأنشطة البيولوجية، وقد شمل دراسة النشاط المضاد للأكسدة باستخدام عدة إختبارات، إضافة إلى مقايسة النشاط المضاد للالتهاب باستخدام فحص تمسخ زلال البيض، كما تم تقييم النشاط المضاد للبكتيريا والفعالية الوقائية لعامل الحماية من أشعة الشمس SPF.

⇚ ثانياً، في الجسم الحي *In Vivo*،

- تم تحضير مراهم صيدلانية باستخدام مستخلص اللبن النباتي الخام لكل من *E. guyoniana* و*P. tomentosa* (EGL & PTL)؛

- كما تقييم السمية الحادة للجلد بتطبيق الموضعي للمراهم الصيلانية المحضرة من EGL & PTL؛

- واجراء تجربة التئام جروح الاستئصال باستخدام تركيزين من المراهم EGLI & EGLII؛

- بالإضافة إلى، إجراء تجربة التئام جروح الحرق باستخدام تركيزين من مراهم PTLI & PTLII؛

- تم تطبيق المراهم الصيدلانية المحضرة والإجراءات المستخدمة في هذه الدراسة بعد الحصول على تصريح الموافقة على البروتوكول التجريبي من قبل المجلس العلمي رقم: S.C/FLN.S/E.U/2023/15 لكلية العلوم الطبيعية والحياة، جامعة الوادي، الجزائر. رقم الموافقة: (08& 2023/07) تاريخ 2023/03/22. تم التضحية بالجرذان عن طريق القتل الرحيم وفقًا لأخلاقيات حقوق الحيوان.

## I. مواد وطرائق العمل.

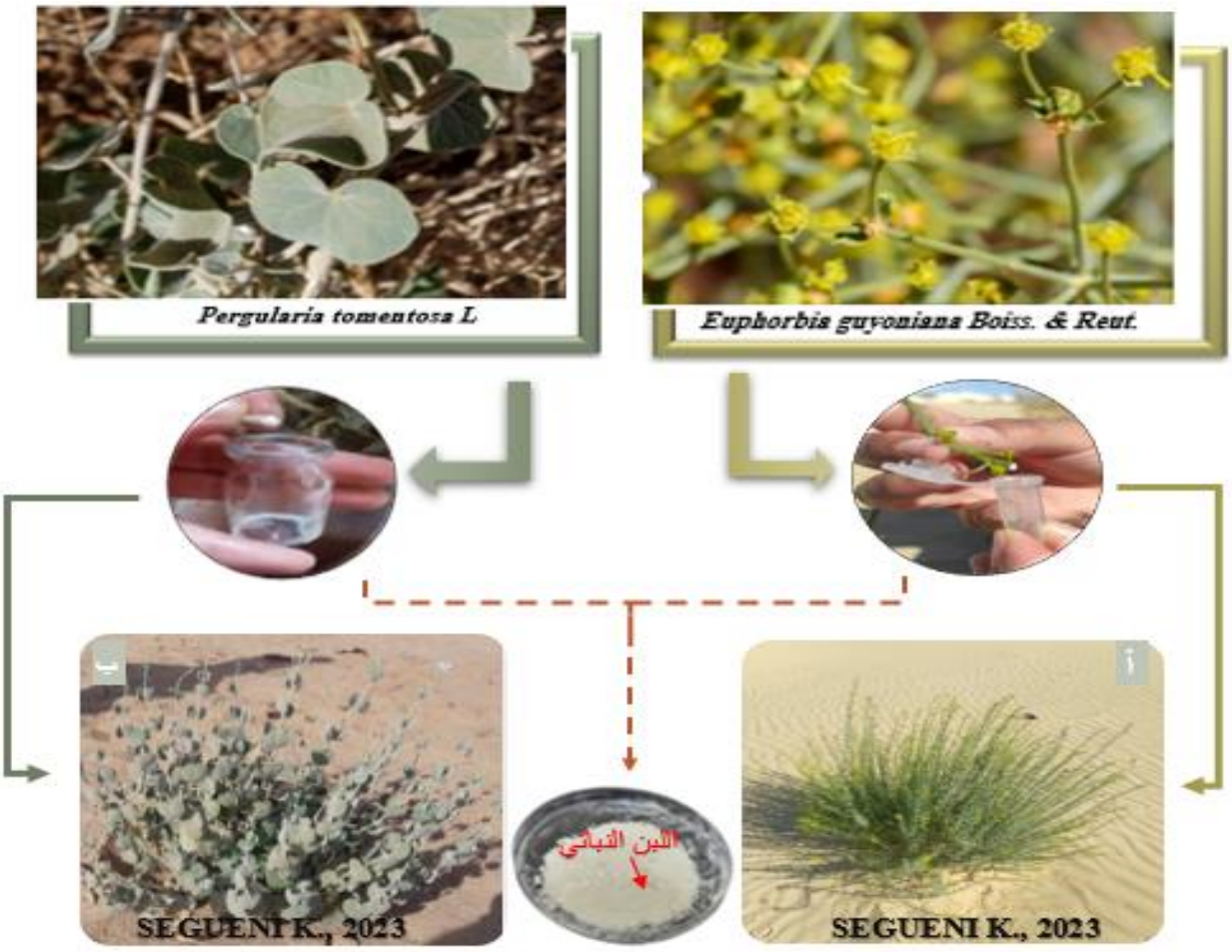
### 1.مواد والكواشف المستخدمة.

### 1.1. المادة النباتية.

- **جمع نبات الـ *Euphorbia guyoniana* Boiss. & Reut. و*Pergularia tomentosa* L.**

بعد المصـــادقة على تحديد تصـــنيف النباتين من قِبَل أ.د. عاطف شـــويخ، مدير مخبر البيولوجيا والبيئة والصـــحة، جامعة الوادي، الجزائر. وأ.د.يوســـف حليس، مدير بحث في مركز البحث العلمي والتقني للمناطق القاحلة (CRSTRA)، محطة البيوفيزياء، تقرت، الجزائر. ووفقاً لـ **El Fawal** وفريقه في سنة **(2024)**،

تم جمع اللبن النباتي من نباتي *Euphorbia guyoniana* Boiss. & Reut. و*Pergularia tomentosa* L. المســـتوطن بمنطقـــة وادي ســـوف وذلـك في الموقعين (33°23'55.6"N 6°51'29.3"E) و( 34°15'20.7"N 6°00'50.4"E) على الترتيب بين شـــهري ديســـمبر وجانفي،عن طريق قطع لنهايات الفروع الأجزاء الهوائية من النباتات الطرية باســـتخدام شـــفرة حادة ويتم جمع قطرات اللبن النباتي الناضـــحة من نباتي *E. guyoniana* و *P. tomentosa*عشـــوائياً في الصـــباح الباكر. بعدها يتم تجفيف اللبن النباتي الخام في درجة حرارة الغرفة بعيدًا عن الضوء والرطوبة، ليطحن ويحفظ عند درجة حرارة 4 م° لاستخدامه لاحقاً.




**الشكل09.** مخطط لجمع اللبن النباتي لنباتي **(أ)** *Euphorbia guyoniana* و(ب) *Pergularia tomentosa* L.

**2.1.الحيوانات.**

في هذه الدراسة، تم استخدام ذكور جرذان ويستار بوزن يتراوح مابين 200~240 غ، تم جلبها من معهد باستور بتمويل من مخبر البيولوجيا، المحيط والصحة، كلية علوم الطبيعة والحياة، جامعة الوادي، الجزائر.

**3.1.السلالات البكتيرية.**

لتقييم فعالية مستخلص اللبن النباتي لكل من *E. guyoniana* و*P. tomentosa* في النشاط المضاد للبكتيريا تجاه ستة سلالات بكتيرية منها ثلاث سلالات موجبة الغرام (*Bacillus Subtilis* ATCC 6633، CLP 74915 *Listeria Innocua* و*Staphylococcus Aureus* ATCC 6538) وثلاث سلالات سالبة الغرام: ATCC *Escherichia Coli* 8737، *Pseudomonas Aeruginosa* ATCC 9027 و *Salmonella Typhimurium* ATCC 14028) والتي تم الحصول عليها من مخبر معهد باستور في الجزائر العاصمة.

**4.1.المضادات الحيوية.**

تم استخدام المضادات الحيوية *Gentamicin*، *Ciprofloxacin* و*Amoxicillin* لكون *Gentamicin* و *Ciprofloxacin*: يعالج مجموعة واسعة من البكتيريا سالبة الغرام، بينما يُستخدم *Amoxicillin* لعلاج البكتيريا إيجابية الغرام وبعض السلالات السالبة الغرام.

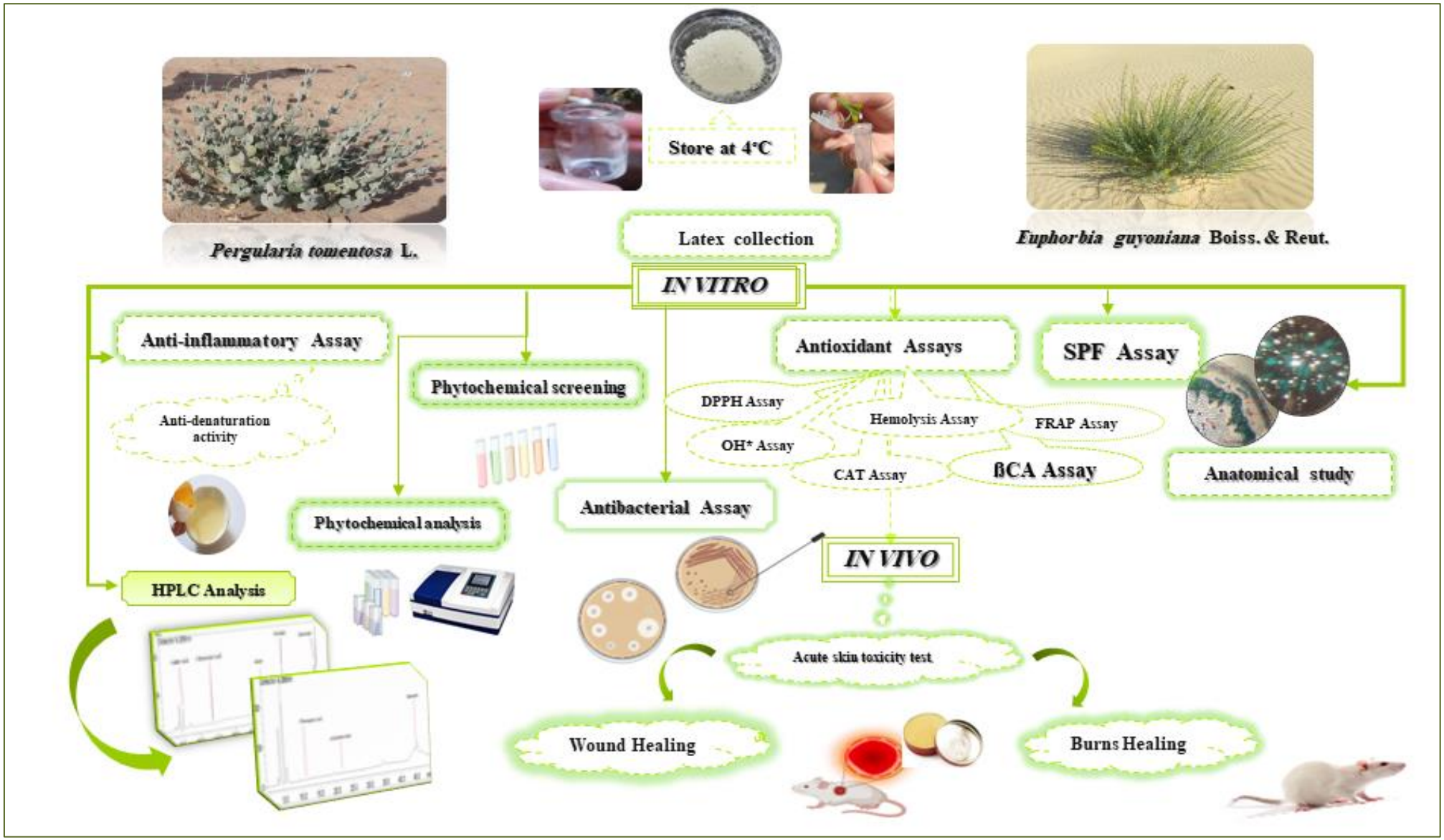
**5.1.المواد والكواشف الكيميائية.**

جميع المواد الكيميائية المستخدمة في هذه الدراسة تم الحصول عليها من مخبر البيولوجيا، المحيط والصحة (LBEH)، والمخابر البيداغوجية التابعة لكلية علوم الطبيعة والحياة، جامعة الشهيد حمه لخضر، الوادي، الجزائر. اصباغ تلوين (أحمر الكونغو وأخضر الميثلين)، كاشف Folin-Ciocalteu (99%)، كلوروفورم (99.8%) من شركة Biochem Chenopharma Co، فرنسا، ثلاثي كلوريد الألومنيوم ($AlCl_3$)، كلوريد الحديديك $FeCl_3$ (99.99%)، كربونات الصوديوم $Na_2CO_3$ (99.5%)، حمض ثلاثي كلورو أسيتيك (99%) من شركة Prolabo(الولايات المتحدة الأمريكية). وتم استلام حمض الأسكوربيك (99٪)، وحمض الغاليك (99٪)، وDPPH (99٪)، ($K_3[Fe(CN)_6]$)(99٪)، وكرستين (95٪)، والميثانول (99.7٪)، وأسيتونيتريل (99.9٪) وجميع الكواشف الأخرى للمواد الكيميائية التحليلية النباتية من شركة Sigma-Aldrich، الولايات المتحدة الأمريكية).

**6.1.المواد الصيدلانية.** مرهم MEBO® وفازلين Petroleum Jelly® .

**7.1.البرامج المستخدمة.**

- برنامج Word (ver. 2019) للمعالجة النصية؛
- برامج تصميم الصور والمخططات(BioRender)؛
- برامج تحليل البيانات. تم اعتماد برنامج Excel "Ver. 2019" لتحليل البيانات (n=3) SEM، ولحساب $EC_{50}$ و$IC_{50}$ ورسم المنحنيات. وبرنامج XLSTAT "Ver. 2014" لتحليل الاختلافات لمعدل انكماش الجرح على أنها متوسط (n=6) SEM من خلال تطبيق اختبار Tukey's. بالإضافة إلى تحليل المكونات الأساسية Principal Components Analysis (PCA) عند ($\alpha$=0.05).




**الشكل10.** مخطط تخطيطي لجميع فحوصات الأنشطة البيولوجية المنفذة على مستخلص اللبن النباتي لكل من *Euphorbia guyoniana* و*Pergularia tomentosa* L.

**Schematic Abstract of all Biological Activity Assays performed on the Latex extract of *Euphorbia guyoniana* & *Pergularia tomentosa* L.**

## 2. طرائق العمل.

### I. في المخبر *In Vitro*.

#### 1. الدراسة التشريحية.

تم جمع عينات نبات *Euphorbia guyoniana* Boiss. & Reut. من محيط كلية علوم الطبيعة والحياة في الصـــباح الباكر وقد كان النبات في مرحلة الإز هار. كما تم إجراء هذا العمل في مخبر (08) التابع لمخابر البيداغوجيا التابعة لكلية علوم الطبيعة والحياة بجامعة حمة لخضر بالوادي.

- **أولا. تحضير المقاطع العرضية.** وفقًا لإجراءات التثبيت المذكورة بواسطة **طيفور والخطيب لسنة (2022)**، تم تحضير المقاطع العرضية رقيقة يدوياً على عينات طرية لكل من جذور وسيقان باستخدام شفرة حادة.
- **ثانياً. تلوين المقاطع العرضية.** تم استخدام طريقة التلوين المضاعف (أحمر الكونغو وأخضر ميثلين):

⇐ في البداية يتم وضـــع المقاطع المنجزة في طبق بتري تحتوي على ماء حتى لا تجف، بعد ذلك يتم صـــبغها وفق الترتيب التالي:

1. توضع المقاطع المنجزة في ماء الجافيل لمدة 20 دقيقة لإزالة الكلوروفيل؛
2. ثم تغسل جيدا بماء المقطر لعدة مرات لإزالة أي أثر من هيبوكلوريت الصوديوم؛
3. تنقل بعدها إلى طبق بتري يحتوي على حمض الخل المخفف لمدة 5 دقائق؛
4. ثم يتم تلطيخ جميع المقاطع المنجزة بالمزيج المضاعف الأحمر والاخضر لمدة 10 دقائق، على الترتيب؛
5. تُغسل المقاطع بالماء لإزالة الفائض من الأصباغ؛
6. وبعدها توضع المقاطع على شريحة زجاجية مع قطرة من جليسرين وتغطى بساترة لتجنب تكوين الفقاعات وبعدها يتم فحص العينات وملاحظة الخصائص التشريحية باستخدام المجهر الضوئي بواسطة تدرجات تكبير مختلفة وفي الأخير يتم تصويرها بكاميرا رقمية ($POCO_{X3}$).

#### 2. التحليل الفيزيوكيميائي.

دراسة الخصائص الفيزيوكيميائية لمستخلص اللبن النباتي لـ *E. guyoniana* و *P. tomentosa*.

##### 1.2. النسبة المئوية للمادة الجافة (%).

تم حساب المردود لمستخلص اللبن النباتي لـــ (EGL) أو (PTL) وفقاً لـــ **Menaiaia وفريقه (2021)**، باستخدام المعادلة التالية:

$$\boldsymbol{Dry\ matter}\ (\%) = \left[{}^{W1}/_{W2}\right] \times 100$$

- حيث: **W1:** وزن مسحوق اللبن النباتي المجفف ، **$W_2$:** وزن اللبن النباتي الطازج المستخلص.

##### 2.2. الرقم الهيدروجيني pH.

تم تحديد الرقم الهيدروجيني لمستخلص اللبن النباتي لنباتي القيد الدراسة وفقاً لطريقة الموصوفة بواسطة **(Tak & Kakde.,2017)**، مع بعض التعديلات، وتم أخذ 10 ملغ\مل لتُكرر كل عينة في ثلاث نســخ وبعد الرج يتم قياس قيمة الـرقم الهيدروجيني بواسطة جهاز pH meter.

**3.2. الرماد Ash (%).**

ومن أجل تحديد النسـبة المئوية لمحتوى الرماد **(**محتوى المواد المعدنية)، تم حرق عينات من مسـتخلص اللبن النباتي المجفف للأنواع المختبرة لمدة 5 سـا، في فرن (Nabertherm)، عند درجة حرارة 550 مْ حتى ثبات الوزن **(Gheraissa et *al*.,2023 ؛Silva et *al*.,2017)** باستخدام المعادلة التالية:

$$\boldsymbol{Ash\ content}(\%) = \left[{}^{(\boldsymbol{W1}-\boldsymbol{W2})}/_{\boldsymbol{W1}}\right] \times \mathbf{100}$$

- $W_1$: وزن عينة قبل الحرق، $W_2$: وزن عينة بعد الحرق.

**4.2. المحتوى المائي (%).**

تم تحديد النسـبة المئوية للمحتوى المائي (محتوى الرطوبة) وهي نسـبة الماء في المادة النباتية الطازجة باستخدام طريقة التجفيف **(Gheraissa et *al*.,2023)**، حيث يتم وزن اللبن النباتي في البداية ثم يجفف في حاضنة عند 60 مْ. بعد 24سا، ليتم وزنه مرة ثانية ومن أجل حساب النسبة المئوية لمحتوى الماء تم وفقًا للمعادلة التالية:

$$\boldsymbol{Water\ content}\ (\%) = \left[{}^{(\boldsymbol{W1}-\boldsymbol{W2})}/_{\boldsymbol{W1}}\right] \times \mathbf{100}$$

- $W_1$: وزن عينة قبل التجفيف.$W_2$: وزن عينة بعد التجفيف.

**3. التحليل الفيتوكيميائي.**

**1.3. الكشف الفيتو كيميائي.**

وفقاً لـــ **Benkhouili وفريقه (2024)**، تم إجراء الكشف الفيتو كيميائي لأهم المركبات النباتية والمتمثلة في عديدات الفينول، الفلافونويد، العفص، التربينات، القلويدات، الصابونين، الكومارين والستيرويد لمستخلص اللبن النباتي المائي لكل من *E. guyoniana* و*P. tomentosa* L. (1 ملغ/ مل) باستخدام الاختبارات الكيميائية القياسية الشـائعة حسـب (**Harborne, 1998 ؛Farhan et *al*.,2012 ؛Lerato et *al*., 2017 ؛Edeoga et *al*., 2005؛ Belachew et *al*., 2020**).

- **عديدات الفينول:** تم أخذ 2مل من مسـتخلص اللبن النباتي ثم نظيف عليه بضـع قطرات من محلول $FeCl_3$ (2%) ويشير ظهور اللون الأزرق المسود على وجود مشتقات االبولي فينول؛

- **الفلافونويد:** تم أخذ 5مل من مسـتخلص اللبن النباتي مع 5 مل من HCl مع 1 مل من حمض الكبريت ويشـير ظهور اللون الأصفر إلى وجود القلويدات

- **العفص:** تم أخذ 5مل من مسـتخلص اللبن النباتي ثم نظيف عليه 1مل من محلول $FeCl_3$ (2%) ويشـير ظهور اللون الأزرق المسود على وجود العفص؛

- **التربينات:** تم أخذ 5مل من مسـتخلص اللبن النباتي مع 2 مل من كلوروفورم مع 3 مل من حمض الكبريت ويشير ظهور اللون البني المحمر على وجود التربينات؛

- **القلويدات**: تم أخذ 2مل من مستخلص اللبن النباتي ثم نظيف عليه بضع قطرات من HCl ونظيف عليه قطرات من كاشف ماير ويشير ظهور راسب أبيض على وجود القلويدات؛

- **الصابونين:** نقوم برج 10 مل من مستخلص اللبن النباتي لمدة 15 ثانية ثم يترك لـــ 5 دقائق ويدل الرغوة 1سم على احتوائه على الصابونين.

- **الكومارين:** نأخذ 1 مل من لاتكس مع 10 مل من هيدروكسيد الصوديوم (10 %) يشير ظهور اللون الأصفر إلى وجود مركبات كومارين.

- **الســترويد:** تم أخذ 2مل من مســتخلص اللبن النباتي ثم نظيف عليه بضــع قطرات من محلول حمض الكبريت المركز ويشير ظهور اللون الأحمر على وجود السترويدات؛

**2.3. تحديد المحتوى الفيتو كيميائي.**

**1.2.3. نواتج الأيض الأولي.**

- **تحضير المستخلصات.**

ومن أجل تحديد القيمة الغذائية لمســتخلص اللبن النباتي لكل من *E. guyoniana* و *P. tomentosa* تم تنفيذ التجارب حسـب بروتوكول **(Shibko et *al.*, 1966)** مع بعض التعديلات، وكما موضـح في **الشـكل11.** حيث تم أخذ 5 ملغ من مسـتخلص اللبن النباتي الخام الجاف وأضـيف له 5 مل من TCA Trichloroacetic acid (20%) ثم ترج العينات لمدة 5 دقائق، ويفصـل الخليط بجهاز الطرد المركزي (3000 دورة/ لمدة 10 دقائق)، للحصـول على **الطافي I** ليتم تقدير به السكريات. أما **الراسب** I نضيف له 2 مل من محلول ميثانول/كلوروفورم (1V/1V) . ثم يفصـل الخليط مرة أخرى بجهاز الطرد المركزي لمدة 10 دقائق/3000 دورة للحصـول على **الطافي II** ليتم تقدير به الدهون. أما **الراســب II** نضـيف له 5مل من محلول هيدروكسـيد الصـوديوم (0.1N) ويرج الخليط ثم نقدر به البروتين.

**1.1.2.3.تقدير محتوى الكربوهيدرات.**

تم تقدير المحتوى الكمي للكربوهيدرات بالاعتماد على الطريقة المذكورة عند **Dubois وفريقه (1956)**؛ وذلك بمزج 0.25 مل من الطافيI لكل عينة مع 0.25 مل من الفينول (5 %) و1.25 مل من حمض الكبريت المركز. ثم يُرج المزيج جيدا وبعد 15دقيقة عند درجة حرارة الغرفة؛ لتتم القراءة بواسطة جهاز المطيافية الضوئية عند 490 نانو متر، حيث تم الإعتماد على المعادلة للغلوكوز باعتبار مرجعا قياسيا y=0.8919x+0.0134كما موضح في **(الشكل 01 في الملاحق)** وللتعبير عن كمية الكربوهيدرات في العينات النباتية؛ والتي تقدر بـ ملغ غلوكوز مكافئ\الكل غرام من مادة اللبن النباتي الجاف ( mg GE/g latex).

**2.1.2.3.تقدير محتوى الدهون.**

تم تقدير الدهون وفقا للطريقة الموصوفة عند **Goldsworthy وفريقه (1972)**؛ وذلك تبعا للخطوات التالية:

- **تحضير كاشف الـــ Sulfophosph-Vanillinique:** يتم تحضير الكاشف من خلال إذابة 75 ملغ من الـVanilline في 11 مل من الماء المقطر و39 مل من حمض الفسفوريك $H_3PO_4$ (85%).
- **طريقة العمل**: تم مزج 0.1 مل من **الطافي II** مع 1 مل من حمض الكبريت المركز، ثم يُرج المزيج جيدا ويترك في حمام مائي لمدة 10 دقيقة عند درجة 30م °**(المزيج A)**.
- بعد تبريد **المزيج A** يُخلط منه 0.15 مل مع 1.5 مل من كاشف Sulfophosph-Vanillinique، وبعد الرج الجيد؛ يترك الخليط لمدة 30 دقيقة ثم تُقرأ الامتصاصية الضوئية بواسطة جهاز المطيافية الضوئية عند 530 نانومتر. حيث تم الإعتماد على المعادلة الخطية لزيت الصوجا باعتباره مرجع قياسيا y=1.0228x+0.0453 كما موضح في **(الشكل 02 في الملاحق)**. وللتعبير عن كمية الدهون في اللبن النباتي؛ والتي تقدر بـ ملغ زيت صوجا مكافئ/غرام من مادة اللبن النباتي الجاف(mg SOE/g latex).

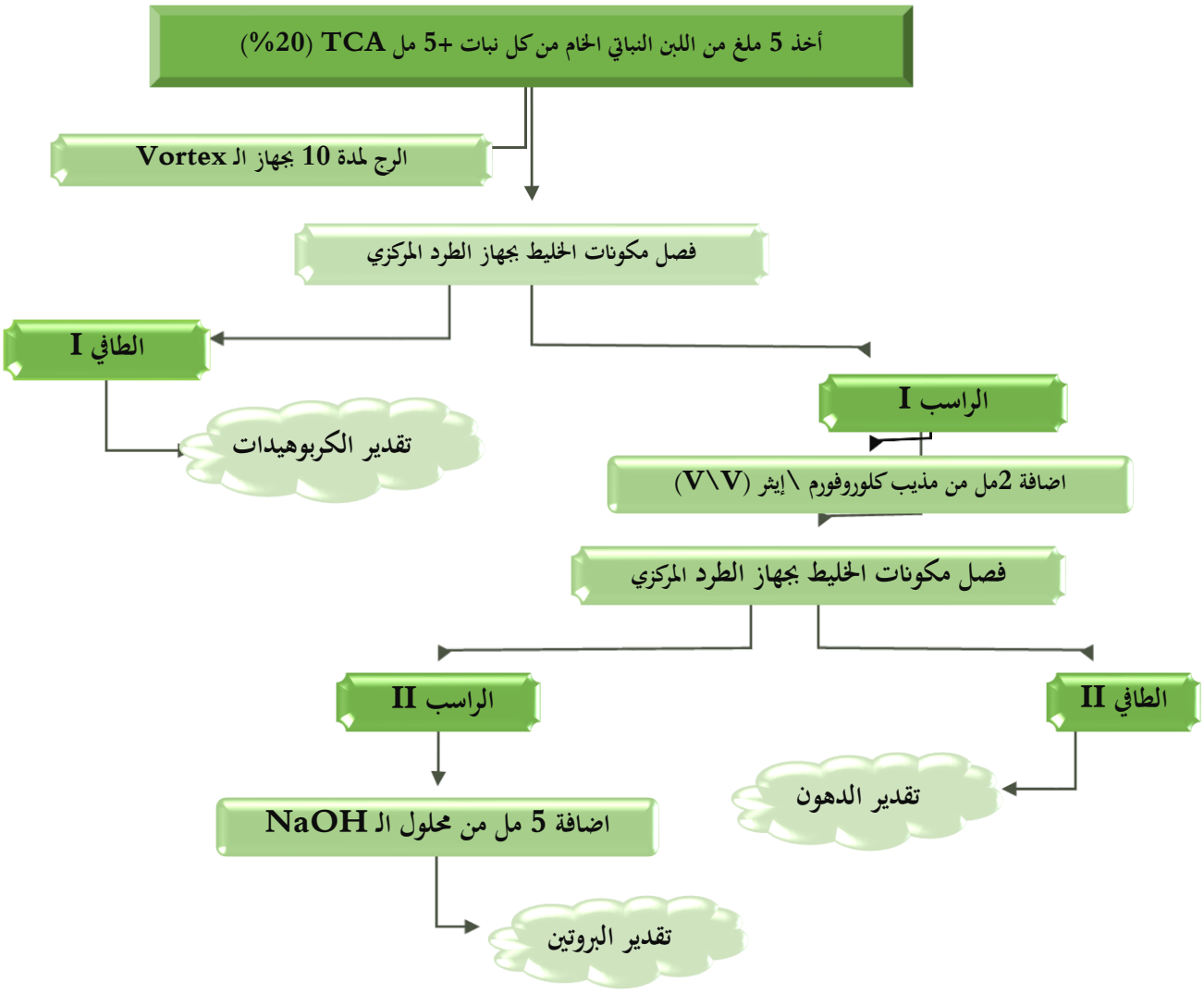
**3.1.2.3.تقدير محتوى البروتينات.**

تم تقدير البروتينات كمياً حسب طريقة **Lowry وفريقه (1951)**، حيث تم تحضير المستخلصات النباتية وذلك باتباع الخطوات التالية:

- **تحضير المحاليل.**

- **المحلول أ:** يتم مزج 50 مل من كربونات الصوديوم (2 %) مع 50 مل من هيدروكسيد الصوديوم (0.1 N)
- **المحلول ب:** يتم مزج 10 مل من $CuSO_4,5H_2O$ (0.5%) مع 10 مل تيترات الصوديوم (1 %).
- **المحلول ج: (كاشف النحاس القاعدي)** يحضر الكاشف بمزج 50 مل من المحلول أ مع 1 مل من المحلول ب.
- **المحلول د:** يتم تحضيره بإماهة محلول Folin-Ciocalteau (1v/1v).
- **طريقة العمل:** تم مزج 0.2 مل من المستخلص اللبن النباتي مع 1 مل من محلول **كاشف النحاس القاعدي**، وتحفظ العينات في درجة حرارة المخبر وبعد مرور 10 دقائق تم إضافة 0.1 مل من محلول **د** ثم تترك في درجة حرارة المخبر لمدة 30 دقيقة في الظلام. قِيست الامتصاصية عند 750 نانو متر.

- تم الإعتماد على المعادلة الخطية للألبومين البقري y=0.1212x+0.057 كما موضـــح في **(الشـــكل 03 في الملاحق)**. ويعبر عن النتائج بالـــ ملغ من الألبومين البقري مكافئ لكل غرام من مستخلص اللبن النباتي للأنواع المختبرة (mg BSAE/g latex).




**الشكل11.** مخطط يوضح خطوات تحضير مستخلص اللبن النباتي لتقدير الكربوهيدرات، الدهون والبروتين.

### 2.2.3. تقدير نواتج الأيض الثانوي.

#### 1.2.2.3.تقدير محتوى عديدات الفينول.

تم التقدير الكمي لعديدات الفينول **(TPC)** باتباع طريقة **(Singleton et Rossi.,1999)** باستخدام كاشف Folin-Ciocalteu مع تعديلات طفيفة؛ كما تم التقدير الكمي لعديدات الفينول باستخدام جهاز المطيافية الضوئية. وقد تم أخذ 0.2 مل من مستخلص اللبن النباتي لـــ *P. tomentosa* أو *E. guyoniana* مع 1مل من كاشف Folin-Ciocalteu (10%) وبعد 5 دقائق من الرج. أضيف إلى الخليط 0.8 مل من كربونات الصوديوم المخففة (7.5%). وبعد 40 دقيقة من الحضانة في درجة حرارة الغرفة. تقاس الامتصاصية عند طول موجة 765 نانومتر. ولتحديد (TPC) تم استخدام المعادلة التالية: $y = 13.998x + 0.007$، $R^2 = 0.99$ كما موضح في **(الشكل 04 الملاحق)**. وتم التعبير عن إجمالي محتوى عديدات الفينول بالملغ من حمض الغاليك (GA) مكافئ لكل غرام من مستخلص اللبن النباتي الجاف (mg GAE/g latex).

#### 2.2.2.3.تقدير محتوى الفلافونويد الكلي.

تم حساب إجمالي محتوى الفلافونويد **(TFC)** لمستخلص اللبن النباتي باستخدام كاشف ثلاثي كلوريد الألومنيوم ($AlCl_3$) حسب **Lahmar وفريقها (2022)**؛ حيث تم مزج كمية متساوية من محلول $AlCl_3$ (2%) ومستخلص اللبن النباتي لنباتي الـــ *P. tomentosa* أو *E. guyoniana* (V/V) وبعد 15 دقيقة تُقاس الامتصاصية عند 430 نانومتر، وتم استخدام المعادلة التالية: $y = 34.071x - 0.028$، $R^2 = 0.98$ لحساب(TFC) كما موضح في **(الشكل 05 الملاحق)** وحيث تم تعبير عن محتوى الفلافونويد الكلي بالملغ كرستين كمكافئ (QE) لكل غرام من مستخلص اللبن النباتي الجاف(mg QE/g latex).

#### 3.2.2.3.تقدير محتوى التانينات المكثفة.

تم تحديد محتوى العفص الكلي **(CTC)** باستخدام كاشف **Vanillin-HCL**. حسب **(Broadhurst & Jones., 1978)** وذلك بأخذ 0.1 مل كل عينة من مستخلص اللبن النباتي مع 0.6 مل من محلول الفانيلين الميثانولي (4%). ويُضاف إلى المزيج 0.3 مل من حمض الهيدروكلوريك المركز HCl. ثم تم حضن العينات عند 20 مْ لمدة 15 دقيقة. وتقاس الامتصاصية عند 500 نانومتر. وتم استخدام المعادلة التالية: $y = 2.1572x + 0.1164$، $R^2 = 0.99$ لتحديد (CFT) كما موضح في **(الشكل 06 في الملاحق)** وكما قد تم التعبير عن كمية إجمالي العفص المكثف بالملغ من الكاتشين مكافئ لكل غرام من مستخلص اللبن النباتي الجاف ( mg CE/g latex).

### 3.3.التحليل النوعي باستخدام الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء HPLC.

في هذه الدراسة، من أجل الكشف وتحديد المركبات الفينولية لمستخلصات اللبن النباتي الخام لنباتي القيدا الدراسة، نستخدم تقنية كروماتوغرافيا السائل عالية الأداء (HPLC)، وهي التقنية الأكثر استخدامًا على نطاق واسع للكشف وتحديد المركبات الفينولية، والتي تعتبر كأفضل طريقة للكشف وتحديد كمية المركبات الفينولية

المتواجدة بالمستخلصات النباتية **(Afsar et *al.*, 2016)**، وهو جهاز Shimadzu LC 20 AL المزود بحاقن عالمي (Hamilton 25 µL).حيث كان العمود التحليلي المستخدم عبارة عن حزمة Shimadzu VP-ODS C18 **4.** (4.6 مم × 250 مم، 5 µm)، نوع (Shimadzu). تم استخدام كاشف(Shimadzu) UV-VIS SPD 20A. تم حقن 20 ميكروليتر من مستخلص اللبن النباتي الخام الميثانولي في الطور المتحرك المكون من تدفق (أسيتونتريل/ حمض الأسيتيك 0.1٪ (V / V). كما تم تحديد المركبات المنفصلة باستخدام العمود لمدة 40-50 دقيقة، كما تم إجراء تحديد كمية القمم المنفصلة عن طريق المعايرة بالمعايير القياسية المتاحة عند طول موجة 268 نانومتر **(Chouikh,2020)**.

## 4. الأنشطة البيولوجية والدوائية في المخبر.

### 1.4. النشاط المضادة للأكسدة لمستخلص اللبن النباتي الخام لكل من الـ *P. tomentosa* و *E. guyoniana*

يتم تقييم النشاط المضاد للأكسدة باستخدام ستة طرق مختلفة وهي: اختبار القدرة الكلية المضادة للأكسدة (TAC) واختبار اقتناص الجذر الـ DPPH• واختبار اقتناص جذر الهيدروكسيل الـ •OH، واختبار القدرة الاختزالية للحديد (FRAP)، بالإضافة إلى، اختبار التبييض بيتا-كاروتين واختبار النشاطية المضادة لانحلال كريات الدم الحمراء.

#### 1.1.4. اختبار القدرة الكلية المضادة للأكسدة.

قِيست القدرة الكلية المضادة للأكسدة **(TAC)** لمستخلص اللبن النباتي بواسطة الطريقة الإرجاعية لكاشف موليبدات الأمونيوم كما وصفها **Prieto وفريقه (1999)**. تم خلط 0.3 مل من مستخلصات اللبن النباتي لنباتي القيد الدراسة أو حمض الأسكوربيك مع 3 مل من كاشف **الفسفوموليبدات** الذي يشتمل على: [4 ميلي مول موليبدات الأمونيوم (Ammonium Molybdate) + 6 مول حمض الكبريت (Sulfuric Acid) +28 ملي مول فوسفات أحادي الصوديوم (Sodium Phosphate)]، وبعدها تُحضن العينات في حمام مائي عند 95 مْ لـ 90 دقيقة. بعد تبريدها يتم قياس الامتصاصية عند 695 نانومتر. ويتم التعبير عن قيم TAC على بالملغ من مكافئ حمض الأسكوربيك لكل غرام من اللبن النباتي (ملغ مكافئ من حمض الأسكوربيك\غرام من مستخلص اللبن النباتي) باستخدام المعادلة التالية: y=3.5936x-0.0376 كما موضح في **(الشكل 07 في الملاحق).**

#### 2.1.4. اختبار اقتناص جذر الـ DPPH*.

تم قياس أنشطة الكسح للجذور الحرة باختبار إمكانية مستخلص اللبن النباتي للأنواع المختبرة على كسح جذر (2, 2-Diphenyl-1- picrylhydrazyl) الحر، وفقًا لـ **Amin وفريقه (2022)**.

يتكون خليط التفاعل من 0.2 مل من سلسلة تراكيز متزايدة من مستخلصات اللبن النباتي لنباتي *P. tomentosa* أو *E. guyoniana* مع 1مل من محلول DPPH($0.1\times10^{-3}$) مول. ثم تم حضن المزيج لمدة 30 دقيقة. وبعد ذلك، تقاس الامتصاصية عند طول موجة 517 نانومتر. تم استخدام الميثانول كعنصر شاهد، وحمض الأسكوربيك كمعيار إيجابي، وتم حساب النسبة المئوية لقدرة مستخلصات اللبن النباتي على كسح جذر DPPH* باستخدام المعادلة التالية:

$$I(\%) = \left[{}^{(Abs\ c - Abs\ s)}/_{Abs\ c}\right]$$

- حيث أن: $Abs_c$ هو امتصاصية الشاهد و$Abs_s$ امتصاصية العينة المختبرة أو المعيار الموجب. ليتم تحديد قيمة $IC_{50}$ بالـ (ملغ/ مل) والتي تمثل تركيز اللبن النباتي المثبط لـ 50% من الجذر الحر (DPPH) وذلك لجميع عينات الاختبار وفقًا لـ **Asamenew وزملائه (2011)**.

### 3.1.4. اختبار اقتناص جذر الهيدروكسيل Capture of Hydroxyl Radical Assay.

تم قياس قدرة مستخلص اللبن النباتي للأنواع المختبرة على اقتناص جذر الهيدروكيل •OH، وفقًا لطريقة الموصوفة من قِبل **Chouikh وفريقه (2015)**، حيث تم أخذ 1 مل من سلسلة تراكيز متزايدة من مستخلصات اللبن النباتي للأنواع المختبرة أو حمض الأسكوربيك مع 1 مل من $FeSO_4$ (1.5mM) ونضيف للمزيج 0.3 مل من حمض السالسيك (20mM) و0.7 مل من محلول $H_2O_2$(6mM) وبعد 60 دقيقة. يتم قياس الامتصاصية عند 510 نانومتر. حيث تم استخدام الميثانول كشاهد، وحمض الأسكوربيك كمعيار إيجابي، وتم حساب نسبة تثبيط اقتناص جذر •OH باستخدام المعادلة التالية:

$$I(\%) = \left[1 - \left(\frac{Abs\ s}{Abs\ c}\right)\right] \times 100$$

- حيث أن: $Abs_c$ هو امتصاصية التحكم و$Abs_s$ امتصاصية العينة المختبرة أو المعيار الموجب

### 4.1.4. اختبار القدرة الإرجاعية لشوارد الحديد Ferric-Reducing Antioxidant Power Assay.

قِيست القدرة المرجعة **(FRAP)** لمستخلص اللبن النباتي باختزال شوارد الحديديك الثلاثي **($Fe^{3+}$)** إلى شوارد الحديد الثنائي **($Fe^{2+}$)** وذلك في وجود المُرجعات 'مضادات الأكسدة'، ووفقًا لطريقة **Amarowicz وزملائه (2004)**،

تم مزج 0.5 مل من سلسلة تراكيز متزايدة من مستخلصات اللبن النباتي للأنواع المختبرة أو حمض الأسكوربيك مع 1 مل من محلول منظم الفوسفات (pH:6.6;M:0.2)، ثم نضيف للمزيج 1 مل من Potassium Ferricyanide.)($K_3[Fe(CN)_6]$)(1%). حيث تم حضن المزيج في حمام مائي لمدة 20 دقيقة عند 50 مْ، ثم يضاف للمزيج 1 مل من محلول TCA (10%) وبعد ذلك يتم طرد المزيج عند (3000 دورة، لمدة 10 دقائق).

ثم يتم أخذ 1 مل من المادة الطافية مع 1.5 مل من الماء المقطر و0.2 مل من محلول كلوريد الحديد $FeCl_3$ (0.1%). ونستخدم حمض الأسكوربيك كمعيار إيجابي. حيث تقاس الامتصاصية عند 700 نانومتر.

ويتم حساب التركيز الفعال لمستخلص اللبن النباتي الخام الجاف من *P. tomentosa* أو*E. guyoniana* أو حمض الأسكوربيك $EC_{50}$ عند قيمة الامتصاصية 0.5.

### 5.1.4. اختبار بيتا كاروتين-حمض اللينوليك ß-carotene-linoleic acid Assay (βCB).

تم قياس القدرة المضادة للأكسدة بيروكسيد الدهون لمستخلص اللبن النباتي باستخدام طريقة زوال لون بيتا-كاروتين والذي ينجم عن غياب مضادات الأكسدة، وفقًا لـ **Esbati & Nickavar (2012)**،

تم تحضـــير الكاشـــف والذي يتكون من 2 ملغ من بيتا كاروتين، 10 مل كلوروفورم، 45 ميكرولتر من حمض اللينوليك، و400 ملغ توين 40. وتم تبخير الكلوروفورم، ثم يتم إضـافة الماء المقطر المشـبع بالأكسـجين حتى الوصول للحجم 200 مل.

بداية، تم أخذ 0.5 مل من سـلسـلة تراكيز متزايدة من مسـتخلص اللبن النباتي للأنواع المختبرة أو حمض الغاليك وأضيف إليها 4.5 مل من كاشف محلول بيتا كاروتين المحضر سابقاً،

- حيث تم قياس الامتصـــاصـــية الابتدائية $t_0$، وبعد ســـاعتين من وضـــعها في حمام مائي عند 50 مْ عند 470 نانومتر.حيث تم استخدام حمض الغاليك كمعيار إيجابي. ليتم حساب نسبة تثبيط باستخدام المعادلة التالية:

$$I(\%) = \left[\frac{\mathbf{Abs_{t2h}}}{\boldsymbol{Abs_{t0}}}\right] \times \mathbf{100}$$

- تم تحديد قيمة $IC_{50}$ التي تمثل تركيز العينات التي تســـببت في تثبيط زوال لون بنســـبة 50% لجميع عينات الاختبار. تم التعبير عنه بـ ملغ/ مل.

### 6.1.4. اختبار انحلال كريات الدم الحمراء Hemolysis assay.

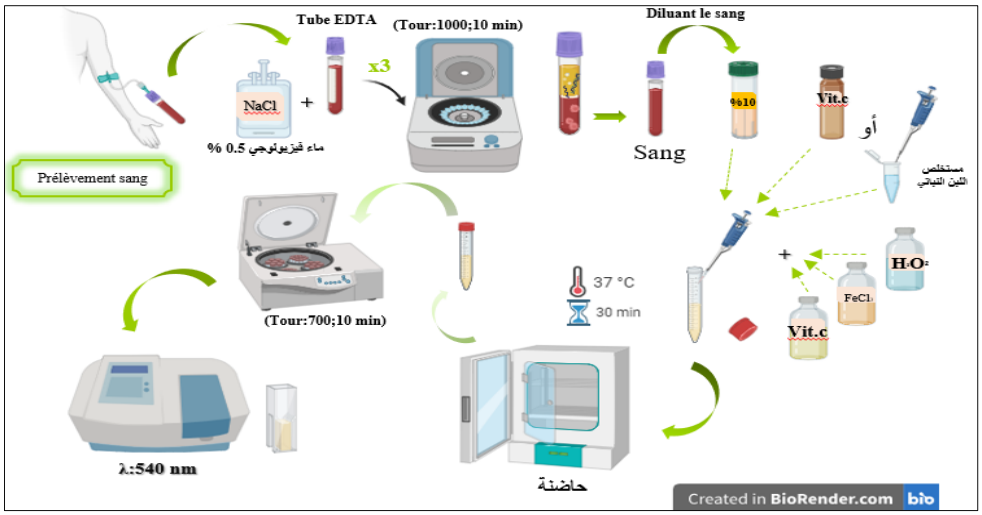
تم قياس الإمكانية المضـــادة لمســـتخلص اللبن النباتي لانحلال كريات الدم الحمراء باســـتخدام الجذر الحر المتسبب في انحلالها، وفقًا لطريقة **Afsar وفريقه (2016)**، وكما موضح في **الشكل12.**

تم تحضـير محلول كريات الدم الحمراء عن طريق أخذ 5 مل من الدم من فرد سـليم زمرته $O^+$ في أنابيب EDTA ويُغســـل الدم ثلاث مرات بالمحلول الفيزيولوجي بعد طردها كل مرة في جهاز الطرد المركزي (1000 دورة، لمدة 10 دقائق) حتى نتخلص من البلازما كُلياً، لنحضـــر بعدها المعلّق كريات الدم الحمراء(10%) في المحلول الفيزيولوجي.

بداية، تم مزج 40 ميكرو لتر من معلق خلايا كريات الدم الحمراء مع 2 مل من مســـتخلص اللبن النباتي للأنواع المختبرة أو حمض الأســـكوربيك، وبعد 5 دقائق نضـــيف للمزيج 40 ميكرولتر من محلول بيروكســـيد الهيـدروجين $H_2O_2$ ($10^{-3}$مول×30) و40 ميكرولتر من محلول $FeCl_3$ ($10^{-3}$مول×80) و40 ميكرولتر من حمض الأسكوربيك ($10^{-3}$مول×50) على الترتيب. ليُحضن بعدها مزيج التفاعل عند 37 مْ لمدة 30 دقيقة، ثم تتم عملية الطرد المركزي عند 700 دورة، لمدة 10 دقائق. بعد ذلك، تقاس الامتصـــاصـــية لطافي الناتج عند 540 نانومتر. حيث تم استخدام حمض الأسكوربيك كمعيار إيجابي. حيث تم تحديد نسبة انحلال الدم باستخدام المعادلة التالية:

$$\boldsymbol{Hemolysis}\ (\%) = \left[\frac{\boldsymbol{Abs\ s}}{\boldsymbol{Abs\ c}}\right] \times \mathbf{100}$$

حيث أن: $Abs_c$ هو امتصاصية الشاهد و$Abs_s$ امتصاصية العينة المختبرة أو المعيار الموجب




**الشكل12.** رسم تخطيطي لاختبار انحلال كريات الدم الحمراء(**Biorender.14/07/2024**).

## 2.4. اختبار النشاط المضاد للالتهابات لمستخلص اللبن النباتي للأنواع المختبرة في تثبيط تمسخ زلال البيض حرارياً.

تم اعتماد طريقة تثبيط تمسخ بروتين زلال البيض للتحقق من الإمكانات المضادة للالتهابات لمستخلص اللبن النباتي للأنواع القيد الدراسة **ووفقا لـــ Boudebia وفريقها (2022)**، تم مزج 0.05 مل من زلال البيض (الطازج) مع 0.7 مل من محلول منظم الفوسفات (M: 0.1, pH:6.4) و0.5 مل من سلسلة تراكيز متزايدة من مستخلص اللبن النباتي أوAcetylsalicylic acid (***ASPEGIC***®). وبعد 15 دقيقة عند 37مْ يتم وضعه في حمام مائي عند 70مْلمدة 5 دقائق بعد التبريد يتم طرد العينات (عند 3000 دورة، لمدة 10 دقائق). ليتم قياس الطافي الناتج عند 660 نانومتر. حيث تم اعتماد *ASPEGIC*® كمعيار إيجابي (دواء مرجعي). حيث تم حساب النسبة المئوية لتثبيط تمسخ زلال البيض كالبروتين باستخدام الصيغة التالية:

$$I(\%) = \left[{(Abs\ c - Abs\ s)}/{Abs\ c}\right] \times 100$$

حيث أن: $Abs_c$ هو امتصاصية الشاهد و$Abs_s$ امتصاصية العينة المختبرة أو المعيار الموجب

## 3.4. تحديد عامل الحماية ضد الأشعة فوق البنفسجية لمستخلص اللبن النباتي لنباتي *P. tomentosa L.* و *E. guyoniana* (SPF)

لتقدير فعالية الحماية ضد الأشعة فوق البنفسجية **(UVB)** لمستخلص اللبن النباتي للأنواع القيد الدراسة، وفقا لـــ **Makhloufi وفريقها (2023)**، حيث تم تحضير مستخلص اللبن النباتي الميثانولي (0.5 ملغ/مل) لتقرا في جهاز المطيافية الضوئية ليكون الانتقال الطيفي بمقدار 5 نانومتر. ومن أجل تحديد عامل الحماية من الشمس (SPF) تم حساب الفرق في قراءات التحليل الطيفي ليتم تحديد معامل SPF وفقًا للمعادلة التالية:

$$SPF = CF \times \sum_{290}^{320} \times EE\,(\lambda) \times I(\lambda) \times Abs(\lambda)$$

- حيث: CF هو معامل التصـحيح (10)، EE(λ) : وهو تأثير الاحمرار للإشـعاع بطول موجي λ، I(λ) :هي شدة الإشعاع الشمسي بطول موجي λ، وAbs(λ): هو امتصاص مستخلص اللبن النباتي عند طول موجي λ. كما نشير إلى أن العلاقة بين التأثير الاحمرار EE(λ) وشدة الإشعاع I(λ) عند كل طول موجي. بأن قيم EE×I كانت ثابتة عند كل طول موجي كما هو موضـح في **الجدول 02.** حيث تم الحصـول على أطياف الامتصـاص لمستخلصـات اللبن النباتي لنباتي باستخدام جهاز المطيافية الضوئية (JENWA 7315 Spectrophotometre). لكل 5 نانومتر في في المدى الطيفي بين 290 و 320 نانومتر **(Montenegro & Santagati., 2019)**

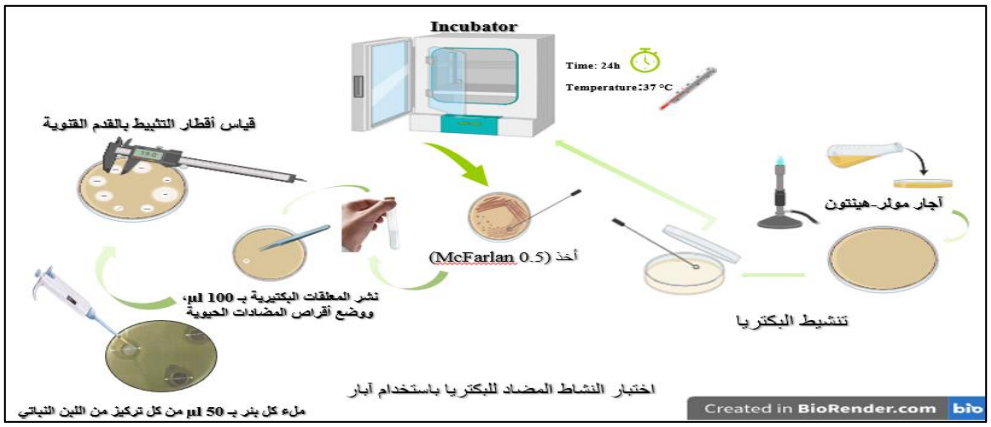
**الجدول02**. العلاقة بين التأثير الاحمرار (EE) وشدة الإشعاع (I) عند كل طول موجي (λ).

| الطول الموجي(nm) | 290 | 295 | 300 | 305 | 310 | 315 | 320 | مجموع |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **EE×I (normalized)** | 0.0150 | 0.0817 | 0.2874 | 0.3278 | 0.1864 | 0.0837 | 0.0180 | 1 |

### 4.4. تقييم النشاط المضادة للبكتيريا لمستخلص اللبن النباتي لكل من الـــ *P. tomentosa* L. و *E. guyoniana* باستخدام طريقة الإنتشار في الآبار على الآجار.

لتقييم إمكانات مستخلصات اللبن النباتي لنباتي *E. guyoniana* و*P. tomentosa* L. تجاه ستة أنواع بكتيرية: *Bacillus subtilis* (ATCC 6633)؛ *Listeria innocua* (CLP 74915)؛ *Escherichia coli* (ATCC 8737)؛ *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027)؛ *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538)؛ *Salmonella typhimurium* (ATTCC 14028)، ووفقًا لـ **(Asresa et *al*.,2024؛Laib et *al*., 2023 ؛Al-Rajhi et *al*.,2022).**

تم نشـر المعلقات البكتيرية بـــ 100 ميكرولتر من المعلق المزروع حديثًا (0.5 McFarlan) على آجار مولر-هينتون. بعد ذلك، حيث تم إنشـاء آبار بقطر (6 مم) متسـاوي المسـافة في الوسـط وتم وضـع علامة عليها بالتركيزات المحضرة (30،15 و60 ملغ/مل)، وبعد ذلك تم ملء كل بئر بـــ 50 ميكرولتر من كل تركيز. حيث تم اسـتخدام *Amoxicillin* (30 ميكروغرام/مل) و*Ciprofloxacin* و*Gentamicin* (10ميكروغرام/مل) كشـاهد إيجابي، واعتبار الـــ (DMSO) كشاهد السلبي. لتُترك الأطباق لمدة 30 دقيقة تقريبًا للسماح للأدوية بالانتشار في الآجار. ثم تُحضن عند 37 مْلمدة 24 ساعة. بعد ذلك، تم قياس أقطار التثبيط بالملم بواسطة القدم القنوية الرقمية، لتكرر في ثلاث نسخ.



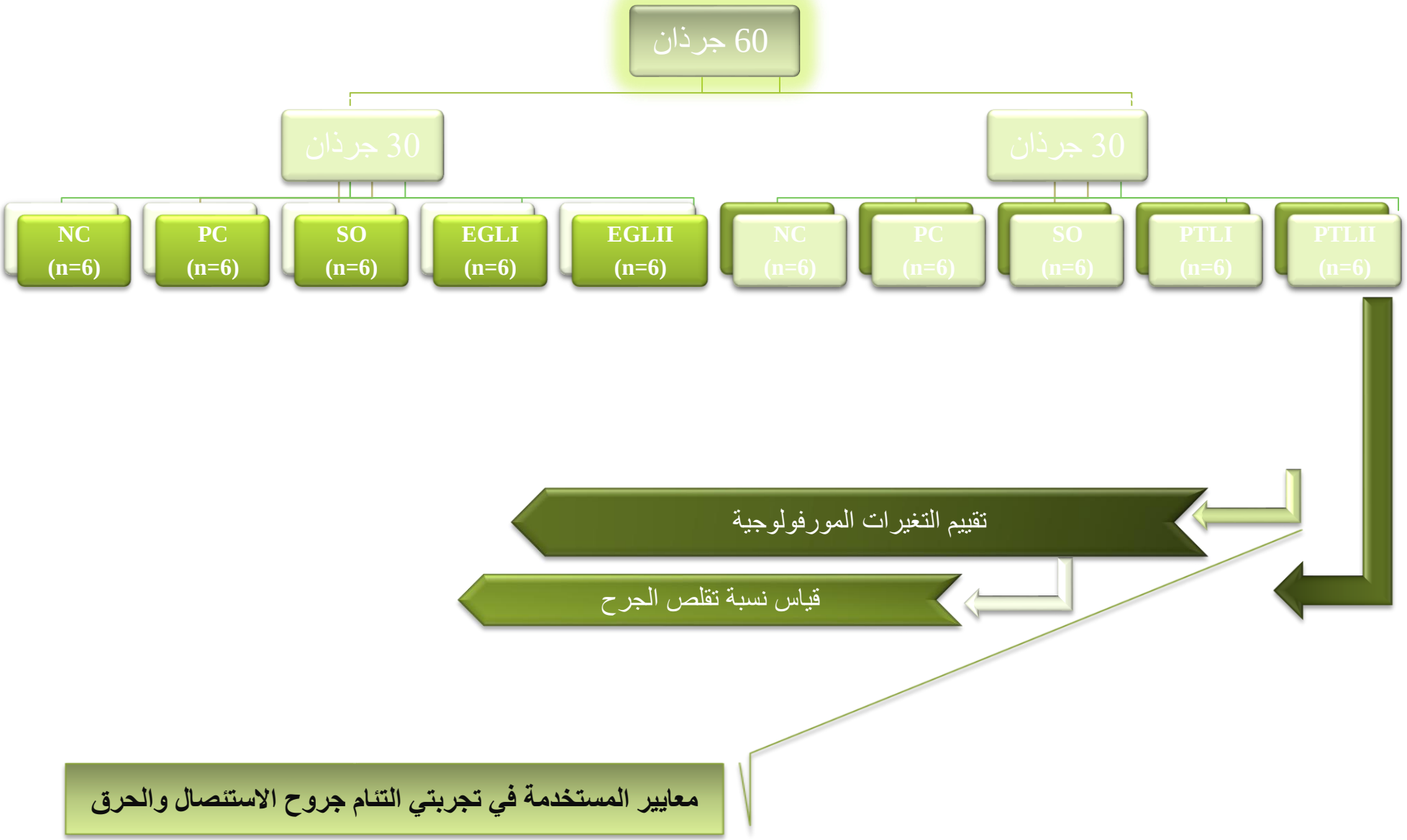

**الشكل13.** رسم توضيحي لمراحل تنفيذ اختبار الانتشار في الأبار على الآجار باستخدام مستخلص اللبن لنباتي للأنواع المختبرة **(Biorender. 13/07/2024).**

-

-

-

-




**الشكل14.** التصميم التجريبي لتقييم الإمكانات العلاجية والدوائية لمستخلص اللبن النباتي لكل من *E. guyoniana* و*P. tomentosa* L. في تعزيز التئام الجروح باستخدام (نموذج الاستئصال والحرق).

# الفصلII. النتائــج والمناقشة

# Chapter II. Results & Discussion

# الخاتمة

# Conclusion

## خاتمة

لاتزال فلورا النباتات الصـــحراوية بيئة ثرية بالموارد الطبيعية ذات الإمكانات الهامة. والتي لا يزال جزء كبيراً منها لم يُستغل لحد الآن. وفي إطار المسعى البحثي نحو دراسة النباتات البرية المستوطنة بالمنطقة وفي ظل هذا التوجه وبعد إجراء التحقيقات الميدانية خلصت الدراسة الحالية إلى تثمين مادة اللبن النباتي من نباتي *Euphorbia guyoniana* Boiss. & Reut. و *Pergularia tomentosa* L. الناميين بمنطقة واد سوف، والتي عرفت استخداما شعبياً شائعاً وخاصة بين سكان الصحراء في علاج العديد من الأمراض الجلدية والتي لم يتم توثيقها علمياً لحد الآن. ومن أجل تأكيد تجارب الطب الشـــعبي قمنا بتقييم خصـــائصـــه الفيتو- فيزيوكيميائية وفعاليته البيولوجية والدوائية بالإضافة إلى تحضير مراهم صيدلانية وتطبيقها في الجسم الحي لجرذان ويستار. وفي هذا السياق، واعتمادًا على النتائج التي تم الحصول عليها يمكننا أن نستنتج أن:

- مستخلصات اللبن النباتي لـــ *E. guyoniana* و *P.tomentosa* L. ثرية جداً بالمكونات النشطة بيولوجياً والتي تم فحصـــها وتحديدها كمياً ونوعياً من خلال تحليلات مختلفة. وبالتالي تشـــير بأن مستخلص اللبن النباتي لنبات *P.tomentosa* L. هو الأبرز. وبشكل عام، وعلى ضوء هذا، تمكننا هذه الفحوصات باعتبار مستخلص اللبن النباتي القيد الدراسة مثيراً للاهتمام مما يشجع على ادراجه كمصدر طبيعي للجزيئات النشطة بيولوجيًا ذات الخصائص العلاجية المتنوعة والتي يمكن إدراجها كمكمل غذائي وفي إدارة العديد من الأمراض المختلفة.

- كما أسفرت مستخلصات الـ *E. guyoniana* latex و *P . tomentosa* L. latex على إمكانات دوائية وبيولوجية فعالة نظراً لنشاطها القوي المضاد للالتهاب والمضاد للأكسدة مما يسمح لنا باكتشاف مصـــدر جديد لمنتوجات وعقايير طبيعية والتي يمكن ادراجها في تعزيز الصـــحة وإدارة العديد من الأمراض التنكسية.

- علاوة إلى ذلك، أظهر مستخلص اللبن النباتي لكل من *E. guyoniana* و *P. tomentosa* L. على على نشاطًا مضادًا للبكتيريا تجاه السلالات المختبرة مما يمنحها أهمية في علاج الأمراض المعدية والالتهابية الناجمة عنها؛ وإمكانية اعتمادها كمصـــدر للمضـــادات الحيوية وحلا لمشـــكل مقاومة المضادات الحيوية.

- كما أبدى مستخلص اللبن النباتي حماية جيدة في الوقاية من الأشعة الفوق البنفسجية بالرغم من كون المستخلص خام وهذا مايرشحه ضمن تصنيع المنتوجات الجلدية التي تقي الجلد من مخاطر الأشعة الضارة والسرطانات الجلدية المختلفة.

- وفي الجسم الحي، ووفقًا لنتائج دراسة السمية الجلدية لمراهم *Euphorbia guyoniana* latex و*Pergularia tomentosa* latex على جرذان ويستار، أثبتت التركيبات الصيدلانية المحضرة بالتركيزات المذكورة سابقًا بأن مستخلص اللبن النباتي لنوعين بكونها غير سامة وآمنة للأغراض العلاجية الجلدية. وكما أثبتت القدرة العلاجية للمستخلص اللبن النباتي لـ *E. guyoniana* في تسريع التئام جروح الناجمة عن الاستئصال وإمكانات مستخلص اللبن النباتي لنبات الـ *P. tomentosa* L في تسريع التئام جروح الحرق وإنبات بصيلات الفراء مما يشجع على ادراجه ضمن المراهم والكريمات الجلدية تحت مجال ترميم وإصلاح الأنسجة المتضررة؛

وبناءاً على كل مما سبق، يمكننا القول بأن مستخلص اللبن النباتي لكل من *E.guyoniana* و *P. tomentosa* L واعدين في ميادين شتى في مجالات صيدلانية، تجميلة وعلاجية، ونظرًا لحداثة وأصالة هذا البحث وقيمته العلمية وأهميته البيولوجية، فإننا:

- ❖ نحث على متابعة المزيد من الأبحاث والدراسات الأكثر تخصيصاً فيما يتعلق بتحديد وعزل جميع المركبات النشطة بيولوجيًا من مستخلص اللبن النباتي لنباتي القيد الدراسة والتي قد تكون مسؤولة عن هذه التأثيرات العلاجية المحققة في هذه الدراسة. وتفسير الآليات التي تساهم بها هذه المركبات في عمليات التئام الجروح كالاستئصالية والحرق.
- ❖ كما نحث على تثمين النتائج المتحصل عليها تطبيقيا بالتوجه نحو تصنيع تركيبات صيدلانية مشتقة من اللبن النباتي لنباتي *Euphorbia guyoniana* Boiss. & Reut. و *Pergularia tomentosa* L. مما قد تفتح آفاق مستقبلية والتي من شأنها أن تقدم الإضافة المرجوة في مجالات عدة؛ كما نوصي بإجراء دراسات في الجسم الحي لاختبار السمية، خطوط الخلايا السرطانية؛ وبتطبيق دراسات سريرية عليه؛

# المراجع

# References

# الملاحق
# Annex

# المنشورات العلمية،
# المشاركات وبراءات الاختراع

# Scientific Publications,
# Contributions & Patents

خاتمة

Segueni K. *et al.* (2023)
**Notulae Scientia Biologicae**
Volume 15, Issue 4, Article number 11772
DOI:10.15835/nsb15411772
Research Article

# Phytochemical profile, antioxidant and anti-inflammatory activities of crude latex (*Pergularia tomentosa* L.) in Algerian Saharan

Khaoula SEGUENI[1,2*], Atef CHOUIKH[1,3], Mohammed Laid TLILI[1,2]

[1]*El Oued University, Laboratory of Biology, Environment and Health (LBEH), Algeria; khaoula-segueni@univ-eloued.dz (*correponding author); chouikhatef@gmail.com; laidlili2@gmail.com*
[2]*El Oued University, Faculty of Natural Science and Life, Department of Cellular and Molecular Biology, Algeria*
[3]*El Oued University, Faculty of Natural Science and Life, Department of Biology, B.P. 789, 39000, El Oued, Algeria*

## Abstract

This study aimed to evaluate the dry crude latex extract from *P. tomentosa*, endemic to the Sahara, by determining the total content of polyphenols and flavonoids, and detecting the plant compounds by HPLC chromatography. Also, Antioxidant activity was measured through three tests: (BCB) beta-carotene/linoleic acid bleaching assay, (DPPH) radical scavenging and (FRAP) ferric reducing ability assay. In addition, anti-inflammatory activity. The results showed that the dry crude latex extract of *P. tomentosa* showed moderate content of polyphenols and flavonoids in the dry crude latex extract of *P. tomentosa*. Besides, qualitative HPLC analysis led to the detection of a group of phenolic compounds of this extract that have therapeutic properties. Also, the studied extract had strong activity in the beta-carotene/linoleic acid bleaching test and the values obtained were very close to the reference gallic acid. The results also indicated significant antioxidant activities in the DPPH and FRAP assay compared to ascorbic acid. In addition, the strong effect of dry crude latex extract from *P. tomentosa* in inhibiting protein denaturation induced by albumin hyperthermia, compared to *ASPEGIC*, which is used as a reference drug in infections. In conclusion, the results indicate that the dry crude latex extract of *P. tomentosa* has antioxidant and anti-inflammatory activity, which confirms the use of this extract in folk medicine, which could be a first step in introducing it into therapeutic applications.

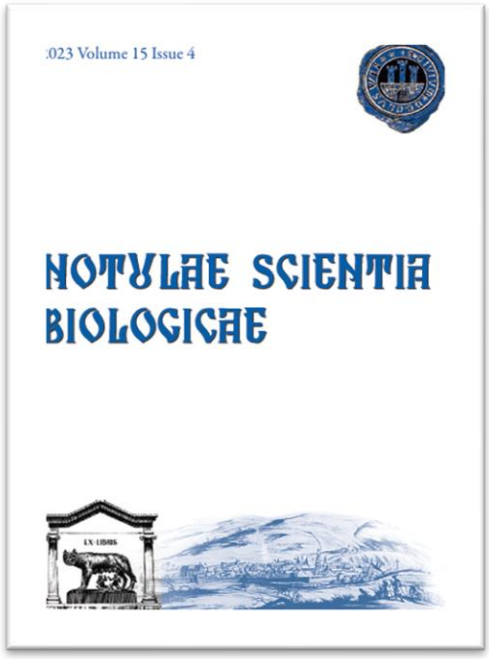
***Keywords:*** antioxidant activity; anti-inflammatory activity; crude latex; HPLC chromatography; *Pergularia tomentosa* L.

## Introduction

Since ancient times, human have been interested in including natural products in the use of traditional medicine (Haidan *et al.*, 2016). It has been used more 35.000 species medicinal purposes (Hafsia *et al.*, 2020), improving health; Plants remain promising sources of bioactive compounds (Abdel-Aty *et al.*, 2019) they protect cells from the damage of oxidative stress and various diseases caused by free radicals (ROS) (Yildirim *et al.*, 2019; Hafsia *et al.*, 2020).

*Received: 25 Oct 2023. Received in revised form: 15 Nov 2023. Accepted: 21 Nov 2023. Published online: 23 Nov 2023.*
From Volume 13, Issue 1, 2021, Notulae Scientia Biologicae journal uses article numbers in place of the traditional method of

## ➢ *International Publications*




**SEGUENI, K., CHOUIKH, A., & TLILI, M. L. (2023). Phytochemical profile, antioxidant and anti-inflammatory activities of crude latex (Pergularia tomentosa L.) in Algerian Saharan. *Notulae Scientia Biologicae*, *15*(4), 11772.**

## ➢ *International Scientific Communications.*

**SEGUENI, K., CHOUIKH, A., & TLILI, M. L. (2023). Biological Activities, and Uses of Latex from Selected Species of latex plants, A mini Review, International Cukurova Agriculture And Veterinary Congress Held On February 27-28,2023/Adana-Türkiye**

**SEGUENI, K., CHOUIKH, A., & TLILI, M. L., Is Latex Therapeutic and pharmacological efficacy? A mini Review, International Seminar On Valorization of Bioresources in Environment & Health, 1 Edition, May 10-11, 2023. Echahid Hamma Lakhdar University, El-**

**SEGUENI, K., CHOUIKH, A., & TLILI, M. L.,Traditional Applications of Plant Latex in The Genus Euphorbia in Medicinal and Therapeutic uses, A mini Review, International Seminar On Catalysis, Chemical Engineering & Green Chemistry (Caceg) 1 Edition, February 22-23, 2023. Echahid Hamma Lakhdar University,**

**SEGUENI, K., CHOUIKH, A., & TLILI, M. L. Pharmacological effect of bioactive compounds isolated from the latex of some species of the family *Euphorbiaceae*. International Conference on the Valorization of Alternative Plants and Degraded and Marginal Lands (VPADM, 2022), 10-11 May, 2022. Echahid Hamma Lakhdar University, El-Oued, Algeria.**

## ➢ *National Patents.*

INSTITUT NATIONAL ALGÉRIEN
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE

inapi

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE
DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

R2-FO-03
E1

# Nature de la demande de protection *

Brevet d'invention ☑ | Extension de la demande internationale selon le PCT ☐ | Certificat d'addition ☐

[71] - **DEPOSANT(S)** : *Nom, Prénom, (dénomination) et Adresse complète*

Université Echahid Hamma Lakhdar - El Oued
BP 789, 39000 le nouveau groupment "El Oued" Algérie

*Nationalité du ou des déposants* Algérienne

[72] - **INVENTEUR(S)** : *Nom, Prénom, Adresse*

SEGUENI Khaoula, Laboratoire Biologie, Environnement et Santé, Université Echahid Hamma Lakhdar, El Oued, Algér
CHOUIKH Atef, Laboratoire Biologie, Environnement et Santé, Université Echahid Hamma Lakhdar, El Oued, Algérie
Tlili Mohammed Laid,Université Echahid Hamma Lakhdar, El Oued, Algérie
ALIA Fatma,Laboratoire Biologie, Environnement et Santé, Université Echahid Hamma Lakhdar, El Oued, Algérie
BOURAS Yacine, Laboratoire Biologie, Environnement et Santé, Université Echahid Hamma Lakhdar, El Oued, Algérie
BOUSBIA BRAHIM Aida, Laboratoire Biologie, Environnement et Santé, Université Echahid Hamma Lakhdar, El Oued, Algérie
SEGUENI Sabrine, Cité el nour, El Oued Algérie

[54] - **TITRE DE L'INVENTION** :

Pommade naturelle dermatologique à base de latex de Pergularia tomentosa L. favorise la pousse des poils au site des brûlures

[30] - **REVENDICATION DE PRIORITE (S)**

| [31] - N° (s) de dépôt | [32] - date(s) | [33] - pays d'origine | Nature de la demande |
|---|---|---|---|
| | | | |

| Numéro de dépôt | Date de dépôt | Heure |
|---|---|---|
| 230422 | 26 AVR 2023 | 08:32 |

N° de la demande internationale et date internationale de dépôt

Visa

Inapi
Service Dépôt
DTP
Chef de Service

**Demande de certificat d'addition rattaché au brevet principale n°** **du**

[74] - **MANDATAIRE** : *Nom, Prénom, Adresse*

*Date du pouvoir*

Le préposé à la réception

Fait à : le 2023 05 22

Signature et cachet

Qualité du signataire
pour les personnes morales

**Autres informations**

**BORDEREAU DES PIECES DEPOSEES** *

- ☐ Copie de la demande internationale
- ☐ Mémoire descriptif en langue nationale
- ☐ Mémoire descriptif original en langue française
- ☐ Mémoire descriptif duplicata en langue française
- ☐ Dessin(s) original (aux) Planche(s)
- ☐ Dessin(s) duplicata (aux) Planche(s)
- ☐ Abrégé descriptif
- ☐ Pouvoir
- ☐ Document de priorité
- ☐ Cession de priorité
- ☐ Titre ou justification du paiement de taxes

**Les demandes doivent être remises ou adressées par pli postal recommandé avec demande d'avis de réception, à l'Institut National Algérien de la Propriété Industrielle (INAPI) dont les coordonnées sont indiquées ci-dessous.**

**Le paiement des taxes exigibles peut être effectué soit directement auprès de la caisse de l'INAPI soit par virement bancaire au compte: BEA 12 Avenue AMIROUCHE, Alger n° 00200012120326418071**

**Coordonnées de l'INAPI :**

**Adresse : 42, rue Larbi BEN M'HIDI, 3ème étage, B.P. 403 Alger Gare**
**Tél. : (021) 73 57 74 Fax: (021) 73 96 44 et (021) 73 55 81**
**E-mail:** brevet@inapi.org, info-dpitt@inapi.org **- Web :** www.inapi.org

**Le présent formulaire doit être lithographié**

**A NE PAS PLIER**

* Cocher les cases correspondantes

INSTITUT NATIONAL ALGÉRIEN
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE
DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

R2-FO-03
E1

# Nature de la demande de protection *

Brevet d'invention ☑ Extension de la demande internationale selon le PCT ☐ Certificat d'addition ☐

[71] - **DEPOSANT(S)** : *Nom, Prénom, Dénomination et Adresse complète*

Université Echahid Hamma Lakhdar - El Oued
BP 789, 39000 le nouveau groupment "El Oued" Algérie

*Nationalité du ou des déposants* Algérienne

[72] - **INVENTEUR(S)** : *Nom, Prénom, Adresse*

CHOUIKH Atef, Laboratoire Biologie, Environnement et Santé, Université Echahid Hamma Lakhdar, El Oued, Algérie
SEGUENI Khaoula, Laboratoire Biologie, Environnement et Santé, Université Echahid Hamma Lakhdar, El Oued, Algér
Tlili Mohammed Laid,Université Echahid Hamma Lakhdar, El Oued, Algérie
BOURAS Yacine, Laboratoire Biologie, Environnement et Santé, Université Echahid Hamma Lakhdar, El Oued, Algérie
ALIA Fatma,Laboratoire Biologie, Environnement et Santé, Université Echahid Hamma Lakhdar, El Oued, Algérie
SEGUENI Sabrine, Cité el nour, El Oued Algérie
BOUSBIA BRAHIM Aida, Laboratoire Biologie, Environnement et Santé, Université Echahid Hamma Lakhdar, El Oued,

[54] - **TITRE DE L'INVENTION** :

Bio-Pommade à base de Latex Pergularia tomentosa, Antiseptique et Anti-inflammatoire contre les Brûlures

[30] – **REVENDICATION DE PRIORITE (S)**

| [31] - N°[s] de dépôt | [32] - date[s] | [33] - pays d'origine | Nature de la demande |
|---|---|---|---|
| | | | |

| Numéro de dépôt | Date de dépôt | Heure |
|---|---|---|
| 230423 | 26 AVR 2023 | 09:33 |

N° de la demande internationale et date internationale de dépôt

Visa

Inapi
Service Dépôt
Chef de Service

**Demande de certificat d'addition rattaché au brevet principale n°** **du**

| [74] - **MANDATAIRE** : *Nom, Prénom, Adresse* | *Date du pouvoir* |
|---|---|
| | |

| Le préposé à la réception | Fait à le<br>Signature et cachet<br>Qualité du signataire<br>pour les personnes morales |
|---|---|
| | |

**Autres informations**

**BORDEREAU DES PIECES DEPOSEES** *

- ☐ Copie de la demande internationale
- ☐ Mémoire descriptif en langue nationale
- ☐ Mémoire descriptif original en langue française
- ☐ Mémoire descriptif duplicata en langue française
- ☐ Dessin(s) original (aux) Planche(s)
- ☐ Dessin(s) duplicata (aux.) Planche(s)
- ☐ Abrégé descriptif
- ☐ Pouvoir
- ☐ Document de priorité
- ☐ Cession de priorité
- ☐ Titre ou justification du paiement de taxes

**Les demandes doivent être remises ou adressées par pli postal recommandé avec demande d'avis de réception, à l'Institut National Algérien de la Propriété Industrielle (INAPI) dont les coordonnées sont indiquées ci-dessous.**

**Le paiement des taxes exigibles peut être effectué soit directement auprès de la caisse de l'INAPI soit par virement bancaire au compte: BEA 12 Avenue AMIROUCHE, Alger n° 00200012120326418071**

Coordonnées de l'INAPI :

**Adresse : 42, rue Larbi BEN M'HIDI, 3ème étage, B.P. 403 Alger Gare**
**Tél. : (021) 73 57 74 Fax: (021) 73 96 44 et (021) 73 55 81**
**E-mail: brevet@inapi.org, info-dpitt@inapi.org - Web : www.inapi.org**

**Le présent formulaire doit être lithographié**

**A NE PAS PLIER**

* Cocher les cases correspondantes.

INSTITUT NATIONAL ALGÉRIEN
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE
DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

R2-FO-03
E1

# Nature de la demande de protection *

Brevet d'invention ☑ Extension de la demande internationale selon le PCT * ☐ Certificat d'addition ☐

**[71] - DEPOSANT[S]** : *Nom, Prénom, [dénomination], et Adresse complète*

Université Echahid Hamma Lakhdar – El Oued
BP 789, 39000 le nouveau groupment "El Oued" Algérie

*Nationalité de ou des déposants* Algérienne

**[72] - INVENTEUR[S]** : *Nom, Prénom, Adresse*

CHOUIKH Atef, Laboratoire Biologie, Environnement et Santé, Université Echahid Hamma Lakhdar, El Oued, Algérie
SEGUENI Khaoula, Laboratoire Biologie, Environnement et Santé, Université Echahid Hamma Lakhdar, El Oued, Algér
Tlili Mohammed Laid,Université Echahid Hamma Lakhdar, El Oued, Algérie
SEGUENI Sabrine, Cité el nour, El Oued,Algérie
BOUSBIA BRAHIM Aida, Laboratoire Biologie, Environnement et Santé, Université Echahid Hamma Lakhdar, El Oued,
ALIA Fatma,Laboratoire Biologie, Environnement et Santé, Université Echahid Hamma Lakhdar, El Oued, Algérie
BOURAS Yacine, Laboratoire Biologie, Environnement et Santé, Université Echahid Hamma Lakhdar, El Oued, Algérie

**[54] - TITRE DE L'INVENTION** :

Pommade naturelle cutanée à base du latex de Pergularia tomentosa L. pour l'élimination des marques de brûlures

**[30] – REVENDICATION DE PRIORITE (S)**

| [31] - N°[s] de dépôt | [32] - date[s] | [33] - pays d'origine | Nature de la demande |
|---|---|---|---|
| | | | |

| Numéro de dépôt | Date de dépôt | Heure |
|---|---|---|
| 230424 | 26 AVR 2023 | 09:33 |

**N° de la demande internationale et date internationale de dépôt**

**Visa**

inapi
Service Dépôt
Chef de Service

**Demande de certificat d'addition rattaché au brevet principale n°** **du**

(74) - **MANDATAIRE** : *Nom, Prénom, Adresse*

*Date du pouvoir*

Le préposé à la réception

Fait à : le : 22 مارس 2023

Signature et cachet

*Qualité du signataire pour les personnes morales*

**Autres informations**

**BORDEREAU DES PIECES DEPOSEES** *

- ☐ Copie de la demande internationale
- ☐ Mémoire descriptif en langue nationale
- ☐ Mémoire descriptif original en langue française
- ☐ Mémoire descriptif duplicata en langue française
- ☐ Dessin(s) original (aux) Planche(s)
- ☐ Dessin(s) duplicata (aux) Planche(s)
- ☐ Abrégé descriptif
- ☐ Pouvoir
- ☐ Document de priorité
- ☐ Cession de priorité
- ☐ Titre ou justification du paiement de taxes

**Les demandes doivent être remises ou adressées par pli postal recommandé avec demande d'avis de réception, à l'Institut National Algérien de la Propriété Industrielle (INAPI) dont les coordonnées sont indiquées ci-dessous.**

**Le paiement des taxes exigibles peut être effectué soit directement auprès de la caisse de l'INAPI soit par virement bancaire au compte: BEA 12 Avenue AMIROUCHE, Alger n° 00200012120326418071**

**Coordonnées de l'INAPI :**

**Adresse : 42, rue Larbi BEN M'HIDI, 3ème étage, B.P. 403 Alger Gare**
**Tél. : (021) 73 57 74 Fax: (021) 73 96 44 et (021) 73 55 81**
**E-mail: brevet@inapi.org, info-dpitt@inapi.org - Web : www.inapi.org**

**Le présent formulaire doit être lithographié**

**A NE PAS PLIER**

* Cocher les cases correspondantes.

R2-FO-03
E1

# Nature de la demande de protection *

Brevet d'invention ☑ Extension de la demande internationale selon le PCT → ☐ Certificat d'addition ☐

[71] - **DEPOSANT(S)** : *Nom, Prénom, [dénomination] et Adresse complète*

Université Echahid Hamma Lakhdar - El Oued
BP 789, 39000 le nouveau groupment "El Oued" Algérie

*Nationalité de ou des déposants* Algérienne

[72] - **INVENTEUR(S)** : *Nom, Prénom, Adresse*

SEGUENI Khaoula, Laboratoire Biologie, Environnement et Santé, Université Echahid Hamma Lakhdar, El Oued, Algér
CHOUIKH Atef, Laboratoire Biologie, Environnement et Santé, Université Echahid Hamma Lakhdar, El Oued, Algérie
Tlili Mohammed Laid,Université Echahid Hamma Lakhdar, El Oued, Algérie
BOUSBIA BRAHIM Aida, Laboratoire Biologie, Environnement et Santé, Université Echahid Hamma Lakhdar, El Oued,
SEGUENI Sabrine, Cité el nour, El Oued.
BOURAS Yacine, Laboratoire Biologie, Environnement et Santé, Université Echahid Hamma Lakhdar, El Oued, Algérie
ALIA Fatma,Laboratoire Biologie, Environnement et Santé, Université Echahid Hamma Lakhdar, El Oued, Algérie

[54] - **TITRE DE L'INVENTION** :

Bio-pommade dermatologique à base du Latex Euphorbia guyoniana pour accélérer la cicatrisation.

[30] - **REVENDICATION DE PRIORITE (S)**

| [31] - N°(s) de dépôt | [32] - date(s) | [33] - pays d'origine | Nature de la demande |
|---|---|---|---|
| | | | |

| Numéro de dépôt | Date de dépôt | Heure |
|---|---|---|
| 230425 | 25 AVR 2023 | 08:34 |

**N° de la demande internationale et date internationale de dépôt**

Visa

Inapi
BOUAKEL Cherif Hafsi
Service Dépôt
Chef de Service

**Demande de certificat d'addition rattaché au brevet principale n°** **du**

[74] - **MANDATAIRE** : *Nom, Prénom, Adresse*

*Date du pouvoir*

Le préposé à la réception

Fait à : مليسر الجامعة

le : 22 مارس 2023

Signature et cachet

Cité : Qualité du signataire pour les personnes morales

**Autres informations**

**BORDEREAU DES PIECES DEPOSEES** *

- ☐ Copie de la demande internationale
- ☐ Mémoire descriptif en langue nationale
- ☐ Mémoire descriptif original en langue française
- ☐ Mémoire descriptif duplicata en langue française
- ☐ Dessin(s) original (aux) Planche(s)
- ☐ Dessin(s) duplicata (aux) Planche(s)
- ☐ Abrégé descriptif
- ☐ Pouvoir
- ☐ Document de priorité
- ☐ Cession de priorité
- ☐ Titre ou justification du paiement de taxes

**Les demandes doivent être remises ou adressées par pli postal recommandé avec demande d'avis de réception, à l'Institut National Algérien de la Propriété Industrielle (INAPI) dont les coordonnées sont indiquées ci-dessous.**

**Le paiement des taxes exigibles peut être effectué soit directement auprès de la caisse de l'INAPI soit par virement bancaire au compte: BEA 12 Avenue AMIROUCHE, Alger n° 00200012120326418071**

Coordonnées de l'INAPI :

**Adresse : 42, rue Larbi BEN M'HIDI, 3ème étage, B.P. 403 Alger Gare**
**Tél. : (021) 73 57 74 Fax: (021) 73 96 44 et (021) 73 55 81**
**E-mail: brevet@inapi.org, info-dpitt@inapi.org - Web : www.inapi.org**

**Le présent formulaire doit être lithographié**

**A NE PAS PLIER**

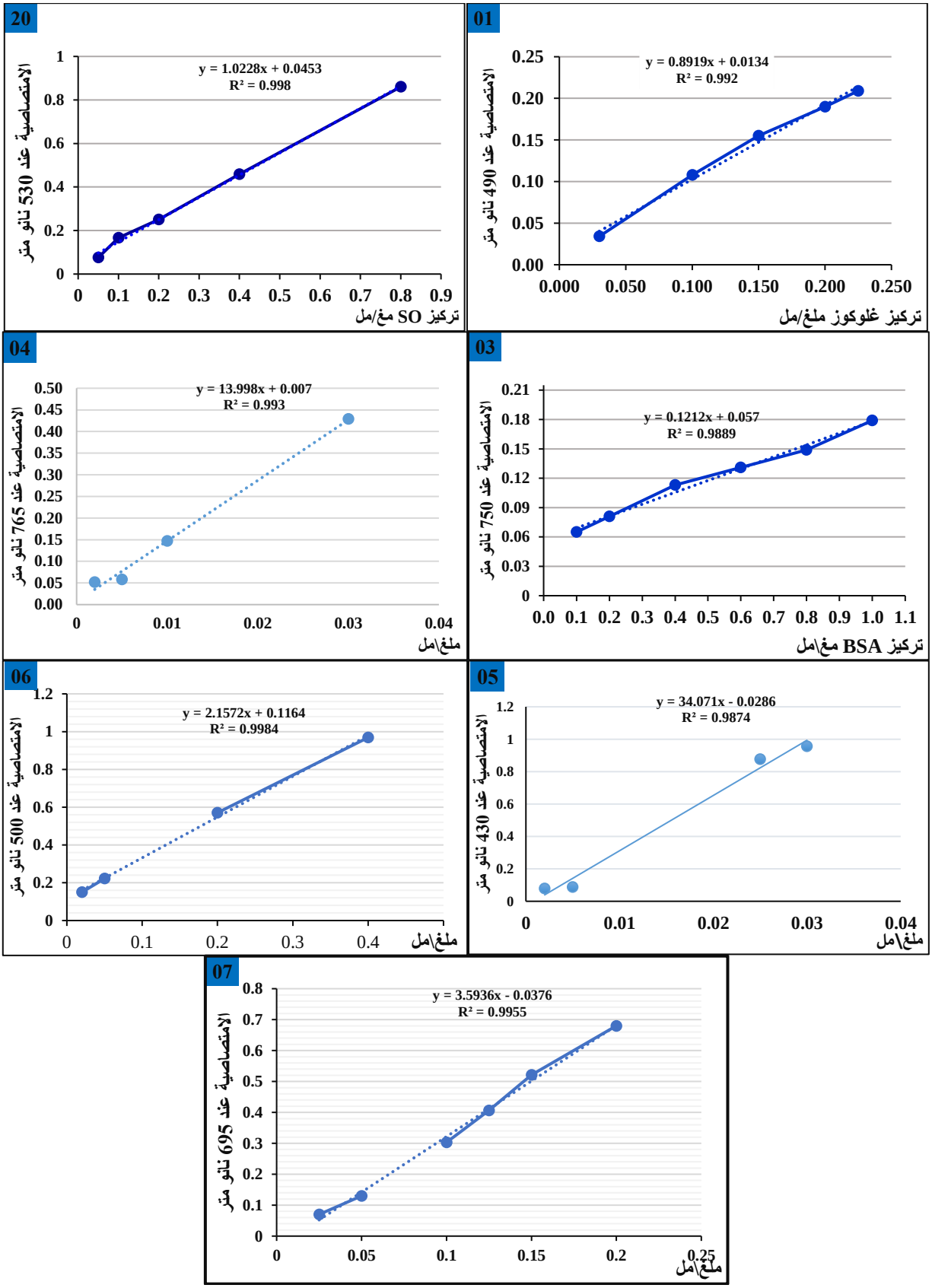
* Cocher les cases correspondantes

مصفوفة الارتباط ((Pearson(n)، للمعايير المدروسة ومستخلص اللبن النباتي لنباتي لـ*E. guyoniana* Boiss. & Reut. و *P. tomentosa* L.

| Variables | The Yield (%) | pH | Ash % | Moisture % | Carbohydrate (mg GE/g latex) | Fat (mg OSE/g latex) | Protein (mg BSAE/g latex) | Polyphenol (mg GAE/g latex) | Flavonoid(mg QE/g latex) | Condensed Tannins (mg CE/g latex) | Quercetin(µg/g latex) | Chlorogenic Acid(µg/g latex) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **The Yield (%)** | 1.0000 | 0.9976 | 0.9856 | -1.0000 | 0.5900 | -0.8873 | 0.5105 | 0.9978 | 0.9048 | 0.9923 | -1.0000 | -1.0000 |
| **pH** | 0.9976 | 1.0000 | 0.9942 | -0.9976 | 0.6138 | -0.8597 | 0.4774 | 0.9925 | 0.8998 | 0.9936 | -0.9976 | -0.9976 |
| **Ash %** | 0.9856 | 0.9942 | 1.0000 | -0.9856 | 0.6591 | -0.8233 | 0.4507 | 0.9748 | 0.8878 | 0.9847 | -0.9856 | -0.9856 |
| **Moisture content %** | -1.0000 | -0.9976 | -0.9856 | 1.0000 | -0.5900 | 0.8873 | -0.5105 | -0.9978 | -0.9048 | -0.9923 | 1.0000 | 1.0000 |
| **Carbohydrate (mg GE/g latex)** | 0.5900 | 0.6138 | 0.6591 | -0.5900 | 1.0000 | -0.4751 | -0.1214 | 0.5383 | 0.4931 | 0.5372 | -0.5900 | -0.5900 |
| **Fat (mg OSE/g latex)** | -0.8873 | -0.8597 | -0.8233 | 0.8873 | -0.4751 | 1.0000 | -0.6873 | -0.8942 | -0.9163 | -0.8643 | 0.8873 | 0.8873 |
| **Protein (mg BSAE/g latex)** | 0.5105 | 0.4774 | 0.4507 | -0.5105 | -0.1214 | -0.6873 | 1.0000 | 0.5391 | 0.6387 | 0.5396 | -0.5105 | -0.5105 |
| **Polyphenol (mg GAE/g latex)** | 0.9978 | 0.9925 | 0.9748 | -0.9978 | 0.5383 | -0.8942 | 0.5391 | 1.0000 | 0.9051 | 0.9922 | -0.9978 | -0.9978 |
| **Flavonoid (mg QE/g latex)** | 0.9048 | 0.8998 | 0.8878 | -0.9048 | 0.4931 | -0.9163 | 0.6387 | 0.9051 | 1.0000 | 0.9245 | -0.9048 | -0.9048 |
| **Condensed Tannins Content (mg CE/g latex)** | 0.9923 | 0.9936 | 0.9847 | -0.9923 | 0.5372 | -0.8643 | 0.5396 | 0.9922 | 0.9245 | 1.0000 | -0.9923 | -0.9923 |
| **Quercetin(µg/g latex)** | -1.0000 | -0.9976 | -0.9856 | 1.0000 | -0.5900 | 0.8873 | -0.5105 | -0.9978 | -0.9048 | -0.9923 | 1.0000 | 1.0000 |
| **Chlorogenic Acid(µg/g latex)** | -1.0000 | -0.9976 | -0.9856 | 1.0000 | -0.5900 | 0.8873 | -0.5105 | -0.9978 | -0.9048 | -0.9923 | 1.0000 | 1.0000 |
| **TAC (IC 50 mg/ml)** | -0.9577 | -0.9575 | -0.9649 | 0.9577 | -0.7127 | 0.8841 | -0.5376 | -0.9427 | -0.8823 | -0.9389 | 0.9577 | 0.9577 |
| **DPPH IC 50 mg/ml)** | -0.9994 | -0.9965 | -0.9845 | 0.9994 | -0.6043 | 0.8871 | -0.4992 | -0.9964 | -0.8940 | -0.9876 | 0.9994 | 0.9994 |
| **OH* IC 50 mg/ml)** | 0.8280 | 0.8089 | 0.7531 | -0.8280 | 0.1032 | -0.7196 | 0.5000 | 0.8597 | 0.6889 | 0.8333 | -0.8280 | -0.8280 |
| **FRAP EC 50 mg/ml)** | -0.9998 | -0.9976 | -0.9867 | 0.9998 | -0.5974 | 0.8908 | -0.5153 | -0.9970 | -0.9093 | -0.9922 | 0.9998 | 0.9998 |
| **βCB Assay (IC 50 mg/ml)** | 0.6654 | 0.6703 | 0.6616 | -0.6654 | -0.0234 | -0.4059 | 0.5095 | 0.6888 | 0.4779 | 0.7052 | -0.6654 | -0.6654 |
| **Hemolysis %[100µg/ml]** | 0.8723 | 0.8512 | 0.8011 | -0.8723 | 0.4500 | -0.9171 | 0.4400 | 0.8832 | 0.8831 | 0.8557 | -0.8723 | -0.8723 |
| **Anti-inflammatory activity inhibition (%) IC50 mg/mL** | -0.9978 | -0.9936 | -0.9793 | 0.9978 | -0.5967 | 0.8840 | -0.4907 | -0.9958 | -0.8792 | -0.9830 | 0.9978 | 0.9978 |
| **SPF** | -1.0000 | -0.9976 | -0.9856 | 1.0000 | -0.5900 | 0.8873 | -0.5105 | -0.9978 | -0.9048 | -0.9923 | 1.0000 | 1.0000 |
| ***L.innocua (60 mg/ml) mm*** | -0.9658 | -0.9615 | -0.9522 | 0.9658 | -0.7227 | 0.8662 | -0.3827 | -0.9544 | -0.8161 | -0.9281 | 0.9658 | 0.9658 |
| ***B. subtilis (60 mg/ml) mm*** | -0.9300 | -0.9360 | -0.9497 | 0.9300 | -0.8318 | 0.8356 | -0.3660 | -0.9056 | -0.8433 | -0.9012 | 0.9300 | 0.9300 |
| ***S. aureus (60 mg/ml) mm*** | -0.6014 | -0.5894 | -0.5224 | 0.6014 | -0.0387 | 0.5114 | -0.1255 | -0.6323 | -0.5512 | -0.6160 | 0.6014 | 0.6014 |
| ***S. typhimurium (60 mg/ml) mm*** | 0.9060 | 0.8937 | 0.8495 | -0.9060 | 0.3640 | -0.8630 | 0.4665 | 0.9215 | 0.8966 | 0.9134 | -0.9060 | -0.9060 |
| ***P.aeruginosa (60 mg/ml) mm*** | -0.9481 | -0.9550 | -0.9585 | 0.9481 | -0.8063 | 0.8237 | -0.2819 | -0.9280 | -0.8452 | -0.9216 | 0.9481 | 0.9481 |
| ***E.coli (60 mg/ml) mm*** | -0.8828 | -0.8694 | -0.8448 | 0.8828 | -0.2945 | 0.9083 | -0.7749 | -0.8971 | -0.9686 | -0.9117 | 0.8828 | 0.8828 |
| **NC (Excision wound model) Day12** | 0.1559 | 0.1075 | 0.0594 | -0.1559 | -0.1240 | -0.5746 | 0.7095 | 0.1788 | 0.4524 | 0.1544 | -0.1559 | -0.1559 |
| **OS (Excision wound model)Day12** | -0.8021 | -0.8318 | -0.8670 | 0.8021 | -0.6657 | 0.4615 | -0.1183 | -0.7788 | -0.5522 | -0.7960 | 0.8021 | 0.8021 |
| **MEBO (Excision wound model)Day12** | -0.1055 | -0.0725 | -0.0116 | 0.1055 | -0.0438 | 0.0925 | 0.2426 | -0.1211 | 0.2235 | -0.0095 | 0.1055 | 0.1055 |
| **EGLI (Excision wound model)Day12** | -0.3772 | -0.4016 | -0.4662 | 0.3772 | -0.5997 | 0.1437 | -0.0538 | -0.3389 | -0.1046 | -0.3363 | 0.3772 | 0.3772 |
| **P-Coumaric Acid(µg/g latex)** | 1.0000 | 0.9976 | 0.9856 | -1.0000 | 0.5900 | -0.8873 | 0.5105 | 0.9978 | 0.9048 | 0.9923 | -1.0000 | -1.0000 |
| **Gallic Acid(µg/g latex)** | -1.0000 | -0.9976 | -0.9856 | 1.0000 | -0.5900 | 0.8873 | -0.5105 | -0.9978 | -0.9048 | -0.9923 | 1.0000 | 1.0000 |
| **Rutin(µg/g latex)** | -1.0000 | -0.9976 | -0.9856 | 1.0000 | -0.5900 | 0.8873 | -0.5105 | -0.9978 | -0.9048 | -0.9923 | 1.0000 | 1.0000 |
| **Naringin(µg/g latex)** | -1.0000 | -0.9976 | -0.9856 | 1.0000 | -0.5900 | 0.8873 | -0.5105 | -0.9978 | -0.9048 | -0.9923 | 1.0000 | 1.0000 |
| **ph OPTLII** | 1.0000 | 0.9976 | 0.9856 | -1.0000 | 0.5900 | -0.8873 | 0.5105 | 0.9978 | 0.9048 | 0.9923 | -1.0000 | -1.0000 |
| **NC (Burn wound model) Day 21** | 0.9931 | 0.9895 | 0.9788 | -0.9931 | 0.5476 | -0.8702 | 0.5546 | 0.9930 | 0.8738 | 0.9854 | -0.9931 | -0.9931 |
| **OS (Burn wound model)Day 21** | 0.9990 | 0.9971 | 0.9846 | -0.9990 | 0.6043 | -0.8906 | 0.4916 | 0.9960 | 0.9134 | 0.9913 | -0.9990 | -0.9990 |
| **MEBO (Burn wound model)Day 21** | 1.0000 | 0.9973 | 0.9849 | -1.0000 | 0.5862 | -0.8880 | 0.5130 | 0.9982 | 0.9044 | 0.9923 | -1.0000 | -1.0000 |
| **PTLI (Burn wound model)Day 21** | 0.9998 | 0.9985 | 0.9884 | -0.9998 | 0.6053 | -0.8842 | 0.5004 | 0.9963 | 0.9061 | 0.9920 | -0.9998 | -0.9998 |
| **PTLII (Burn wound model)Day 21** | 1.0000 | 0.9975 | 0.9854 | -1.0000 | 0.5891 | -0.8876 | 0.5110 | 0.9979 | 0.9048 | 0.9923 | -1.0000 | -1.0000 |

## مصفوفة الارتباط ((Pearson(n)، للمعايير المدروسة ومستخلص اللبن النباتي لنباتي *E. guyoniana* Boiss. & Reut. و *P. tomentosa* L.

| Variables | GE/g latex)(IC 50 mg/ml) | PH Assay (IC 50 mg/ml) | H* Assay (IC 50 mg/ml) | P Assay (EC 50 mg/ml) | βCB Assay (IC 50 mg/ml) | Hemolysis %[100µg/ml] | ry activity inhibition (%) IC50 mg/mL | SPF | innocua (60 mg/ml) mm | subtilis (60 mg/ml) mm | aureus (60 mg/ml) mm | S. typhimurium (60 mg/ml) mm | P.aeruginosa (60 | E.coli |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **The Yield (%)** | -0.9577 | -0.9994 | 0.8280 | -0.9998 | 0.6654 | 0.8723 | -0.9978 | -1.0000 | -0.9658 | -0.9300 | -0.6014 | 0.9060 | -0.9481 | -0.8828 |
| **pH** | -0.9575 | -0.9965 | 0.8089 | -0.9976 | 0.6703 | 0.8512 | -0.9936 | -0.9976 | -0.9615 | -0.9360 | -0.5894 | 0.8937 | -0.9550 | -0.8694 |
| **Ash %** | -0.9649 | -0.9845 | 0.7531 | -0.9867 | 0.6616 | 0.8011 | -0.9793 | -0.9856 | -0.9522 | -0.9497 | -0.5224 | 0.8495 | -0.9585 | -0.8448 |
| **Moisture content %** | 0.9577 | 0.9994 | -0.8280 | 0.9998 | -0.6654 | -0.8723 | 0.9978 | 1.0000 | 0.9658 | 0.9300 | 0.6014 | -0.9060 | 0.9481 | 0.8828 |
| **Carbohydrate (mg GE/g latex)** | -0.7127 | -0.6043 | 0.1032 | -0.5974 | -0.0234 | 0.4500 | -0.5967 | -0.5900 | -0.7227 | -0.8318 | -0.0387 | 0.3640 | -0.8063 | -0.2945 |
| **Fat (mg OSE/g latex)** | 0.8841 | 0.8871 | -0.7196 | 0.8908 | -0.4059 | -0.9171 | 0.8840 | 0.8873 | 0.8662 | 0.8356 | 0.5114 | -0.8630 | 0.8237 | 0.9083 |
| **Protein (mg BSAE/g latex)** | -0.5376 | -0.4992 | 0.5000 | -0.5153 | 0.5095 | 0.4400 | -0.4907 | -0.5105 | -0.3827 | -0.3660 | -0.1255 | 0.4665 | -0.2819 | -0.7749 |
| **Polyphenol (mg GAE/g latex)** | -0.9427 | -0.9964 | 0.8597 | -0.9970 | 0.6888 | 0.8832 | -0.9958 | -0.9978 | -0.9544 | -0.9056 | -0.6323 | 0.9215 | -0.9280 | -0.8971 |
| **Flavonoid Content(mg QE/g latex)** | -0.8823 | -0.8940 | 0.6889 | -0.9093 | 0.4779 | 0.8831 | -0.8792 | -0.9048 | -0.8161 | -0.8433 | -0.5512 | 0.8966 | -0.8452 | -0.9686 |
| **Condensed Tannins (mg CE/g latex)** | -0.9389 | -0.9876 | 0.8333 | -0.9922 | 0.7052 | 0.8557 | -0.9830 | -0.9923 | -0.9281 | -0.9012 | -0.6160 | 0.9134 | -0.9216 | -0.9117 |
| **Quercetin(µg/g latex)** | 0.9577 | 0.9994 | -0.8280 | 0.9998 | -0.6654 | -0.8723 | 0.9978 | 1.0000 | 0.9658 | 0.9300 | 0.6014 | -0.9060 | 0.9481 | 0.8828 |
| **Chlorogenic Acid(µg/g latex)** | 0.9577 | 0.9994 | -0.8280 | 0.9998 | -0.6654 | -0.8723 | 0.9978 | 1.0000 | 0.9658 | 0.9300 | 0.6014 | -0.9060 | 0.9481 | 0.8828 |
| **TAC Assay (mg AAE/g latex)(IC 50 mg/ml)** | 1.0000 | 0.9610 | -0.6530 | 0.9620 | -0.5443 | -0.7769 | 0.9552 | 0.9577 | 0.9595 | 0.9787 | 0.3578 | -0.7737 | 0.9469 | 0.8332 |
| **DPPH Assay (IC 50 mg/ml)** | 0.9610 | 1.0000 | -0.8234 | 0.9992 | -0.6576 | -0.8694 | 0.9992 | 0.9994 | 0.9737 | 0.9358 | 0.5918 | -0.8980 | 0.9527 | 0.8698 |
| **OH* (IC 50 mg/ml)** | -0.6530 | -0.8234 | 1.0000 | -0.8191 | 0.8082 | 0.8032 | -0.8351 | -0.8280 | -0.7394 | -0.5761 | -0.8366 | 0.8914 | -0.6563 | -0.7762 |
| **FRAP (EC 50 mg/ml)** | 0.9620 | 0.9992 | -0.8191 | 1.0000 | -0.6576 | -0.8712 | 0.9971 | 0.9998 | 0.9662 | 0.9345 | 0.5907 | -0.9028 | 0.9500 | 0.8853 |
| **βCB (IC 50 mg/ml)** | -0.5443 | -0.6576 | 0.8082 | -0.6576 | 1.0000 | 0.3837 | -0.6642 | -0.6654 | -0.5369 | -0.4257 | -0.4784 | 0.5709 | -0.4507 | -0.6086 |
| **Hemolysis %[100µg/ml]** | -0.7769 | -0.8694 | 0.8032 | -0.8712 | 0.3837 | 1.0000 | -0.8693 | -0.8723 | -0.8402 | -0.7724 | -0.7839 | 0.9672 | -0.8358 | -0.8502 |
| **Anti-inflammatory (%) IC50 mg/mL** | 0.9552 | 0.9992 | -0.8351 | 0.9971 | -0.6642 | -0.8693 | 1.0000 | 0.9978 | 0.9768 | 0.9299 | 0.6005 | -0.8969 | 0.9493 | 0.8585 |
| **SPF** | 0.9577 | 0.9994 | -0.8280 | 0.9998 | -0.6654 | -0.8723 | 0.9978 | 1.0000 | 0.9658 | 0.9300 | 0.6014 | -0.9060 | 0.9481 | 0.8828 |
| *L.innocua* | 0.9595 | 0.9737 | -0.7394 | 0.9662 | -0.5369 | -0.8402 | 0.9768 | 0.9658 | 1.0000 | 0.9645 | 0.5104 | -0.8258 | 0.9742 | 0.7604 |
| *B. subtilis* | 0.9787 | 0.9358 | -0.5761 | 0.9345 | -0.4257 | -0.7724 | 0.9299 | 0.9300 | 0.9645 | 1.0000 | 0.3563 | -0.7480 | 0.9817 | 0.7477 |
| *S. aureus* | 0.3578 | 0.5918 | -0.8366 | 0.5907 | -0.4784 | -0.7839 | 0.6005 | 0.6014 | 0.5104 | 0.3563 | 1.0000 | -0.8495 | 0.5103 | 0.5756 |
| *S. typhimurium* | -0.7737 | -0.8980 | 0.8914 | -0.9028 | 0.5709 | 0.9672 | -0.8969 | -0.9060 | -0.8258 | -0.7480 | -0.8495 | 1.0000 | -0.8241 | -0.8927 |
| *P.aeruginosa* | 0.9469 | 0.9527 | -0.6563 | 0.9500 | -0.4507 | -0.8358 | 0.9493 | 0.9481 | 0.9742 | 0.9817 | 0.5103 | -0.8241 | 1.0000 | 0.7472 |
| *E.coli* | 0.8332 | 0.8698 | -0.7762 | 0.8853 | -0.6086 | -0.8502 | 0.8585 | 0.8828 | 0.7604 | 0.7477 | 0.5756 | -0.8927 | 0.7472 | 1.0000 |
| NC (Excision wound model) Day12 | -0.2139 | -0.1477 | 0.1069 | -0.1646 | -0.1876 | 0.4051 | -0.1361 | -0.1559 | -0.1019 | -0.1256 | -0.0386 | 0.2812 | -0.0596 | -0.5001 |
| OS (Excision wound model)Day12 | 0.7902 | 0.8076 | -0.5861 | 0.7999 | -0.7014 | -0.4634 | 0.8090 | 0.8021 | 0.8116 | 0.8060 | 0.3336 | -0.5614 | 0.8187 | 0.5002 |
| MEBO (Excision wound model)Day12 | 0.0177 | 0.1311 | -0.3427 | 0.0939 | -0.0881 | -0.1898 | 0.1684 | 0.1055 | 0.2611 | 0.0492 | 0.3047 | -0.1159 | 0.1196 | -0.1907 |
| EGLI (Excision wound model)Day12 | 0.5324 | 0.3958 | -0.0558 | 0.3808 | -0.3660 | 0.0631 | 0.3998 | 0.3772 | 0.4867 | 0.5397 | -0.3560 | 0.0409 | 0.4439 | 0.0592 |
| P-Coumaric Acid(µg/g latex) | -0.9577 | -0.9994 | 0.8280 | -0.9998 | 0.6654 | 0.8723 | -0.9978 | -1.0000 | -0.9658 | -0.9300 | -0.6014 | 0.9060 | -0.9481 | -0.8828 |
| Gallic Acid(µg/g latex) | 0.9577 | 0.9994 | -0.8280 | 0.9998 | -0.6654 | -0.8723 | 0.9978 | 1.0000 | 0.9658 | 0.9300 | 0.6014 | -0.9060 | 0.9481 | 0.8828 |
| Rutin(µg/g latex) | 0.9577 | 0.9994 | -0.8280 | 0.9998 | -0.6654 | -0.8723 | 0.9978 | 1.0000 | 0.9658 | 0.9300 | 0.6014 | -0.9060 | 0.9481 | 0.8828 |
| Naringin(µg/g latex) | 0.9577 | 0.9994 | -0.8280 | 0.9998 | -0.6654 | -0.8723 | 0.9978 | 1.0000 | 0.9658 | 0.9300 | 0.6014 | -0.9060 | 0.9481 | 0.8828 |
| ph OEGLI | 0.9577 | 0.9994 | -0.8280 | 0.9998 | -0.6654 | -0.8723 | 0.9978 | 1.0000 | 0.9658 | 0.9300 | 0.6014 | -0.9060 | 0.9481 | 0.8828 |
| ph OEGLII | 0.9577 | 0.9994 | -0.8280 | 0.9998 | -0.6654 | -0.8723 | 0.9978 | 1.0000 | 0.9658 | 0.9300 | 0.6014 | -0.9060 | 0.9481 | 0.8828 |
| pH OPTLI | -0.9577 | -0.9994 | 0.8280 | -0.9998 | 0.6654 | 0.8723 | -0.9978 | -1.0000 | -0.9658 | -0.9300 | -0.6014 | 0.9060 | -0.9481 | -0.8828 |
| ph OPTLII | -0.9577 | -0.9994 | 0.8280 | -0.9998 | 0.6654 | 0.8723 | -0.9978 | -1.0000 | -0.9658 | -0.9300 | -0.6014 | 0.9060 | -0.9481 | -0.8828 |
| NC (Burn wound model) Day 21 | -0.9564 | -0.9933 | 0.8394 | -0.9925 | 0.7263 | 0.8261 | -0.9934 | -0.9931 | -0.9568 | -0.9117 | -0.5578 | 0.8714 | -0.9191 | -0.8730 |
| OS (Burn wound model)Day 21 | -0.9547 | -0.9981 | 0.8205 | -0.9990 | 0.6393 | 0.8869 | -0.9958 | -0.9990 | -0.9658 | -0.9336 | -0.6161 | 0.9160 | -0.9558 | -0.8833 |
| MEBO (Burn wound model)Day 21 | -0.9569 | -0.9994 | 0.8307 | -0.9998 | 0.6676 | 0.8729 | -0.9979 | -1.0000 | -0.9654 | -0.9283 | -0.6032 | 0.9069 | -0.9466 | -0.8836 |
| PTLI (Burn wound model)Day 21 | -0.9608 | -0.9992 | 0.8172 | -0.9998 | 0.6564 | 0.8696 | -0.9971 | -0.9998 | -0.9674 | -0.9363 | -0.5940 | 0.9023 | -0.9537 | -0.8792 |
| PTLII (Burn wound model)Day 21 | -0.9574 | -0.9994 | 0.8287 | -0.9998 | 0.6656 | 0.8728 | -0.9978 | -1.0000 | -0.9657 | -0.9296 | -0.6023 | 0.9065 | -0.9478 | -0.8831 |




**الأشكال:(01)** المنحى القياسي للغلوكوز؛ **(02)** المنحى القياسي لزيت الصويا Soybean Oil؛ (03) المنحى القياسي لألبومين البقري؛ **(04)** المنحى القياسي لحمض الغاليك؛ **(05)** المنحى القياسي لـ Quercetin و**(06)** المنحى القياسي لـ Catechin و**(07)** المنحى القياسي لحمض الأسكوربيك.

تم بحمد الله