

تحري مركبات فينولية في خلاصة الكمأة السوداء *Terfezia claveryi* باستخدام LC-MS/MS وصياغتها وتقييمها في الزجاج

عبد الله الأتاسي*

ومحمد عثمان**

الملخص

خلفية البحث وهدفه: ازداد الاهتمام حديثاً بالمواد ذات المنشأ الطبيعي من أجل إيجاد وابتكار مستحضرات فعالة وآمنة بعيداً عن المركبات الكيميائية. تم في هذا البحث دراسة التركيب الفينولي للخلاصة الإيتانولية 70% لنوع الكمأة السوداء *T.claveryi* المنتشر بكثرة في سوريا باستخدام تقنية LC-MS/MS، ثم وضع الخلاصة الجافة ضمن خمس صيغ نصف صلبة وتقييمها في الزجاج، من حيث خصائصها الفيزيوكيميائية وتحرر مركبات الخلاصة منها. تبين وجود 15 مركباً من المركبات الفينولية التي تم التحري عنها في الخلاصة، من أهمها *p-Hydroxy benzoic acid* و *Gallic acid* و *Syringic acid*، والتي لها فوائد علاجية وتجميلية جديّة. ساعدت بعض السواغات ذات الفعالية الاستحلابية والرافعة للقوام في الحصول على صيغ مقبولة تجملياً وملائمة للتطبيق الجلدي. أدى وجود العوامل المهلّمة وزيادة المحتوى الكاره للماء في الصيغ المحضّرة إلى تأخير تحرر مركبات الخلاصة منها. كلمات مفتاحية: كمأة *Terfezia claveryi*، المركبات الفينولية، الكروماتوغرافيا السائلة المقترنة بمطيافية الكتلة، هلامة استحلابية، خلية فرانز.

* طالب ماجستير صيدلة صناعية في قسم الصيدلانيات والتكنولوجيا الصيدلانية، كلية الصيدلة، جامعة دمشق.
** دكتورة في الصيدلة الفيزيائية، مدرّس في قسم الصيدلانيات والتكنولوجيا الصيدلانية، كلية الصيدلة، جامعة دمشق.

Detection of Phenolic Compounds in *Terfezia claveryi* Black Truffle's Extract by LC-MS/MS, Formulation and *in-vitro* Evaluation

Abdullah AL-ATASSI *

Mohammad OTHMAN**

Abstract

Recently, the interest in natural materials has increased for innovating of safe and effective products free of chemical compounds. In this paper, phenolic compounds of ethanolic 70% extract of black truffle *T.claveryi*, a widespread mushroom in Syria, was studied by using LC-MS/MS technique. Furthermore the dried extracts were formulated in five semi-solid formulas, their physicochemical properties and the release profiles of extract's compounds from these formulas were *in-vitro* evaluated. It has been predicted about 15 phenolic compounds in the extract; as *p*-Hydroxy benzoic acid, gallic and syringic acids, these compounds have therapeutic and cosmetic benefits to skin. Emulsifying and gelling agents were contributed to improve of formulas characteristics for their future application on the skin. The gelling agents and hydrophobic content of the formulas have conducted to delayed release of extract's compounds. **Keywords:** *Terfezia claveryi* truffle, Polyphenolic compounds, LC-MS/MS, Emulgel, Franz cell.

*MSc student in Industrial pharmacy, Department of pharmaceutics and pharmaceutical technology, faculty of pharmacy, Damascus university.

**PhD in Physical pharmacy, Instructor in Department of pharmaceutics and pharmaceutical technology, faculty of pharmacy, Damascus university.

المقدمة Introduction

تُعرف الكمأة بأنها من الفطور الكبروية Macrofungi البرية القابلة للأكل، النامية تحت سطح الأرض Hypogeous، وهي من الفطور الزقية Ascomycetes التي لا تملك سويقة وقبعة وخياشيم، على عكس بقية أنواع الفطور كالفطور الدعامية (Enshasy Basidiomycetes) (Zillich et al., 2015). et al., 2013). للكمأة مئات الأنواع، والأنواع الصحراوية هي التي تنمو في سوريا، وتنتمي للفصيلة Pezizaceae (Kagan-Zur et al., 2014). على الرغم من استهلاك الكمأة كغذاء شعبي إضافةً لمذاقها الخاص والمميز، إلا أنها تحوي كميات كبيرة من البروتينات وتراكيز عالية من مضادات الأكسدة، لذلك يمكن أن تعدّ غذاءً متكاملًا ومتممًا غذائياً (Owaid, 2018). قامت العديد من الدراسات بتسليط الضوء على الفعالية المضادة للأكسدة لأنواع الكمأة والمقارنة بينها وتحديد محتواها من تلك المركبات، وبشكل خاص المركبات الفينولية polyphenols. ولعل أهمها دراسة أجريت على نوع الكمأة البيضاء *Tirmania nivea* (AI-Iaith, 2010). وقد قام باحثون بالاستفادة من الفعالية العالية المضادة للأكسدة لنوع الكمأة السوداء *Terfezia claveryi* في حماية الجرذان من السمية الكبدية المُحدثة برباعي كلور الكربون (Veeraraghavan et al., 2021). تشكل عديدات الفينول حلاً فعالاً لحماية الجلد من الأشعة فوق البنفسجية وإعادة حيويته ومنع شيخوخته وكبح الجذور الحرة (Masaki, 2010). سعت العديد من شركات التجميل إلى استثمار مختلف أنواع الفطور كالمشروم، في صياغة مستحضرات مرطبة ومضادة لتصبغات وشحوب الجلد وشيخوخته. رغم الاستفادة من الخصائص العلاجية لبعض الفطور إلا أن هناك العديد من الفطور التي لم تُدرس بشكل كافٍ، والتي تملك قيمة كبيرة لاستخدامها في الصناعات التجميلية (Hyde et al., 2010; Wu et al., 2016).

لا تتطلب معظم الصيغ التجميلية المطبقة على الجلد اختراقاً عميقاً لطبقاته، فهي تعمل سطحياً فقط غالباً. لكن الصيغ الخاصة بالفعالية المضادة للشيخوخة والتي تحوي عديدات الفينول يجب أن تكون قادرة على تحريرها من الصيغة واختراق الطبقات المتقرنة والنفاذ للطبقات العميقة (كطبقات البشرة الحية والأدمة) حتى تعطي هذه المركبات تأثيراتها الحيوية الكاملة والمثالية (Zillich et al., 2015). يخضع تحرر المواد الفعالة من الأشكال نصف الصلبة لعوائق واعتبارات تتعلق بالخصائص الفيزيوكيميائية للحامل، وتوصي منظمة الغذاء والدواء الأمريكية FDA باختبار التحرر في الزجاج كمقياس لنشابه المستحضرات نصف الصلبة خلال عملية تطويرها وعند إجراء تغييرات بعد الموافقة عليها، من أجل التحري عن أي اختلاف في نمط التحرر، مما يشير ربما إلى تغير سلوك الصيغة في العضوية الحية (Thakker, 2020). يهدف هذا البحث إلى إجراء دراسة أولية للتركيب الفينولي للخلاصة الإيتانولية 70% لفطر الكمأة *T.claveryi* باستخدام LC-MS/MS، وصياغتها ضمن أشكال صيدلانية نصف صلبة ذات أهداف علاجية وتجميلية، ودراسة أنماط تحررها في الزجاج.

المواد والطرائق Materials and methods

المواد المستخدمة

الإيتانول 70% Ethanol (ساري، سوريا)، فوسفات ثنائية الصوديوم $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ وفوسفات أحادية البوتاسيوم KH_2PO_4 (Fluka, Switzerland)، فازلين، وزيت البارافين (Farmasino, China)، بولي إيثيلين غليكول 200 & 4000 (Riedel-de Haen, Germany)، زيت اللوز الحلو (محلي)، أحادي شمعات السوربيتان (سبان 60) (Chem.LAB, China)، Repoly 315 (Reachin)، Oilvatis 15 (Medolla, Italy)، chemical, China).

إلى المذيب 10:1 على الترتيب. بعد 24 ساعة، تم تثفيل وترشيح الخلاصة، ثم تبخير المذيب باستعمال المبخر الدوار (Great Wall, Rotary evaporator R-1001- VN, China) بدرجة حرارة (45°م) حتى الوصول إلى خلاصة جافة، وحفظت الخلاصة الجافة الناتجة في المجمدة.

دراسة التركيب الفينولي للخلاصة باستخدام تقنية LC-MS/MS

أجري هذا التحليل باستخدام جهاز الكروماتوغرافيا السائلة المقترن بمطيافية الكتلة (Agilent technologies LC-MS/MS, USA) في هيئة الطاقة الذرية في دمشق، اعتماداً على الشروط الكروماتوغرافية ومنتابئات مطياف الكتلة وفقاً لـ (Orc'ic et al., 2014) و (Kıvrak, 2015). تم انتقاء 20 مركباً فينولياً شائعاً من حموض فينولية وفلافونويدات للتحري عنها بنمط التأين السالب كفيلاً فقط بالاستعانة بتقنية Multiple reaction monitoring (MRM) (Hancock et al., 2005)، اعتماداً على المتتابئات المثالية الخاصة بكل مركب (كمون التشطي $V_{\text{fragminton}}$ ، كمون التصادم $V_{\text{collision}}$ ، الشاردة الطليعية Precursor ion، الشاردة الناتجة Product ion، زمن الاحتباس retention time).

المركبات الفينولية التي تم التحري عنها هي: Eugenol, Catechin, *p*-Hydroxy benzoic acid, Protocatechuic acid, Gentisic acid, Vanillic acid, Gallic acid, Chlorogenic acid, Homogentisic acid, *p*-Coumaric acid, Hesperidin, 3,4-Dihydroxybenzaldehyde, Vanillin, Ferulic acid, trans-Cinnamic acid, Syringic acid, Pyrocatechol, Rutin, Apigenin, and Quinic acid).

تحضير الصيغ نصف الصلبة وتقييمها

تم اختيار خمس صيغ نصف صلبة مختلفة من ناحية القطبية والخصائص الفيزيوكيميائية (مرهم كاره للماء

EDTA ثنائي الصوديوم (BDH, England)، بروبيلين، غليكول، وتري إيتانول أمين، وزيت ألكيل بنزوات-C12، 15، وكاربوبول 934P، وميثيل بارابين، وبروبيل بارابين (Sigma-Aldrich, Germany).

تحضير عينة الكمأة :



الشكل (1): الكمأة السوداء *Terfezia claveryi*

تم جمع الأجسام الثمرية ascocarps للكمأة من مدينة حمص في شهر نيسان 2020م، وقد كانت سليمة وخالية من أي مظهر تخرب خارجي (الشكل 1). تم تصنيف نوع الكمأة المدروس بالاعتماد على الخصائص الشكلية والمجهرية والرجوع للأدبيات (Alsheikh, 1995). نُظِّفَت الأجسام الثمرية للكمأة بالماء وأزيلت الأثرية بتقشير الطبقة السطحية، ثم قطعت إلى شرائح وجففت ضمن فرن (40°م) خلال ثلاثة أيام، ثم تم طحن الكمأة المجففة وحفظها بعبوات بلاستيكية محكمة الإغلاق بحرارة المخبر حتى الاستخدام.

تحضير الخلاصة الجافة للكمأة

حُضِرَت الخلاصة بطريقة النقع بالإيتانول 70% لمدة يوم كامل بدرجة حرارة المخبر، مع تعريض الخلاصة للأموح فوق الصوتية (PHYLO USH-10D, Italy) لمدة ربع ساعة في بداية الاستخلاص، وكانت نسبة مسحوق الكمأة

Hydrophobic ointment، هلامة استحلابية Emulgel، هلامة ثنائية Bigel، هلامة مائية Hydrogel، مرهم منحل في الماء (Water-soluble ointment). وقد امتازت الصيغ الخمس بإمكانية تحضيرها وإدخال الخلاصة إليها على البارد دون الحاجة للتسخين، باستخدام سواغات تقليدية وغير تقليدية. يوضح (الجدول 1) مكونات الصيغ الخمس والنسب المئوية لكل مكون.

الجدول (1): مكونات الصيغ الخمس المحضرة من خلاصة الكمأة الجافة، والنسبة المئوية لكل مكون

F5	F4	F3	F2	F1	المكون
مرهم منحل في الماء (w/w%)	هلامة مائية (w/w%)	هلامة ثنائية (w/w%)	هلامة استحلابية (w/w%)	مرهم كاره للماء (w/w%)	
-	-	-	-	90	فازلين
-	-	-	-	8	زيت البارافين
-	83.18	66.104	39.8	-	ماء مقطر
-	13	10.4	13	-	بروبيلين غليكول
-	0.18	0.18	0.18	-	ميثيل بارابين
-	0.02	0.02	0.02	-	بروبيل بارابين
-	-	-	40	-	Alkyl benzoate ^a
-	-	-	2	-	Olivatis 15 ^b
-	-	-	3	-	Repoly 315 ^c
-	-	16	-	-	زيت الوز الحلو
-	-	4	-	-	سبان 60
-	0.8	0.64	-	-	كارببول 934P
-	0.02	0.016	-	-	EDTA
-	0.8	0.64	-	-	TEA
30	-	-	-	-	PEG 4000
68	-	-	-	-	PEG 200
2	2	2	2	2	الخلاصة الجافة

(F1: R6, 12 rpm; F2: R6, 10 rpm; F3: R7, 30 rpm; F4: R7, 60 rpm; F5: R7, 20 rpm). تكرر القراءة ثلاث مرات ويُؤخذ الوسطي، مع حساب الانحراف المعياري (mean ± SD).

دراسة تحرر المركبات الفينولية من الصيغ في الزجاج:

أُجريت دراسة تحرر المركبات الفينولية الخاصة بالخلاصة من الصيغ المحضرة في الزجاج باستخدام خلايا فرانز

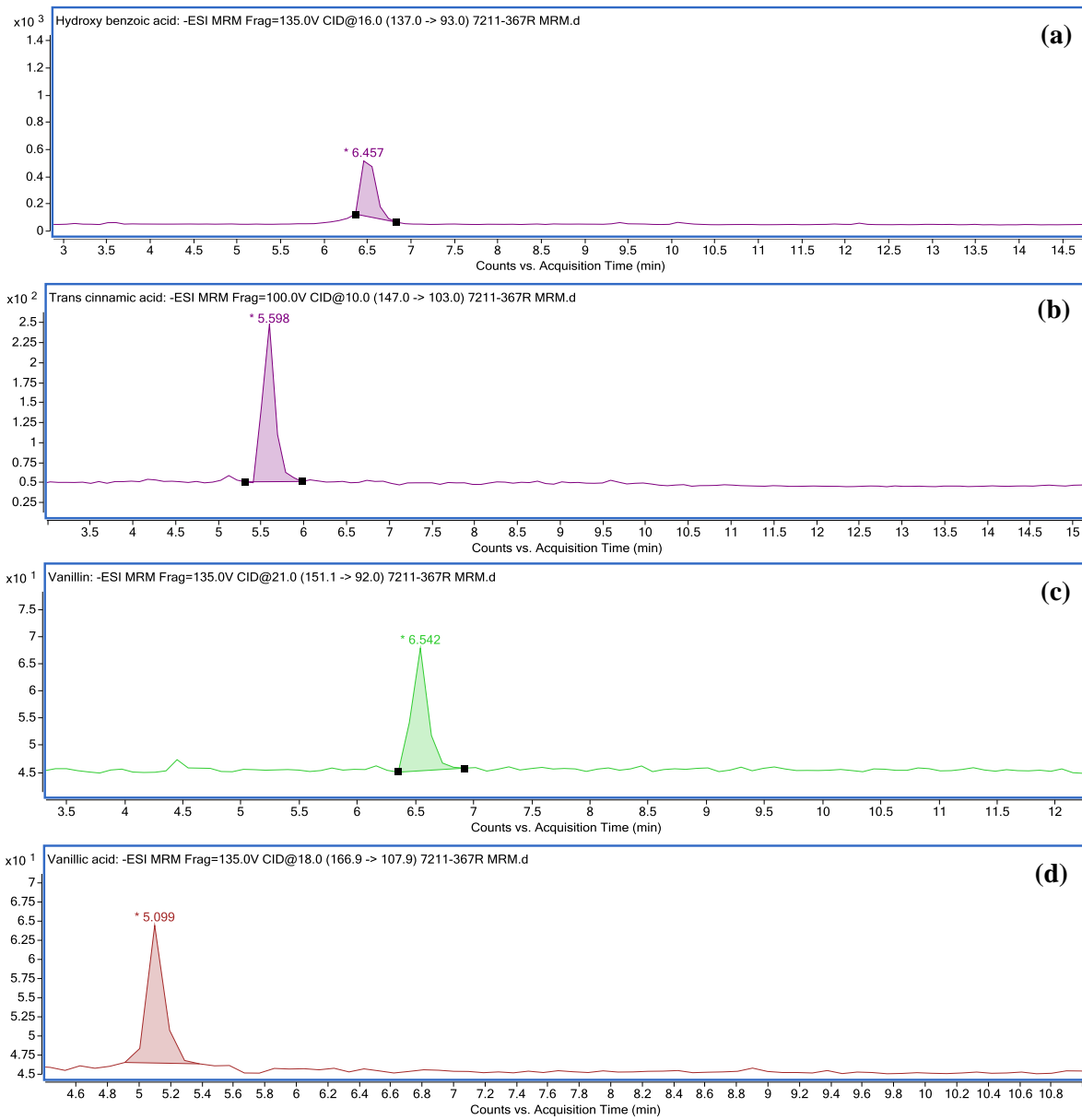
وقد قُيِّمت الصيغ من حيث الخصائص الحسية organoleptic properties، وقيست درجة الحموضة لكل صيغة بتمديدتها 10 مرات بالماء المقطر والقياس بجهاز (HANNA instruments pH 211, USA)، وتم حساب اللزوجة بطريقة بروكفيلد Brookfield باستخدام (Myr Viscotic VR 3000, Spain) عند درجة الحرارة (20°م)، وبالشروط المناسبة لكل صيغة من حيث أنماط المغازل

النتائج والمناقشة **Results and discussion**:

أشارت نتائج تحليل LC-MS/MS إلى إمكانية وجود 15 مركباً فينولياً من أصل 20 مركباً تم التحري عنها، وهي مرتبة في (الجدول 2) بحسب شدة ظهور القمة الخاصة بها (الأكثر وفرة) مع الأوزان الجزيئية الخاصة بها وأوزان الشظية الطليعية والشظية الناتجة لكل مركب. والمخططات في (الشكل 2) خاصة ببعض المركبات الفينولية التي تم التنبؤ بوجودها في الخلاصة.

يظهر من نتائج هذا التحليل أن مركب *p*-Hydroxy benzoic acid هو الأكثر وفرة من بين المركبات التي تم التحري عنها، وهذا يتوافق مع دراسة (Kıvrak, 2015) التي كان فيها هذا المركب هو الأكثر وفرة وذلك في نفس نوع الكماء، لكن عدم التنبؤ بوجود المركبات الثلاث: Pyrocatechol و Gentsic acid و-3,4-Dihydroxybenzaldehyde، يخالف الدراسة المذكورة. كما أن عدم التنبؤ بوجود مركبات Eugenol و Chlorogenic acid يخالف دراسة (Vahdani et al., 2017) على نفس نوع الكماء. وقد تُعزى التغيرات في التركيب والمحتوى الفينولي للعينات من نفس النوع إلى تغيرات في تصنيع هذه المركبات نتيجة اختلاف الظروف المناخية، والتربة، والمنطقة الجغرافية التي جُمعت منها، أو اختلاف طريقة الاستخلاص، واختلافات في متثباتات الطرائق التحليلية.

Franz cells محلية الصنع، وأغشية نترات السللوز بمسام (Sartorius Stedim biotech GmbH, 0.45 ميكرون Germany). تم مد 0.5 غ من الصيغة على الغشاء ضمن حجرة المعطي donor بمساحة سطح انتشار 1.77 سم²، واستُخدم الوقاء الفوسفاتي pH 5.4 (British Pharmacopoeia Volume V, 2013) كوسط تحرر ضمن حجرة المستقبل acceptor. وضُبطت الحرارة ضمن حجرة المستقبل بحضنها بحمام مائي مضبوط الحرارة (1± 32م°)، مع تحريك مستمر ضمن الحجرة بسرعة 300 rpm. تم سحب عينات بحجم 2 مل من حجرة المستقبل، وذلك خلال 6 فواصل زمنية (15 min, 30 min, 1 h, 2 h, 4 h, 6 h) مع تعويض الحجم بكمية مساوية من وسط الاستقبال كل مرة. تم قياس الامتصاص عند طول موجة 282 نانومتر (طول موجة الامتصاص الأعظمي للمركبات الفينولية في الخلاصة (Aiyalu et al., 2016)) باستخدام جهاز (pg instruments UV-VIS Spectrophotometer T80+, UK) وحساب الكمية المتحررة من خلال المعادلة الناتجة عن السلسلة العيارية للخلاصة: $y=0.0018x+0.0048$, $R^2=0.9998$). أُعيدت دراسة التحرر لكل صيغة ثلاث مرات، وأُخذت النتائج الوسطية مع حساب الانحراف المعياري (mean ± SD).



الشكل 2: كروماتوغرامات بعض المركبات الفينولية لخلصة الكمأة *T.claveryi* في تقنية LC-MS/MS، حيث:

(a): Hydroxy benzoic acid, (b): Trans cinnamic acid, (c): Vanillin, (d): Vanillic acid

(a): زيت صناعي ناتج عن أسترة حمض البنزويك مع أحوال دسمة ذات سلسلة ألكيلية C12-C15.

(b): عامل استحلابي ز/م ومطرزي، ينتج عن فك أسترة الحموض الدسمة مع الغليسيرول في زيت الزيتون، وإضافة سلاسل بولي أوكسي إيثيلين، ويسمى أيضاً Olive oil Glycereth-8 Esters.

(c): سواغ عبارة عن مزيج من ثلاث مواد وهي Polyacrylamide (رافع قوام) Isoparaffin C13-14 (مطرزي ورافع قوام) و Laureth-7 (عامل استحلابي ز/م).

يظهر من خلال نتائج تحليل LC-MS/MS أن الحموض الفينولية هي المركبات الفينولية الأكثر وفرة في نوع الكمأة المدروس (10 مركبات من مشتقات الحموض الفينولية)، مع وجود بعض الفلافونويدات بكميات أقل (4 مركبات)، إضافةً لإمكانية وجود أحد الأغوال الحلقية (quinic acid). تملك الحموض الفينولية المشتقة من حمض هيدروكسي سيناميك مثل حمض السيناميك والفيروليك وبارا كوماريك فعاليات حيوية واسعة مضادة للأكسدة، ومضادة للالتهاب، ومضادة للجراثيم، ومثبطة للكولاجيناز والتيروزيناز، وحامية من الأشعة فوق البنفسجية، وبالتالي فهي مرشحة بقوة

لاستثمارها في الصيغ التجميلية، كمضادات للشيخوخة ومنظّمات لتصبغ الجلد، وكمضادات للالتهاب (Taofiq et al., 2017). يملك الفلافونويد الغليكوزيدي هيسبيريدين فعالية مضادة للالتهاب، بتثبيط أنزيمي Cyclooxygenase (COX) وLipoxygenase (LOX)، ويساهم الكاتشين في تسريع شفاء الجروح بكبح الجذور الحرة في موقع الجرح، أما مركب الأبيجينين فهو من المركبات التي تقي من السرطان بتثبيط أنزيم CYP2C9 إضافة إلى تثبيطه الفعالية الالتهابية بعدة آليات (Nagula & Wairkar, 2019).

الجدول 2: المركبات الفينولية التي تم التنبؤ عن وجودها في خلاصة الكمأة السوداء الإيتانولية 70% (مرتبة بحسب الأكثر وفرة)

	Compound name	Total MW	Precursor ion [M-H] ⁻ (m/z)	Product ion [M-H] ⁻ (m/z)	Rt (min)
1	<i>p</i> -Hydroxy benzoic acid	138.12	137	93	6.457
2	Syringic acid	198.17	199	155.1	8.015
3	trans-Cinnamic acid	148.16	147	103	5.598
4	<i>p</i> -Coumaric acid	164.16	163	119	15.844
5	Gallic acid	170.12	169.1	125	7.275
6	Homogentisic acid	168.15	167	123	3.955
7	Protocatechuic acid	154.12	153	109	2.543
8	Vanillin	152.15	151.1	92	6.542
9	Ferulic acid	194.18	193	134	3.079
10	Rutin	610.5	609	301	6.376
11	Vanillic acid	168.15	166.9	107.9	5.099
12	Quinic acid	191	191	93	3.561
13	Apigenin	270.24	269	151	2.115
14	Catechin	290.27	289	245	8.002
15	Hesperidin	610.6	611	303	15.209

حيث تشير MW للوزن الجزيئي، وRt لزمن الاحتباس الخاصين بالمركب.

ينبغي تقييم الخصائص الفيزيوكيميائية للصيغ المحضرة من أجل الحصول على أشكال نصف صلبة ذات مقبولية وجودة عالية. يظهر من نتائج الفحص الحسي للصيغ الخمس المحضرة من الخلاصة أن صيغ الهلاميات F2، F3، F4 هي الأكثر قبولاً تجميلاً، وقد لوحظ أن الصيغة F2 (الهلامية الاستحلابية) كانت الأفضل مظهرًا وملمسًا ومدًا على الجلد، بينما كانت صيغتا المرهمين الكاره F1 والمنحل F5 ذواتي ملمس دهني وشمعي على الترتيب.

تراوحت درجات حموضة الصيغ الخمس المحضرة ما بين 5.06-6.76، وتعود القيمة الأخفض للصيغة F5 (المرهم المنحل) والقيمة الأعلى للصيغة F3 (الهلامية الثنائية). إن مجال درجة الحموضة هذا يدل على أن كافة الصيغ ملائمة للتطبيق الجلدي، حيث لا تتجاوز درجات حموضتها مجال درجة الحموضة الفيزيولوجي للجلد السليم (4.5-7). من المهم تقييم لزوجة الصيغ المحضرة باعتبارها تؤثر في عدة أمور منها تحرر المركبات الفعالة وقابلية المد على

المحبين للماء hydrophilic، وذلك بحسب الترتيب السابق، وهذا يؤكد دور طبيعة الأساس الحامل وتأثيره على تحرر المركبات الفعالة من الصيغة، حيث يعيق وجود المحتوى الدسم في الصيغة من وصول مركبات الخلاصة إلى وسط التحرر المائي، وهذا موافق لدراستي تحرر المركبات الفينولية من الهلاميات الثنائية والمستحلبات (Ramanauskienė et al., 2019; Zillich et al., 2013).

لكن تحرر المركبات الفينولية لخلاصة الكمأة من صيغة المرهم الكاره أو الصيغ ذات المحتوى الكاره للماء عموماً كان جيداً، وهذا يخالف دراسة تحرر الحموض الفينولية الخاصة بالعكبر من مرهم ذي محتوى دسم، حيث لم تتجاوز نسبة المركبات المتحررة من المرهم (الذي يحوي نسبة عالية من الفازلين) الـ 5% بعد مرور 8 ساعات من بدء الدراسة، وقد تم تفسير ذلك بأن الحموض الفينولية الخاصة بخلاصة العكبر محبة للدسم، باعتبار أن الأسس الدسمة تحجز المركبات المحبة للدسم وتمنع تحررها للأوساط المائية (الشبيه يحل الشبيه) (Cilius et al., 2013). بالتالي، فإن المركبات الفينولية لخلاصة الكمأة محبة للماء، وهذا متوقع بالرجوع لنتائج تحليل LC-MS/MS لمحتوى الخلاصة من المركبات الفينولية، والتي يظهر فيها أن الحموض الفينولية المحبة للماء هي الأكثر وفرة مقارنةً مع بقية المركبات الفينولية، كحموض Hydroxybenzoic acid و Syringic acid و Gallic acid.

يُعزى التشابه الكبير في مرئسمات التحرر للصيغتين F2 و F3 مع صيغة المرهم الكاره F1 الحاوية على كمية كبيرة من الفازلين، إلى احتواء صيغة الهلامية الاستحلابية F2 على كمية كبيرة من زيت الكليل بنزوات الكاره للماء، والذي يملك اختراقية منخفضة، بحيث يشكل جسيمات على سطح غشاء التحرر وحاجزاً يعيق انتقال مركبات الخلاصة

الجلد، وقد تراوحت قيم اللزوجة للصيغ الخمس ما بين 164266-35333 سنتيبواز، وتعود القيمة الأخفض للصيغة F4 (الهلامية المائية) والقيمة الأعلى للصيغة F1 (المرهم الكاره)، ويظهر أن صيغتي المرهمين F1 و F5 هما الأعلى لزوجة مقارنةً بصيغ الهلاميات. إن ترتيب قيم اللزوجة للهلاميات هو التالي بدءاً من الأعلى: الهلامية الثنائية (F3) < الهلامية الاستحلابية (F2) < الهلامية المائية (F4)، ويمكن تفسير ارتفاع لزوجة الهلامية الاستحلابية على الهلامية المائية بأن وجود المواد الدسمة في الهلامية الاستحلابية يرفع من قيمة اللزوجة، أما بالنسبة للهلامية الثنائية فهي الأعلى لزوجة نظراً إلى أن طورها الزيتي الداخلي مهلم (هلامية زيتية organogel) إضافة إلى الهلامية المائية الخارجية.

تعد اختبارات تحرر المواد الفعالة من الصيغ نصف الصلبة متطلباً أساسياً في تطوير صيغ ذات كفاءة عالية. يعرض (الشكل 3) مقارنةً بين منحنيات تحرر مركبات خلاصة الكمأة من الصيغ الخمس من خلال رسم العلاقة بين النسبة المئوية التراكمية المتحررة مع الزمن.

بعد ساعة من بدء الدراسة، تحرر من الصيغة F5 61.3% من مركبات الخلاصة، أما الصيغة F4 فقد حررت 44.7%، وبالنسبة لبقية الصيغ الثلاث F1 و F2 و F3 فقد تراوحت النسب المتحررة منها بين 26.7-34.7%، كان أعلاها الصيغة F3. بعد مرور ست ساعات على بدء الدراسة، حققت الصيغتين F4 و F5 تحرراً شبه تام لمركبات الخلاصة بنسبة 97.7% و 98.3% على الترتيب، أما النسب المئوية المتحررة من بقية الصيغ الثلاث F1 و F2 و F3 فتراوحت بين 72.7-79.8%.

اعتماداً على النتائج السابقة نجد أن الصيغ ذات المحتوى الكاره للماء مرتبةً بحسب الأكثر ألفة للدسم lipophilic: F1 < F2 < F3 أظهرت تحرراً أقل من الصيغتين F4 و F5

الاستنتاجات **Conclusions**:

إن تأكيد وجود المركبات الفينولية السابقة بالاستعانة بتقنية LC-MS/MS في نوع الكمأة المدروس يدعم استخدام وتطبيقات الكمأة الطبية والتجميلية والغذائية المختلفة. نستنتج إمكانية الاستعانة بالأسس الدسمة والبلمرات في تأخير وإطالة تحرر المركبات الفينولية لخلاصة الكمأة، مع احتمالية تغير سلوك تحرر مركبات الخلاصة عند اختلاف توليفة المركبات الفينولية الخاصة بها وأنواعها وكمياتها، بسبب تنوع الخصائص الكيميائية وقطبيات تلك المركبات. تظهر هذه النتائج أهمية دراسة التحرر في الزجاج في تقييم ملائمة الأساس الحامل لإدخال المركبات الفعالة إليه، والذي يؤثر في النهاية على الفعالية العلاجية لهذه المركبات، وتسلط الضوء على أحد الفطور المحليّة غير المستثمرة والتي قد تقدّم منافع صحية واقتصادية واسعة.

الفينولية إلى وسط التحرر، إضافةً لوجود الشبكة البلمرية لبولي أكريلاميد، الذي يدخل في تركيب سواغ Repoly 315، أما صيغة الهلامة الثنائية F3 فإن وجود الشبكة البلمرية للكارببول 934P، إضافةً إلى الهلامة الزيتية من زيت اللوز وسبان 60 يعيق كلاهما من تحرر مركبات الخلاصة الفينولية ويؤخره. لكن ما يميز الصيغتين F2 وF3 عن الصيغة F1 هو تحريرهما كمية أعلى من مركبات الخلاصة عند بدء الدراسة (أول نصف ساعة) بسبب محتواهما المائي.

حققت صيغة المرهم المنحل F5 تحرراً سريعاً وتاماً بسبب بنيته المكونة بشكل كامل من PEG المحب للماء، وانحلاله السريع في وسط التحرر المائي، خلافاً لصيغة الهلامة المائية F4 التي أخرت فيها الشبكة ثلاثية الأبعاد لبلمر الكارببول وأعاقت تحرر المركبات الفينولية للخلاصة.

References

1. Aiyalu, R., Govindarjan, A., & Ramasamy, A. (2016). **Formulation and evaluation of topical herbal gel for the treatment of arthritis in animal model.** Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, 52(3). <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1590/S1984-82502016000300015>
2. Al-laith, A. A. A. (2010). **Antioxidant components and antioxidant/antiradical activities of desert truffle (*Tirmania nivea*) from various Middle Eastern origins.** Journal of Food Composition and Analysis, 23(1), 15–22. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2009.07.005>
3. Alsheikh, A. M. (1995). **Taxonomy and Mycorrhizal Ecology of the Desert Truffles in the Genus *Terfezia*.** Oregon State University.
4. British Pharmacopoeia volume V. (2013). In **British Pharmacopoeia.**
5. Cilius, M., Ramanauskiene, K., & Briedis, V. (2013). **Release of Propolis Phenolic Acids from Semisolid Formulations and Their Penetration into the Human Skin In Vitro.** Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1155/2013/958717>
6. Enshasy, H. El, Elsayed, E. A., Aziz, R., & Wadaan, M. A. (2013). **Mushrooms and Truffles : Historical Biofactories for Complementary Medicine in Africa and in the Middle East.** Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2013. <https://doi.org/10.1155/2013/620451>
7. Hancock, P., Dunstan, J., Wauschkuhn, C., Fuegel, D., & Anastassiades, M. (2005). **COMPARISON OF SIM AND MRM FOR THE QUANTITATIVE CONFIRMATION OF PESTICIDE RESIDUES IN FOOD.** <https://www.waters.com/webassets/cms/library/docs/720001439en.pdf>
8. Hyde, K. D., Bahkali, A. H., & Moslem, M. A. (2010). **Fungi — an unusual source for cosmetics.** Fungal Diversity, 43(2010), 1–9. <https://doi.org/10.1007/s13225-010-0043-3>
9. Kagan-Zur, V., Roth-Bejerano, N., Sitrit, Y., & Morte, A. (Eds.). (2014). **Desert Truffles Phylogeny, Physiology, Distribution and Domestication.** Springer Berlin Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-40096-4>
10. Kıvrak, İ. (2015). **Analytical Methods Applied to Assess Chemical Composition , Nutritional Value and In Vitro Bioactivities of *Terfezia olbiensis* and *Terfezia clavervi* from Turkey.** Food Anal. Methods, 8, 1279–1293. <https://doi.org/10.1007/s12161-014-0009-2>
11. Masaki, H. (2010). **Role of antioxidants in the skin: Anti-aging effects.** In Journal of Dermatological Science (Vol. 58, Issue 2010, pp. 85–90). Elsevier Ireland Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.jdermsci.2010.03.003>
12. Nagula, R. L., & Wairkar, S. (2019). **Recent advances in topical delivery of flavonoids : A review.** Journal of Controlled Release, 296(2019), 190–201. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2019.01.029>
13. Orčić, D., Francišković, M., Bekvalac, K., Svirčev, E., Beara, I., Lesjak, M., & Mimica-Dukić, N. (2014). **Quantitative determination of plant phenolics in *Urtica dioica* extracts by high-performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometric detection.** Food Chemistry, 143, 48–53. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.07.097>
14. Owaid, M. N. (2018). **Bioecology and uses of desert truffles (*Pezizales*) in Middle Eastern Bioecology and Uses of Desert Truffles (*Pezizales*) in the Middle East.** WALAILAK JOURNAL, 15(3), 179–188.
15. Ramanauskiene, K., Inkeniene, A. M., Puidokaite, E., & GRIGONIS, A. (2019). **QUALITY ANALYSIS OF SEMISOLID FORMULATIONS WITH THE LIQUID EXTRACT OF ELDERFLOWER (*SAMBUCUS NIGRA L.*).** Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research, 76(6), 1061–1071. <https://doi.org/10.32383/appdr/112052>
16. Taofiq, O., González-Paramás, A. M., Barreiro, M. F., & Ferreira, I. C. F. R. (2017). **Hydroxycinnamic Acids and Their Derivatives: Cosmeceutical Significance, Challenges and Future Perspectives. a Review.** Molecules, 22(2). <https://doi.org/10.3390/molecules22020281>
17. Thakker, K. (2020). Topicals and Transdermals. In N. Fotaki & S. Klein (Eds.), **In Vitro Drug Release Testing of Special Dosage Forms** (First Edit, pp. 155–175). John Wiley & Sons Ltd.
18. Vahdani, M., Rastegar, S., Rahimzadeh, M., Ahmadi, M., & Karmostaji, A. (2017). **Physicochemical Characteristics , Phenolic Profile , Mineral and Carbohydrate Contents of Two Truffle Species.** J. Agr. Sci. Tech., 19, 1091–1101.
19. Veeraraghavan, V. P., Hussain, S., Balakrishna, J. P., Dhawale, L., Kullappan, M., Ambrose, J. M., &

- Mohan, S. K. (2021). **A Comprehensive and Critical Review on Ethnopharmacological Importance of Desert Truffles: Terfezia claveryi , Terfezia boudieri , and Tirmania nivea.** Food Reviews International. <https://doi.org/10.1080/87559129.2021.1889581>
20. Wu, Y., Choi, M., Li, J., Yang, H., & Shin, H. (2016). **Mushroom Cosmetics : The Present and Future.** Cosmetics, 3(22). <https://doi.org/10.3390/cosmetics3030022>
21. Zillich, O. V, Eisner, P., & Kerscher, M. (2015). **Polyphenols as active ingredients for cosmetic products.** International Journal of Cosmetic Science, 455–464. <https://doi.org/10.1111/ics.12218>
22. Zillich, O. V, Hasenkopf, K., Eisner, P., & Kerscher, M. (2013). **Release and in vitro skin permeation of polyphenols from cosmetic emulsions.** International Journal of Cosmetic Science, 491–501. <https://doi.org/10.1111/ics.12072>