الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة فرحات عباس، سطيف

كلية علوم الطبيعة و الحياة

Universitè Ferhat Abbas Sètif

Facultè des Sciences de la Nature et de la Vie

قسم: الكيمياء الحيوية N° ………/SNV/2012

مذكرة

مقدمة من طرف: **درافة إسمهان**

لنيل شهادة **الماجستير**

تخصص: كيمياء حيوية وفيزيولوجيا تجريبية

الموضوع

تقدير المحتوى الفينولي لمستخلصات نبتة *Globularia alypum* و دراسة تأثيرها المضاد للأكسدة و التقرح المعدي التجريبي عند الفأر

نوقشت بتاريخ 2012/06/20

أمام لجنة المناقشة

الرئيس: د. عرعار لخميسي	أستاذ التعليم العالي	جامعة فرحات عباس سطيف
المشرف: د. عميرة إسماعين	أستاذ التعليم العالي	جامعة فرحات عباس سطيف
ممتحن : د. خنوف الصديق	أستاذ التعليم العالي	جامعة فرحات عباس سطيف
ممتحن: د. بوريش حمامة	أستاذة التعليم العالي	جامعة فرحات عباس سطيف

السنة الجامعية **2012/2011**

الإهداء

إلى مصدر قوتي وعزيمتي، إلى مصدر فخري وثقتي....... أبي الغالي

إلى من جعل الله الجنة تحت قدميها.................. أمي الحبيبة

إلى من اختاره الله لي رفيقا و عونا في الحياة............. زوجي الكريم "حسام"

إلى أشقاء روحي وبلسم جروحي إخوتي و أخواتي الأعزاء

كما أهدي هذا العمل المتواضع إلى زملائي ورفاق دربي جميع طلبة الماجستير تخصص

كيمياء حيوية وفيزيولوجيا تجريبية دفعة 2009

التشكرات

أحمد الله وأشكره الذي بفضله وعونه تم إنجاز هذا العمل

تشكراتي الخالصة للأستاذ عميرة اسماعين على كل مساعداته وتوجيهاته القيمة طيلة إشرافه على هذا العمل

أشكر الأستاذ خنوف الصديق جزيل الشكر على نصائحه و تشجيعاته الدائمة لي

أتقدم بالشكر إلى أعضاء لجنة المناقشة الذين تفضلوا وقبلوا مناقشة هذا البحث الأستاذ عرعار لخميسي و الاستاذة بوريش حمامة

الشكر الجزيل لكل من ساهم في إنجاز هذا العمل وخاصة الاستاذة جيدل صليحة و الاستاذة مرغم منيرة

شكر

الملخص بالعربية

الملخص بالفرنسية

الملخص بالإنجليزية

قائمة المختصرات

المقدمة..1

الفصل الأول: الدراسة المرجعية

1. البنية التشريحية للمعدة 4

2.1.الإفراز المعدي 5

2.1.إفراز الحمض 5

1.1.2.1. العوامل المنظمة لإفراز الحمض 7

2.2.1. إفراز البيكربونات، المخاط و الببسين 9

3.1.القرحة المعدية 10

1.3.1 خطوط الدفاع في المخاطية المعدية 11

2. الإجهاد التأكسدي 12

1.2. أهم الجذور الحرة ومصادر تخليقها 12

2.2. تأثير الإجهاد التأكسدي على مختلف الجزيئات الداخلية 15

1.2.2. أكسدة البروتينات 15

2.2.2. أكسدة الليبيدات 15
3.2.2. أكسدة DNA 16
4.2.2. أكسدة السكريات 17
3.2.مضادات الأكسدة.. 17
1.3.2.مضادات الأكسدة الإنزيمية.. 18
1.3.2.مضادات الأكسدة غير الإنزيمية 19
4.2.العلاقة بين الإجهاد التأكسدي والقرحة المعدية 21
3.المركبات الفينولية.. 22
1.3.الأحماض الفينولية.. 22
2.3.الدباغ 23
3.3.الفلافونويدات.. 24
1.3.3. النشاطية المضادة للأكسدة لعديدات الفينول.. 25
2.3.3. آليات تأثير عديدات الفينول على حماية المخاطية المعدية 26
4. نبتة *Globularia alypum* 27
1.4. استعمال النبتة في الطب الشعبي وبعض نشاطاتها البيولوجية 29

الفصل الثاني: المواد والطرق

1. المواد 31
1.1. الحيوانات.. 31

2.1. المادة النباتية.. 31
3.1. المواد الكميائية.. 31
2. طرق العمل 32
1.2. استخلاص المركبات الفينولية 32
2.2. تقدير عديدات الفينول الكلية 34
3.2. التقدير الكمي للفلافونويدات... 35
4.2. التقدير الكمي للدباغ.. 36
5.2.دراسة نشاطية المستخلصات النباتية المضادة للأكسدة 37
1.5.2.دراسة قدرة العينات على إزاحة جذر DPPH 37
2.5.2.اختبار β-carotène/ حمض اللينولييك 37
3.5.2.اختبار إستخلاب المعادن 38
4.5.2. إحداث القرحة المعدية بواسطة الإيثانول... 39
3. التحليلات الإحصائية.. 40

الفصل الثالث: النتائج

1. الاستخلاص والتقدير الكمي لعديدات الفينول 42
2.دراسة نشاطية مستخلصات النبتة المضادة للأكسدة.. 45
1.2.دراسة قدرة العينات على إزاحة جذر DPPH 45
2.اختبار β-carotène/ حمض اللينولييك.. 48
2.اختبار إستخلاب المعادن... 49

3.حماية المخاطية المعدية 53

الفصل الرابع: المناقشة

1.استخلاص و تقدير المركبات الفنولية في مستخلصات النبتة 58
2.تأثير المستخلصات النباتية والمركبات الفنولية المضادة للأكسدة............................... 60
3. حماية المخاطية المعدية... 63
الخاتمة 66
قائمة المراجع 67

قائمة الأشكال

الشكل (1): البنية التشريحية للمعدة و أهم أنواع الخلايا الإفرازية في المخاطية المعدية 6

الشكل (2) : آلية إفراز الحمض في الخلايا الجدارية 7

الشكل (3) : تفاعلات فوق أكسدة الدهون 17

الشكل (4): آلية عمل مختلف مضادات الأكسدة الإنزيمية 19

الشكل (5): أقسام الأحماض الفينولية 23

الشكل (6): أقسام الدباغ 24

الشكل (7): البنية العامة للفلافونويدات 25

الشكل (8): نبتة *Globularia alypum* 28

الشكل (9): مخطط يوضح استخلاص عديدات الفينول و الفلافونويدات من نبتة 33
G. alypum

الشكل (10): منحنى العيارية لحمض الغاليك 34

الشكل (11): منحنى العيارية للكرستين و الروتين 35

الشكل (12): منحنى العيارية لحمض التانيك 36

الشكل (13): التأثير الإزاحي لمختلف مستخلصات *G. alypum* و الشواهد على جذر DPPH 47

الشكل (14): تأثير مستخلصات نبتة *G. alypum*، حمض الغاليك و BHT على إرجاع 47
جذر DPPH

الشكل (15): قدرة المستخلصات النباتية على تثبيط أكسدة β-carotène خلال 48 سا........... 49
مقارنة مع الشواهد و نسب تثبيط المستخلصات و الشواهد بعد مرور 24 سا

الشكل (16): تأثير مستخلصات *G. alypum* ومركب EDTA على تشكيل معقد 51
Fe^{2+}-Ferrozine.

الشكل (17): قدرة مستخلصات *G. alypum* ومركب EDTA على استخلاب أيون الحديد 52
الثنائي

الشكل (18): تأثير المعالجة بمستخلصات *G. alypum* (100، 300، 600 غ/كغ) ………………
على دليل تقرح معدة الفئران المعاملة بالايثانول (70%) 55
الشكل (19): تأثير المعالجة بمستخلصات *G. alypum* (100، 300، 600 غ/كغ) 56
على طول الجروح في معدة الفئران المعاملة بالايثانول (70%)

قائمة الجداول

جدول (1): مردود مستخلصات نبتة *G. alypum* و محتواها من عديدات الفينول..........الفلافونويدات و الدباغ. 43

جدول (2): تركيز مستخلصات نبتة *G. alypum* المثبطة لـ 50% من نشاطية DPPH.......... 46

جدول (3): تركيز المستخلصات النباتية و نشاطيتها الملتقطة لـ 50 % من أيونات .... الحديد الثنائي 50

جدول (4): قيم مؤشرات التقرح و طول الجروح (مم) لدى الحيوانات المعاملة .... بمستخلصات *G.alypum* و الحيوانات الشاهدة 54

قائمة المختصرات

AA: Antioxidant Activity
AqF: Aqueous Fraction
BHT : Butylated hydroxyltoluene
ChF: Chloroform Fraction
Cox: Cyclooxigenase.
CrAE: Crud Aqueous Extract
CrME: Crud Methanolic Extract
DPPH: 2,2'-diphenylpicrylhydrazyl
EaF: Ethyl acètate Fraction
EDTA: Ethylene diamine tetraacetic
ELC: Enterochromaffin-Like cells
GPx: Glutathion peroxydase
GR: Glutathion reductase
GSH: reduced glutathione
GSSG: glutathione disulfide
IC_{50}: Concentration inhibitrice de 50 %
iNOS: Indusible Nitric Oxide Synthase
LDL: Low Density Lipoprotein
MDA: Malonaldèhyde
MPO: Myeloperoxidase
NADH: reduced NAD
NADPH: reduced Nicotinamide Adenine Dinucleotidephosphate
NO: Nitric Oxide.
ROS : Reactive Oxygen Species
SD: Standard Deviation.
SOD: Superoxide dismutase.

الملخص:

تستعمل نبتة *Globularia alypum* بشكل واسع في الجزائر كنبات طبي وتعتبر عديدات الفينول التي تحتويها هذه النبتة كمركبات فعالة، لذا وفي هذا السياق حاولنا تقدير النشاطية المضادة للأكسدة و التأثير المضاد للقرحة المعدية عند الفأر لمختلف مستخلصات هذه النبتة. كشف التقدير الكمي لكل من الفينولات الكلية و الفلافونويدات و الدباغ عن غناها بهذه المركبات حيث تراوحت كمية الفينولات الكلية بين 136.66 و 41.04 مغ مكافئ لحمض الغاليك/غ من الوزن الجاف للمستخلص و الفلافونويدات مابين 15.52 و 5.98 مغ مكافئ للروتين/غ من الوزن الجاف للمستخلص و 6.68 و 3.25 مغ مكافئ للكرستين/غ من الوزن الجاف للمستخلص و تراوحت الدباغ مابين 52.88 و 164.33 مغ مكافئ لحمض التانيك/غ من الوزن الجاف للمستخلص. قدرت النشاطية المضادة للأكسدة والمزيحة للجذور الحرة للمستخلصات باستعمال إختبار DPPH حيث وجد أن كل من المستخلص الخام الميثانولي، الطور المائي و طور خلات الإثيل تمتلك التأثير الإزاحي الأكبر عند التراكيز المستعملة بـ IC_{50} مساوياً لـ 33.32 و 36.12 و 38.29 مكروغ/مل على الترتيب، تفوق هذه النشاطية نشاطية مضاد الأكسدة النموذجي BHT (IC_{50} =46.71 مكروغ/مل) عند التركيز المستعمل. بينت تقنية التقاط أيونات الحديد الثنائي بأن مستخلصات (الخام المائي، لطور المائي والخام الميثانولي) هي مستخلبات جيدة حيث أعطت القيم التالية (250.09، 79.39 و 61.3 مغ مكافئ EDTA/غ للمستخلص) على الترتيب. أثبت اختبار تثبيط الأكسدة المزدوجة لحمض اللينولييك و β-carotène بطريقة تفسخ β-carotène أن كل من المستخلص الخام الميثانولي، الطور المائي و طور الكلوروفورم هي الأكثر نشاطاً وذلك بتسجيلها لقيم تثبيطية تفوق 70%. نتج عن تزقيم الفئران بمستخلصات *Globularia alypum* (100، 300 و 600 مع/كغ) انخفاض التقرحات المعدية المحدثة بالإيثانول 70% بنسب تراوحت بين 37.55%و 89.33%.

الكلمات المفاتيح: *Globularia alypum*، النشاطية المضادة للأكسدة، عديدات الفينول، القرحة المعدية، الإيثانول.

Rèsumè:

Globularia alypum est largement utilisé comme plante médicinale en Algérie. Les polyphénols présents dans cette plante sont considérés comme des composés actifs. Dans ce contexte nous avons tenté d'évaluer l'activité antioxydante et anti-ulcereuse des différents extraits préparés à partir de cette plante. L'analyse quantitative des composés phénoliques, des flavonoïdes et des tanins révèle que les extraits sont riches en ces composes (41.04 à 136.66 mg EAG /g d'extraits) pour les polyphénols et (10 à 15.52 mg ER/ g d'extrait et 5.04 à 6.68 mg EQ/g d'extrait) pour les flavonoïdes et (52.88 à 164.33 mg ETA/ g d'extrait) pour les tanins. l'évaluation quantitative du pouvoir piégeur des extraits vis-à-vis du DPPH montre que les extraits CrME, AqF et EaF sont les plus actifs, avec des IC_{50} de l'ordre de 33.32, 36.12 et 38.29 µg/ml respectivement. Le test de la capacité chélatrice des ions ferreux a montré que les extraits CrAE, AqF et CrME sont de bons chélateurs avec des activités de l'ordre de (250.09, 79.39 et 61.3 mg E-EDTA/g d'extrait). L'inhibition de l'oxydation couplée de l'acide linoléique ß-carotène a été évaluée par le teste de blanchissement du ß-carotène, qui a montré une activité antioxydante relativement importante pour CrME, AqF et ChF (70% d'inhibition). L'administration orale des extraits de *Globularia alypum* (100, 300 et 600 mg/kg) réduit la sévérité des lésions gastriques induites par l'éthanol 70% chez la souris avec des taux de protection entre 37.55% et 89.55%.

Mots-clefs : *Globularia alypum*, activité antioxydante, polyphenols , ulcer gastric, ethanol.

Abstract:

Globularia alypum is widely used as a medicinal plant in Algeria. The polyphenols present in this plant are regarded as active compounds. In this context we tried to estimate the antioxidant and anti ulcer activity of various extracts prepared From this plant .The quantitative analysis of the phenolic compounds, flavonoïds and the tanins reveal that the extracts are rich in this componds (41.04 to 136.66 mg EAG/g of extracts) for polyphenols and (10 to 15.52 mg ER/g of extract and 5.04 to 6.68 mg EQ/g of extract) for the flavonoïdes and (52.88 to 164.33 mg ETA / G of extract) for the tanins. The quantitative evaluation of the trapper capacity of the extracts with respect to the DPPH shows that the extracts CrME, AqF and EaF are most active, with IC_{50} about 33.32 , 36.12 and 38.29 µg/ml respectively. The test of the chelating capacity of the ferrous ions showed that the extracts CrAE, AqF and CrME are goods chelating with activities about (250.09, 79.39 and 61.3 mg E-EDTA/g of extract respectively).The inhibition of the coupled oxidation of the β-carotène /acid linoléic was evaluated by the whitening test of the β-carotène, showed a relatively important antioxydant activity for CrME, AqF, and ChF (about 70% of inhibition). Oral administration of the extracts of *Globularia alypum* (100, 300 and 600 mg/kg) reduced the severity of the gastric lesions induced by ethanol 70% in mice with a percentage of protection of 37.55% to 89.55%.

Keywords: *Globularia alypum,* Antioxidant activity, polyphenols , gastric ulcer, ethanol

المقدمة

يسمى النبات نباتا طبيا إذا امتلك على الأقل أحد أعضائه خصائص علاجية، كما يمكن أن يعرف على أنه النبات الذي يحتوي في عضو أو أكثر على مادة أو عدة مواد كيميائية فعالة بتركيز منخفض أو مرتفع، لها تأثير طبي أو فيزيولوجي أي له القدرة على معالجة مرض معين أو على الأقل التقليل من أعراض الإصابة بهذا المرض إذا أعطيت للمريض في صورتها النقية بعد استخلاصها من النبات أو بعد استخدامها في صورة عشب طازج أو مجفف أو مستخلص نباتي، لذا فإن العالم اليوم يشهد ما يعرف بالطب البديل و الذي منه التداوي بالأعشاب، وذلك لأن النباتات الطبية تمتاز عن الأدوية الكيميائية بانخفاض تكلفتها وقلة تأثيراتها الجانبية، بالإضافة إلى كونها طبيعية وذات فعالية علاجية عالية كما أنها تمثل الجزء الهام و الأساسي من المواد الأولية التي ترتكز عليها صناعة الأدوية في العالم، وبصفة خاصة على المكونات الكيميائية الفعالة التي تستخلص منها في صورتها النقية، لذا و على الرغم من التطور الكبير الذي أصاب ميدان المعالجة بالمواد الكيميائية فإن التداوي بالأعشاب عرف عودة واسعة خاصة بعد أن أعلنت بعض الآثار السلبية الناجمة عن المعالجة بالمواد الكيميائية.

يعود التأثير الإيجابي للنباتات الطبية ولو جزئيا إلى غناها بالمركبات الفينولية (الأحماض الفينولية، الفلافونويدات والدباغ) إذ تمثل هذه المركبات المستقلبات الثانوية الأكثر انتشارا و تنوعا في المملكة النباتية مما يمكنها من إبداء العديد من الخصائص البيولوجية والصيدلانية حيث لوحظ انخفاض معتبر في نسبة الإصابة بمجموعة من الأمراض مثل أمراض القلب السرطان وبعض الأمراض المزمنة التي تكون في معظمها ناتجة عن الإفراط في إنتاج الجذور الحرة، حيث تعتبر هذه الجذور ناتج عملية إرجاع جزيئة الأكسجين أو النتروجين والتي يمكنها أن تؤدي إلى حدوث الإجهاد التأكسدي، و الذي هو عبارة عن الإختلال في التوازن بين مضادات الأكسدة و مولدات الأكسدة.

تنتمي نبتة *Globularia alypum* إلى عائلة *Globulariaceae* والتي تمتلك العديد من التأثيرات أكثرها شيوعا هو استعمالها ضد الاضطرابات الهضمية، ونظرا للاستعمالات الواسعة لهذه النبتة في الطب الشعبي ارتأينا دراسة تأثير مختلف مستخلصات أوراقها المضادة للأكسدة و المضادة للتقرح المعدي، حيث تم تقدير النشاطية المضادة للأكسدة بإجراء ثلاث اختبارات وهي: اختبار قدرة العينات على إزاحة الجذور الحرة باستعمال جذر-2,2 diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) وكذا قدرتها على التقاط المعادن من خلال اختبار استخلاب المعادن، بالإضافة إلى اختبارβ-carotène/حمض اللينولييك و الذي يهدف للكشف عن قدرة العينات على تثبيط نواتج أكسدة الليبيدات، كما تم تقدير النشاطية المضادة للتقرح المعدي لنفس المستخلصات من خلال نموذج الايثانول المسبب للقرحة المعدية.

الفصل الأول:
الدراسة المرجعية

1. البنية التشريحية للمعدة

تعد المعدة أكبر أجزاء الأنبوب الهضمي و أكثرها قابلية للاتساع، تتوضع تحت الحجاب الحاجز في القسم العلوي الأيسر من البطن، تقسم إلى أربعة أجزاء هي الفؤاد (Cardia)، قعر المعدة (Fundus)، جسم المعدة (Body) الذي يشكل الجزء الأكبر والبواب (Pylorus) وهو الجزء الرابط بين المعدة والأمعاء **(شكل 1،أ)**.

تنتظم الأنسجة المشكلة لجدار المعدة في أربع طبقات وهي من الداخل إلى الخارج: 1) المخاطية (mucosa) وهي الطبقة المغلفة للمعة المعدة والتي بدورها تضم ثلاث تحت طبقات وهي طبقة الخلايا الظهارية التي تكون في تماس مباشر مع محتوى المعدة، نسيج ضام يسمى بالمشيمة حيث توجد الأوعية الدموية والأعصاب والخلايا اللمفاوية والمناعية بالإضافة إلى طبقة جد رفيعة من العضلات الملساء تسمى musculare mucusa (Marieb، 2008). 2) تحت المخاطية (submucosa) عبارة عن نسيج ضام رخو يعمل على ربط الطبقة المخاطية بالطبقة العضلية الخارجية، تحتوي هذه الطبقة على الضفيرة تحت المخاطية أو ضفيرة مايسنر (Meissner) وهي مجموعة من العقد العصبية التي تشكل مع الضفيرة المعوية العضلية أو ضفيرة Auerbach الجهاز العصبي المعوي، تقوم هذه الضفيرة بدور مهم في تنظيم الإفرازات المعدية و التدفق الدموي. بالإضافة إلى هذا تحتوي الطبقة تحت المخاطية أيضا على العديد من اللأوعية الدموية و اللمفية (Lecter و آخرون، 1989). 3) تتكون الطبقة الثالثة أو الطبقة العضلية الخارجية (muscular externa) من 3 طبقات من الألياف العضلية الملساء (طولية، مائلة ودائرية) تضم بينها الضفيرة المعوية العضلية والتي تتحكم أساسا في حركة المعدة. 4) المصلية (serosa) تمثل آخر طبقات الأنسجة المعدية والتي هي عبارة عن طبقة واحدة من الخلايا الضامة (Marieb، 2008).

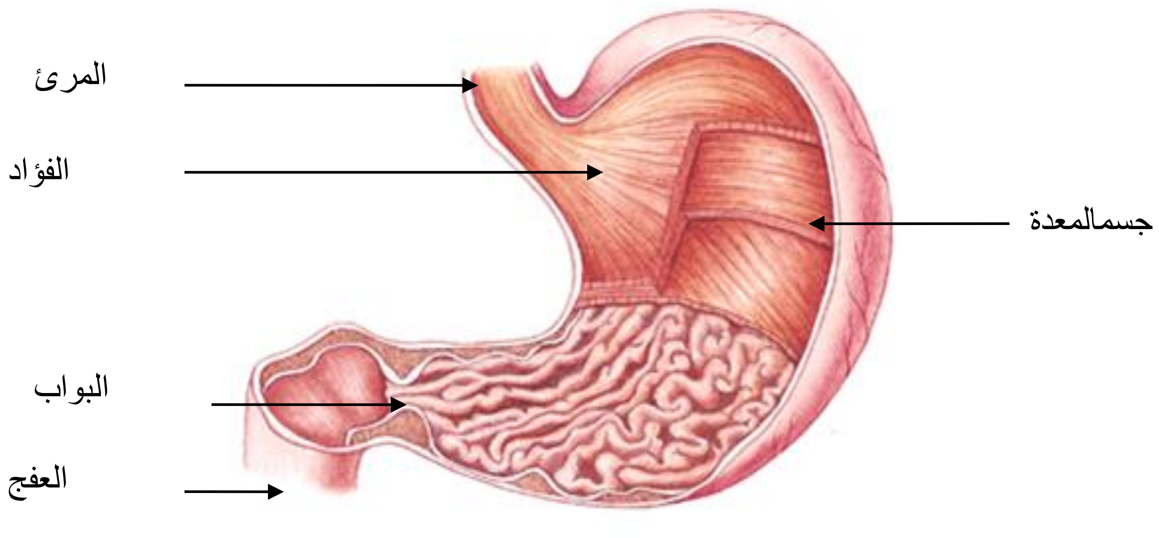
2.1. الإفراز المعدي

العصارة المعدية عبارة عن سائل لا لون له لزج قليلا لاحتوائه على المخاط، يبلغ معدل العصارة المعدية في المتوسط 2.5 ل تقريبا و تتكون أساسا من المخاط، إنزيمات الببسين، الحمض، العامل الضمني والأيونات (Al-Howiriny و آخرون، 2005). تعتبر الطبقة المخاطية الطبقة المسؤولة عن الإفرازات المعدية وذلك لاحتوائها على أربعة أنواع من الخلايا

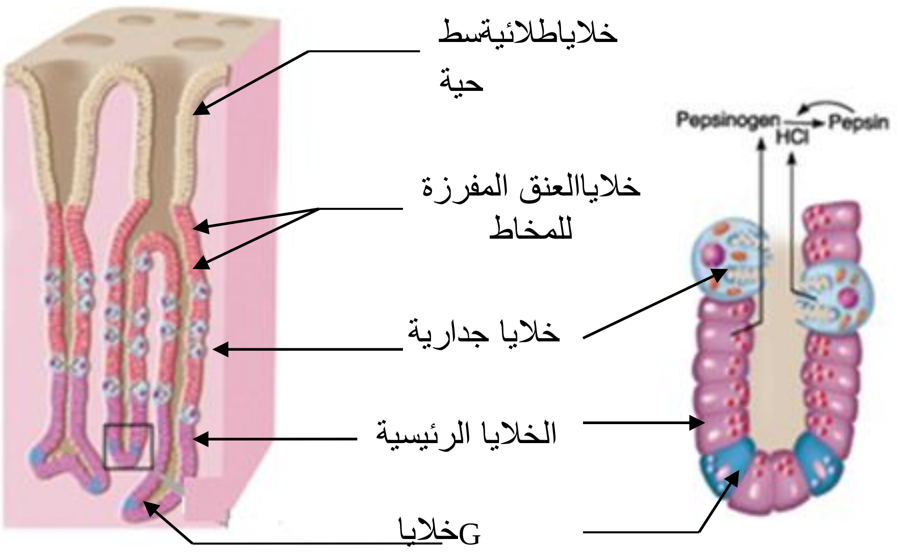
الإفرازية وهي الخلايا الجدارية (Parietales cells) وهي خلايا تتوضع في المنطقة العلوية لغدد قعر المعدة والتي تقوم بإفراز حمض كلور الماء (HCl)، أيونات البوتاسيوم (K^+) والعوامل الضمنية التي تعتبر ضرورية لامتصاص فيتامين B_{12} في الأمعاء (Niv و Fraser، 2002). الخلايا الرئيسية (Principale cells) يقوم هذا النوع من الخلايا بتحرير الببسينوجين وهو الشكل غير النشط لإنزيم الببسين. الخلايا المفرزة للمخاط وهي خلايا تفرز كل من المخاط و أيونات الصوديوم (Na^+) و البيكربونات (HCO_3^-) **(شكل 1، ب)**. بالإضافة إلى هذه الأنواع الثلاثة يوجد نوع آخر من الخلايا ذات الإفراز الداخلي تقوم بافراز هرمون Gastrine (Yang، 2002).

1.2.1. إفراز الحمض

توجد الخلايا الجدارية بأعداد هائلة في المنطقة العلوية لغدد قعر المعدة، وهي تشكل الوحدة الإفرازية للمخاطية المعدية، حيث تكون متخصصة بنيويا لوظيفة الإفراز الحمضي نظرا لقدرتها على تغيير شكلها حسب الوضعية التي تكون عليها (راحة أو إفراز) (Konturek و آخرون، 2004). تحتوي هذه الخلايا على عدد كبير من الميتوكوندريا المنتجة للطاقة حيث أن هذه الطاقة يتم استخدامها من طرف الخلايا الجدارية لتنشيط عمل المضخة الكاتيونية H^+/K^+-ATPases المتوضعة على مستوى غشاءها القمي. ويتضح من **الشكل (2)** أن مضخة H^+/K^+- ATPases تعمل على نقل أيونات H^+ الناتجة عن تفاعل إماهة CO_2 مع الماء من داخل الخلية نحو اللمعة المعدية و العكس بالنسبة لأيونات البوتاسيوم (Srikanta و آخرون، 2011). كما تعمل الخلايا الجدارية على تنظيم التركيز الأيوني لسيتوبلازمها من خلال المضخات والقنوات المتواجدة على غشائها القاعدي، وبالتالي فإن تحرير كل من بروتونات الهيدروجين و أيونات الكلور نحو اللمعة المعدية يؤدي إلى تشكيل حمض كلور الماء HCl (Konturek و آخرون، 2004).

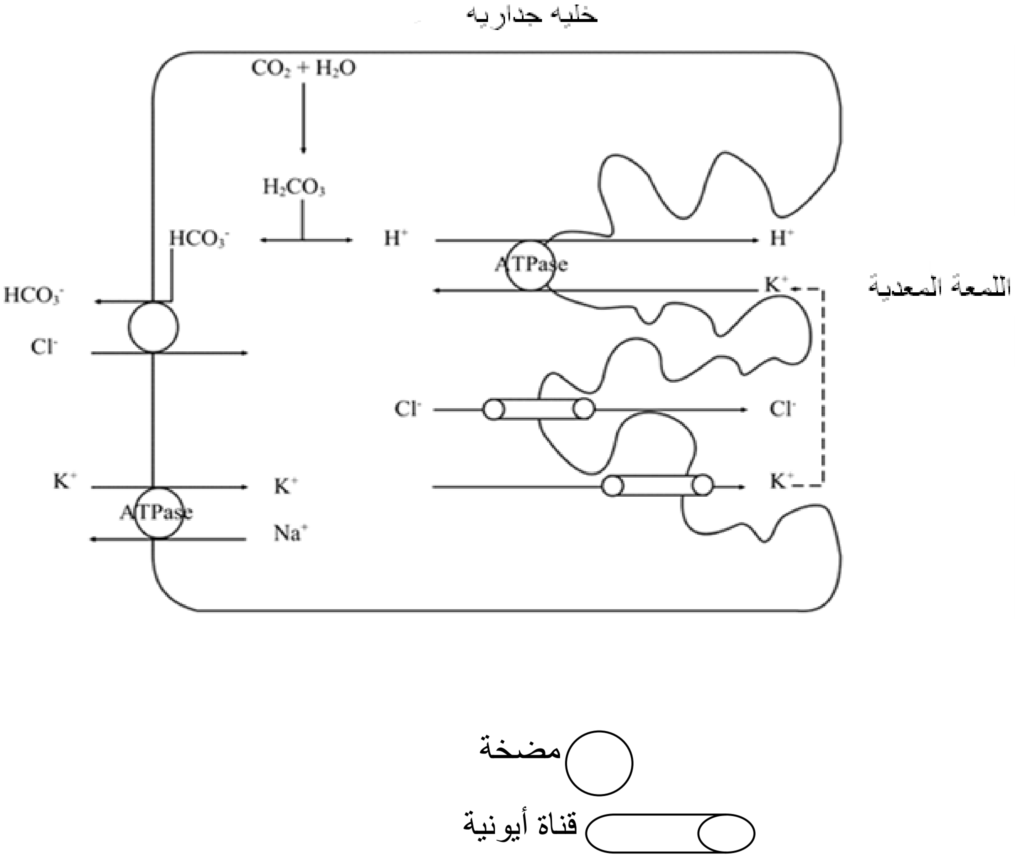


(أ)



(ب)

شكل (1): (أ) البنية التشريحية للمعدة، (ب): أهم أنواع الخلايا الإفرازية في المخاطية المعدية (Marieb، 2008).



شكل (2) : آلية إفراز الحمض في الخلايا الجدارية (Gooz و آخرون، 2000).

1.1.2.1. العوامل المنظمة للإفراز الحمض

إن تنظيم إفراز الحمض في الخلية الجدارية يتم عبر سلسة من التفاعلات، تبدأ بارتباط الجزيئة المحفزة (الأستيل كولين، الهستامين و الغاسترين) أو المثبطة (سوماتوستاتين و البروستاغلنديات) بالمستقبل النوعي على سطح الخلية الجدارية وينتهي بإفراز الحمض أو تثبيطه وتتولى المراسيل الثانوية (AMPc، DAG، IP3) في حالة الإشارة المحفزة وظيفة نقل الإشارة الداخلية لنشرها بسرعة داخل الخلية مؤدية إلى استجابة خلوية سريعة على عكس الإشارة المثبطة التي تؤدي إلى تثبيط تشكيل المراسيل الثانية (Gooz و آخرون، 2000).

-العوامل المحفزة

يعد كل من الهستامين، الأستيل كولين و الغاسترين من أهم المحفزات التي يؤدي ارتباطها مع المستقبلات الموجودة على سطح الخلية الجدارية إلى إفراز الحمض داخل اللمعة المعدية. يتحرر هرمون الغاسترين من الخلايا G بعد تحفيز العصب الحائر، الذي يتم تنبيهه بواسطة تمدد المعدة (Danzer و آخرون، 2004). يعمل هرمون الغاسترين على التحفيز المباشر لإفراز الحمض عن طريق المرسال الثاني IP3 و Ca^{2+} وذلك من خلال تثبيته على مستقبلاته النوعية المتواجدة على سطح الخلايا الجدارية، كما يمكن لهذا الهرمون تحفيز إفراز الحمض بطريقة غير مباشرة من خلال تنشيط إفراز الهستامين من طرف خلايا ELC -Enterochromaffin) LikeCells) المتواجدة على مستوى المخاطية المعدية (Lindstrom و آخرون، 2001).

يتحرر الموصل العصبي الأستيل كولين من طرف النهايات العصبية للعصب الحائر في المخاطية المعدية، حيث أن تثبت هذا الأخير على المستقبلات المسكارينية M3 للخلايا الجدارية يؤدي إلى زيادة تحرير H^+ من خلال تشكيل المرسال الثاني IP3 و زيادة تركيز Ca^{2+} الداخل خلوي (Smid و آخرون، 2007).

ينتج عن ارتباط الهستامين بمستقبلاته زيادة حموضة المعدة وذلك من خلال زيادة تركيز H^+ في اللمعة المعدية خاصة من خلال زيادة مستويات cAMP (Parsons و Ganellin، 2006).

- العوامل المثبطة لإفراز الحمض

يعتبر كل من somatostatine و prostaglandines من أهم العوامل المثبطة لإفراز الحمض من طرف الخلايا الجدارية (Horace، 1976). تقوم الخلايا D الموجودة في تجويف المعدة بإفراز هرمون somatostatine الذي يساهم في تثبيط الإفراز الحمضي بطريقة غير مباشرة من خلال

تأثيره على تحرير كل من هرموني الغاسترين و الهستامين من طرف الخلايا G و الخلايا ELC على التوالي، أو بتثبيطه المباشر لإنزيم adenylatecyclase الغشائي وذلك من خلال ارتباطه بمستقبلاته النوعية (SSTR1/SSTR2) (Abdu و آخرون، 2002).

يعد كل من thromboxanes ,prostaglandines و leukotrienes من بين أهم مشتقات أحماض الأراشيدونيك التي أبدت تدخلها في العديد من التفاعلات الفيزيولوجية للمعدة. تعتبر prostaglandine(E, I) من بين المركبات المثبطة للإفراز الحمض وذلك من خلال تنشيط بروتينات Gi الغشائية التي تؤدي إلى خفض مستويات cAMP داخل الخلية الجدارية (Konturek و آخرون، 2005). بالإضافة إلى هذه المثبطات فإنه هناك العديد من الببتيدات التي تقوم بتثبيط إفراز الحمض من طرف الخلايا الجدارية مثل الببتيد PYY و Milatonine (أحد مشتقات السيروتونين) (George و Bubenike، 2002).

2.2.1. افراز البيكربونات، المخاط و الببسين

تقوم الخلايا الطلائية المعدية بتحرير HCO_3^- الذي يتشكل من خلال تنشيط التفاعل بين جزيئات الماء و ثاني أكسيد الكربون بواسطة إنزيم carbonicanhydrase، حيث أن ارتفاع تركيز $HCO3^-$ داخل الخلية يؤدي إلى خروجها حسب تدرج جهدها الكيميائي، ويتم في مقابل ذلك دخول أيونات CL^- بواسطة المبادل الايوني CL^-/HCO_3^- (Konturek و آخرون، 2004). يخضع تنظيم إفراز البيكربونات في المعدة إلى العديد من العوامل المحفزة مثل الأستيل كولين المفرز من العصب الحائر ، بالإضافة إلى تدخل البروستاغلنديتات و الحموضة المعدية ، غير أن هذه النشاطية الإفرازية لأيونات HCO_3^- يمكن تثبيطها بواسطة هرمون النورأدرينالين (Xing و آخرون، 2004).

يتم إفراز الببسينوجين من طرف الخلايا الرئيسية في المخاطية المعدية وذلك تحت تأثير العديد من المنبهات: (المختصر) VIP، Secretin، وغيرها (Fernandes و آخرون، 2010). وتعمل هذه المحفزات عبر cAMP كمرسال ثاني لنقل إشارتها إلى داخل الخلية ورفع تركيز الببسينوجين في العصارة المعدية، ومن جهة أخرى فإن كل من الاستيل كولين و الغاسترين تحفز إفراز الببسينوجين نحو لمعة المعدة من خلال التنبيه العصبي الحشوي (Gritti و آخرون، 2000).

يتميز المخاط (mucus) ببنية عديدة الوحدات من البروتينات السكرية (التي تكون غنية بـالأحماض الأمينية التالية: proline، serine و glycine التي يتم إفرازها من قبل الخلايا العنقية والسطحية لمخاطية المعدة (Khare و آخرون، 2008)، حيث تشكل البروتينات حوالي 65% من الوزن الإجمالي والسكريات (fucose،galactose) حوالي 15% و الدهون (20%). يعتبر كل من

cAMP و Ca^{2+} المراسيل الداخلية التي يعتمد عليها كل من secretine، prostaglandines و الأستيل كولين في تحفيز إفراز المخاطية (Hamada و آخرون، 1997).

3.1. القرحة المعدية

يمكن تعريف القرحة المعدية على أنها تلف موضعي لمخاطية المعدة يتجاوز الطبقة العضلية للمخاطية التي تكون مصحوبة بحدوث نزيف و التهابات بالإضافة إلى الألم الذي يكون ناتج عن التماس بين الجرح و الحمض المفرز من خلايا المعدة (Marieb، 2008) تحدث القرحة المعدية نتيجة لعدم التوازن بين العوامل الدفاعية و العوامل المخربة تتمثل العوامل الدفاعية في التدفق الدموي المعدي، إفراز المخاط، الحاجز المخاطي و إفرازه القاعدي حيث تقوم هذه العوامل بحماية المخاطية المعدية و المعوية ضد العوامل المخربة خاصة الإفراز المفرط للحمض و البيسين (Srikanta وآخرون، 2011)، اما العوامل المخربة فيمكن تقسيمها إلى عوامل داخلية و على رأسها الحمض و البيسين و خارجية مثل بكتريا *Helecobacterpylori* و مضادات الإلتهاب غير الستيرويدية و الكحول وغيرها.

تعتبربكتيريا *Helicobacterpylori* عاملا مهما في التسبب في إحداث القرحة المعدية، حيث وتحت ظروف غير عادية يرتفع الحمض المعدي فيتآكل الغشاء المخاطي المعدي هذا ما يسمح بدخول البكتيريا التي تكون مقاومة للحموضة لتفرز سمومها لتكون بداية للتفاعلات الالتهابية (Fennerty، 2005).

تستعمل العديد من مضادات الالتهاب مثل الأسبرين و الاندوميثاسين، غير أن الإستعمال المستمر يؤدي إلى حدوث القرحات المعدية العفجية و ذلك من خلال قدرة هذه المواد على تثبيط إنزيم Cyclooxygenases المنتج للبروستاغلندينات بصورة رئيسية مما يقلل من إفراز البيكربونات والمخاط في العصارة المعدية (El-Abhar، 2010).

يحدث الإيثانول أضرارا مباشرة على المخاطية المعدية، إذ أن تطبيق التراكيز التي تفوق 30% منه على مخاطية المعدة يؤدي إلى جروح نخرية نزيفية خطيرة و تضرر مرئي للمخاطية المعدية (Dinoso و آخرون، 1971). أما استعمال التراكيز من 40% إلى 100% فهي تؤدي إلى حدوث قرحات معدية طولية حادة، إذ أوضح Londonkar و Poddar سنة (2009) أن إعطاء الجرذان الإيثانول 90% يتسبب في إحداث إصابات نزيفية حادة تتمركز عادة في الجزء الغدي للمعدة. يتسبب الإيثانول في إحداث القرحة المعدية بعدة آليات أهمها تمزق الحاجز المخاطي المعدي وعودة انتشار أيونات H^+ يصاحبه انخفاض في تدفق الدم (Jamal و آخرون، 2006)، تضرر مباشر للمخاطية المعدية الذي ينتج عادة عن أكسدة اللبيدات بواسطة الجذور الحرة (Bharti و آخرون، 2010).

1.3.1. خطوط الدفاع في المخاطية المعدية

تعمل العديد من العوامل على تحطيم الحاجز المخاطي للمعدة، وذلك إما برفع إفراز الحمض، خفض التدفق الدموي، خفض تصنيع البروستاغلندينات أو عن طريق إنتاج الجذور الحرة (Vasconcelos و آخرون، 2010). تعمل المعدة على حماية مخاطيتها ضد المواد التخريبية بثلاثة خطوط دفاعية يتمثل أولها في الحماية قبل الطلائية والذي يتجسد في المخاط و هو المسؤول الرئيسي عن حماية المخاطية المعدية الذي يتوضع عادة على سطح الطبقة المخاطية (Werther، 2000). تشكل أيونات HCO_3^- على مستوى المخاط تدرجا أيونيا نحو الخلايا الطلائية من pH=2 في منطقة التماس بين المخاط واللمعة المعدية إلى pH=7 في منطقة التماس بين المخاط وسطح الخلايا الطلائية و بالتالي تحميها من الأثر التخريبي لكل من HCl، إنزيم الببسين وتعدل أيونات H^+ (Konturek و آخرون، 2004).

يتمثل ثاني الخطوط الدفاعية في الحماية الطلائية، حيث يشكل الارتباط الوثيق بين الخلايا وكذا سرعة تجديدها حاجزا قويا ضد انتشار أيونات H^+ (Murphy وآخرون، 1998).

أما الخط الثالث فهو الحماية تحت الطلائية، ويرتكز على الدورة الدموية المحلية للمعدة حيث أن تنشيط تدفق الدم المحمل بالأكسجين و البيكربونات يعمل على حماية المخاطية المعدية من ارتفاع الحموضة كما أنه يحميها من القرحة المعدية (Sunao و Shingo، 2000). كما أن البروستاغلندينات تساهم في حماية المخاطية من خلال زيادة تدفق الدم أو بتحفيز إفراز HCO_3^- من الخلايا المخاطية (Konturek و أخرون، 2005).

2. الإجهاد التأكسدي

إن حدوث أي اضطراب في أنظمة الحماية ضد سمية الجذور الأكسجينية يؤدي إلى خروج نشاطية هذه الأخيرة عن السيطرة، الأمر الذي يؤدي إلى حدوث أضرار جسيمة على مستوى كل من الجزيئات الداخلية، الخلايا و الأعضاء. يطلق مصطلح الإجهاد التأكسدي على الأضرار الناتجة عن الجذور الحرة و المستقلبات النشطة، والذي ينتج عن الخلل في التوازن بين مضادات الأكسدة و مولدات الأكسدة (Jenkins وآخرون، 2007).

1.2. أهم الجذور الحرة ومصادر تخليقها

الجذور الحرة هي عبارة عن أنواع كيميائية جزيئية أو ذرية تملك إلكترون أو أكثر بشكل حر على مستوى مدارها الخارجي، مما يجعلها في حالة نشاط عالي مع نصف عمر قصير. تقسم الجذور الحرة على حسب الجزيء أو المصدر المشتقة منه إلى قسمين: فنجد الجذور الحرة المشتقة من الأكسجين Reactive Oxygen Species (ROS) و الجذور المشتقة من النتروجين Reactive Nitrogen Oxide Species (RNOS) (Aurousseau، 2002).

إن التزايد في إنتاج ROS وكذا مستقلباتها هو أساس حدوث الإجهاد التأكسدي داخل الجسم حيث يتم تصنيعها من طرف الخلية الحية بتراكيز ضعيفة من خلال آليات خلوية مختلفة لغرض استعمالها في مختلف مسالكها الأيضية أو كوسيلة دفاعية ضد الإصابات البكتيرية، كما يمكن استعمالها في تنظيم مختلف الوظائف الفيزيولوجية مثل عملية الموت الخلوي المبرمج غير أن هذا الإنتاج أو التصنيع يكون مراقبا بواسطة جهاز دفاعي مضاد للأكسدة سواء كان إنزيميا أو غير إنزيميا(Favier، 2003).

- **جذر فوق الأكسيد($O_2^{°-}$)**

تعتبر السلسلة التنفسية في الميتوكوندري هي المصدر الرئيسي لتخليق جذرفوق الأكسيدالذي هو عبارة عن جزيء مشحون سلبا، ينتج من خلال الإرجاع الأحادي لذرة الأكسجين بواسطة إلكترون واحد،حيث يتم ذلك من خلال عمل المعقد الإنزيميI (NADH/ubiquinone oxydoreductase)و المعقد الإنزيمي III (ubiquinol/cytochrom coxydorèductase) (Chiarugi و Fiachi، 2007). إن تدخل الخلايا المتعادلة خلال العملية الالتهابية يشكل مصدرا خلويا آخرا لأيون O_2^{0-} حيث أنها تعمل على تحفيز إنزيم NADPH oxydase من أجل تحرير هذا النوع من الجذور الحرة (Shin وآخرون، 2008) وفقا للتفاعل التالي:

$$NADPH + 2O_2 \xrightarrow[\text{NADPHoxydase}]{\text{NADPH oxydase}} NADP^+ + H^+ + 2O_2^{°-}$$

كما أن النظام الإنزيمي xanthine/xanthine oxydase يلعب دورا فعالا في تخليق $O_2^{°-}$ و ذلك من خلال عملية أكسدة xanthine وتحويله إلى حمض اليوريك. بالإضافة غلى هذا يمكن تخليق جذر$O_2^{°-}$من خلال العديد من التفاعلات الأخرى مثل مسلك تصنيع البروستاغلندينات و اللوكوترين (Lü و آخرون، 2010).

- **جذر الأكسجين المهيج ($^1O_2$)**

ينتج هذا النوع من الجذور عن طريق العديد من التفاعلات أهمها أكسدة الدهون و تنشيط االبالعات الكبيرة، يتميز بغياب إلكترون في المدار الخارجي كما أنه ذو قدرة تأكسدية عالية (Sorg، 2004).

- **بيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2)**

لا يعتبرH_2O_2 جذرا حرا بالمعنى الحقيقي ولكنه جزيء عالي النشاطية وله قدرة عالية للأكسدة بالإضافة إلى أن خطورة هذا النوع من الجذور الحرة تكمن في إمكانية اختراقه للأغشية البيولوجية بسهولة وبالتالي فإنه قد يتواجد بعيدا عن موقع تصنيعه (Favier، 2003).
يتم تخليق H_2O_2 بواسطة تحفيز إنزيم superoxyd dusmitase(SOD) الذي يقوم بعملية تحويل O_2^{o-} إلى H_2O_2 وفقا للتفاعل التالي:

$$2O_2^{°-} + 2H^+ \longrightarrow H_2O_2 + O_2$$

بالإضافة إلى إنزيم SOD فإن انزيم xanthine يساهم في تخليق H_2O_2 أثناء العمليات الإلتهابية (Kelley و آخرون، 2010). تعتبر الميكروزومات المسؤولة عن تخليق نسبة 80% من تركيز H_2O_2 داخل الكائن الحي (valko، وآخرون 2006).

➢ **جذر الهيدروكسيل ($OH^{-°}$)**

يعتبر $OH^{-°}$ أكثر الجذور استقرارا، الشيء الذي يجعله يملك القدرة للتفاعل مع العديد من الجزيئات وهذا ما يؤدي إلى مضاعفة أضراره الخلوية، يتم إنتاجه من خلال تفاعلين هما تفاعل Fenton الذي يتم خلاله تفكك H_2O_2 وذلك في وجود Fe^{2+} مشكلا كل من جذر $OH^{-°}$ و أيون OH^- حسب التفاعل التالي:

$$Fe^{2+} + H_2O \longrightarrow Fe^{3+} + OH^- + OH^{-°}$$

وتفاعل Habber-weiss حيث أن تواجد H_2O_2 مع كل من Fe^{3+} وأيون $O_2^{°-}$ يؤدي إلى تشكيل $OH^{°-}$ (Bartoz، 2003).

➢ **الإيبوكلوريد (HOLC)**

يقوم إنزيم myeloperoxidase بإنتاج HOCL وذلك من خلال أكسدة أيونات الكلور في وجود H_2O_2 لإعطاء هذا النوع من الجذور القاتلة للبكتيريا (Saran وآخرون، 1999).

$$H_2O_2 + Cl^- + H^+ \xrightarrow{MPO} HOCL + H_2O$$

➢ **أكسيد الأزوت (NO^-)**

ينتج جذر NO^- عن طريق أكسدة L-arginine بتحفيز من إنزيم inducible Nitric Oxide Synthase (iNOS) غير أن هذا النوع من الجذور الحرة يؤدي العديد من الوظائف الفيزيولوجية داخل العضوية مثل ارتخاء العضلات الملساء ونقل العديد من الإشارات الخلوية (Ellis، 2008). إلا أنه وفي حالة التحفيز العالي لإنزيم NOS فهذا يؤدي إلى إنتاج كميات كبيرة من NO^- الأمر الذي يجعل هذا الأخير يتحول إلى جذور نتروجينية أخرى مثل جذر البيروكسينتريت (ONOO) الذي هو عبارة عن إتحاد NO^- مع $O_2^{°-}$، nitronium (NO^+) و nitroxyl (NO^-) (Alderton، وآخرون 2001).

بالإضافة إلى المصادر الداخلية التي تنتجها العضوية، توجد مصادر أخرى خارجية تتسبب في إنتاج ROS مثل المعادن المتحولة (الكروم والنحاس، أيونات الحديد) والتي تتواجد بصورة حرة كما تعتبر الكحولات و الأشعة المؤينة مثل أشعة قاما من المصادر المنتجة لجذور ROS (Jenkins و آخرون، 2007).

2.2.تأثير الإجهاد التأكسدي على مختلف الجزيئات الداخلية

إن الإنتاج المفرط للجذور الحرة يؤدي إلى حدوث العديد من الأضرار على مستوى الجزيئات الداخلية (اللييبيدات، البروتينات، السكريات وADN)، بالإضافة إلى الأضرار الثانوية التي تظهر نتيجة لحدوث بعض الطفرات على مستوى مختلف المسالك الأيضية.

1.2.2. أكسدة البروتينات

تمتلك ROS القدرة على التفاعل مع مختلف الأحماض الأمينية للبروتينات وبالتالي تغير بنيتها مما يؤدي إلى حدوث خلل في وظيفتها. تعتبر الأحماض الأمينية العطرية مثل التربتوفان، التيروزين من أكثر الأحماض الأمينية عرضة للأكسدة، حيث أن OH^- يتحد معها مؤديا بذلك إلى تغير بنية البروتين (Zhishen، وآخرون 1999).

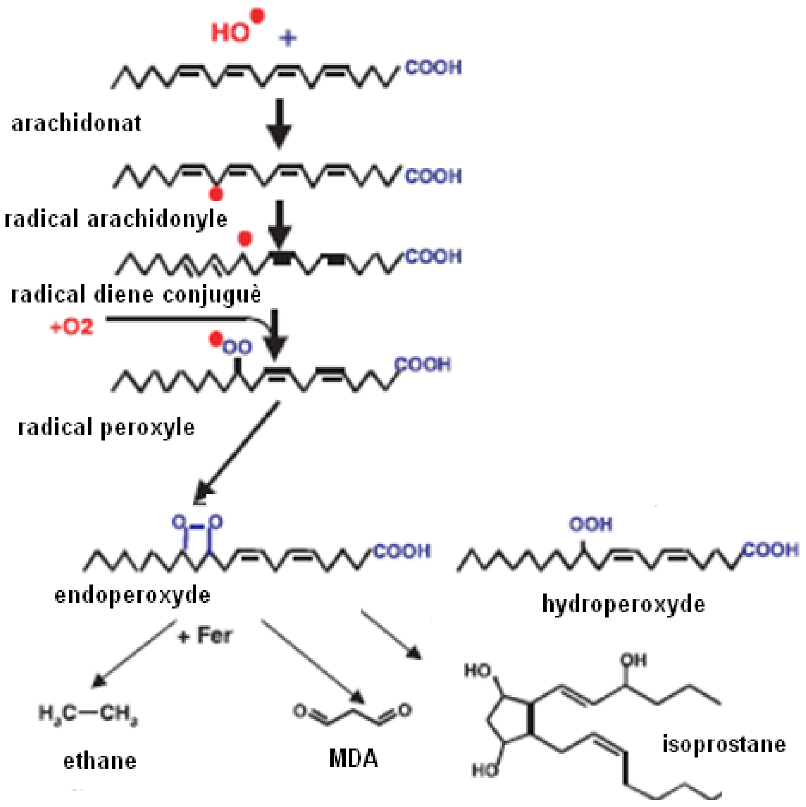
يعمل كل من جذر OH^- و$O_2^{°-}$على مهاجمة العديد من البروتينات الكبرى مثل الكولاجين المتواجد في الأنسجة الدعامية، كما أن البروتينات الحاملة لمجاميع الكبريت SH تكون أكثر حساسية تجاه الجذور الحرة (Dean،1997) حيث أنها وبعد تحولها نتيجة للأكسدة تفقد بنيتها المميزة و نشاطيتها الحيوية وبالتالي تصبح أكثر عرضة للهدم بواسطة الإنزيمات الحالة أو proteases، كما أنها تصبح كارهة للماء وذلك إما من خلال إزالة المجاميع الأمينية المتأينة أوباظهار المجاميع الأمينية الكارهة للماء على السطح مشكلة بذلك تكتلات مع الدهون وهذا ما يعرف بالرواسب اللبيدية التي تعتبر من مميزات الأنسجة المسنة (Favier، 2003).

2.2.2. أكسدة اللبيدات

إن اللبيدات الغشائية وخصوصا أحماضها الدهنية غير المشبعة تمثل هدفا رئيسيا للمهاجمة من طرف الأنواع الأكسجينية وخاصة جذر الهيدروكسيل، حيث ينتج عن مهاجمة OH^- لذرات الهيدروجين مايسمى بجذر cojugated dienes والذي يتأكسد بدوره إلى جذر البيروكسيل وذلك في وجود الأكسجين و بهذا تتولد سلسلة فوق أكسدة اللبيدات (Davies، 2000). تسلك الهيدروبيروكسيدات الناتجة مسلكين، فإما أن ترجع وتعدل بواسطة الجليتاثيون أو تستمر أكسدتها وتتجزأ إلى ألدهيدات سامة مثل Malonaldèhyde (MDA) الذي يعتبر كمؤشر لفوق أكسدة اللبيدات (Dean، 1997) **شكل (3)**. تؤدي فوق أكسدة اللبيدات إلى تلف بنية الأغشية البلازمية وذلك بتغير ميوعتها وعدم قدرتها على أداء وظيفتها، حيث تعمل النواتج النهائية لهذه العملية على تغيير النفاذية الغشائية، المبادلات الخلوية وكذا الاستجابات الكميائية لمختلف المحفزات الخارجية (Gulcin، 2006). يمكن لهذا التأثير أن يمس البروتينات اللبيدية الجارية في الدم مشكلة بذلك LDL المؤكسد الذي يتعرض للبلعمة من طرف البالعات الكبيرة معطيا ترسبات لبيدية التي تعتبر من مظاهر الأمراض القلبية الوعائية (Zhishen وآخرون،1999).

3.2.2. أكسدة DNA

يوجد نوعين من DNA في الخلية DNA الميتوكوندري و DNA النووي، وكلا شكلي DNA معرض للأكسدة من طرف الجذور الحرة. تعتبر $O^{-°}$ و $O_2^{°-}$ من بين ROS التي تعمل على إتلاف DNA وذلك باستهداف العديد من المواقع فقد تتفاعل مع السكر الخماسي منقوص الأكسجين مشكلة بذلك شقوق على مستوى خيط DNA أو تهاجم الروابط بين القواعد النتروجينية والسكر الخماسي منقوص الأكسجين معطية مواقع غير قاعدية، كما يمكن أن تتعرض القواعد النتروجينية بدورها أيضا للأكسدة بواسطة ROS حيث تعتبر قواعد الغوانين من أكثر القواعد المستهدفة (Cadet و آخرون، 2002). يؤدي تفاعل القواعد النتروجينية مع الجذور الحرة إلى تشكيل العديد من القواعد المتغيرة مثل: 8 oxo guanine، 8 nitro guanine، formamidopyrimidine، 8 oxo adinine، uracile formamido، 5-hydroxycytosine، 5hydroxymèthyl uracile، oxozolone و thymine diol (Favier، 2003).



شكل(3):تفاعلات فوق أكسدة الدهون (Favier، 2003).

4.2.2. أكسدة السكريات

تعمل الأنواع الأكسيجينية النشطة على مهاجمة البروتينات السكرية و خاصة البروتيوغليكان الغضروفية. يتأكسد الغلوكوز في الظروف الفيزيولوجية وفي وجود الأيونات المعدنية محررا بذلك cytoaldahydes، H_2O_2 و OH^-، كما يمكن أن تتفاعل مع السكريات المتعددة مؤدية إلى إزالة بلمرتها (Martinez، 1995).

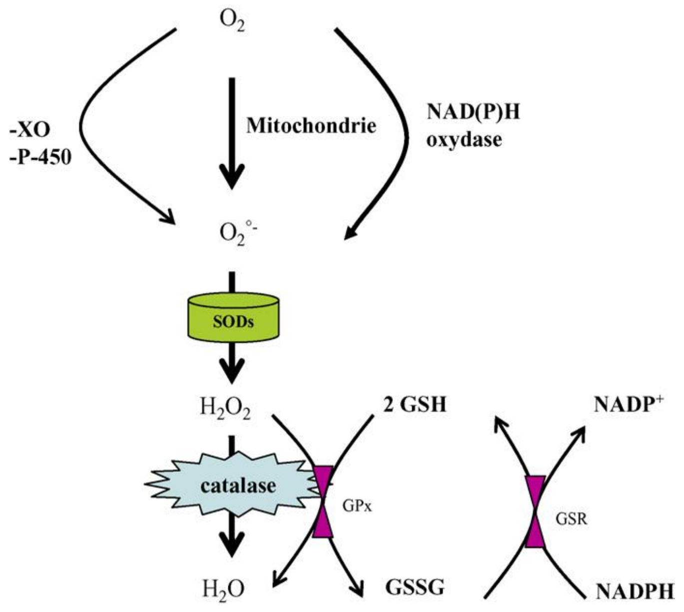
3.2.مضادات الأكسدة

يطلق على العوامل أو المواد التي تمتلك القدرة على منع و وقاية العضوية من الأكسدة بمضادات الأكسدة، والتي هي عبارة عن مجموعة من الجزيئات التي تمتلك القدرة على تثبيط أو الحد من إنتاج الجذور الحرة عبر مختلف مراحل تخليقها حيث تعمل هذه الأخيرة على حماية العضوية من الإجهاد التأكسدي إما من خلال الإزاحة المباشرة لـجذورROS أو من خلال تثبيط مختلف الأنظمة الإنزيمية المولدة لها (Dan، 2008). يقال عن جزيء أنه مضاد للتأكسد إذا توفرت فيه مجموعة من الخصائص مثل إبداء القدرة على التفاعل مع الجذور الحرة السامة، كون مدة نصف العمر كافية لإتمام التفاعل بين مضاد الأكسدة وROS، ناتج التفاعل بين مضاد الأكسدة وROS يكون أقل سمية من ROS.يوجد داخل الجسم الحي نوعين من الأنظمة الدفاعية المضادة للأكسدة و المتمثلة في الأنظمة الإنزيمية والأنظمة غير الإنزيمية(Durackova، 2008).

1.3.2.مضادات الأكسدة الإنزيمية

يتكون هذا الخط الدفاعي من ثلاث أنواع من الإنزيمات:Superoxydedismutase (SOD) Catalase (CAT) و Glutathion peroxydase (GPx) **شكل (4)**. يعمل إنزيم SOD على تحويل O^{2o-} إلى H_2O_2، حيث يوجد ثلاث نظائر إنزيمية لهذا الإنزيم والتي تختلف فيما بينها من خلال توضعها داخل الخلية وكذا في نوعية الأيون المعدني المرتبط بها إلى الشكل السيتوزولي والنووي والذي عادة ما يكون مرتبط بأيونات النحاس أو الزنك (Cu/Zn-SOD)، الشكل الميتوكوندري المرتبط بأيونات المنغنيز (Mn-SOD) و الشكل الخارج خلوي (Ec-SOD) (Sturtez وآخرون، 2001).

يتواجد إنزيم Catalase بصفة خاصة في الكريات الدموية الحمراء و الخلايا الكبدية، يعمل هذا الإنزيم بالتعاون مع SOD على تسريع تفاعل تحويل O^{2o-} إلى ماء وأكسجين عضوي (Dahiru و Obidoa، 2008). يعتبر إنزيم Glutathion peroxydase من أهم الأنظمة الإنزيمية المضادة للأكسدة إذ يعمل على إرجاع H_2O_2 من جهة ويقوم من جهة أخرى بإزاحة جذور الهيدرو بيروكسيد ROOH الناتجة عن أكسدة اللبيدات إلى كحولات (Dan، 2008). يتم خلال هذا التفاعل تحويل جزيئتين من GSH (reduced glutathione) إلى GSSG (glutathione disulfide) و يتطلب تفاعل إرجاع GSSG إلى GSH تدخل كل من إنزيم Glutathion reductase و NADPH كمانح لذرات الهيدروجين (Afonso وآخرون، 2007).



شكل(4):آلية عمل مختلف مضادات الأكسدة الإنزيمية (Afonsoو آخرون، 2007).

2.3.2.مضادات الأكسدة غير الإنزيمية

- **الفيتامينات (E و C)**

يتواجد فيتامين E في الطبيعة على عدة هيئات: ألفا ، بيتا و غاما tocopherole إذ يعتبر الشكلين ألفا وغاما الأكثر تواجدا في البلازما. يتميز فيتامين E بقابلية للذوبان في الدهون مما يعطيه القدرة على حماية اللبيدات الغشائية من الأثر التخريبي للجذور الحرة (Tasaoو Deng، 2004) حيث تتدخل سلسلة phytyle في إزاحة الجذور الحرة على الجهة اللبيدية للغشاء الخلوي، أما المجاميع الهيدروكسيلية فتعمل على حماية الناحية القطبية من الغشاء (Chow، 2008). يتأكسد فيتامين E ويتحول إلى جذر حر أقل سمية خلال عملية التقاطه لجذور البيروكسيل لكن سرعان ما يتم إرجاعه بواسطة كل من حمض الأسكوربيك و Glutathion (Raghuvanshi و آخرون، 2005).

يعتبر فيتامين C من بين مضادات الأكسدة الذائبة في الماء وبالتالي يمكن العثور عليه في كل من السيتوزول والسائل الخارج خلوي. يملك الفيتامين C وظائف عديدة مضادة للأكسدة فقد يقوم بالإزاحة المباشرة للجذور الحرة كما أنه يساهم في إرجاع فيتامين E (Sumazian و آخرون،2010).

- **الكاروتينات**

تتواجد صبغات الكاروتينات بشكل طبيعي في معظم النباتات الملونة مثل الطماطم والجزر حيث يبدو أن هناك علاقة طردية بين ارتفاع نسبة الكاروتينات داخل الجسم وانخفاض خطر الإصابة بأمراض القلب (Gaziano و Hennekens، 1995) ومن المحتمل أن يكون هذا التأثير راجع إلى قدرتها في حماية العضوية من الإجهاد التأكسدي، إذ تبدي هذه الأخيرة نشاطية

مضادة للتأكسد مماثلة لما هو عليه لدى فيتامين E معتمدة في ذلك على طول سلسلتها الكربونية الغنية بالروابط الهيدروجينية (López-Lluch و آخرون، 2008). تقوم الكاروتينات بإزاحة جذر $O_2^{°-}$ كما أن β-carotène تتفاعل بصورة مباشرة مع جذور البيروكسيل وبالتالي تعمل على إيقاف سلسة تفاعلات أكسدة الدهون (Gaziano و Hennekens، 1995).

- **الجليتاثيون GSH**

ينتمي الجليتاتثيون إلى عائلة الببتيدات الثلاثية الغنية بمجاميع الكبريت (SH) التي تعتبر المانحة لذرات الهيدروجين خلال عملية إزاحة العديد من الأنواع الأكسجينية النشطة ($O_2^{°-}$، OH^- ،ROO^-). يعمل الجليتاثيون كمساعد لإنزيم Glutathion peroxydase (GPx) كما أنه يؤدي دور عامل مرجع لفيتامين E (Krishnaiah وآخرون، 2010).

- **البروتينات البلازمية**

تعمل البروتينات البلازمية غير الإنزيمية مثل (الألبومين، transferrine، lactoferrine) على تنظيم مستويات الحديد والنحاس في الجسم وبذلك تأخذ دورها في مراقبة إنتاج الأنواع الأكسيجينية النشطة (Halliwell و Gutteridge، 1989). يقوم كل من transferrine وlactoferrine بالتقاط أيونات الحديد (Fe^{3+}) وبذلك توقف عملية أكسدة اللبيدات. إن ارتباط الألبومين بأيونات النحاس (Cu^{2+}) ونقله إلى الكبد يمنع تضرر العديد من جزيئات الحشوة خارج الخلوية (Durackova و آخرون، 2008).

- **عديدات الفينول**

يستعمل عدد كبير من المركبات الفينولية المستخلصة من النباتات كعلاج وذلك لما تملكه هذه المركبات من نشاطات بيولوجية وصيدلانية. تعتبر وضعية ودرجة تواجد مجاميع الهيدروكسيل في المركب عديد الفينول من العوامل المحددة لنشاطيتها المضادة للأكسدة (Steiner و آخرون، 2008)، كما تعد كل من إضافة السكر و المثيلة من العوامل المؤثرة في النشاطية المضادة للأكسدة بالنسبة للفلافونويدات. تعمل الفلافونويدات كمضادات للأكسدة عن طريق العديد من الآليات فقد تعمل كمزيحات للجذور الحرة وكذللك عبر تثبيط العديد من الأنظمة الإنزيمية المولدة لها (lipooxygènase، cyclooxygènase و xanthine oxydase) (Trouillas و آخرون،2008).

4.2. العلاقة بين الإجهاد التأكسدي والقرحة المعدية

يعتبر الجدار المبطن للمعدة مصدرا للجذور الحرة الناتجة بواسطة إنزيمي NADPH oxidase و xanthine oxidase الموجودين في خلايا الكريات البيضاء للأنسجة المعدية، كما أن تحفيز

الخلايا المناعية الموجودة بشكل طبيعي في الجهاز الهضمي ضد البكتيريا والسموم يمكن أن يؤدي إلى الإفراط في إنتاج ROS مثل HOCL (Saran وآخرون، 1999). تؤثر الجذور الحرة على جسم الإنسان بإحداث تغيرات على جزيئات الخلية كما يمكنها التأثير بطرق أكثر تعقيدا كتغير من تدفق الدم إلى أنسجة المخاطية للجهاز الهضمي ونتيجة هذا التجهيز ترتفع الحركية المعدية رافعة بذلك التقلصات العضلية و المعدية مما يؤدي إلى جروح على مستوى المخاطية وزيادة حموضة المعدة، و هذا ما يحث تفاعلات الأكسدة و الإرجاع و بوجود أيونات الحديد و النحاس ينتج جذر الهيدروكسيل ، يعد هذا الجذر أكثر فعالية على اللبيدات و الذي يؤدي إلى تغير ميوعة الغشاء و إحداث التقرح من خلال أكسدة البيدات الغشائية. من جهة أخرى فإن جذر $O_2^{°-}$ والذي يتفاعل مع جذر NO يؤدي إلى تشكيل جذر ONOOمحدثاً بذلك انقباضاً في الأوعية الدموية وبالتالي نقص في منسوب الدم و ارتفاع حموضة المعدة (Yoshino و آخرون، 1998).

3. المركبات الفينولية

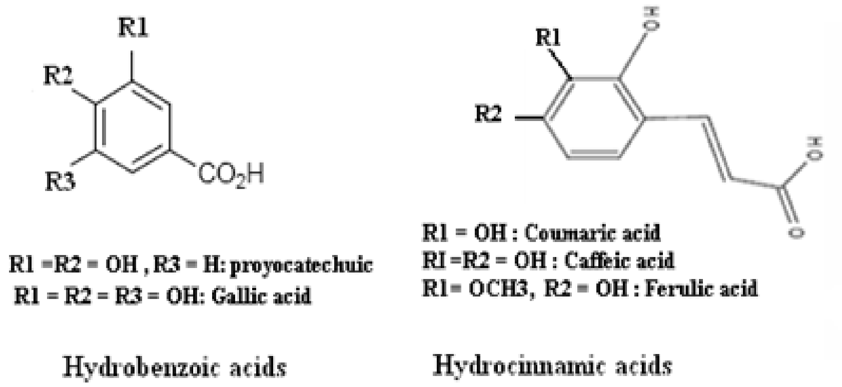
تعرف عديديات الفينول على أنها مستقلبات ثانوية ذات وزن جزيئي كبير وصيغة كميائية مميزة بوجود حلقة أو أكثر من الحلقات العطرية المرتبطة بمجاميع الهيدروكسيل. يتم إنتاج هذه المركبات من طرف النباتات كوسيلة دفاعية ضد الاعتداءات الخارجية (إصابات بكتيرية، الأشعة فوق البنفسجية ...إلخ) وذلك عبر مسلكين هما: مسلك حمض shikimique و مسلك الأسيتات (Haslam،1982).

1.3.الأحماض الفينولية

تعتبر الأحماض الفينولية الوحدة الأساسية في بناء بقية عديدات الفينول حيث تتواجد في الفواكه، الخضر وخاصة الشاي و تتميز هذه المركبات بقابليتها للذوبان في المذيبات القطبية (Taguri و آخرون، 2006). تقسم الاحماض الفينولية إلى قسمين هما: مشتقات حمض Hydroxycinnamic و مشتقات حمض Hydroxybenzoic. تبدي مشتقات Hydroxybenzoic بنية عامة C_6-C_1 والتي تشتق مباشرة من حمض البنزويك، حيث تعتبر كل من p-hydroxybenzoic syringic, vanillic،protocatechuic من أكثر الأحماض انتشارا، والتي تختلف فيما بينها من خلال إضافة مجاميع الميثيل وتوضع مجاميع الهيدروكسيل على مستوى الحلقة العطرية، كما تدخل مشتقات Hydroxybenzoic في تركيب البنيات المعقدة مثل الدباغ المميهة Gallotannins (Amarowicz و Pegg، 2008).

تكون مشتقات حمض Hydroxycinnamic ذات بنية عامة C_6-C_3 و هي عبارة عن حلقة عطرية مرتبطة بسلسلة ثلاثية الكربون. تنتشر مشتقات حمض Hydroxycinnamic بشكل أوسع وتشمل

خصوصا حمض p- coumaric، sinapic و حمض caffeic تكون هذه الأحماض قليلة التواجد بشكل حر إلآ في الأغذية المجمدة أما الأشكال الأكثر تواجدا فهي الأشكال المرتبطة على شكل أسترات (Harborne و Williams،1994).

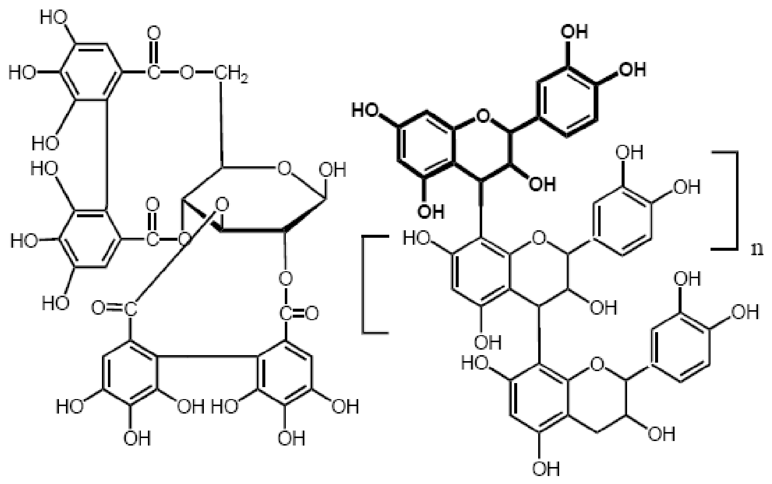


شكل (5): أقسام الأحماض الفينولية (Harborne و Williams، 1994)

2.3. الدباغ

تعرف الدباغ على أنها مركبات استقلابية ثانوية ذات أوزان كبيرة يتراوح وزنها ما بين 500-30000 دالتون، تتواجد هذه المركبات في كل من أوراق، أزهار و بذور النباتات. تتميز الدباغ بقابليتها للذوبان في الماء وبعض المذيبات العضوية مثل الاسيتون، لكن تعتبر قدرتها على تشكيل معقدات مع الجزيئات الكبرى مثل البروتينات من أهم خصائصها البيولوجية(Ken و آخرون، 2002).

تقسم الدباغ على حسب خصائصها الفيزيوكميائية و الحيوية إلى قسمين رئيسين هما الدباغ المميهة والدباغ المكثفة (Frutos و آخرون، 2004). تسمى الدباغ المميهة بهذا الاسم وذلك لقابليتها للإماهة بواسطة الأحماض والقواعد الضعيفة معطية بذلك سكريات (الغلوكوز) وأحماض فينولية كحمض الغاليك في الدباغ الغاليكية وحمض الإيلاجيك في الدباغ الايلاجيكية (**شكل 6، أ**)، كما يمكن إماهتها بواسطة الماء الساخن أو بواسطة الإنزيمات مثل إنزيم tannase (Reed، 1995). تتميز الدباغ المكثفة أو proanthocyanidins بكونها وحدات متعددة للفلافونويدات flavan-3-ols **(شكل6، ب)** مرتبطة بروابط كربونية عير قابلة للإماهة وهي أكثر انتشارا من الدباغ المميهة (Oszmianski و آخرون، 2007).



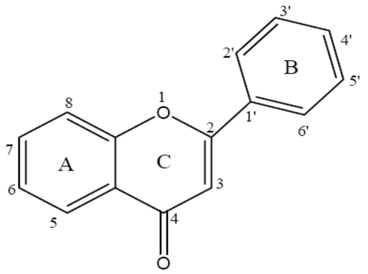
(ب) (أ)

شكل (6): أقسام الدباغ (أ) الدباغ الغاليكية، (ب) الدباغ المكثفة (Haslam و Lilley، 1988).

2.3. الفلافونويدات

بدأت دراسة الفلافونويدات سنة 1940حيث وجد أن الآلاف من النباتات تحتوي على هذه المركبات أماعن العدد المكتشف فهو في تزايد مستمر كل سنة حيث تم التعرف على أكثر من 5000 نوع من الفلافونويدات في النباتات (Trouillas و آخرون 2008). تمثل الفلافونويدات جزء كبير من المكونات غير الطاقوية من غذاء الإنسان وتوجد طبيعيا في النباتات، الفواكه والشاي ولها دور في إعطاء لون ونكهة هذه النباتات (Bolca و آخرون، 2010). تتميز الفلافونويدات بهيكل كربوني ثلاثي الحلقات C_6-C_3-C حلقتين من حمض البنزويك A و B وحلقة غير متجانسة أكسجينية و قد تكون مرتبطة بالسكريات على شكل glycoside (-Martinez Florez و آخرون،2002).

تختلف الفلافونويدات عن بعضها البعض حسب درجة عدم التشبع وطريقة إضافة الهيدروكسيل والمثيل وأيضا حسب نوع السكر المرتبط بها حيث تكون السكريات المرتبطة متجانسة أو غير متجانسة كما يمكن أن تكون الفلافونويدات غير سكرية عادة ما تضاف مجاميع الهيدروكسيل في في الموقع 3 و 5 و 7 و `3و `4 و `5 و يمكن لبعض هذه المجاميع الهيدروكسيلية أن يضاف لها المثيل أو الأستيل أو الكبريت (Apak و آخرون، 2008).



شكل (7): البنية العامة للفلافونويدات(Miller، 1996).

1.3.3. النشاطية المضادة للأكسدة لعديدات الفينول

تعتبر الفلافونويدات والأحماض الفينولية من أقوى المركبات المضادة للأكسدة و التي تقوم بدورها إما عن طريق الإزاحة المباشرة للجذور الحرة أو بالتقاط المعادن المتسببة في تشكيل الجذور الحرة أو بتثبيط الإنزيمات المنتجة لها موقفة بذلك سلسة التفاعلات التأكسدية (Bors و آخرون، 1990). يمكن للفلافونويدات أن تتفاعل مع العديد من الجذور الحرة كجذر الهيدروكسيل و أكسيد النتريك وأيون OH^- بالإضافة إلى $ONOO^-$. تتأكسد الفلافونويدات بواسطة الجذور الحرة لتشكيل جذور فلافونويدية أكثر استقرارا وأقل فعالية ويعود تفاعلها مع الجذور الحرة لوجود المجاميع الهيدروكسيلية التي تمنح إلكتروناً للجذر الحر ليصبح أكثر استقرارا حسب التفاعل التالي (Perron و آخرون، 2009):

$$\text{Flavonoid (OH)} + R^{\cdot} \longrightarrow \text{Flavonoid } (O^{\cdot}) + RH$$

ينتهي الإجهاد التأكسدي بارتباط جذر Phenoxyl مع جذر مماثل له أو مع جذر حر آخر حسب التفاعل التالي (Amiè و آخرون، 2003):

$$\text{Flavonoid } (O^{\cdot}) + R^{\cdot} \longrightarrow \text{FlavonoidO-RH}$$

$$\text{Flavonoid } (O^{\cdot}) + \text{Flavonoid } (O^{\cdot}) \longrightarrow \text{FlavonoidO- FlavonoidO}$$

يتدخل إنزيم Xanthine oxidase في إحداث أضرار تأكسدية على مستوى الأنسجة الخلوية وذلك بإنتاجه لأيون $O^{-\circ}$ بكميات مرتفعة، تقوم الفلافونويدات في هذه الحالة بتثبيط هذا الإنزيم مخفضة بذلك الأضرار الناتجة عنه، كما تبين الدراسات أن الفلافونويدات تستطيع تثبيط العديد من الإنزيمات الأخرى المنتجة للجذور الحرة مثل lipooxygenase و cyclooxygenase (Chang و آخرون، 1993).

أكدت العديد من الدراسات وجود علاقة وطيدة بين بنية الفلافونويدات و نشاطيتها المضادة للأكسدة فاختلاف المجاميع وتوزعها في الحلقة A وC يحدد تأثيرها المضاد للأكسدة (Rice-Evans و آخرون، 1996) ويمكن تلخيص أهم البنى المتدخلة في تحديد النشاطية فيما يلي:

1- عدد وتوزع مجاميع الهيدروكسيل في الحلقة B وخصوصا بنية ortho-dihydroxyl الذي يعطي نشاطية أعلى بمنحها استقرارا لجذر aroxyl عن طريق استبدال الإلكترونات أو تميل إلى الارتباط بالمعادن (Pietta، 2000).

2- وجود المجاميع الهيدروكسيلية في الوضعية C3 و C4 و C5 في الحلقة B مجموعة (pyrogallol) يجعل الفلافونويدات أكثر تأثيرا من تلك التي تحتوي على مجموعة هيدروكسيل واحدة إلا أنه تحت بعض قد تصبح هذه المركبات كطلائع للأكسدة و بذلك يبطل مفعولها المضاد للأكسدة (Seeram، 2002).

3- وجود الرابطة المزدوجة الواقعة بين ذرتي الكربون 2 و 3 المتصلة بالمجموعة في الحلقة C يرفع من القدرة الازاحية للفلافونويدات كما أن هذه الرابطة المزدوجة ترفع أيضا من النشاط الإزاحي من خلال ارتباطها بمجاميع الهيدروكسيل في الوضعية OH-3 (Rusak و آخرون، 2005). كماتعرف الفلافونويدات و الأحماض الفينولية بقدرتها على تكوين معقدات مستقرة مع الأيونات المعدنية مثل الحديد و النحاس مما يعطيها القدرة على تثبيط تفاعل Fentonو بالتالي تثبيط عملية تخليق الجذور الحرة (Gulcin و آخرون،2010).

2.3.3. آليات تأثير عديدات الفينول على حماية المخاطية المعدية

تعمل عديدات الفينول النباتية على حماية المخاطية المعدية من تأثير العوامل المحدثة للتقرح بآليات متعددة، إذ تعمل على تثبيط المضخة الجدارية للبروتونات و بالتالي تثبيط إفراز الحمض كما تعمل على تحفيز إفراز المخاط بالرفع من معدل التخليق الحيوي للبروستاغلنديناتـ (Onasanwo وآخرون، 2010).

إن انخفاض مستوى البروستاغلنديناتـ عند الإصابة بالتقرح المعدي يؤدي إلى حدوث احتباس دموي بالمخاطية المعدية والذي ينتج عنه زيادة إنتاج الجذور الحرة الأكسجينية التي تعتبر من الأسباب المنشئة للتقرح من خلال أكسدة الليبيدات الغشائية، وباعتبار أن عديدات الفينول قادرة على تخليص الأنسجة من هذه الجذور وبما أنها مضادات أكسدة فعالة فإنها تساهمفي حماية المعدة من التأثيرات السلبية للجذور الحرة (Havsteen، 2002).كما تعمل عديدات الفينول على ترسيب الإنزيمات المحللة للبروتينات في المعدة والتي من بينها الببسين الذي يعتبر أحد عوامل نشوء التقرح كما أنها تساهم في خفض درجة حموضة المعدة من خلل تثبيط عمل مضخة H+/k+-ATPases (Srikanta و آخرون، 2011). بالإضافة إلى ذلك تعمل عديدات الفينول وخاصة الفلافونويدات على تنشيط الإمداد الدموي المحلي بشكل كاف مما يسمح للمخاطية المعدية بالتخلص السريع من الحمض وبعض المواد المحدثة للتقرح وتخفض من إفراز الهيستامين عن طريق تثبيط إنزيم histidine decarboxylase (Lakshmi و آخرون، 2010) وتثبيط نمو بكتيريا *Helicobacter pylori* (Borrelli و Izzo، 2000).

4. نبتة *Globularia alypum*

تنتمي هذه النبتة إلى فصيلة النباتات العشبية الصغيرة المتفرعة، إذ يتراوح طولها ما بين 30 و 60 سم، تبدو الأوراق بسيطة متوضعة بترتيب متبادل ذات لون أخضر غامق لامع من الأعلى وفاتح غير لامع من الأسفل، تتميز الأوراق بارتكازها على الساق بواسطة سويقات صغيرة كما أنها ذات طعم شديد المرارة (Leporatti و Ghedira، 2009). تنتمي الأزهار إلى فصيلة الأزهار المسننة رباعية البتلات ثنائية الشفة، تكون الشفة العليا أقصر من الشفة السفلى و تميل في معظمها إلى اللون الأزرق البنفسجي كما أنها تتجمع بشكل سلمي متكاثف (Gonzalez-Tejero و آخرون، 2008). تعتبر البلدان المطلة على البحر المتوسط هي الموطن الأصلي لهذه النبتة وذلك لوجود المناخ الملائم من حرارة وجفاف. إذ تنتشر في كل من دول أوروبا (فرنسا،إيطاليا إسبانيا، وتركيا) و دول شمال إفريقيا (الجزائر، تونس، مصر و المغرب) (Leporatti و Ghedira، 2009).كما تتواجد في بعض مناطق دول آسيا خاصة العراق. يطلق على هذه النبتة العديد من التسميات المحلية إذ تسمى التسلغة في الجزائر و الزريقة في تونس و عين الأرنب في المغرب، أما في فرنسا فتحمل العديد من الأسماء منها: Globulaire، Sènè de arabe. تصنف نبات *Globularia alypum* ضمن المملكة النباتية كالتالي :

شعبة :	Angiosperme
قسم:	Dicotyledone
تحت قسم:	Asteridae
رتبة :	Scrophlariales
عائلة:	Globulariaceae
جنس:	*Globularia*
نوع:	*alypum*

شكل (8): نبتة *Globularia alypum.*

1.4.إستعمال النبتة في الطب الشعبي و بعض نشاطاتها البيولوجية

استعملت أزهار و أوراق نبتة *G.alypum* في الطب الشعبي منذ القدم، حيث يستخدم مشروب مغلى الأوراق لعلاج كل من تشنجات وآلام و التهاب المعدة والأمعاء (Fehri و Aiche، 2010) كما أن النقع الساخن لأجزاء هده النبتة وخاصة الأوراق منها يؤخد في كل من تونس و إيطاليا كعلاج ضد الإمساك وذلك لأن مكونات هذه النبتة تعمل على تحفيز الحركات التمعجية للأمعاء (Leporatti و Ghedira، 2009). تعتبر هذه النبتة من أفضل النباتات المستعملة في علاج التهاب المفاصل، النقرس و التيفوئيد كما تساهم في إدرار البول و تساعد في طرد الغازات.

تعتبر الفلافونويدات phenylethanoids و iridoids من أهم مكونات هذه النبتة والتي تبدي نشاطية عالية في مقاومة الإجهاد التأكسدي (Es-safi و آخرون، 2007؛Harzallah و آخرون، 2010).

تبدي نبتة *G. alypum* تأثيرات مضادة للأحياء الدقيقة مثل البكتريا*Staphylococcus aureus* ، *Klebsiella pneumoniae* و *Pseudomonas aeruginosa* (Tirtouil وآخرون، 2010)، وبعض أنواع الفيروسات مثل: (HSV) Herpes simplex-1 virus، Poliomyelitis-1 virus (POLIO) و Vesicular stomatitis virus (VSV) (Soltan و Zaki، 2009). بالإضافة إلى هذا يعمل المستخلص الميثانولي لهذه النبتة على إرتخاء العضلات المعوية عند الارنب (Chokri و آخرون، 2010).

الفصل الثاني:
المواد والطرق

1. المواد

1.1. الحيوانات

استعملت في هذه التجارب فئران من سلالة Wistar جلبت من معهد باستور (القبة، بالجزائر العاصمة) يتراوح وزنها بين 20-25 غ. وقد تم تكييف هذه الفئران لمدة أسبوعين قبل بداية التجارب في مركز تربية الحيوانات التابع لقسم البيولوجيا لجامعة فرحات عباس بسطيف مع توفير كل الظروف المخبرية من حرارة وغداء والماء (الغداء المركز الخاص بالفئران تم إحضاره من مجمع Avicole بالقصر ولاية بجاية).

2.1. المادة النباتية

تم الحصول على العينة النباتية *G. alypum* في مرحلة الإزهار، من منطقة قجال جنوب ولاية سطيف في ربيع 2011، حيث تم التعرف عليها في قسم البيولوجيا من طرف الأستاذ لعور حسين (أستاذ في قسم بيولوجيا وفيزيولوجيا النبات بجامعة فرحات عباس بسطيف).

3.1. المواد الكيميائية

استعملت في هذه الدراسة ثلاث مركبات فينولية نقية وهي الكرستين (Flavonol)، الروتين (Flavonol) ، حمض الغاليك (أحد مشتقات حمض hydroxybenzoic) و حمض التانيك كما تم استعمال العديد من المواد الكيميائية مثل: butylated hydroxytoluene (BHT)، 2-2 diphenylpicrylhydrazyl (DPPH)، Tween 40، 3-(2-pyridyl)-5.6-bis(4-phenyl-sulfonic acid) (Ferozzine)، FeCl2، Linoleic acid ، Methanol ، Ethanol، Chloroform، Hexan، Ethyl acetate و التي تم جلبها من شركة Sigma.

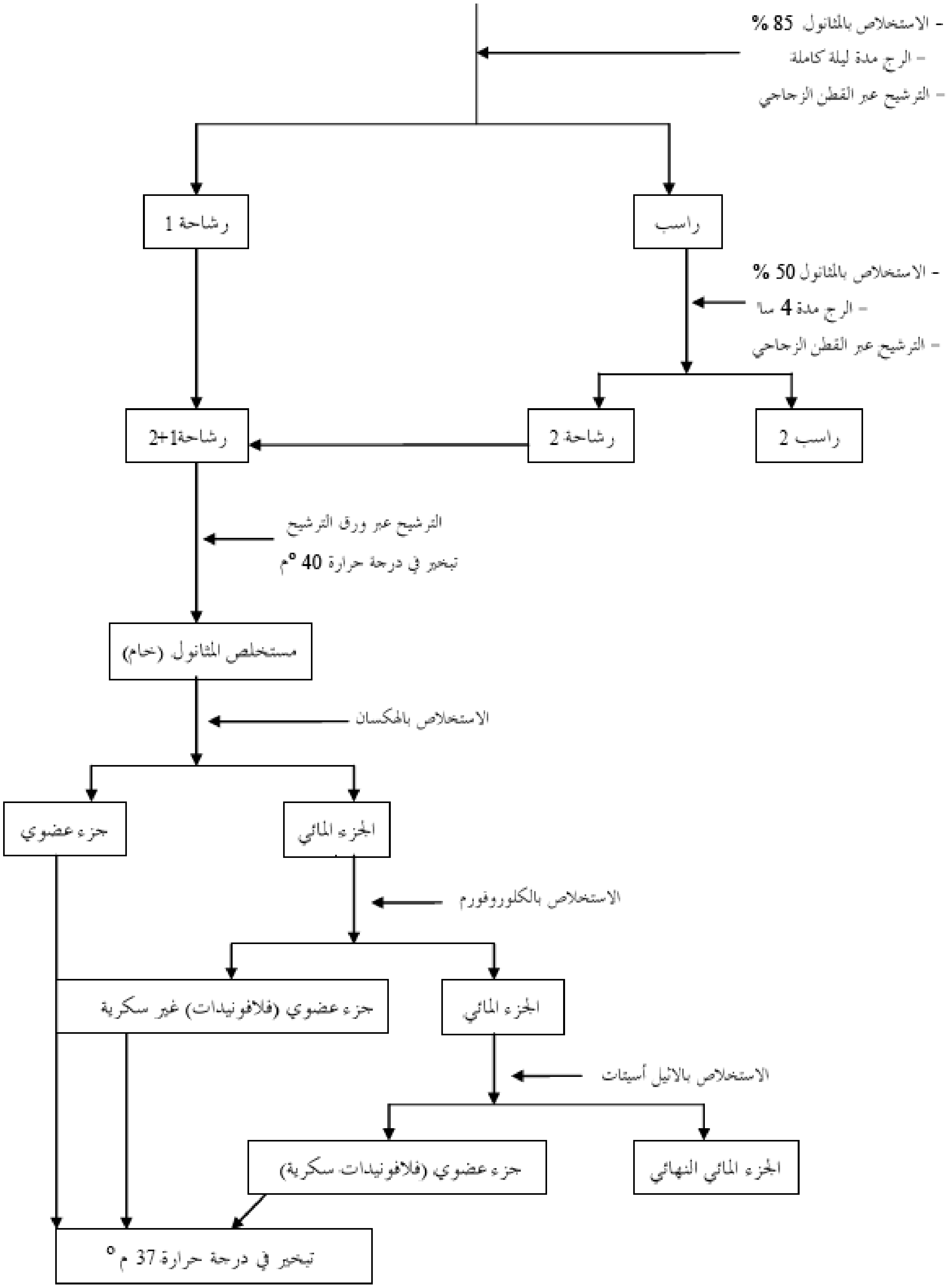
2. الطرق

1.2. استخلاص المركبات الفينولية

بعد غسل الجزء الهوائي لنبتة *G. alypum* للتخلص من الشوائب والأتربة تنزع الأوراق وتجفف جيداً في الظل تحت تأثير درجة حرارة الغرفة، بعدها تطحن الأوراق حتى تصبح على شكل مسحوق ناعم. تم إستخلاص المركبات الفينولية للنبتة حسب طريقة Markham (1982) حيث نقوم بإضافة 1ل (85% ميثانول، 15% ماء حجم/حجم) إلى 100غ من الوزن الجاف للنبتة، بعدها يترك المزيج للرج لمدة ليلة كاملة (24سا) في درجة حرارة 4°م. يرشح الخليط بواسطة القطن ويتم الاحتفاظ بالرشاحة في الثلاجة أما بقايا الخليط فيعاد استخلاص المركبات الفينولية منها بنفس الطريقة ولكن باستعمال (50% ميثانول، 50% ماء حجم/حجم) فنتحصل على رشاحة ثانية.

تمزج الرشاحتين ثم تمرر عبر ورق الترشيح، الرشاحة المحصل عليها تعرض للتبخير تحت درجة حرارة 45°م وذلك باستعمال جهاز التبخير الدوراني (Rotavapor) ليتم في النهاية الحصول على مستخلص خام، يؤخذ 25 مل من المستخلص الخام ليتم تجفيفه. المستخلص الخام المتبقي يتعرض لعملية الغسل بواسطة العديد من المذيبات العضوية متزايدة القطبية حيث أن كل مذيب يقوم بفصل نوع معين من المركبات الفينولية. نقوم بإضافة الهكسان بحجم مساو لحجم المستخلص الخام الميثانولي فينتج لدينا جزئين جزء عضوي طاف (الهكسان) والذي يكون حاو على اللبيدات والكلوروفيل وجزء مائي. هذا الأخير يضاف له حجم من الكلوروفورم لنتحصل من جديد على جزئين عضوي وجزء مائي، وفي الختام تتم إضافة خلات الإثيل لفصل الفلافونويدات السكرية (أحادية وثنائية السكر) أما الجزء المائي المتبقي يكون غني بالفلافونويدات السكرية ثلاثية ورباعية السكر، وبالتالي ينتج لدينا أربعة مستخلصات مختلفة انطلاقا من المستخلص الميثانولي الخام و التي يتم تجفيفها وحفظها في -20°م إلى حين استعمالها. تم الحصول المستخلص المائي الخام بغلي 100 غ من أوراق *G. alypum* في الماء المقطر لمدة 15 د فنحصل على المستخلص الذي يتم ترشيحه بواسطة القطن ثم ورق الترشيح.

مسحوق نبتة *Globularia alypum*

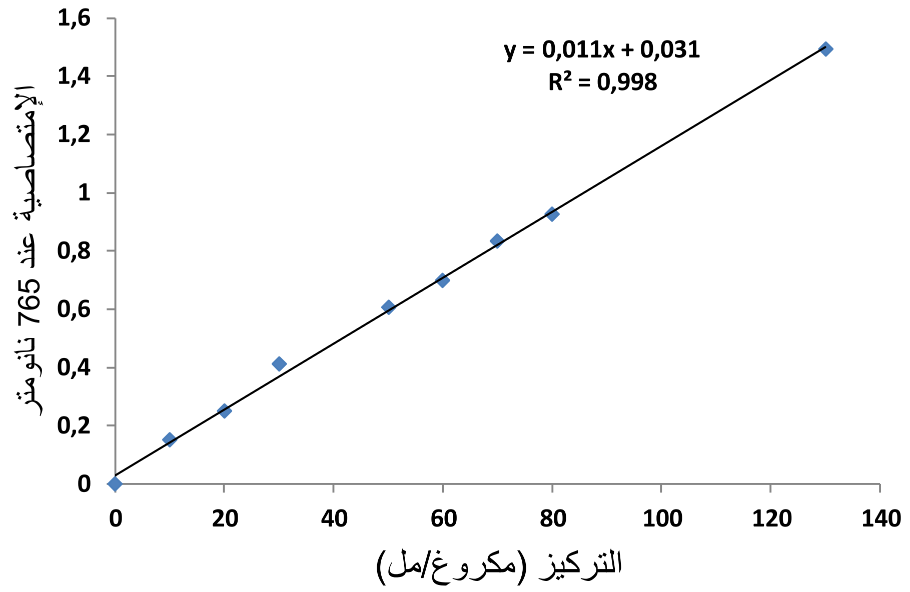


الشكل (9): مخطط يوضح استخلاص عديدات الفينول و الفلافونويدات من نبتة *G. alypum*.

2.2. تقدير عديدات الفينول الكلية

قدرت عديدات الفينول الكلية في مستخلصات النبتة باستعمال طريقة Folin-Ciocalteu (FC) (Orthofer و Lamuelas-Raventos، 1999) بالاعتماد على حمض الغاليك كشاهد وذلك كما يلي: تمزج 5 مكرول من العينة في أنبوب اختبار ثم يضاف لها 350 مكرول من كاشف Folin-Ciocalteu و بعد 8 دقائق يضاف إليها 350 مكرول من كربونات الصوديوم (Na_2CO_3) 20% ثم تقاس امتصاصية الخليط في طول موجة 765 نانومتر وذلك بعد إنتهاء مدة الحضن في حرارة المخبر (90 د)

يعبر عن النتائج بعدد الملغرامات على أساس قيم موافقة لحمض الغاليك لكل غرام من الوزن الجاف للمستخلص النباتي حسب المنحنى العياري لحمض الغاليك (20-160 مكروغ/مل).



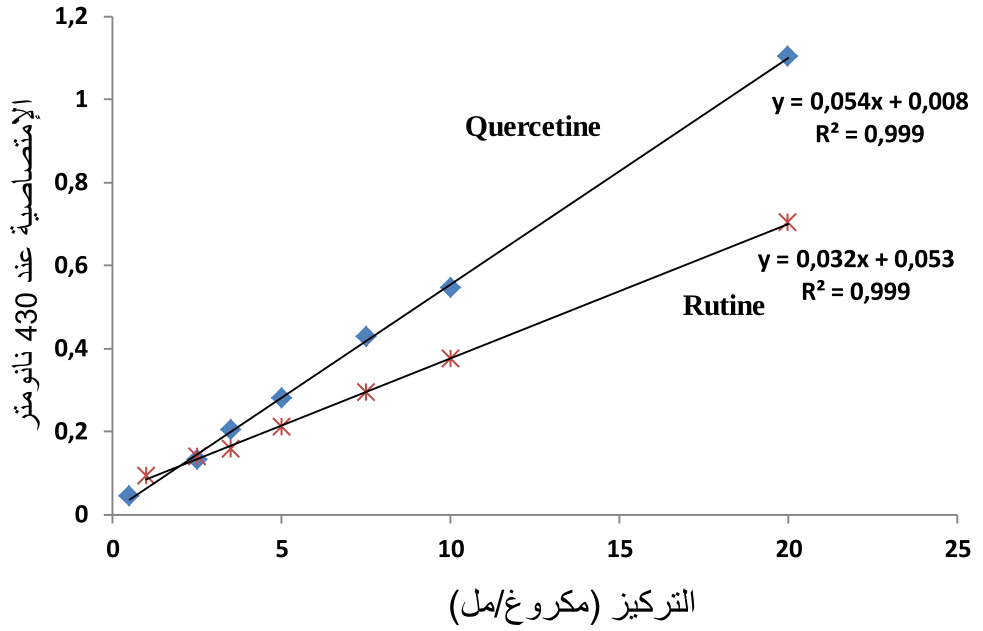
الشكل (10): منحنى العيارية لحمض الغاليك

كل نقطة من المنحنى تمثل الوسيط الحسابي لثلاث قياسات ± الإنحراف المعياري (M± SD).

3.2. التقدير الكمي للفلافونويدات

تم التقدير الكمي للفلافونويدات للمستخلصات النباتية بطريقة $AlCl_3$ (Bahorun و آخرون، 1996) حيث يؤخذ 1مل من محلول $AlCl_3$ بتركيز 2% و المذاب في الميثانول ويضاف إلى

1مل من التخفيف المختار للمستخلص ثم ترج الأنابيب وتحضن في درجة حرارة المخبر لمدة 10دقائق وبعد فترة التفاعل تقاس الامتصاصية في طول موجة 430 نانومتر .أستعمل الروتين و الكرستين (1- 40 مكروغ/مل) لتحديد منحنى العيارية الموضح في **الشكل (15)** ، وتم التعبير عن النتائج بعدد الملغرامات المكافئة لكل من الروتين و الكرستين لكل غرام من الوزن الجاف الخاص بكل مستخلص.

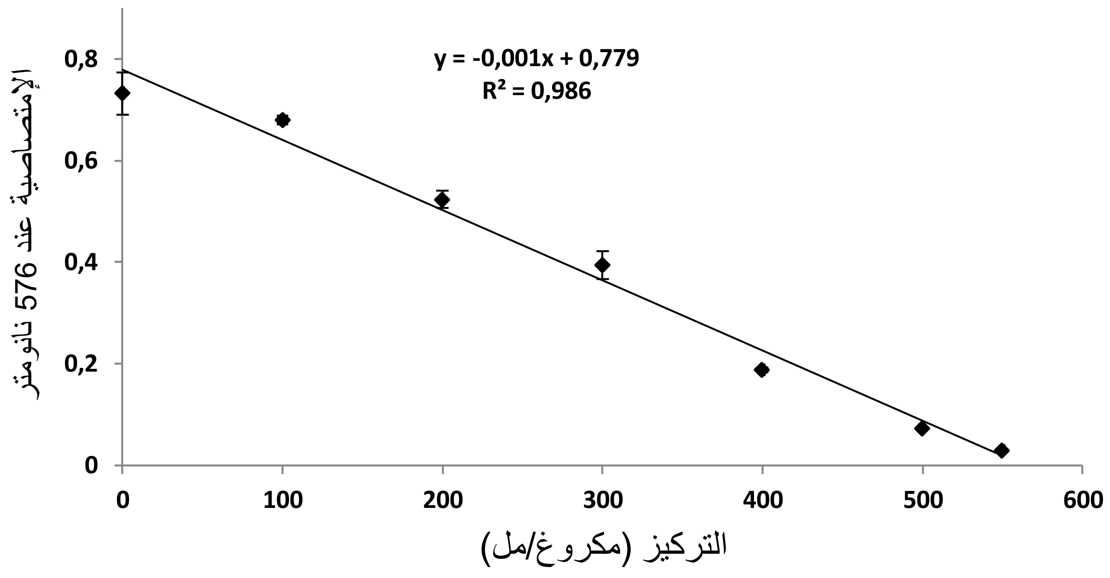


الشكل (11): منحني العيارية لـ Quercetine و Rutine

تمثل كل نقطة من المنحنى الوسيط الحسابي لثلاث قياسات ± الإنحراف المعياري (SD ±M).

4.3. التقدير الكمي للدباغ

تم التقدير الكمي للدباغ بالاعتماد على طريقة Bate-Smithe (1973) حيث يمزج حجم معين من محلول دم البقر المخفف (كثافته الضوئية = 1.6) مع نفس الحجم من التخفيف المختار للمستخلص و المذاب في الماء المقطر، يحضن المزيج لمدة 20 د ثم بعد ذلك يتم تعريضه لعملية الطرد المركزي (400 دورة في الدقيقة لمدة 10 د). تقرؤ الكثافة الضوئية للجزء الطافي في الطول الموجي 576 نانومتر. يتم التعبير عن النتائج بعدد الملغرامات المكافئة لحمض التانيك لكل غرام من الوزن الجاف الخاص بكل مستخلص حيث يحضير حمض التانيك بنفس الخطوات المتبعة مع المستخلصات ولكن بتراكيز مختلفة (0-600 مكروغ/مل) لتحديد منحنى العيارية الموضح في الشكل **(16)**.



الشكل (12): منحنى العيارية لحمض التانيك.

كل نقطة من المنحنى تمثل الوسيط الحسابي لثلاث قياسات ± الإنحراف المعياري (SD ±M).

5.2. دراسة نشاطية المستخلصات النباتية المضادة للأكسدة

1.5.2. دراسة قدرة العينات على إزاحة جذر DPPH

تم تقدير التأثير الإزاحي لمختلف مستخلصات *G. alypum* على جذر DPPH حسب Goupy و آخرون (2003)، حيث يعتمد مبدأ التقنية على إرجاع جذر 2,2'-diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) ذو اللون البنفسجي الداكن والذي يتحول إلى اللون الأصفر عند إرجاعه بواسطة المركبات المضادة للأكسدة مما يؤدي إلى انخفاض الامتصاصية في الطول موجي 517 نانومتر.

يذاب كل من المستخلص و الطور المائي للنبتة في الماء المقطر بينما تذاب الأطوار العضوية (الكلوروفورم و خلات الإثيل) في الميثانول أما المستخلص الميثانولي فيذاب في خليط من الميثانول والماء المقطر ثم تضاف 50 مكرول من من مختلف تراكيز عينات المستخلصات النباتية والمركبات الفينولية إلى 1250 مكرول من محلول DPPH الميثانولي (%0.004) ويستعمل مركب butylated hydroxytoluene (BHT) (مادة مضادة للأكسدة مصنعة) كشاهد موجب، يكرر كل تركيز 3 مرات .تحضن الأنابيب في درجة حرارة الغرفة وفي

الظلام لمدة 30 دقيقة بعد مرور هذه الفترة تقاس الكثافة الضوئية للمحاليل في طول موجة517 نانومتر مقارنة مع الشاهد الذي يحتوي كل مواد التفاعل ماعدا مادة الاختبار تحسب نسبة تثبيط الجذر الحر DPPH كما يلي:

$$\%Scavenging = (A_C - A_S) * 100 / A_C$$

حيث A_S: امتصاصية العينة، A_C: امتصاصية الشاهد
تم التعبير عن النتائج بالتركيز المزيج لـ 50% من جذر DPPH (IC_{50}).

2.5.2. اختبار β-carotène/ حمض اللينولييك

تقدر النشاطية المضادة للأكسدة في هذا الاختبار بقياس تثبيط تشكل روابط الهيدروبيروكسيد الثنائية (diene conjugated hydroperoxide) والمواد العضوية الطيارة الناتجة عن أكسدة حمض اللينولييك (Dapkevicius و آخرون، 1998). يمكن اختصار طريقة هذا الاختبار كما يلي: تذاب 0.5 مغ من β-carotène في 1 مل من الكلوروفورم، ثم يضاف إليها 25 مكرول من حمض اللينولييك و 200 مغ من Tween 40 مع الرج، ثم يتم تبخير الكلوروفورم كليا في جهاز التبخير على 40°م، وتضاف 100 مل ماء مقطر مشبع بالأكسجين مع الرج .ثم يوضع 2.5 مل من الخليط المحضر سابقا في أنابيب الاختبار، ويضاف لها 350 مكرول من العينات المحضرة بتركيز 2 مغ/مل. تجرى نفس العملية مع BHT كشاهد موجب، ومع مذيبات المستخلصات النباتية كشواهد سالبة (الماء المقطر و الميثانول) ويكرر الاختبار 3 مرات مع كل مستخلص . تحضن الأنابيب في درجة حرارة المخبر في الظلام .تقاس امتصاصية المحاليل في طول موجة 490 نانومتر خلال الأزمنة 0 سا، 1 سا، 2 سا، 3 سا، 4 سا، 6 سا، 12 سا، 24 سا، 48 سا .تقارن النشاطية المضادة للأكسدة للعينات مع BHT والشاهد السالب .ويتم حساب نشاطية المستخلصات المضادة للأكسدة النسبية (AA%) حسب العلاقة التالية:

$$AA\% = A_S / A_C * 100$$

حيث A_s : امتصاصية العينة، A_C: امتصاصية الشاهد

3.5.2. اختبار إستخلاب المعادن

تعتبر المعادن المتحولة (الكروم والنحاس، أيونات الحديد) والتي تتواجد بصورة حرة في الطبيعة من بين المصادر المسؤولة عن تشكيل الجذور الحرة (Jenkins و آخرون، 2007) تم قياس قدرة العينات النباتية على التقاط المعادن حسب طريقة Le و آخرون (2007) وذلك من خلال تثبيط تشكيل المعقد Fe^{2+}-Frrozine بعد فترة حضن المستخلص مع $FeCl_2$ المعطي لأيونات الحديد. يشمل وسط التفاعل على 250 مكرول من المستخلص (بتراكيز مختلفة)، 50مكرول $FeCl_2$ و 450 مكرول ميثانول، بعد 5 د يتم إضافة 50 مكرول من محلول Frrozine و يرج المزيج جيداَ ثم يترك لمدة 10 دقائق لإتمام التفاعل وظهور اللون الأحمر الناتج عن

تشكل المعقد Fe^{2+}-Frrozine . يتم قياس الامتصاصية الضوئية في الطول الموجي 562 نانومتر، و تحسب نسبة إستخلاب أيونات الحديد وفقاً للمعادلة التالية:

$$\%Chélation = [(Ab_C - Ab_S) / Ab_C] \times 100$$

حيث A_S: امتصاصية العينة، A_C: امتصاصية الشاهد.

4.5.2. إحداث القرحة المعدية بواسطة الايثانول

بعد تكييف الفئران لمدة أسبوعين قبل بداية التجارب في مقر تربية الحيوانات بكلية علوم الطبيعة والحياة بجامعة سطيف ، يتم تجويع هذه الحيوانات لمدة 18 سا مع تناولها للماء المسكر (14غ/ل) بشكل حر (للمساعدة في افراغ المعدة)، ثم ينزع الماء ساعة واحدة قبل بداية التجربة. قسمت الحيوانات إلى 9 مجموعات في كل واحدة منها 7 إلى 9 حيوانات.

تمثل المجموعة الأولى الحيوانات الشواهد التي أعطي لها جرعة من NaCl (0.9%) وبعد مرور ساعة أضيف لها جرعة من الإيثانول 70 %عن طريق الفم، لتقتل وتشرح بعد 10 دقائق. أما بقية المجموعات: فتمت معاملتها بالمستخلصات االنباتية (المستخلص الميثانولي الخام، المستخلص المائي الخام، طور الكلوروفورم، طور خلات الإثيل والطور المائي) بثلاث تراكيز مختلفة (100، 300 و600 مغ/ كغ، 0.1 مل/ 20غ)، وبعد ساعة من إعطاء هذه المستخلصات يتم تزقيم الحيوانات بالإيثانول 70% لتقتل وتشرح بعد 15 دقيقة.

يتم قتل الحيوانات عن طريق الخلع الرقبي ثم تشرح وتستأصل معدتها، بعد استأصال المعدة يتم فتحها تبعاً للإنحناء الكبير، ثم تثبت بواسطة دبابيس على لوحة مغطاة بورق الترشيح المبلل بمحلول NaCL (0.9 %) وتنظف جيداً بواسطة هذا المحلول للتخلص من البقايا العالقة بها ثم يتم تثبيتها بواسطة الفورمول 10%.

بعد تنظيف وتثبيت المعدة على لوح التشريح يتم قراءة مؤشرات التقرح المعدي لجميع الحيوانات بالعين المجردة (قراءة مباشرة) وذلك حسب دليل التقرح المقترح من طرف (Lee و آخرون، 1992).

نقاط الإحمرار (Pètèchie) = 1

قرحة $\geq$ 1 ملم = 2

قرحة $\geq$ 2 ملم = 3

قرحة $\geq$ 3 ملم = 4

قرحة $\geq$ 4 ملم =5

قرحة $\leq$ 5 ملم =6

استعمل في هذا النظام السلم من (0 إلى 6) لتقدير المواضع المتضررة حسب عددها و طولها، إذ يعبر الرقم 0 عن عدم إصابة المعدة بأي ضرر، ويدل الرقم 1 على وجود نقاط الاحمرار، في حين أن الرقم 2 يوافق قرحة معدية لا يتعدى طولها 1 ملم. يشير الرقم 3 إلى قرحات لا تتعدى 2 ملم، و الرقم 4 يوافق قرحة معدية لا تتعدى 3 ملم، ويوافق الرقم 5 القرحات المعدية التي لا تتعدى 4 ملم، أما بالنسبة للرقم 6 فهو يشير إلى القرحات المعدية التي يتجاوز طو لها 5 ملم.

5.5.2. التحليلات الإحصائية

كل القيم المحصل عليها يعبر عنها بالمتوسط الحسابي (M) ± الانحراف المعياري (SD) أو بالمتوسط الحسابي (M) ± الانحراف المعياري المتوسط (SEM). حللت النتائج إحصائياً عن طريق اختبار ANOVA univarie (one-way ANOVA) متبوعاً باختبار Dunnett بالنسبة للمقارنات بين المستخلصات و الشواهد. حيث أعتبر الفرق إحصائياً ذو معنى عند الدلالة 5% أي أن معامل التحديد ($P<0.05$) .

الفصل الثالث:
النتائج

1. استخلاص عديدات الفينول

تعتمد طريقة Markham (1982) في استخلاص المركبات الفينولية من أوراق النبتة على خاصية التزايد في القطبية بالنسبة لمختلف المذيبات المستعملة وذلك انطلاقا من المستخلص الخام الميثانولي، حيث أن كل نوع من هذه المذيبات يتخصص في فصل نوع معين من المركبات الفينولية الطبيعية، إذ يستعمل الهكسان لنزع الكلوروفيل و اللبيدات و يقوم كل من الكلوروفورم و خلات الإيثيل بفصل الفلافونويدات غير السكرية والسكرية (أحادية وثنائية السكر) على الترتيب. أما الجزء المتبقي والمتمثل في الطور المائي فيحتوي على المركبات الأكثر قطبية و المتمثلة في الفلافونويدات ثنائية، ثلاثية ورباعية السكر.

يتضح من **الجدول (1)** أن المستخلص الميثانولي الخام أبدى أعلى نسبة مردودية و التي قدرت بحوالي 25% ثم يليه المستخلص المائي الخام بحوالي 20% متبوعا بالطور المائي بحوالي 18%. ظهر أقل مردود في طور الهكسان و الكلوروفورم بحوالي 1% في حين كانت مردودية طور خلات الإثيل حوالي 4%، مع العلم أنه تم حساب مردودية جميع المستخلصات انطلاقا من الوزن الجاف للنبتة (100 غ) المستعمل في عملية الاستخلاص.

قدرت عديدات الفينول الكلية باعتماد طريقة تفاعل Folin-Ciocalteu و استعمل حمض الغاليك كمرجع للتعبير عن المحتوى الفينولي لكل غرام من الوزن الجاف للمستخلص. تم قياس الكثافة الضوئية في طول موجة 765 نانومتر و التي تتناسب طردياً مع تركيز حمض الغاليك. ومن خلال منحنى العيارية لحمض الغاليك تم تحديد تركيز عديدات الفينول الكلية في كل مستخلص حيث وكما يظهر في الجدول فإن أعلى كمية للفينولات الكلية تتواجد في المستخلص الميثانولي الخام ثم يليه مستخلص المائي الخام متبوعاً بطور خلات الإيثيل، بينما نجد أن الكمية تنخفض بشكل معتبر في كل من الطور الكلوروفورمي و الطور المائي و اللذان تبدو فيهما الكمية جد متقاربة.

جدول (1): مردود مستخلصات نبتة *G. alypum* و محتواها من عديدات الفينول ، الفلافونويدات و الدباغ.

كل قيمة من الجدول تمثل الوسيط الحسابي لثلاث قياسات ± الإنحراف المعياري (M± SD) بالنسبة لتقدير كل من عديدات الفينول الكلية، الفلافونويدات و الدباغ و الوسيط الحسابي لثلاث قياسات ± الإنحراف المعياري المتوسط بالنسبة للمردود.

المستخلص	المردود%	الفينولات الكلية (أ)	الفلافونويدات (ب)	الفلافونويدات (ج)	الدباغ (د)
المائي الخام	0.27 ± 20	2.21 ±133.95	0.25 ± 5.98	0.25 ±3.85	-
الخام الميثانولي	1.23 ±24.66	19.75 ± 136.66	0.42 ± 11.6	0.42 ± 5.52	0.03 ± 83.55
الهكسان	0.29 ± 1.25	-	-	-	-
الكلوروفوم	0.35 ± 1.14	6.17 ± 46.97	0.0014 ±10	0.014 ± 5.04	0.09± 164.33
خلات الإثيل	0.5 ± 4.16	33.01 ± 125.52	0.013 ± 14.49	0.013 ± 6.51	0.01 ± 64.55
الطور المائي	1.10 ± 18.13	4.03 ± 41.04	0.30 ±15.52	0.30 ± 6.68	0.02 ± 52.88

(أ):مغ مكافئ لحمض الغاليك/غ من الوزن الجاف للمستخلص.

(ب): مغ مكافئ لـ Rutine /غ من الوزن الجاف للمستخلص.

(ج): مغ مكافئ لـ Quercetine/غ من الوزن الجاف للمستخلص.

(د): مغ مكافئ لحمض التانيك/غ من الوزن الجاف للمستخلص.

تم تقدير الفلافونويدات باستعمال طريقة $AlCl_3$ و باستعمال منحنى العيارية لمركب Quercetine و Rutine، حيث وجد أن هناك تناسب طردي بين ارتفاع التركيز و زيادة الامتصاصية عند الطول الموجي 430 نانومتر، يتضح من خلال النتائج المدونة في **الجدول(1)** أن كمية الفلافونويدات المكافئة للروتين تشكل ضعف كمية الفلافونوبدات المكافئة للكرستين في جميع الأطوار والمستخلصات. تتراوح قيم الفلافونويدات المكافئة للروتين مابين (15.52 ± 0.30) و (5.98 ± 0.25) مغ مكافيء للروتين/غ من الوزن الجاف للمستخلص، أما فيما يخص كمية الفلافونويدات المكافئة للكرستين فهي تنحصر مابين (6.68 ± 0.30) و (3.85 ± 0.25) مغ مكافيء للكرستين/غ من الوزن الجاف للمستخلص و قد كان ترتيب هذه القيم على النحو التالي: الطورالمائي > طور خلات الإيثيل > المستخلص الخام الميثانولي > الطور الكلوروفورمي ثم المستخلص الخام المائي.

تم تقدير الدباغ بالاعتماد على خاصيتها في ترسيب البروتينات من خلال تشكيل معقدات معها، استعمل حمض التانيك كمرجع للتعبير عن المحتوى الفينولي لكل غرام من الوزن الجاف للمستخلص (**شكل 12**)، يلاحظ من خلال هذا الشكل أن الكثافة الضوئية تتناسب بشكل

عكسي مع محتوى المستخلصات من الدباغ. يتضح من **الجدول (1)** أن طور الكلوروفورم يمثل المستخلص الأغنى بالدباغ (164.33 ± 0.09 مغ مكافئ لحمض التانيك/غ من الوزن الجاف للمستخلص) متبوعاً بالمستخلص الخام الميثانولي (83.55 ± 0.03 مغ مكافئ لحمض التانيك/غ من الوزن الجاف للمستخلص) و طور خلات الإثيل (64.55 ± 0.01 مغ مكافئ لحمض التانيك/غ من الوزن الجاف للمستخلص) اللذان يحتويان على ما يقارب نصف كمية الدباغ المتواجدة في طور الكلوروفورم، في حين تظهر أضعف النسب لدى الطور المائي (52.88 ± 0.02 مغ مكافئ لحمض التانيك/غ من الوزن الجاف للمستخلص) و الذي يشكل ثلث الكمية المحتواة في طور الكلوروفورم تقريباً.

2. دراسة نشاطية مستخلصات النبتة المضادة للأكسدة

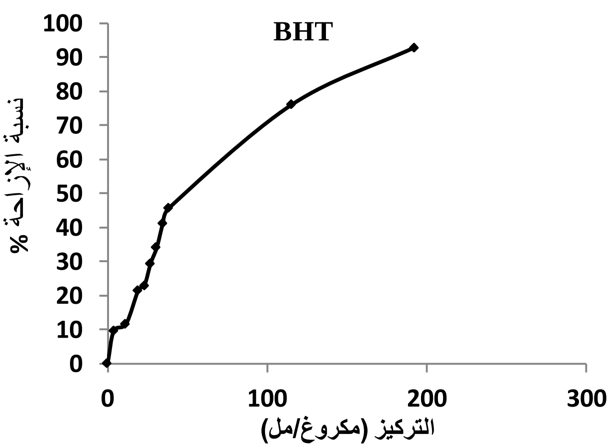
لدراسة نشاطية مختلف مستخلصات النبتة المضادة للأكسدة أجريت ثلاث إختبارات وهي: إختبار قدرة العينات على إزاحة الجذور الحرة باستعمال جذر 2,2'-diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) ، وكذا قدرتها على استخلاب المعادن من خلال اختبار إستخلاب المعادن بالإضافة إلى اختبار β-carotène/حمض اللينولييك و الذي يهدف للكشف عن قدرة العينات على تثبيط نواتج أكسدة الليبيدات.

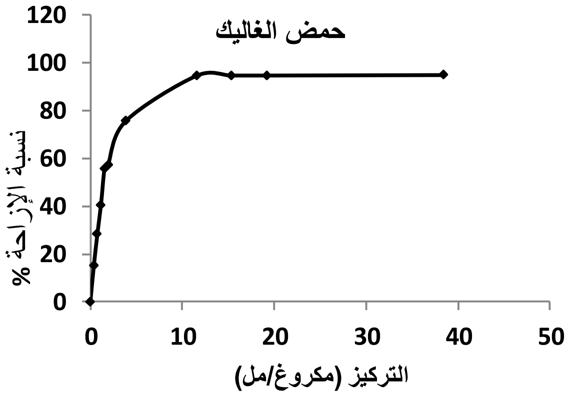
1.2.دراسة قدرة العينات على إزاحة جذر DPPH

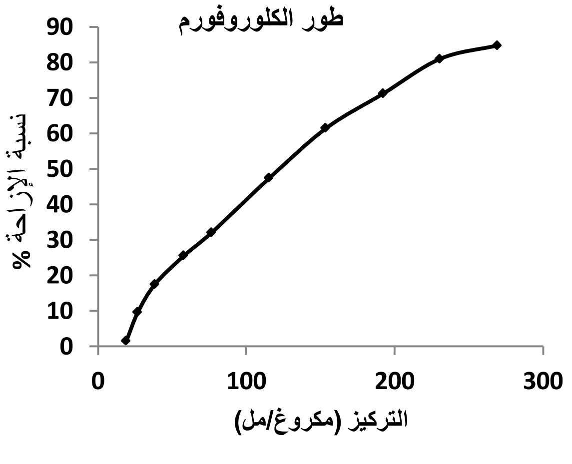
تعود نشاطية إزاحة الجذور الحرة للمادة المضادة للأكسدة في كونها قادرة على منح بروتون الهيدروجين أو إلكتروناً، ولهذا تم استعمال طريقة DPPH التي تعتبر من أشهر الطرق في قياس هذه النشاطية وذلك لسهولتها و سرعتها. يلاحظ من خلال **الشكل (13)** وجود تناسب طردي بين تركيز العينات و النسبة المئوية لإزاحة جذر DPPH في الطول الموجي 517 نانومتر وهذا ينعكس من خلال تغير اللون البنفسجي المميز لـجذر DPPH إلى اللون الأصفر. تم حساب IC_{50} لهذه المستخلصات وهي التركيز الموافق لتثبيط 50% من DPPH (حيث أن أصغر قيمة IC_{50} تعكس أحسن فعل ازاحي للمركبات) و قد تم إنشاء **الشكل (14)** للمقارنة بين قيم IC_{50} للمستخلصات النباتية و حمض الغليك مع BHT. تختلف قيم IC_{50} من مستخلص إلى آخر (**جدول 2**) حيث أظهر كل من المستخلص الخام الميثانولي و الطور المائي و طور خلات الإثيل قدرة عالية جدًا على إرجاع الجذر الحر المستقر DPPH بأحسن القيم لـ IC_{50} (33.22± 0.30 مكروغ/مل) ، (36.12 ± 0.34 مكروغ/مل) و (38.29± 0.76 مكروغ/مل) على الترتيب و التي تعتبر أحسن من قيمة BHT (46.71 ± 3.44 مكروغ/مل) عند التراكيز المستعملة، في حين أظهر المستخلص الكلوروفورمي نشاطية متوسطة و التي بلغت (136.19± 1.65 مكروغ/مل) متبوعاً بالمستخلص المائي الخام الذي سجل أضعف النسب (890.49 ± 0.08 مكروغ/مل). كما أظهرت المركبات الفينولية نشاطية مضادة للأكسدة عالية جدا وأحسن من BHT حيث وصلت قيمة IC_{50} لحمض الغاليك إلى 1.5± 0.03 مكروغ/مل.

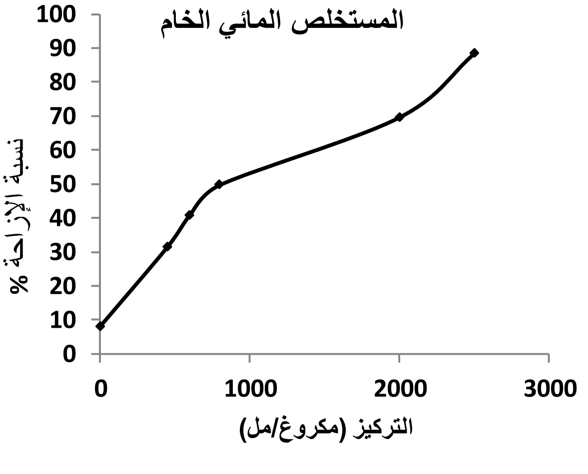
جدول (2): تركيز مستخلصات نبتة *G. alypum* المثبطة لـ 50% من نشاطية DPPH.
كل قيمة IC_{50} من الجدول تمثل الوسيط الحسابي لثلاث قياسات ± الانحراف المعياري (M± SD).

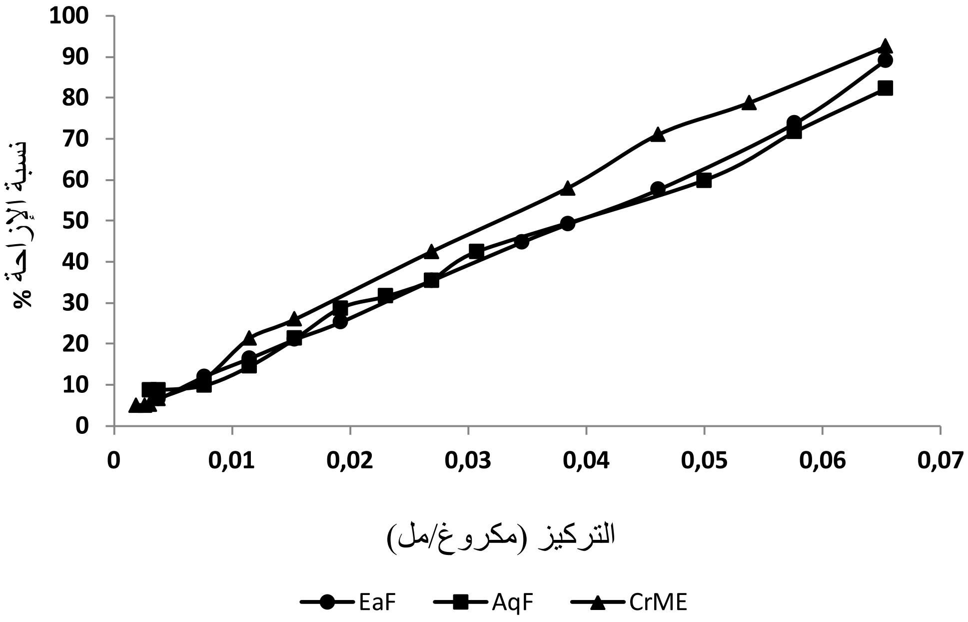
العينات	IC_{50} (مكروغ/مل)
BHT	3.55 ± 46.71
حمض الغاليك	0.03 ± 1.5
الخام المائي	89 ± 890.49
الخام الميثانولي	0.36 ± 33.32
الكلوروفورم	1.65 ± 136.19
خلات الإثيل	0.76 ± 38.29
الطور المائي	0.34 ±36.12



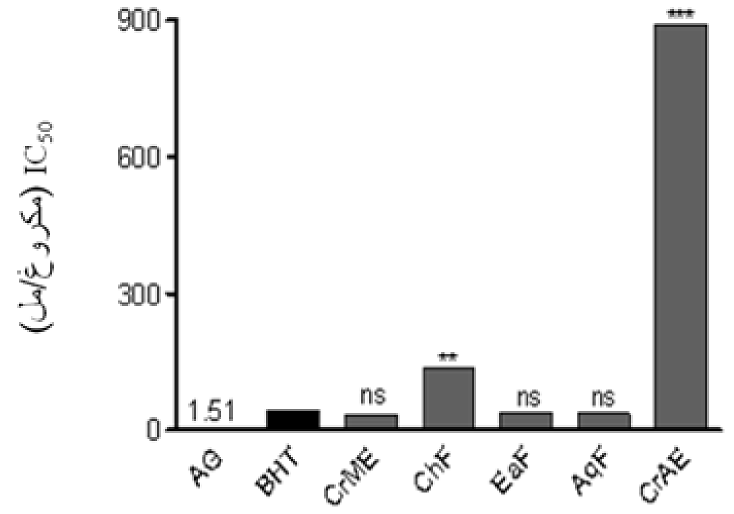








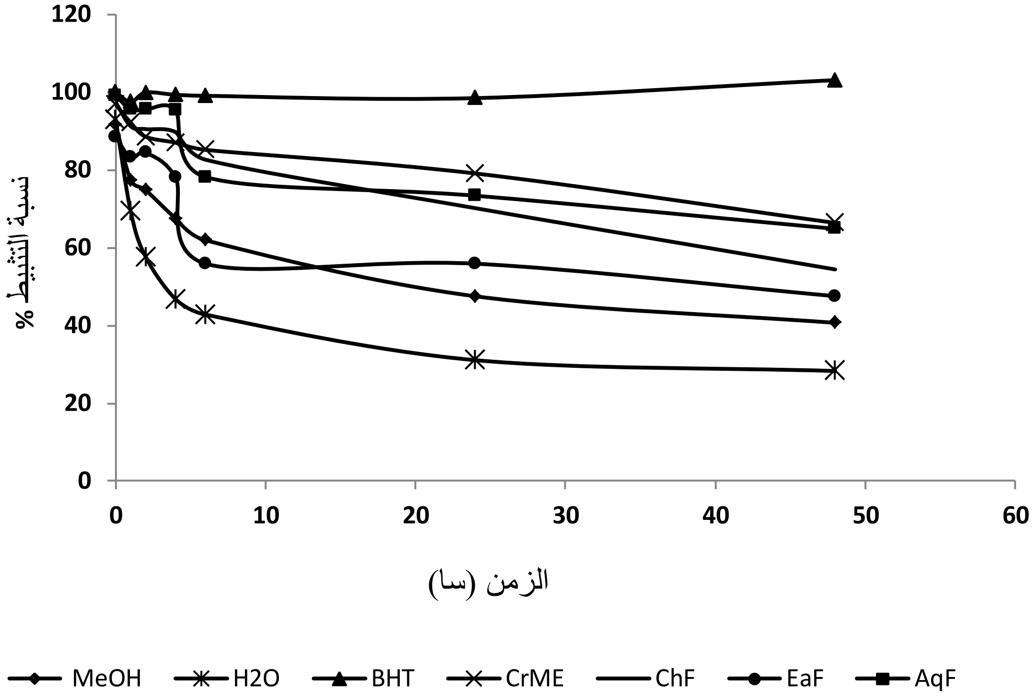
الشكل (13): التأثير الإزاحي لمختلف مستخلصات *G. alypum* و الشواهد على جذر DPPH. CrE: المستخلص الخام الميثانولي، Ea]: طور خلات الاثيل، AqE: طور المائي المتبقي.

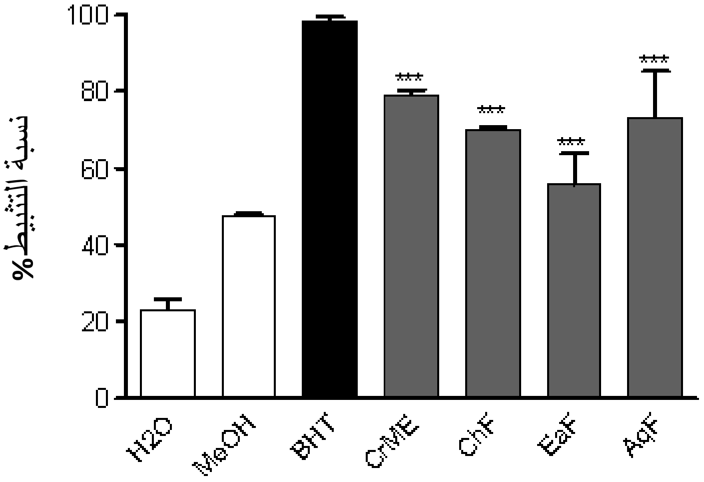


الشكل (14): تأثير مستخلصات نبتة *G. alypum*، حمض الغاليك و مركب BHT على إرجاع جذر DPPH. CrME: المستخلص الخام الميثانولي، CrAE: المستخلص الخام المائي ChF: طور الكلوروفورم، EAF :طور خلات الاثيل، AqF: الطور المائي المتبقي. كل قيمة IC_{50} من المنحنى تمثل الوسيط الحسابي لثلاث قياسات ± الانحراف المعياري (SD ±M). (^{ns}P>0.05، **P<0.01، ***P<0.001).

2.2. اختبار β-carotène/ حمض اللينولييك

يستعمل اختبارβ-carotène/ حمض اللينولييك لقياس مدى قدرة المستخلصات على تثبيط أكسدة الليبيدات حيث تعتمد هذه الطريقة على زوال اللون. من خلال النتائج المتحصل عليها وجد أن كل المستخلصات ذات أثر تثبيطي لأكسدة جزيئات β-carotène بنسب تتراوح بين 55.89% و 79.10% خلال 24 سا حيث كانت القدرة التثبيطية للمستخلص الخام الميثانولي 79.10% هي الأعلى يليها الطور المائي (73.37%) ثم الطور الكلوروفورمي (70.17%) فطور خلات الإثيل 55.89%. **(الشكل 15)**.





(أ)

(ب)

الشكل (15): (أ) يوضح قدرة المستخلصات النباتية (CrME: المستخلص الخام الميثانولي، CrAE: المستخلص الخام المائي، ChF: طور الكلوروفورم، EAF : طور خلات الإثيل، AqF: الطور المائي المتبقي) على تثبيط أكسدة β-carotène خلال 48 سا مقارنة مع الشواهد (BHT، الميثانول و الماء). **(ب) :** نسب تثبيط المستخلصات و الشواهد (BHT، الميثانول و الماء) بعد مرور 24 سا. تمثل كل قيمة IC_{50} من المنحنى الوسيط الحسابي لثلاث قياسات ± الإنحراف المعياري (SD ±M). (***P<0.001).

3.2. اختبار إستخلاب المعادن

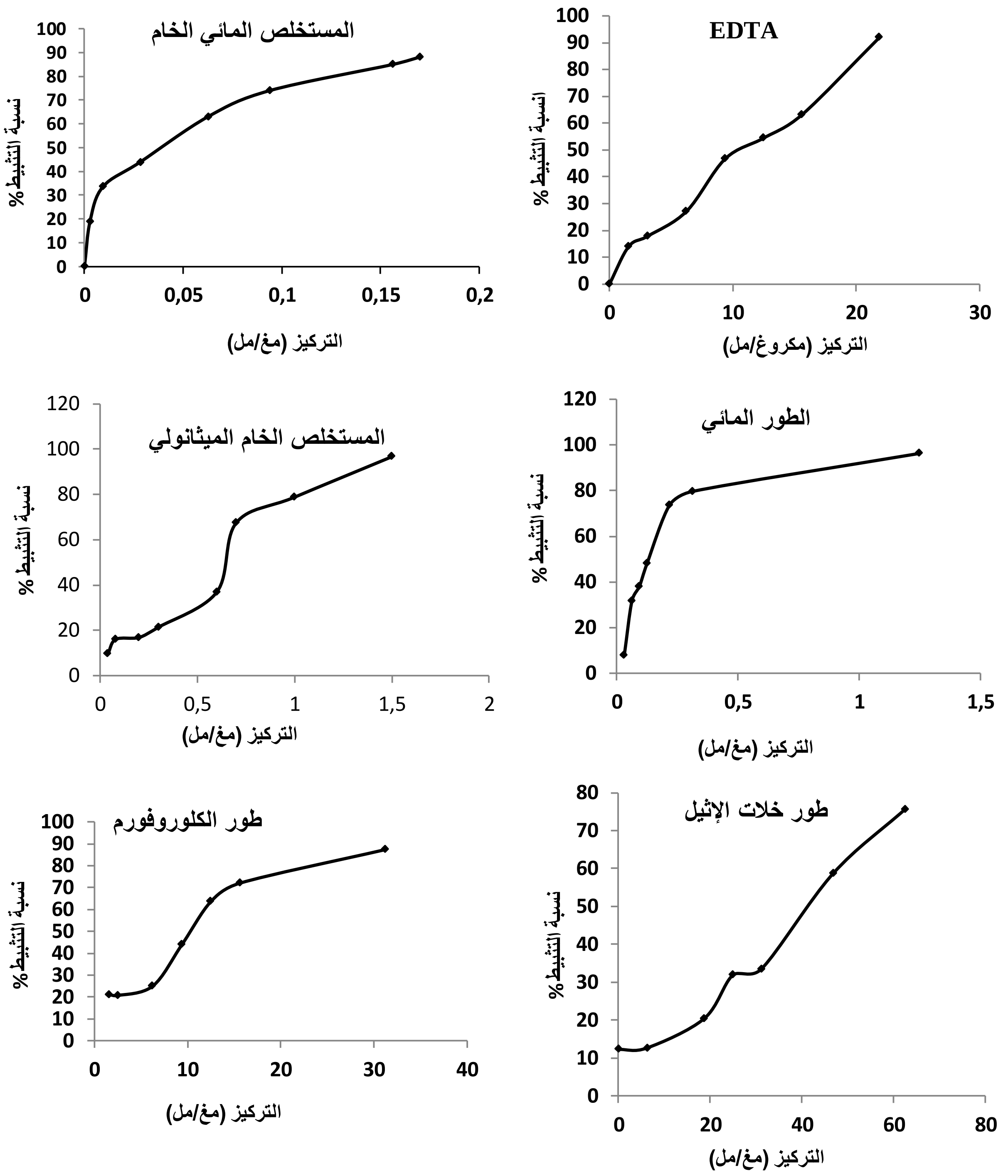
تم تقدير قدرة المستخلصات في التقاط المعادن حسب Le وآخرون (2007)، حيث استعمل Ferrozine كقابض أو ملتقط لأيونات الحديد الثنائي و التي بعد تفاعلها مع Ferrozine تؤدي إلى تشكيل المعقد Fe^{+2}-Ferrozine الذي يظهر بلون أحمر. بعد قراءة الكثافة الضوئية لمستخلصات *G. alypum* بمختلف تراكيزها في الطول الموجي 562 نانومتر وجد أن هناك اختلاف كبير في قدرة هذه الأخيرة على استخلاب أيونات الحديد الثنائي، حيث بينت النتائج أن المستخلصات تمنع تشكيل المعقد Fe^{+2}-Ferrozine بشكل يتناسب طرديا مع الزيادة في التركيز (**الشكل 16**). أظهر المستخلص الخام المائي أعلى قدرة على استخلاب المعادن (250.09 مغ مكافئ EDTA/غ) فيما أظهر كل من المستخلص الخام الميثانولي و الطور المائي قدرة إستخلاب متقاربة (61.30 ± 7.38 و 79.39 ± 8.31 مغ مكافئ EDTA/غ) على التوالي في حين كانت قدرة طوري الكلوروفورم و خلات الإثيل على إستخلاب المعادن ضعيفة مقارنة مع بقية المستخلصات (0.82 ± 0.01 و 0.30 ± 0.02 مغ مكافئ EDTA/غ). يتضح من **الشكل (17)** الذي يبين مقارنة قيم IC_{50} لمستخلصات *G. alypum* و IC_{50} لمركب EDTA (11.83 ± 0.33 مكروغ/مل) أن هناك فرق كبير ومعتبر في نشاطية هذه الأخيرة (P<0.05) . أبدى كل من طور خلات الإثيل وطور الكلوروفورم أضعف نشاطية مقارنة مع بقية المستخلصات وخاصة بالنسبة للمستخلص الخام المائي (IC_{50}= 48.14 ± 7.0 مكروغ/مل)، حيث أن قيمة IC_{50} (38.66 ± 2.8 مغ/مل) لطور خلات الإثيل تفوق قيم IC_{50} لمركب EDTA و المستخلص الخام المائي بعدة مرات ونفس الشئ لوحظ مع طور الكلوروفورم (IC_{50} =14.26± 0.24 مغ/مل).

جدول (3): تركيز المستخلصات النباتية و نشاطيتها الملتقطة لنسبة 50 % من أيونات الحديد الثنائي.

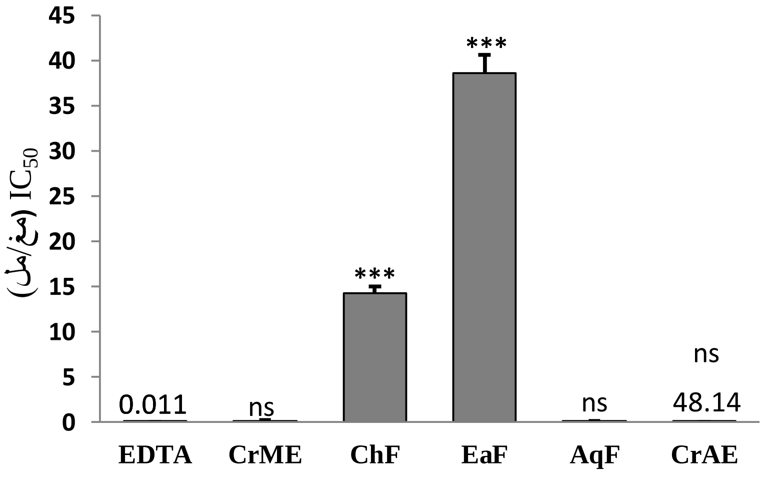
تمثل كل قيمة IC_{50} من الجدول الوسيط الحسابي لثلاث قياسات ± الإنحراف المعياري (SD ±M).

العينات	IC_{50}(مكروغ/مل)	نشاطية الالتقاط (مغ مكافئ EDTA/غ للمستخلص)
EDTA	11.83 ± 0.33	-
الخام المائي	48.14 ± 7	250.09 ± 42.41
الخام الميثانولي	194.76 ± 22.1	61.30 ± 7.38
الكلوروفورم	$14.26^{\&}$ ± 0.24	0.82 ± 0.01
خلات الإثيل	$38.66^{\&}$ ± 2.80	0.30 ± 0.02
الطور المائي	150.11 ± 15.9	79.39 ± 8.31

[&] : مغ/مل



الشكل (16): تأثير مستخلصات *G. alypum* و EDTA على تشكيل مركب Fe^{2+}-Ferrozine.



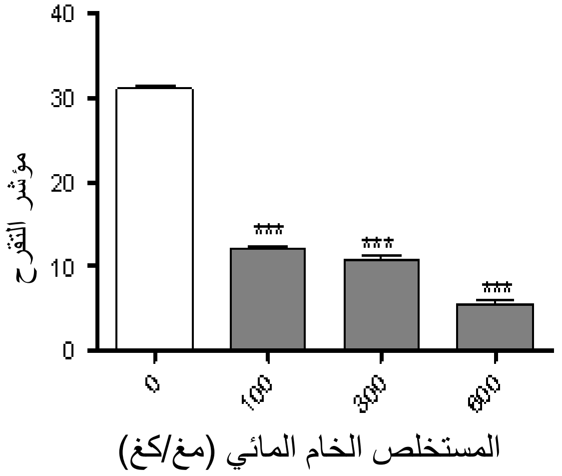
الشكل (17): قدرة مستخلصات *G. alypum* و EDTA على استخلاب أيون الحديد الثنائي (IC_{50} مغ/مل). CrME: المستخلص الخام الميثانولي،ChF: طور الكلوروفورم،EAF : طور خلات الاثيل، AqF: الطور المائي المتبقي، CrAE: المستخلص الخام المائي . تمثل كل قيمة IC_{50} من المنحنى الوسيط الحسابي لثلاث قياسات ± الانحراف المعياري (SD ±M). ($^{ns}P<0.05$، $**P<0.01$، $***P<0.001$) .

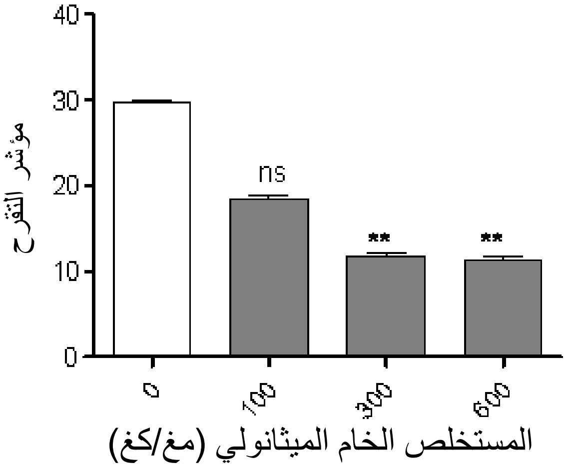
3. حماية المخاطية المعدية

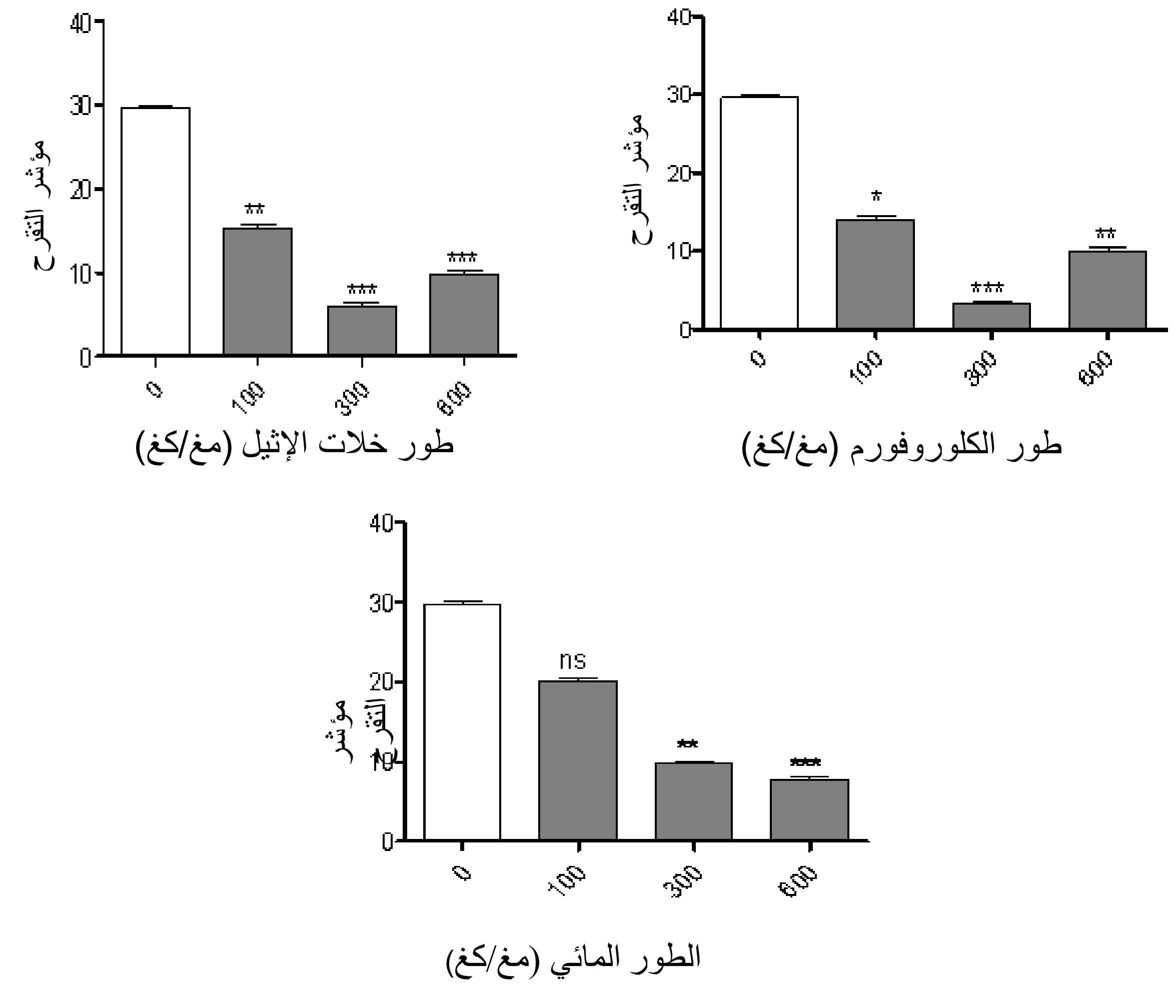
لغرض دراسة مدى فعالية مستخلصات *G. alypum* في التخفيف من حدة القرحة المعدية المحدثة بواسطة الإيثانول لدى الفئران زقمت الحيوانات بأحد هذه المستخلصات (الخام الميثانولي، طور الكلوروفورم، طور خلات الإثيل، الطور المائي والمستخلص الخام المائي) بثلاث تراكيز مختلفة (100، 300، 600 مغ/كغ) ساعة قبل معاملتها بالإيثانول 70%. يتضح من خلال النتائج المدونة في **الجدول (4)** أن جميع المستخلصات المستعملة أبدت فعالية معتبرة ($P<0.05$) في حماية المخاطية المعدية من التقرح بنسب تفوق 50% حيث أن المستخلص الخام الميثانولي أعطى أحسن نسبة حماية له (61.5%) عند الجرعة 300 مغ/كغ و التي توافق تراجع متوسط مؤشر التقرح من 29.69 إلى 11.85 وكذا تراجع متوسط طول الجروح من 23.56 إلى 7.78 مم. و قد أظهر كل من طور الكلوروفورم (300 مغ/كغ) وخلات الإثيل عند الجرعة (300 مغ/كغ) أحسن نسبة حماية لهما حيث قدرت بـ 89.33% و 79.47% على الترتيب أي تراجع مؤشر التقرح من 29.62 ± 0.37 إلى 3.16 ± 0.43 بالنسبة لطور الكلوروفورم و من 29.6± 0.37 إلى 6.00 ± 0.42 بالنسبة لطور خلات الإثيل، كما أظهرت الحيوانات المعاملة بهذين الطورين انخفاضا معتبرا ($P<0.001$) في متوسط طول الإصابات إذ بلغ (2 ± 0.35 ملم) بالنسبة لطور الكلوروفورم (300 مغ/كغ) و (3.87 ± 0.55 ملم) بالنسبة لطور خلات الإثيل، إلاّ أن ارتفاع الجرعة (600 مغ/كغ) لم يؤثر على الحيوانات المعالجة بهذين المستخلصين. على العكس مع كل من المستخلص المائي الخام و الطور المائي اللذان أبديا تناسب طردي بين ارتفاع الجرعة المستعملة و تراجع مؤشر التقرح وطول الجروح النزيفية حيث ظهر أحسن فعل وقائي لهما عند الجرعة (600 مغ/كغ) ($P<0.001$) إذ بلغ متوسط طول الإصابات النزيفية (5.57 ± 0.34 ملم) و (3.78 ± 0.37 ملم) على الترتيب بالإضافة إلى تراجع ملحوظ في مؤشر التقرح أي ما يوافق نسبة حماية 82.02% بالنسبة للمستخلص المائي الخام و 73.47% بالنسبة للطور المائي.

جدول (4): قيم مؤشرات التقرح و طول الجروح (مم) لدى الحيوانات المعاملة بمستخلصات *G.alypum* و الحيوانات الشاهدة. تمثل كل قيمة من قيم مؤشر التقرح وطول الجروح الوسيط الحسابي ± SEM (n = 9-6). (ns: لا يوجد فرق معتبر، *P<0.05، **P<0.01 ، ***P<0.001).

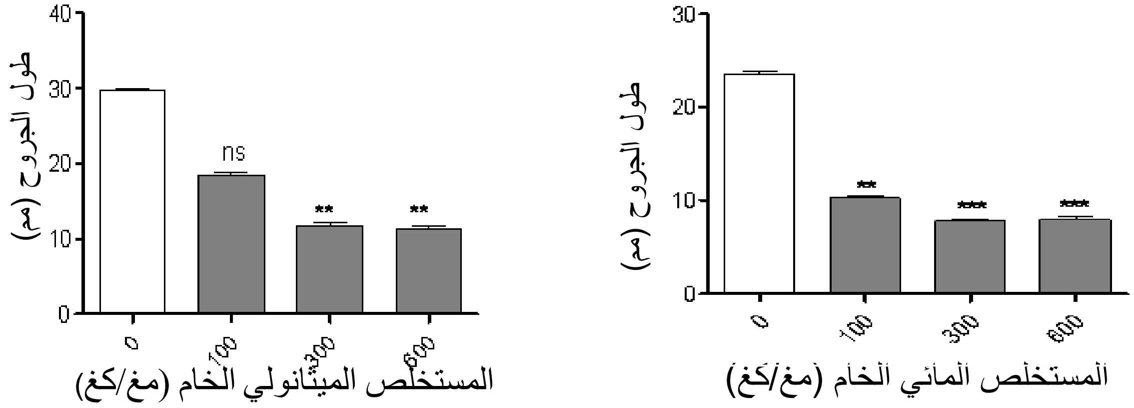
المستخلص	الجرعة (مغ/كغ)	مؤشر التقرح	طول الجروح (مم)	% نسبة الحماية
المستخلص الخام المائى	0	0.41 ±31	0.30 ± 24.5	-
	100	0.36 ±12.12 ***	0.32 ± 8.12***	61.29
	300	0.42 ± 10.87***	0.37 ±7.78 ***	64.97
	600	0.33 ±5.57 ***	0.37 ±3.78 ***	82.02
المستخلص الخام الميثانولي	0	0.37 ± 29.62	0.28 ± 23.56	-
	100	0.36 ± 18.5^{ns}	0.32 ± 10.28^{ns}	37.55
	300	0.28 ± 11.85**	0.29 ±7.78 **	61.05
	600	0.37 ± 11.9**	0.36 ±7.93 **	61.00
طور الكلوروفورم	0	0.37 ± 29.62	0.28 ± 23.65	-
	100	0.56 ± 14*	0.52 ±10.58 *	52.54
	300	0.43 ± 3.16***	0.35 ±2 ***	89.33
	600	0.50 ± 9.85**	0.36 ±5.71 ***	66.72
طور خلات الإثيل	0	0.37 ± 29.62	0.28 ± 23.5	-
	100	0.38 ± 15.37**	0.34 ±11 **	48.10
	300	0.42 ± 6***	0.55 ±3.87 ***	79.47
	600	0.34 ± 9.78***	0.30 ±7.78 ***	66.66
الطور المائي	0	0.39 ± 29.62	0.28 ± 23.65	-
	100	0.45 ± 20.12^{ns}	0.44 ±13.68 *	32.0
	300	0.39 ± 9.75**	0.35 ±7.12 **	67.08
	600	0.37 ± 7.85***	0.30 ±5 **	73.47

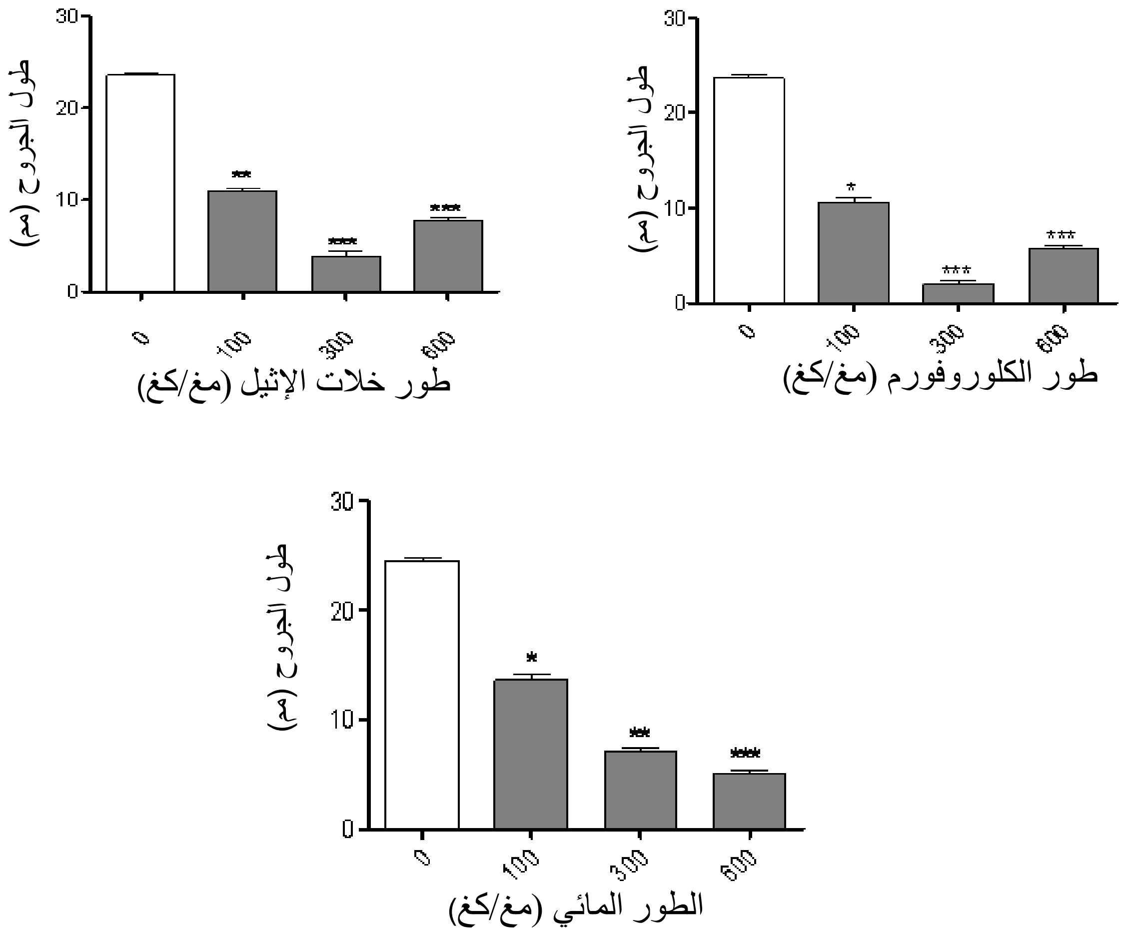






شكل (18): تأثير المعالجة بمستخلصات *G. alypum* (100، 300، 600 غ/كغ) على دليل تقرح معدة الفئران المعاملة بالايثانول (70%). القيم معبر عنها بالمتوسط الحسابي (M) ± الخطأ القياسي للمتوسط SEM (n=6-9): أجريت المقارنة بالنسبة إلى الشاهد (NaCl %0.9). ($^{ns}P>0.05$، $^{*}P<0.05$، $^{**}P<0.01$ ، $^{***}P<0.001$).





شكل (19): تأثير المعالجة بمستخلصات *G. alypum* (100، 300، 600 غ/كغ) على طول الجروح في معدة الفئران المعاملة بالايثانول (70%). القيم معبر عنها بالمتوسط الحسابي (M) ± الخطأ القياسي للمتوسط SEM (n=6-9): أجريت المقارنة بالنسبة إلى الشاهد (NaCl %0.9). ($^{ns}P>0.05$، $^{*}P<0.05$، $^{**}P<0.01$ ، $^{***}P<0.001$).

الفصل الرابع:

المناقشة

1.استخلاص وتقدير المركبات الفنولية في مستخلصات النبتة

توجد العديد من الطرق المستعملة لفصل المركبات الفينولية ولكل طريقة خصائصها حيث تعتمد طريقة Markham في فصل المركبات الفينولية على التدرج في القطبية بالنسبة للمذيبات المستعملة في عملية الفصل. ظهرت أعلى نسبة مردودية مع المستخلص الميثانولي الخام و التي قدرت بحوالي 25%متبوعا بالمستخلص الخام المائي 20% ثم الطور المائي بحوالي 18 % و ظهر أقل مردود في مستخلص الكلوروفورم بحوالي 1% في حين أن مستخلصي الهكسان و خلات الإثيل كانت مردوديتهما حوالي 1% و 4.16% على التوالي، عند مقارنة نتائج دراستنا مع نتائج الدراسة التي أجراها Harzallah و آخرون (2010) على نفس النبتة باستعمال الميثانول و خلات الإثيل و الماء في عملية الاستخلاص نجد أن هناك اختلاف بين نسب المردودية بالنسبة لعملية الاستخلاص حيث كانت مردودية المستخلص الخام الميثانولي (8.96%) أقل مما وجد في هذه الدراسة، في حين أن مردودية طور خلات الإثيل (14.85%) كانت أكثر بحوالي ثلاث مرات ما وجد في هذه الدراسة، أما مردودية المستخلص المائي الخام (34.08%) فهي تقارب ضعف ما تم التحصل عليه في هذه الدراسة (20%). كما أن الدراسة التي أجراها Chokri و آخرون (2010) تظهر أن مردود المستخلص الخام الميثانولي (37%) كان كبير نسبيا بالمقارنة مع ما وجد في هذه الدراسة (24.66%) وقد يعود السبب في الاختلاف بين هذه النتائج إلى الطريقة المتبعة في عملية الاستخلاص وكذا موسم جمع النبتة لأن فترة الجمع بالنسبة للنباتات تؤثر على كمية ونوعية محتواها الفينولي بالإضافة إلى المكان الذي تم الحصول منه على النبتة (Mann، و آخرون 1994).

يتم تحديد تركيز الفينولات الكلية في المستخلصات النباتية عن طريق العديد من الطرق أهمها طريقة Folin–Ciocalteu. يعتمد مبدأ تفاعل Folin–Ciocalteu مع المواد المرجعة على انتقال إلكترون (في الوسط القاعدي للتفاعل) من مجاميع الهيدروكسيل للمركبات الفينولية إلى المعقد حمض phosphomolybdic/phosphotungstic من كاشف Folin–Ciocalteu مما يؤدي إلى تغير لون الكاشف من الأصفر إلى الأزرق لتقاس الكثافة الضوئية في طول موجي 765 نانومتر (Dai و Mumper، 2010).

بالمقارنة مع الدراسة التي قام بها Djeridane وآخرون (2010) على نفس النبتة التي جمعت من منطقة الأغواط وتم استخلاص المركبات الفينولية منها بواسطة الميثانول (80%) قدر تركيز الفينولات الكلية بـ 29.75 مغ مكافئ لحمض الغاليك/غ للوزن الجاف للنبتة، يتضح من هذا أن هناك تقارب مع النتائج التي تم تحصيلها مع المستخلص الخام الميثانولي (32.79مغ مكافئ لحمض الغاليك /غ للوزن الجاف للنبتة أو 136.66 مغ مكافئ لحمض الغاليك/غ للوزن الجاف للمستخلص) كما أنها تتقارب مع النتائج التي توصل إليها Khlifi و آخرون (2005) (120 مغ مكافئ لحمض الغاليك/غ من الوزن الجاف للمستخلص).

تم تقدير الفلافونويدات في المستخلصات النباتية باستعمال طريقة كلوريد الألمنيوم ($AlCl_3$) وهي من أكثر الطرق انتشارا. تعتمد هذه الطريقة على تشكل المعقد فلافونويد-أيون ألمنيوم والذي يملك امتصاصية عظمى في طول موجة 430 نانومتر (Bahorun و آخرون، 1996). توضح النتائج المدونة في **الجدول (1)** أن نسبة الفلافونويدات السكرية تشكل ما يفوق ضعف كمية الفلافونويدات غير السكرية لمستخلصات النبتة وهذا يتوافق مع ما توصل إليه Es-safi وآخرون (2007) حيث بين أن النشاطية المضادة للأكسدة بالنسبة لمختلف مستخلصاتها يعود إلى غناها بالمركبات الفينولية المرتبطة بالسكريات خاصة الفلافونويدات السكرية و قد تمكن هذا الباحث وآخرون سنتي 2005 و 2007 من فصل مجموعة من الفلافونويدات السكرية التي كانت في معظمها من مشتقات lutioline. بينت الدراسة التي أجراها Harzallah وآخرون (2010) أن المستخلص الخام الميثانولي يحتوي على كمية معتبرة من الفلافونويدات مقارنة مع المستخلص الخام المائي وهذا يتوافق مع النتائج المتحصل عليها في هذه الدراسة حيث وجد أن المستخلص الخام الميثانولي يحتوي على ضعف كمية الفلافونويدات (سكرية وغير سكرية) المتواجدة في المستخلص الخام المائي.

اعتمدت طريقة Bate-Smith (1973) في تقدير كمية الدباغ المتواجدة في مختلف مستخلصات *G. alypum* وذلك لسرعتها وسهولتها حيث يعتمد مبدأ هذه التقنية على قياس قدرة الدباغ على ترسيب هيموغلوبين الخلايا الدموية الحمراءالمنحلة والذي يظهر من خلال تغير لون المصل وبالتالي ينعكس على الكثافة الضوئية لهذا الأخير في الطول الموجي 576 نانومتر. عند مقارنة محتوى المستخلصات من الدباغ يتضح أن الطور الكلوروفورمي هو الطور الأغنى وذلك باحتواءه على 164.33مغ مكافئ لحمض التانيك/غ من الوزن الجاف للمستخلص وقد تبين ذلك من خلال قدرته العالية على ترسيب بروتينات الهيموغلوبين (49.95%) وقد ظهر تناسب طردي بين الوزن الجزيئي للدباغ والقدرة الترسيبية للبروتينات. في حين أظهرت بقية المستخلصات أضعف النسب لكل من المحتوى و القدرة الترسيبية للهيموغلوبين مما يؤكد على أن هذه المستخلصات تحتوي على مركبات دباغية ذات وزن جزيئي ضعيف مقارنة بما يحتويه المستخلص الكلوروفورمي. تشير الدراسة التي أجراها Khlifi و زملاءه (2011) على أن محتوى النبتة من المركبات الدباغية (يتراوح بين 1.39 و 18.65 مغ مكافئ للكاتشين/غ للوزن الجاف للنبتة) و يتوافق هذا مع ما وجد في هذه الدراسة حيث تراوحت القيم مابين 1.87 و 19.92 مغ مكافئ لحمض التانيك/غ من الوزن الوزن الجاف للنبتة أي ما بين 52.88 و 164.33مغ مكافئ لحمض التانيك/غ من الوزن الجاف للمستخلص.

2.تأثير مستخلصات النبتة المضادة للأكسدة

تم تقدير النشاطية المزيحة للجذور الحرة باستعمال جذر 2,2'diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) الذي هو عبارة عن جذر حر جد ثابت بلونه البنفسجي الغامق، يعطي هذا الجذر امتصاصية عظمى في الطول الموجي 512-520 نانومتر (Moon و Shibamoto، 2009). عندما يتم إرجاع

هذا الجذر وذلك بتلقيه بروتون من أي معطي هيدروجيني فإنه يفقد لونه البنفسجي المميز بتحوله إلى اللون الأصفر حسب المعادلة التالية:

$$(A - H + (DPPH°)) \longrightarrow (A° + DPPH - H)$$

لون أصفر معطي هيدروجيني لونبنفسجي

كلما زاد تركيز المستخلصات النباتية تنقص نشاطية جذر DPPH فيتحول من اللون البنفسجي إلى اللون الأصفر وهكذا يتم تحديد النشاطية المضادة للأكسدة و التي هي نسبة تحول اللون البنفسجي إلى الأصفر، حيث أن هذا النظام الجذري جد حساس لأي معطي هيدروجيني (Carbone و آخرون، 2011). أظهرت مستخلصات النبتة نشاطية مضادة للأكسدة عالية وقدرة كبيرة على إزاحة جذر DPPH ويبدو أن نشاطها متعلق بمحتواها من الفلافونويدات حيث أكد العديد من الباحثين على وجود علاقة طردية بين تركيز الفلافونويدات و النشاطية الإزاحية للجذور الحرة (Agbor و آخرون، 2007) فالمستخلص الخام الميثانولي وكل أطواره (الكلوروفورم خلات الإثيل و الطور المائي) يحتوون على أكبر كمية من الفلافونويدات (سكرية وغير سكرية) مقارنة مع المستخلص المائي الخام وهذا ما انعكس على فاعليتها في إزاحة الجذور الحرة حيث أظهر المستخلص الخام الميثانولي أحسن نشاطية له بـ (IC_{50} =33.32 مكروغ/مل) وهو يمثل ضعف ما توصل إليه Khlifi وزملاءه سنة 2011 (IC_{50} =15.58 مكروغ/مل). توجد العديد من الدراسات التي تؤكد مدى قوة مستخلصات هذه النبتة في إزاحة الجذور الحرة نجد من بينها دراسة مقارنة لمجموعة من النباتات الجزائرية من بينها نبتة *G. alypum* حيث قدرت النشاطية الإزاحية للجذور الحرة للمستخلص الإيثانولي باستعمال طريقة $ABTS^-$ بـ 20.31 ميلي مول TEAC (trolox equivalent antioxidant capacity) /غ من الوزن الجاف (Djeridane و آخرون، 2006). إضافة إلى هذا أجريت دراسات أخرى لتأكيد القوة الازاحية التي تتمتع بها مستخلصات أنواع أخرى لنبات *Globularia* مثل *G.thrichosanta*، *G. davisiana* (Calis و آخرون، 2001؛ 2002).

تشير الدراسة التي أجراها Es-safi و آخرون (2007) إلى أن النشاطية المضادة للأكسدة لنبتة *G. alypum* تعود إلى وجود الفلافونويدات فيها بالدرجة الأولى ثم تليها بقية المركبات (phenylethanoids و iridoids) حيث أن قيم IC_{50} لبعض الفلافونويدات التي تم عزلها من مختلف أطوار المستخلص الخام الميثانولي للنبتة تراوحت مابين 6.6 و 7.8 مكرومول/مل و بلغت قيم IC_{50} لمركبات phenylethanoids ضعف قيم IC_{50} للفلافونويدات أما قيم IC_{50} لمركبات iridoids فقد وصلت إلى غاية عشرة أضعاف قيم IC_{50} للفلافونويدات، كما بين هذا الباحث بين أن المستخلص الخام الميثانولي يملك التأثير الإزاحي الأفضل تجاه جذر DPPH مقارنة مع بقية أطواره وهذا يتوافق مع ما تم التوصل إليه في هذه الدراسة. رغم أن العديد من الدراسات أثبتت وجود علاقة طردية بين النشاطية المضادة للأكسدة و المحتوى الفلافونويدي للمستخلصات النباتية إلا أنه توجد عوامل أخرى يجب أن تؤخذ بعين الاعتبار مثل طبيعة

وبنية هذه المركبات (Heim و آخرون، 2002)، فعلى سبيل المثال بين Pietta (2000) أن الرابطة المزدوجة الواقعة بين ذرتي الكربون 2 و3 المتصلة بالمجموعة OH في الحلقة C يرفع من القدرة الإزاحية للفلافونويدات بالإضافة إلى أن حلقة الكاتيكول (O-dihydroxybenzene) تزيد من القوة الإزاحية للفلافونويدات وهذا ما تظهره الفلافونويدات المشتقة من hydroxy-luteolin (Rice-Evans و آخرون، 1996) التي تعتبر من بين أهم الفلافونويدات التي تم فصلها من مستخلصات نبتة *G. alypum* (Es-safi و آخرون، 2007).

يستعمل اختبار β-carotène لتقدير النشاطية المضادة لأكسدة اللبيدات، حيث أنه خلال عملية أكسدة حمض اللينولييك تفقد ذرة الهيدروجين من مجموعة الميثيلان الواقعة في ذرة الكربون رقم 11 (Frankel، 1988) بعد ذلك تقوم جذور الهيدروبيروكسيد الناتجة بمهاجمة جزيئات β-carotène مما يؤدي إلى تغير لونها من اللون البرتقالي إلى اللون الأصفر ويرفق هذا بانخفاض في الامتصاصية عند الطول الموجي 490 نانومتر (Dapkevicius و آخرون، 1998). أثبتت مستخلصات *G. alypum* قدرة تثبيطية عالية لأكسدة اللبيدات حيث تراوحت قيمها مابين 55.89% و 79.10%. سجلت أعلى هذه القيم لدى المستخلص الخام الميثانولي وقد يعود السبب في ذلك إلى احتوائه على أكبر كمية من عديدات الفينول الكلية وهذا يتوافق مع ما توصل إليه Khlifi و آخرون (2005) حيث أكد على مدى فعالية المستخلص الخام الميثانولي للنبتة في تثبيط أكسدة اللبيدات من خلال منع تشكيل جذور conjugated dienes التي تعتبر أول مراحل سلسلة أكسدة اللبيدات. إن التأثير المضاد للأكسدة في اختبار β-carotène/حمض اللينولييك يشبه ذلك الحاصل على مستوى الأغشية اللبيدية، حيث تقوم مضادات الأكسدة بحمايتها من أضرار الإجهاد التأكسدي بعدة آليات من بينها استخلاب المعادن المنتجة للجذور الحرة و إزاحة الجذور الحرة (Tepe و آخرون، 2005).

تعتبر المعادن المتحولة (الكروم والنحاس، أيونات الحديد) والتي تتواجد بصورة حرة في الطبيعة من بين المصادر المسؤولة عن تشكيل الجذور الحرة، كما أنها تساهم في أكسدة اللبيدات من خلال تفاعل Fenton (Luo و آخرون، 2011) لذا تم قياس قدرة مستخلصات *G.alypum* في التقاط المعادن و بالتالي قياس قدرتها على تثبيط تشكيل الجذور الحرة من خلال الاعتماد على اختبار إستخلاب المعادن حيث تم استعمال Ferrozine كقابض أو ملتقط لأيونات الحديد الثنائي و التي بعد تفاعلها مع Ferrozine تؤدي إلى ظهور لون أحمر (Elmastas وآخرون، 2006)، في وجود الجزيئات الملتقطة للمعادن (مضادات الأكسدة) يلاحظ تناقص في درجة اللون الأحمر و الذي ينتج عن تناقص إمكانية تشكيل المعقد Fe^{2+}-Ferrozine حيث أن هذه الأخيرة (مضادات الأكسدة) تعمل على تشكيل روابط من النوع σ مع أيون Fe^{2+} محدثة بذلك استقرار الشكل المؤكسد للأيونات المعدنية.

عند مقارنة قيم IC_{50} لمختلف المستخلصات فيما بينها يتضح أن المستخلص الخام المائي والمستخلص الخام الميثانولي يبديان أعلى نشاطية مقارنة بالطور الكلوروفورمي وطور

خلات الإثيل حيث أن نشاطية المستخلصات كانت بنفس الترتيب وربما يعود هذا إلى احتوائهما على أكبر كمية من الفينولات الكلية مقارنة ببقية المستخلصات وهذا يتوافق مع العديد من الأبحاث (Chen و آخرون، 2010)، كما يمكن إرجاع هذا التأثير إلى فعل تعاوني بين مختلف المركبات المتواجدة في هذا المستخلص مثل الأحماض العضوية، الأحماض الأمينية (Wong و آخرون، 2006) أو السكريات حيث تبين من الدراسة التي أجراها Liu و آخرون (2010) إلى أن عديدات السكريات تبدى نشاطية جد معتبرة في استخلاب المعادن ولعل هذا ما يفسر فعالية المستخلص المائي الخام مقارنة ببقية المستخلصات. فسر Fernandez و آخرون (2002) كيفية عمل الفلافونويدات في إستخلاب المعادن من خلال مرحلتين حيث اقترح بأنها في البداية تفقد ذرة هيدروجين من مجاميع الهيدروكسيل ثم بعد ذلك تشكل معقد مستقر بين ذرة الأكسجين و أيون الحديد الثنائي.

3.حماية المخاطية المعدية

إن معاملة الفئران بالإيثانول (70%) بجرعة 0.1 مل/20 غ يسبب قرحة معدية خطية على مستوى الجزء الغدي لمخاطية المعدة وذلك من خلال تأثيره المباشر على الإفراز المعدي لكل من المخاط والبيكربونات (Ishida و آخرون،2010)، بالإضافة إلى أنه يؤثر على مسلك 5-lipooxygenases كما يتسبب الإيثانول في إحداث القرحة المعدية من خلال عودة انتشار أيونات H^+ مما يؤدى إلى تضرر مباشر للمخاطية المعدية و الشبكة الوعائية يصاحبه انخفاض في تدفق الدم (Jamal و آخرون، 2006). أكدت العديد من الدراسات مدى أهمية و فعالية المركبات الفينولية والمستخلصات النباتية في حماية المخاطية المعدية من التقرحات النزيفية المحدثة بالإيثانول، حيث بين Jamal وآخرون (2006) أن مختلف مستخلصات نبتة*cardamomum Elettaria* أبدت نسبة حماية عالية وصلت إلى غاية 100%، كما أكدت الدراسات التي أجراها Rujjanawate وآخرون سنة 2005 أن المستخلص الإيثانولي لنبتة *Kaempferia parviflora* ساهم في حماية المخاطية المعدية من التقرح بنسبة تفوق 80%. لم تنحصر هذه النتائج الإيجابية على المستخلصات العضوية فقط بل إن المستخلصات المائية بدورها أثبتت دورها في حماية المخاطية المعدية من الفعل التخريبي للإيثانول حيث و على سبيل المثال نجد أن المستخلص المائي الخام لأزهار المانغا يوفر حماية تامة للمعدة والتي تصل إلى نسبة 100% (lima و آخرون، 2006).

تم في هذه الدراسة اختبار تأثير مختلف مستخلصات أوراق *G. alypum* (المستخلص الخام الميثانولي، المستخلص الخام المائي، طور الكلوروفورم، طور خلات الإثيل و الطور المائي) في حماية المخاطية المعدية من التقرح المحدث بالإيثانول (70%) لدى الفأر، وقد تبين من خلال النتائج المدونة في **الجدول** (4) أن معاملة الحيوانات بمختلف مستخلصات *G. alypum* أدت إلى التقليل من شدة الإصابة النزيفية المحدثة بالإيثانول، حيث أبدت الحيوانات المعاملة بالمستخلص الخام الميثانولي نسبة حماية معتبرة قدرت بحوالي 61% في كل من

مؤشر التقرح و طول الجروح النزيفية. كما أبدت الحيوانات المعاملة بطور الكلوروفورم (300 مغ/كغ) انخفاضا معتبرا في مؤشر التقرح وطول الجروح حيث بلغت نسبة الحماية 89.33% و قد يكون هذا التأثير مرتبط باحتواء هذا الطور على كمية معتبرة من الدباغ والتي قدرت بـ 164.33 مغ مكافئ لحمض التانيك/غ للوزن الجاف للمستخلص. من المعروف أن هذه الأخيرة تعرف بخاصيتها في تكوين معقدات مع العديد من البروتينات وبالتالي تثبط بروتينات proteases المتواجدة في المعدة مثل إنزيمات الببسين (He و آخرون، 2006). أثبتت العديد من الدراسات فاعلية مستخلصات الكلوروفورم في حماية المخاطية المعدية من التقرح المحدث بواسطة الإيثانول فقد بين Lakshmi وزملاءه (2010) أن المستخلص الكلوروفورمي لنبتة *Xylocarpus granatum* أبدى نسبة حماية تفوق 80% وهذا يتوافق مع ماتوصل إليه Devaraj وزملاءه (2011) باستعمال نفس المذيب لنبتة *Raphinus sativus*، بالإضافة إلى هذا فقد أبدى الطور الكلوروفورمي لنبتة *Menthaarvensis* نسبة حماية تفوق 63 % (Londonkar و Poddar، 2009). بين Coskun و آخرون (2004) أن للكرستين (50 مغ/كغ) تأثيرا وقائيا ضد التقرحات المعدية المحدثة تجريبيا بالإيثانول 100% عند الجرذ و قد فسر ذلك بقدرة الكرستين على تثبيط أكسدة اللبيدات حيث لوحظ انخفاض معتبر في مستويات malonaldèhyde (MDA) الذي يعتبر كمؤشر لفوق أكسدة اللبيدات، بالإضافة إلى أن الكرستين يعمل على تثبيط إنزيم histidine decarboxylase ما يخفض من تشكيل الهستامين في مخاطية المعدة الذي يحفز إفراز الحمض. كما أثبتت الدراسة التي أجراها Hamaishi وآخرون (2006) أن فعالية الكاتشين في حماية المخاطية المعدية من التقرح المحدث بواسطة حمض الخليك تكمن في قدرته على رفع مستوى المخاط في المعدة بالإضافة إلى خاصيتة المضادة للأكسدة.

أدت المعاملة بطور خلات الإثيل إلى انخفاض معتبر في طول الإصابات النزيفية و مؤشر التقرح، إذ بلغت نسبة الحماية 79.47% بالنسبة إلى الحيوانات المعاملة بالجرعة 300 مغ/كغ. بين La Casa و آخرون سنة 2000 أن الحيوانات المعاملة بالفلافونويدات السكرية مثل الروتين تساعد على حماية المخاطية المعدية من التقرحات النزيفية المحدثة بالإيثانول 50%، وقد يكون هذا نتيجة لتثبيط إنتاج الجذور الحرة وكذا منع أكسدة اللبيدات، كما يمكن إرجاع هذا التأثير إلى قدرة الفلافونويدات غير السكرية على تثبيط عمل مضخة H^+/K^+-ATPase المسؤولة عن رفع تراكيز H^+ داخل لمعة المعدة (Srikanta و آخرون، 2011).أدت المعاملة بكل من الطور المائي والمستخلص المائي الخام إلى انخفاض مؤشر التقرح بنسبة حماية 73.47% و 82.08% على الترتيب وهذا يتوافق مع ما توصل إليه Fehri و Aiache (2010) حيث بينا أن المعاملة بالمستخلص المائي الخام لأوراق *G. alypum* يؤدي إلى الحماية بنسبة 65% من الإصابات المعدية المحدثة بواسطة الأندوميثاسين 100 مغ/كغ و قد رجح أن هذا الفعل الوقائي قد يعود إلى قدرة عديدات الفينول (133.95±2.21 مغ مكافئ لحمض الغاليك/غ للمستخلص) على منع هجرة الخلايا المتعادلة نحو طلائية المعدة حيث أن هذه الخلايا تلعب دورا مهما في خفض التدفق الدموي، من خلال تشكيل ما يعرف بالجلطة البيضاء في

الشعيرات الدموية للمخاطية مؤديا إلى انسدادها وعليه يصبح التدفق الدموي بطئ، مما يؤدي إلى نشوء و تطور التقرح بالمخاطية المعدية.

الخاتمة

درست النشاطية المضادة للأكسدة و المضادة للقرحة المعدية و المحتوى الفينولي والفلافونويدي و الدباغ لمختلف مستخلصات نبتة *G. alypum* و المستعملة تقليديا في علاج اضطرابات الجهاز الهضمي. قدرت عديدات الفينول الكلية باعتماد طريقة تفاعل Folin-Ciocalteu حيث وجد أن أعلى كمية للفينولات الكلية تظهر في المستخلص الميثانولي الخام ثم يليه المستخلص المائي الخام متبوعا بطور خلات الإيثيل. أظهرت طريقة كلوريد الألمنيوم ($AlCl_3$) أن كمية الفلافونويدات المكافئة للروتين تشكل ضعف كمية الفلافونويدات المكافئة للكرستين في جميع الأطوار والمستخلصات، كما أظهرت طريقة Bate-Smith المتبعة في التقدير الكمي للدباغ أن طور الكلوروفوم هو الطور الأغنى بالمركبات الدباغية متبوعا بالمستخلص الخام الميثانولي ثم طور خلات الإثيل فالطور المائي.

أظهرت نتائج اختبار إزاحة الجذور الحرة أن جميع مستخلصات *G.alypum* تزيح بشكل معتبر جذر DPPH، فقد أظهر المستخلص الميثانولي و أطواره الثلاثة (كلوروفوم، خلات الإثيل و الطور المائي) نشاطية جد عالية مقارنة بالمستخلص الخام المائي، في حين ظهر العكس في إختبار إستخلاب المعادن حيث أبدى المستخلص الخام المائي قدرة أكبر على إستخلاب المعادن مقارنة ببقية المستخلصات. تبين من خلال اختبارβ-carotène/حمض اللينولييك أن مستخلصات النبتة تمتلك قدرة تثبيطية عالية لأكسدة اللبيدات، حيث سجلت أعلى هذه القيم مع المستخلص الخام الميثانولي.

تبين من خلال النتائج المحصل عليها في هذه الدراسة أن مستخلصات نبتة *G. alypum* الحاوية على عديدات الفينول و الفلافونويدات تمتلك فعالية وقائية لمخاطية المعدة ضد العوامل المحدثة للتقرح كالإيثانول بنسب متفاوتة، حيث ظهرت أحسن نسبة حماية لدى الحيوانات المعاملة بطور الكلوروفورم عند الجرعة 300 مغ/كغ متبوعا بالمستخلص الخام المائي ثم طور خلات الإثيل فالطور المائي و أخيرا المستخلص الخام الميثانولي، إذ يبدو أن نسب الحماية تختلف باختلاف نوع عديدات الفينول و الجرعة المستعملة وتبقى الآليات المحتملة لإحداث هذه الوقاية مجالا مفتوحا لدراسات مستقبلية.

قائمةالمراجع

Abdu F, Hicks GA, Allen GHJ and Grundy D. (2002).Somatostatin sst2 receptors inhibit peristalsis in the rat and mouse jejunum.*Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*.**282**, 624-633.

Afonso V, Champy R, Mitrovic D, Collin P and Lomri A. (2007).Radicaux libres dérivés de l'oxygène et superoxydes dismutases: rôle dans les maladies rhumatismales. *Rev Rhum*. **74**, 636-643.

AgborGA, Kuate D, Oben JE. (2007). Medicinal plants can be good source of antioxidants: case study in Cameroon. *Pak Jof Biolo Sci*. **10**, 537-544.

Alderton WK, Cooper CE and Knowles RG. (2001). Nitric oxide synthases:structure, function andinhibition. *Biochem*.**357**, 593-615.

Al-Howiriny T, Al-Sohaibani M, Al-SaidM, Al-Yahya M, El-Tahir KandRafatullah S. (2005). Effect of *Commiphora opobalsamum* (Balessan) on experimental gastric ulcers and secretion in rats. *J Ethnopharmacolo*. **9,** 287-294.

Amarowicz R, and Pegg RB. (2008). Legumes as a source of natural antioxidants.*Eur J Lipid Sci Tech*. **110**, 865-878.

Amié D, Davidovie-Ami D, Beslo D and Trinajstié N. (2003). Structure-Radical Scavenging Activity Relationships of Flavonoids. *Croat Chem Acta*. **76,** 55-61.

Apak R, Güçlü K, Özyürek M, Bektas B and Bener M. (2008). Cupric ion reducing antioxidant capacity assay for Food antioxidants: vitamins, polyphenolics, and flavonoids in food extracts. *Methods Mol Biol*.**477,**163-195.

Aurousseau B. (2002). Les radicaux libres dans l'organisme des animaux d'élevage: conséquences sur la reproduction, la physiologie et la qualité de leurs produit. *INRA Prod. Anim.* **15 (1),** 67-82.

Bahorun T, Gressier B, Trotin F, Brunete C, Dine T, Vasseur J, Gazin JC, Pinkas M, Luycky M and Gazin, M. (1996). Oxygen species scavenging activity of phenolic extract from Hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparation. *Arzneim.ForschDrug Res*. 1-6.

Bartoz G. (2003). Generation of reactive oxygen species in biological systems.*Comments Toxicol*.**9,** 5-21.

Bate-Smith EC. (1973). Haemanalysis of tannins, the concept of relative astringency. *Phytochemistry*. **12,** 907-912.

Bharti S, Wahane VD and Kumar VL. (2010). Protective effect of *Calotropis procera* latex extracts on experimentally induced gastric ulcers in rat.*JEthnopharmacol*. **127,** 440-444.

Bolca S, Urpi-Sarda M, Blondeel P, Roche N, Vanhaecke L, Possemiers S, Al-Maharik N, Botting N, De KD, Bracke M, Heyerick A, Manach C and Depypere H.(2010).Disposition of soy isoflavones in normal human breast tissue.*Am J Clin Nutr*.**91,**976-984.

Borrelli F and Izzo A. (2000). The plant kingdom as a source of anti-ulcer remedies. *Phytother Res*. **14,** 581-591.

Bors W, Heller W, Michel C and Saran M. (1990). Flavonoids as antioxidants: determination of radical scavenging efficiencies. *Meth Enzymol*. **186,**343-355.

Cadet J, Bellon S, Berger M, Bourdat AG, Douki T, Duarte V, Frelon S, Gasparutto D, Muller E, Ravanat JL and Sauvaigo S. (2002). Recent aspects of oxidative DNA damage: guanine lesions, measurement and substrate specificity of DNA repair glycosylases. *Biol Chem*. **383,** 93.

Calis I, Kirmizibekmez and Tasdermir D. (2002). Iridoids glycosiddes from *Globularia davisiana*. *Chem Pharm Bull*.**50,** 678-80.

Calis I, Kirmizibekmez H and Sticher O.(2001). Iridoids glycosiddes from *Globularia trichosantha*. *Nat products*.**64,** 60-4.

Carbone K, Giannini B, Picchi V, Lo Scalzo R and F Cecchini. (2011). Phenolic composition and free radical scavenging activity of different apple varieties in relation to the cultivar, tissue type and storage. *Food Chem*.**127,** 493-500.

Chang WS, Lee YJ, Lu FJ and Chiang HC. (1993). Inhibitory effects of flavonoids on xanthine oxidase. *Anticancer Res*. **13,** 2165-2170.

Chen XH, Xia Le, Zhou HB and Qiu GZ.(2010). Chemical composition and antioxidant activities of russula griseocarnosa sp. *J Agric Food Chem*. **58**, 6966-6971.

Chiarugi P and Fiaschi T. (2007).Redox signalling in anchorage-dependent cell growth.*Cell Signal*.**19,** 672-682.

Chokri A, Doukali R, El Abida K and Ben Cheikh R. (2010). Myorelaxant and spasmolytic effect of Globularia alypum l. Extract on rabbit jejenum. *Int JPharmacol*.**6 (5),** 608-615.

Chow CK .(2008). Role of vitamine E in the cellular antioxydant -a new perspective. *Nova Science*. **6,** 85-97.

Coskun O, Kanter M, Armutcus F, Cetin K, kaybolmaz B and Yazgan O. (2004). Protective effects of Quercetin, flavonoid antioxydant, in absolut ethanol- induced acut gastric ulcer. *Eur J Gen Med* .**1(3),** 37-42.

Dahiru D and Obido O. (2008). Evaluation of the antioxidant effects of *Ziziphus mauritianalam leaf* extracts against charonic chronic ethanol-induced hepatotoxicity in rat liver.*Afr J Trad CAM* .**5 (1),** 39-45.

Dai J, and Mumper RJ. (2010).Plant phenolics: extraction, analysis and their Antioxidant and Anticancer Properties. *Molecules,* **15,** 7313-7352.

Dan Y. (2008). Biological functions of antioxidants in plant transformation. *In vitro Celllar and Développemental Biolgy- Plant*. **44,**149-161.

DanzerM, JocicM, Samberger C, Painsipp E, Bock E, Pabst M, Crailsheim K, Schicho R, IT Lippe and Holzer P. (2004). Stomach-brain communication by vagal afferents in response to luminal acid backdiffusion, gastrin, and gastric acid secretion. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.***286,** 403-411.

Dapkevicius A,Venskutonis R, Van Beek TA and Linssen PH. (1998). Antioxidant activity of extracts obtained by different isolation procedures from some aromatic herbs grown in Lithuania. *J Sci Food Agric*. **77,** 140-146.

Davies KJ. (2000). Oxidative stress antioxidant defenses and damage removal, repair, and replacement systems.*IUBMB Life*. **50**, 279-89.

Dean RT, Fu S, Stocker, R and Davies MJ.(1997). Biochemistry and pathology of radical-mediated protein oxidation.*Biochem J*. **324,** 1-18.

Devaraj VC, Krishna GB, Viswanatha GL, Prasad SV and Vinay Babu SN.(2011). Protective effect of leaves of Raphinus sativus Linn on experimentally induced gastric ulcers in rats.*Saudi Pharm J*. **19,** 171-176.

Dinoso VP, Chey WY, Padow D, Rosen A, Ottenberg D and Lorber SH. (1997). Gastrointestinal disorders in chronicalcoholics. *Am J Gastroenterol*.**56,** 209-214.

Djeridane A, Yousfi M andBrunel JM (2010). Pierre stocker isolation and characterization of a new steroid derivative as a powerful antioxidant from cleome arabica in screening the *in vitro* antioxidant capacity of 18 Algerian medicinal plants. *Food Chem Toxicol.***48,** 2599-2606.

Djeridane A, Yousfi M, Nadjeemi B, boutassouna D, stocker P and Vidal N. (2006). Antioxidant activity of some algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chem.***97**, 654-660.

Durackova Z, Djrolo F, Houngbe H, Avode G, Attoulou V, Addra B, Kodjoh N and Avimadj M .(2008). Oxidants, antioxidants and oxidative stress.*Mitochondrial medicine*.pp: 19-43.

El-Abhar HS. (2010). Coenzyme Q10: A novel gastroprotective effect via modulation of vascular permeability, prostaglandin E_2, nitric oxide and redox status in indomethacin-induced gastric ulcer model. *Eur J Pharmacol*. **649,** 314-319.

Ellis EA. (2008). Correlative transmission microscopy: cytochemical localization and immunocytochemical lLocalizationin studies of oxidative and nitrosative stress. *Antioxid Redox Signal*. **5,**324-332.

Elmastas M, Gülçin D, Isildak Ö, Küfrevioğlu Ö D, Dbaoğlu K and Aboul-Enein H Y. (2006). Radical scavenging activity and antioxidant capacity of bay leaf extracts. *J Iran Chem Soc*.**3,** 258-266.

El-Sohemy A, Baylin A, Spiegelman D, Ascherio A and Campos H. (2002). Dietary and adipose tissue gamma-tocopherol and risk of myocardial infarction. *Epidemiology*.**13,** 216-23.

Es-Safi NE , Kollmann A, Khlifi S and Ducrot PH. (2007). Antioxidative effect of compounds isolated from *Globularia alypum L.* structure activity relationship. *LWT*.**40,** 1246-1252.

Es-Safi NE, Khlifi S, Kerhoas L, Kollmann A, El Abbouyi A and Ducrot PH. (2005). Antioxidant constituents of the aerial parts of *Globularia alypum* growing in Morocco. *J Nat Prod*.**68,** 1293-6.

Favier A. (2003).Le stress oxydantIntérêt conceptuel et expérimental dans la compréhensiondes mècanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *Actualité chimique*. 108-115.

Fehri B and Aiache JM.(2010). Effects of *Globularia alypum*.on the gastrointestinal tract. *JNat Prod*. **3,**141-146.

Fennerty MD. (2005). *Helicobacter pylori*: why it still matters in 2005, *Clev clin J Med*.**72,** 1-7.

Fernandes HB, Silva FV, Passos B, Bezerra RD, Chaves MH, Oliveira FA and Meneses RC. (2010). Gastroprotective effect of the ethanolic extract of *Parkia platycephala Benth* leaves against acute gastric lesion models in rodents. *Biol Res*.**43,**451-457.

Fernandez MT, Mira ML, Florencio MH and Jennings KR. (2002). Iron and copper chelation by flavonoids: An electrospray mass spectrometry study.*J Inorganic Biochem*.**92,** 105-111.

Frankel, EN. (1998). Hydroperoxide formation in Lipid oxidation. *Dundee The Oily Press*. 23-41.

Frutos P, Hervás G, Giráldez FG and Mantecón AR. (2004).Tannins and ruminant nutrition Spanish.*JAgric Res*.**2,** 191-202.

Gaziano JM and Hennekens C. (1995).Antioxydant vitamins in the prevention of coronaryartery disease.*Conte International Medecin*.**7,** 9-14.

George A and Bubenik MD. (2002). Gastrointestinal melatonin localization, function, and clinical relevance. *Dig Diss Sci*.**47,** 2336-2348.

Gonzalez-Tejero MR, Casares-Porcel M, Sanchez-Rojas CP, Ramiro-Gutierrez JM. Molero-Mesa J, Pieroni A, Giusti ME, Censorii E and De Pasquale C. (2009). Medicinal plants in the mediterranean area synthesis of the results of the project Rubia. *J Ethnopharmacol*.**116,** 341-357

Gooz M, Hammond CE, Larsen K, Mukhin YV and Smolka AJ. (2000). Inhibition of human gastric H1-K1-ATPase a-subunit gene expression by *Helicobacter pylro*. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*.**278,** 981-991.

Goupy P, Dufour C, Loonis M and Fratelli M. (2003). Quantitative kinetic analysis of hydrogen transfer reactions from dietary polyphenols to the DPPH radical. *Antioxid Redox Signal*. **7,** 964-972.

Gritti I, Banfi G and Roi GS. (2000). Pepsinogens: physiology, pharmacology pathophysiology and exercise.*Pharmacol Res*.**41,** 1-17.

Gulcin I, Huyut Z, Elmastas M and Aboul-Enein HY. (2010). Radical scavenging and antioxidant activity of tannic acid. *Arabian Journal of Chemistry*.**3,** 43-53.

Gulcin I. (2006). Antioxidant and antiradical activities of l-carnitine. *Life Sci*. **78,** 803 – 811.

Halliwell B and Gutteridge JMC. (1989). Free radical in biology and medicine. 2nd Ed. *Clarendon Press*, Oxford University.

Hamada A, Toshiaki N, Yasuo H, Hazama H, Iwasawa K, Takahashi M, Ota S and Omata M. (1997). Effect of caffeine on mucus secretion and agonist-dependent Ca^{2+} mobilization in human gastric mucus secreting cells. *Biochimica et Biophysica Acta*.**1356,** 198-206.

Hamaishi K, Konjima R and Ito M. (2006). Anti-ulcer effect of tea catechin in rats. *Biol Pharm Bull*. **29(11),** 2206-2213.

Harborne, J and Williams, CA. (2000). Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochem*.**55,** 481-504.

Harzallah HJ, Neffati A, Skandrani I, Maaloul A, Ghedira LC, and Mahjoub T.(2010).Antioxidant and antigenotoxic activities of *Globularia alypum* leaves extracts. *J Med Plants Res*.**19,** 2048-2053.

Haslam E and Lilley TH. (1988). Natural astringency in foodstuffs: a molecular interpretation. *Crit Rev Food Sci Nutr*.**27,** 1-40.

Haslam E. (1982).The metabolism of gallic acid and hexahydroxydiphenic acid in higher plants.*Fortschr Chem Org Naturs*.**41,** 1-46.

Havsteen BH. (2002). The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacol Ther*. **96,** 67-202.

He Q, Lv Y, Yao K. (2006). Effects of tea polyphenols on the activities of a-amylase, pepsin, trypsin and lipase. *Food Chem*. **101,** 1178-1182.

Heim KE, Tagliaferro AR and Bobilya DJ. (2002). Flavonoids antioxidants: chemistry, metabolism and structure–activity relationships. *J Nutr Biochem*. **13 (10),** 572-584.

Horace DW. (1976). Physiologie de l'appareil digestif 1976 2èm èdition. MASSON. P: 108.

Ishida K, Kojima R, Tsuboi M, Tsuda Y and Ito M. (2010). Effects of artichoke leaf extract on acute gastric mucosal injury in rats. *Biol Pharm Bull*. **33(2),** 223-229.

Jamal A, Javed K, Aslama M and Jafri MA. (2006). Gastroprotective effect of cardamom, *Elettaria cardamomum*Maton fruits in rats. *J Ethnopharmacol* .**103,** 149-153.

Jenkins A, Hill M. and Rowley K. (2007). Diabetes and oxidant stress. atherosclerosis and oxidant stress. *A New Perspective*. 123-160.

Kelley E, Khoo NKH, Hundley NJ, Malik UZ, Freeman BA and Tarpey MM. (2010). Hydrogen peroxide is the major oxidant product of xanthine oxidase. *Free Radi Biol Med*.**48,** 493-498.

Ken MR, Carando S, Alessio HM, McCarthy M and. Hagerman AE. (2002). Antioxidant activity of tannins and tannin-protein complexes: assessment *in vitro* and in vivo. *Free Radicals in Food*. **14,** 188-200.

Khare S, Asad M, Dhamanigi SS, Satya Prasad V. (2008). Antiulcer activity of cod liver oil in rats. *Indian J Pharmacol*. **40,** 209-214.

Khlifi D, Hamdi M, El Hayouni A, Cazaux S, Souchard JP, Couderc F and Bouajila J. (2011). Global chemical Composition and antioxidant and anti-tuberculosis activities of various extractsof *Globularia alypum*. (Globulariaceae) Leaves.*Molecules*. **16 (12),** 10592-10603.

Khlifi S, El Hachimi Y, Khalifa A, Es-Safi N, El abbouyi A. (2005). In vitro antioxydant effect of *Globularia alypum L*. hydromèthanolic extract. *Indian J Pharmacol*. **37,** 227-234.

Konturek PC, Konturek SJ and Ladyslaw O. (2004). Neuroend-ocrinology of gastric H^+ and duodenal HCO_3^- secretion the role of brain–gut axis. *EurJ Pharmacol*.**499,** 15– 27.

Konturek SJ, Konturek PC and Brazozowski T. (2005). Prostaglandins and ulcer healing. *J Physiol Pharmacol*. **56 (5),** 5-31.

Krishnaiah D, Sarbatly Rand NithyanandamR. (2010). A review of the antioxidant potential of medicinal plant species. *Food and Bioproducts Processing.* 1-17.

La Casa C, Villegas I , Alarcon la Lastra C, Motilva V and Martin Calero MJ. (2000). Evidence for protective and antioxidant properties of rutin, a natural flavone, against ethanol induced gastric lesions. *J Ethnopharmacol*.**71,** 45–53.

Lakshmi V, Singh N, Shrivastva S, Mishra KS, Dharmani P, Mishra V, Palit G.(2010). Gedunin andPhotogeduninof Xylocarpusgranatum showsignificant anti-secretory effects and protect the gastric mucosa of peptic ulcer in rats. *Phytomedicine*. **17,** 569–574.

Le K, Chiu Fand Ng K. (2007). Identification and quantification of antioxidants in *Fructus lycii. FoodChem.* **105,** 353-363.

Lecter H, Mossel DA, Bernier JJ and Fourrier A. (1989). Microbiologie : le tube digestif, l'eau et les aliments. Doin Paris.P: 139-187.

Lee L, Schmidt KL, Tornwall MS, Henegan JM and Miller TA. (1992). Gender diferences in ethanol oxidation and injury in the rat stomach. *Alcohol*, **9(5),**421-425.

Leporatti M, and Ghedira K. (2009). Comparative analysis of medicinal plants used in traditional medicine in Italy and Tunisia.*J Ethnobiol Ethnomed*.1-8.

LimaZP, Severi AJ, Pellizzon CH, Brito ARMS, Solis PN, Giroon LM , Vilegasb W and Hiruma-Lima CA. (2006). Can the aqueous decoction of mango flowers be used asan antiulcer agent.*JEthnopharmacol*. **106,** 29–37.

Lindstrom E, Chen D, Norlèn P, Andersson K and Hakanson R. (2001). Control of gastric acid secretion: the gastrin-ECL cell-parietal cell axis. *Com Biochem Physiol* .**128,** 505-514.

Liu W, Wang H ; Yao W, Gao X and Yu Liangli. (2010). Effects of sulfation on the physicochemical and functional properties of a water-insoluble polysaccharide preparation from *Ganoderma lucidum.J Agric Food Chem*. **58,** 3336-3341.

Londonkar Rl and Poddar PV. (2009). Studies on activity of various extracts of Mentha arvensis Linn against drug induced gastric ulcer in mammals. *World J Gastrointest Oncol.* **1(1),** 82-88.

López-Lluch G, Siendones E Brea-Calvo G, Moreno DJ and Navas P. (2008). Role of antioxidants in the therapy against leukemia. *New Research on Antioxidants*. **1,** 3-35.

Lü JM, Lina PH, Yaoa Q and Chena C. (2010). Chemical and molecular mechanisms of antioxidants: Experimental approaches and model systems. *J Cell Mol Med*. **14(4),** 840-860.

Luo W, Zhao M, Yang B, Ren J, Shen G, Rao G. (2011). Antioxidant and antiproliferative capacities of phenolics purified from *Phyllanthus emblica L*. fruit. *Food Chem*.**126,** 277-282.

Mann RS, Davidson JB, Hobbs DV, Banthorpe and Harborne J. (1994). Natural products : thier chemistry and biokogical significance. LONGMAN, 1 st ed. pp: 361-388.

Marieb EN. (2008). Muscles et tissue musculaire. In : Biologie humaine : Principes d'anatomie et de physiologie. PEARSON Education.8^e^ édition France. P: 496-536.

Markham KR. (1982).Techniques of flavonoid identification. *Academic Press* (London) Chap. 1 and 2: 1-113.

Martinez C. (1995).Oxygen free radicals and human disease.*Biochim*.**77,** 61- 147.

Martinez-Florez S, Gonzalez-Gallgo J, Culebars J M and Tunon, MJ. (2002). Flavonoids :properties and and anti-oxidizing action. *Nutrition Hospitalaria*.**17,** 271-278.

Miller AL.(1996). Antioxidant flavonoids: structure, function and clinical usage. *Med Rev*. **2,** 103-111.

Moon JKand Shibamoto T. (2009). Antioxidant assays for plant and food components. *J Agric Food Chem.* **57,**1655-1666.

Murphy MS, BSC, MD, FRCPCH, DCH.(1998). Growth Factors and the gastrointestinal tract.*Nutrition*.**14,**771-774.

Niv Yand Fraser GM. (2002). The alkaline tide phenomenon. *J Clin Gastroenterol.***35(1),**5-8.

Onasanwo SA, Singh N Olaleye BS, Mishra V and PalitG. (2010). Anti-ulcer and antioxidant activities of *Hedranthera barteri* with possible involvement of H+, K+ ATPase inhibitory activity. *Indian J Med Res*. **132,** 442-449.

Orthofer R and Lamuelas-Raventos RM. (1999). Analysis of total phenols and otheroxidation substrates and antioxidants by means of Folin–Ciocalteau reagents. *Meth Enzymol***29,** 152-178.

Oszmianski J, Wojdylo A, Lamer-Zarawska E and Swiader K. (2007). Antioxidant tannins from Rosaceae plant roots. *Food Chem*. **100,** 579-583.

Parsons ME and GanellinCR. (2006). Histamine and its receptors. *Brit J Pharmacol*.**147,** 127-135.

Perron NR, BrumaghimJL. (2009). Review of the antioxidant mechanisms of polyphenol compounds related to Iron binding. *Cell Biochem Biophys* .**53,** 75-100.

Pietta PG. (2000). Flavonoids as antioxidants. *JNat Prod*. **63,** 1035-1042.

Raghuvanshi R, Chandra M, Misra PC and Misra MK. (2005). Effect of vitamin E on the platelet xanthine oxidase and lipid peroxidation in the patients of myocardial infarction..*Indian Journal of Clinical Biochemistry*.**20(1),** 26-29.

Reed JD. (1995). Nutritional toxicology of tannins and related polyphenols in forage legumes. *Amin SCi*.**73,** 1516-1528.

Rice-Evans CA, Miller N J, Paganga G. (1996). Structure antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Rad Biol Med*. **20,** 933-956.

Rujjanawate C, Kanjanapothi D, Amornlerdpison D and PojanagaroonS. (2005).Anti-gastric ulcer effect of *Kaempferia parviflora*. *J Ethnopharmacol*. **102,** 120-122.

Rusak G, Gutzeit H, O and Muller JL. (2005). Structurally related flavonoids with antioxidative properties diffentially affect cycle progression and apoptosis of human acute leukemia cells. *Nutrition Research*.**25,** 141-153.

Saran M, Beck-Speier I, Fellerhoff B and Bauer G. (1999). Phagocytic killing of microorganisms by radical processes: consequences of the reaction of hydroxyl radicals with chloride yielding chlorine atoms. *Free Rad Biol Med*. **26**, 482-490.

Seeram NP and Nair MG. (2002). Inhibition of lipid peroxidation and structure–activity related studies of the dietary constituents anthocyanins, anthocyanidins, and catechins. *J Agric Food Chem*. **50,**5308-5312.

Shin MH, Moon YJ, SeoJ, Lee Y, Kim KH, Chung JH. (2008). Reactive oxygen species produced by NADPH oxidase, xanthine oxidase, and mitochondrial electron transport system mediate heat shock-induced MMP-1 and MMP-9 expression. *Free Rad Biol Med* **44,** 635-645.

Sies H and Stahl W. (1995).Vitamin E and C, β-carotène and other carotènoids as antioxidants.*Am J clin Nutr*.**62,** 1315-1321.

Smid D, Bjorklund CK, Svensson KM, Heigis S, Revesz A. (2007). The endocannabinoids anandamide and 2-arachidonoylglycerol inhibit cholinergic contractility in the human colon. *Eur J Pharmacol*.**575,** 168-176.

Soltan MM, Zaki AK. (2009). Antiviral screening of forty-two Egyptian medicinal plants. *J Ethnopharmacol*. **126,** 102-107.

Sorg O. (2004). Oxidative stress: a theoretical model or a biological reality. *Comptes RendusBiologies*. **327,** 649-662.

Srikanta SM, Belagihally M, Rajashekhar S, Jayaram VB, Dharmesh S and Thirumakudalu1 SK. (2011). Gastroprotective properties of karanjin from karanja (*Pongamia pinnata*) seeds; role as antioxidant and H^+-K^+-ATPase Inhibitor. *ECAM*. 1-10.

Steiner C, Arnould S, Scalbert A and Manach C. (2008). Isoflavones and the prevention of breast and prostate cancer: new perspectives opened by nutrigenomics. *Br J Nutr*.**99,** 78-108.

Sturtez L, Diekert K, Jensen L, Lill R and Culotta V. (2001). A fraction of yeast Cu,Zn-superoxide dismutase and its metallochaperone, CCS, localize to the intermembrane space of mitochondria. A physiological role for SOD1 in guarding against mitochondrial oxidative damage.*J Biolo and Chem*. **276,** 38084-38089.

Sumazian Y, Syahida A, Hakiman M and Maziah M. (2010). Antioxidant activities, flavonoids, ascorbic acid and phenolic contents of Malaysian vegetables. *J Med Plant Res*. **4(10),** 881-890.

Sunao K and Shingo T. (2000). Role of mucosal blood flow: A conceptional review in gastric mucosal injury and protection. *J. Gastroenterol Hepatol.* **15,** 1-6.

Taguri T, Tanaka T and Kouno I (2006).Antibacterial spectrum of plant polyphenols and extracts depending upon hydroxyphenyl structure.*Biol Pharm Bull*.**29(11)**, 2226–2235.

Tasao R and Deng Z. (2004). Separation procedures for naturally occurring antioxidant phytochemicals. *J Chromatogr* .**812,** 85-99.

Tepe B, Daferera D, Sokmen A, Sokmen M and Moschos P. (2005). Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* (Lamiaceae). *Food Chem*.**90,** 333-340.

Tir touil A, Boumediene M, André L, Nahnouh N and Canarelli JP.(2010).The 2 International Symposium on Medicinal Plants, Their Cultivation and Aspects of Uses. P: 55.

Trouillas P, Marsal P, Svobodova A, Vostalova J, Gazak R. Hrbac, J. Sedmera, P. Kren V, Lazzaroni R, Duroux JL. and Walterova D. (2008). Mechanism of the antioxidant action of silybin and 2,3-dehydrosilybin flavonolignans: a joint experimental and theoretical study. *J Phys Chem A*. **112,** 1054-1063.

Valko M, Rhodes C, Moncol J, Izakovic M and Mazur M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer.*Chem- Biol Iinteract.***160,** 1-40.

Van Acker SABE, Van den Berg D J, Tromp MNJL, Griffioen DH, Van -Bennekom WP and Vander-Vijgh WJF. (1996) Structural aspects of antioxidant activity of flavonoids. *FreeRadi Biol Med*. **20,** 331-342.

VasconcelosPCP, Andreob MA, Vilegasb W, Hiruma-Limaa CA, Pellizzona CH. (2010). Effect of *Mouriri pusa* tannins and flavonoids on prevention and treatment against experimental gastric ulcer. *J Ethnopharmacol.***131,** 146–153.

Werther LMD. (2000).The gastric mucosal barrier. *Mt SINAI JMed*. **67,** 1-13.

Wong SP, Leong LP and William Koh JH. (2006). Antioxidant activities of aqueous extracts of selected plants. *Food Chem*. **99,** 775-783.

Xing CS, Miao C and Bonanno AJ (2004). HCO_3^- regulated expression and activity of soluble adenylyl cyclase in corneal endothelial and Calu-3 cells. *BMC Physiology*. 4-8.

YangH. (2002).Central and peripheral regulation of gastric acid secretion by peptide YY *Peptides.***23,** 349-358.

Yoshino M and Murakami K. (1998). Interaction of iron with polyphenolic compounds: application to antioxidant characterization .*Anal Biochem* .**257,** 40-44.

Zhishen J. Mengcheng T. and Jianming W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavnging effects on superoxide radicals. *Food Chem*. **64,** 555-559.

:الملخص

تستعمل نبتة *Globularia alypum* بشكل واسع في الجزائر كنبات طبي وتعتبر عديدات الفينول التي تحتويها هذه النبتة كمركبات فعالة، لذا وفي هذا السياق حاولنا تقدير النشاطية المضادة للأكسدة و التأثير المضاد للقرحة المعدية عند الفأر لمختلف مستخلصات هذه النبتة. كشف التقدير الكمي لكل من الفينولات الكلية و الفلافونويدات و الدباغ عن غناها بهذه المركبات حيث تراوحت كمية الفينولات الكلية بين 136.66 و 41.04 مغ مكافئ لحمض الغاليك/غ من الوزن الجاف للمستخلص و الفلافونويدات مابين 15.52 و 5.98 مغ مكافئ للروتين/غ من الوزن الجاف للمستخلص و 6.68 و 3.25 مغ مكافئ للكرستين/غ من الوزن الجاف للمستخلص و تراوحت الدباغ مابين 52.88 و 164.33 مغ مكافئ لحمض التانيك/غ من الوزن الجاف للمستخلص. قدرت النشاطية المضادة للأكسدة والمزيحة للجذور الحرة للمستخلصات باستعمال إختبار DPPH حيث وجد أن كل من المستخلص الخام الميثانولي، الطور المائي و طور خلات الإثيل تمتلك التأثير الإزاحي الأكبر عند التراكيز المستعملة بـ IC_{50} مساوياً لـ 33.32 و 36.12 و 38.29 مكروغ/مل على الترتيب، تفوق هذه النشاطية نشاطية مضاد الأكسدة النموذجي BHT (IC_{50} =46.71 مكروغ/مل) عند التركيز المستعمل. بينت تقنية التقاط أيونات الحديد الثنائي بأن مستخلصات (الخام المائي، لطور المائي والخام الميثانولي) هي مستخلبات جيدة حيث أعطت القيم التالية (250.09، 79.39 و 61.3 مغ مكافئ EDTA/غ للمستخلص) على الترتيب. أثبت اختبار تثبيط الأكسدة المزدوجة لحمض اللينولييك و β-carotène بطريقة تفسخ β-carotène أن كل من المستخلص الخام الميثانولي، الطور المائي و طور الكلوروفورم هي الأكثر نشاطاً وذلك بتسجيلها لقيم تثبيطية تفوق 70%. نتج عن تزقيم الفئران بمستخلصات *Globularia alypum* (100، 300 و 600 مغ/كغ) انخفاض التقرحات المعدية المحدثة بالإيثانول 70% بنسب تراوحت بين 37.55%و 89.33%.

الكلمات المفاتيح: *Globularia alypum*، النشاطية المضادة للأكسدة، عديدات الفينول، القرحة المعدية، الإيثانول.

Rèsumè:

Globularia alypum est largement utilisé comme plante médicinale en Algérie. Les polyphénols présents dans cette plante sont considérés comme des composés actifs. Dans ce contexte nous avons tenté d'évaluer l'activité antioxydante et anti-ulcereuse des différents extraits préparés à partir de cette plante. L'analyse quantitative des composés phénoliques, des flavonoïdes et des tanins révèle que les extraits sont riches en ces composes (41.04 à 136.66 mg EAG /g d'extraits) pour les polyphénols et (10 à 15.52 mg ER/ g d'extrait et 5.04 à 6.68 mg EQ/g d'extrait) pour les flavonoïdes et (52.88 à 164.33 mg ETA/ g d'extrait) pour les tanins. l'évaluation quantitative du pouvoir piégeur des extraits vis-à-vis du DPPH montre que les extraits CrME, AqF et EaF sont les plus actifs, avec des IC_{50} de l'ordre de 33.32, 36.12 et 38.29 µg/ml respectivement. Le test de la capacité chélatrice des ions ferreux a montré que les extraits CrAE, AqF et CrME sont de bons chélateurs avec des activités de l'ordre de (250.09, 79.39 et 61.3 mg E-EDTA/g d'extrait). L'inhibition de l'oxydation couplée de l'acide linoléique ß-carotène a été évaluée par le teste de blanchissement du ß-carotène, qui a montré une activité antioxydante relativement importante pour CrME, AqF et ChF (70% d'inhibition). L'administration orale des extraits de *Globularia alypum* (100, 300 et 600 mg/kg) réduit la sévérité des lésions gastriques induites par l'éthanol 70% chez la souris avec des taux de protection entre 37.55% et 89.55%.

Mots-clefs : *Globularia alypum*, activité antioxydante, polyphenols , ulcer gastric, ethanol.

Abstract:

Globularia alypum is widely used as a medicinal plant in Algeria. The polyphenols present in this plant are regarded as active compounds. In this context we tried to estimate the antioxidant and anti ulcer activity of various extracts prepared From this plant .The quantitative analysis of the phenolic compounds, flavonoïds and the tanins reveal that the extracts are rich in this componds (41.04 to 136.66 mg EAG/G of extracts) for polyphenols and (10 to 15.52 mg ER/G of extract and 5.04 to 6.68 mg EQ/g of extract) for the flavonoïdes and (52.88 to 164.33 mg ETA / G of extract) for the tanins. The quantitative evaluation of the trapper capacity of the extracts with respect to the DPPH shows that the extracts CrME, AqF and EaF are most active, with IC_{50} about 33.32 , 36.12 and 38.29 µg/ml respectively. The test of the chelating capacity of the ferrous ions showed that the extracts CrAE, AqF and CrME are goods chelating with activities about (250.09, 79.39 and 61.3 mg E-EDTA/g of extract respectively).The inhibition of the coupled oxidation of the β-carotène /acid linoléic was evaluated by the whitening test of the β-carotène, showed a relatively important antioxydant activity for CrME, AqF, and ChF (about 70% of inhibition). Oral administration of the extracts of *Globularia alypum* (100, 300 and 600 mg/kg) reduced the severity of the gastric lesions induced by ethanol 70% in mice with a percentage of protection of 37.55% to 89.55%.

Keywords: *Globularia alypum*, Antioxidant activity, polyphenols , gastric ulcer, ethanol

الملخص:

تستعمل نبتة *Globularia alypum* بشكل واسع في الجزائر كنبات طبي وتعتبر عديدات الفينول التي تحتويها هذه النبتة كمركبات فعالة، لذا وفي هذا السياق حاولنا تقدير النشاطية المضادة للأكسدة و التأثير المضاد للقرحة المعدية عند الفأر لمختلف مستخلصات هذه النبتة. كشف التقدير الكمي لكل من الفينولات الكلية و الفلافونويدات و الدباغ عن غناها بهذه المركبات حيث تراوحت كمية الفينولات الكلية بين 136.66 و 41.04 مغ مكافئ لحمض الغاليك/غ من الوزن الجاف للمستخلص و الفلافونويدات مابين 15.52 و 5.98 مغ مكافئ للروتين/غ من الوزن الجاف للمستخلص و 6.68 و 3.25 مغ مكافئ للكرستين/غ من الوزن الجاف للمستخلص و تراوحت الدباغ مابين 52.88 و 164.33 مغ مكافئ لحمض التانيك/غ من الوزن الجاف للمستخلص. قدرت النشاطية المضادة للأكسدة والمزيحة للجذور الحرة للمستخلصات باستعمال إختبار DPPH حيث وجد أن كل من المستخلص الخام الميثانولي، الطور المائي و طور خلات الإثيل تمتلك التأثير الإزاحي الأكبر عند التراكيز المستعملة بـ IC_{50} مساوياً لـ 33.32 و 36.12 و 38.29 مكروغ/مل على الترتيب، تفوق هذه النشاطية نشاطية مضاد الأكسدة النموذجي BHT (IC_{50} =46.71 مكروغ/مل) عند التركيز المستعمل. بينت تقنية التقاط أيونات الحديد الثنائي بأن مستخلصات (الخام المائي، لطور المائي والخام الميثانولي) هي مستخلبات جيدة حيث أعطت القيم التالية (250.09، 79.39 و 61.3 مغ مكافئ EDTA/غ للمستخلص) على الترتيب. أثبت اختبار تثبيط الأكسدة المزدوجة لحمض اللينولييك و β-carotène بطريقة تفسخ β-carotène أن كل من المستخلص الخام الميثانولي، الطور المائي و طور الكلوروفورم هي الأكثر نشاطاً وذلك بتسجيلها لقيم تثبيطية تفوق 70%. نتج عن تزقيم الفئران بمستخلصات *Globularia alypum* (100، 300 و 600 مع/كغ) انخفاض التقرحات المعدية المحدثة بالإيثانول 70% بنسب تراوحت بين 37.55%و 89.33%.

الكلمات المفاتيح: *Globularia alypum*، النشاطية المضادة للأكسدة، عديدات الفينول، القرحة المعدية، الإيثانول.

Rèsumè:

Globularia alypum est largement utilisé comme plante médicinale en Algérie. Les polyphénols présents dans cette plante sont considérés comme des composés actifs. Dans ce contexte nous avons tenté d'évaluer l'activité antioxydante et anti-ulcereuse des différents extraits préparés à partir de cette plante. L'analyse quantitative des composés phénoliques, des flavonoïdes et des tanins révèle que les extraits sont riches en ces composes (41.04 à 136.66 mg EAG /g d'extraits) pour les polyphénols et (10 à 15.52 mg ER/ g d'extrait et 5.04 à 6.68 mg EQ/g d'extrait) pour les flavonoïdes et (52.88 à 164.33 mg ETA/ g d'extrait) pour les tanins. l'évaluation quantitative du pouvoir piégeur des extraits vis-à-vis du DPPH montre que les extraits CrME, AqF et EaF sont les plus actifs, avec des IC_{50} de l'ordre de 33.32, 36.12 et 38.29 µg/ml respectivement. Le test de la capacité chélatrice des ions ferreux a montré que les extraits CrAE, AqF et CrME sont de bons chélateurs avec des activités de l'ordre de (250.09, 79.39 et 61.3 mg E-EDTA/g d'extrait). L'inhibition de l'oxydation couplée de l'acide linoléique ß-carotène a été évaluée par le teste de blanchissement du ß-carotène, qui a montré une activité antioxydante relativement importante pour CrME, AqF et ChF (70% d'inhibition). L'administration orale des extraits de *Globularia alypum* (100, 300 et 600 mg/kg) réduit la sévérité des lésions gastriques induites par l'éthanol 70% chez la souris avec des taux de protection entre 37.55% et 89.55%.

Mots-clefs : *Globularia alypum*, activité antioxydante, polyphenols , ulcer gastric, ethanol.

Abstract:

Globularia alypum is widely used as a medicinal plant in Algeria. The polyphenols present in this plant are regarded as active compounds. In this context we tried to estimate the antioxidant and anti ulcer activity of various extracts prepared From this plant .The quantitative analysis of the phenolic compounds, flavonoïds and the tanins reveal that the extracts are rich in this componds (41.04 to 136.66 mg EAG/g of extracts) for polyphenols and (10 to 15.52 mg ER/g of extract and 5.04 to 6.68 mg EQ/g of extract) for the flavonoïdes and (52.88 to 164.33 mg ETA / G of extract) for the tanins. The quantitative evaluation of the trapper capacity of the extracts with respect to the DPPH shows that the extracts CrME, AqF and EaF are most active, with IC_{50} about 33.32 , 36.12 and 38.29 µg/ml respectively. The test of the chelating capacity of the ferrous ions showed that the extracts CrAE, AqF and CrME are goods chelating with activities about (250.09, 79.39 and 61.3 mg E-EDTA/g of extract respectively).The inhibition of the coupled oxidation of the β-carotène /acid linoléic was evaluated by the whitening test of the β-carotène, showed a relatively important antioxydant activity for CrME, AqF, and ChF (about 70% of inhibition). Oral administration of the extracts of *Globularia alypum* (100, 300 and 600 mg/kg) reduced the severity of the gastric lesions induced by ethanol 70% in mice with a percentage of protection of 37.55% to 89.55%.

Keywords: *Globularia alypum*, Antioxidant activity, polyphenols , gastric ulcer, ethanol