الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة فرحات عباس، سطيف1
كلية علوم الطبيعة والحياة



Université Ferhat Abbas Sétif 1
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

قسم بيولوجيا و فيزيولوجيا الحيوان

مذكـــرة

مقدمة من طرف

سي حمدي سمية و طرشون ايناس

للحصول على شهادة

ماستـــــر

فـــــرع: علوم بيولوجية

تخصص: فيزيولوجيا الخلية والفيزلوجيا المرضية

الموضوع

التقدير الكمي للفلافونويدات والدباغ والنشاطية المضادة للأكسدة لمستخلص ثمار نبتة التين الشوكي الأحمر (*Opuntia ficus-indica*) ومدى تأثيره على انحلال كريات الدم الحمراء

نوقشت يوم: ...29../..06..../...2025..

أمام لجنة المناقشة:

موهوبي جميلة	أستاذ محاضر أ	جامعة سطيف -1	رئيسا
قاسمي لخضر	أستاذ محاضر أ	جامعة سطيف -1	مشرفا
صحراوي رشيد	أستاذ	جامعة سطيف -1	ممتحنا

السنة الجامعية: 2025/2024

مخبر النباتات الطبية المستعملة في علاج الأمراض المزمنة (LPMAMC)

إهداء:

لكل بداية نهاية، وجمال كل هدف في الحياة يكمن في النجاح وتحقيق الطموحات.

نهدي هذا العمل المتواضع، وهو ثمرة سنوات عديدة من الجهد

إلى أولئك الذين يستحقون أعمق امتناننا وتقديرنا وحبنا الصادق، أولياء أمورنا الذين دعمونا طوال رحلتنا الدراسية

الأب سي حمدي عبد الهادي والأم سليماني زينب -

الإخوة: يوسف مصطفى قمر ومحمد بدر الدين

الأب طرشون لعمري والأم طيبي كريمة -

و الإخوة: نسرين، يسرَى، وعبدو

إلى كل عائلتنا وأحبائنا، إلى صديقاتنا ورفيقات دربنا طيلة هذا المشوار، إلى كل من ساهم بشكل مباشر أو غير مباشر في إنجاز هذا المشروع.

وأخيرًا، إلى جميع أساتذتنا وأعضاء هيئة التدريس الذين أرشدونا وعلّمونا طوال فترة دراستنا.

الشكر :

وفي ختام هذه الرحلة العلمية، نود أن نعبر عن عميق شكرنا وامتناننا لكل من كان جزءًا من هذا الإنجاز المتواضع.

نبدأ بشكر الله تعالى، الذي منحنا القوة والصبر والتوفيق في كل خطوة من خطواتنا، فله الحمد أولًا وآخرًا.

كما نتوجه بجزيل الشكر والعرفان إلى مشرف بحثنا، الأستاذ **قاسمي لخضر**، على دعمه المتواصل وتوجيهاته القيّمة التي كانت مصدر إلهام وسند حقيقي لنا في إنجاز هذا العمل.

ولا يفوتنا أن نتقدم بخالص الشكر والتقدير لأعضاء لجنة المناقشة: **الأستاذ صحراوي رشيد** و**الأستاذة مهوبي جميلة**، على قبولهم الدعوة وملاحظاتهم البنّاءة ونقاشهم المثري الذي ساعدنا في تطوير هذا البحث.

شكر خاص لزملائنا الأعزاء، على تعاونهم وتشجيعهم، فقد كانت صداقتهم خير معين في تجاوز الصعوبات.

كما نعرب عن امتناننا للأستاذة دحامنة، على كرمها وتفانيها في تقديم المساعدة لنا بكل رحابة صدر والأستاذة كرباب على مساعدتها لنا أثناء إنجاز هذا البحث وكذلك كل أعضاء مخبر النباتات الطبية المستعملة في علاج الأمراض المزمنة.

وفي الختام، نوجّه أعمق كلمات الشكر والتقدير لعائلاتنا الكريمة، على دعمهم اللامحدود، وثقتهم التي منحتنا القوة للاستمرار رغم كل التحديات.

شكرًا من القلب لكل من ساهم في إنجاز هذه المذكرة، فكنتم لنا مصدر قوة وإلهام.

جدول المحتويات

مـــــقدمـــــــــة 1

الفصل الأول: الجـــز ء النظ ري 1

1- فيزيولوجيا الدَّم 4

1-1 تعريف الدم **4**

1-2 مصدر الدم **4**

1-3وظائف الدم.....**5**

1_الوظيفة التنفسية respiratory function.....5

2_الوظيفة الغذائية nutritive 6

3_ الوظيفة الاخراجية(الطرح) excretory.....6

4_ تنظيم درجة الحرارة regulation of body temperature 6

5_ تنظيم الاستقلاب regulation of metabolism.....6

6_الحماية defence 6

7_ تنظيم افراز الهرمونات وحملها transport and regulation of hormones secretion 6

8_ توازن الماء water balance.....7

9_ تجلط الدم blood coagulation.....7

10_ الدور الواقي protectif effect.....7

1-4 الخصائص الفيزيائية للدم.....**7**

1_ اللون.....7

2_ درجة الحرارة.....7

3_كثافة الدم.....7
4_لزوجة الدم 7
5_ الضغط الاسموزي 8
6_ الكلويدواسموزي 8
7_ كثافة تركيز الهدروجين في الدمpH 8
1-5 تركيب الدم :.....8
1-5-1 البلازما: 9
1-5-2 العناصر الخلوية للدم: (Blood cells) 10
1-5-3 الصفائح الدمويةPlatelets 10
1-5-4الكريات الدموية البيضاء Les globules blancs 10
1-5-5 الكريات الدموية الحمراء RBC 11
2انحلال كريات الدم الحمراء 22
2-1 تعريف 22
2-2الأمراض التي قد تصيب الدم 23
2-2-1أسباب داخلية(وراثية) 23
2-2-2أسباب خارجية (مكتسبة) 24
2-3 تأثير بعض المواد الكيميائية على الانحلال الدموي 24
2-3-1- الكحولات (Alcools) 24
2-3-2- الرصاص (Plomb) 25
2-4تأثير بعض النباتات والاعشاب الطبية على الدم 25
2-4-1 الحبق (الريحان) – *Ocimum basilicum* 25

2-4-2 الخزامى (اللافندر) – *Lavandula angustifolia* 26

2-4-3الزنجبيل– *Zingiber officinale* 26

3-1 تعريف نبات التين الشوكي الأحمر *Opuntia ficus-indica* 27

3-4 المكونات 29

3-5الانتشار الجغرافي 30

3-6الاستعمالات في الطب التقليدي 31

3-7الدراسة الفينوكيميائية لنبتة التين الشوكي الأحمر *Opuntia ficus-indica* 31

3-8التطبيقات الصيدلانية والتجميلية 32

3-9التكوين الغذائي الكامل 32

1 الوسائل وطرق العمل 35

1-1 الهدف العام للجزء العملي..... 35

1-1-1الأدوات والأجهزة المستعملة 35

1-1-2طريقة العمل 36

2-1 التقدير الكمي للمركبات الفينولية 37

1-2-1التقدير الكمي للفلافونويدات و الدباغ 37

3-1 تقنية الكروماتوغرافيا على طبقة رقيقة (CCM)..... 39

4-1 الدراسة المرفولوجية لكريات الدم الحمراء 39

1-4-1المواد والأجهزة المستعملة 40

1-4-2تحضير المسحة الدموية مع التلوين 40

5-1تأثير تراكيز مختلفة من NaCl على انحلال كريات الدم الحمراء 41

1-5-1 المواد المستعملة 41

1-5-2 طريقة العمل 42

1-6 تأثير المستخلص لثمرة التين الشوكي الأحمر على انحلال كريات الدم الحمراء في وجود تراكيز مخففة من كلوريد الصوديوم (NaCl) والمحلول الملحي فوسفات منظم(PBS) 42

1-6-1 طريقة العمل 42

1-6-2 تأثير تراكيز مختلفة للمستخلص الإيثانولي لثمرة التين الشوكي الأحمر على انحلال كريات الدم الحمراء في وجود تراكيز مختلفة من كلوريد الصوديوم (NaCl) والمحلول الملحي فوسفات منظم (PBS) 43

1-7 دراسة النشاطية المضادة للأكسدة..... 44

2.النتائج والمناقشة..... 44

2-1حساب المردودية للمستخلص الميثانولي .....Erreur ! Signet non défini.

2-1-2حساب المردودية للمستخلص الإيثانولي 46

2-2 تقدير المركبات الفينولية 47

2-2-1التقدير الكمي للفلافونويدات Flavonoïdes..... 47

2-2-2 التقدير الكمي للدباغ Tannins..... 49

2-3الدراسة المورفولوجية لكريات الدم الحمراء 51

2-4 التجربة النموذجية لمعرفة تأثير تراكيز مخففة من NaCl و PBS على انحلال خلايا الدم الحمراء 52

2- 5 تأثير المستخلص الإيثانولي لثمرة التين الشوكي الأحمر على انحلال كريات الدم الحمراء باستعمال تراكيز مختلفة من NaCl. 56

2-8 الخاتمة 57

قائمـــــة الأشكـــــال

الشكل 1: صورة توضح تكوين خلايا الدم في نقي العظم.....5
الشكل 2: رسم تخطيطي لنتيجة تجربة عملية الترشيح لفصل مكونات الدم 9
الشكل 3: رسم تخطيطي يوضح أنواع الكريات الدموية البيضاء..... 11
الشكل 4: صورة مجهرية تظهر شكل الكريات الحمراء المقعر..... 12
الشكل 5: رسم تخطيطي للسطح العلوي لكرية دم حمراء ومقطع عرضي لها 13
الشكل 6: رسم تخطيطي يوضح البنية الجزيئية لغشاء الكرية الحمراء. 15
الشكل 7: رسم تخطيطي يوضح مراحل تشكل كريات الدم الحمراء 17
الشكل 8: رسم تخطيطي يوضح البنية الكيميائية لجزيئة الهيم..... 20
الشكل 9: رسم تخطيطي يوضح بنية جزيئة الهيموغلوبين..... 21
الشكل 10: صورة حقيقية توضح نبات التين الشوكي الأحمر 28
الشكل 11: صورة حقيقة توضح مكونات نبتة تين شوكي الأحمر 29
الشكل 12: صورة حقيقة توضح زراعة التين شوكي الأحمر 31
الشكل 13: صور حقيقية للتين الشوكي الأحمر أثناء التقطيع..... 36
الشكل 14: التقدير الكمي للتاتينات..... 38
الشكل 15: خطوات عمل المسحة الدموية في المخبر (حقيقية)..... 41
الشكل 16: منحنى حساب المحتوى المائي 46
الشكل 17: المنحني المعياري للكيرستين..... 47
الشكل 18: محتوى المستخلص من الفلافونويدات بدلالة التركيز 48
الشكل 19: المنحنى المعياري لحمض التانيك..... 50
الشكل 20: محتوى المستخلص من الدباغ بدلالة التركيز 52
الشكل 21: تأثير تراكيز مختلفة من NaCl على انحلال كريات الدم الحمراء مخبريا . 53
الشكل 22: تأثير تراكيز مختلفة من PBS على انحلال كريات الدم الحمراء مخبريا 53
الشكل 23: منحنى: يمثل تراكيز مختلفة من NaCl وPBS على انحلال الكريات الحمراء.
..... 54

الشكل 24: شكل خلايا الحمراء في محلولين الاول متعادل (iso). والاخر منخفض التركيز (hypo) (عبد الوالي، 2013)..... 56
الشكل 25: يمثل انابيب معالجة بالمستخلص الإيثانولي في تراكيز مختلفة PBS 56
الشكل 26: يمثل انابيب معالجة بالمستخلص الإيثانولي في تراكيز مختلفة NaCl..... 57
الشكل 27: تأثير المستخلص الإيثانولي لثمرة التين الشوكي الأحمر على نسبة الانحلال الدموي في تراكيز مخففة من NaCl وPBS. 57
الشكل 28: منحنى يمثل تاثير المستخلص على الاتحلال كريات الدم الحمراء في وجود تراكيز مختلفة من NaCl وPBS..... 59
الشكل 29: يمثل انابيب معالجة بالمستخلص الإيثانولي بتركيز 10ملغ/مل في تراكيز مختلفة PBS و تراكيز مختلفة من NaCl 60
الشكل 30: يمثل انابيب معالجة بالمستخلص الإيثانولي بتركيز 5ملغ/مل في تراكيز مختلفة PBS وتراكيز مختلفة من NaCl 61
الشكل 31: منحنى يمثل تاثير المستخلص الإيثانولي لثمرة التين الشوكي الأحمر بتراكيز مختلفة على انحلال كريات الدم الحمراء في وجود تراكيز مختلفة منNaCl وPBS..... 62
الشكل 32: صورة حقيقية توضح التغير اللوني لاختبار DPPH لمستخلص التين الشوكي الأحمر 63
الشكل 33: منحنى النسبة المئوية لتثبيط جذر DPPH بتركيزات مختلفة من مستخلص.. 64
الشكل 34: صفيحة CCM قبل الكشف بالأشعة فوق البنفسجية 66
الشكل 35: الفصل الكروماتوغرافي للمستخلص باستخدام CCM والكشف بالأشعة فوق البنفسجية..... 66
الشكل 36: صفيحة CCM بعد الكشف بالأشعة فوق البنفسجية وتحديد المركبات 66
الشكل 37: صورة حقيقة لبذور التين الشوكي الأحمر 67
الشكل 38: صورة توضح بذرة التين الشوكي المقطعة لنصفين تحت المهجر الضوئي (التكبير 40x) 68

قائمـــــة الجـــداول

جدول 1: جدول يوضح تصنيف العلمي لنبتة تين شوكي الأحمر 29

جدول 2: يوضح كيفية تحضير محلول NaCl وPBS بتراكيز مختلفة..... 43

جدول 3: المحتوى الإيثانولي لثمرة التين الشوكي الأحمر 45

جدول 4: المردودية للمستخلص المحضر من مستخلص ثمرة التين الشوكي الأحمر 47

جدول 5: التقدير الكمي للفلافونويدات لثمرة التين الشوكي **Erreur ! Signet non défini.**

جدول 6: التقدير الكمي للدباغ لثمرة التين الشوكي الأحمر. 50

جدول 7: يمثل تراكيز مختلفة من NaCl وPBS على معدل الانحلال الدموي..... 54

جدول 8: يوضح تأثير تراكيز مختلفة من المستخلص على كريات الدم الحمراء في تراكيز مختلفة من PBS و NaCl 61

قائمـــة المختصـــرات

$AlCl_3$: Chlorure d'Aluminiu

ADN:Acid Désoxyribonucléique

ARN:Acid Ribonucléique.

ATP: Adenosine Triphosphate.

B12 : Vitamine B12

CE:Catechine.

CCM : Chromatographie sur Couche Mince

CO_2: Carbon dioxide.

DBA: Daimond blackfan anémia

DO: Densité optique.

DPPH: 2.2'-Diphényle picryl-hydrazine

Hb: Hémoglobine

dH_2O: Eau distilée (distilled water)

Ext: Extrait

EqAT : Equivalent Acide Tannique

EqQ: Equivalent Quercitine

Fe: Fer

G-6-PD: Glucose-6- phosphate déhydrogénase

HbS: Hémoglobine S

His: Histidine

IC_{50} : Concentration Inhibitrice de 50 % de l'activité

ISO : International Standards Organisation

K^+ : Potasium

LDH : Lactate déshydrogénase

Me OH : Méthanol

MS:Matière sèche

Na^+: Sodium

NaCl: Chlorure de sodium (Sodium chloride)

NO_3: Nitrate

pH: Potentiel d'hydrogen

RBC: Red blood cells

R : Rendement (yield)

Rh:Rhesus

SD: Ecart type (Standard Deviation).

TLC: Thin Layer Chromatography

الملخص بالعربية

يستخدم النوع ***Opuntia ficus-indica***، المعروف باسم الصبار الشوكي الأحمر، على نطاق واسع في الطب العام والتقليدي بالإضافة إلى كونه مغذيًا بسبب غناه بالمركبات النشطة بيولوجيًا ومضادات الأكسدة.

تهدف هذه الدراسة إلى حساب محتوى مركبين فينوليين، والنشاط المضاد للأكسدة، والتأثير الانحلالي، وطيف الامتصاص في الضوء المرئي و الفوق بنفسجي، للمستخلص الإيثانولي لثمار التين الشوكي الأحمر. كذلك فُصل المستخلص باستخدام كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة لتحديد الجزيئات النشطة بيولوجيًا.

أظهرت النتائج أن محتوى الماء في نبات *Opuntia ficus-indica* يُقدر بنسبة 80.85%، مقارنةً بنسبة 19.15% فقط من المادة الجافة. وبلغت المردودية 2.37% عند حسابه من الوزن الطازج الكلي للثمار، و12.35% من الوزن الجاف.

وباستخدام طريقتي **Bate-Smith** و **$AlCl_3$**على التوالي، وجدنا أن المستخلصات تحتوي على كمية قليلة من الفلافونويدات، ولم تتجاوز 0.53 (ميكروغرام مكافئ/ملغ من المستخلص). لكن، كان متوسط محتوى التانينات أعلى، وقُدّر بـ 55.66 ميكروغرام مكافئ/ملغ من المستخلص. أما بالنسبة لاختبار انحلال خلايا الدم الحمراء، فقد أظهرت النتائج أن المستخلص الإيثانولي للفاكهة لم يكن له تأثير واضح في PBS وكان ضئيلاً للغاية. و على العكس، كان التأثير وقائيًا على خلايا الدم الحمراء عند استخدام تراكيز كلوريد الصوديوم، بين 0.2٪ و 0.4٪. عند تركيز كلوريد الصوديوم 0.6٪، كان التأثير انحلاليًا على النقيض من ذلك.

أظهر اختبار مضادات الأكسدة DPPH أن المستخلص الإيثانولي كان له أعلى نشاط مضاد للأكسدة، بنسبة تثبيط 90.93٪ عند 1.6 ملغم / مل. تم تقدير IC_{50} عند 530 ميكروغرام/مل مقارنةً بـ BHT.

باستخدام كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (TLC) ، احتوى المستخلص على العديد من المركبات منها صبغتين رئيسيتين ، بيتاسيانين وبيتاكزانثين، والتي لها خصائص مضادة للأكسدة.

بالإضافة إلى ذلك، يحتوي مستخلص *Opuntia ficus-indica* على معاول امتصاص في الأشعة فوق البنفسجية والضوء المرئي. كانت هذه المعاول متطابقة تقريبًا في الجودة والكمية قبل وبعد الاستخلاص. تمت مناقشة أهمية هذه النتائج في القسم المقابل.

الكلمات المفتاحية: *Opuntia ficus-indica* ، المحتوى الإيثانولي، المردودية، الفلافونويدات، الدباغ، انحلال الدم، خلايا الدم الحمراء، DPPH، طيف الامتصاص، TLC .

Résumé en Français

L'espèce *Opuntia ficus-indica*, communément appelée figue de Barbarie rouge, est largement utilisée en médecine conventionnelle et traditionnelle ainsi que comme nutriment en raison de sa richesse en composés bioactifs et antioxydants.

L'objectif de cette étude est d'évaluer la teneur en deux composés phénoliques, l'activité antioxydante, l'effet hémolytique et le spectre d'absorption en lumière visible et UV de l'extrait éthanolique ***d'Opuntia ficus-indica***. De plus, l'extrait a été séparé par chromatographie sur couche mince afin d'identifier les molécules bioactives potentielles.

Les résultats ont montré que la teneur en eau *d'Opuntia ficus-indica* est estimée à 80,85 %, contre seulement 19,15 % de matière sèche. Le rendement était de 2,37 % calculé à partir du poids frais total du fruit et de 12,35 % à partir du poids sec.

En utilisant respectivement les méthodes de Bate-Smith et d'AlCl3, nous avons constaté que les extraits contenaient une faible quantité de flavonoïdes, ne dépassant pas 0,53 (µgEQ/mg Ext). La teneur moyenne en tanins était cependant plus élevée, estimée à 55,66 µgEAT/mg Ext. Concernant le test hémolytique des globules rouges, les résultats ont montré que l'extrait éthanolique du fruit n'avait pas d'effet clair en PBS et était presque négligeable. Cependant, l'effet était protecteur sur les globules rouges lorsque les concentrations de NaCl étaient comprises entre 0,2 % et 0,4 %. À une concentration de NaCl de 0,6 %, l'effet était hémolytique.

Le test antioxydant de DPPH a révélé que l'extrait éthanolique avait l'activité antioxydante la plus élevée, avec un pourcentage d'inhibition de 90,93 % à 1.6 mg/ml. La CI_{50} a été estimée à 530 µg/ml par rapport au BHT.

La chromatographie sur couche mince (CCM) a révélé que l'extrait contenait de nombreux tache, dont deux principaux pigments, les bétacyanines et les bétaxanthines, aux propriétés antioxydantes.

De plus, l'extrait d'*Opuntia ficus-indica* présente des pics d'absorption en lumière UV et visible. Ces pics étaient presque identiques en qualité et en quantité avant et après extraction. L'importance de ces résultats est abordée dans la section correspondante.

Mots clés : *Opuntia ficus-indica*, , teneur en eau, rendement, flavonoïdes, tannins, hémolyse, globules rouges, DPPH, spectre d'absorption, CCM.

Abstract in English

The species, ***Opuntia ficus-indica***, commonly known as red prickly pear, is widely used in conventional and traditional medicine as well as a nutrient due to its richness in bioactive and antioxidant compounds

The objective of this study is to evaluate the content of two phenolic compounds, the anti-oxidant activity, the hemolytic effect and the absorption specter in visible and UV light of the ethanolic extract of ***Opuntia ficus-indica***. In addition the extract was separated using thin layer chromatography to identify potential bioactive molecules.

The results have shown that the water content of *Opuntia ficus-indica* is estimated at 80.85 %, compared to only 19.15% of dry matter. The yield was 2.37% when calculated from the total fresh weight of the fruit and 12.35 from the dry weight.

Using the **Bate-Smith and $AlCl_3$** method respectively, we found that the extracts contained a low quantity of flavonoids and did not exceed 0.53 (µgEQ/mg Ext). The average tannins content was however higher and was estimated at 55.66 µgEAT/mg Ext.

As for the red blood cells hemolytic test, the results have shown that the ethanolic extract of the fruit did not have a clear effect in PBS and was almost negligible. However, the effect was protective on red blood cells when NaCl concentrations were used, between 0.2% and 0.4%. At 0.6% NaCl concentration the effect was in contrast hemolytic.

The DPPH antioxidant assay have revealed that the ethanolic extract had the highest antioxidant activity, with an inhibition percentage of 90.93% at 40mg/ml. The IC_{50} was estimated at 530µg/ml compared to BHT.

Using TLC, the extract contained many spots and two major pigments, betacyanins and betaxanthins, which have antioxidant properties.

In addition, the extract of *Opuntia ficus-indica*, has absorption picks in UV and visible light. These picks were almost identic in quality and quantity before and after extraction. The Importance of these results are discussed in the corresponding section.

Key words: *Opuntia ficus-indica*, , water content, yield, flavonoids, tannins, hemolysis, red blood cells, DPPH, absorption spectrum, TLC.