الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Université Ferhat Abbas Sétif 1 — جامعة فرحات عباس، سطيف1

Faculté des Sciences de la — كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE

N°...../SNV/**2026**

MÉMOIRE

Présenté par

Betchim Ines

Bouakaz Imene

Pour l'obtention du diplôme de

MESTER

Filière : BIOLOGIE

Spécialité : BIOCHIMIE APPLIQUÉE

THÈME

Propriétés antioxydantes et anti-myéloperoxydase *d'Aeonium arboreum*: vers une protection contre le stress oxydatif et l'inflammation

Soutenue publiquement le 29/06/2026

DEVANT LE JURY

Président	**MESSAOUDI Dalila**	**MCA. UFA Sétif 1**
Directeur	**KERNOUF Nassima**	**MCB. UFA Sétif 1**
Examinateur	**BOUDOUKHA Chahra**	**MCA. UFA Sétif 1**

Laboratoire de Biochimie Appliquée

(2025/2026)

ملخص

تهدف هذه الدراسة إلى تحديد محتوى المركبات الفينولية والفلافونويدات في المستخلص المائي-الإيثانولي لأوراق نبات *Aeonium arboreum*، وتقييم قدرته المضادة للأكسدة وقدرته على تثبيط نشاط الميلوبيروكسيداز، أظهرت القياسات الطيفية أن المستخلص يحتوي على كميات ملحوظة من البوليفينولات الكلية والفلافونويدات بمعدلات بلغت 41,61 ± 4,418 ميكروغرام EAG/ملغ من المستخلص و6,267 ± 0,527 ميكروغرام/EQ ملغ من المستخلص، على التوالي. تم قياس النشاط المضاد للأكسدة للمستخلص من خلال تقييم قدرته على إزاحة $DPPH^{\bullet}$، وبيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2) ، إرجاع Fe^{2+}. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن المستخلص يمارس تأثيرًا مضادًا للأكسدة يعتمد على جرعة $DPPH^{\bullet}$ و H_2O_2 بقيم IC_{50} تبلغ 360,27 ± 42,68 ميكروغرام/مل و311,35 ± 18,11 ميكروغرام/مل، على التوالي. وبالمثل، أظهر المستخلص أيضًا نشاطًا اختزاليًا مهمًا، وهو أيضًا يعتمد على التركيز بقيمة EC_{50} = 145,69 ميكروغرام/مل. من ناحية أخرى، أدى المعالجة المسبقة للسوائل الفوقية الإنزيمية بتركيزات مختلفة من المستخلص إلى تثبيط نشاط الميلوبيروكسيداز بشكل ملحوظ ($p<0,0001$)، والذي تم تقييمه من خلال أكسدة 3،3`،5،5`-تتراميثيل بنزيدين في وجود H_2O_2 وعند تركيز 200 ميكروغرام/مل، بلغ معدل هذا التثبيط 99,66٪. وتجدر الإشارة إلى أنه عند هذا التركيز، لم يُظهر المستخلص أي تأثير ذي دلالة إحصائية على حياة الخلايا المتعادلة، والذي تم اختباره باستخدام اختبار أزرق التريبان. في الختام، تثبت هذه النتائج أن المستخلص الهيدروإيثانولي لأوراق *Aeonium arboreum* يتمتع بخصائص مضادة للأكسدة ومضادة للميلوبيروكسيداز ملحوظة، مما يعزز استخدامه التقليدي، ويفتح في الوقت نفسه آفاقًا واعدة لاستغلاله كمصدر للعوامل المضادة للأكسدة والالتهابات الطبيعية.

الكلمات المفتاحية: *Aeonium arboreum*، مضادات الأكسدة، الفلافونويدات، الميلوبيروكسيداز، البوليفينولات الكلية، الإجهاد التأكسدي.

Résumé

Cette étude vise à quantifier la teneur en composés phénoliques et en flavonoïdes dans l'extrait hydroéthanolique des feuilles d'*Aeonium arboreum*, et d'évaluer son pouvoir antioxydant et inhibiteur sur l'activité de la myélopéroxydase. Les dosages colorimétriques ont montré que l'extrait renferme quantités perceptibles de polyphénols totaux et de flavonoïdes avec des taux de 41,61 ± 4,418 µg EAG/mg d'extrait et 6,267 ± 0,527 µg EQ/mg d'extrait, respectivement. L'activité antioxydante de l'extrait a été mesurée en évaluant sa capacité à piéger le DPPH$^{\bullet}$, le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et à réduire le fer ferreux. Les résultats obtenus ont montré que l'extrait exerce un effet scavenge dose-dépendant *vis-à-vis* le DPPH$^{\bullet}$ et le H_2O_2 avec les valeurs d'IC_{50} de 360,27 ± 42,68 µg/mL et 311,35 ± 18,11 µg/mL, respectivement. De même, l'extrait a présenté également une activité réductrice importante, qui est également concentration dépendante avec une valeur de EC_{50} = 145,69 µg/mL. D'un autre côté, le prétraitement des surnageants enzymatiques avec différentes concentration de l'extrait a significativement ($p<0,0001$) inhibé l'activité de la myélopéroxydase évaluée par l'oxydation de 3, 3`, 5, 5`-tétraméthylbenzidine en présence de H_2O_2. À 200 µg/mL cette inhibition atteint le taux de 99,66 %. A noter qu'à cette concentration, l'extrait n'a montré aucun effet significatif sur la viabilité des neutrophiles evaluée par le test au bleu de Trypan. En conclusion, ces résultats démontrent que l'extrait hydroéthanolique des feuilles d'*Aeonium arboreum* est doté des propriétés antioxydantes et anti-myélopéroxydase remarquables, renforçant ainsi son usage traditionnel, tout en ouvrant des perspectives prometteuses pour son exploitation en tant que source d'agents antioxydants et anti-inflammatoires naturels.

Mots-clés : *Aeonium arboreum*, antioxydants, flavonoïdes, myélopéroxidase, polyphénols totaux, stress oxydant.

Abstract

This study aims to quantify the content of phenolic compounds and flavonoids in the hydroethanolic extract of *Aeonium arboreum* leaves, and to evaluate its antioxidant capacity and its ability to inhibit myeloperoxidase activity. Colorimetric assays showed that the extract contains significant amounts of total polyphenols and flavonoids, with concentrations of 41.61 ± 4.418 µg EAG/mg of extract and 6.267 ± 0.527 µg EQ/mg of extract, respectively. The antioxidant activity of the extract was measured by assessing its ability to scavenge DPPH•, hydrogen peroxide (H_2O_2), and to reduce ferrous iron. The results showed that the extract exhibits a dose-dependent scavenging effect against DPPH• and H_2O_2, with IC_{50} values of 360,27 ± 42,68 µg/mL and 311.35 ± 18.11 µg/mL, respectively. Similarly, the extract also exhibited significant reducing activity, which was concentration-dependent, with an EC_{50} value of 145.69 µg/mL. On the other hand, pretreatment of enzymatic supernatants with different concentrations of the extract significantly ($p<0,0001$) inhibited myeloperoxidase activity, as assessed by the oxidation of 3,3′,5,5′-tetramethylbenzidine in the presence of H_2O_2. At 200 µg/mL, this inhibition reached 99.66%. It should be noted that at this concentration, the extract showed no significant effect on neutrophil viability as assessed by the trypan blue test. In conclusion, these results demonstrate that the hydroethanolic extract of *Aeonium arboreum* leaves possesses remarkable antioxidant and anti-myeloperoxidase properties, there by reinforcing its traditional use while opening up promising prospects for its exploitation as a source of natural antioxidants and anti-inflammatory agents.

Keywords: *Aeonium arboreum*, antioxidants, flavonoids, myeloperoxidase, total polyphenols, oxidative stress.

SOMMAIRE

INTRODUCTION.....1

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Radicaux libres et stress oxydatif.....3

I. 1. Radicaux libres et espèces réactives.....3

I. 2. Espèces réactives de l'oxygène.....3

I. 2. 1. Génération des espèces réactives de l'oxygène.....4

I. 2. 2. Rôles physiologiques des espèces réactives de l'oxygène.....6

I. 3. Stress oxydatif : conséquences cellulaires et implications pathologiques.....7

I. 4. Antioxydants.....8

I. 4. 1. Antioxydants endogènes.....9

I. 4. 2. Antioxydants exogènes.....11

II. Neutrophiles et myéloperoxydase : médiateurs du stress oxydant dans l'inflammation 12

II. 1. Neutrophiles comme source principale de myéloperoxydase.....12

II. 2. Myéloperoxydase enzyme clé du stress oxydant au cours de l'inflammation...13

II. 3. Implications pathologiques et stratégies d'inhibition thérapeutique de la myéloperoxydase.....15

III. Présentation de la plante *Aeonium arboreum*.....16

III. 1. Nomenclature et répartition géographique d'*Aeonium arboreum*.....16

III. 2. Classification botonique d'*Aeonium arboreum*.....18

III. 3. Description botanique d'*Aeonium arboreum*.....18

III. 4. Composition chimique d'*Aeonium arboreum*.....19

III. 5. Usage traditionnel d'*Aeonium arboreum*.....20

III. 6. Activités biologiques.....20

PARTIE EXPERIMENTALE

MATERIEL ET METHODES

I. Matériel.....35

I. 1. Matériel végétal.....35

I. 2. Sang humain.....35

II. Méthodes.....35

II. 1. Préparation de l'extrait hydroéthanolique d'*Aeonium arboreum*.....35

II. 2. Composition phytochimique.....36

II. 2. 1. Dosage des plolyphénols totaux.....36

II. 2. 2. Dosage des flavonoïdes totaux 37
II. 3. Activité antioxydante de l'extrait hydroéthanolique d'*Aeonium arboreum*.....38
II. 3. 1. Activité anti-radicalaire du radical DPPH.....38
II. 3. 2. Pouvoir réducteur.....38
II. 3. 3. Activité de piégeage du peroxyde d'hydrogène H_2O_2.....39
II. 4. Effet de l'extrait hydroéthanolique d'*Aeonium arboreum* sur l'activité de la myéloperoxydase.....40
II. 4. 1. Préparation des cellules neutrophiles.....40
II. 4. 1. 1. Isolement des neutrophiles humains.....40
II. 4. 1. 2. Comptage des cellules.....41
II. 4. 2. Evaluation de la viabilité des neutrophiles.....41
II. 4. 3. Evaluation de la cytotoxicité l'extrait hydroéthanolique d'*Aeonium arboreum*.....41
II. 4. 4. Evaluation de l'effet de l'extrait hydroéthanolique d'*Aeonium arboreum* sur l'activité de la myéloperoxydase.....42
III. Analyse statistique.....42

RESULTATS ET DISCUSSION

I. Rendement de l'extraction.....43
II. Composition phytochimique.....44
III. Activité antioxydante.....45
III. 1. Effet scavenger du radical DPPH.....45
III. 2. Pouvoir réducteur.....47
III. 3. Activité de piégeage du peroxyde d'hydrogène.....50
IV. Effet de l'extrait hydroéthanlique d'*Aeonium arboreum* sur l'activité de la myéloperoxydase.....52
IV. 1. Préparation des neutrophiles humains.....52
IV. 2. Evaluation de la toxicité de l'extrait hydroéthanolique *Aeonium arboreum* sur les neutrophiles.....53
IV. 3. Evaluation de l'effet de l'extrait hydroéthanolique d'*Aeonium arboreum* sur l'activité de la myéloperoxydase.....54
CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....57
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....58

INTRODUCTION

Le stress oxydatif, résultant d'un déséquilibre entre la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) et la capacité de l'organisme à les neutraliser, constitue un mécanisme fondamental dans la physiopathologie de nombreuses maladies. Cet excès des ROS, incluant les radicaux libres comme le radical superoxide, le radical hydroxyle et les molécules non radicales comme le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), provoque des dommages cellulaires importants en oxydant les lipides membranaires, les protéines et l'ADN. Le stress oxydatif peut activer les cellules immunitaires qui une fois activées peuvent générer davantage des ROS dans le cadre de leurs mécanismes de défense, amplifiant ainsi le déséquilibre initial. Inversement, les ROS stimulent la production des médiateurs inflammatoires qui, à leur tour, peuvent déclencher la production accrue des ROS, créant ainsi une boucle de rétroaction positive entre le stress oxydatif et l'inflammation. Cette boucle pathologique permet au stress oxydatif d'entretenir une inflammation chronique et d'entraîner des lésions tissulaires dans divers organes, établissant clairement le lien direct entre le stress oxydatif persistant et le processus inflammatoire (Chanda et *al*., 2023).

Au cœur de ce mécanisme, la myéloperoxydase (MPO), enzyme principalement exprimée dans les neutrophiles, joue un rôle central en amplifiant l'oxydation des biomolécules et en aggravant simultanément le stress oxydatif et l'inflammation dans de nombreuses pathologies chroniques (Lin et *al*., 2024). Son niveau d'activité élevé en fait l'un des meilleurs biomarqueurs diagnostiques du stress oxydatif et de l'inflammation dans des maladies telles que les pathologies cardiovasculaires, le diabète et le cancer (Khan et *al*., 2018).

Les molécules antioxydantes et anti-inflammatoires, en neutralisant les ROS et en inhibant leur production, limitent les dommages oxydatifs et rompe le cycle entre stress oxydatif et inflammation, ce qui est crucial pour le traitement de maladies d'origine oxydative. Les antioxydants naturels d'origine végétale, tels que les polyphénols et flavonoïdes, montrent un potentiel significatif pour prévenir ces dommages tout en évitant les effets secondaires des composés synthétiques. Ainsi, les plantes médicinales sont une source prometteuse pour le développement de nouvelles approches thérapeutiques intégrant des activités antioxydantes et anti-inflammatoires.

Cette étude vise à évaluer l'activité antioxydante et inhibitrice de l'activité de la MPO de l'extrait hydroéthanolique d'*Aeonium arboreum*, utilisée en médecine traditionnelle pour ses propriétés thérapeutiques.

Le présent travail est structuré en trois parties :

► La première partie est consacrée à la préparation de l'extrait hydroéthanolique des feuilles d'*Aeonium arboreum* et de quantifier sa teneur en composés phénoliques et flavonoïdes.

► La deuxième partie étudie les capacités antioxydantes de l'extrait via l'évaluation de son pouvoir à piéger les radicaux de DPPH et de H_2O_2, et à réduire le fer ferreux.

► Dans la troisième partie, la capacité de l'extrait à moduler l'activité de la MPO extraite des neutrophiles humains, ainsi que sa cytotoxicité sont déterminées.