وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

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

جامعة فرحات عباس، سطيف 1 كلية علوم الطبيعة والحياة

Département de BIOCHIMIE

N°……/SNV/2025

MÉMOIRE

Pour l'obtention du Diplôme de

G°MASTER

Filière : Science biologique

Spécialité : Biochimie Appliquée

THÈME

Evaluation des activités Biologiques d'une plante médicinale

Présenté par

Zerrougui Malak et Benkhennouf Sihem

Soutenue publiquement le 29/06/2025

Devant le jury

Président Belattar Noureddine	Grade	Pr.UFA Setif
Encadreur Gheraibia Sara	Grade	MCB. UFA Setif
Examinatrice Badache Hocine	Grade	MCB.UFA Setif

2024/2025

بسم الله الرحمن الرحيم

Remerciement

*Nous tenons tout d'abord à remercier **Allah, le Miséricordieux**, qui nous a permis, par Sa grâce et Sa volonté, d'achever ce travail dans les meilleures conditions.*

*Nous exprimons nos plus sincères remerciements à notre encadrante, **Dr Gheraibia Sara**, pour sa disponibilité, sa bienveillance, ainsi que pour la confiance et l'intérêt qu'elle nous a portés tout au long de cette recherche. Sa précieuse assistance et la pertinence de ses conseils ont grandement contribué à l'avancement de ce travail.*

*Nous adressons également nos remerciements les plus respectueux aux membres du jury, **Pr Belattar Noureddine** et **Dr Badache Houcine**, pour l'honneur qu'ils nous font en acceptant d'évaluer ce mémoire et pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre sujet.*

*Nous remercions sincèrement toute l'équipe du laboratoire de biochimie, dirigée par **Pr Belattar Noureddine**, pour l'accueil, l'aide technique et les encouragements apportés durant notre stage.*

Nos remerciements s'adressent également à tous les enseignants du département de biochimie pour la qualité de leur encadrement et leur engagement dans notre formation.

Enfin, nous exprimons toute notre reconnaissance à nos proches, camarades, et à toutes les personnes qui, par leur soutien moral ou matériel, ont contribué à la réalisation de ce mémoire.

اهداء

بِسْمِ اللهِ ٱلرَّحْمَـٰنِ ٱلرَّحِيمِ
﴿وَقُلْ رَبِّ زِدْنِي عِلْمًا﴾

بحمد **الله** وفضله، الذي علّمني ما لم أكن أعلم، سدّد خُطاي حين تعثّرت، وقرّب لي من الناس من كانوا نورًا في طريقي أهدي هذا العمل المتواضع، راجيةً ومُتمنّيةً أن يكون خالصًا لوجهه الكريم، لا رياء فيه ولا طلب سمعة، بل صدقة جارية في درب العلم

إلى **أمي خرفية**، حضني الدافئ وظلي الذي لا يزول. أنت الأصل في كل شيء بلغته

كنتي لي الدعاء الصادق حين خفت، الصبر الهادئ حين تعبت والعزيمة حين أردت الاستسلام...

أبي جمال، صاحب القلب الصامد والجبين المرهق بالكفاح، الذي علمني أن لا مجد بلا تعب، ولا علم بلا تضحية

شكرا على الحب الذي لم يشترط والصبر الذي لم يعلن، وعلى كل لحظة دعم لم تقال، لكنها كانت الحافز الخفي في كل خطوة، ما حققته اليوم هو ثمرة من غرسكما وصدى لتعبكما الصامت.

لنفسي التي قاومت وتجاوزت. هذا الإنجاز ليس مجرد نهاية، بل عربون وفاء لي لأنني كانت جديرة بالثقة والتميز طوال هذا الطريق.

إلى **أخي يونس**، ظلعي حين مالت الحياة، ورفيقي الذي لم يتخلّف عنّي يومًا

أخواتي: إنصاف، وأبرار، وهداية، زهرات عمري، ونقاء أيامي، وجودكنّ حولي كان السند الخفي، والفرح الذي لا يُعوّض.

إلى عائلتي **زروقي ودغول**، الجذور التي أعتز بها، والامتداد الذي أحمل اسمه بفخر في كل إنجاز

أشكر زميلتي في هذا العمل **سهام**، التي واجهت معي التحديات بصبرٍ وحكمة، **وصديقاتي العزيزات** اللاتي تشاركن معي مقاعد الدراسة وتفاصيل النجاح

كما أشكر أستاذتي المشرفة، التي كانت حاضرة بتوجيهاتها الدقيقة، فساعدتني على تصويب المسار حين التبس عليّ الأمر

وكل من ساهم، ولو بكلمة، في تشكيل هذا الحلم وجعله حقيقة، أقول:

"كل **إنجاز علمي هو حصيلة قلوب اجتمعت، وأيدٍ امتدت، وعقول آمنت أن النور يستحق العناء**".

أهدي هذا العمل، راجيةً أن يكون لبنةً في صرح العلم، وخطوةً صادقة على طريق النهضة والمعرفة.

ملاك...

إلى من غيّبهما القدر عن عيني، لكنّ حضورهما لم يغب يومًا عن قلبي

إلى **أمي الغالية**، من كانت دعواتها حصني، وحنانها ظلي وإلى **أبي العزيز**، السند الذي كنتُ أستند إليه حتى بعد الرحيل

من كان صمتي يشتاق إلى صوته، وقلبي يتقوّى كلما ناديتُه في دعائي

رحلتما عن عالمي، لكنكما ما برحتما قلبي لحظة كل تفصيلة

في هذا الإنجاز تنطق باسمكما

وكل تعبٍ فيه كنتُ أتمنى أن تلمساه،

أن أرى في عينيكما بريق الفخر، وأن تسمعا اسمي يُنادى مكللا بالوصول لكنني أعلم أن دعواتكما لا تزال تحيط بي

وأن هذا النور الذي بلغته، إنما هو منكما، وبكما، وإليكما. وعزائي أن هذا العمل، بكل ما فيه من سهر وجهد،

أهديه لروحيكما الطاهرتين صدقةا جارية ونورا يصل إليكما في قبريكما

رحمكما الله رحمةا واسعة، وجعل لقائي بكما وعدا لا يُخلف

إلى نفسي

من واصلتِ الطريق رغم وحشة الغياب

وصبرتِ حين كانت الروح مثقلة بالشوق، والمكان خال ايا من الأمان

شكرا لصبرك، لشجاعتك، ولإصرارك على أن يكون لهذا الحلم مكان على أرض الواقع

إلى أستاذتي المؤطرة، **صارة غرايبة** كنتِ الداعمة

والموجّهة بنور علمك وصبرك

فلكِ مني كل التقدير والامتنان

إلى إخوتي الأحبة: **خولة، سارة، ميهال، رحمة، أنيس**، وإلى

خالتي وفاء

كنتم العائلة التي أسندتني حين انكسرت، واحتضنتني حين تعبت، وكان وجودكم حولي

نعمة خفّفت عني مرارة الغياب

شكرا لكم من القلب

إلى **بثينة** و**إكرام** رفيقتَي الروح قبل الطريق، كنتما البلسم في

لحظات التعب، والسند في صمت الأيام،

شكرااا لأنكما كنتما النور حين خفت كل شيء

إلى زميلتي العزيزة **ملاك زروقي** شريكة التعب

والدرب ورفيقة الصبر والإنجاز

كل الشكر لوجودك، لتفانيك، ولروحك التي جعلت العمل أخف وأجمل

وإلى **محمد رفيق**

كنت السند الذي لا يُطلب بل يكون

أهديك من هذا الإنجاز سطرا لا يُمحى لأنك كنت هناك حين لم يكن أحد

سهام

ملخص

أُجريت هذه الدراسة بهدف تحديد المركّبات النشطة بيولوجيًا الموجودة في أوراق نبات *Crataegus azarolus* التي جُمعت من منطقة بني عزيز (ولاية سطيف)، مع التركيز على تحديد كمية البوليفينولات الكلية والفلافونويدات، بالإضافة إلى تقييم مختلف الأنشطة البيولوجية المرتبطة بالمستخلص المستحصل عليه. تم إجراء الاستخلاص باستخدام تقنية الموجات فوق الصوتية بعد إزالة الدهون بواسطة الهكسان، وقد بلغ مردود الاستخلاص17.04% . كما كشفت التحاليل الطيفية عن محتوى كلي من البوليفينولات بلغ 176.32 ± 4.14 ملغ مكافئ حمض الغاليك/غرام، ومحتوى من الفلافونويدات بلغ 54.87 ± 0.52 ملغ مكافئ الروتين/غرام .علاوة على ذلك، تم إجراء تجارب لتقييم النشاطات المضادة للأكسدة، والمضادة للتخثر، والمضادة للالتهاب ، وكذلك النشاط المسكن، وذلك بهدف دراسة الإمكانات الدوائية للمستخلص. أظهرت الاختبارات *in vitro* تأثيرًا مضادًا للأكسدة ذا دلالة إحصائية مع تباينات طفيفة، بالإضافة إلى نشاط مضاد للالتهاب ملحوظ.كما أظهرت اختبارات النشاط المضاد للتخثر أن المستخلصات أدت إلى إطالة زمن الثرومبوبلاستين الجزئي المفعل (TCK) وزمن البروثرومبين (PT) بشكل ملحوظ مقارنة بالشاهد السلبي .أدى الإعطاء الفموي لمستخلص *Crataegus azarolus* بجرعات 200 و400 ملغ/كغ إلى تثبيط كبير لتورم الأذن الناجم عن الزيلين في الفئران، وكان ذلك بشكل يعتمد على الجرعة. وفي اختبار التقلصات الناتجة عن حمض الخليك، أظهر المستخلص المائي-الإيثانولي لأوراق *Crataegus azarolus* نشاطًا مسكنًا ذا دلالة إحصائية وبشكل يعتمد على الجرعة، حيث بلغ أعلى معدل تثبيط 64.51% عند جرعة 400 ملغ/كغ، وهو قريب من تأثير الأسبرين (70.64%) تدعم هذه النتائج التجريبية الاستخدامات التقليدية لهذا النبات، وتبرز إمكاناته كمصدر طبيعي للمركبات ذات النشاط الدوائي.

الكلمات المفتاحية: *Crataegus azarolus*, البوليفينولات، النشاط المضاد للأكسدة ، النشاط المضاد للألتهاب ، النشاط المضاد للتخثر ، النشاط المسكن للألم.

Résumé

Cette étude a été réalisée dans le but de caractériser les composés bioactifs présents dans les feuilles de *Crataegus azarolus* récoltées dans la région de Beni-Aziz (wilaya de Sétif), en mettant l'accent sur la quantification des polyphénols totaux et des flavonoïdes, ainsi que sur l'évaluation de différentes activités biologiques associées à l'extrait obtenu. L'extraction a été effectuée par ultrasons après une délipidation préalable à l'*n*-hexane, conduisant à un rendement d'extraction de 17,04 %. Les analyses spectrophotométriques ont permis de déterminer une teneur totale en polyphénols de 176,32 ± 4,14 mg EAG/g , et une teneur en flavonoïdes de 54,87 ± 0,52 mg ER/g .Par ailleurs, des investigations ont été menées afin d'évaluer les activités antioxydante, anticoagulante, anti- inflammatoire (in vitro et in vivo), ainsi que l'activité analgésique de l'extrait, en vue de caractériser son potentiel pharmacologique .L'extrait testé in vitro ; a un effet antioxydant significatif avec de légère variation et d'une activité anti-inflammatoire significative. Les tests des activités anticoagulantes ont montré que les extraits prolongent de manière significative le temps de de Céphaline Kaolin (TCK) et le temps de thrombine (PT) par rapport au témoin négatif. L'administration orale de l'extrait de *Crataegus azarolus* L. à des doses de 200 et 400 mg/kg a induit une inhibition significative de l'œdème auriculaire induit par le xylène chez la souris ; de manière dose-dépendante. Dans le modèle des contorsions induites par l'acide acétique ; l'extrait hydro-éthanolique des feuilles de *Crataegus azarolus* a exercé une activité analgésique significative de manière dose-dépendante, avec une inhibition maximale de 64,51 % à 400 mg/kg, proche de celle de l'aspirine (70,64 %). Ces données expérimentales corroborent les usages traditionnels de cette plante et mettent en évidence son potentiel en tant que source naturelle de composés à activité pharmacologique.

Mots clés : *Crataegus azarolus ;* les polyphénols ; activité antioxydante ; activité anti-inflammatoire ; activité anticoagulante ; activité analgésique.

Abstract

This study was conducted to characterize the bioactive compounds present in the leaves of *Crataegus azarolus* collected from the Beni-Aziz region (Sétif Province), with a focus on quantifying total polyphenols and flavonoids, as well as evaluating various biological activities associated with the obtained extract. Extraction was performed using ultrasound-assisted methods following a preliminary defatting step with *n*-hexane, resulting in an extraction yield of 17.04%. Spectrophotometric analyses revealed a total polyphenol content of 176.32 ± 4.14 mg GAE/g and a flavonoid content of 54.87 ± 0.52 mg QE/g. Furthermore, investigations were carried out to assess the antioxidant, anticoagulant, anti-inflammatory (both *in vitro* and *in vivo*), and analgesic activities of the extract to explore its pharmacological potential. The *in vitro* tests demonstrated a significant antioxidant effect with slight variations, as well as a marked anti-inflammatory activity. Anticoagulant activity tests showed that the extracts significantly prolonged the activated partial thromboplastin time (aPTT) and prothrombin time (PT) compared to the negative control. Oral administration of *Crataegus azarolus* extract at doses of 200 and 400 mg/kg induced a dose-dependent and significant inhibition of xylene-induced ear edema in mice. In the acetic acid-induced writhing test, the hydroethanolic leaf extract of *Crataegus azarolus* exhibited significant dose-dependent analgesic activity, with a maximum inhibition of 64.51% at 400 mg/kg, which is comparable to that of aspirin (70.64%). These experimental findings support the traditional use of this plant and highlight its potential as a natural source of pharmacologically active compounds.

Keywords: *Crataegus azarolus*, polyphenols, antioxidant activity, anti-inflammatory activity, anticoagulant activity, analgesic activity.

Liste des abréviations

DPPH : 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

ROS :Reactive Oxygen Species

ERO : Espèces réactives d'oxygène

NADP+ : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate

NADPH : Reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate

AINS : Anti- inflammatoires non stéroïdiens

AIS : Anti- inflammatoires stéroïdiens

$AlCl_3$: Trichlorure d'aluminium

COX 1 :Cyclooxygenase-1

COX 2 :Cyclooxygenase-2

LOX : Lipoxygénase

PGE_2 : Prostaglandine E_2

CGRP: Calcitonine Gene-Related Peptide (Peptide relié au gène de la calcitonine)

TXA_2 : Thromboxane A_2.

ADP : adénosine diphosphate.

BHA : Hydroxyanisole butylé.

BHT : Hydroxytoluène butylé.

TPC : Total Phenolic Content

TFC : Total Flavonoid Content