الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

University of Ferhat Abbas – Setif 1

Faculty of Natural and Life Sciences

جامعة فرحات عباس سطيف 1

كلية علوم الطبيعة والحياة

DERARTMENT OF BIOCHEMISTRY

N°……/SNV/**2025**

THESIS

Presented by

Benzid Bouthaina

Berkache Ikram

For the fulfillment of the requirements for the degree of

Master

Field: Biological Sciences

Special field: Applied Biochemistry

TOPIC

Modulation of oxidative stress and hemostasis by methanolic extract of *Coriandrum sativum* seeds.

Presented in 29/06/2025

JURY:

Chair: BELATTAR Noureddine	**Pr. UFA Setif 1**
Supervisor: BOUTEFAHA Zineddine	**MCB. UFA Setif 1**
Examiner: AMRAOUI Nacer	**MCA. UFA Setif 1**

Laboratory Of Applied Biochemistry

2024-2025

Acknowledgment

We begin this work by expressing our deepest gratitude to Allah Almighty. His infinite mercy and guidance have been our constant companion throughout this journey. It is by His will that we found the strength, patienc and clarity to reach thisimportant stage.

We owe special thanks to our supervisor, **Mr. BOUTEFAHA Zineddine**, whose support went beyond academic guidance. With patience and dedication, he encouraged us to grow, to think critically, and to believe in our abilities. His humility, generosity, and trust left a lasting impact on us. We are truly grateful, and we sincerely pray that he is rewarded for all his efforts and that success continues to follow him.

We are also thankful to Professor **BELATTAR Noureddine**, head of the laboratory, for providing us with the space and resources that made our experimental work possible. His support was essential to the progress of this study.

Our sincere appreciation extends to the jury members for their time and valuable feedback. We particularly thank **Mr**, **BELATTAR Noureddine** who kindly chaired the committee and offered thoughtful insights, and **Mr AMRAOUI Nacer** for accepting to examine our thesis and for her constructive remark.

We also wish to thank the Department of Biochemistry and all the professors who accompanied us throughout these years. Their knowledge and dedication laid the foundation for this work. A special mention goes to Dalia, for her unwavering support, kindness, and positive presence throughout the process.

Finally, we thank all those who contributed, in any way, to the success of this research. Each of you has left a meaningful mark on this journey. May Allah reward you all.

Dedication

إلى من أضاء لي الطريق، وسندني حين خذلتني خطواتي

أولاً، الحمد لله الذي بفضله تتمّ الصالحات، وله وحده الفضل فيما أنا عليه اليوم

إلى نفسي...يا من عشتِ التعب، وشربتِ الصبر قطرة قطرة، ولم تستسلمي رغم كل ما مرّ

أهديكِ هذا الإنجاز، لأنك كنتِ الشجاعة في ضعفي، والأمل وسط يأسي، كنتِ دائمًا تستحقين الوصول

كما لا يفوتني أن أعبّر عن امتناني العميق لمن كان له الأثر البالغ في رحلتي العلمية،

إلى أستاذي ومشرفي الدكتور بوتفاحة لك مني خالص الشكر والعرفان

كنت الأستاذ الذي غيّر نظرتي إلى التعلّم، والإنسان الذي أثبت لي أن العلم لا يحتاج سلطة

بل يحتاج تواضعا يُنير الطريق. كنت أهاب السؤال، أخشى الخطأ، وأتردّد كثيرًا

في التعبير...لكن بفضلك، تعلّمت أن أفكّر، أن أطرح، أن أناقش دون خوف

كنت أوّل من جعلني أؤمن أن السؤال بداية الفهم، وأن الخطأ ليس نهاية،

بل خطوة نحو التعلم. لم تضع بيننا حواجز، ولم تشعرني يومًا بالفرق،

كنت قريبًا، حاضرًا، منصتًا، لا تبخل بعلمك، ولا بوقتك

منك تعلّمت أن الأستاذ الحقيقي لا يفرض، بل يُرافق... لا يعلو على طلبته، بل يرفعهم معه

ثم زادني شرفًا أن تكون مشرفي في هذا العمل، فكنت الداعم الحقيقي في كل خطوة

رافقتني بصبرٍ لا يُقال، وجهدٍ لا يُحصى، وسعة صدرٍ لا تُقابل إلا بالامتنان. جزاك الله عني كل خير،

وجعل ما قدّمتَه لي في ميزان حسناتك،وسيظل أثرك الطيّب حاضرًا في ذاكرتي،

وإن كتب الله لي الاستمرار في هذا الطريق، .وعِلمك بصمة لا تُنسى في رحلتي

فأتمنى أن يكون إشرافكم رفيقًا لي في مراحل قادمة من هذا المشوار العلمي

إلى أمي يا من صنعتِ مني إنسانة قادرة على الوقوف، رغم كل الانكسارات

يا من حملتِ همّي في دعائك، في نظرتك، في صمتك...لا كلمات توفيكِ،

ولا صفحات تكفي لاحتواء ما في قلبي لكِ. أهديكِ هذا العمل، عربون حبّ واعتراف بجميلٍ لا يُرد

إلى أبي... سندي الأول، ورجلي الأول...كنتَ العزم حين ترددت، وكنتَ الثبات حين اهتزّت أرضي

دعاؤك وقوتك الهادئة كانت الدفء في أصعب لحظاتي... شكرًا لأنك كنت حاضرًا حتى حين غبت عن الكلمات

إلى أخي حمزة... قريب من القلب وإن أبعدك التعبير...كنت الحاضر بصمتك،

والداعم دون طلب، كلما احتجتك، وجدتك...وشكري لك لا يُقال، بل يُحسّ

إلى أختي إكرام... يا من كنتِ لي النور في العتمة، ورفيقة كل المراحل

شكرًا لأنكِ لم تكوني فقط أختي، بل نبضي الموازي

إلى جميلة، زوجة أخي... كنتِ أختًا قبل أن تكوني شيئًا آخر، كنتِ الحنان في لحظات خوفي

واليد التي تمتد حين يتعب القلب...شكرًا على كل ما كنتِه لي دون أن أطلب

إلى سنودي، طفل العائلة وروحها... البراءة التي تملأ بيتنا بالضحكة.

أتمنى أن تقرأ يومًا هذه الكلمات، وتفهم كم كنتَ سببًا في فرحتي، ودافعًا لأكمل... ابقَ كما أنت، نقيًا كالسماء

إلى جدتي... يا من لم تنسني يومًا من دعائك، وكان اسمك بين قلبي ولساني حين ضاقت بي الدنيا

إلى خالتي ليليا...رغم أني لا أملك خالة بالمعنى الحقيقي،

كنتِ دائمًا الخالة التي منحنا القدر إياها بلطفه. كنتِ اليد التي لا تُخيّب حين نلجأ

احتويتِنا كما تفعل الأمهات الحنونات، فكنتِ خالة القلب،جزاكِ الله عنّا كل خير،

ودام قلبك عامرًا بالحب كما عهدناه

إلى صديقاتي

إلى آية، البعيدة بجسدها، القريبة بكل تفاصيلها، تمنيتكِ هنا اليوم

إلى منار خديجة، إكرام، سهام، أسماء، انتصار...كنتنّ الضوء حين أظلمت

والضحكة حين بكيت، والسند حين مالت بي الطريق

هذا العمل فيه منكنّ بقدر ما فيه مني، شكرًا لأنكنّ كنتنّ هنا دائمًا

هذا الإهداء ليس كلمات تُقرأ فقط، بل هو نبض قلب،

وعرفان صادق لكل من مدّ لي يدًا، مسح دمعة، أو همس بدعاء

إلى من أحبّوني كما أنا، واحتضنوا ضعفي قبل قوتي هذا العمل لكم، وبكم اكتمل

قد يكون هذا العمل نهاية فصل، لكنه ليس نهاية الحكاية

هو بداية لحلم أكبر، لطريق أطول، أسأل الله أن يوفقني فيه

وأن أبلغ به مراتب العلم، وأكمل بإذن الله مشوار الدكتوراه

Bouthaina

Dedication

إلى من كانت دعواتهما سرّ توفيقي، وسندهما الدائم نور دربي،

إلى من غمراني بحبهما، وصبرا على تعبي، ويسّرا لي سُبل النجاح،

إلى والديَّ العزيزين، أمي وأبي

أهديكما ثمرة جهدي وتعب سنواتي، عرفانًا بفضلكما، وامتنانًا لا ينتهي

فلكما مني أسمى آيات الشكر، ومهما خطّت الحروف من كلمات، ستظل قاصرة عن الوفاء بحقكما

إلى إخوتي وأختي الأعزاء،

كنتم السند في لحظات التعب، والبسمة في أوقات الضيق

لكم أكتب سطوري بامتنان، وأهدي هذا النجاح خالصًا من القلب

إلى صديقتي بثينة

شريكة الرحلة، والأخت في كل خطوة

لقد منحتِ هذه الرحلة الأكاديمية روحًا مميزة، وجعلتِ من النجاح تجربة لا تُنسى

شكرًا لرفقتك النقية، ولوجودك الثمين في كل تفصيله من هذه الرحلة

واخيرا إلى صديقاتي

بسملة، بثينة، سهام ومنار... شريكات اللحظات الحلوة والمرة دعمكن الدائم جعل هذه الرحلة لا تُنسى

مع نهاية هذه الكلمات لا يسعني إلا أن أرفع أسمى عبارات الشكر والعرفان لكل من كان لي عونًا وسندًا في هذه الرحلة، إن هذا النجاح ليس ثمرة جهدي وحدي، بل هو حصيلة حب ودعم ووفاء من أشخاص لا تُقدّر قيمتهم

Ikram

الملخص

هدفت هذه الدراسة إلى تقييم النشاطات المضادة للأكسدة، والمضادة للتخثر، والمحللة للجلطات لمستخلص بذور نبتة *Coriandrum sativum* المائي الميثانولي باستخدام طرق تجريبية مخبرية. كشفت التحاليل الكيميائية النباتية عن احتواء المستخلص على مستويات عالية من المركبات الفينولية، حيث بلغت قيمة عديدات الفينول الكلية 69.87 ± 5.62 ميكروغرام مكافئ حمض الغاليك/مغ، في حين بلغت قيمة الفلافونويدات الكلية 26.54 ± 1.45 ميكروغرام مكافئ الروتين/مغ. أظهر اختبار إزاحة الجذور الحرة (DPPH) قدرة جيدة على التثبيط، حيث تم تسجيل قيمة IC_{50} قدرها 80 ± 5.13 ميكروغرام/مل. كما أظهر اختبار القدرة الكلية لمضادات الأكسدة (TAC) قيمة $A_{0.5}$ بلغت 39.33 ± 4.62 ميكروغرام/مل، مما يدل على وجود نشاط مضاد للأكسدة معتبر. كما أظهر اختبار تثبيط التحلل الدموي تأثيرًا واقيًا على أغشية خلايا الدم الحمراء، حيث بلغت قيمة IC_{50} 0.244 مغ/مل، مما يشير إلى قدرة المستخلص على الحد من الضرر التأكسدي. وفيما يتعلق بالنشاط المضاد للتخثر، فقد أدى المستخلص إلى إطالة زمن التجلط بشكل ملحوظ، حيث بلغت قيم كل من PT وaPTT حوالي 57.66 و68.66 ثانية على التوالي عند تركيز 75 مغ/مل، مما يدل على تأثيره على مساري التخثر الداخلي والخارجي. أما في اختبار تحليل الخثرات، فقد ازدادت الفعالية الحالّة للجلطات من 15.82% عند تركيز 3.125 مغ/مل إلى 35.96% عند 50 مغ/مل، مما يدعم قدرة المستخلص على إذابة الجلطات. تشير هذه النتائج إلى أن نبات *Coriandrum sativum* يُعد مصدرًا طبيعيًا واعدًا لتطوير بدائل علاجية فعالة تستهدف الإجهاد التأكسدي، واضطرابات التخثر، والحالات الانسدادية الناتجة عن الجلطات، مع إمكانية استخدامه في الطّب الوقائي والتكميلي.

الكلمات المفتاحية: *Coriandrum sativum*، عديدات الفينول، الفلافونويدات، النشاط المضاد للأكسدة، النشاط المضاد للتخثر، النشاط الحالّ للجلطات

Résumé

Cette étude visait à évaluer les activités antioxydante, anticoagulante et thrombolytique de l'extrait aqueux-méthanolique des graines de coriandre à l'aide de méthodes expérimentales *in vitro*. L'analyse phytochimique a révélé que l'extrait contient des niveaux significatifs de composés phénoliques, avec une teneur en phénols totaux de 69,87 ± 5,62 µg EAG/mg et une teneur en flavonoïdes de 26,54 ± 1,45 µg ER/mg. Le test DPPH a démontré une capacité notable de piégeage des radicaux libres, avec une IC_{50} de 80 ± 5,13 µg/ml. De même, le test de la capacité antioxydante totale (TAC) a montré une $A_{0,5}$ de 39,33 ± 4,62 µg/ml, indiquant un potentiel antioxydant considérable. Le test d'inhibition de l'hémolyse a révélé un effet protecteur de l'extrait sur les membranes des globules rouges, avec une IC_{50} de 0,244 mg/ml, suggérant son rôle dans la prévention des dommages oxydatifs. Concernant l'activité anticoagulante, l'extrait a significativement prolongé les temps de coagulation, avec des valeurs de PT et aPTT atteignant 57,66 et 68,66 secondes, respectivement, à la concentration de 75 mg/ml, ce qui indique une interférence avec les voies de coagulation intrinsèque et extrinsèque. Dans le test thrombolytique, l'activité fibrinolytique est passée de 15,82 % avec 3,125 mg/ml à 35,96 % avec la concentration de 50 mg/ml, soutenant le potentiel de dissolution des caillots de l'extrait. Ces résultats mettent en évidence *Coriandrum sativum* comme une source naturelle prometteuse pour le développement d'alternatives thérapeutiques efficaces contre le stress oxydatif, les troubles de la coagulation et les conditions thrombotiques, avec des applications potentielles en médecine préventive et complémentaire.

Mots-clés : *Coriandrum sativum*, polyphénols, flavonoïdes, activité antioxydante, activité anticoagulante, activité thrombolytique.

Abstract

This study aimed to evaluate the antioxidant, anticoagulant, and thrombolytic activities of the aqueous-methanolic extract of coriander seeds using *in vitro* experimental methods. Phytochemical analysis revealed that the extract contains significant levels of phenolic compounds with total phenolic content of 69.87 ± 5.62 µg GAE/mg and total flavonoid content of 26.54 ± 1.45 µg RE/mg. The DPPH assay demonstrated a notable free radical scavenging capacity with an IC_{50} of 80 ± 5.13 µg/ml. Similarly, the total antioxidant capacity (TAC) test showed an $A_{0,5}$ of 39.33 ± 4.62 µg/ml, indicating considerable antioxidant potential. Hemolysis inhibition assay revealed a protective effect of the extract on red blood cell membranes, with an IC_{50} of 0.244 mg/ml, suggesting its role in mitigating oxidative damage. Regarding anticoagulant activity, the extract significantly prolonged clotting times, with PT and aPTT values reaching approximately 57.66 and 68.66 seconds, respectively, at the highest concentration tested (75 mg/ml), indicating interference with both intrinsic and extrinsic coagulation pathways. In thrombolytic assay, fibrinolytic activity increased from 15.82% at 3.125 mg/ml to 35.96% at 50 mg/ml, supporting the extract's clot-dissolving potential. These findings highlight *Coriandrum sativum* as a promising natural source for the development of effective therapeutic alternatives targeting oxidative stress, coagulation disorders, and thrombotic conditions, with potential applications in preventive and complementary medicine.
Keywords: *Coriandrum sativum*, polyphenols, flavonoids, antioxidant activity, anticoagulant activity, thrombolytic activity.

List of Abbreviations

$A_{0,5}$: Concentration at 0,5 absorbance

ANOVA: Analysis of the variance

aPTT: activated partial Thromboplastin time

CAT: Catalase

COX-1: Cyclooxygenase-1

COX-2: Cyclooxygenase-2

DPPH: 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

FDPs: Fibrinogen degradation products

GPX: Glutathione peroxidase

GRS: Glutathione reductase

GST: Glutathione transferase

IC_{50}: Half-maximal inhibitory concentration

LMWH: low-molecular-weight heparin

iNOS: Inducible Nitric Oxide Synthase

NOACs: Non-Vitamin K Oral Anticoagulants

PAR: Platelet Activation Receptor

PT: Prothrombin time

RNS: Reactive nitrogen species

ROS: Reactive oxygen species

rt-PA: recombinant tissue-type plasminogen activator

SOD: Superoxide dismutase

TAC: Total antioxidant capacity

TCK: Temps de Cephaline Kaolin

TF: Tissue factor

TXA2: Thromboxane A_2

vWF: von Willebrand factor