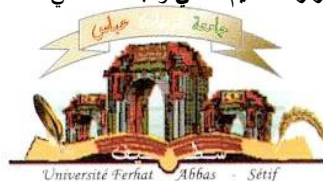


الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي



Université Ferhat Abbas Sétif1
Faculté des Sciences de la
Nature et de la Vie

جامعة فرحات عباس، سطيف1
كلية علوم الطبيعة والحياة

DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE

N° /SNV2025

MEMOIRE

Présenté par
ZAGHAD Abdelmanam
ZERROUK Yousra Nourhane

Pour l'obtention du diplôme de

Master

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : immunologie

Thème

**Evaluation des activités antioxydantes, anti-hémolytiques et
Anti-inflammatoires de deux extraits des feuilles de
*Cupressus sempervirens***

Soutenu publiquement le :

Devant le jury :

Présidente

Saffidine Karima

Pr. UFA. Sétif 1

Encadrant

Guemmaz Thoraya

MCA UFA. Sétif 1

Examinatrice

Karbab Ahlem

MCB UFA. Sétif 1

Laboratoire de Biochimie appliquée

Remerciement

Avant tout, on rend grâce à Allah, Le Tout-Puissant, de nous avoir accordé la santé, la patience et la force nécessaires pour mener à bien ce travail.

Ce manuscrit résume un travail de 4 mois que nous avons effectué au sein de laboratoire de recherche à l'université de « Ferhat Abbès El Bez-Sétif », cet aboutissement n'aurait pas été possible sans l'aide et la présence directe et indirecte des nombreuses personnes, et c'est dans ces quelques lignes que le mot MERCI prendra tout son sens.

On adresse nos sincères gratitudee à Dr. Guemmaz Thoraya, notre encadrante, pour sa disponibilité, ses conseils avisés, son suivi attentif et son accompagnement tout au long de ce projet de fin d'études. Sa rigueur scientifique et son soutien constant ont été d'une grande importance pour la réalisation de ce travail.

On adresse nos profondes gratitudee aussi à Pr. Baghiani Abderrahmane professeur à l'université de Sétif, de nous avoir permis de travailler au laboratoire de biochimie

Nos remerciements s'adressent également à Pr. Saffidine Karima d'avoir accepté de présider le jury de soutenance et à Dr. Karbab Ahlem D'avoir accepté d'examiner ce travail de recherche.

Nos remerciements s'adressent également à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'aboutissement de ce travail. Sans oublier l'ensemble de nos professeurs qui nous ont accompagnés tout au long de notre Cours universitaire

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à :

*Mes parents les plus chères au monde, maman **Nadjet** et papa **Laid** leur Confiance, encouragement et de leurs sacrifices durant toute ma vie je souhaite que ce travail soit le fruit de leurs efforts, que dieu les protège et garde pour moi..*

*A ma sœur **Djamila** et sa petite princesse **Lina** et mon frère **Adel** pour leurs soutiens, aides, encouragement et de leurs conseils. Dieu me les garde pour le reste de ma vie.*

*A mon chère binôme **Noorhene** pour sa précieuse collaboration, sa patience et son engagement tout au long de ce projet. Merci d'être toujours là pour moi.*

*A mes chers amis et notre groupe exceptionnel les « **NNNARL** », et mes collègues de la promotion 2024/2025. Sans oublier tous les professeurs et les enseignants.*

Enfin à tous ceux qui me connaissent et je n'ai pas cités.

Naim

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à :

A moi-même

Pour ces nuits passées à lutter contre le découragement, ces instants de doute où tout semblait s'écrouler, mais aussi pour cette force que j'ai trouvée au fond de moi, quand je pensais ne plus en avoir. Pour avoir avancé, même lentement, même tremblant. Pour ne pas avoir lâché, malgré le poids des épreuves. Aujourd'hui, je me rends hommage avec douceur, pour chaque pas franchi vers cette réussite

A mes chers parents

*Mama « **Aicha** » et Papa « **Abdesslem** » Les piliers de ma vie, Merci pour votre amour immense, vos sacrifices silencieux, votre patience infinie. Sans vous, je ne serais pas la personne que je suis aujourd'hui. Ce travail, c'est aussi le fruit de votre dévouement, de vos prières et de votre confiance en moi.*

A mes Frères et Soeurs

*« **Amira** » « **Hiba** » « **Mohammed** » et « **Mehdi** », pour votre affection, vos encouragements, vos petites attentions qui ont fait toute la différence.*

A ma nièce et mes neveux

*« **Maissoune** » « **Yacine** » et le prince « **Laith** », Petits trésors de ma vie.*

A mes chères amies

*« **Leila** » « **Rania** » « **Nour** » et « **Rahil** » Vous qui avez su m'écouter sans juger, me soutenir sans condition, me faire rire quand le stress prenait le dessus. Merci d'avoir été là, dans les moments de découragement comme dans les instants de joie. Votre amitié est une richesse que je chéris profondément*

*A mon binôme « **Naim** » et notre groupe exceptionnel les « **NNNARL** » je vous aime tous.*

Noorhene

الملخص

تهدف هذه الدراسة إلى تقييم النشاطات المضادة للأوكسدة و المضادة لتحلل كريات الدم الحمراء و المضادة للالتهاب لمستخلص ميثانولي (E.Met) و مستخلص اسيتات ايثيل (AE)، لأوراق نبات *Cupressus sempervirens*. سمح الاستخلاص بالنقع في الميثانول بالحصول على مردود استخلاص 28.6% وعلى 8.61% بالنسبة لمستخلص اسيتات ايثيل الذي تم الحصول عليه بتجزئة المستخلص الميثانولي. بين التحليل الكيمياء النباتي ان مستخلص Met. E. هو الأكثر غنى بعدة الفينول بمحتوى 141.73 ± 28.66 مغ مكافئ حمض الغاليك / غ من المستخلص وأن مستخلص AE هو الأكثر غنى بالفلافونويدات بمحتوى 37.16 ± 1.56 مغ مكافئ كيرسيتين / غ من المستخلص. تم تقييم النشاطية المضادة للأوكسدة بتطبيق اختبارات؛ إزاحة كل من DPPH بيروكسيد الهيدروجين وأكسيد الآزوت. أظهر مستخلص AE أعلى نشاطية مضادة للأوكسدة بقيمة $IC_{50} = 0.011 \pm 0.001$ مل/مغ/مل بالنسبة لإزاحة DPPH و قيمة $IC_{50} = 0.011 \pm 0.086$ مل/مغ/مل لإزاحة H_2O_2 و نسبة تثبيط 84% و 82.5% للمستخلصين AE و E.Met على الترتيب في حالة اختبار إزاحة NO. بالنسبة لاختبار تحلل كريات الدم الحمراء المحرض بـ AAPH. تميز المستخلص AE بقيمة $HT_{50} = 105$ دقيقة. تم تقييم النشاطية المضادة للالتهاب بتطبيق اختبارين: (1) اختبار تخريب BSA حيث تميز مستخلص AE بأعلى نشاطية تثبيط للتخريب بقيمة 46.91% . (2) أما بالنسبة لاختبار استقرار أغشية الكريات الدم الحمراء فكان مستخلص AE الأكثر فعالية بنسبة تثبيط 81.35%. بينت هذه الدراسة ان أوراق *Cupressus sempervirens* تتميز بنشاطات مضادة للأوكسدة و مضادة لتحلل كريات الدم الحمراء و مضادة للالتهاب جديرة بالاهتمام تبرر استعماله في الطب التقليدي.

الكلمات الدالة: *Cupressus sempervirens* ، مستخلص ميثانولي، مستخلص إيثيل أسيتات ، نشاطية مضادة للأوكسدة، نشاطية مضاد للالتهاب.

Résumé

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'activité antioxydante, anti-hémolytique et anti-inflammatoire de l'extrait méthanolique (E. Met) et l'extrait d'acétate d'éthyle (AE) des feuilles de *Cupressus sempervirens* L. L'extraction par macération dans le méthanol a donné un rendement de 28.6 % et 8.61 % pour l'extrait AE obtenu par fractionnement de E. Met. L'analyse phytochimique a révélé que E. Met était le plus riche en polyphénols avec une teneur de 141.37 ± 28.66 mg EAG/g et que l'extrait AE était le plus riche en flavonoïdes avec une teneur de 37.16 ± 1.36 mg EQ/g d'extrait sec. L'activité antioxydante a été évaluée en utilisant les tests de piégeage du : DPPH, du peroxyde d'hydrogène et du monoxyde d'azote. L'extrait AE a présenté la plus forte activité antioxydante avec une $IC_{50} = 0.011 \pm 0.001$ mg/ml pour le piégeage du DPPH, une $IC_{50} = 0.0865 \pm 0.0113$ mg/ml pour le piégeage du H_2O_2 et un pourcentage d'inhibition de 84% et 82.5% pour AE et E. Met respectivement dans le test de piégeage du NO. Concernant le test de l'hémolyse induite par le APPH, l'extrait AE a montré un HT50 de 75 min. L'activité anti-inflammatoire a été évaluée par deux tests *in vitro* : 1) le test de dénaturation de BSA ou l'AE a montré une activité inhibitrice la plus élevée avec un taux d'inhibition égale à 46.91 % 2) quant au test de la stabilité membranaire l'extrait AE était aussi le plus efficace avec un pourcentage d'inhibition de et 81.35%. Le présent travail a permis de démontrer que les feuilles de *Cupressus sempervirens* L. possède des activités antioxydantes, anti-hémolytique et anti-inflammatoires remarquables, qui justifieraient son utilisation traditionnelle.

Mots clés : *Cupressus sempervirens* L., extrait méthanolique, extrait d'acétate d'éthyle, activité antioxydante, activité anti-hémolytique, activité anti-inflammatoire.

Abstract

The objective of this study is to evaluate the antioxidant, anti-hemolytic, and anti-inflammatory activity of the methanolic extract (E. Met) and ethyl acetate extract (AE) from the leaves of *Cupressus sempervirens* L. Extraction by maceration in methanol yielded 28.6% for E. Met and 8.61% for AE obtained by fractionation of E. Met. Phytochemical analysis revealed that E. Met was richer in polyphenols with a content of 141.37 ± 28.66 mg GAE/g, while AE was richer in flavonoids with a content of 37.16 ± 1.36 mg QE/g of dry extract. Antioxidant activity was evaluated using DPPH, hydrogen peroxide (H_2O_2), and nitric oxide (NO) scavenging assays. AE showed the highest antioxidant activity with an $IC_{50} = 0.011 \pm 0.001$ mg/ml for DPPH scavenging, an $IC_{50} = 0.0865 \pm 0.0113$ mg/ml for H_2O_2 scavenging, and inhibition percentages of 84% and 82.5% for AE and E. Met respectively in the NO scavenging test. Regarding the APPH-induced hemolysis test, AE showed an HT50 of 105 minutes. Anti-inflammatory activity was evaluated by two in vitro tests : 1) The BSA denaturation test, in which AE showed the highest inhibitory activity with an inhibition rate of 46.91%. 2) For the membrane stability test, AE was also the most effective with an inhibition percentage of 81.35%. This study demonstrated that the leaves of *Cupressus sempervirens* L. have remarkable antioxidant, anti-hemolytic, and anti-inflammatory activities, which supports their traditional use.

Key words : *Cupressus sempervirens* L., methanolic extracts, ethyl acetate extract, antioxydant activity, anti-hemolytic activity, anti-inflammatoiry activity.

Liste des Figures

Figure 1 : Arbre de <i>Cupressus sempervirens</i> L.	4
Figure 2 : les différentes parties de la plante Cyprès. A) Feuilles, B) Fruits (cônes) et C) Graines.....	5
Figure 3 : courbe d'étalonnage d'acide gallique (les valeurs sont la moyenne de trois mesures $\pm$ SD)	19
Figure 4 : courbe d'étalonnage de la quercétrine (les valeurs sont la moyenne de trois mesures $\pm$ SD)	19
Figure 5: Effet anti-radicalaire de l'extrait méthanolique (E. Met) et de l'acétate d'éthyle (AE) des feuilles de et le BHT vis-à-vis le DPPH	25
Figure 6 : IC50 de l'extrait méthanolique (E. Met) et de l'acétate d'éthyle (AE) des feuilles de CS et le BHT vis-à-vis le DPPH (Les valeurs sont la moyenne de trois valeurs $\pm$ SD).....	26
Figure 7 : Effet anti-radicalaire de l'extrait méthanolique (E. Met) et de l'acétate d'éthyle (AE) des feuilles de <i>Cupressus sempervirens</i> vis-à-vis le peroxyde d'hydrogène	27
Figure 8 : IC50 de l'extrait méthanolique (E. Met) et de l'acétate d'éthyle (AE) des feuilles de <i>Cupressus sempervirens</i> et de la Vit C vis-à-vis le peroxyde d'hydrogène. (Les valeurs des IC50 sont la moyenne $\pm$ SD)	28
Figure 9 : Activité inhibitrice de l'extrait méthanolique (E. Met) et de l'acétate d'éthyle (AE) des feuilles de <i>Cupressus sempervirens</i> et la Vit C vis-à-vis du monoxyde d'azote, (Vit C 0.08 mg/ml, E. Met 0.75 mg/ml, AE 0.5 mg/ml).....	29
Figure 10 : Activité anti-hémolytique de l'extrait méthanolique (E. Met) et d'acétate d'éthyle (AE) des feuilles de <i>Cupressus sempervirens</i> et la Vit C à la concentration de 0.1 mg/ml.....	30
Figure 11 : Activité inhibitrice de la dénaturation de la BSA de l'extrait méthanolique (E. Met) et d'acétate d'éthyle (AE) des feuilles de <i>Cupressus sempervirens</i> et le diclofénac.....	31
Figure 12 : Activité inhibitrice de l'hémolyse de l'extrait méthanolique (E. Met) et AE des feuilles de <i>Cupressus sempervirens</i> et le diclofénac	32

Liste des abréviations

AAPH : 2,2'-Azobis(2-amidinopropane) dihydrochloride.

ABTS : 2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique).

AE : Acétate d'éthyle.

AINS : anti-inflammatoires non-stéroïdiens.

AIS : anti-inflammatoires stéroïdiens.

BHT : Hydroxytoluène butylé.

BSA : Bovine Serum Albumin.

CAT : Catalase.

COX-2 : Cyclooxygénase-2.

CS : *Cupressus sempervirens* L.

DMSO : Diméthylsulfoxyde.

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl.

EDTA : Ethylene diamine tetraacetic.

ERO : Espèces réactives de l'oxygène.

EOA : Espèces oxygénées activées.

GSH : Glutathion.

GPX : Glutathion peroxydase.

HE : Huiles essentielles.

HSV-1 : Virus de herpès simplex de type 1.

IC50 : Concentration inhibitrice à 50%.

NEDD : N-(1-naphthyl)ethylenediamine dihydrochloride.

NOS : Espèces réactives de nitrogène.

NPS : Nitroprussiate de sodium.

SOMMAIRE :

Introduction	1
---------------------------	----------

Partie Théorique

La plante de <i>Cupressus sempervirens</i>.....	4
1. Introduction	4
2. Nomenclature	4
3. Classification botanique	5
4. Description botanique.....	5
5. Composition chimique	6
6. Utilisations en médecine traditionnelle	6
7. Activités biologiques	6
7.1. Activité antioxydante	6
7.2. Activité anti-inflammatoire.....	7
7.3. Activité antimicrobienne.....	7
7.4. Activité antivirale.....	7
8. Toxicité.....	8

Stress oxydant	9
1. Définition.....	9
2. Radicaux libres	9
2.1. Définition	9
2.2. Principaux radicaux libres.....	9
2.3. Sources des radicaux libres	9
2.4. Rôle des radicaux libres	10
2.5. Pathologies liées au stress oxydatif.....	10
3. Antioxydants.....	11
3.1. Définition	11
3.2. Systèmes antioxydants de l'organisme	11
3.2.1. Antioxydants enzymatiques	11
3.2.2. Antioxydants non enzymatiques	11

Inflammation	13
1. Définition.....	13
2. Types d'inflammations	13
2.1. Inflammation aiguë	13
2.2. Inflammation chronique	13
3. Causes de l'inflammation	Erreur ! Signet non défini.
4. Anti-inflammatoires.....	13
4.1. Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS).....	14
4.2. Anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS).....	14
4.3. Anti-inflammatoires naturels	14