



République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche
Scientifique



جامعة أبو بكر بلقايد – تلمسان
Université ABOUBEKR BELKAID – TLEMEN

كلية علوم الطبيعة والحياة، وعلوم الأرض والكون
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, et Sciences de la Terre et de
l'Univers

Département de Biologie



Laboratoire :

Physiologie, Physiopathologie et biochimie de la nutrition

MÉMOIRE

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER

En Physiologie Cellulaire et Physiopathologie

Thème :

**Evaluation de l'activité anti-hémolytique et anti-
inflammatoire *in vitro* des pétales de Safran**

Présenté par :

BABA AHMED Zineb Farah

LALLAM Nesrine

Soutenu le 10/06/2024 devant le jury composé de :

| | | | |
|---------------------|------------------------------|-----|-----------------------|
| <i>Présidente</i> | Mme MERZOUK Hafida | MCA | Université de Tlemcen |
| <i>Encadrante</i> | Mme BABA HAMED Yamina | MCA | Université de Tlemcen |
| <i>Examinatrice</i> | Mme MZEROUK Amel | MCA | Université de Tlemcen |

Année universitaire 2023/2024

Remerciements

Nous sommes remplies d'une immense gratitude envers tous ceux qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce mémoire.

*Tout d'abord, on remercie infiniment **ALLAH**, tout-puissant de nous avoir donné de la bonne santé, la volonté et le courage afin d'accomplir ce modeste travail.*

*Nous tenons à exprimer notre sincère reconnaissance pour leur soutien inestimable et leurs précieuses contributions qui ont enrichi ce travail. Nous tenons tout d'abord à exprimer notre profonde reconnaissance envers **Mme BABA HAMED Yamina**. Son expertise, son dévouement et ses conseils éclairés ont été des éléments cruciaux dans le développement et l'aboutissement de ce travail. Sa présence attentive et ses retours constructifs ont été une source d'inspiration tout au long de notre parcours académique.*

*Nous souhaitons également remercier chaleureusement les membres du jury : **Mme MERZOUK Hafida** et **Mme MERZOUK Amel**, pour avoir accepté de faire partie de cette évaluation. Nous leur exprimons notre sincère gratitude pour leur temps, leur expertise et leurs précieux commentaires, qui ont été des éléments essentiels dans l'évaluation de ce travail et ont contribué à son enrichissement.*

*Un remerciement spécial est également adressé aux membres du laboratoire Physiologie, Physiopathologie et biochimie de la nutrition (**Ppabionut**), dont le soutien et l'assistance ont été inestimables pour la réalisation de cette recherche. Leur ouverture et leur collaboration ont grandement facilité notre travail.*

Enfin, nous voulons exprimer notre reconnaissance envers tous les enseignants de la faculté des Sciences de la nature et de la vie, de la terre et de l'univers, qui ont contribué à notre formation académique. Leurs enseignements ont été une source d'inspiration et de motivation tout au long de ce parcours.

Dédicaces

Je dédie ce travail avec tout mon amour et ma reconnaissance à :

*Mes chers parents, **Abdelnour** et **Samira**, vous m'avez donné la vie, la tendresse et la force de réaliser mes rêves. Votre amour inconditionnel et vos sacrifices constants sont les piliers de ma réussite. Je vous dois tout ce que je suis aujourd'hui. Ce modeste travail est un témoignage de mon amour infini pour vous.*

*À ma douce sœur **Selma**, dont la tendresse a toujours été un réconfort et une source d'inspiration. Que Dieu te bénisse et t'accorde une vie remplie de bonheur et de succès. Je t'aime profondément.*

*À la doctorante **Houda**, votre aide précieuse et votre bienveillance lors de la partie pratique au laboratoire ont été indispensables à la réalisation de ce travail.*

*À mes chères cousines : **Fazilet, Souhir, Ghizlene, Yasmine, Neila, Aya, Nesrine, Nadjia, Ghizlene, Amel**, qui ont partagé avec moi des moments de joie, d'encouragement et de soutien tout au long de cette expérience inoubliable.*

*À mes précieux amis : **Hidayet, Nour, Linda, Sanaa, Sarra, Firdaous, Wahib** et **Nadjib**, vous avez été mes compagnons de route les plus précieux, partageant avec moi les hauts et les bas de cette aventure avec amour, rires et soutien inconditionnel.*

*À ma chère binôme **Nesrine**, ce travail est le fruit de notre collaboration et de notre complicité. Je suis immensément reconnaissante pour ton soutien et ton engagement tout au long de ce parcours. Merci pour chaque instant partagé et pour ta précieuse amitié.*

Enfin, à tous ceux que j'aime et que j'ai oublié de citer vos encouragements et votre présence ont été une source constante de motivation et de réconfort.

Merci du fond du cœur.

Farah

Dédicaces

*J'ai l'honneur de dédier ce modeste travail à mes très **chers parents** que j'adore pour l'amour qu'ils m'ont donné, leurs encouragements et toute l'aide qu'ils m'ont apportés durant mes études.*

Aucun mot, aucune dédicace ne saurait exprimer pleinement le respect, la considération et l'amour que j'éprouve pour les sacrifices consentis pour mon éducation et mon bien-être. Ce travail, le fruit de tant de dévouements et de sacrifices ainsi que l'expression de ma gratitude et de mon profond amour.

*À ma chère sœur **Mounia** et mon grand frère **Omar**, vous êtes la joie de chaque jour, que DIEU protège notre union. Veuillez accepter cette dédicace comme l'expression de mon fort et inlassable attachement.*

***À toute ma famille**, grand-mère, oncles, tantes, cousins, cousines, petits et grands, je dédie ce modeste travail comme un témoignage de mon affection, de mon amour, de ma gratitude et de mon profond attachement.*

Je suis certaine que vous êtes fiers de moi aujourd'hui.

Qu'Allah Tout-Puissant vous préserve et vous accorde santé, bonheur et prospérité

***À tous mes amis (e)s**, votre soutien, vos encouragements et nos échanges ont été essentiels dans sa réalisation. Merci pour votre présence et votre bienveillance.*

*À mon binôme **Farah**, notre aventure touche à sa fin, et ce mémoire en est le témoignage vivant. Travailler avec toi a été une expérience des plus enrichissantes, marquée par des discussions stimulantes, des découvertes intellectuelles. Merci pour ton engagement, ton amitié et ta collaboration exemplaire.*

Nesrine

Résumé

Ce mémoire explore les nombreuses utilisations culinaires et médicinales des pétales de safran, en mettant particulièrement l'accent sur leurs propriétés bioactives anti-hémolytiques et anti-inflammatoires. Les extraits méthanoliques des pétales inhibent efficacement la dénaturation des protéines et protègent les membranes érythrocytaires, surpassant même le diclofénac à des concentrations élevées. L'analyse HPLC a confirmé la présence de composés phénoliques bioactifs, soutenant ainsi leurs propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires. Cette étude met également en évidence que ces extraits possèdent des propriétés anti-hémolytiques et anti-inflammatoires significatives, offrant ainsi une alternative naturelle potentielle aux anti-inflammatoires synthétiques. Ces découvertes justifient des recherches supplémentaires pour mieux comprendre les mécanismes d'action et explorer les applications cliniques des extraits de pétales de safran dans la gestion des inflammations et la protection contre les dommages cellulaires, ouvrant ainsi la voie à de nouvelles avancées dans le domaine médical.

Mots clés : Safran, propriétés bioactives, anti-hémolytiques, anti-inflammatoires, extraits méthanoliques.

Abstract

This thesis explores the numerous culinary and medicinal uses of saffron petals, with a particular focus on their bioactive anti-hemolytic and anti-inflammatory properties. Methanolic extracts of the petals effectively inhibit protein denaturation and protect erythrocyte membranes, even surpassing diclofenac at high concentrations. HPLC analysis confirmed the presence of bioactive phenolic compounds, thus supporting their antioxidant and anti-inflammatory properties. This study also highlights that these extracts possess significant anti-hemolytic and anti-inflammatory properties, offering a potential natural alternative to synthetic anti-inflammatories. These findings justify further research to better understand the mechanisms of action and explore the clinical applications of saffron petal extracts in managing inflammation and protecting against cellular damage, paving the way for new advancements in the medicinal field.

Keywords: Saffron, bioactive properties, anti-hemolytic, anti-inflammatory, methanolic extracts.

ملخص

يتناول هذا البحث الاستخدامات المتعددة لطهي الزعفران ولأغراض طبية، مع التركيز بشكل خاص على خصائصها البيولوجية النشطة المضادة للانحلال الدموي والمضادة للالتهابات. تعمل مستخلصات بتلات الزعفران الميثانولية على منع تحلل البروتينات وحماية أغشية خلايا الدم الحمراء بفعالية، متفوقة حتى على الديكلوفيناك في التراكيز العالية. أكدت تحليلات HPLC وجود مركبات فينولية نشطة بيولوجيًا، مما يدعم خصائصها المضادة للأكسدة والمضادة للالتهابات. تبرز هذه الدراسة أيضًا أن هذه المستخلصات تمتلك خصائص مضادة للانحلال الدموي ومضادة للالتهابات بشكل كبير، مما يوفر بديلاً طبيعيًا محتملاً للمضادات الالتهابية الاصطناعية. تبرر هذه النتائج إجراء المزيد من الأبحاث لفهم آليات العمل بشكل أفضل واستكشاف التطبيقات السريرية لمستخلصات بتلات الزعفران في إدارة الالتهابات والحماية من تلف الخلايا، مما يمهد الطريق لتحقيق تقدمات جديدة في المجال الطبي.

الكلمات المفتاحية: الزعفران، الخصائص البيولوجية النشطة، المضادة للانحلال الدموي، المضادة للالتهابات، المستخلصات الميثانولية.

Table des matières

Remerciements

Dédicaces

Dédicaces

Resumé

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

INTRODUCTION..... 1

Synthèse bibliographique

| | | |
|----------|--|----|
| I. | Le safran..... | 4 |
| □ | Généralités sur le safran | 4 |
| II. | Les pétales de safran | 4 |
| II.1. | Définition..... | 4 |
| II.2. | Les effets thérapeutiques des pétales de safran | 5 |
| III. | Les composés phénoliques | 5 |
| III.1. | Définition..... | 5 |
| III.2. | Principales classes des polyphénols | 6 |
| III.2.1. | Flavonoïdes | 6 |
| III.2.2. | Les stilbènes | 6 |
| III.2.3. | Acides phénoliques | 6 |
| III.2.4. | Lignanes | 6 |
| III.2.5. | Tannins | 7 |
| III.3. | Rôle des polyphénols..... | 7 |
| III.4. | Les propriétés thérapeutiques des polyphénols | 8 |
| IV. | Processus d'hémolyse | 8 |
| IV.1. | Les composants biochimiques sanguins | 8 |
| IV.2. | Définition des globules rouges | 9 |
| IV.3. | La membrane des hématies..... | 9 |
| IV.4. | Définition de l'hémolyse | 10 |
| IV.5. | Hémolyse pathologique | 10 |
| V. | Activité anti-inflammatoire..... | 11 |
| V.1. | L'inflammation | 11 |
| V.2. | Les causes de l'inflammation | 11 |
| V.3. | Types d'inflammation..... | 12 |
| V.4. | Pathologies inflammatoires | 12 |
| V.5. | Les anti-inflammatoires..... | 13 |
| V.5.1. | Les anti-inflammatoire stéroïdiens (AIS)..... | 13 |
| V.5.2. | Les anti-inflammatoires non-stéroïdiens (AINS)..... | 14 |
| V.6. | Les anti-inflammatoires d'origine végétale | 14 |
| VI | Chromatographie | 15 |
| VI.1. | Méthodes d'analyses | 15 |
| VI.2. | Chromatographie liquide à haute performance (HPLC) | 15 |

Matériels & Méthodes

I. Préparation des solutions : 18

| | |
|--|----|
| II. Dosage des polyphénols | 18 |
| III. Détermination in vitro, de l'activité anti-hémolytique et anti-inflammatoire des pétales de Safran :..... | 19 |
| III.1. Préparation de la suspension des globules rouges humains (GRH) | 19 |
| III.2. Evaluation de l'activité Anti-Hémolytique | 20 |
| III.3.Evaluation de l'activité Anti-Inflammatoire | 23 |

Résultats Et Interprétations

| | |
|---|-----------|
| I. Dosage des polyphénols totaux | 29 |
| II. Détermination in vitro de l'activité anti-hémolytique et anti-inflammatoire des pétales de Safran | 30 |
| II.1. Evaluation de l'activité anti-hémolytique..... | 30 |
| II.2. Evaluation de l'activité Anti-inflammatoire | 31 |
| III. Chromatographie à haute performance (HPLC) | 33 |
| Discussion | 35 |
| Conclusion..... | 40 |
| Références bibliographiques | 43 |

Liste des figures

| | |
|--|----|
| <i>Figure 1: Classements des polyphénols principaux. .</i> | 7 |
| <i>Figure 2: les effets thérapeutiques des polyphénols.</i> | 8 |
| <i>Figure 3: Structure de la membrane érythrocytaire.</i> | 10 |
| <i>Figure 4: Schéma de la réaction inflammatoire.</i> | 12 |
| <i>Figure 5: Schéma du principe d'une chaîne HPLC.</i> | 16 |
| <i>Figure 6: les solutions préparées.</i> | 18 |
| <i>Figure 7: Tubes après centrifugation.</i> | 19 |
| <i>Figure 8: Tubes après 3 lavages.</i> | 19 |
| <i>Figure 9: Diclofénac / Solution Diclofénac.</i> | 22 |
| <i>Figure 10: l'Albumine (SBA).</i> | 24 |
| <i>Figure 11: Courbe étalon de l'acide gallique.</i> | 29 |
| <i>Figure 12: Comparaison de l'activité anti-hémolytique entre l'acide gallique, diclofénac et les extraits méthanoliques des pétales de safran.</i> | 31 |
| <i>Figure 13: Poucentages d'inhibition de la dénaturation protéique par le diclofénac de sodium.</i> | 32 |
| <i>Figure 14: Poucentages d'inhibition de la dénaturation protéique par le diclofénac de sodium et l'extrait de pétales de safran.</i> | 33 |
| <i>Figure 15: Profil chromatographique HPLC du mélange de standards et de l'extrait méthanolique des pétales de safran.</i> | 34 |

Liste des tableaux

Tableau 1: évaluation des composants indispensables du sang. 9

Tableau 2: Exemples de maladies liées à l'inflammation. 13

Liste des abréviations

SBA : sérum albumine bovin.

AIS : anti-inflammatoire stéroïdiens.

AINS : anti-inflammatoires non-stéroïdiens.

COX : cyclooxygénase.

GRH : globules rouges humains.

DO : densité optique.

RPM : nombre de rotations par minute.

GR : globule rouge.

UV : ultraviolet.

Vis : visible.

Nacl : chlorure de sodium.

OH : les groupes hydroxyles.

Ac : absorbance du contrôle.

At : absorbance du test.

Mg EAG/g E : milligramme équivalent d'acide gallique par gramme de l'extrait.

CCM : chromatographie sur couche mince.

CPG : chromatographie en phase gazeuse.

CPV : chromatographie en phase vapeur.

CPL : chromatographie en phase liquide.

HPLC : chromatographie en phase liquide à haute performance.

Introduction

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Les plantes ont toujours été au cœur de la vie quotidienne de l'homme, occupant une place essentielle en tant que source inépuisable et renouvelable de principes actifs dans plusieurs domaines comme : la médecine, l'alimentation et la pharmacie (**Bonnin, 2016**). Leur valeur est reconnue notamment pour leurs propriétés biologiques et leurs effets thérapeutiques, incluant leur activité antioxydante, anticancéreuse et anti-inflammatoire (**Rahimi, 2015**).

La flore de l'Algérie est très diversifiée. Ce vaste éventail de végétaux comprend des milliers d'espèces qui présentent différents intérêts et représentent un domaine de recherche scientifique. On peut citer parmi ces plantes le Safran (*Crocus Sativus L.*) également désigné par l'appellation « or rouge ». Une plante herbacée vivace de la famille Iridaceae, de la lignée Liliaceae et du grand genre *Crocus*, qui regroupe plus de 80 espèces de plantes bulbeuses de petite taille, principalement présentes dans la région méditerranéenne et dans le sud-est de l'Asie (**Pitsikas, 2016**).

Depuis l'Antiquité, cette épice historique est connue pour son utilisation culinaire, mais elle est beaucoup moins connue pour son utilisation dans les domaines médicaux et cosmétiques. Cependant, les prédécesseurs n'ont cessé de l'employer et de la développer en raison de ses multiples bienfaits (**Palomares, 2015**).

Il est crucial et indispensable de valoriser les sous-produits du safran, en particulier les pétales de safran, en raison de leurs composés bioactifs (**Hosseini et al., 2018**), comme les polyphénols, les flavonoïdes, les flavonols, les caroténoïdes, les terpénoïdes et les anthocyanes (**Serrano et al., 2013**), qui leur confèrent des propriétés antioxydantes, antibactériennes et antifongiques.

La valorisation des fleurs de *C. Sativus* en fin de production d'épices permet d'obtenir des sous-produits, exploitables dans diverses industries telles que l'agroalimentaire et la pharmaceutique, sous forme de compléments alimentaires, éléments frais ou secs, ou éléments décoratifs (**Bergoin et al., 2005**).

Le safran ainsi que ses pétales sont connus pour leurs effets favorables sur la mémoire et les facultés d'apprentissage, en plus de posséder diverses propriétés pharmacologiques, incluant des capacités anticancéreuses, antibactériennes, antispasmodiques, immunomodulatrices, antidépressives, antinociceptives, ainsi que des bienfaits pour la santé

Introduction

hépatique, rénal, le contrôle de la tension artérielle et la gestion du diabète (Srivastava et al., 2010).

Ces caractéristiques ont été examinées à travers une multitude d'études, à la fois *in vivo* et *in vitro*. (Hosseini et al., 2018).

Dans ce cadre-ci, on s'est intéressés à l'étude des pétales de safran.

Nous cherchons à évaluer, dans un contexte *in vitro*, l'action anti-hémolytique et anti-inflammatoire, ainsi que le dosage des composés phénoliques présents dans cette plante.

- Ce mémoire est divisé en trois chapitres :
- La première partie synthèse bibliographique concerne des généralités sur le safran, les pétales de safran, le processus d'hémolyse et de l'inflammation, la méthode de chromatographie liquide à haute performance (HPLC).
- La deuxième Partie matériels et méthodes est dédiée à décrire les principes et les détails pratiques des techniques utilisées pour mener à bien cette étude.
- La troisième partie est réservée aux résultats obtenus qui seront suivis d'une discussion.

Nous arrivons à la fin de notre travail en présentant une conclusion générale qui résume de manière globale l'ensemble des résultats obtenus au cours de cette étude.

Synthèse

Bibliographique

I. Le safran

- **Généralités sur le safran**

Le safran, issu des fleurs de *Crocus sativus*, tire son nom du mot arabe "**Zaafarân**", signifiant jaune. "**Crocus**" vient du grec "**Krokos**", faisant référence aux stigmates de la plante, tandis que "**sativus**" souligne sa culture nécessitant l'intervention humaine pour la reproduction végétative (**Bouden et Kadri, 2019**).

Le safran, surnomé aussi Or Rouge, est une épice précieuse extraite des stigmates rouge vif des fleurs de *Crocus sativus*. Apprécié en cuisine pour son arôme distinctif, sa saveur légèrement amère et sa teinte jaune doré, le safran possède également des propriétés médicinales ancestrales (**Benmostafa et Guellil, 2017**). Les recherches phytochimiques et biochimiques ont identifié plusieurs composés actifs dans le safran, notamment la crocine pour sa couleur, la picrocrocine pour sa saveur et le safranal pour son parfum, ainsi que des flavonoïdes. Historiquement utilisé comme assaisonnement, parfum, colorant et médicament en raison de ses caractéristiques sensorielles et médicinales, le safran reste principalement utilisé en cuisine aujourd'hui, bien qu'il ait eu autrefois des applications médicales variées (**Siddiqui et al., 2018**).

II. Les pétales de safran

II.1. Définition

Les pétales de safran résultent principalement de la transformation du safran. Ils renferment divers composés tels que des agents minéraux, anthocyanes, flavonoïdes, glycosides, alcaloïdes et kaempférol. Étant moins coûteux et produits en grande quantité par rapport aux stigmates, les pétales de safran peuvent être considérés comme des produits adaptés à différents usages. Ils présentent diverses propriétés pharmacologiques, notamment des effets antioxydants, anticancéreux, antibactériens, antispasmodiques, immunomodulateurs, antidépresseurs, antinociceptifs, ainsi que des activités hépato-protectrices, reno-protectrices, anti-hypertensive et antidiabétiques (**Hosseini et al., 2018**).

II.2. Les effets thérapeutiques des pétales de safran

Le safran est largement reconnu pour ses effets thérapeutiques variés, soutenus par une composition chimique complexe. Cette épice précieuse est riche en polyphénols, des éléments naturels trouvés dans les plantes qui ont démontré des effets bénéfiques sur la santé humaine.

Les pétales de safran offrent une gamme diversifiée d'effets thérapeutiques. Ils possèdent des propriétés **anti-inflammatoires** grâce à leur richesse en composés tels que les flavonoïdes, les tanins et les alcaloïdes, réduisant ainsi l'inflammation chronique (**Gholamnezhad et al., 2013**). En outre, ces pétales montrent des propriétés **antidiabétiques** prometteuses en protégeant contre la néphropathie et en régulant la glycémie sans altérer la fonction rénale (**Zarez et al., 2017**). Ils sont également bénéfiques dans la gestion du **syndrome métabolique** en réduisant les risques associés tels que l'obésité et l'hypertension (**Razavi et al., 2017**). Le safran présente des propriétés **antioxydantes**, aidant à réduire les dommages cellulaires causés par les radicaux libres (**Ardalan et al., 2012**), et une activité **antimicrobienne** souligne également leur utilité dans la lutte contre les infections et diverses **bactéries** (**Asgarpanah et al., 2013**). De plus, il démontre des effets **rénoprotecteurs** en maintenant la santé rénale en réduisant les niveaux d'acide urique et de créatinine (**Omidi et al., 2015**). En outre, le safran montre un potentiel **antidépresseur**, offrant une alternative aux traitements conventionnels avec moins d'effets secondaires à long terme (**Bikomo et al., 2017 ; Karimi et al., 2001**). Enfin, ses propriétés **antitumorales** et **antitussives** en font un allié dans la lutte contre le cancer et les affections respiratoires (**Hosseinzadeh et Ghenaati, 2006 ; Hosseinzadeh et al., 2005**).

En somme, les pétales de safran offrent une panoplie d'effets thérapeutiques précieux, ouvrant la voie à des applications médicales diverses et potentiellement révolutionnaires.

III. Les composés phénoliques

III.1. Définition

Les polyphénols sont abondamment présents dans les plantes et jouent un rôle crucial dans notre alimentation. En consommant une quantité significative de fruits et légumes, on peut ingérer une quantité importante de ces composés, souvent dépassant les centaines de milligrammes par jour (**Bennetu et Pelissero, 2014**).

Ces produits sont considérés comme des métabolites secondaires qui sont largement existants dans toutes les parties des plantes. Ils jouent un rôle essentiel en garantissant une

protection contre les insectes, les rayons ultraviolets, les infections, et même en attirant les pollinisateurs. **(Del Rio et al., 2013)**.

Les polyphénols se distinguent par leur composition qui inclut des combinaisons phénoliques et différentes fonctions, comme les groupes hydroxyles (-OH) sur un noyau aromatique **(Augustin et Gary, 2000 ; Macheix, 2005)**.

III.2. Principales classes des polyphénols

III.2.1. Flavonoïdes

Les flavonoïdes, qui sont presque inévitables dans les végétaux, jouent un rôle crucial dans la coloration des feuilles et des fruits. Ils jouent un rôle important dans la coloration de nombreux végétaux **(Vania et al., 2014)**.

Le noyau flavane, qui est composé de 15 atomes de carbone (C₆C₃C₆), est la structure de base de tous les flavonoïdes. Il est composé de 3 cycles : A, B et C. A et B sont des noyaux aromatiques, tandis que c'est un hétérocycle oxygéné central qui comprend 3 familles : les flavanols, les anthocyanes et les flavanons **(Kim et al., 2004)**.

III.2.2. Les stilbènes

Les stilbènes sont des substances présentes dans notre alimentation en petites quantités, présentant une structure de base de type (C₆-C₂-C₆) **(Han et al., 2007)**. Le trans-resvératrol est le composé le plus célèbre qui possède des propriétés anticancéreuses **(Kundu et Surh, 2008)**.

III.2.3. Acides phénoliques

Les acides phénoliques sont de nombreux métabolites aromatiques secondaires présents dans toutes les plantes **(Saxena, et Pradhan, 2012)**. Les acides hydroxy-benzoïques et hydroxy-cinnamiques se distinguent comme les principales catégories issues des molécules non phénoliques de l'acide benzoïque et de l'acide cinnamique, respectivement. **(Heleno et al., 2015)**.

III.2.4. Lignanes

Les lignanes phénoliques sont présents dans la plupart des plantes riches en fibres, comme les graines de citrouille, les graines de sésame, les céréales, les fruits et les légumes **(Imran et al., 2015)**. Les lignanes peuvent être classés en cinq catégories de composés en fonction de leur

structure : lignanes néolignanes, sesquilignanes, dineolignanes, norlignans et lignanes hybrides (Calvo-Floresn et al., 2015).

III.2.5. Tannins

Les tanins font partie d'un ensemble de polyphénols à poids moléculaire élevé, ce sont des substances hautement hydroxylées qui peuvent se combiner avec les glucides, les protéines et les enzymes digestives, ce qui entraîne une diminution de la capacité à digérer les aliments. On peut les relier à la cellulose et à de nombreux minéraux (François, 2010).

Deux grandes catégories de tannins sont identifiées en fonction du type de liaisons et de la nature de l'acide phénolique : les tannins condensés et les tannins hydrolysables (Rira, 2006).

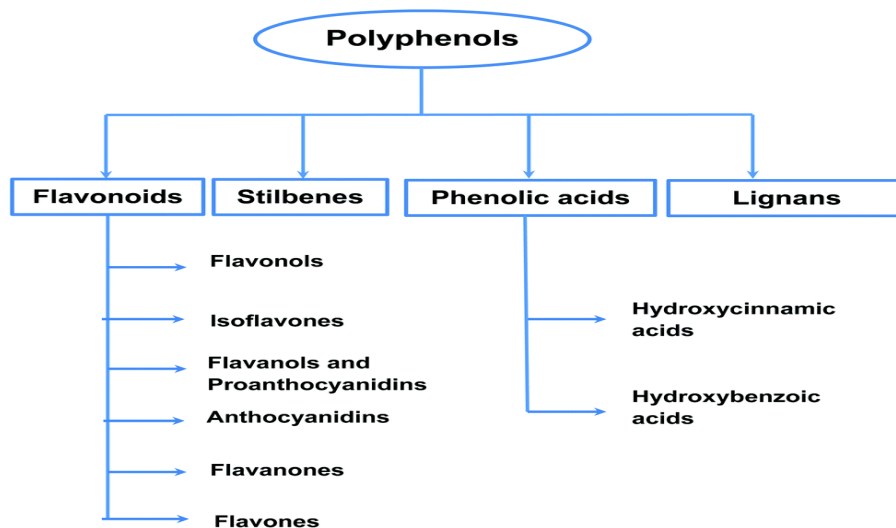


Figure 1: Classements des polyphénols principaux (OLIVER et al., 2016).

III.3. Rôle des polyphénols

Le rôle des polyphénols dans la physiologie de la plante est crucial, ils jouent un rôle essentiel :

- La résistance contre les rayonnements UV des tissus végétaux (Lattanzio et al., 2008).
- La coloration des fleurs, des fruits et des pollens est leur responsabilité afin d'attirer les pollinisateurs et les disperseurs de graines (Hadi, 2004).
- Apportent leur parfum et leur arôme aux plantes.
- Favorisent l'épanouissement de la plante et la production de pollen (Petti et Scully, 2009).
- La prévention des microorganismes nuisibles et des insectes parasites (Petti et al., 2006).

Synthèse bibliographique

- Les flavonoïdes qui contribuent à la teinte des organes végétaux (fleurs, fruits, graines) (Petti et Scully, 2009).

- Il est également possible que les polyphénols jouent un rôle crucial dans la santé en influençant le métabolisme, le poids, les syndromes chroniques et la prolifération cellulaire, ainsi que les risques mineurs des syndromes dégénératifs chroniques et liés à l'âge (Pérez et al., 2010).

III.4. Les propriétés thérapeutiques des polyphénols

Les polyphénols démontrent une pléthore d'effets thérapeutiques, notamment leurs propriétés antimicrobiennes, anticancéreuses, antioxydantes, cardio-protectrices et neuro-protectrices.

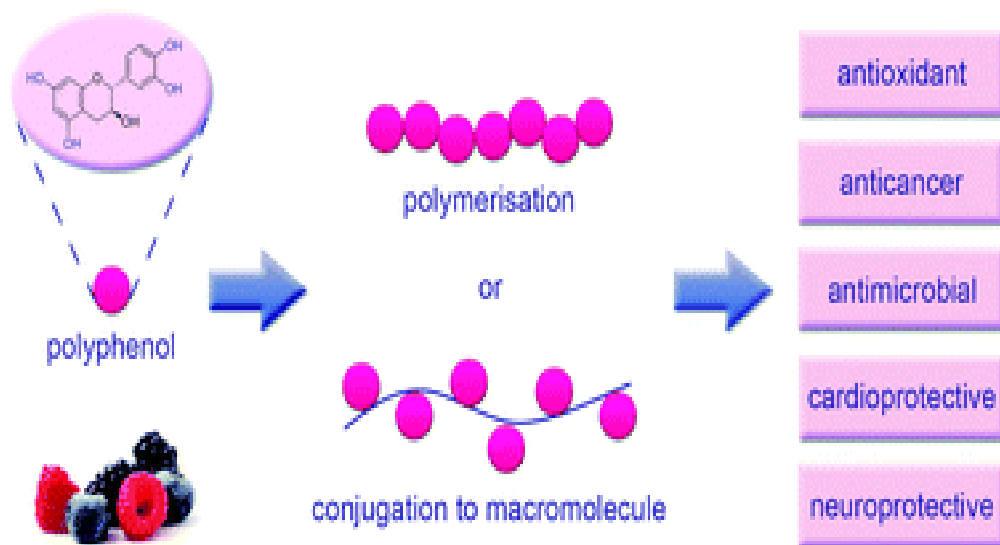


Figure 2: les effets thérapeutiques des polyphénols (Polyme, 2016).

IV. Processus d'hémolyse

IV.1. Les composants biochimiques sanguins

Le sang, en tant que tissu conjonctif spécialisé, abrite la plupart des substances présentes dans différentes parties de l'organisme. Il est principalement constitué d'eau (91,5%) et de protéines plasmatiques (7%) telles que l'albumine, les globulines et les fibrinogènes, ainsi que d'autres solutés (1,5%) incluant des électrolytes tels que les cations (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+}) et les anions (Cl^- , HPO_4^{2-} , SO_4^{2-} , HCO_3^-). En plus de transporter les nutriments issus de la digestion (acides aminés, glucose, acides gras, glycérol, vitamines et minéraux) et les gaz

Synthèse bibliographique

(oxygène, dioxyde de carbone, azote), il contient des éléments de régulation (hormones et enzymes) et divers déchets métaboliques (urée, acide urique, créatinine, créatine, bilirubine, ammoniac) qui sont éliminés par des cellules sécrétrices (DERRICHSO, 2017).

Le plasma, les plaquettes, les leucocytes et les érythrocytes représentent les éléments essentiels du sang, contribuant respectivement à son volume, à la coagulation, à l'immunité et au transport de l'oxygène, assurant ainsi le bon fonctionnement de l'organisme.

Tableau 1: évaluation des composants indispensables du sang (ROUGEER et LEFRERE, 2011).

| | Volume moyen 10 ¹⁵ /litre | Diamètres (µm) | Densité (g/ml) |
|-----------------|---|----------------|----------------|
| Plasma | - | - | 1.026 |
| Plaquettes | 9 | 2-4 | 1.058 |
| Globules blancs | 230-470 | 7.5-30 | 1.062-1.089 |
| Globules rouges | 87 | 7 | 1.100 |

IV.2. Définition des globules rouges

Les globules rouges (les érythrocytes), dépourvus de noyau et présentant une forme biconcave, ont une longévité de 120 jours. Leur rôle principal consiste à acheminer l'oxygène des poumons vers les tissus tout en supprimant le dioxyde de carbone en sens inverse. L'intégrité de leur enveloppe est cruciale pour leur bon fonctionnement (Guillaume, 2007).

IV.3. La membrane des hématies

La membrane des érythrocytes est composée d'une double couche de lipides où de nombreuses protéines sont intégrées et liées au cytosquelette sous-membranaire. Certaines de ces protéines glycoprotéiques et certains glycolipides contiennent des antigènes de groupes sanguins à la surface du globule (Manaargadoo et al., 2016).

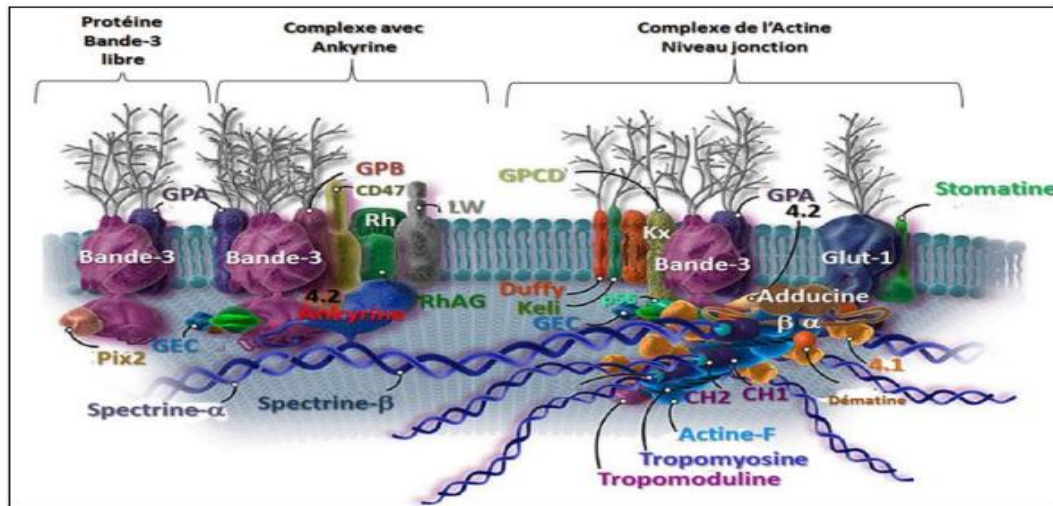


Figure 3: Structure de la membrane érythrocytaire (Jauréguiberry et al., 2015).

IV.4. Définition de l'hémolyse

La dégradation des globules rouges (GR) après 120 jours de vie circulatoire était liée à la libération puis au développement de l'hémoglobine (Loustau et al., 2011).

L'hémolyse, consistant en la destruction des globules rouges, est un phénomène irréversible lié au vieillissement de ces cellules, constituant ainsi une forme de mort physiologique appelée sénescence (Vieira et al., 2012). Ce processus de vieillissement entraîne une diminution progressive de l'équipement enzymatique des globules rouges, car ils ne se renouvellent pas. Cette diminution conduit à une moindre protection de la membrane cellulaire et de l'hémoglobine contre l'oxydation, ainsi qu'à la présence d'hémoglobine oxydée (Kato et al., 2017).

Dans un état d'équilibre, l'hémolyse physiologique assure l'élimination quotidienne des globules rouges les plus âgés, tandis que la moelle osseuse libère une quantité équivalente de nouveaux globules rouges dans la circulation sanguine (Lippi et Plebani, 2019).

IV.5. Hémolyse pathologique

L'hémolyse pathologique, marquée par la dégradation précoce et excessive des globules rouges circulants, conduit à l'apparition d'une anémie hémolytique. Cette destruction des globules rouges peut se produire soit à l'extérieur, soit à l'intérieur de l'espace vasculaire, en fonction du processus causal et de l'intensité de l'attaque contre la membrane érythrocytaire (Sesti-Costa et al., 2023).

Les médicaments anti-hémolytiques, comme l'acide folique, peuvent retarder ou stopper la destruction des globules rouges. Pour traiter les anémies hémolytiques, on utilise diverses approches thérapeutiques telles que les suppléments de fer, les corticoïdes et les vitamines B. Étant donné la diversité des causes, il existe de nombreuses options de traitement. Par exemple, la corticothérapie est efficace contre les formes d'auto-immunité, tandis que le danazol et d'autres compléments peuvent également être prescrits (DAVID, 2009).

V. Activité anti-inflammatoire

V.1. L'inflammation

L'inflammation est un processus de défense de l'organisme contre diverses agressions d'origine physique, chimique, biologique ou infectieuse, jouant un rôle essentiel dans le maintien de son intégrité. Bien que cette réponse immunitaire soit généralement bénéfique, elle peut parfois devenir nuisible en raison de la virulence de l'agent pathogène, de sa persistance, ainsi que des dysfonctionnements dans la régulation et la production des cellules impliquées dans le processus inflammatoire (John et al., 2021).

V.2. Les causes de l'inflammation

L'inflammation peut être déclenchée par plusieurs facteurs, notamment :

- **Infections** : Des toxines virales, bactériennes ou fongiques peuvent déclencher des réponses inflammatoires, allant de légères à graves.
- **Corps étrangers** : Des particules de saleté ou des échardes peuvent causer une inflammation en induisant des lésions tissulaires ou en introduisant des agents pathogènes.
- **Nécrose** : La mort cellulaire, qu'elle soit causée par une blessure physique, chimique ou une ischémie (dans le cadre d'un infarctus du myocarde), peut déclencher une réponse inflammatoire.
- **Hypersensibilité** : Une réponse immunitaire exagérée contre un antigène ou un allergène peut conduire à des maladies graves ou des dommages tissulaires. (Ratan et al., 2022).

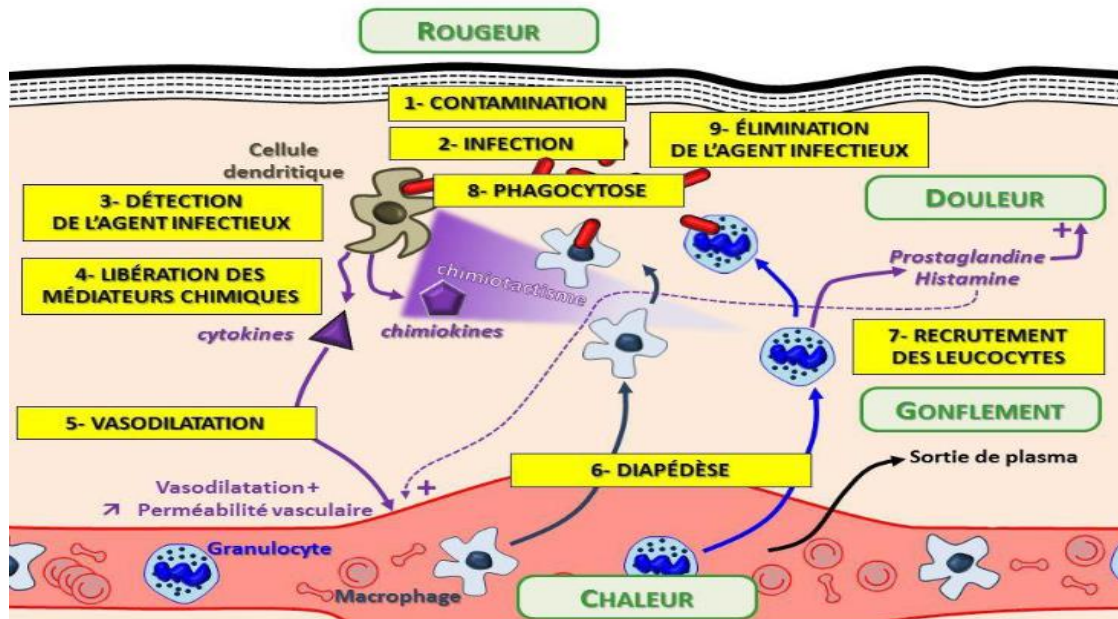


Figure 4: Schéma de la réaction inflammatoire (Jerome, 2015).

V.3. Types d'inflammation

Les deux phases de la réponse naturelle à l'inflammation face aux agents pathogènes toxiques et aux stimuli sont l'inflammation aiguë et l'inflammation chronique.

- **La phase aiguë** correspond à une phase de l'immunité innée initiée par les cellules immunitaires qui ne dure que quelques jours.
- **La phase chronique** est responsable de diverses maladies chroniques, comme l'arthrite, le cancer, les maladies cardiovasculaires, le diabète et les maladies neurologiques liées à des dysfonctionnements de diverses voies de signalisation. (Kunnumakkara et al., 2018).

Les cellules immunitaires (phagocytes, lymphocytes, polynucléaires neutrophiles, basophiles) et des molécules telles que les cytokines pro-inflammatoires et anti-inflammatoires jouent un rôle dans la réponse inflammatoire (Youbare-Ziebrou et al., 2015).

V.4. Pathologies inflammatoires

Les maladies inflammatoires sont souvent associées à des mécanismes dysimmunitaires, tels que les maladies auto-immunes systémiques et localisées, les troubles auto-inflammatoires, ainsi que des affections inflammatoires de mécanisme inconnu. Il peut également s'agir de maladies iatrogènes ou paranéoplasiques, dont le mécanisme n'est pas exclusivement auto-immun. (Charles et al., 2010).

Synthèse bibliographique

Tableau 2: Exemples de maladies liées à l'inflammation (Nathan, 2002).

| Origine | Types de maladie |
|---|---|
| Désordres dans lesquelles le rôle pathogénique principal revient à l'inflammation. | Artériosclérose, Arthrose, Asthme, Polyarthrite rhumatoïde, Eczéma, Maladie de Crohn (MC), Goutte, Maladie d'Alzheimer |
| Maladies d'origine infectieuse dans lesquelles l'inflammation contribue dans la pathologie. | Hépatite C, Tuberculose, Dysenterie bactérienne |
| Maladies d'origines diverses dans lesquelles la fibrose poste inflammatoire est la cause principale de la pathologie. | Cirrhose hépatique poste virale ou alcoolique, Fibrose pulmonaire idiopathique, Bilharziose |

V.5. Les anti-inflammatoires

La gestion de l'inflammation implique l'utilisation d'anti-inflammatoires, peu importe son origine. Ces traitements se concentrent sur le soulagement des symptômes plutôt que sur l'élimination de la cause sous-jacente. Ils agissent également sur la douleur. On distingue deux principaux types d'anti-inflammatoires : les anti-inflammatoires non-stéroïdiens et les corticoïdes, qui sont des anti-inflammatoires stéroïdiens. (Hassan et al., 2022).

V.5.1. Les anti-inflammatoire stéroïdiens (AIS)

Également appelés corticoïdes ou glucocorticoïdes, représentent un groupe d'hormones. Ils peuvent être d'origine naturelle, produites par la corticosurrénale, ou synthétisés par semi-synthèse ou synthèse totale (Hassan et al., 2022). Ces substances se distinguent chimiquement par leurs structures stéroïdiennes et pharmacologiquement par leurs propriétés principalement

anti-inflammatoires, d'où leur appellation d'anti-inflammatoires stéroïdien (**Kohler et al., 2016**).

V.5.2. Les anti-inflammatoires non-stéroïdiens (AINS)

Depuis plus de 3000 ans, les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) ont été utilisés avec succès pour atténuer la douleur, réduire la fièvre et combattre l'inflammation. Ils demeurent des remèdes courants pris quotidiennement par des millions de patients à travers le monde. Ces médicaments, qui possèdent des propriétés anti-inflammatoires, antipyrétiques et analgésiques, présentent une diversité chimique, mais partagent tous une capacité à inhiber de manière non sélective l'enzyme cyclooxygénase (COX). Cependant, une utilisation prolongée de ces traitements est souvent associée à des effets secondaires tels que les ulcères gastro-intestinaux et l'insuffisance rénale (**Mansour, 2015**).

V.6. Les anti-inflammatoires d'origine végétale

La majeure partie des plantes présente des vertus thérapeutiques grâce à la concentration en substances actives issues de leur métabolisme secondaire. En phytothérapie, certains composés phytochimiques sont réputés pour leurs propriétés anti-inflammatoires. Nombre de ces substances agissent en entravant les enzymes cyclo-oxygénase et lipo-oxygénase, comme c'est le cas du **rhizome** et du **curcuma**, qui inhibent la synthèse de l'acide arachidonique. **Les racines de réglisse** et **les feuilles de cassis** sont également connues pour leur efficacité dans le soulagement des douleurs articulaires grâce à leur teneur en flavonoïdes. Les huiles essentielles, telles que celles de **lavande** (antiseptique et anti-infectieuse), de **basilic** (antibactérien), **d'eucalyptus** (antiviral et antibactérien) et de **thym** (remède puissant contre les douleurs), possèdent également des propriétés anti-inflammatoires. Enfin, de nombreux fruits et légumes, tels que **le citron, la figue, le basilic, le persil, la courgette, la grenade, la carotte, la noix de coco, la patate douce, les algues** et **la ciboulette**, sont riches en substances anti-inflammatoires et sont intégrés dans notre alimentation quotidienne (**HEYMONET CLAUD, 2013**).

VI. Chromatographie

VI.1. Méthodes d'analyses

La chromatographie est une méthode utilisée pour quantifier les substances réglementées et identifier les composés ayant un intérêt olfactif.

Elle repose sur les variations d'attraction des substances analysées envers deux phases : l'une fixe (stationnaire) et l'autre mobile.

La séparation des composés se fait selon la technique chromatographique utilisée, soit par leurs adsorptions et désorptions successives sur la phase fixe, soit par leurs solubilités différentes dans chaque phase **(Fernandez et Chémat, 2012)**.

Parmi les méthodes d'analyses par chromatographie :

- **La chromatographie sur couche mince** (CCM ou TLC en anglais).
- **La chromatographie en phase gazeuse** (CPG ou GC en anglais) également appelée CPV (chromatographie en phase vapeur).
- **La chromatographie en phase liquide** (CPL ou LC en anglais).
- **La chromatographie en phase liquide à haute performance** (CLHP ou HPLC en Anglais). **(Fernandez et Chémat, 2012)**.

Dans notre étude, nous avons exclusivement utilisé la chromatographie à haute performance (HPLC) comme méthode d'analyse chromatographique.

VI.2. Chromatographie liquide à haute performance (HPLC)

La technique de chromatographie liquide à haute performance (HPLC) permet d'analyser et de mesurer de nombreuses molécules **(Fernandez et Chémat, 2012)**.

Les composés en solution élués sont séparés à travers une colonne chromatographique en utilisant une phase mobile liquide, qui est percolée sous une pression élevée.

Une interaction essentielle se produit entre l'analyte, la phase stationnaire et la phase mobile, basée sur leurs affinités physico-chimiques respectives **(Boukhatem et al., 2019)**.

Le choix de la nature de la phase stationnaire et de la phase mobile liquide dépend des caractéristiques des composés ciblés. Différents modes de séparation sont alors sélectionnés, tels que l'adsorption, le partage, l'échange d'ions, les paires d'ions ou encore l'exclusion stérique **(Fernandez et Chémat, 2012)**.

Synthèse bibliographique

La technique de chromatographie liquide à haute performance (HPLC) est utilisée pour séparer rapidement et identifier les composés du safran tels que les microcrocines, les cis/trans-crocines et le safranal.

On procède à la séparation des apo-caroténoïdes du safran à l'aide de colonnes chromatographiques RP C18 de 100 à 250 mm de long. En général, l'analyse est réalisée à température ambiante, bien que des températures supérieures à 30°C aient également été signalées. On utilise principalement l'élution par gradient pour séparer les apo-caroténoïdes du safran. L'eau et des solvants organiques polaires tels que le méthanol ou l'acétonitrile sont souvent utilisés dans la phase mobile (Rocchi et al., 2018).

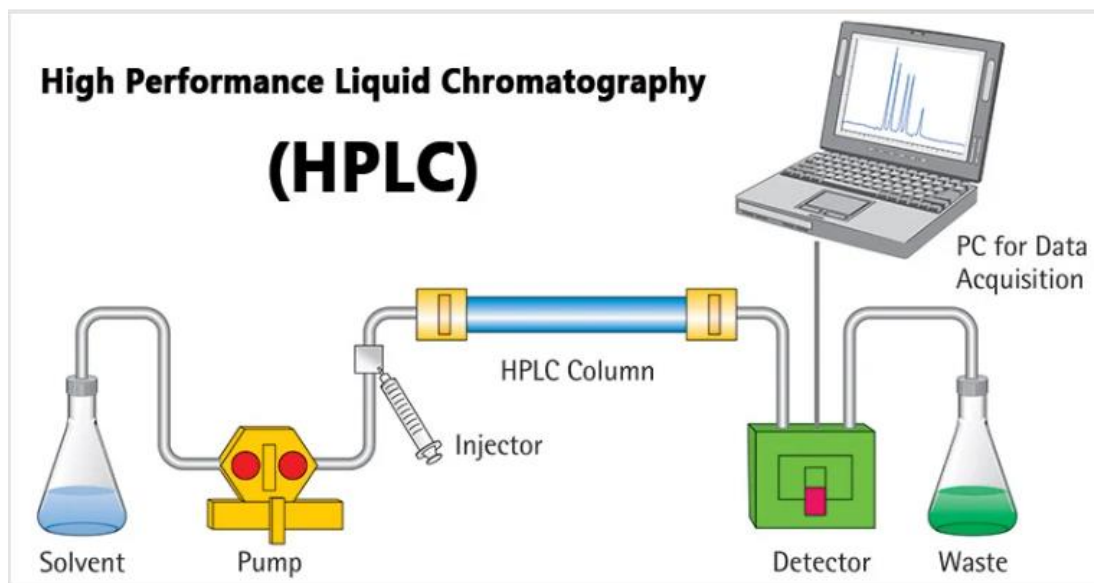


Figure 5: Schéma du principe d'une chaîne HPLC (Sagar, 2023).

Matériels

Matériels

&

&

Méthodes

Méthodes

Matériels & Méthodes

L'étude expérimentale a été réalisée au sein du laboratoire de Physiologie, Physiopathologie et biochimie de la nutrition (**Ppabionut**). Faculté des Sciences de la Nature et de la vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers, Université de Tlemcen.

I. Préparation des solutions :

- La préparation de l'extrait des pétales de safran a été réalisée au laboratoire par la méthode d'extraction dans le Méthanol
- Des solutions de l'extrait Méthanolique ont été préparées à différentes concentrations : 10 μ g/ml, 50 μ g/ml, 100 μ g/ml, 200 μ g/ml, 500 μ g/ml.

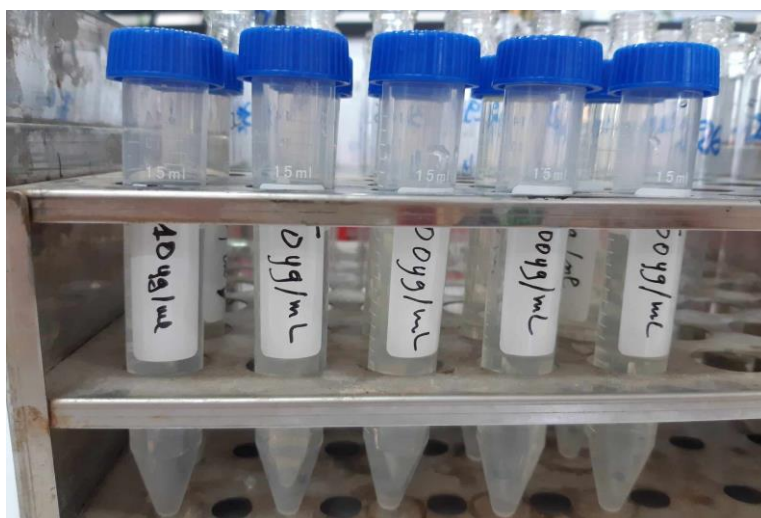


Figure 6: les solutions préparées.

II. Dosage des polyphénols :

❖ Principe

Le principe fondamental pour quantifier les composés phénoliques dans les extraits végétaux repose sur leur capacité à réduire un mélange d'**acide phosphomolybdique** (H3PM012040) et de **phosphotungstique** (H3PW12040) dans le réactif de **Folin-Ciocalteu**. Cette réaction forme un complexe bleu, mesurable colorimétriquement à 750nm. (**Ribereau, 1968 ; Ortiz et al., 2013**).

❖ Mode Opératoire

15 tubes ont été réalisés par la préparation suivante :

- Un volume de 0,1 ml de chaque extrait a été mélangé avec une solution de carbonate de sodium à 2% fraîchement préparée.
- Le mélange a été agité en rotation et incubé pendant cinq minutes.

Matériels & Méthodes

- Après cela, 100 μ l du réactif **Folin-Ciocalteu** 0,1N a été incorporé dans le mélange.
- Le mélange a été incubé pendant 30 minutes à température ambiante et à l'abri de la lumière.
- L'absorbance est lue à 765nm.
- Une courbe d'étalonnage a été réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique à différentes concentrations.

III. Détermination *in vitro*, de l'activité anti-hémolytique et anti-inflammatoire des pétales de Safran :

III.1. Préparation de la suspension des globules rouges humains (GRH)

La prise de sang a été effectuée au niveau du laboratoire, des échantillons de sang frais (environ 8 ml) ont été prélevés.

Pour éliminer le plasma et les cellules polynucléaires, divers échantillons de sang humain sont centrifugés pendant 10 minutes à 3000 rpm. Ensuite, le culot des globules rouges est lavé trois fois avec une solution iso-saline au volume équitable. Après cette étape, le volume a été mesuré et reconstitué sous forme de suspension de 10 % (v/v) (GRH), utilisée immédiatement avec une solution iso-saline.



Figure 7: Tubes après centrifugation.

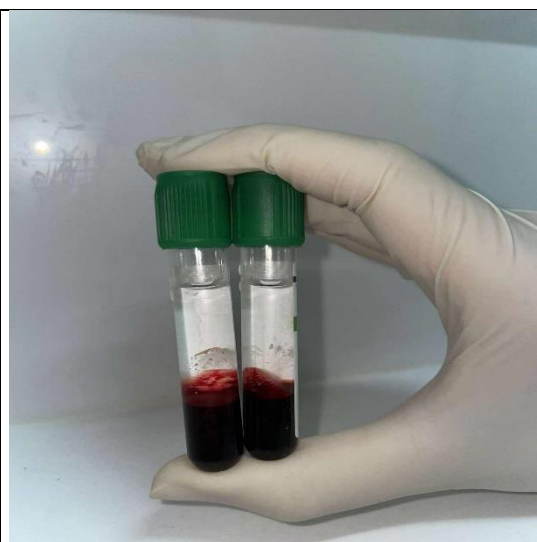


Figure 8: Tubes après 3 lavages.

III.2. Evaluation de l'activité Anti-Hémolytique

❖ Principe

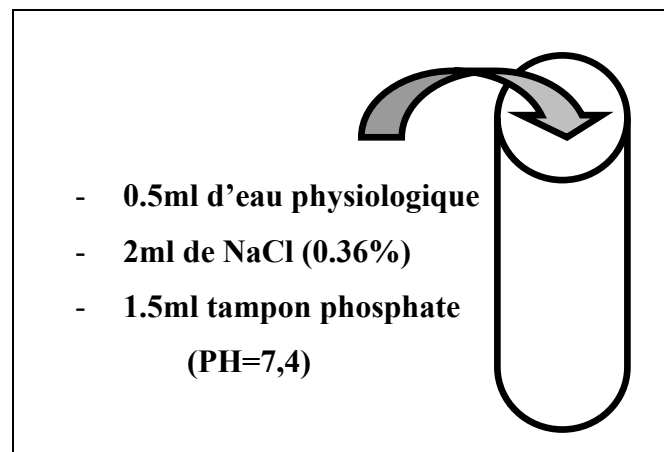
Le principe de cette méthode est basé sur la capacité des extraits à empêcher l'hémolyse des GRH, qui est causée par l'hypotonie et la chaleur, et donc à empêcher la libération d'hémoglobine. La méthode décrite par **Sadique** et **Oyedapo** a été utilisée pour effectuer ce test (**Sadique et al., 1989 ; Oyedapo et al., 2010**).

❖ Mode opératoire

Préparation des solutions de travail

➤ Solutions–extraits :

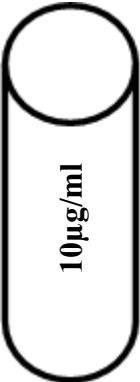
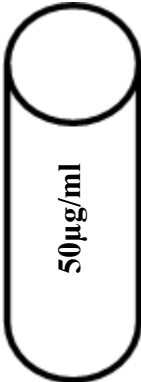
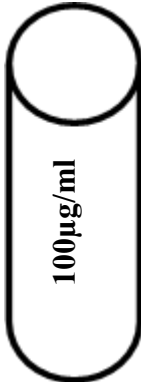
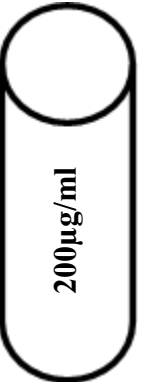
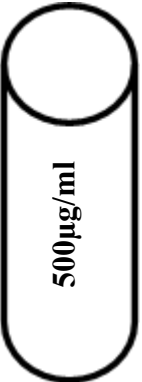
- **Préparation du Tube Blanc :**



The diagram shows a test tube with a curved arrow pointing into it from the top, indicating the addition of components. To the left of the tube, a list of ingredients is provided:

- 0.5ml d'eau physiologique
- 2ml de NaCl (0.36%)
- 1.5ml tampon phosphate (PH=7,4)

Matériels & Méthodes

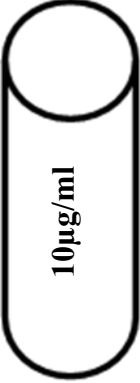
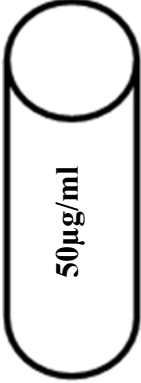
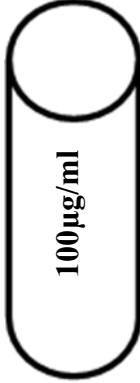
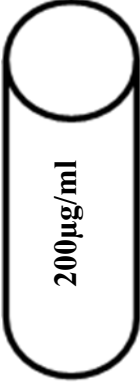
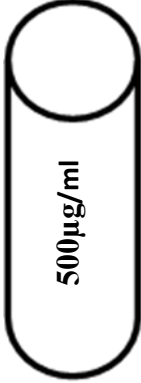
| Tubes extrait | | | | |
|---|---|---|--|---|
|  |  |  |  |  |
| ✓ 0,5ml d'extrait ✓ 1,5 de tampon phosphate ✓ 2ml NaCl | | | | |

×3

- Une solution mère de chlorure de sodium (NaCl) a été préparée en pesant avec précision 0,36 g de NaCl. Cette masse a été dissoute dans 100 ml d'eau physiologique, sous agitation continue, jusqu'à obtention d'une solution homogène. Cette solution a été utilisée ultérieurement dans la préparation des solutions expérimentales.
- 15 tubes expérimentaux ont été préparés. Chaque tube contenait les composants suivants :
 - 0,5 ml d'extrait méthanolique du pétale de safran.
 - 1,5 ml de tampon phosphate, préalablement préparée.
 - 2 ml de la solution mère de NaCl.
- 1 tube blanc a été préparé pour servir de contrôle.

Matériels & Méthodes

➤ Solutions du diclofénac sodique et acide gallique :

| Tubes Diclofénac | | | | | ×3 |
|--|---|---|--|---|----|
|  |  |  |  |  | |
| <ul style="list-style-type: none">✓ 0,5ml Diclofénac✓ 1,5ml de tampon phosphate✓ 2ml de NaCl | | | | | |

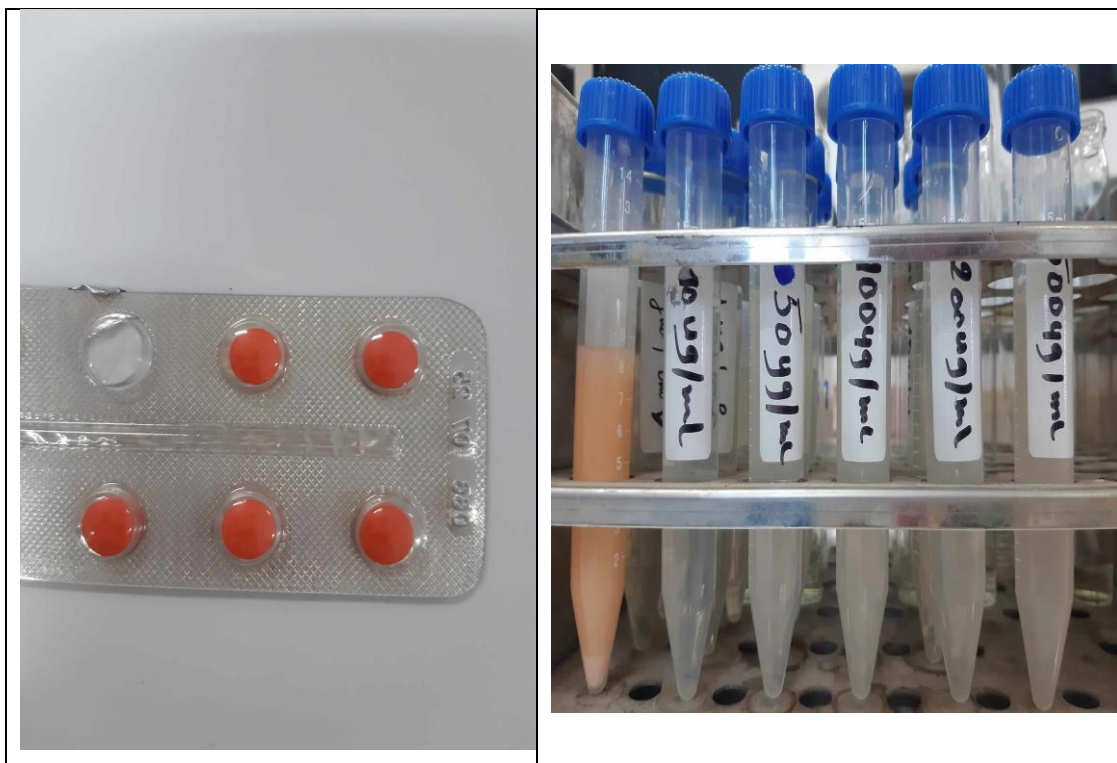


Figure 9: Diclofénac / Solution Diclofénac.

Matériels & Méthodes

- Les tubes ont été vortexés pour assurer une distribution uniforme des composants et favoriser les interactions entre le diclofénac, le tampon phosphate et le NaCl.
- Les tubes ont été soumis à une étape d'incubation à 37°C pendant 20 minutes. **(Incubation initiale).**
- **Addition de la suspension de globules rouges (GRH) :** Après l'incubation initiale, 0,5 ml de la suspension de globules rouges à 10% a été ajoutés à chaque tube expérimental.
- Les tubes ont ensuite été soumis à une deuxième phase d'incubation à 56°C pendant 1 heure, avec agitation douce. **(Deuxième incubation).**
- Les tubes ont été refroidis sous l'eau courante et les absorbances du surnageant ont été mesurées à 560 nm.

Le pourcentage de stabilité membranaire a été estimé à partir de l'expression suivante :

$$\% \text{ de stabilité membranaire} = (Ac - At/Ac) \times 100$$

Où : Ac = Absorbance du contrôle

At = Absorbance du test

III.3. Evaluation de l'activité Anti-Inflammatoire

❖ Principe

Un grand nombre d'études ont examiné l'effet inhibiteur de différents extraits de plantes sur l'activité anti-inflammatoire *in vitro* en utilisant la méthode de dénaturation des protéines. Le test a été réalisé selon le protocole d'inhibition de la dénaturation des protéines (Bouhlali et al., 2016).

❖ Mode opératoire

La méthode consiste à préparer quatre solutions :

- ✓ La solution d'essai (test solution).
- ✓ La solution contrôle (test control).
- ✓ La solution contrôle produit (control).
- ✓ La solution standard test (étalon).

En premier lieu, il est nécessaire de préparer :

Matériels & Méthodes

➤ **Sérum bovine albumine (SBA) :**

Pour préparer la solution de sérum bovin albumine (SBA), 1 gramme de SBA a été dissous dans 20 ml d'eau physiologique, et le mélange a été homogénéisé par agitation pour obtenir une solution claire et utilisable dans les expériences ultérieures.

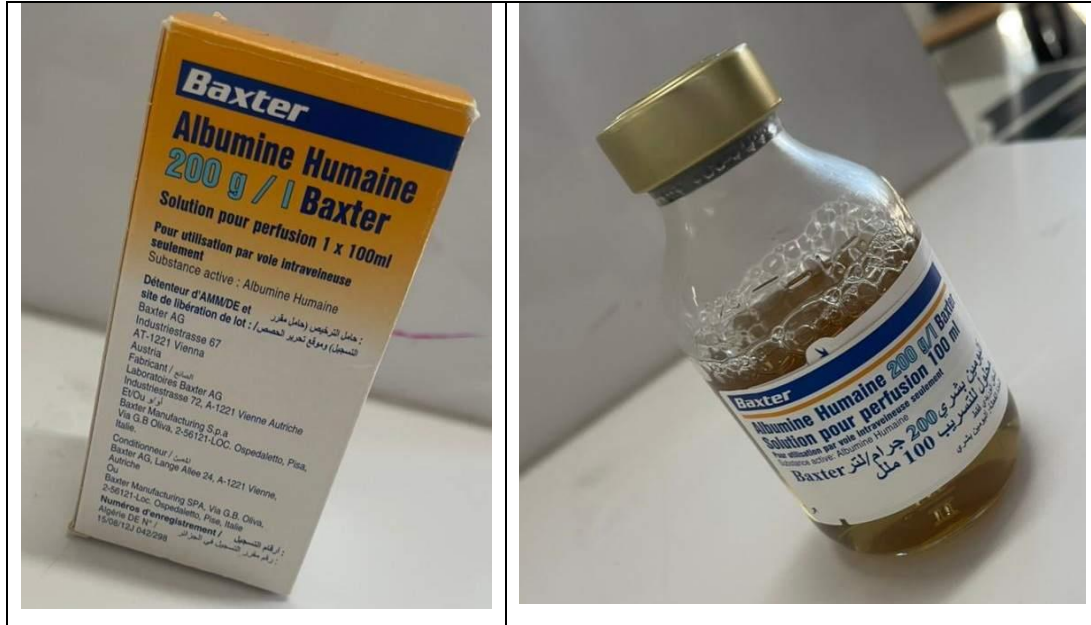


Figure 10: l'Albumine (SBA).

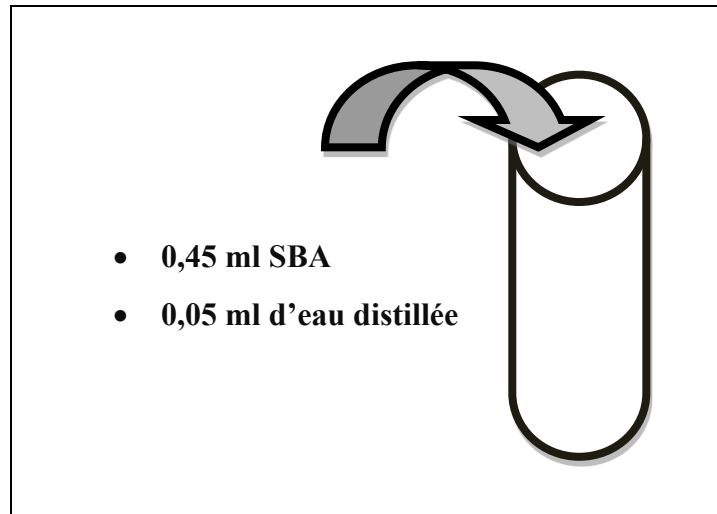
Ensuite, préparation des quatre solutions suivantes

• **La solution d'essai :**

| Test solution | | | | | ×3 |
|--------------------------------------|---------|----------|----------|----------|----|
| 10µg/ml | 50µg/ml | 100µg/ml | 200µg/ml | 500µg/ml | |
| ✓ 0,05 ml d'extrait ✓ 0.45 ml SBA | | | | | |

Matériels & Méthodes

- La solution contrôle :

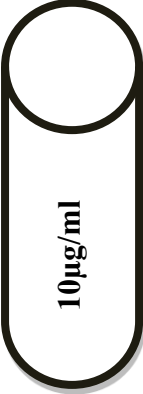






- La solution contrôle produit :

| Test contrôl | | | | | ×3 |
|--|---------|----------|----------|----------|----|
| 10µg/ml | 50µg/ml | 100µg/ml | 200µg/ml | 500µg/ml | |
| ✓ 0,05 ml d'extrait ✓ 0,45 ml d'eau distillée | | | | | |

Matériels & Méthodes

- La solution standard test (étalon) :

| Test standard | | | | | ×3 |
|---|---|---|--|---|----|
|  |  |  |  |  | |
| ✓ 0,45 ml de SBA ✓ 0,05 ml Diclofénac | | | | | |

- 15 tubes expérimentaux ont été préparés pour le test de solution, comprenant chacun un volume défini d'extrait et de sérum bovin albumine (SBA).
- 1 tube témoin de contrôle a été préparé, contenant uniquement du SBA, afin de servir de référence pour l'expérience.
- 15 autres tubes ont été préparés pour le test de contrôle, contenant un volume défini d'extrait et d'eau distillée.
- 15 tubes ont été préparés pour le test standard, contenant un volume défini de SBA et de diclofénac.
- Après la préparation des échantillons, ils ont été incubés à 37°C pendant 20 minutes pour favoriser les réactions ou les interactions spécifiques dans les conditions expérimentales.
- Ensuite, la température a été augmentée pour maintenir les échantillons à 57°C pendant 3 minutes, permettant ainsi de poursuivre les processus réactionnels ou les modifications souhaitées.
- Après refroidissement des tubes à température ambiante, l'absorbance des échantillons a été mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre **UV-VISIBLE**, avec une longueur d'onde spécifique de 416 nm, permettant ainsi de quantifier les changements ou les réactions dans les échantillons.

Matériels & Méthodes

Le contrôle est établi avec 100% des protéines dénaturées, et les résultats sont ensuite comparés avec ceux obtenus avec le diclofénac sodium.

Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines a été calculé comme suit :

$$\% \text{ d'inhibition} = 100 - [(DO \text{ test solution} - DO \text{ control}) / DO \text{ test control}] \times 100.$$

Résultats

RÉSULTATS

Et

ET

Interprétations

INTERPRÉTATIONS

I. Dosage des polyphénols totaux :

Dans cette partie de l'analyse, nous avons tracé une courbe d'étalonnage de la Densité Optique (DO) en fonction de la concentration pour l'extrait de pétales de safran et l'acide gallique.

Les mesures d'absorbance ont été prises à une longueur d'onde de 765 nm.

Les résultats obtenus pour le dosage des polyphénols sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par gr d'extrait (mg EAG/g E) en utilisant l'équation de régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée pour l'acide gallique (**Figure 11**).

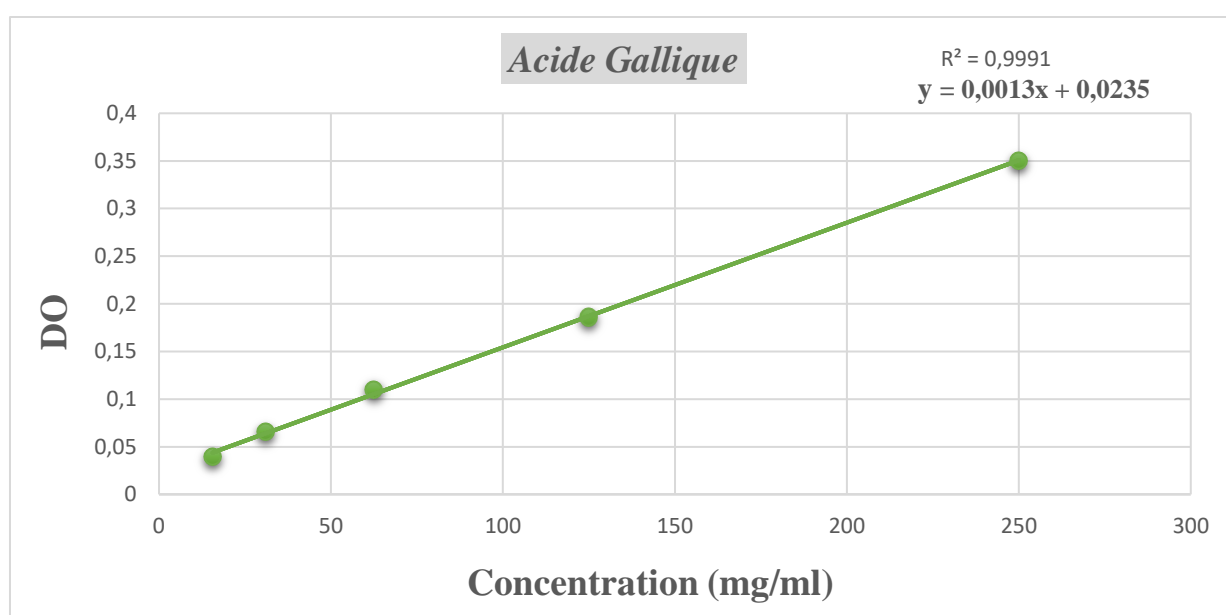


Figure 11: Courbe étalon de l'acide gallique.

Le taux en polyphénol de l'extrait méthanolique des pétales de safran est 65 mg/ml.

La courbe d'étalonnage de l'acide gallique a permis de déterminer la concentration en polyphénols totaux dans l'extrait méthanolique des pétales de safran. Les résultats montrent un taux de 65 mg d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait méthanolique. Cela signifie que chaque gramme d'extrait méthanolique contient une concentration élevée de polyphénols, exprimée en équivalent d'acide gallique.

On remarque qu'en analysant plus en détail les données obtenues, nous pouvons constater que la concentration en polyphénols dans les extraits méthanoliques de pétales de safran est

significative. Ce taux élevé de polyphénols suggère que les pétales de safran sont une source riche en composés phénoliques, reconnus pour leurs propriétés antioxydantes.

II. Détermination *in vitro*, de l'activité anti-hémolytique et anti-inflammatoire des pétales de Safran :

II.1. Evaluation de l'activité anti-hémolytique

Pour analyser l'activité anti-hémolytique *in vitro*, nous avons méthode de stabilisation de la membrane des globules rouges humains (GRh) Cette méthode consiste à vérifier l'indication direct de la toxicité de la membrane, à savoir si l'activité cytotoxique est liée à un dommage direct ou non sur la membrane. La stabilité membranaire a été évaluée en mesurant la libération d'hémoglobine à une longueur d'onde de 560 nm pour chaque concentration des extraits testés, par comparaison par deux composés de référence : le diclofénac, un médicament anti-inflammatoire non stéroïdien et anti-hémolytique, et l'acide gallique, un polyphénol doté d'une activité anti-hémolytique,

Nos résultats indiquent que les trois substances examinées ont des effets protecteurs sur les membranes des globules rouges, bien que leur efficacité varie. L'acide gallique démontre une augmentation progressive de son activité anti-hémolytique et de sa capacité à protéger et stabiliser les membranes des globules rouges à toutes les concentrations testées (10 à 500 µg/ml), atteignant un pic à 500 µg/ml avec une protection de 88,11%. Le diclofénac, un anti-inflammatoire non stéroïdien, présente également une activité anti-hémolytique, bien que moins prononcée que celle de l'acide gallique, avec une protection maximale de 75,08% à 500 µg/ml. Les extraits méthanoliques des pétales de safran démontrent également un effet protecteur sur les membranes des globules rouges, avec une efficacité notable même à des concentrations plus faibles, atteignant 72,15% à 500 µg/ml.

Ces observations (**Figure 12**) laissent entrevoir que les extraits méthanoliques des pétales de safran possèdent des propriétés anti-hémolytiques significatives, comparables voire supérieures à celles du diclofénac, bien que généralement inférieures à celles de l'acide gallique. Cette analyse met en lumière l'effet protecteur, anti-hémolytique et stabilisateur des membranes des globules rouges des extraits de safran.

Résultats et interprétations

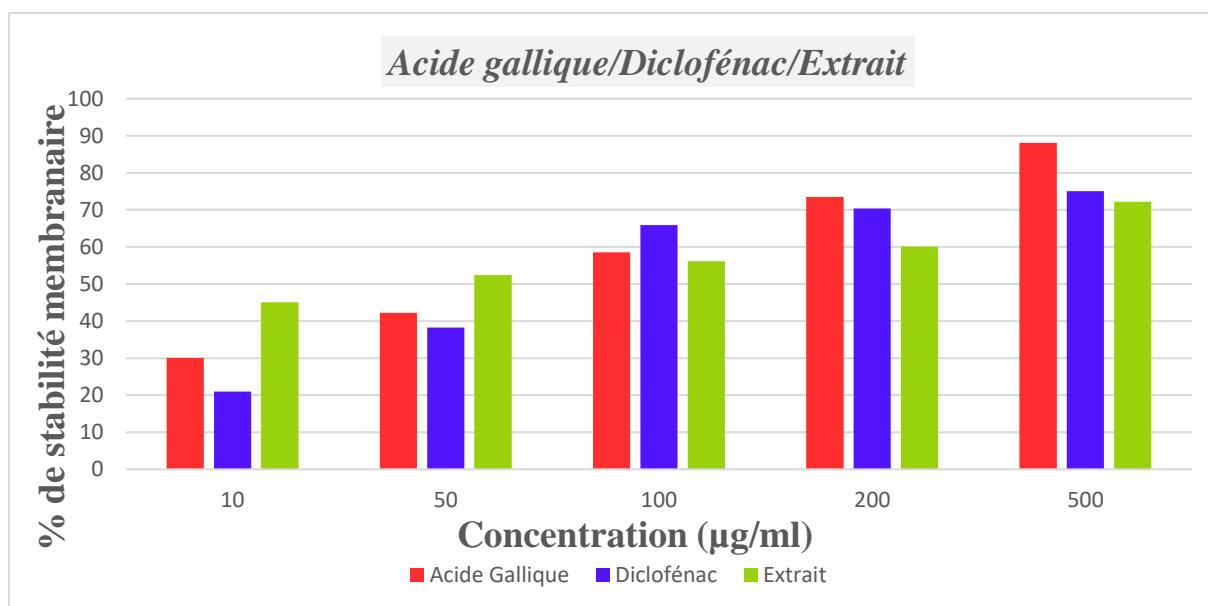


Figure 12: Comparaison de l'activité anti-hémolytique entre l'acide gallique, diclofénac et les extraits méthanoliques des pétales de safran.

II.2. Evaluation de l'activité Anti-inflammatoire :

La méthode la plus adaptée pour évaluer l'activité anti-inflammatoire des extraits *in vitro* est l'inhibition de la dénaturation protéique. Nous avons utilisé la sérum albumine bovine (SBA) comme protéine cible pour ces essais, et les résultats ont été comparés à ceux obtenus avec le diclofénac, un médicament anti-inflammatoire largement utilisé comme standard.

La dénaturation des protéines est un processus clé dans les réactions inflammatoires, et son inhibition est un indicateur crucial de l'activité anti-inflammatoire. Les résultats (**Figure 13**) montrent que le diclofénac, un anti-inflammatoire de référence, atteint une inhibition maximale de 74,39 % à une concentration de 10 µg/ml. Cette inhibition diminue à 56,16 % à 50 µg/ml, 45,52 % à 100 µg/ml, et 30,19 % à 200 µg/ml, avant de remonter à 59,90 % à 500 µg/ml, ce qui indique une variabilité dans l'efficacité de l'inhibition en fonction de la concentration.

Résultats et interprétations

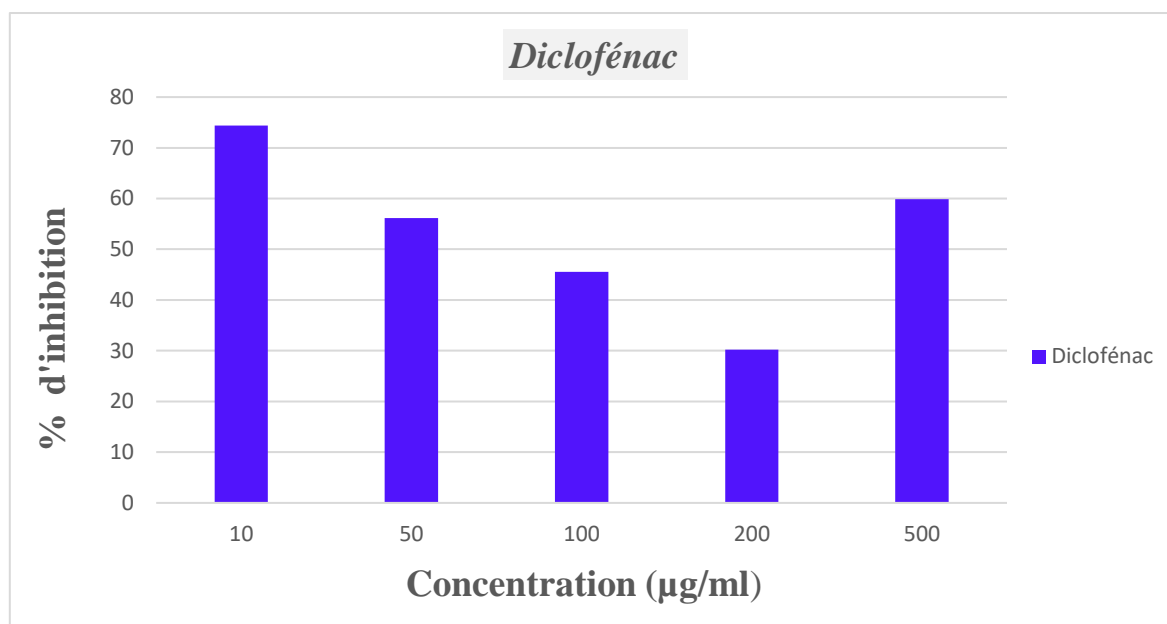


Figure 13: Pourcentages d'inhibition de la dénaturation protéique par le diclofénac de sodium.

Pour déterminer si les extraits de pétales de safran sont efficaces en tant qu'agents anti-inflammatoires, il est nécessaire de comparer ces résultats avec ceux obtenus pour les extraits de safran aux mêmes concentrations afin d'évaluer leur capacité à inhiber la dénaturation des protéines.

Les taux d'inhibition obtenus pour le diclofénac et l'extrait méthanolique de safran ont été comparés (**Figure 14**). Le diclofénac montre une inhibition maximale de la dénaturation protéique à une concentration de 10 µg/ml avec 74.39%. Cependant, son efficacité diminue avec l'augmentation de la concentration, atteignant un minimum de 30.19% à 200 µg/ml avant de remonter à 59.90% à 500 µg/ml. En revanche, l'extrait méthanolique de safran affiche une meilleure performance dans l'inhibition de la dénaturation protéique, particulièrement à des concentrations plus élevées. À 10 µg/ml, l'extrait atteint une inhibition de 82.75%, augmentant progressivement pour atteindre 90.55% à 200 µg/ml, avant de diminuer légèrement à 58.35% à 500 µg/ml. Ces données démontrent que l'extrait méthanolique des pétales de safran possède une activité anti-inflammatoire plus efficace que le diclofénac dans l'inhibition de la dénaturation protéique, particulièrement à des concentrations plus élevées. Cela suggère que l'extrait de safran pourrait être un agent anti-inflammatoire prometteur, capable de stabiliser les protéines et prévenir leur dénaturation.

Résultats et interprétations

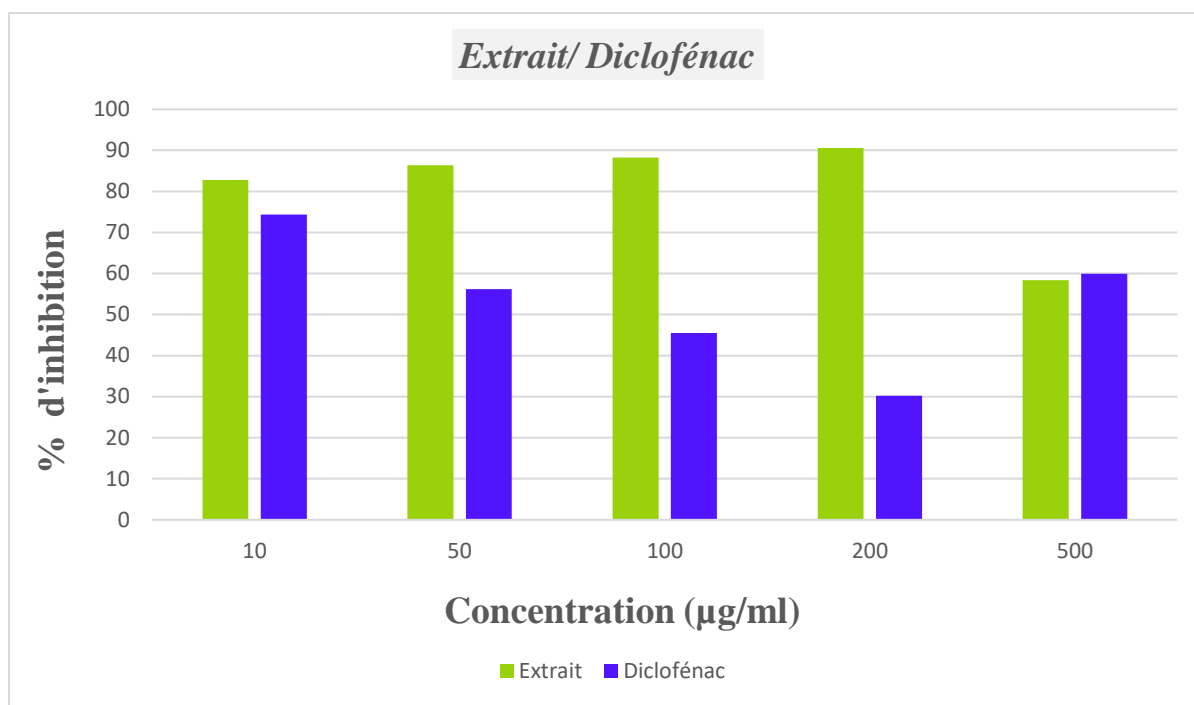


Figure 14: Pourcentages d'inhibition de la dénaturation protéique par le diclofénac de sodium et l'extrait de pétales de safran.

III. Chromatographie à haute performance (HPLC)

L'identification des composés bioactifs présents dans l'extrait méthanolique des pétales de safran a été réalisée par HPLC en les comparant aux temps de rétention d'étalons de référence. Les étalons utilisés comprennent l'acide gallique, rutine, la quercétine et la caféine. Les profils chromatographiques de ces étalons ainsi que de l'extrait méthanolique des pétales de safran sont présentés dans la (Figure 15). Les résultats montrent que trois pics majeurs dans l'extrait méthanolique correspondent à la caféine, la rutine, et à la quercétine.

Ces composés, bien connus pour leurs propriétés anti-inflammatoires, antioxydantes et antimicrobiennes, ont été identifiés grâce à leurs temps de rétention spécifiques en comparaison avec les standards. La concordance des temps de rétention entre les échantillons standard et l'extrait des pétales de safran indique que les flavonoïdes et les polyphénols extraits ont été correctement identifiés. Cette validation par la méthode HPLC souligne non seulement l'efficacité de l'extraction méthanolique des polyphénols des pétales de safran, mais également la précision et la fiabilité des résultats obtenus. La similarité des profils chromatographiques confirme que l'extrait méthanolique des pétales de safran contient des polyphénols spécifiques comparables à ceux des standards utilisés, renforçant ainsi la rigueur de la méthodologie analytique employée.

Résultats et interprétations

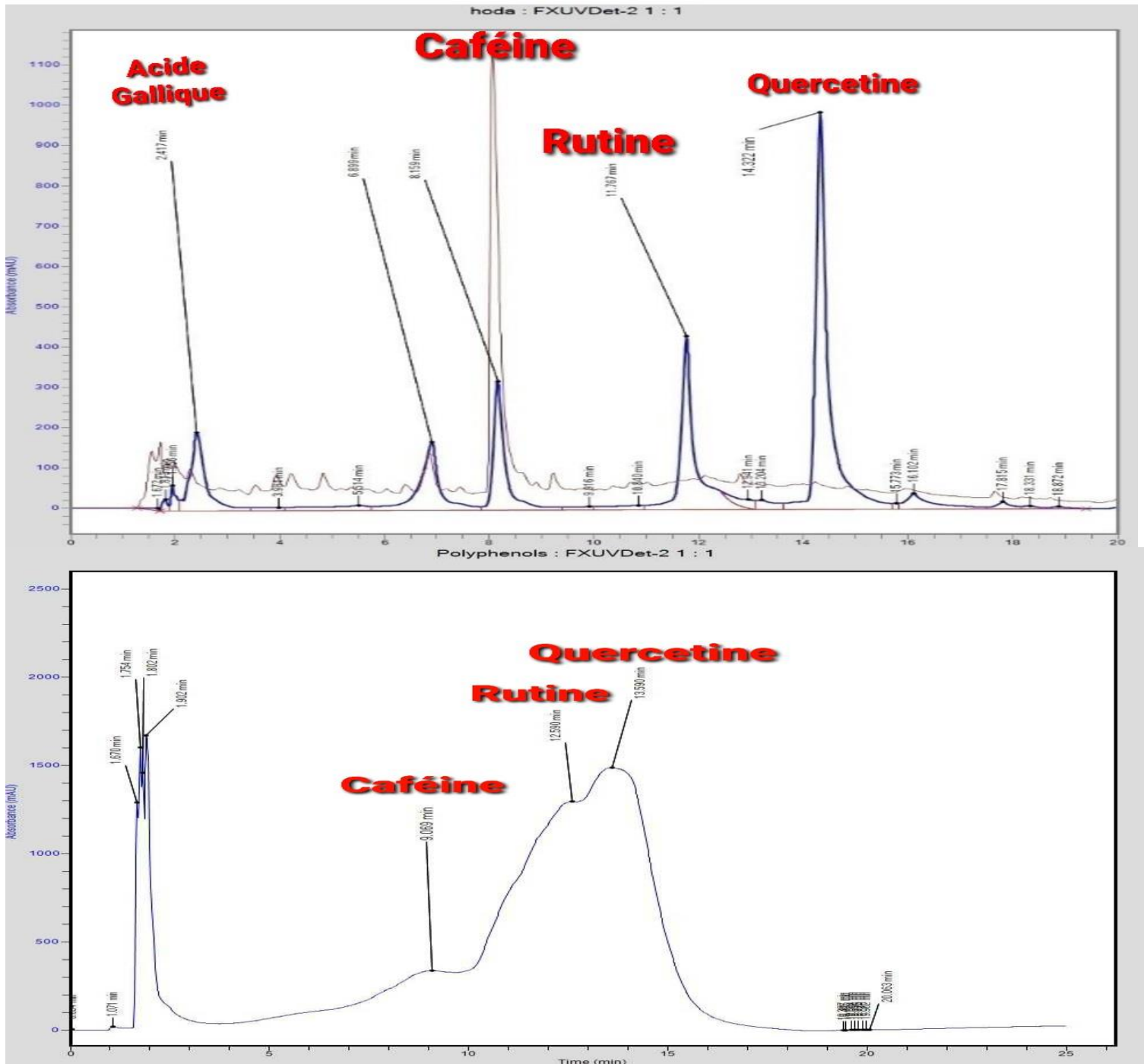


Figure 15: Profil chromatographique HPLC du mélange de standards et de l'extrait méthanolique des pétales de safran.

Discussion

DISCUSSION

Discussion

La production de safran est une épice très répandue, principalement dans le bassin méditerranéen. Ces dernières années, le safran a été perçu comme une alternative à l'agriculture et une nouvelle source de revenus en raison de son coût élevé (**Matteo Caser et al, 2020**).

Des études phytochimiques ont démontré que les pétales de safran sont riches en « flavonoïdes, tanins condensés, terpènes et alcaloïdes ... » (**Djeriri et al., 2017 ; Mir et al., 2016**). Par ailleurs, des facteurs environnementaux comme le climat, la géographie et la sécheresse peuvent influencer cette richesse (**Ebrahimi et al., 2008**). Il a été constaté que l'utilisation du méthanol comme solvant permet une extraction des polyphénols plus efficace que l'éthanol (**Mussatto et al., 2011**).

Afin de déterminer les polyphénols totaux, nous avons effectué des dosages quantitatifs en utilisant des réactions chimiques.

Les résultats obtenus montrent que le taux de polyphénols dans l'extrait méthanolique des pétales de safran est de 65 mg EAG/g d'extrait. Ce bilan est comparable à d'autres études menées sur des extraits de safran. Par exemple, une étude réalisée par (**Hoshyar et al., 2016**) a rapporté des concentrations similaires en polyphénols totaux dans des extraits de safran, variant entre 60 et 70 mg EAG/g d'extrait selon les conditions d'extraction.

Ces résultats confirment la richesse des pétales de safran en composés phénoliques, ce qui est en accord avec les conclusions de plusieurs recherches antérieures soulignant les propriétés antioxydantes significatives des polyphénols présents dans les pétales de safran.

L'hémolyse hypotonique se caractérise par une fragilité osmotique extrême des érythrocytes. En présence d'une faible pression osmotique dans le milieu extracellulaire, les érythrocytes absorbent de l'eau pour équilibrer la pression. Cette absorption excessive provoque un gonflement significatif des cellules, entraînant une perturbation de leur membrane et la libération de leur contenu intracellulaire, principalement l'hémoglobine. Ce phénomène peut être surveillé par spectrophotométrie pour en analyser l'évolution (**Zhang et al., 2019**). En plus de la mutilation oxydative des lipides et des protéines membranaires, plusieurs facteurs tels que certains médicaments, l'exposition aux rayonnements, ainsi que les hémoglobinopathies, peuvent également contribuer à l'hémolyse érythrocytaire (**Afsar et al., 2016**).

Selon **Afsar et al en 2016**, les résultats indiquent également que les extraits méthanoliques ont un effet anti-hémolytique plus élevé que les extraits éthanoliques, ce qui

Discussion

s'explique par la polarité du solvant utilisé. De plus, nous avons observé que les extraits des pétales de safran démontrent un effet anti-hémolytique.

Notre étude a démontré une activité anti-hémolytique notable de l'extrait méthanolique de safran, avec une protection de 72.15% à une concentration de 500 µg/ml. En comparaison, l'acide gallique a montré une protection maximale de 88.11% et le diclofénac 75.08% à la même concentration. Ces résultats sont cohérents avec les observations de **(Bae et al., 2010)**, qui ont également signifiés des effets protecteurs similaires de l'acide gallique et du diclofénac contre l'hémolyse des globules rouges. D'autres études de **(Mir et al., 2016)** ont également montré des effets anti-hémolytiques significatifs pour les extraits de safran, bien que leurs taux de protection soient légèrement inférieurs, ce qui pourrait être attribué à des différences dans les méthodes d'extraction et les variétés de safran utilisées.

Nous avons comparé l'activité antihémolytique de nos extraits à celle de l'acide gallique et du diclofénac. Différentes recherches démontrent que le diclofénac a un effet anti-hémolytique en raison de ses propriétés tensioactives, en s'intégrant aux lipides membranaires des érythrocytes, ce qui entraîne une solubilité de sa structure **(Bukara et al., 2016)**.

Les douleurs liées à l'inflammation sont souvent accompagnées d'anti-inflammatoires non-stéroïdiens et de corticostéroïdes, mais l'usage prolongé de ces médicaments peut entraîner des problèmes gastriques et digestifs graves, ainsi que des problèmes hépatiques et rénaux. Les recherches sur les extraits phénoliques visent à développer des anti-inflammatoires naturels qui ont un effet toxique **(Qamar et al., 2021)**.

Le processus de dénaturation des protéines est une pathologie qui entraîne la perte de leur structure et de leur fonction. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens ont été démontrés pour éviter ce phénomène **(García-Lafuente et al., 2014 ; Qamar et al., 2021)**.

Ainsi, on a évalué l'effet anti-inflammatoire des extraits des pétales de safran en utilisant la méthode de dénaturation de la SBA et on a comparé les résultats à ceux du diclofénac comme médicament classique.

D'après nos résultats, l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire via l'inhibition de la dénaturation protéique a révélé que l'extrait méthanolique de safran a une meilleure performance à des concentrations élevées par rapport au diclofénac. À une concentration de 200 µg/ml, l'extrait de safran atteint une inhibition de 90.55%, contre 30.19% pour le

Discussion

diclofénac. Ces résultats sont en accord avec ceux de **(Das et al., 2013)**, qui ont observé une forte activité anti-inflammatoire des extraits de pétales de safran, particulièrement à des concentrations élevées, confirmant ainsi leur potentiel en tant qu'agents thérapeutiques anti-inflammatoires. De plus, les travaux de **(Hosseinzadeh et al., 2015)** supportent l'efficacité anti-inflammatoire des composés de safran, spécifiquement la crocine et le safranal, renforçant nos observations sur l'inhibition de la dénaturation protéique.

Au sein de cette recherche, la chromatographie liquide haute performance (HPLC) a été utilisée pour analyser les extraits de pétales de safran. Cette technique s'est révélée essentielle pour la séparation et la quantification précise des composés bioactifs présents dans les extraits, qui sont responsables de nombreuses propriétés bénéfiques de safran. L'application de la HPLC permet une analyse détaillée de ces composés, fournissant des données précises sur leur concentration et leur pureté **(Caballero-Ortega et al., 2007)**.

L'utilisation de la HPLC dans cette étude vise à optimiser la caractérisation des extraits de pétales de safran, afin de mieux comprendre leur profil chimique. Cela est particulièrement important pour évaluer leur potentiel d'utilisation dans les domaines pharmaceutique et alimentaire, où la qualité des extraits est cruciale. Les résultats obtenus par HPLC fournissent une base solide pour la standardisation et la valorisation des produits dérivés des pétales de safran **(Winterhalter et Straubinger, 2000 ; Hosseinzadeh et al., 2015)**.

Les résultats de l'analyse HPLC de notre étude ont identifié des composés tels que la caféine, la rutine et la quercétine dans l'extrait de safran, avec des temps de rétention correspondant à ceux des standards. Ces observations sont corroborées par les travaux de **(Maggi et al., 2010)**, qui ont également identifié ces polyphénols et flavonoïdes dans des extraits de safran en utilisant des techniques chromatographiques similaires.

La présence de ces composés est significative car ils sont reconnus pour leurs caractéristiques biologiques, y compris anti-inflammatoires, antioxydantes et antimicrobiennes, ce qui soutient l'usage thérapeutique potentiel des extraits de safran.

Conclusion
CONCLUSION

Conclusion

Depuis des millénaires, les plantes médicinales ont été employées afin de soigner différentes maladies et affections. Elles constituent une source précieuse de composés bioactifs qui peuvent offrir des solutions thérapeutiques naturelles et souvent plus sûres que les médicaments synthétiques. Parmi ces plantes, le safran (*Crocus sativus*) se distingue par ses propriétés médicinales exceptionnelles. Utilisé traditionnellement pour ses vertus antispasmodiques, digestives et apaisantes, le safran a suscité un intérêt croissant dans la recherche scientifique moderne en raison de ses effets anti-inflammatoires, anti-hémolytique et neuroprotecteurs.

Les pétales de safran, bien que souvent négligés au profit des stigmates, ont révélé un potentiel thérapeutique significatif, comme le démontrent les études récentes. La présence importante de composés phénoliques et de flavonoïdes dans les pétales de safran en fait un sujet intéressant pour l'élaboration de nouvelles méthodes de traitement naturelle.

Ce mémoire a exploré en profondeur les propriétés anti-inflammatoires et anti-hémolytiques des extraits méthanoliques des pétales de safran (*Crocus sativus*). Nos recherches ont démontré que ces extraits possèdent des composés bioactifs qui présentent une activité significative dans l'inhibition de la dénaturation des protéines et la protection des membranes érythrocytaires.

Les résultats obtenus révèlent que l'activité anti-hémolytique des extraits a également été confirmée, montrant une protection notable des membranes des globules rouges contre la lyse, comparable voire supérieure à celle du diclofénac. Ces résultats suggèrent que les extraits méthanoliques des pétales de safran peuvent offrir une alternative naturelle et efficace aux anti-inflammatoires synthétiques et présentent un potentiel thérapeutique prometteur pour le développement de nouveaux traitements.

En outre, l'extrait méthanolique des pétales de safran montre une meilleure performance anti-inflammatoire par rapport au diclofénac, un anti-inflammatoire non stéroïdien couramment utilisé. À des concentrations plus élevées, les extraits de safran ont surpassé le diclofénac en termes d'inhibition de la dénaturation protéique.

De plus, l'analyse par chromatographie liquide haute performance (HPLC) a permis de valider la présence de composés phénoliques spécifiques tels que la caféine, la rutine et la

Conclusion

quercétine dans les extraits de safran, confirmant ainsi les données de la littérature sur les propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires de ces composés .

En conclusion, cette étude met en lumière les potentiels médicaux des pétales de safran, ouvrant la voie à de futures recherches et applications cliniques. Les propriétés bioactives identifiées justifient l'avantage d'analyses pour comprendre pleinement les mécanismes d'action et pour explorer les applications thérapeutiques des extraits de safran dans divers domaines médicaux et pharmaceutiques.

Notre objectif est que cette étude ouvre des perspectives pour d'autres recherches plus approfondies dans le but de :

- Investigation des effets des extraits de pétales de safran sur les marqueurs d'inflammation et d'oxydation dans des tissus hépatiques de rats soumis à un stress oxydatif induit.
- Exploration de l'activité anti-inflammatoire des extraits de pétales de safran chez des modèles animaux *in vivo*.
- Étude de l'effet des pétales de safran sur la réduction de l'hémolyse *in vitro* en utilisant des tests sur des érythrocytes humains.

Références

REFERENCES

bibliographiques

BIBLIOGRAPHICAL

Références bibliographiques

A :

- Ardalan T, Ardalan P, Heravi M. 2012. Kinetic study of free radicals scavenging by Saffron petal extracts. *J Chem Health Risks*, 2 : 29-36.
- Afsar T, Razak S, Khan MR, Mawash S, Almajwal A, Shabir M, Haq IU (2016). Evaluation of antioxidant, anti-hemolytic and anticancer activity of various solvent extracts of *Acacia hydaspica* R. Parker aerial parts. *BMC Complement Altern Med*. 16 :258.
- Asgarpanah J, Darabi-Mahboub E, Mahboubi A, Mehrab R, Hakemivala M. 2013. In-Vitro Evaluation of *Crocus Sativus* L. Petals and Stamens as Natural Antibacterial Agents Against FoodBorne Bacterial Strains. *Iran J Pharm*, 9(4) : 69-82.
- Augustin Scalbert, Gary Williamson (2000). Laboratoire des Maladies Métaboliques et Micronutriments, INRA, 63122 Saint-Genès-Champanelle, France and Institute of Food Research, Norwich Research Park, Colney, Norwich NR4 7UA, U.K; Dietary Intake and Bioavailability of Polyphenols, *J. Nutr.* 130 : 2073S-2085S.
DOI : [10.1093/jn/130.8.2073S](https://doi.org/10.1093/jn/130.8.2073S)

B :

- Bae, J. Y., Choi, J. S., et al. (2010). "Protective effects of phenolic compounds on the oxidative damage of human erythrocytes." *Journal of Nutritional Biochemistry*, 21(5), 461-467.
- Balasundam N., Sundram K., Samman S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products : Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, 99, 191–203.
- Benmostafa I et Guellil Z. 2017. Dosage des polyphénols de la fleur de *crocus sativus* L. Thèse de doctorat, 62p.

Références bibliographiques

- Bennetu-Pelissero C. (2014). Polyphénols et voies de signalisation, données récentes. Cahiers de nutrition et de diététique. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cnd.2014.02.004>.
- Benthamianus Baill. (Caesalpiniaceae : Leguminosae - Caesalpinioideae). European Scientific Journal, ESJ. 17(7) : 74.
- Bergoin, M., Raynaud, C., Vilarem, G., Bessière, J.M., Talou, T. (2005). Saffron by-products integrated valorisation using agrosresource refining concept (ARC), 650 : 355-360. <https://doi.org/10.17660/actahortic.2004.650.44>.
- Bikomo E, Ebuehi O, Magbagbeola O. 2017. Activité antidépressive de l'extrait de feuille d'éthanol d'Annona muricata L chez les rats Sprague-Dawley. Suis J Biochem ; 7 : 1–5. [Google Scholar]
- Bonnin A L. (2016). Autour du café (Thèse pour le diplôme de docteur en pharmacie, Université Angers. 16 Boulevard Daviers-49045 ANGER), 85.
- Bouden, H., et Kadri, A. (2019). Contrôle de qualité du café et du safran. (Mémoire de master, université Blida 1, Blida).
- Bouhlali, E.D.T., Sellam., K., Bammou, M., Alem, C et Filali-Zehzouti, Y. (2016). In vitro antioxidant and anti-inflammatory properties of selected Moroccan medicinal plants. Journal of Applied Pharmaceutical Science, 6 (05) : 156-162.
- Boukhatem M-N, Ferhat A et Kameli A. 2019. Méthodes d'extraction et de distillation des huiles essentielles : revue de littérature, accepté le 03/09/2019.
- Bukara K, Drvenica I, Ilić V, Stančić A, Mišić D, Vasić B, Gajić R, Vučetić D, Kiekens F, Bugarski B (2016). Comparative studies on osmosis based encapsulation of sodium diclofenac in porcine and outdated human erythrocyte ghosts. J Biotechnol. 240 :14-22

Références bibliographiques

C :

- Caballero-Ortega, H., Pereda-Miranda, R., & Abdullaev, F. I. (2007). HPLC quantification of major active components from 11 different saffron (*Crocus sativus* L.) sources. *Food Chemistry*, 100(3), 1126-1131.
- Calvo-Flores F., Dobado J., Isac G., Martin F. 2015. Lignin and Lignans as Renewable Raw Materials. Edition Wiley, Chemistry, Technologie and Application. Edition John Wiley et Sons, Ltd, 315p.
- Chahine, N. (2014). Effet protecteur du safran contre la cardiotoxicité de la doxorubicine en condition ischémique (Doctoral dissertation, Reims).
- Charles, N.S., Peter, A.W., Derek, W.G. (2010). Fundamentals of Inflammation. Cambridge University Press : p 2-3.
- Chryssanthi D., Dedes P., Karamanos N., Cordopatis P., Lamari F. 2011. Crocetin Inhibits Invasiveness of MDA-MB-231 Breast Cancer Cells via Downregulation of Matrix Metalloproteinases. *Planta Medica*, 77(02), 146-151p.

D :

- Das, I., Chakrabarty, R. N., et al. (2013). "Anti-inflammatory action of saffron extract in animal models of inflammation." *Journal of Ethnopharmacology*, 145(1), 127-135.
- DAVID DS. 2009. Anémie et médicaments. *Revue française d'allergologie*, 1348-1349.
- Del Rio D, Rodriguez-Mateos A, Spencer JPE, Tognolini M, Borges G, Crozier A. 2013. Dietary (Poly)phenolics in human health : Structures, bioavailability, and

Références bibliographiques

evidence of protective effects against chronic diseases. *Antioxidants & Redox Signaling*, 18(14) : 1818-1892. <https://doi.org/10.1089/ars.2012.4581>

- DERRICHSO-TORTORA. 2017. Anatomie et physiologie, 5ème édition. Edition Américaine, pp668.
- Djeriri, R, Douzi, F. (2017). Tests phytochimiques sur la fleur de crocus sativus. Mémoire MASTER.

E :

- Ebrahimi N.S. Hadian J. Mirjalili M.H. Sonboli A. et Yousefzadi M. 2008. Essentiel oil composition and antimicrobial activity of *Thymus caramanicus* at different phenological stages. *Food chemistry*. 110 : 927-931.

F :

- Fernandez X, Chémat F. 2012. La chimie des huiles essentielles : tradition et innovation. Edition Vuilbert, Paris.
- François Nsemi MUANDA. 2010. Ecole doctorale SESAMES. Thèse présentée en vue de l'obtention du grade de Docteur de l'Université Paul Verlaine-Metz. SPÉCIALITÉ : Chimie organique. Par François Nsemi.

G :

- García-Lafuente A, Moro C, Manchón N, Gonzalo-Ruiz A, Villares A, Guillamón E, Rostagno M, Mateo-Vivaracho L (2014). In vitro anti-inflammatory activity of phenolic rich extracts from white and red common beans. *Food Chem*. 161 :216-23.
- Gholamnezhad Z, Koushyar H, Byrami G, Boskabady MH. L'extrait de crocus sativus et son constituant safranal affectent les taux sériques d'endothéline et de protéines

Références bibliographiques

totales chez les cobayes sensibilisés. Iran J Basic Med Sci. 2013 ; 16 : 1022-1026.
[Article gratuit PMC] [PubMed] [Google Scholar].

H :

- Hadi M. 2004. La quercétine et ses dérivés : molécules à caractères pro-oxydants ou capteurs de radicaux libres ; études et applications thérapeutiques. (Thèse doctorat).
- Han, X., Shen, T., Lou, H. 2007. Dietary polyphenols and their biological significance. International Journal of Molecular Sciences, 8(9), 950-988.
- Hassan MSA, Ahmed EM, El-Malah AA, Kassab AE. 2022. Anti-inflammatory activity of pyridazinones : A review. Arch Pharm (Weinheim), 355(8) : e2200067.
- Heleno, S. A., Martins, A., Queiroz, M. J. R., & Ferreira, I. C. 2015. Bioactivity of phenolic acids : Metabolites versus parent compounds : A review. Food Chemistry, 173, 501-513.
- HEYMONET CLAUD. 2013. Les plantes visent anti inflammatoire utilisé en phytothérapie. France.
- Hoshyar, R., Hosseini, S. N., et al. (2016). "Evaluation of antioxidant and antimicrobial activity of saffron petal extract." *Journal of Medicinal Plants Research*, 10(39), 721-728.
- Hosseini A., Razavi B. M., and Hosseinzadeh, H. 2018. Saffron (*Crocus sativus*) petal as a new pharmacological target : a review. Iran. J Basic Med.
- Hosseinzadeh H, Behravan J, Ramezani M, Ajgan K. 2005. Évaluation antitumorale et cytotoxique des extraits de stigmates et de pétales de *Crocus sativus* L à l'aide d'essais d'artémias et de disques de pomme de terre. *Plantes J Med*, 3 : 59–65.

Références bibliographiques

- Hosseinzadeh H, Ghenaati J. 2006. Évaluation de l'effet antitussif du stigmaté et des pétales de safran (*Crocus sativus*) et de ses composants, le safranal et la crocine chez le cobaye. *Fitothérapie*, 77 : 446-448.
- Hosseinzadeh, H., Ziaee, T., et al. (2015). "Antidepressant, anti-inflammatory and neuroprotective effects of saffron : A review." *BioMed Research International*, 2015.

I :

- Imran M., Ahmad N., Anjum F., Kamran-Khan M., Mushtaq Z., Nadeem M., Hussain S, 2015. Potentiel protective properties of flax lignin secoisolariciresinol diglucoside. *Nutrition journal*, 14, 1 – 7p.

J :

- Jauréguiberry, S., Thellier, M., Ndour, P. A., Ader, F., Roussel, C., Sonnevile, R., ... & Rapp, C. 2015. Delayed-onset hemolytic anemia in patients with travel-associated severe malaria treated with artesunate, France, 2011–2013. *Emerging Infectious Diseases*, 21(5), 804.
- Jerome HARLE. 2015. TS_SCHÉMAS RÉACTION INFLAMMATOIRE 10 OCTOBRE 2015. Rédigé par profSVT et publié depuis Overblog.
- John KK, Fatou Shcherazade OS, Georges A, N'guessan Ernest Z, Koffi Roger K, Kouassi Emile B, Kangah Mireille KT, Jean-Jacques KK, Severin K. 2021. Activité anti-inflammatoire et études phytochimiques de l'extrait aqueux des écorces de *Distemonanthus*.

K :

- Karimi GR, Hosseinzadeh H, Khaleghpanah P. 2001. Étude de l'effet antidépresseur de l'extrait aqueux et éthanolique de *Crocus sativus* chez la souris. *Iran J Basic Med Sci*, 4 : 11-15. [Google Scholar].

Références bibliographiques

- Kato GJ, Steinberg MH, Gladwin MT. 2017. Intravascular hemolysis and the pathophysiology of sickle cell disease. *J Clin Invest*, 127(3) : 750-760.
- Kim, H.P., Son, K.H., Chang, H.W., Kong, S.S. 2004. Anti-inflammatory plant flavonoids and cellular action mechanism. *Journal of Pharmacology. Science*, 96 : 229-254.
- Kohler O, Krogh J, Mors O, Benros ME. 2016. Inflammation in Depression and the Potential for Anti-Inflammatory Treatment. *Curr Neuropharmacol*, 14(7) : 732-742.
- Kunnumakkara A.B., Sushovan G., Krishnan S., Diagaradjane P., Gelovane J., Bharti B. 2018. Curcumin potentiates antitumor activity of Gemcitabine in an orthotopic model of pancreatic cancer through suppression. *Suppr*, 67(8) : 3853-3861.b;20 : 19489419525.
- Kundu, JK., Surh, Y. 2008. Cancer chemopreventive and therapeutic potential of resveratrol : Mechanistic perspectives. *Cancer Letters*, 269(2) : 243-261.

L :

- Lattanzio V., Kroom P. A., Quideau S., Treutter D. 2008. Plant phenolics.
- Lippi G, Plebani M. 2019. Identification and management of spurious hemolysis : controversies, concerns and criticisms. *Clin Chem Lab Med*, 57(11) : 1647-1649.
- Loustau V, Guillaud C, Garcon L, Godeau B, Michel M. 2011. Anémie hémolytique chez l'adulte : principales causes et démarche diagnostique. *La Presse Médicale*, 40(5) : 470-485.

Références bibliographiques

M :

- Macheix JJ, Fleuriet A, JAY-allemend C. 2005. Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Ed. Presses polytechnologiques et universitaires romandes, France, 192 p.
- Maggi, M. A., Benitez, G., et al. (2010). "HPLC-DAD analysis of phenolic compounds in saffron." *Food Chemistry*, 123(1), 221-226.
- Manaargadoo-Catin, M., Ali-Cherif, A., Pougna, J.-L., et Perrin, C. 2016. Hemolysis by surfactants—A review. *Advances in Colloid and Interface Science*, 228, 1-16.
- Mansour, S. 2015. Évaluation de l'effet anti-inflammatoire de trois plantes médicinales : *Artemisia absinthium* L, *Artemisia herba alba* Asso et *Hypericumscarboides*, Étude in vivo. Thèse de doctorat. Université des Sciences et de la Technologie d'Oran Mohamed Boudiaf ; p 155.
- Matteo C., Sonia D., Stefania S., Dario D., Valentina S. (2020). *Crocus sativus* L
- Mir, M. A., Parihar, K., Tabasum, U., & Kumari, E. (2016). Estimation of alkaloid, saponin and flavonoid, content in various extracts of *Crocus sativa*. *Journal of Medicinal Plants*, 4(5), 171-174.
- Mussatto SI, Ballesteros LF, Martins S, Teixeira JA. (2011). Extraction of antioxidant phenolic compounds from spent coffee grounds. *Separation and Purification Technology*, 83(15) : 173-179.

N :

- Nathan, C. (2002). Points of control in inflammation. *Nature* ; 420 : p 846-852.

Références bibliographiques

O :

- Omidi A, Riahinia N, Torbati MBM, Behdani MA. 2015. Évaluation de l'effet protecteur de l'extrait hydroalcoolique des pétales de safran dans la prévention des lésions rénales induites par l'acétaminophène chez les rats. *Vet Sci Dev*, 5 : 68-71.
- Ortiz J., Marín Arroyo MR., Noriega Domínguez MJ., Navarro M., Arozarena I. 2013. Phenolics and antioxidant activity of blackberry (*Rubus glaucus* Benth), blueberry (*Vaccinium floribundum* Kunth), and apple wines from Ecuador. *J Food Sci*, 78(7) : C985-993.
- OLIVER S. VITTORI. CILLOE G, BOYER C. 2016. Amélioration des effets thérapeutiques des polyphénols avec une macromolécule. *Polymer Chemistry*, 7(8), 1529-1544.
- Overview of inflammation. In *Recent Advancements in Microbial Diversity* (p. 29-51).
- Oyedapo, O. O., Akinpelu, B. A., Akinwunmi, K. F., Adeyinka, M. O., et Sipeolu, F. O. 2010. Potentiels de stabilisation de la membrane des globules rouges des extraits de *Lantana camera* et de ses fractions. *International Journal of Plant Physiology and Biochemistry*, 2(4), 46-51.

P :

- Pitsikas, N. (2016). Constituents of Saffron (*Crocus sativus* L.) as Potential Candidates for the Treatment of Anxiety Disorders and Schizophrenia. *Molécules*, 21(3), 303.
- Palomares C. 2015. Le safran : précieuse épice ou précieux médicament. Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Lorraine, Faculté de Pharmacie, 14-105 p.
- Pérez-Jiménez J, Neveu V, Vos F, Scalbert A. 2010. Systematic Analysis of the Content of 502 Polyphenols in 452 Foods and Beverages : An Application of the Phenol-Explorer Database. *J. Agric. Food Chem.*

Références bibliographiques

- Petti S., Scully C. 2009. Polyphenols, oral health and disease : A review. Journal of Phylactiv. (2014). Pour une beauté sans compromis. Capgeris.

Q:

- Qamar M, Akhtar S, Ismail T, Yuan Y, Ahmad N, Tawab A, Ismail A, Barnard RT, Cooper MA, Blaskovich MAT, Ziora ZM (2021). Syzygium cumini (L.), Skeels fruit extracts : In vitro and in vivo anti-inflammatory properties. J Ethnopharmacol. 271 :113805.

R:

- Rahimi M. 2015. Chemical and Medicinal Properties of Saffron. Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences, Vol. 4, n° 3, p. 69-70-72-73-78-81.
- Razavi BM, Lookian F, Hosseinzadeh H. 2017. Effets protecteurs du thé vert sur le syndrome métabolique induit par l'olanzapine chez le rat. Biomed Pharmacother, 92 : 726–731.
- Ribereau G P. 1968. Les composés phénoliques des végétaux. Dunod, Paris.
- Rira, M. 2006. Effet des Polyphénols et des Tanins sur l'Activité Métabolique du Microbiote Ruminal d'Ovins. Mémoire de Master, Université Mentouri Constantine, Constantine.
- ROUGEER P. LEFRERE JJ. 2011. Transfusion sanguine. Paris.
- Rocchi R., Mascini M., Sergi M., Compagnone D., Mastrocola D., & Pittia P. 2018. Crocins pattern in saffron detected by UHPLC-MS/MS as marker of quality, process and traceability. Food Chemistry, 264 : 24124.

Références bibliographiques

S:

- Sadique, J., Al-Rqobah, W. A., Bughaith, M. F., et El-Gindy, A. R. 1989. The bioactivity of certain medicinal plants on the stabilization of RBC membrane system. *Fitoterapia*, 60, 525-532.
- Saxena, M., Saxena, J., et Pradhan, A. 2012. Flavonoids and phenolic acids as antioxidants in plants and human health. *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res*, 16(2), 130-134.
- Serrano-Diaz, J., Sanchez Ana, M., Martinez, T.M., Winterhalter, P., ALONSO Gonzalo, L. 2013. A contribution to nutritional studies on *C sativus* flowers and their value as food. *Journal of Food Composition and Analysis*, 3, 101–108.
<https://doi.org/10.1016/j.jfca.2013.03.009>
- Siddiqui, M J., Saleh, S M., Binti Basharuddin, N B., Binti Zamri, S H., Mohd Najib, M H., Muhammad, Z B., binti Mohd Noor, N A., Hanin, N., Binti, M., Norazian, M H et Alfi K. 2018. Saffron (*Crocus sativus*. L) : As an antidepressant. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*, Vol. 10 n° 4, p. 173.
- Srivastava, R., Ahmed, H., Dixit, R. K., Dharamveer, S., Saraf, A. 2010. *Crocus Sativus* L. *Pharmacognosy Reviews*, 4(8), 200-208.
- Sagar Aryal. 6 juin 2023. La chromatographie liquide haute performance.

T:

- Taylor F. A., Chom M. A. (2006). Phenolics in Foods. *The journal of NAET*.

V:

- Vania, M., nakajima, G., abriela, a., julianaalves, m. (2014). Citrus bioactive phenolic : role in the obesity treatment volume 59(2), 2p.
- Vieira Junior FU, Antunes N, Vieira RW, Alvares LM, Costa ET (2012). Hemolysis in extracorporeal circulation : relationship between time and procedures. *Rev Bras Cir Cardiovasc*. 27(4) :535-41.

Références bibliographiques

W :

- Winterhalter, P., & Straubinger, M. (2000). Saffron : Renewed interest in an ancient spice. *Food Reviews International*, 16(1), 39-59.

Y :

- Yougbare-Ziebrou, M.N, Ouedraogo, N, Lompo, M, et al. (2015). Activités anti inflammatoire, analgésique et antioxydante de l'extrait aqueux des tiges feuillées de *Saba senegalensis* Pichon (Apocynaceae). *Phytothérapie*, vol. 14, p 213321.

Z :

- Zarez et al adeh M, Vazifeshenas-Darimiyan K, Afshar M, Valavi M, Serki E, Hosseini M. 2017. Effects of Extract of *Crocus sativus* Petal on Renal Function in Diabetic Rats. *J Mazandaran Univ Med*, 27 :11-24.
- Zhang L, Santos JS, Cruzc TM, Marques MB, do Carmo MAV, Azevedo L, Wang Y, Granato D (2019). Multivariate effects of Chinese keemun black tea grades (*Camellia sinensis* var. *sinensis*) on the phenolic composition, antioxidant, antihemolytic and cytotoxic/cytoprotection activities. *Food Research International*. 125 : 108516.