



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

*République Algérienne Démocratique et Populaire*

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

*Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique*

جامعة الشهيد حمّة لخضر الوادي

*Université Echahid Hamma Lakdhar - EL OUED*

كلية العلوم الطبيعية والحياة

*Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie*

قسم البيولوجيا الخلوية والجزيئية

Département de Biologie Cellulaire et Moléculaire

## MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique en Sciences biologiques

Spécialité : Biochimie appliquée

### THEME

**Etude phytochimique des extraits de *Crocus sativus* issue de la région d'El-Oued**

Présenté Par :

- BECHIRI Anis
- BAHY Abdelkamel
- BENAICHA El Mokhtar

Devant le jury composé de :

Présidente	MAA	ZAIME Sihem	Université d'El Oued.
Examinatrice	MCB	YOUMBAI Asma	Université d'El Oued.
Promoteur	MCB	TLILI Mohammed Laid	Université d'El Oued.

Année universitaire 2021/2022



# *DÉDICACES*

Je dédie ce mémoire

*À mes chers parents*

*À mon frère et mes sœurs*

*À tous mes amis*



*Anis*

# *DÉDICACES*

Je dédie ce mémoire

*À mes chers parents*

*À mon frère et mes sœurs*

*À tous mes amis*



*Abdelkamel*

# *DÉDICACES*

Je dédie ce mémoire

*À mes chers parents*

*À mon frère et mes sœurs*

*À tous mes amis*



*El Mokhtar*

# REMERCIEMENT

Tout d'abord, nous remercions Dieu Tout-Puissant de nous avoir accordé la force, la patience et le succès pour mener à bien notre mission.

Nous voudrions exprimer notre appréciation particulière et nos sincères remerciements à notre superviseur, le M. **Tlili Mohamed Laid**, pour tout le soutien et les encouragements qu'il nous a apportés au cours de ces mois. Ses conseils amicaux et avisés ont été précieux dans toute l'entreprise. Nous avons été très chanceux d'avoir un superviseur qui se souciait tellement de notre travail, répondait à nos questions à tout moment et était très reconnaissant pour son soutien moral.

Nous tenons à remercier notre comité de thèse : Mme **Zaime Sihem**, qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de cette thèse, et Mme **Youmbai Asma** pour avoir accepté d'examiner notre thèse et pour l'honneur d'y assister, exprimons notre plus profond respect pour son. Nous sommes fiers et honorés que vous ayez accepté de faire partie de notre comité.

Nous tenons à remercier le M. **Tliba A.** de la faculté de technologie pour sa coopération avec nous dans la résolution des problèmes qui nous ont gênés, Un grand merci à M. **Suède A.** (propriétaire de la safranière de Hassi Khalifa) et M. **Rezzag O.**, pour nous avoir mis à notre disposition le safran et pour leur générosité.

Merci aussi aux laborantins qui nous ont soutenus tout au long de notre travail. Nous remercions également les membres du laboratoire d'Al-Medjed pour leur soutien, leurs services et l'accompagnement de nos travaux.

Nous tenons à remercier nos chers professeurs pour leurs précieux efforts qui nous ont accompagnés et enseignés pendant cinq ans, ainsi que nos amis de l'université et leur souhaitons le meilleur dans la vie.

Enfin, nous voudrions remercier tous ceux qui nous ont aidés à compléter cette lettre, nous l'apprécions vraiment.

### Résumé

La culture du safran (*Crocus sativus*) commence à prendre de l'ampleur en Algérie, en raison de son intérêt dans le domaine économique et thérapeutique, nous avons estimé nécessaire d'explorer les constituants de cette plante cultivée dans notre région de la wilaya d'El-Oued. Notre travail était basé sur la connaissance de la différence entre les corne matures et immatures.

Nous avons étudié la présence de familles chimiques (Polyphénols, Flavonoïdes, Tanins, Alcaloïdes, Anthraquinones, Terpénoïdes, Saponines) et les estimations du taux de composés phénoliques, Où les polyphénols ont été examinés par le réactif de Folin-Ciocalteu, et les flavonoïdes dosés par le trichlorure d'aluminium, tandis que les tanins ont été obtenus par la vanilline, et l'évaluation de l'activité antioxydant (par test de DPPH) et antimicrobienne (par méthode de diffusion en milieu gélosé), de deux extraits des cornes de *Crocus sativus* mature et immature.

Les résultats montrent que la présence des polyphénols, flavonoïdes, tanins, alcaloïdes, terpénoïdes à chaque corne, avec l'absence de saponosides, anthraquinones, teneur des polyphénols dans la corne immature est de  $28.74 \pm 1.6$  mg EAG/g et à corne mûré est  $12.9 \pm 0.6$  mg EAG/g, teneur de flavonoïde de corne immature est  $12.053 \pm 0.4$  mg EQ /g, mais la corne mature est estimée de  $7.29 \pm 0.2$  mg EQ /g, la dose des tanins condensés dans la corne immature est d'ordre de  $26.96 \pm 0.4$  mg EC/g et en corne mûré égale de  $5.14 \pm 0,4$  mg EC/g.

Le pourcentage de l'inhibition (IC50) a été évalué dans la corne immature avec une valeur de  $11.81 \pm 0.16$  mg/ml, et dans la corne mature est de  $105.79 \pm 17.24$ . La corne immature révèle une efficacité importante sur tous les bactéries testées  $15 \pm 0.17$  mm,  $12 \pm 0.2$  mm,  $11 \pm 0.4$  mm,  $9 \pm 0.28$  mm (*Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*, respectivement).

nos résultats ont indiqué que la corne immature avait le plus de stockage des composés phénoliques (polyphénols, Flavonoïdes, Tanins) et le plus efficace en termes d'inhibition des radicaux libres et bactéries, par rapport aux corne matures.

### Abstract

The culture of saffron (*Crocus sativus*) begins to grow in Algeria, because of its interest in the economic and therapeutic field, we considered it necessary to explore the constituents of this plant cultivated in our region of the wilaya of El-Oued. Our work was based on knowing the difference between mature and immature corms.

We studied the presence of chemical families (Polyphenols, Flavonoids, Tannins, Alkaloids, Terpenoids, Saponosides, Anthraquinones,) and the estimates of the rate of phenolic compounds, where the polyphenols were examined by the Folin-Ciocalteu reagent, and the flavonoids assayed by aluminum trichloride, while the tannins were obtained by vanillin, and the evaluation of the antioxidant (by DPPH test) and antimicrobial (by diffusion method in agar medium) activity of two extracts from the corms of mature and immature *Crocus sativus*.

The results show that the presence of polyphenols, flavonoids, tannins, alkaloids, terpenoids in each corm, with the absence of saponins, anthraquinones, polyphenol content in immature corm is  $28.74 \pm 1.6$  mg EAG/g and in mature corm is  $12.9 \pm 0.6$  mg EAG/g, flavonoid content of immature corm is  $12.053 \pm 0.4$  mg EQ /g, but mature corm is estimated  $7.29 \pm 0.2$  mg EQ /g, the dose of condensed tannins in immature corm is order of  $26.96 \pm 0.4$  mg EC/g and in mature corm equal to  $5.14 \pm 0.4$  mg EC/g.

The percentage of inhibition (IC<sub>50</sub>) was evaluated in the immature corm with a value of  $11.81 \pm 0.16$  mg/ml, and in the mature corm is  $105.79 \pm 17.24$ . The immature corm reveals significant efficacy on all the bacteria tested  $15 \pm 0.17$  mm,  $12 \pm 0.2$  mm,  $11 \pm 0.4$  mm,  $9 \pm 0.28$  mm (*Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*, respectively).

our results indicated that the immature corm had the most storage of phenolic compounds (Polyphenolic, Flavonoids, Tannins) and the most effective in terms of inhibiting free radicals and bacteria, compared to mature corms.

## المخلص

بدأت ثقافة الزعفران (*Crocus sativus*) في النمو في الجزائر ، لما لها من إهتمام في المجال الاقتصادي والعلاجي ، فقد اعتبرنا أنه من الضروري استكشاف مكونات هذا النبات المزروع في منطقتنا بولاية الوادي . اعتمد عملنا على معرفة الفرق بين الديدان الناضجة وغير الناضجة.

درسنا وجود عائلات كيميائية (البوليفينول، الفلافونويد، التانينات، القلويات، التربينويدات، السابونوزيدات، الأنثراكينون) وتقديرات معدل المركبات الفينولية ، حيث تم فحص البوليفينول بواسطة كاش Folin-Ciocalteu ، والفلافونويد يعاير بواسطة ثلاثي كلوريد الألومنيوم ، بينما تم الحصول على العفص بواسطة الفانيلين ، و تقييم نشاط مضادات الأكسدة) عن طريق اختبار DPPH ومضاد الميكروبات (بطريقة الانتشار في وسط أجار) لنشاط مستخلصين من قرم *Crocus sativus* الناضجة وغير الناضجة.

أظهرت النتائج أن وجود البوليفينول ، الفلافونويد ، العفص ، القلويات ، التربينويدات في كل كورم ، مع عدم وجود السابونين ، الأنثراكينون ، محتوى البوليفينول في القشرة غير الناضجة هو  $1.6 \pm 28.74$  مجم / EAG جم وفي القرم الناضج هو  $0.6 \pm 12.9$  مجم / g EAG . ، محتوى الفلافونويد للورم غير الناضج هو  $0.4 \pm 12.053$  مجم / EQ جم ، لكن المقدار الناضج يقدر بـ  $0.2 \pm 7.29$  مجم / EQ جم ، جرعة التانينات المكثفة في القرم غير الناضجة هي  $0.4 \pm 26.96$  مجم / EC جم و في القرم الناضج يساوي  $0.4 \pm 5.14$  مجم / جم.

تم تقييم نسبة التثبيط (IC50) في القرم غير الناضج بقيمة  $0.16 \pm 11.81$  مجم / مل ، وفي القرم الناضج  $0.2 \pm 12$  ،  $17.24 \pm 105.79$  . يكشف القرم غير الناضج عن فعالية كبيرة على جميع البكتيريا المختبرة  $0.17 \pm 15$  مم ،  $0.2 \pm 12$  مم ،  $0.4 \pm 11$  مم ،  $0.28 \pm 9$  مم (*Staphylococcus aureus* ، *Klebsiella pneumoniae* ، *Escherichia coli* ، *Pseudomonas aeruginosa* ، على التوالي)

أشارت نتائجنا إلى أن القرم غير الناضج كان يحتوي على أكبر قدر من تخزين المركبات الفينولية (البوليفينول، الفلافونويد ، العفص) ، والأكثر فاعلية من حيث تثبيط الجذور الحرة والبكتيريا ، مقارنة بالديدان الناضجة.

## Sommaire

### SOMMAIRE

Dédicace	
Remerciement	
Résumé	
SOMMAIRE	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction	
<b>Partie 1 : Synthèse bibliographique</b>	
<b>Page</b>	
Chapitre I : Généralités sur la plante étudiée ( <i>Crocus sativus</i> )	
1. Étymologie	03
2. Caractère botanique	03
3. Description de la plante	04
4. Morphologie du bulbe de safran	05
5. Distribution géographique	06
6. Culture du safran	07
7. Récolte et rendement du safran	07
8. développement du safran	08
9. Reproduction du safran	09
10. Composition chimique du safran	10
11. L'usage du safran	12
11.1. En thérapeutique	13
11.2. Autres utilisation	15
12. Etude de Toxicité du safran	16
Chapitre II Généralité sur les métabolites secondaires	
I. Polyphénols	18

## Sommaire

I.1. Polyphénols simples	19
I.1.1. Acides phénoliques	19
I.2. Flavonoïdes	20
I.3. Polyphénols complexes (tanins)	21
I.3.1. Tanins hydrolysables	21
I.3.2. Tannins condensés	21
II. Alcaloïdes	22
III. Terpénoïde	23
IV. Anthraquinones	23
V. Saponosides	24
<b>Chapitre III : Stress oxydatif</b>	
1. Définition	25
2. Radicaux libres	25
3. Différentes types des radicaux libres	26
3.1. Dérivés activés de l'oxygène	26
3.2. Monoxyde d'azote (NO•)	27
4. Origine des radicaux libres	28
4.1. Sources endogènes	28
4.2. Sources exogènes	29
5. Cibles biologiques des radicaux libres	29
5.1. Lipide	29
5.2. Protéines	29
5.3. Acides nucléiques	29
6. Systèmes antioxydants	30
6.1. Antioxydants enzymatiques	30
6.2. Antioxydants non enzymatiques	31

## Sommaire

7. Pathologie liée aux stress oxydant	33
Partie II : Etude Expérimentale	
Chapitre I : Matériel et Méthode	
I. Matériel	35
I. 1. Matériel biologique	35
I.1.1. Matériel végétal	35
I.1.2. Bactéries	36
I.2. Matériel non biologique	37
II. Méthodes	38
II.1. Préparation des extraits	39
II.1.1. Extraction par Macération	39
II.1.2. Rendement des extraits secs	39
II.2. Tests phytochimiques	39
II.2.1. Polyphénols	39
II.2.2. Flavonoïdes	40
II.2.3. Alcaloïdes	40
II.2.4. Tanins	40
II.2.5. Anthraquinones	40
II.2.6. Terpénoïdes	40
II.2.7. Saponines	40
II.3. Dosage des composés phénoliques	40
II.3.1. Dosage des polyphénols totaux	40
II.3.2. Dosages des flavonoïdes	42
II.3.3. Dosage de tanins condensés	42
II.4. Tests des activités biologiques	43
II.4.1. Test de piégeage du radicale libre DPPH	43

## Sommaire

---

II.5. Evaluation de l'activité antimicrobienne	45
Chapitre II : Résultats et Discussion	
1. Rendements d'extractions	46
2. Tests phytochimiques	46
3. Dosage des composés phénoliques	48
3.1. Teneur des polyphénols totaux	48
3.2. Teneur des Flavonoïdes	50
3.3. Teneur des tanins condensés	52
4. Evaluation de l'activité antioxydant (DPPH)	54
5. Evaluation de l'activité antibactérienne	56
Conclusion	60
Références bibliographiques	

## Liste des figures

### Liste des Figures

N°	Titre de Figure	Page
<b>Figure 01</b>	Aspect général de <i>Crocus sativus</i> .	05
<b>Figure 02</b>	Morphologie et anatomie d'un bulbe de safran.	06
<b>Figure 03</b>	Principales nations productrices de safran.	06
<b>Figure 04</b>	Les étapes de la culture du safran: récolte manuelle de la fleur, émondage (récupération des stigmates), et séchage des stigmates.	08
<b>Figure 05</b>	Cycle de végétation de <i>Crocus sativus</i> .	09
<b>Figure 06</b>	Structure chimique de composés active de la <i>Crocus sativus</i> .	12
<b>Figure 07</b>	Structure de base des composés phénoliques.	19
<b>Figure 08</b>	Structures chimiques des acides hydroxybenzoïques.	19
<b>Figure 09</b>	Structures chimiques des acides hydroxycinnamiques.	20
<b>Figure 10</b>	Structure de base des flavonoïdes.	21
<b>Figure 11</b>	Structure chimique des tanins (a) hydrolysables (b) condensés.	22
<b>Figure 12</b>	Structures chimiques de alcaloïdes.	22
<b>Figure 13</b>	Structure chimiques de terpénoïdes.	23
<b>Figure 14</b>	Structure chimiques de Anthraquinones.	23
<b>Figure 15</b>	Aperçu des espèces oxygénées activées (EOA)	31
<b>Figure 16</b>	deux échantillons de cormes matures et immatures avant et après le processus de broyage.	35
<b>Figure 17</b>	Schéma résumant le protocole utilisé.	38
<b>Figure 18</b>	Protocole du dosage des polyphénols totaux.	41

## Liste des figures

<b>Figure 19</b>	Protocole du dosage des flavonoïdes.	42
<b>Figure 20</b>	Protocole du dosage des tanins totaux.	43
<b>Figure 21</b>	Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH• entre l'espèce radicalaire DPPH• et un antioxydant.	44
<b>Figure 22</b>	Courbe d'étalonnage d'acides gallique pour le dosage des polyphénols.	48
<b>Figure 23</b>	La teneur des polyphénols totaux en mg EAG/g d'extrait.	49
<b>Figure 24</b>	Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes totaux.	50
<b>Figure 25</b>	La teneur des flavonoïdes totaux en mg EQ/g d'extrait.	51
<b>Figure 26</b>	Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tannins.	52
<b>Figure 27</b>	La teneur des tannins totaux en mg EQ/g d'extrait.	53
<b>Figure 28</b>	les valeurs d'IC50 des différents extraits et acide ascorbique en (mg/ml).	54

## Liste des tableaux

---

---

### Liste des tableaux

N°	Titre du tableau	Page
<b>Tableau 01</b>	Classification botanique de <i>Crocus sativus</i> . L.	04
<b>Tableau 02</b>	Composition chimique du safran.	11
<b>Tableau 03</b>	L'ensemble des différents types des espèces radicalaires.	28
<b>Tableau 04</b>	Liste des matériels non biologiques utilisés pendant de travail.	37
<b>Tableau 05</b>	Rendement des extraites.	46
<b>Tableau 06</b>	Résultats des tests phytochimique des cornes de <i>Crocus sativus</i> .	47
<b>Tableau 07</b>	Effet antibactérienne des extraits éthanolique de corne immature et mature de <i>Crocus sativus</i> .	57

## Liste des abréviations

---

### Liste des abréviations

**AlCl<sub>3</sub> : Trichlorure D'aluminium.**

**AG : Acide Gallique.**

**DMSO: Diméthyle Sulfoxyde.**

**DPPH : 2,2'-Diphényle-1-Picryl Hydrazyl.**

**FeCl<sub>3</sub> : Trichlorure De Fer.**

**FRAP : Ferric Reducing Antioxydant Power.**

**GSH: Glutathion Réduite.**

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> : Peroxyde D'hydrogène.**

**Hcl : Acide Chlorhydrique.**

**IC<sub>50</sub> : Concentration Inhibitrice A 50 %.**

**LPO : Peroxydation Lipidique.**

**Mda: Malondialdéhyde.**

**Mg EAG/ G E : Milligramme D'équivalent D'acide Gallique Par Gramme D'extrait.**

**Mg EQ/ G E : Milligramme D'équivalent De Quercétine Par Gramme D'extrait.**

**Mpo: Myéloperoxidase.**

**Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> : Carbonate De Sodium.**

**Nm :Nanomètre.**

**No. : Monoxyde D'azote.**

**O<sub>2</sub>.- : Anion Super Oxide.**

**OH· :Radical Hydroxyle.**

**RLO : Radicaux Libres Oxygénés.**

**ROS : Reactive Oxygen Species.**

**UV : Ultra-Violet.**

---

# *Introduction*

## Introduction

---

L'utilisation des plantes pour guérir les maladies ou la phytothérapie, a été connue depuis l'antiquité (**Palomares, 1988 ; Ben Mostefa, 2017**). Afin de soulager, guérir toutes sortes de pathologies. Ces plantes ont l'aptitude de synthétiser de nombreux composés appelés métabolites secondaires, elles constituent donc un immense réservoir de composés d'une grande diversité chimique, possédant un large éventail d'activités biologiques (**Jaccot et Campillo, 2003**).

Le safran est une épice utilisée depuis plus de 3000 ans (**Palomares, 1988**), réputée depuis l'Antiquité pour son usage culinaire, est bien moins connue du grand public pour son emploi dans les domaines de la médecine et de la pharmacie. Pourtant, les anciens (égyptiens, perses, grecs et romains), n'ont cessé de l'utiliser, de la cultiver pour ses nombreuses vertus pharmaceutiques (**Palomares, 1988**).

Le nom du safran est dérivé du mot arabe de zaafran signifiant « être jaune ». L'Iran est le principal producteur de safran sur le marché mondial, mais sa qualité n'est pas aussi bonne que celle du safran d'un autre fournisseur principal (**Caballero-Ortega et al., 2007**).

Le safran est également désigné par l'appellation « or rouge », appellation hautement justifiée puisque, vendue entre 30 et 40 euros le gramme, la précieuse épice suit le cours de l'or, étant la plus chère au monde. Son coût de revient élevé n'est pas dû à sa rareté mais à la cherté de la main d'oeuvre. En effet, il faut 150 000 fleurs de crocus pour obtenir seulement 1 kg de safran sec (**Palomares, 1988**).

Le Safran comme étant une géophyte stérile qui ne peut être propagé qu'au moyen de bulbes végétaux souterrains. Étant donné que la multiplication du bulbe n'induit pas de variations du génome, il serait urgent de disposer d'une collection de différents cultivars multipliés, de les caractériser sur le plan morpho-physiologique et d'en sélectionner ceux à caractères agronomiques attrayants (rendement, qualité gustative, contenu en arômes). L'existence de mutants spontanés du safran dont le nombre de stigmates peut atteindre plus que le double des plants normaux, offre dans la mesure où ces mutations sont constitutives,

## Introduction

---

une opportunité sérieuse pour le développement de la culture de cette espèce. Les cultivars sélectionnés pourront faire appel aux biotechnologies végétales et notamment à la culture in vitro afin d'être micropropagés rapidement et sous un état sanitaire irréprochable. Ce matériel végétal associé aux bonnes pratiques culturales, permettra d'augmenter la productivité de la culture du safran (**Serghini et al., 2012**).

La culture du safran commence à prendre de l'ampleur en Algérie, pour raison et connaissant son intérêt dans le domaine économique et thérapeutique Surtout après avoir fait plusieurs tentatives réussies pour cultiver du safran dans notre région de la wilaya el-oued, nous avons nécessaire d'explorer les constituants de cette plante dans notre région. Nous allons l'examiner de plus près en commençant par nous pencher sur ses origines et son histoire. Nous établirons ensuite l'intérêt botanique de la plante *Crocus sativus* L., et de ses différentes parties pour ensuite nous attarder et nous focaliser sur les cormes en particulier, à l'origine même de la drogue végétale utilisée en thérapeutique (**Palomares, 1988**).

Notre travail a été divisé en deux parties : La première partie est consacrée à une synthèse bibliographique qui regroupe trois chapitres dont le premier concerne généralité sur la plante étudiée et le deuxième chapitre est consacré aux métabolites secondaires et troisième chapitre sur le stress oxydatif. La deuxième partie décrit le matériel et les méthodes utilisées dans ce travail et les résultats obtenus et leur discussion qui porte sur :

- ✓ Les tests phytochimiques de cormes de la plante.
- ✓ Dosage des polyphénols totaux, des flavonoïdes et des tannins.
- ✓ Evaluation de l'activité antioxydant parle piégeage du radical libre DPPH.
- ✓ Evaluation de l'activité antibactérienne.

# Partie I.

---

## *Synthèse bibliographique*

# Chapitre I.

---

## *Généralités sur la plante étudiée* *(Crocus sativus)*

L'histoire du safran, que ce soit au niveau de sa culture ou de son usage, remonte à plus de 3 500 ans et traverse plusieurs sociétés, continents et civilisations (**delaveaux, 2006**).

*Crocus sativus* L., plante dont est extrait le safran, a parcouru les siècles et essaimé dans les différentes régions du globe pour se retrouver cultivé en France à partir du Xe siècle et en Algérie durant l'occupation française. Il ne s'agit pas d'une plante sauvage car elle doit tout à la main de l'homme qui a su la cultiver, la choyer, et l'importer tout autour du bassin méditerranéen (**Palomares, 1988 ; Ben Mostefa, 2017**).

## 1. Étymologie

Nous pouvons comprendre de par leur écriture et leur prononciation que les mots *Crocus sativus* et safran proviennent d'origines différentes. En effet « *Crocus sativus* », nom adopté par le scientifique Linné en 1754 serait une transcription en latin du mot grec « *krokos* » qui signifie filament, poil, en référence à la forme des stigmates qui donneront une fois séchés, cette fameuse épice. « *Krokos* » proviendrait de l'hébreu : « *Karkôm* », mentionné dans le Cantique des Cantiques de la Bible (**Aucante, 2000**).

Quant au mot safran, celui-ci a une origine latine : « *safranum* », tiré de l'arabo-persan « *za'faran* » dérivant d'« *asfar* » signifiant jaune. L'origine arabo-persane est donc incontestable et nous pouvons de plus mentionner l'existence d'un village existant sur les bords de l'Euphrate, il y a plus de 4 3002 ans, nommé *Azupirano* signifiant « ville du safran » (**Crozet, 2012**).

Le terme « *sativus* » signifie « cultivé », car *Crocus sativus* est peu connu pour se développer à l'état sauvage, mais est cultivé depuis très longtemps pour ses stigmates.

On retrouve une origine mythologique commune dans les dénominations internationales du mot safran (**Favre, 2008**) :

Français : safran ; Anglais : saffron ; Allemand : Safran ; Espagnol : azafrán ; Italien : zafferano ; Arabe : za'faran ; Néerlandais : saffraan ; Portugais : açafraão ; Polonais : szafran ; Grec : zafora ; Chinois : fan huong hua (épice), Xi hong hua (remède) ; Russe : schafran ; Japonais : safuran.

## 2. Caractère botanique

Le caractère botanique du *Crocus* en France a été décrit par de nombreux auteurs, **Ursat, (1913) ; Pierlot, (1925) ; Priy, (1994)**. Le *Crocus sativus* fait partie de la grande famille des Iridacées et du vaste genre *Crocus* qui comprend plus de 80 espèces de plantes bulbeuses de petites tailles. *Crocus sativus* est la seule espèce de *Crocus* produisant le safran; sa classification taxonomique est la (**Tableau 01**) (**Winterhalter et Straubinger, 2000**).

La famille des *Iridaceae* comprend 1800 espèces dont les iris, les glaïeuls, les *crocus*. Ces Plantes ont pour caractéristiques communes un ovaire infère et un androcée comportant

Trois Étamines disposées en un seul verticille. Parmi les 85 espèces appartenant au genre *crocus*, le safran est l'espèce la plus fascinante. Notons qu'il existe deux groupes de *crocus* : les *crocus* à floraison automnale comme *Crocus sativus* L. et les *crocus* à floraison printanière tels que *Crocus vernus* L (Dupont, 2007).

**Tableau 01:** Classification botanique de *Crocus sativus*. L (Saxena, 2010).

Règne	Végétal
Embranchement	Spermatophytes
Sous-embranchement	Angiospermes (Magnoliophyta)
Classe	Monocotylédones (Liliopsida)
Sous-classe	Liliidae
Ordre	Liliales
Famille	Iridaceae
Sous-famille	Crocoïdeae
Genre	Crocus
Espèce	<i>C. sativus</i> L.

### 3. Description de la plante

*Crocus sativus* est une plante inconnue à l'état sauvage qui a eu besoin de la main de l'homme pour subsister. Triploïde et stérile, il se reproduit par multiplication végétative grâce à son corme, organe de réserve ressemblant à un bulbe Arvy et Gallouin, (2003). *Le Crocus sativus* est une plante monocotylédone, herbacée, pérenne et vivace qui a une floraison automnale et qui est inexistante à l'état sauvage. C'est une plante rustique, à cause de sa morphologie et de sa physiologie. Elle peut atteindre de 10 à 25 cm de hauteur. Sa fleur de couleur mauve est composée de 6 pétales, de 3 étamines jaunes et d'un pistil se divisant en 3 longs stigmates de couleur rouge vif brillant et velouté de 3 à 4 cm. Les stigmates ont un aspect brillant à l'ouverture de la fleur, fins à la base et plus larges à l'extrémité, très odorants et se développeront avec ou après la fleur. Le safran se développe à partir de ses bulbes. Le bulbe, aussi appelé corme, de 3 à 5 cm de diamètre, est un organe souterrain qui accumule les substances de réserve nécessaires à la floraison et au bourgeonnement. Le safran a un pollen stérile, et la fleur du *Crocus sativus* ne produit pas de graines viables; sa multiplication Végétative est propagée par les cormes, la plante étant dépendante de l'homme pour sa

reproduction. On compte d'une à trois fleurs par bulbe et de deux à trois bulbes par plante (Figure 01) (Winterhalter et Straubinger, 2000).

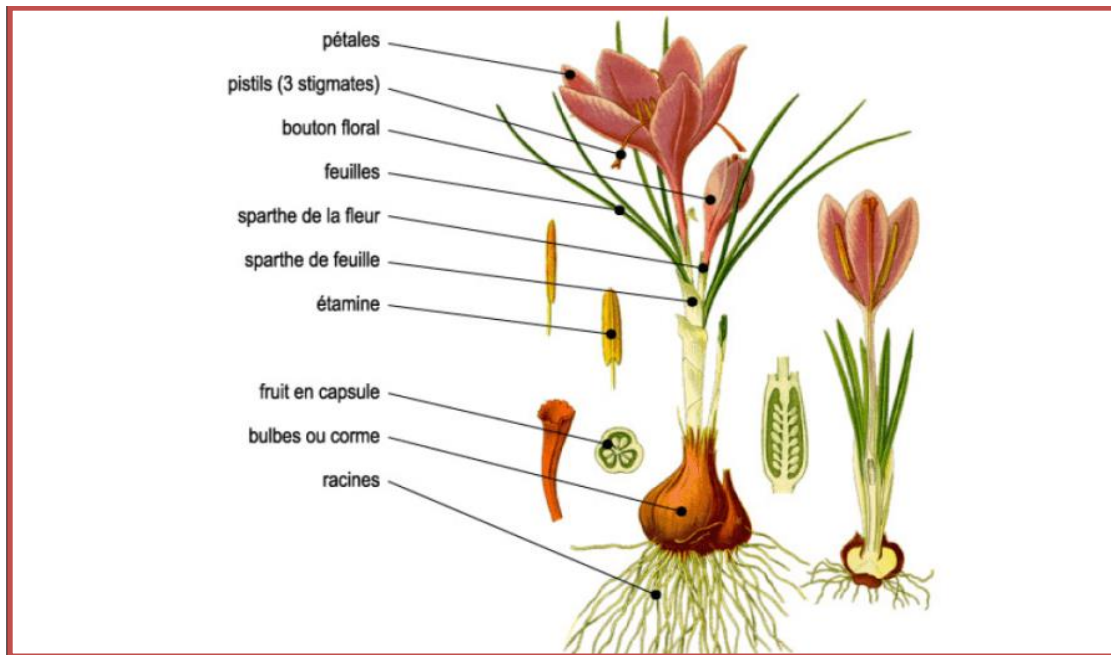


Figure 01 : aspect général de *Crocus sativus* (Cagla, 2018).

#### 4. Morphologie du bulbe de safran

La plante herbacée, est pourvue d'une sorte de bulbe nommé corme, qui correspond à un rhizome court et vertical ayant environ 4 cm d'épaisseur et 3 cm de diamètre. La partie blanchâtre et charnue à l'intérieur est riche en amidon, la partie extérieure, quant à elle, est composée de plusieurs tuniques brunes, à fibres réticulées ayant un rôle de protection et aussi de genèse des futures feuilles et fleurs.

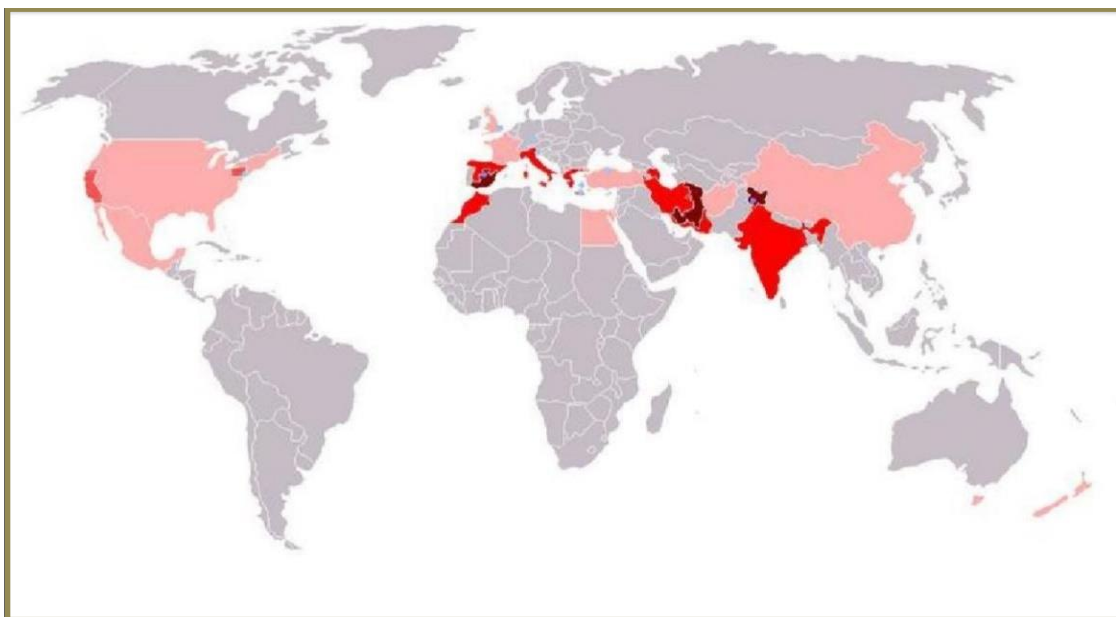
Comme la reproduction se fait de manière végétative, chaque corme après floraison donnera naissance sur sa partie supérieure à plusieurs petits cormus, tout en dégénéralant, ce qui explique l'élévation en terre de 2 cm environ chaque année. Une corme ne fleurit donc qu'une seule fois et la floraison s'amplifie d'années en années. Lors de sa première année, un bulbe peut donner une à trois fleurs (Figure 02) (Arvy, 2003 ; Crozet, 2012).



**Figure 02** : Morphologie et anatomie d'un bulbe de safran (**Régis *et al.*, 2010**)

### 5. Distribution géographique

Les principales régions de culture sont : l'Iran (province du Khorasan), la Grèce (Macédoine), le Maroc (ville de Talouine) l'Espagne (Albacete, Alicante, La Mancha, Murcia), l'Inde (dans les massifs montagneux du Cachemire). Ces pays sont les premiers exportateurs mondiaux de safran. A plus petite échelle, on retrouve la France (Gâtinais, Quercy), le canton du Valais en Suisse, l'Italie, la région de Safran niolu en Turquie, l'Azerbaïdjan, la province de Baloutchistan au Pakistan, la Chine, le Japon et la Pennsylvanie aux Etats-Unis (**Figure 03**) (**Palomares, 1988**).



**Figure 03** : Principales nations productrices de safran (**Benayacheet *et al.*, 2013**).

## 6. Culture du safran

*Crocus sativus* possède une végétation inversée, c'est-à-dire que les feuilles de safran sortent de terre en septembre et la plante fleurit en octobre, puis se dessèche en mai de l'année suivante. C'est donc en automne, quand tous les autres végétaux s'endorment pour l'hiver, que le safran fleurit. Il entre en dormance au printemps et son feuillage disparaît complètement quand éclatent les bourgeons de la plupart des plantes. Le safran est une plante de jours courts, pouvant supporter des conditions climatiques très sévères, adaptée aux régions à hiver froid et été chaud et sec ; il peut résister à des températures inférieures à -10 °C ou supérieures à +40 °C durant plusieurs jours (**Chahine, 2014**).

Le safran pousse idéalement s'il est exposé directement à la lumière du Soleil, et s'accommode mal à l'ombre **Deo, (2003)**. Il préfère les sols argilo-calcaires friables, lâches, à basse densité, bien arrosés et drainés, ainsi qu'une forte teneur en matière.

## 7. Récolte et rendement du safran

La récolte exige une main-d'œuvre qualifiée et les stigmates nécessitent d'être immédiatement et délicatement prélevés, séchés, puis conservés à l'abri de l'humidité et de la lumière. Les fleurs apparaissent 4 à 6 semaines après la plantation et la floraison s'étale sur plusieurs semaines. La fleur de crocus à safran est fragile et elle est d'une durée de vie très limitée (entre 24 et 48 heures). Elle se fane très vite sous l'action du soleil, et ses pistils perdent de leur arôme ainsi que de leur pouvoir de coloration. L'opération de ramassage des fleurs de safran est très délicate. L'ensemble de la fleur est récolté manuellement en coupant la fleur à la base de sa corolle avant son ouverture, tôt le matin avant l'arrivée des chaleurs du jour, afin d'éviter la fanaison des stigmates qui survient quelques heures après l'ouverture de la fleur, une fois celle-ci exposée aux rayons solaires. La récolte est ramassée dans des paniers rigides pour éviter l'entassement et la cassure des stigmates. Le safran récolté quand les fleurs sont entièrement ouvertes est considéré de second choix à cause de la perte de sa qualité organoleptique, une fois exposé au soleil (**Kafi et al. 2002**).

Après la récolte, vient l'émondage des fleurs, ou, en langage plus familier : l'épluchage, est l'action de séparer les trois stigmates des autres organes de la fleur de *crocus* **Ursat, (1913)**. L'objectif est de couper le style ni trop haut ni trop bas afin de garantir une qualité optimale. Ceci est réalisé le jour même, juste après la récolte. Selon les safraniers, cette action se fait avec les doigts, une paire de ciseaux ou bien une pince à épiler. Les précautions prises lors de la récupération des stigmates conditionnent la qualité du produit. Une fois les stigmates isolés, ils sont séchés dans l'ombre à l'air libre, le safran perd 4/5 de son eau. Le poids frais moyen des stigmates de 100 fleurs est près de 3g et le poids sec est près de 600

mg. En effet, il faut cueillir environ 150 000 fleurs de *Crocus sativus* pour récolter un kilo de stigmates frais; et près de cinq kilos de stigmates frais pour faire un kilo de safran sec utilisable en tant qu'épice (Negbi, 1999).

En fin conservation et conditionnement, le safran étant très hygroscopique, il doit être conservé après séchage dans un endroit sec pour éviter l'humidité qui lui fait perdre son arôme et le noircit. L'idéal est de mettre les stigmates dans un pot en verre fermé par un bouchon de liège afin d'empêcher l'oxygène de passer et ainsi d'éviter une oxydation (Figure 04) (Ursat, 1913).



**Figure 04** : Les étapes de la culture du safran: récolte manuelle de la fleur, émondage (récupération des stigmates), et séchage des stigmates (Plombières, 2013).

## 8. Développement du safran

Le cycle végétatif du safran, présenté en (Figure 5), est caractérisé par deux grandes phases au cours de l'année la période d'activité et la période de repos végétatif.

La période d'activité s'étend à partir du mois d'octobre jusqu'au mois d'avril-mai. Elle commence au début de l'automne par une émission des feuilles et des fleurs, souvent en même temps, Et se termine avec la production de bulbes de remplacement au printemps, d'octobre à avril. Au cours de cette période, le corne-mère qui vit une saison est remplacé par un cornefils qui se forme au-dessus de l'ancien corne-mère Lopez-Corcoles *et al.*, (2015). C'est une phase de croissance et de développement des bulbes grâce à l'activité photosynthétique des feuilles. La floraison du safran commence généralement à la mi-octobre

et se termine vers finnovembre. Elle dépend essentiellement des conditions climatiques, notamment la température (Gresta *et al.*, 2008).

Au printemps, les bulbes de remplacement sont complètement formés et leurs dimensions restent inchangées. Le végétal entre dans une période de repos végétatif ou dormance avec l'arrivée des chaleurs estivales. Vers la fin du mois d'août, le bulbe se réveille, son activité métabolique augmente et le cycle commence à nouveau par l'apparition des fleurs et des feuilles (Figure 05) (Ait oubahou et Eloutman, 2002).

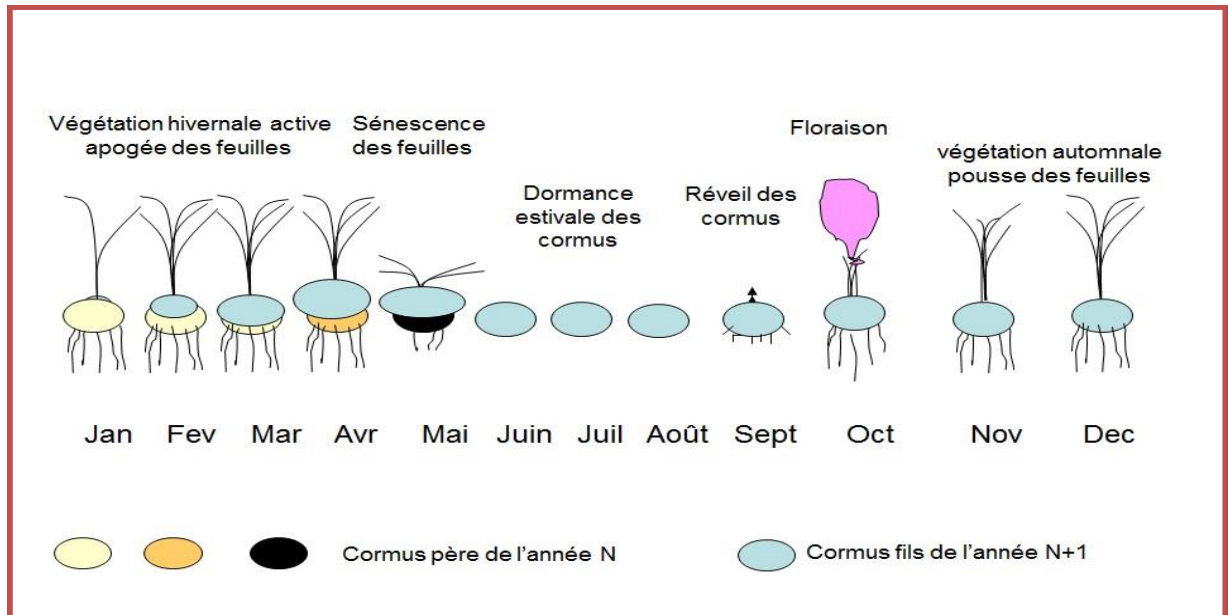


Figure 05 : Cycle de végétation de *Crocus sativus* (Pierronnet, 2016).

## 9. Reproduction du safran

Sa reproduction est végétative et souterraine par division du bulbe-père en bulbes-fils, sa multiplication végétative est propagée par les cormes, la plante étant dépendante de l'homme pour sa reproduction. Tous les procédés de productions du safran sont généralement menés à la main (Kadir *et al.*, 2017).

### a. Fleur

Les fleurs de *Crocus sativus* commencent à voir le jour dès le début de l'automne, vers la fin du mois de septembre. D'une gaine blanche, translucide nommée spathe sortira un bouton floral d'une couleur pourpre.

### b. Périclanthe

Longuement tubuleux, environ 15 cm de long, le périclanthe est constitué de six divisions ovales similaires appelées tépales. Ces tépales comprennent en fait trois sépales pétaloïdes et trois pétales, formant un ensemble pourpre-violacé, soudé en un tube allongé et étroit à la base (Arvy et Gallouin, 2003 ; Teuscher *et al.*, 2005).

**c. Androcée**

Les trois étamines s'attachent au niveau de la gorge pubescente des sépales. Elles présentent un filet grêle, court et blanchâtre se terminant par une anthère linéaire et jaune, deux fois plus longue que celui-ci. Chaque anthère mesure 20 à 22 mm de long sur 3 mm de large, montrant deux loges bien distinctes qui seront chargées de pollens (Collin, 1910).

**d. Gynécée**

Le gynécée, qui est l'organe femelle de la plante se situe au fond du tube du périanthe. Il est composé de trois carpelles soudés formant « l'ovaire ». Celui-ci sera qualifié d'ovaire infère puisqu'il est positionné en-dessous du plan d'insertion des autres pièces florales (Casamayou, 2011 ; Crozet *et al.*, 2018).

**e. Fruit**

Le fruit se développe très rarement puisque du fait de la triploidie de *Crocus sativus*, la fécondation ne se fait quasiment jamais (Aucante, 2000).

**10. Composition chimique du safran**

La composition du safran est très complexe : il contient plus de 150 composés volatils et aromatiques. Le safran possède également plusieurs composés non-volatils, les principaux étant les caroténoïdes. Ces composés ont été identifiés par HPLC (High-Performance Liquid Chromatography) Lech *et al.*, (2009). La lyophilisation peut être appliquée au safran, car aucune perte en composés volatils majeurs n'a été constatée. La détermination de la composition chimique du safran est délicate, car elle suppose une identification botanique correcte, des stigmates non adultérés et sans déchets floraux Basker, (1999) ; Moghaddasi, (2010). Des données moyennes de l'analyse chimique du safran sont indiquées dans le (Tableau 2).

**Tableau 2:** Composition chimique du safran.

Composant	Masse (%)
Glucides (glucose, fructose, gentibiose, xylose et ramones)	12,0–15,0
Lipides ( glucose, fructose, gentibiose, xylose et ramones)	3,0–8,0
Eau	9,0–14,0
Polypeptides	11,0–13,0
Cellulose	4,0–7,0
Minéraux	1,0–1,5
Crocine	10
Picrocrocine	4
Safranal	60
Divers non-azotés	40

Compte tenu de sa large gamme d'utilisations médicales, le safran a été l'objet de vastes études phytochimiques et biochimiques et une variété d'ingrédients biologiquement actifs ont été isolés. Les métabolites secondaires majoritaires du safran sont : la crocine, responsable de la couleur rouge-jaune, la picrocrocine responsable de la saveur et le safranal, composé volatil majoritaire, responsable de l'odeur et de l'arôme.

#### a. La crocine (C<sub>44</sub> H<sub>64</sub> O<sub>24</sub>)

Est un diester formé par la crocétine liée à chaque extrémité par un diholoside, le gentiobiose. Elle appartient à la famille des C<sub>20</sub>-caroténoïdes, rouge et soluble dans l'eau. C'est le métabolite biologiquement actif du safran et responsable de sa couleur. En effet, l'application principale du safran concernant ses propriétés antioxydantes et antitumorales, proviennent essentiellement de la crocine (**Gutheil *et al.*, 2012**).

#### b. La picrocrocine (C<sub>16</sub> H<sub>26</sub> O<sub>7</sub>)

Est un glycoside inodore et incolore, responsable de la saveur amère du safran. Le clivage des doubles liaisons adjacentes aux cycles de la zéaxanthine entraîne la formation d'une molécule de crocétine et de deux molécules de picrocrocine **Schmidt *et al.*, (2007)**. Elle constitue également le précurseur du safranal (**Tarantilis *et al.*, 1995**).

### c. Le safranal (2, 6,6-triméthylcyclohexa-1,3- dienal)

Est le composé majoritaire de la fraction volatile du safran. C'est une molécule organique se présentant sous forme d'huile essentielle volatile. Il est peu ou pas présent dans les stigmates frais, Sa concentration dépend des conditions de séchage et de conservation du safran. Le safranal est un produit d'hydrolyse de la picrocrocine. L'humidité dégrade la crocine et la picrocrocine, mais permet le développement de l'arôme du safran, le safranal. Les mécanismes de développement de l'arôme lors du séchage et les cinétiques de dégradation des métabolites secondaires lors du stockage du safran sont complexes et peu connus (Rodel et Petrzika, 1991).

Le safran sec est sensible aux fluctuations du pH et sa composition chimique se dégrade rapidement en présence de lumière et à l'air libre. À l'humidité, le safran perd son arôme et noircit. Une auto-oxydation dans le temps de la crocine et de la picrocrocine est observée pour des températures supérieures à 25 °C et à des taux d'humidité relative supérieurs à 23 %. Cette dégradation est expliquée par la fonction antioxydante protectrice des caroténoïdes. En effet, ils génèrent de l'oxygène sous forme singulet, initiant ainsi le processus d'auto-oxydation. C'est pourquoi, il doit être conditionné dans un récipient hermétique, et gardé dans un endroit sec et frais (Figure 06) (Tsimidou et Biliaderis, 1997).

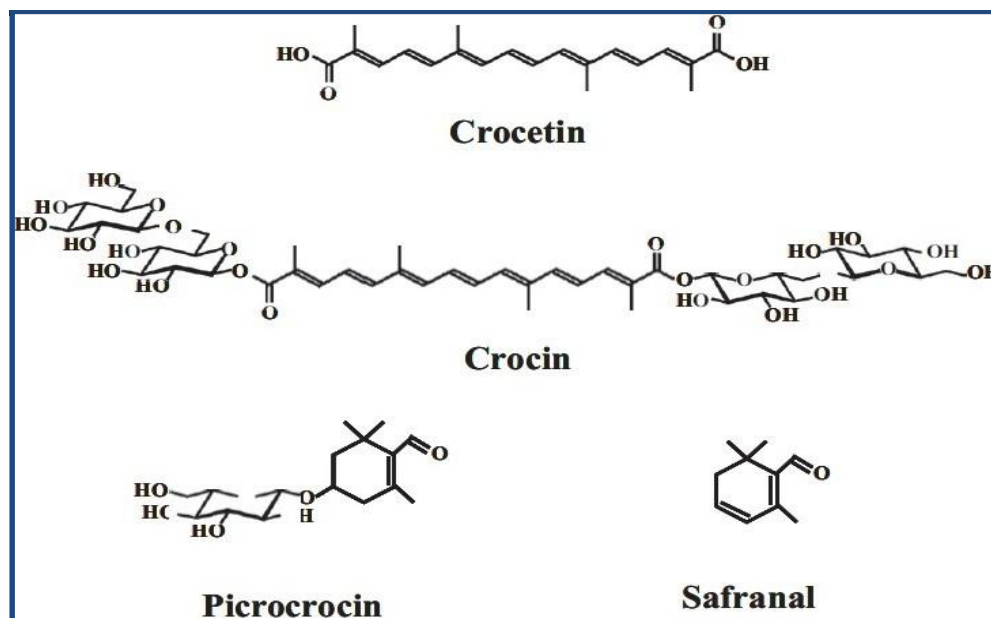


Figure 06 : Structure chimique de composés active de la *Crocus sativus* (Evans, 1996).

### 11. L'usage du safran

De l'antiquité à l'époque actuelle, et partout chercheurs de monde, la plus grande partie de safran produit était et est toujours utilisé en cuisine, les traditions culinaires suivant l'expansion de la culture en Afrique, en Asie, en Europe et en Amérique. La couleur jaune

d'or du safran a été employé pour l'agro-alimentaire, peinture et colorer des textiles. D'un point de vue médical, le safran était autrefois utilisé pour traiter un large éventail de maux, aussi divers que la variole, la peste bubonique ou encore les indigestions. Actuellement, essais cliniques démontrent le potentiel du safran en tant qu'agent antioxydant et comme anticancéreux **Verma et Bordia, (1998)** ; **Chryssanthi et al., (2011)**, et utilisée dans le domaine des cosmétiques, Des teintures et dans la médecine traditionnelle (**Claire, 2015**).

### 11.1 En thérapeutique

#### a. Protection du système cardio-vasculaire

Le safranal de safran protège les cellules cardiaques en augmentant la défense antioxydant dans le cas d'endommagements dû à l'ischémie/ reperfusion ou de l'isoprotérénol, une molécule toxique pour les cellules myo-cardiaques **Hosseinzadeh et al., (2009)** ; **Crozet, (2012)** ; **Joukar et al.,(2013)** ; **Qi et al., (2013)** et dans le cas des maladies cardiovasculaires **Kamalipour et Akhondzadeh, (2011)** ; **Sachdeva et al., (2012)**. Au niveau vasculaire, le safran ou ses constituants (crocine, crocétine) sont capables de limiter le développement de plaques d'athérome chez l'animal (**Crozet, 2012**).

#### b. Anti-Alzheimer

Le safran peut empêcher l'agrégation et le dépôt du peptide  $\beta$  amyloïde dans le cerveau humain et peut donc être utile et efficace dans la maladie d'Alzheimer **Akhondzadeh et al., (2010)**, le trans-crocine-4, le digentibiosylester de la crocétine a inhibé la fibrillogénèse A- $\beta$  qui formé par l'oxydation des fibrilles de  $\beta$ -peptide amyloïdes dans la maladie d'Alzheimer. Cette étude par des tests psychométriques : le test ADAS-cog (Alzheimer's Disease Assessment Scale-cognitive-subscale) et le test CDR (Clinical Dementia Rating) **Rahimi, (2015)**.

#### c. Antidépresseurs

L'action du safran sur les dépressions légères à modérées a fait l'objet de plusieurs études chimiques **Hausenblas, (2013)** ; **Lopresti, (2014)**. Le safran est efficace que les traitements de référence pour réduire la sévérité des symptômes de la dépression, il a des effets antidépresseurs **Goetz, (2018)** par des propriétés antioxydants, anti-inflammatoires et neuroprotectrices (**Lopresti, 2014**).

#### d. Anti-cancer et anti-tumorale

Les extraits du safran ont un effet antitumoral in vivo et in vitro contre plusieurs types de cancer dont : le cancer colorectal, le cancer hépatocellulaire et le cancer de la prostate. Dans les extraits du safran, les caroténoïdes sont les principes actifs. Les mécanismes anticancéreux du safran ne sont pas encore bien élucidés mais plusieurs activités ont été

proposées dont : la promotion de l'apoptose, la réduction de la prolifération et de la synthèse d'ADN des cellules tumorales, la diminution de l'inflammation, la réduction du stress oxydatif et l'augmentation des enzymes antioxydants. Les extraits du safran s'avèrent non toxiques sur les cellules saines, Mais sélectivement cytotoxiques pour les cellules cancéreuses. De plus, le safran possède une activité anti-mutagénique. La crocine, dérivée du safran dispose d'un effet inhibiteur puissant sur la formation des colonies cellulaires tumorales. Il a été démontré que le traitement par l'extrait de *Crocus sativus* prolonge significativement, jusqu'à presque trois fois, La durée de vie des souris traitées par la cisplatine (Nathalie, 2014).

#### e. Antitussive

L'extrait éthanolique de *Crocus sativus*. L et son safranique constitutif a permis de réduire le nombre de toux chez les cobayes lorsqu'ils sont injectés intrapéritonéalement. Lorsqu'une solution d'acide citrique (20%) a été utilisée pour induire la toux (Bhargava, 2011).

#### f. Anti-convulsivante

Les activités anti-convulsivantes des constituants des stigmates de *Crocus sativus*. L, safranal et crocine, ont été évaluées chez des souris utilisant des convulsions induites par le pentylènetétrazole (PTZ) chez la souris. Le safranal (0,15 et 0,35 ml/kg de poids corporel) a réduit la durée de la crise, a retardé l'apparition des convulsions toniques et a protégé de la mort des souris. Crocine (22 mg/kg) n'a pas montré d'activité anti-convulsivante (Rahimi, 2015).

#### g. Activité antidiabétique

Il a été constaté que l'extrait méthanolique du safran, de crocine et de safranal, notamment réduit la glycémie à jeûne. L'étude indique que la crocine a été trouvée pour réduire considérablement le glucose du sang. L'administration orale d'extrait de safran régule l'insuline sérique chez les rats diabétiques par rapport aux groupes témoins de la maladie (Rahmani et al., 2017).

#### h. Activité antimicrobienne

Un micro-organisme multi résistant aux antibiotiques est en augmentation alarmante dans le monde. En tant que module de traitement contre les micro-organismes, les produits naturels ou dérivés de plantes médicinales représentent un symbole de bonne source d'agents antimicrobiens sans aucun effet secondaire indésirable. Différentes parties de *Crocus sativus*, telles que les étamines et la corolle ont été utilisées comme source d'agents antimicrobiens. Les extraits de *Crocus sativus* contre diverses souches bactériennes ont confirmé une activité améliorée contre les bactéries et les champignons utilisés comme organismes d'essai. En

outre, les effets antibactériens d'autres mélanges comme les extraits aqueux, éthanoliques et méthanoliques des pétales ont été mesurés par rapport aux agents pathogènes d'origine alimentaire et les résultats ont confirmé que ces extraits présentent une activité antimicrobienne contre la plupart des bactéries pathogènes (**Rahmani et al., 2017**).

### **i. Activité hypolipidémique**

Crocine, l'une des composants du safran a été montrée pour produire un effet hypolipidémique dans la plage de doses de 25 mg/kg à 100 mg/kg poids corporel chez les rats hyperlipidémiques induits par l'alimentation en inhibant lipase pancréatique conduisant ainsi à une mauvaise absorption des graisses (**Bhargava, 2011**).

## **11.2 Autres utilisation**

### **a. Safran comme teinture**

Les colorants et les vêtements colorés (pigment principal de safran sont l'a-crocin, un caroténoïde hydrosoluble). Le safran a été utilisé comme tache histologique, c'est-à-dire en tant que colorant pour le tissu conjonctif (**Srivastava et al., 2010**).

### **b. Safran comme parfum**

Un composé agréablement odoriférant, safranal, se développe pendant le processus de séchage, probablement par une dissociation enzymatique ou thermique du composé amer, picrocrocin (**Srivastava et al., 2010**).

### **c. Safran en nourriture**

Il remplit les fonctions d'une épice, en ajoutant son arôme faible, délicat, sa saveur agréable et sa magnifique couleur jaune pour améliorer la palatabilité (**Srivastava et al., 2010**).

### **d. Côté cuisine**

Le safran est de plus en plus présent dans les cuisines. Il parfume avec subtilité viandes et poissons, légumes, riz et pâtes, rehausse la saveur des desserts et apporte une couleur exceptionnelle, jaune or, aux plats. Le safran ne révèle jamais ses saveurs instantanément : il a besoin d'infuser une demi-heure minimum pour développer ses arômes. L'infusion de safran dans un liquide acide (citron), du lait, de la crème fraîche, ou une sauce chaude, permet d'introduire l'épice dans un plat en fin de cuisson et de lui éviter ainsi la dégradation due à un long mijotage. Le safran ne supporte ni la friture, ni l'ébullition prolongée. L'acidité optimise son goût, les corps gras le fixent. Le safran peut être mélangé avec d'autres arômes et épices (thym, ail, anis, cannelle, gingembre), il va alors agir comme exhausteur de goût (**Chahine, 2014**).

### e. Safran comme pigment naturel dans les cosmétiques

Historiquement, les pigments végétaux tels que la curcumine et le safran, ont été utilisés pour colorer les aliments et les cosmétiques pendant des siècles. Cependant la tendance actuelle va vers des ingrédients naturels sains incorporés dans ces produits cosmétiques. Dans les cosmétiques, le safran a été utilisé à des niveaux faibles en raison de son coût élevé. Il a été utilisé comme substitut du curcuma. Il est également utilisé comme substitut de la tartrazine (Mzabri *et al.*, 2019).

### f. Safran comme Agent anti-UV

Le safran est connu pour ses effets anti-solaires qui peuvent protéger la peau des rayons UV nocifs. Des études montrent que la lotion au safran peut être un meilleur écran solaire que l'homosalate (un composé organique utilisé dans certains écrans solaires). Le safran peut donc être utilisé comme un agent naturel d'absorption des UV (Mzabri *et al.*, 2019).

## 12. Etude de Toxicité du safran

Le safran est non toxique dans les études animales, non cytotoxique dans les études in vitro. Les bulbes sont toxiques pour les jeunes animaux. En ce qui concerne les valeurs DL 50 et les doses maximales non mortelles, les extraits de stigmatisation étaient plus toxiques que l'extrait de pétales et ont été rapportés à 1,6 g / kg, ip et 3,38 g / kg, ip chez la souris. Les études de toxicité ont montré que les paramètres hématologiques et biochimiques étaient dans les normes physiologiques avec l'extrait de safran (Ahmed *et al.*, 2010).

Chez l'homme, des études de toxicité montrent que les paramètres hématologiques et biochimiques sont dans les limites normales, avec l'extrait de safran. Par conséquent, le safran est considéré comme non toxique, même à des doses élevées, supérieures à 1,5g par jour (Badie *et al.*, 2017 ; Chahine, 2014).

Comparé aux essais humains, les études in vivo chez les animaux indiquent une toxicité très basse voire même inexistante du safran et de ses extraits. Dans seulement de très rares cas, l'extrait de safran est la cause de réactions allergiques (Betti *et al.*, 2014 ; Melnyk *et al.*, 2010 ; palomares, 2015).

De plus, de nombreux cas similaires ont été signalés en Allemagne, où le safran n'est pas une culture typique, tandis que le colchique d'automne est relativement abondant. Le colchique d'automne, également surnommé « safran bâtard » se distingue de *Crocus sativus* de par ses styles blanchâtres et ses six étamines. Toutes les parties de cette plante sont toxiques (Palomares, 2015).

# Chapitre II.

---

*Généralité sur les  
métabolites secondaires*

Les métabolites secondaires, ils sont des substances qui produites par les plantes en tant que produits chimiques de défense **Kabera et al., (2014) ; Kumar et al., (2014)**. Ils sont considérés comme des sources uniques pour les additifs alimentaires des produits pharmaceutiques, des saveurs et d'autres valeurs industrielles **Tiwari et Rana, (2015)**. Leur absence ne cause pas de mauvais effets aux plantes. Ils comprennent les alcaloïdes, les phénoliques, les stéroïdes, les huiles essentielles, les lignines, les résines et les tanins, etc (**Kumar et al., 2014**).

Les métabolites secondaires sont des composés dérivés bio synthétiquement des métabolites primaires. Ils ne sont pas nécessaires à la croissance et au développement normal des plantes, et de plus, ne sont pas réalisés par des voies métaboliques communes. Dans le règne végétal, ils sont limités à l'occurrence et peuvent être limités à un genre, espèce ou famille de groupe taxonomique particulier. Les métabolites secondaires sont accumulés par les cellules végétales dans des quantités plus petites que les métabolites primaires. Ces métabolites secondaires sont synthétisés dans des cellules spécialisées à des stades de développement particuliers rendant l'extraction et la purification difficiles (**Kumar et al., 2014**).

### I. Polyphénols

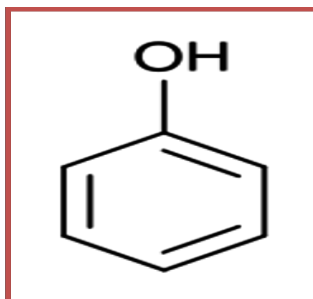
Les polyphénols, dénommés aussi composés phénoliques, sont des molécules spécifiques du règne végétal et qui appartiennent à leur métabolisme secondaire **Mompon et al., 1996 ; Chen et al., (2008)**. On les trouve dans les plantes, depuis les racines jusqu'aux fruits. Leurs fonctions ne sont pas strictement indispensables à la vie du végétal, cependant ces substances jouent un rôle majeur dans les interactions de la plante avec son environnement **Richter, (1993)**, contribuant ainsi à la survie de l'organisme dans son écosystème. Le terme « phénol » englobe approximativement 10000 composés naturels identifiés **Martin et Andriantsitohaina, (2002) ; Druzynka et al., (2007)**. L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau phénolique à 6 carbones, auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle (OH) libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester ou hétéroside **Bruneton, (1999) ; Balasundram et al., (2006)**.

La classification des polyphénols est basée essentiellement sur la structure, le nombre de noyaux aromatiques et les éléments structuraux qui lient ces noyaux. On peut distinguer deux catégories : les composés phénoliques simples et les composés phénoliques complexes (**Clifford, 1999 ; Gargiulo et al., 2007**).

## I.1. Polyphénols simples

### I.1.1. Acides phénoliques

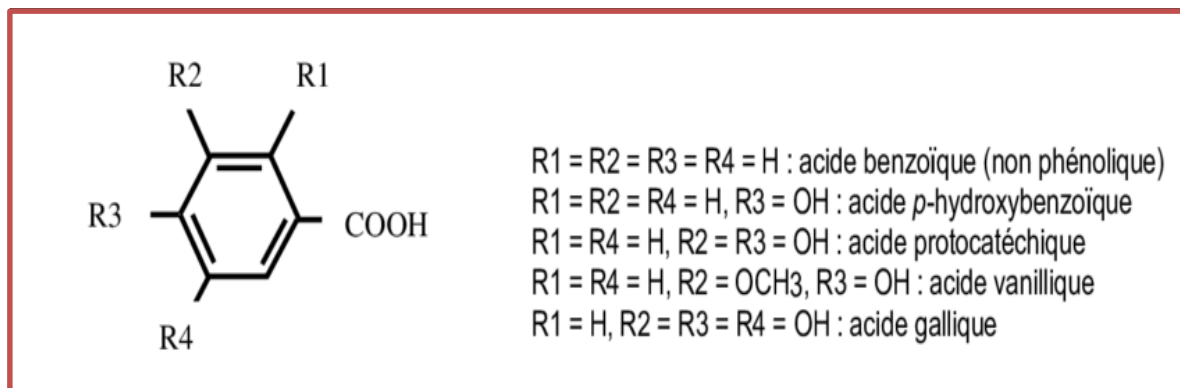
Les acides phénoliques sont des métabolites végétaux secondaires aromatiques largement répartis dans tout le règne végétal **Saxena *et al.*, (2012)**. Ils peuvent être divisés en deux groupes principaux, les acides hydrox benzoïques et hydrox cinnamiques, dérivés des molécules non phénoliques de l'acide benzoïque et de l'acide cinnamique, respectivement **Heleno *et al.*, (2015)**. Les acides benzoïques ont sept atomes de carbone (C6-C1) et sont les acides phénoliques les plus simples trouvés dans la nature. Les acides cinnamiques ont neuf atomes de carbone (C6-C3) **Abdelrazag, (2013)**. Les acides hydrox cinnamiques sont plus fréquents que les acides hydrox benzoïques et se composent principalement d'acides p-coumariques, caféins, feruliques et sinapiques (**Figure 07**).



**Figure 07:** Structure de base des composés phénoliques (**Sarni-Manchado et Cheynier, 2006**).

#### a. Dérivés de l'acide hydroxybenzoïque (C6-C1)

Ces acides sont très communs aussi bien sous forme libre que sous forme combinée à l'état d'esters ou hétérosides **Bruneton, (2008)** ; **Skerget *et al.*, (2005)**. Cette catégorie est abondante dans les végétaux et les aliments, notamment les épices, les fraises, certains fruits rouges et l'oignon dans lesquels les concentrations peuvent atteindre plusieurs dizaines de milligrammes par kilogramme de fruits frais **Manach, (2004)**. Les dérivés de l'acide hydroxybenzoïque les plus répandus sont illustrés dans la (**Figure 08**).

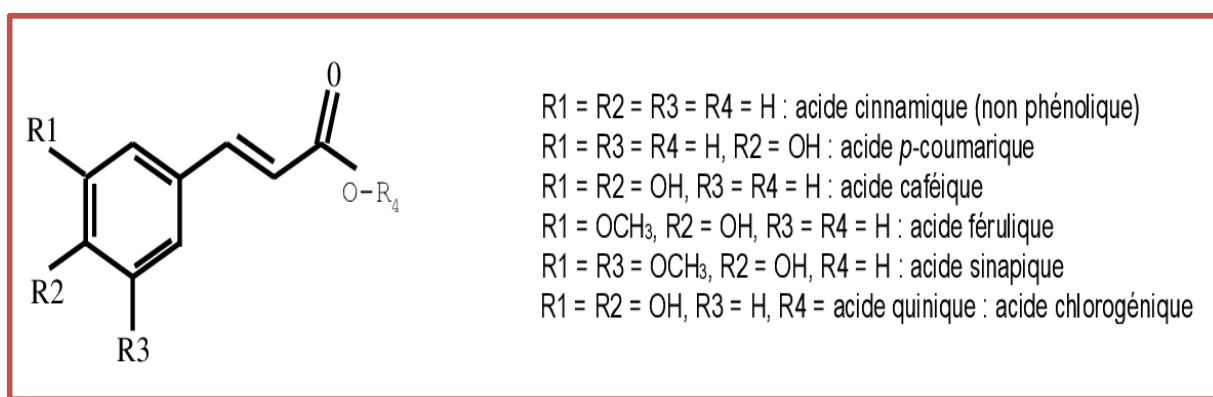


**Figure 08 :** Structures chimiques des acides hydroxybenzoïques (**Bruneton, 2008**).

### b. Dérivés de l'acide hydroxycinnamique (C6-C3)

Ces composés ont une distribution très large. Rarement libres, ils sont souvent estérifiés (Skerget *et al.*, (2005) et peuvent également être amidifiés ou combinés avec des sucres (O-acylglucosides, Oarylglucosides) ou des polyols tels que l'acide quinique (Figure 09) (Bruneton, 2008).

L'acide caféique est le principal représentant de cette catégorie. Il est présent dans de nombreux végétaux (graine de café, tomate, olive, pomme), en particulier dans les fruits. Il représente 75 à 100% de la teneur totale en acides hydroxycinnamiques de la majorité des fruits, principalement sous forme d'ester de l'acide quinique (acide chlorogénique) (Manach, 2004).



**Figure 09** : Structures chimiques des acides hydroxycinnamiques (Han *et al.*, 2007 ; Chira., *et al.*, 2008).

### I.2. Flavonoïdes

Les flavonoïdes (du latin flavus, jaune) sont des substances généralement colorées répondues chez les végétaux ; on les trouve dissoutes dans la vacuole à l'état d'hétérosides ou comme constituants de plastes particuliers, les chromoplastes Guignard, (2000). Ces métabolites secondaires, sont reconnus comme les pigments qui colorent la plupart des fleurs, des fruits et des graines (Ferreyra *et al.*, 2012).

Les flavonoïdes appartiennent à la grande famille des polyphénols. Ces derniers se subdivisent en 10 classes dont les flavonoïdes sont la classe la plus abondante. À eux seuls, ils représentent 60% des composés polyphénoliques. Les flavonoïdes sont constitués d'un même élément structural de base formé par deux cycles benzéniques (cycles A et B), reliés par une chaîne linéaire à trois carbones qui forme un hétérocycle oxygéné (cycle C) (Figure 10) (Ramos, 2007 ; William et Grayer, 2004).

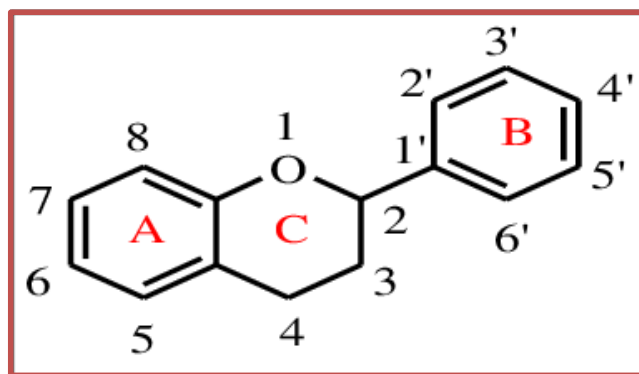


Figure 10: Structure de base des flavonoïdes (Crozier, 2003).

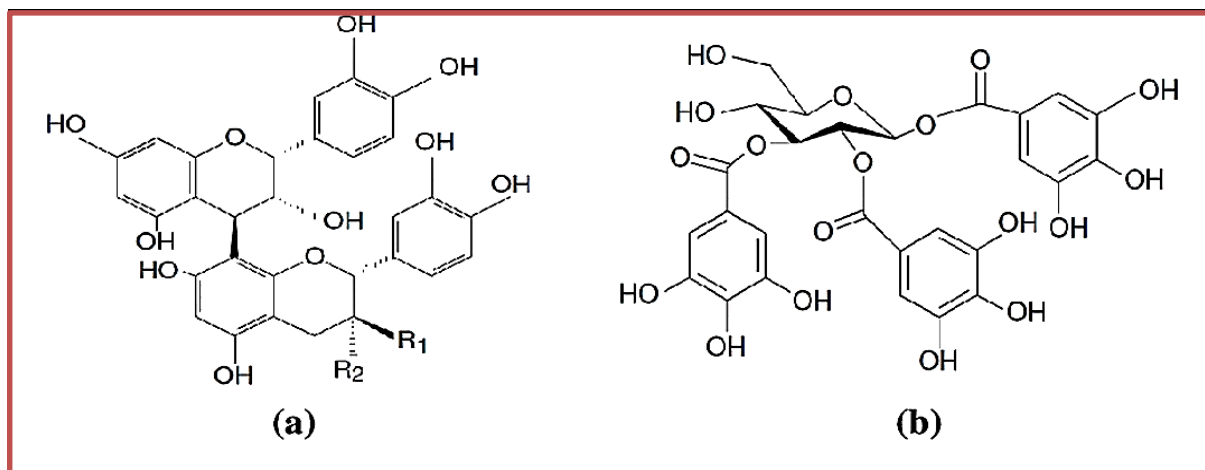
### I.3. Polyphénols complexes (tanins)

#### I.3.1. Tanins hydrolysables

Sont des hétéro polymères (Figure 11) possédant un noyau central constitué d'un polyol, il s'agit souvent d'un D-glucose; comme leur nom l'indique, ces substances s'hydrolysent facilement en milieux acides et alcalins ou sous l'action d'enzymes (telle que la tannase), pour donner des glucides et des acides phénoliques **Leinmuller et al., (1991)**. Ils sont facilement scindés par les enzymes de tannase en oses et en acide phénol, selon la nature de celui-ci on distingue: les tanins galliques (Gallo tanins), ils donnent par l'hydrolyse des oses et de l'acide gallique et les tanins ellagiques (Ellagitanins), Ainsi sont scindés par les enzymes en oses et en acide ellagique (**Paris et Hurabielle, 1980**).

#### I.3.2. Tannins condensés

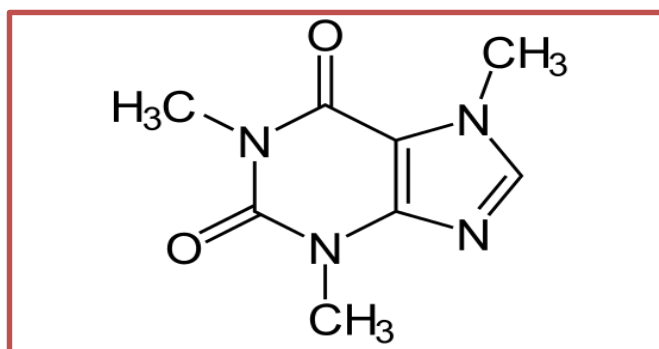
Ce sont des tanins non hydrolysables (Catéchiques et Proanthocyaniques), ils sont plus complexes que les tanins galliques (figure 11), ils possèdent un squelette phényl-2-chromane de flavonoïdes **Alilou, (2012)**. Il est admis aujourd'hui que ces tanins sont constitués par le mélange de produits de polymérisation oxydative de catéchines (flavan-3-ols) et de proanthocyanes (flavan-3, 4-dioles), on peut les qualifier encore de tanins flavaniques (**Richter, 1993**).



**Figure 11** : Structure chimique des tanins (a) hydrolysables (b) condensés (Derbel et Ghedira, 2005).

## II. Alcaloïdes

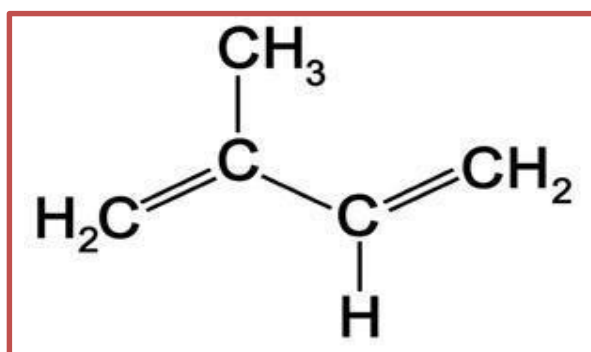
Les alcaloïdes constituent une classe importante de composés structurés diversifiés qui ont l'atome d'azote dans le noyau hétérocyclique et qui sont dérivés des acides aminés. Le terme « alcaloïdes » a été inventé par le chimiste allemand Carl F. W. Meissner en 1819 et le mot est dérivé du nom arabe al-kaly qui est lié à la plante dont la soude a été isolée en premier. Environ 10-15% des plantes vasculaires synthétisent des alcaloïdes. Les familles qui ont une tendance marquée à synthétiser des alcaloïdes se rencontrent aussi bien chez les monocotylédones que chez les dicotylédones. Le plus souvent, les alcaloïdes se trouvent dans les plantes sous la forme de sels d'acides organiques solubles dans l'eau. Les alcaloïdes ont profondément influencé l'histoire humaine en raison de leur large éventail d'effets physiologiques sur les animaux et de propriétés pharmacologiques telles que les antibiotiques, les anticancéreux et leur exploitation potentielle comme stupéfiants, poisons et stimulants. Jusqu'à ce jour, environ 12 000 alcaloïdes sont isolés de différents genres de règnes végétaux (Figure 12) (Kaur et Arora, 2015).



**Figure 12** : Structures chimiques de alcaloïdes (Bruneton, 2009).

### III. Terpénoïde

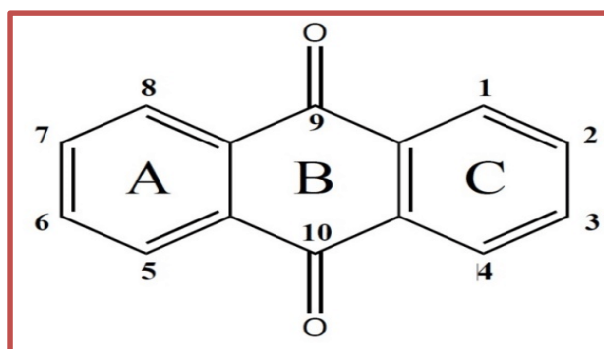
Les terpénoïdes composés d'unités « isoprénoïdes » constituent l'un des plus importants groupes de produits naturels, représentant plus de 40 000 composés individuels, et plusieurs nouveaux composés sont découverts chaque année. La plupart des terpénoïdes sont d'origine végétale ; Cependant, ils sont également synthétisés par d'autres organismes, tels que des bactéries et des levures, dans le cadre du métabolisme primaire ou secondaire **Thoppil et Bishayee, (2011)**. Les terpènes sont subdivisés, selon le nombre d'entités isoprène qui sont incorporés dans leurs structures, en monoterpènes (C10), sesquiterpènes (C15), diterpènes (C20), sesterpènes (C25), triterpènes (C30) (**Figure 13**) (**Kabouche, 2005**).



**Figure 13:** Structure chimiques de terpénoïdes (**Hopkins, 2003**).

### IV. Anthraquinones

Les anthraquinones sont des principes assez fréquents chez les Rubiaceae. Elles appartiennent à la famille des anthracénosides et existent dans les plantes à l'état de génine libre ou sous forme d'hétéroside. Ces composés sont constitués de trois cycles accolés, dont un des cycles est le plus souvent oxydé. Les cycles benzéniques peuvent porter une ou plusieurs fonctions hydroxyles, carboxyles, méthyles, méthoxyles, hydroxyméthyles et former des O-hétérosides avec différents sucres (**Figure 14**) (**Bertille, 2011**).



**Figure 14:** Structure chimiques de Anthraquinones (**Bertille, 2011**).

## V. Saponosides

Les saponosides ou saponines (du mot latin *sapo* est signifié savon), ont reçu leur nom du fait qu'elles produisent une mousse semblable à celle du savon **Hart *et al.*, (2008)**. Ce sont des glycosides terpéniques, ayant un poids moléculaires élevé. Elles se composent d'une fraction aglycone hydrophobe (un noyau stéroïdique ou triterpénique) liée à une chaîne mono ou polysaccharidique hydrophile (**Wallace, 2004**).

Les saponosides ont des propriétés physicochimiques (émulsification, solubilisation) et biologiques (antioxydant, antimicrobien, hémolytique), elles ont utilisé dans l'industrie pharmaceutique, cosmétique et dans la nourriture (**Justin *et al.*, 2014**).

# Chapitre III.

---

*Stress oxydatif*

L'intérêt métabolique des antioxydants alimentaires, à l'heure actuelle, l'objet d'un grand nombre de travaux. Parmi ces antioxydants, de nombreux auteurs ont mis en évidence le rôle prépondérant des polyphénols **Subirade *et al.*, (1995)**. Rôle des radicaux libres et des espèces oxygénées réactives dans la genèse de nombreuses maladies a fait l'objet d'un très grand nombre de travaux **Fuhrman *et al.*, (1995)**. Les flavonoïdes sont susceptibles de réagir avec la plupart des espèces réactives oxygénées et piéger les radicaux libres (**Halliwell et Cross, 1994**).

Les radicaux libres sont des espèces chimiques présentant un ou plusieurs électrons célibataires (le radical hydroxyle OH<sup>•</sup>, l'anion superoxyde O<sub>2</sub><sup>•-</sup>, l'oxyde nitrique NO<sup>•</sup> ...). Ils sont produits naturellement dans l'organisme (**Fuhrman *et al.*, 1995**).

Dans les conditions physiologiques normales, du fait de l'efficacité des systèmes de défense, ces radicaux libres n'auront pas d'effets néfastes majeurs. Toutefois, si des quantités importantes de radicaux sont générées, dépassant les possibilités de protection enzymatique et épuisant le pool de divers capteurs, alors, ces radicaux libres vont engendrer :

- Peroxydations lipidiques favorisant l'athérosclérose et le vieillissement.
- Modifications oxydatives des protéines les rendant inactives.
- Dommages oxydatifs de l'ADN et de l'ARN aboutissant à des mutations et à la cancérisation (**Frenkel et Chrzan, 1987**).

## 1. Définition

Le stress oxydatif se définit comme étant un déséquilibre profond de la balance entre les prooxydants et les antioxydants en faveur des premiers **Pincemail *et al.*, (1999)**. Cette situation peut résulter d'un dysfonctionnement de la chaîne mitochondriale (ischémie-reperfusion, vieillissement), d'une activation de systèmes enzymatiques (xanthine oxydase, NADPH oxydase, glucose oxydase, monoamine oxydase), d'une libération de fer libre à partir des protéines chélatrices (ferritine) ou d'une oxydation de certaines molécules (glucose, hémoglobine, catécholamines, ...). Enfin, une mauvaise alimentation pauvre en antioxydants contribuera également à l'apparition d'un stress oxydant (**Pincemail *et al.*, 2002**).

## 2. Radicaux libres

Les travaux sur les radicaux libres (R<sup>•</sup>) se sont multipliés dans des domaines aussi variés que la biochimie, la physiopathologie et la physiologie de l'exercice **Tessier *et al.*, (1995)**. Les radicaux libres (R<sup>•</sup>) sont des molécules ou des atomes qui possèdent un ou plusieurs électrons non appariés sur leur couche externe **Poortmans *et al.*, (2003)**. Ce sont des espèces chimiques, capables d'existence indépendante, qui peuvent être formées par la perte ou le gain

d'électrons à partir d'un composé non radical. Ils peuvent aussi apparaître au moment de la rupture symétrique d'une liaison covalente après laquelle chaque atome conserve un électron et devient un radical libre, donc sont des espèces chimiques instables, très réactives **Tessier et al., (1995)** et possèdent un temps demi-vie extrêmement court: 10-9 jusqu'à 10-6 second (**Thiebault et al., 1998**).

### 3. Différentes types des radicaux libres

Les espèces radicalaires les plus importantes en biologie sont les radicaux libres Oxygénés (RLO) et le monoxyde d'azote (NO) (**Lacollry et al., 2007**) (**Tableau 3**).

#### 3.1. Dérivés activés de l'oxygène

##### 3.1.1. Oxygène

L'oxygène moléculaire ou dioxygène est en fait un biradical qui possède deux électrons non appariés **Lacollry et al., (2007)**. Elle est accepteuse final des électrons ( $O_2 + 4e^- + 4H^+ \longrightarrow 2H_2O$ ), une fois leur énergie récupérée au long de la chaîne respiratoire mitochondriale pour la synthèse de l'ATP, source même de la vie cellulaire. Mais elle est aussi l'accepteur intermédiaire d'électron donnant naissance à des radicaux libres oxygéné très réactifs (**Moussard, 2006**).

##### 3.1.2. Anion super oxyde ( $O_2^{\cdot-}$ )

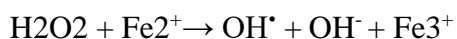
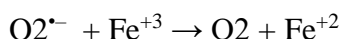
L'ion radicale superoxyde, qui dérivé de l'oxygène moléculaire par fraction d'un électron supplémentaire ( $O_2 + e^- \longrightarrow O_2^{\cdot-}$ ). Il contient 17 électron pour 16 proton : il porte une charge négative en même temps qu'un électron célibataire qui le rend instable (**Borel et al., 1997**).

##### 3.1.3. Peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ )

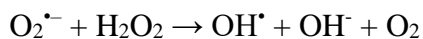
Le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ), qui n'est pas un radical libre, peut être formé secondairement à la dismutation de ( $O_2^{\cdot-}$ ) par le superoxyde dismutase ou produit par réduction bivalente de l'oxygène grâce à un grand nombre de déshydrogénase, la xanthine oxydase, l'uricase, la mono-amine-oxydase (**Jadot, 1994**).

##### 3.1.4. Radical hydroxyle ( $OH^{\cdot}$ )

Le radical hydroxyle ( $OH^{\cdot}$ ) est produit principalement à partir de l'anion superoxyde et du peroxyde d'hydrogène en présence d'ions ferriques, au cours des réactions de Fenton et d'Haber-Weis.



Réaction de Fenton

Réaction d'Haber-Weiss (**Vergely *et al.*, 2003**).

Les radicaux hydroxyles sont des espèces très réactives à durée de vie très courte. Ils sont également peu ou pas sélectifs (**Crini *et al.*, 2007**).

### 3.1.5. Acide hypochloreux (HOCl)

Dans le polynucléaire neutrophile, la myéloperoxidase (MPO) génère l'acide hypochloreux (HOCL) oxydant très puissant, à partir de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et du chlore **Lacollry *et al.*, (2007)**, Capable de chlorer les molécules (**Serteyn *et al.*, 2002**).



### 3.2. Monoxyde d'azote (NO')

Le NO est un élément radicalaire présent sous forme gazeuse, lui conférant ainsi un fort pouvoir de diffusion dans les milieux biologiques **Besnier *et al.*, (2015)**. Monoxyde d'azote NO est très réactif et le demi de vie très brève, de 1 à 5 secondes, il est vite dégradé par des processus non enzymatiques **Garrett *et al.*, (2000)**. Le NO est une molécule instable synthétisée par les cellules endothéliales **Haleng *et al.*, (2007)** formée par la conversion de l'arginine en citrulline sous la catalyse de NO-synthases (**Hennen, 2001**) (**Tableau 3**).

**Tableau 03:** L'ensemble des différents types des espèces radicalaires (Fatmah *et al.*, 2012).

Radicaux	Non Radicaux
<b>Espèces réactives d'oxygène</b>	
Superoxide, $O_2^{\bullet-}$	Hydrogen peroxide,
Hydroxyl, $OH^{\bullet}$	$H_2O_2$ Hypochlorous
Peroxyl, $ROO^{\bullet}$	acid, $HOCl^-$ Ozone, $O_3$
Alkoxyl, $RO^{\bullet}$	Singlet oxygen, $^1O_2$
Hydroperoxyl, $HO_2$	Peroxynitrite, $ONOO^-$
<b>Espèces réactives d'azote</b>	
	Peroxynitrite, $ONOO^-$
	Alkyl peroxyntrites,
	$ROONO$ Dinitrogene
	trioxide, $N_2O_3$ Dinitrogen tetroxide,
Nitric oxide, (nitrogen mono)	$N_2O_4$ Nitrous acid, $HNO_2$
$NO^{\bullet}$ Nitrogen dioxide, $NO_2^{\bullet}$	Nitronium anion, $NO_2^+$
	Nitroxyl anion,
	$NO^-$ Nitrosyl cation,
	$NO^+$ Nitryl
	chloride, $NO_2Cl$
<b>Espèces réactives chlorés</b>	
	Hypochlorous acid,
Atomic chlorine, $Cl^{\bullet}$	$HOCl$ Chlorine, $Cl_2$
	Nitronium (nitryl ) Chloride, $NO_2Cl$

#### 4. Origine des radicaux libres

Les ERO peuvent avoir différentes sources cellulaires, mais la mitochondrie représente une source importante (Bonnefont-Rousselot, 2014).

##### 4.1. Sources endogènes

Se situent au niveau des chaînes respiratoires de la mitochondriales des cellules aérobies de l'organisme (NADH déshydrogénase) Arousseau, (2002). Les radicaux libres peuvent également être formés au niveau du réticulum endoplasmique. Dans le muscle, les sites de production sont aussi les lysosomes, les peroxysomes, le réticulum nucléaire et sarcoplasmique, le sarcolemme et le sarcoplasme.

## 4.2. Sources exogènes

Sont multiples : l'oxygène et les radiations (ultra-violet, rayons gamma) et certains toxiques comme la bléomycine, le benzopyrène, les polluants atmosphériques, pour n'en citer que quelques-uns (**Thiebault et al., 1998**).

## 5. Cibles biologiques des radicaux libres

### 5.1. Lipide

Les acides gras polyinsaturés comme les acides linoléiques ou arachidoniques sont les cibles privilégiées des EOA et plus particulièrement des radicaux libres. Dans une première étape, ils se transforment en peroxydes lipidiques (ROOH). Sous l'action de métaux de transition (fer, cuivre), les peroxydes lipidiques se décomposent ensuite en toute une série de sous-produits que sont les aldéhydes et les hydrocarbures **Pincemail et al., (1999)**. La phase terminale de dégradation conduira à des aldéhydes, parmi lesquels on peut citer le malondialdéhyde (MDA), le 4-hydroxynonanal (4-HNE), ou les isoprostanes (**Poisson, 2013**).

### 5.2. Protéines

Les protéines ayant des groupements sulfure ou un caractère insaturé sont particulièrement sensibles aux agressions radicalaires les conséquences sont multiples au niveau cutané: dépolymérisation du collagène, de l'élastine et de l'acide hyaluronique, rupture de molécules à l'origine d'inactivation enzymatique, de produits toxiques ou de formation d'agrégats protéiques (**Revuz, 2009**).

Ces ROS sont en effet capables de réagir avec différents acides aminés des chaînes de protéines, altérant également leur fonction. Les plus sensibles à leur action sont les acides aminés aromatiques comme le tryptophane, la tyrosine et l'histidine, sur lesquels le radical OH<sup>•</sup> s'additionne, modifiant la conformation de la protéine (**Koechlin-Ramonatxo, 2006**).

### 5.3. Acides nucléiques

Les cibles biologiques des ERO sont avant tout : l'acide désoxyribonucléique, avec altérations et cassures des brins d'ADN, responsables de modifications de l'expression du matériel génétique avec le risque de mutation **Avril, (2002)**. L'un des marqueurs d'une attaque oxydative des acides nucléiques est la présence de 8-hydroxy-guanine (8-OHG). Les dommages causés aux ARNs ne sont pas réparés ; en revanche, les processus de réparation de l'ADN semblent pouvoir éliminer pratiquement sans erreurs les lésions oxydatives de l'ADN. Cependant, si les dommages excèdent les capacités de réparation, la récupération cellulaire après un stress oxydatif peut être compromise. Par ailleurs, les cassures des brins d'ADN

causées par les ROS, activent la poly(ADP-ribose) polymérase (PARP) et son activation prolongée peut rapidement épuiser les réserves énergétiques de la cellule (**Ré et al., 2005**).

## 6. Systèmes antioxydants

Les organismes sont équipés de tout un système complexe de défenses antioxydants enzymatiques et non enzymatiques, localisé dans les compartiments intra- et extracellulaire (Dwassy, 2014). Un antioxydant est une substance qui inhibe ou retarde significativement l'oxydation d'un substrat, alors qu'elle présente une concentration très faible dans le milieu où elle intervient (**Josem et al., 1999 ; Suzy et al., 2002 ; Droge et al., 2002**).

### 6.1. Antioxydants enzymatiques

#### 6.1.1. Superoxyde dismutases (SOD)

Selon **Claudine et al., (2004)** (CuZn-SOD; EC 1.15.1.1) Ces métalloprotéines, qui représentent une des premières lignes de défense contre le stress oxydant, assurent l'élimination de l'anion super-oxyde  $O_2^{\cdot-}$  par une réaction de dismutation, en le transformant en peroxyde d'hydrogène et en oxygène **Haleng et al., (2007)**. Chez l'homme, on décrit 3 isoenzymes : la Cu/Zn-SOD1 cytosolique, la Mn-SOD2 mitochondriale et la Cu/Zn-SOD3, qui diffèrent par la localisation chromosomique du gène, leur contenu métallique, leur structure quaternaire et leur localisation cellulaire **Valéry et al., (2007)**. La SOD3 est sécrétée par les cellules musculaires lisses et constitue le système antioxydant majeur de la paroi artérielle : son expression et sa sécrétion sont augmentées par les facteurs vasoactifs (histamine, endothéline 1, angiotensine II) et diminuées par l'homocystéine (**Haleng et al., 2007**).

#### 6.1.2. Catalase

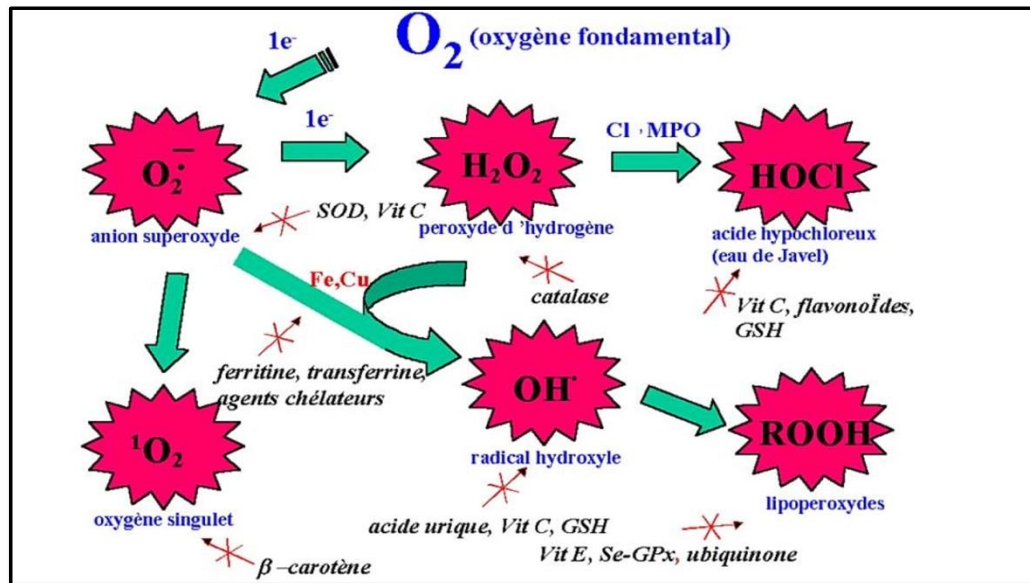
(EC1.11.1.6) elles réduisent le peroxyde d'hydrogène  $H_2O_2$  en libérant de l'oxygène et de l'eau. Elles sont localisées surtout dans les peroxysomes **Claudine et al., (2004)**, Elles n'éliminent pas la totalité du peroxyde d'hydrogène, mais leur rôle est très important surtout en présence d'ions ferreux en permettant d'éliminer l'excès de peroxyde d'hydrogène afin que la réaction de Fenton ne puisse pas s'amplifier **Goudable et al., (1996)**. L'enzyme agit sur le même substrat que la GSH-Px, avec laquelle elle peut entrer en compétition, mais son action prédomine si la production d' $H_2O_2$  est élevée (**Tessier et al., 1995**).

#### 6.1.3. Glutathion peroxydase (GSH-PX)

(GSH-Px; EC 1.11.1.9) **Claudine et al., (2004)**. Les GSH-Px réduisent le peroxyde d'hydrogène  $H_2O_2$  et les hydroperoxydes lipidiques. Pour leur fonctionnement, elles utilisent le glutathion réduit (GSH) comme cofacteur sur lequel elles transfèrent l'oxygène, le transformant en glutathion oxydé (GSSG) (**figure 15**) (**Goudable et al., 1996**).

A ce titre, le GSH constitue l'antioxydant principal de l'organisme d'autant qu'il est aussi le cofacteur de toute une série d'enzymes antioxydants (glutathion peroxydases, glutathion réductase, thiorédoxines et peroxyrédoxines) (Defraigne *et al.*, 2007).

Dans la cellule, dans les conditions physiologiques, la forme glutathion réduit est prédominant (95 %). Les GSH-Px connues sont des enzymes à sélénium. Le sélénium est intégré dans la protéine sous forme de sélénocystéine. Le facteur limitant de la synthèse des sélénoprotéines, et donc des GSH-Px, est la teneur intracellulaire en sélénium (Goudable *et al.*, 1996).



**Figure 15 :** Aperçu des espèces oxygénées activées (EOA) dérivant de l'oxygène et systèmes de protection permettant de limiter l'effet toxique de ces espèces. GSH : glutathion,  $Cl^-$  : anion chlorure ; MPO : myéloperoxydase, SOD : superoxyde dismutase, Se-GPx : glutathion peroxydase séléno-dépendante (Pincemail, 1999).

#### 6.1.4. Système thiorédoxine

Le milieu intracellulaire est plutôt réducteur, les protéines contiennent des groupements thiols libres et les ponts disulfures sont rares. L'antioxydant majeur responsable du maintien des protéines à l'état réduit est la thiorédoxine qui sera régénérée par le NADPH sous l'action de la thiorédoxine réductase (TrxR) qui possède un groupement sélénocystéine dans son site actif. Elle intervient dans la dégradation des peroxydes lipidiques et du peroxyde d'hydrogène Haleng *et al.*, (2007).

#### 6.2. Antioxydants non enzymatiques

Les systèmes antioxydants non enzymatiques sont composés principalement de substances de faible poids moléculaire montrant des fonctions réductrices ou capables de piéger les radicaux libres (Amiard *et al.*, 2008).

### 6.2.1. L'acide Ascorbique ou Vitamine C

L'ascorbate ou vitamine C est antioxydant vis-à-vis des radicaux  $O_2^{\cdot-}$ ,  $OH^{\cdot}$  et  $RO^{\cdot}$  **Moussard, (2006)**. La plupart des mammifères sont capables de synthétiser la vitamine C dans leur foie ou dans leurs reins. Ce n'est pas le cas de l'homme qui doit assurer un apport journalier d'environ 100 mg via une alimentation riche en fruits **Haleng et al., (2007)**. Elle est capable de maintenir la vitamine E sous sa forme réduite active en réagissant avec le radical tocophéryle formé lors de l'inhibition de la peroxydation lipidique membranaire par la vitamine E **Marcel et al., (2008)**. Ses fonctions sont nombreuses: contribution au bon fonctionnement du système immunitaire, implication dans la synthèse du collagène et des globules rouges ainsi que dans les mécanismes de métabolisation du fer (**Haleng et al., 2007**).

### 6.2.2. L' $\alpha$ -tocophérol (Vitamine E)

La vitamine E est le principal antioxydant liposoluble vis-à-vis du radical  $RO_2^{\cdot}$ . **Moussard, (2006)**. Le terme vitamine E englobe différents isomères, l' $\alpha$ -tocophérol étant l'antioxydant le plus efficace, notamment dans la détoxification des radicaux peroxydes et alkoxydes et donc dans la prévention des réactions en chaîne de la peroxydation lipidique **Ré et al., (2005)**. Joue a priori un rôle indirect important, par l'efficacité de ses effets, pour préserver des peroxydations la membrane mitochondriale dont l'intégrité est indispensable au fonctionnement de cette dernière. Elle intervient en synergie avec la vitamine C ou le coenzyme Q (**Aurousseau et al., 2007**).

### 6.2.3. Glutathion (GSH)

Le GSH est un tripeptide qui, sous sa forme réduite (GSH) **Lacollry et al., (2007)**, c'est un antioxydant non enzymatique présent dans l'organisme humain **Durand et al., (2008)**. C'est aussi une forme de transport et de stockage de la cystéine et du NO, un régulateur de l'apoptose et de la prolifération cellulaire, un partenaire dans les réactions de détoxification des xénobiotiques auxquels il est conjugué par la GSH S-transférase et un cofacteur des réactions d'isomérisation. D'autres composés thiolés comme l'acide  $\alpha$ -lipoïque, ainsi que certaines hormones comme la mélatonine ou les œstrogènes, ont aussi été décrits comme possédant des propriétés antioxydantes (**Ré et al., 2005**).

### 6.2.4. Caroténoïdes

Plus de 600 caroténoïdes différents ont été isolés à partir de sources naturelles, mais seul un petit nombre d'entre eux se retrouvent dans le sang et les tissus animaux. Les fruits et les légumes en sont les principales sources alimentaires. De façon formelle, tous les caroténoïdes dérivent d'une structure linéaire ( $C_{40}H_{56}$ ) avec de nombreuses doubles liaisons, le lycopène, pigment rouge présent notamment dans la tomate et le pamplemousse. Le chef de

file des caroténoïdes est cependant le  $\beta$ -carotène **Haleng et al., (2007)**, précurseur de la vitamine A à un rôle de protection des lipides membranaires en interrompant la chaîne de lipo-péroxydation par un mécanisme de transfert d'électrons (**Voyer et al., 1998**).

### 6.2.5 Polyphénols

Les polyphénols sont des molécules synthétisées par les végétaux. Ils appartiennent à leur métabolisme secondaire et participent à leur défense contre les agressions environnementales **Edeas, (2007)**. L'activité antioxydant des composés phénoliques est principalement attribuable à leurs propriétés redox, qui leur permettent d'agir comme agents réducteurs, des donneurs d'hydrogène et extincteurs de l'oxygène singlet. En outre, ils peuvent également posséder des propriétés de chélation métallique **Ihhami et al., (2009)**. La famille la plus abondante de polyphénols présents dans l'alimentation humaine, est les flavonoïdes. Les flavonoïdes sont constitués de deux noyaux aromatiques, le phénol et la pyridine, reliés par trois atomes de carbone qui proviennent souvent d'un hétérocycle oxygéné **Mónica et al., (2010)**. Les effets protecteurs des flavonoïdes contenus dans le système biologique sont attribués à leur capacité à activer les enzymes antioxydants, réduire les radicaux de l' $\alpha$ -tocophérol, inhiber les oxydases **Kelly et al., (2002)**, se lier à des molécules telles que les enzymes, les transporteurs d'hormones et l'ADN, chélate les ions métalliques de transition, catalyser le transport des électrons, et piéger les radicaux libres, y compris des anions superoxydes (**Katarzyna et al., 2001**).

## 7. Pathologie liée aux stress oxydant

L'état de stress induit des modifications oxydatives au niveau des lipides, l'ADN et les protéines. À des degrés variables, celles-ci sont impliquées dans le développement des maladies cardiovasculaires, des cancers, des complications du diabète ou encore des affections neurologiques dégénératives (**Joël et al., 2007**).

Plusieurs mécanismes pathogéniques conduisent à une augmentation du stress oxydant et semblent impliqués dans l'apparition des complications du diabète **Haleng et al., (2007)**. En faisant apparaître des molécules biologiques anormales et en surexprimant certains gènes, le stress oxydant sera la principale cause initiale de plusieurs maladies: cancer, cataracte, sclérose latérale amyotrophique, syndrome de détresse respiratoire aiguë, œdème pulmonaire, vieillissement accéléré. Ainsi, les relations entre stress oxydant et cancer s'avèrent très étroites, les radicaux libres intervenant dans l'activation des pro-carcinogènes en carcinogènes, créant les lésions de l'ADN, amplifiant les signaux de prolifération et inhibant des gènes suppresseurs de tumeur comme p53. Il est aussi un des facteurs potentialisant

l'apparition de maladies plurifactorielles telles: la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires (**Favier, 2003**).

# **Partie II.**

---

*Etude Expérimentale*

## **Chapitre I.**

---

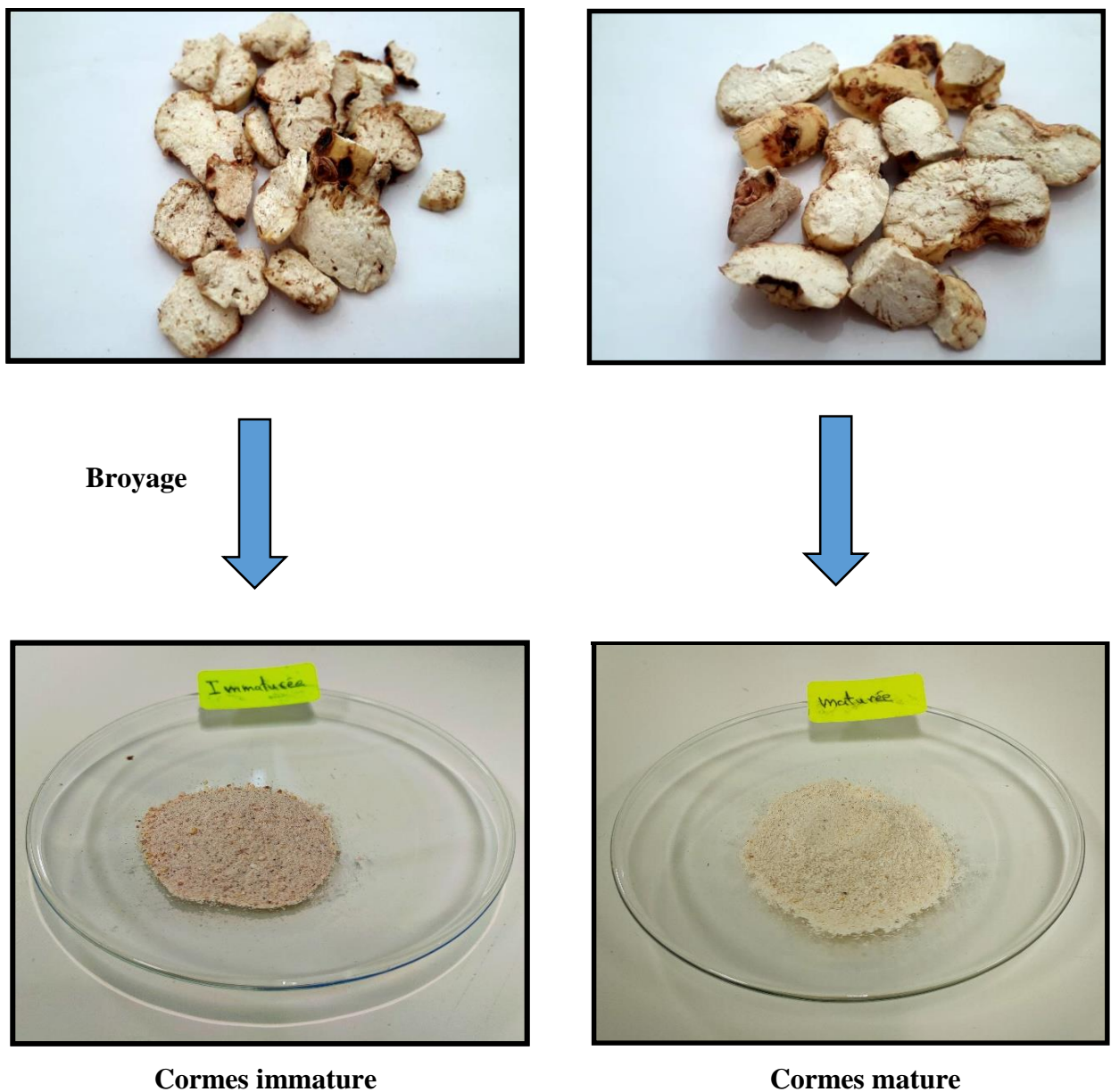
*Matériel et Méthodes*

## I. Matériel

### I. 1. Matériel biologique

#### I.1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé au cours de notre étude, est les cormes (mature et immature) de *Crocus sativus* (**Figure 16**). Les cormes sont récoltées au Décembre 2021 à partir la région d'Hassi Khalifa, Wilaya El-oued (sud-est d'Algérie). Les cormes sont séchées et coupées avec un couteau et laissés à température ambiante à l'abri de la lumière pendant 21 jours, puis broyées à l'aide d'un broyeur électrique et conservées à sec dans des boîtes en verre, à température ambiante à l'abri de la lumière.



**Figure 16:** Deux échantillons de cormes mures et immatures avant et après le processus de broyage

### I.1.2. Bactéries

#### a. *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923)

Ce sont des Cocci Gram positif appartenant à la famille de *Micrococcaceae* avec un diamètre de 0,5 à 1,5 µm, de forme non sporulée, qui tendent à se grouper en paires, petites chaînes, elles sont habituellement non capsulées, ou possédant des capsules limitées. Elles sont anaérobies facultatives. *Staphylococcus aureus* représente l'agent commun des infections postopératoires de blessures, endocardite aigue et intoxication alimentaire (**Dworkin et Falkow, 2006**).

#### b. *Escherichia coli* (ATCC 25922)

C'est une bactérie à Gram négatif, commensal du tube digestif de l'homme et de l'animal, qui appartient à la famille des Entérobactéries, de forme non sporulée, de type aérobie facultative, généralement mobile grâce aux flagelles. Sa longueur varie de 2 à 6 µm, alors que sa largeur est de 1,1 à 1,5 µm. *E. coli* représente la bactérie la plus impliquée dans les infections aiguës de l'appareil urinaire, elle provoque également les diarrhées d'été, diarrhée infantile et les intoxications alimentaires (**Kaper et al., 2004**).

#### c. *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853)

Ce sont des bacilles Gram négatif, de forme non sporulée, elles sont aérobies et mobiles grâce à la présence de 1 à 2 flagelles. Ces bactéries synthétisent deux principaux types de pigments pyocyanine : bleue phénazine, pyoverdine: jaune vert. Il s'agit de bactéries résistantes à plusieurs antibiotiques (**Percival et al., 2004**).

#### d. *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 13886)

Les bactéries appartenant à l'espèce *Klebsiella pneumoniae* sont des bacilles à Gram négatif, immobiles, non sporulés, anaérobies facultatifs et appartiennent à la famille des *Enterobacteriaceae* (**El Fertas-Aissani et al., 2012 ; Srinivasan et al., 2012**).

*Klebsiella pneumoniae* est un agent classique et majeur d'infections nosocomiales en général et néonatales particulièrement **Boukadida et al., (2002)**. Elle est l'une des principales espèces bactériennes impliquées dans les infections urinaires (IU) (**Ben Haj Khalifa et al., 2010**).

## I.2. Matériel non biologique

Les matériels non biologiques utilisés durant cette étude sont résumés dans le **tableau 04**.

**Tableau 04** : Liste des matériels non biologiques utilisés pendant de travail.

Réactifs et produits chimiques	Appareils	Les outils utilisés
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Acide Ascorbique (vit-c)</li> <li>• Acide Sulfurique</li> <li>• <math>AlCl_3</math> 2%</li> <li>• Chloroforme</li> <li>• Copeaux De Magnésium</li> <li>• DPPH</li> <li>• Ethanol</li> <li>• <math>FeCl_3</math> 1%</li> <li>• <math>FeCl_3</math> 2%</li> <li>• L'eau Physiologique</li> <li>• Méthanol</li> <li>• <math>Na_2CO_3</math> 7.5 %</li> <li>• <math>NH_4OH</math></li> <li>• Réactif De Folin-Ciocalteau</li> <li>• Réactif De Mayer</li> <li>• Disque des antibiotiques (Amoxicilline)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Agitateur magnétique</li> <li>• Autoclave</li> <li>• Bain Marie</li> <li>• Etuve</li> <li>• Spectrophotomètre</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Bécher</li> <li>• Spatule</li> <li>• Entonnoir</li> <li>• Tube à essai</li> <li>• Micropipette</li> <li>• Papier aluminium</li> <li>• Papier filtre</li> <li>• Gants et masques pour manipulation des produits dangereux</li> </ul>

## II. Méthodes

Notre étude expérimentale a été réalisée au sein du laboratoire "n°10 de toxicologie", Au Département de Biologie Cellulaire et Moléculaire faculté des Sciences de la Nature et de la Vie Université de El-oued. Nous avons suivi les étapes mentionnées dans la (Figure 17).

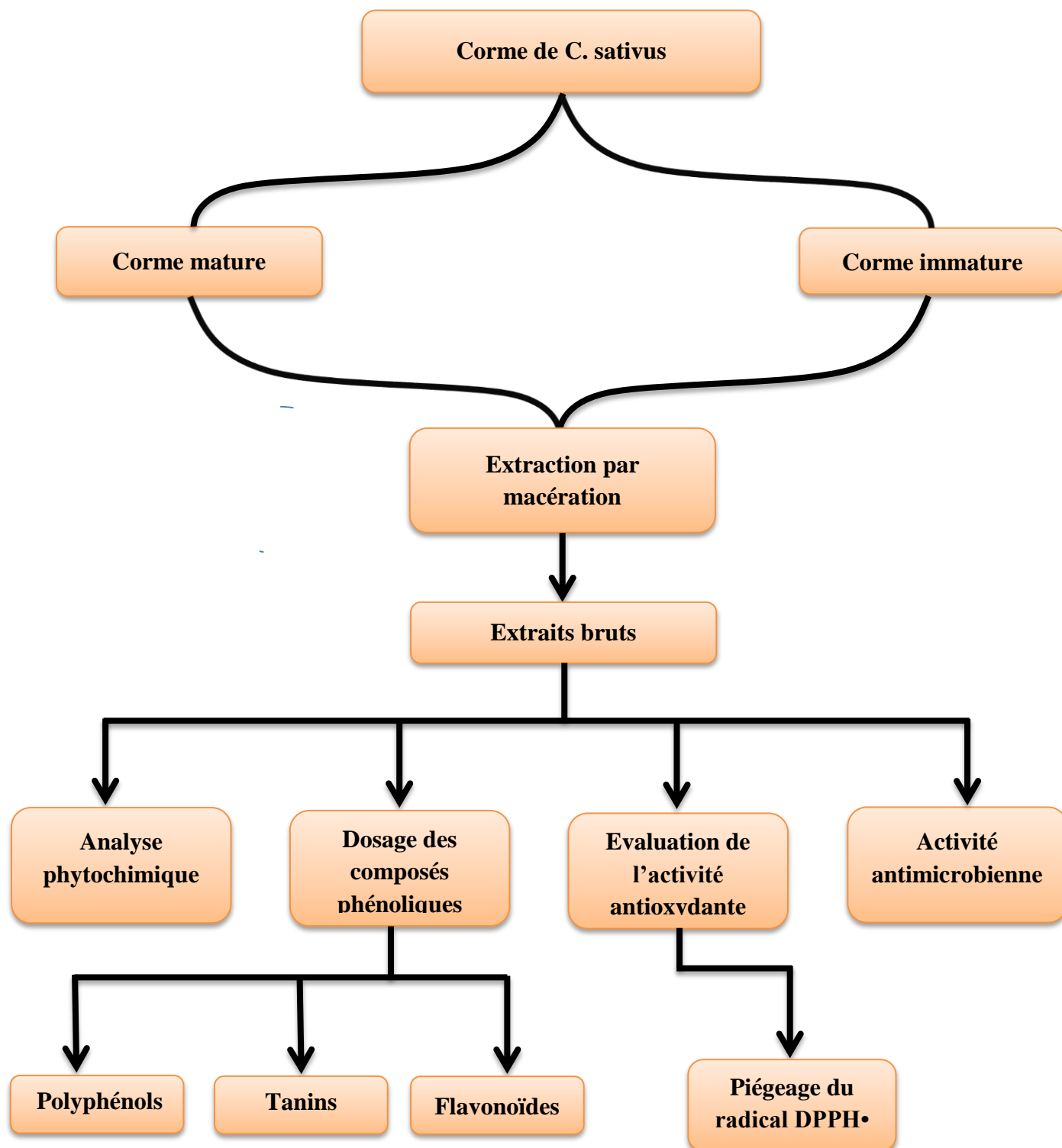


Figure 17 : Schéma résumant le protocole utilisé.

## II.1. Préparation des extraits

### II.1.1. Extraction par Macération

La macération (extraction solide-liquide) est une opération qui consiste à laisser séjourner la matière végétale (broyat) dans l'éthanol aqueux pour extraire les principes actifs (composés phénoliques et flavonoïdes). Cette méthode d'extraction a été effectuée selon le protocole décrit par **(Vuorela, 2005)**.

Les cornes immatures et matures séchées (3 g) sont soumises à une extraction par macérations successives utilisant (30 ml) de solution hydro-alcoolique (éthanol-eau : 8/2). Les cornes sont macérées pendant 24 heures à la température ambiante du laboratoire et à l'abri de la lumière et répétées trois fois. Après chaque macération, l'ensemble est filtré sur du papier filtre. Les filtrats sont évaporés grâce à l'étuve pour obtenir des extraits secs.

### II.1.2. Rendement des extraits secs

Le rendement en pourcentage de la plante en extrait sec a été calculé par la formule :

$$R (\%) = (M / M_0) \times 100$$

- R(%) : rendement en pourcentage.
- M : masse en gramme de l'extrait sec obtenu après évaporation du solvant d'extraction.
- M<sub>0</sub> : masse en gramme du matériel végétale sèche initiale.

## II.2. Tests phytochimiques

Nos études ont porté sur la recherche des principaux groupes chimiques (polyphénols, alcaloïdes, tanins, flavonoïdes, anthraquinones, terpénoïdes, saponines) par des réactions en tubes. Afin de mettre en évidence la présence ou l'absence de certains composés appartenant aux familles chimiques des métabolites secondaires, nous avons réalisé des tests phytochimiques spécifiques fondés sur des réactions de coloration, de turbidité ou de précipitations, par des réactions en tubes **(Halla, 2016)**.

### II.2.1. Polyphénols

Dans un tube à essai, introduire 0,5 ml d'extrait à analyser et ajouter quelques gouttes solution aqueuse de FeCl<sub>3</sub> à 2 %. La présence des polyphénols est indiquée par une coloration verdâtre ou bleu-noirâtre **(Habibou et al., 2018)**.

### II.2.2. Flavonoïdes

Dans un tube à essai, ajouter 0,5 ml d'extrait et ajouter 0.5ml de l'acide chlorhydrique concentré (HCl) et quelques copeaux de magnésium. L'apparition d'une coloration rose, rouge ou jaune révèle la présence des flavonoïdes (**Najjaa et al., 2011**).

### II.2.3. Alcaloïdes

Dans un tube à essai, introduire 0.5 ml de l'extrait et ajouter quelques gouttes de HCl et ajouter 0,5ml de réactif de Mayer dans l'apparition d'un précipité blanc ou brun respectivement révèle la présence des alcaloïdes (**Habibou et al., 2018**).

### II.2.4. Tanins

Dans un tube à essai, introduire 0,5 ml d'extrait et ajouter 0,25 ml d'une solution aqueuse de FeCl<sub>3</sub> à 1 %. La présence des tanins est indiquée par une coloration verdâtre ou bleu-noirâtre (**Dohou et al., 2003**).

### II.2.5. Anthraquinones

Dans un tube à essai, ajouter 0.5 ml de l'extrait et ajouter 1ml de NH<sub>4</sub>OH (10%) puis agiter. Une coloration violette indique la présence des anthraquinones (**Catier et Roux, 2007**).

### II.2.6. Terpénoïdes

Dans un tube à essai, ajouter 0,5 ml de l'extrait et ajouter 0,4ml de chloroforme et 0,6 ml d'acide sulfurique. La formation d'un anneau marron-rouge à l'interphase indique la présence des terpénoïdes (**Bhat et al., 2005**).

### II.2.7. Saponines

Dans un tube à essai, introduire 5 ml d'extrait et agité pendant 15 secondes puis laissé le mélange au repos pendant 15min. Une hauteur de mousse persistante supérieure à 1cm indique la présence des saponines (**Koffi, 2009**).

## II.3. Dosage des composés phénoliques

Les analyses quantitatives des polyphénols totaux, des flavonoïdes et des tanins condensés des différents extraits sont déterminées à partir des équations de la régression linéaire des courbes d'étalonnage et exprimées en mg équivalent par g de la matière végétale sèche (**Abudunia, 2018**).

### II.3.1. Dosage des polyphénols totaux

#### a. Principe

Le réactif utilisé est le réactif de Folin-Ciocalteu, c'est un mélange de complexe des acides phosphotungstène (H<sub>3</sub>PW<sub>12</sub>O<sub>40</sub>) et phosphomolybdène (H<sub>3</sub>PMo<sub>12</sub>O<sub>40</sub>) de couleur jaune. Le principe de la méthode est basé sur l'oxydation des composés phénoliques par ce réactif,

elle entraîne la formation d'un nouveau complexe molybdène-tungstène de couleur bleu qui absorbe à 760 nm, le dosage de polyphénols est effectué par la comparaison de la densité optique observé à celle obtenus par un étalon d'acide gallique de concentration connue (Muanda, 2010).

### b. Mode opératoire

Dans un tube à essai, introduire 0,2 ml d'extrait avec 0,8 ml d'une solution de carbonate de sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) à 7.5% avec 1ml de réactif de Folin-Ciocalteu (1N) diluant. Les tubes sont agités puis ensuite incubés pendant 30 min à température ambiante. La lecture des densités optiques est réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre contre un blanc à 765 nm. Les expériences sont répétées en 3 fois (Figure 18).

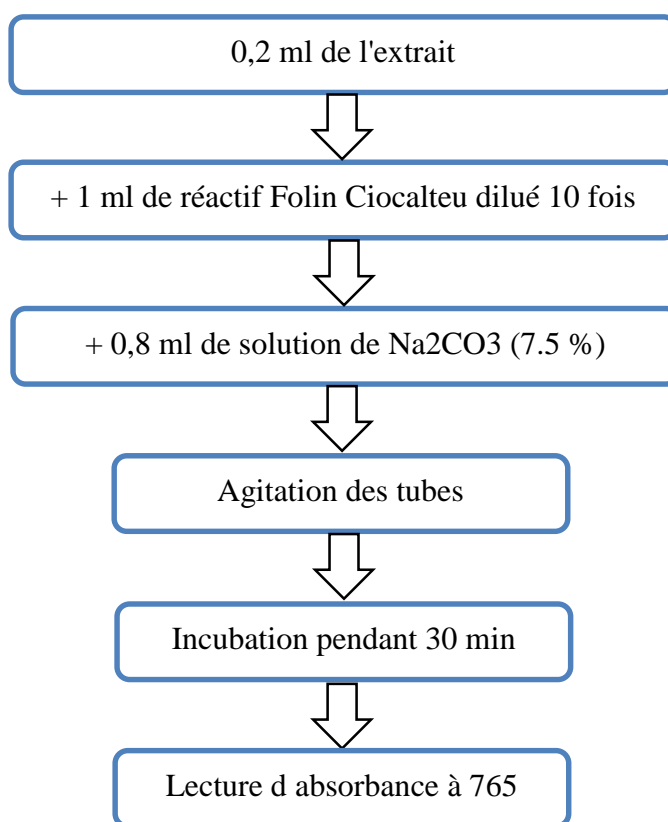


Figure 18 : Protocole du dosage des polyphénols totaux.

### c. Expression des résultats

La quantification des polyphénols a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire  $y = ax + b$  réalisé par un standard étalon « acide gallique » à différentes concentrations et exprimée en microgrammes d'équivalents d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g d'extrait).

### II.3.2. Dosages des flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes des extraits a été déterminée en utilisant la méthode colorimétrique au trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ) (Yahiaoui *et al.*, 2018).

#### a. Principe

Le trichlorure d'aluminium forme un complexe jaune avec les flavonoïdes et la soude forme un complexe de couleur rose absorbe dans le visible à 510 nm (Hireche *et al.*, 2013).

#### b. Mode opératoire

Le dosage des flavonoïdes et les étalons de quercétine a été réalisé selon la méthode de Djeridane *et al.*, (2006), 0,5 ml de l'échantillon mélangé avec 0,5 ml  $\text{AlCl}_3$  à 2%, après incubation de 1h à température ambiante, l'absorbance de l'échantillon est mesurée à 420 nm par rapport au blanc préparé de réactif. Chaque analyse est répétée trois fois (Figure 19).

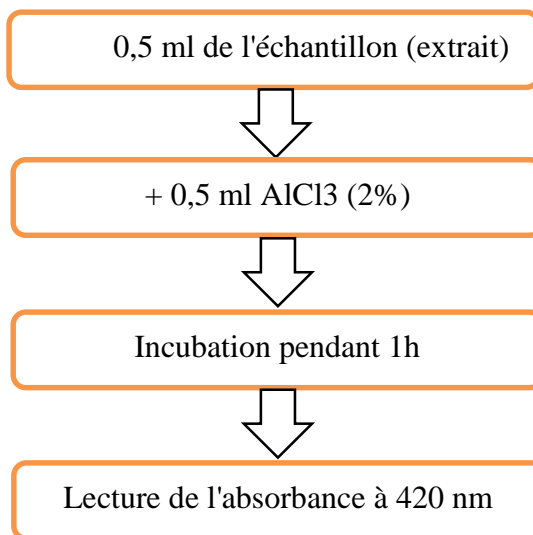


Figure 19 : Protocole du dosage des flavonoïdes.

#### c. Expression des résultats

La quantification des flavonoïdes a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire  $y = a x + b$  réalisé par un standard étalon « la Quercétine » à différentes concentrations et exprimée en microgrammes d'équivalents de la Quercétine par gramme d'extrait (mg EQ/g d'extrait).

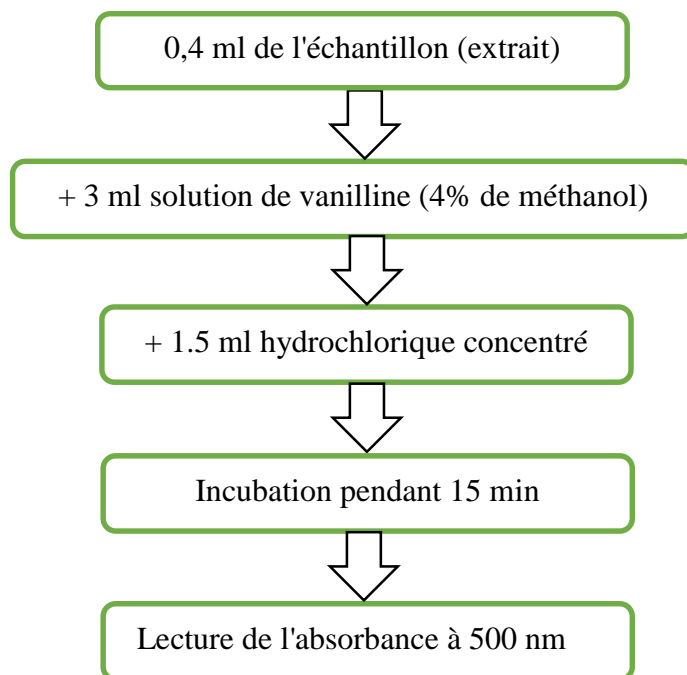
### II.3.3. Dosage de tanins condensés

#### a. Principe

Le dosage des tanins condensés dans les extraits de corne *crocus sativus* est effectué selon la méthode de Schofield *et al.*, (2001). Le principe de ce dosage est basé sur la fixation du groupement aldéhydique de vanilline sur le carbone 6 du cycle A de la catéchine pour former un complexe chromophore rouge qui absorbe la lumière à 500 nm.

### b. Mode opératoire

A 0.4 ml de chaque échantillon ou standard, on ajoute 3 ml d'une solution de vanilline (4% dans le méthanol), et 1,5 ml d'acide hydrochlorique concentré. Le mélange est incubé durant 15 min et l'absorbance est lue à 500 nm. Les concentrations des tanins condensés sont déduites à partir des gammes d'étalonnage établies avec la catéchine (0-0,5 mg/ml), et sont exprimées en milligramme d'équivalent catéchine par gramme d'extrait (mg ECT/g) (**Figure 20**).



**Figure 20:** Protocole du dosage des tanins totaux.

### c. Expression des résultats

La quantification des tannins a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire  $y = ax + b$  réalisé par un standard étalon « la catéchine » à différentes concentrations et exprimée en microgrammes d'équivalents catéchine par gramme d'extrait (mg ECT/g d'extrait).

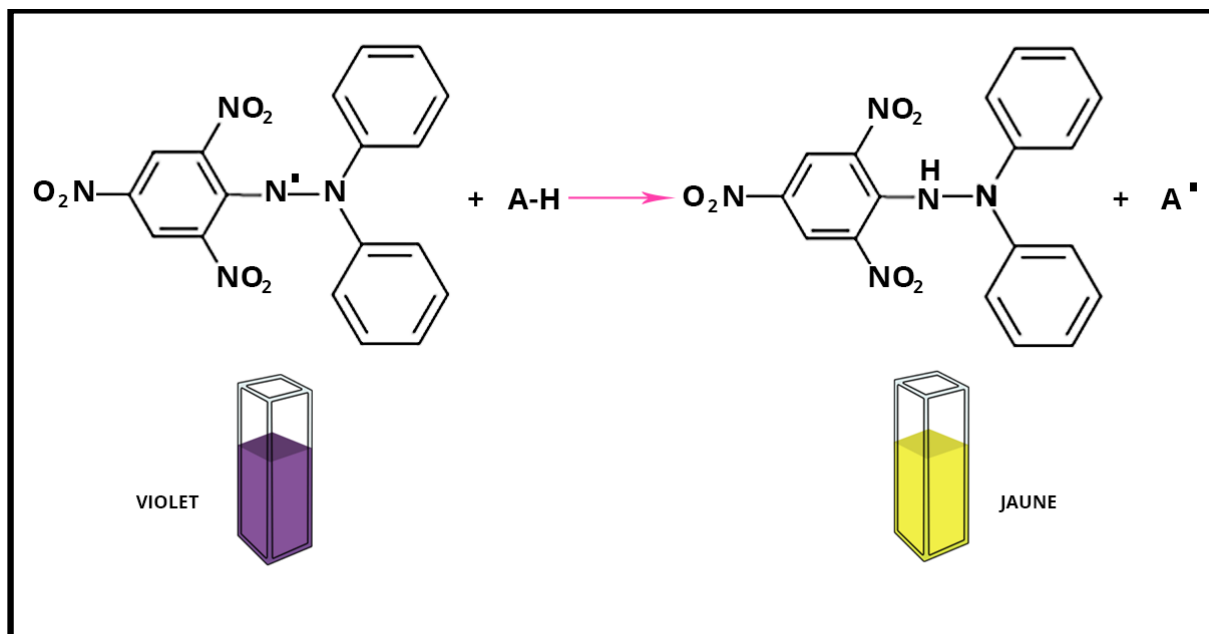
## II.4. Tests des activités biologiques

### II.4.1. Test de piégeage du radical libre DPPH

#### a. Principe

Afin d'étudier l'activité antiradicalaire des différents extraits, nous avons utilisé la méthode basée sur le DPPH<sup>\*</sup> (diphénylpicrylhydrazyl) comme un radical relativement stable, selon le protocole décrit par **Mansouri et al., (2005)**. Le test consiste à mettre le radical DPPH (de couleur violette), en présence des molécules dites antioxydantes afin de mesurer leur capacité à le réduire. La forme réduite (diphénylpicrylhydrazine : de couleur jaune)

n'absorbe plus à 515 nm, dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants (Sanchez-Moreno, 2002) (Figure 21).



**Figure 21** : Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH• entre l'espèce radicalaire DPPH• et un antioxydant (Fettah, 2019).

### b. Préparation de dilutions d'extrait

Des dilutions dans méthanol va préparer à partir de l'extrait brute (solution mère 20 mg/ml) pour différentes concentrations de 10mg/ml, 7,5 mg/ml, 5 mg/ml, 2,5 mg/ml, 1mg/ml, 0,5 mg/ml.

### c. Mode opératoire

L'activité de la réduction du radical DPPH a été mesurée selon le protocole suivant :

- ✓ Dans un Erlenmeyer Une solution mère de DPPH a été préparée par solubilisation de 2,4 mg de DPPH dans 100 ml de méthanol Ensuite, nous le mettons dans un agitateur magnétique. Pendant 30 minutes à vitesse moyenne.
- ✓ Dans tubes on ajouter 1950 µl de la solution du DPPH• et on ajoute 50 µl pour extrait à différentes concentrations.
- ✓ Les expériences sont répétées en 3 fois.
- ✓ Préparation du tube control : 50 µl du méthanol avec 1950 µl de la solution du DPPH.
- ✓ Incubation les tubes pendant 15 min à température ambiante et à l'obscurité.
- ✓ Mesure de l'absorbance à 517 nm au spectrophotomètre.

## **II.5. Evaluation de l'activité antimicrobienne**

Afin d'évaluer l'activité antimicrobienne d'extrait éthanol, nous avons utilisé la méthode de diffusion en milieu gélosé (méthodes des disques), dont le principe est la détermination de la sensibilité ou la résistance des souches microbiennes vis-à-vis des différents extraits (**Boudjouef, 2011**).

### **a. Les milieux de culture**

Le milieu de culture utilisé pour la réalisation des tests antimicrobiens est la gélose de Mueller Hinton pour l'étude de la sensibilité des bactéries.

### **b. Revivification des souches bactériennes**

La revivification des souches est une étape nécessaire avant leur utilisation car leur activité biologique est nulle. Donc, elle a pour but l'obtention d'une culture jeune et pure. Elle consiste à ensemercer en stries la surface de la gélose nutritive préalablement coulée et solidifiée dans les boîtes de Pétri quelques colonies des souches conservées. Les boîtes de Pétri renfermant chacune une souche de bactérie sont incubées à 37°C pendant 24 h.

### **c. Préparation de l'inoculum**

A partir des cultures jeunes préparées, on prélève quelques colonies des bactéries dans 5 ml d'eau physiologique stérile. On agite ensuite les tubes au vortex pendant quelques secondes.

### **d. Préparation des milieux de culture avec des suspensions bactériennes**

Cette étape consiste à liquéfier le milieu de culture Mueller-Hilton dans un bain marie, puis, on coule aseptiquement les milieux en surfusion dans des boîtes de Pétri à 4 mm par boîte. On laisse refroidir et solidifier sur la paillasse puis, on réalise l'ensemencement par écouvillonnage à l'aide d'un coton-tige stérile contenue des suspensions microbiennes et on verse en tournant la boîte (**Joly et Reynaud, 2003**).

### **e. Procédure**

Les disques stériles sont imprégnés de différentes solutions d'extrait préalablement dissout dans le diméthylsulfoxyde (DMSO). À l'aide d'une pince stérile les disques sont déposés à la surface. Après diffusion, les boîtes sont incubées pendant 24 heures à 37 °C. Après l'incubation l'effet d'extrait se traduit par l'apparition autour de disque d'une zone circulaire transparente (en mm). Plus le diamètre de cette zone est grand plus la souche est sensible.

# **Chapitre II.**

---

## **Résultats et Discussion**

## 1. Rendements d'extractions

La préparation des deux extraits éthanolique de corne du *Crocus sativus* mature et immature a été réalisée en utilisant méthode de macération. Les différents rendements des extraits obtenus, sont reportés dans le (Tableau 05).

**Tableau 05 :** Rendement des extraites.

Extraits	Rendements (%)
Corne mûré	8.1%.
Corne immature	9 %

D'après les résultats obtenus, nous avons enregistré :

- Concernant l'extrait de corne mûré le rendement est égal 8.1%.
- Concernant l'extrait de corne immature le rendement est d'ordre de 9 %.

A travers les résultats obtenus, on constate que le rendement de l'extrait immature est plus élevé, au rendement de l'extrait mature.

D'après l'étude de **Hassouna et Zobiri, (2020)**, le rendement d'extrait éthanolique de la racine de *Crocus sativus* par macération égal 17.5 %, cette valeur est plus grand par rapport à nos résultats.

Dans une autre étude, qui a été réalisé par **Marref, (2018)**, le rendement d'extrait méthanolique des feuilles de *Gladiolus segetum* de la même famille de safran *Iridaceae* par macération égal 7,5 %, c'est plus proche à nos résultats.

Selon l'étude **Himed, (2015)** le rendement très élevé d'extrait méthanolique des corms d'*Allium triquetrum* L. de la famille *Liliaceae* par macération égal 50,60 %.

Cette variabilité est due à plusieurs facteurs : l'organe utilisé dans l'extraction, les conditions de séchage, le contenu de chaque espèce en métabolites (de son métabolisme) et de la nature du solvant utilisé dans l'extraction ou fractionnement et de sa polarité **Mohammedi, (2013)**. Et aussi, expliquée par la diffusion du solvant dans la poudre des plantes (**Nacz et Shahidi, 2004 ; Barroso et al., 2014**).

## 2. Tests phytochimiques

Les tests phytochimique que nous avons réalisés, nous ont permis de mettre en évidence la présence de métabolites secondaires dans les deux échantillons des cornes *Crocus sativus* mature et immature. La détection de ces composés chimiques est basée sur des essais de solubilités des constituants, des réactions de précipitation, un changement de couleur spécifique. Les résultats obtenus sont représentés dans le (tableau 06) :

**Tableau 06:** Résultats des tests phytochimique des cornes de *Crocus sativus*.

Métabolites testés	Résultats de corne mûr	Résultats corne immature
<b>Polyphénols</b>	+	++
<b>Flavonoïdes</b>	+	++
<b>Tanins</b>	+	++
<b>Alcaloïdes</b>	+	+
<b>Anthraquinones</b>	-	-
<b>Terpénoides</b>	+	+
<b>Saponines</b>	-	-

(-) : absence (+) : présence

Les résultats des tests phytochimiques le deux extraits éthanolique mature et immature des cornes de *Crocus sativus* ont révélés la présence tanins, flavonoïdes, alcaloïdes, terpénoides et polyphénols, mais absence anthraquinones et saponines. Ces résultats sont en accord avec les résultats de **Azzi et al., (2019)** dans la présence, tanins, flavonoïdes, terpénoides, et l'absence anthraquinones et saponines.

De plus, l'analyse phytochimique fait par **Shariq et al., (2014)** sur l'extrait méthanolique pour la partie antenne de *Crocus sativus* qui montre la présence des alcaloïdes, saponines, flavonoïdes, tanins, terpénoides.

Le criblage phytochimique réalisé par **Marref, (2019)** a montré que l'extrait éthanolique de la partie aérienne de la plante *Gladiolus segetum (Iridaceae)* contient des polyphénols, flavonoïdes, stéroïdes, terpènes, saponines et anthraquinones, mais les alcaloïdes ont été absents, ces résultats différent à nos résultats et qui montré l'absence des alcaloïdes, et présence des saponines.

Le potentiel d'une plante médicinale est attribué à l'action de ses constituants phytochimiques. Ils sont produits comme métabolites secondaires, en réponse au stress environnemental ou pour assurer un mécanisme de défense aux agressions provoquant des maladies chez les végétaux **Mohammedi, (2013)**. En effet, les flavonoïdes possèdent des rôles très importants dans les plantes, dont elles protègent les plantes contre le stress hydrique et génère une tolérance des plantes aux métaux lourds présente dans les sols. Hors la plante, les flavonoïdes possèdent plusieurs effets pharmacologiques. Les flavonoïdes protègent les

aliments d'origine végétale de l'oxydation, ce sont des antioxydants réputés pour leur action anti radriculaire (Makhloufi, 2010).

En parallèle, La présence les alcaloïdes peut expliquer des activités biologiques diverses Milcent et Chau, (2003). Les faibles doses, elle a un rôle d'anesthésique locaux, d'analgésique, d'antibiotiques, d'antiparasitaires, d'antipaludique, d'anti-tumoraux et d'amibicides (Chenni, 2010).

Cette différence dans tests phytochimiques s'explique par les méthodes d'extraction et leur séparation des tissus végétaux et des produits naturels extraits de plantes Arnason *et al.*, (2013). L'absence de certains composés (anthraquinones et saponines) dans la plante peut s'expliquer par la faible solubilité du solvant utilisé.

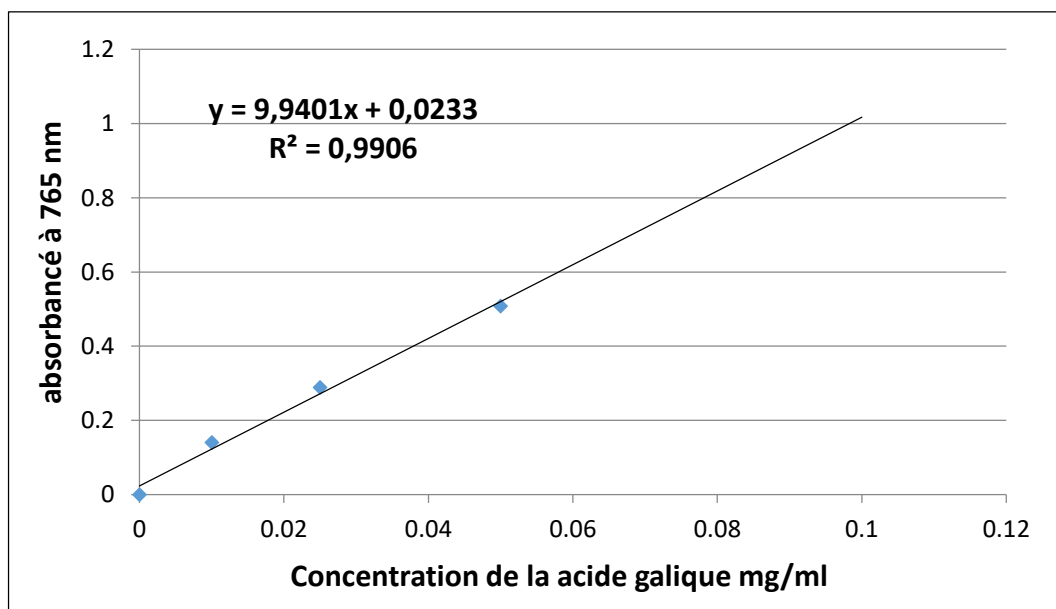
### 3. Dosage des composés phénoliques

#### 3.1. Teneur des polyphénols totaux

Le dosage des phénols totaux a été effectué par la méthode spectrophotométrique adaptée de Wong *et al.*, (2006) avec le réactif de Folin-Ciocalteu.

Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par gramme de l'extrait (mg EAG/g). Cette teneur est calculée en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée de l'acide gallique.

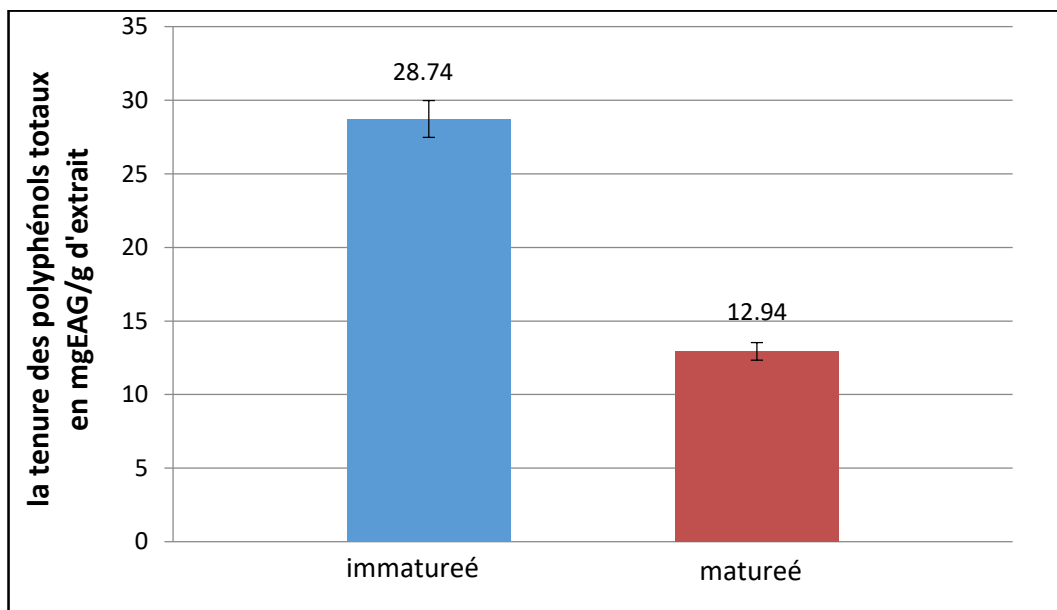
La formule de la régression linéaire de cette courbe est de ( $y = 9.9401x + 0.0233$ ) avec un coefficient de corrélation  $R^2 = 0,9906$ .



**Figure 22 :** Courbe d'étalonnage d'acides gallique pour le dosage des polyphénols.

Après formule le courbe étalonnage nous avons obtenus les résultats des dosages des polyphénols totaux pour les extrait corne immature et corne mûré.

La (figure 23), montre que l'extrait des cornes immature renferme le taux le plus élevé en polyphénols 28.7 mg EAG/g. Tandis que l'extrait des Corne mûré présentent une teneur 12.9 mg EAG/g.



**Figure 23 :** La teneur des polyphénols totaux en mg EAG/g d'extrait.

Cette résultat est plus haut que à celle publié par l'étude **Esmaeili et al., (2011)** sur l'extrait de corne de *Crocus sativus* OÙ, l'échantillon immature est évalué par ( $2.22 \pm 0.019$  mg/g) et l'échantillon mature est évalué par ( $5.933 \pm 0.033$  mg/g). Mais plus important, nous avons remarqué que la quantité de polyphénols pour l'échantillon mûré était supérieure à celle de l'échantillon immature, c'est l'inverse avec nos résultats.

Par contre, la teneur en polyphénols des travaux de **Lahmass et al., (2017)** sur des extraits spaths de *Crocus sativus* égal  $21.36 \pm \mu\text{g GAE/mg}$ , cette valeur est assez proche de notre échantillon immature et considérée plus grand par rapport l'échantillon mature.

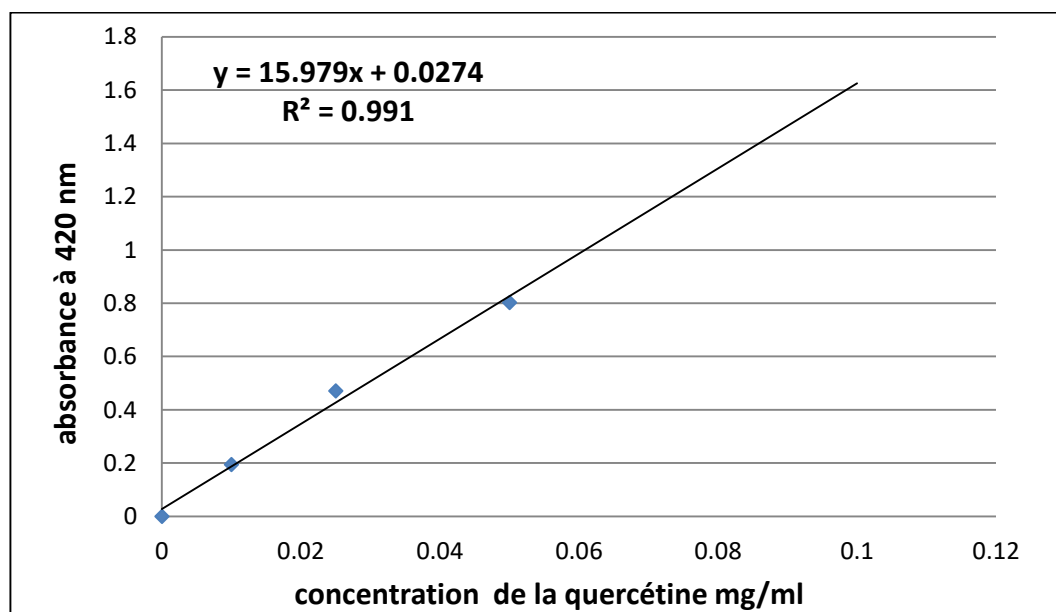
Dans autre étude à qui réalisé, par **Marref, (2018)** trouvé, la teneur de polyphénols égalés à  $64,96 \pm 1,08 \mu\text{gGAE/mg}$  cette valeur très grande par rapport nos valeurs.

Le choix du système de solvant d'extraction est très important dans la détermination des teneurs en polyphénols totaux **Tirichine, (2010)**. La quantité des composés phénoliques des extraits éthanoliques des plantes étudiées dépend essentiellement : de leur origine **Ebrahimzadeh et al., (2008)**, la variété, la saison de récolte, les conditions climatiques et environnementales, la localisation géographique, les différentes maladies qui peuvent affecter la plante, la maturité de la plantes **Park et Cha, (2003)** et la durée de sa conservation (**Özgülven et Tansi, 1998**).

### 3.2. Teneur des Flavonoïdes

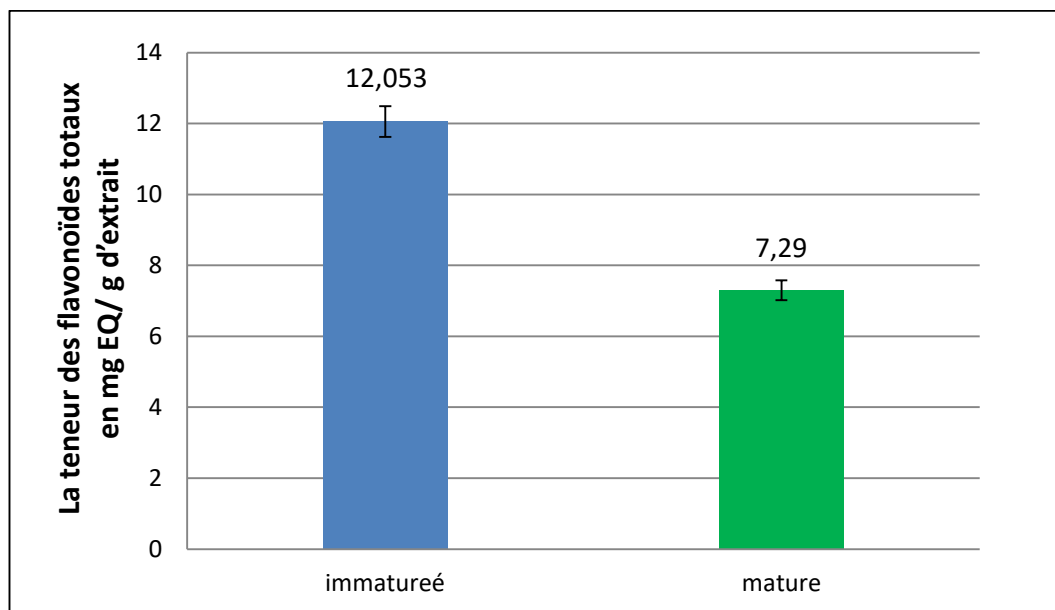
Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode de trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ) en utilisant comme standard la quercétine. Les résultats obtenus sont exprimés en milligramme d'équivalent de quercétine par gramme d'extrait (mg EQ/g) à l'aide d'une courbe d'étalonnage (**Figure 24**).

La formule de la régression linéaire de cette courbe est de ( $y = 15,979x + 0,0274$ ) avec un coefficient de corrélation  $R^2 = 0,991$ . L'absorbance a été lue dans une longueur d'onde de 420 nm.



**Figure 24** : Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes totaux.

À partir de la courbe d'étalonnage qui montré dans le figure 23, on a obtenu des quantités en flavonoïdes totaux qui varient entre  $12.053 \pm 0.4$  mg EQ /g d'extrait des cormes immaturé et de  $7.29 \pm 0.2$  mg EQ /g d'extrait des cormes maturé. Les résultats sont regroupés dans le diagramme à barres (**Figure 25**).



**Figure 25 :** La teneur des flavonoïdes totaux en mg EQ g d'extrait.

Les résultats des teneurs en flavonoïdes montrent que l'extrait de corne immature ( $12.053 \pm 0.4$  mg/g) est le plus riche, Par rapport à l'extrait de corne mûré ( $7.29 \pm 0.2$  mg/g).

L'étude de **Shoib et al., (2015)** sur d'extrait éthanolique de corne de *Crocus sativus* révèle que les taux des flavonoïdes sont ( $7.07 \pm 0.62$  mg EQ /mg E). Ces résultats sont plus proches par rapport aux obtenus au de notre l'échantillon corne mature, et plus faible que notre l'échantillon corne immature, et dans la même étude sur l'extrait de feuilles, ils ont obtenu une valeur de  $4.26 \pm 0.37$  mg EQ /mg, ces résultats plus faible par rapport de nos travaux.

Dans une autre recherche, les feuilles de *Crocus sativus* possédé une quantité très importante en flavonoïdes par rapport notre résultat ( $50,64 \pm 1,63$  mg EQ /mg) (**Jadouali et al., 2018**).

Dans la même famille *Iridaceae* la partie aérienne *Gladiolus segetum* a été étudiée par **Marref, (2018)** et il obtienne une valeur très haut de l'ordre de  $39,79 \pm 2,36$  µgGAE/mg.

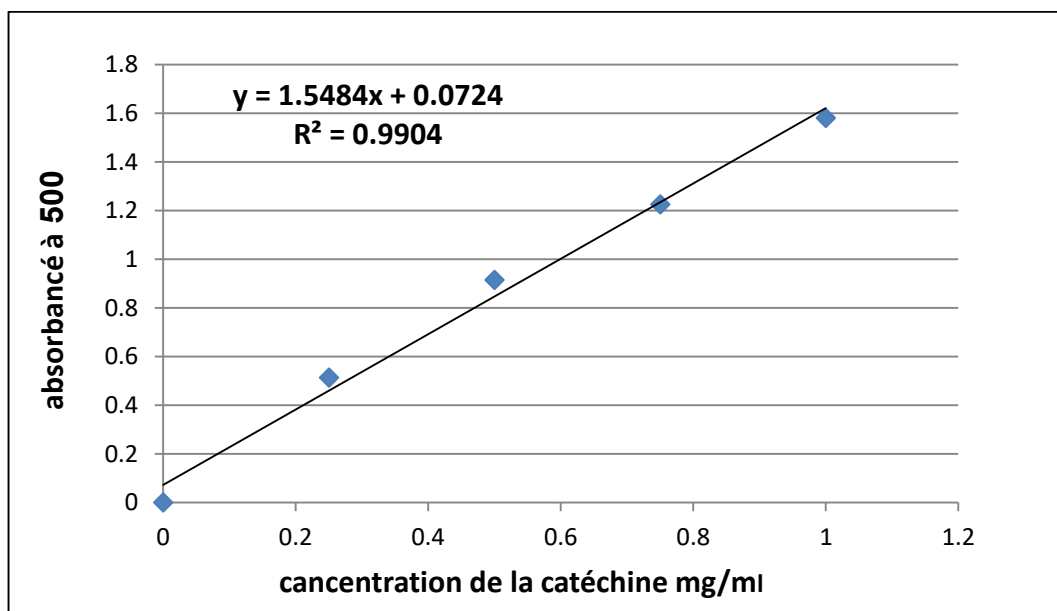
Les résultats quantitatifs des flavonoïdes, révèlent que leur teneur est important dans les deux extraits ; On note que les plantes réagissent aux agressions de l'environnement en augmentant la production des polyphénols surtout les flavonoïdes, ces composés phénoliques peuvent être soumis à l'importantes fluctuations face à ces agressions **Carpenter et Smith, (1975) et Young et al., (1997)**. Les teneurs élevées en composés phénoliques par comparaison aux flavonoïdes sont logiques étant donné que les flavonoïdes représentent les composés majoritaires des polyphénols **Boussahel, (2011)**, ceci peut être aussi expliqué par une augmentation du métabolisme phénolique de la plante : en plus l'existence d'une liaison

avec les conditions climatiques défavorables et les conditions de collections telles que les températures élevées, la durée d'exposition solaire, la nature du sol et la saison de croissance **Djeridane et al., (2005)**. Selon **Wojdylo et al., (2007)** la teneur en composés phénoliques variées également en fonction de la méthode d'extraction **Tigrine, (2014)**. Ceci pourrait être due aux conditions environnementales **Fahmi et al., (2013)**. La concentration des flavonoïdes dans les extraits de la plante dépend de la polarité des solvants utilisés dans la préparation des extraits **Djeridane et al., (2010)**. C'est pourquoi **Bruneton, (2009)** ; **Stankovic, (2011)** ont signalés que les hétérosides de flavonoïdes sont solubles dans les solvants polaires comme les mélanges méthanol-eau parfois et acétonitrile-eau, alors que pour les aglycones sont solubles dans les solvants apolaires important de signaler que l'utilisation de différentes méthodes de dosage réduit la fiabilité d'une comparaison entre les deux études (**Meziti, 2009**).

### 3.3. Teneur des tanins condensés

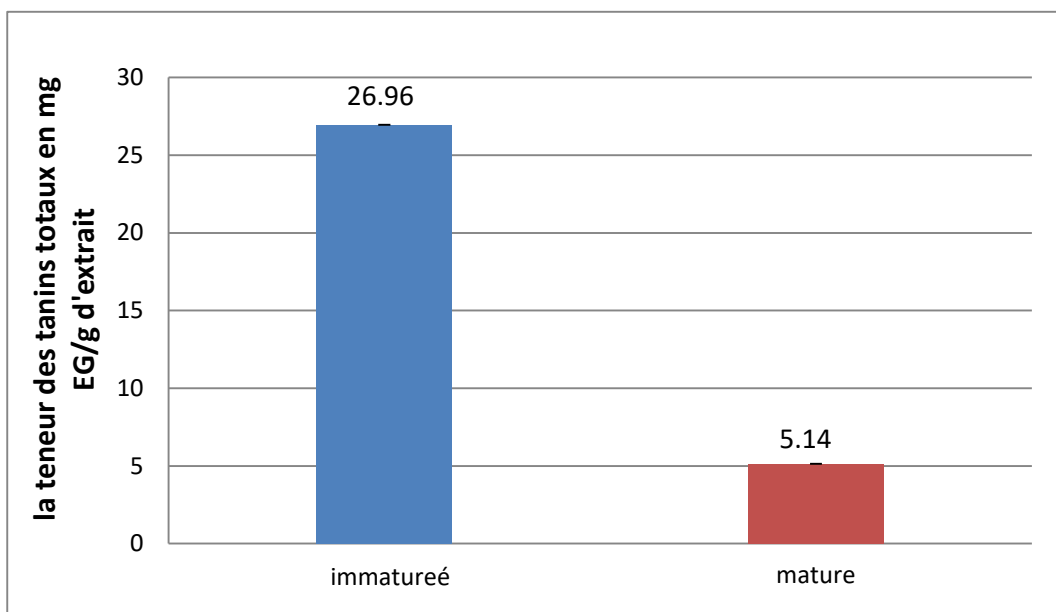
La quantification des tanins a été effectuée par une méthode adaptée par **Schofield et al., (2001)**. Une courbe d'étalonnage est réalisée en utilisant la catéchine. Les résultats sont exprimés en milligramme (mg) équivalent de la catéchine par gramme d'extrait (mg EC/g). Cette courbe est établie en utilisant la vanilline comme référence.

La formule de la régression linéaire de cette courbe est de ( $y=1.5484x + 0.0724$ ) avec un coefficient de corrélation  $R^2= 0.9904$  (**figure 26**).



**Figure 26** : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tanins.

À travers le (**figure 27**), on a obtenu des quantités en tanins totaux qui varient entre  $26.96 \pm 0.4$  mg EC/g d'extrait de corne immature et  $5.14 \pm 0.4$  mg EC/g d'extrait Corne mûré. Les résultats sont regroupés dans le diagramme à barres (**figure 27**).



**Figure 27 :** La teneur des tanins totaux en mg EQ g d'extrait.

La (figure 27), montre que la quantité de l'extrait des Corme immature renferme le taux le plus élevé en tannins. L'étude menée par, **Tawakolé et Baqerzadeh, (1994)** sur le pétale de *crocus sativus* présent que le taux de tanins dans l'extrait éthanolique est de 1,771 mg/g, et le taux de tanin dans les étamines a été estimé à 1. 412 mg/g, ces résultats sont inférieurs à nos résultats.

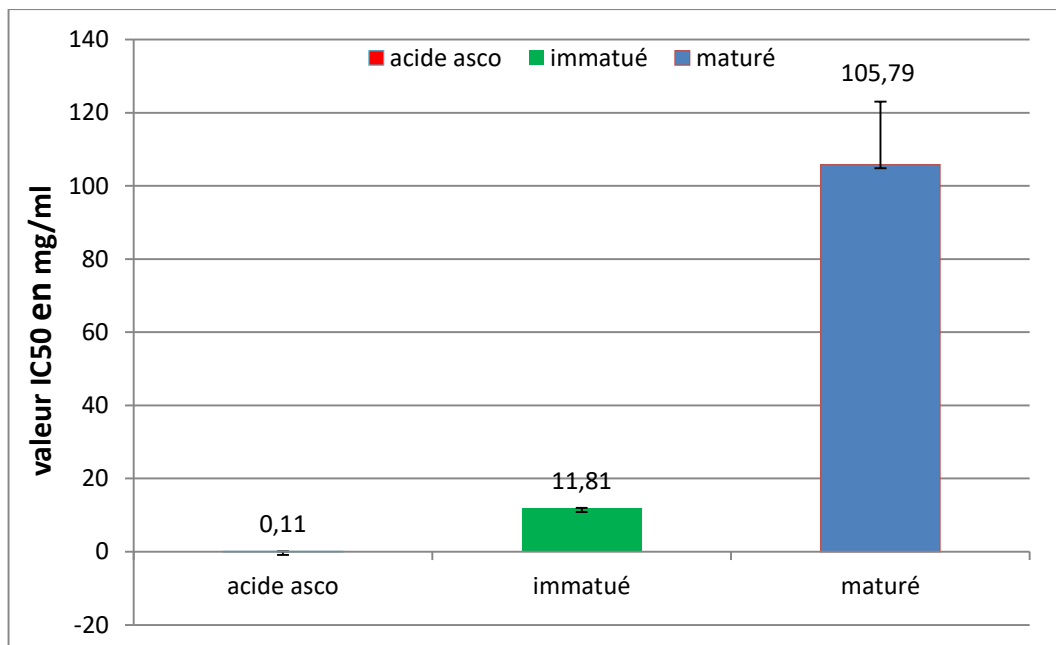
Dans une étude menée par **Mikhailenko et vladimiri, (2016)** sur quatre espèces de la famille des safrans, les taux de tanins chez les quatre espèces étaient beaucoup plus faibles que chez corne mûré. Pour corne immature, le taux de tanins chez *I. pseudacorus* était très proche de notre résultat, tandis que le reste des trois espèces étaient différemment supérieures à nos résultats.

Par contre, **Tili, (2016)** le taux de tanins sur *Pergularia tomentosa* était de  $61,06 \pm 0,22$  mg/g, ce qui est bien supérieur aux résultats obtenus dans l'échantillon mature et immature, Ce qui montre la pauvreté des deux échantillons dans la classe des tanins.

La variation de taux de tanins pourrait être due aux conditions environnementales **Fahmi et al., (2013)**, Ainsi que dépend à la dégradabilité, est susceptible d'être influencé par le mode de culture, le stade phénologique (avec le temps, les plantes ont tendance à durcir par lignification et leur valeur nutritive décline), la nature du sol (les sols arides sont sablonneux, infertiles et pauvres en éléments nutritifs), le climat au moment du prélèvement (température et pluviométrie), de même que par la constitution de l'échantillon (proportion tiges-feuilles et fleurs). Le traitement de ces prélèvements en vue de l'expérimentation (mode de séchage, de broyage et de stockage) est aussi susceptible de faire varier les résultats (**Rira, 2006**).

#### 4. Evaluation de l'activité antioxydant (DPPH)

Le DPPH est un radical libre, stable, qui possède une bande d'absorbance à 517 nm, employé pour évaluer l'activité antioxydant des extraits bruts, des flavonoïdes et des tanins. Dans ce test, on utilise l'acide ascorbique comme standard. L'IC<sub>50</sub> de chaque extrait est déduit à partir des équations de régression et est exprimée en mg/ml. Les résultats sont représentés graphiquement sur histogramme (**figure 28**).



**Figure 28** : les valeurs d'IC<sub>50</sub> des différents extraits et acide ascorbique en (mg/ml).

D'après l'histogramme illustré dans la (**figure 28**), qui représente l'IC<sub>50</sub> des différents extraits et le standard (acide ascorbique), nous remarquons que les valeurs des IC<sub>50</sub> des extraits sont de l'ordre de (IC<sub>50</sub> de l'extrait des cornes immature = 11.81 ± 0.16 mg/ml), (IC<sub>50</sub> l'extrait des cornes mûr = 105.79 ± 17.24 mg/ml). Ces résultats montrent que le pouvoir antiradicalaire de l'extrait immature est plus important comparativement avec l'extrait mûr, et cela pourrait s'expliquer par l'inhibition radicalaire remarquable causée par la forte concentration d'o-diphénol comme l'hydroxytyrosol et la lutéoline. L'activité antioxydant et le niveau des phénols totaux dans les extraits suggèrent que l'effet de piégeage des radicaux dans l'extrait peut être attribué aux composés phénoliques hydroxylés, en particulier, le nombre de substituants hydroxyle dans le cycle aromatique et la nature des substituants au niveau du cycle aromatique. Position para ou ortho **Chimi et al., (1991)**. Ces composés réagissent avec les radicaux libres formés lors de l'auto-oxydation et génèrent un nouveau radical qui est stabilisé par l'effet de résonance du noyau aromatique (**Cuvelier et al., 1992**).

Dans une étude similaire sur l'extrait des cornes du *Crocus sativus*, les chercheurs **Ebrahimzadeh et al., (2008)** ont signalé une valeur d'IC<sub>50</sub> pour l'échantillon de corne mature, est estimés 1.875 mg/ml et cette l'échantillon immature ne pas arriver, à la valeur d'CI<sub>50</sub> dans les concentrations les plus élevées (3,75 mg/ml inhibé 29%). Cette recherche montre une très grande différence dans les résultats, car les valeurs de nos échantillons sont inférieures par rapport à l'échantillon de l'étude mentionnée.

Par contre l'étude de corne de **Shoib et al., (2015)** montrent, qui la valeur approximative à IC<sub>50</sub>= 0.4 mg/ml, et dans une autre étude réalisée par **Marref, (2018)** l'activité antiradicalaire d'une plante de la même famille de safran *Gladiolus segetum* de la partie aérienne était d'ordre de  $2.02 \pm 0.0237$  mg/ml.

Pour le test DPPH, le degré de changement de la couleur est proportionnel avec la concentration et le potentiel des antioxydants **Saeed et al., (2012)** et les résultats de l'activité antiradicalaire au DPPH sont représentés par les pourcentages d'inhibition pour chaque concentration ainsi que les valeurs de la concentration d'inhibition de 50%. Les valeurs inférieures à IC<sub>50</sub> indiquent l'efficacité de l'extrait et donc le pouvoir antioxydant plus fort. Ont constaté qu'une étroite relation existe entre l'activité antioxydant et la composition phénolique ainsi que le solvant utilisé dans l'extraction est important dans l'évaluation de l'efficacité antioxydant due aux composés phénoliques et en flavonoïdes de l'extrait de plante. Cette différence peut être non seulement de la concentration des polyphénols mais aussi de leur structure et de leur qualité de ces composés polyphénoliques, la quantité des composés bioactifs de la même plante dépend de plusieurs facteurs parmi eux le facteur de la région géographique qui, associée aux conditions climatique comme la température et l'altitude, influent sur la composition chimique des constituants actifs et sur la capacité antioxydant des plantes (**khadri et al., 2008**).

Pour le test DPPH, le degré de changement de la couleur est proportionnel avec la concentration et le potentiel des antioxydants **Saeed et al., (2012)**. En effet, les composés phénoliques et plus particulièrement les flavonoides sont reconnus comme des substances potentiellement antioxydants ayant la capacité de piéger les espèces radicalaires et les formes réactives de l'oxygène **Djahra, (2014)**, cette capacité anti radicalaire est due à leur pouvoir de donner d'atome d'hydrogène à partir des groupements hydroxyle **Adedapo et al., (2008)** ; **Köksal et Gülçin, (2008)**. Le DPPH est un radical stable qui peut accepter l'hydrogène d'un antioxydant pour former une DPPH Réduite (**Zakaria et Belhattab, 2016**).

La variabilité d'activité antioxydant entre les extraits pourrait être due à la structure et le type de composés phénoliques dans les extraits et leurs concentrations , plusieurs études

antérieures montre présence une relation entre la structure chimique des composés phénoliques et leur pouvoir piègeur des radicaux libres **Popovici et al., (2009)** ; **Rached, (2009)** signale que le potentiel antioxydant des extraits dépend non seulement de la concentration des polyphénols mais aussi de leur structure ; c'est le concept de la relation structure - activité et de leur qualité de ces composés polyphénoliques , c'est - à - dire pas seulement dose - dépendant mais également structure-dépendant **Manallah, (2012)**. L'activité antiradicalaire est dépendante du nombre et / ou la position des groupes hydroxyle autour des structures principales des composés phénoliques et des flavonoïdes (2015), **جيدل**. Les substitutions sur les cycles B et A avec la présence de la double liaison Cz - C3 en conjugaison avec la fonction 4 - oxo sur le cycle C et le degré de polymérisation renforcent l'activité antioxydant des flavonoïdes (**Cai et al., 2006** ; **Popovici et al., 2009**).

D'autre part, **Anggraini et al., (2019)** ont montré que la capacité de piéger du radical DPPH diffère considérablement selon le solvant, qui influence sur la qualité des composés extraits et elle est lié aux les effets antioxydants.

## 5. Evaluation de l'activité antibactérienne

L'évaluation de l'activité antimicrobienne des deux l'extrait éthanolique de corne *Crocus sativus*, a été réalisé par la méthode de diffusion des disques sur un milieu gélosé solide.

L'activité antimicrobienne de l'extrait est déterminée en terme de diamètre de zone d'inhibition produite autour des disques contenant l'extrait après 24h d'incubation à la température adéquate pour le développement des bactéries, nous avons utilisé quatre concentrations différentes de chaque extraits (20 mg/ml, 15mg/ml, 10mg/ml et 5mg/ml). Les résultats sont présentés dans la (**tableau 07**).

D'après les résultats obtenus, Nous avons remarqué que la concentration de 20 mg/l ml de l'extrait immature présente la plus grande zone d'inhibition contre la croissance de *Staphylococcus aureus*, suivie par *Klebsiella pneumoniae* puis *Escherichia coli* et enfin *Pseudomonas aeruginosa*, avec les valeurs suivantes  $15 \pm 0.17$  mm ,  $12 \pm 0.2$ mm,  $11 \pm 0.4$ mm,  $9 \pm 0.28$ mm, respectivement. Cependant la concentration de 20 mg/l d'extrait des cornes mature montre le même ordre de pouvoir antibactérienne *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* ( $14 \pm 0.57$ mm,  $11 \pm 0.3$ mm,  $10 \pm 0.6$ mm,  $8 \pm 0.71$ mm, respectivement).

Ces résultats révèlent que l'efficacité de l'extrait immature était plus élevée que l'extrait mature dans l'inhibition de développement les bactéries.

**Tableau 07:** Effet antibactérienne des extraits éthanolique de corne immature et mature de *Crocus sativus*.

Matériel végétal	Zone d'inhibition (mm)															
	<i>Staphylococcus aureus</i>				<i>Klebsiella pneumoniae</i>				<i>Escherichia coli</i>				<i>Pseudomonas aeruginosa</i>			
	Concentration (mg/ml)															
	20mg	15mg	10mg	5mg	20mg	15mg	10mg	5mg	20mg	15mg	10mg	5mg	20mg	15mg	10mg	5mg
Corne immature	15±0.17	12±0.57	11±0.11	10±0.8	12±0.2	10±0.5	9±0.2	8±0.25	11±0.4	9±0.2	8±0.18	7±0.28	9±0.28	7±0.57	7±0.28	6±0.34
Corne mature	14±0.57	11±0.44	10±0.16	9±0.2	11±0.3	10±0.3	9±0.2	8±0.27	10±0.6	8±0.1	7±0.44	6±0.42	8±0.71	6±0.49	5±0.28	4±0.28
Amoxicilline	21				18				28				23			

Dans une autre étude menée par **Ehsan et Mina, (2014)** montre que l'extrait de corne *Crocus sativus* (1500µg/disc) non présente aucune zones d'inhibition pour les bactéries de *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*.

Dans une étude menée par **Izbassar et al., (2015)** sur les bactéries *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*, les résultats de l'efficacité de l'extrait de corne *Crocus alatavicus* étaient différent à notre étude, en termes d'intensité de son efficacité sur les types des bactéries, où la concentration 1 mg/ml présent la plus grand zone inhibition contre les bactéries *Staphylococcus aureus* ( $18.71 \pm 0.12$  mm). En revanche, *Escherichia coli* ne constituait pas une zone d'inhibition.

Dans une étude menée par **Olha et al., (2021)**, les résultats de l'efficacité de l'extrait de feuille de safran étaient similaires à notre étude en termes d'intensité de son efficacité sur les différents types des bactéries, qui sont montré que la plus grand zone d'inhibition est enregistré contre la croissance de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*, avec les valeurs de 18mm, 16.70 mm, 15.60 mm, respectivement.

Dans une étude menée par **Chakraborty et Munshi, (2020)**, les résultats de l'efficacité de l'extrait de safran étaient différents à notre étude, où utilisé concentration 11.1mg/ml, et été la plus grand zone inhibition dans les bactéries *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*, avec les valeurs de 13 mm, 13 mm, 11 mm, 10 mm, respectivement.

Dans une autre étude menée par **Javed et Kirti, (2018)**. L'extrait du rhizome (50ml/mg) *d'Iris kashmiriana* présent des zones d'inhibitions très proches à nos résultats pour la *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli* ( $9.70 \pm 1.089$  mm et  $9.03 \pm 0.403$  mm).

Cette différence de résultats est due à la différence structurale entre les bactéries gram positives et les bactéries gram négatives **David et Sudarsanam, (2013)**, Cette différence est en relation avec la nature de leurs membranes (imperméables à la plupart des agents biocides) (**aucher et Avril, 2002**) ; (**Bouزيد et al., 2011**).

La date de récolte il aura des variations dans la composition chimique et alors de l'activité, et aussi que méthodes d'extraction, nature du solvant et la température **Athamena, (2009)**. Cette activité est due principalement à la capacité de ces molécules à inhiber l'expression de l'ADN et la synthèse de certaines enzymes et protéines membranaires des microorganismes **Ulanowska et al., (2006)**. Tels que les différentes classes de polyphénols essentiellement les tanins et les flavonoïdes peuvent augmenter la toxicité des extraits envers les micro-organismes. Cette toxicité est fonction du site et du nombre de groupements hydroxyles présents sur le composé phénolique **Harrar, (2012)**. En outre, il est évident que

l'augmentation de l'hydroxylation conduit à une augmentation de la toxicité. L'effet antimicrobien de ces phénols peut être expliqué par l'inhibition de la croissance bactérienne suite à leur adsorption sur les membranes cellulaires, l'interaction avec les enzymes et les effecteurs ou la privation en substrats et ions métalliques **Dhaouadi et al., (2010)**. Aussi L'activité antimicrobienne et donc anti-infectieuse des flavonoïdes a été démontrée par de nombreuses études. Cette activité est due principalement à la capacité de ces molécules à inhiber l'expression de l'ADN et la synthèse de certaines enzymes et protéines membranaires des microorganismes **Ulanowska et al., (2006)**.

L'effet antimicrobien peut être expliqué par l'inhibition de la croissance bactérienne suite à leur adsorption sur les membranes cellulaires, l'interaction avec les enzymes et les effecteurs ou la privation en substrats et ions métalliques **Dhaouadi et al., (2010)**. L'organisation architecturale de la paroi cellulaire des bactéries à Gram positif est riche en protéines, cette structure est moins complexe que celle des bactéries à Gram négatif **Hogan et Kolter, (2002)**. Cette différence structurale rend les bactéries à Gram positif plus sensibles à l'action de divers composés naturels tels que les extraits de plantes **Kalemba et Kunicka, (2003)**. Une autre caractéristique des bactéries à Gram négatif est la présence de porines dans la membrane externe qui permettent de faire circuler des molécules hydrophiles de tailles mitées vers l'espace périplasmique, et qui empêchent les molécules (tels que les antibiotiques, et agents antimicrobiens) lipophiles d'entrer dans la cellule **Wax et al., (2008) ; Fernandez et Hancock,(2012)**.

# *Conclusion*

## Conclusion

---

De nos jours, l'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie a reçu un grand intérêt dans la recherche biomédicale et devient aussi importante. Cet intérêt de ces plantes médicinales représente d'une part une source inépuisable des substances et des composés naturels bioactifs et d'autre part du besoin de la recherche d'une meilleure médication par une thérapie plus douce sans effets secondaires.

Dans notre travail, nous avons étudié les composés chimiques (tests phytochimique) et dosé la teneur de polyphénols et flavonoïdes et tanins et aussi évalué l'activité antioxydant et antimicrobienne de deux extraits des cormes *Crocus sativus* mature et immature, nos résultats peuvent être énumérés comme suite :

- Le processus d'extraction des cormes immature et mature de la plante a permis d'obtenir un rendement de 9 % et 8.1 %, respectivement, la corne immature est le plus productif.
- Le screening phytochimique a montré la présence des polyphénols, flavonoïdes, tanins, alcaloïdes, terpénoïdes dans les deux cormes, cependant les saponosides et anthraquinones ils sont absents.
- Le dosage des polyphénols totaux a révélé une teneur de  $28.74 \pm 1.6$  mg EAG/g d'extrait éthanolique de corne immature et  $12.9 \pm 0.6$  mg EAG/g d'extrait éthanolique de corne mature, et la corne immature était supérieure.
- Concernant la teneur en flavonoïdes l'extrait éthanolique de corne immature contient de  $12.053 \pm 0.4$  mg EQ /g d'extrait, et l'extrait éthanolique de corne mature possède une quantité de  $7.29 \pm 0.2$  mg EQ /g d'extrait, Où la corne immature a montré une teneur supérieure dans flavonoïdes.
- L'estimation de la quantité de tanins condensés montre que l'extrait éthanolique de corne immature de *Crocus sativus* est d'ordre de  $26.96 \pm 0.4$  mg EC/g et l'extrait de corne mûré est de  $5.14 \pm 0,4$  mg EC/g.
- Dans le test DPPH, il en ressort que le deux extrait possède un pouvoir antioxydant modéré par rapport l'activité de l'acide ascorbique. L'extrait de corne immature était le meilleur extrait car il possède la teneur en composé phénoliques la plus élevée avec une haute capacité antioxydant par rapport à l'extrait de corne mature, le pourcentage de résistance à l'oxydation dans la corne immature est estimé à  $IC_{50}=11,8 \pm 0.16$  mg/ml et dans la corne mature  $IC_{50}= 105,79 \pm 17.24$  mg/ml.
- L'activité antimicrobienne des extraits de deux cormes immature et mature sur des microorganismes pathogènes s'est avérée importante, vu que ces deux extraits ont

## Conclusion

---

révélé une activité remarquable sur les quatre souches testées *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*. Ces résultats montrent l'efficacité de l'extrait immature par rapport l'extrait mature, la corne immature possède un pouvoir sur tous les types de bactéries testées par  $15 \pm 0.17$  mm,  $12 \pm 0.2$  mm,  $11 \pm 0.4$  mm,  $9 \pm 0.28$  mm, respectivement.

Ces résultats confirment que *Crocus sativus* est une plante médicinale élabore une importance non négligeable en médecine, En effet, les deux cornes de cette plante possèdent de nombreuses propriétés thérapeutiques, cependant l'ensemble de ces résultats obtenus in vitro ne constitue qu'une petite partie dans recherche des substances et sources naturelles biologiquement actives. Il serait donc judicieux à l'avenir d'approfondir l'étude phytochimique de cette plante en essayent d'identifier et de purifier les substances bioactives responsables à des activités testées et en utiliser des méthodes modernes pour l'extraction des principes actifs (safranal, crocine, picrocrocine.... etc.), et de valoriser leur présence par des techniques précises comme la CPG-SM, la RMN et l'HPLC, pour Connaître spécifiquement les différences dans la quantité, la qualité et les types de composés chimiques entre les deux échantillons et Nous confirmons également que ,L'ensemble de ces résultats obtenus in vitro ne constitue qu'une première étape dans la recherche , une étude in vivo est souhaitable, pour obtenir une vue plus approfondie sur les activités antioxydant et antimicrobienne et l'étendue de l'effet de chacun, des deux échantillons on le corps, et donc connaître l'échantillon qu'il est recommandé d'utiliser Dans des cas particuliers de santé.

*Références*

*Bibliographiques*

- **Abudunia A., 2018.** Etude phytochimique, screening biologique et pharmacologique des fleurs de *Calendula arvensis*, mémoire de doctorat de Bejaia, 179 p.
- **Adedapo A., Jimoh F., Afolayan A., Masika J., 2008.** Antioxidant activities and phenolic contents of the methanol extracts of the stems of *Acokanthera oppositifolia* and *Adenia gummifera*. *BMC Complement Altern Med*. The official journal of the International Society for Complementary Medicine Research (ISCMR), 8 (54), 7 p.
- **Akhondzadeh S., Harirchian M., Shaffie S., 2010.** Saffron in the treatment of patients with mild to moderate Alzheimer's disease: a 16-week randomized and placebo-controlled trial, *Journal of Clinical Pharmacy and therapeutics*, 35(5), 7 p.
- **Alilou H, 2012.** Etude phytochimique et antifongique de deux plantes du Sud du Maroc : *Asteriscus graveolens* subsp. *odorus* (Schousb.) Greuter et *Asteriscus imbricatus* (Cav) DC, Thèse de Doctorat en sciences, Université Agadir, Maroc, 215 p.
- **Amiard C et Amiard-Triquet C., 2008.** Les biomarqueurs dans l'évaluation de l'état écologique des milieux aquatiques, édition 2. Paris .432 p.
- **Anggraini T., Wilma S., Syukri D., Azima F., 2019.** Total phenolic, anthocyanin, catechins, DPPH radical scavenging activity , and toxicity of *lepidanthes alata* (Blume) Leenh, *International Journal of Food Science*, 2019(3), 7 p.
- **Arnason T., Mata R., Romeo T., 2013.** Phytochemistry of medicinal plants, *journal of Springer Science and Business Media*, 3(4), 5 p.
- **Arvy M et Gallouin F., 2003.** Epices aromates et condiments, édition 1, paris, pp: 216-219.
- **Athamena S, 2009.** Etude quantitative des flavonoïdes des graines de *Cuminum cyminum* et les feuilles de *rosmarinus officinalis* et l'évaluation de l'activité biologique, mémoire de Magister en Biologie Université El-Hadj Lakhdar, Batna, Algérie, 88 p.
- **Aucante P, 2000.** Le safran chroniques du potager. Edition Actes sud. France métropolitaine. 96 p.
- **Aurousseau B., Durand D., Gruffat D., 2007.** Contrôle des phénomènes oxydatifs pendant la gestation chez les monogastriques et les ruminants, *journal of INRA Prod. Anim.* 17(5), 15 p.
- **Aurousseau B, 2002.** Les radicaux libres dans l'organisme des animaux d'élevage : conséquences sur la reproduction, la physiologie et la qualité de leurs produits, *journal of INRA Prod. Anim*, 15(1), 15 p.

## Références Bibliographiques

---

- **Avril, 2002.** Soleil et peaux: bénéfiques, risques et prévention, Edition Elsevier Masson, Paris, 296 p.
- **Badie Bostan H., Soghra M., Hossein H., 2017.** Toxicology effects of saffron and its constituents: a review, journal of Basic Med Sc, 20 (4), 12 p.
- **Balasundram N., Sundram K., Samman S., 2006.** Phenolic compounds in plants and agriindustrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses, journal of Food Chemistry, 99(1), 14 p.
- **Barroso M., Barros L., Dueñas M., Carvalho A., Santos-Buelga C., Fernandes I., Ferreira I., 2014.** Exploring the antioxidant potential of *Helichrysum stoechas* (L.) Moench phenolic compounds for cosmetic applications: Chemical characterization, microencapsulation and incorporation into a moisturizer, journal of Industrial crops and products, 53(1), 6 p.
- **Benayache S., Benaissa O., Amrani A., Bicha S., Zama D., Benayache F. et Marchioni E., 2013.** Free radical scavenging action of phenolic compounds from *Limonium Bonueli* (Plumbaginaceae), Journal of Scholars Research Library, 5(5).
- (Plumbaginaceae), journal of Scholars Research Library Der Pharmacia Lettre, 5(5), 14 p.
- **Ben Haj Khalifa A et Khedher M 2010.** Epidémiologie des souches de *Klebsiella spp.* uropathogènes productrices de B-lactamases à spectre élargi dans un hopital universitaire Tunisien, Journal of pathologie Biologie, 60 (2), 5 p.
- **Ben Mostefa I et Guellil Z, 2017.** Dosage des polyphénols de la fleur de *Crocus sativus L.*, mémoire de universite abou bakar belkaid de tlemcen, 62 p.
- **Bertille B, 2011.** Les Rubiacées : botanique, biochimie et plantes utiles, mémoire de doctoura, Université de Lille II:Lille, 186 p.
- **Besnier E., Delile E., Coquerel D., Tamion F., 2015.** Les voies du monoxyde d'azote dans le sepsis, Journal of Réanimation, 24(2), 11 p.
- **Betti G., Hensel A., Schmidt M., 2007.** Saffron in phytotherapy : pharmacology and clinical uses, Journal of Wiener Medizinische Wochenschrift , 157 (13-14), 4 p.
- **Bhargava, V. 2011.** Medicinal uses and pharmacological properties of *Crocus sativus* Linn (Saffron), International Journal of Pharmacy Pharmaceutical Science, 3(3), 4 p.
- **Bhat V., Nagasampigi A., Sivakumar M., 2005.** Chemistry of Natural Products 1: Narosa, Springer, edition 1. Inde, pp: 115-252.

## Références Bibliographiques

---

- **Bonnefont-Rousselot D, 2014.** Obésité et stress oxydant, Journal of Springer-Verlag, 9 (8-13), 10 p.
- **Borel P et Randoux A, 1997.** Biochimie dynamique, Edition 2. Bruxelles. 219 p.
- **Boukadida J., Salem N., Hannachi N., Monastiri K., Snoussi N. 2002.** Exploration génotypique d'une bouffée épidémique nosocomiale néonatale à *Klebsiella pneumoniae* productrice de bêtalactamase à spectre étendu. Journal of Springer Arch Pédiatr ; 9(5), 5 p.
- **Boussahel S, 2011.** Étude biochimique et histologique de l'effet de quelques extraits des plantes toxiques dans la région de Sétif, mémoire de Magister Université Sétif, 86 p.
- **Boussena S., Bouaziz O., Dehimi M., Hireche S., Aimeur R., Kabouia R., 2013.** The effects of electroejaculation on some physiological parameters (rectal temperature, respiratory and cardiac rates) in ouled djellal breed Journal of journal of animal science, 46(1), 5 p.
- **Bouzid W., Yahia M., Abdeddaim M., Aberkane M., Ayachi A., 2011.** Evaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des extraits de l'aubépine monogyne. Journal of Lebanese Science Journal, 12(1), 11 p.
- **Bruneton J, 2009.** Pharmacognosie, Phytochimie, plantes médicinales. Edition 4. Paris. France. 1288 p.
- **Bruneton J, 2009.** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinale. Edition 4. Paris. pp: 261-308.
- **Bruneton J, 2008.** Pharmacognosie, phytochimie et plantes médicinales. Edition 4. Paris. pp : 198-260.
- **Bruneton J, 1999.** Phytochimie. Plantes medicinales. Pharmacognosie. Edition. Paris. France. pp : 125-165.
- **Caballero-Ortega H., Pereda-Miranda R., Abdullaev F.I., 2007.** HPLC quantification of major active components from 11 different saffron (*Crocus sativus* L), Journal of Food Chemistry, 100(3), 5 p.
- **Cai Y., Mei S., Jie X., Luo Q., Corke H., 2006.** Structure - radical scavenging activity relationships of phenolic compounds from traditional Chinese medicinal plants, Journal of Life Sciences, 78(25), 16 p.
- **Carpenter S et Smith N., 1975.** Stomatal distribution and size in southern Appalachian hardwoods, Journal of Canadian Journal of Botany, 53(11), 4 p.

## Références Bibliographiques

---

- **Casamayou A, 2011.** Le safran, l'or rouge des épices. Anagramme édition. Paris. 79 p.
- **Catier O et Roux D, 2007.** Botanique, Pharmacognosie, Phytothérapie. Édition 3. France. 144 p.
- **Chahine, N 2014.** Effet protecteur du safran contre la cardiotoxicité de la doxorubicine en condition ischémique, mémoire doctorat université de Reims en cotutelle avec l'Université Libanaise, 261 p.
- **Chahine N. 2014.** Effet protecteur du safran contre la cardiotoxicité de la doxorubicine en condition ischémique, mémoire doctorat université de Reims en cotutelle avec l'Université Libanaise, pp: 145-150.
- **Chakraborty M., Afrin T., Munshi S., 2020.** Microbiological quality and antimicrobial potential of extracts of different spices, Journale of Food Research, 4(2), 5 p.
- **Chenni M., 2010.** Contribution à l'étude chimique et biologique de la racine d'une plante médicinale mémoire doctorat Université Oran, 138 p.
- **Chimi H., Cillard J., Cillard P., Rahmani M., 1991.** Peroxyl and hydroxyl radical scavenging activity of some natural phenolic antioxidants. Journal of the American Oil Chemists Society, 68(5), 6 p.
- **Chira K., Such J., Saucier C., Teissèdre L. 2008.** Les polyphénols du raisin. Journale of Springer, 6(2), 7 p.
- **Chryssanthi, G., Dedes, G., Karamanos, K., Cordopatis, P., et Lamari, N., 2011.** Crocetin Inhibits Invasiveness of MDA-MB-231 Breast Cancer Cells via Downregulation of Matrix Metalloproteinases. Journale of Planta medica, 77(02), 6 p.
- **Clair P, 2015.** Le safran, précieuse épice ou précieux médicament ?, mémoire doctorat Université de Lorraine, 130 p.
- **Claudine, B., Marie-Jeanne R., Veronique G., Catherine G., &Alain F., 2004.** Enzymatic antioxidant balance and cognitive decline in aging - the EVA study, European Journal of Epidemiology, 19(2), 6 p.
- **Clifford M, 1999.** Appendix 1. A nomenclature for phenols with special reference to ea, Journal of Critical reviews in food Science and nutrition 1(5), 5 p.
- **Collin E. 1910.** Le safran et ses falsifications. Édition 1. Paris.

- **Crini , G et Badot, M, 2006.** Traitement et épuration des eaux industrielles polluées: procédés membranaires, bioadsorption et oxydation chimique. Edition 1. France. 300 p.
- **Crozet A., Durfort S., Sus-Rousset H., 2012.** Crocus sativus L. (Iridaceae), le safran, Journal of Phytothérapie, 10 (2), 5 p.
- **Crozier A, 2003.** Classification and biosynthesis of secondary plant products: an overview. In Plants. Edition 1. Goldberg G. University of Glasgow, Glasgow G12 8QQ, UK pp: 27- 48.
- **Cuvelier E., Richard H., Berset C., 1992.** Comparison of the antioxidative activity of some acid phenols: structure-activity relationship, Journal of Biosci., Biotechnol., Biochem., 56 (2), 1 p.
- **D'Archivio M., Filesi C., Di Benedetto R., Gargiulo R., Giovannini C., Masella R., 2007.** Polyphenols, dietary sources and bioavailability, Journal of Annali-dell'Istituto-Superiore-di Sanità, 43(4), 14 p.
- **Dariya S., Valentina M., Izbassar RA., Bolatkhan Z., Ramazan M., 2015.** Preliminary Phytochemical Analysis and Antioxidant, Antibacterial Activities of *Crocus alata* from Kazakhstan, Journale of Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca, 43(2), 6 p.
- **David B et Sudarsanam G, 2013.** Antimicrobial activity of *Gymnema sylvestre* (Asclepiadaceae). Journal of Acute Disease, 4 p.
- **Delaveau P, 2006.** Expliquez-moi les épices. Aromates ou médicaments ? Edition Pharmathèmes. Paris. pp: 140-153.
- **Derbel S et Ghedira K, 2005.** Phytothérapie et nutrition : Les phytonutriments et leur impact sur la santé. Journal of Phytothérapie.3 (1), 7 p.
- **Deo D, 2003.** Growing Saffron–The World’s Most Expensive Spice, Journal of Crop & Food Research? 4 p.
- **Dhaouadi K., Raboudi F., Estevan C., Barrajon E., Vilanova E., Hamdaoui M. et Fattouch S., 2010.** Cell Viability Effects and Antioxidant and Antimicrobial Activities of Tunisian Date Syrup (Rub El Tamer) Polyphenolic Extracts. Journal of Agric Food Chem. 59(1), 5 p.
- **Djahra, B, 2014.** Etude phytochimique et activité antimicrobienne, antioxydante , anti hépatotoxique du Marrube blanc ou Marrubium vulgare L. mémoire de doctorat en biologie végétale. Université Badji Mokhtar Annaba, 114 p.

- **Djeridane A., Yousfi M., Brunel J., Stocker P., 2010.** Isolation and characterization of a new steroid derivative as a powerful antioxidant from *Cleome arabica* in screening the in vitro antioxidant capacity of 18 Algerian medicinal plants, *Journal of Food Chem Toxicol*, 48 (10), 7 p.
- **Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Boutassouna A., Stocker C., Vidal N., 2005.** Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds, *Journal of Food Chem*, 97(4), 7 p.
- **Dohou N., Yamni K., Gmira N. et Idrissi Hassani L.M., 2003.** Screening phytochimique d'une endémique ibéro-marocaine Thymelaealythroïdes, *Journal of Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, 142(1), 17 p.
- **Droge W, 2002 .** Free radicals in physiological control of cell function, *Journal of Physiol.Rev*, 82(1) 33 p.
- **Druzyńska B., Stepnińska A., et Wolosiak R., 2007.** The influence of time and type of solvent on efficiency of the extraction of polyphenols from green tea and antioxidant properties obtained extracts, *Journal of Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 6(1), 9 p.
- **Dupont G, 2007.** Abrégé de botanique systématique moléculaire. Edition 14. Paris. 285 p.
- **Durand, G et Beaudoux, 2008.** Biochimie médicale: Marqueurs actuels et perspectives. Edition 2. Paris. 608 p.
- **Dwassy A, 2014.** Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant : aspects biologiques et pathologiques, mémoire doctorat en pharmacie, Université Mohammed V Rabat, 134 p.
- **Dworkin M et Falkow S, 2006.** Proteobacteria: Gamma subclass. Edition 3. New York. 1194.
- **Ebrahimzadeh M., Pourmmorad F., Hafezi S., 2008.** Antioxidant activities of Iranian Corn Silk. *Journal of Turkish journal of biology*, 32(1), 7 p.
- **Edeas, M, 2007.** Les polyphénols et les polyphénols de thé. *Journal of Phytothérapie*, 5(10), 7 p.
- **Ehsan H et Mina H, 2014.** In vitro variation in antibacterial activity plant extracts on *Glaucium elegans* and saffron (*Crocus sativus*), *Journal of Bangladesh Pharmacological Society*, 9(3), 4 p.

## Références Bibliographiques

---

- **Fertas-Aissani R., Messai Y., Alouache S., Bakour R., 2012.** Virulence profiles and antibiotic susceptibility patterns of *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from different clinical specimens, 61(5), Journal of Pathologie Biologie, 8 p.
- **Esmaeili N., Ebrahimzadeh H., Abdi K., Safarian S., 2011.** Determination of some phenolic compounds in *Crocus sativus* L. corms and its antioxidant activities study, Journal of Pharmacogn Mag, 7(25), 8 p.
- **Evans C, 1996.** Trease and Evans-Pharmacognosy. Edetion 14. London. 612 p.
- **Fahmi F., Tahrouch S., Hatimi A., 2013.** Geoclimatic influences on flavonoids contents of the leaves of the argan tree Influences géoclimatiques sur la composition en flavonoides des feuilles de l'arganier *Argania spinosa*, Journal of Mater. Environ. Sci, 4(6), 6 p.
- **Falcone L., Rius S., Casati P., 2012.** Flavonoids: biosynthesis, biological functions, and biotechnological applications. Journal of Frontiers in plant science, 3(222), 16 p.
- **Fatmah, A., Siti, B., Zariyantey, A., Nasar, A., & Jamaludin, M., 2012.** The Role of Oxidative Stress and Antioxidants in Diabetic Complications, Journal of Review, 12(1), 14 p.
- **Faucher J et Avril J, 2002.** Bactériologie générale et médicale. Edition 1, Paris, 365 p.
- **Favier A, 2003.** Le stress oxydant, journal of l'actualité chimique, 11(12), 8 p.
- **Favre E, 2008.** Le safran - l'anti kilo l'anti déprime. Edition Terre d'hommes. France métropolitaine.172 p.
- **Fernandez L et Hancock R, 2012.** Adaptive and mutational resistance: role of porins and efflux pumps in drug resistance, Journal of Clin Microbiol Rev, 25(4), 20 p.
- **Fettah A, 2019.** Étude phytochimique et évaluation de l'activité biologique (antioxydanteantibactérienne) des extraits de la plante *Teucrium polium* L. sous espèce *Thymoïdes* de la région Beni Souik, Biskra, mémoire Doctorat Université Mohamed Khaider Biskra, 120 p.
- **Frenkel K et Chrzan K, 1987.** Hydrogen peroxide formation and DNA base modification by tumor promoter-activated polymorphonuclear leukocytes Carcinogenesis, Journal of national Center for biotechnology information, 8(3), 1 p.
- **Fuhrman.B., Lavy.A., Aviram.M., 1995.** Consumption of red wine with meals reduces the susceptibility of human plasma and low-density lipoprotein to lipid peroxidation, Journal of American Society for Clinical Nutrition, 61(3), 6 p.

## Références Bibliographiques

---

- **Goetz P, 2018.** Traiter la dépression en 2018. *Journal of Phytothérapie*. 16(1), 38 p.
- **Goudable, J et Favie A. 1996.** Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Journal of Nutrition Clinique et Métabolisme*, 11(2), 6 p.
- **Guignard J, 2000.** *Biochimie végétale*. Edition 2. Paris. 204 p.
- **Gutheil G., Reed G., Ray A., Anant S., Dhar A., 2012.** Crocetin: an agent derived from saffron for prevention and therapy for cancer, *Journal of Curr Pharm Biotechnol*. 13(1), 8 p.
- **Haddouchi f., chaouche t., halla n., 2016.** screening phytochimique, activités antioxydantes et pouvoir hémolytique de quatre plantes sahariennes d’algérie, *Journal of Phytothérapie* 16(1), 11 p.
- **Halliwell B et CrossC., 1994.** Oxygen-derived species: their relation to human disease and environmental stress, *Journal of environmental health perspectives*, 102 (10), 8 p.
- **Haleng, J., Pincemail J., Defraigne J., Charlier C., Chapelle J., 2007.** Le stress oxydant, *Journal of Rev Med Liege*, 62(10), 11 p.
- **Han X., Hong S., Hwang S., Lee K., Hwang Y., Ro S., 2007.** Monoamine oxidase inhibitory components from *Cayratia japonica*, *Journal of Archives Pharmacal Research*. 30(13), 8 p.
- **Harraa A, 2012.** Activités antioxydante et antimicrobienne d’extraits de *Rhamnus alaternus* L. mémoire de Magister Biochimie et physiologie expérimentale, Université Ferhat Abbas, Sétif. Algérie.73 p.
- **Hart KJ., Yáñez-Ruizd R., Duvals M., Mcewann R. et Newboldc J., 2008.** Plant extracts to manipulate rumen fermentation, *Journal of Animal feed science and technology*, 147(1-3), 11 p.
- **Hassouna C et Zobiri H, 2021.** Contribution à la caractérisation biologique des extraits des racines de *Crocus sativus* issus de la région d’El-Oued, Mémoire master d’El-Oued, 53 p.
- **Hennen G., 2001.** *Endocrinologie*. Edition 1. Paris. 519 p.
- **He Z., Xia W., Chen J., 2008.** Isolation and structure elucidation of phenolics compounds in Chinese olive (*Cnarium album* L.) fruit. *Journal of European Food Research and Technology*, 226(5), 6 p.

## Références Bibliographiques

---

- **Himed H, 2015.** Etude des activités antioxydante et antibactérienne des polyphénols d'*Allium triquetrum L.* en vue de leur application sur la sardine commune, Mémoire de magister de Constantine, 62 p.
- **Hogan D. et Kolter R., 2002.** Why are bacteria refractory o antimicrobials?, journal of Current opinion in microbiology, 5(5), 8 p.
- **Hopkins N, 2003.** Familial hypercholesterolemia—improving treatment and meeting guidelines. International journal of cardiology 89(1), 11 p.
- **Hosseinzadeh et Younesi H 2002.** petal and stigma extracts of crocus sativus L. have antinoceptive and anti-inflammatory effects in mice. Journal of BMC Pharmacology, 2(7), 8 p.
- **Ilhami, G., Zubeyr, H., Mahfuz, E., & Hassan, Y. A.(2009).** Radical scavenging and antioxidant activity of tannic acid, Arabian Journal of Chemistry, 3(1), 11 p.
- **Jaccot B. et Campillo B., 2003.** Nutrition humaine. Edition Masson. Paris. 310 p.
- **Jadot, G. (Ed.)(1994).** Antioxydants et vieillissement. Éditions John Libbey. Paris. 288 p.
- **Jadouali M., Atifi H., Bouzoubaa Z., Majourhat K., Gharby S., Achemchem F., Elmoslih A., Laknifli A., Mamouni R., 2018.** Chemical characterization, antioxidant and antibacterial activity of Moroccan *Crocus sativus L* petals and leaves, journal of Materials and Environmental Sciences, 9(1), 6 p.
- **Javeed I et Kirti J, 2018.** Phytochemical Analysis and Antimicrobial Activity of *Iris kashmiriana* and *Iris ensata* Extracts against Selected Microorganisms, Journal of Drug Delivery and Therapeutics, 8(6), 7 p.
- **Joël, P., Fabian, D., Sylvain, V., Christian, M., Nicolas, P., et Jean-Olivier, D., 2007.** Effet d'une alimentation riche en fruits et légumes sur les taux plasmatiques en antioxydants et des marqueurs des dommages oxydatifs, Journal of Nutrition clinique et métabolisme, 21(2), 10 p.
- **Josem, M., Cristina, P., Ignacio, N. 1999.** Antioxidant enzymes and human diseases. *Clinical Biochemistry*, 32 (8), 9 p.
- **Kabouche A, 2005.** Etude phytochimique de plantes médicinales appartenant à la famille des Lamiaceae, Mémoire de doctorat de constantine, 310 p.
- **Kabera N., Semana E., Mussa A., He X., 2014.** Plant secondary metabolites: biosynthesis, classification, function and pharmacological properties. Journal of Pharm Pharmacol, 2(7), 16 p.

## Références Bibliographiques

---

- **Kafi M., Rashed M., Koocheki A., Mollafilabi A., 2002.** Saffron: Science, Technology and Health. Edition Laura Okidi. India. 569 p.
- **Kalemba D et Kunicka A, 2003.** Antibacterial and antifungal properties of essential oils, *Journal of Current medicinal chemistry*, 10(10), 16 p.
- **Kamalipour M et Akhondzadeh R, 2011.** Cardiovascular effects of saffron: an evidence-based review, *Journal of Tehran Heart Cent*, 6(2), 2 p.
- **Kaper B., Nataro P., Mobley L., 2004.** Pathogenic *Escherichia coli*, *Journal of Nature Reviews Microbiology*, 2(2), 17 p.
- **Katarzyna L., Henryk S., Bożena T., Ryszard Z., Ans E., Ivonne M., 2001.** The influence of pH on antioxidant properties and the mechanism of antioxidant action of hydroxyflavones, *Journal of Free Radical Biology and Medicine*, 31(7), 12 p.
- **Kaur R et Arora S, 2015.** Alkaloids-important therapeutic secondary metabolites of plant origin, *Journal of Critical Reviews*, 2(3), 8 p.
- **Kumar A., Yadav A., Gupta N., Kumar S., Gupta N., Kumar S. Gurjar H., 2014.** Metabolites in Plants and Its Classification. *World Journal of PharmPharmac*, 4(1), 19 p.
- **Kelly E., Anthony R., Dennis J., 2002.** Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships, *Journal of Nutritional Biochemistry*, 13(10), 12 p.
- **Khadri A., Serralheiro M., Nogueira J., Neffati M., Smiti S., Araujo M., 2008.** Antioxidant and antiacetyl cholinesterase activities of essential oils from *Cymbopogon Schoenanthus* L. Spreng. Determination of chemical composition by GC–massspectrometry and <sup>13</sup>C NMR, *Journal of Food Chemistry*, 109(3), 7 p.
- **Koechlin-Ramonatxo C, 2006.** Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydants ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires, *Journal of Nutrition Clinique et Métabolisme*, 20(4), 12 p.
- **Koffi N., Beugré K., Guédé N., Dossahoua T., Laurent A., 2009.** Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d'Ivoire), *Journal of Sciences and Nature*, 6(1), 15 p.
- **Köksal E et Gülçin L, 2008.** Antioxidant activity of cauliflower (*Brassica oleracea* L), *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 32(1), 14 p.

## Références Bibliographiques

---

- **Lacollry P., Babuty D., Boulanger C., Chaler B., Loirand C., Pinet F., Samuel J., 2007.** Biologie et pathologie du Coeur et des vaisseaux, édition 3, Paris John Libbey Eurotext, 524 p.
- **Lahmass I., Ouahhoud S., Elmansuri M., Sabouni A., Elyoubi M., Benabbas R., Choukri M., Saalaoui E., 2017.** Determination of Antioxidant Properties of Six By-Products of *Crocus sativus* L. (Saffron) Plant Products, *Journal of Springer*, 3(4), 11 p.
- **Leinmüller E., Steingass H., Menke K., 1991.** Tannins in feeds for ruminants. II Effects on rumen metabolism in vitro, *Journal of Übersichten zur Tierernährung*, 19(1), 26 p.
- **Lilia L., Warda M., Kadir M., 2017.** Qualité physico-chimique du safran Algérien, Université Abderrahmane Mira, 42 p.
- **Lopresti A et Drummond P, 2014.** Saffron (*crocus sativus*) for depression : a systematic review of clinical studies and examination of underlying antidepressant mechanisms of action, *Journal of Hum Psychopharmacol.* 29(6), 11 p.
- **Loukidi B., Guermouche B., Taibi W., Azzi R., Daoud M., Rouigueb K., Labaik A., Gaouar S., 2019.** Phenotypic and phytochemical diversity of saffron (*Crocus Sativus* L.), *Journal of Genetics and Biodiversity*, 10 p.
- **Makhloufi A, 2010.** Etude des activités antimicrobienne et antioxydante de deux plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de Bechar (*Matricaria pubescens* (Desf.) et (*Rosmarinus officinalis* L) et leur impact sur la conservation des dattes et du beurre, Mémoire de doctorat d'état en biologie, université aboubaker belkaid, Tlemcen. Algérie, 136 p.
- **Manach C., Scalbert A., Morand C., Remesy C., Jimenez L., 2004.** Polyphenols: food sources and bioavailability, *American Journal of Clinical Nutrition*, 79(5), 21 p.
- **Manallah A, 2012.** Activités antioxydante et anticoagulante des polyphénols de la pulpe d'olive *Olea europaea* L. Mémoire de magister en biochimie appliquée, Université Ferhat Abbas, Sétif, 87 p.
- **Marcel B et Véronique C, 2008.** Aliments fonctionnels. Édition 2. Paris : Lavoisier. 1042 p.
- **Marref S, 2018.** Contribution à l'étude des activités biologiques de l'extrait méthanolique de la plante *Gladiolus segetum* in vivo et in vitro, Mémoire de doctorat de batna, 88 p.

- **Martin S et Andriantsitohaina R, 2002.** Cellular mechanism of vasculo-protection induced by polyphenols on the endothelium, *Journal of Annales de Cardiologie et d'Angiologie*, 51(5), 15 p.
- **Melnyk J., Marccone M., Wang S, 2010.** Chemical and biological properties of the world's most expensive spice: Saffron, *Journal of Food Research International*, 43 (8), 8 p.
- **Meziti A, 2009.** Activité antioxydante des extraits des graines de *Nigella sativa* L Étude in vitro et in vivo, Mémoire de Magister en biochimie appliqué, Université El-Haj Lakhdar, Batna. Algérie. 105 p.
- **Mikhailenko O et vladimiri M, 2016.** Phenolic compounds of the genus Iris plants (*Iridaceae*), *Journal of researchgate*, 26(8), 8 p.
- **Mohammedi Z, 2013.** Etude Phytochimique et Activités Biologiques de quelques Plantes médicinales de la région Nord et Sud-Ouest de l'Algérie, Mémoire de doctorat Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen, p169 p.
- **Mompon B., Lemaire B., Mengal P., Surbel D., 1998.** Polyphenol extraction: from laboratory to industrial production, *Journal of Agricultural Science and Technology*, 4(6), 8 p.
- **Mónica G., Sandra V., Patricia I., Cesar G., 2010.** Antioxidant actions of flavonoids: Thermodynamic and kinetic analysis, *Journal of Archives of Biochemistry and Biophysics*, 501(1), 8 p.
- **Moussard C, 2006.** Biochimie structurale et métabolique, édition 3. Paris Bruxelles. 352 p.
- **Muanda F, 2010.** Identification de polyphénols, évaluation de leur Activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques, Mémoire de doctorat, université paul verlaine-metz, 160.
- **Mzabri I., Mohamed A., Abdelbasset Berrichi.,** Traditional and Modern Uses of Saffron (*Crocus Sativus*), *Journal of Laboratory of Biology of Plants and Microorganisms*, 6(63), 12 p.
- **Nabti L et Belhatta R, 2016.** In vitro antioxidant activity of *Oudneya africana* R. Br. aerial parts, *Journal of Sciences and Pharmaceutical Research*, 4 (6), 6 p.
- **Najjaa N., Zouari S., Arnault I., Auger J., Emna A., Neffati M., 2011.** Différences et similitudes des métabolites secondaires chez deux espèces du genre *Allium* *Allium roseum* L. et *Allium ampeloprasum* L, *Journal of Acta Botanica Gallica*, 158(1), 13 p.

- **Nathalie C., 2014.** Effet protecteur du safran contre la cardiotoxicité de la doxorubicine en condition ischémique, mémoire de doctorat, université de Reims Champagne, Ardenne, 367 p.
- **Nazck M et Shahidi F, 2004.** Extraction and analysis of phenolics in food. Journal of Chromatogram A, 1054(1-2), 17 p.
- **Negbi, M. 1999.** Saffron cultivation. In Saffron: *Crocus sativus* L. edition 1. paris, pp: 1-17.
- **Olha M., Liudas I., Ivan B., Lyudmila S., Roman L., Victoriya G., 2021.** Characterization of Phytochemical Components of *Crocus sativus* Leaves: A New Attractive By-Product, Journale of scientia pharmaceutica, 89(28), 17 p.
- **Özgüven M., TANSI S., 1998.** Drug yield and essential oil of *Thymus vulgaris* L, as in influenced by ecological and ontogenetical variation, The Turkish journal of agriculture and forestry, 22(6), 6 p.
- **Palomares C, 2015.** Le safran, precieuse epice ou precieux medicament, Mémoire de doctorat. Université de Lorraine Université Mentouri de Constantin, 130 p.
- **Park H et Cha H., 2003.** Flavonoids from leaves and exocarps of the grape Kyoho. Korean, Journal of biological society, 7(4), 4 p.
- **Paris M et Hurabielle M., 1980.** Abrégé de matière médicale Pharmacognosie, édition 1. Masson Paris, pp: 82-89.
- **Percival S., Chalmers R., Embrey M., Hunter P., Sellwood J., Wynjones P., 2004.** Microbiology of waterborne diseases, Edition Elsevier Academic Press, Amsterdam, USA, 480 p.
- **Pincemail J., Karine B., Karine C., Defraigne J., 2002.** Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante, Journal of Nutrition clinique et métabolisme, 16 (4), 7 p.
- **Pincemail J., Meurisse M., Limet R., Defraigne J., 1999.** L'évaluation du stress oxydatif d'un individu: une réalité pour le médecin, Journal of docplayer, 4(5), 7 p.
- **Podsedek A., Wilska-Jeszka J., Anders B., Markowski J., 2000.** Compositional characterisation of some apple varieties. Journal of European Food Research and Technology, 210(4), 6 p.

## Références Bibliographiques

---

- **Poisson C, 2013.** Rôle du stress oxydant au niveau hépatique et rénal dans la toxicité de l'uranium après exposition chronique, Mémoire de doctorat en pharmacologie et toxicologie, Université paris-sud, 414 p.
- **Poortmans J et Boisseau N., 2003.** Biochimie des activités physiques, édition 3, Paris Bruxelles, 688 p.
- **Popovici C., Saykova L., Bartek T., 2009.** Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH, Journal of Revue de génie industriel 4(1), 15 p.
- **Rached W., 2009.** Evaluation du potentiel antioxydant de plantes médicinales et analyse phytochimique, Mémoire de magister en biologie non publié, Université d'Oran Es - Sénia, Oran, 121 p.
- **Rahimi M, 2015.** Chemical and Medicinal Properties of saffron, Journale of Bulletin Of Environment, Pharmacology And Life Sciences, 4(1) , 5 p.
- 165- **Rahmani A., Khan A., Aldebasi Y., 2017.** Saffron (*Crocus sativus*) and its active ingredients: Role in the Prevention and Treatment of Disease, Journale of Pharmacognosy, 9(6), 7 p.
- **Ramos S, 2007.** Effects of dietary flavonoids on apoptotic pathways related to cancer chemoprevention, Journal of Nutritional Biochemistry, 18(7), 15 p.
- **Ré D., Nafia I., Nieoullon A., Kerkerian Le Goff L., Had-Aissouni L., 2005.** Stress oxydatif cérébral : les astrocytes sont-ils vulnérables aux faibles concentrations intracellulaires de glutamate ? Implications sur la survie neuronale, Journal of Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation, 24(5), 7 p.
- **Revuz J, 2009.** Traité EMC : cosmétologie et dermatologie esthétique, édition 1, Paris Elsevier Masson, 500 p.
- **Richter G. (1993).** Composés phénoliques in Métabolisme des végétaux: physiologie et biochimie. Edition 1. Presse polytechnique et universitaire romande. pp: 317-339.
- **Richter G, 1993.** Métabolisme des végétaux. Physiologie et Biochimie. Édition 1. Presses Polytechniques et Universitaire, Romandes Suisse. 526 p.
- **Rira M., 2006.** Effet des polyphénols et des tanins sur l'activité métabolique du microbiote ruminal d'ovins, Mémoire de Magister en biochimie et microbiologie appliquées, Université Mentouri Constantine, Algérie, 94 p.
- **Rödel W et Petrzika M, 1991.** Analysis of the volatile components of saffron, Journal of Separation Science, 14(11), 3 p.

## Références Bibliographiques

---

- **Saeed N., Khan MR., Shabbir M., 2012.** Antioxidant activity, total phenolic and total flavonoid contents of whole plant extracts *Torilis leptophylla* L, Journal of BMC Complementary Medicine and Therapies, 12 (221), 12 p.
- **Sanchez-Moreno C, 2002.** Review: methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems, Journal of Food Science and Technology International, 8(3), 16 p.
- **Saxena R, 2010.** Botany, Taxonomy and Cytology of *Crocus sativus* series, Journal of Pharmacognosy Review, 31(3), 7 p.
- **Serghini M., Lagram K., Ben El Caid M., Lachheb M., Atyane L., Salaka L., Karra Y., 2016.** Saffron (*Crocus sativus*): current state of scientific research, International Society for Horticultural Science, 1184(12), 7 p.
- **Serteyn D., Mouthys-Mickalad A., Franck,T., Grulke S., Lamy M., Deby C., Deby-Dubont G., 2002.** La nature chimique et la réactivité de l’oxygène, Journal of Annales de Médecine Vétérinaire, 146(1), 16 p.
- **Schmidt M., Betti, G., Hensel A., 2007.** Saffron in phytotherapy: pharmacology and clinical uses, Journal of national library of medicine, 157(13), 4 p.
- **Schofield P., Mbugua D., Pell A., 2001.** Analyses of condensed tannins, Animal Feed Science and Technology, 91(1), 19 p.
- **Shariq H., Amirul H., Malik N., Tanveer A., Priyanka B., 2014.** Evaluation of In-Vitro Anti-Mycobacterial Activity and Isolation of Active Constituents from *Crocus sativus* L. (*Iridaceae*), Journal of Medical and Pharmaceutical Researches, 4(2), 5 p.
- **Shoib A., Aubid H., Zahoor A., Tabasum M., Zeeshan S., Nazia A., Nasheeman A., 2015.** Phytochemical analysis and antioxidant activity of different tissue types of *Crocus sativus* and oxidative stress alleviating potential of saffron extract in plants, bacteria, and yeast, Journal of botany, 99(1), 7 p.
- **Skerget M., Kotnik P., Hadolin B., Hras A., Simonic M., Knez Z., 2005.** Phenols, proanthocyanidines, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities, Journale of Food Chemistry, 89(2), 9 p.
- **Srivastava., Ahmed H., Dixit k., Dharamveer., Saraf S, 2010.** *Crocus sativus* L: A comprehensive review, Journale of national library of medicine, 4(8), 8 p.
- **Srivastava R et H Ahmed, 2010.** *Crocus sativus* L.: A comprehensive review, Journal of Pharmacogn Rev, 4(8), 8 p.

- **Stanković S, 2011.** Total phenolic content, flavonoïd concentration and antioxidant activity of *Marrubium peregrinum* L extracts, Kragujevac Journale of Science, 33(2011), 9 p.
- **Suzy A et Comhair S, 2002.** Antioxidant responses to oxidant-mediated lung diseases, American Journal of Physiology, 283 (2), 9 p.
- **Subirade I., Fernandez y., Periquet A., Mitjavil A., 1995.** Catechin protection of 3T3 Swiss fibroblasts in culture under oxidative stress, Journal of national Center for biotechnology information, 47(1-3), 1 p.
- **Tarantilis P., Tsoupras G., Polissiou M., 1995.** Determination of saffron (*Crocus sativus* L) components in crude plant extract using high-performance liquid chromatography-UV-visible photodiode-array detection-mass spectrometry, Journal of Chromatography A, 699(1-2), 11 p.
- **Tawakolé M. et Baqerzadeh K., 1994.** Quantitative and qualitative evaluation of phytochemical factors of saffron waste (*L. sativus* Crocus) Measurement of anthocyanin level using ultrasound, journal of saffron research, 4(2), 9 p.
- **Tessier F. et Marconnet P., 1995.** Radicaux libres, systèmes antioxydants et exercice, Journal of Science and Sports, 10 (1), 13 p.
- **Teusher E., Anton R., Lobstein A., 2005.** Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et huiles essentielles. Édition 1. Illkirch. pp: 429-435.
- **Thiebault C et Sprumont P, 1998.** L'enfant et le sport: Introduction à un traité de médecine du sport chez l'enfant. Édition 1. Paris Bruxelles. 462 p.
- **Tiwari R et Rana S, 2015.** Plant secondary metabolites: a review, International Journal of Engineering Research and General Science 3(5), 10 p.
- **Thoppil R et Bishayee A, 2011.** Terpenoids as potential chemopreventive and therapeutic agents in liver cancer, Journal of Hepatology, 3(9), 22 p.
- **Tigrine C, 2014.** Effets anticancéreux et chimioprotecteur de l'extrait polyphénolique, riche en flavonoïdes, des feuilles de *Cleome arabica*. Mémoire de Doctorat en Sciences. Université Ferhat Abbas, Sétif Algérie, 132 p.
- **Tirichine H, 2010.** Etude ethnobotanique, activité antioxydante et analyse phytochimique de quelques cultivars de palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) du Sud-Est algérien. Mémoire de Magister en Biologie, Université d'Oranes-Es Senia, Oran Algérie, 88 p.

## Références Bibliographiques

---

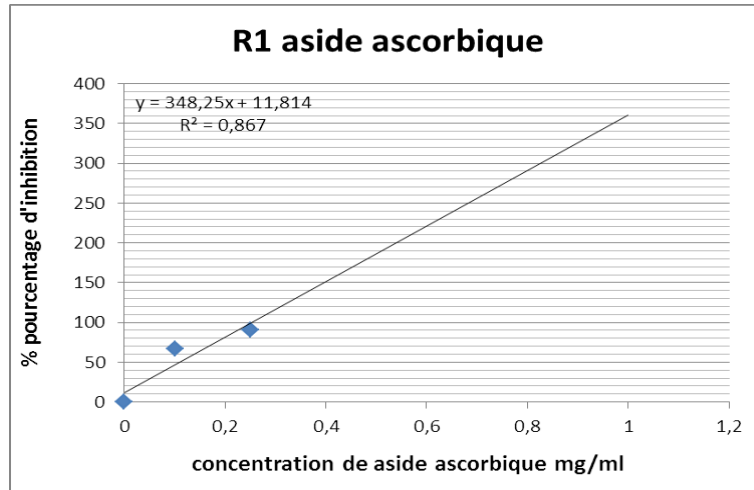
- **Tlili M.L., 2016.** Contribution à la caractérisation physico-chimique et biologique des extraits de *Pergularia tomentosa* issue de quatre sites sahariens différents (Sahara septentrional), Mémoire de magister de Ouargla, 98 p.
- **Tsimidou M et Biliaderis C, 1997.** Kinetic studies of saffron (*Crocus sativus* L.) quality deterioration, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 45(8), 9 p.
- **Ulanowska K., Traczyk A., Konopa G., Wegrzym G., 2006.** Differential antibacterial activity of genistein arising from global inhibition of DND, RNA and protein synthesis in some bacterial strains, Journal of Archives of Microbiology, 184 (5), 8 p.
- **Ursat J. 1913.** Le safran du Gatinais. Édition 1. Pithiviers. 45 p.
- **Valéry A., Romuald C., Dragoslav M., Pascal C., Abderrahim L., 2007.** Radicaux libres dérivés de l'oxygène et superoxydes dismutases, journal of Elivers, 74(7), 8 p.
- **Vergely C et Rochette L, 2003.** Stress oxydant dans le domaine cardiovasculaire, journal of Médecine thérapeutique Cardiologie, 1(3), 9 p.
- **Verma S., et Bordia A., 1998.** Antioxidant property of saffron in man, journal of medical sciences, 52(5), 3 p.
- **Voyer M et Magny J, 1998.** Prématurité: le préterme, édition 1, Paris Elsevier, 532 p.
- **Vuorela S, 2005.** Analysis, isolation and bioactivities of rapeseed phenolics, edition 1, University of Helsinki, Helsinki, 76 p.
- **Wallace R, 2004.** Antimicrobial properties of plant secondary metabolites, Journal of Proceedings of nutrition society, 63(4), 9 p.
- **Wax G., Lewis K., Salyers A., Taber H., 2008.** Bacterial resistance to antimicrobial, edition 2, CRC press, Floride, USA, 448 p.
- **Williams C et Grayer R, 2004.** Anthocyanins and other flavonoids, Journale of Natural Product Reports, 21(4), 35 p.
- **Winterhalter P et Straubinger M, 2000.** Saffron-renewed interest in an ancient spice, Journal of Food Reviews International, 16(1), 21 p.
- **Wojdylo A., Oszmianski J., Czemerys R., 2007.** Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs, Journal of Food Chem, 105(3), 10 p.
- **Wong C., Li H., Cheng K., Chen F., 2006.** A systematic survey of antioxidant activity of 30 Chinese medicinal plants using the ferric reducing antioxidant power assay, Journal of Food Chem, 97(4), 7 p.

## Références Bibliographiques

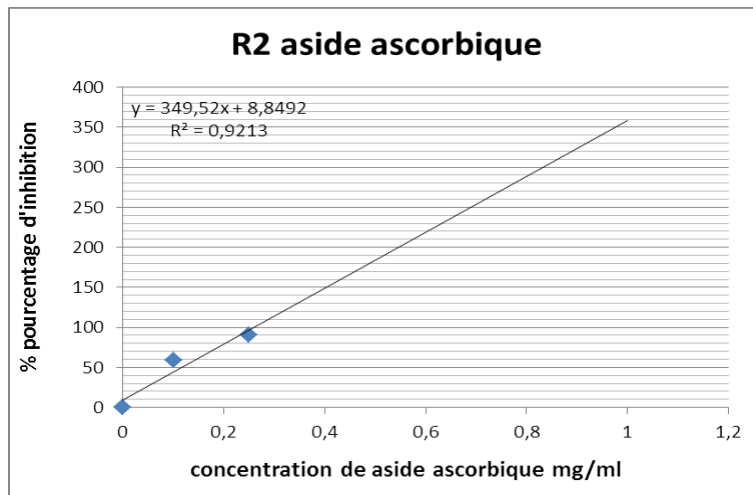
---

- **Yahiaoui A., silet I., Mazoz W., 2018.** Contribution à l'étude des extraits de l'espèce ephédra alata alanda de la région de sigus, mémoire de master Université Larbi Ben Mhidi Oum El bouaghi, 37 p.
- **Young A., Phillip D., Savill J., 1997.** Carotenoids in higher plant photosynthesis. Edition 1, M. Pessaraki, Handbook of Photosynthesis, Marcel DekkerInc, New York, USA, pp: 575–596.
- **جيدل ، ص . ( 2015 ) : وتقدير المحتوى الفينولي والتأثير المضاد للأكسدة لمستخلصات نباتات Artemisia .** Argania spinosa L ، Pistacia lentiscus L. ، أطروحة مقدمة لنيل شهادة الدكتوراه لم تنشر ، جامعة فرحات عباس 1 ، سطيف.

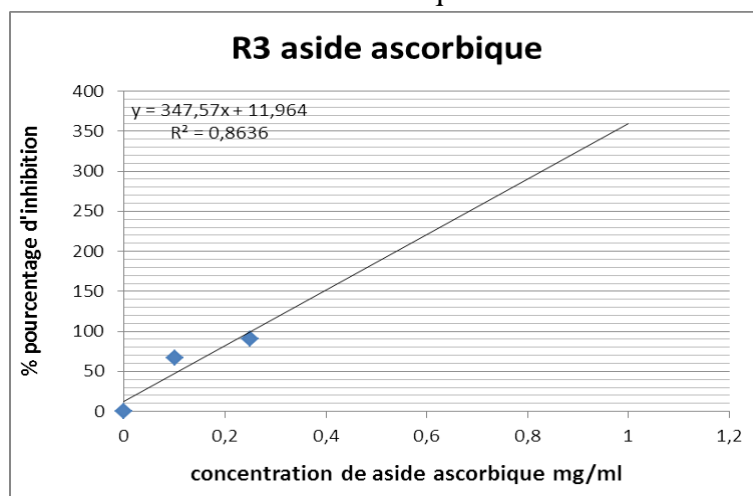
# *Annexes*



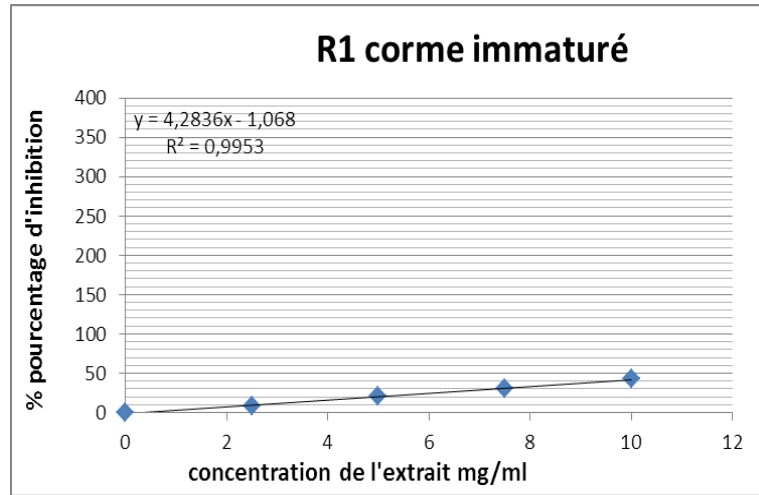
pourcentage d'inhibition du radicale libre DPPH en fonction des différentes concentrations en acide ascorbique.



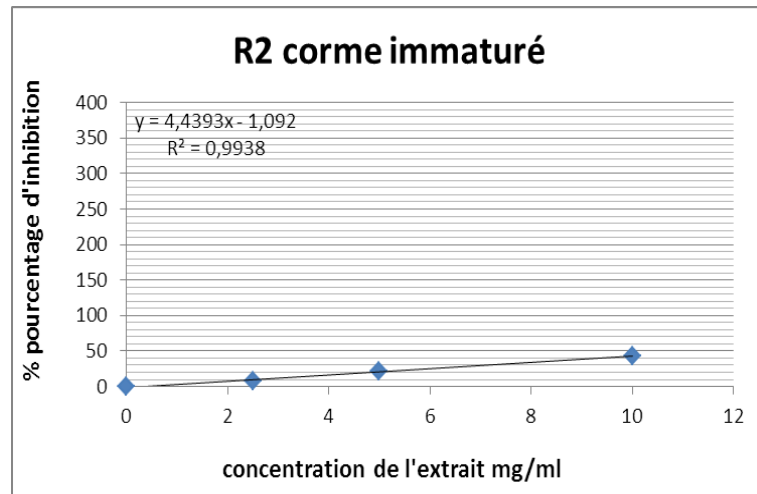
pourcentage d'inhibition du radicale libre DPPH en fonction des différentes concentrations en acide ascorbique.



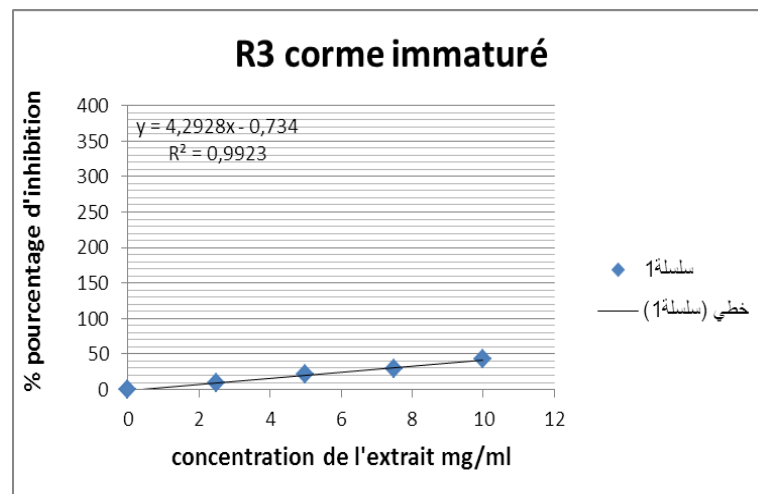
pourcentage d'inhibition du radicale libre DPPH en fonction des différentes concentrations en acide ascorbique.



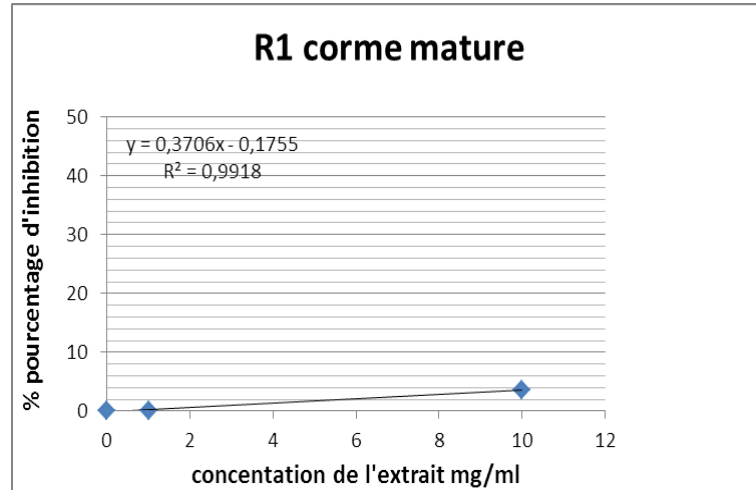
pourcentage d'inhibition du radicale libre DPPH en fonction des différentes concentrations en extrait corne immature.



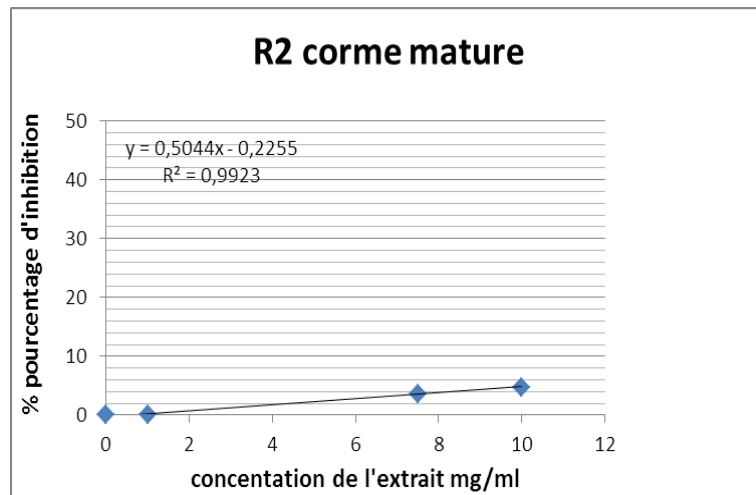
pourcentage d'inhibition du radicale libre DPPH en fonction des différentes concentrations en extrait corne immature.



pourcentage d'inhibition du radicale libre DPPH en fonction des différentes concentrations en extrait corne immature.



pourcentage d'inhibition du radicale libre DPPH en fonction des différentes concentrations en extrait corne mature.



pourcentage d'inhibition du radicale libre DPPH en fonction des différentes concentrations en extrait corne mature.

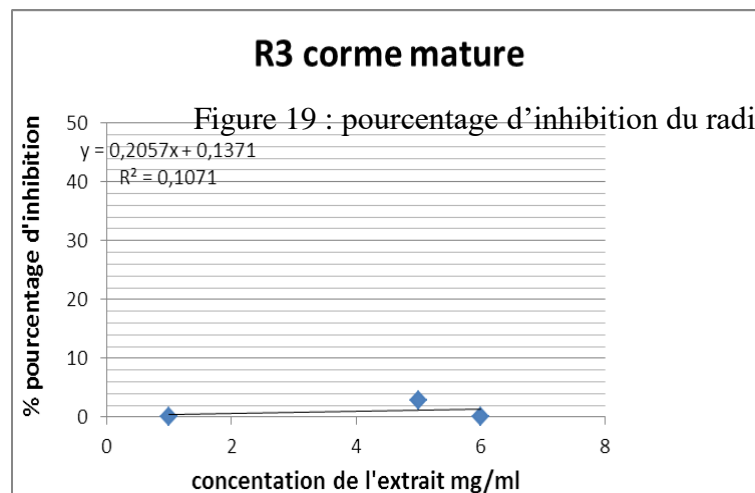


Figure 19 : pourcentage d'inhibition du radicale libre DPPH en fonction d

pourcentage d'inhibition du radicale libre DPPH en fonction des différentes concentrations en extrait corne mature.

## Annexes

### Annexe :

Certains des outils et appareils que nous avons utilisés dans nos expériences :

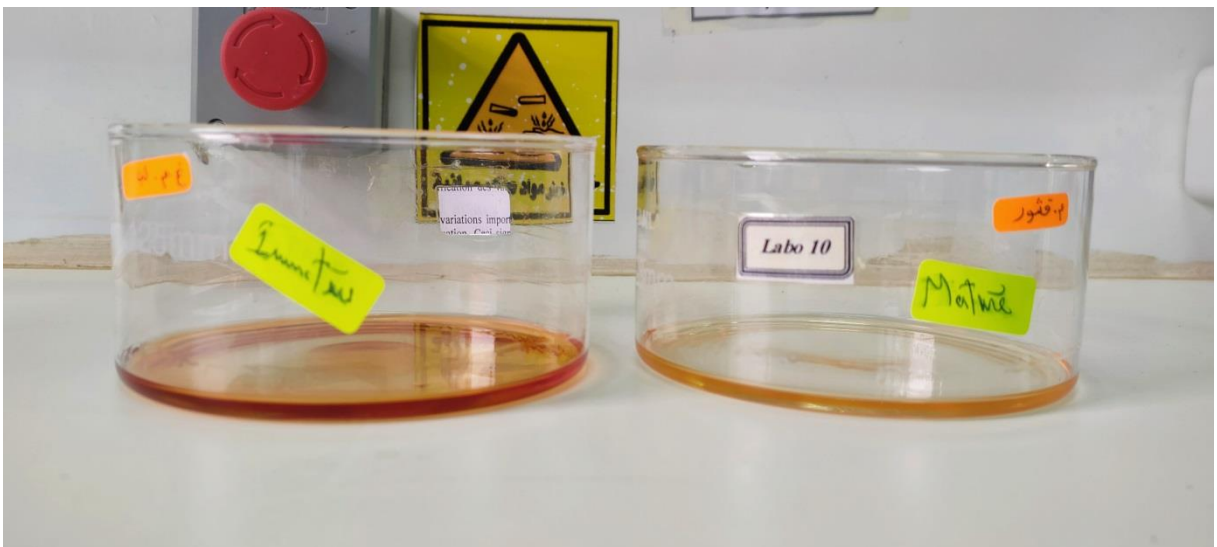


## Annexes

### Étuve de bactériologie (incubateur)



Le produit de rendement, de corne matures et immature

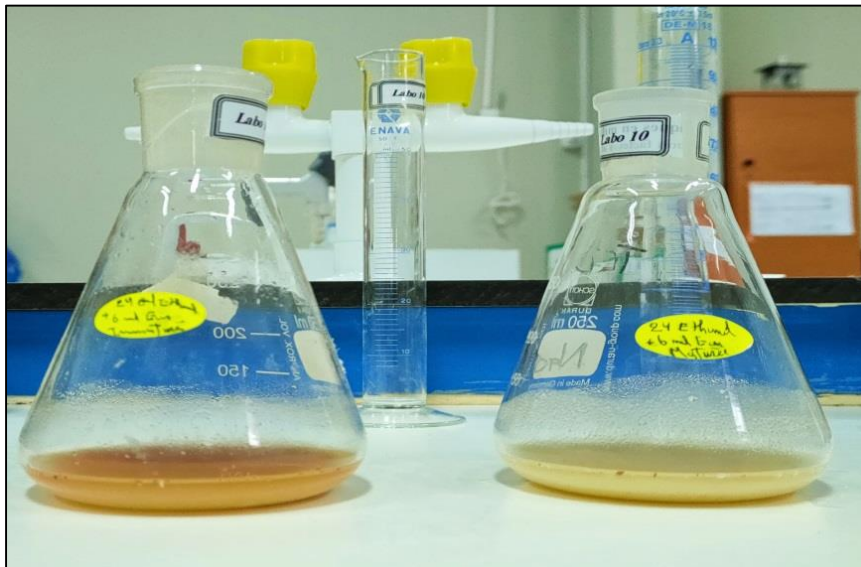


## Annexes

Photos de corne matures et immatures :



Le produit du processus macération des cornes matures et immatures :



Le produit du processus de filtration :

