



République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة أبو بكر بلقايد – تلمسان

Université ABOUBEKR BELKAID – TLEMCEEN

كلية علوم الطبيعة والحياة، وعلوم الأرض والكون

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, et Sciences de la Terre et de

l'Univers

Département de Biologie

Laboratoire

Antibiotiques, Antifongiques : Physico-chimie, Synthèse et Activité Biologique

MÉMOIRE

Présenté par

M^{elle} BENKHALDI Afef & M^{elle} BENYOUBI Amira

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER

En Biochimie

Thème

Evaluation du pouvoir antioxydant des extraits de

Crocus sativus

Soutenu le 28 Juin 2022, devant le jury composé de :

Président	AZZI Rachid	MCA	Université de Tlemcen
Encadrant	MEDJDOUB Houria	MCB	Université de Tlemcen
Examinatrice	MEZOUAR Dounia	MCA	Université de Tlemcen

Année universitaire 2021/2022

المخلص

النباتات الطبية هي المصدر الأول للمواد العلاجية حيث تلعب دورًا رئيسيًا في علاج الأمراض والوقاية منها.

يتكون ه ذا العمل من تقييم النشاط المضاد للأكسدة في المختبر لمستخلصات الأسيبتون المائي والميثانولي من بتلات النبات الطبي زعفران الذي ينتميل عائلة Iridaceae ، والتي تم جمعها في سبتمبر 2021 في ولاية تلمسان ، منطقة أحفير. لهذا ، اخترنا تقنيتين : ارجاع الحديد FRAP وتنظيف الجذور الحرة DPPH.

أظهر اختبار ارجاع الحديد FRAP أن مستخلص الأسيبتون المائي له نشاط أعلى مع $EC_{50} = 2.18$ مجم/مل ، يليه المستخلص الميثانولي $EC_{50} = 5.68$ مجم / مل.

فيما يتعلق باختبار تثبيط الجذور الحرة DPPH ، فإن المستخلصين المختبرين لهما قوة ارجاع مع إمكانات متغيرة من مستخلص إلى آخر. يحتوي مستخلص الأسيبتون المائي على أعلى فعالية مع $IC_{50} = 0.39$ مجم/مل. ومع ذلك ، فإن المستخلص الميثانولي له فعالية منخفضة مع $IC_{50} = 0.54$ مجم/مل.

تشير هذه النتائج أن *Crocus sativus* هي نبتة فعالة كمضاد للأكسدة.

الكلمات المفتاحية : *Crocussativus* ، نشاط مضاد للأكسدة ، FRAP ، EC_{50} ، DPPH ، IC_{50} .

Résumé

Les plantes médicinales représentent la première source de substances thérapeutiques et jouent un rôle primordial dans le traitement et la prévention des maladies.

Le présent travail consiste évaluer l'activité antioxydante *in vitro* des extraits eau-acétonique et méthanolique des pétales de la plante médicinale *Crocus sativus* de la famille des Iridaceae, qui a été récoltée au mois de septembre 2021 à la willaya de Tlemcen, commune de Ahfir. Pour cela, nous avons choisi deux méthodes : réduction du fer FRAP et piégeage du radical libre DPPH.

Le test de réduction du fer FRAP a montré que l'extrait eau-acétonique présente une activité supérieure avec ($EC_{50} = 2,18$ mg/ml), suivie par celle de l'extrait méthanolique avec ($EC_{50} = 5,68$ mg/ml).

Et concernant le test de piégeage du radical libre DPPH, les deux extraits expérimentés possèdent un pouvoir réducteur avec un potentiel variable d'un extrait à l'autre. L'extrait eau-acétonique possède le pouvoir le plus élevé avec ($IC_{50} = 0,39$ mg/ml). Cependant, l'extrait méthanolique présente un pouvoir faible avec ($IC_{50} = 0,54$ mg/ml).

Ces résultats suggèrent que *Crocus sativus* est une plante qui exerce un effet antioxydant important au niveau de ses pétales.

Mots clés: *Crocus sativus*, Activité antioxydante, FRAP, EC_{50} , DPPH, IC_{50} .

Abstract

Medicinal plants are the first source of therapeutic substances and play a key role in the treatment and prevention of diseases.

The present work consists in evaluating the *in vitro* antioxidant activity of the water-acetone and methanolic extracts of the petals of the medicinal plant *Crocussativus* of the Iridaceae family, which was harvested in September 2021 in the willaya of Tlemcen, commune of Ahfir. For this, we have chosen two methods: fer reduction FRAP and scavenging of the free radical DPPH.

The FRAP fer reduction test showed that the water-acetone extract has a higher activity with ($EC_{50} = 2.18$ mg/ml), followed by that of the methanolic extract with ($EC_{50} = 5.68$ mg/ml).

Concerning the DPPH free radical scavenging test, the two extracts tested have a reducing power with a variable potential from one extract to another. The water-acetone extract has the highest potency with ($IC_{50}=0.39$ mg/ml). However, the methanolic extract has a low potency with ($IC_{50} =0.54$ mg/ml).

These results suggest that *Crocus sativus* is a plant that exerts an important antioxidant effect at the level of its petals.

Keywords: *Crocus sativus*, Antioxidant activity, FRAP, EC_{50} , DPPH, IC_{50} .

Remerciements

Au nom de Dieu le Tout Miséricordieux

Que dieu bénisse le prophète Mohammed, Imam bienheureux et sauvegarde des purifiés ainsi que sa noble famille et ses satisfaisants compagnons Amin.

Tout d'abord, nous exprimons nos remerciements à **ALLAH** de nous avoir donné la patience, la santé, le courage et la force d'accomplir ce modeste travail et d'aller au bout durant ces longues années d'étude.

Nous tenons à remercier très sincèrement **Dr MEDJDOUB Houria**, maître de conférences «B» à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la Terre et de l'Univers, Université Abou Bekr Belkaïd-Tlemcen, pour l'honneur qu'elle nous avait fait d'avoir acceptée de nous encadrer, sa générosité, sa gentillesse, pour ces conseils avisés qui nous ont permis d'avancer vers un résultat meilleur et pour son aide et sa disponibilité afin de réaliser ce travail.

Nos vifs remerciements à monsieur le professeur **AZZI Rachid**, Professeur à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la Terre et de l'Univers, Université Abou Bekr Belkaïd-Tlemcen, qui nous fait l'honneur par sa présence en qualité de Président de jury.

Toutes notre gratitude s'adresse aussi à **Dr MEZOUAR Dounia**, maître de conférences classe«A» à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la Terre et de l'Univers, Université Abou Bekr Belkaïd-Tlemcen, qui nous fait l'honneur d'examiner ce travail.

Nous voudrions également remercier nos collègues et amis de toute la durée d'étude qui ont contribué par leur soutien et amitié.

Nos remerciements à tous les enseignants du département de biologie de l'université de Tlemcen qui nous ont transmis leur savoir durant les cinq années d'étude.

Nous souhaitons remercier de tout le cœur nos parents, qui nous ont toujours soutenus et qui ont toujours été fiers de nous. C'est grâce à vous que nous sommes ici aujourd'hui, merci pour tous les efforts que vous avez fournis.

Dédicaces

Avec ma gratitude et tout mon amour, je dédie ce modeste travail :

A mes très chers parents, pour leur patience, leurs amours, leurs soutiens et leurs encouragements durant toutes mes études et mes recherches.

A Mon cher père **Mohammed**, pour le gout à l'effort qu'il a suscité en moi, Mercie pour ton soutien moral et financier, pour tes sacrifices pour me voir réussir.

Que Dieu te garde en bonne santé.

À l'être le plus cher de ma vie ma mère **Badiaa**, quoi que je fasse ou que je dise je ne saurai point te remercier comme il se doit. Ton affection me couvre, ta bienveillance me guide et ta présence à mes côtés a toujours été ma source de force pour affronter les différents obstacles.

À mon soutien moral, ma tendre sœur **Sanaa**, pour l'encouragement et l'aide qu'elle m'a toujours accordé tout au long de mes études.

À mon cher frère **Amine**, pour son soutien.

À mon cher binôme **Afef** et à toute sa famille

À mes très chères amies **Djihane, Djenat, Farah et Hadjer**

Au nom de l'amitié qui nous réunis, et au nom de nos souvenirs inoubliables.

À la promotion de master en Biochimie 2021-2022.

Sans oublier tous les professeurs que ce soit du primaire, du moyen, du secondaire ou de l'enseignement supérieur.

Amira

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à

Mes très chers parents, qui ont toujours été là pour moi, en reconnaissance de leurs efforts, leurs amours et leurs encouragements durant toutes mes études et mes recherches.

À mon cher père **Abdelhak**

Tu as toujours été à mes côtés pour me soutenir et m'encourager

Que ce travail traduit ma gratitude et mon affection

À ma mère **Yasmine**

Quoi que je dise, je ne saurai point te remercier comme il se doit, ton affectation me couvre, ta bienveillance me guide et ta présence à mes côtés a toujours été ma source de force

Tous les mots ne pourraient témoigner de ma gratitude

À mon frère **Faradj**

Tu laisses un grand vide dans ma vie, mais tu es toujours présent dans mon esprit et dans mon cœur, tu me manque à chaque instant

Que ton âme repose en paix

À mes frères **Mehdi** et **Ibrahim** et à ma sœur **Marwa**

À mes grands-parents maternels

Que Dieu le tout puissant vous préserve santé et vous protège de tout mal

À mon cher binôme **Amira** et à toute sa famille

À mes très chères cousines **Rania** et **Naséra**,

Et mes très chères amies **Ahlem** et **Feryel** au nom de nos souvenirs inoubliables.

Afef

Table des matières

TABLE DES MATIERE

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES ABREVIATIONS

INTRODUCTION GENERALE 1

PARTIE 1 : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE 2

CHAPITRE I : PRESENTATION DE LA PLANTE ETUDIEE *CROCUS SATIVUS* L.. 3

1. LES PLANTES MEDICINALES	4
1.1. Introduction.....	4
1.2. Les composants des plantes médicinales	4
1.2.1. Métabolites primaires :	5
1.2.2. Métabolites secondaires	6
1.3. Classification des métabolites secondaires	6
1.3.1. Les composés phénoliques	7
1.3.1.1. Les acides phénoliques	10
1.3.1.2. Les Coumarines	10
1.3.1.3. Flavonoïdes	11
1.3.1.4. Quinones	13
1.3.1.5. Tanins.....	13
1.3.2. Les composés azotés (alcaloïdes).....	14
1.3.3. Les terpénoïdes et stéroïdes.....	14
2. <i>CROCUS SATIVUS</i> . L.....	15
2.1. Généralité sur le genre <i>Crocus</i>	15
2.2. Les différentes espèces <i>Crocus</i>	16
2.3. Description botanique de <i>Crocus sativus</i> . L	19
2.3.1. Origines et légendes	19
2.3.2. Étymologie	21
2.3.3. Taxonomie.....	21
2.3.4. Morphologie de <i>Crocus sativus</i> . L	22
2.3.5. Répartition géographique	24

2.3.6. Culture de safran	25
2.4. Composition chimique de <i>Crocus Sativus L</i>	26
2.5. Utilisation de <i>Crocus sativus L</i>	28
2.5.1. Utilisation thérapeutiques.....	28
2.5.2. Autre utilisation.....	30
CHAPITRE II : STRESS OXYDATIF	31
1. LE STRESS OXYDANT	32
1.1. Définition	32
1.2. Les radicaux libres	33
1.3. Sources de RL	34
1.4. Les espèces réactives de l'oxygène	35
1.5. Cibles biologiques des radicaux libres.....	37
1.5.1. Les dommages oxydatifs à l'ADN.....	37
1.5.2. Les dommages oxydatifs des lipides.....	39
1.5.3. Les dommages oxydatifs des protéines.....	39
2. LES ANTIOXYDANTS ET LES SYSTEMES DE DEFENSE	39
2.1. Définition	39
2.2. Classification des antioxydants.....	41
2.2.1. Antioxydants enzymatiques	41
2.2.2. Antioxydants non enzymatiques	43
2.2.2.1. Antioxydants non enzymatiques endogènes	43
2.2.2.2. Antioxydants non enzymatiques exogènes	43
3. LES METHODES D'EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANT	44
3.1. Test du piégeage du radical libre (DPPH)	44
3.2. Activité anti-radicalaire sur l'ABTS	45
3.3. Pouvoir réducteur du fer (FRAP).....	46
PARTIE 2 : PARTIE EXPERIMENTALE.....	47
CHAPITRE III : MATERIEL ET METHODES	48
1. OBJECTIF.....	49
2. MATERIEL VEGETAL.....	49
3. PREPARATION DES EXTRAITS.....	50
3.1. Préparation de l'extrait eau-acétonique.....	50
3.2. Préparation de l'extrait méthanolique	51

4. TEST DE MISE EN EVIDENCE DES TANINS.....	52
5. EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE DES EXTRAITS DE <i>CROCUS SATIVUS IN VITRO</i>	52
5.1. Test de réduction de fer (FRAP).....	52
5.2. Piégeage du radical DPPH° (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)	54
CHAPITRE IV :RESULTATS ET INTERPRETATIONS	56
1. EXTRACTION	57
2. TEST PHYTOCHIMIQUE DES TANINS	57
3. ÉVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE DE LA PARTIE AERIENNE DE <i>CROCUS</i> <i>SATIVUS</i>	57
3.1. Test de FRAP (ferric reducing antioxydant power).....	57
3.2. Piégeage du radical DPPH° (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)	60
DISCUSSION	64
CONCLUSION GENERALE	68
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	70
ANNEXES.....	90

Liste des figures

FIGURE 1 : CLASSIFICATION DES METABOLITES SECONDAIRES	7
FIGURE 2 : STRUCTURE DU NOYAU PHENOL.....	7
FIGURE 3 : LES DEUX VOIES PRINCIPALES DE PRODUCTION DE COMPOSES PHENOLIQUES DANS LES PLANTES.....	9
FIGURE 4 : STRUCTURE DES ACIDES HYDROXYBENZOÏQUES ET HYDROXYCINNAMIQUES.....	10
FIGURE 5 : STRUCTURE DE BASE DE COUMARINE	11
FIGURE 6 : SQUELETTE DE BASE DES FLAVONOÏDES.....	11
FIGURE 7 : PRINCIPALES CLASSES DE FLAVONOÏDES	12
FIGURE 8 : STRUCTURE DE TANIN HYDROLYSABLE (A) ET TANIN CONDENSE (B)	14
FIGURE 9 : CLASSIFICATION DES TERPENES	15
FIGURE 10 : LES FRESQUES DE XESTE 3 (DATEES DE 1600–1500 AV. J.-C) RETROUVEES SUR L'ILE GRECQUE DE SANTORIN	20
FIGURE 11 : LA CULTURE ANCIENNE DU SAFRAN DANS LE GATINAIS	21
FIGURE 12 : DESCRIPTION DE LA PLANTE <i>C. SATIVUS</i>	23
FIGURE 13 : DESCRIPTION DE LA FLEUR DE SAFRAN	24
FIGURE 14 : CARTE GEOGRAPHIQUE MONTRE LES NATIONS PRODUCTRICES DE SAFRAN	25
FIGURE 15 : CYCLE ANNUEL DU <i>CROCUS SATIVUS</i> L.....	26
FIGURE 16 : PRINCIPAUX CONSTITUANTS DU SAFRAN	28
FIGURE 17 : DESEQUILIBRE ANTIOXYDANT /OXYDANT	32
FIGURE 18 : LES DIFFERENTS RADICAUX LIBRES IMPLIQUES EN BIOLOGIE	34
FIGURE 19 : LES DOMMAGES OXYDATIFS DE L'ADN PAR LES ERO	38
FIGURE 20 : ÉQUILIBRE REDOX EN SITUATION HOMEOSTASIQUE ET DESEQUILIBRE REDOX EN SITUATION PATHOLOGIQUE.....	40
FIGURE 21 : MODE D'ACTION DES PRINCIPAUX SYSTEMES ENZYMATIQUES ANTIOXYDANTS ET DE LEURS COFACTEURS METALLIQUES	42
FIGURE 22 : STRUCTURE CHIMIQUE DU RADICAL LIBRE DPPH	44
FIGURE 23 : REDUCTION DE DPPH PAR UN ANTIOXYDANT	45
FIGURE 24 : REDUCTION DE TRIPYRIDYLTRIAZYL FERRIQUE (Fe^{3+} -TPTZ) AU TRIPYRIDYLTRIAZYL FERREUX (Fe^{2+} -TPTZ)	ERREUR ! SIGNET NON DEFINI.
FIGURE 25 : LA PARTIE AERIENNE DE <i>CROCUS SATIVUS</i> (PHOTO PERSONNELLE)	49
FIGURE 26 : LES ETAPES DE PREPARATION DE L'EXTRAIT EAU-ACETONE.....	50

FIGURE 27 : PROTOCOLE D'EXTRACTION	51
FIGURE 28 : TEST DE MISE EN EVIDENCE DES TANINS.....	52
FIGURE 29 : LES SOLUTIONS PREPAREES POUR REALISER LA TECHNIQUE DE FRAP.....	53
FIGURE 30 : PROTOCOLE D'ÉVALUATION DU POUVOIR REDUCTEUR DES EXTRAITS DE <i>CROCUS SATIVUS</i>	54
FIGURE 31 : PROTOCOLE D'ÉVALUATION DU PIEGEAGE DU RADICAL DPPH°.....	55
FIGURE 32 : REPRESENTATION GRAPHIQUE DU POUVOIR REDUCTEUR DU FER PAR L'EXTRAIT EAU-ACETONE DE <i>C. SATIVUS</i>	58
FIGURE 33 : REPRESENTATION GRAPHIQUE DU POUVOIR REDUCTEUR DU FER PAR L'EXTRAIT METHANOLIQUE, DE <i>C. SATIVUS</i>	59
FIGURE 34 : REPRESENTATION GRAPHIQUE DU POUVOIR REDUCTEUR DU FER PAR L'ACIDE ASCORBIQUE.....	59
FIGURE 35 : COURBE DES POURCENTAGES D'INHIBITION DU DPPH EN FONCTION DES CONCENTRATIONS DE L'EXTRAIT EAU ACETONIQUE DE <i>C. SATIVUS</i>	61
FIGURE 36 : COURBE DES POURCENTAGES D'INHIBITION DU DPPH EN FONCTION DES CONCENTRATIONS DE L'EXTRAIT METHALONIQUE DE <i>C. SATIVUS</i>	62
FIGURE 37 : COURBE DES POURCENTAGES D'INHIBITION DU DPPH EN FONCTION DES CONCENTRATIONS DE L'ACIDE ASCORBIQUE.	62

Liste des tableaux

TABLEAU 1: LES DIFFERENTES CLASSES DES COMPOSES PHENOLIQUES	8
TABLEAU 2 : LES DIFFERENTES ESPECES DE <i>CROCUS</i> A FLORAISON HIVERNALE ET AUTOMNAL	17
TABLEAU 3 : TAXONOMIE DE LA PLANTE <i>CROCUS SATIVUS</i> .L.....	22
TABLEAU 4: SOURCES DE RADICAUX LIBRES	35
TABLEAU 5 : CLASSIFICATION DES ESPECES REACTIVES DE L'OXYGENE (ROS).....	36
TABLEAU 6 : LES SYSTEMES ANTIOXYDANTS CHEZ L'HOMME	41
TABLEAU 7 : CARACTERISTIQUES DES EXTRAITS DE LA PARTIE AERIENNE DE <i>C. SATIVUS</i>	57
TABLEAU 8: RESULTAT DE TEST PHYTOCHIMIQUE SUR LES EXTRAITS DE LA PARTIE AERIENNE DE <i>C.SATIVUS</i>	57
TABLEAU 9 : VALEURS DES EC ₅₀ EN MG/ML DES DEUX EXTRAITS DE <i>C. SATIVUS</i> ET DE L'ACIDE ASCORBIQUE.....	60
TABLEAU 10 : LES VALEURS D'IC ₅₀ EN MG/ML DES DEUX EXTRAITS DE <i>C.SATIVUS</i> ET DE L'ACIDE ASCORBIQUE.	63

Liste des abréviations

•O₂ - : Superoxydes

ADN : L'acide désoxyribonucléique

CoA : Coenzyme A

DPPH : Le 2,2-diphényl 1-picrylhydrazyle

EC₅₀ : Concentration efficace médiane

FRAP : Capacité de réduction ferrique du plasma

HPLC : Chromatographie en phase liquide à haute performance

IC₅₀ : Concentration inhibitrice médiane

OH : Fonctions hydroxyles

PH : Potentiel hydrogène

ROS : Espèces réactives d'oxygènes

Introduction générale

Introduction générale

La médecine par les plantes remonte à l'aube de l'humanité. Aux temps préhistoriques, les chasseurs-cueilleurs ne se limitaient pas à consommer des plantes, ils les utilisaient également pour se soigner (Mpondo *et al.*, 2012). Par son effet doux et profond, la phytothérapie apparaît également comme une réponse idéale aux "maladies du siècle" qui caractérisent notre société, comme le stress, le manque du sommeil ou la prise de poids (Pelletan, 2019).

Les plantes médicinales fournissent une myriade de composants pharmaceutiquement actifs, le pouvoir de guérison des plantes est dû aux composés phytochimiques qu'elles synthétisent et qui sont connus par leurs diverses activités biologiques notamment l'activité antioxydante (Small et Catling, 2000).

L'une des plantes médicinales utilisée est *Crocus sativus*, elle appartient à la famille des Iridaceae. Ce sont des plantes herbacées et vivaces monocotylédones, originaires de la région méditerranéenne. Elle est cultivée pour ses fleurs dont les stigmates séchés produisent une épice appelée safran (Aghhavani-Shajari *et al.*, 2021).

L'épice précieuse suit le cours de l'or, c'est la plus chère au monde. Son coût de revient élevé n'est pas uniquement dû à sa rareté mais à la cherté de la main d'œuvre.

L'objectif de notre travail est d'étudier l'activité antioxydante des extraits du *C. sativus* par la préparation de deux extraits, eau acétone et méthanolique à partir des pétales et tester leurs effets sur la réduction du fer (FRAP) et le piégeage du radical DPPH.

La partie expérimentale est réalisée au sein des laboratoires de biochimie de la faculté SNV-STU, université de Tlemcen.

Ce travail est subdivisé en deux parties essentielles. La première partie comprend deux chapitres dont le premier est consacré à une recherche bibliographique sur la plante étudiée et sur les métabolites secondaires et le deuxième donne un aperçu général sur le stress oxydatif et antioxydants ainsi que sur les méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante.

La deuxième partie expérimentale comprend un chapitre qui décrit le matériel et les méthodes, utilisés dans ce travail et le deuxième rapporte les résultats et une discussion.

Partie 1

Synthèse bibliographique

Chapitre I

Présentation de la plante étudiée

*Crocus sativus*L

1. Les Plantes médicinales

1.1.Introduction

Près de 80 % des personnes utilisent des plantes médicinales pour traiter diverses maladies. Une plante est dite médicinale lorsqu'elle est inscrite à la Pharmacopée et que son usage est purement médicinal. C'est-à-dire qu'ils sont présentés pour des propriétés prophylactiques ou thérapeutiques de maladies humaines ou animales (**Moreau, 2003**).

Pendant des milliers d'années, les plantes médicinales ont été une source importante de matières médicinales. Les produits naturels issus des plantes, des micro-organismes et des animaux ont joué un rôle très important dans le traitement et la prévention des maladies pendant près de 200 ans, et continuent d'être servie comme une source importante dans la découverte de nouvelles molécules bioactives (**Kinghorn et Balandrin, 1993; Paterson et Anderson, 2005**). Aujourd'hui, les plantes médicinales représentent encore la première source de substances thérapeutiques dans les pays en voie de développement (**OMS, 2014**).

L'utilisation de ces plantes médicinales est une pratique ancestrale qui occupe une place centrale au niveau de la santé mondiale (**Togola et al., 2019**). C'est ce qu'on appelle la phytothérapie. Leur effet vient de leurs composés : métabolites primaires et secondaires, et sans doute de la synergie entre les différents composés existants (**Reguieg, 2011**). La phytothérapie vient du grec et signifie « soigner par les plantes », elle peut utiliser tous les parties de la plantes : les feuilles, les fleurs, les racines ou la plante entière. Elle peut se définir comme étant une allopathique à prévenir et à traiter certains troubles et/ou certains états pathologiques au moyen de plantes consommées ou utilisées en voie externe (**Wichtl et**

Anton, 2003). Ainsi, il est possible d'avoir une action thérapeutique spécifique à chacun des organes du corps, d'une façon précise et pour chaque plante utilisée (**Boggia, 2015**).

1.2.Les composants des plantes médicinales

Les plantes sont essentielles à la survie humaine dans différents écosystèmes. Ils contiennent la plupart des composés impliqués dans toute réaction biochimique ou enzymatique et Peuvent être subdivisés en deux groupes de métabolites : métabolites primaires et secondaires (**Hartman, 2007**).

1.2.1. Métabolites primaires :

Les métabolites primaires sont des produits dérivé directement des photos assimilats, qui intervient à la structure de la cellule végétale ainsi qu'à son fonctionnement de base (**Hopkins, 2003**), ce sont des molécules organiques présentes dans toutes les cellules du corps végétal, elles participent aux mécanismes nécessaires à la vie des plantes tels que la croissance, le développement et la reproduction (**Delecolle, 2017**).

Ils sont principalement produits par le métabolisme oxydatif et la photosynthèse (**Morot – Gaudry et al., 2017**). Ces composés sont classés en quatre groupes principaux : les oses, les protéines, les lipides et les acides nucléiques.

- **Les glucides :**

Sont des polyalcools porteurs d'une fonction aldéhyde ou cétone. Ils sont synthétisés lors de la photosynthèse à partir du dioxyde de carbone, de l'eau et de la lumière. Ils participent à la structure de l'organisme en tant qu'élément de soutien. Les glucides se présentent également sous la forme de polymères qui agissent comme réserves d'énergie, comme l'amidon (**Bruneton, 2009**).

- **Les acides aminés :**

Représente une source majeure pour la construction des protéines (**Deramchia, 2018**). Ces protéines jouent un rôle important dans la défense des plantes contre les influences extérieures et les facteurs environnementaux (telle que la sécheresse) (**Ellis et al., 2010**).

- **Les lipides :**

Ce sont des molécules organiques insolubles dans l'eau et dans les solvants organiques non polaires tels que le benzène, le chloroforme, éther... .

Ils se caractérisent par la présence dans la molécule d'au moins un acide gras ou une chaîne grasse (**Touitou, 2005**). Ils jouent un rôle essentiel en tant que composant des membranes (**Delecolle, 2017**).

1.2.2. Métabolites secondaires

Outre les principaux métabolites glucidiques classiques, les protéines, les lipides et les acides nucléiques, les plantes possèdent également ce qu'on appelle des « métabolites secondaires » (**Krief, 2003**). Ce sont des composés chimiques synthétisés par les autotrophes et qui possèdent un rôle nécessaires dont la défense contre les agents extérieurs (**Havsteen, 2002 ; Adom et al., 2003**).

Cependant, depuis plusieurs années ces substances sont encore connues comme des phytoprotecteurs ou encore principes actifs. Elles ont des effets positifs sur la santé et font l'objet de nombreuses études scientifiques (**Bruneton, 1999**). Elles interviennent dans l'adaptation des plantes à l'environnement, dans la régulation de la symbiose et à d'autres interactions plante-animal, à la tolérance des végétaux aux divers stress biotiques (symbiose, photogène, blessures) ou abiotiques (lumière, rayonnements ultraviolets, basse température, carences) et pour attirer les agents responsables de la pollinisation. Elles peuvent être des anti-nutriments et nombreux sont toxiques (**Boubakri, 2014 ; Mansour, 2015**). Ces différentes relations ont donné lieu à une extrême diversification des composés secondaires.

Ces composés marquent de manière originale, un genre, une famille ou une espèce de plantes et permettent parfois d'établir une taxonomie chimique (**Pereira, 2003**). On les retrouve dans toutes les parties des plantes (feuille, racine, bourgeon, écorce) (**Verpoote, 1998**).

1.3. Classification des métabolites secondaires

Chacune de ces classes possède des propriétés biologiques différentes d'antioxydant, antibactérien, anti-inflammatoire, anticancéreux, etc... (**Epifano et al., 2007**). Mais ils se répartissent différemment selon leurs rôles (**Figure 1**) (**Deramchia, 2018**). Et selon leur structure, il en existe trois classes : les composés phénoliques, les composés azotés (alcaloïdes) et les composés terpéniques.

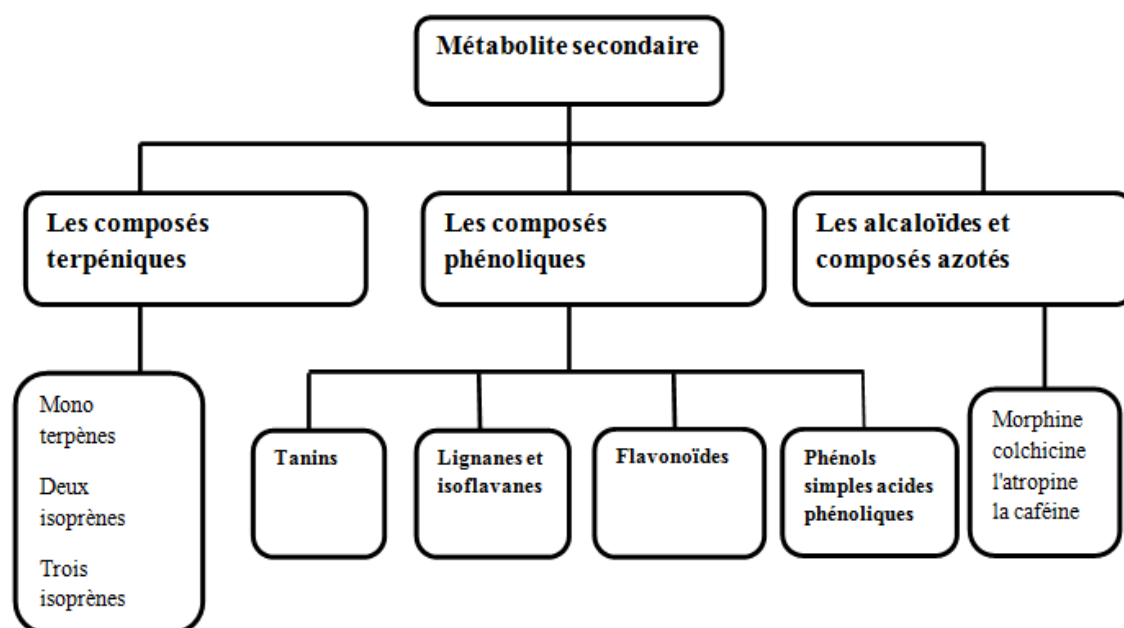


Figure 1 : Classification des métabolites secondaires (Krief, 2003).

1.3.1. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques ou polyphénols sont considérés comme des métabolites secondaires les plus copieux et les plus répandus chez les végétaux. L'élément structural décisif qui les distingue est la présence d'au moins un noyau phénolique à 6 carbones, lui-même porteur d'un nombre variable de fonctions hydroxyles (OH) libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester ou hétéroside (**Figure 2**) (**Balasundram, 2006**).

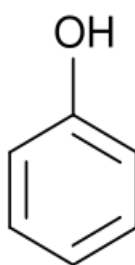


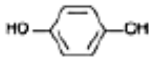
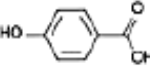
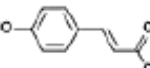
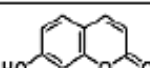

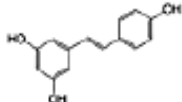
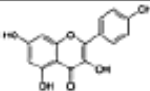
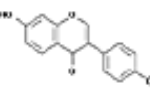
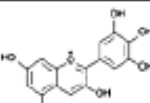
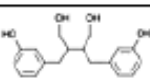
Figure 2: Structure du noyau phénol (Herzi, 2013)

Ces composés phénoliques ont des activités antioxydantes, antimicrobiennes, antivirales, anti-inflammatoires et anticancéreuses (**Hoffmann, 2003**). Ils assurent également la santé humaine, protègent contre certaines pathologies impliquant un stress oxydatif, telles que les cancers et les maladies cardiovasculaires et neurodégénératives (**Sun et al., 2011**). Ces activités sont accordées en partie à l'aptitude de ces polyphénols à réduire les radicaux

libres, tels que les radicaux hydroxyles ($\bullet\text{OH}$) et les superoxydes ($\bullet\text{O}_2^-$) et leur affinité pour une grande variation de protéines dont certains sont des enzymes et des récepteurs.

Ce principe a été exploité pour créer une variété de médicaments, à titre d'exemple le Daflon (Kenny *et al.*, 2007).

Tableau 1: Les différentes classes des composés phénoliques (Daayf et Lattanzid, 2008).

COMPOSES PHENOLIQUES				
Squelette carboné	Classe	Exemple	Formule	Origine
C6	<u>Phénols simples</u>	Hydroquinone		<u>Busserole</u>
C6-C1	<u>Acides hydroxybenzoïques</u>	Acide p-hydroxybenzoïque		Epices, fraises
C6-C3	<u>Acides hydroxycinnamiques</u>	Acide p-coumarique		Tomates, ail
	<u>Coumarines</u>	Ombelliférone		Carottes, coriandre
C6-C4	<u>Naphtoquinones</u>	Juglone		Noix
C6-C2-C6	<u>Stilbénoides</u>	Trans-resvératrol		Raisin
	<u>Flavonoïdes</u>	Kaempférol		Fraises
C6-C3-C6	<u>Isoflavonoïdes</u>	Daidzéine		Graines de soja
	<u>Anthocyanes</u>	Delphinidol		Raisin Cabernet-Sauvignon
(C6-C3) ₂	<u>Lignanes</u>	Entérodiol		Bactéries intestinales

Il existe de nombreuses classes de ces composés : acides phénoliques, flavonoïdes, coumarines et tanins. Ces structures peuvent également être acylées, glycosylées, ce qui donne une grande variété de structures. D'un point de vue biosynthèse, les composés phénoliques peuvent être engendrés par deux voies métaboliques : la voie du shikimate, la plus courante, qui conduit entre autre à la formation des acides phénoliques, des flavonoïdes et des lignanes; et la voie des polyacétates qui est à l'origine de composés polycycliques tels que les coumarines, les xanthones et les quinones (Bruneton, 2009).

La voie du shikimate est la voie principale pour la biosynthèse des acides aminés aromatiques:phénylalanine, tyrosine et tryptophane utilisés comme initiateur des flavonoïdes, acides phénoliques, alcaloïdes ... (**Ghasemzadeh et Ghasemzadeh, 2011**).

La glycolyse et la β -oxydation aboutir à la formation d'acétyl-CoA qui à son tour produit du malonate et la condensation répétée d'unités « d'acétate » produit la cyclisation de la chaîne polycétonique et la production de composés phénoliques (**Figure 3**) (**Akroum, 2010**).

À l'échelle cellulaire, ces molécules sont stockées dans des vacuoles cytoplasmiques mais seulement dans les cellules périphériques des épidermes de la plante.

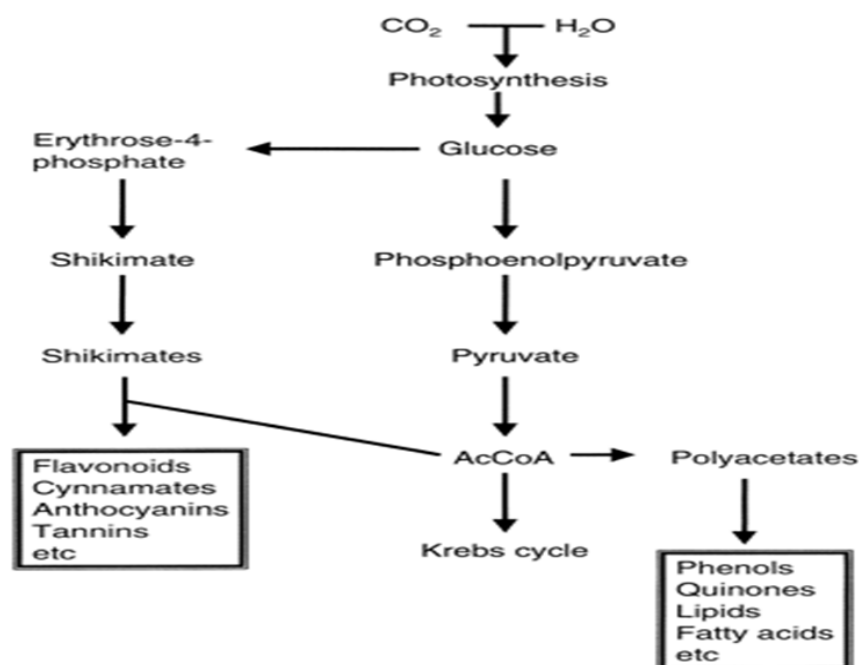


Figure 3: Les deux voies principales de production de composés phénoliques dans les plantes(**Visioli et al., 2000**).

Les polyphénols regroupent différentes classes de molécules principalement les acides phénoliques, les flavonoïdes, les coumarines, les quinones et les tanins.

1.3.1.1. Les acides phénoliques

Ces composés sont mondialement rencontrés chez les végétaux. Deux sous-groupes peuvent être distingués (**Figure4**) (**Bruneton, 2009**), Les acides hydroxybenzoïques et les Acides hydroxycinnamiques.

Les acides hydroxybenzoïques sont des composés qui répondent à une représentation structurale de type (C 6 -C 1), dont les plus répandus sont l'acide salicylique et l'acide gallique, par contre les acides hydroxycinnamiques sont plus fréquents que les acides hydroxybenzoïques (**Pandey et Rizvi, 2009**). Ils répondent à une représentation structurale de type (C 6 -C 3), dont les plus abondants sont les acides caféique et coumarique. Ils sont à l'origine des voies de biosynthèse de nombreuses substances telles que les lignines, les flavonoïdes et les stilbènes.

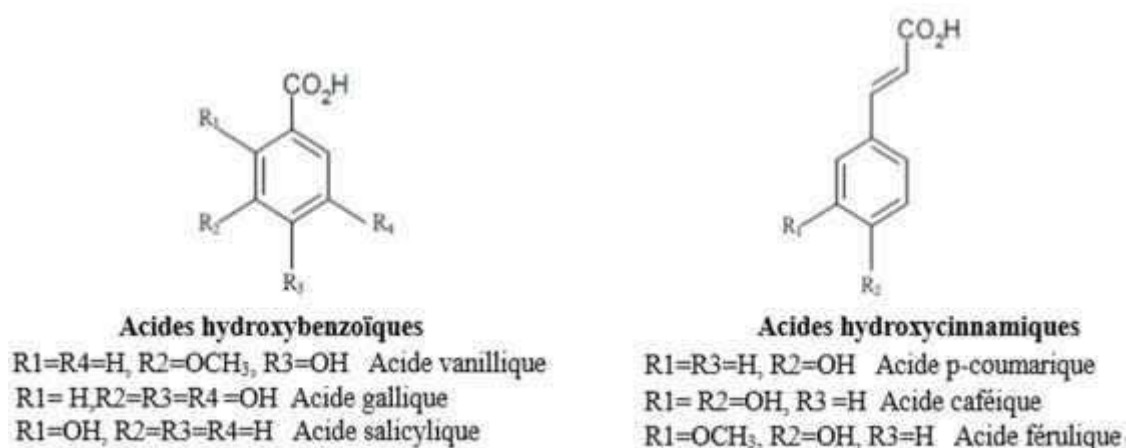


Figure 4 : Structure des acides hydroxybenzoïques et hydroxycinnamiques

(**Pandey et Rizvi, 2009**).

1.3.1.2. Les Coumarines

Ce sont des lactones de l'acide 2-hydroxy-Z-cinnamique (C 6 -C 3). La coumarine est une substance phénolique synthétique, fusion des cycles benzène et α -pyrone (**Figure 5**) (**O'Kennedy et Thomes, 1997**). La coumarine libre est soluble dans l'alcool et solvants organiques ou chlorés, tandis que les formes hétérosides sont plus ou moins solubles dans l'eau (**Bruneton, 1999**). Possède des activités anti thrombotiques, anti-inflammatoires et vasodilatatrices (**Cowan, 1999**).

Selon leurs structures, ils peuvent être divisés en coumarines simples avec des substituants sur le cycle benzénique, furocoumarines, Pyranocoumarines, (**Ameziane,**

2016). Outre les algues, ces composés sont des composants caractéristiques du règne végétal chlorophyllien. Les familles les plus riches en coumarines sont : Fabaceae, Rutaceae, Apiécées et Thymelaeaceae . (Booth *et al.*, 2004).

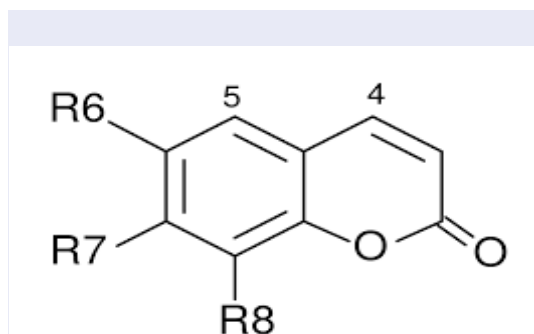


Figure 5: Structure de base de coumarine (Igor, 2002)

1.3.1.3. Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont les composés phénoliques végétaux les plus répandus et les plus courants (Koes *et al.*, 2005). Spécifient la couche externe de l'écorce des organes, et sont considérés comme les pigments responsables de la coloration jaune, orange et rouge de différents organes végétaux (Havsteen, 2002).

Ils ont une structure benzo- γ -pyrone. La chaîne principale à 15 atomes de carbone est constituée de deux cycles benzéniques A et B liés par un cycle pyrane hétérocyclique (cycle C) pour former un cycle flavane C₆-C₃-C₆ (Figure 6) (Petruzza *et al.*, 2013). Le cycle B et le pont carboné forment une unité phénylpropane, synthétisée à partir de la phénylalanine issue de la voie shikimate, et le cycle A est issu de la condensation de 3 unités acétate via l'acide malonique (Crozier, 2003). Les flavonoïdes apparaissent sous forme aglycone, de glycosides et de dérivés méthylés (Li *et al.*, 2018).

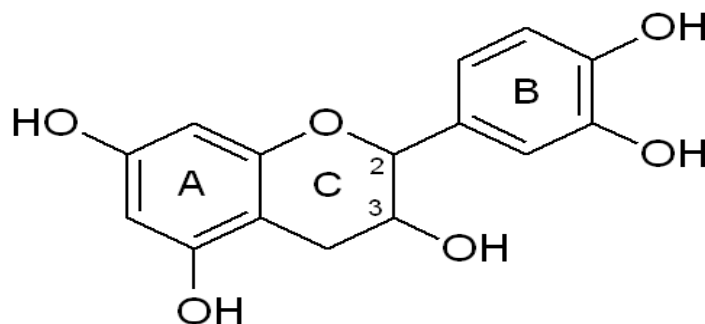


Figure 6: Squelette de base des flavonoïdes (Chira *et al.*, 2008).

Les différentes classes de flavonoïdes se distinguent par le degré d'oxydation du noyau central (qui peut être ouvert ou fermé), le nombre de substituants (groupes hydroxyles libres, méthylés ou glycosylés) sur les deux cycles aromatiques, localisation et propriétés de A et B et cycle centrale C (**Figure 7**) (**Harborne, 1988**) :

- Les flavones et les flavonols ;
- Flavonones, flavanols et dihydroflavanols.

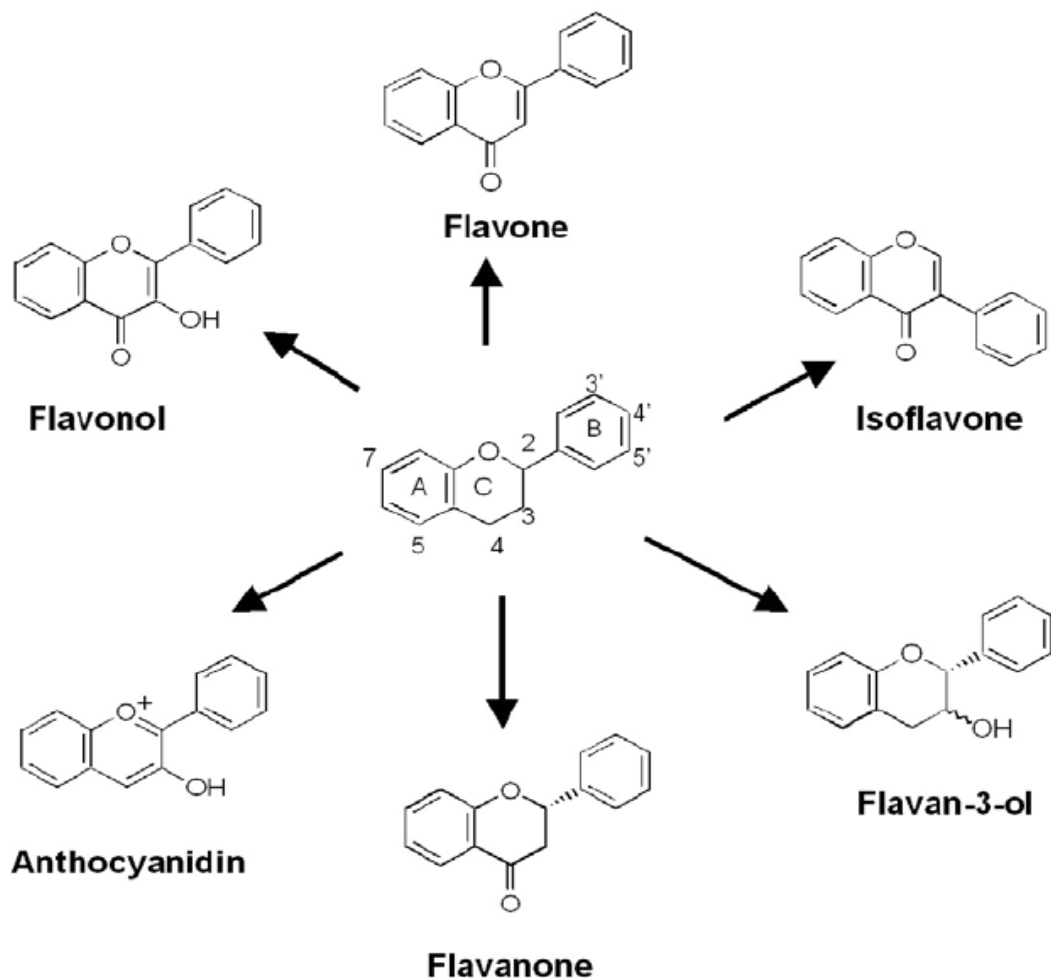
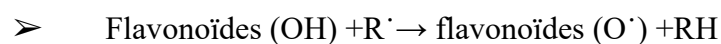


Figure 7: Principales classes de flavonoïdes (**HALLGAS *et al.*, 2004**).

Les flavonoïdes présentent de multiples activités biologiques, y compris l'activité la mieux décrite sont leur activité antioxydante (**Bors *et al.*, 1997**). Ce sont de puissants antiradicaux par leur capacité de piégeage Radicaux libres : radical hydroxyle OH·, anion superoxyde O₂⁻ et radical peroxy lipidique, réagissent comme suit :



Les flavonoïdes agissent sur les vaisseaux sanguins sous forme active de vitamine P (Beretz et Cazenave, 1991). Ils sont connus pour être synthétisés par les plantes en réponse à des infections microbiennes (Dixon *et al.*, 1983). Les flavonoïdes contribuent significativement à la digestion, réduisent les risques cardiovasculaires du fait qu'ils agissent comme des poubelles à radicaux libres en prévenant et en arrangeant les dommages causés par les EOR (Mpondo *et al.*, 2012). Leur activité et leurs propriétés chimiques (délocalisation des électrons, piégeage des ROS, liaisons hydrogène intramoléculaires et intermoléculaires) dépendent de leur structure, de leur degré d'hydroxylation, d'autres substitution et conjugaison, et degré de polymérisation (Li *et al.*, 2018).

1.3.1.4. Quinones

Les quinones sont des cycles aromatiques avec deux substitutions de cétone. Ces composés pigmentés sont responsables de la réaction de brunissement des fruits et légumes coupés ou abîmés. En plus de fournir une source stable de radicaux libres, les quinones sont connues pour former un complexe irréversible avec les nucléophiles d'acides aminés dans les protéines. Par conséquent, les quinones inactivent les protéines et altèrent leur fonction (Arif *et al.*, 2009). On distingue 4 groupes : benzoquinone, naphthoquinone, anthraquinone et isoprène quinone.

1.3.1.5. Tanins

Le tanin est un mot utilisé dans la littérature scientifique pour décrire le processus de conversion des peaux brutes ou des peaux d'animaux en cuir durable (Shahat et Marzouk, 2013).

Ce sont des molécules de poids moléculaire élevé et hautement hydroxylées qui forment des complexes insolubles lorsqu'elles sont combinées avec des glucides, des protéines et des enzymes digestives. Les tanins sont divisés en deux catégories selon leur structure et leurs propriétés, les tanins hydrolysés et les tanins condensés (Figure 8) (Macheix *et al.*, 2005).

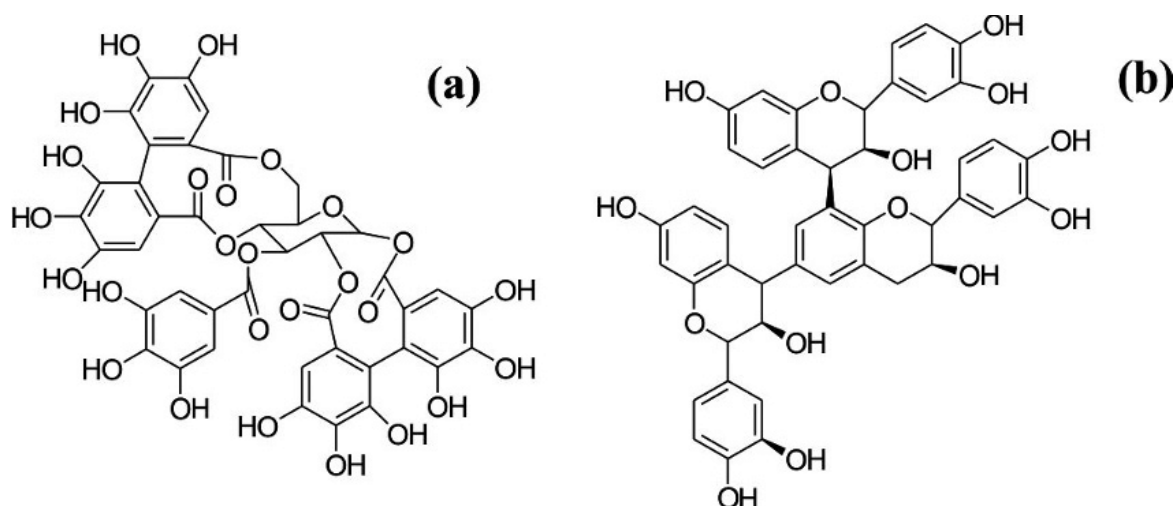


Figure 8: Structure de tanin hydrolysable (a) et tanin condensé (b) (Vermeris *et al.*, 2006).

1.3.2. Les composés azotés (alcaloïdes)

Les premiers produits naturels isolés à partir de plantes médicinales étaient des alcaloïdes. Ce sont des substances organiques azotées plus ou moins basiques qui forment un groupe très important (Iserin, 2001). La plupart des alcaloïdes connus, environ 12 000, ont été exploités en tant que médicaments, des stimulants, des narcotiques, et des poisons. Ils sont stockés au niveau des vacuoles soit sous forme de sels (citrate, malate, tartrate...) ou sous formes de combinaison avec les tanins.

Les alcaloïdes sont divisés en trois classes (Bruneton, 1999).

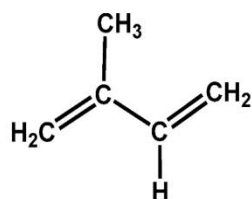
- ❖ **Alcaloïdes vrais** : sont bio synthétiquement formés à partir d'un acide aminé et comporte un atome d'azote dans un système hétérocyclique,
- ❖ **Pseudo-alcaloïdes** : ils représentent généralement toutes les caractéristiques des alcaloïdes vrais, mais ne sont pas dérivés des acides aminés. Ex: alcaloïdes terpéniques et alcaloïdes stéroïdiques.
- ❖ **Proto-alcaloïdes** : sont des amines simples dont les azotes ne sont pas inclus dans le système hétérocyclique ; ils ont une réaction basique et sont produits in vivo à partir d'acides aminés (Bruneton, 1999). ex: sérotonine, mescaline.

1.3.3. Les terpénoïdes et stéroïdes

Les terpéniques sont également présentes dans de nombreux composés impliqués dans le métabolisme primaire, tels que les hormones et les vitamines. En fonction du nombre d'unités isoprènes qui les composent, on distingue : les terpènes ou monoterpènes en C10, les

sesquiterpènes en C15, les diterpènes en C20, les triterpènes en C30 et les tétraterpènes en C40 (Figure 9) (Guignard, 1996 ; Cowan, 1999). Les stéroïdes sont dérivés de triterpènes tétracycliques et ont un squelette de pentahydrophénanthrène cyclique.

Un certain nombre de stéroïdes végétaux possèdent une activité pharmacologique intéressante. Il s'agit notamment des glycosides digitaliques (cardénolides) de la digitale *Digitalis lanata*. Ceux-ci sont utilisés dans le traitement de l'insuffisance cardiaque.



ISOPRENE

CLASSIFICATION	CARBON ATOMS (Isoprene Units)	CHEMICAL STRUCTURE
Hemiterpenes	5 (1)	
Monoterpenes	10 (2)	
Sesquiterpenes	15 (3)	
Diterpenes	20 (4)	
Sesterterpenes	25 (5)	
Triterpenes	30 (6)	
Sesquaterpenes	35 (7)	
Tetraterpenes	40 (8)	

Figure 9 : Classification des Terpènes (Cowan, 1999).

2. *Crocus sativus*. L

2.1. Généralité sur le genre *Crocus*

Le nom de ce genre viendrait du grec "krokos" (safran), "krokos" signifiant également "poil, filament" et faisant allusion à l'aspect des stigmates des fleurs de ces plantes.

Le genre *Crocus* fait partie des Crocoideae, qui est la plus grande des quatre sous-familles actuellement connues de la famille des Iridaceae (Busconi *et al.*, 2015).

Crocus L. est un genre de géophytes vivaces de la famille des Iridacées. ce genre était initialement considéré comme contenant environ 90 petites espèces (Petersen *et al.*, 2008), des études moléculaires, morphologiques et caryologiques entreprises ces dernières années (Kerndorff *et al.*, 2013 ; Schneider *et al.*, 2012) ont montré que le nombre d'espèces de *Crocus* est vraisemblablement supérieur à 160 (Harpke *et al.*, 2015).

Il existe de nombreuses couleurs, les plus courantes étant le violet, le jaune et le blanc. Il existe également des variétés bicolores. Les feuilles sont simples, filamenteuses, vert foncé et ont souvent des veines plus claires au milieu. *Crocus* est un genre de plantes composé de plantes bulbeuses qui fleurissent à partir de la fin de l'hiver, et certaines espèces fleurissent même à l'automne. Jaunes, blanches ou violettes, les fleurs de ces plantes sont décorées dans une variété de formes et de nuances (Peruzzi et Carta, 2011).

Crocus est largement répandu en Europe centrale et méridionale (péninsule balkanique), en Afrique du Nord (le Maroc) et en Asie (l'Iran, l'Inde, la Grèce, l'Afghanistan) (Kerndorff *et al.*, 2012).





La plupart des *Crocus* présents dans nos jardins et jardinières sont dérivés des espèces *Crocus chrysanthus*, *Crocus tommasinianus*, *Crocus siberi* aussi bien que *Crocus vernus* et ont avant tout une fonction esthétique.





Les espèces de ce genre sont adaptées aux conditions ensoleillées et peuvent être cultivées à l'extérieur dans des zones douces où la température n'est pas inférieure à 10° C ou dans des serres ou des jardins de fenêtres (Petersen *et al.*, 2008).


2.2. Les différentes espèces *Crocus*

Les *Crocus* mesurent entre 5 et 15 cm de long et présentent une fleur dressée en forme d'entonnoir qui atteint une hauteur de 5 cm. Les *Crocus* de printemps ont trois étamines et les *Crocus* d'automne en ont six.

Tableau 2: Les différentes espèces de *Crocus* à floraison hivernale et automnal
(Lazérat., 2009)

<p>Espèces à floraison hivernale et printanière</p>	<p><i>Crocus malyi</i></p>	<p>C'est une plante avec trois à cinq feuilles étroites qui apparaissent avec des fleurs qui sont blanches de gorge jaune.</p>	
	<p><i>Crocus vernus</i></p>	<p>Une plante vivace de 5 à 20 cm de haut. Originaire de l'Europe orientale et centrale.</p>	
	<p><i>Crocus tommasinianus</i></p>	<p>Très rustique et peut s'adapter à diverses conditions climatiques. Les fleurs sont étroites, en forme d'entonnoir, avec de longs tubes ; lilas à pourpre ou violet.</p>	
	<p><i>Crocus flavus</i></p>	<p>Plante rustique aux fleurs jaune orangé ou vif. Originaire des Balkans (Albanie, Grèce).</p>	

	<p><i>Crocus chrysanthus</i></p>	<p>Les fleurs des Balkans et d'Asie Mineure sont jaunes avec des tépales à rayures brunes à l'extérieur.</p>	
<p>Espèces à floraison Automnale</p>	<p><i>Crocus cartwrightianus</i></p>	<p>Le précurseur sauvage du safran (<i>Crocus sativus</i>) est <i>Crocus cartwrightianus</i>. C'est une plante vivace cormes, atteignant jusqu'à 10 cm, les fleurs ont des nuances de lilas ou blanc, avec des veines violettes et prominenti stigmas rouge.</p>	
	<p><i>Crocus cancellatus</i></p>	<p>L'espèce est hermaphrodite (à des organes mâles et femelles) pollinisée par les abeilles, les papillons.</p>	
	<p><i>Crocus sativus</i></p>	<p>C'est une plante herbacée vivace qui se développe à partir de bulbes et mesure de 10 à 25 cm de haut. La fleur de safran de couleur violette ou lilas en forme de coupe.</p>	

	<p><i>Crocus goulimyi</i></p>	<p>Elle porte une seule fleur sous forme de gobelet ou tube, de lilas pâle à rose lilas. Les fleurs et les feuilles apparaissent en même temps.</p>	
--	-------------------------------	---	---

2.3. Description botanique de *Crocus sativus* L

2.3.1. Origines et légendes

L'histoire du safran, à la fois cultivée et utilisée, remonte à plus de 3 500 ans et s'étend sur plusieurs sociétés, continents et civilisations. C'est l'épice la plus chère du monde connue sous le nom de "Or Rouge" (Fernández *et al.*, 2004) car les principales techniques de gestion tels que la plantation, l'entretien et la récolte des fleurs sont réalisées à la main. L'origine du safran est un mystère. Il est probablement né quelque part entre la Turquie et l'Inde, puis s'est répandu dans le bassin oriental de la Méditerranée. Le safran provient en fait d'un ancêtre sauvage d'origine grecque : *Crocus cartwrightianus*, une plante diploïde qui a été croisée pour produire une forme mutante : *Crocussativus*, une espèce triploïde stérile apparue en Crète.

Dans la culture gréco-romaine (du VIII^e au III^e siècle av. J.-C.), des fresques situées près des côtes de la Grèce antique attestent de la culture du safran vers 1600 av. Dans le palais de Knossos en Crète et les ruines d'Akrotiri à Santorin, des fresques rappellent la collection de safran (Figure 10) (Delaveau, 2006).



Figure 10: Les fresques de Xeste 3 (datées de 1600–1500 av. J.-C) retrouvées sur l'île grecque de Santorin (Delaveau, 2006).

Selon la mythologie romaine, dès l'Égypte ptolémaïque, Cléopâtre utilisait le safran pour ses propriétés embellissantes, aphrodisiaques et colorantes. Elle met au point la première véritable eau de toilette, appelée « kyphi » qui deviendra plus tard l'encens sacré des Égyptiens. Il était également utilisé pour colorer les linceuls des momies (Carmona *et al.*, 2006).

Dans la culture perse, dans l'actuel Irak, des peintures préhistoriques réalisées à partir de pigments safran il y a 50 000 ans ont été retrouvées. L'Europe occidentale a commencé à cultiver le safran au IXe siècle, ce sont en effet les Arabes qui l'ont amené en Afrique du Nord, puis la civilisation maure qui l'a propagé à l'Espagne musulmane. L'introduction du safran en France est postérieure à la culture espagnole, mais aussi aux apports des Croisés lors de leur retour d'Asie Mineure aux XIe-XIIIe siècles.



Figure 11: La culture ancienne du safran dans le Gâtinais (Ursat, 2004).

Cette épice, qui traverse différentes époques et régions du monde, est aussi un médicament au sens médicinal, c'est-à-dire qu'une partie de cette plante est utilisée pour ses propriétés curatives (Figure 11) (Cardon, 2003; Funel, 1990).

2.3.2. Étymologie

Le mot safran vient du latin safranum, l'ancêtre du portugais açafrao, de l'italien safferano, et de l'espagnol azafran (Katzner, 2001). L'étymologie de ces mots « *Crocus* » et « Safran » sont du Proche-Orient. Les autres termes signifiant safran dans les autres langues sont : "szafran" (polonais), "shafran" (russe), "kesar" ou "zafran" (Inde), "sáfrány" (hongrois), "safrána" (letton), "safranu" (roumain).

Le mot "*crocus*" vient du grec krokus, signifie "ligne" et signifie le stigmate du safran. Le mot "safran" vient de l'arabe "za'faran", signifiant "coloré de safran", dérive lui-même d'asfar "jaune et asfar safra » fleurs jaunes (Crozet *et al.*, 2012), tandis que le terme « *sativus* », signifie « cultivé » car le *crocus* se reproduit végétativement et ne peut se reproduire sans être humain (Dupont, 2001).

2.3.3. Taxonomie

La classification taxonomique donnée par *Crocus sativus* pour distinguer les angiospermes (Winter et Straubinger, 2000), qui sont des plantes de la famille des

Iridacées, des Liliacées et des *Crocus*, comprenant plus de 80 petites plantes bulbeuses. *Crocus sativus* est la seule espèce de *Crocus* qui produit du safran (Srivastava *et al.*, 2010).

Tableau 3: Taxonomie de la plante *Crocus sativus*.L (Srivastava *et al.*, 2010).

Règne	Végétale
Division	Spermatophyte
Sous division	Angiosperme(Magnoliophyta)
Classe	Monocotylédone(Liliopsida)
Sous classe	Liliidae
Ordre	Liliales
Famille	Iridaceae
Sous famille	Crocoideae
Genre	<i>Crocus</i>
Espèce	<i>Crocus sativus</i>

2.3.4. Morphologie de *Crocus sativus*. L

Le *Crocus* domestique (*Crocussativus*.L) est une plante terrestre vivace bulbeuse, de 10 à 30 cm de long, qui pousse à partir du sol, n'existe pas à l'état sauvage et nécessite des mains humaines pour survivre (Chevalier, 1926).

Triploïde et stérile, il se reproduit végétativement grâce à son corme, orange de réserve en forme de bulbe qui accumule le matériel de stockage nécessaire à la floraison et à la germination (Arvy et Galouin, 2003), De forme presque ovale et de taille variables.

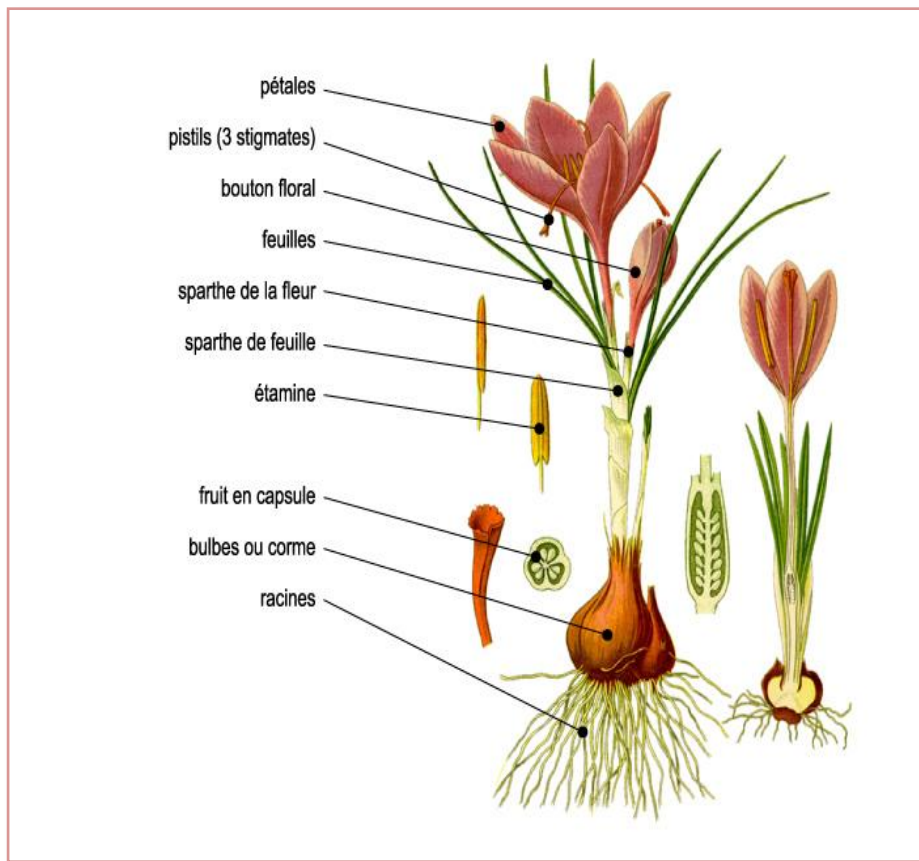


Figure 12: Description de la plante *C.sativus* (Arvy M et Gallouin F, 2003).

Crocus Sativus de couleur parme à violette en forme de coupe aux feuilles longues et fines allant de 5 à 11 par bourgeon, se développeront avec ou après la fleur, de 6 tépales, 3 étamines jaunes de 22 mm de long et d'un pistil se divisant en 3 longs stigmates de couleur rouge orangé 3 à 4 cm de long (Figure 12) (Crozet, 2012).

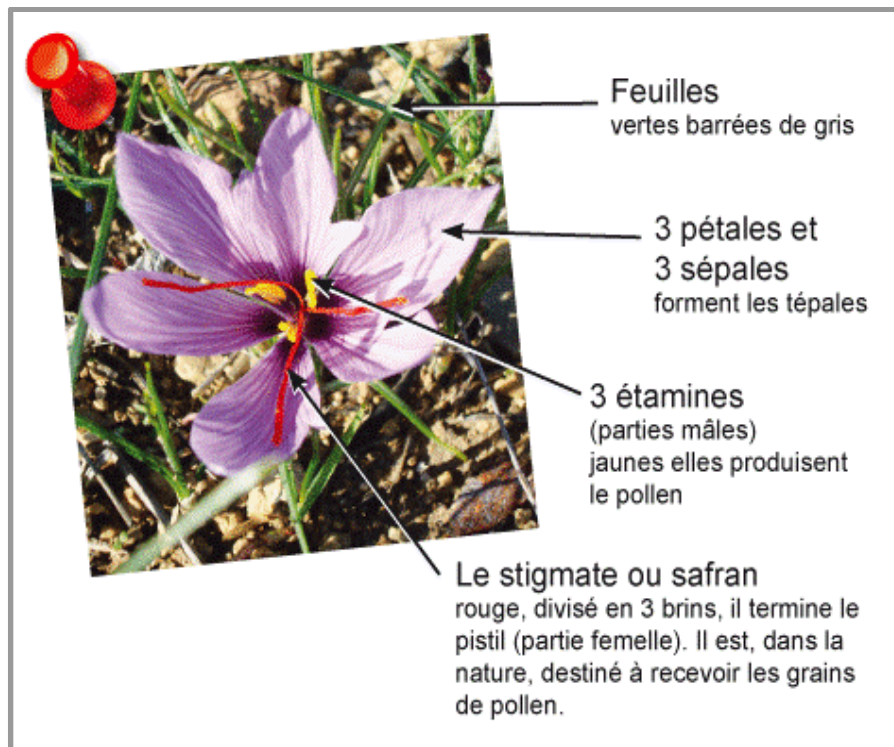


Figure 13: Description de la fleur de safran (Crozet, 2012).

Ces stigmates sont en forme de corne et très étroits. Lorsque les fleurs sont ouvertes, elles ont un aspect brillant avec des bases plus fines et des pointes plus larges. Ces styles, également appelés tiges, relie le stigmate au reste de la plante (Figure 13) (Hill, 2004).

2.3.5. Répartition géographique

Le safran a été cultivé pour la première fois dans les provinces grecques il y a plus de 35 siècles. Il vient d'Iran, de Turquie et de Grèce, mais est maintenant également cultivé avec succès dans des pays européens tels que l'Espagne, l'Italie, la France et la Suisse, ainsi qu'au Maroc, en Égypte, au Pakistan, en Inde, en Nouvelle-Zélande, en Australie et au Japon. Alors que la production mondiale annuelle totale de safran est estimée à 190 tonnes, l'Iran en produit environ 90 % aux coûts commerciaux (Figure 14) (Samarghandian *et al.*, 2014).

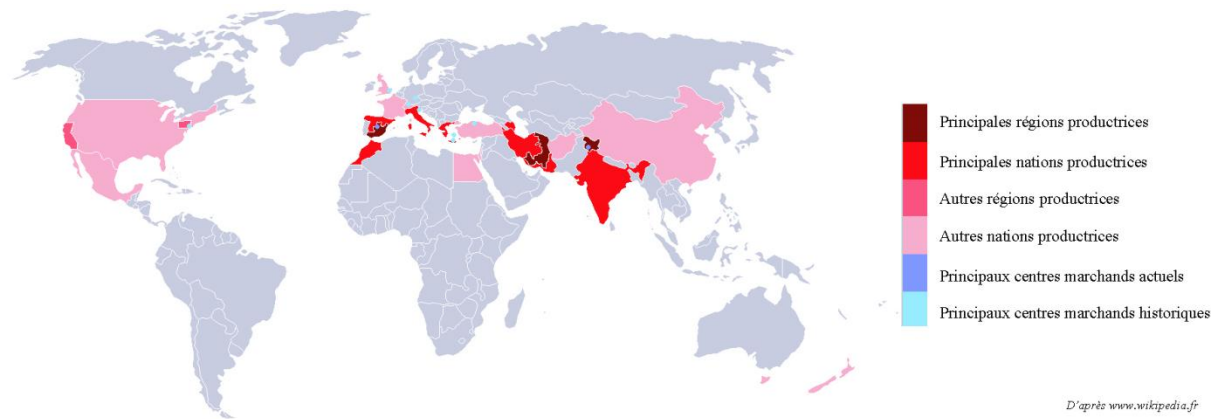


Figure 14: Carte géographique montre les nations productrices de safran (France A, 2013).

2.3.6. Culture de safran

Bien que le safran soit une épice chère, il est en fait simple à cultiver et accessible à tous. Ce qui lui donne une grande valeur, c'est la main-d'œuvre requise. Le cycle végétatif du safran est l'hiver. Il se réveille fin août, début septembre et fleurit en octobre/novembre. Les feuilles se dessèchent en avril/mai.

Ils peuvent être plantés de juin à mi-août, plus ils sont plantés tôt, plus le désherbage manuel est nécessaire. Les bulbes préfèrent un sol drainé, de type argilo-calcaire ou limoneux, riche en matière organique et pauvre en minéraux à pH 6 à 8 (Mollina *et al.*, 2005). Le safran a besoin de soleil à l'automne pour fleurir. La taille consiste à récolter les 3 stigmates rouges de la fleur, on laisse les étamines et les pétales jaunes.

Le safran est une plante des pays tempérés (climats méditerranéens et steppiques). Par conséquent, il est peu probable qu'il soit cultivé dans les pays tropicaux, sauf dans les zones montagneuses à faible humidité. En revanche, sa culture fleurira sans aucun doute dans toute l'Afrique du Nord (Figure 15) (Chevalier, 1926).

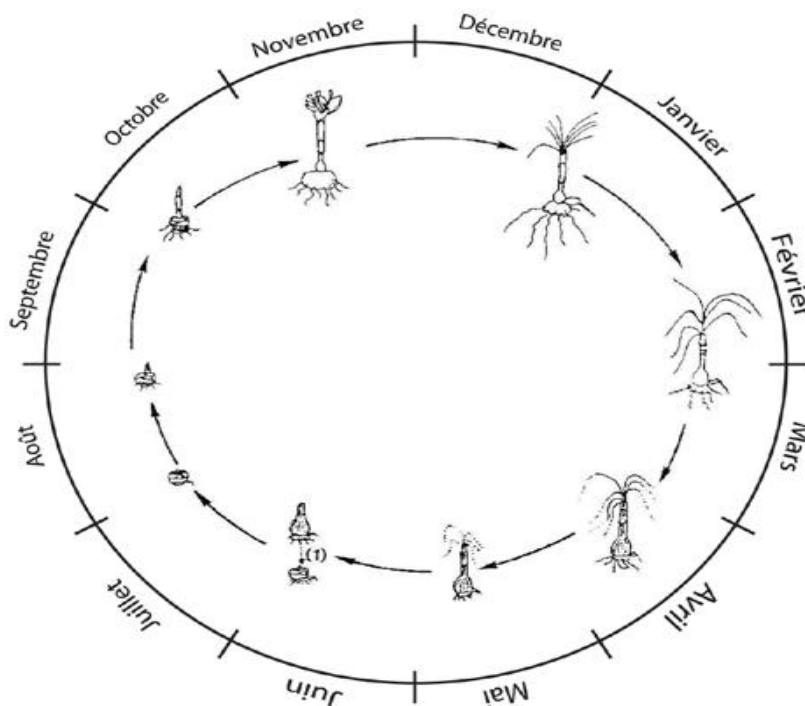


Figure 15: Cycle annuel du *Crocus sativus* L (Lopez, 1989).

2.4. Composition chimique de *Crocus Sativus* L

La composition du safran est très complexe : il contient plus de 150 composés volatils et aromatiques. Le safran contient également plusieurs composés non volatils (Abdullaev, 2002), principalement des caroténoïdes. Ces composés ont été identifiés par HPLC (High Performance Liquid Chromatography).

Des données moyennes de l'analyse chimique du safran sont indiquées ci-dessous :

- Eau (9 à 14%) ;
- Cellulose (4 à 7%) ;
- Polypeptides (11 à 13 %) ; Lipides (3 à 8 %) : campesterol, stigmastérol et β -sitostérol ;
- Matières minérales (1 à 1.5 %) ;
- Vitamines : B2 ou riboflavine (56,4 à 138 $\mu\text{g/g}$) et B1 ou thiamine (4,0 à 0,9 $\mu\text{g/g}$) ;
- Composants non azotés (40%) ;
- Acides gras : acides palmitique, stéarique, oléique, et linoléique ;
- Caroténoïdes : α , β , et γ -crocétine, crocine (10%), picrocrocine (4%), α et β -carotène ;
- lycopène, phytoène et zéaxanthine ;
- Huiles essentielles (0,3 à 2,0%) : où domine le safranal (60%).

Les principaux métabolites secondaires du safran sont : la crocine, responsable de la couleur rouge-jaune, la picrocrocine responsable de la saveur du safran, le safranal, principal composé volatil, responsable de l'odeur et de l'arôme (**Guellil *et al.*, 2017**).

➤ **La crocine (C₄₄ H₆₄ O₂₄)**

La crocine et la crocétine sont deux pigments caroténoïdes qui donnent à l'épice la couleur jaune-orangée (**Palomares, 2015**), rares dans la nature et facilement solubles dans l'eau. Comparée à d'autres caroténoïdes, la crocine est plus largement utilisée comme colorant dans les aliments et les médicaments, principalement en raison de sa grande solubilité (**Azami *et al.*, 2021**).

➤ **La picrocrocine (C₁₆ H₂₆ O₇)**

C'est le principal facteur affectant l'amertume du safran, qui peut être cristallisé par hydrolyse (**Mzabri *et al.*, 2019**).

➤ **Le safranal (C₁₀ H₁₄ O)**

C'est un composé volatil qui produit l'arôme et l'odeur caractéristique du safran et est rarement ou absent dans les stigmates frais, et sa concentration dépend des conditions de séchage et de stockage du safran.

➤ **Les caroténoïdes**

Les caroténoïdes sont des pigments naturels jaunes et orange qui proviennent des plantes. Leur synthèse a lieu dans les organites subcellulaires (plastides) des plantes par des réactions enzymatiques. Ce sont des composés de polyisoprène qui sont structurellement caractérisés par la présence de doubles liaisons conjuguées, qui affectent leurs propriétés physiques, chimiques et biophysiques. Les principaux caroténoïdes présents dans le safran, tels que la crocétine et la crocine, sont en fait dérivés du métabolisme de la zéaxanthine (**Figure 16**) (**Palomares, 2015**).

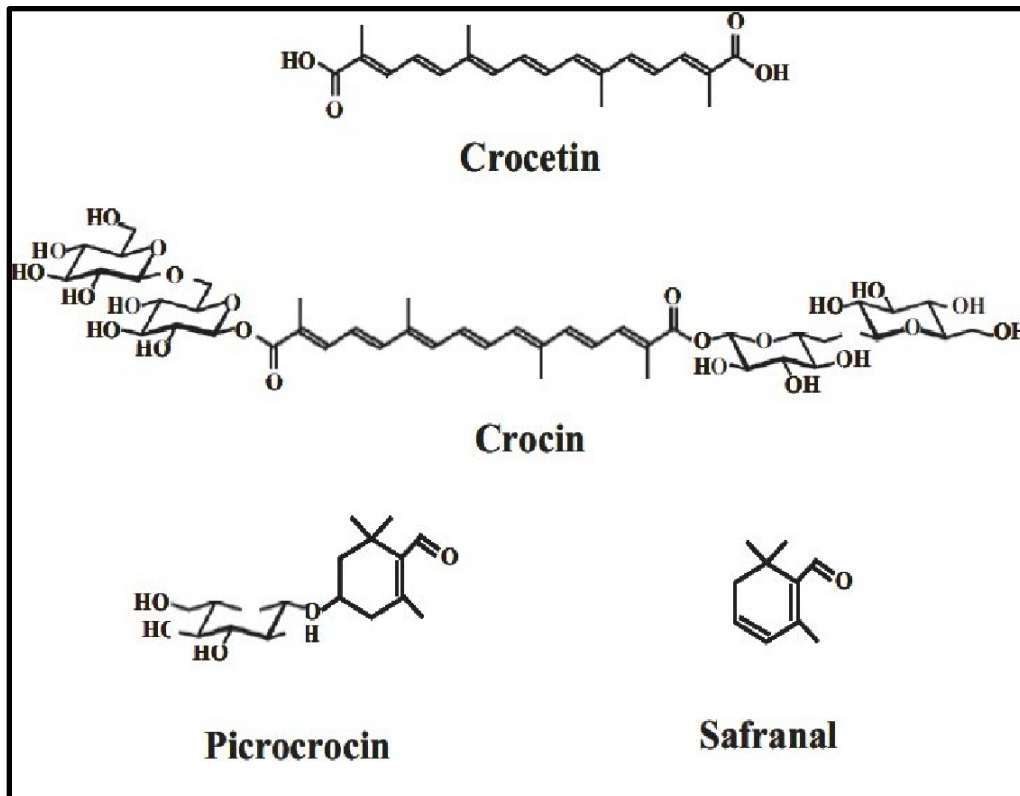


Figure 16: Principaux constituants du Safran (Khorasany et Hosseinzadeh, 2016).

2.5. Utilisation de *Crocus sativus*

2.5.1. Utilisation thérapeutiques

Le safran a une odeur amère de foin et un goût légèrement métallique et a été utilisé comme condiment, parfum, teinture et médicament. Diverses études pharmacologiques ont été décrites : le safran et ses constituants (Crocine, picrocrocine et safranal) ont montré différentes propriétés bénéfiques dont : sédation nerveuse, stomachique, antispasmodique, diaphorétique, ménorragie, stimulant, antispasmodique Oxydant, anti-cancérigène, antidote, antidépresseur, anxiolytique, a des effets aphrodisiaques, analgésiques, anti-ischémiques et anti-inflammatoires (Rahimi, 2015).

- ❖ **Anti-carcinogène** : la diméthyl-crocétine présente dans le safran empêche certains protéines et des enzymes connues qu'ils ont un rôle dans la prolifération de différents types de cellules cancéreuses (Crozet, 2012). L'extrait de safran est cytotoxique, possède des propriétés antioxydantes qui inhibe la croissance des cellules tumorales in vivo et in vitro (Pannikar *et al.*, 1991).

-
- ❖ **Activité antioxydant** : Les extraits méthanoliques, en particulier du safran, neutralisent d'une manière élevée les radicaux DPPH (nomenclature IUPAC : 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle). Ceci est dû au don au DPPH de protons par les agents actifs du safran, le safranal et la crocine (**Ben Mostefa, 2017**). Le safran est riche en vitamine B2 et provitamine A, qui ont une activité antioxydante plus élevée.
 - ❖ **Anti-inflammatoire et analgésique** : Il a soigné les otites, les douleurs dentaires, la goutte, les gonflements, les douleurs anales. Les effets inhibiteurs du safran ont été attribués en partie aux propriétés anti-inflammatoires de la crocine, car il inhibe diverses cytokines et enzymes inflammatoires (**Bathaie et al., 2013**).
 - ❖ **Anti-Alzheimer** : Le safran empêche l'accumulation et le dépôt de peptides bêta-amyloïdes dans le cerveau humain et peut donc être efficace contre la maladie d'Alzheimer (**Akhondzadeh S et al., 2013**).
 - ❖ **Amélioration des troubles de vision et la pression sanguine** : Le safran est actif sur les fonctions sanguines et rétinienne. Les résultats de plusieurs études suggèrent qu'il peut être utilisé dans le traitement des maladies du sang et des yeux telles que la rétinopathie et la dégénérescence de la macula (**Abdullaev, 2001**).
 - ❖ **Anti-gastrique** : Le safran, crocine et safranal, de par leurs propriétés antioxydants, réduisent les formations d'ulcère en prévenant les dommages au niveau de la muqueuse gastrique causés par l'indométacine, en augmentant le niveau de glutathion et en prévenant l'oxydation lipidique (**Kianbakht et mozaffari, 2009**).
 - ❖ **Protection du système cardio-vasculaire** : Le safranal protège les cellules cardiaques par l'augmentant de la défense antioxydant dans le cas d'endommagements dû à l'ischémie/ reperfusion ou de l'isoprotérénol, (**Hosseinzadeh et al., 2013**).
 - ❖ **Antidépresseurs** : Le safran a des effets antidépresseurs par des propriétés antioxydants, anti-inflammatoires et neuroprotectrices (**Lopresti, 2014**).
 - ❖ **Amélioration du métabolisme glycolipide** : Les caroténoïdes sont capables d'avoir une action hypolipémiante, et de contrecarrer le développement d'une hyperinsulinémie en normalisant les paramètres du bilan lipidique et l'hypertension (**Crozet, 2012**).

2.5.2. Autre utilisation

- **Le safran comme teinture** : Teinture et couleur des vêtements. Le safran a été utilisé comme colorant histologique, c'est-à-dire comme colorant tissulaire (Srivastava *et al.*, 2010).
- **Le safran comme parfum** : Un composé aromatique agréable, le safranal, est produit lors du séchage, éventuellement par dissociation enzymatique ou thermique du composé amer picrocrocine (Srivastava *et al.*, 2010).
- **Safran comme épice** : il fonctionne comme une épice, ajoutant son arôme léger et délicat, sa saveur agréable et sa couleur jaune brillante pour améliorer la palatabilité (Srivastava *et al.*, 2010).

Chapitre II

Stress oxydatif

1. Le stress oxydant

1.1. Définition

Le stress oxydant se définit par un déséquilibre entre la génération d'espèces oxygénées activées (EOA) ou les espèces radicalaires de l'azote (ERN) connues sous le nom des oxydants et les défenses antioxydants de l'organisme (**Laplace et al., 2005 ; Atamer et al., 2008**). C'est-à-dire un déséquilibre entre les systèmes pro-oxydant et antioxydant endogène (**Thomas, 2016**). Conduisant à une perturbation de la signalisation et à des dommages moléculaires (**Sies, 2015**).

Le stress oxydant constitue un terrain favorable au développement de diverses pathologies (**Defraigne et pincemail, 2008**), et représente le facteur déclenchant d'une variété de maladies graves, notamment celles liées au vieillissement comme le cancer, les pathologies oculaires, les maladies neurodégénératives (ataxie, athérosclérose, la maladie d'Alzheimer) (**Favier, 2006**).

De nombreuses autres anomalies biologiques sont induites par le stress oxydant : mutation, carcinogenèse, malformation des fœtus, dépôt de protéines anormales, fibrose, formation d'auto-anticorps, dépôt de lipides oxydés, et immunosuppression (**Favier, 2003**).



Figure 17 : Déséquilibre antioxydant /oxydant (Morena et al., 2002).

1.2. Les radicaux libres

L'oxygène, molécule indispensable à la vie, est susceptible d'entraîner des dommages cellulaires dans l'organisme par la formation des espèces chimiques appelant les radicaux libres (Chiha, 2016).

On appelle un radical libre, tout atome ou groupe d'atomes possédant un électron non apparié "célibataire" sur son orbitale externe, qui lui confère une réactivité importante au sein des tissus et le rend instable. Ce radical porte une charge électrique négative et va chercher à se stabiliser en captant un électron à partir d'autres espèces chimiques voisines telle qu'une protéine, un lipide ou un élément de l'ADN (Matou, 2019).

La production des RL peut être d'origine endogène issue principalement du complexe enzymatique mitochondrial de la chaîne respiratoire et de l'enzyme NADPH oxydase, ou d'origine exogène (irradiation UV, gamma, médicaments, polluants, xénobiotiques, toxines, ...) (Matou, 2019).

On peut distinguer les radicaux primaires qui dérivent soit de l'oxygène ou de l'azote par des réductions avec un électron (Yoshikawa, 2000) comme⁻ le radical hydroxyle OH⁻, l'anion superoxyde O₂⁻, le monoxyde d'azote NO⁻ et les radicaux secondaires, issus de la réaction des radicaux primaires avec autres biomolécules cellulaires (lipides, protéines ou glucides...) tels que les radicaux peroxydes RO₂⁻ et les hydroperoxydes RO₂H. L'ensemble de ces RLs primaires, secondaires et de leurs précurseurs est souvent appelé espèces réactives de l'oxygène (Favier, 2003 ; Chiha *et al.*, 2016 ; Eddhima, 2019).

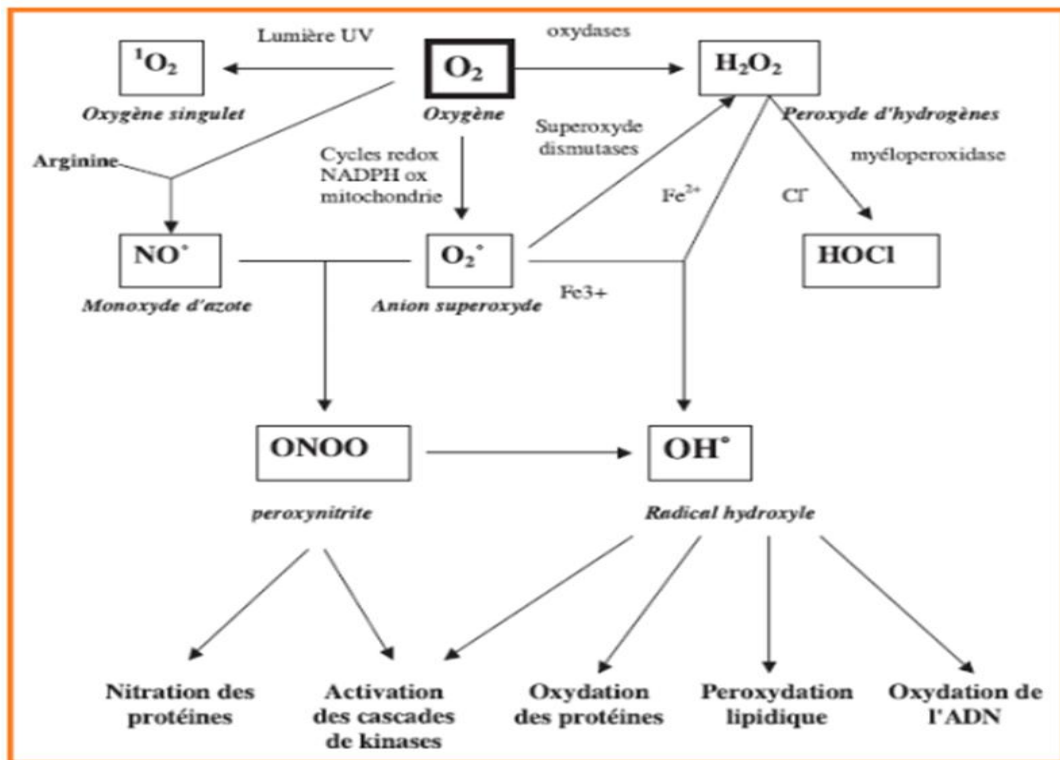


Figure 18 : Les différents radicaux libres impliqués en biologie (Favier, 2003).

1.3.Sources des RLs

À l'état physiologique, il existe un équilibre naturel entre la synthèse des radicaux libres et les systèmes antioxydants présentes dans notre organisme. Sous l'influence de certains stimuli pathologiques exogènes ou endogènes (Tableau 4), la production excessive des RLs ou la diminution du taux des antioxydants peuvent conduire à un déséquilibre (Poisson, 2013).

Tableau 4: Sources des radicaux libres(Poisson, 2013).

Sources de radicaux libres

Endogène

- Mitochondries
- Phagocytoses
- Xanthine oxydase
- Métaux de transition
- Peroxysomes
- Inflammation

Exogène

- Cigarette
- Radiation ionisantes
- Pollutions diverses
- Rayonnement UV
- Produits chimiques & médicaments
- Ozone

1.4. Les espèces réactives de l'oxygène

Les espèces réactives de l'oxygène (ROS ou ERO) sont des molécules dérivées de la réduction de l'oxygène ayant un électron unique dans leur couche périphérique. (Rezaire, 2012).

Il sont produites d'une manière accrue lorsque la régulation du métabolisme de l'oxygène est déséquilibrée, ce déséquilibre entre la production de ROS et les systèmes de défense antioxydants enzymatiques est appelé stress oxydatif (Qian *et al.*, 2018). Les cellules ont développé un système de défense antioxydant pour réguler la production de ROS et leur élimination (West *et al.*, 2011).

Ces espèces sont responsables d'une manière directe ou indirecte de plusieurs dommages oxydatifs au niveau moléculaire (protéines, lipides, acides nucléiques...), pouvant affecter les mécanismes cellulaires ce qui conduit à l'apparition du vieillissement et des maladies dégénératives du vieillissement telles que le cancer, les maladies cardiovasculaires, les maladies du foie, le diabète sucré, le déclin du système immunitaire, le dysfonctionnement cérébral... (Halliwell, 1994 ; Kozarski, 2015).

Les ROS seraient également impliquées dans les maladies neurodégénératives à début tardif, surtout la maladie d'Alzheimer, où la mort neuronale peuvent être liée à un phénomène d'apoptose impliquant les radicaux libres (**Guichard *et al.*, 2006**).

Tableau 5 : Classification des espèces réactives de l'oxygène (ROS).

Les dérivés radicalaires	le radical anion superoxyde $O_2^{\bullet -}$	<p>C'est un radical libre chargé négativement vient de la réduction monovalente de l'oxygène moléculaire et possède la plus faible réactivité vis-à-vis des substrats bio-organique. (Gardés – Albert et Jore, 2005). $O_2^{\bullet -}$ est un déchet métabolique toxique produit naturellement au niveau des cellules respirant le dioxygène au sein des mitochondries, et par d'autres enzymes comme la xanthine oxydase.</p>
	le radical hydroxyle OH^{\bullet}	<p>C'est une espèce très toxique, en raison de leur forte réactivité qui attaque la majorité des molécules organiques: les acides, les alcools, les amines, les éthers,... (Migdal & Serres, 2011).</p> <p>Il est régénéré soit par la réaction de fenton à partir de l'eau oxygénée en présence du fer ferreux (Fe^{2+}) selon la réaction d'oxydoréduction suivante (Gardés – Albert, 2003) :</p> $Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + OH^- + OH^{\bullet}$ <p>ou par La réaction de Haber-Weiss à partir de superoxyde $O_2^{\bullet -}$ et peroxyde d'hydrogène H_2O_2 selon la réaction suivant :</p> $O_2^{\bullet -} + H_2O_2 \rightarrow O_2 + OH^{\bullet} + OH^-$
	Le monoxyde d'azote NO^{\bullet}	<p>Appelé aussi « l'oxyde nitrique », c'est une molécule labile ubiquitaire à demi-vie très courte (Laurent, 2011). Son électron célibataire de la couche externe lui permettant de générer des Peroxynitrites et de réagir avec autres composés radicalaires comme l'$O_2^{\bullet -}$.- (Bouchair, 2015).</p>

Les dérivés non radicalaires	Le peroxyde d'hydrogène H₂O₂	Le peroxyde d'hydrogène Est un oxydant puissant de formule H ₂ O ₂ appelé aussi « l'eau oxygénée ». c'est une espèce non radicalaire n'est pas chargé, peut diffuser facilement à travers les membranes. Les peroxydases catalysent la dissociation de H ₂ O ₂ en H ₂ O et O ₂ (Barouki, 2006). $2 \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2 \text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$
	L'oxygène singulet O₂	C'est une molécule à courte durée de vie (0.01-0.04µs) et de forte réactivité avec de nombreuses biomolécules tel que les lipides et les protéines (Koh et Fluhr, 2016). c'est un puissant oxydant très instable (Wilson et Salamantian, 2003).
	Hydroperoxyde HO₂·	Appelé aussi « perhydroxyle », c'est la forme protonée du radical Superoxyde O ₂ ⁻ en milieu acide (Hool, 2006). Sa réactivité est très limitée (Oueslati, 2017).

1.5.Cibles biologiques des radicaux libres

La production exagérée d'ERO conduire à des lésions de molécules biologiques (oxydation des protéines, des acides nucléiques, des lipides, des glucides...) (**Oueslati, 2017**). À l'état physiologique, il existe un équilibre "naturel" entre la production des radicaux libres et les systèmes antioxydants (**Favier, 2003**). Dans certaines conditions, il apparaît un déséquilibre provoqué soit par une production excessive de radicaux libres soit par une diminution des défenses antioxydants sous l'effet de certains stimuli pathologiques endogènes (hyper-LDLémie, hypertension, diabète...) ou exogènes (tabagisme, polluants environnementaux).

1.5.1. Les dommages oxydatifs à l'ADN

Les acides nucléiques sont des molécules très sensibles à l'attaque par les radicaux oxygénés. Les attaques radicalaires de l'ADN vont entraîner :

- Les modifications des bases azotées. Cela entraîne un non appariement des bases, ou un mauvais appariement, ou encore un blocage de la réplication de l'ADN (**Halliwell, 1999**)
- La formation de sites abasiques par la rupture de la liaison N-glycosidique entre le désoxyribose et la base azotée.
- Les coupures des brins
- La formation d'adduits due aux aldéhydes issus de la peroxydation lipidique (**Marnett, 1999**)
- l'attaque des protéines qui sont en contact de l'ADN comme les histones, les enzymes et les facteurs de la réplication ou de la transcription... etc. (**Oleinick, 1987**).

Ce qui va entraîner de graves conséquences peuvent participer à une mutagénèse, à un arrêt des divisions cellulaires par blocage des mécanismes de réplication, à un arrêt de la synthèse protéique par blocage des mécanismes de transcription/traduction, et enfin à une mort cellulaire. (**Dizdaroglu et Jaruga, 2012**).

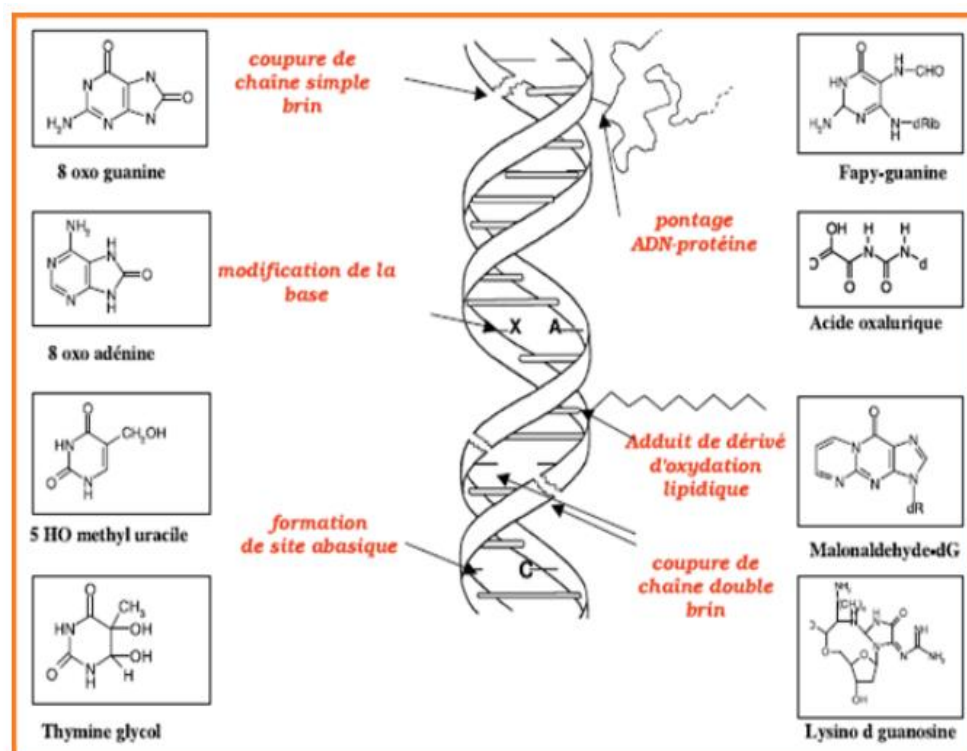


Figure 19 : Les dommages oxydatifs de l'ADN par les ERO (**Favier, 2003**).

1.5.2. Les dommages des lipides

Les lipides et principalement leurs acides gras polyinsaturés sont la cible de l'attaque par le radical hydroxyle qui est capable de former un radical diène conjugué par une réaction appelée la peroxydation lipidique (**Migdal et Serres, 2011**).

Les peroxydes peuvent être réduits et neutralisés par une enzyme antioxydant, la GPX ou continuer à s'oxyder et à se fragmenter en aldéhydes acides et en alcanes comme l'éthane ou le pentane. Ce radical peut libérer différents aldéhydes toxiques comme le 4 hydroxy-2-nonénal (4-HNE) ou le malonaldialdéhyde (MDA). L'attaque des phospholipides membranaires modifie la fluidité des membranes ce qui va entraîner une perturbation des communications intercellulaires et un dysfonctionnement de certaines voies de transduction du signal (**Favier, 2003**).

1.5.3. Les dommages des protéines

Certains acides aminés qui sont inclus dans la structure des protéines comme la méthionine, la cystéine et la tyrosine (**Tratner et al., 2003**). La formation de dérivés protéiques carbonylés par La modification des structures des protéines est causée par les ERO (**Pincemail, 2006 ; Kehrer, 1993**).

Les altérations protéiques portent à la fois sur les protéines fonctionnelles comme les enzymes ou les hormones et les protéines de structure (**Pamplona, 2008**). Cependant, Les protéines les plus sensibles aux attaques radicalaires sont celles qui contiennent un groupement sulfhydrile (SH). (**Favier, 2003**)

2. Les antioxydants et les systèmes de défense

2.1. Définition

Afin de contrôler les effets indésirables des radicaux libres, notre organisme est équipé de tout un système complexe de défenses très efficaces qui les protègent contre les dommages de ces espèces chimiques réactifs. Ces défenses permettent de maintenir la concentration en espèces radicalaires à un taux basal (homéostasie physiologique) (**Derai, 2016**). Les molécules limitant cette production sont appelées « antioxydants » (**Gauché et Hausswirth, 2018**).

Un antioxydant est défini comme une molécule qui peut recevoir des électrons et/ou donner de l'hydrogène (Griffiths, 2016). C'est une substance qui empêche ou retarde significativement l'oxydation des macromolécules par les espèces réactives de l'oxygène, alors qu'elle présente une concentration très faible dans le milieu où elle intervient (Halliwell et Gutteridge, 1990 ; Sies, 1996).

Le système antioxydant humain puisse fonctionner de manière optimale pour protéger les facteurs de stress abiotiques environnementaux, tels que les toxines environnementales et les radiations. (Xu *et al.*, 2017).

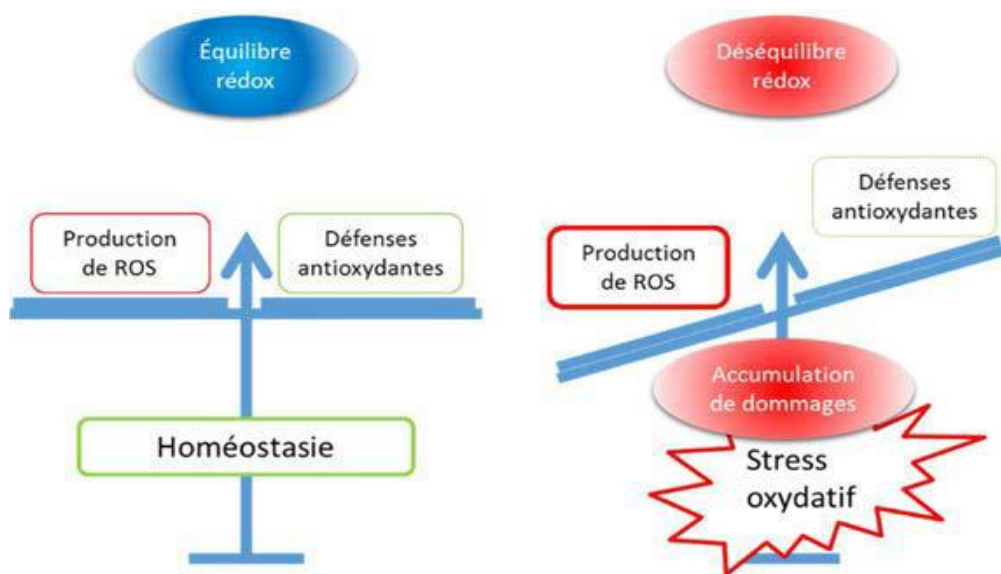


Figure 20 : Équilibre redox en situation homéostatique et déséquilibre redox en situation pathologique (Lambert de Malezieu, 2019).

2.2. Classification des antioxydants

Ils sont classés en antioxydants enzymatiques ou non-enzymatiques.

Tableau 6 : Les systèmes antioxydants chez l'homme (Halliwell et Gutteridge, 1994)

Les systèmes enzymatiques	Les systèmes non enzymatiques
Elimination de l'anion superoxyde Les superoxydes dismutases	Elimination de l'anion superoxyde Les vitamines C et E Les flavonoïdes Les caroténoïdes
Elimination du peroxyde d'hydrogène Les peroxydases hémiques Catalase Les peroxydases non hémiques Glutathion peroxydases & glutathion réductase Peroxyrédoxines et thiorédoxine réductase	L'ubiquinone (coenzyme Q ₁₀) Elimination du peroxyde d'hydrogène Les vitamines C et E Le glutathion (GSH) La thiorédoxine
Régulation intracellulaire de la concentration en fer libre Internalisation via les récepteurs à transferrine Stockage par la ferritine	

2.2.1. Antioxydants enzymatiques

Ce sont des enzymes ou protéines antioxydants élaborés par notre organisme, leur quantité dépend de l'âge (**Labioud, 2016**). Ce système est constitué de la Superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT), la glutathion Peroxydase (GPx) et la glutathion réductase (GR), il est considéré comme la première ligne de défense (**Lone et al., 2013**).

L'activité de ces enzymes est très dépendante de l'apport nutritionnel en minéraux qui jouent un rôle primordial comme Cofacteurs de divers enzymes à activité antioxydant (**Haleng, 2007**) : fer pour la catalase, zinc et cuivre pour la Superoxyde dismutase, sélénium pour la glutathion peroxydase et la thiorédoxine réductase (**Claudine, 2014**).

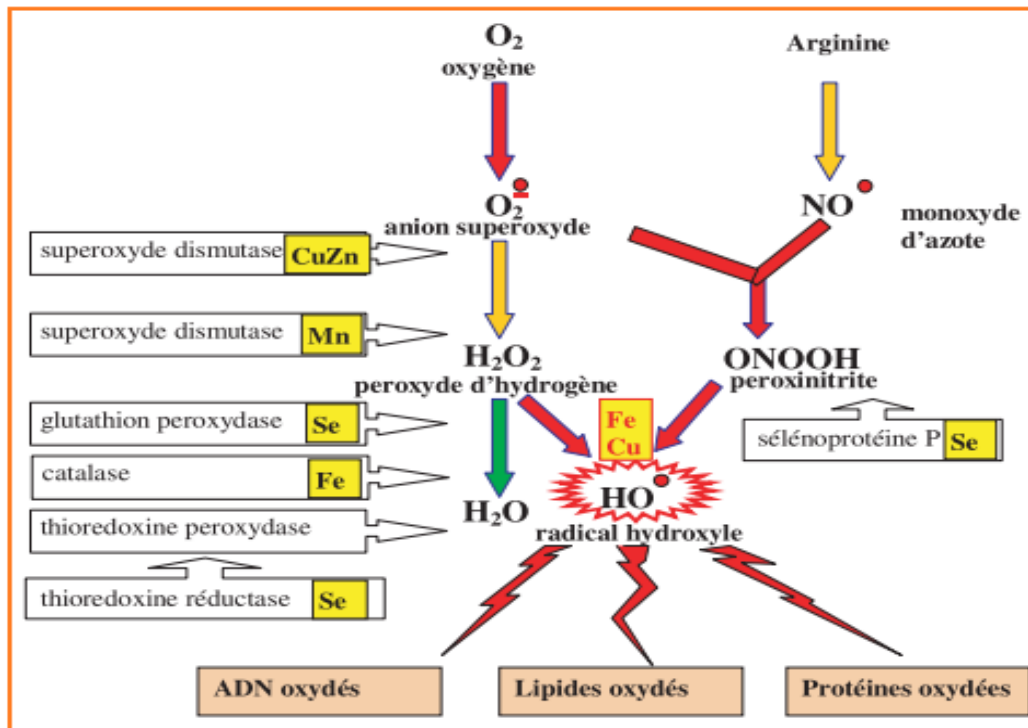


Figure 21 : Mode d'action des principaux systèmes enzymatiques antioxydants et de leurs cofacteurs métalliques (favier, 2003)

➤ **La superoxyde dismutase (SOD)**

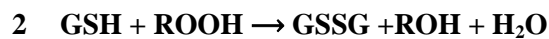
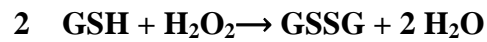
Est une métalloprotéine oxydoréductase qui catalyse la dismutation d'anions superoxyde $O_2^{\cdot-}$ en oxygène O_2 et peroxyde d'hydrogène H_2O_2 : $2 O_2^{\cdot-} + 2 H^+ \rightarrow O_2 + H_2O_2$. (Bratovcic, 2020). Il est présent dans le cytoplasme, la matrice mitochondriale et les peroxysomes et besoin de zinc et cuivre pour être activé (Bratovcic, 2020).

➤ **La catalase**

La catalase est une protéine tétramérique de 4 sous unités monomères identiques, localisée principalement dans les peroxysomes au niveau des globules rouges et du foie (Oueslati, 2017). Elle catalyse la dismutation de l'eau oxygénée (peroxyde d'hydrogène) : $2 H_2O_2 \rightarrow O_2 + 2 H_2O$

➤ **glutathions peroxydases (GPx)**

La Glutathion peroxydase GPx est une enzyme oxydoréductase formée de 4 sous unités contenant chacune un atome de sélénium incorporé dans une molécule de sélénocystéine localisée au niveau du cytosol et dans la mitochondrie (Belkheiri, 2010). Cette enzyme assure la décomposition du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ou les hydroperoxydes organiques (ROOH) par oxydation du glutathion en glutathion oxydé (GSSG) par la réaction suivant :



2.2.2. Antioxydants non enzymatiques

Il en existe deux types : les antioxydants non enzymatiques endogènes (synthétisés par la cellule) et les antioxydants non enzymatiques exogènes (provenant de la nourriture) (Sharifi *et al.*, 2020).

2.2.2.1. Antioxydants non enzymatiques endogènes

Qui sont fabriqués par les cellules de notre corps, dont les plus importants sont le glutathion (c'est le thiol le plus abondant dans les organismes et les systèmes vivants au cœur des défenses antioxydants), la bilirubine, l'acide urique, le coenzyme Q et la mélatonine ... (Simic et Jovanovic, 1989)

2.2.2.2. Antioxydants non enzymatiques exogènes

Ce sont ceux que nous consommons dans notre régime alimentaire, notamment ceux contenus dans les fruits, légumes et les produits céréaliers qui sont capable de céder des électrons ou des protons (Djenidi, 2019), ils permettent de lutter contre le processus du vieillissement cellulaire.

a) Vitamine E (ou α – tocophérol)

La vitamine E est considérée comme la molécule antioxydant liposoluble la plus abondante Dans notre organisme. Elle est présente dans les membranes cellulaires et dans la circulation sanguine (liée aux lipoprotéines) (Bratovcic, 2020).

Elle est chargée de neutraliser les radicaux libres, et agit de deux façons différentes, soit en piégeant directement les ERO, soit en régulant l'activité des antioxydants enzymatiques, telles que la glutathion peroxydase la SOD, la catalase du foie et la glutathion-transférase (Eddhima, 2019).

b) Vitamine C (ou acide ascorbique)

La vitamine C ou acide ascorbique est une vitamine hydrosoluble considérée comme étant l'antioxydant naturel le plus puissant. Elle a un rôle important dans la protection de l'organisme contre les RLs (Poisson, 2013).

La vitamine C est l'un des principaux antioxydants hydrosolubles présent dans les fluides intra- et extracellulaires (compartiments hydrophiles). (Oueslati, 2017).

Ce radical peut facilement s'oxyder en captant l'anion superoxyde et certaines espèces radicalaires (per-hydroxyles et peroxydes) (Van Antwerpen, 2006).

c) β -carotène

C'est un composé liposoluble produit à partir d'unités isoprènes. Elle présente le principal précurseur de la vitamine A apporté par l'alimentation.

L'activité antioxydante de la β -carotène repose essentiellement sur le piégeage de l'anion superoxyde ou de radicaux peroxyde (Djenidi, 2019).

3. Les méthodes d'évaluation de l'activité antioxydant

Il y a plusieurs méthodes utilisées pour étudier et mesurer l'activité antioxydant des systèmes biologiques (Ali *et al.*, 2008 ; Scherer et Godoy, 2009). Elles peuvent être divisés en deux catégories selon leur mécanisme : (1) les tests basés sur la réaction de transfert d'atomes d'hydrogène (HAT) : sont utilisées pour évaluer la peroxydation lipidique par un substrat lipidique ou lipoprotéique. (Sanchez-Mereno et Larraui, 1998), (2) les tests basés sur la réaction de transfert d'électrons simples (ET) : sont celles qui interviennent dans la mesure de l'habilité du piégeage des radicaux libres. (Sanchez-Moreno, 2002). Parmi ces techniques, nous citons :

3.1. Test du piégeage du radical libre (DPPH)

Le DPPH (2,2 diphényl-1-picrylhydrazyl) est un radical organique azoté stable qui possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote (figure 22) (Popovici *et al.*, 2009). et l'un des premiers radicaux libres utilisé pour l'étude de la relation structure-activité antioxydant des composés phénoliques (Osman, 2011 ; Floegel *et al.*, 2011).

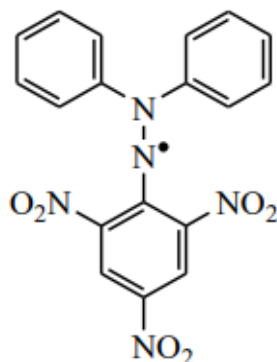


Figure 22 : Structure chimique du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) (Osman, 2011).

Généralement, c'est le substrat le plus utilisé pour l'évaluation rapide de l'activité antioxydant en raison de sa stabilité en forme radicale libre et la simplicité de l'analyse.

Dans ce test, le DPPH de couleur violette intense (à température ambiante) et qui possède un maximum d'absorption UV-Vis à 515 nm (Prior, *et al.*, 2005), se réduit en diphenylpicryl-hydrazine (DPPH, H), dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité réductrice des antioxydants présents dans le milieu (Figure 23)(Amarti *et al.*, 2011).

Cette méthode s'effectue à température ambiante ce qui permet de préserver les molécules testées de l'éventuelle dégradation thermique (Atoui *et al.*, 2005).

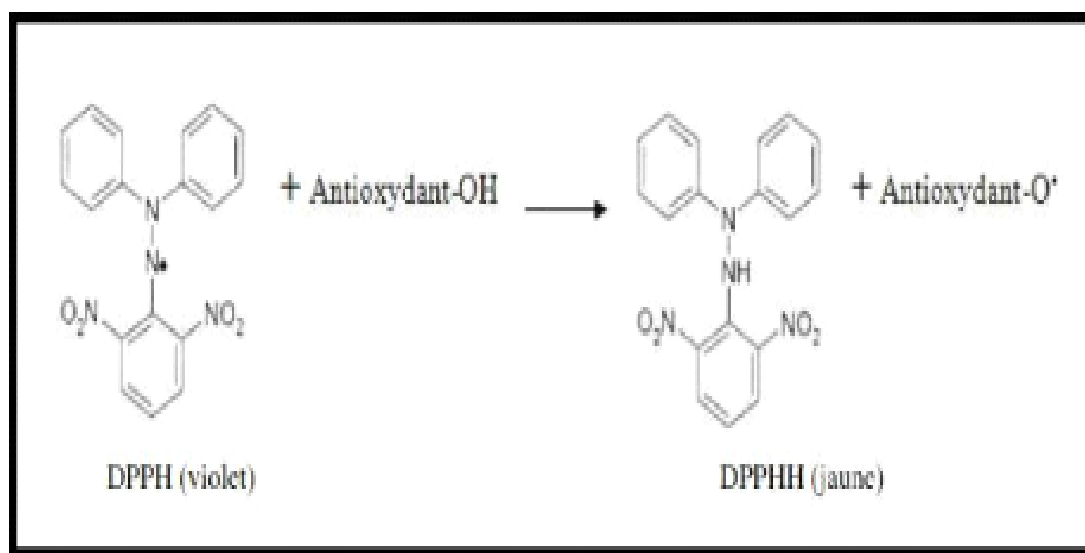


Figure 23: Réduction de DPPH par un antioxydant (Osman, 2011).

3.2. Activité anti-radicalaire sur l'ABTS

L'activité anti-radicalaire sur l'ABTS est un test basé sur la neutralisation du radical cationique ABTS•+ (sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-Sulfonique) par l'oxydation de la molécule stable d'ABTS avec le persulfate de potassium ($K_2S_2O_8$) (Re *et al.*, 1999).

La formation de radical ABTS•+ se traduit par l'apparition d'une couleur bleu à verte. La présence d'un antioxydant réduira ce radical et provoquera la décoloration du mélange. Cette décoloration du radical résulte d'une réaction entre le radical ABTS•+ et un donneur de H•(Hadj Salem, 2009) et mesurée par spectrophotométrie à 734 nm, elle est proportionnelle à la concentration en antioxydant (Chaalal *et al.*, 2013).

Cette méthode a pour avantages sa simplicité et sa rapidité. De plus, la solution d'ABTS n'est pas affectée par la force ionique, elle est soluble dans l'eau et dans les solvants. (Awika *et al.*, 2003).

3.3.Pouvoir réducteur du fer (FRAP)

La méthode FRAP est un dosage colorimétrique du transfert d'électrons, basée sur la capacité des antioxydants testés à réduire le fer pour passer de la forme ferrique (Fe^{3+}) à la forme ferreux (Fe^{2+}) (pellegrini *et al.*, 2003).

Le Fe^{2+} formé peut être évalué en mesurant et en surveillant l'augmentation de la densité de la couleur bleu cyanée dans le milieu réactionnel à 700 nm (Chung *et al.*, 2002).

Les résultats du test sont exprimés en unités différentes, en mmol Fe^{2+} /kg ou mmol TEAC/kg. Ce test est peu coûteux, la procédure est simple et rapide et les résultats sont hautement reproductibles, la principale limite de cette méthode réside dans le temps de réaction. (Huang *et al.*, 2005).

Partie 2

Partie expérimentale

Chapitre III

Matériel et méthodes

1. Objectif

L'objectif de notre étude est l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits eau-acétonique et méthanolique de la partie aérienne (pétales) de *Crocus sativus*, en utilisant le test de réduction du fer (FRAP) et test de Piégeage du radical DPPH.

2. Matériel végétal

La fleur a été récoltée au mois de septembre 2021, à la commune d'Ahfir, willaya de Tlemcen (Algérie). Le matériel végétal a été séchée à l'air libre et à l'abri de la lumière pendant quelques jours.



Figure 24: La partie aérienne de *Crocus sativus* (Photo personnelle)

3. Préparation des extraits

Les extraits ont été obtenus par une macération à température ambiante, sans agitation.

3.1. Préparation de l'extrait eau-acétonique

La préparation de cet extrait consiste à macérer 3g de matière végétale sèche avec 100ml de solvant eau-acétone (30ml eau distillée + 70ml acétone), et la laisser 24 h à température ambiante. Après l'incubation, le mélange a été filtré à sur papier filtre et le filtrat a été évaporé par l'évaporateur rotatif (rotavapor) à 45°C pour éliminer l'acétone. Après évaporation, l'extrait obtenu est versé dans des boîtes de pétrie et placé à l'étuve à 50°C pendant 24h en raison d'éliminer l'eau et de sécher l'extrait eau-acétone. Le produit est récupéré et conservé jusqu'à l'utilisation.

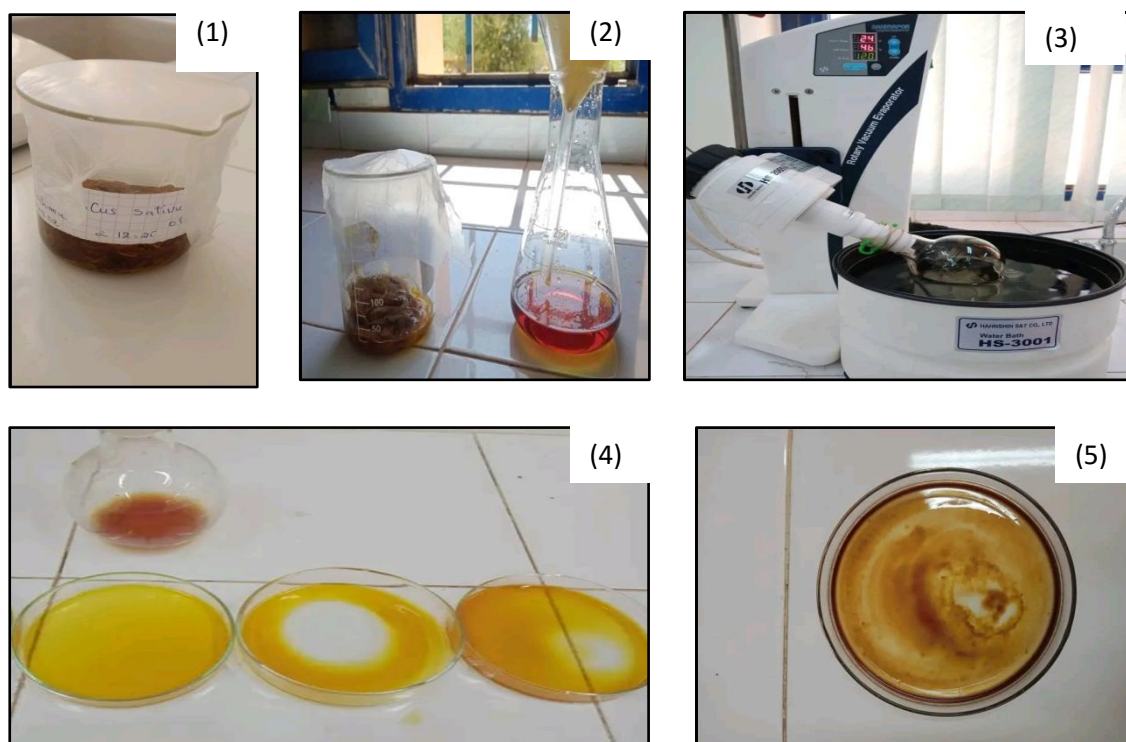


Figure 25 : les étapes de préparation de l'extrait eau-acétone

- (1) Macération-
- (2) Filtration
- (3) Évaporation
- (4) l'extrait après évaporation
- (5) L'extrait après séchage dans l'étuve

3.2. Préparation de l'extrait méthanolique

Une deuxième extraction est faite sur le même matériel végétal récupéré (marc) après la filtration du premier extrait, en utilisant 100ml de méthanol comme solvant. Les mêmes étapes suivies pour l'extraction eau-acétonique sont refaites pour préparer cet extrait.

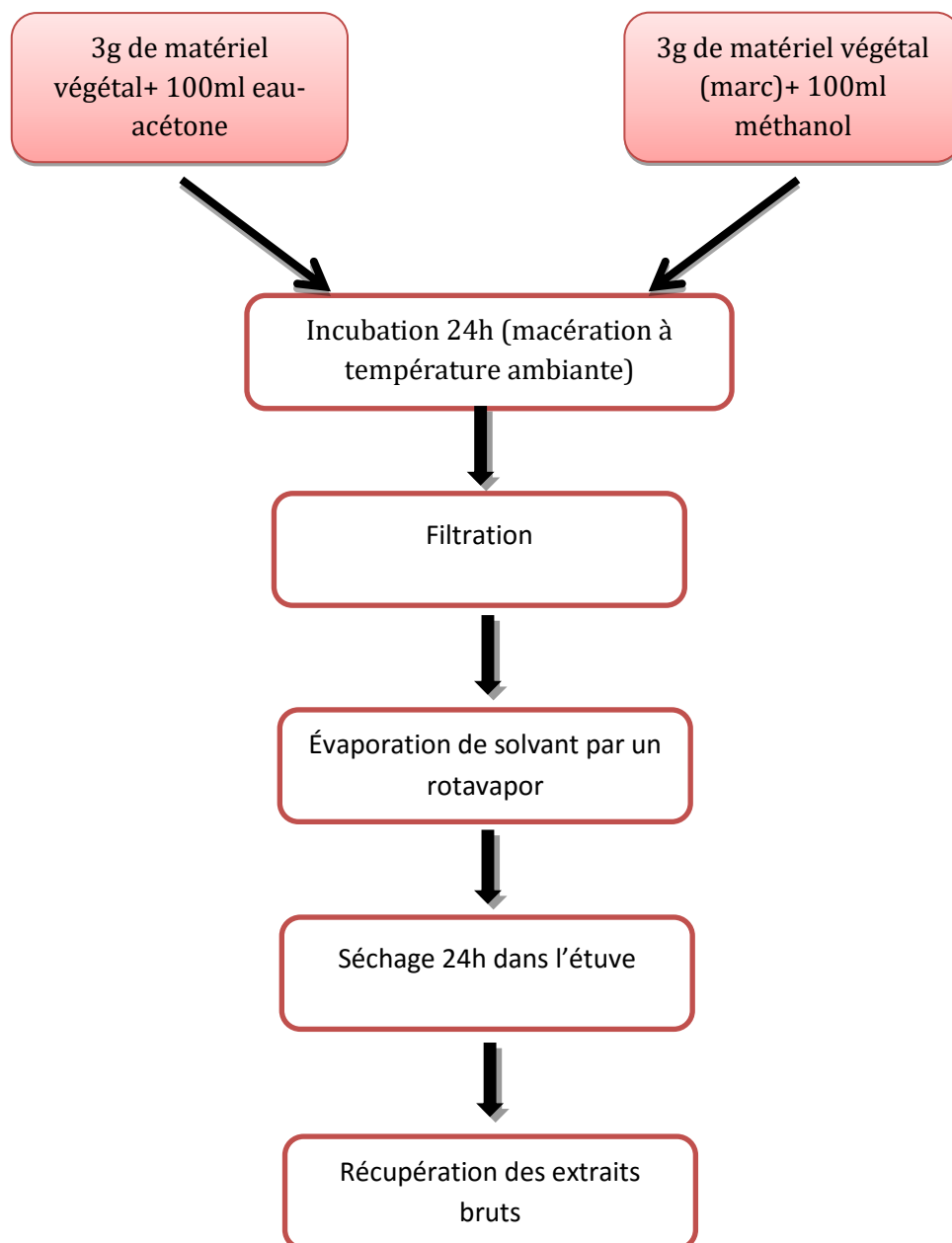


Figure 26 : Protocole d'extraction

4. Test de mise en évidence des tanins

À 2 ml de chaque solution testé, on a ajouté quelques gouttes de solution de FeCl_3 à 0,1%. Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration bleu-noire et un précipité (laisser reposer quelques minutes).

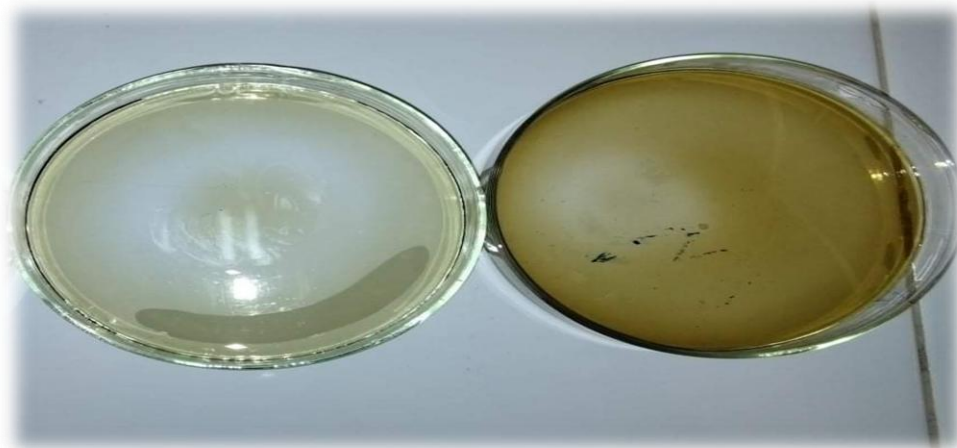


Figure 27 : Test de mise en évidence des Tanins

5. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits de *Crocus sativus* *in vitro*

5.1. Test de réduction de fer (FRAP)

- Principe

Cette méthode est basée sur la capacité des antioxydants présents dans les extraits à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) en fer ferreux (Fe^{2+}) (Ou *et al.*, 2001).

- Solutions à préparer

- Solution de ferricyanure de potassium $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ à 1%.
- Solution aqueuse de chlorure ferrique FeCl_3 à 0,1%
- Solution de l'acide trichloracétique TCA à 10%.

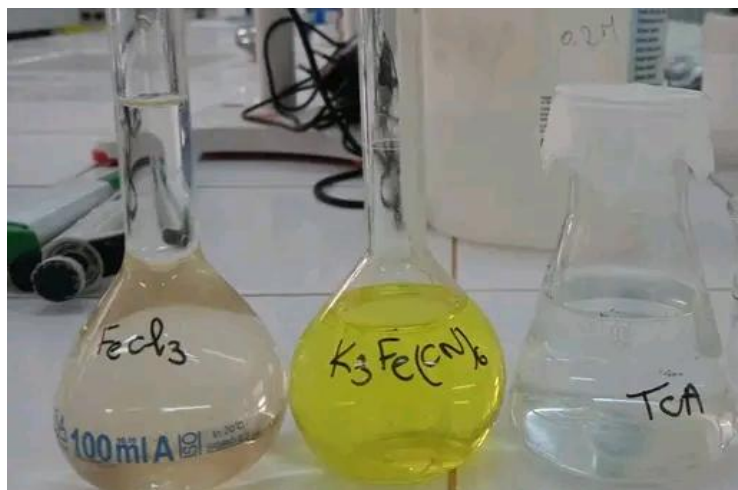


Figure 28 : Les solutions préparées pour réaliser la technique de FRAP.

- **Mode Opérateur**

0,2 ml de chaque concentrations des extraits préparés (1, 2, 3, 4, 5 mg/mL) sont mélangées avec 0,5 ml de la solution tampon phosphate (0,2 M, pH 6,6) et 0,5 ml de ferricyanure de potassium $K_3Fe(CN)_6$ (1%). Les mélanges sont incubés dans l'étuve à 50°C pendant 20 min. Après, 0,5 ml de l'acide trichloracétique (10%) est additionné. 0,5 ml de chaque concentration sont mélangés avec 0,5 ml de l'eau distillée et 0,1 ml de $FeCl_3$ (0,1%).

L'absorbance est mesurée à 700 nm. L'augmentation de l'absorbance indique l'augmentation de la réduction de fer par les antioxydants présents dans les différentes concentrations.

- **Protocole**

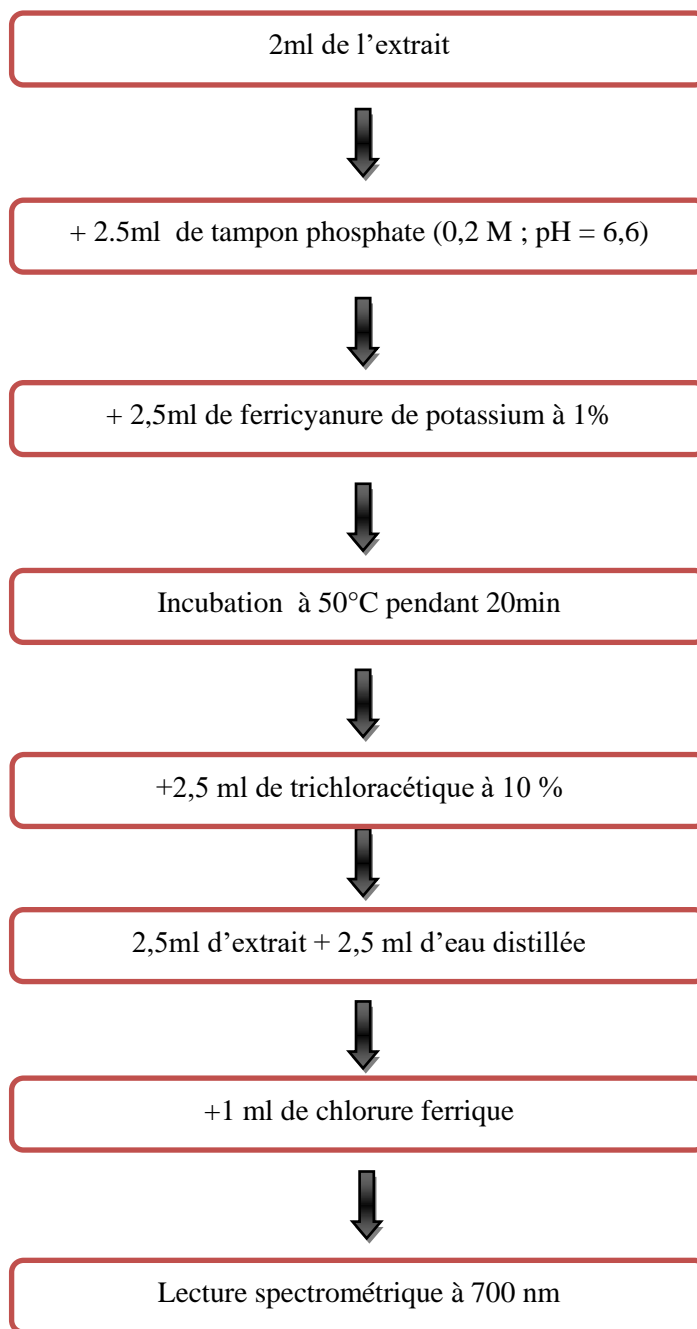


Figure 29 : Protocole d'évaluation du pouvoir réducteur des extraits de *Crocus sativus*.

5.2. Piégeage du radical DPPH° (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)

- **Principe**

C'est une méthode largement utilisée dans l'étude et est basée sur la réduction des radicaux DPPH de couleur violette foncée, qui absorbe aux environs de 517nm par les agents antioxydants présents dans les différentes concentrations, ce qui entraîne une décoloration de

la solution. La forme n'absorbe plus, ce qui se traduit par une diminution de l'absorbance à cette longueur d'onde.

- **Mode Opérateur**

1000 µl de chaque extrait (à différentes concentrations : 0,2 ; 0,4 ; 0,6 ; 0,8 et 1 mg/mL) sont ajoutés à 1000 µl d'une solution méthanolique de DPPH° à $1,52 \times 10^{-5}$ M (0,006 g dans 100 ml méthanol). Un tube blanc est préparé (2000 µl de méthanol). En ce qui concerne le contrôle négatif, ce dernier est préparé, en parallèle, en mélangeant 1000 µl du méthanol avec 1000 µl d'une solution méthanolique de DPPH° à la même concentration utilisée. L'acide ascorbique est utilisé comme contrôle positif.

Après incubation à l'obscurité pendant 30 min et à la température ambiante, la réduction du DPPH° s'accompagne par le passage de la couleur violette à la couleur jaune de la solution. La lecture des absorbances est effectuée à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

Le pourcentage d'inhibition PI est calculé selon la formule suivante :

$$\text{PI}\% = (\text{Abs contrôle} - \text{Abs test}) / \text{Abs contrôle} \times 100$$

Avec : AC : absorbance du contrôle ; AE : absorbance de l'extrait.

- **Protocole**

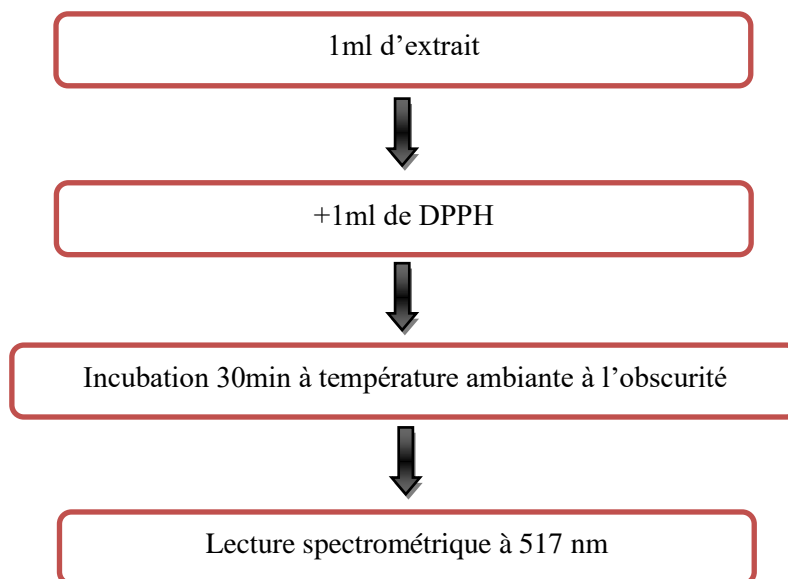


Figure 30: Protocole d'évaluation du Piégeage du radical DPPH°.

Chapitre IV

Résultats et Interprétations

1. Extraction

La préparation des extraits de la partie aérienne (pétales) de *Crocus sativus* a été réalisée en utilisant la méthode de macération.

Tableau 7 : Caractéristiques des extraits de la partie aérienne de *C. sativus*

	Couleur	Aspect	Solubilité
Extrait eau-acétonique	Marron foncée	Pâteux	Eau distillée
Extrait méthanolique	Marron	Pâteux	Méthanol

2. Test phytochimique des Tanins

Tableau 8: Résultat de Test phytochimique sur les extraits de la partie aérienne de *C. sativus*

	Extrait eau-acétonique	Extrait méthanolique
Résultat du test (tanins)	++	+

L'extrait eau-acétonique est très riche en tanins par rapport à l'extrait méthanolique.

3. Évaluation de l'activité antioxydante de la partie aérienne de *Crocus Sativus*

3.1. Test de FRAP (ferric reducing antioxydant power)

L'activité antioxydante de nos extraits a été évaluée par la méthode de FRAP, qui est basée sur la capacité des antioxydants à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) présent dans le complexe $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ en fer ferreux (Fe^{2+}) à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde 700nm dont l'augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur de l'extrait testé.

3.1.1. Effet de l'extrait eau-acétonique

Les résultats de la capacité de l'extrait eau-acétonique à réduire le fer en fonction de la concentration sont représentés par une régression linéaire ($y = 0,2118x + 0,038$; $R^2=0,9916$) dans la (figure 31).

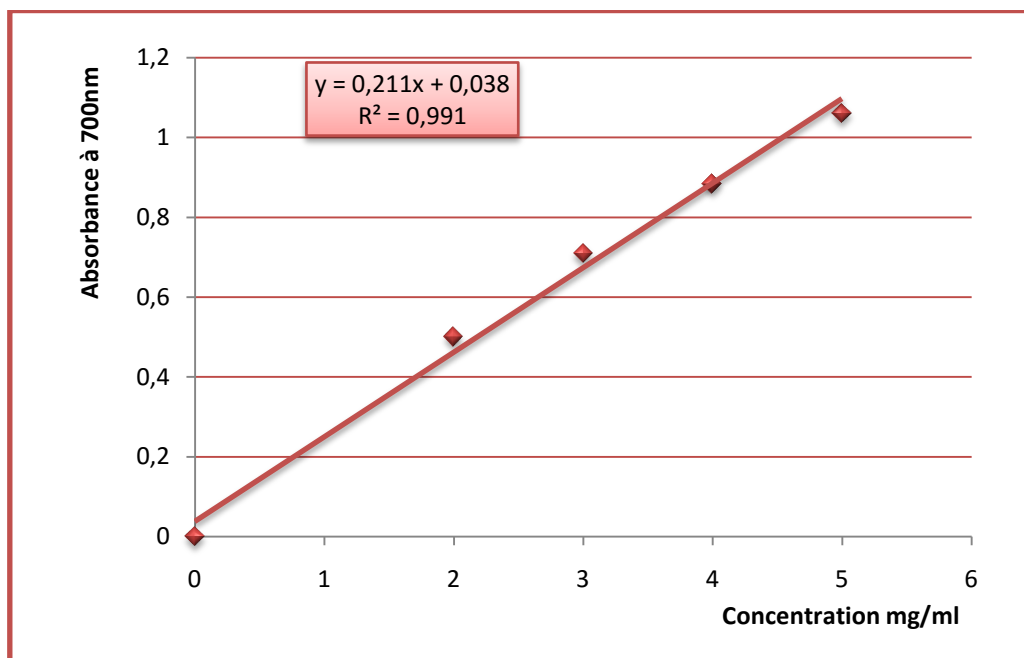


Figure 31: Représentation graphique du pouvoir réducteur du fer par l'extrait eau-acétone de *C. sativus*.

3.1.2. Effet de l'extrait méthanolique

Les résultats obtenus de la capacité de l'extrait méthanolique à réduire le fer en fonction de la concentration sont représentés par une régression linéaire ($y = 0,0872x + 0,0039$; $R^2=0,9919$) dans la figure 32.

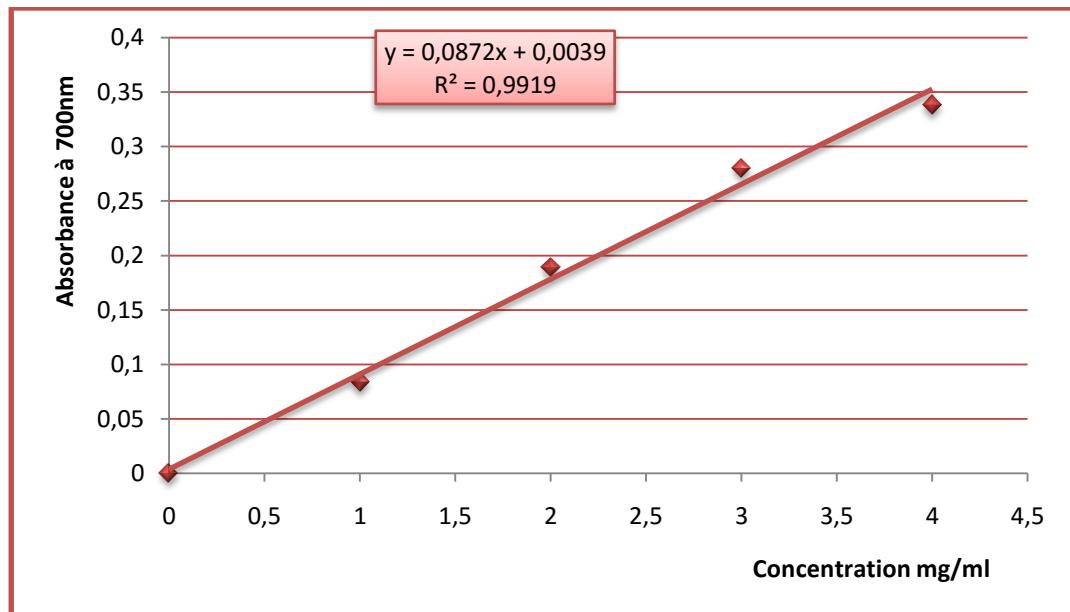


Figure 32 : Représentation graphique du pouvoir réducteur du fer par l'extrait méthanolique, de *C. sativus*.

3.1.3. Effet de l'acide ascorbique

L'acide ascorbique représente le contrôle positif (molécule de référence) dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que les deux extraits, eau-acétonique et méthanolique. Les résultats obtenus sont représentés par une régression linéaire ($y = 10,80x - 0,0301$; $R^2=0,9854$) dans la figure 33.

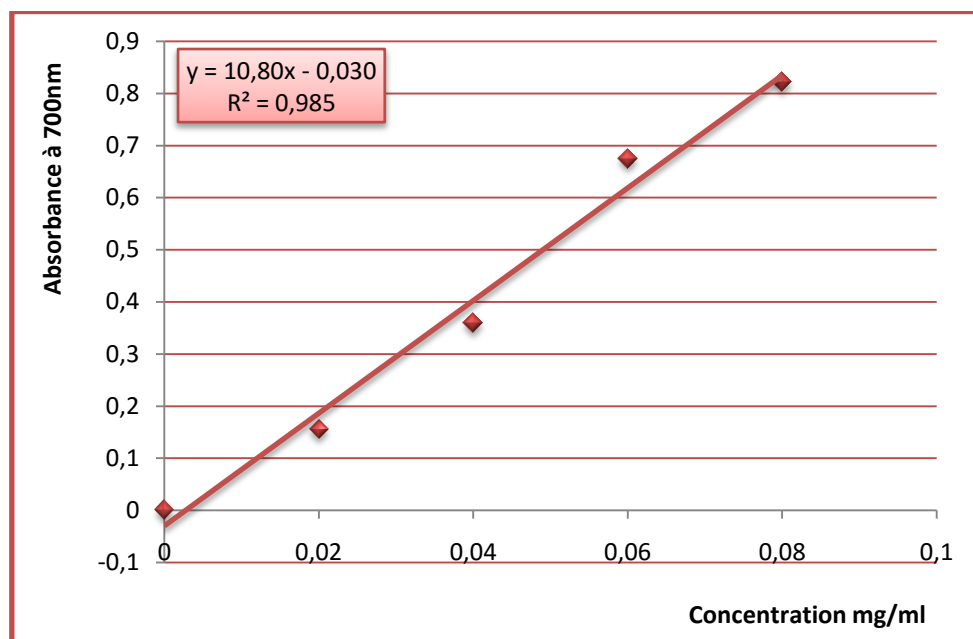


Figure 33 : Représentation graphique du pouvoir réducteur du fer par l'acide ascorbique.

D'après les graphes, nous remarquons que le pouvoir réducteur du fer des deux extraits et du standard (acide ascorbique) augmente avec l'augmentation de la concentration.

L'extrait eau-acétonique présente l'activité la plus élevée avec une absorbance $A=0,884$ à une concentration de 4 mg/ml comparé à l'extrait méthanolique $A=0,338$.

Les deux extraits étudiés ont la capacité de réduire le fer, mais elles restent inférieures à celle de l'acide ascorbique employé dans cette méthode comme un contrôle positif.

Les résultats obtenus sont confirmés par les valeurs de concentration efficace EC_{50} (la concentration qui correspond à une absorbance de 0,5 à 700nm). Ces concentrations sont déterminées graphiquement à partir de l'équation de la régression linéaire indiquée sur chaque graphe. Les valeurs d' EC_{50} sont montrées dans le tableau suivant.

Tableau 9: Valeurs des EC_{50} en mg/ml des deux extraits de *C. sativus* et de l'acide ascorbique.

	Acide ascorbique	Extrait eau-acétonique	Extrait méthanolique
EC_{50} (mg/ml)	0,04	2,18	5,68

Les résultats de l'activité réductrice du fer montrent que l'acide ascorbique à l' EC_{50} la plus faible (0,04 mg/ml) tandis que l'extrait eau-acétone (2,18 mg/ml) présente un effet très important.

Par contre, l'extrait méthanolique présente la valeur d' EC_{50} la plus élevée 5,68 mg/ml.

3.2. Piégeage du radical DPPH° (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)

L'efficacité d'un antioxydant peut être mesurée par sa capacité à réduire le radical DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl), en suivant la réduction de ce radical qui s'adjoindre par un changement de la couleur violette DPPH (forme oxydée) à la couleur jaune DPPH.H (forme réduite), dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydant présents dans le milieu à donner des protons. Les résultats de test d'inhibition du radical DPPH•, par les deux extraits testés (extrait eau acétonique/extrait métonique) de *Crocus sativus* sont présentés dans les figure 34 et 35.

3.2.1. Effet de l'extrait eau-acétonique

Les résultats obtenus de la capacité de l'extrait eau-acétonique à réduire le radical DPPH sont exprimés en pourcentage d'inhibition du radical libre en fonction des concentrations et sont représentés par une régression linéaire ($y = 119,49 x + 2,7727$; $R^2 = 0,9911$) dans la figure 34.

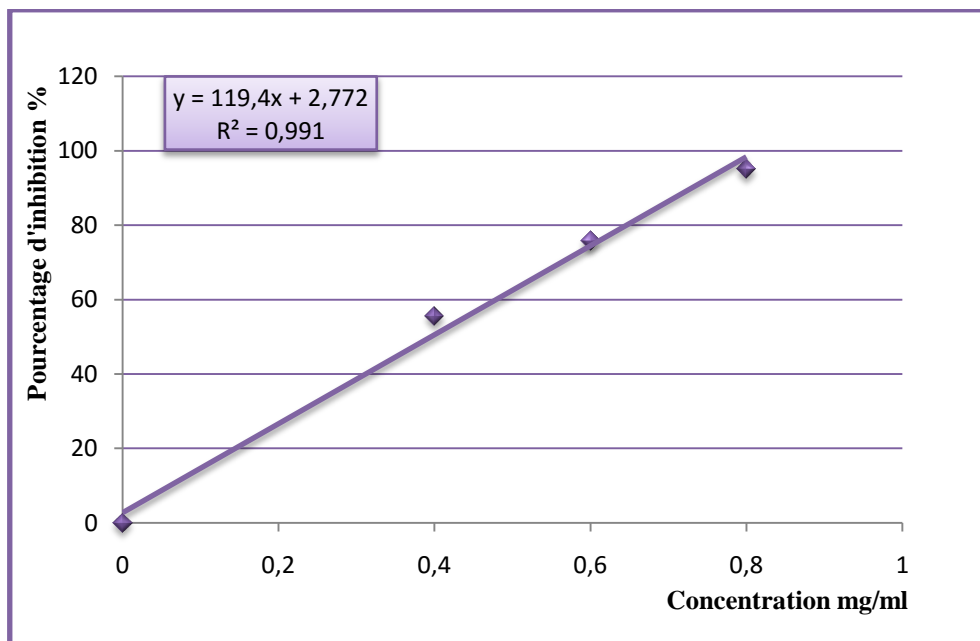


Figure 34 : Courbe des pourcentages d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations de l'extrait eau acétonique de *C. sativus*.

3.2.2. Effet de l'extrait méthanolique

Les résultats obtenus de la capacité de l'extrait méthanolique à réduire le radical DPPH sont exprimés en pourcentage d'inhibition du radical libre en fonction des concentrations et sont représentés par une régression linéaire ($y = 119,49 x + 2,7727$; $R^2 = 0,9911$) dans (la figure 35).

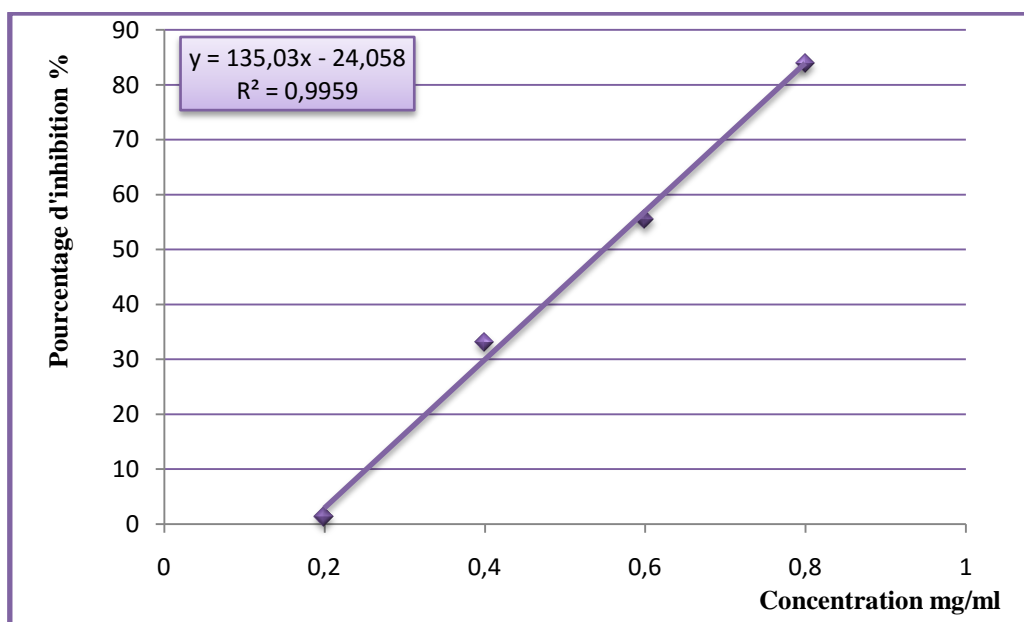


Figure 35 : Courbe des pourcentages d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations de l'extrait méthalonique de *C. sativus*

3.2.3. Effet de l'acide ascorbique

En ce qui concerne l'antioxydant synthétique l'acide ascorbique, les résultats obtenus sont exprimés en pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des concentrations et sont représentés par une régression linéaire ($y=3463,7 x + 2,3705$; $R^2=0,9828$) dans la figure 36.

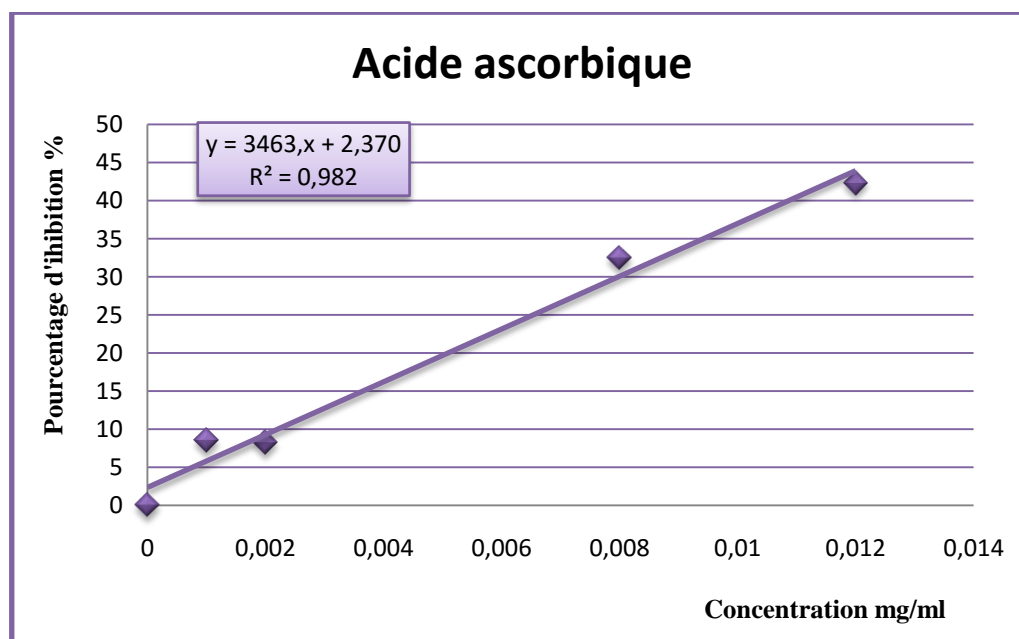


Figure 36 : Courbe des pourcentages d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations de l'acide ascorbique.

L'extrait eau-acétonique présente l'activité la plus élevée avec un pourcentage d'inhibition $PI(\%)=94,98$ à une concentration de 0,8 mg/ml comparé à l'extrait méthanolique $PI(\%) = 83,84$ à la même concentration.

Les résultats obtenus sont confirmés par les valeurs de concentration inhibitrice IC_{50} (qui est la concentration nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH par l'échantillon testé à 517nm). Ces concentrations sont déterminées graphiquement à partir de l'équation de la régression linéaire indiquée sur chaque graphe. Les valeurs d' IC_{50} sont montrées dans le tableau suivant.

Tableau 10 : Les valeurs d' IC_{50} en mg/ml des deux extraits de *C.sativus* et de l'acide ascorbique.

	Acide ascorbique	Extrait eau-acétonique	Extrait méthanolique
IC_{50} (mg/ml)	0,013	0,395	0,548

Les résultats de l'activité réductrice du radical libre DPPH montrent que l'acide ascorbique a l' IC_{50} la plus faible (0,013 mg/ml).

D'après les valeurs obtenues, l'extrait eau-acétonique montre un pouvoir réducteur meilleur que celui de l'extrait méthanolique car l' IC_{50} est inversement liée à la capacité antioxydante d'un composé.

Discussion

Discussion

Les plantes médicinales ne représentent pas seulement une source naturelle de nouvelles molécules bioactives, elles sont aussi une source de produits naturels pouvant être utilisés comme médicaments (**Small et Catling, 2000**). Le safran (*Crocus sativus* L) est l'épice la plus chère au monde, et fait partie des 90 espèces du genre *Crocus*, originaire d'Asie et il est cultivé dans les pays méditerranéens.

Les propriétés médicinales de cette plante sont dues aux produits chimiques qu'elles synthétisent, principalement des composés appelés métabolites secondaires que l'Homme utilise dans son arsenal thérapeutique, qui sont des principes actifs connus par leurs diverses activités biologiques (**Palomares, 2015**).

L'objectif de ce travail est porté sur l'évaluation du pouvoir antioxydant des extraits : eau-acétonique et méthanolique des pétales de *C. sativus*.

Afin d'évaluer les effets biologiques de Safran nous avons commencé par la préparation de deux extraits par macération, en utilisant deux solvants polaires, (eau-acétone et méthanol). Le choix du système de solvant d'extraction est très important pour la détermination de la teneur en polyphénols. Les composés phénoliques sont des métabolites végétaux omniprésents et constituent le principal groupe de composés qui contribuent aux propriétés antioxydantes (**Wang et al., 2010**).

D'après les résultats obtenus, le test phytochimique réalisé sur les différents extraits préparés des pétales des fleurs de *C. sativus* ont révélé la présence des tanins.

Ces résultats sont comparables à ceux publiés dans la littérature et dans les travaux suivants :

Vijender et al., (2011) ont détecté la présence d'alcaloïdes, de flavonoïdes, de tanins, de terpénoides, pour différents extraits de pétales de *C. Sativus*.

L'activité antioxydante a été évaluée par la technique de réduction du fer FRAP, Le principe de la méthode FRAP repose sur la réduction du fer ferrique à sa forme ferreuse colorée en présence d'antioxydants. La propriété de pouvoir réducteur indique que les composés antioxydants sont les donneurs d'électrons et peuvent réduire les intermédiaires oxydés du processus de peroxydation lipidique, de sorte qu'ils peuvent agir comme antioxydants primaires et secondaires (**Tachakittirungrod et al., 2007**).

Discussion

Les résultats ont montré que le pouvoir réducteur de l'extrait eau-acétonique était supérieur à celui de l'extrait méthanolique. Cette différence a été appréciée en comparant les valeurs d'EC₅₀ de chaque extrait. Les résultats de l'activité de réduction du fer ont montré que l'extrait eau-acétonique a une EC₅₀=2,18 mg/ml et l'extrait méthanolique avec EC₅₀=5,68 mg/ml.

De même, les recherches de (**Lahmass et al., 2018**) signalé que *C. sativus* les sous-produits possèdent un pouvoir réducteur de fer important. (**Lahmass et al., 2018**) ont montré que la réduction de l'activité de puissance du spath était inférieure à l'activité des stigmates 0,157 et 0,707 successivement à 250µg/ml. Le contrôle positif a montré une activité réductrice plus élevée avec 0,77 à 100 ug/ml. Ceci est en accord avec notre résultat.

La mesure de l'activité antioxydante par la méthode FRAP réalisée par (**Hossein Goli, 2012**) a montré que l'extrait de pétales présente une activité de 0,3 à une concentration de 250 ppm, cette valeur reste faible par rapport à celle trouvée dans nos résultats.

De plus, l'activité antioxydante de l'extrait de pétales de safran a été évaluée et le radical libre DPPH est l'un des substrats les plus couramment utilisés pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydante, en raison de sa stabilité de forme radicale et la simplicité de l'analyse (**Bozin et al., 2008**).

Plusieurs études ont rapporté l'effet anti-radicalaire des sous-produits de *C. sativus*.

En effet, (**Wali et al., 2020**) ont rapporté que l'extrait éthanolique de tépales du Cachemire indique une activité antiradicalaire significative, avec IC₅₀ = 86,6 µg/ml. Cette valeur est proche de celle obtenue par l'extrait hydroéthanolique de tépales dont l'IC₅₀ est de 80,73 µg/mL. Ce qui montre un pouvoir meilleur que celui de nos extraits.

Les valeurs d'IC₅₀ les plus basses correspondent aux concentrations d'extrait les plus puissantes (**Bourgou et al., 2016**). Dans cette étude, l'extrait eau-acétonique (**IC₅₀ 0,39 mg/ml**) préparé par la macération de *C. sativus* a présenté l'activité anti radicalaire la plus puissante par rapport à l'extrait méthanolique (**IC₅₀ 0,54 mg/ml**). Cette activité reste plus faible par rapport à celle de l'acide ascorbique qui a enregistré une IC₅₀ d'ordre de **0,01 mg/ml** dans les mêmes conditions.

Ces résultats sont aussi en accord avec ceux rapportés dans les travaux de :

Discussion

(Mira *et al.*, 2002) ont étudié l'effet anti radicalaire de différentes parties de *C. sativus* du Cachemire ; parmi ces parties se trouvaient des tépales et des feuilles. Les auteurs ont rapporté que les valeurs d'IC₅₀ dans l'extrait méthanolique de tépales et de feuilles sont respectivement de 93,6 µg/ml et 98,8 µg/mL. Sariri *et al.*, (2011) : Un extrait méthanolique de fleurs de *C. sativus* a été préparé et son activité antioxydante évaluée par l'activité de piégeage des radicaux 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH). Les résultats ont montré que la valeur d'IC₅₀ était de 0,841mg/ml, environ 11 fois inférieure à celle de l'acide ascorbique. Tous les antioxydants synthétiques présentaient des valeurs de FRAP plus élevées que celles des extraits de plantes (Mira *et al.*, 2002)

Les présents résultats suggèrent fortement que les sous-produits de *C. sativus* contiennent des composés naturels antioxydants, qui pourraient être capables de réduire le risque de cancer et d'autres maladies. Les données que nous avons générées ouvrent plusieurs pistes de recherche, mais laissent également de nombreuses questions sans réponse. Pour résoudre ces questions, d'autres études doivent être envisagées.

Conclusion générale

Conclusion générale

Ce travail a été mené dans le cadre de l'évaluation de l'activité antioxydante des pétales de *Crocus sativus*, une plante de la famille des Iridaceae, utilisée à des fins culinaires et thérapeutiques depuis plusieurs siècles.

L'activité antioxydante des extraits eau-acétonique et méthanolique des pétales de *Crocus sativus* a été examinée par deux techniques : réduction du fer FRAP et le piégeage du radical libre DPPH.

Les résultats du test de réduction de fer FRAP montrent que l'extrait eau-acétonique présente un pouvoir réducteur plus important avec $EC_{50} = 2,18$ mg/ml comparé à l'extrait méthanolique ($EC_{50} = 5,68$ mg/ml).

Par ailleurs, les résultats de nos extraits sur le piégeage du radical DPPH montrent aussi que l'extrait eau-acétonique présente une activité importante avec $IC_{50} = 0,39$ mg/ml comparé à l'extrait méthanolique avec $IC_{50} = 0,54$ mg/ml.

Donc, nous pouvons conclure que l'extrait eau-acétonique présente une bonne activité antioxydante.

D'après ces résultats obtenus et dans le but de compléter ce travail, il serait intéressant de réaliser d'autres études approfondies qui s'intéressent à :

- L'évaluation de l'activité antioxydante d'autres parties de la plantes : et utilisation d'autres méthodes *in vitro* tel que : Test de blanchissement du β -carotène, Test d'ABTS et ORAC (Oxygen Radical Absorbance capacity).
- L'utilisation d'autres techniques d'extraction avec d'autres solvants organiques à polarités différentes
- La réalisation d'une étude phytochimique et la détermination des teneurs en polyphénols et flavonoïdes des extraits.
- L'identification des molécules actives antioxydantes de la plante et l'étude de leur toxicité.
- la recherche d'autres activités biologiques de la plante dont l'activité anti-bactérienne, Anti-inflammatoire, Anti-carcinogène ...

Références bibliographiques

Références Bibliographiques

A

- **Abdullaev, F. I.** (2002). Cancer chemopreventive and tumoricidal properties of saffron (*Crocus sativus* L). *Experimental biology and medicine*, 227 (1), 20-25.
- **Adom, K. K., Liu, R. H.** (2003). Antioxidant activity of grains. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 50(2), 6182-6187.
- **Akhondzadeh, S., Ashrafi, M., Ghaeli, P., Jamshidi, A., Kashani, L., Mansouri, P., Modabbernia, A., Nasehi, A. A., Raisi, F., Saroukhani, S.** (2013). Saffron for treatment of fluoxetine-induced sexual dysfunction in women: Randomized double-blind placebo-controlled study. *Hum Psychopharmacol*, 28(1), 54-60.
- **Akroum, S.** (2010). Étude Analytique et Biologique des Flavonoïdes Naturels. *Thèse de Doctorat : Université MENTOURI de CONSTANTINE-ALGERIE*.
- **Ali, S. S., kasoju, N., Luthra, A., Singh, A., Sharanabasava, H., Sahu, A., Bora, U.** (2008). Indian medicinal herbs as sources of antioxidants. *Food Res Int*, 41:1-15.
- **Amarti, F., Satrani, B., Ghanmi, M., Aafi A., Farah, A., Aarab, L., Chaouch, A.** (2011). Activité antioxydante et composition chimique des huiles essentielles de quatre espèces de thym du Maroc. *Acta Botanica Gallica* 158(4): 513-523.
- **Ameziane, A.** (2016). Recherche d'effet hémolytique et évaluation de l'activité antioxydante et médecine, (Maywood, N.J.), 232(2), 293-300.
- **Arif, T., Bhosale, J. D., Kumar, N., Mandal, T. K., Bendre, R. S., Lavekar, S., Dabur, R.** (2009). Natural products-antifungal agents derived from plants. *J Asian Nat Prod Res*, 11(7), 626-638.
- **Arvy, M., & Gallouin, F.** (2003). Epices aromates et condiments. Berlin Ed, PP, 216-219.
- **Atoui, AK., Mansouri, A., Boskou, G., Kefalas P.** (2005). Tea and herbal infusions: Their antioxidant activity and phenolic profile. *Food Chem*, 89, 27-36.

Références Bibliographiques

- **Awika, J. M., Rooney, L.W., Wu, X., Prior, R.L., Cisneros-Zevallos, L. Screeing.** (2003). Methods to measure antioxidant activity of sorghum (*Sorghum bicolor*) and sorghum products. *J. Agric. Food Chem.*, 51, 6657-6662.
- **Azami, S. Z., Shahriari, S.** (2021). Evidence-Based. *Therapeutic Potential of Saffron (Crocus sativus L) in Ischemia Stroke.*

B

- **Balasundram, N., Sundram, K., Samman, S.** (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, 99(5), 191- 203.
- **Barouki, R.** (2006). Stress oxydant et vieillissement. *Médecine/sciences*, 22(3), 266-272.
- **Bathaie, S. Z., Mousavi, S. Z.** (2011). Utilisations historiques du safran : identifié de nouvelles voies potentielles pour la recherche moderne. *Avicenne J Phytomed*, 55 (1), 57-66.
- **Belkheiri, N.** (2010). Dérivés phénoliques à activités antiathérogènes. Thèse de doctorat en Chimie-Biologie-Santé, Université Toulouse III - Paul Sabatier.
- **Ben Mostefa, I.** (2017). Dosage des polyphénols de la fleur de *Crocus sativus L.*
- **Beretz, A., Cazenave, J.P.** (1991). Old and new natural products as the source of modern antithrombotic drugs. *Planta Med*, 57 (7), 68 – 72.
- **Boggia, R., Zunin, P., Hysenaj, V., Bottino, A., & Comite, A.** (2015). Dehydration of Basil Leaves and Impact of Processing Composition. *Processing and Impact on Active Components in Food*, 645–653.
- **Booth, N. L., Dejan, N., Richard, B., Stoci, E.** (2004). New lanthanide complexes of 4 methyl 7 hydroxy coumarin and their pharmacological activity. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 50(1), 120-123.
- **Bors, W., Michel, C., Stettmaier, K.** (1997). Antioxidant effects of flavonoids. *Biofactors*, 40(6), 399 – 402.

Références Bibliographiques

- **Boubakri, C.** (2014). "Étude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de Solanum melongena par des techniques électrochimiques". *Thèse en vue de l'obtention Du diplôme de Doctorat en Chimie. Université Mohamed Khider – Biskra*. P176.
- **Bouchair, F.** (2015). Modélisation de nouveaux inhibiteurs sélectifs de l'oxyde nitrique Synthase. *chimie théorique. université mantouri de constantine*. p 89.
- **Bourgou, S., Beji, R. S., Medini, F., & Ksouri, R.** (2016). Effet du solvant et de la méthode d'extraction sur la teneur en composés phénoliques et les potentialités antioxydantes d'Euphorbia helioscopia. *Journal of New Sciences*, 28.
- **Bozin, B., Mimica-Dukic, N., Samojlik, I., Goran, A., & Igic, R.** (2008). Phenolics as antioxidants in garlic (*Allium sativum L., Alliaceae*). *Food chemistry*, 111(4), 925-929.
- **Bratovcic, A.** (2020). Antioxidant Enzymes and their Role in Preventing Cell Damage. *Acta Scientifci Nutritional Health*, 4(3), 01-07.
- **Bruneton, J.** (1999). Pharmacognosie : Phytochimie Plantes Médicinales. 3ème édition, Paris : Lavoisier Techniques & Documentation.
- **Bruneton, J.** (2009). Pharmacognosie : Phytochimie plantes médicinales. 4ème édition, Paris : Lavoisier Techniques & Documentation.
- **Busconi, M. L., Colli, R.A., Sánchez, M., Santaella, M. D., Pascual, O., Santana, M., Fernández.** (2015). AFLP and MS-AFLP analysis of the variation within saffron (*Crocus sativus L.*). *Germplasm, PLoS One*. 10(4), e0123434.

C

- **Cardon, D.** (2003). Le monde des teintures naturelles. Berlin Ed. 234-239.
- **Carmona, M., Zalacain, A., Alonso, G. L.** (2006). The chemical composition of saffron: color taste and aroma (First Ed.). *Albacete, Éditorial Bomarzo SL*, 57-62.
- **Chaalal, M., Louaileche, H., Touati, N., Bey, M. B.** (2013). Phytochemicals, *in vitro* antioxidant capacity and antiradical potential of whole and ground seeds of three

Références Bibliographiques

- prickly pear varieties: A comparative study. *Industrial Crops and Products*, 49, 386-391.
- **Chevalier, A.** (1926). La culture de safran. *Revue de botanique appliquée et l'agriculture coloniale*, 6^o année bulletin n°59, 407-419.
 - **Chiha, F.** (2016). Stress oxydant : influence d'une complémentation nutritionnelle en antioxydants et adaptation à l'exercice physique. *Revue sciences humaines*, Vol B, pp 52-63.
 - **Chira, K., Suh, J. H., Saucier, C., & Teissèdre, P. L.** (2008). Les polyphénols du raisin. *Phytonutrition fondamentale*, 6(2), 75-82. Doi : 10.1007 / s10298-008-0293-3.
 - **Chung, Y. C., Chang, C. T., Chao, W. W., Lin, C. F., Chou, S. T.** (2002). Antioxidative activity and safety of the 50 ethanolic extract from red bean fermented by *Bacillus subtilis* IMR-NK1. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(8), 2454-2458.
 - **Claudine, R.** (2014). Alimentation santé Alimentation plaisir une question d'équilibre: Alimentation plaisir une question d'équilibre, *Fernand Lanore, France*.
 - **Cowan, M.M.** (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clin. Microbiol.* 12(4), 564 – 582.
 - **Crozet, A. H., Durfort, S. J.** (2012). *Crocus sativus* L. (Iridaceae) le safran(I). *phytothérapie*, 10(2), 121-125.
 - **Crozier, A.** (2003). Classification and biosynthesis of secondary plant products: An overview. *Diet and Health. British Nutrition Foundation, Londres: champ Hall*, 27-48.

D

- **Daayf, F., Lattanzid, V.** (2008). Recent Advances in Poly phenol Research 1. Ed: *WILEYBLACKWELL*, 7(1), 1- 24.
- **Defraigne, J. O., & Pincemail, J.** (2008). Stress oxydant et antioxydants: mythes et réalités. *Revue médicale de Liège*, 63, 10-19.
- **Delaveau, P.** (2006). Expliquez-moi les épices ; aromates ou médicaments ? *Pharmathèmes Ed*, (p.140-153).

Références Bibliographiques

- **Delecolle, J.** (2017). Approche métabolomique pour une caractérisation plus fine d'extraits de plante d'intérêt pour la santé humaine. *Thèse en biologie*, Université de Strasbourg.candidates. Science. 2005 ; 310 : 451 – 453.
- **Derai, E.** (2016). Effet de la combinaison de la vitamine C et la vitamine E sur le métabolisme et la distribution du zinc chez des rats diabétiques sous un régime alimentaire pauvre en zinc. (thèse de Biochimie Appliquée), université BADJI MOKHTAR –ANNABA.
- **Deramchia, N.** (2018). Activité antimicrobienne de l'huile essentielle et l'extrait brut de *Tymelaea Hirsuta* (Doctoral dissertation). Thèse de doctorat en science, Université ABDELHAMID IBN BADIS DE MOSTAGHANEM.
- **Dixon, R. A., Dey, P. M., & Lamb, C. J.** (1983). Phytoalexins : enzymology and molecular biology. *Advances in enzymology and related areas of molecular biology*, 55, 1–136. <https://doi.org/10.1002/9780470123010.ch1>.
- **Dizdaroglu, M., & Jaruga, P.** (2012). Mechanisms of free radical-induced damage to DNA. *Free Radic Res.* 46: 382-419.
- **Djenidi, H.** (2019). Activité antioxydante et antiradicalaire des aliments d'origine végétale consommée dans les régions de Biskra et Stif (Doctoral dissertation).
- **Dupont, J.** (2001).Dimensions culturelles et culturelles du safran en France. *Empan*.41:34.

E

- **Eddhima, Z.** (2019). *Les radicaux libres: effets, mécanismes et approches thérapeutiques* (Doctoral dissertation).
- **Ellis, M., Egelund, J., Schultz, C. J., et Bacic, A.** (2010). Arabinogalactan-proteins: key regulators at the cell surface? *Plant physiology*, 153(2), 403–4.
- **Epifano, F., Genovese, S., Menghini, L., Curini, M.** (2007).Chemistry and pharmacology ofoxyprenylated secondary plant metabolites, *Review. Phytochemistry*. 68: 939- 953.

Références Bibliographiques

F

- **Fallahi, H. R., Aghhavani-Shajari, M., Sahabi, H., Behdani, M. A., Sayyari-Zohan, M. H., & Vatandoost, S.** (2021). Influence of some pre and post-harvest practices on quality of saffron stigmata. *Scientia Horticulturae*, 278, 109846.
- **Favier, A.** (2003). Le stress oxydant. *L'actualité chimique*, 108.
- **Favier, A.** (2006). Stress oxydant et pathologies humaines. *In Annales pharmaceutiques françaises* (Vol. 64, No. 6, pp. 390-396). Elsevier Masson.
- **Fernandez, J.A.** (2004). Biology, biotechnology and biomedicine of saffron (*Crocus sativus* L.). *Recent research developments in plant science*, 2: 127-159.
- **Floegel, A., Kim, D.O., Chung, S.J., Koo, S. I. & Chun, O. K.** (2011). Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24(7), 1043–1048.
- **France, A.** (2013). Etablissement national des produits de l'agriculture et de la mer. Conseil spécialisé des plantes à parfum aromatiques et médicinales (PPAM) ; Focus plante : cas du safran. Rapport de science de (31/01/2013) p 15.
- **Funel, M. T.** (1990). Arrêté du 24 août 1990 portant mise en application des additions et modifications à la dixième édition de la Pharmacopée française, Legifrance.

G

- **Gardès-Albert, M., Bennefont-Rousselot, D., Abedinzadeh, Z., & Jore, D.** (2003). Espèces réactives de l'oxygène. *L'actualité chimique*, 91.
- **Gauché, E., Hausswirth, C.** (2006). Stress oxydant, complémentation nutritionnelle en antioxydants et exercice.
- **Ghasemzadeh, A. & Ghasemzadeh, N.** (2011). Flavonoids and phenolic acids: Role and biochemical activity in plants and human. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(31), 6697-6703
- **Goldblatt, P., T.J. Davies, J.C. Manning, M. Van Der Bank and V. Savolainen.** (2006). Phylogeny of Iridaceae subfamily Crocoideae based on a combined multigene plastid DNA analysis. *Aliso*, 22: 399-411.

Références Bibliographiques

- **Goli, S. A. H., Mokhtari, F., & Rahimmalek, M.** (2012). Phenolic compounds and antioxidant activity from saffron (*Crocus sativus* L.) petal. *Journal of Agricultural Science*, 4(10), 175.
- **Griffiths, H.R.** (2016). Antioxidants: Characterization and Analysis. *Encyclopedia of Food and Health*, 221-226. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00037-4>.
- **GUELLIL, K. E.** (2017). *Calculs des charges et la contribution à la sécurité électrique au niveau des sections DKIII et DKII-complexe Djbal Onk_Bir-Ater* (Doctoral dissertation).
- **Guignard, J. L.** (1996). Biochimie végétale. Paris, France : Masson.

H

- **Hadj Salem, J.** (2009). Extraction, Identification, caractérisations des activités biologiques de flavonoïde de *Nitraria retusa* et synthèse de dérivés acyles de ces molécules par voie enzymatique. (INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE DE LORRAINE).
- **Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J., Defraigne, J.O., Charlier, C., & Chapelle, J.P.** (2007). Le stress oxydant. *Revue médicale de Liège*, 62(10), 628-638.
- **HALLGAS, B., PATONAY, T., KISS-SZIKSZAI, A., DOBOS, Z., HOLLOSZY, F., EROS, D., ORFI L., KÉRI, G. et IDEI, M.** (2004). Comparison of measured and calculated lipophilicity of substituted aurones and related compounds. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 801(2), 229-235.
- **Halliwell, B.** (1994). Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence? *Lancet (London, England)*, 344(8924), 721-724. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(94\)92211-x](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(94)92211-x)
- **Halliwell, B.** (1999). Gutteridge JMC. Free radicals in biology and medicine. Oxf Univ Pr. 1-543.
- **Halliwell, B., Gutteridge, JM.** (1988). Free radicals and antioxidant protection: mechanisms and significance in toxicology and disease. *Hum Toxicol.* 7,7-13.

Références Bibliographiques

- **Harborne, J. B.** (1998). *Phytochemical methods. A guide to modern techniques of plants analysis. Third Edition.*
- **Harpke, D. A., Carta, G., Tomović, V., Randelović, N., Randelović, F. R., Blattner and Peruzzi, L.** (2015). Phylogeny, karyotype evolution and taxonomy of *Crocus series Verni* (Iridaceae), *Plant Syst Evol*, 301(1), 309-325.
- **Hartmann, T.** (2007). From waste products to ecochemicals : fifty years research of plant.
- **Havsteen, B.H.** (2002). *The biochemistry and medical significance of the flavonoids. Pharmacol Therap*, 96: 67 – 202.
- **Herzi, N.** (2013). Extraction et purification de substances naturelles : comparaison de l'extraction au CO₂-supercritique et des techniques conventionnelles. Institut National Polytechnique de Toulouse.
- **Hoffmann, D.** (2003). Medical Herbalism : The Science and Practice of Herbal Medicine. *Edition Inner Traditions / Bear & Co., p 90.*
- **Hool, L.C.** (2006). *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol*, 33, 146-151.
- **Hosseinzadeh, H., Nassiri, A.M.** (2013). Avicenna's (Ibn sina) the canon of Medicine and saffron (*Crocus sativus*): a review. *Phytotherapy research*, 27(4), 475-783. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2005.03.002>.
- **Huang, D., Ou, B., & Prior, R.L.** (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(6), 1841–1856. <https://doi.org/10.1021/jf030723c>

I

- **Igor, P.** (2002). *Étude des activités biologique de Fagara zanthoxyloïdes lam (Rutaceae).*
- **Iserin, P.** (2001). Larousse encyclopédie des plantes médicinales. *Identification, Préparations, soins. 2nd édition, Dorling Kindersiey Limited, Londres.*

Références Bibliographiques

K

- **Katzer, G. (2001).** Saffron (*Crocus sativus L.*). Gernot Katze's Spice Pages.
- **Kehrer J. P. (1993).**Free radicals mediators of tissue injury and disease .*Critical review in toxicology.* 23(1): 21-48.
- **Kenny, T. P., Keen, C. L., Schmitz, H. H., & Gershwin, M. E. (2007).** Immune effects of cocoa procyanidin oligomers on peripheral blood mononuclear cells. *Experimental biology*
- **Kerndorff, H. E., Pasche, D., Harpke and Blattner, F. (2012).** Seven new species of *Crocus* (Liliiflorae, Iridaceae) from Turkey. *Stapfia.* 97: 3-16.
- **Kerndorff, H. E., Pasche, F., Blattner and Harpke, D. (2013).** A new species of *Crocus* (Liliiflorae,Iridaceae), from Turkey. *Stapfia.* 99: 141-144.
- **Kianbakht, S., Hajiaghae, R. (2011).** Anti-hyperglycemic Effects of Saffron and its Active Constituents. Crocin and Safranal,in Alloxan-Induced Diabetic Rats. *J. Med. Plants,* 3, 82–89.
- **Kinghorn, A.D., Balandrin, M.F. (1993).** Human medicinal agents from plants, ACS. Symposium Series. No. 534, Washington, DC : American Chemical Society Books.
- **Koes, R., Verweij, W., & Quattrocchio, F. (2005).**Flavonoids: a colorful model for theregulation and evolution of biochemical pathways. *Trends in plant science,* 10(5), 236–242.
- **Koh, E., & Fluhr, R. (2016).** Singlet oxygen detection in biological systems: Uses and limitations. *Plant signaling & behavior,* 11(7), e1192742.
- **Kozarski, M., Klaus, A., Jakovljevic, D., Todorovic, N., Vunduk, J., Petrović, P., Niksic, M., Vrvic, M. M., & van Griensven, L. (2015).**Antioxidants of Edible Mushrooms. *Molecules (Basel, Switzerland),* 20(10), 19489–19525. <https://doi.org/10.3390/molecules201019489>

Références Bibliographiques

- **Krief, S.** (2003). Métabolites secondaires des plantes et comportement animal: surveillancesanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (*Pan troglodytes schweinfurthii*) en Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées. *Sciences du Vivant [q-bio]. Museum *national d'histoire naturelle - MNHN PARIS*

L

- **Labioud, R.** (2016). Valorisation des huiles essentielles et des extraits de *Satureja calamintha nepeta* : activité antibactérienne, activité antioxydante et activité fongicide. Thèse de doctorat en biochimie appliquée, Université d'Annaba, p29-30.
- **Lahmass, I., Ouahhoud, S., Elmansuri, M., Sabouni, A., Elyoubi, M., Benabbas, R., ... & Saalaoui, E. (2018).** Determination of antioxidant properties of six by-products of *Crocus sativus* L.(saffron) plant products. *Waste and Biomass Valorization*, 9(8), 1349-1357.
- **Lambert de Malezieu, M.** (2019). Potentialisation des effets de composés phénoliques combinés de l'huile d'olive: étude des transformations rédox: application dans les maladies neurodégénératives (Doctoral dissertation, Rennes 1).
- **Laplace, C., Huet, O., Vicaut, E., Ract, C., Martin, L., Benhamou, D., Duranteau, J.** (2005). Endothelialoxidative stress induced by serumfrom patient's withsevere trauma hemorrhage. *Intensive care medecine*, 31(9), 1174-1180.
- **Laurent, B.** (2011). Rôle de la Synthase inductible du monoxyde d'azote dans les maladies proinflammatoires et la résistance à l'insuline associée à l'obésité. Paris-Est Créteil ,121p.
- **Lazérat, V.** (2009). Secrets de safranière. Lucien Souny Ed. Saint-Paul. 2009, 125 p.
- **Li, D., Sun-Waterhouseb, D., Wang, Y., Qiaoa, X., Chena, Y., Lia, F.** (2018).Module de référence en science alimentaire.

Références Bibliographiques

- **Lone AA., Shaiq A., Ganai SA., Ahanger R A ., Bhat HA ., Bhat T A ., Wani IA.** (2013). Free radicals and antioxidants: Myths, facts and mysteries. *Afr. J. Pure. Appl. Chem.* 7, 91-113.
- **Lopez, R.** (1989). Estudio Histologico de *Crocus sativus* L. tenisa de licenciatura Universidad Puplica de Pamplona. Pamplona Espana.
- **Lopresti, A.L. & Drummond, P.D.** (2014). Saffron (*crocus sativus*) for depression : asystematic review of clinical studies and examination of under lying antidepressant mechanisms of action. *Hum Psychopharmacol.* 29,517-527.

M

- **Macheix, J.J., Fleuriet, A., Jay-Allemand, C.** (2005). *Les composés phénoliques des végétaux. Un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Suisse : Lausanne ; Presses polytechniques et universitaires Romandes.*
- **Mansor, S.** (2015). Evaluation de l'effet anti inflammatoire de trois plantes médicinales : *Artemisiaabsinthium* L, *Artemisia herba alba* Asso et *Hypericum scarboides*- Etude *in vivo*. Université, Sciences et de la Technologie d'Oran Mohamed Boudiaf. P19.
- **Marnett, L. J.** (1999). Lipid peroxidation-DNA damage by malondialdehyde. *Mutat Res.* 424: 83-95.
- **Matou, M.** (2019). Composition et propriétés biologiques d'extrait de *Phyllanthus amarus* *Sehumacher et thonngong (1827)* utilisés en médecine traditionnelle aux Antilles. Thèse de doctorat en Aspect moléculaire et cellulaire de la biologie, Université des Antilles, Guadeloupe.
- **Migdal, C., & Serres, M.** (2011). espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *Médecine/sciences*, 27(4), 405-412.
- **Mira, L., Tereza Fernandez, M., Santos, M., Rocha, R., Helena Florêncio, M., & Jennings, K. R.** (2002). Interactions of flavonoids with iron and copper ions: a mechanism for their antioxidant activity. *Free radical research*, 36(11), 1199-1208.

Références Bibliographiques

- **Mollina, R.V., Valero, M., Navaro, Y., Gardiola, J.L. & Garcia-Luis, A.** (2005). Temperature effects on flower formation in saffron (*Crocus sativus* L) *Sci Hort*, 103, 361-379.
- **Moreau, B.** (2003). Travaux dirigés Et Travaux Pratiques De Pharmacognosie De 3^{ème} Année De Doctorat De Pharmacie.
- **Morena M., Martin-mateo M., Cristol J.P., Canoud B.** (2002). Stress oxydant, hémoincompatibilité et complication de la dialyse au long cours. *Néphrologie*23(5): 201 – 208.
- **Morot-Gaudry, J.F., Moreau, F., Prat, R., Maurel, C., et Sentenac, H.** (2017). *Biologie végétale : Nutrition et métabolisme - 3^e éd.* Dunod .
- **Mpondo Mponde E, Dibong SD, Ladoh YCF, Priso RJ, Ngoye A.**(2012). Les plantes à phénols utilisées par les populations de la ville de Douala. *Journal of Animal & Plant Sciences*, 15: 2083-2098.
- **Mzabri, I., Mohamed, A., & Abdelbasset, B.** (2019). Traditional and Modern Uses of Saffron (*Crocus Sativus*). Laboratory of Biology of Plants and Microorganisms, Faculty of Sciences, 2019 ; B.P. 717, Oujda 60000, Morocco; m.addi@ump.ac.ma (M.A.); abdel20759@yahoo.fr (A.B.).

O

- **O’Kennedy, R., Thomes, R. D.** (1997). Coumarins: biology, applications and mode of action. New York, NY : John Wiley & Sons, Inc . *of antioxidant capacity and total phenolic content of different fraction of selected microalgae. Food Chemistry*, 102: 771-776.
- **Oleinick, N.L.** (1987). The formation, identification, and significance of DNA-protein cross-links in mammalian cells. *Br J Cancer*. 8:135-40.
- **OMS.** (2014). *Stratégie de l’OMS pour la médecine traditionnelle pour 2014–2023.* OMS.
https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/95009/9789242506099_fre.pdf?sequence=1 (consulté, le 10 avril 2019).

Références Bibliographiques

- **Osman A. M.** (2011). Multiple pathways of the reaction of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical (DPPH·) with (+) -catechin : evidence for the formation of a covalent adduct between DPPH· and the oxidized form of the polyphenol. *Biochemical and biophysical research communications*, 412(3), 473–478. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2011.07.123>
- **Oszmianski, J., Wojdylo, A., Lamer-Zarawska, E., & Swiader, K.** (2007). *Taninsantioxydants issus des racines des plantes rosacées*. *Chimie alimentaire*, 100 (2), 579-583.
- **Oueslati, K.** (2017). Caractérisation et modélisation de la production des radicaux libres oxygénés par la chimie de Fenton dans un milieu mimétique de la viande. Thèse de doctorat en sciences des aliments. Université Clermont Auvergne.
- **Oueslati, K.** (2017). Caractérisation et modélisation de la production des radicaux libres oxygénés par la chimie de Fenton dans un milieu mimétique de la viande. Thèse de doctorat en sciences des aliments. Université Clermont Auvergne.

P

- **Palomares, C.** (2015). Le safran, précieuse épice ou précieux médicament ? *Sciences pharmaceutiques*. fhal-01732922.
- **Pamplona, R.** (2008). Membrane phospholipids, lipoxidative damage and molecular integrity: a causal role in aging and longevity. *Biochimie Biophys Acta*. 1777: 1249-62.
- **Pandey, K.B. & Rizvi, S.I.** (2009). Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2(5), 270 –278.
- **Pannikar, B. Nair, S. C. & Pannikar, K. R.** (1991). Antitumour activity of saffron (*Crocus sativus*). *Cancer letters*, 57(2), 42-51.
- **Paterson, I., Anderson, E.A.** (2005). The renaissance of natural products as drug.
- **Pellegrini, N., Serafini, M., Colombi, B., Del Rio, D., Salvatore, S., Bianchi, M., Brighenti, F.** (2003). Total Antioxidant Capacity of Plant Foods, Beverages and Oils

Références Bibliographiques

- Consumed in Italy Assessed by Three Different *In Vitro* Assays. *J.Nutr*, 133, 2812-2819.
- **Pelletan, C.** (2019). *Le médicament, l'État et les marchés: la co-construction de l'industrie pharmaceutique et de l'État en Afrique du Sud* (Doctoral dissertation, Bordeaux).
 - **Pereira, R.C., Gama, B.A.P., Teixeira, V.L., Yoneshigue-valentin, Y.** (2003). *Braz.J.Bio*, 63 (4).665-672.
 - **Peruzzi, L. & Carta, A.** (2011). *Crocus ilvensis* sp. Nov. (sect. *Crocus*, Iridaceae). Endemic to Elba Island (Tuscan archipelago, Italy). *Nord J Bot.* 29(1), 6-13.
 - **Petersen, G., O. Seberg, S. Thorsøe, T. Jørgensen and B. Mathew.** (2008). A phylogeny of the genus *Crocus* (Iridaceae) based on sequence data from five plastid regions. *Taxon*, 57(2), 487-499.
 - **Petrussa, E., Braidot, E., Zancani, M., Peresson, C., Bertolini, A., Patui, S., & Vianello, A.** (2013). Plant flavonoids--biosynthesis, transport and involvement in stress responses. *International journal of molecular sciences*, 14(7), 14950–14973. <https://doi.org/10.3390/ijms140714950>
 - **Pincemail J., Bonjean K., Cayeux K and Defraigne J. O.** (2002). Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante .*Nutrition clinique et métabolisme* 16 : 233-239 .
 - **Poisson, C.** (2013). Rôle du stress oxydant au niveau hépatique et rénal dans la toxicité de l'uranium après exposition chronique (Doctoral dissertation).
 - **Popovici, C., Saykova, I., & Tylkowski, B.** (2009). Évaluation de l'activité antioxydante des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de Génie Industriel* 4, 25-39.
 - **Prior, R. L., Wu, X., & Schaich, K.** (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements.

Références Bibliographiques

Journal of agricultural and food chemistry, 53(10), 4290–4302.
<https://doi.org/10.1021/jf0502698>

Q

- **Qian, X., Nie, X., Yao, W., Klinghammer, K., Sudhoff, H., Kaufmann, A. M., & Albers, A. E.** (2018). Reactive oxygen species in cancer stem cells of head and neck squamous cancer. *Seminars in cancer biology*, 53, 248–257.
<https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2018.06.001>

R

- **Rahimi, M.** (2015). Chemical and Medicinal Properties of saffron. *Bull. Env. pharmacol. Life Sci*, 4, 69-81.
- **Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C.** (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9-10), 1231-1237.
- **Reguieg, L.** (2011). Using medicinal plants in Algeria. *Am. J. Food. Nutr*, 1(3), 126-127.
- **Rezaire, A.** (2012). Activité antioxydante, et caractérisation phénolique du fruit de palmier amazonien *Oenocarpus bataua* (patawa), Université des Antilles et de la Guyane, Cayenne.
- **Richter, G.** (1993). *Composés phénoliques in Métabolisme des végétaux : physiologie et biochimie. Ed Presse polytechnique et universitaire romande*, 317-339.

S

- **Samarghandian, S., Borji, A.** (2014). Recherche en pharmacognosie. Effet anticarcinogène du safran (*Crocus sativus* L.) et de ses ingrédients).
- **Sanchez-Moreno, C.** (2002). Review: Methods used to evaluate the free radical .scavenging activity in food and biological systems. *Food Sci Tech Int*. 8(3): 121-137.
- **Sanchez-Moreno, C., Larraui, J.A.** (1998). Main methods used in lipid oxidation determination. *Food Sci Technol. Int*. 4: 391-399.

Références Bibliographiques

- **Sanogo, R.** (2006). Le Rôle des Plantes Médicinales en Médecine Traditionnelle. *Développement, Environnement et Santé*, 53-58.
- **Sariri, R., Sabbaghzadeh, R., & Poumohamad, F.** (2011). In-vitro antioxidant and anti-tyrosinase activity of methanol extracts from *Crocus sativus* flowers. *Pharmacologyonline*, 3, 1-11.
- **Schere, R., Godoy, H.T.** (2009). Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. *Food Chem*, 112 : 654-658.
- **Schneider, I., Kerndorff, H. & Pasche, E.** (2012). Chromosome numbers of Turkish *Crocus* (Liliiflorae, Iridaceae) and their geographical distribution. *Feddes repertorium*, 123(1): 73-79.
- **Sharifi-Rad, M., Anil Kumar, N. V., Zucca, P., Varoni, E. M., Dini, L., Panzarini, E., & Sharifi-Rad, J.** (2020). Lifestyle, oxidative stress, and antioxidants: Back and forth in the pathophysiology of chronic diseases. *Frontiers in physiology*, 11, 694.
- **Sies, H.** (2015). Oxidative stress: a concept in redox biology and medicine. *Redox biology*, 4, 180–183. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2015.01.002>
- **Simic, MG., Jovanovic, SV.** (1989). Antioxidation mechanisms of uric acid. *J Amchem Soc.* 111, 5778- 5782.
- **Small, E., & Catling, P. M.** (2000). *Les cultures médicinales canadiennes*. NRC Research Press.
- **Srivastava, R., Ahmed, H., Dixit, R.K.** (2010). *Crocus sativus* L. comprehensive review ; *pharmacognosy reviews*, 4(8), 200-250.
- **Sun, L., Zhang, J., Lu, X., Zhang, L., Zhang, Y.** (2011). Evaluation to the antioxidant activity of total flavonoids extract from persimmon (*Diospyros kaki L.*) leaves. *Food Chem Toxicol*, 49, 2689-2696.

Références Bibliographiques

- **T Hill, H.** (2004). The Contemporary Encyclopedia of Herbs and spices: Seasonings for The Global Kitchen, Wiley, p.272, ISBN 0-471-21423-X.
- **Tachakittirungrod, S., Okonogi, S., & Chowwanapoonpohn, S.** (2007). Study on antioxidant activity of certain plants in Thailand: Mechanism of antioxidant action of guava leaf extract. *Food chemistry*, 103(2), 381-388.
- **Thomas, D.** (2016). Les antioxydants de nos jours : définition et applications. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie, Université de Limoges, p29-174.
- **Togola, I., Konaré, M., A., Diakité, M., Diarra, N., Tounkara, F., Sango, R., & Dembélé, D.** (2019). Évaluation de la teneur en alcaloïdes totaux à différents stades de développement de *Datura innoxia* Mill.
- **Toutou, P.Y.** (2005). Biochimie : structure des glucides et lipides. *Faculté de médecine*.
- **Tratner, I.** (2003). Chacun souhaite vivre longtemps, mais personne ne veut être vieux *Médecine/Science* n°12 . Vol 19 : 1291-1292.

U

- **Ursat, J.** (2004). Le Safran du gatinais. Paris, France : CM-Exceptions ..

V

- **Van Antwerpen, P.** (2006). Contribution à l'étude du pouvoir antioxydant de divers agents d'intérêt thérapeutique : Ciblage du système myloperoxydase/peroxyde d'hydrogène/chlorure. Thèse de doctorat en Sciences Pharmaceutiques, Académie universitaire Wallonie-Bruxelles.
- **Vermerris, W., Nicholson, R.** (2006). *Phenolic Compound Biochemistry*, Springer, Dordrecht.
- **Verpoorte, R.** (1998). Exploration of nature's chemodiversity: the role of secondary metabolites as leads in drug development. *Drug Discovery Today*, 3(5), 232–238.

[https://doi.org/10.1016/S1359-6446\(97\)01167-7](https://doi.org/10.1016/S1359-6446(97)01167-7)

Références Bibliographiques

- **Vijender, K., Bhat, Z. A., Dinesh, K., Shah, M. Y., Chashoo, I. A., & Khan, N. A.** (2011). Physicochemical and preliminary phytochemical studies on petals of *Crocus sativus* 'Cashmerianus'. *Pharmacognosy Journal*, 3(23), 46-49.
- **Visioli, F., Borsani, L., & Galli, C.** (2000). Diet and prevention of coronary heart disease: the potential rôle of phytochemicals. *Cardiovascular research*, 47(3), 419–425. [https://doi.org/10.1016/s0008-6363\(00\)00053-5](https://doi.org/10.1016/s0008-6363(00)00053-5).

W

- **Wali, A. F., Alchamat, H. A. A., Hariri, H. K., Hariri, B. K., Menezes, G. A., Zehra, U., ... & Ahmad, P.** (2020). Antioxidant, antimicrobial, antidiabetic and cytotoxic activity of *Crocus sativus* L. petals. *Applied Sciences*, 10(4), 1519.
- **Wang, Y., & Davidson, M. C.** (2010). A review of micro-analyses of tourist expenditure. *Current issues in Tourism*, 13(6), 507-524.
- **West, A.P., Shadel, G.S., & Ghosh, S.** (2011). Mitochondria in innate immune responses. *Nature reviews. Immunology*, 11(6), 389–402. <https://doi.org/10.1038/nri2975>
- **Wichtl, M., Anton, R.** (2003). Plantes thérapeutiques – Tradition, pratique officinale, science et thérapeutique, 2ème édition, Ed. TEC & DOC.
- **Wilson, A., & Salamantian, L.** (2003). Les radicaux libres : Une question d'équilibre. *DESS IST*. Université de Versailles Saint-Quentin-en-Yvelines, 1-35.
- **Winter halter P et Straubinger M.** (2000). Saffron-renewed interest in an ancient spice.

X

- **Xu, D. P., Li, Y., Meng, X., Zhou, T., Zhou, Y., Zheng, J., Zhang, J. J., & Li, H. B.** (2017). Natural Antioxidants in Foods and Medicinal Plants: Extraction, Assessment.







Références Bibliographiques

Y

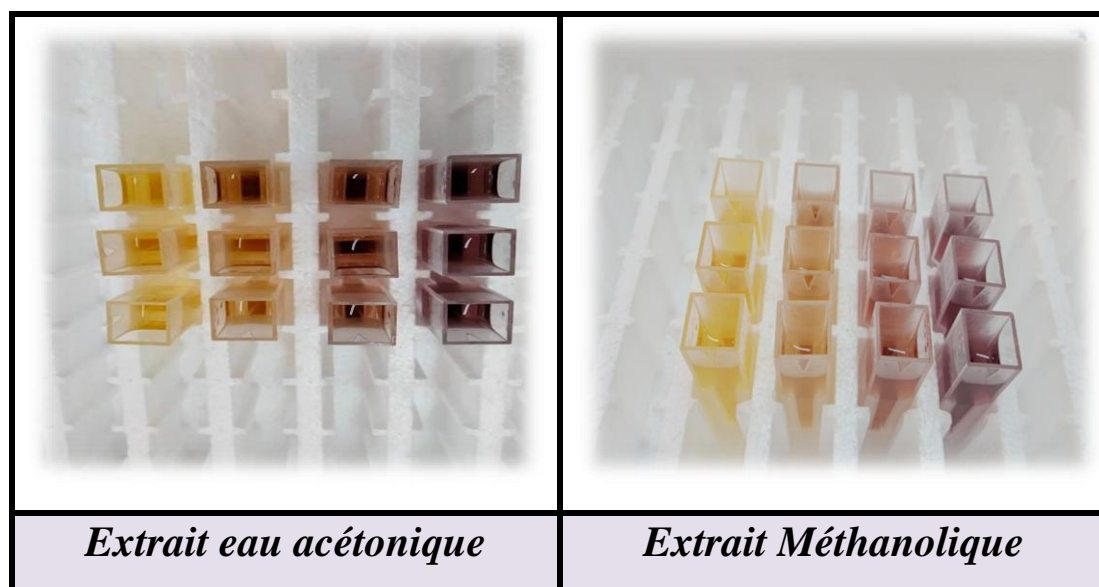
- **Yoshikawa, T., Yamamoto, Y. et Naito, Y.** (2000). Free radicals in chemistry. *Biology and Medicine, Ed. Oica International, Londres.*

Annexes

Annexe 1 : Appareillages

		
Balance	Vortex	Rotavapor
		
Étuve	Agitateur	Spectromètre

Annexe 3 : Piégeage du radical DPPH par l'extrait de *Crocus Sativus*



Annexe 4 : Test de réduction du fer (FRAP) par l'extrait de *Crocus Sativus*

