

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITE de TLEMCEM

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de
l'Univers

Département de biologie

PRABIONUT

MEMOIRE

Présenté par :

SAIDI Nihel

BENGUEDIH Amaria

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER en Biologie

Option : Toxicologie industrielle et environnementale

Thème

**Etude de la toxicité subaiguë de l'extrait brut des
pétales de *Crocus sativus* chez les rats Albinos
Wistar**

Soutenu le 30/06/2020, devant le jury composé de :

Examineur	Mme GUERMOUCHE B	M.C.A, Université de Tlemcen
Président	Mme MERZOUK H.	Professeur Université de Tlemcen
Encadreur	Dr LOUKIDI B.	M.C.A ESSA Tlemcen

Année Universitaire : 2019-2020

Remerciements

Avant toute chose, nous remercions « الله » qui nous a donné la patience, le courage et la volonté pour réaliser ce mémoire

Nous tenons aussi à présenter nos sincères remerciements

À notre encadreur Mme. Loukidi B. pour la confiance qu'elle nous a accordée en

Acceptant cet encadrement

Pour sa disponibilité tout au long de l'élaboration de ce mémoire, pour son aide, Ses critiques et ses suggestions, et surtout pour sa patience dans la correction de ce mémoire.

Nous remercions Mme Guermouch B. Qui a accepté d'examiner ce modeste travail.

Nous tenons aussi à remercier Mme Merzouk H.

Nous voudrions remercier Particulièrement la doctorante du laboratoire m,

Karima pour sa patience, son aide précieuse et ses valeureux conseils.

Finalement, nous remercions tous ceux ou celles qui ont contribué de près ou de loin à l'accomplissement de ce mémoire.

À vous tous, un grand Merci

S.Nihel

B. Amaria

Dédicace

C'est grâce à dieu, le tout puissant qui m'a donné le courage et la volonté pour achever ce modeste travail que je dédie :

A me chers parents

Tous les mots du monde ne sauraient exprimer l'immense amour que je vous porte ni la profonde gratitude que je vous témoigne pour tous les efforts et les sacrifices que vous n'avez jamais cessé de consentir pour mon instruction et mon bien être

Que Dieu vous protège et vous prête santé et longue vie

A ma très chère sœur Ilhem, et à mes chères frères Abderahim et Abdenour qui m'ont donné, l'amour et le courage de surmonter toutes les épreuves.

A mon neveu Imrane que j'aime énormément

A mon grand-père, mes tantes, mes oncles, mes cousins et cousines pour vos encouragements

A mes amies Amel, Amina, Rym et Sarah En souvenir des agréables moments partagés et en témoignage de notre amitié

A toute personne m'ayant consacré un moment pour m'aider, me conseiller, m'encourager, ou simplement me faire sourire.

Dédicace

A mes chers parents, pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études,

Mes aimables sœurs Farah et Nesrine pour leurs soutien moral,

A toute ma famille pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire

A mon mari, Aucun mot ne saurait t'exprimer mon profond attachement et ma reconnaissance pour l'amour, la tendresse et la gentillesse dont tu m'as toujours entouré

A Tous mes collègues de promotion de Toxicologie, et surtout Amel et Amina pour leurs aides et disponibilités.

A Mes amis qui m'ont permis d'oublier les moments de stress et de découragement.

Tous ceux qui me sont chers.

Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant allégués, et le fruit de votre soutien infaillible,

Merci d'être toujours là pour moi.

B. Amaria

Table des matières

Remerciements, Dédicaces	
Listes des tableaux, Figures, Abréviations	
Introduction	1
Chapitre I : Synthèse bibliographique	
I.1.Historique.....	4
I.2.Description de la plante	4
I.3.Caractère botanique.....	6
I.4.Étymologie.....	6
I.5.Production mondiale.....	7
I.6.Principaux composants du safran.....	8
I.6.1. Le crocine.....	9
I.6.2. La picrocrocine.....	9
I.6.3. Le safranal.....	10
I.7.Les différentes propriétés thérapeutiques.....	10
I.8.Récolte et rendement du safran.....	11
I.9.Les usages du safran.....	13
I.9.1. Usage culinaire.....	13
I.9.2Usage médicinal.....	13
I.10.Les polyphénols.....	14
I.10.1. Définition des polyphénols.....	14
I.10.2. Structures chimiques et classification.....	14
I.10.3. Biosynthèse	15
I.11.4. Rôles des polyphénols dans les plantes.....	16
Chapitre II : Généralité sur la toxicité	
II.1.Histoire de la toxicologie.....	18
II.2.Définitions.....	19

II.3.Les formes d'intoxication.....	20
II.3.1. La toxicité aiguë.....	20
II.3.2. La toxicité sub-aigüe.....	20
II.3.3. La toxicité chronique.....	21
II.3.4.la toxicité sub-chronique.....	21
II.4.Devenir du toxique dans l'organisme.....	22
II.4.1. Absorption / résorption.....	23
II.4.2. Distribution.....	24
II.4.3. Biotransformation (métabolisme).....	24
II.4.4. Excrétion.....	24
II.4.5. Élimination.....	24
II.5.La toxicité du Safran.....	24
II.5.1. Effets secondaires.....	25
II.5.2. Principales indications de la toxicité du safon.....	25

Chapitre III : Matériels et méthodes

III.1.Matériel Végétal.....	27
III.2.Extraction de l'extrait brut de Crocus sativus.....	27
III.2.1. Séchage et broyage des pétales.....	27
III.2.2. Macération sous agitation.....	28
III.2.3. Filtration.....	28
III.2.4. Evaporation.....	29
III.2.5. Séchage.....	29
III.2.6. Calcul du rendement.....	29
III.3. Etude de la toxicité sub-aigüe du crocus sativus.....	29
III.3.1. Répartition des rats sur différents lots.....	30

III.4. Dosages des paramètres biochimiques plasmatiques.....	30
III.4.1. Etude de la fonction rénale.....	31
III.4.1.1. Détermination des teneurs plasmatiques en créatinine (Kit Spinreact)...	31
III.4.1.2. Détermination des teneurs plasmatiques en urée (Kit Spinreact).....	32
III.4.2. Etude de la fonction hépatique.....	33
III.4.2.1. Détermination des teneurs plasmatiques en TGO (Transaminase Glutamo-oxalo-acétique) (Kit Spinreact).....	33
III.4.2.2. Détermination des teneurs plasmatiques en TGP (Transaminase Glutamato-pyruvique).....	33
III.4.3. Détermination des teneurs plasmatiques en HDL Cholestérol (Kit Spinreact)	34
III.4.4. Détermination des teneurs plasmatiques en cholestérol total (Kit Spinreact)	35
III.4.5. Détermination des teneurs plasmatiques en triglycérides (Kit Spinreact)....	36
III.4.6. Détermination des teneurs plasmatiques en protéines totales (Kit Spinreact)	37
III.5. Analyses statistique.....	37

Chapitre IV : Résultats et discussion

IV.1. Calcul du rendement.....	39
IV.2. Toxicité sub-aigüe.....	39
IV.2.1. Étude de mortalité.....	39
IV.2.2. Comportement des animaux et signes de toxicité sub-aigue.....	40
IV.3. Effets toxique du Crocus sativus sur les paramètres biochimiques chez les rats	41
IV.3.1. Etude de la fonction rénale.....	41
IV.3.1.1 Teneurs plasmatiques en urée	41
IV.3.1.2 Teneurs plasmatiques en créatinine.....	42
IV.3.2. Etude de la fonction hépatique	43
IV.3.2.1 Teneurs plasmatiques en transaminases (TGO).....	43
IV.3.2.2 Teneurs plasmatiques en transaminases (TGP).....	43

IV.3.3. Teneurs plasmatiques en HDL Cholestérol, cholestérol total et en triglycérides.....	44
IV.3.4. Teneurs plasmatiques en protéines totales.....	48
Discussion.....	49
Conclusion.....	53
Références bibliographiques.....	55
Annexes	60

Liste des figures

Figures	Titres	Pages
Figure 1	Aspect général de <i>Crocus sativus</i> L.	5
Figure 2	principales régions productrices de safran (France agrimer - établissement national des produits de l'agriculture et de la mer)	7
Figure 3	structures moléculaires des quatre métabolites secondaires du safran à activité biologique	8
Figure 4	structure chimique du crocine	9
Figure 5	structure chimique de la picrocrocine	9
Figure 6	structure chimique du safranal	10
Figure 7	Les étapes de la culture du safran: plantation et floraison, récolte manuelle de la fleur dans des paniers, émondage (récupération des stigmates), et séchage des stigmates à proximité d'un feu.(12
Figure 8	Structure du noyau phénol	14
Figure 9	Un principe naturel et médicinal selon Paracelse	18
Figure 10	page du papyrus d'Ebers	18
Figure 11	comparaison entre l'exposition aiguë ou chronique et l'effet aiguë ou chronique	22
Figure 12	Cheminement d'un produit dans l'organisme	23
Figure 13	des pétales secs	27
Figure 14	Broyage des pétales secs	27
Figure 15	Solution de pétales du safran	28
Figure 16	Filtration de solution de pétales du safran	28
Figure 17	évaporation à sec de l'extrait	29
Figure 18	schéma représentatif des dosages des paramètres biochimiques	30
Figure 19	Spectrophotomètre utilisé	31
Figure 20	Teneurs plasmatiques en urée mg/dl	41
Figure 21	Teneurs plasmatiques en créatinine	42
Figure 22	Teneurs plasmatiques en transaminases (TGO)	43
Figure 23	Teneurs plasmatiques en transaminases (TGP)	44
Figure 24	Teneurs plasmatiques en HDL Cholestérol	45
Figure 25	Teneurs plasmatiques en Cholestérol total	46

Figure 26	Teneurs plasmatiques en Triglycérides	47
Figure 27	Teneurs plasmatiques en protéines totales	48

Liste des Tableaux

Tableaux	Titres	Pages
Tableau 1	descriptif général de la plante	5
Tableau 2	Principaux pays producteur du safran	8
Tableau 3	Résumé des propriétés et indications du safran	10
Tableau 4	la durée de l'exposition	20
Tableau 5	Echelle de la classification des substances toxiques chez les rongeurs	20
Tableau 6	Mortalité après administration d'une dose unique de l'extrait brut des pétales de <i>Crocus sativus</i> .	39
Tableau 7	Évaluation des comportements et symptômes des souris lors de l'étude de la toxicité subaigüe.	40

Liste des abréviations :

IUPAC : Union of Pure and Applied Chemistry

DL50 : dose létale 50

DMLA : dégénérescence maculaire liée à l'âge

HTA : hypertension artérielle

V/V : Rapport volume /volume

HDL : High density lipoproteins

TGO : Transaminase Glutamo-oxalo-acétique

TGP : Transaminase Glutamato-pyruvique

NADH : nicotinamide adénine dinucléotide

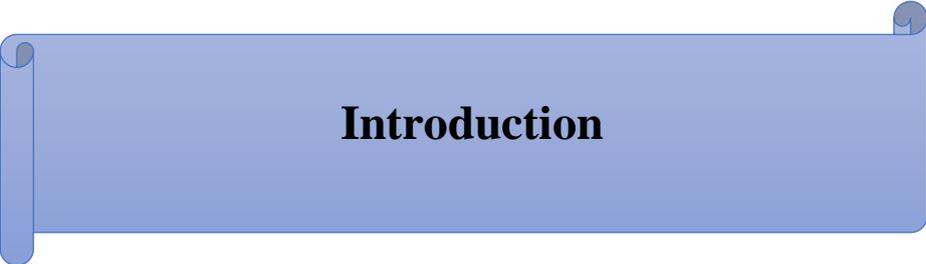
ALT : Alanine aminotransférase

Kg : kilogramme

mg : Milligramme

g : gramme

°C : Degré ceinsuce



Introduction

L'utilisation des plantes médicinales pour le traitement des maladies, vient habituellement de la croyance qu'elles présentent une très faible toxicité du fait de leur origine naturelle. Selon l'organisation mondiale de la santé, 80 % de la population mondiale a recours à la médecine traditionnelle (Gomes et al., 2012). Parmi les plantes médicinales utilisées, on trouve *Crocus Sativus L.* communément appelé safran.

L'histoire du safran, épice tirée de la fleur de *Crocus sativus*, remonte à la plus haute antiquité. On peut dater l'apparition du safran à plus de 5000 ans, dans les hautes vallées du Cachemire et les plateaux de Perse (Algrech, 2001). Sa valeur marchande le destinait à voyager. Utilisé par les égyptiens et les hébreux pour aromatiser et colorer les aliments dans les fêtes religieuses, le safran a ensuite été transmis aux grecs et aux romains, qui en ont fait différents usages : dans l'art culinaire, en parfumerie, en teinture (Cardon, 2003).

Crocus sativus.L. connu sous le nom de safran, appartenant à la famille des Iridacées, c'est une plante vivace largement cultivé dans différentes parties du monde, en particulier en Iran (Esmaeili et al., 2010) La fleur de cette plante est délicate et dégage un parfum "miellé" lors de sa récolte. Une caractérisation des composés volatils présents dans la fleur a été effectuée en vue d'une valorisation aromatique et thérapeutique des déchets floraux (Bergoin M, 2005).

La richesse de *Crocus sativus* en composés phénoliques avec une teneur importante en polyphénols, en flavonoïdes et tanins condensés montre tout son intérêt thérapeutique sur la santé (anti-oxydantes, anticancéreux, anti convulsivant, antidépresseurs, sédatifs ... en médecine préventive et en nutrition) (Al-faraji, 2017)

A cause de la popularité de l'utilisation traditionnelle et médicinales de cette plante, il est important de l'étudier afin de mettre en évidence ses propriétés pharmacologiques et surtout toxicologiques. Pour cette raison, on a étudié l'effet toxique des pétales.

Cette étude comporte quatre chapitres :

- Le premier chapitre est consacré à :
 - Une synthèse bibliographique pour présenter la plante *Crocus sativus L.*
 - Généralités sur les polyphénols.
- Le deuxième chapitre présente une généralité sur la toxicité.
- Le troisième chapitre décrit le matériel et les méthodes utilisées dans ce travail qui porte sur :
 - Extraction de l'extrait brut de *Crocus sativus*.

- Dosages des paramètres biochimiques plasmatiques.
- Le quatrième chapitre est consacré aux résultats et interprétation plus la discussion.
- Une conclusion viendra clôturer notre travail.

CHAPITRE I : Synthèse bibliographique

1. Historique

Le nom "safran" est dérivé du latin *safranum*, qui est inspiré de l'arabe "zaafarân" dont la racine exprime une notion nécessaire, la couleur jaune. Le nom de genre « *Crocus* » vient du grec *Krokos*, qui veut dire "filament", par allusion aux stigmates de la plante. Le terme "sativus" signifie "cultiver", car le *Crocus sativus* par sa reproduction végétative ne peut pas se multiplier sans la main de l'homme (**Dupont , 2001**).

On peut dater l'apparition du safran à plus de 5000 ans, dans les hautes vallées du Cachemire et les plateaux de Perse (**Algrech, 2001**). Les principales régions de culture sont : l'Iran (province du Khorassan), la Grèce (Macédoine), le Maroc (ville de Talouine) l'Espagne (Albacete, Alicante, La Mancha, Murcia), l'Inde (dans les massifs montagneux du Cachemire). Ces pays sont les premiers exportateurs mondiaux de safran. De plus, on retrouve la France (Gâtinais, Quercy), le canton du Valais en Suisse, l'Italie, la région de Safranbolu en Turquie, l'Azerbaïdjan, la province de Baloutchistan au Pakistan, la Chine, le Japon et la Pennsylvanie aux Etats-Unis (**Teusher et al., 2005**).

2. Description (Fig 1) ; Tableau 1 :

Crocus Sativus est une plante inconnue à l'état sauvage, car elle a besoin de la main de l'homme pour subsister. Triploïde et stérile, il se reproduit par multiplication végétative grâce à son corne, organe de réserve ressemblant à un bulbe. Cette corne en fait une plante pérenne, vivace puisqu'il lui permet d'emmagasiner des réserves tout au long de l'hiver (**Melnyk et al, 1981**).

Le safran est une plante à bulbe mesurant au plus 25 cm, dépourvue de tige. La plante comporte dix feuilles très étroites, dressées, creusées en gouttière, et qui apparaissent lors de la floraison ou après celle-ci. Les feuilles sont vertes foncé dessus, vert pâle dessous. Mais ce sont surtout les fleurs, très grandes et violettes, que l'on remarque. Elles prennent naissance directement du bulbe, à raison d'une à trois fleurs par plant. En tube très mince à la base, elles s'élargissent brusquement en coupe comportant six divisions. Le pistil est particulièrement développé : le style grêle est très long et se termine par trois stigmates rouge orangé très vif en forme de cornet, et très odorants, Il est entouré de trois étamines. Le fruit est une capsule renfermant de nombreuses graines (**Michel Botineau,2010**).

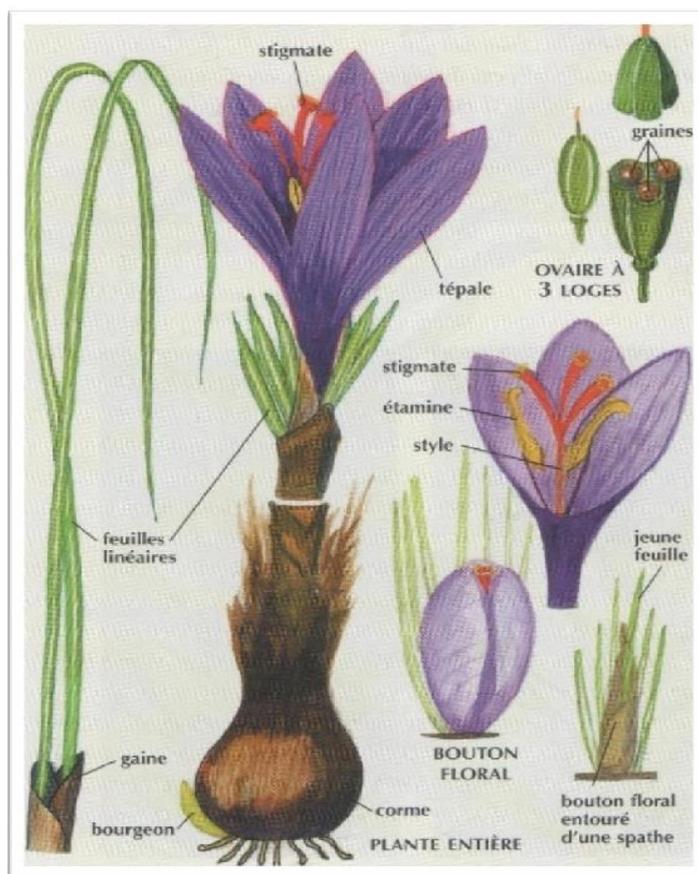


Figure 1 : aspect général de *Crocus sativus* L. (Arvy M., Gallouin F.2003)

Tableau 1 : descriptif général de la plante (Arvy & Gallouin. 2003)

Famille	Taille Spécificité	Racine Rhizome	Tiges	Feuilles	Fleur Inflorescence	Fruit Semence	Épice Flaveur-odeur saveur
Iridacées	16 à 30 cm Annuelle Corne	Pas de particularité	Acaule	Radicales dressées réunies dans une gaine membraneuse à la base Limbe étroit et linéaire cilié sur le bord	Presque régulière pourpre violacée Solitaire	Capsule membraneuse Nombreuses graines sub-globuleuses Albumen corné	Stigmates de la fleur Flaveur spécifique, âcre, irritante, légèrement poivrée Saveur amère

3. Botanique

Le safran est dérivé des stigmates de *Crocus sativus L.*, un membre de la famille des Iridacées. La taxonomie : classification de cette plante est la suivante :

Division : Spermatophytes

Subdivision : Angiospermae

Classe : Monocotylédones

Sous-classe : Liliidae

Ordre : Liliales

La famille : Iridaceae

Genre : *Crocus*

Autres : plante à bulbe

Partie de plante récoltée : stigmate (trois stigmates rouges foncés)

Qualité : plus la couleur rouge est foncée, plus le Safran est de meilleure qualité

Période de récolte : automne (floraison à l'automne : les feuilles poussent après la fleur)

Durée de floraison : 1 à semaines selon les régions de production

Durée totale de culture : de 5 ans à 10 ans.

4. Étymologie

Le mot safran, a une origine latine : « safranum », tiré de l'arabo-persan « za'faran » dérivant d'« asfar » signifiant jaune (**Crozet., 2012**). L'origine arabo-persane est donc incontestable et nous pouvons de plus mentionner l'existence d'un village existant sur les bords de l'Euphrate, il y a plus de 4 300 ans, nommé Azupirano signifiant « ville du safran ».

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

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

- Français : safran
- Anglais : saffron
- Allemand : Safran
- Espagnol : azafrán
- Italien : zafferano
- Arabe : za'faran
- Néerlandais : saffraan

- Portugais : açafão
- Polonais : szafran
- Grec : zafora
- Chinois : fan huong hua (épice), Xi hong hua (remède)
- Russe : schafraan
- Japonais : safuran

Nous pouvons citer également quelques noms vernaculaires pour décrire le safran tels que safran d'automne, safran médicinal, safran cultivé, safran officinal ou encore safran du gâtinais (Michel Botineau, 2010) et compte-tenu de son prix élevé, il porte le surnom d'« or rouge ».

5. Production mondiale (Fig 2) ; Tableau 2

La plus grande part de la production mondiale dérive d'une large ceinture qui s'étend de la mer Méditerranée au Cachemire occidental. Environ 300 tonnes de safran sont produites par an, comprenant les poudres et les stigmates, dont 200 tonnes pour les stigmates seuls. L'Iran domine ce marché à plus de 90 %.

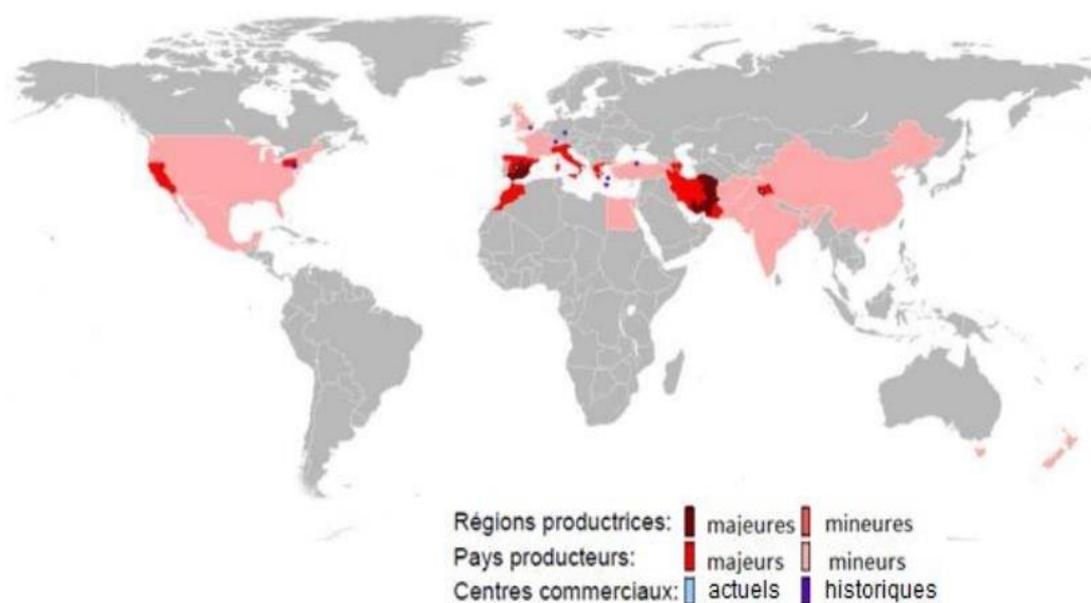


Figure 2 : principales régions productrices de safran (France agrimer - établissement national des produits de l'agriculture et de la mer)

Tableau 2 : Principaux pays producteurs du safran (Magorie Bergoin, 2005)

Pays	Production moyenne (kg/an)	Production mondiale (%)
Iran	180000	90.1%
Inde	9000	4.5%
Grèce	5500	2.8%
Maroc	3000	1.5%
Espagne	1000	0.5%
Autre	1200	0.6%
Totale	199700	100%

6. Principaux composants du safran

Les principaux composés biologiquement actifs du safran sont :

- la crocine et la crocétine qui sont des pigments caroténoïdes responsables de sa couleur jaune-orangée.
 - la picrocrocine, apportant au safran sa saveur et son goût.
 - le safranal, un composé volatil responsable de l'arôme et de l'odeur si spécifique au safran.
- Ainsi, ces principaux constituants contribuent, non seulement au profil sensoriel du safran (couleur, goût, arôme) mais aussi aux propriétés intéressant la santé (Melnyk., 1981)

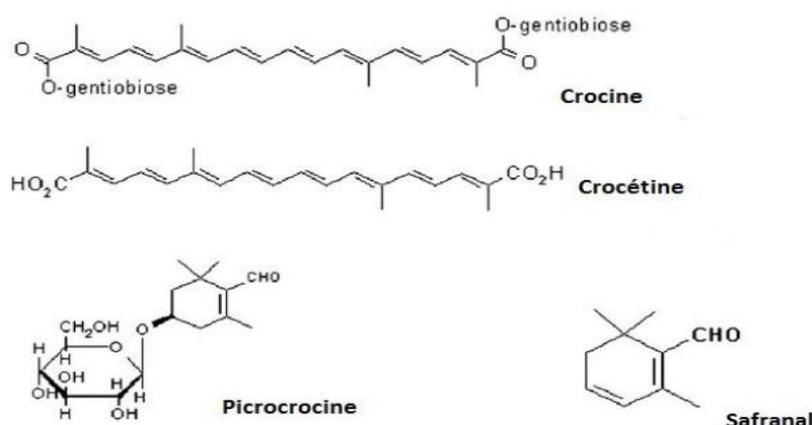
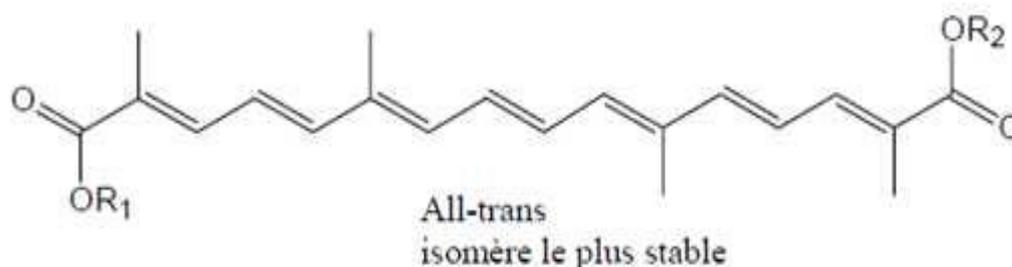


Figure 3 : structures moléculaires des quatre métabolites secondaires du safran à activité biologique

6.1 Le crocine

L' α -crocine est la molécule responsable de la couleur jaune-orange d'or du safran. C'est un caroténoïde à l'origine de l'arôme du safran. C'est un pigment présent à hauteur de 10 % dans la masse du safran frais. L' α -crocine est un colorant idéal pour tous les aliments basés sur l'eau comme les plats à base de riz

Les crocines font partie des rares caroténoïdes hydrosolubles ; elles proviennent de la crocétine



(liposoluble) grâce à une réaction d'estérification avec des sucres. (palomares ,2015)

Figure 4 : structure chimique du crocine (palomares ,2015)

6.2- La picrocrocine:

- Formule brute : C₁₆H₂₆O₇

- Nom selon la nomenclature IUPAC : 4-(β -D-glucopyranosyloxy)-2,6,6-triméthyl-1-cyclohexène-1carboxaldéhyde

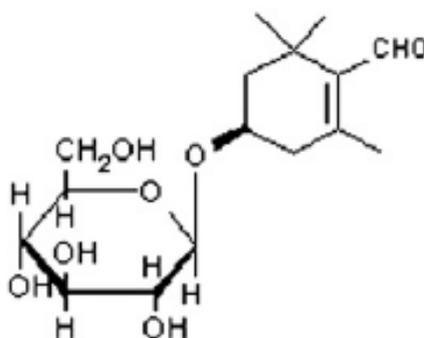


Figure 5 : structure chimique de la picrocrocine (Melnik ., 1981)

La picrocrocine représente 1 à 13 % des matières sèches du safran. Il s'agit en fait d'un monoterpène glycosylé, issu de la dégradation du caroténoïde zéaxanthine et précurseur d'un autre composé chimique important : le safranal.

Le goût présent dans l'épice est tiré principalement de cet hétéroside amer (Melnyk., 1981)

6.3- Le safranal

Lorsque le safran est séché après sa récolte, l'augmentation de la température coupe la molécule de picrocrocine pour donner du β -D-glucopyranose et une molécule de safranal libre (palomares, 2015)

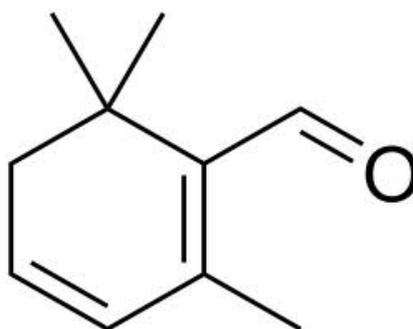


Figure 6 : structure chimique du safranal

- Formule brute : C₁₀H₁₄O

- Nom selon la nomenclature IUPAC : 2,6,6-Triméthyl-1,3-cyclohexadiène-1-carboxaldéhyde

7. Les différentes propriétés thérapeutiques, Tableau 3 :

Tableau 3 : Résumé des propriétés et indications du safran (Favre. 2008)

Propriétés	Indications
Antidépresseur	<ul style="list-style-type: none"> - Dépression nerveuse - Fragilité émotionnelle - Stress - Anxiété - Angoisse - Manque de sommeil
Régulateur de satiété en cas de surcharge pondérale	Excès pondéral
Stimulant	<ul style="list-style-type: none"> - Surmenage - Perte de mémoire - Fatigue générale, physique et mentale - Asthénie
Tonique	<ul style="list-style-type: none"> - Manque d'énergie, de tonus - Pratique sportive (entraînement, compétition, récupération)

Revitalisant	Terrain infectieux
Aphrodisiaque	- Impuissance masculine - Frigidité féminine
Antispasmodique	Tension nerveuse
Antalgique Analgésique	Douleur menstruelle
Anti-inflammatoire	Douleur articulaire
Tonique digestif	Paresse digestive
Tonique hépatique	Paresse hépatique
Immunostimulant	Immunodépression
Hypoglycémiant	Diabète non insulino-dépendant
Hypocholestérolémiant	- Excès de cholestérol - Excès de triglycérides - Prévention des accidents cardiovasculaires
Antioxydant Anti-radicalaire	- Vieillesse prématurée et accélérée de l'organisme - Sevrage tabagique

8. Récolte et rendement du safran (Fig 6)

Le problème majeur pour la production de safran demeure le coût de la main-d'œuvre. En effet, la récolte exige une main-d'œuvre qualifiée et les stigmates nécessitent d'être immédiatement et délicatement prélevés, séchés, puis conservés à l'abri de l'humidité et de la lumière.

Les fleurs apparaissent 4 à 6 semaines après la plantation et la floraison s'étale sur plusieurs semaines. La fleur de crocus à safran est fragile et elle est d'une durée de vie très limitée (entre 24 et 48 heures). Elle se fane très vite sous l'action du soleil, et ses pistils perdent de leur arôme ainsi que de leur pouvoir de coloration. L'opération de ramassage des fleurs de safran est très délicate. L'ensemble de la fleur est récolté manuellement en coupant la fleur à la base de sa corolle avant son ouverture, tôt le matin avant l'arrivée des chaleurs du jour. (Kafi, et al. 2002)

Le rendement moyen d'un hectare de safran dépend des conditions du milieu et de l'âge de la safranière et peut atteindre plus de 10 kg/ha. La durée de stockage du safran est longue si les conditions de conservation sont optimales. La qualité du safran peut être maintenue durant plus de 3 ans. Comme c'est une épice hygroscopique, elle doit être conservée dans un endroit sec, à l'abri de la lumière et de l'air. L'utilisation des conteneurs en verre colorés ou opaques, fermés hermétiquement et placés dans un endroit sec constitue une bonne méthode de préservation de la qualité du safran (Koocheki. 2004).



Figure 7 : Les étapes de la culture du safran: plantation et floraison, récolte manuelle de la fleur dans des paniers, émondage (récupération des stigmates), et séchage des stigmates à proximité d'un feu. (www.kashmirkesarkindom.com)

9. Les usages du safran

9.1. Usage culinaire

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

9.2 Usage médicinal

L'utilisation traditionnelle du safran comme plante médicinale est légendaire. Il a été utilisé pour ses propriétés carminatives et emménagogue par exemple. (**JB.Park . 2005**)

En Europe médiévale, on utilisait le safran pour traiter des infections respiratoires et maladies comme la toux, le rhume, la scarlatine, la variole, les cancers, l'hypoxie et l'asthme. On le retrouve également dans certains traitements contre les affections sanguines, l'insomnie, la paralysie, les maladies cardiaques, les flatulences, les indigestions et maux d'estomac, la goutte, la dysménorrhée, l'aménorrhée et divers désordres oculaires (**Abdullaev, 2002**)

Pour les anciens Persans et Égyptiens, le safran était aussi un aphrodisiaque, un antidote couramment utilisé contre les empoisonnements, un stimulant digestif et un tonifiant pour la dysenterie et la rougeole. En Europe, les adeptes de la « théorie des signatures » interprétèrent la couleur jaune du safran comme un signe d'éventuelles propriétés curatives contre la jaunisse (**Darling Biomedical Library. 2002**)

Cependant, ingéré à dose suffisamment élevée, le safran est létal. Plusieurs études sur des animaux montrent que DL50 du safran (ou dose létale 50, dose à laquelle 50 % des sujets de tests meurent d'une overdose) est 20,7 g/kg quand il est délivré en décoction. (**Chang et al., 1964**)

10. Les polyphénols

10.1. Définition des polyphénols (fig 7)

Les composés phénoliques ou les polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des plantes, largement distribués possédant plusieurs groupements phénoliques, comportant au moins 9000 structures connues différentes (**Bahorun, 1997**), allant de molécules phénoliques simples de bas poids moléculaire tels que, les acides phénoliques à des composés hautement polymérisés comme les tannins (**Akowauh et al., 2004**).

Ces corps sont présents partout dans les racines, les tiges, les fleurs, les feuilles de tous les végétaux et jouent un rôle fondamental car sont des éléments importants de qualités sensorielles (couleur et caractères organoleptiques) et nutritionnelles des végétaux, tels que les légumes, les fruits, les céréales ou les fruits secs, ainsi que dans les boissons, le café, le cacao ou le thé. L'homme consomme environ un gramme de polyphénols chaque jour (**Scalbert, et al., 2005**)

L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau phénolique à 6 carbones (**Fig.07**), auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle (OH) libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester ou hétéroside (**Bruneton, 1999**).

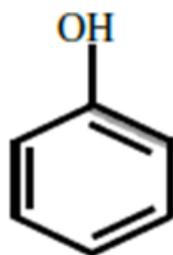


Figure 8: Structure du noyau phénol (Sarni-Manchado et Cheyner, 2006)

10.2. Structures chimiques et classification

La structure chimique est identique à tous les polyphénols : un ou plusieurs noyaux aromatiques hydroxylés. Les polyphénols sont classés en différents groupes en fonction du nombre de noyaux aromatiques qui les composent et des éléments qui les relient.

On distingue les phénols simples (parmi eux les acides phénoliques), les flavonoïdes, les lignanes et les stilbènes (**Boros, 2010**). En plus de cette diversité, les phénols sont présents naturellement sous forme conjuguée : avec des sucres, des acides organiques, entre eux.

Les polyphénols sont répartis en plusieurs classes :

- Les phénols simples (C₆): un seul noyau phénol comme pour les acides phénoliques (C₆-C₁).
- Les flavonoïdes (C₆-C₃-C₆): 2 noyaux aromatiques reliés par un hétérocycle oxygéné.
- Les tanins hydrolysable et non-hydrolysable.
- Les stilbènes (C₆-C₂-C₆).
- Les lignanes, les lignines et les coumestanes : 2 unités de phénylpropane.
- Autres phytoestrogènes
- Les saponines (triterpénoïdes)
- Les phytostérols et les phytostanols (**Paraskevi, Moutsatsou, 2007**). Bien qu'ils ne soient pas des polyphénols, on ajoute ordinairement à cette liste les isothiocyanates, qui dérivent de l'hydrolyse des glucosinolates (**Dacosta, 2003**).

10.3. Biosynthèse

Les polyphénols sont synthétisés par de deux voies biosynthétiques :

- ✓ La voie de l'acide shikimique, qui conduit aux acides cinnamiques et à leurs nombreux dérivés tels que les acides benzoïques ou les phénols simples après transamination et désamination (**Knaggs, 2003**).
- ✓ La voie issue de l'acétate, qui conduit à des poly β-coesters (polyacétates) de longueur variable menant par cyclisation à des composés polycycliques tels que les dihydroxy-1,8 anthraquinones ou les naphthoquinones (**Bruneton, 1999**).

De plus la diversité structurale des composés polyphénoliques due à cette double origine biosynthétique, est encore accrue par la possibilité d'une participation simultanée des deux voies dans l'élaboration de composés d'origine mixte, les flavonoïdes (**Martin et Andriantsitohaina, 2002**).

10.4. Rôles des polyphénols dans les plantes

Les flavonoïdes sont responsables de la coloration des fleurs et des fruits qui couvrent une large gamme de couleur allant du rouge au violet en passant par le jaune. Leur couleur dépend de

leur structure, mais aussi de l'acidité du milieu (**Bruneton, 1999**). Ils repoussent certains insectes par leur goût désagréable, peuvent jouer un rôle dans la protection des plantes.

Ils ont des propriétés intéressantes dans le contrôle de la croissance et du développement des plantes en interagissant d'une manière complexe avec diverses hormones végétales de croissance.

Certains d'entre eux jouent également un rôle de phytoalexines, c'est-à-dire des métabolites que la plante synthétise en grande quantité pour lutter contre une infection causée par des champignons ou par des bactéries (**Ghedadba et al., 2015**).

De plus ils sont impliqués dans la photosensibilisation, la morphogenèse, la détermination sexuelle, la photosynthèse et la régulation des hormones de croissance des plantes (**Lhuillier, 2007**).

CHAPITRE II : Généralité sur la toxicité



Figure 9 : Un principe naturel et médicinal selon Paracelse

1. Histoire de la toxicologie (Fig 9)

On s'accorde généralement pour donner au mot toxicologie une origine grecque (toxicon) qui signifie 'poison'.

Paracelse, était un médecin philosophe du XVIe siècle, il est considéré comme le « père de la toxicologie ». Certaines de ses observations telles que la thérapie de la syphilis à base de mercure, qui, mal dosé, tue. On sait aujourd'hui, grâce à sa théorie que c'est « Tout est poison, rien n'est poison, seule la dose fait le poison », a dit Paracelse au 15e siècle. Toutefois, certaines substances, comme l'arsenic, le cyanure, le sarin ou encore les curares, se révèlent très rapidement mortelles, même à dose infime. (Viau & Tardif, 2003)

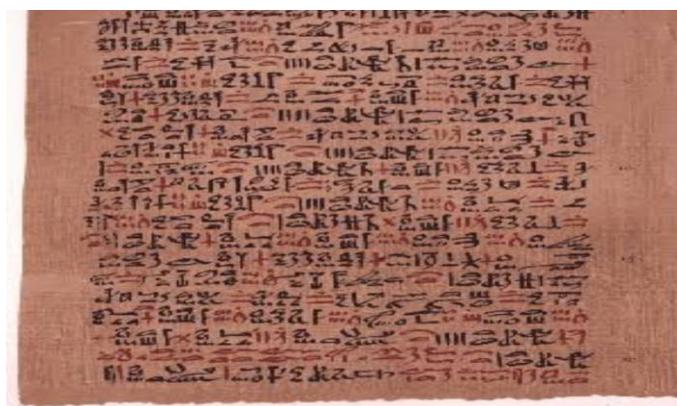


Figure 10 : page du papyrus d'Ebers (NLM National Library of Medicine, 2015)

2. Définitions

- ❖ **Un toxique** : est tout agent physique ou chimique qui provoque des nocifs chez un organisme vivant. **(June. 2018)**

- ❖ **Dose** : Quantité d'un composé, qui est introduit dans l'organisme (donnée le plus souvent en mg/kg de poids du corps) **(Rolf Nieder et al. 2018)**

- ❖ **Une intoxication** : est l'action produite par un toxique après pénétration dans l'organisme que ce soit à une dose élevée en une ou plusieurs fois très rapprochées ou par petites doses répétées pendant une durée de temps longue et qui provoque immédiatement ou à terme par exemple, la mort. **(June. 2018)**

- ❖ **La toxicité** : Les toxiques ne présentent pas tous le même degré de toxicité. Certains ont une faible toxicité, même si on les absorbe en grande quantité, par exemple le sel de table, tandis que d'autres ont une forte toxicité, même si on en absorbe de faibles quantités, notamment les dioxines. On peut en partie expliquer de telles variations par les différences qui existent entre la structure chimique des substances. Ces différences peuvent affecter la capacité des substances à perturber le fonctionnement de l'organisme. De plus, les caractéristiques physico-chimiques, par exemple la grosseur des poussières, la volatilité et la solubilité dans l'eau, interviennent également dans la réponse toxique **(Gilles Lapointe, 2004)**

- ❖ **Un poison** : est un toxique qui agit à des doses très faibles **(June. 2018)**

- ❖ **La toxicocinétique** : est l'étude du devenir d'un toxique dans l'organisme. **(June. 2018)**

3. Les formes d'intoxication (Fig 10), Tableau 4

On distingue classiquement quatre formes essentielles de toxicité : la toxicité aiguë, la toxicité à court terme (subaiguë ou sub-chronique) et la toxicité à long terme (ou chronique). Si la toxicité est une propriété inhérente à la substance, d'autres facteurs peuvent intervenir pour en moduler la nature et l'étendue (Walum, 1998)

Tableau 4 :la durée de l'exposition (June 2018)

Forme d'intoxication	Fréquence d'administration	Durée d'exposition
Aiguë	Unique	< 24 heures
Sub aiguë	répétée	≤ 1 mois
Sub chronique	répétée	De 1à3 mois
Chronique	répétée	> 3 mois

3.1.La toxicité aiguë Tableau 5

Est habituellement définie comme l'ensemble des effets néfastes se produisant immédiatement ou peu de temps après une exposition unique ou répétée sur une période de moins de 24 heures à une ou plusieurs substances (Walum, 1998). Le terme toxicité orale aiguë est plus souvent utilisé en liaison avec les déterminations de la létalité et de la DL₅₀. La DL₅₀ est un terme qui a été introduit et développé par Trevan en 1927. Elle est définie comme la dose déterminée statistiquement qui, lorsqu'elle est administrée dans un test de toxicité aiguë, est susceptible de causer la mort de 50% des animaux traités sur une période donnée (Oliver, 1986)

Tableau 5 : Echelle de la classification des substances toxiques chez les rongeurs (Hodge et Sterner ,1949)

DL50 Orale	Indice de toxicité
Jusqu'à 1mg/kg	Extrêmement toxique
1 à 50mg/kg	Hautement toxique
50 à 500mg/kg	Modérément toxique
500 à 5000mg/kg	Légèrement toxique
5000 à 15000mg/kg	Presque pas toxique
Plus de 15000mg/kg	Relativement inoffensif

3.2.La toxicité subaiguë

Diffère de la toxicité aiguë par le fait qu'une proportion significative de la population peut survivre à l'intoxication, bien que tous les individus aient présenté des indices cliniques se

créant à court terme sur des organes cibles, parfois réversibles et découlant de l'absorption répété du toxique, mais à des doses faibles que celles de la toxicité aigüe (**Hodge. 1943**)

3.3.La toxicité chronique

La toxicité chronique regroupe l'ensemble des effets délétères qui touchent un organisme vivant suite à une exposition ou à une administration réitérée d'un toxique à des doses multiples non létales. Ces des individuellement sont insuffisantes pour provoquer un effet immédiat. L'exposition doit être répétée sur une longue période pour causer des effets néfastes. L'apparition de ces effets est souvent insidieuse de manifestation brutale sans aucun symptôme alarmant, elle peut être réversible ou irréversible. Il se peut qu'il y ait une sommation se doses absorbées jusqu'à atteindre la dose seuil (c'est le cas de toxiques dont les effets sont dus à l'accumulation des doses comme le Pb- saturnisme). Il se peut qu'il y ait sommation des effets comme dans le cas des substances irritantes ou le cas du tabagisme passif et l'intoxication chronique ou CO, ou encore les mutagènes (c'est le cas de toxiques dont les effets sont cumulatifs). (**June 2018**)

3.4. La toxicité sub-chronique

Lors de la toxicité sub-chronique, le xénobiotique est administré plusieurs fois pendant une période plus longue, de 28 à 90 jours. On cherche à définir les organes et les fonctions touchées par ce toxique. Pour une dose déterminée, l'effet attendu peut manifester immédiatement ou avec retard (**Hodge. 1943**)

		EFFET	
		AIGU	CHRONIQUE
EXPOSITION	AIGUË	<p>Effet à court terme à la suite d'une exposition à court terme (ex. : irritation cutanée causée par le contact avec une solution très diluée d'acide sulfurique)</p>	<p>Effet à long terme à la suite d'une exposition à court terme (ex. : trouble respiratoire persistant à la suite d'une courte inhalation d'une forte concentration de chlore)</p>
	CHRONIQUE	<p>Effet à court terme à la suite d'une exposition à long terme (ex. : sensibilisation cutanée à l'éthylènediamine à la suite d'un contact pendant plusieurs années)</p>	<p>Effet à long terme à la suite d'une exposition à long terme (ex. : cancer du foie, du poumon, du cerveau et du système hématopoïétique causé par l'exposition à des doses élevées de chlorure de vinyle pendant plusieurs années)</p>

Figure 11 : comparaison entre l'exposition aiguë ou chronique et l'effet aiguë ou chronique (NOTIONS DE TOXICOLOGIE. 2004)

4. Devenir du toxique dans l'organisme (Fig 11)

Un produit qui pénètre dans l'organisme peut avoir des effets bénéfiques (médicaments) ou néfastes (toxiques). Inversement, l'organisme peut agir sur ce produit : c'est ce qu'on appelle le métabolisme. La réponse de l'organisme à un toxique dépend, entre autres, de la quantité du produit présent dans un tissu ou un organe. Plusieurs facteurs interviennent dans les processus d'action toxique, notamment les phases toxico dynamiques et toxico cinétiques (**Hodgson, 2010**)

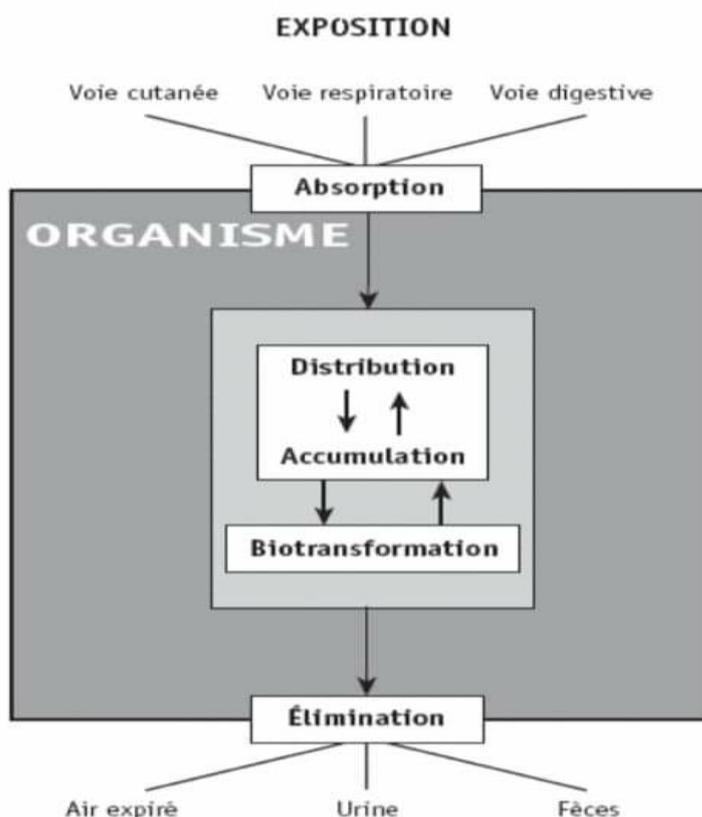


Figure 12 :Cheminement d'un produit dans l'organisme (Gilles Lapointe, 2004)

4.1. Absorption / résorption

Passage du toxique depuis son site d'administration jusqu'au sang :

- Voie pulmonaire
- Voie cutanée
- Voie parentérale

La plupart des xénobiotiques exercent leur toxicité après avoir pénétré l'organisme.

L'absorption est le processus par lequel les xénobiotiques atteignent la circulation sanguine après avoir traversé des membranes ou barrières biologiques (**Viau & Tardif, 2003**)

4.2. Distribution

Après avoir atteint la circulation sanguine, le produit peut être transporté dans tout l'organisme. C'est ce qu'on appelle la distribution. Il va soit exercer sa toxicité, ou va être stockés ou alors, il va être carrément éliminé (**Viau & Tardif. 2003**)

4.3. Biotransformation (métabolisme)

La biotransformation désigne l'ensemble des réactions qui résultent en des modifications, par l'intermédiaire d'enzymes, de la structure chimique d'un xénobiotique. Ces réactions ont pour effet de rendre les xénobiotiques, qui sont plutôt liposolubles au départ, plus polaires (ionisables), les rendant plus solubles dans l'eau et ainsi plus facilement excrétables dans l'urine. Le foie est le principal organe impliqué dans la biotransformation des xénobiotiques, bien que la peau, le rein, la muqueuse intestinale et le poumon, pour ne nommer que ceux-là, puissent également bio transformer (métaboliser) certaines substances. En règle générale, les réactions de biotransformation ont pour effet de diminuer, voire d'annuler complètement, la toxicité d'un xénobiotique (détoxication). (**Viau & Tardif. 2003**)

4.4. Excrétion

Le processus d'excrétion conduit à une élimination définitive d'une substance hors de l'organisme. Les substances mères et leurs métabolites sont alors principalement éliminées par le rein dans l'urine, par la bile (fèces), par les poumons dans l'air exhalé, par le lait, la salive et parfois même les phanères (cheveux, ongles). Les mécanismes de transfert transmembranaires impliqués dans l'excrétion des xénobiotiques et de leur(s) métabolite(s) sont ceux décrits plus haut : diffusion passive, filtration et transport actif. (**Viau C &Tardif R.2003**)

4.5. Élimination

Étape finale du devenir du toxique dans l'organisme

Au niveau rénal +++ (molécules hydrosolubles) Soit au niveau biliaire (molécules de haut PM, non hydrosolubles). (**Viau &Tardif 2003**)

5. La toxicité du Safran

Des doses massives de safran seraient toxiques (1,5g/kg et plus) .la dose létale est de 20g.

Le safran est contre-indiqué chez les sujets allergiques au safran et à ses composants (**wichtl M,anton R.1999**)

5.1. Effets secondaire :

Au -déjà de la dose 1,5g ont été rapporté des troubles de la coagulation sanguine (épistaxis, saignement des lèvres et des paupières, hémorragies utérines), des troubles digestifs (vomissements, diarrhées sanguinolentes). Une hématurie, des vertiges, des engourdissements, une coloration jaune de la peau et des muqueuses. Des modifications des paramètres hématologiques et de la pression artérielle ont également été rapportées. **(wichtl M,anton R.1999)**

5.2. Principales indications de la toxicité du safran :

- En relations avec ses activités sur le système nerveux central :

Dépression légère à modérée.

Troubles cognitifs de la personne âgée : troubles de la mémoire, déclin cognitif lié à l'Age sujets à risque de maladies neurodégénératives (Alzheimer...)

- En relation avec ses activités protectrices des différents tissus de l'œil :

La rétinite pigmentaire débutante

Trouble de la vision noctule

Prévention et stabilisation de la cataracte débutante

Prévention et stabilisation de la DMLA

- En relation avec ses activités sur le dysfonctionnement sexuel masculin :

La dysfonction érectile.

La dysfonction érectile iatrogène (ex : antidépresseur).

- En relation avec ses activités sur le système cardiovasculaire :

Effet cardioprotecteur

- En relation avec ses activités sur le métabolisme gluco-lipidique :

Le syndrome métabolique (hyperinsulinisme, troubles lipidique HTA).

Le syndrome métabolique lié à la prise de médicaments (antidépresseur).

Post -infarctus.

Hypercholestérolémie en association avec des conseils alimentaires. **(wichtl M,anton R.1999)**

Chapitre III : Matériels et Méthodes

1. Matériel Végétal

Notre travail porte sur l'estimation de la toxicité subaiguë du *Crocus sativus* L, une plante locale de la région d'Ain Fezza, djebel zaafran, Daïra de Tlemcen, Wilaya de Tlemcen. Le matériel végétal constitué des parties aériennes de la plante (pétales). Après séchage à une température ambiante 22°C et à l'abri de l'illumination solaire (pour préserver l'intégrité de sa composition chimique), le matériel est entreposé à l'abri de la lumière et de l'humidité en vue des différents dosages.

2. Extraction de l'extrait brut de *Crocus sativus*

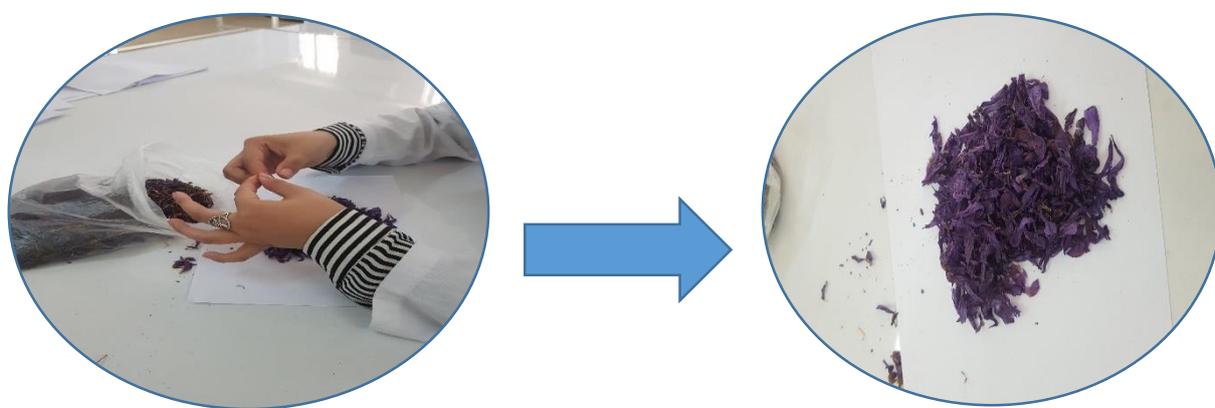


Figure 13 : des pétales secs

2.1. Séchage et broyage des pétales (Fig 13)

Les pétales de *Crocus sativus* ont été asséchés dans l'étuve à une température de (45°C) pendant 20 min. ensuite broyées finement à l'aide d'un broyeur électrique pour obtenir une poudre fine



Figure 14 : Broyage des pétales secs

2.2. Macération sous agitation

Dans un Erlenmeyer, poser 5g du matériel végétal séché et broyé avec 100 ml d'eau distillée + Méthanol (30V/70V), sous agitation à l'obscurité, à une température ambiante pendant 24h



Figure 15 : Solution de pétales du safran

2.3. Filtration

La solution remportée est filtrée sur papier filtre



Figure 16 : Filtration de solution de pétales du safran

2.4. Evaporation

Evaporation à sec du filtrat à 45°C



Figure17 : évaporation à sec de l'extrait

2.5. Séchage :

Poser l'extrait dans l'étuve à 40°C pour récupérer un extrait sec des pétales (environ 48h)

2.6. Calcul du rendement

- Le rendement en extrait sec obtenu après évaporation est calculé selon le rapport suivant :

$$\text{Rendement (\%)} = M1/M2 \times 100$$

Rendement exprimé en (%).

M1 : masse en gramme de l'extrait sec récupéré.

M2 : masse en gramme du matériel végétal.

3. Etude de la toxicité sub-aigüe du crocus sativus

L'évaluation de la toxicité sub aigüe de l'extrait des pétales du *Crocus sativus* a été effectuée sur des rats femelles de type *Wistar albinos* selon un protocole expérimental réalisé avec la

doctorante au sein du laboratoire de Physiologie, Physiopathologie, et Biochimie de la Nutrition (PPABIONUT), Université Abou BekrBelkaïd (Tlemcen).

3.1. Répartition des rats sur différents lots :

Afin d'étudier l'effet de la toxicité sub-aigüe, 6 lots de 3 rats chacun ont été employés dans cette expérience :

- ❖ Lot témoin : 3 rats témoins gavé par l'eau physiologique.
- ❖ Lot 1 : 3 rats traités par l'extrait de pétales du safran 1000 mg/kg.
- ❖ Lot 2 : 3 rats traités par l'extrait de pétales du safran 250 mg/kg.
- ❖ Lot 3 : 3 rats traités par l'extrait de pétales du safran 62.5 mg/kg
- ❖ Lot 4 : 3 rats traités par l'extrait de pétales du safran 15.62 mg/kg
- ❖ Lot 5 : 3 rats traités par l'extrait de pétales du safran 1.56 mg/kg

4. Dosages des paramètres biochimiques plasmatiques

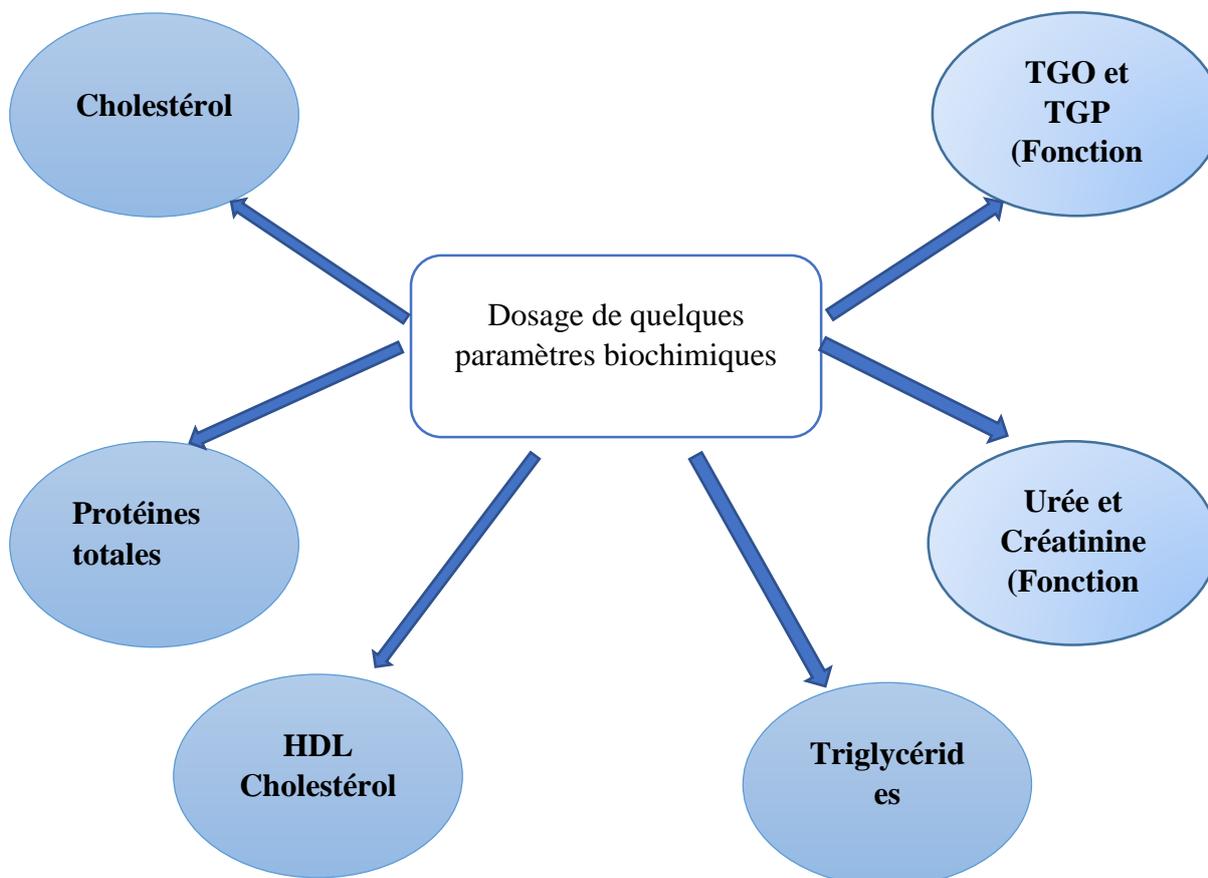


Figure 18 : schéma représentatif des dosages des paramètres biochimiques

4.1. Etude de la fonction rénale

4.1.1. Détermination des teneurs plasmatiques en créatinine (Kit Spinreact) PRINCIPE DE LA METHODE

Le test est basé sur la réaction de la créatinine avec le picrate de sodium comme décrit par Jaffé.

La créatinine réagit avec le picrate alcalin en formant un complexe rouge.

L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la créatinine dans l'échantillon1.

Réactifs

R1 Réactif picrique	Acide picrique 17,5mmol/L
R2 Réactif alcalinisant	Hydroxyde de sodium 0,29mmol/L
Créatinine CAL	Standard primaire de créatinine aqueuse 2mg/dl

Conditions de test :

- Longueur d'onde492(490-510).
- Cuvette1cm d'éclairage.
- Température.....37°/15-25°C.

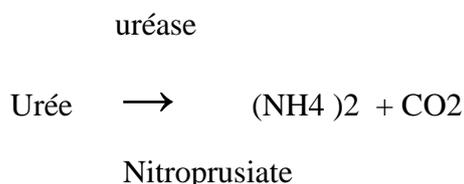


Figure 19 : Spectrophotomètre utilisé

4.1.2. Détermination des teneurs plasmatiques en urée (Kit Spinreact)

PRINCIPE DE LA METHODE

L'uréase catalyse l'hémolyse de l'urée, présente dans l'échantillon, en ammoniac (NH₃) et en anhydride carbonique (CO₂). Les ions ammonie réagis avec salicylate et hypochlorite (ClONa), en présence du catalyseur nitroprusiate, pour former un indophénol vert :



L'intensité de couleur formé est proportionnel à la concentration d'urée en le test a diminution de la concentration de NAD⁺ dans la méthode est proportionnelle à la concentration d'urée dans l'échantillon testé.

Réactifs

R1Tampon	Phosphate ph 6,7 EDTA Salicylate de sodium Nitroprussiate de sodium	(50 mmol/L) (2 mmol/L) (400 mmol/L) (10 mmol/L)
R2NaCl	Hypochlorite de sodium (NaCl) Hydroxyde de sodium	(140 mmol/L) (150mmol/L)
R3Enzymes	Uréase	(30000 U/L)
Urée CAL	urée étalon primaire aqueux	(50 mg / dl)

Conditions d'essai

- Longueur d'onde580nm
- Cuvette.....1 cm d'éclairage.
- Température37°C/15-25°C

4.2. Etude de la fonction hépatique

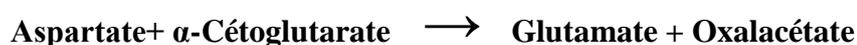
4.2.1. Détermination des teneurs plasmatiques en TGO (Transaminase Glutamo-oxalo-acétique) (Kit Spinreact)

PRINCIPE DE LA METHODE

Transaminase Glutamo-oxalo-acétique (TGO) catalyse le transfert réversible d'un groupe amine de l'aspartate à l'acide α -cétoglutarique en formant l'acide glutamique et l'acide oxaloacétique.

L'acide oxaloacétique produit est réduit en Malate par Malate déshydrogénase (MDH) et NADH.

AST



Le taux de diminution de la concentration de NADH, Mesuré photo métriquement, est proportionnel à la concentration d'AST présente dans l'échantillon.

Réactifs

R1 Tampon	-TRIS pH7.8 -L-Aspartate	(80 mmol/L) (200 mmol/L)
R2 substrat	-NADH -Lactate déshydrogénase -MDH - α -cétoglutarate	(0.18mmol/L) (800U/L) (600U/L) (12mmol/L)

Les conditions du test

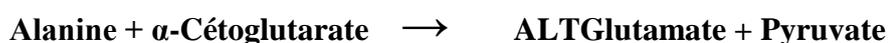
- Longueur d'ondes:340 nm
- Cuvette:1 cm d'éclairage
- Température25°C/30°C/37°C

4.2.2. Détermination des teneurs plasmatiques en TGP (Transaminase Glutamato-pyruvique)

PRINCIPE DE LA METHODE

L'alanine amino transférase (ALT) initialement appelée transaminase glutamique pyruvique (GPT) catalyse le transfert réversible d'un groupe animique d'alanine vers l'alpha-cétoglutarate à formation de glutamate et de pyruvate. Le pyruvate produit est réduit en lactate en présence de lactate déshydrogénase (LDH) et NADH

ALT



LDH



La vitesse de réduction de la concentration en NADH au centre, déterminée photométriquement, est proportionnelle à la concentration catalytique d'ALT dans l'échantillon.

Réactifs

Réactif 1	TRIS pH 7,8	(100 mmol/L)
	Lactate déshydrogénase (LDH)	(1200U/L)
	L-Alanine 100	(500mmol/L)
Réactif 2	NADH	(0,18 mmol/L)
	α-Cétoglutarate	(15mmol/L)

Conditions de test

- Longueur d'ondes:340 nm
- Cuvette:.....1 cm d'éclairage
- Température:25°C/30°C/37°C
-

4.3. Détermination des teneurs plasmatiques en HDL Cholestérol (Kit Spinreact)

PRINCIPE DE LA METHODE

Détermination directe de HDL (cholestérol de lipoprotéines de haute densité) sans besoin de prétraitement ou centrifugation de l'échantillon.

La détermination est réalisée en deux étapes :

1° Elimination de lipoprotéines non-HDL

2° Mesure de HDL

Réactifs

R1	N,N-bis (2-hydroxyéthyl)-2-Acide Aminoéthanesulfonique pH 6,6 (100 mM) N-(2-hydroxy-3-sulfopropyl)-3,5-dimethoxyaniline (HDAOS) (0.7 mM) Cholestérol estérase (≥800 U/L) Cholestérol oxydase (≥ 500U/L) Catalase (≥300 U/L) Ascorbique oxydase (≥3000 U/L)
R2	N,N-bis (2-hydroxyéthyl)-2-Acide Aminoéthanesulfonique pH 7,0 (100 mM) 4 – Aminoantipyrine (4 mM) Péroxydase (≥ 3500 U/L)
HDLc/ LDLc CAL	Calibrateur. Sérum humain lyophilisé.

Conditions de test

- Longueur d’ondes : 600-700 nm
- Cuvette : 1 cm d’éclairage
- Température 37°C

4.4. Détermination des teneurs plasmatiques en cholestérol total (Kit Spinreact)

Le cholestérol présent dans l’échantillon donne lieu à un composé coloré, suivant la réaction suivante :



L’intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de cholestérol présent dans l’échantillon testé1, 2.

Réactifs

R 1 Tampon	PIPES pH 6,9 (90 mmol/L) Phénol (26 mmol/L)
R 2 Enzymes	Cholestérol estérase (CHE) (300 U/L) Cholestérol oxydase (CHOD) (300 U/L) Peroxydase (POD) (1250 U/L) 4 - Aminophénazone (4-AF) (0,4mmol/L)

CHOLESTEROL CAL	Patron primaire de détection du cholestérol 200 mg/dL. Contient Triton X-114 10-15%.
------------------------	--

Conditions de test

- Longueur d’ondes : 505 nm (500-550)
- Cuvette : 1 cm d’éclairage
- Température : 37°C/15-25°C

4.5. Détermination des teneurs plasmatiques en triglycérides (Kit Spinreact)

Les triglycérides incubés avec de la lipoprotéine lipase (LPL) libèrent du glycérol et des acides gras libres. Le glycérol est phosphorylé par du glycérophosphate déshydrogénase (GPO) et de l’ATP en présence de glycérol kinase (GK) pour produire du glycérol-3-phosphate (G3P) et de l’adénosine-5-di phosphate (ADP). Le G3P est alors transformé en dihydroxiacétone phosphate (DAP) et en peroxyde d’hydrogène (H2O2) par le GPO.

Au final, le peroxyde d’hydrogène (H2O2) réagit avec du 4-aminophénazone (4-AF) et du p-chlorophénol, réaction catalysée par la peroxydase (POD), ce qui donne une couleur rouge

LPL



Glycérolkinase



POD



L’intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de triglycérides présents dans l’échantillon testé.

Réactifs

R 1	GOOD pH 7,5	(50 mmol/L)
Tampon	p-Chlorophénol	(2 mmol/L)
R 2	Lipoprotéine lipase (LPL)	(150000 U/L)
Enzymes	Glycérol kinase (GK)	(500 U/L)
	Glycérol-3-oxydase (GPO)	(2500 U/L)
	Peroxydase(POD)	(440 U/L)
	4 – Aminophénazone (4-AF)	(0,1 mmol/L)

	ATP (0,1 mmol/L)
TRIGLYCERIDES CAL	Patron primaire de détection de triglycérides (200mg/dL)

Conditions de test

- Longueur d'ondes : 505 nm (490-550)
- Cuvette : 1 cm d'éclairage
- Température 37°C/.15-25°C

4.6. Détermination des teneurs plasmatiques en protéines totales (Kit Spinreact)

En milieu alcalin, les protéines donnent une couleur violette/bleue en présence de sels de cuivre ; ces sels contiennent de l'iodure qui agit comme un antioxydant. L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de protéines totales dans l'échantillon testé^{1, 4}.

Réactifs

Réactifs	Tartrate de potassium de sodium (15 mmol/L)
	Iodure de sodium (100 mmol/L)
	Iodure de potassium (5 mmol/L)
	Sulfate de cuivre (II) (5 mmol/L)
	Hydroxyde de sodium (1000 mmol/L)
T PROTEIN CAL	Patron primaire d'albumine bovine 7 g/dL

Conditions de test

- Longueur d'ondes : 540 nm (530-550)
- Cuvette : 1 cm d'éclairage
- Température : 37°C/.15-25°C

3. Analyse statistique :

Les résultats obtenus sont présentés sous forme des moyennes ± écart type. Après vérifications de la distribution normal des variables (test de Shapiro- Wilk), la comparaison des moyennes

entre les 6 lots (lots témoin, 1.56mg/kg,15.62mg/kg,62.5mg/kg,250mg/kg,1000mg/kg) est réalisée par le test ANOVA à un facteur. Cette analyse est complétée par le test de Tukey afin de classer et comparer les moyennes deux à deux ...($p < 0.05$)

CHAPITRE IV : Résultats et discussions

1. Calcul du rendement

Les pourcentages en extrait brut ont été calculés par la formule suivante :

$$\text{Rendement (\%)} = M1/M2 \times 100$$

R : Rendement exprimé en %.

M1 : Masse en gramme de l'extrait sec résultant.

M2 : Masse en gramme du matériel végétal à traiter.

$$R = \frac{2.86}{5} \times 100 = 57.2\%$$

D'après les résultats obtenus, à partir de 5g de matière sèche de poudre de pétales de safran, on a récupéré 2.86g d'extrait hydro méthanolique, ce qui représente un rendement de 57.2%

2. Toxicité subaigüe

Afin d'étudier l'effet de la toxicité subaigüe, 6 lots de 3 rats chacun ont été employés dans cette expérience

2.1. Étude de mortalité

Tableau 06 : Mortalité après administration d'une dose unique de l'extrait brut des pétales de *Crocus sativus*.

Doses (mg/kg)	Mortalités	Latence de mortalités
1.56mg/kg	0/3	0
15.62mg/kg	0/3	0
62.5mg/kg	0/3	0
250mg/kg	0/3	0
1000mg/kg	0/3	0

Nous constatons que les doses de l'extrait de pétales de safran administré aux lots des rats (1.56mg/kg, 15.62mg/kg,62.5mg/kg,250mg/kg,1000mg/kg) ont été bien tolérées, d'ailleurs aucun cas de mortalité liée à la substance d'essai n'a été signalé. Si on revient à la classification de toxicité selon l'échelle de Hodge et Sterner chez les rats de laboratoire (Hodge et Sterner, 1949) et dont laquelle une DL50 orale ≥ 1000 mg/kg ($1000 < DL50 < 15000$ mg/ kg) signifie une substance presque non toxique, ce qui confirme que l'extrait testé lors de cette étude est presque non toxique. En raison de l'absence de mortalité, nous pouvons dire que la DL50 de l'extrait administré est largement supérieure à 1000mg/kg qui présent la dose d'essai.

2.2. Comportement des animaux et signes de toxicité subaiguë

Le tableau suivant représente le changement du comportement, ainsi que les symptômes manifestés par les rats durant les 28 jours d'observation qui suivent l'administration des doses testées.

Tableau 07 : Évaluation des comportements et symptômes des souris lors de l'étude de la toxicité subaiguë.

Symptômes	Lot témoin	Lots traités
Comportements	/	/
Anormaux	/	/
Coma	/	/
Tremblements	/	/
Somnolence	/	/
Peau et fourrure	Normal	Normal
Yeux	Normal	Normal
Muqueuse	Normal	Normal
Salivation	Normal	Normal
Léthargie	/	/
Diarrhée	/	/

Aucun changement de comportement au singe de toxicité n'a été observé.

3. Effets toxique du *Crocus sativus* sur les paramètres biochimiques chez les rats

3.1. Etude de la fonction rénale

3.1.1 Teneurs plasmatiques en urée (figure 19 et tableau A1 en annexe)

Les teneurs plasmatiques en urée, montrent une augmentation hautement significative chez les lots de rats traités par les doses 1.56mg/kg, 15.62mg/kg, 62.5mg/kg, 250mg/kg et 1000mg/kg comparées au lot témoin. Cette augmentation est d'autant plus importante aux doses 62.5mg/kg, 250mg/kg et 1000mg/kg comparées à celles de 15.62mg/kg, 62.5mg/kg et des rats témoins.

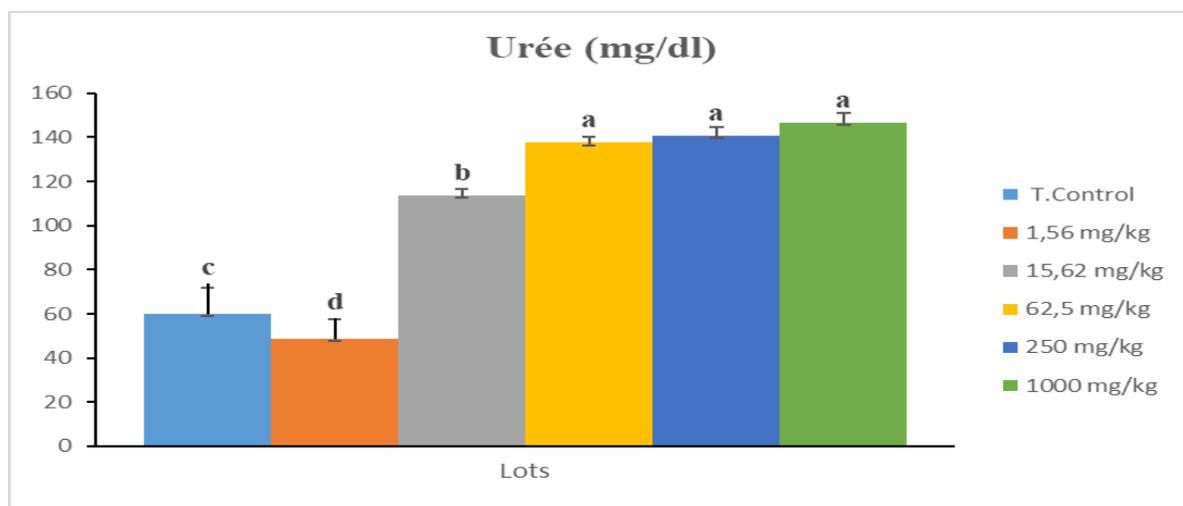


Figure 20 : Teneurs plasmatiques en urée mg/dl

Les valeurs sont présentées sous forme de moyennes \pm écart type, rats témoins et les rats traités par la doses 1.56mg/kg, rats traités par les dose 15.62mg/kg, rats traités par la dose 62.5mg/kg, rats traités par la dose 250mg/kg et 1000mg/kg.

On a effectué la comparaison des moyennes entre les différents lots des rats par le test ANOVA a un facteur, cette analyse est complétée par le test de Tukey afin de classer et comparer les moyennes deux à deux. Les moyennes indiquées par les lettres (a, b, c, d,.....) sont significativement différents $p < 0,05$.

3.1.2 Teneurs plasmatiques en créatinine (figure 20 et tableau A1 en annexe) Les teneurs plasmatiques en créatinine ne montrent aucune différence significative entre les différents lots des rats.

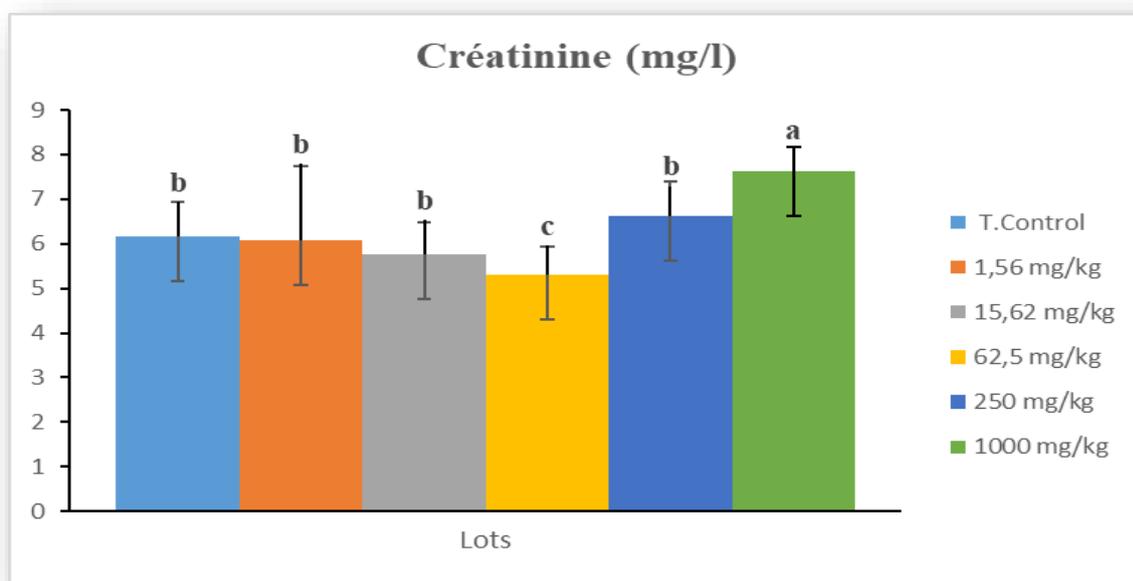


Figure 21 : Teneurs plasmatiques en créatinine

Les valeurs sont présentées sous forme de moyennes \pm écart type, rats témoins et les rats traités par la doses 1.56mg/kg, rats traités par les dose 15.62mg/kg, rats traités par la dose 62.5mg/kg, rats traités par la dose 250mg/kg et 1000mg/kg.

On a effectué la comparaison des moyennes entre les différents lots des rats par le test ANOVA a un facteur, cette analyse est complétée par le test de Tukey afin de classer et comparer les moyennes deux à deux. Les moyennes indiquées par les lettres (a, b, c, d,.....) sont significativement différents $p < 0,05$.

3.2. Etude de la fonction hépatique

3.2.1 Teneurs plasmatiques en transaminases (TGO) (figure 21 et tableau A2 en annexe)

On a noté une augmentation hautement significative des TGO chez les rats traités par les doses 1.56mg/kg, 15.62mg/kg, 62.5mg/kg, 250mg/kg comparés aux lots témoin et celui traité par la dose de 1000mg/kg. Cependant, aucune différence significative n'est notée entre les lots des rats traités par la dose 1000mg/kg par rapport au lot témoin.

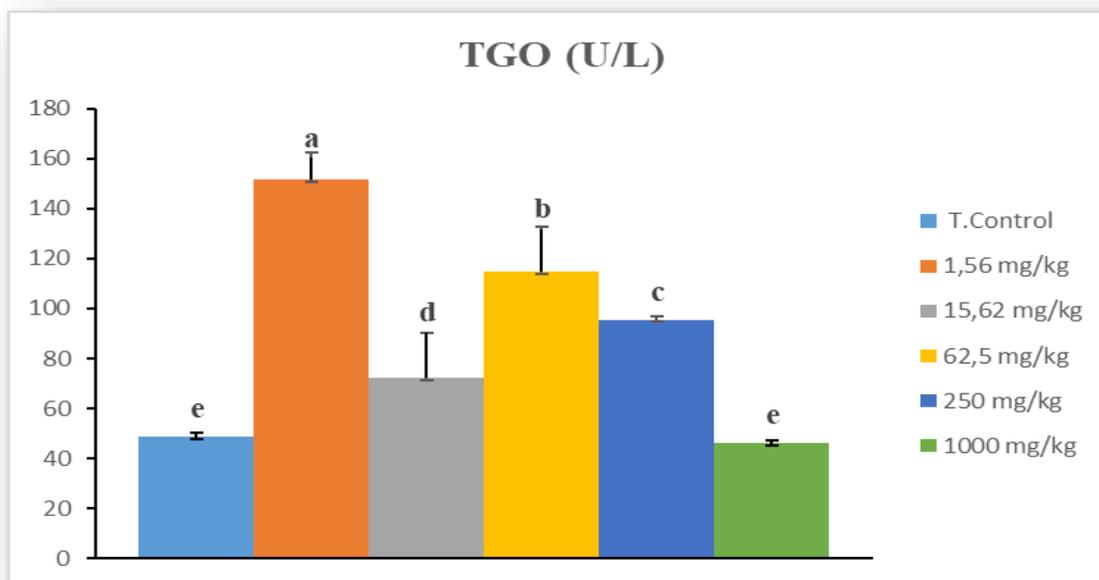


Figure 22: Teneurs plasmatiques en transaminases (TGO)

Les valeurs sont présentées sous forme de moyennes \pm écart type, rats témoins et les rats traités par la doses 1.56mg/kg, rats traités par les dose 15.62mg/kg, rats traités par la dose 62.5mg/kg, rats traités par la dose 250mg/kg et 1000mg/kg.

On a effectué la comparaison des moyennes entre les différents lots des rats par le test ANOVA a un facteur, cette analyse est complétée par le test de Tukey afin de classer et comparer les moyennes deux à deux. Les moyennes indiquées par les lettres (a, b, c, d,.....) sont significativement différents $p < 0,05$.

3.2.2 Teneurs plasmatiques en transaminases (TGP) (figure 22 et tableau A2 en annexe)

Les teneurs plasmatiques en TGP ont montré une augmentation hautement significative chez les rats traités aux doses 1.56mg/kg, 15.62mg/kg, 62.5mg/kg comparées aux lots : témoin, lot des rats traités par les doses 250 et 1000mg/kg. Aucune différence entre lot traité par la dose 250mg/kg et témoin, cependant la valeur des TGP du lot traité avec la dose de 1000mg/kg est significativement diminuée comparée à celle des témoins.

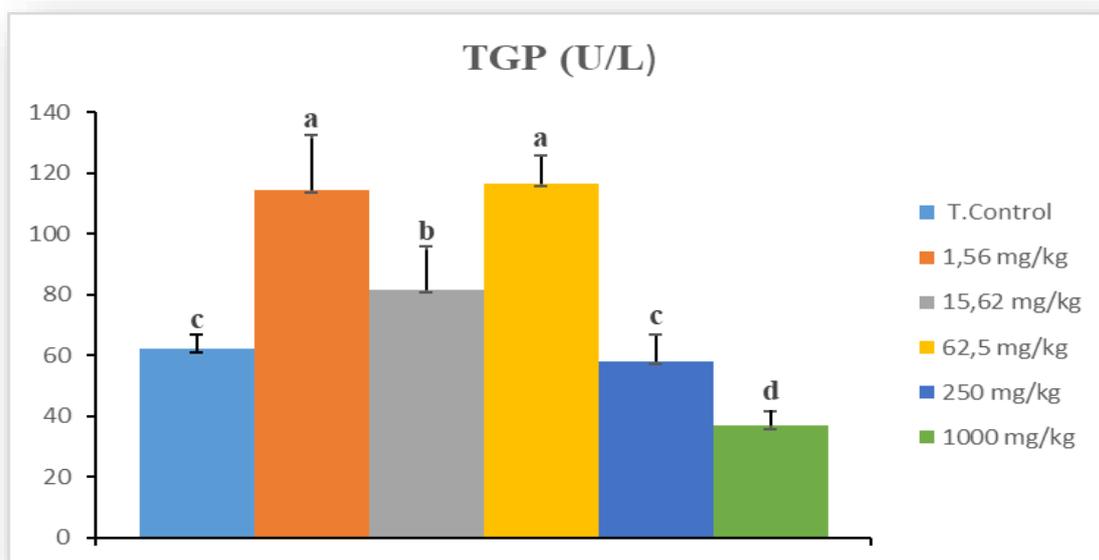


Figure 23 : Teneurs plasmatiques en transaminases (TGP)

Les valeurs sont présentées sous forme de moyennes \pm écart type, rats témoins et les rats traités par la doses 1.56mg/kg, rats traités par les dose 15.62mg/kg, rats traités par la dose 62.5mg/kg,rats traités par la dose 250mg/kg et 1000mg/kg.

On a effectué la comparaison des moyennes entre les différents lots des rats par le test ANOVA a un facteur, cette analyse est complétée par le test de Tukey afin de classer et comparer les moyennes deux à deux. Les moyennes indiquées par les lettres (a, b, c, d,.....) sont significativement différents $p < 0,05$.

3.3. Teneurs plasmatiques en HDL Cholestérol, cholestérol total et en triglycérides (figure 23, 24, 25 et tableau A3 en annexe)

Une augmentation significative des teneurs en HDL Cholestérol chez les lots de rats traités par les doses 15.62mg/kg et 62.5mg/kg comparées à ceux des témoins et des lots traités par les doses 1,56, 250 et 1000mg/kg. De plus, les lots traités avec les doses 250 et 1000mg/kg sont significativement diminués comparés aux témoins.

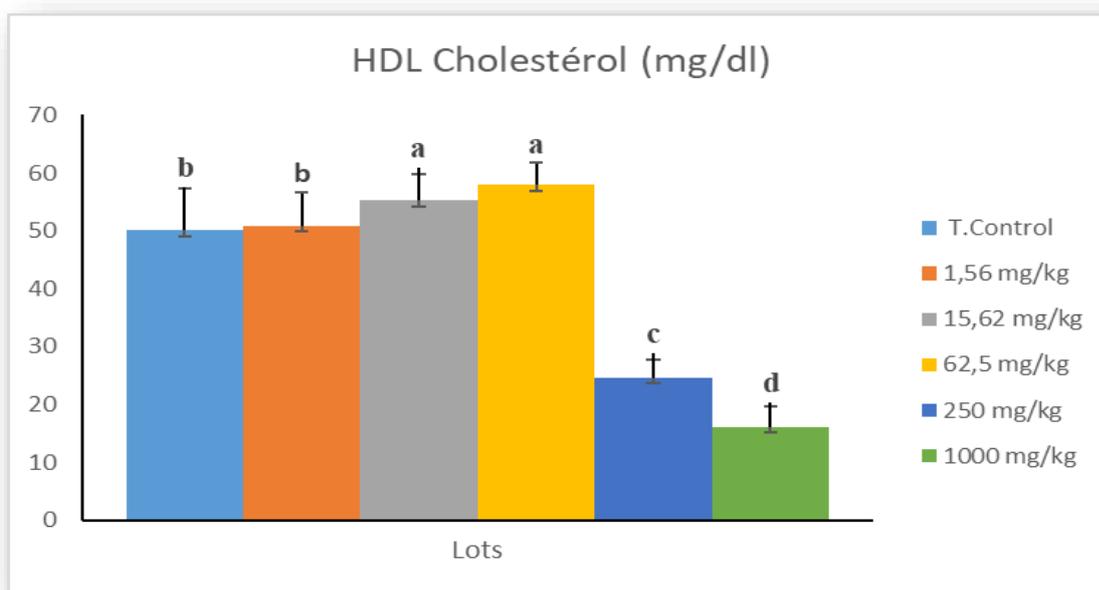


Figure 24 : Teneurs plasmatiques en HDL Cholestérol

Les valeurs sont présentées sous forme de moyennes \pm écart type, rats témoins et les rats traités par la doses 1.56mg/kg, rats traités par la dose 15.62mg/kg, rats traités par la dose 62.5mg/kg, rats traités par la dose 250mg/kg et 1000mg/kg.

On a effectué la comparaison des moyennes entre les différents lots des rats par le test ANOVA a un facteur, cette analyse est complétée par le test de Tukey afin de classer et comparer les moyennes deux à deux. Les moyennes indiquées par les lettres (a, b, c, d,.....) sont significativement différents $p < 0,05$.

Concernant les teneurs en cholestérol total, les résultats montrent une augmentation hautement significative chez le lot des ra traité par la dose 62.5mg/kg comparés au lot témoins et aux lots 1.56mg/kg, 15.62mg/kg, 250mg/kg et 1000mg/kg. Aucune différence significative n'est notée

entre les lots traités par les doses 15.62mg/kg, 250mg/kg et 1000mg/kg. De même, il est à noter qu'aucune différence entre le lot témoin et celui traité par 1,56mg/kg.

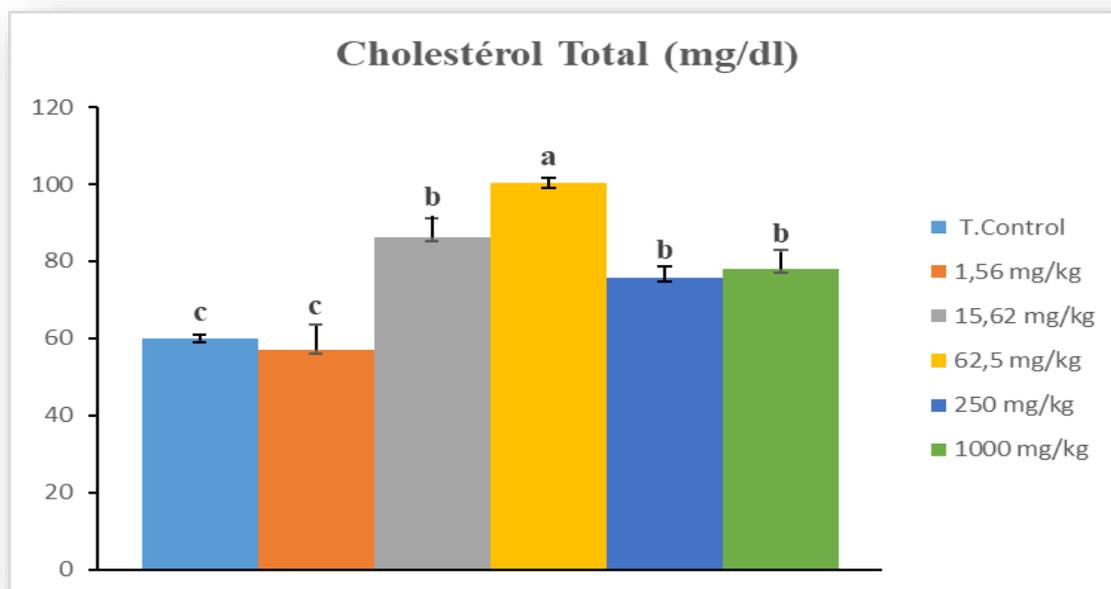


Figure 25 : Teneurs plasmatiques en Cholestérol total

Les valeurs sont présentées sous forme de moyennes \pm écart type, rats témoins et les rats traités par la doses 1.56mg/kg, rats traités par les dose 15.62mg/kg, rats traités par la dose 62.5mg/kg,rats traités par la dose 250mg/kg et 1000mg/kg.

On a effectué la comparaison des moyennes entre les différents lots des rats par le test ANOVA a un facteur, cette analyse est complétée par le test de Tukey afin de classer et comparer les moyennes deux à deux. Les moyennes indiquées par les lettres (a, b, c, d,.....) sont significativement différents $p < 0,05$.

Cependant les teneurs plasmatiques en triglycérides chez les lots des rats traités par les doses 1.56mg/kg, 15.62mg/kg, 62.5mg/kg, 250mg/kg et 1000mg/kg sont significativement diminuées par rapport au lot témoins.

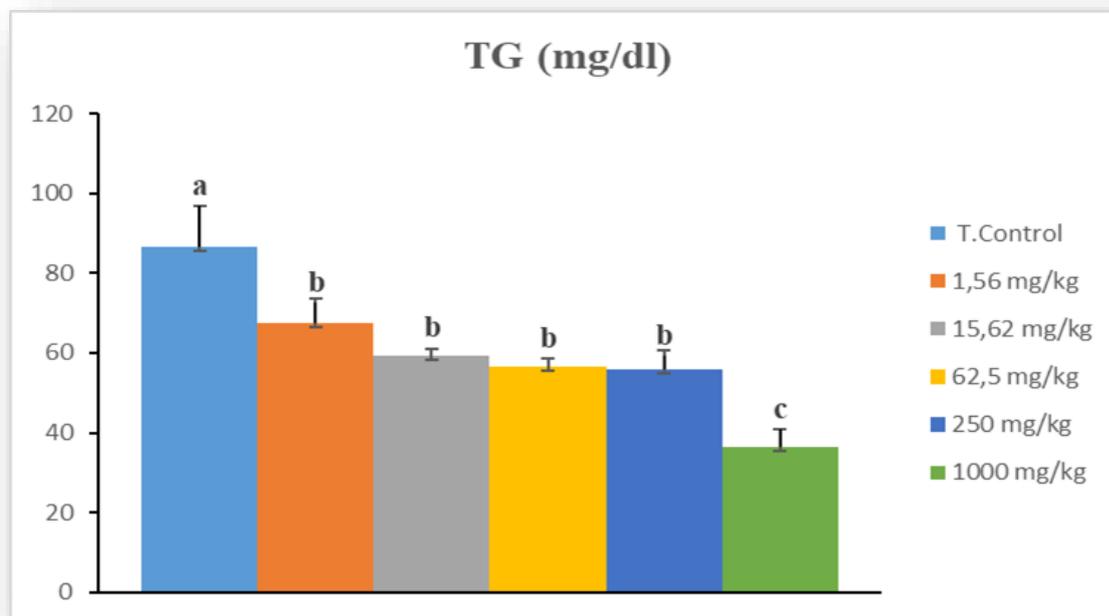


Figure 26 : Teneurs plasmatiques en Triglycérides

Les valeurs sont présentées sous forme de moyennes \pm écart type, rats témoins et les rats traités par la doses 1.56mg/kg, rats traités par les dose 15.62mg/kg, rats traités par la dose 62.5mg/kg,rats traités par la dose 250mg/kg et 1000mg/kg.

On a effectué la comparaison des moyennes entre les différents lots des rats par le test ANOVA a un facteur, cette analyse est complétée par le test de Tukey afin de classer et comparer les moyennes deux à deux. Les moyennes indiquées par les lettres (a, b, c, d,.....) sont significativement différents $p < 0,05$

3.4. Teneurs plasmatiques en protéines totales (figure 26 et tableau A4 en annexe)

Les teneurs plasmatiques en protéines totales sont significativement élevées chez le lot de rats traité par la dose 62.5mg/kg comparées aux autres lots étudiés. De plus, le lot traité a la dose de 15,62 présente une augmentation significative comparées au témoin et aux lots de 1,56, 62,5, 250 et 1000.mg/kg. Aucune différence significative n'est notée entre les témoins et les lots de rats traités par les doses 1.56mg/kg ,250mg/kg et 1000mg/kg.

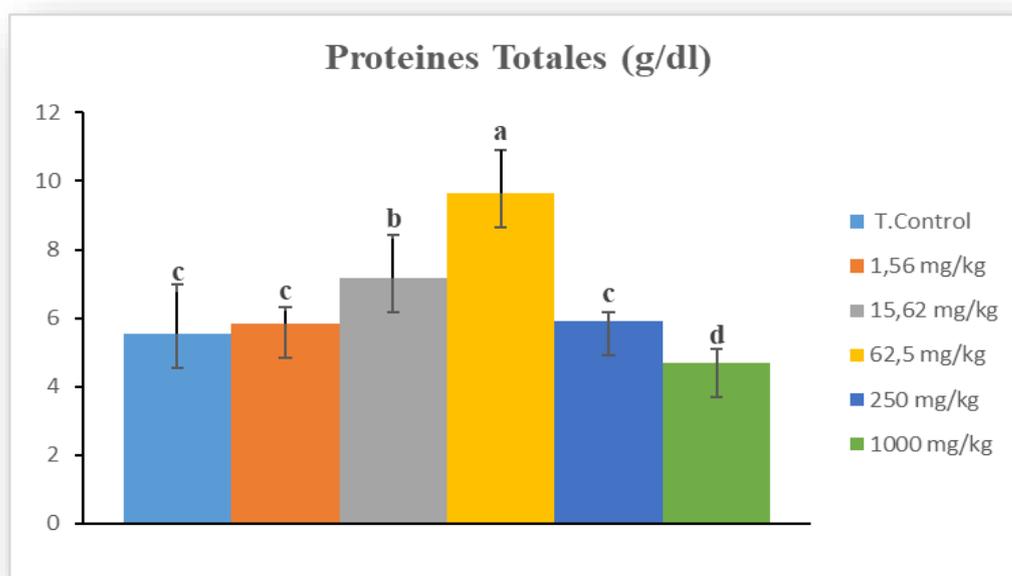


Figure 27 : Teneurs plasmatiques en protéines totales

Les valeurs sont présentées sous forme de moyennes \pm écart type, rats témoins et les rats traités par la doses 1.56mg/kg, rats traités par les dose 15.62mg/kg, rats traités par la dose 62.5mg/kg, rats traités par la dose 250mg/kg et 1000mg/kg.

On a effectué la comparaison des moyennes entre les différents lots des rats par le test ANOVA a un facteur, cette analyse est complétée par le test de Tukey afin de classer et comparer les moyennes deux à deux. Les moyennes indiquées par les lettres (a, b, c, d,.....) sont significativement différents $p < 0,05$.

II. Discussion

De nos jours, un grand nombre de plantes aromatiques et médicinales possède des propriétés biologiques très importantes qui trouvent de nombreuses applications dans divers domaines à savoir en médecine, en pharmacie, en cosmétologie et en agro-alimentaire. Un regain d'intérêt envers la phytothérapie durant ces dernières années a permis d'approfondir l'analyse de son efficacité thérapeutique et surtout de son aspect toxicologique (**De Smet PAGM, 1993**). Plusieurs études réalisées sur les traitements traditionnels à base de plantes ont fait état de problème de toxicité ou d'interaction pouvant causer des échecs thérapeutiques ou des accidents (**Hmamouchi, 1998**).

Selon l'OMS, dans certains pays en voie de développement d'Asie, d'Afrique et d'Amérique latine, 80% de la population dépend de la médecine traditionnelle surtout en milieu rural du fait l'accessibilité de ce type de soins au coût abordable et en raison du manque d'accès à la médecine moderne (**Békro et al., 1980 ; De Smet PAGM, 1998**). Différentes plantes peuvent être réputées à la fois comme toxiques et plantes médicinales. La mise en évidence de la toxicité de la phytothérapie n'est pas toujours aisée. Ainsi, d'après De Smet, pour avoir 95 chances sur cent d'observer 3 fois une réaction secondaire à la phytothérapie qui se traduit chez un patient sur 1000, un praticien doit avoir au moins 6500 patients (**Nortier & Vanherweghem, 2002**).

Crocus Sativus L fait vraiment partie des dix plantes médicinales les plus utilisées dans le monde. Le safran et ses composants sont largement utilisés comme épices et plantes médicinales dans la médecine populaire. Il est possible d'observer quelques rares effets secondaires à la suite de la consommation de safran. Le plus souvent, il s'agit d'une augmentation des quantités d'urine et de selles. D'une manière générale, le safran est une plante sécuritaire si on en a une consommation raisonnable et en cas d'absence de contre-indication (**Zeggwagh et al, 2013**).

Le safran, et plus précisément la crocine qu'il renferme, semble être sans danger aux dosages usuels. Cependant, il faut savoir que le safran peut devenir un narcotique à dose élevée, et même être considéré comme une drogue (**Moghaddasi, 2010**). À forte dose, il s'avère aussi toxique : il faut donc toujours veiller à respecter les doses journalières recommandées. C'est une plante qui est à éviter chez la femme enceinte : sa consommation est susceptible de provoquer l'avortement (**Tafazoli et al., 2004 ; Salari et al., 2004**).

De la même manière, les femmes allaitantes et les jeunes enfants se voient souvent déconseiller la consommation de safran. Dans une tout autre mesure, le safran peut être à l'origine de

l'inhibition de l'agrégation plaquettaire (**Liakopoulou-Kyriakides & Skubas. 1990**). Il est donc à éviter en cas de problème de santé ou de maladie liée à ce symptôme.

Dans ce contexte, l'évaluation de la toxicité subaiguë de l'extrait brut des pétales du *Crocus sativus* a été effectuée sur six lots de trois rats femelles de type Wistar albinos dont un lot témoin dosé par l'eau physiologique et cinq lots à des doses de 1.56mg/kg, 15.62mg/kg, 62.5mg/kg, 250mg/kg, 1000mg/kg selon un protocole expérimental réalisé avec la doctorante Melle Rouigeb Karima au sein du laboratoire de Physiologie, Physiopathologie, et Biochimie de la Nutrition (PPABIONUT), Université Abou BekrBelkaïd (Tlemcen). L'observation durant les 28jours n'ont marqué aucun cas de mort et aucun nouveau symptôme et changement de comportements chez les rats comparés aux témoins.

Les travaux de **Hosseinzadeh et al., 2011**, sur la toxicité orale subaiguë après environ 5 à 7 minutes de traitement, montrent que les animaux sont devenus excités et ont fait preuve d'hyperactivité ; cela a été suivi d'effets sédatifs, d'une relaxation et d'une diminution de l'activité locomotrice. De plus, l'asthénie, l'anorexie, une diminution de la consommation d'aliments et d'eau et une perte de poids ont été observées après le traitement oral, et ont été plus significatives à des doses plus élevées. À la fin de l'expérience, Les résultats de la toxicité subaigus ont indiqué une diminution du poids corporel. Elle peut être due à l'effet du safran sur la réduction de l'appétit qui conduit à une réduction de la consommation alimentaire (**Hosseinzadeh et al., 2011**)

Après sacrifice on a récolté le sang pour effectuer le dosage de quelques paramètres biochimiques (Urée, créatinine, TGO et TGP, HDL cholestérol, triglycéride et cholestérol). Les variations significatives de ces paramètres ont montré des troubles fonctionnels hépatiques et des anomalies au niveau du fonctionnement des reins.

Nos résultats montrent une augmentation de la concentration sérique en urée, en cholestérol et en HDL-cholestérol, alors que les triglycérides sont significativement diminués comparés aux témoins. Les concentrations de ces derniers sont dose dépendante. Cependant, nos résultats restent différents de ceux de **Hosseinzadeh et al., 2011** qui montrent que les taux en triglycérides sanguins ont diminué de manière significative dans les groupes testés par rapport au groupe de contrôle, ce qui indique que le safran a des effets hypolipidémiques. En outre, la réduction du cholestérol et des triglycérides dans le sang pourrait être liée à une diminution du poids corporel. (**Hosseinzadeh et al., 2011**)

L'étude réalisée par **Toktam Ziaee et al., 2014**, montrent que le poids corporel a été déterminé chaque semaine. Les animaux ont été observés pour leur comportement général et les signes d'anomalies pendant la durée de l'expérience.

L'administration de safran par voie sousaiguë (0,2 ml/kg/jour) n'a pas montré de différence significative dans certains profils biochimiques tels que le cholestérol total, le glucose sérique, la créatinine sérique, la bilirubine, l'AST et le LDH. Cependant, les niveaux de triglycérides et d'azote uréique sanguin ont montré une augmentation avec l'augmentation des concentrations des solutions de gavage. Des études de toxicité subaiguë ont montré que le safran pouvait augmenter la survie des rats, de sorte qu'aucune mortalité n'a été observée à la dose de 10 mg/kg. Comme pour les résultats de la toxicité aiguë (**Toktam Ziaee et al., 2014**).

Conclusion

La médecine traditionnelle peut être considérée comme partie intégrante des soins de santé primaire, pour améliorer l'accès aux soins. Pour cela, il faut évaluer l'efficacité clinique, assurer la sécurité des plantes médicinales, renforcer les connaissances et les performances des herboristes tradithérapeutes et garantir un suivi suffisant des patients.

Les plantes médicinales ont généralement des constituants différents qui peuvent avoir des effets utiles et/ou nocifs. Pour évaluer l'effet approprié de la fleur du safran et pour son développement ultérieur en tant que médicament thérapeutique, nous avons dû évaluer sa toxicité subaiguë. Nos résultats montrent clairement que les doses de l'extrait de pétales de safran administré aux lots des rats (1.56mg/kg, 15.62mg/kg, 62.5mg/kg, 250mg/kg, 1000mg/kg) ont été bien tolérées, d'ailleurs aucun cas de mortalité liée à la substance d'essai n'a été signalé. Si on revient à la classification de toxicité selon l'échelle de Hodge et Sterner chez les rats de laboratoire (Hodge et Sterner, 1949) et dont laquelle une DL_{50} orale ≥ 1000 mg/kg ($1000 < DL_{50} < 15000$ mg/kg) signifie une substance presque non toxique, ce qui confirme que l'extrait testé lors de cette étude est presque non toxique. En raison de l'absence de mortalité, nous pouvons dire que la DL_{50} de l'extrait administré est largement supérieure à 1000mg/kg qui présente la dose d'essai. A très fortes doses, le safran peut s'avérer toxique. Néanmoins ce cas de figure est très hypothétique, car il faudrait en consommer plus de 10 g en une seule prise, le dosage courant ne dépassant pas 0,02 g par personne. Finalement, **Le safran est une plante médicinale sécuritaire, avec très peu d'effets indésirables.** Elle est reconnue sans danger. Toutefois, attention à ne pas consommer de fortes doses, au risque d'éventuellement observer un jaunissement de la peau et des muqueuses, un engourdissement associé aux propriétés sédatives du safran, des saignements ou des troubles digestifs. Pour éviter ces symptômes et profiter des incroyables bienfaits de la plante, il suffit de consommer le safran dans des dosages raisonnables et thérapeutiques.

Références bibliographiques

- Abdullaev F.I. Cancer chemopreventive and tumoricidal properties of saffron (*Crocus sativus* L.). *Experimental Biology and Medicine*, 227 n°1 (2002) 20-25.
- Akowauh, G.A., Zhari, I., Norgyati, I., Sadikun, A., Khamsah, S.M. (2004). The effects of different extraction solvents of varying polarities on polyphenols of *Orthosiphon stamineus* and evaluation of the free radical-scavenging activity. *Food chemistry*, 87: 559-566.
- Al-Faraji, A. S. A. R. (2017). EFFECT OF THE SAFFRON FLOWER (*CROCUS SATIVUS* L.) EXTRACTS TOWARD THE BACTERIUM *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* THAT CAUSES CONJUNCTIVITIS PUS. *IJABR*, 7(2), 296-298.
- Algrech C. (2001). “Le safran du Quercy.” *Revue Quercy recherche*, 97 et 98 (1-2-4): 20-27;9-16;18-26.
- Arvy M., Gallouin F. *Epices, aromates et condiments*. Belin Ed. 2003, pp.216-219
- Bahorun, T. (1997) *Substances naturelles actives: La flore mauricienne, une source d’approvisionnement potentielle*. *Food and Agricultural Research*, 83-94.
- Békro YA, Békro JAM, Boua BB, Tra FH. *Expérience du Centre Anti Poison et de Pharmacovigilance du Maroc (1980-2008)* *Toxicologie Maroc*. 1980;2010(5):5–8.
- Bergoin, M. (2005). *Application du concept de raffinage végétal au safran du Quercy (*Crocus sativus*) pour la valorisation intégrée des potentiels aromatiques et colorants* (Doctoral dissertation).
- Boros, B., Jakabova, S., Dornyei, A., Horvath, G., Pluhare, Z., Kilar, F., Felinger, A. (2010). Determination of polyphenolic compounds by liquid chromatography–mass spectrometry in *Thymus* species. *Journal of Chromatography A*, 1217: 7972–7980.
- Bruneton, J. (1999). *Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales*, (3^{ème} éd.). Editions Tec & Doc Lavoisier, p 1120.
- Cardon D. *Le monde des teintures naturelles*. Belin Ed. 2003, pp. 234-239
- Chahine, N. (2014). *Effet protecteur du safran contre la cardiotoxicité de la doxorubicine en condition ischémique* (Doctoral dissertation, Reims).
- Chang, W. Liang, CT. Kuo & CK. Wang (1964), « The pharmacological action of 藏紅花 (*zà hóng huā* – *Crocus sativus* L.): effect on the uterus and/or estrous cycle »
- Crozet A., Durfort S., Sus-Rousset H. *Crocus sativus* L. (Iridaceae), le safran. *Phytothérapie*, 2012,10 (2), pp. 121-125.
- Dacosta, E. (2003). *Les phytonutriments bioactifs*. Yves Dacosta (éd). Paris, p317.
- Darling Biomedical Library (2002), « Saffron » (<http://unitproj.library.ucla.edu/biomed/spice/index.cfm?displayID=22>), Darling Biomedical Library (UCLA).
- De Smet PAGM. An introduction to herbal pharmacoepidemiology. *J Ethnopharmacol*. 1993;38:197–208. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
- De Smet PAGM. Traditional pharmacology and medicine in Africa: Ethnopharmacological themes in sub-Saharan art objects and Utensils. *J Ethnopharmacol*. 1998;63:1–179. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]

- Dupont J. Dimensions culturelles et culturales du safran en France. *Empan*. 41:34-38. 2001.
- Esmaeili N., Ebrahimzadeh H., Abdi K., Safarian S., 2010. Determination of some phenolic compound in *Crocus sativus* L. corms and its antioxidant activities study.
- Favre E. Le safran - l'anti kilo l'anti déprime. Terre d'hommes Ed. 2008, 177 p
- France agrimer - établissement 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 séance du 31/01/2013. 15 p. [En ligne] disponible sur : <http://www.franceagrimer.fr/content/download/21314/174562/file/2.2%20-%20Safran.pdf>. (page consultée le 10/07/14)
- Ghedadba, N., Hambaba, L., Ayachi, A., Aberkane, M.C., Bousselsela, H. & OuedMokhtar, S.M. (2015). Polyphénols totaux, activités antioxydante et antimicrobienne des extraits des feuilles de *Marrubium deserti* de Noé. *Phytothérapie*, 13(2), 118-129.
- Gilles Lapointe, 2004. Notions de Toxicologie. 2nd ed. Commission de la santé et de la sécurité du travail (Québec, Canada), 16-20.
- Gomes C., Lourenc E.L.B., Liuti E. B., Duque A.O., Nihi F., Lourenc A.C., Mendes T.C., Junior A.G., Dalsenter P. R. 2012. Evaluation of subchronic toxicity of the hydroethanolic extract of *Tropaeolum majus* in Wistar rats. *Journal of Ethnopharmacology* 142, 481-487.
- Hmamouchi M. Bibliographic research in the countries of the Maghreb. Part II Medusa Newsletter. 1998;2:7–12. [[Google Scholar](#)]
- Hodge, H.C and Sterner, J.H. 1943. Tabulation of Toxicity Class. *American Industrial Hygiene Association Quarterly*, 10(4):93-96.
- Hodgson E & EROe RL (2010). *Metabolism of Toxicants*. In: *A Textbook of Modern Toxicology*. 4th ed. John Wiley & Sons. Inc (Hoboken, New Jersey), 115-167.
- JB. Park (2005), « Saffron » (http://www.pl.barc.usda.gov/usda_supplement/supplement_detail_b.cfm?chemical_id=140), USDA Phytochemical Database.
- June 2018 toxicologie Générale-Généralité, formes d'intoxications : -Ayoub Bensakhria-ResearchGate.
- Kafi M, Rashed MH, Koocheki A and Mollafilabi A. Saffron (*Crocus sativus* L.), Production and Processing. Center of Excellence for Special Crop, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad. 2002.
- Knaggs, A.R. (2003). The biosynthesis of shikimate metabolites. *Natural Product Reports*.
- Koocheki A. Indigenous knowledge in agriculture with particular reference to saffron production in Iran. *Acta Hort*. 650:175-182. 2004.
- LE LIVRE : NOTIONS DE TOXICOLOGIE , commission de la santé et de la sécurité du travail du Québec , deuxième éditions revue et augmentée , Dépôt légal – Bibliothèque nationale du Québec, 2004 ISBN 2-551-22538-8.
- Lhuillier, A. (2007). Contribution à l'étude phytochimique de quatre plantes malgaches : *Agauria salicifolia* Hook.f ex Oliver, *Agauria polyphylla* Baker (Ericaceae),

- Tambourissa *Trichophylla* Baker (Monimiaceae) et *Embelia concinna* Baker (Myrsinaceae). Thèse de doctorat, Toulouse. 171 p.
- Magorie Bergoin ;Application du concept de raffinage végétal au safran du Quercy (*crocus sativus*) pour la valorisation intégrée des potentiels aromatiques et colorants, ,25 octobre 2005.
 - Martin, S., Andriantsitohaina, R.(2002).Mécanismes de la protection cardiaque etvasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annales de cardiologie et d'angéiologie*, 304–315.
 - Melnyk J., Marccone M., Wang S. Chemical and biological properties of the world's most expensive spice: Saffron. *Food Research International*, 2010, 43 (8), pp. 1981-198.
 - Michel Botineau, Préface de Jean-Marie Pelt (Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs),Paris Éd. Tec & Doc Lavoisier DL 2010.
 - Moghaddasi M. S. 2010., Saffron chemicals and medicine usage. *Jour Med Plants Res*, 4 (6), 427-30. Texte intégral.
 - Nortier JL, Vanherweghem JL. Renal interstitial fibrosis and urothelial carcinoma associated with the use of a Chinese herb (*Aristolochia fangchi*) *Toxicology*. 2002 Dec 27;181-182:577–80.
 - Palomares claire Le safran, précieuse épice ou précieux médicamente, , 3 avril 2015
 - Paraskevi, Moutsatsou.(2007).The spectrum of phytoestrogens in nature : our knowledge is expanding. *Hormones*, 6 (3) : 173-193.
 - Rolf Nieder,Dinesh K Benbi ,Franz X.ReicheL Soil components and Human health ;library of Congress Control and Number 2017958956 ;Springer Science +Buiseness Media B.V 2018.
 - Salari H, Reihani T. & Zare, Z. (2004). The survey of contact impacts with saffron in abortion prevalence. *The Horizon of Medical Sciences*.
 - Liakopoulou-Kyriakides M, Skubas AI. 1990.Characterization of the platelet aggregation inducer and inhibitor isolated from *Crocus sativus*. *Biochem Int*.
 - Sarni-Manchado, P. & Cheynier, V. (2006). Les polyphénols en agroalimentaire. Ed Tec et Doc Lavoisier, 02-11.
 - Scalbert, A., Manach, C., Morand, C., Remesy, C. & Jimenez L. (2005). Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 45, 287-306.
 - Tafazoli M, Kermani T, & Saadatjoo, A R (2004). Effects of saffron on abortion and its side effect on mice balb/c. *Ofogh-e-Danesh Journal*.
 - Teusher E., Anton R., Lobstein A. *Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et huiles essentielles*. Lavoisier Ed.,Illkirch. 2005, pp.429-435.
 - Viau C,Tardif R(2003) toxicologie .in :Environnement et santé publique-Fondements et pratique,pp.119-143.Gérin M, Gosselin P , Cordier S, viau C,Quénel P,Dewailly E,rédacteur Edisem/Tec &Doc, Acton Vale /Paris.

- Walum Erik,1998 Cell and Molecular Biology, Research Department, Pharmacia & Upjohn, Stockholm, Sweden.
- wicthl M,anton R .plantes thérapeutique.Traditions ,pratique officinale,science et thérapeutique 1999.
- Zeggwagh Ali Amine, Lahlou Younes, et Bousliman Yassir. 2013. Survey of toxicological aspects of herbal medicine used by a herbalist in Fes, Morocco. Pan Afr Med J. 2013; 14: 125.

Annexes

Tableau A1 : Teneurs plasmatiques en créatinine et en urée

Lots	Rats témoins	1,56 mg/kg	15,62 mg/kg	62,5 mg/kg	250 mg/kg	1000 mg/kg
Créatinine (mg/l)	6,17±0,76 ^b	6,07±1,68 ^b	5,75±0,74 ^b	5,31±0,62 ^c	6,63±0,76 ^b	7,63±0,53 ^a
Urée (mg/dl)	60,21±11,43 ^c	48,69±8,64 ^d	113,44±3,18 ^b	137,48±2,48 ^a	140,66±4,05 ^a	146,50±4,48 ^a

Les valeurs sont présentées sous forme de moyennes et écart type, rats témoins et les rats traités par la doses 1.56mg/kg, rats traités par la dose 15.62mg/kg, rats tarités par la dose 62.5mg/kg,rats traités par la dose 250mg/kg et 1000mg/kg.

On a effectué la comparaison des moyennes entre les différents lots des rats par le test ANOVA a un facteur, cette analyse est complétée par le test de Tukey afin de classer et comparer les moyennes deux à deux.

Tableau A2 : Teneurs plasmatique en transaminases (TGO et TGP)

Lots	Rats témoins	1,56 mg/kg	15,62 mg/kg	62,5 mg/kg	250 mg/kg	1000 mg/kg
TGO (U/L)	49,00±1,50 ^c	151,75±10,54 ^a	72,33±17,70 ^d	114,83±18,07 ^b	95,58±1,15 ^c	46,37±18,56 ^e
TGP (U/L)	62,03±4,87 ^c	114,42±17,99 ^a	81,67±14,15 ^b	116,67±8,98 ^a	58,00±8,98 ^c	36,75±4,95 ^d

Les valeurs sont présentées sous forme de moyennes et écart type, rats témoins et les rats traités par la doses 1.56mg/kg, rats traités par la dose 15.62mg/kg, rats tarités par la dose 62.5mg/kg, rats traités par la dose 250mg/kg et 1000mg/kg.

On a effectué la comparaison des moyennes entre les différents lots des rats par le test ANOVA a un facteur, cette analyse est complétée par le test de Tukey afin de classer et comparer les moyennes deux à deux.

Tableau A3 : Teneurs plasmatiques en HDL Cholestérol , cholestérol total et en triglycérides

Lots	Rats témoins	1,56 mg/kg	15,62 mg/kg	62,5 mg/kg	250 mg/kg	1000 mg/kg
HDL Cholestérol (mg/dl)	50,06±7,26 ^b	50,92±5,68 ^b	55,21±4,54 ^a	57,89±3,99 ^a	24,66±3,12 ^c	16,10±3,65 ^d

cholestérol total (mg/dl)	59,95± 15,02 ^c	57,06± 6,39 ^c	86,31± 4,88 ^b	100,15± 1,45 ^a	75,77± 3,05 ^b	78,11± 4,71 ^b
Triglycérides (mg/dl)	86,69± 10,01 ^a	67,46± 6,13 ^b	59,20± 1,72 ^b	56,49± 2,09 ^b	55,72± 4,97 ^b	36,44± 4,40 ^c

Les valeurs sont présentées sous forme de moyennes et écart type, rats témoins et les rats traités par la doses 1.56mg/kg, rats traités par la dose 15.62mg/kg, rats tarités par la dose 62.5mg/kg, rats traités par la dose 250mg/kg et 1000mg/kg.

On a effectué la comparaison des moyennes entre les différents lots des rats par le test ANOVA a un facteur, cette analyse est complétée par le test de Tukey afin de classer et comparer les moyennes deux à deux.

Tableau A4 : Teneurs plasmatiques en protéines totales

Lots	Rats témoins	1,56 mg/kg	15,62 mg/kg	62,5 mg/kg	250 mg/kg	1000 mg/kg
Protéines totales (g/dl)	5,54± 1,46 ^c	5,83± 0,48 ^c	7,17± 1,12 ^b	9,66± 1,27 ^a	5,93± 0,23 ^c	4,69± 0,42 ^d

Les valeurs sont présentées sous forme de moyennes et écart type, rats témoins et les rats traités par la doses 1.56mg/kg, rats traités par la dose 15.62mg/kg, rats tarités par la dose 62.5mg/kg, rats traités par la dose 250mg/kg et 1000mg/kg.

On a effectué la comparaison des moyennes entre les différents lots des rats par le test ANOVA a un facteur, cette analyse est complétée par le test de Tukey afin de classer et comparer les moyennes deux à deux.

Résumé

Notre travail porte sur une plante médicinale *Crocus sativus*.L connu sous le nom de safran qui est très utilisé comme épice et aussi comme plante très populaire dans la médecine traditionnelle.

Le but de ce travail est l'étude de l'évaluation de la toxicité sub- aigue de l'extrait brut des pétales du *Crocus sativus* L qui a été récoltées dans la région de d'Ain Fezza, djebel zaafran, Daïra de Tlemcen, Wilaya de Tlemcen, L'étude a été effectuée sur six lots de 3 rats femelles de type Wistar albinos qui ont été dosés par cet extrait selon un protocole expérimental.

Après administration orale des doses 1.56mg/kg,15.62mg/kg,62.5mg/kg,250mg/kg et 1000mg/kg, aucun cas de mort et aucun changement de comportement chez toutes les rates pendant l'expérimentation n'a été marqué. Mais L'augmentation et la démunissions significative des paramètres biochimiques sériques (Transaminases, Urée, Créatinine, Protéines totales, TG, HDL Cholestérol, Cholestérol) ont montré qu'il y a des troubles des fonctions hépatiques irréversibles et des anomalies au niveau au niveau du fonctionnement des reins et un changement du poids.

Mots clés : *Crocus Sativus*.L , Safran , extrait brut des pétales , toxicité sub-aigue

Abstract

Our work focuses on a medicinal plant *Crocus sativus*.L known as saffron which is widely used as a spice and also as a very popular plant in traditional medicine.

The aim of this work is the study of the evaluation of the sub-acute toxicity of the crude extract of the petals of *Crocus sativus* L which was collected in the region of Ain Fezza, djebel zaafran, Daïra of Tlemcen, Wilaya of Tlemcen. The study was carried out on six batches of 3 female rats of Wistar albino type which were dosed with this extract according to an experimental protocol.

After oral administration of 1.56mg/kg, 15.62mg/kg, 62.5mg/kg, 250mg/kg and 1000mg/kg, there were no deaths and no behavioural changes in any of the rats during the experiment. But the significant increase and loss of serum biochemical parameters (Transaminases, Urea, Creatinine, Total Protein, TG, HDL Cholesterol, Cholesterol) have shown that there are irreversible liver function disorders and kidney abnormalities and a change in weight.

Keywords : *Crocus Sativus*.L , Safran, crude petal extract, sub-acute toxicity

الملخص

يركز عملنا على نبات طبي المعروف باسم الزعفران الذي يستخدم على نطاق واسع كتوابل وأيضًا كمصنع شائع جدًا في الطب التقليدي الهدف من هذا العمل هو دراسة تقييم السمية شبه الحادة للمستخلص الخام من بتلات الزعفران التي تم جمعها في منطقة عين فزة ، جبل زعفران ، دائرة تلمسان ، ولاية تلمسان. أجريت الدراسة على ست دفعات من 3 فئران من نوع ويستار ألبينو تم جرّها بهذا المستخلص وفق بروتوكول تجريبي

بعد تناول الفئران للمستخلص عن طريق الفم 1.56 مجم/كجم و 15.62 مجم/كجم و 62.5 مجم / مجم و 250 مجم/كجم و 1000 مجم/كجم لم تكن هناك وفيات ولا تغييرات سلوكية في أي من الفئران أثناء التجربة لكن الزيادة في تضاؤل المعلمات البيو كيميائية في الدم أظهرت وجود اضطرابات في وظائف الكبد لا رجعة فيها ووظائف الكلى وتغيير الوزن

كلمات مفتاحية:

الزعفران، مستخلص الخام من بتلات الزعفران، السمية شبه الحادة