

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



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

Département de Biologie

Laboratoire de physiologie, physiopathologie et biochimie de la nutrition

MEMOIRE

Présenté pour l'obtention du **Diplôme de MASER**

En : BIOLOGIE DE LA NUTRITION

Par :

Mlle. BOUNOUA MANAL

Mlle. HADJI KHADIJA

Thème

LA CYTOTOXICITE DE TIGE DE SAFRAN

Soutenu publiquement, le 30/06/2022, devant les jurés composés :

Présidente	Mme Loukidi.	Professeur	Université de Tlemcen
Encadreur	Mme Baba Ahmad.Y	Maitre de conférences A	Université de Tlemcen
Examinatrice	Mme Merzouk Amel	Maitre de conférences B	Université de Tlemcen

Année universitaire : 2021/2022

المخلص

يركز عملنا على دراسة النبات الطبي المسمى *L sativus Crocus* و المعروف بالزعفران ويشار اليه بالذهب الاحمر بسبب ارتفاع ثمنه حيث بدأ ت زراعته في النمو في الجزائر من خلال دعم المشاريع العائلية و التجارب الموثقة في قسنطينة، خنشلة، تيارت، تلمسان. في هذا العمل، نحن مهتمون بدراسة سيقان الزعفران، التي تعتبر نفايات ويتم اهمالها تجاريا بالكامل تقريبا.

الخطوة الاولى في عملنا هي السمية الخلوية للميثانول و المستخلصات المائية مقابل الكريات الحمراء البشرية. المبدأ هو وضع خلايا الدم الحمراء المتلامسة مع مستخلصات ساق الزعفران.

فيما يتعلق بتحديد البوليفينول الكلي لساق الزعفران، تظهر النتائج ان المستخلص المائي الذي اعده نقع الجزء الجاف، له تركيز مرتفع عن ذلك الذي يتم اعداده عن طريق التفكيك و التسريب في كلا الجزأين.

تظهر نتائج فحص حمض الفينوليك الجذعي للزعفران أن المستخلص المائي تم إعداده عن طريق نقع الجزء الجاف و له أيضًا تركيز مرتفع فيما يتعلق بالتفكيك والتسريب في كلا الجزأين.

نتائج اختبار السمية الخلوية لها مستويات منخفضة من انحلال الدم.

الكلمات الرئيسية السيقان، البوليفينول، الفينوليك، السمية الخلوية، *Crocus sativus*.

RESUME

Notre travail porte sur l'étude d'une plante médicinale *Crocus sativus* connue sous le nom de safran et désignée par l'appellation de l'or rouge en raison de son prix élevé. La culture du safran commence à prendre de l'ampleur en Algérie par des projets familiaux soutenus et des expérimentations documentées à Constantine, Khenchela, Tiaret et Tlemcen.

Dans le présent travail, nous sommes intéressés à l'étude des tiges de safran qui sont considérés comme des déchets et presque totalement négligés sur le plan commercial.

La première étape de notre travail consiste à l'étude de la cytotoxicité des extraits méthanolique et aqueux vis à vis des globules rouges humains. Le principe est de mettre en contact des globules rouges avec les extraits de la tige de safran.

Concernant le dosage des polyphénols totaux de la tige de safran, les résultats démontrent que l'extrait aqueux préparé par la macération de la partie sèche présente une concentration élevé que celui préparé par décoction et infusion dans les deux parties.

Les résultats de dosage d'acide phénolique de tige de safran montrent que l'extrait aqueux préparé par la macération de la partie sèche présente aussi une concentration élevé par rapport la décoction et l'infusion dans les deux partie.

Les résultats obtenus par le test de cytotoxicité présente des faibles taux d'hémolyse, ces résultats montrent que les tiges de safran ne sont pas toxiques sur les globules rouges.

Mots clés : Tiges *Crocus sativus.L*, polyphénol, phénolique, cytotoxicité.

ABSTRACT

Our work focuses on the study of a medicinal plant *Crocus sativus* known as saffron and designated by the name of red gold because of its high price. The cultivation of saffron is beginning to gain momentum in Algeria through sustained family projects and documented experiments in Constantine, Khenchela, Tiaret and Tlemcen.

In the present work, we are interested in the study of saffron stems which are considered as waste and almost totally neglected commercially.

The first step of our work consists in the study of the cytotoxicity of methanolic and aqueous extracts towards human red blood cells. The principle is to put in contact red blood cells with the extracts of the saffron stem.

Concerning the dosage of the total polyphenols of the stalk of saffron, the results show that the aqueous extract prepared by the maceration of the dry part presents a high concentration than the one prepared by decoction and infusion in both parts.

The results of dosage of phenolic acid of saffron stem show that the aqueous extract prepared by the maceration of the dry part also presents a high concentration compared to the decoction and the infusion in both parts.

The results obtained by the test of cytotoxicity present low rates of hemolysis, these results show that the stems of saffron are not toxic on the red globules.

Key words: *Crocus sativus.L* stems, polyphenol, phenolic, cytotoxicity.

Remerciements

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

Ce travail a été réalisé au laboratoire de Physiologie, Physiopathologie de l'Université ABOUBEKR BELKAID, Tlemcen Nos sincères remerciements vont à Mme Saidi Amel de nous honoré de faire partie du jury.

On tient à remercier vivement, notre encadreur Mme Baba Ahmed Yamina, d'avoir accepté de Diriger ce travail. Nous lui exprimons notre sincère gratitude pour sa patience dont elle a fait

Preuve, pour nos guider, et pour sa rigueur, qui nos poussé sur la voie d'un sens accru de la Précision, et surtout pour sa patience dans la correction de ce mémoire.

Nous tenons aussi à présenter nos sincères remerciements À Mme. Loukidi B. pour son aide, Ses critiques et ses suggestions et pour accepter d'examiner ce modeste travail.

Nos vives remerciements à tous les Doctorants et les Ingénieurs de Laboratoire de Physiologie, Physiopathologie de l'Université de Tlemcen qui nous a aidé à effectuer notre Travail dans de meilleures conditions et ont amélioré nos connaissances dans ce cadre très Important dans nos études et dans notre vie professionnelle.

Nous voudrions remercier Particulièrement la doctorante du laboratoire Meriem Benyelles pour sa patience, son aide précieuse et ses valeureux conseils.

Finalement, nous remercions notre chère ami Mokhtar Bokhari pour son aide et ceux ou celles qui ont contribué de près ou de loin à l'accomplissement de ce mémoire.

Pour toutes les fins et tous les départs; mais surtout pour tous les nouveaux débuts...!

À vous tous, un grand Merci.

B.Manal

H.Khadija

Dédicaces

À l'aide de Dieu tout puissant, nous avons pu réaliser ce modeste travail que je dédie :

À la mémoire de mon cher regretté père « Allah yarhmou », aucune dédicace ne serait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour toi. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jours et nuits pour mon éducation et mon bien-être. Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation.

À ma mère, la rose de ma vie, ma joie, mon paradis, ma frangine qui m'a entouré d'amour, d'affection et qui fait tout pour ma réussite, qu'Allah lui accorde la santé, le bonheur et longue vie inchallah.

À mes chers : ma sœur Fatima Zahra et frère Oussama pour leurs appuis et leur encouragement, les mots ne suffisent pas guère pour exprimer l'attachement, l'amour et l'affection que je porte pour vous, que Dieu les protège.

A mon fiancé Ayoub, 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. J'aimerais bien que tu trouves dans ce travail l'expression les plus sincères car grâce à ton aide et à ta patience avec moi que ce travail a pu voir le jour... Que dieu le tout puissant nous accorde un avenir meilleur.

À tous mes amis et mes camarades et la promotion de Master 2 biologie de nutrition 2022.

Et pour tous les proches de mon cœur.

Merci d'être toujours là pour moi.

Je vous aime beaucoup.

H.Khadija

Dédicaces

Avant tous je remercie le bon dieu de m'avoir donné le courage et la volonté nécessaire pour atteindre mon objectif.

Je tiens à dédier mon travail à :

- *Ma très chère mère « Touria » ma raison de vivre pour faire tout ce qui est en son pouvoir pour me voir réussie, et mon adorable père « Bachir », ma force pour tout ce dont j'avais besoin, pour m'encourager, surtout pour sa confiance qui était une de la principe raison de ma force, pour leurs soutiens inconditionnels grâce auquel, j'ai eu la chance de réaliser mes études, chacun de leur manière, aucun mot ne saurait t'exprimer mon profond attachement pour vous.*
- *Mes chère frères et sœurs, « Ilhem » et « Zineb » pour leur soutien moral, mon frère « Miloud » j'espère que dieu vous garde et vous montre le droit chemin.*
- *Ma petite sœur « Houria Maria » ma fille ma princesse, dieu vous bénisse et prend soit de vous.*
- *Mon grand-père et ma grand- mère, les mots ne décrivent pas mon amour et ma gratitude.*
- *Tous mes collègues de la promotion biologie de la nutrition.*
- *À tous ceux qui par leur sourire, leur gentillesse et espoir m'ont encouragé à poursuivre mes études*

Merci d'être toujours là pour moi.

Je vous aime beaucoup

B.Manal

La liste des figures :

Figure 01 : Morphologie du crocus sativus.

Figure 02 : Herbée" de safran

Figure 03 : Coupe transversale d'une feuille de crocus

Figure04 : Des plantes après la récolte des fleurs

Figure 05 : Structure du noyau phénol

Figure 06 : Acides phénoliques typiques dans les aliments : acides benzoïques (gauche), acides cinnamiques (droite)

Figure 07 : structure du flavonoïde

Figure 08 : structure chimique d'un deux types de tanin (a) tanin hydrolysable et (b) tanin condensé

Figure 09 : les lignanes

Figure 10 : Structure chimique du Stilbènes et de ses dérivés

Figure 11 : centrifugeuse à vitesse réglable.

Figure 12 : les extraits de la tige de safran.

Figure 13 : Tubes de dosage des polyphénols

Figure 14 : tubes de dosage des acides phénolique.

Figure 15 : Pourcentage d'hémolyse des globules rouges par l'acide gallique (C- :6,6%, C+ :100%)

Figure 16 : comparaison des pourcentages d'hémolyse des globules rouges entre l'acide gallique et les extraits méthanolique et aqueux des tiges sèches de safran.

Figure 17 : comparaison des pourcentages d'hémolyse des globules rouges entre l'acide gallique et les extraits méthanolique et aqueux des tiges fraîches de safran

Figure 18 : courbe étalon De l'acide gallique

Figure 19 : Teneurs en polyphénols des extraits sèches des tiges de safran

Figure 20 : Teneurs en polyphénols des extraits fraîches des tiges de safran

Figure 21 : courbe d'étalonnage d'acide chlorogénique

Figure 22 : Teneurs en acide phénolique des extraits sèches des tiges de safran

Figure 23 : Teneurs en acide phénolique des extraits frais des tiges de safran

La liste des tableaux :

Tableau 01 : Composés phénoliques identifiés dans les feuilles de crocus.

Tableau 02: Les principaux acides phénoliques

La liste d'abréviation :

G : Gramme

Kg : kilogramme

Cm : centimètre

Mm : Millimètre

MI : Millilitre

Mg\MI : Milligramme par Millilitre

µg /MI : Microgramme par Millilitre

Rmp : Nombre de rotations par minute.

Mn : Minute

µl : Microlitre.

µg: Microgramme

% : Pourcentage

°C : Degré Celsius

C+: Contrôle Positive.

C- : Contrôle Négative.

H : Heure.

V/V : Volume/Volume

Na₂MoO₄ : Molybdate de Sodium

NaOH : Hydroxyde de Sodium

UV : Ultra-Violet

CRC : Crocines

DSA : Direction des services agricoles

INRF : Institut national de la recherche forestière

Aspewit : Association pour la sauvegarde et la promotion de l'environnement de la wilaya de Tlemcen

HSV-1 : Herpès Simplex Virus.

VIH -1 : Virus de l'immunodéficience humaine

ADMET : Absorption, Distribution, Métabolisme, Excrétion et toxicité

SRAS-CoV-2: Coronavirus human

COVID-19: Corona Virus Disease 19

ADN : acide désoxyribonucléique

C1-C6 : Acide Benzoïque

C3-C6 : Acide Cinnamique

Xa : Acide hydroxy-cinnamiques

Xb : Acide hydroxy-benzoïques

GRh : Globule Rouge Humain

Table des matières

LA LISTE DES FIGURES

LA LISTE DES TABLEAUX

LA LISTE D'ABRIVIATION

INTRODUCTION GENERALE.....02

CHAPITRE 01 :SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I. GENERALITE SUR LE SAFRAN.....05

I.1.ETUDE PHOTOCHEMIE DE SAFRAN.....05

➤ PRINCIPAUX COMPOSANTS DU SAFRAN.....05

I.2.CULTURE ET RECOLTE DE SAFRAN.....06

I.2.2.CULTURE DE SAFRAN DANS LA REGION DE TLEMCEM06

I.3.PROPRIETE BIOLOGIQUE DE SAFRAN.....06

I.3.1.PROPRIETE ANTICANCEREUSES ET ANTITUMORALES.....07

I.3.2.EFFET ANTINOCICEPTIFS ET ANTI-INFLAMMATOIRES.....07

I.3.3.EFFET ANTIVIRAL.....07

I.3.4.EFFET ANTIDEPRESSEUR.....08

I.3.5.AMELIORATION DES TROUBLE DE VISION ET LA PRESSION SANGUINE...08

II.LA TIGE « LA FEUILLE ».....09

II.1.CARACTERISATION.....10

III.LA CYTOTOXICITE.....10

III.1.TOXICITE DE SAFRAN.....10

IV.POLYPHENOLS.....11

IV.2.CLASSIFICATION DES POLYPHENOLS.....11

IV.2.1.POLYPHENOLS SIMPLE.....11

➤ FLAVONOIDES.....12

IV.2.2.POLYPHENOLS COMPLEXES.....12

➤ TANINS.....12

➤ LIGNANES.....13

➤ STILBENES.....13

IV.2.3.BIOSYNTHESE14

IV.24. ROLES DES POLYPHENOLS.....14

V. ACIDES PHENOLIQUES.....14

CHAPITRE 02 : MATERIELS ET METHODES

I. TESTE DE CYTOTOXICITE.....	17
I.1. PRINCIPE.....	17
I.2. PREPARATION DE LA SUSPENSION DES GLOBULES ROUGES HUMAIN.....	17
I.3. MODE OPERATOIRE.....	17
II. DOSAGE DES POLYPHENOLS TOTAUX.....	18
II.1. PRINCIPE.....	18
II.2. MODE OPERATOIRE.....	18
III. DOSAGE DES ACIDES PHENOLIQUES.....	19
III.1. MODE OPERATOIRE.....	19

RESULTATS ET INTERPRETATIONS

I. DETERMINATION LA CYTOTOXICITE DES TIGES DU SAFRAN.....	21
➤ PARTIE SECHE.....	22
➤ PARTIE FRAICHE.....	23
II. DETERMINATION DES POLYPHENOLS TOTAUX.....	23
III. DETERMINATION ACIDES PHENOLIQUES.....	25
DUSCUSION.....	28
CONCLUSION GENERALE.....	30
REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE.....	32

INTRODUCTION GENERALE

Introduction Générale :

Les plantes médicinales sont utilisées pour traiter les maladies dues à la présence d'une très faible toxicité en raison de leur origine naturelle. Selon l'organisation mondiale de la santé plus que 80 % de la population mondiale retour à la médecine traditionnelle (**Gomes et al, 2012**). Le crocus sativus fait partie des plantes médicinales utilisées, généralement appelé safran.

Le safran est signifié par l'appellation « or rouge » (**Palomares, 1988**), est une épice utilisée depuis plus de 3000 ans. Plante dont est extrait le safran, a traversé les siècles dans les différentes régions du globe pour se retrouver cultivé en France à partir du Xe siècle et en Algérie durant l'occupation française. Il ne s'agit pas d'une plante sauvage puisqu'elle doit tout à la main de l'homme qui a su la cultiver, la choyer, et l'importer tout autour du bassin méditerranéen.

Le crocus sativus est l'épice la plus chère au monde, vendu entre 30 et 40 euros le gramme, il faut 150 000 fleurs de crocus pour obtenir seulement 1 kg de safran sec (**Palomares, 1988**).

Le safran représenté l'espèce la plus intéressante et attrayante pour les consommateurs, pour la coloration, l'amertume et le pouvoir aromatique de ses stigmates séchés (**Yasmin & Nehvi., 2013 ; Sevindik et al, 2018**).

Le safran contient plus de 150 composés volatils et aromatiques, spécialement, de l'alcool terpénique et leurs esters. Des flavonoïdes, des terpénoïdes et des anthraquinones (**Wali et al, 2020 ; Cacer et al, 2021**). Les constituants prédominants ce sont les stigmates, leur couleur rouge foncé caractérise les crocines. Aux contraires pour les autres caroténoïdes, les CRC (crocine), à cause de leurs terminaisons glycosylées, sont des molécules solubles dans l'eau (**Azami et al, 2021**).

Le safran est une plante mâle stérile, les bulbes sont donc produits par des bulbes filles et des techniques de culture tissulaire (**Sevindik et al, 2018**). Le bulbe appelé vulgairement "oignon", plusieurs tuniques minces et scariées l'enveloppent, Les prolongations de ces enveloppes vers la surface enrobent les tiges en prenant le nom de spathe, traversées lors de la croissance par les feuilles et les fleurs, la plupart des feuilles sont aériennes, d'un vert sombre, au nombre de 6 ou 7, au limbe long et étroit, terminé en pointe et divisé dans le sens longitudinal par une ligne argentée. Elles mesurent de 20 à 60 cm. De l'aisselle des tuniques ou de la partie supérieure de l'oignon naissent ordinairement 2 ou 3 pédoncules floraux, mais leur nombre peut aller jusqu'à 18 sur le même bulbe. (**Bergoin, 2005**).

L'objectif de notre étude est basé sur la détermination in vitro de la cytotoxicité des extraits méthanolique des feuilles (tiges) de crocus sativus, ainsi que le dosage des polyphénols et les acides phénoliques contenus dans différentes préparations d'extraits méthanoliques.

Notre travail s'insère dans un projet socio-économique portant sur la valorisation des matières résiduelles du safran.

Ce travail est divisé en trois chapitres :

Dans un premier chapitre, nous décrivons le safran *Crocus sativus*, ainsi que sa tige en se basant sur sa toxicité avec une petite synthèse des polyphénols et acides phénoliques.

Dans le deuxième chapitre, nous avons décrit les matériels et méthodes utilisés pour notre étude.

Dans le dernier chapitre, nous avons interprété et essayé de discuter les résultats obtenus.

Enfin, nous avons clôturé par une conclusion générale.

Chapitre 1 : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Généralité sur le safran :

Crocus sativus est le nom scientifique donné par Linné en 1754, communément appelé safran. Les termes de safran et crocus ont subi une évolution étymologique différente : le mot crocus est la transcription latine du mot grec « krokos », à laquelle on peut trouver des racines assyriennes ou hindoues. Le safran est l'une des plus anciennes épices qui appartiennent à la grande famille des iridacées et au genre crocus. (I. Mzabri et al ; 2020). *Crocus sativus* est une plante triploïde stérile de la famille des plantes herbacées vivaces et vivaces à floraison automnale des roseeae (monocotylédones), inconnues à l'état sauvage (Moshiri et al ; 2006, Rubio-Moraga et al ; 2009). le nom safran est inspiré de l'arabe « Zaafâran » dont la racine exprime une notion essentielle, la couleur jaune, dérivée du latin safranum, le nom de genre "Crocus" vient du grec Krokos, qui veut dire "filament" par allusion aux stigmates de la plante, le terme Sativus quant à lui signifie « cultivé », car le *Crocus sativus*, par sa reproduction végétative, ne peut se multiplier sans la main de l'homme (Chahine ; 2014). Le safran est populaire comme remède épice. C'est l'habitat de différentes régions montagneuses en Grèce, en Asie occidentale, en Égypte et en Indo-Asie mineure. Le safran commercial est un mélange de stigmates rouges secs avec une petite partie jaune attachée aux fleurs du crocus. (Seddiqui et al ; 2018).

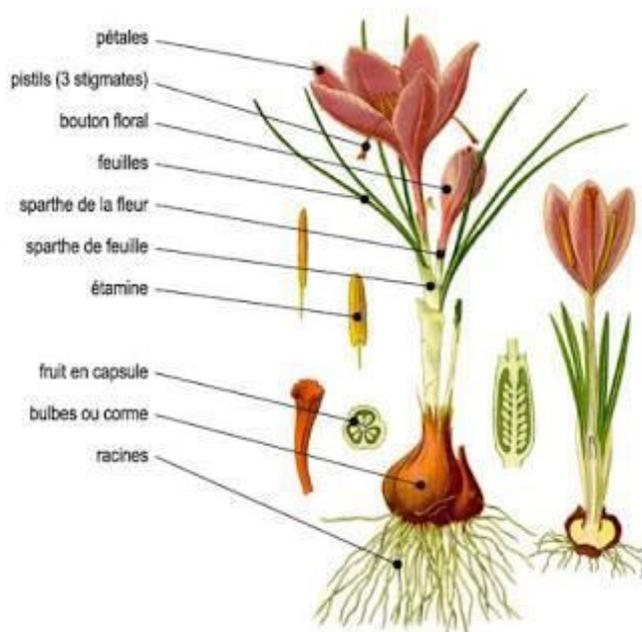


Figure 01 : Morphologie du *Crocus sativus* (Aib & Abdelhafid ; 2020 ; Arvy & Gallouin ; 2003)

I.1 Etude photochimique de safran :

➤ Principaux composants du safran :

D'après plusieurs études, le safran contient des principaux composés biologiquement actifs qui sont :

- La picrocrocine, apportant au safran sa saveur et son gout amer.
- La crocine et la crocétine qui sont responsables de la couleur jaune-orangée de l'épice.
- le safranal, un composé volatil responsable de l'arôme et de l'odeur si spécifique au safran. (Melynk et al; 2010,43(8), PP 1981-1989).
- Les stigmates séchés constituent la drogue végétale. Les analyses chimiques faites sur les stigmates de *Crocus Sativus* ont révélé la présence de plus de cent-cinquante éléments comme (l'eau, protéines, des acides aminés, les graisses, les minéraux, les vitamines, les fibres, les pectines et les dextrines.) (Melynk j al ; 2010,43(8), PP 1981-1989).

I.2 Culture et récolte de safran :

I.2.1 Culture de safran dans la région de Tlemcen :

L'exploitation agricole «**Chikhi**» d'Ain Fezzan, qui s'est fixée comme objectif de relancer et développer la culture du safran dans la wilaya et de mettre en place toutes les actions concourant à la création d'une filière safran à Tlemcen, a organisé en fin de semaine une journée d'étude et de sensibilisation sur la promotion de cette culture, et ce en collaboration avec **DSA, INRF, (Aspewit)**, la chambre d'agriculture et le Parc national. Le safran peut être cultivé à peu près partout dans la wilaya et dans bien d'autres wilayas du pays. La nature du sol est de loin bien plus importante que la nature du climat de la région de Tlemcen où l'on désire l'implanter. Son prix est déterminé par la main d'œuvre que nécessite sa récolte et non par la difficulté de culture. Dans ce cadre, un projet pilote a été lancé à Khenchela et plusieurs rencontres de sensibilisation ont été organisées par **l'INRF**. Selon le directeur des services agricoles de Tlemcen, **M. Fettouhi Mohamed**, «**cette culture de l'or rouge à haute valeur ajoutée se trouve encore au stade embryonnaire** ». Pour développer cette culture dans la région de Tlemcen et garantir un produit de qualité, une première action de sensibilisation a été menée en 2015 par la **DSA** et **l'INRF** à l'exploitation **Chikhi** où la culture du safran a été initiée en 2013. Cette journée de sensibilisation rentre justement dans ce cadre». (**Khaled Boumediene; 2016**).

I.3. Propriété biologique de safran :

La médecine récente a reconnu plusieurs effets thérapeutiques et applications pharmaceutiques du *Crocus sativus*. Les propriétés médicinales du safran sont attribuées à l'existence de composés aromatiques volatils et non volatils. Les stigmates rouges de safran Accumulent différents composés bioactifs comme le safranal, la crocine, le kaempférol, les α et β carotènes Etc. Sont de première importance (**Liao et al, 1999**).

Un grand nombre d'articles ont été publiés sur les propriétés physico-chimiques et biochimiques du safran ainsi que sur la bioactivité de ses composés et confirmé son rôle en pharmacognosie, les propriétés antioxydantes, l'effet sédatif, les pathologies neuronales, le cancer etc. (**Premkumar et Ramesh, 2010**).

Le safran et ses constituants sont considérés comme un traitement efficace pour les maladies coronariennes, les troubles neurodégénératifs, la bronchite, l'asthme, le diabète, la fièvre et le rhume (**Boskabady et Farkhondeh, 2016**).

C'est une médecine naturelle prometteuse dans le traitement du syndrome métabolique (**Razavi et Hosseinzadeh, 2017**). C'est un puissant antioxydant naturel utilisé en médecine traditionnelle pour traiter le rhume, la scarlatine et l'asthme (**Boskabady et Farkhondeh, 2016 ; Boskabady et al., 2019**). Le *crocus sativus* et ses composants sont considérés comme un traitement pour les troubles neurodégénératifs, la bronchite, l'asthme, les maladies coronariennes, le diabète, la fièvre (**Boskabady et Farkhondeh, 2016**). C'est une médecine naturelle prometteuse dans le traitement du syndrome métabolique (**Razavi et Hosseinzadeh, 2017**). Aussi considéré comme antioxydant naturel utilisé en médecine traditionnelle (**Boskabady et Farkhondeh, 2016 ; Boskabady et al, 2019**). Plusieurs études in vivo ont confirmé le rôle antioxydant et anti-inflammatoire des extraits du safran (**Hosseinzadeh et al, 2009 ; Hosseinzadeh et Ghenaati, 2006**).

I.3.1 Propriétés anticancéreuses et antitumorales :

Les caroténoïdes sont les principes actifs dans les extraits de safran. Les mécanismes anticancéreux du safran ne sont pas encore bien élucidés ; plusieurs activités ont été proposées dont la promotion de l'apoptose, la réduction de la prolifération et de la synthèse d'ADN des cellules tumorales, la diminution de l'inflammation, la réduction du stress oxydatif et l'augmentation des enzymes anti oxydantes. Les extraits de safran cytotoxiques pour les cellules cancéreuses et s'avèrent non toxiques sur les cellules saines (**Abdullaev, 2002**). Les extraits de safran ont démontré un effet antitumoral in vivo et in vitro (**Escribano et al, 1996 ; Tavakkol-Afshari et al, 2008 ; Amin et al, 2011**), contre nombreuses types de cancer parmi lesquels le cancer colorectal (**Aung et al, 2007**), le cancer hépatocellulaire (**Amin et al, 2011**) et le cancer de la prostate (**D'Alessandro et al, 2013**).

I.3.2 Effets anti nociceptifs et anti-inflammatoires :

Un effet antinociceptif présenté dans le stigmate du safran et les extraits de pétales dans le test de la douleur chimiquement induite ainsi que l'activité anti-inflammatoire aiguë et/ou chronique, et ces effets peuvent être dus à la présence de flavonoïdes, de tanins, d'anthocyanines, d'alcaloïdes et de saponines (**Srivastava et al, 2010**).

I.3.3 Effet antiviral :

Il existe de solides preuves scientifiques des effets antiviraux du safran. L'effet antiviral (anti-HSV-1 et anti-VIH-1) du safran a été testé, et il a été constaté que l'extrait de safran montre une légère activité tandis que lacrocine et la picrocrocine ont indiqué des activités.

anti-HSV-1 et anti-VIH-1 significatives. Lacrocine et la picrocrocine se sont avérées efficaces pour inhiber l'entrée du virus ainsi que sa réplication. En outre, il a été suggéré que lacrocine et la picrocrocine sont des agents anti-HSV et anti-VIH prometteurs pour la phytothérapie contre les infections virales (**Soleymani et al, 2018**). Récemment, l'analyse des paramètres pharmacocinétiques, toxicologiques, et ADMET des molécules bioactives du safran a indiqué que la crocétine a un score médicamenteux élevé contre le SRAS-CoV-2 (**Kordzadeh et al, 2020**). Il a été élucidé que lacrocine et la crocétine possèdent une affinité de liaison élevée envers la protéase principale du SRAS-CoV-2, et la crocétine présente une translocation à

travers la bicouche lipidique en tant que molécule médicamenteuse. Il a été démontré que le safran réduit l'inflammation en inhibant l'activité de l'enzyme cyclooxygénase (**Rahmani et al, 2017**). Cette propriété peut aider à lutter contre l'inflammation pulmonaire excessive chez les patients atteints du SRAS-CoV-2 en raison de la libération de cytokines et de chimiokines pro-inflammatoires. L'infection par le SRAS-CoV-2 provoque la perte de pneumocytes, qui sont impliqués dans les échanges gazeux entre les alvéoles et le sang. Dans une étude antérieure, la crocétine a montré l'effet le plus remarquable en raison de sa capacité à augmenter la vitesse de transport de l'oxygène et la diffusivité in vivo ainsi qu'in vitro (**Frank, 1961**). Il peut être utile dans les hémorragies, l'hypoxie alvéolaire, l'athérosclérose, les tumeurs et peut aider les patients atteints du SRAS-CoV-2. Plus de 109,20 millions de personnes se sont jusqu'à présent remises de l'infection au COVID-19, dont 32,76 à 43,68 millions (30 à 40 %) de survivants peuvent présenter des symptômes d'anxiété, de dépression, de troubles du sommeil et de stress post-traumatique. Le développement d'une formulation à base de safran et sa commercialisation peuvent aider à fournir à ces personnes un médicament en vente libre pour une gestion efficace des effets indésirables à long terme du COVID-19. Il combine le safran avec des nutriments essentiels pour la santé des yeux tels que la lutéine et la zéaxanthine, des vitamines antioxydants (A, B2, C et E), le resvératrol et le zinc. Les études sur les puces à ADN sur ce produit montrent que son efficacité n'est pas seulement due à l'action antioxydant descrocines mais aussi due à l'activation de voies multiples (**Marco et al, 2019**).

I.3.4 Effet antidépresseur :

Il existe une longue tradition d'utilisation du safran, comme antidépresseur, qui s'étend des temps anciens aux temps modernes. Dans les pays où le safran est cultivé, comme en Iran, le thé au safran a la réputation d'améliorer l'humeur et donc de lutter contre la dépression (**Hosseinzadeh et al, 2009**). Les effets du safran sur la dépression légère à modérée ont fait l'objet de plusieurs études (**Lopresti, 2014 ; Housenblas, 2013**). Le safran en tant que traitement de référence est efficace pour réduire la sévérité des symptômes dépressifs, et il a des effets antidépresseurs (**Goetz, 2018**). Grâce à ces propriétés antioxydants, anti-inflammatoires et neuroprotectrices (**Lopresti, 2014**).

I.3.5 Amélioration des troubles de vision et la pression sanguine :

Des études réalisées in vitro et chez l'animal montrent l'intérêt du safran ou de ses constituants de la protection de différents tissus de l'œil.

In vitro de protéger les cellules ganglionnaires rétiniennes de l'apoptose induite par un stress oxydant ou du réticulum (**Yamauchi, 2011**), et de protéger in vivo la rétine de l'apoptose induite par un agent chimique (**Ohno, 2012**). Le safran a une activité sur les fonctions sanguines et rétiniennes. Les résultats de plusieurs études montrent qu'il pourrait être utilisé pour soigner les troubles sanguins et oculaires tels que la rétinopathie et la dégénérescence de la macula (**Abdullaev, 2001**). La fonction rétinienne a été évaluée par un électrorétinogramme focal. Ce test permet d'évaluer la fonction de la rétine centrale par l'amplitude et le seuil de la réponse au signal lumineux (**Falsini, 2010**). Les extraits aqueux et éthanoliques des pétales de *Crocus sativus* ont réduit la pression sanguine de manière dose-dépendante (**Fatehi et al, 2003**).

II. La Tige « la feuille » :

À l'automne, six à dix feuilles par bulbes poussent verticalement, elles apparaissent à ou après la floraison et continuent tout l'hiver, finissant par s'estomper fin avril, puis se dépliant pendant qu'elles sèchent. Ces feuilles vertes pales, et étroites (jusqu'à 3 mm de large) sont issues d'une gaine membraneuse au début des bulbes. Les feuilles de (10 à 30) sont droites, étroites herbeuses et de couleur vert foncé (Crozet A et al ; 2012).



Figure 02: Herbée" de safran (Lucey, Meurthe et Moselle; 2010).

Le limbe à nervation parallèle est séparé en deux sur sa face supérieure par une bande blanchâtre composée de tissus lacuneux. Au niveau de la face inférieure, le limbe est creusé puis replié pour donner deux gouttières ciliées sur les bords. Ce dispositif anatomique permet à la feuille de s'enrouler sur son grand axe et d'enfermer dans un tube les stomates, ce qui limite l'évaporation en cas de besoins (Arvy M & Gallouin f; 2003).

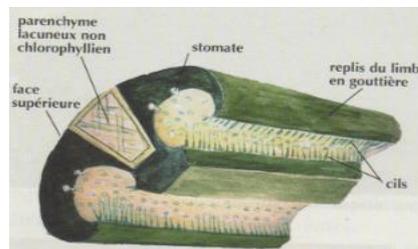


Figure 03 : Coupe transversale d'une feuille de crocus (vue de la face inférieure)
(Arvy M & gallouin f, 2003).

Les *crocus sativus* produisent un feuillage abondant d'octobre à mai. La production de 1kg de safran s'accompagne de la croissance de 1,5 tonne de feuilles pouvant dépasser un mètre de long. (Magorie Bergoin; 2005).



Figure 04: Des plantes après la récolte des fleurs (**Ferme de M : AMMAR à Ghardaïa**)

II.1 Caractérisations :

Des études menées pour déterminer les composés phénoliques des feuilles de safran en vue de démontrer leur signification en taxonomie. Ces composés sont : (**Magorie Bergoin;2005, Bate-Smith; 1968 et Williams; 1986**).

Tableau 01 : Composés phénoliques identifiés dans les feuilles de crocus

Les composés phénoliques des feuilles de <i>Crocus sativus</i> :				
Kaempférol	Acide caféique	Acide coumarique	p- Acide ferulique	Glycoflavones

III. La cytotoxicité :

La cytotoxicité est la capacité d'un matériau d'essai (agent biologique ou chimique) à causer des dommages aux membranes des cellules vivantes ou la mort des cellules, altérant ainsi la viabilité des cellules. Les tests des cytotoxicités reposent sur un raisonnement simple qui quantifie l'hémolyse comme le reflet d'un dommage chimique aux membranes cellulaires et Corrèle cette mesure à des critères de stimulation établis. L'un des avantages de ce test est qu'il est facile à réaliser et que les matériaux sont facilement disponibles, tels que les globules rouges et les cellules épithéliales, prenant moins de temps que les autres tests, moins coûteux. (**Singleton et al; 1994**).

III.1 Toxicité de safran :

D'après Paracelse, médecin du XVe siècle, le safran devient toxique en grande quantité (20g/kg de poids corporel). Outre le safran d'automne est un type de safran, également connu Sous le nom de « safran jerk », il se caractérise par un style blanc et six étamines. Toutes les parties de cette plante sont toxiques (**Palomares; 2015**).

Il semble que des doses supérieures à 10 grammes peuvent provoquer des effets secondaires tels que, saignement utérins entraînant une fausse couche, une hématurie, des nausées et lors de vomissements, la peau et les muqueuses peuvent jaunir, imitant la jaunisse. Des études in vivo montrent une très faible toxicité du safran et des extraits avec des animaux). (**Schmidt et al; 2007**).

Dans de rares cas, le risque d'allergie au safran est très faible (**Schmidt et al; 2007**).

La recherche montre que l'exposition à des niveaux très élevés de safran augmente le taux de fausses couches chez les femmes enceintes. (**Bostan et al; 2017**).

Le safran et ses composants sont également toxiques pour les fœtus et les enfants allaités. (**Taloubi et al; 2013, Wu et al; 2010**).

D'autres études in vitro ont montré que le safran et ses composants inhibent sélectivement la prolifération de cellules normales (**Milajerdi et al; 2016**).

IV.1 Polyphénols :

Les polyphénols sont des éléments phytochimiques contenus dans les végétaux, ils sont considérés comme des agents réducteurs, et des molécules qui possèdent des propriétés antioxydants. Les polyphénols constitués au moins un groupement hydroxyle et un cycle aromatique. Les composés des polyphénols jouent un rôle essentiel dans la survie des Végétaux, du plus ils contribuent dans les pathogènes, les rayons UV, les prédateurs et les parasites. Les polyphénols sont l'un des principaux composés qui contribuent à la couleur, l'astringence et à l'amertume de la plante (**Manach et al, 2004**).

En effet les polyphénols se divisent en nombreuses familles selon leur structure chimique tel que les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins, les lignanes ainsi que les stilbène (**Manach et al, 2004; Erdman et al, 2005**). Enfin les composés phénoliques sont trouvés dans tous les aliments d'origine végétale. Donc ils font partie intégrante de notre alimentation (**Scalbert et Williamson, 2000, Bravo, 1998**).

La structure de base des polyphénols est un phénol (**Figure 05**).

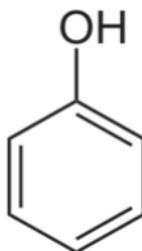


Figure 05 : Structure du noyau phénol (**Achat, 2013**)

IV.2 Classification des polyphénols :

Les composés phénoliques sont divisés en deux catégories « composés phénoliques simples et complexes » en fonction de leur structure et du nombre de noyaux aromatiques et des éléments structuraux qui lient ces noyaux.

IV.2.1 Polyphénols simples :

➤ acides phénoliques :

Les acides phénoliques sont des composés poly-phénoliques non flavonoïdes qui peuvent être divisés en deux catégories : les acides benzoïques (C1-C6) et les dérivés de l'acide cinnamique (C3-C6) (**Tsao; 2010**).

Les acides phénoliques libres se trouvent dans les fruits et légumes ainsi que dans les céréales et les graines en particulier dans le son ou les coques, ils sont généralement présents sous forme liée et ne peuvent être libérés ou hydrolysés que par hydrolyse acide ou basique ou par des enzymes. (Kim; 2006, Chandrasekara; 2010).

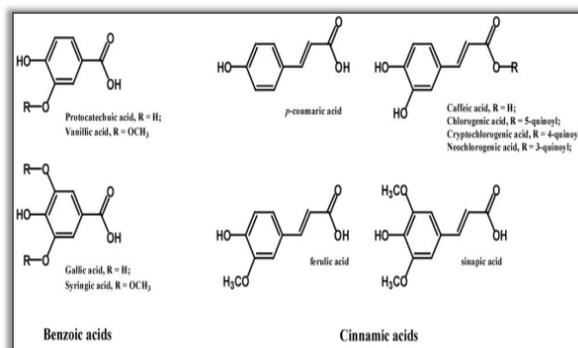


Figure 06 : Acides phénoliques typiques dans les aliments : acides benzoïques (gauche), acides cinnamiques (droite) (Chupin; 2014)

➤ Flavonoïdes :

Les flavonoïdes sont les composés phénoliques les plus populaires, ce sont des pigments universels qui caractérisent les plantes, sont presque toujours solubles dans l'eau et sont responsables de la coloration des fleurs, des fruits et des parfois des feuilles (Brunton; 2008) Ils sont constitués de 15 atomes de carbone, formant une structure C6-C3-C6, constituée de deux cycles aromatiques reliés par un pont à 3 carbones. Sur la base de la structure, il existe Plusieurs groupes de flavonoïdes, les plus importants étant : les flavanols, les flavonoïdes, les flavanones, les isoflavones, les dihydroflavonols, les chalcones, les tanins, les anthocyanes (Maugeini; 2015)

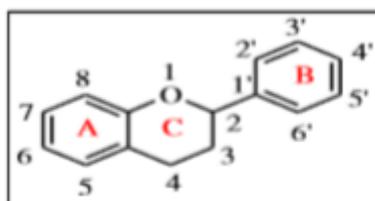


Figure 07 : structure du flavonoïde (Crozier; 2003)

IV.2.2 Polyphénols complexes :

a) Tanins :

Les tanins sont des composés phénoliques de haut poids moléculaire de nature végétale, présents dans les parties des plantes : feuilles, fruits, écorce, bois et racines. Ils sont divisés en deux groupes :

- Tanins hydrolysés : esters d'hydrates de carbone ou d'acides phénoliques, ou dérivés d'acides phénoliques, pouvant produire de l'acide gallique ou de l'acide éllagique.

- Les tanins condensés ou tanins catéchiques : sont des polymères formés par la condensation d'unités flavanes liés par des liaisons entre les carbones C4 et C8 ou C4 et C6 (**Salem; 2018**)

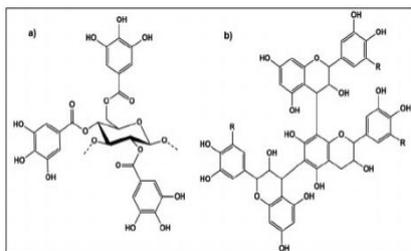


Figure 08 : structure chimique d'un deux types de tanin (a) tanin hydrolysable et (b) tanin condensé (**Bimlesh; 2014**)

b) Lignanes :

Les lignanes sont des composés phénoliques végétaux bioactifs, non nutritifs et non caloriques présents dans les graines de lin et de sésame et en faibles concentrations dans les fruits, les céréales et les légumes (**Peterson; 2010**). Les lignanes sont traditionnellement définies comme une classe de plantes secondaires. Métabolites dérivés de la démérisation oxydative de deux ou plusieurs unités phénylpropane (**Barker; 2019**).

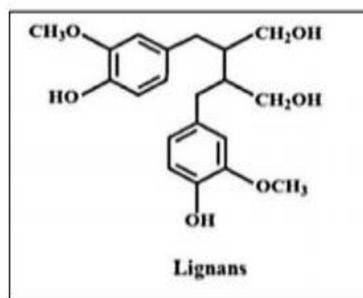


Figure 09: les lignanes (**Casarine; 2014**)

c) Stilbènes :

Ils appartiennent à la classe des polyphénols végétaux, dont il a été démontré qu'ils possèdent un large éventail d'activités biologiques. Ils sont largement présents dans la nature et ont attiré beaucoup d'attention pour leur diverses fonctions de santé dans l'alimentation humaine et les traitements médicaux, tels que les antioxydants et les anticancéreux. Activités. Ils représentent une classe de composés avec un squelette commun de 1,2-diphényléthylène (**Zhou; 2020**). Les principaux composants du stilbène naturel sont le pterostilbène, le resvératrol, le piceatannol et l'oxyresvératrol.

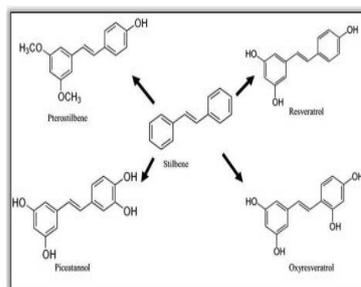


Figure 10 : Structure chimique du Stilbènes et de ses dérivés (Tava; 2018)

IV.2.3 Biosynthèse :

Les polyphénols sont synthétisés via deux voies de biosynthèse : la voie shikimate, qui produit conduit à la production des composés aromatiques comme L-phénylalanine et/ou L-tyrosine, puis par désamination de ces derniers, aux acides cinnamiques et à leurs dérivés comme les acétophénones, les acides benzoïques, lignanes et lignine à partir de l'érythrose 4-phosphate et le phosphoénolpyruvate qui sont à l'origine des composés phénoliques C6-C1 formant les tannins hydrolysables, les flavonoïdes et tannins condensés (Dewick, 1995) ; (Ouldkaddour, 2019) ; (Sahli, 2018)]

La voie de l'acétate aux composés polycycliques tels que la 1,8-dihydroxyanthraquinone ou la naphtoquinone donne des poly β -coesters (polyacétates) de longueur variable (Bruneton; 1999).

De plus, du fait de cette double source biosynthétique, la diversité structurale des composés polyphénoliques est encore augmentée, les deux voies pouvant être impliquées simultanément dans le développement de composés d'origine mixte, les flavonoïdes (Andriantsitohaina; 2002).

IV.2.4 Rôles des polyphénols :

Les polyphénols sont importants pour la physiologie de la tige, ils jouent un rôle essentiel dans plusieurs fonctions.

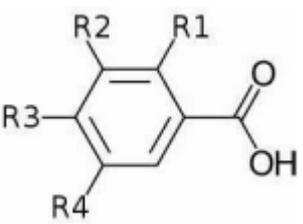
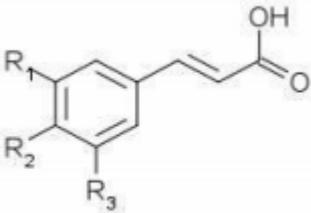
- _ la protection des tissus végétaux contre les rayonnements UV (Iattanzio et al ; 2008)
- _ Ils sont responsables de la pigmentation des fleurs, des fruits et des pollens pour attirer les pollinisateurs et les disperseurs de grains (Hadi, 2004)
- _ ils donnent l'arôme et le parfum aux plantes.
- _ ils facilitent la fertilité de la plante et la germination de pollen (Petti et Scully , 2009)
- _ la protection contre les microorganismes pathogène et les insectes (Balasundram et al ; 2006) ; (Taylor et Chom, 2006) ; (Petti et Scully, 2009).

V. Acides phénoliques :

Les acides phénoliques désignent les phénols à fonction acide carboxylique. Cependant, lors de la description des métabolites végétaux, ils constituent un groupe distinct des acides Organiques. Ces acides phénoliques naturels contiennent deux squelettes carbonés : les structures acides hydroxy-cinnamiques (Xa) et acides hydroxy-benzoïques (Xb) (Tableau02). Bien que le squelette de base reste le même, le nombre et la position des groupes hydroxyles

sur le cycle aromatique ont changé. Dans de nombreux cas, les analogues d'aldéhyde sont également combinés avec des acides phénoliques, tels que la vanilline (**Shahidi et al; 1992**).

Tableau 02: Les principaux acides phénoliques (**Macheix et al; 2005**).

Acides hydroxy benzoïques		
	R1=R2=R3=R4=H	Acide benzoïque (non phénolique)
	R1=R2=R4=H, R3=OH	Acide p-hydroxy-benzoïque
	R1=R4=H, R2=R3=OH	Acide protocatéchique
	R1=R4=H, R2=OCH3, R3=OH	Acide vanilique
	R1=H, R2=R3=R4=OH	Acide gallique
	R1=H, R2=R4=OCH3, R3=OH	Acide syringique
	R1=OH, R2=R3=R4=H	Acide salicylique
	R1=R4=OH, R2=R3=H	Acide gentisique
Acides hydroxy cinnamiques (phénylpropanoïdes)		
	R1=R2=R3=H	Acide cinnamique (non phénolique)
	R1=R3=H, R2=OH	Acide p-coumarique
	R1=R2=OH, R3=H	Acide caféique
	R1=OCH3, R2=OH, R3=H	Acide férulique
	R1=R3=OCH, R2=OH	Acide sinapique

CHAPITRE 2 : MATERIEL ET METHODE

I. Teste de cytotoxicité

I.1 Principe :

Le principe de cytotoxicité est de mettre en contact des hématies avec les extraits méthanolique de la tige de safran, à différentes concentration dans une solution isotonique et de suivre le taux d'hémoglobine libérée par les cellules hémolysées, dans le but d'évaluer la cytotoxicité de ces extraits, vis-à-vis, des GRh.

I.1.2 Préparation de la suspension des globules rouges humain (GRh) :

- La prise de sang a été effectuée au niveau de laboratoire, sur une volontaire de 24 ans, les échantillons sont récupérés dans des tubes héparinisés.
- ² Centrifugation a 3000 rmp pendant 10 mn.
- Le culot des globules rouges est récupéré et lavé avec une solution isosaline.
- Le volume est mesuré et reconstitué sous forme de suspension de 10 % (v/v) (GRh).



Figure 11 : centrifugeuse à vitesse réglable.

I.1.3 Mode opératoire :

Le protocole suivi est celui de (Bulmus et al, 2003).

- Un volume de 1,6 ml de l'extrait méthanolique des tiges de safran et l'acide gallique (molécule de référence de composés phénolique) est mélangé avec un volume de 0,4 ml de la suspension de GRh (10%).
- Le mélange est incubé à 37°C pendant 30 mn. Centrifugé à 3000 rmp pendant 10 mn.
- L'absorbance est mesurée à 560 nm.
- En parallèle, deux contrôles sont réalisés dans les mêmes conditions, en remplaçant l'extrait avec de l'eau physiologique (contrôle négatif) ou avec de l'eau distillée (contrôle positif correspondant à 100 % d'hémolyse).

Expression des résultats : le pourcentage d'hémolyses est calculé à partir de la formule suivante :

$$\% \text{ d'hémolyse} = (A_t \setminus A_C) * 100$$

Où : AC = absorbance du contrôle positif ; At = absorbance du test

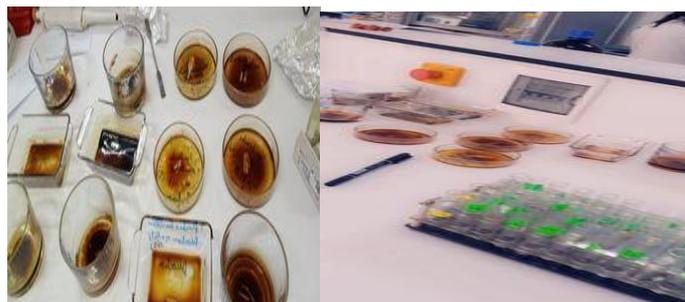


Figure 12 : les extraits de la tige de safran.

II. Dosage des polyphénols totaux :

II.1 Principe :

Ce dosage des polyphénols totaux est effectué par la méthode de Folin-Ciocalteu fin de quantifier les teneurs en polyphénols totaux. Ce réactif utilisé est constitué d'un mélange de complexes de l'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$) de couleur jaune et l'acides phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$). Il est réduit lors de l'oxydation des phénols pour former un complexe bleu stable d'oxydes de tungstène et de molybdène [(Ribéreau, 1968) ; (Ortiz et al; 2013)]. L'intensité de la couleur est proportionnelle au taux des composés phénoliques oxyde. Cette coloration est mesurée au spectrophotomètre en utilisant l'acide gallique comme étalon [(Brune et al. 1991) ; (Ghedadba et al, 2015)].

II.2 Mode opératoire :

Les polyphénols sont dosés par colorimétrie comme suit :

Un volume de 500 μ l de chaque extrait a été introduit à l'aide d'une micropipette dans des tubes à essai, suivis de l'addition de 2500 μ l du réactif Flin-Ciocalteu (10%) et 2000 μ l de solution de carbonates de sodium (Na_2CO_3) à 7,5 %.

- Le mélange a été bien agité puis incubé à l'obscurité à une température ambiante pendant 1h.
 - L'absorbance de chaque solution est mesurée au spectrophotomètre à 765 nm contre un blanc.
- ✓ Une gamme d'étalonnage qui consiste à lire les absorbances des différentes concentrations d'acide gallique a été préparée comme suit :
- Une solution mère d'acide gallique de concentration 0,3 mg/ml a été préparée.
 - À partir de cette solution mère, les dilutions filles suivantes ont été préparées :
< 0,21 ; 0,15 ; 0,105 ; 0,075 ; 0,06 ; 0,045 ; 0,024 mg/ml >

500 μ l de chaque dilution fille, ainsi la solution mère, ont été traités en suivant la même procédure décrite ci-dessus pour l'échantillon

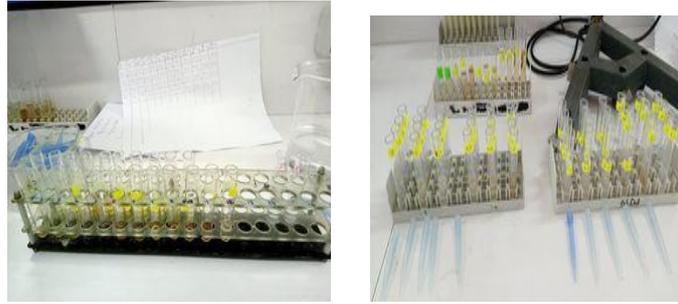


Figure 13 : Tubes de dosage des polyphénols

III. Dosage des acides phénoliques :

III.1.Mode Opérateur :

Les acides phénoliques sont dosés comme suit :

Le protocole utilisé est décrit par (Aguilira et al ,2019). Brièvement, dans des tubes à hémolyse en verre, un volume de 100 μ l de chaque extrait a été ajouté, nous avons ajouté dans l'ordre avec une micropipette 500 μ l de (eau distillée, de HCL (0,1N), de Na₂MoO₄) et 1000 μ l de NaOH (0,1N). Les tubes ont été bien agités et incubés à l'obscurité à température ambiante pendant 5 à 10 mn. L'absorbance est lue à 490 nm.

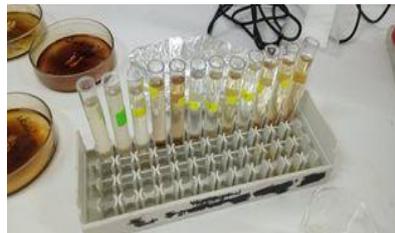


Figure 14 : tubes de dosage des acides phénolique.

RESULTATS ET INTERPRETATIONS

I. Détermination de la cytotoxicité des tiges du safran :

Le test de cytotoxicité in vitro représenté par le pourcentage d'hémolyse des globules rouges est effectué en utilisant des globules rouges d'un donneur sain en bonne santé (GR).

Différentes concentrations de l'acide gallique (polyphénol de référence) et des extraits méthanolique et aqueux des tiges du safran sèches et fraîches à partir des trois méthodes (Macération, infusion, décoction) ont été testés. Le pourcentage de l'hémolyse est évalué pour chaque extrait, en mesurant l'absorbance de l'hémoglobine libérée des globules rouges par hémolyse, en comparaison au contrôle négatif (C-, solution de GR dans de l'eau physiologique, ayant un taux d'hémolyse très faible, 6,6%) et au contrôle positif (C+, solution de GR dans de l'eau distillée afin de provoquer une hémolyse presque totale, 100% d'hémolyse).

L'action anti hémolytique in vitro de notre extrait a été évaluée par l'utilisation de modèle érythrocytaire, ce dernier est facile à isoler du sang et sa membrane à similitudes avec d'autres membranes cellulaire (**ShobanaetVidhya, 2016**). Les globules rouges sont aussi choisis comme modèle en biologie cellulaire et moléculaire pour l'étude de la cytotoxicité in vitro à cause de leur facilité d'isolement et leur simplicité. Ils sont un outil précieux pour l'étude des transports ioniques transmembranaires via la membrane érythrocytaire (**Wajeman et al, 1992**).

Les résultats obtenus sont représentés dans **les figures 15, 16, 17**.

Nos résultats montrent que l'acide gallique représente un effet hémolytique faible de 9,13% à la concentration de 50µg/ml par rapport aux autres concentrations en comparaison avec le contrôle négatif (C-, 6,6%). Cet effet hémolytique augmente à un taux 18,2% à la concentration 100µg/ml et atteint un maximum de 80% à la concentration de 1000 µg/ml (figure 5).

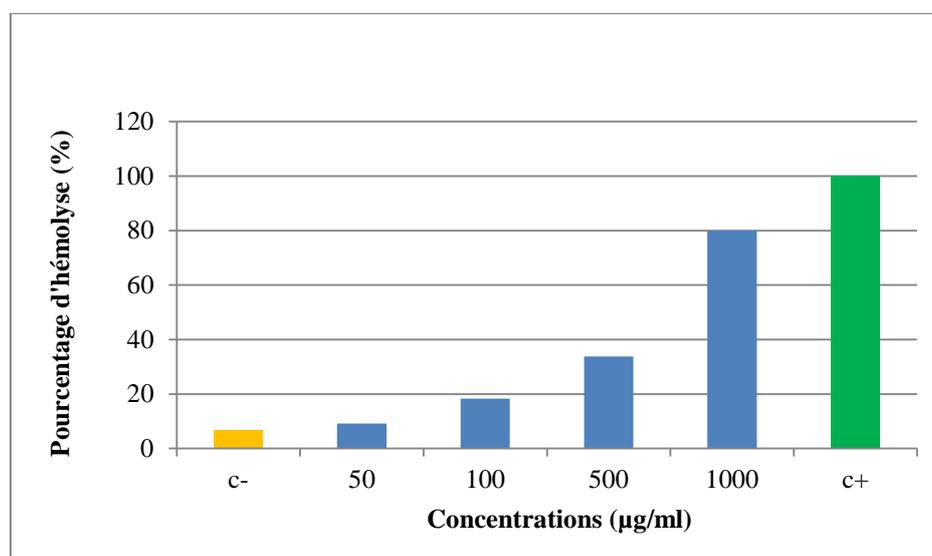


Figure 15 : Pourcentage d'hémolyse des globules rouges par l'acide gallique (C- :6,6%, C+ :100%)

1. Partie sèche :

_Les extraits méthanolique des trois méthodes montrent un taux d'hémolyse des globules rouge plus important, à la concentration de 50 $\mu\text{g/ml}$, le pourcentage d'hémolyse est le plus élevée pour chacune des trois méthodes allant de 31,7% à 36,4% .Ce taux diminue avec la concentration de 100 $\mu\text{g/ml}$, 500 $\mu\text{g/ml}$ et 1000 $\mu\text{g/ml}$ pour atteindre des pourcentages d'hémolyse convergents.

_Les extraits aqueux présentent un effet d'hémolyse des GR à la concentration la plus élevée de 50 $\mu\text{g/ml}$ de 34% pour macération, 23% infusion et 9% pour la décoction. Cet effet hémolytique atteint un taux stable allant de 8% à 11% pour la concentration 100, 500,1000 $\mu\text{g/ml}$.

_Toutes les concentrations (allant de 50 à 1000 $\mu\text{g/ml}$) présentent un taux d'hémolyse élevée comparé au contrôle négatif.

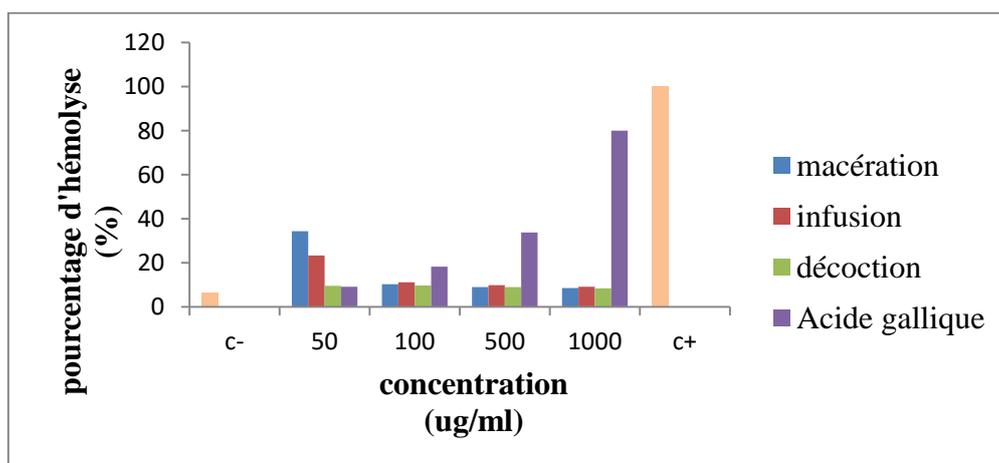
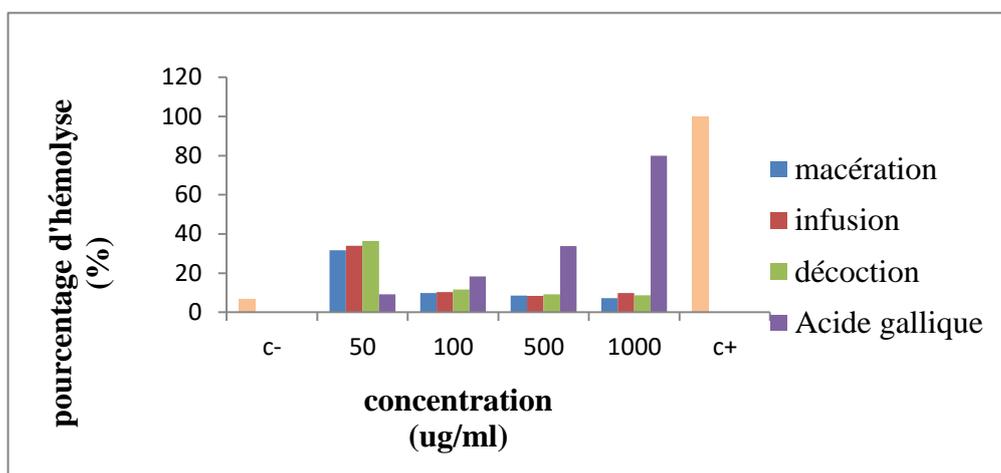


Figure 16 : comparaison des pourcentages d'hémolyse des globules rouges entre l'acide gallique et les extraits méthanolique et aqueux des tiges sèches de safran.

2. Partie fraîche :

_Les extraits méthanoliques présentent un pourcentage d'hémolyse de 11% à 12% pour les trois méthodes dans la concentration 50 µg/mL, ce dernier est diminué pour les concentrations 100, 500, 1000% (macération, décoction) et infusion (18%)

_Selon les résultats obtenus dans la (Figure 17), le taux d'hémolyse est diminué à partir de 50 µg/mL pour des concentrations convergentes.

_On comparaison avec l'acide gallique, quel que soit la concentration utilisée pour les extraits méthanoliques et aqueux des parties sèches et fraîches de tige provoque un taux d'hémolyse moins important que celui provoqué par l'acide gallique sauf à la concentration de 50 µg/mL.

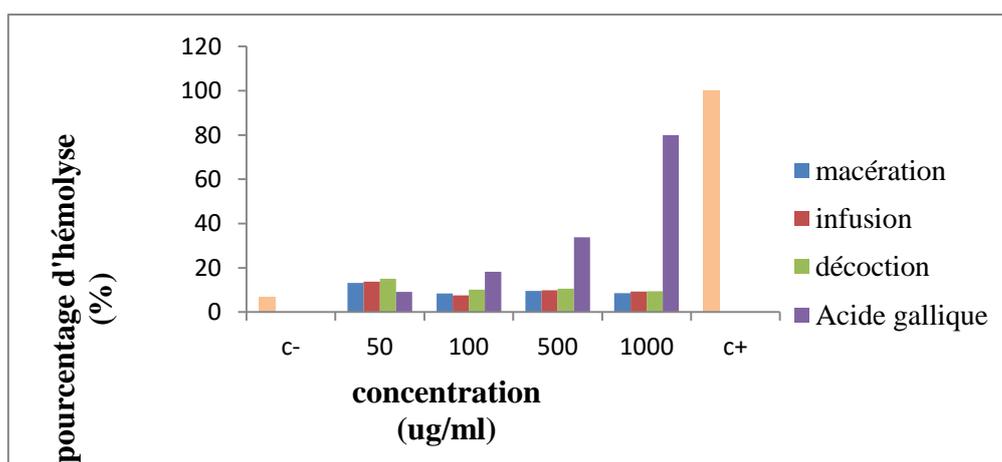
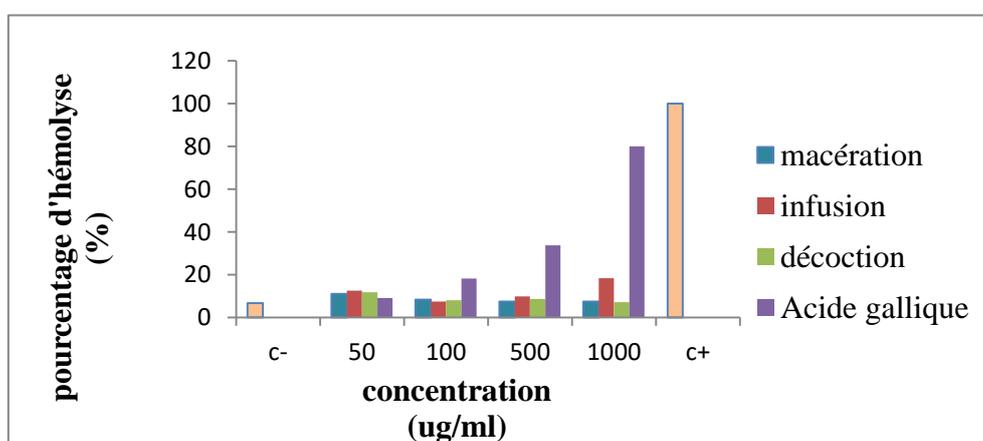


Figure 17 : comparaison des pourcentages d'hémolyse des globules rouges entre l'acide gallique et les extraits méthanoliques et aqueux des tiges fraîches de safran.

II. Détermination des polyphénols totaux :

La teneur en composés phénoliques des extraits méthanoliques et aqueux a été déterminée à partir d'une courbe d'étalonnage ($y=35,656x-0,0768$), réalisée avec de l'acide gallique à différentes concentrations.

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué par la méthode spectrophotométrique en utilisant la méthode de Folin-Ciocalteu.

Le réactif du Folin-ciocalteu est un réactif non spécifique est extrêmement sensible à la réduction de tous les groupes d'hydroxyles non seulement celles des composés phénoliques, mais également de certains sucres, protéines et mêmes des acides organiques (Ali et al, 2014). La quantité des polyphénols totaux dans les extraits est exprimée en microgramme équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait ($\mu\text{g/ml}$). Les résultats obtenus sont présentés dans (la figure 18).

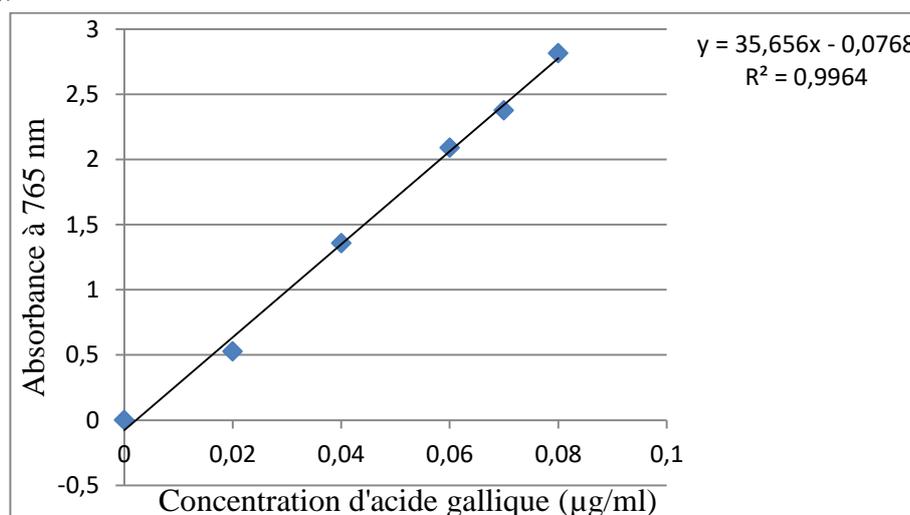


Figure 18 : courbe étalon de l'acide gallique

Nos résultats montrent un taux en polyphénols d'extrait aqueux de la tige sèche est plus élevé que l'extrait méthanolique par macération à froid, et allant de 149 à 152 $\mu\text{g/ml}$ par infusion à chaud, et un taux convergent de 152 à 154 $\mu\text{g/ml}$ par décoction. (Figure 18)

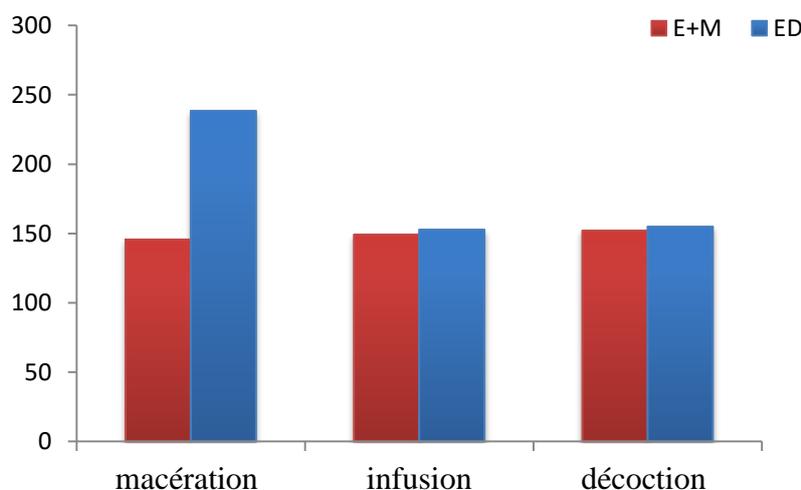


Figure 19 : Teneurs en polyphénols des extraits de la tige sèche

Les extraits aqueux de la tige fraîche de safran montrent un taux élevé par rapport aux extraits méthanolique pour la macération et décoction, contrairement à l'infusion l'extrait méthanolique est plus riche en polyphénols que l'extrait aqueux. (Figure 19).

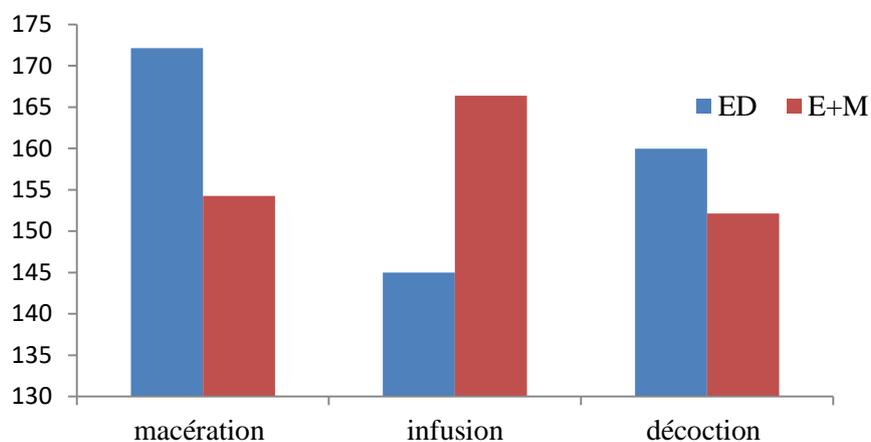


Figure 20 : Teneurs en polyphénols des extraits fraîches des tiges de safran

III. Détermination d'acide phénolique :

Les analyses quantitatives d'acide phénolique, ont été déterminées à partir de l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage ($y=0,1213x-0,1279$), tracée en utilisant l'acide chlorogénique comme standard (Figure1). Les valeurs obtenues sont exprimées en $\mu\text{g/ml}$. L'acide chlorogénique est un acide phénolique. C'est l'acide 5-O-caffeoylquinique, un dérivé de l'acide hydroxy cinnamique, tout comme l'acide caféique.

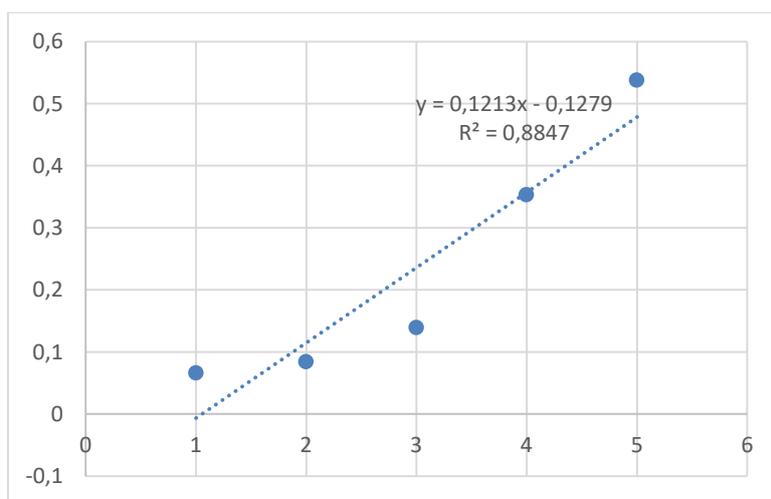


Figure 21 : courbe d'étalonnage d'acide chlorogénique

Selon les résultats obtenus dans la (Figure22) la teneur en acide phénolique des extraits sèches aqueux par macération et décoction sont plus élevées que les extraits méthanoliques, contrairement à l'extraction par infusion la teneur en acide phénolique des extraits aqueux moins importantes que celles des extraits méthanoliques.

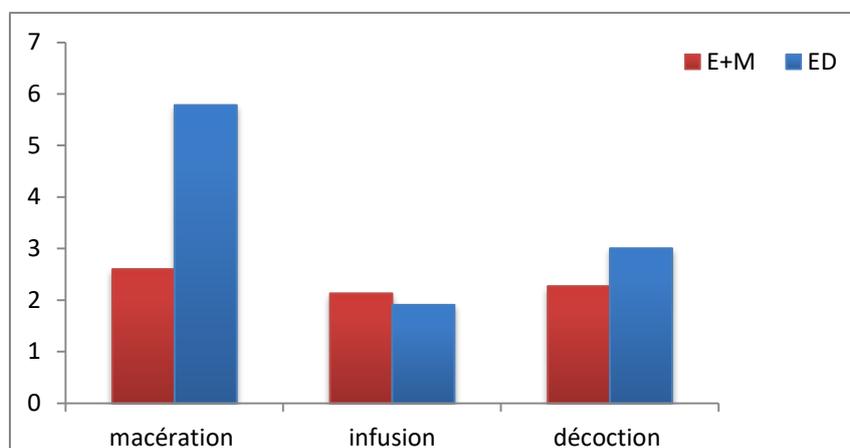


Figure22 : Teneurs en acide phénolique des extraits sèches des tiges se safran

La figure 23 montre que la teneur en acide phénolique de la partie fraîche est plus élevée pour l'extrait aqueux que pour l'extrait méthanolique par macération et décoction que celle par infusion.

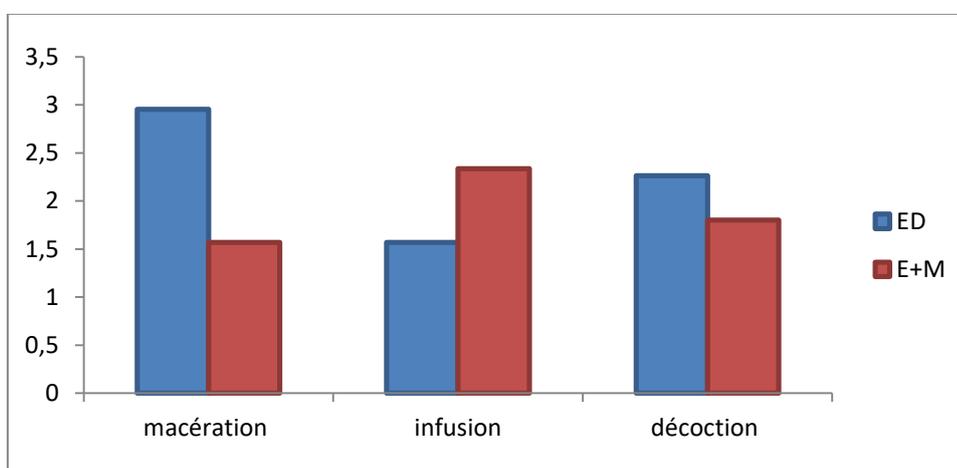


Figure 23: Teneurs en acide phénolique des extraits fraîches des tiges

DISCUSSION

Au terme de cette étude, compte tenu des résultats obtenus et face aux objectifs que nous nous sommes fixés, il est nécessaire de faire le point... Pourquoi un travail sur la cytotoxicité de la tige de safran et testés les teneurs en polyphénols totaux et acides phénoliques alors qu'il existe de nombreuses recherches sur le sujet? Certes, mais il existe très peu de travaux. Dans ce contexte, nous avons choisi le safran comme agent phytothérapeutique, une des épices les plus chers au monde, un antioxydant de premier choix et qui possède un vaste potentiel thérapeutique (**Moshiri et al, 2014**). D'après les producteurs de safran, il faut 75000 fleurs ou encore 225000 stigmates triés pour en produire 0.5 kg de safran donc il dispose une grande valeur commerciale [(**Atlas, 2010**) ; (**Ben Mostefa et Ghellil, 2017**) ; (**Bouden et Kadri, 2019**)].

Le safran est une plante vivace sans tige, appartient à la famille des iridacées, considérée comme une plante médicinale, elle est utilisée en médecine traditionnelle dans le traitement de plusieurs maladies comme les maux d'estomac, la dépression, l'insomnie (**Hosseini et al. 2018**).

Nous nous sommes intéressées à la tige de safran dans le but de connaître la cytotoxicité et la teneur en polyphénols totaux selon la méthode de Folin-Ciocalteu décrite par (**Morel et al. 2018**) avec quelques modifications.

Nous avons dans un premier temps pris des extraits méthanoliques et aqueux, qui ont été faites par une méthode d'extraction à froid qui est la macération et deux autres méthodes par extraction à chaud (infusion, décoction), nous avons réalisé ensuite un test de cytotoxicité des trois extraits, et de dosage des polyphénols totaux, et acides phénolique.

Nos résultats montrent que la tige de safran ne peut pas être considérée comme un déchet mais plutôt comme des médicaments cytotoxiques potentiels.

Les teneurs en polyphénols varient en fonction de la variété, de l'espèce et de la partie de la plante utilisée. L'action anti hémolytique in vitro de nos extraits a été évaluée par l'utilisation de modèle érythrocytaire, ce dernier est facile à isoler du sang et sa membrane à similitudes avec d'autres membranes cellulaire (**Shobana et Vidhya, 2016**).

Les globules rouges sont aussi choisis comme modèle en biologie cellulaire et moléculaire pour l'étude de la cytotoxicité in vitro à cause de leur facilité d'isolement et leurs simplicités. Ils sont un outil précieux pour l'étude des transports ioniques transmembranaires via la membrane érythrocytaire (**Wajeman et al, 1992**).

Selon les résultats obtenus avec les extraits méthanoliques et aqueux de la tige de safran, nous remarquons que l'effet de cytotoxicité dépend de la concentration de la matière végétale, de la méthode utilisée pour l'extraction et de la durée d'exposition de ce dernier dans le solvant.

D'après (**Hosseini et al, 2018**) et selon les études toxicologiques, la toxicité du stigmate de *crocus sativus* les plus importante que cela de pétales. Selon cette étude, les pétales de safran peuvent être utilisés comme médicament alternatif ou complémentaire en médecine (**Abdullah et al, 2003**) ont confirmé que le safran a un processus antitumoral anti-cancérogène.

CONCLUSION GENERALE

La production et la transformation du safran génèrent des quantités énormes de Déchets résiduels tels que les pétales et les tiges. Cette vaste quantité de résidus englobe la génération annuelle de problèmes agricoles et environnementaux.

Dans ce contexte, nous avons voulu valoriser la tige comme étant un résidu riche en polyphénols et en acides phénolique, Il serait donc mieux de les utiliser grâce à leur valeur importante.

Nous nous sommes intéressés dans un premier temps aux pourcentages de cytotoxicité de la tige fraîche et sèche en utilisant les trois types d'extraction (macération, décoction et infusion) sur des globules rouges d'un donneur sain.

Les résultats que nous avons obtenus par les méthodes d'extraction utilisées montrent que la décoction est la méthode d'extraction la moins toxique parmi nos extraits.

Nous avons aussi déterminé quantitativement, la teneur en composés phénoliques totaux et la teneur en acides phénolique dans les extractions méthanoliques et aqueux obtenus par macération, décoction et infusion par un dosage en utilisant la méthode de Folin-Ciocalteu.

Le dosage des polyphénols totaux effectués sur les extraits aqueux de la tige sèche et fraîche de safran ont montré des taux élevés en polyphénols par macération et décoction contrairement à l'extrait méthanolique qui a été faible, aussi le dosage des acides phénoliques a montré les mêmes taux en acide phénolique que ceux des polyphénols. Cela prouve que la tige fraîche est meilleure en ce qui concerne sa teneur en polyphénols ainsi qu'en acides phénolique.

Nos résultats ont indiqué que les feuilles de Crocus, un sous-produit de la production de safran, peuvent servir de source naturelle précieuse; antioxydants, lors de cette étude deux facteurs sont à prendre en compte : les différentes conditions de séchage des tiges de safran Ainsi que le taux d'humidité résiduelle de l'épice lors de sa conservation. Ces deux paramètres ont un impact sur la teneur en métabolites secondaires.

D'après nos résultats, les constituants phytochimiques dont les polyphénols contenus dans la tige de safran sont influencés par les méthodes d'extractions. De plus, les méthodes les plus efficaces dans ce genre d'extraction sont : la macération et décoction pour les extraits aqueux de la tige et infusion pour les extraits méthanolique de la tige.

Il serait intéressant dans les perspectives d'évaluer d'autres activités antioxydants, anticancéreuses, anti-inflammatoires, antimicrobiennes...etc.

Faire des tests de l'activité antioxydante in vivo avec différents mécanismes.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

A

- _ **Abdullaev F.I. (2002)**. Cancer chemopreventive and tumoricidal properties of saffron (*Crocus sativus* L). *Experimental biology and medicine*, 227, 20-25.
- _ **Achat, S. (2013)**. Polyphénols de l'alimentation : Extraction, pouvoir antioxydant et avec des ions métalliques. (Thèse de doctorat en science). Université A. MiraBejaia. 211p.
- _ **Aib Hadjer et Abdelhafid Racha (2020)**, **Evaluation** des activités biologiques et l'effet cytotoxique des huiles essentielles de *Crocus sativus* La mémoire présenté pour l'obtention du diplôme de MASTER En BIOLOGIE.
- _ **Ali et al., 2014**: Impact of Stress on Job Performance: An Empirical study of the Employees of Private Sector Universities of Karachi
- _ **Algrech C (2001)** : « le safran du Quercy » *Revue Quercy recherche* 97 et 98 (1-6-4) ; 20-27 ; 9-16 ; 18-22
- _ **Amin A., Hamza A.A., Bajbouj K., Ashraf S.S and Daoud S. (2011)**. Saffron: a potential candidate for a novel anticancer drug against hepatocellular carcinoma. *Hepatology*. 2 ; 54(3):857- 67
- _ **Andriantsitohaina, R. Martin S (2002)**, Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annales de cardiologie et d'angéiologie*, 304–315
- _ **Arvy M et Gallouin F (2003)**. Epices, aromates et condiments. Belin Ed, PP.216-219.).
- _ **Atlas (2010)** des semences locales ou acclimatées dans les Oasis de l'Oued Righ). La culture du Safran dans les Régions Arides (*Crocus sativus* L). Centre de Recherche scientifique et technique Sur Les Régions Arides Omar El-Barnaoui (C.R.S.T.R.A).
- _ **Aung H.H., Wang C.Z., Ni M., Fishbein A., Mehendale S.R., Xie J.T., Shoyama C.Y and Yuan C.S. (2007)**. Crocin from *Crocus sativus* possesses significant anti-proliferation effects on human colorectal cancer cells. *Exp Oncol*. 29(3):175-80.
- _ **Azami S, Z Shahriari, S Asgharzad (2021)**. - Evidence-Based ... Therapeutic Potential of Saffron (*Crocus sativus* L.) in Ischemia Stroke, - hindawi.com.

B

- _ **Balasundam, N., Sundram, K., Samman, S. (2006)**. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food chemistry*, 99, 191–203.
- _ **Bate-Smith E. C. (1968)**. “Phenolic constituents of plants and their taxonomic significance. II. Monocotyledons.” *J. Linn. Soc. Lond., Bot.*, 60 (383): 325-356.
- _ **Barker, D. (2019)**. Lignans. *Molecules*, 24(7), 1424
- _ **Ben Mostefa, I. et Ghellil, Z (2017)**. Dosage des polyphénols de la fleur de *Crocus sativus* L. (Mémoire de master, université Abou bekr Belkaid, Tlemcen). 17-20-47.
- _ **Bergoin M., (2005)**. Application du concept de raffinage végétal au safran du Quercy (*Crocus sativus*) pour la valorisation intégrée des potentiels aromatiques et colorants.
- _ **Bimlesh, L. S. (2014)**. Naturally occurring phenolic sources: monomers and polymers. *RSC Advances*, 21712–21752 | 21725.

Bouden, H., et Kadri, A. (2019). Contrôle de qualité du café et du safran. (Mémoire de master, université Blida 1, Blida). 1-12.

_ **Boskabady M.H. ET Farkhondeh T. (2016).** antiinflammatory, antioxidant, and immunomodulatory effects of *Crocus sativus* L. and its Main Constituents. *Phytother. Res*, 30(7), 1072-1094

_ **Boskabady M.H., Gholamnezhad Z., Ghorani V., Saadat S. (2019).** The effect of *Crocus sativus* (saffron) on the respiratory system: traditional and experimental evidence. *Sci. Spice. Culin. Herb. Latest Lab. Pre-Clin. Clin. Stud.* 1, 30–54.

_ **Bostan, H. B., Mehri, S., Hosseinzadeh, H. (2017).** Toxicology effects of saffron and its constituents: a review *Iran j basic medsci*, 20, 110-12.

Boskabady M.H. ET Farkhondeh T. (2016). antiinflammatory, antioxidant, and immunomodulatory effects of *Crocus sativus* L. and its Main Constituents. *Phytother. Res*, 30(7), 1072-1094.

_ **Bravo L (1998).** Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *NutrRev.*;56(11):317-33.

_ **Bruneton, J. (1999).** Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, (3ème éd.). Editions Tec & Doc Lavoisier, p 1120.

_ **Brunton, J. (2008).** Pharmacognosie - Phytochimie, plantes médicinales, 3e éd, revue et augmentée. . Paris: Tec & Doc - Éditions médicales internationales

_ **Brune, M., Hallberg, L., et Skanberg, A. B. (1991).** Determination of Iron-Binding Phenolic Groups in Foods. *Journal of food science*, 56(1), 128–131. doi:10.1111/j.1365-2621.1991.tb07992.

C

_ **Casarine, E. D. (2014, Aug 07).** Molecular mechanisms of antiproliferative effects induced by Schisandra-derived dibenzocyclooctadiene lignans (+)-deoxyschisandrin and (-)-gomisin N in human tumour cell lines. *Fitoterapia*, pp. 98:241-247.

_ **Chahine, N. (2014).** Effet protecteur du safran, contre la cardiotoxicité de la doxorubine en condition isochimique.).

_ **Chandrasekara, A. S. (2010).** Content of insoluble bound phenolics in millets and their contribution to antioxidant capacity. *J Agric Food Chem* 58, 6706-6714.

_ **Crozet A., Durfort S (2012).** Sus-Rousset H. *Crocus sativus* L. (Iridaceae), le safran. *Phytothérapie*, 10 (2), pp. 121-125.).

_ **Crozier, A. (2003).** Classification and biosynthesis of secondary plant products: an overview. In *Plants” Diet and Health”*. Ed. Goldberg.

_ **Chupin, L. (2014).** Etude de l'extraction de tanins d'écorce de pin maritime pour l'élaboration de colles tanin-lignosulfonate. These de doctorat de l'université de pau et des Pays de l'Adour avec le Label Doctorat Européen

D

_ **D'Alessandro A.M., Mancini A., Lizzi A.R., De Simone A., Marroccella C.E., Gravina G.L., Tatone C and Festuccia C. (2013).** *Crocus sativus* stigma extract and its major constituent crocin possess significant antiproliferative properties against human prostate cancer. *Nutr Cancer*. 65(6):930-42.

E

- _ **Erdman JW Jr, Balentine D, Arab L, Beecher G, Dwyer JT, Folts J, Harnly J, Hollman P, Keen CL, Mazza G, Messina M, Scalbert A, Vita J, Williamson G, Burrowes J (2005).** Flavonoids and heart health: proceedings of the ILSI North America Flavonoids Workshop, May 31-June 1., Washington, DC. *J Nutr.* 2007; 137(3 Suppl 1):718S-37S.
- _ **Escribano J., Alonso G. L., Coca-Prados M., & Fernandez J. A. (1996).** Crocin, safranal and picrocrocin I from saffron (*Crocus sativus* L.) inhibit the growth of human cancer cells in vitro. *Cancer Letters*, 100, 23–30.

F

- _ **FAO** Nuevos sistemas Agrícolas designados patrimonio agrícola mundial en Iran, Marruecos y España <http://www.org/news/story/ES/item/1176285/icode/>
- _ **Falsini B. (2010).** Influence of saffron supplementation on retinal flicker sensitivity in early age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 51 : 6118-6124.
- _ **Fatehi M., Rachidabady T et Fatehi H.Z. (2003).** Effects of crocus sativus petals extract on rat blood pressure and on response induced by electrical field stimulation in the rat isolated vas deferens and guinea-pig ileum. *J Ethno pharmacology.* 84: 199-203.
- _ **Frank A. (1961).** Purpura resulting from artificial abortion. *Deut Med. Wochschr* 86, 1618–1620.

J

- _ **J.B. Harborne (1999).** Classes and functions of secondary products, in: N.J. Walton, D.E. Brown (Eds.), *Chemicals from Plants, Perspectives on Secondary Plant Products*, Imperial College Press, pp. 1–25
- _ **J. Li, T.M. Ou-Lee, R. Raba, R.G. Amundson, R.L. Last (1993).** Arabidopsis flavonoid mutants are hypersensitive to UV-B radiation, *Plant Cell* 5 171–179

H

- _ **Hadi, M. (2004).** La quercétine et ses dérivés: molécules à caractères pro-oxydants ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques. (Thèse doctorat. Option Pharmacochimie). Université Louis Pasteur, Strasbourg.
- _ **Herbée de safran [Lucey, Meurthe-et-Moselle (2010).** Baba de safran, octobre 2010]
- _ **Hosseinzadeh H., Younesi H.M. (2002).** Antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Crocus sativus* L. stigma and petal extracts in mice. *BMC Pharmacol.* 2 (1), 2–7.
- _ **Hosseinzadeh H., Ghenaati J. (2006).** Evaluation of the antitussive effect of stigma and petals of saffron (*Crocus sativus*) and its components, safranal and crocin in Guinea pigs. *Fitoterapia* 77 (6), 446–448.
- _ **Hosseinzadeh Namin M., Ebrahimzadeh H., Ghareyazie H., Radjabian T., Gharavi S., Tafreshi N. (2009).** In vitro expression of apocarotenoid genes in *Crocus sativus* L. *Afr. J. Biotechnol.* 8.5378–5382.
- _ **Housenbles H.A (2013).** Saffron (*Crocus sativus* L) and major depressive disorder: a meta-analysis of randomized clinical trials. *J Integr. Med.* 11:377-383.
- _ **Hosseini, A., Razavi, B.M., et Hosseinzadeh, H. 2018.** Saffron (*Crocus sativus*) petal as a new pharmacological target. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, Vole 21 n° 11, p. 1093.

I

I. Mzabri¹, K. Charif¹, M. Rimani², N. Kouddane¹, A. Boukroute, A. Berrichi¹ (2020). History, biology 2020, and culture of *Crocus sativus*: Overview and perspectives.

G

_Ghedadba, N., Hambaba, L., Ayachi, A., Aberkane, M.C., Bousselfela, H. & OueldMokhtar, S.M. (2015). Polyphénols totaux, activités antioxydante et antimicrobienne des extraits des feuilles de *Marrubium deserti* de Noé. *Phytothérapie*, 13(2), 118-129.

_Goetz P. (2018). Traiter la dépression en 2018. *Phytothérapie*. 16 (1), 38

_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.

K

_Kaddour & Azzout, 2020 ; jardinage.lemonde.fr

_ K.B.G. Torssell (1997). Chemical ecology, in: K.B.G. Torssell (Ed.), *Natural Product Chemistry, A Mechanistic Biosynthetic and Ecological Approach*, Swedish Pharmaceutical Press, 1997, pp. 42–79.

_Khaled Boumediene (2016). Tlemcen: Le safran local fait sa promotion Khaled Boumediene Publié dans *Le Quotidien d'Oran* le 19 - 11 - 2016).

_Kim, K. T. (2006). Phenolic Acid Profiles and Antioxidant Activities of Wheat Bran Extracts and the Effect of Hydrolysis Conditions. *Food Chemistry*, 95, 466-473.

_Knaggs, A.R. (2003). The biosynthesis of shikimate metabolites. *Natural Product Reports*.

_ Kordzadeh A., Saadatabadi A.R., Hadi A. (2020). Investigation on penetration of saffron components through lipid bilayer bound to spike protein of SARS-CoV-2 using steered molecular dynamics simulation. *Heliyon* 6 (2020), e05681.

L

_ Lattanzio, V., Kroom, P. A., Quideau, S., Treutter, D. (2008). Plant phenolics secondary metabolites with diverse functions. In: *Recent advances in polyphenol research*, (volume 1, Ed. Wiley Blackwell).

_Liao Y.H., Houghton P.J., Hout J.R.S. (1999). Novel and known constituents from *Buddleja* species and their activity against leukocyte eicosanoid generation. *J. Nat. Prod.* 62 (9), 1241–1245

_ 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.

_Lucey, Meurthe-et-Moselle (2010), *Baba de safran*, octobre "herbée" de safran

Lopresti A.L et Drummond P.D. (2014).Saffron (*Crocus sativus*) for depression : a systematic review of clinical studies and examination of underlying antidepressant mechanisms of action. *Hum Psychopharmacol.* 29 : 517-527.

M

Macheux, J. J., Fleuriste, A., le Jay - Allemand, C. (2005). Le composé phénolique des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. PPUR Presses polytechniques.

_Manach C, Scalbert A, Morand C, Rémésy C, Jiménez L(2004).Polyphénols: food sources and bioavailability. *Am J Clin Nutr.*;79(5):727-47.

_ Magorie Bergoin (2005).Application du concept de raffinage végétal au safran du Quercy (*Crocus sativus*) pour la valorisation intégrée des potentiels aromatiques et colorants, (25 octobre).

_ Marco S.D., Carnicelli V., Franceschini N., Di Paolo M., Piccardi M., Bisti S., Falsini B. (2019). Saffron: a multitask neuroprotective agent for retinal degenerative diseases. *Antioxidants* 8 (7), 224.

_Maugeini, M. (2015). La rutine et ses dérivés : Perspectives thérapeutiques et applications à l'officine. These pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie, université de Limoges.

_ Melnyk J., Marcone M., Wang S (2010). Chemical and biological properties of the world's most expensive spice, saffron. *Food Research International*, 43(8) 1981-1989.

_ Milajerdi, A., Djafarian, K., et Hosseini, B. (2016).The toxicity of saffron (*Crocus sativus* L.) and its constituents against normal and cancer cells. *Journal of nutrition & intermediary metabolism*, 3, 23-32. doi:10.1016/j.jnim.2015.12.332.

_ Morales D, Paris AJ, Ruiz-Rodriguez A, Prodanov M, Soler-Rivas C (2018). Extraction of bioactive compounds against cardiovascular diseases from *Lentinula edodes* using a sequential extraction method. *Biotechnology Progress*. 2018; 34(3):746-755.

_ Moshiri, E. Basti, A. Noorbala. A. Janishidi, An Abba-si, S. H.C AKHondzadeh , S. (2006). *Crocus sativus* L. (Petal) in the treatment of mild -to-moderate depression: A double blind, randomized and placebo controlled trial. *Photomedicine*, 13 (9) ,607- 611.

_Moshiri, Janishidi, An Abba-si. Drug Res (Stuttg) (2015). Applications cliniques du safran (*Crocus sativus*) et de ses constituants : A review.

O

_Ohno Y. (2012). Oral administration of crocetin prevents inner retinal damage induced by N-methyl-D-aspartate in mice. *Eur J Pharmacol.* 690 : 84-89

_Ortiz, J., Marín Arroyo, M. R., Noriega Domínguez, M. J., Navarro, M., Arozarena I., Color, (2013). Phenolics and antioxidant activity of blackberry (*Rubus glaucus* Benth). Blue berry (*Vaccinium floribundum* Kunth) and apple wines from Ecuador. *J food sci.* 78(7): C985-93.

P

- _ **Palomares C. (1988).** LE SAFRAN, PRECIEUSE EPICE OU PRECIEUX MEDICAMENT. Thèse de doctorat. UNIVERSITÉ DE LORRAINE Université Mentouri de Constantine. Pham-Huy LA, He H, and Pham-Huy C. Free radicals, antioxidants, in disease and health. *Int J Biomed Sci.* 4(2):89-96. 2008
- _ **Palomares Claire (2015).** Le safran, précieuse épice ou précieux médicament ? Sciences pharmaceutiques.ffhal-01732922.
- _ **Palomares, C. (2015).** Le safran, prescieuse epice ou precieux medicament ? (Thèse de doctorat). Université De Lorraine. France.
- _ **Peterson, J. D. (2010).** Dietary lignans: physiology and potential for cardiovascular. *Nutrition Reviews*, Vol. 68(10):571–603.
- _ **Petti, S., Scully, C. (2009).** Polyphenols, oral health and disease, a review. *Journal of Dentistry*, 37, 413-423.
- _ **Premkumar K., Ramesh A. (2010).** Anticancer, antimutagenic and antioxidant potential of saffron: an overview of current awareness and future perspectives. *Funct. Plant Sci. Technol.* 4, 91–97.

R

- _ **Rahmani A.H., Khan A.A., Aldebasi Y.H. (2017).** Saffron (*Crocus sativus*) and its active ingredients: role in the prevention and treatment of disease. *Phcog. J.* 9 (6).

Razavi B.M., Hosseinzadeh H. (2017). Saffron: a promising natural medicine in the treatment of metabolic syndrome. *J. Sci. Food Agric.* 97 (6), 1679–1685.

_ **Ribereau, G. P, (1968).** Les composés phénoliques des végétaux. Dunod, Paris.

_ **Rubio-Moraga, A., Castillo-López, R., Gómez-Gómez, L., & Ahrazem, O. (2009).** Saffron is a monomorphic species as revealed by RAPD, ISSR and microsatellite analyses. *BMC Research Notes*, 2(1), 189.

S

_ **Salem, J. H. (2018).** Extraction, identification, caractirisation des activités. These de doctorat, INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE DE LORRAINE.

_ **Scalbert A et Williamson G (2000).** Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *J Nutr.*;130(8SSuppl):2073S-85S.

_ **Schmidt, M., Betti, G., ET Hensel, A. (2007).** Saffron in phytotherapy: Pharmacology and clinical uses. *Wiener medizinische wochenschrift*, 157(13-14), 315–319. doi:10.1007/s10354-007-0428-4.

_ **Shahidi, F.; Wanasundara, P. K (1992).** Phenolic Antioxidants. *Crit. ReV. Food Sci. Nutr.*32, 67

_ **Shobana S. et Vidhya R (2016).** Évaluation de l'activité hémolytique in vitro de différentes parties d'Abutilon indicum (Linn.). *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences ;* 5(5): 1182-1196.

_ **Siddiqui, M J., Saleh, S M., Binti Basharuddin, N B., Binti Zamri, S H., Mohd Najib, MH., Muhammad, Z B., binti Mohd Noor, N A., Hanin ,N., Binti, M., Norazian, M H et**

Alfi K. (2018). Saffron (*Crocus sativus*. L): As an antidepressant. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*, Vol. 10 n° 4, p. 173

_ **Singleton, B. K., Libretto, S. E., Sibley, P. R., Mifsud, C. V. J., et Andrews, C. M. (1994).** An in vitro haemolysis test as an alternative to the draize test for ocular irritation. *Comp haematol int.* 4, 49-54

Soleymani S., Zabihollahi R., Shahbazi S., Bolhassani A. (2018). Antiviral effects of saffron and its major ingredients. *Curr. Drug Deliv.* 15 (5), 698–704.

_ **Srivastava R., Ahmed H., Dixit R.K., Dharamaveer, Saraf S.A. (2010).** *Crocus sativus* L. A comprehensive review. *Pharmacogn Rev*, 4: 200

_ **Sevindik B, S Kırıcı, Y Yalçın Mendi (2018)** - Régénération in vitro du safran dans le monde- XXX International Horticultural ..., - actahort.org

T

_ **Taloubi, L., Rhouda, H., Belahcen, A., Smires, N, Thimou, A., Mdaghri, A. A. (2013).** An overview of plants causing teratogenicity: Fenugreek (*Trigonella foenumgraecum*). *Int j pharm sci res.* 514-516

_ **Tava, S. N. (2018).** Photoprotective Effect Of Stilbenes And Its Derivatives. *Biomedical & Pharmacology Journal*, Vol. 11(3), 1199-1208/1203

_ **Tavakkol-Afshari J., Brook A and Mousavi SH. (2008).** Study of cytotoxic and apoptogenic properties of saffron extract in human cancer cell lines. *Food Chem Toxicol.* 46(11):3443-7

_ **Tsao, R. (2010).** Chemistry and Biochemistry of Dietary Polyphenols. *nutrients* ISSN 2072-6643, p1232.

_ **Taylor, F. A., Chom, M. A. (2006).** Phenolics in Foods. *The journal of NAET energetics and complementary medicine*, 2(4), 565-568.

V

_ **Valizadeh R. (2000).** "Utilization of saffron leaves as an animal feedstuff." *Agricultural sciences and technology*, 14 (1): 3-9.)

W

_ **Wali petals, HAA Alchamat, HK Hariri, BK Harir 2020.** Antioxidant, Antimicrobial, Antidiabetic and Cytotoxic Activity of *Crocus sativus* L. - *Applied Sciences*, - mdpi.com.

Williams C. A., Harborne J. B. et Goldblatt P. (1986). "Correlations between phenolic patterns and tribal classification in the family Iridaceae." *Phytochem.*, 25 (9): 2135-2154.

_ **Wajeman h. Lantz B., Girot R. (1992).** - les maladies du globule rouge.- 2e Edition ; Paris : Inserm

_ **Wu, M., Hu, Y., Ali, Z., Khan, I. A., Verlangeiri, A. J., et Dasmahapatra, A. K. (2010).** Teratogenic effects of blue cohosh (*Caulophyllum thalictroides*) in Japanese Medaka (*Oryzias latipes*) are probably mediated through GATA2/EDN1 signaling pathway. *Chemical research in toxicology*, 23(8), 1405–1416. doi:10.1021/tx100205a

Y

_ **Yamouchi M. (2011).** Crocetin prevents retinal degeneration induced by oxidative and endoplasmic reticulum stresses via inhibition of caspase activity. *Eur J pharmacol.* 650 : 110-119.

_ **Yasmin S & F. A. Nehvi (2013)**, Saffron as a valuable spice: A comprehensive review. African J. Agric. Res. 8, 3: 234–242). DOI: 10.5897/AJAR12.1955

Z

_ **Zobeidi, Z., et Ben Khalifa, A. (2014)**. La culture de safranier (*crocus sativus* L) en Algérie. Research Gate, Vol 2, p2.

_ **Zhou, D. C. (2020)**. Stilbenes from the tubers of *Flotilla striate* with potential

الملخص

يركز عملنا على دراسة النبات الطبي المسمى *L sativus Crocus* و المعروف بالزعفران ويشار اليه بالذهب الاحمر بسبب ارتفاع ثمنه حيث بدأ ت زراعته في النمو في الجزائر من خلال دعم المشاريع العائلية و التجارب الموثقة في قسنطينة، خنشلة، تيارت، تلمسان. في هذا العمل، نحن مهتمون بدراسة سيقان الزعفران، التي تعتبر نفايات ويتم اهمالها تجاريا بالكامل تقريبا.

الخطوة الاولى في عملنا هي السمية الخلوية للميثانول و المستخلصات المائية مقابل الكريات الحمراء البشرية. المبدأ هو وضع خلايا الدم الحمراء المتلامسة مع مستخلصات ساق الزعفران.

فيما يتعلق بتحديد البوليفينول الكلي لساق الزعفران، تظهر النتائج ان المستخلص المائي الذي اعده نقع الجزء الجاف، له تركيز مرتفع عن ذلك الذي يتم اعداده عن طريق التفكيك و التسريب في كلا الجزأين.

تظهر نتائج فحص حمض الفينوليك الجذعي للزعفران أن المستخلص المائي تم إعداده عن طريق نقع الجزء الجاف و له أيضًا تركيز مرتفع فيما يتعلق بالتفكيك والتسريب في كلا الجزأين.

نتائج اختبار السمية الخلوية لها مستويات منخفضة من انحلال الدم.

الكلمات الرئيسية السيقان، البوليفينول، الفينوليك، السمية الخلوية، *Crocus sativus*.

RESUME

Notre travail porte sur l'étude d'une plante médicinale *Crocus sativus* connue sous le nom de safran et désignée par l'appellation de l'or rouge en raison de son prix élevé. La culture du safran commence à prendre de l'ampleur en Algérie par des projets familiaux soutenus et des expérimentations documentées à Constantine, Khenchela, Tiaret et Tlemcen.

Dans le présent travail, nous sommes intéressés à l'étude des tiges de safran qui sont considérés comme des déchets et presque totalement négligés sur le plan commercial.

La première étape de notre travail consiste à l'étude de la cytotoxicité des extraits méthanolique et aqueux vis à vis des globules rouges humains. Le principe est de mettre en contact des globules rouges avec les extraits de la tige de safran.

Concernant le dosage des polyphénols totaux de la tige de safran, les résultats démontrent que l'extrait aqueux préparé par la macération de la partie sèche présente une concentration élevée que celui préparé par décoction et infusion dans les deux parties.

Les résultats de dosage d'acide phénolique de tige de safran montrent que l'extrait aqueux préparé par la macération de la partie sèche présente aussi une concentration élevée par rapport la décoction et l'infusion dans les deux partie.

Les résultats obtenus par le test de cytotoxicité présente des faibles taux d'hémolyse, ces résultats montrent que les tiges de safran ne sont pas toxiques sur les globules rouges.

Mots clés : Tiges *Crocus sativus.L*, polyphénol, phénolique, cytotoxicité.

ABSTRACT

Our work focuses on the study of a medicinal plant *Crocus sativus* known as saffron and designated by the name of red gold because of its high price. The cultivation of saffron is beginning to gain momentum in Algeria through sustained family projects and documented experiments in Constantine, Khenchela, Tiaret and Tlemcen.

In the present work, we are interested in the study of saffron stems which are considered as waste and almost totally neglected commercially.

The first step of our work consists in the study of the cytotoxicity of methanolic and aqueous extracts towards human red blood cells. The principle is to put in contact red blood cells with the extracts of the saffron stem.

Concerning the dosage of the total polyphenols of the stalk of saffron, the results show that the aqueous extract prepared by the maceration of the dry part presents a high concentration than the one prepared by decoction and infusion in both parts.

The results of dosage of phenolic acid of saffron stem show that the aqueous extract prepared by the maceration of the dry part also presents a high concentration compared to the decoction and the infusion in both parts.

The results obtained by the test of cytotoxicity present low rates of hemolysis, these results show that the stems of saffron are not toxic on the red globules.

Key words: *Crocus sativus.L* stems, polyphenol, phenolic, cytotoxicity.