

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'enseignement Supérieur

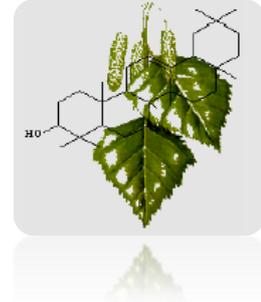
et de la Recherche Scientifique



Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou

**Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences
Agronomiques**

Département de Biochimie-Microbiologie



Mémoire de fin d'étude

En vue de l'obtention de diplôme de master en Sciences de la Nature et de la Vie

Option : Biochimie appliquée

Thème

**Effet antimittotique et cytotoxique des
flavonoïdes des feuilles de *Peganum harmala L.***

Travail réalisé par :

M^{elle} : Moussaoui Lydia

Chabane Lynda

Devant le jury :

Président : M^{me} IRATNI AICHE G. Maitre de conférences classe B à l'UMMTO

Promoteur: Mr HOUALI K. Professeur à l'UMMTO

Co-promotrice : M^{elle} OUZID Y. Docteur en Biochimie-Microbiologie à l'UMMTO

Examineur : Mr SEBBAN H. Maitre assistant classe A à l'UMMTO

Année universitaire : 2018-2019

Remerciement

Je tiens à remercier toutes les personnes qui m'ont aidés et soutenus en particulier :

Le promoteur : **Monsieur HOUALI K. Professeur à l'UMMTO** d'avoir accepté de m'encadrer et de m'avoir accueillis dans son Laboratoire de Biochimie Analytique et de Biotechnologie (LABAB) de la faculté des sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques.

Madame IRATNI-AICHE G. Maitre de conférences B à l'UMMTO d'avoir accepté de présider la soutenance et je la remercie également pour sa disponibilité, ses conseils, sa gentillesse, qu'elle trouve ici ma reconnaissance et mon respect.

Madame OUZIDY. Docteur en Biochimie-Microbiologie à UMMTO pour avoir accepté de m'aider dans mon travail par ses conseils, sa disponibilité et ses orientations.

Monsieur SEBBAN H. Maitre-assistant classe A. à l'UMMT pour avoir accepté d'examiner mon travail.

Enfin toute ma sympathie et mes remerciements vont également à tous ceux et celles, qui de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce mémoire.



Dédicace



Louange à  qui ma donnée santé et facultés pour arriver à ce jour

C'est avec un très grand honneur que je dédie ce modeste travail

A la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur
de ma vie, mes parents qui m'ont apportés leurs appui durant
toutes mes années d'étude, pour leurs sacrifices et
soutiens qui m'ont donné confiance et courage.

À mon cher époux Lounes Bouslene, Je te remercie
pour ton soutien, ta patience à mon égard, tes encouragements
et tes services. Que dieu ait pitié de ton âme.

A mes très chères sœurs et mes chers frères pour leurs soutien et
leurs encouragements tout au long de la réalisation de ce travail.
A toute ma famille et à Ryma ma troisième sœur et
A toutes mes amies et les personnes qui me connaissent.

Merci



LYDIA

Dédicaces

*Louange à ALLAH de nous avoir guidé dans le bon chemin pour
réaliser ce travail*

Je dédie ce modeste travail à :

*Mes très chers parents, pour leur patience et sacrifice
Consenti à mon égard pendant toute la durée de mes études.*

*Mon adorable sœur Dalila, mes chers frères Ghiles et Hassan qui ont
Toujours partagé mes soucis.*

Ma copine chahra et ma binome lydia .

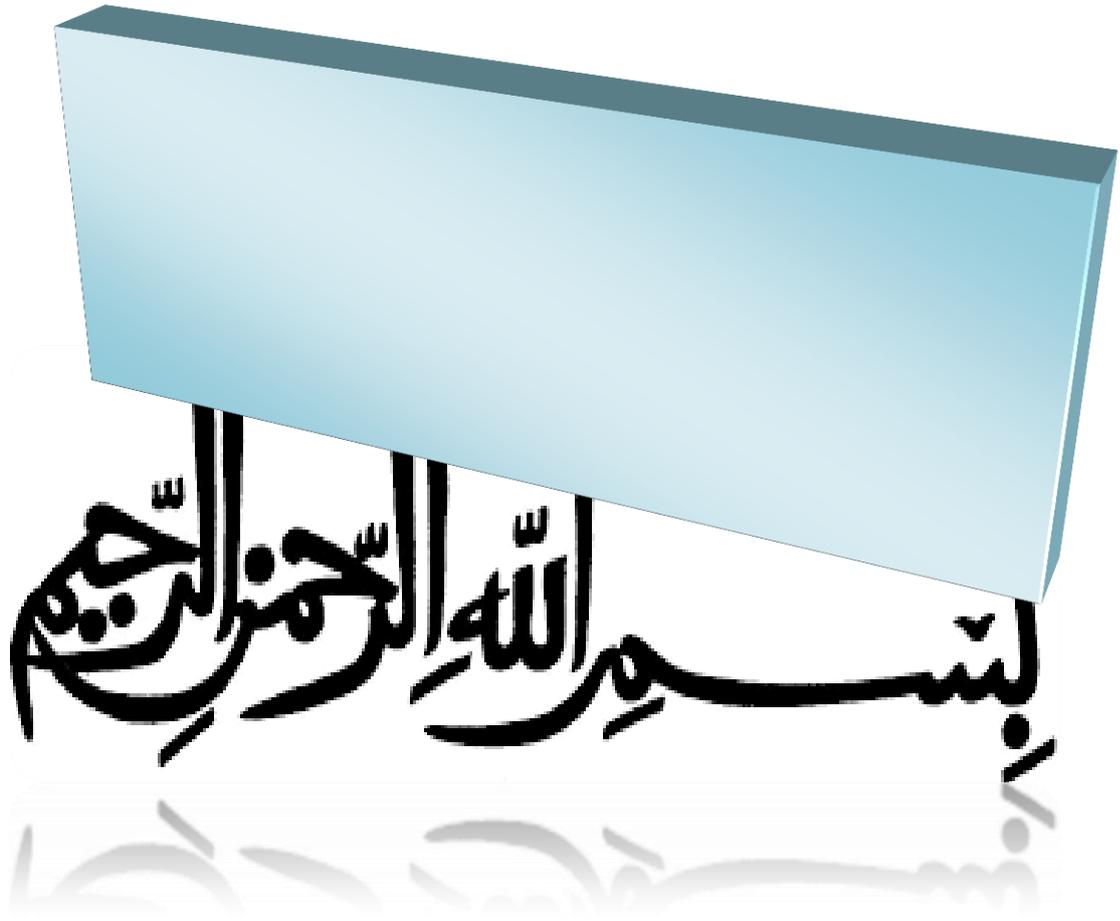
La mémoire de toutes les victimes du cancer.

*Toutes les personnes atteintes et qui mènent un combat quotidien
contre cette pathologie .*

Sachez bien que les maladies viennent à cheval et s'en vont à pied.



LYNDA



Liste des abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique.

AlCl₃ : Chlorure d'aluminium.

ATP : Adinosine triphosphate.

CDK : Cycline- Dépendent Kinases.

CPG : Chromatographie phase gazeuse.

GR : Globule rouge.

G1 : Gap 1(intervalle 1).

G2 : Gap 2(intervalle 2).

HCl : Acide chlorhydrique.

HPLC : Chromatographie liquide à haute performance.

MeOH: Méthanol.

MTOC : Centres Organiseurs de Microtubules.

PI : Phosphatidylinositol .

Liste des figures

| | |
|---|----|
| Figure 01 : Les différentes parties de <i>Peganum harmala L.</i> | 3 |
| Figure 02 : Structure générale des anthocyanines | 4 |
| Figure 03 : Structure générale des tannins condensés | 5 |
| Figure 04 : Squelette de base des coumarines | 5 |
| Figure 05 : Structure de base des flavonoïdes. | 6 |
| Figure 06 : Structure chimique des alcaloïdes β - carbolinines rencontrés chez les graines de <i>Pganum harmala L.</i> | 8 |
| Figure 07 : Les triterpènes isolés d'espèces de la famille Zygothylaceae | 9 |
| Figure 08 : Evénement observable durant les phases du cycle cellulaire | 9 |
| Figure 09 : Les différentes phases de la mitose | 12 |
| Figure 10 : Structure de la colchicine | 13 |
| Figure 11 : Structure des alcaloïdes de Vinca | 14 |
| Figure 12 : Structure de la podophyllotoxine | 15 |
| Figure13 : Structures des taxanes | 15 |
| Figure 14 : Structure de l'estramustine phosphate | 16 |
| Figure 15 : Structure moléculaire de la quercétine | 17 |
| Figure 16 : Structure commune des saponines | 19 |
| Figure 17 : Situation géographique de la zone d'étude | 20 |
| Figure 18 : Protocole de l'extraction des flavonoïdes | 23 |
| Figure 19 : protocole de l'activité antimittotique..... | 25 |
| Figure 20 : protocole de dosage des flavonoïdes | 27 |
| Figure21 : Courbe d'étalonnage de la quercétine | 29 |
| Figure 22 : Les différentes phases de la mitose observées chez les cellules méristématiques des racines d' <i>Allium cepa</i> | 34 |

| | |
|---|-----------|
| Figure23: Anomalies rencontrés chez les cellules méristématiques d' <i>Allium cepa</i> traitées avec la quercétine | 35 |
| Figure24: Anomalies rencontrés chez les cellules méristématiques d' <i>Allium cepa</i> traitées avec la fraction butanolique des flavonoïdes des feuilles de <i>Peganum harmala</i> | 36 |
| Figure25: Anomalies rencontrés chez les cellules méristématiques d' <i>Allium cepa</i> traitées avec la fraction aqueuse des flavonoïdes des feuilles de <i>Peganum harmala</i> | 37 |

Liste des tableaux

| | |
|---|----|
| Tableau I : Structures chimique de différentes classes des flavonoïdes | 7 |
| Tableau II : Solvants et réactifs utilisés | 21 |
| Tableau III: Appareillages et verreries utilisés | 21 |
| Tableau IV: Teneur en flavonoïdes des différentes fractions | 29 |
| Tableau V : Indice mitotique et indice de phase des cellules méristématiques d' <i>Allium cepa</i> traitées par les fractions butanolique et aqueuse des flavonoïdes des feuilles de <i>Peganum harmala</i> | 31 |
| Tableau VI: Différentes anomalies et aberrations cellulaires, nucléaires et chromosomiques des cellules méristématiques d' <i>Allium cepa</i> traitées par les fractions aqueuse et butanolique des flavonoïdes des feuilles de <i>Peganum harmala</i> | 38 |
| Tableau VII: Indice mitotique et valeurs limites de cytotoxicité des fractions flavonoïques aqueuse et butanolique ainsi que la quercétine | 40 |
| Tableau VIII : Le taux d'hémolyse (%) de GR induit par les différentes fractions flavonoïques des feuilles de <i>peganum harmala</i> ainsi que la saponine | 41 |

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction 1

Première partie : Partie bibliographique

I. Généralités sur *Peganum harmala L.* 2

1.1. Classification botanique de *Peganum harmala L.* 2

1.2. Description botanique de *Peganum harmala L.* 3

1.3. Les métabolites secondaires de *Peganum harmala L.* 3

1.3.1. Les polyphénols 4

1.3.1.1. Les saponosides 4

1.3.1.2. Les Anthocyanines 4

1.3.1.3. Les tannins condensés 5

1.3.1.4. Les coumarines 5

1.3.1.5. Les flavonoïdes 6

1.3.1.5.1. Structure chimique, classification des flavonoïdes 6

1.3. 2.Les alcaloïdes 7

1.3.3. Les triterpènes 8

II. La mitose 9

2.1. Description du cycle cellulaire 9

2.1.1. L'interphase 10

2.1.2. Les différentes phases de la mitose 10

| | |
|---|----|
| 2.1.2.1. La prophase | 10 |
| 2.1.2.2. La métaphase..... | 11 |
| 2.1.2.3. L'anaphase..... | 11 |
| 2.1.2.4. La télophase | 11 |
| III. Activités biologiques des métabolites secondaires | 12 |
| 3.1. Les antimétopiques d'origines végétales | 12 |
| 3.1.1. Les poisons du fuseau mitotique | 12 |
| 3.1.1.1 Les Inhibiteurs d'assemblage de la tubuline en microtubules | 13 |
| 3.1.1.2. Les Inhibiteurs de désassemblage des microtubules en tubulines..... | 15 |
| 3.1.1.3. Les inhibiteurs des protéines motrices des microtubules | 16 |
| 3.1.1.4. Les inhibiteurs des kinases cyclines dépendantes | 16 |
| 3.2. L'effet des métabolites secondaires sur la membrane érythrocytaire | 17 |
| 3.2.1. Le globule rouge | 17 |
| 3.2.2. Membrane du globule rouge..... | 17 |
| 3.2.3. L'hémolyse | 18 |
| 3.2.3.1. L'effet de la saponine sur la membrane érythrocytaire | 18 |

Deuxième partie : Partie expérimentale

| | |
|--|----|
| I. Matériel et méthodes | 20 |
| 1.1. Matériel | 20 |
| 1.1. 1. Matériel biologique | 20 |
| 1.1.2. Réactifs et solvants | 21 |
| 1.1.3. Appareillage, verrerie et autre matériel | 21 |
| II. Méthodes utilisées | 22 |
| 2. 1.Préparation de la poudre végétale | 22 |
| 2.2. Extraction des flavonoïdes | 22 |
| 2.3. Evaluation de l'effet antimétopique des flavonoïdes | 24 |

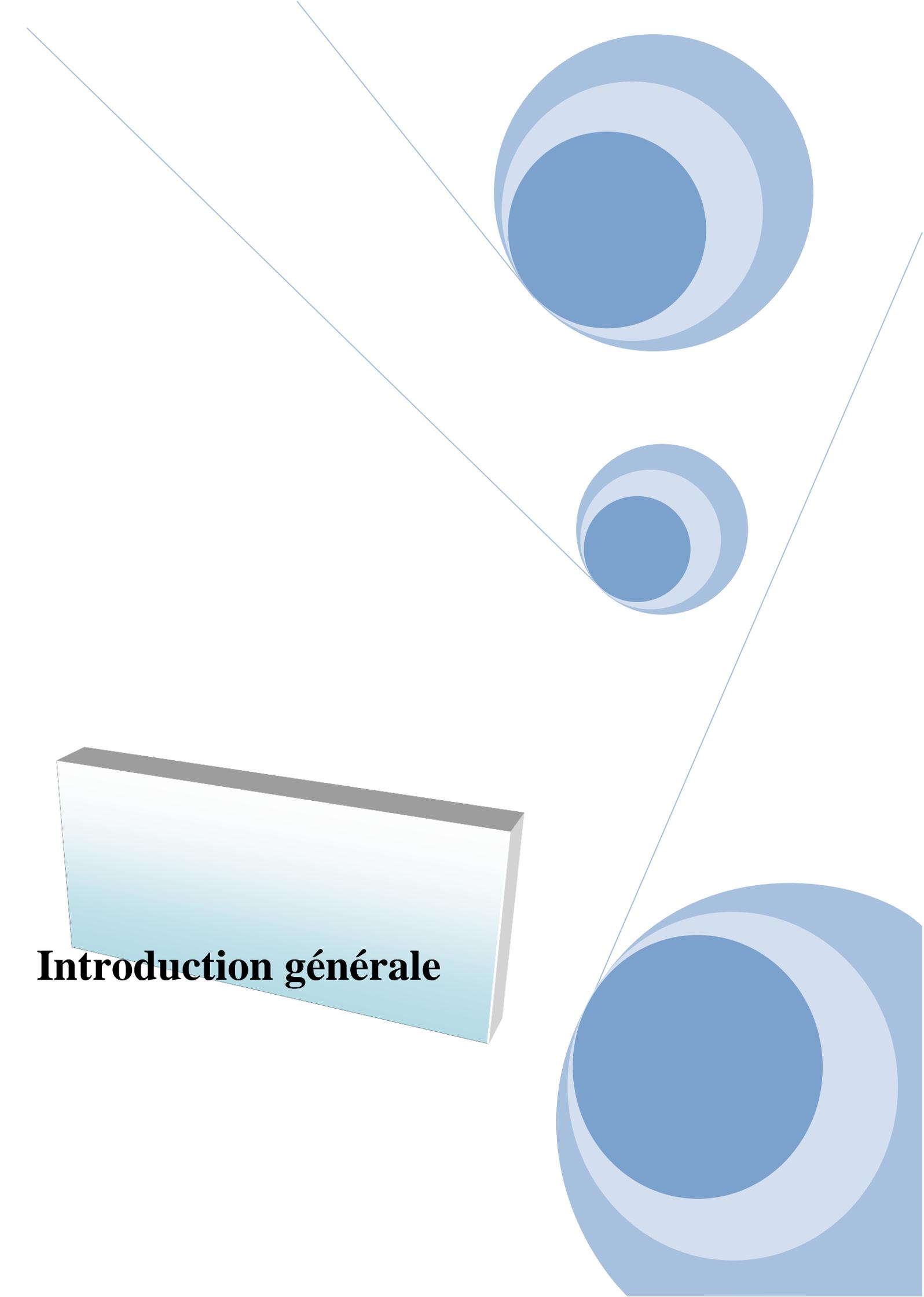
| | |
|--|----|
| 2.3.1. Indices et paramètres à calculer | 26 |
| 2.4. Dosage des flavonoïdes | 26 |
| 2.5. Evaluation de l'effet des fractions flavonoïques sur la membrane érythrocytaire | 28 |
| 2.5.1. Préparation de la suspension érythrocytaire | 28 |
| 2.5.2. Traitement de globule rouge avec les fractions flavonoïques | 28 |
| III. Résultats et discussions | 29 |
| 3.1. Dosage des flavonoïdes | 29 |
| 3.2. Activité antiméiotique | 30 |
| 3.2.1. Détermination des indices..... | 30 |
| 3.2.2. Détermination des différentes anomalies de la mitose | 34 |
| 3.3. Evaluation de l'intégrité de la membrane érythrocytaire..... | 41 |

Conclusion

Références bibliographiques

Annexes

Résumé

A decorative graphic on the right side of the page. It features three blue circles of varying sizes, each with a gradient from dark blue in the center to light blue on the outside. Two thin blue lines originate from the top left and extend towards the circles, and another thin blue line extends from the top right towards the circles.

Introduction générale

L'histoire de la phytothérapie remonte aux origines de l'humanité. Depuis longtemps, les hommes récoltent les plantes, non seulement pour se nourrir, mais aussi pour soulager leurs maux. De nos jours, on rejette certains médicaments modernes à causes de leurs effets secondaires puissants, et on les remplace par la médecine traditionnelle par l'utilisation des plantes médicinales (SABIN, 2012).

Le cancer est classé selon l'OMS comme l'un des problèmes majeur de santé publique, il constitue la première cause de mortalité dans le monde. La chimiothérapie anticancéreuse est basée sur l'administration des médicaments ayant le pouvoir d'entraver la prolifération des cellules tumorales, ils sont très toxiques pour les cellules saines et ils sont souvent associés à des effets indésirables. Le retour de la phytothérapie ouvre une voie prometteuse dans le développement des nouvelles formules médicamenteuse naturelles, sans effet indésirables et dotées d'une activité anticancéreuse (FARNSWORTH et KASS ,1986).

L'Algérie possède une richesse floristique considérable : Méditerranéenne, saharienne et une flore paléo tropicale, estimée à plus de 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques dont 15% sont endémiques (QUEZEL *et al.*, 1963) . *Peganum harmala L.* est une espèce endémique de la famille de Zygophyllaceae ,elle se développe dans des zones semi-arides ,sur des sols sableux , pierreux et nitrés .Elle a des propriétés antifongiques, antivirales et antidiabétiques (ISERIN,2001). Cette plante est connus par sa richesse en divers métabolites secondaires principalement les alcaloïdes, les coumarines et les flavonoïdes (Al YAHYA, 1986) .

Ce travail s'inscrit dans le cadre d'une contribution à une meilleure connaissance et valorisation de *Peganum harmala L.* par l'évaluation de l'effet antimitotique des fractions flavonoïques des feuilles de cette essence sur les cellules méristématiques d'*Allium cepa* et de l'effet de ces fractions sur la membrane érythrocytaire.

The image features a white background with several decorative elements. In the upper right, there are two concentric blue circles of different sizes, with a gradient from dark blue in the center to light blue on the outside. Two thin blue lines extend from the top left towards these circles. In the lower right, there is a larger, partially visible concentric blue circle. A 3D rectangular box with a light blue-to-white gradient and a dark blue shadow is positioned on the left side. Inside this box, the text is written in a bold, black, serif font.

Première partie :
Partie bibliographique

I. Généralités sur *Peganum harmala L.*

Peganum harmala L. appartient à la famille des Zygophyllacées, dicotylédones, et angiospermes et rudérales (LAVERGNE,2013) .Le genre *Peganum* tient son nom du grec et attribué aux espèces de la rue, alors que le nom de l'espèce *harmala* dérivé de celui de la ville Libanaise Hermel (MARS ,2009). Cette plante développe surtout dans les zones arides, sur les sols sableux et pierreux, légèrement nitrés (ISERIN ,2001). Leur croissance et leur efficacité dépend du stade de développement, la période de la récolte et les climats chauds (PSYCHONAUT, 2006), elle exige des lieux ouverts, ensoleillés et des endroits secs (BOUZIANE, 2012). Elle est largement utilisée dans la médecine traditionnelle à travers le monde , en particulier en Algérie et en Maghreb comme traitement contre la stérilité féminine, les maladies de l'utérus et les troubles digestifs (GOEL *et al.*, 2009) . Elle peut traitée aussi les hémorroïdes, le diabète, l'hypertension artérielle et l'empoisonnement par le venin des serpents (HAMMICHE et MERAD, 1997). Elle est très connue par ces propriétés hallucinogènes, antalgiques, antiseptiques, cicatrisantes et dépuratives (CLAUDE, 1967).

1.1. Classification botanique de *Peganum harmala L.*

Selon OZENDA (1977), la classification taxonomique de cette espèce est comme suit :

Regne : Plantes

Embranchement : Spermaphytes

Sous Embranchement : Angiosperme

Classe : Dicotylédones

Sous classe : Rosidae

Ordre : Sapindales

Famille : Zygophyllaceae

Genre : *Peganum*

Espèce : *Peganum harmala L.*

1.2. Description botanique de *Peganum harmala* L.

Peganum harmala L. est une plante herbacée, vivace, glabre et buissonnante de 30 à 90 cm de hauteur à rhizome épais (figure 1 A) (ISERIN, 2001). Elle est constituée d'une tige dressée, très rameuse sur lequel on trouve des feuilles alternes, découpées en lanières (WATSON *et al.*, 2011) et d'une racine oblongue, dure et garnie des fibres, répartie en deux branches : racine principale et des racines secondaires (DOUMI, 1993) et par des fleurs actinomorphes, hermaphrodites et dialypétales (BOULLARD, 1997). Elles sont caractérisées par une corolle qui forme de 5 pétales elliptiques, oblongs, sub-symétriques et un calice à cinq sépales verts, linéaires et persistants (CHOPRA *et al.*, 1960 et QUEZEL et SANTA, 1963) et par le fruit d'une forme en capsule, s'ouvrant par trois valves (HAMMICHE et MERAD, 1997 et OZENDA, 1977), contenant de nombreuses graines anguleuses et noires (NEGRE, 1962). Il est de couleur verte lorsqu'il est mûr et brun orangé à maturité coriace (PARSONS et CUTHBERTSON, 1992) et par de nombreuses graines, petites, anguleuses et sub-triangulaires. Elles sont de couleur marron foncé, récolte en été (CHOPRA *et al.* 1960 ; QUEZEL et SANTA, 1963 et OZENDA, 1977) et en fin par des feuilles alternes, charnues d'un vert vif, divisées en multiples lanières très fines (figure 1B) (BOUZIANE, 2012).

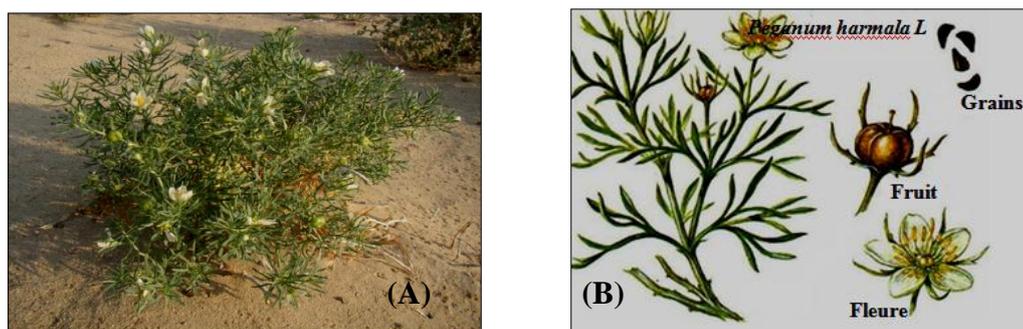


Figure 1 : Les différents parties de *Peganum harmala* L. ; (A) : Arbust de *Peganum harmala* L. ;
(B) :Grains,fruit et fleurs (PREEDY *et al.*, 2011).

1.3. Les métabolites secondaires de *Peganum harmala* L.

Ce sont des composés biosynthésés naturellement par les végétaux, mais qui ne participent pas directement à leurs métabolismes (GEILLAUME et CHARROUF, 2005).Elles ce caractérisent par des différents fonctions, certains protègent les plantes et favorise leurs développements (FREIDEL,1980) et certains jouent un rôle de toxicité lors de contacte entre la plante hôte et les parasite (RASCOL, 1980 et MORTIER, 1994)

Généralement, ces métabolites secondaires classées en trois groupes majeurs tels que les composés phénoliques, les alcaloïdes et les terpènes (DERBEL,2005). De nombreuses études photochimiques des feuilles de *Peganum harmala L.* montrant sa richesse en métabolites secondaires, tels que les alcaloïdes qui présentent en grande quantité suivis par les coumarines, les saponosides, les flavonoïdes, les anthocyanes, les stérols, les triterpènes et les tannins catéchétiques (Al YAHYA, 1986).

1.3.1. Les polyphénols

Les composés phénoliques divisés en dizaine classes chimiques, a une structure commun, former moins d'un cycle aromatique à 6 carbones avec des fonctions hydroxyles (VERMERRIS et NICHOLSON, 2006). Ces composés présentent le groupe photochimique le plus important pour les plantes (BETA *et al.*, 2005) à savoir :

1.3.1.1. Les saponosides

Les saponosides sont des hétérosides de poids moléculaire élevé, Leur hydrolyse permet l'obtention d'un ou de plusieurs oses et d'une sapogénine. Ces composés possèdent des activités dépuratives, diurétiques et expectorantes et toxique lors d'une contacte irritante sur les cellules. En industrie, les saponosides utilisées comme agents moussants et émulsionnants (MASSON *et al.*, 1992 et ÖNNING *et al.*, 1993).

1.3.1.2. Les Anthocyanines

Les anthocyanines sont des pigments hydrosolubles, responsables de la plupart des couleurs rouges, bleues et aussi des pourpres des tissus végétales. Ils ont la capacité de formés des structures de résonance par changement de PH. Ce sont des dérivés glycosylés polyhydroxylés ou polyméthoxylés des sels de 2- phénylbenzopyrylium ou de flavylum (Figure 3) (LANHERS, 1988).

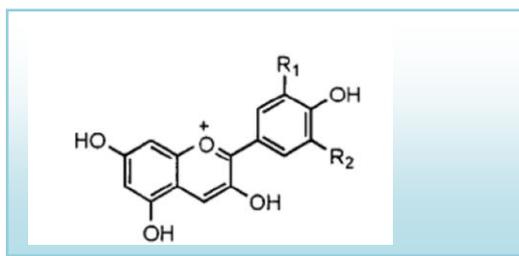


Figure 2 : Structure générale des anthocyanines (RIBEREAU et GAYON, 1968).

1.3.1.3. Les tannins condensés

Les proanthocyanidines sont des composés phénoliques hétérogènes formés par la condensation des unités flavan-3-ols et flavan-3-4-diols (figure2) (KAUR *et al.*, 2000). Les deux groupes majeurs des proanthocyanidines sont les procyanidines et les prodelphinidines, les monomères constitutifs des procyanidines sont la catéchine et l'épicatéchine qui substituées par l'acide gallique, en position 3 ou plus rarement en position 7. Ces monomères de prodelphinidines sont lagalocatéchine et l'épigalocatéchine, mais on distingue également des monomères de quercétine et de myricétine (ANDERSEN et MARKHAM, 2006).

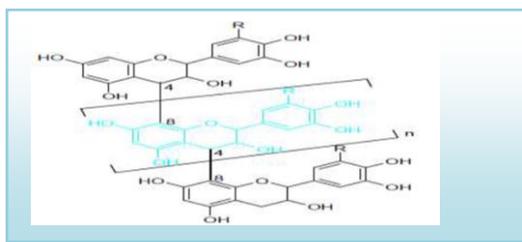


Figure 3 : Structure générale des tannins condensés (GILBERT et NORRIS, 1968).

1.3.1.4. Les coumarines

Les coumarines sont des dérivés d'acides cinnamiques ortho-hydroxylés (DEAN, 1963), leur squelette de base est constitué de deux cycles accolés avec neuf atomes de carbone (figure 4) (FORD *et al.*, 2001). Les acides P-coumariques et caléique sont parmi les composés phénoliques les plus répandus (RIBEREAU et GAYON, 1968).

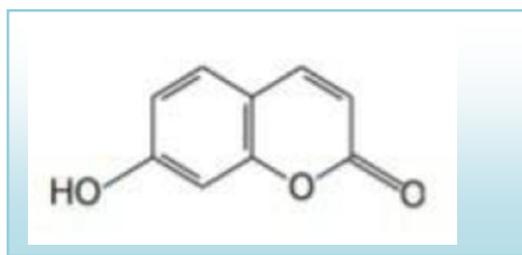


Figure 4 : Squelette de base des coumarines (VENUGOPALA *et al.*, 2013).

1.3.1.5. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes tirent leurs origines du mot latin « flavus = jaune » (JOVANOVIC *et al.*, 1997). Ce sont des produits quasi universels des végétaux, l'une de ces fonctions majeures est la coloration des fleurs, ces couleurs exercent un effet attracteur sur les insectes dans les feuilles (MIDDLETON *et al.*, 1993), ces composés sont associés à de nombreux processus physiologiques et survivals des plantes ; ainsi, les flavonoïdes protègent la plante vis-à-vis les radiations UV-B et les pathogènes fongiques (LOWRY *et al.*., 1980). De plus les flavonoïdes sont impliqués dans la photosensibilisation, le transfert d'énergie et le développement des plantes en interagissant avec les diverses hormones et régulateurs de croissance. On peut également noter que les flavonoïdes ont un rôle dans le contrôle de la respiration, la photosynthèse et la détermination du sexe (HARBORNE *et al.*, 1999). Parmi les composés flavoniques les plus abondantes dans l'espèce de *Peganum harmala L.* sont : Acacétine-7-O-rhamnoside, Acacétine-7-O-[6''-O-glucosyl-2''-O-(3'''-acetylramnosyl)] glucoside et Acacétine-7-O-(2'''-O-rhamnosyl-2 Oglucosylglucoside) (HALIM *et al.*., 1995 et SHARAF *et al.*., 1997).

1.3.1.5.1. Structure chimique, classification des flavonoïdes

La structure chimique des flavonoïdes est ubiquitaire dans les cellules photosynthétiques, basé principalement sur un squelette de quinze (15) atomes de carbones : le 2- phényl-benzo [α] pyrane, ou le noyau flavane, constitué de deux cycles benzéniques (A et B) reliés par un hétérocycle et le noyau pyrane (C) (figure5) (HELLER et FORKMAN, 1993 et BROWN, 1980).

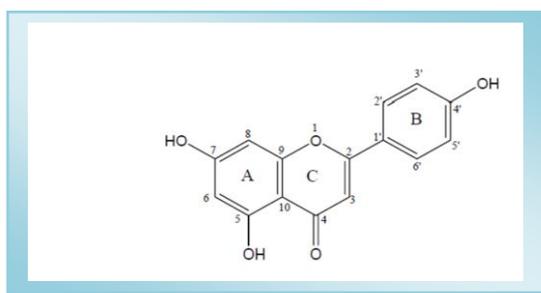
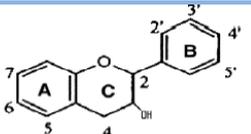
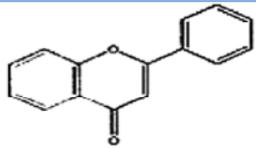
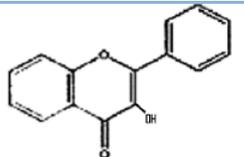
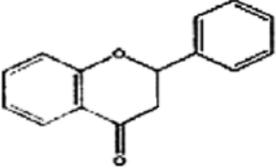
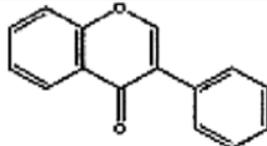
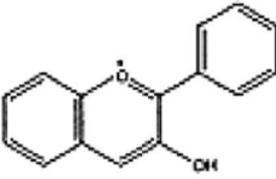


Figure 5: Structure de base des flavonoïdes (VERMERRIS et NICHOLSON, 2006).

Structuralement, les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes selon le degré d'oxydation et la nature des substituants portés sur le cycle C (PIETTA, 2000). Quatorze

(14) groupes différents ont été identifiés, dont six groupes sont particulièrement les plus répandus et les mieux caractérisés (Tableau I).

Tableau I : Structures chimiques des différentes classes des flavonoïdes.

| Classes | Structure générale | Flavonoïde | Substituant | Références |
|----------------------------|---|---|---|-----------------------------|
| Flavanol |  | Catéchine Epicatéchine | 3, 5, 7, 3', 4'-OH 3, 5, 7, 3', 4'-OH | HEIM <i>et al.</i> ,2002 |
| Flavone |  | Chrysin apigénine rutine luteoline | 5,7-OH 5, 7, 4'-OH 5, 7, 3', 4'-OH, 3-rutinosé 5, 7, 3', 4'-OH | |
| Flavonole |  | Kaempferole quercétine myricétine tamarixétine | 3, 5, 7, 4'-OH 3, 5, 7, 3', 4'-OH 3, 5, 7, 3', 4', 5'-OH 3, 5, 7, 3'-OH, 4-OMe | |
| Flavanone (dihydroflavone) |  | Naringène naringénine taxifoline | 5,4'-OH, 7-rhamnoglucose 5, 7, 4'-OH 3, 5, 7, 3', 4'-OH | |
| Isoflavone |  | Genistéine genistéine daïzine daïzéine | 5, 4'-OH, 7-glucose 5, 7, 4'-OH 4'-OH, 7-glucose 7, 4'-OH | |
| Anthocyanidines |  | Apigénidine Cyanidine | 5, 7, 4'-OH 3, 5, 7, 4'-OH, 3, 5-OMe | |

1.3. 2.Les alcaloïdes

Les alcaloïdes représentent un groupe très vaste des métabolites secondaires avec structures, distributions et activités biologiques diverses (MILCENT *et al.*,2003). Ils sont extraits en majorités des plantes à fleurs (KAPOOR,1995). En effet, environ 10.000 alcaloïdes

de structures différentes ont été isolés à partir de plusieurs plantes regroupés en ~300 familles (RAFFAUF,1996) à savoir : on peut trouver 40 alcaloïdes dans la même plante. Concernant la famille des Hallucinogèneae , la production d'alcaloïde est signalée chez l'espèce de *Peganum harmala L.* (FARNSWORTH, 1968) avec des quantités importantes en typ β -carbolinine (figure 6) tel que : harmine, harmaline, harmalol et harmane et de type quinazolinique tels que : la péganine, le péganol, la vasicine, l'oxyvasicine et désoxyvasicine (KAMEL *et al.*,1970).

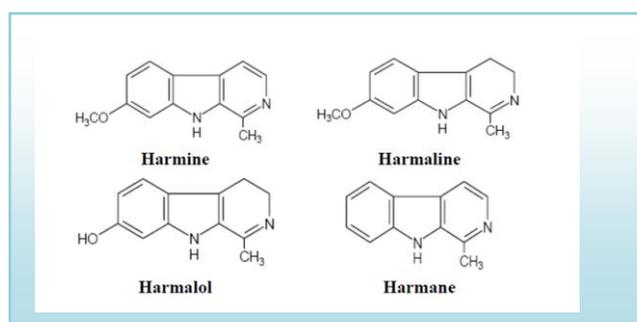
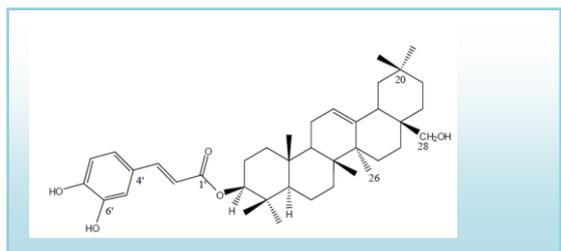


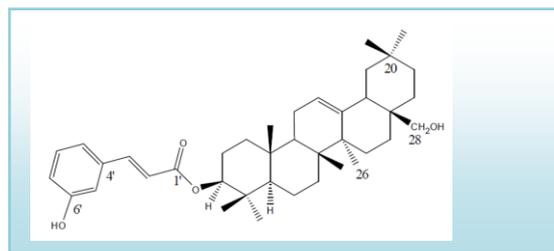
Figure 6 : Structure chimique des alcaloïdes β - carbolinines rencontrés chez les graines de *Pganum harmala L.* (MOHMOUDIAN *et al.* , 2002).

1.3.3. Les triterpènes

Les triterpènes forment un groupe de produit naturel ,contenant dans leur squelette une trentaine d'atomes de carbone et dérivant du squalène par une variété de cyclisation (QURISSON et GRABBE , 1961) .Leur structure de base commune est le noyau stérane (figure 7) (RAPHEL , 1966) .Ils peuvent être classés en trois groupes : acyclique, tétracyclique et pentacyclique (RAPHEL , 1966).Ces métabolites sont isolés de nombreuses plantes appartenant à la famille Zygophyllaceae (SMATI *et al.* , 2004 et XUE *et al.* , 1988).



-3β-(3,4-Dihydroxycinnamoyl)- erythrodiol-



-3β-(3-hydroxycinnamoyl)- erythrodiol-

Figure 7 : Les triterpènes isolés d'espèces de la famille Zygophyllaceae (SMATI *et al.*, 2004 et XUE *et al.*, 1988).

II. La mitose

2.1. Description du cycle cellulaire

Le cycle cellulaire correspond à l'ensemble des modifications qu'une cellule subit entre sa formation, par division de la cellule mère et le moment où cette cellule a fini de se diviser en deux cellules filles grâce à la mitose. Ce dernier est composé de deux étapes principales : l'interphase I et la mitose (figure 9) (MAILLET, 2002).

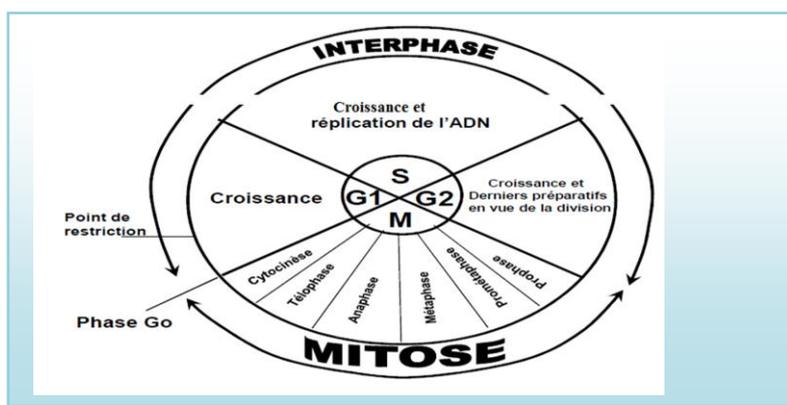


Figure 8 : Événement observable durant les phases du cycle cellulaire (GALAS *et al.*, 2008).

2.1.1. L'interphase

L'interphase correspond, en générale à la plus grande partie du cycle, elle se divise en trois parties : la phase G1, la phase S et la phase G2 (MAILLET, 2002).

✓ La Phase G1

La Phase G1 correspond à l'intervalle qui sépare la fin de la mitose et le début de la synthèse de l'ADN. Au cours de cette étape, la cellule synthétise des molécules d'ARN et assure la production des protéines à l'accroissement de la cellule (MAILLET, 2002).

✓ La phase S

C'est la phase de la synthèse et de réplication de l'ADN et des histones, qui rentrent dans le noyau par les pores nucléaires et se combinent à l'ADN pour former les nucléosomes. Elle aboutit à une duplication qui passe de n chromosomes à $2n$ chromosomes (MAILLET, 2002).

✓ La phase G2

C'est la phase de post-synthèse qui sépare la fin de la synthèse de l'ADN et le début de la mitose M. Durant cette période, le taux d'ADN des cellules diploïdes est de $4C$, il se caractérise essentiellement par la synthèse d'ARN et des protéines (REMBUR, 1978).

2.1.2. Les différentes phases de la mitose

La mitose est une étape clé du cycle cellulaire qui s'effectue de façon rapide (environ 1 heure), très préservée chez toutes les cellules eucaryotes, durant laquelle le matériel génétique de la cellule (les chromosomes) réparti de manière égale dans les deux cellules filles. Elle se déroule en quatre étapes, reconnaissables morphologiquement, à savoir : prophase, métaphase, anaphase et télophase (figure 10) (ESSAD, 1977; BRUNORI, 1967 : BENBADIS *et al.*, 1971 et HALLET, 1983).

2.1.2.1. La prophase

La prophase est caractérisée par une réorganisation de la chromatine qui se condense en chromosome compacts. Chaque chromosome est constitué de deux chromatides sœurs réunies au niveau du centromère (DOXSY *et al.*, 2005). Elle correspond aussi à la maturation des

centrosomes riches en tubuline γ , elle constituée des centres organisateurs de microtubules (MTOC) qui s'écartent et migrent de façon opposé. Les filaments d'actines se réorganisent et se répartissent de façon homogène au cortex cellulaire, ce qui concourt à l'arrondissement qui caractérise les cellules à l'entrées en mitose (DOXSY *et al.* , 2005).

2.1.2.2. La métaphase

La métaphase est caractérisée par le rassemblement de tous les chromosomes sur la plaque équatoriale (KARP, 1998). Le fuseau mitotique est constitué de deux réseaux symétriques et antiparallèles de microtubules, qualifiés de kinétochoriens ou d'astraux. De part l'équilibre des tensions exercées par les microtubules kinétochoriens provenant de chaque centrosome, les chromosomes vont s'alignées sur le plan équatorial pour constituer la plaque métaphasique. Cette relocalisation des chromosomes s'effectue grâce au remaniement dynamique des microtubules (DOXSEY *et al.* , 2005).

2.1.2.3. L'anaphase

L'anaphase caractérisé par deux événements distincts (BERKALOFF *et al.*, 1981), appelées anaphase A et anaphase B. L'anaphase A est caractérisé par La ségrégation des deux chromatides sœurs de chaque chromosome, elles vont migrées en sens inverse, en direction des pôles cellulaires, grâce à un raccourcissement des microtubules kinétochoriens. L'anaphase B est caractérisée par allongement du fuseau mitotique, induit par au moins deux types de forces, d'une part des forces répulsives au contre du fuseau, qui tendent à éloigner les microtubules polaires provenant de chacune de deux pôles, et d'autre part des forces externes au fuseau exercent une tension microtubules astraux (DOXSEY , 2009).

2.1.2.4. La télophase

Durant cette phase les microtubules kinétochoriens se détachent, les chromosomes se décondensent et retournent à leur état initial de brins d'ADN (MARY, 2015). Deux enveloppes nucléaires se forment autour des chromosomes fils. Les autres microtubules s'allongent jusqu'à la formation de deux cellules filles (COLOMBEL, 2009).

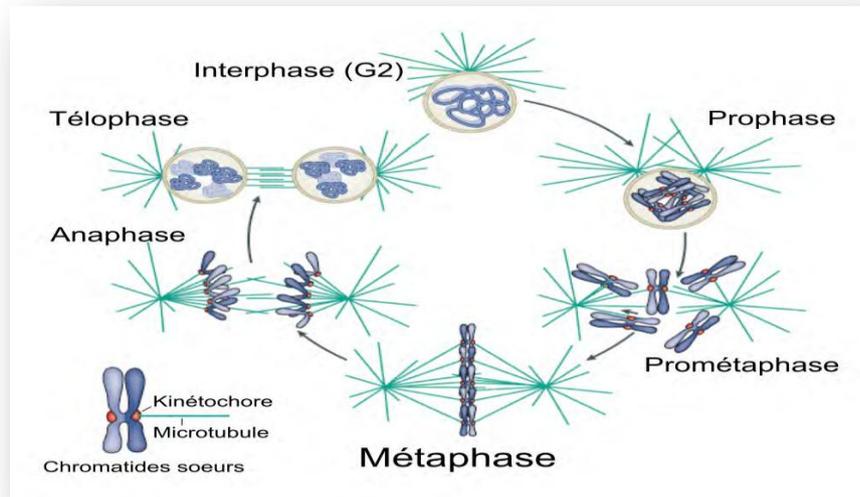


Figure 9 : Les différentes phases de la mitose (CHEESEMAN et DESAI, 2008).

III. Activités biologiques des métabolites secondaires

3.1. Les antimitotiques d'origines végétales

Les agents antimitotiques sont des substances capables d'inhiber ou de modifier le déroulement de la mitose (MAILLET, 2002), ainsi de perturber le cycle cellulaire d'une cellule. Selon CHEVERMONT, 1979, ces agents antimitotiques sont classés en trois groupes :

3.1.1. Les poisons du fuseau mitotique

Les poisons du fuseau mitotique agissent précisément au niveau de la tubuline (MULLINS et MSINTOSH, 1982) par action sur les microtubules, en inhibant la formation de fuseau (HIBERT – HABART *et al.*, 1987 et BENARD, 1990).

Dans un cycle mitotique il y a deux moments favorables à l'action des poisons du fuseau (MAUSSANG, 2005). Au cours de la polymérisation des tubulines en microtubules et au moment de la dépolymérisation des microtubules en tubuline. Dans les deux cas ces poisons bloquent le cycle cellulaire, ce qui se traduit par leur accumulation en phase G2/M et l'augmentation du nombre des cellules à ADN chromosomique. Selon VERDIER- PINARD *et al.*, 2001, on distingue deux groupes :

3.1.1.1 Les Inhibiteurs d'assemblage de la tubuline en microtubules

✓ La colchicine

La colchicine est un alcaloïde extrait principalement de deux plantes de la famille des Liliacées *Gloriosa Superba* et *Colchicum autumnale*. Sur le plan chimique la colchicine est caractérisée par une structure tricyclique benzo-cyclohéptanotropolonique (figure 11), sa formule brute est C₂₂H₂₅NO₆ (GARRETT et GRISHAM, 2000).

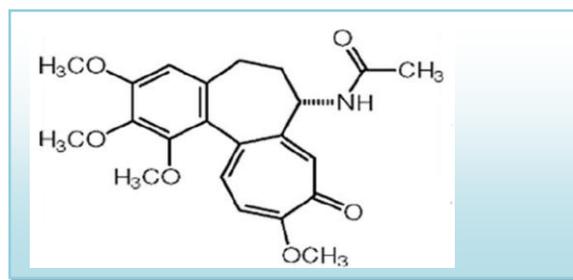


Figure 10: Structure de la colchicine (ALLAIN, 2005).

La colchicine interfère avec la division cellulaire par liaison à la tubuline, par la fixation sur la sous-unité β de la tubuline, induit ensuite un changement de conformation au niveau de la terminaison carboxyle de la sous-unité β et des acides aminés (Phe389 Lys392). Le complexe tubuline-colchicine peut donc se lier à l'extrémité d'un microtubule ainsi il empêche la fixation d'une autre molécule de tubuline, car la présence de colchicine sur la β -tubuline engendre un encombrement spatial empêchant tout allongement ultérieur du microtubule, cela va se traduire par un blocage de la mise en place du fuseau mitotique (JORDAN, 2002 ; BECKERS et MAHBOOBI, 2003 ; HADFIELD *et al.*, 2003).

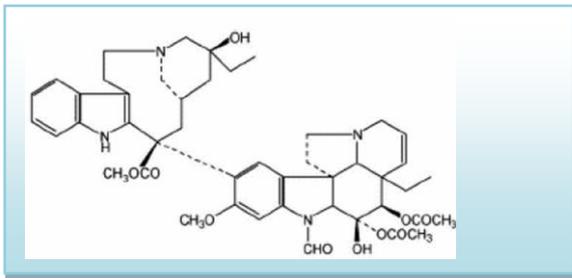
✓ Les vinca-alcaloïdes

Les vinca-alcaloïdes sont issus de la pervenche de Madagascar *Catharanthus roseus*, fait partie de la famille des Apocynaceae. Cette plante produit deux principes actifs qui appartiennent à la famille des alcaloïdes : la vinblastine et vincristine. Par ailleurs, il est possible d'obtenir deux autres principes actifs par de ces deux molécules : la vindésine et la vinorébine (figure 12) (GUERITTEHY et FAHY, 2005).

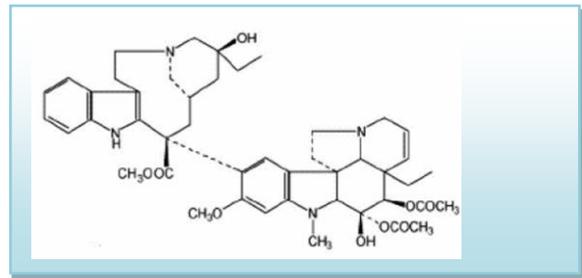
Les vinca-alcaloïdes exercent leurs activités après liaison à la forme dimérique de la tubuline, ainsi ils inhibent la formation des microtubules, puis ils s'interfèrent dans ses

Synthèse bibliographique

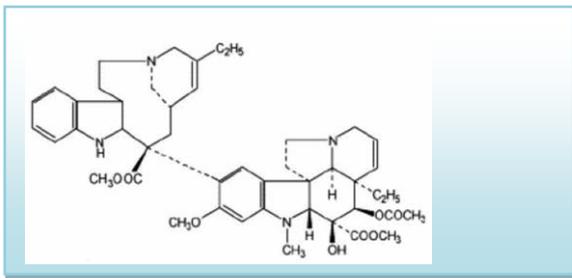
principales fonctions telle que la formation du fuseau mitotique et l'établissement du cytosquelette (EPSIE *et al.* , 1998). Ceci conduit à un blocage de la mitose en métaphase, en empêchant la formation du fuseau et la dispersion des chromosome au hasard à travers le cytoplasme (GORIN *et al.*,1999) .



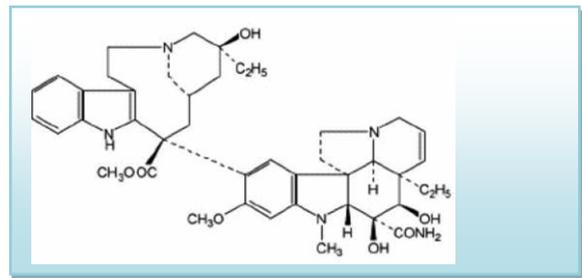
Vincristine



Vinblastine



Vinorelbine



Vindésine

Figure 11 : Structure des alcaloïdes de Vinca (HAIT *et al.* , 2006).

✓ Les podophyllotoxines

Les podophyllotoxine sont extraits de *Podophllum peltatum* , fait partie de la famille des Podophllaceae ,leur effet inhibiteur est du à sa fixation à la tubuline qui ce traduit par la modification de la structure de cette protéine ,en rendent impropre à la formation des microtubules (figure 13) . Ils inhibent également la synthèse de l'ADN par réduction du transport intracellulaire des nucléosides (LEE et XIAO , 2005).

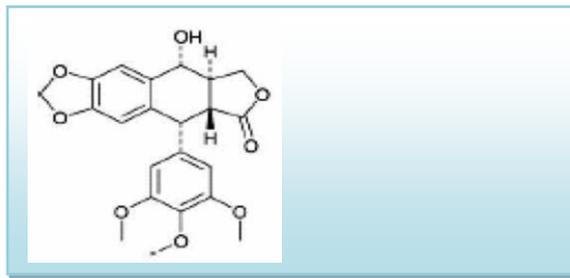


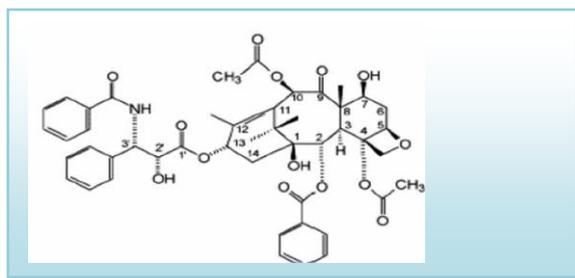
Figure 12: Structure de la podophyllotoxine (HAIT *et al.* , 2006).

3.1.1.2. Les Inhibiteurs de désassemblage des microtubules en tubuline

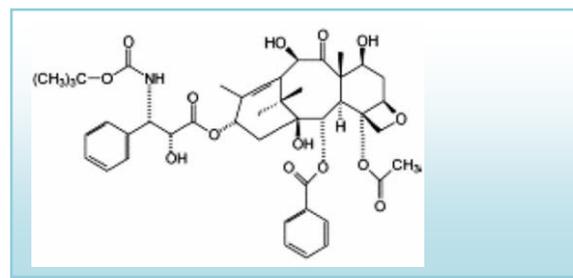
✓ Le Taxol

Le taxol est extrait du *Taxus baccata L* ou du *Taxus brevifolia* qui appartiennent à la famille des Taxaceae (HARTWELL , 1982).Parmi ses dérivé on distingue les taxoides qui correspondent aux docétaxel et paciltaxel (figure 14) ,qui favorisent la transition dépolymérisation / polymérisation ,en se fixant sur la tubuline B et stopper la progression des cellules en prométaphase avec un fuseau mitotique anormal . L'organisation dynamique de la cellule lors de la mitose est interrompue (SYNDER *et al.*, 2001).

Les taxoides sont des composés qui stabilisent les microtubules et empêchent ainsi leurs dépolymérisations, ce qui a pour effet de stopper le processus de division cellulaire entre la métaphase et l'anaphase .Cette action ne conduit pas obligatoirement à la mort de la cellule.Ces composés se lient sur la sous-unité B à l'intérieur du tube que forment les microtubules (DABYDEEN *et al.* , 2004) .



Paciltaxel



Docétaxel

Figure 13 : Structures des taxanes (HAIT *et al.* , 2006).

3.1.1.3. Les inhibiteurs des protéines motrices des microtubules

La nouvelle génération d'agent antitubuline, n'entre pas en interaction directe avec la tubuline ou microtubule, il interfère avec les fonctions des microtubules à travers l'inhibition des protéines qui les relient (BERGNES *et al.*, 2005). Ces agents induisant l'arrêt du cycle mitotique, ce qui induit à la mort cellulaire (MARCUS *et al.*, 2005). Parmi ces agents on distingue : L'estramustine qui se fixe sur les protéines associées aux microtubules, leur dissociation conduisant ainsi à l'inhibition de l'assemblage des microtubules et leur dépolymérisation (figure 15)(STEARNS et TEW, 1985) .

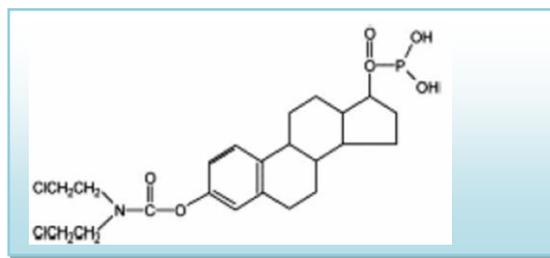


Figure 14 : Structure de l'estramustine phosphate (HAIT *et al.*, 2006).

3.1.1.4. Les inhibiteurs des kinases cyclines dépendantes

Les régulateurs du cycle cellulaire sont considérés comme des cibles privilégiées d'inhibiteurs sélectifs et puissants (MEIJER, 2003). L'action principale de ces inhibiteurs compétitifs s'effectue au niveau du site de phosphorylation des protéines kinases par l'introduction d'un composé mimique à l'ATP (GORDON *et al.*, 2005) . Parmi ceux-ci on distingue :

✓ La quercétine

La quercétine est un flavonoïde (figure16) qui se trouve naturellement dans une grande variété d'aliments, incluant les oignons rouge et jaune, les pommes, les brocolis, les baies et certaines graines et fruits oléagineux. L'activité anticancéreuse de la quercétine a été largement étudiée. En 1989, un rapport a constaté qu'elle inhibe la phosphatidylinositol 3-kinase (PI 3-kinase) et induit un arrêt de cycle cellulaire en G1, par inhibition des activités des Cyclin -Dépendent Kinases 2 (CDK-2) et Cyclin -Dépendent Kinases 3 (CDK-3) (CASAGRANDE et DARBON, 2001).

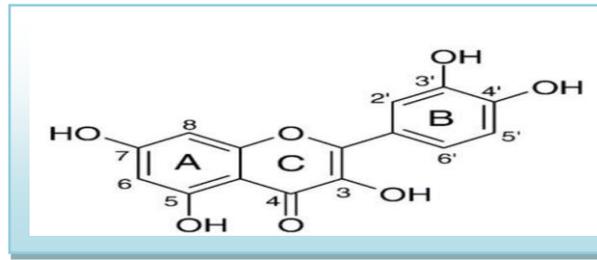


Figure 15 : Structure moléculaire de la quercétine (BOOTS *et al.*, 2008).

3.2. Activité sur la membrane érythrocytaire

3.2.1. Le globule rouge

Le globule rouge (GR) est une cellule mature formée dans la moelle osseuse, anucléée, représenté comme un sac contenant des enzymes et de l'hémoglobine. Il possède la forme d'une lentille biconcave. C'est la cellule sanguine la plus abondante (STEVENS et LOWE, 1997 et VALENSI, 2005), chargé de transporté les gaz à travers l'organisme, le dioxygène vers les cellules et une partie du dioxyde de carbone vers les poumons (SCHMID-SCHONBEIN *et al.*, 1979).

3.2.2. Membrane du globule rouge

La structure de la membrane érythrocytaire est celle d'une membrane cellulaire classique, elle donne des propriétés élastiques aux globules rouge humains, ainsi elle lui permet de se déformer et de s'intégrer pour progresser dans le capillaire et assuré un bon fonctionnement de la cellule, elle compose principalement de trois éléments majeurs : lipides, protéines et les glucides.

Les lipides sont organisés en bicouche lipidique de caractère amphiphile, délimite l'intérieur et l'extérieur des globules rouge .Cette bicouche permet de contrôlé la résistance à l'extension de la membrane, elles composent de 55 % de phospholipides, 25 % de cholestérols 18 % de sphingoglycolipides et de 2 % d'acides gras. Ces glycolipides sont essentiellement localisés dans les feuilles externe de la bicouche (DODGE *et al.*, 1963).

Les protéines se caractérisent par leurs positions au sein de la bicouche lipidique se forme d'un réseau bidimensionnel hautement organisé, certaines ce sont des protéines

Transmembranaires. Un groupe important de ce type est les protéines sialoglycoprotéines α , β , γ et δ , qui exposent à l'extérieur de la cellule et porte des fonctions antigéniques du globule rouge et des groupes sanguins érythrocytaires (SEBAHOUM, 2005). Ces protéines jouent des rôles dans les échanges avec le milieu extérieur, tel que les pompes d'ATPase Na^+/K^+ et Ca^{2+} , les protéines de transport des ions, de l'eau et du glucose. Elles jouent aussi un rôle dans la stabilité et l'ancrage des hématies avec le cytosquelette cellulaire grâce à la protéine bande 3, glycophorine A et la glycophorine C qui forment les interactions avec des protéines intrinsèques (ELGSAETER *et al.*, 1986).

3.2.3. L'hémolyse

L'hémolyse c'est un phénomène physiologique irréversible due à une libération des composants intracellulaires des érythrocytes notamment l'hémoglobine, suite à une perturbation de la membrane cellulaire du globule rouge par des agents hémolytiques (saponine) (THOMAS, 2013).

3.2.3.1. L'effet de la saponine sur la membrane érythrocytaire

Les saponines sont des glycosides d'actifs de surface naturels, composées d'un triterpène acide quillaïque (partie hydrophobe) et d'une partie hydrophile constituée d'oses, les plus fréquents sont le D-glucose, le D-galactose, D-galactose, acide D-glucuronique, L-arabinose, D-xylose et D-fucose en position 3 et 28 du triterpène (figure17) (NORD *et al.*, 2000 et HIGUCHI *et al.*, 1987).

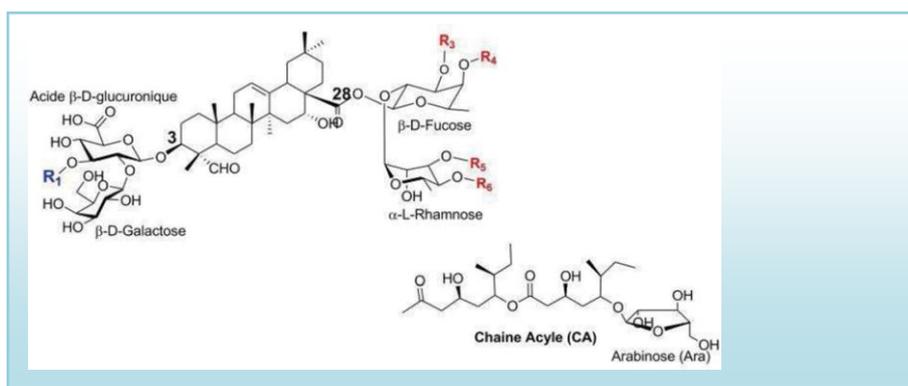
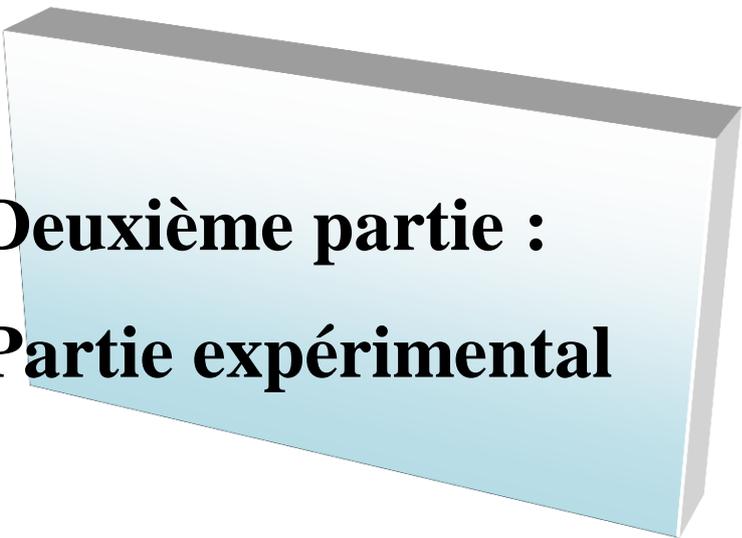


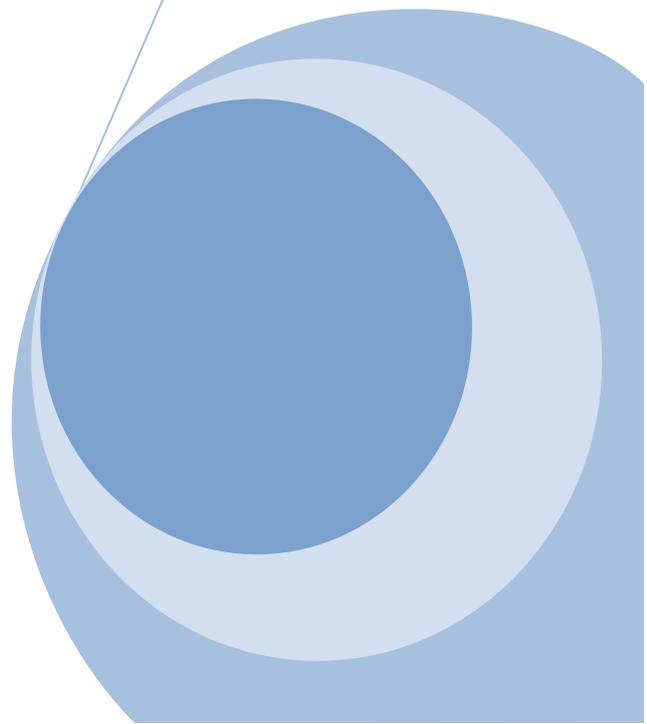
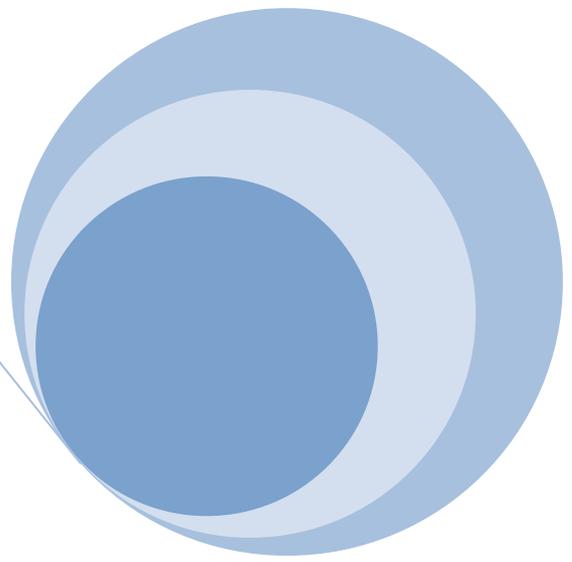
Figure17: Structure commune des saponines (NORD *et al.*, 2000 et HIGUCHI *et al.*, 1987).

Les saponines sont connues par leurs activités biologiques, exercent une action lytique sur la membrane érythrocytaire suite d'une affinité de leur fragment aglycone au cholestérol membranaire (KEUKENS *et al.*, 1995).

Pour élucider les changements morphologiques des GR, la saponine incorpore dans la membrane du GR, elle s'accumule dans la feuillet externe induisant une différence d'aire entre les deux feuilles de la membrane lipidique. Ce qui provoque la dissociation des domaines spécifiques de la membrane avec le cytosquelette, la fragilisation de ce dernier créant un bourgeonnement à la surface de la membrane traduit par vésiculation spontanée positive de la membrane conduisant à la formation d'échinocyte. Un gonflement est ensuite observé par l'inhibition des canaux ioniques spécifiques de la membrane érythrocytaire traduisant par l'entrée rapide d'eau dans la cellule en milieu hypotonique. Le GR devient un spherocyte jusqu'à rupture de la membrane permettant ainsi la libération de l'hémoglobine (LEITMANNOVA *et al.*, 2009).



**Deuxième partie :
Partie expérimental**



Dans le but d'évaluer l'activité antimittotique et l'effet des fractions flavonoïques sur la membrane érythrocytaire de notre plante, nous avons extrait les deux phases aqueuse et butanolique du flavonoïde des feuilles de *Peganum harmala* par la méthode liquide-liquide (BEKKARA *et al.*, 1998). Ce travail est réalisé dans Laboratoire de Recherche de Biochimie Analytique et Biotechnologies (LABAB), au niveau de la faculté de biologie, université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.

I. Matériel et méthodes

1.1. Matériel

1.1.1. Matériel biologique

Notre travail a porté sur les feuilles de *Peganum harmala* récolté au sud de la wilaya de Laghouat, plus exactement dans la région de Timzerth au mois d'avril 2015.



Figure 17: Situation géographique de la zone d'étude (Laghouat, Timzerth, Algérie).

Nous avons utilisés des racines d'*Allium cepa* pour l'évaluation de l'effet antimittotique des flavonoïdes et un prélèvement sanguin d'un sujet sain pour l'étude de l'action de nos extraits sur la membrane de globule rouge.

1.1.2. Réactifs et solvants

Tableau II : Solvants et réactifs utilisés

| Composés | Concentration | Rôle | Activité |
|--|--|---|---|
| Méthanol Acétate d'éthyle N-butanol | 99.7% | Solvant a polarité croissante | Extraction De la fraction flavonoïque |
| Carmin acétique Ethanol+Acide acétique Eau distillée Quercétine Hcl | / V/V :1/3(alcool/A acétique) / 1mg/ml 5% | Coloration Fixation Témoin négative Témoin positive Acidification | Antimitotique |
| AlCl3 | 2% | Coloration | Dosage des flavonoïdes |
| Eau physiologique Saponine | 9% 1mg/ml | Diluant Témoin positive | Hémolytique |

1.1.3. Appareillage, verrerie et autre matériel

Tableau III : Appareillages et verreries utilisés

| Appareillage | Verrerie | Autres matériel |
|---|---|--|
| Microscope L'étuve Spectrophotomètre Centrifugeuse Bain Mari Rota vapeur | Béchers Entonnoir Erlenmeyer Fiole Eprouvettes Pipette Ampoule à décanter | Filtre Micropipettes Lame et lamelles. |

II. Méthodes utilisées

2. 1.Préparation de la poudre végétale

Les feuilles de *Peganum harmala* ont été collectées et conservées dans une glacière, puis au réfrigérateur jusqu'à leur utilisation au laboratoire. Par la suite, elles ont été séchées à l'abri de la lumière, de l'humidité et à température ambiante, ensuite broyées en une fine poudre pour nos utilisations ultérieures.

2.2. Extraction des flavonoïdes

Pour l'extraction des flavonoïdes, nous avons utilisés la méthode liquide- liquide de BEKKARA *et al.*, 1998 où 1g de poudre végétale est mis en contact avec 20ml de méthanol à température ambiante. Après 24h d'incubation, la solution est filtrée avec un papier wattman N°1, le filtrat obtenu est évaporé à 60°C, le résidu obtenu est solubilisé avec un mélange d'eau distillée et d'acétate d'éthyle puis décanter. On récupère la phase aqueuse et on ajoute 10ml de n-butanol. Après décantation, on obtient deux phases distinctes : la phase butanolique et la phase aqueuse. On procède à l'évaporation des solvants, les résidus ainsi obtenus sont solubilisés et conservés à basse température et à l'abri de la lumière (Figure 2).

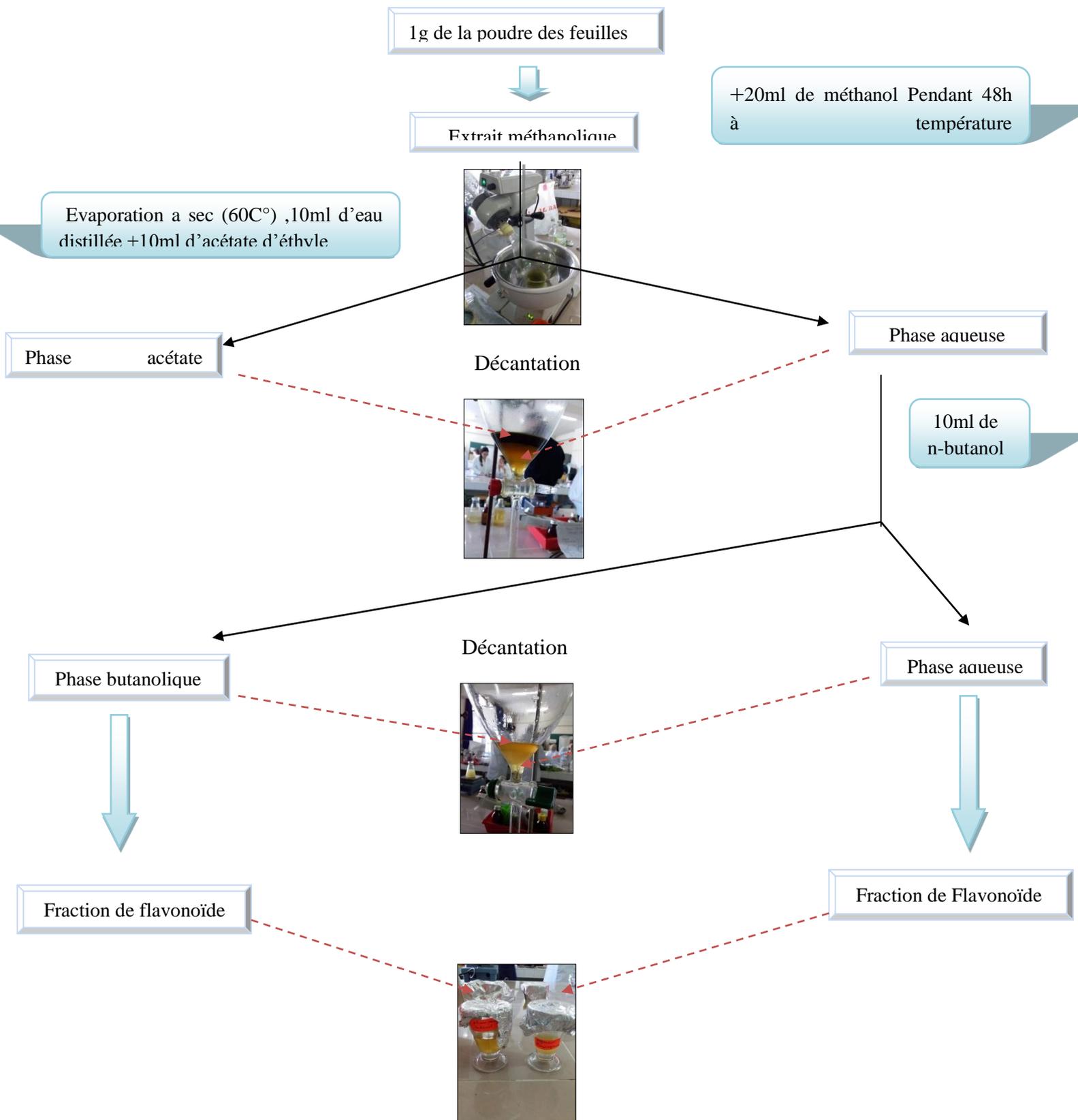


Figure 18: Protocole de l'extraction des flavonoïdes (BEKKARA *et al.* , 1998).

2.3. Evaluation de l'effet antimittotique des flavonoïdes

L'étude de l'activité antimittotique des deux fractions flavonoïques : aqueuse et butanolique est réalisée par le test *Allium cepa* suivant le protocole de SHWETA *et al.* , 2012 ,optimisée par laboratoire.

Après germination et sélection des racines, on met en contacte les cellules méristématiques avec nos échantillons. Après 24h d'incubation, nous avons procédé à la fixation suivie d'une coloration. Parallèlement, un témoin positif et un témoin négatif ont été réalisés pour lesquels l'échantillon est remplacé respectivement par la quercétine (1mg/ml) et l'eau distillée. Des observations microscopiques ont été réalisées et les différentes phases de la mitose ont été détectées, ainsi que les anomalies et aberrations cellulaires, nucléaires et chromosomiques (Figure 3).

2.3.1. Indices et paramètres à calculer

Après observation sous microscopie optique, différents indices ont été calculés :

- ✓ **Indice mitotique (IM)** (IKEDA *et al.*, 2000) :

$$\text{IM}(\%) = \frac{\text{Nombre de cellule en division}}{\text{Nombre des cellules examinées (350cellules)}} \times 100$$

- ✓ **Indice de phase (IP)** (GLINSKA *et al.*, 2007)

$$\text{IP}(\%) = \frac{\text{Nombre de cellule en (P, M, A, T)}}{\text{Nombre des cellules examinées (350cellules)}} \times 100$$

- ✓ **Valeur limite de cytotoxicité (VLC)** (ANTONSIE *et al.*, 1990)

$$\text{VLC}(\%) = \frac{\text{IM de cellule traitée}}{\text{IM des cellules témoins}} \times 100$$

- ✓ **Indice d'aberrations (IA)** (RACUCIN et GEANGA, 2007)

$$\text{IA}(\%) = \frac{\text{Total des aberrations}}{\text{Total des cellules examinées}} \times 100$$

2.4. Dosage des flavonoïdes

La méthode du trichlorure d'aluminium selon BAHORUN *et al.*, 1996, est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans les deux fractions flavonoïques, solubilisées dans du méthanol. A 1ml de ce mélange est ajouté 1ml de la solution d'AlCl₃ à (2%), après 10 min d'incubation

à température ambiante, l'absorbance est lue à 430 nm par un spectrophotomètre UV-visible selon le protocole suivant (figure4) :

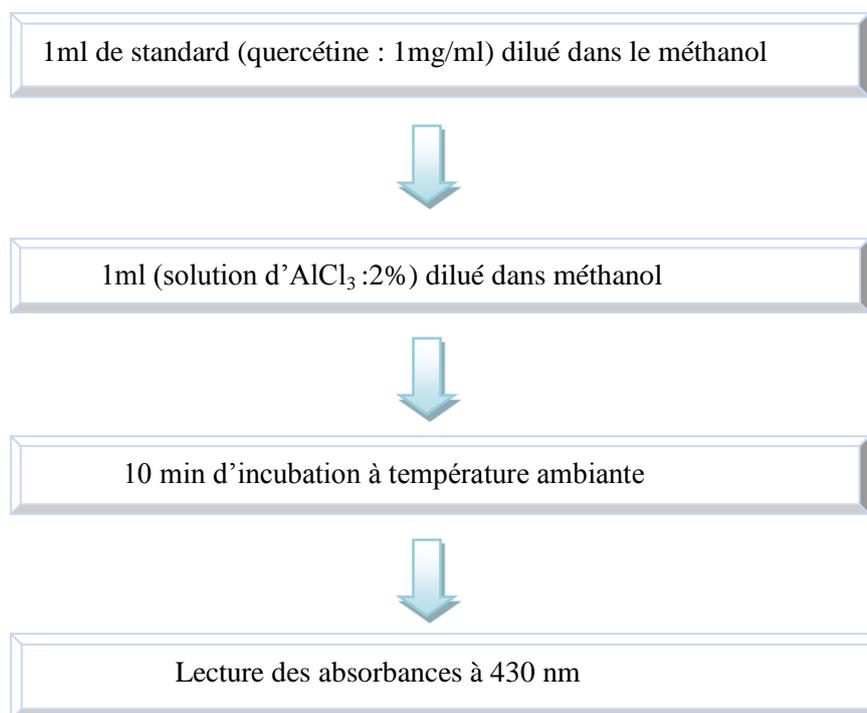


Figure 20 : protocole de dosage des flavonoïdes (BAHORUN *et al.*, 1996).

Les concentrations des flavonoïdes sont déduites à partir de la gamme d'étalonnage (10 à 60 µg/ml), établie avec la quercétine comme standard, sont exprimés en microgrammes équivalent de quercétine par millilitre de fraction (µg EQ / ml de fraction).

2.5. Evaluation de l'effet des fractions flavanoïques sur la membrane érythrocytaire

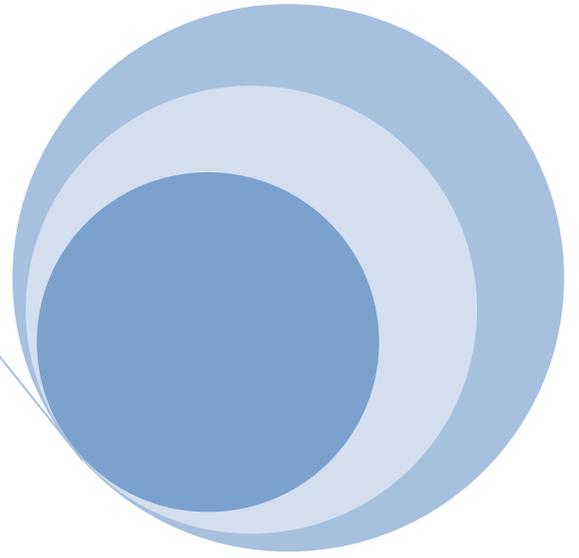
2.5.1. Préparation de la suspension érythrocytaire

Le sang a été prélevé sur des donneurs consentants en bonne santé par ponction veineuse et recueilli dans des tubes contenant de l'héparine comme anticoagulant. Les échantillons sont immédiatement centrifugés à 2500 tours / min pendant 5 min, puis le plasma est éliminé avec précaution. Le culot érythrocytaire a été lavé trois fois avec l'eau physiologique. On recentrifuge le mélange et on garde le culot pour obtenir l'hématocrite souhaitée à 2% (KOGA *et al.*, 1998).

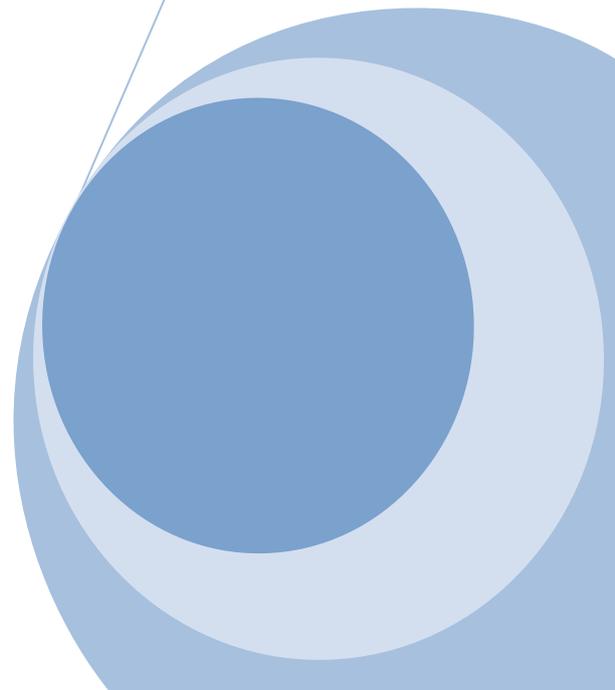
2.5.2. Traitement de globule rouge avec les fractions flavonoïques

Afin de déterminer l'effet des extraits aqueux et butanolique de feuille de *peganum harmala* solubilisé dans l'eau physiologique sur les globules rouges. 1ml de globule rouge mis en contact avec 1ml de nos fractions, la saponine a été utilisée comme contrôle positif et de l'eau physiologique comme contrôle négatif. Les mélanges ont été placés sous agitation modérée pendant 20 min. Après centrifugation à 2 500 tours / min pendant 5 min. les absorbances ont été lues à 540 nm par un spectrophotomètre UV-visible et les pourcentages d'hémolyses ont été calculées à l'aide de la formule décrite par DUCHNOWICZ *et al.*, 2012 :

$$\text{Taux d'hémolyse(\%)} = \frac{\text{DO de l'échantillon} - \text{DO de témoin négatif}}{\text{DO obtenue par la saponine}} \times 100$$



Résultats et discussion



III. Résultats et discussions

3.1. Dosage des flavonoïdes

A partir de la courbe d'étalonnage établie avec la quercétine (figure 5), nous avons déterminé les teneurs en flavonoïdes des différentes fractions aqueuse et butanolique des feuilles de *Peganum harmala* à partir de l'équation $y=0,0175x$. Les résultats sont exprimés en microgrammes équivalent de quercétine par millilitre de fraction ($\mu\text{g EQ} / \text{ml}$ de fraction).

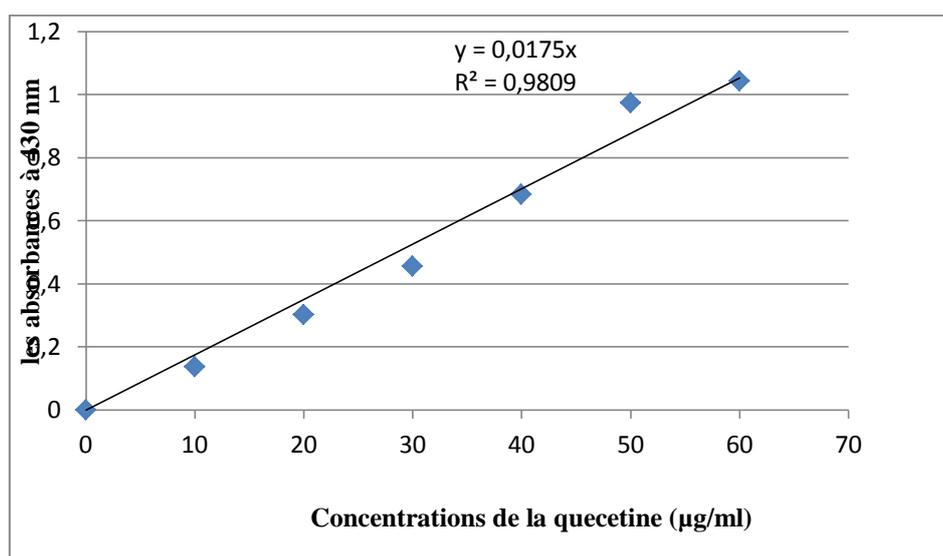


Figure 21 : Courbe d'étalonnage de la quercétine.

Une couleur jaunâtre est formée dans les deux fractions aqueuse et butanolique des feuilles de *Peganum harmala* après addition de la solution de chlorure d'Aluminium (AlCl_3), cette coloration a révélé la présence des flavonoïdes et leur teneur est résumée dans le tableau suivant :

Tableau IV : Teneur en flavonoïdes des différentes fractions.

| | Fraction butanolique | Fraction aqueuse |
|---|----------------------|-------------------|
| Concentration des flavonoïdes ($\mu\text{g EQ} / \text{ml}$ de fraction) | $138,82 \pm 0,89$ | $208,23 \pm 2,00$ |

L'utilisation des solvants spécifiques de polarité croissante : méthanol, acétate d'éthyle et n-butanol a permis la séparation des flavonoïdes selon leur degré de solubilité dans ces solvants d'extraction et leur complexité structurale (TREKI *et al.*, 2009). Le méthanol permet d'éliminer les composés non phénoliques tel que les caroténoïdes, les pigments chlorophylliens et les graisses. Par ailleurs, l'acétate d'éthyle permet l'extraction des monoglycosides. Quant au n-butanol, il permet l'extraction des diglycosides et triglycosides (RIHANE et BENLAHRECHE, 2013).

Selon HALIM *et al.*, 1995 et SHARAF *et al.* , 1997 ,les principaux flavonoïdes des feuilles de *Peganum harmala* sont représentés par : Acacétine-7-*O*-rhamnoside, Acacétine-7-*O*-[6 "-*O*-glucosyl-2"-*O*-(3""-acetyl-rhamnosyl)] glucoside et Acacétine-7-*O*-(2""-*O*-rhamnosyl-2 *O*-glucosyl)glucoside).

La teneur en flavonoïdes au niveau de la fraction aqueuse flavonoïque des feuilles de *Peganum harmala* est estimé à $208,23 \pm 2,00$ ($\mu\text{g EQ / ml}$ de fraction), comparativement à celle enregistré dans la fraction butanolique leur teneur est de 138.82 ± 0.89 ($\mu\text{g EQ / ml}$ de fraction). Ceci dit, la phase aqueuse est plus riche en flavonoïdes que la phase butanolique. Ce là peut être expliqué par la diversité structurelles et les propriétés physico-chimiques des flavonoïdes (VERYKOKIDO et VOYO , 1986). Contrairement aux résultats qui sont rapportés par HUNG *et al*(2009) sur les feuilles de *Zygophyllum cornutum*, une plante médicinale de la même famille que *Peganum harmala* (Zygophyllacée) ; le taux le plus élevée en flavonoïdes est retrouvé au niveau de la phase butanolique avec une valeur de 5.85 ($\mu\text{g EQ / ml}$ de fraction) comparativement aux autres phases testées (chloroformique et acétate d'éthyle).

3.2. Activité antimittotique

3.2.1. Détermination des indices

L'indice mitotique est considéré comme un paramètre fiable, qui permet d'estimer la fréquence de la division cellulaire au niveau des cellules méristématiques racinaires d'*Allium cepa* (MARCANO *et al.*, 2004).

L'activité antimittotique des fractions flavonoïques (aqueuse et butanolique) des feuilles de *Peganum harmala*, testée sur les cellules méristématiques racinaires d'*Allium cepa* est déterminée par le calcul de l'indice mitotique (IM). Ce paramètre définit le rapport des cellules en division sur le total des cellules comptées (350 cellules) . Cet indice est également

déterminé pour un témoin négatif et un témoin positif, représenté respectivement par l'eau distillée et la quercétine. Nous avons également déterminé l'indice de phase (IP), qui représente le nombre de cellules en division aux différentes phases sur le nombre des cellules totales comme le montre le tableau I ci-dessous.

Tableau V : Indices mitotiques et indices de phases des cellules méristématiques d'*Allium cepa* traitées par les fractions butanolique et aqueuse des flavonoïdes des feuilles de *Peganum harmala*.

| Indices(%)/ Témoin | IM± ES | P ±ES | M ± ES | A ± ES | T ± ES |
|------------------------|-------------|--------------|-------------|------------|-------------|
| Témoin (-) | 92,20± 1,34 | 82,91± 3,08 | 0,63± 0,39 | 0,97± 0,35 | 8,00 ± 3,54 |
| Quercitrine 1mg /ml | 44,40± 0,72 | 39,08± 1.23 | 0,06± 0.04 | 0,57± 0.39 | 5,14± 1,00 |
| Phase butanolique | 44,00± 0.40 | 30,28± 2,04 | 0,28± 0,11 | 0,16± 0,05 | 13,93± 1,60 |
| Phase aqueuse | 62,60± 0,82 | 48,56 ± 2,45 | 0,34 ± 0,12 | 0,16±0,05 | 11,08± 2,24 |

IM : Indice mitotique ; ES : Erreur standard ; p : prophase ; M : Métaphase ; A : Anaphase ;
T : Télaphase.

A partir du tableau V, on remarque que l'indice mitotique des cellules méristématiques racinaires d'*Allium cepa* augmente considérablement chez les cellules non traitées, c'est-à-dire mises dans l'eau distillée (témoin négatif) avec une valeur de 92,20± 1,34%. En ce qui concerne les cellules en contact de la quercétine (le témoin positif), l'IM diminue jusqu'à 44,40 ± 0,72%, proche de celui obtenu en présence de la fraction butanolique qui atteint une valeur de 44,00± 0,40%. D'autre part, pour le contact des cellules méristématiques avec la fraction aqueuse la valeur de l'IM est de 62,60±0,82%.

Le test statistique type ANOVA a révélé des différences hautement significative (p=0,00) entre l'indice mitotique du témoin négatif, celui du témoin positif (Quercétine) et celui de la fraction flavonoïque aqueuse et butanolique. De même, des différences hautement significatives ont été observées entre l'indice mitotique du témoin positif et celui de la

fraction flavonoïque aqueuse. Par ailleurs, aucune différence significative 0,677615 a été observée entre l'indice mitotique du témoin positif et celui de la fraction flavonoïque butanolique.

L'évaluation de l'effet antimitotique réalisé par OUZID *et al.* (2019) sur les différents extraits fongiques bruts des mycoendophytes foliaires de *Peganum harmala* testées sur les cellules méristématiques d'*Allium cepa*, les IM obtenus par l'extraits fongiques brut du genre *Penicillium* et d'*Aspergillus* respectivement de $42,50 \pm 1,04\%$ et $43,80 \pm 1,76\%$ est similaire à celle qu'on a obtenue par la fraction butanolique des flavonoïdes des feuilles de *Peganum harmala*.

La diminution de l'activité mitotique chez les cellules méristématiques racinaires d'*Allium cepa*, indique un effet mitodépressif de la fraction aqueuse et butanolique des flavonoïdes des feuilles de *Peganum harmala*. On pourrait suggérer que les fractions qu'on a testés ou bien leurs composants doivent interférer avec le développement normal de la mitose, en prévenant un nombre de cellules d'entrer en prophase et bloquant ainsi le cycle mitotique durant l'interphase, ce qui provoque un effet antimitotique (EL GHAMERY *et al.*, 2000). Le même effet a été observé par les extraits fongiques bruts des mycoendophytes foliaires de *Peganum harmala* (OUZID *et al.*, 2019).

Selon MERCYKETLY et STEPHEN (1980); SCHULZE et KIRSCHER (1996), les effets mitodépressifs de certains extraits de plantes ont la capacité de bloquer la synthèse de l'ADN et des nucléoprotéines. Les mêmes effets ont été observés chez des cellules méristématiques d'*Allium cepa* traitées par des extraits aqueux de quatre plantes médicinales utilisées en pharmacopée Nigérienne : *Azadirachta indica*, *Morinda lucida*, *Cymbopogon citratus*, et *Carica papaya* (AKINBORO et BAKARE, 2007).

Plusieurs études *in vitro* ont montrés l'effet anticancéreux des flavonoïdes vis-à-vis de nombreuses lignées cellulaires cancéreuses ainsi qu'*in vivo*. BOSETTI *et al.* (2005) et FINK *et al.* (2007) ont démontré que la consommation des flavonoïdes diminue le risque et l'incidence de plusieurs types de cancers à savoir le cancer du sein, le cancer du poumon (LE

MARCHAND *et al.*, 2000), le cancer de la prostate (KNEKT *et al.*, 2002), le cancer de l'estomac (GARIA *et al.*, 1999) et le cancer du rectum (ARTS *et al.*, 2001). Ces études ont

Résultats et discussion

montré que les composés polyphénoliques peuvent inhiber les différents stades du cancer (initiation, promotion et progression) en déclenchant la cascade proapoptotique par augmentation de l'expression de certains composants apoptotiques. D'autres travaux sont faits par JEONG PIETTA 2000 et TOMOFUJI *et al.* (2009) ont démontré que la quercétine jouait le rôle d'un antagoniste des topoisomérases I et II produites par les cellules tumorales.

Selon les travaux de DADI et ses collaborateurs (2009), la quercétine serait capable d'inhiber l'ADN gyrase d'*Escherichia coli* par deux mécanismes ;

☞ elle se fixe sur l'ADN au niveau des sites d'insertion de l'enzyme bloquant ainsi son activité ;

☞ elle bloque le site de fixation de l'ATP se trouvant sur l'ADN gyrase. Dans les deux cas l'action du flavonoïde se manifeste par le clivage de l'ADN bactérien, désormais incapable de subir les modifications topologiques nécessaires à son bon fonctionnement.

Les cellules méristématiques traitée aussi bien avec les témoins négatifs (eau distillé) et positifs (quercétine), ainsi que nos échantillons (phase aqueuse et butanolique) sont bloqué majoritairement en prophase . Ceci est indiqué par les indices de phases (IP) qui sont de $82,91 \pm 3,08\%$ et $39,08 \pm 1,23 \%$ respectivement pour le témoin négatif et positif , et de même pour les fraction butanolique ($30,28 \pm 2,04 \%$) et aqueuse ($48,56 \pm 2,45\%$) . Par contre, on distingue une diminution remarquable dans le pourcentage des autres phases (métaphase, anaphase et télophase) pour toutes les cellules testées avec nos échantillons.

Le test statistique type ANOVA a révélé des différences hautement significative ($p=0,00$) entre l'indice de phase du témoin négatif, celui du témoin positif (Quercétine) et celui de la fraction flavonoïque aqueuse et butanolique. De même, des différences hautement significatives ont été observées entre l'indice de phase du témoin positif et celui de la fraction flavonoïque aqueuse .

D'AMATO (1954) a démontré que l'augmentation du nombre de prophases chez des cellules méristématiques racinaires d'*Allium cepa* traitées par l'extrait aqueux des feuilles de *Tetraclini sarticulata* pourrait être dû, soit à une durée de traitement trop longue, soit à l'utilisation de doses trop élevées. Ce-ci induirait un ralentissement de l'entrée des cellules

aux autres stades de la mitose, notamment : la métaphase, l'anaphase et la télophase. Par ailleurs, selon FUSCONI *et al.*(2006) ,l'augmentation du nombre de prophase doit probablement être reliée à une intense altération des microtubules en empêchant l'assemblage des chromosomes au stade métaphase .

D'après DEYSSON (1956), le phénomène de l'inhibition prophasique est classés en trois degrés ;

- le premier degré est caractérisé par une action qui se manifeste uniquement avant la prophase ;

- le second degré est défini par une diminution progressive de l'indice mitotique en même temps que l'augmentation des proportions des prophases et de télophases, par le fait que la durée de ces deux stades soit allongées ;

- Le troisième degré est déterminé par une inhibition de l'entrée en prophase et un blocage des prophases commencées qui, peu à peu, subissent la catachromase et reviennent à l'état interphasique . Ceci expliquerait probablement l'apparition des agglutinations des chromosomes chez les cellules d'*Allium cepa* . De tels phénomènes ont été observés par WADA(1939) et D'AMATO(1954), et sont particulièrement nets sous l'influence de l'antipyrine où l'effet se traduit par une disparition progressive des métaphases, anaphases et télophases avec une augmentation relative du nombre de prophases , qui finalement restent seules puis disparaissent peu à peu, par retour à l'état interphasique . Le blocage de la mitose en prophase a été observé également chez des cellules méristématiques de *Pisum sativum* traitées par le cadmium (FUSCONI *et al.*,2006).

3.2.2. Détermination des différentes anomalies de la mitose

Les cellules méristématiques se divisent naturellement et rapidement, ce qui justifie les indices mitotiques élevées obtenus pour les échantillons de témoins négatifs .Tout les stades de la mitose ont été nettement observés sans anomalies de division remarquable à savoir : Prophase, Métaphase, Anaphase et Télophase (figure 2).

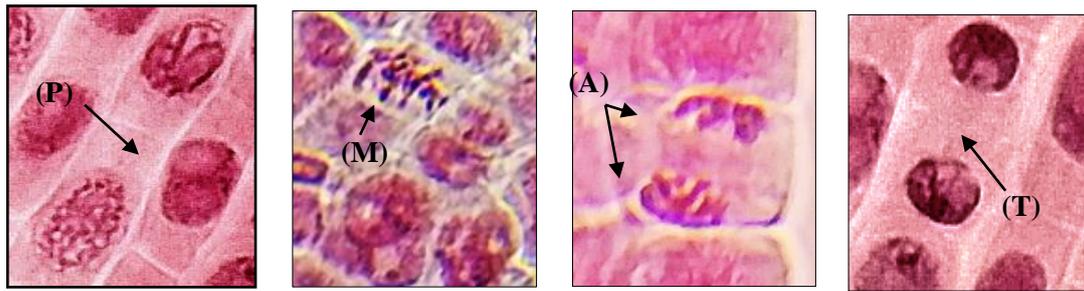


Figure 22 : Les différentes phases de la mitose observées chez les cellules méristématiques des racines d'*Allium cepa* , vues sous microscope optique (×400).

(P) Prophase , (M) Metaphase , (A) Anaphase , (T) Télophase .

Par ailleurs , l'exposition des cellules méristématiques racinaires d'*Allium cepa* à la quercétine induit des anomalies chromosomiques , cellulaires et nucléaires illustrées dans la figure 3

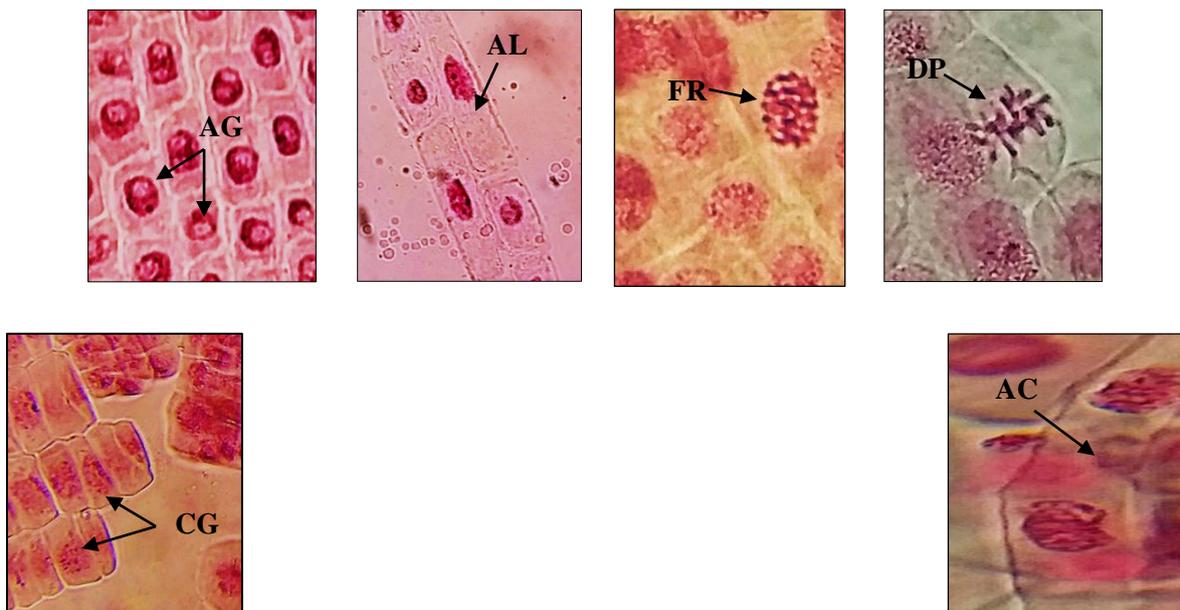


Figure23: Anomalies rencontrées chez les cellules méristématiques d'*Allium cepa* traitées avec la quercétine, vues sous microscope optique (×400).

-AG- : Agglutination chromosomique ; -AL- : Allongement des cellules ;-FR- : Fragmentation chromosomiques ; -DP- : Désorganisations de la plaque équatoriale en métaphase ; -CG- : Cellules gigantesques ; -AC- : Absence de cytotérièse.

✓ **Anomalies de la mitose en présence de fraction butanolique des flavonoïdes des feuilles de *Peganum harmala***

L'observation microscopique a permis la mise en évidence de nombreuses aberrations chromosomiques, nucléaires et cellulaires qui pourraient expliquer les effets de la fraction butanolique sur la division cellulaire, tel que la montre la figure4

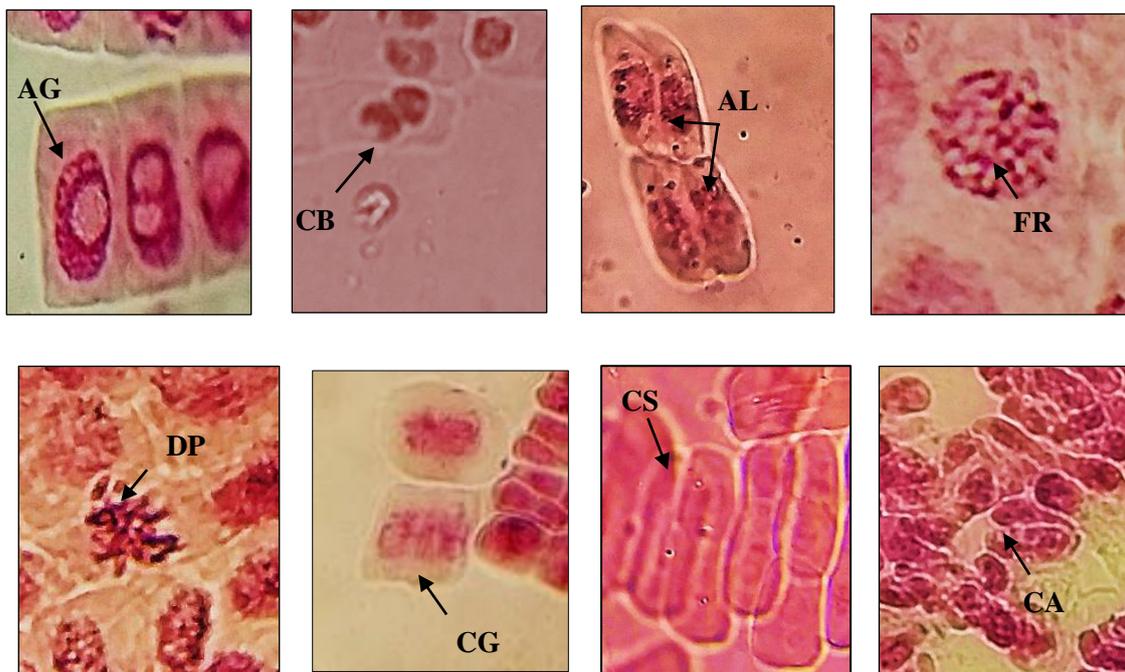


Figure24:Anomalies rencontrés chez les cellules méristématiques d'*Allium cepa* traitées avec la fraction butanolique des flavonoïdes des feuilles de *Peganum harmala* , vues sous microscope optique (×400).

AG- : Agglutination chromosomique ; **-CB-** : Cellules binucléées ; **-AL-** : Allongement des cellules ; **-FR-** : Fragmentation chromosomiques ; **-DP-** : Désorganisations de la plaque équatoriale en métaphase ; **-CG-** : Cellules gigantesques ; **-CS-** : Cellules sans noyaux ; **-CA-** : Corps apoptotiques .

➤ **Anomalies de la mitose en présence de la fraction aqueuse des flavonoïdes des feuilles de *Peganum harmala***

L'observation microscopique des cellules méristématiques des racines d'*Allium cepa* traitées avec la fraction aqueuse montre que les anomalies de la division cellulaire sont moins

fréquentes par rapports à ceux traitées avec la fraction butanolique. Les anomalies nucléaires, chromosomiques et cellulaires observées sont présentées au niveau de la figure5

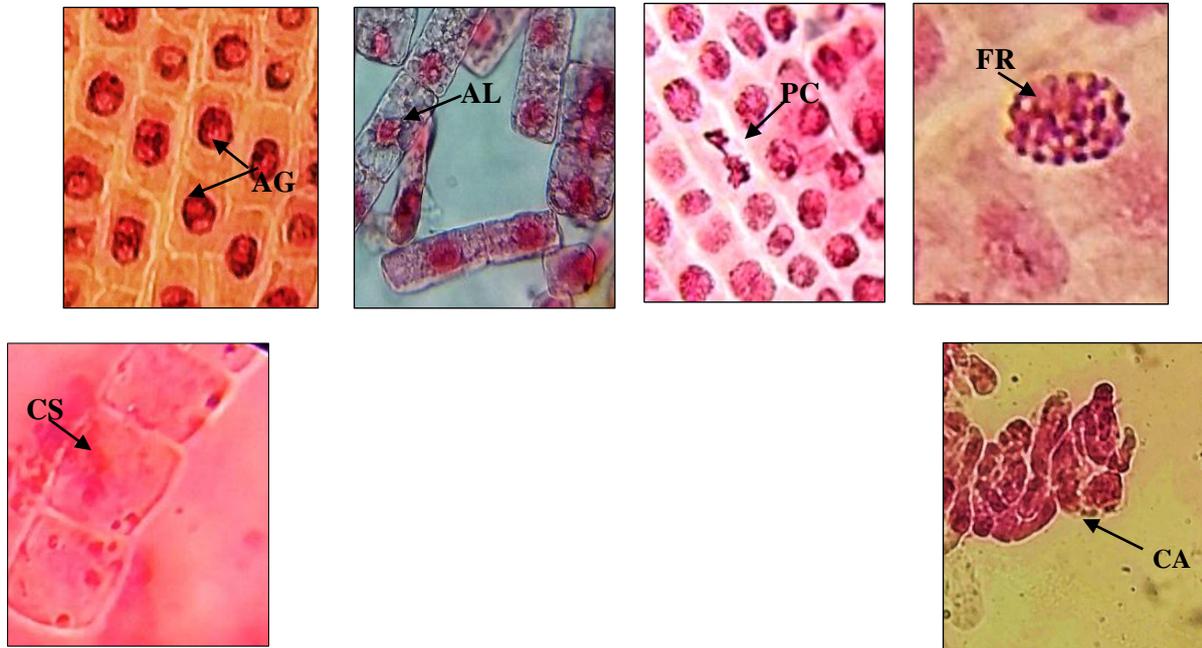


Figure25: Anomalies rencontrés chez les cellules méristématiques d'*Allium cepa* traitées avec la fraction aqueuse des flavonoïdes des feuilles de *Peganum harmala* ,vues sous microscope optique (×400).

-AG- : Agglutination chromosomique ; - AL- : Allongement des cellules ;-PC- : Ponts chromosomiques -
FR- : Fragmentation chromosomiques ; -CS- : Cellules sans noyaux. ; -CA- : Corps apoptotiques .

A partir de ces observations microscopiques nous avons établi le tableau ci-dessous, qui regroupe les différentes anomalies de la mitose enregistrées en présence des deux fractions : aqueuse et butanolique, ainsi qu'en présence de la quercétine (témoins positif).

Tableau VI: Différentes anomalies et aberrations cellulaires, nucléaires et chromosomiques des cellules méristématiques d'*Allium cepa* traitées par les fractions aqueuse et butanolique des flavonoïdes des feuilles de *Peganum harmala*.

| Aberration/ Fraction | AG | CB | AL | PC | FR | DP | CG | CS | CA | AC | (%) Total |
|-------------------------|----------------|---------------|---------------|----------------|---------------|---------------|---------------|---------------|----------------|---------------|----------------|
| Quercétine | 8,97±1,76 | 0,00± 0,00 | 1,71± 0,56 | 0,00± 0,00 | 6,74± 2,54 | 0,17± 0,10 | 1,08± 0,59 | 0,00± 0,00 | 0,00± 0,00 | 3,54± 1,71 | 22,21 ±7.26 |
| Phase butanolique | 10,57± 0,67 | 0,51± 0,25 | 4,4± 2,16 | 0,00± 0,00 | 3,94± 1,75 | 0,17± 0,10 | 0,34± 0,30 | 0,68± 0,61 | 0,057± 0,05 | 7,31± 1,39 | 27,97± 7,28 |
| phase aqueuse | 4,14± 0,60 | 0,00± 0,00 | 0,8± 0,54 | 0,057± 0,04 | 0,85± 0,37 | 0,00± 0,00 | 0,00± 0,00 | 0,62± 0,56 | 0,11± 0,09 | 0,00± 0,00 | 6.58± 2.2 |

Les différentes anomalies de la division cellulaire des cellules méristématiques d'*Allium cepa* est évaluée par le calcul des indices d'aberrations (IA), qui représente le rapport des totales d'aberrations sur le nombre des cellules examinées. Notre étude a montré que la phase butanolique a donnée IA le plus élevé ($27.97 \pm 7.28\%$), comparativement à celui obtenu en présence de la quercétine et la phase aqueuse respectivement de $22.21 \pm 7.26\%$ et $6.58 \pm 2.2\%$.

Le test statistique type ANOVA a révélé aucune différence significative de l'indice d'aberration (IA) du témoin positif, celui de la fraction flavonoïque butanolique et aqueuse avec des p values respectivement de 0.170343, 0.713803 et 0.100150.

La présence de ponts chromosomique chez les cellules méristématiques d'*Allium cepa* traitées par la fraction butanolique des flavonoïdes des feuilles de *Peganum harmala*, doit être attribuée aux cassures chromosomiques, au retard de la réplication d'ADN et de l'hétérochromatine au moment où le noyau est prêt à se diviser et à la présence aussi des chromosomes dicentriques. D'après YUET *et al.* (2012), ces ponts sont observés chez des cellules d'*Allium cepa* traitées par l'extrait aqueux des feuilles d'*Euphorbia hirta* et semblent être liés à la présence de quelques terpènes.

Les cellules binucléées observées chez les cellules méristématiques d'*Allium cepa* traitées par la fraction butanolique des flavonoïdes des feuilles de *Peganum harmala* sont considérées comme le résultat d'une inhibition de la cytokinase à différents points de contrôle du cycle cellulaire (ATEEQ *et al.*, 2002). D'après ROGER (2007), les microtubules pourraient être la cible de certains flavonoïdes et tritrepènes, leur action empêcherait la formation de la plaque équatoriale. Ces phénomènes ont été observés en présence d'extrait de fleurs de *Peganum harmala* (TURKUGLO, 2008).

D'autre part, les cellules traitées par la fraction aqueuse et butanolique des flavonoïdes des feuilles de *Peganum harmala* présentant une partie épaissie de la chromatine (coloration intense) et l'autre partie tend à disparaître (coloration très claire ou presque absente) menant probablement à l'apparition de ce qu'on a appelé cellules sans noyaux, résultat d'une caryolyse, celle-ci est définie comme une dissolution du noyau avec perte de ses affinités tinctoriales (ROGER, 2007).

Les agglutinations chromosomiques correspondent à des chromosomes ayant un aspect collants (phénomène dit de stickines). Cette tendance à l'agglutination pourrait être le résultat d'une diminution de la viscosité transformant les molécules allongées en molécules globulaires (MEDJEBER *et al.*, 2018). Elle est probablement causée par une liaison subchromatidique entre les chromosomes, ces derniers perdent la capacité de mouvement et deviennent incapable de parvenir à leur destination finale. Cet aspect collant pourrait aussi résulter de la dépolymérisation d'ADN et la dissolution des nucléoprotéines suite à un stress, il reflète un état toxique, de type habituellement irréversible et qui mène probablement à une mort cellulaire (BASS *et al.*, 2000).

Les fragmentations chromosomiques correspondent à une destruction des chromosomes. Elles sont probablement dues aux effets clastogènes de l'extrait. Ces lésions pourraient résulter, soit directement d'une action sur les bases nucléotidiques, soit par altération du processus de réparation des sites d'ADN endommagés durant la réplication (GRANT, 1978). Un tel phénomène a été rencontré chez les cellules méristématiques d'*Allium cepa* traitées par l'extrait aqueux des feuilles de *Thymus vulgaris* (MOREAU, 2006).

Selon OUZIDE *et al.* (2019), les extraits de *Cladosporium*, d'*Alternaria*, d'*Aspergillus* et *Penicillium* de mycoendophytes foliaires de *Peganum harmala* génèrent des modifications à différents niveaux du cycle cellulaire notamment les cellules interphasiques rétrécies, distribution chromosomique anormale après métaphase, ponts chromosomiques modifiés à l'anaphase, adhérence chromosomique, agglutination en télophase, dégénérescence chromosomique, gros nucléole et des cellules gigantesques ont été observés. Ceci est en accord avec les résultats obtenus avec les fractions butanolique et aqueuse des flavonoïdes des feuilles *Peganum harmala*.

La valeur limite de cytotoxicité

La valeur limite de cytotoxicité de la quercétine ainsi que les fractions butanolique et aqueuse des flavonoïdes des feuilles de *Peganum harmala* testée sur les cellules méristématiques racinaires d'*Allium cepa* est définie par le rapport de l'indice mitotique des cellules traitées sur l'indice mitotique de témoins négatif, comme l'indique le tableau 5 ci-dessous.

Tableau VII: Indice mitotique et valeur limite de cytotoxicité des fractions flavonoïques aqueuse et butanolique ainsi que la quercétine

| | IM (% ± ES) | VLC(%) |
|----------------------|-------------|------------|
| La quercétine | 44,4±0,72 | 48,16±0,79 |
| Fraction butanolique | 44,00± 0,40 | 47,72±0,43 |
| Fraction aqueux | 62,60± 0,82 | 67,89±3,79 |

A partir du tableau VII, le pourcentage de la valeur limite de cytotoxicité (VLC %) et de l'indice mitotique de la fraction aqueuse des flavonoïdes des feuilles de *Peganum harmala* est estimé respectivement de 67,89±3,79% et 62,60± 0,82%, comparativement à celle enregistré dans la fraction butanolique (47,72±0,43%) et (44,00± 0,40%) et pour celle de la quercétine est de 48,16±0,79% et 44,4±0,72%. Ceci dit, le pourcentage de la VLC de la phase aqueuse

est plus élevé que celui de la phase butanolique et la quercétine.

Le test statistique type ANOVA a révélé des différences hautement significative ($p=0,00$) entre de La valeur limite de cytotoxicité (VLC) de témoin positif et la fraction aqueuse et cette dernier avec la fraction butanolique avec des p-values 0,000001 inférieure à 0,05 . Par ailleurs, aucune différence significative 0,677615 a été observée entre la VLC de la quercétine et la fraction butanolique avec un p-values de 0,764036 .

Selon ANTONSIEWICZ (1990) quand l'indice mitotique diminue en dessous de 22% de témoin négatif, il provoque ce qu'on appelle un effet létal sur les cellules en division. Une diminution de l'indice mitotique de 50 % par rapport au témoin négatif, est habituellement un effet sublétal (PANDA et SAHU, 1985) et est nommée valeur limite de cytotoxicité (SHARMA, 1983). Selon ces deux définitions, on pourra déduire que la quercétine et la fraction butanolique de flavonoïdes de feuille de *Peganum harmala* ont un effet sublétal sur les cellules méristématiques d'*Allium cepa*.

3.3. Evaluation de l'intégrité de la membrane érythrocytaire

Le test de cytotoxicité, *in vitro*, a été réalisé en utilisant de globule rouge humain (GRh). Différentes concentrations des fractions aqueuse et butanolique des flavonoïdes des feuilles de *Peganume harmala* ont été testées. Le pourcentage de l'hémolyse est évalué pour chaque fraction par rapport à un témoin négatif et un autre positif qui contient respectivement de (le globule rouge+ l'eau physiologie) (le globule rouge +la saponine) .Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau VIII suivant :

Tableau VIII : Le taux d'hémolyse (%) des GR induit par les différentes Fractions flavonoïques des feuilles de *peganum harmala* ainsi que la saponine

| | DO | Hémolyse |
|-------------------|-------|----------------|
| T | 0.031 | 0,00±0,00 |
| Saponine | 1.900 | 100 ± 0 ,00 |
| Phase aqueuse | 0.187 | 08.211 ± 2, 01 |
| Phase butanolique | 1.702 | 87.947 ± 0,16 |

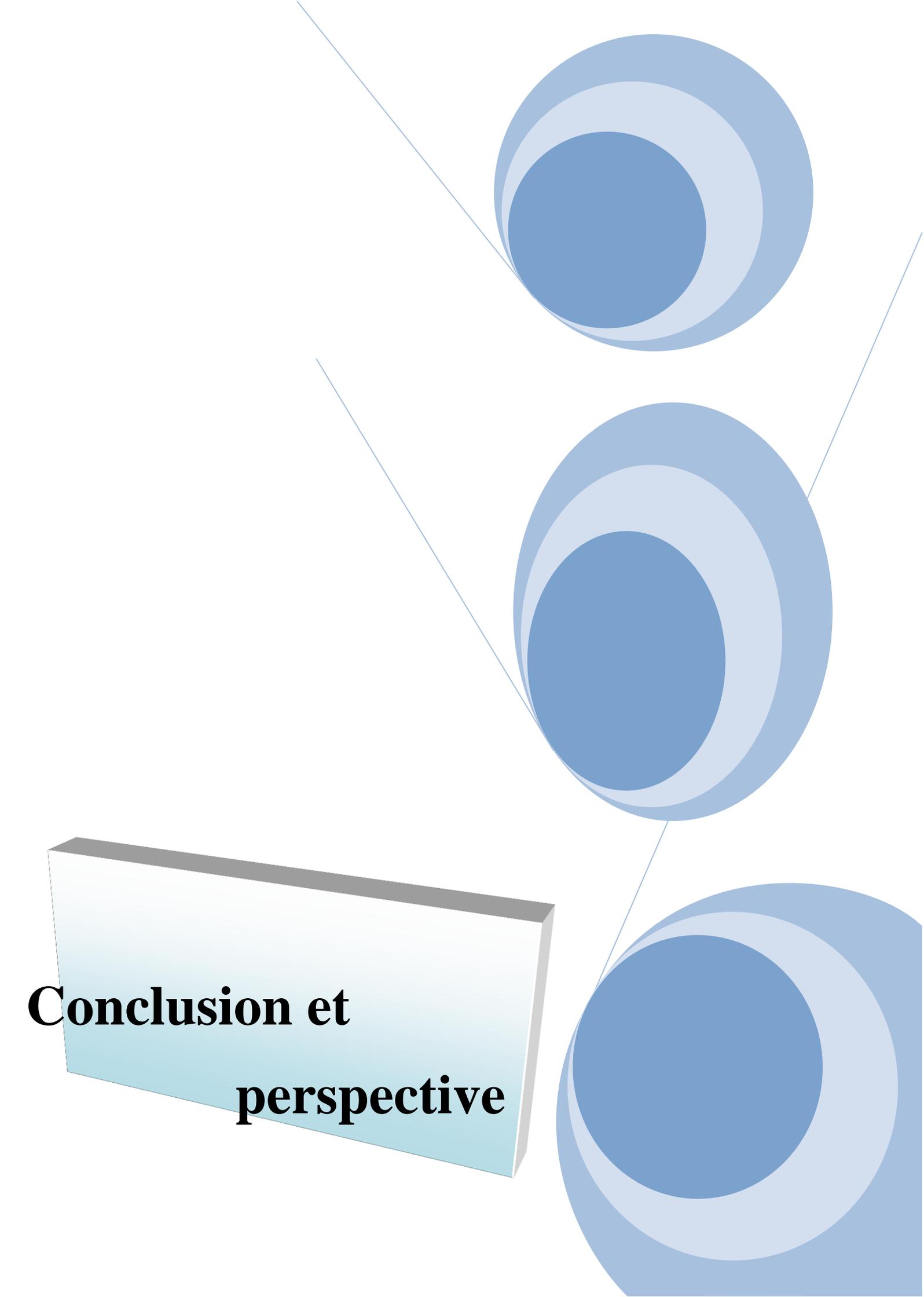
A partir du tableau VIII, on constate que le taux d'hémolyse de la phase aqueuse est très bas avec une valeur de 8.211 (%), comparativement à celui de la saponine de 100 (%). De ce fait, la fraction aqueuse des flavonoïdes des feuilles de *Peganum harmala* n'a pas un effet cytotoxique sur la membrane de globule rouge. Alors que, le taux d'hémolyse de la phase butanolique présente une valeur importante 87.947 (%) proche de celle de la saponine (100%), ceci indique que cette fraction a un effet cytotoxique sur la membrane érythrocytaire.

L'étude de l'activité cytotoxique nous a clairement démontré que la fraction aqueuse de feuilles de *Peganum harmala* n'a pratiquement aucun effet sur la membrane érythrocytaire malgré sa teneur en flavonoïdes. Ceci pourrait s'expliquer par la glycosylation des flavonoïdes qui bloquerait leur entrée dans les cellules. En effet, les flavonoïdes sont généralement cytotoxiques, mais cette efficacité dépend d'une part de leur glycosylation éventuelle et d'autre part de leur degré de méthylation. La structure des flavonoïdes présents dans les extraits de feuilles ne correspondrait pas à celle des flavonoïdes à activité cytotoxique (NADOUR, 2015). Ces résultats sont en accord avec ceux de VERSTRAETEN *et al.* (2003) et RAMCHOUN *et al.* (2015), qui ont montrés que les flavanols et les procyanidines interagissent avec les groupements polaires des phospholipides membranaires par des liaisons hydrogènes et s'accumulent ainsi à la surface, ce qui permet de réduire l'accès des molécules radicalaires à la bicouche lipidique. Par ce mécanisme, les flavonoïdes

pourraient maintenir l'intégrité membranaire.

Par ailleurs, la fraction butanolique des flavonoïdes des feuilles de *Peganum harmala* a pratiquement un effet cytotoxique sur la membrane de globule rouge. L'observation du profil d'HPLC de l'extrait butanolique des parties aériennes de *Fagonia microphylla* (Zygophyllaceae), qui est une espèce endémique du Sahara septentrional, récoltée dans la région de Ghardaïa, montre bien la richesse de ce dernier en saponosides (ABDEL *et al.*, 2000). Vu que *Peganum harmala* appartient à la famille des Zygophyllaceae, on peut déduire que l'effet cytotoxique de la fraction butanolique peut être expliqué par la présence des saponines, qui ont la capacité d'induire la formation des pores à travers les membranes cellulaires, entraînant l'hémolyse et la libération de l'hémoglobine dans le plasma (MAKKAR et BECKER, 1997).

L'évaluation de l'effet cytotoxique de la fraction butanolique des flavonoïdes des feuilles de *Peganum harmala* réalisé par nos soins est en accord avec les travaux de SCANDORIEIRO *et al.* (2016), qui ont montré que le taux d'hémolyse des huiles essentielles d'*Origanum vulgare* est de 85%. Cette étude vient confirmer l'effet cytotoxique de l'huile d'*Origanum vulgare* qui expliquée par la présence de thymol et de carvacrol dans leur composition chimique. Ces composés interagissent avec les acides gras polyinsaturés provoquant une perturbation de la membrane cellulaire de globule rouge et une fuite des composants intra cytoplasmiques (GONG *et al.*, 2014).

The image features three blue spheres of varying sizes arranged vertically. Each sphere is composed of three concentric circles: a dark blue inner circle, a light blue middle ring, and a medium blue outer ring. Thin blue lines connect the top of each sphere to the top edge of a 3D rectangular box on the left. The box has a light blue-to-white gradient and a dark grey top edge. The text 'Conclusion et perspective' is written in a bold, black, serif font on the front face of the box.

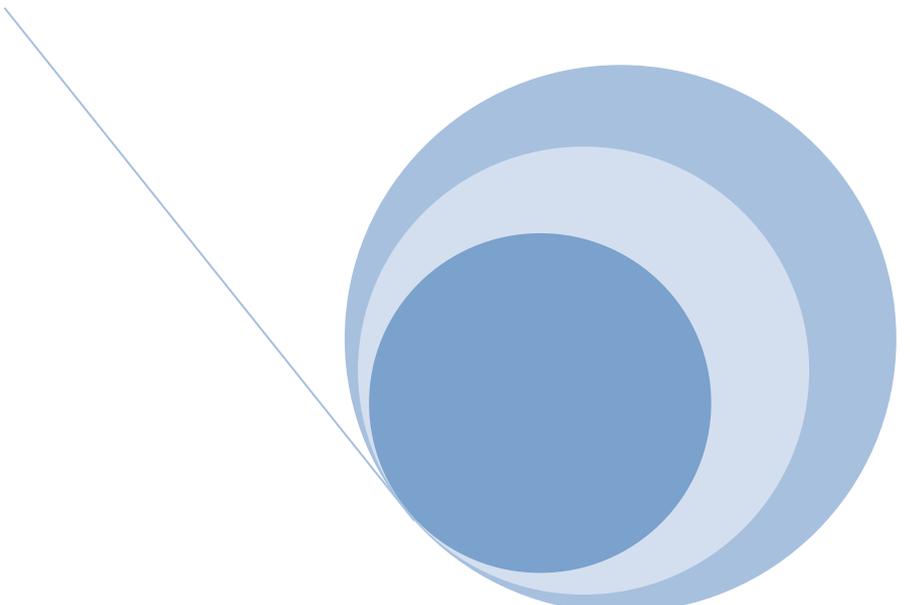
**Conclusion et
perspective**

La présente étude a concerné l'évaluation de l'effet antimittotique des fractions flavonoïques : aqueuse et butanolique sur les cellules méristématiques *d'Allium cepa*. Ces dernières affectent la mitose, en induisant une diminution significative de l'indice mitotique et l'indice de phase (IM) et (IP) . Cette diminution est plus importante dans la fraction butanolique qui est similaire à celle de la quercétine traduisant des aberrations nucléaires, chromosomiques et cellulaires à savoir les fragmentations chromosomiques et les allongements cellulaires.

Pour l'effet cytotoxique de nos fractions sur la membrane érythrocytaire a été évalué par le taux d'hémolyse .Par ailleurs, cette étude a montré que la fraction aqueuse induit un taux d'hémolyse moins important que la fraction butanolique. Ces effets pourraient être probablement dus à la richesse de nos fractions en flavonoïdes estimée à $208,23 \pm 2,00$ et 138.82 ± 0.89 ($\mu\text{g EQ / ml}$ de fraction) respectivement à la fraction aqueuse et butanolique.

A l'issu de ces résultats, nos perspectives s'inscrivent dans le but de mieux cerner l'effet antimittotique et cytotoxique des fractions aqueuse et butanolique des flavonoïdes des feuilles de *Peganum harmala* L. Pour cela il serait intéressant ;

- ✓ d'identifier les différents métabolites secondaires de ces fractions responsables de ces effets par des techniques de haute performance à savoir la chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC) et la chromatographie en phase gazeuse (CPG) ;
- ✓ purifier ces molécules bioactives ;
- ✓ comprendre leurs mode d'action ;
- ✓ tester l'effet de ces fraction sur des lignées tumorales *in vitro* et *in vivo* ;
- ✓ élargir le panel des activités biologiques par d'autres tests : anti-inflammatoire et anticoagulant.



Références

bibliographiques

- ABDEL KHALIK S .M ., MIYASE T., EI-ASHAAL H and MELEK F . (2000).**Triterpenoid saponins from *Fagonia cretica*.*Phytochemistry*.54: 853–859.
- AL YAHYA M. (1986).** Phytochemical studies of the plants used in traditional medicine of saudi Arabia. *Fitoterapia*.52 (3), 17.
- ANDERSEN Y.M and MARKHAM K.R .(2006).** Flavonoids : chemistry, biochemistry and applications. Ed. CRC, Taylor & Francis, Boca Raton, FL, p. 553-616.
- ANTONSIE-WICZ D. (1990).** Analysis of the cell cycle in the root meristem of *Allium cepa* under the influence of the Ledakrin.*Folia Histochemica et Cytobiologica* , 28, 79-96.
- ARTS I C., HOLLMAN P.C and FESKENS E .J .(2001).** Catechin intake might explain the inverse relation between tea consumption and ischemic heart disease. *The American Journal of Clinical Nutrition*74, 227-232.
- BAHROUN T., GRINIER B.,TROTIN F ., BRUNET G., PIN T.,LUNCKY M ., VASSEUR J ., CAZIN C and PINKAS M. (1996).** Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneimittel-Forschung*, 46(11): 1086–1089.
- BASS H.M ., NAGAR S ., HANLEY-BOWDOIN L et ROBERSTON D.(2000).** Chromosome Condensation Induced by Giminivirus Infection of Mature Plant Cells. *Journal of Cell Science*, 113, 1149-1155.
- BEKKARA F., JAY M ., VIRICEL M.R et ROME S. (1998).**Distribution of phenolic compounds within seed and seedlings of two *Vicia faba*cv's differing in their seed tannin content, and study of their seed and root phenolic exudations.*Plant and Soil*, 203 (1), 27–36.
- BENARD J. (1990).** Cancers : peut-on prévoir les échecs de la chimiothérapie. La recherche, 21 (219) p.357-358.

- BENBADIS M. C., LEVY F., PAREYRE C., DEYSSON G. (1971)** Le cycle cellulaire dans les méristèmes radiculaires d'*Allium sativum*L. sous l'influence d'inhibiteurs de la synthèse protéique : action comparée du chloramphénicol, du cycloheximide et de la tubulosine. C. R. Acad. Sc. Paris, 272.
- BERGNES G ., BERJC K et BELMONT L .(2005).**Mitotic kinesins : prospects for antimitotic drug discovery .Curr Top Med Chem 5(2) 127-145.
- BERKALOOF A ., BOURGUET J., FAVARD P et LACROIX J .(1981).**Biologie et physiologie cellulaire III Division cellulaire. Hermann, Collection Méthodes. Pais.
- BETA T., NAM S., DEXTER J E. and SAPIRSTEIN H .D. (2005).**Phenolic content and antioxidant activity of pearled wheat and Roller-Milled fractions.*Cereal Chem.* 82, 390-393.
- BOOTS A.W ., HAENEN G.R et BAST A .(2008).** Health effects of quercetin: From antioxidant to nutraceutical. European Journal of Pharmacology. 585: 325-337.
- BOSETTI C., SPERTINI L., PARPINEL M., GNAGNARELLA P ., LAGIUO P., NERGRI E., FRANCESCHI S.,MONTELLA M ., PETERSON J., DWYER J., GIACOSA A and VECCHIA C .(2005).**Flavonoïds and breast cancer risk in Italy. *Cancer Epidemiology, Biomarkers &Prevention* 14, 805-808.
- BOULLARD B.(1997).** Plantes and champignons: dictionnaire. De Boeck Secundair, 875p.
- BOUZIANE N.(2012).** Toxicité comparée des extraits d'EuphorbiaguyonianaBoiss. &Reut. (Euphorbiaceae) et de *Peganum harmala* L. (*Zygophyllaceae*) récoltés au Sahara Septentrional Est algérien sur les larves et les adultes de *Schistocercagregaria* (Forskål, 1775). Thèse Magister en Sciences Agronomiques Ouregla, 72p.
- BROWN J P .(1980).**A review of the genetic effects of naturally occurring flavonoids, anthraquinones and related compounds. *Mutat Res.*75,243–77.
- BRUNORI A. (1967).**Relation ship between DNA synthesis and water content during reopening of *Viciafoba*.*Seed.Crylogia*, 20, 333-338.

- CASAGRANDE F and DARBON J M.(2001).**Effect of structurally related flavonoids on cell cycle progression of human melanoma cells : Regulation of Cyclin –Dependent Kinases CDK2 and CDK1 , *journal of biochemical pharmacology* , 61 , 1205 -1215.
- CHEESEMAN I.M and DESAI A.(2008).**Molecular architecture of the kinetochore-microtubule interface.*Nat. Rev. Mol. CellBiol*, 9(1), 33–46.
- CHEVERMONT M .(1979).** Cytologie et histologie. Maloine, ed., Paris. I : 686.
- CHOPRA I.C ., ABRAL B.K et HANDA K.L .(1960).**Les plantes médicinales des régions arides considérées surtout du point de vue botanique. UNESCO, 97p.
- CLAUDE L .(1967).** Contribution à l'étude du *Peganum harmala* L. (Hermel).Thèse de Doctorat en Pharmacie, Université Saint-Joseph, Beyrouth, 74p.
- COLOMBEL V. (2009).** Synthèse et étude de l'activité biologique de nouveaux analogues du N-acétylcolchicol. Thèse présentée pour l'obtention du grade de Docteur en Chimie Organique, UNIVERSITE CLAUDE BERNARD LYON 1, LYON, France.
- COWANE M .(1999).** Plant productantimicrobial agents .*Clinicalmicrobiologyreviews*, 12(4) , 725-731.
- D'AMATO F. (1954).** Action des facteurs physiques et chimiques sur la mitose. *Int. Botanique*, 9, 1-9.
- DABYDEEN D ., FLORENCE G ., PATERSON I et HAMEL E .(2004).**Cancer chemotherapy . *Review of pharmacology* ,53, 397-403.
- DADI P.K ., AHMAD M et AHMAD Z.(2009).** Inhibition of ATPase activity of *Escherichia coli* ATP synthase by polyphenols.*Int. J. Biol. Macromol.*, 45 (1): 72-9.
- DERBEL S .(2005).**Les phytonutriments et leur impact sur la santé .*Pytothérapie* , (3), 28-34.
- DEYSSON G. (1956).** Les facteurs de la mito-inhibition végétale. VI. p. 241-274.

- DODGE J.T ., MITCHELL C et HANAHAN G. J. (1963).** The preparation and chemical characteristics of hemoglobin-free ghosts of human erythrocytes. *Archives of biochemistry and biophysics*, 100(1), 119-130.
- DOUMI H .(1993).** Contribution à l'étude des stratégies de résistance au stress hydrique de quatre espèces steppiques à statut dynamique différent (*Anabasisaphylla* L., *Artemisiaherbaalba* Asso., *Frankeniacyrmbosa* et *Peganum harmala* L.) dans la périmètre pastoral de Tafrata (Maroc Oriental). D.E.S. faculté des Sciences. Université Mohamed Ier Oujda.
- DOXSEY S., ZIMMERMAN W and MIKULE K. (2005).** Centrosome control of the cell cycle. *Trends Cell Biol*, 15(6), 303-11.
- DUCHNOWICZ P., MILENA B .M ., PODSEDEK A et KOTER – MICHALAK M. (2012) .** Effect of polyphenols extracts from *Brassica* vegetables on erythrocyte membranes (*in vitro* study). *Environ Toxicol Pharmacol*;34:783-90 (18) .
- DUCHNOWICZ P., BORS M., PODSEDEK A., KOTER-MICHALAK M. et BRONCEL M. (2012).** Effect of polyphenols extracts from *Brassica* vegetables on erythrocyte membranes (*invitro* study). *Environmental Toxicology and Pharmacology* ,34 (3), 783-790.
- ELGSAETER A., STOKKE B T ., MIKKELSEN A et BRANTON D .(1986).** The molecular basis of erythrocyte shape. *Science*, 234(4781), 1217-1223.
- EPSIE M ., EXTRA J ., COTTU P ., CUVIER C et MARTY M .(1998) .** Médicaments anticancéreux . in schorderet M . 69 : 917-945.
- ESSAD S. (1977).** Action de températures basses sur les proportions des phases monocycliques du méristème radicaire de *Lactuca sativa* L. *Physiol. Vég*, 15 (2), 325-332.
- FARNSWORTH N R .(1968).** HALLUCINOGENIC PLANTS . *Science* 162:1086-1092.
- FARNSWORTH N. K et KASS C .J .(1986).** An approach utilizing information from traditional medicine to identify tumor inhibiting plants. *Bulletin de l'OMS* 66, 159.

- FINK B.N ., STECK S.E ., WOLFF M. S., BIRTTON J.A ., KABAT G. C., GAUDET M.M., ABRAHMSON P.E ., SCHROEDER J.C ., NEUGOUT A and GOMMON M.D .(2007).**Dietary flavonoïd intake and breast cancer survival among women on Long Island.*Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention* 16, 2285-2292.
- FORD R.A ., HAWKINS D. R., MAYO B.C and API A .M. (2001).**The *in vitro* dermal absorption and metabolism of coumarin by rats and by human volunteers under simulated conditions of use in fragrances. *Food and Chemical Toxicology*, p39, 153-162.
- FREIDEL H., 1980.** Dictionnaire de l'écologie et de l'environnement. Larousse, 284p.
- FUSCONI A., REPETTO O., BONA E., MASSA N., GALLO C., DUMAS-GAUDOT E et BERTA G. (2006).**Effects of cadmium on meristem activity and nucleus ploidy in roots of *Pisum sativum* L. cv. Frisson seedlings. *Environmental and Experimental Botany*, 58, 253–260.
- GAECIA R., GONZALEZ C., AGUDO A and RIBOLIE .(1999).**Intake of specific carotenoïds and flavonoïds and the risk of gastric cancer in Spain.*Cancer Causes Control* 10, 71-75.
- GALA S ., DESCAMPS S., MARTINEZ A.(2008).** Le cycle cellulaire. Ed : De Boeck, paris. P: 115.
- GILBERT B.L et NORRIS D.M.(1968) .** A chemical basis for bark beetle (scolytus) distinction between host and non-host trees.*J Insect physiol.* Vol.(14): 1063-1068.
- GLINSKA S., BARTEZAK M ., OLEKSIK S ., WOLSKA A ., GABARA B., POSMYK M and JANAS K .(2007).**Effects of anthocyanin-rich extract from red cabbage leaves on meristematic cells of *Allium cepa*. Root treated with heavy metals.*Ecotoxicology and environmental safety*. 68 : 343-350.
- GOEL N ., SINGH N and SAINI R. (2009).** Efficient *in vitro* multiplication of Syrian Rue (*Peganum harmala* L.) using 6 benzylaminopurine pre-conditioned seedling explants. *Nature and Science*. 7(7), 1545-0740.

- GONG H and ZHOU B .(2014).** Analysis of essential oils of *Origanum vulgare* from six production areas of China and Pakistan. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 24(1), 25 .
- GORIN N ., PHILIP T et SYMANN M .(1996).** Manuel pratique d'hémato-cancérologie et de chimiothérapie .Frison –Roche ,eds,Paris,P.13-20
- GRANT W.F. (1978).**Chromosome aberrations in plant as monitoring system.*Environ. Health Perspect*, 27: 37–43.
- GUERITTE G et FAHY M .(2005).** The vincaalkaloids .In cragg , Kingston .
- GUILLAUME D et CHARROUF Z .(2005).**Saponines et métabolites secondaire l'arganier (*Argania spinosa*) .Cahier agriculture ,14(6),509-513 .
- HAIT W ., RUBIN E ., ALLI E et GOODINA S .(2006).** Tubulin Targeting Agents .Update on cancer therapeutics .Uct ., 37 (18) .
- HALIM A .F ., SAAD A. A., HASHISH N.E .(199).**Flavonol glycosides from *Nitraria Retusa*. *Phytochemistry*40,349-351.
- HALLET J.N. (1983).**Acquisition récentes sur les modifications quantitatives du noyau au cours du cycle cellulaire et de la différenciation. Journée d'Etude cytologique, université Pierre et Marie Curie, Paris, 4-7.
- HAMMICHE V et MERAD R.R. (1997).***Peganum harmala* L.(PIM 402F, French) – ipcsinchem, disponible en format (URL) sur le site <http://www.inchem.org/documents/pims/plant/pim402fr.htm>.
- HARTWELL J.L .(1982).**Plants Used Against Cancer , 25(4), 243-245.
- HEIM K.E., TAGLIAFRRO A.R and BOBILYA D.J. (2002).** Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity Relationships. *J. Nut. Biochem.*13, 572–584.
- HELLER W et FORKMAN G .(1993).** Biosynthesis of flavonoids. In: Harborne, J.B. (Ed.), «The Flavonoids: Advances in Research since 1986 ». Chapman & Hall, London, pp. 499–535.

- HIGUCHI R., TOKIMITSU Y., FUJIIKA T and KOMORI T . (1987)** Structure of desaysaponinsobtanies from the bark of *QuillajaSaponaria*. *Phytochemistry*;26:229–35.
- HUBERT – HABART M ., KOKEL B et MENECHI G.(1987)**. Réflexions sur la chimiothérapie des cancers. *L’actualité chimique* p.105-113.
- HUNG P .V., MAEDA T., MIYATAKE K et MORITA N. (2009)**., Total phenolic compounds and antioxidant capacity of wheat graded flours by polishing method, *Food Research International*, 42 185–190 .
- IGOR P.(2002)**.Etude des activité biologique de fagarazanthoxyloides , lam(*Rutaceae*) .thèse de pharmacie , bamako, p133.
- IKEDA K ., PANT B., MISHIRO A ., OZAWA K ., MASUJINA T and SUGIYANA M .(2000)**.A convenientmethodfor the evaluation of anti-tumor agents affecting the cell cycle.*Jornal of bioscience andbioenginering*. 90 (5) : 574-576.
- ISERIN P. (2001)**.Encyclopedia of Médicinal Plants.La Rousse. (2nd Edition). pp: 244-245.
- JOVANOVIC S.V., STEENKEN S., SIMIC M.G. et HARA Y.(1997)**. Antioxidant properties of flavonoids : reduction potentials and election transfer reactions of flavonoids radicals. In : Rice-Evans. *Flavonoids in health and disease*, Marcel Dekker, Inc., New York, p : 137-145.
- KAMEL S ., IBRAHIM L ., AFIF A et HAMZA S .(1970)**.Major alkaloidal con-stituent of the Egyptian plant .*Peganum harmala* .*Uarj , vet .sci* ,7:71-86.
- KARP G .(1998)**. *Biologie cellulaire et moléculaire: Concepts et expériences*. De Boeckuniversité, ed., Bruxelles.p. 665.
- KAUR S.J ., GROVER IS and KUMAR S .(2000)**. Modulatory effects of tannin fraction isolated from *Terminaliaarjuna*on the genotoxicity of mutagens in *Salmonella typhimurium*. *Food and chemical toxicology*, 38(12), 1113-1119.

- KEUKENS E ., VAN DEN BOOM C., DEWAARS P ., PLASMAN and THIEL F .(1995)** .Molecular basis of glycoalkaloid induced membrane disruption. *BiochimBiophysActamica* ;1240:216–28.
- KNEKT P.P., KUMPULAINEN J., JARVINEN R .,RISSANEN H.,HELIOVAARA M ., HAKULINEN T and AROMAA A .(2002)** . Flavonoïds intake and the risk of chronic diseases.*American Journal of ClinicalNutrition* 76, 560-568.
- KOGA T ., MARO K et TERAO J . (1998)**. Protective effect of a vitamin E analog, phosphatidylchromanol, against oxidative hemolysis of human erythrocytes.*Lipids*;33:589-95. (17).
- LANHERS M.C.(1988)**. Contribution à l'étude ethnopharmacologique et l'étude,laboratoryguide,p : 1-21, p :169-181.
- LAVERGNE .(2013)**. Zygophyllacées. Disponible en format (URL) sur le site: <http://www.universalis.fr/encyclopedie/zygophyllacees>.
- LE MARCHAND L., MURPHY S ., HANKIN J., WILKENS L and KOLONEL L .(2000)**. Intake of flavonoids and lung cancer.*Journal of the National Cancer Institute* 9, 154-160.
- LEE G et XIAO M. (2005)**.Podophyllotoxins and analogs . In cragg , Kingston .
- LEITMONNOVA A and IGLIC A.(2009)** .Advances in planar lipid bilayers and liposomes.
- LOWRY B., LEE D et HENABT C.(1980)**. The origin of land plants: a new look at an old problem. *Taxon* 29, 183–197.71-18.
- MAHMOUDIAN M ., JALILPOUR H et SALEIHIAN P .(2002)**. Toxicity of *Peganum harmala* L: Review and a Case Report .*Iranian journal of pharmacology and therapeutics* , 1:1-4 .
- MAILLET M .(2002)**. Biologie cellulaire. Masson, ed., paris. P. 257-274.

- MAKKAR H et BECKER K .(1997)**. Degradation of quillajasaponins by mixed culture of rumen microbes. *Letters in Applied Microbiology*, 25(4), 243-245.
- MARCANO L., CARRUYO I., FERNANDEZ Y., MONTIEL X et TORREALBA Z. (2004)**. Determination of vanadium accumulation in onion root cells (*Allium cepa L.*) and its correlation with toxicity. *Biocell*, 30: 259–267.
- MARCUS A .(2005)** .Mitotic kinesins inhibitors induce mitotic arrest and cell death in Taxol resistant and –sensitive cancer cells .280(12).
- MARS B .(2009)**.The Desktop Guide to Herbal Medicine. Publisher Read How You Want, 492 p.
- MARY H. (2015)**. Analyse et Modélisation de la Dynamique des Chromosomes durant la Mitose chez la Levure à Fission. Thèse de doctorat en biologie, Université Toulouse 3 Paul Sabatier, Toulouse, France.
- MASSON I.(1992)**. Contribution à l'étude des oxydases de la mirabelle (*Prunus insitilia*) et des réactions oxydasiques responsables du brunissement des produits dérivés. Thèse de Doctorat de l'INPL. Nancy. France.
- MEDJEBER M., SAADOUN N. et SAIDI F .(20018)**.Activité Antimitotique de deux Espèces d'Aspergillus : Mycoendophytes Foliaires De Limoniastrum Feei (Girard) Batt.d'Oued Aghlal (Bechar, Algérie).Revue Agrobiologia, 8(1), 871-878.
- MEIJER L .(2003)**.Le cycle de la division cellulaire et sa régulation .Oncologie ,5:311-326.
- MIDDLETON J et CHITHAN K .(1993)**.The impact of plant flavonoids on mammalian biology: implications for immunity, inflammation and cancer. In: Harborne JB, editor. <<The flavonoids: advances in research since>>. London, UK: Chapman and Hall.
- MONSIF H.R ., GHOBADI A and IRANSHAHI .(2004)**. Antinociceptive effects of *Peganum harmala L.* Alkaloid extract on mouse formalin test. *J PharmPharmaceuSci.* 7(1), 65-69.

- MOREAU D. (2006).** Etude de nouvelles cibles moléculaires de cancer bronchopulmonaire non à petites cellules pharmacomodulées par des substances originales naturelles et synthétiques. Thèse Doc. Université de Nantes. France. p.321
- MORTIER F.(1994).** Plantes maudites et innovations thérapeutiques. Actes du premier colloque international : la pharmacopée Arabo-islamique hier et aujourd'hui. Rabat.
- NEGRE R.(1962).** Petite flore des régions arides du Maroc occidental Tome II. Edi. C. N. R.S. Paris VII.
- NORD L ., KENNE L.(2000).** Novel acetylated triterpenoid saponins in a chromatographic fraction from *Quillaja saponaria* Molina. *Carbohydr Res* 2000;329:817–29.
- ÖNNING G. et ASP N-G.(1993).** Analysis of saponin in oat kernels. *Food Chemistry* 48. Analytical Methods Section, pages : 301-305.
- OURISSON G et GRABBE P .(1961).** « Les triterpènes tétracycliques » , Paris, Hermann Ed.194.
- OUZID Y ., SMAIL-SAADOUN N et HOUALI K .(2019).** Antimitotic and antiproliferative activities of crude fungal extracts of endophytic foliar fungi of *Peganum harmala* L. From Dayate Aiat (Laghouat , Algeria). *Journal of Fundamental and Applied Sciences* .11(2):587-604.
- OZENDA P. (1977).** Flore du Sahara. CNRS, 322p.
- PANDA B.B et SAHU U.K. (1985).** Induction of abnormal spindle function and cytokinesis inhibition in mitotic cells of *Allium cepa* by the organophosphorus insecticide fenitrothion. *Cytobios*, 42, 147-155.
- PARSONS W. T CUUTHBERTSON E.G .(1992).** Noxious Weeds of Australia. Inkata Press, Melbourne, 692p.

- PSYCHONAUT .(2006).** Conseil culture *Peganum harmala* L. Disponible en format (URL) sur le site:<http://www.psychonaut.com/salon-annonces-generales/23382-conseil-culture.html>.
- PREEDY V.R., WATSON R.R and PATEL V.B.(2011).** Nuts and Seeds in Health and Disease Prevention. AcademicPress, 1226p.
- QUEZEL P et SANTA S .(1963).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. du CNRS, 600p.
- RACUCIN M et GEANGA D.(2007).**Cytogenetic changes induced bu aqueous ferrofluids in agricultural plants. Journal of Magnetism and Magnetic Materials, 311 : 288-290.
- RAPHEL I .(1966).**Natural products, Deuxièmeédition, Academic Press, INC.A.
- RASCOL J.P., ANDARY C., ROUSSEL J.L. et PRIVAT G., 1980.** Etude des relationsbiochimiques hôte-parasirtes ; isolement et identification de la cinévérine et de l'Hydroxy-13 lupanine chez *Orobanche Variegata*. Pl. Méd. Et Phytothérapie 12(4), pages : 287-295.
- REES H .H and GOOGWIN T W .(1974).**Biochem. Soc.Trans., 2, pp .1027-1066.
- REMBUR J. (1978) .**Méristèmes caulinaires et cellules en suspension : acides nucléiques,protéines nucléaires basiques et cycles cellulaires. Thèse de Doctorat d'Etat, Université Pierre et Marie Curie, Paris, 198p.
- RIBEREAU- GAYON P.(1968).** Le dosage des anthocyanes dans le vin rouge. Bull. Soc.Chimi., 9, 419, pages : 2649-2653.
- RIBEREAU- GAYON P., 1968.** Le dosage des anthocyanes dans le vin rouge. Bull. Soc. Chimi., 9, 419, pages : 2649-2653.
- RIBEREAU P. (1968).** Les composes phénoliques des végétaux. Edition, DUNOD,Paris: 1-191.
- RIHANE K et BENLAHARCHE R. (2013).** activité antibactérienne des polyphénols et flavonoïdes d'extraits à partir deux plantes médicinales :artémisia herba alba et ocimumbasilicum sur escherichia coli et staphylococcus aureus.Mémoire de mastre université

Mentouri constantine.

-**ROGER P .(2007)**. Séméiologie anatomo-cinique des lésions vasculaires et circulattoires :Anatomie pathologique.A5-lésions vasculaires et circulatoires .Faculté de médecine Montpellier –Nimes .France.

-**SABIN M et BOULDALI M .(2012)**.La phytothérapie entre la confiance et mefiance .thèse doctorat université baji mokhtare.annaba.

-**SCANDORIEIRO S., de CamargoL., LANCHEROS C ., YAMADA S ., NAKAMURA C ., OLIVEIRA A ., ANDRADE J., DURAN N., NAKAZATO G et KOBAYASHI R. (2016)**. Synergistic and Additive Effect of Oregano Essential Oiland Biological Silver Nanoparticles against Multidrug-Resistant Bacterial Strains.Frontiers in microbiology, 7.

-**SCHMID –SCHONBEIN G. W .T ., FÏSCHER G and RIEGER H . (1979)**.

Microcirculation.Clinical Research Applications of Engineering Principales.333-417

-**SEBAHOUN G. (2005)**. hématologie clinique et biologique. France: Arnett. 2em edition.78.

-**SEREME A., MILLOGO – RASOLODIMBY J., GUINKO S and NACRO M. (2010)**.

Anatomy and tannins concentration in tannins producing species of burkinafaso. *Journal ofscience*, 10(2), 24 – 32.

-**SHARAF M ., EL –ANSARI M A ., MATIN S A et SALEH N A . (1997)**.Four flavonoids glycosides from *Peganum harmala* L .Pytochemistry 44, 533-536.

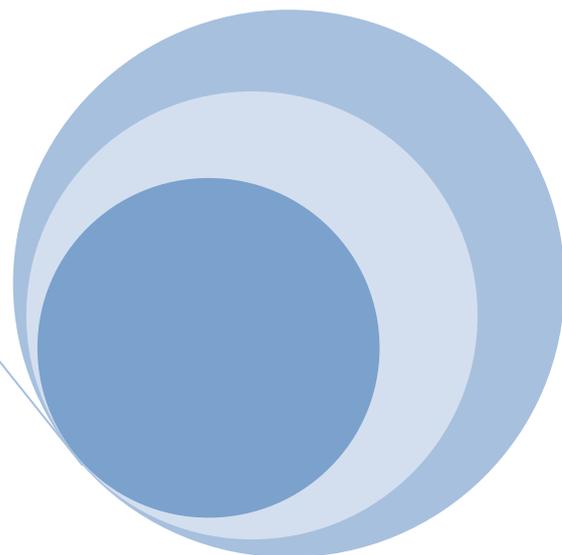
-**SHARMA C.B. (1983)**.Plant meristems as monitors of genetic toxicity of environmental chemicals.*Curr. Sci*, 52, 1000–1002.

-**SHWETA S., KHADABADI S. et GANESH T.G. (2012)**.*In vitro* antimitotic, antiproliferative, DNA fragmentation and anticancer activity of chloroform and ethanol extract of *Reviahypocrateriformis*. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*.503-506.

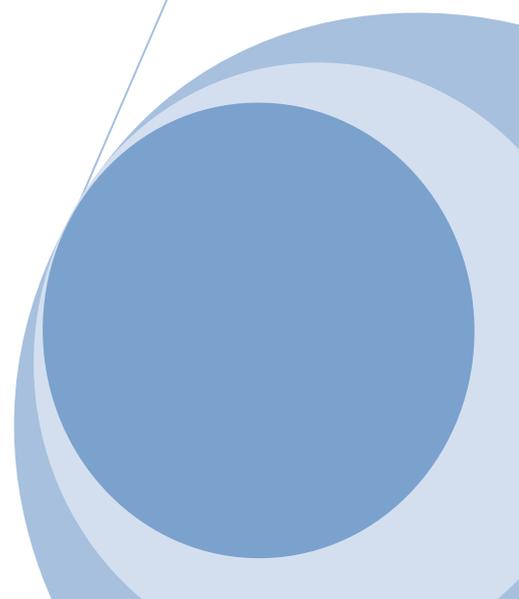
-**SMATI D., LONGEON A and GUYOT M .(2004)**. 3β-(3,4-Dihydroxycinnamoyl)-erythrodiol, a cytotoxic constituent of *Zygophyllumgeslinic*collected in the Algerian Sahara. *Journal of Ethnopharmacology*, 95, 405-4

- SNYDER J. P ., NETTLES J .H ., CORNETT B ., DOWNING K. H and NOGALES. E .(2001)**. The binding conformation of taxol in beta – tubulin : a model based on electron crystallography density .American national academy of sciences , 98, 5312-5316.
- STEARNS M et TEW K .(1985)**.Antimicrotubule effects of estramustine , an antiprostatic tumor drug .Cancer res 45(8).
- STEVENS A et LOWE J. (1997)**. Histologie humaine. De Boeck Supérieur.1eme edition. 100-105.
- SYLVIE P. (2005)**. La perception gustative et la consommation des tanins chez le maki(lemur Catta). Thèse pour obtenir le grade de docteur du Meséum National D’Histoire Naturelle : p 24-25.
- TERKI AMINA S ., MERGHEM R et DEHIMAT L. (2008)** Etude phytochimique et évaluation de l’activité antibactérienne d’une labiée : *Thymus hirtus*.*Sciences&Technologie*.29, pp: 25-29.
- THOMAS L. (2013)**. Haemolysis as influence and interference factor p (12).
- TURKUGLO S.(2008)**. Molecular Controls of Growth Arrest and Apoptosis : Dependent and Independent Pathways .*Oncogene* ,**11**, 199-210.
- VALENSI F. (2005)**. Morphologie des cellules sanguines normales.EMCHématologie, 2(1), 1-13.
- VERDIER – PINARD P., LANSIAUX A et BAILLY C .(2001)**. Combretastatin A4 phosphate. Bulletin du Cancer, 88 (3): 235-239.
- VERKYKOKIDOU D et VAND E .C. (1986)**.Methylated flavones from teucriumplolium. *Plantamedica*, 5,343-432.
- VERMERRIS W and NICHOLSON R.(2006)** .Phenolic compound biochemistry.*Springer*.PP: 69-149.

-
- WADA B .(1939).**Experimentelle Untersuchungenle bender Zelle in der Teilung..HHH. Die Einwirkung des chlorophorm und Atherdampfes auf die Mitosebei den Tradescantia Haarzellen. Cytologia, 9 : 460-479. In Deysson G., 1956.
- WATSON R R ., WATSON RR ., PATEL VB and PREEDY VR .(2011).** Nuts and seeds in health and disease prevention. Elsevier, Burlington, 597p.
- XUE Z H., KONNO C., SOEJARTO D D. , CORDELL G A. , FONG H H and HODGSON W .(1988).** 3β -(3,4-Dihydroxycinnamoyl)-erythrodiol and 3β -(4-Dihydroxycinnamoyl)- erythrodiol from *Larreatridentata*. Phytochemistry27,233-235
- YUET PING K ., DARAH I . , USUF U. and SASIDHARAN S .(2012).**Genotoxicity of *Euphorbia hirta*on *Alluimcepa*Assay .*International Confernce on Nutrition and FoodSciences* ,(IPCBEE) , Singapore , 39 (1) , 222-225.



Annexes



Annexe 01 : Résultats des tests statistiques

| Effet | SC | Degr. de Liberté | MC | F | p |
|--------------|----------|------------------|----------|----------|----------|
| ord. origine | 46648,90 | 1 | 46648,90 | 6434,331 | 0,000000 |
| T- et T+ | 5712,10 | 1 | 5712,10 | 787,876 | 0,000000 |
| Erreur | 58,00 | 8 | 7,25 | | |

Figure 1 : Table ANOVA pour les résultats de comparaison des IM entre le témoin négatif au témoin positif.

| Effet | SC | Degr. de Liberté | MC | F | p |
|--------------------|----------|------------------|----------|----------|----------|
| ord. origine | 59907,60 | 1 | 59907,60 | 7730,013 | 0,000000 |
| T- et fraction (A) | 2190,40 | 1 | 2190,40 | 282,632 | 0,000000 |
| Erreur | 62,00 | 8 | 7,75 | | |

Figure 2 : Table de ANOVA pour les résultats de comparaison des IM entre le témoin négatif à la fraction aqueuse.

| Effet | SC | Degr. de Liberté | MC | F | p |
|--------------------|----------|------------------|----------|----------|----------|
| ord. origine | 48441,60 | 1 | 48441,60 | 3769,774 | 0,000000 |
| T- et Fraction (B) | 6553,60 | 1 | 6553,60 | 510,008 | 0,000000 |
| Erreur | 102,80 | 8 | 12,85 | | |

Figure 3 : Table de ANOVA pour les résultats de comparaison des IM entre le témoin négatif à la fraction butanolique.

| Effet | SC | Degr. de Liberté | MC | F | p |
|----------------------|----------|------------------|----------|----------|----------|
| ord. origine | 28622,50 | 1 | 28622,50 | 7532,237 | 0,000000 |
| T(+) et Fraction (A) | 828,10 | 1 | 828,10 | 217,921 | 0,000000 |
| Erreur | 30,40 | 8 | 3,80 | | |

Figure 4 : Table de ANOVA pour les résultats de comparaison des IM entre le témoin positive et la fraction aqueuse.

Annexe

| Effet | SC | Degr. de Liberté | MC | F | p |
|----------------------|-----------------|------------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| ord. origine | 19536,40 | 1 | 19536,40 | 9086,698 | 0,000000 |
| (T+) et Fraction (B) | 0,40 | 1 | 0,40 | 0,186 | 0,677615 |
| Erreur | 17,20 | 8 | 2,15 | | |

Figure 5 : Table de ANOVA pour les résultats de comparaison des IM entre le témoin positif et la fraction butanolique

| Effet | SC | Degr. de Liberté | MC | F | p |
|---------------------|-----------------|------------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| ord. origine | 28408,90 | 1 | 28408,90 | 10720,34 | 0,000000 |
| fraction (A) et (B) | 864,90 | 1 | 864,90 | 326,38 | 0,000000 |
| Erreur | 21,20 | 8 | 2,65 | | |

Figure 6: Table de ANOVA pour les résultats de comparaison des IM entre la fraction aqueuse et la fraction butanolique.

| Effet | SC | Degr. de Liberté | MC | F | p |
|---------------------|-----------------|------------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| ord. origine | 144480,4 | 1 | 144480,4 | 14,99829 | 0,000411 |
| T- et T+ | 17388,9 | 1 | 17388,9 | 1,80512 | 0,187064 |
| Erreur | 366058,7 | 38 | 9633,1 | | |

Figure 7: Table de ANOVA pour les résultats de comparaison des IP entre le témoin négatif au témoin positif.

| Effet | SC | Degr. de Liberté | MC | F | p |
|---------------------|-----------------|------------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| ord. origine | 178489,6 | 1 | 178489,6 | 16,92167 | 0,000201 |
| T- et fraction(A) | 8008,9 | 1 | 8008,9 | 0,75928 | 0,389025 |
| Erreur | 400823,5 | 38 | 10548,0 | | |

Figure 8: Table de ANOVA pour les résultats de comparaison des IP entre le témoin négatif et la fraction aqueuse.

| Effet | SC | Degr. de Liberté | MC | F | p |
|-------------------|----------|------------------|----------|----------|----------|
| ord. origine | 144120,0 | 1 | 144120,0 | 16,08781 | 0,000273 |
| T-et fraction (B) | 17514,2 | 1 | 17514,2 | 1,95508 | 0,170149 |
| Erreur | 340416,7 | 38 | 8958,3 | | |

Figure 9: Table de ANOVA pour les résultats de comparaison des IP entre le témoin négatif et la fraction butanolique

| Effet | SC | Degr. de Liberté | MC | F | p |
|-------------------|----------|------------------|----------|----------|----------|
| ord. origine | 84456,1 | 1 | 84456,10 | 19,42550 | 0,000083 |
| T+et fraction (A) | 1795,6 | 1 | 1795,60 | 0,41300 | 0,524309 |
| Erreur | 165212,3 | 38 | 4347,69 | | |

Figure 10: Table de ANOVA pour les résultats de comparaison des IP entre le témoin positif et la fraction aqueuse.

| Effet | SC | Degr. de Liberté | MC | F | p |
|-------------------|----------|------------------|----------|----------|----------|
| ord. origine | 61387,2 | 1 | 61387,23 | 22,25755 | 0,000032 |
| T+et fraction (B) | 0,2 | 1 | 0,23 | 0,00008 | 0,992841 |
| Erreur | 104805,5 | 38 | 2758,04 | | |

Figure 11: Table de ANOVA pour les résultats de comparaison des IP entre le témoin positif et la fraction butanolique

| Effet | SC | Degr. de Liberté | MC | F | p |
|--------------------|----------|------------------|----------|----------|----------|
| ord. origine | 84180,6 | 1 | 84180,63 | 22,91936 | 0,000026 |
| fraction (A)et (B) | 1836,0 | 1 | 1836,03 | 0,49988 | 0,483865 |
| Erreur | 139570,3 | 38 | 3672,90 | | |

Figure 12: Table de ANOVA pour les résultats de comparaison des IP entre la fraction aqueuse et la fraction butanolique

| Effet | SC | Degr. de Liberté | MC | F | p |
|----------------------|----------|------------------|----------|----------|----------|
| ord. origine | 41,4432 | 1 | 41,44321 | 6,921065 | 0,016963 |
| (T+) et fraction (A) | 12,2148 | 1 | 12,21484 | 2,039894 | 0,170343 |
| Erreur | 107,7837 | 18 | 5,98798 | | |

Figure 13: Table de ANOVA pour les résultats de comparaison des IA entre le témoin positif et la fraction aqueuse.

| Effet | SC | Degr. de Liberté | MC | F | p |
|----------------------|----------|------------------|----------|----------|----------|
| ord. origine | 125,9518 | 1 | 125,9518 | 10,50385 | 0,004535 |
| (T+) et fraction (B) | 1,6646 | 1 | 1,6646 | 0,13882 | 0,713803 |
| Erreur | 215,8383 | 18 | 11,9910 | | |

Figure 14: Table de ANOVA pour les résultats de comparaison des IA entre le témoin positif et la fraction butanolique.

| Effet | SC | Degr. de Liberté | MC | F | p |
|---------------------|----------|------------------|----------|----------|----------|
| ord. origine | 59,7197 | 1 | 59,71968 | 7,834959 | 0,011860 |
| Fraction (A) et (B) | 22,8980 | 1 | 22,89800 | 3,004117 | 0,100150 |
| Erreur | 137,1997 | 18 | 7,62221 | | |

Figure 15: Table de ANOVA pour les résultats de comparaison des IA entre la fraction aqueuse et la fraction butanolique.

| Effet | SC | Degr. de Liberté | MC | F | p |
|--------------------|----------|------------------|----------|----------|----------|
| ord. origine | 33716,60 | 1 | 33716,60 | 5800,481 | 0,000000 |
| T+ et fraction (A) | 975,75 | 1 | 975,75 | 167,864 | 0,000001 |
| Erreur | 46,50 | 8 | 5,81 | | |

Figure 16: Table de ANOVA pour les résultats de comparaison des VLC entre le témoin positif et la fraction aqueuse.

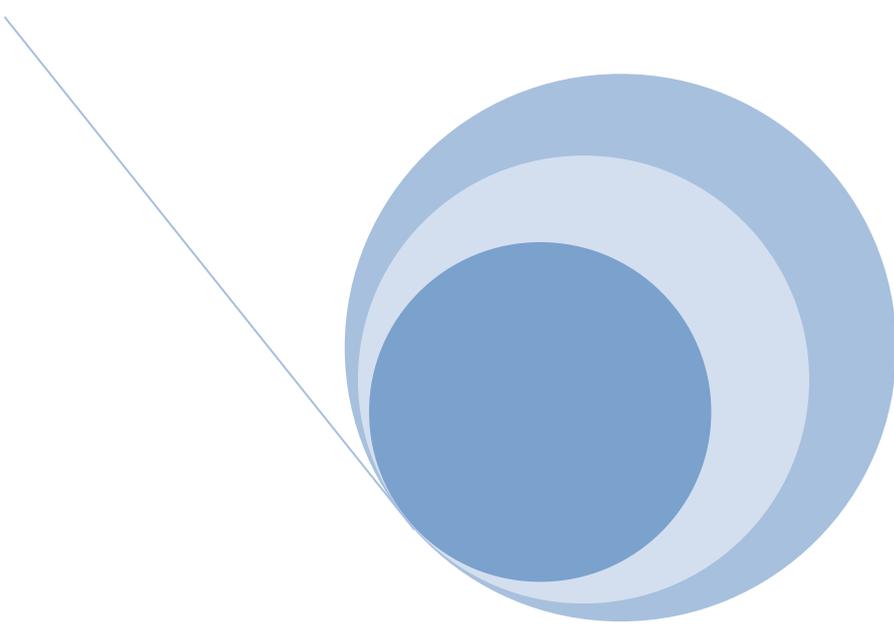
Annexe

| Effet | SC | Degr. de Liberté | MC | F | p |
|---------------------|-----------------|------------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| ord. origine | 23020,80 | 1 | 23020,80 | 5133,593 | 0,000000 |
| T+ et fraction (B) | 0,43 | 1 | 0,43 | 0,096 | 0,764036 |
| Erreur | 35,87 | 8 | 4,48 | | |

Figure 17: Table de ANOVA pour les résultats de comparaison des VLC entre le témoin positif et la fraction butanolique.

| Effet | SC | Degr. de Liberté | MC | F | p |
|---------------------|-----------------|------------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| ord. origine | 33475,48 | 1 | 33475,48 | 5863,171 | 0,000000 |
| fraction (A)et (B) | 1017,27 | 1 | 1017,27 | 178,174 | 0,000001 |
| Erreur | 45,68 | 8 | 5,71 | | |

Figure 17: Table de ANOVA pour les résultats de comparaison des VLC entre la fraction aqueuse et la fraction butanolique.



Résumé

Peganum harmala L. est une plante de la famille de Zygophyllaceae, largement utilisée en médecine traditionnelle. Dans le présent travail deux fractions sont préparées à partir des feuilles de cette plante : butanolique et aqueuse. L'estimation quantitative par la méthode colorimétrique des flavonoïdes, a montré que la fraction aqueuse est plus riche en flavonoïdes avec une valeur de $208,23 \pm 2,00$ ($\mu\text{g EQ/ml}$ de fraction). L'évaluation du pouvoir antimittotique réalisé en utilisant des racines d'*Allium cepa* comme modèle expérimental, a indiqué que les deux fractions inhibe la mitose. Le plus faible indice mitotique est obtenue par la fraction butanolique qui est proche à celle de la quercétine (témoins positif), sont respectivement de $44,00 \pm 0,40\%$ et $44,40 \pm 0,72\%$. L'estimation de l'indice de phase a montré que la mitose est bloquée en prophase. De nombreuses anomalies nucléaires, chromosomiques et cellulaires ont été observées notamment des agglutinations chromosomiques, des allongements des cellules, des fragmentations chromosomiques et des cellules gigantesques. L'évaluation de l'effet de nos fractions flavonoïques sur l'intégrité de la membrane érythrocytaire est réalisée par la mise en contact du globule rouge humain avec les deux fractions aqueuse et butanolique. Le pourcentage d'hémolyse est estimé et comparé au témoin positif représenté par la saponine. Le taux d'hémolyse le plus élevé est représenté par la phase butanolique ($87,94 \pm \text{ES} \%$).

Mots clés : *Peganum harmala L.*, effet antimittotique, effet cytotoxique, *Allium cepa*, fractions flavonoïques.

Abstract:

Peganum harmala L. is a plant of the family Zygophyllaceae, widely used in traditional medicine. In the present work two fractions are prepared from the leaves of this plant: butanolic and aqueous. Quantitative colorimetric estimation of flavonoids has shown that the aqueous fraction is richer in flavonoids with a value of 208.23 ± 2.00 ($\mu\text{g EQ} / \text{ml}$ fraction). The evaluation of the antimitotic power performed using *Allium cepa* roots as an experimental model, indicated that both fractions inhibit mitosis. The lowest mitotic index is obtained by the butanolic fraction which is close to that of quercetin (controls positive), are respectively $44.00 \pm 0.40\%$ and $44.40 \pm 0.72\%$. The estimate of the phase index showed that the mitosis is blocked in prophase. Numerous nuclear, chromosomal and cellular abnormalities have been observed including chromosomal agglutination, cell elongation, chromosomal fragmentation and gigantic cells. The evaluation of the effect of our flavonoic fractions on the integrity of the erythrocyte membrane is achieved by contacting the human red blood cell with the two aqueous and butanolic fractions. The percentage of hemolysis is estimated and compared to the positive control represented by saponin. The highest hemolysis rate is represented by the butanolic phase ($87.94 \pm \text{ES}\%$).

Key words: *Peganum harmala L.*, antimitotic effect, cytotoxic effect, *Allium cepa*, flavonoic fractions.

الملخص

في الطب التقليدي. في هذا العمل ، يتم تحضير كسرين من أوراق هذا النبات: البوتانول والمائي. أظهر التقدير اللوني الكمي للفلافونويد أن الكسر المائي أغنى في الفلافونويد بقيمة 2.00 ± 208.23 (ميكروغرام مكافئ / مل). أشار تقييم القدرة المضادة للسموم التي أجريت باستخدام جذور *Allium cepa* كنموذج تجريبي ، إلى أن كلا الكسرين يعيقان الانقسام ، ويتم الحصول على أدنى مؤشر الانقسام الخيطي بواسطة الكسر البوتانيولي القريب من مثيل الكيرسيتين. إيجابي) ، على التوالي 0.40 ± 44.00 % و 0.72 ± 44.40 %. أظهر تقدير مؤشر الطور أن الانقسام الخيطي مسدود في الطور. وقد لوحظت العديد من التشوهات النووية والكروموسومية والخلوية بما في ذلك تراص الكروموسومات ، واستطالة الخلايا ، وتفتيت الكروموسومات والخلايا العملاقة. يتم تقييم تأثير الكسور الفلافونية لدينا على سلامة الغشاء كرات الدم الحمراء عن طريق الاتصال بخلايا الدم الحمراء البشرية مع اثنين من الكسور المائية والبوتانولية. وتقدر نسبة انحلال الدم ومقارنتها مع السيطرة الإيجابية التي يمثلها سابونين. يتم تمثيل أعلى ($\pm ES$) معدل انحلال الدم بواسطة المرحلة البوتانية (87.94).

الكلمات المفتاحية: *Peganum harmala L* ، تأثير خلوي خلوي ، تأثير مضاد للسرطان ، *Allium cepa* ، كسور flavonoic.