

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'études

En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master en Sciences Biologiques

Option : Biochimie appliquée

Thème

**Evaluation *in vitro* de l'effet antiprolifératif
de l'extrait aqueux des feuilles de *Peganum
harmala L.***

Réalisé par :

M^{elle} : BOUBRIK Lynda

M^{elle} : MOUSSI Lydia

Membres de jury :

Président : M^r HOUALI K.

Professeur à l'UMMTO

Promotrice : M^{me} OUZID Y.

Maitre de conférences classe B à UMBB

Co-promotrice : M^{me} IRATNI AICHE G.

Maitre de conférence classe B à l'UMMTO

Examineur : M^r SEBBANE H.

Maitre-assistant classe A à l'UMMTO

Année universitaire : 2019-2020

REMERCIEMENTS

Au tout puissant **Allah** pour nous avoir donné la santé et la force de mener ce travail à bien.

À l'issue de ce travail, je voudrai adresser mes profondes reconnaissances et mes sincères remerciements à :

La promotrice : **Madame OUZID Y. Maitre de conférences classe B à UMBB**, pour avoir encadré et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique, sa disponibilité, ses précieux conseils, la confiance qu'elle nous a accordé et pour son suivi régulier tout au long de ces mois.

Madame IRATNI-AICHE G. Maitre de conférences classe B à l'UMMTO, notre co-promotrice, pour son orientation, sa gentillesse et ses encouragements continuels. Nous tenons à lui présenter l'expression de notre profond respect.

Monsieur **HOUALI K. Professeur à l'UMMTO**, de nous avoir accueilli dans son laboratoire de Biochimie Analytique et Biotechnologie (LABAB) de la faculté des sciences biologiques et des sciences agronomiques et l'honneur qu'il nous a fait d'être président du Jury.

Monsieur **SEBBANE H. Maitre-assistant classe A à l'UMMTO**, pour avoir accepté d'examiner notre 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.

Dédicaces

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

Mes parents. Aucun hommage ne pourrait être à la hauteur de l'amour dont ils ne cessent de me combler. Que dieu leur procure bonne santé et longue vie.

Ceux que j'aime beaucoup et qui m'ont soutenu : mes sœurs Lyliana Leticia Lycia et mon frère Hamid

Toute ma famille et mes amis

Mon binôme Lynda et ma chère Samira

Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce projet soit possible, je vous dis merci.

Lydia

Dédicaces

*A la mémoire de ma mère sans laquelle je ne
serai pas arrivée jusque-là, que DIEU t'accueille dans
son vaste paradis.*

*Mon cher père rien au monde ne vaut ses efforts
fournis tout au long de mon parcours.*

*Mes chers frères Yacine et Anis pour leur appui
et leur encouragement.*

Mon binôme Lydia pour tous les souvenirs partagés.

*Tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin, à toi
Saleh.*

A la mémoire de toutes les victimes du cancer.

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

Lynda

Sommaire

Liste des abréviations

Listes des figures

Liste des tableaux

Introduction générale..... 1

Première partie : Synthèse bibliographique

I. Généralités sur <i>Peganum harmala</i> L.	2
1.1. Position systématique	2
1.2. Origine et répartition de <i>Peganum harmala</i> L.	2
1.3. Caractéristiques botaniques de <i>Peganum harmala</i> L.	3
1.4. Les métabolites secondaires de <i>Peganum harmala</i> L.	4
1.4.1. Les composés phénoliques	4
1.4.1.1. Les saponosides	5
1.4.1.2. Les anthocyanines	5
1.4.1.3. Les tanins.....	5
1.4.1.4. Les coumarines	5
1.4.1.5. Les flavonoïdes	5
1.4.2. Les alcaloïdes	7
1.4.3. Les terpénoïdes.....	7
II. Le cycle cellulaire.....	8
2.1. Les différentes phases du cycle cellulaire	8
2.1.1. L'interphase.....	8
2.1.2. La phase M	9
2.1.2.1. La prophase	9
2.1.2.2. La métaphase.....	9
2.1.2.3. L'anaphase	9
2.1.2.4. La télophase.....	10
2.2. Rôle des microtubules dans le cycle cellulaire et la mitose	10
2.3. Agents antimitotiques d'origine végétale.....	11
2.3.1. La colchicine	11

2.3.2. Les vinca-alcaloïdes	12
2.3.3. Les taxoïdes.....	13
2.4. Action cytotoxique et antiproliférative des composés naturels.....	14
2.4.1. Effet cytotoxique	14
2.4.1.1. L'apoptose.....	14
2.4.1.2. La nécrose	14
2.4.1.3. L'autophagie.....	14
2.4.2. Molécules d'origine végétale à effet cytotoxique	15
2.4.2.1. La quercétine	16
2.4.2.2. La curcumine.....	17
2.4.2.3. La catéchine.....	17
III. Généralités sur le cancer.....	18
3.1. Définition	18
3.2. Cancérogénèse.....	18
3.2.1. Initiation	18
3.2.2. Promotion	18
3.2.3. Progression	18
3.3. L'implication du stress oxydatif dans le cancer	19
Deuxième partie : partie expérimentale	
I. Matériel et méthodes.....	21
1.1. Matériels.....	21
1.1.1. Matériel biologique	21
1.1.2. Matériels de laboratoires	22
1.1.3. Réactifs et solvants.....	22
1.2. Méthodes	22
1.2.1. Préparation de l'extrait aqueux des feuilles de <i>Peganum harmala</i> L. et lyophilisation. 22	
1.2.2. Préparation du milieu Potato-Dextrose-Broth (PDB)	24
1.2.3. Culture de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> en milieu liquide	24
1.2.4. Evaluation de la population cellulaire	24
1.2.5. Etude in vitro de l'activité antiproliférative de l'extrait aqueux des feuilles de <i>Peganum harmala</i> L.	26
1.2.5.1. Principe du bleu de méthylène	27
1.2.6. Etude statistique	27
II. Résultats et discussions	28
2.1. Activité antiproliférative	28

Conclusion générale	32
Références bibliographiques	33
Annexes	

Liste des abréviations

ADN : Acide Désoxyribonucléique.

ARN : Acide Ribonucléique.

CAT : Catalase.

CDK : Cyclin Dependent Kinases.

CDK4: Cyclin Dependent Kinases 4.

CMI: Concentration Minimale Inhibitrice.

EGCG: EpiGalloCatéchinGallate.

ERA: Espèces Réactives d'Azote.

ERO: Espèces Réactives de l'Oxygène.

G1: Gap1 (intervalle 1).

G2: Gap 2(intervalle 2).

GPX: Glutathion Peroxydase.

PARP: Poly Adénosine diphosphate Ribose Polymérase.

PDB: Potato Dextrose Broth.

SOD : Super Oxydase Dismutase.

Liste des figures

Figure 1 : Vue générale de <i>Peganum harmala</i> L.	3
Figure 2 : Les différentes parties de <i>Peganum harmala</i> L.	4
Figure 3 : Structure chimique des alcaloïdes β -carbolinines rencontrés chez les graines de <i>Peganum harmala</i> L.	7
Figure 4 : Les différentes phases du cycle cellulaire.	8
Figure 5 : Les différentes phases de la mitose.	10
Figure 6 : Formation des microtubules.	10
Figure 7 : Structure chimique de la colchicine.	11
Figure 8 : La colchicine montrant un complexe avec des dimères de tubuline à l'intérieur de la matrice des microtubules.	12
Figure 9 : Structure chimique de quelques vinca-alcaloïdes.	13
Figure 10 : Structure chimique du taxol.	13
Figure 11 : Les trois voies de la mort cellulaire.	15
Figure 12 : Structure chimique de la quercétine.....	16
Figure 13 : Mécanisme d'action des inhibiteurs des kinases cyclines-dépendantes.	16
Figure 14 : Structure chimique de la curcumine.	17
Figure 15 : Structure chimique de la catéchine.	17
Figure 16 : Les principales étapes de la cancérogenèse.	19
Figure 17 : Situation géographique de la zone d'étude.	21
Figure 18 : Préparation de l'extrait aqueux à partir des feuilles de <i>Peganum harmala</i> L.	23

Figure 19 : Schéma récapitulatif des dilutions réalisées pour la solution mère de <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	25
Figure 20 : Courbe d'étalonnage des DO à $\lambda = 650\text{nm}$ en fonction du nombre de cellules/ml.	25
Figure 21 : Préparation des tubes de l'extrait aqueux des feuilles de <i>Peganum harmala</i> L. et ses différentes associations.	26
Figure 22 : Réaction d'oxydo-réduction du bleu de méthylène.	27
Figure 23 : Action de l'extrait aqueux des feuilles de <i>Peganum harmala</i> L. sur <i>Saccharomyces cerevisiae</i> sous microscope optique (G×400).	28

Liste des tableaux

Tableau I : Les différents types de composés phénoliques.	6
Tableau II : Appareillages et verreries utilisés.	22
Tableau III : Solvants et réactifs utilisés.	22
Tableau IV : Pourcentages de cytotoxicité des extraits testés.	29

Introduction générale

Introduction générale

Depuis l'émergence de la vie sur terre, l'homme vivait en harmonie avec la nature, les plantes lui procuraient la première source d'alimentation ainsi que de soins, toutes les cultures de l'antiquité ont dépendu entièrement ou partiellement de la phytothérapie. Les populations utilisent encore largement les plantes médicinales pour guérir les maladies. En effet les remèdes à base de plantes sont une partie intégrante de la culture africaine.

Les plantes médicinales constituent une source inépuisable de molécules bioactives présentant un grand intérêt thérapeutique (GURIB-FAKIM, 2006). L'intérêt pour la phytothérapie a considérablement augmenté. C'est pour cela que la recherche actuelle s'intéresse à l'étude des métabolites secondaires qui constituent le principal réservoir de nouveaux médicaments (AVIGNON *et al.*, 2010).

Aujourd'hui, parmi les maladies incurables qui représentent un problème majeur de santé publique le cancer, qui constitue la principale cause de décès dans le monde, il résulte d'un dérèglement des mécanismes qui régulent le comportement normal de la cellule (ANTOINE, 2005). Les agents chimio-thérapeutiques font partie de la thérapie anticancéreuse et présentent de nombreux inconvénients. En effet, ils sont très toxiques pour une large gamme de cellules normales, et sont souvent associés à des effets indésirables. Par conséquent, les molécules bioactives d'origine végétale ont émergé comme une alternative (KIM *et al.*, 2016).

Peganum harmala L. qui a attiré l'attention de nombreux chercheurs, est une espèce de la famille des Zygophyllaceae (MOGHADAM *et al.*, 2010 ; TANWEER *et al.*, 2012), elle est abondante dans les zones subdésertiques d'Afrique du Nord, dans certaines régions d'Europe, en Asie et dans le sud de la Russie (BOUROGAA *et al.*, 2015). Ses différentes parties sont utilisées en médecine traditionnelles pour le traitement de diverses maladies humaines telles que le lumbago, l'asthme, les coliques, la jaunisse et comme stimulant emménagogue (BUKHARI *et al.*, 2008). Elle a également des propriétés antibactériennes, antifongiques, antivirales, antidiabétiques, anti tumorales ainsi qu'une activité cytotoxique (JINOUS *et al.*, 2012).

Ce travail s'inscrit dans le cadre d'une contribution à une meilleure connaissance et valorisation de *Peganum harmala* L., par l'évaluation *in vitro* de l'effet antiprolifératif de l'extrait aqueux foliaire de cette essence et son association avec les deux standards (colchicine et quercétine), sur les cellules de levure *Saccharomyces cerevisiae*.

Première partie
Synthèse bibliographique

I. Généralités sur *Peganum harmala* L.

Peganum harmala L. appartient à la famille des Zygophyllaceae (MOGHADAM *et al.*, 2010 ; TANWEER *et al.*, 2012), qui compte 22 genres et plus de 250 espèces (JINOUS et FERESHTEH, 2012). Le genre *Peganum* tient son nom du grec et est attribué aux espèces de la rue, alors que le nom de l'espèce *harmala* dérive de celui de la ville Libanaise Hermel (MARS, 2009). Cette plante est distribuée dans les régions arides, semi-arides, les terrains salés, et les pâturages désertiques (TAHROUCH *et al.*, 1998 ; ASGARPANAHA et RAMEZANLOO, 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 (GEOL *et al.*, 2009). Elle est très connue par ces propriétés hallucinogènes, antalgiques, antiseptiques, cicatrisantes et dépuratives (CLAUDE, 1967).

1.1. Position systématique

La classification taxonomique de cette espèce est comme suit :

Règne : Plante

Embranchement : Spermaphytes

Sous embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

Sous classe : Rosidae

Ordre : Sapindales

Famille : Zygophyllaceae

Genre : *Peganum*

Espèce : *Peganum harmala* L. (OZENDA, 1977).

1.2. Origine et répartition de *Peganum harmala* L.

Peganum harmala L. connue localement sous le nom de « Harmel » a plusieurs noms vernaculaires : rue africaine, rue syrienne, rue sauvage, armol, rue verte, pégane et Harmale (HAMMICHE *et al.*, 2013). Originaire du Moyen-Orient, d'Afrique du nord et d'Europe du sud (PATRICK, 2010), espèce cosmopolite très commune sur les sols sableux et un peu nitrés, elle pousse en Europe australe et austro-orientale, Asie mineure, Tibet, Iran, Turkestan, Syrie, Arabie Saoudite, Egypte et en Afrique du nord (YOUSEFI *et al.*, 2009). En Algérie, *Peganum harmala* L. est commune aux hauts plateaux au Sahara septentrional et méridional, et aux montagnes du Sahara central, réputée pour les terrains sableux, dans les lits d'oued et à l'intérieur des agglomérations (CHOPRA *et al.*, 1960 ; OZENDA, 1991).

1.3. Caractéristiques botaniques de *Peganum harmala* L.

Peganum harmala L. est une plante vivace, glabre, buissonnante de 30 à 90 cm de hauteur, à rhizome épais, à odeur forte et désagréable (CHOPRA *et al.*, 1960 ; QUEZEL et SANTA, 1963 ; OZENDA, 1977) (Figure 1). Ses différentes parties sont les suivantes :

- **Les tiges** dressées, très rameuses, portent des feuilles alternes, découpées en lanières étroites (HAMMICHE et MERAD, 1990).
- **Les fleurs** assez grandes, d'un blanc-jaunâtre veinées de vert, avec cinq sépales inégaux persistants qui dépassent la corolle et des pétales crèmes lavés de rose-orangé à nervures jaunes, oblongs et sub-symétriques (Figure 2 a). Elles sont monoïques dotées de dix à quinze étamines à anthères longues de 8 mm à filets très élargis et plats dans leur partie inférieure, et à gynécée de 8-9 mm de longueur ; des ovaires globuleux de trois à quatre loges et des stigmates à 3 carènes insensiblement atténués en style (MAIRE, 1933 ; CHOPRA *et al.*, 1960 ; OZENDA, 1991).
- **Les fruits** sont des petites capsules sphériques avec trois chambres qui se tiennent droit sur sa tige et déprimées au sommet. (YOUSEFI *et al.*, 2009). Les capsules contiennent plus de 50 petites graines triangulaires (ASGHARI *et al.*, 2004 ; MOLOUDIZARGARI *et al.*, 2013) (Figure 2 b).
- **Les graines** nombreuses, petites, anguleuses, subtriangulaires, de couleur marron foncé, dont le tégument externe est réticulé, ont une saveur amère (Figure 2 c) (CHOPRA *et al.*, 1960).



Figure 1 : Vue générale de *Peganum harmala* L. (PREEDY *et al.*, 2011).

- ✓ **La racine** est oblongue, dure et garnie de fibres. Elle peut atteindre plus de 3m de profondeur (QUEZEL et SANTA, 1963). De nouvelles pousses peuvent se développer à partir des racines latérales (ROCHE, 1991 ; PARSONS et CUTHBERTSON, 1992).



a : Fleur

b : Fruit

c : Graines

Figure 2 : Les différentes parties de *Peganum harmala* L. (WECKESSER, 2013).

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

Les plantes possèdent des métabolites dits secondaires, par opposition aux métabolites primaires (protéines, glucides et lipides). Ils ne sont pas nécessaires à la croissance des plantes mais sont nécessaires à leur survie (KRIEF, 2004).

Les métabolites secondaires des plantes, sont des produits chimiques non nutritifs qui ont des propriétés préventives ou protectrices des maladies (KARTHISHWARAN *et al.*, 2010). Ces composés diffèrent des espèces, et bien que leur rôle soit mal connu, il est cependant clair qu'ils interviennent dans les relations qu'entretient la plante avec les organismes vivants tels que les pathogènes, les prédateurs... etc. Ces différentes relations ont donné lieu à une extrême diversification des composés secondaires (KRIEF, 2004). Généralement, ces métabolites sont classés en trois groupes majeurs tels que : les composés phénoliques, les alcaloïdes et les terpènes (DERBEL, 2005).

1.4.1. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques sont caractérisés par la présence d'un cycle aromatique, portant des groupements hydroxyles libres ou engagés avec des glucides. Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux (racines, tige, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois) (KRIEF, 2004). Ces composés présentent le groupe phytochimique le plus important des plantes (BETA *et al.*, 2005) à savoir : les saponosides, les anthocyanines, les coumarines et les flavonoïdes.

1.4.1.1. Les saponosides

Les saponosides sont généralement connues en tant que composés non-volatils et tensio-actifs. Le nom « saponine » est dérivé du mot latin *sapo*, qui signifie « savon », parce que les molécules de saponosides forment des solutions moussantes quand on les mélange avec de l'eau. Structurellement et chimiquement, ce sont des molécules glycosidiques, triterpéniques et stéroïdiques. Cette combinaison structurelle d'éléments polaires et non polaires (caractère amphiphile), explique leur comportement de savon dans les solutions aqueuses (LANHERS, 1988).

1.4.1.2. Les anthocyanines

Les anthocyanines sont des colorants hydrosolubles responsables de la couleur rouge à la couleur pourpre des plantes. Ayant un potentiel considérable dans l'industrie alimentaire en tant qu'additifs sûrs et efficaces (BAGCHI *et al.*, 2004). Ce sont des dérivés glycosylés, polyhydroxylés ou polyméthoxylés des sels de 2-phénylbenzopyrylium ou de flavylium (LANHERS, 1988).

1.4.1.3. Les tanins

Les tanins sont des substances polyphénoliques en (C₁₅)_n, polaires de saveur astringente, de structures variées et de haut poids moléculaire (>3000 Da). Ils sont capables de se lier aux protéines en solution et les précipiter ce qui leur confère la propriété de tanner la peau (MACHEIX *et al.*, 2005).

1.4.1.4. Les coumarines

Présentes dans de nombreux végétaux, les coumarines sont des 2H-1-benzopyran-2-ones. Elles sont produites en grande quantité en réponse à une attaque biotique ou abiotique. Leur squelette de base est constitué de deux cycles accolés avec neuf atomes de carbone (FORD *et al.*, 2001).

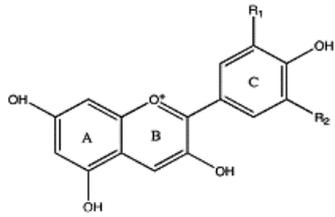
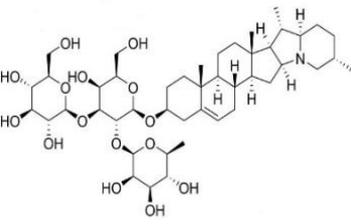
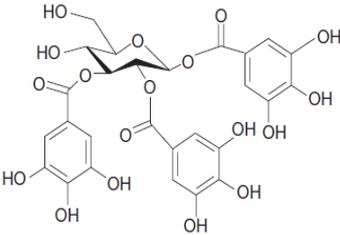
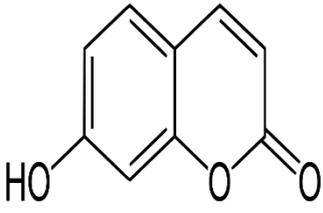
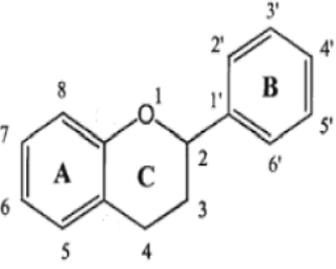
1.4.1.5. Les flavonoïdes

Le terme flavonoïde désigne une très large gamme de composés hétérosides naturels appartenant à la famille des polyphénols (SEYOUME *et al.*, 2006). Ils sont considérés comme des pigments quasiment universels des végétaux, souvent responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. (BRUNETON, 1999 ; GHESTEM *et al.*, 2001).

Synthèse bibliographique

Les activités biologiques ainsi que les structures chimiques des composés phénoliques sont illustrées dans le tableau I.

Tableau I : Les différents types des composés phénoliques.

Les composés	Structure chimique	Activité biologique	Référence bibliographique
Les saponosides		Antalgiques, antidépresseurs, hémolytiques et antimicrobiennes ;	ATTELE <i>et al.</i> , 1999 SPARG <i>et al.</i> , 2004
Les anthocyanines		Diurétiques, antiseptiques ;	BAGCHI <i>et al.</i> , 2004 RIBEREAU et GAYON, 1968
Les tanins condensés		Antidotes dans les intoxications, anti nutritionnels ;	BRILLOUET <i>et al.</i> , 2013 SARNI-MANCHADO et CHEYNIER, 2006
Les coumarines		Anticoagulantes, antivirales, immunostimulantes, tranquillisantes, vasodilatatrices, anticoagulantes hypotensives ;	BRUNETON, 2009
Les flavonoïdes		Microbiennes, antifongiques, anti-inflammatoires et une activité contre la peroxydation lipidique et l'atteinte hématologique.	ULANOWSKA <i>et al.</i> , 2006 OPTUNO <i>et al.</i> , 2006 COLLIN et CROUZET, 2011

1.4.2. Les alcaloïdes

Le terme alcaloïdes a été introduit pour la première fois par Meisner au début du XIX^{ème} siècle. Les alcaloïdes sont des composés organiques naturels (le plus souvent d'origine végétale), hétérocycliques composés d'un hétéroatome représenté par l'azote, ils sont de structure moléculaire complexe, plus ou moins basique et dotés de propriétés physiologiques prononcées, même à faible dose (BRUNETON, 1999).

Les alcaloïdes constituent un des plus grands groupes de métabolites secondaires avec près de 10000 à 12000 différentes structures et représentent un groupe important de produits naturels (ROBERT et WINK, 1999). *Peganum harmala* L. est connue par sa richesse en alcaloïdes de type β -carbolinine tels que harmine, harmaline, harmalol et harmane (Figure 3), et de type quinazolinique tels que : le péganine, le pégalol, la visicine, l'oxyvisicine et désoxyvisicine (KAMEL *et al.*, 1970).

L'étude du mécanisme d'action des alcaloïdes a conduit à les employer comme réactifs biologiques en neurochimie et en chimiothérapie. Ils sont dotés aussi d'un pouvoir antioxydant (RACKOVA *et al.*, 2004).

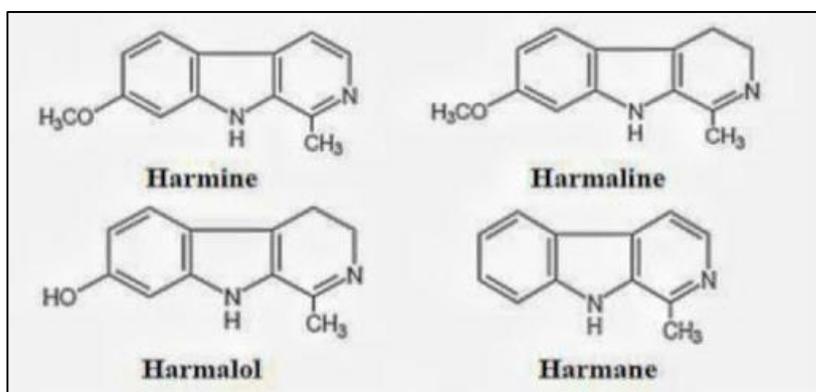


Figure 3 : Structure chimique des alcaloïdes β -carbolinines rencontrés chez les graines de *Peganum harmala* L. (MAHMOUDIAN *et al.*, 2002).

1.4.3. Les terpénoïdes

Les terpénoïdes se distinguent des autres classes par leur structure chimique qui présente une ou plusieurs unités isopréniques à 5 atomes de carbone (C_5H_8)_n, suivant la valeur n, on différencie les hémiterpènes (n=1), les monoterpènes (n=2), les sesquiterpènes (n=3) et les diterpènes (n=4), ces composés ont un poids moléculaire important donc ils sont non volatils (HELDT, 2005 ; SIFI, 2010).

Synthèse bibliographique

Les unités isopréniques par leur condensation forment différentes structures acyclique, cyclique et bicyclique terpéniques substituées par différentes fonctions chimiques.

Les terpènes possèdent d'importantes propriétés thérapeutiques, notamment en cancérologie, dans le traitement de l'inflammation ou encore des infections bactériennes (CHRISTIANSON, 2008).

II. Le cycle cellulaire

Le cycle cellulaire est l'ensemble des étapes par lesquelles passe une cellule pour former deux cellules filles possédant le même patrimoine génétique (KARP, 2004). Ce dernier est composé de deux étapes principales : l'interphase et la mitose (Figure 4). Lorsque la cellule n'est pas engagée dans le cycle cellulaire, elle se trouve alors dans un état de repos appelé stade G0 (COLOMBEL, 2009).

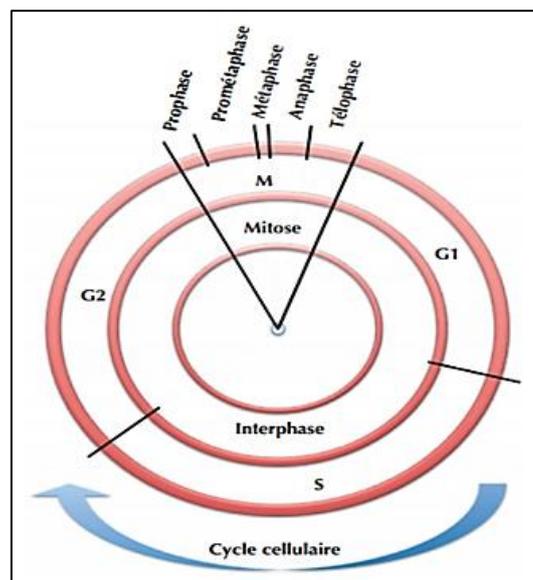


Figure 4 : Les différentes phases du cycle cellulaire (DIALLO et PRIGENT, 2011).

2.1. Les différentes phases du cycle cellulaire

2.1.1. L'interphase

L'interphase est la période comprise entre la fin d'une division et le début de la division suivante, elle représente 90% du temps du cycle cellulaire (plus grande partie du cycle), elle se décompose en une phase G1, une phase S et une phase G2 (MAILLET, 2002).

Synthèse bibliographique

- ✓ La phase G1 (G pour « gap », qui signifie intervalle) correspond à l'intervalle qui sépare la fin de la mitose et le début de la synthèse de l'acide désoxyribonucleique (ADN). C'est une phase de croissance et de reconstitution des réserves pendant laquelle la cellule synthétise l'acide ribonucleique (ARN) (transcription) et les protéines (traduction) (SWYNGHDAU, 2008).
- ✓ La phase S (S pour synthèse) est la phase de 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 est la phase qui précède la mitose, la cellule poursuit une activité transcriptionnelle pour la synthèse des substrats nécessaires à la mitose (VINCENT, 2007).

2.1.2. La phase M

La phase M (M pour mitose) est l'étape du cycle cellulaire au cours de laquelle les chromosomes sont visibles et ségrégent équitablement au sein de deux cellules filles (HERBERT *et al.*, 2015). Elle comprend quatre étapes à savoir : prophase, métaphase, anaphase et télophase (Figure 5).

2.1.2.1. La prophase

Elle est caractérisée par une condensation des chromosomes dans le noyau dont l'enveloppe existe en cours. Les chromosomes sont constitués par l'association de deux chromatides (SWYNGHDAU, 2008). Les microtubules s'organisent en fuseau tendu entre les deux chromosomes, qui migrent vers chacun des pôles nucléaires. La prophase prépare la réplication des chromosomes (MAILLET, 2008).

2.1.2.2. La métaphase

Elle est caractérisée par le regroupement des centromères dans le plan équatorial du fuseau de division. L'ensemble des chromosomes clivés, ainsi rangés, forme une plaque équatoriale. Le fuseau est alors constitué par un ensemble de microtubules (MAILLET, 2008).

2.1.2.3. L'anaphase

C'est à ce moment que les deux chromatides se séparent et migrent chacun vers un pôle de la cellule, à l'aide des microtubules kinétochoriens qui rétrécissent, tandis que les microtubules polaires s'étirent donnant une forme allongée à la cellule (COLOMBEL, 2009).

2.1.2.4. La télophase

Les microtubules kinétochoriens disparaissent, deux enveloppes nucléaires se forment autour des chromosomes fils. Les autres microtubules s'allongent jusqu'à la formation de deux cellules filles (COLOMBEL, 2009).

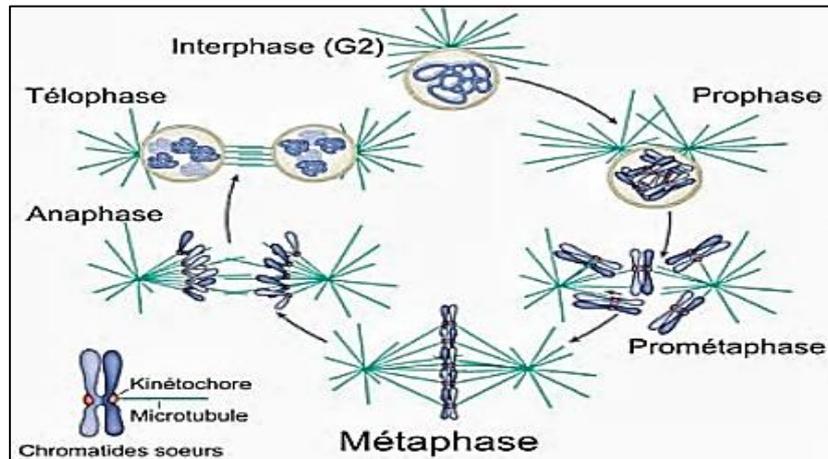


Figure 5 : Les différentes phases de la mitose (CHEESEMAN et DESAI, 2008).

2.2. Rôle des microtubules dans le cycle cellulaire et la mitose

De nombreuses molécules antimitotiques utilisées en thérapie anticancéreuse, se lient spécifiquement à la tubuline ou aux microtubules et altèrent leur dynamique, ce qui entraîne un blocage de la division cellulaire (ANTOINE, 2005).

La tubuline est une protéine hétérométrique, constituée de deux sous unités α et β (environ 50 kDa chacune). Ces dimères forment des protofilaments, qui sont des tubes creux de 25 nm de diamètre et qui peuvent aller jusqu'à quelques μm de longueur (NOGALES *et al.*, 1999). Après élongation 13 protofilaments forment un microtubule (Figure 6).

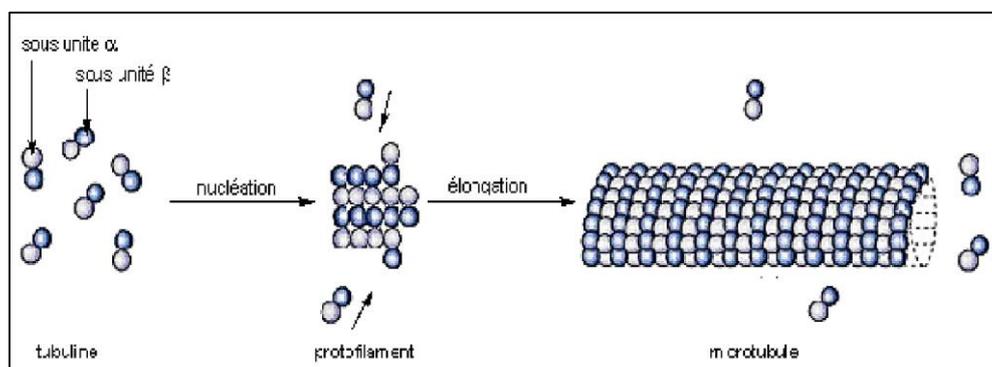


Figure 6 : Formation des microtubules (NOGALES *et al.*, 1999).

Synthèse bibliographique

Les microtubules possèdent un rôle primordial lors de la mitose, grâce à la dynamique liée à la polymérisation de la tubuline, cette dernière sert à construire le fuseau mitotique indispensable à la répartition des chromosomes aux cellules filles (JORDAN, 1998). Si une substance interagit avec la tubuline ou les microtubules, la division cellulaire sera fortement perturbée voire bloquée (LEROUX, 2011).

2.3. Agents antimitotiques d'origine végétale

Les antimitotiques d'origine végétale sont des composés très hétérogènes en terme de structure chimique, de domaine de liaison et de mode d'action (BECKERS et MAHBOODI, 2003). Comme leur nom l'indique ce sont des molécules qui agissent au moment de la mitose. En effet, ils bloquent la division cellulaire en se liant à la tubuline. On compte trois principaux sites de fixation de petites molécules sur la tubuline, celui des colchicines, celui des vinca-alcaloïdes et celui des taxoïdes. En raison de leur fort intérêt thérapeutique, la synthèse ou l'hémisynthèse d'analogues de ces molécules fait encore l'objet de nombreuses recherches (HAMEL, 1996).

2.3.1. La colchicine

La colchicine est extraite de deux plantes de la famille des Liliacées *Gloriose superba* et *Colchicum autumnale* (GARRETT et GRISHAM, 2000). Sa structure chimique est complexe, il s'agit d'une structure tricyclique composée d'un cycle benzénique porteur de trois groupements méthoxy associés à deux cycles de sept carbonnes (Figure 7).

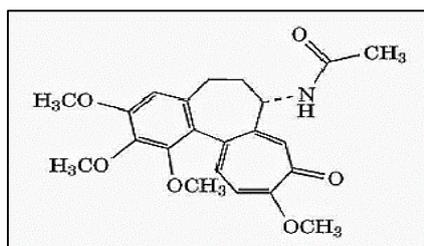


Figure 7 : Structure chimique de la colchicine (ALLAIN, 2005).

La colchicine exerce une capacité à bloquer la polymérisation des microtubules, qui représentent l'un des principaux types de filaments protéiques constitutants (SACKETT et VERMA, 1993). Chaque molécule de colchicine, se lie à une molécule de tubuline et entrave la polymérisation des microtubules. Cet arrêt de l'élongation du microtubule, provoque une disparition rapide du fuseau mitotique et l'arrêt du processus de prolifération cellulaire (NUKI, 2008).

Synthèse bibliographique

Le domaine de liaison de la colchicine, accessible seulement dans les dimères de tubuline libre (RAVELLI *et al.*, 2004), se situe à l'interface entre les deux sous-unités d'un même dimère (Figure 8). Elle se lie à ce domaine avec une stœchiométrie de 1 :1 et forme un complexe faiblement réversible avec la tubuline. Ce complexe adopte une configuration incurvée, défavorable pour l'assemblage des microtubules (BHATTACHARYYA *et al.*, 2008). De plus la liaison de la colchicine, induit un déplacement de la boucle M de la sous-unité β , menant à une perturbation des contacts latéraux entre les protofilaments voisins, favorisant ainsi la dépolymérisation (PENG *et al.*, 2014).

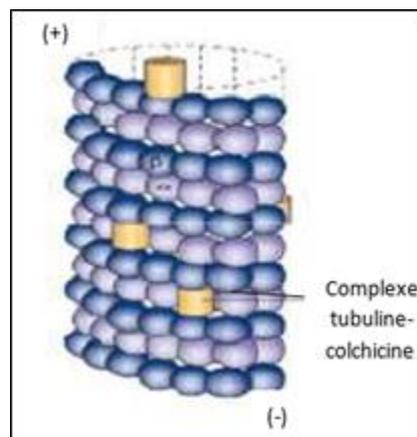


Figure 8 : La colchicine montrant un complexe avec des dimères de tubuline à l'intérieur de la matrice des microtubules (RAVELLI *et al.*, 2004).

2.3.2. Les vinca-alcaloïdes

Les vinca-alcaloïdes ou alcaloïdes de la pervenche (vincristine, vinblastine, vinorébine, vindésine) sont des composés dimériques (Figure 9), ils induisent une cytotoxicité par interaction directe avec la tubuline (JOHNSON *et al.*, 1963 ; DUSTIN, 1980) plus précisément de façon réversible sur la β tubuline, à l'extrémité positive des microtubules (NA et TIMASHEFF, 1986). Les vinca-alcaloïdes ont aussi de l'affinité pour l'hétérodimère de tubuline libre, ce qui peut induire la formation de paracristaux de tubuline (agrégats cristallins) à très haute concentration (BRAYAN, 1972 ; MANFREDI et HORWITZ, 1984 ; CORREIA et LOBERT, 2001). Les effets de ces procédés induisent le blocage de la polymérisation de la tubuline en microtubule, qui peut conduire à l'inhibition de processus cellulaires vitaux et la mort cellulaire.

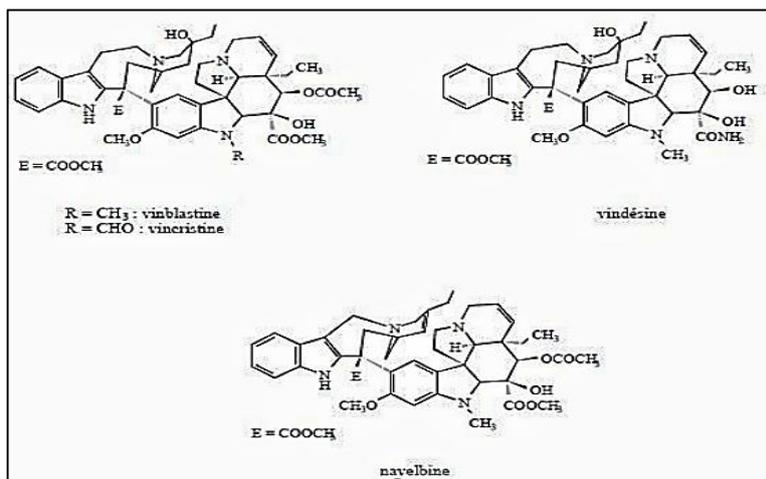


Figure 9 : Structure chimique de quelques vinca alcaloïdes (JANIN, 1993).

2.3.3. Les taxoïdes

Les taxoïdes sont des composés qui stabilisent les microtubules et empêchent ainsi leur dépolymérisation, 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 β à l'intérieur du tube que forment les microtubules. Parmi ces molécules on cite l'exemple du Taxol (DABYDEEN *et al.*, 2004). Le paclitaxel (Taxol) est un diterpénoïdes (Figure 10), une molécule naturelle découverte en 1971. Elle est extraite de l'écorce *Taxus brevifolia* (WANI *et al.*, 1971). Elle favorise la transition dépolymérisation / polymérisation en se fixant sur la tubuline β et stoppe la progression des cellules en prométaphase avec un fuseau mitotique anormal, par effet l'organisation dynamique de la cellule lors de la mitose est interrompue (SNYDER *et al.*, 2001).

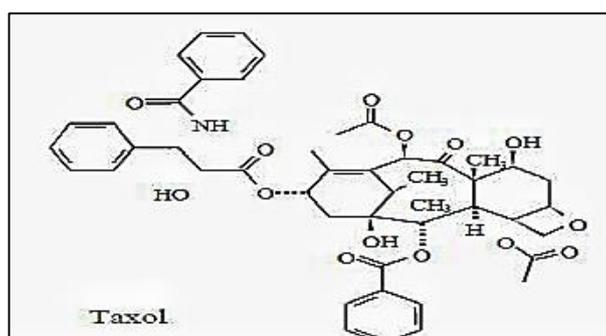


Figure 10 : Structure chimique du taxol (SLICHENMYER, 1991).

2.4. Action cytotoxique et antiproliférative des composés naturels

2.4.1. Effet cytotoxique

Au cours de la vie, les cellules d'un organisme se reproduisent pour accroître leur nombre. Ainsi toute cellule est programmée pour se multiplier et mourir. Il arrive que certaines meurent accidentellement suite à une modification de l'environnement cellulaire, mais aussi suite à une origine liée au développement de l'organisme au cours de l'embryogenèse ou à des mutations (BAYALA, 2014).

Parmi les mécanismes de mort cellulaire : l'apoptose, la nécrose et l'autophagie.

2.4.1.1. L'apoptose

L'apoptose joue un rôle essentiel dans le développement, le maintien, le renouvellement tissulaire et la destruction des cellules potentiellement dangereuses (ABENA *et al.*, 2003 ; SEGAL-BENDIRDJIAN *et al.*, 2005 ; VACHON, 2006). Toute dérégulation de ce processus conduit à de nombreux désordres pathologiques comme les maladies neurovégétatives (excès de mort cellulaire) ou le cancer (défaut de mort cellulaire) (MICHEL, 2003). Il peut être réglé par de nombreux modérateurs, y compris certains ions (calcium), des protéines (caspases, p53) et mêmes des organites (les mitochondries, réticulum endoplasmique) (ULUKAYA *et al.*, 2011) (Figure 11).

2.4.1.2. La nécrose

La nécrose est morphologiquement caractérisée par une augmentation du volume de la cellule (oncoses), un gonflement des organites et une rupture des membranes plasmiques suivie par la perte du contenu intracellulaire (EISENBERG *et al.*, 2010) (Figure 11).

2.4.1.3. L'autophagie

L'autophagie désigne un mécanisme de mort cellulaire, qui fait intervenir des vacuoles de digestion. Il n'est pas dû à une agression extérieure mais intervient durant le développement des vertébrés et serait probablement un processus ancien (FINK et COOKSON, 2005 ; CHOWDHURY *et al.*, 2006) ou un processus de survie, dû à un manque de nutriments et de facteurs de croissance (KRYSKO *et al.*, 2008). Elle se caractérise par des modifications morphologiques : vacuolisation, dégradation des composants cytoplasmiques et une légère condensation de la chromatine (Figure 11).

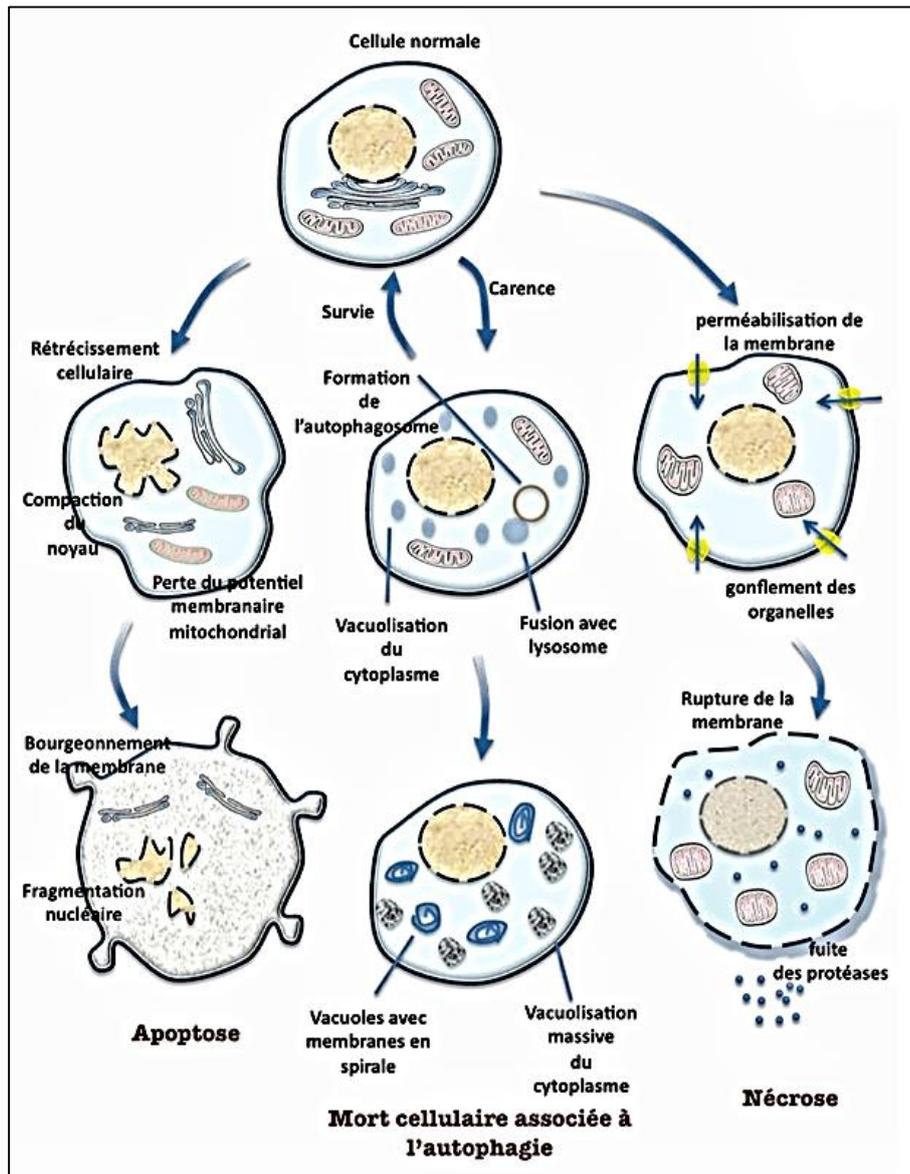


Figure 11 : Les trois voies de mort cellulaire (HOTCHKISS *et al.*, 2009).

2.4.2. Molécules d'origine végétale à effet cytotoxique

Les flavonoïdes rassemblent une très large gamme de composés polyphénoliques. Le nom flavonoïde provient du terme *flavedo*, désignant la couche externe des écorces d'orange. Les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules, dont les plus importantes sont les flavones, les flavonols, les flavanols, les flavanones, les dihydroflavanols, les isoflavones, les isoflavanones, les chalcones, les aurones et les anthocyanes. Ces divers composés se rencontrent à la fois sous forme libre ou sous forme de glycosides (GHERDIRA, 2006).

Plusieurs études *in vitro*, ont montré l'effet antiprolifératif et cytotoxique de ces flavonoïdes vis-à-vis de nombreuses lignées cellulaires (BOSETTI *et al.*, 2005 ; FINK *et al.*,

Synthèse bibliographique

2007). Les flavonoïdes sont connus pour leur effet inhibiteur de la prolifération cellulaire. La progression des cellules eucaryotes au travers des différentes phases du cycle cellulaire est contrôlée par une famille de serine/thréonine kinases, les CDKs (Cyclin-Dependent-Kinases) associées à leur partenaires cyclines. La formation et l'activation des complexes CDK-cyclines s'effectuent selon un ordre précis permettant le bon déroulement du cycle. Toute perturbation dans l'expression ou l'activité des protéines participant à ce réseau intègre, peut induire à une dérégulation de la prolifération et la transformation cellulaire (FINK *et al.*, 2007).

2.4.2.1. La quercétine

La quercétine est un flavonoïde qui se trouve naturellement dans une grande variété d'aliments incluant les oignons rouges, jaunes, les pommes, les baies, le thé noir, les brocolis, certaines graines et des fruits oléagineux. L'activité anticancéreuse de la quercétine a été largement étudié (Figure 12) (CASAGRANDE et DARBON, 2001).

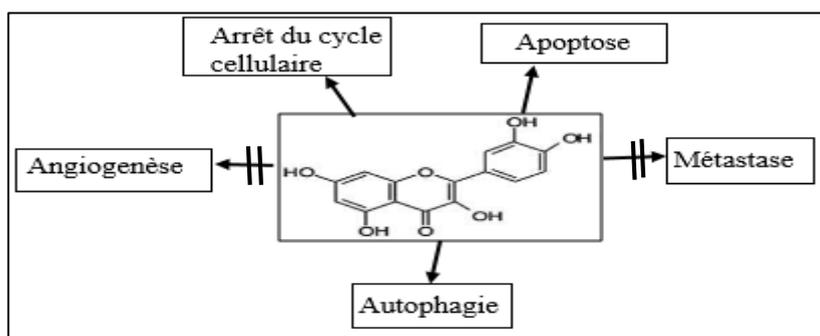


Figure 12 : mécanisme d'action de la quercétine (HEIM *et al.*, 2002).

En 1989, un rapport a constaté qu'elle inhibait la phosphatidylinositol 3-kinase (PI 3-kinase) et induit un arrêt de cycle cellulaire en G1 par inhibition des activités des CDK2 et CDK4 (Figure 13) (CASAGRANDE et DARBON, 2001).

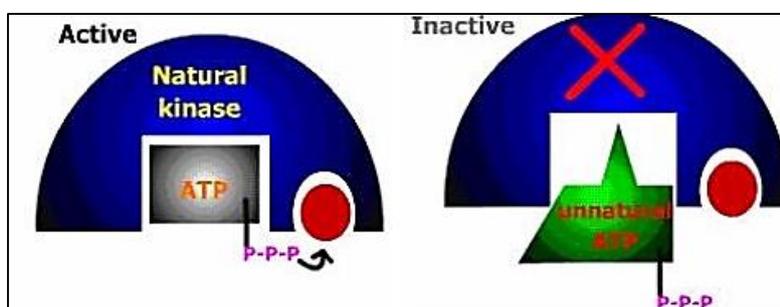


Figure 13 : Mécanisme d'action des inhibiteurs des kinases cyclines-dépendantes (BADR *et al.*, 1992).

2.4.2.2. La curcumine

La curcumine une molécule extraite de la racine de *Curcuma longa*, une plante originaire d'Asie, est utilisée depuis des siècles dans les cuisines et les médecines traditionnelles hindoues et chinoises. Cette molécule, tout d'abord reconnue pour ses propriétés anti-inflammatoires (REUTER *et al.*, 2009), est également capable d'induire la mort des cellules cancéreuses, principalement par apoptose (Figure 14) (DUVOIX *et al.*, 2003 ; TEITEN *et al.*, 2010).

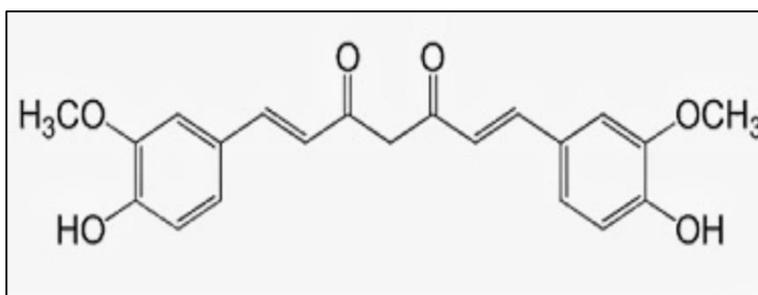


Figure 14 : Structure chimique de la curcumine (REUTER *et al.*, 2009).

2.4.2.3. La catéchine

La catéchine, quant à elle est un inhibiteur de certaines réactions d'oxydation donnant un ADN anormal, elle inhibe surtout la formation du 8-hydroxydesoxygnanosine (8-OHDG), un marqueur des dommages oxydatifs de l'ADN. La catéchine a été démontrée comme étant plus active que la vitamine E sur les radicaux libres. Elle est très abondante dans le thé sous forme d'épigallocatechingallate (EGCG) (Figure 15) (PIETTA, 2000 ; TOMOFUJI *et al.*, 2009).

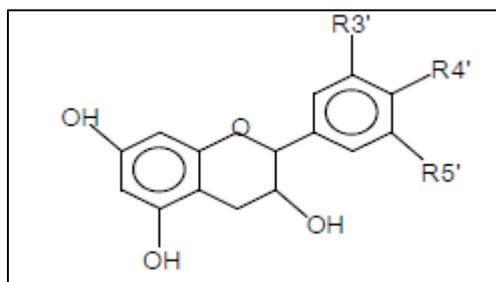


Figure 15 : Structure chimique de la catéchine (NARAYANA *et al.*, 2001 ; W-ERDMAN *et al.*, 2007).

III. Généralités sur le cancer

3.1. Définition

Le cancer est une tumeur maligne, qui est une maladie caractérisée par une prolifération cellulaire anormalement importante au sein d'un tissu normal de l'organisme, conduisant à l'envahissement des tissus voisins par une croissance illimitée, l'invasion et la métastase des cellules (TAKAHASHI *et al.*, 2006 ; CHANG *et al.*, 2011).

3.2. Cancérogénèse

La plupart des tumeurs malignes sont issues d'une seule cellule transformée. Cependant, une cellule maligne n'aboutira pas forcément à une tumeur clinique. Chaque tissu de chaque organe peut avec une fréquence très variable, être le siège d'une tumeur cancéreuse (DEMAILLE et CAPPELAERE, 1989). La genèse d'un cancer comprend schématiquement trois étapes à savoir, l'initiation, la promotion et la progression (Figure 16).

3.2.1. Initiation

Cette étape correspond à l'altération de l'ADN par un cancérogène génotoxique dit initiateur. Il s'agit d'un phénomène irréversible. Les cellules endommagées (initiées) échappent au contrôle normal de division cellulaire. Les agents génotoxiques initiateurs peuvent être physiques (radiations ionisantes, UV, etc.) chimiques (l'amiante, les composants de la fumée du tabac, l'aflatoxine, l'arsenic, etc.) ou biologiques (certains virus, bactéries ou parasites, etc.) (RIEDINGER *et al.*, 2005).

3.2.2. Promotion

C'est un phénomène potentiellement réversible qui ne résulte pas de la modification de l'ADN ; on parle de processus épi génétique. Son rôle est de maintenir l'initiation. La cellule cancéreuse perd la capacité de « reconnaître sa vieillesse », d'initier sa mort et de réparer les dommages de son ADN (RIEDINGER *et al.*, 2005).

3.2.3. Progression

C'est l'étape finale dans le développement d'un cancer qui devient cliniquement détectable. Elle correspond à l'acquisition des propriétés de multiplication non contrôlée d'indépendance, de perte de la différenciation, d'invasion locale et métastatique (RIEDINGER *et al.*, 2005).

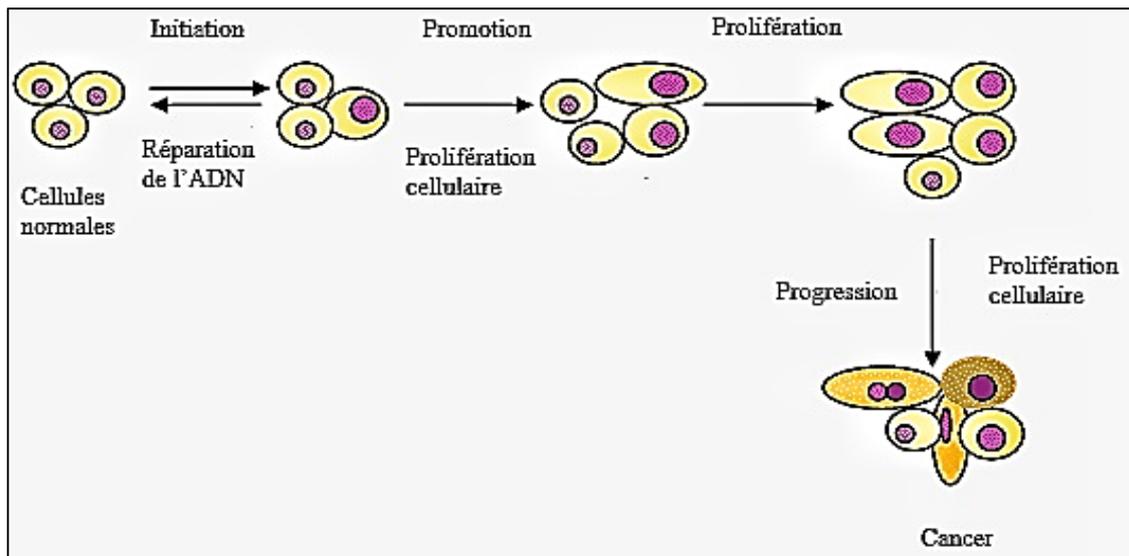


Figure 16 : Les principales étapes de la cancérogenèse (ANONYME 1).

3.3. L'implication du stress oxydatif dans le cancer

Plusieurs agents sont à l'origine du cancer tels que les radiations, les agents chimiques et le stress oxydant. Ce dernier est défini comme étant une rupture dans la balance oxydant/antioxydant cellulaire durant laquelle, la génération des antioxydants est parfaitement maîtrisée par les systèmes de défense antioxydants d'ailleurs adaptatifs par rapport au niveau de radicaux présents (PHAN HUY *et al.*, 2008). Cette rupture peut être due soit à la surproduction des radicaux libres (oxydants) et /ou par un déficit en antioxydants (ALEXANDROVA et BOCHEV, 2007).

Par ailleurs un radical libre est une espèce chimique possédant sur sa couche externe, un ou plusieurs électrons célibataires (ZWEIER et HASSAN TALUKDER, 2006). La présence de cet électron lui confère une certaine instabilité et haute réactivité (AFANAS'EV, 2009). Ces radicaux libres, peuvent être dérivés de l'oxygène (espèces réactives de l'oxygène : ERO) ou d'autres atomes comme l'azote (espèces réactives d'azote : ERA) (FAVIER, 2003).

D'autre part, un antioxydant est toute substance présente à une concentration inférieure à celle du substrat oxydable, qui est capable de retarder ou de prévenir l'oxydation de ce substrat (HALLIWELL et GUTTERIDGE, 1999). Il existe des enzymes antioxydants impliqués dans la neutralisation des ERO dans les cellules, qui correspondent aux superoxyde dismutase (SOD), la catalase CAT) et le glutathion peroxydase (GPX) (MATEES *et al.*, 1999). Cette action est renforcée par celle de différents composés réducteurs d'origine métabolique parmi lesquelles on peut citer le glutathion, l'acide liponoïque, L-arginine, et l'acide urique etc. (PHAM-HUY

Synthèse bibliographique

et al., 2008). En plus de ces substances propres à l'organisme, l'alimentation et les plantes sont également d'importantes sources d'antioxydants.

Le cancer du col de l'utérus est le deuxième cancer le plus fréquent dans l'appareil reproducteur féminine. Des études récentes ont indiqué que la combinaison du paclitaxel et de la curcumine était assez efficace pour le traitement dans les environnements précliniques. Des études ont démontré que la curcumine sensibilisait l'apoptose induite par le paclitaxel en augmentant l'expression de p53, l'activation des caspases-3, 7, 8 et 9, le clivage de la poly(ADP-ribose) polymérase (PARP) et la libération de cytochrome C par analyse Western Blot. Par conséquent, la combinaison du paclitaxel et de la curcumine pourrait avoir un effet anticancéreux synergique et constituer un régime prometteur pour le traitement du cancer du col de l'utérus (WAI *et al.*, 2017).

Deuxième partie
Partie expérimentale

Partie expérimentale

Notre travail a été réalisé au sein du laboratoire de Biochimie Analytique et Biotechnologie (LABAB), du département de biochimie et microbiologie, faculté des sciences biologiques et agronomiques de l'université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou (UMMTO).

Nous nous sommes intéressés à l'évaluation *in vitro* de l'activité antiproliférative des extraits aqueux des feuilles de *Peganum harmala* L., les deux standards (colchicine et quercétine) et les différentes combinaisons (extrait foliaire aqueux et colchicine, extrait foliaire aqueux et quercétine).

I. Matériel et méthodes

1.1. Matériel

1.1.1. Matériel biologique

Les feuilles de *Peganum harmala* L., ont été récoltées au mois d'avril 2015 dans la région de Timzerth, wilaya de Laghouat (Algérie) (Figure 17). Les échantillons ont été placés dans des enveloppes et conservés au réfrigérateur jusqu'à leur utilisation au laboratoire.

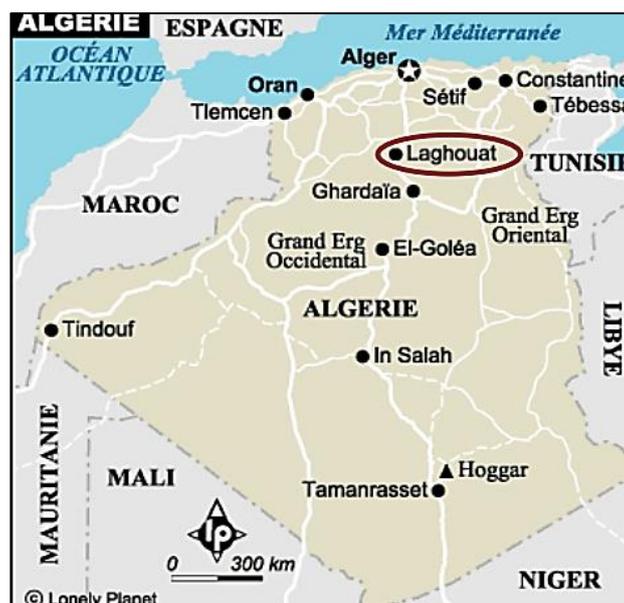


Figure 17 : Situation géographique de la zone d'étude (OUZID *et al.*, 2019).

La levure *Saccharomyces cerevisiae*, a servi comme modèle expérimental pour l'évaluation *in vitro* de l'effet antiprolifératif.

Partie expérimentale

1.1.2. Matériel du laboratoire

Tableau II : Appareillages et verreries utilisés.

Appareillage	Verrerie	Autres matériel
Microscope	Béchers	Filtres
Etuve	Entonnoirs	Micropipettes
Spectrophotomètre	Erlenmeyers	Gazes
Lyophilisateur	Eprouvettes	Epindorphes
Four pasteur	Pipettes	Lames et lamelles
Autoclave		Cellule de Malassez
		Cuves

1.1.3. Réactifs et solvants

Tableau III : Solvants et réactifs utilisés.

Composé	Concentration	Rôle	Activité
Colchicine	1mg /ml	Témoin positif	Antimitotique
Quercétine	1mg/ml	Témoin positif	Antiproliférative
Eau distillée	/	Témoin négatif	
Bleu de méthylène	0.1%	Coloration	

1.2. Méthodes

1.2.1. Préparation de l'extrait aqueux des feuilles de *Peganum harmala* L. et lyophilisation

Les feuilles de la plante *Peganum harmala* L. ont été nettoyées de toute trace de terre et séchées à l'abri de la lumière, de l'humidité et à température ambiante. Ensuite, elles ont été broyées pour obtenir une poudre fine, utilisée pour la préparation des extraits aqueux.

Pour la préparation de nos extraits 10 g de poudre de feuilles de *Peganum harmala* L. ont été pesées, puis mises à macérer dans 100 ml d'eau distillée pendant 24 heures à l'abri de la lumière et à la température du laboratoire, suivis d'une filtration. La solution résultante a été lyophilisée, le lyophilisat ainsi récupéré est utilisé pour l'étude ultérieure (Figure 18).

Partie expérimentale

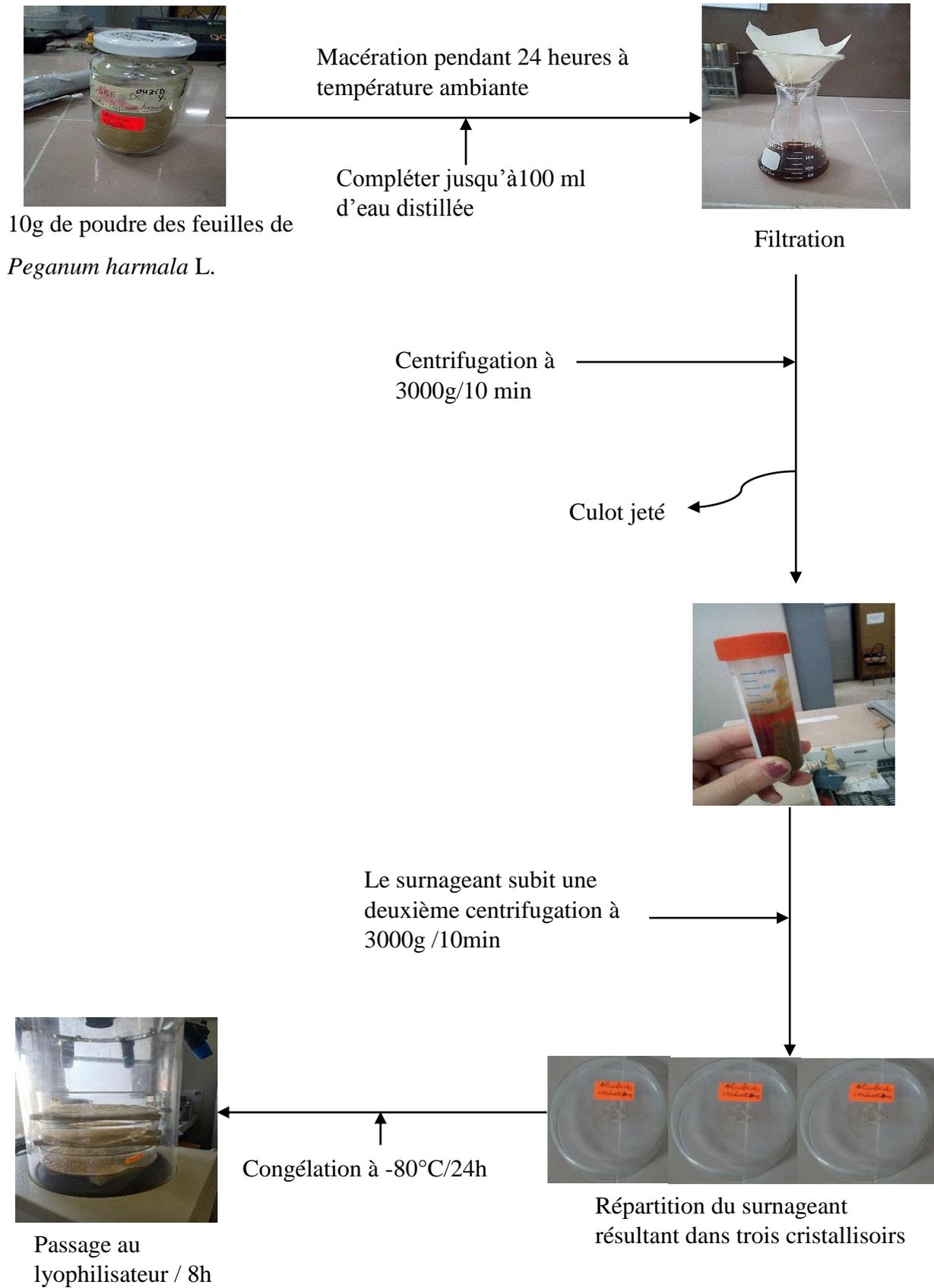


Figure 18 : Préparation de l'extrait aqueux à partir des feuilles de *Peganum harmala* L.

1.2.2. Préparation du milieu Potato-Dextrose-Broth (PDB)

- 100g de pomme de terre épluchée et découpée en fins dés sont mises à cuisson dans 100ml d'eau distillée pendant 15 à 20 min, suivie d'une filtration.
- Le filtrat récupéré est mis dans un erlen meyer à agiter en chauffant.
- On rajoute 10g de glucose et on complète à 500 ml avec de l'eau distillée. Le mélange est retiré de la plaque chauffante lorsqu'il est homogène et clair.
- Répartir le bouillon dans des flacons puis autoclaver le milieu de culture à 120°C pendant 20 minutes.

1.2.3. Culture de *Saccharomyces cerevisiae* en milieu liquide

La préparation de l'inoculum de levures consiste à la réactivation des levures de commerce où *Saccharomyces cerevisiae* est inoculée dans un bouillon PDB stérilisé et incubé à 30°C pendant 24 heures. Il est important de vérifier au microscope optique l'état des levures.

1.2.4. Evaluation de la population cellulaire

La détermination de la population cellulaire dans le milieu de culture est faite par spectrophotométrie (lecture des DO à 650 nm).

Pour la préparation d'une suspension mère de levures, on procède à faire des dilutions de demi en demi avec du PDB. Les dilutions choisies pour la lecture au spectrophotomètre sont représentées dans l'annexe 1. Ensuite une numération à la cellule de Malassez (Annexe 3) est effectuée à partir d'un aliquote de 10µl (Figure 19).

Partie expérimentale

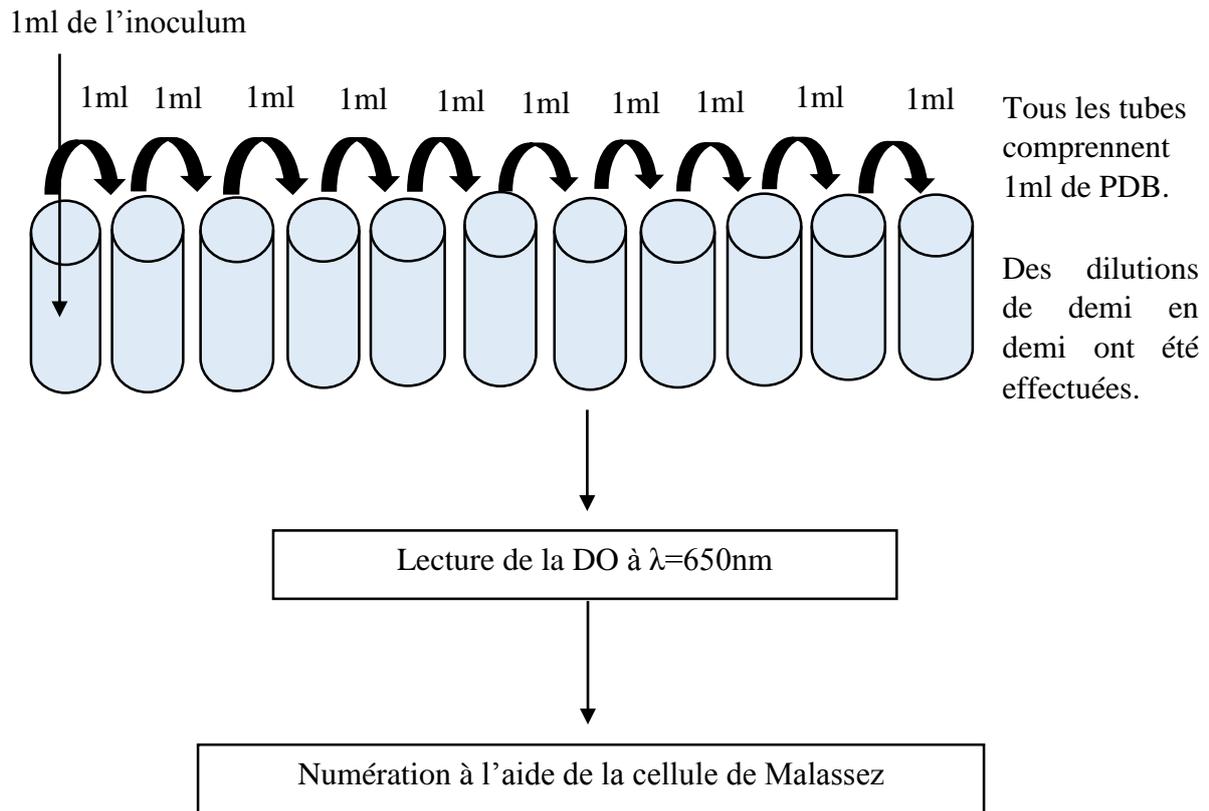


Figure 19 : Schéma récapitulatif des dilutions réalisées pour la solution mère de *Saccharomyces cerevisiae*.

On a tracé ensuite la courbe d'étalonnage (Figure 20).

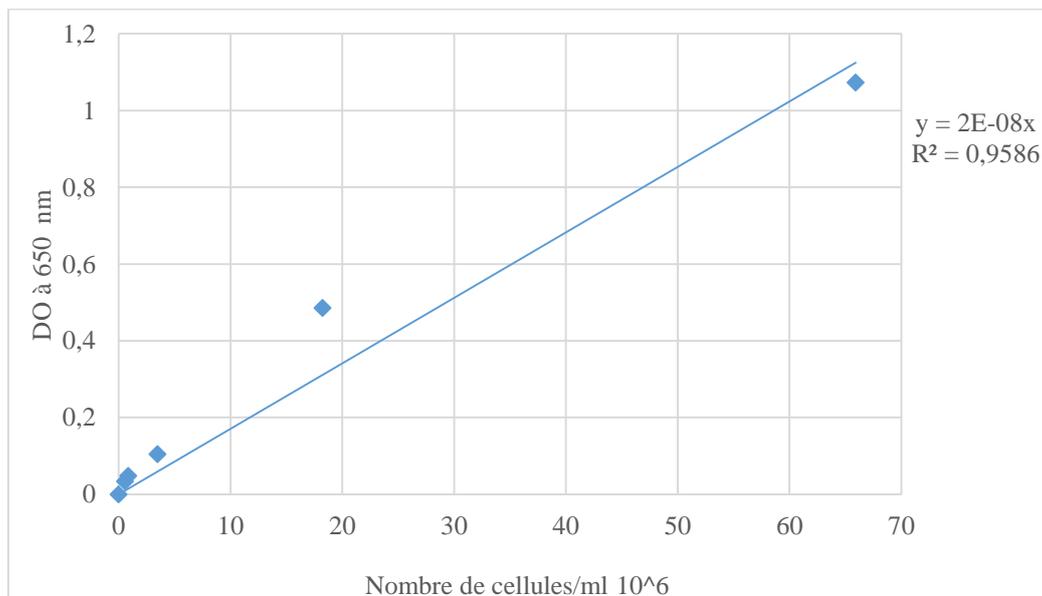


Figure 20 : Courbe d'étalonnage DO à $\lambda=650\text{ nm}$ en fonction du nombre de cellules/ml.

Partie expérimentale

1.2.5. Etude *in vitro* de l'activité antiproliférative de l'extrait aqueux des feuilles de *Peganum harmala* L.

L'évaluation *in vitro* de l'activité antiproliférative de l'extrait aqueux des feuilles de *Peganum harmala* L. a été effectuée suivant le protocole de SHWETA *et al.*, (2012), en utilisant la levure *Saccharomyces cerevisiae* comme modèle de cellule eucaryote.

Pour la détermination de la viabilité cellulaire, nous avons préparé 7 tubes contenant chacun 2.5ml de PDB stérilisé + 0.5ml de l'inoculum de levure (DO=0.1 à 650nm). Dans le premier tube, nous rajoutons 0.5ml de l'eau distillée, dans le deuxième 0.5ml de la quercétine en tant que standard (1mg/ml), dans le troisième 0.5ml de la colchicine comme second standard (1mg/ml), dans le quatrième 0.5ml de l'extrait aqueux des feuilles de *Peganum harmala* L. (1mg/ml), dans le cinquième 0.25ml de colchicine et 0.25ml de quercétine (1 mg/ml), dans le sixième 0.25ml de l'extrait aqueux des feuilles de *Peganum harmala* L. et 0.25ml de colchicine (1mg/ml), le dernier tube 0.25ml de l'extrait aqueux des feuilles de *Peganum harmala* L. et 0.25ml de quercétine (1mg/ml). Tous les tubes ont été incubés à 30°C pendant 24 heures (Figure 21). Après incubation, on rajoute dans tous les tubes du bleu de méthylène (0.1%). Le nombre de cellules ainsi que leur couleur sont observés sous microscope optique. Les cellules ovales transparentes sont des cellules vivantes, par contre les cellules colorées en bleu sont des cellules mortes. Leur comptage est effectué dans 16 chambres d'hémocytomètre et le nombre moyen des cellules a été calculé. Le pourcentage de viabilité cellulaire est calculé en utilisant la formule (SEHGAL *et al.*, 2006) :

Nombre de cellules mortes

$$\% \text{ cytotoxicité} = \frac{\text{Nombre de cellules mortes}}{\text{Nombre de cellules mortes} + \text{Nombre de cellules vivantes}} \times 100$$

Nombre de cellules mortes + Nombre de cellules vivantes

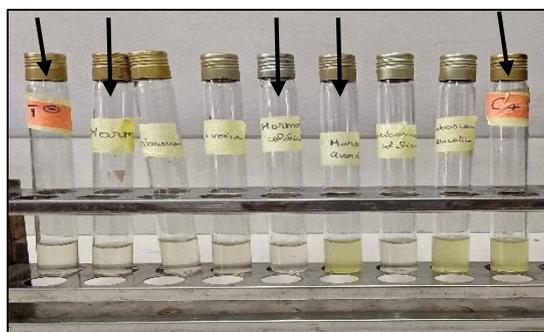


Figure 21 : Préparation des tubes de l'extrait aqueux des feuilles de *Peganum harmala* L. et ses différentes associations.

1.2.5.1. Principe du bleu de méthylène

Le bleu de méthylène est un dérivé de phénothiazine (BOLOTIN *et al.*, 2006), c'est un colorant cationique (CENENS et SCHOONHEYDT, 1988), couramment utilisé comme modèle contaminant organique en raison de sa structure moléculaire stable (HUANG *et al.*, 2010). Cette molécule est fortement colorée en bleu et peut être réduite par le glucose, la forme réduite qui est incolore s'oxyde facilement à l'air pour redonner la forme oxydée bleu (Figure 22) (WILSON, 1907).

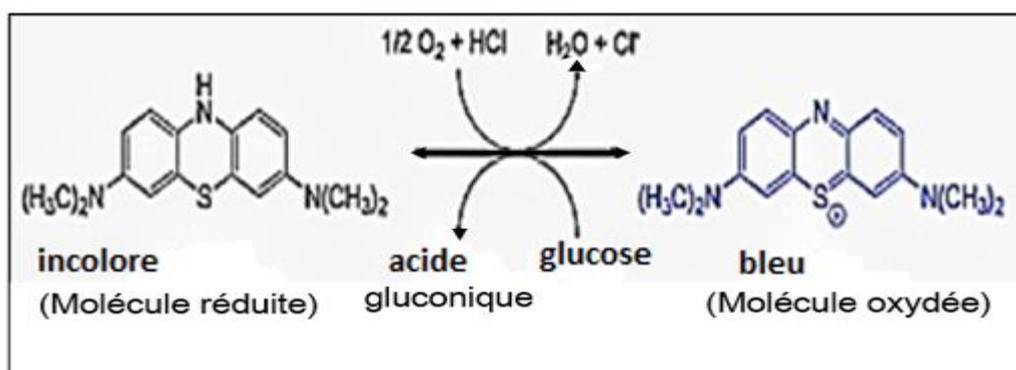


Figure 22 : Réaction d'oxydoréduction du bleu de méthylène (ANONYME 2).

1.2.6. Etude statistique

Pour cette étude, nous avons réalisé le test statistique type ANOVA à un facteur avec le logiciel STATISTICA, qui a pour but de mettre en évidence la signification des différences obtenues entre l'extrait aqueux, les standards ainsi que les combinaisons réalisées. Un test complémentaire de comparaisons multiples des moyennes est réalisé pour classer les différents extraits testés en groupes homogènes.

II. Résultats et discussions

2.1. Activité antiproliférative

L'activité antiproliférative et cytotoxique des extraits aqueux des feuilles de *Peganum harmala* L. et des deux standards colchicine et quercétine révèlent une inhibition de la croissance cellulaire. Le phénomène de nécrose a été observé au niveau des levures traitées par l'extrait aqueux des feuilles de *Peganum harmala* L., colchicine, les extraits combinés (l'extrait aqueux foliaire de *Peganum harmala* L., colchicine) ; (l'extrait aqueux foliaire de *Peganum harmala* L., quercétine) et l'association (quercétine, colchicine) (Figure 23).

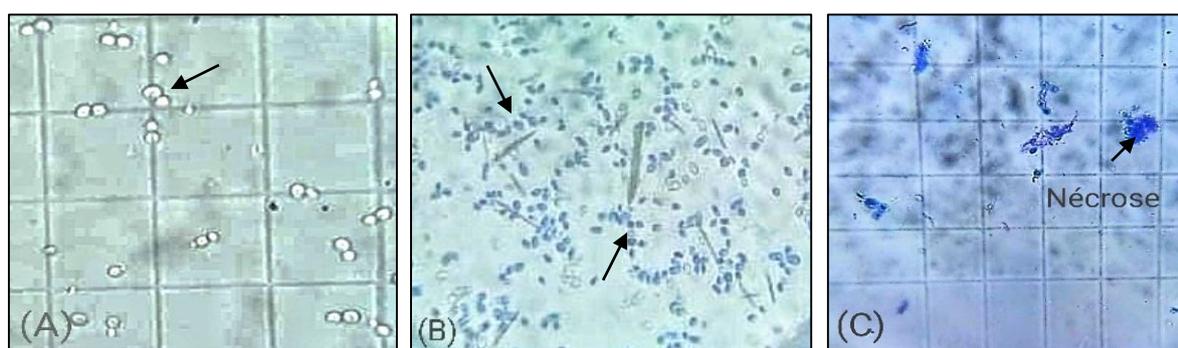


Figure 23 : Action de l'extrait aqueux des feuilles de *Peganum harmala* L. sur *Saccharomyces cerevisiae* sous microscope optique (Gx400).

A : contrôle (sans extrait aqueux). **B :** levure traitée avec l'extrait aqueux foliaire de *Peganum harmala* L. (les cellules colorées sont des cellules mortes avec des débris cellulaires). **C :** nécrose cellulaire chez la levure traitée par l'extrait combiné de *Peganum harmala* L. et colchicine.

Le pourcentage de cytotoxicité de l'extrait aqueux des feuilles de *Peganum harmala* L. est estimé à $73.08 \pm 12.74\%$, alors que celui de la quercétine est de $47.02 \pm 2.96\%$, celui de la colchicine est de $61.17 \pm 7.06\%$ et celui de la (quercétine, colchicine) est de $68.19 \pm 4.38\%$. En revanche, les pourcentages de cytotoxicité observés pour les deux combinaisons d'extraits aqueux avec les standards sont les suivants : pour (l'extrait aqueux des feuilles de *Peganum harmala* L., quercétine) il est de $72.38 \pm 2.62\%$ et pour (l'extrait aqueux des feuilles de *Peganum harmala* L., colchicine) il est de $78.2 \pm 4.72\%$ (Tableau IV).

L'extrait aqueux des feuilles de *Peganum harmala* L. possède une cytotoxicité élevée par rapport à la colchicine et la quercétine utilisées comme standards, en association avec la

Partie expérimentale

colchicine y a une augmentation pour atteindre le pourcentage le plus important. Quant à elle la quercétine a une cytotoxicité intermédiaire augmentée par sa combinaison avec l'extrait aqueux des feuilles de *Peganum harmala* L. De même un effet synergique a été observé par l'addition de la quercétine à la colchicine.

Nos résultats indiquent une action cytotoxique sur *Saccharomyces cerevisiae*. Cette levure est un modèle de choix pour la compréhension des processus biologiques les plus complexes notamment la mort cellulaire des cellules eucaryotes et identifier les altérations du cycle cellulaire en cours.

Tableau IV : Pourcentages de cytotoxicité des extraits testés.

Extraits testés	IC(%) ± ES
Témoin (-)	0.0 ± 0.00 B
Quercétine (témoin +)	47.02 ± 2.96 A
Colchicine (témoin +)	61.17 ± 7.06 A
Colchicine + Quercétine	68.19 ± 4.38 A
Ext. F. P. + Quercétine	72.38 ± 2.62 A
Ext. F. P.	73.08 ± 12.74 A
Ext. F. P + Colchicine	78.20 ± 4.72 A

IC : Indice cytotoxique ; ES : Erreur standard ; Ext F. P. : Extrait des feuilles de *Peganum harmala* L.

Des ANOVA réalisés entre le témoin non traité, colchicine et quercétine ainsi que l'extrait aqueux des feuilles de *Peganum harmala* L. montrent une différence hautement significative entre ces valeurs ($p=0.0056$). Ceci confirme leur action cytotoxique différente sur la prolifération cellulaire. Les comparaisons multiples des moyennes ont révélé la formation de deux groupes homogènes. Le groupe A regroupe respectivement l'extrait aqueux des feuilles de *Peganum harmala* L., les extraits combinés (extrait aqueux des feuilles de *Peganum harmala* L., quercétine) et (extrait aqueux des feuilles de *Peganum harmala* L., colchicine), également les deux standards colchicine et quercétine ainsi que leur association. Le groupe B représenté par le témoin non traité dont la cytotoxicité est nulle.

De même des différences hautement significatives ont été observées entre [le témoin non traité, colchicine ($p = 0.0021$)] ; (témoin non traité, quercétine ($p = 0.00024$)) ; [témoin non

Partie expérimentale

traité, *Peganum harmala* L. ($p = 0.0094$) ; [témoin non traité, (colchicine, quercétine) ($p = 0.00022$)], [témoin non traité, (*Peganum harmala* L., colchicine) ($p = 0.000173$)], [témoin non traité, (extrait aqueux des feuilles de *Peganum harmala* L., quercétine) ($p = 0.000023$)] et [quercétine, (extrait aqueux des feuilles de *Peganum harmala* L., quercétine) ($p = 0.0063$)]. Par ailleurs, aucune différence significative a été observé entre [colchicine, quercétine ($p = 0.206$)] ; [colchicine, extrait aqueux des feuilles de *Peganum harmala* L. ($p = 0.541$)] ; [colchicine, (extrait aqueux des feuilles de *Peganum harmala* L., colchicine) ($p = 0.177$)], [colchicine, (extrait aqueux des feuilles de *Peganum harmala* L., quercétine) ($p = 0.291$)] ; [colchicine, (colchicine, quercétine) ($p = 0.528$)] ; [quercétine, extrait queux des feuilles de *Peganum harmala* L. ($p = 0.179$)] ; [quercétine, (extraits aqueux des feuilles des *Peganum harmala* L. , colchicine) ($p = 0.010$)] ; [quercétine, (quercétine, colchicine) ($p = 0.0309$)] et [(quercétine , colchicine), (extrait aqueux des feuilles de *Peganum harmala* L., colchicine) ($p = 0.273$)] (Annexe 4).

Dans notre étude, la plupart des cellules sont mortes et les débris cellulaires ont été observés en raison de la toxicité de l'extrait aqueux des feuilles de *Peganum harmala* L., ainsi que l'association de cet extrait et celui de la colchicine. Nous avons observé ainsi le phénomène de nécrose suite à cette cytotoxicité. Des résultats similaires ont été rapportés en utilisant des mycroendophytes des feuilles de *Peganum harmala* L. qui sont représentés par les extraits : *Alternaria* dont le pourcentage est de 54.08 ± 0.9 %, *Alterania/Cladosporium* avec 57.01 ± 1.17 %, et *Alternaria/Penicillium* avec un pourcentage de cytotoxicité de 57.33 ± 0.77 % dont l'indice cytotoxique est similaire à celui de la colchicine (61.17 ± 7.06 %) qui possède l'indice le plus élevé. Par ailleurs, l'extrait de *Penicillium*, d'*Alternaria/Aspergillus*, *Aspergillus/Penicillium* et *Cladosporium/Penicillium* ont un indice cytotoxique similaire à celui de la quercétine, dont l'indice cytotoxique est moins important que celui de la colchicine (OUZID *et al.*, 2018).

Le taux d'alcaloïdes dosé par HARCHAOUI, 2019 au niveau de l'extrait aqueux de *Peganum harmala* L. est de 28.42 μg équivalent colchicine/mg, ce dernier s'avère très faible par rapport à la concentration en alcaloïdes totaux qui est de 220 μg équivalent colchicine/ml, cela est dû au solvant d'extraction utilisé qui est l'eau. Néanmoins cette quantité récupérée présente un effet antimitotique et cytotoxique remarquables sur les cellules méristématiques d'*Allium cepa* avec un indice mitotique de 36.60 ± 1.47 % et un indice cytotoxique de 36.96 ± 1.69 % pour la fraction, de même un effet cytotoxique similaire sur les cellules de levure *Saccharomyces cerevisiae* a été observé avec nos extraits aqueux.

Partie expérimentale

D'autre part la concentration en flavonoïdes des feuilles de *Peganum harmala* L. obtenu dans la fraction aqueuse est de 208.23 µg équivalent quercétine /ml avec un indice mitotique de 62.60 ± 0.82 % et celle de la fraction butanolique est de 138.82µg équivalent quercétine/ml avec un indice mitotique de 44.00 ± 0.40 % ainsi que des pourcentages de cytotoxicité de 47.72 ± 0.43 % pour la fraction butanolique et 67.89 ± 3.79 % pour la fraction aqueuse. Ces résultats confirment que les flavonoïdes sont plus solubles dans l'eau par opposition aux alcaloïdes (CHABANE et MOUSSAOUI, 2019). Notre extrait ainsi que les différentes combinaisons possèdent un effet cytotoxique similaire à celui obtenu ci-dessus, avec un pourcentage de cytotoxicité de 47.02 ± 2.96 en utilisant la quercétine qui est un flavonoïde comme standard.

Des études récentes sur l'évaluation de l'effet de l'extrait des graines de *Peganum harmala* L. ont démontré une augmentation de l'expression des gènes TRAIL et caspase-8 ainsi que des gènes proapoptotique P-53 et P-21, ce qui induit la mort cellulaire par apoptose, et par conséquent réduit la croissance des cellules tumorales (SHABANI *et al.*, 2015). De plus une activité antimicrobienne et antifongique de la plante *Peganum harmala* L. a été prouvé par la présence d'une concentration minimale inhibitrice (CMI) avec l'extrait de composés Oxamide, isolé et purifié en utilisant des méthodes chromatographiques et spectroscopiques adaptées (CHINAPPAN et MOHANRAJ, 2016).

Conclusion générale

Conclusion générale

La présente étude a concerné l'évaluation de l'effet antiprolifératif de l'extrait aqueux des feuilles de *Peganum harmala* L. et ses différentes combinaisons, avec les deux standards colchicine et quercétine sur les cellules de levure *Saccharomyces cerevisiae*. Cette dernière est largement utilisée comme modèle, pour étudier les mécanismes cellulaires fondamentaux grâce à l'analogie des gènes entre cette levure et la cellule eucaryote. Les extraits testés inhibent la croissance cellulaire en induisant un pourcentage de cytotoxicité de $73.08 \pm 12.74\%$ pour l'extrait aqueux des feuilles de *Peganum harmala* L., $61.17 \pm 7.06\%$ pour la colchicine, $78.2 \pm 4.72\%$ pour l'extrait combiné des feuilles de *Peganum harmala* L. avec la colchicine, $47.02 \pm 2.96\%$ pour la quercétine, $68.19 \pm 4.38\%$ pour l'association de la colchicine à la quercétine et $72.38 \pm 2.62\%$ suite à la combinaison de la quercétine avec l'extrait aqueux foliaire de *Peganum harmala* L. Un test ANOVA réalisé entre les différents extraits : extrait aqueux foliaire de *Peganum harmala* L. ; colchicine ; quercétine ; l'extrait combiné de *Peganum harmala* L., colchicine ; l'association de *Peganum harmala* L., quercétine et la combinaison de la colchicine et la quercétine a révélé une différence hautement significative ($p = 0.0056$), de même pour le témoin non traité avec les différentes associations. Néanmoins aucune différence significative a été observé pour l'association de la colchicine et la quercétine, la combinaison de l'extrait aqueux foliaire de *Peganum harmala* L. et la quercétine également pour l'addition de la colchicine à l'extrait aqueux foliaire de *Peganum harmala* L.

Ainsi, d'autres études doivent être mises en œuvre pour obtenir plus de précision et explorer plus en profondeur cet aspect de travail afin de permettre :

- ✓ L'identification des molécules bioactives responsables de l'activité antiproliférative avec des techniques de haute performance à savoir la chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC) et la chromatographie en phase gazeuse ;
- ✓ L'évaluation d'autres activités biologiques dont l'activité anti inflammatoire et anti oxydante ;
- ✓ Des tests d'application *in vitro* et *in vivo* des extraits étudiés sur des lignées tumorales ;
- ✓ L'élaboration d'une meilleure méthode d'extraction avec un solvant plus adéquat ;
- ✓ L'étude de l'effet antiprolifératif et cytotoxique des feuilles de *Peganum harmala* L. en combinaison avec d'autres molécules.

**Références
bibliographiques**

Références bibliographiques

ABENA A.A., DIATEWA M., GAKOSSO G., GBEASSOR M., HONDI-ASSAH T. et OUAMBA J.M. (2003). Analgesic, antipyretic and anti-inflammatory effects of essential oil of *Lippia multiflora*. *Fitoterapia*, 74, 231–236.

AFANAS'EV I.B. (2009). Signaling mechanisms of oxygen and nitrogen free radicals, CPC Press. pp. 171.

AKHMANOVA A. et STEINMETZ M.O. (2008). Tracking the ends: a dynamic protein and Biology. *Biochemistry* 20(25), 6214-6222.

ALEXANDROVA M.L. et BOCHEV P.G. (2007). Oxidative Stress in Stroke. In: Oxidative Stress and Neurodegenerative Disorders. 1st ed. *Elsevier BV*. (Amsterdam), 313-368.

ALLAIN P. (2005). Les médicaments.

ANTOINE M. (2005). Synthèse et évaluation pharmacologique de composés indoliques et pyridopyraziniques à visée antitumorale ; Thèse de doctorat en chimie thérapeutique ; Université de Nantes U.F.R des sciences pharmaceutiques ; Nantes ; France.

ASGARPARAH J. et RAMEZANELOO F. (2012). Chemistry, Pharmacology and medicinal properties of *Peganum harmala* L. *African Journal of Pharmacology*, 6, 1573-1580.

ASGHARI G., SAIDFAR G. et MAHMUDI S. (2004). Biotransformation of aromatic aldehydes by cell cultures of *Peganum harmala* L. and *Silybum marianum* L. *Gaertn. Iran. J. Pharm. Res* 2, 127-130.

ATTELE A.S., WU J.A. et YUAN C.S. (1999). Ginseng Pharmacology Multiple constituents and multiple actions. *Biochem Pharmacol*.

Références bibliographiques

AVIGNON A., LAMBERT K. et BISBAL C. (2010). Thé, chocolat, raisin...ou les polyphénols comme outil de prévention du diabète de type 2. Mise au point clinique d'endocrinologie, 125-136.

BADIAGA M. (2011). Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea Latifolia smith* une plante médicinale africaine récoltée au Mali ; Thèse de Doctorat. Université de Bamako; Bamako; Mali.

BADR A., GHAREEB A. et EL-DIN H.M. (1992). Cytotoxicity of some pesticides in mitotic cells of *Vicia faba* roots. *Egyptian Journal of Applied Sciences*, 7, 457-468.

BAGCHI D., SEN C.K., BAGCHI M. et ATALAY M. (2004). Anti-angiogenic, antioxidant, and anti-carcinogenic properties of a novel anthocyanin-rich berry extract formula. *Biochemistry (Moscow)*, 69, 75-80.

BAYALA B. (2014). Etudes des propriétés anti-oxydantes, anti-inflammatoires, antiprolifératives et anti-migratoires des huiles essentielles de quelques plantes médicinales du Burkina Faso sur des lignées cellulaires du cancer de la prostate et de glioblastomes, Université Blaise Pascal ; Thèse de doctorat ; Clermont-Ferrand ; France. 141p.

BECKERS T. et MAHBOODI S. (2003). Natural, Semisynthetic and Synthetic Microtubule Inhibitors for Cancer Therapy. *Drugs of the Future*, 28, 767-785.

BESANÇON F. (2005). Cell death signalling: recent advances and therapeutic application. *Bull Cancer*, Paris, 92, 23-35.

BETA T., NAM S., DEXTER J.E. et SAPIRSTEIN H.D. (2005). Phenolic content and antioxidant activity of pearled wheat and Roller-Milled fractions. *Cereal Chem.* 82, 390-393.

Références bibliographiques

BHATTACHARYYA B. PANDA D., GUPTA S. et BANERJEE M. (2008). Anti-mitotic activity of colchicine and the structural basis for its interaction with tubulin. *Med Res Rev*, 28(1), 155-183.

BOLOTIN P.A., BARANOVSKY S.F. et EVSTIGNEEV M.P. (2006). Spectrophotometric investigation of the hetero-association of Caffeine and thiazine dye in aqueous solution. *Spectrochimica Acta Part A* 64, 693-697.

BOSETTI C., SPERTINI L., PARPINEL M., GNAGNARELLA P., LAGIUO P., NERGRI E., FRANCESCHI S., MONTELLA M., PETERSON J., DWYER J., GIACOSA A. et VECCHIA C. (2005). Flavonoids and breast cancer risk in Italy. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention* 14, 805-808.

BOULLARD B. (2001). Plantes médicinales du monde : réalités et croyances. Paris, ESTEM, 636P.

BOUROGAA E., JARRAYA R.M., DAMAK M. et EL FEKI A. (2015). Hepatoprotective activity of *peganum harmala* L. against ethanol-induced liver damages in rats. *Arch Physiol Biochem.*, 121(2), 62-7.

BRILLOUET J.M., ROMIEU C., SCHOEFS B., SOLYMOSI K., CHEYNIER V., FULCRAND H., CERDEIL J.L. et CONEJERO G. (2013). The tannosome is an organelle forming condensed tanins in the chlorophyllous organs of Tracheophyta. *Ann. Bot.*, 1003-1014.

BRUNETON J. (1999). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Edition Tec & Doc Lavoisier, Paris.

BRUNETON J. (2009). *Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes Médicinales*. Techniques Bruxelles.

Références bibliographiques

BRYAN J. (1972). Characterization of acetyl-3H-labeled vinblastine binding to vinblastinetubulin crystals. *Journal of Molecular Biology*, 1(66), 157-168.

BUKHARI B., CHOI J.H., JEON C.W., PARK H.W., KIM W.H., KHAN M.A. et LEET S.H. (2008). Phytochemical studies of the alkaloids from *Peganum harmala* L. *Appl. Chem.*, 12, 101-104.

CASAGRANDE F. et DARBON J.M. (2001). Effects 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.

CENENS J. et SCHOONHEYDT R.A. (1988). Visible spectroscopy of methylene blue on hectorite, laponite b, and barasym in aqueous suspension. *Clays and Clay Minerals* 36, 214-224.

CHABANE L. et MOUSSAOUIL. (2019). Effet antimitotique et cytotoxique des flavonoïdes des feuilles de *Peganum harmala* L. ; Mémoire ; Université de Mouloud Mammeri Tizi Ouzou ; Tizi Ouzou ; Algérie ; 57p.

CHANG C.C., CHEN W.C., HO T.F., WU H.S. et WEI Y.H. (2011). Development of natural anti-tumor drugs by microorganisms. *J. Biosci. Bioeng*, 111, 501–511.

CHEESMAN I.M. et DESAI A. (2008). Molecular architecture of the kinetochore-microtubule interface. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol*, 9(1), 33-46.

CHINNAPPAN J. et MOHANRAJ V. (2016). Antibacterial and Antifungal Activity from Seed Extracts of *Peganum harmala* L. *International Journal of Advanced Research, Ideas and Innovations in Technology*.

CHOPRA I., ABROL B. et HANDA K. (1960). Les plantes médicinales des régions arides. *Unesco*.pp. 31-33.

Références bibliographiques

CHRISTIANSON D.W. (2008). Unearthing the roots of the terpenome. *Current Opinion in Chemical Biology*, 12,141-150.

CLAUDE L. (1967). Contribution à l'étude de *Peganum harmala* L.(Harmel). Thèse de doctorat en pharmacie ; Université Saint-Jose ; Beyrouth.

COLLIN S. et CROUZET J. (2011). Polyphénols et Procédés Ed TEC&DOC. Paris.

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 ; Université Claude Bernard Lyon 1 ; Lyon ; France.

CORREIA J.J. et LOBERT S. (2001). Aspects of Tubulin-Interacting Antimitotic Drugs. *Current Pharmaceutical Design*, 13(7), 1213-1228.

DERBEL S. (2005). Les phytonutriments et leur impact sur la santé. *Pytothérapie*, (3), 28-34.

DIALLO A. et PRIGENT C. (2011). Les Sérines/Thréonine Kinases Contrôlant la Progression du Cycle Cellulaire Comme Cibles Thérapeutiques. *Bulletin du Cancer*, 98, 1335-1345.

DJEDIOUI A. (2009). Evaluation de l'activité hypoglycémiant et anti hyperglycémiant de l'extrait aqueux d'*Inula viscosa* une plante de l'Est Algérien chez le rat avec un diabète induit ; Thèse magister ; Université d'Annaba ; Annaba ; Algérie.

DUSTIN P. (1980). Microtubules. *Scientific American*, 2(243), 66-76.

DUVOIX A., MORCEAU F. et SCHNEKENBURGER M. (2003). Curcumin-induced cell death in two leukemia cell lines: K562 and Jurkat. *Ann NY Acad Sci*, 1010, 389-92.

Références bibliographiques

EISENBERG T., CARMONA-GUTIERREZ D., BÜTTNER S., TAVERNARAKIS N. et MADEO F. (2010). Necrosis in yeast. *Apoptosis Int. J. Program. Cell Death*, 15, 257–268.

FAVIER A. (2003). Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutiques. *Actualité chimique*. 108-115.

FINK B.N., STECK S.E., WOLFF M.S., BIRTON J.A., KABAT G.C., GAUDET M.M., ABRAHMSON P.E., SCHROEDER J.C., NEUGOUT A. et GOMMON M.D. (2007). Dietary flavonoid intake and breast cancer survival among women on Long Island. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, 16, 2285-2292.

FINK S.L. et COOKSON B.T. (2005). Apoptosis, pyroptosis, and necrosis: mechanistic description of dead and dying eukaryotic cells. *Infect. Immun.* 73, 1907–1916.

FORD R.A., HAWKINS D.R., MAYO B.C et 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.

GARRETT R.H. et GRISHAM C.M. (2000). Biochimie. 2ème Edition, De Boeck, USA. ISBN 2744500208.

GHEDIRA K. (2006). La Nigelle Cultivée : *Nigella sativa* L. (Ranunculaceae). *Phytothérapie*, 4, 1-7.

GHESTEM A., SEGUIN E., PARIS M. et ORECCHIONI A.M. (2001). Le préparateur en pharmacie dossier 2^{ème} Ed TEC&DOC. Paris. pp275. (Cited in Djemai Zoueglache S, 2008).

GOEL N., SINGH N. et SAINI R. (2009). Efficient *in vitro* multiplication of Syrian Rue (*Peganum harmala* L.) using bezylaminopurine pre-conditioned seedling explants. *Nature and Science*, 7(7), 1545-0740.

Références bibliographiques

GURIB-FAKIM A. (2006). Medicinal plants: traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Molecular Aspects of Medicine*, 27,1-93.

HALLIWELL B. et GUTTERIDGE J.M.C. (1999). Free radicals in biology and medicine, Oxford, UK.

HAMEL E. (1996). Antimitotic Natural Products and Their Interactions with Tubulin. *Med. Res. Rev.* 16, 207-231.

HAMMICHE V. et MERRAD R. (1990). *Peganum harmala*. International Program on Chemical Safety. Poisons information Monograph 402.Plant.

HAMMICHE V., MERAD R. et AZZOUZ M. (2013). Plantes toxiques à usage médicinal du pourtour méditerranéen. Paris, Springer, 447P.

HARCHAOUI L. (2019). Effet antimitotique et cytotoxique des alcaloïdes de la fraction et des extraits aqueux des feuilles de *Peganum harmala* L. ; Mémoire ; Université de Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou ; Algérie ; 43p.

HEIM K.E., TAGLIAFERRO A.R. et BOBILYA D.J. (2002). Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *Journal of Nutritional, Biochemistry*, 13, 572-584.

HELDTN H.W. et HELDT F. (2005). Plant Biochemistry. Academic Press.

HERBERT M., KALLEAS D., COONEY D., LAMB M. et LISTER L. (2015). Meiosis and Maternal Aging: Insights from Aneuploid Oocytes and Trisomy Births. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 7(4), 1-20.

Références bibliographiques

HOTCHKISS R.S., STRASSER A., MCDUNN J.E. et SWANSON P.E. (2009). Cell Death. *New England Journal of Medicine*, 361, 1570-83.

HUANG F., CHEN L., WANG H. et YAN Z. (2010). Analysis of the degradation mechanism of methylene blue by atmospheric pressure dielectric brier discharge plasma. *Chemical Engineering Journal*, 162, 250-256.

ISERIN P. (2001). Encyclopedia of Medicinal Plants. La Rousse. (2nd Edition). Pp : 244-245. Du C.N.R.S, 1170p.

JANIN Y. (1993). Analogues et dérivés inédits des benzo[c]phénanthridines anti tumorales ; Synthèse et étude biologique ; Thèse de doctorat en chimie organique ; Université Pierre et Marie Curie - Paris VI ; France.

JINOUS A. et FERESHTEH R. (2012). Chemistry, pharmacology and medicinal properties of *Peganum harmala* L. *Afr J Pharm Pharmacol.*, 6, 1573-1580.

JONHSON I.S., ARMSTRONG J.G., GORMAN M. et BURNETT J.P. (1963). The vinca alkaloids: A New class of Oncolytic Agents. *Cancer Research.*, 8(23), 1390-1397.

JORDAN M.A. et WILSON L. (1998). Microtubules and actin filaments: dynamic targets for cancer chemotherapy. *Current Opinion in Cell Biology*, 1(10), 123-130.

KAMEL S., IBRAHIM L., AFIF A. et HAMZA S. (1970). Major alkaloidal constituent of the Egyptian plant. *Peganum harmala*. *Uarj, vet. sci*, 7:71-86. ditions of use in fragrances. *Food and Chemical Toxicology*, p39, 153-162.

KARP G. (2004). Biologie Cellulaire et Moléculaire. 2^{ème} Ed., De Boeck Université Bruxelles.

Références bibliographiques

KARTHISHWARAN K., MIRUNALINI S., DHAMODHARAN G., KRISHNAVENI M. et ARULMOZHI V. (2010). Phytochemical investigation of methanolic extract of the leaves of *Pergularia daemia*. *Journal of Biological Sciences*, 10, pp 242-246.

KIM C., BAEK S.H., UMJ Y., SHIM B.S. et AHN K.S. (2016). Resveratrol attenuates constitutive STAT 3 and STAT 5 activation through induction of PTP ϵ and SHP-2. Tyrosine phosphatases and potentiates sorafenib- induced apoptosis in renal cell carcinoma. *BMC Nephrology*, 17(1), 19.

KINGSTON D.J. (2009). Tubulin-interactive natural products as anticancer agents. *Journal of Natural Products*, 72 (3), 507-515.

KOUDALY S., BENEMASAOU D., LEFT D., ESSAQUI A., ZERBOUTI M., AZZI M. et BENAÏSSA M. (2014). Study of antioxidant activity and anticorrosion of the methanol extracts of drawf palm leaves (*Chamaerops humilis L.*) from Morocco. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 5(3), 887-898.

KRIEF S. (2004). Métabolites secondaires des plantes et comportement animal ; surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (*Pan troglodytes schweinfurthii*) en Ouganda ; Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées ; Thèse de Doctorat. Muséum National d'Histoire Naturelle ; Paris ; France.

KRYSKO D.V., VANDEN BERGHE T., D'HERDE K. et VANDENABEELE P. (2008). Apoptosis and necrosis: detection, discrimination and phagocytosis. *Methods San Diego Calif* 44, 205–221.

LANHERS M.C. (1988). Contribution à l'étude ethnopharmacologique et l'étude, laboratoryguide, p : 1-21, p :169-181.

LEROUX S. (2011). Synthèse d'alcaloïdes de Vinca et nouvelle approche de la synthèse de la (D)- méquitazine ; Thèse de Doctorat ; Université Paris Sud ; Paris ; France.

Références bibliographiques

MACHEIX J.J., FLEURIET A. et JAY-ALLEMAND C. (2005). Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. PPUR Presses polytechniques.

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.

MAILLET M. (2008). Abrégé de cytologie. Masson, Paris.

MAIRE R. (1993). Etudes sur la flore et la végétation du Sahara central. Mémoire de la société d'histoire naturelle de l'Afrique du nord, n°3, Mission du Hoggar II, Alger, 361 p.

MANFREDI J.J. et HORWITZ S.B. (1984). Taxol: an antimetabolic agent with a new mechanism of action. *Experimental Cell Research*, 1(150), 205-217.

MARS B. (2009). The Desktop Guide to Herbal Medicine. Publisher Read How You Want, 492p.

MATÉS J.M. (1999). Antioxidant Enzymes and Human Diseases. *Clinical Biochemistry*, 38, 595-603.

MICHEL J.B. (2003). Anoikis in the cardiovascular system: known and unknown extracellular mediators. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 23, 2146–2154.

MOGHADAM M.S., MALEKI S., DARABPOUR E., MOTAMEDI H. et SEYYED NEJAD S.M. (2010). Anti-bacterial activity of eight Iranian plant extracts against methicillin and cefixine resistant staphylococcus aureus strains. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*.

Références bibliographiques

MOLOUDIZARGARI M., MIKAILI P., AGHAJANSHAKERI S., HOSSEIN A.M. et SHAYEGH J. (2013). Pharmacological and therapeutic effects of *Peganum harmala* and its main alkaloids. *Pharmacogn. Rev* 7(14): 199–212.

MURAKAMI J., YAMAMOTO T. et MORITA M. (2009). Preventive effects of a cocoa-enriched diet on gingival oxidative stress in experimental periodontitis. *J. Periodontol*, 80 (11), 1799-808.

NA G.C. and TIMASHEFF S.N. (1986). Modern Alkaloids: Structure, Isolation, Synthesis, and Biology. *Biochemistry*, 20(25), 6214-6222.

NARAYANA K.R., REDDY M.S., CHALUVADI M.R. et KRISHNA D.R. (2001). Bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. *Indian journal of pharmacology*, 33, 2-16.

NEUGUT A.I. et GAMMON M.D. (2007). Dietary flavonoid intake and breast cancer survival among women on Long Island. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention*, 16, 2285-2292.

NOGALES E., WHITTAKER W., MILIGAN R. et DOWNING K. (1999). High resolution model of the microtubule. *Cell*, 96, 79-88.

NUKI G. (2008). Colchicine: its mechanism of action and efficacy in crystal –induced inflammation. *Current rheumatology reports*, 10(3), 218-227.

OUZID Y., SMAIL-SAADOUN N. et HOUALI K. (2019). Antimitotic and antiproliferative activities of crud fungal extracts of endophytic foliar fungi of *Peganum harmala* L. From Dayate Aiat (Laghout, Algeria). *Journal of Fundamental and Applied Sciences* .11(2):587-604.

OZENDA P. (1977). Flore du Sahara, 322 p.

Références bibliographiques

OZENDA P. (1991). Flore et végétation du Sahara 3^{ème} édition, augmentée. Ed CNRS, Paris, 662 p.

PARSON S. et CUTHBERTSON E.G. (1992). Noxious Weeds of Australia. Inkata Press, Melbourne, 629p.

PATRICK M. (2010). Le truffaut du potager. Cultiver vos légumes, fruits et herbes aromatiques, Edition Protea. France.

PENG L.X., HSU M.T., BONOMI M., AGARD D.A. et JACOBSON M.P. (2014). The Free Energy Profile of Tubulin Straight -Bent Conformational Changes, with Implications for Microtubule Assembly and Drug Discovery. *Comput Biol*, 10(2), 464.

PHAM-HUY L., HE H. et PHAM-HUY C. (2008). Free Radicals, Antioxydants in Disease and Health. *International Journal of Biomedical Medecine*, 4, 89-96.

PIETTA P.G. (2000). Flavonoids as antioxidants. *J. Nat. Prod*, 63 (7), 1035-42.

PREEDY V.R., WATSON R.R et PATEL V.B. (2011). Nuts and Seeds in Health and Disease Prevention. Academic Press, 1226p.

QUEZEL P. et SANTA C. (1962). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Paris.

QUEZEL P. et SANTA S. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. CNRS, ed., T2, p. 59.

RACKOVA L., MAJEKOVA M., KOST'ALOVA D. et ŠTEFEK M. (2004). Antiradical and antioxidant activities of alkaloids isolated from Mahonia aquifolium. Structural aspects. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 12, 4709-4715.

Références bibliographiques

RAVELLI R.B.G., GIANT B., CURMI P., JOURDAIN I., LACHKAR S., SOBEL A. et KNOSSOV M. (2004). Into tubulin regulation from a complex with colchicine and a stathmin-like domain. *Nat.*, 428, 198-202.

REUTER S., CHARLET J. et JUNCKER T. (2009). Effect of curcumin on nuclear factor kappa B signaling pathways in human chronic myelogenous K562 leukemia cells. *Ann NY Acad Sci*, 1171, 47–436.

RIBEREAU-GAYON P. (1968). Le dosage des anthocyanes dans le vin rouge. *Bull. Soc. Chim.*, 9(419), 2649-2653.

RIENDINGER J.P., BASUYAU J.P. et PICHON M.F. (2005). Les marqueurs tumoraux sériques des tumeurs solides. *Cahier de formation, Biologie médicale*, 32, 180.

ROBERTS M.F. et WINK M. (1999). Alkaloids - Biochemistry, Ecology, and Medicinal Applications. *Book Reviews / Phytochemistry*, 52, 1177 – 1180.

ROCHÉ C. (1991). African rue (*Peganum harmala* L.). In *Weeds, A Pacific Northwest Extension Sciences*, 11(2), 587-604.

SACKETT D.L. et VARMA J.K. (1993). Molecular mechanism of colchicine action: induced local unfolding of beta-tubulin. *Biochemistry*, 32, 13560-13565.

SARNI-MANCHADO P. et CHEYNIER V. (2006). Les polyphénols en agroalimentaire. *TEC&DOC. Agricultural industries*.

SEGAL-BENDIRDJIAN E., DUDOGNON C., MATHIEU J., HILLION J. and SEGHAL R., ROY S. et KUMAR V.L. (2006). Evaluation of cytotoxic potential of latex of *Calotropis procera* and Podophyllotoxin in *Allium cepa* model. *J Biocell.*, 30, 9-13.

Références bibliographiques

SEYOUM A., ASRES K., et EL-FIKY F.K. (2006). Structure–radical scavenging activity relationships of flavonoids. *Phytochemistry*, 67, 2058-2070.

SHABANIA S., TEHRANIA S., RABIEIA Z., ENFERADIA S. et VANNOZZIB G. (2015). *Peganum harmala* L.'s anti-growth effect on a breast cancer cell line. *Biotechnology Reports*.

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

SIFI I. (2010). Les Huiles Essentielles. Ed Groupe El Hayat Presse Laghouat, Algérie.

SLICHENMYER W.J. et VON HOFF D.D. (1991). *Anti-Cancer Drugs*, 2, 519.

SNYDER J.P., NETTLES J.H., CORNETT B., DOWNING K.H et NOGALES E. (2001). The Binding Conformation of Taxol in beta–tubulin: A Model Based on Electron Crystallographic Density. *American National Academy of Sciences*, 98, 5312-5316.

SPARG S. GLIGHT M.E. et VAN STADEN J. (2004). Biological activities and distribution of plant saponins. *Journal of Ethnopharmacology*, 94,219.

SWYNGHEDAU W. (2008). *Biologie et génétique moléculaires*. 3^{ème} Ed., Dunod, Paris.

TAHROUCH S., RAPIER S., BELAHSEN Y., BESSIERE J.M. et ANDARY C. (1998). Volatil condituents of *Peganum harmala* L.(zygophyllaceae). *Acta Botania Gallica*, 145(2), 121-124.

TAKAHASHI H., AOYAGI K., NAKANISHI Y., SASAKI H., YOSHIDA T. et HONDA H. (2006). Classification of intramural metastases and lymph node metastases of esophageal cancer from gene expression based on boosting and projective adaptive resonance theory. *J. Biosci. Bioeng.* 102, 46–52.

Références bibliographiques

TANWEER A.J., CHAND N., KHAN S., QURESHI M.S., AKHTAR A. et NIAMATULLAH M. (2012). Impact of methanolic extract of *Peganum harmala* on the weight gain, feed conservation ratio, feed cost and gross return of broiler chicks. *The J. of Animal and Plant Sci.*, 22 (2), 264-267.

TEITEN M.H., EIFES S. et DICATO M. (2010). Curcumin - the paradigm of a multitarget natural compound with applications in cancer prevention and treatment. *Toxins*, 2(1), 128-62.

TOMOFUJI T., EKUNI D., IRIE K., AZUMA T., ENDO Y., TAMAKI N., SANBE T., ULANOWSKA K., TRACZYK A., KONOPA G. et WEGRZYM G. (2006). Differential antibacterial activity of genistein arising from global inhibition of DND, RNA and protein synthesis in some bacterial strains. *Arch Microbiol*, 184 (5), 271-8.

ULUKAYA E., ACILAN C. et YILMAZ Y. (2011). Apoptosis: why and how does it occur in biology? *Cell Biochem. Funct.* 29, 468–480.

VACHON P.H. (2006). Survie cellulaire : différences et différenciation. *Médecine/sciences* 22,423–429.

VINCENT R. (2007). Génétique Moléculaire. De Boeck université, Paris.

W– ERDMAN J., BALENTINE J.D., ARAB L., BEECHER G., DWYER J.T., FOLTS J., HARNL Y., HOLLMAN J.P., L-KEEN C., MAZZA G., MESSINA M., SCALBERT A., VITA J., WILLIAMSON A. et BURROWES J. (2007). Flavonoids and heart health: Proceeding of the ILSI North America flavonoids workshop. *Journal of Nutrition*, 137 (3 supp 1), 718-737.

WANI M.C., TAYLOR H.L., WALL M.E., COGGON P. et MCPHAIL A.T. (1971). Plant antitumor agents. VI. The isolation and structure of taxol, a novel antileukemic and antitumor agent from *Taxus brevifolia*. *Journal of the American Chemical Society*, 93(9), 2325–7.

Références bibliographiques

WECKESSER W. (2013). First record of *Peganum harmala* (Zygophyllaceae) in Val Verde County, Texas, and subsequent eradication treatment. *Phytoneuron*, 71, 1–5.

WEI Y., PU X. et ZHAO L. (2017). Preclinical studies for the combination of paclitaxel and curcumin in cancer therapy, 37 (6): 3159 – 3166.

WILSON T.M. (1907). On the chemistry and staining properties of certain derivatives of the methylene blue group when combined with eosin. *American Journal of Physiology*, 19, 647-670.

YOUSEFI R., GHAFFARIFAR F. et DALIMI A.A. (2009). The Effect of *Alkanna tinctoria* and *Peganum harmala* Extracts on *Leishmania major* (MRHO/IR/75/ER) *in vitro*. *Iranian Journal of Parasitology*, 4, 40-47.

ZWEIR J.L. et HASSAN TALUKDER M.A. (2006). The role of oxidants and free radicals in reperfusion injury. *Cardiovas. Res.* 70(2), 181-190.

Références bibliographiques

Sites internet

ANONYME 1 : <https://www.podcastscience.fm/dossiers/2012/07/05/ps93-la-traque-des-cancerogenes/>. (Consulté le 02.08.2020).

ANONYME 2 : <https://cultura-box.fandom.com/fr/wiki/Oxydo-réduction-du-bleu-de-méthylène>. (Consulté le 13.09.2020).

Annexes

Annexe

Annexe 1 : Les dilutions réalisées pour l'estimation du nombre de cellules de *Saccharomyces cerevisiae* au microscope optique (G×400).

Dilution	Blanc	Dilution1	Dilution 2	Dilution3	Dilution 4	Dilution 5	Dilution 6
DO	0	0.034	0.048	0.105	0.486	1.073	1.668
Nombre de cellules (n)	0	5.6	8.6	34.8	45.6	41.2	2976
Nombre de cellules par ml	0	5.6×10^5	8.6×10^5	34.8×10^5	182.4×10^5	659.2×10^5	2976×10^5

Annexe 2 : Pourcentage de cytotoxicité des trois dépôts de l'extrait testé et des standards.

	Dépôt 1	Dépôt 2	Dépôt 3
Extrait foliaire de <i>Peganum harmala</i> L.	98.15%	76.66%	44.44%
Quercétine	52.11%	40%	48.97%
Colchicine	73.03 %	66.19%	44.31%
Quercétine + colchicine	62.5%	78.94%	63.15%
Extrait de <i>Peganum harmala</i> L.+ colchicine	83.33%	84.61%	66.66%
Extrait de <i>Peganum harmala</i> L.+ quercétine	77.77%	66.66%	72.72%

Annexe

Annexe 3 : Description de la cellule de Malassez

Pour dénombrer les cellules de levures contenu dans la suspension, on place une lamelle de verre sur la cellule de Malassez, sur laquelle on dépose 10 μl d'une suspension de levures. Après sédimentation des cellules, nous procédons à l'observation sous microscope optique ($G \times 400$).



Le quadrillage total de la cellule a un volume de 1 μl .

Dimensions : L : 2.5 mm, l : 2 mm, H : 0.2 mm.

Constitué de 100 rectangles d'égales surfaces.

On distingue : 25 rectangles divisés en 20 carrés ;

25 clairs ;

50 divisés (lignes horizontales).

Nombre de cellules / ml = $n \times 100 \times 10^3 = n \times 10^5$.

* Tenir compte du facteur de dilution.

Annexe

Annexe 4 : Résultats des tests statistiques type ANOVA à un facteur (logiciel STATISTICA).

- ANOVA globale.

Effet	SC	Degr. de Liberté	MC	F	p
ord. origine	68594,29	1	68594,29	395,7661	0,000000
extrait	13307,63	6	2217,94	12,7968	0,000056
Erreur	2426,48	14	173,32		

- ANOVA entre le témoin négatif et l'extrait aqueux de feuilles de *Peganum harmala* L.

Effet	SC	Degr. de Liberté	MC	F	p
ord. origine	8011,760	1	8011,760	21,92644	0,009430
extrait	8011,760	1	8011,760	21,92644	0,009430
Erreur	1461,571	4	365,393		

- ANOVA entre le témoin négatif et la colchicine

Effet	SC	Degr. de Liberté	MC	F	p
ord. origine	5613,877	1	5613,877	49,88788	0,002120
extrait	5613,877	1	5613,877	49,88788	0,002120
Erreur	450,119	4	112,530		

- ANOVA entre le témoin négatif et (l'extrait aqueux des feuilles de *Peganum harmala* L., quercétine).

Effet	SC	Degr. de Liberté	MC	F	p
ord. origine	7859,020	1	7859,020	507,9670	0,000023
extrait	7859,020	1	7859,020	507,9670	0,000023
Erreur	61,886	4	15,472		

Annexe

- ANOVA entre le témoin négatif et (l'extrait aqueux de feuilles de *Peganum harmala* L., colchicine).

Effet	SC	Degr. de Liberté	MC	F	p
ord. origine	9172,860	1	9172,860	182,9298	0,000173
extrait	9172,860	1	9172,860	182,9298	0,000173
Erreur	200,577	4	50,144		

- ANOVA entre la colchicine et (l'extrait aqueux de *Peganum harmala* L., quercétine)

Effet	SC	Degr. de Liberté	MC	F	p
ord. origine	26757,41	1	26757,41	209,0400	0,000133
extrait	188,38	1	188,38	1,4717	0,291812
Erreur	512,01	4	128,00		

- ANOVA entre la colchicine et la quercétine

Effet	SC	Degr. de Liberté	MC	F	p
ord. origine	17561,94	1	17561,94	132,7658	0,000324
extrait	300,33	1	300,33	2,2705	0,206333
Erreur	529,11	4	132,28		

- ANOVA entre la quercétine et l'extrait aqueux des feuilles de *Peganum harmala* L.

Effet	SC	Degr. de Liberté	MC	F	p
ord. origine	21639,62	1	21639,62	56,18631	0,001694
extrait	1018,42	1	1018,42	2,64429	0,179249
Erreur	1540,56	4	385,14		

Annexe

- ANOVA entre la colchicine et l'extrait aqueux des feuilles de *Peganum harmala* L.

Effet	SC	Degr. de Liberté	MC	F	p
ord. origine	27038,62	1	27038,62	56,57532	0,001673
extrait	212,65	1	212,65	0,44495	0,541250
Erreur	1911,69	4	477,92		

- ANOVA entre la quercétine et (l'extrait aqueux des feuilles de *Peganum harmala* L., quercétine).

Effet	SC	Degr. de Liberté	MC	F	p
ord. origine	21388,12	1	21388,12	607,2853	0,000016
extrait	964,44	1	964,44	27,3839	0,006371
Erreur	140,88	4	35,22		

- ANOVA entre (quercétine, colchicine) et (l'extrait aqueux des feuilles de *Peganum harmala* L., quercétine).

Effet	SC	Degr. de Liberté	MC	F	p
ord. origine	29644,10	1	29644,10	504,0954	0,000023
extrait	26,29	1	26,29	0,4471	0,540325
Erreur	235,23	4	58,81		

- Tableau de comparaison des moyennes (Newman-Keuls)

Cellule N°	extrait	cytotoxicité Moyenne	A	B
1	T-	0,00000		****
3	Q	47,02667	****	
2	C	61,17667	****	
5	C+Q	68,19667	****	
7	H+Q	72,38333	****	
4	H	73,08333	****	
6	H+C	78,20000	****	

Résumé

Résumé

Les plantes médicinales sont une source importante de molécules bioactives, ayant des activités biologiques très intéressantes (anticancéreuse, antimétabolique...). C'est dans cette optique, que nous nous sommes intéressés à une plante spontanée des zones arides d'Algérie (Laghouat) : *Peganum harmala* L. Notre intérêt pour ce travail s'est porté sur l'évaluation *in vitro* de l'activité antiproliférative de l'extrait aqueux des feuilles de *Peganum harmala* L., les deux standards (colchicine et quercétine) et les différentes combinaisons (extrait foliaire aqueux et colchicine, extrait foliaire aqueux et quercétine), en utilisant la levure *Saccharomyces cerevisiae* comme modèle expérimental. L'estimation de la viabilité cellulaire est réalisée grâce à une coloration au bleu de méthylène, basée sur un mécanisme d'oxydoréduction dont les cellules mortes sont colorées en bleu tandis que les cellules vivantes restent incolores. Les pourcentages de cytotoxicité sont estimés à 73.08 ± 12.74 % pour l'extrait aqueux des feuilles de *Peganum harmala* L., 78.2 ± 4.72 % pour l'extrait combiné de *Peganum harmala* L. et la colchicine, 47.02 ± 2.96 % pour la quercétine et 72.38 ± 2.62 % suite à l'association de cette dernière avec l'extrait aqueux foliaire. De même des nécroses ont été observées avec l'extrait aqueux des feuilles de *Peganum harmala* L. et l'extrait combiné de *Peganum harmala* L. avec la colchicine. Par conséquent cette plante présente un effet létal pour les cellules ainsi qu'une inhibition de la croissance cellulaire, ce qui nous incite à exploiter cette voie afin de trouver des molécules bioactives qui peuvent inhiber la prolifération des cellules tumorales.

Mots clés : Activité antiproliférative, cytotoxicité, extrait aqueux foliaire, *Peganum harmala* L., *Saccharomyces cerevisiae*.

Abstract

Medicinal plants are an important source of bioactive molecules with very interesting biological activities (anticancer, antimetabolic...). With this in mind, we were interested in a spontaneous plant from the arid zones of Algeria (Laghouat): *Peganum harmala* L. Our interest in this work focused on the *in vitro* evaluation of the antiproliferative activity of the aqueous extract of the leaves of *Peganum harmala* L., both standards (colchicine and quercetin) and different combinations (aqueous leaf extract and colchicine, aqueous leaf extract and quercetin), using the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as an experimental model. The estimation of cell viability is carried out using methylene blue staining, based on an oxidation-reduction mechanism in which dead cells are stained blue while living cells remain colorless. The percentages of cytotoxicity are estimated at 73.08 ± 12.74 % for the aqueous extract of the leaves of *Peganum harmala* L., 78.2 ± 4.72 % for the combined extract of *Peganum harmala* L. and colchicine, 47.02 ± 2.96 % for quercetin and 72.38 ± 2.62 % following the association of the latter with the foliar aqueous extract. Necrosis was also observed with the aqueous leaf extract of *Peganum harmala* L. and the combined extract of *Peganum harmala* L. with colchicine. Consequently, this plant has a lethal effect on cells as well as an inhibition of cell growth, which leads us to exploit this pathway in order to find bioactive molecules that can inhibit the proliferation of tumor cells.

Keys words: Antiproliferative activity, cytotoxicity, foliar aqueous extract, *Peganum harmala* L., *Saccharomyces cerevisiae*.

ملخص

تعد النباتات الطبية مصدرًا مهمًا للجزيئات النشطة بيولوجيًا، ولها أنشطة بيولوجية مثيرة جدًا للاهتمام (مضاد للسرطان، ومضاد للمضادات الحيوية...). ومن هذا المنطلق، كنا مهتمين بنبته عفوية من المناطق القاحلة في الجزائر (الأغواط): *Peganum harmala* L. تركّز اهتمامنا في هذا العمل على التقييم في المختبر للنشاط المضاد للتكاثر لمستخلص المائي ل أوراق *Peganum harmala* L. والمعيارين (الكولشيسين والكيرسيتين) والتركيبات المختلفة (مستخلص الأوراق المائي والكولشيسين، مستخلص الأوراق المائي والكيرسيتين) باستخدام الخميرة *Saccharomyces cerevisiae* كنموذج تجريبي. وتُقدّر قدرة الخلية على البقاء باستخدام بضع زرقاء من المثيلين، بناءً على آلية الأكسدة والاختزال التي يتم فيها تلوين الخلايا الميتة باللون الأزرق بينما تظل الخلايا الحية عديمة اللون. قدرت نسب السمية الخلوية بـ $73.08 \pm 12.74\%$ للمستخلص المائي لأوراق *Peganum Harmala* L.، $78.2 \pm 4.72\%$ للمستخلص المركب من *Peganum Harmala* L. و *colchicine*، $47.02 \pm 2.96\%$ بالنسبة للكيرسيتين و $72.38 \pm 2.62\%$ بعد ارتباط الأخير بالمستخلص الورقي المائي. وبالمثل، لوحظ حدوث نخر في المستخلص المائي لأوراق *Peganum Harmala* L. والمستخلص المركب من *Peganum Harmala* L. مع الكولشيسين. لذلك يُظهر هذا النبات تأثيرًا مميّنًا للخلايا بالإضافة إلى تثبيط نمو الخلايا، مما يدفعنا لاستغلال هذا المسار للعثور على الجزيئات النشطة بيولوجيًا التي يمكن أن تمنع تكاثر الخلايا السرطانية.

الكلمات المفتاحية

Peganum Harmala L. ، *Saccharomyces cerevisiae* ، سمية الخلوية ، مستخلص مائي، نشاط مضاد للتكاثر.