

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE



UNIVERSITE MOULOU D MAMMERI DE TIZI OUZOU  
FACULTE DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET DES  
SCIENCES AGRONOMIQUES  
DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE-MICROBIOLOGIE



**MEMOIRE DE MASTER 2**

**Spécialité : Sciences Biologiques**

**Option : Biochimie Appliquée**

Thème :

**Etude de l'activité antimitotique des extraits éthanoliques  
des feuilles de *Phlomis bovei* et *Verbascum sinuatum*.**

**Présenté par : M<sup>elle</sup> AMANI FARIDA**

**Soutenu le : 18/09/2018**

**Devant le jury composé de :**

<b>AICHE-IRATNI GHNIMA</b>	<b>Maître de conférences B</b>	<b>UMMTO Président</b>
<b>HOUALI KARIM</b>	<b>Professeur</b>	<b>UMMTO Promoteur</b>
<b>OUZID YASMINA</b>	<b>Docteur</b>	<b>UMMTO Co-promoteur</b>
<b>GHAZI-YAKER AMEL</b>	<b>Maître Assistant B</b>	<b>UMMTO Examinatrice</b>

**ANNEE UNIVERSITAIRE : 2017/2018**

## **Remerciements**

*Je tiens à remercier en premier lieu Dieu le tout puissant de m'avoir aidé à réaliser ce travail.*

*Je tiens à exprimer toute ma gratitude à Mr. Houali k., professeur en Microbiologie à l'université MOULOUD MAMMERI TIZIO-UZOU de m'avoir accueilli dans son laboratoire, d'avoir accepté d'encadrer ce travail et d'avoir pu bénéficier de ses conseils et de ses qualités pédagogiques.*

*Je suis très reconnaissante à M<sup>me</sup> IRARNI GHNIMA pour son apport durant mon cursus et l'honneur qu'elle me fait de présider le jury.*

*Je tien à exprimer toute ma reconnaissance à M<sup>elle</sup> OUZID YASMINA pour les encouragements et ses conseils utiles.*

*J'adresse ma reconnaissance à M<sup>me</sup> GHAZI-YAKER AMEL d'avoir accepté d'examiner ce travail.*

*J'exprime également ma reconnaissance M<sup>me</sup> RABEHI HOURIA l'ingénieur de labo pour sa gentillesse.*

*Je tien à exprimer toute ma gratitude à tout ceux qui ont participé, de près au de loin, à la réalisation de ce travail.*

## *Dédicaces*

*À la mémoire de mon frère OMAR et À la mémoire de mon neveu AMIROUCHE. Que leurs places soient au Paradis.*

*À mes parents, pour leur soutien inconditionnel, leur sacrifice ;*

*À mes frères et à mes sœurs, à mes neveux et nièce ;*

*À toute ma famille.*

## SOMMAIRE

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction générale.....1

### Partie bibliographique

1. Présentation des espèces végétales utilisées.....2

1.1. *Phlomis bovei*.....2

Introduction.....2

1.1.1. Etude ethnobotanique.....2

1.1.2. Etude phytochimique.....5

1.1.3. Activités biologiques.....7

1.2. *Verbascum sinuatum*.....8

Introduction.....8

1.2.1. Etude ethnobotanique.....10

1.2.2. Etude phytochimique.....11

1.2.3. Activités biologiques.....12

2. Mitose .....13

Introduction.....13

2.1. Les différentes étapes de la mitose.....14

2.2. Les inhibiteurs d'origine végétale de la mitose.....17

## **Partie expérimentale**

1. Matériels et méthodes.....	23
1.1. Matériels.....	23
1.1.1. Matériels végétales.....	23
1.1.2. Réactifs et solvants.....	23
1.2. Méthodes.....	24
1.2.1. Préparation de l'extrait ethanologique.....	24
1.2.2. Evaluation <i>in vitro</i> de l'effet antimittotique.....	24
1.3. Etude statistique.....	27
2. Résultats et discussion.....	27
Conclusion.....	41
Références bibliographiques.....	42
Annexes	

## Liste des abréviations

<b>Abréviation</b>	<b>Désignation</b>
T+	Témoin +
T-	Témoin -
EEV	Extrait Ethanolique <i>Verbascum sinuatum</i> .
EEP	Extrait Ethanolique <i>Phlomis bovei</i>
MS	Spectrophotométrie de masse.
SM	Solution Mère
C1	Concentration 1
C2	Concentration 2
IUCN	International Union for Conservation of Nature
APG II	Angiosperm Phylogeny Group II.
AND	Acid Desoxyribonucleique.
SCC1P	Sister Chromatid Cohesion 1p.
$\alpha$	Différence significative minimale $\leq 0,05\%$
GC	Chromatographie Phase Gazeuse.
MS	Masse Spectrophotométrie
HPLC	High-Performance Liquid Chromatography
KT-MTs	Kinetochore-Microtubules
GDP	Guanosine diphosphate
GTP	Guanosine triphosphate

## Liste des figures

N°	Intitulé	Page
1	Les parties aériennes de <i>P.bovei</i>	4
2	Présentation de la fleur de <i>P.bovei</i>	4
3	Structure de certains composants de genre <i>phlomis</i>	6
4	Feuilles de <i>Verbascum sinuatum</i>	11
5	Fleurs de <i>Verbascum sinuatum</i>	11
6	Fleure de <i>Verbascum sinuatum</i> avec des filets d'étamines violacés	11
7	Quelques composants bioactifs de <i>Verbascum sinuatum</i>	13
8	Différentes étapes du cycle cellulaire	15
9	Les différentes étapes de la mitose	17
10	Formation des microtubules	18
11	Liaison du paclitaxel à l'intérieur de microtubule	19
12	Structure et domaine de liaison du paclitaxel sur la tubuline	20
13	Vinblastine se liant sur la sous unité $\beta$ au niveau du pôle (+) du microtubule	20
14	Structure et domaine de liaison de la vinblastine sur la tubuline	21
15	La colchicine formant un complexe avec des dimères de tubuline à l'intérieur de la matrice des microtubules	22
16	Structure et domaine de liaison de la colchicine sur la tubuline	23
17	Principales étapes d'extraction	26
18	Protocole d'évaluation <i>in vitro</i> de l'effet antimittotique	27
19	Les différentes phases de la mitose observées chez les cellules méristématiques d' <i>Allium cepa</i> (X800)	29
20	Aberrations chromosomiques observées chez les cellules méristématiques d' <i>Allium cepa</i> traitées par la colchicine (X800)	29
21	Aberrations chromosomiques observées chez les cellules méristématiques en division mitotique d' <i>Allium cepa</i> traitées par la SM de <i>V.sinuatum</i> (X800)	31
22	Aberrations chromosomiques observées chez les cellules méristématiques en division mitotique d' <i>Allium cepa</i> traitées par la C1 de <i>V.sinuatum</i> (X800)	31

<b>23</b>	Aberrations chromosomiques observées dans les cellules méristématiques en division mitotique d' <i>Allium cepa</i> traitées par la C2 de <i>V.sinuatum</i> (X800)	<b>32</b>
<b>24</b>	Aberrations chromosomiques observées chez les cellules méristématiques en division mitotique d' <i>Allium cepa</i> traitées par la SM de <i>P.bovei</i> (X800)	<b>35</b>
<b>25</b>	Aberrations chromosomiques observées dans les cellules méristématiques en division mitotique d' <i>Allium cepa</i> traitées par C1 de <i>P.bovei</i> (X800)	<b>35</b>
<b>26</b>	Aberrations chromosomiques observées dans les cellules méristématiques en division mitotique d' <i>Allium cepa</i> traitées par C2de <i>P.bovei</i> (X800)	<b>35</b>
<b>27</b>	Comparaison des moyennes des indices mitotiques des extraits éthanoliques des feuilles de <i>V.sinuatum</i> et <i>P.bovei</i> en fonction de la concentration.	<b>38</b>

## Liste des tableaux

<b>N°</b>	<b>Intitulé</b>	<b>Page</b>
<b>I</b>	Classification de l'espèce <i>Phlomis bovei</i>	<b>3</b>
<b>II</b>	Constituants de l'huile essentielle des parties aériennes de <i>P. bovei</i> De Noé, par classe	<b>5</b>
<b>III</b>	Constituants principaux de l'huile essentielle des parties aériennes de <i>P. bovei</i> De Noé	<b>6</b>
<b>IV</b>	Classification systématique de l'espèce <i>Verbascum sinuatum</i>	<b>10</b>
<b>V</b>	Constituants majeurs de genre <i>Verbascum</i>	<b>12</b>
<b>VI</b>	Réactifs et solvants utilisés	<b>24</b>
<b>VII</b>	Les concentrations des différentes dilutions	<b>25</b>
<b>VIII</b>	Indices mitotiques des différents extraits éthanoliques	<b>28</b>
<b>XI</b>	Les moyennes des indices mitotiques classés en différents groupes homogènes par le test Newman-Keuls.	<b>39</b>

## Résumé

Les plantes médicinales sont la source de plusieurs molécules bioactives naturelles. La plupart de ces plantes restent encore sous exploitées dans le domaine médical. C'est dans cette optique que nous nous sommes intéressés à deux plantes de bassin méditerranéen très utilisées en médecine traditionnelle : *Verbascum sinuatum* et *Phlomis bovei* De Noé.

Notre travail consiste à évaluer l'activité antimittotique des extraits éthanoliques des feuilles des deux espèces: *Verbascum sinuatum* et *Phlomis bovei* De Noé. Cette étude, pas encore étudiée à notre connaissance, a été réalisée par le test d'*Allium cepa*. 5g de poudre de feuilles de *Verbascum sinuatum* et de *Phlomis bovei* de Noé ont été mises chacune dans 100 ml d'éthanol à 96%, puis mises à 4°C pendant 72 heures. Les extraits éthanoliques obtenus après filtrations et évaporation sont solubilisés dans l'eau distillée pour obtenir les solutions mères à partir desquelles des dilutions sont réalisées. Les différentes concentrations ainsi qu'un témoin positif (colchicine) et un témoin négatif (eau distillé) sont évaluées par des indices mitotiques et des observations microscopiques.

Les résultats obtenus indiquent clairement que les extraits éthanoliques des feuilles de chacune de *Verbascum sinuatum* et *Phlomis bovei* présentent une activité antimittotique louable et variable en fonction des concentrations. Tous les indices mitotiques ont diminué comparé au témoin négatif et les observations microscopiques ont révélé des aberrations chromosomiques (condensations et fragmentations chromosomiques, désorganisation de la plaque équatoriale lors de la métaphase...) et cellulaires. Cependant *Verbascum sinuatum* présente une action antimittotique plus élevée. Les tests statistiques confirment ces résultats.

En conclusion, le travail mené a permis de mettre en évidence une nouvelle activité de *Verbascum sinuatum* et *Phlomis bovei* De Noé.

**Mots clé :** Extraits éthanoliques foliaires, *Verbascum sinuatum*, *Phlomis bovei* De Noé, activité antimittotique.

## Summary

Medicinal plants are the source of several natural bioactive molecules. Most of these plants are still under exploited in the medical field. It is in this perspective that we are interested in two Mediterranean plants widely used in traditional medicine: *Verbascum sinuatum* and *Phlomis bovei De Noé*.

Our work consists in evaluating the antimitotic activity of the ethanolic leaf extracts of the two species: *Verbascum sinuatum* and *Phlomis bovei De Noé*. This study, not yet studied to our knowledge, was performed by the test of *Allium cepa*. 5g of *Verbascum sinuatum* leaf powder and Noe's *Phlomis bovei* were each placed in 100ml of 96% ethanol and then put at 4 ° C for 72 hours. The ethanolic extracts obtained after filtration and evaporation are solubilized in distilled water to obtain the stock solutions from which dilutions are made. The different concentrations as well as a positive control (colchicine) and a negative control (distilled water) are evaluated by mitotic indices and microscopic observations.

The results obtained clearly indicate that the ethanolic extracts of the leaves of each of *Verbascum sinuatum* and *Phlomis bovei* exhibit a commendable antimitotic activity that is variable as a function of the concentrations. All mitotic indices were reduced compared to the negative control and microscopic observations revealed chromosomal aberrations (chromosome condensation and fragmentation, equatorial plate disruption during metaphase, etc.) and cellular aberration. However, *Verbascum sinuatum* has a higher antimitotic action. Statistical tests confirm these results.

In conclusion, this work carried out a new activity of *Verbascum sinuatum* and *Phlomis bovei De Noé*.

**Key words:** Leaf ethanol extracts, *Verbascum sinuatum*, *Phlomis bovei De Noe*, antimitotic activity.

## ملخص

النباتات الطبية هي مصدر العديد من الجزيئات الحيوية النشطة بيولوجيا. لا تزال معظم هذه النباتات غير مستغلة في المجال الطبي. ومن هذا المنظور نحن مهتمون بنبتين من مناطق البحر المتوسط يستخدمان على نطاق واسع في الطب التقليدي و هما *Phlomis bovei De Noé* و *Verbascum sinuatum*.

يتمثل عملنا من تقييم النشاط المضاد للانقسامات الخلوية لمستخلصات الإيثانول لاوراقك من *Phlomis bovei De Noé* و *Verbascum sinuatum*. هذه الدراسة التي لمعرفتنا لم تدرس بعد، تم إجراؤها من خلال اختبار *Allium cepa*. تم وضع كل من 5 جم من مسحوق أوراق كل من *Verbascum sinuatum* و *Phlomis bovei De Noé* في 100 مل من الإيثانول بنسبة 96% ثم وضع عند 4 درجة مئوية لمدة 72 ساعة. تذوب مستخلصات الإيثانول التي يتم الحصول عليها بعد الترشيح والتبخير، في الماء المقطر للحصول على المحلول الرئيسي الذي يتم إجراء التخفيفات عليه. تم تقييم التركيزات المختلفة بالإضافة إلى الاختبار الإيجابي (الكولشيسين) و السلبي (الماء المقطر) بواسطة المؤشرات الانقسامية والملاحظات المجهرية.

تشير النتائج التي تم الحصول عليها بوضوح إلى أن المستخلصات الإيثانولية لأوراق كل من *Verbascum sinuatum* و *Phlomis bovei De Noé* تظهر نشاطًا مضادًا للانقسامات الخلوية و يتغير بتغير التركيزات. انخفضت جميع المؤشرات الانقسامية مقارنة مع الاختبار السلبي وكشفت الملاحظات المجهرية انحرافات صبغية (تكاثف الكروموزومات وتجزئتها ، واضطراب اللوحة الاستوائية ...) والانحرافات الخلوية. ولقد لاحظنا أن النوع النباتي *Verbascum sinuatum* لديه عمل مضاد للانقسامات أعلى. كل الاختبارات الإحصائية تؤكد هذه النتائج في الختام، فإن العمل المنجز جعل من الممكن تسليط الضوء على نشاط جديد لـ *Verbascum sinuatum* و *Phlomis bovei*.

**الكلمات المفتاحية:** مستخلصات الإيثانول للأوراق ، *Verbascum sinuatum* ، *Phlomis bovei De Noé* ، نشاط مضاد للانقسامات الخلوية.

# Introduction

---

Le règne végétal est une source inépuisable de molécules pouvant présenter un intérêt thérapeutique. Une grande partie des recherches actuelles porte sur l'étude des métabolites secondaires qui constituent souvent des principes actifs des nouveaux médicaments (CORDELL et COLVARD, 2005).

Dans ce cadre, certaines plantes représentent des mines de composés bioactifs tels que les espèces des deux genres *Verbascum* et *Phlomis* qui sont connus pour la richesse de leur famille en métabolites secondaires (diterpènes, polyphénols, flavonoïdes, Iridoides ...). Ce sont des plantes largement réparties dans le bassin méditerranéen et très utilisées en médecine traditionnelle (ZHANG et WONG, 2008).

Les espèces *Phlomis* ont été utilisées pour le traitement du diabète, des hémorroïdes, l'inflammation des plaies..., et les espèces molènes (*Verbascum*) sont très appréciées dans le traitement de l'inflammation et des maladies respiratoires (BOCA, 2004 et KHOSHNOUD et al., 2008).

Depuis 2004, le cancer est devenu la cause de mortalité précoce la plus fréquente, dépassant ainsi le nombre de décès dus aux accidents cardio-vasculaires. Différents modes de traitements sont possibles comme la chimiothérapie, mais la plupart de ces traitements présentent encore des désavantages car ils sont souvent associés à d'autres traitements pour être efficace et engendrent des effets secondaires dus au manque de sélectivité des produits. Il est donc essentiel de poursuivre la recherche dans la découverte de nouveaux anticancéreux afin d'améliorer l'efficacité de cette thérapie (RAFIEMANESH, 2016).

Dans ce contexte, deux espèces végétales algériennes : *Verbascum sinuatum* appartenant à la famille des *Scrophulariacées* et *Phlomis bovei* De Noé appartenant à la famille des *Lamiacées* ont suscité notre intérêt en raison de leurs nombreuses vertus thérapeutiques en médecine traditionnelle.

Notre travail consiste en l'évaluation *in vitro* de l'activité antimétabolique des extraits éthanoliques foliaires des deux espèces: *Phlomis bovei* et *Verbascum sinuatum* sur les cellules méristématiques des racines des bulbes d'oignons. L'objectif de notre travail est la recherche de la présence d'inhibiteurs de la mitose chez ces deux espèces. Nous avons structuré notre travail comme suit :

- Une partie bibliographique ;
- Une partie expérimentale.

# Partie Bibliographique

---

## 1. Présentation des espèces végétales utilisées

### 1.1. *Phlomis bovei*

Le genre *Phlomis*, comprend plus de 100 espèces distribuées dans le monde (KATAYOUN *et al.*, 2004). Il est très utilisé en médecine traditionnelle dans de nombreuses régions, notamment en Chine et en Iran où elle représente les herbes les plus populaires (ZHANG *et al.*, 2008). En Algérie, il existe quatre espèces : une *Phlomis herba-venti* et les trois autres ce sont des espèces endémiques : *Phlomis bovei*, *P. caballeroi* et *P. crinita* (QUEZEL *et al.*, 1963). L'espèce *Phlomis bovei* De Noé est répartie dans la région méditerranéenne principalement en Algérie et en Tunisie (ZAABAT, 2010). Elle occupe une place importante dans la chênaie verte à tendance froide du Djurdjura en Algérie (MEDOUR *et al.*, 2010).

Le genre *Phlomis* en Algérie est utilisé en médecine traditionnelle pour soigner les inflammations et les rhumatismes (KABOUCHE *et al.*, 2004) et l'espèce *Phlomis bovei* est utilisée en tant que colle, comme cicatrisante pour traiter les brûlures, les lésions et les infections de peau et les allergies (LIOLIOS *et al.*, 2007).

Le *Phlomis bovei* De Noé était l'espèce la plus recommandée par les herboristes et très utilisée en médecine traditionnelle à Oran-Algérie pour leurs activités de guérison (KHITRI *et al.*, 2014).

L'utilisation de cette plante par les ancêtres et les effets bénéfiques reconnus pour celle-ci expliquent l'intérêt que lui apportent les chercheurs. C'est l'une des neuf plantes répertoriées dans le rapport national sur la diversité biologique (QUEZEL *et al.*, 1963).

#### 1.1.1. Etude Ethnobotanique

*Phlomis* est l'ancien nom grec de cette plante et vient de *phlox*, qui signifie *flamme*. En effet, ces feuilles servaient de mèches de lampes. Le nom de l'espèce *bovei* est dédié à Nicolas Bové, botaniste français qui a exploré l'Algérie de 1837 à 1841 (BRAY, 2011).

*Phlomis bovei* De Noé est une plante endémique en Algérie. Connue sous le nom de Kayat El Adjarah. Elle est diversement nommée Farseouan, Tarseouan, Iniji, R'ilef et Azaref dans tout le nord de l'Afrique (QUEZEL *et al.*, 1963).

# Partie Bibliographique

*P.bovei* appartient à la famille des Les Labiées ou Lamiacées, elle constitue une importante famille de plantes angiospermes dicotylédones herbacées ou légèrement ligneuses (HEYWOOD *et al.*, 2007). La classification systématique de l'espèce *Phlomis bovei* est reprise au niveau du tableau I.

La plupart des plantes Lamiacées forment des arbustes. Elles se caractérisent par la présence de glandes épidermiques aromatiques et contiennent ordinairement des carbohydrates tels que le stachyose (GUIGNARD *et al.*, 2001). Il s'agit d'une vaste famille, très typique du monde végétal, due à la production des huiles essentielles et de miel (les miels de lavande, et de romarin sont réputés). Cette famille est très répandue dans les régions tempérées et surtout méditerranéennes (GUIGNARD *et al.*, 2004).

**Tableau I:** Classification de l'espèce *Phlomis bovei* (ZAABAT, 2010).

<b>Règne</b>	<b>Plantae</b>
<b>Embranchement</b>	<b>Angiosperme</b>
<b>Classe</b>	<b>Dicotyledone</b>
<b>Sous classe</b>	<b>Asteridées</b>
<b>Ordre</b>	<b>Lamiales</b>
<b>famille</b>	<b>Lamiacées</b>
<b>Sous famille</b>	<b>Lamoideae harley</b>
<b>Genre</b>	<b><i>Phlomis L</i></b>
<b>Espèce</b>	<b><i>Phlomis Bovei De Noé</i></b>

*P. bovei* est une plante herbacée vivace, qui peut atteindre jusqu'à 0,8 m. Développe souvent une base boisée robuste. Toutes les parties sont collantes à cause de son dendroïde poils glandulaires étoilés. Contient des feuilles basales vertes, en forme de cœur, avec des bords festonnés (Figure1) (LIOLIOS *et al.*, 2007) et des tiges dressées, peu rameuses, feuillées, quadrangulaire. (BENISTON ,1984). Les fleurs mesurent jusqu'à 3cm de long, sont rosâtres et densément groupées en verticilles. Le pétale supérieur est fortement courbé (Figure2). Calice tubuleux, à 5 dents longuement épineuses. Corolle tubuleuse bilabée, à lèvre supérieure, grande et recourbée en casque, à lèvre inférieure trilobée. Possède 4 étamines. Style bilobé. Fruits se composant de 4 akènes, fleurit Juin-Aout (BRAY, 2011).

## Partie Bibliographique

---



**Figure 1:** Les parties aériennes de *P.bovei* (BRAY, 2011)



**Figure2 :** Présentation de la fleur de *P.bovei* (ZAABAT, 2010).

# Partie Bibliographique

## 1.1.2. Etude phytochimique :

Une des propriétés typiques du genre *Phlomis* est sa richesse en différentes classes des composés naturels, 151 composés ont été isolés jusqu'à présent. On y trouve, en effet, des flavonoïdes (El-NEGOUMY *et al.*, 1986), des phenylpropanoïdes (CALIS *et al.*, 1991 ; SARACOGLU *et al.*, 1995), des phenylethanoïdes (SARACOGLU *et al.*, 1998), des terpenoïdes (KATAGIRI *et al.*, 1994) et des iridoïdes (MOHAGER *et al.*, 2006).

L'espèce *P.bovei*, elle seule, est autant riche que le genre. Des composés phytochimiques (métabolites secondaires) de *P.bovei* ont été extraits de ses parties aériennes par distillation à la vapeur, de l'huile essentielle est obtenue et a été analysé par GC et GC / MS. Soixante-quinze constituants (correspondant à 86,37% du poids total) ont été identifiés. Les composants majeurs étaient: germacrène D,  $\beta$ -caryophyllène,  $\beta$ -bournonène, thymol et hexahydrofarnesyl acétone. Cette étude a également révélé la présence de d'hydrocarbures saturés. Les classes de ces composants sont présentées dans le tableau II et Les principaux composants détaillés de cette espèce sont présentés dans le tableau III (LIOLIOS *et al.*, 2007). La structure de certains composants principaux est représentée dans la figure 3.

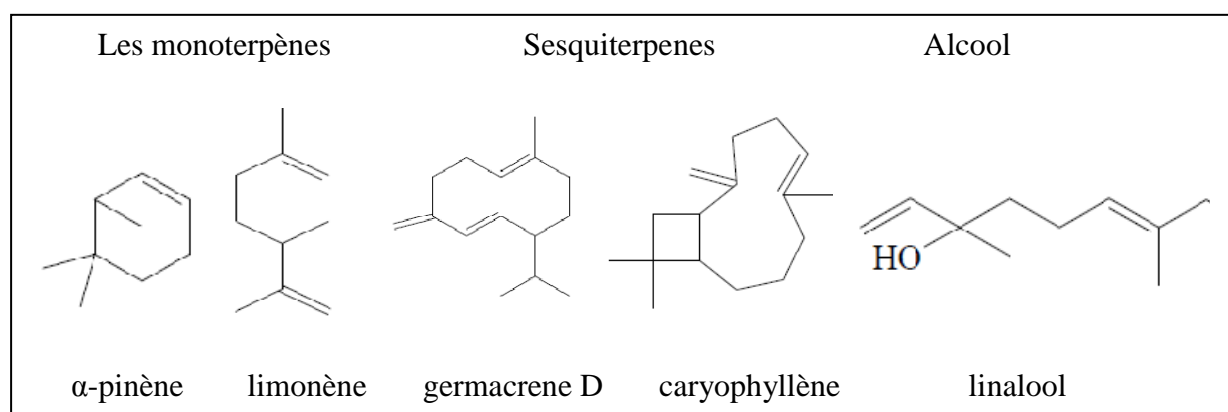
**Tableau II :** Constituants de l'huile essentielle des parties aériennes de *P. bovei* De Noé, par classe (LIOLIOS *et al.*, 2007).

Classe	Composés
<b>Hydrocarbures Totale</b>	Mono terpènes
	Sesquiterpènes
	Hydrocarbures saturés
<b>Composés Oxygénés Totale</b>	Alcools
	Aldéhydes
	Cétones, Ether, Acides, Esters, Oxydes.

## Partie Bibliographique

**Tableau III :** Constituants principaux de l'huile essentielle des parties aériennes de *P. bovei* De Noé (LIOLIOS *et al.*, 2007).

N°	Composé
1	Hexahydro-Farnesyl Acetone
2	Spathulenol
3	$\alpha$ -pinene
4	Limonene
5	Cis- $\beta$ -Ocimene
6	$\delta$ -Cadinene
7	(E)-Methyl-Isoeugenol
8	$\delta$ -Bisabolene
9	$\alpha$ -Asarone
10	Thymol
11	Germacrene D
12	$\beta$ -Caryophyllene
13	$\delta$ -Muurolene
14	Linalool
15	E- $\beta$ -Farnescene
16	Cryophelene Oxyde
17	Bicyclogermacrene



**Figure 3 :** Structure de certains composants de genre *phlomis* (RISTIC *et al.*, 2000).

# Partie Bibliographique

---

## 1.1.3. Activités Biologiques

Des recherches ont été menées dans un large éventail de domaines différents pour le genre *Phlomis*, et toutes ont montré la diversité de ses composés secondaires. En raison de cela, plusieurs activités biologiques lui sont conférées. Les essais menés dans des conditions *in vivo* confirment l'activité antidiabétique, analgésique, antiulcérogène, effets anti inflammatoires de ce genre, et aussi les effets conservateurs, antibactériens et antifongiques et activités anticancéreuses de *Phlomis* (OZLEM DOGAN ŞIGVAL *et al.*, 2017). Certaines espèces de *Phlomis* sont utilisées comme immunosuppresseur (PARISA *et al.*, 2006), antipyrétique, antidiarhéque, antiallergique (OPREDELITEL, 1987). L'huile essentielle de ce genre joue un rôle important au niveau nutritionnel et en fabrication des médicaments, on s'en sert également comme insecticide (ZARGARI, 1960). Une activité antiparasitaire contre le *Leishmania donovani*, *Plasmodium falciparum* et *Trypanosoma brucei rhodesiense* ont également été détectée pour ce genre (TASEDMIR *et al.*, 2005). Chez le genre *Phlomis*, les flavonoïdes et les phénylpropanoïdes sont plus abondants que les diterpènes, ce qui explique ses propriétés aromatiques dues aux constituants volatils (ZAABAT, 2010).

En ce qui concerne l'espèce *Phlomis bovei* De Noé, de nombreuses études ont montré qu'elle est riche en composés chimiques. En effet les analyses de l'huile essentielle de cette espèce font l'objet de plusieurs publications (ZHANG *et al.*, 2008).

L'huile essentielle de *Phlomis bovei* De Noé a présenté une activité antimicrobienne contre plusieurs types de microorganismes, six bactéries Gram (+/-) et trois champignons pathogènes, en utilisant la dilution d'agar technique. (*S.aureus*, *S.epidermidis*, *P.aeruginosa*, *E.cloaceae*, *K.pneumoniae*, *E.coli*, *C.albicans*, *C.tropicalis*, *C.glabbrata*.), en comparaison avec les antibiotiques testés, le  $\beta$ -caryophyllène et le thymol (LIOLIOS *et al.*, 2007). Cette huile possède une bien meilleure activité antimicrobienne par rapport à tous les autres échantillons testés (ALIGIANNIS *et al.*, 2004). Cette activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *P. bovei* peut être attribuée dans une large mesure à la présence de germacrène D et le thymol, qui est bien connu pour posséder une forte activité antimicrobienne (JUTEAU *et al.*, 2002).

L'utilisation de nos ancêtres de cette espèce pour soigner les plaies a été démontré par plusieurs recherches, on cite comme exemple, l'évaluation de la guérison par l'effet de *Phlomis bovei* chez des rats wistar albinos par excision et qui a montré une amélioration

# Partie Bibliographique

---

significative avec une augmentation de 5% de la cicatrisation de surface par rapport au groupe témoin et un gain de trois jours de temps d'épithélialisation avec une cicatrice histologiquement meilleur (KHITRI *et al.*, 2014).

## **1.2. *Verbascum sinuatum***

Le genre *Verbascum*, communément appelé "molène", comprend environ 360 espèces, Il est largement distribué dans le nord tempéré l'Europe, l'Asie et Afrique. il est assez connu, ses différents extraits ont été utilisés dans la médecine traditionnelle depuis des siècles dans presque toutes les parties du monde (STOODEH, 2015). C'est une plante méditerranéenne, elle est très commune dans le Tell algérien. Elle se développe dans les champs et les pelouses, sur les terres en friche, au bord des chemins, dans les jardins et sur les sols arides (BRAY, 2011).

### **1.2.1. Etude Ethnobotanique**

*Verbascum* vient de *barbascum* et signifie *barbu* en référence au fait que la plante est couverte d'un duvet cotonneux et que les étamines sont barbues. *Sinuatum* décrit les feuilles de la rosette qui sont dentées et ondulées, cette espèce est d'ailleurs communément appelée Molène à feuilles sinuées (BRAY, 2011). En Algérie, on nomme *V. sinuatum* "Bouçira" (BENISTON, 1984), "Ouden el hmar", "Mouçaleh elandar" (BRAY, 2011).

L'utilisation traditionnelle des plantes de molène a été le sujet traité dans plusieurs manuels et littérature scientifique. Ce sont des plantes médicinales très appréciées dans le traitement de l'inflammation, l'asthme, la toux spasmodique et d'autres maladies des voies respiratoires. Le genre *Verbascum* est la plupart du temps utilisé en décoctions et infusions (ARMATU *et al.*, 2011) aussi en poudre, en pommade, en crème (JARADAT *et al.*, 2015). Les feuilles ont été utilisées comme diurétique, sudorifique, expectorant, sédatif et constipé et les graines de certaines espèces sont utilisés pour la pêche en raison de leur contenu en saponine toxique pour les poissons (KHOSHNOUD *et al.*, 2008) Certains espèces de ce genre ont été couramment cultivés comme ornementaux (STOODEH, 2015). Une ancienne pratique aussi intéressante c'est l'utilisation des parties de plantes ou d'extraits de plantes de ce genre pour protéger les produits stockés de dégâts d'insectes (DEMNATI et ALLACHE, 2014).

# Partie Bibliographique

Les fleurs de ce genre sont connues pour leurs effets mucolytiques et expectorants (KHOSHNOUD *et al.*, 2008). Sont aussi utilisées contre les maladies oculaires. La fleur cueillie le matin avant le lever du soleil ou le soir quand elle est épanouie, est triturée à travers une gaze propre. Le jus est mis à décanter pendant 3 jours et le surnageant est employé en instillation dans les yeux (BOUKEF, 1986).

L'espèce *Verbascum sinuatum* fait partie de la famille des Scrophulariaceae, c'est une grande famille appartenant à l'Ordre des Lamiales, composé principalement d'herbes tempérées du nord et de quelques arbustes (BREMER *et al.*, 2009).

Les Scrophulariaceae sont largement distribuées des régions tempérées aux régions tropicales, mais particulièrement diversifiée en Afrique et c'est une famille cosmopolite, c'est relativement pauvre dans les régions densément boisées du monde (FISCHER, 2004). La classification systématique de cette espèce est résumée dans le tableau suivant.

**Tableau IV** : Classification de l'espèce *Verbascum sinuatum* (STOODEH, 2015).

<b>Super Embranchement</b>	<b>Spermatophyte</b>
<b>Embranchement</b>	Angiosperme
<b>Classe</b>	Eudicotylédone
<b>Sous-classe</b>	Asteridae
<b>Ordre</b>	Lamiales
<b>Famille</b>	Scrophulariaceae
<b>Tribu</b>	Verbaceae
<b>Genre</b>	<i>Verbascum</i>
<b>Espèce</b>	<i>Verbascum sinuatum</i>

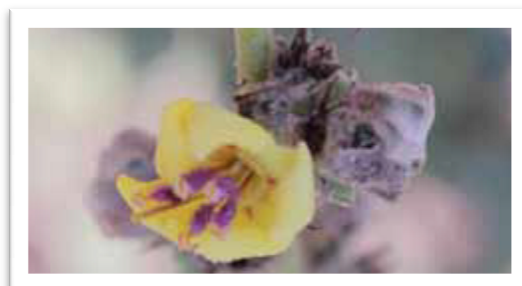
L'espèce *Verbascum sinuatum* est une plante herbacée bisannuelle de 50 cm à 1 m de hauteur, portant des poils courts grisâtres ou jaunâtres et à tige très ramifiée dès le bas, robuste et arrondie. Les feuilles de cette espèce sont basales, grandes, oblongue-lancéolé, tomenteuses, sinuées, disposées autour de la tige et elles sont plates et ondulées ; les feuilles supérieures alternes et sans pétiole (sessile) (Figure 4). Les fleurs sont d'un jaune doré, courtement pédicellées, disposées en petites grappes espacées, à petites bractées (Figure 5). Calice à cinq divisions ovales-lancéolées. Corolle à tube très court, à cinq lobes obovales étalés en roue, mesurant jusqu'à 2 cm de diamètre. Les filets des cinq étamines portent de longs poils violacés (Figure 6), un style, fruits capsulaires, fleurit Juin-Octobre (BENISTON, 1984).



**Figure 4 :** Feuilles de *Verbascum sinuatum* (JARADAT *et al.*, 2015).



**Figure 5 :** Fleurs de *Verbascum sinuatum* (JARADAT *et al.*, 2015).



**Figure 6 :** Fleure de *Verbascum sinuatum* avec des filets d'étamines violacés (BRAY, 2011).

# Partie Bibliographique

## 1.2.2. Etude Phytochimique

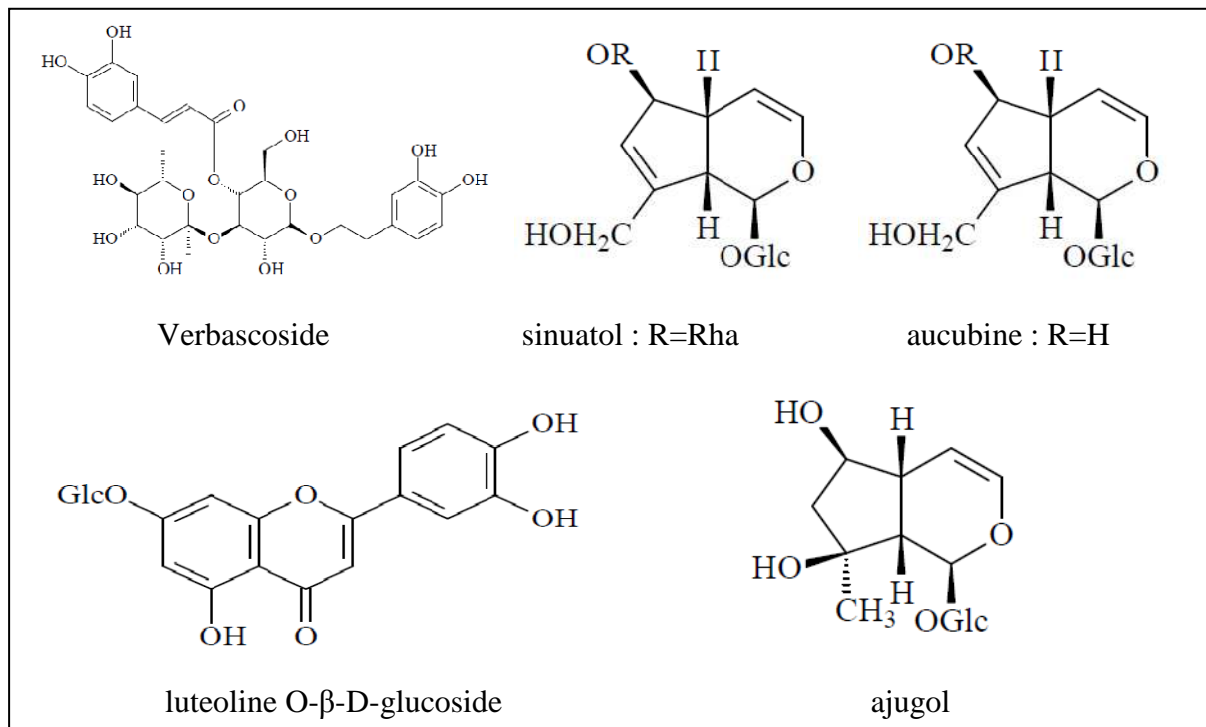
Les métabolites primaires sont constitués de protéines, glucides et lipides. Les métabolites secondaires, diffèrent en fonction des espèces. Bien que leurs rôles soient encore mal connus, il est cependant clair qu'ils interviennent dans les relations qu'entretient la plante avec les organismes vivants qui l'entourent. Ces différentes relations ont donné lieu à une extrême diversification des composés secondaires. À ce sujet, les espèces du genre *Verbascum* ont été largement étudiées. Il ressort de ces études que les principaux métabolites secondaires du ce genre sont constitués de saponosides qui sont des substances hétérosidiques et d'iridoïdes (DRANDAROV, 1997). Qui sont des mono terpènes caractérisés par un squelette cyclopenta pyranique à jonction cis, partiellement hydrogéné. Ils ont une fonction éno-éther très caractéristique qui s'ouvre facilement s'il n'y a pas de sucre lié (EVAN, 2002). Mais on en trouve également des alcaloïdes, phényléthanoïdes glycosilés, lignanes glycosilés, stérones, acides sesquiterpéniques, Flavones, Flavonolignanes (AKEDMIR, 2004). Les constituants majeurs de genre *Verbascum* sont présentés dans le tableau V.

**Tableau V** : Constituants majeurs de genre *Verbascum* (BRADLEY, 2006).

Classe	Composés
<b>Irioides glycosides</b>	aucubin; catalpol; 6-xylosylaucubin; 6-xylosylcatalpol; 6-(4'' pcoumaroyl)-xylosylaucubin (nommé phlomoïde); iridoïdester glycoside-nommé specioside
<b>Flavonoïdes</b>	tamarixetin 7-rutinoside (prédominant); tamarixetin 7-glucoside; apigenin, luteoliVn - 7-glucosides; diosmin; chrysoeriol; eriodictyol; kaempferol; quercetin; rutin
<b>Phenylethanoid glycosides</b>	verbascoside (acteoside); traces de forsythoside B (verbascoside 6'-apioside)
<b>Saponines tri terpène</b>	verbascosaponin; verbascosaponin A; verbascosaponin B; desrhamnosyl verbascosaponin
<b>Polysaccharides</b>	Arabinogalactan- $\beta$ -1,6-linked galactan backbone; arabinogalactan; xyloglucan
<b>Acides phénoliques</b>	vanillic, <i>p</i> -hydroxybenzoic, <i>p</i> -coumaric, ferulic, protocatechuic et <i>p</i> hydroxycinnamic acids; <i>p</i> -coumaric acide glucoside
<b>Autres constituants</b>	phytosterol glycosides; digiprolactone; acides gras .

# Partie Bibliographique

Plusieurs études ont aussi montré que l'espèce *Verbascum sinuatum* présente à elle seul plusieurs métabolites secondaires. Une étude de cette espèce a identifié des composés chimiques bioactifs par la méthode de fractionnement bio guidé suivi d'une purification au moyen de diverses méthodes chromatographiques dont la HPLC. Cette étude a permis d'identifier cinq principes actifs : verbascosid, sinuatol, aucubine, luteoline 7-O- $\beta$ -D-glucoside et ajugol (Figure 7) (SENATORE *et al.*, 2007).



**Figure 7** : Quelques composants bioactifs de *Verbascum sinuatum* (SENATORE *et al.*, 2007).

### 1.2.3. Activités Biologiques

Les espèces du genre *Verbascum* sont très utilisées en médecine traditionnelle autour du monde. Leurs constituants phénoliques et flavonoïdes sont considérés comme responsables de l'action anti-inflammatoire et antimicrobienne, connu aussi pour leurs propriétés diurétiques, analgésiques, expectorantes et antiseptiques (ARMATU *et al.*, 2011).

*Verbascum* contient des saponides qui ont des propriétés moussantes et constituent ainsi de très bons émulsifiants. Leur propriété physique principale est de réduire fortement la tension superficielle de l'eau. Elles doivent leur nom au fait qu'elles produisent de la mousse

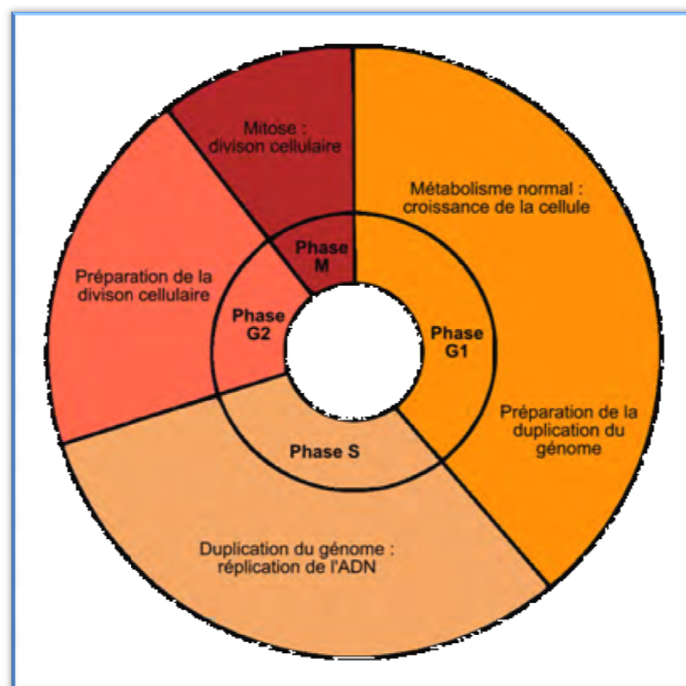
# Partie Bibliographique

quand on les plonge dans l'eau. Ces hétérosides sont utilisés dans les extincteurs à mousse et pour la fabrication de préparations tensioactives (DEWIK, 2002).

Les feuilles, racines et fleurs de l'espèce *Verbascum sinuatum* présentent des activités : antiseptique, antispasmodique, analgésique et antileischmanique. Différents extraits de *V. sinuatum* ont été étudiés pour leurs activités antibactériennes, antifongiques, antivirales, antipaludéennes. L'extrait méthanolique de la plante présente des activités antibactériennes et allopathiques. En effet, une étude a montré que cet extrait possède un effet sur treize bactéries utilisées, Les bactéries à gram positif se révèlent plus sensibles (SENATOR *et al.*, 2007). Cette espèce présente aussi des activités insecticides mises en évidence par des tests *in vitro* et *in vivo* (DUGLER *et al.*, 2002 ; SENGUL *et al.*, 2005 ; KHOSHNOUD *et al.*, 2008 ; SENER et DUGLER 2009).

## 2. La mitose

Le cycle cellulaire décrit la vie d'une cellule depuis sa formation à partir d'une cellule mère jusqu'à sa division en deux cellules filles. Un cycle de division cellulaire chez les Eucaryotes est constitué de l'interphase (G1, S, G2) et la mitose (MALUMBRE *et al.*, 2009) (Figure 8).



**Figure 8 :** Différentes étapes du cycle cellulaire (CHEESMAN *et al.*, 2008).

# Partie Bibliographique

---

L'interphase est l'étape entre les divisions cellulaires, elle représente généralement 90% de la durée du cycle. Elle est caractérisée par un accroissement du volume cellulaire, et la duplication des chromosomes. Elle est subdivisée en 3 phases : G1, S et G2.

La phase G1 (le G est tiré de l'anglais gap, signifiant pause), est une phase durant laquelle les cellules ne sont pas dans le processus de division cellulaire. La cellule est en état de prolifération et préparation à la division cellulaire en produisant les protéines nécessaires au bon déroulement de la division, et en contrôlant l'intégrité de son matériel génétique. Si la cellule est de taille suffisante, et si son ADN ne comporte pas de lésions, alors elle va passer en phase S. Pendant la phase S, les chromosomes se répliquent. Le bon déroulement de cette phase est conditionné par la préparation de la cellule durant les phases précédentes du cycle cellulaire (REMUS *et al.*, 2009).

La phase G2 permet à la cellule de se préparer à la mitose, notamment via la réplication des centrosomes. Un centrosome, ou centre organisateur des microtubules, est un organelle non membraneux qui permet l'organisation de l'assemblage des microtubules, qui sont des fibres du cytosquelette, et ce tout au long du cycle cellulaire (KRAMER *et al.*, 2004).

## 2.1. Les différentes étapes de la mitose

La mitose correspond à la division cellulaire proprement dite pendant laquelle une cellule mère se divise en deux cellules filles. Elle se déroule en quatre étapes définies sur des critères cytologiques s'effectue de façon beaucoup plus rapide (environ 1 heure) (figure 9). Plusieurs classes de molécules sont nécessaires à l'établissement de la mitose et au déroulement des quatre phases majeures (DOERNER, 2000).

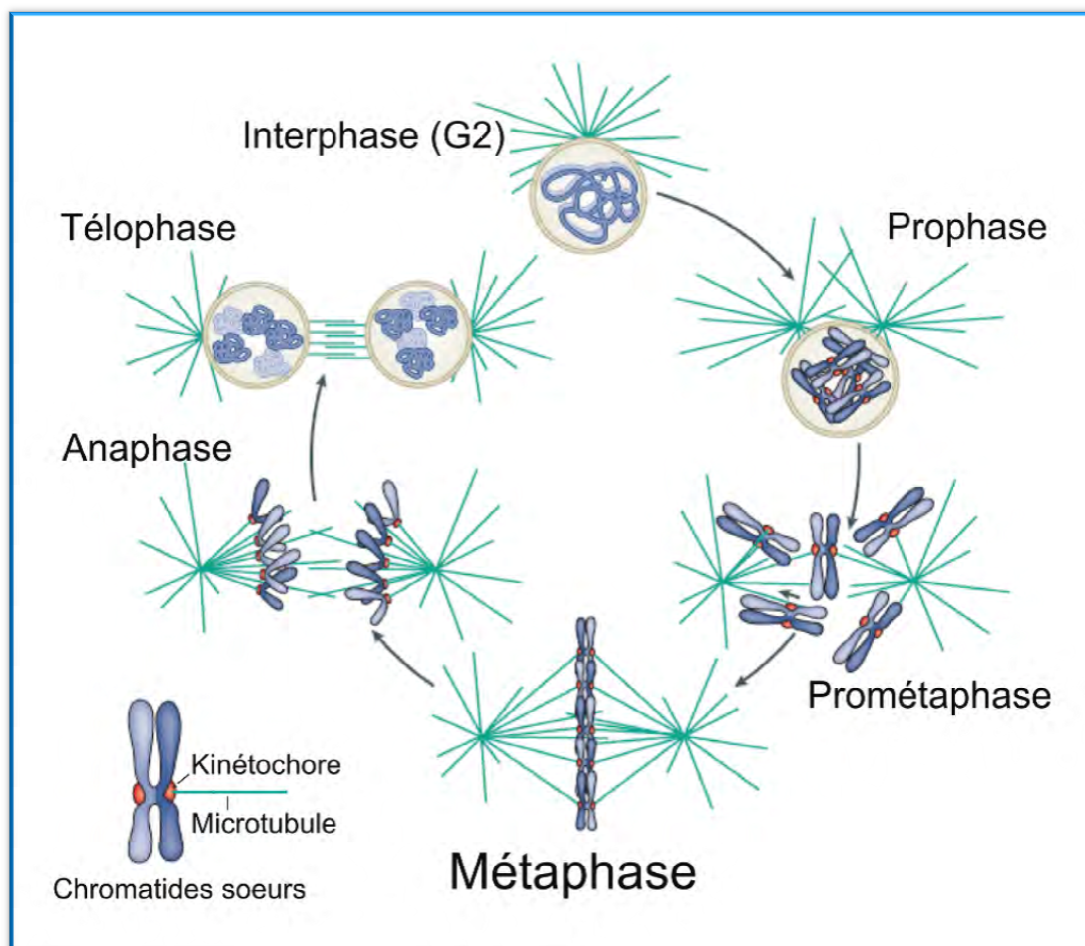
**Prophase :** le matériel génétique se condense par l'intermédiaire de protéines de cohésion, SCC1P (GOTTSCLING et BERG, 1998). L'enveloppe nucléaire se dissout suite à la phosphorylation des protéines situées à la face interne de la membrane nucléaire. Des fragments de membrane nucléaire forment des vésicules baignant dans le cytoplasme. Les microtubules (fibres constitutives du cytosquelette) sont réorganisés en un anneau cortical de préprophase sur le plan de division cellulaire et en un fuseau de prophase qui interagit avec les chromatides au niveau des kinétochores (complexes protéiques étroitement associés l'ADN centromérique) (BOETTCHER et BARRAL, 2013)

## Partie Bibliographique

**Métaphase :** L'anneau de pré prophase disparaît. Le fuseau mitotique de microtubules lié aux chromosomes par une protéine appelée kinétochore, les positionne sur le plan équatorial de la cellule (OLIVIERA *et al.*, 2010).

**Anaphase :** Les chromatides sœurs se séparent de façon synchrone sous l'action de la topoisomérase et migrent vers les pôles sous l'effet mécanique du fuseau mitotique à l'aide des microtubules kinétochoriens qui rétrécissent tandis que les microtubules polaires s'étirent donnant une forme allongée à la cellule (DOREE, 2003)

**Télophase :** Le fuseau mitotique disparaît. Des microtubules et des filaments d'actine néoformés, associés à des protéines motrices, respectivement de type kinesine et myosine, constituent le phragmoplaste. L'enveloppe nucléaire se forme autour des chromosomes décondensés (LUCH, 2002).



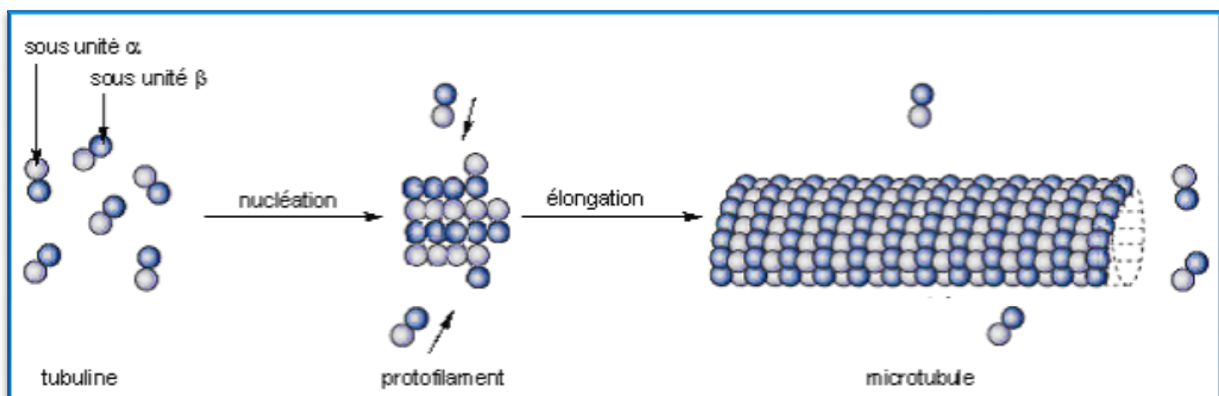
**Figure 9 :** Les différentes étapes de la mitose. Durant les phases de la mitose la cellule établit un fuseau mitotique par séparation de ses deux pôles (en vert) puis doit répartir la même quantité de chromosomes (en bleu) vers chacun des pôles (CHEESMAN *et al.*, 2008).

## Partie Bibliographique

Les microtubules sont l'un des constituants majeurs du cytosquelette. Ce sont des structures de forme tubulaire d'une longueur très variable pouvant aller jusqu'à plusieurs micromètres. Ils sont formés de dimères de tubuline. C'est une protéine hétérodimérique, constituée de deux sous unités  $\alpha$  et  $\beta$  (environ 50kDa chacune). Ces dimères forment des protofilaments qui après élongation conduisent à la formation de microtubules (13 protofilaments). Ces polymères linéaires sont des tubes creux de 25 nm de diamètre et qui peuvent aller jusqu'à quelques 25 $\mu$ m de longueur (Figure 10) (NOGALES *et al.*, 1999).

Les microtubules jouent un rôle structural et capital durant la division cellulaire, ils participent de manière active en fournissant une partie de l'énergie nécessaire au déplacement des chromosomes (BOETTCHER et BARRAL, 2013).

Le fuseau mitotique est principalement composé de deux types de microtubules. Les microtubules kinétochoriens (KT-MTs) sont les microtubules qui attachent les chromosomes par l'intermédiaire des kinétochores situés très souvent au niveau de la partie centromérique des chromatides. Les autres microtubules sont appelés les microtubules inter-polaires (ip-MTs ou « inter-polar microtubule » en anglais). Chacun des ip-MTs va provenir d'un des deux pôles du fuseau et s'entrecroisent de manière anti-parallèle les un aux autres afin de former la « midzone » (WINEY ET MAMAY, 1995 ; O'TOOLE *et al.*, 1999). Ces microtubules sont alors appelés les microtubules interdigités (« interdigitated microbutule » en anglais). La midzone est d'une importance particulière car elle est responsable de générer la force qui est contre-balancé en métaphase puis permet l'élongation du fuseau mitotique en anaphase. Par ailleurs, un grand nombre de molécules et de protéines sont capables de modifier la dynamicité des microtubules (PELLMAN *et al.*, 1995 ; SCHOLEY *et al.*, 2003 ; MAIATO *et al.*, 2004 ; MOGILNER *et al.*, 2006; COURTHEOUX *et al.*, 2009).



**Figure 10 :** Formation des microtubules (NOGALES *et al.*, 1999).

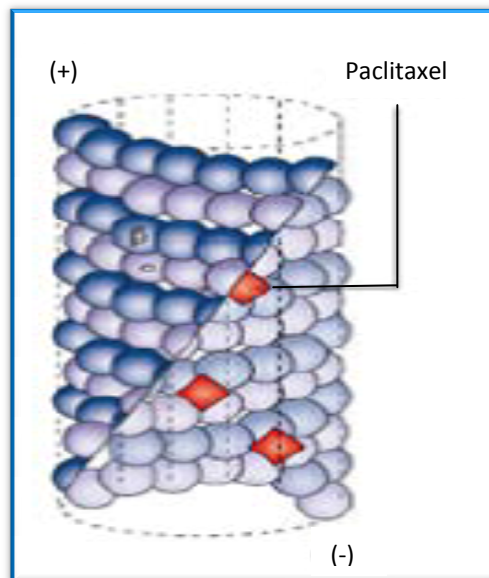
# Partie Bibliographique

## 2.2. Les inhibiteurs d'origine végétale de la mitose

Les antimitotiques d'origine végétale sont des composés très hétérogènes en termes 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 sites de fixation principaux de petites molécules sur la tubuline, celui des taxoïdes, celui des vinca-alcaloïdes et celui des alcaloïdes (colchicine). En raison de leur fort intérêt thérapeutique, la synthèse ou l'hémisynthèse d'analogues de ces molécules fait encore aujourd'hui, l'objet de nombreuses recherches (HAMEL, 1996).

Les taxoïdes sont des molécules isolés de l'écorce de *Taxus brevifolia*, le paclitaxel fut le premier à être identifié. Le paclitaxel et ses analogues structuraux semi-synthétiques (docétaxel notamment) constituent le groupe des taxanes et sont utilisés depuis les années 1990 dans le traitement de nombreux cancers (ALTMAN et GERTSCH, 2007).

Les taxoïdes sont des molécules qui stabilisent les microtubules et empêchent ainsi leur dépolymérisation, ce qui a pour effet de stopper le processus de la 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  $\beta$  à l'intérieur du tube que forment les microtubules (Figure 11) (DABYDEEN *et al.*, 2004)



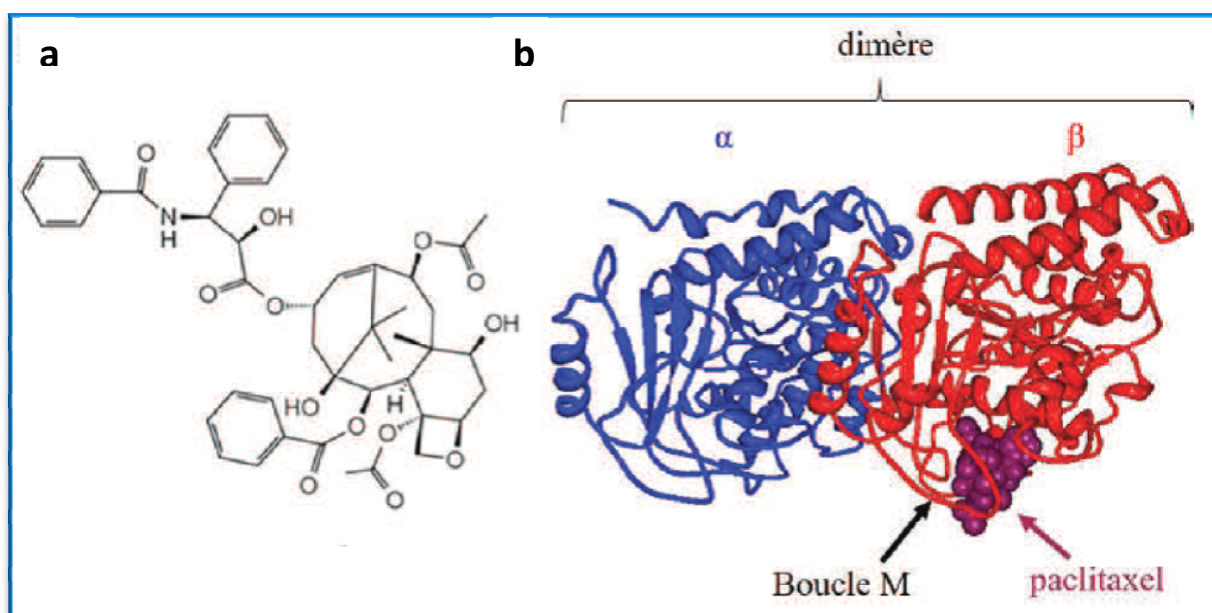
**Figure 11** : Liaison du paclitaxel à l'intérieur de microtubule

(ALTMAN et GERTSCH, 2007).

## Partie Bibliographique

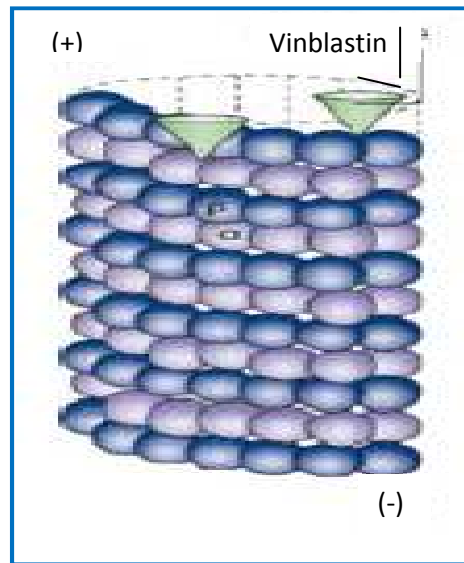
Le domaine de liaison des taxoïdes se situe sur la tubuline  $\beta$  entre la boucle M et une poche hydrophobe, au niveau de la partie luminale des microtubules (Figure 12). Ce site est accessible dans les microtubules préformés (DIAZ, 2000) et la cinétique de liaison du ligand à la tubuline est rapide (DIAZ, 2003). Ce qui suggère l'existence d'un domaine intermédiaire (le pore externe) auquel le composé antimittotique se lie pour accéder au site interne de liaison (DIAZ, 2005 ; BARASOAIN *et al.*, 2010).

Les composés se lient aux microtubules avec une stœchiométrie de 1:1 (soit 1 molécule fixée par hétérodimère, les 2 sites étant mutuellement exclusifs) (NOGLAS *et al.*, 1995; FIELD *et al.*, 2013).



**Figure 12 :** Structure et domaine de liaison du paclitaxel sur la tubuline. **a** Structure chimique du paclitaxel. **b** Diagramme Ribbon montrant la structure cristalline du dimère d' $\alpha/\beta$  tubuline stabilisé par le paclitaxel. Les structures secondaires des sous-unités  $\alpha$ - et  $\beta$ -tubuline sont représentées en bleu et en rouge respectivement. Le paclitaxel est représenté par des sphères violettes. Structure extraite du site web Protein Data Bank (1JFF) in (FIELD *et al.*, 2013).

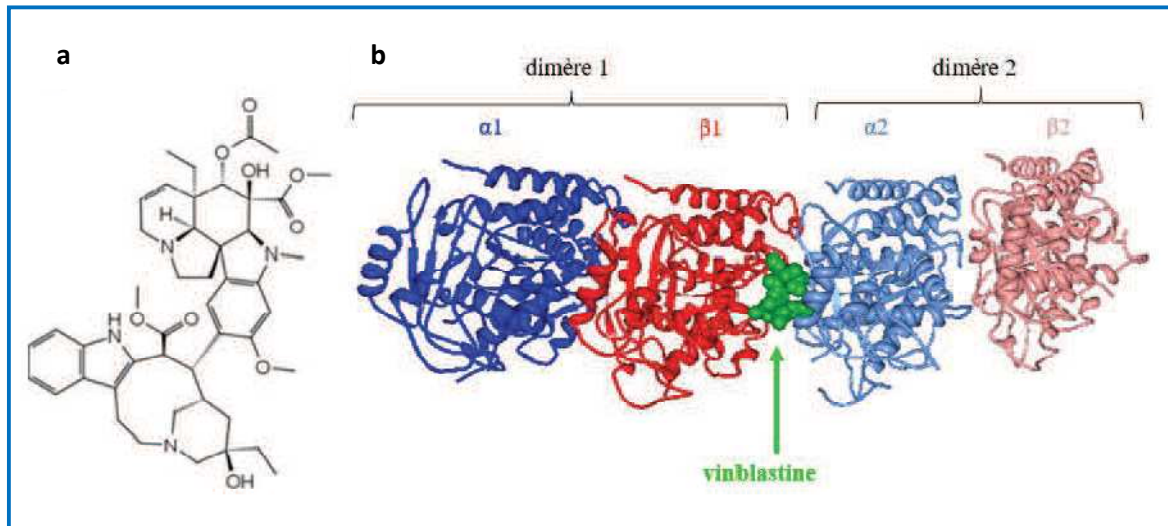
Les vinca-alcaloïdes sont une famille de composés hétérocycliques dérivés des feuilles de la pervenche de Madagascar (*Catharanthus roseus*) et possèdent une activité de dépolymérisation des microtubules en se liant sur la sous-unité  $\beta$  au niveau du pôle (+) (Figure 13). Ces composés naturels ou semi-synthétiques comme la vinblastine et la vincristine sont très largement utilisés en chimiothérapies (CHEN, 2010).



**Figure 13 :** Vinblastine se liant sur la sous unité  $\beta$  au niveau du pôle (+) du microtubule (GIGANT et *al.*, 2005).

Ces molécules se lient à l'interface entre 2 hétérodimères organisés longitudinalement, dans une région proche du site d'échange GDP/GTP (Figure 14) (STANTON et *al.*, 2011). La liaison du ligand avec une stoechiométrie de 1:1 induit une conformation en coude entre les 2 dimères qui interfère avec leur assemblage en microtubules. Ces composés se lient à l'extrémité croissante des microtubules, au niveau de la région liminale et induisent la dépolymérisation des microtubules par la perte de contacts entre les protofilaments voisins. À forte concentration, ces molécules ont aussi une affinité pour les dimères libres et induisent la formation d'agrégats de tubuline (paracristaux, spirales, tubules) (CORMIER, et *al.*, 2008 ; STANTON et *al.*, 2011).

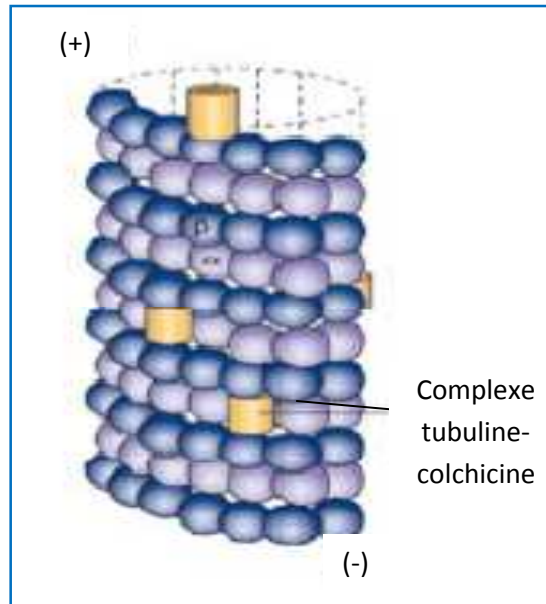
## Partie Bibliographique



**Figure 14 :** Structure et domaine de liaison de la vinblastine sur la tubuline. **a** Structure chimique de la vinblastine. **b** Diagramme Ribbon montrant la structure cristalline du dimère d' $\alpha/\beta$  tubuline déstabilisé par la vinblastine. Les structures secondaires des sous-unités  $\alpha$ - et  $\beta$ -tubuline sont représentées en bleu et en rouge respectivement. La vinblastine est représentée par des sphères vertes. Structure extraite de Protein Data Bank (1Z2B) in (FIELD *et al.*, 2013).

La colchicine est un alcaloïde d'origine végétale, C'est le premier composé antimittotique naturel à avoir été découvert. Cette molécule est extraite des feuilles de d'une plante colchique, *Colchicum autumnale*. C'est le premier déstabilisateur de microtubule à être identifié. En dépit de son activité antimittotique et antiangiogénique importante, la colchicine n'est pas utilisée dans le traitement des cancers car elle présente un indice thérapeutique très étroit due à sa toxicité cellulaire (KINGSTON, 2009).

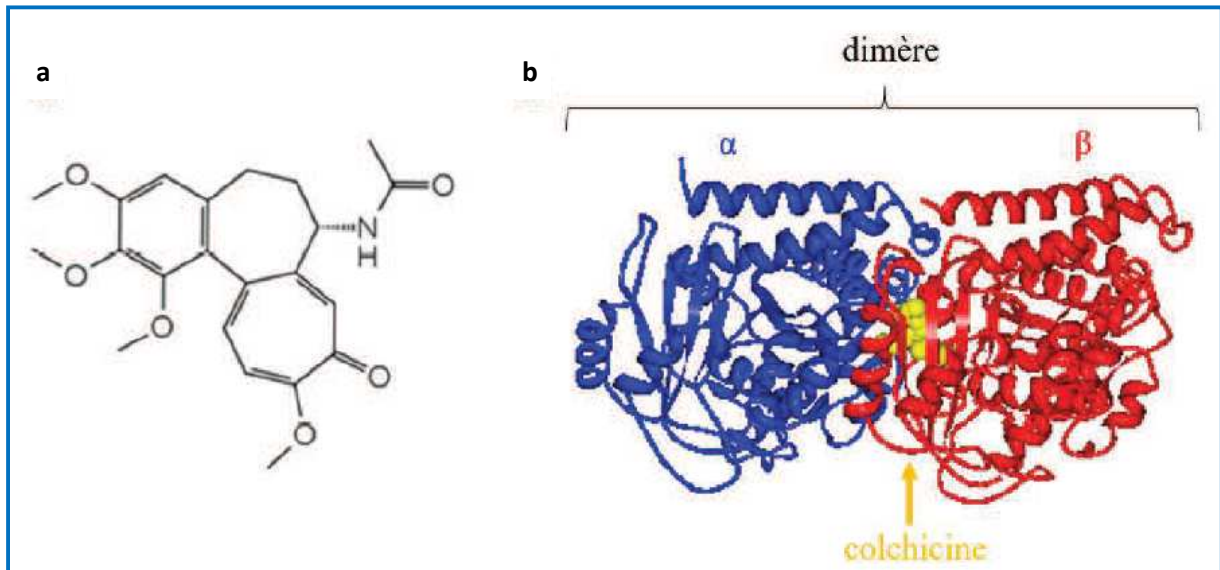
La colchicine forme un complexe avec des dimères de tubuline à l'intérieur de la matrice des microtubules ce qui a pour effet de bloquer la polymérisation de la tubuline en microtubules (Figure 15) (RAVELLI *et al.*, 2004).



**Figure 15 :** La colchicine formant un complexe avec des dimères de tubuline à l'intérieur de la matrice des microtubules (RAVELLI *et al.*, 2004).

Le domaine de liaison de la colchicine, accessible seulement dans les dimères de tubuline libres (RAVELLI *et al.*, 2004), se situe à l'interface entre les deux sous-unités d'un même dimère (Figure 16). 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  $\beta$  menant à une perturbation des contacts latéraux entre protofilaments voisins et favorisant ainsi la dépolymérisation (PENG *et al.*, 2014).

## Partie Bibliographique



**Figure 16 :** Structure et domaine de liaison de la colchicine sur la tubuline. **a** Structure chimique de la colchicine. **b** Diagramme Ribbon montrant la structure cristalline du dimère d' $\alpha/\beta$  tubuline destabilisée par la colchicine. Les structures secondaires des sous-unités  $\alpha$ - et  $\beta$ -tubuline sont représentées en bleu et en rouge respectivement. La colchicine est représentée par des sphères jaunes. Structure extraite de Protein Data Bank (4O2B) in (FIELD *et al.*, 2013).

# Partie Expérimentale

## 1. Matériels et méthodes

### 1.1. Matériels

#### 1.1.1. Matériel végétal

Ce travail a été réalisé au Laboratoire De Biologie Analytique Et Biotechnologie (LABAB) au sein de la faculté Des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques. Département de Biochimie Microbiologie. Université Mouloud Mammeri.

Nous nous sommes intéressés à deux espèces : *Verbascum sinuatum* et *Phlomis bovei De Noé*, qui ont été récoltées dans la région Addekar Asif El Hemmam à Bejaia en Mai 2017. Des feuilles fraîches ont été sélectionnées, puis lavées, séchées et broyées en poudre fine et conservée à température ambiante.

Nos manipulations concernent l'évaluation *in vitro* de l'activité antimittotique sur les cellules méristématiques des racines des bulbes d'oignons (*Allium cepa*).

#### 1.1.3. Réactifs et Solvants

Les réactifs et solvants utilisés lors de l'étude de l'activité antimittotique des extraits éthanoliques sont résumés dans le tableau suivant.

**Tableau VI** : Réactifs et solvants utilisés.

Composés	Concentrations	Fonction
<b>Colchicine</b>	1mg/ml	Témoin +
<b>Eau distillée</b>	–	Témoin -
<b>Alcool 96°+ l'acide acétique 99%</b>	V/V : 1/3 (Alcool/Ac acétique)	Solution de fixation
<b>Carmin acétique</b>	–	Colore les noyaux
<b>Ethanol</b>	96°	Solvant d'extraction

# Partie Expérimentale

## 1.2. Méthodes

### 1.2.1. Préparation de l'extrait éthanolique

5g de poudre de feuilles de chacune des deux espèces : *Verbascum sinuatum* et *Phlomis bovei de Noé* ont été mises dans 100 ml d'éthanol à 96°, puis mises à 4°C pendant 72 heures (SHIVASHARANAPPA et LONDONKAR, 2014). La solution ainsi obtenue est filtrée, puis évaporée au rotavapor 60°C. Les extraits éthanoliques obtenus sont solubilisés dans de l'eau distillée pour obtenir les solutions mère (SM) à partir desquelles des dilutions sont réalisées et conservées à 4 °C jusqu'à leurs utilisations (Figure17). Les concentrations des solutions mères et des dilutions réalisées sont résumées dans le tableau suivant :

**Tableau VII:** Les concentrations des différentes dilutions.

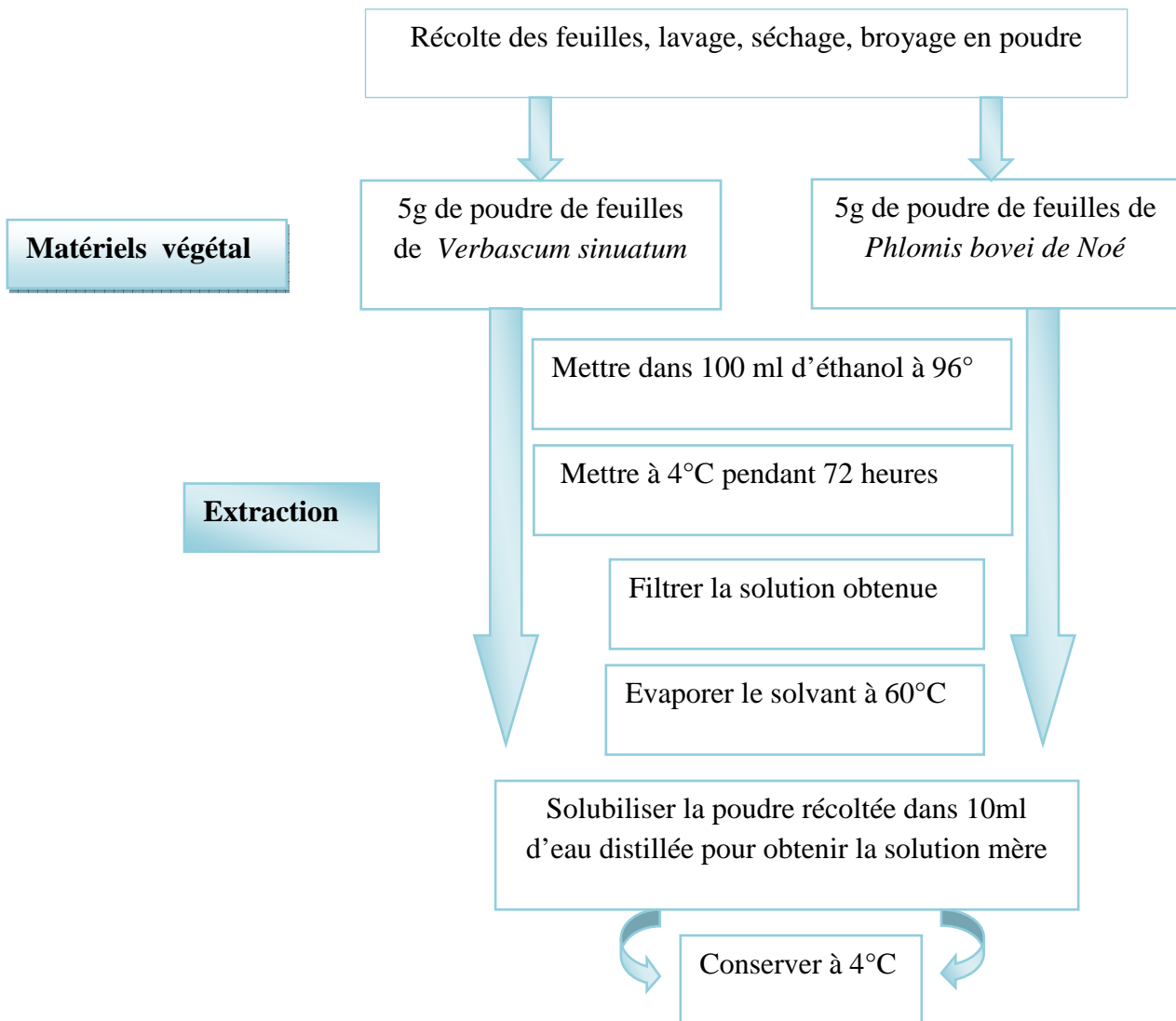
	Solution Mère	C1	C2
<i>Phlomis bovei</i>	13.600 mg/ml	6.800 mg/ml	3.400 mg/ml
<i>Verbascum sinuatum</i>	22.900 mg/ml	11.450 mg/ml	5.725 mg/ml

### 1.2.2. Evaluation *in vitro* de l'effet antimitotique

Pour l'évaluation de l'effet antimitotique des extraits éthanoliques des feuilles de *Verbascum sinuatum* et *Phlomis bovei de Noé*, le protocole utilisé est celui adopté par (SHIVASHARANAPPA et LONDONKAR, 2014). Deux dilutions de chaque extrait ont été réalisées à partir de la solution mère (Annexe 1). Des bulbes d'oignons ont été mis à germer dans de l'eau pendant 3 à 5 jours. Des cellules méristématiques des racines germées ont été sélectionnées puis mises dans les différents extraits à tester ainsi que les deux témoins utilisés (témoin négatif, colchicine) pendant 24 h. Ces dernières ont été fixées par la solution de fixation (alcool/acide acétique) pendant 2 h, colorées au carmin acétique, puis observées au microscope optique (x800) (Figure18). Des indices mitotiques ont été calculés par cette équation :

$$IM = \frac{\text{Nombre de cellules en division}}{400 \text{ cellules}} \times 100.$$

# Partie Expérimentale



**Figure 17** : Principales étapes d'extraction.

## Partie Expérimentale



**Sélection des racines d'oignons**



**Incubation des racines 24 h dans chacun des extraits éthanoliques, puis 2 h dans la solution de fixation**

**Coloration au carmin acétique**

**Observation des cellules méristématiques au microscope optique et calcul de l'indice mitotique (X800)**

**Figure 18:** Protocole d'évaluation *in vitro* de l'effet antimitotique.

# Partie Expérimentale

## 1.3. Etude statistiques

Pour l'étude statistique, deux types d'analyse ont été réalisées, le test de Student (comparer une moyenne à un standard) et le test ANOVA à deux facteurs et son complément qui est le test de Newman et Keuls.

Le test de Student a été utilisé pour comparer le témoin positif et le témoin négatif, le témoin positif et les différentes moyennes d'indices mitotiques obtenues, puis le témoin négatif et les différentes moyennes d'indices mitotiques obtenues. Le test ANOVA à deux facteurs qui a pour principe, la comparaison des moyennes de la variable quantitative (l'indice mitotique) selon deux facteurs qualitatifs qui sont le type de plante et leurs concentrations, son complément Newman et Keuls a pour objectif d'ordonner les indices mitotiques obtenus par groupes homogènes.

## 2. Résultats et Discussion

L'évaluation de l'effet antimitotique des extraits éthanoliques des feuilles de *Verbascum sinuatum* et de *Phlomis bovei* est déterminé par le calcul de l'indice mitotique (IM) regroupés dans le tableau suivant.

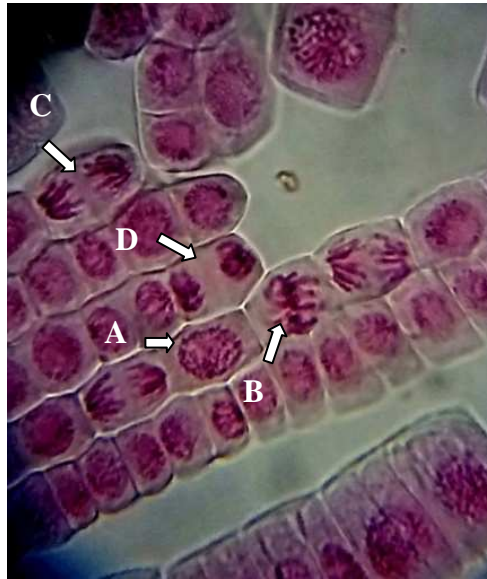
**Tableau VIII** : Indices mitotiques des différents extraits éthanoliques.

IM%	T-	T+	EEV	EEP
SM	83.100 ± 1.422	38.600 ± 1.668	50.500 ± 4.182	53.400 ± 1.825
C1			49.050 ± 1.541	57.050 ± 1.314
C2			58.100 ± 1.894	66.700 ± 2.203

IM: Indice Mitotique, SM : Solution Mère, C1: Concentration1, C2: Concentration 2, T- : Témoin (-), T+ : Témoin (+) (la colchicine), EEV : Extrait Ethanolique *Verbascum sinuatum*, EEP : Extrait Ethanolique *Phlomis bovei*.

L'eau distillée (témoin -) a présenté l'indice mitotique le plus élevé (83.1%). Les observations microscopiques obtenues ont révélé les différentes phases de la mitose : prophase, métaphase, anaphase et télophase (Figure19).

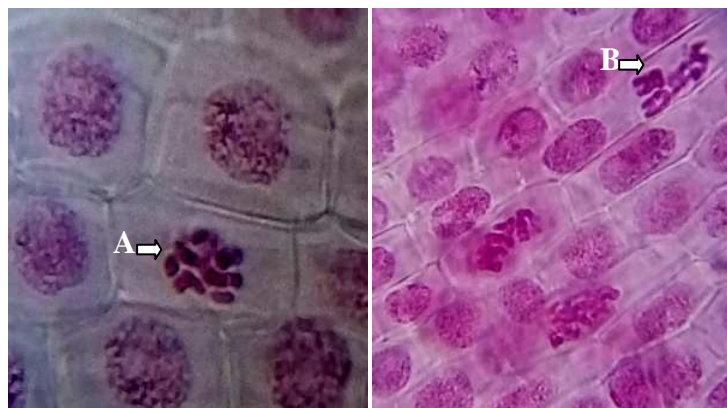
## Partie Expérimentale



**Figure 19:** Les différentes phases de la mitose observées chez les cellules méristématiques d'*Allium cepa* (X800).

**A:** Prophase; **B:** Metaphase. **C,** Anaphase. **D,** Télaphase.

La colchicine (témoin+) présente un indice mitotique qui est de 38.6%, ce faible indice est lié à l'action antimitotique de la colchicine, générant des anomalies au niveau des cellules méristématiques des racines d'oignons. Les observations microscopiques ont révélé des aberrations chromosomiques : fragmentations chromosomiques et désorganisation des chromosomes de la plaque équatoriale lors de la métaphase (Figure 20).



**Figure 20:** Aberrations chromosomiques observées chez les cellules méristématiques d'*Allium cepa* traitées par la colchicine (X800).

**A :** Fragmentation chromosomique ; **B :** Désorganisation des chromosomes de la plaque équatoriale.

## Partie Expérimentale

---

Pour ce qui est des extraits éthanoliques foliaires des deux plantes *Verbascum sinuatum* et de *Phlomis bovei*, le pourcentage des indices mitotiques diminuent avec l'augmentation des concentrations, ils sont entre  $49.050 \pm 1.541$  et  $58.100$  pour *Verbascum sinuatum* et de  $53.400 \pm 1.825$  à  $66.700 \pm 2.203$  pour *Phlomis bovei*.

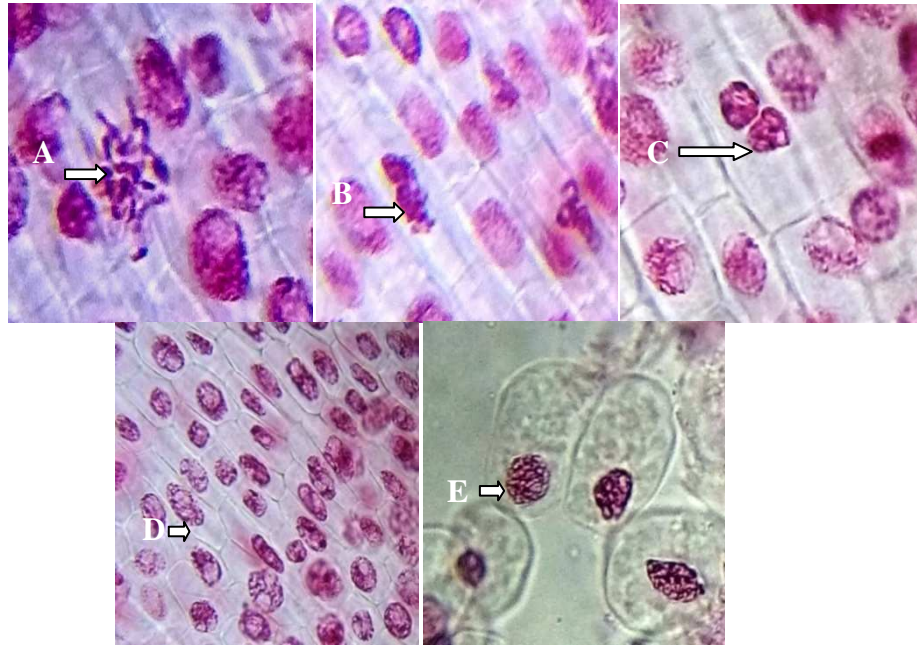
Les méristèmes sont des régions distinctes des plantes. Les cellules de cette région sont caractérisées par des divisions cellulaires répétées et ont une capacité de croissance continue. L'évaluation *in vitro* de l'activité antimitotique a été réalisée par le test d'*Allium* sur les cellules méristématiques des racines d'oignons. Cette méthode, mise en évidence par LEVAN en 1938, est un outil facile et sensible pour mesurer la toxicité totale causée par les traitements chimiques tels que les inhibitions de la croissance des cellules méristématiques (WILLIAMS et OMOH, 1996).

L'éthanol 96° est un solvant très appréciée à l'échelle industriel. L'extraction des composés chimiques à partir des feuilles de *Phlomis bovei* et *Verbascum sinuatum* a été réalisée par cet alcool éthylique qui est très largement utilisé dans les extractions particulièrement des polyphénols, ses spécificités de qualité sont inscrites au niveau de la pharmacopée Européenne. Il existe dans plusieurs monographies de la pharmacopée britannique comme celles de 2009 et celles de la 7ème édition de 2011 (KHAYATI, 2011).

Les résultats de la présente étude ont montré que les extraits éthanoliques des feuilles de *Phlomis bovei* et *Verbascum sinuatum* ont des effets antimitotiques. Les différentes concentrations évaluées pour l'activité antimitotique ont révélé des différences du potentiel de chaque concentration d'extrait éthanolique, ainsi que de type de plante utilisée. Les observations microscopiques ont révélé des aberrations nucléaires, chromosomiques et cellulaires au niveau des cellules méristématiques des racines d'oignons.

On a constaté que les cellules traitées avec l'extrait éthanolique de la solution mère de *V.sinuatum* (22.900 mg/ml) présente les aberrations les plus importantes et les plus variées : désorganisation de la plaque équatoriale lors de la métaphase, agglutinations chromosomiques, des cellules en télophase avec deux noyaux sans cytodierèse, allongement des cellules avec agglutinations chromosomiques et cellules gigantesques avec rétrécissement des noyaux (Figure 21).

## Partie Expérimentale



**Figure 21:** Aberrations chromosomiques observées chez les cellules méristématiques en division mitotique d'*Allium cepa* traitées par la SM de *V.sinuatum* (X800).

**A:** Désorganisation de la plaque équatoriale lors de la mitose. **B :** Agglutination chromosomique. **C :** Télaphase à deux noyaux sans cytotdirèse. **D :** Allongement des cellules avec agglutination chromosomique. **E :** Cellules gigantesques avec rétrécissement des noyaux.

La concentration 1(11.450 mg/ml) plus diluée, a pratiquement le même effet que la solution mère. Elle a aussi causé des désorganisations de la plaque équatoriale lors de la métaphase, des cellules en télaphase avec deux noyaux sans cytodirèse, agglutinations chromosomiques et Cellules gigantesque avec un large noyau (Figure 22).

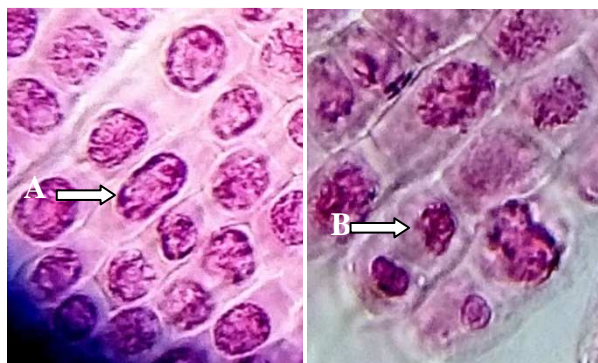


**Figure 22 :** Aberrations chromosomiques observées chez les cellules méristématiques en division mitotique d'*Allium cepa* traitées par la C1 de *V.sinuatum* (X800).

**A :** Désorganisation de la plaque équatoriale lors de la métaphase. **B :** Cellule en télaphase à deux noyaux sans cytodirèse. **C :** Agglutination chromosomique. **D :** Cellule gigantesque avec un large noyau.

## Partie Expérimentale

La concentration 2 (5.725 mg/ml) de la même espèce qui est une dilution de moitié de la concentration 1, a également présenté l'effet antimittotique, pas au même degré que la solution mère et la concentration 1. Mais assez pour observer des fragmentations chromosomiques et des cellules en télophase à deux noyaux sans cytodirèse (Figure 23).



**Figure 23 :** Aberrations chromosomiques observées dans les cellules méristématiques en division mitotique d'*Allium cepa* traitées par la C2 de *V.sinuatum* (X800).

**A :** Fragmentation chromosomique. **B :** Cellule en télophase à deux noyaux sans cytodirèse.

Les effets antimittotiques observés ont été soutenus par les indices mitotiques repris au niveau du tableau VIII. Pour la solution mère et la concentration 1 de l'extrait éthanolique de *V.sinuatum*, on a obtenue des indices de  $50.500 \pm 4.182\%$  et  $49.050 \pm 1.541\%$  respectivement. Cela confirme la similarité des aberrations qu'elles ont provoquées. Par ailleurs, la concentration 2 présente un indice mitotique plus élevé  $58.100 \pm 1.894\%$  et une activité antimittotique modérée.

L'analyse des indices mitotiques des cellules méristématiques traitées par l'extrait éthanolique des feuilles de *V.sinuatum* par le test de Student nous a permis de comparer chacune des concentrations au témoin positif et négatif, ceci a révélé l'absence de différence significative entre la solution mère et le témoin positif, et une différence significative avec le témoin négatif, cela traduit l'effet antimittotique similaire de la solution mère de *V.sinuatum* et la colchicine. D'ailleurs c'est cette concentration qui présente l'indice mitotique le plus proche de témoin positif et les observations microscopiques obtenues révèlent des aberrations importantes. Pour la C1 et C2 de l'extrait éthanolique foliaire de *V.sinuatum*, l'étude statistique a révélé une différence significative avec le témoin positif et négatif. Ce qui nous amène à dire que les deux dilutions présentent un effet antimittotique moins important que celui de la colchicine prise comme standard (Annexe 2).

## Partie Expérimentale

---

La diminution de l'indice mitotique et l'induction des aberrations chromosomiques dans les cellules méristématiques végétales par différents extraits foliaires de nombreuses plantes ont été signalés par plusieurs publications (SUDHAKAR, 2001).

De nombreuses espèces de genre *Verbascum*, telles que *V. thapsus* L., *V. fruticosum* Post., *V. undulatum* Lam., *V. georgicum* Benth., *V. chionophyllum* Hub.-Mor., *V. cilicicum* Boiss., *V. pterocalycinum* var. *mutense* Hub.-Mor., et *V. splendidum* Boiss ont été étudiées pour leur activités antimitotique par des tests *in vitro* et *in vivo* (SENER ET DUGLER, 2009).

L'effet antimitotique provoqué par des extraits méthanoliques des espèces *Verbascum cheiranthifolium* var. *asperulum*, *V. pycnostachyum* et *V. orgyale* sur les cellules cancéreuses cervicales et ovariennes a été étudié. Les résultats indiquent que l'extrait méthanolique de *V.pycnostachyum* a eu un effet antimitotique plus significatif sur les deux types de cellules comparé aux deux autres espèces *Verbascum cheiranthifolium* var. *asperulum* et *V. orgyale*. Par ailleurs, cette action antimitotique est plus exprimée sur les cellules ovariennes que les cellules cervicales (KÜÇÜK et al., 2016).

Les espèces appartenant au genre *Verbascum* sont très utilisées en phytothérapie. Les propriétés antitumorales et d'autres activités biologiques de divers extraits de plantes de ce genre ont été évaluées (KÜÇÜK et al., 2016). Les extraits alcooliques et aqueux des feuilles de *Verbascum thapsus* soumis à des études biologiques, ont révélé des activités antibactériennes, antitumorales et inhibitrices de la germination des graines (TURKER, 2002). Selon nos résultats, les moyennes des indices mitotiques obtenus pour *V.sinuatum* ont considérablement diminués en comparaison avec le témoin négatif et cela en raison de l'activité antimitotique des extraits éthanoliques des feuilles de *V.sinuatum* qui a varié en fonction des concentrations (dilutions) réalisées. De même l'extrait méthanolique des parties aériennes de l'espèce *Verbascum virgatum* inhibe la germination des graines (PARDO, 2004).

Des extraits bruts de *Verbascum pseudonobile* utilisés en médecine traditionnelle ont été sélectionnés pour détecter d'éventuels agents bioactifs anticancéreux, en utilisant l'évaluation de l'activité d'interaction avec l'ADN. Les extraits se sont avérés actifs et ont provoqué des anomalies d'ADN suite aux différentes interactions (IONKOVA et ALFERMAN, 2000).

## Partie Expérimentale

---

Des extraits de *Verbascum thapsus* présentent une activité antitumorale contre les tumeurs induites par *Agrobacterium tumefaciens* selon la méthode du disque de pomme de terre modifiée par le groupe de McLaughlin (UCAR-TURKER et CAMPER, 2002).

La plupart des rapports scientifiques traitant le genre *Verbascum* concluent que plusieurs de ses espèces contiennent des métabolites responsables de l'activité antimittotique sur des cellules en division (LOPEZ-LAZARO, 2009). Ces conclusions concordent avec nos résultats à propos de l'activité antimittotique de l'espèce *Verbascum sinuatum*. L'espèce *Verbascum sublobatum* est également connue pour ses effets antimittotique et son utilisation pour le traitement des tumeurs (TATLI et al., 2007).

La littérature scientifique a beaucoup traité les activités pharmacologiques des flavonoïdes comme l'activité antioxydant, anti-inflammatoire, antimicrobienne et ses propriétés anticancéreuses. Les flavonoïdes sont les constituants communs des plantes utilisées en médecine traditionnelle (CHIANG et al., 2006).

Les études sur la composition phytochimique des espèces *Verbascums* rapportent que ce genre est caractérisé par des composants anticancéreux tels les flavonoïdes, les saponines, phenylpropanoïde et phenylethanoïdes glycosylés. En utilisant des extractions éthanoliques et méthanoliques, on a pu isoler plusieurs autres constituants bioactifs variant selon les espèces et qui sont susceptibles d'être responsable de l'activité anticancéreuse de certaines espèces *Verbascums* (DEMBITSKY, 2005). Cela peut expliquer les résultats établis par notre étude et qui confirme l'activité antimittotique de l'espèce *Verbascum sinuatum*.

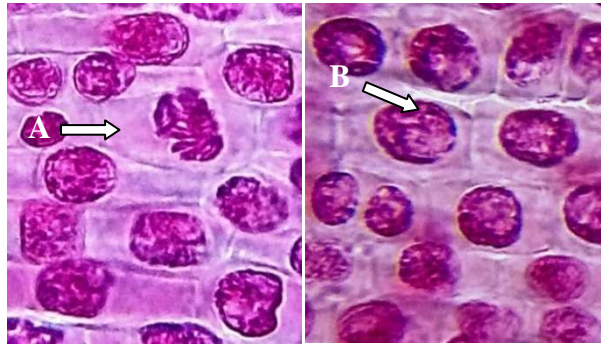
L'activité antimittotique exprimée chez l'espèce *P. bovei* n'est pas aussi importante que celle de *V. sinuatum*. La solution mère (13.600 mg/ml), la plus concentrée et la plus active, a engendré des désorganisations de la plaque équatoriale lors de la métaphase et des agglutinations chromosomiques (Figure 24).

La concentration 1, qui est une dilution de la solution mère (6.800mg/ml) a provoqué : des plaques équatoriales désorganisées avec absence de délimitation cellulaire, agglutinations et pont chromosomique lors de l'anaphase (Figure 25).

La concentration 2 (3.400 mg/ml), la plus diluée, a causé des agglutinations et fragmentations chromosomiques et des cellules en télophase à deux noyaux sans cytotérière (Figure 26).

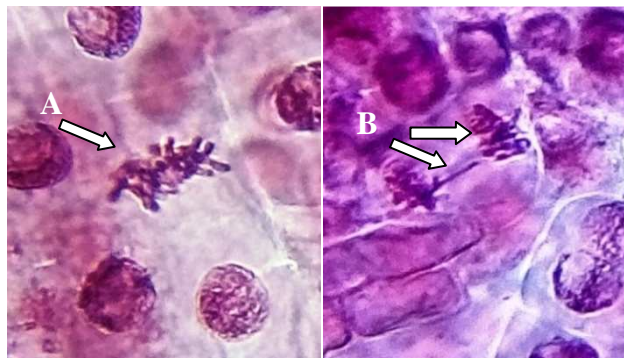
## Partie Expérimentale

---



**Figure 24 :** Aberrations chromosomiques observées chez les cellules méristématiques en division mitotique d'*Allium cepa* traitées par la SM de *P.bovei* (X800).

**A :** Désorganisation de la plaque équatoriale lors de la métaphase. **B :** Agglutination chromosomique.



**Figure 25 :** Aberrations chromosomiques observées dans les cellules méristématiques en division mitotique d'*Allium cepa* traitées par la C1 de *P.bovei* (X800).

**A :** Plaque équatoriale désorganisée et absence de délimitation cellulaire. **B :** Agglutination et Pont chromosomique.



**Figure 26 :** Aberrations chromosomiques observées dans les cellules méristématiques en division mitotique d'*Allium cepa* traitées par la C2 de *P.bovei* (X800).

**A :** Agglutination et fragmentation chromosomique. **B :** Télaphase à deux noyaux sans cytotdiérèse.

## Partie Expérimentale

---

Les indices mitotiques des extraits éthanoliques foliaires de *P.bovei* confirme également les aberrations observées. Ils représentent une activité pas autant exprimée que chez *V.sinuatum*, ils sont un peu plus élevés :  $53.400 \pm 1.825\%$ ,  $57.050 \pm 1.314\%$  et  $66.700 \pm 2.203\%$  respectivement pour la solution mère, concentration 1 et 2 (Tableau VIII).

L'analyse des indices mitotiques par le test de Student a montré une différence significative lors de la comparaison des trois concentrations d'extraits éthanoliques foliaires de *P.bovei* avec le témoin positif et le témoin négatif respectivement (Annexe 2). Ce qui reflète un effet antimitotique sur les cellules méristématiques traitées par les extraits éthanoliques foliaires de cette espèce, mais cela reste un effet antimitotique moins important que celui de la colchicine.

*P.bovei* appartient aux Lamiacées, cette famille regroupe un grand nombre d'espèces capables de synthétiser et de stocker des métabolites secondaires qui possèdent des activités diverses en phytothérapie comme des terpénoïdes, des flavonoïdes, des iridoïdes glycosylés et des diterpénoïdes (GUIGNARD, 2004). Les Lamiacées représentent la plupart des plantes considérées les plus toxiques à forte doses mais valorisées par les utilisations efficaces à faible doses en phytothérapie traditionnelle (NAJEM et al., 2018).

Des études phytochimiques de *Scutellaria barbata* de la famille des Lamiacées. Une plante largement utilisée en médecine traditionnelle au Vietnam, en Chine et en Corée comme anti-tumorale, a permis d'isoler 4 nouveaux composés responsables de désorganisations des divisions cellulaires (NGUYEN et al., 2009).

Les espèces *Phlomis* sont utilisées pour traiter diverses affections, des études pharmacologiques de certaines de ces espèces ont été réalisées et ont montré que ces dernières possèdent des activités anticancéreuses (BENAMOR et al., 2009).

Il a été rapporté que les extraits aqueux de certaines espèces *Phlomis* sont utilisés depuis longtemps en médecine traditionnelle Egyptienne pour guérir plusieurs maladies dont le cancer (BOWN, 1995).

Des études bien anciennes ont fait le lien entre les espèces du genre *Phlomis* et les divisions cellulaires, elles ont pu démontrer l'effet Anti-tumorale de deux espèces : *P. tuberosa* et *P. umbrosa* turcz (CHUNG et al., 1981).

## Partie Expérimentale

---

Très récemment, Plusieurs études se portant sur l'activité antimittotique ont été effectuée en utilisant des cellules méristématiques de racine d'*Allium cepa* (SHAIKH, 2012) et ont conclut que plusieurs espèces de la même famille que le genre *phlomis* sont connues pour leurs effets sur les divisions cellulaires, à titre d'exemple *Scutellaria barbata* qui est largement utilisée pour ses effets antitumoraux (LEE *et al.*, 2004 ; TAN *et al.*, 2004). Une étude aussi récente sur les extraits foliaires de cette plante a montré l'arrêt du développement des cellules cancéreuses en phase G1, et a diminué la taille des tumeurs solides (YIN *et al.*, 2004).

Les résultats d'une recherche sur l'effet de l'huile essentielle de *P. olivieri* et *P. persica* sur les divisions cellulaire ont indiqué que les huiles des deux espèces possèdent une activité antimittotique modérée (MOHAMMEDIFAR *et al.*, 2015).

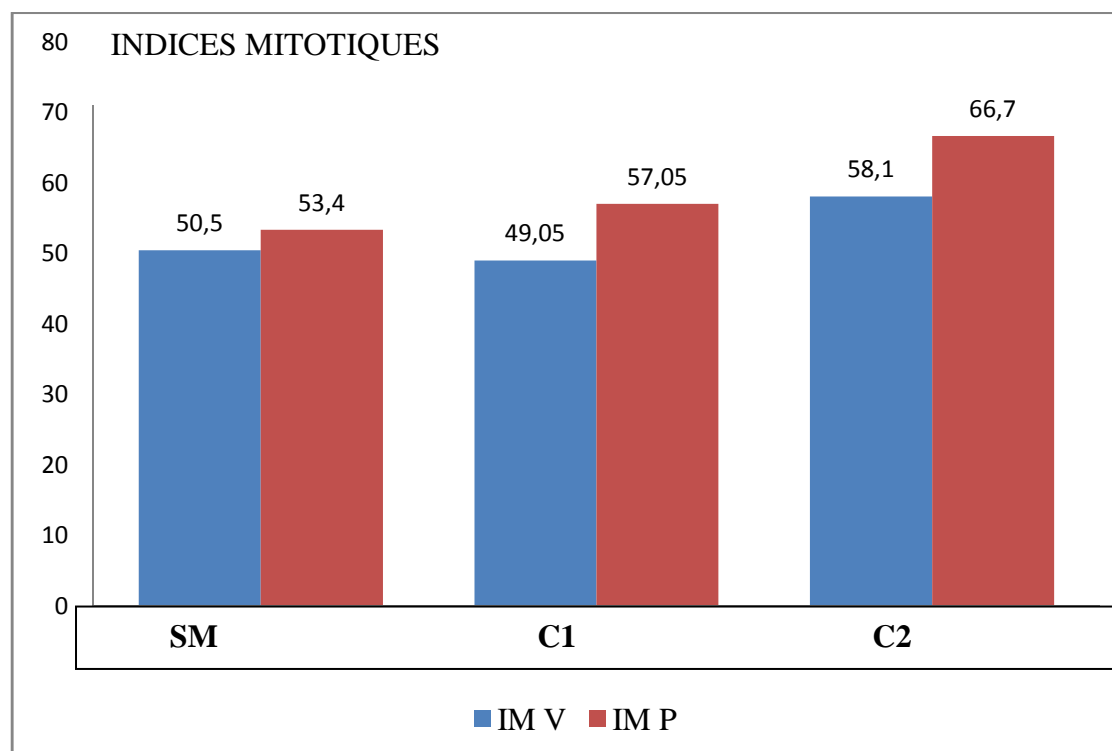
D'autres recherches sur les feuilles du *Phlomis mauritanica* ont démontré que l'huile essentielle de cette espèce est riche en composés chimiques et possède plusieurs activités pharmacologiques en plus de l'activité antimittotique (HECTOR *et al.*, 2002). Les résultats de notre étude complètent les conclusions établies par les études citées précédemment et qui indiquent que les plantes du genre *Phlomis* contiennent des substances aux propriétés antimittotiques. Une étude par CG de l'huile essentielle de *P. bovei* prouve que cette espèce est la plus riche en constituants phytochimiques comparée aux autres espèces *Phlomis* (ALIGIANNIS *et al.*, 2004).

Le genre *Phlomis* contient un grand nombre de flavonoïdes. Chaque espèce est caractérisée par des flavonoïdes particuliers selon sa localisation géographique. Ces flavonoïdes possèdent des activités biologiques variées et ce sont des marqueurs chemotaxonomiques, mais on peut trouver des flavonoïdes communs. On cite l'exemple des *p*-coumaroylglucosides qui sont présents dans toutes les espèces du ce genre; (TOMAS-BARBERAN *et al.*, 1992). La richesse et la diversité du genre *Phlomis* en flavonoides et en autre constituants phytochimiques explique la diversité de ses activités dont l'activité antimittotique de *Phlomis bovei*.

Le nombre d'aberrations et le nombre de métaphases et d'anaphases anormales induites par les différents extraits éthanoliques des feuilles de *V. sinuatum* et *P. bovei* ont augmenté d'une manière dépendante de la concentration et de type de plante utilisée, ce qui représente l'action antimittotique de ces extraits éthanoliques sur les cellules méristématiques d'*A. cepa*.

## Partie Expérimentale

Les deux espèces étudiées ont provoqué des anomalies qui ont touché les quatre phases de la mitose et ont affirmé ainsi leur activité antimittotique. Cependant, *V.sinuatum* présente une activité antimittotique plus élevée que celle de *P.bovei*, cela est montré par les différentes observations microscopiques et les indices mitotiques obtenus. La comparaison des moyennes des indices mitotiques entre ces deux espèces souligne la différence de l'action antimittotique de ces deux plantes (Figure 28).



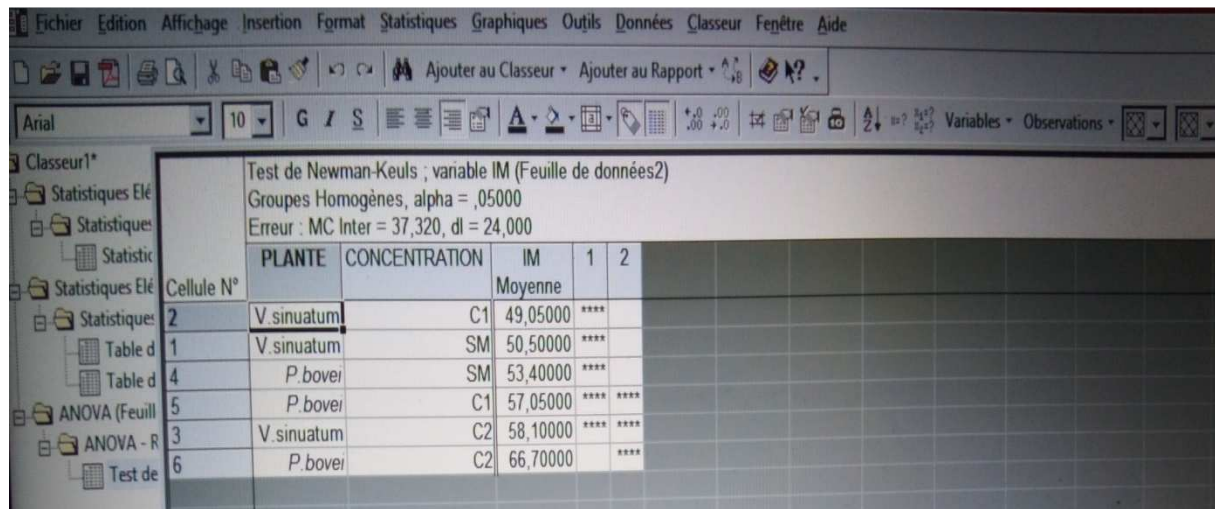
**Figure 28 :** Comparaison de l'action antimittotique entre les moyennes des indices mitotiques des extraits éthanoliques de *V.sinuatum* et *P.bovei* en fonction de la concentration.

Cette différence de l'action antimittotique des différentes concentrations des extraits éthanoliques de *V.sinuatum* et *P.bovei* est reflétée par les résultats obtenus avec le test statistiques (Student) (Annexe 2).

Le test ANOVA à deux facteurs a révélé des différences hautement significatives entre les indices mitotiques obtenus par les différents extraits éthanoliques foliaires de *V.sinuatum* et *P.bovei*. De ce fait, un test complémentaire de comparaison des moyennes (Newman-Keuls) a été réalisé. Ce qui a permis de regrouper les moyennes des indices mitotiques en différents groupes homogènes (Tableau XI).

## Partie Expérimentale

**Tableau XI** : Les moyennes des indices mitotiques classés en différents groupes homogènes par le test Newman-Keuls.



The screenshot shows a statistical software window titled 'Test de Newman-Keuls ; variable IM (Feuille de données2)'. It displays the following information:

- Groupes Homogènes, alpha = ,05000
- Erreur : MC Inter = 37,320, dl = 24,000

Cellule N°	PLANTE	CONCENTRATION	IM	1	2
2	V. sinuatum		C1	49,05000	****
1	V. sinuatum		SM	50,50000	****
4	P. bovei		SM	53,40000	****
5	P. bovei		C1	57,05000	****
3	V. sinuatum		C2	58,10000	****
6	P. bovei		C2	66,70000	****

D'après ce test (Newman-Keuls), les effets antimitotiques de la solution mère, la concentration 1 et la concentration 2 de *V.sinuatum*, la solution mère et la concentration 1 de *P.bovei* appartiennent au groupe 1 (à faible indices mitotiques). La concentration 2 de *V.sinuatum* et la concentration 1 et 2 de *P.bovei* appartiennent au groupe 2 (contient les indices mitotiques les plus élevés). On signale également que la concentration 2 de *V.sinuatum*, la concentration 1 de *P.bovei* sont rangés dans les 2 groupes (1 et 2). De ce fait on déduit que les effets antimitotiques de ces différents extraits éthanoliques de *V.sinuatum* et *P.bovei* sur les cellules méristématiques des racines d'oignons sont dépendant des concentrations et dépendant et de type de plante utilisée.

Les résultats établies à partir de test ANOVA et Newman-Keuls sont en accord avec ceux obtenus de l'analyse par le test Student. Ces conclusions statistiques complètes et appuient celles obtenues à partir des observations microscopiques et des indices mitotiques.

Dans l'ensemble, toutes les différentes concentrations des extraits éthanoliques obtenus à partir des feuilles de *Phlomis bovei* et *Verbascum sinuatum* ont montré une activité antimitotique à des degrés variables du plus concentré au moins concentré. Cela peut être expliqué par une des propriétés typique et commune à ces deux espèces qui est leurs richesses en différentes classes des composés naturels bioactifs.

## Partie Expérimentale

---

La majorité des molécules anticancéreuses sont d'origine végétale. Ils ont des mécanismes d'action différents sur les cellules en division (HERON, 2006).

L'induction des fragmentations chromosomiques et des anaphases multipolaires indiquent le potentiel clastogène de certains composés chimiques issus de plantes (CHAUHAN ET GUPTA, 2005). Leur action sur le chromosome est généralement considérée comme impliquant une action sur l'ADN (CHAUHAN ET SUNDARARAMAN, 1990). On a observé des ruptures qui sont dus à l'échec des chromosomes pour se déplacer vers l'un des pôles. Les chromosomes à la traîne peuvent être attribués à la diminution de la viscosité des chromosomes qui est un facteur fréquent d'aberrations chromosomiques chez les cellules méristématiques des racines du genre *Allium*. Cette rigidité est probablement due à l'entremêlement des fibres de chromatine qui conduisent à une connexion anarchique entre les chromosomes. Les condensations chromosomiques peuvent aussi être expliquées par l'adhésion physique des protéines chromosomiques (CABARAVDIC, 2010).

Depuis longtemps le fuseau mitotique a été identifié comme une cible majeure de la chimiothérapie anticancéreuse (WOOD, 2001). Le cytosquelette composé de microtubules qui sont essentiels à la division cellulaire au cours de laquelle ils forment une structure bipolaire, complexe et dynamique, nécessaire à la ségrégation correcte des chromosomes pendant la mitose: le fuseau mitotique. Ce dernier est constitué de deux réseaux symétriques et antiparallèles de microtubules dont l'une des extrémités interagit avec les chromosomes et l'autre est ancrée aux deux pôles (ARNAL *et al.*, 2002).

Cette activité antimitotique observées chez les cellules méristématiques traitées par les extraits éthanoliques des feuilles de *Verbascum sinuatum* et *Phlomis bovei* est peut être due à la présence de composés bioactifs affectant le cytosquelette ou inhibant les composants de la division cellulaire. *Phlomis bovei* est une espèce riche en mono terpènes, sesquiterpènes, hydrocarbures saturés, alcools, aldéhyde... (LIOLIOS *et al.*, 2007). Plusieurs études ont aussi montré que l'espèce *Verbascum sinuatum* présente à elle seul plusieurs métabolites secondaires, ce qui confirme leurs différentes activités biologiques (SENATORE *et al.*, 2007).

On signale aussi que les flavonoïdes représentent les principaux phyto-constituants chez les deux espèces : *Verbascum sinuatum* et *Phlomis bovei*, (DEMBITSKY, 2005 ; LI *et al.*, 2010). En plus, plusieurs études *in vitro* et *in vivo* ont montré l'effet anticancéreux des flavonoïdes vis-à-vis de nombreuses lignées cellulaires cancéreuses. Et certaines études assez récentes ont démontré que la consommation des flavonoïdes diminue le risque et l'incidence

## Partie Expérimentale

---

de plusieurs types de cancers (Bosetti et *al.*, 2005; Fink et *al.*, 2007). Dans cette même idée, on peut suggérer que l'activité antimitotique des extraits éthanoliques des feuilles de *Phlomis bovei* et *Verbascum sinuatum* est due à la présence des flavonoïdes.

De cette étude on déduit que parmi les métabolites secondaires de *Verbascum sinuatum* et *Phlomis bovei* certains pourront constituer des anticancéreux.

Même si des doutes peuvent être soulevés à propos de l'application des résultats du tissu végétal au tissu animal et enfin pour les humains, les cellules végétales sont 1000 fois plus résistantes à la colchicine qui est un anticarcinogène puissant et agit en inhibant la formation des microtubules. Il est déduit que les produits chimiques qui affectent les chromosomes et les microtubules des plantes affectent également ceux des cellules animal et à des concentrations moindre (SAXENA, 2005).

Plusieurs composants à activité antimitotique issus des plantes sont actuellement utilisés comme anticancéreux à grande échelle (GLOBOCAN, 2012). Le succès clinique et commercial des poisons de la tubuline tels les taxoïdes et les vinca-alcaloïdes a incité les recherches à développer de nouvelles générations de drogues plus efficaces et moins toxiques. De plus, la compréhension grandissante du fonctionnement du fuseau mitotique et des mécanismes de contrôle permet d'explorer des approches alternatives prometteuses (ARNAL, et *al.*, 2002).

Les extraits éthanoliques des feuilles de *Verbascum sinuatum* et *Phlomis bovei* ont montré une activité antimitotique louable, Ce qui nous permet de dire que les deux espèces végétales sont une source prometteuse de composés chimiques naturels qui ont la capacité d'inhiber la mitose et donc pourront être des sources de principes actifs de nouveaux médicaments anticancéreux.

## Conclusion

---

Les plantes médicinales constituent un réservoir immense de composés bioactives présentant l'avantage d'une grande diversité de structures chimiques telles que les terpénoïdes, les polyphénols et les alcaloïdes..., qui sont sources d'activités biologiques telles que l'activité anticancéreuse (BULZOMI *et al.*, 2012).

Dans ce cadre, nous nous sommes intéressés à deux espèces végétales méditerranéennes : *Verbascum sinuatum* et *Phlomis bovei*. Appartenant à la famille des Scrophulariaceae et Lamiacées respectivement. Ces deux espèces ont fait l'objet de plusieurs études phytochimiques qui montrent leurs richesses en composés bioactifs.

Notre travail a consisté à montrer l'activité antimittotique d'extraits éthanoliques des feuilles des deux plantes étudiées. La poudre des feuilles de chacune des plantes mise dans l'éthanol 96% est évaporée après 72H. L'extrait éthanolique obtenu est solubilisé dans l'eau distillée pour obtenir la solution mère et les dilutions avec lesquelles les cellules méristématiques des racines d'*Allium cepa* sont traitées. L'activité antimittotique est ensuite évaluée par les observations microscopiques et les indices mitotiques.

Les résultats obtenus confirment l'expression de l'activité antimittotique par les deux plantes étudiées. Les observations microscopiques ont révélé des aberrations variées des différentes phases de la mitose chez les cellules méristématiques. Les indices mitotiques calculés nous ont permis de déduire que l'activité antimittotique évaluée est proportionnelle aux concentrations des extraits éthanoliques foliaires des deux espèces analysées. Cette activité dépend aussi de l'espèce, elle est plus exprimée par *Verbascum sinuatum* que par *Phlomis bovei*.

Notre recherche a démontré la forte activité antimittotique de *Verbascum sinuatum* et *Phlomis bovei*. Cela mène à suggérer que ces deux espèces constituent des sources prometteuses de substances anticancéreuses, ce qui permettra de renforcer la lutte de l'homme contre le cancer qui est problème majeur de santé publique.

Les résultats obtenus dans cette étude pourront donner suite à d'autres études qui restent nécessaires afin de déterminer les molécules responsables de l'activité antimittotique des feuilles *Verbascum sinuatum* et *Phlomis bovei* et de procéder à leur purification et leur identification.

## Références Bibliographiques

---

- AKDEMIR, Z. S.; TATLI, I. I.; BEDIR, E.; KHAN, I. A. (2004).** Acylated iridioid glycosides from flowers. *Turk. J. Chem.*, 28, 227-234.
- ALIGIANNIS, N.; KALPOUTZAKIS, E.; KYRIAKOPOULOU, I.; MITAKU, S.; CHINOU, I.B. (2004).** Essential oils of *Phlomis* species growing in Greece chemical composition and antimicrobial activity. *Flav. Frag. J.*, 19: 320-324.
- ALTMANN, K-H. et GERTSCH, J. (2007),** Anticancer drugs from natural products. *Nat. Prod. Rep.* 24: 327-357
- ANGAYARKANNI, J. ; RAMKUMAR, K.M. ; POORNIMA, T. ET PRIYADARSHINI, U. (2007).** Cytotoxic activity of *Amorphophallus paeoniifolius* Tuber extracts *in vitro*, *American-Eurasian J. of Agr. And Env. Sciences*, vol. 2(4): 395– 398,
- ARMATU1, A.; BODIRLAU, R.C.B.; NECHITA, C.B.; NICULAUA, M.; TEACA, C.A.; ICHIM, M. ET SPIRIDON, I. (2011).** Characterization of biological active compounds from *Verbascum phlomoides* by chromatography techniques. *Rom. Biotech. Letters Vol. 16: 4.*
- ARNAL, I. ; SASSOON, I. ET TOURNEBIZE, R. (2002).** Dynamique du fuseau : vers une cible anti-cancéreuse. 18(12) : 1226-1235.
- ATHAMENA, S. (2009).** Etude quantitative des flavonoïdes des graines de *cuminum cyminum* et les feuilles de *rosmarinus officinalis* et l'évaluation de l'activité biologique, mémoire magister, université el-hadj lakhdar-batna.
- AUTI, S. ; PAGARE, R.; AHIRE, D. ET SAWALE, V. (2010).** Cytogenetical studies on the effect of omnacortil on root tip cells of *Allium cepa* L., *J. of Cell and Tissue Res.*, 10 (3): 2331–2335.
- BARASOAIN, I.; GARCIA-CARRIL, AM.; MATESANZ, R.; MACCARI, G. ; TRIGILI, C. ET MORI, M. (2010).** Probing the Pore Drug Binding Site of Microtubules with Fluorescent Taxanes: Evidence of Two Binding Poses. *Chem Biol.* 17(3):243-253.
- BECKERS, T. ET MAHBOODI, S. (2003).** Natural semi synthetic and synthetic microtubule inhibitors for cancer therapy. *Drugs of the future.* 28: 767-785.

## Références Bibliographiques

---

- BENAMOR L., BOUBAKER J., BENSGAIER M., SKANDRANI I., BHOURI W., NEFFATI A., KILANI S., BOUHELEL I., GHEDIRA K. et GHEDIRA L. (2009).** Phytochemistry and biological activities of *Phlomis* species. *J. of Ethnopharm.* 10.1016.
- BENISTON. NT.WS. (1984).** Fleurs d'Algérie. Entreprise National du Livre. Ed.1822/84. Alger. Algérie.
- BHATTACHARYYA, B.; PANDA, D.; GUPTA, S.; BANERJEE, M. (2008)** Anti-mitotic activity of colchicine and the structural basis for its interaction with tubulin. *Med Res Rev.* 28(1):155-183.
- BINDER-FOUCRD, F.; BOSSARD, N.; DELAFOSSE, P.; BELOT, A.; WORONOFF A-S. et REMONTET, L.(2014).** Cancer incidence and mortality in France over the period: 1980–2012. *Rev. Epidém. Santé Publique.* 62(2):95-108.
- BOCA, R. (2004).** Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals, 3rd Edition, Ed. Max Wichtl Marburg, CRC Press, P.704.
- BOETTCHER, B. ET BARRAL, Y. (2013).** The cell biology of open and closed mitosis. *Nucleus .Austin, Tex. 4* :160–165.
- BOSSETI, C. ; SPERTI NI, L. ; PARPINEL, M. ; GNAGNARELLA, P. ; LAGIOU, P. ; NEGRI, E. ; FRANCESHI, S. ; MONTELLA, M. ; PETERSON, J. ; DWYER, J. ; GIACOSA, A. ET LA VECCHIA, C. (2005).** Flavonoïds and breast cancer risk in Italy. *Cancer Epidemiology, Biom. & Prev.* 14 : 805-808.
- BOUKEF, M. K. ; (1986).** Médecine Traditionnelle et pharmacopée .Les plantes de la médecine traditionnelle tunisienne, Agence de Coopération Culturelle et Technique, Paris, France.
- BOWN, D. (1995).** Encyclopedia of herbs and their uses. 1<sup>ère</sup> Ed. New York, DK publishing, USA.P.420.
- BOYE, O.; GETAHUN, Z.; GROVER, S.; HAMIL, E.; BROSSI A. J. (1993).** Synthesis of <sup>14</sup>C labelled electrophilic ligands of the colchicine binding site of tubulin: chloroacetates of demethylthiocolchicines and of acetylcolchinol, isothiocyanate of 9-deoxy-N-acetylcolchinol"; *Labelled Compd.s Radiopharm.*33: 293-299.

## Références Bibliographiques

---

- BRADLEY, P. (2006).** British Herbal Compendium, Ed. British Herbal Medicine Assoc.1:2.
- BRAY L. (2011).**In Guide illustré de la flore algérienne.
- BREMER, B.; BREMER, K.; CHASE, M.; FAY, M.; REVEAL, J.; SOLTIS, D. & STEVENS, P., (2009).** An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. *Botanical Journal of the Linnean Society*. 161: 105–121.
- BULZOMI, P.; GALLUZZO, P.; BOLLI, A.; LEONE, S.; ACCONICIA, F. et MARINO, M. (2012).** The pro-apoptotic effect of quercetin in cancer cell lines requires ERb-dependent signals. *J. of Cell. Phys.*, 227:1891-1898.
- CABARAVDIC, M. (2010).** Induction of chromosome aberrations in the *Allium cepa* test system caused by the exposure of cells to benzo(a) pyrene, *Medicinski Arhiv*, 64(4): 215–218.
- ÇALIS I., BASARAN A. A., SARACOGLU I., STICHER O., RUEDI P. (1991).** Phlinsides D and E, phenylpropanoid glycosides and iridoids from *Phlomis linearis*. *Phytochemistry*. 30: 3073-3075.
- CAUHAN, L. K. S.; SAXENA, P. N. ET GUPTA, S. K. (1999).** Effects of deltamethrin on the ultrastructures of the root meristem cells of *Allium cepa*, *Pesticide Biochem. and Phys.*, vol. 64(3): 135–147.
- CHAUHAN, L. K. S. ET GUPTA, S. K. (2005).** Combined cytogenetic and ultrastructural effects of substituted urea herbicides and synthetic pyrethroid insecticide on the root meristem cells of *Allium cepa*, *Pesticide Biochem. And Phys.* vol. 82(1): 27–35.
- CHAUHAN, L.K.S. ET SUNDARARAMAN, V. (1990).** Effects of substituted ureas on plant cells. I. Cytological effects of isoproturon on the root meristem cells of *A. cepa*, *Cyt.*, vol. 55 (1): 91– 98.
- CHEESMAN, I.M. Et DESAI, A. (2008).** Molecular architecture of the kinetochore microtubule interface. *Mol. Cell Bio.* 9: 33–46.

## Références Bibliographiques

---

**CHEN, S-M.; MENG, L-H.; DING, J. (2010).** New microtubule-inhibiting anticancer agents. *Expert Opin Inves. Drugs.* 19: 329-343.

**CHIANG, L.C.; NG, L.T, LIN, I.; KUO, P.L.; LIN, C.C. (2006).** Anti-proliferative effect of apigenin and its apoptotic induction in human HepG-2 cells. *Cancer Lett.* 237(2): 207-214.

**CHUNG, B.S.; KIM, J.W. ET LEE, H.K. (1981).** *Saengyak Hackeoechi*, in Etude phytochimique de plantes médicinales appartenant à la famille des Lamiaceae .Thèse de doctorat. Université des Frères Mentouri Constantine.

**CORDELL, G.A. et COLVARD, M.D. (2005).** Some thoughts on the futures of ethnopharmacology, *J. of Ethnopharm.* 100: 5-14.

**COURTHEOUX, T. ; GAY, G. ; GACHET, Y. ; ET TOURNIER, S. (2009).** Ase1/Prc1-dependent spindle elongation corrects merotely during anaphase in fission yeast. *J. of Cell Bio.* 187: 399–412.

**DABYDEEN, D.; FLORENCE, G.; PATERSON, I.; HAMEL, E. (2004),** *Cancer Chemother. Pharm.* 53, 397-403.

**DEMBITSKY, V.M. (2005).** Astonishing diversity of natural surfactants: 5. Biologically active glycosides of aromatic metabolites. *Lipids* .40: 869–900.

**DEMNATI, F. Et ALLACHE, F. (2014).** Effect of *Verbascum sinuatum* (Scrophulariaceae) on oviposition of *Callosobruchus maculatus* (Bruchidae). *J. Crop Prot.* 3 (3): 327-334.

**DEWICK, P. M. (2002).** Medicinal natural products A biosynthetic approach. 2<sup>ème</sup> éd. Wiley, Inde.

**DIAZ JF. (2000);** Molecular Recognition of Taxol by Microtubules. Kinetics and Thermodynamics of Binding of Fluorescent Taxol Derivatives To An Exposed Site. *J. Biol Chem.* 275(34):76.

**DIAZ JF. (2003).** Fast Kinetics of Taxol Binding to Microtubules. Effects of Solution Variables and Microtubule-Associated Proteins. *J Biol Chem.* 278(10):19.

## Références Bibliographiques

---

- DIAZ, JF.; BARASOAIN, I. ; SOUTO, AA.; AMAT-GUERRI, F. ; ANDREU JM. (2005).** Macromolecular Accessibility of Fluorescent Taxoids Bound at a Paclitaxel Binding Site in the Microtubule Surface. *J Biol Chem.* 280(5): 37.
- DOERNER, P. (2000).** Plant stem cells: the only constant thing is change. *Cur. Bio.*10 : 826-829.
- DOREE, M. (2003).** Le déclenchement de la mitose chez les eucaryotes supérieurs *MED.SCIENCES* ; 19 : 299-307.
- DRANDAROV, K. (1997).** Verballoscenine, the z isomer of verbascenine from *Verbascum phoeniceum*. *Phyt.* 44(5): 971-973.
- DUGLER, B.; KIRMIZI, S.; ARSLAN, H.; GULERYUZ, G. (2002).** Antimicrobial activity of three endemic *Verbascum* species, *Pharm. Bio.* 40: 587-589.
- EI-NEGOUMY S. I., ABDELLAH M. F., SALEH N. A. M. (1986).** Flavonoids of *Phlomis aurea* and *P. floccosa*. *Phytochemistry*, 25(3): 172-774.
- EVAN, W.C. (2002).** Trease and Evan-Pharmacognosy. 15<sup>ème</sup> ed. W.B. Sanders Company, USA.
- FIELD, J.J.; DIAZ, J.F.; MILLER, J.H. (2013).** The Binding Sites of Microtubule-Stabilizing Agents. *Chem Biol.*20 (3):301-315.
- FINK, B.N.; STECK, S.E.; WOLFF, M.S.; BRITTON, J.A.; KABAT, G.C.; GAUDET, M.M.; ABRAHMSON, P.E.; BELL P.; SCHROEDER, J.C.; TEITELBAUM, S.L.; NEUGUT, A.I. ET GAMMON, M.D.(2007).** Dietary flavonoid intake and breast cancer survival among women on Long Island. *Cancer Epidemiology, Biom. & Prev.* 16: 2285-2292.
- FISCHER, E. (2004).** Scrophulariaceae, in *Flowering Plants — Dicotyledons: Lamiales*. The Families and Genera of Vascular Plants VII. *Springer*. 333–432.
- GIGANT, B.; WANG, C.; RAVELLI, R. B. G.; ROUSSI, F.; STEINMETZ, M. O.; CURMI, P. A.; SOBEL, A.; KNOSSOW, M. (2005).** Structural basis for the regulation of tubulin by vinblastine. *Nat.*435: 519-522.
- GLOBOCAN, (2012).** Estimated cancer incidence, mortality and prevalence worldwide. *Int. Agen. for Res.*10: 10-12.

## Références Bibliographiques

---

**GOTTSCLING, D.E. ET BERG, B. (1998).**Chromosoms, organisatin and function. *Science*. 470:626-630.

**GUIGNARD J. L. Et PELT J. M. (2001).** Botanique Systématique moléculaire.12<sup>ème</sup> éd. Masson, Paris.

**GUIGNARD J. L. Et DUPONT F., (2004).**Botanique Systématique moléculaire. 13<sup>ème</sup> éd. Masson, Paris.

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

**HECTOR RJJ, FERNANDO B, ADOLFINA RK, OLIVA MM, MIRTA SD, VICTORIO ST, JULI AZ (2002)** Chemical constituents and antimicrobial activity of the essential oil of *Lantana xenica*. *Planta Med.*68:762–764.

**HERON, J. F. (2006).** Oncoprof, site de cancérologie générale : <http://www.oncoprof.net>.

**HEYWOOD, V.H. (1985).** Flowering Plants of the World. Oxford Univ. *Press*,3: 399-400.

**HEYWOOD V. H., BRUMITT R. k., CULHAM A., SEBERG O. (2007).** Flowering plant families of the world. Royal botanic Gardens,*Kew Pub.*.424.

**HUNG, D.; JAMISON, T.; SCHREIBER, S. (1996).**Understanding and controlling the cell cycle with natural products. *Chem. Biol*, 3: 623-639.

**IONKOVA, I. et ALFERMAN, A. (2000).** Use of DNA for detection and isolation of potential anticancer agents from plants. *Farmatsiya*, 47: 10.

**JARADAT.N.A; MASOUD B.; ABU-HADID M. (2015).** Screaning Antibacterial and Antifungal Activities and Evaluation of the Exhaustive Extractions Yields For *Verbascum sinuatum*. *Int. J.Res.Ayurveda pharm.*105-110.

**JORDAN, M.A. (2002).** Mechanism of action of antitumor drugs that interact with microtubules and tubulin, *Cur. Med. Chem.. Anti-Cancer Agents*, 2(1): 1–17

**JUTEAU, F.; MASOTTI, V.; BESSIERE, J.M.; DHERBOMEZh, M.; VIANO, J. (2002).** Antibacterial and antioxidant activities of *Artemisia annua* essential oil. *Fit*, 73: 532-535.

## Références Bibliographiques

---

- KATAGIRI M., OHTANI K., KASSAI R., YAMASAKI K., YANG C.-R., TANAKA, O. (1994).** Diterpenoid glycosyl esters from *Phlomis young-husbandii* and *P. medicinalis* roots. *Phytochemistry*, 35: 439-442.
- KAUR, P. ET GROVER, I.S. (1985).** Cytological effects of some organophosphorus pesticides. II. Meiotic effects, *Cyt.*, 50: 199–211.
- KATAYOUN M. S., MOHAMMED A., AFSANEH G. (2004).** The essential oils composition of *Phlomis herba-venti* L. leaves and flowers of Iranian origin. *J Flav Fragr*, 19 : 29–31.
- KHAYATI, Y. (2011).** L'éthanol, sa qualité et ses utilisations en pharmacie. Laboratoire de Pharmacie Galénique, Faculté de Médecine et de Pharmacie de Casablanca, Université Hassan II in [www.pharmacies.ma](http://www.pharmacies.ma).
- KHITRI, W.J. ZENAKI, A. ABI, N. LACHGUEUR, A. LARDJEM. (2014).** Evaluation of Wound Healing Activity of *Phlomis bovei* De Noe in Wistar Albino Rats. *Int.J.of Pharma. and Pharmaceutical Sci.*, 8: 10- 11.
- KHOSHNOUD, H.; NEMATI, N.; AMIMIA, R.; GHIYASI, M.; HASANZADE, H.; GHOURTTAPE, A.; TAJBAKSH, M.; TALATI, F.; SALEHZADEH, H. (2008).** Insecticidal Properties of *Verbascum cheiranthifolium* against *R. dominica* on Wheat and Barley. *Pak J Biol Sci.* 11: 783-787.
- KINGSTON, D. J. (2009).** Tubulin-interactive natural products as anticancer agents. *Nat. Prod*, 72: 507-515.
- KRAMER, A., LUKAS, J., ET BARTEK, J. (2004).** Checking out the centrosome. *Cell Cycle Georget. Tex* .3: 1390–1393.
- KÜÇÜK, S., ÖZDEMİR, F., İŞCAN, G., İNCESU, Z. (2016).** Determination of Cytotoxic and Anticandidal Activities of Three *Verbascum* L. Species from Turkey: *V. cheiranthifolium* Boiss. var. *asperulum* (Boiss.) Murb. Monorg., *V. pycnostachyum* Boiss. & Heldr and *V. orgyale* Boiss. & Heldr. *Turk J Pharm Sci.* 13(3): 318-322.
- LEE, KH. (2004).** Current developments in the discovery and design of new drug candidates from plant natural product lead, *Journal of Natural Products* 67: 273-283.

## Références Bibliographiques

---

- LEE T. K., LEE D. K., KIM D. I., LEE Y. C., CHANG Y. C., KIM C. H., (2004) .** Inhibitory effects of *Scutellaria barbata* D. Don on human uterine leiomyoma smooth muscle cell proliferation through cell cycle analysis. *Int. Im.* 4: 447–454.
- LI, M.X. ; SHANG, X.F; JIA, Z.P. ET ZHANG, R.X. (2010).** Phytochemical and biological studies of plants from the Genus *Phlomis*, *Chem. Diver.* 7: 283-301.
- LIN, Y.; SHI, R.; WANG, X.; SHEN, H.M. (2008).** Luteolin, a flavonoid with potentials for cancer prevention and therapy. *Curr Cancer Drug Tar.*8(7): 634-646.
- LIOLIOS, C.; LAOUER, H. ; BOULAACHEB, N. ; GORTZI O. Et CHINOUI I. (2007).** Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of Algerian *Phlomis bovei* De Noe subsp. *Bovei*, *Mol.*, 12: 772–781.
- LOPEZ-LAZARO M. (2009).** Distribution and biological activities of the flavonoid luteolin. *Mini-Rev Med Chem.* 9(1): 31-59.
- LUCH, A. (2002).** Cell Cycle Control and Cell Division: Implications for Chemically Induced Carcinogenesis”; *Chem.Bio.Chem.*, 3: 506-516.
- MAIATO, H.; SAMPAIO, P.; ET SUNKEL, C.E. (2004).** Microtubule-associated proteins and their essential roles during mitosis. *Int.Rev. of Cyt.* 241: 53–153.
- MALUMBRES, M. ; HARLOW, E. ; HUNTER, T; LAHTI, J.M.; MANNING, G.; MORGAN, D.O. Et TSAI, L.H. (2009).** Cyclin-dependent kinases: a family portrait. *Nat. Cell. Biol.* 11:1275-1276.
- MARY, H. (2015).** Analyse et Modélisation de la Dynamique des Chromosomes durant la Mitose chez la Levure à Fission. Thèse de doctorat en biologie santé biotechnologie. Université Toulouse 3 Paul Sabatier. France.
- MCCALLEY, D.V. (2002).** Analysis of the *Cinchona* alkaloids by high-performance liquid chromatography and other separation techniques, *J. of Chromatography* , 967: 1–19.
- MCCUTCHEON, A. R., ROBERTS, T. E., GIBBONS, E., ELLIS, S. M., BABIUK, L. A., HANCOCK, R. E. W., TOWERS, G. H. N. (1995) .** Antiviral screening of British Columbian medicinal plants. *J. of Ethnopharmacology*, 49: 101-110.
- MEDDOUR.R, MEDDOUR-SAHAT.O, DERRIDJ.A, GEHU.J.M. (2010).** Synopsis commenté des groupements végétaux forestiers et préforestiers de la Kabylie djurdjurénne (Algérie). *Rev. For. Fr.* 3(4): 295-308.

## Références Bibliographiques

---

- MOGILNER, A.; WOLLMAN, R.; CIVELEKOGLU-SCHOLEY, G.; SCHOLEY, J. (2006).** Modeling mitosis. *Trends in Cell Biology*.16: 88–96.
- MOHAJER M., SARKHAIL P., HAJAROLASVADI N., ZAMANI M. J., KHORASANI R., SHAFIEE A., AMIN G., ABDOLLAHI M., (2006).**Anti-inflammatory and analgesic effects of *Phlomis lanceolata* Boiss and Hohen, Extracts and examination of their components. *Int. J. of Pharm.* 2: 50–54.
- MOHAMMEDIFAR, F.; DELNAVAZI, M.R. ET YASSA, N. (2015).** Chemical Analysis and Toxicity Screening of *Phlomis olivieri* Benth. and *Phlomis persica* Boiss. Essential Oils. *Pharm. Sci.*, 21: 12-17.
- NAJEM, M.; BELAIDI, R.; HAROUAK, H; BOUIAMRINE, E.H.; IBIJBIJEN, J. ET NASSIRI, L. (2018).** Occurrence de plantes toxiques en phytothérapie traditionnelle dans la région du Moyen Atlas central Maroc. *J. of Animal &Plant Sci.* 35(2): 5651-5673.
- NGUYEN, D.X.; BOS, P.D. ET MASSAGUE, J. (2009).**metastasis: from dissemination to organ specific colonization. *National Llibrary of Medicine.pub.med.*4: 274-284.
- NOGALES, E.; GRAYER WOLF, S.; KHAN, I.A.; LUDUENA, R.F.et DOWING, K.H. (1995) .** Structure of tubulin at 6.5 Å and location of the taxol-binding site. *Nat.* 375: 424-427.
- NOGALES, E.; WHITAKER, W.; MILIGAN, R. et DOWNING, K. (1999).** High resolution model of the microtubule. *Cell*, 96 : 79-88.
- OLIVEIRA, R. ; HAMILTON, R.S. ; PAULI, A. ; DAVIS, I. ; et NASMYTH, K. (2010).** Cohesin cleavage and Cdk inhibition trigger formation of daughter nuclei. *Nat. Cell Bio.* 12: 185–192.
- OPREDELITEL R. S. A. (1987).** Key for determining plants of Middle Asia,” ed. by *Adylov J. A., IX, Fan, Tashkent*, 10: 110.
- O’TOOLE, E., WINEY, M., ET MCINTOSH, J. (1999).** High-voltage electron tomography of spindle pole bodies and early mitotic spindles in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol. Bio. of the Cell.* 10(6): 2017-2031.

## Références Bibliographiques

---

**OZLEM DOGAN ŞIGV.Z, HASVATAN.E.E, GULEN.G, USLU.R, ERYILDIZ.B, DURMUSKAHYA.C, KAYALAR.H, OZBILGIN.A, KORKMAZ.M, GUNDUZL.C. (2017).** Effect of Extracts of the Endemic Plants *Centaurea lydia* and *Phlomis nissolii* on *Toxoplasma gondii*. *Tur. Par. Derg*; 41: 164-168.

**PARDO, F.; PERICH, F.; TORRES, R.; DELLE MONACH, F. (2004).** Biochemical Systematics and Ecology, 32: 367-370.

**PELLMAN, D.; BAGGET, M.; TU, Y.; FINK, R. (1995).** Two microtubule-associated proteins required for anaphase spindle movement in *Saccharomyces cerevisiae*. *The J.of Cell bio.130 (6): 1373-1385.*

**PENG, LX.; HSU, MT.; BONOMI, M. ; AGARD, DA. ; JACOBSON ; MP. (2014).**The Free Energy Profile of Tubulin Straight -Bent Conformational Changes, with Implications for Microtubule Assembly and Drug Discovery. *Comput Biol.* 10(2) : 464.

**QUEZEL P. SANTA S. (1963).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, TII, CNRS: Paris.

**RAFIEMANESH, H.; MEHTARPOUR, M.; KHANI, F.; HESAMI, S.M.; SHAMLOU, R. Et TOWHIDI, F. (2016).** Incidence and mortality of lung cancer and their relationship with the development index in the world. *J Thorac*; 8(6) : 1094-1102.

**RAJKUMAR, V.; GUHA, G.; ASHOK KUMAR, R. Et MATHEW, L. (2009).** Evaluation of cytotoxic potential of *Acorus calamus* rhizome, *Ethn. Leaflets*, 13 : 832–839.

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

**REMUS, D.; BEURON, F.; TOLUN, G.; GRIFFITH, J.D.; MORRIS, E.P. Et DIFFLEY, J.F. (2009).** Concerted loading of Mcm2-7 double hexamers around DNA during DNA replication origin licensing.*Nat. Lib OF Med.* 139(4):719-730.

**RISTIC, M.D.; DULETI-LAUEVI, S.; KNEEVI-VUKEVI, J.; MARIN, P.D.; SIMI, D.; VUKOJEVI, J.; JANAKOVI, P.; VAJS, V.; (2000),** Antimicrobial activity of essential oils and ethanol extract of *Phlomis fruticosa* L. (Lamiaceae). *Phy. Res.* .14 : 267–271.

## Références Bibliographiques

---

- SARACOGLU I., INOUE M., CALIS I., OGIHARA Y. (1995).** Studies on constituents with cytotoxic and cytostatic activity of two Turkish medicinal plants *Phlomis armeniaca* and *Scutellaria salviifolia*. *Bio. & Pharm.Bull.*, 18(10): 1396-400.
- SARACOGLU I., KOJIMA K., HARPUTU S., OGIHARA Y. (1998).** A new phenylethanoid glycoside from *Phlomis pungens* Willd. var. *pungens*. *Chemical and pharmaceutical bulletin*, 46(4): 726-727.
- SAXENA, P.N.; CHAUHAN, L.K.S. ET GUPTA, S.K. (2005).** Cytogenetic effects of commercial formulation of cypermethrin in root meristem cells of *Allium sativum*: spectroscopic basis of chromosome damage, *Tox.*, 216: 244–252.
- SCHOLEY, J.M.; BRUST-MASCHER, I.; MOGILNER, A. (2003).** Cell division. *Nat.* 422: 746–752.
- SHIKH, S.; NAZAM, N.; LONE, M.I. ET AHMAD, W. (2012).** Dichlorophene and dichlorvos mediated genotoxic and cytotoxic assessment on root meristem cells of *Allium cepa*, *Science Diliman*, 1: 13–22.
- SENATORE, F.; RIGANO, D.; FORMISANO, C.; GRASSIA, A.; BASILE, A.; SORBO, S. (2007).** Phyto-growth-inhibitory and antibacterial activity of *Verbascum sinuatum*, *Fit.* 78; (3): 244-247.
- SENER, A. Et DUGLER, B. (2009).** Antimicrobial activity of the leaves of *Verbascum sinuatum* L. on microorganisms isolated from urinary tract infection. *A.J. of Mic.Res.*3(11): 778-781.
- SENGUL, M.; ÖGUTCU, H.; ADIGUZEL, A.; SAHIN, F.; KARA, A.A.; KARAMAN, I.; GULLUCE, M. (2005).** Antimicrobial effects of *Verbascum georgicum* Bentham Extract. *Turk J Biol* 29: 105–110.
- SHIVASHARANAPP.K ET LONDONKAR, R. (2014).** Clot Lysis and Antimitotic Study of *Ficus glomerata* Roxb Fruit Extracts Hindawi Publishing Corporation. *Pharm.*4 : 975.
- SOOTODEH, A.; (2015).** Histoire biogéographique et évolutive des genres *Verbascum* et *Artemisia* en Iran à l'aide de la phylogénie moléculaire. Thèse de Doctorat. Disciplines Ecologie fonctionnelle. Université Toulouse 3 Paul Sabatier.

## Références Bibliographiques

---

- SQALLI .H, EL OUARTI. A, ENNABILI. A, Saad IBNSOUDA.S, FARAH. A, HAGGOUD .A, HOUARI A, IRAQUI. M. (2007).** Évaluation de l'effet antimycobactérien de plantes du centre- nord de Maroc. *Bull. Soc. Pharm.* 146 : 271-288.
- STANTON, R.A.; GERNERT, K.M.; NETTLES, J.H.; ANEJA, R.; (2011).** Drugs that target dynamic microtubules: A new molecular perspective. *Med Res Rev.* 31(3): 443-481.
- SUDHAKAR, R.; NINGE GOWDA, K.N. ET VENU, G. (2001).** Mitotic abnormalities induced by silk dyeing industry effluents in the cells of *Allium cepa*, *Cyt.*, 66 (3): 235–239.
- TAN B. K. H. Et VANITHA J. (2004).** Immunomodulatory and antimicrobial effect of some traditional Chinese medicinal herbs. *Cur. Med. Chem.*, 11: 1423-1430.
- TASDEMIR D., BRUN R., PEROZZO R., DONMEZ A. A., (2005).** Evaluation of antiprotozoal and plasmodial enoyl-ACP reductase inhibition potential of Turkish medicinal plants. *Phytotherapy Res.*, 19: 162–166.
- TATLI, II. ; AKDEMIR, ZS.(2004).** Chemical constituents of *Verbascum* species. *J Pharm Sci.*; 29: 93-107.
- TETENYL, I. (1985).** Disponibilité et l'utilisation des plantes médicinales dans la production pharmaceutique. Rapport technique établis pour le gouvernement d'Algérie. P.32.
- TOMAS-BARBERAN, F.A.; GIL, M.A.; FERRERES, F. ET TOMAS-LORENTE, F. (1992).** flavonoïds. *Phytochem.*, 31: 3097.
- UCAR-TURKER, A.; CAMPER, N.D.(2002).** Biological activity of common mullein, a medicinal plant, *J. Ethnopharm.*, 82: 117-125.
- WILLIAMS, G. O. ET OMOH, L. E. (1996 ).** Mitotic effects of the aqueous leaf extract of *Cymbopogon citratus* in *Allium cepa* root tips; *Cytobios*, 350: 161–168.
- WINEY, M.; MAMAY, C.; O'TOOLE, E. (1995).** Three-dimensional ultrastructural analysis of the *Saccharomyces cerevisiae* mitotic spindle. *The J.of Cell bio.*129 (6): 1601-1615.

## Références Bibliographiques

---

**WOOD, K.W.; CORWELL, W.D. et JACKSON, J.R. (2001).** Past and future of the mitotic spindle as an oncology target. *Curr Opin Pharm.*1: 370-7.

**YIN X., ZHOU J., JIE C., XING D., ZHANG Y., (2004).** Anticancer activity and mechanism of *Scutellaria barbata* extract on human lung cancer cell line A549. *Life Science*, 75: 2233-2244.

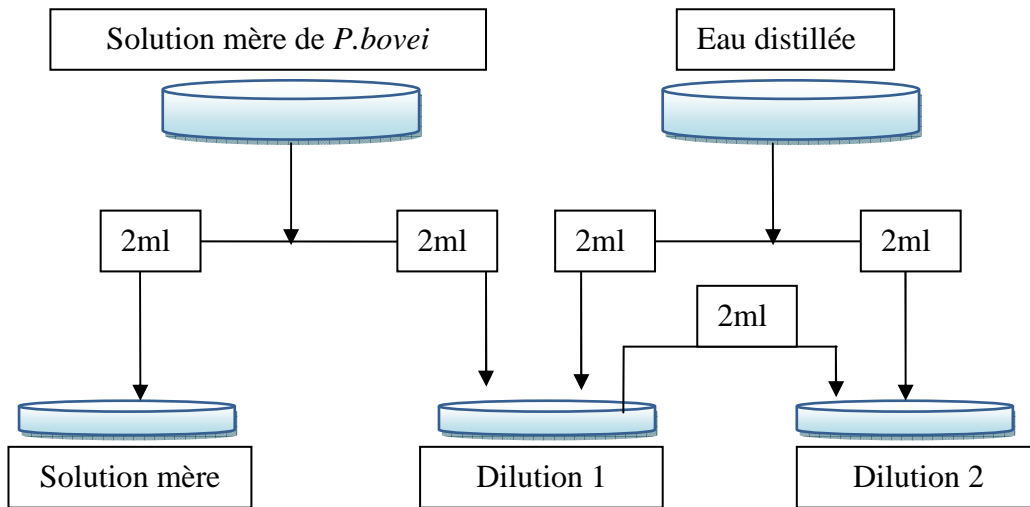
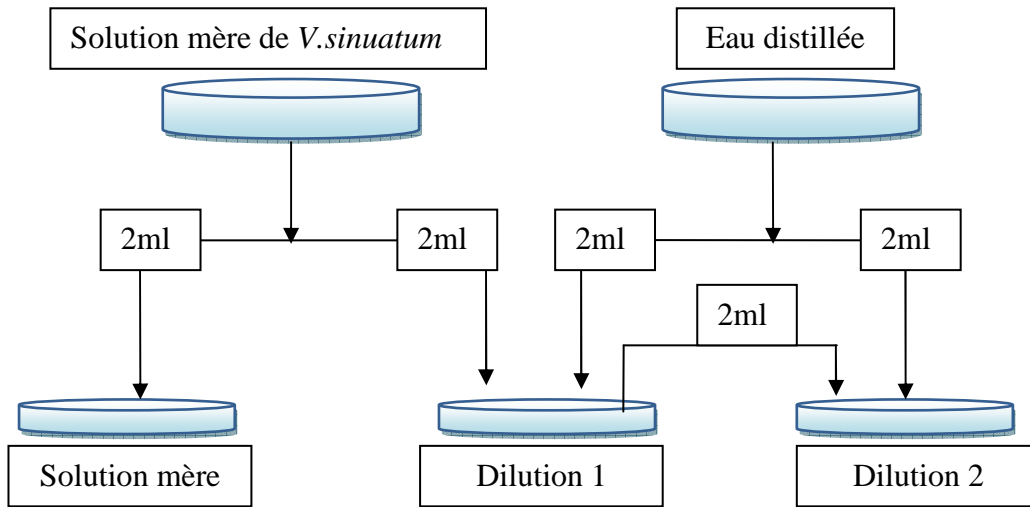
**ZARGARI, A. (1960).** Medicinal plants. *Clar, Oxford*, 4: 449.

**ZAABAT.N. (2010).** Détermination structurale et évaluation biologique de substances naturelles de deux espèces de la famille des Lamiacées : *Marrubium desrti de Noe.* et *Phlomis bovei de Noe.* Thèse de Doctorat en sciences spécialité chimie organique option phytochimique. Université Mentouri, Constantine. Algérie.

**ZHANG Y. et WANG Z. Z. (2008).** Comparative analysis of essential oil components of three *Phlomis* species in Qinling Mountains of China. *J. of Pharm. and Biom. Analysis*, 47 (1): 213-217.

# Annexes

**Annexe 1 :** Les dilutions réalisées à partir des solutions mères des deux espèces étudiées.



## Annexes

**Annexe 2:** Résultats obtenues de l'analyse des Indices Mitotiques (IM) par le test Student.

Comparaison des indices mitotiques au témoin (+) et au témoin (-).

Comparaison de moyennes à un standard (constante) (Feuille de données12)								
Variable	Moyenne	Ec-Type	N	Erreur-T	Valeur de Référence	Valeur t	dl	p
IMT+	38,60000	4,170581	5	1,865141	38,60000	0,00	4	1,000000

Comparaison de moyennes à un standard (constante) (Feuille de données12)								
Variable	Moyenne	Ec-Type	N	Erreur-T	Valeur de Référence	Valeur t	dl	p
IMT-	83,10000	3,555805	5	1,590204	38,60000	27,98382	4	0,000010

Comparaison de moyennes à un standard (constante) (Feuille de données12)								
Variable	Moyenne	Ec-Type	N	Erreur-T	Valeur de Référence	Valeur t	dl	p
IMSMV	50,50000	10,45676	5	4,676404	38,60000	2,544691	4	0,063663

Comparaison de moyennes à un standard (constante) (Feuille de données12)								
Variable	Moyenne	Ec-Type	N	Erreur-T	Valeur de Référence	Valeur t	dl	p
IMD1V	49,05000	3,854381	5	1,723731	38,60000	6,062429	4	0,003738

Comparaison de moyennes à un standard (constante) (Feuille de données12)								
Variable	Moyenne	Ec-Type	N	Erreur-T	Valeur de Référence	Valeur t	dl	p
IMD2V	58,10000	4,735504	5	2,117782	38,60000	9,207747	4	0,000773

Comparaison de moyennes à un standard (constante) (Feuille de données12)								
Variable	Moyenne	Ec-Type	N	Erreur-T	Valeur de Référence	Valeur t	dl	p
IMSMP	53,40000	4,564126	5	2,041139	38,60000	7,250852	4	0,001921

# Annexes

Comparaison de moyennes à un standard (constante) (Feuille de données12)								
Variable	Moyenne	Ec-Type	N	Erreur-T	Valeur de Référence	Valeur t	dl	p
IMD1P	57,05000	3,285384	5	1,469269	38,60000	12,55727	4	0,000231

Comparaison de moyennes à un standard (constante) (Feuille de données12)								
Variable	Moyenne	Ec-Type	N	Erreur-T	Valeur de Référence	Valeur t	dl	p
IMD2P	66,70000	6,757866	5	3,022209	38,60000	9,297833	4	0,000744

Comparaison de moyennes à un standard (constante) (Feuille de données12)								
Variable	Moyenne	Ec-Type	N	Erreur-T	Valeur de Référence	Valeur t	dl	p
IMT-	83,10000	3,555805	5	1,590204	83,10000	0,00	4	1,000000

Comparaison de moyennes à un standard (constante) (Feuille de données12)								
Variable	Moyenne	Ec-Type	N	Erreur-T	Valeur de Référence	Valeur t	dl	p
IMT+	38,60000	4,170581	5	1,865141	83,10000	-23,8588	4	0,000018

Comparaison de moyennes à un standard (constante) (Feuille de données12)								
Variable	Moyenne	Ec-Type	N	Erreur-T	Valeur de Référence	Valeur t	dl	p
IMSMV	50,50000	10,45676	5	4,676404	83,10000	-6,97117	4	0,002226

Comparaison de moyennes à un standard (constante) (Feuille de données12)								
Variable	Moyenne	Ec-Type	N	Erreur-T	Valeur de Référence	Valeur t	dl	p
IMD1V	49,05000	3,854381	5	1,723731	83,10000	-19,7537	4	0,000039

# Annexes

Comparaison de moyennes à un standard (constante) (Feuille de données12)								
Variable	Moyenne	Ec-Type	N	Erreur-T	Valeur de Référence	Valeur t	dl	p
IMD2V	58,10000	4,735504	5	2,117782	83,10000	-11,8048	4	0,000295

Comparaison de moyennes à un standard (constante) (Feuille de données12)								
Variable	Moyenne	Ec-Type	N	Erreur-T	Valeur de Référence	Valeur t	dl	p
IMSMP	53,40000	4,564126	5	2,041139	83,10000	-14,5507	4	0,000130

Comparaison de moyennes à un standard (constante) (Feuille de données12)								
Variable	Moyenne	Ec-Type	N	Erreur-T	Valeur de Référence	Valeur t	dl	p
IMD1P	57,05000	3,285384	5	1,469269	83,10000	-17,7299	4	0,000059

Comparaison de moyennes à un standard (constante) (Feuille de données12)								
Variable	Moyenne	Ec-Type	N	Erreur-T	Valeur de Référence	Valeur t	dl	p
IMD2P	66,70000	6,757866	5	3,022209	83,10000	-5,42649	4	0,005593