

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou



Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques

Département de Biochimie-Microbiologie

Mémoire de fin d'étude

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

Option : Biochimie appliquée

Thème

**Effet antimutotique et cytotoxique des flavonoïdes des feuilles de *Phlomis bovei* De
Noé**

Travail réalisé par :

M^{elle} : HABAREK YASMINA et M^{elle} ABED LYDIA

Devant le jury :

Président : M^{me} IRATNI G.

Maitre de conférences classe B à l'UMMTO

Promoteur: Mr HOUALI K.

Professeur à l'UMMTO

Co-promotrice : M^{elle} OUZID Y.

Docteur en Biochimie-Microbiologie à l'UMMTO

Examineur :Mr MOUALEK I.

Maitre de conférences classe B à l'UMMTO

Année universitaire 2018-2019

Remerciements

On tient à remercier en premier lieu le bon Dieu tout puissant de nous avoir donné la santé, la volonté et le courage pour réaliser ce travail

On tient à remercier également toutes les personnes qui nous ont aidés et soutenus en particulier :

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

***Madame IRATNI-AICHE G. Maître de conférences B à l'UMMTO** d'avoir acceptée de présider la soutenance et on la remercie également pour sa disponibilité, ses conseils, sa gentillesse, qu'elle trouve ici notre reconnaissance et respect.*

***Madame OUZIDY. Docteur en Biochimie-Microbiologie à UMMTO** pour avoir acceptée de nous aider dans notre travail par ses conseils, sa disponibilité et ses orientations.*

***Monsieur MOUALEK I. Maître de conférences B à l'UMMTO** pour avoir accepté d'examiner notre travail.*

Enfin tous nos remerciements à tous ceux et celles, qui de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce mémoire.



Dédicaces

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

A ma chère petite nièce Damia et belle sœur Dihia pour son encouragements permanents, et son soutien moral,

A mon cher frère Mourad pour son appui et son encouragement,

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

Ames chères amies Zahira, Zina, Samia, Kahina, Dalila, Aldjia, Yasmin ,

A tous ceux et toutes celles qui m'ont accompagné et soutenu durant ces années de formation

Merci d'être toujours là pour moi.

Lydia





Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à :

*Ma très chère maman, qui m'a toujours
encouragé et soutenu.*

*A mon cher papa, qui n'a jamais ménagé
d'efforts et de sacrifices pour m'encourager et
me soutenir.*

A mon cher frère Ali

*A ma chère sœur Hakima et son adorable
mari Ghiles*

*A mes amies : Lydia, Linda, Ibtissem, Hafsa,
Khadidja, Ikram*

*A mes amis : Mohamed, Adda, Ghali, Hassan,
Yacine, Youcef*

Yasmine



Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction générale..... 1

Première partie : synthèse bibliographique

Chapitre I : Rappel botanique

1.1. Généralités2

1.2. Classification2

1.3. Etude botanique.....3

1.4. Les principaux métabolites secondaires3

1.4.1. Les flavonoïdes3

1.4.2. Penyléthanoides.....5

1.4.3. Les iridoïdes5

1.4.4. Autres métabolites secondaires6

Chapitre II : Cycle cellulaire et mitose

2.1. Description du cycle cellulaire7

2.1.1. Les principales étapes du cycle cellulaire7

2.1.1.1. Interphase7

2.1.1.1.1. Phase G₁8

2.1.1.1.2. Phase S8

2.1.1.1.3. Phase G₂8

2.1.1.2. La mitose8

2.1.1.2.1. Prophase9

2.1.1.2.2. Métaphase.....	9
2.1.1.2.3. Anaphase	12
2.1.1.2.4. Télophase	12

Chapitre III : Effet biologique des métabolites secondaires

3. Effet biologique des métabolites secondaires	13
3.1. Effet antimittotique.....	13
3.1.1. Les antimittotiques d'origine végétale	13
3.1.1.1. Classification des antimittotiques et leurs mécanismes d'action	13
3.1.1.1.1. La colchicine	13
3.1.1.1.2. Les vincalcaoides	14
3.1.1.1.3. Podophyllotoxine	15
3.1.1.1.4. Taxol.....	16
3.1.1.1.5. La quercetine	17
3.2. Effet sur la membrane érythrocytaire	18
3.2.1. Membrane érythrocytaire	18
3.2.2. Mode d'action de la saponine sur l'intégrité membranaire.....	19

Deuxième partie : Partie expérimentale

I. Matériel et méthodes	20
1.1. Matériel	20
1.1.1. Matériel biologique	20
1.1.2. Solvants et réactifs	20
1.1.3. Matériels utilisés	21
1.2. Méthodes	21
1.2.1. Extraction des flavonoïdes	21

1.2.2. Activité antimittotique	23
1.2.2.1. Indices et paramètres biologiques à calculer	24
1.2.3. Evaluation de l'effet des fractions de flavonoïdes sur la membrane érythrocytaire	25
1.2.3.1. Préparation de la solution érythrocytaire	25
1.2.3.2. Effets des fractions flavonoïques sur la membrane érythrocytaire	25
1.2.4. Dosage des flavonoïdes	26
II. Résultats et discussion	27
Conclusion	38
Références bibliographiques	39
Annexes	
Résumé	

Liste des abréviations

ADN :acide dysoxyribonucleique

CENP-A : Centromeric Protein

Ca⁺ :Calcium

CPG : Chromatographie en Phase Gazeuse

Cdk2 :Cyclin-dependent kinase 2

ERK1/2 :extracellular signal-regulated kinases

G1 : Gap 1(intervalle 1).

G2 : Gap 2(intervalle 2).

GDP :Guanosine triphosphate

GTP : Guanosine triphosphate

GR : globules rouges

Hb :Hémoglobine

HCl : Chlorhydrique

HPLC : Chromatographie liquide à haute performance

PI-3K1Akt :Phosphatidylinositol 3-kinase proteine kinase

PI-3K1Akt :Phosphatidylinositol 3-kinase proteine kinas

RMN : Résonance Magnétique Nucléaire

SM : Spectrométrie de Masse

UNEP :United Nation Environement Programme (programme de l'environement des Nations unies)

La liste des figures

Figure1 : Présentation des parties aériennes de <i>Phlomis bovei</i>	3
Figure 2 : Structure de base des flavonoïdes	4
Figure 3 : Structure chimique des différentes classes de flavonoïdes	4
Figure 4 : Les différentes phases du cycle cellulaire	7
Figure 5 : Les différentes phases de la mitose.....	8
Figure 6 : Tubuline et microtubules	10
Figure 7 : description de l'instabilité dynamique des microtubules	11
Figure8 : Structure d'un kinétochore	12
Figure 9 : Structure de colchicine	14
Figure 10 : Structure de vincalcaloïde	14
Figure 11 : Structure de podophyllotoxine	15
Figure 12 : Structure chimique de taxol	16
Figure 13 : Structure des taxanes	16
Figure 14 : Structure chimique de quercétine	17
Figure 15 : Schéma de la membrane érythrocytaire.....	18
Figure 16 : Protocole d'extraction des flavonoïdes.....	22
Figure 17 : Protocole de l'activité antimitotique.....	23
Figure 18 : protocole de préparation de la solution érythrocytaire	25
Figure19 : Protocole de dosage des flavonoïdes	26
Figure 20 : Courbe d'étalonnage avec de la quercétine.	27
Figure21 : Les différentes phases de la mitose observées chez les cellules méristématiques des racines d' <i>Allium cepa</i> , vues sous microscope optique (×400).....	33

Figure 22: Anomalies chromosomiques et cellulaires observées au niveau des cellules méristématiques racinaires d'*Allium cepa* traités par la quercétine vues sous microscope optique (×400).....33

Figure23: Anomalies chromosomiques et cellulaires observées au niveau des cellules méristématiques racinaires d'*Allium cepa* traités par la fraction aqueuse des feuilles de *Phlomis bovei* quercétine, vues sous microscope optique (×400).....34

Figure24 : Anomalies chromosomique et cellulaires observées au niveau des cellules méristématiques racinaires d'*Allium cepa* traitées par la fraction butanolique des feuilles de *Phlomis bovei* vues sous microscope optique (×400).....34

Liste des tableaux

Tableau I : Quelques phényléthanoides isolés du genre <i>Phlomis</i>	5
Tableau II : Structure de quelques iridoïdes	6
Tableau III : Solvants et réactifs utilisés	20
Tableau IV : Dosage des flavonoïdes dans la fraction aqueuse et butanolique	27
Tableau V : Taux d'hémolyse de la phase aqueuse et butanolique	29
Tableau VI : Indices mitotiques des différentes fractions testées.	31
Tableau VII : Les indices d'aberrations et anomalies rencontrées	35
Tableau VIII : Les valeurs limite de cytotoxicité	37

Introduction

Introduction

Introduction

La plante est un organisme vivant qui existe depuis l'antiquité. Elle constitue un maillon très important et fondamental dans le cycle biologique de vie des organismes vivants (MADI, 2010). Les propriétés odorantes et thérapeutiques des plantes étaient, déjà, connues par l'ancienne Egypte et en Chine (FELLAH *et al.*, 2006). Le recours aux plantes médicinales pour se guérir a pris naissance depuis bien longtemps. De nombreuses formes médicamenteuses à base de plantes ou de substances végétales ne cessent de croître à l'échelle mondiale (WICHT et ANTON, 2003).

De nos jours, l'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie a reçu un grand intérêt dans la recherche biomédicale. Ce regain d'intérêt vient d'une part du fait que les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances et de composés naturels bioactifs et d'autre part du besoin de la recherche d'une meilleure médication par une thérapie plus douce sans effets secondaires. Les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances et composés naturels bioactifs qualifiées de métabolites secondaires. Leur répartition qualitative et quantitative est inégale selon les espèces, dont l'accumulation de ces composés dans les différents organes des plantes joue un rôle essentiel (DURAFFOURD *et al.*, 1997).

Les traitements anticancéreux par les produits d'origine végétale ont suscité l'intérêt des oncologues depuis la naissance de la chimiothérapie anticancéreuse, par la révélation en 1934 de l'effet antimitotique de la colchicine sur le sarcome greffé type Crocker de la souris (MATHE ET KENIS, 1975).

Phlomis bovei De Noé appartient à la famille des lamiacées, est une espèce rare et endémique en Algérie. Généralement utilisée en médecine traditionnelle comme cicatrisante de plaies, antidiabétique, antimicrobienne et antioxydante. Ces effets sont liés à sa composition en métabolites secondaires.

Afin de contribuer à la valorisation des plantes médicinales locales réputées pour leurs vertus thérapeutiques, ce travail vise à étudier l'activité antimitotique des fractions flavonoïques aqueuse et butanolique des feuilles de *Phlomis bovei* De Noé, sur les cellules méristématiques radiculaires d'*Allium cepa*. Nous avons également évalué l'effet de nos fractions sur l'intégrité membranaire érythrocytaire.

Partie I:

Synthèse Bibliographique

1.1. Généralités

Le nom *Phlomis* vient du grec « phlox » qui signifie flamme car les feuilles de ces plantes servaient à la fabrication de mèches de bougies (ALBALADEJO *et al.*,2005).Le genre *Phlomis* comprend près de 100 espèces dont 34 croissent en Turquie(DAVIS,1982) ,17 se trouvent en Iran(RECHINGER,1982). En Algérie ce genre est endémique ,on le trouve en Kabylie surtout dans les forêts de montagnes(AIT YOUCEF,2008) et depuis des millénaires les feuilles de *Phlomis* sont utilisées comme cicatrisantes pour traiter les brûlures, les lésions et les infections de peau et les allergies (LIOLIOS *et al.*, 2007),il est également exploité en médecine traditionnelle comme remède contre les désordres gastriques (douleurs d'estomac et ulcères peptiques) (YASILADA *et al.* ,2002).

1.2. Classification

La principale classification botanique de l'espèce *Phlomis bovei* est celle de CANTINO(1992), présentée ci-dessous.

Embranchement	Spermaphytes (Plantes à graines)
Sous embranchement	Angiospermes (plante à ovaire)
Classe	Dicotyledone
Sous classe	Gamopetales
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiacées(Lamiaceae)
Tribu	Stachrydées (selon Deysam)
Genre	<i>Phlomis</i>
Espèce	<i>Phlomis bovei</i>
Sous-espèce	<i>Phlomis bovei subsp bovei</i>

1.3. Etude botanique

D'après AIT YOUCEF(2008) l'espèce *Phlomis bovei* De Noé est une plante herbacée vivace, avec des tiges puissantes, peu rameuses, font de 50 a 80 cm de haut .ce genre est caractérisé par des feuilles inférieurs grisâtres sur la face supérieur et blanchâtre ou jaunâtre sur la face inférieur ,les feuilles florales(prés des fleurs) sont aussi opposées, mais sessiles, simple, de forme oblongue-triangulaire,elles sont aussi épaisses et tomenteuses, vert grisâtre sur la face supérieur et blanchâtre ou jaunâtre sur la face inférieur. La fleur est jaune .Le calice est couvert de poils soyeux et présente 5 dents linéaires .La corolle est jaune d'or intense, ses pétales sont soudés, formant un court tube terminé par 5 lobes : 2 lobes formants la lèvre supérieur fortement voutée en casque, et les trois autres lobes formant la lèvre inférieur. Les 4 étamines (2 grandes et 2 petites) sont fertiles. La figure suivante représente les fleurs et les feuilles du genre *Phlomis* .



Fleurs



Feuilles

Figure 1 : Présentation des parties aériennes du genre *Phlomis bovei* De Noé(LILIOS *et al.* ,2007) .

1.4. Les principaux métabolites secondaires

Le genre *Phlomis* se caractérise par un bon nombre de métabolites secondaires, on y trouve principalement parmi les polyphénols : les flavonoïdes et les phénylétanoïdes,les iridoïdes et les terpenoïdes.

1.4.1. Les flavonoïdes

Le terme flavonoïde dérive du mot grec flavus qui veut dire jaune (WOLLENWEBER,1980). Les flavonoïdes appartiennent a la famille des polyphénols, possédant le même élément structural de base, sont constitués de deux noyaux aromatiques, que désigne les lettres A et B ,reliés par un hétérocycle oxygené,que désigne la lettre C . La structure correspondant au flavonoïdes est annoncée dans la figure 2 (GHEDIRA,2005).

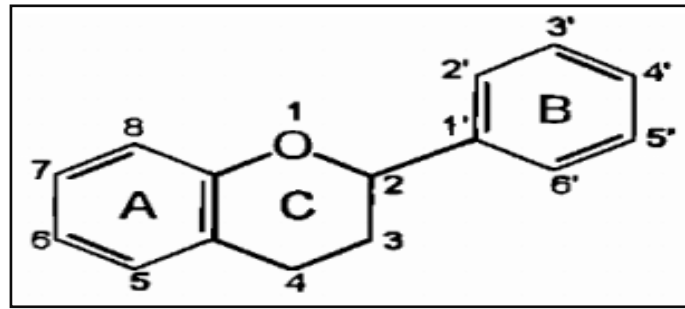


Figure 2 : Structure de base des flavonoïdes (ANDERSON et MARKHAM.,2005) .

Les flavonoïdes sont divisés en plusieurs classes : flavones, flavanones, flavonols, anthocyanes (D'ARCHIVO,2007). Présentés dans la figure ci dessous.

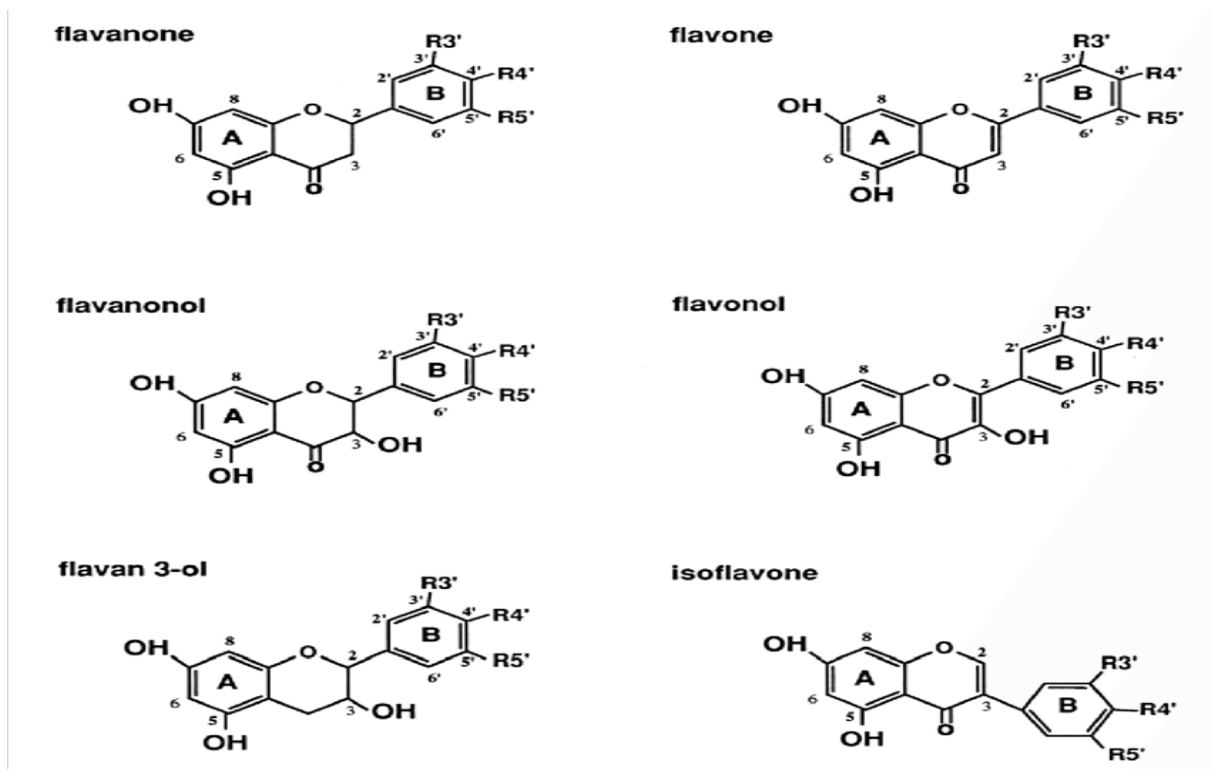


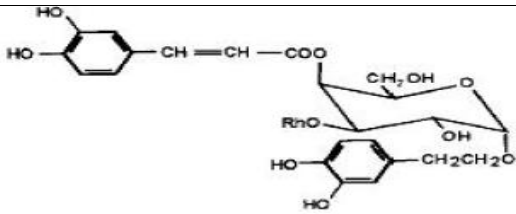
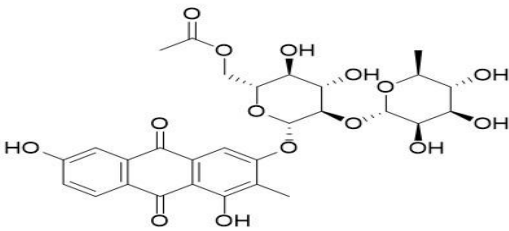
Figure 3 : Structure chimiques des différentes classes de flavonoïdes (D'ARCHIVO,2007).

Les flavonoïdes sont les principaux composés isolés du genre *Phlomis*, Les glycosides flavonoïdes, 7-O-glucosides, 7-O-glucuronides et 7-rutinoside, de l'apigénine, la lutéoline et chrysoeriol, la flavone C-glycoside vicenin-2 et la flavanone, la naringénine et ériodictyol se retrouvent dans la majorité des espèces *Phlomis* et dans la famille des Lamiacées(AZIZIAN *et al.*,1986).

1.4.2. Les phényléthanoides (ou phénylpropanoïdes)

Les phényléthanoides du genre *Phlomis* sont des composés polyphénoliques naturels, caractérisés par une structure d'alcool phénylique, le verbascoside est le composé le plus souvent trouvé dans ce genre. Les phényléthanoides isolés d'espèces *Phlomis* sont dressés dans le Tableau I.

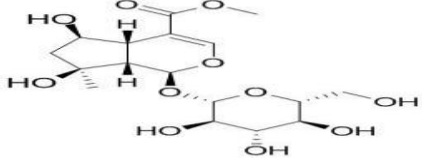
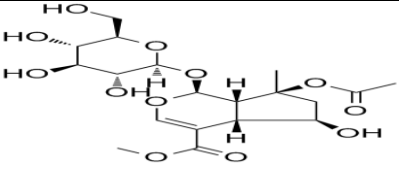
Tableau I : Quelques phényléthanoides isolés du genre *Phlomis* (BEN-AMOR ILEF *et al.*, 2009).

Phényléthanoïde	Structure	Espèce
Actéoside (Verbascoside)		<i>Phlomis carica</i> <i>Phlomis monocephala</i> <i>Phlomis bovei</i>
acétylmartynoside		<i>Phlomis bovei</i>

1.4.3. Les iridoïdes

Un certain nombre d'iridoïdes glycosides ont été isolés à partir des espèces *Phlomis*. Les iridoïdes les plus fréquents sont le méthyle shanzhiside ester, le 8-O-ester méthylique acétylshanzhiside qui sont représentés dans le tableau II. (ISMAILOGLU *et al.*, 2002).

Tableau II : Structure de quelque iridoïdes (ISMAILOGLU *et al.*,2002).

méthyle shanzhiside ester	
8-O-ester méthylique acetylshanzhiside	

1.4.4. Autres métabolites secondaires

Des métabolites secondaires de nature glycosidique ont été identifiés tel que l'acétophénone glycoside, le glycoside alcool aliphatique. On trouve également des terpénoïdes comme, les nortriterpènes, l'ester glycosyle diterpénoïde, les monoterpènes glycosides et les oléananes type triterpènes glycoside (saponoside à génine triterpénique). Un autre alcaloïde est présent en quantité moindre qui est l'acridone alcaloïde (ISMAILOGLU *et al.*,2002).

Chapitre II :

Cycle cellulaire et mitose

Chapitre II : Cycle cellulaire et mitose

2.1. Description du cycle cellulaire

Comme le disait François Jacob en 1974, « *The dream of every cell is to become two cells.* ».

Le cycle cellulaire est un processus fondamentale commun à toutes les cellules eucaryotes, il est constitué d'ensemble d'événement moléculaire et cellulaire orchestré dans le temps et dans l'espace et qui doivent être réalisés suivant l'ordre chronologique précis. Il permet ainsi le maintien d'une information génétique constante en quantité et en qualité au niveau des chromosomes malgré la duplication des cellules de génération en génération (KITAJIMA *et al.*, 2011).

Le cycle cellulaire se divise en deux grandes étapes : une étape de croissance appelée interphase et une étape de division cellulaire appelée mitose (Figure 4).

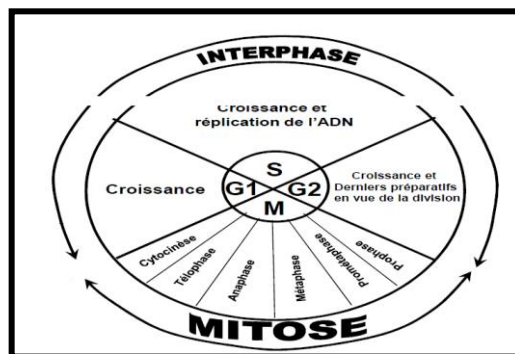


Figure 4 : Les différentes phases du cycle cellulaire (GALAS *et al.*, 2008).

2.1.1. Les principales étapes du cycle cellulaire

2.1.1.1. Interphase

L'interphase est décomposée en trois phases différentes appelées G1, S, G2 qui succèdent dans l'ordre (MAILLET, 2002). La durée de cette phase non proliférative varie en fonction de la nature et les conditions physiologiques de la cellule (MAILLET et LEMULLOIS, 2006).

Chapitre II : Cycle cellulaire et mitose

2.1.1.1.1 Phase G1

C'est la phase de croissance d'une cellule qui correspond à l'intervalle entre la division cellulaire précédente et la phase de synthèse d'ADN, au cours de laquelle la cellule choisit de proliférer, d'attendre ou de se différencier (KITAYIMA *et al.*, 2011).

2.1.1 .1.2. Phase S

L'évènement central au niveau de la phase S (S pour "synthèse") est la réplication de l'ADN. Cette synthèse commence au niveau des origines de réplication, dont l'accessibilité à la machinerie de réplication est finement régulée pour ne permettre qu'un seul tour de réplication (RATTANI *et al.*, 2014).

1.1.1.3. Phase G2

La phase G2 est une phase courte, d'une durée de 4 à 5 heures, débutant dès que la réplication d'ADN est achevée, c'est une période durant laquelle la cellule fabrique les protéines nécessaires à la division cellulaire comme la tubuline (NORBURY et NURSE, 1992).

2.1.1.2. La mitose

La mitose est une étape cruciale du cycle cellulaire, durant laquelle la cellule mère se divise en deux cellules filles. Tous les mécanismes précédents et ceux composant la mitose ont pour objectif d'assurer une division intégrale et égale entre les deux cellules filles (KOPS *et al.*, 2005). Cette équpartition du matériel génétique est importante pour le maintien de la stabilité génétique (MARY, 2015). Elle se déroule en quatre étapes reconnaissables morphologiquement à savoir : la prophase, la métaphase, l'anaphase et la télophase (figure 5) (ESSAD, 1977).

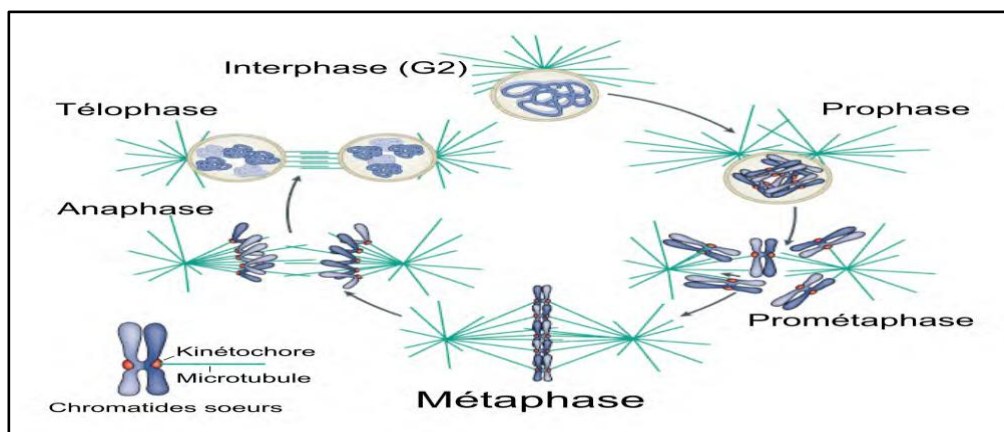


Figure 5: Les différentes phases de la mitose (CHEESEMAN et DESAI, 2008).

Chapitre II : Cycle cellulaire et mitose

2.1.1.2.1. La prophase

La prophase correspond à la première phase de la mitose où la cellule prépare la répartition des chromosomes durant 15 à 30 min (MAILLET et LEMULLOIS, 2006).

Cette phase se caractérise par :

-la condensation de la chromatine en chromosomes qui est visible en

Microscope photonique ; chaque chromosome est constitué de deux chromatides sœurs réunis au niveau de centromère (BLACK et BASETT, 2008) ;

-à la fin de la prophase, il y a disparition du ou des nucléoles ainsi que le noyau lors de la rupture de l'enveloppe nucléaire, cet événement rend accessible les chromosomes à la machinerie de séparation des chromosomes lors de l'anaphase, il y a aussi formation de fuseau achromatique dont le fuseau mitotique entre en contact avec les chromosomes par l'intermédiaire de kinétochore (HEBERT *et al.*, 2003).

2.1.1.2.2. La métaphase

Au cours de cette phase, les chromosomes sont plus visibles et plus faciles à analyser par un simple écrasement de la cellule, car l'enveloppe nucléaire a disparu et ils s'étalent sans problème dans les préparations cytologiques (CLAUDE CALLEN, 2005).

La métaphase se caractérise par le rassemblement de tous les chromosomes sur la plaque équatoriale, les chromosomes se lient aux microtubules par une protéine appelée kinétochore, puis s'alignent sur le plan équatorial de la cellule pour former la plaque métaphasique (COLOMBEL, 2009).

➤ La tubuline

La tubuline est une protéine hétérométrique, constituée de deux sous unités α et β (environ 50 kDa chacune). Ces dimères forment des protofilaments qui après élongation conduisent à la formation de microtubules (13 protofilaments) (Figure 6).

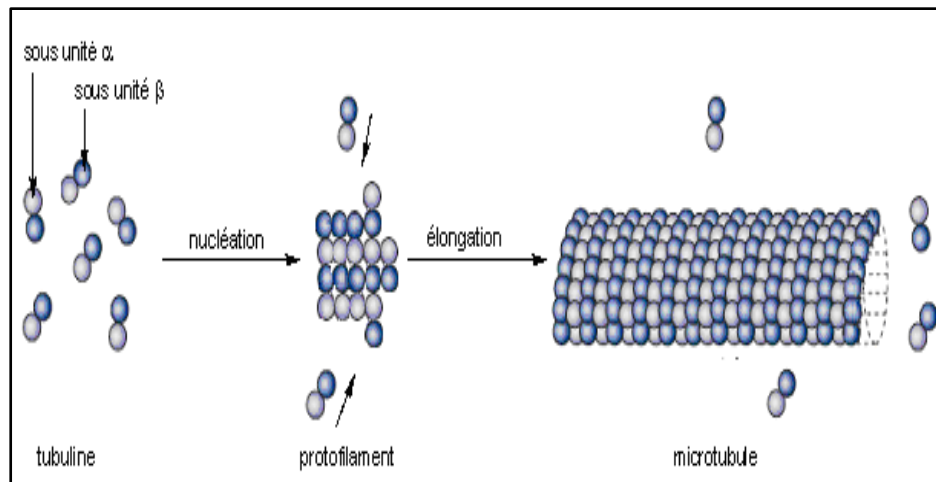


Figure 6 : Tubuline et microtubules (NOGALES *et al.*, 1999).

➤ Les microtubules

Un microtubule est un cylindre creux de 25 nm de diamètre et constituée d'assemblage de 13 protofilaments, chacun d'eux est une succession d'hétérodimères alpha/bêta tubuline qui s'associent toujours dans la même direction (EVANS *et al.*, 1985).

Le microtubule est un polymère extrêmement dynamique qui comporte deux extrémités passant leur temps à basculer entre deux états : la polymérisation et la dépolymérisation (instabilité dynamique) (figure7), ces deux extrémités étant chargées différemment en GTP et GDP, elles possèdent une dynamique plus ou moins importante. (AMOS et BACKER, 1979).

On parle d'extrémité « plus » (coiffée par la tubuline α) pour celle chargée en GTP où la vitesse d'addition des monomères de tubuline est plus élevée (dynamie plus importante) ,et d'extrémité moins (coiffée par la tubuline) pour celle chargée en GDP où la vitesse de dissociation des monomères de tubuline est plus élevée (NOGALES *et al.*,1999) .

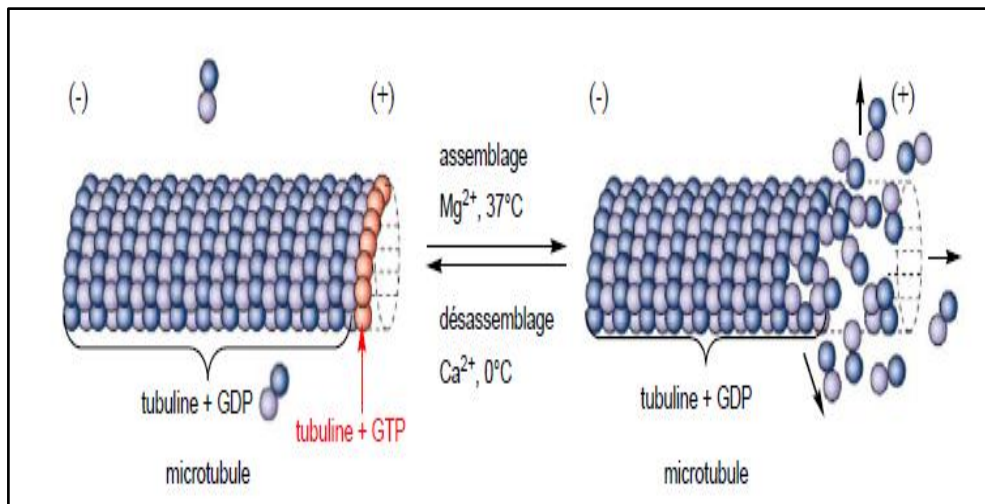


Figure 7: Description de l'instabilité dynamique des microtubules (NOGALES *et al.*, 1999).

Les microtubules interviennent dans de nombreux processus cellulaires (ALBERTS *et al.*, 1997):

- mouvements (cils et flagelles) ;
- transport intracellulaire et cytoplasmique de divers composants tels que des vésicules ou autres grandes protéines;
- organisation du fuseau mitotique (centrosomes, microtubules du fuseau et du kinétochore).

Les microtubules, participent au maintien de la forme tridimensionnelle de la cellule (MATA et NURSE, 1997).

➤ Les kinétochores

Les kinétochores sont des structures protéiques complexes qui s'associent au niveau des centromères des chromosomes au niveau d'histone H3 (appelé CENP-A). Ils permettent l'attachement des chromosomes aux microtubules, générant des forces d'attraction lors de la métaphase et l'anaphase (LUYKX, 1965).

Il est composé de deux régions (Figure 8) :

- **la plaque interne** qui s'associe de manière très spécifique avec la chromatine centromérique par l'intermédiaire entre autre de l'histone CENP-A.

- **la plaque externe**, est une région épaisse de 50 à 60nm qui possède des sites d'ancrage pour les microtubules permettant le mouvement des chromosomes durant la mitose (RICHARD MCINTOSH *et al.*, 2013).

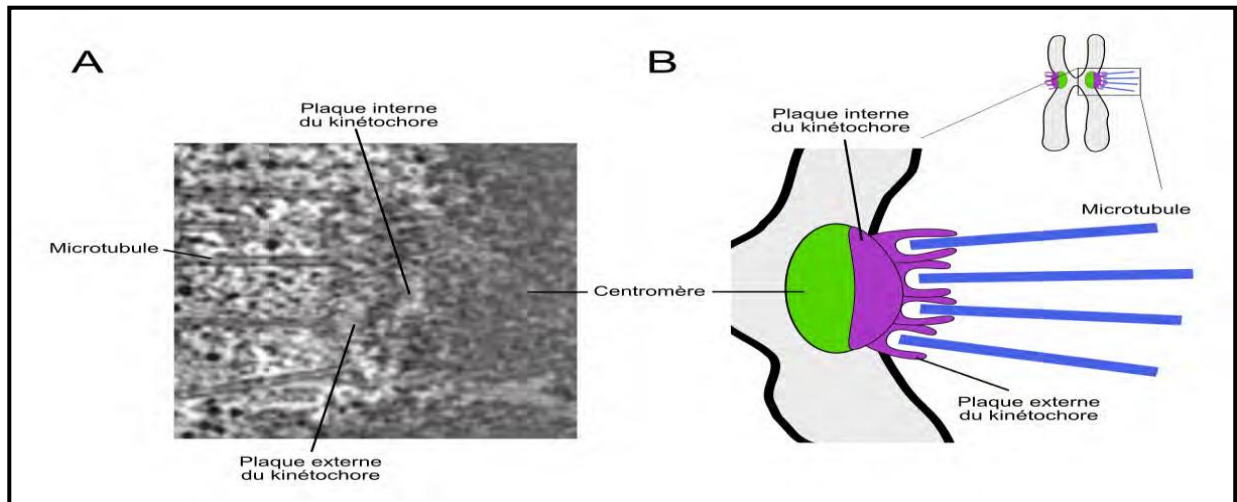


Figure 8: Structure d'un kinétochore. **A.** Vue d'un kinétochore humain de côté par microscopie électronique (MCEWEN *et al.*, 2007). **B.** Schéma des différentes plaques d'un kinétochore.

2.1.1.2.3. L'anaphase

L'anaphase est l'étape décisive au cours de laquelle se déroule la séparation des chromatides sœurs de chaque chromosome qui se partagent en deux lots identique en migrant vers les pôles opposés du fuseau. Dans un premier temps, appelé anaphase A, les microtubules kinétochoriens se dépolymérisent et tractent les chromatides vers chacun des pôles. Puis dans un second temps, appelé anaphase B, les microtubules polaires s'allongent par polymérisation éloignant de ce fait l'un de l'autre les deux pôles du fuseau (CHEESEMAN et DESAI, 2008).

2.1.1.2.4. La télophase

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

Chapitre III :

effet biologique des

métabolites secondaire

Chapitre III : Effet biologiques des métabolites secondaire

3.1. Effet antimittotique

3.1.1. Les antimittotiques d'origine végétale

Aujourd'hui, la recherche de produits antimittotiques à des fins thérapeutiques s'appuie sur l'utilisation directe de régulateurs du cycle cellulaire comme cibles (POMMIER et KOHN, 2003).

Les agents antimittotiques sont soit des substances qui, à faible ou relativement faible Concentration, sont capables d'inhiber la mitose, de la perturber ou de l'arrêter (CHEVREMONT, 1979) , soit des radiations capables d'inhiber ou de modifier le déroulement de la mitose (MAILLET, 2002).

Des substances chimiques de structure et d'origine variées sont capables d'exercer une action antimittotique spécifique soit sur (CHEVREMONT , 1979) :

- ☞ **L'ADN** : par action des agents alkylants et des agents scindants ;
- ☞ **Les enzymes**: par action des antimétabolites et des antitopoisomérasés ;
- ☞ **Les microtubules** : par action des poisons du fuseau mitotique.

La plupart de ces substances exercent leur action durant le cycle cellulaire soit à une phase spécifique du cycle, elles sont dites « agents phases dépendants » ; soit tout au long du cycle, elles sont dites « agents cycle dépendants » (GORIN *et al.*, 1996).

3.1.1.1. Classification des antimittotiques et leur mécanisme d'action

Dans un cycle mitotique il y a deux moments favorables à l'action des poisons du fuseau (VERDIER –PINARD., *et al.*, 2001) :

- au cours de la polymérisation des tubulines en microtubules ce qui correspond à l'action des Inhibiteurs d'assemblage de la tubuline en microtubules tels que la colchicine, les alcaloïdes de vinca, podophyllotoxine.
- au moment de la dépolymérisation des microtubules en tubuline ce qui correspond à l'action des inhibiteurs de désassemblage des microtubules en tubuline tel que taxol.

3. 1.1.1.1. La colchicine

La colchicine est un alcaloïde extrait principalement de deux plantes de la famille des Liliacées : *Gloriosa Superba* et *Colchicum autumnale*. Les concentrations de colchicine dans les plantes précédentes sont d'environ 0,1-0,8% en poids (SCHLINGER ,2014). Sur le plan

Chapitre III : Effet biologiques des métabolites secondaire

chimique la colchicine est caractérisée par une structure tricyclique Benzocyclohéptanotropolonique (figure 9), sa formule brute est $C_{22}H_{25}N O_6$

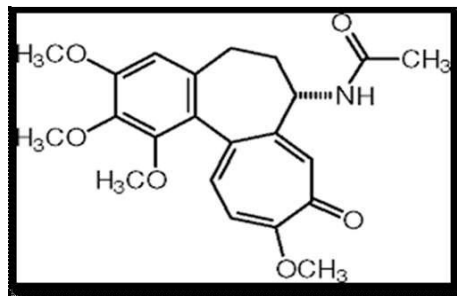


Figure 9 : Structure de la colchicine (ALLAIN, 2005).

Une fois fixée sur la tubuline, la colchicine induit un changement de conformation au niveau de la terminaison carboxyle de la sous unité β au niveau des acides aminés Phe389 et Lys392. La sous-unité α n'est pas modifiée par la fixation de la colchicine, le complexe tubuline-colchicine peut donc se lier à l'extrémité d'un microtubule (TOURNOUX, 1994). Une fois ce complexe fixé, il va empêcher la fixation d'une autre molécule de tubuline car la présence de colchicine sur la β -tubuline engendre un encombrement spatial empêchant tout allongement ultérieur du microtubule et donc la polymérisation de ce dernier est bloquée (VIGNERON, 1983).

3.1.1.1.2. Les vincalcaloïdes (Alcaloïdes de vinca)

Les vincalcaloïdes sont deux principes actifs : vincristine et vinblastine, qui appartiennent à la famille des alcaloïdes (hétérocycle azotés), ils sont principalement extraient à partir d'une plante *Gathranthus roseus*, qui fait partie de la famille des *Apocynaceae* (GUERITTE et FAHY, 2005). Leur structure est représentée par la figure ci-dessous (figure 10).

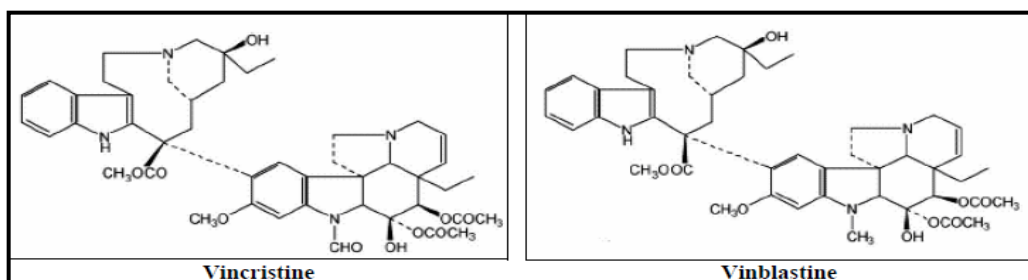


Figure 10 : Structures des vincalcaloïdes (HAIT *et al.*, 2006).

Chapitre III : Effet biologiques des métabolites secondaire

Les vincalcaloïdes sont des substances phase dépendant, qui exercent leurs activités après la liaison à la tubuline (GORIN *et al.*, 1996). Ces substances ont une affinité pour la forme dimérique de la tubuline avec laquelle se lie en provoquant l'inhibition de la formation des microtubules (forme polymérique) et en interférant avec ses principales fonctions (EPSIE *et al.*, 1998). Ceci conduit à un blocage de la mitose en métaphase en empêchant la formation du fuseau et la dispersion des chromosomes au hasard dans le cytoplasme (EPSIE *et al.*, 1998).

3.1.1.1.3. Podophyllotoxine

La podophyllotoxine est une molécule naturellement présente dans le genre *Podophyllum* qui fait partie de la famille des rodophyllaceae, elle est principalement extraite de rhizome et racine de certaines espèces. Elle est inscrite à la pharmacopée américaine en 1820, elle ne fut que très peu utilisée car trop toxique pour l'estomac ((LEE et XEAO, 2005).

La figure ci-dessous illustre la structure de podophyllotoxine, qui est composée de cinq cycles. Les cycles A, B, C et D sont liés entre eux avec un cycle aromatique E est indépendant.

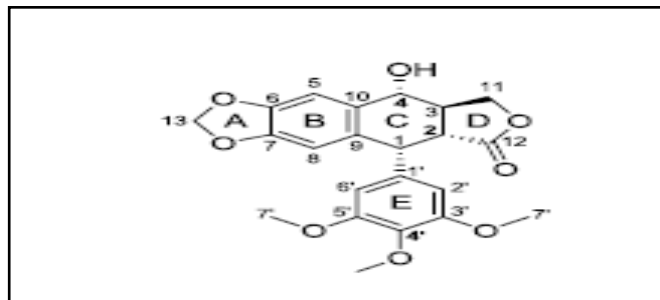


Figure 11 : Structure de podophyllotoxine (HAIT *et al.*, 2006).

L'effet inhibiteur de podophyllotoxine est dû à sa fixation à la tubuline qui se traduit par la modification de la structure de cette protéine en le rendant impropre à la formation des microtubules, il inhibe également en partie la synthèse d'ADN (HAIT *et al.*, 2006).

3.1.1.1.4. Taxol

Le taxol est un ditéropène qui a été découvert en 1971 (WANI et al.,1971) ,il s'agit d'un composant qui est extrait de tronc du *Taxus baccata* L(if pacifique)ou du *Taxus bevirifolia* Nutt(if nain),qui appartient a la famille des *taxaceaceae* (HATWELL,1982),(figure 12).

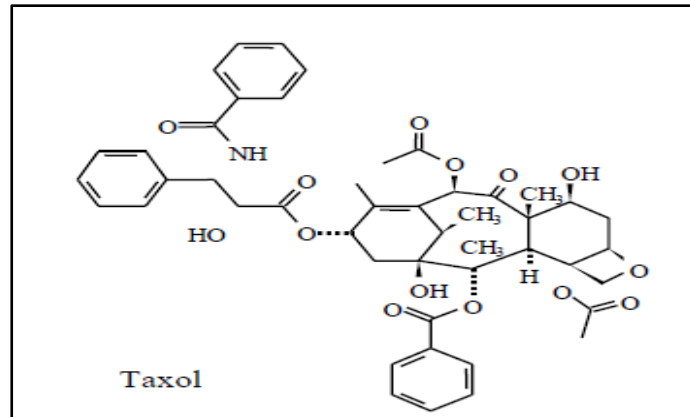


Figure 12 : Structure chimique de Taxol (SLICHENMYER, 1991).

Parmi les dérivés du taxol on distingue les taxoides ou taxanes qui correspondent aux docetaxel et paclitaxel, ces derniers sont des diterpenes générés par hemisynthèse a partir de précurseur contenus dans les feuilles d'if (EPSIE *et al .*, 1998) (figure 13).

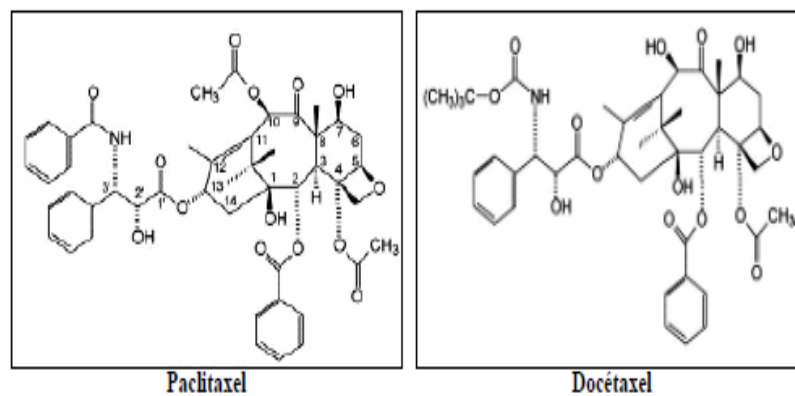


Figure 13 : Structure des taxanes (HAIT *et al .*, 2006).

Chapitre III : Effet biologiques des métabolites secondaire

Le taxol est utilisé pour le traitement de quelques cancers, à savoir : le cancer de sein, de l'ovaire et des poumons (WANI *et al.*, 1971).

Les taxoides facilitent la polymérisation de la tubuline à laquelle ils se lient spécifiquement et réversiblement inhibant aussi la dépolymérisation des microtubules, ils empêchent donc la formation (et la disparition) du fuseau mitotique (EPSIE *et al.*, 1998).

3.1.1.1.5. La quercétine

Parmi les inhibiteurs des kinases cyclines dépendantes on distingue la quercétine qui est, un flavonoïde de type flavonol, présenté sous forme hétéroside ou glycoside, autrement dit associé à un glucide (Figure 14). Elle est parmi les milliers de pigments, origines de la coloration des légumes, des fruits et des fleurs. Sa teneur varie grandement d'une espèce végétale à une autre, en fonction de la variété cultivée, de la période de récolte, et des différentes conditions dans lesquelles les plantes ont poussé (WILLIAMS *et al.*, 2004).

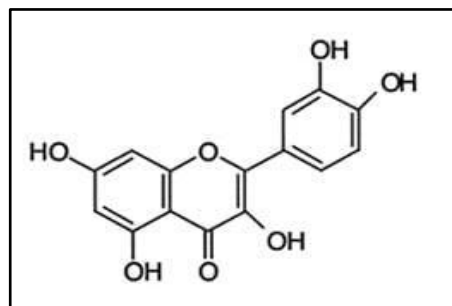


Figure 14 : Structure chimique de la quercétine (HEIM *et al.*, 2002).

La quercétine possède une activité antiproliférative par sa capacité à inhiber la transformation et la prolifération cellulaire. Elle inhibe certaines kinases comme la protéine kinase C et certaines sérine/thréonine kinases. Ceci a pour effet de moduler les voies de signalisation de la survie cellulaire PI-3K/Akt (Phosphatidylinositol 3-kinase protéine kinase B) et ERK1/2 (extracellular signal-regulated kinases) et inhibe aussi la voie des cyclines Cdk2 (Cyclin-dependent kinase 2) impliquée dans la division cellulaire (Casagrande and DARBON, 2001). La Quercétine joue le rôle d'un antagoniste des topoisomérases I et II produites par les cellules tumorales (PIETTA, 2000 ; TOMOFUJI *et al.*, 2009).

Chapitre III : Effet biologiques des métabolites secondaire

3.2. Effet sur la membrane érythrocytaire

3.2.1. Membrane érythrocytaire

Les globules rouge (GR) ou hématies ou encore érythrocytes sont des cellules sanguines matures, les plus abondantes, formées dans la moelle osseuse, dépourvues de mitochondrie et de ribosome, anuclées, ayant une forme biconcave avec un diamètre variant de 6.8 à 7.5 μm . La durée de vie moyenne des hématies est de 120 jours (MOHANDAS et GALLAGHER, 2008). Les globules rouges sont constitués d'hémoglobine (Hb) qui est une chromoprotéine contenant du Fer, assure l'oxygénation tissulaire elle est formée de : 4 chaînes de globine et 4 molécules de l'hème (WAJCMAN, 2005).

La structure du globule rouge comporte : La membrane plasmique qui est composée principalement de 52% de protéines, 40% de lipides et 8% de glucides. Les lipides membranaires comportent : les phospholipides (63%), les cholestérols non estérifiés (25%) et les glycosphingolipides qui forment une double couche où les groupements polaires sont orientés vers l'extérieur tandis que les groupements apolaires sont orientés vers l'intérieur (DODGE *et al.*, 1963).

La membrane érythrocytaire est responsable de propriétés mécanique du globule rouge, elle contient des protéines membranaires qui jouent des rôles importants dans les échanges avec le milieu extérieur tel que les pompes d'ATPase Na^+/K^+ et Ca^{2+} , les protéines de transport des anions, de l'eau et du glucose. Elle est impliqué dans la stabilité et l'ancrage des hématies avec le cytosquelette cellulaire grâce à : la protéine bande 3, la Glycophorine A et la Glycophorine C qui forment des interactions avec les protéines intrinsèques (ELGSAETER *et al.*, 1986) (figure 15).

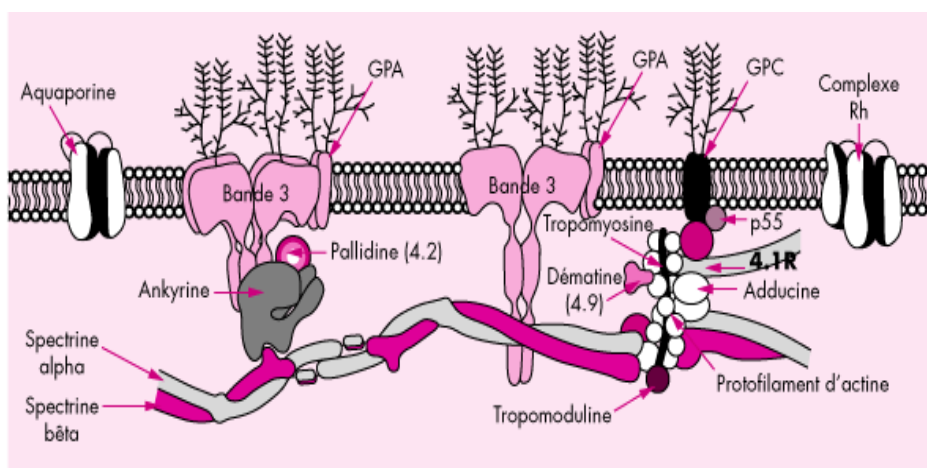


Figure 15 : Schéma de la membrane érythrocytaire (DELAUNAY, 2007).

Chapitre III : Effet biologiques des métabolites secondaire

3.2.2. Mode d'action de la saponine sur l'intégrité membranaire

L'hémolyse est un phénomène physiologique, qui se produit suite à une perturbation de la membrane cellulaire des globules rouges en libérant des composants intracellulaires des érythrocytes notamment l'hémoglobine (THOMAS, 2013). Depuis longtemps les saponines sont responsables d'un bon nombre d'effet biologique. Ils ont le pouvoir de former des pores dans la membrane cellulaire et ainsi entraîner une hémolyse (SPARG *et al.*, 2004). Le mécanisme de cet effet hémolytique est expliqué par l'interaction des saponines avec les stérols de la membrane des érythrocytes en particulier le cholestérol (DAS *et al.*, 2012). L'interaction induit une augmentation d'air entre les deux feuillets de la membrane lipidique ce qui provoque la dissociation des domaines spécifiques de la membrane avec le cytosquelette qui devient fragile, provoquant un bourgeonnement à la surface de la membrane donnant naissance à des échinocytes. Les canaux spécifiques de la membrane érythrocytaire par effet d'inhibition engendrent le gonflement de la membrane érythrocytaire par l'entrée de l'eau dans la cellule en milieu hypotonique ainsi le GR devient un sphérocyte jusqu'à éclatement de la membrane permettant la fuite d'hémoglobine. (BRUNETON, 2009).

Partie II : **la partie expérimentale**

Matériel

et

méthodes

Matériel et méthodes

I. Matériel et méthodes

Afin de déterminer l'activité antimittotique et hémolytique des fractions aqueuse et butanolique des flavonoïdes de la plante *Phlomis bovei De Noé* nous avons procédé par l'extraction de ces flavonoïdes par la méthode liquide –liquide (BEKKARA *et al.* 1998). Ce travail est réalisé dans le Laboratoire de Recherche de Biochimie Analytique et Biotechnologie(LAABAB), au niveau de la faculté de biologie, université Mouloud Mammeri de Tizi –Ouzou.

1.1. Matériels

1.1.1. Matériel biologique

Des feuilles de *Phlomis Bovei de Noé* ont été récoltées dans le centre Algérien a Bejaia .Ces derniers ont été séchées à température ambiante et broyées en fine poudre pour des usages ultérieure. L'évaluation de l'effet antimittotique a été réalisée par le test *Allium cepa* à l'aide des cellules méristématiques.

L'évaluation de l'effet sur la membrane érythrocytaire a été réalisée à l'aide d'un sang frais hépariné prélevé d'un sujet sain.

1.1.2. Solvants et réactifs

Les différents solvants et réactifs sont présentés dans le tableau III.

Tableau III : Solvants et réactifs

	concentration	rôle	Activité testée
Méthanol Acétate d'éthyle N- butanol	99,7%	Solvant a polarité croissante	Extraction des flavonoïdes
carmin acétique Ethanol+acide acétique eau distillé Quercitrine HCl AlCl ₃ Saponine	/ V /V :1/3 (alcool/acide acétique) / 1mg/ml 5% 2% 1mg/ml	coloration fixation Témoin négatif Témoin positif Acidification Témoin positif (agent hémolytique)	Antimitotique et effet sur la membrane érythrocytaire et dosage des flavonoïdes

1.1.3. Matériels utilisés

Parmi les appareils utilisés on cite :

- rotavapeur pour éliminer les solvants ;
- centrifugeuse et spectrophotomètre utilisés lors du dosage ;
- microscope optique a fin de visualiser les cellules meristématiques d'oignon ;
- bain marie ;
- vortex ;
- étuve.

Parmi la verrerie de laboratoire utilisé : une ampoule à décanter a permis d'obtenir les fractions de flavonoïdes.

1.2. Méthodes

1.2.1. Extraction des flavonoïdes

L'extraction des flavonoïdes était réalisée à partir de la poudre de feuilles de *Phlomis bovei De Noé* par la méthode (liquide-liquide) décrite par BEKARA *et al.*, (1998). Les différentes étapes sont décrites ci-dessous :

Matériel et méthodes

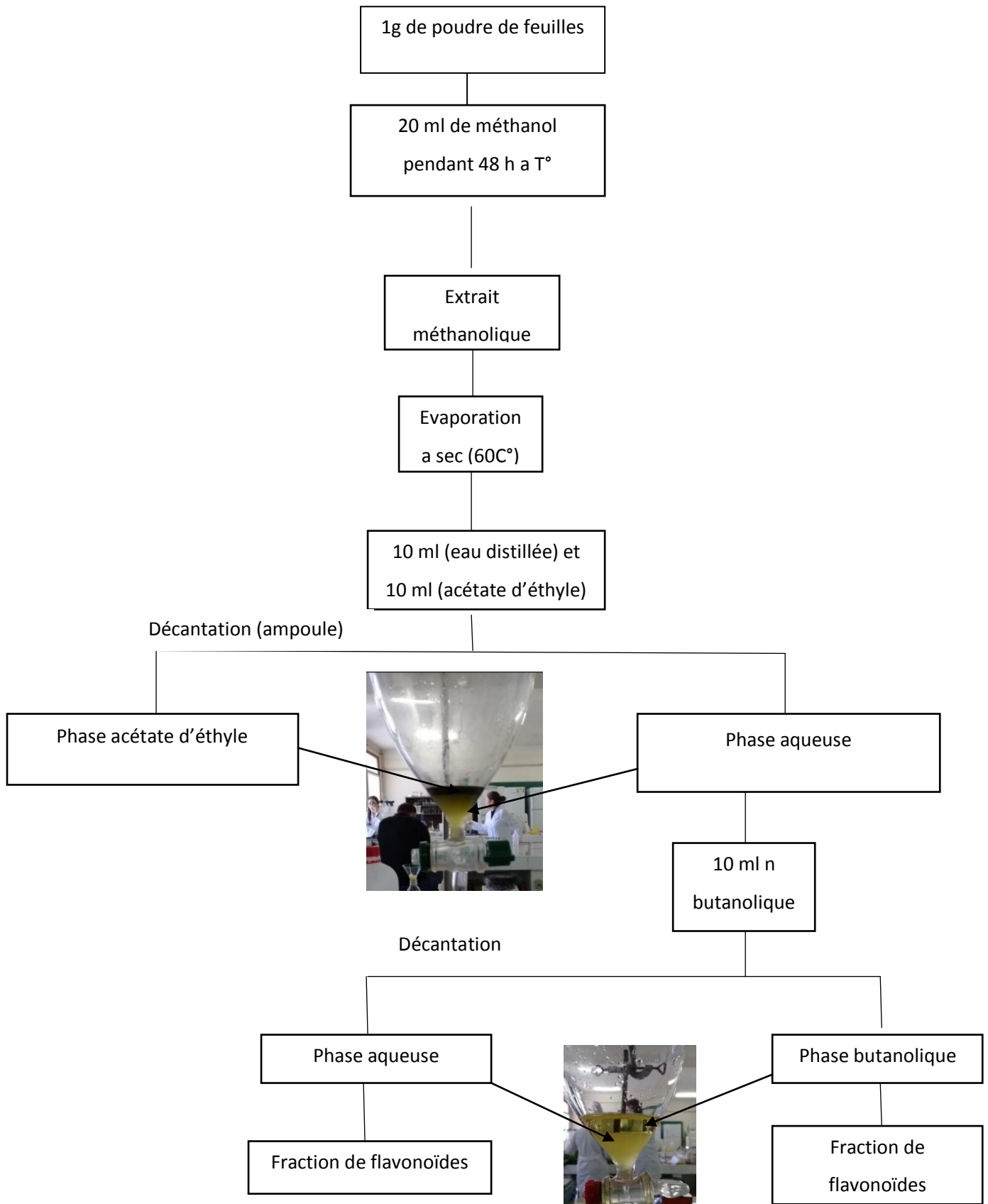


Figure16 : Protocole d'extraction des flavonoïdes (BEKARRA *et al.*, 1998).

Matériel et méthodes

1.2.2. Activité antimittotique

L'évaluation de l'effet de l'activité antimittotique est réalisé suivant le protocole décrit Par SHWETA *et al.*, (2012).

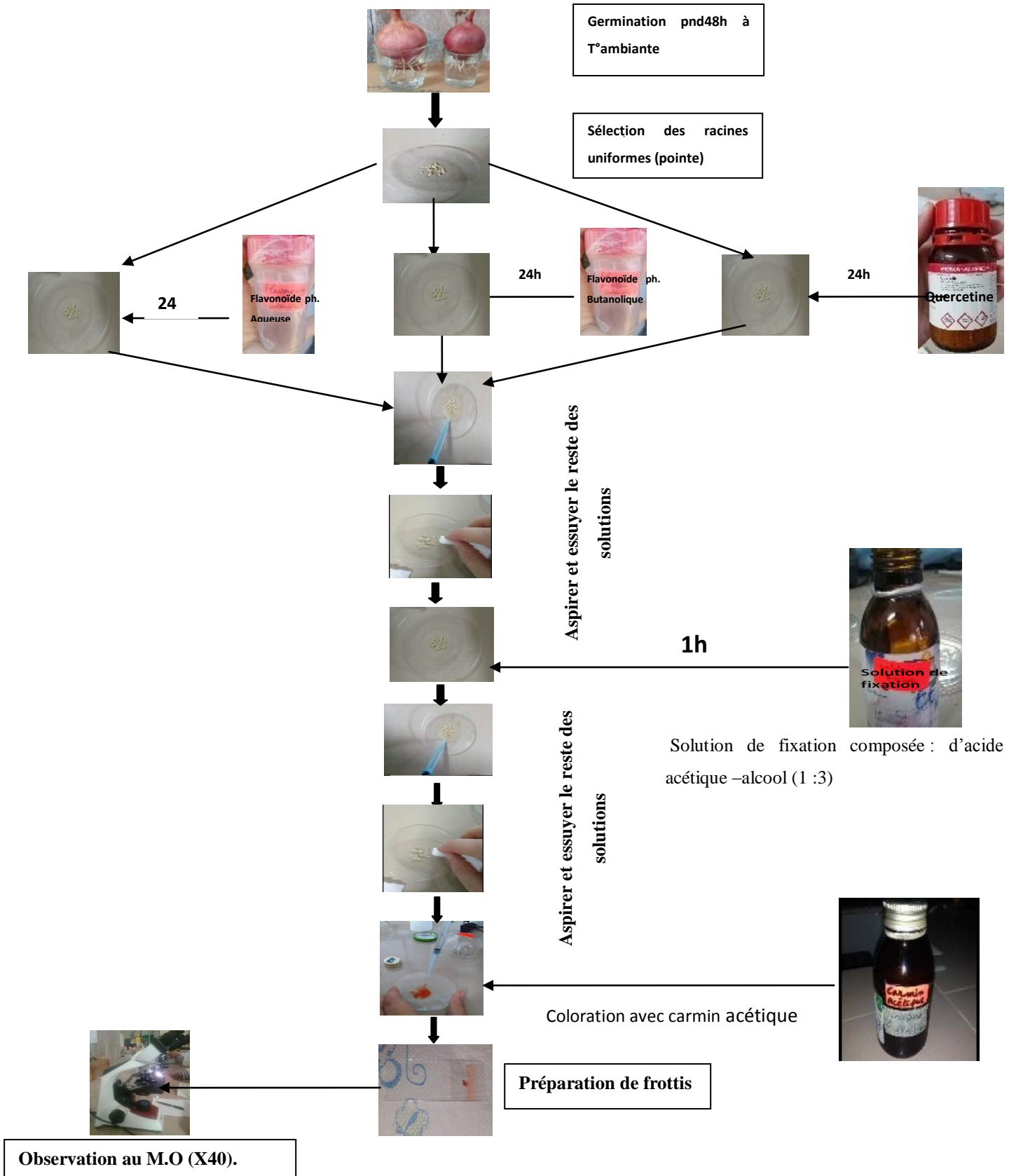


Figure 17 : Protocole de l'activité antimittotique (SHWETA *et al.*, 2012) .

1.2.2.1. Indices et paramètres biologiques à calculer

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

- **L'indice mitotique** (IKEDA *et al.*, 2000) :

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

- **L'indice de phase** (GLINSKA *et al.*, 2007) :

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

- La valeur limite de cytotoxicité** (ANTONSIE *et al.*, 1990) :

$$VLC(\%) = \frac{\text{IM de cellules traitées}}{\text{IM des cellules non traitées}} \times 100$$

- L'indice des aberrations** (RACUCIN et GEANGA, 2007) :

$$IA(\%) = \frac{\text{Total des aberrations}}{\text{total des cellule examinées pour chaque type d'aberration}} \times 100$$

1.2.3. Evaluation de l'effet des fractions de flavonoïdes sur la membrane érythrocytaire

1.2.3.1. Préparation de la solution érythrocytaire

La préparation de la solution érythrocytaire a été réalisée suivant les étapes décrites par KOGA *et al.*, (1998) mentionnées au niveau de la figure 18 ci-dessous :

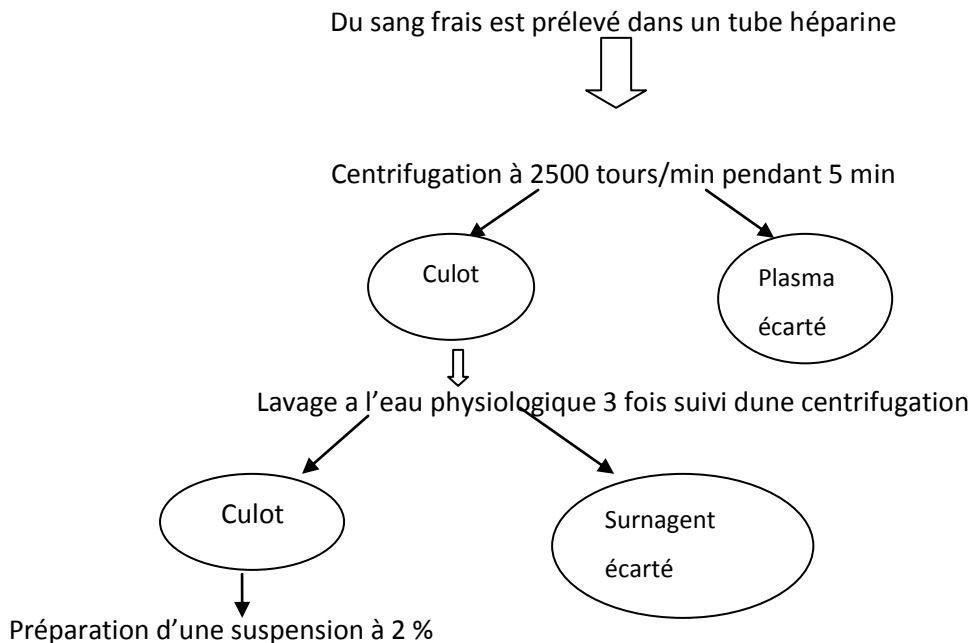


Figure 18 : Protocole de préparation de la solution érythrocytaire (KOGA *et al.*, 1998).

1.2.3.2. Effet des fractions flavoniques sur la membrane érythrocytaire

Dans le but d'évaluer l'effet de la fraction aqueuse et butanolique des flavonoïdes de *Phlomis bovei De Noé* sur la membrane érythrocytaire nous avons suivi les étapes suivantes :

- 1ml des deux fractions flavoniques (aqueuse et butanolique) solubilisées dans de l'eau physiologique sont mise en contact avec 1ml de suspension érythrocytaire. D'une autre part un témoin positif et un témoin négatif constitué respectivement de la saponine et de l'eau physiologique sont réalisés ;

-à l'aide d'un basculeur électrique les solutions sont agitées modérément pendant 20 minutes. Après incubation, les solutions sont centrifugées à 2500tours/5min, puis les absorbances sont déterminées a 540 nm par un spectrophotomètre en vue de calculer le pourcentage d'hémolyse. Cette absorbance est proportionnelle a la libération d'hémoglobine liés a une hémolyse .Le taux d'hémolyse est calculé selon l'équation suivante décrite par DUCHNOWICZ *et al.*,(2012) .

Matériel et méthodes

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

1.2.4. Dosage des flavonoïdes

Pour le dosage des flavonoïdes on a procédé suivant le protocole ci-dessous décrit par BAHORUN *et al.*, (1996).

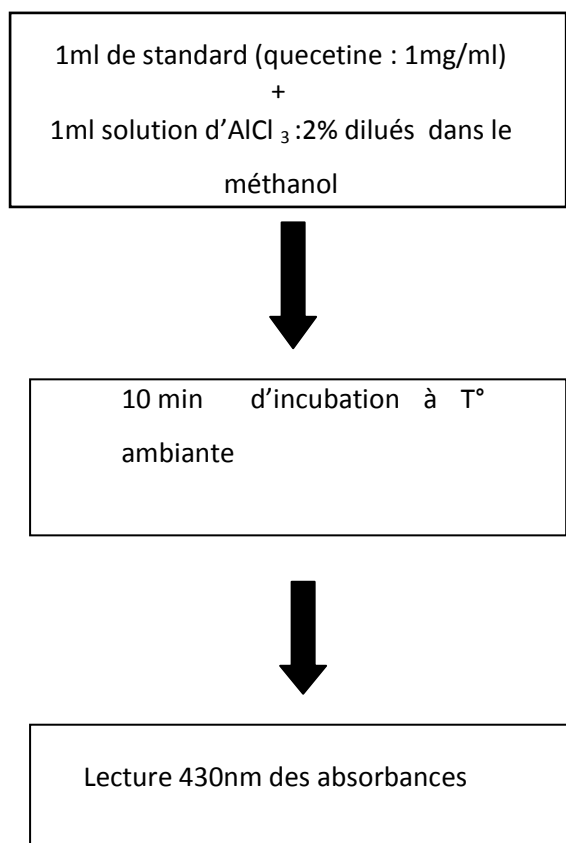


Figure19 : Protocole de dosage des flavonoïdes (BAHORUN *et al.*,1996).

Les concentrations des flavonoïdes sont déduites à partir de la gamme étalonnage établie avec la quercetine, et sont exprimés en microgrammes équivalents de quercetine par millilitre de fraction (µg équivalent par ml de fraction) .

1.2.4.1. Dosage des flavonoïdes dans la fraction butanolique et aqueuse

-pour les phases aqueuses et butanolique on a utilisé la dilution à 1/10 qui veut dire :

-100µl de la phase+ 900µl de méthanol +1000µl d'AlCl₃ ;

-blanc : 100µl de la phase + 900 µl de méthanol+1000 µl de méthanol.

Résultats
et
discussion

Résultats et discussion

II. Résultats et discussion

2.1. Dosage des flavonoïdes

Une courbe d'étalonnage établie avec la quercétine (figure 20), nous a permis de calculer les concentrations en flavonoïdes pour la phase aqueuse et butanolique a partir de l'équation de la courbe d'étalonnage $y=0.0175x$. Les résultats sont exprimés en microgramme équivalent de quercétine par millilitre de fraction ($\mu\text{g EQ/ml}$ de fraction).

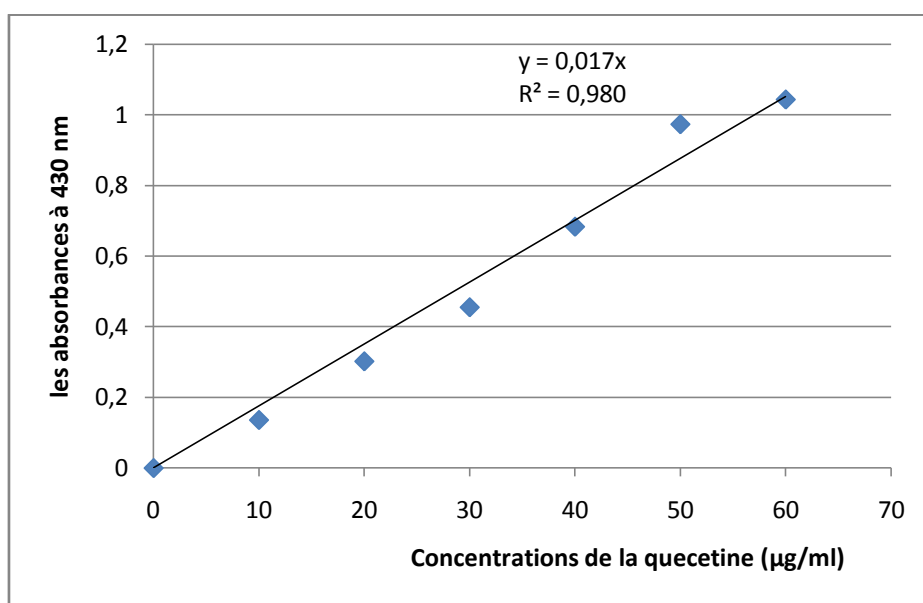


Figure 20 : Courbe d'étalonnage avec de la quercétine.

La teneur en flavonoïdes des deux phases aqueuse et butanolique de *Phlomis bovei de Noe* sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau IV : Dosage des flavonoïdes dans la fraction aqueuse et butanolique

Phases	Concentration en flavonoïdes ($\mu\text{gEQ/ml}$ de fraction)
phase butanolique de <i>Phlomis</i>	150 ± 0.46
phase aqueuse de <i>Phlomis</i>	80.65 ± 0.75

Résultats et discussion

Sur les deux phases aqueuse et butanolique de l'espèce *Phlomis bovei de Noe*, une teneur importante en flavonoïdes a été observée avec la phase butanolique ($150 \pm 0.46 \mu\text{gEQ/ml}$) comparativement à celle enregistrée pour la phase aqueuse ($80.65 \pm 0.75 \mu\text{gEQ/ml}$). Le contenu flavonoïque dans les deux phases dépend de la polarité du solvant d'extraction, en raison de la nature polaire des composés flavonoïques. En effet le butanol est un bon solvant en raison de sa polarité et de sa bonne solubilité (BELGAID *et al.*, 2013).

Cette plante est considérée comme riche en flavonoïdes, ce qui concorde avec les résultats obtenus dans l'étude menée en 2014 par RAOUI et ZELLAGUI, sur l'espèce *Salvia officinalis* et du *Mentha peperita* des familles des Lamiaceae. Selon les travaux de NAIT SAID sur l'extrait butanolique du même genre ; *Phlomis crinita*, 3 types de flavonoïdes ont été isolés qui, sont des flavone méthylés (chrysoeriol), des flavone (lutéolin-7-O-b-D-glucoside), des flavon-3-ol (tanin condensé), on peut les attribuer par analogie à la composition de la phase butanolique de la plante étudiée.

D'après l'étude menée en 2018 par HAFIANE et OUNNAS sur l'extrait aqueux de l'espèce *Origanum vulgare*, de la famille des Lamiaceae (même famille que *Phlomis bovei de Noe*), il convient de considérer comme probable que la phase aqueuse issue des feuilles de *Phlomis bovei de Noe* contient les mêmes composants que l'extrait aqueux issu de *Origanum vulgare* qui sont des flavones, et dépourvu de flavonone, flavonol et flavonol.

La concentration en flavonoïdes dans la phase aqueuse de *Phlomis bovei de Noe* est nettement inférieure à celle enregistrée par BOUGANDOURA et BENDIMERA en 2012 dans l'extrait aqueux de l'espèce *Satureja calamintha* ($3130 \pm 0,154 \mu\text{gEq/mgE}$).

2.2. Action sur l'intégrité membranaire érythrocytaire

Afin de déterminer l'action de nos deux fractions flavonoïques à savoir la fraction n butanolique et aqueuse sur l'intégrité membranaire érythrocytaire nous avons déterminé les taux d'hémolyse. Parallèlement, l'effet de la saponine à 1 mg/ml et de l'eau physiologique représentent respectivement le témoin positif et le témoin négatif. Les taux d'hémolyse obtenus sont résumés dans le tableau suivant :

Résultats et discussion

Tableau V : Taux d'hémolyse de la phase aqueuse et butanolique

	DO	% d'hémolyse
Témoin	0.031	0,00±0,00
Saponine	1.9	100±0,00
Phase aqueuse	0.161	6.84±1,2
	0.26	12.05±3,12
Phase butanolique	0.036	0.26±0,02
	1.501	77.36±12,08

Sur les deux phases aqueuse et butanolique de l'espèce *Phlomis bovei De Noé*, un pourcentage d'hémolyse important a été remarqué dans la phase butanolique avec un taux de 77% comparativement a celui de la phase aqueuse avec un taux de 12.05%. L'étude réalisée en 2013 par BELGAID et CHIKHOUN a confirmé que l'extrait aqueux issu des feuilles de l'espèce *Phlomis bovei* témoigne une absence totale de saponine dont on connaît l'effet cytotoxique sur la membrane érythrocytaire ce qui peut expliquer la raison pour la quelle le pourcentage d'hémolyse obtenu dans la phase aqueuse est faible par rapport a celui de la phase butanolique.

La phase aqueuse issue de l'espèce *Phlomis bovei De Noé* représente un taux d'hémolyse faible, ce qui concorde avec les résultats obtenus sur l'étude de l'extrait aqueux de l'espèce *Origanum vulgare* de la famille des Lamiaceae réalisée en 2013 par HAFIANE et OUNNAS qui représente un taux d'hémolyse faible a 16.24 %.

2.3. Activité antimittotique

Le model expérimentale d'*Allium cepa* est l'un des meilleurs systèmes d'évaluation de l'activité antimittotique *in vitro*. Ce test est validé par le programme de l'environnement des Nation Unies (UNEP) et le Programme International de Sécurité Chimique (IPCS), il est utile pour toute étude préliminaire des substances anticancéreux (KURAS *et al.*, 2006).

En outre les cellules végétales étant généralement plus grosses que les cellules animales et donc plus facile à observer au microscope, facile à obtenir et peu couteux. Ce bio

Résultats et discussion

essai date de 1938 avec les premiers travaux réalisé sur les cellules racinaires d'*Allium cepa* en étudiant l'effet antimototique de la colchicine (LEVAN ,1938) .

2.1. Détermination des indices mitotique et indices de phases

L'activité antimototique des fractions aqueuses et butanoliques des feuilles de *Phlomis bovei* ainsi que la quercetine (témoin positif), et l'eau (témoin négatif), a été testée sur les cellules méristimatiques racinaires d'*Allium cepa*, puis elle a été déterminée par le calcul de différents indices mitotique et de phases après observation sous le microscope optique au grossissement (X400) :

2.1.1. Indice mitotique

L'indice mitotique consiste à comptabiliser le pourcentage des cellules arrêtées en mitose sur le totale des cellules examinés (IKEDA et al,2000 ,SUBHADRADEVI et al .,2011 ;SHWETA et al.,2012 ;CHANNABASAVA et MELAPPA,2014) :

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

2.1.2. Indice de phase

L'indice de phase est calculé afin de déterminer le pourcentage des cellules dans chaque phase de la mitose (P, M, A, T) (GLINSKA *et al* ., 2007 ; FASLA ,2009) :

$$\text{IP}(\%) = \frac{\text{Nombre de cellule en différentes phases (P, M, A, T)}}{\text{Nombre total de cellules examinés}} \times 100$$

Les résultats de notre expérience sont illustrés dans le tableau ci –dessous :

Résultats et discussion

Tableau VI : Indices mitotiques des différents fractions testées.

Indice(%) Fraction	IM±ES	P±ES	M±ES	A±ES	T±ES
T(-)	92,2±1,34	82,4±10,78	0,62±0,60	0,97±0,57	7,94±3,54
T(+) quercetine	44,4±0,73	39,08±4,31	0,057±0,049	0,57±0,09	5,14±3,53
Ph butanolique (flavonoïde)	39,13 ± 2,52	25,54 ± 4,39	0,06 ±0,05	0,06 ±0,05	13,49 ±7,38
Ph aqueuse (flavonoïde)	60,91 ± 1,61	48,85 ±11,52	0,11 ±0,10	0,00 ± 0,00	11,94 ±4,70

A partir du calcul de ces indices, on remarque que l'indice mitotique des cellules méristématiques racinaires d'*Allium cepa* qui n'ont subi aucune fraction (témoin négatif) correspond à 92.2±1.34%, ce dernier est l'indice le plus élevé que ceux des autres fractions.

L'exposition des cellules méristématique d'*Allium cepa* à la fraction aqueuse des flavonoides de feuilles de *phlomis bovei De Noé* a donné un indice mitotique de 60.91 ± 1.61%, tandis que leurs contact avec le témoin positif (quercetine) a baissé l'IM jusqu'à 44.4±0.73% . Par ailleurs, leurs exposition à la fraction butanolique des feuilles de plante testée à donné un IM de 39.13 ± 2.52% qui est l'indice le plus bas comparé aux autres indices précédents.

Dans le tableau ci –dessus , on remarque que la prophase est le stade dominant, que ce soit chez les cellules témoins(positif et négatif) ou chez les cellules traitées avec la fraction aqueuse et butanolique des feuilles de plante *Phlomis bovei De Noé* , alors que les autres stades (metaphase ,anaphase et télophase) ne représentent qu'une minorité.

Le pourcentage élevé des indices des phases au niveau de la prophase chez l'ensemble des fractions de la plante testés indique la présence d'un empêchement de passage aux autres stades de la division cellulaire à ce niveau. Cette même action est enregistrée par l'extrait aqueux de *Solanum torvum*, plante de la famille des Solanacées (THENMOZHI et MAHADEVA, 2011). Il semble que les composés présents dans ces extraits de *A. niger* et *A. nidulans* : endophyte foliaire de *Limonia strumfeei*, bloquent la division cellulaire avant la métaphase, ce qui diffère du mécanisme de blocage de la colchicine. La diminution constatée

au niveau des différents indices mitotiques chez les cellules racinaires d'*Allium cepa* indique un effet mitodépresseur de toutes les fractions de plantes testées.

Une diminution de l'index mitotique a été aussi observée chez des cellules d'apex racinaires d'*A. cepa* traitées par une infusion des feuilles de *Pterocaulon polystachum DC.*

Résultats et discussion

(Astéracées) (KNOLL *et al.*, 2006). Des résultats similaires ont été obtenus pour des infusions de *Maytenusilicifolia* Mart. et de *Bauhinia candicans* Benth (CAMPAROTO *et al.*, 2002).

La réduction de l'activité mitotique pourrait être due à l'inhibition de la synthèse de l'ADN et des nucléoprotéines du système biologique (CHAUHAN *et al.*, 1998). Selon SIDDIQUI *et al.* (2007), la diminution de l'indice mitotique est due probablement à une modification ou une altération dans l'expression de certains gènes.

Les pourcentages des 4 phases chez le témoin négatif sont relativement élevés par rapport à ceux d'extrait végétal et de la quercétine.

L'augmentation du nombre de prophases chez des cellules méristématiques racinaires d'*A. cepa* traitées par la fraction aqueuse des feuilles de *Phlomis bovei* laisse suggérer selon D'AMATO (1954), que cela est dû, soit à une durée de traitement trop longue, soit à l'utilisation de doses trop élevées, ce qui aboutit au ralentissement de l'engagement des cellules aux autres stades de la mitose, notamment : la métaphase, l'anaphase et la télophase.

Le blocage de la mitose en prophase a été observé également chez des cellules méristématiques de *Pisum sativum L.* traitées par le cadmium, (FUSCONI *et al.*, 2006). L'augmentation du nombre de prophase doit probablement être reliée à une intense altération de microtubules en empêchant l'assemblage des chromosomes au stade métaphase (FUSCONI *et al.*, 2006).

2.2. Détermination des anomalies

Les observations microscopiques des cellules méristématiques d'*Allium cepa* traitées ou non par l'extrait de la plante étudiée a permis de visualiser les différents stades du développement mitotique . En outre, quelques aberrations et anomalies chromosomique , nucléaires, et cellulaires ont aussi été révélées.

➤ Témoin négatif

Les figures ci-dessous ont été réalisées avec un grossissement du microscope (X400). Ils présentent dans l'ordre chronologique du déroulement les phases caractéristiques de la mitose : prophase, métaphase, anaphase et télophase des cellules méristématiques racinaires d'*A. cepa* traitées avec l'eau distillée (témoin négatif) (Figure21).

Résultats et discussion

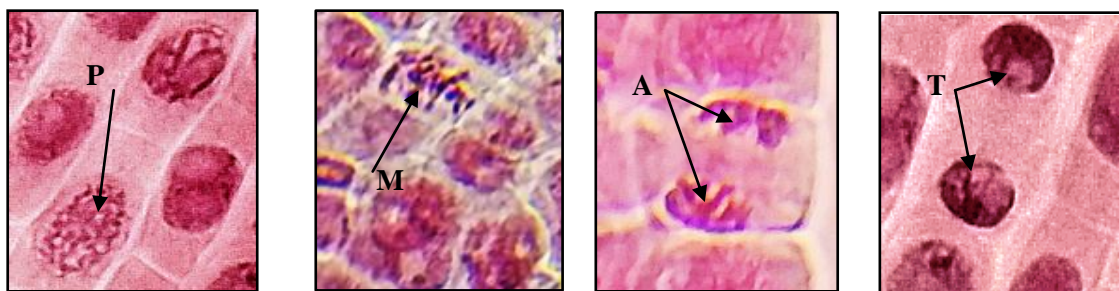


Figure 21 : Les différentes phases de la mitose observées chez les cellules méristématiques des racines d'*Allium cepa*, vues sous microscope optique ($\times 400$).

Prophase (P), Métaphase (M), Anaphase (A), Télaphase (T).

➤ Témoin positif (La quercétine)

L'exposition des cellules méristématiques racinaires d'*A. cepa* à la quercétine a diminué l'IM jusqu'à 44.4 ± 0.73 %, générant des anomalies nucléaires, chromosomiques et cellulaires à savoir : des agglutinations chromosomiques, des allongements des cellules, désorganisation des chromosomes de la plaque équatoriale en métaphase, ainsi que des fragmentations chromosomiques (figure 22).



Figure 22: Anomalies chromosomiques et cellulaires observées au niveau des cellules méristématiques racinaires d'*Allium cepa* traités par la quercétine vues sous microscope optique ($\times 400$).

Agglutination des chromosomes (AG), Allongement des cellules (AL), Désorganisations de la plaque équatoriale en métaphase (DP), Fragmentations des chromosomes (FR).

➤ La phase aqueuse des feuilles de *Phlomis bovei* De Noé

Les cellules méristématiques racinaires d'*Allium. cepa* traitées par la fraction aqueuse des flavonoïdes des feuilles de *Phlomis bovei* De Noé sont accompagnés des aberrations nucléaires, chromosomiques et cellulaires dont les plus observées sont : cellules binucléés, cellules gigantesques, désorganisation des chromosomes de la plaque équatorial en métaphase et cellules sans noyau (Figures 23).

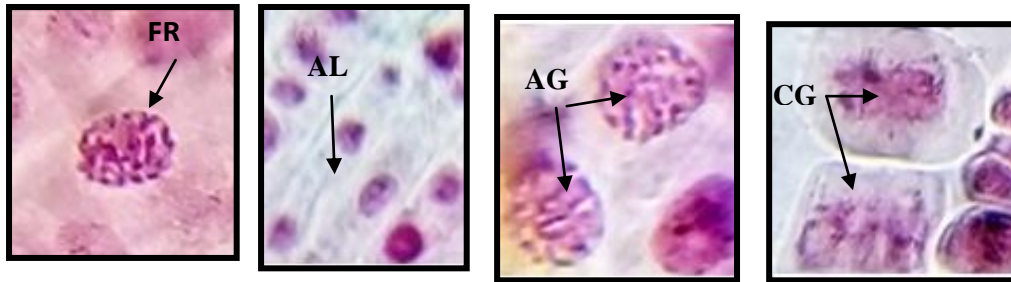


Figure23: Anomalies chromosomiques et cellulaires observées au niveau des cellules méristématiques racinaires d'*Allium cepa* traités par la fraction aqueuse des feuilles de *Phlomis bovei* quercetine, vues sous microscope optique ($\times 400$).

Allongements des cellules (AL), Cellules gigantesques (CG), Fragmentations des chromosomes (FR), Agglutinations chromosomiques (AG);

➤ La phase butanolique des flavonoïdes des feuilles de *Phlomis bovei* De Noé

Les cellules méristématiques racinaires d'*Allium cepa* traitées par la fraction butanolique des flavonoïdes des feuilles de *Phlomis bovei* De Noé sont accompagnées des aberrations nucléaires, chromosomiques et cellulaires dont les plus observées sont : allongement des cellules, fragmentation des chromosomes, cellules sans noyau et agglutination des chromosomes (Figure24)

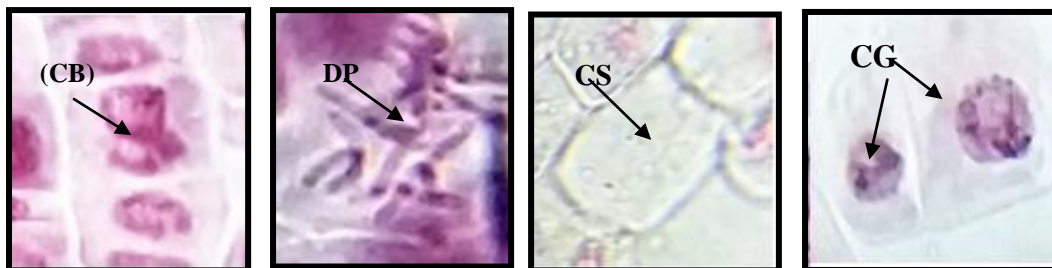


Figure24 : Anomalies chromosomique et cellulaires observées au niveau des cellules méristématiques racinaires d'*Allium cepa* traitées par la fraction butanolique des feuilles de

Cellules binucléées (CB), Cellules gigantesques (CG), Cellules sans noyaux (fantômes) (CS), Désorganisations de la plaque équatoriale en métaphase (DP).

Résultats et discussion

Les anomalies rencontrées chez les cellules méristématiques des apex racinaires d'*Allium cepa* traitées par la quercétine (témoin positif) et celles traitées par la fraction flavonoïque butanolique et la fraction aqueuse des feuilles de *Phlomis bovei* De Noé sont regroupées dans le tableau VII et sont de types :

- agglutinations chromosomiques (AG) ;
- cellules binucléées (CB) ;
- allongements des cellules (Al) ;
- ponts chromosomiques-(PC) ;
- fragmentations des chromosomes (FR) ;
- désorganisations de la plaque équatoriale en métaphase (DP) ;
- cellules gigantesques (CG) ;
- cellules sans noyaux (fantômes)(CS) ;
- corps apoptotiques (CA) ;
- absence de cytodierèse(AC) .

Tableau VII :Les indices d'aberrations et anomalies rencontrées

	AG	CB	AL	PC	FR	DP	CG	CS	CA	AC	TOTAL(%)
T(+) quercétine	8,97 ± 1,80	0,00 ± 0,00	1,71 ± 1,48	0,00± 0,00	6,8 ± 2,52	0,17 ± 0,10	1,08 ± 0,60	0,00 ± 0,00	1,14 ± 1,2	3,54 ± 0,95	23.41±8.47
Ph butanolique flavonoïde	8,86 ± 3,30	2,29 ± 1,31	11,1 4 ± 1,27	0,00± 0,00	9,6 ± 1,42	0,17 ± 0,15	1,77 ± 0,80	7,6 ± 1,84	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	41.43±10.09
Ph aqueuse flavonoïde	2,51 ± 1,74	0,89 ± 0,47	4,17 ± 0,64	0,00± 0,00	6,63 ± 1,08	0,00 ± 0,00	1,03 ± 0,80	0,57 ± 0,1	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	15.8±4,83

L'indice des aberrations (IA%) est calculé à partir de l'équation (3) (RACUCIU et CREANGA, 2007) :

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

Résultats et discussion

Les mêmes aberrations apparaissent chez les cellules méristématiques racinaires d'*Allium cepa* soit pour celles traitées avec la quercétine ,phase aqueuse ou butanolique des feuilles de *phlomis bovei* ,c'est le pourcentage d'aberration seulement qui se diffère .

On remarque les fragmentations chromosomiques rencontrées chez les cellules méristématiques racinaires d'*A. cepa* sont considérablement importantes chez celles traitées par la fraction butanolique de feuilles de *Phlomis bovei* par rapport à celles traitées par la fraction aqueuse ou par la quercétine dont leurs indice d'aberration est presque le même .Ces fragmentations chromosomiques sont dues probablement aux effets clastogènes de l'extrait, et son action sur les chromosomes est généralement considérée comme étant due à une action sur l'ADN (GRANT, 1978).

Pour les agglutinations des chromosomes sont considérablement importantes est de valeurs qui se rapproche chez les cellules traitées par la quercétine et par la fraction butanolique des feuilles de *Phlomis bovei* .En outre, les allongements les cellules sont importantes chez les cellules traitées avec la phase butanolique des feuilles de *Phlomis bovei* .

Pour la désorganisation des chromosomes de la plaque équatoriale se manifeste avec du même pourcentage pour les cellules traitées avec la quercétine et avec la phase butanolique des feuilles de *Phlomis bovei* mais elle est absente chez celles traitées avec la fraction aqueuse des feuilles de *phlomis bovei* .

D'après nos résultats on remarque que c'est la phase butanolique des feuilles de *Phlomis bovei* qui a un indice d'aberration le plus élevé par rapport à celui de la fraction aqueuse et celui de la quercétine.

➤ Valeur limite de cytotoxicité

La valeur limite de cytotoxicité (VLC%) est calculée selon

(SHARMA, 1983, PANDA et SAHU ,1985 et ANTONSIE –WIEZ, 1990) à partir de la formule :

$$\text{VLC(\%)} = \frac{\text{IM des cellules traitées}}{\text{IM des cellules témoin}} \times 100$$

Résultats et discussion

Tableau VIII : Les valeurs limite de cytotoxicité

	IM (% ± ES)	VLC (%)
Quercetine	44,4 ± 0,73	48,15±0,79
Ph butanolique flavonoïde	39,13 ± 2,52	42,44±2,99
Ph aqueuse flavonoïde	60,91 ± 1,61	66,06±2,21

Selon ANTONSIEWICZ (1990), quand l'indice mitotique diminue en dessous de 22% du témoin il provoque ce qu'on appelle un effet léthal sur les cellules en division. Une diminution de l'indice mitotique de 50 % par rapport au témoin est habituellement un effet subléthal (PANDA et SAHU, 1985) et est nommée «valeur limite de cytotoxicité» (SHARMA, 1983). Selon ces deux définitions on pourra déduire que la fractions flavonoïque aqueuse et butanolique des feuilles de *Phlomis bovei* sont considérées comme sublétales pour les cellules méristématiques racinaires d'*Allium cepa*.

2.3. Etude statistique de l'activité antimitotique

L'étude statistique (ANOVA à un facteur) a révélé une différence hautement significative des indices mitotiques entre le témoin négatif et le témoin positif ,le témoin négatif et la fraction aqueuse ,le témoin négatif et la fraction butanolique , avec des P values inférieure à 0,05 . Cette étude a révélé également qu'il existe une différence hautement significative des indices mitotiques entre les effets de la quercetine et la fraction butanolique ,la quercetine et la fraction aqueuse ainsi qu'entre la fraction aqueuse et la fraction butanolique avec des P values inférieure à 0,05(annexes 1,2, 3,4 ,5 ,6) .

Pour les indices de phases le teste statistique montre qu'il existe aucune différence significative avec des P values supérieur à 0,05 (annexes 7,8,9,10,11,12).

L'étude statistique (ANOVA à un facteur) a révélé une différence hautement significative des indices d'aberrations entre le témoin positif et la fraction aqueuse, le témoin positif et la fraction butanolique ,cette dernière et la fraction aqueuse , avec des P values inférieure à 0,05(annexes 13,14 ,15) .

L'étude statistique (ANOVA à un facteur) a révélé une différence hautement significative des valeurs limites de cytotoxicité (VLC) entre le témoin positif et la fraction aqueuse, le témoin positif et la fraction butanolique ,la fraction butanolique et la fraction aqueuse , avec des P values inférieure à 0,05 (annexes 16,17 ,18).

conclusion

Conclusion

Conclusion et perspectives

Les deux fractions aqueuses et butanolique issues des feuilles de *Phlomis bovei* De Noé ont fait l'objet d'une étude basée sur l'évaluation de l'activité antimittotique et de l'effet cytotoxique vis-à-vis de la membrane érythrocytaire.

L'étude de l'activité antimittotique a révélé que les deux fractions aqueuses et butanolique ont un effet antimittotique. Des indices mitotiques calculés pour ces deux fractions indiquent des taux de 39.13% et 60.91% respectivement pour la fraction butanolique et aqueuse. L'indice d'aberration le plus élevé est observé avec la fraction butanolique (41.43 ± 10.09). Par ailleurs, la valeur limite de cytotoxicité a montré un taux de $42.44 \pm 2.99\%$ et $66.06 \pm 2.21\%$ correspondant respectivement à la phase butanolique et aqueuse.

Le test de cytotoxicité réalisé sur les deux fractions a montré un taux d'hémolyse de $77,36 \pm 12,08\%$ pour la phase flavonoïque butanolique et $12,05 \pm 3,12\%$ pour la phase flavonoïque aqueuse.

L'estimation quantitative des flavonoïdes par la méthode du dosage colorimétrique a montré que les fractions aqueuse et butanolique sont caractérisées par des teneurs en flavonoïdes, qui sont respectivement de $8,65 \pm 0,75 \mu\text{gEQ/ml}$ de fraction et de $15 \pm 0,46 \mu\text{gEQ/ml}$ de fraction.

L'ensemble des résultats obtenus dans ce travail montre que la plante *Phlomis bovei* De Noé possède un pouvoir antimittotique, ce qui confirme son usage traditionnel pour le soulagement de diverses pathologies.

En perspective, il est souhaitable de réaliser des études *in vivo* sur des lignées tumorales afin de comprendre le mécanisme moléculaire et cellulaire des activités biologiques qui sont attribués aux flavonoïdes de la plante *Phlomis bovei* De Noé. Il est également intéressant d'identifier les molécules bioactives par des techniques analytiques comme HPLC (Chromatographie liquide à haute performance), SM (Spectrométrie de Masse) et RMN (Résonance Magnétique Nucléaire).

Références bibliographiques

Références bibliographique

Références bibliographique

- **AIT YUCEF M. (2008).**Plantes médicinales de Kabylie. Paris .Page 253.
- **ALBALADEJO R.G., AGUILAR J.F., APARICIO A. et GONZALON. (2005).**Contrasting nuclear –plastidial phylogenetic patterns in the recently diverged Iberian *Phlomis crinita* and *P.lychnitis lineages* (Lamiaceae).54(4),987-998.
- **ALBERTS B., BRAY D., JOHNSON A., LEWIS J., ROBERTS K. et WOLTER. (1997).**L'essentiel de biologie cellulaire : Introduction à la biologie moléculaire de la cellule. Médecine-Science Flammarion, ed., p : 597.
- **AMOS L.A. et BAKER T.S. (1979).** The three dimensional structure of tubulin protofilaments. Nature, 279: 607-612.
- **ANDERSON O.M. et MARKHAM K.R. (2005).**Flavonoïdes : Chemistry, biochemi-stry and applications. Washington. CRC Press. 1254.
- **ANTONSIE-WICZ D. (1990).** Analysis of the cell cycle in the root meristem of *Allium cepa* under the influence of the Ledakrin. *Folia Histochemica et Cytobiologica*, 28, 79-96.
- **AZIZIAN D. et CUTLE D.F. (1986).** Anatomical, cytological and phytochemical studies on *Phlomis L.* and *Eremostachys Bunge* (Labiatae). Botanical Journal of the Linnean Society 85, 249–281.
- **BAHORUN T ., GRINIER B ., TROTIN F ., BRUNET G., PIN T .,LUNCKY M., VASSEUR J ., CAZIN C . et PINKAS M. (1996) .**Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs ans pharmaceutical preparations . *Arzneimittel-Forschung* , 46 (11) :1086-1089.
- **BEKKARA F., JAY M., VIRICEL M. R. et ROME S. (1998).** Distribution of phenolic compounds within seed and seedlings of two *Vicia faba* cvs differing in their seed tannin content, and study of their seed and root phenolic exudations. *Plant and Soil*, 203 (1), 27–36.
- **BELGAID S. et CHIKHOUN L. (2013).** Etude de l'activité antimicrobienne et antifongique des extraits du *Phlomis bovei De Noé* –préparation d'une forme pharmaceutique.Mémoire master,Tizi Ouzou.
- **BEN-AMOR ILEF L., BOUBAKER J., SGAIER M., SKANDRANI I., BHOURI W., NEFFATI A., KILANI S., BOUHLEL I., GHEDIRA K. et CHEKIR G. (2009).** Phytochemistry ans biological activities of *Phlomis* species. Journal of Ethno-pharmacology. 125-202.

Références bibliographique

- **BLACK B.E. et BASSETT E.A. (2008).** The histone variant CENP-A and centromere specification. *Current Opinion in Cell Biology* 20, 91–100
- **BOUGANDOURA N. et BENDIMARA N. (2013).** Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* ssp. *Nepeta* (L.) Briq. Na-ture & Technologie. B-science agronomique et Biologiques, n° 09. Pages 14 à 19.
- **BRUNETON J. (2009).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 4e éd. Cachan : Tec et Doc Lavoisier.
- **CAMPAROTO M.L., TEIXEIRA R.O., MANTOVANI M.S. et VICENTINI V.E.P. (2002).** Effects of *Maytenus ilicifolia* Mart. and *Bauhinia candicans* Benth infusions on onion root-tip and rat bone-marrow cells. *Genet. Mol. Biol.*, 25:85-89.
- **CANTINO P. D., HARLEY R. M. et WAGSTAFF S. J. (1992).** Genera and Classification. In Harrley, R.M. Reynolds, T. (eds) *Advences in Labiate Science*. Royal Botanic Gardens, Kew. 511-522.
- **CHANNABASAV A. et MELAPPA G. (2014).** First Report Of Anticancer Agent,
- **CHAOUAT L. (1984).** Sur l'apparition de troubles mitoclasiques, chez l'*Allium sativum* L., sous l'influence du phényl uréthane. *Rev. Cytol. Biol. Végét. Bot.*, 7, 153-160.
- **CHAUHAN L.K.S., SAXENA P.N. et GUPTA S. K. (1998).** Cytogenetic effects of cypermethrin and fenvalerate on the root meristem cells of *Allium cepa*. *Environmental and Experimental Botany*, 42:181-189.
- **CHEESEMAN IM. et DESAI A. (2008).** Molecular architecture of the kinetochore-microtubule interface. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 9(1), 33–46.
- **CHEVREMONT M. (1979).** Cytologie et histologie. Maloine, ed., Paris. I : 686. Constabel , F. *Medecinal Plant Biotechnology* 210,323.
- **CLAUDE CALLEN J. (2005).** *Biologie cellulaire des molécules aux organismes*. 2^{ème} Ed., Dunod, Paris.
- **COLOMBEL V. (2009).** Synthèse et étude de l'activité biologique de nouveaux analogues du N-acétylcolchinol. Thèse présentée pour l'obtention du grade de Docteur en Chimie Organique, UNIVERSITE CLAUDE BERNARD LYON 1, LYON, France. Correlation with toxicity. *Biocell*, 30: 259–267.
- **D'ARCHIVO M., FILESI C., DI BENEDETTO R., GARGUILO R., GIOVANNINI C. et MASELLA R. (2007).** Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Ann-Ist Super Sanita*, 43(4). 348-61.

Références bibliographique

- **DAS T. K., BANERJEE D., CHAKRABORTY D., PAKHIRA M. C., SHRIVASTAVA B. et KUHAD R. C. (2012).** Saponin: Role in Animal system. *Vet. World.* 5(4): 248-254.
- **DAVIS P.H. (1982).** Flora of Turkey and East Aegean Islands. University Press, Edinburg, 7, pp. 102-126.
- **DELAUNAY J. (2007).** The molecular basis of hereditary red cell membrane disorders. *Blood reviews*, 21(1), 1-20.
- **DODJE J. T., MITCHELL C. et HANAHAN D. J. (1963).** The preparation and chemical characteristics of hemoglobin-free ghosts of human erythrocytes. *Archives of biochemistry and biophysics*, 100(1), 119-130.
- **DUCHNOWICZ P., BORS M., PODSEDEK A., KOTER-MICHALAK M. et BRONCEL M. (2012).** Effect of polyphenols extracts from Brassica vegetables on erythrocyte membranes (*invitro* study). *Environmental Toxicology and Pharmacology* ,34 (3), 783-790.
- **ELGSAETER A., STOKKE B. T., MIKKELSEN A. et BRANTON D. (1986).** The molecular basis of erythrocyte shape. *Science*, 234(4781), 1217-1223.
- **EPSIE M.,EXTRA J.M.,COTTU P.H.,CUVIER C.et MARTY M.(1998).**Médicaments anticancéreux .69 :917-945.In Schorderet M .
- **ESSAD S. (1977).** Action de températures basses sur les proportions des phases monocycliques du méristème radicaire de *Lactuca sativa L.**Physiol. Vég.* 15 (2), 325-332.
- **EVANS L., KIRSCHNER M. et MITCHISON T. (1985).** Influence of the centrosome on the structure of nucleated microtubules. *J. Cell Biol.* 100:1185-1191.
- **FASLA B. (2009).** Evaluation du potentiel antimittotique et génotoxique de plantes médicinales et analyse phytochimique. Thèse Magister, Université d’Oran Es-sénia. Algérie, 172 p.
- **FUSCONI A., REPETTO O., BONA E., MASSA N., GALLO C., DUMAS-GAUDOT E et BERTA G. (2006).** Effects of cadmium on meristem activity and nucleus ploidy in roots of *Pisum sativumL.* cv. Frisson seedlings. *Environmental and Experimental Botany*, 58, 253–260.
- **GALAS S., DESCAMPS S., MARTINEZ A. M. (2008).** Le cycle cellulaire. Ed : De Boeck, paris. P: 115.
- **GHEDIRA K. (2005).** Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, 3(4). 162-9.
- **GLINSKA S., BARTEZAK M.,OLEKSIK S. ,WOLSKA A., GABARA B.,POSMYK M .et JANAS K. (2007) .** Effects of anthocyanin-rich extract from red cabbage leaves on meristematic cells of *Allium cepa L.* roots treated with heavy metals .*Ecotoxicology and Environmental safety*,68 : 343-350.

Références bibliographique

- **GORIN N.C., PHILIP T. et SYMANN M. (1996).** Manuel pratique d'hématocancérologie et de chimiothérapie. Frison – Roche, eds., Paris, p. 13-20.
- **GRANT W.F. (1978).** Chromosome aberrations in plant as monitoring system. *Environ. Health Perspect*, 27: 37–43.
- **GUERITTE F. et POTIER P. (2005).**The Vinca alkaloids .In Cragg G.M.Kingston D.G.I. ,Newman ,D .J.
- **HACHED K., XIE S.Z., BUFFIN E., CLADIÈRE D., RACHEZ C., SACRAS M., SORGER P.K., et WASSMANN K. (2011).** Mps1 at kinetochores is essential for female mouse meiosis I. *Development* 138, 2261-2271.
- **HAFIANE N. et OUNNAS D. (2018).** Contribution à la recherche de l'effet indésirable (hémolytique) de la patrie aérienne des trois plantes médicinales in vitro *Origanum Vulgare, Lavandula Steochas et Ammoides*, mémoire master, Oum El Bouaghi .
- **HAIT W.N., RUBIN E. , ALLI E. et GOODINA S. (2006).** Tubulin Targeting Agents. Update on Cancer Therapeutics. *Uct .* , 37(18).
- **HARTWELL J.L. (1982).** Plants Used Against Cancer .Quarterman ,Lawrence ,MA.
- **HEIM K.E., TAGLIAFERRO A.R et BOBILYA D.J. (2002).** Flavonoïd antioxydants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 13, 572-584.
- **HERBERT M., LEVASSEUR M., HOMER H., YALLOP K., MURDOCH A. et MCDUGALL A. (2003).** Homologue disjunction in mouse oocytes requires proteolysis of securin and cyclin B1. *Nature cell biology* 5, 1023-1025.
- **IKEDA K., PANT B. , MISHIRO A. , OZAWA K. , MASUJIMA T. et SUGIYAMA M. (2000)** .Convenient method for the evaluation of anti-tumor agents affecting the cell cycle .*Journal of Bioscience and Bioengineering* ,90 (5) : 574-576. Imbert,T. *Biochimie* ,80 ,207-222 .
- **ISMAILOGLU U.B., SARACOGLU I., HARPUT U.S. et SAHIN-ERDEMLI I. (2002).** Effects of phenylpropanoid and iridoid glycosides on free radical-induced impairment of endothelium-dependent relaxation in rat aortic rings. *Journal Ethnopharmacology* 79, 193–197.
- **KITAJIMA T.S., OHSUGI M. et ELLENBERG J. (2011).** Complete kinetochore tracking reveals error-prone homologous chromosome biorientation in mammalian oocytes. *Cell* 146, 568-58.
- **KNOLL M.D.A. , SILVA A.C.F., CANTO –DOROW T.S. et TEDESCO S.B . (2006).** Effects of *Pterocaulon polystachyum* DC. (Asteraceae) on onion (*Allium cepa*) root-tip cells. *Genet. Mol. Biol.*, 29 (3).
- **KOGA T., MARO K. et TERAOKA J. (1998)** .Protective effect of vitamin E analogue , phosphatidylcholine, against oxidative hemolysis of human erythrocytes . *Lipids* ; 33 :589-95 .(17) .
- **KOPS G.J.P.L., WEAVER B.A.A. et CLEVELAND D.W. (2005).** On the road to cancer: aneuploidy and the mitotic checkpoint. *Nature Reviews. Cancer* 5, 773–785.

Références bibliographique

- **KURAS M., NOWAKOWSKA J., SLIWINSKA E., PILARSKI R., ILASZ R., TYKARSKA T., ZOBEL A. et GULEWICZ K. (2006).**Changes in chromosome structure, Mitotic activity and nuclear DNA content from cells of *Allium* test induced by bark water extract of *Uncaria tomentosa* (Willd.) DC, *J. Ethnopharmacol*, 107 (2), 211-221.
- **LEE M et XIAO Z.Y. (2005).**Podophyllotoxins and analogs.In Cragg G.M.,Kingston D .G.I.,Newman D .J.
- **LEVAN A. (1938).** The effect of colchicine on root mitoses in *Allium*. *Hereditas*. 24 : 471- 486.
- **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 Noé subsp. Bovei, *Molecules*, 12,772-781.
- **LUYKX P. (1965).** The structure of the kinetochore in meiosis and mitosis in *Urechis* eggs. *Exp. Cell Res.* 39, 643–657 .
- **MAILLET . M.(2002).** Biologie cellulaire. Masson, ed., paris. P. 257-274.
- **MAILLET M et LEMULLOIS M. (2006).** Biologie cellulaire. Masson, ed., paris. P : 618.
- **MAILLET M. (2002).** Biologie cellulaire. Masson, ed., paris. P. 257-274.
- **MARY H. (2015).** Analyse et Modélisation de la Dynamique des Chromosomes durant la Mitose chez la Levure à Fission. Thèse de doctorat en biologie, Université Toulouse 3 Paul Sabatier, Toulouse, France.
- **MATA J. et NURSE P. (1997).** tea1 and the Microtubular Cytoskeleton Are Important for Generating Global Spatial Order within the Fission Yeast Cell. *Cell* 89, 939–949.
- **MCEWEN B.F., DONG Y.et VANDENBELDT K.J. (2007).** Using electron microscopy to understand functional mechanisms of chromosome alignment on the mitotic spindle.Ed. Masson Elsevier. N°2, Volume 8.
- **MOHANDAS N. et GALLAGHER P. G. (2008).** Red cell membrane: past, present, and future. *Blood*, 112(10), 3939-3948.
- **NAIT SAID N. (2007).** Etude phytochimique des extraits chloroformiques des plantes: “ *Pituranthos chloranthus* ” et “*Marrubium vulgare* ”. Mémoire magister, Batna.
- **NEUBERGER J.(1891).** Bioactive natural products , 28 , 32-40 .
- **NOGALES E., WHITTAKER W., MILIGAN R et DOWNING K. (1999).** High-resolution model of the microtubule. *Cell*, 96, 79-88.
- **NORBURY C. et NURSE P. (1992).** Animal cell cycles and their control. *Annual Review of Biochemistry*, 61, 441–470.
- **PANDA B.B. et SAHU U.K. (1985).** Induction of abnormal spindle function and cytokinesis inhibition in mitotic cells of *Allium cepa* by the organophosphorus insecticide fensulfotion. *Cytobios*, 42, 147-155.

Références bibliographique

- **PIETTA P.G. (2000).** Flavonoids as antioxidants. *J. Nat. Prod*, 63 (7), 1035-42.
- **POMMIER Y. et KOHN K.W. (2003).** Cycle cellulaire et points de contrôle en oncologie: nouvelles cibles thérapeutiques. *Médecine Sciences*, 19: 173-186.
- **POYSSOTZKI V. (1881).** PHARM .Journal.TRANS .12,217-218 .
- **RACUCIU M et CREANGA D. (2007).** Cytogenetic changes induced by aqueous ferrofluids in agricultural plants. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 311 : 288-290.
- **RAOUI H . et ZELLAGUI I. (2014).** Contribution a une étude phytochimique et biologique des flavonoïdes des plantes de la famille des Lamiaceae. Mémoire master, Constantine.
- **RATTANI A., VINOD P.K., GODWIN J., TACHIBANA –KONWALSKI K., WOLNA M., MALUMBRES M., NOVAK B. et NASMYTH K. (2014).** Dependency of the spindle assembly checkpoint on Cdk1 renders the anaphase transition irreversible. *Curr Biol* 24, 630.
- **RECHINGER K.H. (1982).** Flora Iranica. Graz-Austria: Akademik Druck-u Verlagsantalt, 150, 292-313.
- **RICHARD MCINTOSH J., O'TOOLE E., ZHUDENKOV K., MORPHEW M., SCHWARTZ C., ATAULLAKHANOV F.I. et GRIISHCHUK E.L. (2013).** Conserved and divergent features of kinetochores and spindle microtubule ends from five species. *Journal of Cell Biology* 200,459–474.
- **SCHLIENGER J.L. (2014).** L'histoire des tourments de la podagre. *Médecine des maladies*
- **SCHRECHER A.W ; HARTWELL J.L. (1956).** Communications - Components of Podophyllin. XX. The Absolute Configuration of Podophyllotoxin and Related Lignans. *The Journal of Organic Chemistry* ,28,32-382.
- **SHARMA C.B. (1983).** Plant meristems as monitors of genetic toxicity of environmental chemicals. *Curr. Sci*, 52, 1000–1002.
- **SHWETA S., KHADABADI S. et GANESH T.G. (2012).** *In vitro* antimitotic, antiproliferative, DNA fragmentation and anticancer activity of chloroform and ethanol extract of *Revia hypocrateriformis*. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*. 503-506.
- **SIDDIQUI S., MEGHVANSI M.K. et HASAN Z. (2007).** Cytogenetic changes induced by sodium azide (NaN₃) on *Trigonella foenum-graecum L.* seeds. *South African Journal of Botany*, 73, 632–635.
- **SLICHENMYER W. J et VON HOFF D.D. (1991).** Anti-Cancer Drugs, 2, 519.
- **SPARG G.S., LIGHT M.E. et VAN STADEN J. (2004).** Biological activities and distribution of plant saponin. *Journal of Ethnopharmacology*. 94. 219-243.
- **SUBHADRADEVI V., KHAIRUNISSA K., ASOKKUMAR K., UMAMAHESWARI M., SIVASHANMUGAM A .et JAGANNATH A. P. (2011).** Induction Of Apoptosis And Cytotoxicactivities Of *Apiumgraveolens* Linn. Using *in Vitro* models. *Middle-East J Scires*. 9 : 90-94.

Références bibliographique

- **SYAMASUNDAR K.V., SRINIVASULU B., STEPHEN A., RAMESH S. et RAO R.R. (2008).** Chemical composition of volatile oil of *Thymus vulgaris*.L.from Westren Ghats of India .Journal of spesces and Aromatic Crops 17,255-258.
- **THENMOZHI A. et MAHADEVA RAO U.S. (2011).** Evaluation of antimittotic activity of *Solanumtorvum* using *Allium Cepa* root meristamatic Cells and anticancer activity using MCF-7- Human Mammary Gland Breast Adenocarcinoma Cell Lines. *Drug Invention Today*. 3 (12): 290-296.
- **THOMAS L. (2013).** Haemolysis as influence and interference factor. eJIFCC vol 13 no 4.
- **TOMOFUJI T., EKUNI D., IRIE K., AZUMA T., ENDO Y., TAMAKI N., SANBE T., MURAKAMI J., YAMAMOTO T. et MORITA M. (2009).** Preventive effects of a cocoa-enriched diet on gingival oxidative stress in experimental periodontitis. *J. Periodontol*, 80 (11), 1799-808.
- **TOUATI S.A ., BUFFIN E., CLADIÈRE D., HACHED K., RACHEZ C., VAN DEURSEN J.M., et WASSMANN K. (2015).** Mouse oocytes depend on BubR1 for proper chromosome segregation but not for prophase I arrest. *Nature communications* 6, 6946.
- **TOURNOUX C. (1994)** .Les inhibiteurs de la tubuline .
- **VERDIER-PINARD P., LANSIAUX A. et BAILLY C. (2001).** Combretastatin A4 phosphate. *Bulletin du Cancer*, 88 (3): 235-239.
- **VIGNERON M. (1984)** .Action antimittotique de la colchicine et de ses dérivés.
- **WAJCMAN H. (2005).** Hémoglobines: structure et fonction. EMC-Hématologie, 2(3), 145-157.
- **WANI M.C., TAYLOR H.L., WALL M.E., COGGON P. et MCPHAIL A.T. (1971).** Plant antitumor agents. VI. The isolation and structure of taxol, a novel antileukemic and antitumor agent from *Taxus brevifolia*. *Journal of the American Chemical Society*, 93(9), 2325–7.
- **WILLIAMS R.J ., SPENCER J.P.et RICE –EVANS C .(2004)** Flavonoids: antioxidants orsignalling molecules, *Free Radic Biol Med* 36:838-849.
- **WOLLENWEBER E., DIETZ V. H. (1980).**Biochem. Syst. & Ecol. 8, 21.
- **YESILADA E. et GURBUZ I. (2002).**A compilation of the studies on anti-ulcerogenic effects of medicinal plants. *Recent progress in medicinal Plants*, Vol. II,In : S. Singh, V .K. Singh, J.N. Govil. Ed. *Phytochemistry and Pharmacology*, SCITechPublishing LLC, pp. 111-124. Houston, Texas.

Annexes

Annexe01 : Table de teste ANOVA à un facteur pour les résultats de comparaison des IM entre le témoin négatif et témoin positif.

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

Annexe02 : Table de teste ANOVA à un facteur pour les résultats de comparaison des IM entre le témoin négatif et la fraction aqueuse.

Effet	SC	Degr. de Liberté	MC	F	p
ord. origine	58216,90	1	58216,90	1990,321	0,000000
T(-) et Fraction (A)	2528,10	1	2528,10	86,431	0,000015
Erreur	234,00	8	29,25		

Annexe 03 : Table de teste ANOVA à un facteur pour les résultats de comparaison des IM entre le témoin négatif et la fraction butanolique .

Effet	SC	Degr. de Liberté	MC	F	p
ord. origine	42771,60	1	42771,60	2311,978	0,000000
T(-) et Fraction (B)	7182,40	1	7182,40	388,238	0,000000
Erreur	148,00	8	18,50		

Annexe 04 : Table de teste ANOVA à un facteur pour les résultats de comparaison des IM entre le témoin positif et la fraction aqueuse.

Effet	SC	Degr. de Liberté	MC	F	p
ord. origine	27457,60	1	27457,60	1085,281	0,000000
T(+) et Fraction (A)	640,00	1	640,00	25,296	0,001015
Erreur	202,40	8	25,30		

Annexe 05 : Table de teste ANOVA à un facteur pour les résultats de comparaison des IM entre le témoin positif et la fraction butanolique .

Effet	SC	Degr. de Liberté	MC	F	p
ord. origine	17222,50	1	17222,50	1183,677	0,000000
T(+) et Fraction B	84,10	1	84,10	5,780	0,042896
Erreur	116,40	8	14,55		

Annexe 06 : Table de teste ANOVA à un facteur pour les résultats de comparaison des IM entre la fraction aqueuse et la fraction butanolique .

Effet	SC	Degr. de Liberté	MC	F	p
ord. origine	24502,50	1	24502,50	670,3830	0,000000
Fraction (A) et Fraction (B)	1188,10	1	1188,10	32,5062	0,000454
Erreur	292,40	8	36,55		

Annexe 07 : Table de teste ANOVA à un facteur pour les résultats de comparaison des IP entre le témoin négatif et le témoin positif.

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

Annexe 08 : Table de teste ANOVA à un facteur pour les résultats de comparaison des IP entre le témoin négatif et la fraction aqueuse.

Effet	SC	Degr. de Liberté	MC	F	p
ord. origine	174504,1	1	174504,1	16,35523	0,000248
T(-) et Fraction (A)	8880,4	1	8880,4	0,83231	0,367358
Erreur	405445,5	38	10669,6		

Annexe 09 : Table de teste ANOVA à un facteur pour les résultats de comparaison des IP entre le témoin négatif et la fraction butanolique .

Effet	SC	Degr. de Liberté	MC	F	p
ord. origine	132595,2	1	132595,2	15,25476	0,000373
T(-) et Fraction (B)	21855,6	1	21855,6	2,51444	0,121096
Erreur	330298,2	38	8692,1		

Annexe 10 : Table de teste ANOVA à un facteur pour les résultats de comparaison des IP entre le témoin positif et la fraction aqueuse.

Effet	SC	Degr. de Liberté	MC	F	p
ord. origine	85747,6	1	85747,60	19,49132	0,000081
T(+) et Fraction (A)	1988,1	1	1988,10	0,45192	0,505494
Erreur	167172,3	38	4399,27		

Annexe 11 : Table de teste ANOVA à un facteur pour les résultats de comparaison des IP entre le témoin positif et la fraction butanolique .

Effet	SC	Degr. de Liberté	MC	F	p
ord. origine	56776,23	1	56776,23	23,06700	0,000025
T(+) et Fraction B	483,03	1	483,03	0,19624	0,660282
Erreur	93531,75	38	2461,36		

Annexe 12 : Table de teste ANOVA à un facteur pour les résultats de comparaison des IP entre la fraction aqueuse et la fraction butanolique .

Effet	SC	Degr. de Liberté	MC	F	p
ord. origine	76650,0	1	76650,02	22,16469	0,000033
Fraction A et Fraction B	3667,2	1	3667,23	1,06044	0,309625
Erreur	131411,7	38	3458,20		

Annexe 13 : Table de teste ANOVA à un facteur pour les résultats de comparaison des IA entre le témoin positif et la fraction aqueuse.

Effet	SC	Degr. de Liberté	MC	F	p
ord. origine	27457,60	1	27457,60	1085,281	0,000000
T(+) et Fraction (A)	640,00	1	640,00	25,296	0,001015
Erreur	202,40	8	25,30		

Annexe 14 : Table de teste ANOVA à un facteur pour les résultats de comparaison des IA entre le témoin positif et la fraction butanolique .

Effet	SC	Degr. de Liberté	MC	F	p
ord. origine	17388,90	1	17388,90	1251,000	0,000000
T(+) et Fraction (B)	72,90	1	72,90	5,245	0,051256
Erreur	111,20	8	13,90		

Annexe 15 : Table de teste ANOVA à un facteur pour les résultats de comparaison des IA entre la fraction aqueuse et la fraction butanolique .

Effet	SC	Degr. de Liberté	MC	F	p
ord. origine	24700,90	1	24700,90	688,0474	0,000000
La fraction (A) et Fraction (B)	1144,90	1	1144,90	31,8914	0,000483
Erreur	287,20	8	35,90		

Annexe 16 : Table de teste ANOVA à un facteur pour les résultats de comparaison des VLC entre le témoin positif et la fraction aqueuse .

Effet	SC	Degr. de Liberté	MC	F	p
ord. origine	30956,98	1	30956,98	540,2629	0,000000
T(+) et FractionA	556,07	1	556,07	9,7045	0,014332
Erreur	458,40	8	57,30		

Annexe 17 : Table de teste ANOVA à un facteur pour les résultats de comparaison des VLC entre le témoin positif et la fraction butanolique .

Effet	SC	Degr. de Liberté	MC	F	p
ord. origine	20237,40	1	20237,40	1589,949	0,000000
T(+) et Fraction(B)	102,14	1	102,14	8,025	0,022054
Erreur	101,83	8	12,73		

Annexe 18 : Table de teste ANOVA à un facteur pour les résultats de comparaison des VLC entre la fraction aqueuse et la fraction butanolique .

Effet	SC	Degr. de Liberté	MC	F	p
ord. origine	27502,68	1	27502,68	420,2353	0,000000
Fraction (A) et Fraction(B)	1134,86	1	1134,86	17,3405	0,003147
Erreur	523,57	8	65,45		

Résumé

Phlomis bovei De Noé est une plante qui appartient à la famille des Lamiaceae, largement utilisée en médecine traditionnelle. Notre étude a pour objectif d'évaluer l'activité antimittotique et l'effet cytotoxique des fractions flavonoïques aqueuse et butanolique issues des feuilles de *Phlomis bovei De Noé* sur la membrane érythrocytaire. L'estimation quantitative des flavonoïdes par la méthode du dosage colorimétrique révèle que la fraction butanolique présente une meilleure teneur en flavonoïdes estimée à $15 \pm 0.46 \mu\text{gEQ/ml}$ de fraction. L'évaluation de l'effet cytotoxique sur la membrane érythrocytaire est réalisée par la mise en contact du globule rouge humain avec les fractions flavonoïques aqueuse et butanolique. Le pourcentage d'hémolyse a été calculé et comparé à un témoin positif représenté par la saponine. Nos résultats montrent que la fraction butanolique présente le taux d'hémolyse le plus élevé et estimé à $77.36\% \pm 12.08$. Par ailleurs la mise en évidence de l'activité antimittotique des fractions flavonoïques aqueuse et butanolique a été réalisée *in vitro* sur les cellules méristématiques d'*Allium cepa* et a montré que les deux fractions inhibent la division cellulaire. L'indice mitotique le plus faible est observé pour la fraction butanolique avec un taux de $39.13 \pm 2.52\%$ et un indice d'aberration élevé et estimé à $41.43 \pm 10.09\%$. Ceci se traduit par la présence de différentes anomalies nucléaires, cellulaires et chromosomiques notamment des agglutinations chromosomiques, des fragmentations chromosomiques, des cellules gigantesques et des cellules allongées.

Mots clés : *Phlomis bovei De Noé*, fractions flavonoïques, effet antimittotique, *Allium cepa* et effet cytotoxique.

Abstract

Phlomis bovei De Noé is a plant belonging to the family Lamiaceae, widely used in traditional medicine. Our study aims to evaluate the antimittotic activity and the cytotoxic effect of aqueous flavonoids and butanolic fractions from the leaves of *Phlomis bovei Noé* on the erythrocyte membrane. The quantitative estimation of flavonoids by the colorimetric assay method reveals that the butanolic fraction has a better flavonoid content estimated at $15 \pm 0.46 \mu\text{gEQ} / \text{ml}$ fraction. Evaluation of the cytotoxic effect on the erythrocyte membrane is carried out by contacting the human red blood cell with the aqueous and butanolic flavonoids fractions. The percentage of hemolysis was calculated and compared to a positive control represented by saponin. Our results show that the butanolic fraction has the highest hemolysis rate and is estimated at $77.36\% \pm 12.08$. Moreover, the demonstration of the antimittotic activity of the aqueous and butanolic flavonoid fractions was carried out *in vitro* on the meristematic cells of *Allium cepa* and showed that the two fractions inhibited cell division. The lowest mitotic index is observed for the butanolic fraction with a rate of $39.13 \pm 2.52\%$ and a high aberration index estimated at $41.43 \pm 10.09\%$. This results in the presence of various nuclear, cellular and chromosomal abnormalities including chromosomal agglutination, chromosomal fragmentation, gigantic cells and elongated cells.

Key words: *Phlomis bovei De Noé*, flavonoid fractions, antimittotic effect, *Allium cepa* and cytotoxic effect.