

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد الصديق بن يحي - جيجل
Université Mohammed -Seddik Benyahia – Jijel

Faculté des Sciences de la Nature et de la
Vie
Département : Biologie Moléculaire et
Cellulaire



كلية علوم الطبيعة و الحياة
قسم: البيولوجيا الجزيئية و الخلوية

Mémoire de Master

Filière : Sciences biologiques

Option : Biologie Moléculaire et Cellulaire

THÈME

**Activités génotoxiques et anti-génotoxiques, de
l'extrait éthanolique de trois plantes médicinales sur
le cycle cellulaire de *l'allium cepa***

Membres de Jury

Président : Mme. ABBES
Examineur : Dr. ROUBAH
Encadreur : Dr. MEDJAHED

Présenté par :

DORBI Souhila
MAACHE Yasmina

Année Universitaire 2018-2019

Numéro d'ordre (bibliothèque) :

Remerciements

Louanges à ALLAH le clément, le tout puissant qui nous a procuré la patience, la force

et le courage d'aller au bout de notre objectif.

Nous tenons particulièrement et chaleureusement à remercier notre promotrice Mme MEDJAHED .Z. Pour sa confiance, ses encouragements et conseils tout au long de la réalisation de ce travail. Pour son soutien, patience, disponibilité, gentillesse et sa grande générosité, qu'elle soit assurée de notre profonde gratitude. Ce travail n'aurait pas été le même sans votre encadrement.

Qu'il nous soit permis de remercier également :

Mme ABBES, de nous avoir fait l'honneur de présider le jury ;

Mme ROUIBAH, d'avoir acceptés d'examiner notre mémoire ;

On a eu le plaisir d'effectuer notre recherche dans le Laboratoire de la faculté des sciences de la nature et de la vie,

de l'université MOHAMMED SEDDIK BEN YAHIA-Jijel,

Qu'elle trouve ici toute notre sympathie.

On remercie l'ensemble du personnel du laboratoire pour leur convivialité, pour leur disponibilité.

Enfin, nos gratitude sont adressés spécialement à nos familles, amis (es) et toutes personnes ont pus soutenir de près ou de loin la préparation de ce modeste travail.

Liste des abréviations

AC	Aberration chromosomique
AlCl₃	Trichlorure d'aluminium
AS	Azide de sodium
CDK	cyclin-dépendent kinases
CG	La chromatographie en phase gazeuse
DIBP	Di isobutylphthalate
DMSO	Diméthyle sulfoxyde
dNTP	désoxyribonucléotide triphosphate
ECS	Echange entre chromatides sœurs
EMS	Ethylméthane sulfonâ
E4P	l'érythrose-4- phosphate
FC	FolinCiocalteu
GC/MS	Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse
IPCS, WHO	Le Programme International de la Sécurité Chimique
IPP	isopentenylidiphosphate
LC-MS	Liquid chromatography coupled with mass spectrometry
MN	Micro Noyau
MS	La spectrométrie de masse
NG	nitrosoguanidine
PEP	phosphoénol pyruvate
Phe	phénylalanine
PI	pourcentage d'inhibition
PL	<i>Plantagolanceolata</i>
PS	<i>Plantagoserraria</i>
RMN	La spectroscopie RMN

RI Indices de rétention

Rt temps de rétention

SCGE Electrophorèse sur gel monocellulaire

SH *Scolymushispanicus*

TC Le taux de croissance

TH le taux d'humidité

TUNEL TdTmediated UTP nick end labeling

UNEP Le Programme Environnemental des Nations Unis

VIS Visible

V-VIS Ultraviolet-visible

Liste des figures

Numéro	Titre	Page
Figure 1	Structure des polyphénols	3
Figure 2	Squelette de base des flavonoïdes	4
Figure 3	Biosynthèse des composés phénoliques	5
Figure 4	Biosynthèse de différentes classes terpéniques	6
Figure 5	Effet des agents chimique sur la molécule d'ADN	9
Figure 6	Différents types de mutation génique	13
Figure 7	Principe du test des micronoyaux: Lésion chromosomique au cours de la mitose après exposition de cellules somatiques à un agent génotoxique	15
Figure 8	<i>Plantagoserraria L</i>	19
Figure 9	<i>Plantagolanceolata</i>	20
Figure 10	<i>Scolymushispanicus L</i>	24
Figure 11	Photographies originales des trois plantes médicinales : PS (A), PL (B) et SH (C)	26
Figure 12	Photographies originale des bulbes d'ognon d'A. <i>cepa</i> immergé dans le milieu de culture (A) et incubé dans l'étuve (B)	30
Figure 13	Schéma récapitulatif des étapes du préparation et traitement des bulbes d'A. <i>cepa</i>	32
Figure 14	Photographie originale du prélèvement et conservation des racines des bulbes	32
Figure 15	Photographie originale de la coloration (A) et (B), et fragmentation (C) des extrémités des racines de bulbes	33
Figure 16	Teneur en polyphénols totaux des extraits des feuilles de trois plantes médicinales	38
Figure 17	Teneur en flavonoides des extraits des feuilles de trois plantes médicinales	39
Figure 18	Teneur des tannins des extraits des feuilles de trois plantes médicinales	40
Figure 19	Photographie originale montrant l'aspect des racines d' <i>Allium cepa</i> traitées avec le DMSO(A), l'azide de sodium à 50 µg/ml (B) et à 100 µg/ml (C)	41
Figure 20	Taux de croissance des racines des bulbes d'A. <i>cepa</i> après 24h de chaque traitement A : 50 µg/ml; B 100µg/ml; C 200 µg/ml	43
Figure 21	Taux de croissance des racines des bulbes d'A. <i>cepa</i> après 48h de chaque traitement A à 50 µg/ml, B à 100 µg/ml, C à 200 µg/ml	45
Figure 22	Taux de croissance des racines des bulbes de l'A. <i>cepa</i> après 72h de chaque traitement : A à 50 µg/ml, B à 100 µg/ml, C à 200 µg/ml	46
Figure 23	Indices mitotiques observés dans les cellules méristématiques de l'A <i>cepa</i> après 24h de chaque traitement	49
Figure 24	Indices mitotiques observés dans les cellules méristématiques de l'A <i>cepa</i> après 48h de chaque traitement	50
Figure 25	Indices mitotiques observés dans les cellules	51

	méristématiques de l' <i>A cepa</i> après 72h de chaque traitement	
Figure 26	Photographies originale des stades des divisions normales des cellules méristématiques d' <i>Allium cepa</i> , Interphase (A), Prophase (B), Métaphase (C et D), Anaphase (E) et Télaphase (F et G)	52
Figure 27	Le pourcentage d'inhibition de chaque extrait contre les micronoyaux induits par l'azide de sodium	53
Figure 28	Photographies originale de micronoyau des cellules méristématiques de l' <i>Allium cepa</i> traité par l'azide de sodium à 100µg/ml	54
Figure 29	Profil chromatographique des échantillons des feuilles de <i>P. serraria</i> (A), <i>P. lanceolata</i> (B) et de <i>S. hispanicus</i> (C)	60

Liste des tableaux

Numéro	Titre	Page
Tableau 1	Classification et structure des terpénoïdes	6
Tableau 2	Classification botanique d' <i>Allium cepa</i>	27
Tableau 3	Taux d'humidité des échantillons des feuilles de trois plantes médicinales	36
Tableau 4	Taux d'extraction des échantillons des feuilles de trois plantes médicinales	37
Tableau 5	Composés bioactifs présents dans l'extrait éthanolique de <i>Plantagoserraria</i>	55
Tableau 6	Composés bioactifs présents dans l'extrait éthanolique de <i>Plantagolanceolata</i>	57
Tableau 7	Composés bioactifs présents dans l'extrait éthanolique de <i>Scolymushispanicus</i>	58

Liste des abréviations

AC	Aberration chromosomique
AlCl₃	Trichlorure d'aluminium
AS	Azide de sodium
CDK	cyclin-dépendent kinases
CG	La chromatographie en phase gazeuse
DIBP	Di isobutylphthalate
DMSO	Diméthyle sulfoxyde
dNTP	désoxyribonucléotide triphosphate
ECS	Echange entre chromatides sœurs
EMS	Ethylméthane sulfonâ
E4P	l'érythrose-4- phosphate
FC	FolinCiocalteu
GC/MS	Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse
IPCS, WHO	Le Programme International de la Sécurité Chimique
IPP	isopentenylidiphosphate
LC-MS	Liquid chromatography coupled with mass spectrometry
MN	Micro Noyau
MS	La spectrométrie de masse
NG	nitrosoguanidine
PEP	phosphoénol pyruvate
Phe	phénylalanine
PI	pourcentage d'inhibition
PL	<i>Plantagolanceolata</i>
PS	<i>Plantagoserraria</i>
RMN	La spectroscopie RMN

RI Indices de rétention

Rt temps de rétention

SCGE Electrophorèse sur gel monocellulaire

SH *Scolymushispanicus*

TC Le taux de croissance

TH le taux d'humidité

TUNEL TdTmediated UTP nick end labeling

UNEP Le Programme Environnemental des Nations Unis

VIS Visible

V-VIS Ultraviolet-visible

Liste des figures

Numéro	Titre	Page
Figure 1	Structure des polyphénols	3
Figure 2	Squelette de base des flavonoïdes	4
Figure 3	Biosynthèse des composés phénoliques	5
Figure 4	Biosynthèse de différentes classes terpéniques	6
Figure 5	Effet des agents chimique sur la molécule d'ADN	9
Figure 6	Différents types de mutation génique	13
Figure 7	Principe du test des micronoyaux: Lésion chromosomique au cours de la mitose après exposition de cellules somatiques à un agent génotoxique	15
Figure 8	<i>Plantagoserraria L</i>	19
Figure 9	<i>Plantagolanceolata</i>	20
Figure 10	<i>Scolymushispanicus L</i>	24
Figure 11	Photographies originales des trois plantes médicinales : PS (A), PL (B) et SH (C)	26
Figure 12	Photographies originale des bulbes d'ognon d'A. <i>cepa</i> immergé dans le milieu de culture (A) et incubé dans l'étuve (B)	30
Figure 13	Schéma récapitulatif des étapes du préparation et traitement des bulbes d'A. <i>cepa</i>	32
Figure 14	Photographie originale du prélèvement et conservation des racines des bulbes	32
Figure 15	Photographie originale de la coloration (A) et (B), et fragmentation (C) des extrémités des racines de bulbes	33
Figure 16	Teneur en polyphénols totaux des extraits des feuilles de trois plantes médicinales	38
Figure 17	Teneur en flavonoides des extraits des feuilles de trois plantes médicinales	39
Figure 18	Teneur des tannins des extraits des feuilles de trois plantes médicinales	40
Figure 19	Photographie originale montrant l'aspect des racines d' <i>Allium cepa</i> traitées avec le DMSO(A), l'azide de sodium à 50 µg/ml (B) et à 100 µg/ml (C)	41
Figure 20	Taux de croissance des racines des bulbes d'A. <i>cepa</i> après 24h de chaque traitement A : 50 µg/ml; B 100µg/ml; C 200 µg/ml	43
Figure 21	Taux de croissance des racines des bulbes d'A. <i>cepa</i> après 48h de chaque traitement A à 50 µg/ml, B à 100 µg/ml, C à 200 µg/ml	45
Figure 22	Taux de croissance des racines des bulbes de l'A. <i>cepa</i> après 72h de chaque traitement : A à 50 µg/ml, B à 100 µg/ml, C à 200 µg/ml	46
Figure 23	Indices mitotiques observés dans les cellules méristématiques de l'A <i>cepa</i> après 24h de chaque traitement	49
Figure 24	Indices mitotiques observés dans les cellules méristématiques de l'A <i>cepa</i> après 48h de chaque traitement	50
Figure 25	Indices mitotiques observés dans les cellules	51

	méristématiques de l' <i>A cepa</i> après 72h de chaque traitement	
Figure 26	Photographies originale des stades des divisions normales des cellules méristématiques d' <i>Allium cepa</i> , Interphase (A), Prophase (B), Métaphase (C et D), Anaphase (E) et Télaphase (F et G)	52
Figure 27	Le pourcentage d'inhibition de chaque extrait contre les micronoyaux induits par l'azide de sodium	53
Figure 28	Photographies originale de micronoyau des cellules méristématiques de l' <i>Allium cepa</i> traité par l'azide de sodium à 100µg/ml	54
Figure 29	Profil chromatographique des échantillons des feuilles de <i>P. serraria</i> (A), <i>P. lanceolata</i> (B) et de <i>S. hispanicus</i> (C)	60

Liste des tableaux

Numéro	Titre	Page
Tableau 1	Classification et structure des terpénoïdes	6
Tableau 2	Classification botanique d' <i>Allium cepa</i>	27
Tableau 3	Taux d'humidité des échantillons des feuilles de trois plantes médicinales	36
Tableau 4	Taux d'extraction des échantillons des feuilles de trois plantes médicinales	37
Tableau 5	Composés bioactifs présents dans l'extrait éthanolique de <i>Plantagoserraria</i>	55
Tableau 6	Composés bioactifs présents dans l'extrait éthanolique de <i>Plantagolanceolata</i>	57
Tableau 7	Composés bioactifs présents dans l'extrait éthanolique de <i>Scolymushispanicus</i>	58

Table des matières

Remerciements

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIE

Introduction	1
Chapitre I. Métabolites secondaires	3
I.1. Généralités	3
I.2. Classification.....	3
I.2.1. Composés phénoliques.....	3
I.2.1.1. Définition	3
I.2.1.2. Classification.....	3
I.2.1.2.1. Flavonoïdes	4
I.2.1.2.2. Non-flavonoïde	4
I.2.1.2.2.1. Tanins.....	4
I.2.1.3. Biosynthèse	5
I.2.2. Terpénoides.....	5
I.2.2.1. Définition	5
I.2.2.2. Classification.....	5
I.2.2.3. Biosynthèse	6
I.2.3. Alcaloïdes	7
I.2.3.1. Définition	7
I.2.3.2. Classification.....	7
I.2.3.3. Biosynthèse	7
I.3. Effets des métabolites secondaires.....	7
I.3.1. Effets des polyphénols.....	7

I.3.2. Effetdesterpanoides.....	8
I.3.3. Effetdes alcaloïdes	8
Chapitre II.Génotoxicité	9
II.1. Définition.....	9
II.2. Cycle cellulaire.....	9
II.2.1. Phases ducyclecellulaire	10
II.2.1.1. Interphase.....	10
II.2.1.2. Mitose	10
II.3. Activité génotoxique.....	12
II.4. Dommages de l'ADN induits par lessubstancesmutagènes.....	12
II.4.1. Mutations génique	12
II.4.2. Mutationschromosomiques.....	13
II.5. Agentsmutagènes.....	13
II.5.1. Azide desodium	13
II.6. Testsgénotoxiques	14
II.6.1. Testdumicronoyau	14
II.6.2. Test <i>Alliumcepa</i>	15
II.6.2.1. Propriétés	15
II.7. Activité mutageniqueetantimutagenique	15

II.8. Activité antiproliférative.....	16
Chapitre III.Plantes médicinales	17
III.1. Phytothérapie et plantes médicinales	17
III.1.1. Phytothérapie.....	17
III.1.2. Plantes médicinales	17
III.1.3. Historique des plantes médicinales	18
III.1.4. Utilisation en Algérie.....	18
III.2. Plantaginacées	19
III.2.1. Généralités.....	19
III.2.2. Description botanique et taxonomique.....	19
III.2.2.1. <i>Plantagoserraria L.</i>	19
III.2.2.2. <i>Plantagolanceolata L.</i>	20
III.2.2.2.1. Distribution géographique et habitat	21
III.2.2.3. Caractéristiques générales des <i>plantagolanceolata</i> et <i>plantagoserraria</i> ...21	
III.2.2.3.1. Composition chimique	21
III.2.2.3.2. Usage traditionnel	22
III.2.2.3.3. Activités biologiques.....	22
III.3. Astéracées.....	23
III.3.1. Généralités.....	23
III.3.2. <i>Scolymushispanicus L.</i>	23
III.3.2.1. Description botanique	23
III.3.2.2. Distribution géographique et habitat	24
III.3.2.3. Utilisation traditionnelle.....	25
III.3.2.4. Usage médicinale	25
III.3.2.5. Activités biologiques.....	25

PARTIE EXPERIMENTALE

Chapitre IV. Matériel et méthodes	26
IV.1. Matériel végétal.....	26
IV.1.1. Plantes étudiées	26
IV.1.2. <i>Allium cepa</i>	26
IV.2. Etude phytochimique	27
IV.2.1. Séchage, broyage et tamisage	27
IV.2.2. Extraction	28
IV.3. Dosage des polyphénols totaux.....	28
IV.3.1. Principe	28
IV.3.2. Protocole	28
IV.4. Dosage des flavonoïdes.....	29
IV.4.1. Principe	29
IV.4.2. Protocole	29
IV.5. Dosage des tannins.....	29
IV.5.1. Principe	29
IV.5.2. Protocole	30
IV.6. Etude de l'activité génotoxique et anti-génotoxique.....	30
IV.6.1. Préparation des échantillons.....	30
IV.6.2. Traitement des échantillons	31
IV.6.3. Préparation des racines.....	32
IV.6.3.1. Paramètres macroscopiques	33
IV.6.3.2. Paramètres microscopiques.....	34
IV.7. Analyse chromatographique	34
IV.7.1. Principe	34
IV.7.2. Protocole	35
IV.8. Analyse statistique	35
Chapitre V. Résultats et discussion	36
V.1. Evaluation du taux d'humidité	36
V.2. Evaluation du rendement d'extraction	36
V.3. Teneur en métabolites secondaires.....	38

V.3.1. Polyphénolstotaux	38
V.3.2. Flavonoïdes	39
V.3.3. Tannins	40
V.4. Test de génotoxicité et antigénotoxicité (test <i>A. cepa</i>).....	41
V.4.1. Paramètresmacroscopique	41
V.4.1.1. Observation morphologique des racines à l'œil nu	41
V.4.1.2. Evaluation du taux de croissance (TC).....	42
V.4.1.2.1. Evaluation du taux de croissance après 24h.....	43
V.4.1.2.2. Evaluation du taux de croissance après 48h.....	44
V.4.1.2.3. Evaluation du taux de croissance après 72h.....	45
V.4.2. Paramètresmicroscopique.....	48
V.4.2.1. Evaluation de l'indice mitotique (IM).....	48
V.4.2.1.1. Evaluation de l'indice mitotique après 24h.....	49
V.4.2.1.2. Evaluation de l'indice mitotique après 48h.....	49
V.4.2.1.3. Evaluation de l'indice mitotique après 72h.....	50
V.4.2.2. Evaluation du pourcentage d'inhibition (PI) (test de micronoyau)	53
V.5. Analyses chromatographique	54
V.5.1. <i>P. serraria</i>	54
V.5.2. <i>P. lanceolata</i>	57
V.5.3. <i>S. hispanicus</i>	58
Conclusion.....	62
Références bibliographique	64
Annexes	

Introduction

Les génomes de tous les organismes vivants étant endommagés par des agents externes (contaminations de l'air, de l'eau, du sol et de l'alimentation) et des processus endogènes, il peut en résulter des effets génotoxiques qui entravent l'intégrité de l'ADN et compromettent le fonctionnement des gènes. Si certains gènes, ou un chromosome entier, subissent des dommages permanents, une mutation peut s'établir, entraînant une modification héréditaire de certaines caractéristiques (Oyeyemi et Bakare, 2013 ; Karaismailogla, 2016 ; Roberto et *al.*, 2016). La génotoxicité peut conduire à des aberrations du nombre des chromosomes. Celles-ci ne peuvent s'expliquer que par une division cellulaire déséquilibrée qui peut intervenir suite à un défaut dans de multiples systèmes de régulation qui contrôlent son bon déroulement. On parle alors de progression mitotique altérée, de défaut dans l'assemblage et la symétrie du fuseau mitotique (Schauenbery, 2013).

Selon certains auteurs, la consommation quotidienne d'agents antimutagènes pourrait prévenir le cancer et les maladies génétiques (Steward et Brown, 2013 ; Tatsuzaki et *al.*, 2014). Depuis longtemps, l'homme s'est soigné avec les plantes qu'il avait à sa disposition. A travers les siècles, les traditions humaines ont développé la connaissance et l'utilisation des plantes médicinales pour améliorer la santé humaine (Hmamouchi et *al.*, 2012 ; Teerthe et Kerur, 2016 ; Asita et *al.*, 2017). L'utilisation de ces plantes (la phytothérapie) a un effet important pour la recherche pharmacologique (la recherche de nouveaux composés actifs contre de nombreuses maladies) et l'élaboration des médicaments (Bourmita et *al.*, 2013 ; Laccourreye et *al.*, 2017), non seulement lorsque les constituants des plantes sont utilisés directement comme agents thérapeutiques, mais aussi comme matières premières pour la synthèse de médicaments ou comme modèles pour les composés pharmacologiquement actifs (Atoyebi et *al.*, 2015 ; Rashed et *al.*, 2015 ; Al-Snafi, 2017). Les plantes médicinales ont été et restent la source majeure de médicaments grâce à leur richesse en métabolites secondaires qui sont utilisés en médecine traditionnelle (El Ouariachi et *al.*, 2014).

Environ 65-80% de la population mondiale à recours au médecine traditionnelle pour satisfaire ses besoins en soins de santé primaire, en raison de la pauvreté et du manque d'accès à la médecine moderne. Ces plantes médicinales renferment de nombreux principes actifs où certains sont issus du métabolisme secondaire. Les plantes produisent déjà 70% de nos médicaments, déjà environ 170 000 molécules bioactives ont été identifiées à partir de plantes (Leduc, 2006 ; Harbilas, 2009).

Introduction

L'objectif de ce travail est d'évaluer l'activité génotoxique et antigénotoxique, de trois plantes médicinales locales d'intérêts thérapeutique majeurs, *Plantago serraria*, *Plantago lanceolata* et *Scolymus hispanicus*, largement utilisées en médecine traditionnelle Algérienne, des plantes citées dans les études ethno pharmacologiques pour le traitement du cancers, mais peu de travaux réalisés pour bien cerner cette activité thérapeutique, elles ont été étudiés pour leur effet antioxydant, anti-inflammatoire, anti-infectieux, anticancéreux, antispasmodique, antidiabétiques (Gonçalves et Romano, 2016 ; Nichita et *al.*, 2016 ; Marmouzi et *al.*, 2017). Pour cela, cette étude a pour objectif la confirmation de l'utilisation traditionnel de ces plantes et pour mieux comprendre le mécanisme d'action de ces plantes dans la prévention de la génotoxicité.

La présente étude est divisée en trois grandes parties, on a commencé par une extraction des composés phénoliques. L'extraction est suivie par l'évaluation de la teneur de ses composés phénoliques par plusieurs méthodes. Par la suite, on a identifié des composés bioactif à effet antigénotoxique par la chromatographie en phase gazeuse couplé à une spectrophotométrie de masse. En fin on a évalué l'effet génotoxique induit par les plantes comparés à celui de l'azide de sodium, puis l'effet antigenotoxiq préventif prouvé par les 3 plantes médicinales (*P. serraria*, *P. lanceolata* et *S. hispanicus*) a 3 concentrations différentes comparativement à l'azide de sodium par le test de génotoxicité qui permet d'estimer l'impact de l'agent mutagène chimique sur le génome l'oignon commun (*Allium Cepa*). Les paramètres suivants ont été étudiés : le taux de croissance des racines après 24, 48 et 72h, l'indice mitotique après 24, 48 et 72h, et le pourcentage d'inhibition de micronoyaux.

Chapitre I : Métabolites secondaires

I.1. Généralités

Les métabolites secondaires sont de petites biomolécules considérées comme non essentielles à la vie de l'organisme producteur. Ils améliorent la disponibilité des éléments nutritifs, ils protègent contre les facteurs de stress environnementaux, ils renforcent les interactions compétitives avec d'autres organismes (Khouchlaa et *al.*, 2017).

I.2. Classification

Les métabolites secondaires se répartissent en 3 groupes chimiques : les composés phénoliques, les terpénoïdes et les alcaloïdes (Cheynier et *al.*, 2013 ; Sganzerla et *al.*, 2019).

I.2.1. Composés phénoliques

I.2.1.1. Définition

Les polyphénols sont les métabolites secondaires les plus abondants (Dias et *al.*, 2016). Ils possèdent un noyau aromatique ou plus, lié à un ou plusieurs groupements hydroxyles (Fig. 1). Ils se trouvent sous forme simple, comme les acides polyphénols, ou polymères complexes comme les tanins et les flavonoïdes (Behidj-benyounes et *al.*, 2013; Laid, 2016). Les principales sources des polyphénols sont les fruits et les légumes, les thés noirs et vert, le café, les baies, l'huile d'olive et le chocolat (Altameme et *al.*, 2015 ; Prajitha et Thoppil, 2016).

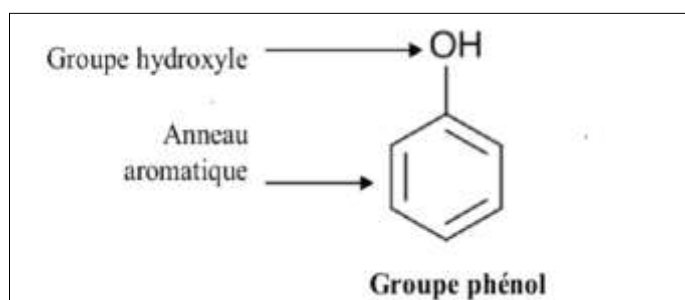


Figure 1 : Structure des polyphénols (Boros et *al.*, 2010).

I.2.1.2. Classification

Les composés phénoliques peuvent être répartis selon la nature, le nombre et l'arrangement des atomes de carbone et en fonction de la longueur de la chaîne aliphatique liée au noyau benzénique en deux grands groupes: les flavonoïdes et les non- flavonoïde (Chira, 2008).

I.2.1.2.1. Flavonoïdes C6-C3-C6

Les flavonoïdes, qui représentent la plus grande classe de polyphénols, sont des composants hautement actifs (Sarni-manchado et Cheynier, 2006 ; Bougandoura et Bendimerad, 2012). Ce sont des composés à 15 atomes de carbone, qui ont tous une structure C6-C3-C6, deux noyaux benzéniques reliés entre eux par un groupe de 3 carbones (Fig. 2). C'est l'arrangement de ce groupement C3 qui détermine la classification du composé (Vermerris et Nicholson, 2006 ; Chira, 2008).

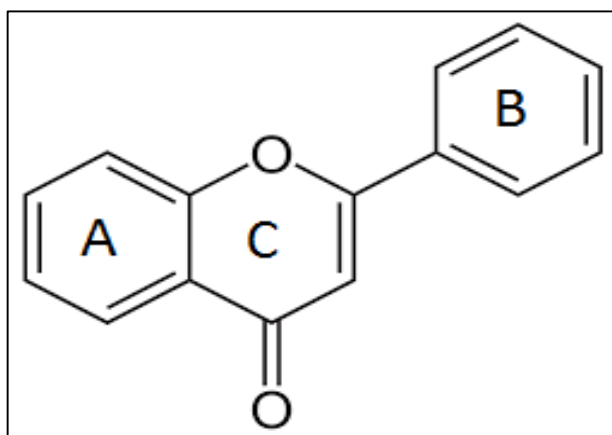


Figure 2 : Squelette de base des flavonoïdes (Chira, 2008).

I.2.1.2.2. Non- flavonoïde

Les composés non flavonoïdes sont représentés par les acides phénoliques, les tannins, les coumarines, les lignines, les lignanes et les stibens. La classe la plus importante est les tannins

I.2.1.2.2.1. Les tanins (C₁₅) n

Les tanins sont des composés de structure phénolique solubles dans l'eau et ayant des poids moléculaires compris entre 500 et 3000 Dalton (Bernard, 2011 ; Soulama et *al.*, 2014). Selon leur structure, les tanins existent sous deux formes : les tannins condensés et les tannins hydrolysables.

- **Tanins hydrolysables** : C'est un groupe responsable principalement des effets toxiques pouvant apparaître lors de la consommation de certaines plantes (Seremel et *al.*, 2010), sont constitués par une molécule de sucre estérifiée par l'acide gallique ou un de ses dérivés (Nkhili, 2009).
- **Tanins condensés** : Désignés aussi sous le nom de « tanins catéchiques », ce sont des produits de la polymérisation de flavan-3-ols (catéchine et épicatechine) et flavan-3,4-diols et ne sont hydrolysables que dans des conditions fortement acides (Nkhili, 2009).

I.2.1.3. Biosynthèse

Les polyphénols sont définis comme des « dérivés non azotés dont le ou les cycles aromatiques sont principalement issus du métabolisme de l'acide shikimique ou/et de celui d'un polyacétate ». Donc, les composés phénoliques sont issus par deux grandes voies métaboliques : la voie de l'acide shikimique et la voie de l'acétate/malonate (Fig. 3) (Bruneton, 2009).

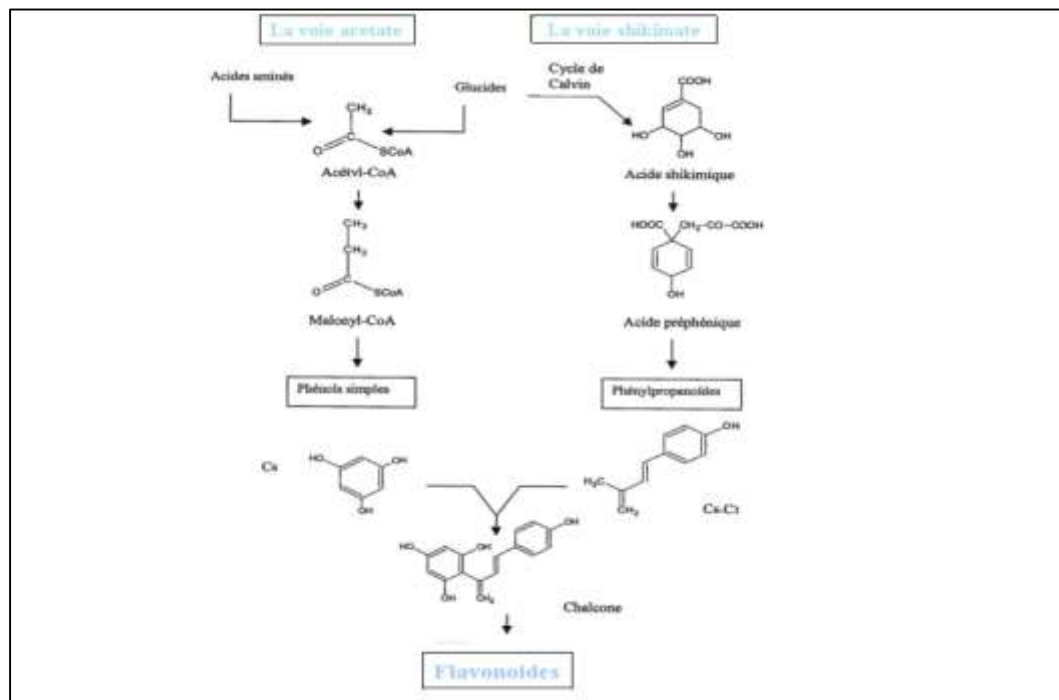


Figure 3 : Biosynthèse des composés phénoliques (Escarpa et Gonzalez, 2001).

I.2.2. Les terpénoïdes

I.2.2.1. Définition

Ce sont des produits naturels, formés à partir de l'assemblage des unités à 5 atomes de carbones ramifiées (IPP= isopentenyldiphosphate), dérivées du 2-méthylbutadiène (polymères de l'isoprène) (Martin et al., 2015).

I.2.2.2. Classification

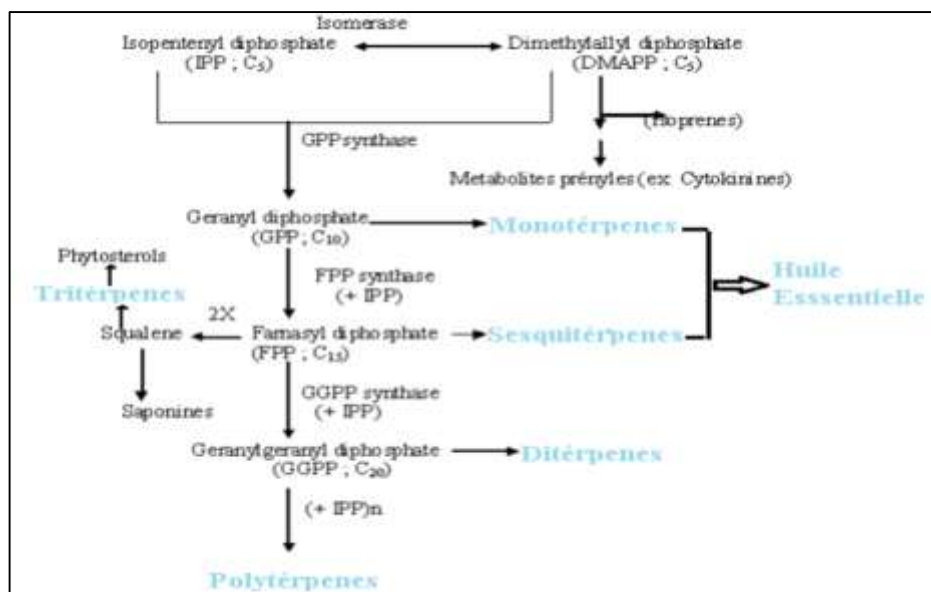
Les terpénoïdes peuvent être répartis selon le nombre d'unités isopréniques en différentes classes (Tableau 1) (Ayad, 2008 ; Martin et al., 2015).

Tableau 1 : Classification et structure des terpénoïdes (Ayad, 2008 ; Martin *et al.*, 2015).

Casse de terpène	Nombre d'unité isoprénique	Nombre d'atomes de carbone
Hemiterpène	1	C5
monoterpène	2	C10
sesquiterpènes	3	C15
di terpènes	4	C20
Sesterterpènes	5	C25
tri terpènes	6	C30
tétra terpènes	7	C35
polyterpènes	n unités	>40

I.2.2.3. Biosynthèse

La synthèse a quatre parties: synthèse de l'IPP, condensation des unités IPP, Elaboration du squelette et modifications secondaires (Dubye *et al.*, 2003).

**Figure 4** : Biosynthèse de différentes classes terpéniques (Dubye *et al.*, 2003).

I.2.3. Les alcaloïdes

I.2.3.1. Définition

Les alcaloïdes sont des substances organiques basiques d'origine naturelle (le plus souvent végétale), renfermant de l'azote (atome d'azote inclus dans un hétérocycle), d'intérêt thérapeutique dû à leurs activités pharmacologiques (Martin *et al.*, 2015 ; Marinho *et al.*, 2016).

I.2.3.2. Classification

Ont distingué 3 types d'alcaloïdes qu'ils peuvent être classés en fonction de leur structure chimique, de leurs activités biologiques et écologiques ou de leur voie de biosynthèse (Yinyang *et al.*, 2014).

- **Les alcaloïdes vrais** : ont dérivent des acides aminés, comportant un atome d'azote dans un système hétérocyclique. Ils sont toxiques et ont une grande activité biologique, même à faibles doses (Yinyang *et al.*, 2014).
- **Les proto-alcaloïdes** : sont des amines simples, dont l'azote n'est pas inclus dans un hétérocycle. Ils dérivent aussi des acides aminés (Yinyang *et al.*, 2014).
- **Les pseudo-alcaloïdes** : présentent le plus souvent toutes les caractéristiques des alcaloïdes vrais, mais ne sont pas dérivés d'acides aminés (Rakotonanahary, 2012 ; Yinyang *et al.*, 2014).

I.2.3.3. Biosynthèse

Le squelette de la plupart des alcaloïdes proviendrait des acides aminés (tryptophane, phénylalanine et formaldéhyde est le plus souvent, plus que tyrosine, lysine, arginine...) qui sont d'abord décarboxylées. Il existe d'autres composantes de la molécule qui dérivent soit des stéroïdes soit des terpénoïdes (Hess, 2002).

I.3. Effet des métabolites secondaires

I.3.1. Effet des polyphénols

Ces composés sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la rhizogénèse, la germination des graines et la maturation des fruits. Ces substances jouent un rôle important dans l'interaction de la plante avec son environnement biologique et physique. Les fonctions principales attribuées à ces composés sont la protection contre les pathogènes et les herbivores (Bouterfas *et al.*, 2013 ; Benchiha *et al.*, 2015).

les polyphénols jouent un rôle protecteur primordial contre un certain nombre de maladies, telles que l'athérosclérose (Lim et *al.*, 2013), le diabète (Asita et *al.*, 2017), les maladies neurodégénératives et cardiovasculaires (Asita et *al.*, 2017), thrombotiques (Amiot et *al.*, 2009), hépatiques (Medjahed et *al.*, 2016) et le cancer (Ouzid et *al.*, 2018). Comme ils exercent des effets anti-inflammatoires (Kim et *al.*, 2017), antioxydante (Roberto et *al.*, 2016), antigénotoxique (Pantaleão et *al.*, 2018), anti hépatotoxique (Medjahed et *al.*, 2016), antimicrobien (Al_Snafi, 2016), antibactérien (Ting et *al.*, 2013), antiviral (Dejean et Richard, 2013), antifongique (Daoudi et *al.*, 2017) et antiallergique (Ielpo et *al.*, 2000).

I.3.2. Effet des terpénoïdes

Ils ont été bien connus par leurs activités biologiques comme les propriétés antimicrobiennes, antihépatotoxique (Kabsa et *al.*, 2014), anticancéreuses, des propriétés défensives, la résistance aux maladies causées par les champignons (Martin et *al.*, 2015).

I.3.3. Effet des alcaloïdes

Malgré qu'ils aient été considérés comme des molécules toxiques, Les alcaloïdes sont des molécules très intéressantes au point de vue biologique car certaines sont le principe actif de plusieurs extraits de plantes utilisés comme médicaments, poisons ou encore comme psychotropes. Ils ont des effets antimicrobien, anti-cancéreux, antalgique, anti hépatotoxique et anti-inflammatoire (Behidj-benyounes et *al.*, 2013 ; Martins et *al.*, 2015 ; Rahmani et *al.*, 2016).

Ainsi que par leur toxicité. Ils agissent en tant que :

- Dépresseurs au niveau du système nerveux central (morphine, scopolamine), anesthésiques locaux (cocaïne), ganglioplégiques (spartéine, nicotine), parasymphomimétique (physostigmine ou ésérine, pilocarpine), anti-tumeur et sympathomimétique (éphédrine) (Bruneton, 2009).
- Stimulants (caféine, strychnine) (Yinyang et *al.*, 2014).

II. Génotoxicité

II.1. Définition

La génotoxicité désigne tout type de dommage causé à l'ADN, au chromosome ou à une matière nucléaire, qu'il conduise ou non à une mutation (Umbuzeiro et *al.*, 2016). La génotoxicité est une caractéristique impérative des substances toxiques qui résulte généralement des mutations, des phénomènes héréditaires ou de la rupture des brins d'ADN (Akhtar et *al.*, 2016). La toxicologie génétique ou génotoxicité est l'étude de la toxicité de substances sur l'acide désoxyribonucléique (ADN), causant directement des lésions ou mutations (Fig. 5). Ces mutations peuvent survenir indirectement suite à une activation métabolique par les enzymes du foie. Les systèmes de réparation de la cellule sont responsables de l'élimination de ces lésions. Néanmoins, une réparation imparfaite peut aussi conduire à des mutations géniques qui risquent d'engendrer des cancers (Fernandes et *al.*, 2013).

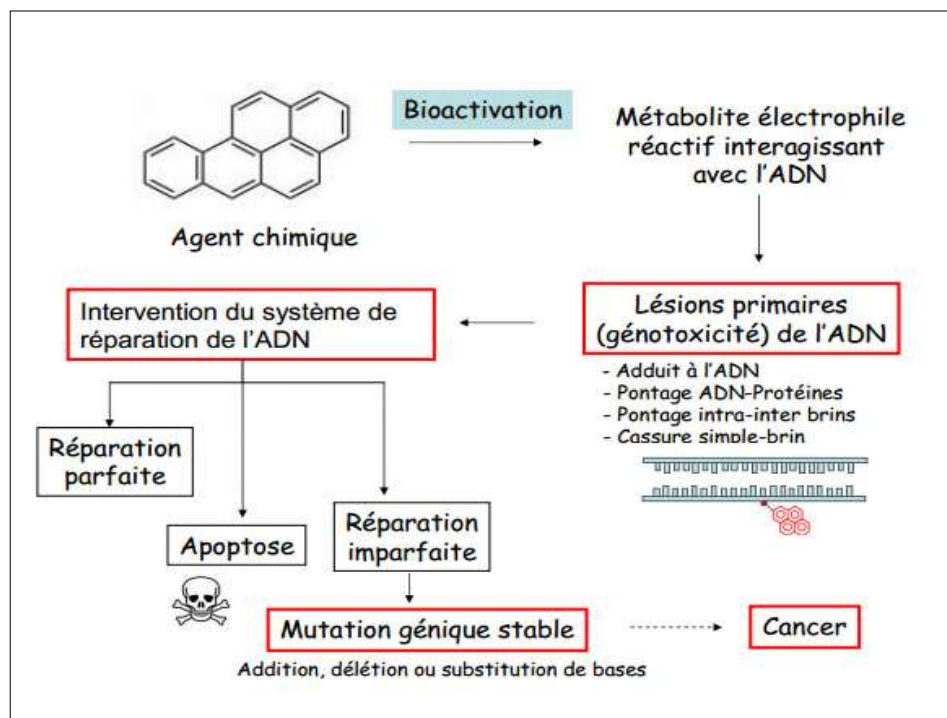


Figure 5 : Effet des agents chimique sur la molécule d'ADN (Fernandes et *al.*, 2013).

II.2. Cycle cellulaire

Les cellules vivantes se dupliquent elles-mêmes après un cycle cellulaire. La division cellulaire est le processus fondamental par lequel une cellule mère donne deux cellules filles identiques à la cellule dont elles dérivent. Le cycle cellulaire est essentiellement constitué de deux temps, l'interphase, au cours de laquelle les chromosomes sont répliqués, et la mitose, au cours de laquelle les chromosomes se répartissent entre les deux cellules filles (Meijer, 2003; Potapova et Gorbisky, 2017).

II.2.1. Phases du cycle cellulaire

Le cycle cellulaire des eucaryotes comprend quatre phases. Durant deux de ces phases, phase S et phase M, les cellules exécutent les deux événements fondamentaux du cycle : réplication de l'ADN (phase S, pour synthèse) et partage rigoureusement égal des chromosomes entre les 2 cellules filles (phase M, pour mitose). Les deux autres phases du cycle, G1 et G2, représentent des intervalles (Gap) : au cours de la phase G1, la cellule effectue sa croissance, intègre les signaux mitogènes ou anti-mitogènes et se prépare pour effectuer correctement la phase S ; au cours de la phase G2, la cellule se prépare pour la phase M (Otto et Sicinski, 2017).

II.2.1.1. Interphase

L'interphase se partage en trois phases : G1, S et G2. La phase G1 est un intervalle pendant lequel les cellules se préparent à la synthèse d'ADN (Diffley, 2004; Johnson et Skotheim, 2013).

➤ Phase G1

Première phase de croissance (Growth); Les cellules subissent une étape de croissance pour avoir leurs tailles finales. Elles vont aussi lors de cette étape travailler et effectuer les différentes fonctions pour lesquelles elles sont programmées (Klug, 2006). Elle représente environ 90% de la durée du cycle (Nabors, 2009).

➤ Phase S

Correspond à la phase de synthèse d'ADN, où une copie conforme du matériel génétique de la cellule est générée. La réplication s'initie sur de nombreuses origines conséquemment au recrutement de l'ADN polymérase par les complexes pré-réplicatifs formés en G1 (Hanaoka et Sugawara, 2016; Li et *al.*, 2007).

➤ Phase G2

C'est la deuxième phase de croissance, c'est la phase qui précède l'entrée en mitose. Durant cette phase la cellule prend du volume au maximum pour se préparer à une nouvelle division (Klug, 2006).

II.2.1.2. Mitose

La mitose est le mécanisme de division qui permet à partir d'une cellule mère d'obtenir deux cellules filles identiques. Cette phase ne représente que 10% de la durée du cycle cellulaire.

Elle comprend deux processus : la division du noyau et la division du cytoplasme, ce qui conduit à la répartition des nouveaux noyaux dans les deux cellules filles (Nabors, 2009).

➤ **Prophase**

C'est une phase qui dure de 15 à 60 minutes (Petit et Julien, 2007). Le début de la prophase est caractérisé par l'individualisation des chromosomes, qui par la suite vont s'épaissir et se raccourcir ; chaque chromosome est constitué de deux chromatides sœurs soudées par leurs centromères. Les deux centromères accompagnés de microtubules constituent des asters qui vont migrer vers les deux pôles opposés de la cellule (Kalitsis et *al.*, 2017).

➤ **Prométaphase**

Au cours de la prométaphase, les microtubules s'assemblent pour former un fuseau bipolaire dont les deux pôles s'organisent autour de chaque centrosome, dupliqué en phase S. Des attachements s'établissent entre les microtubules du fuseau et les chromosomes par l'intermédiaire de structures protéiques appelées kinétochores qui s'associent au niveau des centromères (Prosser et Pelletier, 2017).

➤ **Métaphase**

La métaphase ne dure que quelques minutes. Elle se caractérise par le regroupement des centromères au niveau de la plaque équatoriale. Les centromères se fixent aux microtubules polaires de la cellule. Pendant cette phase, il est possible d'observer tous les chromosomes distinctement en vue polaire (Meijer, 2003).

➤ **Anaphase**

C'est une phase très courte (2 à 3 minutes). Chaque centromère se divise en deux. Les fibres apportent alors chaque groupe de chromatides vers les pôles cellulaires. Cette séparation permet d'obtenir deux lots de chromosomes à un chromatide complètement identiques (Nabors, 2009).

➤ **Télophase**

Elle dure de 15 à 60 minutes (Elord et Stansfield, 2003). Les chromosomes ont atteint les pôles du fuseau. Une structure microtubulaire se forme à mi-chemin entre les deux lots de chromosomes. Une constriction marque le site de la cytokinèse (Meijer, 2003). Inversement à la prophase, la télophase est la phase pendant laquelle la membrane nucléaire se reforme, les chromosomes se décondensent et le fuseau achromatique disparaît (Petit et Julien, 2007). La cytodierèse est l'événement le plus important au cours duquel, le cytoplasme se divise en deux pour former deux cellules filles génétiquement identiques (Delattre, 2006; Suryadinata et *al.*, 2010).

II.3. Activité génotoxique

L'étude des effets génotoxiques et mutagènes d'espèces à potentiel médicinal, qui peuvent induire des altérations génétiques et causer plusieurs problèmes de santé (Chiavegatto et *al.*, 2017). Les agents génotoxiques sont des agents susceptibles de provoquer des mutations directes ou indirectes sur l'ADN, par rupture d'une ou des deux chaînes d'ADN, par modification des bases (délétion substitution, mésappariement) (Raffine, 2009).

II.4. Dommages de l'ADN induites par les substances mutagènes

Les génotoxiques sont des molécules qui présentent un effet toxique sur le génome, en particulier une capacité d'altérer le matériel génétique. Ces altérations peuvent être soit directes en induisant une modification dans l'ADN (Mutation génique) ou dans les chromosomes (mutations chromosomiques), soit indirectes comme la modification de la structure des nucléotides avant son incorporation dans l'ADN ou l'inhibition des enzymes de synthèse ou de réparation (l'ADN polymérase, ligases, topo isomérase, etc.) (Mutation génomiques) (Umbuzeiro et *al.*, 2016).

II.4.1. Mutation génique

La mutation génique correspond à une altération de la séquence nucléotidique de l'ADN de manière à arrêter complètement la synthèse d'une protéine, ou de la modifier produisant ainsi une protéine inactive. La mutation génique la plus fréquente est la substitution, qui consiste à remplacer un nucléotide par un autre (Iengar, 2012).

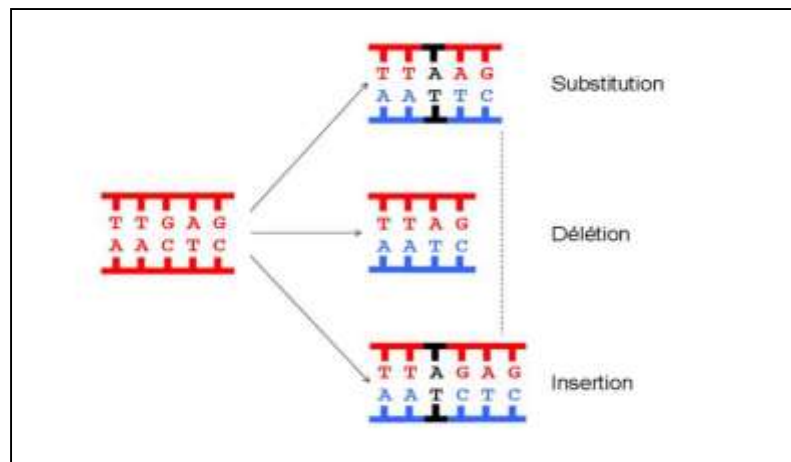


Figure 21 : Différents types de mutation génique (Hanna, 2005).

II.4.2. Mutations chromosomiques

Les anomalies chromosomiques se subdivisent en anomalies de nombre (effets aneugènes) et en anomalies de structure (effet clastogènes). Les aberrations chromosomiques peuvent être chromatiniennes (échanges, cassures,..) ou chromosomiques (affectant les deux chromatides du chromosome : fragments acentrique, dicentriques, translocations,...). Correspondent à la perte (déletion) ou à l'addition (insertion) de fragments chromosomiques, à l'échange des fragments entre chromosomes non homologues et à la duplication ou à l'inversion d'un segment chromosomique (Al-dualimi et al., 2018).

II.5. Agents mutagènes

Les mutations spontanées lors de la réplication sont très peu nombreuses grâce à l'activité correctrice des ADN polymérases (activité exonucléasique 3' 5'). Un agent mutagène augmente le taux de mutation au sein d'un génome (Pedrazzani et al., 2012). Si certains gènes, ou un chromosome entier, subissent des dommages permanents, une mutation peut s'établir, entraînant une modification héréditaire de certaines caractéristiques. Les agents antimutagènes sont connus pour contrecarrer les effets des agents mutagènes (Roberto et al., 2016).

La capacité d'un agent à altérer directement ou indirectement le patrimoine génétique d'une cellule peut avoir lieu selon plusieurs mécanismes:

- Rupture d'une chaîne d'ADN
- Rupture de deux chaînes d'ADN : dégradation
- Modification des bases (Thymine, Cytosine, Adénine, Guanine) (Roberto et al., 2016).

II.5.1. Azide de sodium

L'Azide de sodium (NaN_3) fait partie de la famille des azotures, est un agent mutagène chimique bien connue qui peut provoquer des mutations dans le génome des cellules eucaryotes ou procaryotes (Khan et *al.*, 2011), qui est un composé ionique de formule soluble dans l'eau, ainsi certaines solutions contenant un minimum d'Azide d'hydrogène (Qari, 2008 ; Khan et *al.*, 2009).

L'Azide de sodium agit par interaction avec l'ADN, après pénétration dans le noyau. Il affecte les différentes parties de la plante et son développement par la perturbation de ses activités métaboliques (Qari, 2008 ; Khan et *al.*, 2009).

II.6. Tests génotoxiques

Les tests de génotoxicité sont appliqués depuis longtemps pour la surveillance du risque mutagène/cancérogène chez des travailleurs exposés à des agents génotoxiques. Ils sont un outil d'évaluation des effets précoces, prédictifs du risque de cancer, de l'exposition à des agents génotoxiques (Eslava, 2004). Ils mesurent les dommages ou les modifications de l'ADN, des chromosomes ou des mécanismes de réplication de la cellule. Ils sont largement utilisés pour dépister les substances potentiellement mutagènes et cancérogènes, ou la contamination des échantillons environnementaux (Umbuzeiro et *al.*, 2016).

II.6.1. Test du micronoyau

Le test des micronoyaux (MN) permet de mettre en évidence la présence d'anomalies chromosomiques de nombre ou de structure, consécutives à l'action d'agents écotoxiques, sur des cellules en culture. Les micronoyaux se définissent comme des entités nucléaires indépendantes du noyau principal et présentes dans le cytoplasme des cellules en interphase. Ils sont constitués de fragments de chromosomes (effet clastogène) ou de chromosomes entiers perdus (effet aneugène) par le noyau cellulaire au cours de la mitose (Fig. 7). Les taux de micronoyaux sont évalués en recherchant la présence d'entités nucléaires indépendantes du noyau dans 1000 cellules binucléées par essai. C'est à la fois un test de mutations chromosomiques et de mutations géniques (Eslava, 2004 ; Roemer et *al.*, 2015).

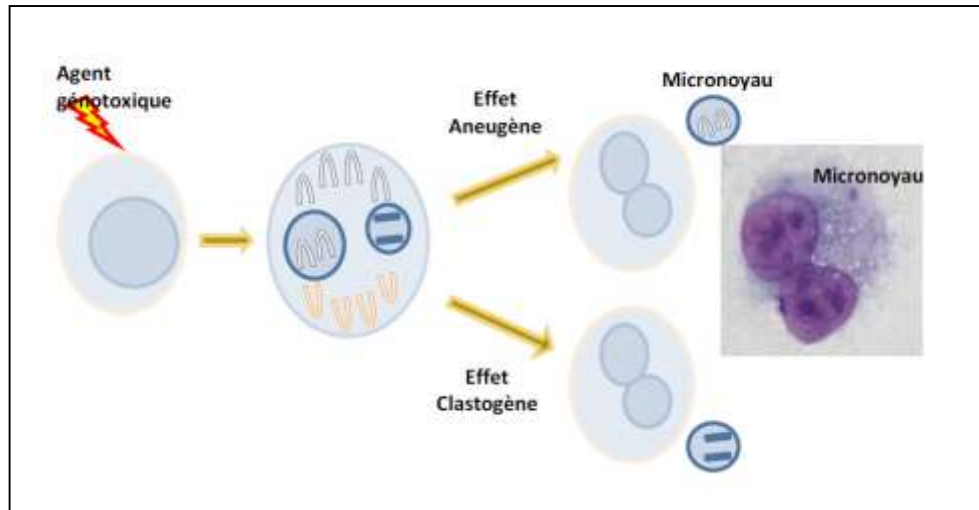


Figure 6: Principe du test des micronoyaux: Lésion chromosomique au cours de la mitose après exposition de cellules somatiques à un agent génotoxique (Berthelot-Ricou *et al.*, 2013).

II.6.2. Test *Allium cepa*

Le système de test *Allium cepa* permet l'évaluation simultanée des effets cytotoxiques, génotoxiques et mutagènes d'un composé déterminé, d'échantillons environnementaux ou de produits naturels, sans qu'il soit nécessaire de réaliser différentes analyses (Roberto *et al.*, 2016).

Il a été prouvé que l'analyse de l'aberration chromosomique par le test d'*A. Cepa L.* était efficace, fiable et peu coûteux utilisé pour évaluer la génotoxicité par le biais d'aberrations chromosomiques et la toxicité par la croissance racinaire et l'indice mitotique des plantes médicinales, ce test utilise un modèle suffisamment sensible pour détecter d'innombrables substances qui provoquent des altérations chromosomiques (Chiavegatto *et al.*, 2017 ;Liman *et al.*, 2019). Les méristèmes racinaires des plantes présentent une grande sensibilité aux effets génotoxiques des composés chimiques et sont particulièrement de bons candidats pour les études cytogénétiques (Alfonso *et al.*, 2017, Oliveira *et al.*, 2017).

II.6.2.1. Propriétés

Le test *Allium cepa*, l'un des meilleurs systèmes de test cytogénétique pour les plantes, il possède une bonne corrélation avec d'autres essais biologiques, il a été largement utilisé pour évaluer la toxicité et la génotoxicité de produits chimiques et d'échantillons de l'environnement en raison de sa détection et sa coloration facile des aberrations chromosomiques. L'*allium Cepa* est une variété d'oignon disponible toute l'année, facile à cultiver dans les laboratoires, qui possède un nombre chromosomique réduit ($2n=16$), des chromosomes large et longue, un haut pourcentage de division cellulaire (Liman *et al.*, 2019).

II.7. Activité mutagenique et antimutagenique

La mutagenicité est un aspect de la génotoxicité et peut être mesurée dans des tests qui détectent des altérations au niveau moléculaire (des modifications de base de l'ADN) ou au niveau du chromosome (des dommages structurels, des micronoyaux ou une aneuploïde) (Umbuzeiro et *al.*, 2016). Plusieurs études ont été réalisées pour la détermination de l'activité mutagénique et antimutagénique des principes actifs des extraits des plantes médicinales. D'autres études ont prouvé que la consommation des produits végétaux contenant des composés comme les alcaloïdes, les tanins, les flavonoïdes est associée avec la réduction de risque de certaines maladies chroniques telle que le cancer (Kris-Etherton et *al.*, 2002), car ces composés ont la capacité d'influencer le cycle cellulaire comme suite :

- Inhibition de l'activation des pro-carcinogènes en stimulant la réparation d'ADN muté à la phase d'initiation
- Suppression de la tumeur à la phase de promotion (Brindzovà et *al.*, 2010).

Les isoflavones et flavones agissent par plusieurs mécanismes :

- Induction de blocage du cycle cellulaire et la mort cellulaire.
- Prévention de l'oxydation et induction des enzymes antioxydants.
- Régulation du système immunitaire et modification de la signalisation cellulaire (Birt et *al.*, 2001).

II.8. Activité antiproliférative

Les agents antiprolifératifs agissent selon plusieurs mécanismes, soit par la formation des liaisons covalentes avec les nucléotides de la chaîne d'ADN et inhibent ainsi la réplication, Ils bloquent ou détournent une ou plusieurs voies de synthèse de l'ADN, ils affectent de façon spécifique la fonction du fuseau mitotique par liaison à la tubuline, ou encore l'inhibition de l'activité protéine-tyrosine kinase (Lechat, 2006).

III. Plantes médicinales

III.1. Phytothérapie

Le mot phytothérapie provient de mots grecs qui signifient essentiellement « Soigner avec les plantes » (Benhamza, 2008 ; Christelle, 2009). La phytothérapie appelée aussi médecine " naturelle", "parallèle" ou "complémentaire"; est l'ensemble des connaissances et pratiques basées sur les croyances et les expériences que pouvait l'Homme apporter du règne végétal, auxquelles les différentes cultures ont recours pour diagnostiquer ou soigner des maladies physiques et mentales (Bouxid, 2012). D'un point de vue étymologique, le terme phytothérapie provient du grec ancien "*phyton*" qui signifie "végétal"; la phytothérapie est donc la "thérapie par les plantes". Ces plantes utilisées à l'état frais ou le plus souvent sous la forme desséchée peuvent être aromatiques, sédatives ou curatives où les préparations sont souvent obtenues par infusion, macération, ou décoction (Gahbiche, 2009).

III.1.2. Plantes médicinales

On appelle plante médicinale toute plante renfermant un ou plusieurs principes actifs capable de prévenir, soulager ou guérir des maladies (Schauenberg, 2013), il y a environ 500 000 plantes sur terre parmi les quelles environ 20 000 possèdent des propriétés médicinales (Small et Catling, 2000). Une plante est qualifiée de médicinale lorsqu'elle contient, au niveau de ses organes, un ou plusieurs principes actifs utilisables à des fins thérapeutiques dont l'effet varie selon la partie utilisée (Fattinger et *al.*, 2003 ; Bertrand, 2009).

Les plantes médicinales ont montré un rôle prometteur dans le traitement et la prévention des maladies, ce qui explique leur utilisation, depuis des siècles par les différentes civilisations du monde ; les plus réputées entre les populations sont : Verveine (*Verbena officinalis*), Romarin (*Rosmarinus officinalis*), Menthe poivrée (*Mentha piperita*), Eucalyptus (*Eucalyptus globulus*), Cannelier (*Cinnamomum zeylanicum*), Citronnier (*Citrus limon*), Clou de Girofle (*Syzygium aromaticum*), Thym (*thymus vulgaris*)....etc. (Rodzko, 2000).

La recherche scientifique a attribué une grande importance au règne végétal, notamment l'étude des plantes médicinales et leurs teneurs en principes actifs. Et leurs effets thérapeutiques concernant les plantes médicinales à effet génotoxique tel que : (*Fraxinus angustifolia*, *Clematis flammula*, *Cistus albidus*, *Populus nigra* ; *Pistacia lentiscus* ; *Ulmus campestris* ; *Zygophyllum cornutum* ; *Atractylis gummifera*) (Atmani et *al.*, 2009 ; Beloued, 2009 ; Hami et *al.*, 2010 ; Debbache et *al.*, 2014).

III.1.3. Historique

Depuis des milliers d'années, l'homme a su exploiter les richesses naturelles qui l'entouraient pour se nourrir et se soigner. C'est en consommant les baies, les feuilles et les racines des végétaux qui poussaient autour de lui et en observant les effets qu'ils avaient sur le bétail et sur lui-même qu'il a progressivement identifié les propriétés curatives des plantes.

Sur chaque continent, se sont ainsi développées différentes traditions, basées sur un savoir empirique qui s'est transmis et enrichi au fil des générations (Houdret, 2004).

Déjà 40 000 ans avant notre ère, les thérapeutes aborigènes d'Australie utilisaient les plantes notamment les feuilles de *Melaleuca alternifolia* (arbre à thé). Ce sont surtout les thérapeutes chinois, égyptiens, grecs, romains et arabes qui ont progressivement orienté l'utilisation des plantes à des fins médicales et cosmétologiques. En Afrique, en Europe, en Chine en Inde, la médecine traditionnelle s'appuie toujours sur les vertus de ces plantes (Houdret, 2004).

III.1.4. Utilisation en Algérie

Les plantes médicinales sont utilisées pour leurs propriétés particulières bénéfiques pour la santé humaine (Dutertre, 2011). En effet, elles sont utilisées de différentes manières, décoction, macération et infusion. Une ou plusieurs de leurs parties peuvent être utilisées : racine, feuille, fleur (Dutertre, 2011). D'après Hordé, (2014), les plantes médicinales sont utilisées par l'homme depuis près de 7 000 ans et que certains animaux les consomment aussi dans un but thérapeutique. Environ 35 000 espèces de plantes sont employées à l'échelle mondiale à des fins médicinales, ce qui constitue le plus large éventail de biodiversité utilisé par les êtres humains. Malgré l'influence croissante du système sanitaire moderne, les plantes médicinales continuent de répondre à un besoin important. Leurs préparations à base végétale contiennent un ou plusieurs principes actifs utilisables à des fins thérapeutiques (Elqaj *et al.*, 2007).

En Algérie, les plantes occupent une place importante dans la médecine traditionnelle. Elles sont largement employées dans divers domaines de la santé. Dans les années dernières, la phytothérapie est très répandue pour traiter plusieurs maladies : diabète, rhumatisme, minceur et même les maladies incurables (Benhouhou, 2005).

III.2. Plantaginacées

III.2.1. Généralités

Plantaginaceae, Plantagineae, est un genre cosmopolite comptant environ 250 espèces concentrées dans les zones tempérées et les régions tropicales de haute altitude (Dhar et *al.*, 2019 Hassemer et *al.*, 2016 ; Hassemer, 2019 ; Hassemer et *al.*, 2019). Ce genre est connu pour sa morphologie simplifiée, sa plasticité morphologique élevée, sa taxonomie et sa nomenclature complexes et, malgré plusieurs études phylogénétiques moléculaires, sa phylogénie non résolue (Hassemer et *al.*, 2017, Hassemer et *al.*, 2018; Iamónico et *al.*, 2017).

Le genre *Plantago* Linee. (Plantaginaceae) est utilisé dans le monde entier comme aliments riche en composés bioactifs et remèdes contre un large éventail de maladies. La valeur médicinale des espèces de *Plantago* reflète en partie, la nature gélatineuse des polysaccharides extraits de leurs graines, qui peuvent être utilisées pour la fabrication de médicaments et élimination des toxines (Gonçalves et Romano, 2016). Le genre *Plantago* L. comprend des espèces bien connues comme plantes médicinales y compris les deux espèces : *Plantago lanceolata* et *plantago serraria* (Oprica et *al.*, 2015).

III.2.2. Description botanique et taxonomique

III.2.2.1. *Plantago serraria*

P. serraria, est une espèce distribuée dans la région méditerranéenne et au Portugal. *P. serraria* est une plante vivace à feuilles toutes en rosette basale, à feuilles larges et pourvues de 7 à 12 paires de dents très nettes, d' une hauteur d'environ 20-120 mm et d'une taille de 10–25 cm de long. Fleurisse du Avril à juin. Espèce très bien caractérisée, elle se retrouve dans des prés et zones rudérales d'altitude de 50 à 1000 mètres (Hassemer et *al.*, 2017 ; Tani, 2017).



Figure 8: *Plantago serraria* (Hassemer et *al.*, 2017).

Classification taxonomique de *Plantago serraria* (Ghedira *et al.*, 2008).

Règne : Plantae	Sous-règne : Tracheobionta
Embranchement : Magnoliophyta	Superclasse : Tricolpées
Classe : Magnoliopsida	Sous-classe : Asteridae
Superordre : Euastéridées I	Ordre : Lamiales
Famille : Plantaginaceae	Tribu : Plantaginae
Genre : Plantago	Espèces : <i>Plantago serraria</i> L

III.2.2.2. *Plantago lanceolata* L.

P. lanceolata L. (plantain à feuilles étroites) est une plante herbacée vivace appartenant à la famille Plantaginaceae connue sous le nom de mauvaise herbe commune, largement répandue dans les prairies et les bords des routes des régions tempérées partout dans le monde, atteint généralement une hauteur d'environ 30–60 cm et produit une rosette de feuilles de 10–25 cm, parfois jusqu'à 40 cm de long. La taille de la plante dépend des habitats de croissance (Bajer *et al.*, 2015). Il se présente comme une plante sauvage dans les grandes cultures, mais en raison de la forte utilisation de l'industrie pharmaceutique, il est également cultivé. Il pousse sur une large gamme de sols et résiste à la sécheresse. *P. lanceolata* est répandu dans le monde entier, à l'exception des régions subarctiques et tropicales basses. Les espèces du genre *Plantago* sont utilisées comme source de mucilage produit par les parties végétatives ainsi que par les graines (Kreitschitz *et al.*, 2016; Drava *et al.*, 2018).



Figure 9: *Plantago lanceolata* (Kreitschitz *et al.*, 2016).

Classification taxonomique de *Plantago lanceolata* (Ghedira *et al.*, 2008).

Règne : Plantae	Sous-règne : Tracheobionta
Embranchement : Magnoliophyta	Superclasse : Tricolpées
Classe : Magnoliopsida	Sous-classe : Asteridae
Superordre : Euastéridées I	Ordre : Lamiales
Famille : Plantaginaceae	Tribu : Plantaginae
Genre : Plantago	Espèces : <i>Plantago lanceolata</i> L.

III.2.2.2.1. Distribution géographique et habita

P. lanceolata est originaire d'Europe, d'Afrique du Nord et d'Asie occidentale, mais a été introduite et naturalisée dans de nombreuses régions de tous les continents, à l'exception de l'Antarctique (Hassemer *et al.*, 2018). Le plantain lancéolé résiste à l'hiver. Les fleurs de couleur jaune à brunâtre de la plante, regroupées en épis graciles, fleurissent du printemps jusque tard dans l'automne. La multiplication s'effectue spontanément par graines, mais aussi par division des vieilles touffes. Le plantain lancéolé s'adapte facilement que l'endroit soit sec ou humide, ensoleillé ou semi-ombragé. C'est une «mauvaise herbe» précieuse qui ne se laisse pas facilement évincer (Brigitte *et al.*, 2016).

III.2.2.3. Caractéristiques générales des *Plantago lanceolata* et *Plantago serraria*

III.2.2.3.1. Compositions chimiques

Plusieurs études phytochimiques ont montré que *P. lanceolata* et *P. serraria* contient une amalgame de métabolites secondaires dans les diverses parties des plantes. Selon Fons et ses collaborateurs, (1998), *P. lanceolata* et *P. serraria* renferment plusieurs groupes de molécules actifs comme les mucilages, les iridoïdes, les tannins, les coumarines et les flavonoïdes. Plus récemment, il a été apporté la richesse du genre *Plantago* en polysaccharides (plantaglucide, glucomannone), lipides, dérivés d'acides caféiques, iridoïdes glucosylés, terpènes, alcaloïdes et acides organique, polysaccharides, , coumarines, lignanes, dérivés de l'acide caféique, flavonoïdes, flavones, l'allantoïne (Fons *et al.*, 1998 ; Jamilah *et al.*, 2012).

III.2.2.3.2. Usages traditionnels

La tradition attribue à ces plantes des propriétés anti-inflammatoires et antitussives. Des propriétés antiseptiques, émollientes et vulnéraires, justifiant son usage sur les plaies, les contusions et les ulcères cutanés (Kolak et *al.*, 2011).

En infusion, ces plantes sont utilisées en cas d'entérite, diarrhée, toux, troubles des voies respiratoires, rhume, amygdalite. Les feuilles de *Plantago* sont utilisées, en usage externe, dans l'irritation des paupières. *Plantago* est parfois utilisé pour soigner l'hypertension artérielle, les ulcères et les tumeurs, comme il est utilisé comme agent analgésique et antirhumatismal (AL-Jumaily et *al.*, 2012 ; Kolak et *al.*, 2011).

Ces plantes sont utilisées comme astringent, anti-inflammatoire, immunorégulateur, antispasmodique, expectorant, émollient, anodin topique, antibactérien pour les coupures, contusions et abcès. Ces propriétés pharmacologiques sont dues à sa composition chimique complexe (Beara et *al.*, 2012 ; Nichita et *al.*, 2016).

P. serraria est traditionnellement utilisée pour ses propriétés curatives: astringente, antioxydante, antifongique, anticancéreuse, antibactérienne, spasmolytique, antivirale, antihyperlipidémique, immunostimulante, antitoxique, épithélisante, pro-coagulante, anthelminthique, etc (Oprica et *al.*, 2015).

Le plantain est utilisé en premier lieu contre toutes les maladies des organes respiratoires et tout particulièrement en cas d'engorgement des poumons, de toux, de coqueluche, d'asthme pulmonaire, tuberculose pulmonaire, ect (Gervais, 2016). Le genre de *Plantago* est utilisé par plusieurs populations contre l'allergies et autres cas de rhinite, anthelminthique, spasme bronchique, gastrite et entérite, toux sèche et sèche, palliatif à court terme pour les problèmes urinaires douloureux et irritants, propriétés cicatrisantes, diurétiques et antiasthmiques (Gonçalves et Romano, 2016).

III.2.2.3.3. Activités biologiques

Plusieurs effets pharmacologiques ont été attribués pour le genre de *Plantago* par plusieurs auteurs, tels que, l'activité antioxydant, l'activité anti-inflammatoire et antitussive, l'activité anti-infectieuse, l'activité immunologique (immunostimulants), l'activité antiulcéreuse gastrique, l'activité anticancéreuse, l'activité anticytotoxique, l'activité antibactérien, l'activité antiviral, l'effet coagulant, l'activité anthelminthique, l'activité antispasmodique (Ghedira et *al.*, 2008 ; Gonçalves et Romano, 2016 ; Nichita et *al.*, 2016).

III.3. Astéracées

III.3.1. Généralités

Aster du grec signifie étoile, en relation avec la forme de la fleur (Harkati, 2011 et Mezache, 2010). Les Astéracées (Asteraceae) sont la grande famille la plus importante de tout le règne végétal et sans doute la plus évoluée des familles de dicotylédones.

En effet, ces plantes est en réalité composé de fleurs minuscules, réunies en inflorescences appelées capitules. La famille des Astéracées comprend près de 23000 espèces (Barreda et *al.*, 2015) réparties en 1500 genres décrites dont 750 endémiques (Harkati, 2011). Ces plantes sont reconnues comme des sources précieuses de composés bioactifs tels que les antioxydants, utilisées dans le régime alimentaire méditerranéen) et présentant des avantages nutritionnels (Gonçalves et *al.*, 2018).

III.3.2. *Scolymus hispanicus* L.

III.3.2.1. Description botanique

S. hispanicus L. est une plante ressemblant à un chardon de la famille des Asteraceae, originaire de la région méditerranéenne, sud de l'Europe et de l'Asie occidentale. C'est une plante bisannuelle, pouvant atteindre 30 à 80 cm de haut. C'est une plante à climat doux qui pousse dans les régions méditerranéenne à des altitudes allant de 0 à 1580 mètres, en Turquie. Bien que *S. hispanicus* L. soit généralement consommé comme légume, jeune feuille et racine, il est également utilisé en médecine alternative. Les feuilles, les tiges et les fleurs de *S. hispanicus* L. sont traditionnellement utilisées comme tonique «amer» pour stimuler l'appétit, augmenter la sécrétion biliaire, diminuer les flatulences et faciliter la digestion. Il a également été utilisé comme diurétique, diaphorétique et antipyrétique. Bien qu'elle pousse presque partout dans notre pays, son utilisation est limitée et sa valeur économique est considérablement faible (Sahan, 2016).



Figure 10 : *Scolymus hispanicus* L. (Marmouzi et *al.*, 2017).

Classification taxonomique (Mezache, 2010).

Règne : Plantae	Sous-règne : Tracheobionta
Embranchement : Phanerogamae	Sous-embranchement : Magnoliophytina
Classe : Magnoliopsida (Dicotyledones)	Sous-classe : Asteridae
Ordre : Asterales	Famille : Astéracées (Composées)
Genre <i>Scolymus</i> L.	Espèce : <i>Scolymus hispanicus</i> L.

III.3.2.2. Distribution géographique et habitat

Cette espèce est originaire des bords de la Méditerranée : Afrique du Nord, du Maroc à l'Égypte, Europe méridionale du Portugal à la Grèce, Europe orientale, (Roumanie, Ukraine), Asie occidentale, de Chypre et la Turquie jusqu'à l'Iran. En France, on la trouve surtout dans la région méditerranéenne et un peu dans le Sud-Ouest. Elle s'est naturalisée dans de nombreux pays, y compris en Amérique. En Algérie, comme dans d'autres pays, elle est considérée comme une plante envahissante (Sahan, 2016).

III.3.2.3. Utilisations traditionnelles

Cette plante est consommée dans presque tous les endroits où elle se développe. La partie utilisée pour la consommation est le nerf central de leurs feuilles basilaires épineuses. Ils sont bouillis puis légèrement frits avec un peu d'ail, du jambon cru et des œufs brouillés. De plus, sa racine a été utilisée comme substitut du café et ses fleurs comme colorant alternatif au safran (Polo et *al.*, 2009 ; Gonçalves et *al.*, 2018).

III.3.2.4. Usages médicinales

S. hispanicus L. est connue comme sources précieuse de composés bioactifs tels que les antioxydants. Utilisé dans le régime alimentaire méditerranéen et présentant des avantages nutritionnels et pour la santé. Il possède de nombreuses propriétés médicinales telles que : diurétique, dépuratif, digestif, cholérétique et lithiurétique (Polo et *al.*, 2009 ; Gonçalves et *al.*, 2018).

III.3.2.5. Activités biologiques

De nombreuses études ont porté sur les propriétés antioxydantes de *Scolymus hispanicus* L. Cependant, très peu d'études sont disponibles sur les composants bioactives responsables des différents effets (Sahan, 2016). Plusieurs effets ont été attribués aux différentes parties de *Scolymus hispanicus*, à savoir l'activité antidiabétique, antioxydante, diurétique. Antibactérienne. Cette variabilité pharmacologique diverse et intéressante entre les parties de *Scolymus hispanicus* (racines, tiges, feuilles et fleurs) est principalement liée à sa composition chimique (Marmouzi et *al.*, 2017).

IV. Matériels et méthodes

IV.1. Matériel végétal

IV.1.1 Plantes médicinales

L'étude est effectuée sur les feuilles de trois plantes médicinales (*Plantago serraria*, *Plantago lanceolata* et *Scolymus hispanicus*) (Fig. 11), qui ont été récoltées à la fin du mois d'avril 2019, dans les régions de Harratin (*Plantago serraria*), et de béni Ahmed (*Plantago lanceolata* et *Scolymus hispanicus*), Wilaya de Jijel (Algérie) loin de toute pollution. Les espèces fraîchement récoltées ont été identifiées par le Mr. Sebti Mohammed (Botaniste, Département de Biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Mohammed Seddik Ben Yahia–Jijel, Algérie).



(A)

(B)

(C)

Figure 11: Photographies originales des trois plantes médicinales : PS (A), PL (B) et SH (C).

IV.1.2 *Allium cepa*

Les bulbes d'oignons utilisés dans cette étude sont des oignons communs de variété *Allium cepa* L. Cette plante est cultivée partout dans le monde pour son usage alimentaire (Fedel-Miyasato et al., 2014), elle a été achetée au marché de la ville de Jijel (Algérie). Des bulbes intacts, de diamètre 3 à 7 cm, et d'un poids moyen de 25 g, ont été soigneusement sélectionnés. *Allium cepa* est l'espèce la plus fréquemment utilisée dans les tests d'évaluation de génotoxicité, elle présente plusieurs avantages, notamment sa manipulation rapide (3 à 4 semaines), simple et facile. De plus les chromosomes de l'*A. cepa* sont de tailles importantes (relativement gros) à nombre réduit ($2n=16$), ce qui facilite la visualisation des différentes étapes de divisions cellulaires ainsi que les aberrations chromosomiques et sont très appropriés pour la détection de changements morphologiques. Les cellules de méristèmes de racine sont très sensibles aux dommages génétiques

induits par des produits chimique (Firbas et Amon, 2014 ; Karaismailoglu, 2016 ; Chiavegatto et *al.*, 2017).

Tableau 2 : Classification botanique d'*Allium cepa* (Shrestha, 2004).

Règne	Végétal
Embranchement	Spermaphyte
Classe	Monocotylédone
Ordre	Liliales
Famille	Alliacées
Genre	<i>Allium</i>
Espèce	<i>Allium cepa</i>

IV.2. Etude phytochimique

IV.2.1. Séchage, broyage et tamisage

Après la cueillette des 3 plantes, les échantillons ont été séparés des tiges et nettoyés de toute impuretés, par la suite un séchage a été effectué naturellement à température ambiante à l'abri de la lumière et de l'humidité afin d'éliminer toutes traces d'eau. Une fois les feuilles séchés, un broyage a été effectué par un broyeur (BOSCH) afin d'obtenir une poudre fine, la poudre de diamètre inférieure à 63µm a été récupérée à l'aide d'un tamiseur et conservée dans des flacons en verre fermés qui ont été stockés à l'abri de la lumière jusqu'à l'extraction. Un taux d'humidité a été évalué de la manière suivante : 5g de chaque échantillons ont été pesé, mené à une température de 100°C jusqu'à stabilisation du poids, le taux d'humidité a été calculé par l'équation suivante: $TH\% = (P_i - P_f) / P_i * 100$ (Bouterfas et *al.*, 2013 ; Qlihaa et *al.*, 2016 ; Kpatinvoh et *al.*, 2017).

P_i = poids initiale

P_f = poids après stabilisation

IV.2.2. Extraction

La méthode d'extraction choisie, est celle de Chiang et ses collaborateurs, (1994). L'extrait éthanolique a été préparé de la manière suivante : 100g de poudre ont été ajoutés à 400ml d'éthanol 96% (1/4, m/v). Les échantillons ont été macérés sous agitation pendant 24h, suivie d'une décantation pendant 24h. Le surnageant a été récupéré par centrifugation à 1500g pendant 15min. Le surnageant a été récupéré, séché et conservé à -4°C jusqu'à utilisation.

Le rendement d'extraction est déterminé selon Kpatinvoh et ses collaborateurs, (2017) comme suit :

$$\% \text{ d'extraction} = [(P1 - P0) / m] \times 100$$

- **P0** : Poids du cristalliseur vide (g).
- **P1** : Poids du cristalliseur et l'extrait après évaporation du solvant d'extraction (g).
- **m** : Poids de la poudre en gramme.

IV.3. Dosage des polyphénols totaux

IV.3.1. Principe

Le taux des polyphénols a été déterminé par spectrophotométrie selon la méthode de Folin Ciocalteu (Singleton et al., 1999). Les échantillons de composés phénoliques sont traités avec le réactif de Folin Ciocalteu (un réactif commercial de couleur jaune constitué par un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique). Lorsque les polyphénols sont oxydés, ils réduisent ce réactif et entraînent donc la formation d'un complexe bleu qui est stabilisé par l'addition de carbonate de sodium (milieu alcalin : NaCO₃). La température et le temps de réaction influent sur le développement de la coloration (Dieng et al., 2015 ; Ali-Rachedi et al., 2018).

IV.3.2. Protocole

Le protocole appliqué est résumé comme suit : 0,1 ml de l'extrait de chaque plante (3,1 mg/ml) est ajouté à 0,5 ml du réactif de Folin Ciocalteu (1/10), par la suite on ajoute 0,4 ml de Na₂CO₃ (20 %). Après incubation à température ambiante et à l'obscurité pendant 60 minutes, l'absorbance est mesurée par le spectrophotomètre à 765 nm.

La quantification des polyphénols a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage réalisée avec 6 concentrations d'acide gallique dans les mêmes conditions que l'échantillon (Annexe 1).

Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait.
 $TP = (C_p \cdot dil) / C_i \cdot V_i$ (Dieng *et al.*, 2015). Toutes les mesures ont été répétées 3 fois.

TP= milligramme équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait

C_p = concentration des polyphénols à partir de la courbe d'étalonnage

dil= facteur de dilution

C_i = concentration de l'extrait

V_i = volume de l'extrait

IV.4. Dosage des flavonoïdes

IV.4.1. Principe

Le dosage des flavonoïdes totaux est réalisé selon la méthode du trichlorure d'aluminium $AlCl_3$. Cette méthode est basée sur la formation de complexes jaunâtres par chélation de métaux (Fe et Al) par les différents extraits (Maksimovic *et al.*, 2005).

IV.4.2. Protocole

La teneur en flavonoïdes des trois extraits éthanolique ont été quantifiés comme suit : 1 ml de l'extrait de chaque plante (0,15 mg/ml) a été mélangé avec 0,5 ml d' $AlCl_3$ (133 mg $AlCl_3$ + 400 mg d'acétate de sodium + 100 ml d'eau distillée). La lecture de la densité optique est lue à 430 nm après incubation pendant 10 min à température ambiante à l'obscurité.

Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent rutine par gramme d'extrait (Annexe 2).

IV.5. Dosage des tannins

IV.5.1. Principe

En présence des tannins galliques, le $FeCl_3$ change la coloration des échantillons en bleu noir, et au brun verdâtre en présence de tanins catéchiques (Abdessemed *et al.*, 2011).

IV.5.2. Protocole

500 μ l de chaque extrait de concentration 0,3 mg/ ml est mélangé avec 1,75 μ l du réactif (FeCl₃ 0,01 M dans HCl 0.001M), après incubation à température ambiante et à l'obscurité pendant 15 secondes, les absorbances est mesurées à 660 nm.

La concentration en tannins a été déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage préparé avec l'acide gallique (Annexe 3). Les concentrations sont exprimées en milligramme équivalent l'acide gallique par gramme d'extrait. Toutes les mesures ont été répétées 03fois.

IV.6. Etude de l'activité génotoxique et anti-génotoxique

I.V.6.1. Préparation des échantillons

Les cellules d'extrémité de racine d'une variété commerciale *Allium cepa* ont été utilisées comme matériel d'essai. Les bulbes d'oignons ont subi des traitements avant tout test de génotoxicité, la préparation de ces bulbes est réalisé comme décrit par Kura's et ses collaborateurs, (2006) (Fig.13).

Des bulbes de taille approximativement égale ont été épluché la première pelure, les racines ont été coupés pour permettre la poussée des nouvelles racines, les extrémités ont été lavés avec de l'eau potable, puis immergées dans des flacons contenant 50 ml de milieu de culture (Annexe 4) pendant 48h à 25°C dans l'étuve avec changement de ce dernier chaque 24h (Fig. 12).



(A)

(B)

Figure 12: Photographies originales des bulbes d'oignon d'*A. cepa* immergés dans le milieu de culture (A) et incubés dans l'étuve (B).

IV.6.2. Traitement des échantillons

Quand les nouvelles racines des bulbes atteignent une longueur égale à 0,5 cm et inférieure à 2cm, (après élimination de celles dépassant les 02cm), Les bulbes ont été divisés en 04 parties, chaque partie contient au moins 05 racines. Les bulbes traitées ont été ensuite réparties en 19 groupes de 4 bulbes et seront immergées dans des milieux différents (Fig. 13).

- **Groupe 1 : contrôle négatif (contrôle non traité) :** ont été cultivés dans le même milieu de culture additionné de DMSO.
- **Groupes 2 et 3 et 4: contrôle positif :** ont été cultivés dans un milieu contenant un agent mutagène Azide de sodium (NaN_3) à différentes concentrations (50, 100 et 200 $\mu\text{g/ml}$).
- **Groupes 5, 6, 7 et 8, 9, 10 et 11, 12 et 13: Groupes tests :** ont été utilisés pour l'évaluation du test de cytotoxicité, et de la génotoxicité des extraits à tester. Après une croissance de nouvelles racines atteignant les 2cm de longueur, les bulbes ont été déplacées dans des milieux différents contenant 50, 100, 200 $\mu\text{g/ml}$ d'extrait de plante choisie (les groupes 5, 6 et 7 pour l'extrait de *P. serraria*, 8, 9 et 10 pour l'extrait de *P. lanceolata*, 11, 12 et 13 pour l'extrait de *S. hispanicus*).
- **Groupes 14, 15, 16 et 17, 18 et 19:** ont été utilisés pour évaluer l'activité anti-mutagénique des extraits contre des mutations induites par l'azide de sodium à 100 $\mu\text{g/ml}$. Donc, les bulbes ont été déplacés dans des milieux contenant l'agent mutagène (100 $\mu\text{g/ml}$) et les extraits à 100 et 200 $\mu\text{g/ml}$ (les groupes 14 et 15 pour l'extrait de *P. serraria*, 16 et 17 pour l'extrait de *P. lanceolata*, 18 et 19 pour l'extrait de *S. hispanicus*).

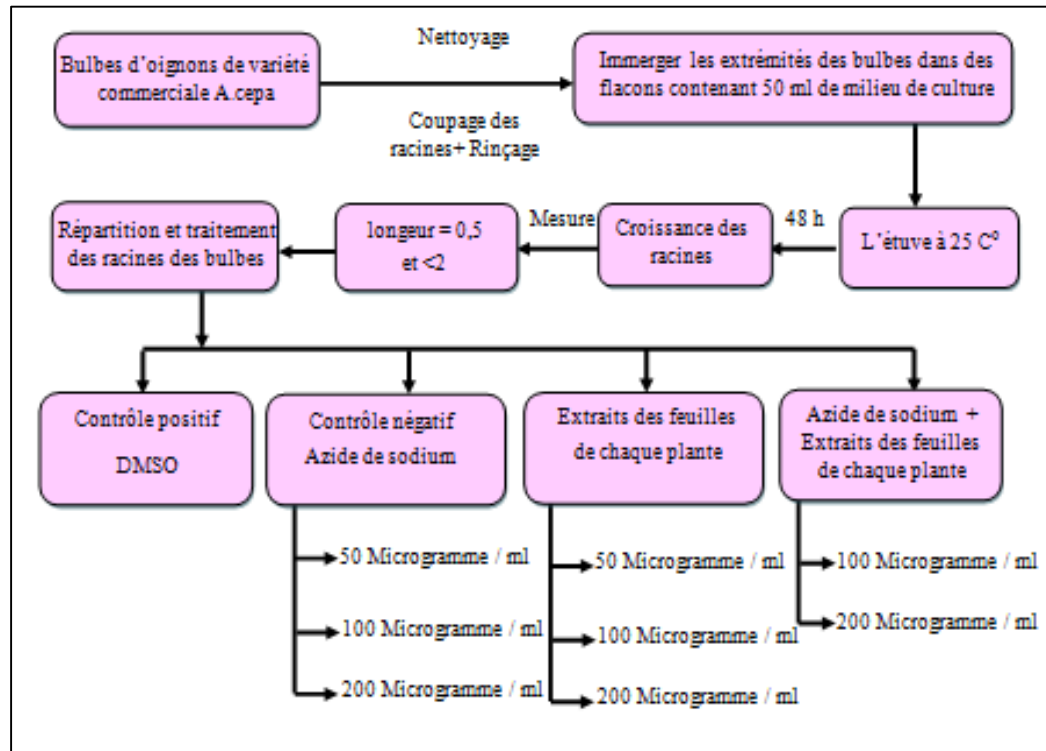


Figure 13: Schéma récapitulatif des étapes de préparation et traitement des bulbes d'*A. cepa*.

IV.6.3. Préparation des racines

Une fois le traitement terminé et après la mesure de la longueur des racines à chaque intervalle du temps, ces racines ont été immédiatement prélevées à l'aide d'une pince et fixées dans une solution contenant 3 volumes d'éthanol (99%) et 1 volume d'acide acétique (3:1, v/v) pendant 24, h pour bloquer le cycle cellulaire. Les racines ont été ensuite conservées dans l'éthanol 70% à + 4°C jusqu'à leur utilisation (Kocaman et Kilic, 2017).

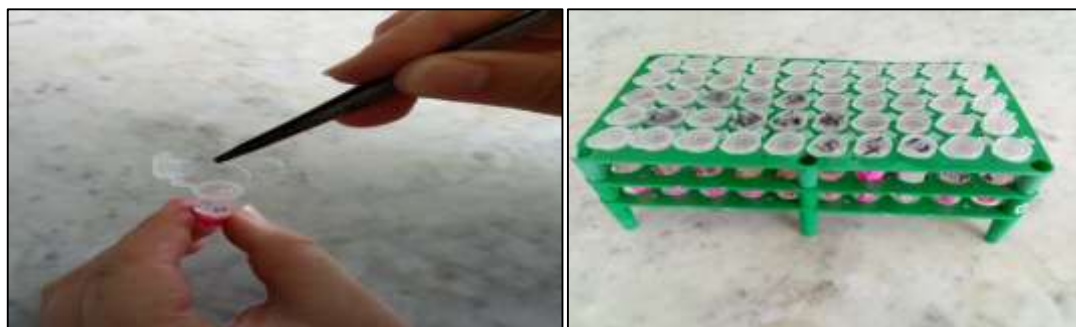


Figure 14: Photographie originale du prélèvement et conservation des racines des bulbes.

Les racines ont été rincées trois fois avec de l'eau distillée, puis hydrolysées par l'addition de Chlorure d'hydrogène (HCL) à 1N (pour l'hydrolyse des parois cellulaires) et l'ensemble est incubé dans le bain marie pendant 7-10 mn à 60°C. Ensuite ces racines ont été lavées trois fois avec de l'eau distillée (Kocaman et Kilic, 2017).

Les racines ont été incubées dans le carmin acétiqueferreux 2% pendant 10 minutes afin de colorer les noyaux et les chromosomes. La région méristématique des racines a été coupé à l'aide d'une seringue sous une loupe optique (Corrêa et *al.*, 2016).

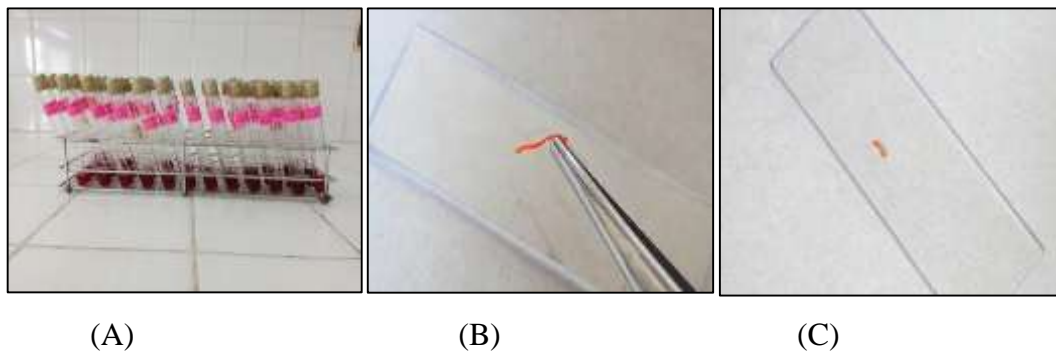


Figure 15: Photographie originale de la coloration (A) et (B), et fragmentation (C) des extrémités des racines de bulbes.

IV.6.3.1. Paramètres macroscopiques

L'observation morphologique des racines à l'œil nu a été effectuée après chaque traitement. Les signes de toxicité recherchés sont les changements de la consistance, la forme, la couleur des racines, et la croissance de la longueur des racines mesurée.

L'effet de différentes concentrations des extraits de plantes et de l'azide de sodium sur la croissance des racines de l'*A. cepa*, peut être évalué par l'activité antiproliférative en mesurant la longueur de ces racines avant et après chaque traitement. Chaque partie de bulbe servira pour les prélèvements des racines à des intervalles du temps (24h, 48h et 72h). Le taux de croissance a été calculé pendant toutes les phases d'étude selon la formule suivante (Kura's et *al.*, 2006) :

- $Tc = (D0 - DT) / D0 \times 100$.

D0 : La longueur des racines avant le traitement.

DT : La longueur des racines après 24, 48 et 72h

IV.6.3.2. Paramètres microscopiques

L'analyse microscopique consiste à dénombrer les cellules en division normale (interphase, prophase, métaphase, anaphase et télophase), sur un nombre d'environ 1000 cellules de la zone méristématique, pour chaque bulbe d'oignon en utilisant un microscope optique au grossissement Gx10, Gx40, puis Gx100 si nécessaire. La moyenne des cellules dans chaque phase du cycle de division d'*A.Cepa* a été calculé (Şuğan et al., 2018).

1. Pour évaluer le potentiel mutagénique des solutions testées, l'indice mitotique a été calculé en utilisant les formules suivantes:

- **L'indice mitotique (IM%) = (Le nombre des cellules en division / Le nombre total des cellules) x100.**

2. Pour évaluer l'activité anti-mutagénique des extraits contre des mutations induites par l'azide de sodium, un pourcentage d'inhibition (PI) a été calculé selon la formule suivante (Oliveira et al., 2017) :

- **PI = N2-N1/N2 x100.**

Où, **N1** : est le nombre d'aberration dans le lot traité avec l'extrait et le NaN3 (dans cette étude, on a calculé le nombre de cellules avec des micronoyaux comme exemple d'aberration chromosomique).

N2 : est le nombre d'aberration (micronoyaux) dans le groupe traité avec NaN3 seul.

IV.7. Analyse chromatographique par CG-MS

IV.7.1. Principe

L'chromatographie en phase gazeuse (CG) sert à scinder les mélanges pour en faire des composants individuels au moyen d'une colonne capillaire à température contrôlée. Les petites molécules, qui ont des stades d'ébullition bas, descendent le long de la colonne plus rapidement que les grandes molécules, qui ont des stades d'ébullition hauts. La spectrométrie de masse (MS) sert à identifier les diverses composantes dans leur spectre de masse. Chaque composant a un spectre de masse unique, ou quasi unique, que l'on peut comparer avec des bases de données de spectres de masse (Hister et al., 2017 ; Gonzalez et al., 2018 ; Maia et al., 2018).

IV.7.2. Protocole

Les analyses GC-MS ont été réalisées sur un chromatogramme Shimadzu QP2010 couplé à un détecteur de masse GC2010 (filtre quadripolaire, mode d'ionisation : impact électronique avec une énergie de 70 eV), d'une colonne OV1701 (L= 25 m). Les conditions d'analyse utilisées sont les suivantes : température de l'injecteur /250 °C, température de l'interface 250 °C, source d'ions 200 °C, détecteur quadripolaire : 150 °C, gaz vecteur Hélium (31,7 KPa) et le volume injecté est de 1 µl avec un débit total de 18 ml/min. Le programme choisi pour l'analyse GC-MS débute à une température 70°C, maintenue pendant 3 minutes, puis se poursuit par une montée en palier de 3°C/min pour arriver à 130°C ou elle est maintenue pendant 5 minutes, puis elle augmente jusqu'à atteindre 240°C et cela pendant 3mn. L'identification des constituants a été faite sur la base de la comparaison de leurs indices de rétention (RI) avec ceux des composés standards de la banque de données informatisée Nist 05.

IV.8. Analyse statistique

Les résultats ont été exprimés comme moyenne \pm écart-type. Les données expérimentales ont été analysées en utilisant le logiciel Graph Pad Prism 5.3. L'analyse statistique a été réalisée à l'aide d'une analyse de la variance unidirectionnelle (ANOVA), suivi du test de Dunnett. Les résultats ont été considérés comme statistiquement significatifs à * $P < 0,05$, hautement significatifs à * * $P < 0,01$, et très hautement significatifs à * * * $P < 0,001$.

V. Résultats et discussion

Dans la présente étude, l'effet génotoxique et antigénotoxique de trois plantes médicinales (*P. serraria*, *P. lanceolata* et *S. hispanicus*) a été évalué dans le but de confirmer l'utilisation traditionnel de ces plantes, et pour mieux comprendre le mécanisme d'action dans la prévention de la génotoxicité. Peu d'étude ont été réalisées sur les activités pharmacologiques des 3 plantes et aucune étude n'a été trouvée sur l'effet antigénotoxique.

V.1. Evaluation du taux d'humidité

Le tableau 3 présente les résultats de l'évaluation du taux d'humidité des extraits éthanoliques des feuilles de trois plantes testées (*P. serraria*, *P. lanceolata*, *S. hispanicus*).

Tableau 3: Taux d'humidité des échantillons des feuilles de trois plantes médicinales.

Type de plantes	Taux d'humidité
<i>Plantago serraria</i>	3,9± 1,1 %
<i>Plantago lanceolata</i>	5,5± 0 %
<i>Scolymus hispanicus</i>	7,9± 0,6%

L'analyse de ces résultats ressorts que le taux d'humidité des feuilles est de 3,9% (*P. serraria*), 5,5% (*P. lanceolata*) et de 7,9% (*S. hispanicus*). A partir de ces données, les feuilles de *S. hispanicus* renferment la plus grande quantité en eau, suivie par les feuilles de *P. lanceolata* et enfin celle de *P. serraria*.

V.2. Evaluation du rendement d'extraction

Le but de l'extraction éthanolique est d'obtenir un maximum de composés actifs, particulièrement phénoliques. Les rendements obtenus après extraction éthanolique des trois plantes étudiées par la méthode de Chiang et ses collaborateurs, (1994) sont présentés dans le Tableau 4. Les extraits obtenus avaient une consistance plus ou moins solide, dont *P. serraria* et *P. lanceolata* a donné une couleur verte foncée avec un rendement de 7,41% pour la première et 5,1% pour la deuxième plante, tandis que *S. hispanicus* a donné une couleur moins foncée avec un rendement moins faible qui est de 1,45% (Tableau 4).

Tableau 4 : Taux d'extraction des échantillons des feuilles de trois plantes médicinales.

La plante	Taux d'extraction
<i>Plantago serraria</i>	7,41 %
<i>Plantago lanceolata</i>	5,1 %
<i>Scolymus hispanicus</i>	1,45 %

L'extraction qui est une méthode préliminaire très importante a été réalisée dans cette étude par l'éthanol 96%. Suite à des études comparatives entre différents extraits issus des plantes, l'éthanol est considéré comme le solvant le plus adéquat pour obtenir un maximum de polyphénols, où les extraits éthanoliques ont montré de meilleurs rendements (Adjobimey et *al.*, 2004).

Avec la même méthode d'extraction, les mêmes taux ont été obtenus par l'étude de Medjahed et ses collaborateurs, (2016) pour les feuilles et l'écorce de *F. angustifolia*, (7%, 5% respectivement).

Le solvant d'extraction est le paramètre qui conditionne le type d'éléments qui vont être dans l'extrait. L'utilisation des solvants permet d'optimiser l'extraction, et surtout de séparer et de sélectionner les composés phénoliques, par diffusion dans les tissus de la plante, en utilisant une matrice liquide (Escribano-Bail, 2003). La poudre des 3 plantes est très fine (d'un diamètre <63 µm dans cette étude), ce qui augmente la surface de contact avec le solvant, permettant ainsi une meilleure libération des principes actifs (Moure et *al.*, 2000 ; Spingo et *al.*, 2007).

D'autres études réalisées sur les mêmes plantes ont montré des rendements supérieurs à ceux obtenues par la présente étude, 24,17% pour *P. serraria* et 29,13% pour *P. lanceolata* (Galvez et *al.*, 2005), et des taux proches à ceux obtenue par rapport *S. hispanicus* (Bassil et Kaffka, 2001).

Cette variation dans le rendement, peut être attribuée non seulement à l'origine de la plante et à la technique d'extraction mais également à la période de prélèvement du matériel végétal. Ceci a été confirmé par Fellah, (2001) qui a montré l'influence de la technique d'extraction d'une part, et l'influence du cycle végétatif d'autre part sur le rendement et la qualité des métabolites secondaires (Spingo et *al.*, 2007).

Plusieurs facteurs peuvent influencer sur le rendement de l'extraction tels que : la méthode d'extraction (le type de solvant, le temps de l'extraction, la température, le pH, le rapport quantité de matière au volume du solvant) et la nature des composés à extraire (Spingo et *al.*, 2007 ; Xiao et *al.*, 2009 ; Bonnaille et *al.*, 2012).

V.3. Teneur en métabolites secondaires

V.3.1. Polyphénols totaux

Les résultats de dosage des phénols totaux, des extraits ethanologiques des feuilles de *Plantago serraria*, *Plantago lanceolata* et *Scolymus hispanicus* sont illustrées dans la figure 16.

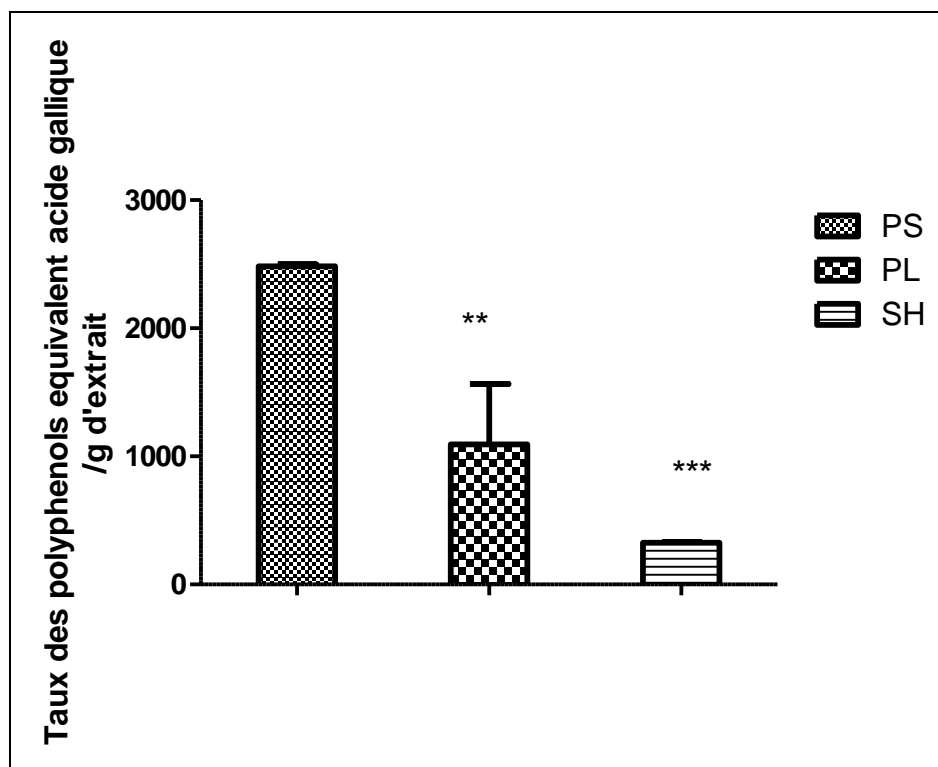


Figure 16: Teneur en polyphénols totaux des extraits des feuilles des trois plantes médicinales.

Les résultats ont été exprimés comme moyenne \pm écart-type. Les données expérimentales ont été analysées en utilisant le logiciel GraphPadPrism 5.3. L'analyse statistique a été réalisée à l'aide d'une analyse de variance unidirectionnelle (ANOVA), suivi du test de Dunnett. Les résultats ont été considérés comme statistiquement significatifs à * $P < 0,05$, hautement significatif à ** $P < 0,01$, et très hautement significatif à *** $P < 0,001$.

Les résultats des dosages des polyphénols montrent une différence significative ($P < 0,01$) entre les taux des polyphénols totaux présentés par *P. serraria* et *P. lanceolata*, et une différence significative ($P < 0,001$) entre les taux de *P. serraria* et *S. hispanicus*. De ce fait, *P. serraria* s'est révélée la plus riche en polyphénols totaux, suivie de *P. lanceolata*, puis *S. hispanicus* (2483,32 \pm 16,26 ; 1094,33 \pm 47,2 ; 326,33 \pm 4,5 μg équivalent acide gallique/g d'extrait respectivement).

La teneur en polyphénols des résultats obtenus, confirme les travaux réalisés par Galvez et ses collaborateurs (2005) sur l'effet antioxydant de différentes espèces *Plantago*.

Une des caractéristiques des polyphénols, qu'ils partagent généralement avec l'ensemble des métabolites secondaires, est de montrer une répartition très inégale chez les différentes espèces végétales et dans les différentes parties pour une même espèce, selon la variété et le stade d'évolution physiologique (Bouterfas et *al.*, 2013).

V.3.2. Flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes est basé sur le principe de chlorure d'aluminium. Les teneurs en flavonoïdes des extraits éthanoliques des 3 plantes sont représentés dans la figure suivante.

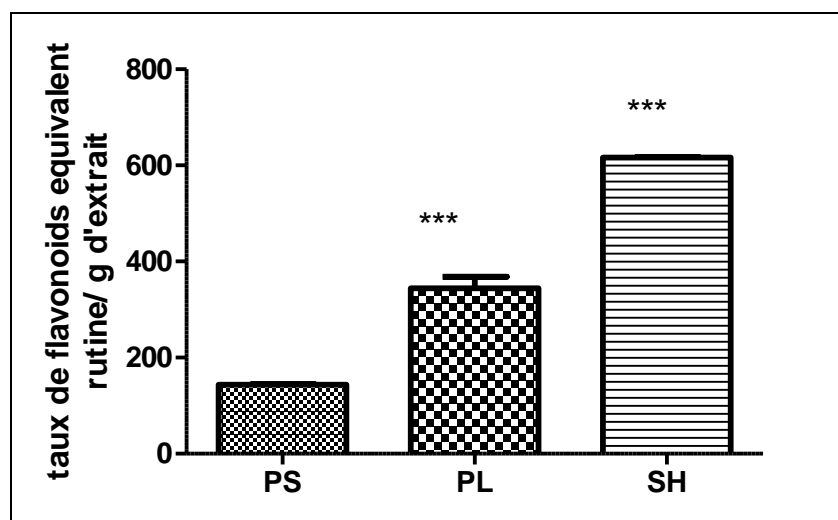


Figure 17 : Teneur en flavonoïdes des extraits des feuilles des trois plantes médicinales.

Les résultats ont été exprimés comme moyenne \pm écart-type. Les données expérimentales ont été analysées en utilisant le logiciel GraphPadPrism 5.3. L'analyse statistique a été réalisée à l'aide d'une analyse de variance unidirectionnelle (ANOVA), suivi du test de Dunnett. Les résultats ont été considérés comme statistiquement significatifs à * $P < 0,05$, hautement significatif à ** $P < 0,01$, et très hautement significatif à *** $P < 0,001$.

La figure révèle une différence significative ($P < 0,001$) entre la teneur en flavonoïdes de l'extrait éthanolique de *P. serraria* et les deux autres extraits (*P. lanceolata* et *S. hispanicus*), d'où *S. hispanicus* a montré la teneur la plus élevée suivie de *P. lanceolata* puis *P. serraria*.

Ces résultats viennent pour confirmer l'étude de Galvez et ses collaborateurs, (2005) qui a montré une teneur en flavonoïdes plus élevée pour *P. lanceolata* par rapport *P. serraria* (Galvez et *al.*, 2005). De même les résultats obtenus concordent avec ceux rapportés par Jia-xi et ses collaborateurs, (2019) dont il a montré que l'extrait de feuilles de *S. hispanicus* est constitué de 60 % de flavonoïdes (Jia-xi et *al.*, 2019).

V.3.3. Tannins

Les résultats des teneurs en tannins des extraits des trois plantes sont représentés dans la figure ci-dessous :

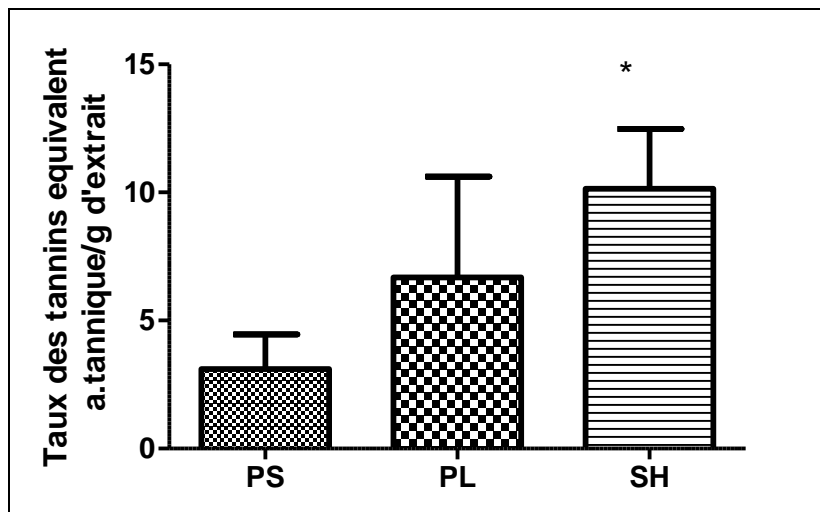


Figure 18 : Teneur des tannins des extraits des feuilles des trois plantes médicinales.

Les résultats ont été exprimés comme moyenne \pm écart-type. Les données expérimentales ont été analysées en utilisant le logiciel GraphPadPrism 5.3. L'analyse statistique a été réalisée à l'aide d'une analyse de variance unidirectionnelle (ANOVA), suivi du test de Dunnett. Les résultats ont été considérés comme statistiquement significatifs à * $P < 0,05$, hautement significatif à ** $P < 0,01$, et très hautement significatif à *** $P < 0,001$.

On analysant la figure représentant la teneur des tannins des trois extraits, on n'observe aucune différence significative, entre la teneur des tannins de l'extrait éthanolique de *P. serraria* et *P. lanceolata*. Tandis qu'une différence significative a été observée pour l'extrait éthanolique de *S. hispanicus*. La teneur la plus élevée a été retrouvée au niveau de l'extrait des feuilles de *S. hispanicus*.

La teneur en tannins est très faible chez les trois plantes étudiées. Ces variations dans la teneur en métabolites secondaires dépendent du développement de la plante. Plusieurs facteurs peuvent influencer sur la teneur en métabolite secondaire : les facteurs extrinsèques tels que les facteurs géographiques, climatiques (température élevée, exposition solaire, sécheresse, salinité, etc. environnementaux et pédologiques, et les facteurs intrinsèques (génétiques) tels que l'espèce et la variété, la partie ou le stade végétal, le degré de maturation de la plante et la période de récolte (Djeridane et al., 2006 ; Bouterfas et al., 2013 ; Dhawan, 2014).

Les teneurs élevées, notamment en phénols totaux et en flavonoïdes des extraits des feuilles montrent que les espèces étudiées sont une source prometteuse en polyphénols qui peuvent servir comme indicateurs importants des capacités thérapeutiques de ces plantes médicinales (Viuda-Martos et al., 2010 ; Khouvha et al., 2017).

V.4. Test de génotoxicité et antigénotoxicité (test *A. cepa*)

Pour évaluer l'activité génotoxique et anti-génotoxique des extraits ethanoliques des feuilles des trois plantes testées (*P. serraria*; *P. lanceolata* et *S. hispanicus*), nous avons utilisé le test de l'*Allium cepa* et cela par l'estimation de la sensibilité des extrémités de ses racines en utilisant deux paramètres celui de la croissance des racines et l'analyse cytologique. Différentes concentrations des extraits des feuilles de chaque plantes ont été testées en présence et en absence de l'agent mutagène (azide de sodium) sur les cellules méristématiques pendant 24, 48 et 72h.

V.4.1. Paramètres macroscopique

V.4.1.1. Observation morphologique des racines à l'œil nu

L'observation morphologique à l'œil nu des racines des bulbes d'oignons *A. cepa* incubées dans le DMSO, ne montrent aucune anomalie, ces racines présentent une croissance normale (n'ont marqué aucun changement morphologique), par contre celles traitées avec l'azide de sodium (Fig. 19), notamment à 100 et beaucoup plus à 200 µg/ml, ont perdu leur forme initiale et leur structure normale, elles étaient gonflées et faciles à se casser, et ont montré un rétrécissement en longueur (apparition des signes de toxicité).

Tandis que les racines traitées avec les extraits de feuilles des trois plantes (*P. serraria*, *P. lanceolata* et *S. hispanicus*) ont montré à leur tour un changement dépendant des concentrations appliquées. A 50 et 100 µg/ml un faible changement de couleur et à 200 µg/ml elles ont été teintées à la couleur des extraits (surtout les racines traités par l'extrait des feuilles de *S. hispanicus*).

Les différents caractères morphologiques observés sont : le changement de la consistance, la forme, la couleur des racines, et la longueur des racines mesurée.

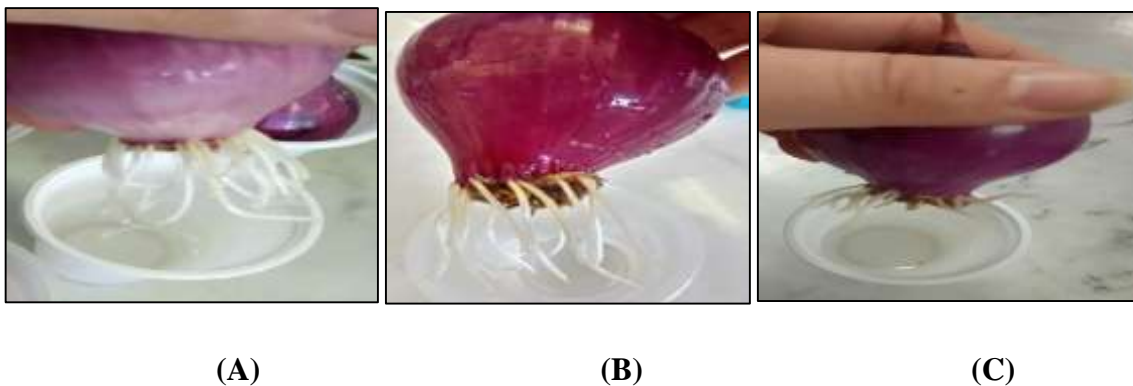


Figure 19: Photographie originale montrant l'aspect des racines d'*Allium cepa* traitées avec le DMSO (A), l'azide de sodium à 50 µg/ml (B) et à 100 µg/ml (C).

Les relations existantes entre les propriétés mutagènes et carcinogènes des substances chimiques ou d'origine naturelle ont entraîné la mise au point d'une série de tests à court terme destinées à fournir une appréciation préalable des produits cancérogènes sur la base de leurs propriétés mutagéniques. Les plantes sont utilisées depuis longtemps pour les études des changements génomiques dus à des facteurs externes (Oyeyemi et Bakare, 2013 ; Karaismailogla, 2016 ; Roberto et al., 2016). *Allium cepa* en fait partie des neuf autres plantes évaluées et validées par le Programme Gene-Tox de l'Agence de Protection Environnemental des Nations Unis (UNEP), le Programme International de la Sécurité Chimique (IPCS, WHO) et le Programme Environnemental des Nations Unis (UNEP). Ce test est l'un des meilleurs systèmes d'évaluation de l'activité antimittotique *in vitro* (Tedexo et Laughinghouse, 2012 ; KocamanetKilic, 2017).

Il est utile pour toute étude préliminaire des substances anticancéreuses (Kuras et al., 2006). L'utilisation des plantes est principalement attribué au fait que ces tests sont relativement simples à réaliser, facile à obtenir, peu coûteux, biologiquement sensible, et rapide. En outre, les cellules des plantes étant généralement plus grosses que les cellules animales et donc plus faciles à observer au microscope (Chiavegatto et al., 2017). Par conséquent les tests de toxicité sur un modèle animal, prennent beaucoup de temps (Firbas et Amon, 2013).

V.4.1.2. Evaluation du taux de croissance (TC)

Le test de l'*A. cepa* permet de déterminer des critères de phytotoxicité tels que l'élongation racinaire et l'indice mitotique.

La longueur des racines de l'*Allium cepa* mesurée avant et après traitement par les différentes substances à tester, a permis de calculer des taux de croissance (Fig. 20, 21 et 22), pour le but d'évaluer les effets des extraits éthanoliques de *P. serraria*, *P. lanceolata* et *S. hispanicus* sur la croissance des racines en présence et en absence de l'azide de sodium.

V.4.1.2.1. L'évaluation du taux de croissance après 24h

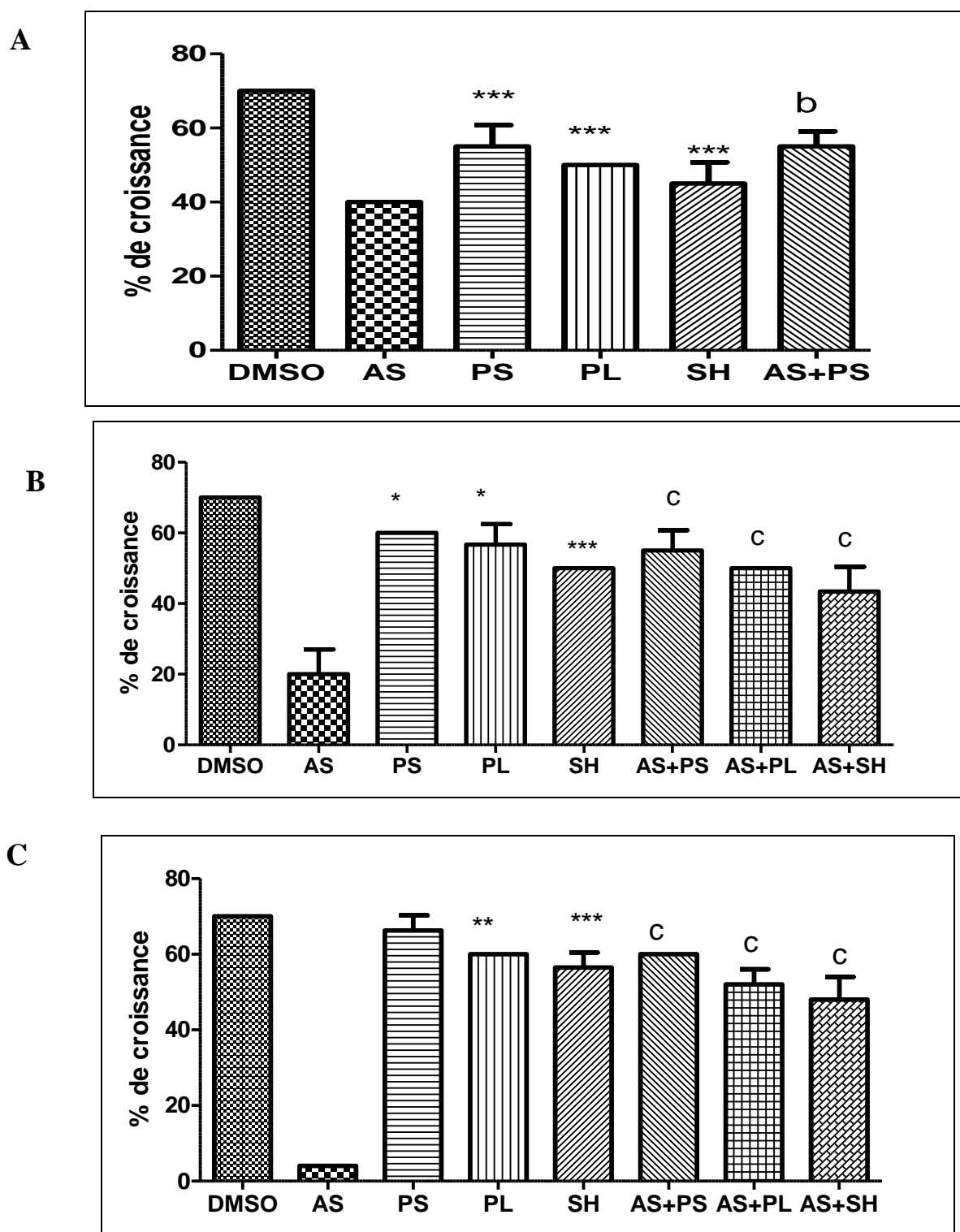


Figure 20 : Taux de croissance des racines des bulbes *A. cepa* après 24h de chaque traitement A : 50 µg/ml; B 100µg/ml; C 200 µg/ml.

Les résultats ont été exprimés comme moyenne \pm écart-type. Les données expérimentales ont été analysées en utilisant le logiciel GraphPadPrism 5.3. L'analyse statistique a été réalisée à l'aide d'une analyse de variance unidirectionnelle (ANOVA), suivi du test de Dunnett et Newman-keuls. Les résultats ont été considérés comme statistiquement significatifs à * $P < 0,05$ et ^a $P < 0,05$, hautement significatif à ** $P < 0,01$ et ^b $P < 0,01$, et très hautement significatif à *** $P < 0,001$ et ^c $P < 0,001$.

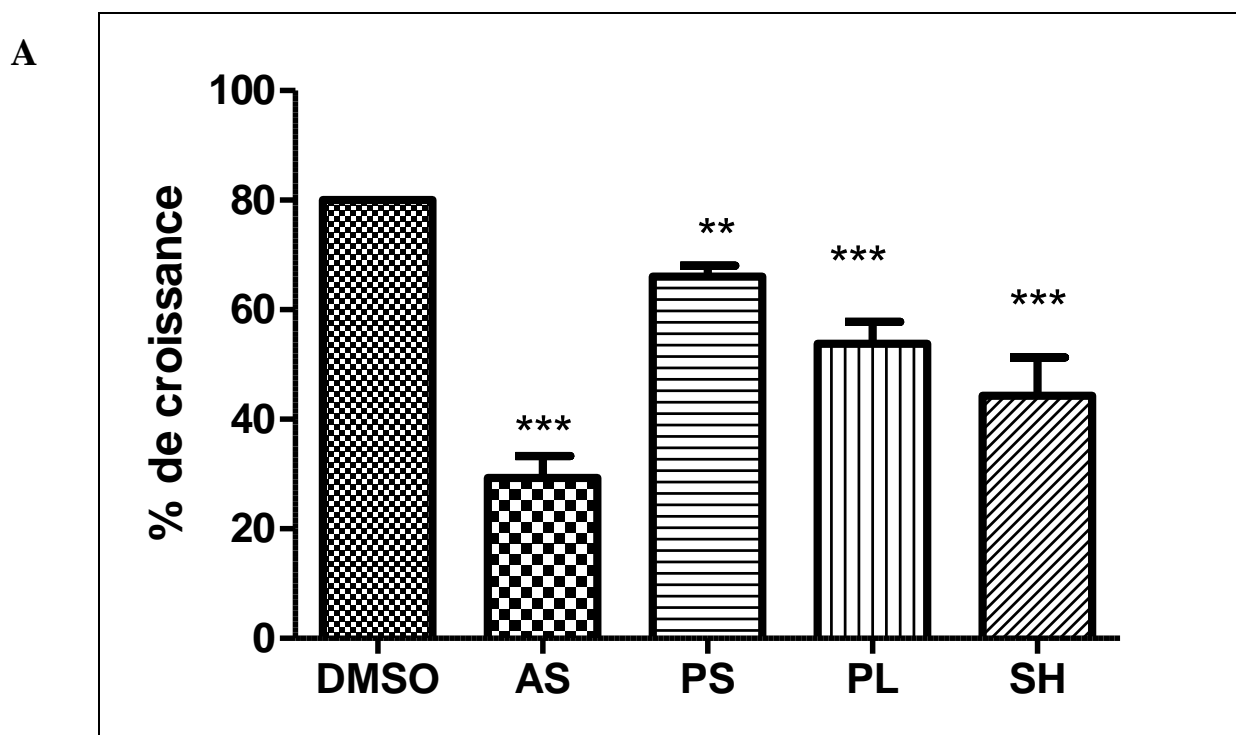
D'après les résultats, le taux de croissance des racines de l'*Allium cepa* après 24h à la concentration de 50 µg/ml du traitement a montré une différence très hautement significative ($P < 0,001$) entre les groupes traités, et le groupe de contrôle.

A la concentration de 100 µg/ml, les lots traités avec *P. serraria*, et *P. lanceolata* montrent une différence significative ($P < 0,05$), tandis qu'on observe une différence très hautement significative pour le lot traité par *S. hispanicus* a la concentration 100 µg/ml et 200 mg/ml en comparaison avec le lot témoin, d'autre part, une différence très hautement significative ($P < 0,001$) a été retrouvé pour les lots qui ont subi le traitement de combinaison et le lots traité par l'azide de sodium seul, et cela pour les deux concentrations étudiés (100 µg/ml et 200 µg/ml).

A une concentration plus élevée (200 µg/ml) le lot traité par *P. serraria* n'a montré aucune différence significative.

V.4.1.2.2. L'évaluation du taux de croissance après 48h

Après 48h du traitement, les racines ont été prélevés et la longueur a été mesurée, les résultats ont été présentés dans la figure suivante :



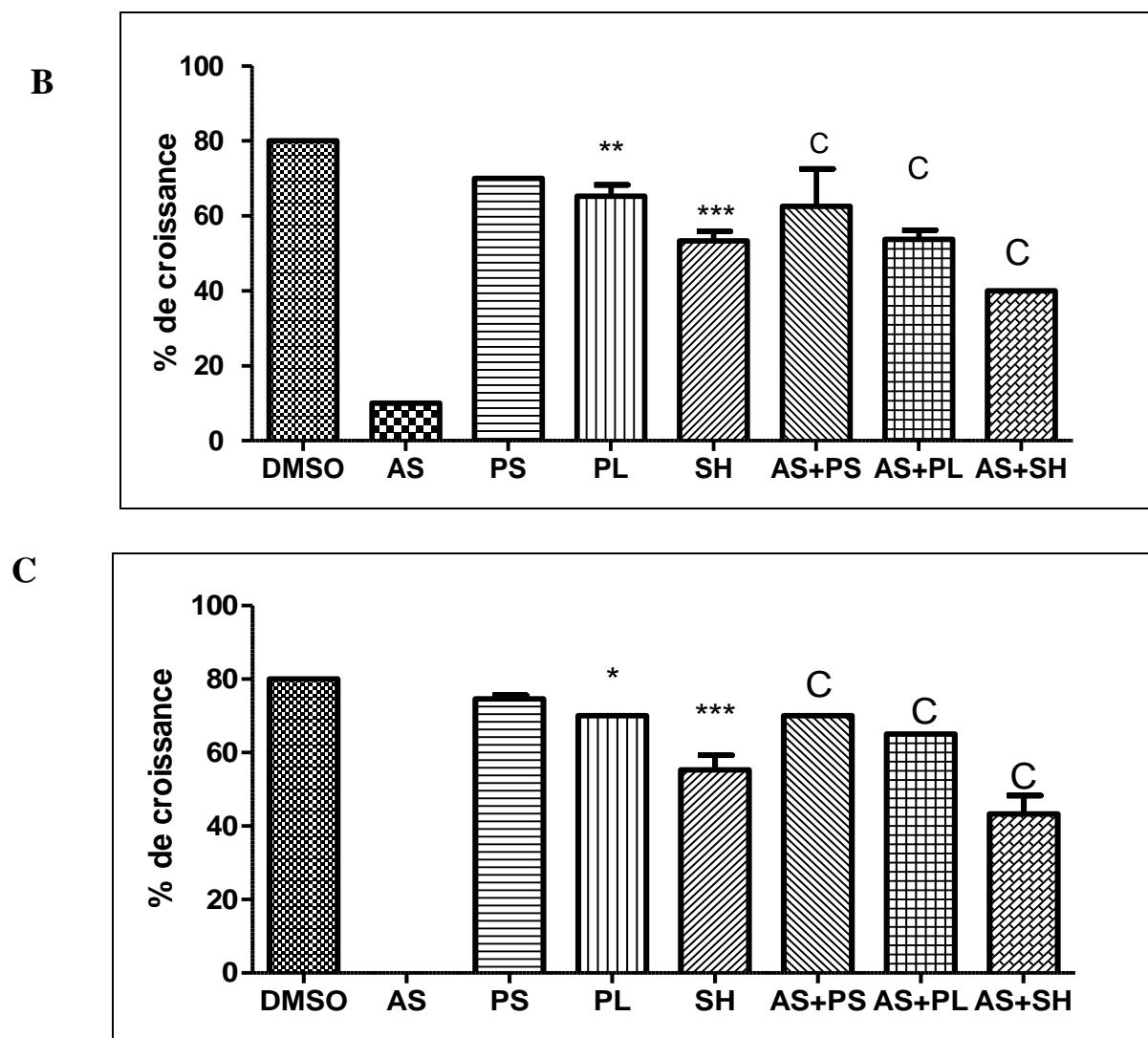


Figure 21 : Taux de croissance des racines des bulbes *A. cepa* après 48h de chaque traitement A à 50 µg/ml, B à 100 µg/ml, C à 200 µg/ml.

Les résultats ont été exprimés comme moyenne \pm écart-type. Les données expérimentales ont été analysées en utilisant le logiciel Graph Pad Prism 5.3. L'analyse statistique a été réalisée à l'aide d'une analyse de variance unidirectionnelle (ANOVA), suivi du test de Dunnett et Newman-Keuls. Les résultats ont été considérés comme statistiquement significatifs à * $P < 0,05$ et ^a $P < 0,05$, hautement significatif à ** $P < 0,01$ et ^b $P < 0,01$, et très hautement significatif à *** $P < 0,001$ et ^c $P < 0,001$.

Les résultats ont montré une différence significative ($P < 0,05$) entre le lot traité par l'azide de sodium et tous les autres lots à la concentration de 50 µg/ml. A une concentration plus élevée on ne remarque aucune différence significative entre le lot témoin et le lot traité par *P. serraria*. Plus loin à une concentration de 200 µg/ml. Aucune différence significative n'a été observée entre le témoin et le lot de *P. serraria*.

Pour les lots du traitement combiné on a observé une différence très hautement significative ($P < 0,001$) avec lot traité par l'azide de sodium seule et cela pour les deux concentrations testées.

V.4.1.2.3. L'évaluation du taux de croissance après 72h

Les taux de croissance des racines après 72h du traitement et aux trois concentrations ont été représentés dans la figure ci-dessous :

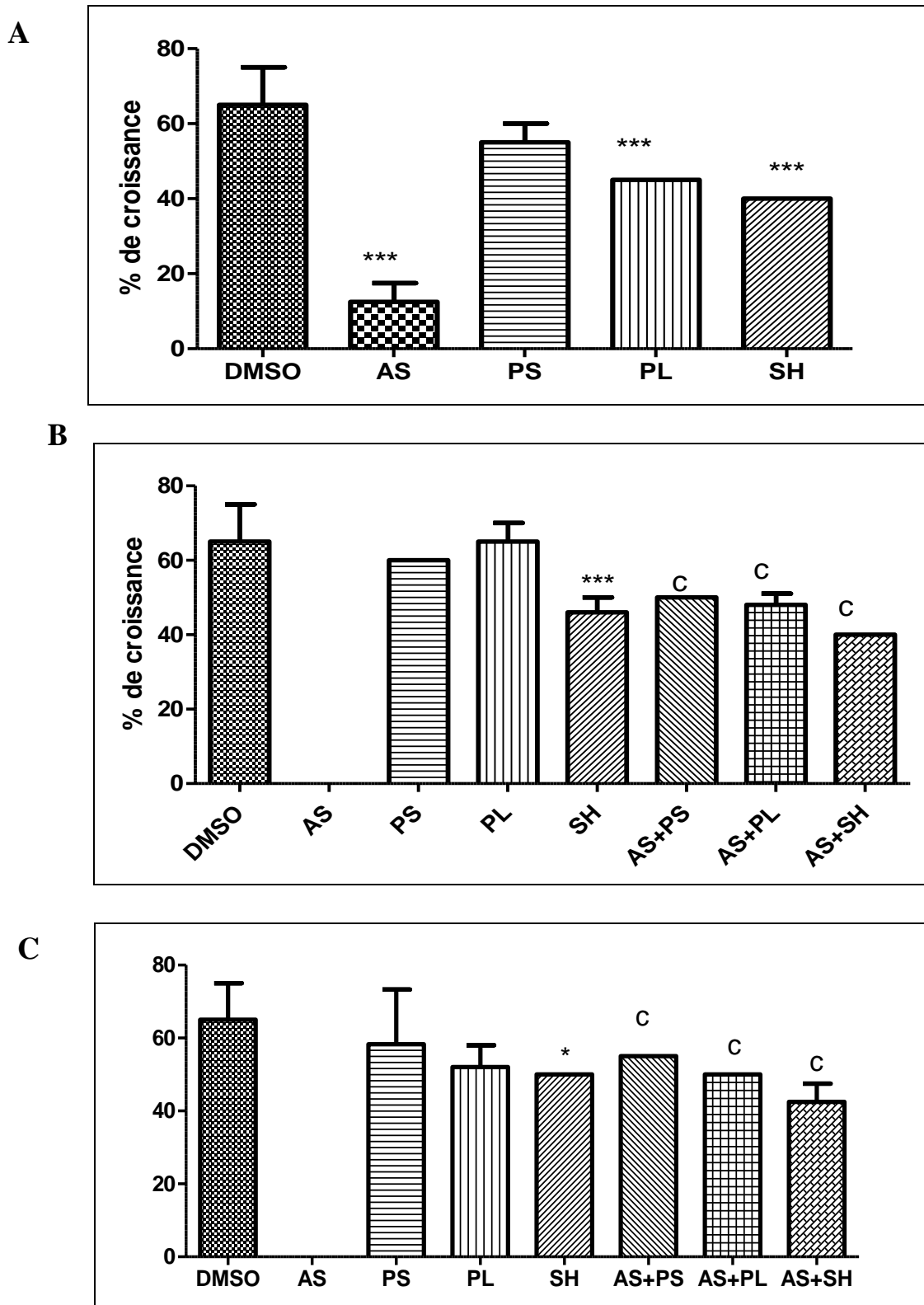


Figure 22: Taux de croissance des racines des bulbes de l'*A. cepa* après 72h de chaque traitement : A à 50 µg/ml, B à 100 µg/ml, C à 200 µg/ml.

Les résultats ont été exprimés comme moyenne \pm écart-type. Les données expérimentales ont été analysées en utilisant le logiciel Graph Pad Prism 5.3. L'analyse statistique a été réalisée à l'aide d'une analyse de variance unidirectionnelle (ANOVA), suivi du test de Dunnett et Newman-Keuls. Les résultats ont été considérés comme statistiquement significatifs à * $P < 0,05$ et ^a $P < 0,05$, hautement significatif à ** $P < 0,01$ et ^b $P < 0,01$, et très hautement significatif à *** $P < 0,001$ et ^c $P < 0,001$.

L'analyse des résultats de la figure 22 ont montrés une différence significative ($P < 0,001$) pour les lots traités avec l'azide de sodium à 50, 100 et 200 $\mu\text{g/ml}$, l'extrait de *P. laneolata* (50 $\mu\text{g/ml}$), l'extrait de *S. hispanicus* (50 et 100 $\mu\text{g/ml}$), et le lot témoin. Une différence non significative a été remarquée pour les lots traités avec l'extrait de *P. serraria* (50, 100 et 200 $\mu\text{g/ml}$), l'extrait de *P. laneolata* (100 et 200 $\mu\text{g/ml}$) avec le lot témoin. Les lots traités avec *S. hispanicus* à 200 $\mu\text{g/ml}$ ont montré une différence significative en comparaison avec le lot témoin.

L'analyse statistique de taux de croissance des racines de l'*Allium cepa* du traitement combiné, azide de sodium (100 $\mu\text{g/ml}$) avec l'extrait de feuilles de *P. serraria*, *P. lanceolata* et *S. hispanicus* (100 $\mu\text{g/ml}$ et 200 $\mu\text{g/ml}$) a révélé une différence très hautement significative avec le lot traité par l'azide de sodium seule.

Il est évident, d'après ces résultats du taux de croissance après 24, 48 et 72h (Fig. 20, 21 et 22) que la croissance des racines de l'*A. cepa* traitées par l'azide de sodium a été ralenti cela est dû à l'effet cytotoxique (réduction très hautement significatif par rapport au contrôle négatif). Nous avons trouvé une relation dose-effet de l'azide de sodium, ce dernier a causé un accroissement du taux de croissance qui est dépendant de la concentration et du temps de traitement. La présente étude fournit des preuves que l'inhibition de croissance a été plus marquée à une concentration de 100 $\mu\text{g/ml}$ et beaucoup plus à 200 $\mu\text{g/ml}$ de l'agent mutagène. Donc, l'azide de sodium a un effet inhibiteur puissant sur la croissance des racines ($P < 0,001$).

D'autre part, les racines traitées avec les extraits des feuilles de *P. serraria* (50, 100, 200 $\mu\text{g/ml}$), *P. lanceolata* (100, 200 $\mu\text{g/ml}$) et *S. hispanicus* (200 $\mu\text{g/ml}$), n'ont présenté aucune inhibition significative de la croissance (non génotoxique) par rapport au contrôle négatif (DMSO).

Les résultats observés par Oyeyemi et Bakare (2013) lors du traitement des cellules de bouts de racines de l'*A. cepa* par les extraits aqueux de *Spondias mombin* L, *Nymphaealotus* L et *Luffa cylindrica* L, ont montré une croissance racinaire limitée avec tous les échantillons testés.

L'inhibition de la croissance des racines et leurs mal formation, est un paramètre macroscopique considéré comme indicateur de toxicité cellulaire, due à la diminution de nombre de cellules en division (Atoyebi et al., 2015).

Plusieurs études ont prouvé l'effet cytotoxicité de l'azide de sodium dans plusieurs systèmes : les bactéries, les plantes supérieures et les cellules humaines (Alka et *al.*, 2012). L'azide de sodium agit comme mutagène inhibant les protéines de la réplication de l'ADN (Ambreen et *al.*, 2012 ; Sheikh et *al.*, 2012). L'azide de sodium participe à la formation d'un gaz d'azide d'hydrogène toxique qui se forme quand il est dissout dans l'eau, avec génération d'ions d'azide qui sont génotoxiques et cytotoxiques (Sheikh et *al.*, 2012). Une autre étude a relié la toxicité provoquée par l'azide à l'accumulation de peroxyde (Ragunathan et Panncersel, 2007). Par contre l'azide de sodium ne provoque aucune toxicité chez les mammifères, cet effet est lié à la présence d'une enzyme responsable de la conversion de l'azide en azidolamine non toxique, n'ayant aucune interaction avec l'ADN (Ragunathan et Panncersel, 2007).

V.4.2. Paramètres microscopique

Le test de l'*A. cepa* a été validé par l'utilisation d'un agent mutagène qui est l'azide de sodium, son action a été confirmée par un examen cytologique des cellules des extrémités racinaires révélant des effets clastogéniques et aneugéniques du mutagène sur les méristèmes de racines de la plante, plus que l'apparition des micronoyaux, ce qui entraîne l'inhibition du cycle cellulaire (Karaismailoglu, 2016).

V.4.2.1. Evaluation de l'indice mitotique (IM)

L'indice mitotique reste le meilleur paramètre d'estimation du taux de cellules en division (Sutun et *al.*, 2018). Les observations microscopiques des cellules méristématiques de l'*Allium cepa* après les différents traitements, a permis de visualiser, repérées et dénombrées les différents stades du développement mitotique et la proportion des cellules en division (après 24, 48, 72h) qui révèle si la mitose se déroule normalement ou non. (Kocaman et kilic, 2017).

V.4.2.1.1. Evaluation de l'indice mitotique après 24h

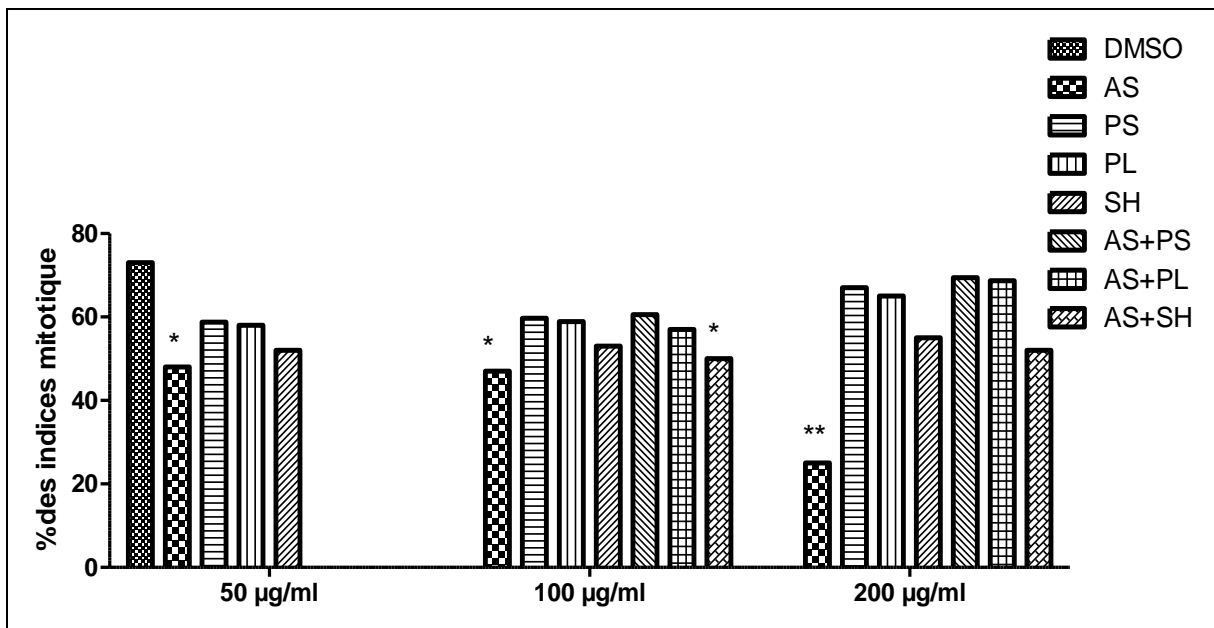


Figure 23 : Indices mitotiques observés dans les cellules méristématiques de l'*A cepa* après 24h de chaque traitement.

Les résultats ont été exprimés comme moyenne \pm écart-type. Les données expérimentales ont été analysées en utilisant le logiciel GraphPadPrism 5.3. L'analyse statistique a été réalisée à l'aide d'une analyse de variance unidirectionnelle (ANOVA), suivi du test de Dunnett. Les résultats ont été considérés comme statistiquement significatifs à * $P < 0,05$, hautement significatif à ** $P < 0,01$, et très hautement significatif à *** $P < 0,001$.

D'après nos constatations, les résultats ont montré qu'après 24h, une réduction significative ($P < 0,05$) de l'IM des groupes traités avec l'azide de sodium (50 et 100µg/ml), et hautement significative ($P < 0,01$) à 200µg/ml comparativement aux contrôles négatifs (DMSO) et aux lots traités par les 3 extraits de plantes (*P. serraria*, *P. lanceolata* et *S. hispanicus*) exception le lot *S. hispanicus* a la concentration de 100 µg/ml qui a montré une différence significative.

V.4.2.1.2. Evaluation de l'indice mitotique après 48h

La figure ci-présent représente les indices mitotiques calculés après 48 h de chaque traitement.

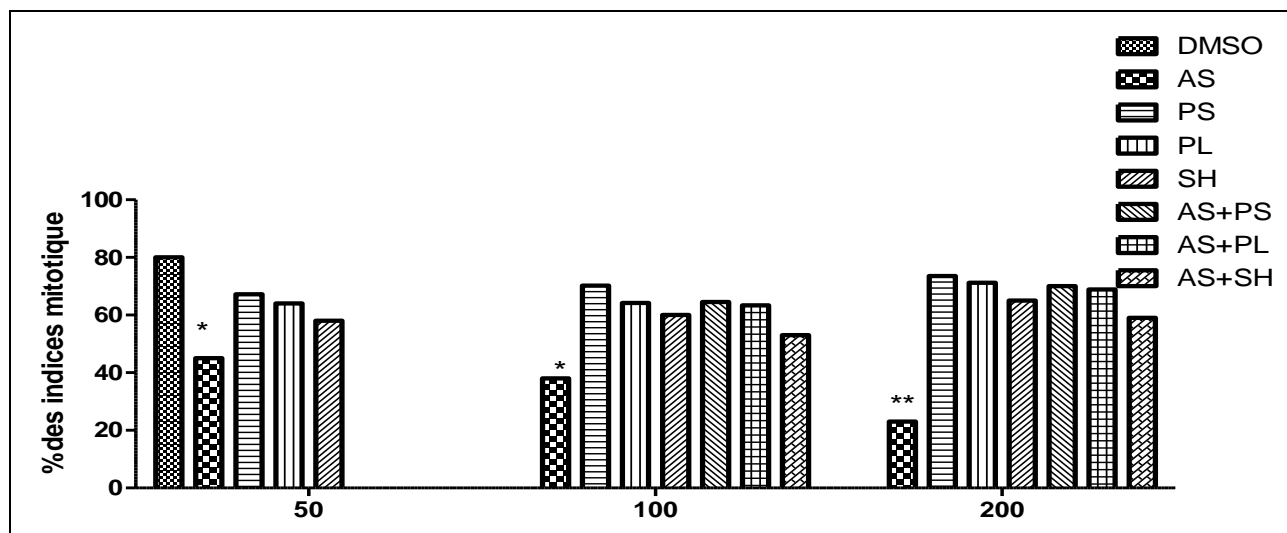


Figure 24 : Indices mitotiques observés dans les cellules méristématiques de l'*A cepa* après 48h de chaque traitement.

Les résultats ont été exprimés comme moyenne \pm écart-type. Les données expérimentales ont été analysées en utilisant le logiciel GraphPadPrism 5.3. L'analyse statistique a été réalisée à l'aide d'une analyse de variance unidirectionnelle (ANOVA), suivi du test de Dunnett. Les résultats ont été considérés comme statistiquement significatifs à * $P < 0,05$, hautement significatif à ** $P < 0,01$, et très hautement significatif à *** $P < 0,001$.

D'après la figure 24, l'IM après 48h des groupes traités avec l'azide de sodium présentent une différence significative ($P < 0,05$) à 50 et 100 $\mu\text{g/ml}$, et hautement significatif ($P < 0,01$) à 200 $\mu\text{g/ml}$ par rapport au control négatif. Tandis qu'aucune différence significative n'a été observé pour les groupes traités avec les extraits de trois plantes (*P. serraria*, *P. lanceolata* et *S. hispanicus*) à différentes concentrations (50, 100 et 200 $\mu\text{g/ml}$) et ainsi pour les groupes qui ont subi le traitement combiné avec l'azide de sodium (100 $\mu\text{g/ml}$) et les extraits de chaque plante (100 et 200 $\mu\text{g/ml}$).

V.4.2.1.3. Evaluation de l'indice mitotique après 72h

L'indice mitotique a été mesuré aussi après 72 h du traitement et les résultats sont présentés dans la figure suivant :

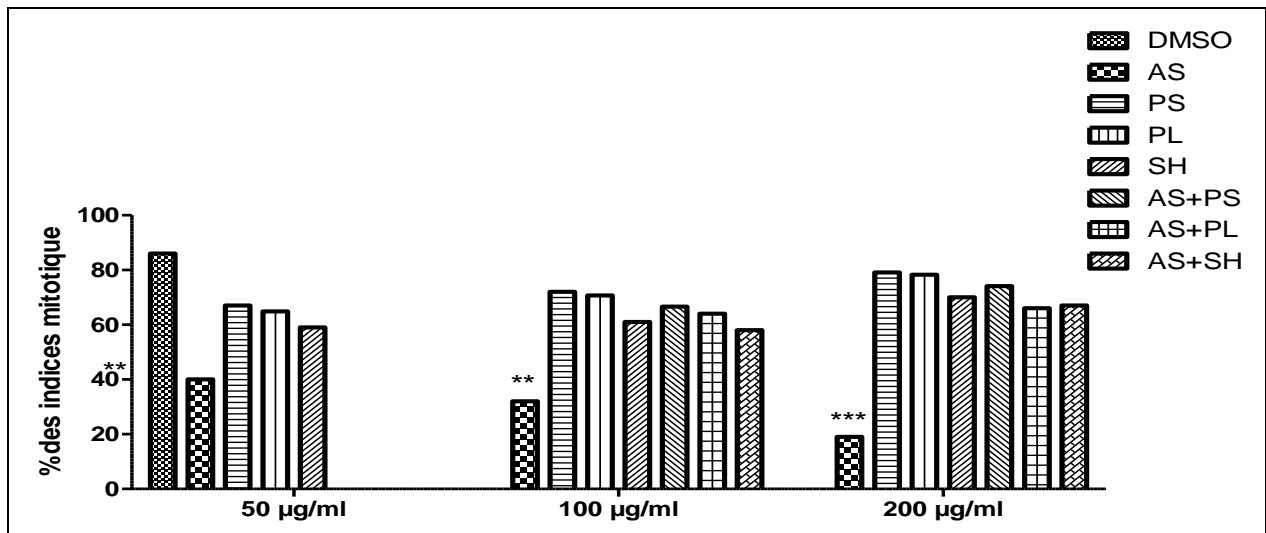
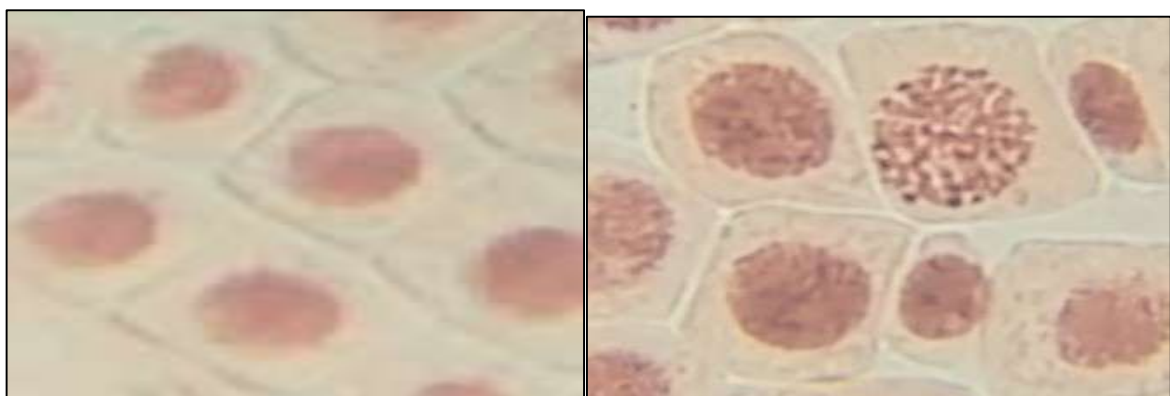


Figure 25 : Indices mitotiques observés dans les cellules méristématiques de l'*A cepa* après 72h de chaque traitement.

Les résultats ont été exprimés comme moyenne \pm écart-type. Les données expérimentales ont été analysées en utilisant le logiciel GraphPadPrism 5.3. L'analyse statistique a été réalisée à l'aide d'une analyse de variance unidirectionnelle (ANOVA), suivi du test de Dunnett. Les résultats ont été considérés comme statistiquement significatifs à * $P < 0,05$, hautement significatif à ** $P < 0,01$, et très hautement significatif à *** $P < 0,001$.

Comme on peut le constater sur la figure 25, l'IM après 72h des groupes traités avec l'azide de sodium seule présente une différence significative ($P < 0,01$) à 100µg/ml et à 200µg/ml ($P < 0,001$) en comparaison avec le lot témoin et les tous les lots traités par les 3 extraits.

Des photos des cellules en division ont été prises, parmi les 1000 cellules analysées, nous avons recherché les cellules en différentes phases de division sous microscope optique, pour calculés les indices mitotiques (Fig. 26).



(A)

(B)

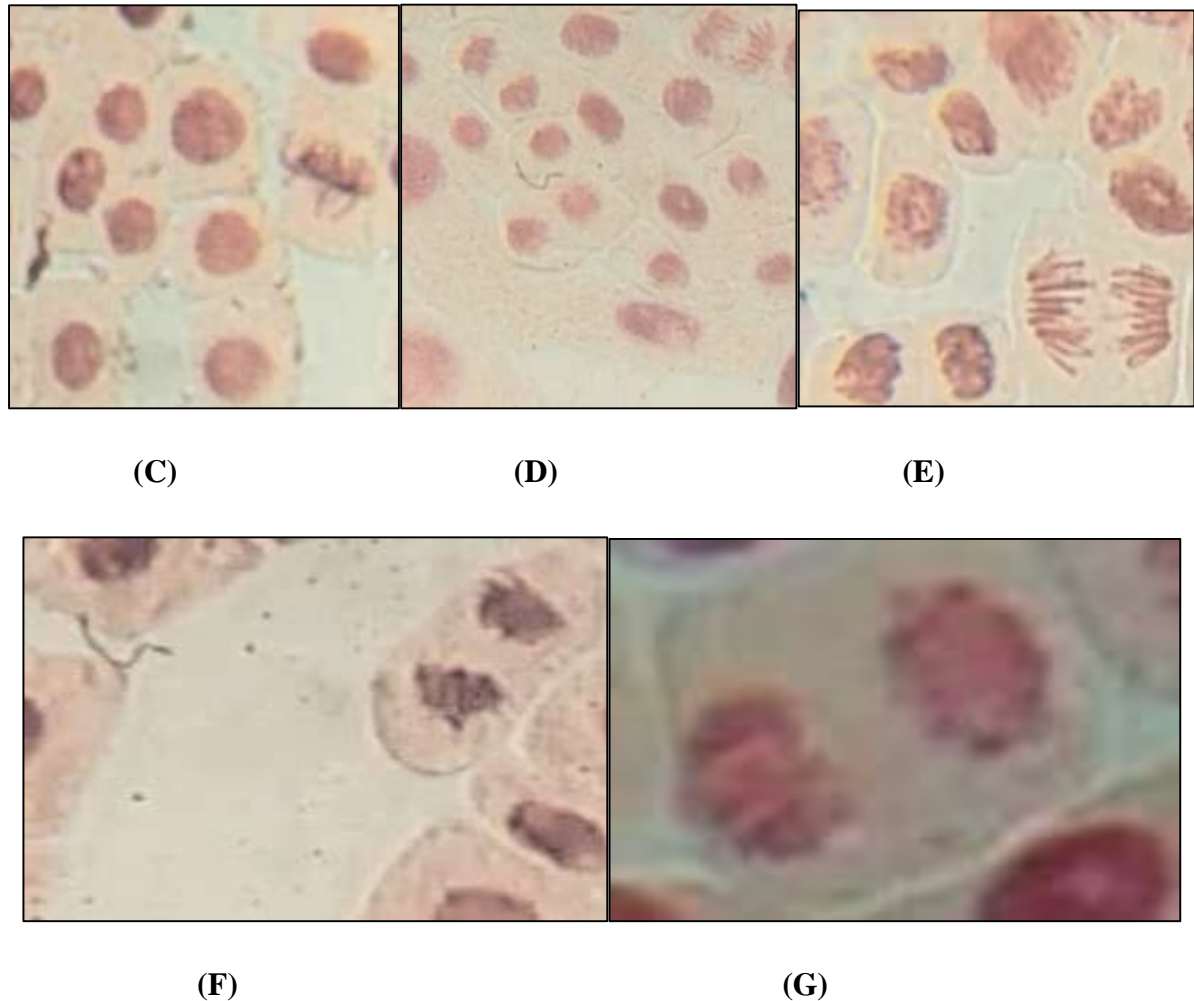


Figure 26 : Photographies originale des stades des divisions normales des cellules méristématiques d'*Allium cepa*. (GX40 et GX100). Interphase (A), Prophase (B), Métaphase (C et D), Anaphase (E) et Télaphase (F et G).

D'après ces résultats de l'indice mitotique après 24, 48 et 72h (Fig. 23, 24 et 25), une diminution de l'indice a été remarqué pour les groupes traités par l'azide de sodium ce qui confirme son effet cytotoxique, cette diminution n'a pas été remarqué pour les groupes traités par les 3 plantes médicinales ce qui nié la présence d'un effet cytotoxique.

Les résultats obtenus sont similaires aux résultats d'une étude réalisée sur l'extrait de feuille de spinosus Linn à 5 mg/l, dont ils n'ont observé aucune inhibition de la division cellulaire induite par cet extrait (Prajitha et Thoppil, 2015).

L'inhibition observé dans la mitose (la réduction de l'indice mitotique) indique un effet mitodépressif (blocage de la synthèse de l'ADN et des protéines nucléiques) qui sont peut être due à l'inhibition de la synthèse de l'ADN en phase S par déstabilisation de la double hélice, qui induit des troubles au niveau de la chromatine, comme il peut y avoir à un blocage en phase G1 (qui supprime la synthèse d'ADN) ou G2 du cycle cellulaire (Mesi et Kopluku, 2013 ; Prajitha et Thoppil, 2015). Cela peut être expliqué soit à l'arrêt du métabolisme de glucose, soit à l'appauvrissement en adénosine triphosphate (Mesi et Kopluku, 2013).

L'agent mutagène provoque une perturbation du fuseau mitotique résultant un effet de c-mitose. Un faible effet de c-mitose produit des chromosomes retardataires qui ne sont pas attachés au fuseau. La formation de c-mitose, retard des chromosomes et la multipolarité peut être due à la perturbation dans la formation du fuseau, ce qui implique une activité génotoxique. Les chromosomes isolé peut être due la liaison de l'azide ce qui induit le blocage et l'isolement du reste du patrimoine génétique. Ceci explique la capacité antiproliférative de l'azide de sodium (Pedrazzani et *al.*, 2012).

V.4.2.2. Evaluation du pourcentage d'inhibition (PI) contre les micronoyaux induits par l'azide de sodium (test de micronoyau)

Le pourcentage d'inhibition de chaque extrait (100 et 200µg/ml) contre les micronoyaux induits par l'azide de sodium (100µg/ml) après 24, 48 et 72h a été calculé et représenté dans la figure suivante.

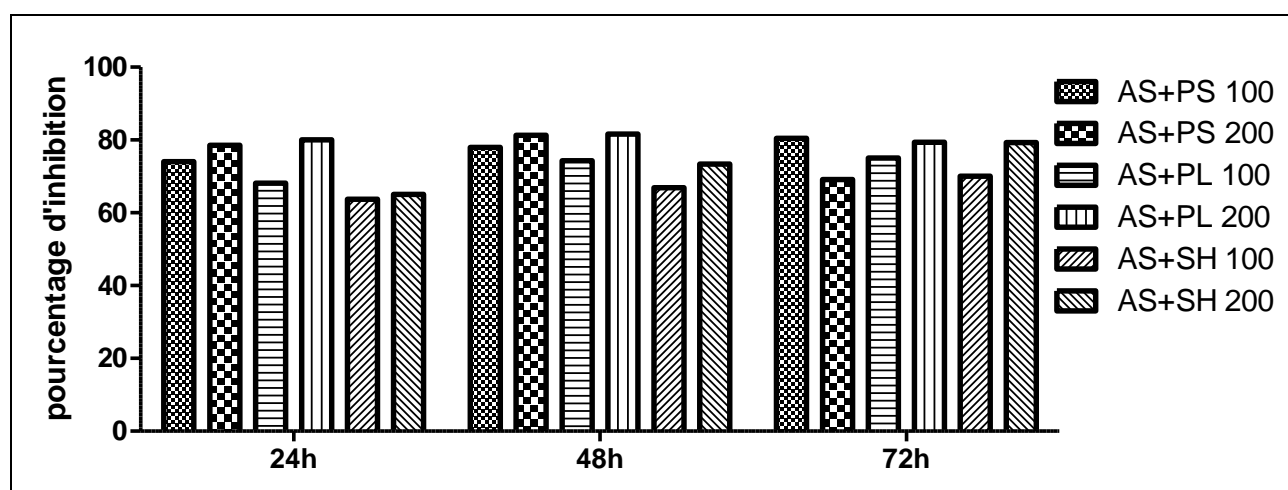


Figure 27: Le pourcentage d'inhibition de chaque extrait contre les micronoyaux induits par l'azide de sodium.

Les résultats ont été exprimés comme moyenne. Les données expérimentales ont été analysées en utilisant le logiciel GraphPadPrism 5.3. L'analyse statistique a été réalisée à l'aide d'une analyse de variance unidirectionnelle (ANOVA), suivi du test de Dunnett. Les résultats ont été considérés comme statistiquement significatifs à * P <0,05, hautement significatif à ** P <0,01, et très hautement significatif à *** P <0,001.

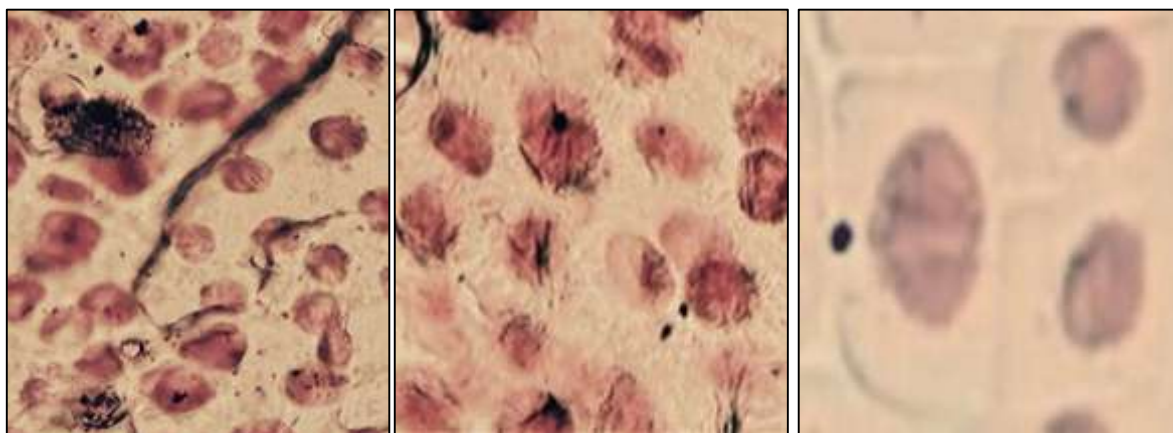


Figure 28: Photographies originale de micronoyau des cellules méristématiques de l'*Allium cepa* traité par l'azide de sodium à 100µg/ml.

Cette étude révèle que la co-incubation de l'azide de sodium à 100µg/ml et d'extrait de chaque plante testée (*P. serraria*, *P. lanceolata* et *S. hispanicus*) à 100 et 200µg/ml a un potentiel antimutagenique efficace contre les micronoyaux induites par NaN₃ (> 89% pour *p. serraria*, 79 % pour *P. lanceolata* et *S. hispanicus*). Cet effet peut être dû à la présence de principes actifs à activité anti-génotoxique dans ces extraits.

Le rôle protecteur exhibé par ces extraits contre une génotoxicité induite par l'azide de sodium peut être due à son activité antioxydante (Kolak et al., 2011 ; AL-Jumaily et al., 2012 ; Altinar et Sahan, 2016) et anti-tumoral (*P. serraria* et *P. lanceolata*) (Kolak et al., 2011 ; AL-Jumaily et al., 2012).

Les composés présents dans ces extraits peuvent agir par dégradation des peroxydes accumulés et des ions d'azide de sodium. L'inhibition des micronoyaux par les extraits de *P. serraria*, *P. lanceolata* et *S. hispanicus*, suggère une activité antimutagenique et anticarcinogénique de ces derniers qui peut protéger l'ADN contre les lésions provoqués par différents agents (Prajitha et Thoppil, 2015, Roberto et al., 2016).

V.5. Analyses chromatographique

V.5.1. *P. serraria*

Les extraits ont été préparés dans du méthanol, les molécules bioactives apparaissent après 40min de l'analyse GC-MS, d'où leur nature plus ou moins hydrophobe. Le temps de rétention et les masses du fragment de base de chaque composé ont été comparés à une base de données Nist05 et les molécules bioactives identifiées sont représentées dans les tableaux suivants :

L'analyse du chromatogramme CG/MS des composés bioactifs de l'extrait éthanolique de *plantago serraria* (Fig. 29A) permet de distinguer un ensemble de pics dont trois pics majoritaires. Un pic important correspond au spectre relatif de l'acide acétique. Ensuite un pic correspond au spectre de 9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl ester correspond à l'acide Oleique. Le pic correspondant au 3, 7,11, 15-Tetramethyl-2-hexadecen-1-ol représente le phytol qui est un composant de la chlorophylle et un précurseur de la synthèse de la vitamine E et K₁. Les différents composés identifiés et leurs activités pharmacologiques sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau 5 : Composés bioactifs présents dans l'extrait éthanolique de *Plantago serraria*.

pic	Nom	Nom commun	Formule chimique	Effets pharmacologiques	Références
1	Acideacétique	Acideethanoïque	C ₂ H ₄ O ₂	-Activité anti-inflammatoire -Activité antibactérienne	Fenella D. Halstead et al., 2015 Assis et al., 2016)
2	2-Propanone, 1-hydroxy	Acetol Hydroxyacetone	C ₃ H ₆ O ₂	-Activité antioxydant -Activité antifongique	Abaci et al., 2016 Suet et al., 2016 Trégner et al., 2017 Oramahi et al., 2018 Luigi Poisson et al., 2019
3	Silanediol, dimethyl-	Diméthylsilanediol	C ₂ H ₈ O ₂ Si	-Activité anti-inflammatoire -Activité anti-microbienne -Activitéantioxydante	Karthick et al., 2015 Aslanbaba et al., 2017 Vandana et al., 2018 Rubegeta et al., 2019

4	Phenol, 4,4'-(1-methylethylidene)bis[2,6-dimethyl-	/	C ₁₉ H ₂₄ O ₂	-Activités anti-tumorales, anti-inflammatoires et antibactériennes -Activité antioxydant	Peng et al., 2017 Zhang et al., 2019
5	1H-indol, 3-phenyl-2-(2'-pyridyl)-				
6	Hexadecanoic acid, methyl ester	Acide palmitique	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	-Activité cytotoxique activité anticancéreuse -Activité immunomodulatrice -Activité anti-inflammatoire -Activité antifongique -Activité antimicrobienne	Abdel-Hady et al., 2016 Dey et Chaudhuri, 2016 Olgun et al., 2017 Soad et Mohamed, 2018 Shah et al., 2019
7	1,2-Benzenedicarboxylic acid, bis (2-methylpropyl) ester	Diisobutyl phthalate (DIBP)	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	-Activité antioxydant et anti-inflammatoire -Activité antimicrobienne -Effet hypoglycémique	Abdel-Hady et al., 2016 Odchimar et al., 2016 Hamid et al., 2018 Zhao et al., 2018
8	9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl ester	Acide oléique	C ₁₉ H ₃₆ O ₂	-Activité antimicrobienne -Activité anticancéreuse -Activité immunomodulatrice -Activité anti-	Abdelgawad et al., 2015 Dey et Chaudhuri, 2016 Shah et al., 2019

				inflammatoire	
10	3, 7,11,15-Tetramethyl-2-hexadecen-1-ol	Phytol	C ₂₀ H ₄₀ O	-Activités antibactériennes, antioxydantes et antiprolifératives	Sassouiet <i>al.</i> , 2017 Ujowunduet <i>al.</i> , 2017
11	Hexadecanoic acid, 1-(hydroxymethyl)-1,2-ethanediyl ester	Glycerol1, 2-dipalmitate	C ₃₅ H ₆₈ O ₅	-Activité anti-microbienne -Activité anti-inflammatoire -Activité immunomodulatrice	Dey et Chaudhuri, 2016 Idowu et Ojo, 2017 Kadhimet <i>al.</i> , 2017 Olgun <i>et al.</i> , 2017 Shah <i>et al.</i> ,2019

V.5.2. *P. lanceolata*

L'analyse du chromatogramme CG/MS des composés bioactifs de l'extrait éthanolique de *plantago lanceolata* a permis de distinguer la présence de 4 composants, un pic important (le quatrième pic) qui correspond au spectre du 3, 7,11,15-Tetramethyl-2-hexadecen-1-ol (Fig. 29B), les autres pics de fréquence relativement faibles correspondent au spectre de 1H-indol, 3-phenyl-2-(2'-pyridyl)-, acide Tétradécanoïque, 12-méthyl-, méthyl ester, (S)-.Carda9-acide Octadécénoïque (Z)-, méthyl ester les effets pharmacologiques des différents composés de *P.lanceolata* sont regroupés dans le tableau ci-présent :

Tableau 6 : Composés bioactifs présents dans l'extrait éthanolique de *Plantago lanceolata*.

pic	Nom	Nom commun	Formule chimique	Effets pharmacologiques	Références
1	1H-indol, 3-phenyl-2-(2'-pyridyl)-				
2	Tétradécanoïque, 12-méthyl-, méthyl ester, (S)-	/	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	-Activité immunomodulatrice -Activité anti-	Abdelgawad <i>et al.</i> , 2015 Dey et Chaudhuri,

				inflammatoire -Activité anticancéreuse -Activité et antimicrobienne -Activité antioxydante	2016 Uyar et al., 2017 Ser et al., 2016 Soad et Mohamed, 2018
3	9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl ester	Acide Oleique	$C_{19}H_{36}O_2$	-Activité anti-microbienne -Activité anticancéreuse -Activité immunomodulatrice -Activité anti-inflammatoire	Abdelgawadet et al., 2015 Dey et Chaudhuri, 2016 Shah et al., 2019
4	3, 7,11,15-Tetramethyl-2-hexadecen-1-ol	Phytol	$C_{20}H_{40}O$	-Activités antibactériennes, antioxydantes et antiprolifératives	Sassoui et al., 2017 Ujowundu et al., 2017

V.5.2. *S. hispanicus*

La prospection du chromatogramme CG/MS des composés bioactifs de l'extrait éthanolique de *Scolymus hispanicus* permet de distinguer un ensemble de 07 pics dont trois pics majoritaires.

Tableau 7 : Composés bioactifs présents dans l'extrait éthanolique de *Scolymus hispanicus*.

pic	Nom	Nom commun	Formule chimique	Effets pharmacologiques	Références
1	2-Undecanone, 6,10-dimethyl-	Tetra hydrogeranyl acetone	$C_{13}H_{26}O$	-Activités antioxydants -Activités antibactériennes -Activité antifongique -Activité anti-microbienne	Nikkhah et al., 2016 Zenget al., 2016 Bhattarai et al., 2018 Binghui et al., 2018 Madivoli et al., 2019 Servi et al., 2019

2	1H-indol, 3-phenyl-2-(2'-pyridyl)-				
3	Tridecanoic acid, methyl ester	Methyl Tridecanoate AcideTridecylique methyl ester	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	- Activité anti-microbienne -Activités antibactériennes et antifongiques	Agoramoorthy et al., 2007 Sati et al., 2016 Idowu et Ojo, 2017
4	Undecanoic acid, 2-methyl-methyl ester	Methyl 2-methylundecanoate	C ₁₃ H ₂₆ O ₂	Aucune activité signalée	Elaiyaraja et Chandramohan, 2016
5	9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl ester	Acide oleique	C ₁₉ H ₃₆ O ₂	-Activité anti-microbienne -Activité anticancéreuse -Activité immunomodulatrice -Activité anti-inflammatoire	Abdelgawadet al., 2015 Dey et Chaudhuri, 2016 Shah et al., 2019
6	3, 7,11,15-Tetramethyl-2-hexadecen-1-ol	Phytol	C ₂₀ H ₄₀ O	-Activités antibactériennes, antioxydantes et antiprolifératives	Sassoui et al., 2017 Ujowundu et al., 2017
7	3-Tetradecen-5-yne, (E)-	/	C ₁₄ H ₂₄	-Activités antioxydants -Activités antimicrobiennes -Activité anticancéreuse	Halijah et al., 2009 Abdelgawad et al., 2015 Pudziuelyte et al., 2017 Debebe et al., 2018

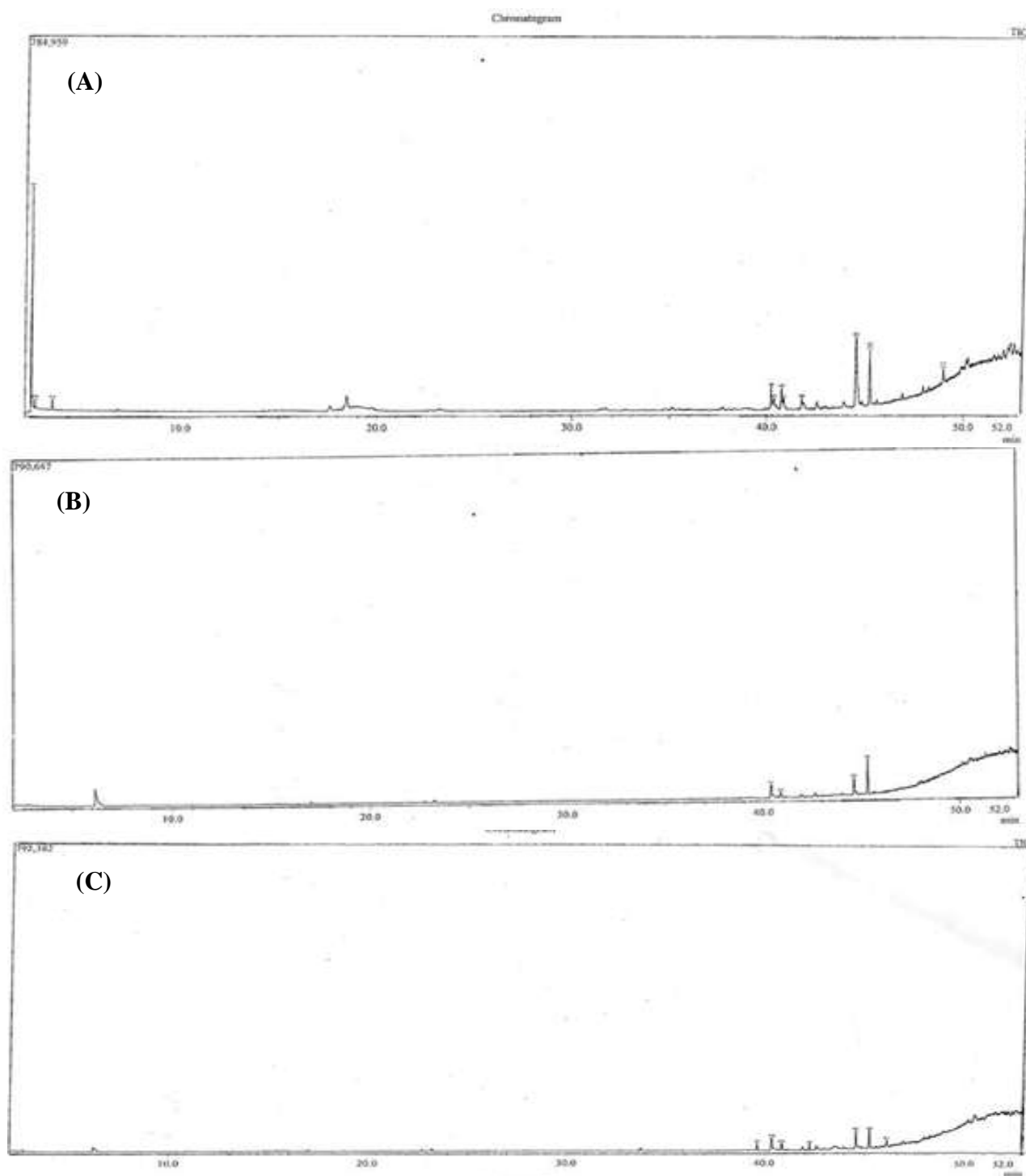


Figure 29 : Profil chromatographique des échantillons des feuilles de *P. serraria* (A), *P. lanceolata* (B) et de *S. hispanicus* (C).

Il a été identifié, 11 composés dans l'extrait de *Plantago serraria*, 07 composés dans l'extrait de *plantago lanceolata*, et 04 composés dans l'extrait de *scolymus hispanicus* par l'analyse GC-MS. Les composés identifiés dans les extraits éthanoliques de *Scolymus hispanicus* présentent des propriétés antioxydantes et antimicrobiennes intéressantes, des activités anti-amylase et anti-glucosidase prometteuses et un effet diurétique pertinent qui confirme ses utilisations traditionnelles. La variabilité chimique et biologique des parties de plantes d'Asteraceae a déjà été rapportée chez l'artichaut (Kollia et al., 2016; Albergamo et al., 2016 ; Marmouzi et al., 2017). En outre, l'extrait de n-hexane de *P. lanceolata* est riche en acides gras, comme le montre le chromatogramme GC-MS, l'acide palmitique, l'acide myristique et l'acide stéarique obtenus à partir des données GC-MS, certains des composés stéroïdiens sont également détectés dans la GC-MS de *P. lanceolata*, le stigmastérol n'a jamais été identifié dans d'autres études, c'est un précurseur approprié à la fabrication du progestérone semi-synthétique, il joue également un rôle dans la biosynthèse de la vitamine D3 (Khalaf et al., 2018). *P. lanceolata* possède des activités antimicrobiennes et antioxydantes et antiprolifératives en raison de leur structure chimique. Elle a une vaste gamme d'activités physiologiques, notamment la modulation de l'inflammation, de l'ovulation et de la pression artérielle (Belyagoubi-Benhammou et al., 2019).

L'extrait éthanolique de *Plantago serraria* a été étudié pour son effet antimicrobien et cytotoxique contre les lignées de cellules cancéreuses (Abdel-Hady et al., 2016). En outre, des propriétés antimicrobiennes, anti-inflammatoires et antioxydantes ont été attribuées aux composants de l'extrait de *Plantago serraria* (Hamid, A. A. et al., 2018).

Plusieurs études ont montré que la majorité des composés bioactifs obtenus, inhibent les systèmes enzymatiques responsables de la production de radicaux libres et qu'ils sont anti-mutagènes et anti-cancérogènes. Ils ont un effet protecteur sur la production et le dépôt de composants de la matrice extracellulaire induits par les radicaux libres (Kadhim et al., 2017).

Conclusion

L'Algérie est caractérisée par une grande diversité écologique, elle présente une source potentielle pour les soins primaires, par l'utilisation des plantes médicinales. Ces dernières représentent une source inépuisable de substances et composés naturels bioactifs qualifiés de métabolites secondaires. Ce travail original, a permis d'évaluer l'effet antigénotoxique de 3 plantes médicinales locales de la région de Jijel et d'identifier quelques composés de leurs extraits de feuilles.

L'étude de l'activité antigénotoxique réalisée sur les extrémités racinaires de *Allium cepa*, a montré que les extraits testés des 3 plantes (*P. serraria*, *P. lanceolata* et *S. hispanicus*) possèdent un potentiel effet antimutagénique dose-dépendant contre les dommages induits par l'azide de sodium.

Dans cette même étude les tests d'anticytotoxicité et d'antigénotoxicité ont été menés par le traitement combiné des extraits de trois plantes testées à 100 et 200 µg/ml, et le mutagène (NaN₃) à 100 µg/ml. Les résultats de l'observation macroscopique et microscopique des cellules racinaires de *Allium cepa* (le taux de croissance et l'indice mitotique), indiquent que ces extraits peuvent lutter contre les mal-formations de l'ADN à des basses concentrations.

Les meilleurs effets sont obtenus avec les extraits éthanoliques de *P. serraria*, suivi de *P. lanceolata* et en fin de *S. hispanicus* aux différentes concentrations testées (50, 100 et 200 µg/ml).

Cependant, le mécanisme de chaque effet nécessite des évaluations supplémentaires. Pour cela, il serait judicieux d'examiner l'effet des extraits sur d'autres systèmes eucaryotiques et par d'autres approches expérimentales (test des aberrations chromosomiques...ect.), afin d'obtenir des informations additionnelles sur les activités biologiques de ces extraits, ainsi de contribuer à l'élucidation de leurs mécanismes d'action.

L'effet antiprolifératif trouvé chez les trois plantes a été attribué aux composés identifiés par l'analyse GC-MS, 11 composés pour *P. serraria*, 4 composés pour *P. lanceolata*, et enfin 11 composés pour *S. hispanicus*. Certains de ses composés ont été déjà identifiés dans des travaux antérieurs chez ces mêmes plantes, mais d'autres sont identifiés pour la première fois dans la présente étude. Il serait souhaitable d'isoler, purifier les molécules actives par d'autres approches LC-MS, et de les identifier par RMN afin de les tester séparément.

Conclusion

Comme prochaine étape en envisage d'évaluer l'effet anti-génotoxique *in vivo*, et de proposer un mécanisme d'action pour les molécules identifiées.

A

- Abaci, Z. T., Zarifikhosroshahi, M., Kafkas, E., & Sevindik, E. (2016). Chemical composition, volatiles, and antioxidant activity of *Rosa iberica* Stev. hips. *Acta Sci. Pol-Hortorum Cultus*. 15(1): 41-45.
- Abdelgawad, S. M. G., Hetta, M., Ross, S., & Badria, F. (2015). Chemical and biological study of *Withania somnifera* (L.) dunal leaves growing in Upper Egypt: Beni-Suef region. *Journal of Natural Products*. 8: 64-74.
- Abdel-Hady, H., Abdel-Wareth, M. T. A., El-Wakil, E. A., & Helmy, E. A. (2016). Identification and evaluation of antimicrobial and cytotoxic activities of *Penicillium islandicum* and *Aspergillus tamarii* ethyle acetate extracts. *Pharmaceuticals*. 6(9): 2021-2039.
- Abdessemed H. (2011). Dosage de métabolites secondaires d'extraits du fruit *Crataegus azarolus* L. *Tunisian Journal of Medicinal Plants and Natural Products*. 6: 53-62.
- Adjobimey, T., Edayé, I.,Laghika, L.,Genou, J., Moudachirou, M. & Sanni, A. (2004). Activités antiplasmodiales in vitro de quelques plantes antipaludiques de la pharmacopéebéninoise. *Compte Rendu de Chimie*. 7: 1023-1027.
- Agoramoorthy, G., Chandrasekaran, M., Venkatesalu, V., & Hsu, M. J. (2007). Antibacterial and antifungal activities of fatty acid methyl esters of the blind-your-eye mangrove from India. *Brazilian Journal of Microbiology*. 38(4): 739-742.
- Akhtar, M.F., Saleem, A., Sharif A., Akhtar, B., Nasim, M.B., Peerzada, S., Raza, M., Ijaz, H., Ahmed, S., & Shabbir, M. (2016). Genotoxic and cytotoxic action potential of *Terminalia citrina*, a medicinal plant of ethnopharmacological significance. *Excli journal*. 15:589-598.
- Albergamo, A., Rotondo, A., Salvo, A., Pellizzeri, V., Bua, D. G., Maggio, A., & Dugo, G. (2017). Metabolite and mineral profiling of “Violetto di Niscemi” and “Spinoso di Menfi” globe artichokes by 1H-NMR and ICP-MS. *Natural product research*. 31(9): 990-999.
- Al-dualimi, D. W., Shah Abdul Majid, A., Al-Shimary, S. F. F., Al-Saadi, A. A., Al Zarzour, R., Asif, M., & Abdul Majid, A. M. S. (2018). 50% Ethanol extract of *Orthosiphon stamineus* modulates genotoxicity and clastogenicity induced by mitomycin C. *Drug and chemical toxicology*. 41(1), 82-88.

- Alfonso, E. D., Fernando, S. I. D., Pineda, P. S., & Divina, C. C. (2017). Antibacterial Activity and Genotoxicity Assays of Lanzones (*Lansium domesticum*) Seeds Extract. *International Journal of Agricultural Technology*. 13(7): 2427-2434.
- Ali-Rachedi, F., Meraghni, S., Touaibia, N., & Mesbah, S. (2018). Analyse quantitative des composés phénoliques d'une endémique algérienne *Scabiosa Atropurpurea* sub. *Maritima* L. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*. 87: 13-21.
- Al-Jumaily, E.F., Abdul-Ratha, H.A., & Raheema R.H. (2012). Extraction And Purification Of Tannins From *Plantago Lanceolata* L. And Assessment Their Antibacterial Activity On Pathogenesis Of Enteropathogenic *E.Coli In Vitro* And *In Vivo*. *DAMA Inter*. 1(1): 17-21.
- Alka, A. M. Y. K., Bhat, T. M., Choudhary, S., & Aslam, R. (2012). Genotoxic effect of ethylmethane sulphonate and sodium azide in *Linum Usitatissimum* L. *Int J Plant Anim Environ Sci*. 1: 1-6.
- Al-Snafi, A. E. (2016). Antimicrobial effects of medicinal plants (part 3): plant basedreview. *IOSR Journal of Pharmacy*. 6(10): 67-92.
- Al-Snafi, A. E. (2017). Therapeutic importance of *Ephedra alata* and *Ephedra foliata*-Areview. *Indo American Journal of Pharmaceutical Sciences*. 4(2): 399-406.
- Al-Tameme, H. J., Hadi, M. Y., & Hameed, I. H. (2015). Phytochemical analysis of *Urtica dioica* leaves by fourier-transform infrared spectroscopy and gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy*. 7(10): 238-252.
- Altiner, DD., Sahan, Y. (2016). A Functional Food Additive: *Scolymus Hispanicus* L. Flour. *ETP International Journal of Food Engineering*. 2(2): 124-127.
- Ambreen, A.M., Ansari, A., & Hisamuuddin, F. (2012). Cytological effect of EthylmethaneSulphonate and Sodium Azidein*LinumUsitatissimum* L. *International Jornal of Plant,Animal and Environnemental Sciences*. 2(1): 70-75.
- Amine, D., Mohamed, B., Jamal, I., & Laila, N. (2017). Antibacterial activity of aqueous extracts of *Anacyclus pyrethrum* (L) Link and *Corrigiola telephiifolia* Pourr. *from the middle atlas region-Morocco*. 13(33): 116-128.
- Amiot, M. J., Riollet, C., & Landrier, J. F. (2009). Polyphénols et syndrome métabolique: Polyphenols and metabolic syndrome. *Médecine des maladies métaboliques*. 3(5): 476-482.

Aslanbaba, B., Yilmaz, S., Tonguç Yayintaş, Ö., Özyurt, D., & Demirata Öztürk, B. (2017). Total Phenol Content and Antioxidant Activity of Mosses from Yenice Forest (Ida Mountain). *Journal of Scientific Perspectives. 1*(1): 1-12.

Assis, P., Guerra, G., Araújo, D., Araújo Júnior, R., Machado, T., Araújo, A., Lima, T., Garcia, H., & Queiroga, R. (2016). Intestinal anti-inflammatory activity of goat milk and goat yoghurt in the acetic acid model of rat colitis. *International Dairy Journal. 56*: 45-54.

Atmani, D., Chaher, N., Berboucha, M., Ayouni, K., Lounis, H., Boudaoud, H., Debbache, N. & Atmani, D. (2009). Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. *Food Chemistry. 112*: 303-309.

Atoyebi, S. M., Oyeyemi, I. T., Dauda, B. A., & Bakare, A. A. (2015). Genotoxicity and anti-genotoxicity of aqueous extracts of herbal recipes containing *Luffa cylindrica* (L), *Nymphaea lotus* (L) and *Spondias mombin* (L) using the *Allium cepa* (L) assay. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology. 9*(15): 492-499.

Ayad, R. (2008). Recherche et détermination structurale des métabolites secondaires de l'espèce *Zygophyllum cornutum*, Mémoire magister En Chimie Organique, université Mentouri Constantine. p 35-39, 40, 47.

B

Badiaga, M. (2011). Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea Latifolia* Smith une plante médicinale africaine récoltée au Mali, thèse de doctorat, université de Bamako. 10 p.

Bajer, T., Janda, V., Bajeroová, P., Kremr, D., Eisner, A., & Ventura, K. (2016). Chemical composition of essential oils from *Plantago lanceolata* L. leaves extracted by hydrodistillation. *Journal of food science and technology. 53*(3): 1576-1584.

Barreda, V. D., Palazzesi, L., Tellería, M. C., Olivero, E. B., Raine, J. I., & Forest, F. (2015). Early evolution of the angiosperm clade Asteraceae in the Cretaceous of Antarctica. *Proceedings of the National Academy of Sciences. 112*(35): 10989-10994.

Bassil, E. S., & Kaffka, S. R. (2002). Response of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) to saline soils and irrigation: I. Consumptive water use. *Agricultural water management. 54*(1): 67-80.

- Beara, I.N., Marija, M., Lesjak Dejan, Z., Orcic Natasa, D., Simin Dragana, D., Cetojevi, C., Simin Biljana, N., Bozin, N., & Mimica-Dukic, M. (2012). Comparative analysis of phenolic profile, antioxidant, anti-inflammatory and cytotoxic activity of two closely-related Plantain species: *Plantago altissima* L. and *Plantago lanceolata* L. *LWT - Food Sci Tech.* 47: 64-70.
- Beloued, A. (2009). Les plantes médicinales d'Algérie, technicien supérieur, département de botanique à l'institut nationale agronomique d'El-harrach-Alger, 5ème édition, Ed office des publications universitaires. 100 p.
- Belyagoubi-Benhammou, N., Belyagoubi, L., Gismondi, A., Di Marco, G., Canini, A., & Bekkara, F. A. (2019). GC/MS analysis, and antioxidant and antimicrobial activities of alkaloids extracted by polar and apolar solvents from the stems of *Anabasis articulata*. *Medicinal Chemistry Research.* 28(5): 754-767.
- Benhamza, L. (2008). Effets biologiques de la petite centaurée *Erythraea centaurium* (L) Pers. Thèse de doctorat d'état en Sciences Vétérinaires. Université Mentouri de Constantine, faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, département des sciences vétérinaires. 266 p.
- Benhouhou, S. (2005). A Guide to Medicinal Plants in North Africa: Database on Medicinal plants. *IUCN Center for Mediterranean Cooperation, Malaga, Spain.* p 31-32.
- Bennetau-Pelissero, C. (2014). Polyphenols and cellular pathways, Recent data. *Food Nutrition Research.* 15(2): 1-6.
- Berki, T., Boldizsár, F., Pálinkás, L., Bartis, D., & Németh, P. (2003). Antigen and glucocorticoid hormone (GC) induce positive selection of DP thymocytes in a TcR transgenic mouse model. *Immunology letters.* 90(2-3): 97-102.
- Bernard, W. (2011). Ressources végétales riches en polyphénols. Pharmacognosie et Molécules Naturelles Bioactives, Faculté de Pharmacie - Université de Strasbourg. p22-27.
- Berthelot-Ricou, A., Perrin, J., Orsiere, T., Aye, M., Roustan, A., Botta, A., & Courbiere, B. (2013). Genotoxicity risk assessment and oocytes: basis of genetic toxicology and application in reproductive science. *Gynecologie, obstetrique & fertilité.* 41(9): 544-547.
- Bertrand, C. (2009). Caractéristiques des extraits végétaux simples et intérêt agroenvironnemental. Laboratoire de Chimie des Biomolécules et de l'environnement – Université de Perpignan.

- Bhattarai, K., Pokharel, B., Maharjan, S., & Adhikari, S. (2018). Chemical Constituents and Biological Activities of Ginger Rhizomes from Three Different Regions of Nepal. *I(1)*: 1-12.
- Birt, D. F., Hendrich, S., & Wang, W. (2001). Dietary agents in cancer prevention: flavonoides and isoflavonoides. *Pharmacol. Ther.* *90(2-3)*: 157-177.
- Bonnaille, C., Salacs, M., Vassiliova, E & Saykova, I. (2012). Etude de l'extraction des composés phénoliques à partir des pellicules d'arachide (*Arachis hypogaea* L). *Revue de génie industriel.* *7(2)*: 35-45.
- Bougandoura, N., & Bendimerad, N. (2013). Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* ssp. *Nepeta* (L.) Briq. *Nature & Technology.* *9*: 14-19.
- Bourmita, Y., Belboukhari, N., Cheriti, A., & Ould El Hadj, M. D. (2013). Recherche Préliminaire des Sources Végétales Sahariennes à Alcaloïdes pour Usage Bio-Insecticides. *Algerian journal of arid environment.* *258(1624)*: 1-10.
- Bouterfase, K., Mehdadi, Z., Latreche, A., Hazem, Z., & Bouredja, N. (2013). Quantification de quelques polyphénols de *Marrubium vulgare* L. du mont de Tessala (Algérie occidentale) pendant les deux périodes de végétation et de floraison. *Les technologies de laboratoire.* *8(31)*. 34-41.
- Bouxiid, H. (2012). Les plantes médicinales et diabète de type 2. Thèse de doctorat en médecine. Université Sidi Mohammed Ben Abdellah, Faculté de Médecine et de Pharmacie Fes. Maroc. 106p.
- Brigitte Speck, Ursula & Christian Fotsch. (2016). EGK-Caisse de Santé Connaissance des herbes, Plantain lancéolé, Brislachstrasse 2 p.
- Brindzová, L., Mosovská, S., Mikulášová, M., Valík, L., & Mikusová, L. (2010). Genotoxic and antimutagenic activities of extracts from pseudocereals in the *Salmonella* mutagenicity assay, *Food Chemical Toxicology.* *48(6)*: 1483-7.
- Bruneton, J. (2009). Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes Médicinales, 4^{ème} édition. *Tec & Doc/Lavoisier, Paris.* 279-281.

C

- Chen, J., Shen, Y., Chen, C., & Wan, C. (2019). Inhibition of Key Citrus Postharvest Fungal Strains by Plant Extracts In Vitro and In Vivo: A Review. *Plants (Basel)*. 8(2): 26-45.
- Cheynier, V., Comte, G., & Davies, K.M. (2013). Plant phenolics: recent advances on their biosynthesis, genetics, and ecophysiology. *Plant Physiol Biochem*. 72: 1-20.
- Chiavegatto, R. B., Chaves, A. L. A., Silva, I. C. A., dos Santos Lima, L. A. R., & Techio, V. H. (2017). Cytotoxic and genotoxic effects of *Solanum lycocarpum* St.-Hil (Solanaceae) on the cell cycle of *Lactuca sativa* and *Allium cepa*. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*. 39(2): 201-210.
- Chira, K., Teisseédre, P.L., Saucier, C., & Suh, J.H. (2008). Les polyphénols du raisin. *Phytothérapie*. 6: 75-82.
- Choukry, K. A. Z. I. (2017). Les plantes à pollen allergisant en Algérie. *Algerian Journal of Natural Products*. 5(1): 405-416.
- Christelle, B. (2009). Phytothérapie et vigilance : Enquête auprès des pharmaciens officinaux de l'isere. 164 p.
- Cohen, H., Decordier I., & Lombaert, N. (2001). changes: induction, detection methods and applicability in human biomonitoring, *In Biochimie*. 126: 621-628.
- Corrêa, A. X., Cotelle, S., Millet, M., Somensi, C. A., Wagner, T. M., & Radetski, C. M. (2016). Genotoxicity assessment of particulate matter emitted from heavy-duty diesel-powered vehicles using the in vivo *Vicia faba* L. micronucleus test. *Ecotoxicology and environmental safety*. 127: 199-204.

D

- De Flora, S., & Ferguson, L. R. (2005). Overview of mechanisms of cancer chemopreventive agents. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*. 591(1-2): 8-15.
- Debbache-Benaida, N., Atmani-Kilani, D., Schini-Keirth, V.B., Djebbli, N., & Atmani, D. (2013). Pharmacological potential of extract as antioxidant, anti-inflammatory, *cardiovascular and hepatoprotective agent*. 3(9): 697-704.

- Debebe, E., Dessalegn, T., & Melaku, Y. (2018). Chemical constituents and antioxidant activities of the fruits extracts of *Piper capense*. *Bulletin of the Chemical Society of Ethiopia*. 32(1): 167-174.
- Dejean, C., & Richard, D. (2013). Mécanismes d'action des glucocorticoïdes. *La Revue de médecine interne*. 34(5): 264-268.
- Delattre, B. (2006). Biologie : La mitose. Edition Dunod. p 1-21.
- Dey, P., & Chaudhuri, T. (2016). Comparative phytochemical profiling and effects of nerium oleander extracts on the activities of murine peritoneal macrophages. *Archives of Biological Sciences*. 68(3): 515-531.
- Dhar, MK., Kour, J., & Kaul, S. (2019). Origin, Behaviour, and Transmission of B Chromosome with Special Reference to *Plantago lagopus*. *Genes*. 10(2): 152-169.
- Dhawan, V. (2014). Reactive oxygen and nitrogen species: general considerations. *In Studies on Respiratory Disorders*. 55(2): 27-47.
- Dias, M. I., Sousa, M. J., Alves, R. C., & Ferreira, I. C. (2016). Exploring plant tissue culture to improve the production of phenolic compounds: A review. *Industrial Crops and Products*. 82(3): 9-22.
- Didier, D. S., Emmanuel, M. M., Alfred, N., France, K. M., & Lagarde, B. J. (2011). Ethnobotanique et phytomédecine des plantes médicinales de Douala, Cameroun. *Journal of Applied Biosciences*. 37(9): 2496-2507.
- Dieng, M., Fall, A. D., Diatta, K., Diatta, W., & Bassene, E. (2015). Dosage des polyphénols et activité anti-oxydante de feuilles et d'inflorescences mâles de *Borassus aethiopum*, Mart.(Arecaceae). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*. 9(2): 1067-1071.
- Dif, M. M., Benchiha, H., Mehdadi, Z., Benali-Toumi, F., Benyahia, M., & Bouterfas, K. (2015). Étude quantitative des polyphénols dans les différents organes de l'espèce *Papaver rhoeas* L. *Phytothérapie*. 13(5): 314-319.
- Diffley, J.F. (2004). Regulation of early events in chromosome replication. *Current Biology*. 14: 778-786.

Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., & Vidal, N. (2006). Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Foodchemistry*. 97(4): 654-660.

Drava, G., Cornara, L., Giordani, P., & Minganti, V. (2019). Trace elements in *Plantago lanceolata* L., a plant used for herbal and food preparations: new data and literature review. *Environmental science and pollution research international*. 26(3): 2305-2313.

Dubey, V. S., & Bhalla, R., (2003). An overview of the non-mevalonate pathway for terpenoid biosynthesis in plants. *Journal Bioscience*. 28 (5): 637-646.

E

El Ouariachi, E., Hamdani, I., Bouyanzer, A., Hammouti, B., Majidi, L., Costa, J., Paolini, J. & Chetouani, A. (2014). Chemical composition and antioxidant activity of essential oils of *Thymus broussonetii* Boiss. and *Thymus algeriensis* Boiss. from Morocco, Asian Pacific. *Journal of Tropical Disease*. 4(4): 281-286.

Elaiyaraja, A., & Chandramohan, G. (2016). Comparative phytochemical profile of *Indoneesiella echioides* (L.) Nees leaves using GC-MS. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 5(6): 158.

Elord, S., & Stansfield, W. (2003). Génétique. 4^{ème} Edition. Dunod. Paris. 10 p.

Elqaj, M., Ahami, A & Belghyti, D. (2007). La phytothérapie comme alternative à la résistance des parasites intestinaux aux antiparasitaires. Journée scientifique "ressources naturelles et antibiotiques". Maroc.

Escarpa, A. & Gonzalez, M. C., (2001). Fast Separation of (poly) Phenolic Compounds from Apples and Pears by High-Performance Liquid Chromatography with Diode-array Detection. *Journal of Chromatography*. 2 (830): 301-309.

Escribano-Bailon, M.T. & Santos-Buelga, C. (2003). Polyphenols extract from food. In: method in polyphenol analysis. Edition Royal Society of Chemistry. p 1-16.

Eslava, O.M. (2004). Genotoxicity tests: Usefulness in occupational health Difficulties encountered in their application to the workers medical survey. *Archives of Public Health*. 62: 71-81.

F

- Fattinger, K., & MeierAbt, A. (2003). Interactions entre phytothérapie et médicaments. In *Forum Médical Suisse*. 3(29): 693-700.
- Fedel-Miyasato, L. E. S., Formagio, A. S. N., Auharek, S. A., Kassuya, C. A. L., Navarro, S. D., Cunha-Laura, A. L., & Oliveira, R. J. (2014). Antigenotoxic and antimutagenic effects of *Schinus terebinthifolius* Raddi in *Allium cepa* and Swiss mice: a comparative study. *Genet Mol Res*. 13: 3411-3425.
- Fernandes, L.M., Gersez, W.S., Montovani, M.S., Figueiredo, P.O., Fernandes, C.A., Garsez, F.R., & Guterres, Z.R. (2013). Assesment of the in vitro and in vivo genotoxicity of extracts and indole monoterpane alkaloid from the roots of *Galianthe thalictroides*(rubiaceae). *Food and chemical toxicology*. 59: 405-411.
- Firbas, P., & Amon, T. (2013). Allium Chromosome Aberration Test for Evaluation Effect of Cleaning Municipal Water with Constructed Wetland (CW) in Sveti Tomaž, Slovenia. *Journal Bioremed Biodegradation*. 4: 189.
- Firbas, P., & Amon, T. (2014). Chromosome damage studies in the onion plant *Allium cepa* L. *Caryologia*. 67(1): 25-35.

G

- Gahbiche, S. (2009). La phytothérapie. École supérieure des sciences et techniques de la sante de Sousse. Section: hydro-thermo-thalasso-thérapie.6 p.
- Gálvez, M., Martín-Cordero, C., Houghton, P. J., & Ayuso, M. J. (2005). Antioxidant activity of methanol extracts obtained from *Plantago* species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53(6): 1927-1933.
- Gervais, P. (2016). Les produits Gervol, Le plantain lancéolé, Caplan (Québec). (418) 388-2025.
- Ghedira, K., Goetz, P., & Le Jeune, R. (2008). *Plantago major* L. et *Plantago lanceolata* L.(Plantaginaceae). *Phytothérapie*. 6(6): 367-371.
- Gonçalves, S., & Romano, A. (2016). The medicinal potential of plants from the genus *Plantago* (Plantaginaceae). *Industrial Crops and Products*. 83: 213-226.

Gonçalves, S., Moreira, E., Andrade, P.B., Valentão, P., & Romano, A. (2018). Effect of in vitro gastrointestinal digestion on the total phenolic contents and antioxidant activity of wild Mediterranean edible plant extracts. *European Food Research and Technology*. 245(3): 753-762.

González, J., Soledispa, P. A., Cuellar, A., Perez, J., & Monan, M. (2018). Chemical Characterization by GC/MS of Ethanolic Extract from the Wood of *Talipariti Elatum* Sw.(Malvaceae). *SciFed Journal of Herbal Medicine*. 2: 1-2.

González-Gallego, J., García-Mediavilla, M. V., Sánchez-Campos, S., & Tuñón, M. J. (2010). Fruit polyphenols, immunity and inflammation. *British Journal of Nutrition*. 104(3): 15-27.

H

Halstead, F. D., Rauf, M., Moiemmen, N. S., Bamford, A., Wearn, C. M., Fraise, A. P., & Webber, M. A. (2015). The antibacterial activity of acetic acid against biofilm-producing pathogens of relevance to burns patients. *PloS one*. 10(9): 1-15.

Hami, H., Soulaymani, A., Skalli, S., Mokhtari, A., Sefiani, H., & Soulaymani, R. (2011). Intoxication par *Atractylis gummifera* L. Données du centre antipoison et de pharmacovigilance du Maroc. *Bulletin de la Société de pathologie exotique*. 104(1): 53-57.

Hamid, A. A., Zubair, M. F., Olajide, F. O., Ibrahim, S. O., Shehu, A., Bale, M. I. & Jimoh, A. (2018). Chemical compositions from the leaf extracts of *Funtumia africana* (Benth.) stapf with its antioxidant and anti-inflammatory activity. *Nigerian Journal of Chemical Research*. 23(2): 83-96.

Hanaoka, F. & Sugawara, K. (2016). DNA replication, recombination, and repair: Molecular mechanisms and pathology. *DNA Replication, Recomb. Repair Mol. Mech. Pathol.* p 1-555

Hanna, K. (2005). Chromosome breakage at high dose rates. *Mutation Research*. 182: 270-271.

Harbilas, D., Martineau, L. C., Harris, C. S., Adeyiwola-Spoor, D. C., Saleem, A., Lambert, J., & Arnason, J. T. (2009). Evaluation of the antidiabetic potential of selected medicinal plant extracts from the Canadian boreal forest used to treat symptoms of diabetes: part II. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*. 87(6): 479-492.

Harkati, B. (2011). Valorisation et identification structurale des principes actifs de la plante de la famille *Asteraceae* : *Scorzonera undulata*. Thèse doctorat : Chimie organique : Constantine : Université de Mentouri Constantine. p 4-5.

Hassemer, G., Iamónico, D., Rønsted, N., & Di Pietro, R. (2017). Typification of the Linnaean names *Plantago serraria* and *P. subulata* (*Plantago* subgenus *Coronopus*, *Plantaginaceae*). *Taxon*. 66(3): 738-741.

Hassemer, G. (2019). Novelties and notes on *Plantago* sect. *Virginica* (*Plantaginaceae*), including the description of a new species and a revised identification key. *Webbia*. 74(1): 29-41.

Hassemer, G., Bruun-Lund, S., Shipunov, A.B., Briggs, B.G., Meudt, H.M., & Ronsted, N. (2019). The application of high-throughput sequencing for taxonomy: The case of *Plantago* subg. *Plantago* (*Plantaginaceae*). *Molecular phylogenetics and evolution*. 138:156-173.

Hassemer, G., Shipunov, A.B., Ronsted, N., & Meudt, H.M. (2018). Taxonomic and geographic novelties in the genus *Plantago* (*Plantaginaceae*) in Chile, including the description of a new species. *Phytotaxa*. 340(2): 137-156.

Hess, M. (2002). Alkaloids, Nature's Curse or Blessing, 1ière edition, Wiley-VCH, Newyork. p 1-297.

Hister, C. A. L., Boligon, A. A., Dail Laughinghouse IV, H., & Tedesco, S. B. (2017). Determination of phenolic compounds and assessment of the genotoxic and proliferative potential of *Psidium cattleianum* Sabine (*Myrtaceae*) fruits. *Caryologia*. 70(4): 350-356.

Hmamouchi, I., Rachidi, M., Abourazzak, F. E., Khazzani, H., Bennani, L., Bzami, F., & Allali, F. (2012). Pratique traditionnelle d'utilisation des plantes médicinales marocaines en rhumatologie. *Rev Mar Rhum*. 22(5): 52-60.

Houdret, J.C. (2004). Bien se soigner par les plantes, Un guide pratique pour traiter et affections du quotidien de toute la famille. Pocket Evaluation. 633p.

I

Iamónico, D., Hassemer, G., Rønsted, N. & Di Pietro, R. (2017). The intricate nomenclatural questions around *Plantago holosteum* (*Plantaginaceae*). *Phytotaxa*. 306: 75–84.

Ibrahim, H., Aziz, AN., Syamsir, DR., Ali, NAM., Mohtar, M., Ali, RM., & Awang, K. (2009). Essential oils of *Alpinia conchigera* Griff. and their antimicrobial activities. *Food Chemistry*. 113(2): 575-577.

Idowu, O.T. (2017). Antimicrobial Activity & Fatty Acids from *Ipomea* Ochraceae. *International Journal of Advances in Agriculture Sciences*. 2(6): 1-3.

Ielpo M.T.L., Bosile, A., Miranda, R., Moscatiello, V., Nappo, C., Sorbio, S., Laghi, E., Ricciardi, M.M., Ricciardi, L., & Vuotto, M.L. (2000). Immunopharmacological properties of flavonoids. *Fitoterapia*. 71: 101-109.

Iengar, V. (2012). Characterization of complex chromosomal rearrangement. *Mutation Research*. 92: 3-7.

J

Jack, J.P. (2003). Génétique moléculaire humaine: une introduction aux mécanismes des maladies héréditaires. 1^{ère} édition. Belgique : De Boeck. p 27-31.

Jamilah, J., Sharifa, A.A. & Sharifah, N.R.S. (2012). GC-MS Analysis of Various Extracts from Leaf of *Plantago major* Used as Traditional Medicine. *World Applied Sciences Journal*. 17: 67-70.

Jia-Xi, L., Chun-Xia, Z., Ying, H., Meng-Han, Z., Ya-Nan, W., Yue-Xin, Q., & De-An, G. (2019). Application of multiple chemical and biological approaches for quality assessment of *Carthamus tinctorius*, L. (safflower) by determining both the primary and secondary metabolites. *Phytomedicine*. 58: 152826.

Johnson, A. & Skotheim, J. M. (2013). Start and the restriction point. *Curr. Opin. Cell Biology*. 25: 717-723.

K

Kadhim, M. J., Al-Rubaye, A. F., & Hameed, I. H. (2017). Determination of Bioactive Compounds of Methanolic Extract of *Vitis Vinifera* Using GC-MS. *International Journal of Toxicological and Pharmacological Research*. 9(2): 113-126.

Kalitsis, P., Zhang, T., Marshall, K. M., Nielsen, C. F., & Hudson, D. F. (2017). Condensin, master organizer of the genome. *Chromosome research*. 25(1): 61-76.

- Karthick, P., Mohanraju, R., Murthy, K. N., Ramesh, C. H., Mohandass, C., Rajasabapathy, R., & Kumar, S. V. (2015). Antimicrobial activity of *Serratia* sp isolated from the coralline red algae. *Amphiroa anceps*. 44(12): 1857-1866.
- Khalaf, H. A. A. D., Mahdi, M. F., & Abaas, I. S. (2018). Preliminary Phytochemical and GC-MS analysis of chemical constituents of Iraqi *Plantago lanceolata* L. Al-Mustansiriyah. *Journal of Pharmaceutical Sciences (AJPS)*. 18(2): 114-121.
- Khan, M.S., Yusufzai, S.K., Kaun, L.P., Shah, M.D., & Idris, R. (2016). Chemical composition and antioxidant activity of essential oil of leaves and flowers of *Alternanthera sessilis* red from Sabah. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 6(12): 157-161.
- Khan, S., Ajmal, L., Tarroumi, M., & Ashrafi, M. (2011). Detection of sodium azide induced mutagenicity in the regenerated Shoots of *Artemisia* annual, using internal transcribed spacer (ITS) sequences of nrDNA, Pakistan. *Botanic*. 43(4): 2183-2186.
- Khan, S., AL-Qurainy, F., & Anwar, F. (2009). Sodium azide : a chemical mutagen for enhancement of agronomic trait of crop plants, *Environ. We international Journal Society and Technology*. 4: 1-21.
- Khouchlaa, A., Talbaoui, A., El Idrissi, A. E. Y., Bouyahya, A., Lahsen, S. A., Kahouadji, A., & Tijane, M. (2018). Détermination des composés phénoliques et évaluation de l'activité litholytique in vitro sur la lithiase urinaire d'extrait de *Zizyphus lotus* L. d'origine marocaine. *Phytothérapie*. 16(1): 14-19.
- Kim, H.P., Lim, H. & Kwon, Y.S. (2017). Therapeutic potential of medicinal plants and their constituents on lung inflammatory disorders. *Biomolecules and Therapeutics*. 25(2): 91-104.
- Klug, W.S., Cummings, M.R. & Spencer, C. A. (2006). Génétique. 8ème édition. Pearson. Paris. 872 p.
- Kolak, U., BořGa, M., Akalin, U., & Ulubele, A. (2011). Constituents of *Plantago major* subsp. *intermedia* with antioxidant and anticholinesterase. Capacities. *Tubitak*. 35: 637-645.
- Kollia, E., Markaki, P., Zoumpoulakis, P., & Proestos, C. (2016). Antioxidant activity of *Cynara scolymus* L. and *Cynara cardunculus* L. extracts obtained by different extraction techniques. *Nat Prod Res*. 11:1-5.

Kpatinvoh, B., Adjou, E. S., Dahouenon-Ahoussi, E., Konfo, T. C., Atrevi, B., Soumanou, M. M., & Sohounhloue, D. C. (2017). Efficacité des huiles essentielles de trois plantes aromatiques contre la mycoflore d'altération du niébé (*Vigna unguiculata* L., Walp) collecté dans les magasins de vente du Sud-Bénin. *Journal of Applied Biosciences*. 109(1): 10680-10687.

Kreitschitz, A., Kovalev, A., & Gorb, S.N. (2016). "Sticky invasion" - the physical properties of *Plantago lanceolata* L. seed mucilage. *Beilstein journal of nanotechnology*. 7: 1918-1927.

Kris-Etherton, P. M.; Hecker, K. D.; Bonanome, A.; Coval, S. M.; Binkoski, A. E.; Hilpert, K. F.; Griel, A. E. & Etherton, T. D. (2002). Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. *American Journal of Medcin*. 113: 71-88.

Kura' s, M., Nowakowska , J., Sliwi, F., Pilarski, R., Ilasz,R., Tykarska, T., Zobelc, A., & Gulewicz, K., (2006). Changes in chromosome structure, mitotic activity and nuclear DNA content from cells of *Allium Test* induced by bark water extract of *Uncariatomentosa* (Willd.) DC. *Journal of Ethnopharmacology*. 107: 211–221.

L

Laccourreye, O., Werner, A., Laccourreye, L., & Bonfils, P. (2017). La phytothérapie enpratique clinique en otorhinolaryngologie: apport, limites et risques. *Annales françaises d'Oto-rhinolaryngologie et de Pathologie Cervico-faciale*. 134(2) : 90-95.

Laid, Z. (2016). Etude phytochimique et Evaluation biologique des extraits organiques des différents parties de LIMONASTRIUM. Thèse de doctorat en chimieorganique p 27-28.

Lechat, P. (2006) : pharmacologie clinique .Université Pierre et Marie Curie. p 349.

Leduc, C., Coonishish, J., Haddad, P., & Cuerrier, A. (2006). Plants used by the Cree Nation of Eeyou Istchee (Quebec, Canada) for the treatment of diabetes: a novel approach in quantitative ethnobotany. *Journal of Ethnopharmacology*. 105(1-2): 55-63.

Li L., Zhou Y., Sun L., Xing G., Tian C., Sun J., Zhang L. & He F. (2007). NuSAP is degraded by APC/C-Cdh1 and its overexpression results in mitotic arrest dependent of its microtubules affinity. *Cell Signal*. 19: 2046-55.

Li, K., Geng, Simonsen, J. & Karchesy, J. (2004). Novel wood adhesives from condensed tannins and polyethyl enimine, Internationa. *Journal of Adhesion and Adhesives*. 24: 327-333.

Lim, F. L., Yam, M. F., Asmawi, M. Z., & Chan, L. K. (2013). Elicitation of *Orthosiphonstamineus* cell suspension culture for enhancement of phenolic compounds biosynthesis and antioxidant activity. *Industrial crops and products*. 50(6): 436-442.

Liman, R., Acikbas, Y., Cigerci, I.H. (2019). Cytotoxicity and genotoxicity of cerium oxide micro and nanoparticles by *Allium* and Comet tests. *Ecotoxicology and environmental safety*. 168:408-414.

M

Madivoli, E. S., Kareru, P. G., Maina, E. G., Nyabola, A. O., Wanakai, S. I., & Nyang'au, J. O. (2019). Biosynthesis of iron nanoparticles using *Ageratum conyzoides* extracts, their antimicrobial and photocatalytic activity. *SN Applied Sciences*. 1(5): 500-511.

Maksimović, Z., Malencic, N. & Kovacevic, N. (2005). Polyphénol contents and antioxidant activity of *Maydis stigma* extracts. *Bioresource Technology*. 96(8): 873-877.

Marinho, F. F., Simões, A. O., Barcellos, T., & Moura, S. (2016). Brazilian *Tabernaemontana* genus: Indole alkaloids and phytochemical activities. *Fitoterapia*. 114: 127-137.

Marmouzi, I., El Karbane, M., El Hamdani, M., Kharbach, M., Naceiri Mrabti, H., Alami, R., Dahraoui, S., El Jemli, M., Ouzzif, Z., & Cherrah, Y. (2017). Phytochemical and pharmacological variability in Golden Thistle functional parts: comparative study of roots, stems, leaves and flowers. *Natural product research*, 31(22): 2669-2674.

Martin, D. A., & Bolling, B. W. (2015). A review of the efficacy of dietary polyphenols in experimental models of inflammatory bowel diseases. *Food & function*. 6(6): 1773-1786.

Martins, N., Barros, L., Henriques, M., Silva, S., & Ferreira, I. C. (2015). Activity of phenolic compounds from plant origin against *Candida* species. *Industrial Crops and Products*. 74(2): 648-670.

Medjahed, Z., Atman-Kilani, D. I. N. A., Fauconnier, M. L., Richard, G., & Atmani, D. (2016). Hepatoprotective and antidiabetic activities of *Fraxinus angustifolia* Vahl extracts in animal models: characterization by high performance liquid chromatography analysis. *Turkish journal of medical sciences*. 46(3): 910-920.

Meijer, L. (2003). Le cycle de division cellulaire et sa régulation. *Oncologie*. 5: 311-326.

Meijer, L. (2006). Le cycle de division cellulaire et sa régulation. *Bulletin du cancer*. 93(4): 41-53.

Mesi, A. & Kopliku, D. (2013). Cytotoxic and Genotoxic Potency Screening of Two Pesticides on *Allium cepa* L. *Procedia Technology*. 8: 19-26.

Mezache, N. (2010). Détermination structurale et évaluation biologique de substances naturelles de quelques espèces de la famille *Asteraceae* : *Senecio giganteus* Desf. et *Chrysanthemum myconis* L. Thèse Doctorat: Phytochimie: Constantine : Université Mentouri Constantine. p 4-5.

Mohy El-Din, S.M., & Mohyeldin, M.M. (2018). Component Analysis and Antifungal Activity of the Compounds Extracted from Four Brown Seaweeds with Different Solvents at Different Seasons. *Journal of Ocean University of China*. 17(5): 1178-1188.

Moure, A., Franco, D., Sineiro, J., Dominguez, H., Nunez, M.J., & Lema, J.M. (2000). Evaluation of extracts from *Gevuinaavellana* hulls as antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 48 : 3890-3997.

Mueller-Harvey, I. (2001). Unravelling the conundrum of tannins in animal nutrition and health. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 86: 2010 - 2037.

N

Nabors, M. (2009). Biologie végétale. Structure, fonctionnement, écologie et biotechnologie. Edition Pearson. Paris. 640p.

Nichita, C., Neagu, G., Cucu, A., Vulturescu, V., & Bereşteanu, S. V. G. (2016). Antioxidative properties of *Plantago lanceolata* L. extracts evaluated by chemiluminescence method. *AgroLife Scientific Journal*. 5(2): 95-102.

Nikkhah, E., Asnaashari, S., Babaei, H., Heshmati Afshar, F., & Delazar, A. (2017). Chemical composition and biological activities of essential oil and methanol extract of *Scrophularia umbrosa*. *Research Journal of Pharmacognosy*. 4(1): 41-50.

Nkhili, E.Z. (2009). Polyphénols de l'Alimentation : Extraction, Interactions avec les ions du Fer et du Cuivre, Oxydation et Pouvoir antioxydant. Diplôme de Doctorat. Sciences des Aliments, Ecole doctorale 306 – SPSA, MONTPELLIER, p.328.

O

Odchimar, N. M. O., Nuñeza, O. M., Uy, M. M., & Senarath, W. T. P. S. K. (2016). Antioxidant activity, total phenolic content, and GC-MS analysis of the root of Kawilan (*Embeliaphilippinensis* A. DC.). *Bulletin of Environment. Pharmacology and Life Sciences*. 5(5): 42-47.

Olgun, Ç., Özkan, O.E., Güney, B., Pattabanoglu, E.S., Güney, K., & Gür, M. (2017). Chemical Composition and Antimicrobial Activity in Cold Press Oil of Fennel, Anise, White and Black Mustard Seeds. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*. 51(3): 200-204.

Oliveira, V. P. C., De Sousa, G. R., De Araujo, M. P. T., Carneiro, L. C., De Andrade, D. M. L., Porto, H. K. P., & de Moraes Filho, A. V. (2017). Evaluation of the Mutagenic Potential of Glucocorticoids by *Allium cepa*. *Mutagenesis*. 7(1): 1-7.

OliveiraMaia, D., de SouzaChagas, A. M., de Morais Araújo, A. M., de Mendonça Júnior, A. V., de Lima Ferreira, I. M., Lemos, F. C. D., & Gondim, A. D. (2018). Catalytic pyrolysis of glycerol in the presence of Nickel (II) Schiff base complex supported in SBA-15: Kinetic and products (TG-FTIR and PY-CG/MS). *Thermochimica acta*. 669: 160-168.

Oprică, L., Mihaela, I. V. A. N., Grigore, M. N., & Zamfirache, M. M. (2015). Antioxidant activity of *Plantago* species in vegetative and flowering stages. *Iranian journal of public health*. 44(1): 142-144.

Oramahi, H.A., Yoshimura, T., Diba, F., & Setyawati, D. N. (2018). Antifungal and antitermitic activities of wood vinegar from oil palm trunk. *Journal of Wood Science*. 64(3): 311-317.

Ouzid, Y., Smail-Saadoun, N., & Houali, K. (2018). Comparative study of in vitro antioxidant activity of foliar endophytic fungi and leaves extracts of *Peganumharmala* of Dayateaiat (Laghouat, Algeria). *Journal of Fundamental and Applied Sciences*. 10(1): 147-157.

Oyeyemi, I. T., & Bakare, A. A. (2013). Genotoxic and anti-genotoxic effect of aqueous extracts of *Spondias mombin* L., *Nymphaea lotus* L. and *Luffa cylindrica* L. on *Allium cepa* root tip cells. *Caryologia*. 66(4): 360-367.

P

Pantaleão, S., Santos J., Linacher T., Santos C., Estevam C., & Costa N. (2018). Genotoxicity assessment of *Schinopsis brasiliensis* Engl. (Sapindales: Anacardiaceae) in somatic cells of

Drosophila melanogaster (Meigen, 1830) (Diptera: Drosophilidae). *Brazilian Journal of Biological Sciences*. 5(10): 471-479.

Peng, W., Li, D., Zhang, M., Ge, S., Mo, B., Li, S., & Ohkoshi, M. (2017). Characteristics of antibacterial molecular activities in poplar wood extractives. *Saudi journal of biological sciences*, 24(2): 399-404.

Petit J.M., et Julien R. (2007). Mini manuel de génétique. Edition Dunod. Paris. 260p.

Poisson, L., Schaerer, A., Spreng, S., Mestdagh, F., Blank, I., & Davidek, T. (2019). Generation of alpha-Diketones and 4-Hydroxy-2,5-dimethyl-3(2 H)-furanone upon Coffee Roasting-Impact of Roast Degree on Reaction Pathways. *Journal of agricultural and food chemistry*. 10: 1021-1032.

Polo, S., Tardio, J., Velez-del-Burgo, A., Molina, M., & Pardo-de-Santayana, M. (2009). Knowledge, use and ecology of golden thistle (*Scolymus hispanicus* L.) in central Spain. *Journal of ethnobiology and ethnomedicine*. 5: 42-55.

Potapova, T. & Gorbsky, G. (2017). The Consequences of Chromosome Segregation Errors in Mitosis and Meiosis. *Biology (Basel)*. 6(1): 12-45.

Prajitha, V., & Thoppil, J. E. (2016). Genotoxic and antigenotoxic potential of the aqueous leaf extracts of *Amaranthus spinosus* Linn. using *Allium cepa* assay. *South African Journal of Botany*. 102: 18-25.

Prosser, S. L., & Pelletier, L. (2017). Mitotic spindle assembly in animal cells: a fine balancing act. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 18(3): 187-201.

Pudziuvelyte, L., Stankevicius, M., Maruska, A., Petrikaite, V., Ragazinskiene, O., Draksiene, G., & Bernatoniene, J. (2017). Chemical composition and anticancer activity of *Elsholtzia ciliata* essential oils and extracts prepared by different methods. *Industrial Crops and Products*. 107: 90-96.

Q

Qari Sameer, H. (2008). *In vitro* evaluation of the anti-mutagenic effect of *Origanum majorana* extract on the meristemetic root cells of *Vicia faba*. *Qari / JTUSCI*. 1: 6-11.

Qlihaa, A., Dhimni, S., Melrhaka, F., Hajjaji, N., & Srhiri, A. (2016). Caractérisation physico-chimique d'une argile Marocaine Physico-chemical characterization of a morrocan clay. *J. Mater. Environ. Sci.* 7(5): 1741-1750.

Quari, H. M. (2010). DNA-RADP Fingerprinting and cytogenetic screening of genotoxic and antigenotoxic effects of aqueous extracts of *Costus Speciosus* (Koen). *Journal of King Abdulaziz University: Science.* 22(1): 133-152.

R

Raffin, A. L. (2009). Phénotypage de la réparation de l'ADN de lignées *Xeroderma pigmentosum* par un test *in vitro* multiparamétrique, Thèse Doctorale de l'Université Joseph Fourier- Grenoble I, Ecole Doctorale Chimie et Science du Vivant laboratoire lésions des Acides Nucléiques CEA Grenoble/ NAC/ SC/B/LAN. p 281.

Ragunathan, L., & Pannercsel, N. (2007). Antimutagenic potentiel of curcumin on chromosomal aberrations in *Allium cepa*. *Journal of Zhejiang University Science B.* 8(7): 470-475.

Rashed, K., Anthonissen, R., Cappoen, D., Verschaeve, L., & Rashed, K. (2015). Photochemical Composition and Potential Genotoxic effects of Important Egyptian Medicinal Plants. *Pharmacognosy Communications.* 5(3): 207-216.

Robert, K. (1983). Utilisation de carmin acétique dans la classification des A garis leucosporés. *Société linnéenne de Lyon.* 7: 204-211.

Roberto, M.M., Jamal, C.M., Malaspina, O., & Marin-Morales, M.A. (2016). Antigenotoxicity and antimutagenicity of ethanolic extracts of Brazilian green propolis and its main botanical source determined by the *Allium cepa* test system. *Genetics and molecular biology.* 39(2): 257-269.

Rodzko, V. (2000). Abécédaire de phytothérapie, Liste alphabétique de plantes médicinales. 70p.

Roemer, E., Zenzen, V., Conroy, L.L., Luedemann, K., Dempsey, R., Schunck, C., & Sticken, E.T. (2015). Automation of the *in vitro* micronucleus and chromosome aberration assay for the assessment of the genotoxicity of the particulate and gas-vapor phase of cigarette smoke. *Toxicology mechanisms and methods.* 25(4): 320-333.

Rubegeta, E., Ahmad, A., Kamatou, G.P.P., Sandasi, M., Sommerlatte, H., & Viljoen, A.M. (2019). Headspace analysis, antimicrobial and anti-quorum sensing activities of seven selected African Commiphora species. *South African Journal of Botany*. 122: 522-528.

S

Sarni-manchado, P. & Cheynier, V. (2006). Les polyphénols en agroalimentaire. Edition Technologie et documentet. Paris. p 9.

Sassoui, D., Seridi, R., Azine, K., & Houmani, Z. (2019). Évaluation des teneurs en oméga-3 et effet antidépressif des extraits de Portulaca oleracea L. *Phytothérapie*. 17(1): 23-30.

Sati, A., Sati, S.C., Sati, N., & Sati, O.P. (2017). Chemical composition and antimicrobial activity of fatty acid methyl ester of Quercus leucotrichophora fruits. *Natural product research*. 31(6): 713-717.

Schauenberg, P. (2013). Les plantes médicinales. médic. Paris :delachaux et niéstlé.p 396.

Ser, H.L., Palanisamy, U.D., Yin, W.F., Chan, K.G., Goh, B.H., & Lee, L.H. (2016). Streptomyces malaysiense sp. nov.: A novel Malaysian mangrove soil actinobacterium with antioxidative activity and cytotoxic potential against human cancer cell lines. *Scientific reports*. 6: 1-12.

Sereme, A., Millogo-Rasolodimby, J., Guinko, S., & Nacro, M., (2010). Anatomy and tannins concentration in tannins producing species of burkinafaso. *Journal of ofscience*. 10(2): 24-32.

Servi, H., Keskin, B. E., Yılcıoğlu, K., & Çelik, S. (2019). Essential oil composition and antibacterial activities of Gypsophila species. *International Journal of Secondary Metabolite*. 6(1): 20-27.

Sganzerla, W. G., Schmit, R., Melo, M. D., Azevedo, M. S., Ferreira, P. I., de Lima Veeck, A. P., & Ferrareze, J. P. (2019). Rumex obtusifolius is a wild food plant with great nutritional value, high content of bioactive compounds and antioxidant activity. *Emirates Journal of Food and Agriculture*. 31(4): 315-320.

Shah, S., Thapa, BB., Chand, K., Pradhan, S., Singh, A., Varma, A., Sen Thakuri, L., Joshi, P., & Pant, B. (2019). Piriformospora indica promotes the growth of the in-vitro-raised Cymbidium aloifolium plantlet and their acclimatization. *Plant signaling & behaviour*. 14(6): 1-7.

- Sheikh, S.A., Wani, M.R., Lone, M.A., Tak, M.A., & Malla, N.A. (2012). Sodium Azide induced biological damage and variability for quantitative traits and protein content in wheat (*Triticum Aestivum* L). *Journal of plant Genomics*. 2(1): 34-38.
- Shrestha, H. (2004). A Plant Monograph on onion (*Allium cepa* L.). The School of Pharmaceutique and Biomedical Sciences, Pokhara University, Simalchaur, Pokhara, Nepal p 90.
- Smahia, R., Nasser, B., Khaled, S., & Abdelkrim, C. (2016). Evaluation de L'activité Anti-Inflamatoire D'extrait Aquex de Feuilles *Limoniastrum feei* (Plumbaginacea). *Algerian Journal of Arid Environment "AJAE"*. 6(1).
- Smull, E. & Catling, P.M. (2000). Les cultures médicinales condiennes. National Research Council Conader. Conseil national de Recherches Conader. p 281.
- Soulama, S., Sanon, H.O., Meda, R.N., & Boussim, J.I. (2014). Teneurs en tanins de 15 ligneux fourragers du Burkina Faso. *Afrique Science: Revue Internationale des Sciences et Technologie*. 10(4): 180-190.
- Spigno, G., Tramelli, L., & De Faveri, D.M. (2007). Effect of extraxtion time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. *Journal of food Engineering*. 81: 200-208.
- Steward, W. P., & Brown, K. (2013). Cancer chemoprevention: a rapidly evolving field. *British journal of cancer*. 109(1): 1-7.
- Su, N., Ren, L., Ye, H., Sui, Y., Li, J., & Ye, M. (2016). Antioxidant activity and flavor compounds of hickory yogurt. *International Journal of Food Properties*. 20(8):1894-1903.
- Suryadinata, R., Sadowski, M., & Sarcevic, B. (2010). Control of cell cycle progression by phosphorylation of cyclin-dependent kinase (CDK) substrates. *Bioscience reports*. 30(4): 243-255.
- Șuțan, N. A., Uță, G., & Bărbuceanu, D. (2018). Oxidative stress and cytogenetic effects in root tip cells of *Allium cepa* L. induced by alcoholic extracts of *Leptinotarsa decemlineata* (Say). *Caryologia*. 71(4): 405-413
- .

T

Talib, W. H & Mahasneh, A. M. (2010) Antiproliferative Activity of Plant Extracts Used Against Cancer in Traditional Medicine. *University of Jordan, Amman-11942*. 78: 33-45.

Tatsuzaki, J., Jinwei, Y., Kojo, Y., Mine, Y., Ishikawa, S., & Mochizuki Mand Inami, K. (2014). Antimutagenicity screening of extracts from medicinal and edible plants against N-methyl-N-nitrosourea by the Ames assay. *Genes and Environment*. 36: 39-46.

Tedesco, S. B., & Laughinghouse IV, H. D. (2012). Bioindicator of genotoxicity: the *Allium cepa* test. In Environmental contamination. Intech Open. p 140.

Teerthe, S. S., & Kerur, B. R. (2016). X-Ray Mass Attenuation Coefficient of Medicinal Plant Using Different Energies 32.890 KeV to 13.596 KeV. *Materials Today: Proceedings*. 3(10): 3925-3929.

Ting, W., Zang X., Mengying, H., Siyi, P., & Xiaoyun, X. (2013). Structure–Activity Relationship of Flavonoids on Their Anti-Escherichia coli Activity and Inhibition of DNA Gyrase. *J. Agric. Food Chemistry*. 61(34): 8185–8190.

Trégner, T. (2018). Reductive Amination of 1-Hydroxy-2-propanone Over Nickel and Copper Catalysts. *Chemical and Biochemical Engineering Quarterly*. 31(4): 455-470.

U

Ujowundu, F. N., Ojiako, A. O., Nwaoguikpe, R. N., & Ujowundu, C. O. (2017). Gas Chromatography-Mass Spectrometry and Infra-Red Studies of Bioactive Phytoorganic Components of Combretum dolichopentalum Leaves. *International Journal Drug Development & Research*. 9(2): 10-15.

Umbuzeiro, G. D. A., Heringa, M., & Zeiger, E. (2016). In vitro genotoxicity testing: significance and use in environmental monitoring. In *In vitro Environmental Toxicology-Concepts, Application and Assessment*. Springer. Cham. pp. 59-80.

Uyar, Z., Koz, O., Uyar, E., Arslan, U., Koyuncu, I., & Nalbantsoy, A. (2017). Total Phenolic, Flavonoid, Fatty Acid Contents and Cytotoxic, Antioxidant, and Antimicrobial Activities of Hedysarum aucheri. *Journal of Pharmaceutical Research International*. 19(3): 1-13.

V

Vandana, C. D., Shanti, K. N., & Shantha, S. L. (2017). GC-MS analysis of callus and leaf extracts in vitro propagated plants of *Justicia wynaadensis* (Nees) T. Anderson. *International Journal Pharmacology Research*. 9: 535-543.

Vermerris, W., & Nicholson, R. (2006). Phenolic Compound Biochemistry: Chapter 3: Biosynthesis of phenolic compounds. p 63-134.

Vieira, de A., Passos, C. V., Rodrigues, G., Petit Teof, M., Carla Carn, L., Medeiros, L D., Karine Pae, H., & de Oliveir, M. (2017). Evaluation of the Mutagenic Potential of Glucocorticoids by *Allium cepa*. *Research Journal of Mutagenesis*. 7(1): 1-7.

Viuda-Martos, M., Fernández-López, J. & Pérez-Álvarez, J.A. (2010). Pomegranate and its Many Functional Components as Related to Human Health. A Review Comprehensive. *Reviews in Food Science and Food Safety*. 9: 635-654

W

Wided, K., Hassiba, R., & Mesbah, L. (2014). Polyphenolic fraction of Algerian propolis reverses doxorubicin induced oxidative stress in liver cells and mitochondria. *Pak Journal Pharmacology Sci*. 27(6): 1891-1897.

X

Xiano, H., Wang, J.X., Wang, G., Wang, J.Y. & li, G.K. (2009). Evaluation of vacuum microwave assisted extraction technique for the extraction of antioxidants from plant samples. *Journal of Chromatography A*. 1216: 8867-8873.

Y

Yavuz Kocaman, A., & Kılıç, E. (2017). Evaluation of the genotoxicity of commercial formulations of ethephon and ethephon+ cyclanilide on *Allium cepa* L. root meristematic cells. *Caryologia*. 70(3): 229-237.

Yinyang, J., Mpondo, E. M., Tchatat, M., Ndjib, R. C., Ottou, P. M., & Dibong, S. D. (2014). Les plantes à alcaloïdes utilisées par les populations de la ville de Douala (Cameroun). *Journal of Applied Biosciences*. 16(5): 650-612.

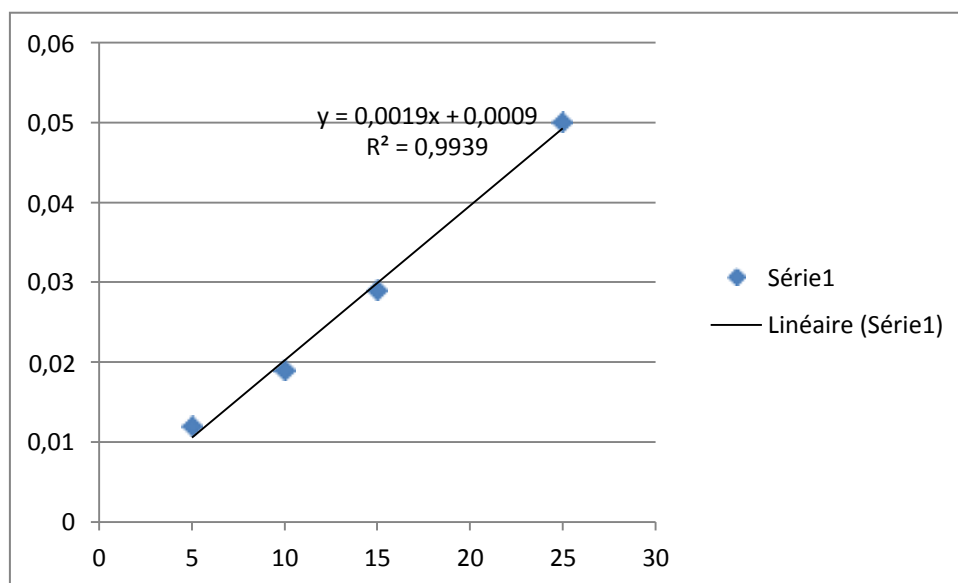
Z

Zeng, Q.H., Zhao, J.B., Wang, J.J., Zhang, X.W., & Jiang, J.G. (2016). Comparative extraction processes, volatile compounds analysis and antioxidant activities of essential oils from *Cirsium japonicum* Fisch. ex DC and *Cirsium setosum* (Willd.) M.Bieb. *LWT - Food Science and Technology*. 68: 595-605.

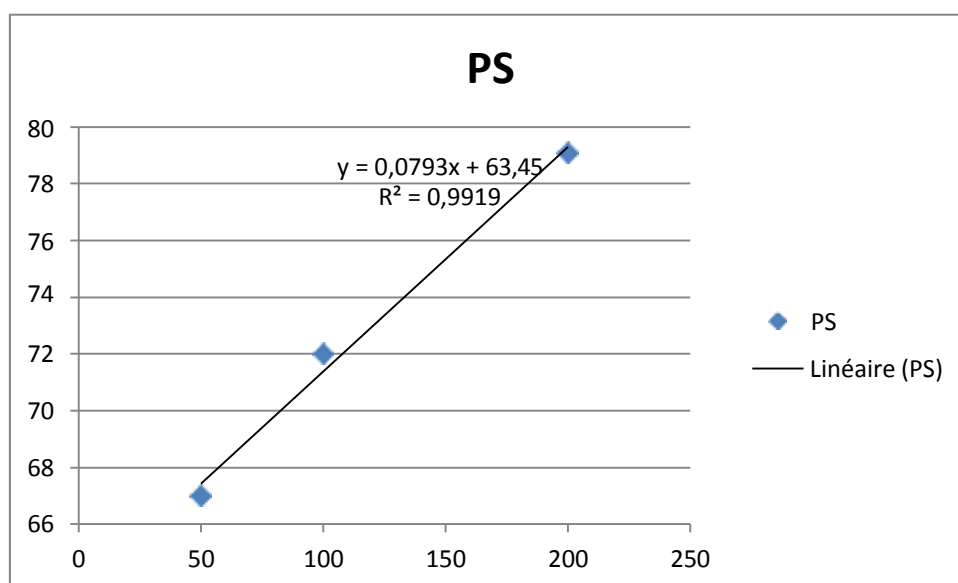
Zhang, K.M., Shen, Y., Yang, J., Miu, X., Bhowmik, P.C., Zhou, X., Fang, Y.M., & Xing, B.S. (2019). The defense system for *Bidens pilosa* root exudate treatments in *Pteris multifida* gametophyte. *Ecotoxicology and environmental safety*. 173: 203-213.

Zhao, J., Jiang, L., Tang, X., Peng, L., Li, X., Zhao, G., & Zhong, L. (2018). Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of the flower volatile oils of *Fagopyrum esculentum*, *Fagopyrum tataricum* and *Fagopyrum Cymosum*. *Molecules*. 23(1): 182-192.

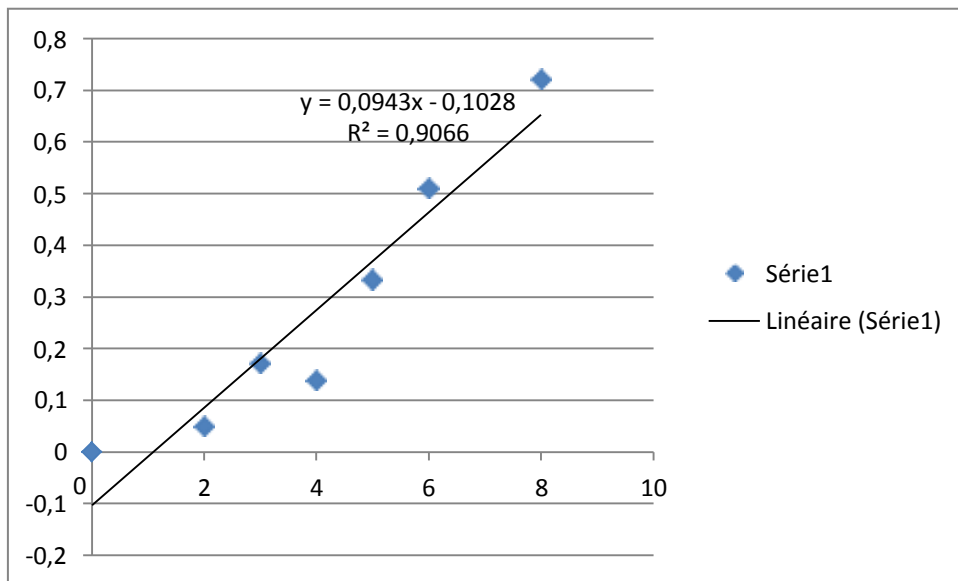
Annexe 1 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique



Annexe 2 : Courbe d'étalonnage de la rutine



Annexe 3 : Courbe d'étalonnage de l'acide tannique



Résumé

Plantago serraria, *Plantago lanceolata* et *Scolymus hispanicus* sont des plantes médicinales utilisées depuis toujours dans la région méditerranéenne (largement utilisées en Algérie) en médecine traditionnelle. Qualifiée de plantes médicinales pour ces intérêts thérapeutiques majeurs et son pouvoir de guérison de plusieurs maladies tel que le cancer. Le but de cette étude est l'évaluation des potentiels génotoxique et antigénotoxique des extraits éthanoliques de ses plantes médicinales locales, en utilisant le test de génotoxicité *Allium cepa*. Les extraits ont été testés à 50, 100 et 200 µg/ml, l'azide de sodium a été utilisé comme contrôle positif à 50, 100 et 200 µg/ml, et le DMSO comme contrôles négatifs, plus qu'un traitement combiné par d'azide de sodium (100 µg/ml) et les extraits de chaque plante (100 et 200 µg/ml) qui a permis l'évaluation de son pouvoir antigénotoxique. D'après les résultats de dosage des polyphénols totaux, flavonoïdes et tannins, les extraits éthanoliques des feuilles de trois plantes étudiées présentent une richesse en composés phénoliques: polyphénols et flavonoïdes, contre une pauvreté en tannins. Les teneurs élevées, notamment en phénols totaux et en flavonoïdes. La mesure des racines et le calcul des indices mitotiques et le dénombrement des micronoyaux sont les paramètres principaux de cette expérimentation, ceci en fonction du temps d'incubation avec les différents traitements (24, 48 et 72h), ces traitements ont été comparés au contrôle positif (Azide de sodium) et aux contrôles négatifs (DMSO). D'après l'observation macroscopique, microscopique et le calcul du taux de croissance et de l'indice mitotique, l'azide de sodium a induit l'apparition des micronoyaux plus qu'une réduction dans le taux de croissance et l'indice mitotique, ceci en fonction de la concentration et du temps d'exposition. Les extraits de feuilles de *Plantago serraria*, *Plantago lanceolata* et *Scolymus hispanicus* ont marqué un effet antigénotoxique lors du traitement avec toutes les concentrations testées (50, 100 et 200 µg/ml). Cet effet est plus marqué lors du traitement avec des concentrations plus élevées (100 et 200 µg/ml), avec des effets visibles pour les plus longues périodes d'incubation (48 et 72h). Les meilleurs résultats sont obtenus avec les extraits éthanolique de *P. serraria*, puis de *P. lanceolata* et en fin de *S. hispanicus* à différente concentration testés (50, 100 et 200 µg/ml).

Mots clés : *Plantago serraria*, *Plantago lanceolata*, *Scolymus hispanicus*, génotoxicité, antigénotoxique, *Allium cepa*, polyphénols totaux, l'indice mitotique, micronoyau.

Abstrat

Plantago serraria, *Plantago lanceolata* and *Scolymus hispanicus* are medicinal plants that have always been used in the Mediterranean region (widely used in Algeria) in traditional medicine. Qualified as medicinal plants for these major therapeutic interests and its healing power of several diseases such as cancer. The purpose of this study is to evaluate the genotoxic and antigenotoxic potentials of the ethanolic extracts of its local medicinal plants, using the *Allium cepa* genotoxicity test. The extracts were tested at 50, 100 and 200 µg / ml, sodium azide was used as a positive control at 50, 100 and 200 µg / ml, and DMSO as negative controls, more than a combination treatment with sodium azide (100 µg / ml) and the extracts of each plant (100 and 200 µg / ml) which allowed the evaluation of its antigenotoxic potency. According to the results of total polyphenols, flavonoids and tannins, the ethanolic extracts of the leaves of three plants studied show a wealth of phenolic compounds: polyphenols and flavonoids. The measurement of the roots and the calculation of the mitotic indices and the counting of the micronuclei are the main parameters of this experiment, this as a function of the incubation time with the various treatments (24, 48 and 72h), these treatments were compared to the positive control (sodium azide) and negative controls (DMSO). From macroscopic, microscopic observation and calculation of growth rate and mitotic index, sodium azide induced the appearance of micronuclei more than a reduction in growth rate and mitotic index depending on the concentration and the exposure time. Leaf extracts of *Plantago serraria*, *Plantago lanceolata* and *Scolymus hispanicus* were antigenically toxic during treatment with all tested concentrations (50, 100 and 200 µg / ml). This effect is more marked during treatment with higher concentrations (100 and 200 µg / ml), with visible effects for the longest incubation periods (48 and 72h). The best results are obtained with the ethanolic extracts of *P. serraria*, then *P. lanceolata* and at the end of *S. hispanicus* at different concentrations tested (50, 100 and 200 µg / ml).

Key word: *Plantago serraria*, *Plantago lanceolata*, *Scolymus hispanicus*, sodium azide, genotoxicity, antigenotoxic, *Allium cepa*, total polyphenols, flavonoids, growth rate, mitotic indice, micronucleus.

المخلص

Plantago serraria, *Plantago lanceolata* و *Scolymus hispanicus* هي عبارة عن نباتات طبية تستخدم دائما في منطقة البحر الأبيض المتوسط (تستعمل على نطاق واسع في الجزائر) في الطب التقليدي. وهي مؤهلة كنباتات طبية نتيجة لهذه المصالح العلاجية الرئيسية إضافة إلى قدرتها العلاجية للعديد من الأمراض مثل السرطان. الهدف من هذه الدراسة هو تقييم إمكانات السمية الوراثية ومضادات هذه السمية للمستخلصات الإيثانولية لهذه النباتات الطبية المحلية. وذلك من خلال استعمال اختبار السمية الوراثية *Allium cepa*. ثم اختبار المستخلصات بتركيز مختلفة هي: 50، 100 و 200 ميكروغرام/مل، واستخدام أزيد الصوديوم كعنصر تحكم إيجابي في 50، 100 و 200 ميكروغرام/مل، و DMSO كعنصر تحكم سلبي. إضافة إلى استخدام كل من أزيد الصوديوم (100 ميكروغرام/مل) ومستخلصات كل نبذة (100 و 200 ميكروغرام/مل) في نفس الوقت والتي سمحت بتقييم فعاليتها المضادة للسمية. وفقا لنتائج المعايرة للبوليفينول الكلي، الفلافونويدات والتانين، فإن المستخلصات الإيثانولية لأوراق النباتات الثلاثة المدروسة تُظهر غنى كبير من حيث المركبات الفينولية: البوليفينول والفلافونويد، مقابل فقر في التانين. المستويات المرتفعة من البوليفينول الكلي و الفلافونويد في المستخلصات الإيثانولية للأوراق، تشير إلى أن الأنواع المدروسة هي مصدر واعد من البوليفينول، والذي يمكن أن يكون بمثابة مؤشر مهم على الإمكانات العلاجية لهذه النباتات الطبية. قياس الجذور وحساب المؤشرات الانقسامية وحساب عدد النويات الصغيرة هي العوامل الرئيسية لهذه التجربة، وذلك في (24، 48 و 72 سا) كما تمت مقارنة هذه المعالجات مع عنصر التحكم الإيجابي (أزيد الصوديوم) ومع عنصر التحكم السلبي (DMSO). بعد الملاحظة المجردة، الميكروسكوبية وحساب معدل النمو ومؤشر الانقسام، أزيد الصوديوم يتسبب في ظهور النويات الصغيرة بالإضافة إلى الانخفاض في معدل النمو ومؤشر الانقسام، وذلك بدلالة التركيز ومدة التعرض لهذا الأخير. مستخلصات الأوراق لـ *Scolymus hispanicus* و *Plantago serraria* و *Plantago lanceolata* أظهرت تأثيرا مضادا للسمية الوراثية خلال معالجتها بجميع التراكيز المختبرة (50، 100 و 200 ميكروغرام/مل) يلاحظ هذا التأثير بصفة أكبر عند المعالجة بالتراكيز المرتفعة (100 و 200 ميكروغرام/مل) مع تأثيرات واضحة من أجل فترات الحضان الأطول. ثم الحصول على أفضل النتائج مع المستخلصات الإيثانولية لـ *P. lanceolata* و *P. serraria* ثم في الأخير لـ *S. hispanicus* مع مختلف التراكيز المختبرة (50، 100 و 200 ميكروغرام/مل)

الكلمات المفتاحية: *Scolymus hispanicus*، *Plantago lanceolata*، *Plantago serraria*، السمية الوراثية، مضاد السمية الوراثية، مؤشر الانقسام، النوية الصغيرة.