

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

جامعة 20 اوت 1955- سكيكدة

UNIVERSITE 20 AOUT 1955- SKIKDA



Faculté des Sciences

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire Présenté en Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Filière : Biochimie

Spécialité : Biochimie Appliquée

Intitulé :

Etude phytochimique et anti-génotoxique de l'extrait
hydroalcoolique de *Salvia verbanaca* contre le stress oxydatif
induit par le peroxyde d'hydrogène

Présenté Par :

- ✓ Boucheriha Lina
- ✓ Boucherk Lina
- ✓ Daiboun sahel Houda

Membre de Jury:

- | | | |
|--------------------------|-----------|--------------------------------|
| ✓ Zadri Fethia (MCB) | Président | Univ. du 20 Août 1955 – Skikda |
| ✓ Nassar Meryem (MCA) | Promoteur | Univ. du 20 Août 1955 – Skikda |
| ✓ Boulechfar Safia (MCB) | Examineur | Univ. du 20 Août 1955 – Skikda |

Année universitaire 2023/2024

Remerciements

Tout d'abord nos plus grands remerciements seront pour Allah, le tout puissant, le tout Miséricordieux pour la chance qu'il nous a donnée, pour la volonté, la patience, et la persévérance afin de poursuivre nos études supérieures et de bien mener ce modeste travail de recherche.

En toute sincérité, nous adressons indistinctement nos remerciements à tous les enseignants et responsables du département de biologie pour l'apprentissage, les services et les conseils qu'ils ont toujours accepté de nous donner pour nous permettre de mener à bien nos études, du début à la fin de notre cursus universitaire, et d'atteindre un niveau appréciable de savoir-faire dans le domaine de la science en général, et celui de notre spécialité en particulier.

*Nous remercions particulièrement **Docteur NASSAR Meryem** pour avoir accepté de nous encadrer et nous guider dans toutes les étapes d'élaboration de notre mémoire de fin d'études et veiller à ce que les différentes expériences effectuées dans le cadre de notre travail soient soigneusement accomplies.*

*Merci également à tous les membres du jury **Docteur ZADRI Fethia** en qualité de présidente et **Docteur BOULECHFAR Safia** en qualité d'examinatrice, qui nous ont honoré de faire lecture de notre mémoire, d'apprécier sa consistance et de juger équitablement son contenu, pour nous indiquer sincèrement les points faibles et les points forts de notre travail de recherche collectif, afin de nous encourager à aborder avec conviction notre carrière dans le domaine scientifique.*

Nous adressons également nos remerciements au personnel des laboratoires pour l'aide et l'assistance qu'ils nous ont volontairement accordés aux moments où nous en avons besoin. On tient à adresser nos plus grands remerciements à nos parents pour leurs encouragements et leur soutien.

Dédicace

Je dédie ce modeste mémoire qui couronne mes années d'étude à

A ma très chère mère

Affable, honorable, aimable Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien études.

A mon cher Père

Aucune dédicace me saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation.

Qu'ALLAH vous protège et vous garde devant mes yeux,

A mes très chers frères YASSER, ILYES, AYMEN et ma grande sœur Wafa

Les piliers et les guides de ma réussite, je leurs souhaite une vie pleine du bonheur et de succès.

A mon cher neveu ACIL, mes chères nièces CELIA et AYLA

QU'ALLAH les protège.

A toute ma grande famille, en particulier MA GRANDE MERE et ma tante FELLA.

A mes amis, je ne peux trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer mon affection et mes pensées.

QU'ALLAH garde notre amitié.

A mon cher trinôme

Vous étiez des amis et des sœurs avant d'être mon trinôme, merci pour tous les moments de bonheur qu'on a passés ensemble.

A tous ceux qui me sont chers...

Et surtout au DIEU tout puissant qui m'a toujours soutenu

Boucheriha lina

Dédicace

Tout d'abord, je tiens à remercier DIEU De m'avoir donnée la force et le courage de mener à bien ce modeste travail.

Je dédie ce mémoire à mes parents adores

Aucun mot aucune dédicace ne pourrait exprimer pleinement ma gratitude pour les innombrables sacrifices que vous avez faits pour moi. Votre amour inconditionnel, votre soutien indéfectible et vos précieux enseignements ont été les piliers de ma vie, merci pour tout ce que vous avez fait et continuez de faire pour moi. Là où je suis arrivée aujourd'hui c'est à vous mes chers parents que je le dois, que Dieu vous garde.

A mon frère, mon pilier

Tu as toujours été là pour moi, à chaque instant, dans les moments de joie comme dans les épreuves. Ta force, ton soutien inébranlable et ton amour fraternel ont été des sources inestimables d'inspiration et de réconfort. Merci pour tout ce que tu es et pour tout ce que tu fais. Je te souhaite une vie pleine du bonheur et de succès.

A ma grande sœur

Mon idole, mon exemple ma source d'inspiration et mon modèle depuis l'enfance

Ta sagesse, ta détermination et ton amour m'ont guidé et soutenu à chaque étape de ma vie. Merci d'être la personne incroyable que tu es et de m'inspirer à devenir meilleure chaque jour. Je suis infiniment reconnaissante de t'avoir comme sœur. Que dieu te donne la sante et tout le bonheur du monde

À toute ma famille, qui a été une source d'inspiration et de soutien permanent

A mon cher trinôme

Vous étiez des amis et des sœurs avant d'être mon trinôme, Chaque instant partagé avec vous est un trésor précieux,

BoucherK lina

Dédicace

À vous qui avez illuminé ma vie,

*À mes parents, piliers inébranlables,
Votre amour et vos encouragements ont été le phare guidant mes pas.
Chaque réussite est un hommage à votre dévouement infailible.*

*À mes sœurs, complices de toujours,
Nos rires ont adouci les moments d'épreuve.
Votre présence apaisante a été mon refuge.
À mes chers neveux et mes chères nièces que dieu les gardes*

*À mes ami(e)s, famille que l'on se choisit,
Votre amitié sincère a donné des ailes à mes rêves.
Nos folles aventures resteront à jamais gravées dans mon cœur.*

*À tous ceux que j'aime éperdument,
Vous êtes la source intarissable de ma joie de vivre.
Chaque instant partagé avec vous est un trésor précieux,*

*Ce travail est le fruit de votre soutien indéfectible.
Qu'il soit le témoignage de ma profonde reconnaissance envers vous tous.*

Daiboun sahel houða

Liste des Figures

Figure	Titre	Page
Figure 1	Photos représentant quelques espèces de la famille des Lamiaceae.	3
Figure 2	Représentation géographique de la distribution mondiale des différentes usines de laminés.	4
Figure 3	Images de quelques espèces de <i>Salvia</i> .	5
Figure 4	Distribution mondiale des espèces appartenant au genre <i>Salvia</i> .	6
Figure 5	<i>Salvia verbenaca</i> .	8
Figure 6	Schéma représentatif des phases de la division cellulaire.	11
Figure 7	Différentes phases du cycle cellulaire.	12
Figure 8	Les mécanismes de la régulation du cycle cellulaire.	14
Figure 9	Photographie de catégorisation des dommages causés à l'ADN par le test des comètes.	18
Figure 10	Principe d'application du test d'Ames.	19
Figure 11	Schéma de formation des micronoyaux.	20
Figure 12	Les étapes d'extraction méthanolique de <i>Salvia verbenaca</i> .	23
Figure 13	Préparation des différentes concentrations de l'extrait de <i>Salvia verbenaca</i> .	23

Figure 14	Test de cytotoxicité sur les graines de l' <i>Allium cepa</i> avec les différentes concentrations de l'extrait aqueux de <i>Salvia verbenaca</i> .	24
Figure 15	Courbe d'étalonnage des polyphénols réalisée à l'aide de l'acide gallique.	26
Figure 16	Courbe d'étalonnage des flavonoïdes réalisée à l'aide de la Quercitine.	27
Figure 17	Courbe d'étalonnage des tanins condensés réalisée à l'aide de la Catechine.	28
Figure 18	Courbe d'étalonnage de l'activité antioxydant réalisée à l'aide d'acide Ascorbique.	29
Figure 19	Variation de la longueur racinaire en fonction des concentrations de l'extrait aqueux de <i>Salvia verbenaca</i> après 7 jours de traitement.	30
Figure 20	Variation de l'indice mitotique en fonction des concentrations de l'extrait de <i>Salvia verbenaca</i> après 24 h de traitement.	31
Figure 21	Variation de l'indice d'aberration chromosomique en fonction des concentrations de l'extrait de <i>Salvia verbenaca</i> après 24 h de traitement.	33
Figure 22	Les aberrations chromosomiques induites par les différentes concentrations de l'extrait aqueux de <i>Salvia verbenaca</i> .	35

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
Tableau 1	Localisation des principales espèces du genre <i>Salvia</i> en Algérie.	7
Tableau 2	Tableau représentant les différents traitements réalisés dans notre étude.	25
Tableau 3	Effet de l'extrait de <i>Salvia verbenaca</i> sur la division mitotique de l' <i>Allium cepa</i> .	32
Tableau 4	Fréquence des différents types d'aberrations chromosomiques.	34
Tableau 5	Criblage des dosages des polyphénols, flavonoïdes et des tanins de l'extrait de <i>Salvia verbenaca</i> .	35
Tableau 6	Criblage de l'activité antioxydante de l'extrait de <i>Salvia verbenaca</i> .	36

Liste des abréviations

ADN.	Acide Désoxy ribo Nucléique
CDK.	Les kinases dépendantes des cyclines
ARN.	Acide ribonucléique
MYT1.	Facteur de transcription de la myéline 1
Cip.	Protéine interagissant avec les kinases dépendantes des cyclines
Kip.	Protéine inhibitrice de kinase
INK4.	Inhibiteurs des kinases dépendantes des cyclines 4
GTP.	Guanosine triphosphate
PRB.	Protéine du rétinoblastome
E2F.	Facteur de transcription E2
ERO.	Espèces réactives de l'oxygène
H₂O₂.	Peroxyde d'hydrogène
SOD.	Superoxydes dismutases
CAT.	La catalase
POD.	La peroxydase
MN.	Les micronoyaux
AC.	aberration chromosomique
SCE.	Echanges de chromatides sœurs
IM.	Indice mitotique
IP.	Indice de phase
IA.	Indice d'altérations chromosomiques

- DPPH.** 1,1- diphenyl-2-picrylhydrazyl
- IC₅₀.** La demi-concentration inhibitrice maximale
- EC₅₀.** La demi-concentration efficace maximale
- APR.** Le pouvoir anti-radicalaire
- CAT.** Catechine
- GAE.** Gallic Acid Equivalent

Sommaire

Remerciement	
Dédicace	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction	1
Chapitre 1. Généralités	
1. Généralités sur la Famille des Lamiacées	3
1.1. Description botanique sur la famille des lamiacées	3
1.2. Distribution géographique des Lamiacées	4
1.3. Usage pharmacologique et nutritionnel des Lamiacées	4
2. Description botanique du genre <i>Salvia</i>	5
2.1. Distribution géographique du genre <i>Salvia</i>	5
2.2. Propriétés et usage traditionnel de quelques espèces du genre <i>Salvia</i>	8
3. Description botanique de <i>Salvia verbenaca</i>	8
3.1. Classification botanique de l'espèce <i>Salvia verbenaca</i>	9
4. Les métabolites secondaires des plantes	9
4.1. Composés phénoliques	9
4.2. Métabolites secondaires isolés du genre <i>Salvia</i>	10
Chapitre 2. Le cycle cellulaire	
1. Le cycle cellulaire	11
1.1. L'interphase.....	11
1.2. La mitose	12
2. La régulation du cycle cellulaire	12
2.1. La polymérisation des microtubules	13
2.2. Les mécanismes du cycle cellulaire	14
Chapitre 3. Cytotoxicité et génotoxicité	
1. Définition de la cytotoxicité.....	15
1.1. Les tests de cytotoxicité	15
2. Définition de la génotoxicité	15
2.1. Les agents génotoxiques	15

2.2 La relation entre le stress oxydatif et la génotoxicité.....	16
2.3. Les tests de génotoxicité	17

Chapitre 4. Matériels et méthodes

1. Matériels.....	22
1.1 Le test d' <i>Allium cepa</i>	22
2. Méthodes	22
2.1. Extraction	22
2.2. Préparation des concentrations testées de l'extrait de <i>Salvia verbenaca</i>	23
2.3. Le test de cytotoxicité	24
2.4. Le test de cytotoxicité et génotoxicité.....	24
2.5. L'analyse phytochimique	26
2.5.1 Dosage des polyphénols totaux	26
2.5.2 Dosage des flavonoïdes	27
2.5.3. Dosage des tanins condensés	27
2.5.4. L'activité antioxydante	28

Chapitre 5. Résultats et Discussion

Résultats	30
1. Test de Cytotoxicité	30
1.1. Elongation racinaire	30
1.2. L'indice mitotique	31
1.3. L'indice de phase	32
2. Test de génotoxicité	33
2.1. Indice d'aberrations chromosomiques	33
2.2. Types d'aberrations chromosomiques.....	34
3. Dosages des polyphénols et des flavonoïdes.....	35
4. L'activité antioxydante.....	36
Discussion	36
Conclusion.....	39
Résumé	
Référence bibliographique	

Introduction

Introduction

Introduction

Depuis l'antiquité les plantes entretiennent une relation étroite avec les humains. Elles sont essentielles à la biodiversité et contribuent de manière significative au bien-être humain en servant de source de nourriture, de remèdes médicaux et parfois en jouant un rôle dans les rituels religieux. L'homme dans son environnement a accordé un intérêt croissant pour l'étude des plantes médicinales et leur utilisation traditionnelle dans différentes régions du monde (Dibong *et al.*, 2015). L'Algérie, grâce à ses vastes étendues de forêt et de pâturage constitue un véritable réservoir phytogénétique avec environ 4000 taxons selon (Belkassam *et al.*, 2021), notamment en ce qui concerne les plantes aromatiques médicinales qui ont la capacité de synthétiser plusieurs composés appelés métabolites secondaires, constituent donc un immense réservoir de composés d'une grande diversité chimique, possédant un large éventail d'activités biologiques (Chaouche *et al.*, 2016). Mais celui-ci est encore méconnues et très peu exploité en raison du manque d'études sur ses vertus et ses richesses potentielles.

De nombreux extraits de plantes médicinales ont été validés pour leurs propriétés cytotoxiques et antiprolifératives (Patel et Patel, 2020). Ces caractéristiques sont souvent utilisées pour inhiber la prolifération des cellules cancéreuses (Adewale *et al.*, 2024). Ils jouent également un rôle dans la prévention ou la réduction des risques de maladies telles que le diabète, l'athérosclérose, problèmes rénaux et hypertension, troubles de mémoire, accidents vasculaires et les maladies coronariennes. Effectivement, bien que les plantes médicinales aient de nombreux avantages thérapeutiques, il est important de noter que certains de leurs constituants peuvent présenter des risques. Certains peuvent être potentiellement toxiques, mutagènes, cancérigènes et tératogènes (El-Alami, 2021).

En effet, l'utilisation des plantes médicinales et aromatiques pour l'industrie cosmétique et pharmaceutique, ainsi que pour la production alimentaire, reste un domaine vierge en Algérie (Ait Hammou *et al.*, 2013).

Dans le but de valoriser la flore locale, notre travail porte sur *Salvia verbenaca* L. (la sauge verveine), une espèce médicinale appartenant à la famille des Lamiacées, répandue dans les régions méditerranéennes et utilisée traditionnellement pour ses propriétés thérapeutiques (Topcu, 2006 ; Arceusz *et al.*, 2017).

L'objectif principal de notre étude était d'évaluer les activités cyto-anticytotoxique, géno-antigénotoxiques et phytochimiques de l'extrait brut de cette plante, ainsi que ses effets

Introduction

protecteurs contre la toxicité induite par le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), un agent chimique connu pour endommager fortement les cellules en augmentant le stress oxydatif (Sies, 2017).

. Pour illustrer ces objectifs, notre étude a été divisée en deux parties principales : une partie théorique, présentera une revue bibliographique traitant la description botanique de la famille, du genre et de l'espèce, ainsi qu'un rappel sur les métabolites secondaires, la génotoxicité et la cytotoxicité.

La deuxième partie, de nature expérimentale, détaillera le matériel utilisé, les méthodes suivies et les résultats obtenus. Enfin, une conclusion résumera les principaux résultats de notre travail.

Partie
bibliographique

Chapitre 1

Généralités

1. Généralités sur la Famille des Lamiacées

1.1. Description botanique sur la famille des lamiacées

Les Lamiacées sont une famille de plantes appartenant à l'ordre des Lamiales, comprenant 236 genres et 7200 espèces (Baldini *et al.*, 2022). La famille était auparavant connue sous le nom de Labiatae ou famille de la menthe. Toutefois, en 1820 le nom a été changé en Lamiaceae. Les Lamiaceae se distinguent par une représentation étendue d'herbes aromatiques, d'arbustes et d'arbres aux branches quadrangulaires. Les genres les plus importants de cette famille sont *Salvia*, *Scutellaria*, *Stachys*, *Plectranthus*, *Hyptis*, *Teucrium*, *Vitex*, *Thymus* et *Nepeta* (Baldini *et al.*, 2022). La famille en question se caractérise par une tige carrée et des feuilles opposées, décussées, ornées de nombreux points glandulaires. Les fleurs sont fortement zygomorphes et présentent deux lèvres distinctes. Une proportion importante des espèces de cette famille est connue pour posséder des propriétés très aromatiques, qui peuvent être attribuées à la présence d'huiles essentielles composées de monoterpènes, de sesquiterpènes et de phénylpropanoïdes (El-Segai *et al.*, 2013).



Figure 1. Photos représentant quelques espèces de la famille des Lamiaceae. (A): *Salvia officinalis* L., (B): *Salvia hispanica* L., (C): *Thymbra capitata* L. (D): *Thymus saturejoides* Coss., (E): *Rosmarinus officinalis* L., (F): *Mentha spicata* L., (G): *Melissa officinalis* L., (H): *Leonurus sibiricus* L., (I): *Thymbra spicata* L., (J): *Orthosiphon aristatus* Miq., (K): *Lycopus lucidus* Benth., (L): *Scutellaria baicalensis* Georgi, (M): *Ocimum* espèces, (N): *Mesona chinensis* Benth., (O): *Leonotis leonurus* L. R.Br (Ratray et Van Wyk, 2021).

1.2. Distribution géographique des Lamiacées

A. Dans le monde

La famille des Lamiacées est un groupe diversifié, comprenant 236 genres et 7 200 espèces dans le monde. La famille des Lamiaceae est très importante en raison de ses nombreuses applications en médecine, en art culinaire et en cosmétique (Alipour *et al.*, 2023). La majorité des espèces se trouvent dans les régions tempérées chaudes de la Méditerranée et de l'Asie du Sud-Ouest. L'Amérique du Nord et du Sud ainsi que l'Afrique du Sud servent de centres secondaires pour cette famille (Aspatwar *et al.*, 2024) (Figure 2).

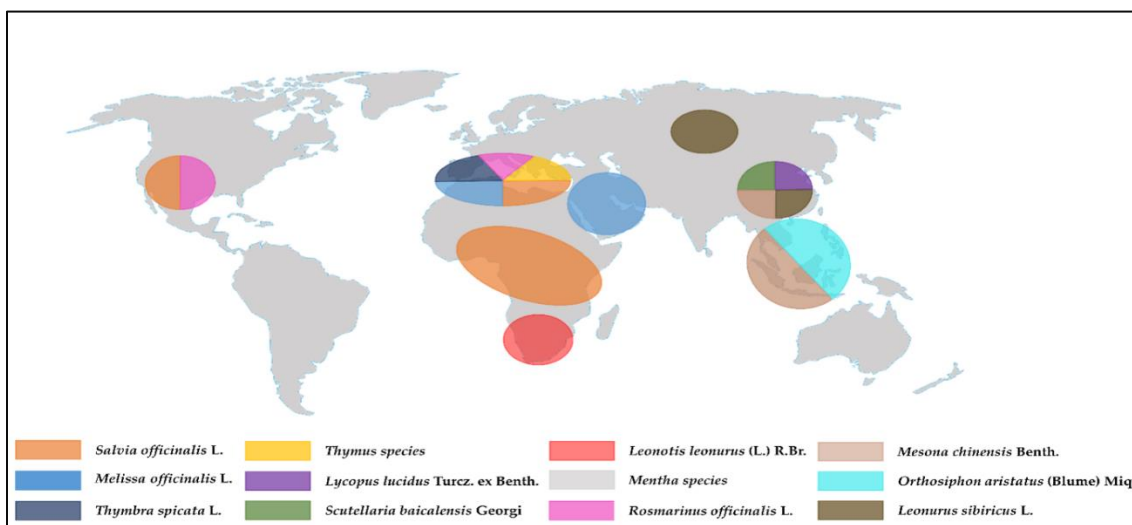


Figure 2. Représentation géographique de la distribution mondiale des différentes usines de laminés (Baldini *et al.*, 2022).

B. En Algérie

L'Algérie est l'un des pays les plus riches en biodiversité du bassin méditerranéen. Sa flore est très appréciée pour ses propriétés aromatiques et médicinales (Maalem et Abi malik, 2019). Cette richesse est due à la diversité des zones bioclimatiques du pays. La famille des lamiacées est l'une des plus importantes de la flore algérienne (Maalem et Abi malik, 2019).

1.3. Usage pharmacologique et nutritionnel des Lamiacées

La famille des Lamiacées est d'une grande importance en raison de ses nombreuses applications (Alipour *et al.*, 2023). La majorité des espèces sont aromatiques et contiennent un mélange de composés bioactifs qui ont conduit à leur utilisation dans les industries cosmétiques, pharmaceutiques et alimentaires, principalement sous forme d'huiles essentielles (Baldini *et al.*, 2022) tels que la menthe, le romarin, le basilic, la sauge, la marjolaine, le thym, la lavande, origan (Aspatwar *et al.*, 2024).

2. Description botanique du genre *Salvia*

Le genre *Salvia*, qui fait partie de la famille des Lamiacées, compte environ 900 espèces de plantes réparties dans le monde entier (Benabdelkader *et al.*, 2007). Les espèces de *Salvia* sont généralement herbacées, mais certaines sont des arbustes ou des arbres. Les tiges de *Salvia* sont généralement quadrangulaires, inclinées, et les feuilles sont généralement entières, mais parfois dentées ou pennées. Les hampes florales portent de petites bractées inégales. Les fleurs de *Salvia* sont généralement tubulaires ou en forme de cloche, avec deux lèvres, et peuvent être de différentes couleurs, y compris le bleu, le rouge, le blanc et le rose (Carl von, 1805).

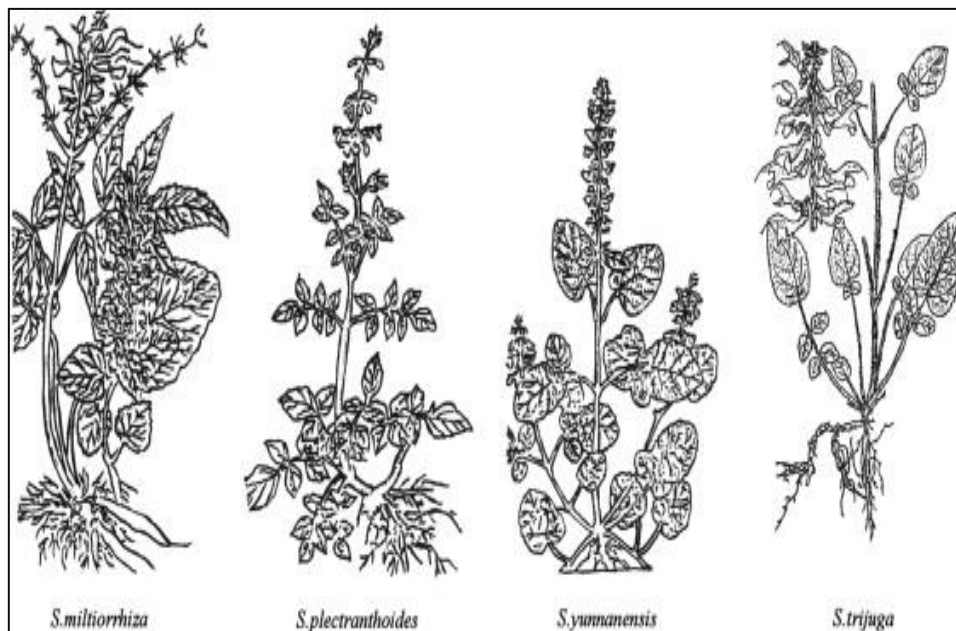


Figure 3. Images de quelques espèces de *Salvia* (Chunhong *et al.*, 2013).

2.1. Distribution géographique du genre *Salvia*

A. Dans le monde

Le genre *Salvia* compte environ 900 espèces dispersées dans le monde entier, principalement dans les régions de la Méditerranée, de l'Afrique du Sud-Est et de l'Amérique centrale et du Sud (Hong *et al.*, 2020), dont 500 espèces en Amérique centrale et du Sud, 250 espèces dans les pays méditerranéens et en Asie centrale et enfin 90 espèces en Asie de l'Est (Benabdesslem *et al.*, 2020) (figure 4).

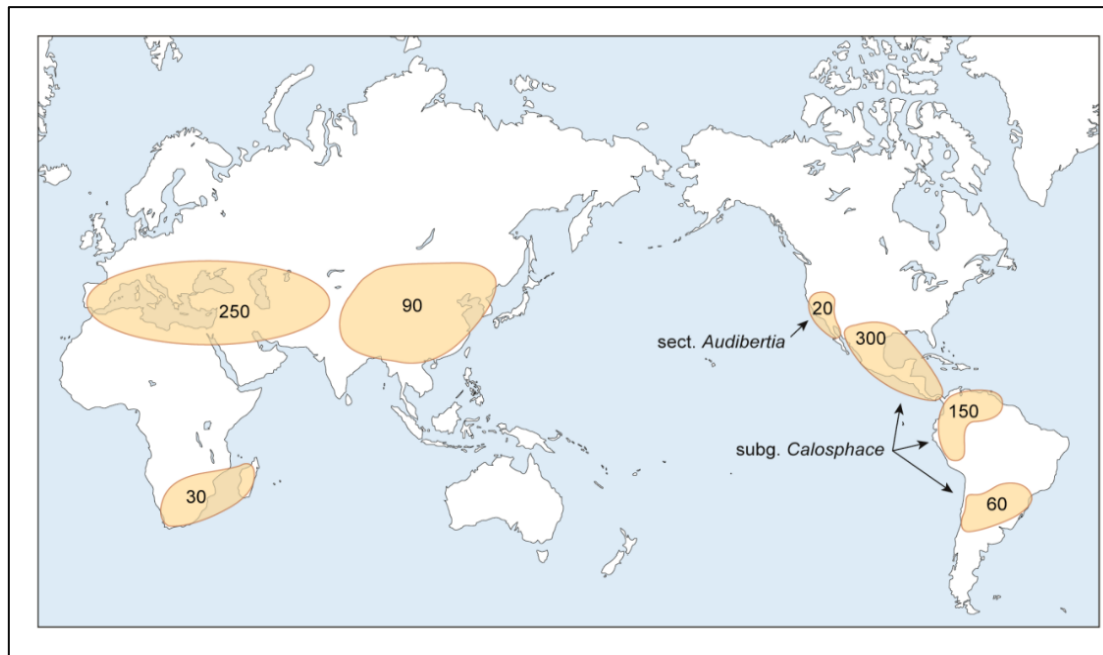


Figure 4. Distribution mondiale des espèces appartenant au genre *Salvia* (Benabdeslem *et al.*, 2020)

B. En Algérie

L'Algérie compte 18 espèces du genre *Salvia* (Quezel et Santa, 1963). Ils se trouvent dans une variété d'habitats, y compris les prairies, parmi les arbres et les arbustes dans les champs non cultivés, sur les flancs des collines, dans les zones rocheuses, les rives des oueds, les maquis et les clairières forestières, sur des sols argileux ou sablonneux, depuis le niveau de la mer jusqu'à une altitude de 2000 mètres (Benmouhoub *et al.*, 2018). Le tableau 1 montre les principales espèces de *Salvia* et leurs localisations en Algérie.

Tableau 1. Localisation des principales espèces du genre *Salvia* en Algérie (Quezel et Santa, 1963 ; Benmouhoub *et al.*, 2018).

Espèce	Localisation
<i>S. balansae</i> de Noé	Rare dans : Dahra à Pont du Cheliff Aurès, Oued Abdi et dans les Garrigues
<i>S. jaminiana</i> de Noé	Batna, El Outaia et Biskra
<i>S. verbenaca</i> L	Dans toute l'Algérie
<i>S. aegyptiaca</i> L	Commun dans pâturages désertiques
<i>S. chudaei</i> Battettrab	Endémique des montagnes du Sahara central, du Hoggar et du Tibesti
<i>S. phlomoides</i> Asso	Pousse dans pelouses, rocailles
<i>S. horminum</i> L	Commun dans le Tell

2.2. Propriétés et usage traditionnel de quelques espèces du genre *Salvia*

Les différentes espèces de *Salvia* sont largement utilisées comme plantes médicinales et ont conservé leur importance pendant une période considérable. Comme l'indique leur nom *Salvia* signifie « sauveur » en latin et est une plante utilisée pour soigner une multitude de maladies tel que le Diabète, le Cancer et l'Alzheimer (Benabdesslem *et al.*, 2020). Ils possèdent un certain nombre d'effets bénéfiques, notamment des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires, antinociceptives, anticancéreuses, antimicrobiennes, antidiabétiques, antiangiogéniques, hépatoprotectrices, cognitives et d'amélioration de la mémoire (Błońska-Sikora *et al.*, 2023).

L'utilisation des feuilles de *Salvia* dans la médecine traditionnelle a été documentée pour le traitement symptomatique des troubles dyspeptiques légers, tels que les brûlures d'estomac et les ballonnements. En outre, les feuilles de *Salvia* ont été utilisées pour soulager la transpiration excessive et pour le traitement symptomatique des inflammations de la bouche ou de la gorge, ainsi que des inflammations cutanées mineures (Acharya *et al.*, 2018).

La *Salvia* est également utilisée dans l'industrie de la viande et du poisson comme antibactérien naturel, dans l'industrie cosmétique comme additif de parfum et de savon, et dans l'architecture textile et paysagère comme colorant végétal (Doğan *et al.*, 2023).



Figure 5. *Salvia verbenaca*, a) la partie aérienne, b) les fleurs (Abdur-Rauf *et al.*, 2022).

3. Description botanique de *Salvia verbenaca*

S. verbenaca est une plante herbacée vivace, atteignant de 10 à 50 cm de hauteur, caractérisée par sa partie supérieure velue, odorante et parfois glandulaire. Ses tiges légèrement ramifiées portent des grappes de fleurs bleu foncé au printemps. Les feuilles oblongues, mesurant de 2 à

3 cm de large, sont souvent crenelées ou incisées-lobées, avec la partie supérieure sans pédoncule. Les fleurs, de petite taille et généralement bleu pâle ou blanchâtres, sont disposées en verticilles proches les uns des autres, formant une grappe courte. Le calice fruitier présente des lèvres presque fermées, couvertes de poils. La corolle, environ deux fois plus longue que le calice, a des lèvres larges et très inégales, avec la lèvre supérieure comprimée et incurvée en forme de faux. Pousse dans les pelouses sèches, les talus et au bord des chemins (Abdur-Rauf *et al.*, 2022).

3.1. Classification botanique de l'espèce *Salvia verbenaca* selon (Quezel et Santa, 1963)

Règne : Plantae

Embranchement : Spermatophyta

Sous-embranchement : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Sous-classe : Asteridae

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiaceae

Genre : *Salvia*

Espèce : *Salvia verbenaca* L

4. Les métabolites secondaires des plantes

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes qui jouent un rôle dans l'interaction de la cellule (organisme) avec son environnement. Ces composés sont souvent impliqués dans la protection des plantes contre les stress biotiques ou abiotiques (Bansal *et al.*, 2015).

Ces métabolites sont souvent produits dans une phase postérieure à la croissance, n'ont aucune fonction dans la croissance (bien qu'ils puissent avoir une fonction de survie), sont produits par certains groupes taxonomiques restreints.

De micro-organismes, ont des structures chimiques inhabituelles et sont souvent constitués de mélanges de membres étroitement apparentés d'une même famille chimique (Rana et ruby, 2015). Les métabolites secondaires des plantes peuvent être classés en quatre classes principales : les terpénoïdes, les composés phénoliques, les alcaloïdes et les composés soufrés. Chacun renferme une très grande diversité biologique (Abdulrahman *et al.*, 2018).

4.1. Composés phénoliques

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires très répandus, dotés d'une puissante activité biologique (Nurzyńska-Wierdak, 2023). Ces composés sont très répandus

dans le règne végétal, Ils possèdent diverses activités biologiques notamment des propriétés antioxydants, anti-radicalaires, anticancéreux et même inhibiteurs d'enzymes. Ces composés phénoliques peuvent être classés selon plusieurs critères en plusieurs catégories : les flavonoïdes qui représentent plus de la moitié des polyphénols, les tanins qui sont des produits de la polymérisation des flavonoïdes, les acides phénoliques, les coumarines, les lignanes et d'autres classes existent en nombres considérables (Dacosta, 2003).

a. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont presque omniprésents dans les plantes et sont reconnus comme les pigments responsables des couleurs des feuilles, surtout en automne. Abondants chez les plantes supérieures, ils sont riches dans les graines, les agrumes, l'huile d'olive, le thé et le vin rouge. Ce sont des composés de faible poids moléculaire composés d'une structure à trois anneaux avec diverses substitutions. Cette structure de base est partagée par les tocophérols (vitamine E) (Chithan *et al.*, 2001).

b. Les tanins

Les tanins sont des composés phénoliques de poids moléculaire élevé, allant de 500 Da à plus de 3000 Da. Ils sont présents dans diverses parties des plantes telles que les feuilles, l'écorce, les fruits, le bois et les racines, principalement dans les tissus cellulaires et les vacuoles. Leur présence est étroitement liée aux mécanismes de défense des plantes contre les herbivores mammifères, les oiseaux et les insectes. Les tanins sont également solubles dans l'eau à des températures allant de 20 à 35°C (Behrad *et al.*, 2011).

c. Les polyphénols

Les polyphénols sont en effet omniprésents dans le règne végétal, se trouvant dans diverses parties des plantes, notamment les racines, les tiges, les fleurs et les feuilles. Leur présence est particulièrement notable dans certains aliments que nous consommons régulièrement, tels que les fruits et légumes, les boissons comme le vin rouge, le thé, le café et les jus de fruits, ainsi que dans les céréales, les graines oléagineuses et les légumineuses. Les fruits et légumes sont particulièrement riches en polyphénols, contribuant à environ la moitié de notre apport quotidien en ces précieux composés (Middleton *et al.*, 2000).

Ils jouent un rôle essentiel dans de nombreux processus physiologiques, comme la croissance cellulaire, la germination des graines et la maturation des fruits (Boizot et Charpentier, 2006).

4.2. Métabolites secondaires isolés du genre *Salvia*

Les recherches phytochimiques sur les espèces de *Salvia* ont permis d'identifier et d'isoler une vaste gamme de métabolites secondaires. Parmi ceux-ci, on trouve notamment les composés

phénoliques, les terpénoïdes, les flavonoïdes, les alcaloïdes et les huiles essentielles. Ces métabolites confèrent aux *Salvia* leurs caractéristiques aromatiques distinctives ainsi que leurs propriétés pharmacologiques et biologiques (Abdur-Rauf *et al.*, 2022).

Chapitre 2

Le cycle cellulaire

1. Le cycle cellulaire

Le cycle cellulaire est le processus fondamental par lequel une cellule mère donne naissance à deux cellules filles identiques l'une à l'autre et à la cellule dont elles sont issues. Il comprend deux étapes principales : l'interphase, au cours de laquelle les chromosomes se répliquent, et la mitose, au cours de laquelle les chromosomes sont répartis entre les deux cellules filles (Meijer, 2003).

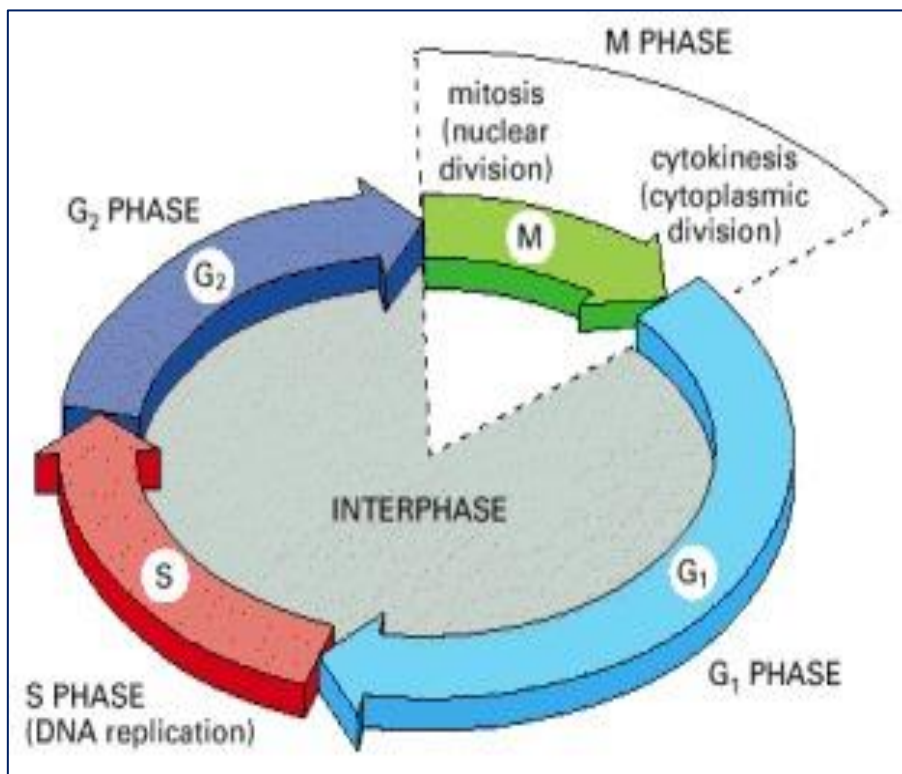


Figure 6. Schéma représentatif des phases de la division cellulaire (Alberts *et al.*, 2002)

1.1. L'interphase

L'interphase est constituée de la phase de synthèse (phase S) séparée par les phases intermédiaires G₁ et G₂.

-La phase G₁ : Au cours de la phase G₁, la cellule est stimulée par des mitogènes extracellulaires et des facteurs de croissance. En réponse à ces stimuli, la cellule traverse la phase G₁ et procède à la synthèse de l'ADN en phase S (Israels *et al.*, 2000).

-La phase S : La phase S correspond à la phase de synthèse d'ADN, la cellule réplique son ADN afin que chaque cellule fille reçoive une information génétique rigoureusement identique à celle de la cellule mère (Giet *et al.*, 2010).

-La phase G₂ : La phase est l'intervalle entre l'achèvement de la synthèse de l'ADN (S) et la mitose (Israels *et al.*, 2000).

1.2. La mitose

Se compose de 4 étapes : la prophase, la métaphase, l'anaphase et la télophase (Grunwald *et al.*, 2010).

-**La prophase**, ou début de condensation des chromosomes et formation du fuseau mitotique.

-**La métaphase**, avec alignement des chromosomes à mi-distance entre les deux pôles.

-**L'anaphase**, phase de séparation des deux chromatides sœurs et migration en direction des deux pôles du fuseau.

-**La télophase**, ou l'enveloppe nucléaire se reforme autour de la chromatine. Au cours de cette phase, un anneau contractile d'actine et de myosine s'assemble dans le cortex, à mi-distance entre les deux pôles et resserre la zone équatoriale. Ce processus, appelé cytotédièrese, sépare les deux cellules filles l'une de l'autre.

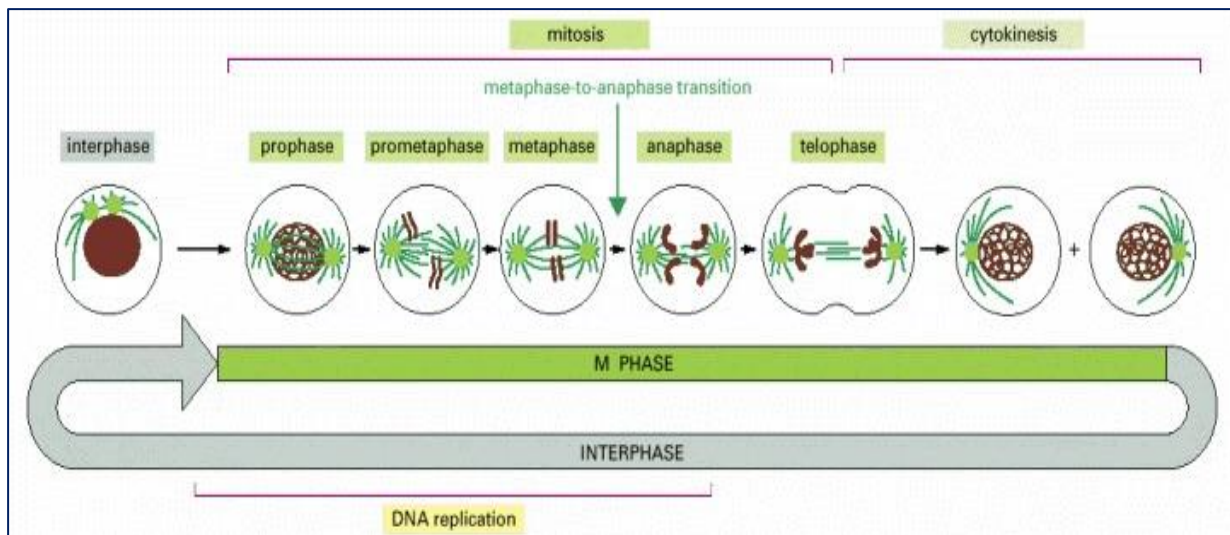


Figure 7. Différentes phases du cycle cellulaire (Alberts *et al.*, 2002).

2. La régulation du cycle cellulaire

Pour assurer l'ordre immuable de la succession des quatre phases du cycle cellulaire, la cellule dispose de système de régulation hautement perfectionnés basé sur (Grunwald *et al.*, 2010; Amirali *et al.*, 2019; Gordon *et al.*, 2023).

a. Les cyclines et les kinases cyclines-dépendantes

Les kinases dépendantes des cyclines (CDK) sont une famille de protéines kinases qui jouent un rôle majeur dans la régulation du cycle cellulaire. Elles sont également impliquées dans la régulation de la transcription, le traitement des ARN messagers et la différenciation des cellules nerveuses. Les CDK se lient à des protéines régulatrices du cycle cellulaire appelées cyclines.

L'association de la CDK et de la cycline confère son activité au complexe, ils peuvent phosphoryler d'autres protéines pour avancer dans le cycle cellulaire.

b. Les kinases inhibitrices WEE1 et MYT1

-WEE1 est une kinase qui prévient l'entrée prématurée en mitose en ajoutant une phosphorylation inhibitrice sur la CDK1.

-MYT1 a un rôle similaire, en inhibant également la CDK1 et en prévenant l'entrée prématurée en mitose.

c. Les phosphatases

Les phosphatases sont des enzymes qui enlèvent les groupes phosphate des molécules. Elles jouent un rôle crucial dans de nombreux processus biologiques, y compris la désactivation des CDK en enlevant les groupes phosphate ajoutés par WEE1 et MYT1.

d. Les inhibiteurs protéiques des CDK

Il existe deux familles principales d'inhibiteurs des CDK chez les mammifères : les Cip/Kip (p21, p27, p57) et les INK4 (p15, p16, p18, p19).

2.1. La polymérisation des microtubules

Les microtubules sont en effet des éléments essentiels de la cellule. Ils font partie du cytosquelette des cellules eucaryotes, avec les filaments d'actine et les filaments intermédiaires, et sont collectivement responsables de la majeure partie de la structure et de l'organisation spatiale de la cellule. Les microtubules jouent également un rôle dans le transport, la migration, la réorganisation cellulaire, et ont de nombreuses fonctions dynamiques, y compris le mouvement via des protéines motrices telles que la kinésine et la dynéine, le battement des cils et des flagelles, ainsi que la ségrégation et la séparation des chromosomes pendant la division cellulaire (David, 2007).

Les microtubules sont des filaments creux cylindriques ayant un diamètre d'environ 25 nm et une longueur variant de 200 nm à 25 μ m. Ils sont composés de sous-unités d' α -tubuline et de β -tubuline liées au GTP, qui s'assemblent pour former des protofilaments. Ces derniers interagissent longitudinalement, polymérisant en microtubules stables. Cependant, ces filaments cylindriques sont dynamiques, car ils subissent un assemblage et un désassemblage répété (Haiyi *et al.*, 2020). La dynamique d'instabilité des microtubules est un processus essentiel pour la cellule, lui permettant de s'adapter rapidement à ses besoins en modifiant la longueur et la structure des microtubules. Cela joue un rôle crucial dans des processus tels que

la division cellulaire, le transport intracellulaire et la formation du fuseau mitotique (Haiyi *et al.*, 2020; Takashi et Tetsuya, 2014).

2.2. Les mécanismes du cycle cellulaire

L'entrée dans le cycle cellulaire se fait au niveau de la phase G1 après activation des complexes Cdk4/cycline D et Cdk6/cycline D par des signaux extracellulaires, comme les facteurs de croissance (Annicotte *et al.*, 2011).

L'induction de la cycline D par des signaux mitogènes est nécessaire à la progression cellulaire au début de la phase G1 jusqu'au point de restriction (R). Après le point R, la progression de la cellule dans le cycle cellulaire devient indépendante de ces signaux.

Dans la phase G1, l'activité des complexes CDK/Cycline peut être inhibée par des inhibiteurs de CDK (CKI). Les complexes Cdk4/cycline D phosphorylent les protéines de la famille Rb (protéine du rétinoblastome) : PRB, p107 et 130. Ces protéines appartiennent à un complexe de répression transcriptionnelle qui inhibe l'expression de nombreux gènes impliqués dans la transition G1/S et la progression en phase S. La phosphorylation de pRb par les complexes cycline/CDK libère les facteurs de transcription E2F, qui induisent l'expression de gènes impliqués dans la progression du cycle cellulaire. Pendant la phase G2 du cycle cellulaire, les kinases Wee1 et Myt1 maintiennent le complexe CDK1/cycline B dans un état inactif. La déphosphorylation de ce complexe par les phosphatases CDC25 entraînera son activation, permettant ainsi le passage de la phase G2 et l'entrée à la mitose (Benzaref, 2005).

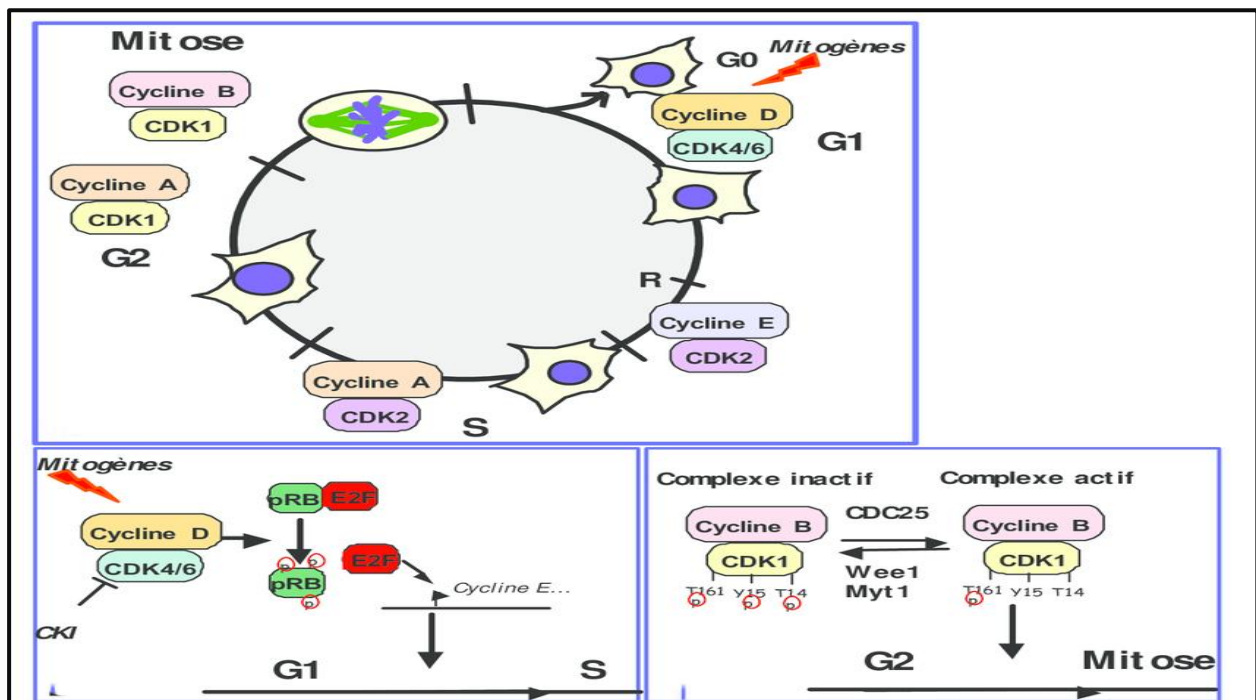


Figure 8. Les mécanismes de la régulation du cycle cellulaire (Benzaref, 2005).

Chapitre 3

Cytotoxicité et génotoxicité

1. Définition de la cytotoxicité

Est un phénomène par lequel une cellule cible subit la mort à la suite d'une agression extérieure appelé effet cytotoxique. La cytotoxicité peut être initiée par l'action du complément ou par la formation de pores dans les membranes par des substances chimiques et biologiques ou des agents physiques peuvent provoquer une cytotoxicité en affectant les cellules à des degrés divers (Istifli et Ila, 2019).

1.1. Les tests de cytotoxicité

La cytotoxicité est définie comme le taux d'effets toxiques dans une cellule vivante. Un certain nombre de tests sont utilisés pour élucider cette relation (Istifli et Ila, 2019). Ces tests ont été développés comme une alternative à l'utilisation d'animaux dans la recherche, en particulier les rongeurs, les lapins et les porcs.

Les tests de cytotoxicité sont utilisés pour étudier l'effet toxique sur un type de cellule, en utilisant une méthode qui évalue un paramètre spécifique (croissance cellulaire, intégrité cellulaire, activité fonctionnelle de la cellule, etc). À ce jour, il existe plusieurs méthodes d'étude de la cytotoxicité, dont celles basées sur la perturbation de la perméabilité membranaire et celles basées sur l'altération de la prolifération cellulaire (Fasla, 2009).

2. Définition de la génotoxicité

La génotoxicité désigne la capacité des agents physiques, chimiques ou biologiques à endommager l'information génétique d'une cellule, ce qui peut entraîner des mutations et éventuellement des tumeurs malignes. Bien que la génotoxicité soit souvent confondue avec la mutagenicité, tous les agents mutagènes sont génotoxiques, mais tous les composés génotoxiques ne sont pas nécessairement mutagène (Djeussi *et al.*, 2014). Pour détecter ces molécules, les chercheurs recherchent des dommages à l'ADN dans les cellules exposées à des substrats toxiques. L'altération peuvent être soit directes en induisant une modification de l'ADN (mutations géniques) ou des chromosomes (mutations chromosomiques), soit indirectes comme la modification de la structure des nucléotides avant incorporation dans l'ADN ou l'inhibition des enzymes de synthèse ou de réparation (ADN polymérase, ligases, topoisomérases) (Mutations génomiques) (Cachot et Dégremont, 2009).

2.1 Les agents génotoxiques

Les agents génotoxiques sont des agents qui ont la capacité d'altérer l'information génétique codée par l'ADN. Ces agents peuvent être divisés en trois groupes distincts :

a. Les agents biologiques : Elles peuvent être d'origine endogène ou exogène. Les molécules endogènes sont celles qui résultent du métabolisme normal des cellules et qui ont le pouvoir de

causer des dommages à l'ADN, comme dans le cas du stress oxydatif, et les molécules exogènes, comme les virus (Cachot et Dégremont, 2009).

b. Les agents chimiques (souvent électrophile) : Ce sont des mutagènes électrophiles qui établissent une liaison covalente avec un site nucléophile d'une base d'ADN. Parmi les sites nucléophiles, les azotes aromatiques, les groupements hydroxyles et carbonyles de bases constitutives d'ADN qui constituent les cibles privilégiées des agents chimiques génotoxiques (Benhacine et Sahil, 2016). On en distingue :

- Les analogues d'acide nucléique (Jean et Hall, 2000).
- Les agents intercalaires (Back et Rogers, 1982).
- Les modificateurs de bases : tel que les agents alkylants (Benhacine et Sahil, 2016) et les moutardes à l'azote (Golsteyn et Lusy, 2014).

c. Agents physiques

Les agents physiques sont principalement des rayonnements ionisants de haute énergie, tels que les rayons X ou les rayons gamma, et des rayonnements non ionisants, tels que la lumière ultraviolette. Ces agents peuvent induire diverses mutations (Cachot et Dégremont, 2009).

2.2. La relation entre le stress oxydatif et la génotoxicité

Le stress oxydatif désigne un déséquilibre entre la production de radicaux libres, principalement les espèces réactives de l'oxygène (ERO), et les capacités antioxydantes d'un organisme. Chez les plantes, ce stress peut être déclenché par divers facteurs environnementaux tels que la sécheresse, la salinité, les métaux lourds et les rayons ultraviolets. Les ERO comprennent des molécules telles que le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$) et le radical hydroxyle (OH^{\bullet}), qui peuvent causer des dommages cellulaires significatifs (Gill et Tuteja, 2010). Ces dommages incluent la peroxydation des lipides membranaires, l'oxydation des protéines, et surtout les altérations de l'ADN.

Les ERO peuvent provoquer des cassures simples et doubles brins de l'ADN, des modifications de bases, ainsi que la formation de pontages ADN-protéines, ce qui entraîne une importante génotoxicité. Ces altérations peuvent avoir des conséquences graves sur la stabilité génomique des plantes, affectant leur croissance, leur développement et leur capacité de reproduction (Dubey *et al.*, 2012). Les plantes ont mis au point des mécanismes sophistiqués pour se protéger contre les dommages oxydatifs. Ces mécanismes comprennent des systèmes enzymatiques tels que les superoxyde dismutases (SOD), les catalases (CAT) et les peroxydases (POD), ainsi que des antioxydants non enzymatiques tels que l'acide ascorbique, le glutathion et les flavonoïdes. Cependant, lorsque le stress oxydatif dépasse les capacités de défense antioxydante de la plante, des dommages génotoxiques peuvent survenir, entraînant des mutations et éventuellement des

maladies (Foyer et Noctor, 2011). Des recherches récentes ont démontré que l'exposition à des concentrations élevées de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) peut entraîner une génotoxicité significative chez diverses espèces végétales (Apel et Hirt, 2004). En synthèse, le stress oxydatif est étroitement associé à la génotoxicité chez les plantes. Les ERO en excès peuvent endommager l'ADN, provoquant des mutations et des altérations chromosomiques (Collins, 2009). Bien que les mécanismes de défense antioxydante jouent un rôle crucial pour limiter ces dommages, leur efficacité peut être dépassée dans des conditions de stress sévère (Faisal *et al.*, 2020).

2.3. Les tests de génotoxicité

Les tests de génotoxicité et de mutagénicité visent à identifier les altérations qui peuvent prédire le potentiel mutagène d'une substance. Parmi les méthodes les plus couramment employées, on compte le test d'Ames, Test des échanges de chromatides sœurs, les tests des comètes, les tests du micronoyau et le test d'aberration chromosomique (Tarantini, 2009).

a. Test des comètes

Le test des comètes (électrophorèse sur gel unicellulaire) est de plus en plus répandu dans les tests de génotoxicité. Il a acquis une popularité considérable en tant que technique standard d'évaluation des dommages et/ou de la réparation de l'ADN en raison de sa sensibilité à détecter de faibles niveaux de dommages à l'ADN, de son applicabilité à divers tissus et/ou à des types de cellules particuliers, de sa nécessité de disposer d'un petit nombre de cellules par échantillon et de la facilité et de la rapidité générales de l'exécution du test (Hartmann *et al.*, 2009) (Figure 9).

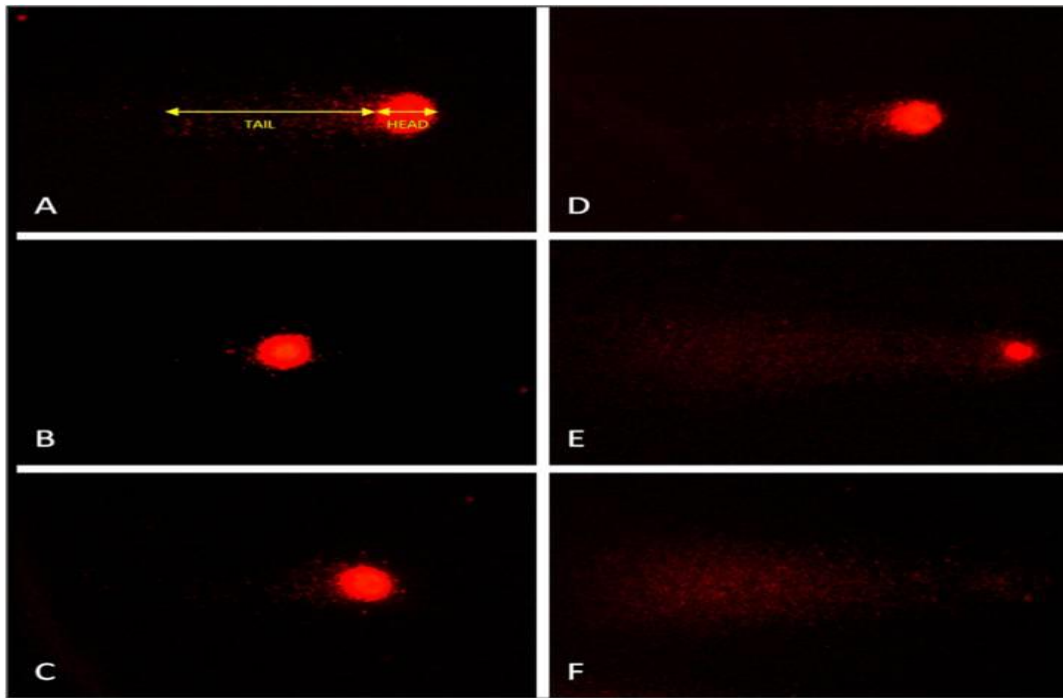


Figure 9. Photographie de catégorisation des dommages causés à l'ADN par le test des comètes. A) Mesure de la longueur de la queue/de la tête (en μm), B) Pas de dommage, C) Faible dommage, D) Dommage moyen, E) Dommage sévère et F) Dommage total (Hartmann *et al.*, 2009).

b. Test d'Ames

Le test d'Ames est un test de mutation génétique qui permet de déterminer si une substance chimique est capable d'induire des mutations dans une bactérie. Le test est réalisé sur des souches de *Salmonella typhimurium* (His-), porteuses d'une mutation dans l'un des gènes régissant la synthèse de l'acide aminé histidine. Cette mutation (His-) rend les souches incapables de se développer sur un milieu de culture dépourvu d'histidine.

Avec une fréquence propre à chaque souche, ces mutations (His-) peuvent spontanément revenir à (His+). Les bactéries porteuses de cette mutation inverse peuvent alors se développer sur un milieu dépourvu de cet acide aminé.

L'exposition de bactéries à un agent mutagène peut entraîner une augmentation notable de la fréquence des mutations inverses. Le test d'Ames a été mis au point pour mesurer cette induction de mutation inverse, notamment en évaluant la formation de colonies de bactéries His+ (Maron *et al.*, 1983).

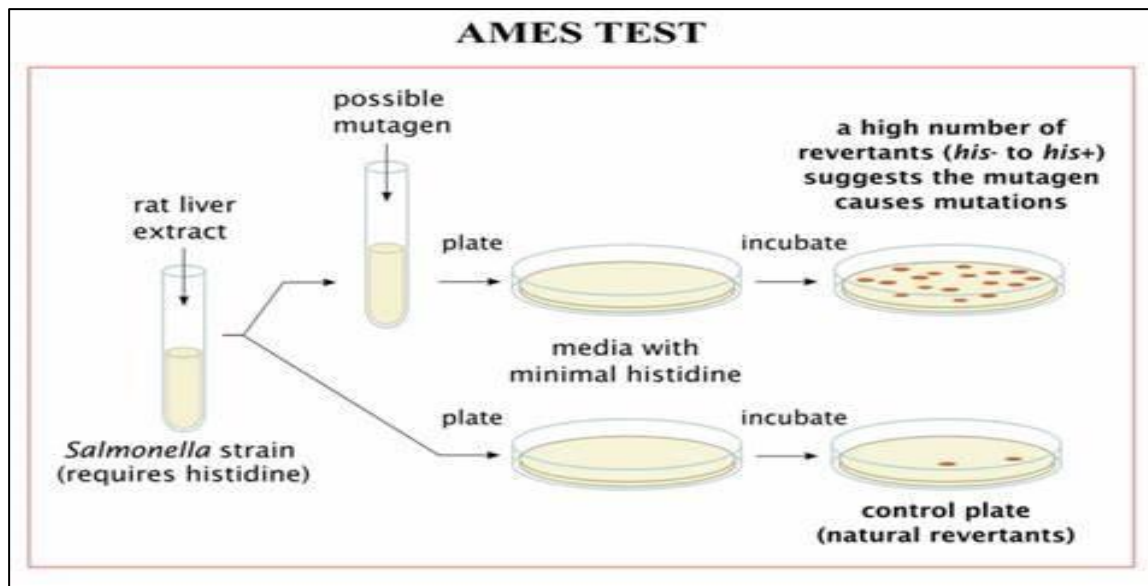


Figure 10. Principe d'application du test d'Ames (Maron *et al.*, 1983).

c. Test des micronoyaux

Les micronoyaux (MN), également connus sous le nom de « corps de Howell-Jolly », ont été identifiés pour la première fois dans le cytoplasme des érythrocytes et appelés « fragments de matériel nucléaire » par Howell ou « corpuscules intra-globulaires » selon la terminologie de Jolly. Il est bien connu que le MN se forme principalement pendant l'anaphase à partir de chromosomes entiers ou de fragments de chromosomes qui ne parviennent pas à être incorporés dans les noyaux filles en raison d'une mauvaise fixation au fuseau pendant la mitose. Ces fragments de chromosomes ou chromosomes disloqués sont finalement recouverts d'une membrane nucléaire et sont morphologiquement similaires au noyau après une coloration nucléaire standard, à l'exception d'une taille plus petite. L'interprétation des résultats des tests MN est beaucoup plus facile et rapide que celle des résultats des tests AC. Les tests MN *in vitro* et *in vivo* sont rapides, très fiables et permettent d'identifier un large éventail de lésions de l'ADN au niveau chromosomique, en particulier pour évaluer le risque de lésions génotoxiques. En outre, le test MN est la seule méthode permettant de détecter l'aneuploïdie (Mehmet *et al.*, 2017).

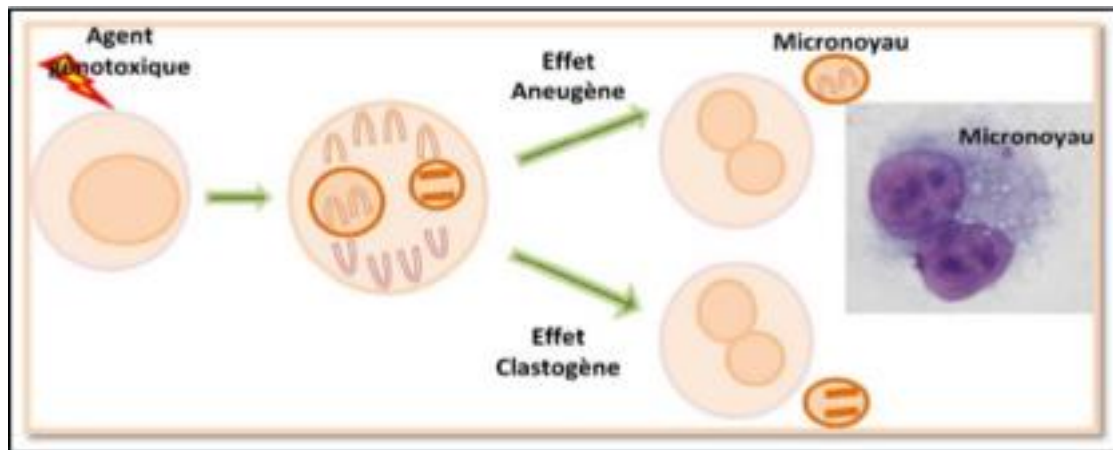


Figure 11. Schéma de formation des micronoyaux (Aye *et al.*, 2013)

d. Test des aberrations chromosomiques

Le test d'aberration chromosomique (AC) détecte les agents toxiques qui induisent des chromosomes anormaux, des cassures de chromosomes ou de chromatides et des translocations qui jouent un rôle dans l'étiologie du cancer et de diverses maladies génétiques humaines. Les effets des composés peuvent être étudiés soit sur des animaux entiers *in vivo*, soit sur des cellules cultivées *in vitro*.

Dans les deux cas, la cellule ou l'animal est traité avec le composé testé et incubé avec un inhibiteur de métaphase (généralement la colchicine ou le colcémide). La présence d'aberrations est analysée au microscope après une coloration appropriée. Le test d'aberrations chromosomiques est l'une des approches les plus sensibles pour prédire les substances cancérigènes ou mutagènes présentes dans l'environnement et est considéré par certains chercheurs comme une méthode complémentaire au test d'Ames.

Des rapports antérieurs confirment que le test MN *in vitro* est une alternative appropriée au test d'aberrations chromosomiques *in vitro*. La principale raison de cette implication est liée au processus de notation. En effet, la notation dans le test AC est intrinsèquement complexe. En revanche, le test MN présente des critères de notation simples et permet de détecter non seulement les clastogènes, mais aussi les substances chimiques induisant l'aneuploïdie (Mehmet *et al.*, 2017).

e. Test des échanges de chromatides sœurs

Le test SCE permet de détecter les génotoxines à de très faibles concentrations. Il permet de visualiser l'échange réciproque de bras de chromatides appartenant au même chromosome.

Il permet de visualiser l'échange réciproque de bras de chromatides appartenant au même chromosome.

Il a été utilisé sur plusieurs plantes : *Allium cepa*, *Vicia faba* et *Nicotiana plumbaginifolia* (Panda *et al.*, 1996).

Chapitre 4

Matériels et méthodes

1. Matériels

Notre étude a pour objectif d'une part, l'évaluer l'effet cytotoxique et génotoxique de l'extrait aqueux de *Salvia verbenaca* en utilisant le test d'*Allium cepa* et d'autre part d'évaluer l'activité antioxydante et doser quelques métabolites secondaires tels que les polyphénols, les flavonoïdes et les tanins. Le test *Allium cepa* a été utilisé par de nombreux chercheurs, principalement comme bio-indicateur de la pollution environnementale et pour évaluer le potentiel génotoxique des plantes médicinales (Strivatava, 2012).

Salvia verbenaca est une espèce de sauge largement répandue et native dans différentes régions d'Algérie. Après avoir récolté une quantité suffisante de *Salvia verbenaca*, les feuilles et les fleurs ont été séchées à l'ombre dans un endroit sec et aéré pendant 7 jours. Après le séchage, l'échantillon est broyé avec un hachoir jusqu'à l'obtention d'une poudre de granulométrie homogène qui permet l'extraction d'un taux important des composés. La poudre est conservée dans des sachets bien fermés.

1.1 Le test d'*Allium cepa*

Les plantes supérieures sont considérées comme des modèles génétiques précieux pour la détection des mutagènes environnementaux, avec un haut degré d'utilité dans la recherche scientifique. Parmi les espèces végétales les plus couramment utilisées pour l'évaluation des dommages à l'ADN, on trouve *Allium cepa* (Leme et Marin-Morales, 2009). L'espèce *Allium cepa* L., communément appelée oignon, a longtemps été considérée comme un membre de la famille des Liliaceae. Cependant, selon des schémas taxonomiques plus récents, le genre *Allium* appartient à la famille des Amaryllidaceae, sous-famille des Allioideae. Ce genre est l'un des plus grands genres de monocotylédones, comprenant environ 850 espèces (Amodeo *et al.*, 2019).

2. Méthodes

2.1. Extraction

25 g de la poudre végétale a été mis dans un dessiccateur avec une solution hydroalcoolique (3v/1v) (méthanol/eau distillée) pendant 48h, à l'abri de la lumière. Après la filtration du macérât, il a été mis pour évaporation dans un évaporateur rotatif sous vide jusqu'à l'obtention d'un liquide concentré. L'extrait liquide obtenu a subi un séchage pendant 48h dans l'étuve réglée à 40°C.

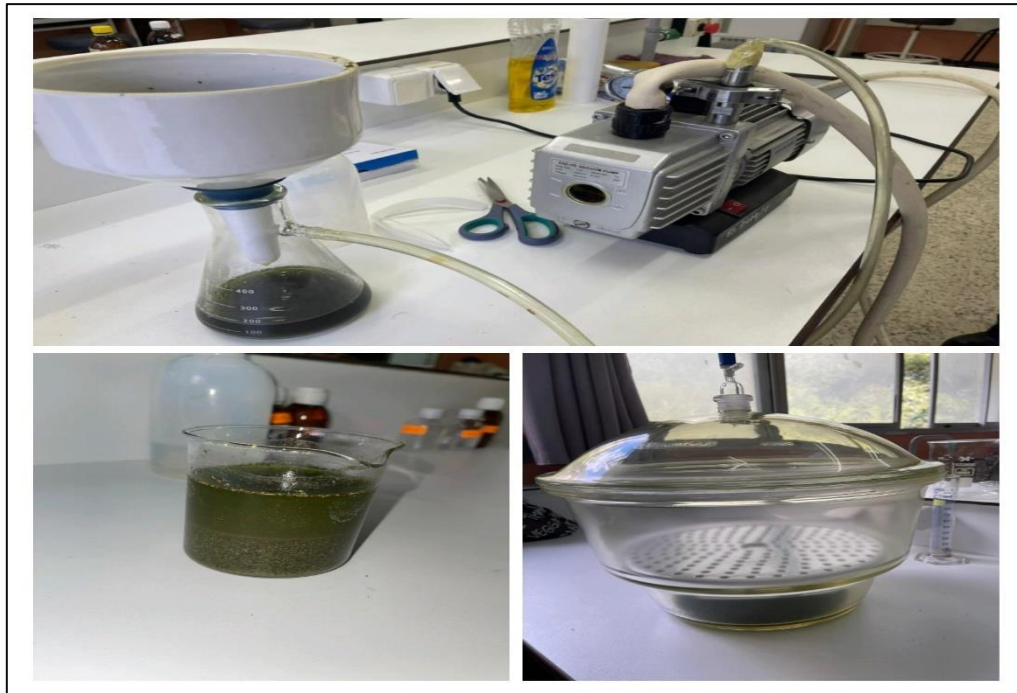


Figure 12. Les étapes d'extraction méthanolique de *Salvia verbenaca*

2.2. Préparation des concentrations testées de l'extrait de *Salvia verbenaca*

Après avoir obtenu un extrait entièrement sec, une concentration mère de 4 mg/ml a été préparée à partir de laquelle différentes concentrations filles ont été testées (0.25 mg/ml, 0.5 mg/ml, 1 mg/ml, 2 mg/ml).



Figure 13. Préparation des différentes concentrations de l'extrait de *Salvia verbenaca*.

2.3. Le test de cytotoxicité

Les graines de l'*Allium cepa* ont été utilisées comme plante modèle pour évaluer la cytotoxicité de l'extrait aqueux de la partie aérienne de *Salvia verbenaca*. L'expérience a suivi un plan expérimental comprenant deux répétitions. Chaque répétition correspond à une boîte de Pétri (9 cm de diamètre) contenant 25 graines. Les graines ont été disposées sur du papier filtre humidifié avec 5 ml de l'extrait. Pour cela cinq concentrations de l'extrait (0.25, 0.5, 1, 2 et 4 mg/ml) ont été évaluées. De l'eau distillée a été utilisée comme témoin négatif.

Après le traitement, les boîtes ont été maintenues à température ambiante ± 2 °C à l'obscurité pendant 7 jours.

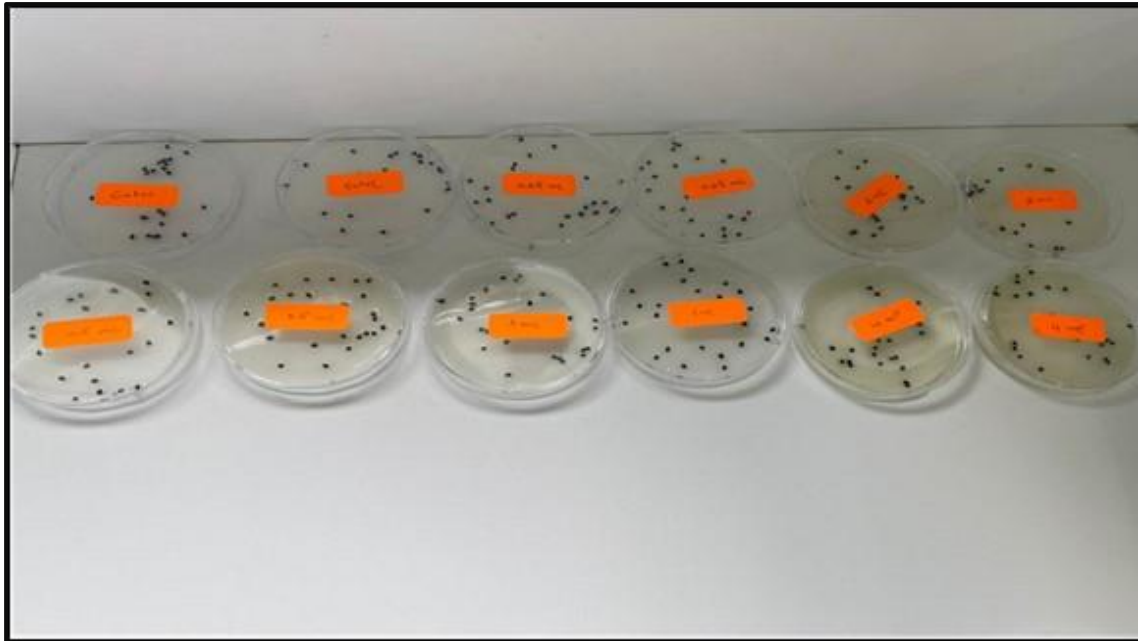


Figure 14. Test de cytotoxicité sur les graines de l'*Allium cepa* avec les différentes concentrations de l'extrait aqueux de *Salvia verbenaca*

2.4. Le test de cytotoxicité et génotoxicité

Pour évaluer la cytotoxicité et la génotoxicité de l'extrait aqueux de *Salvia verbenaca*, des graines d'*Allium cepa* ont été mises à germer dans l'obscurité jusqu'à ce que la longueur des racines atteigne entre 1 et 1.5 cm. Ces dernières ont ensuite été traitées avec l'extrait de *Salvia verbenaca* à différentes concentrations, avec et sans H₂O₂ à 6% (control positif), pendant 24 heures. Les différentes combinaisons de traitements sont mentionnées dans le tableau ci-dessous.

Tableau 2. Tableau représentant les différents traitements réalisés dans notre étude.

Groupes	Concentrations
Groupe 1	Control
Groupe 2	0.25 mg/ml
Groupe 3	0.5 mg/ml
Groupe 4	1 mg/ml
Groupe 5	H ₂ O ₂ 6% + Control
Groupe 6	H ₂ O ₂ 6% + 0.25 mg/ml
Groupe 7	H ₂ O ₂ 6% + 0.5 mg/ml
Groupe 8	H ₂ O ₂ 6% + 1mg/ml

Après 24 heures, les racines ont été récoltées et fixées dans une solution d'éthanol et d'acide acétique, puis stockées dans l'éthanol à 70% à 4 °C pendant au moins 24 heures.

Les pointes racinaires correspondant à chaque traitement ont été traitées dans de l'HCl 1N à 60 °C, puis colorées avec le réactif de Feulgen pendant 45 minutes. Elles ont ensuite été écrasées entre lame et lamelle dans une goutte d'acide acétique à 45 %.

Mille cellules ont été évaluées par lame, soit un total de 5000 cellules méristématiques observées par traitement. Les différentes phases de division mitotique ainsi que les éventuelles altérations chromosomiques et nucléaires ont été observées et enregistrées.

Les paramètres de cytotoxicité tels que l'indice mitotique (IM), et l'indice de phase (IP) (prophase, métaphase, anaphase et télophase) ont été obtenus selon (Andrade-Vieira *et al.*, 2015).

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

$$\text{IP (\%)} = \frac{\text{Nombre total de cellules en phase i}}{\text{Total de cellules examinées}} \times 100$$

Pour les paramètres de génotoxicité on a l'indice d'altérations chromosomiques (IA) qui a été obtenu

$$\text{IA (\%)} = \frac{\text{Nombre total d'aberrations chromosomiques}}{\text{Total de cellules examinées}} \times 100$$

2.5. L'analyse phytochimique

2.5.1. Dosage des polyphénols totaux

La teneur en polyphénols totaux de l'extrait a été déterminée par la méthode adaptée de (Singleton et Ross, 1965) en avec le réactif Folin- Ciocalteu. Pour cela, 200 μ l d'extrait à différentes concentrations (0.5 mg/ml, 1 mg/ml) ont été mélangées avec 1 ml du réactif de Folin-Ciocalteu dilué à un rapport de 1 :10. Après 4 minutes, 800 μ l de carbonate de sodium (Na_2CO_3 , 7.5%) ont été ajoutés au mélange. Le mélange a ensuite été incubé à température ambiante et à l'abri de la lumière pendant 2 heures. Ensuite, l'absorbance a été mesurée à 765 nm par rapport à un blanc en utilisant un spectrophotomètre UV (Alistiqsa *et al.*, 2018). Les résultats sont exprimés en microgrammes équivalents d'acide gallique par milligramme d'extrait (μg EAG/mg d'extrait) (Figure 15).

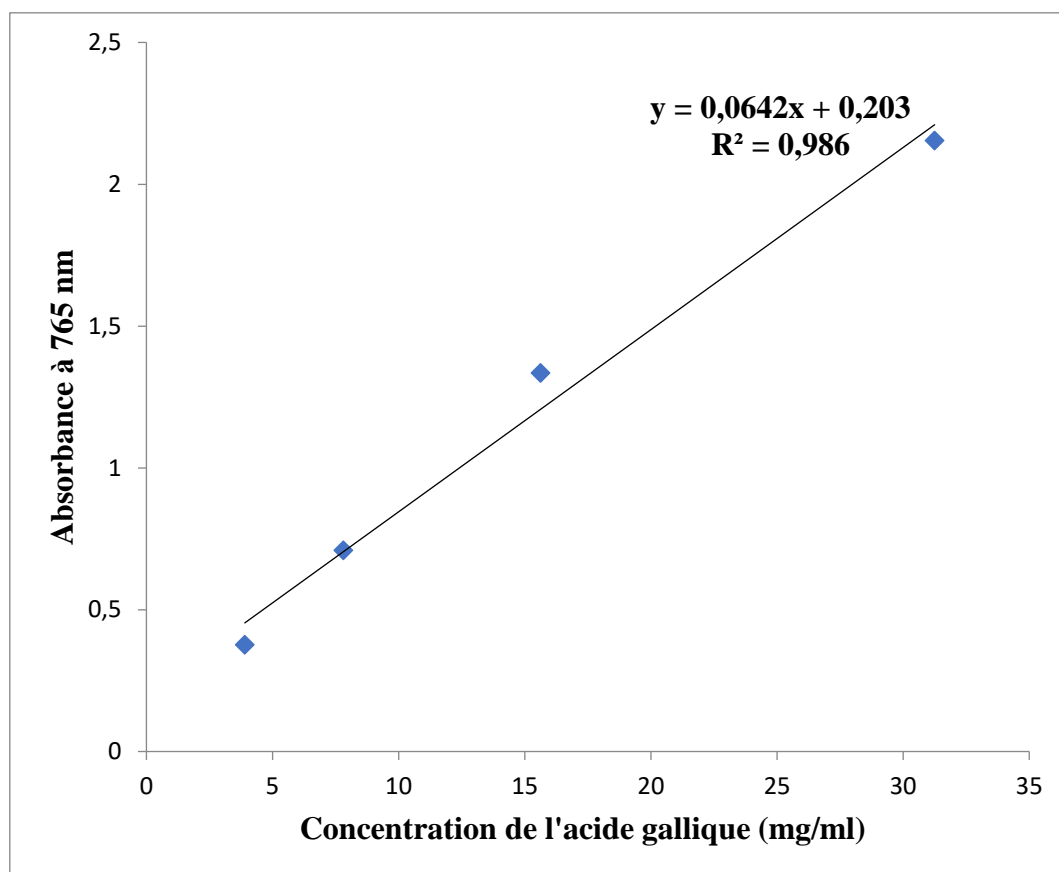


Figure 15. Courbe d'étalonnage des polyphénols réalisée à l'aide de l'acide gallique.

2.5.2. Dosage des flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes a été quantifiée par la méthode colorimétrique au trichlorure d'aluminium. Pour cela, 1 ml d'une solution d'aluminium (AlCl_3 , 2%) a été ajouté à 1 ml de l'extrait à deux concentrations (0.5 mg/ml, 1 mg/ml). Le mélange a été incubé pendant 10 minutes à température ambiante, après il a été lu à 430 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. Un blanc a été réalisé avec 1 ml de solution de trichlorure d'aluminium (AlCl_3) et 1 ml d'éthanol (Ibrahim *et al.*, 2007). Les résultats sont exprimés en équivalents microgrammes de quercétine par milligramme d'extrait ($\mu\text{gEQ}/\text{mg}$ d'extrait) (Figure 16).

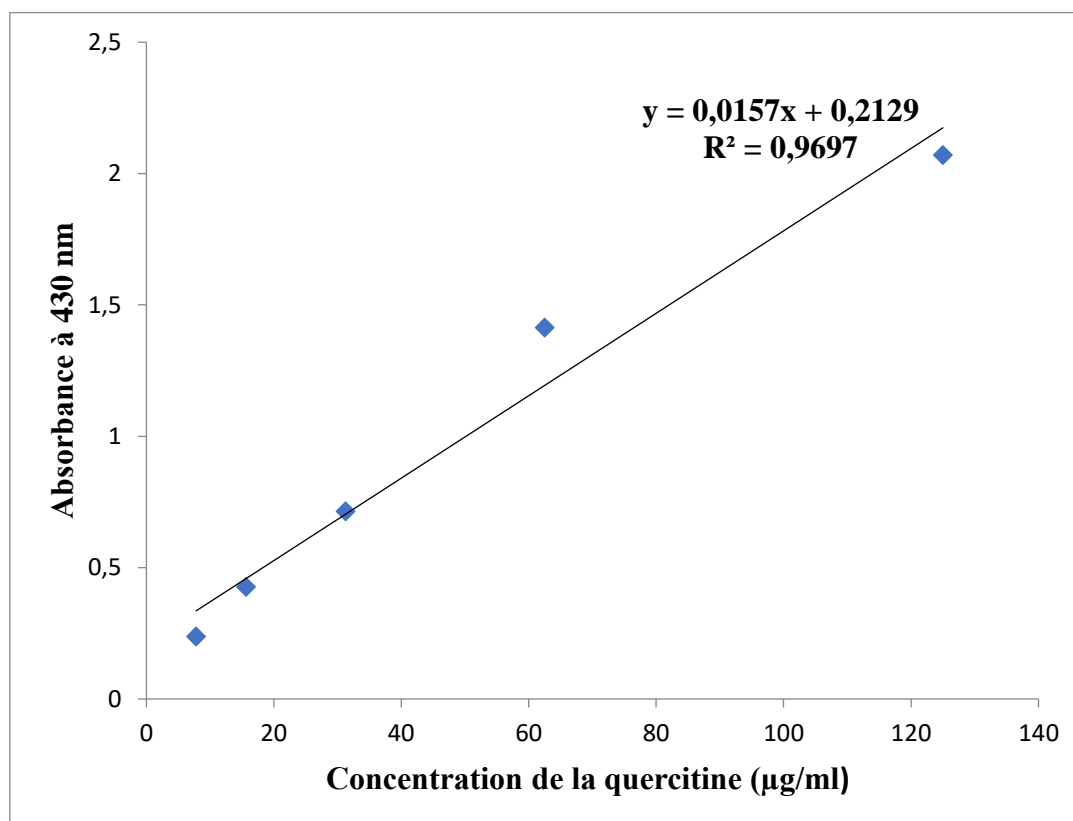


Figure 16. Courbe d'étalonnage des flavonoïdes réalisée à l'aide de la Quercétine.

2.5.3. Dosage des tanins condensés

Les tanins condensés sont déterminés par la méthode de la vanilline en milieu acide (Khali *et al.*, 2013). Cette technique est basée sur la formation d'un complexe rouge entre la vanilline et les tannins. Pour cela 3 ml d'une solution de vanilline (4%) et 1.5 ml d'acide hydrochlorique concentré ont été ajoutés à 400 μl de chaque échantillon ou standard. Après 15 min d'incubation l'absorbance est lue à 500 nm. La concentration des tanins condensés a été déterminée à partir d'une gamme d'étalonnage établie par la catéchine (0-400 $\mu\text{g}/\text{ml}$) et les résultats sont exprimés

en microgramme équivalents de la catéchine par milligramme d'extrait ($\mu\text{g ECT}/\text{mg d'extrait}$) (Figure 17).

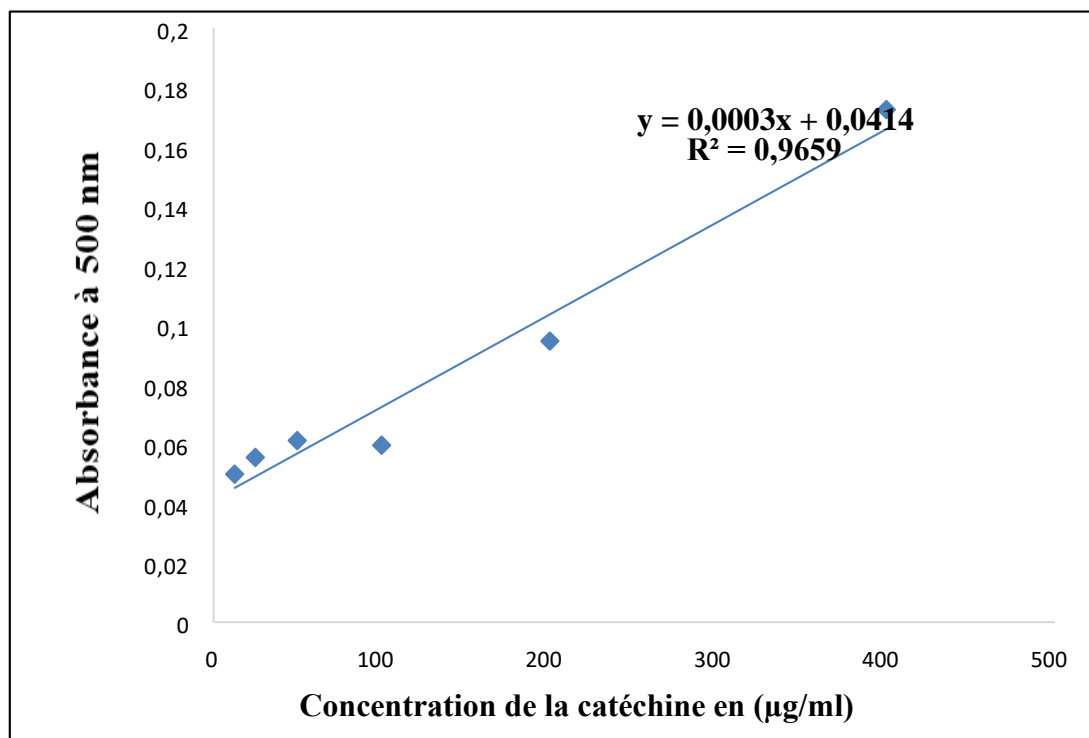


Figure 17. Courbe d'étalonnage des tanins condensés réalisée à l'aide de la Catéchine.

2.5.4. L'activité antioxydante

L'activité de piégeage des radicaux libres de l'extrait a été évaluée par spectrophotométrie à l'aide de la méthode de piégeage des radicaux DPPH. Cette méthode repose sur le principe selon lequel plus la solution de DPPH perd rapidement sa couleur, plus le composé testé est puissant en tant qu'antioxydant (Belmokhtar, 2015). Le radical DPPH (DPPH^{\cdot}) est réduit par un donneur d'hydrogène (AH) pour former le radical DPPH-H (A^-).

Un volume de 50 μl de différentes concentrations de l'extrait testé ainsi que de l'acide ascorbique (référence) ont été ajoutés à 1950 μl de solution de DPPH préparée dans du méthanol. Un blanc a été préparé en ajoutant 50 μl de méthanol à 1950 μl de la solution de DPPH. Après 30 minutes d'incubation à température ambiante et à l'abri de la lumière, l'absorbance a été mesurée à une longueur d'onde de 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

Le pourcentage d'inhibition du DPPH est établi par l'équation suivante : $\text{Activité anti radicalaire (\%)} = \frac{(\text{Ab contrôle} - \text{Ab échantillon})}{\text{Ab contrôle}} \times 100$ Ab contrôle : l'absorbance du blanc. L'activité antioxydante de l'extrait testé a été exprimée en IC_{50} , qui est défini comme

la concentration (en $\mu\text{g/ml}$) nécessaires pour inhiber 50% des radicaux du DPPH, le IC_{50} de l'extrait a été comparée par la suite au IC_{50} de l'acide ascorbique (Figure 18).

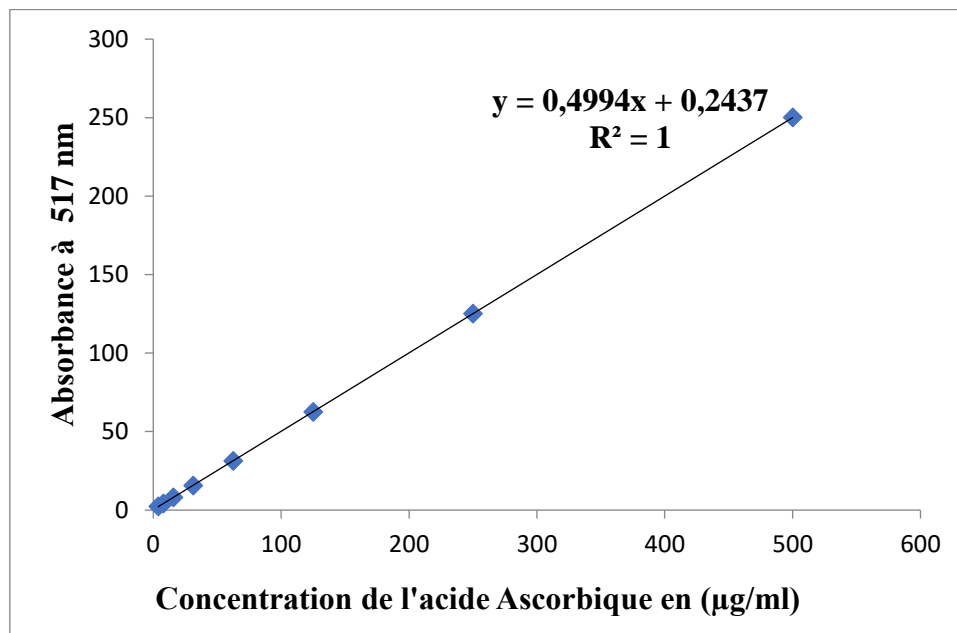


Figure 18. Courbe d'étalonnage de l'activité antioxydante réalisée à l'aide de l'Acide Ascorbique.

Chapitre 5

Résultats et Discussion

Résultats

1. Test de cytotoxicité

1.1. Elongation racinaire

L'activité cytotoxique de l'extrait hydro-alcoolique des feuilles de *Salvia verbenaca* a été évaluée en fonction de leur capacité à inhiber la germination des graines de l'*Allium cepa*. Le graphe a montré une différence dans la vitesse de germination entre les différents groupes, la germination a eu lieu après 72 h de traitement pour le groupe contrôle, 0.25 mg/ml et 1 mg/ml et de 96 h de traitement pour le groupe 0.5 mg/ml, 2 mg/ml et 4 mg/ml. Les résultats indiquent que la faible concentration (0.25 mg/ml) favorise la croissance racinaire par rapport aux concentrations plus élevées. À 120 et 168 heures, le groupe à 0.25 mg/ml présente la plus grande longueur racinaire de 8 mm et 14.91 mm respectivement par rapport à tous les groupes y compris le groupe contrôle (5.3 mm et 14.68 mm). Tandis que les concentrations 1 mg/ml, 2 mg/ml, et 4 mg/ml montrent une réduction de l'élongation racinaire dans tous les périodes de traitement cette réduction devient significative pour la concentration 2 et 4 mg/ml à partir de 144 h ($p < 0.05$).

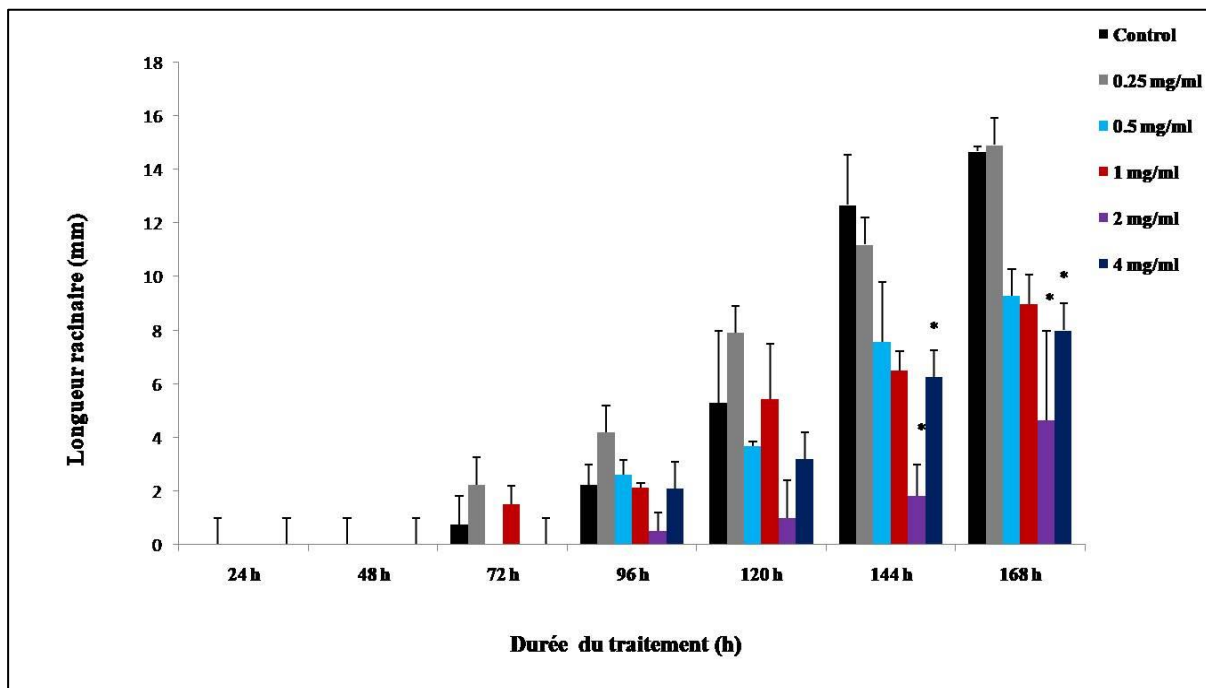


Figure 19. Variation de la longueur racinaire en fonction des concentrations de l'extrait aqueux de *Salvia verbenaca* après 7 jours de traitement (* $p < 0.05$).

1.2. L'indice mitotique

La figure montre la variation de l'indice mitotique (%) des cellules après 24 heures de traitement avec différentes concentrations de l'extrait de *Salvia verbenaca*, avec et sans H₂O₂. Le contrôle a un indice mitotique d'environ 10%, tandis que le H₂O₂ à 6% le réduit drastiquement à environ 1%, indiquant une forte inhibition mitotique due à la toxicité de H₂O₂. Les résultats ont montré qu'à partir de la concentration de 0.5 mg/ml, l'extrait de *Salvia verbenaca* réduit de manière significative le taux de division cellulaire (indice mitotique) par rapport à celui du contrôle négatif. En revanche, la concentration de 0.25 mg/ml augmente l'indice mitotique à environ 15%, supérieur à celui du contrôle (10%), montrant une stimulation de l'activité mitotique. Ces résultats sont positivement corrélés avec les résultats de l'élongation racinaire (figure 19), indiquant que l'augmentation de l'indice mitotique favorise la croissance des racines. D'autre part, le traitement des cellules avec H₂O₂ et les différentes concentrations de l'extrait n'augmente pas l'indice mitotique, sauf à la concentration de 1 mg/ml, où une légère augmentation de l'indice mitotique a été remarquée.

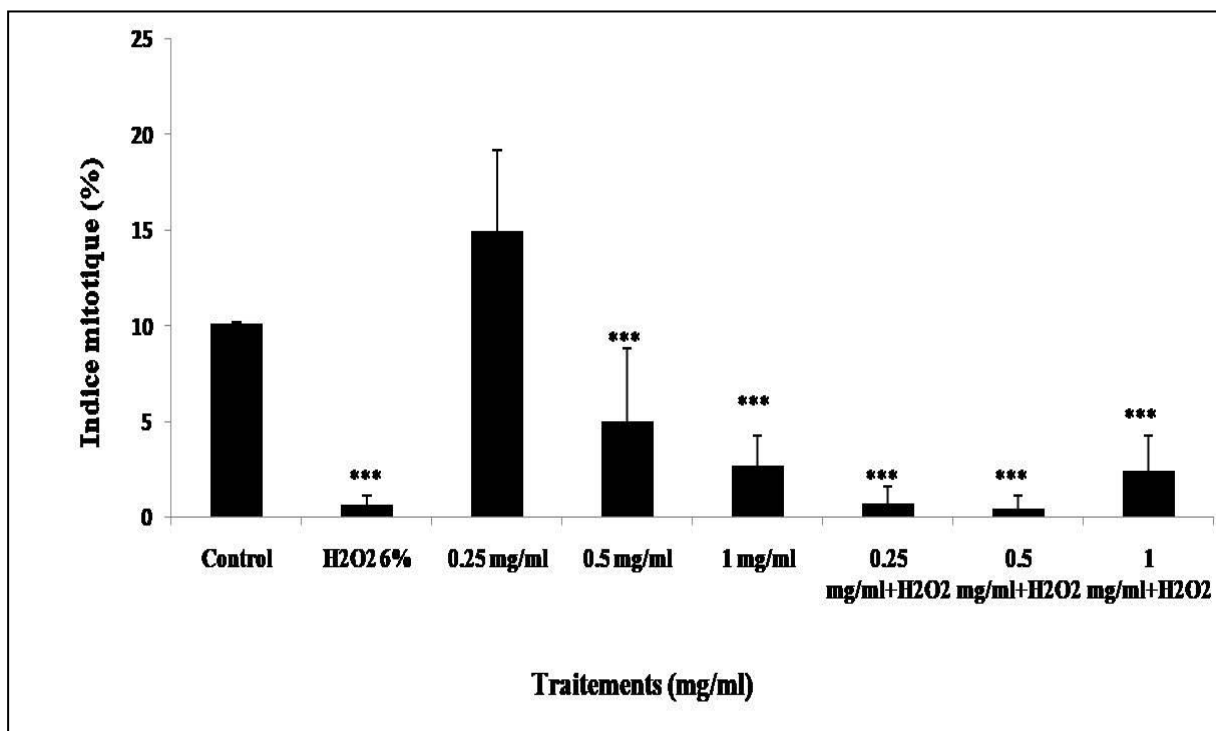


Figure 20. Variation de l'indice mitotique en fonction des concentrations de l'extrait de *Salvia verbenaca* après 24 h de traitement (***p<0.001).

1.3. L'indice de phase

Les résultats montrent que le traitement des cellules d'*Allium cepa* avec différentes concentrations de l'extrait de *Salvia verbenaca* affecte la répartition des phases de la division cellulaire. Dans le groupe témoin, 89.94% des cellules sont en interphase avec un indice mitotique de 10.06%. L'exposition à H₂O₂ (6%) augmente significativement l'entrée en interphase (99.36%), tout en réduisant significativement toutes les phases de la division cellulaire, indiquant une forte inhibition mitotique (indice mitotique de 0.63%) (Tableau 3).

L'extrait de *Salvia verbenaca* à 0.25 mg/ml réduit l'interphase à 85.1% et augmente les proportions des cellules en prophase (9.2%), métaphase (1.8%), anaphase (1.6%) et télophase (2.3%), avec un indice mitotique de 14.9%, suggérant une stimulation de la division cellulaire. À des concentrations de 0.5 mg/ml et 1 mg/ml, l'interphase augmente respectivement à 94.95% et 97.35%, tandis que les autres phases diminuent significativement, indiquant une inhibition de la division cellulaire (indices mitotiques de 5% et 2.65%).

En présence de H₂O₂, toutes les concentrations de l'extrait maintiennent une interphase dominante (>97%) et des indices mitotiques très bas, similaires ou inférieurs à ceux observés avec H₂O₂ seul, démontrant que l'extrait ne parvient pas à supprimer l'effet inhibiteur de H₂O₂ sur la division cellulaire (tableau 3).

Tableau 3. Effet de l'extrait de *Salvia verbenaca* sur la division mitotique et la fréquence des différentes phases de la division cellulaire chez l'*Allium cepa* (***p<0.001).

Groupes	Interphase (%)	Prophase (%)	Métaphase (%)	Anaphase (%)	Télophase (%)	Indice mitotique
Control	89.94±6.13	5.1±1.18	0.40±1.64	2.4±4.82	1.8±2.12	10.06±0.12
H ₂ O ₂ (6%)	99.36±0.47 ***	0.5±0.43** *	0.03±0.05* **	0.1±0.17**	0±0***	0.63±0.47***
0.25 mg/ml	85.1±4.24	9.2±1.13	1.8±0.14	1.6±1.69	2.3±1.27	14.9±4.24
0.5 mg/ml	94.95±3.88 ***	3±3.25***	0.55±0.49* **	0.6±0**	0.9±0.14** *	5±3.88***
1 mg/ml	97.35±1.62 ***	1.3±0.70** *	0.3±0.28** *	0.65±0.35* *	0.4±0.28** *	2.65±1.62***
0.25 mg/ml+ H ₂ O ₂	99.33±0.90 ***	0.66±0.90* **	0±0***	0±0**	0±0***	0.66±0.90***
0.5 mg/ml+H ₂ O ₂	99.56±0.75 ***	0.43±0.75* **	0±0***	0±0***	0±0***	0.43±0.750** *
1 mg/ml+ H ₂ O ₂	97.63±1.95 ***	1.3±0.7***	0.3±0.51** *	0.3±0.51** *	0.46±0.40* **	2.36±1.95***

2. Test de génotoxicité

2.1. Indice d'aberrations chromosomiques

La figure montre l'indice d'aberration chromosomique (%) dans les cellules d'*Allium cepa* après traitement avec différentes concentrations de l'extrait de *Salvia verbenaca*, avec et sans H₂O₂. Concernant les cellules traitées avec l'extrait de *Salvia verbenaca* uniquement, les concentrations de 0.25 mg/ml et 0.5 mg/ml ainsi que 1 mg/ml montrent une augmentation du taux d'aberration chromosomique environ 3%, par rapport à celle du groupe contrôle (1.6%) ce qui suggère une augmentation des anomalies chromosomiques.

Chez le groupe témoin positif présente un faible taux d'aberrations chromosomiques d'environ 1%, cela est lié à la forte diminution de la division cellulaire (99% des cellules en interphase). Chez les groupes des cellules traitées avec H₂O₂ en combinaison avec l'extrait de *Salvia verbenaca*, à différentes concentrations les taux d'aberration chromosomique restent relativement faibles. À 0.25 mg/ml + H₂O₂ et 0.5 mg/ml + H₂O₂, les indices sont inférieurs à ceux du groupe témoin négatif, cela peut être dû à la faible division cellulaire. Cependant à la concentration 1 mg/ml + H₂O₂, l'indice d'aberration chromosomique augmente légèrement à environ 2%, ce qui indique une légère augmentation des anomalies chromosomiques par rapport au contrôle et aux autres combinaisons de traitements (figure 21).

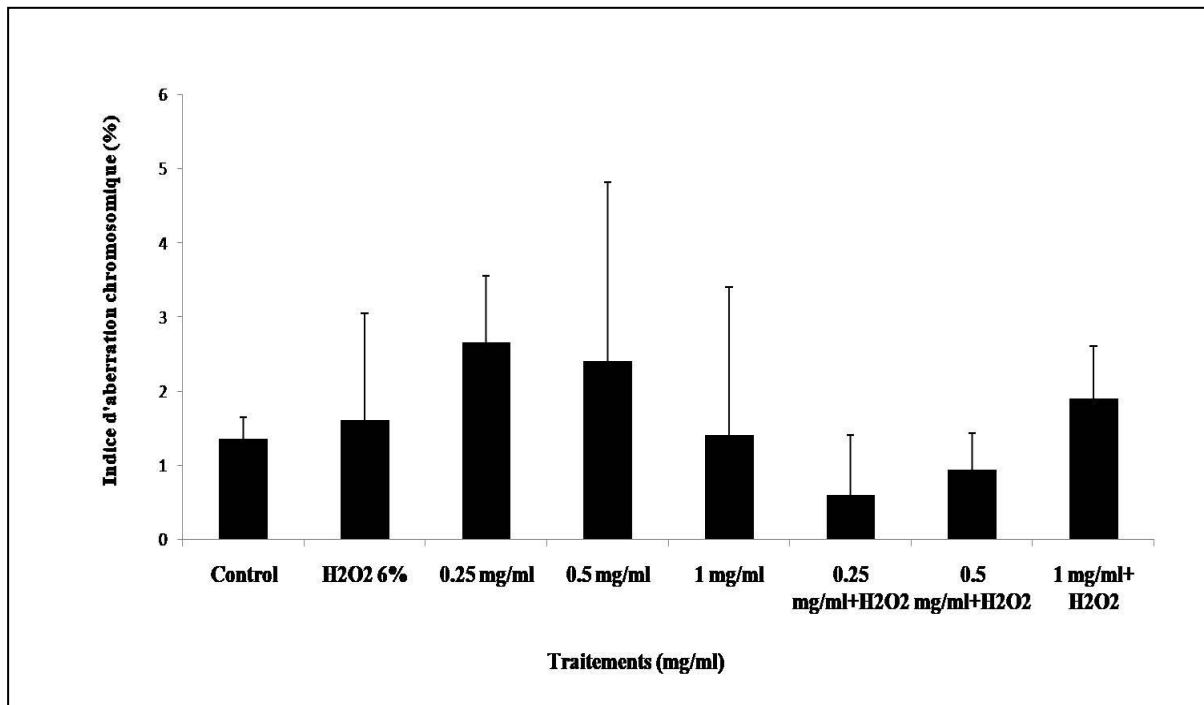


Figure 21. Variation de l'indice d'aberration chromosomique en fonction des concentrations de l'extrait de *Salvia verbenaca* après 24 h de traitement.

2.2. Types d'aberration chromosomique

Différents types d'anomalies chromosomiques ont été observés après le traitement des cellules avec les différentes concentrations de l'extrait de *Salvia verbenaca*, à savoir la c-mitose, le pont chromosomique, l'anaphase multipolaire, l'adhésion chromosomique (stickiness), la fragmentation, le chromosome vagabond et les cellules binuclées. Cependant, le taux de ces aberrations n'était pas significatif par rapport au groupe témoin. Il est à noter que parmi toutes les aberrations rencontrées, l'adhésion chromosomique était la plus fréquente, suivie par le chromosome vagabond (tableau 4).

Tableau 4. Fréquence de différents types d'aberration chromosomiques après traitement avec les différentes concentrations de *S. verbenaca* avec et sans H₂O₂

Groupes	C-Mitose	Micro-noyau	Pont chromosomique	A-mutlipolai	Stickness	Fragmentation nucléaire	Ch Vagabon	Bi-nuclée	Indice d'aberra
Control	0±0	0±0	0,2±0	0±0	0,9±0,3	0±0	0,15±0,1	0,1±0	1,35±0,3
H ₂ O ₂ (6%)	0±0	0,06±0,11	0±0	0±0	1,26±1,32	0±0	0,23±0,25	0,03±0,05	1,6±1,45
0.25 mg/ml	0±0	0,2±0,14	0,2±0,14	0,3±0,14	1±0,14	0,1±0,14	0,7±0,70	0,15±0,07	2,65±0,91
0.5 mg/ml	0±0	0,45±0,63	0±0	0±0	0,95±0,21	0,05±0,07	0,75±1,06	0,2±0,14	2,4±2,12
1 mg/ml	0±0	0±0	0,15±0,07	0±0	1,05±0,63	0±0	0,1±0,14	0,1±0,14	1,4±0,84
0.25 mg/ml+ H ₂ O ₂	0±0	0,33±0,30	0±0	0±0	0±0	0,06±0,11	0±0	0,2±0,26	0,6±0,5
0.5 mg/ml+ H ₂ O ₂	0±0	0,53±0,92	0,2±0,34	0±0	0±0	0,03±0,05	0±0	0,16±0,20	0,93±0,94
1 mg/ml+ H ₂ O ₂	0,03±0,05	0,3±0,17	0,06±0,05	0,13±0,23	0,63±0,56	0,1±0,14	0,3±0,26	0,4±0,36	1,93±0,70

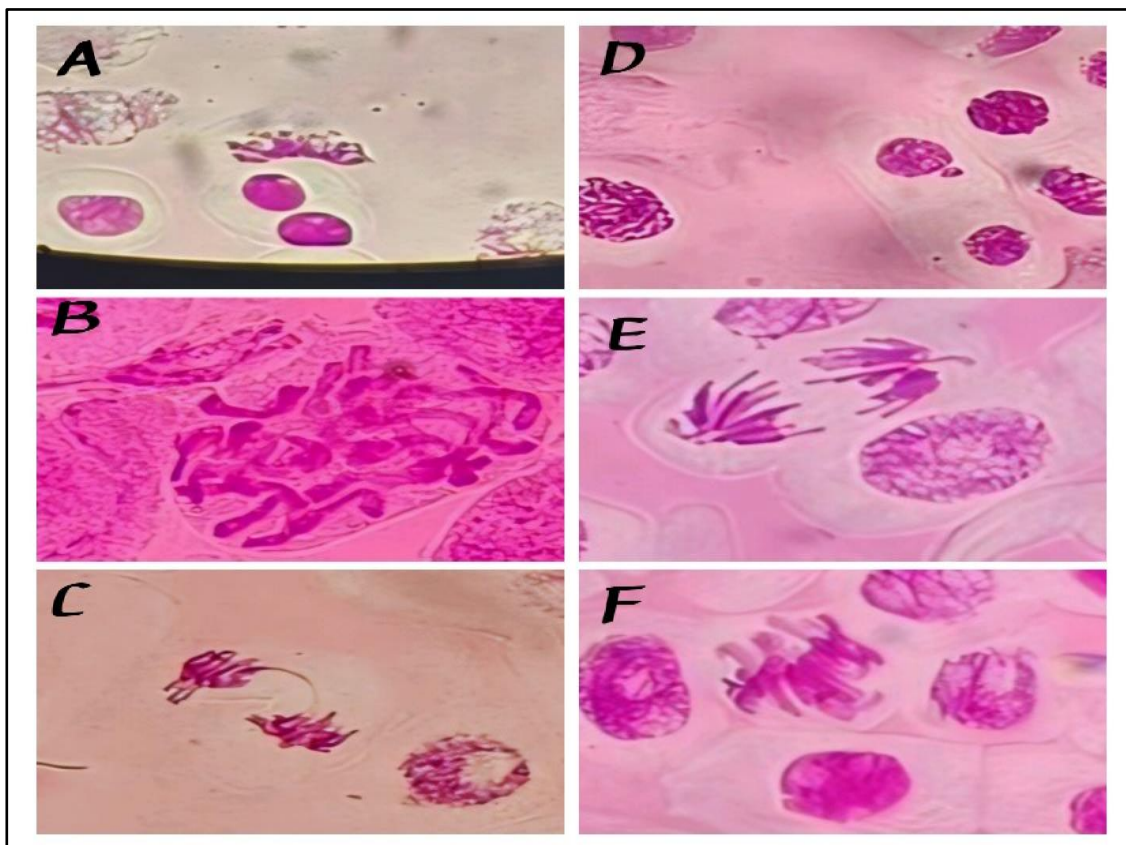


Figure 22. Les aberrations chromosomiques induites par les différentes concentrations de l'extrait aqueux de *Salvia verbenaca*. A : binuclées, B : c-mitose, C : pont chromosomique (anaphase), D : micro-noyau, E : chromosome vagabond, F : adhésion chromosomique (Stickness).

3. Dosages des polyphénols et des flavonoïdes

Les analyses phytochimiques de l'extrait de *Salvia verbenaca* ont révélé la présence de certains métabolites secondaires. La détection de ces composés a été effectuée à l'aide de spectrophotomètre par des essais de réactions colorimétriques, caractérisés par des changements de couleur spécifiques. Les résultats obtenus, sont mentionnés dans le tableau 5, indiquent la présence de polyphénols (259.8 mg/g), de flavonoïdes (80.975 mg/g) et également des tanins mais en faible quantité (0.661 mg/g).

Tableau 5. Criblage des Dosages des polyphénols, flavonoïdes et des tanins de l'extrait de *Salvia verbenaca*

	Polyphenols totaux Mg GAE/g	Flavonoides totaux mg Q/g	Tanins totaux mg CAT/g
<i>Salvia verbenaca</i>	259.8±5.018	80.957±81.268	0.00041±00

4. L'activité antioxydante

L'évaluation de l'activité antioxydante de l'extrait de *Salvia verbenaca* a été au moyen du test de DPPH. Les résultats indiqués dans le tableau 6 sont relatifs à l'IC₅₀ (Concentration des molécules actives nécessaires pour inhiber 50% des radicaux libres) de l'extrait méthanolique de *Salvia verbenaca*, et de l'acide ascorbique (référence). La valeur de l'IC₅₀=59.23µg/ml de l'extrait reflète une forte activité antioxydante.

Tableau 6. Criblage de L'activité antioxydant de l'extrait de *Salvia verbenaca*.

	IC ₅₀ (µg/ml)	EC ₅₀	APR
<i>Salvia verbenaca</i>	59.23	14.80	0.065
Acide Ascorbique	2± 0.01	0.0005	2000

Discussion

Le test d'*Allium* offre de nombreux avantages en tant que méthode de dépistage de la génotoxicité des produits chimiques dans l'environnement en raison de sa sensibilité et de sa bonne corrélation avec les systèmes de test mammifères *in vitro* (Teixeira *et al.*, 2003 ; Ventura *et al.*, 2008). Ce test constitue un essai *in vivo* essentiel, dans lequel les racines sont en contact direct avec les substances étudiées, permettant ainsi de détecter des dommages potentiels à l'ADN, pouvant être comparés à ceux observés chez les humains. Les chromosomes des plantes et des animaux présentent des similarités morphologiques et réagissent de manière comparable aux agent mutagènes et génotoxiques (Nefic *et al.*, 2013).

L'indice mitotique

L'indice mitotique est considéré comme un paramètre puissant pour estimer la fréquence de la division cellulaire (Marcano *et al.*, 2004). Le test de l'*Allium cepa* est considéré comme un modèle de référence pour l'évaluation de la cytotoxicité et de la génotoxicité (Lubini *et al.*, 2008, Bagatini *et al.*, 2009).

Dans notre étude presque, toutes les concentrations d'extrait de *Salvia verbenaca* (0.5 mg/ml, 1 mg/ml, 2 mg/ml et 4 mg/ml) ont diminué le taux de la division cellulaire par rapport à celui du contrôle. Des études précédentes similaires sur les extraits de différentes plantes médicinales ont causé une diminution de la division cellulaire mitotique dans les extrémités racinaires d'*A. cepa* (Khanna et Sharma, 2013).

La diminution de l'IM suggère la suppression de l'activité mitotique dans l'*A. cepa* par l'extrait de *Salvia verbenaca*. Comme l'IM est une estimation quantitative des activités mitotiques dans un organisme, donc la réduction de l'IM est due aux constituants des extraits aqueux qui ont à leur tour des effets cytotoxiques (Sreeranjini et Siril, 2011).

L'IM est une mesure acceptable de la cytotoxicité chez tous les organismes vivants (Smaka-Kinel *et al.*, 1996). Le niveau de cytotoxicité peut être déterminé par la diminution de l'indice mitotique. Une diminution de l'IM en dessous de 20% par rapport au témoin négatif peut avoir un impact léthal sur l'organisme (Antonsiewicz, 1990), tandis qu'une diminution en dessous de 50% a généralement des effets sublétaux (Panda et Sahu, 1985) et est appelée la valeur limite de cytotoxicité (Sharma, 1983).

Dans notre cas l'extrait de *Salvia verbenaca* a été capable de diminuer le taux de division cellulaire de 50% et 70% chez les groupes traités avec les deux concentrations 0.5 mg/ml et 1 mg/ml respectivement, cette diminution a été accompagnée par une diminution considérable de l'élongation racinaire.

D'autres part les différentes concentrations étaient incapables de stimuler la division cellulaire en présence de l'H₂O₂ sauf pour la concentration 1 mg/ml, une légère augmentation de l'IM a été constaté.

La diminution de l'IM explique la cytotoxicité potentielle et suggère les effets inhibiteurs, mitodépressifs et antiprolifératifs des extraits testés sur les cellules méristématiques des extrémités racinaires d'*A. cepa*. La réduction de l'activité mitotique pourrait être due à l'inhibition de la synthèse de l'ADN ou à un blocage en phase G2 du cycle cellulaire, empêchant la cellule d'entrer en mitose (Sudhakar *et al.*, 2001). Elle peut également être due à une synthèse altérée de nucléoprotéines et à un niveau réduit d'ATP pour fournir l'énergie nécessaire à l'allongement des fuseaux, à la dynamique des microtubules et au mouvement des chromosomes (Majewska *et al.*, 2003).

A partir des résultats obtenus ici nous suggérons que les concentrations testées de l'extrait de *Salvia verbenaca* notamment 0.5 mg/ml et 1 mg/ml ont des effets inhibiteurs sur la croissance des racines et la division cellulaire de l'*Allium cepa* et peuvent empêcher la synthèse d'ADN et par conséquent réduire le nombre de cellules en division dans les racines cela revient principalement à la composition biochimique des molécules secondaires qui se trouvent dans l'extrait.

Les aberrations chromosomiques

Dans le test de génotoxicité toutes les concentrations testées de l'extrait étaient capables d'induire des aberrations chromosomiques notamment la plus faible 0.25 mg/ml (2.65%).

Dans le test d'anti-génotoxicité (traitement extrait+ H₂O₂), toutes les concentrations (sauf 1 mg/ml) ne montrent pas d'effet protecteur sur les dommages à l'ADN induits par le H₂O₂ (blocage de la division cellulaire).

La concentration 1 mg/ml était capable d'atténuer légèrement la toxicité de l'H₂O₂ cela a manifesté par une légère augmentation de l'indice mitotique (2.26%) par rapport à celui de l'H₂O₂ (6%) (0.63%), malgré que cette augmentation était accompagnée par une augmentation de la fréquence des aberrations chromosomiques.

Quant aux aberrations chromosomiques différents types ont été détectées suite au traitement avec les différentes concentrations d'extrait sans et avec le H₂O₂. Parmi les aberrations les plus fréquentes l'adhérence des chromosomes (stickness), selon (Kuras, 2004) ce type d'aberration est attribuée à la désorganisation de la chromatine, et cet effet est lié à un déséquilibre dans la quantité d'histones ou d'autres protéines responsables du contrôle de la structure correcte de la chromatine nucléaire. Cependant (Yildiz et Arikan, 2008) a suggéré que l'adhérence est une conséquence de l'agglomération de l'ADN et de la complexité des fibres interchromatiniennes. Le deuxième type le plus fréquent était le pont chromosomique, selon (Neelamkavil et Thoppil, 2014) le pont chromosomique est le résultat de deux cassures chromosomiques et chromatiniennes, et peuvent conduire à l'aneuploïdie.

L'analyse phytochimique

Le test phytochimique a montré que l'extrait de *Salvia verbenaca* possède une quantité assez considérable de polyphénols, de flavonoïdes, 259.8 mg/g et 80.95 mg/g respectivement, la présence de tanins a été également détectée.

Les recherches de Hayakawa *et al.* (1999) et Perez-Carreón *et al.* (2002) ont mis en évidence que certains composés naturels présents dans les plantes, tels que les flavonoïdes, les polyphénols, les alcaloïdes et les tanins, peuvent avoir des effets mitodépresseurs et causer des dommages chromosomiques à des concentrations élevées. À des concentrations plus faibles, ces mêmes extraits peuvent agir comme des agents antigénotoxiques. Cependant, dans notre étude, même la concentration la plus faible (0.25 mg/ml) a stimulé la division mitotique et induit des aberrations chromosomiques. Nos résultats contredisent plusieurs études antérieures qui suggèrent que diverses espèces du genre *Salvia* ont des effets protecteurs contre les dommages oxydatifs induisant la génotoxicité (Cristovao *et al.*, 2007 ; Nassar *et al.*, 2021 ; Bendrihem *et al.*, 2024). En particulier, la concentration la plus faible (0.25 mg/ml) a provoqué le taux d'aberration le plus élevé. Selon Zeiger (2003), une concentration plus élevée d'un extrait peut être antimutagène, tandis qu'une concentration plus faible peut être mutagène, ou vice versa. Perez-Carreón *et al.* (2002) soulignent que les métabolites secondaires, comme les polyphénols, peuvent être utilisés comme agents thérapeutiques, ces phytochimiques actifs induisant la clastogénicité des cellules pouvant être exploités dans la recherche anticancéreuse.

Conclusion

Conclusion

Conclusion

En conclusion, cette étude est la première à évaluer l'activité cytotoxique, génotoxique et antigénotoxique de l'extrait brut hydro-méthanolique de *Salvia verbenaca* contre le H₂O₂ en utilisant le test d'*Allium cepa*. L'extrait hydro-méthanolique de *Salvia verbenaca*, couramment utilisé en médecine traditionnelle, montre clairement des effets cytotoxiques à des concentrations de 0.5 mg/ml et 1 mg/ml, se manifestant par une inhibition de la croissance des racines et une diminution de l'indice mitotique. À une concentration plus faible de 0.25 mg/ml, l'extrait a également montré des effets génotoxiques, avec un taux d'aberrations chromosomiques le plus élevé parmi tous les groupes testés. Cet extrait contient des substances bioactives, notamment des polyphénols, des flavonoïdes et des tanins, qui semblent jouer un rôle essentiel dans l'inhibition et le retardement de la germination de l'*Allium cepa*, particulièrement à des concentrations élevées (1, 2 et 4 mg/ml). Cependant, l'extrait n'a pas révélé d'activité antigénotoxique claire dans toutes les combinaisons testées, le taux de division étant très faible. Ces résultats suggèrent que, bien que l'extrait de *Salvia verbenaca* possède des propriétés cytotoxiques et génotoxiques potentiellement bénéfiques, des précautions doivent être prises lors de son utilisation en médecine traditionnelle. De plus, des études cytogénétiques supplémentaires *in vitro* et *in vivo* sont nécessaires pour approfondir notre compréhension des mécanismes sous-jacents à ces effets et pour établir des procédures sûres pour l'utilisation de cet extrait.

Résumé

Introduction

Résumé

L'extrait de *Salvia verbenaca* a été étudié afin d'analyser son teneur totale en polyphénols, en flavonoïdes, en tanins ainsi que son activité de piégeage des radicaux libres DPPH, son cytotoxique, génotoxique et antigénotoxique contre le H₂O₂. La teneur totale en phénols (méthode de Folin-Ciocalteu) s'est révélée être 259.8 mg EAG/g. La teneur totale en flavonoïdes (méthode du Chlorure d'aluminium) a montré que la teneur totale en flavonoïdes est 80.95 mg EQ/g. La teneur en tanins est 0.661 mg CAT/g. L'extrait hydro-méthanolique de *S. verbenaca* a montré une forte activité antioxydante déterminée par le test de piégeage des radicaux libres DPPH.

L'extrait hydro-alcoolique de *Salvia verbenaca* a montré un effet inhibiteur de l'élongation racinaire de l'*Allium cepa* notamment avec les concentrations 2 mg/ml et 4 mg/ml. De plus, cet extrait réduit l'indice mitotique et augmenté l'indice d'aberration chromosomique chez l'*Allium cepa*. Des altérations chromosomiques telles l'adhésion chromosomique (Stickness), le pont chromosomique, le chromosome vagabond ainsi que le micronoyau ont été observées dans les cellules de l'*Allium cepa*. Ces résultats suggèrent que l'extrait de *Salvia verbenaca* contient des composés aux propriétés cytotoxiques, ces dernières peuvent être exploitées dans les recherches contre la multiplication anarchique des cellules cancéreuses.

Mots clé :

Salvia verbenaca, cytotoxique, génotoxique, indice mitotique, indice d'aberration chromosomique, activité antioxydante, extrait méthanolique, extrait aqueux, DPPH.

Introduction

Abstract

Salvia verbenaca extract was studied for total polyphenol, flavonoid and tannin content, as well as DPPH free radical scavenging activity, cytotoxicity, genotoxicity and antigenotoxicity against H₂O₂. Total phenol content (Folin-Ciocalteu method) was found to be 259.8 mg EAG/g. The total flavonoid content (aluminum chloride method) was 80.95 mg EQ/g. Tannin content is 0.661 mg CAT/g. The hydro-methanolic extract of *S. verbenaca* showed high antioxidant activity, as determined by the DPPH free radical scavenging assay.

The hydroalcoholic extract of *Salvia verbenaca* showed an inhibitory effect on *Allium cepa* root elongation, particularly at concentrations of 2 mg/ml and 4 mg/ml. In addition, this extract reduced the mitotic index and increased the chromosomal aberration index in *Allium cepa*. Chromosome alterations such as chromosome adhesion (Stickness), chromosome bridge, laggard chromosome and micronucleus were observed in *Allium cepa* cells. These results suggest that *Salvia verbenaca* extract contains compounds with cytotoxic properties, which can be used against the anarchic multiplication of cancer cells.

Key words:

Salvia verbenaca, cytotoxic, genotoxic, mitotic index, chromosome aberration index, antioxidant activity, methanolic extract, aqueous extract, DPPH.

ملخص

تمت دراسة مستخلص نبات *Salvia verbenaca* لتحليل محتواه الكلي من البوليفينول والفلافونويد والتانين، بالإضافة إلى نشاطه في مسح الجذور الحرة DPPH ونشاطه في السموم الخلوية، والسموم الجينية، ومضادات التسمم ضد H_2O_2 . وُجد أن محتوى الفينول الكلي (طريقة Folin-Ciocalteu) بلغ 259.8 ملغم/غ. وأظهر المحتوى الكلي للفلافونويد (طريقة كلوريد الألومنيوم) أن المحتوى الكلي للفلافونويد كان 80.95 ملغم مكافئ سمية/غرام. وبلغ محتوى التانين 0.661 ملغم مكافئ قطري/غرام. أظهر المستخلص المائي الميثانولي لنبات *S. verbenaca* نشاطاً مضاداً للأكسدة عالياً كما هو محدد في اختبار مسح الجذور الحرة DPPH.

أظهر المستخلص المائي الكحولي من *Salvia verbenaca* تأثيراً مثبطاً على استطالة جذر *Allium cepa*، خاصةً بتركيزات 2 ملغم/مل و 4 ملغم/مل. وبالإضافة إلى ذلك، قلل هذا المستخلص من مؤشر الانقسام الخيطي وزاد من مؤشر الانحراف الصبغي في نبات *Allium cepa*. وقد لوحظت تغيرات صبغية مثل الالتصاق الصبغي (الالتصاق الصبغي)، وتجسير الصبغيات، والصبغي المتجول والنواة الدقيقة في خلايا *Allium cepa*. تشير هذه النتائج إلى أن مستخلص نبات *Salvia verbenaca* يحتوي على مركبات ذات خصائص سامة للخلايا، والتي يمكن استخدامها في الأبحاث لمكافحة التكاثر غير المنضبط للخلايا السرطانية.

الكلمات الدالة:

Salvia verbenaca، السمية الخلوية، السمية الجينية، السمية الجينية، مؤشر الانقسام، مؤشر انحراف الكروموسومات، النشاط المضاد للأكسدة، المستخلص الميثانولي، المستخلص المائي، DPPH

Références bibliographiques

Introduction

1. **Abdulrahman, A., Ahmad, A., Claudio, C., Eslam, M.-S., Fabio, A., Gea, G., . . . S. M. Teresa, H.-S. (2018).** Production of Plant Secondary Metabolites: Examples 9, 309. doi:10.3390.
2. **Abdur-Rauf, Abdallah, E. M., Alyamani, R. A., Ali, A. H., Assaggaf, H., Bakrim, S., . . . Saber, M. (2022).** Phytochemistry and Biological Properties of *Salvia verbenaca* L.: A Comprehensive Review 2022, 29. doi :10.1155/2022/3787818.
3. **Acharya, K., Alarcón-Zapata, P., Altun, G., Alves-Borges-Leal, A. L., Carneiro, J.-N. P., Daşkaya-Dikmen, C., . . . Tahergorabi, R. (2018).** *Salvia* spp. plants-from farm to food applications and phytopharmacotherapy 80, 242-263. doi:https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.08.008.
4. **Adewale, O., Ciesla, J., Grezchnik, E., Krawczyk, H., et Winska, P. (2024).** Screening of antioxidative and antiproliferative activities of crude polysaccharides extracted from six different plantes. doi:https://doi.org/10.3390/app14093683.
5. **Adewale, O., Cieśla, J., Grzechnik, E., Krawczyk, H., et Wińska, P. (2024).** Screening of Antioxidative and Antiproliferative Activities of Crude Polysaccharides Extracted from Six Different Plants 14(9), 3683. doi:https://doi.org/10.3390/app14093683.
6. **Ait-Hammou, M., Hadjadj, A., et Miara, M. (2013).** Phytotherapie et taxonomie des plantes medicinales spontanees dans la region de tiaret (Algerie). *Ethnopharmacologie* 11, 206-218.
7. **Alabi, O., Atanda, H., et Olumurewa, J. (2022).** Cytogenotoxicity of the aqueous extract of *Parquetina nigrescens* leaf using *Allium cepa* assay 259, 417–1425. doi:https://doi.org/10.1007/s00709-022-01741-6.
8. **Alipour, H., Alirezalu, a., Amato, J., et Nasirkandi, A. (2023).** Screening of 20 species from Lamiaceae family based on phytochemical analysis, antioxidant activity and HPLC profiling. Retrieved from Scientifics reports : | https://doi.org/10.1038/s41598-023-44337-7.
9. **Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., et Walter, P. (2002).** *Molecular Biology of the Cell*. New York: Garland Science.
10. **Amirali , B., Armin, M., Cody, W., Edric, J., Ellen, H., Gordon , K., . . . Won-Shik, C. (2019).** *Cancer Research*. Upregulation of Myt1 Promotes Acquired Resistance of Cancer Cells to Wee1 Inhibition 79 (23), 5971–5985. doi:https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-19-1961.

Introduction

11. **Amodeo, V., Conforti, F., Marrelli, M., et Statti, G. (2019).** Biological Properties and Bioactive Components of *Allium cepa* L.: Focus on Potential Benefits in the 24, 119. doi:10.3390/molecules24010119.
12. **Annicotte, J., Blanchet, E., Fajas-Coll, L., et Lagarrigue, S. (2011).** Emerging key role of cell cycle regulators in cell metabolism 27(5), 508-13. doi:10.1051/medsci/2011275016.
13. **Antonsiewicz, D., 1990.** Analysis of the cell cycle in the rootmeristem of *Allium cepa* under the influence of ledakrin. *Folia Histochemica Et Cytobiologica* 26, 79–96.
14. **Alistiqsa, F., Mahjoubi, M., et Zair, T. (2018).** Étude phytochimique et ethnobotanique, dosage des polyphénols totaux de l'huile essentielle et des extraits du thymus capitatus. *Mediterranean Journal of Chemistry* 58.
15. **Andrade-Vieira, L., Aragao, F., Costa, A., Ferreira, A., Palmieri, M., Pinheiro, P., et Queiroz, V. (2015).** Phytotoxic and cytotoxic effects of Eucalyptus essential oil on lettuce (*Lactuca sativa* L.) 35(2), 259-272.
16. **Apel, K., & Hirt, H. (2004).** Annual Review of Plant Biology. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. 55, 373-399.
17. **Arceusz, A., Przybyl, M., et Wesolowski, M. (2017).** Phytochemistry letters. A RP-HPLC/MS profiling of phenolic compounds in *Salvia verbenaca* 1 21, 132-137.
18. **Aspatwar, A., Ahmed Khan, A., Akhtar, R., el hassen, G. o., Jaremko, M., Parvez, A., . . . Uzzaman Khan, W. (2024).** Exploring nature's hidden treasure: Unraveling the untapped phytochemical and pharmacological potentials of *Clinopodium vulgare* L. – A hidden gem in the Lamiaceae family. *Heliyon* 5.
19. **Aye, M., Bertholet-ricou, A., Botta, A., Courbiere, B., Orslere, T., Perrin, J., et Roustan, A. (2013).** Risque génotoxique et ovocytes : Principes de toxicologie génétique et applications. *Gynécologie Obstétrique et Fertilité* 41, 544-547.
20. **Ayoub, B. (2018).** Toxicologie générale-le stress oxydatif.
21. **Back, K., & Rogers, A. (1982).** Mutation Research / Genetic Toxicology. Comparative mutagenicity of 4 DNA-intercalating agents in L5178Y mouse lymphoma cells 102(4), 447-455.
22. **Baldini, F., Diab, F., Khalil, M., Portincasa, P., Vergani, L., et Zabeeb, H. (2022).** The Potential of Lamiaceae Herbs for Mitigation of Overweight, Obesity, and Fatty Liver: Studies and Perspectives. Retrieved from ResearchGate: <https://www.researchgate.net/publication/362605458>.

Introduction

23. **Belkassam, A., Bendif, H., Benhissen, S., Ouadah, N., et Rabbas, K. (2021).** Ethnobotanical study and inventory of medicinal plants in the dreat region (M'sila, algeria). *Geo-Eco-Trop* 618.
24. **Belmokhtar. (2015).** Identification et caractérisation des molécules du métabolisme secondaire de *Retama monosperma*. L Boiss, intérêt pharmaceutique, 97. Université des sciences et de la technologie d'Oran Mohamed Boudiaf : Thèse de doctorat.
25. **Benabdelkader, T., Berramdane, T., Chelghoum, C., Dahmane, D., et Dob, T. (2007).** Chemistry of Natural Compounds. CHEMICAL COMPOSITION OF THE ESSENTIAL OIL 43, 491.
26. **Benhacine, L., & Sahil, N. (2016).** Etude de la génotoxicité des extraits de *Pistacia lentiscus* par le test d'Ames, 46. Université A. MIRA-Bejaia.
27. **Benmouhoub, H., Mahdjoub, M. M., Sahnoune, M., et Zemouri, T. (2018).** Morphological, karyological and biogeographical study of the Algerian endemic species *Salvia jaminiana* de Noé (Lamiaceae), with taxonomic and evolutionary interpretations 242, 102-119. doi:<https://doi.org/10.1016/j.flora.2018.03.009>.
28. **Bendrihem KA, Zeraib A, Atoki AV, Aimene Mihoubi MA, Kenza Kadi, Benuici C, Hachemi M, Nour Ayeb NH, Nagaz K, Messaoudi M. (2024).** Phytochemical screening, antioxydant properties, and photo-protective activities of *Salvia balansae* de Noé ex Coss. *Open Chemistry* 2024 ; 22 :1-18.
29. **Benzaref, B. (2005).** Cell Cycle control during the neural tube development: Cyclin D1 and CDC25B expression are regulated by the Shh signalling pathway. Contrôle de la prolifération cellulaire et développement du tube neural. Centre de Biologie du Développement, UMR 5547 CNRS/UPS. Université Paul Sabatier-Toulouse III 118, route de Narbonne, 31062 Toulouse cedex 4.
30. **Bizarro-Nevarés, P., Fortoul, T., González-Villalva, A., López-Valdéz, N., Rivera-Fernández, N., et Rojas-Lemus, M. (2022).** Journal of Food and Nutrition Research. Genotoxic Effects of Oral Ascorbate in Healthy Mice: Evaluation of DNA Single-strand Breaks and Micronucleus 10(8), 578-583. doi:10.12691/jfnr-10-8-6.
31. **Błońska-Sikora, E., Cerreto, A., Gemejiyeva, N., Omirbekova, N., Ramazanova, M., Ross, S. A., . . . Zhusupova, G. E. (2023).** Natural Compounds of *Salvia* L. Genus and Molecular Mechanism of Their Biological Activity 11(12), 3151. doi: <https://doi.org/10.3390/biomedicines11123151>.

32. **Boizot, N., et Charpentier, J. (2006).** Méthodes et outils pour l'observation et l'évaluation des milieux forestiers, prairiaux et aquatiques. Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier 79-82.
33. **Bonnefont-Rousselot, D., Delattre, J., et Therond, P. (2003).** Radicaux libres et antioxydants. Flammarion M édecine-Sciences 59-81.
34. **Brent Joy, H., Christian-James, R., Cresencio-C, C., Honelyn C, H., John-Erick, C., Julene-Joy, Z., . . . Rene-Rose, Q. (2017).** Proceedings of the International Academy of Ecology and Environmental Sciences. *Allium cepa* test : An evaluation of genotoxicity 7(1), 12-19.
35. **Cachot, J., et Degremont, C. (2009).** Quel risque pour les espèces aquatiques Fascicules Seine-Aval. Quel risque pour les espèces aquatiques ? 38.
36. **Carl von, L. (1805).** Systeme des Plantes. ALYON : Chez BRUYSET aîné & BUYNAND.
37. **Chaouche, T., Haddouchi, F., et Halla, N. (2016).** Screening phytochimique activites antioxydantes et pouvoir hemolytique de quatre plantes saharienne d'Algerie. *Ethnopharmacologie* 10.1007/s10298-016-1086-8, 2.
38. **Chithan, K., Elliott, M., et Theoharis, C. (2001).** The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer 52(4), 673-751. Retrieved from <https://www.researchgate.net/publication/12206219>.
39. **Collins, A. (2009).** Mutation Research/Reviews in Mutation Research. Investigating oxidative DNA damage and its repair using the comet assay 681(1), 24-32.
40. **Cristovao F Lima, Patricia C R Valentao, Paula B Andrade, Rosa M Seabra, Manuel Fernandes-Ferreira, Cristina Pereira-Wilson. (2007).** Water and methanolic extracts of *Salvia officinalis* protect HepG2 cells from t-BHP induced oxidative damage. *Chem Biol Interact* 167(2):107-115.
41. **Dacosta, Y. (2003).** Les phytonutriments bioactifs (Ed Yves Dacosta, ed.). Paris.
42. **David, S. (2007).** Microtubule polymerization: one step at a time 17(17). doi: 10.1016/j.cub.2007.07.002.
43. **Defraigne, J., Limet, R., Meurisse, M., et pincemail, J. (1999).** Mesure et utilisation des antioxydants en m édecine humaine M EDISPHERE. 1-4.
44. **Dibong, S., Mpondo, M., Mvogo, O., Ndjib, R., Ngene, J., Ngoule, C., et Pouka-Kidik, C. (2015).** Journal of applied technology. Importance dans la pharmacopee traditionnelle des plantes a flavonoides vendues dans les marches de douala est (cameroune). Douala.

Introduction

45. **Djassinra, T., Kribii, A., et Ounine, K. (2015).** International Journal of Innovation and Scientific Research. Evaluation de l'effet protecteur des extraits aqueux de *Chenopodium ambrosioides* L et de *Rosmarinus officinalis* L vis-à-vis des plantes de tomate inoculées par la souche *Xanthomonas fragariae* Dw 15(1), 30-38. Retrieved from <http://www.ijisr.issr-journals.org/>.
46. **Djeussi, D., kuete, v., Noumedem, J.-A., et Seukep, A. (2014).** Toxicological Survey of African Medicinal Plants. Gentoxicity and teratogenicity of African medicinal plants.
47. **Doğan, M., Falah, S. M., Koçer, O., Lekesiz, Ö., Özba-Gerçeker-, F., Şabik, A. E., . . . Uysal, I. (2023).** Pharmacological and Nutritional Properties 11(2), 140-155. doi: 10.13189/app.2023.110206.
48. **Dubey, R., Jha, A., Pessarak, M., et Sharma, P. (2012).** Journal of Botany. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions 2012, 1-26.
49. **El-Segai, M., Nassar, M., et N.A Mohamed, S. (2013).** Botanical Studies on *Ocimum basilicum* L. (Lamiaceae). Research Journal of Agriculture and Biological Sciences 150.
50. **El-Yahyaoui, A., Et-Touys, A., Khouchlaa, A., Laasri, F. E., Lakhdar, F., et Zaakour, F. (2022).** Ethnomedicinal Use, Phytochemistry, Pharmacology 12 (2), 1437 - 1469. doi: 10.33263/BRIAC122.14371469.
51. **Faisal, Z., Kamrun, N., Khursheda, P., Masayuki, F., Md.Mahabub, A., M.H.M, B., . . . Taufika Islam, A. (2020).** Regulation of ROS Metabolism in Plants under Environmental Stress: A Review of Recent Experimental Evidence 21(22).
52. **Fasla, B. (2009).** evaluation du potentiel antimitotique et génotoxique de plantes médicinales et analyse phytochimique. 172.
53. **Favier, A. (2003).** Le stress oxydant. Actualité chimique. 108-115.
54. **Giet, R., Prigent, C., et Rome, P. (2010).** Centrosomes, mitotic spindle and cancer 26(4), 377-83. doi:10.1051/medsci/2010264377.
55. **Gill, S., et Tuteja, N. (2010).** Plant Physiology and Biochemistry. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants 48(12), 909-930.
56. **Golsteyn, R., et Lusy, S. (2014).** international journal of molecular sciences. Genotoxic anti-cancer agents and their relationship to DNA damage, mitosis, and checkpoint adaptation in proliferating cancer cells 15(3), 3403-3431.

Introduction

57. **Gordon, K., Jeremy, F., Joanne, D., et Sargun, S. (2023).** Cancer Research. Investigating Wee1 and Myt1 combined inhibition as a potential cancer therapeutic strategy 83, 5511. doi: <https://doi.org/10.1158/1538-7445.AM2023-5511>.
58. **Grunwald, D., Mayol, J., et Ronot, X. (2010).** Cycle cellulaire et Cytometrie en flux. Paris : LAVOISIER.
59. **Grunwald, D., Mayol, J., et Ronot, X. (2010).** Cycle cellulaire et cytométrie en flux. (L.-T. & DOC, Ed.) Paris.
60. **Haiyi, L., Mahadevan, L., Shuo, F., et Thomas, C. (2020).** Mechanics and kinetics of dynamic. doi: <https://doi.org/10.7554/eLife.54077>.
61. **Hayakawa, F., Kimura, T., Hoshimo, N., Ando, T., (1999).** DNA cleavage activities of (–)-epigallocatechin, (–)-epicatechin, (+)-catechin, and (–)-epigallocatechin gallate with various kind of metal ions. Bioscience Biotechnology and Biochemistry 63, 1654–1656.
62. **Hong, W., Peng-Fei, M., Hong-Tao, L., Guo-Xiong, H., et De-Zhu, L. (2020).** Comparative plastomic analysis and insights into the phylogeny of 43 (2021), 15-26. doi: 10.1016/j.pld.2020.07.004.
63. **Ibrahim, k., Kidret, G., Mehmet, E., Nazime, M., et Turkoglu, A. (2007).** Antioxidant and antimicrobial activities of *Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murrill. Food Chemistry 267-273.
64. **Israels, E., et Israels, L. (2000).** The Oncologist. The Cell Cycle 5, 510-513.
65. **Istifli, E., et Ila, H. (2019).** cytotoxicite-definition, identification and cytotoxic compounds. London United Kingdom: intechopen.
66. **Jean, J., et Hall, k. (2000).** Proceedings of the National of Sciences. 2-Aminopurine fluorescence quenching and lifetimes: role of base stacking. 98(1), 37-41.
67. **Khali, M., Mahmoudi, N., et Mahmoudi, S. (2013).** Etude de l'extraction des composees phenoliques des differents parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus*l.). Nature et Technologie 36.
68. **Leme, D., et Marin-Morales, M. (2009).** Reviews in Mutation Research. *Allium cepa* test in environmental monitoring: a review on its application. Mutation Research 682, 71-81.
69. **Maalem, M. L., & Abi malik, N. (2019).** La famille des lamiacees. Retrieved from Academia: file:///Users/drbill/Desktop/en%20algerie.webarchive.
70. **Majewska, A., Wolska, E., Śliwińska, E., Furmanowa, M., Urbańska, N., Pietrosiuk, A., Zobel, A., Kuras, M., (2003).** Antimitotic effect, G2/M accumulation,

Introduction

- chromosomal and ultrastructure changes in meristematic cells of *Allium cepa* L. root tips treated with the extract from Rhadiola roots. *Caryologia* 56, 337–351.
71. **Maron, D., et Ames, B. (1983).** Mutation Research. Revised methods for the Salmonella mutagenicity test 113, 173-215.
 72. **Mehmet, E., Turkez, H., et Ozdemir, O. (2017).** Hasan Turkez. Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology 3(10), 1089-1098.
 73. **Meijer, L. (2003).** Le cycle de division cellulaire et sa régulation 5, 311-326.
 74. **Middleton, E., Kandaswami, C., et Theoharides, T. (2000).** implications for inflammation, heart disease and cancer. The effects of plant flavonoids on mammalian cells 52, 673-839.
 75. **Nurzyńska-Wierdak, R. (2023).** Phenolic Compounds from New. Phenolic Compounds from New Natural Sources—Plant 28, 1731. (L. Panzella, Ed.) Retrieved from <https://doi.org/10.3390/molecules28041731>.
 76. **Nassar M, Zadri F, Slimani S. (2021).** Assessment of Protective Effects of Methanolic Extract of *Salvia verbenaca* Roots against Oxidative Damage Induced by Hydrogen Peroxide. *Turk J Pharm Sci* 2021;18(3):360-366.
 77. **Nurzyńska-Wierdak, R. (2023).** Phenolic Compounds from New. Phenolic Compounds from New Natural Sources—Plant 28, 1731. (L. Panzella, Ed.) Retrieved from <https://doi.org/10.3390/molecules28041731>.
 78. **Panda, B., Panda, K., & Patra, J. (1996).** Biol. Plantarum. Induction of sister chromatid exchanges by heavy metal salts in root meristem cells of *Allium cepa* 38, 551-561.
 79. **Panda, B.B., Sahu, U.K., 1985.** Induction of abnormal spindle function and cytokinesis inhibition in mitotic cells of *Allium cepa* by the organophosphorus insecticide fensulfothion. *Cytobios* 42, 147–155.
 80. **Patel, P., et Patel, S. (2020).** Future Journal of Pharmaceutical Sciences 6. In vitro antimitotic and cytotoxic potential of plant extracts: a comparative study of *Mucuna pruriens*, *Asteracantha longifolia* and *Sphaeranthus indicus* 115 (2020). doi: <https://doi.org/10.1186/s43094-020-00137-8>.
 81. **Perez-Carreón, J.I., Cruz-Jiménez, G., Licea-Vega, J.A., Popoca, E.A., Fazenda, S.F., Villa-Trevino, S., (2002).** Genotoxic and anti-genotoxic properties of *Calendula*

Introduction

- officinalis* extract in rat liver cell cultures treated with diethylnitrosamine. Toxicology In Vitro 16, 253–258.
82. **Quezel, P., et Santa, S. (1963).** Nouvelle Flore de l'Algérie et des Régions Désertique Meridionales. PARIS : CNRS.
 83. **Rana, C., et ruby, t. (2015).** Plant secondary metabolites: a review 3, 2091-2730. Retrieved from <https://www.researchgate.net/publication/282733096>.
 84. **Rattray, R., et Van Wyk, B. (2021).** the botanical, chemical and ethnobotanic and diversity of southern african lamiaceae. molecules 2.
 85. **Sheridan, A., et Yang, N. (2014).** Encyclopedia of Toxicology. USA: US National Library of Medicine, Bethesda, MD.
 86. **Sies, H. (2017).** Redox Biology. Hydrogen peroxide as a central redox signaling molecule in physiological oxidative stress: Oxidative eustress 11, 613-619.
 87. **strivatava, J. k. (Ed.). (2012).** Environmental contamination. Croatia: IntechOpen.
 88. Singleton, V.L., & Rossi, J.A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. American journal of Ecology and Viticulture 16(3), 144-158.
 89. **Sharma, C.B.S.R., (1983).** Plant meristems as monitors of genetic toxicity of environmental chemicals. Current Science 52, 1000–1002.
 90. **Smaka-Kinel, V., Stegnar, P., Lovaka, M., Toman, J., (1996).** The evaluation of waste, surface and ground water quality using the *Allium* test procedure. Mutation Research 368, 171–179.
 91. **Sudhakar, R., Gowda, K.N.N., Venu, G., (2001).** Mitotic abnormalities induced by silk dyeing industry effluents in the cells of *Allium cepa*. Cytologia 66, 235–239.
 92. **Sreeranjini, S., Siril, E.A., (2011).** Evaluation of anti-genotoxicity of the leaf extracts of *Morinda citrifolia* Linn. Plant, Soil and Environment 57, 222–227.
 93. **Srinivasan, K., Kaul, C.L., Ramarao, P., (2005).** Partial protective effect of rutin on multiple low dose streptozotocin-induced diabetes in mice. Indian Journal of Pharmacology 37, 327–328.
 94. **Takashi, M., et Tetsuya, H. (2014).** The role of dynamic instability in microtubule organization 5. doi: <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00511>.
 95. **Tarantini, A. (2009).** Modulation de la génotoxicite des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) en mélanges. Ecole doctorale Ingénierie pour la Santé.

Introduction

96. **Teixeira, R.O., Camparoto, M.L., Mantovani, M.S., Vicentini, V.E.P., (2003).** Assessment of two medicinal plants *Psidium guajava* L. and *Achillea millefolium* L. in in vitro and in vivo assays. *Genetics and Molecular Biology* 26, 551–555.
97. **Topcu, G. (2006).** Bioactive triterpenoids from *salvia* species. *Journal of natural products*, 69(3).
98. **Ventura, B.C., Angelis, D.F., Marin-Morales, M.A., (2008).** Mutagenic and genotoxic effects of the Atrazine herbicide in *Oreochromis niloticus* (Perciformes, Cichlidae) detected by the micronuclei test and the comet assay. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 90, 42–51.
99. **Zeiger, E., (2003).** Illusions of safety: antimutagens can be mutagens, and anticarcinogens can be carcinogens. *Mutation Research* 543, 191–194.