

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Ibn Khaldoun, Tiaret

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master académique

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biologie moléculaire et cellulaire

Présenté par

Melle. BELKHAMSA Fatima Zohra

Melle. BENMEZIAN Nahed

Melle. NOUAR Aya Maroua

Thème

***Anastatica hierochuntica* : Ethnopharmacologie, phytochimie, et cytogénotoxicité**

Soutenu publiquement le :

Devant les membres de jury :

Président

M. ACHIR Mohamed

MCA

Examineur

M. BOUSSAID Mohamed

Professeur

Encadrant

M. TAIBI K.

Professeur

Année universitaire 2024-2025

المخلص

Anastatica hierochuntica المعروفة عادة باسم وردة أريحا، هي نبات طبي موطنه المناطق الجافة في شمال إفريقيا، وخاصة الجزائر، والشرق الأوسط. يُستخدم تقليدياً لفوائده في علاج الجهاز التناسلي الأنثوي. هدفت هذه الدراسة إلى تقييم تأثيراته السيتوجينية السامة باستخدام إختبار *Allium cepa*، مع وصف تركيبته الكيميائية النباتية (البوليفينولات، الفلافونويدات، التانينات) وتوثيق استخداماته العرقية العلاجية .

تم تحضير مستخلصات مائية وإيثانولية، بالإضافة إلى نقع، وتم تطبيقها بتركيزات مختلفة على جذور البصل وُجد أن المستخلص الإيثانولي أغنى بالمركبات النشطة بيولوجياً مقارنةً بالمستخلص المائي. كشف تحليل السمية الخلوية عن تأثيرات تعتمد على الجرعة على مؤشر الانقسام الخيطي ونمو الجذور. عند التركيزات المنخفضة (0.25-1 ملغ/مل)، حفزت المستخلصات انقسام الخلايا؛ ومع ذلك، عند الجرعات الأعلى (≤ 2 ملغ/مل للمستخلصات و ≤ 10 ملغ/مل للحقن)، لوحظ تثبيط كبير لمراحل الانقسام الخيطي (الطور الاستوائي، الطور الانفصالي، والطور النهائي) .

بالنسبة للنقع، لوحظ تأثير تحفيزي واضح على نمو الجذور عند تركيز 10 ملغ/مل. على العكس من ذلك، عند تركيز 20 ملغ/مل، تم تسجيل انخفاض في النشاط الانقسامي وزيادة في التشوهات الصبغية. انخفضت وتيرة الطور الاستوائي بشكل حاد عند الجرعات العالية؛ على سبيل المثال، عند 20 ملغ/مل، كانت النسبة $0.35 \pm 0.32\%$. وبالمثل، انخفضت ترددات الطور الانتقالي والطور النهائي إلى 0.26% و 0.21% على التوالي، مما يشير إلى تأثير مثبط ملحوظ على الانقسام الخلوي. تكرر الطور الاستوائي انخفاض أيضاً مع زيادة تركيزات المستخلصات: من $4.17 \pm 3.8\%$ إلى $2.45 \pm 0.7\%$ للمستخلص المائي، ومن $9.81 \pm 8.3\%$ إلى $3.09 \pm 1.2\%$ للمستخلص الإيثانولي، مما يؤكد توقف الانقسام الخلوي. على النقيض من ذلك، أظهرت الطور الأولى تقلبات متوسطة تعتمد على التركيز، دون اتجاه واضح .

وفقاً لاختبار الشذوذ الصبغي، أظهرت كل من المستخلصات النقع تأثير جيني متوسط. كان هذا التأثير أكثر وضوحاً لاستخراج الإيثانول، يليه الاستخراج المائي، والانفوزيون. كانت أكثر الشذوذات شيوعاً تشمل النوى الدقيقة، والتضاعف الصبغي، والميتافازيات، مع ذروة في الشذوذات لوحظت عند تركيز 2.5-5 ملغ/مل للتسريب .

تشير هذه النتائج إلى أن *A. hierochuntica* لديه إمكانيات علاجية واعدة عند التركيزات المنخفضة، ولكنه قد يسبب تأثيرات سامة للخلايا والجينات عند الجرعات العالية، خاصة عند الحقن بتركيز 10 و 20 ملغ/مل. لذلك، فإن الاستخدام تحت الإشراف وإجراء المزيد من الأبحاث التكميلية ضروريان لضمان سلامته.

الكلمات المفتاحية

Anastatica hierochuntica؛ علم الأدوية العرقي؛ السمية الخلوية؛ السمية الجينية؛ المركبات الكيميائية النباتية؛ الجزائر.

Abstract

Anastatica hierochuntica, commonly known as the Rose of Jericho, is a medicinal plant endemic to the arid regions of North Africa, particularly Algeria, and the Middle East. It is traditionally used for its benefits in female reproductive health. This study aimed to evaluate its cytogenotoxic effects using the *Allium cepa* assay, while also characterizing its phytochemical composition (polyphenols, flavonoids, tannins) and documenting its ethnopharmacological uses.

Aqueous and hydroethanolic extracts, along with the infusion, were prepared and applied at different concentrations to *Allium cepa* roots. The ethanolic extract was found to be richer in bioactive compounds than the aqueous extract. Cytotoxicity analysis revealed dose-dependent effects on the mitotic index and root growth. At low concentrations (0.25–1 mg/mL), the extracts stimulated cell division; however, at higher doses (≥ 2 mg/mL for the extracts and ≥ 10 mg/mL for the infusion), a significant inhibition of mitotic phases (metaphase, anaphase, and telophase) was observed.

For the infusion, a clear stimulatory effect on root growth was noted at 10 mg/mL. Conversely, at 20 mg/mL, a reduction in mitotic activity and an increase in chromosomal aberrations were recorded. Metaphase frequency dropped sharply at high doses; for instance, at 20 mg/mL, the percentage was $0.35 \pm 0.32\%$. Similarly, the frequencies of anaphase and telophase decreased to 0.26% and 0.21%, respectively, indicating a marked inhibitory effect on mitosis. Metaphase frequency also decreased with increasing concentrations of the extracts: from $4.17 \pm 3.8\%$ to $2.45 \pm 0.7\%$ for the aqueous extract, and from $9.81 \pm 8.3\%$ to $3.09 \pm 1.2\%$ for the ethanolic extract, confirming mitotic arrest. In contrast, prophase showed moderate fluctuations depending on the concentration, without a clear trend.

According to the chromosomal aberration test, both extracts and the infusion exhibited moderate genotoxic potential. This effect was more pronounced for the ethanolic extract (697 aberrations), followed by the aqueous extract (338) and the infusion (322). The most common abnormalities included micronuclei, polyploidy, and c-metaphases, with a peak in aberrations observed at 2.5–5 mg/mL for the infusion.

These results suggest that *A. hierochuntica* has promising therapeutic potential at low concentrations, but may induce cytotoxic and genotoxic effects at higher doses, particularly with the infusion at 10 and 20 mg/mL. Therefore, supervised use and further complementary research are necessary to ensure its safety.

Keywords: *Anastatica hierochuntica*; Ethnopharmacology; Cytotoxicity; Genotoxicity; *Allium cepa*; Phytochemical compounds; Algeria.

Résumé

Anastatica hierochuntica est une plante médicinale endémique des zones arides d'Afrique du Nord, notamment d'Algérie et du Moyen-Orient. Elle est traditionnellement utilisée pour ses vertus dans la santé reproductive féminine. Cette étude vise à évaluer ses effets cytogénotoxicité à travers le test *Allium cepa*, tout en caractérisant sa composition phytochimique (polyphénols, flavonoïdes, tanins) et ses usages ethnopharmacologies.

Les extraits aqueux, éthanoliques et l'infusion ont été préparés et appliqués à différentes concentrations sur les racines d'*Allium cepa*. L'extrait éthanolique s'est révélé plus riche en composés bioactifs que l'extrait aqueux. L'analyse de la cytotoxicité a montré des effets dépendants de la dose sur l'indice mitotique et la croissance racinaire. À faible concentration (0,25–1 mg/ml), les extraits ont stimulé la division cellulaire ; à forte dose (≥ 2 mg/ml pour les extraits, et ≥ 10 mg/ml pour l'infusion), une inhibition significative des phases mitotiques (métaphase, anaphase, télophase) a été observée.

Concernant l'infusion, un effet stimulant net sur la croissance racinaire a été observé à 10 mg/ml, tandis qu'à 20 mg/ml, une diminution des phases mitotiques et une hausse des aberrations chromosomiques ont été relevées. La métaphase a fortement diminué à haute dose : par exemple, à 20 mg/ml, le pourcentage était de $0,35 \pm 0,32$ %. De même, les taux d'anaphase et de télophase ont chuté à 0,26 % et 0,21 % respectivement, indiquant un effet inhibiteur marqué de la mitose.

Le pourcentage de métaphase avec les extraits a chuté à des concentrations élevées : pour l'extrait aqueux, de $4,17 \pm 3,8$ % à $2,45 \pm 0,7$ %, et pour l'éthanolique, de $9,81 \pm 8,3$ % à $3,09 \pm 1,2$ %, confirmant un blocage mitotique. En revanche, la prophase a montré des fluctuations modérées selon la concentration, sans tendance claire.

Sur la base du test d'aberration chromosomique, les deux extraits ainsi que l'infusion ont montré un potentiel génotoxique modéré, plus marqué pour l'extrait éthanolique (697 aberrations) que pour l'aqueux (338) et l'infusion (322). Les anomalies les plus fréquentes étaient les micronoyaux, la polyploïdie et les c-métaphases, avec un pic d'aberrations observé à 2,5–5 mg/ml pour l'infusion.

Ces résultats suggèrent que *A. hierochuntica* possède un potentiel thérapeutique intéressant à faible dose, mais peut provoquer des effets cytotoxiques et génotoxiques à haute concentration, en particulier avec l'infusion à 10 et 20 mg/mL. Un usage encadré et des recherches complémentaires sont nécessaires pour garantir son innocuité.

Mots clés : *Anastatica hierochuntica* ; Ethnopharmacologie ; Cytotoxicité ; Génotoxicité ; *Allium cepa* ; Composés phytochimiques ; Algérie.

Dédicace

*Nous dédions ce mémoire à nos chers parents qui ont été
Toujours à nos côtes et nous ont toujours soutenu tout au
long de ces longues années d'études.*

*En signe de reconnaissance, qu'ils trouvent ici, l'expression
de nos profondes gratitude pour tous ce qu'ils ont consenti
d'efforts et de moyens pour nous voir réussir dans nos
études.*

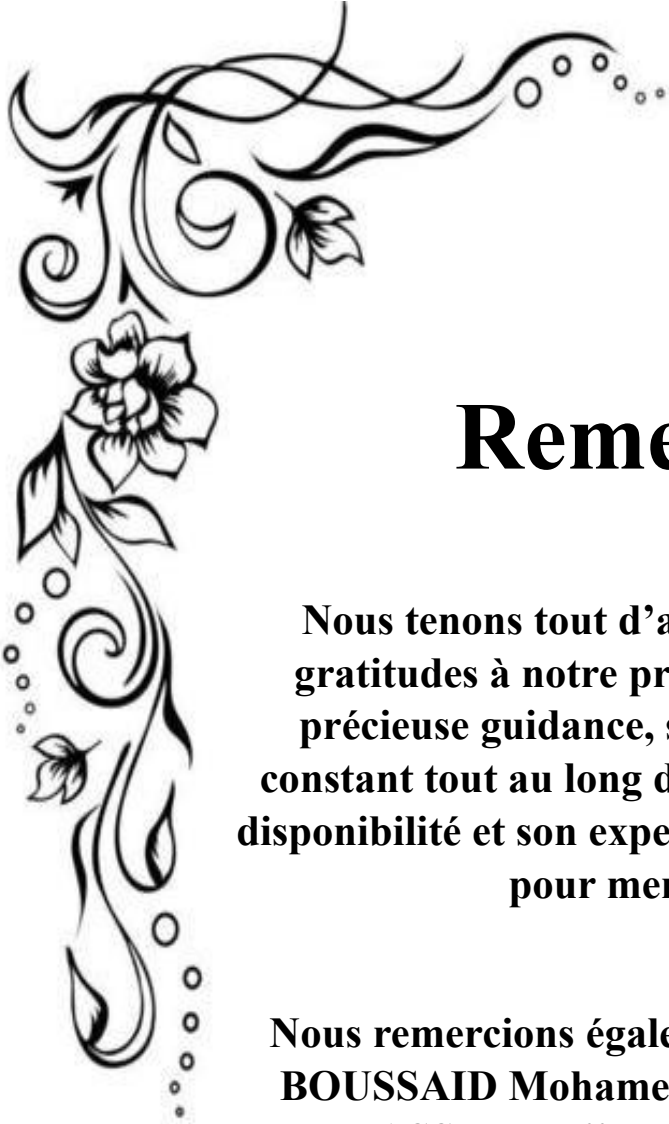
A tous nos familles

*Et toutes nos amies (Aya, Sidehmad, Rayan, Yahia, Malek,
Marwa, Yasser, Hamza)*

*A tous les gens qui nous connaissent et que nous
connaissons*

A notre professeur Mr TAIBI Khaled

*Et à tous ceux qui aiment le bon travail et ne reculent pas
devant les obstacles de la vie*

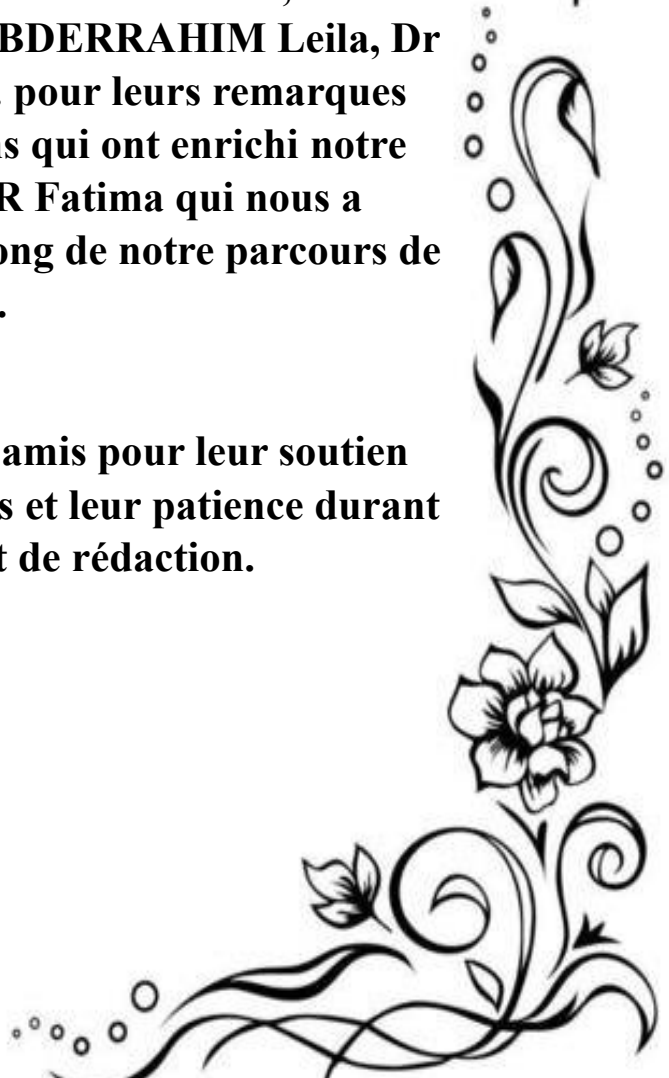


Remerciements

Nous tenons tout d'abord à exprimer nos profondes gratitudee à notre professeur TAIBI Khaled, pour sa précieuse guidance, ses conseils avisés et son soutien constant tout au long de la réalisation de ce mémoire. Sa disponibilité et son expertise ont été d'une aide inestimable pour mener à bien ce travail.

Nous remercions également les autres professeurs Prof. BOUSSAID Mohamed , Dr. Mohamed ACHIR , Mme. MEKNASSI Khadija Prof. AIT ABDERRAHIM Leila, Dr SOUANA K., et Dr. TADJ AEK. pour leurs remarques constructives et leurs suggestions qui ont enrichi notre réflexion... et Mme SAMMAR Fatima qui nous a accompagné et soutenue tout au long de notre parcours de recherche.

Un merci sincère à nos familles, amis pour leur soutien indéfectible, leurs encouragements et leur patience durant ces mois de recherche et de rédaction.



Liste des figures

Figure 1. <i>Anastatica hierochuntica</i> L. sous sa forme desséchée	2
Figure 2. <i>Anastatica hierochuntica</i> L. en phase végétative observée au Maroc	2
Figure 3. Distribution géographique d' <i>Anastatica hierochuntica</i> L.....	3
Figure 4. Aperçu sur quelques composés phénoliques clés.....	5
Figure 5. Variations de l'anneau central (C) et structures des flavonoïdes	6
Figure 6. Schéma présentant les quatre grandes classes de tanins	7
Figure 7. Mécanismes moléculaires de la mort cellulaire	8
Figure 8. Dommages à l'ADN, réponse aux dommages et réparation	10
Figure 9. Mécanisme d'action des agents cancérigènes génotoxiques.....	11
Figure 10. Test du micronoyau.....	12
Figure 11. Aberrations chromosomiques, anomalies nucléaires et micronoyau observés dans les cellules méristématiques d' <i>Allium cepa</i>	13
Figure 12. Préparation d'extrait aqueux et éthanolique	17
Figure 13. Préparation de l'infusion	18
Figure 14. Bulbes d'oignon (<i>Allium cepa</i>) en germination dans des godets individuels	19
Figure 15. Préparation des racines suivie de leur conservation dans le fixateur Carnoy	20
Figure 16. Répartition des classes d'âge des participants	22
Figure 17. Répartition des participants selon le sexe	23
Figure 18. Niveau d'études des participants.....	23
Figure 19. Nature de la fonction des participants	24
Figure 20. Usages thérapeutiques d' <i>A. hierochuntica</i>	25
Figure 21. Partie utilisée d' <i>Anastatica hierochuntica</i>	26
Figure 22. Méthode de préparation d' <i>A. hierochuntica</i>	26
Figure 23. Durée d'utilisation d' <i>A. hierochuntica</i>	27
Figure 24. Les quantités recommandées pour l'utilisation d' <i>A. hierochuntica</i>	28
Figure 25. Variation des teneurs en composés phénoliques totaux dans les extraits aqueux et éthanoliques d' <i>A. hierochuntica</i>	29
Figure 26. Variation des teneurs totales en composés phénoliques dans l'infusion d' <i>Anastatica hierochuntica</i>	30
Figure 27. Variation des teneurs en flavonoïdes dans les extraits aqueux et éthanoliques d' <i>A. hierochuntica</i>	31
Figure 28. Variation des teneurs en flavonoïdes dans l'infusion d' <i>A. hierochuntica</i>	31
Figure 29. Variation des teneurs en tannins dans les extraits aqueux et éthanoliques d' <i>A. hierochuntica</i>	32
Figure 30. Variation des teneurs en Tannins dans l'infusion d' <i>A. hierochuntica</i>	33

Figure 31. Nombre des racines avant et après traitement aux Infusion de plantes.....	34
Figure 32. Nombre des racines avant et après traitement aux extraits de plantes	35
Figure 33. Longueur des racines avant et après traitement aux Infusion de plantes	35
Figure 34. Longueur des racines avant et après traitement aux extraits de plantes.....	36
Figure 35. L'effets de l'infusion d' <i>A. hierochuntica</i> sur l'indice mitotique	37
Figure 36. L'effet des extraits d' <i>A. hierochuntica</i> sur l'index mitotique et les phases mitotiques dans les cellules racinaires d' <i>A. cepa</i>	37
Figure 37. L'effet de l'infusion d' <i>A. hierochuntica</i> sur les prophases.....	38
Figure 38. L'effet des extraits d' <i>A. hierochuntica</i> sur les prophases	39
Figure 39. L'effets de l'infusion d' <i>A. hierochuntica</i> sur les métaphases	40
Figure 40. L'effets des extraits d' <i>A. hierochuntica</i> sur les métaphases	40
Figure 41. L'effets de l'infusion d' <i>A. hierochuntica</i> sur les anaphases	41
Figure 42. L'effets des extraits d' <i>A. hierochuntica</i> sur les anaphases	42
Figure 43. Effet de l'infusion d' <i>A. hierochuntica</i> sur les télophases	42
Figure 44. L'effets des extraits d' <i>A. hierochuntica</i> sur les télophases	43
Figure 45. L'effets d'infusion sur les aberrations chromosomiques	44
Figure 46. L'effets des extraits d' <i>A. hierochuntica</i> sur les aberrations chromosomiques...	44
Figure 47. Aberrations chromosomiques induites par les extraits d' <i>A. hierochuntica</i>	45

Liste des tableaux

Tableau 1. Rendement des extraits de la plante	29
Tableau 2. Aberrations chromosomiques induites par les extraits d' <i>A. hierochuntica</i> à différentes concentrations obtenues lors du test <i>A. cepa</i>	47

Table des matières

..... ملخص	
Abstract	
Résumé	
- Liste des figures.....	
- Liste des abréviations.....	
- Table des matières.....	

État de l'art

1. <i>Anastatica hierochuntica</i>	1
2. Approche ethnopharmacologique et découverte de médicaments	3
3. Molécules bioactives d'origine végétale.....	4
- 3.1. Polyphénols.....	4
- 3.2. Flavonoïdes	5
- 3.3. Tannins.....	6
4. Cytotoxicité des plantes aromatiques et médicinales	7
5. Tests de viabilité cellulaire et activité métabolique	9
6. Génotoxicité des plantes aromatiques et médicinales	10
7. Test <i>Allium cepa</i>	12
8. Problématique.....	14
9. Objectif.....	14

Méthodologie

1. Étude ethnopharmacologique	15
- 1.1. Région d'étude.....	15
- 1.2. Conduite de l'étude.....	15
- 1.3. Collecte, traitement et analyse des données.....	16
2. Étude phytochimique	16
- 2.1. Préparation des extraits	16
- 2.2. Évaluation des composés phytochimiques.....	18
- 2.2.1. Polyphénols	18

- 2.2.2. Flavonoïdes	18
- 2.2.3. Tanins.....	18
3. Étude de la cytogénotoxicité	19
- 3.1. Réalisation du test <i>Allium cepa</i>	19
- 3.2. Analyse de l'indice mitotique et des phases cellulaires	20
- 3.3. Analyse des aberrations chromosomiques	21

Résultats

1. Évaluation ethnopharmacologique	22
- 1.1. Caractérisation des participants	22
- 1.2. Modalités d'usage traditionnel de la plante médicinale	24
2. Évaluation des composés phytochimiques	29
- 2.1. Teneurs totales en composés phénoliques	29
- 2.2. Teneur totale en flavonoïdes	30
- 2.3. Teneur totale en tanins	32
3. Évaluation de la cytogénotoxicité	34
- 3.1. Morphométrie des racines	34
- 3.2. Phases cellulaires d'infusion et des extraits (aqueux et éthanolique)	36
- 3.3. Évaluation de la génotoxicité	45
Discussion	48
Conclusion.....	52
Références bibliographiques	53

Etat de l'art

Etat de l'art

Ces dernières années, le recours à la médecine traditionnelle s'est intensifié en raison de l'inefficacité de la médecine moderne et des effets secondaires souvent associés aux médicaments synthétiques contenant des substances chimiques (Taïbi et al., 2021). Parmi les plantes utilisées à des fins thérapeutiques en Algérie, *Anastatica hierochuntica*, connue dans le monde arabe et particulièrement en Algérie, occupe une place importante. Cette plante est traditionnellement employée pour soulager les douleurs menstruelles et pour augmenter les chances de conception chez les femmes. Cependant, malgré son origine naturelle, une utilisation inappropriée ou à des doses non contrôlées peut entraîner des effets secondaires indésirables.

1. *Anastatica hierochuntica*

Rose de Jéricho (*Anastatica hierochuntica* L.) est une herbe annuelle de petite taille à teinte grisâtre, appartenant à la famille des *Brassicaceae*. Elle représente l'unique espèce décrite au sein du genre monotypique *Anastatica*, ce qui en fait une entité botanique singulière d'un point de vue taxonomique (Zin et al. 2022). C'est une plante de faible port, ne dépassant généralement pas 15 centimètres de hauteur, caractérisée par la production de fleurs blanches de petite taille (Daur 2012).

A. hierochuntica est une plante médicinale profondément enracinée dans les traditions populaires du monde arabe, où elle est couramment appelée «Keff Meriam» (Taghreed et al. 2015). À l'échelle internationale, elle porte d'autres appellations culturelles ; elle est connue sous les noms de « main de Marie » ou « main de Fatma » en Europe, et sous le nom « Kembang Fatimah » en Malaisie, et « Rumpot Fatimah » en Indonésie (Anzoom et al. 2024).



Figure 1. *Anastatica hierochuntica* L. sous sa forme desséchée (Royal Botanic Gardens, Kew, 2024).

Lorsqu'elle est en phase végétative, elle adopte une morphologie en rosette, étalée à même le sol et de teinte verte. En condition de sécheresse, ses tiges présentent un comportement hygroscopique marqué, se recourbant vers l'intérieur afin de protéger ses structures internes (Lemmel 2022). *A. hierochuntica* se développe dans des sols secs, sous un climat chaud ($\geq 18^{\circ}\text{C}$) et dans des conditions d'ensoleillement intense (Marie 2024).



Figure 2. *Anastatica hierochuntica* L. en phase végétative observée au Maroc par Karol Wałach (2025).

Originnaire des écosystèmes arides du Sahara et du Moyen-Orient, cette espèce se répartit principalement dans les régions désertiques de l'Afrique du Nord (notamment en Égypte, Algérie et Maroc), de la péninsule Arabique (Arabie Saoudite, Oman), du Levant (Palestine, Jordanie, Irak (Nas et al. 2024).

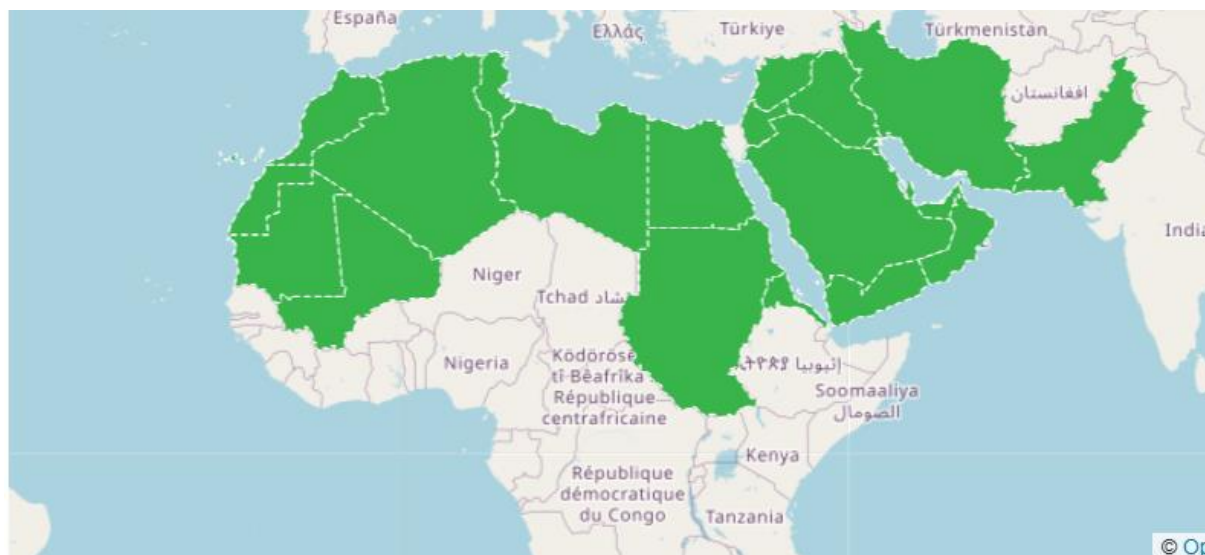


Figure 3. Distribution géographique d'*Anastatica hierochuntica* L. (El Hasbani et al. 2022)

Les formulations à base d'*Anastatica hierochuntica* sont employées pour lutter contre la fatigue, apaiser les douleurs menstruelles, prévenir les saignements utérins chez les femmes enceintes et favoriser un accouchement sans complications (Rizk et al. 1993).

Sous forme de tisane, cette plante est également utilisée pour traiter l'asthme, les troubles respiratoires, la dysenterie, la salmonellose, les rhumes, les fièvres et les maux de tête. Elle agit comme un analgésique, un emménagogue et un remède contre l'épilepsie (Abdel-Farid et al. 2010).

2. Approche ethnopharmacologique et découverte de médicaments

L'ethnopharmacologie est un domaine multidisciplinaire qui explore les médecines traditionnelles et les pharmacopées en alliant les sciences de la vie aux sciences humaines (Fleurentin et Balansard 2002). Elle repose sur des enquêtes de terrain destinées à recueillir les savoirs traditionnels, suivies d'évaluations pharmacologiques, toxicologiques, chimiques et cliniques visant à confirmer le potentiel thérapeutique des extraits de plantes médicinales (Fleurentin et Balansard 2002 ; Fleurentin 2012). Cette démarche a permis le développement de phytomédicaments efficaces et sûrs, tant dans les pays industrialisés que dans les pays en développement (Fleurentin et Balansard 2002). Ce domaine couvre une vaste gamme de recherches, y compris des études anthropologiques, historiques et socioculturelles sur les produits d'origine végétale et animale utilisés sur place, ainsi que des travaux biomédicaux et cliniques (Heinrich 2014).

L'ethnopharmacologie revêt une importance majeure dans la découverte de médicaments en s'appuyant sur les connaissances traditionnelles des communautés autochtones pour identifier des substances biologiquement actives. Selon (Heinrich et al. 2020), cette approche permet de

valider scientifiquement les remèdes ancestraux et d'isoler de nouveaux principes actifs, comme l'artémisinine (extraite d'*Artemisia annua*), dont la découverte a valu le prix Nobel à Tu Youyou en 2015 (Su et Miller 2022). De plus, les études ethnopharmacologies contribuent à la conservation de la biodiversité et des savoirs locaux, tout en offrant des pistes prometteuses pour traiter des maladies négligées ou résistantes aux thérapies conventionnelles (Fabricant et Farnsworth 2001). Ainsi, cette discipline constitue un lien essentiel entre les médecines traditionnelles et l'innovation pharmaceutique, comme le démontrent plusieurs succès thérapeutiques issus de la pharmacopée naturelle (Cox et Balick 1994).

3. Molécules bioactives d'origine végétale

La phytochimie est une branche captivante de la science dédiée à l'étude des substances chimiques fabriquées par les plantes, souvent appelées métabolites secondaires (Harborne 1993). Bien que non indispensables à la survie directe de la plante, ces composés jouent des rôles essentiels. Ils aident la plante à s'adapter à son milieu, à se défendre contre les herbivores et les maladies, et à interagir avec d'autres organismes dans des relations de symbiose (Wink 2010).

Au-delà de leur rôle écologique vital, la phytochimie est devenue une discipline majeure pour la découverte de nouveaux médicaments et le développement de produits nutraceutiques, grâce aux propriétés biologiques remarquables de ces composés végétaux (Rates 2001 ; Atanasov et al. 2015).

Les plantes synthétisent deux grandes catégories de métabolites ; les métabolites primaires (glucides, lipides, protéines, acides nucléiques) qui sont directement impliqués dans la croissance et le développement, et les métabolites secondaires ou composés phytochimiques (Harborne 1993). Ces derniers sont des molécules structuralement diverses, produites en petites quantités, et dont la présence varie considérablement d'une espèce végétale à l'autre, voire au sein de différents organes d'une même plante (Wink 2010). Leur diversité chimique est immense, reflétant l'évolution des stratégies adaptatives des plantes au fil des millions d'années (Bourgaud et al. 2001) La recherche phytochimique moderne vise non seulement à identifier et caractériser ces molécules, mais aussi à comprendre leurs biosynthèses complexes et à évaluer leurs activités biologiques potentielles (Rates 2001).

- **Polyphénols**

Les polyphénols représentent l'une des familles de métabolites secondaires les plus abondantes et les plus étudiées en phytochimie (Quideau et al. 2011). Caractérisés par la présence d'au moins un noyau aromatique portant un ou plusieurs groupements hydroxyle (-OH) (Bravo 1998), ces composés sont omniprésents dans le règne végétal. Ils contribuent notamment à la couleur, au goût et à l'arôme des plantes, des fruits et des légumes (Manach et al. 2004).

Leur intérêt majeur en santé humaine réside dans leurs propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires, anticancéreuses et cardioprotectrices, attribuées en grande partie à leur capacité à neutraliser les radicaux libres (Scalbert et al. 2005 ; Pandey et Rizvi 2009).

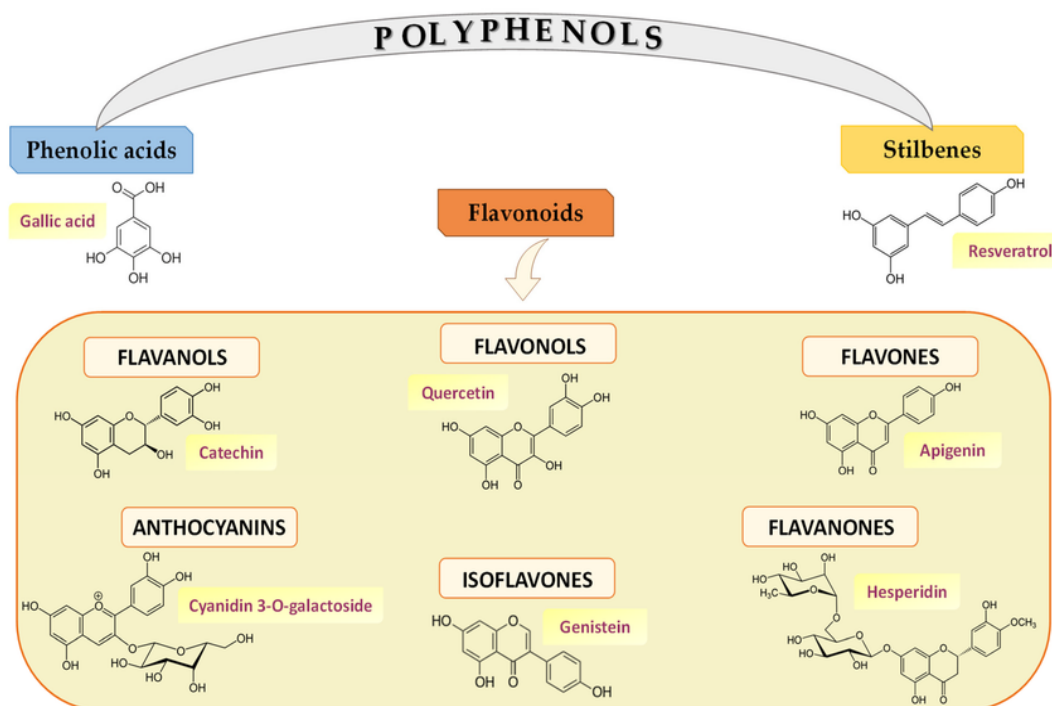


Figure 4. Aperçu sur quelques composés phénoliques clés (Lippolis et al. 2023).

• Flavonoïdes

Les flavonoïdes constituent la sous-classe la plus diversifiée, avec plus de 9000 structures identifiées (Panche et al. 2016). Leur structure de base est un squelette en C15, composé de deux cycles benzéniques (A et B) unis par un hétérocycle à trois carbones (cycle C) (Harborne 1993 ; Middleton et al. 2000). Ils sont classés en plusieurs catégories selon le degré d'oxydation du cycle C, incluant les flavonols, les flavones, les isoflavones, les anthocyanidines, les flavanones et les chalcones (Manach et al. 2004). L'importance des flavonoïdes découle de leurs nombreux effets bénéfiques sur la santé. Ils possèdent de puissantes propriétés antioxydantes, agissant comme des piègeurs de radicaux libres et des chélateurs de métaux (Bravo 1998 ; Cook et Samman 1996). Des études ont également mis en évidence leurs activités anti-inflammatoires, antivirales, antibactériennes et anticancéreuses, ce qui en fait des candidats prometteurs pour la recherche pharmaceutique et nutraceutique (Middleton et al. 2000 ; Panche et al. 2016). Ils se trouvent abondamment dans des aliments courants comme les fruits (agrumes, baies), les légumes (oignons, brocolis), le thé et le vin rouge (Manach et al. 2004).

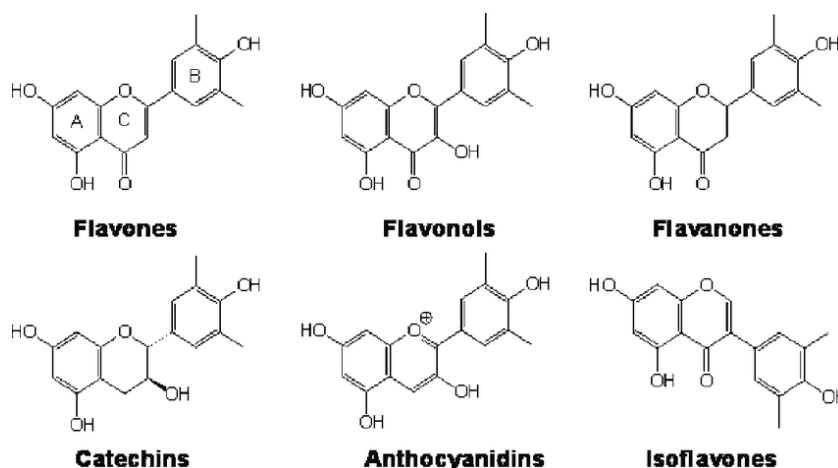


Figure 5. Variations de l'anneau central (C) et structures des flavonoïdes (Hollman et Kata 1998).

• Tanins

Forment une autre classe importante de polyphénols, caractérisée par leur capacité distinctive à précipiter les protéines (Chung et al. 1998). Cette propriété a d'ailleurs donné leur nom à ces composés, en référence à leur utilisation historique dans le tannage des peaux animales (Haslam 1996). On les subdivise en deux catégories principales : les tanins hydrolysables et les tanins condensés (également appelés proanthocyanidines) (Quideau et al. 2011).

Les tanins hydrolysables sont des esters d'acide gallique (gallotanins) ou d'acide ellagique (ellagitanins) liés à un polyol central, souvent du glucose (Haslam 1996), et peuvent être décomposés par des acides, des bases ou des enzymes (Chung et al. 1998).

Les tanins condensés, quant à eux, sont des polymères de flavan-3-ols (tels que la catéchine et l'épicatéchine) unis par des liaisons carbone-carbone résistantes à l'hydrolyse (Prior et al. 2001). Ils sont particulièrement présents dans les pépins de raisin, le thé vert, le cacao et certaines légumineuses (Haslam 1996 ; Chung et al. 1998).

Sur le plan de leur importance et activités biologiques, les tanins sont bien connus pour leur amertume et leur astringence, qui contribuent aux qualités organoleptiques de nombreuses boissons et aliments (Manach et al. 2004). Biologiquement, ils possèdent des propriétés antioxydantes, antimicrobiennes, anti-inflammatoires et même anticancéreuses (Scalbert et al. 2005 ; Chung et al. 1998).

Leur interaction avec les protéines est également à l'origine de leurs effets sur la digestion et l'absorption des nutriments (Haslam 1996).

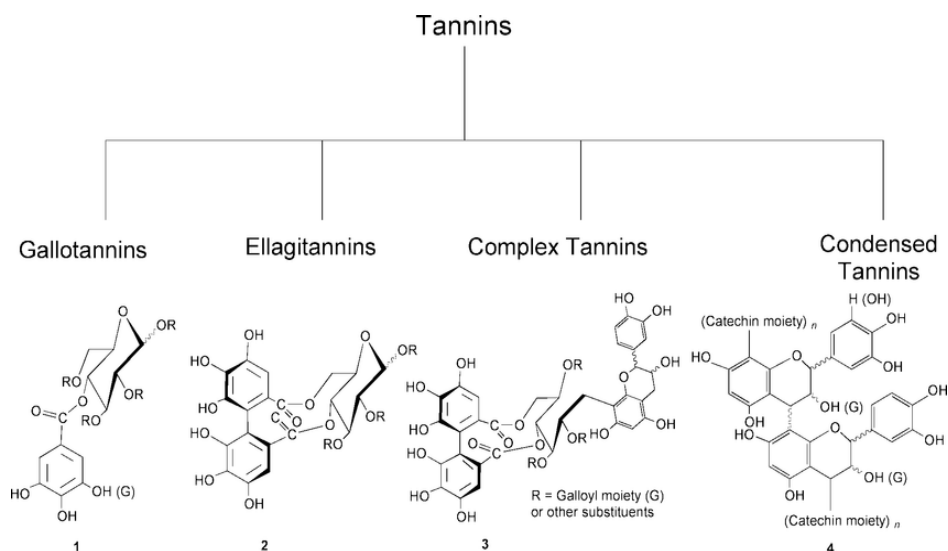


Figure 6. Schéma présentant les quatre grandes classes de tanins (Khanbabae et van Ree 2002).

4. Cytotoxicité des plantes aromatiques et médicinales

En biologie cellulaire et en pharmacologie, la cytotoxicité représente la capacité d'une substance à endommager ou tuer les cellules vivantes (Ferreira et al. 2021). Son étude est essentielle, tant pour le développement de nouveaux agents thérapeutiques que pour l'évaluation toxicologique des composés chimiques et biomatériaux (Kumar et al. 2018 ; Singh et al. 2019). Comprendre ces interactions est donc fondamental pour prédire précisément leur impact sur les systèmes biologiques (Mosmann 1983). La mort cellulaire n'est pas un phénomène simple ; elle résulte plutôt de processus complexes déclenchés par des stimuli cytotoxiques (Galluzzi et al. 2018).

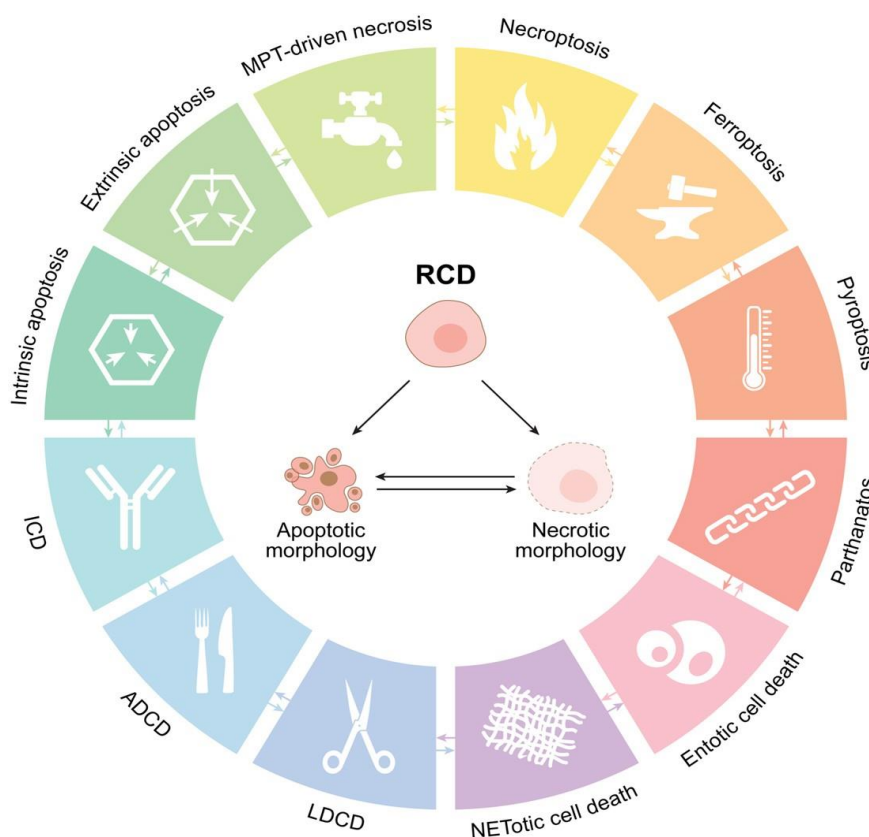


Figure 7. Mécanismes moléculaires de la mort cellulaire (Galluzzi et al. 2018).

En cytotoxicité, l'apoptose et la nécrose sont les deux principales voies de mort cellulaire (Elmore 2007 ; Kroemer et al. 2009).

L'apoptose, processus de mort cellulaire actif, génétiquement programmé et hautement régulé, est cruciale pour le développement, l'homéostasie tissulaire et l'élimination des cellules endommagées (Elmore 2007). Elle constitue souvent une cible privilégiée des thérapies anticancéreuses, car elle permet une mort cellulaire contrôlée sans inflammation excessive (Fulda et Debatin 2006). Morphologiquement, l'apoptose se manifeste par un rétrécissement cellulaire, la condensation de la chromatine, la fragmentation nucléaire et la formation de corps apoptotiques (Saraste et Pulkki 2000). Biochimiquement, l'activation des caspases est une étape clé orchestrant cette mort cellulaire (Degtarev et al. 2003), et la translocation de la phosphatidylsérine est un marqueur précoce (Vermes et al. 1995).

La nécrose est une mort cellulaire non contrôlée et souvent néfaste, qui arrive après un gros choc pour la cellule (comme un coup, beaucoup de stress, ou trop de toxines) (Kroemer et al. 2009). Quand une cellule meurt par nécrose, elle gonfle, sa membrane se casse, et son contenu se répand dehors (Elmore 2007 ; Galluzzi et al. 2018). Cela provoque une forte inflammation autour, ce qui peut aggraver les dégâts (Kroemer et al. 2009).

Pour l'évaluation de cytotoxicité, plusieurs méthodes sont utilisées selon le type de cellules modèles, les ressources disponibles, et la nature spécifique des informations recherchées (Riss et al. 2013 ; Denizot et Lang 198).

5. Tests de viabilité cellulaire et activité métabolique

Ces essais évaluent la proportion de cellules métaboliquement actives et viables dans une population (Twentyman et Luscombe 1987).

• Test MTT (3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-2,5-diphényltétrazolium bromure)

Ce test colorimétrique repose sur la capacité des enzymes présentes dans les mitochondries des cellules vivantes, les succinate déshydrogénases, à transformer un sel de tétrazolium jaune (le MTT) en cristaux violets insolubles appelés formazan (Mosmann 1983). L'intensité de cette couleur violette, une fois les cristaux dissous (mesurée par spectrophotométrie), est directement liée au nombre de cellules viables et métaboliquement actives (Denizot et Lang 1986).

• Les tests comme le XTT, le MTS et le WST-1

Sont des versions améliorées du MTT. Leur principe est similaire, mais ils utilisent d'autres sels de tétrazolium qui ont un avantage clé : ils produisent des résultats (des formazans) qui sont directement solubles dans l'eau (Scudiero et al. 1988 ; Berridge et Tan 1993). Ça simplifie énormément le protocole, car on n'a plus besoin de dissoudre les cristaux. Ces tests sont généralement plus rapides, plus pratiques et souvent plus sensibles que le MTT traditionnel (Riss et al. 2013).

• La Résazurine (Alamar Blue)

Il fonctionne avec un colorant bleu non fluorescent, la résazurine, qui est transformé en un composé rose et fluorescent, la résorufine, par les enzymes des cellules vivantes et actives (Ahmed et al. 1994). L'un des grands atouts de ce test, en plus de sa grande sensibilité, c'est que le colorant est non toxique pour les cellules (O'Brien et al. 2000). Ça permet de suivre l'activité des mêmes cellules sur une longue période et de faire plusieurs mesures sans les abîmer.

Les tests d'intégrité membranaire sont essentiels pour évaluer si la membrane protectrice d'une cellule est endommagée, ce qui est un signe clé de nécrose ou d'une apoptose avancée (Galluzzi et al. 2018).

• Le test de relargage de LDH (Lactate Déshydrogénase)

Il est couramment utilisé vu son principe simple ; l'enzyme LDH, normalement confinée dans le cytoplasme cellulaire, est libérée dans le milieu de culture lorsque la membrane cellulaire est compromise (Decker et Lohmann-Matthes 1988). La quantité de LDH détectée, mesurée par une réaction colorimétrique, est directement proportionnelle au nombre de cellules dont la

membrane est devenue perméable (Korzeniewski et Callewaert 1983). C'est un indicateur direct de la rupture membranaire et de la nécrose (Strober 2001).

• Le test d'exclusion au Bleu Trypan

Ce colorant ne peut pas traverser une membrane cellulaire intacte (Strober 2001). Cependant, les cellules dont la membrane est endommagée absorbent le colorant et apparaissent bleues sous un microscope optique, permettant un comptage visuel des cellules mortes par rapport aux cellules vivantes (Freshney 2010). Cette méthode est simple, rapide et peu coûteuse pour une évaluation qualitative et quantitative rapide de la viabilité cellulaire (Louis et Siegel 2011).

6. Génotoxicité des plantes aromatiques et médicinales

La génotoxicité désigne, en génétique, l'effet délétère que certaines substances peuvent exercer sur le matériel génétique cellulaire (ADN ou ARN), compromettant ainsi l'intégrité et le fonctionnement normal des cellules (Mohamed et al. 2017).

Une altération du code génétique, telle qu'une mutation ponctuelle ou une cassure de brin d'ADN, peut entraîner des conséquences majeures sur le plan cellulaire. Lorsqu'une cellule somatique subit de tels dommages, cela peut provoquer une mutation somatique, susceptible de conduire à une transformation maligne, c'est-à-dire au développement d'un cancer (Mansoori et al. 2014).

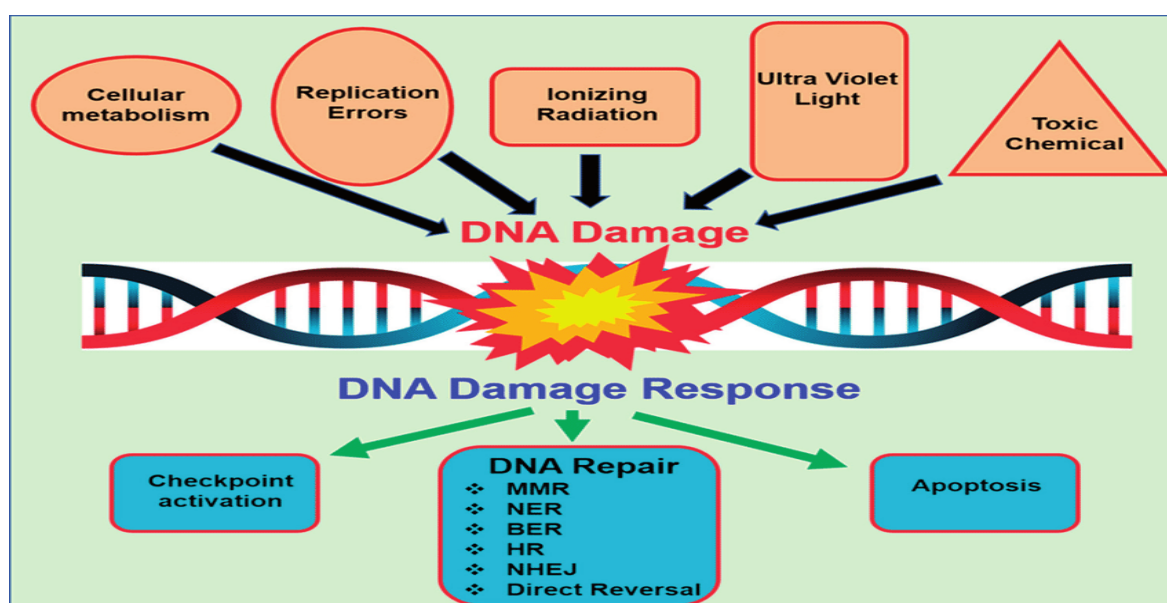


Figure 8. Dommages à l'ADN, réponse aux dommages et réparation (Panneerselvam et al. 2020).

Pour évaluer les effets génotoxiques, de nombreux tests ont été développés, aussi bien *in vitro* qu'*in vivo*. Ces tests ciblent différents paramètres permettant de détecter les altérations de

l'ADN ou les conséquences biologiques qui en résultent. Ils peuvent être appliqués à des cellules procaryotes (comme les bactéries) aussi bien qu'à des cellules eucaryotes (telles que celles des mammifères, des oiseaux ou des levures) (Phillips et Arlt 2009).

Les génotoxines sont des agents chimiques ou physiques capables d'induire divers types de dommages au matériel génétique, notamment des mutations géniques, des anomalies chromosomiques ou des cassures de l'ADN (Atlı Şekeroğlu et Şekeroğlu 2011). Ces agents représentent un risque important pour la stabilité génomique et peuvent être à l'origine de diverses pathologies, notamment les cancers (Ren et al. 2017).

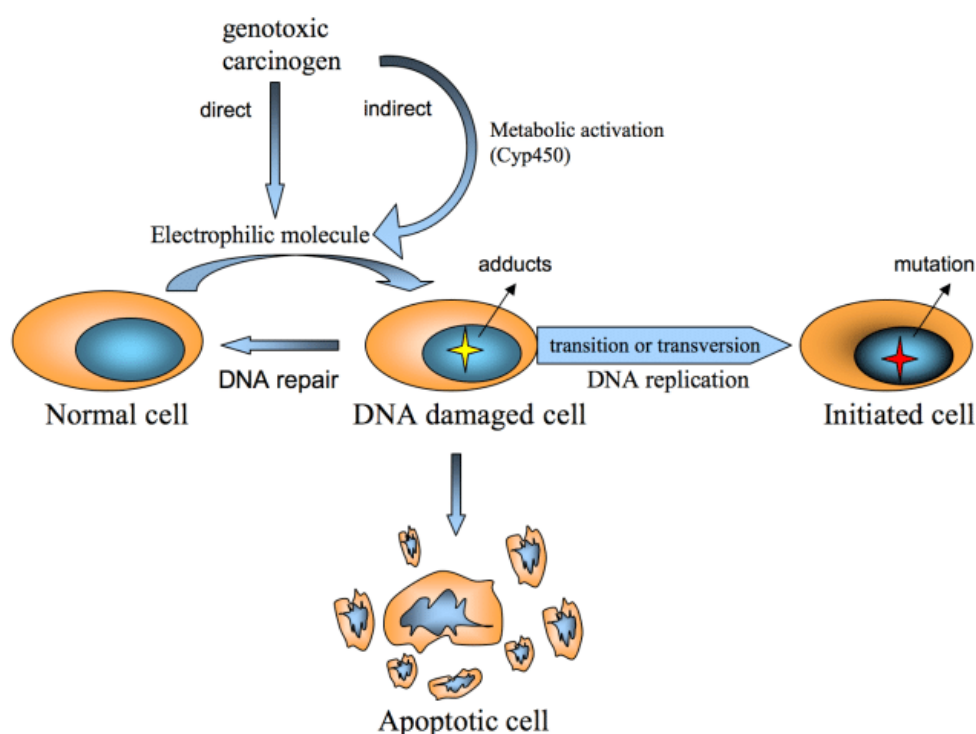


Figure 9. Mécanisme d'action des agents cancérogènes génotoxiques (Pérez-Carreón et al. 2012).

Parmi les méthodes de détection, l'analyse des anomalies nucléaires dans les érythrocytes est couramment utilisée. Des structures telles que les micronoyaux et les bourgeons nucléaires sont considérées comme des biomarqueurs fiables d'une exposition à des agents génotoxiques, car elles reflètent les altérations subies par l'ADN au sein des cellules (García-Sagredo 2008).

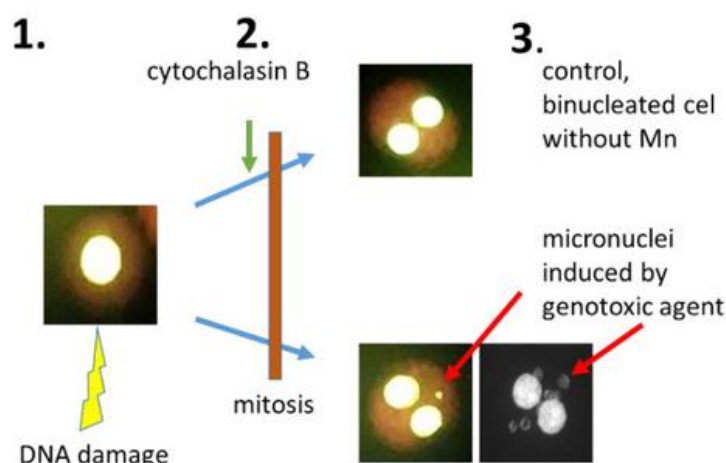


Figure 10. Test du micronoyau (Sommer et al. 2020).

Une des approches les plus efficaces pour maîtriser les dommages causés par les agents mutagènes et cancérigènes est d'identifier la substance ou le produit chimique, à savoir les antimutagènes/anticlastogènes (qui stoppent ou ralentissent le processus de mutagenèse en intervenant directement sur le mécanisme cellulaire) et les demi-mutagènes (qui détruisent ou neutralisent partiellement ou totalement les mutagènes, influençant ainsi un nombre restreint de cellules) issus de plantes médicinales, dans le but de les exploiter comme additifs alimentaires ou pharmaceutiques dotés de propriétés antimutagènes et anticancérigènes (Silva et al. 2008).

Les modifications génétiques ne représentent qu'une facette du processus complexe lié aux effets héréditaires et à la cancérogenèse, qui englobe la fixation des dommages de l'ADN par le biais de mutations géniques, de lésions chromosomiques importantes, de recombinaisons ou d'anomalies dans le nombre de chromosomes. Ces analyses sont cruciales pour estimer le potentiel génotoxique et cancérigène d'une substance, en repérant celles qui produisent des résultats positifs (Shah 2012).

Dans le contexte de l'évaluation de la sécurité, les autorités réglementaires à travers le monde demandent des renseignements concernant le potentiel génotoxique des médicaments récents. L'évaluation de la sécurité inclut généralement l'appréciation de la génotoxicité en même temps que d'autres critères toxicologiques (Mohamed et al. 2017).

7. Test *Allium cepa*

Le test *Allium cepa* est une méthodologie standardisée et largement adoptée en écotoxicologie pour évaluer la génotoxicité et la cytotoxicité de divers agents environnementaux (Leme et Marin-Morales 2009). Ce bio-essai *in vivo* est privilégié pour les caractéristiques cytogénétiques avantageuses de l'oignon (*Allium cepa* L.), notamment ses chromosomes de

grande taille et leur faible nombre (2 n=16), facilitant une analyse microscopique détaillée des anomalies induites (Cherifa 2021 ; Lestari et al., 2024).

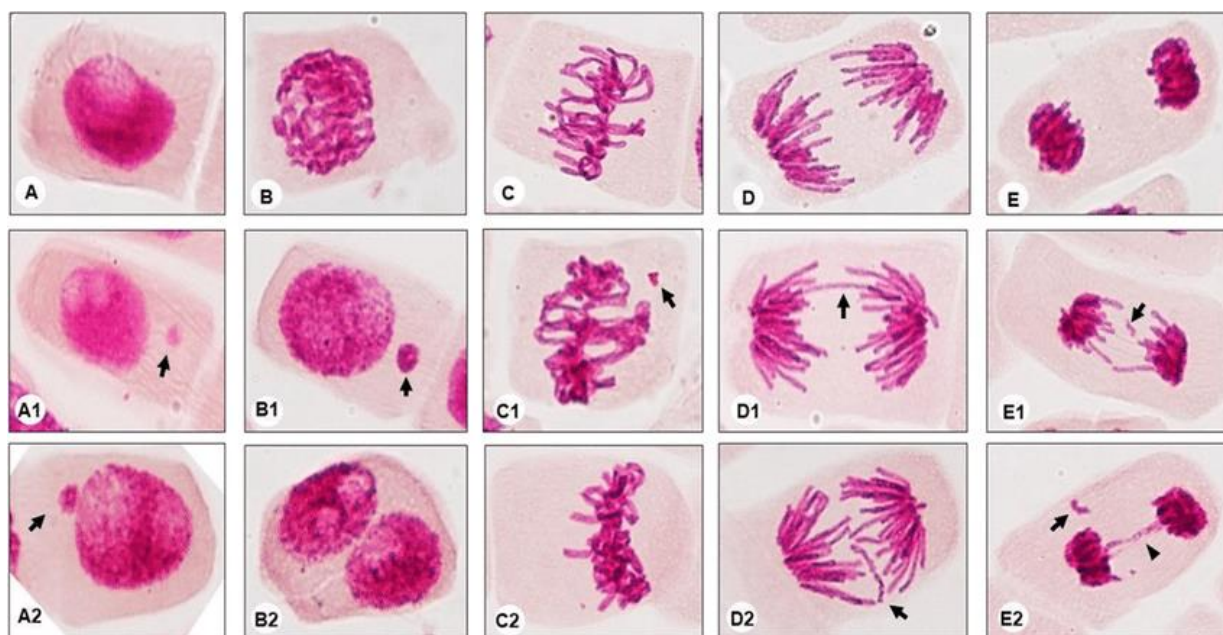


Figure 11. Aberrations chromosomiques, anomalies nucléaires et micronoyau observés dans les cellules méristématiques d'*Allium cepa* (Santos et al. 2022).

A: Interphase, B: Prophase, C: Métaphase, D: Anaphase, E: Télophase, A1 : Interphase micronoyau, B1 : Prophase micronoyau, C1 : Métaphase micronoyau, D1 : Anaphase pont chromosomique, E1 : Télophase perte chromosomique, A2 : Interphase bourgeon, B2 : Bi nucléaire, C2 : Métaphase polyploïde, D2 : Anaphase cassure chromosomique, E2 : Télophase perte chromosomique et pont chromosomique

La génotoxicité est spécifiquement quantifiée par l'identification d'aberrations chromosomiques (AC) telles que les ponts anaphasiques, signalant des problèmes de ségrégation de l'ADN, et les fragments chromosomiques, indiquant des cassures du matériel génétique (Oves et al. 2022 ; Menezes et al. 2020). La présence de chromosomes collants, révélant des perturbations de la condensation ou de la séparation, et de micronoyaux, issus de l'exclusion de fragments ou de chromosomes entiers lors de la mitose, sont des marqueurs cruciaux d'instabilité génomique (Al-Ajmi et al. 2021).

La cytotoxicité est évaluée par la réduction de l'index mitotique (IM), qui mesure l'inhibition de la prolifération cellulaire, ainsi que par l'inhibition de l'élongation des racines, un indicateur précoce de toxicité cellulaire (Jatau et al. 2020 ; Demirkol et al. 2015). Ce test polyvalent est appliqué pour évaluer la toxicité des polluants émergents, des produits pharmaceutiques, des pesticides et des métaux lourds, offrant une méthode économique, sensible et fiable pour le dépistage initial et la surveillance environnementale (Ismail et al. 2024 ; Teixeira et al. 2017).

Sa bonne corrélation avec les systèmes de test mammaliens renforce sa pertinence prédictive en santé environnementale (Badr et El-Hamid 2018).

8. Problématique

L'utilisation traditionnelle d'*Anastatica hierochuntica*, ou « Keff Meriam », est profondément ancrée dans les pratiques de guérison populaires en Algérie, où ses propriétés médicinales sont vantées pour le traitement de maux variés. Pourtant, malgré sa réputation et son emploi ancestral, le savoir-faire local n'a jamais été consigné et évalué dans un cadre scientifique rigoureux.

Cette absence de documentation formelle fragilise la transmission intergénérationnelle de ces connaissances et empêche d'établir des standards d'usage garantissant la qualité et la sécurité des préparations.

Par ailleurs, si les teintures et décoctions de Keff Meriam sont largement appréciées, leur profil biochimique et toxicologique demeure inconnu. Sans données précises sur les métabolites secondaires qu'elle ne renferme ni sur leur affinité pour les cellules humaines, il est impossible de définir des dosages fiables et d'anticiper d'éventuels effets indésirables ou génotoxiques.

L'élaboration d'un protocole d'analyse phytochimique et de tests *in vitro* de cytotoxicité et génotoxicité s'impose donc pour valider scientifiquement les usages traditionnels, encadrer la consommation de la plante et en ouvrir l'exploitation contrôlée à des fins thérapeutiques.

9. Objectif

L'objectif de cette étude est de (i) documenter et préserver le savoir-faire local lié aux usages traditionnels d'*Anastatica hierochuntica*, (ii) à caractériser la richesse en métabolites secondaires bioactifs par des analyses phytochimiques, et (iii) à évaluer rigoureusement la cytotoxicité et la génotoxicité de ses extraits via le test d'*Allium cepa*.

En validant scientifiquement les pratiques ancestrales entourant « Keff Meriam » et en déterminant des protocoles d'utilisation incluant des dosages à la fois efficaces et sûrs, ce travail établit un cadre d'emploi rationnel qui contribue à l'exploitation durable et sécurisée de cette plante médicinale au bénéfice des communautés locales et des applications pharmaceutiques potentielles.

Méthodologie

Méthodologie

1. Étude ethnopharmacologie

1.1. Région d'étude

Dans le cadre de cette étude ethnopharmacologique, une enquête de terrain a été conduite afin de recueillir des données qualitatives sur les usages traditionnels de *Keff Meriam* (*A. hierochuntica*). Cette enquête s'est déroulée dans plusieurs régions d'Algérie, notamment Alger, Bachar, Batna, Bayadh, Beskra, Boussaâda, Media, Mostaganem Oran, Tiaret, Tlemcen .

L'objectif visé est de recenser et de documenter les usages traditionnels de cette plante au sein de ces communautés, en portant une attention particulière aux variations culturelles et géographiques de son emploi.

1.2. Conduite de l'étude

La méthodologie adoptée repose sur une approche descriptive et empirique, fondée sur des entretiens semi-directifs. Les entretiens ont été menés auprès d'herboristes répartis dans plusieurs régions d'Algérie, ainsi qu'auprès des patientes fréquentant les services de maternité et d'enfance de la wilaya de Tiaret (Maternité Es-Sénia).

Au total, 215 personnes ont été interrogées, incluant également des citoyennes et citoyens rencontrés dans des espaces publics, notamment dans les marchés et les rues, afin d'élargir la diversité des profils consultés.

Les personnes interrogées ont été sélectionnées sur la base de leur expertise en médecine traditionnelle, de leur rôle social (guérisseurs, usagers, femmes ayant recours à cette plante) et de leur accessibilité dans le cadre de la consultation ou de l'activité professionnelle (vente d'herbes médicinales).

Des entretiens semi-directifs ont été menés en langue vernaculaire ou en arabe dialectal, suivant un guide d'entretien préétabli, axé sur :

2. Les usages thérapeutiques de *Keff Meriam*
3. Les parties utilisées de cette plante
4. Les méthodes de préparation et d'administration
5. Les fréquences et durée de traitement
6. La perception des effets secondaires ou indésirables

Les données ont été collectées par prise de notes, enregistrement audio (avec consentement) et parfois photographie des préparations (pour les pratiques illustratives).

1.3. Collecte, traitement et analyse des données

À l'issue de chaque entretien, les informations recueillies ont été saisies et codées dans un tableur (Microsoft Excel) pour les calculs des statistiques quantitatives relatives à ce genre d'étude.

2. Étude phytochimique

2.1. Préparation des extraits

La partie aérienne de la plante *Anastatica hierochuntica* a été obtenue d'un herboriste. Le matériel végétal a été soigneusement lavé, débarrassé de ses impuretés, puis séché à l'obscurité. Après dessiccation complète, un broyage initial a été effectué chez l'herboriste, suivi d'un second broyage à l'aide d'un moulin domestique afin d'affiner la granulométrie. La poudre obtenue a été tamisée à l'aide d'un tamis métallique, puis stockée dans un flacon hermétique, protégé de la lumière par un revêtement en feuille d'aluminium.

- **Préparation des extraits aqueux et hydroéthanolique**

L'extrait aqueux a été préparé par macération de 50 g de poudre végétale dans 500 ml d'eau distillée alors que l'extrait hydroéthanolique a été préparé par macération de 50 g de poudre végétale dans 500 ml d'éthanol à 70 %. Les mélanges ont été placés dans des flacons en verre. Les mélanges ont été agités et maintenus à température ambiante, à l'obscurité, pendant 24 heures.

- **Préparation des extraits**

Une quantité significative d'*Anastatica hierochuntica* a été obtenue auprès d'un herboriste. Le matériel végétal a été soigneusement lavé, débarrassé de ses impuretés, puis séché à l'obscurité. Après dessiccation complète, un broyage initial a été effectué chez l'herboriste, suivi d'un second broyage à l'aide d'un moulin domestique afin d'affiner la granulométrie. La poudre obtenue a été tamisée à l'aide d'un tamis métallique, puis stockée dans un flacon hermétique, protégé de la lumière par un revêtement en feuille d'aluminium.



Figure 12. Préparation d'extrait aqueux et éthanolique.

Après macération, la solution a été filtrée à l'aide d'un papier filtre Whatman, puis le filtrat obtenu a été déshydraté dans une étuve à 37 °C jusqu'à obtention d'un résidu sec, lequel a été conservé dans un récipient propre et hermétique.

Le rendement d'extraction représente la proportion de l'extrait par rapport à la quantité de la poudre végétale utilisée :

$$\text{Rendement (\%)} = (\text{Poids de l'extrait sec} / \text{poids de la poudre utilisée}) \times 100$$

- **Préparation de l'infusion**

L'infusion d'*A. hierochuntica* a été préparée à partir de la partie aérienne séchée, traditionnellement utilisée pour ses propriétés médicinales. La matière végétale a été pesée selon la concentration souhaitée, puis mélangée à de l'eau distillée préalablement portée à ébullition douce (90–100 °C). L'eau chaude a ensuite été versée sur la plante. L'ensemble a été couvert et laissé en infusion pendant 15 à 30 minutes, avec agitation occasionnelle afin d'optimiser l'extraction des composés bioactifs. Après infusion, la solution a été filtrée à l'aide d'un tamis fin ou d'un papier filtre pour éliminer les résidus solides, puis laissée à refroidir à température ambiante. Dans un cadre expérimental, notamment pour le test *Allium cepa*, l'infusion a été utilisée immédiatement. Les concentrations utilisées au cours des expérimentations variaient généralement entre 2,5 ; 5 ; 10 et 20 mg/mL.



Figure 13. Préparation de l'infusion.

2.2. Evaluation des composés phytochimiques

2.2.1. Polyphénols

Pour l'évaluation des polyphénols, 200 μL de chaque extrait (aqueux, éthanolique, ou infusion) aux concentrations de 0,25, 0,5, 1 et 2 mg/mL et infusion aux concentrations de 2,5, 5, 10 et 20 mg/mL ont été pipetés dans des tubes Eppendorf contenant 1 ml de réactif de Folin-Ciocalteu préalablement dilué au dixième.

Les tubes, protégés de la lumière, ont été incubés durant 5 minutes à température ambiante, puis complétés par l'ajout de 800 μL d'une solution de carbonate de sodium (Na_2CO_3) à 7,5 %. Après agitation, les échantillons ont reposé pendant 30 minutes avant que leur absorbance ne soit mesurée à 765 nm. Chaque mesure a été réalisée en triplicata minimum.

2.2.2. Flavonoïdes

Dans un tube Eppendorf, 1 mL de chaque extrait a été mis en présence d'1 mL de solution de chlorure d'aluminium (AlCl_3) à 2 % dans du méthanol. Après agitation vigoureuse au vortex, les échantillons ont été incubés à l'abri de la lumière pendant 15 minutes. L'absorbance de la réaction a ensuite été mesurée à 430 nm en comparaison d'un blanc (eau distillée). Chaque expérience a été réalisée au moins trois fois pour garantir la reproductibilité des mesures.

2.2.3. Tannins

Chaque extrait (50 μL) a été ajouté à 1 500 μL de solution de vanilline à 49 % dans le méthanol, puis le mélange a été vortex vigoureusement. Ensuite, 750 μL d'acide chlorhydrique

concentré ont été incorporés, et la réaction a eu lieu à température ambiante pendant 20 minutes. L'absorbance a été mesurée à 550 nm par rapport à un blanc (méthanol). La teneur totale en tannins a été déterminée à partir d'une courbe d'étalonnage et exprimée en mg d'équivalent quercétine (QE) par ml d'extrait. Chaque mesure a été réalisée au moins trois fois pour assurer la fiabilité des résultats.

3. Étude de la cytogénotoxicité

3.1. Réalisation du test d'*Allium cepa*

L'oignon (*Allium cepa*, $2n = 16$), appartenant à la famille des Alliaceae, a été sélectionné comme organisme modèle. Des bulbes ont été achetés sur le marché local de Tiaret (Algérie) en fonction de leur calibre, puis lavés à l'eau distillée après élimination des racines et de la première pelure externe.

Avant la mise en place du test anaphase-télophase, les écailles superficielles ainsi que la base desséchée des bulbes ont été soigneusement retirées afin de préserver les primordia racinaires. Les bulbes ont ensuite été placés dans des tubes à essai contenant de l'eau distillée, de façon à immerger uniquement les racines. Après une incubation de trois jours dans l'obscurité, seuls les bulbes ayant développé des racines d'environ 2 cm ont été retenus pour l'expérimentation.



Figure 14. Bulbes d'oignon (*Allium cepa*) en germination dans des godets individuels – immersion partielle pour le test de cytotoxicogénétique.

3.3. Analyse des aberrations chromosomiques

Simultanément, le test d'aberrations chromosomiques a porté sur l'analyse de 400 à 500 cellules **en anaphase ou télophase**, au cours de laquelle ont été relevées plusieurs anomalies, notamment des perturbations de l'anaphase et télophase, chromosomes vagabonds, et la formation de ponts d'anaphase.

L'Indice des Aberrations Chromosomiques (CA) est déterminé par le nombre de cellules aberrantes parmi le nombre total de cellules observées multiplié par 100 :

$$CA (\%) = \text{Nombre de cellules aberrantes} / \text{Nombre de cellules comptées} \times 100$$

Résultats

Résultats

1. Ethnopharmacologie

- **Caractérisation des participants**

La distribution des personnes enquêtées selon les tranches d'âge. La majorité des répondants appartiennent aux groupes d'âge de 26 à 39 ans, avec respectivement environ 36 et 34 individus, témoignant d'un fort intérêt de la part des jeunes adultes et des adultes en âge actif (Fig. 16).

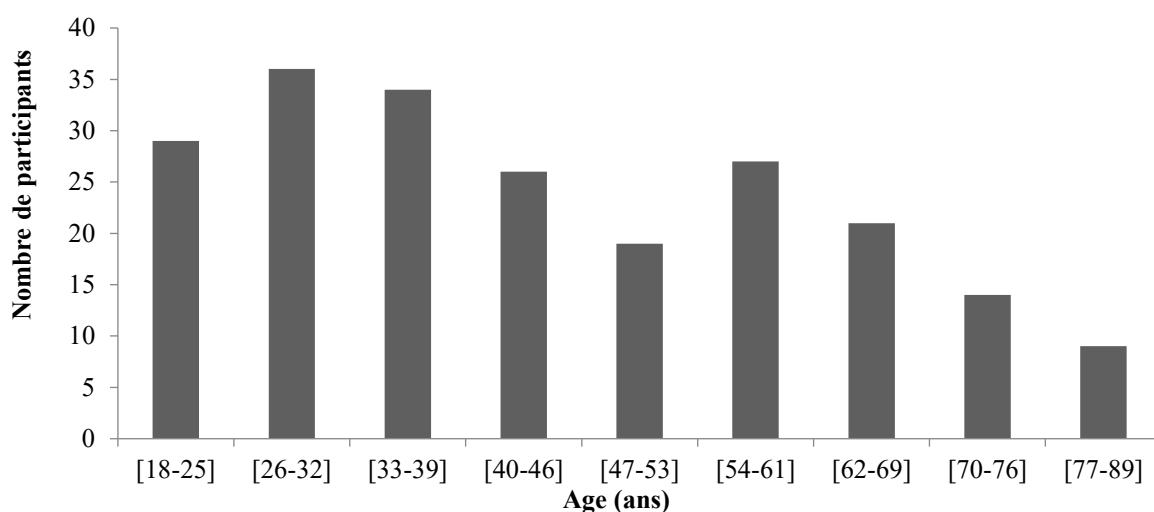


Figure 16. Répartition des classes d'âge des participants.

La tranche des 18 à 25 ans suit avec 29 participants, indiquant également une participation notable des jeunes, bien que légèrement inférieure.

Une tendance à la baisse est observée dans les tranches d'âge plus avancées : le groupe des 40 à 46 ans compte encore 27 répondants, tandis que les personnes âgées, notamment celles de plus de 70 ans, sont faiblement représentées. Cette faible participation peut s'expliquer par des contraintes liées à l'accès à l'enquête ou à une moindre familiarité avec les outils utilisés.

Pour ce qui est du sexe des participants, c'est le sexe féminin qui prédomine, avec un taux de 68%, contre 32% seulement du sexe masculin (Fig. 17).

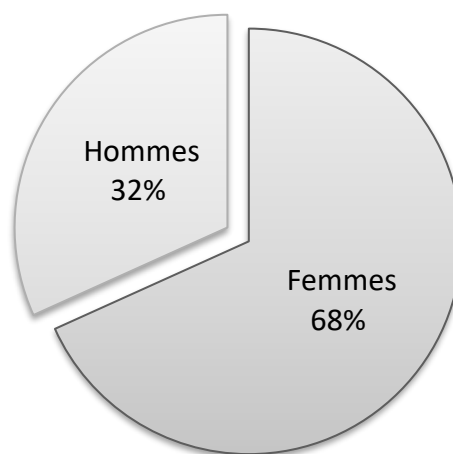


Figure 17. Répartition des participants selon le sexe.

Contrairement à l'idée préconçue selon laquelle le recours aux pratiques traditionnelles ou naturelles serait lié à un faible niveau d'instruction, les résultats obtenus indiquent une diversité notable des niveaux d'études parmi les personnes enquêtées (Fig. 18).

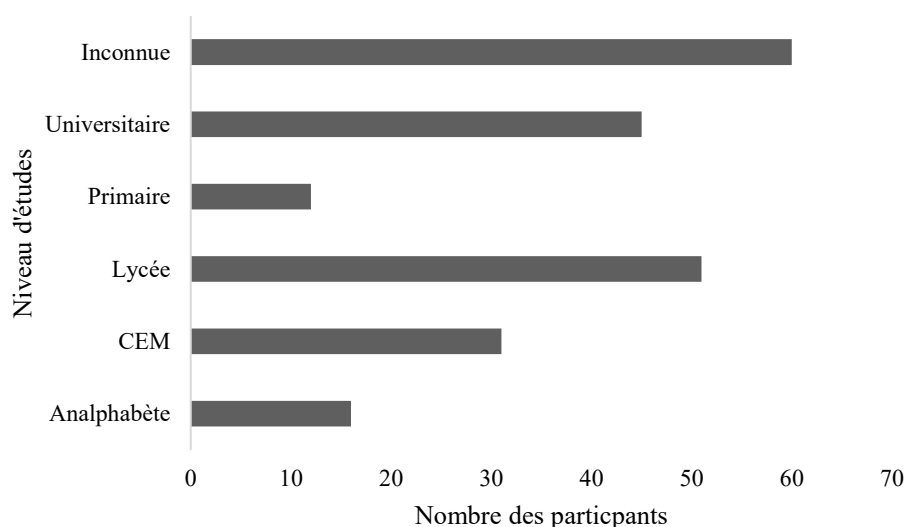


Figure 18. Niveau d'études des participants.

Viennent ensuite les personnes ayant atteint le niveau secondaire (Lycée), avec un effectif de plus de 50 individus, suivies de près par les participants ayant un niveau universitaire (environ 45 personnes), ce qui reflète un intérêt marqué pour les pratiques médicales traditionnelles même chez les personnes instruites.

Les niveaux intermédiaires sont représentés par les anciens élèves du collège (CEM) avec un peu plus de 30 participants, et ceux ayant un niveau primaire, au nombre de 15 environ.

plus restreint d'informateurs, suggérant un usage plus marginal ou réservé à des contextes thérapeutiques spécifiques.

Concernant la durée d'utilisation d'*A. hierochuntica*, les données recueillies révèlent que le schéma le plus fréquemment mentionné par les informateurs est « une fois par jour pendant 7 à 10 jours », rapporté par 60 personnes (Fig. 23).

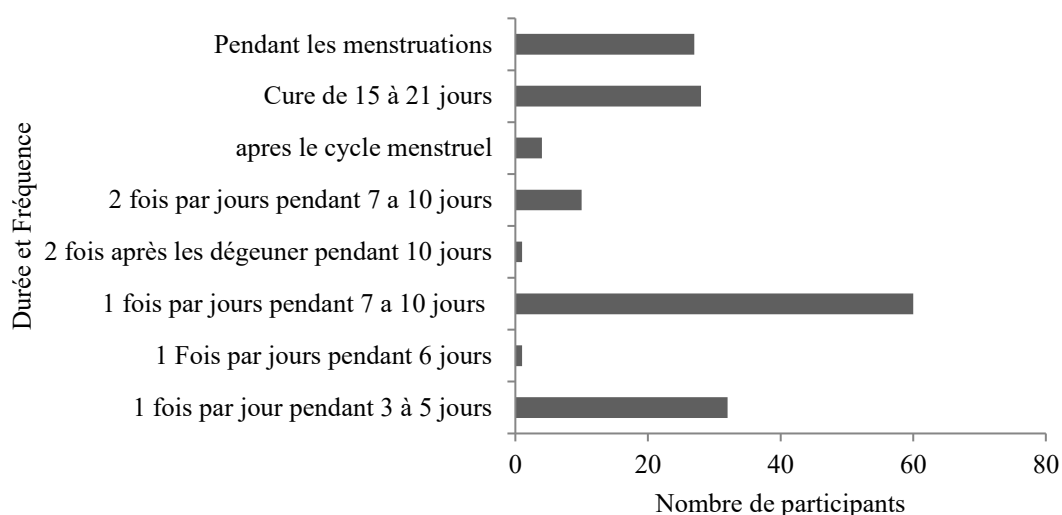


Figure 23. Durée d'utilisation d'*A. hierochuntica*.

D'autres durées couramment citées incluent l'utilisation pendant la période des menstruations, une cure de 15 à 21 jours, ainsi que l'administration une fois par jour pendant 3 à 5 jours, chacune rapportée par un nombre relativement similaire d'informateurs, allant de 27 à 32. Ces résultats traduisent une certaine diversité dans les pratiques, tout en mettant en évidence une préférence pour des cures de courte à moyenne durée. Les autres modalités d'usage, plus marginales, sont très peu représentées, ce qui souligne l'existence de protocoles d'usage traditionnel relativement bien établis autour de cette plante.

En ce qui concerne les quantités utilisées d'*A. hierochuntica*, la catégorie « 1 cuillère » regroupe à elle seule 20 personnes, représentant ainsi la posologie la plus fréquemment rapportée (Fig. 24).

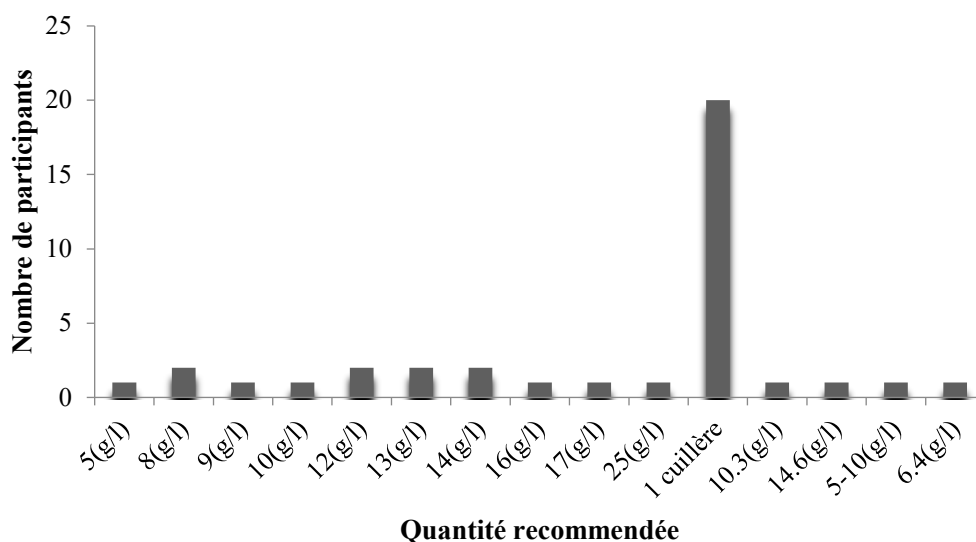


Figure 24. Les quantités recommand es pour l'utilisation d'*Anastatica hierochuntica*.

Cette prédominance peut s'expliquer par le caractère pratique et facilement estimable de cette unité de mesure, particulièrement adapt e à un usage domestique ou traditionnel.   l'inverse, les quantités exprim es en grammes par litre sont très peu cit es, ce qui pourrait s'expliquer par la nécessité d'une mesure plus précise, souvent perçue comme technique ou scientifique, et donc moins accessible au grand public dans le cadre d'une utilisation empirique de la plante.

2. Évaluation des composés phytochimiques

2.1. Évaluation de rendement des extraits

Le rendement de l'extrait éthanolique d'*A. hierochuntica* était supérieur à celui de l'extrait aqueux. Les valeurs enregistrées respectives sont de 3,38% et 3,55 %.

Tableau 1 : Rendement des extraits de la plante.

Extrait	Rendement %
Extrait aqueux	3,38
Extrait éthanolique	3,55

2.2. Teneurs en composés phénoliques

La quantité totale de composés phénoliques diffère de manière notable entre les extraits aqueux, éthanoliques et l'infusion de la plante, et ce, à toutes les concentrations testée (Fig. 25).

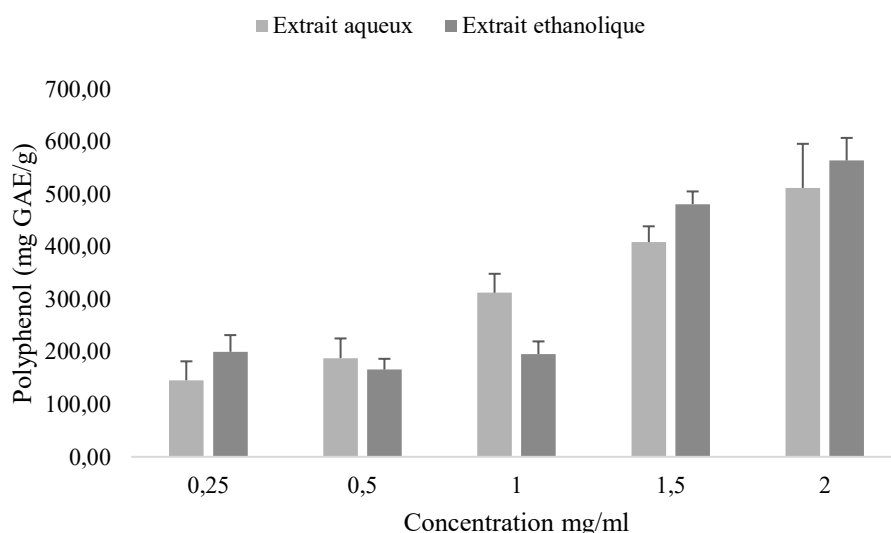


Figure 25. Variation des teneurs en composés phénoliques totaux dans les extraits aqueux et éthanoliques d'*A. hierochuntica*

La teneur en polyphénols augmente généralement avec la concentration de l'extrait. L'extrait éthanolique présente des niveaux de polyphénols plus élevés par rapport à l'extrait aqueux à la plupart des concentrations. La teneur en polyphénols la plus élevée pour l'extrait éthanolique a été enregistrée à 2 mg/mL, atteignant environ 560 mg EAG/g. L'extrait aqueux a quant à lui atteint son pic à la même concentration, avec environ 500 mg EAG/g.

Le teneur en flavonoïdes des extraits obtenus par infusion augmente de manière notable avec l'accroissement de la concentration, avant de diminuer. Le pic de teneur en flavonoïdes a été enregistré à 10 mg/mL, atteignant environ 1 080 mg QE/mL.

Plus précisément, à 2,5 mg/mL, la concentration en flavonoïdes était d'environ 180 mg QE/mL. Elle est ensuite montée à environ 210 mg QE/mL pour une concentration de 5 mg/mL. Cependant, à la concentration la plus élevée testée, soit 20 mg/mL, la teneur en flavonoïdes a diminué pour se stabiliser autour de 790 mg QE/mL.

2.4. Teneurs en tanins

Le teneur en tanins variait considérablement entre les extraits aqueux et éthanoliques et l'infusion l'*A. hierochuntica* selon la concentration (Fig. 29).

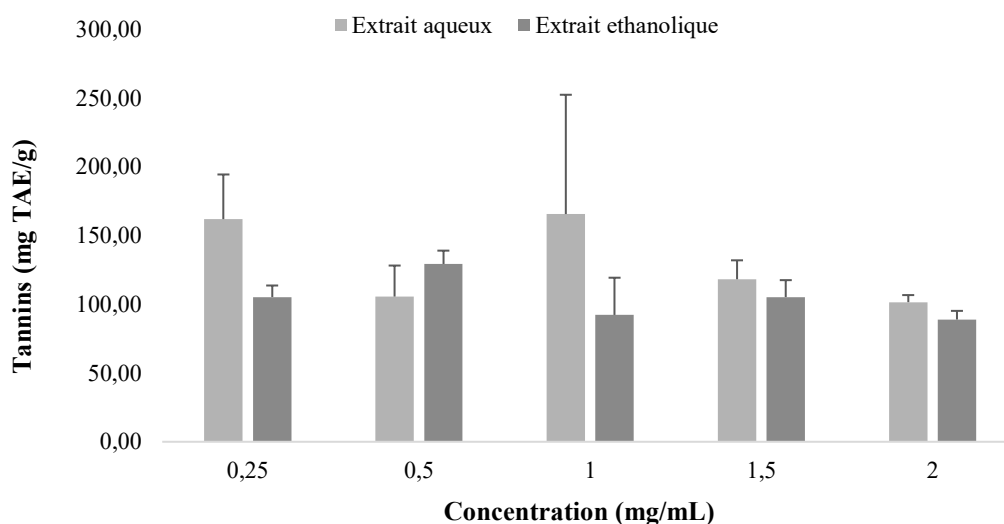


Figure 29. Variation des teneurs en tanins dans les extraits aqueux et éthanoliques d'*A. hierochuntica*

Le teneur en tanins (en mg TAE/mL) pour des extraits aqueux et éthanoliques à des concentrations croissantes (en mg/mL). On observe une évolution non linéaire et variable de la teneur en tanins pour les deux extraits. Plus précisément, à 0,25 mg/mL, l'extrait aqueux est plus riche en tanins (environ 160 mg TAE/mL) que l'éthanolique (environ 105 mg TAE/mL). À 0,5 mg/mL, la situation s'inverse légèrement, l'extrait éthanolique (environ 125 mg TAE/mL) dépassant l'aqueux (environ 105 mg TAE/mL). Cependant, à 1 mg/mL, l'extrait aqueux connaît un regain (environ 160 mg TAE/mL), malgré une grande variabilité des mesures, tandis que l'éthanolique diminue à environ 90 mg TAE/mL. Pour les concentrations supérieures de 1,5 mg/mL et 2 mg/mL, les teneurs des deux extraits tendent à se rapprocher et à diminuer, l'extrait aqueux étant d'environ 115 mg TAE/mL puis 100 mg TAE/mL, et l'extrait éthanolique d'environ

105 mg TAE/mL puis 90 mg TAE/mL. Les barres d'erreur accompagnant chaque point de donnée illustrent la variabilité des mesures réalisées.

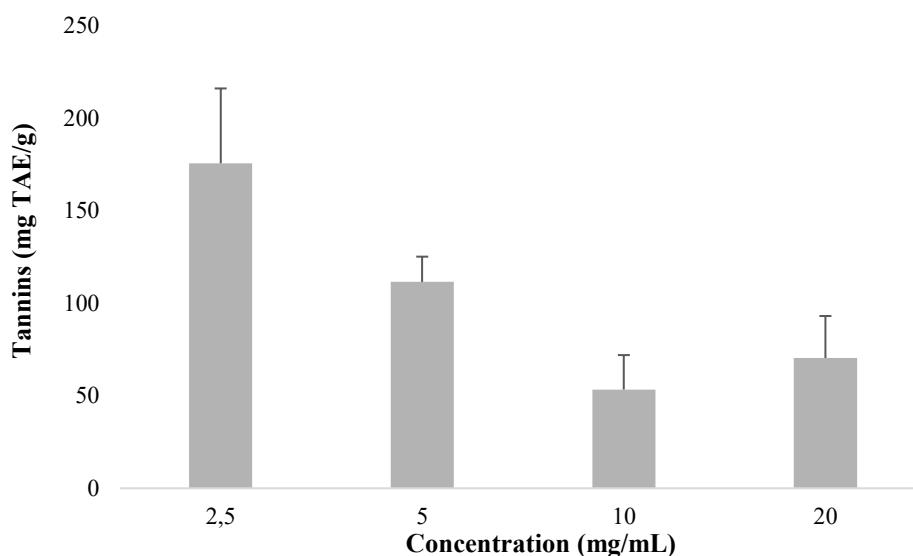


Figure 30. Variation des teneurs en Tannins dans l'infusion d'*A. hierochuntica*

La teneur en tanins la plus élevée a été observée à 2,5 mg/mL, atteignant environ 170 mg TAE/mL, bien qu'une variabilité significative des mesures soit notée par la barre d'erreur. Cette teneur diminue ensuite à environ 105 mg TAE/mL pour une concentration de 5 mg/mL, puis chute à son point le plus bas d'environ 55 mg TAE/mL à 10 mg/mL. Cependant, à la concentration la plus élevée testée, soit 20 mg/mL, la teneur en tanins remonte légèrement pour atteindre environ 70 mg TAE/mL.

3. Évaluation de la cytogénotoxicité

3.1. Morphométrie des racines

3.1.1. Nombre de racines

La variation du nombre de racines d'*A. cepa* a été mesurée pour chaque traitement, avant et après l'incorporation au milieu de culture d'extraits et d'infusions de poudre de plantes.

Les différences observées entre les valeurs initiales et finales restent faibles pour la plupart des concentrations, indiquant un effet modéré (Fig. 31).

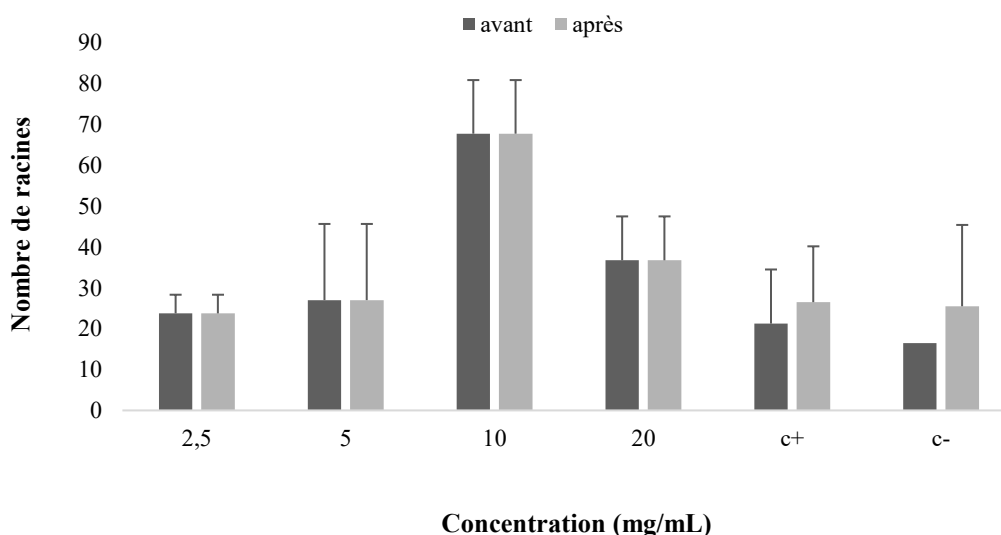


Figure 31. Nombre des racines avant et après traitement aux Infusion de plantes.

Le nombre de racines reste relativement stable dans le traitement du contrôle positif après l'ajout de la solution MMS de 20 à 25–26 racines, tandis qu'une légère augmentation est observée dans le traitement du contrôle négatif de 16 à 25–26 racines. Concernant l'infusion, une forte augmentation du nombre de racines est notée à 10 mg/mL, atteignant environ 66–67 racines, ce qui représente l'effet le plus marqué parmi toutes les concentrations testées. Aux concentrations de 2,5, 5 et 20 mg/mL, l'effet est présent mais moins important. Aucune différence significative n'est observée entre les préparations initiale et finale de l'infusion. Malgré une certaine variabilité, l'effet stimulant à 10 mg/mL demeure clairement dominant.

Dans le traitement du contrôle positif, le nombre de racines reste globalement stable après l'ajout de la solution MMS, passant de 20 à 25-26 racines (Fig. 32).

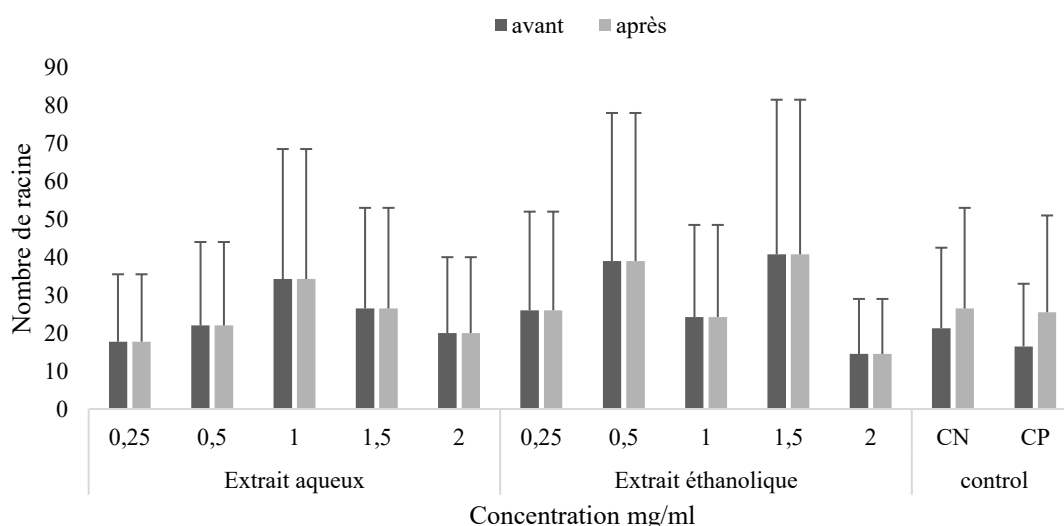


Figure 32. Nombre des racines avant et après traitement aux extraits de plantes.

Par contre, une légère augmentation du nombre de racines est observée dans le traitement du contrôle négatif (dans l'eau distillée), de 16 à 25-26. Concernant les extraits aqueux et éthanoliques, une légère augmentation du nombre de racines est notée à certaines concentrations, mais sans qu'une tendance claire ne soit liée à la dose. L'extrait aqueux montre une performance maximale à 1 mg/mL 35 racines, tandis que l'extrait éthanolique atteint son pic à 1,5 mg/mL 40 racines. À 2 mg/mL, les deux extraits provoquent une baisse du nombre de racines, ce qui suggère un effet inhibiteur à forte concentration.

3.1.2. Longueur de la racine

Parallèlement, la longueur des racines a été mesurée avant et après l'apport de les extraits et l'infusion de poudre (Fig. 33).

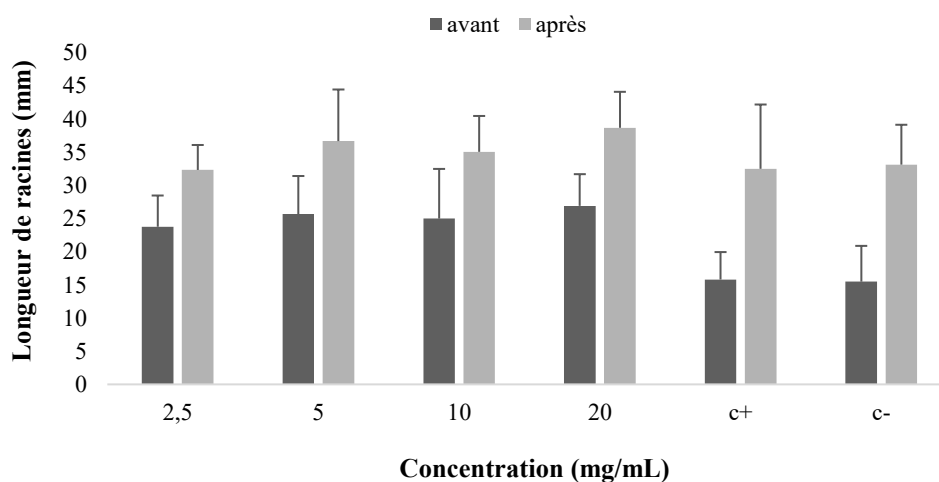


Figure 33. Longueur des racines avant et après traitement aux Infusion de plantes.

Les traitements avec l'infusion de plante, à toutes les concentrations testées, ont présenté des longueurs finales de racines similaires, et parfois légèrement supérieures, à celles observées chez le traitement du contrôle négatif. À 2,5 mg/mL, la longueur est passée de 23 mm à 32 mm ; à 5 mg/mL, de 26 mm à 37 mm ; à 10 mg/mL, de 26 mm à 35 mm ; et à 20 mg/mL, de 28 mm à 39 mm. Une augmentation claire a été constatée pour chaque traitement, en comparant les longueurs des racines avant et après l'ajout de l'extrait. La croissance la plus élevée a été enregistrée à la concentration de 20 mg/mL, dépassant légèrement les traitements du contrôles positifs et négatifs.

Le traitement du contrôle positif (C+) a montré une croissance significative, la longueur augmentant d'environ 15 mm à 32 mm positif après l'ajout de la solution MMS. Une forte croissance comparable a été observée chez le traitement du contrôle négatif (C-), où la longueur des racines est passée d'environ 15 mm à 33 mm dans l'eau distillée (Fig. 34).

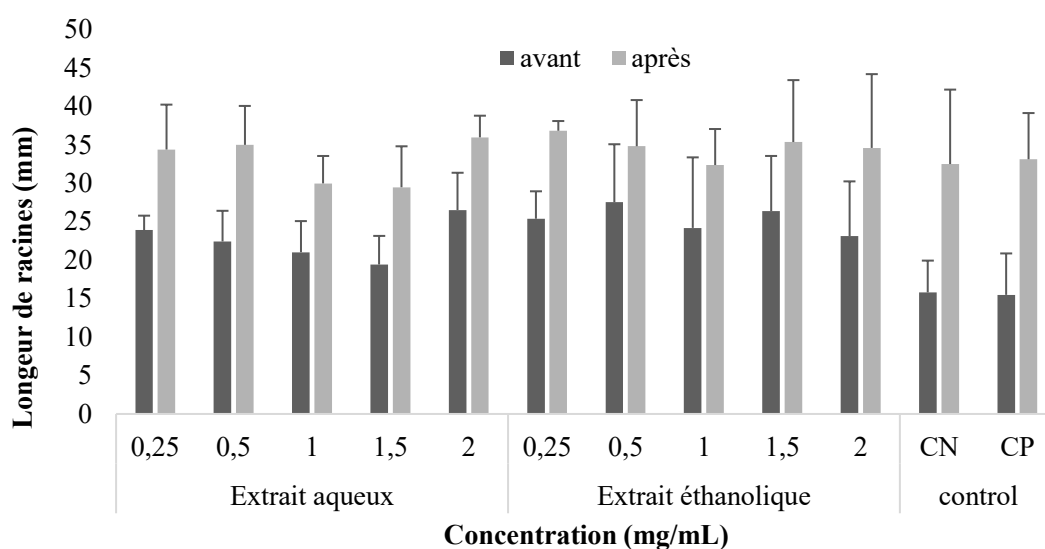


Figure 34. Longueur des racines avant et après traitement aux extraits de plantes.

Les traitements avec l'extrait, à toutes les concentrations, ont présenté des longueurs de racines finales comparables, et dans certains cas légèrement supérieures, à celle observée chez le témoin négatif. Cependant, une augmentation notable a été constatée au sein de chaque traitement en comparant la longueur des racines avant et après l'ajout de l'extrait.

3.2. Phases cellulaires

3.2.1. Indice mitotique

L'analyse des données a montré que "*A. hierochuntica*" exerce un impact significatif sur les cellules en métaphase des racines méristématiques d'*Allium cepa*. À mesure que la concentration de l'infusion augmente, on observe une diminution notable du nombre de cellules en métaphase (Fig. 35)

Les contrôles montrent un pourcentage de métaphase de $1,84 \pm 1,2$ % pour le C⁺ et de $2,10 \pm 0,6$ % pour le C⁻. Avec l'extrait aqueux, la valeur la plus élevée a été observée à 1,5 mg/mL ($4,17 \pm 3,8$ %), tandis que la plus faible a été enregistrée à 1 mg/mL ($2,45 \pm 0,7$ %). La meilleure stabilité a été notée à 0,25 mg/mL ($\pm 0,6$ %), et la plus forte variabilité à 1,5 mg/mL ($\pm 3,8$ %). Pour l'extrait éthanolique, la concentration de 0,5 mg/mL a généré le pourcentage le plus élevé ($9,81 \pm 8,3$ %), tandis que 2 mg/mL a présenté la valeur la plus basse ($3,09 \pm 1,2$ %). La variabilité maximale a été observée à 0,25 mg/mL ($\pm 7,9$ %) et la plus faible à 2 mg/mL ($\pm 1,2$ %).

3.2.4. Indice d'anaphase

Les résultats montrent que "*A. hierochuntica*" exerce un effet dose-dépendant sur la fréquence des cellules en anaphase, avec une diminution notable à forte concentration (Fig. 41).

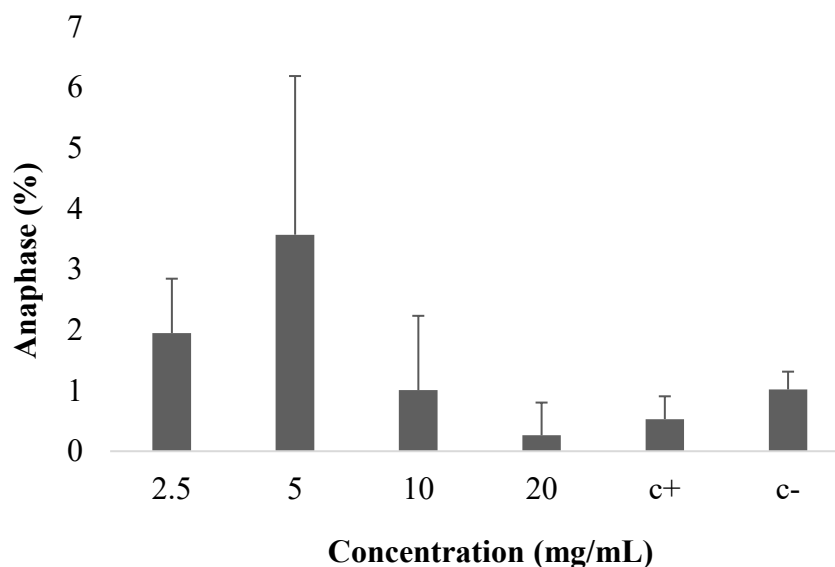


Figure 41. L'effets de l'infusion d'*A. hierochuntica* sur les anaphases.

Le contrôle positif (C⁺) montre un pourcentage de $0,53 \pm 0,4$ %, tandis que le contrôle négatif (C⁻) présente $1,02 \pm 0,3$ %. Le taux le plus élevé de cellules en anaphase a été enregistré à 5 mg/mL ($3,57 \pm 2,62$). En revanche, la valeur la plus faible a été observée à 20 mg/mL ($0,26 \pm 0,54$ %), traduisant un effet inhibiteur marqué. Les concentrations de 2,5 mg/mL ($1,95 \pm 0,90$ %) et 10 mg/mL ($1,01 \pm 1,23$ %) présentent des valeurs intermédiaires.

Les résultats indiquent que les extraits d'*Anastatica hierochuntica* influencent faiblement la proportion de cellules en anaphase, avec des effets variables selon le type d'extrait aqueux et éthanolique (Fig. 42).

Le contrôle positif (C⁺) présente un pourcentage de $0,44 \pm 0,3$ %, tandis que le contrôle négatif (C⁻) affiche $0,60 \pm 0,4$ %. Le taux le plus élevé de cellules en télophase a été observé à 2,5 mg/mL ($3,53 \pm 2,80$ %), suivi de près par 5 mg/mL ($3,40 \pm 2,20$ %). À l'inverse, les valeurs les plus faibles ont été enregistrées à 10 mg/mL ($0,26 \pm 0,55$ %) et à 20 mg/mL ($0,21 \pm 0,21$ %), indiquant une inhibition marquée de la phase télophase à haute concentration.

Les résultats montrent que l'extrait éthanolique d'*A. hierochuntica*, à faible dose, augmente la proportion de cellules en télophase, bien que cet effet soit accompagné d'une forte variabilité (Fig. 44).

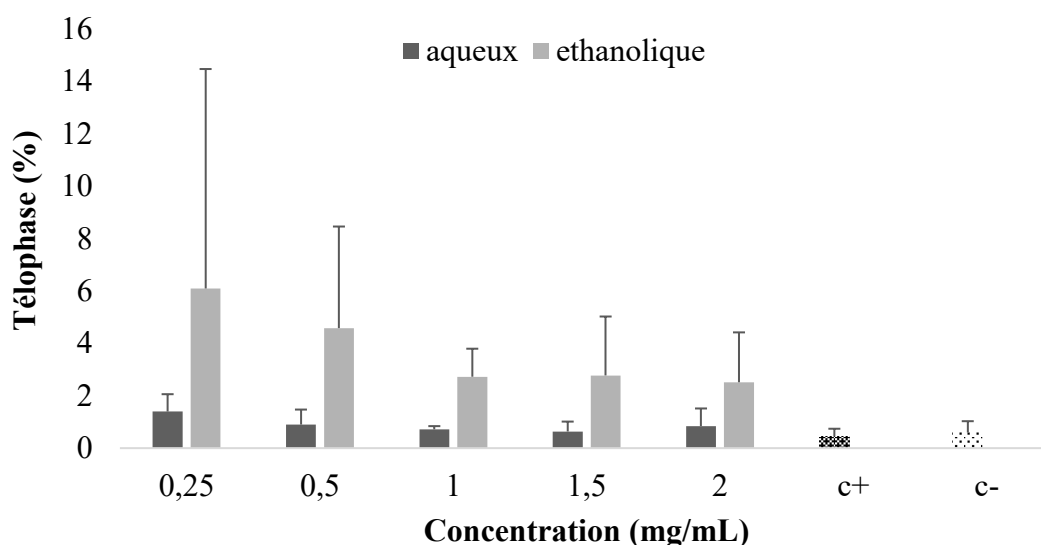


Figure 44. L'effets des extraits d'*A. hierochuntica* sur les télophases.

Les contrôles présentent un pourcentage de télophase de $0,44 \pm 0,3$ % pour le C⁺ et de $0,60 \pm 0,4$ % pour le C⁻. Pour l'extrait éthanolique, la valeur maximale a été observée à 0,25 mg/mL ($6,09 \pm 8,4$ %), tandis que la plus faible a été enregistrée à 1 mg/mL ($2,72 \pm 1,1$ %). La variabilité est importante à faible dose et diminue avec l'augmentation de la concentration ($\pm 1,9$ % à 2 mg/mL). L'extrait aqueux a généré des valeurs globalement faibles, avec un maximum à 0,25 mg/mL ($1,40 \pm 0,7$ %) et un minimum à 1,5 mg/mL ($0,63 \pm 0,4$ %). La meilleure stabilité a été observée à 1 mg/mL ($\pm 0,1$ %).

3.2.6. Aberrations chromosomiques

Les résultats montrent que l'infusion d'*A. hierochuntica* induit une augmentation marquée des aberrations chromosomiques chez *A. cepa*, en particulier à dose modérée, suggérant un effet génotoxique potentiel (Fig. 45).

micronoyaux sont particulièrement abondants à certaines concentrations (62 anomalies pour l'extrait aqueux à 2 mg/mL, 84 pour l'éthanolique à 0,5 mg/mL), indiquant un risque accru de dommages génétiques. En revanche, certaines aberrations comme les adhérences en télophase et les bourgeons sont quasi absentes. Ces résultats soulignent l'importance de la composition chimique des extraits et de leur concentration dans leur potentiel génotoxique.

Discussion

Discussion

La médecine traditionnelle représente encore aujourd'hui une composante fondamentale des soins de santé primaires dans de nombreuses régions du monde, en particulier dans les pays en développement comme l'Algérie, où les ressources médicales modernes peuvent être limitées dans certaines zones rurales ou isolées. Dans ce contexte, les plantes médicinales, telle qu'*Anastatica hierochuntica*, sont couramment utilisées pour le traitement de divers troubles, notamment ceux liés à la santé reproductive féminine. Cependant, cette utilisation empirique, bien que culturellement enracinée, doit faire l'objet d'une évaluation scientifique rigoureuse afin de valider son efficacité et de prévenir d'éventuels effets indésirables (Zaggwagh et al., 2015).

La présente étude s'inscrit dans cette logique de validation en examinant les volets ethnopharmacologique, phytochimique et cytogénotoxique liés à l'usage de cette plante.

L'enquête ethnopharmacologique révèle une large connaissance et une utilisation fréquente d'*A. hierochuntica*, particulièrement par les femmes (68 % des répondants), ce qui confirme son rôle prépondérant dans la sphère de la santé gynécologique. Keff Meriem est utilisée traditionnellement principalement pour booster la fertilité, calmer les douleurs menstruelles et accompagner l'accouchement. Ces résultats sont cohérents avec ceux rapportés dans la littérature, notamment par Suntar (2019) qui souligne l'importance de cette plante dans les pratiques médicinales traditionnelles du Maghreb et du Moyen-Orient.

L'examen des tranches d'âge suggère que les jeunes adultes continuent d'avoir recours à ces savoirs ancestraux, probablement transmis au sein du foyer, mais la sous-représentation des personnes âgées, gardiennes du savoir ancestral, soulève des inquiétudes quant à la pérennité de ces connaissances ethnobotaniques (Taïbi et al. 2021). Par ailleurs, les formes galéniques les plus citées sont l'infusion et le bain de siège, deux méthodes compatibles avec une extraction optimale des composés hydrosolubles, et qui témoignent de l'adaptabilité des pratiques traditionnelles aux besoins physiologiques spécifiques des femmes.

Sur le plan phytochimique, les analyses ont révélé la présence notable de métabolites secondaires bioactifs notamment les polyphénols totaux, les flavonoïdes, et les tanins. Des résultats similaires ont été reportés par Al Tamimi et al. (2021) et Atanasov et al. (2015).

Ces composés sont reconnus pour leur large spectre d'activités biologiques, notamment antioxydantes, anti-inflammatoires, antimicrobiennes et antiprolifératives. Les polyphénols, par leur capacité à piéger les radicaux libres, jouent un rôle essentiel dans la prévention du stress oxydatif, un facteur clé de la dégénérescence cellulaire et de nombreuses pathologies chroniques (D'Abrosca et al., 2008 ; Panche et al., 2016).

Les flavonoïdes identifiés, tels que la quercétine et le kaempférol, ont été associés à des effets cytoprotecteurs et régulateurs de la signalisation cellulaire, en particulier dans la régulation de l'apoptose (Middleton et al., 2000).

L'extrait éthanolique s'est avéré plus riche en ces composés que l'extrait aqueux, en raison de sa polarité intermédiaire, permet l'extraction de composés à la fois hydrophiles et lipophiles, offrant ainsi un spectre plus large d'extraction. Ce phénomène a été démontré dans plusieurs études, notamment par Benrachou (2012) et Missaoui et Nassib (2019) qui soulignent l'impact du solvant sur le rendement et la composition des extraits végétaux.

À l'inverse, l'eau, bien qu'accessible, non toxique et souvent utilisée en médecine traditionnelle, présente une forte polarité. Cette caractéristique limite son efficacité pour extraire certains composés peu solubles, tels que certains flavonoïdes, terpénoïdes ou alcaloïdes (Lajoie et al., 2022). Par conséquent, l'extrait aqueux présente une composition chimique généralement moins diversifiée. Des recherches récentes ont également montré que l'utilisation d'un mélange eau/éthanol permettrait d'optimiser l'extraction en combinant les avantages des deux solvants, améliorant ainsi à la fois la quantité et la diversité des composés extraits (Abubakar & Haque 2020 ; Plaskova & Mlcek 2023).

De plus, les glucosinolates, typiques de la famille des Brassicaceae, sont métabolisés en isothiocyanates, molécules bioactives présentant des propriétés anticancéreuses et antimutagènes confirmées (Fahey et al., 2001 ; Iqbal et al., 2022). Cette complexité chimique pourrait donc justifier les effets observés dans les modèles biologiques.

Les résultats obtenus des extraits aqueux et hydroéthanolique montrent que l'indice mitotique est fortement influencé par la nature de l'extrait ainsi que par sa concentration. L'extrait aqueux d'*A. hierochuntica* à 2 mg/mL a significativement stimulé la division cellulaire ($54,33 \pm 3,2 \%$), dépassant les valeurs du contrôle positif ($26,37 \pm 10,4 \%$), ce qui suggère une activité mitogène marquée. Ce type de stimulation est rarement observé dans la littérature avec des extraits aqueux, qui sont souvent décrits comme inhibiteurs de la mitose, notamment chez *Sambucus australis* ou *Clerodendrum inerme* (Leme et al., 2008 ; Tijo & Kalapadam, 2019).

À l'inverse, l'extrait éthanolique a montré une activité mitotique maximale à faible dose ($0,25 \text{ mg/mL}$; $54,03 \pm 30,2 \%$), mais cette activité décroît à mesure que la concentration augmente, atteignant $29,03 \pm 13,3 \%$ à 2 mg/mL . Cette réponse biphasique est typique d'une action cytotoxique dose-dépendante, comme observé pour les extraits de *Ziziphus mauritiana* et *Annona reticulata* (El Ghareeb et al., 2015 ; Singh et al., 2020).

L'analyse des phases mitotiques corrobore ces tendances. En prophase, l'augmentation des cellules observée à $0,5 \text{ mg/mL}$ pour l'extrait aqueux ($26,08 \pm 10,6 \%$) et à $0,25 \text{ mg/mL}$ pour l'extrait éthanolique ($26,62 \pm 21,6 \%$) pourrait indiquer un ralentissement du cycle cellulaire au

stade initial, probablement dû à une interférence avec le fuseau mitotique. De tels effets ont été décrits chez *Allium cepa* exposé à des extraits de *Ficus septica* ou *Annona reticulata*, où une accumulation en prophase a été associée à une activité antimitotique (Ahmad et al., 2018 ; Singh et al., 2020).

Concernant la métaphase, l'extrait éthanolique a induit une accumulation nette à 0,5 mg/mL ($9,81 \pm 8,3 \%$), bien au-delà des témoins, ce qui suggère un blocage du cycle à cette phase. Un tel effet est typique de l'action de substances perturbant la formation du fuseau achromatique, comme cela a été montré dans les cellules tumorales traitées par des extraits végétaux riches en flavonoïdes ou lignanes (Chang et al., 2021). L'extrait aqueux, en revanche, a eu un effet plus modéré et plus stable, sans perturbation marquée des stades de division.

En anaphase et télophase, l'extrait éthanolique à 0,25 mg/mL a également montré des pourcentages élevés ($6,44 \pm 4,8 \%$ et $6,09 \pm 8,4 \%$, respectivement), ce qui pourrait indiquer une désorganisation de la ségrégation chromosomique. L'extrait aqueux est resté plus proche des valeurs témoins, indiquant une activité plus contrôlée. Ce profil différentiel entre les deux extraits est également rapporté dans les études sur *Cedrus atlantica* (Aït Abderrahim et Taïbi 2024), où l'extrait éthanolique a montré une activité antitumorale via l'induction de stress oxydatif et d'arrestation en phase G0/G1 (Huang et al., 2020 ; Chang et al., 2021).

Enfin, les analyses des aberrations chromosomiques confirment l'effet génotoxique léger des extraits, en particulier pour l'extrait éthanolique à forte dose ($0,05 \pm 0,01 \%$ à 2 mg/mL). Bien que ces valeurs restent inférieures aux seuils critiques de génotoxicité, elles révèlent une capacité à induire des dommages chromosomiques, possiblement par la génération de ROS ou l'inhibition des mécanismes de réparation de l'ADN, comme suggéré dans plusieurs modèles biologiques traités par des extraits végétaux (Koc & Aksakal, 2019 ; de Andrade et al., 2022). La réponse plus modérée de l'extrait aqueux pourrait être liée à sa composition chimique moins lipophile, limitant la pénétration intracellulaire de certains composés actifs.

Les extraits aqueux d'*Anastatica hierochuntica* ont montré une efficacité notable dans la réduction des dommages histopathologiques rénaux causés par le CCl₄. Ils ont également rétabli l'équilibre oxydatif et amélioré les fonctions rénales altérées, ce qui souligne leur potentiel en tant qu'agent thérapeutique contre la néphrotoxicité induite par les médicaments (Almundarij et al., 2021).

Les résultats obtenus de l'infusion montrent que l'extrait étudié induit une modulation notable des phases du cycle mitotique, dépendante de la concentration. Une accumulation maximale en prophase est observée à 5 mg/mL ($25,70 \pm 9,03 \%$), suggérant un blocage au stade initial du cycle, possiblement par perturbation du fuseau mitotique (Ahmad et al., 2018 ; Singh et al., 2020). En métaphase, la fréquence la plus élevée est aussi atteinte à 5 mg/mL

($7,25 \pm 5,42$ %), bien au-delà des témoins (C^+ : 1,84 % ; C^- : 2,10 %), traduisant un ralentissement de la division probablement lié à une altération de la dynamique microtubulaire. À des doses plus élevées (10 et 20 mg/mL), une inhibition marquée de la métaphase est observée, reflétant une cytotoxicité accrue.

L'anaphase et la télophase suivent une tendance similaire, avec une stimulation à doses intermédiaires, puis une inhibition nette à 20 mg/mL. Ce profil illustre une réponse biphasique classique des composés naturels (El Ghareeb et al., 2015 ; de Andrade et al., 2022). Par ailleurs, l'analyse des aberrations chromosomiques révèle une génotoxicité significative dès 2,5 mg/mL, culminant à 5 mg/mL ($25,70 \pm 9,03$ %) avant de diminuer à 20 mg/ml, traduisant soit une saturation du dommage, soit l'activation de la mort cellulaire. Ces observations sont cohérentes avec les effets rapportés pour *Cedrus atlantica* (Chang et al., 2021 ; Huang et al., 2020).

Les implications thérapeutiques de ces résultats sont donc à la fois prometteuses et prudentes. D'une part, *A. hierochuntica* pourrait être valorisée dans la formulation de traitements naturels pour les troubles gynécologiques, notamment en phytothérapie complémentaire. D'autre part, la démonstration d'effets génotoxiques à forte dose impose la mise en place de protocoles d'usage sécurisés.

Conclusion

Conclusion

De nombreuses plantes médicinales sont traditionnellement utilisées pour traiter une variété de troubles de santé. *Anastatica hierochuntica*, largement employée dans la médecine populaire algérienne, est reconnue pour ses effets bénéfiques dans le traitement des troubles gynécologiques, notamment la stimulation de la fertilité, la régulation du cycle menstruel et l'assistance à l'accouchement. Toutefois, comme toute plante médicinale, *A. hierochuntica* peut également présenter des effets toxiques potentiels.

Cette étude propose une évaluation approfondie du potentiel ethnopharmacologique, du profil phytochimique et des effets cytogénotoxiques de *A. hierochuntica*, à travers le bio-essai sur *Allium cepa*, en utilisant des extraits aqueux, éthanoliques et une infusion traditionnelle.

L'enquête ethnopharmacologique a révélé que la plante est principalement utilisée pour ses effets sur la santé reproductive féminine, en particulier pour favoriser la fertilité et soulager les douleurs menstruelles. Des usages secondaires ont également été rapportés, tels que l'effet tonique général ou l'emploi pendant la grossesse.

Les analyses phytochimiques ont montré que l'extrait éthanolique présente les teneurs les plus élevées en polyphénols, flavonoïdes et tanins, confirmant l'efficacité de l'éthanol comme solvant d'extraction. L'infusion, bien que préparée par une méthode douce, a également révélé une richesse intéressante en composés bioactifs à forte concentration.

Les essais cytogénotoxiques ont révélé que les extraits aqueux et éthanoliques présentent des effets dose-dépendants sur la croissance racinaire, avec une stimulation de la division cellulaire à faibles doses, et une inhibition marquée à des concentrations plus élevées. L'infusion a montré une stimulation modérée de la mitose, avec un pic de l'indice mitotique observé à 10 mg/mL. L'extrait éthanolique a provoqué la toxicité la plus marquée à partir de 2 mg/mL, avec arrêt mitotique et nombreuses anomalies chromosomiques. L'infusion s'est révélée moins cytotoxique et la moins génotoxique, ce qui souligne une relative innocuité de la forme d'usage traditionnel.

Compte tenu de ces résultats, une certaine prudence est recommandée lors de l'utilisation thérapeutique de *A. hierochuntica*, en particulier en ce qui concerne la posologie et la méthode de préparation. Des études toxicologiques et pharmacologiques complémentaires sont nécessaires afin de mieux comprendre le profil de sécurité et d'efficacité de cette plante médicinale.

Références bibliographiques