



**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET
POPULAIRE**
**MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE**
UNIVERSITE DJILALI BOUNAAMA DE KHEMIS-MILIANA
**FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE
LA TERRE**
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

FILIERE: Biologie

SPECIALITE : Physiologie Cellulaire Et Physiopathologie

*Mémoire du projet de fin d'études pour l'obtention du diplôme de
Master*

Thème :

*Etude de l'activité antioxydante et antidiabétique des extraits
de Rosmarinus officinalis*

Présenté par :

Mohamed Salem Ali Salem Mohamed Fadel.

Aggoun Khalil.

Soutenu le 30 / 06 / 2018, Devant le jury :

Président : *Mr Sahraoui T (Maître de conférences classe A ; UDB).*

Promotrice : *Mme Bensehaila S (Maître de conférences classe B ; UDB).*

Examineur : *Mr Ansel S (Maître de conférences classe B ; UDB).*

Examinatrice : *Mme Zaouadi N (Maître assistante classe A ; UDB).*

Année universitaire : 2017 / 2018

Résume En Arabe, Français, Angeláis Et Espagnol

ملخص

أظهرت المواد والمركبات الطبيعية إمكانات كبيرة في علاج الأمراض البشرية مثل السرطان والسكري والأمراض المعدية. وفي هذا السياق، درسنا النشاط المضاد للأكسدة (في المختبر) والنشاط المضاد لمرض السكري (في الجسم الحي) في فئران جعلت مريضة بالسكري عن طريق الحقن بالأكسجين (ثلاثة مستخلصات مائي، والإيثانول وهيدروإيثانولي) من أوراق إكليل الجبل (*Rosmarinus officinalis*).

تم العثور على أعلى كمية من الفينولات (0.02 ± 125.17 مكافئ لحمض الغاليك\غرام) في مستخلص الهيدروإيثانولي. وأظهر المستخلص المائي (بنسبة تثبيط 72.83 ± 0.04) والمستخلص الهيدروإيثانولي (بنسبة تثبيط 70.08 ± 0.14) أعلى نسبة لمضادات الأكسدة ($P < 0.05$) بالنسبة لمستخلص الإيثانول (بنسبة تثبيط 49.74 ± 0.24) في اختبار DPPH.

قد تجلى النشاط المضاد لمرض السكري في الجرذان المصابة بداء السكري، المعالجة عن طريق حقن المستخلصات بتقنية الحقن في المعدة لمدة 20 يوماً، مقارنة مع مجموعتين، المجموعة الأولى مصابة بالسكري غير معالجة (DNT)، والمجموعة الثانية عادية غير مريضة بالسكري (T). وقد انخفض تركيز الجلوكوز بشكل ملحوظ في الدم، ومع ذلك زاد وزن الفئران المعالجة بالمستخلصات (DTI, DTMI, DTMI) مقارنة مع الجرذان المصابة بالسكري غير المعالجة (DNT). في الختام أن أوراق إكليل الجبل المدروسة تمثل مصدراً هاماً لى المواد والمركبات الطبيعية النشطة المضادة للأكسدة والمضادة لمرض السكري.

في ضوء هذه النتيجة، نقترح استخدام هذه النبتة أو مكوناتها في الوقاية من العديد من الأمراض.

الكلمات المفتاحية: مستخلصات، نشاط مضاد للأكسدة، نشاط مضاد لمرض السكري، مائي، إيثانول، هيدروإيثانولي، إكليل الجبل.

Résumé

Les substances et les composés naturels ont montré un grand potentiel dans le traitement de maladies humaines telles que le cancer, le diabète et les maladies infectieuses. Dans ce cadre, nous avons testé l'activité antioxydante (*in vitro*) et l'activité antidiabétique (*in vivo* chez les rats rendus diabétiques par l'injection de l'alloxane) des trois extraits (aqueux, éthanolique et hydro-éthanolique) provenant des feuilles du Romarin (*Rosmarinus officinalis*).

Les teneurs les plus élevées en phénols totaux ($125,17 \pm 0,02 \text{mg Eq AG/ g}$) ont été trouvées avec l'extrait hydro-éthanolique. Les extraits aqueux (pourcentage d'inhibition $72,83 \pm 0,04 \%$) et hydro-éthanolique (pourcentage d'inhibition $70,08 \pm 0,14 \%$) montrent une activité antioxydante plus élevée ($P < 0,05$) par rapport à l'extrait éthanolique (pourcentage d'inhibition $49,74 \pm 0,24 \%$) avec le test du DPPH.

L'activité antidiabétique des extraits a été illustrée chez les rats diabétiques traités par gavage gastrique pendant 20 jours, en comparaison avec un lot témoin diabétique (DNT) sans traitement et un deuxième lot normal non diabétique (T). La concentration du glucose a diminué significativement par contre le poids corporel des rats traités (DTI, DTMI et DTMII) aux extraits a augmenté par rapport aux rats diabétique non traité (T). En concluant que les feuillettes du Romarin étudiées représentent une source importante de substances et de composés naturels bioactifs antioxydantes et antidiabétiques.

A la lumière de ce résultat, nous suggérons l'utilisation de cette plante ou de leurs composants dans la prévention de plusieurs pathologies.

Mots clés: Extraits, Activité antioxydante, Activité antidiabétique, Aqueux, Ethanolique, Hydro-éthanolique, *Rosmarinus officinalis*.

Abstract

The Substances and natural compounds have shown great potential in the treatment of human diseases such as cancer, diabetes and infectious diseases. In this context, we tested the antioxidant activity (in vitro) and the antidiabetic activity (in vivo in the rats made diabetic by the injection of alloxane) of the three extracts (aqueous, ethanolic and hydroethanolic) coming from Rosemary leaves (*Rosmarinus officinalis*).

The highest levels of total phenols (125.17 ± 0.02 mg Eq AG / g) were found with the hydroethanolic extract. The aqueous extracts (percent inhibition $72.83 \pm 0.04\%$) and hydroethanol (percentage inhibition $70.08 \pm 0.14\%$) show a higher antioxidant activity (P <0.05) compared with the ethanolic extract (percent inhibition $49.74 \pm 0.24\%$) with the DPPH test.

The antidiabetic activity of the extracts was illustrated in diabetic rats treated by gastric gavage for 20 days, in comparison with a diabetic control batch without treatment (DNT) and a second normal batch non-diabetic (T). Glucose concentration was significantly decreased, however, body weight of extract-treated rats (DTI, DTMI, DTMII) increased compared to untreated diabetic rats (DNT). In concluding that the rosemary sheets studied represent an important source of bioactive substances and natural antioxidant and antidiabetic compounds.

In light of this result, we suggest the use of this plant or of its components in the prevention of several pathologies.

Key words: extracts, antioxidant activity, antidiabetic activity, aqueous, ethanolic, hydroethanolic, *Rosmarinus officinalis*.

Resumen

Las sustancias y los compuestos naturales han demostrado un gran potencial en el tratamiento de enfermedades humanas como el cáncer, la diabetes y las enfermedades infecciosas. En este contexto, probamos la actividad antioxidante (*in vitro*) y la actividad antidiabética (*in vivo* en las Ratas diabéticas mediante la inyección de aloxano) de los tres extractos (acuoso, etanólico e hidroetanólico) procedentes de hojas de romero (*Rosmarinus officinalis*).

Los niveles más altos de fenoles totales (125.17 ± 0.02 mg Eq AG / g) se encontraron con el extracto hidroetanólico. Los extractos acuosos (porcentaje de inhibición $72.83 \pm 0.04\%$) e hidroetanol (porcentaje de inhibición $70.08 \pm 0.14\%$) muestran una mayor actividad antioxidante ($P < 0.05$) en comparación con el extracto etanólico (porcentaje de inhibición $49.74 \pm 0.24\%$) con la prueba **DPPH**.

La actividad antidiabética de los extractos se ilustra en ratas diabéticas tratadas con sonda gástrica durante 20 días, en comparación con un lote de control diabético sin tratamiento (**DNT**) y un segundo lote normal no diabético (**T**). La concentración de glucosa disminuyó significativamente, sin embargo, el peso corporal de las ratas tratadas (**DTI**, **DTMI**, **DTMII**) con extracto aumentó en comparación con las ratas diabéticas no tratadas (**DNT**). Al concluir que las láminas de romero estudiadas representan una importante fuente de sustancias bioactivas y compuestos antioxidantes y antidiabéticos naturales.

A la luz de este resultado, sugerimos el uso de esta planta o de sus componentes en la prevención de varias patologías.

Palabras clave: extractos, actividad antioxidante, actividad antidiabética, acuosa, etanólica, hidroetanólica, *Rosmarinus officinalis*.

REMERCIEMENTS

Avant tout, nos remerciements infinis sont adressés à « Dieu le tout Puissant » le clément et le miséricordieux de nous avoir donné la force, la patience, la volonté, la santé et le courage pour l'achèvement de ce mémoire.

*Nous remercions chaleureusement notre encadreur **Mme Bensehaïla Sarra**, pour ses aides, ses encouragements et ses conseils judicieux et sa disponibilité dans ce travail durant toute la période du projet.*

*On remercie monsieur Le président **Sahraoui T** et aussi Les membres du jury **Mr Ansel S** et **Mme Zaouadi N** qu'ont accepté d'examiner notre mémoire.*

*Nous adressons aussi nos sincères remerciements à l'ensemble des enseignants de l'université de Djilali Bounaama de Khémis Miliana qui ont contribué à notre formation. "Particulièrement à **Mr Boussohel A** et à ' **Mr Cheurfa M** "*

*On remercie aussi **Dr Khelili A** pour la sonde de gavage et nourrissage*

Nous remercions également toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Un remerciement exceptionnel à tous nos amis et tous les étudiants de master 2 de notre promotion la promo de 2018.

Un grand merci à toutes et à tous

Dédicace

À mes très chers parents

Vous avez été pour moi au long de mes études le plus grand symbole d'amour, de dévouement qui ont ni cessé ni diminué.

Votre bonté et votre générosité sont sans limite.

Vos prières m'ont été d'un grand soutien au cours de ce long parcours.

J'espère de tout mon coeur qu'en ce jour vous êtes fières de moi, et que je réalise l'un de vos rêves.

Je vous dédie ce travail en témoignage de mon grand amour que je n'ai su exprimer avec les mots.

Puisse Dieu vous accorder sa sainte miséricorde, santé et longue vie, afin que je puisse vous combler à mon tour.

A mes très chers frères: Charef eddine et Riadh.

A mon très chère ami mehdi ghodhbane et oussama zouzou pour leur aide et encouragée pendant cette Période.

A tous mes amis .

A toute promotion physiologie cellulaire et physiopathologie 2018.

A tous ceux que j'aime et que je respecte.

Aggoun Khalil

*Tous les mots et les lettres ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour, le respect
et la reconnaissance...*

Aussi, c'est tout simplement que Je dédie ce thème ...

Aux âmes des martyrs (algériens et sahraouis)

Qu'ont sacrifié le précieux et le bien "Qu'Allah leur fasse miséricorde".

A ma chère grand-mère

Dieu prolonge ta vie.

A mon très cher père

*J'ai vécu dans l'admiration de ta grande personnalité et de ta bonté. Tu es pour moi l'exemple
de la réussite et du grand cœur.*

*Puisse ce thème symboliser le fruit de tes longues années de sacrifices consentis pour mes études
et mon éducation.*

*Puisse Dieu, le tout puissant, te protège et t'accorde meilleure santé et longue vie afin que je
puisse te rendre un minimum de ce que je te dois.*

A ma très chère mère

*Je ne trouve pas les mots pour traduire tout ce que je ressens envers une mère exceptionnelle
dont j'ai la fierté d'être le fils.*

Ta noblesse et ta bonté sont sans limites.

*Que ce travail soit un hommage aux énormes sacrifices que tu t'es imposées afin d'assurer mon
bien être, et que Dieu tout puissant, préserve ton sourire et t'assure une bonne santé et une
longue vie afin que je puisse te combler à mon amour.*

A mes très chères

Frères : *Nourdin, Abaya, Youssef, Alkhalil, Brahim, Mohamed, Amin et Aba.*

Et Sœurs : *Maimaha, khadija, Fatu, Asma, Maryam², Wafa, Tutu, Mailmnin et Dunya.*

Vous savez que l'affection et l'amour fraternel que je vous porte sont sans limite.

Je remercie en vous les sœurs et les amies.

J'implore Dieu qu'il vous apporte bonheur et vous aide à réaliser vos vœux.

A toute *la famille EL Faguir et la famille Belau*

A mes amis : *L'khmissia 16+4, Mohamed, 15, Aliyen, Ahmed, Yahdih, W.Luanat, Hama, ...*


A petit Salek.

Mohamed Salem ^{Abi} Salem



Liste des tableaux

Tableau 1 : Taxonomie de <i>Rosmarinus officinalis</i>	4
Tableau 2 : les caractéristiques géographique de la région.....	26
Tableau 3 : Désignation des lots et les doses administrées.....	34
Tableau 4 : Taux d'humidité des feuilles du <i>Rosmarinus officinalis</i>	39
Tableau 5 : Rendement des extraits hydro alcoolique et alcoolique du RO.....	41
Tableau 6 : Résultats de test phytochimique des différents extraits du RO.....	42
Tableau 7 : Résultats de la teneur en composés phénoliques totaux dans les extraits.....	43
Tableau 8 : les absorbances des extraits et sont pourcentages d'inhibition de radicaux DPPH	44
Tableau 9 : Valeurs du poids corporel et taux de croissances chez les rats pendant 20 jours	49
Tableau 10 : Absorbances de la gamme de concentration d'acide gallique.....	(Annexe I)



Liste des figures

Figure 1 : <i>Rosmarinus Officinalis</i>	5
Figure 2 : Formation des radicaux libres	17
Figure 3 : Voies métaboliques des espèces réactives de l'oxygène	17
Figure 4 : Action préventive des antioxydants	20
Figure 5 : Relation entre diabète et production d'ERO.....	24
Figure 6 : Photographie de La plante étudiée.....	26
Figure 7 : Localisation de site de prélèvement.....	27
Figure 8 : Réaction du DPPH avec un antioxydant	33
Figure 9 : Injection de l'Alloxane par voie intra péritonéale.....	35
Figure 10 : administration d'extrait par voie orale.....	36
Figure 11 : mesurer la glycémie sur une incision dans la partie finale de la queue.....	37
Figure 12 : mesurer le poids corporal.....	38
Figure 13 : Taux d'humidité et de matière sèche de l'échantillon étudié.....	40
Figure 14 : teneurs des polyphénols totaux de chaque extrait.....	43
Figure 15 : pourcentage d'inhibition de radicale DPPH de chaque extrait.....	45
Figure 16 : Variation de la glycémie chez les différents lots des rats pendant 20jours.....	47
Figure17 : Variation de poids corporal chez les différents lots des rats pendant 20jours.....	50
Figure 18 : Droite d'étalonnage de l'acide gallique.....	(Annexe I)



Liste des abréviations

A : Absorbance.

ADN : Acide désoxyribonucléique.

AFNOR : Association Française de Normalisation.

ATP : Adénosine triphosphate.

C : Carbone.

DL : Décilitre.

DNT : Diabétique non traité.

DPPH : 1,1-diphényl- 2-picryl-hydrazyl.

DT : Diabète de type.

DTI : Diabétique traité par l'extrait de l'infusion.

DTM : Diabétique traité par l'extrait de la macération.

ERO : Espèces réactives dérivées de l'oxygène.

H : Humidité.

HE : Huile essentielle.

L : Litre.

M : Masse.

mg EAG/g : Milligramme d'équivalent d'acide gallique par gramme.

MI : Macération I.

MII : Macération II.

ml : Millilitre.

MS : Matière sèche.

R : Rendement.

RE : Réticulum endoplasmique.

RO : *Rosmarinus officinalis*.

ROS : Espèces réactives dérivées de l'oxygène (Reactive oxygen species).

SOD : Superoxydes dismutases.

T : Témoin.

UV : Ultra-violet.

V : volume.



Résumé en arabe, français, anglais et espagnol

Remerciements

Dédicaces

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

INTRODUCTION GENERALE..... 1

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : *Rosmarinus officinalis*..... 3

I.1 Généralités..... 3

I.2 Définition..... 3

I.3 Dénomination internationale..... 3

I.4 taxonomie..... 4

I.5 Description botanique..... 4

I.6 Genre *Rosmarin*..... 5

I.7 Répartition géographique..... 6

I.8 Ecologie..... 6

I.9 Entretien et récolte..... 6

I.10 parties utilisés..... 7

I.11 Usages traditionnels..... 7

I.12 Propriétés biologiques.....	7
Chapitre II : Les Huiles Essentielles.....	9
II.1 Historique.....	9
II.2 Définition.....	9
II.3 Classification.....	9
II.4 Répartition Botanique.....	9
II.5 Localisation.....	10
II.6 Mode D'obtention.....	10
II.7 Conservation Des Huiles Essentielles.....	11
II.8 Les Caractéristique Physico-chimiques.....	11
II.9 Composition Chimique Des Huiles Essentielles.....	11
II.10 Activités Biologiques Des Huiles Essentielles.....	11
II.11 Toxicité Des Huiles Essentielles.....	12
II.12 Les Métabolites Secondaires.....	12
II.12.1 Les Composés Phénoliques.....	14
II.12.2 Les Quinones.....	13
II.12.3 Les Alcaloïdes.....	13
II.12.4 Les Terpènes.....	13
II.12.5 Les Saponines.....	14
II.13 Composition Biochimique Du Romarin.....	14
Chapitre III : Le stress oxydant et le diabète.....	15

III.1 Le stress oxydant.....	15
III.1.1 Les cible des ERO.....	15
III.1.2 L'oxydation.....	15
III.1.3 Radicaux libres.....	15
III.1.4 Origine des radicaux libres.....	16
III.2 Activité antioxydante.....	18
III.2.1 Les antioxydants.....	18
III.2.2 Mécanisme d'action.....	19
III.3 Le diabète.....	20
III.3.1 Diabète de type 1.....	21
III.3.2 Physiopathologie de type 1.....	21
III.3.3 Diabète de type 2.....	21
III.3.4 Physiopathologie de type 2.....	21
III.3.5 Les symptômes de diabète.....	22
III.3.6 Epidémiologie du diabète sucré.....	22
III.3.7 Diabète et les plantes médicinales.....	22
III.4 Le diabète et le stress oxydatif.....	23

PARTIE PRATIQUE

Chapitre IV : Matériels et méthodes.....	25
IV.1 Introduction.....	25
IV.2 Matériel utilises.....	25

IV.2.1 Matériel non biologique.....	25
IV.2.2 Matériel biologique.....	26
IV.3 Méthodes d'étude.....	28
IV.3.1 Récolte.....	28
IV.3.2 Séchage.....	28
IV.3.3 Le taux d'humidité.....	28
IV.3.4 Extraction.....	29
IV.3.5 Evaporation.....	30
IV.3.6 Conservation de l'extrait.....	30
IV.3.7 Rendement.....	30
IV.3.8 Etude in vitro.....	31
IV.3.8.1 Les tests phytochimique.....	31
IV.3.8.2 Dosage des polyphénols totaux.....	32
IV.3.8.3 Evaluation de l'activité antioxydante.....	32
IV.3.9 Etude in vivo.....	34
VI.3.9.1 Evaluation de l'activité antidiabétique.....	34
IV.4 Analyses statistiques.....	38
Chapitre V : Résultats et Discussions.....	39
V.1 Introduction.....	39
V.2 Détermination du taux d'humidité.....	39
V.3 Détermination du rendement.....	40

V.4 Etude phytochimique.....	41
V.5 Teneurs en polyphénols totaux.....	43
V.6 Activité antioxydante.....	44
V.7 Activité antidiabétique.....	46
CONCLUSION.....	51

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANNEXES



Introduction générale

Introduction générale :

Depuis des milliers d'années, l'humanité a utilisé diverses plantes trouvées dans son environnement, afin de traiter et soigner toutes sortes de maladies. Ces plantes représentent un réservoir immense de composés potentiels attribués aux métabolites secondaires qui ont l'avantage d'être d'une grande diversité de structure chimique possédant un très large éventail d'activités biologiques (**Zeghad, 2009**).

Les plantes médicinales restent encore le premier réservoir de nouveaux médicaments, elles sont considérées comme source de matière première essentielle pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point de futurs médicaments (**Maurice, 1997**). Cette matière végétale contient un grand nombre de molécules qui ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie alimentaire, en cosmétologie et en pharmacie; Parmi ces composés on retrouve, les coumarines, les alcaloïdes, les acides phénoliques, les tannins, les terpènes et les flavonoïdes (**Bahorun et al., 1996**).

Le stress oxydant est impliqué dans de très nombreuses maladies comme facteur déclenchant ou associé à des complications, la plupart des maladies induites par le stress oxydant apparaissent avec l'âge car le vieillissement diminue les défenses antioxydantes augmente la multiplication mitochondriale de radicaux, parmi les activités biologiques des plantes médicinales, ces dernières années l'attention s'est portée sur l'activité antioxydante en raison du rôle qu'elle joue dans la prévention des maladies chroniques telles que les pathologies du cœur, le cancer, le diabète, l'hypertension, et la maladie d'Alzheimer en combattant le stress oxydant (**Meddour et al., 2013**).

Le diabète sucré est un groupe de maladies métaboliques caractérisées par une hyperglycémie chronique résultant d'un défaut de la sécrétion de l'insuline et/ou de l'action de cette hormone (**Raccah, 2004**).

Les traitements de cette affection consistent, à contrôler le niveau glycémique des malades par des mesures diététiques, des antidiabétiques oraux ou par l'insulinothérapie pour les diabétiques de type 2, et seulement par l'insulinothérapie dans le cas des diabétiques de type 1 (**Charbonnel et al., 1997**).

INTRODUCTION GENERALE

Ces différentes approches thérapeutiques restent ou deviennent inefficaces chez beaucoup de diabétiques, en raison de non disponibilité des médicaments et d'une prise en charge médicale correcte. Pour cela, une grande partie de la population diabétique dans le monde se tourne de plus en plus vers les traitements traditionnels à base des plantes (Azzi, 2007).

Rosmarinus Officinalis est l'une des plantes médicinales les plus utilisées à travers le monde. Les extraits de cette plante sont largement utilisés dans la médecine traditionnelle depuis des siècles contre une multitude de maux. Aujourd'hui le Romarin est entré dans la médecine moderne (Hostettmann, 1997).

Donc notre travail consiste à répondre à la question suivante: "est ce que les extraits (aqueux, éthanolique et hydro-éthanolique) des feuillets du *Rosmarinus officinalis* peut provoquer **d'activité antioxydante et un effet hypoglycémiant ?**

Notre étude comporte deux grandes parties, dont la première est consacrée à la synthèse bibliographique, elle est divisée en trois chapitres :

- ✓ Le premier chapitre sera consacré à un aperçu bibliographique sur la plante étudié (Généralités, Définition, Dénomination, international et taxonomie...).
- ✓ Le deuxième chapitre sera consacré à une généralité sur les huiles essentielles (Historique, Définition, Classification, Répartition Botanique) et sur les Métabolites Secondaires (Les Composés Phénoliques, Les Quinones, Les Alcaloïdes, Les Terpènes, Les Saponines) avec Composition Biochimique du Romarin.
- ✓ Le troisième chapitre sera consacré à un aperçu bibliographique sur l'activité antioxydante et antidiabétique (Introduction, Le stress oxydant, les Radicaux libres, Activité antioxydante, Le diabète et sont type ...).

La partie pratique est subdivisée en deux chapitres :

- ✓ Le chapitre quatrième a été consacré à les matériels et les méthodes utilisées pour l'extraction, les tests phytochimique, déterminer la teneur en polyphénols totaux, suivis l'évaluation d'activités anti-oxydante et l'activité antidiabétique des extraits préparés des feuillets du RO.
- ✓ Le chapitre cinquième (résultats et discussions) abordera les différents résultats et leurs discussions.

Enfin, une conclusion générale, résume l'ensemble des résultats obtenus.



Chapitre I : Rosmarinus Officinalis

Chapitre I : *Rosmarinus officinalis*

I.1 Généralités :

La famille des lamiacées est une importante famille de plantes, caractérisée par la forme de la fleur et la présence des huiles essentielles. Cette famille comprend environ 6000 espèces et près de 210 genres (ballote, basilic, bugle, hysope, lavande, marjolaine, mélisse, menthe, origan, romarin, sarriette, sauge, serpolet, thym, menthe pouliot), répartis en 9 sous familles. Les lamiacées sont des plantes annuelles ou vivaces, aromatiques, herbacées ou arbustives et très rarement des arbres (**Bonnier, 1934**).

I.2 Définition :

Rosmarinus officinalis est un arbrisseau touffu toujours vert de 0.5 à 1.5 m de hauteur, de la famille de Lamiaceas. Ses tiges ligneuses sont pourvues de feuilles persistantes, sessiles, coriaces, étroites à bords enroulés, d'un vert sombre brillant à la face supérieure, blanchâtres tomenteuses et mates à la face inférieure. Les fleurs d'une bleue pale, d'environ 1 cm, sont réunies en petites grappes serrées à l'aisselle des feuilles. Le romarin est un ornement des collines, des coteaux et des basses montagnes, surtout calcaires, Originaire des régions Méditerranéennes, on le trouve dans tout le sol Algérien (**Boumaza, 2011**).

I.3 Dénomination international :

- ✓ **Nom arable:** iazir, klil, hassalhan, yazir (**Bellakhdar, 2006**).
- ✓ **Nom français :** Herbe aux courounnes, Rosée de mer, Rose marine, Romarin des Troubadours, Bouquet de la vierge,
- ✓ **Nom anglais :** Common Rosemary, Folia rorismarini,
- ✓ **Nom Belgique :** Rosmarijn, Flamand (**Delaveau, 1987**).

I.4 Taxonomie :

Plante célèbre de la médecine populaire surtout dans Algérien. Sa taxonomie est configurée dans le **tableau 1** :

Tableau 1 : Taxonomie du *Rosmarinus officinalis* (AL Namer-Rachad, 2014).

Règne	Plante
Sous-règne	Tracheobionta
Superdivision	Spermatophyta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Astéridées
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae (labiée)
Sous-famille	Nepetoideae
Genre	Rosmarinus
Espèce	Rosmarinus officinalis

I.5 Description botanique :

Le romarin est un arbrisseau de la famille des labiées, peut atteindre jusqu'à 1,5 mètre de hauteur, il est facilement reconnaissable en toute saison à ses feuilles persistantes sans pétiole, coriaces beaucoup plus longues que larges, aux bords légèrement enroulés, vert sombre luisant sur le dessus, blanchâtres en dessous. La floraison commence dès le mois de février (ou janvier parfois) et se poursuit jusqu'au avril – mai. La couleur des fleurs varie du bleu pâle au violet (on

trouve plus rarement la variété à fleurs blanches *Rosmarinus officinalis* Albiflorus). Le calice velu à dents bordées de blanc, elles portent deux étamines ayant une petite dent vers leur base. Comme pour la plupart des Lamiacées, le fruit est un tétramère (de couleur brune) (Zeghad, 2009).



Figure 1: *Rosmarinus Officinalis* (Rhayour, 2002).

I.6 Genre Romarin :

Le genre *Rosmarinus* ne regroupe que trois espèces:

- ✓ *Rosmarinus Officinalis* Linné, de loin l'espèce la plus aromatique et importante,
- ✓ *Rosmarinus eriocalix* Jord. & Fourr,

- ✓ *Rosmarinus tomentosus* Huber-Morath et Maire, morphologiquement très proche de *R. eriocalyx* (Bartels, 1997).

I.7 Répartition géographique :

Le Romarin pousse dans de nombreux pays d'Europe et d'Asie notamment en Espagne. En Italie, en Grèce dans le sud de la France, le nord d'Afrique en Inde, aux Philippines, aux Antilles, en Australie, aux États-Unis et au Mexique (AL Namer-Rachad, 2014)

Le romarin se trouve dans toutes les contrées mondiales de l'Europe, plus particulièrement sur le pourtour méditerranéen, de préférence dans les lieux secs et arides, exposés au soleil, à l'état sauvage il se trouve sur des sols calcaires (Zeghad, 2009).

En Algérie Le Romarin occupe une superficie excédant 100000 hectares, on trouve le romarin en Algérie sur les coteaux arides et les collines culture est également pour faire des Haies (Zeghad, 2009).

En Algérie cette plante est bien apparente en différentes régions.

I.8 Ecologie :

Le romarin est retrouvé à l'état sauvage. Il peut être cultivé. C'est la plante la plus populaire dans le bassin méditerranéen, en Algérie nous la trouvons dans les jardins, les parcs des sociétés, des écoles et les zones cultivées à l'entrée (Emberger, 1960).

Elle se trouve toujours en bordure sous forme d'une bande odorante. Les fleurs bleues s'épanouissent tout au long de l'année ce qui attire de nombreux insectes. Nous pouvons rencontrer le romarin à différentes altitudes suivant les étages bioclimatiques (Quezel et Medail, 1995).

I.9 Entretien et récolte :

- ✓ Sol : calcaire et bien drainé,
- ✓ Emplacement : soleil-mi-ombré,

- ✓ Multiplication : bouturage ou marcottage en automne et au printemps, plus difficilement par semis en été car germination lente,
- ✓ Entretien : taille légèrement après floraison pour conserver une forme harmonieuse,
- ✓ Ne pas rabattre trop court : une branche de bois mort sans bourgeons ni feuilles ne formera pas de nouveaux rameaux (**Anton, 1999**).

I.10 Parties utilisés :

Les sommités fleuries et les feuilles, les premières sont récoltées à la floraison puis séchées, Les feuilles persistantes, peuvent se récolter en toute saison, une fois mondées, elles sont simplement mises à sécher, On utilise le romarin en infusion ou sous forme d'huile essentielle (**Fadi, 2011**).

I.11 Usages traditionnels:

Le romarin a été long temps utilisé comme aromate et plante médicinale par plusieurs populations à travers le monde, Il est utilisé comme : diurétique, antitussif, emménagogue, carminatifs et tonique (**Sedjelmassi, 1993**).

Il est également utilisé dans l'industrie agroalimentaire (**Spencer et al., 2005 ; Cheang et Tai, 2007**).

Le romarin est réputé actif pour faciliter les fonctions digestives, en particulier le fonctionnement biliaire (**Al-Sereitia et al., 1999**).

I.12 Propriétés biologiques :

RO a fait l'objet de plusieurs études validant ses effets :

- ✓ hépato protecteurs (**Sotelo-Félix et al., 2002**).
- ✓ antibactériens (**Gachkar et al., 2007**).
- ✓ anti thrombotique (**Yamamoto et al., 2005**).
- ✓ antiulcéreux (**Dias et al., 2000**).

- ✓ diurétique (**Haloui et al., 2007**).
- ✓ antioxydant (**Bakiral et al., 2008**).
- ✓ anti-nociceptique (**González-Trujano et al., 2007**).
- ✓ anti-inflammatoire (**Altinier et al., 2007**).
- ✓ anti-parasitaire (**Moon et al., 2000**).
- ✓ insecticide (**Pavela, 2006 ; Rozman et Jersek, 2009**).
- ✓ antidiabétique (**Erenmeme-oglu et al., 1997**).
- ✓ les composants du romarin inhibent les phases d'initiation et de promotion de cancérogénèse (**Offord et al., 1995**).

Les extraits du *Rosmarinus officinalis* sont utilisés également pour traiter quelques désordres psychologiques comme la dépression (**Machado et al., 2009**).

L'administration de l'huile essentielle de romarin par voie orale et inhalation, stimule l'activité respiratoire et locomotrice du système nerveux central chez la souris, suggérant une action directe d'un ou plusieurs de ses constituants (**AL Namer-Rachad, 2014**).



Chapitre II : Les Huiles Essentielles

Chapitre II : Les Huiles Essentielles

II.1 Historique :

L'huile essentielle est très ancienne et assez universelle, Il est difficile de fixer la date exacte de la première extraction néanmoins les premières traces ont été trouvées chez les aborigènes d'Australie avec la fumigation, autre découverte celle d'un alambic en terre cuite trouvé en Pakistan datant de plus de 7000 ans. Les égyptiens obtenaient leurs huiles essentielles en pressant les plantes (Yuerdon, 2004).

II.2 Définition :

Huiles essentielles ont été initialement appelées « esprit » puis « essence » pour un souci de normalisation, cette dénomination « essence » a été abandonnée au profit de celle « l'huile essentielle », seul terme en usage actuellement. Le mot essentielle renferme deux significations : origine essence ou partie la plus importante (Adwan et al., 2006).

L'huile essentielle ne se compose que de substances aromatiques volatiles, elle est soluble dans l'huile et dans l'alcool mais pas dans l'eau, Il existe plusieurs techniques pour obtenir des huiles essentielles. La principale et la plus ancienne sont la distillation à la vapeur d'eau ou par solvants volatils (Soto-Mendivil et al., 2006).

Selon AFNOR : «L'huile essentielle sont des produits obtenus soit à partir de matières premières naturelles par distillation à l'eau, ou à la vapeur d'eau, soit à partir des fruits de citrus par des procédés mécaniques et qui sont séparées de la phase aqueuse par des procédés physiques » (Lucchesi et al., 2004).

II.3 Classification :

Grâce à l'indice aromatique, les huiles essentielles sont classées en trois groupes :

- ✓ Huiles majeures,
- ✓ Huiles médiums,
- ✓ Huiles de terrain (Sall et Pelletier, 1991).

II.4 Répartition botanique :

Les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs, il y'en aurait selon (Lawrence, 1986), 17500 espèces aromatiques. Les genres capables d'élaborer les

constituants qui composent les huiles essentielles sont répartis dans un nombre limité de famille. A l'instar des myrtacées, lauracées, rutacées, labiacées, astéracées, apiacées, cupressacées, poacées, zingibéracées et pipéracées (**Frank et al., 1990**).

II.5 Localisation :

Les huiles essentielles sont largement répandues dans le règne végétal en matière odorante comme les conifères, rutacées, myrtacées, labiacées, ombellifère. Elles peuvent se rencontrer dans tous les organes végétaux comme les écorces chez le cannelier, les sommités fleuries chez la lavande ou la menthe, les racines chez les vétivers, les fruits chez les lanis ou les fenouils, le bois chez les camphriers dans une même plante, elles peuvent être présentes à la fois dans les différents organes, la composition des essences pouvant varier d'un organe à l'autre (**Saidj, 2006**).

II.6 Mode d'obtention :

Les HE sont des produits obtenus à partir de matières premières naturelles principalement d'origine végétale .Selon la méthode utilisée pour leur extraction, Les HE seront destinées à différentes utilisation (**Lucchesi et al., 2004**).

Différentes méthodes sont mises en œuvre pour l'extraction des essences végétales, En général, le choix de la méthode d'extraction dépendra de la nature du matériel végétal à traiter (graines, feuilles, ramilles), de la nature des composés (les flavonoïdes ou les tanins, par exemple), du rendement en l'huile et de la fragilité de certains constituants des huiles aux températures élevées (**Boussaid et al., 1998**).

La 7ème édition de la Pharmacopée européenne indique que les HE sont obtenues par :

- ✓ Hydro- distillation,
- ✓ Distillation sèche,
- ✓ Expression à froid,
- ✓ Extraction par solvant organique,

D'autres méthodes sont destinées à des utilisations en parfumerie ou en agroalimentaire (**Lucchesi et al., 2004**).

II.7 Conservation des huiles essentielles :

Les huiles essentielles doivent être conservées correctement pour préserver leur qualité. Avec le temps, elles s'oxydent, ce phénomène étant amplifié par la chaleur, l'air, la lumière, Il faut les conserver dans un endroit frais, à l'abri de la lumière, dans du verre brun ou de l'aluminium vitrifié. Une essence bien distillée se conserve trois ans au moins (**Bruneton, 1993**).

II.8 Les caractéristique physico-chimiques :

Les huiles essentielles sont :

- ✓ liquides à température ambiante, a base température certaines HE se solidifient comme celle d'anis par exemple,
- ✓ de consistance huileuse mais non grasse,
- ✓ volatiles (contrairement aux huiles fixes et odorantes), leur volatilité augmente avec la chaleur,
- ✓ densité inférieur à celle de l'eau sauf celles de cannelle, sassafras, girofle,
- ✓ Rarement colorée,
- ✓ Solubles dans l'alcool jusqu'à concurrence de 5 %, les solvants organiques apolaires, les corps gras,
- ✓ Insolubles dans l'eau (**Pharmacopée Européenne, 2010**).

II.9 Composition chimique des huiles essentielles :

Les compositions chimiques de nombreuses huiles essentielles ont été décrites. Elles varient en fonction de différents facteurs, incluant le stade de développement des plantes, les organes prélevés, la période et la zone géographique de récolte (**Oussou et al., 2010**).

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes et variables de constituants appartenant exclusivement à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes : les terpènes volatils et les composés aromatiques dérivés du phénylpropane (**Cu, 1990**).

II.10 Activités biologiques des huiles essentielles :

L'activité biologique d'une huile essentielle est à mettre en relation avec sa composition chimique et en particulier, avec les groupements fonctionnels des composés majoritaires : les phénols (thymol, carvacrol, eugénol), les alcools (α -terpinéol, terpinen-4-ol, linalol), les aldéhydes et les composés terpéniques et cétoniques.

Il est connu depuis l'antiquité que les huiles essentielles présentent des propriétés médicinales nombreuses et variées telles que, les propriétés antiseptiques, antimicrobiennes, antitoxiques,

antivenimeuses, anti-oxydantes, antiparasitaires, diurétiques, propriétés anticancéreuses (Boussaid et al., 1998).

II.11 Toxicité des huiles essentielles :

La puissance des huiles essentielles est très grande, du fait de leur forte concentration. De nombreuses précautions doivent être prises avant tout emploi et surtout en ce qui concerne le dosage ainsi que le mode d'application interne ou externe (Özcan et Chalchat, 2004).

Les molécules aromatiques présentent dans les huiles étant très puissantes, une ingestion accidentelle peut, selon la sorte et la quantité, générer une toxicité élevée voir un coma et même la mort (Gilly, 2005).

Les huiles essentielles présentant une certaine toxicité sont celles contenant de la cétone comme l'absinthe, l'anis, le fenouil, le romarin, la menthe, le thuya, la sauge officinale (Rota et al., 2008).

II.12 Les métabolites secondaires :

Les métabolites secondaires végétaux sont des molécules essentielles à la vie des plantes et leur interaction avec l'environnement, ils sont également des sources importantes pour les produits pharmaceutiques, les additifs alimentaires et les arômes (Ramakrishna et Ravishankar, 2011).

Les métabolites secondaires se trouvent dans toutes les parties des plantes mais ils sont distribués selon leurs rôles défensifs. Cette distribution varie d'une plante à l'autre (Merghem, 2009).

La concentration de ces molécules dans les différentes parties des plantes est influencée par plusieurs facteurs environnementaux tels que la température, l'humidité, l'intensité lumineuse, l'eau, les sels minéraux et le CO₂ (Ramakrishna et Ravishankar, 2011).

Nous citons ici les grands groupes de métabolites secondaires qui sont largement étudiés :

II.12.1 Les Composés Phénoliques :

➤ Les Flavonoïdes :

Les flavonoïdes, présents dans la plupart des plantes, sont des pigments polyphénoliques qui contribuent à colorer les fleurs et les fruits en jaune ou en blanc. Ils ont un important champ d'action et possèdent de nombreuses vertus médicinales (**Bruneton, 1999**).

➤ Les Tanins :

Sont des composés polyphénoliques, ayant la capacité de précipiter les protéines. Ils sont présents essentiellement dans les écorces. Ils forment, après coagulation, des composés très stables et les protéines (**Paris et Hurabielle, 1980**).

➤ Les Coumarines :

Sont de différents types, se trouvent dans de nombreuses espèces végétales et possèdent des propriétés très diverses, Ils sont capables de prévenir la peroxydation des lipides membranaires et de capter les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes (**Madhavi, 1996**).

II.12.2 Les Quinones :

Sont des composées oxygénés qui correspondent à l'oxydation de dérivés aromatiques. Les quinones peuvent être classées en quatre groupes : benzoquinones, naphthoquinones, anthraquinones et isoprénoïdes quinones (**Bruneton, 1999**).

II.12.3 Les Alcaloïdes :

Sont des substances basiques, contenant un atome ou plus d'azote généralement inclus dans un système hétérocyclique. On distingue les alcaloïdes sels et les alcaloïdes basent (**Bruneton, 1999**).

II.12.4 Les Terpènes:

Sont des composés par l'assemblage d'un nombre entier d'unité pentacarbonée ramifiée ; le 2-méthyl- butadiène (isoprène), selon le nombre d'unité isoprénique qui les constituent, on distingue : les monoterpènes en C₁₀, les sesquiterpènes en C₁₅, les diterpènes en C₂₀ et les triterpènes en C₃₀ (**Bruneton, 1999**).

II.12.5 Les Saponines :

Les saponines sont des glycosides contenus dans les plantes qui doivent leur nom au fait qu'elles moussent lorsqu'on les mélange avec l'eau. Elles sont des constituants de nombreuses plantes médicinales, elles existent sous deux formes : les stéroïdes et les triterpénoïdes (**Bruneton, 1999**).

II.13 Composition biochimique du Romarin :

L'huile essentielle du Romarin (1 à 2% dans la plante) contient : de l' α -pinène (7 à 80%), de la verbénone (1 à 37%), du camphre (1 à 35%), de l'eucalyptol (1 à 35%), du bornéol (4 à 19%), de l'acétate de bornyle (jusqu'à 10%) et du camphène. En plus de l'huile essentielle on trouve dans le Romarin: 2 à 4 % de dérivés triterpéniques tels que : l'acide ursolique , l'acide oléanolique ,l'acétate de germanicol , des lactones diterpéniques picrosalvine, dérivés de l'acide canosolique, romanol ,romadial,des acides phénolique, des acides gras hydroxylés surtout des dérivés de l'acide décanoïque, des acides gras organiques l'acide citrique, glycolique, et glycérique, des stérols, de la choline , du mucilage (**Bellakhdar,1997**) et de la résine, (**Beloued,1998**).



Chapitre III : Le Stress Oxydant Et Le Diabète

Chapitre III : Le Stress Oxydant Et Le Diabète

III.1 Le stress oxydant :

L'oxygène est indispensable à la vie des organismes aérobies où les mitochondries, "poumons" de la cellule, qui en utilisent la majeure partie comme substrat de la chaîne respiratoire pour la production de l'énergie sous forme d'ATP, ce métabolisme induit la production des espèces réactives dérivées de l'oxygène (ERO ou ROS) en équilibre avec les systèmes antioxydants **(Roede et Jones, 2010)**.

Le stress oxydant est défini comme étant le résultat d'un déséquilibre entre la production de composés pro-oxydants et leur élimination **(Zerargui, 2015)**.

III.1.1 Les cibles des ERO :

Ces espèces s'attaquent à la plupart des molécules organiques et inorganiques présentes dans les cellules, parmi lesquelles l'ADN, les protéines, les lipides, les acides aminés, les sucres et les métaux. Ils agissent selon trois modes d'actions : en arrachant soit un électron, soit un atome d'hydrogène ou encore en s'additionnant sur les doubles liaisons. Les ERO induisent des atteintes oxydatives sur des composés cellulaires et extracellulaires en général proches de leur site de production du fait de leur demi-vie relativement courte **(Jacob, 1995)**.

III.1.2 L'oxydation :

L'oxydation est générée par des radicaux libres, très rapide et se propage en cascade. Elle cible tous les corps gras comme les phospholipides des membranes cellulaires mais aussi les protéines. Dans le cas des enzymes, l'oxydation entraîne une modification ou perte de l'activité biologique de la molécule, ce qui provoque des désorganisations cellulaires parfois irréversibles entraînant la mort cellulaire, Il en est de même quand l'oxydation touche l'ADN **(Jacob, 1995)**.

III.1.3 Radicaux libres :

Un radical libre est une espèce chimique possédant un électron célibataire sur sa couche périphérique, Dans les phénomènes de stress oxydant, les radicaux libres qui interviennent ont une propriété caractéristique commune, celle d'avoir un électron célibataire sur un atome

d'oxygène ». Ceci leur confère la dénomination d'espèces réactives de l'oxygène (**Serteynet *al.*, 2002**).

Les radicaux libres peuvent être considérés comme des éléments très importants pour la vie de l'organisme suite à l'implication de leurs effets bénéfiques, par exemple les radicaux oxygéniques exercent des actions critiques sur les signaux de traduction, et sur les gènes de transcription, les cellules phagocytaires (macrophages) utilisent également les espèces réactives dérivées de l'oxygène (ROS) pour combattre les agents infectieux (bactéries et virus), cependant ces mêmes radicaux peuvent causer des dégâts oxydatifs cellulaires, endommagement des tissus et même la mort des cellules et le développement des processus pathologiques (**Wang *et al.*, 2008**).

III.1.4 Origine des radicaux libres :

Les facteurs tels que les drogues, la pollution, les immuno-réactions aux virus, l'insuffisance des antioxydants naturels, les rayons ultra-violets, le tabac et les xénobiotiques détruisent le potentiel du corps humain à stabiliser les radicaux libres qu'il produit et causent ainsi le stress oxydant (**Barouki, 2006**).

En plus de ces sources exogènes, les sources endogènes de stress oxydant incluent les mitochondries, les microsomes, les peroxyosomes, le réticulum endoplasmique (RE) (mono-oxygénases), la membrane plasmique (oxydases), et les activités des enzymes d'oxydoréductase telles que NADPH oxydase, myeloperoxydase, xanthine oxydase, glucose oxydase, les enzymes du cytochrome P450, et les cyclo-oxygénases (**Barouki, 2006**).

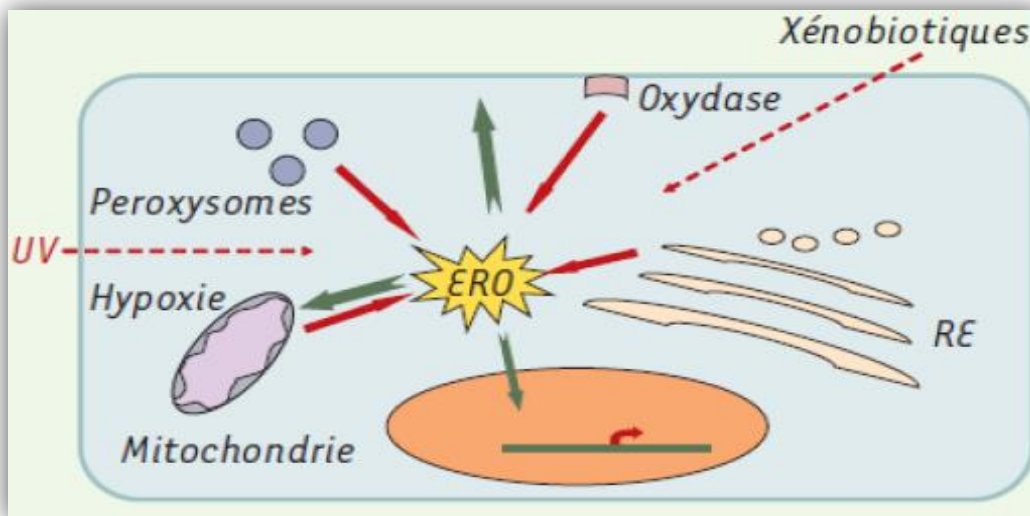


Figure 2: Formation des radicaux libres (Barouki, 2006).

Dans la cellule, il existe d'autres oxydants très puissants, qu'ils soient des radicaux libres ou non. Par exemple des oxydants chlorés ($HOCl$) sont libérés par les macrophages, Par ailleurs, le monoxyde d'azote (NO^-) est un radical libre qui est surtout réputé pour ses propriétés physiologiques, sachant que le NO^- interagit avec l'anion superoxyde pour donner le peroxy-nitrite, composé extrêmement réactif et toxique (Barouki, 2006).

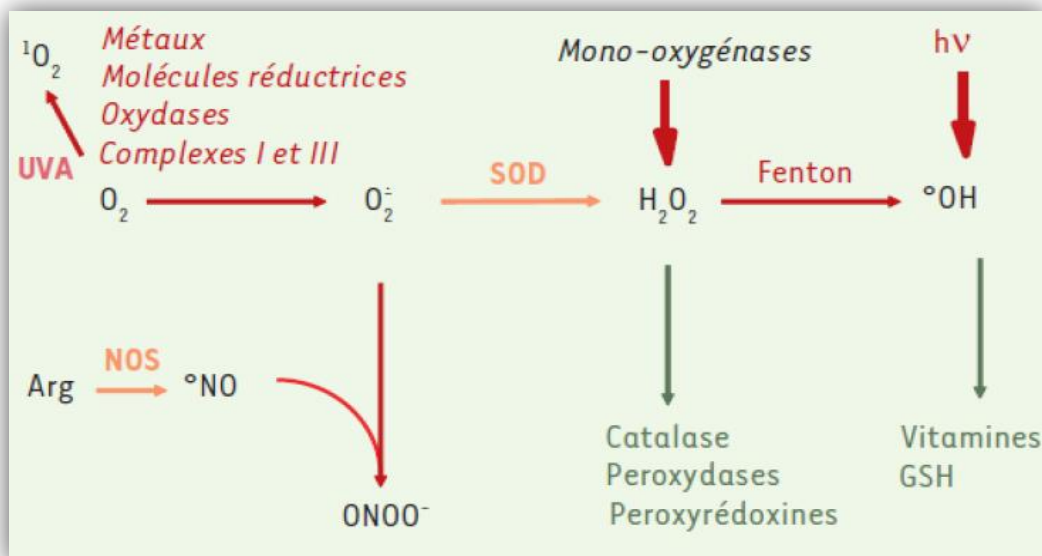


Figure 3: Voies métaboliques des espèces réactives de l'oxygène (Barouki, 2006).

III.2 Activité antioxydante :

Toute substance présente à faible concentration par rapport au substrat oxydable, qui est capable de retarder, prévenir, neutraliser ou de réduire les dommages de l'oxydation causés par les radicaux libres dans l'organisme et permettent de maintenir au niveau de la cellule des concentrations non cytotoxiques d'ERO (Vansant, 2004).

III.2.1 Les antioxydants :

Un antioxydant est défini comme une substance qui, ajoutée à faible dose à un produit naturellement oxydable à l'air, est capable de ralentir ou d'inhiber le phénomène d'oxydation. Cette définition peut être élargie et le terme "antioxydant" englobe ainsi toutes les substances qui protègent les systèmes biologiques contre les effets délétères potentiels des processus ou réactions qui engendrent une oxydation excessive (Park *et al.*, 2001).

La protection contre les effets délétères induits par les radicaux oxygénés s'effectue à l'aide de trois types d'antioxydants différents (Curtay et Robin, 2000):

✓ Antioxydant enzymatique :

Les enzymes tels que les superoxyde-dismutases, catalases et les glutathion-peroxydases, transforment les radicaux prooxydants en substances inoffensives.

✓ Antioxydant non enzymatique :

Les protéines non enzymatiques telles que l'albumine, haptoglobine et transferrine jouent un rôle antioxydant par chélation des ions.

✓ Antioxydant nutritionnelle :

Les antioxydants d'origine nutritionnelle, les caroténoïdes, les tocophérols (vitamine E) et l'acide ascorbique (vitamine C), les polyphénols et flavonoïdes sont des antioxydants essentiels pour l'homme dont les apports peuvent prévenir et même aider au traitement des maladies liées au stress oxydant.

Les antioxydants les plus connus sont le β -carotène (provitamine A), l'acide ascorbique (vitamine C), le tocophérol (vitamine E) ainsi que les composés phénoliques. En effet, la plupart des antioxydants de synthèse ou d'origine naturelle possèdent des groupes hydroxyphénoliques dans leurs structures et les propriétés antioxydantes sont attribuées en partie, à la capacité de ces composés naturels à piéger les radicaux libres tels que les radicaux hydroxyles (OH^\cdot) et superoxydes (O_2^\cdot) (Rice-Evans *et al.*, 1996).

III.2.2 Mécanisme d'action :

La capacité antioxydante des molécules peut être évaluée soit *in vivo* ou *in vitro*, en utilisant des tests qui miment le phénomène physiologique. Pour évaluer l'activité antioxydante *in vitro* d'extraits naturels, différentes méthodes ont été développées. Ces méthodes impliquent le mélange d'espèces oxydantes, tels que des radicaux libres ou des complexes métalliques oxydés, avec un échantillon qui contient des antioxydants capable d'inhiber la génération de radicaux. Ces antioxydants peuvent agir selon deux mécanismes majeurs (Prior *et al.*, 2005) :

Soit par transfert d'atome d'hydrogène, soit par transfert d'électron. Les méthodes basées sur le transfert d'atome d'hydrogène mesurent la capacité globale d'un antioxydant à réprimer les radicaux libres par donation d'un atome d'hydrogène, alors que les méthodes basées sur le transfert d'électron mesurent la capacité d'un antioxydant à transférer un électron qui réduira n'importe quel composé, incluant les métaux, les carbonyles et les radicaux. Ainsi, compte tenu des différents facteurs impliqués, tels que les propriétés physicochimiques des molécules, le type de test employé ou l'état d'oxydation des substrats, il est recommandé d'utiliser au moins deux tests pour confirmer une activité antioxydante (Prior *et al.*, 2005).

En présence de l'oxygène, l'oxydation des lipides insaturés ne peut pas être empêchée. De plus, c'est une réaction irréversible, cependant elle peut être inhibée. Les antioxydants sont des réducteurs qui ralentissent et inhibent l'oxydation des lipides. Ils peuvent agir sur différentes étapes de l'auto oxydation et de l'oxydation. Les antioxydants réagissent généralement sur les radicaux libres produits pendant l'initiation et la propagation et les rendent moins actifs. L'action préventive bloque l'initiation en complexant les catalyseurs et en réagissant avec l'oxygène ou en déviant de l'aliment les effets de la lumière ou des rayonnements (Fig. 4) (Marc *et al.*, 2004).

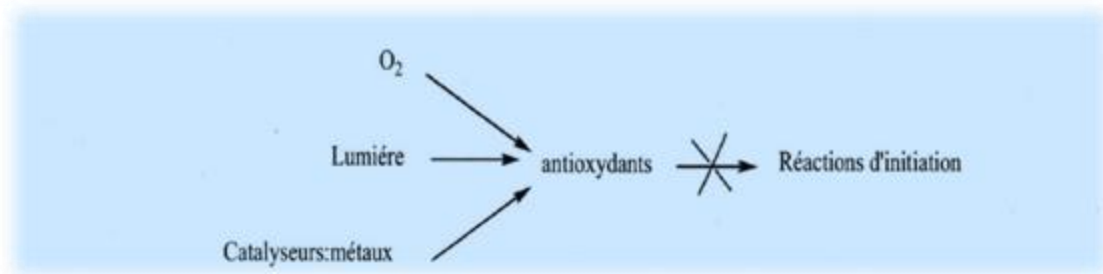


Figure 4 : Action préventive des antioxydants (Marc *et al.*, 2004).

III.3 Le diabète :

Le diabète est défini comme une affection métabolique, caractérisée par une hyperglycémie (taux de sucre dans le sang trop élevé) liée à une déficience, soit de la sécrétion, soit de l'action de l'insuline, ou des deux. L'insuline est une hormone produite par le pancréas, indispensable à la pénétration du glucose sanguin dans les cellules. Lorsqu'elle fait défaut le taux de sucre augmente dans le sang, l'organisme est très sensible à ces variations, la chronicité de l'hyperglycémie est responsable de complications à long terme touchant de nombreux organes notamment les yeux, les reins, les nerfs, les cœurs et les vaisseaux (Summary, 2012).

Le diabète sucré se définit aussi par une hyperglycémie chronique, soit une glycémie à jeun supérieure à 1,26g/l (7mmol/l) ou une glycémie supérieure à 2g/l (11,1mmol/l) à n'importe quel moment ou lors d'une hyperglycémie provoquée par voie orale à deux reprises. Cette définition est fondée sur le seuil glycémique à risque de micro-angiopathie, en particulier à risque de rétinopathie (Bonfont-Rousselot *et al.*, 2004).

La grande majorité des cas de diabète se répartissent en deux catégories : le diabète de type 1 et le diabète de type 2. Les autres cas de diabète sont le diabète gestationnel défini comme une intolérance au glucose débutante ou découverte la première fois pendant la grossesse ou d'autres types plus spécifiques car liés à : des défauts génétiques des cellules β du pancréas, des défauts génétiques de l'action de l'insuline, des maladies du pancréas exocrine, des endocrinopathies, secondaire à la prise de médicaments ou de substances chimiques, secondaire à une infection, des formes non communes de diabètes immuns ou des diabètes associés à des syndromes génétiques (Kharroubi *et Darwish*, 2015).

III.3.1 Diabète de type 1 :

Le diabète de type 1 est causé par la destruction de la cellule bêta du pancréas, d'où l'incapacité de la personne atteinte à sécréter de l'insuline, c'est pourquoi le diagnostic est souvent brutal et les injections d'insuline sont vitales chez ces personnes. Cette forme de diabète survient essentiellement chez les enfants et les jeunes adultes (**Summary, 2012 ; Usher-Smith et al., 2012**).

III.3.2 Physiopathologie de type 1 :

Le diabète de type 1 est provoqué par la destruction auto-immune des cellules bêta productrices d'insuline des îlots pancréatiques, Il est généralement considéré que le diabète est diagnostiqué lorsque 70-80% des cellules bêta ont été détruites et que le reste est détruit après le diagnostic, La physiopathologie du diabète de type 1 est complexe et multifactorielle (prédisposition génétique, réaction immunitaire, rôle de l'environnement). Il est probable qu'il existe une susceptibilité individuelle de développer un diabète insulino-dépendant, et qu'un ou plusieurs facteurs environnementaux soient déterminants pour l'émergence clinique de ce diabète (**Summary, 2012**).

III.3.3 Diabète de type 2 :

Le diabète de type 2 est caractérisé par une résistance à l'insuline et une carence relative de la sécrétion d'insuline, Son apparition est lente, il peut évoluer avec un degré d'hyperglycémie suffisant pour engendrer des atteintes organiques et fonctionnelles dans de nombreux tissus mais sans symptôme clinique et donc sans diagnostic pendant plusieurs années. Cette forme de diabète s'établit le plus souvent chez des personnes adultes et très majoritairement en surpoids (**Summary, 2012 ; Albert et Zimmet, 1998**).

III.3.4 Physiopathologie de type 2 :

Sur le plan physiopathologique, le développement du DT2 résulte de la coexistence entre une insulino-résistance et un développement progressif d'un déficit de l'insulinosécrétion. De plus, le DT2 est une maladie complexe s'inscrivant généralement dans le cadre plus large du syndrome métabolique (**Summary, 2012**).

III.3.5 Les symptômes de diabète :

Les symptômes du diabète sucré sont caractéristiques et se manifestent par une polyurie, une polydipsie, un amaigrissement, et parfois par une polyphagie et des troubles de la vision, Si aucun traitement n'est administré, la situation peut se développer vers l'acidocétose, l'hyperosmolarité ou l'acidose lactique (Shaw *et al.*, 2010).

III.3.6 Épidémiologie du diabète sucré :

Aujourd'hui il est bien clair que le nombre de personnes affectées par le diabète sucré est en croissance rapide dans le monde entier, Ainsi la prévalence mondiale de la maladie est estimée de passer de 6.4% avec 285 millions de diabétiques en 2010, à 7.7% avec 439 millions en 2030 (Shaw *et al.*, 2010).

III.3.7 Diabète et les plantes médicinales :

Les plantes possèdent plusieurs principes actifs qui leur permettent d'avoir une action sur l'organisme. Dans le cas du diabète, elles ont une action hypoglycémiant, dont le mécanisme diffère ainsi que le principe actif responsable. Parmi les constituants des plantes ayant une activité hypoglycémiant, on trouve les polysaccharides, les peptides, les alcaloïdes, les glycopeptides, les triterpénoides, les acides aminés, les stéroïdes, les flavonoïdes, les phénols, les coumarines, les ions inorganiques et les guanidines (Jarald *et al.*, 2008).

L'activité antidiabétique des plantes peut dépendre de plusieurs mécanismes :

- ✓ Réduction de la résistance à l'insuline,
- ✓ Stimulation de la sécrétion d'insuline à partir des cellules bêta ou/et inhibition du processus de dégradation de l'insuline,
- ✓ Apport de quelques éléments nécessaires comme le Calcium, le Zinc, le Magnésium, le Manganèse et le Cuivre pour les cellules bêta,
- ✓ Régénération ou/et réparation des cellules pancréatiques bêta,
- ✓ Effet protecteur de la destruction des cellules bêta,
- ✓ Augmentation du volume et du nombre de cellules dans les îlots de Langerhans,
- ✓ Inhibition de la réabsorption rénale du glucose,
- ✓ Inhibition de β -galactosidase, de α -glucosidase et de α -amylase,

- ✓ prévention du stress oxydatif, qui peut être impliqué dans le dysfonctionnement des cellules bêta remarqué dans le diabète,
- ✓ Stimulation de la glycogénèse et de la glycolyse hépatique,
- ✓ Prévention de la conversion de l'amidon en glucose (**Jarald et al., 2008**).

III.4 Le diabète et le stress oxydatif :

Les complications du diabète sont fortement liées à certain nombre de facteurs. A côté de l'hyperglycémie chronique et la glycation non enzymatique des protéines, un facteur très important impliqué dans la genèse de ces complications est le stress oxydatif (**Pincemail et al., 1999**).

En effet, le métabolisme cellulaire normal de l'oxygène produit de manière continue de faibles quantités d'espèces oxygénées activées dont font partie les radicaux libres ($O_2\cdot$, $OH\cdot$,..., le peroxyde d'hydrogène). Le patient diabétique présente une surproduction des ROS d'une part et d'autre part, une diminution des antioxydants, ce qui génère un état de stress oxydatif à l'origine des micro et des macro angiopathies (**Pincemail et al., 1999**).

L'hyperglycémie active plusieurs voies responsables d'un stress oxydant et de la surproduction d'ERO. Il est intéressant de noter que les ERO peuvent participer à l'installation du diabète en altérant l'action de l'insuline et en détruisant les cellules bêta du pancréas (**Bonnefont-Rousselot et al., 2004**).

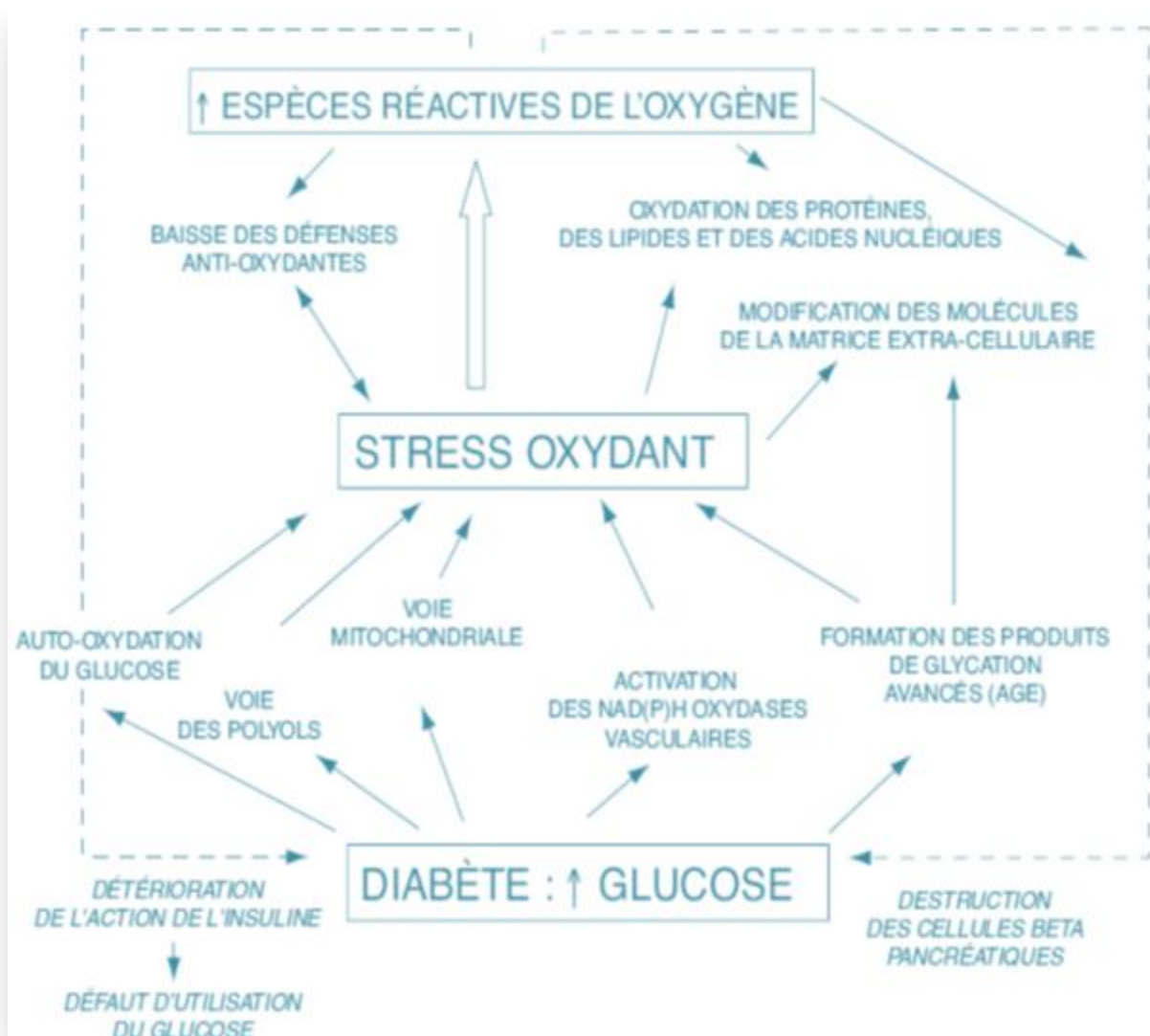


Figure 5: Relation entre diabète et production d'ERO (Bonnefont-Rousselot et al., 2004).



Chapitre IV : Matériel Et Méthodes

Chapitre IV : Matériel Et Méthodes

IV.1 Introduction :

Les extraits étudiés sont obtenu à partir des feuilles du *Rosmarinus officinalis*, le but de ce travail expérimental est :

- ✓ L'étude qualitative et quantitative des extraits.
- ✓ L'étude de l'activité anti oxydante.
- ✓ L'étude de l'activité antidiabétique.

Cette étude expérimentale a été réalisée au niveau de laboratoire de biochimie de l'université de Djilali Bounaâma de khemis-Miliana.

IV.2 Matériel utilises :

IV.2.1 Matériel non biologique :

- **Etuve séchante**
- **Réfrigérateur**
- **Agitateur magnétique et plaque chauffante**
- **Boîte de Petri(en verre)**
- **Mortier et Pistil**
- **Thermomètre à sonde**
- **Balance électrique**
- **Pompe sous vide - Erlenmeyer à vide - Cône en caoutchouc – Büchner**
- **appareil glucomètre (BIONIME), (Fabrication : 2017-04 ; Expiration : 2019-04)**

IV.2.2 Matériel biologique :

✓ Matériel végétal :

Le matériel végétal est constitué de feuilles de la plante *Rosmarinus officinalis* récoltée de la région de Miliana, elle porte les coordonnées suivantes :

Tableau 2 : les caractéristiques géographiques de la région.

Région	Miliana
Altitude	400-1000 m
Latitude	36° 17' nord
Longitude	2° 13' est



Figure 6 : Photographie de la plante étudiée(2018).



Figure 7 : Localisation de site de prélèvement (Google Earth).

✓ **Matériel animal :**

Notre étude expérimentale a été réalisée sur les rats blancs (variété Wistar Albinos de l'Institut Pasteur d'Alger), avec un poids corporel de 100 à 150g.

L'élevage de ces animaux a été déroulé au sein de l'animalerie du département de biologie, de l'université Djilali Bounaama.

Les rats ont été hébergés dans des cages en plastique et maintenus dans les conditions favorables d'élevage et disposés d'eau du robinet et de nourriture standard (Maïs, Son, Remoulage, Soja, CMV), la litière est renouvelée trois fois par semaine.

IV.3 Méthodes d'étude :

IV.3.1 Récolte :

Dans cette étude, les échantillons du matériel végétal utilisé ont été récoltés au 20 février 2018 dans la région de Miliana (Wilaya de Ain Defla), Le lieu de collecte se situe exactement à 900m d'altitude (Forêt du Zaccar).

IV.3.2 Séchage :

Le séchage de la matière végétale a été réalisé dans un endroit sec à l'air libre et à l'abri de la lumière, pendant environ 15 jours (jusqu'à l'obtention d'une plante vraiment sèche).

IV.3.3 Le taux d'humidité :

Le contenu en humidité de la plante a été déterminé par le procédé de séchage à l'étuve. Une quantité de feuilles fraîches d'une masse de $5g \pm 0.01$ a été exposée à une température de $103^{\circ}C \pm 5$ dans une étuve jusqu'à l'obtention d'un poids constant (Twidwell et al., 2002 ; Bourkhiss et al., 2009).

Le taux d'humidité est calculé par la formule suivante :

$$H (\%) = [M_0 - M_1] / M_0 \times 100$$

M0 : Masse de l'échantillon « avant séchage en gramme ».

M1 : Masse de l'échantillon « après séchage en gramme ».

H(%): Taux d'humidité exprimé en pourcentage.

La teneur en matière sèche est calculée selon la relation suivante :

$$\text{Matière sèche MS\%} = 100 - H\%$$

IV.3.4 Extraction :

L'extrait a été obtenu à partir des feuilles du *Rosmarinus Officinalis* en utilisant une technique d'extraction solide-liquide par l'eau distillée (infusion) et par l'éthanol (macération I) et par l'éthanol-eau distillée (macération II).

✓ **Extraction par Infusion à l'eau :**

L'infusion est une méthode d'extraction des principes actifs ou des arômes d'un végétal par dissolution dans un liquide initialement bouillant que l'on laisse refroidir (Lee et Lee, 2003), Cette méthode d'extraction a été effectuée selon le protocole décrit par (Nshimiyimana et He, 2010) en y apportant quelques modifications.

Protocole expérimental :

10g du matériel végétal est mise à infuser dans 100ml de l'eau distillée bouillante (T : 100°C), Ensuite nous avons laissé l'infusion pendant 30min jusqu'au refroidissement avant de la filtrer.

➤ **Extraction par Macération :**

La macération consiste à laisser tremper une plante sèche dans un solvant approprié pendant plusieurs heures, jours, voire semaines (Lee et Lee, 2003), Cette méthode d'extraction a été effectuée selon le protocole décrit par (Hamia et al., 2014), avec quelques modifications.

✓ **Macération à l'éthanol (MI) :**

Protocole expérimental :

10g de la plante finement broyée ont été introduits dans 100ml d'éthanol puis laissés 4 heures sous agitation (60rpm /1min) à une température 40°C.

✓ **Macération à l'éthanol-eau distillée (MII) :**

Protocole expérimental :

10g de la plante finement broyée ont été introduits dans 100ml d'un mélange éthanol-eau (50/50, V/V) sous agitation (60rpm /1min) à une température 40°C, pendant 4h.

« *La filtration des différents extraits est assurée par une pompe à vide et un papier filtre* »

IV.3.5 Evaporation :

Les extraits (hydroalcoolique et alcoolique) obtenus sont évaporés à sec (dans l'étuve à 47°C pendant 24h), les résidus obtenus sont solubilisés dans l'eau distillée (**Hamia et al., 2014**).

IV.3.6 Conservation de l'extrait :

Les extraits obtenus ont été conservés dans un réfrigérant à température de 4°C et à l'abri de la lumière en utilisant un papier d'Aluminium qui empêche le contact de l'extrait avec la lumière.

IV.3.7 Rendement :

Le rendement est calculé en effectuant un rapport entre la masse de l'extrait recueillie après un séchage dans l'étuve et la masse de la matière séchée, le rapport ainsi obtenu est multiplié par 100.

Le rendement d'extraction est exprimé en pourcentage et calculé par la formule donnée par (**Falleh et al., 2007**) :

$$R (\%) = (M_{ext} / M_{éch}) \times 100$$

Où :

R : le rendement en (%).

M_{ext} : la masse de l'extrait après évaporation du solvant en (g).

M_{éch} : la masse sèche de l'échantillon végétal en (g).

IV.3.8 Etude in vitro

IV.3.8.1 Les tests phytochimique :

Le screening phytochimique représente l'ensemble des techniques qualitatives permettant la détermination des différents groupes chimiques contenus dans un organe végétal. Ce sont des réactions physicochimiques qui permettent d'identifier la présence des substances chimiques.

➤ **Flavonoïdes :**

2 ml de chaque extrait a été traité avec 2 ml de 10% d'acétate de plomb la couleur vert jaunâtre indique la présence de flavonoïdes (**Harbarne, 1973**).

➤ **Tannins :**

1ml de chaque extrait a été traité par quelques gouttes de chlorure ferrique FeCl₃ (1%), le développement de coloration bleu, bleu noir ou vert indique la présence de tannins (**Karumi et al., 2004**).

➤ **Quinones :**

1 ml de chaque extrait, a été traité par quelques gouttes d'une solution de soude à 1%, l'apparition d'une coloration jaune, rouge ou violet indique la présence des quinones (**Oloyede, 2005**).

➤ **Stérols :**

Dans un tube à essai introduire 5ml de l'extrait à analyser, ajouter 5ml d'anhydride acétique, 5ml de chloroforme et 1 ml d'acide sulfurique concentré dans la paroi de tube sans agiter. Laisser reposer 20 min. La formation d'un anneau rouge brunâtre à la zone de contact des deux liquides et une coloration violette de la couche surnageant révèlent la présence de stérols et triterpènes (**Trease et Evans, 1987**).

➤ **Alcaloïdes :**

On ajout 2 ml de réactif de Wagner (2g d'iodure de potassium KI + 1,27 g d'iode I₂ + 100 ml d'eau distiller) à 2 ml de chaque extrait. L'apparition d'un précipité blanc jaune indique la présence des alcaloïdes (**Mojab et al., 2003**).

➤ **Sucres réducteurs :**

1 ml de chaque extrait a été traité par 1mL de réactif de Fehling (0,5 ml de réactif A et 0,5 ml de réactif B), après chauffage, la formation d'un précipité rouge brique indique la présence des sucres réducteurs (**Trease et Evans, 1987**).

IV.3.8.2 Dosage des polyphénols totaux :

➤ **Principe :**

Le réactif de Folin-Ciocalteu est un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique, oxyde les composés phénoliques; les oxydes métalliques produits sont de couleur bleue, dont l'absorbance est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans l'échantillon (**Ribereau-Gayon et al., 1982**).

➤ **Mode opératoire :**

La teneur en composés phénoliques est estimée selon la méthode de (**chan et al., 2008**), Dans une fiole jaugée de 100ml, une quantité de 40µl de chaque extrait a mélangée avec 1,5ml de réactif de Folin- Ciocalteu à 10% et 1,5ml d'une solution aqueuse de carbonate de sodium à 7,5% (m/v). Ensuite, la fiole est complétée avec de l'eau distillée puis laissé pendant 30 minutes à température ambiante, et la lecture est effectuée contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre (UV) à 765 nm. Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique comme contrôle positif. Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g).

IV.3.8.3 Evaluation de l'activité antioxydant :

La méthode de DPPH est utilisée pour l'évaluation de l'activité antioxydant de nos extraits.

➤ Principe :

Le DPPH est un radical libre stable violet en solution, il présente une absorbance caractéristique dans un intervalle compris entre 512 et 517 nm, cette couleur disparaît rapidement lorsque le DPPH est réduit en diphényle picryl hydrazine par un composé à propriété antiradicalaire, entraînant ainsi une décoloration. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (**Brand-williams et al., 1995**).

On peut résumer la réaction sous la forme de l'équation:



Où: **(RH)** représente un composé capable de céder un hydrogène au radical DPPH (violet) pour le transformer en diphényle picryl hydrazine (jaune) (**Yang et al., 2010**).

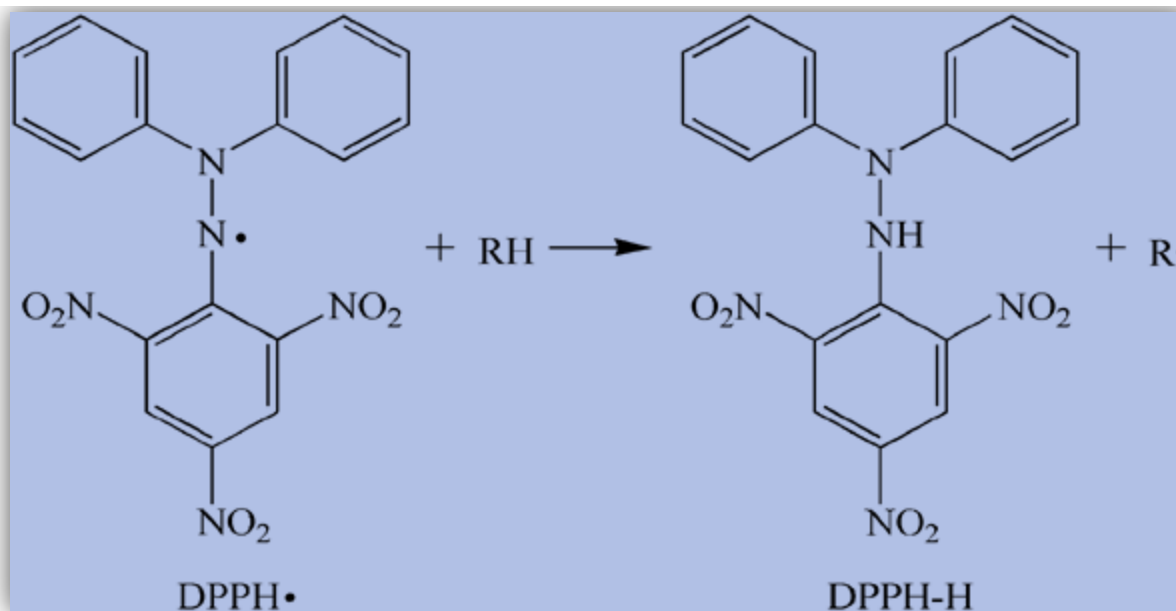


Figure 8 : Réaction du DPPH avec un antioxydant (**Brand-williams et al., 1995**).

➤ Mode opératoire :

L'effet «scavenger» (DPPH) est déterminé selon la méthode de (**Grant et al., 2009**). Un volume de 2700µl de la solution DPPH a été mélangé avec 300µl d'extrait. Après une heure d'incubation à l'obscurité l'absorbance a été mesurée à 517nm. Le pourcentage d'inhibition de radicaux DPPH est calculé comme suit :

$$\% = [(A_{\text{tém}} - A_{\text{éch}}) / A_{\text{tém}}] \times 100$$

$A_{\text{tém}}$: Absorbance de témoins (300 μ l de méthanol +2700 μ l de DPPH).

$A_{\text{éch}}$: Absorbance de l'extrait (300 μ l de l'extrait +2700 μ l de DPPH).

IV.3.9 Etude in vivo

VI.3.9.1 Evaluation de l'activité antidiabétique :

➤ **Protocole expérimental :**

Les rats ont été divisés en 05 lots de 5 rates chacun, le protocole a été résumé dans le tableau 3 :

Tableau 3 : Désignation des lots et les doses administrées.

Lot	Désignation	Les doses administrées
01	Témoin (T)	Aucune dose
02	Diabétique non traité (DNT)	Aucune dose
03	Diabétique traité par l'extrait de l'infusion (DTI)	1ml/rat/j
04	Diabétique traité par l'extrait de la macération I (DTMI)	150mg/Kg/j
05	Diabétique traité par l'extrait de la macération II (DTMII)	150mg/Kg/j

➤ **Induction du diabète :**

Dans notre expérience le diabète a été induit chez les rats par injection de l'Alloxane par voie intra péritonéale (150 mg/Kg de poids) déclenche un diabète chez le rat (**Diatewa et al., 2004**), sachant que l'Alloxane monohydrate est inducteur de diabète qui provoque une nécrose sélective sur les cellules bêta du pancréas donnant ainsi une déficience insulinique chronique (**Dhanabal et al., 2007**).



Figure 9 : Injection de l'Alloxane par voie intra péritonéale

Après injection, les rats sont remis dans les cages et reçoivent systématiquement un libre accès à l'alimentation et une solution de 5% de glucose à boire pendant une nuit pour éviter le choc hypoglycémique (Livingston-Raja *et al.*, 2008).

➤ **Administration des extraits :**

Les extraits administrés de façon quotidienne par gavage intra-gastrique à des doses montrées dans le tableau 3.



Figure 10 : administration d'extrait par voie orale.

➤ **Détermination de la glycémie :**

Durant la période de traitement, la glycémie a été mesurée pendant les jours (0, 5, 10, 15, 20) à l'aide d'un appareil glucomètre (BIONIME GM550). En effectuant une petite incision dans la partie finale de la queue sur les rats non anesthésiés après qu'il doit être désinfecté par l'alcool.

La glycémie est exprimée en **mg/dl**.

Jour 0 : un jour avant commencer le traitement.

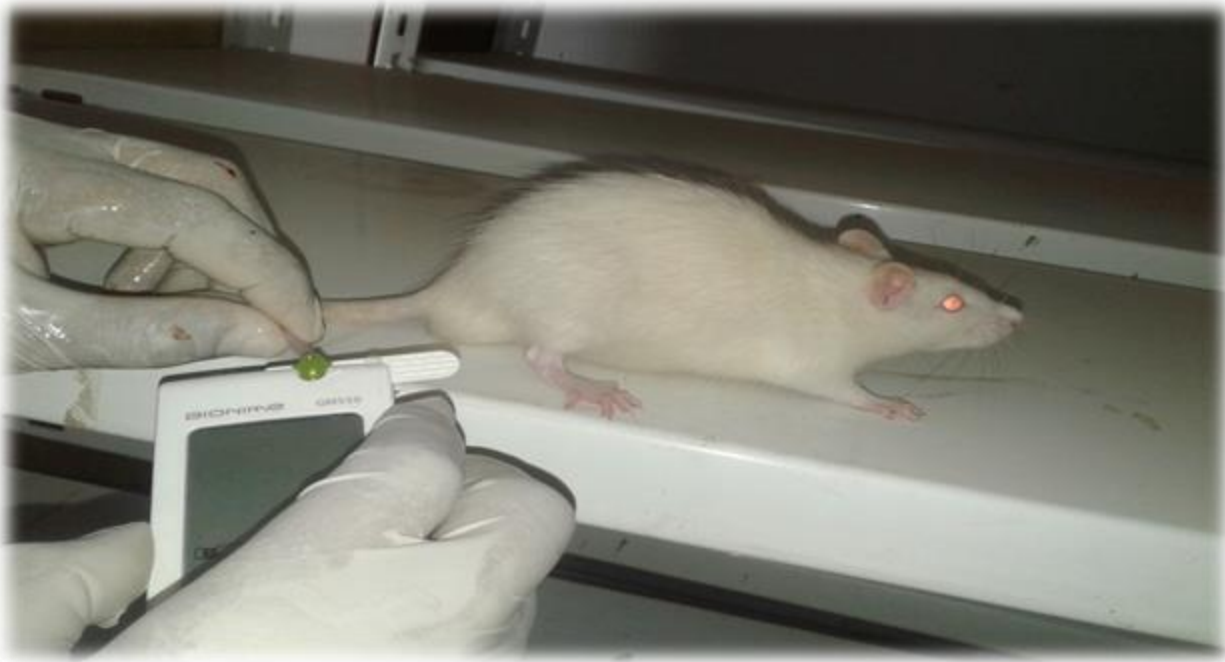


Figure 11 : mesurer la glycémie sur une incision dans la partie finale de la queue.

➤ **E) Détermination de poids corporel :**

Pendant la période d'expérience, le poids corporel et la croissance des rats sont suivis pendant les jours (0, 5, 10, 15, 20).

Le poids est mesuré à l'aide d'une balance en gramme (g) et le taux de croissance des rats par rapport au poids basale est exprimé en % et calculé selon la formule suivante :

$$\text{Taux de croissance (\%)} = \frac{P_j - P_o}{P_o} \times 100$$

P_o : poids basale (poids de jour = 0).

P_j : poids de jour (5, 10, 15, 20).



Figure 12 : mesurer le poids corporal.

IV.4 Analyses statistiques :

Toutes les expériences ont été réalisées trois fois, Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart types, L'analyse statistique a été réalisée avec XLSTAT. La comparaison des moyennes est effectuée par le test de Kruskal-Wallis et le test de Student avec un niveau de signification statistique fixé.

Le degré de signification des résultats est pris à la probabilité ($p < 0,05$).



Chapitre V : Résultat Et Discussion

Chapitre V : *Résultat et Discussion*

V.1 Introduction :

Dans ce chapitre, nous allons aborder en récapitulant tous les résultats que nous avons obtenus à savoir :

- ✓ Détermination du taux d'humidité des feuilles de *Rosmarinus officinalis* ;
- ✓ Préparation des extraits bruts de *Rosmarinus officinalis* ;
- ✓ Etude qualitative et quantitative des extraits bruts de *Rosmarinus officinalis* ;
- ✓ Etude de l'activité antioxydant des extraits végétaux de la plante *in vitro* ;
- ✓ Etude de l'activité antidiabétique des extraits végétaux de la plante *in vivo*.

V.2 Détermination du taux d'humidité :

les résultats de séchage sont présentés dans le tableau 4 et la figure 13 :

Tableau 4 : Taux d'humidité des feuilles du *Rosmarinus officinalis*.

M_o(g)	M_i(g)	H(%)
5	4,4	12

Le résultat d'analyse de notre échantillon a révélé que la teneur d'humidité des feuilles du *Rosmarinus officinalis* est de 12 %.

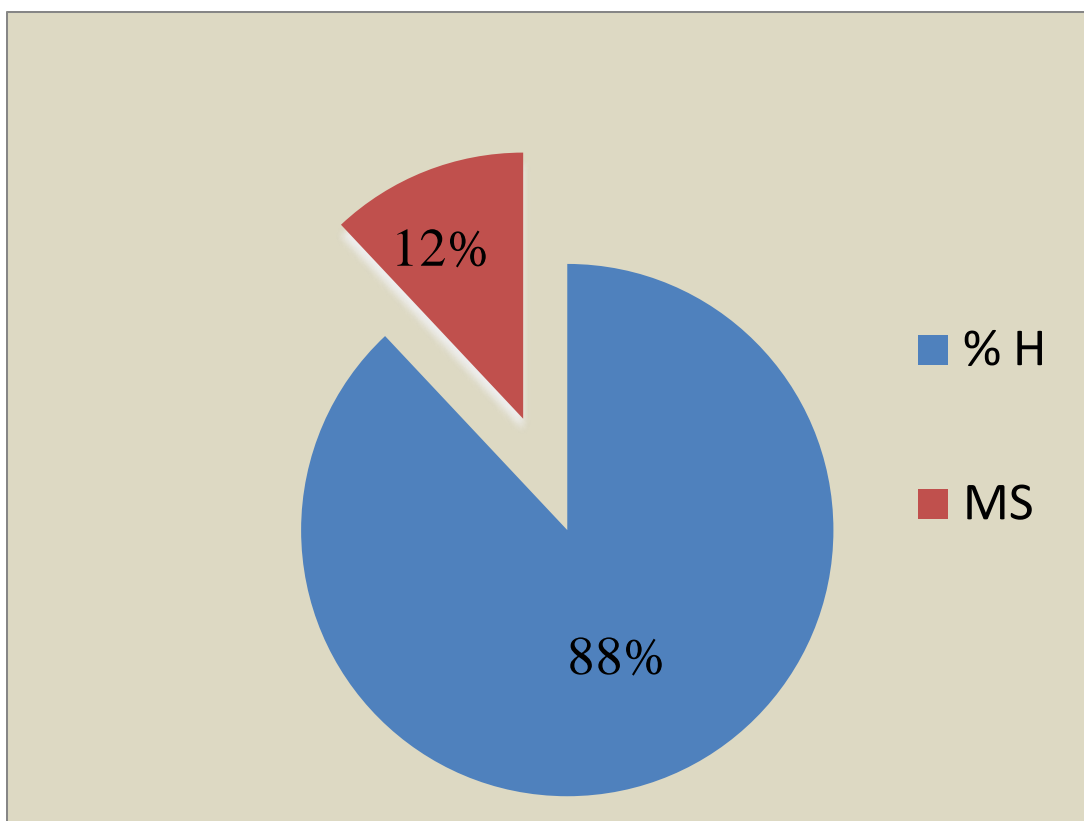


Figure 13 : Taux d'humidité et de matière sèche de l'échantillon étudié.

La figure 13 montre que les feuilles de *Rosmarinus officinalis* dans la région de Miliana ont un taux d'humidité 12% qui correspond à 88% de matière sèche(MS).

La teneur en eau dans les feuilles du romarin est 40% selon **Albu et al., (2004)**, cette teneur diffère de façon remarquable avec nos résultats.

La différence des teneurs de nos échantillons en eau comparées à celles de travaux antérieurs, peuvent être dues à certains facteurs écologiques, l'âge de la plante, la période du cycle végétatif, ou même à des facteurs génétiques (**Albu et al., 2004**).

V.3 Détermination du rendement :

Les résultats de cette manipulation sont représentés dans le **tableau 5** :

Tableau 5 : Rendement des extraits hydroéthanolique et éthanolique du *RO*.

Extrait	éthanolique	hydro-éthanolique
R(%)	6.56±0,05	10.04±0,02

L'analyse statistique révèle une différence significative ($p < 0,05$) entre le rendement éthanolique et hydroéthanolique.

L'extrait hydro-éthanolique représente un rendement plus élevé (**10.04±0,02%**) par rapport à l'extrait éthanolique (**6.56±0,05%**), en comparant avec d'autres chercheurs, nos valeurs sont plus élevées par rapport à Kasparaviciene et ces collaborateurs, (2013) qui ont enregistré un rendement de $1.7 \pm 0.06\%$ pour l'extrait éthanolique et $2.2 \pm 0.06\%$ pour l'extrait hydro-éthanolique.

Le rendement d'extraction dépend de plusieurs paramètres tels que: le solvant, le pH, la température, le temps d'extraction et la composition de l'échantillon (**Quy-Diem et al., 2014**).

L'utilisation combinée de l'eau et du solvant organique peut faciliter l'extraction des substances chimiques qui sont solubles dans l'eau et/ou dans le solvant organique (**Quy-Diem et al., 2014**).

V.4 Etude phytochimique :

Les tests phytochimiques consistent à déterminer les différents composés existant dans les extraits de la plante par des réactions qualitatives, Ces dernières sont basées sur des phénomènes de précipitations ou de colorations par des réactifs spécifiques à chaque famille de composés, les résultats sont résumés dans le tableau 6 :

CHAPITRE V : RESULTAT ET DISCUSSION

Tableau 6 : Résultats de test phytochimique des différents extraits du *Rosmarinus Officinalis*.

Métabolite secondaire	Réactifs	Extraits		
		aqueux	éthanolique	hydroéthanolique
Flavonoïdes	Acétate de plomb	+	+	+
Tannins	FeCl ₃	+	+	+
Quinones	Solution de soude	+	+	+
Stérols	Anhydride acétique + H ₂ SO ₄	-	-	-
Alcaloïdes	Wagner	-	+	+
Sucres réducteurs	Fehling	-	-	-

(+) présence ; (-) absence.

D'après nos résultats, nous avons enregistré une présence des flavonoïdes, des tanins, des quinones dans les trois extraits, avec absence des stérols et des sucres réducteurs, alors que pour les Alcaloïdes sont présents que dans les extraits éthanolique et les extraits hydro-éthanolique.

Selon **Gonzalez-Trujano et al., (2007)**, le test phytochimique de l'extrait éthanolique et hydro-éthanolique de romarin a indiqué la présence des flavonoïdes, des tannins, des Quinones, des Alcaloïdes et l'absence des Stérols, des Sucres réducteurs.

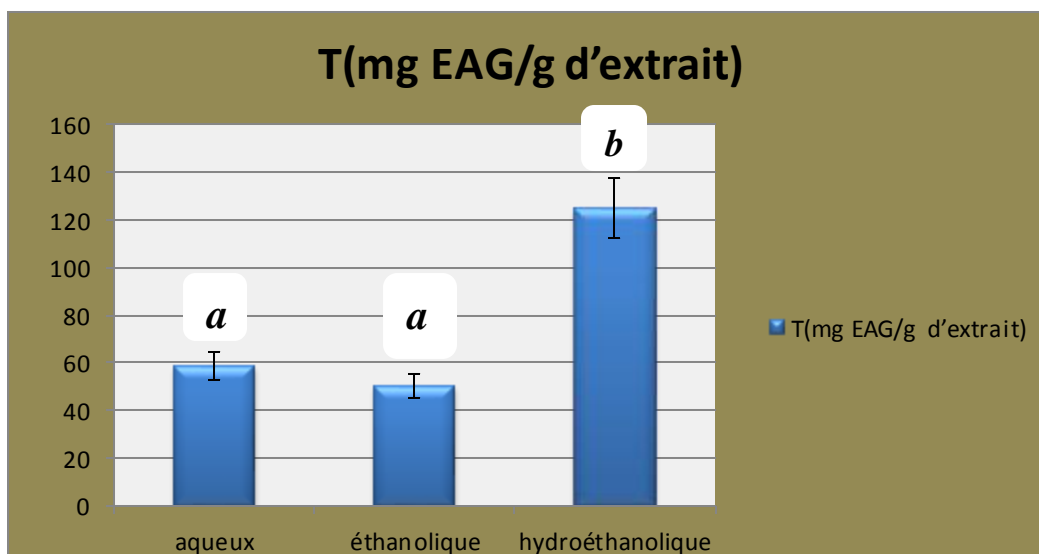
V.5 Teneurs en polyphénols totaux :

La teneur en composés phénoliques obtenus à partir les extraits bruts a été estimée grâce à une courbe d'étalonnage réalisée avec un extrait de référence, l'acide gallique à différentes concentrations. La courbe d'étalonnage est établie avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0,9954$. (ANNEX 1).

Les résultats sont représentés sur le tableau 7 et la figure 14, exprimés en mg équivalent en acide gallique par g d'extrait (**mg EAG/g d'extrait**).

Tableau 7 : Résultats de la teneur en composés phénoliques totaux dans les extraits.

Extrait	aqueux	éthanolique	hydroéthanolique
Teneur (mg EAG/g d'extrait)	59,04 ± 0,03	50,31 ± 0,22	125,17 ± 0,02



*Les mêmes lettres indiquent que la différence n'est pas significative ($p < 0,05$).

Figure 14 : teneurs des polyphénols totaux de chaque extrait.

D'après la **figure 14** et le **tableau 7** on a constaté que le taux des polyphénols totaux varient de **50,31 ± 0,22** à **125,17 ± 0,02** mg EAG/ g d'extrait.

L'analyse statistique révèle une différence significative ($p < 0,05$) entre le taux de polyphénols totaux de l'extrait **hydro-éthanolique** et les deux autre extraits (**aqueux** et **éthanolique**).

La teneur en polyphénol totaux le plus élevé a été enregistré par l'extrait hydro-éthanolique avec une teneur de **125,17 ± 0,02** mg EAG /g d'extrait, suivis d'extrait aqueux avec une teneur de **59,04 ± 0,03** mg EAG /g d'extrait, alors que pour l'extrait éthanolique nous avons opté une teneur de **50,31 ± 0,22**mg EAG/g d'extrait.

Nos résultats ne sont pas en accordance avec ceux de **Kasparaviciene et al., (2013)**, l'extrait hydro-éthanolique de **49 ± 1.05** mg EAG/g d'extrait et l'extrait éthanolique de **17.5 ± 0.36** mg EAG/g d'extrait. Cette différence due à certains facteurs écologiques, l'âge de la plante, la période du cycle végétatif, ou même à des facteurs génétiques et aussi le taux d'humidité de la plante.

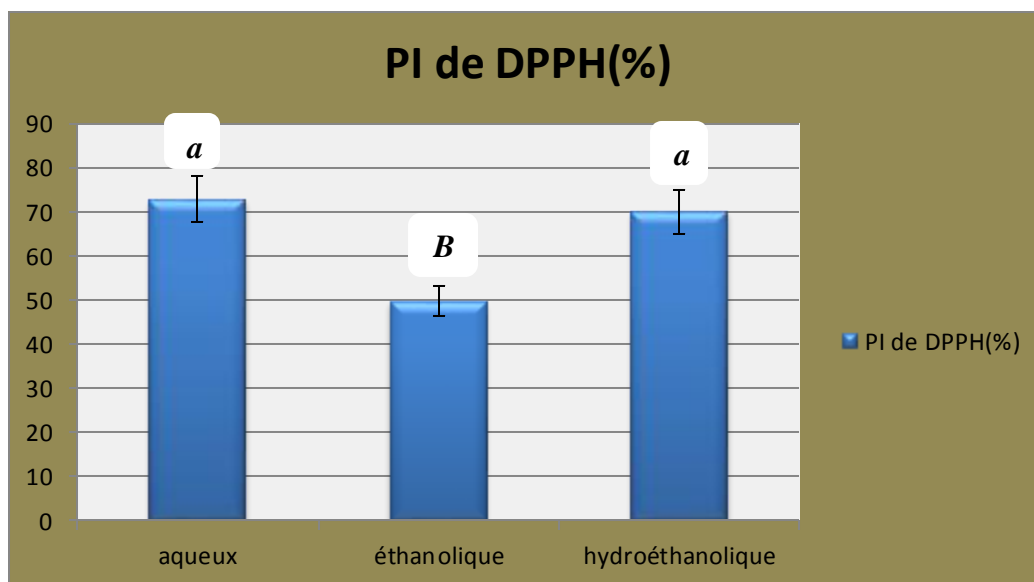
La teneur de notre extrait aqueux est plus élevée à celle de **Mehrzi et al., (2012)** dont ils ont estimé une teneur de **17.09** mg EAG/g d'extrait.

V.6 Activité antioxydante :

Les résultats de l'activité anti radicalaire au DPPH sont illustrés sur le tableau 8 et la figure 15 :

Tableau 8 : les absorbances des extraits et sont pourcentages d'inhibition de radicale DPPH.

Extrait	aqueux	éthanolique	hydroéthanolique
Absorbance	0,414 ± 0,004	0,766 ± 0,005	0,456 ± 0,003
PI de DPPH	72,83 ± 0,04 %	49,74 ± 0,24 %	70,08 ± 0,14 %



*Les mêmes lettres indiquent que la différence n'est pas significative ($p < 0,05$).

Figure 15 : pourcentage d'inhibition de radicale DPPH de chaque extrait.

L'activité antiradicalaire de nos différents extraits varie entre $49,74 \pm 0,24$ % et $72,83 \pm 0,04$ %.

Les analyses statistiques ont montré une différence non significative ($p < 0,05$) entre le PI de l'extrait **aqueux** et l'extrait **hydro-éthanolique**, avec une différence significative ($p < 0,05$) entre l'extrait **éthanolique** et les deux autres extraits (**aqueux** et **hydro-éthanolique**).

L'extrait aqueux et l'extrait hydro-éthanolique ont exercé le meilleur pouvoir anti-radicalaire avec inhibition de $72,83 \pm 0,04$ et $70,08 \pm 0,14$ %, respectivement, alors que l'extrait éthanolique a exercé la plus faible activité anti-radicalaire $49,74 \pm 0,24$ %.

Les résultats obtenus par nos extraits **éthanolique** et **hydro-éthanolique** sont inférieures à ceux de **Kasparaviciene et al., (2013)** $78 \pm 2,15$ % et $80 \pm 3,15$ % respectivement.

Une étude a montré que l'extrait aqueux a inhibé le radical DPPH avec un pourcentage de **85,5%** (**Makhloufi, 2011**) ce dernier est plus élevé par rapport à celle que nous avons trouvée.

Les composés phénoliques peuvent manifester un fort pouvoir antioxydant *in vitro*, ils piègent directement les espèces réactives d'oxygène (**Miguel, 2010**).

Divers modèles d'essai expérimentaux ont été employés pour la caractérisation des propriétés anti-oxydantes des extraits aqueux, de quatre herbes appartenant à la famille de lamiacée : *Origanum vulgare*, *Rosmarinus officinalis*, *Salvia officinalis* et *Thymus vulgaris*. Les extraits ont montré des degrés variables d'activité dans tous les essais utilisés (**Dorman et al., 2003**).

Plusieurs chercheurs ont étudié les extraits du romarin comme antioxydants pour conserver les produits à base de viande : (**Fernandez-Lopez et al., 2005 ; Sebranek et al., 2005 ; Balentine et al., 2006**) et les huiles végétales (**Samotyja et Malecka, 2007**).

V.7 Activité antidiabétique :

La recherche de l'effet antihyperglycémiant de nos extraits a été réalisée sur des rates Wistar

➤ L'induction de diabète :

L'induction du diabète expérimental dans des modèles animaux est essentielle pour la promotion de la connaissance et la compréhension des divers aspects de la pathogénie, dont le but final est la mise au point de nouvelles thérapies (**Pinheiro et al., 2011**).

L'alloxane provoque le diabète chez les animaux par sa capacité à détruire les cellules bêta productrices d'insuline du pancréas, il inhibe les enzymes thiol-dépendants telles que la glucokinase et l'hexokinase (**Jorns et al., 1997**).

L'alloxane induit la formation d'espèces réactives de l'oxygène (des radicaux superoxydes, le peroxyde d'hydrogène et des radicaux hydroxyles), l'action des espèces réactives de l'oxygène avec une augmentation massive simultanée de concentration de calcium cytosolique provoque la destruction rapide de la cellule β (**Jorns et al., 1997**).

➤ Evolution de la glycémie :

La glycémie a été suivie durant 20 jours, après l'administration des extraits par voie orale.

Les résultats sont représentés dans la figure 16.

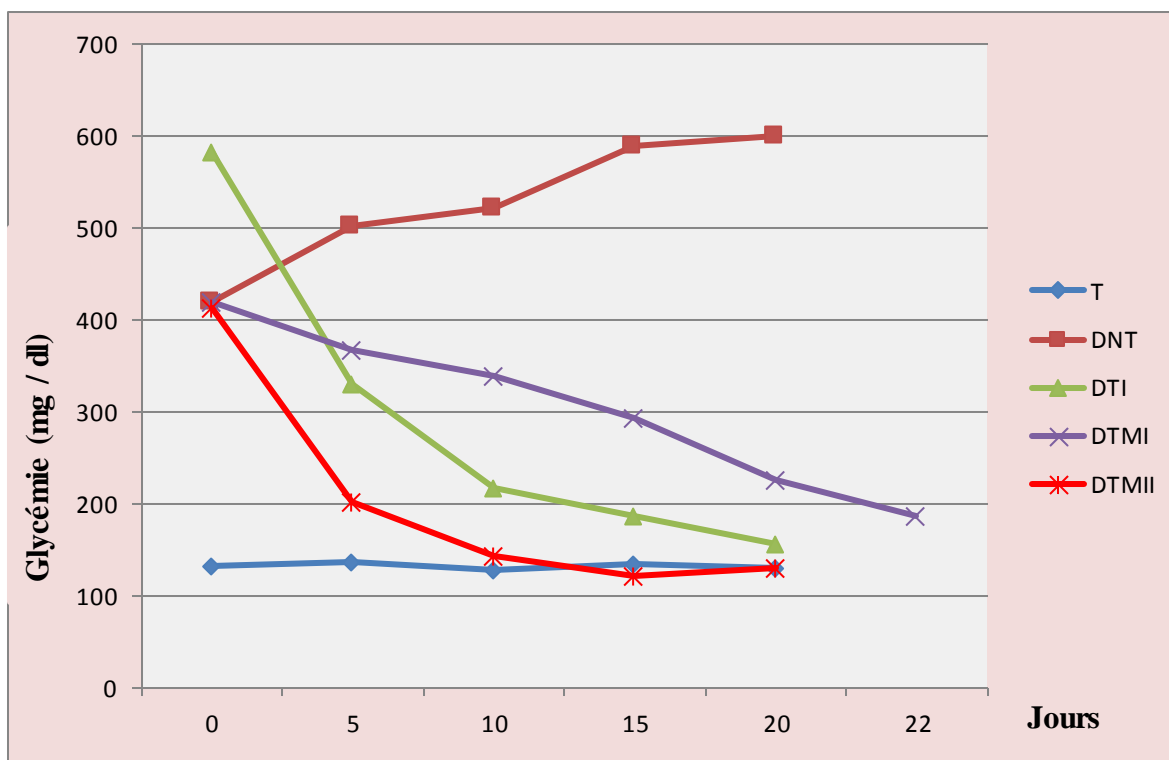


Figure 16 : Variation de la glycémie chez les différents lots des rats pendant 20jours.

Les analyses statistiques ont montré une différence significative ($p < 0,05$) chez les rats témoins (**T**) et les trois lots traité (**DTI**, **DTMI** et **DTMII**), une différence significative ($p < 0,05$) entre les trois lots diabétique traités (**DTI**, **DTMI** et **DTMII**), et le lot non traité (**DNT**). Par contre, aucune différence significative ($p < 0,05$) entre les trois lots traités (**DTI**, **DTMI** et **DTMII**).

La glycémie ne présente aucune variation significative ($p > 0,05$) chez les rats témoins (**T**), elle est varié de 129 ± 2 à $137 \pm 1,5 \text{ mg / dl}$ durant les 20 jours d'expérimentation.

De plus, nous avons noté un effet hypoglycémique significative ($p < 0,05$) par rapport à la glycémie basale chez les trois lots traité (**DTI**, **DTMI** et **DTMII**).

Nous avons constaté une augmentation significative ($p < 0,05$) de la glycémie chez les rats diabétique non traité (**DNT**) par rapport à la glycémie basale, de $420 \pm 11,18$ à $600 \pm 3 \text{ mg / dl}$ durant les 20 jours d'expérimentation.

L'effet antihyperglycémique de l'extrait aqueux et l'extrait hydroéthanolique était plus intense et prolongé que celui de l'extrait éthanolique, Il est également intéressant de mentionner que,

malgré l'hyperglycémie réduite, les niveaux de glucose sanguin chez les rates diabétiques traitées par l'extrait éthanolique étaient encore plus élevés jusqu'au jour 22 à une glycémie 187mg/dl.

Il existe des rapports scientifiques sur l'effet antidiabétique de l'extrait de romarin qui démontre que l'infusion de la plante a un effet hypoglycémiant (**Erenmemis-oglu et al., 1997**).

L'extrait éthanolique de romarin à 200mg/kg par voie orale a un rôle déterminé dans la diminution du taux de glucose dans le sang chez des lapins normoglycémiques, glucose-hyperglycémiques et diabétiquesalloxan-induits(**Fadi, 2011**)

Dans une étude antérieure, il a été suggéré que 50% de l'extrait éthanolique de romarin peut jouer un rôle dans le contrôle de l'absorption du glucose diététique au niveau de l'intestin par inhibition de l'activité d' α -Glucosidase intestinal (**Kaga et al., 2006**).

D'après ces résultats, les extraits de romarin produit son activité hypoglycémiante par un mécanisme indépendant de la sécrétion de l'insuline, peut-être par l'inhibition endogène de la production du glucose (**Eddouks et al., 2003**) ou par l'inhibition de l'absorption intestinale du glucose (**Platel et Srinivasan, 1997**).

Le traitement à long terme de diabète avec de fortes doses de l'extrait de romarin a diminué la peroxydation des lipides (LPO) d'où l'action antioxydante du romarin. Plusieurs études indiquent que les composés responsables de l'activité antioxydative du romarin sont principalement des diterpènes phénoliques tel que l'acide carnosique, le carnosole et la rosmanol (**Hars et al., 2000**), aussi que d'acides phénoliques, tel que l'acide rosmarinique et l'acide caféique, Il est possible que l'action synergiques de ces composés mène à une forte action antioxydante (**Perez et al., 2007**).

➤ Evolution du poids corporel :

Afin de déterminer l'influence de nos extraits sur le poids corporel et la croissance des rats, nous avons suivi l'évolution du poids corporel, des rates périodiquement tout au long de l'expérimentation

Les résultats de suivi du poids corporel et le taux de croissances sont représentés dans le tableau 9 et la figure 17.

CHAPITRE V : RESULTAT ET DISCUSSION

Tableau 9 : Valeurs du poids corporel et taux de croissances chez les rats pendant 20 jours.

Lot	poids basale (g)	Evolution du poids corporel (g) ± écart type			
		(Taux de croissance en %)			
		J=0	J=5	J=10	J=15
T	140 ±2,6	147 ±2,9 (+5%)	153 ±3 (+9,28%)	160 ±1,7 (+14,28%)	169,4 ±7,1 (+21%)
DNT	149 ±1	145 ±4,6 (-2,68%)	143 ±3,3 (-4,03%)	136 ±1,4 (-8,72%)	130 ±2 (-12,75%)
DTI	133,8 ±3,2	130 ±1,1 (-2,84%)	132,3 ±02 (-1,12%)	135,1 ±2,1 (+0,97%)	139,5 ± 0,5 (+4,26%)
DTMI	104,9 ±1,9	117 ±3,3 (+11,53%)	122,5 ±3,6 (+16,78%)	123,5 ±1,3 (+17,73%)	125 ±1,9 (+19,16%)
DTMII	137,5 ±4,5	156,15 ±3,15 (+13,34%)	168,5 ±3,6 (+22,54%)	171,8 ±1,8 (+24,95%)	172,25 ±1,25 (+25,27%)

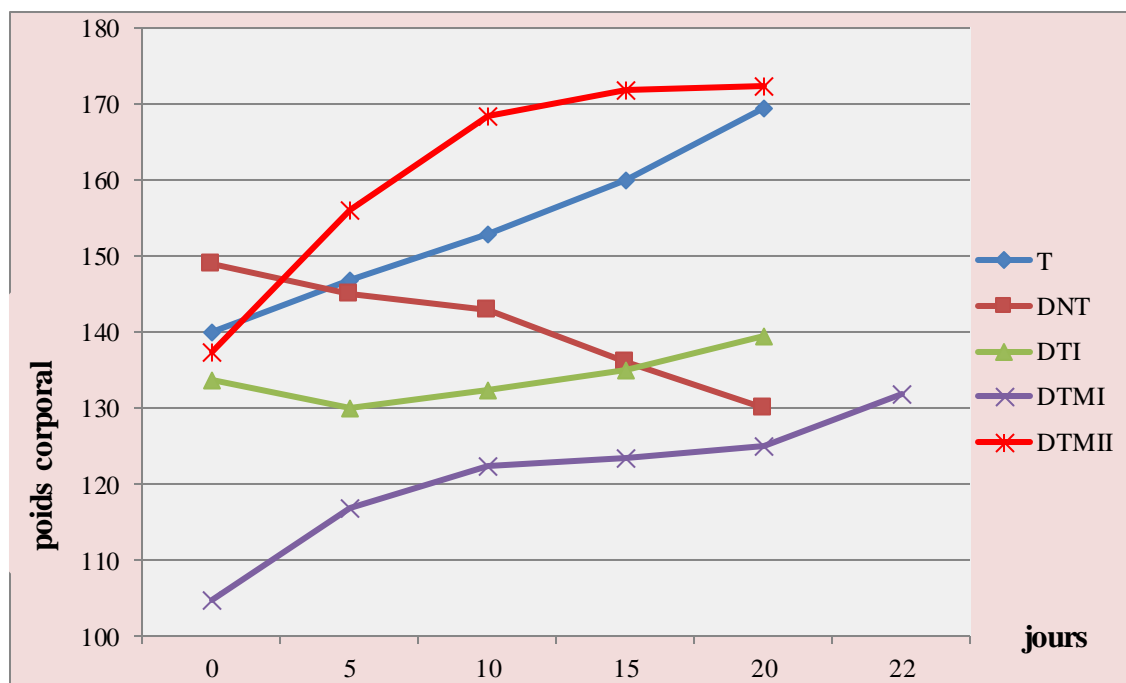


Figure 17 : Variation de poids corporal chez les différents lots des rats pendant 20 jours.

Une diminution de croissance d'ordre de **-12,75%**(de 149g à 130g) est clairement remarquée chez les rats diabétiques non traité (**DNT**) durant les 20 jours d'expérimentation.

Par contre, nous avons noté un retour de croissance régulière (dépassent les 4% au 20ème jour) chez les rats diabétique traité par l'extrait aqueux (**DTI**), après une chute du poids corporel dans le 5ème et le 10ème jour d'ordre de **-2,84** et **-1,12%** respectivement.

De plus, les rats témoins (**T**), les rats traités par l'extrait éthanolique (**DTMI**) et les rats traités par l'extrait hydroéthanolique (**DTMII**) ont montré une croissance régulière tout le long de l'expérimentation.

De même, **Sathishsekar et Subramanian, (2005)** et **Taleb-Senouci et al., (2009)** ont aussi enregistré des résultats similaires et suggèrent que la perte du poids corporel chez le groupe diabétique non traité peut être expliquée par le résultat du catabolisme des lipides et des protéines structuraux dû au manque des hydrates de carbone qui ont été utilisés comme source d'énergie.



Conclusion

Conclusion:

Dans cette étude, nous nous sommes intéressés à l'extraction et à la récupération des extraits du *Rosmarinus officinalis* de la région de Miliana (Wilaya de Ain Defla), par deux méthodes (infusion et macération).

Les tests phytochimiques ont révélés la présence de différentes familles de composés chimiques tels que les Flavonoïdes, les Tannins, les Tannins et l'absence des Stérols, des Sucres réducteurs.

Les extraits des feuillets de la plante ont permis d'obtenir des rendements différent en fonction des solvants utilisés, alors que dans les trois différents extraits Nous avons constaté que les trois sont riches en métabolites secondaires, en particulier en polyphénols avec des teneurs qui varient entre **50,31 ± 0,22mg** à **125,17 ± 0,02mg** d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait.

L'activité antioxydante des extraits, a été déterminée par la méthode DPPH, Il ressort que tous les extraits montrent de l'activité antiradicalaire intéressante qui dépend de leur contenu élevé en polyphénols totaux ainsi que de leurs différentes structures, les extraits sont exercés un pouvoir anti-radicalaire du radical DPPH' avec des pourcentages d'inhibition de **72,83 ± 0,04** l'extrait aqueux, de **70,08 ± 0,14%** l'extrait hydroéthanolique et de **49,74 ± 0,24 %** l'extrait éthanolique.

L'alloxane, est une molécule d'induction expérimentale du diabète et que nous avons utilisé. Il a montré l'installation d'un syndrome diabétique à une dose de **150 mg/kg** chez des rats non diabétiques et se caractérise par une augmentation du taux de la glycémie avec chute du poids corporel. Mais, Nous avons pu mettre en évidence que les extraits aqueux et éthanolique et hydroéthanolique des feuillets de Romarin entraînent ont un effet hypoglycémiant et un signe de rétablissement du poids corporel.

À partir de ces résultats, on peut conclure que l'étude de l'activité biologique des extraits (aqueux, éthanoliques, hydroéthanolique) de *Rosmarinus officinalis*. Suggèrent que, cette plante représente une source naturelle et prometteuse de molécules chimiques qui possède des activités biologiques très importantes, cette activité était diffère que l'extrait a une autre selon la méthode

et/ou solvant d'extraction qui influencent sur la nature des composés présents dans les trois extraits et leur efficacité sur l'activité biologiques.

En perspective, notre travail nécessite d'autres études complémentaires tels que :

- ✓ Identifier, caractériser, et séparer les différents constituants des extraits par d'autres méthodes: Chromatographie sur colonne, HPLC,
- ✓ Dosage des paramètres plasmatiques (Triglycéridémie, cholestérolémie, hémoglobine glycosylé, transaminases, urée, créatinine, ...) et urinaire (glycosurie, protéinurie, cétonurie,...).
- ✓ Faire des coupes histologiques au niveau du pancréas.
- ✓ Etude de l'effet toxique chronique de ces extraits.



Références Bibliographiques

Références Bibliographiques

- Adwan G, Abu-Shanab B, Adwan K, Abu-Shanab F. (2006).** Antibacterial Effects of Nutra ceutical Plants Growing in Palestine on *Pseudomonas aeruginosa*. *Turk J. Biol*, p: 239.
- Alberti K, Zimmet P. (1998).** Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. *J. Diabet Assoc*, **15**(7): 539–53.
- Albu S, Joyce E, Paniwnyk L, Lorimer J, Mason T. (2004).** Potential for the use of ultrasound in the extraction of antioxidants from *Rosmarinus officinalis* for the food and pharmaceutical industry. *Ultrasonics Sonochemistry*, **11**: 261-265.
- AL Namer-Rachad M. (2014).** Valorisation pharmacologique de *Rosmarinus officinalis* et de *lavandula officinalis*: toxicité aiguë, potentiel psychotrope et antibactérien. Thèse doctorat, Université Mohamed v-Agdal, Rabat.
- Al-Sereitia M, Abu-Amerb K, Sera P. (1999).** Pharmacology of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) and its therapeutic potentials. *J. Indian*, **37**: 124-131.
- Altinier G, Sosa S, Aquino R, Mencherini T, Loggia R, Tubaro A. (2007).** Characterization topical anti-inflammatory compounds in *Rosmarinus officinalis* L. *J. Agri. Food Chemistry*, **55**: 1718-23.
- Anton R. (1999).** Plantes thérapeutiques, tradition, pratique officinales, science et thérapeutique. Edition française.
- Azzi R. (2007).** Contribution à la recherche des effets antidiabétiques des alcaloïdes et glycosides cucurbitacines extraits des graines de coloquinte (*Citrullus colocynthis*) chez le rat rendu diabétique par la Streptozotocine. Mémoire de Magister en Biochimie, Département de Biologie, Faculté des sciences, Université de Tlemcen, Algérie.
- Bahorun T, Gressier B, Trotin F, Brunet C, Dine T, Luyckx M, Vasseur J, Cazin M, Cazin C, Pinkas M. (1996).** Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arznei Forschung*, **46**: 1086-1089.
- Bakirel T, Bakirel U, Keles O, Ulgen S, Yardibi H. (2008).** In vivo assessment of antidiabetic and antioxidant activities of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) in alloxan- diabetic rabbits. *J Ethnopharmacol*, **116**: 64-73.
-

Références Bibliographiques

- Balentine C, Crandall P, O'Bryan C, Duong D, Pohlman F. (2006).** The pre- and post-grinding application of rosemary and its effects on lipid oxidation and color during storage of ground beef. *Meat Science*, **73**: 413-421.
- Barouki R (2006).** Stress oxydant et vieillissement. *Médecine/sciences*, **22**: 266-272.
- Bartels M (1997).** Guide des plantes du Bassin méditerranéen, *Edition Ulmer*, p : 6.
- Benbouali M. (2005).** Valorisation des extraits de plantes aromatiques et médicinales de *Mentha rotundifolia* et *tuynun vulgaris*. Mémoire de magister, Université H.H.B, Chlef, Algérie.
- Belakhdar J. (1997).** La pharmacopée marocaine traditionnelle. Edition Idis Press Paris, p: 764.
- Bellakhdar J. (2006).** Précis de phytothérapie moderne: plantes médicinales au Maghreb et soin de base. Edition le fennec, p: 294-295.
- Beloued A. (1998).** Plantes médicinales d'Algérie. 2^{ème} Edition, Office des publications.
- Bonnefont-Rousselot D, Beaudoux J, Therond P, Perynet J, Legrand A, Delattre J. (2004).** Diabète sucré, stress oxydant et produits de glycation avancée. *Ann Pharm*, Fr, **62**: 147-157.
- Bonnier .G. (1934).** Flore complète de France, suisse et Belgique. *Paris Arlhac*, **119**(9): 39.
- Boumaza D. (2011).** Séparation et caractérisation chimique de quelques biomolécules actives de deux plantes médicinales : *Inula viscosa*, *Rosmarinus officinalis* de la région d'Oran. Thèse de magister, Université d'Oran, Algérie.
- Bourkhiss M, Hnach M, Bourkhiss B, Ouhssine M, Chaouch A, Satrani B.(2009).** Effet de séchage sur la teneur et la composition chimique des huiles essentielles de *Tetraclinis articulata* (Vahl). Masters. AgroSolutions, **20**(1): 45-48.
- Boussaid M, Ben Fadhel N, Ben M'hamed M. (1998).** Structure of vegetation in Northern and Central Tunisia and Protective Measures. *J. Mediter*, **38**: 295-302.
- Brand-Williams W, Cuvelier M, Berset C. (1995).** Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity, *Lebensm.-Wiss. U Technol*, **28**: 25-30.
- Bruneton J. (1993).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 1^{ème} Edition, Lavoisier, Paris.
-

Références Bibliographiques

- Bruneton J. (1999).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3ème Edition, Lavoisier, Paris.
- Chan E, Lim Y, Wong L, Lianto F, Wong S, Lim K, Joe C, Lim T. (2008).** Antioxidant and tyrosinase inhibition properties of leaves and rhizomes of ginger species. *Food Chemistry*, **109**: 477–483.
- Charbonnel B, Cariou B. (1997).** Diabète non insulino-dépendant et indications thérapeutiques. *Médecine thérapeutique*, **3**: 103.
- Cheang S, Tai J. (2007).** Anti-proliferative and antioxidant properties of rosemary (*Rosmarinus officinalis*. L). *On. Cal. Rep*, **17**: 1525-31.
- Cu J. (1990).** Extraction de compositions odorantes végétales par divers solvants organiques. Thèse de l'Institut Nationale Polytechnique. Toulouse, France.
- Curtay J, Robin M. (2000).** Intérêt des complexes antioxydants. *J. Ethnopharmacol*, **203**: 82.
- Delaveau P. (1987).** Les épices, histoire, description et usage des différents épices, aromates et condiments. *Paris*: Edtion albin michel, p: 371.
- Dhanabal S, Mohan M, Raja M, Ramanathan M, Suresh B. (2007):** Hypoglycemic activity of *Nymphaea stellata* leaves ethanolic extractin alloxan induced diabetic rats. *Fitoterapia*, **78**: 288–291.
- Dias P, Foglio M, Possenti A, Carvalho J. (2000).** Antiulcerogenic activity of crude hydroalcoholic extracts of *Rosmarinus officinalis* L. *J. Ethnopharmacol*, **69**: 57-62.
- Diatewa M, Samba C, Assah T, Abena A. (2004).** Hypoglycemic and antihyperglycemic effects of diethyl ether fraction isolated from the aqueous extract of the leaves of *Cogniauxia podoleana* Baillon in normal and alloxan-induced diabetic rats. *J Ethnopharmacology*, p: 92-229.
- Dorman D, Peltoketo A, Hiltunen R, Tikkanen M. (2003).** Characterisation of the antioxidant properties of de-odourised aqueous extracts from selected *Lamiaceae* herbs. *Food Chemistry*, **83**: 255-262.
-

Références Bibliographiques

Eddouks M, Jouad H, Maghrani M, Lemhadri A, Burcelin R. (2003). Inhibition of endogenous glucose production accounts for hypoglycemic effect of *Spergularia purpurea* in streptozotocin mice. *Phytomedicine*, **7**: 594–599.

Emberger L. (1960). Traité botanique fascicule II. *Masson*, p: 335.

Erenmemi-oglu A, Saraymen R, Ustun H. (1997). Effect of *Rosmarinus officinalis* leaves extract on plasma glucose levels in normoglycaemic and diabetic mice. *Pharmazie*, **52**: 645–646.

Fadi Z. (2011). Le Romarin '*Rosmarinus officinalis*' le bon procédé d'extraction pour un effet thérapeutique optimal. Thèse de doctorat, Université Mohammed V-Rabat, Maroc.

Falleh H, Ksouri R, Chaieb K, Karray-Bouraoui N, Trabelsi N, Boulaaba M, Abdelly C. (2007). Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L: organs and their biological activities. *Compt, Rend. Biol*, **331**: 372-379.

Fernandez-Lopez J, Zhi N, Aleson-Carbonell L, Perez-Alvarez J, Kuri V. (2005). Antioxidant and antibacterial activities of natural extracts: application in beef meatballs. *Meat Science*, **69**: 371-380.

Frank S, Amelio S, Botanicals D. (1990). *Phytocosmetic* C.R.C. Press Boca Raton, London, p: 5-6.

Gachkar L, Yadegari D, Bagher MR, Taghizadeh M, Staneh SA, Rasooli I. (2007). Chemical and biological characteristic of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. *Food. Chemistry*, **102**: 898-904.

Gilly G. (2005). Les plantes aromatiques et les huiles essentielles à Grasse (botanique, culture, chimie, production) *L'Harmatan*, Paris, p: 10-22.

Gonzalez-Trujano ME, Pena E, Martinez A, Morenol J, Guevara-Fefer P, Déciga-Campos M. (2007). Evaluation of the antinociceptive effect of *Rosmarinus officinalis* L, using three different experimental models in rodents. *J. Ethnopharmacol*, **111**: 476-82.

Grant G, Harris D, Robert G, Brannan S. (2009). A preliminary evaluation of antioxidant compounds, reducing potential and radical scavenging of pawpaw (*Asimina triloba*) fruit pulp from different stages of ripeness. *Food Science and Technology*, **42**: 275–279.

Références Bibliographiques

- Haloui M, Louedec L, Michel JB, Lyoussi B. (2007).** Experimental diuretic effects of *Rosmarinus officinalis* and *Centaurium erythraea*. *J Ethnopharmacol*, **71**: 465-72.
- Hamia C, Guergab A, Rennane N, Birache M, Haddad M, Saidi M, Yousfi M. (2014).** Influence des solvants sur le contenu en composés phénoliques et l'activité antioxydante des extraits du *rhanterium adpressium*. *Annales des sciences et technologie*, **6**: 1.
- Harbarne J. (1973).** Phytochemical methods. London. Chapman and Hall, p: 49.
- Hras R, Hadolin M, Knez Z, Bauman D. (2000).** Comparison of antioxidative and synergistic effects of *rosemary* extract with *a-tocopherol*, *ascorbylpalmitate* and citric acid in sunflower oil. *J. Food Chemistry*, **71**:220–233.
- Jacob R. (1995).** The integrated antioxidant system. *Nutrition Research*, **15**(5): 755-66.
- Jarald E, Balakrishnan S, Chandra J. (2008).** Diabetes and Herbal Medicines. *Iranian J. pharmacology et therapeutics*, p: 97-106.
- Jorns A, Munday R, Tiedge M, Lenzen S. (1997).** Comparative toxicity of alloxan, Nalkylalloxans and ninhydrin to isolated pancreatic islets in vitro. *J. Endocrinology*, p: 283–293.
- Karumi Y, Onyeyili P, Ogugbuaja V. (2004).** Identification of active principles of *M.balsamina* (Balsam apple) leaf extract. *J. Medical Sciences*, **4**: 179-182.
- Kasparaviciene G, Ramanauskiene K, Savickas A, Velziene S, Kalvèniene Z, Kazlauskiene D, Ragazinskiene O, Ivanauskas K, Ivanauskas K. (2013).** Evaluation of total phenolic content and antioxidant activity of different *Rosmarinus officinalis L*, Ethanolic extracts. *J. Biology*, **59**: 39–44.
- Kharroubi A, Darwish H. (2015).** Diabetes mellitus: The epidemic of the century. *World J Diabetes*, **6**(6): 850–67.
- Koga K, Shibata H, Yoshino K, Nomoto K. (2006).** Effect of 50% ethanol extract rosemary (*Rosmarinus officinalis*) on α -glucosidase inhibitory activity and the elevation of plasma glucose level in rats, and its active compound. *J. Food Science*, **71**: 507–512.
-

Références Bibliographiques

Lawrence B. (1986). Essential oil production, a discussion of influencing factors. *Elsevier science publisher, Amsterdam*, p: 129-140.

Lee W, Lee Y. (2003). Extraction optimization in food engineering, Flavor and aroma substances. Korea Institute of Science and Technology Seoul, Korea, p: 923.

Livingston-Raja N, Sundarana-thavalli S, Jeya-Ananthi J, Nirmala-devi J, Kumarap-pan C, Kumara-guruparan P. (2008). Antihyperglycaemic activity of aqueous extract of *vinca rosea linn* in alloxan induced diabetic rats. *Pharmacology online*, **3**: 354-362.

Lucchesi M, Chemat F, Smadja J. (2004). An original solvent free microwave extraction of essential oils from spices. *J. flavour and fragrance*, **19**: 134–138

Machado D, Bettio L, Cunha M, Capra C, Dalmarco JB, Pizzolatti M, Rodrigues A. (2009). Antidepressant-like effect of the extract of *Rosmarinus officinalis* in mice: involvement of the monoaminergic system. *Prog Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*, **33**(4): 642-50.

Madhavi D. (1996). Food antioxidants. Edition: *CRC PRESS*, p: 361- 460.

Makhloufi A. (2001). Etude des activités antimicrobienne et antioxydante de deux plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de bechar (*Matricaria pubescens* (Desf.) et *Rosmarinus officinalis* L) et leur impact sur la conservation des dattes et du beurre cru. Thèse de doctorat, Université ABOUBAKER BELKAID.

Marc F, Davin A, Delgène-Brenbrahim L, Ferrand C, Baccaunaud M, Fritsch P. (2004). Méthodes d'évaluation du potentiel d'antioxydant dans les aliments. *Médecine/sciences*, (20): 458-463.

Maurice N. (1997). L'herboristerie d'antan à la phytothérapie moléculaire du XXI^e siècle. Ed. *Tec et Doc*, Paris, p: 12-14.

Meddour A, Yahia M, Benkiki N, Ayachi A. (2013). Étude de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits d'un ensemble des parties de la fleur du *Capparis Spinosa* L. *J. Lebanese Science*, **14**: 49-60.

Mehrizi M, Hejazi H, Khoshgoftar A, Dehghani F. (2012). Copper Effects on Growth, Lipid Peroxidation, and Total Phenolic Content of Rosemary Leaves under Salinity Stress. *J. Agr. Sci. Tech*, **14**: 205-212.

Références Bibliographiques

- Merghem R. (2009).** Eléments de biochimie végétale. *Bahaeddine Editions*, p: 95-121
- Miguel M. (2010).** Antioxidant activity of medicinal and aromatic plant. *J Flavour and Fragrance*, **25**: 291-312.
- Moon T, Wilkinson JM, Cavanagh H. (2000).** Anti-parasitic activity of two lavandula essential oils against *Giardia duodenalis*, *Trichomonas vaginalis*, and *Hixamita inflota*. *Parasitol Res*, **99**: 722-8.
- Mojab F, Kamalinejab M, Ghaderi N, Vahidipour H. (2003).** Phytochemical screening of some species of Iranian plants. *Iranian J. Pharmaceutical Research*, p: 77-82.
- Nshimiyimana D, He Q. (2010).** Radical Scavenging Capacity of Rwandan CTC Tea Polyphenols Extracted Using Microwave Assisted Extraction. *Pakistan J. Nutrition*, **9**(6): 589-593.
- Offord A, Macé K, Ruffieux C, Malnoë A, Pfeifer A. (1995).** Rosmary components inhibit benzo [a] pyrene-induced genotoxicity in human bronchial cells. *J. Carcinogenesis*, **16**(9): 2057-2062.
- Oloyede O. (2005).** Chemical Profile of Unripe Pulp of *Carica papaya*. *Pakistan, J. nutrition*, **4**: 379-381.
- Oussou K, Youlou S, Kanko C, Tuebi B, Kanko C, Boti J, Ahibo C, Casanova J. (2010).** Etude Chimique Bio-Guidée de L'huile Essentielle de *Ocimumgratissimum* (*Lamiaceae*). Européen, *J. Scientific*, p: 50-59.
- Özcan M, Chalchat J. (2004).** Aroma profile of eucalyptus. Growing wild in Turkey- Bulge, *J Plant Physiol*, p: 68.
- Park P, Jung W, Nam K, Shahidi F, Kim S. (2001).** Purification and characterization of antioxidative peptides from proteinhydrolysate of lecithin-free egg yolk. *J. the American oil Chemists Society*, **78**(6): 651-656.
- Paris M, Hurabielle M. (1980).** Abrégé de Matière Médicale (Pharmacognosie). Tome 1 Paris
- Pavela R. (2006).** Insecticidal activity of some essential oils against larvae of *Spodoptera littoralis*. *Pharmacol*, **76**: 699-6.
-

Références Bibliographiques

Perez M, Calderon L, Croci C. (2007). Radiation-induced enhancement of antioxidant activity in extracts of rosemary (*Rosmarinus officinalis L.*). *J. Food chemistry*, **104**: 585–592.

Pharmacopée Européenne. (2010). 7e édition Strasbourg, Conseil de l'Europe.

Pincemail J, Meurisse M, Limet R, Defraigne J. (1999). L'évaluation du stress oxydatif d'un individu, une réalité pour le médecin: *Vaisseaux, Cœurs, Poumons*. Edition: *CRC PRESS*, **4(5)**: 12-23.

Pinheiro L, Dutra-Melo A, Andreazzi A, Caires-Júnior L, Costa M, González G. (2011). Protocol of Insulin Therapy For Streptozotocin-Diabetic Rats Based on a Study of Food Ingestion and Glycemic Variation. *Scand. J. Lab. Anim. Sci*, **38(2)**: 117-127.

Platel K, Srinivasan K. (1997). Plant foods in the management of diabetes mellitus: vegetables as potential hypoglycaemic agents. *J. Nahrung*, **2**: 68–74.

Prior R, Wu X, Schaich K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *J. Agricultural and Food Chemistry*, **53(10)**: 4290-4302.

Quezel P, Medail F. (1995). La région circumméditerranéenne, Centre mondial majeur de biodiversité végétale. Institut Méditerranéen d'Ecologie et de la Paléoécologie, France, p: 152-55.

Quy-Diem D, Artik E, Phuong L, Lien H. (2014). Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content and antioxidant activity of *Limnophila aromatic*. *J. food and drug analysis* **22(3)**: 296-302.

Raccach D. (2004). Epidémiologie et physiopathologie des complications dégénératives du diabète sucré. EMC-Endocrinologie. Elsevier SAS, **1**: 29-42.

Ramakrishna A, Ravishankar G. (2011). Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. *Plant Signaling & Behavior*, p: 6.

Rhayour K. (2002). Etude du mécanisme de l'action bactéricide des HE sur *Escherichia coli*, *Bacillus Subtilis* et sur *Mycobacterium phlei* et *Mycobacterium fortuitum*. Thèse de doctorat, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah.Fés, Maroc.

Références Bibliographiques

- Ribéreau-Gayon J, Peynaud E, Sudraud P, Ribéreau-Gayon P. (1982).** Composés phénoliques. In *Traité d'œnologie, sciences et techniques du vin*. Edition Dunod, Paris, p: 173-201.
- Rice-Evans C, Miller N, Paganga G. (1997).** Antioxydant properties of phenolic compound. *Trends Plant Sci*, **2**: 152-159.
- Roede J, Jones D. (2010).** Reactive species and mitochondrial dysfunction: mechanistic significance of 4-hydroxynonenal. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, **51**: 380-390.
- Rota M, Herrera A, Martinez R, Sotomayor J, Jordan M. (2008).** Antimicrobial activity and chemical composition of eucalyptus and eucalyptus essential oils. *Food Control*, p: 681.
- Rozman T, Jersek B. (2009).** Antimicrobial activity of rosemary extracts (*Rosmarinus officinalis L*) against different species of Listeria. *Acta Agriculturae Slovenica*, **93**(1): 51-8.
- Saidj F. (2006).** Extraction de l'huile essentielle d'eucalyptus *numidicus kabylica*. Mémoire de magistère, Université M'Hamed Bougara, Boumerdes.
- Sall J, Pelletier J. (1991).** Les huiles essentielles, synthèse d'aromathérapie et introduction à la sympathicothérapie Frison roche. Edition Paris, p: 152.
- Samotyja U, Malecka M. (2007).** Effects of blackcurrant seeds and rosemary extracts on oxidative stability of bulk and emulsified lipid substrates. *Food Chem*, **104**: 317-323.
- Sathishsekar D, Subramanian S. (2005).** Antioxidant properties of *Momordica Charantia* (bitter gourd) seeds on Streptozotocin induced diabetic rats. *Asia Pacific J. Clinical Nutrition*, **14**(2):153-158.
- Sebranek J, Sewalt V, Robbins K, Houser T. (2005).** Comparison of a natural rosemary extract and BHA/BHT for relative antioxidant effectiveness in pork sausage. *Meat Science*, **69**: 289-296.
- Sedjelmassi A. (1993).** Les plantes médicinales du Maroc. *Najah et el djadida casa*, p: 201-203.
- Serteyn D, Mouithys-Mickalad A, Franck T, Grulke S, Lamy M, Deby C, Deby-Dupont G. (2002).** La nature chimique et la réactivité de l'oxygène. *Annale de Médecine Vétérinaire*, 146,137-53.
-

Références Bibliographiques

- Shaw J, Sicree R, Zimmet, P. (2010).** Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030. *Diabetes Research and Clinical Practice*, **87**(1): 4-14.
- Sotelo-Félix J, Martínez-Fang D, Muriel P, Santillán RI, Castillo D, Yahuca P. (2002).** Evaluation of the effectiveness of *Rosmarinus officinalis* (lamiaceae) in alleviation of carbon tetrachloride – induced acute hepato toxicity in the rat. *J. Ethnopharmacol*, **81**: 145-54.
- Soto-Mendivil E, Moreno-Rodriguez J, Estarrón-Espinosa M, García-Fajardo J, Obledo-Vázquez E. (2006).** Chemical composition and fungicidal activity of the essential oil of *eucalyptus camaldulensis* against *Alternaria citri*. Edition *Gnosis online*, p: 4.
- Spencer A, Rossi JP, Aeschbach R. (2005).** An Evaluation of the antioxidant and antiviral action of extracts of Rosemary and Provençal Herbs. *Food Chem. Toxicol*, **34**: 449-456.
- Summary E. (2012).** Standards of Medical Care in Diabetes. *Diabetes Care*, **35**: S4–10.
- Taleb-Senouci D, Ghomari H, Krouf D, Bouderbala S, Prost J, Lacaille-Dubois M, Bouchenak M. (2009).** Antioxidant effect of *Ajuga reptans* aqueous extract in streptozotocin-induced diabetic rats. *Phytomedicine*, **16**: 623-631.
- Trease E, Evans W. (1987).** Pharmacognosy. Billiars Tindall. London, **13**: 61- 62.
- Twidwell E, Wagner J, Thiex N. (2002).** Use a microwave oven to determine moisture content of forages. A Service of SDSU Extension (Extra n°8077), SDSU, USDA.
- Usher-Smith JA, Thompson M, Ercole A, Walter FM. (2012).** Variation between countries in the frequency of diabetic ketoacidosis at first presentation of type 1 diabetes in children: a systematic review. *Diabetologia*, **55**(11):2878–94.
- Vansant G. (2004).** Radicaux libres et antioxydants : principes de base. *Ed Institut Danone*.
- Wang W, Wu N, Zu Y G, Fu Y J. (2008).** Antioxidant activity of *R.officinalis* L oil compared to its main compounds. *J Food chemistry*, **108**(3): 1019-1022.
- Yamamoto J, Yamada K, Naemura A, Yamashita T, Arai R. (2005).** Testing various herbs for antithrombotic effect. *Nutri*, **21**: 580-7.
-

Références Bibliographiques

Yang J, Gadi R, Paulino R, Thomson T. (2010). Total phenolic, ascorbic acid, and antioxidant capacity of noni (*Morinda citrifolia L.*) juice and powder as affected by illumination during storage. *J. Food chemistry*, **122**(3): 627-632.

Yuerdon M, (2004). La médecine naturelle au service de votre beauté et santé. *Edition suisse*, p: 2-3.

Zeghad N. (2009). Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (*Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité antibactérienne. Thèse de doctorat, Université Mentouri Constantine.

Zerargui F. (2015). Activité antioxydante des extraits de racines *Tamus communis L* et caractérisation des substances bioactives, Thèse de doctorat, Université Ferhat Abbas Sétif.



Les Annexes

Annexes I : Les absorbances et droite d'étalonnage de l'acide gallique

Les absorbances de l'acide gallique correspondantes aux solutions de concentrations citées ci-dessus sont enregistrées dans le tableau suivant :

Tableau 10 : Absorbances de la gamme de concentration d'acide gallique.

Concentration (mg/ml)	Absorbance
0,03	0,128
0,06	0,245
0,09	0,370
0,12	0,463
0,15	0,598
0,18	0,662
0,21	0,816

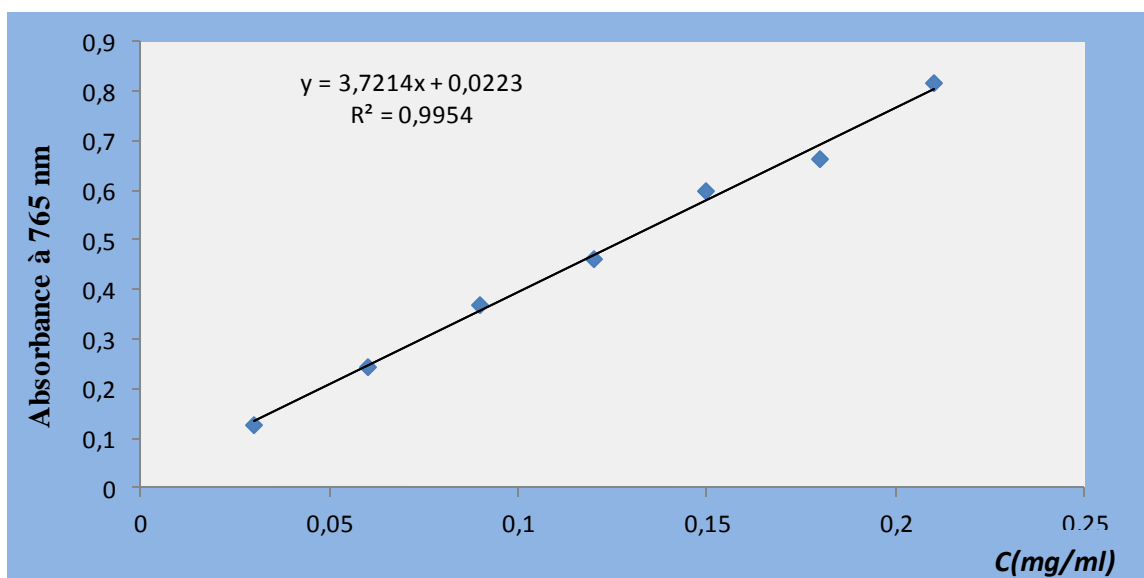
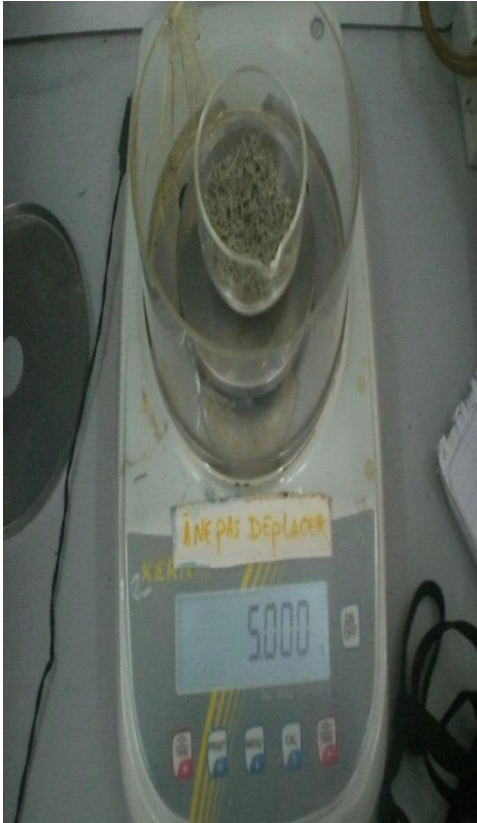


Figure 18 : Droite d'étalonnage de l'acide gallique.



Annexe II : Balance électrique avec l'échantillon. **Annexe III :** L'étuve à 105°C pendant le séchage.



Annexe IV : plaque chauffante pendant l'extraction(Macération).



Annexe V : réactif de Folin- Ciocalteu



Annexe VI : Solution de DPPH
