

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Abderrahmane Mira de Bejaia

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie Physico-chimique

Mémoire de Master

Filière : Biologie

Option : Pharmacologie moléculaire

Thème

**Évaluation de l'activité anti-
hyperglycémiant des extraits de feuilles de
Rosmarinus officinalis (le romarin).**

Présenté par:

M^r MAMMERI Amokrane

M^{lle} TAIRI Ouarda

Membres de jury

| | | | |
|----------------------|------------------------------------|----------------|--------------------------|
| Présidente: | M^{me} Amrouche W. | (M.A.A) | U.A.M. Bejaia. |
| Promoteur: | M^r Belmouhoub M. | (M.A.B) | U.M. Constantine. |
| Co-promoteur: | M^r Bribi N. | (M.A.A) | U.A.M. Bejaia. |
| Examineurs: | M^r Ghidouche A. | (M.A.B) | U.A.M. Bejaia. |
| | M^r Harfi T. | (M.A.A) | U.A.M. Bejaia. |

Année universitaire : 2012 / 2013

Remerciements

Avant toute chose, nous remercions Dieu, le tout puissant, de nous avoir donné la force et la patience de mener à bien ce modeste travail.

*Nous tenons à remercier notre promoteur, Monsieur **BELMOUHOUB messaoud**, recevez ici nos sincères remerciements pour la confiance, les conseils que vous nous avez accordé tout au long de ce travail. Merci également pour votre encadrement, votre disponibilité et votre gentillesse. Nous vous adressons notre profonde reconnaissance pour vos remarques et conseils en vue d'améliorer ce manuscrit.*

*Nos vifs remerciements à Monsieur **BRIBI Noureddine**, co-promoteur pour sa précieuse aide, ses conseils et pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant de nous encadrer cette année. Qu'il trouve ici l'expression de notre haute considération et notre profonde reconnaissance.*

*On tient aussi à exprimer notre gratitude à Madame **AMROUCHE W**, Pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant de présider le jury et d'évaluer notre travail.*

*Notre grande considération et notre vive reconnaissance, à Messieurs **GHUIDOUCHE A** et **HARFI T**, pour l'honneur qu'ils nous ont fait en acceptant de faire partie de jury, pour évaluer notre travail, en dépit de leurs nombreuses autres obligations.*

*Je remercie les techniciennes de l'animalerie ; **Saida et Wahiba**. Pour leur aide précieuse.*

Enfin, un grand merci à tous ceux qui de près ou de loin ont contribué à la réalisation et au bon déroulement de ce travail.



Dédicaces

À la mémoire de mon très cher père

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous.

Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation.

À l'affable, honorable, aimable mère : Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi.

À mon cher frère Kossaila « coucou », mes sœurs Tiziri, Thanina, et surtout ma petite Tinhinane.

À tous les membres de ma famille, petits et grands

À mes amis (es) : Amine, Athman, Biba, Bob, Bouzid, Fahima, Karim, Lakhdar, Lamia, Massi, Monia, Namir, Nassim, Rachida, et à toute la promotion « pharmacologie moléculaire, 2012/2013 ».

À dodo avec laquelle j'ai passé de bons moments depuis qu'on s'est connu

À tous ceux que j'ai connus de près ou de loin

Je vous dédie ce modeste travail

« LA SCIENCES N'ABANDONNE JAMAIS LA RECHERCHE DE LA VÉRITÉ, CAR ELLE NE PRÉTEND JAMAIS L'AVOIR RÉALISÉ »

Terry Delo

Amokrane

Dédicaces

A mes très chers parents qui ont su m'épauler et m'encourager pour aller de l'avant et qui m'ont appris à ne jamais baisser les bras,

A mes frères et sœurs (Dada, Hafit, Piju, Biho et Bino) qui ont su me soutenir en toutes circonstances tout au long de mes études,

A mon beau frère Lazhar et mes deux nièces chéries,

A tous les membres de ma famille, petits et grands,

A mes amis (es) : Amine, Assia, Biba, Bouzide, Chahla, Farid, Hanane, Moh, Moise, Namir, Sihem (cohelo) et Sihem (mou), à toute la promotion de « Pharmacologie moléculaire, 2012/2013 »,

A Lamou, Rachid et Massi à qui je dois tous nos bons moments,

A Moukrane avec qui j'ai tant partagé,

Je dédie ce modeste travail.

« Quand il ya la soif d'apprendre, tout vient à point à qui sait attendre »

SOMMAIRE

| | |
|-------------------------------------|-----|
| <i>Liste des abreviations</i> | i |
| <i>Liste des figures</i> | iii |
| <i>Liste des tableaux</i> | v |
| Introduction | 1 |

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : Généralités sur le diabète

| | |
|--|---|
| I. Généralités sur le diabète | 3 |
| I.1. Historique | 3 |
| I.2. Définition | 3 |
| I.3. Épidémiologie | 4 |
| I.4. Classification et physiopathologie du diabète | 6 |
| I.4.1. Diabète type I ((insulinodépendant))..... | 6 |
| I.4.2. Diabète de type 2 (non insulinodépendant)..... | 6 |
| I.4.3. Diabète gestationnel..... | 7 |
| I.5. Diagnostiques et symptômes du diabète | 7 |
| I.6. Complication du diabète | 8 |
| I.6.1. Macro-angiopathie (Atteinte des artères)..... | 8 |
| I.6.2. Micro-angiopathie (Atteinte des tous petits vaisseaux)..... | 8 |
| I.7. Traitement du diabète | 8 |
| I.7.1. Diabète de type 1..... | 8 |
| I.7.1.1. Le traitement insulinique..... | 8 |
| I.7.1.2. Traitement non insulinique..... | 8 |
| I.7.2. Diabète type 2..... | 9 |
| I.7.2.1. Traitement non médicamenteux..... | 9 |

| | |
|--|----|
| I.7.2.2. Traitement non médicamenteux..... | 9 |
| I.7.2.2.1. Antidiabétiques oraux..... | 10 |
| I.7.2.2.2. Insuline injectable (insulinothérapie)..... | 11 |

Chapitre II : Glycémie post prandiale

| | |
|---|-----------|
| II. Glycémie post prandiale..... | 13 |
| II.1. Les glucosidases intestinales..... | 13 |
| II.1.1. Digestion enzymatique et absorption intestinale..... | 13 |
| II.1.2. Alpha Glucosidase..... | 14 |
| II.2. Transport du glucose..... | 15 |
| II.2.1. Transport de glucose Na ⁺ -dépendant..... | 15 |
| II.2.2. Transport facilité du glucose..... | 16 |
| II.3. Mécanisme de transport du glucose au niveau de l'intestin..... | 17 |

Chapitre III : Généralités sur la plante

| | |
|--|-----------|
| III.1. Généralités..... | 18 |
| III.2. La plante du romarin..... | 19 |
| III.2.1. Étymologie..... | 19 |
| III.2.2. Description..... | 20 |
| III.2.3. Localisation..... | 21 |
| III.2.4. Utilisation..... | 21 |
| III.3. Composition chimique..... | 22 |
| III.3.1. Les poly-phénols | 22 |
| III.3.2. Les flavonoïdes..... | 29 |
| III.3.3. Propriétés biologiques des flavonoïdes..... | 30 |

PARTIE PRATIQUE

Chapitre IV : Matériel et méthodes

| | |
|--------------------------------------|-----------|
| IV. Matériel et méthodes..... | 32 |
| IV.1. Matériel..... | 32 |

| | |
|--|-----------|
| IV.1.1. Produits chimiques..... | 32 |
| IV.1.2. Matériel végétal..... | 32 |
| IV.1.3. Choix des animaux et conditions d'hébergement..... | 32 |
| IV.2. Méthodes..... | 33 |
| IV.2.1. Procédé d'extraction..... | 33 |
| IV.2.2. Calcul du rendement..... | 35 |
| IV.2.3. Dosage des composés phénoliques..... | 35 |
| IV.2.4. Étude de l'effet antidiabétique des extraits..... | 36 |
| IV.3. Analyse statistique..... | 39 |
| Chapitre V: Résultats et discussion | |
| V. Résultats et discussion..... | 41 |
| V.1. Compte rendu de l'extraction et teneur en poly-phénols totaux et flavonoïdes... 41 | 41 |
| V.2. Test <i>in vitro</i>..... | 43 |
| II.2.1. Inhibition de l'alpha-glucosidase <i>in vitro</i> | 43 |
| V.3. Tests <i>in vivo</i>..... | 44 |
| | 44 |
| V.3.1. Inhibition de l'alpga glucosidase intestinale..... | 44 |
| V.3.2. Effet des fractions riches en flavonoïdes sur le transport intestinal de glucose..... | 50 |
| V.3.3. Test de tolérance au glucose (OGTT)..... | 52 |
| V.3.3.1. Effet des poly-phénols..... | 52 |
| V.3.3.2. Effet anti-hyperglycémiant des deux fractions riche en flavonoïdes..... | 54 |
| Conclusion et perspectives..... | 56 |
| Références bibliographiques | |
| <i>Glossaire botanique</i>..... | I |
| <i>Glossaire médical</i>..... | II |
| <i>Annexes</i>..... | IV |

Liste des abréviations

- **Abs** : Absorbance.
- **ACARB** : Acarbose.
- **AlCl₃** : Chlorure d'aluminium.
- **AMPc** : Adénosine mono-phosphate cyclique.
- **Ca⁺⁺** : Calcium.
- **CNTL** : Control.
- **Di et Tri** : Di et Triglycosylés.
- **DPP-4** : Di-peptidyl peptidase de type 4.
- **IDF** : Fédération Internationale du Diabète.
- **GLP-1** : Glucagon Like Peptide -1.
- **GLUT** : Glucose Transporter.
- **HPL** : Hormone Lactogène Placentaire.
- **IDF** : International Diabètes Fédération.
- **INSP** : Institut National de la Santé Publique.
- **K⁺** : Potassium.
- **LDL** : Low Density Lipoprotein (lipoprotéine de basse densité).
- **mg EAG/g** : Milligramme d'Équivalent d'Acide Gallique par gramme d'extrait.
- **Mono** : Mono-glycosylés.
- **MoO₄²⁻** : Acide phospho-molybdique.
- **Na⁺** : Sodium.
- **Na₂CO₃** : Carbonate de sodium.
- **OGTT** : Oral Glucose Tolerance Test.
- **OH** : Fonction hydroxyle.
- **OH·** : Radical libre.
- **OMS** : Organisation Mondiale de la Santé.
- **ONAB** : Office Nationale d'Aliments pour Bétails.
- **Pal** : Phénylalanine.
- **PAL** : Phénylalanine Ammonia-Lyase.
- **pNPG** : Para-nitrophenyl α -D-glucopyranoside.
- **PT** : Poly-phénols totaux.
- **PZ** : Phloridzin.

- **SGLT** : Sodium Glucose Transporter.
- **Tyr** : Tyrosine.
- **WO₄²⁻** : Acide phospho-tungstique.

Liste des figures

| | |
|---|-----|
| Figure 1 : Prévalence du diabète dans le monde | 5 |
| Figure 2 : Structure générale de l'alpha glucosidase..... | 14 |
| Figure 3 : Structure chimique de l'acarbose..... | 15 |
| Figure 4 : Structure générale des GLUTs | 16 |
| Figure 5 : Résumé de l'absorption intestinale du glucose..... | 17 |
| Figure 6 : Le romarin | 20 |
| Figure 7 : Aspect morphologique et la classification du romarin (<i>Rosmarinus officinalis</i>) ... | 20 |
| Figure 8 : Désaminantion de la phénylalanine en acide cinnamique | 23 |
| Figure 9 : La voie de phénylpropanoïde (Bruneton, 2009)..... | IV |
| Figure 10 : La voie de shikimate (Bruneton, 2009)..... | V |
| Figure 11 : Résumé de la biosynthèse des poly-phénols..... | 24 |
| Figure 12 : Structures chimique des acides phénoliques..... | 25 |
| Figure 13 : Dérivés d'acides hydroxycinnamiques | 26 |
| Figure 14 : Structure chimique des flavonoïdes : enchainement C6-C3-C6..... | 27 |
| Figure 15 : Structure chimique des anthocyanes..... | 27 |
| Figure 16 : Différentes classes des flavonoides avec quelques exemples | 30 |
| Figure 17 : Poudre obtenue après broyages des feuilles de <i>Rosmarinusofficinalis</i> | 34 |
| Figure 18 : Etapes d'extraction des flavonoïdes (Markham, 1982) | 34 |
| Figure 19 : Hébergement et répartition des souris dans des cages standards..... | 39 |
| Figure 20 : Résumé des étapes suivies lors des expérimentations (gavage, prélèvement et dosage de la glycémie post prandiale)..... | 40 |
| Figure 21 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols | VII |
| Figure 22 : Courbe d'étalonnage de la Quercétine pour le dosage des flavonoïdes | VII |
| Figure 23 : Pourcentage de richesse des poly-phénols en flavonoïdes | 42 |

| | |
|---|----|
| Figure 24 : Inhibition de l'alpha glucosidase de saccaromyces cerevesiae in vitro par les différentes fractions obtenues..... | 43 |
| Figure 25 : Effet des poly-phénols totaux (PT) sur la glycémie post prandiale (inhibition de l'alpha glucosidase)..... | 45 |
| Figure 26 : Effet de la fraction aglycone sur la glycémie post prandiale..... | 46 |
| Figure 27 : Effet des mono-glycosylés sur la glycémie post prandiale..... | 48 |
| Figure 28 : Effet de la fraction di et tri-glycosylés sur la glycémie post prandiale | 49 |
| Figure 29 : Effet de la fraction monglycosidée de la fraction di et tri-glycosidée sur le transport intestinal de glucose | 51 |
| Figure 30 : Effet des poly-phénols totaux sur la tolérance du glucose (OGTT) à une concentration de 600mg/kg | 53 |
| Figure 31 : Effet des deux fractions riches en flavonoides (mono-glycosylés, di et tri-glycosylés) sur la tolérance de glucose (OGTT)..... | 54 |

Liste des tableaux

| | |
|--|----|
| Tableau I : Les différents statuts possibles du diabète..... | 4 |
| Tableau II : monographie de quelques plantes à activité hypoglycémiante..... | 11 |
| Tableau III : Les principales glucosidases intestinales connues..... | 14 |
| Tableau IV : Constantes d'affinité et principaux inhibiteurs de quelques transporteurs de glucose | 17 |
| Tableau V : Importance de l'utilisation de la médecine traditionnelle dans le monde..... | 18 |

INTRODUCTION

Introduction

Le diabète est une maladie métabolique grave caractérisée par un désordre au niveau de la régulation du métabolisme glucidique entraînant une hyperglycémie (**Benhamou, 2005**).

Longtemps considéré comme étant la maladie des pays riches, le diabète voit sa prévalence augmenter de façon brusque dans certain pays dits en voie de développement.

En 2003, la fédération internationale du diabète a estimé que le nombre de personnes atteintes par cette maladie était de 194 millions dans le monde, et que ce chiffre pourrait atteindre les 330 millions en 2025 ce qui représente 6.3% de la population mondiale (**IDF, 2005**). En Algérie, cette pathologie occupe la 4^{ème} place dans les maladies chroniques non transmissibles (**Abrouk, 2010**).

À l'origine, le terme « Diabète » désigne diverses maladies caractérisées par une élimination importante d'urines, une déshydratation et une soif intense, il se distinguait par la saveur sucrée des urines et fut nommé « diabète sucré » (**Blickle et al., 1999**).

Pour se soigner, l'homme a toujours eu recours à des remèdes traditionnels à base de plantes (tisanes, poudres, décoctions) administrés par frictions, inhalations, cataplasmes, massages ou encore par voie orale.

Le nombre d'espèces de plantes à fleurs connues est évalué à plus de 400 000. L'étude de la chimie des plantes est toujours d'une brûlante actualité malgré son ancienneté. Cela tient principalement du fait que le règne végétal représente une source importante d'une immense variété de molécules bioactives (**Hadj Salem, 2009**).

Les propriétés antidiabétiques des plantes à fleurs sont connues depuis déjà longtemps. Toutefois, il aura fallu attendre le début du siècle dernier pour que les scientifiques s'y intéressent. Le recours à la médecine traditionnelle et à la phytothérapie est devenu une nécessité suite aux effets secondaires observés avec des différents traitements médicamenteux mis sur le marché (**Bouxiid, 2012**).

Rosmarinus officinalis est l'une des plantes médicinales les plus utilisées à travers le monde. Les extraits des feuilles de cette plante sont largement utilisés dans la médecine traditionnelle depuis des siècles vis-à-vis d'une multitude de maux et notamment comme antioxydant, anti-inflammatoire et antimicrobien. Des études récentes soulignent des

propriétés curatives extraordinaires et prometteuses (anti-tumorales, antidépressives antidiabétiques et neuroprotectrices) (Machado et al., 2013).

L'objectif de la présente étude est l'évaluation de l'effet antidiabétique de la plante *Rosmarinus officinalis* (poudre de feuilles séchées), reconnue par la tradimédecine dans le traitement du diabète.

Dans ce contexte, une multitude de tests et d'expériences ont été entrepris pour essayer de comprendre l'effet antidiabétique supposé de cette plante sur les mécanismes moléculaires au niveau des organismes vivants.

Dans ce sens, des tests *in vitro* sur l'inhibition de l'alpha glucosidase ont été réalisés, de même pour les tests *in vivo* sur l'inhibition enzymatique de l'alpha glucosidase intestinale, le transport du glucose et sur la tolérance au glucose, dans le but d'évaluer l'activité anti-hyperglycémiant supposée des poly-phénols totaux et des flavonoïdes de cette plante.

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I

GENERALITES SUR LE DIABETE

I. Généralités sur le diabète

I.1. Historique

L'histoire du diabète remonte assez loin que l'histoire des civilisations les plus anciennes. C'est ainsi que les premiers écrits sur le diabète remontent à l'Égypte des Pharaons. Ainsi, on peut lire dans le fameux papyrus Ebers (ainsi baptisé du nom de l'égyptologue allemand qui l'a traduit), un texte qui expose des symptômes qui semblent caractéristiques du diabète. Ce récit, vieux de 3500 ans, décrit des mesures diététiques susceptibles d'influencer la Polyurie.(Envie fréquente d'uriner). Cependant, il n'est pas certain qu'il s'agisse bien du diabète **(Tielmans et al., 2007)**.

Aussi, on trouve une description plus précise du diabète dans certains anciens écrits indiens. L'indien Susruta (père de la médecine indienne) distingue 2 types de maladies qui présentent les symptômes du diabète: une qui apparaissait au sein de la population aisée et bien nourrie (il s'agit probablement d'un diabète 2) et l'autre qui touchait surtout les personnes maigres et qui conduisait rapidement à la mort (il pourrait s'agir du diabète1).

Un médecin grec, de Cappadoce (la Cappadoce est actuellement en territoire turc) est le premier à décrire les symptômes du diabète de façon claire et complète. Il donne, en particulier, des renseignements concernant l'évolution de la maladie non traitée. Il en attribue la cause à une maladie aiguë de l'estomac et en bonne logique, sa proposition thérapeutique consiste à "purger" l'estomac. Il propose alors des remèdes externes à appliquer sur l'estomac et des remèdes internes sous forme d'un régime à base de gâteaux au lait, de vin, de fruits secs et de laxatifs **(Grimaldi, 2000)**.

I.2. Définition

Le diabète sucré est un groupe de maladies métaboliques caractérisées par une hyperglycémie chronique résultante d'un défaut de sécrétion de l'insuline ou de l'action de l'insuline ou de ces deux anomalies associées. L'hyperglycémie chronique est associée à terme avec des complications organiques spécifiques touchant particulièrement les yeux, les reins, les nerfs, le cœur et les vaisseaux **(Drouin et al., 1999)**.

Le diabète repose sur la mise en évidence à au moins 2 reprises de glycémies anormales.

Il est affirmé dans l'un des 3 cas suivants **(Benhamou, 2005)**:

- ✓ Si à des symptômes cliniques évocateurs est associée une glycémie au hasard supérieure à 2g/l (11,1mM)

- ✓ Si la glycémie à jeun est supérieure à 1,26g/l (7mM)
- ✓ Si la glycémie à 2h sous OGTT (Oral Glucose Tolerance Test) est supérieure à 2g/l.

Le tableau suivant résume les différents cas possibles du diabète (**Blickle et al., 1994**) :

Tableau I : Les différents statuts possibles du diabète.

| Statut | Glycémie à jeun | Glycémie 2 h |
|---------------------------------|--|---|
| Normal | < 1.10g/l | < 1.40g/l |
| Diabète | ≥ 1.26 g/l | ≥ 2.00 g/l |
| Anomalies de la glycorégulation | ≥ 1.10 et 126 g/l (hyperglycémie à jeun) | ≥ 1.40 et < 2.00 g/l (intolérance au glucose) |

I.3. Épidémiologie

C'est en 1989, lors de la 42^{ème} assemblée mondiale pour la santé organisée par l'organisation mondiale de santé (OMS), que celle-ci a pris acte du fait que le diabète devient un sérieux problème de santé publique sur le plan international (**Malek et al., 2001**).

Depuis, le diabète atteint des proportions épidémiques au niveau mondial, en 2003 la fédération internationale du diabète estimait que 194 millions de personnes étaient atteintes du diabète dans le monde, et que ce chiffre sera presque doublé en 2025 pour atteindre 330 millions, représentant 6.3% de la population mondiale (**IDF, 2005**).

En 2005, on estimait le nombre de diabétiques dans le monde à plus de 200 millions dont 85 à 95% sont des diabétiques de type 2 (**IDF, 2005**).

L'augmentation dramatique de la prévalence du diabète touche particulièrement l'Inde et la Chine. L'Inde compte le plus grand nombre de personnes atteintes de diabète dans le monde, avec une estimation de 35 millions de personnes, soit 8% de la population adulte. En Chine, un pays où 2.7% de la population adulte souffre actuellement du diabète de type 2, le nombre de personnes atteintes risque de dépasser 50 millions dans les 25 années à venir (**IDF, 2005**).

Le diagramme suivant représente le nombre de diabétiques dans le monde :

Le diabète dans le monde

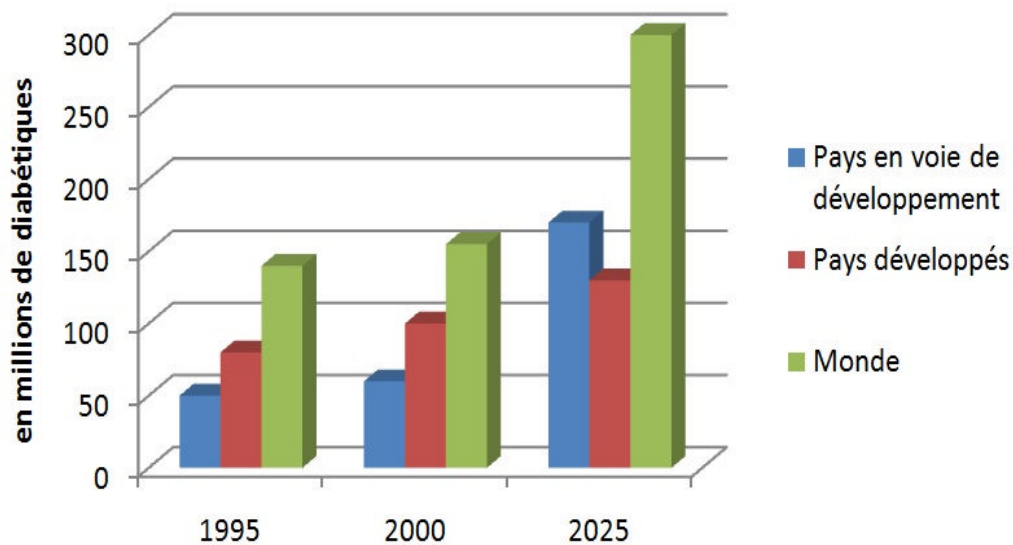


Figure1 : Prévalence du diabète dans le monde (OMS, 2011).

L'Algérie comme la plus part des pays en voie de développement n'a pas été épargnée par cette maladie. En effet, le diabète pose un vrai problème de santé publique par le biais des complications chroniques dominées par des problèmes cardiovasculaires, le pied diabétique, l'insuffisance rénale chronique et la rétinopathie (OMS, 2011).

Selon une enquête de l'institut national de la santé publique (INSP), le diabète occupe la 4^{ème} place dans les maladies chroniques non transmissibles (Abrouk, 2010). Ainsi, des enquêtes réalisées dans l'est et l'ouest du pays font état de la prévalence du diabète de type 2 entre 6,4 et 8,2% chez des sujets âgés de 30 à 64 ans, Chez les Touaregs du sud algérien dans la même tranche d'âge elle n'est que de 1,3% ce qui conforte l'influence du mode de vie et de l'activité physique sur le développement de la maladie (Zaoui et al., 2007).

L'étude de l'OMS réalisée en 2003 dans 02 wilayas pilotes (Sétif et Mostaganem) chez des sujets de 25 à 64 ans a montré une prévalence de 7,1%. Quant à l'incidence du diabète du type 1, elle varie de 8,1 à 11,9 / 100 000 chez les jeunes de moins de 15 ans, elle est de 6,11/100 000 chez les sujets de 15 à 29 ans (Sétif), (Zekri et al., 2011).

I.4. Classification et physiopathologie du diabète

Le diabète peut être classé en trois types : Diabète de type 1, Diabète de type 2 et le diabète gestationnel.

I.4.1. Le diabète de type 1 (insulinodépendant)

Appelé aussi diabète juvénile parce qu'il survient souvent dans la moyenne d'âge de 20 ans, il représente environ 10% de tous les cas de diabète. Ce type de diabète se caractérise par une production insuffisante d'insuline due à une destruction auto-immune des cellules insulino-sécrétrices dites cellules β de Langerhans. L'hyperglycémie apparaît lorsqu'il ne reste plus que 10 à 20 % de cellules β fonctionnelles.

Le processus auto-immune responsable d'une « insulite » pancréatique se déroule sur de nombreuses années (5 à 10 ans voire plus, avant l'apparition du diabète). Cette réaction auto-immune survient sur un terrain de susceptibilité génétique et de l'environnement, à la suite de facteurs déclenchant et peut être dépistée avant l'apparition de l'hyperglycémie par des dosages sanguins d'auto-anticorps (**Grimaldi, 2000**).

En absence d'insuline, le glucose ne peut pas entrer dans la cellule pour produire de l'énergie ou pour être stocké sous forme de glycogène et il s'accumulera excessivement dans le sang. Les patients atteints dépendent de l'insuline exogène pour prévenir l'acidocétose et la mort (**Nistor, 2009**).

I.4.2. Diabète de type 2 (non insulinodépendant)

Encore appelé diabète de la maturité, il survient souvent dans une moyenne d'âge de 30 ans. Il est la conséquence d'une anomalie sécrétoire de l'insuline par les cellules β des îlots de Langerhans associée à une résistance à l'action de l'insuline au niveau périphérique.

Ce type de diabète résulte de la conjonction de plusieurs gènes de susceptibilité, dont l'expression dépend de facteurs d'environnement au premier rang, la consommation excessive de graisses saturées et de sucres rapides et la sédentarité (**Grimaldi, 2000**). L'insulino-déficience responsable de l'hyperglycémie du diabète de type 2 est précédée par 10 ou 20 ans d'hypersecretion insulinique (hyperinsulinisme) secondaire à une insulino-résistance des tissus périphérique (**Busch-Braffin & Pignet, 2001**).

Chez des patients diabétiques, on observe une production hépatique excessive du glucose, et ce malgré une présence en grande quantité de l'insuline plasmatique. Cette

surproduction du glucose hépatique est due à une stimulation de la gluconéogenèse (**Nistor, 2009**).

Après un repas, la capacité de l'insuline endogène à stimuler la captation du glucose par les muscles, se trouve fortement diminuée (**Busch-Braffin & Pignet, 2001**).

Des anomalies dans la sécrétion de l'insuline surviennent lorsque les cellules β pancréatiques ne fonctionnent pas correctement. Ces aberrations jouent un rôle important dans la physiopathologie du diabète de type 2 et de l'intolérance au glucose (**Tielmans et al., 2007**).

I.4.3. Le diabète gestationnel

Le diabète sucré gestationnel appelé aussi diabète de grossesse est un trouble de l'homéostasie du glucose se traduisant par une hyperglycémie survenant pour la première fois au cours d'une grossesse et qui disparaît après l'accouchement avec retour à une normoglycémie (**Clay et al., 2007**).

C'est une grossesse à haut risque de complications avec une morbidité materno-foetale qui augmente avec le niveau de l'hyperglycémie (**Pasquet-Fevrier & Travin, 2004**). Cette forme de diabète est développée par environ 4% des femmes enceintes au cours du deuxième ou du troisième trimestre de grossesse (**Association canadienne du diabète, 2003**).

L'incidence de cette pathologie est variable : il affecterait 2 à 7% des femmes enceintes et sa prévalence varierait de 2 à 14% des grossesses (**Trivin et al., 2003**).

La grossesse est une situation diabéto-gène (**Vambergue et al., 2002**), se caractérisant donc, par un état d'insulino-résistance physiologique lié à la production croissante d'hormones placentaires : HPL (hormone lactogène placentaire) qui stimule la lipolyse et s'oppose à l'action de l'insuline, et la progestérone (**Anonyme, 2005**). D'autres hormones ayant un rôle d'insulino-résistance, voient leur sécrétion stimulée pendant la grossesse. On trouve parmi elles la leptine, la prolactine et enfin le cortisol, hormone particulièrement diabéto-gène (**Gabriel, 2011**).

I.5. Diagnostiques et symptômes du diabète

Une personne est diagnostiquée comme étant diabétique quand elle présente une glycémie à jeun de 1.26g/L ou 7,00mmol/L, des symptômes du diabète associés avec une

glycémie plasmatique occasionnelle de 2.00g/L (11,1 mmol/L); ou une glycémie de 2.00g/L (11,1mmol/L) 2h après une charge de 75g de glucose prise par voie orale (**Drouin, 1999**).

Plusieurs symptômes communs peuvent être associés avec le diabète. Parmi ceux-ci: Polyphagie, perte de poids inhabituelle, vision floue, irritabilité, fatigue, polyurie et une polydipsie.

I.1.6. Complications du diabète

Les complications chroniques du diabète, aussi bien du type 1, que du type 2, comprennent deux composantes : la micro-angiopathie et la macro-angiopathie.

Si le diabète n'est qu'un facteur de risque de la macro-angiopathie, au même titre que l'hypertension artérielle, l'hyperlipidémie ou le tabagisme, la micro-angiopathie apparaît spécifique de l'hyperglycémie et est responsable des complications dites dégénératives du diabète sucré (**Raccah, 2004**).

I.6.1. Macro-angiopathie (Atteinte des artères): peut être responsable d'infarctus du myocarde, d'accidents vasculaires cérébraux, d'artérite des membres inférieurs...etc. Il s'agit des mêmes atteintes vasculaires que chez les personnes non diabétiques, mais le diabète les rend plus fréquentes.

I.6.2. Micro-angiopathie (Atteinte des tous petits vaisseaux): peut être responsable de problèmes de cicatrisation, rétinopathies, néphropathies et neuropathies (**Busch-Braffin & Pignet, 2001**).

I.7. Traitement du diabète

Le traitement diffère selon le type du diabète,

I.7.1. Diabète de type 1

Le traitement est à vie et palliatif, soit par un traitement insulinique ou bien non insulinique.

I.7.1.1. Le traitement insulinique : fait appel à l'insuline humanisée (hémi-synthétique), recombinante, ou strictement identique à l'insuline humaine, réparties en insuline ultra rapide, rapide et lente.

I.7.1.2. Le traitement non insulinique : fait appel à l' :

Accompagnement et soutien psychologique comme pour toute maladie chronique.

- ✓ Alimentation variée et sans interdits mais horaires et apports glucidiques régulier (notion d'équivalence, d'index glycémique, de collations).
- ✓ Exercice physique : à recommander, à prendre en compte pour les doses d'insuline, risque d'hypoglycémie (**collège des enseignants d'endocrinologie, 2004**).

I.7.2. Le diabète de type 2

La prévention des complications reliées au diabète de type 2 commence par une alimentation saine et la pratique régulière d'activités physiques et lorsque ceux-ci ne permettent pas de contrôler adéquatement la glycémie, un traitement médicamenteux et phytothérapeutique deviennent une nécessité.

I.7.2.1. Traitement non médicamenteux (diète et exercice physique)

Dans ce type de diabète, une bonne éducation du patient et une modification des habitudes nutritionnelles sont primordiales pour l'amélioration du contrôle glycémique (**Belhadj, 2005**).

Une diète hypocalorique a comme effet immédiat, une baisse notable de la glycémie due principalement à une diminution de la production hépatique du glucose. Tandis qu'à long terme, une restriction calorique associée à une perte de poids conduit à une réduction de l'insulino-résistance des tissus insulino-sensibles (**Nistor, 2009**).

Une diète appropriée et l'exercice physique régulier et adéquat représentent un remède universel dans le sens de la prévention du diabète (**Racciah, 2004**).

La pratique régulière d'une activité physique augmente la sensibilité des tissus périphériques à l'insuline et améliore les anomalies de la glycorégulation (**Drouin, 1999**).

I.7.2.2. Traitement médicamenteux

Ce type de traitement regroupe deux types de médicaments ; les antidiabétiques oraux et l'insuline injectable.

I.7.2.2.1. Antidiabétiques oraux

Selon leurs modes d'action, on peut actuellement regrouper ces médicaments en deux grandes classes :

a- Antidiabétiques hypoglycémiantes**• Les sulfamides**

Ces médicaments agissent en stimulant le pancréas pour qu'il sécrète plus d'insuline, ce qui augmente l'entrée du glucose dans les cellules de l'organisme. Ainsi, ils diminuent la glycémie en augmentant la libération d'insuline par le pancréas. Ex : gliméripide, **(Borm et al., 2012)**.

• Les inhibiteurs de la DPP-4 et analogues du GLP-1

Ces médicaments agissent sur un processus naturel de l'organisme, le système des incrétines, ce qui stimule le pancréas à libérer plus d'insuline, diminue la production de glucose par le foie et diminue la sécrétion du glucagon par les cellules α pancréatique. Ex : januvia et byetta **(Bouxi, 2012)**.

b- Antidiabétiques anti-hyperglycémiantes**• Les biguanides**

Ils empêchent l'élévation de la glycémie en diminuant la fabrication de glucose par le foie et en augmentant l'utilisation du glucose par les cellules. Elle ne stimule pas la production d'insuline. Ex : métformine **(Deshaies, 2011)**.

• Les inhibiteurs de l'alpha glucosidase

Ils agissent localement dans l'intestin. Ils provoquent un délai d'absorption des glucides en retardant la digestion des sucres complexes (chaînes de plusieurs sucres) en sucres simples. Ceci diminue donc, le pic de la glycémie après les repas. Leurs effets se manifestent sans délai, dès la première dose. Ex : l'acarbose **(Borm et al., 2012)**.

• Les thiazolidinédiones

Ils agissent en potentialisant l'action de l'insuline, en augmentant la sensibilité des tissus à cette dernière. Ex : Avandia **(Deshaies, 2011)**.

Remarque

A l'heure actuelle les Thiazolidinédiones ou glitazones, ne sont plus commercialisés (retirer du marché) en Europe, pour des effets secondaires graves et surtout leur risque carcinogène **(Bouxi, 2012)**.

I.7.2.2.2. l'insuline injectable (insulinothérapie)

L'insuline n'est pas le traitement idéal du diabète non insulino-dépendant car si elle permet de baisser les glycémies en favorisant le transport et le métabolisme du glucose intramusculaire, elle facilite la prise de poids en stimulant la lipogenèse (**Deshaies, 2011**).

Mais en cas d'échec du traitement antidiabétique oral, les recommandations préconisent le recours à une insulinothérapie tout en conservant les antidiabétiques oraux (**Gabriel, 2011**).

L'insulinothérapie peut avec le temps et l'efficacité incomplète de l'injection bed-time se faire sous forme de 2, 3 voir 4 injections quotidiennes pour atteindre les objectifs fixés (**collège des enseignants d'endocrinologie, 2004**).

I.7.2.3. Traitement phytothérapique

Depuis la nuit des temps, toutes les civilisations ont élaboré des médecines selon leurs savoir, leur intelligence, leur génie, leurs connaissances culturelles de la santé, leur environnement habituel et selon le type de maladies qu'ils rencontrent (**Bouxiid, 2012**).

L'utilisation des plantes médicinales à des fins thérapeutiques est une pratique aussi vieille que l'histoire de l'humanité.

En ce qui concerne le diabète, un certain nombre de pays utilise des plantes médicinales qui ont des activités plus ou moins reconnues contre le diabète. Environ 1200 plantes, couvrant 725 genres différents et 183 familles de plantes dans le monde sont jugées bénéfiques pour les diabétiques et sont utilisées à travers le monde (**Borm et al., 2012**).

La plupart d'entre elles auraient des propriétés hypoglycémiantes, mais la plupart du temps, ces affirmations sont isolées et peu d'entre elles ont fait l'objet d'une vérification scientifique.

Le tableau suivant résume la monographie de quelques plantes à activité hypoglycémiantes utilisées à travers le monde :

Tableau II : monographie de quelques plantes à activité hypoglycémiantes (**Bouxiid, 2012**).

| Nom scientifique (nom latin) | Nom commun | Parties utilisées et méthodes de préparation |
|------------------------------|----------------|--|
| <i>Allium cepa</i> | Oignon cultivé | Bulbe à l'état cru. |
| <i>Allium sativum</i> | Ail cultivé | Bulbe à l'état cru. |
| <i>Amygdalus communis</i> | Amandier | Graines en pâte. |
| <i>Brassica oleracea</i> | Le chou | Parties aériennes |

| | | |
|----------------------------------|---------------------------|--|
| <i>Citrus bigardia</i> | Oranger | Fruits, fleurs en décoction |
| <i>Citrus limon</i> | Limettier | Fruits, fleurs en décoction |
| <i>Cucumis sativus</i> | Concombre | Fruits. |
| <i>Cynara scolymus</i> | Artichaut | Racines et capitules en décoction |
| <i>Cinnamomum zeylanicum</i> | Cannelle de Ceylan | feuilles en décoction |
| <i>Eucalyptus globulus</i> | Eucalyptus | Fleurs, feuilles en décoction |
| <i>Eugenia jambolana</i> | Jamboul, | feuilles en décoction |
| <i>Foeniculum dulce</i> | Fenouil doux | Racine, feuilles et fruits en décoction. |
| <i>Ficus carica</i> | Figuier | Fruits en décoction |
| <i>Galega officinalis</i> | galega | Racine, feuilles et fruits en décoction. |
| <i>Glycine max</i> | soja | Graine en décoction. |
| <i>Gymnena sylvestris</i> | Gymnema | feuilles en décoction |
| <i>Medicago sativa</i> | Luzerne | Racine, feuilles et fruits en décoction |
| <i>Morus nigra</i> | Mûrier noir | Fruits, feuilles en infusion ou en décoction. |
| <i>Momordica charantia</i> | Concombre amer | Jus de la plante |
| <i>Myrtus communis</i> | Myrte | Extrait du myrte |
| <i>Nigella sativa</i> | Graine de nigelle | Graine en décoction. |
| <i>Olea europea</i> | Olivier | Feuilles en décoction |
| <i>Olea olearia</i> | Oléastre | Feuilles en décoction. |
| <i>Opuntia ficus-indica</i> | Figuier de barbarie | Fleurs en décoction |
| <i>Poterium spinosum L</i> | Pimprenelle | Ecorce et racines en décoction |
| <i>Punica granatum</i> | Grenadier. | Péricarpe en décoction |
| <i>Rubus fruticosus</i> | Mûrier sauvage (ronce) | Fleurs, feuilles, fruits en infusion ou en décoction |
| <i>Tamarindus indica Linn</i> | Tamarinie | Feuilles en décoction |
| <i>Trigonella foenum-graecum</i> | Fenugrec | Graine en décoction ou en macération. |
| <i>Vaccinium myrtillus</i> | Myrtille | feuilles, fruits en décoction |
| <i>Zingiber officinale</i> | Gingembre | Rhizomes en infusion |

CHAPITRE II

GLYCEMIE POST PRANDIALE

II. Glycémie post prandiale

Dans le diabète, la phase post prandiale est caractérisée par une augmentation rapide et importante du taux de la glycémie, appelée hyperglycémie post prandiale ou «pic hyperglycémique».

Des études montrent que l'hyperglycémie post prandiale est un facteur de risque important et indépendant pour l'athérosclérose, les maladies cardio-vasculaires et bien d'autres complications diabétiques avec de grands effets que ceux de l'hyperglycémie à jeun seule (**Wu et al., 2012**).

L'hyperglycémie post prandiale survient tôt dans le syndrome métabolique et le diabète de type 2. Au stade de syndrome métabolique, s'installe une intolérance au glucose qui se manifeste par une glycémie à jeun qui reste normale (inférieure à 1.10g/l) ou modérément élevée (hyperglycémie modérée à jeun entre 1.10 et 1.26g/l (7mmol/l) et une glycémie anormalement élevée à l'état postprandial. Cette dernière est documentée par une glycémie entre 1.40 et 1.99g/l, 2h après absorption de 75g de glucose (**Besson, 2009**).

La gestion efficace de l'hyperglycémie post prandiale implique donc non seulement le maintien des niveaux de glycémie à un taux normal après les repas, mais aussi prévenir les complications diabétiques qui pourraient survenir (**Fédération Internationale du Diabète, 2008**).

II.1. Les glucosidases intestinales

Les enzymes intestinales jouent un rôle crucial dans la production et le transport intestinal des monosaccharides (glucose), les di- et les plus grands oligosaccharides ne peuvent être transportés à travers la membrane plasmique des cellules intestinales humaines.

Les transporteurs de glucose qui se localisent sur la face apicale des cellules épithéliales intestinales comprennent les transporteurs sodium / glucose SGLT et les transporteurs GLUT5 du fructose (**Sim, 2010**).

II.1.1. Digestion enzymatique et absorption intestinale des glucides

La digestion enzymatique des glucides et leur absorption par la muqueuse intestinale jouent un rôle dans la régulation de la glycémie postprandiale. Ce rôle est d'ailleurs pris en compte dans la stratégie thérapeutique du diabète, tant par l'élaboration de conseils nutritionnels que dans le mécanisme d'action d'antidiabétiques oraux et ce là en se basant sur

l'action des alphas glucosidases et sur le transport intestinal du glucose (SGLT1, GLUT2), (Besson, 2009).

Les différentes glucosidases intestinales impliquées dans la digestion enzymatique des glucides sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau III : Les principales glucosidases intestinales connues (Sim, 2010).

| Glucosidases intestinales | Substrat | Produits de dégradation |
|--|---|-------------------------|
| Alpha-amylase | Amidon | Amylose + amylopéctine |
| Sucrase-isomaltase (α -Glucosidase) | Saccharose, maltose, maltotriose | Fructose + Glucose |
| Maltase-glucoamylase | Maltose, maltotriose, α - dextrines | Glucose |
| Lactase | Lactose | Galactose + Glucose |
| α -Dextrinase | α -dextrines, maltose, maltotriose | Glucose |

II.1.2. Alpha glucosidase

L'alpha glucosidase est une enzyme intestinale de type glucosidase, agissant sur les liaisons alpha 1-4 en dégradant les glucides en monosaccharides (glucose) permettant ainsi leur absorption au niveau de la bordure intestinale (Subramanian, 2008).

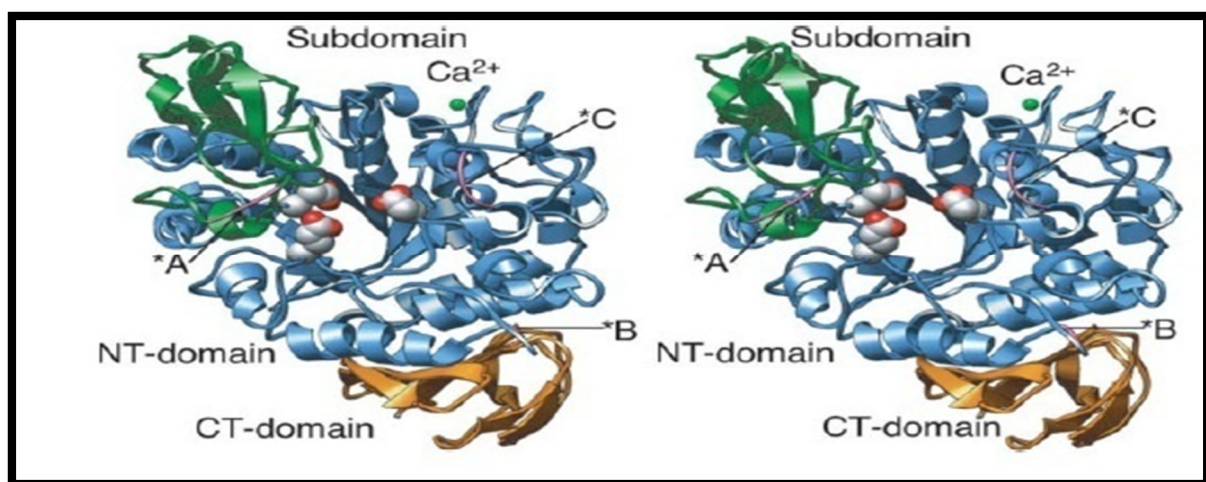


Figure 2 : Structure de l'alpha glucosidase (Shirai *et al.*, 2008).

Elle est inhibée par des molécules chimiques telles que l'acarbose dont la structure chimique est représentée dans le schéma ci-dessous :

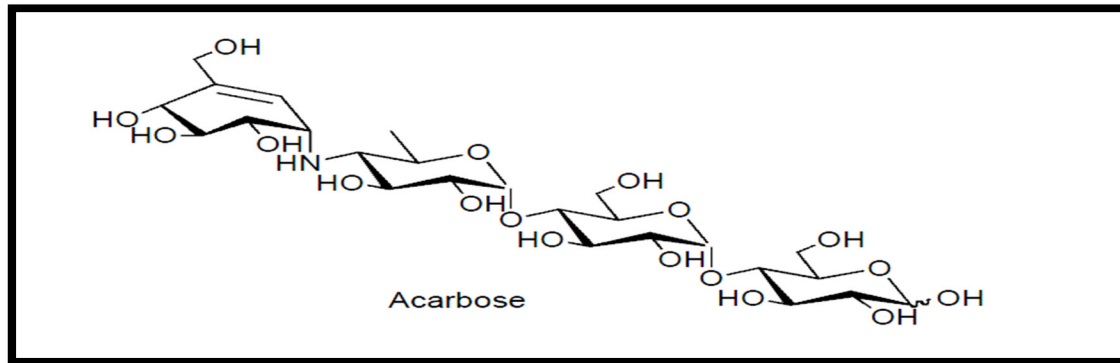


Figure 3 : Structure chimique de l'acarbose (Sim, 2010).

II.2. Transport du glucose

Le glucose est un élément essentiel à la survie de tous les mammifères, considéré comme étant la première source fondamentale d'énergie pour toutes les cellules eucaryotes. Il est obtenu principalement de l'alimentation suite à une hydrolyse des disaccharides et polysaccharides ingérés mais aussi par voie de synthèse (à partir d'autres substrats tel que le glycogène dans le foie) (Wood & Trayhurn, 2003).

Le glucose parvenant du bol alimentaire est transféré depuis la lumière intestinale jusqu'à la circulation générale ou il subira encore une fois un transport vers toutes les cellules cibles (hépatiques, musculaires...etc) (Brayant *et al.*, 2002), tous ce processus s'effectuera via des protéines de transport qui se divisent en deux grandes familles selon leurs différences structurelles et fonctionnelles (Wood & Trayhurn, 2003).

- Transport de glucose dépendant du sodium (Co-transporteurs Na-dépendants).
- Transport facilité du glucose (familles des GLUTs).

II.2.1. Transport de glucose Na-dépendant (SGLT: Sodium Glucose Transporter)

Le gradient électrochimique Na^+ fourni par la Na^+ / K^+ ATPase est utilisé pour le transport du glucose dans les cellules contre son gradient de concentration. Cette forme de transport de glucose (absorption active secondaire) s'effectue à travers la membrane luminale

(face apicale) des cellules tapissant l'intestin grêle et les tubules proximaux des reins (**Wood & Trayhurn, 2003; Sabino-Silva et al., 2010**).

La famille des transporteurs Na-dépendant regroupe deux catégories de transporteurs (**Faure, 2011**).

- **Les SGLT1** : qui représentent les principaux transporteurs actifs du glucose au niveau intestinal (transportent aussi le galactose).
- **Les SGLT2** : qui sont responsables de l'absorption rénale du glucose.

II.2.2 Transport facilité du glucose (GLUT = Glucose Transporter)

Le transport facilité du glucose se fait suivant le gradient de concentration de ce dernier (transport facilité ne nécessite pas de l'ATP) et ce là en utilisant le phénomène de diffusion à travers les membranes plasmiques (**Wood & Trayhurn et al., 2003**).

La famille des GLUTs renferme 14 membres (**Faure, 2011**) :

- GLUT 1 qu'on retrouve au niveau de la barrière hémato-méningée, des érythrocytes qui sont dépendants du glucose.
- GLUT 2 : fait sortir le glucose de l'enterocyte à travers la membrane basolaterale.
- GLUT 3 et 4 : le GLUT 4 est le principal transporteur au niveau musculaire (nécessite de l'insuline), (**Brayant et al., 2002**).
- GLUT 5 : principal transporteur intestinal du fructose (on retrouve aussi le GLUT 2 pour ce transport).
- GLUT 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 14 : qu'on retrouve dans les différents tissus.

La structure générale des GLUTs est représentée dans la figure ci-dessous :

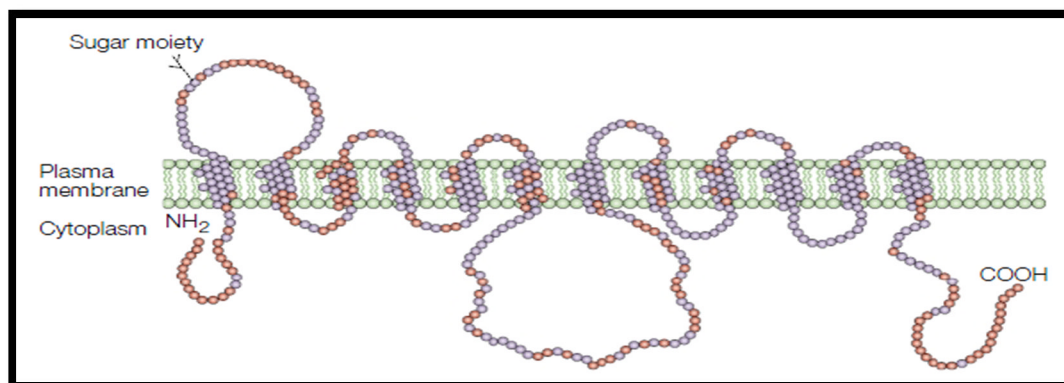


Figure 4: Structure générale des GLUTs (**Brayant et al., 2002**).

II.3. Mécanisme de transport du glucose au niveau de l'intestin

Le Na⁺ passe dans la cellule intestinale selon son gradient de concentration, le glucose sera transporté avec ce dernier et sera libéré dans la cellule (SGLT1). Le Na⁺ sera transporté par la suite dans l'espace latérale intercellulaire, tandis que le glucose passera dans l'espace interstitiel via les GLUT2 puis dans les capillaires.

L'énergie pour le transport du glucose est fournie indirectement par le transport actif du Na⁺ hors de la cellule ce qui maintient le gradient de concentration de part et d'autre de la membrane luminale de la cellule, de sorte qu'il y ait plus de Na⁺ dans la lumière intestinale pour une bonne absorption du glucose (**Ganong, 2003**).

Le schéma qui suit, résume le transport et l'absorption du glucose au niveau intestinal :

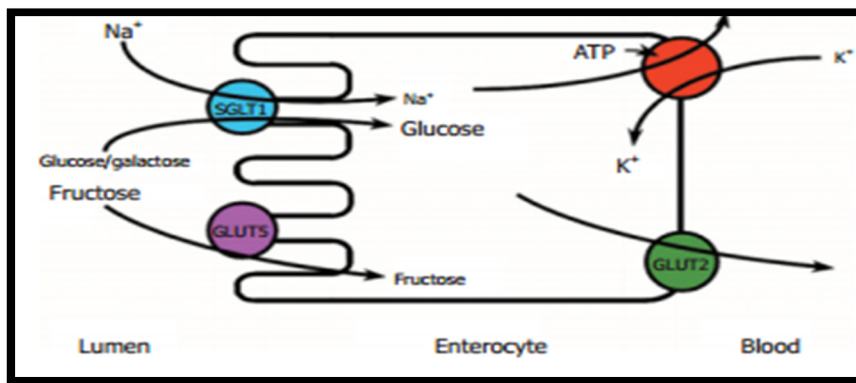


Figure 5 : Résumé de l'absorption intestinale du glucose (**Drozdowski & Thomson, 2006**).

Le tableau suivant, représente les différentes affinités des transporteurs de glucose par rapport à leurs substrats et les leurs principaux inhibiteurs :

Tableau IV : Constantes d'affinité et principaux inhibiteurs de quelques transporteurs de glucose (**Drozdowski & Thomson, 2006**).

| Transporteurs | Km | Inhibiteurs |
|---------------|--|--|
| SGLT1 | Glucose:0.1-0.6mmol/L | Phloridzin |
| GLUT2 | Glucose:> 50 mmol/L Fructose: 66 mmol/L | Cytochalasin B Phloretin |
| GLUT5 | Fructose: 6-14 mmol/L | Glyco-1, 3-oxazolidin-2-thiones, -ones |

CHAPITRE III
GENERALITES SUR LA PLANTE

III.1. Généralités

Depuis la nuit des temps, l'homme a toujours eu recours à des remèdes traditionnels à base de plantes pour soigner toute sorte de maladies, et ce quelque soit la forme d'utilisation de la plante (poudres, tisanes ou décoctions).

L'extraordinaire richesse du vocabulaire populaire pour désigner les plantes nous en dit long sur les connaissances médicales de l'homme des champs des temps passés, qui voyait au bord du chemin, à l'ombre des haies, dans les bois et dans les prés, la pharmacie qu'il avait sous la main.

Ainsi, les différentes civilisations qui se sont succédées sur terre, ont toujours été en contact permanent avec la flore locale, ce qui leurs a permis de mieux connaître ces plantes et de les répertorier à fin de les utiliser en médecine traditionnelle (Clément, 2005).

Actuellement, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) estime qu'environ 80% des habitants de la terre (principalement les pays du tiers monde, pour des raisons économiques) ont recours aux préparations traditionnelles à base de plantes en tant que soins de santé primaires (Lhuillier, 2007).

Le tableau suivant trace l'importance de l'utilisation de la médecine traditionnelle dans le monde (Eddouks et al., 2007).

Tableau V : Importance de l'utilisation de la médecine traditionnelle dans le monde (Eddouks et al., 2007).

| Pays ou région | Importance de l'utilisation de la médecine traditionnelle |
|----------------|---|
| -Afrique | -Utilisée par 80% de la population locale pour les soins primaires |
| -Australie | -Utilisée par 49% d'adultes |
| -Chine | -Complètement intégrée dans les systèmes de santé. 95% des hôpitaux ont des unités de médecine traditionnelle |
| -Inde | -Largement utilisée. 2 860 hôpitaux ont des unités de médecine traditionnelle. |
| -Indonésie | -Utilisée par 40% de la population totale et 70% de la population rurale |

| | |
|-------------------------------------|---|
| -Japon | -72% des médecins pratiquent la médecine traditionnelle |
| -Thaïlande | Intégrée dans 1 120 centres hospitaliers |
| -Vietnam | -Complètement intégrée dans les systèmes de santé. 30% de la population se soignent par la médecine traditionnelle. |
| Pays occidentaux : -France : | -75% de la population a recours à la médecine traditionnelle au moins une fois |
| -Allemagne | -77% des cliniques pratiquent l'acupuncture |
| -Etats-Unis | -29 à 42% de la population utilisent la médecine complémentaire. |

III.2. La plante du romarin

Le Romarin ou Romarin officinal (*Rosmarinus officinalis*), est une plante qui pousse habituellement à l'état sauvage, sur le pourtour de la méditerranée.

Utilisée depuis l'antiquité comme stimulant de la mémoire surtout en antique Grèce, elle est aussi considérée comme étant un symbole de l'amour et de la fidélité, les nouveaux époux portaient une couronne de romarin.

Actuellement, elle est utilisée dans de nombreux plats de cuisine typiquement méditerranéens, mais aussi comme produits de cosmétiques (parfumerie) (Edoardo et al., 2010).

III.2.1. Etymologie

Le mot *Rosmarinus* peut être interpréter de différentes manières, on trouve par exemple que ce mot vient du mot latin *Ros* qui est le rosé et *marinus* qui veut dire mer. On l'appelle également « herbe-aux-couronnes », et en provençal encensier, mais probablement sa vraie appellation vient du grec *Rhops myrinos* qui veut dire buisson aromatique (Hoefler, 1994).

III.2.2. Description

Le romarin sous ses différentes espèces appartient à la famille des Lamiacées ou (labiées), peut atteindre jusqu'à 1,50 m de hauteur, voire jusqu'à 2 m en culture. Reconnaissable en toutes saisons à ses feuilles persistantes sans pétiole, leur odeur très camphrée, évoque aussi l'encens d'où il doit son nom « *encensier* » en provençal (Touafek et al., 2004).



Figure 6 : Le romarin.

La floraison commence dès le mois de février, parfois en janvier, et se poursuit jusqu'en avril-mai. Certaines variétés peuvent fleurir une deuxième fois en début d'automne. La couleur des fleurs, varie du bleu pâle au violet. On trouve également, mais plus rarement, la variété à fleurs blanches *R. officinalis albiflorus* (Djeddi et al., 2007).

La figure suivante représente l'aspect morphologique et la classification du romarin (*Rosmarinus officinalis*).



Règne : Plantes
 Embranchement : Spermaphytes
 Classe : Dicotyledones
 Ordre : Lamiales (Labiales)
 Famille : Lamiaceae
 Genre : *Rosmarinus*
 Espèce : *Rosmarinus officinalis* L.

Figure 7 : Aspect morphologique et la classification du romarin (*Rosmarinus officinalis*), (Munné-Bosch et al., 2000).

III.2.3. Localisation

Le romarin se distribue principalement dans tout le bassin méditerranéen, pousse sur des terrains arides calcaires et ensoleillés, tel que les maquis ou il est répondu depuis le niveau de la mer jusqu'à une altitude de 600 mètres et parfois on le retrouve à plus de 1500 mètres d'altitude (Hoefler, 1994).

III.2.4. Utilisation

Très souvent en abondance dans la nature, le romarin a pu être utilisé dans différents domaines et de différentes manières, et parmi ses utilisations, on cite l'exemple de la cosmétique, de la gastronomie et surtout en médecine et phytothérapie (Edoardo *et al.*, 2010).

III.2.4.1. Gastronomie

Les branches feuillues du romarin s'utilisent de préférence fraîches, mais peuvent également se conserver séchées. Les fleurs ont une saveur plus douce et se consomment crues, saupoudrées pour parfumer un plat ou un dessert, Le romarin est également utilisé pour parfumer les grillades. Il est également possible de fumer la viande ou le poisson en déposant quelques branches sur les charbons (Edoardo *et al.*, 2010).

III.2.4.2. Cosmétique

L'utilisation du romarin en parfumerie est très ancienne, Le premier parfum alcoolique dont on connaissait l'existence est *l'eau de Hongrie*, alcoolat fréquemment utilisé au XVII^e siècle et qui pourrait dater du XIV^e siècle, dont le romarin était l'un des principaux composants.

L'eau florale du romarin est très souvent utilisée en cosmétique pour son pouvoir purifiant, elle est excellente pour les peaux grasses ou acnéiques, grâce à ses vertus régulatrices et ré-équilibrantes, elle purifie et assainit la peau (Djeddi *et al.*, 2007).

III.2.4.3. Médecine et phytothérapie

Au cours des siècles, les anciens ont accumulé un véritable savoir sur les vertus médicinales des plantes, et parmi celles -ci, le romarin qui reste la référence dans le traitement d'un certains nombre de maladies et de pathologies.

Ainsi, des études ont pu démontrer que cette plante rétablit l'équilibre thermique et active le processus sanguin d'une part, et indiqué dans les cas d'anémie et des troubles de l'irrigation sanguine d'autre part (Wang *et al.*, 2010). Aussi, il est reconnu pour être un bon neuroprotecteur (fregozo *et al.*, 2012), un antiseptique pulmonaire, antidépresseur (Machado

et *al.*, 2013), antinévralgique, antimicrobien (Santoyo et *al.*, 2005), antirhumatismal, antalgique, sudorifique, cicatrisant, antioxydant (Pintore et *al.*, 2009), antispasmodique et anti-inflammatoire (Wang et *al.*, 2010).

Une légende populaire en Europe de l'est et certains scientifiques, affirment que le romarin possède d'importantes propriétés anti-âge (Escriva, 2010), de stimulation de la mémoire et de l'amélioration de l'humeur (Moss et *al.*, 2003).

La Commission E (groupe de scientifiques des plus reconnus en Allemagne) reconnaît que le romarin en usage interne (tisanes) peut soulager les troubles gastriques, tandis qu'en usage externe (pommade) cette plante va soulager les douleurs rhumatismales.

D'un autre côté, le romarin est reconnu comme un bon stimulant du fonctionnement de la vésicule biliaire. Il est indiqué à ce titre dans l'insuffisance hépatique (fregozo et *al.*, 2012). Et en cas d'inflammation chronique de la vésicule (Wang et *al.*, 2010).

Par ailleurs, des travaux ont été effectués sur l'activité antidiabétique que le romarin exercerait à l'échelle moléculaire par l'inhibition de l'enzyme alpha glucosidase intestinale par l'extrait éthanolique (Koga et *al.*, 2006; Gholamhoseinian et *al.*, 2008).

III.3. Composition chimique

Une des originalités majeures des végétaux réside dans leur capacité à reproduire des substances naturelles très diversifiées. En effet, à côté des métabolites primaires classiques (glucides, protéides, lipides et acides nucléiques), ils accumulent fréquemment des métabolites dits « secondaires » qui représenteraient une source importante de molécules utilisables par l'homme dans des domaines aussi différents que la pharmacologie ou l'agro-alimentaire (Marcheix et *al.*, 2005).

III.3.1. Les poly-phénols

III.3.1.1. Généralités

Les composés phénoliques ou les poly-phénols sont des produits du métabolisme secondaire très répandus dans le règne végétal, définis comme des molécules indirectement essentielles à la vie de la plante (d'où la dénomination de métabolites secondaires) (Hennebelle et *al.*, 2004). Ils rentrent en jeu dans le rôle de défense de la plante contre toutes les agressions de l'environnement et dans son interaction avec ce dernier (Mehinagic et *al.*, 2011). Ce sont des phyto-micronutriments et généralement, des pigments responsables des

teintes automnales des feuilles et des couleurs des fleurs et fruits (jaune, orange, rouge) (Edeas, 2007).

L'expression de « composés phénoliques » est utilisée pour toutes substances chimiques possédant dans sa structure un noyau aromatique, portant un ou plusieurs groupements hydroxyles (Nkhili, 2009), sont des composés hydrosolubles de poids moléculaires compris entre 500 et 3000 Dalton (D'Archivio et al., 2007).

Bien que la médecine traditionnelle ait fait son apparition il y a déjà plusieurs années, les poly-phénols étaient considérés au départ comme potentiellement néfastes vu leur interférence au niveau de l'absorption des nutriments. Ce n'est qu'au cours des deux dernières décennies que cette passion pour les propriétés bénéfiques des poly-phénols sur la santé humaine s'est manifestée. Ces molécules sont dotées d'un potentiel antioxydant élevé (Marquis, 2012) et s'avèrent intéressantes quant à la prévention de certains types de cancers (Subbaramaiah, 1999), de maladies cardio-vasculaires et d'autres maladies associées au stress oxydatif (Vergé et al., 1999).

III.3.1.2. Biosynthèse des composés phénoliques

D'un point de vue biosynthétique, la majeure partie des composés aromatiques est constituée de la famille des **phenylpropanoïdes**, qui dérivent de la phénylalanine. La désamination de cet acide aminé par une enzyme clé – la phénylalanine ammonia-lyase (PAL), conduit à l'acide cinnamique (voir figure 9, annexe 1) (Bruneton, 1999).

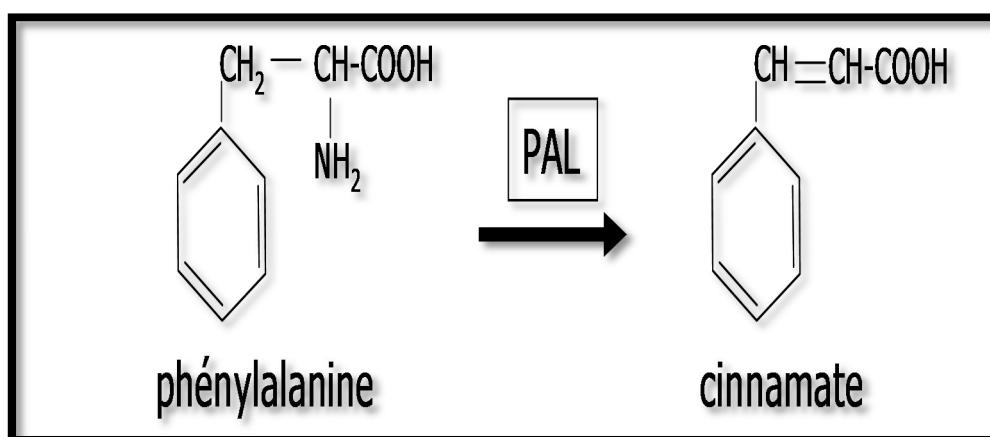


Figure 8 : Désamination de la phénylalanine en acide cinnamique (Bruneton, 1999).

La voie de shikimate : Cette voie est très spécifique des végétaux et conduit à la synthèse des trois acides aminés essentiels suivants : tryptophane, phénylalanine et tyrosine (Pal et Tyr sont des intermédiaires métaboliques entre l'acide shikimique et l'acide cinnamique) (Bruneton, 1999).

Dans cette voie, l'érythrose 4-phosphate et le phosphoénol pyruvate sont produits par les hydrates de carbones lors de leur dégradation par la voie des pentoses phosphate et la glycolyse respectivement. Ces derniers sont à l'origine des composés phénoliques C6-C1 formant les tannins hydrolysables et de la chalcone qui est la molécule de base de tous les flavonoïdes et tannins condensés (voir figure10, annexe 2) (Bruneton, 2009).

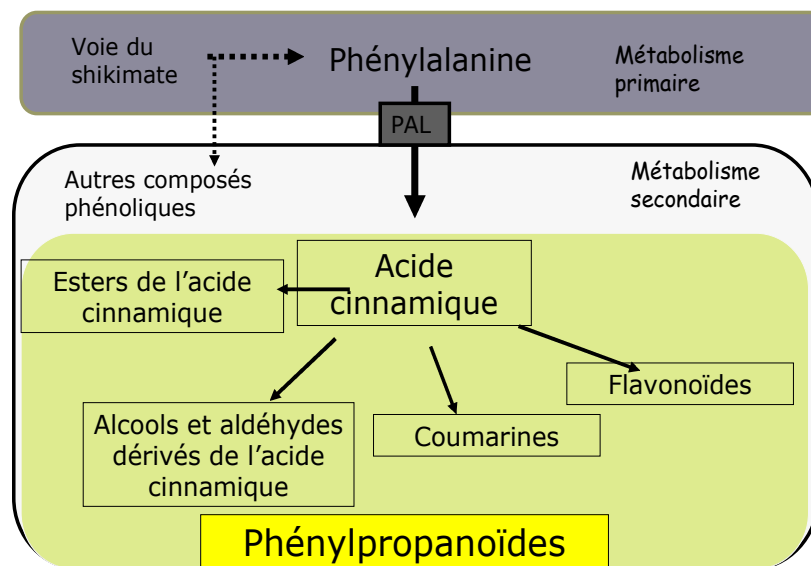


Figure11 : Résumé de la biosynthèse des poly-phénols (Marcheix et al., 2005).

III.3.1.3. Classification des poly-phénols :

L'appellation « poly-phénols » ou « composés phénoliques » regroupe un vaste ensemble de plus de 8000 molécules, divisées en une dizaine de classes chimiques, qui présentent toutes un point commun : la présence dans leur structure d'au moins un cycle aromatique à 6 carbones, lui-même porteur d'un nombre variable de fonctions hydroxyles (OH), on compte plus de 5 000 molécules isolées et les plus connues sont les « flavonoïdes » (Hennebelle et al., 2004).

Ce groupe renferme trois grandes familles de molécules de structures voisines (Mehinagic et al., 2011) :

- Les acides phénoliques (acides hydroxy-benzoïques, acides hydroxy-cinnamiques),
- les flavonoïdes, pigments végétaux jaunes-orangés,
- les anthocyanes.

Néanmoins, de nombreuses autres structures existent, tels que les acides phénols, tanins hydrolysables, coumarines, anthocyanidines, lignanes, quinones et autres phloroglucinols (Edeas, 2007).

III.3.1.3.1. Les acides phénoliques simples

Les acides phénoliques ou composés poly-phénoliques non-flavonoïdiques ont une fonction acide et plusieurs fonctions phénols. Ils sont incolores et plutôt rares dans la nature. Ils se divisent en deux catégories (Tsao, 2010):

- Acides hydroxy-benzoïques : dérivés de l'acide benzoïque caractérisés par leur structure squelettique C1-C6.
- Acides hydroxy-cinnamiques : dérivés de l'acide cinnamique caractérisés par leur structure squelettique C3-C6.

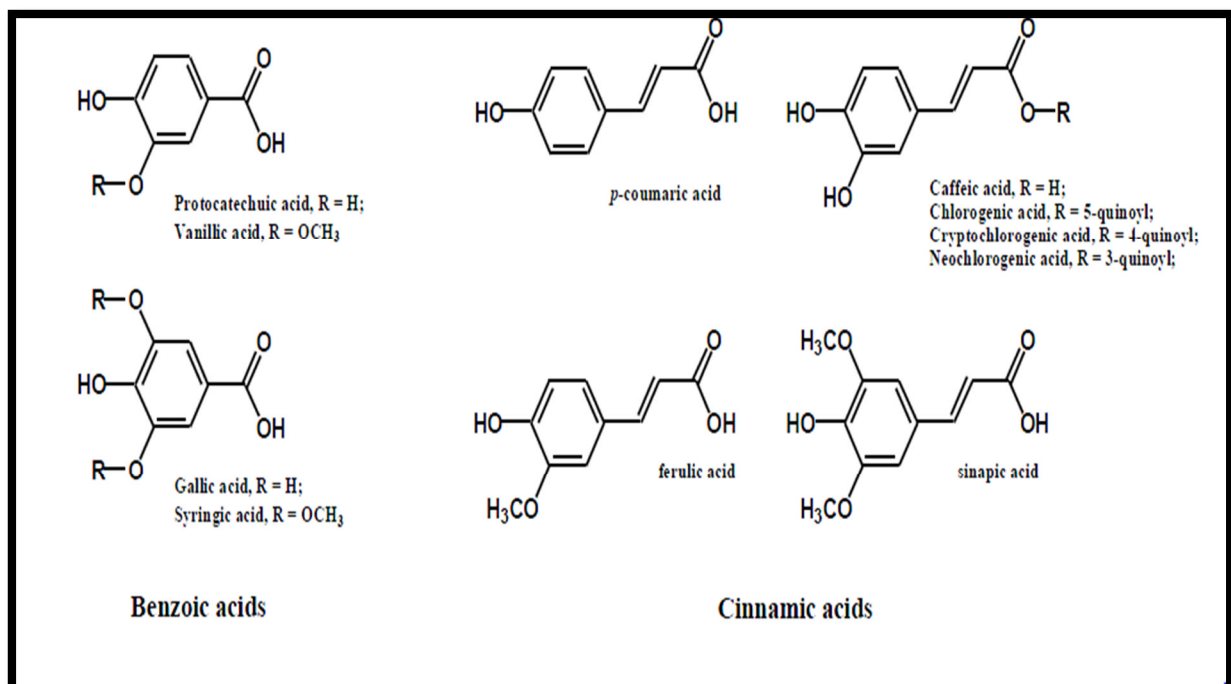


Figure 12 : Structures chimiques des acides phénoliques (Tsao, 2010).

On rajoute à ces deux classes, la sous classe des **coumarines** qui dérivent des acides hydroxy-cinnamiques par cyclisation interne de la chaîne latérale. Connus depuis maintenant

plus de deux siècles, la famille des coumarines renferme plus de 1300 composés et cette liste ne cesse de s'allonger (Marquis, 2012).

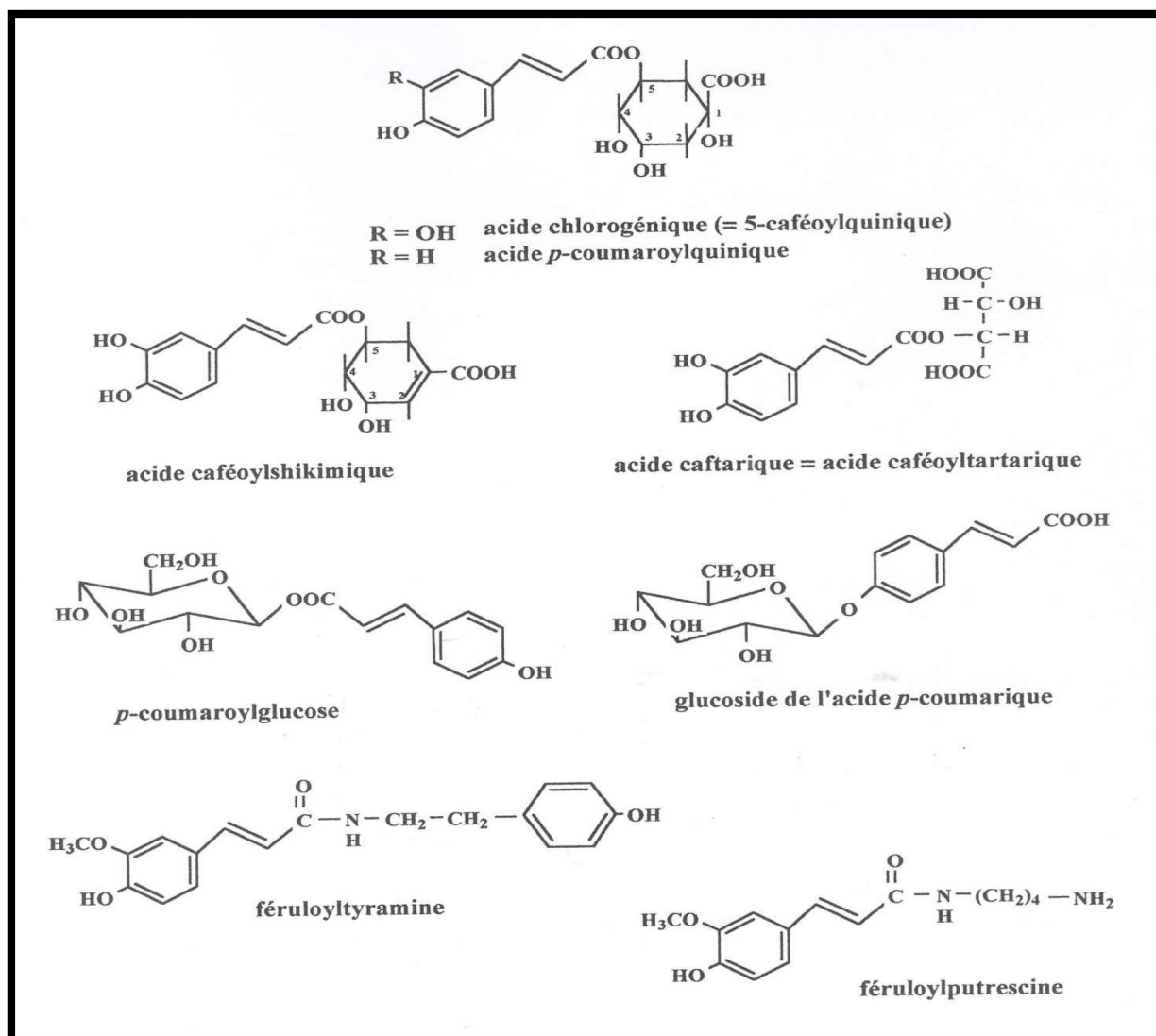


Figure 13 : Dérivés d'acides hydroxy-cinnamiques (Jay-Allemand, 2011).

III.3.1.3.2. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes constituent un groupe de plus de 6 000 composés naturels, sont quasiment universels chez les plantes vasculaires. Ils constituent des pigments responsables des colorations jaune, orange et rouge des différents organes végétaux (Ghedira, 2005).

Les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune et par conséquent, leur structure s'organise toujours autour d'un squelette 1,3-di-phénylpropane C6-C3-C6 (figure 14) (Isorez, 2007).

Ils donnent des couleurs allant du jaune clair au jaune or. Selon les détails structuraux les flavonoïdes se divisent en 6 groupes : flavones, flavonols, flavonones, isoflavones, chalcones, aurones (**Kamran Khan, 2010**).

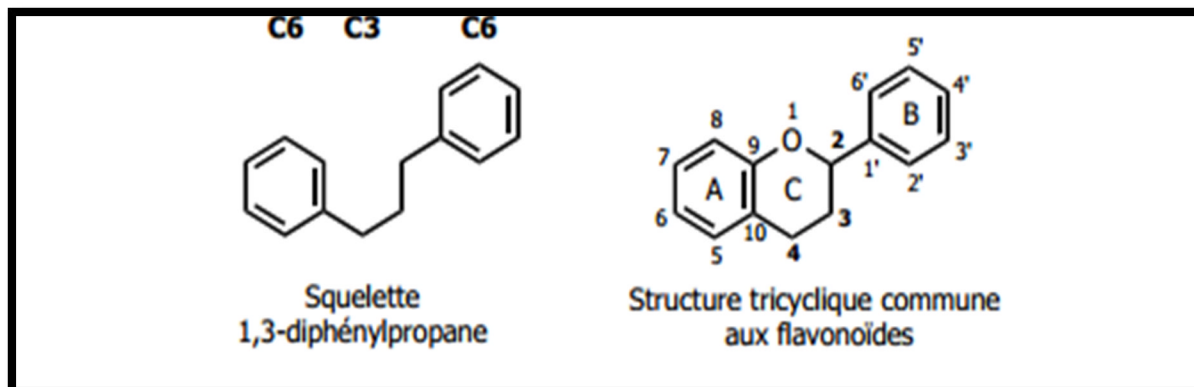


Figure 14 : Structure chimique des flavonoïdes : enchaînement C6-C3-C6 (**Isorez, 2007**).

III.3.1.3.3. Les anthocyanes

Les anthocyanes (du grec anthos, fleur et Kuanos, bleu violet) sont donc des composés colorés (orange, pourpre à bleu) largement impliqués dans la coloration des pétales.

Les anthocyanes sont des flavonoïdes porteurs d'une charge sur l'oxygène de l'hétérocycles C dont la structure de base des est caractérisée par un noyau "flavon" généralement glucosylé en position C (**Marcheix et al., 2005**).

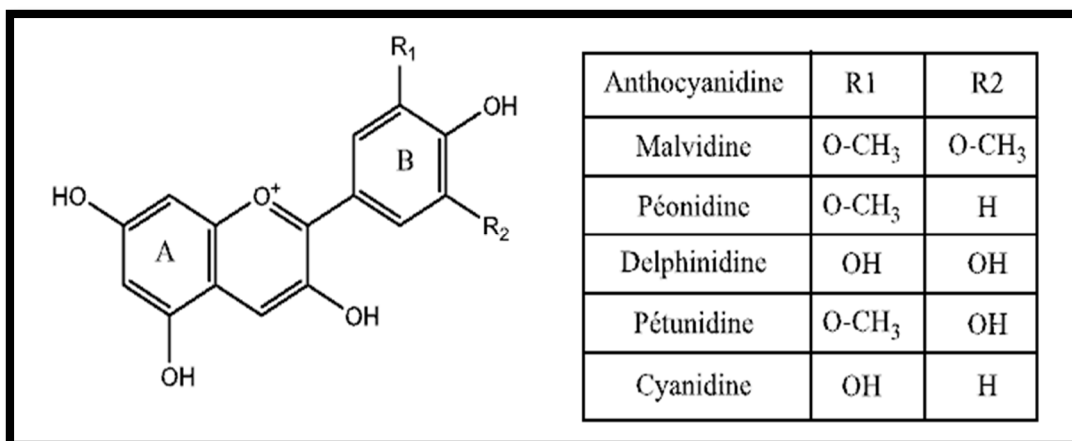


Figure15 : Structure chimique des anthocyanes (**Muanda, 2010**).

III.3.1.3.4. Tannins

Sont d'origine végétale et non azotée. Sont des composés phénoliques de structures variées ayant en commun la propriété de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et les protéines, Leur poids moléculaire s'étend de 500 à 3000 (Zlata, 1992).

On distingue deux types de tannins :

Les tannins hydrolysables et les tannins non hydrolysables (tanins condensés) (Crespy, 2002).

III.3.1.4. Activités biologiques des poly-phénols

Certaines plantes et épices font partie de la pharmacopée traditionnelle asiatique depuis des siècles, mais ce n'est que récemment que les études scientifiques ont permis de confirmer ces propriétés médicinales attribuées aux poly-phénols (Edeas, 2007).

- **Activité anti-oxydante**

La principale caractéristique des poly-phénols est qu'ils sont des agents antioxydants très puissants. En effet, ils sont capables de piéger les radicaux libres et d'activer les autres antioxydants présents dans le corps (Popovici et al., 2009; Athamena et al., 2010; Faller & Fialho, 2010).

- **Activité anti-inflammatoire**

Les poly-phénols sont connus pour leurs activités anti-inflammatoires par la protection de l'oxydation des LDL cholestérol et des acides gras poly-insaturés, antiagrégants plaquettaires par la diminution du taux des plaquettes activées ce qui limiterait le risque de maladies cardiovasculaires (Vergé et al., 1999; Martin & Andriantsitohaina, 2002; Edeas, 2004; Stoclet, 2004).

- **Activité anticancéreuse**

Les poly-phénols sont capables d'activer les mécanismes naturels de la défense anticancéreuse. En effet, les premiers stades de la phase d'initiation cancéreuse peuvent être bloqués par la capacité des tissus cibles à intercepter et à métaboliser les agents mutagènes. Des cellules impliquées, comme les hépatocytes, synthétisent des enzymes dites de phase I (notamment des mono-oxygénases, telle que les cytochromes P-450) qui peuvent oxyder les substances mutagènes hydrophobes en produits constituant le substrat des enzymes de phase II qui sera converti en espèces hydrolysables facilement excrétées hors des cellules

On cite l'exemple du resvératrol qui montre *in vitro* une action sur les trois phases principales de cancérisation. Cette molécule semble même prévenir certaines formes de cancer en

inhibant l'expression de gènes codant pour des enzymes nécessaires à l'étape d'initiation (Subbaramaiah *et al.*, 1999; Vergéet *al.*, 1999; Khan, 2007).

- **Activité antidiabétique**

Une inhibition de l'alpha-amylase *in vivo* a été déterminée par **Takahiro** et ses collaborateurs (2013), après administration d'une certaine dose de poly-phénols à des rats nourris par l'amidon de maïs. Cette inhibition a permis de supprimer l'augmentation du taux de glucose dans le sang.

Un effet de protection contre l'insulino-résistance a été remarqué chez des apparentés de diabétiques de type 2 (Luytonet *al.*, 2011).

III.3.2. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes occupent une place prépondérante dans le groupe des phénols, ils sont des métabolites secondaires ubiquistes des plantes. On estime que 2 % environ du carbone organique photo-synthétisé par les plantes, soit quelques 109 tonnes par an, est converti en flavonoïdes (Bruneton, 2009).

Le nom flavonoïde proviendrait du terme *flavedo*, désignant la couche externe des écorces d'orange, cependant d'autres auteurs supposaient que le terme flavonoïde a été plutôt prêté du mot latin *flavus* en 1953 qui signifierait la couleur jaune.

Ils ont été isolés par le scientifique E.Chervreul en 1814, mais ont été réellement découverts qu'en 1930 par Albert Szent-Györgyui, désignés sous le nom de vitamine P, en raison de leur efficacité à normaliser la perméabilité des vaisseaux sanguins, cette dénomination fut abandonnée lorsqu'on se rendit compte que ces substances ne correspondaient pas à la définition officielle des vitamines, il devient clair que ces substances appartiennent aux flavonoïdes (Bruneton, 1999).

Les flavonoïdes constituent en eux même une famille de composés extrêmement vaste, jouant des rôles physiologiques importants (interactions Légumineuses/Rhizobium, filtres UV...etc). La variété des composés est essentiellement liée au degré d'hydroxylation/ méthylation/ glycosylation de chacun des trois cycles des molécules de base (Ghedira, 2005).

Dans ce groupe, on distingue les chalcones, les auronnes, les flavones, les flavanes, les flavanones, les flavanols, les flavonols et les flavanonols représentés dans la figure ci-dessous (Edeas, 2004).

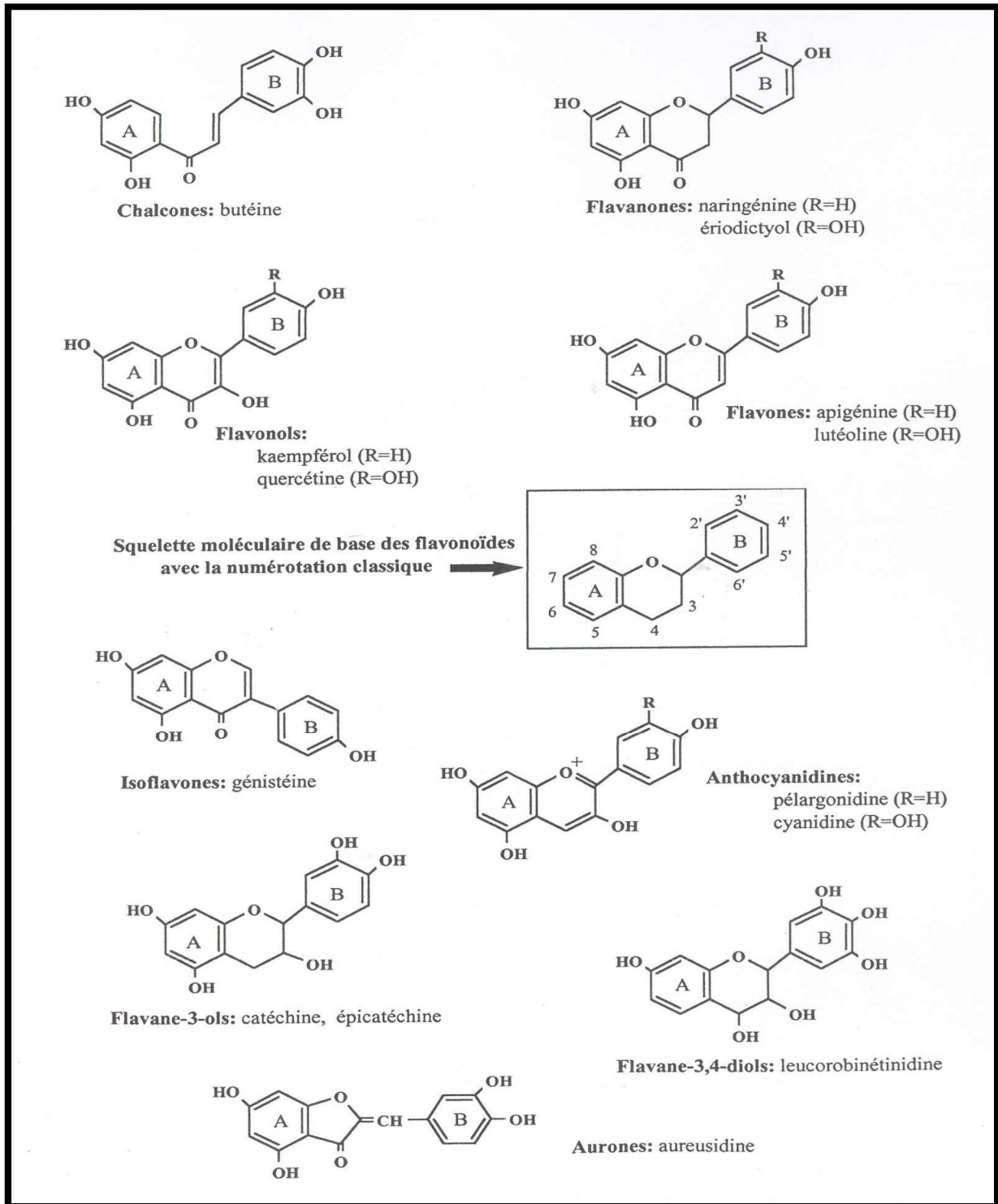


Figure 16 : Différentes classes des flavonoïdes avec quelques exemples, (Jay-Allemand, 2011).

III.3.3. Propriétés biologiques des flavonoïdes

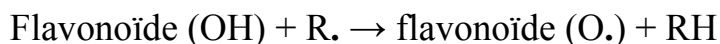
En règle générale, les flavonoïdes sont *in vitro*, des inhibiteurs enzymatiques de l'histidine-décarboxylase par le quercétol ou la naringénine; l'élastase; l'hyaluronidase, par les

flavones et surtout par les proantho-cyanidols; la phospho-di-estérase de l'AMPc; l'aldoséréductase par le quercétioside, ainsi que par des méthoxyflavones; la protéine-kinase, notamment par le lutéolol; plusieurs flavonoïdes (cirsiolol, hypolaetine, etc.) sont de puissants inhibiteurs de la 5 lipoxygénase. Quant à (lutéolol, apigénol, chrysine, etc.) inhibent la cyclo-oxygénase (**Bruneton, 2009**).

Plus rarement, les flavonoïdes peuvent stimuler une activité enzymatique : c'est le cas de la proline-hydroxylase (**Bruneton, 1990**).

- **Propriété anti-oxydante**

La propriété des flavonoïdes la mieux décrite est leur activité anti-oxydante et leur capacité à piéger les radicaux libres : radicaux hydroxyles (OH·), anions super-oxydes et (O₂·-) radicaux peroxy-lipidiques, selon la réaction suivante (**Ghedira, 2005**) :



- **Propriété vasodilatatrice**

Cette propriété fait des flavonoïdes des candidats parfaits pour le traitement des maladies cardiaques. Plusieurs recherches ont montré que les flavonoïdes possèdent un large spectre d'activités biologiques dans le système cardio-vasculaire, qui comprendrait l'activité anti-oxydante, anti-thrombotique, anti-apoptique, anti-ischémique, anti-arythmique et anti-hypertension (**Shohaibet *al.*, 2011**).

- **Propriété antiallergique**

Les flavonoïdes sont également connus pour leurs effets antiallergiques. Ils agissent par inhibition des enzymes qui favorisent la libération d'histamine à partir des mastocytes et des basophiles : l'AMPc phosphodiesterase et la Ca⁺⁺ ATPase.

En outre, la quercétine exerce un puissant effet inhibiteur de la libération d'histamine à partir des mastocytes (**Ghedira, 2005**).

- **Propriété antidiabétique**

Kwon et ses collaborateurs (**2006**) ont montré que les flavonoïdes ont un effet inhibiteur sur les transporteurs intestinaux du glucose « GLUT2 » jouant un rôle anti-hyperglycémique intéressant à suivre dans la thérapeutique du diabète, essentiellement de la glycémie post prandiale.

L'inhibition de l'alpha glucosidase intestinale par les flavonoïdes a été confirmée avec l'étude de « l'inhibition de l'alpha glucosidase par des isoflavones isolés à partir des feuilles de « *Belamcanda chinensis* » entreprise en **2008** par l'équipe de recherche de **Wu**.

PARTIE PRATIQUE

CHAPITRE IV
MATÉRIEL ET MÉTHODES

IV. Matériel et méthodes

Notre étude s'articule au tour de deux axes principaux ; l'étude de l'effet inhibiteur des flavonoïdes de *Rosmarinus officinalis* sur alpha glucosidase *in vitro*, ainsi que leur effet anti-hyperglycémiant sur des souris normales (non rendues diabétiques).

IV.1. Matériel

IV.1.1. Produits chimiques

Les solvants utilisés sont tous de la marque Biochemie Chemopharma. Les autres produits chimiques spécifiques tels que l'alpha glucosidase de *Saccharomyces cerevisiae* (EC.2.3.1.20 G5003), le para-nitrophenyl α -D-glucopyranoside (pNPG), la phloridzin dihydrate, l'acide gallique, et la quercétine proviennent tous de Sigma (SIGMA ALDRICH CHEMICAL), quant aux médicaments utilisés tels que : Acarbose (50mg, Bayer), Glucophage (métformine 500mg, Saydal) ont été procurés à partir des pharmacies de la ville de Bejaia. Les autres appareils utilisés lors de cette étude sont rapportés en annexes.

IV.1.2. Matériel végétal

Etant une plante locale très répondeuse, la récolte du romarin (*Rosmarinus officinalis*) s'est effectuée au mois de septembre 2012, dans la région de Tazmalt (Béjaia).

IV.1.3. Choix des animaux et conditions d'hébergement

Notre étude a été réalisée sur des souris femelles de variété *Swiss albinos*, adultes (4 semaines) dont le poids varie entre 25g et 35g, ces souris ont été obtenues au près de la faculté de médecine de l'université Mentouri de Constantine.

Les souris ont été logées aléatoirement dans des cages standards pour une période d'acclimatation d'environ une semaine au niveau de l'animalerie de la faculté biologie de l'université de Bejaia, avec accès libre à l'eau et à la nourriture (Aliments pour bétails, ONAB, Médéa), à une température ambiante ($\pm 25^{\circ}\text{C}$). Les autres conditions comme l'éclairage et la ventilation n'ont pas été pris en considération. La litière utilisée est la sciure, qui est renouvelée chaque jour ou chaque deux jour pour tous les groupes de souris.

IV.2. Méthodes

IV.2.1. Procédé d'extraction

Après séchage à une température ambiante et à l'abri de la lumière, les feuilles de *Rosmarinus officinalis* ont été finement broyées à l'aide d'un broyeur électrique, suivi d'un tamisage (250 à 500 μ m), ce qui a permis d'obtenir une quantité suffisante de poudre.

IV.2.1.1. Extraction des flavonoïdes de *Rosmarinus officinalis*

L'extraction des flavonoïdes est réalisée selon la méthode de **Markham (1982)** avec quelques modifications. Cette méthode comprend deux grandes étapes : la première phase d'extraction se fait avec le méthanol pour solubiliser les flavonoïdes et la deuxième est réalisée avec l'éther di-éthylique (extraction des génines libres) et l'acétate d'éthyle (extraction des mono-glycosylés) et le n-butanol (pour solubiliser les di et les tri-glycosylés).

IV.2.1.2. Obtention de l'extrait méthanolique par macération

Le matériel végétal broyé (100g) a été soumis à une extraction par macération dans un mélange méthanol/eau (80/20 : v/v) lors des deux premières macérations (2 fois 24h) et un rapport méthanol/eau (50/50 : v/v) au cours de la troisième macération (24h), pour une durée totale de 72 heures.

Le filtrat combiné des trois macérations a été filtré à l'aide du papier filtre wattman n°3, puis a été mis à évaporation dans l'étuve à une température de 40°C pendant 72 heures. Le résidu sec récupéré a été repris dans 150ml d'eau distillée chaude (l'eau chaude a servi à récupérer les composés restés accolés à la paroi du récipient)

IV.2.1.3. Fractionnement des extraits par affrontement de solvants à polarité croissante

L'extrait méthanolique obtenu après macération est débarrassé des cires, des lipides et de la chlorophylle suite aux plusieurs lavages réalisés par l'éther du pétrole (v/v) à l'aide d'une ampoule à décanter.

La phase aqueuse obtenue après ce lavage, a été soumise à un fractionnement par affrontement des solvants.

La phase aqueuse est mélangée avec l'éther di-éthylique (v/v) pour obtenir une phase organique contenant les flavonoïdes aglycones (génines). La phase aqueuse restante subit à son tour plusieurs extractions avec l'acétate d'éthyle afin de récupérer dans la phase organique certains flavonoïdes aglycones mais surtout les mono-glycosylés.

La phase aqueuse restante est mélangée avec le *n*-butanol pour récupérer notamment les flavonoïdes di et tri-glycosylés. La phase aqueuse finale contient surtout les flavonoïdes glycosylés plus polaires.

Les solvants des différentes fractions ont été éliminés par séchage à 40°C dans l'étuve, après séchage chaque fraction est pesée dans le but de calculer le rendement par rapport à la quantité de la matière végétale utilisée.

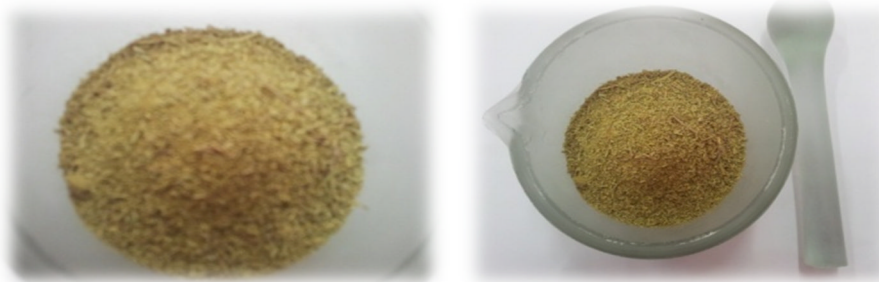


Figure 17 : Poudre obtenue après broyages des feuilles de *Rosmarinus officinalis*.

Le schéma suivant résume les différentes étapes de l'extraction des flavonoïdes

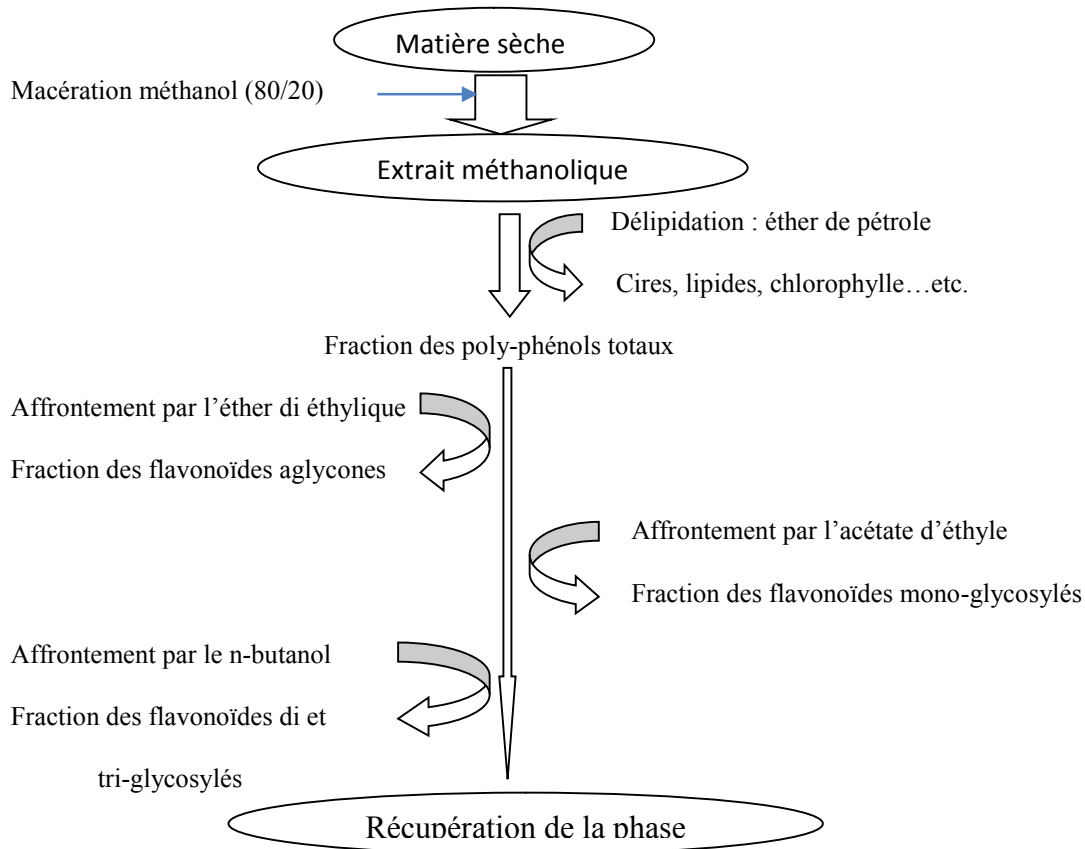


Figure 18 : Etapes d'extraction des flavonoïdes (Markham, 1982).

IV.2.2. Calcul du rendement : Taux d'extraction (%) = $P_1/P_0 \times 100$

P₀ : poids de la poudre avant extraction.

P₁ : poids de l'extrait sec après extraction.

IV.2.3. Dosage des composés phénoliques

IV.2.3.1. Dosage des poly-phénols totaux

La teneur en composés phénoliques des différentes fractions des feuilles de *Rosmarinus officinalis* a été évaluée par la méthode de folin ciocalteu, décrite par (Owen & Johns, 1999) avec quelques modifications.

Ce dosage repose sur le réactif de folin ciocalteu, constitué de deux mélanges, l'acide phospho-tungstique (WO_4^{2-}) et l'acide phospho-molybdique (MoO_4^{2-}), basé sur la réduction en milieu alcalin des composés du folin ciocalteu par les groupements oxydables des composés phénoliques, menant à l'apparition d'une coloration « bleu » avec une intensité proportionnelle à la quantité des poly-phénols oxydés dans le milieu réactionnel. Ces derniers présentent une absorbance maximale de l'ordre de 740nm.

Expérimentalement, 200µl d'extrait solubilisé dans du méthanol (99%) sont mélangées à 1ml du réactif de folin à 10% et 0,1N.

Après 5 minutes, 800µl de carbonate de sodium (Na_2CO_3) à 7.5% sont ajoutées au milieu réactionnel.

Une heure après l'incubation à température ambiante et à l'abri de la lumière, l'absorbance des milieux est mesurée à 740nm par spectrophotomètre (UNICO).

Par la suite, la quantité des poly-phénols est calculée à partir des gammes d'étalonnage établies par l'acide gallique qui est exprimée en milligramme d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g).

IV.2.3.2. Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été effectué selon la méthode de Quettier-Deleu *et al.* (2000) modifiée.

A 1ml d'échantillon préparé dans le méthanol est ajouté 1ml de l' $AlCl_3$ (2%). Après 15 minutes d'incubation, l'absorbance est lue à 410 nm. En parallèle, une gamme d'étalon est établie séparément avec la Quercétine (0-25µg/ml), dans le but de calculer les concentrations des flavonoïdes exprimées en milligramme d'équivalent de Quercétine par gramme d'extrait (mg EQ/g).

IV.2.4. Etude de l'effet antidiabétique des extraits

IV.2.4.1. Test de l'inhibition de l'alpha glucosidase *in vitro*

Le test d'inhibition de l'alpha glucosidase de levure (*Saccharomyces cerevisiae*) *in vitro* nous a permis d'évaluer l'activité inhibitrice des différentes fractions obtenues sur l'alpha glucosidase, suivant le protocole de **Oboh et al. (2012)** tout en apportant de légères modifications.

Les différents échantillons (fractions d'extrait) ont été solubilisés dans un tampon phosphate (0.1M, ph 6.9) de telle sorte à obtenir des concentrations de (50, 100 et 150µg/ml). Un volume de 250µl de chaque échantillon a été mélangé avec 500µl de l'enzyme alpha glucosidase (0.1u soit 0.01mg/ml) solubilisée dans le même tampon. Le mélange obtenu a été incubé à une température de 37°C pendant 15 minutes. Par la suite, 250µl du substrat pNPG 5mM (1.5mg/ml) solubilisé dans le même tampon (phosphate 0.1M ph 6.9) ont été ajoutées au mélange. Le tout a été incubé pendant 15 minutes à 37°C (**Oboh et al., 2012**).

La réaction a été stoppée en incubant le mélange réactionnel pendant 5 minutes au bain marée (BUNSEN) à une température de 100°C. L'activité enzymatique a été déterminée en mesurant l'absorbance par spectrophotomètre (UNICO) à une longueur d'onde de 405nm (**Shim et al., 2003**)

Le pourcentage d'inhibition de l'activité enzymatique est calculé par la loi suivante :

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{\text{Abs (contrôle)} - \text{Abs (échantillon)}}{\text{Abs (contrôle)}} \times 100$$

Ou, Abs (contrôle) = absorbance de l'enzyme avec substrat.

Abs (échantillon) = absorbance de enzyme+substrat+extrait.

IV.2.4.2. Effet des extraits de *Rosmarinus officinalis* sur la glycémie post prandiale

Cette expérience a été réalisée dans le but d'étudier l'effet des différentes fractions de *Rosmarinus officinalis* sur la glycémie post prandiale (après prise de nourriture). Pour réaliser cette étude, deux tests ont été réalisés :

IV.2.4.2.1. Test d'inhibition de l'alpha glucosidase intestinale

Ce test nous a permis de déterminer l'effet inhibiteur des différentes fractions de *Rosmarinus officinalis* sur l'alpha glucosidase intestinale (Shim et al., 2003).

IV.2.4.2.1.1. Répartition des souris sur différents lots

Lors de cette étude les souris ont été mises à jeun pendant environ 15 heures, puis réparties sur quatre lots de 5 souris chacun :

- Lot I (lot control): les souris de ce groupe reçoivent seulement une dose de 2g/kg de saccharose (CNTL).
- Lot II et III (lots traités par l'extrait) : contiennent les souris traitées par les différentes fractions et à différentes doses, (200 et 400mg/kg) de fractions flavonoidiques et (500 et 600mg/kg) de poly-phénols totaux (PT, Mono, Di et Tri).
- Lot IV (lot standard): contient les souris traitées par l'acarbose (ACARB).

IV.2.4.2.1.2. Procédure expérimentale

Après une nuit de jeûne (environ 15h), les souris ont été réparties sur différents groupes selon l'homogénéité de leur glycémie. Les différentes fractions d'extraits ont été solubilisées dans de l'eau distillée pour obtenir les doses appropriées (200 et 400mg/kg), puis administrées aux souris par voie orale avant 5 minutes de l'administration d'une solution saccharose (2g/kg).

Les souris du groupe control ont reçu uniquement une solution de saccharose (2g/kg).

Les souris du groupe traité par un antidiabétique standard (acarbose), ont reçu une dose de 25mg/kg avant 5 minutes de l'administration de la solution saccharose (2g/kg).

La glycémie post prandiale a été mesurée après 30, 60, 90 et 120 minutes de l'administration du saccharose. Le dosage du glucose sanguin a été réalisé à l'aide d'un glucomètre de marque (ONE TOUCH, CHINA) à partir du sang prélevé de la veine de la queue.

IV.2.4.2.2. Effet des fractions sur le transport intestinal du glucose

Ce test nous renseigne essentiellement sur le blocage des transporteurs intestinaux de glucose (SGLT, Glut2) par les extraits étudiés, ce qui contribue principalement dans la diminution de la glycémie post prandiale, et ceci en complémentarité avec l'inhibition de l'alpha glucosidase intestinale (Nistor, 2009).

IV.2.4.2.2.1. Répartition des lots

Les souris ont été réparties sur quatre lots :

- Lot I : lot control (CNTL), ces souris ont reçu uniquement une dose de 2g/kg de glucose.
- Lot II et III: lot extrait (Mono, Di et Tri), ces groupes de souris ont reçu une dose de 400mg/kg des extraits étudiés et une solution de 2g/kg de glucose.
- Lot IV : lot standard (PZ), ce groupe de souris a reçu une dose de 100mg/kg de phloridzin (flavonoïde glycosylé, inhibiteur connu des Gluts) et une solution de 2g/kg de glucose.

IV.2.4.2.2.2. Procédure expérimentale

Après 15 heures de jeûne, les souris ont été réparties selon l'homogénéité de leur glycémie.

Les extraits à tester, la phloridzin et le glucose ont été tous solubilisés dans de l'eau distillée, de telle sorte à obtenir une solution homogène.

Les solutions de l'extrait (400mg/kg) ont été administrées aux souris par voie orale avant 5 minutes de l'administration de la solution glucose (2g/kg).

Les souris de lot control ont reçu seulement une solution de glucose (2g/kg).

Les souris de lot standard ont reçu une dose de 100 mg/kg de phloridzin avant 5 minutes de l'administration de la solution glucosée (2g/kg).

La glycémie a été mesurée après chaque 20 minutes de l'administration du glucose sur une durée d'une heure (20min, 40min et 60min).

En utilisant un glucomètre, la glycémie post prandiale a été mesurée à partir du sang prélevé de la veine de la queue.

IV.2.4.3. Test de tolérance au glucose (OGTT = oral glucose tolerance test).

Ce test permet de déterminer l'effet des différentes fractions testées sur la glycémie post prandiale et leur mode d'action : effet sécrétagogue (potentialisation de la sécrétion de l'insuline) et l'effet glucophage (stimulation du stockage du glucose par le foie) (Syiem *et al.*, 2002).

IV.2.4.3.1. Répartition des lots

les souris ont été réparties sur 5 lots de 5 souris chacun :

- Lot I : lot control (CNTL), ces souris ont reçu uniquement une dose de 2g/kg de glucose.

- Lot II, III et IV : lots extraits (Mono, Di et Tri, PT), ces groupes de souris ont reçu une dose de 400mg/kg des extraits étudiés et une solution de 2g/kg de glucose.
- Lot V : lot standard (Metf) : ce groupe de souris a reçu une dose de 150mg/kg de métformine (antidiabétique) et une solution de 2g/kg de glucose.

IV.2.4.3.2. Procédure expérimentale

Après 15 heures de jeûne, les souris ont été réparties selon l'homogénéité de leur glycémie.

Les extraits à tester, la métformine et le glucose ont été tous solubilisés dans de l'eau distillée, de telle sorte à obtenir une solution homogène.

Les solutions de l'extrait (400mg/kg) ont été administrées aux souris par voie orale avant 45 minutes de l'administration de la solution glucose (2g/kg).

Les souris de lot control ont reçu seulement une solution de glucose (2g/kg).

Les souris de lot standard ont reçu une dose de 150mg/kg de métformine avant 45 minutes de l'administration de la solution glucosée (2g/kg).

Le dosage de la glycémie a été effectué toutes les 30, 60, 120 et 180 minutes après administration du glucose.

IV.3. Analyse statistique

En utilisant un logiciel de statistique Statview, les résultats des tests effectués dans ce travail sont exprimés en moyenne \pm écart-types ($p \leq 0.05$).

Les étapes de l'expérimentation sont représentées dans les figures suivantes :



Figure 19 : Hébergement et répartition des souris dans des cages standards.

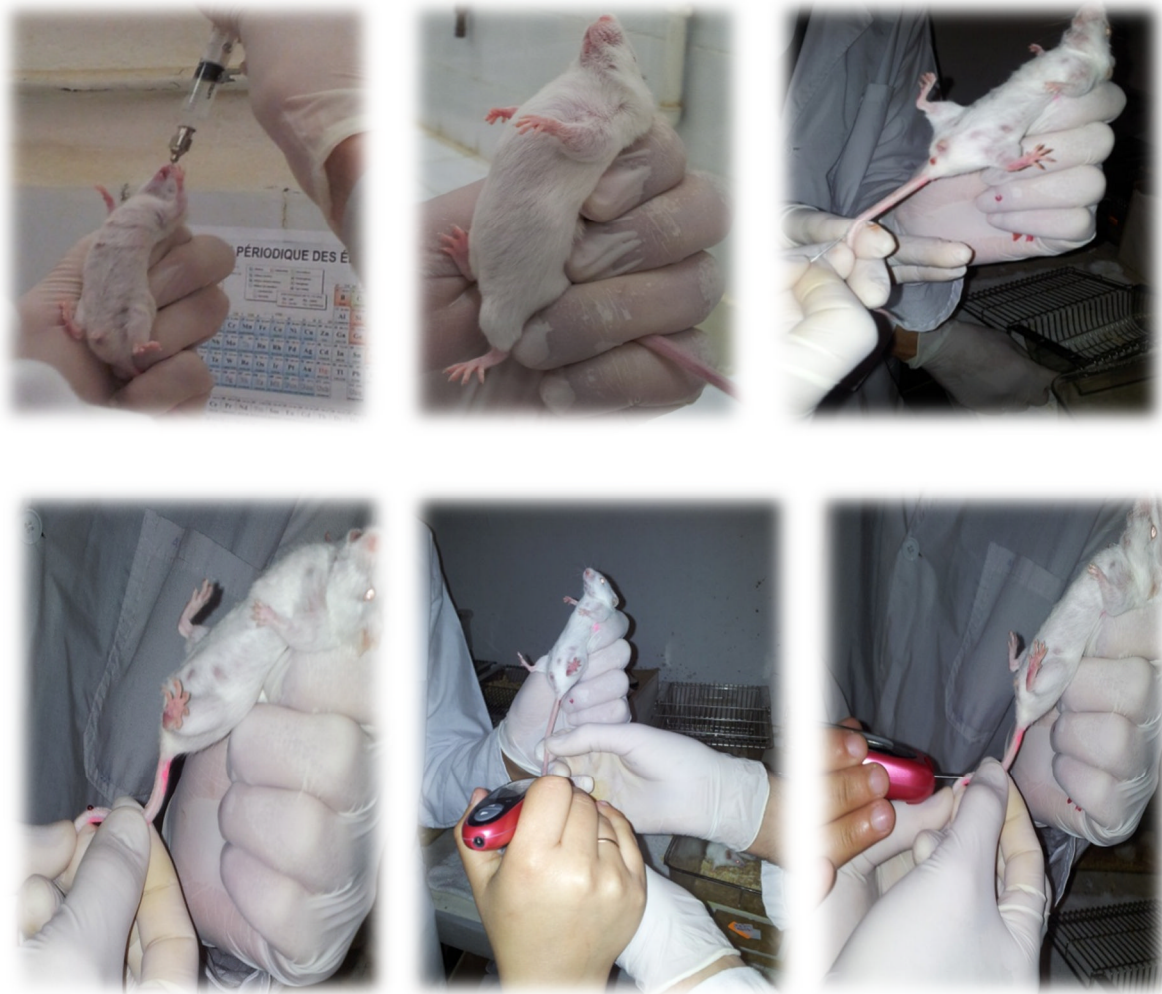


Figure 20 : Résumé des étapes suivies lors des expérimentations (gavage, prélèvement et dosage de la glycémie post prandiale).

CHAPITRE V
RESULTATS ET DISCUSSION

V. Résultats et discussion

V.1. Rendement de l'extraction et teneur en poly-phénols totaux et en flavonoïdes

L'extraction des flavonoïdes avec la méthode d'affrontement par les solvants organiques à partir de l'extrait sec (méthanolique), montre que l'extrait aqueux représente le rendement le plus élevé (58.9%), suivi de l'extrait butanolique « di et tri-glycosylés » (26.54%), puis de l'extrait d'acétate d'éthyle « mono-glycosylés » (11.4%). Le rendement le plus faible (3.13%) est obtenu par l'extrait d'éther di-éthylique « aglycones », (voir Tableau VI).

Le rendement a été calculé suivant la formule suivante :

$$\% \text{ de rendement} = \frac{P}{P_0} \times 100$$

Où : P : le poids de l'extrait sec obtenu après fractionnement.

P₀ : représente le poids de l'extrait sec initial (extrait méthanolique).

Les résultats du dosage des poly-phénols totaux révèlent que les extraits « fraction butanolique et fraction acétate d'éthyle » contiennent 260±7 et 244±7mg d'équivalent d'acide gallique/g de l'extrait. Les deux fractions restantes « fraction d'éther di-éthylique et la phase aqueuse » en contiennent moins avec des concentrations plus au moins proches (148±8mg EAG/g pour la phase aqueuse et 142±10mg EAG/g d'extrait pour la fraction d'éther di-éthylique).

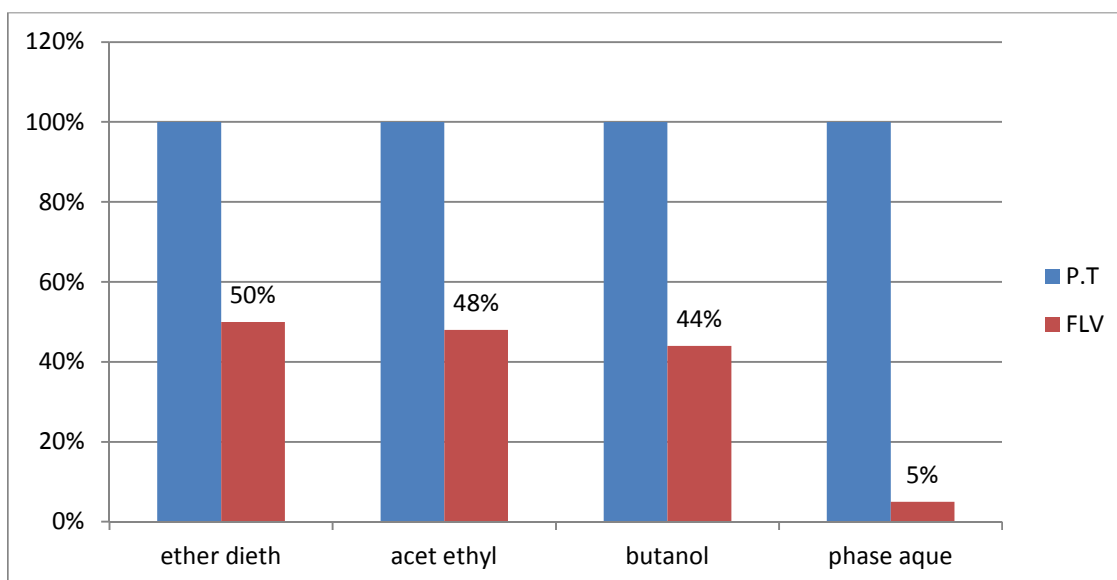
La succession des teneurs en flavonoïdes n'est pas identique à celle remarquée dans la variation en teneur des poly-phénols totaux. L'extrait d'acétate d'éthyle représente la fraction la plus riche avec une concentration de 117±1mg EQ/g extrait, il est suivi de la fraction butanolique avec une concentration de 114±2mg EQ/g, puis on retrouve la fraction « éther di-éthylique » avec une concentration de 71±2mg EQ/g et en dernier, la phase aqueuse qui semble être la fraction la plus pauvre en flavonoïdes avec une concentration de 8±1mg EQ/g.

Tableau VI : Rendement de l'extraction et teneur en poly-phénols totaux et en flavonoïdes.

| Extrait sec | Rendement (%) | P.T mg EAG/g extrait | FLV mg EQ/g extrait |
|------------------------------------|---------------|----------------------|---------------------|
| éther di éthylique (aglycones) | 3,13 | 142±10 | 71±2 |
| acétate d'éthyle (mono-glycosylés) | 11,4 | 244±7 | 117±1 |
| butanol (Di et Tri-glycosylés) | 26,54 | 260±7 | 114±2 |
| phase aqueuse | 58,9 | 148±8 | 8±1 |

Les quantités des flavonoïdes contenus dans les poly-phénols totaux de chaque fraction sont représentées sur la figure 23.

Nous constatons d'après cette figure que la quantité des flavonoïdes par rapport aux poly-phénols totaux varie d'une fraction à une autre. La proportion la plus élevée a été obtenue par la fraction éther di-éthylique (50% de flavonoïdes), suivie par celle de l'acétate d'éthyle (48%), puis par celle de l'extrait butanolique (44%). La plus faible proportion a été obtenue par la phase aqueuse (5%).

**Figure 23** : Pourcentage de richesse des poly-phénols en flavonoïdes.

P.T: Poly-phénols totaux, FLV: Flavonoïdes, ether dieth: Ether di-éthylique, acet ethyl: Acétate d'éthyle, butanol:n-butanol, phase aque: Phase aqueuse. Les résultats sont exprimés en pourcentage (%).

V.2. Test *in vitro*

V.2.1. Inhibition de l'alpha glucosidase

L'étude de l'effet inhibiteur des extraits de plantes sur l'alpha glucosidase de *Saccaromyces cerevisiae in vitro*, s'avère crucial pour la mise en évidence d'éventuelles molécules antidiabétiques, dont l'action principale est de réduire l'hyperglycémie post prandiale.

L'effet inhibiteur des fractions riches en flavonoïdes de *Rosmarinus officinalis* sur l'alpha glucosidase de *Saccaromyces cerevisiae* est représenté sur la figure 24.

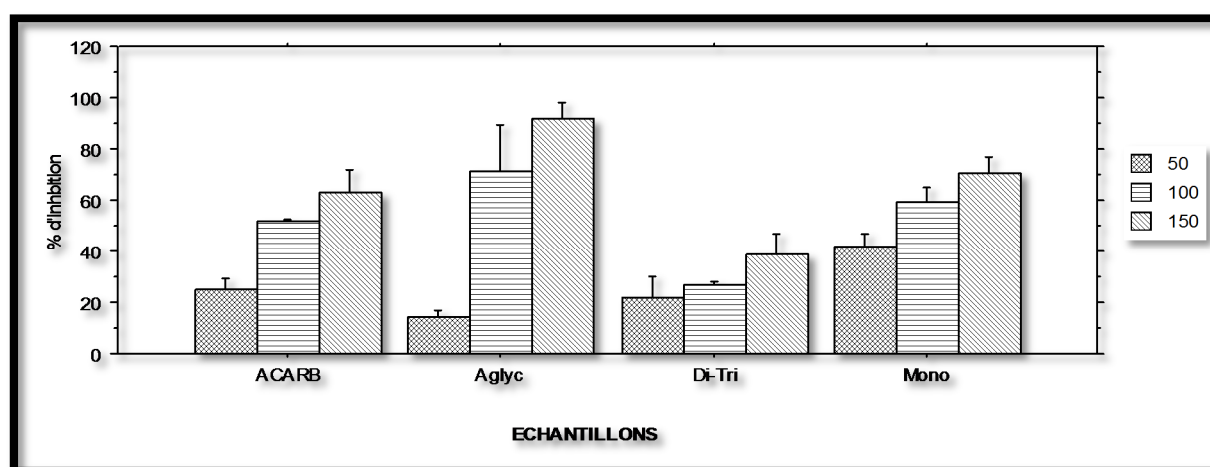


Figure 24 : Inhibition de l'alpha glucosidase de *Saccaromyces cerevisiae in vitro* par les différentes fractions obtenues.

ACARB : Acarbose (50, 100 et 150µg/ml), *Aglyc* : Aglycones (50, 100 et 150µg/ml), *Di-Tri* : Di-tri-glycosylés (50, 100 et 150µg/ml) et *Mono* : Mono-glycosylés (50, 100 et 150µg/ml).

Ces résultats montrent que l'effet inhibiteur des différentes fractions étudiées sur l'alpha glucosidase de *Saccaromyces cerevisiae*, est proportionnel aux concentrations utilisées (dose-effet). Avec les mêmes concentrations des extraits (50, 100 et 150µg/ml), nous constatons une forte inhibition par la fraction éther di-éthylique (fraction aglycone), respectivement (20%, 70% et 92%) comparée à l'inhibition obtenue avec les deux autres fractions : mono-glycosylés :(40%, 60% et 70%) et di-tri-glycosylés (20%, 30% et 40%). Notant aussi que la fraction éther di-éthylique présente une inhibition plus importante que celle observée avec l'acarbose (inhibiteur de l'alpha glucosidase intestinale).

L'inhibition de l'alpha glucosidase de *Saccaromyces cerevisiae* par les différentes fractions de *Rosmarinus officinalis*, notamment par la fraction éther di-éthylique (aglycones), revient probablement à une inhibition soit compétitive ou non compétitive de l'enzyme.

Les fractions riches en flavonoïdes glycosylés (mono-glycosylés, di et tri-glycosylés), pourraient avoir une inhibition compétitive en raison de leur similitude structurale avec le substrat de l'enzyme (pNPG), assurée essentiellement par les résidus glucidiques liés à la partie aglycone. Quant à la fraction riche en flavonoïde non glycosylés (aglycones), elle pourrait agir par une inhibition non compétitive, en se liant au complexe enzyme-substrat empêchant ainsi la dégradation du substrat.

Le type d'inhibition exercé par les flavonoïdes de la fraction éther di-éthylique (aglycone), pourrait être à l'origine de la meilleure inhibition obtenue par cette fraction, où les flavonoïdes se fixent aussi bien sur l'enzyme libre que sur le complexe enzyme/substrat ce qui modifierait la conformation de l'enzyme et empêcherait ainsi la formation du produit.

Notant aussi que l'augmentation de la concentration du substrat n'affecte jamais ce type d'inhibition, à la différence des autres types d'inhibition.

Ahmad Gholamhoseinian et ses collaborateurs en **2008**, ont montré l'effet de l'extrait méthanolique de *Rosmarinus officinalis* sur l'inhibition de l'alpha glucosidase de levure ce qui peut confirmer les résultats de notre étude.

V.3. Tests *in vivo*

II.3.1. Inhibition de l'alpha glucosidase intestinale

Les tests d'inhibition de l'alpha glucosidase intestinale par les fractions riches en flavonoïdes de *Rosmarinus officinalis*, nous renseignent essentiellement sur leur éventuelle capacité à réduire l'hyperglycémie post prandiale. Cette dernière est l'une des principales causes de l'apparition des complications chroniques chez la majorité des patients diabétiques, d'où l'importance de sa réduction par les inhibiteurs spécifiques.

V.3.1.1. Effet des poly-phénols totaux

L'évolution de la glycémie post prandiale chez des souris normales (non diabétiques), traitées par les poly-phénols totaux de *Rosmarinus officinalis* est représentée sur la figure 25.

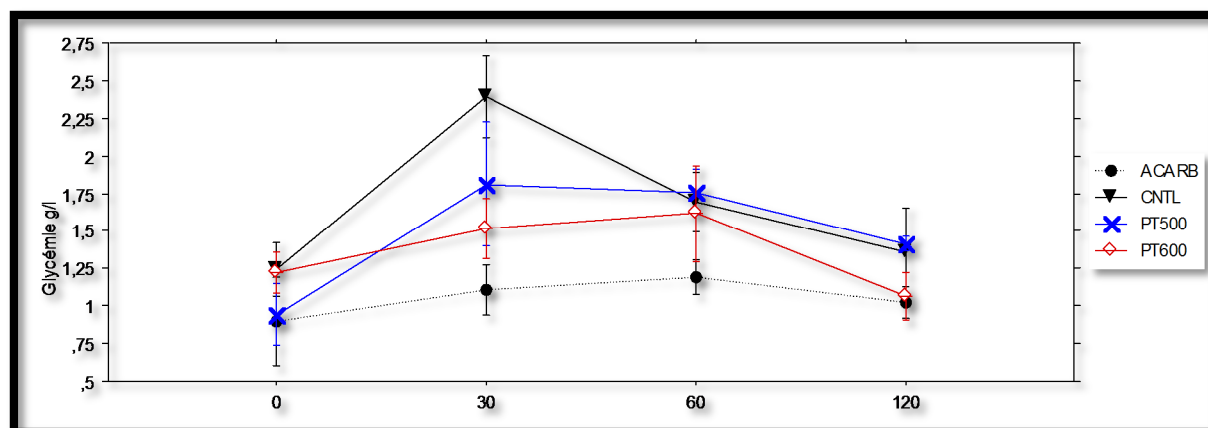


Figure 25 : Effet des poly-phénols totaux (PT) sur la glycémie post prandiale (inhibition de l'alpha glucosidase)

ACARB : Acarbose (médicament de référence utilisé pour ce test, 25mg/kg), *CNTL* : Control négatif (glucose à une concentration de 2g/kg), *PT500* : Poly-phénols totaux (500mg/kg) et *PT600* : Poly-phénols totaux (600mg/kg).

Nous avons constaté après 30 minutes de l'administration du saccharose (2g/kg), une élévation considérable de la glycémie des souris non traitées (*CNTL*), de 1.25g/l à plus de 2.4g/l. A la différence du lot non traité, la glycémie des souris traitées par l'extrait, a augmenté légèrement durant les premières 30 minutes (1.75g/l, *PT500*) et (1.5g/l, *PT600*).

Après 60 minutes de l'administration du saccharose (2g/kg), la glycémie des souris des lots traités par l'extrait (*PT500*,*PT600*) est restée relativement stable, pour chuter après 120 minutes de l'expérience, tandis que celle des souris non traitées a chuté considérablement après 60 minutes de l'administration du saccharose.

Les souris traitées par l'acarbose (standard), ont connus une glycémie stable et relativement faible durant toute la période de l'experimentation (entre 0.8g/l et 1.15g/l).

L'effet des poly-phénols totaux de *Rosmarinus officinalis* sur la réduction de l'hyperglycémie post prandiale, a été confirmé par l'augmentation de la dose administrée. En effet, en augmentant la dose de l'extrait (600mg/kg), l'effet apparait meilleur.

Le mécanisme d'action principal qui pourrait être exercé par les poly-phénols totaux de *Rosmarinus officinalis* lors de cette expérience, est l'inhibition des alpha glucosidases intestinales, notamment les saccharases, dont l'effet est de degrader le saccharose en monosaccharides absorbables par les entérocytes (glucose et fructose).

Le type d'inhibition ne peut pas être dévoilé aussi facilement par des tests préliminaires comme celui-ci, ainsi que les classes des poly-phénols impliquées dans cet effet.

Nous essayerons dans les prochains tests de cerner le mécanisme d'action des extraits de *Rosmarinus officinalis*, ainsi que les molécules responsables de l'effet anti-hyperglycémiant.

Les travaux réalisés par **Bakirel** et ses collaborateurs (2008) et ceux publiés par **Koga** et ses collaborateurs en 2006, confirment les résultats obtenus sur l'inhibition de l'alpha glucosidase intestinale.

V.3.1.2. Effet de la fraction éther di-éthylique (aglycones)

Le but de ce test est d'évaluer l'effet inhibiteur de la fraction riche en aglycones (flavonoïdes) de *Rosmarinus officinalis* sur l'alpha glucosidase intestinale chez des souris normales laissées à jeun pour une période s'étalant jusqu'à 15 heures.

Les résultats obtenus sont représentés dans la figure ci-dessous :

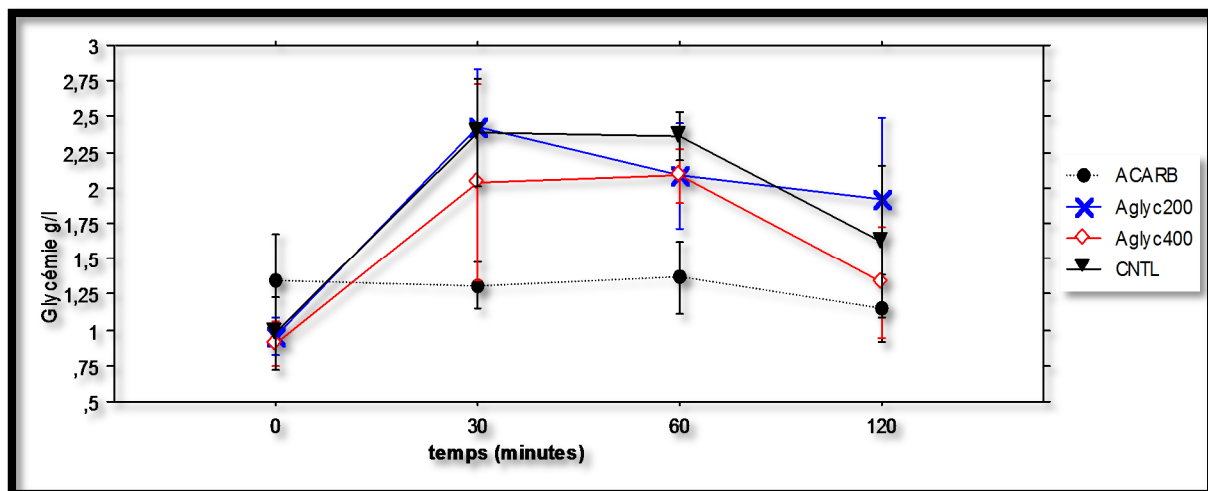


Figure 26 : Effet de la fraction aglycone sur la glycémie post prandiale.

ACARB : Acarbose (médicament de référence utilisé pour ce test, 25mg/kg), *Aglyc200* : Aglycones (200mg/kg), *Aglyc400* : Aglycones (400mg/kg), *CNTL* : Control négatif (glucose à une concentration de 2g/kg).

Après 30 minutes de l'administration du saccharose à une dose de 2g/kg, nous avons constaté une augmentation significative de la glycémie, de 1g/l à plus de 2.40g/l pour le lot des souris non traitées (CNTL) et le lot traité par une dose de 200mg/kg (Aglyc200). Les souris traitées par une dose de 400mg/kg (Aglyc400), présentent une augmentation dans leurs glycémie, mais relativement faible par rapport à celle observée chez les souris traitées par une dose de 200mg/kg.

Après 60 minutes de l'administration du saccharose, la glycémie des souris du lot non traité reste relativement élevée (2,30g/l), quant aux souris du lot traité par une dose de 200mg/kg (Aglyc200), leur glycémie diminue légèrement (2.10g/l), à la différence du lot traité par une dose de 400mg/kg, dont la glycémie reste relativement stable (2.10g/l).

Une chute de la glycémie a été observée après 120 minutes de l'administration du saccharose chez les souris traitées par une dose de 400mg/kg (1.40g/l), tandis que la glycémie des souris traitées par une dose de 200mg/kg est restée relativement stable jusqu'à la fin de l'expérience (1.85g/l).

Un maintien de la glycémie aux alentours de 1.3g/l et 1.1g/l a été enregistré tout au long de l'expérience chez les souris traitées par un traitement standard « acarbose ».

Les résultats obtenus montrent que la fraction riche en flavonoïdes aglycones, possède un faible effet inhibiteur sur l'alpha glucosidase intestinale des souris, à la différence de l'effet observé lors du test *in vitro* sur l'alpha glucosidase de *Saccaromyces cerevisiae*, ce qui nous laisse suggérer que les flavonoïdes aglycones de *Rosmarinus officinalis* posséderaient plus de spécificité vis-à-vis de l'alpha glucosidase des levures.

Les flavonoïdes aglycones pourraient aussi agir en diminuant le pH du milieu d'incubation lors du test *in vitro*, ce qui induirait la diminution de l'activité de l'alpha glucosidase de *Saccaromyces cerevisiae* qui est très sensible aux variations du pH (**Hogan et al., 2010**).

V.3.1.3. Effet de la fraction acétate d'éthyle (flavonoïdes mono-glycosylés)

Les résultats de l'effet inhibiteur de la fraction riche en flavonoïdes mono-glycosylés sur l'alpha glucosidase intestinale, sont illustrés par la figure 27.

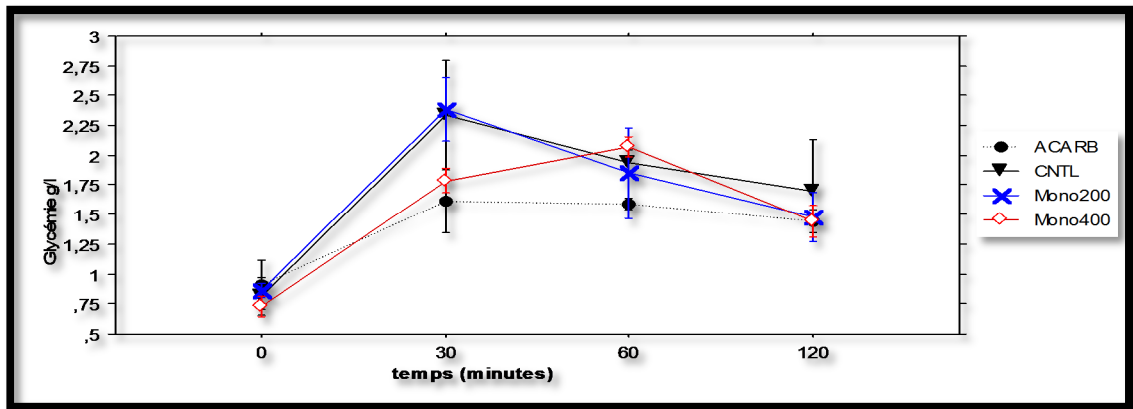


Figure 27 : Effet des mono-glycosylés sur la glycémie post prandiale.

ACARB : Acarbose (médicament de référence utilisé pour ce test, 25mg/kg), *CNTL* : Control négatif (glucose à une concentration de 2g/kg), *MONO200* : Mono-glycosylés(200mg/kg), *Mono400* : Mono-glycosylés (400mg/kg)

La glycémie des souris non traitées (CNTL), augmente après 30 minutes de l'administration du saccharose (2g/kg), de 0.9g/l jusqu'à une valeur estimée à plus de 2.25g/l. Puis, une légère diminution a été enregistrée après les 30 premières minutes pour atteindre une glycémie de 1.75g/l à la fin de l'expérience.

La glycémie des souris du lot traité par la fraction des mono-glycosylés à une concentration de 200mg/kg (Mono200), a augmenté considérablement pendant les 30 premières minutes après l'administration du saccharose (2g/kg), de 0.80g/l jusqu'à plus de 2.25g/l pour diminuer d'une manière brusque jusqu'à atteindre une valeur de 1.45g/l, plus faible comparée à celle atteinte par le lot CNTL.

Tandis que le lot des souris traitées par une dose de 400mg/kg (Mono400), a enregistré une faible augmentation de la glycémie durant les 30 premières minutes (1.75g/l), comparée aux lots CNTL et Mono200, mais qui reste presque du même ordre comparée au lot ACARB. Puis, une faible augmentation dans la glycémie a été observée aux alentours des 30 à 60 minutes pour diminuer et atteindre une valeur de 1.45g/l à la fin du test.

Les résultats obtenus montrent que les flavonoïdes mono-glycosylés à une concentration de 200mg/kg n'ont pas d'effet inhibiteur sur l'alpha glucosidase intestinale, tandis que la concentration de 400mg/kg a présenté un effet inhibiteur significatif, ce qui nous laisse suggérer qu'à une dose plus élevée ce type de flavonoïdes réduirait considérablement la glycémie post prandiale.

La structure des flavonoïdes mono-glycosylés pourrait être impliquée dans l'intensité de l'effet observé, dont le type d'inhibition serait probablement du type compétitif, ce qui retarderait l'hydrolyse des disaccharides en monosaccharides facilement absorbables par les entérocytes.

Le blocage des transporteurs intestinaux de glucose pourrait être l'un des mécanismes d'action exercé par ce type de flavonoïdes. Cependant, ce mécanisme d'action n'est pas l'objectif de ce test.

V.3.1.4. Effet de la fraction butanol (flavonoïdes di et tri-glycosylés)

L'action de la fraction riche en flavonoïdes di et tri-glycosylés sur l'hyperglycémie post prandiale est représentée sur la figure 28.

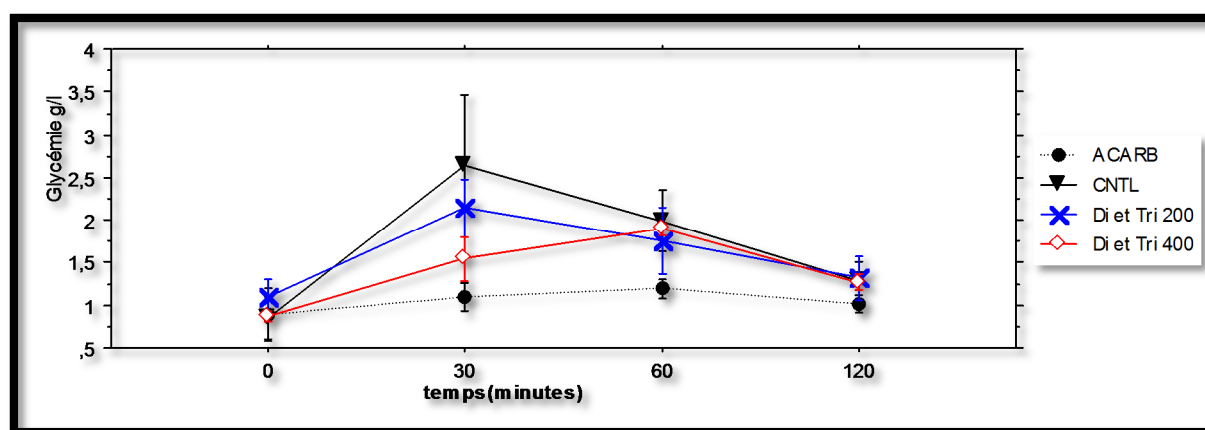


Figure 28 : Effet de la fraction di et tri-glycosylés sur la glycémie post prandiale.

ACARB: Acarbose (médicament de référence utilisé pour ce test, 25mg/kg), *CNTL*: Control négatif (glucose à une concentration de 2g/kg), *DI et Tri 200*: DI et tri-glycosylés (200mg/kg) et *Di et Tri 400* : Di et tri-glycosylés (400mg/kg).

En comparant avec le lot control (CNTL), la glycémie post prandiale des souris traitées par l'extrait (Di et Tri) n'a pas connu une grande augmentation après les 30 premières minutes, notamment celle du lot traité par une dose de 400mg/kg (de 0,9 à 1,5g/l). Après 1 heure de l'administration du saccharose, la glycémie du lot (Di et Tri400) a légèrement augmenté pour atteindre une valeur de 1,70g/l, à la différence des deux autres lots (CNTL et Di Tri200) dont la glycémie a chuté à 1,50g/l (Di Tri200) et à 1,80g/l (CNTL).

Vers la fin de l'expérience, les glycémies des souris des trois lots (CNTL, Di Tri200 et Di Tri400) ont chuté d'une manière significative (entre 1,25 et 1,30g/l).

Les souris du lot traité par l'acarbose n'ont pas présenté une élévation dans leurs glycémies durant toute l'expérimentation (1g/l à 1.15g/l).

En augmentant la dose de l'extrait administré, l'effet inhibiteur sur les glycosidases intestinales augmente, ce qui confirme que la fraction riche en flavonoïdes di et tri-glycosylés possède un bon effet sur la réduction de l'hyperglycémie post prandiale.

L'inhibition pourrait être compétitive, en raison des résidus glucidiques portés par ce type de flavonoïdes, ce qui confère une similitude structurale avec le substrat, donc ces flavonoïdes entrent en compétition avec le substrat en empêchant sa dégradation.

Nous pouvons suggérer également que l'inhibition est réversible, suite à l'augmentation de la glycémie post prandiale observée après 60 minutes de l'administration du saccharose. Cette fraction de l'extrait exercerait donc un retardement dans l'absorption intestinale du glucose, ce qui donne le temps nécessaire à l'organisme de se préparer contre cette situation hyperglycémique, en secrétant la quantité nécessaire de l'insuline au stockage du glucose dans les tissus périphériques, notamment dans les cas de déficit en cette hormone (diabète).

Les résultats obtenus par **Koga** et ses collaborateurs en **2006**, concernant la réduction de l'hyperglycémie post prandiale chez les rats traités par l'extrait méthanolique de *Rosmarinus officinalis* reviendrait à ce type de flavonoïdes.

V.3.2.Effet des fractions riches en flavonoïdes sur le transport intestinal de glucose

L'inhibition des transporteurs intestinaux de glucose par des molécules bioactives, est l'un des principaux objectifs des chercheurs dans le domaine de diabétologie et maladies métaboliques, notant à l'occasion qu'aucun antidiabétique n'est encore disponible à l'heure actuelle, dont le mécanisme d'action est de bloquer le transport intestinal de glucose et donc réduire la glycémie post prandiale.

L'effet des flavonoïdes de *Rosmarinus officinalis* sur le transport intestinal de glucose est représenté dans la figure 29.

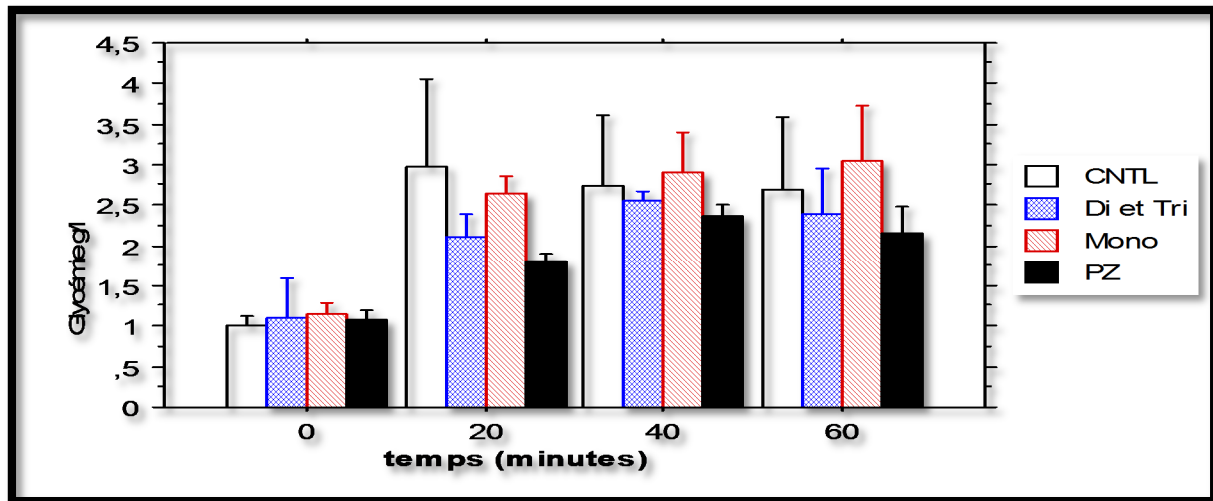


Figure 29 : Effet de la fraction mono-glycosylée de la fraction di et tri-glycosylée sur le transport intestinal de glucose.

CNTL : Control négatif (glucose à une concentration de 2g/l), Di et Tri : Di et tri-glycosylés (400mg/kg), Mono : Mono-glycosylés (400mg/kg), PZ : Phloridzin (inhibiteur de référence du transport de glucose, 100mg/kg).

A partir du résultat obtenu, nous pouvons constater, une forte augmentation de la glycémie de 1g/l jusqu'à 3g/l après 20 minutes de l'administration de glucose chez les souris non traitées, puis une faible diminution a été enregistrée (de 3g/l jusqu'à 2.75g/l). La glycémie est restée presque stable chez ce groupe de souris tout au long de l'expérience.

En ce qui concerne la fraction des flavonoïdes mono-glycosylés, une augmentation constante a été observée lors de ce test, de 1g/l à 2.70 après 20 minutes de l'administration du glucose, pour atteindre une valeur de 3g/l à la fin du test (60 minutes), dépassant ainsi celle observée chez les souris non traitées (2.75g/l). Tandis que les souris traitées par la fraction riche en flavonoïdes di et tri-glycosylés, ont connu une augmentation constante mais légèrement faible, comparée à celle des souris non traitées.

Le meilleur effet inhibiteur a été obtenu par la Phloridzin (100mg/kg), cette dernière est un flavonoïde glycosylé connu par son puissant effet inhibiteur des transporteurs de glucose.

L'effet révélé suite à l'administration d'une dose de 400mg/kg de la fraction riche en flavonoïdes di et tri-glycosylés, se produit par un seul mécanisme d'action qui est l'inhibition des transporteurs intestinaux de glucose (GLUT2 et SGLT1). En général, les poly-phénols, plus particulièrement la classe des flavonoïdes sont de puissants inhibiteurs du transport intestinal de glucose (Nistor *et al.*, 2009). En raison de leurs résidus glucidiques attachés à la

partie aglycone, les flavonoïdes glycolysés peuvent agir comme antagonistes au niveau des GLUTs intestinaux, en empêchant la pénétration de glucose via la barrière intestinale. La dissipation du gradient électrochimique de Na^+ de part et d'autre de la membrane des entérocytes, pourrait être l'un des mécanismes impliqués dans cette inhibition, tel que l'action de la Phloridzin (Nistor et al., 2009). Le résultat sera donc retardement de l'absorption du glucose par les entérocytes, et réduction de l'hyperglycémie post prandiale.

Notant aussi que l'action de l'inhibiteur sur l'un ou l'autre des transporteurs de glucose (SGLT1, GLUT2) dépend en grande partie de la concentration du glucose au niveau de la lumière intestinale, où le SGLT1 intervient surtout dans le transport actif de glucose et les GLUT2 participent dans le transport passif. Pour cela, des études plus approfondies devront être menées (culture cellulaire) à fin de déterminer le type de transporteurs inhibés lors de cette étude.

V.3.3. Test de tolérance au glucose (OGTT)

Le test de tolérance au glucose, nous aide en partie à comprendre le mécanisme d'action des différentes fractions étudiées, tout en suivant la glycémie manifestée par les souris dans le temps. Ce test nous renseigne principalement sur l'effet des molécules antidiabétiques à : stocker le glucose dans le foie, capturer le glucose par les tissus périphériques et stimuler la sécrétion de l'insuline par les cellules β pancréatiques. L'inhibition de la di-peptidyl peptidase-4 (DPP-4), est l'un des effets qui pourrait être élucidé par ce test (OGTT).

V.3.3.1. Effet des poly-phénols totaux

La figure suivante montre l'effet des poly-phénols totaux de *Rosmarinus officinalis* sur la tolérance au glucose (OGTT) par des souris laissées à jeun pendant 15 heures.

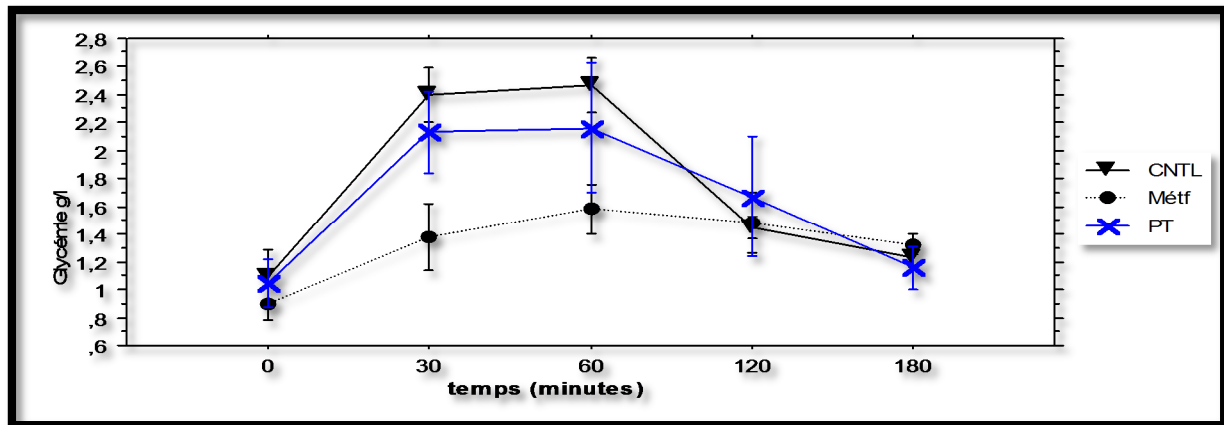


Figure 30 : Effet des poly-phénols totaux sur la tolérance du glucose (OGTT) à une concentration de 600mg/kg.

CNTL : Control (2g/kg), Métf : Métformine (médicament de référence utilisé pour ce test, 150mg/kg), PT: Poly-phénols totaux (600mg/kg).

Nous constatons d'après la figure 28 que la glycémie des souris traitées par les poly-phénols totaux de *Rosmarinus officinalis*, s'élève de 1.1g/l à 2.1g/l après 30 minutes de l'administration du glucose (2g/kg) et qui reste relativement faible par rapport à la glycémie des souris non traitées (CNTL) (2.5g/l). Entre 60 à 180 minutes après l'administration du glucose, la glycémie du lot traité par l'extrait a diminué de 2.1g/l à 1.2g/l comparée à celle du lot non traité (2.4g/l à 1.4g/l).

L'effet de l'extrait étudié dans ce test a été comparé à un lot standard, où les souris ont été soumises à un traitement par la métformine, qui est un antidiabétique dont les deux actions principales est de réduire la production hépatique de glucose d'une part, et d'augmenter l'utilisation du glucose par les cellules (Stephenne et al., 2011).

Même si l'effet apparaît faible, les poly-phénols totaux de *Rosmarinus officinalis* (600mg/kg) agissent en diminuant le taux du glucose sanguin chez les souris ayant reçu une dose de 2g/kg de glucose. L'effet pourrait être attribué aux flavonoïdes qui sont présents en concentration faible dans cet extrait.

V.3.3.2. Effet anti-hyperglycémiant des deux fractions riches en flavonoïdes

L'effet des fractions riches en flavonoïdes de *Rosmarinus officinalis* sur la tolérance au glucose par les souris laissées à jeun pendant 15 heures, est illustré par la figure 31.

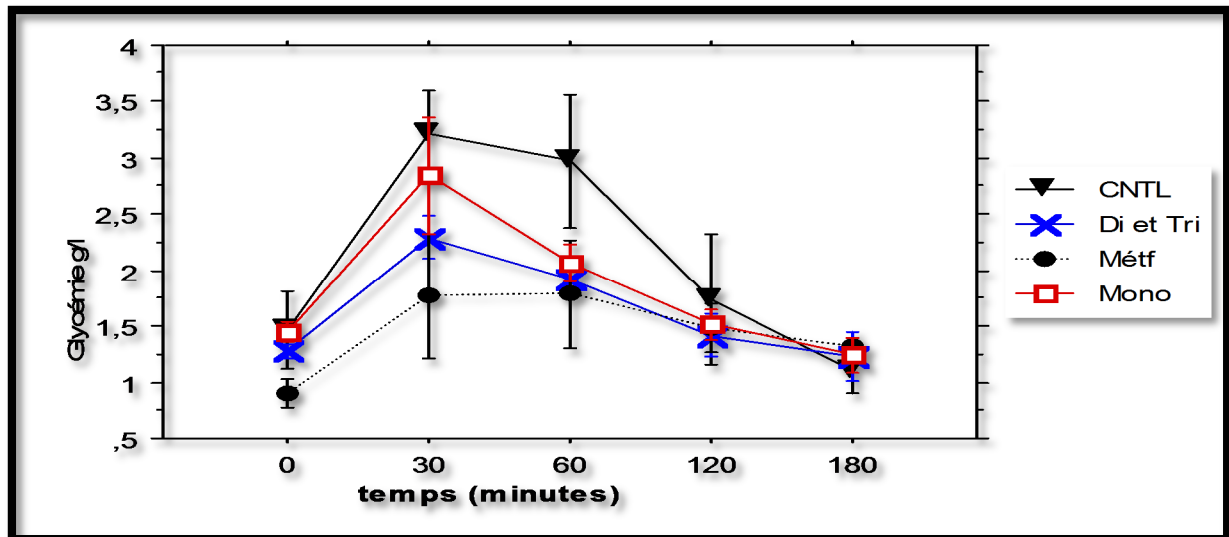


Figure 31 : Effet des deux fractions riches en flavonoïdes (mono-glycosylés, di et tri-glycosylés) sur la tolérance de glucose (OGTT)

CNTL : Control négatif (glucose à une concentration de 2g/kg), *DI et Tri*: Di et tri-glycosylés (400mg/kg), *Métf* : Métformine (médicament de référence utilisé pour ce test, 150mg/kg), *Mono* : Mono-glycosylés (400mg/kg).

A partir des résultats obtenus, nous avons constaté après 30 minutes de l'administration du glucose (2g/kg), une forte augmentation de la glycémie chez les souris non traitées (CNTL), de 1,5g/l à plus de 3,2g/l. Ensuite, la glycémie diminue de 3,1g/l (60 minutes) à 1,7g/l (120minutes), puis à 1,2g/l (180minutes).

Chez les souris traitées par les flavonoïdes mono-glycosylés (Mono), le taux du glucose sanguin a augmenté considérablement de 1,42g/l à 2,7g/l après 30 minutes de l'administration du glucose, à la différence de la glycémie des souris traitées par les flavonoïdes di et tri-glycosylés (Di et Tri), où leur glycémie n'a pas connu une grande élévation (de 1,25 à 2,3g/l).

Après 60 minutes, les glycémies des souris des deux lots traités (Mono, Di et Tri) ont chuté pour atteindre 2g/l pour le lot traité par les flavonoïdes mono-glycosylés (Mono), et 1,9g/l pour le lot traité par les flavonoïdes di et tri-glycosylés (Di et Tri), puis les deux groupes de souris ont présenté presque les mêmes valeurs de glycémie post prandiale jusqu'à la fin du test.

Pour les souris traitées par la métformine (150mg/kg), leur glycémie a augmenté légèrement après 30 minutes de l'administration du glucose (de 0,9g/l à 1,7g/l), pour diminuer après 120 minutes et atteindre sa valeur minimale après 180 minutes.

Les résultats obtenus montrent que la fraction riche en flavonoïdes di et tri-glycosylés a un effet considérable sur la diminution de la glycémie durant les 30 premières minutes, cela s'explique probablement par l'effet de ces flavonoïdes à augmenter l'utilisation de glucose par les cellules. Cet effet insulino-mimétique exercé par ce type de flavonoïdes, pourrait être à l'origine de la diminution précoce du taux de glucose plasmatique.

L'effet de la fraction riche en flavonoïdes mono-glycosylés sur la diminution de la glycémie qui a été observé essentiellement après 60 minutes de l'administration de glucose, peut se produire par plusieurs mécanismes, le plus important serait l'effet insulino-sécrétagogue. Autrement dit, ce type de flavonoïdes exerce son action anti-hyperglycémiant en stimulant la sécrétion de l'insuline, qui agit à son tour en réduisant la glycémie, ce qui expliquerait l'action retardée observée avec ce type de flavonoïdes (**Bakirel et al., 2008**).

L'inhibition de la di-peptidyl peptidase-4 (DPP-4), est l'un des effets qui pourrait être exercé par ces fractions riches en flavonoïdes. La DPP-4, responsable de la dégradation des incrétines (insulino-sécrétagogues endogènes), dont l'inhibition prolonge la demi de vie de ces derniers et augmente ainsi l'insulinémie (**Bakirel et al., 2008**)

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Conclusion et perspectives

L'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie a reçu un grand intérêt dans la recherche biomédicale; une telle thérapie prévient l'apparition des effets secondaires observés lors de l'utilisation des médicaments de synthèse chimique.

Dans notre étude, les extraits des feuilles de *Rosmarinus officinalis* semblent présenter un intérêt réel et potentiel par leurs activités anti-hyperglycémiantes qui ont été établies aussi bien *in vitro* qu'*in vivo*.

L'analyse quantitative des différentes fractions de *Rosmarinus officinalis* a mis en évidence, une répartition hétérogène des poly-phénols et des flavonoïdes. Il s'est avéré que les fractions riches en flavonoïdes « di et tri-glycosylés » et « les mono-glycosylés » recèlent les plus grandes part en poly-phénols et flavonoïdes comparées aux aglycones et à la phase aqueuse.

La fraction des poly-phénols totaux a donné un effet positif avec le test *in vivo* sur l'inhibition de l'alpha-glucosidase et un effet plus au moins visible avec le test OGTT, ce résultat pourrait être du à la présence des flavonoïdes.

La fraction aglycone a montré une bonne inhibition sur l'alpha glucosidase de *Saccaromyces cerevisiae in vitro*. Les mono-glycosides ont présenté un bon résultat avec le test d'inhibition de l'alpha-glucosidase *in vivo* et le test OGTT. La fraction des di et tri-glycosylés a dévoilé un potentiel inhibiteur intéressant sur l'enzyme alpha-glucosidase, sur le transport du glucose (SGLT et/ou Glut2) et un effet considérable sur la tolérance au glucose.

La différence observée au niveau des résultats obtenus avec l'utilisation des différentes fractions pourrait être due à la surexpression des composés glycosidiques sur la structure des flavonoïdes.

L'ensemble de ces résultats obtenus *in-vitro* et *in vivo* ne constituent qu'une première étape dans la recherche de substances et sources naturelles biologiquement actives. Des essais complémentaires seraient nécessaires et devraient pouvoir confirmer les performances mises en évidences.

Pour mieux évaluer le pouvoir antidiabétique des extraits des feuilles de *Rosmarinus Officinalis*, d'autres études *in vivo* seraient intéressantes et plus prometteuses visant d'autres sites d'actions au niveau de l'organisme. De même, des études approfondies sur la

pharmacocinétique et la pharmacodynamique de ces principes actifs seraient utiles pour la détermination des doses préventives et thérapeutiques.

References bibliographiques

- **Abrouk, S.** 2010. Épidémiologie du diabète de l'enfant dans la wilaya d'Alger. *INSP* 1-25.
- **Anonyme.** 2005. Rapport de synthèse sur le dépistage et le diagnostic du diabète gestationnel. *Hautes autorités de santé* **1**: p 73.
- **Association canadienne du diabète.** 2003. L'essentiel sur le diabète de type 2. *Gestion du diabète* **1**: 226-235.
- **Athamena, S., Chalghem, I., Laroui, S & Khebri, S.** 2010. Activité anti-oxydante et antimicrobienne d'extraits de *Cuminum cyminum L.* *Lebanese Science Journal* **11**: 69-81.
- **Bakirel, T., Bakirel, U., Keles, O.U., Ulgen, S.G & Yardibi, H.** 2008. In vivo assessment of antidiabetic and antioxidant activities of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) in alloxan-diabetic rabbits. *Journal of Ethnopharmacology* **116**: 64-73.
- **Belhadj, M.** 2005. Guide de diabétologie. *Comité national de diabétologie* 1-100.
- **Benhamou, P.Y.** 2005. Diagnostique étiologique du diabète. *Corpus médical- faculté de médecine de Grenoble* 1- 10.
- **Besson, C.** 2009. La glycémie post-prandiale de la physiologie à la pathologie. *In collection sucre et santé.* Rédaction ITI.ch.Schoën. Paris. 3-19p.
- **Blickle, J.F., Andres, E., Neyrolles, N & Brogard, J.M.** 1999. Actualités dans les traitements du diabète de type 2 : Les agents insulinosécréteurs. *Med intern* **3**: 351-359.
- **Blickle, J.F., Robillart, I & Brogard, J.M.** 1994. Étiopathogénie du diabète non insulino-dépendant. *Med intern* **16**: 20-30.
- **Borm, K., Luscher, S & Muller, B.** 2012. Premières étapes du traitement du diabète de type 2 nouvellement diagnostiqué – conseils pratiques. *Forum medsuiss* **48**: 929-935.
- **Bouxi, H.** 2012. Les plantes médicinales et le diabète de type 2. Thèse doctorat en médecine. Université sidi Mohammed Ben Abdellah de Fès. 106p.
- **Brayant, N.J., Govers, R & James, D.E.** 2002. Regulated transport of the glucose transporter GLUT4. *Molecular cell biology* **3**: 267-277.

- **Bruneton, J.** 1999. Composés phénoliques Shikimates-acétates. *In Pharmacognosie phytochimie plantes médicinales. Ed Tec and Doc lavoisier.* 3^e édition. Paris. p.225-460.
- **Bruneton, J.** 2009. Composés phénoliques Shikimates-acétates. *In Pharmacognosie phytochimie plantes médicinales. Ed Tec and Doc lavoisier.* 4^e édition. Paris. p. 260-546.
- **Busch-Brafin,M.S&Pignet, M.** 2001.Le diabète de type 2. *Médecine Nucléaire Imagerie fonctionnelle et métabolique* **25**: 103-114.
- **Clay, J-K., Deruelle,P., Fischer,C., Couvreur –Dif, D., Vambergue,A., Cazaubiel, M., Fontaine,P & Subtil,D.** 2007. Fifteenpractical questions concerninggestationaldiabetes. *GEOBFE* **35**: 724-730.
- **Clement, R-P.** 2005. Aux racines de la phytothérapie : entre tradition et modernité (1re partie). *Phytothérapie* **4**: 171-175.
- **Collège des Enseignants d’Endocrinologie.** 2004. Diabète sucré de types 1 et 2 de l’enfant et de l’adulte. *Diab et Maladies Métaboliques* **1**: 1-43.
- **Crespy,A.** 2002. Les tanins œnologiques – origines, propriétés – le cas des tanins de raisin. *Revue des œnologues.* p. 17-19.
- **D’Archivio, M., Filesi C., Di Benedetto, R., Gargiulo, R., Giovannini, C &Masella, R.** 2007. Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Ann Ist Super Sanità* **43**: 348-361.
- **Deshaies, B.** 2011. Les médicaments pour le contrôle de la glycémie (anti-hyperglycémiant). *Prisme diabète, Mauricie centre du Québec* 1-11.
- **Djeddi, S., Bouchenah, N., Settar, I &Skaltsa, H.D.** 2007. Composition and antimicrobial avtivity of the essential oil of *Rosmarinus officinalis* from Algeria. *Chemistry of Natural Compounds* **43**: 487-490.
- **Drouin, P., Blickle,J.F& Charbonnel, B.** 1999. Diagnostique et classification du diabète sucré les nouveaux critères. *Diabètes &Metabolism* **25**: 72-83.
- **Drozdowski,L.A& Thomson, A.B-R.** 2006. Intestinal sugar transport. *WJG* **12**: 1657-1670.
- **Eddouks, M. Ouahidi,M.L. Farid,O. Moufid, A. Khalidi, A &Lemhadri, A.** 2007. Utilisation des plantes médicinales dans le traitement du diabète au Maroc. *Phytothérapie* **5**: 194-203.

- **Edeas, M.** 2007. Les polyphénols et les polyphénols du thé. *Phytothérapie* **5**: 264-270.
- **Edoardo, M., Curcuroto, N-G & Ruberto, G.** 2010. Screening of the essential oil composition of wild Sicilian rosemary. *Biochemical Systematics and Ecology* **38**: 659–670.
- **Escriva, C.** 2010. *Précis de Phytothérapie*. EdEditions Amyris. 2^e édition.
- **Faller, A.L.K & Fialho, E.** 2010. Polyphénol content and antioxidant capacity in organic and conventional plant foods. *Journal of Food Composition and Analysis* **23**:561-568.
- **Faure, P.** 2011. Digestion et absorption des glucides. Université Joseph Fournier. Grenoble. 30p.
- **Fédération Internationale du Diabète.** 2007. Directive pour la gestion de la glycémie post-prandiale. Belgique. 31p.
- **Fregozo, C-S., Beltran, M-L.M., Soto, M-E.F., Vega, M-I.P., Rodriguez, R-Y.R., Velazquez, A-L.L. Ruiz, L-H & Zarate, C-B.** 2012. Protective effect of *Rosmarinus officinalis* L. On the expression of the glutamate transporter (GLT-1) and neuronal damage in the frontal cortex of CCl4-induced hepatic damage. *Journal of Medicinal Plants Research* **6**: 5886-5894.
- **Gabriel, R.** 2011. Introduction au diabète gestationnel. Formation au diabète gestationnel. Reims. p 19.
- **Ganong, W.** 2003. La digestion et l'absorption. In *Physiologie Médicale*. Ed Printice Hall INC. 21^e édition. Review of Medical Physiology. Canada. p. 441-451.
- **Ghedira, K.** 2005. Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*. p.162-169.
- **Gholamhoseinian, H., Fallah, H., Sharifi-Far, F & Mirtajaddini, M.** 2008. The inhibitory effect of some Iranian plants extracts on the alpha glucosidase. *Iranian journal of basic medical sciences* **11**: 1-9.
- **Grimaldi, A.** 2000. Questions d'internat. *Diabétologie* 1- 142.
- **Hadj Salem, J.** 2009. Extraction, identification, caractérisation des activités biologiques des flavonoïdes de *Ntraria retusa* et synthèse de dérivés acyles de ces molécules par voie enzymatique. Thèse de doctorat. Université de Nancy (Lorraine). 251p.

- **Hennebelle, T., Sahpaz, S & Bailleul, F.** 2004. Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*. p. 3-6.
- **Hoefler, C.** 1994. Contribution à l'étude pharmacologique des extraits de *Rosmarinus officinalis* L., et notamment des jeunes pousses : Activités cholérétiques, anti-hépatotoxiques, anti-inflammatoires et diurétiques. Thèse de doctorat. Université de metz. 148p.
- **Hogan, S., Zhang, L., Li, J., Sun, S., Canning, C & Zhou, K.**2010. Antioxydant rich grape pomace extract suppresses postprandial hyperglycemia in diabetic mice by specifically inhibiting alpga-glucosidase. *Nutrition & Metabolism* **7**: 1-9
- **InternationDiabetes Federation (IDF).** 2005. Diabete. *International working group on the diabetic foot* 1-6.
- **Isorez, G.** 2007. Contribution à la chimie des flavonoïdes : Accès à des analogues de pigments des vins rouges. Thèse de doctorat. Université Louis Pasteur de Strasbourg. p. 207.
- **Jay-Allemand,C.** 2011. Biomolécules d'origine végétale d'intérêts industriels : Les polyphénols.... Université Montpellier 2 Sciences et Techniques. p. 36.
- **Kamran Khan, M.** 2010. Polyphénols d'Agurmes (flavanones) : extraction de glycosides de la peau d'orange, synthèse de métabolites chez l'homme (glucuronides) et étude physico-chimique de leur interaction avec la sérum albumine. Thèse de doctorat. Université d'Avignon. p. 169.
- **Koga, K., SHIBATA, H & Yoshino, K.** 2006. Effects of 50% ethanol extract from Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) on α -Glucosidase inhibitory activity and the elevation of plasma glucose level in rats, and its active compound. *Journal of Food Science* **71**: 507-512.
- **Kwon, O., Eck, P., Chen, S., Corpe,C.P., Lee, J-H., Kruhlak, M & Levine, M.** 2006. Inhibition of the intestinal glucose transporter GLUT2by flavonoids. *The FASEB Journal* **21**: 366-377.
- **Luyton, C., Blond, E., Hokayem, M., Lambert, K.,Laville, M., Rieusset, J &Avignon, A.** 2011. P086 Protection des polyphénols contre l'insulinorésistance et le stress oxydant induit par une charge en fructose chez des apparentés de diabétique de type 2. *Cahiers de Nutrition et de Diététique* **46**.

- **Machado, D.G., Cunha, M.P., Neis,V.B., Balen,G.O&Colla, A.** 2013. Antidepressant-like effects of fractions, essential oil, carnosol and betulinic acid isolated from *Rosmarinus officinalis l.* *Food chemistry* **136**: 0-7.
- **Malek, R., Belatech, F &Laouamri, S.** 2000. Prévalance du diabète de type 2 et de l'intolérance au glucose dans la région de sétif. *Diabète métab***27**: 164-167.
- **Marcheix, J-J., Fleuriet, A &Jay-Allemand,C.** 2005. Nature et diversité des composés phénoliques des végétaux. *In Les composés phénoliques des végétaux. Ed Press Polytechniques et Universitaires Romandes.* Lausanne. p. 1-33.
- **Markham, K.R.** 1982. Technics of flavonoids identification. *Academic Press* (London) **2**: 1-113.
- **Marquis, A.** 2012. Propriétés antibactérienne, anti adhérence, anti-inflammatoire et anti-protéase de deux coumarins, l'auraptène et de le lacinartin. Thèse postdoctorale. Université Laval. 81p.
- **Martin, S &Andriantsitohaina, R.** 2002. Cellular mechanism of vasculo protection induced by polyphenols on the endothelium. *Annales de cardiologie et d'angéiologie* **51**: 304-315.
- **Mehinagic, E., Bourles, E &Jourjon, F.** 2011. Composés des fruits d'intérêt nutritionnel: impact des procédés de transformation sur les polyphénols. *Arboriculture* **43**: 364-368.
- **Moss, M., Cook, J., Wesnes, K &Duckett, P.** 2003. Aromas of rosemary and lavender essential oils differentially affect cognition and mood in healthy adults. *Int J Neurosc***13**:15-38.
- **Munne-Bosch,S., Alegre, L & Schwarz, K.** 2000. The formation of phenolic diterpenes in *Rosmarinusofficinalis L.* under Mediterranean climate. *Eur Food Res Technol* **210**: 263–267.
- **Napoli, E-M., Curcuruto, G & Ruberto, G.** 2010. Screening of the essential oil composition of wild Sicilian rosemary. *Biochemical Systematics and Ecology* **38**:659–670.
- **Nistor,L.A.** 2009. Inhibition de l'absorption intestinale du glucose par les produits naturels issus de la pharmacopée traditionnelle des Cris de la Baie James. Thèse de grade maitre èssciences en pharmacologie. Université de Montréal. 75p.

- **Nkhili, E.** 2009. Polyphénols de l'Alimentation : Extraction, Interactions avec les ions du Fer et du Cuivre, Oxydation et Pouvoir antioxydant. Thèse de doctorat. Université d'Avignon. 328p.
- **Oboh, G., Ademiluyi, A.O., Akinyemi, A.J., Henle, T., Saliu, J.A. & Schwarzenbolz, U.** 2012. Inhibitory effect of polyphenol-rich extracts of jute leaf (*Corchorus olitorius*) on key enzyme linked to type 2 diabetes (α -amylase and α -glucosidase) and hypertension (angiotensin I converting) in vitro. *Journal Of Functional Foods* **4**: 450-458.
- **Organisation Mondiale de la Santé (OMS).** 2011. Diabète dans le monde ; des prévisions alarmantes. *Gestion du diabète* 1-5.
- **Owen, P-L & Johns, T.** 1999. Xanthine oxidase inhibitory activity of northeastern North American plant remedies used for gout. *Journal of Ethnopharmacologie* **64**: 149-160.
- **Pintor, G., Marchetti, M., Chessa, M., Sechi, B., Scanou, N., Mangano, G & Tirillini, B.** 2009. *Rosmarinus officinalis* L. Chemical modifications of the essential oil and evaluation of antioxidant and antimicrobial activity. *Nat Prod Commun* **4**: 1685-90.
- **Popovici, C., Saykova, I & Tylkowski, B.** 2009. Evaluation de l'activité antioxydante des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de génie industriel* **4**: 25-39.
- **Quettier-Deleu, C., Gressier, B., Vasseur, J., Dine, T., Brunet, C., Luyckx, M., Cazin, M., Cazin, J.C., Bailleul, F & Trotin, F.** 2000. Phenolic compounds and anti-oxidants activities of buckwheat hulls and flour. *Journal of Ethnopharmacology* **72**: 35-42.
- **Raccah, D.** 2004. Epidémiologie et physiopathologie des complications dégénératives du diabète sucré. *EMC-Endocrinologie* **1**: 29-42.
- **Sabino-Silva R., Mori, R.C., David-Silva, A., Okamoto, M.M., Freitas, H.S & Machado, U.F.** 2010. The Na⁺/glucose cotransporters: from genes to therapy. *Braz J Med Biol Res* **43**:1020-1026.
- **Santoyo, S., Caverio, S., Jaime, L., Ibanez, E., Senorans, F.J & Reglero, G.** 2005. Chemical composition and antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis* L. Essential oil obtained via supercritical fluid extraction. *Journal of Food Protection* **68**: 790-795.

- **Shim, Y-J., Doo, H-K., Ahn, S-Y., Kim, Y-S., Seong, J-K., Park, I-S & Min, B-H.** 2003. Inhibitory effect of aqueous extract from the gall of *Rhus chinensis* on alpha-glucosidase activity and postprandial blood glucose. *Journal of Ethnopharmacology* **85**: 283-287.
- **Shirai, T., Hung, V.S., Morinaka, K., Kobayashi, T & Ito, S.** 2008. Crystal structure of GH13 α -glucosidase GSJ from one of the deepest sea bacteria. *Proteines* 126-133.
- **Shohaib, T., Shafique, M., Dhanya, N & Divakar, C.** 2011. Importance of flavonoides in therapeutics. *Hygeia.J.D.Med* **3**: 1-18.
- **Sim, L.** 2010. Structural and inhibition studies of human intestinal glucosidases. These de doctorat. Université de Toronto. 123p.
- **Stephenne, X., Foretz, M., Taleux, N., Van Der Zon, G.C., Sokal, E., Hue, L., Violet, B & Guigas, B.** 2011. Metformin activates AMP-activated protein kinase in primary human hepatocytes by decreasing cellular energy status. *Diabetologia* **54**: 3101-3110.
- **Stoclet, J-C., Chataigneau, T., Ndiaye, M., Oak, M-H., ElBedoui, J., Chataigneau, M & Schikini-Kerth, V.** 2004. Vascular protection by dietary polyphenols. *European Journal of Pharmacology* **500**: 299-313.
- **Subbaramaiah, K., Michaluart, P., Chung, W.J., Tanabe, T., Telang, N & Dannenberg, A.J.** 1999. Resveratrol inhibits cyclooxygenase-2 transcription in human mammary epithelial cells. *Ann NY AcadSci* **889**: 214-223.
- **Subramanian, R., Asmawi, M.Z & Sadikun, A.** 2008. *In vitro* α -glucosidase and α -amylase enzyme inhibitory effects of *Andrographis paniculata* extract and andrographolide. *ABP* **55**: 391-398.
- **Syiem, D., Syngai, G., Khup, P.Z., Khongwir, B.S., Kharbuli, B & Kayang, H.** 2002. Hypoglycemic effects of *Potentilla fulgens L.* in normal and alloxan induced diabetic mice. *Journal of Ethnopharmacology* **83**: 55-61.
- **Takahiro, T., Shintani, T & Sato, H.** 2013. Alpha-amylase inhibitory activity from nut seed skin polyphenols: Purification and characterization of almond seed skin polyphenols. *J Agric Food Chem* **19**: 4570-4576.
- **Tielmans, A., Viraly, M & Coupaye, M.** 2007. Traitement médicamenteux du diabète de type 2 (deuxième partie). *Diabétologie* **36**: 468-474.

- **Touafek, O., Nacéri, A., Kabouche, A., Kabouche, Z & Bruneau, C.** 2004. Chemical composition of the essential oil of *Rosmarinus officinalis* cultivated in the Algerien Sahara. *Chemistry of Natural Compounds* **40**: 28-29.
- **Travin, F & Pasquet-Veferier, M.** 2003. Le diabète gestationnel. *Dossier biologie de la grossesse. Biotribune* **1**: 1-2.
- **Travin, F., Chevenne, D & Hautecouverture, M.** 2003. Bioclinique et biopathologie du diabète gestationnel. *Revue française des laboratoires* 25-29.
- **Tsao, R.** 2010. Chemistry and Biochemistry of Dietary Polyphenols. *Nutrients* **2**: 1231-1246.
- **Vambergue, A., Valat, A.S., Duffour, P., Cazaubiel, M & Fontaine, P.** 2002. Physiopathologie du diabète gestationnel. *Journal de gynécologie obstétrique et biologie de la reproduction* **31**: 3-10.
- **Vergé, S., Soulet, S., Lacan, F., Mas, T., Arnaudinaud, V., Nay, B., Castagnino, C., Delaunay, J-C., Chèze, C., Monti, J-P., Deffieux, G., Mérillon, J-M., Nuhrich, A & Vercauteren, J.** 1999. Les polyphénols du vin: de la chimie pour la vie. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux* **138**: 75-90.
- **Wang, W., Luo, M., Zu, Y & Efferth, T.** 2010. Antibacterial activity and anticancer activity of *Rosmarinus officinalis* L. Essential oil compared to that of its main components. *J Agric Food Chem* **58**: 5363-7.
- **Wood, I.S & Trayhurn, P.** 2003. Glucose transporters (GLUT and SGLT): expanded families of sugar transport proteins. *British Journal of Nutrition* **89**: 3-9.
- **Wu, C., Shen, J., He, P., Chen, Y., Li, L., Zhang, L., Li, Y., Fu, Y., Dai, R., Meng, W & Deng, Y.** 2012. The α -Glucosidase inhibiting isoflavones isolated from *Belamcanda chinensis* leaf extract. *Rec. Nat. Prod* **6**: 110-120.
- **Zaoui, S., Biemont, C & Meguenni, K.** 2007. Approche épidémiologique du diabète en milieu urbain et rural dans la région de Tlemcen (Ouest algérien). *Cahier santé* **17**: 15-21.
- **Zekri, S & Brouri, M.** 2011. AOMI du diabétique. 4^e congrès de la SAMEV. Institut PASTEUR d'ALGER. p 43.
- **Zlata, L.** 1992. Polyphénols classification and tannin content of buckwheat seeds (*Fagopyrum esculentum* Moench). *Fagopyrum* **12**: 36-42.

GLOSSAIRES

Glossaire botanique

- **Dicotylédones** : Plantes angiospermes (plantes à fleurs) dont la graine contient deux cotylédones.
- **Lamiaceae (labiée)** : Famille de plantes dicotylédones de l'ordre des lamiales.
- **Lamiales** : Ordre des plantes de la classe des dicotylédones, comprenant la sauge, le romarin... etc.
- **Pétiole** : Du latin *petiolus* «petit pied» désigne la pièce foliaire, reliant le limbe à la tige.
- **Phyto-micronutriment** : Molécule naturelle d'origine végétale susceptible d'exercer un effet biochimique particulier dans l'organisme. Les phyto-micronutriments constituent un ensemble hétérogène de substances présentes dans les aliments végétaux : poly-phénols, caroténoïdes, phyto-stérols, phyto-œstrogènes, glucosinolates... etc. Leurs mécanismes d'action ne sont pas toujours connus.
- **Spermaphytes ou spermatophytes** : Plante à graines.

Glossaire médical

- **Antalgique** : Permet d'atténuer et voir même de supprimer la douleur.
- **Antidépresseur** : Famille de médicaments destinés au traitement de la dépression et également utilisés pour traiter certains troubles anxieux et certaines formes de douleurs chroniques.
- **Anti-inflammatoire** : Traiter une réaction inflammatoire et les maladies qui en résultent telles que les manifestations rhumatismales, les fractures, les stomatites et les lésions génitales et urinaires.
- **Antimicrobien** : Famille de substances qui détruisent(bactéricides) ou ralentissent (bactériostatique) la croissance des microbes.
- **Antinévralgique** : Réduit ou fait disparaître la douleur liée à l'irritation d'un nerf.
- **Antioxydant** : Lutte contre le stress oxydatif, protège la cellule d'une oxydation par les radicaux libres et empêche l'altération des composés organiques.
- **Antirhumatismal** : Traite certaines affections rhumatologiques les rhumatismes qui sont des affections douloureuse, aiguë ou chroniques (s'étalant dans le temps), se traduisant par des symptômes survenant au niveau des articulations.
- **Antiseptique** : Un antiseptique est une substance qui tue ou prévient la croissance des bactéries et des virus (micro-organismes) sur les surfaces externes du corps.
- **Antispasmodique** : Calme ou de neutraliser des contractions involontaires des muscles. Ils sont souvent utilisés dans les spasmes digestifs, les douleurs à type de coliques hépatiques ou néphrétiques et les douleurs utérines de la femme.
- **Artérite** : Ce terme regroupe toutes les lésions artérielles (inflammations), quel qu'en soit le mécanisme.
- **Cicatrisant** : Favorise la cicatrisation.
- **Glycémie** : Taux de glucose dans le sang. Grâce à plusieurs mécanismes de régulation, la glycémie est maintenue sensiblement constante (autour de 1 gramme par litre) afin d'apporter aux organes et aux tissus des quantités constantes de glucose sanguin.
- **Hyperglycémie** : Augmentation anormale de la glycémie (taux de glucose dans le sang) au-dessus de 1,1g, soit 6 millimoles, par litre.
- **Irrigation sanguine** : circulation naturelle dans les organismes vivants.

- **Macro-angiopathie** : Principalement représentée par les diverses atteintes qui sont les conséquences de l'athérosclérose (maladie dégénérative de l'artère due à la formation d'une plaque lipidique sur sa paroi).
- **Micro-angiopathie** : Comprend essentiellement les phlébites et les varices. La phlébite correspond à une obstruction plus ou moins complète d'une ou de plusieurs veines d'un membre (le plus souvent inférieur) par un caillot.
- **Polydipsie** : Sensation de soif exagérée, calmée par une prise de boisson abondante.
- **Polyphagie** : Symptôme ou maladie caractérisé(e) par une faim excessive avec une absence de sensation de satiété, traduisant un excès dans le comportement alimentaire.
- **Polyurie** : Augmentation (au-dessus du seuil de 3 litres) de la quantité des urines émises pendant 24 heures.
- **Post prandiale** : Relatif aux repas. Un événement postprandial est un phénomène survenant après le repas, comme la douleur postprandiale, caractéristique de l'ulcère gastroduodénal.
- **Sudorifique** : Provoque la sécrétion et l'évacuation de la sueur (sudation).
- **Vasodilatatrice** : Augmentation du diamètre des vaisseaux.

Annexes

Annexe 1

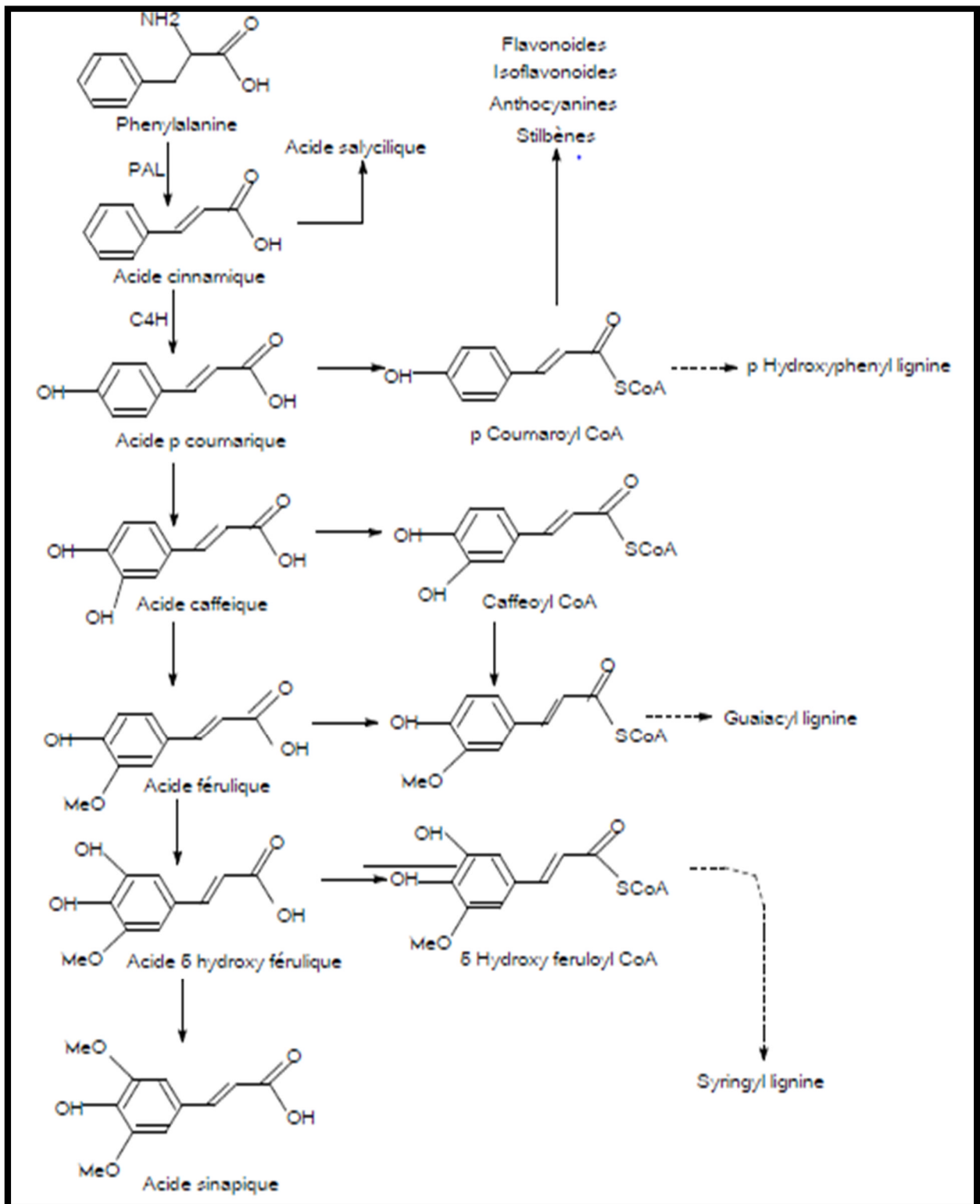


Figure 9 : La voie de phénylpropanoïde(Bruneton, 2009).

Annexe 2

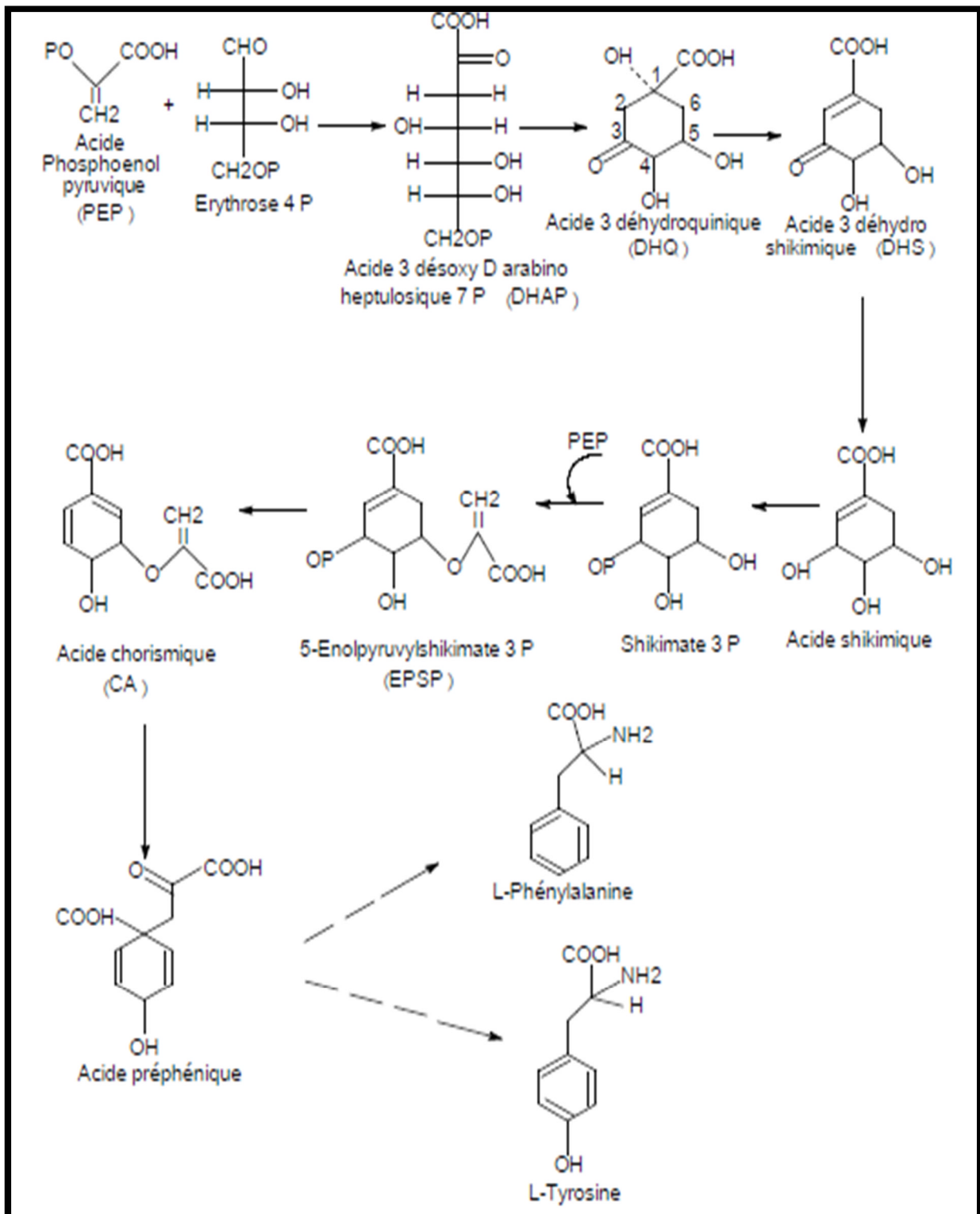


Figure 10 : La voie de shikimate(Bruneton, 2009).

Annexe 3

Appareillage utilisé

Les appareils utilisés lors des différentes manipulations sont :

- Agitateur (VELP scientifica),
- Spectrophotomètre (UNICO),
- Vortex (VELP scientifica),
- Bain-marré (BUNSEN),
- Etuve (MMM- groupe),
- PH-mètre (MARTINI instruments),
- Balance de précision (RADWAG),
- Tamiseur (RETSCH).

Annexe 4

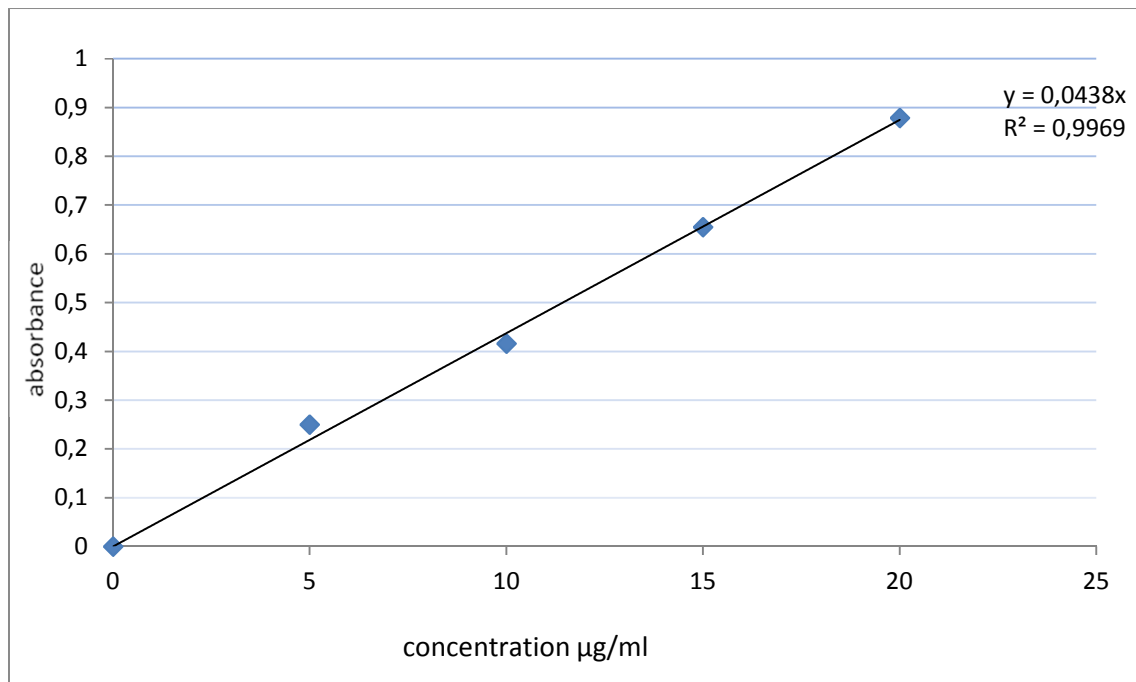


Figure21: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols.

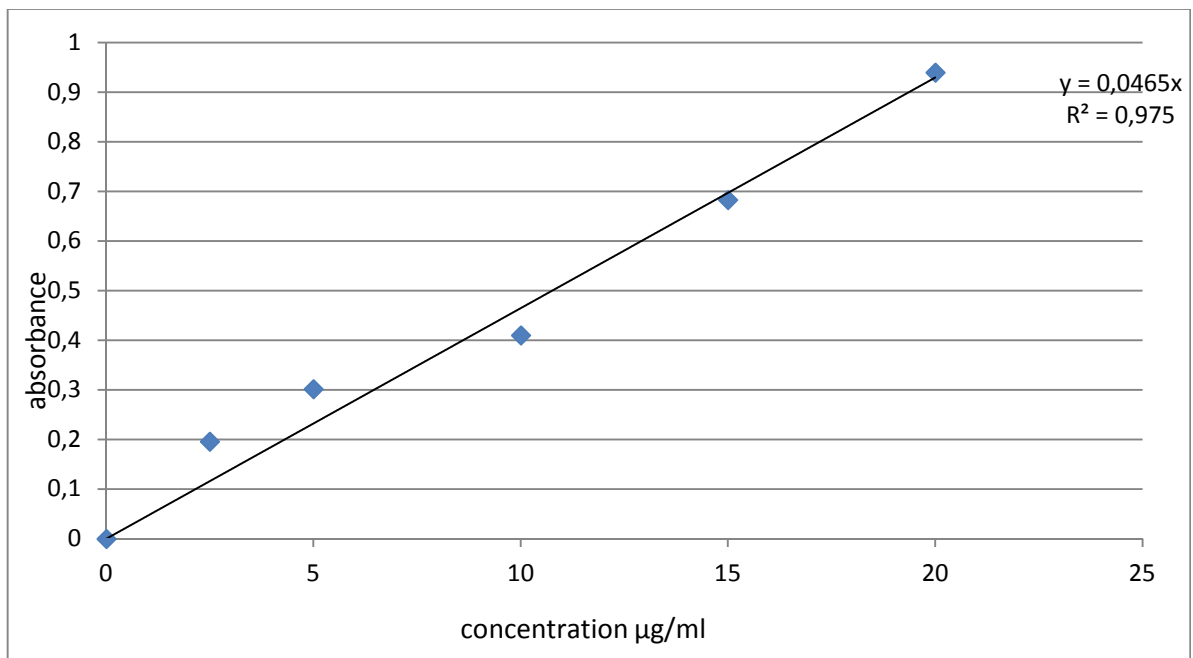


Figure22: Courbe d'étalonnage de la Quercétine pour le dosage des flavonoïdes.

Résumé

Le diabète, maladie métabolique caractérisée par une hyperglycémie chronique et ses lourdes complications, constitue un vrai problème de santé publique.

Rosmarinus officinalis communément appelée romarin, connue pour ses effets anti-oxydant et anti-inflammatoire dans la médecine traditionnelle.

L'étude de l'activité antidiabétique des différentes fractions des poly-phénols et des flavonoïdes basée sur la glycémie post prandiale, a révélé un réel pouvoir anti-hyperglycémiant confirmé par l'inhibition de l'alpha-glucosidase intestinale (*in vitro* et *in vivo*), la tolérance au glucose constatée *in vivo* et par l'inhibition du transport intestinal de glucose.

Mots clés : Diabète, effet anti-hyperglycémiant, flavonoïdes, poly-phénols, post prandiale, *Rosmarinus officinalis*.

Abstract

Diabetes, metabolic disease characterized by chronic hyperglycemia and severe complications, is a real public health problem.

Rosmarinus officinalis commonly called rosemary, known for its antioxidant and anti-inflammatory effects in traditional medicine.

The study of the antidiabetic activity of different fractions of poly-phenols and flavonoids based on postprandial blood glucose, showed a real anti-hyperglycaemic power confirmed by inhibition of intestinal alpha-glucosidase (*in vitro* and *in vivo*), glucose tolerance observed *in vivo* and by inhibition of intestinal glucose transport.

Keywords: Anti-hyperglycemic effect , diabetes, flavonoids, poly-phenols, postprandial, *Rosmarinus officinalis*.

