

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 : Biochimie Appliquée

*Thème*

*Evaluation de l'effet antidiabétique des extraits riches en flavonoïdes des feuilles de Rosmarinus officinalis sur des souris rendues diabétiques par la streptozotocine*

*Présenté par :*

M<sup>lle</sup> BELKACEM Ouassila.  
M<sup>lle</sup> OUATAH Zakia.

*Membres de jury :*

Président	Mme KHETTAL.B	M.C.A	U. A. M. Bejaia.
Promoteur	Mr BELMOUHOU.B. M	M.A.B	U.M. Canstantine.
Co-promoteur	Mr TACHERFIOUT. M	M.A.B	U.A.M.Bejaia.
Examinatrice	Mr BACHIR BAY.M	M.A.A	U.A.M.Bejaia.
Examineur	Mr BASLI. A	M.A.A	U.A.M.Bejaia.

Année universitaire  
2013/2014

# *Remerciements*

Tout d'abord, 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 très chaleureusement notre promoteur, **Monsieur BELMOUHOUB M**, 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 en vue d'améliorer ce manuscrit.

« **Sans vous rien n'aurait été pareil** »

Nos vifs remerciements à **Monsieur TACHERFIOUT M**, co-promoteur pour sa précieuse aide et sa gentillesse.

On tient aussi à exprimer notre gratitude au **Dr KHETTAL B**, Pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant de présider le jury et d'évaluer notre travail.

Notre grande considération et notre vive reconnaissance à **Monsieur BACHIR BAY M** et **Monsieur BASLI A**, 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.

Nous tenons aussi à remercier **Dr CHEBOUT I**, maître assistante hospitalo-universitaire en anatomie pathologie du CHU de Bejaia pour le temps qu'elle nous a consacré pour l'interprétation des coupes histologiques.

Nous tenons à remercier très chaleureusement **M<sup>elle</sup> MEZAHEM Tassadit** pour le temps qu'elle nous a consacré pour son aide, les conseils et pour sa gentillesse que vous nous avez accordé tout au long de ce travail dans l'animalerie.

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

**OUASSILA et ZAKIA**

## *Dédicaces*

Tous d'abord merci ALLAH de m'avoir donné la patience et le courage durant ces longues années d'études.

Je dédie ce modeste travail à ma mère qui m'a donné la vie, le symbole de tendresse, qui s'est sacrifiée pour mon bonheur et ma réussite,

A mon père, école de mon enfance, qui a été mon ombre durant toutes les années d'études, et qui a veillé tout au long de ma vie à m'encourager, à me donner l'aide et à me protéger.

Aucune dédicace ne saurait exprimer mes grandes admirations, mes considérations et mes sincères affections pour vous. Quoi que je fasse, je ne pourrais jamais vous récompenser pour les grands sacrifices que vous avez faits et continuez de faire pour moi.

Que dieu les garde et les protège.

A mes frères, sœurs et belle sœur qui ont su me soutenir en toutes circonstances tout au long de mes études. Merci beaucoup pour votre bonne humeur et la chaleur familiale avec la quelle vous m'avez entouré, que Dieu vous garde et vous protège

A mon cher binôme et sa famille.

A mes amis (es) : Kam, Zakia, Fouzia, lili, Dj, Dihia, Fadila, Sabrin, Rbiha, Farida, je vous remercie pour la bonne ambiance qui a joué un grand rôle dans l'aboutissement de ce mémoire.

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

A la promotion de biochimie Appliquée 2014

***Ouassila B***

# *Dédicace*

*Avant tout, nous remercions Dieu de nous avoir donné le courage et la foi pour mener à bien ce travail.*

*Je dédie ce modeste travail*

*A la femme la plus courageuse, sensible, généreuse, la plus belle à mes yeux, à celle qui a su me donner amour et joie de vivre, à celle qui a toujours montré affection et compréhension à mon égard, ma mère que j'aime.*

*A celui qui a toujours été présent, qui m'a appris les vraies valeurs de la vie, à celui qui m'a soutenu en toutes circonstances, mon père que j'aime.*

*Ce travail représente le fruit de votre soutien, vos sacrifices, conseils et vos encouragements.*

*Que Allah vous protège et vous accorde une longue vie pleine de santé et de bonheur.*

*A ceux qui m'ont soutenu nuit et jour et durant tout mon parcours*

*A ceux qui m'ont aidé pendant mes études du primaire jusqu'à l'obtention de mon diplôme*

*Ma très chère grande mère*

*Mes très chers frères pour leurs confiances*

*Mes très chères sœurs et leurs maris*

*Mes neveux et nièces*

*Ma belle sœur*

*A toute ma famille*

*A ceux que j'ai eu la chance de connaître, dans les meilleurs et pires moments de ma*

*vie, à mes amis(es) les plus fidèles*

*A ma copine Wassila et à toute sa famille*

*La promotion, biochimie appliquée 2013/2014*

**Zakia O.**

## SOMMAIRE

<i>Liste des abréviations</i> .....	i
<i>Liste des figures</i> .....	iii
<i>Liste des tableaux</i> .....	v
<b>Introduction</b> .....	1

### SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

#### *Chapitre I : Généralité sur *Rosmarinus officinalis**

<b>I. Généralité sur les plantes médicinales</b> .....	3
<b>I.1. Historique</b> .....	3
<b>I.2. Etymologie de <i>Rosmarinus officinalis</i></b> .....	4
<b>I.3. Description de <i>Rosmarinus officinalis</i></b> .....	4
<b>I.4. Répartition géographique de <i>Rosmarinus officinalis</i></b> .....	5
<b>I.5. Utilisation de <i>Rosmarinus officinalis</i></b> .....	5
I.5.1. Agro-alimentaire.....	5
I.5.2. Cosmétologie .....	5
I.5.3. Médecine et phytothérapie .....	5
<b>I.6. Composition chimique <i>Rosmarinus officinalis</i></b> .....	6
I.6.1. Les composés phénoliques .....	6
I.6.1.1. Généralité .....	6
I.6.1.2. La voie de biosynthèse des polyphénols .....	7
I.6.1.3. Classification des poly-phénols .....	9
I.6.1.3.1. Les acides phénoliques simples .....	10
I.6.1.3.2. Les anthocyanes .....	10
I.6.1.3.3. Les tannins (polyphénols non flavonoïdes) .....	11
I.6.2. Les flavonoïdes .....	11

I.6.2.1. Structure des flavonoïdes .....	11
I.6.2.2. Classification des flavonoïdes .....	12
I.6.2.3. Propriétés biologiques des flavonoïdes .....	12

## *Chapitre II : Généralité sur le diabète*

<b>II. Généralité sur le diabète .....</b>	<b>14</b>
<b>II.1. Définition .....</b>	<b>14</b>
<b>II.2. Historique .....</b>	<b>14</b>
<b>II.3. Epidémiologie .....</b>	<b>14</b>
<b>II.4. Diagnostique .....</b>	<b>15</b>
<b>II.5. Classification de diabète sucré .....</b>	<b>15</b>
II.5.1. Le diabète de type 1 (DT1) .....	15
II.5.2. Le diabète de type 2 (DT2) .....	15
II.5.3. Le diabète spécifique .....	16
II.5.4. Le diabète gestationnel (D.G) .....	16
<b>II.6. Critères diagnostiques du diabète sucré .....</b>	<b>16</b>
<b>II.7. Traitement du diabète .....</b>	<b>16</b>
II.7.1. Antidiabétiques oraux .....	16
II.7.2. Insulinothérapie (insuline injectable).....	17
<b>II.8. Traitement phytothérapeutique .....</b>	<b>18</b>
<b>II.9. Métabolisme et contrôle de la glycémie .....</b>	<b>19</b>
II.9.1. Régulation hormonale de la glycémie .....	19
II.9.1.1. Régulation aux niveaux d'organes .....	19
II.9.1.1.1. Régulation aux niveaux du foie .....	19
II.9.1.1.2. Régulation aux niveaux du pancréas .....	19
<b>II.10. Modèles d'étude de diabète .....</b>	<b>20</b>
II.10.1. Diabète induit par pancréatectomie .....	20
II.10.2. Diabète induit par inoculation de virus .....	20
II.10.3 Diabète induit par le régime alimentaire .....	20
II.10.4. Diabète induit par des substances chimiques .....	21

II.10.4.1. Régulation Diabète induit par streptozotocine .....	21
II.10.4.1.1. Définition .....	21
II.10.4.1.2. Structure .....	21
II.10.4.1.3. Action de la streptozotocine sur la cellule pancréatique .....	22
II.10.4.2. Diabète induit par Alloxane .....	22
II.10.4.2.1. Définition .....	22
II.10.4.2.2. Structure .....	22
II.10.4.2.3. Fonction .....	23

## **PARTIE PRATIQUE**

### *Chapitre III : Matériel et méthodes*

<b>III. Matériel et méthodes .....</b>	<b>24</b>
<b>III.1. Matériel .....</b>	<b>24</b>
III.1.1. Matériel végétal .....	24
III.1.2. Réactifs chimiques .....	24
III.1.3. Animaux et conditions d'hébergements .....	25
<b>III.2. Méthode .....</b>	<b>25</b>
III.2.1. Préparation des extraits phénoliques .....	25
III.2.1.1. Extraction des flavonoïdes de <i>Rosmarinus officinalis</i> .....	25
III.2.1.2. Obtention de l'extrait méthanolique par macération .....	26
III.2.1.3. Délipidation et fractionnement des extraits par partitions entre solvants .....	26
III.2.2. Calcul de rendement .....	26
III.2.3. Dosage des composés phénoliques .....	28
III.2.3.1. Dosage des poly-phénols totaux .....	28
III.2.3.2. Dosage des flavonoïdes .....	28
III.2.4. Etude de l'effet des extraits de <i>Rosmarinus officinalis</i> sur des souris diabétiques .....	29
III.2.4.1. Induction du diabète expérimental .....	29
III.2.5. Évaluation de l'effet antidiabétique des extraits .....	29

III.2.5.1. Évaluation de l'effet hypoglycémiant .....	29
III.2.5.1.1. Répartition des souris .....	30
III.2.5.1.2. Administration des extraits .....	30
III.2.5.1.3. Mesure de la glycémie .....	31
III.2.5.2. Évaluation de l'effet anti-hyperglycémiant .....	31
III.2.5.2.1. Test de tolérance au glucose par voie orale (OGTT) .....	31
III.2.5.2.2. Répartition des lots .....	32
III.2.5.2.3. Procédure expérimentale .....	32
III.2.5.3. Évaluation du bilan lipidique .....	32
III.2.5.3.1. Test Dosage des paramètres biochimiques .....	33
<b>III.3. Mesure la quantité de nourriture et le volume d'eau consommés par les souris</b> .....	33
<b>III.4. Étude histopathologique</b> .....	33
III.4.1. Prélèvement de pancréas .....	33
III.4.2. Fixation des pancréas prélevés .....	34
III.4.3. la confection des coupes .....	34
III.4.5.1. Déshydratation .....	34
III.4.5.2. Inclusion .....	34
III.4.4. Réalisation des coupes .....	34
III.4.5. Déparaffinage des coupes .....	35
III.4.6. Coloration des coupes .....	35
III.4.7. Observation microscopique .....	35
<b>III.5. Analyses statistiques</b> .....	35
<b>Chapitre IV : Résultats et discussion</b>	
<b>IV. Résultats et discussion</b> .....	36
<b>IV.1. Rendement de l'extraction et teneur en poly-phénols totaux et en flavonoïdes</b> .....	36
<b>IV.2. Dosage des paramètres biochimiques des animaux</b> .....	38
IV.2. 1. Variation de la glycémie .....	38
IV.2. 1. 1. Effet hypoglycémiant des polyphénols totaux (PT) .....	38
IV.2. 1. 2. Effet hypoglycémiant de la fraction butanolique (BUT) .....	39
IV.2. 1. 3. Effet hypoglycémiant de la fraction éther di-éthylique (ED) .....	40
IV.2. 2. Effet des extraits sur le profil lipidique .....	42

IV.2. 2. 1. Effet des différentes fractions sur la cholestérolémie .....	43
IV.2. 2. 2. Effet des différentes fractions sur la triglycéridémie .....	44
IV.2. 2. 2. Effet des différentes fractions sur le taux de LDL (Low Density Lipoprotein) .....	45
IV.2. 3. Étude de l'évolution pondérale .....	46
IV.2. 4. Quantité de nourriture consommée par les différents groupes de souris .....	48
IV.2. 5. Volume d'eau consommée par les différents groupes de souris .....	49
IV.2. 6. Test de tolérance au glucose (OGTT).....	50
IV.2. 6.1. Effet anti-hyperglycémiant des deux fractions riches en flavonoïdes .....	51
IV.2. 7. Etude histopathologique du pancréas .....	52
Conclusion et perspectives .....	53
<b>Références bibliographiques</b>	
<i>Glossaire botanique</i> .....	I
<i>Glossaire médical</i> .....	II
<i>Annexes</i> .....	IV

## Liste des abréviations

- **Abs** : Absorbance.
- **ADN** : Acide Désoxyribonucléique.
- **AlCl<sub>3</sub>**: Chlorure d'aluminium.
- **AMPc**: Adénosine mono-phosphate cyclique.
- **ATP**: Adénosine Triphosphate.
- **BUT** : n-butanol.
- **Ca<sup>++</sup>**: Calcium.
- **CNTL**: Control.
- **D G** : Diabète gestationnel.
- **DNID** : Diabète non insulino-dépendant.
- **DPP-4** : Di-peptidyl peptidase de type 4.
- **DT1** : Diabète de type 1.
- **DT2** : Diabète de type 2.
- **ED** : Ether di-éthérique.
- **EDTA** : Ethylène-Diamine-tétra-Acétique.
- **ES** : Erreur Standard.
- **GLUT** : Glucose Transporter.
- **GLP-1**: Glucagon Like Peptide -1.
- **GLIB** : Glibenclamide.
- **HDL** : High Density Lipoproteins.
- **LDL**: Low Density Lipoprotein (lipoprotéine de basse densité).
- **mg EAG/g** : Milligramme d'Équivalent d'Acide Gallique par gramme d'extrait.
- **MeOH**: Méthanol.
- **MoO<sub>4</sub><sup>2-</sup>**: l'acide phospho-molybdique.
- **NaCl** : Chlorure de Sodium.
- **Na<sup>+</sup>**: Sodium.
- **NAD<sup>+</sup>**: Nicotinamide Adénine Dinucléotide.
- **NOR** : Normale.

- **O<sub>2</sub><sup>•-</sup>** : anion superoxyde.
- **OGTT**: Oral Glucose Tolerance Test.
- **OH<sup>•</sup>** : Radical libre.
- **OMS** : Organisation Mondiale de la Santé.
- **PT** : Poly-phénols totaux.
- **r.p.m** : Rotation par minute.
- **STZ**: Stréptozotocine.
- **SIDA** : Syndrome d'immunodéficience acquise.
- **TG** : Triglycéride.
- **WO<sub>4</sub><sup>2-</sup>** : Acide phospho-tungstique.

## Liste des figures

<b>Figure 01</b> : Aspect morphologique et classification de romarin .....	4
<b>Figure 02</b> : Voie de biosynthèse des composés phénoliques .....	8
<b>Figure 03</b> : La synthèse des flavonoïdes par la voie des polyacétates .....	9
<b>Figure 04</b> : Structures chimiques des acides phénoliques .....	10
<b>Figure 05</b> : Formule développée générale des flavonoïdes .....	11
<b>Figure 06</b> : Structures de base des principaux flavonoïdes .....	12
<b>Figure 07</b> : Structure chimique de la Stréptozotocine .....	21
<b>Figure 08</b> : Mécanisme d'action de la stréptozotocine dans la cellule pancréatique .....	22
<b>Figure 09</b> : Structure chimique de l'alloxane .....	23
<b>Figure 10</b> : Poudre obtenue après broyage .....	24
<b>Figure 11</b> : Élevage des souris <i>Swiss albinos</i> .....	25
<b>Figure 12</b> : Les différentes étapes suivies pour la préparation des composés phénoliques ...	27
<b>Figure 13</b> : Injection de la STZ par voie intra-péritonéale .....	29
<b>Figure 14</b> : Administration des extraits par voie orale .....	31
<b>Figure 15</b> : Mesure de la glycémie .....	31
<b>Figure 16</b> : Les étapes de prélèvements sanguins .....	33
<b>Figure 17</b> : La teneur des poly-phénols en flavonoïdes .....	37
<b>Figure 18</b> : variation de la glycémie de groupe de souris traitées par les polyphenols totaux (800mg/kg/j).....	38
<b>Figure 19</b> : Variation de la glycémie chez le groupe de souris traitées par la fraction butanolique (400mg/kg/j) .....	39

<b>Figure 20</b> : Variation de la glycémie chez le groupe de souris traitées par la fraction éther di-éthylque (400 mg/kg) .....	40
<b>Figure 21</b> : Comparaison entre l'effet hypoglycémiant de la fraction ED et BUT (400 mg/kg) .....	41
<b>Figure 22</b> : Effet des différentes fractions (PT, ED, BUT) sur la cholestérolémie .....	43
<b>Figure 23</b> : Effet des différentes fractions (PT, ED, BUT) sur la triglycéridémie .....	44
<b>Figure 24</b> : Effet des différentes fractions (PT, ED, BUT) sur le taux de LDL plasmatique .....	45
<b>Figure 25</b> : Evolution pondérale de souris diabétiques traitées par (PT, ED, BUT, GLIB)...	47
<b>Figure 26</b> : Quantité de nourriture consommée par les souris traitées par l'extrait des feuilles de <i>Rosmarinus officinalis</i> .....	48
<b>Figure 27</b> : Volume d'eau consommée par les souris traitées par l'extrait des feuilles de <i>Rosmarinus officinalis</i> .....	50
<b>Figure 28</b> : Effet des deux fractions riches en flavonoïdes (n-butanol, éther di éthylque) sur la tolérance de glucose (OGTT) à une concentration de 800mg/kg .....	51
<b>Figure 29</b> : Photographie des coupes histologiques du pancréas (G×10) .....	54

## Liste des tableaux

<b>Tableau I</b> : La composition chimique de romarin .....	7
<b>Tableau II</b> : Quelques plantes médicinales utilisées dans le traitement du diabète .....	18

# *Introduction*

### Introduction

Le diabète est un problème majeur de santé publique, une pathologie en pleine croissance et au lourde conséquence aussi bien humaine que socio-économiques (trivan, 1998 ; Rabasa *et al.*, 1999), en effet, sa prévalence concerne essentiellement les pays en voie de développement .

Avec la médecine moderne, le diabète est devenu une pathologie bien comprise, mais hélas reste jusqu'à présent chronique. Elle touche de façon alarmante près de 285 millions d'individus dans le monde de tout âge et catégories sociales confondu et que ce nombre pourrait bien attendre 435 millions d'ici 2030 (Auberval, 2010).

Le diabète est une maladie métabolique caractérisé par un désordre au niveau de la régulation du métabolisme des glucides entraînant une hyperglycémie. A l'origine, le terme « diabète » désigne diverse maladies caractérisés par une élimination importante d'urines, une déshydratation et une soif intense, notamment un amaigrissement accrus avec paradoxalement une augmentation de l'appétit (Vexiau, 2011).

Malgré l'utilisation des hypoglycémiant comme drogues antidiabétiques, le diabète et ces complications constituent une grande problématique dans la prise en charge thérapeutiques des diabétiques et la réussite de traitement serait d'un intérêt grandiose, malgré l'avancé de nouvelle molécules thérapeutiques. Les médicaments modernes, y compris l'insuline et les hypoglycémiant oraux (biguanides, sulfonylurées...), leur administration régulière engendre d'effets indésirables (Nissan et Wolski, 2007). Récemment, les diabétologues sont arrivés à l'évidence d'un complément thérapeutiques constitués par les extraits de plantes est nécessaire pour optimiser le traitement du diabète (Jin *et al.*, 2008).

Par ailleurs, beaucoup de plantes sont très connues pour leurs grandes potentialités métaboliques de substances dites secondaires. Ces composés sont synthétisés dans les différentes parties de la plante (racines, tige, feuilles...). Quelles que soient les parties et les formes sous lesquelles elles sont métabolisées, ces substances sont extrêmement complexes du point de vue structure et composition chimique. Toutefois, leur métabolisme produit des milliers de constituants différents, dont quelques-uns seulement sont responsables de l'effet thérapeutique (Hogan et Kolter, 2002).

*Rosmarinus officinalis* est l'une des plantes semble avoir une bonne source non négligeable de composés secondaires actifs à visée thérapeutique utilisé à travers le monde.

Les extraits des feuilles sont largement utilisés dans la médecine traditionnelle possédant des propriétés importantes démontrées par plusieurs études (anti-tumorales, antidépressives antidiabétiques et neuroprotectrices) (Machado et al., 2013).

Bien que plusieurs travaux aient porté l'effet hypoglycémiant des feuilles de *R.officinalis* sur des animaux diabétiques par des substances chimiques (streptozotocine, alloxane), ces études ont été focalisées essentiellement sur l'extrait total, tandis que peu de travaux ont été réalisés sur l'effet antidiabétique des fractions flavonoidiques des feuilles de cette plante.

Le présent travail consiste à étudier l'effet antidiabétique des fractions riches en flavonoïdes des feuilles de *rosmarinus officinalis* sur des souris rendues diabétiques par la streptozotocine.

# *Partie bibliographique*

*Chapitre I*  
*Généralité sur la plante*

## I. Les plantes médicinales

Depuis la nuit des temps, pour calmer ses maux, l'homme s'est servi des plantes. Il leur attribué des pouvoirs magiques, puis a appris peu à peu à discerner leurs propriétés. Près de la moitié des médicaments que nous utilisons à l'époque actuelle ont une composition d'origine végétale, et le quart renferme des extraits de plantes ou des molécules actives provenant directement des plantes. Ainsi, par l'intermédiaire des médicaments d'hémi-synthèse autant que par le biais de la phytothérapie, les plantes constituent le mode de traitement le plus répandu au monde (Arnal-schneblen et al., 2008).

Environ 35000 espèces de plantes sont employées par le monde à des fins médicinales, ce qui constitue le plus large éventail de biodiversité utilisé par les êtres humains. Les plantes médicinales continuent de répondre à un besoin important malgré l'influence croissante du système sanitaire moderne (Elqaj et al., 2007).

Le romarin (*rosmarinus officinalis*) est l'une des plantes médicinales qui possède des vertus thérapeutiques, car elles contiennent des principes actifs qui agissent directement sur l'organisme. Cette plante a fait l'objet de récentes recherches dans des différents domaines (Atik-Bekkara et al., 2007).

### I.1. Historique

Romarin (*rosmarinus officinalis*) était déjà employé dans l'Égypte ancienne (2000 ans avant J.C), le rameau de cette plante était découvert dans le tombeau de l'Égypte par Prosper Alpin au XVIème siècle (Hoefler, 1994; Eberhard et al., 2005). La plante est parvenue en Europe Centrale au IX<sup>e</sup> siècle par l'intermédiaire des moines bénédictins (Eberhard et al., 2005).

Au IX siècle, Charlemagne a insisté que l'herbe soit cultivée dans son jardins royal (Siktberg, 2009). En effet, au XIVE siècle, la reine Isabelle de Hongrie, qui souffrait de la goutte, prétendit avoir retrouvé toute sa jeunesse par une cure de cette eau « magique » à base de romarin (Eberhard et al., 2005). -

A la fin du XVI siècle l'herbe était également le sujet de beaucoup de poésies et a été mentionnée dans cinq des jeux de Shakespeare (Siktberg, 2009). Ainsi était un symbole d'amitié, d'amour et de fidélité (Hoefler, 1994).

Le romarin est cité en médecine islamique comme étant bon pour le mal de tête, les abcès, les piqûres de scorpions et l'épilepsie et pouvant expulser le pus des ulcères (Hoefler, 1994).

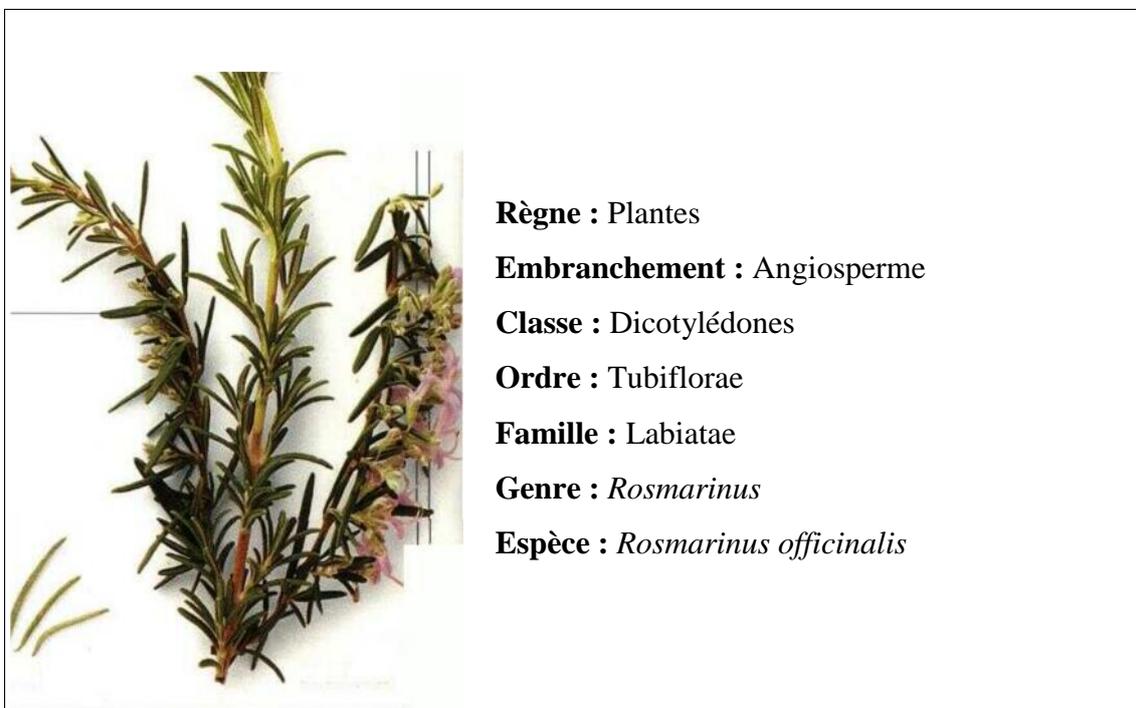
### I.2. Etymologie de *Rosmarinus officinalis*

Le nom latin *rosmarinus* est habituellement interprété, comme dérivé « ros » de la rosée dérivant de rhus "rhous=sumac" qui rappelle l'aspect d'arbrisseau de la plante) et « marinus » d'appartenir à la mer, bien qu'elle se développe habituellement loin de la mer. (Delaveau, 1987

### I.3. Description de *Rosmarinus officinalis*

Le Romarin (*Rosmarinus officinalis*) appelé aussi encensier appartient à la famille des labiées. Originaire du Bassin méditerranéen. C'est un arbrisseau de 50 cm à 1 mètre et plus, toujours vert, très aromatique, très rameux, très feuillé (feuilles en forme d'aiguilles blanchâtres et duveteuses par-dessous (Makhloufi, 2009). Les fleurs sont d'un bleu pâle ou blanchâtre, avec une odeur aromatique et saveur amère et astringente (Eberhard et al., 2005).

D'après, Zoubeidi en 2004 ; la position systématique de la plante *Rosmarinus officinalis* est comme suite :



**Figure 01 :** Aspect morphologique et classification de romarin (Zoubeidi, 2004).

#### **I.4. Répartition géographique de *Rosmarinus officinalis***

Les régions de la méditerranée représentent une zone principale d'existence des différents types de romarin; cette plante occupe de vastes superficies du nord de l'Afrique (l'Algérie, la Tunisie, le Maroc et l'Égypte) et du sud de l'Europe en plus de la Russie et la Roumanie (Touafek, 2010). 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 ; Nelly Arnold et al., 2013).

#### **I.5. Utilisation de *Rosmarinus officinalis***

Le romarin présente une série de propriétés souhaitables, du point de vue de l'industrie alimentaire, cosmétique et dans la thérapie.

##### **I.5.1. Agro- alimentaire**

Le romarin est très utilisé en tant qu'une épice typique des cuisines dans différents régions de monde. L'utilisation d'une branche entière, qu'elle soit d'ailleurs fraîche ou sèche, est peut recommandée. Les jeunes feuilles fraîches ou sèches, finement hachées ou broyées parfument agréablement les viandes (Eberhard et al., 2005). Dans l'industrie alimentaire, l'addition de *R. officinalis* améliore la qualité organoleptique des dattes, en sauvegardant leur qualité nutritionnelle et physicochimique (Makhloufi, 2009). En effet, les extraits de romarin, sont utilisés en qualité d'antioxydants pour améliorer la conservation des produits alimentaires riches en graisses (Eberhard et al., 2005).

##### **I.5.2. Cosmétologie**

En cosmétique, les extraits de romarin entrent dans la composition de lotions capillaires et de bains aromatiques. L'huile essentielle sert également à aromatiser certains savons, eaux de Cologne, déodorant, pâtes, dentifrices et huile pour le corps. Le miel de Narbonne doit sa réputation à sa richesse olfactive liée au butinage de fleurs de romarin (Eberhard et al., 2005 ; Touafek, 2010).

##### **I.5.3. Médecine et phytothérapie**

Dans les vertus médicinales, des études ont pu démontrer que, le romarin a des propriétés sur les fonctions digestives, en particulier l'activité de la vésicule biliaire ainsi des propriétés stimulant le système nerveux (Touafek, 2010).

Selon Salah El-Din et ces collaborateurs, 2012, le romarin a une propriété importante en améliorant la fertilité chez des rats diabétiques, et en protégeant contre le cancer de prostate (Petiwala et al., 2013).

Le Romarin possède des propriétés antioxydantes, antimicrobiennes, antidépresseur (Douiri et al., 2014), anti-tumorale (Jyoti et al., 2011) et antihépatotoxiques. (Saber et Hawazen, 2012). Autrefois il était utilisé en compresse contre les rhumatismes. C'est aussi un antispasmodique antiseptique, antifongique, stomatique, carminatif, cholérique, antitussif, antinévralgique (Touafek, 2010), comme il présente une activité anti-inflammatoire (Lucimara, 2011). Par ailleurs, Une étude sur des animaux diabétiques confirme que les extraits de romarin exercent un effet hypoglycémique et améliorent le profil de lipide (Ayez, 2012).

### **I.6. Composition chimique de *Rosmarinus officinalis***

Beaucoup d'études ont indiqué que Romarin est riche en dérivés phytochimiques tels que des triterpènes, des flavonoïdes ou des polyphénols (Saber et Hawazen, 2012).

Les différents composés rencontrés peuvent se classer comme suit (Tableau I).

#### **I.6.1. Les composés phénoliques**

##### **I.6.1.1. Généralité**

Les poly-phénols sont des produits du métabolisme secondaire des végétaux et sont présents dans tous les organes supérieurs de la plante (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois) (Boizot et Charpentire, 2006). 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).

L'expression de terme des « composés phénoliques ou polyphénols » désigne toutes substances chimiques caractérisés par la présence d'un cycle aromatique portant des groupements hydroxyles libres ou engagés avec un glucide (Boizot et Charpentire, 2006 ; Nkhili, 2009). Ces molécules sont impliqués dans la croissance cellulaire, la rhizogenèse, la germination des graines ou la maturation des fruits (Boizot et Charpentire, 2006).

Selon Marquis, 2012 les polyphénols étaient considérés au départ comme potentiellement néfastes vu leur interférence au niveau de l'absorption des nutriments et ce n'est qu'au cours des dernières décennies que cette passion pour les propriétés bénéfiques des polyphénols sur la santé humaine s'est manifestée. Ces molécules s'avèrent intéressantes à la

prévention contre diverses maladies chroniques, telles que le cancer et les maladies cardiovasculaires ainsi, ils renforcent nos défenses naturelles contre le stress oxydant (Naczki et Shahidi, 2006).

Tableau I : la composition chimique de romarin selon (Eberhard *et al.*, 2005 ; Arnal-schneblen *et al.*, 2008 ; Tabatabaei-Malazy, 2012).

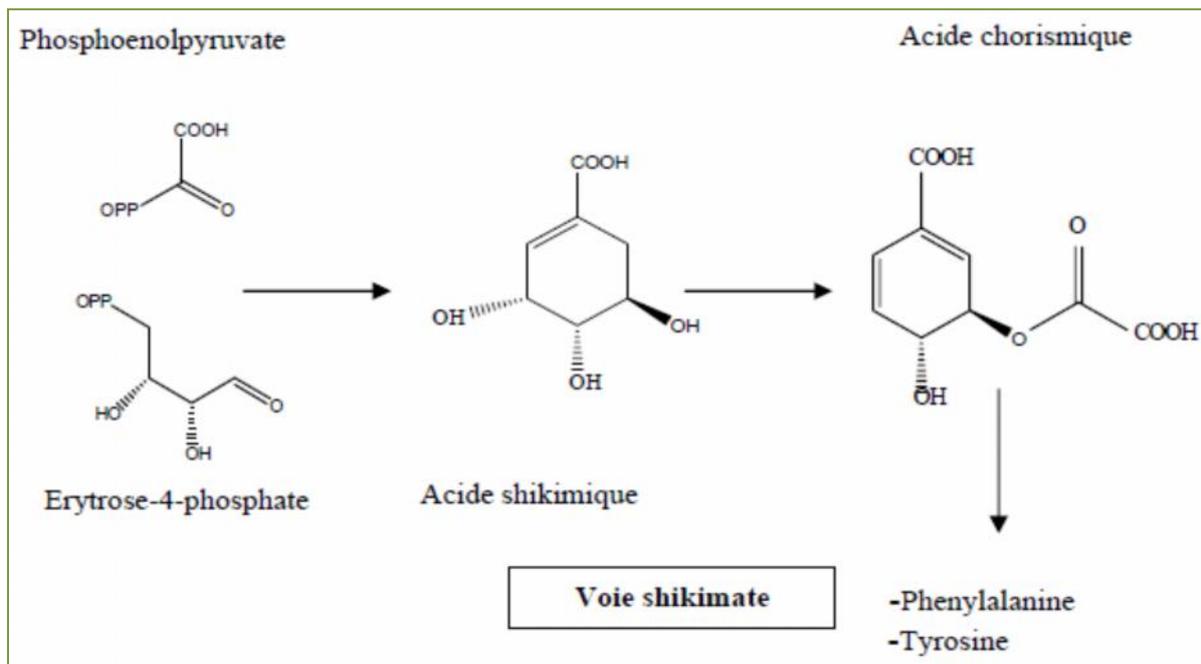
Les composés	Les constituants
<b>Huiles essentielles</b>	1,8-cinéole, -pinène, Camphre, bornéol, l'acétate de bornyle, verbénone, ils peuvent être accompagnés de -cariophyllène, limonène, linalol, sabinène.
<b>Phénols diterpéniques</b>	Constitués principalement d'acide carnosolique, carnosol (picrosalvine) Rosmanol, isorosmanol, rosmadial, derosmaridiphénol, rosmariquinone (miltirone) et de 7-méthoxyrosmanol.
<b>Acides phénols</b>	caféique, chlorogénique
<b>Dérivés de l'acide cinnamique</b> (Tanins de Lamiacées)	constitués principalement d'acide rosmarinique
<b>Flavonoïdes</b>	Présents sous forme d'aglycones et hétérosides, comme la cirsimarine, la diosmine, l'hespéridine, l'homoplantiginine, l'eupafoline-3'-glucoside, le lutéoline-3'-glucuronide ainsi que ses dérivés 4''-et 3'' acétate
<b>Triterpènes et stérols</b>	acide oléanolique et ursolique et leurs dérivés 3-acétate, et -amyrines et rofficérone .
<b>Autres constituants</b>	polysaccharides acides, traces de salicylates.

#### I.6.1.2. La voie de biosynthèse des polyphénols

Les polyphénols résultent biogénétiquement des voies synthétiques principales chez la plante : la voie shikimate (l'acide shikimique), la plus courante, et une autre voie secondaire qui est la voie de polyacétate (Bruneton, 2009).

### ❖ La voie schikimate

La première réaction de cette voie est la condensation du phosphoénolpyruvate (PEP) (produit de la glycolyse) avec l'érythrose-4-phosphate (produit par la voie des pentoses phosphates) pour former au bout de plusieurs réactions enzymatiques l'acide chorismique, ce dernier se transforme en acides aminés aromatiques (tyrosine, phénylalanine) (Croteau *et al.*, 2000) qui, par désamination, mènent aux acides cinnamiques, précurseurs de la majorité des acides phénols (Bruneton, 2009).

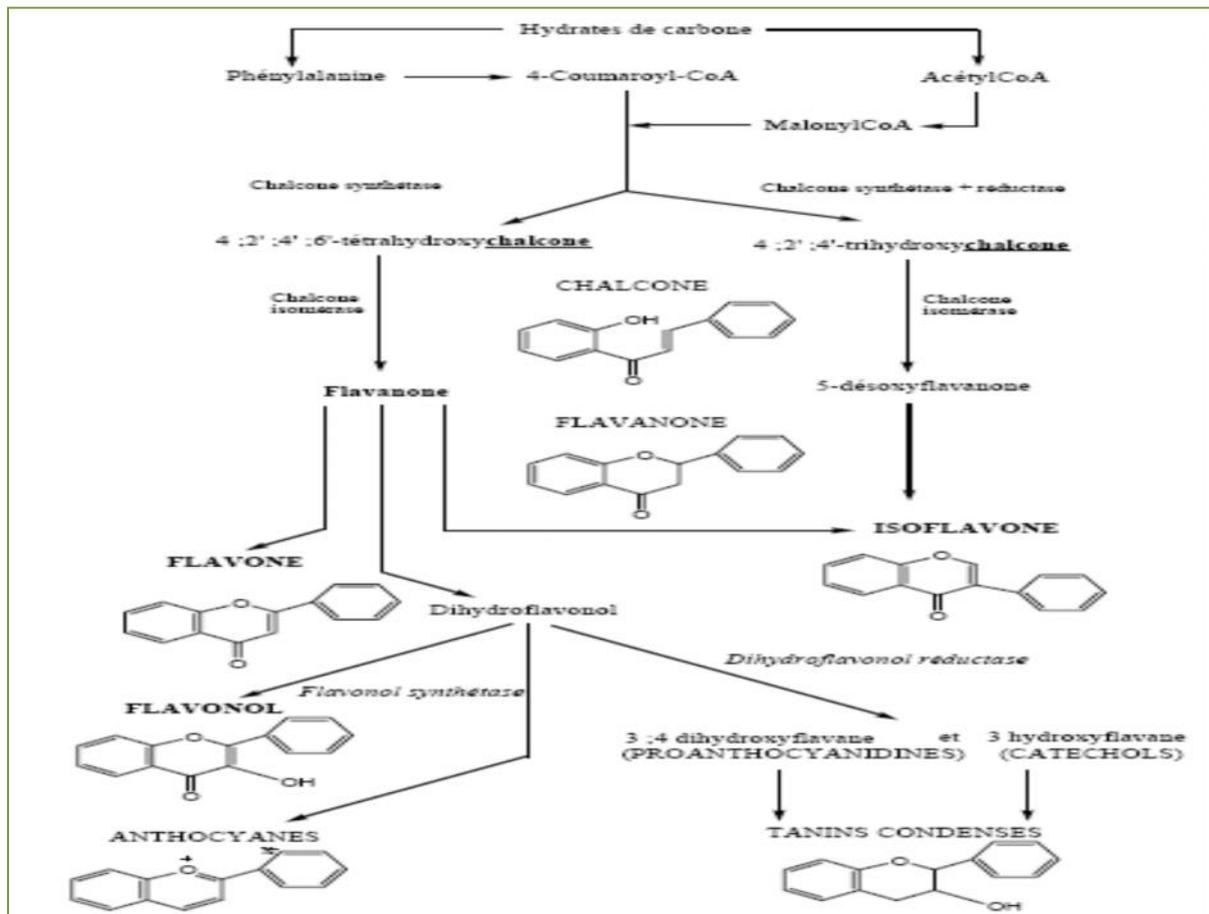


**Figure 02 :** Voie de biosynthèse des composés phénoliques (voie de Shikimate)

(Bruneton, 2009).

### ❖ La voie polyacétate

Cette voie engendre, par cyclisation, des composés souvent polycycliques : chromones, isocoumarines, deosides, xanthones, quinones, etc (Bruneton, 2009). Le schéma récapitulatif de la synthèse des flavonoïdes par la voie des polyacétates est représenté dans la figure suivante (Figure 03).



**Figure 03:** La synthèse des flavonoïdes par la voie des polyacétates (Milane, 2004).

### I.6.1.3. Classification des poly-phénols

Toutes les classes de composés phénoliques comportent un grand nombre de structures différentes par l'arrangement et le nombre d'atomes de carbone, la longueur de la chaîne aliphatique liée au noyau benzénique et la nature du squelette carboné (Macheix *et al.*, 2006). Ce groupe renferme quatre 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.
- Les tanins

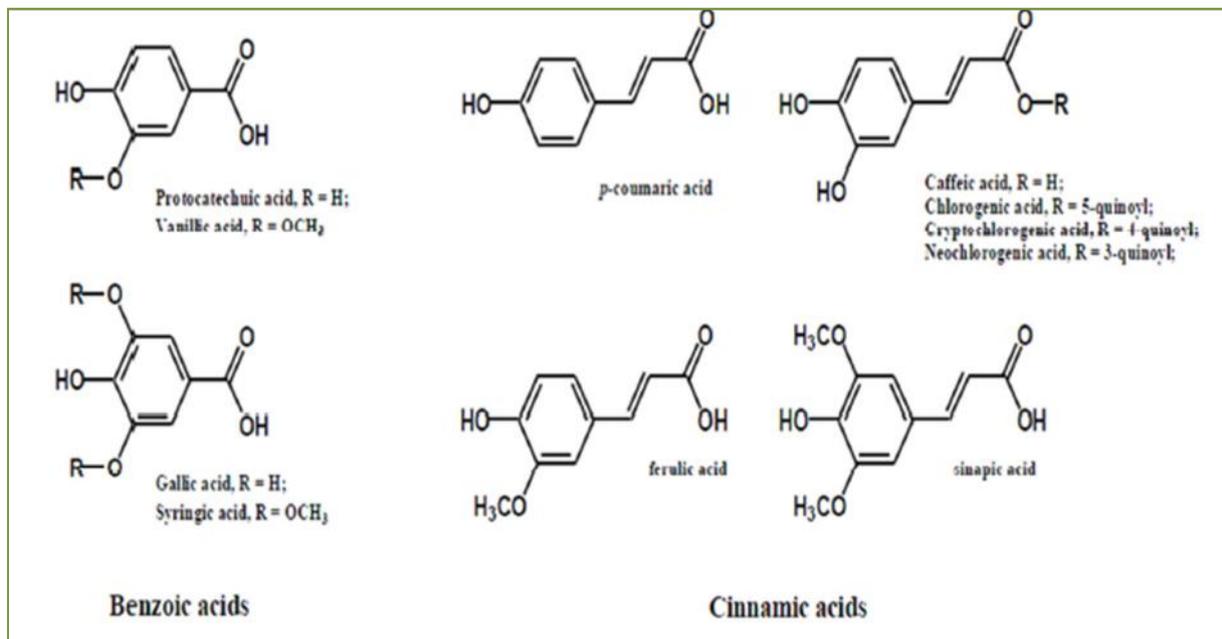
### I.6.1.3.1. Les acides phénoliques simples

Sont plutôt rares dans la nature à l'exception de l'hydroquinone qui existe dans plusieurs familles (Rosaceae, Ericaceae ...etc.) le plus souvent à l'état de glucoside de diphenol (arbutoside) ou de son monométhyléther. On cite également les alcénylphénols (urushiol) et les monoterpènes phénoliques (thymol) (Bruneton, 2009).

- ❖ **Acide hydroxy benzoïque (C6-C1)** : sont tout à fait communs aussi bien à l'état libre que combiné sous forme d'hétérosides.
- ❖ **Acides hydroxy cinnamique (C3-C6)** : sont largement distribués et sont rarement présents à l'état libre ; ils sont très souvent estérifiés (Bruneton, 2009).
- ❖ **Les coumarines** : dérivés phénylpropaniques, présentes sous forme glycosylée principalement dans la cellule (Milane, 2004).

### I.6.1.3.2. Les anthocyanes

Sont des composés hydrosolubles, de teinte rouge, violette ou bleue, qui colorent les fleurs, les fruits et parfois les feuilles. Les anthocyanes sont présents dans la nature uniquement sous forme d'hétérosides appelés antocyanosides. Ces pigments sont très répandus dans le règne végétal (Cartier et Roux, 2007).



**Figure 04** : Structures chimiques des acides phénoliques (Tsao, 2010).

### I.6.1.3.3. Les tannins (polyphénols non flavonoïdes)

Les tannins sont un groupe de polyphénols hydrosolubles ayant des poids moléculaires de 500 à 20.000 Dalton. Ils sont subdivisés en tannins condensés et tannins hydrolysables. Généralement, ils sont complexés avec les alcaloïdes, les polysaccharides et les protéines (Han *et al.*, 2007).

### I.6.2. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes représentent une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Ils sont considérés comme des pigments quasi universels des végétaux, presque toujours hydrosolubles (Rakipov, 1987).

Le nom flavonoïde vient du mot latin (*flavus*) qui veut dire jaune. En 1938 l'intérêt nutritionnel pour les flavonoïdes date de la découverte de la vitamine C par Szent Goryi. (Kebeiche, 2009). On les trouve d'une manière très générale dans toutes les plantes vasculaires, ou ils peuvent être localisés dans différents organes : Racines, tiges, bois, feuilles, fleurs et fruits (Ghedira, 2005), rencontré à la fois sous forme libre ou sous forme glycosides. Ces composés sont reconnus pour leurs nombreuses activités biologiques (Marfak, 2003).

#### I.6.2.1. Structure des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des molécules constituées de deux noyaux aromatiques A et B reliés par un pont de trois carbones qui aboutit à la formation d'un hétérocycle avec la participation d'un atome d'oxygène, ces composés phénoliques comprennent 15 atomes de carbones formant une structure C6-C3-C6 (Chira *et al.*, 2008).

La figure 05 présente la formule développée générale des flavonoïdes selon (Graham, 1998)

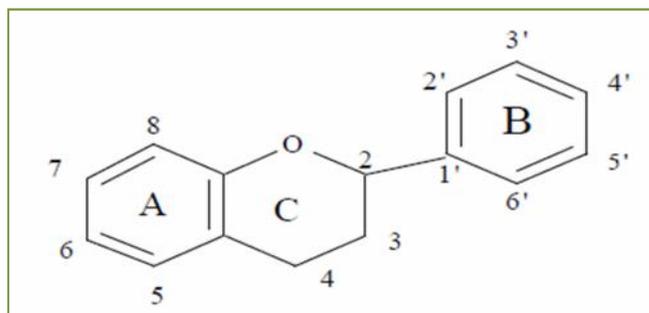
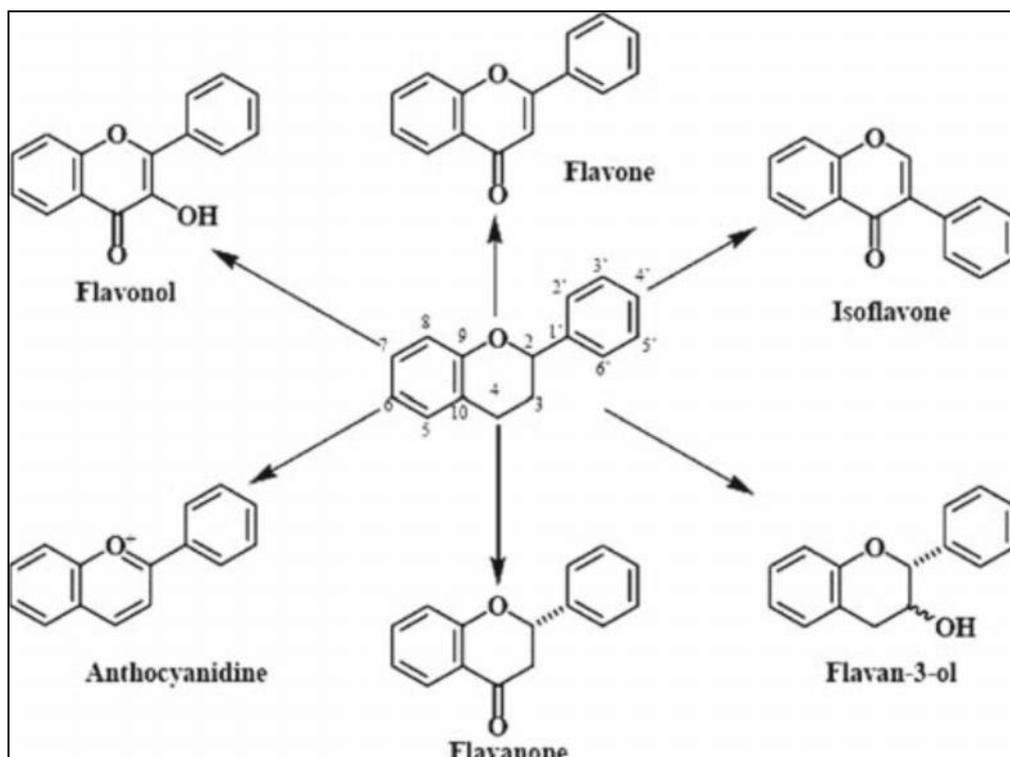


Figure 05 : Formule développée générale des flavonoïdes (Graham, 1998).

### I.6.2.2. Classification des flavonoïdes

Les flavonoïdes constituent des composés ayant un faible poids moléculaires qui se subdivisent en différentes classes structurales d'après le niveau d'oxydation et le modèle de substitution de cycle centrale (Chen et Ping Dou, 2008), dont les plus importants sont les suivants : flavonols, flavones, flavanones, isoflavones, dihydroflavonols, anthocyanidines, flavanols (Kamran Khan, 2010).

Les différents types structuraux de flavonoïdes sont représentés dans la figure 06 selon Chira *et al.*, 2008.



**Figure 06** : Structures de base des principaux flavonoïdes (Chira *et al.*, 2008)

### I.6.2.3. Propriétés biologiques des flavonoïdes

Les propriétés des flavonoïdes sont largement étudiées dans le domaine médical où on leur reconnaît des activités antivirales, anti-oxydantes, anti-inflammatoires, hypocholestérolémiantes et antidiabétiques.

**❖ Propriété antivirale**

Les flavonoïdes sont capables d'agir au niveau de la synthèse des protéines virales. Des travaux ont mis en évidence l'impact des flavonoïdes sur le rétrovirus HIV responsable du syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA). Ils agissent en inhibant la transcriptase inverse (Milane, 2004).

**❖ 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 ( $\text{OH}\cdot$ ), anions superoxydes ( $\text{O}_2\cdot^-$ ) et radicaux peroxylipidiques, selon la réaction suivante (Ghedira, 2005).

**❖ Propriété anti-inflammatoire**

De nombreux travaux semblent indiquer que les flavonoïdes possèdent des propriétés anti-inflammatoires et qu'ils sont capables de moduler le fonctionnement du système immunitaire. La quercétine en particulier a un effet anti inflammatoire en inhibant les enzymes de synthèse [la cyclo-oxygénase (pour les prostaglandines) et la lipo-oxygénase (pour les leucotriènes) des principaux médiateurs de l'inflammation (kebeiche, 2009).

**❖ Activité hypocholestérolémiantes**

Les flavonoïdes sont des puissants inhibiteurs de l'oxydation des LDL (Low Density Lipoprotein). Cependant, leur teneur dans les lipoprotéines est mal connue, à la différence d'autres antioxydants incorporés dans les lipoprotéines tels que -tocophérol et le -carotène (Milane, 2004).

**❖ Activité antidiabétique**

Les flavonoïdes peuvent empêcher le diabète ou du moins le réduire en inhibant l'enzyme aldose réductase tel que, la myricétine possède un effet hypoglycémiant chez les animaux diabétiques (Marfak, 2003).

Certains flavonoïdes ont la capacité d'augmenter la sécrétion d'insuline par l'amélioration de l'activité de glucokinase hépatique ou changement de la concentration intracellulaire de calcium (Tabatabaei-Malazy et al, 2012).

***Chapitre II***  
***Généralité sur le diabète***

## II. Généralité sur le diabète

### II.1. Définition

Le diabète est une maladie métabolique grave menaçant, d'une manière croissante, la santé publique dans le monde. Il touche environ 4% de la population mondiale et s'attend à une augmentation de 5% en 2025. Il est caractérisé par un désordre au niveau de la régulation du métabolisme lipidique, glucidique et protéique (Hennen, 2001 ; Kebeiche, 2009) et due ainsi à un excès de sucre (glucose) dans le sang. L'OMS le définit par une glycémie supérieure à 1,26g /L (7mmol/L) caractéristique à jeun, confirmée par deux prises de sang consécutives.

### II.2. Historique

Les descriptions les plus anciennes du diabète remontent à l'Égypte des pharaons, sur un papyrus datant de 1500 avant J-C, est rapportée l'histoire de malades buvant de grandes quantités d'eau pour l'éliminer aussitôt dans les urines. Près de mille ans plus tard, les grecs ont donné le nom « dia-baino » qui signifie « passe à travers » (Marsaudon, 2004), par la suite Aretée de Cappadoce, un des plus remarquables médecins au premier siècle, donne la description initiale et la plus précise du diabète.

### II.3. Épidémiologie

Selon Arbouche, 2012, le diabète est l'un des plus grandes catastrophe sanitaire en raison de taux élevé des complications dégénératives et cardiovasculaires. En 2007 les estimations comptent 5,9% diabétiques âgés entre 20-79 ans sur une population de 246 millions, dont plus de 70% dans les pays émergents.

Le nombre des décès attribués au diabète est d'environ quatre millions par an, soit, 9% de la mortalité totale (Arbouche , 2012) .Chaque minute, six personnes meurent du diabète ou par ces complications dans le monde .Selon Emam, 2012 ; plus de 300 millions de personnes seront atteintes de diabète en 2025 et le cout global de traitement du diabète et sa complication pourrait atteindre des billions de dollars par ans.

En Algérie le diabète de type2 occupe la quatrième place parmi les maladies non transmissibles. D'après le registre national du diabète de l'année 2005, l'incidence du diabète de type1chez les enfants et les adolescents est de 9 pour 100 000 et quelques cas de diabète de type2 commencent à être recensés chez les enfants (Bouziane et Touhami, 2006).

#### II.4. Diagnostic

Le diagnostic de tous types de diabète est simple, il repose essentiellement sur la mesure de la glycémie à jeun et sur l'hyperglycémie provoquée (Arbouche, 2012). Les critères diagnostiques du diabète ont changé avec le temps, au fur et à mesure que les études montrent une relation entre l'apparition des complications et le taux de glycémie (Benhamza, 2008).

#### II.5. Classification de diabète sucré

En se basant sur des conclusions d'un comité d'experts réunis en 1997, une classification de diabète a ainsi été établie (Hennen, 2001). Cette classification repose sur l'étiologie de cette maladie, d'où on distingue principalement le diabète de type 1, le diabète de type 2 et autres types « spécifiques » ou « secondaires » (Buysschaert, 2006).

##### II.5.1. Le diabète de type 1 (DT1)

Dans la nouvelle classification, le terme « diabète insulino-dépendant » est remplacé par « diabète de type 1 » (Perlemuter *et al.*, 2000). Ce dernier résulte d'une destruction des cellules des îlots de Langerhans (Buysschaert, 2006). Cette forme de diabète apparaît de manière brutale chez l'enfant et l'adulte jeune moins de 40 ans (10% de cas) (Kebeiche, 2009). Il n'existe aucun moyen connu de prévenir le diabète de type 1 jusqu'à l'heure actuelle (Lilley, 2000).

##### II.5.2. Le diabète de type 2 (DT2)

Ce type de diabète anciennement nommé diabète non insulino-dépendant (DNID) est une maladie hétérogène, non auto-immune (Buysschaert, 2006 ; Perlemuter, 2000). Il résulte de l'incapacité de l'organisme à réagir correctement à l'action de l'insuline aboutissant à une élévation chronique de la glycémie (hyperglycémie) liée à deux anomalies interdépendantes, l'insulino-résistance et l'insulino-déficience (Buysschaert, 2006 ; Kebeiche, 2009 ; Bories, 2012).

Le diabète de type 2 débute généralement après l'âge de 40 ans et représente 90 à 95% des diabètes. En effet, la prévalence du diabète de type 2 augmente parallèlement au vieillissement, à l'urbanisation, à la sédentarisation et au développement de l'obésité (Kebeiche, 2009).

En plus de ces deux types dominants, il est important de souligner deux autres types de diabètes:

### **II.5.3. Le diabète spécifique**

Est un ensemble hétérogène d'affections du pancréas, d'endocrinopathies, de diabètes médicamenteux ou chimiques, et d'affections génétiques, en particulier au niveau de la cellule (Rodier, 2001).

### **II.5.4. Le diabète gestationnel (D.G)**

Est défini comme une intolérance au glucose de sévérité variable survenant ou diagnostiquée pour la première fois pendant la grossesse (entre la 24ème et la 28ème semaine), dont la glycémie ante-gravidique était normale, et qui disparaît après l'accouchement. L'incidence du D.G serait de 2.5% des grossesses, avec tendance à l'augmentation (Trivin *et al.*, 2003).

### **II.6. Critères diagnostiques du diabète sucré**

Le diagnostic de diabète peut être établi de trois façons différentes :

- 1) Symptômes de diabète (polyurie, polydipsie, amaigrissement, somnolence voire coma) et une glycémie 2,00g/L (11,1mmol/l) quelle que soit l'heure de prélèvement sanguin.
- 2) Glycémie à jeun 1,26g/l (7,00mmol/l).
- 3) Glycémie 2 h après une charge de 75 g de glucose lors d'une hyperglycémie provoquée par voie orale 2,00g/l (11,1mmol/l) (Drouin *et al.*, 1999).

### **II.7. Traitement du diabète**

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

#### **II.7.1. Antidiabétiques oraux**

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

**a) Antidiabétiques hypoglycémiants**

- **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 : Glibenclamide, (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 pancréatique. **Ex** : januvia et byetta (bouxid, 2012).

**b) Les antihyperglycémiants**

- **Les biguanides** (Metformine, Glucophage)

Ils réduisent l'insulino résistance en favorisant l'action de l'inuline sur les tissus cible, en inhibant la néoglucogénèse hépatique et en diminuant l'absorption intestinale de glucose.

- **Les inhibiteurs des -glucosidases**

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).

**II.7.2. Insulinothérapie (insuline injectable)**

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 lipogénèse (Deshaies, 2011). Mais en cas d'échec du traitement antidiabétique oral, une insulinothérapie est nécessaire en complément du traitement oral tout en conservant les antidiabétiques oraux (Gabriel, 2011). L'insulinothérapie se fait sous forme de 2, 3 voir 4 injections quotidiennes pour atteindre les objectifs fixés (collège des enseignants d'endocrinologie, 2004).

### II.8. Traitement phytothérapeutique

Depuis le temps ancien, le remède végétal a été largement utilisé pour aider à soigner le diabète (Bouxi, 2012). De nombreuses plantes sont considérées traditionnellement comme antidiabétiques, certaines sont à l'origine de la mise au point de médicaments. Un certain nombre de pays utilise des plantes médicinales qui ont des activités plus ou moins reconnues contre cette pathologie (Borm *et al.*, 2012). Dans d'autres cas, certaines plantes médicinales hypoglycémiantes induisent la régénération des cellules pancréatiques (Kanter *et al.*, 2003).

Le tableau suivant résume la monographie de quelques plantes médicinales utilisées dans le traitement du diabète à travers le monde :

**Tableau II :** Quelques plantes médicinales utilisées dans le traitement du diabète :  
(Eddouks *et al.*, 2007).

Nom scientifique	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>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>Cynara scolymus</i>	.Artichaut	.Racines et capitules en décoction.
. <i>Eucalyptus globulus</i>	.Eucalyptus	.Fleurs, feuilles en décoction.
. <i>Ficus carica</i>	.Figuier	.Fruits en décoction.
. <i>Foeniculum dulce</i>	.Fenouil doux	.Racine, feuilles et fruits en décoction.
. <i>Glycine max</i>	.Soja	.Graine en décoction.
. <i>Morus nigra</i>	.Mûrier noir	.Fruits, feuilles en infusion ou en décoction.
. <i>Nigella sativa</i>	.Graine de nigelle	.Graine en décoction.
. <i>Olea europea</i>	.Olivier	.Feuilles 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>Trigonella foenum-</i>	.Fenugrec	.Graine en décoction ou en macération.

## II.9. Métabolisme et contrôle de la glycémie

Le métabolisme est le processus global qui assure aux organismes vivants l'apport et l'utilisation de l'énergie libre dont ils ont besoin pour assurer leurs différentes fonctions. Le glucose est une des principales sources énergétiques métabolique et est dégradé dans le cycle de la glycolyse pour générer une molécule de pyruvate et de l'énergie sous forme d'ATP (Auberval, 2010).

### II.9.1. Régulation hormonale de la glycémie

La régulation de la glycémie met en jeu le système hormonal, ainsi que plusieurs organes (foie et pancréas principalement). Cette régulation permet de maintenir l'homéostasie au sein de l'organisme. En temps normal, elle fait intervenir l'insuline et le glucagon, et l'adrénaline en période de stress.

Ces hormones sont des messagers primaires qui se fixent sur leurs récepteurs et activent l'AMP cyclique le messager secondaire (sauf pour l'insuline), et les enzymes du métabolisme intermédiaire (Gnu free, 2002).

#### II.9.1.1. Régulation aux niveaux d'organes

##### II.9.1.1.1. Régulation aux niveaux du foie

Le rôle de foie dans la régulation de la glycémie a été mis en évidence par **Claude Bernard** en 1855, le foie régule la production et le stockage du glucose grâce à trois voies métabolique : glycogénogenèse, Glycogénolyse et Néoglucogenèse (Aubreval, 2010).

##### II.9.1.1.2. Régulation aux niveaux du pancréas

Le pancréas est un organe particulier qui participe à la régulation de nombreuses fonctions biologiques. Le pancréas est constitués de quatre parties : la tête, l'isthme, le corps et la queue (Aubreval, 2010 ; kebeiche, 2009). Constituée de deux tissus glandulaires, responsables de deux fonctions distinctes : une sécrétion exocrine et endocrine.

Deux hormones importantes sont fabriqués par des ilots de Langerhans : l'insuline et le glucagon (Marsaudon, 2004).

## II.10. Modèles d'étude de diabète

Dans le but d'étudier l'étiologie de diabète et en raison de la gravité de ses nombreuses répercussions métaboliques et dégénératives, ainsi pour tester des substances et des principes actifs pouvant avoir un effet sur ce désordre ; les études visant la mise au point des modèles adéquats de diabète chez l'animal. Ces modèles expérimentaux représentent autant de voies d'accès dans la compréhension de la genèse et des complications de cette pathologie.

L'installation du diabète chez les modèles animaux se fait soit spontanément soit par induction chimique, chirurgicale, endocrine ou par génie génétique (Masiello, 2006).

### II.10.1. Diabète induit par pancréatectomie

Appelle aussi modèle chirurgical de diabète sucré, cette technique d'induction permet de réaliser une ablation de 90% du pancréas endocrine, en effet les animaux pancréatectomisés maintiennent un poids normal avec une glycémie à jeun qui reste d'abord normale mais, 6 à 7 semaine elle s'élève légèrement et apparition d'une intolérance au glucose. La conception de l'expérience permet d'étudier l'hyperglycémie et les différentes conséquences qui en résultent, ainsi que le développement des complications du diabète (Harada et Makino, 1984). Cette technique est utilisée par peu de chercheurs pour explorer les effets des produits naturels avec espèces animales (Etuk, 2010).

### II.10.2. Diabète induit par inoculation de virus

Certaines infections virales peuvent engendrer un diabète, ceci aussi bien chez l'homme que chez l'animal. L'exemple le plus connu est l'infection de la souris par le virus EMC (Encephalomyocarditis), qui entraîne un diabète en pénétrant dans la cellule pancréatique, l'ADN viral s'intègre dans le génome de la cellule et provoque une altération des fonctions de ces cellules, notamment au niveau de la synthèse et de la sécrétion d'insuline (Mordes *et al.*, 2004).

### II.10.3. Diabète induit par le régime alimentaire

Ce modèle permet de mettre en évidence le rôle de la consommation hypercalorique et de l'âge associés à un manque d'activité physique, dont la maladie est induite sans l'interférence des substances chimiques, ni par des méthodes génétiques, mais plutôt par la nourriture. Un régime de laboratoire chez certains animaux vivant dans des milieux désertiques (*Spiny (Acomys cahirinus)*, *Psammomys obesus*) permet d'étudier la relation entre l'obésité et le diabète type 2 (Cefalu, 2006).

### II.10.4. Diabète induit par des substances chimiques

La majorité des études qui sont publiés dans le stade ethnopharmacologie entre les années 1996 et 2006 ont employés ce modèle (Etuk., 2010). Streptozotocine et l'alloxane sont les substances chimiques les plus utilisés dans l'étude des aspects multiples de maladie, ces substances sont toxiques et exercent leur action diabétogéniques lorsque sont administrées par voie parentérale (Federiuk *et al.*, 2004).

L'utilisation de ces toxines est très utiles car, il est théoriquement possible d'induire un diabète chez n'importe quel modèle animal, quelle que soit sa taille (Srinivasan et Ramarao, 2007).

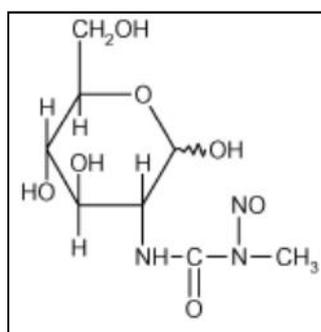
#### II.10.4.1. Diabète induit par streptozotocine

##### II.10.4.1.1. Définition

Streptozotocine ou streptozocine ou Izostazin ou Zanosar (STZ) est un dérivé synthétique de nitrosamide glucopyranose isolé à partir de fermentations de *Streptomyces achromogenes* qui est classiquement un antibiotique et anti-tumoral et chimiquement lié aux autres nitrosurées utilisés dans la chimiothérapie du cancer (Etuk, 2010). STZ, une poudre blanche avec un poids moléculaire de 265,221 g / mol (Naoaki *et al.*, 2012).

##### II.10.4.1.2. Structure

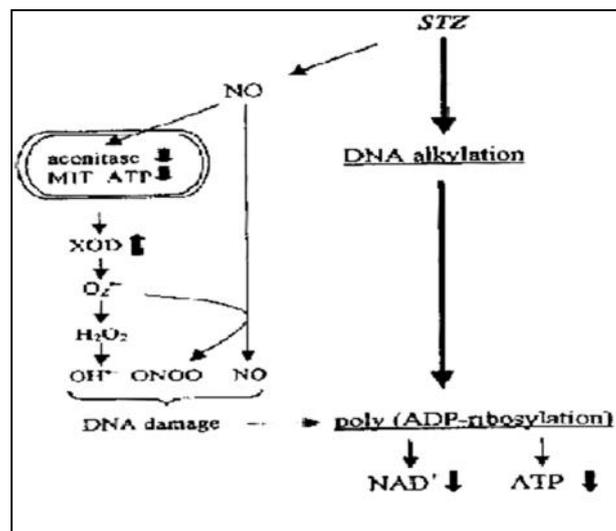
La stréptozotocine (STZ) [2-deoxy-2(3-méthyl-3-nitrosoureido)-D-glucopyranose ( $C_8H_{15}N_3O_7$ ) est un composé de nitrosamide méthylnitrosourea (MNU) lié au carbone C 2 d'un D-glucose. Le nitrosamide MNU confère à la stréptozotocine la capacité de l'alkylation de l'ADN, tandis que le D-glucose dirige la molécule spécifiquement vers la cellule pancréatique (Palsamy et Subramanian, 2008 ; Naoaki *et al.*, 2012).



**Figure 07** : Structure chimique de la Stréptozotocine (Konrad *et al.*, 2001).

### II.10.4.1.3. Action de la streptozotocine sur la cellule pancréatique

La STZ pénètre dans la cellule pancréatique par l'intermédiaire d'un transporteur de glucose appelé GLUT2 (Frode *et al.*, 2008). Cette substance exerce sa toxicité grâce à une activité d'alkylation de l'ADN (Szkudelski, 2001). La glycosylation des protéines est un facteur délétère supplémentaire. L'ADP ribosylation est alors sur-stimulée, ce qui entraîne une baisse de NAD<sup>+</sup> cellulaire, du stock d'ATP et conduit à la mort des cellules bêta pancréatiques (Wattiez *et al.*, 2012).



**Figure 08 :** Mécanisme d'action de la streptozotocine dans la cellule pancréatique

(Szkudelski, 2001).

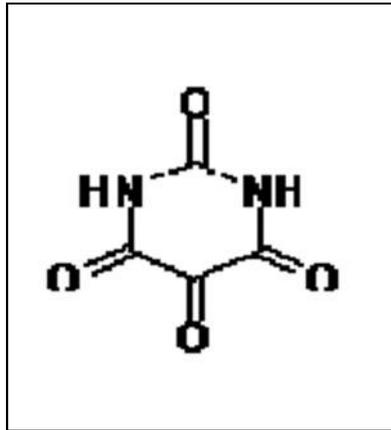
### II.10.4.2. Diabète induit par Alloxane

#### II.10.4.2.1. Définition

Alloxane est un dérivé pyrimidique (acide urique) qui était synthétisé en 1838 par Wohler. Il a été considéré comme un médicament représentant un diabète qui provoque une nécrose dans les cellules B en 1940 (Naoaki *et al.*, 2012).

#### II.10.4.2.2. Structure

L'alloxane (2,4,5,6 tétraoxypérimidine), est utilisé dans l'induction du diabète de type 1 chez les modèles animaux (souris, rats, ...) (Sandler et Swenne 1983).



**Figure 09** : Structure chimique de l'alloxane (Konrad *et al.*, 2002).

#### II.10.4.2.3. Fonction

L'alloxane exerce une action cytotoxique préférentiellement sur les cellules pancréatiques, elle s'accumule rapidement dans les cellules hépatiques et pancréatiques, mais très lentement dans les cellules musculaires (Malaisse *et al.*, 1982). Les effets cytotoxiques de l'alloxane sont dus à son produit de réaction réduit, l'acide dialurique, et à la production d'espèces oxygénées réactives (EOR) (Szkudelski, 2001).

# *Partie pratique*

### Conseils et précautions d'emploi

En plus de la formation théorique, les personnes qui sont appelées à manipuler les animaux doivent suivre une formation pratique, c'est pourquoi ces quelques conseils pourraient être un outil de référence pour réussir dans le cadre d'expériences sur les animaux :

- Bien surveiller l'hygiène des souris pour éviter tout signe d'infection.
- Il est très important de saisir la souris par la base de la queue et non l'extrémité de celle-ci.
- il est indispensable que les personnes effectuant des prélèvements de sang soient familiarisées avec l'espèce animale et la technique choisie.
- Il faut veiller tout particulièrement à manipuler les animaux avec ménagement et calme.
- Lors de jeûne il est recommandé de faire un accès libre à l'eau et s'assurer qu'il y a une source de chaleur.
- Eviter de désinfecter le site de prélèvement pour ne pas disperser la goutte de sang.
- l'incision de la veine caudale des souris avec une épingle stérile est facile à effectuer, ne nécessite pas d'anesthésie et également recommandée pour des prélèvements répétés.
- Vu les différences individuelles et l'inexactitude de l'évaluation, on ne doit pas prélever à un animal plus de 20 pour-cent de son volume sanguin total :

Espèce animale	Poids corporel	Volume sanguin total	Volume du prélèvement
Souris	20 g	1,4 - 1,6 ml	0,28 ml
	30 g	2,1 - 2,4 ml	0,42 ml

- Il est nécessaire de respecter la durée de jeûne (16h) et prélever plusieurs échantillons de sang à intervalles rapprochés.
- Il est important de désinfecter la plaie pour arrêter le saignement avant de remettre l'animal dans sa cage.

- Si le volume total prélevé à un individu ne suffit pas pour faire les études ; il est alors possible de sacrifier les animaux.
- Lors de l'injection intrapéritonéale, il est préférable de désinfecter le site avant l'administration et le Volume idéal à administré est de 0.1 à 0.3ml (souris de 20-30g).
- Insérer la moitié de l'aiguille avec un angle de 45° dans les cadrans inférieurs droits et gauches de l'abdomen. Éviter les cadrans supérieurs et la ligne médiane au bas de l'abdomen où se situe la vessie ainsi, les mamelons s'il s'agit des femelles.
- Si l'échantillon est administré par voie orale, la sonde doit être retirée doucement (On ne doit jamais forcer) .Le volume idéal à administré est de 20 ml/kg (0,2- 0,6ml).
- Il est préférable de collecter le sang dans des tubes à EDTA (mieux que l'hépariné), pour éviter toute sorte de coagulation.

***Chapitre III***  
***Matériel et méthodes***

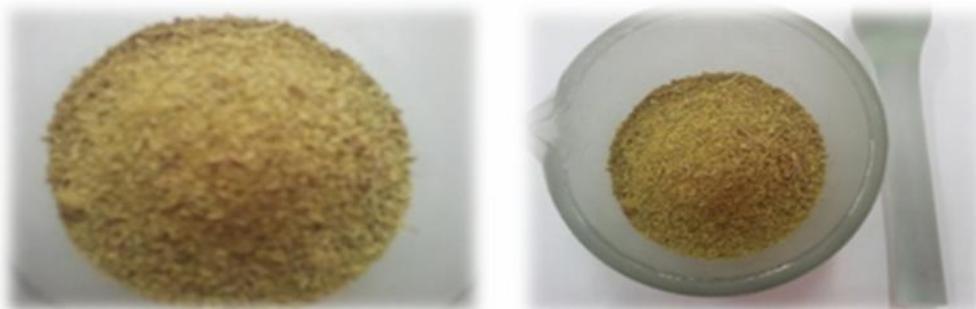
### III. Matériel et méthodes

La présente étude consiste à étudier l'effet antidiabétique des flavonoïdes des extraits des feuilles de *Rosmarinus officinalis* sur des souris rendues diabétiques par la streptozotocine (STZ).

#### III.1. Matériel

##### III .1.1.Matériel végétal

La plante *Rosmarinus officinalis*, a été récoltée en mois du septembre 2012 dans la région de Tazmalt, wilaya de Béjaia. Après séchage à l'ombre, les feuilles de cette plante ont été broyées à l'aide d'un broyeur électrique, suivi d'un tamisage (250 à 500 $\mu$ m). La poudre finement broyée a été conservée à l'abri de la lumière et de l'humidité jusqu'à son utilisation. L'identification de la plante a été faite par des botanistes (Université de Bejaia).



**Figure 10:**Poudre obtenue après broyage

##### III.1.2. Réactifs chimiques

Les solvants utilisés sont tous de la marque Biocheme Chemopharma. Les autres produits chimiques spécifiques tels que l'acide gallique, la quercétine et la streptozotocine proviennent tous de Sigma (SIGMA ALDRICH CHEMICAL). Follin et trichlorure d'aluminium.

Le médicament antidiabétique standard utilisé, le Glibenclamide (5mg) a été procuré à partir d'une pharmacie dans la ville de Bejaia.

Les réactifs de dosage des paramètres biochimiques (cholestérol, triglycérides, HDL, LDL) provenant de SPINREACT. Les autres appareils utilisés lors de cette étude sont rapportés en [annexes I](#).

### III.1.3. Animaux et conditions d'hébergements

La présente étude a été réalisée sur des souris mâle de genre *Swiss albinos* adultes (6 à 12 semaines), dont le poids varie entre 20 et 30g, obtenues au près de la faculté de médecine de l'université de Constantine.

Les souris ont été placées aléatoirement dans des cages standard pour une période d'acclimatation de 2 semaines, au niveau de l'animalerie de la faculté de biologie de l'université de Bejaia. Les cages utilisées sont munies d'un porte-étiquette où est mentionné le nom du lot et le traitement subi. Durant toute la période d'étude, les animaux ont accès libre à la nourriture et à l'eau et la température de l'animalerie varie entre 18 et 23°C.

Les autres conditions comme l'éclairage et la ventilation n'ont pas été pris en considération. La litière utilisée est la sciure. Elle est renouvelée chaque jour ou chaque deux jour pour tous les groupes pour garder le bon conditionnement hygiénique des souris.



**Figure 11** : Élevage des souris *Swiss albinos*.

## III.2. Méthode

### III.2.1. Préparation des extraits phénoliques

#### III.2.1.1. Extraction des flavonoïdes de *Rosmarinus officinalis*

Lors de cette étude une extraction sélective à plusieurs solvants a été entreprise selon la méthode de [Markham \(1982\)](#), avec une légère modification. Elle est basée sur le degré de solubilité des flavonoïdes dans les solvants organiques. 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 diéthylique (extraction des flavonoïdes aglycones) et le n-butanol (pour solubiliser les flavonoïdes glycosés).

### III.2.1.2. Obtention de l'extrait méthanolique par macération

Environ 80g de matière sèche finement broyée de *Rosmarinus officinalis* avec un rapport (10/90 : w/v) a été soumis à trois macérations successives de 24h chacune, sous agitation et à 50°C. Les deux premières macérations ont été réalisées dans un mélange de méthanol/eau d'un rapport de (80/20 : v/v), tandis que la troisième macération a été effectuée dans un mélange de méthanol/eau d'un rapport de (50/50 : v/v).

Le filtrat combiné (solvant /extrait) 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 100 ml d'eau distillée et agité pendant 10 minutes pour avoir une solution plus au moins homogène.

### III.2.1.3. Délipidation et fractionnement des extraits par partitions entre solvants

Dans le but d'éliminer les cires, les lipides, et la chlorophylle de l'extrait méthanoliques obtenus par macération, ces derniers ont été solubilisés dans un volume de 100 ml de l'eau distillée. Pour chaque partition, la même quantité du solvant (éther du pétrole) a été ajoutée (rapport 1 / 1 : v / v) en utilisant une ampoule à décanter.

La phase aqueuse ainsi obtenue est mélangée avec l'éther di-éthylique (rapport 1 / 1 v/v) afin de récupérer les flavonoïdes aglycones. La phase aqueuse restante subit à son tour plusieurs lavages avec le *n*-butanol (rapport 1 / 1 : v / v) pour récupérer notamment les flavonoïdes glycosylés.

Le protocole de l'extraction des flavonoïdes avec ces différentes étapes est représenté dans la **figure 12**.

### III .2.2. Calcul de rendement

Les trois phases récupérées (poly phénols totaux, éther di éthylique et le *n*-butanol) ont été évaporées dans l'étuve à 40°C, ce qui permet de calculer le taux d'extraction.

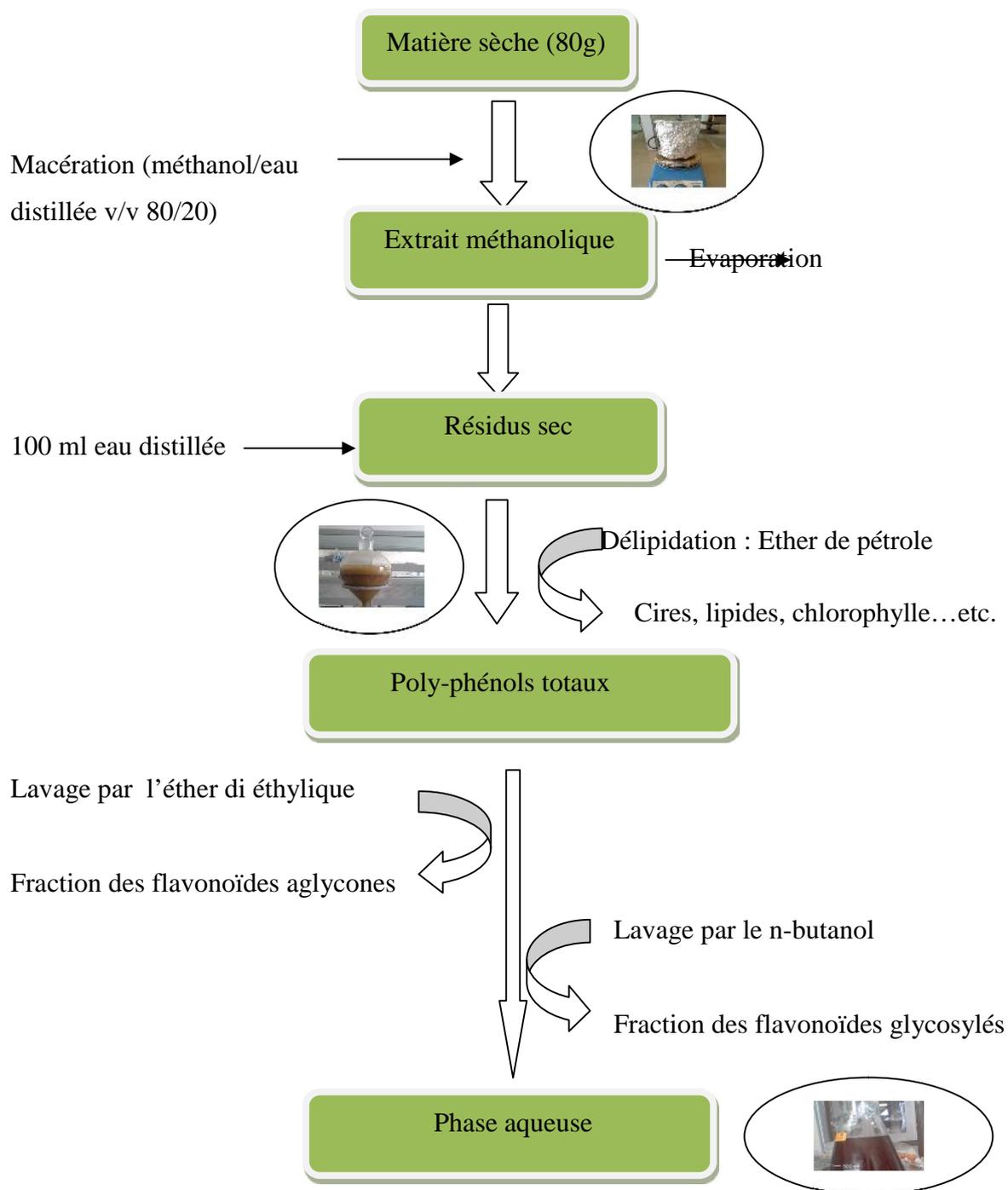
Le rendement a été calculé selon la formule suivante :

$$\text{Taux d'extraction (\%)} = P_1/P_0 \times 100$$

D'où :

**P0** : poids de la poudre avant extraction.

**P1** : poids de l'extrait sec après extraction.



**Figure 12:** Les différentes étapes suivies pour la préparation des extraits phénoliques.

### III .2.3. Dosage des composés phénoliques

#### III.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, un volume de 200µl d'extrait solubilisé dans du méthanol (99%) a été ajouté à 1ml du réactif de folin (10 et 0,1N), auquel un volume de 800µl de carbonate de sodium ( $Na_2CO_3$ ) à 7.5 a été ajouté au milieu réactionnel après 5 min.

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

Par la suite, la quantité des poly-phénols a été 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) (Annexe II).

#### III.2.3.2. Dosage des flavonoïdes

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

Pour 1 ml d'extrait préparé dans le méthanol, 1ml de chlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ , 2%) a été ajouté. Après 10 min d'incubation à température ambiante, l'absorbance a été mesurée à 410 nm.

La teneur en flavonoïdes qui est exprimée en milligrammes d'équivalent de Quercétine par gramme d'extrait (mg EQ/g) a été déterminée en se référant à une courbe

d'étalonnage réalisée dans les mêmes conditions avec de la Quercetine (0-25 $\mu$ g/ml) (Annexe III).

### III.2.4. Etude de l'effet des extraits de *Rosmarinus officinalis* sur des souris diabétiques

#### III.2.4.1. Induction du diabète expérimental

Le diabète expérimental a été induit chez les souris *swis albinos* après 16 heures de jeûne (une nuit), suivant la méthode de He-Lin Tian *et al*, 2010, avec quelques modifications. Pour cela, la streptozotocine (STZ) a été dissoute dans un tampon citrate (0,1M, pH 4,5), (Rajiv Gandhi *et Sasikumar*, 2012) et immédiatement après sa solubilisation, elle a été injectée aux souris par voie intra-péritonéale à une dose de 110mg/kg du poids corporel.

La glycémie a été mesurée après 72 heures de l'injection de la streptozotocine, et les souris ayant une glycémie supérieure à 2 g/l sont considérées comme étant diabétiques et sont sélectionnés pour la suite de l'étude (He-Lin Tian *et al*, 2010).



**Figure 13 :** Injection de la STZ par voie intra-péritonéale

### III.2.5. Évaluation de l'effet antidiabétique des extraits

#### III.2.5.1. Évaluation de l'effet hypoglycémiant

Pour tester l'effet hypoglycémiant des différentes fractions de l'extrait de *Rosmarinus officinalis* obtenues après fractionnement (poly-phénols totaux, éther di-éthylique et

butanolique) sur les souris rendues diabétique par STZ, nous avons procéder à la méthode suivante :

#### III.2.5.1.1. Répartition des souris

Les souris utilisées dans cette étude ont été répartis sur 6 lots différents selon l'homogénéité de leurs glycémies :

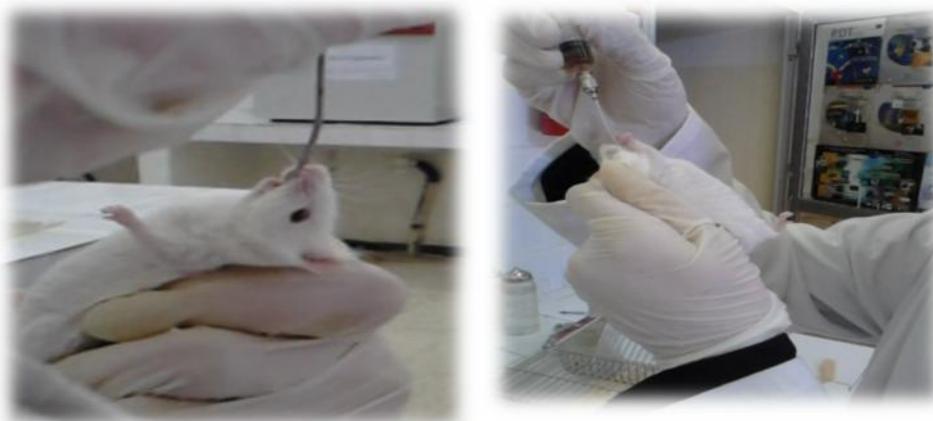
- Groupe I : souris diabétiques non traités (CNTL).
- Groupe II : souris diabétique traités par les polyphénols totaux (PT).
- Groupe III : souris diabétique traités par la fraction Ether di-éthélique (ED).
- Groupe IV : souris diabétiques traités par la fraction n-butanol (BUT).
- Groupe V : souris diabétiques traités par glibenclamide (GLIB).
- Groupe VI : souris non diabétiques (NOR).

#### III.2.5.1.2 Administration des extraits

L'étude de l'effet antidiabétique qui a duré 20 jours, a été réalisée en administrant quotidiennement par voie orale et une seule fois un volume de 0.5 ml des solutions des extraits, contenant la dose appropriée.

Les différents extraits utilisés ont été solubilisés dans de l'eau physiologique (NaCl 0.9%), et les souris diabétiques ont été traitées comme suit :

- Les souris diabétiques traitées par les polyphénols totaux (PT) ont reçu une dose de **800 mg/kg/jour**.
- Les souris diabétiques traités par la fraction Ether diéthélique (ED) et butanolique (BUT) ont reçu une dose de **400 mg/kg/jour**.
- Les souris diabétiques traitées par Glibenclamide (GLIB) ont reçu une dose de **20 mg/kg/jour**.
- Les souris normales (non diabétique) et diabétiques non traités ont reçus uniquement de l'eau physiologique (véhicule).



**Figure 14:** Administration des extraits par voie orale.

### III.2.5.1.3. Mesure de la glycémie

Au cours de la période de 20 jours de l'étude, la glycémie a été mesurée à jeun, avec accès libre à l'eau (16h), chaque cinq jour à partir du sang veineux de la queue des souris, en utilisant un glucomètre (OneTouch Ultra, LIFESCAN, Milpitas, CA 95035 USA).



**Figure 15 :** Mesure de la glycémie

### III.2.5.2. Évaluation de l'effet anti-hyperglycémiant

#### III.2.5.2.1. Test de tolérance au glucose par voie orale (OGTT)

Afin de déterminer l'effet des différents fractions testées (ED et le n-BUT) sur la glycémie post prandiale et leur mode d'action (effet sécrétagogue et effet glucofage) Syiem *et al.*, 2002), l'expérience a été réalisée comme suite :

### III.2.5.2.2. Répartition des lots

Les souris ont été réparties en 4 lots de 5 souris pour chacun :

- Lot I : souris diabétiques non traités (CNTL).
- Lot II : souris diabétique traités par la fraction Ether di-éthélique (ED).
- Lot III : souris diabétiques traités par la fraction n-butanol (BUT).
- Lot IV : souris diabétiques traités par glibenclamide (GLIB).

### III.2.5.2.3. Procédure expérimentale

Après une nuit de jeune (15h), les souris ont été réparties selon l'homogénéité de leur glycémie.

Les différents extraits utilisés (fraction ED, n-BUT, Glibenclamide et glucose,) ont été tous solubilisés dans de l'eau physiologique (NaCl 0.9%), et les souris diabétiques ont été traitées comme suit :

- Les souris diabétiques traités par la fraction Ether diéthélique (ED) et butanolique (BUT) ont reçu une dose de **800 mg/kg** par voie orale.
- Les souris diabétiques traitées par Glibenclamide (GLIB) ont reçu une dose de **20 mg/kg**.
- Les souris diabétiques non traités ont reçus de l'eau physiologique (véhicule).

Toutes les souris de différents lots ont reçus une solution de glucose (2g/kg) après 45 min de l'administration des extraits, le médicament standard et de l'eau physiologique. La glycémie a été mesurée à partir du sang veineux de la queue avant et après, 30, 60, 120, 180 minutes de l'administration de la solution glucosée.

### III.2.5.3. Évaluation du bilan lipidique

A fin d'évaluer l'effet des différents extraits testés lors de cette étude sur les paramètres biochimiques, à savoir le cholestérol, les triglycérides et les LDL, les souris traitées ont été sacrifiées à la fin de l'étude (21 jours), après avoir laissées une nuit à jeun (environ 16 heures). Le sang a été récupéré dans des tubes EDTA puis immédiatement centrifugé à 3000 r.p.m/min pendant 10 minutes, et le sérum obtenu a servi pour l'analyse du profil lipidique. La figure 16 représente les étapes de prélèvements sanguins.



**Figure 16 :** Les étapes de prélèvements sanguins

#### **III.2.5.3.1. Mesure des paramètres biochimiques**

Le dosage de profil lipidique (cholestérol, TG, LDL) a été réalisé par une méthode colorimétrique en utilisant des réactifs spécifiques (SPINREACT, 2014) de chaque paramètre, le sang a été centrifugé à 3000 r.p.m pendant 10 min, en effet, l'absorbance de différents échantillons a été mesuré à une longueur d'onde de 505 nm

Le principe de dosage de chaque paramètre est rapporté en [annexe IV](#).

#### **III.3. Mesure la quantité de nourriture et le volume d'eau consommés par les souris**

Au cours de la période expérimentale (20 jours), la prise alimentaire par chaque groupe de souris a été déterminée en mesurant la différence entre l'aliment pré-pesé et le poids de l'aliment restant. Le volume d'eau consommé a été mesuré par la même méthode.

L'évolution pondérale des souris a été suivie en pesant ces dernières après une nuit de jeûne (16 h) et cela s'est effectué chaque cinq (05) jour, en utilisant la balance électrique (KERN et SOHN, D-72336, Balingen, Germany).

#### **III.4. Étude histopathologique**

##### **III.4.1. Prélèvement de pancréas**

Après 20 jours de traitement, les souris des différents groupes, ont été sacrifiées, et après dissection, le pancréas a été isolé et conservé dans le formol à 10% pour une subséquente étude histopathologique.

**III.4.2. Fixation des pancréas prélevés**

Cette étape a pour but de conserver les structures cellulaires dans un état morphologique aussi proche que possible de l'état vivant. Les pancréas récupérés sont lavés avec de l'eau physiologique, et immédiatement immergés dans le formol (10%) afin d'éviter leurs dégradation et obtenir une rigidité tissulaire suffisantes. Les organes sont coupés en petits fragments et déposés dans des cassettes spéciales en plastiques.

**III.4.3. la confection des coupes**

Cette étape a pour but la réalisation des coupes histologiques et pour cela, les prélèvements fixés sont lavés (lavage) à l'eau courante pendant 30 minute ou plus, afin d'éliminer l'excès de fixateur, passons ensuite à l'étape de déshydratation qui se fait d'une façon automatique à l'aide d'un appareil de traitement de tissus .Celui ci est régler sur un cycle de 18 heures :

**III.4.3.1.Déshydratation**

Les prélèvements découpés en tranches fines (2-3 mm sur 1-2cm) et placés dans des cassettes sont passés successivement dans 7 bacs d'alcool éthylique à titrage croissant de 70° à 100° pour réaliser une déshydratation en douceur et non brutale qui risque de rétracter les cellules.

**III.4.3.2.Inclusion**

Les tissus déshydratés ont été immergés dans deux bains successifs de paraffine liquide pendant 24 heures, pour que cette dernière s'infilte dans les échantillons.

**III.4.5. Réalisation des coupes**

Les coupes du bloc de paraffine ont été réalisées avec un microtome permettant d'obtenir des tranches de section (coupes histologiques) de 4 à 5 microns d'épaisseur. Les coupes sont recueillies sur des lames de verre à partir d'un bain marin et étalée à l'aide d'une solution d'eau gélatinée, puis laissées séché dans l'étuve pendant une nuit à 37°C.

**II.4.6. Déparaffinage des coupes**

Avant la coloration, les coupes doivent être débarrassées de la paraffine, les lames sont baignées dans 2 bains successifs de xylène pendant 15 minutes chacun suivi de 3 bains successifs d'éthanol de degrés décroissant (100%, 90%, 70%) pendant 3 minutes chacun, puis rincé à l'eau distillée pendant 1 minute.

**III.4.7. Coloration des coupes**

Cette étape permet de mettre en évidence spécifiquement les différentes structures tissulaires et cellulaires et pour cela, les lames ont été mises dans un bain d'hématoxyline pendant 03 mn, suivi d'un bain d'éosine pendant 5 mn, puis rincées dans deux bains successifs d'éthanol à 90%, suivi d'un séchage.

**III.4.8. Observation microscopique**

L'observation a été effectuée à des grossissements G x10. La prise des photos a été effectuée avec un appareil photos numérique (SONY DIGITAL STILL CAMERA).

**III.5. Analyses statistiques**

L'analyse statistique a été réalisée par un logiciel de statistique « Statview », en utilisant le test-t Student. Les résultats des tests effectués sont exprimés en moyenne  $\pm$  erreur standard (ES). Les différences entre les groupes sont considérées significatives lorsque  $p < 0.05$ .

*Chapitre IV*  
*Résultats et discussion*

## IV. Résultats et discussion

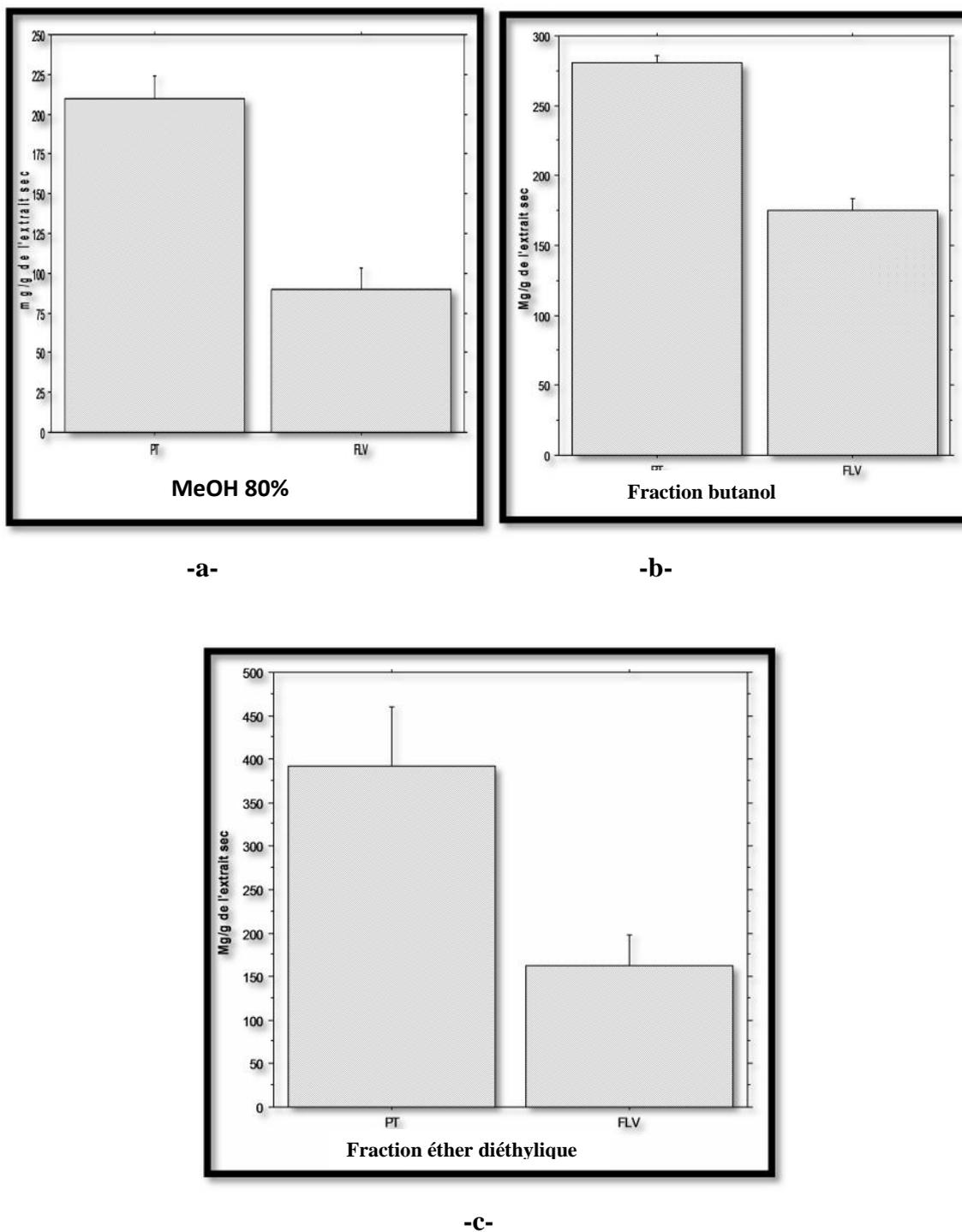
### IV.1. Rendement de l'extraction et teneur en poly-phénols totaux et en flavonoïdes

L'extraction des poly-phénols à partir des feuilles de *Rosmarinus officinalis* par macération, en utilisant des solvants organiques, a permis d'obtenir un rendement de 16% de l'extrait sec par rapport à la masse totale de la poudre. Le fractionnement de l'extrait par des solvants à polarité croissante a permis d'obtenir un rendement de 4.78% pour la fraction butanolique et 3.01% pour la fraction éther di-éthylique.

Les résultats de dosages de poly-phénols révèlent que les extraits butanoliques (**figure 17b**) et éther di-éthylique (**figure 17c**) contiennent respectivement 275mg et 380mg EAG/g de l'extrait sec.

Concernant la teneur en flavonoïdes, la fraction butanolique représente la fraction la plus riche avec une concentration de 175 mg EQ/g d'extrait sec (**figure 17b**), suivi de la fraction éther di-éthylique (**figure 17c**) avec une concentration de 160 mg EQ/g d'extrait et en dernier, l'extrait total (**figure 17a**) qui semble être la fraction la plus pauvre en flavonoïdes avec une concentration de 90 mg EQ/g d'extrait.

Nous constatons d'après cette figure (**figure 17**) 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 l'extrait butanolique (64%), puis par celle de l'extrait éther di-éthylique (24.10%).



**Figure 17: La teneur des poly-phénols en flavonoïdes.**

*PT: Poly-phénols totaux, FLV: Flavonoïdes, a: Extrait total, b: Ether di-éthylique, c: n-butanol. Les résultats sont exprimés en mg/g.*

## IV.2. Dosage des paramètres biochimiques des animaux

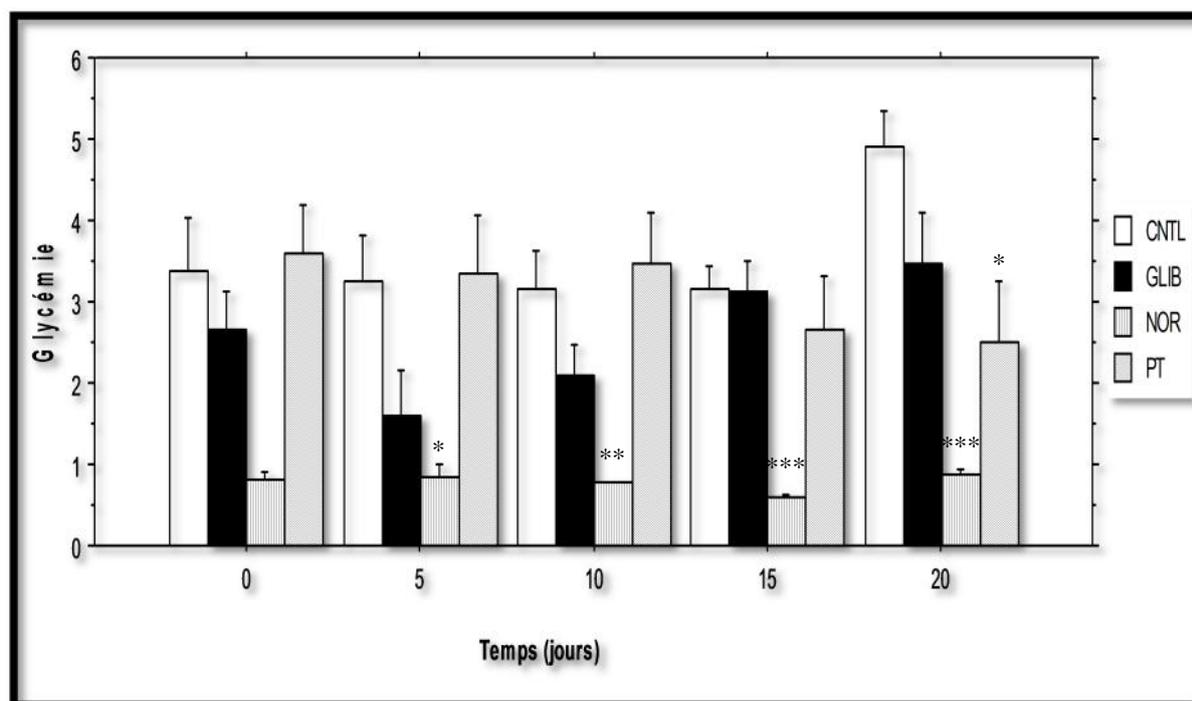
### a) Résultats

#### IV.2.1. Variation de la glycémie

La glycémie, est l'un des paramètres les plus importants qui nous permet de suivre l'évolution de l'état d'un sujet diabétique ainsi que, l'efficacité des produits thérapeutiques préconisés. Pour cela le dosage de la concentration de glucose sanguin chez les souris traitées par les extraits étudiés s'avère crucial et incontournable.

##### IV.2.1.1 Effet hypoglycémiant des poly-phénols totaux (PT)

L'effet des poly-phénols totaux (PT) des feuilles de *Rosmarinus officinalis* sur la glycémie des souris diabétiques est représenté sur la **figure 18**.



**Figure 18 : variation de la glycémie de groupe de souris traitées par les poly-phénols totaux (800mg/kg/j).**

(*NOR*=souris normales; *CNTL*=diabétiques non traités; *PT*=diabétique traités par les polyphénols totaux (800mg/kg); *GLIB*= diabétique traités par glibenclamide (20mg/kg).

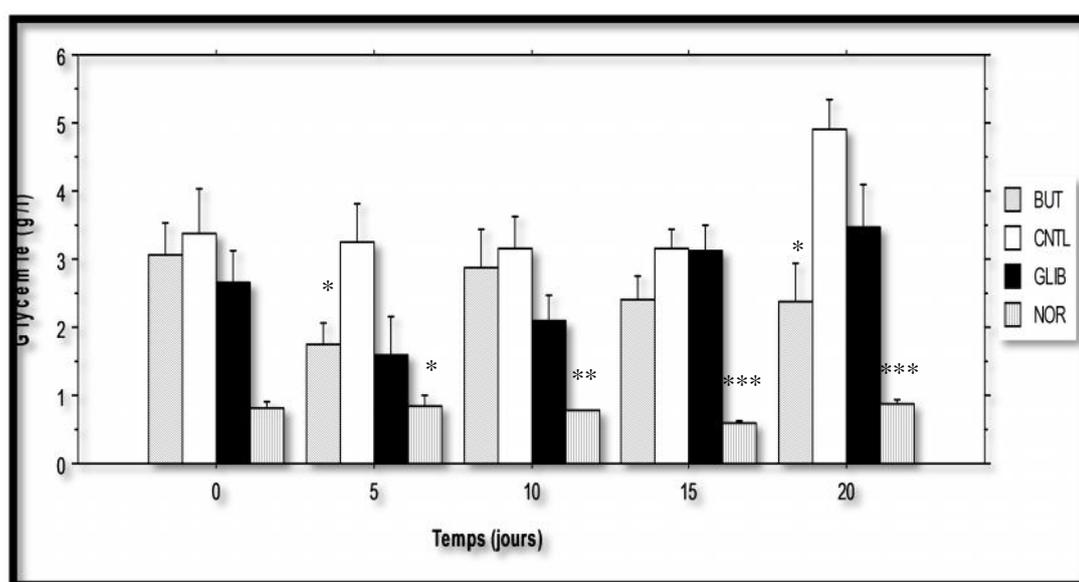
Les résultats des tests effectués sont exprimés en moyenne  $\pm$  ES. \* $p < 0,05$  ; \*\* $p < 0,01$  ; \*\*\* $p < 0,001$ .

Nous constatons d'après cette figure, que la glycémie des souris traitées par les PT à une dose de 800mg/kg/j a diminué d'une manière non significative après 15 jours du traitement (de 3.5g/l à 2.8g/l), par rapport aux glycémies des souris du groupe CNTL

(3.16g/l). Après 20 jours du traitement, une diminution significative de la glycémie a été observée chez ce groupe de souris (2.5g/l contre 4.91g/l), avec une réduction de 49%, où l'effet est remarquablement meilleur que celui manifesté par les souris traitées par l'antidiabétique standard (3.13g/l).

#### IV.2.1.2 Effet hypoglycémiant de la fraction butanolique (BUT)

Les résultats de l'effet antidiabétique de l'extrait butanolique de *R.officinalis* sur les souris diabétiques traitées quotidiennement par une dose de 400 mg/kg sont illustrés sur la **figure 19**.



**Figure 19 : Variation de la glycémie chez le groupe de souris traitées par la fraction butanolique (400mg/kg/j).**

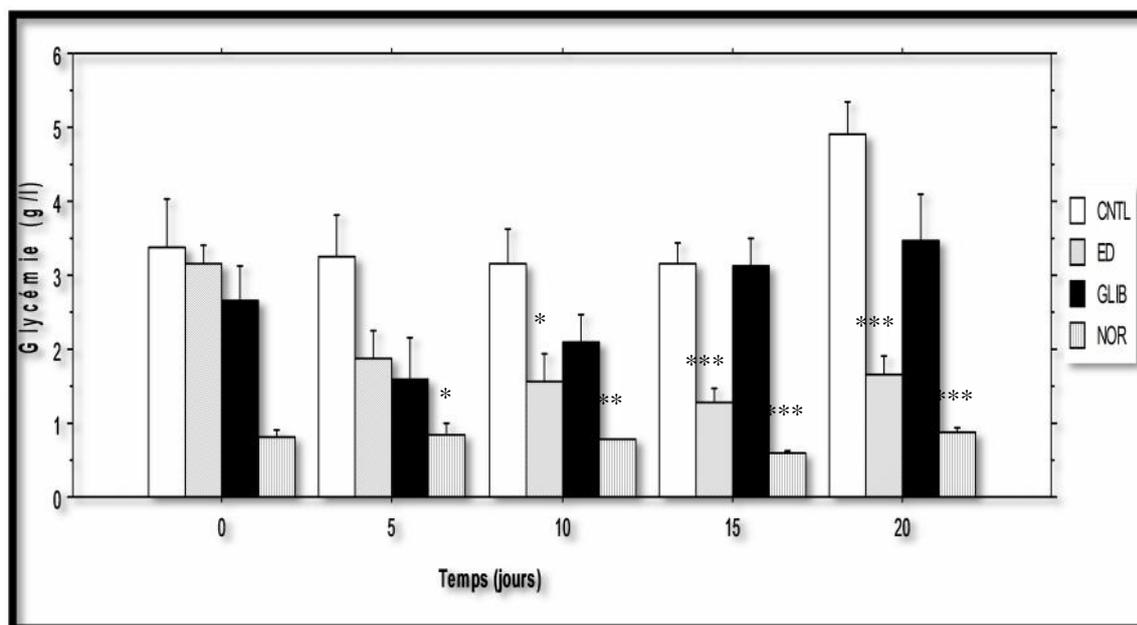
(*NOR*=souris normales; *CNTL*=diabétiques non traités; *BUT*=diabétique traités par la fraction n-butanol (400mg/kg) ; *GLIB*= diabétique traités par glibenclamide (20mg/kg).

Les résultats des tests effectués sont exprimés en moyenne  $\pm$  ES. \* $p < 0,05$  ; \*\* $p < 0,01$  ; \*\*\* $p < 0,001$ .

Nous constatons qu'il y'a eu une diminution significative de la glycémie des souris traitées par la fraction BUT après 5 jours de traitement (1,75 g/l contre 3,26g/l CNTL), mais une augmentation a été observée après 10 jours (2,86g/l). Après 2 semaines de traitement, la glycémie diminue à une valeur de 2,40g/l. Durant la dernière semaine de traitement, une diminution significative de la glycémie a été notée chez les souris traitées par la fraction BUT (2.36g/l contre 4.91g/l CNTL), avec une réduction de 51.93%.

### IV.2.1.3. Effet hypoglycémiant de la fraction éther di-éthylique (ED)

L'effet hypoglycémiant de la fraction ED sur les souris diabétique est illustré sur la figure suivante :



**Figure 20 : Variation de la glycémie chez le groupe de souris traitées par la fraction éther di-éthylique (400 mg/kg/j)**

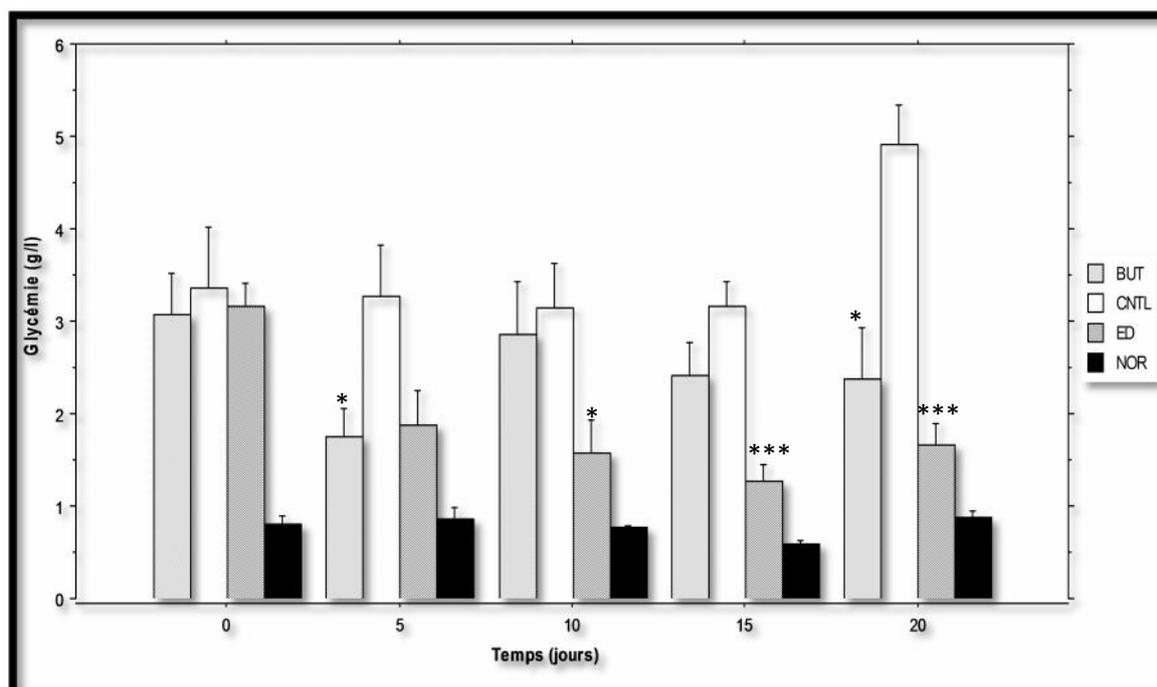
(*NOR*=souris normales; *CNTL*=diabétiques non traités; *ED*=diabétiques traités par la fraction éther di-éthylique (400mg/kg); *GLIB*= diabétique traités par glibenclamide (20mg/kg).

Les résultats des tests effectués sont exprimés en moyenne  $\pm$  ES. \* $p < 0,05$  ; \*\* $p < 0,01$  ; \*\*\* $p < 0,001$ .

Nous constatons d'après le résultat obtenu, que la glycémie des souris diabétiques traitées par la fraction ED avec une dose de 400 mg/kg/j, a diminué d'une manière non significative après 05 jours du traitement (1.86 g/l contre 3.26 g/l CNTL). Après 10 jours du traitement, une diminution très significative de la glycémie a été notée chez ce groupe de souris. La glycémie reste très significativement diminuée après 10, 15 et 20 jours du traitement avec des réductions respectives de 50%, 59.81% et 66.19%.

La **Figure 21** présente une comparaison entre l'effet hypoglycémiant obtenu par la fraction ED et la fraction BUT.

Les résultats montrent que la fraction ED a un effet hypoglycémiant nettement meilleur que celui observé avec la fraction BUT, notamment après 10 jours de traitement.



**Figure 21 : Comparaison entre l'effet hypoglycémiant de la fraction ED et BUT (400 mg/kg/j)**

(*NOR*=souris normales; *CNTL*=diabétiques non traités; *ED*=diabétiques traités par la fraction éther di-éthylique (400mg/kg); *BUT*=diabétique traités par la fraction n-butanol (400mg/kg). Les résultats des tests effectués sont exprimés en moyenne  $\pm$  ES. \* $p < 0,05$  ; \*\* $p < 0,01$  ; \*\*\* $p < 0,001$ ).

## b) Discussion

L'effet hypoglycémiant des PT observé après 2 semaines de traitement, peut être attribué aux flavonoïdes présents dans cet extrait ; les mécanismes d'action par lesquels ces molécules peuvent agir sont divers. Notant que les flavonoïdes en général améliorent la dégradation de glucose chez les diabétiques (Suzuki *et al.*, 2002).

L'effet des deux fractions riches en flavonoïdes, la fraction ED et BUT, sur la diminution de la glycémie chez les souris diabétiques peut être le résultat de plusieurs mécanismes d'action par lesquels ces molécules agissent ; soit par l'effet insulino-sécréteur (Bakirel *et al.*, 2008), par le stockage de glucose sous forme de glycogène au niveau du foie, par la stimulation de la consommation de glucose par les cellules des tissus périphériques ou bien par l'inhibition de la di-peptidyl peptidase-4 (DPP-4), cette dernière est responsable de la dégradation des incrétones tels que le GIP (glucose-dépendant insulino-tropique polypeptide) et le

GLP-1 (glucagon- like peptide) , l'inhibition de la DPP-4 prolonge la demi de vie des incrélines et augmente ainsi l'insulinémie (Bakirel *et al.*, 2008).

L'un des mécanismes d'action par les quels ces extraits agiraient, est la régénération des cellules pancréatiques, cette action longtemps souhaitée dévoilé par les chercheurs en diabétologie n'est pas encore mise évidence, et aucun médicament n'agit ainsi.

Les coupes histologiques présentées dans le présent travail montreront l'effet des fractions riches en flavonoïdes des feuilles de *Rosmarinus officinalis* sur la régénération des cellules détruites par l'effet toxique de la stréptozotocine.

Nous pouvons ajouter d'après les résultats obtenus, que la structure des flavonoïdes jouerait un rôle très important dans la diminution de la glycémie ; notant ainsi que la fraction ED qui est riche en flavonoïdes non glycosylés (aglycones) a un meilleur effet que la fraction BUT qui contient des flavonoïdes glycosylés.

Malgré son action sur la libération de l'insuline par le pancréas (Serrano-Martin *et al.*, 2006), le glibenclamide s'avère inefficace de réduire le taux de glucose sanguin chez les souris diabétiques, cela s'explique probablement par une destruction quasi-totale des cellules pancréatiques lors de l'induction du diabète.

Ces résultats sont consolidés par les résultats obtenus par plusieurs auteurs ; Al-Jamal *et Alqadi*, 2011, où ils ont montré que les feuilles de *Rosmarinus officinalis* réduisent significativement le taux de glucose dans le sang (20%). Tavafi *et ces collaborateurs* 2011 ; et Ayaz, 2012 ont démontré l'effet hypoglycémiant et anti-hyperglycémiant de l'extrait de romarin chez des rats normaux et diabétiques. Khalil Olfat *et ces collaborateurs* 2012, ont constaté que l'extrait de l'eau de romarin stimule la sécrétion d'insuline par les cellules pancréatiques à coté de l'activation de la glycogénèse dans le foie et le muscle et empêche les dommages pancréatiques.

#### **IV.2.2. Effet des extraits sur le profil lipidique**

En raison du développement de l'athérosclérose notée essentiellement chez les diabétiques, l'étude du profil lipidique chez les souris diabétiques semble être capitale.

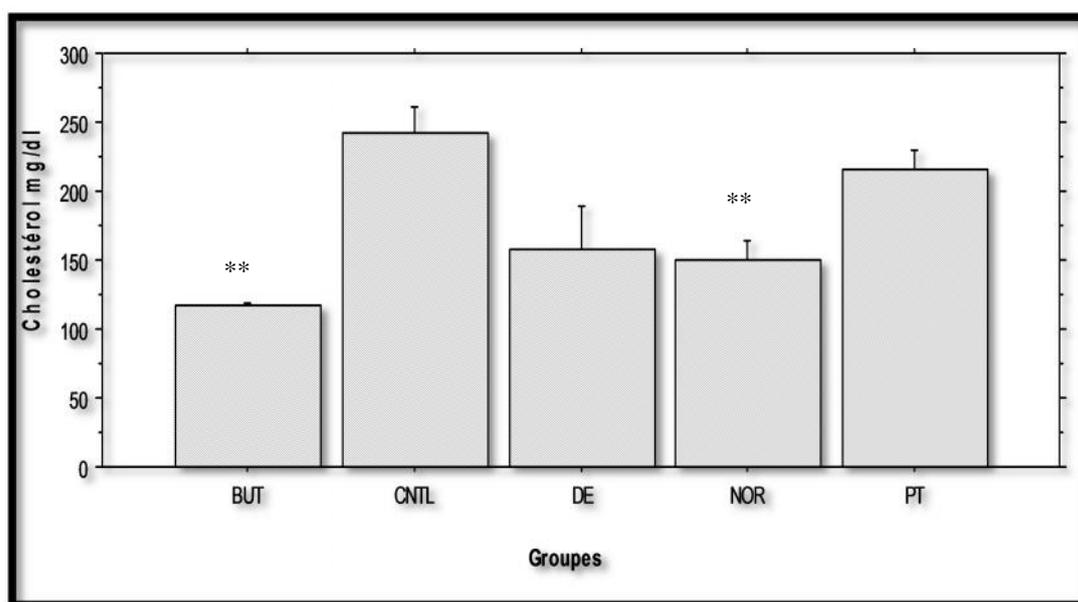
Dans la présente étude, Les différents paramètres lipidiques (cholestérol, triglycérider et LDL) des souris diabétiques traitées par les différentes fractions de l'extrait des feuilles de

*R. Officinalis* ont été déterminés après 20 jours de traitement. Les résultats sont montrés sur les figures (22,23et 24).

### a) Résultats

#### IV.2.2.1. Effet des différentes fractions sur la cholestérolémie

L'effet des différentes fractions des feuilles de *R. Officinalis* (PT, ED, BUT) sur le taux de cholestérol plasmatique des souris diabétiques traités pendant 20 jours est représenté sur la figure 22.



**Figure 22 : Effet des différentes fractions (PT, ED, BUT) sur la cholestérolémie.**

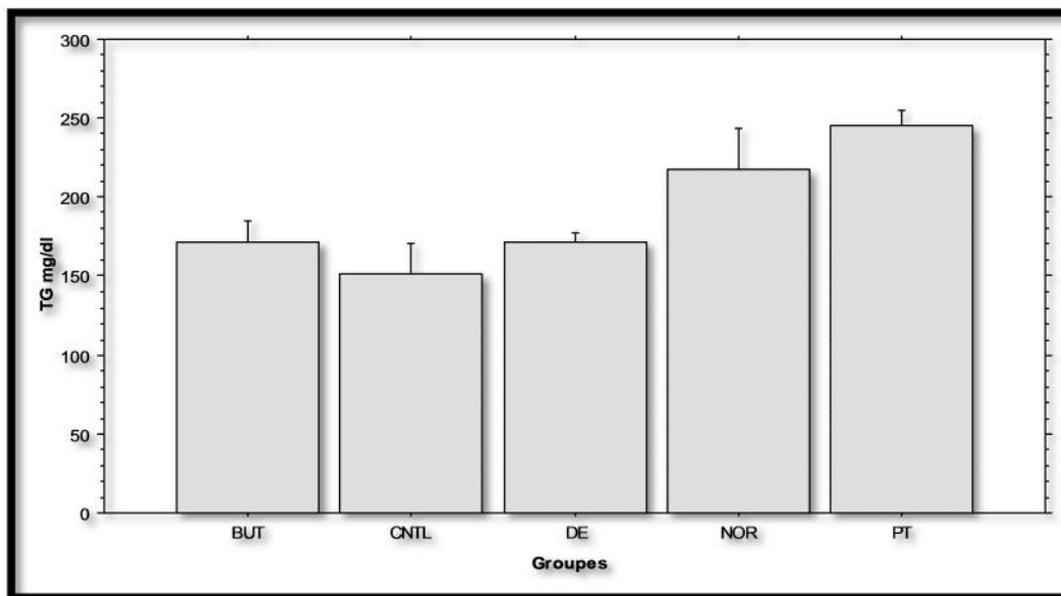
(*NOR*=souris normales; *CNTL*=diabétiques non traités; *PT*=diabétique traités par les poly-phénols totaux (800mg/kg); *ED*=diabétiques traités par la fraction éther di-éthylique (400mg/kg); *BUT*=diabétique traités par la fraction n-butanol (400mg/kg).

Les résultats des tests effectués sont exprimés en moyenne  $\pm$  ES. \* $p < 0,05$  ; \*\* $p < 0,01$  ; \*\*\* $p < 0,001$ .

Nous remarquons d'après cette figure que la fraction butanolique a diminué le taux de cholestérol d'une manière hautement significative par rapport au cholestérol de groupe control (120 mg/dl contre 240 mg/dl CNTL). En effet, une diminution non significative a été observée chez les souris traitées par la fraction éther di-éthylique (160 mg/dl), cette diminution est presque similaire à celle de groupe de souris NOR. Par contre le groupe traité par les poly-phénols totaux n'a pas montré de diminution dans le cholestérol plasmatique.

#### IV.2.2.2. Effet des différentes fractions sur la triglycéridémie

La figure 23 montre l'effet des différentes fractions étudiées (PT, ED, BUT) sur le taux des triglycérides plasmatiques chez des souris diabétiques traitées pendant 20 jours.



**Figure 23 : Effet des différentes fractions (PT, ED, BUT) sur la triglycéridémie**

(*NOR*=souris normales; *CNTL*=diabétiques non traités; *PT*=diabétique traités par les polyphénols totaux (800mg/kg); *ED*=diabétiques traités par la fraction éther di-éthylique (400mg/kg); *BUT*=diabétique traités par la fraction n-butanol (400mg/kg).

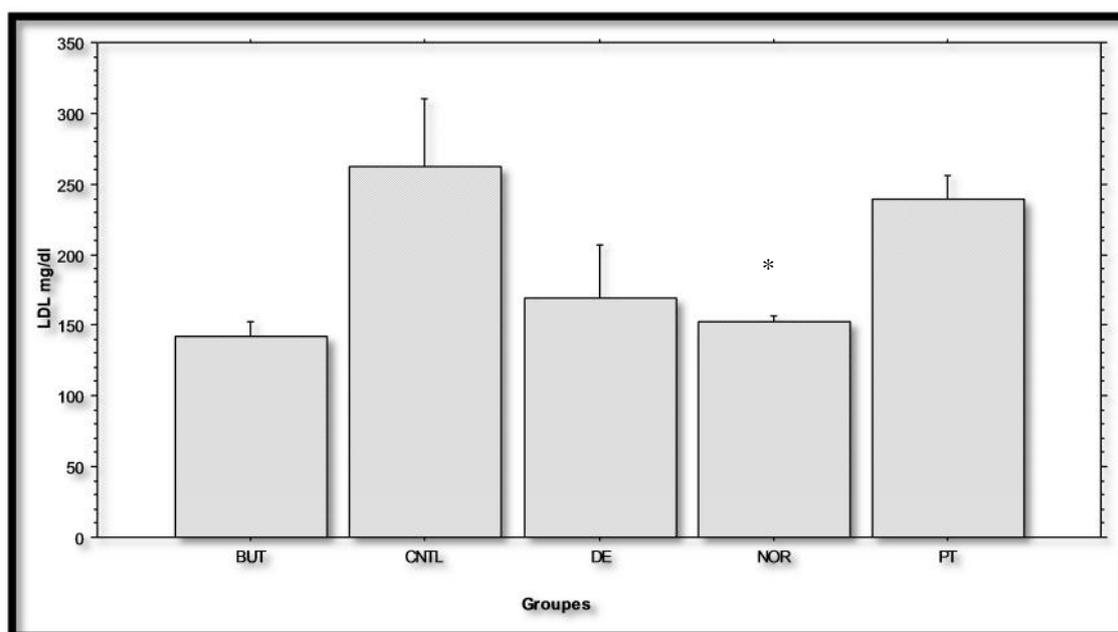
Les résultats des tests effectués sont exprimés en moyenne  $\pm$  ES. \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ .

D'après cette figure, le groupe de souris traitées par l'extrait des poly-phénols totaux présente une concentration importante de triglycérides plasmatique après 20 jours de traitement (250 mg/dl contre 150 mg/dl CNTL). En effet, une légère augmentation de la concentration de triglycérides a été enregistrée chez les souris traitées par les deux fractions ED et BUT (164 mg/dl contre 150 mg/dl CNTL). De même pour le groupe de souris non diabétiques, où leur triglycéridémie est beaucoup plus importante que celle des souris diabétiques non traitées.

#### IV.2.2.3. Effet des différentes fractions sur le taux de LDL (Low Density Lipoprotein)

LDL (Low Density Lipoprotein) est une classe principale des lipoprotéines transportant le cholestérol dans la circulation, en effet, plusieurs études ont démontré que les LDL participent dans le développement de maladies cardio-vasculaires. (Mahley *et al.*, 1984 ; Austin *et al.*, 1990).

La figure 24, montre que le groupe de souris traitées par la fraction BUT après 20 jours de traitement a présenté une diminution significative dans le taux de LDL sanguin par rapport au groupe CNTL. De même pour le groupe de souris non diabétiques (185 mg/dl contre 250 mg/dl). Tandis que, aucune différence significative n'a été enregistrée chez les souris traitées par la fraction ED et l'extrait des poly-phénols totaux.



**Figure 24 : Effet des différentes fractions (PT, ED, BUT) sur le taux de LDL plasmatique.**

(*NOR*=souris normales; *CNTL*=diabétiques non traités; *PT*=diabétique traités par les polyphénols totaux (800mg/kg); *ED*=diabétiques traités par la fraction éther di-éthylique (400mg/kg) ; *BUT*=diabétique traités par la fraction n-butanol (400mg/kg).

Les résultats des tests effectués sont exprimés en moyenne  $\pm$  ES. \* $p < 0,05$  ; \*\* $p < 0,01$  ; \*\*\* $p < 0,001$ .

## **b) Discussion**

La lipidémie est l'un des paramètres biochimiques qui varie en fonction de l'état physiologique de l'individu (obésité, diabète, syndromes métabolique...), dans le cas du diabète, la mesure du taux de cholestérol, triglycéride et LDL, peut nous renseigner de l'état de malade, car leur concentration augmente avec la diminution de l'insulinémie (Hennen, 2001).

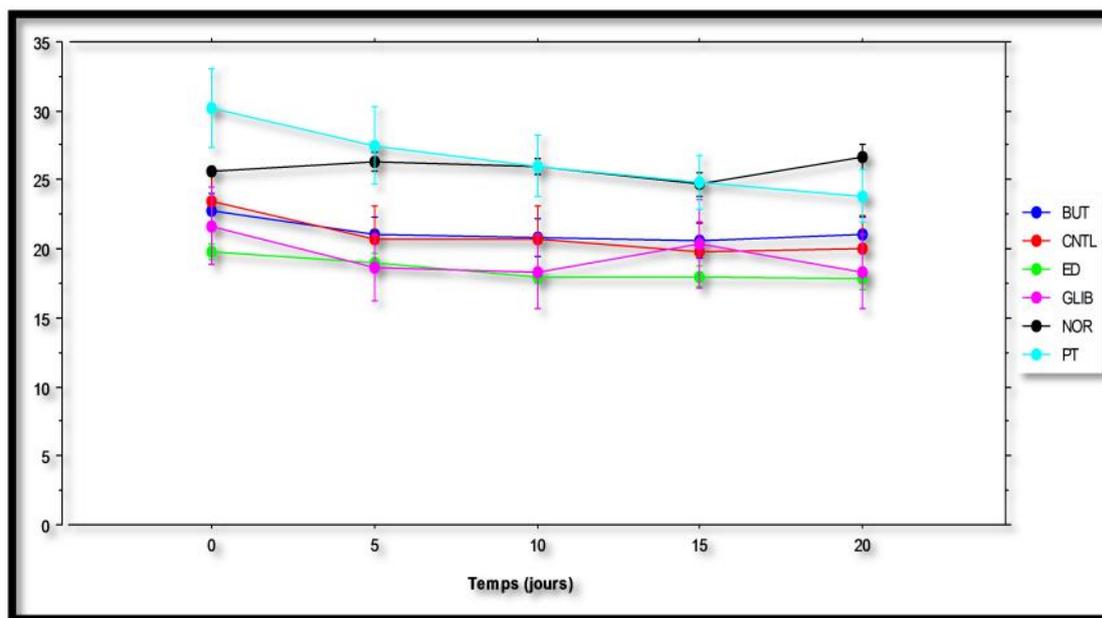
D'après les résultats obtenus lors de cette étude, les différentes fractions étudiées, notamment la fraction BUT et ED diminuent significativement le taux de cholestérol et LDL plasmatique, cela s'explique probablement par la stimulation de la sécrétion de l'insuline, qui favorise le catabolisme des LDL en augmentant l'activité des LDL récepteurs localisés sur les hépatocytes (70 %) et sur les autres cellules de l'organisme (30 %), diminuant ainsi la libération du cholestérol libre dans le sang (Vergès, 2007); l'insuline agit également en activant la LCAT (Lecithin Cholesterol Acyl Transferase), une enzyme responsable du transfert de cholestérol libre en cholestérol estérifié qui migre au centre de la lipoprotéine (HDL), ce qui favorise la diminution de sa concentration plasmatique (Arii et al., 1997).

Néanmoins la concentration des triglycérides est plus importante chez les souris traitées que chez les souris diabétiques non traitées, ce qui reviendrait à l'amaigrissement observé chez les souris diabétiques non traitées, cela veut dire l'absence du tissu adipeux qui est la source principale des triglycérides plasmatiques.

### **IV.2.3. Étude de l'évolution pondérale**

L'un des paramètres auquel nous nous sommes intéressés lors de cette étude, est la variation de poids corporel des souris étudiées. Ce paramètre nous renseigne généralement de l'état physiologique des personnes diabétiques.

La **figure 25**, illustre l'évolution pondérale des souris étudiées pendant toute la période expérimentale (20 jours).



**Figure 25 : Evolution pondérale de souris diabétiques traitées par (PT, ED, BUT, GLIB).**

*(NOR=souris normales; CNTL=diabétiques non traités; PT=diabétique traités par les polyphénols totaux (800mg/kg); ED=diabétiques traités par la fraction éther di-éthylique (400mg/kg); BUT=diabétique traités par la fraction n-butanol (400mg/kg); GLIB= diabétique traités par glibenclamide (20mg/kg).*

*Les résultats des tests effectués sont exprimés en moyenne  $\pm$  ES*

Le résultat montre que le poids corporel du groupe de souris non diabétiques (NOR), reste presque stable pendant 15 jours (25,6 g) puis une légère augmentation a été marquée après 20 jours (27g), à la différence des souris diabétiques non traitées (CNTL), et des souris diabétiques traitées où une diminution dans le poids a été notée, pour atteindre une moyenne de 20 g après 20 jours.

Cette caractéristique de perte de poids est provoquée par une augmentation dans l'atrophie musculaire et la perte de protéine tissulaire ainsi qu'une intense lipolyse qui sont à l'origine d'une hypo-insulinémie sévère générée essentiellement par la destruction des cellules pancréatiques par la STZ (Swanston-Flat et al., 1990; Chatterjee and Shinde, 2002).

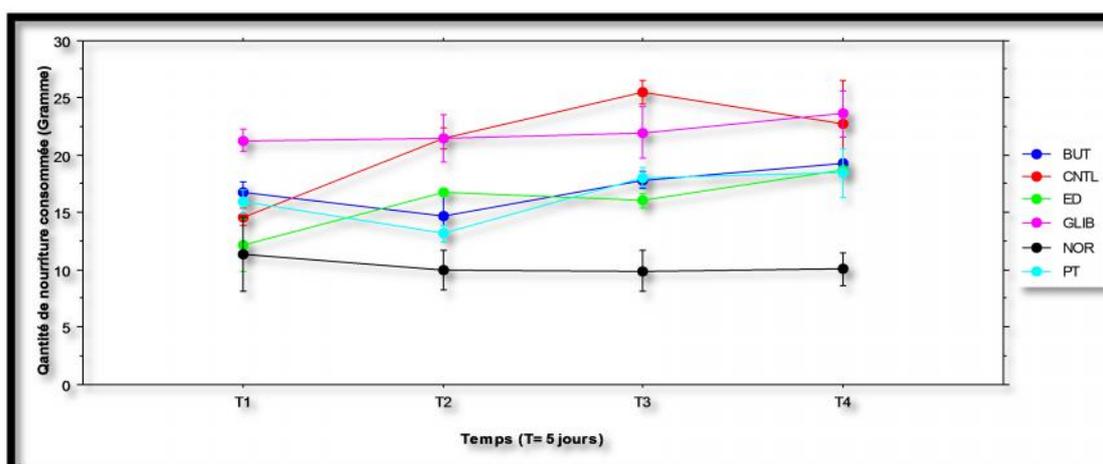
Contrairement aux résultats obtenus par Ayez en 2012 et Emam, 2012, où ils ont montré que l'extrait de l'eau de *R.Officinalis* améliore d'une façon significative le poids

corporel des rats rendus diabétiques par la STZ, les différents extraits des feuilles de *R.Officinalis* (PT, ED, BUT) testés lors de cette étude n'ont montré aucun effet sur l'amélioration du poids corporel des souris diabétiques.

#### IV.2.4. Quantité de nourriture consommée par les différents groupes de souris

La **figure 26**, représente la variation quotidienne de la quantité de nourriture consommée par les groupes de souris traitées par les poly-phénols totaux (PT), éther diéthylique (ED) et n-butanol (BUT) des feuilles de *R.officinalis*. Ce paramètre nous renseigne essentiellement sur le rétablissement de la sécrétion de l'insuline ainsi que le degré de l'utilisation de glucose par les cellules de l'organisme.

D'après cette figure la quantité de nourriture consommée durant cette étude par les souris diabétiques non traitée (CNTL), est largement supérieure à celle de souris traitées. Les souris non diabétiques (NOR) ont montré une prise alimentaire relativement faible par rapport aux autres groupes de souris.



**Figure 26 : Quantité de nourriture consommée par les souris traitées par l'extrait des feuilles de *Rosmarinus officinalis*.**

(*NOR* = souris normales ; *CNTL* : Control (diabétique non traitée), *BUT* : n-butanol (400mg/kg), *GLIB* : Glibenclamide (médicament de référence utilisé, 20mg/kg), *ED* : éther diéthylique (400mg/kg), *PT* : poly-phénols totaux (800mg/kg).

Les résultats des tests effectués sont exprimés en moyenne  $\pm$  ES.

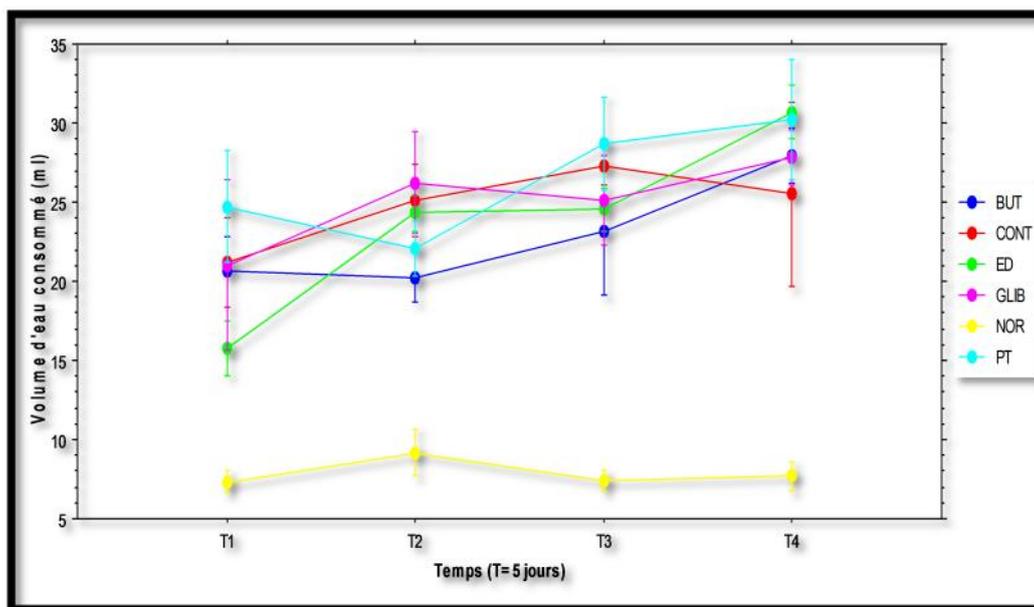
Malgré la chute dans le poids observée chez les souris diabétiques non traitées, ces dernières ont montré une prise alimentaire très importante, ce qui confirme la relation étroite

qui existe entre l'insuline et l'anabolisme en générale. De même l'utilisation de glucose par les cellules de l'organisme est liée essentiellement au degré de sécrétion de l'insuline, et se traduit par une satiété. Comme il est confirmé par plusieurs études, le défaut de capture de glucose par les cellules ainsi que sa dégradation se traduit essentiellement par une polyphagie paradoxalement couplée à un amaigrissement.

Suite à la diminution de la glycémie provoquée par les différentes fractions étudiées, et qui est certainement le résultat de l'entrée de glucose dans les cellules, la prise de l'aliment n'est pas aussi importante que celle notée chez les souris diabétiques non traitées.

#### **IV.2.5. Volume d'eau consommée par les différents groupes de souris**

La polydipsie, ou la consommation excessive d'eau, est l'un des symptômes du diabète sucré, causée essentiellement par une hyperglycémie sévère (Silbernagl et Lang, 2002). Le volume d'eau consommé par les souris, reflète l'efficacité des extraits testés. En effet, la polydipsie disparaît lorsque le taux normal de glucose plasmatique est rétabli, et augmente davantage avec la diminution de l'insulinémie. Le graphe de **figure 27** représente le volume d'eau consommé chaque jour par les souris étudiées durant les 20 jours d'études.



**Figure 27 : Volume d'eau consommée par les souris traitées par l'extrait des feuilles de *Rosmarinus officinalis*.**

(*NOR*= souris normales ; *CNTL* : Control (diabétique non traitée), *BUT* : n-butanol (400mg/kg), *GLIB* : Glibenclamide (médicament de référence utilisé, 20mg/kg), *ED* : éther di éthylique (400mg/kg), *PT* : poly-phénols totaux (800mg/kg).

Les résultats des tests effectués sont exprimés en moyenne  $\pm$  ES.

La figure montre que le volume d'eau consommé par les souris diabétiques apparaît plus élevé que celui consommé par les souris non diabétiques (*NOR*), et cela durant toute la période d'étude (20 jours). Notant aussi qu'il n'existe pas de différence significative dans le volume d'eau consommé entre les groupes des souris diabétiques.

La prise excessive d'eau, montrée par ces groupes de souris, s'explique par une concentration relativement élevée de glucose plasmatique, une sortie d'eau du milieu cellulaire vers le sang (phénomène d'osmose) et la glycosurie sera importante d'où la sortie massive d'eau *via* les tubules rénaux, qui mène vers une polydipsie compensatrice.

#### IV.2.6. Test de tolérance au glucose (OGTT)

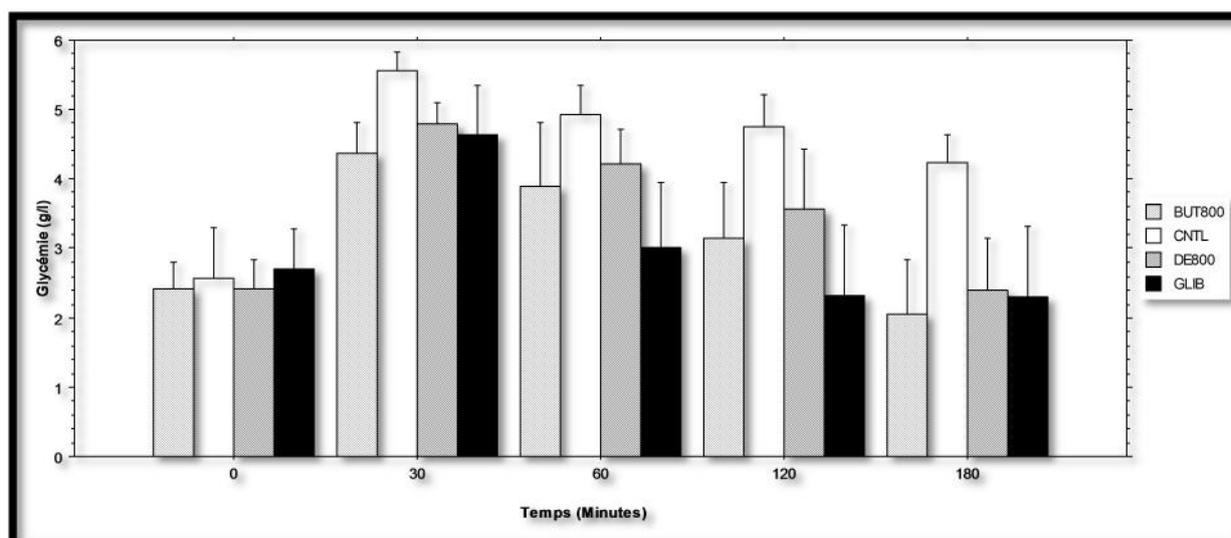
Le test de tolérance au glucose, nous aide en partie à comprendre le mécanisme d'action des différentes fractions étudiées, tout en suivant la glycémie manifestée par les souris dans le temps, et permet ensuite d'évaluer la capacité de régulation de la glycémie par l'organisme (Siliart, 1999).

#### IV.2.6.1. Effet anti-hyperglycémiant des deux fractions riches en flavonoïdes

La figure suivante montre l'effet des fractions riches en flavonoïdes (n-butanol et éther di éthylique des feuilles de *Rosmarinus officinalis* sur la tolérance au glucose (OGTT) par les souris laissées à jeun pendant 14 heures.

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 2.5g/l à 5.2g/l. Ensuite, la glycémie diminue de 5g/l (60 minutes) à 4.6g/l (120minutes), puis à 4.2g/l (180minutes).

Chez les souris traitées par la fraction éther di éthylique (ED), le taux du glucose sanguin a augmenté de 2.4g/l à 4.6g/l après 30 minutes de l'administration du glucose, équivalant à la glycémie enregistré chez les souris traitées par la fraction n butanol (BUT) (de 2.4 à 4.2g/l).



**Figure 28 : Effet des deux fractions riches en flavonoïdes (n-butanol, éther di éthylique) sur la tolérance de glucose (OGTT) à une concentration de 800mg/kg.**

*CNTL* : Control (glucose à une concentration de 2g/kg), *BUT* : n-butanol (800mg/kg), *GLIB* : Glibenclamide (20mg/kg), *ED* : éther di éthylique (800mg/kg).

Les résultats des tests effectués sont exprimés en moyenne  $\pm$  ES. \* $p < 0,05$  ; \*\* $p < 0,01$  ; \*\*\* $p < 0,001$ .

Après 60 minutes, les glycémies des souris des deux lots traités (éther di éthylique, n-butanol) ont chuté pour atteindre 4.2g/l pour le lot traité par la fraction éther di éthylique (ED), et 4g/l pour le lot traité par le n-butanol (BUT), 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 Glibenclamide (20 mg/kg), leur glycémie a augmenté après 30 minutes de l'administration du glucose (de 0.9g/l à 4.6g/l), pour diminuer après 120 minutes et atteindre sa valeur minimale après 180 minutes (2.2 g/l).

Les résultats obtenus montrent que les deux fractions testées ont un effet relativement important sur la diminution de la glycémie post prandiale, cela s'explique probablement par l'effet de ces flavonoïdes à augmenter l'utilisation de glucose par les cellules ainsi que son stockage au niveau du foie par les hépatocytes.

La diminution de la glycémie peut se produire également suite à l'effet insulino-sécréteur. Autrement dit les deux fractions riches en flavonoïdes, notamment glycosylés (BUT), exercent leur action anti-hyperglycémiant en stimulant la sécrétion de l'insuline, qui agit à son tour pour réduire la glycémie (Bakirel et al., 2008).

#### **IV.2.7. Etude histopathologique du pancréas**

La fonction optimale des cellules pancréatiques présente un rôle important dans la régulation de l'homéostasie de glucose chez l'homme ainsi chez les animaux, en effet, leur destruction conduit à l'apparition d'un diabète (Fatehi-Hassanabad et Chan, 2005).

Cette partie de l'étude a pour but de démontrer l'effet bénéfique de différents extraits des feuilles de *R.Officinalis* (PT, BUT, ED) sur l'aspect des ilots de Langerhans des cellules pancréatiques, en effectuant une comparaison entre les différents groupes en fonction de nature de l'extrait et la dose administré, par rapport au groupes témoins (souris normales et souris diabétiques non traités). Notant qu'aucun produit thérapeutique n'existe en temps actuel dont l'action est de régénérer les cellules pancréatiques. Importante sera la découverte de molécules à effet régénératif des cellules pancréatiques, donc mettre fin au problème d'insulino-déficience.

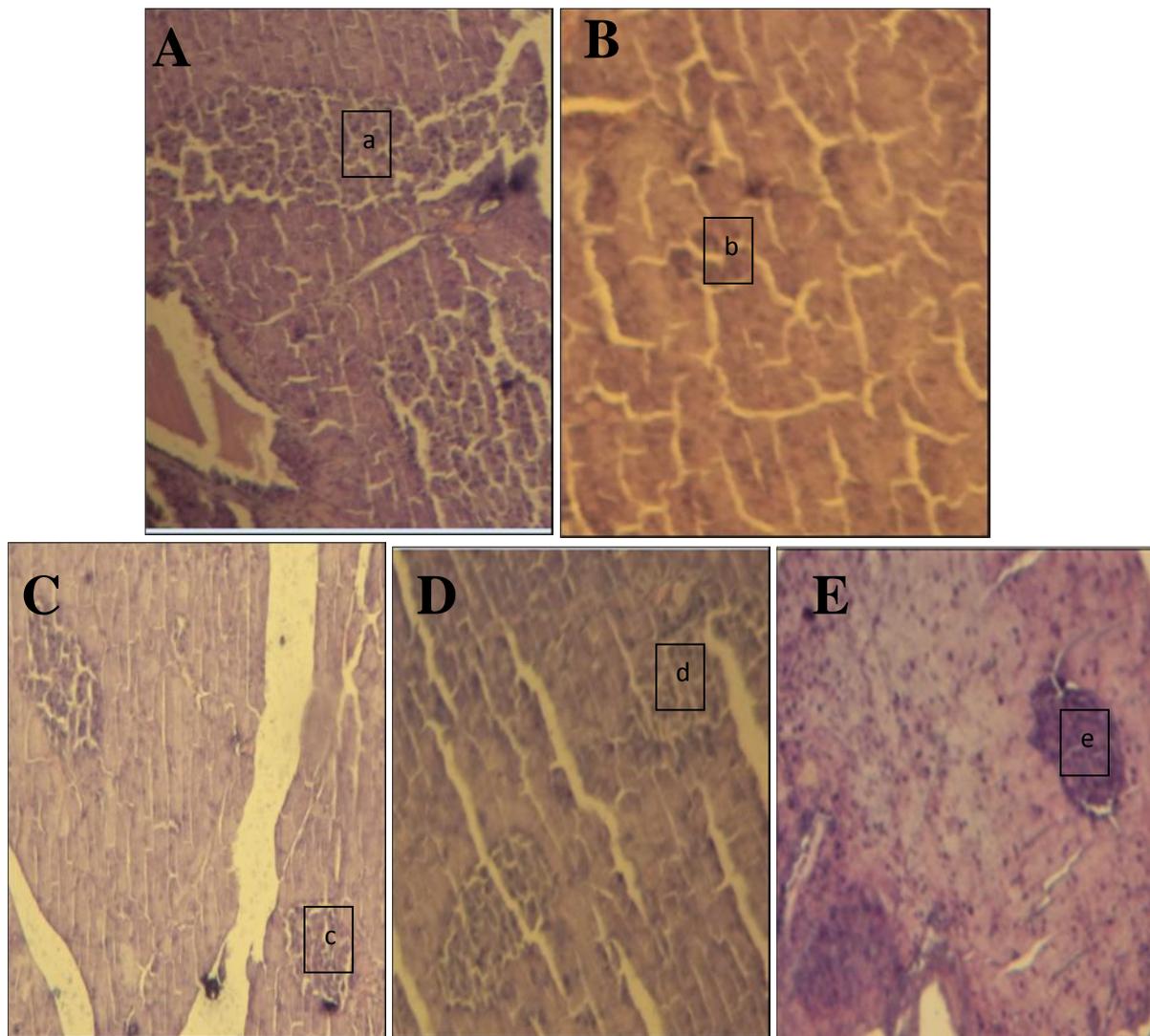
La **figure 29**, présente des coupes histologiques des pancréas de groupes de souris traités par les différents extraits des feuilles de *R. Officinalis* (PT, BUT, ED) ainsi les groupes de souris témoins (NOR, CNTL) après 20 jours d'étude.

L'observation microscopique révèle que le pancréas de groupe de souris normales (NOR) présente un aspect normal sans modification (forme ovoïde, nombre et volume important) des ilots pancréatiques, ces derniers s'organisent d'une manière proche (**figure 29A**), par contre le groupe de souris diabétiques non traitées montre une destruction et des lésions au niveau des ilots qui se traduit par une diminution de taux des ilots et volume rétrécie (trop petites) (**figure 29B**). Cette dégénérescence est due à l'effet diabétogène de la STZ qui provoque une destruction sélective des cellules pancréatiques (Feldman et Nelson, 1996).

Les groupes traités par les différents extraits ont révélés un développement et dilatation des ilots de Langerhans avec un nombre et volume important par rapport au souris de groupe CNTL.

La **figure 29C**, illustre une coupe histologique du pancréas de groupe de souris traitées par les poly-phénols totaux (PT). Un développement important de nombre des ilots de Langerhans est observé à coté d'une récupération considérable de leur volume par rapport au groupe CNTL (**B**), ce qui signifie que cet extrait améliore l'état des cellules pancréatique. De même une amélioration plus importante a été observée dans le groupe de souris traitées par les deux fractions (BUT, ED) (**D, E**) par rapport au groupe (PT), mais elles sont moins importantes en comparaison avec le groupe de souris non diabétiques (**A**).

D'après les résultats obtenus, les pancréas des souris diabétiques traitées par les fractions riches en flavonoïdes ont montré une régénérescence plus importante que les pancréas des souris diabétiques traitées par les polyphénols totaux (PT). Cela pourrait être expliqué par la nature de l'extrait administré (glycosylés et aglycone) relativement riche en molécules qui entrent dans les structures cellulaires, notamment la membrane plasmique.



**Figure 29 : Photographie des coupes histologiques du pancréas (G×10).**

*A= pancréas des souris normales ; B= pancréas des souris diabétiques non traitées; C=pancréas des souris traités par les poly-phénols totaux ; D= pancréas des souris traités par la fraction n-butanol ; E= pancréas des souris traités par la fraction éther di-éthylique.*

*a, b, c, d, e=ilots de Langerhans de chaque groupe.*

## *Conclusion et perspectives*

## Conclusion et perspective

Les plantes médicinales sont à la fois un produit fini destiné à la consommation et une matière première pour l'obtention de substances actives, Elles représentent une source de revu non négligeable pour de nombreuses populations, possédant bien des vertus thérapeutiques démontrées par l'expérience.

Dans ce travail, l'extraction des polyphénols montre une richesse de la plante *Rosmarinus officinalis* en polyphénols avec un taux très élevé des flavonoïdes. Il s'est avéré que la fraction riche en flavonoïdes glycosélés enferme la plus grande part en polyphénols et flavonoïdes comparé à la fraction aglycone.

L'étude de l'effet antidiabétique des différents extraits testés a révélé que la fraction ether diéthylique exerce une action hypoglycémiant, tandis que les fraction butanolique a une action beaucoup plus antihyperglycémiant.

Le dosage de cholestérolémie des souris étudiés montre que, la fraction butanolique a un effet significatif sur la réduction de taux de cholestérol à la différence de la fraction ether diéthylique et polyphénols totaux qui n'est pas significatif.

Les différents extraits testés n'ont montrés aucun effet significatif sur la réduction de taux de triglycéride et le taux de LDL plasmatiques des souris.

L'analyse des coupes histologiques du pancréas des souris traitées, a révélé une amélioration remarquable des ilots de Langerhans. Cet effet bénéfique est en fonction de la nature d'extrait administré (PT, ED, BUT) qui indique l'efficacité de diminuer le risque de déclanchement d'une hyperglycémie.

Il ressort clairement de notre étude que les extraits de *rosmarinus officinalis*, plus particulièrement les fractions flavonoidiques sont des substances intéressantes riches en molécules thérapeutiques, par leur pouvoir hypoglycémiant et régénératif des cellules pancréatiques.

Cependant, une investigation plus approfondie serait nécessaire pour élucider certaines zones d'ombres pour expliquer les mécanismes par lesquels les extraits agissent. Il serait très intéressant de mener une étude visant l'identification et la purification des principes actifs de cet extrait, dosage d'insuline pour démontrer le pouvoir insulino-sécréteur.

# *Référence bibliographique*

## Références bibliographiques

### A

- **Al-Jamal A.R., & Alqadi T. (2011).** Effects of Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) on Lipid Profile of Diabetic Rats. *Jordan Journal of Biological Sciences*. V4:199-204.
- **Arbouche M. (2012).**L'essentiel en diabetologie : à l'usage des medecins generalistes(SANOFI ed.).9<sup>ème</sup> congrés de le Federation Maghrebine d'Endocrinologie-Diabetologie .
- **Arii K., Suehiro T., Yamamoto M., Ito H., Hashimoto K. (1997).** Suppression of plasma cholesteryl ester transfer protein activity in acute hyperinsulinemia and effect of plasma nonesterified fatty acid. *Metabolism*; 46(10):1166-1170.
- **Arnal-schneblen B., Paul G., Michel P. (2008).** Les plantes médicinales ;extrait de La santé par les plantes ; Edition Readers Digests ,2<sup>ieme</sup> édition,198p.
- **Atik bekkara F, Bousmaha L, Taleb bendiab S.A., Boti J.B., Casanova J. (2007).** Composition chimique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L poussant à l'état spontané et cultivé de la région de Tlemcen. *J Biologie & Santé* vol. 7, n° 1,
- **Auberval N. (2010).** Prévention du stress oxydant dans le diabète et ses complications par des antioxydants d'origine naturelle, thèse de doctorat, université de strasbourg.244p.
- **Austin M.A., King M.C., Vranizan K.M., & Krauss R.M.(1990).** Atherogenic lipoprotein phenotype. A proposed genetic marker for coronary heart disease risk. *Circulation*, **82**: 495-506.
- **Ayaz N.O. (2012).** Antidiabetic and renoprotective effects of water extract of *Rosmarinus officinalis* in streptozotocin-induced diabetic rat. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology* Vol. 6(37), pp. 2664-2669.

### B

- **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.

- **Boizot N & Charpentier J.P. (2006).** Méthodes rapides d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier: Amélioration, Génétique et Physiologie Forestières. Edition: INRA. pp : 79-80.
- **Bories T. (2012) .** Prise en charge thérapeutique des patients diabétiques de type 2 par les médecins généralistes de l'Eure.
- **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.
- **Bouxid H. (2012).** Les plantes médicinales et le diabète de type 2. Thèse doctorat en médecine. Université sidi Mohammed Ben Abdellah de Fès. 106p.
- **Bouziane K., Touhami M. (2006).** Aspects cliniques et génétiques du diabète de type 1 chez l'enfant de l'ouest Algérien, 3ème congrès Maghrébin d'endocrinologie diabétologie Alger. In
- **Bruneton J. (2009).** Composés phénoliques Shikimates-acétates. *In Pharmacognosie phytochimie plantes médicinales. Ed Tec and Doc lavoisier.* 4e édition. Paris. p. 260-546.
- **Buyschaert M.(2006) .**Diabétologie clinique .De Boeck.

## C

- **Cartier O. & Roux D. (2007).** Botanique Pharmacognosie Phytothérapie. 3ème édition. Wolters Kluwer, 75-98.
- **Cefalu W.T. (2006).** Animal Models of Type 2 Diabetes. Clinical Presentation and Pathophysiological Relevance to the Human Condition. *ILAR Journal*; 47(3): 186-198..
- **Chatterjee M.N., Shinde R. (2002).** Text Book of Medical Biochemistry. Jaypee Brothers Medical Publishers, New Delhi, p. 317.
- **Chen D., & Q. Ping D. (2008).** Tea Polyphenols and Their Roles in Cancer Prevention and Chemotherapy. *International Journal of Molecular Sciences*.**9**: 1196-1206.
- **Chira K., Sub D.H., Sancier C. Peissedre P.L. (2008).** Les polyphénols du raisin. *Phytotherapie*, **6** : 75-82.
- **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.
- **Croteau R., Kutchan T.M., et Norman G.L. (2000).** Natural products (secondary metabolites). *American society of plant physiologists*. **24**: 1250-1318.

## D

- **Delaveau P. (1987).** Les épices, Histoire, description et usage des différents épices, aromates et condiments, PARIS : Ed Albin Michel, 371p.
- **Deshaies B. (2011).** Les médicaments pour le contrôle de la glycémie (antihyperglycémiantes). *Prisme diabète*, Mauricie centre du Québec 1-11.
- **Douiri L.F., Boughdad A., Alaoui M. H., Moumni M. (2014).** Biological Activity of *Rosmarinus Officinalis* Essential Oils against *Callosobruchus Maculatus*, (Coleoptera, Bruchinae) *.Journal of Biology, Agriculture and Healthcare*.Vol.4, No.2
- **Drouin P., Blicke J.F., Charbonnel B., Eschwege E., Guillausseau P.J., Plouin P.F., Daninos J.M., Balarac N., Sauvanet J.P. (1999).** Diagnostic et classification du diabète sucré. Les nouveaux critères ; *Diabetes & Metabolism* ; 25 :72-83.

## E

- **Eberhard T., Robert A., Annelise L. (2005).** Plantes aromatiques ; Epices, aromates, condiments et huiles essentielles ; Edition : *Lavoisier* ; P :416-420 (*édition TEC et DOC*) :ISBN :2-7430-0720-6 .
- **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.
- **El-din R. A. S., El-shahat A. E & Elmansy R. A. (2012).** An electron microscopic study of the antifertility potential of Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) in male albino rats. *Int. J. Morphol.*, 30(2):666-672.
- **Elqaj M., Ahami A., & Belghyti D. (2007).** La phytothérapie comme alternative à la résistance des parasites intestinaux aux antiparasitaires .Journée scientifique ‘ressources naturelles et antibiotiques’ .Maroc.
- **Emam M.A. (2012).** Comparative evaluation of antidiabetic activity of *Rosmarinus officinalis* L. and *Chamomile recutita* in streptozotocin induced diabetic rats. *Agriculture and biology journal of north america*. Vol. 3(6): 247-252.
- **Etuk, E.U. (2010).** Animals models for studying diabetes mellitus. *Agriculture and biology journal of north America*. 1(2): 130-134.

## F

- **Fatehi-Hassanabad Z., Chan CB. (2005).** Transcriptional regulation of lipid metabolism by fatty acids: a key determinant of pancreatic  $\beta$ -cell function. *Nutr. Metab. (Lond)*. 2:1.
- **Federiuk I.F., Casey H.M., Quinn M.J., Wood M.D., Ward W.K. (2004).** Induction of type-1 diabetes mellitus in laboratory rats by use of alloxan: route of administration, pitfalls, and insulin treatment. *Comparative Medicine* 54, 252–257.
- **Frode T.S., Medeiros Y.S. (2008).** Animal models to test drugs with potential antidiabetic activity. *Journal of Ethnopharmacology* 115. 173–183.

## G

- **Gabriel R. (2011).** Introduction au diabète gestationnel. Formation au diabète gestationnel. Reims. p 19.
- **Ghedira K. (2005).** Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*. p.162-169.
- **Gnu free. (2002).** régulation de la glycémie .Documentation licence, version 1.2.
- **Graham T.L. (1998).** Flavonoid and Flavonol glycoside Metabolism in Arabidopsis. *Plant physical and biochem.* vol. 36 (1-2), pp.135-144.

## H

- **Han X., Shen T., & Lou H. (2007).** Diertay polyphenols and their Biological Significance. *International journal of Molecular Sciences*. 8: 952-988.
- **Harada M., Makino S. (1984).** Promotion of spontaneous diabetes in non-obese diabetes-prone mice by cyclophosphamide. *Diabetologia* 27.604-606.
- **He-Lin T., Li-Shun W., Zhong-Xin X., Ru-Tong Z., Dong-Ling J & Jin-Sheng G. (2010).** Correlation Between Blood Glucose Level and Diabetes Signs in Streptozotocin-Induced Diabetic Mice. *Global Journal of pharmacology* 4(3):111-116.
- **Hennen G. (2001).** Endocrinologie. Bruxelles :De Boeck université.
- **Hoefler C. (1994).** Contribution à l'étude pharmacologique des extraits de *Rosmarinus officinalis* L., et notamment des jeunes pousses : Activités cholérétiques, antihépatotoxiques, anti-inflammatoires et diurétiques. Thèse de doctorat. Université de metz. 148p.

- **Hogan D, Kolter R. (2002).** Why are bacteria referactory to antimicrobials Current opinion in Microbiology 5: 272–4.

## J

- **Jyoti P., Sharma P., Verma P., Goyal P.K. (2011).** Anti-tumor and Anti-oxidative Activity of *Rosmarinus officinalis* in 7, 12 Dimethyl Benz (a) Anthracene Induced Skin Carcinogenesis in Mice *Am. J. Biomed. Sci.*

## K

- **Kamran Khan., M. (2010).** Polyphénols d’Agrumes (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.
- **Kebieche M. (2009).** Activité biochimique des extraits flavonoïdiques de la plante *Ranunculus repens* L : effet sur le diabète expérimental et l’hépatotoxicité induite par l’Epirubicine, these de doctorat, université Mentouri Constantine.143p.
- **Khalil O.A., Kholoud S. Ramadan E.N., Hanan S. Alnahdi & Najla O. Ayaz (2012).** Antidiabetic activity of *Rosmarinus officinalis* and its relationship with the antioxidant property. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*. Vol. 6(14), pp. 1031 – 1036.
- **Konrad R., Mikolaenko I., Tolar J., Liu K., Kudlow J. (2001).** The potential mechanism of the diabetogenic action of streptozotocin inhibition of pancreatic b-cell O-GlcNAc-selective N-acetyl-b-D-glucosaminidase. *Biochemical Journal*. p 356: 34-41.

## L

- **Lilley S.(2000).** Prévenir le diabète au Canada atlantique la Direction générale de la santé de la population et de la santé publique,Bureau de l’Atlantique ,Santé Canada.3.
- **Lucimara R., Dipe F., Clarissa S.L., Fabio F.P., José carlos T.C. (2011).** anti-inflammatory and antinociceptive activities of the essential oil from *rosmarinus officinalis* l. (lamiaceae) *international journal of pharmaceutical sciences review and research*.volume 7, issue 2.

## M

- **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.
- **Macheix J.J., Fleuriet A & Sarni-Manchado P. (2006).** Composés phénoliques dans la plante, structure, biosynthèse, répartition et rôle. In : Les polyphénols en agroalimentaire. *Edition Technologie et document*. Paris, 380-398.
- **Mahley R.W., Innerarity T.L., Rall S.C. & Weisgraber K.H. (1984),** Plasma lipoproteins: apolipoprotein structure and function. *J. LipidRes.* **25**:1277-1294
- **Makhloufi A. (2009).** Etude des activités antimicrobienne et antioxydante de deux plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de bechar (*Matricaria pubescens* et *Rosmarinus officinalis* L) et leur impact sur la conservation des dattes et du beurre cru, thèse de doctorat de l'université de *Aboubaker belkaid* .Algerie.
- **Malaisse W J., Malaisse-Lagae F., Sener A., Pipeleers D. G. (1982).** Determinants of the selective toxicity of alloxan to the pancreatic B cell. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA.* **79**: 927-930.
- **Marfak A. (2003).** Radiolyse gamma des flavonoïdes: Etude de leur réactivité avec les radicaux issus des alcools: formation des depsides. *Thèse de doctorat de l'université de Limoges*, pp 24-42.
- **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.
- **Marsaudon E.(2004).** 200 questions-clés sur le diabète : savoir, comprendre, pour mieux vivre. Paris: Ellébore éd.
- **Massiello P. (2006).** Animal models of type 2 diabetes with reduced pancreatic B cell mass. *The international journal of biochemistry and Cell Biology* **38**:873-893.
- **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.
- **Milane H. (2004).** La quercétine et ses dérivés : molécules à caractère pro-oxydant ou capteurs de radicaux libres : étude et application thérapeutiques *.Thèse de Doctorat. Université Louis Pasteur*, 47- 49.

- **Mordes J P., Bortell R., Blankenhorn E P., Rossini A. A., Greiner D. L. (2004).** Rat Models of Type 1 Diabetes: Genetics, Environment, and Autoimmunity. *Institute for Laboratory Animal Research Journal*. 45 (3): 278-291.

## N

- **Naczki, M & Shahidi F. (2006).** Phenolic in cereals fruit and Vegetables: Occurrence, extraction and analysis. *Journal of pharmaceutical and Biomedical Analysis*. **41**: 1523-1542.
- **Naoaki S., Gumpei Y., Haruyuki T., Shinichi E & Michiaki U. (2012).** Animal Models of Diabetes Mellitus for Islet Transplantation. *Experimental Diabetes Research. Article de revue*. p10.
- **Nelly Arnold A., El Beyrouthy M., Dhifi W., Najm S., Cazier F., Najem W., Labaki M & Aboukais A. (2013).** Chemical Composition of Aerial Parts of *Rosmarinus officinalis* L. Essential Oil Growing Wild in Lebanon. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. pp 274 – 282.
- **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.

## O

- **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.

## P

- **Palsamy P., Subramanian S. (2008).** Resveratrol, a natural phytoalexin, normalizes hyperglycemia in streptozotocin-nicotinamide induced experimental diabetic rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*; 62:598-605.
- **Perlemuter L., L'Hortet G.C & Sélam J. L. (2000).** Diabète et maladies métaboliques : Masson.
- **Petiwalla S.M., Angela G.P & Jeremy J.J. (2013).** Polyphenols from the Mediterranean herb rosemary (*Rosmarinus officinalis*) for prostate cancer. *Frontiers in Pharmacology Ethnopharmacology*. Volume 4.

## Q

- **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 antioxidants activities of buckwheat hulls and flour. *Journal of Ethnopharmacology* **72**: 35-42.

## R

- **Rabasa L.R., Avignon A., Monnier L., Chiasson J.L. (1999) :** L'impact socio-économique du diabète de type 2, SVT. *Sang Thrombose Vaisseaux*. Vol.11. No. 8: 587-595.
- **Rajiv Gandhi G, Sasikumar P. (2012).** Antidiabetic effect of *Merremia emarginata* Burm. F. in streptozotocin induced diabetic rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 281-286.
- **Rakipov N. (1987).** Biochimie des cultures tropicales. Ed : MIR.PP.151-165.
- **Rodier M. (2001).** Diabète de type 1. Médecine Nucléaire-Imagerie fonctionnelle et métabolique .Vol.25, N°2, pp :95-101.

## S

- **Saber A & Hawazen A. L. (2012).** Protective Effect of Rosemary (*Rosmarinus Officinalis*) Leaves Extract on Carbon Tetrachloride -Induced Nephrotoxicity in Albino Rats. *Life Science Journal*.vol. 9(3):779-785.
- **Sandler S., Swenne I. (1983).** Streptozotocin, but Not Alloxan, Induces DNA Repair Synthesis in Mouse Pancreatic Islets in Vitro. *Diabetologia*; 25:444-447.
- **Serrano-Martin X., Payares G., Mendoza-Leon A. ( 2006).** Glibenclamide, a blocker of K<sub>p</sub> ATP channels, shows antileishmanial activity in experimental murine cutaneous leishmaniasis. *Antimicrob. Agents Chemother.* 50, 4214–4216.
- **Siktberg R. (2009).** Essential Facts for Rosemary; The Herb Society of America's
- **Silbernagl S, Lang F.(2002).** Atlas de poche de physiopathologie. Médecine-sciences Flammarion; pp: 288.
- **Siliart B. (1999).** Pancréas endocrine, In : Encyclopédie vétérinaire, Paris, Editions scientifiques et médicales Elsevier SAS, Endocrinologie : 1200.
- **Suzuki K Ito Y., Nakamura S., Ochiai J & Aoki K. (2002).** Relationship between serum carotenoids and hyperglycemia: a population-based cross-sectional study. *J Epidemiol*, **12(5)**:357-366.

- **Swanston-Flat S.K., Day C., Bailey C.J., Flatt P.R. (1990).** Traditional plant treatment for diabetes: studies in normal and streptozotocin diabetic mice. *Diabetologia* 33, 462–464.
- **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.
- **Szkudelski T. (2001).** The Mechanism of Alloxan and Streptozotocin Action in B Cells of the Rat Pancreas. *Physiological Research*; 50: 536-546.

## T

- **Tabatabaei-Malazy1 O., Bagher L., Mohammad A. (2012).** A Systematic Review of in vitro Studies Conducted on Effect of Herbal Products on Secretion of Insulin from Langerhans Islets; *J Pharm Pharmaceut Sci* .15(3) 447 – 466.
- **Tavafi M., Ahmadvand H., Khalatbari A., Tamjidipoor A. (2011).** Rosmarinic Acid Ameliorates Diabetic Nephropathy in Uninephrectomized Diabetic Rats. *Iran. J. Basic Med. Sci.* 14:275-283.
- **Touafek O. (2010).** Etude phytochimique de plantes médicinales du nord et du sud algériens. Thèse de doctorat.
- **Trivin F., Chevenne D., Hautecouverture M. (2003).** Bioclinique et biopathologie du diabète sucré gestationnel. *Revue Française des Laboratoires* ; 357 : 25-29.
- **Trivin. (1998) :** Vers plus de diabétiques. *Annales biologie clinique*. Vol.56 (4). 385- 86.
- **Tsao R. (2010).** Chemistry and Biochemistry of Dietary Polyphenols. *Nutrients* 2: 231- 246.

## V

- **Vergés B. (2007).** Physiopathologie de la dyslipidémie du syndrome métabolique et du diabète de type 2. *Nutrition clinique et métabolisme*; 21 : 9–16.
- **Vexiau P. (2011).** <http://www.e-sante.fr/symptomes-diabete-comment-depister-recocement/actualite/375>. Comment dépister précocement le diabète. Consulter le 04/04/2012.

## Z

- **Zoubeidi C. (2004).** Etude des antioxydants dans le *rosmarinus officinalis*. LabiAtea. Thèse de magister. Université de Ouargla.



# *Glossaires*

## Glossaire botanique

- **Angiosperme** : Plante à graines dont l'ovule, fécondé par l'intermédiaire d'un tube pollinique, se transforme en un fruit clos. (Les *angiospermes* portent généralement des fleurs typiques. Elles forment un sous-embranchement, s'opposant aux gymnospermes).
- **Dicotylédones** : Plantes angiospermes (plantes à fleurs) dont la graine contient deux cotylédones.
- **Lamiaceae (labiée)** : Famille de plantes dicotylédones de l'ordre des lamiales.

## Glossaire médical

- **Antifongique** : médicament actif contre les champignons.
- **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
- **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.
- **Anti-tumorale** : qui permet de lutter contre les tumeurs.
- **Cardiovasculaires** : sont les maladies qui concernent le cœur et la circulation sanguine.
- **Diurétique** : terme caractérisant de façon générale ce qui augmente la sécrétion urinaire.
- **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.
- **Hypoglycémie** : est une concentration en sucre dans le sang (glycémie) anormalement basse, associée à des symptômes témoignant du fonctionnement anormal du cerveau, la neuroglucopénie

- **l'insulino-déficience** : désigne une réponse biologique à l'insuline diminuée ou défectueuse in vivo
- **l'insulino-résistance** : c'est une réduction de l'action de l'insuline sur ses tissus cibles.
- **Néoglucogenèse** : aussi appelée **gluconéogenèse** est la synthèse du glucose à partir de précurseurs non-glucidiques
- **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 gastroduodéal.
- **Phytothérapie** : désigne la médecine fondée sur les extraits de plantes et les principes actifs naturels.
- **Radicaux libres** : sont des molécules chimiques instables produites en faible quantité par l'organisme. Ils sont principalement synthétisés dans la cellule lors de réactions avec l'oxygène
- **Glycogénogenèse** : voie métabolique qui permet, dans le foie et le muscle, la synthèse de glycogène à partir du glucose. Son but principal est la mise en réserve du glucose issu d'une alimentation riche en glucides.
- **Glycogénolyse** : la production de glucose à partir de la phosphoryse du glycogène.

# *Annexes*

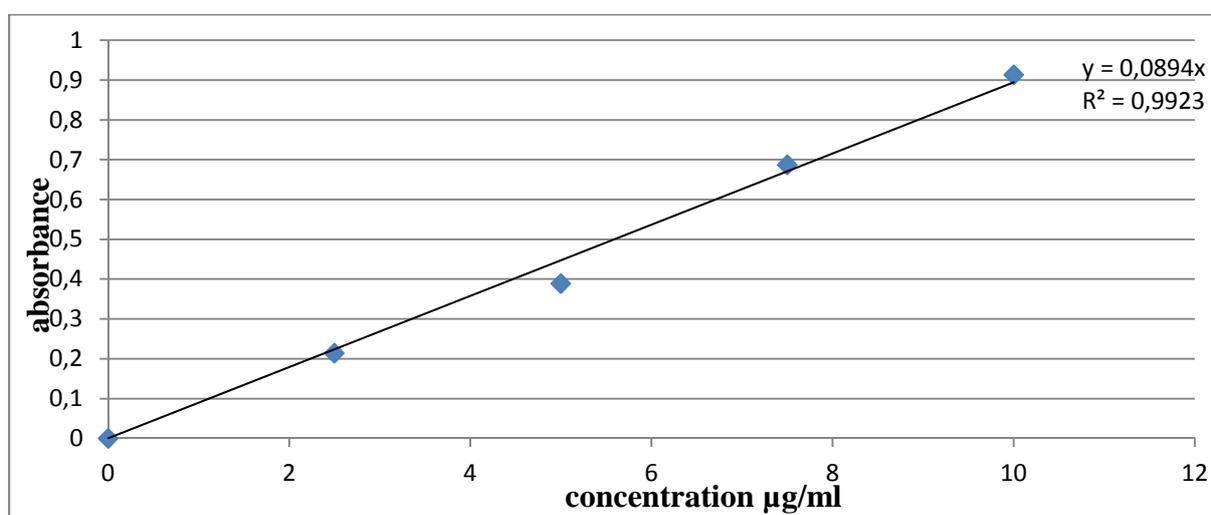
## Annexe I

### Appareillage utilisé

Les appareils utilisés lors des différentes manipulations sont :

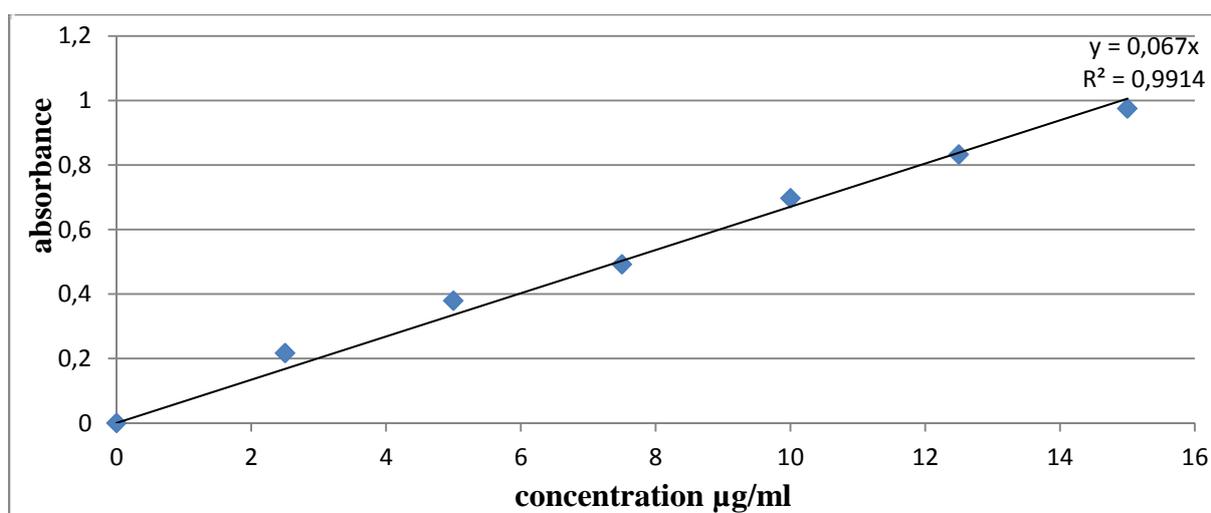
- Agitateur (VELP scientifica),
- Spectrophotomètre (UNICO),
- Vortex (VELP scientifica),
- Bain-marré (BUNSEN),
- Etuve (MMM- groupe),
- Ampoule à décanter,
- PH-mètre (MARTINI instruments),
- Balance de précision (RADWAG),
- Tamiseur (RETSCH),
- L'automate (STP 120),
- Distributeur de paraffine (Leika),
- Réfrigérateur,
- Microtome (Leica RM 2125RT),
- Microscope optique (Leika),
- Plaque chauffante (Leika),
- Sonde intragastrique,
- Glucomètre (OneTouch Ultra, LIFESCAN, Milpitas, CA 95035 USA).

## Annexe II



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

## Annexe III

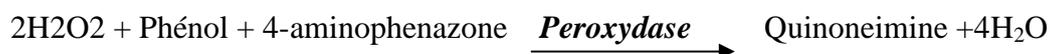
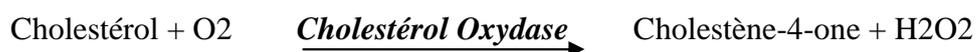


Courbe d'étalonnage de la Quercétine pour le dosage des flavonoïdes.

## Annexe IV

### Principe de dosage de cholestérol

Le cholestérol est mesuré après hydrolyse enzymatique puis oxydative (méthode enzymatique). 10µl du plasma ont été ajoutés à 1ml du réactif de dosage de cholestérol, et après agitation et incubation à température ambiante (37°C/15-25°C) pendant 5 à 10 minutes, l'absorbance a été mesurée à 505nm par spectrophotométrie. L'origine de la coloration donnée est due à la formation d'un complexe selon la réaction suivante (SPINREACT, 2014) :



La quantité de quinoneimine formée est proportionnelle à la concentration du cholestérol et le taux du cholestérol total est calculé selon la formule suivante :

**Do (échantillon)**

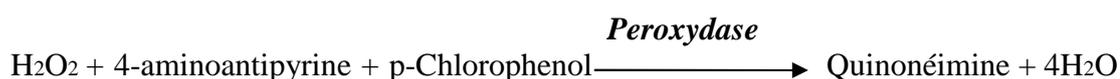
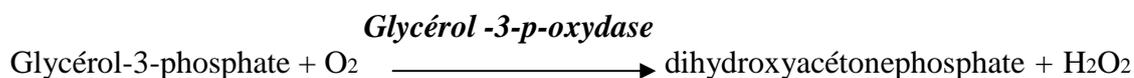
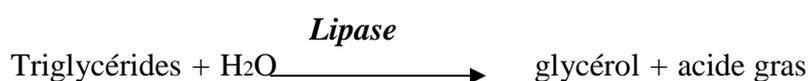
$$X = \frac{\text{Do (échantillon)}}{\text{Do (standard)}} \times 200, \text{ (la concentration de standard) = mg/dl de cholestérol dans l'échantillon.}$$

**Do (standard)**

**Le facteur de conversion** = mg/dl  $\times$  0.0258 = mmol/L.

### Principe de dosage de triglycéride

Les triglycérides de l'échantillon sont incubés avec les lipoprotéine lipases (LPL), qui libèrent le glycérol et les acides gras libres. Le glycérol est converti en glycérol-3-phosphate (G3P) et adénosine-5-phosphate (ADP) par le glycérol kinase en présence d'ATP. Le glycérol-3-phosphate est convertie par la suite par le glycérol phosphate déshydrogénase (GPO) en dihydroxyacétone phosphate (DAP) et peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Dans la dernière réaction, le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) réagit avec le 4-aminophénazone (4-AP) et le p-chlorophénol en présence de peroxydase (POD), ce qui donne une couleur rougeâtre (SPINREACT, 2013).



Expérimentalement, 10µl du plasma ont été ajoutés à 1ml du réactif de dosage des triglycérides, et après agitation et incubation à température ambiante (37°C/15-25°C) pendant 5 à 10 minutes, l'absorbance a été mesurée par spectrophotométrie à 505nm. Le taux des triglycérides est calculé selon la formule suivante :

$$\mathbf{X} = \frac{\mathbf{Do} \text{ (échantillon)}}{\mathbf{Do} \text{ (standard)}} \times \mathbf{200}, \text{ (la concentration de standard) = mg/dl de triglycérides dans l'échantillon}$$

**Facteur de conversion :** mg/dl x 0.0113=mmol/dl

## Résumé :

Le présent travail a eu pour objectif d'évaluer l'effet antidiabétique des fractions riche en flavonoïde extraits de feuilles d'une plante médicinale de la pharmacopée traditionnelle. Il s'agit de *Rosmarinus officinalis* (Labiée) ; une plante spontanée, aromatique ; largement répandue dans le bassin méditerranéen et très connus pour ses vertus thérapeutiques variées (anti-inflammatoire, anti-oxydante, antidiabétique...).

L'étude a été réalisés sur des souris males « *Swis albinos* » rendues diabétiques par la streptozotocine. Basée essentiellement sur différents tests : la mesure de la glycémie (effet hypoglycémiant et, anti hyperglycémiant), le profil lipidique (cholestérol, triglycéride, LDL) avec une étude histologique des pancréas pour démontrer l'effet bénéfiques des différents extraits testés.

A l'issue de ce travail, il ressort que les déférents extraits testés, spécifiquement les fractions butanoliques et éther di-éthylique (glycosylés et aglycones) ont effet hypoglycémiant confirmé par régénération des cellules pancréatiques.

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

## Abstract:

This work aimed to evaluate the antidiabetic effect of the rich fraction of flavonoids leaves extract from medicinal plant of traditional pharmacology. It is about *Rosmarinus officinalis* (Labiée); a spontaneous plant that is widespread in the Mediterranean basin and well known of its great and varied power of therapy (anti-inflammatory, Antioxidant, antidiabétique...).

The study was carried out on male mouse "Swis albino" returned diabetics by the streptozotocine. The study were based primarily on various tests: the measurement of the glycemia (effect hypoglycemia and anti hyperglycemia), lipidic profile (cholesterol, triglyceride, LDL) with a histological study of the beneficial pancreases to show the effect of the various extracts tested.

At the conclusion of this work, it arises that the deferent extracts tested, spécifiquement the butanolic fractions and di-ethyl ether (glycosyl and aglycones) have hypoglycémiant effect confirmed by regeneration of the pancreatic cells .

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

يهدف العمل الحالي الى تقييم تأثير الجزيئات الغنية من الفلافونويد ضد داء مرض السكري المستخلصة من اوراق عشبة طبية معروفة ففي التقليدي تدعى اكليل الجبل هي معطرة كثيرة الاستخدام في عديد من مناطق البحر الابيض المتوسط لعلاج الكثير من الامراض ( ضد الالتهاب - - - )

الدراسة اجريت على فئران من نوع سويس البنوس اصيبت بالداء السكري بواسطة مادة كيميائية ( ستربتوزوتوسين) و هذه الدراسة ارتكزت اساس على مختلف الاختبارات قياس نسبة السكر في الدم - نسبة الدهون-وكذا دراسة تشريحية للبنكرياس لدليل على نسبة تأثير مختلف الجزيئات المختبرة

في الاخير اكدت النتائج ان جزيئات عشبة اكليل الجبل بلخصوص جزيئات البوتانول و ايثر دي اثيليك ( الجلوكوزية و غير جلوكوزية ) لها تأثير في خفض نسبة السكر في الدم من خلال تجديد خلايا البنكرياس

- اكليل الجبل -

- فلافونويد-

الكلمات الرئيسية