



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
جامعة محمد البشير الإبراهيمي برج بوعريريج  
Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A.  
كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الارض والكون  
قسم العلوم البيولوجية  
Département des Sciences Biologiques



# Mémoire

\*\_

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine Des Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie

## Thème

**Effet du glucose sur le statut oxydatif du sérum  
humain et rôle d'antioxydants naturels**

Présenté par : Chouiteh Amani  
Zitouni Manel

Devant le jury :

Président : M <sup>me</sup> NASRI Meriem	MCB	(Univ Bordj Bou Arreridj)
Examineur : M <sup>me</sup> GUERGOUR Hassina	MCB	(Univ Bordj Bou Arreridj)
Encadrant: M <sup>r</sup> BELLIK Yuva	MCA	(Univ Bordj Bou Arreridj)

Année universitaire : 2018/2019

# **Remerciements**

*Avant tout, nous remercions **Dieu Allah** le tout puissant de nous avoir donné la force, le courage et la patience pour réaliser ce travail.*

*Au terme de ce travail, nous tenons à exprimer nos profondes reconnaissances et à remercier :*

*Notre encadrant Mr BELLIK Yuva pour les orientations et les conseils qu'il n'a pas manqué de nous prodiguer durant la réalisation de ce travail, et pour sa patience et sa compréhension.*

*Nos remerciements s'adressent également à Mme. GUERGOUR qui nous a fait l'honneur de présider le jury de notre soutenance et à Mme. NASRI qui a bien voulu accepter d'examiner ce travail.*

*Nous remercions particulièrement l'équipe du laboratoire de Biochimie, Microbiologie et Phytopathologie qui ont accepté de nous faire partager leur expérience pour ce travail.*

*En fin nous remercions tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail.*

## Dédicace

*Je dédie ce modeste travail à mes chers parents, sources de mes joies et secret de ma force, vous serez toujours le modèle : mon père dans ta détermination, ta force et ton honnêteté, ma mère dans ta bonté, ta patience et ton dévouement pour nous. Merci pour vos sacrifices.*

*C'est à vous que je dois cette réussite.*

اللَّهُمَّ اغْفِرْ لِي وَلِوَالِدَيَّ، وَارْحَمْهُمَا كَمَا رَبَّيْتَنِي صَغِيرًا،  
وَاجْزِهِمَا بِالْإِحْسَانِ إِحْسَانًا، وَبِالسَّيِّئَاتِ عُفْرَانًا

*À mon mariée : Mekhalifa Said*

*À mes frères : Hamoudi et Mahdi.*

*À mes sœurs : Meriem, Halima, Fayza, Nahla et Noor.*

*À toute ma famille et mes amies.*

*À tous ceux qui m'aiment.*

*Amani*



# *Dédicace*

*Je dédie se mémoire a :*

*Mes chers parents*

*Qui n'ont jamais cessé de formuler des prières à mon  
égard, de leur encouragement continu et leur soutien  
permanent,*

*De m'épauler pour que je puisse atteindre mes objectifs.*

*A mes frères : ayoub, mohamed et younes*

*A ma chère cousine ahlem pour ses soutiens moral et leurs  
conseils*

*A toute ma famille et mes amis*

*Et à tous qui ont contribué de près ou de loin pour que ce  
mémoire soit possible,*

*je vous dis merci.*

*Manel*



## *Liste des abréviations*

**ABTS** : Acide 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique).

**ADN** : Acide désoxyribonucléique.

**ART** : *Artemisia herba alba*.

**ATP** : Adénosine triphosphate.

**CAT** : Catalase.

**DPPH** : 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl.

**EROs** : Espèces réactives oxygénées.

**UDP-Glc Nac** : uridine diphosphate N acétyl glucosamine.

**GFAT** : Glutamine fructose 6 phosphate amino transférase.

**GPx** : Glutathion peroxydase.

**GR** : Glutathion réductase.

**GSH** : Glutathion réduit.

**GSSG** : Glutathion dissulfite.

**DID** : Diabète insulino-dépendant.

**kD** : kilodalton.

**MDA** : Malondialdéhyde.

**MS** : Matière sèche.

**DNID** : Diabète non-insulino-dépendant.

**OMS** : Organisation mondiale de la santé.

**PTDG** : Produit terminaux de glycation

**PKC** : Protéine kinase C.

**RE** : Réticulum endoplasmique.

**RM** : *Rosmarinus officinalis*.

**SOD** : Superoxyde dismutase.

**SAT** : Statut antioxydant total.

**TBARS** : les substances réactives à l'acide thiobarbiturique.

**4-HNE** : 4 hydroxynonanal.

## *Liste des figures*

<b>Figure</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>1</b>	Le diabète dans le monde (2010) (source : International Diabetes Federation)	5
<b>2</b>	Voies activées par l'hyperglycémie.	8
<b>3</b>	Pathogénèse du diabète de type 2 en relation avec le stress du réticulum endoplasmique	12
<b>4</b>	Les principaux dommages oxydatifs médiés à l'ADN par les EROs.	13
<b>5</b>	Nature de quelques modifications des chaînes latérales d'acides aminés des protéines après attaque radicalaire.	14
<b>6</b>	Mécanisme de la peroxydation lipidique.	14
<b>7</b>	Relation entre l'hyperglycémie et le stress oxydant.	15
<b>8</b>	Structure de la catalase	17
<b>9</b>	Romarin séché	23
<b>10</b>	Poudre fine de romarin.	23
<b>11</b>	Armoise séché	23
<b>12</b>	Poudre fine d'armoise	23
<b>13</b>	Protocole d'extraction des polyphénols totaux.	24
<b>14</b>	Dosage des phénols totaux	25
<b>15</b>	Dosage des flavonoïdes totaux.	25
<b>16</b>	Protocole du test DPPH	26
<b>17</b>	Teneur en composés phénoliques de <i>Rosmarinus officinalis</i> et d' <i>Artemisia herba alba</i>	29
<b>18</b>	Teneur en composés flavonoïdes de <i>Rosmarinus officinalis</i> et d' <i>Artemisia herba alba</i> .	31
<b>19</b>	Activité anti radicalaire (DPPH) des extraits de <i>Rosmarinus officinalis</i> et d' <i>Artemisia herba alba</i> .	32
<b>20</b>	Statut antioxydant total du sérum humain en présence d'extraits de <i>Rosmarinus officinalis</i> et d' <i>Artemisia herba alba</i> et sous l'action de différentes concentrations de glucose.	34
<b>21</b>	Activité enzymatique de la catalase du sérum humain en présence d'extraits de <i>Rosmarinus officinalis</i> et d' <i>Artemisia herba alba</i> et sous l'action de différentes concentrations de glucose.	36

## **Liste des tableaux**

<b>N°</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>I</b>	Les espèces réactives d'oxygène.	10
<b>II</b>	Classification botanique de l'espèce <i>Rosmarinus officinalis</i>	19
<b>III</b>	Classification botanique de l'espèce <i>Artemisia herba-alba</i> .	21
<b>IV</b>	Teneur en polyphénols de <i>Rosmarinus officinalis</i> et d' <i>Artemisia herba alba</i> .	29
<b>V</b>	Teneur en flavonoïdes de <i>Rosmarinus officinalis</i> et d' <i>Artemisia herba alba</i> .	31

# Sommaire

<b>Introduction</b> .....	01
 <b>Chapitre I : Partie bibliographique</b>	
<b>I.1. Le sang</b> .....	03
I.1.1. Définition et composition .....	03
I.1.2. Le Sérum.....	04
I.1.3. Définition et composition .....	04
<b>I.2. Diabète</b> .....	05
I.2.1. Définition.....	05
I.2.2. L'hypoglycémie.....	05
I.2.3. L'hyperglycémie.....	06
I.2.4. Symptômes .....	06
I.2.5. Classification.....	07
I.2.5.1. Le diabète de type 1.....	07
I.2.5.2. Le diabète de type 2.....	07
I.2.5.3. Le diabète gestationnel.....	07
I.2.6. Complications.....	08
I.2.7. Toxicité du glucose.....	08
<b>I.3. Le stress oxydatif</b> .....	09
I.3.1. Définition.....	09
I.3.2. Les radicaux libres.....	09
I.3.2.1. Les espèces réactives de l'oxygène.....	09
I.3.2.2. Définition.....	09
I.3.3. Les sources endogènes.....	10
I.3.3.1. La mitochondrie.....	10
I.3.3.2. La NADPH oxydase.....	11
I.3.3.3. Peroxysomes.....	11
I.3.3.4. Xanthine oxydase.....	11
I.3.3.5. Le réticulum endoplasmique.....	11

I.3.4. Les sources exogènes.....	12
<b>I.4. Les conséquences du stress oxydant .....</b>	<b>12</b>
I.4.1. Oxydation de l'ADN.....	13
I.4.2. Oxydation des composés protéiques.....	13
I.4.3. Oxydation des composés lipidiques.....	14
I.4.4. Oxydation des glucides.....	15
<b>I.4.5. Relation entre le diabète et stress oxydatif.....</b>	<b>15</b>
<b>I.5. Systèmes de défenses antioxydants.....</b>	<b>16</b>
I.5.1. Système antioxydant enzymatique.....	16
I.5.1.1. Superoxyde dismutase (SOD) .....	16
I.5.1.2. Glutathion peroxydase (GPx) .....	16
I.5.1.3. Catalase (CAT) .....	16
I.5.2. Systèmes antioxydant non enzymatiques.....	17
I.5.2.1. Les vitamines.....	17
I.5.2.1.1. Vitamine c.....	17
I.5.2.1.2. Vitamine E.....	17
I.5.2.1.3. Vitamine A.....	17
I.5.2.2. Les oligo-éléments.....	18
I.5.2.2.1 Le cuivre.....	18
I.5.2.2.2. Le selenium.....	18
I.5.2.2.3. Le zinc.....	18
I.5.2.3. Les composés phénoliques.....	18
I.5.2.1.4. Les flavonoïdes.....	18
<b>I.6. L'espèce <i>Rosmarinus officinalis</i>.....</b>	<b>19</b>
I.6.1. Définition .....	19
I.6.2. Classification .....	19
I.6.3. Description.....	19
I.6.4. Substances bioactives.....	20
I.6.5. effets thérapeutiques.....	20
<b>I.7. L'espèce <i>Artemisia herba-alba</i>.....</b>	<b>21</b>

I.7. 1. Définition.....	21
I.7. 2. Classification.....	21
I.7.2.3. Description botanique.....	21
I.7.2.4. Composition chimique.....	22
I.7.2.5. Usage thérapeutique.....	22

## **Chapitre II : Matériel et méthodes**

<b>II.1. Matériel végétal.....</b>	<b>23</b>
<b>II.1.2. Extraction des composés bioactifs.....</b>	<b>23</b>
<b>II.3. Dosage des composés phénoliques.....</b>	<b>24</b>
II.3.1. Principe.....	24
II.3.2. Protocole expérimentale.....	24
<b>II.4. Dosage flavonoïdes.....</b>	<b>25</b>
II.4. 1. Principe.....	25
II.4. 2. Protocole expérimentale.....	25
<b>II.5 Mesure de l'activité antioxydante.....</b>	<b>26</b>
<b>II.5.1. Evaluation du pouvoir antiradicalaire.....</b>	<b>26</b>
II.5.1.1. Principe.....	26
<b>II.5.2. Evaluation du statut antioxydant total.....</b>	<b>27</b>
II.5. 2.1. Préparation du sérum .....	27
II.5. 2.3. Protocole expérimental.....	27
<b>II.5. 3. Dosage de l'activité enzymatique de la catalase.....</b>	<b>28</b>
II.5. 3.1. Protocole expérimental.....	28
<b>II.6. Analyse statistique.....</b>	<b>28</b>

## **Chapitre III : Résultats et discussion**

III.1. Teneur en polyphénols totaux.....	29
III.2. Teneur en flavonoïdes totaux.....	30
III.3. Activité antioxydante DPPH.....	31
III.4. Statut antioxydant total.....	32
III.5. Activité enzymatique de la de catalase.....	34
<b>Conclusion.....</b>	<b>36</b>

# *Introduction*

## **Introduction**

A travers les siècles, les traditions humaines ont su développer la connaissance et l'utilisation des plantes médicinales pour objectif de vaincre la souffrance et d'améliorer l'état de santé de l'homme (**Iserin et al, 2001**). Cependant, depuis l'ère industrielle, on a assisté à une évolution considérable des modes de vie de l'homme moderne, voyant ainsi l'apparition de nouvelles technologies modifiant ses habitudes, notamment dans le domaine de l'alimentation.

Les pays industrialisés sont désormais confrontés à des modes de vie qui associent une alimentation peu équilibrée (riche en sucres et en graisses, restauration rapide...) et une sédentarité croissante (manque d'activité physique). Cette évolution dans nos comportements alimentaires et sanitaires explique l'apparition et le développement fulgurant de maladies métaboliques comme l'obésité et le diabète.

Le diabète est une maladie considérée par l'OMS comme une épidémie et dont la prévalence a augmenté de façon très importante au cours de ces dernières années, près de 220 millions d'individus sont affectés en 2011, un nombre qui pourrait bien doubler d'ici 2030. En Algérie le taux d'atteinte du diabète est passé de 8% à 16% entre 1998 et 2013 (**Malek, 2008**). Ces estimations concernent la population Algérienne âgée de 20 à 75 ans.

Il est maintenant admis que l'augmentation du flux de glucose dans les milieux extra et intracellulaires induit un stress oxydant qui favorise le développement de la maladie en perturbant l'insulino-sécrétion et favorisant l'insulino-résistance (**Adoui et al, 2016**). De plus, le glucose, à des concentrations élevées, augmente à la fois la production d'oxydants et altère les défenses anti-oxydantes par de multiples voies d'interaction. Par ailleurs, de nombreuses études ont montré que l'accumulation de glucose intracellulaire peut augmenter la peroxydation de la membrane des cellules prédisposant aux altérations de la membrane et de l'intégrité cellulaire (**Jain, 1989**).

L'objectif du présent travail vise à étudier le potentiel antioxydant des extraits de plantes sur le sérum humain, un compartiment en constante exposition au stress oxydant. Notre démarche consiste, d'une part, en l'extraction des substances actives d'*Artemisia herba-alba* et de *Rosmarinus officinalis* avec dosage de leurs teneurs en composés phénoliques et en flavonoïdes, et d'autre part, l'étude de l'effet de ces substances sur l'activité enzymatique de la catalase et le statut antioxydant total sous l'action de concentrations croissantes en glucose.

# *Chapitre I. Partie bibliographique*

## I.1. Le sang

### I.1.1. Définition et composition

Le sang est un tissu liquide, circulant à l'intérieur d'un système vasculaire clos. Il est formé de cellules vivantes en suspension dans une solution aqueuse de composition complexe : le plasma. Grâce à la circulation, il remplit un certain nombre de fonctions nécessaires à la vie :

- échanges respiratoires et nutritifs (protéines, nutriments, hormones, vitamines, minéraux, déchets, médicaments),
- régulation de la constance du milieu intérieur,
- répartition et égalisation de la chaleur,
- défense de l'organisme contre les agressions virales, bactériennes, mycosiques.

Le battement cardiaque est l'élément dynamique qui induit et entretient le transport du sang. Pour que ce transport soit assuré correctement, certaines conditions sont requises :

- une pompe cardiaque de bonne qualité,
- le maintien du volume sanguin circulant à un niveau suffisant.

Le sang est composé de deux parties :

- **une phase liquide, le plasma**, composé d'eau (90 %) et de substances solubles : protéines (albumine, globulines), glucides, lipides, sels minéraux. Sorti du système vasculaire ou sous l'effet de certains stimuli, le plasma coagule : l'une de ses protéines, le fibrinogène, soluble, se transforme en un gel insoluble de fibrine. Ce qui reste liquide après coagulation du plasma est le sérum.
- **des cellules**, séparables par centrifugation, représentées par 3 catégories : les globules rouges, les globules blancs, et les plaquettes.

Dans le sang circulant, la partie liquide est désignée sous le nom de plasma ; tandis qu'après coagulation, le liquide exsudé du caillot est appelé sérum. Ces deux liquides diffèrent l'un de l'autre : le plasma contient une protéine, le fibrinogène, qui est transformée en fibrine dans le sérum.

**I.1.2. Le sérum****I.1.2.1. Définition et composition**

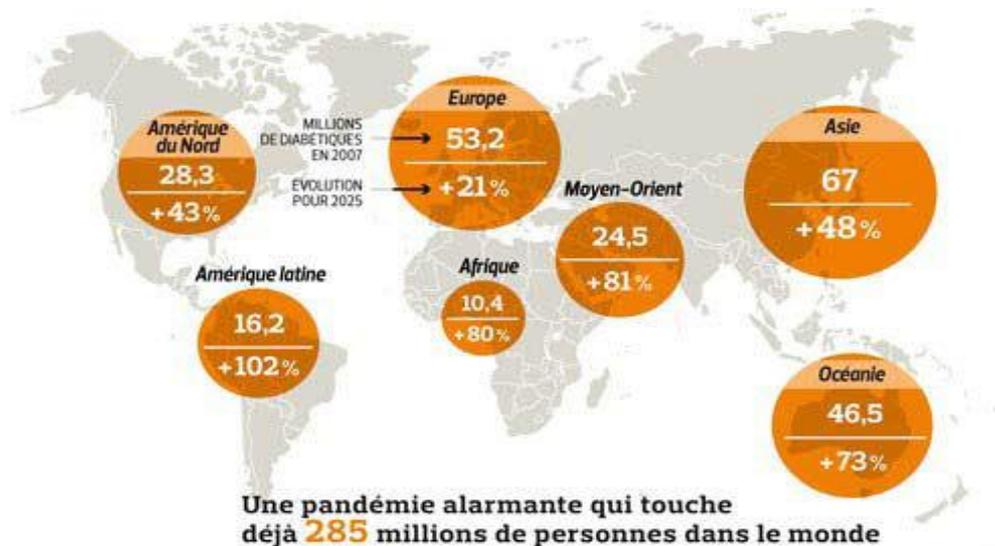
Le sérum est un liquide que l'on retrouve entre les cellules du corps et dans le sang dont il est l'un de ces composants. C'est, en fait, du sang auquel on retire les cellules sanguines (globules rouges, globules blancs, plaquettes) ainsi que les protéines et autres agents intervenant dans la coagulation à la différence du plasma qui contient encore ces facteurs de coagulation.

Il est composé à 90% d'eau dans laquelle baignent des protéines parmi lesquelles l'albumine (la plus importante) et les globulines (immunoglobulines aussi appelées anticorps). On y retrouve, également, des sels minéraux : sodium, potassium, magnésium, chlore, calcium.

## I.2. Le diabète

### I.2.1. Définition

Le diabète est une maladie chronique qui survient lorsque le pancréas ne produit pas assez d'insuline ou lorsque l'organisme n'est pas capable d'utiliser efficacement l'insuline qu'il produit (**IDF DIABETES ATLAS, 2013 ; Grimaldi A, 2009**). Près de 220 millions d'individus sont affectés en 2011, un nombre qui pourrait bien doubler d'ici 2030 (Figure 1). Il en résulte une concentration accrue de glucose dans le sang (hyperglycémie). Le dépistage du diabète est réalisé grâce à une prise de sang à jeûne. On parle de diabète lorsque la concentration de glucose à jeûne dans le sang veineux est supérieure à 1,26 g/l. Au cours de son évolution, le diabète peut engendrer de nombreuses complications touchant le cœur, les reins ou les yeux (**Institut de veille sanitaire France, 2010**).



**Figure 1.** Le diabète dans le monde (2010) (source : International Diabetes Federation)

Le diabète est une maladie chronique qui survient lorsque le pancréas ne produit pas assez d'insuline ou lorsque l'organisme n'est pas capable d'utiliser efficacement l'insuline qu'il produit (**IDF DIABETES ATLAS, 2013 ; Grimaldi A, 2009**). Il en résulte une concentration accrue de glucose dans le sang (hyperglycémie). Le dépistage du diabète est réalisé grâce à une prise de sang à jeûne. On parle de diabète lorsque la concentration de glucose à jeûne dans le sang veineux est supérieure à 1,26 g/l. Au cours de son évolution, le diabète peut engendrer de nombreuses complications touchant le cœur, les reins ou les yeux (**Institut de veille sanitaire France, 2010**).

Il existe deux cas :

### **I.2.2. L'hypoglycémie**

Les malaises hypoglycémiques sont des complications métaboliques aiguës relativement fréquentes au cours du diabète. Ils sont associés aux traitements antidiabétiques qui élèvent le taux d'insuline circulante (**Wémeau et al, 2014**).

Elle relève le plus souvent de surdosage en médicaments hypoglycémisants ou d'apports glucidiques insuffisants. On définit l'hypoglycémie par une glycémie inférieure ou égale à 0,60 g/L (3,3 mmol/L).

### **I.2.3. L'hyperglycémie**

L'état d'hyperglycémie chronique du diabète sucré conduit à un stress oxydant. Une fois entré dans la cellule, le glucose est d'abord converti en glucose-6-phosphate, fructose-6-phosphate, fructose-1,6-diphosphate et deux glycéraldéhyde-3-phosphate, pour être dégradé ensuite en pyruvate. Le pyruvate rejoint alors la mitochondrie et se transforme en acétyl CoA qui continue sa dégradation dans le cycle de Krebs pour sustenter le processus de phosphorylation oxydative et la synthèse d'ATP. Cependant, dans la cellule, principalement lorsque le glucose est excédentaire par rapport à la demande énergétique, six voies de production d'ERO à partir de ses métabolites sont possibles (**Robertson, 2004**).

### **I.2.4. Symptômes**

Les symptômes pour les diabètes de type I et de type II sont les mêmes mais peuvent passer inaperçus (symptômes insidieux) pendant plusieurs années. Cette maladie caractérisée par une hyperglycémie est aussi associée à de sévères complications métaboliques (**Baynes et Thorpe, 1999**).

L'hyperglycémie peut, dans certains cas, causer une polyurie (urines abondantes et fréquentes), de même qu'une polyphagie (augmentation de la faim) et une polydipsie (augmentation de la soif) (**Alberti et Zimmet, 1998**). Même si le diabète s'accompagne de nombreux symptômes mineurs, il reste la cause de nombreuses complications pathologiques comme les maladies cardiovasculaires, l'insuffisance cardiaque, des insuffisances rénales chroniques ou encore des troubles pouvant conduire à la cécité (**Giacco et Brownlee, 2010 ; Grossin et al, 2008**).

Chez certains diabétiques, les symptômes du diabète pouvant être insidieux, la détection du pourcentage d'hémoglobine glyquée (% HbA1c) reste l'un des outils de diagnostic le plus fiable pour vérifier une anomalie dans la régulation de la glycémie. En effet, l'hémoglobine, protéine plasmatique d'une demi-vie de 120 jours, se retrouve glyquée dans le sang et constitue donc un marqueur de diagnostic de l'état diabétique d'un sujet (**Bernard et al, 1995 ; Gillery et al, 1999**).

### **I.2.5. Classification**

Il existe plusieurs types de diabète différents dont le diabète de type 1, le diabète de type 2 et le diabète gestationnel.

#### **I.2.5.1. Le diabète de type 1**

Le diabète de type 1 était autrefois connu sous le nom de diabète insulino-dépendant (DID) ou diabète juvénile, ce type de diabète apparaît le plus souvent pendant l'enfance, à l'adolescence ou au début de l'âge adulte, rarement chez les personnes plus âgées. Il touche environ 10 % des personnes diabétiques. Il se caractérise par la destruction auto-immunitaire des cellules productrices de l'insuline suite à l'infiltration des macrophages dans les îlots de Langerhans. Les gens atteints sont donc dépendants de l'insuline, qui doit être administrée par injection ou d'une pompe à insuline pour assurer sa survie (**Grimaldi, 2009**).

#### **I.2.5.2. Le diabète de type 2**

Le diabète de type-2 ou non insulino-dépendant (DNID) représente 90% de l'ensemble des formes de diabète, il concerne surtout des individus âgés de plus de 40 ans et chez les obèses. Il survient lorsque l'organisme développe une résistance à l'insuline au niveau des tissus périphériques associé à un déficit de sécrétion de l'insuline et perd sa capacité à absorber et à métaboliser le glucose (**Guillausseau et al, 2000**).

#### **I.2.5.3. Le diabète gestationnel**

Le diabète gestationnel ou diabète gravidique est un trouble de la tolérance glucidique de sévérité variable débutant ou diagnostiqué pour la première fois pendant la grossesse (**Blumental et al, 2009**), il touche 4 à 7 % des femmes enceintes et disparaît après l'accouchement (**Buyschaert, 2006**). Cependant, les femmes qui ont fait l'objet de cette manifestation lors de la grossesse (environ 5%) présentent un plus grand risque de développer plus tard un diabète de type 2. Il est à noter que le contrôle du poids après l'accouchement réduit de façon conséquente le risque de développer un future diabète de type 2 (**Yvon, 2010**).

### I.2.6. Complications

Les complications chroniques du diabète représentent aujourd'hui les causes essentielles de morbidité et de mortalité chez le patient diabétique. Les lésions concernant les petits vaisseaux sont appelées microangiopathies. Elles touchent essentiellement le rein ; l'œil et certains nerfs périphériques. Au contraire les atteintes des vaisseaux plus gros ou vaisseaux de conductance sont les macroangiopathies (Auberval, 2010).

### I.2.7. Toxicité du glucose

La toxicité liée à l'hyperglycémie chronique est maintenant bien connue. Différentes voies sont activées en condition d'hyperglycémie et jouent un rôle dans le mécanisme de toxicité du glucose. Parmi ces voies activées par l'hyperglycémie, on peut citer : la voie des polyols, des hexosamines, de la protéine kinase C (PKC) et les voies de formation des produits avancés de glycation (PTDG) (Figure 2).

L'activation de ces voies va entraîner une augmentation de l'inflammation et du stress oxydant.

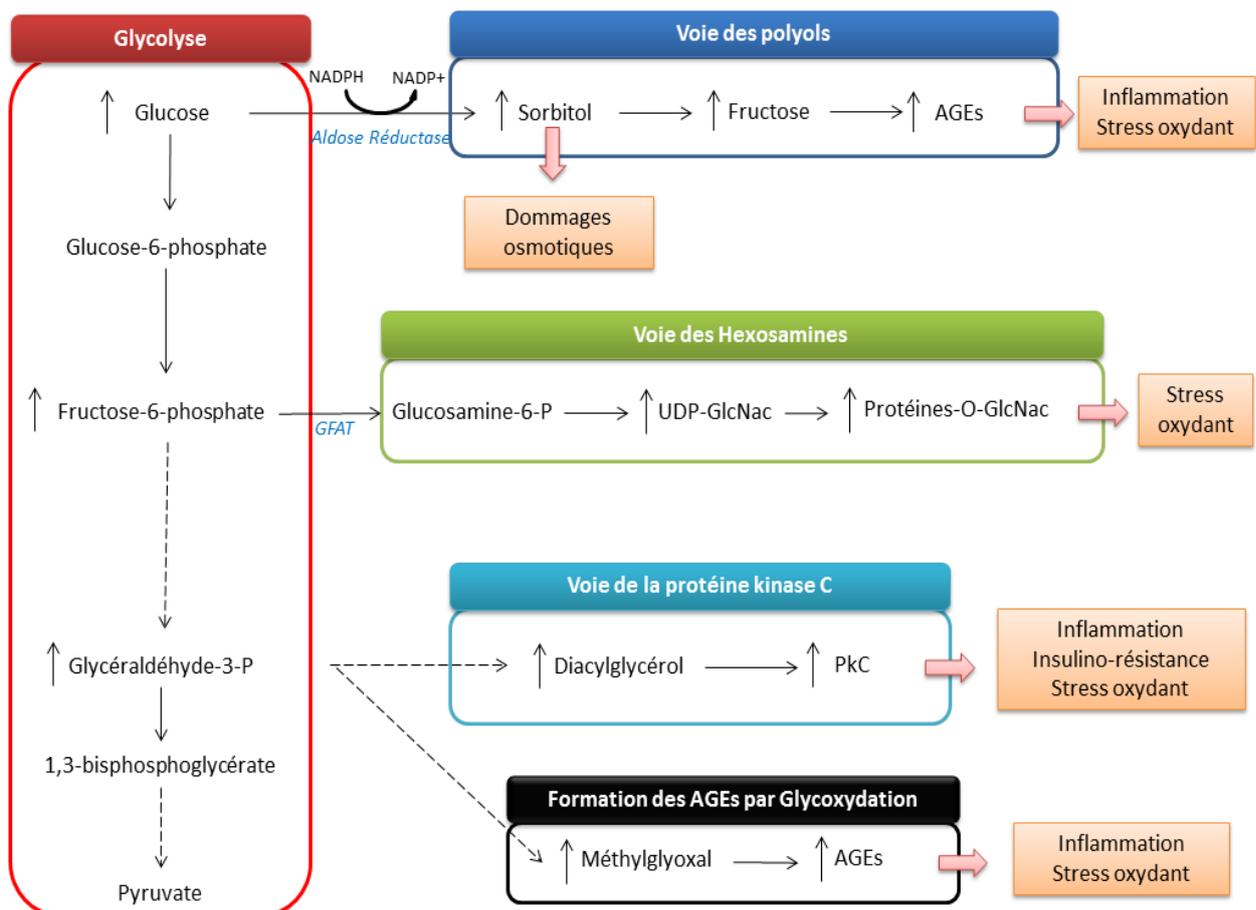


Figure 2 : Voies activées par l'hyperglycémie (Florence, 2016)

### **I.3. Le stress oxydatif**

#### **I.3.1. Définition**

Le stress oxydatif, dénommé également stress oxydant, résulte d'un déséquilibre de la balance « pro-oxydants / antioxydants » en faveur des oxydants, ce qui se traduit par des dommages oxydatifs de l'ensemble des constituants cellulaires : les lipides avec altérations des membranes cellulaires, les protéines avec l'altération des récepteurs et des enzymes, les acides nucléiques avec un risque de mutation et de cancérisation (**Sergent et al, 2000**).

#### **I.3.2. Les radicaux libres**

Un radical libre se définit comme un atome, une molécule ou une espèce chimique contenant un ou plusieurs électrons non appariés sur leur orbitale externe. Ce déséquilibre structural souvent transitoire, peut être comblé par l'acceptation d'autres électrons ou par le transfert d'électrons non appariés vers une autre molécule. La présence d'électrons libres augmente la réactivité des molécules et les rend hautement instables. La probabilité que surviennent les réactions d'acceptation et de transfert d'électrons d'une molécule à une autre dépend essentiellement de l'instabilité du radical libre considéré (**Halliwell, 1999**).

##### **I.3.2.1. Les espèces réactives de l'oxygène**

##### **I.3.2.2. Définition**

L'oxygène est un élément indispensable à l'organisme aérobie et contribue en grande partie à la synthèse de l'énergie stockée sous forme d'ATP par le processus de la phosphorylation oxydative qui se réalise au niveau des mitochondries (**Gutterigde, 1995**).

En biologie les radicaux libres sont formés le plus souvent à partir de l'oxygène d'où leur appellations : les espèces réactives de l'oxygène (EROs) (Tableau I) qui désignent à la fois des espèces radicalaires de l'oxygène et des espèces non radicalaires (**Boeck et Larcier, 2006**).

**Tableau I** : Les espèces réactives de l'oxygène.

EROs	Symbole chimique	Propriétés
L'anion superoxyde	$O_2^{\bullet -}$	Radical formé par la réduction monoélectronique de l'oxygène, peu réactif mais toxique ( <b>Lee et al, 2004</b> ).
Le radical hydroxyle	$OH^{\bullet}$	L'espèce radicalaire la plus réactive de l'oxygène, à une demi-vie extrêmement courte d'environ $10^{-9}$ s, capable de réagir très rapidement avec la plupart des biomolécules (ADN, protéines et lipides), ( <b>Bartosz, 2003</b> ).
L'oxygène singulet	$^1O_2$	La forme excitée de l'oxygène moléculaire, est souvent assimilé à un radical libre en raison de sa forte réactivité ( <b>Hadi, 2004</b> ).
Le peroxyde d'hydrogène	$H_2O_2$	C'est une molécule non radicalaire, stable, présente une toxicité importante ( <b>Binove, 2001</b> ).

Il existe plusieurs sources de production des radicaux libres soit des sources endogènes, des sources exogènes mais aussi d'autres voies aboutissant à la formation de ces espèces radicalaires.

### I.3.3. Les sources endogènes

#### I.3.3.1. La mitochondrie

La mitochondrie est le principal organite producteur d'énergie sous forme d'ATP. Elle est aussi considérée comme la plus grande source de production des EROs. La production physiologique des EROs par la mitochondrie est de l'ordre de 0,2 à 0,4 % de l'oxygène consommé (**Hansford et al, 1997 ; Sanz et Stefanatos, 2008**). Il a été démontré que les complexes I et III de la chaîne respiratoire sont responsables de la production d'anion superoxyde (**Barja, 1999 ; Chen et al, 2003**). L'anion superoxyde est ensuite rapidement converti en  $H_2O_2$  par le superoxyde dismutase (SOD).

### I.3.3.2. La NADPH oxydase

C'est une oxydase liée à la membrane plasmique des macrophages et des polynucléaires principalement, où elle joue un rôle fondamental dans la réponse immunitaire, dans la lutte contre les micro-organismes et la destruction du matériel phagocyté (**Droge, 2002**). Elle est capable d'utiliser l'oxygène moléculaire ( $O_2$ ) pour produire de grandes quantités de l'anion superoxyde au niveau de la membrane cellulaire (**Fontaine et al, 2002**).

### I.3.3.3. Les peroxysomes

Le peroxysome est une source importante de  $H_2O_2$ . Il a d'abord été établi que la fonction du peroxysome était la dégradation de l' $H_2O_2$  via la catalase peroxysomale (**Schrader et Fahimi, 2006**). Cependant, il semblerait que les peroxysomes soient impliqués dans plusieurs processus biologiques. Ils participent par exemple à la  $\beta$ -oxydation des acides gras.

La présence d'un stress oxydant va entraîner une augmentation du nombre de peroxysome.

### I.3.3.4. La xanthine oxydase

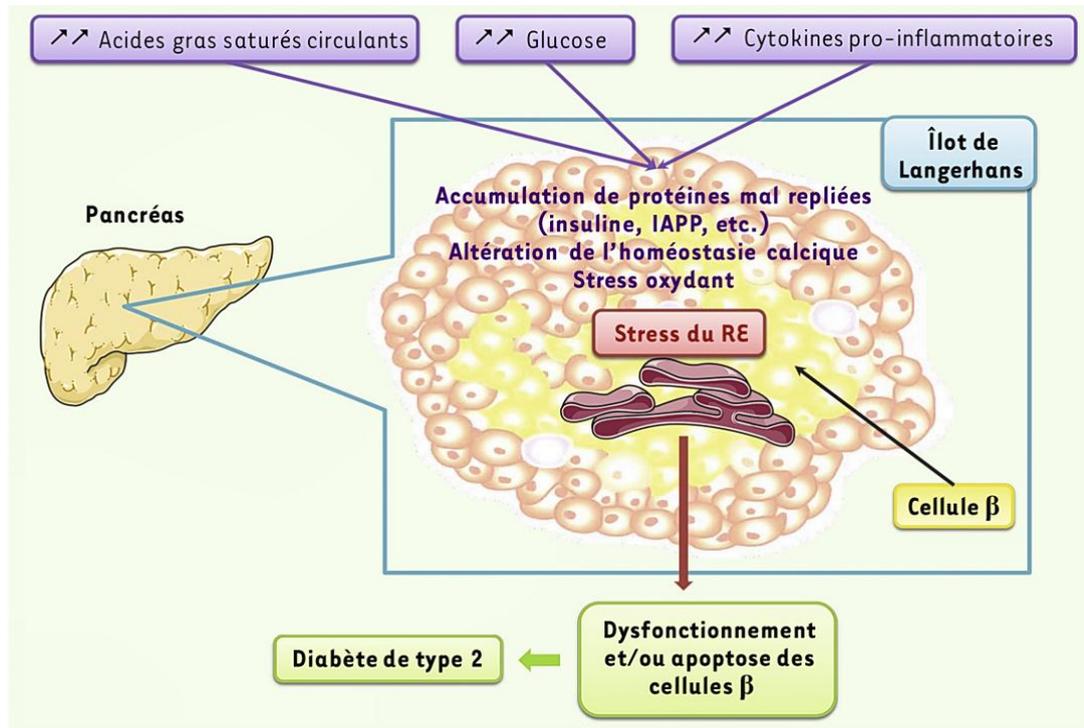
La xanthine oxydase est une enzyme cytosolique qui génère des EROs en réduisant l'hypoxanthine en xanthine ainsi que la xanthine en acide urique (**Harrison, 2002**). Cette enzyme est surtout présente dans le foie mais peut se retrouver dans la circulation en cas d'atteinte hépatique. La production des EROs par la xanthine oxydase est faible en condition physiologique mais jouerait un rôle important lors de l'ischémie-reperfusion. Dans le cas de l'ischémie, la grande consommation de l'ATP conduit à une accumulation d'hypoxanthine et de xanthine et donc une production des EROs plus importante.

Au cours de la pathologie diabétique l'accumulation d'acide urique participe à la progression de la néphropathie diabétique. Il a été démontré que lorsque l'on bloque la xanthine oxydase grâce à des inhibiteurs, on observe une diminution de la concentration en acide urique et également une réduction des dommages liés au diabète (**Lytvyn et al, 2015**).

### I.3.3.5. Le réticulum endoplasmique

Les cellules  $\beta$ -pancréatiques possèdent un réticulum endoplasmique (RE) très développé qui est responsable de la production d'insuline. Dans le cadre de la pathologie diabétique, on pourra avoir une production importante d'insuline par le RE (**Quan et al, 2013 ; Keane et al, 2015**). Or, lorsque le RE est soumis à une demande constante de production de protéines, comme dans des conditions d'hyperglycémie chronique, les protéines synthétisées pourront être mal repliées et/ou

non fonctionnelles. L'accumulation de protéines mal repliées peut contribuer à l'installation d'un stress oxydant (Figure 3) (Keane *et al*, 2015 ; Eizirik *et al*, 2013).



**Figure 3** : Pathogénèse du diabète de type 2 en relation avec le stress du réticulum endoplasmique.

#### I.3.4. Les sources exogènes

En plus des sources endogènes, il existe des sources exogènes liées le plus souvent à une mauvaise hygiène de vie. Parmi ces sources exogènes, on peut citer le tabagisme, l'alcool ou la consommation d'huiles oxydées ainsi que des agents physiques tels que les UV, la chaleur ou certains polluants (Riché, 2008).

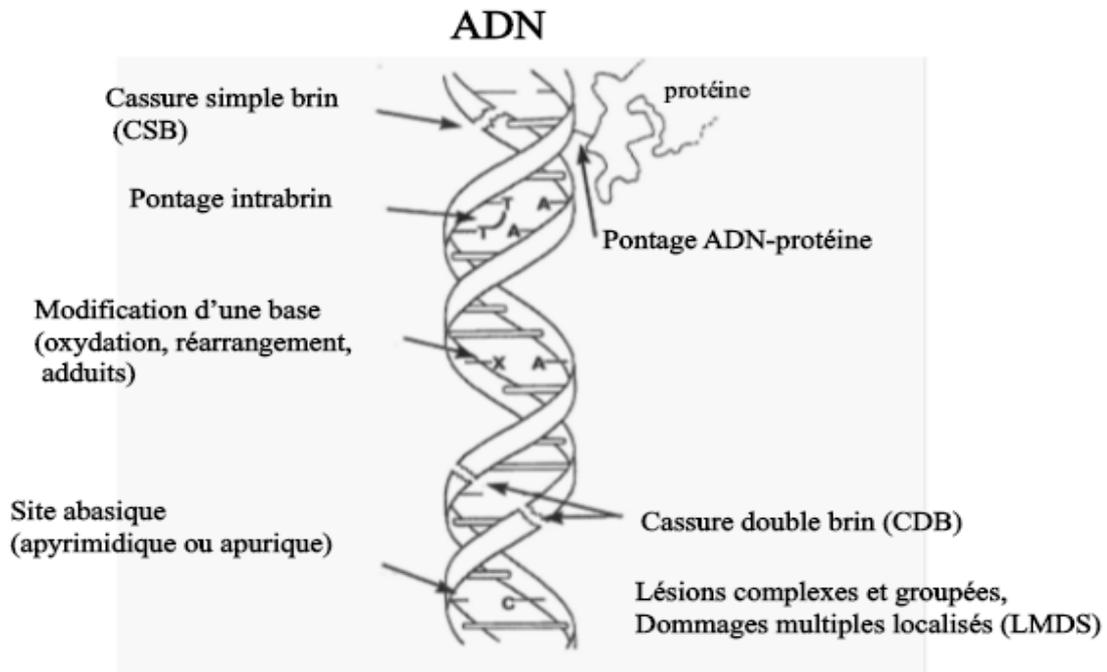
De plus certains métaux tels que le cuivre ou le fer, lorsqu'ils sont apportés en excès peuvent générer des EROs (Halliwell B *et al*, 1990).

#### I.4. Conséquences du stress oxydant

Les cibles principales sont l'ADN et les lipides membranaires et de manière moins importante les protéines et les glucides.

### I.4.1 Oxydation de l'ADN

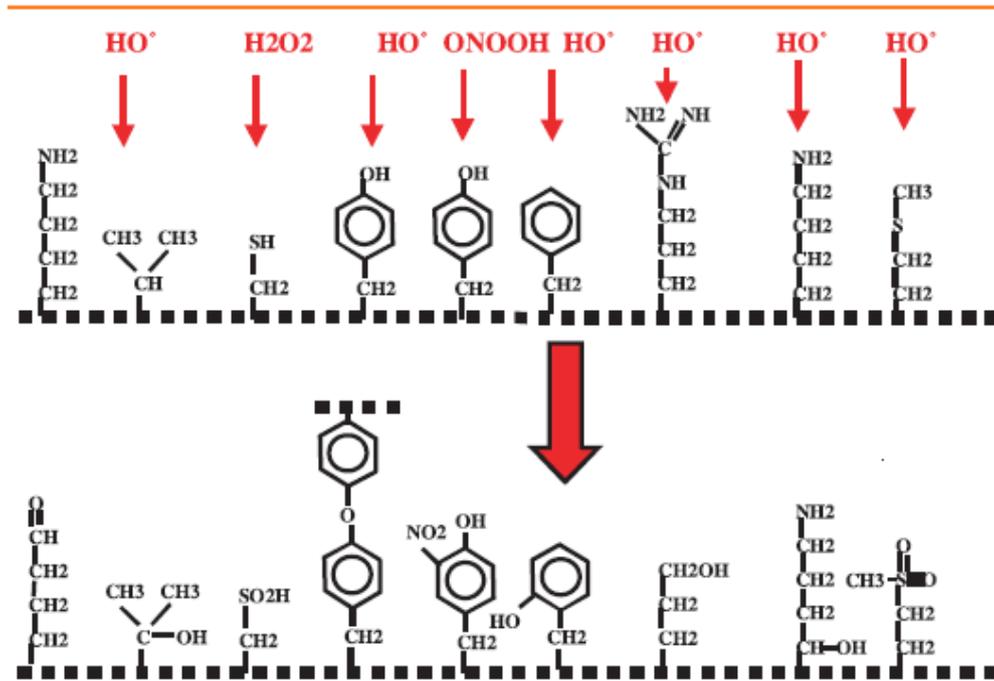
Les radicaux libres peuvent induire des effets mutagènes, l'arrêt des réplifications des ADN nucléaires et mitochondriaux, l'arrêt de l'induction de la transcription ou de la transduction des voies de signalisation. Ils agissent en provoquant des altérations de bases, des pontages ADN-protéines ou des ruptures de brins (Figure 4) (Hadi, 2004 ; Valko *et al*, 2006).



**Figure 4 :** Les principaux dommages oxydatifs médiés à l'ADN par les EROs (Averbeck, 2006).

### I.4.2. Oxydation des composés protéiques

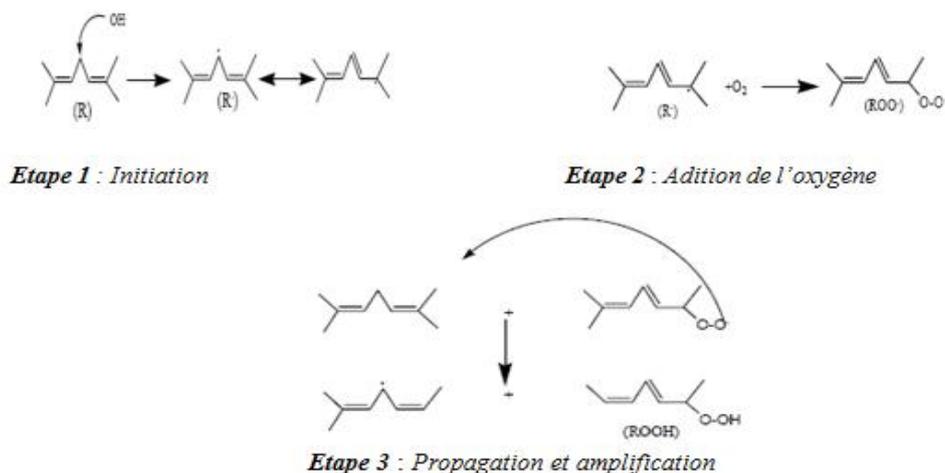
Les dommages oxydatifs induits sur les protéines par les radicaux libres peuvent conduire à des modifications structurales (dimérisation, fragmentation, modification des acides aminés) et / ou fonctionnelles (perte de l'activité enzymatique, altération du processus de protéolyse). Les acides aminés les plus sensibles à leur action sont le tryptophane, la tyrosine, la phénylalanine, la méthionine et la cystéine (Figure 5). Ainsi le stress oxydant peut avoir un effet sur la fonction propre d'une protéine mais peut également avoir des répercussions sur l'ensemble de la régulation cellulaire (Kruidenier *et al*, 2002 ; Valko *et al*, 2006).



**Figure 5** : Nature de quelques modifications des chaînes latérales d'acides aminés des protéines après attaque radicalaire (Favier, 2003).

### I.4.3. Oxydation des composés lipidiques

Les acides gras polyinsaturés ainsi que les phospholipides membranaires sont les cibles privilégiées des attaques oxydatives. Les membranes sont plus particulièrement visées par le radical hydroxyle capable d'arracher un atome d'hydrogène sur les carbones situés entre deux doubles liaisons pour former un radical diène conjugué, oxydé en radical peroxyde (Figure 6). Cette réaction est appelée la peroxydation lipidique dont le radical peroxyde peut, quant à lui, libérer différents aldéhydes toxiques comme le malondialdéhyde (MDA) (Kruidenier *et al*, 2002 ; Valko *et al*, 2006).



**Figure 6** : Mécanisme de la peroxydation lipidique (Gardès *et al*, 2003).

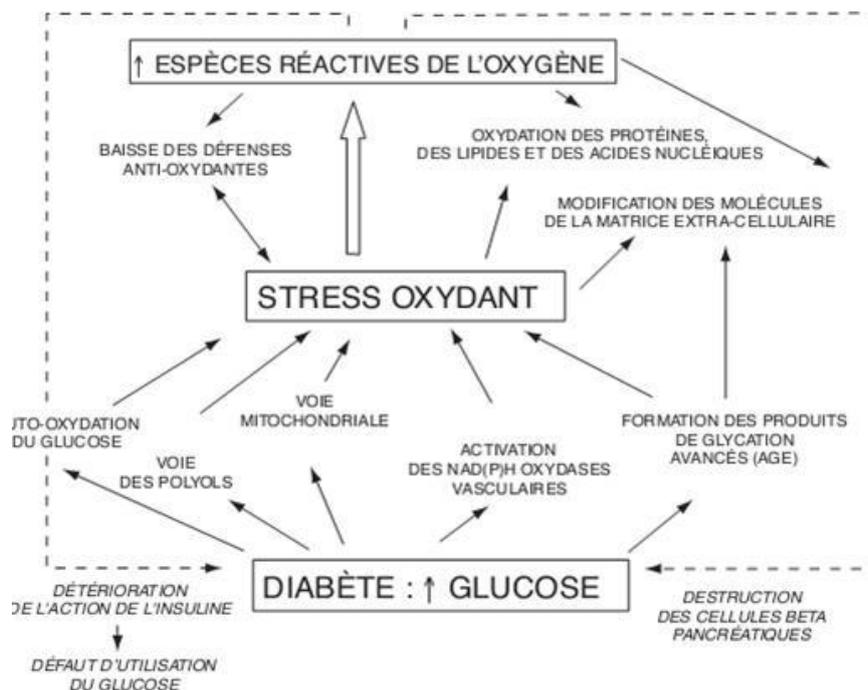
#### I.4.4. Oxydation des glucides

Les EROs attaquent les mucopolysaccharides particulièrement les protéoglycanes du cartilage. Par ailleurs, le glucose peut s'oxyder dans les conditions physiologiques en présence des traces d'ions métalliques libérant le peroxyde d'hydrogène, le radical hydroxyle et le cetoaldéhyde, entraînant l'hydrolyse des protéines ou leur glycation (**Favier, 2003**).

#### I.4.5. Relation entre le diabète et le stress oxydatif

Le stress oxydant augmente dans les différents tissus que ce soit dans le cas du diabète expérimentale ou chez les patients diabétiques, l'hyperglycémie induit une production prolongée des EROs intracellulaires et ceux-ci prolongent le gradient électrochimique des protons générés dans la chaîne mitochondriale menant à une surproduction d'anions superoxydes, qui est l'une des espèces réactives de l'oxygène qui peut endommager les cellules dans de nombreuses voies à travers le stress oxydatif, en l'absence d'une compensation appropriée de la réponse des réseaux antioxydants endogènes des cellules, le système est débordé, entraînant un déséquilibre d'oxydo-réduction, ce qui aggrave encore la situation (**Korshunov et al, 1997**).

Les espèces réactives de l'oxygène générées lors de l'hyperglycémie causent principalement des dommages de l'ADN, des protéines et des lipides (Figure 7). En plus il est évident que dans le diabète de type 2, l'activation des voies du stress oxydant est sensible par l'élévation du glucose et des acides gras. Elle conduit à deux niveaux de résistance à l'insuline et une diminution de la sécrétion d'insuline et la dysfonction des cellules  $\beta$  sécrétrices de l'insuline (**Evans et al, 2003**).



**Figure 7** : Relation entre hyperglycémie et stress oxydant (**Bonnefont, 2004**).

## I.5. Systèmes de défenses antioxydants

L'organisme est équipé de tout un système complexe de défenses antioxydants enzymatiques et non enzymatiques, localisé dans les compartiments intra- et extracellulaires (Berger, 2006).

### I.5.1. Système antioxydant enzymatique

L'organisme se défend contre les radicaux en synthétisant des enzymes qui les neutralisent. Les principales enzymes antioxydantes sont la superoxyde dismutase, la glutathion peroxydase et la catalase (Vincent *et al*, 2004).

#### I.5.1.1. Superoxyde dismutase (SOD)

Ce sont des métallo-enzymes à manganèse ou à cuivre et zinc présentes dans la mitochondrie. L'enzyme catalyse la dismutation de l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène qui pourra être pris en charge par des enzymes à activité peroxydase (Baudin, 2006).

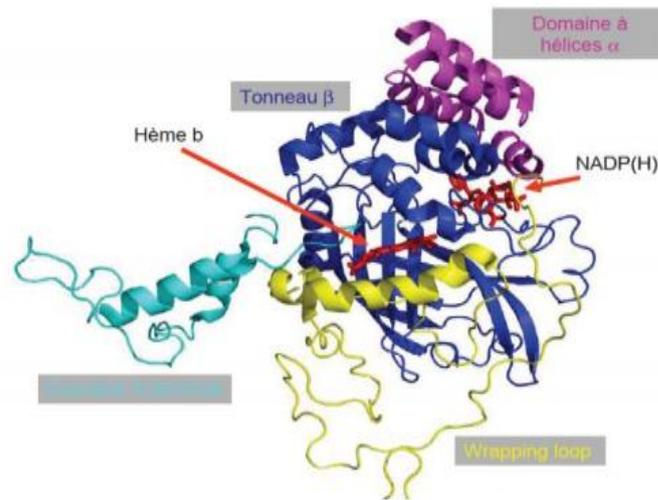
#### I.5.1.2. Glutathion peroxydase (GPx)

La GPx fait partie d'un système complet qui joue un rôle central dans le mécanisme d'élimination du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. La GPx est l'enzyme clef du système antioxydant et nécessite la présence de glutathion réduit (GSH) comme donneur d'électron. Le glutathion dissulfite (GSSG) ainsi produit est à nouveau réduit par la glutathion réductase (GR) qui utilise le NADPH comme donneur d'électron (Agarwal et Prabakaran, 2005).

#### I.5.1.3. Catalase (CAT)

La catalase est une enzyme intracellulaire qui catalyse la réaction de détoxification du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (généralement produit par les SOD) en oxygène moléculaire et en eau (Newsholme *et al*, 2007). Ces enzymes, présentes dans pratiquement tous les organismes aérobies, et se trouvent principalement dans les peroxysomes mais aussi dans le cytoplasme (Chance *et al*, 1979).

La catalase est une enzyme tétraédrique, composée de quatre sous unités identiques de 60 kDa, elle contient un groupe ferriprotoporphyrine unique par sous unité (Figure 8) et a une masse moléculaire d'environ 240 kDa (Matés *et al*, 1999)



**Figure 8 :** Structure de la catalase (Colin, 2008)

## I.5.2. Systèmes antioxydants non enzymatiques

### I.5.2.1 Les vitamines

#### I.5.2.1.1. Vitamine C (acide ascorbique)

Le rôle antioxydant de la vitamine C est basé sur sa réaction avec les radicaux peroxydes dans la phase aqueuse avant qu'ils initient la peroxydation lipidique. La vitamine C protège les biomembranes et les lipoprotéines (Delattre et al, 2005).

#### I.5.2.1.2. Vitamine E ( $\alpha$ -tocophérol)

C'est une vitamine liposoluble, elle intervient directement au niveau des membranes biologiques et inhibe ainsi la propagation de la peroxydation et assure le maintien de l'intégrité et de la stabilité membranaire (Khalil, 2002).

#### I.5.2.1.3. Vitamine A ( $\beta$ -carotène)

La vitamine A est une molécule hydrosoluble qui joue un rôle dans l'inactivation de l'oxygène singulet du fait qu'elle permet la désexcitation de cet oxygène. Le  $\beta$ -carotène peut également réagir avec le radical peroxyde et inhiber la peroxydation lipidique (Costantini et Moller, 2008).

### **I.5.2.2. Les oligo-éléments**

#### **I.5.2.2.1. Le cuivre**

Le cuivre est un oligo-élément indispensable, essentiel dans de nombreuses réactions enzymatiques et dans la synthèse de neurotransmetteurs. Il possède des propriétés antioxydantes, il catalyse la transformation des EROs issues de la réaction d'Haber-Weiss-Fenton (**Jomova et al, 2011**).

#### **I.5.2.2.2. Le sélénium**

Le sélénium est un constituant de la glutathion peroxydase, enzyme qui joue un rôle intracellulaire antioxydant, cet effet antioxydant est capital dans la détoxification des radicaux libres produits par le métabolisme cellulaire (**Wolters et al, 2005**).

#### **I.5.2.2.3. Le zinc**

Le zinc est un cofacteur de la catalase et de la superoxyde dismutase. Il protège également les groupements thiols des protéines et peut inhiber partiellement les réactions de formation d'espèces oxygénées induites par le fer ou le cuivre (**Mezzetti et al, 1998**).

### **I.5.2.3. Les composés phénoliques**

Les polyphénols sont des métabolites secondaires très répandus dans le règne végétal. Ils sont très réactifs comprenant au moins un noyau benzoïque portant un ou plusieurs groupes hydroxyles et d'autres constituants. Ils regroupent un vaste ensemble de substances chimiques parmi lesquelles on distingue les flavonoïdes, tanins et acides phénoliques (**Ballasundram et al, 2007**).

#### **I.5.2.4. Les flavonoïdes**

Les flavonoïdes peuvent agir de différentes façons dans les processus de régulation du stress oxydant : par capture directe des espèces réactives de l'oxygène, par chélation de métaux de transition comme le fer et le cuivre, ou encore par inhibition de l'activité de certaines enzymes responsables de la production des espèces réactives de l'oxygène comme la xanthine oxydase (**Lahouel et al, 2006**).

Au fait, la plante est le siège d'une activité métabolique aboutissant à la synthèse des métabolites primaires et des métabolites secondaires (**Hartmann, 2007**). Les métabolites secondaires sont divisés principalement en trois grandes familles, les polyphénols, les terpènes et les alcaloïdes. Notre travail vise à étudier deux plantes médicinales algériennes soit *Artemisia herba-alba* et *Rosmarinus officinalis*. Ces plantes sont très réputées pour leurs vertus thérapeutiques et leur richesse en métabolites secondaires, et particulièrement, les polyphénols et les flavonoïdes.

## I.6. L'espèce *Rosmarinus officinalis*

### I.6.1. Définition

Le romarin ou romarin officinal (*Rosmarinus officinalis*) est un arbrisseau de la famille des Lamiacées (ou labiées), poussant à l'état sauvage sur le pourtour méditerranéen, en particulier dans les garrigues arides et rocailleuses, sur terrains calcaires. Fraîche ou séchée, cette herbe condimentaire se retrouve dans la cuisine méditerranéenne (**Jean-Claude Rameau et al, 2008**). C'est également un produit fréquemment utilisé en parfumerie. Enfin, on lui attribue de nombreuses vertus phytothérapeutiques.

- Nom botanique : *Rosmarinus officinalis* L.
- Nom local en arabe : Azir / Iklil Aljabal
- Nom local en berbère : Yazir

### I.6.2. Classification

Le tableau II donne la classification botanique du romarin.

**Tableau II** : Classification botanique de l'espèce *Rosmarinus officinalis* (**Quezel et Santa, 1963**).

<b>Règne</b>	Plantae
<b>Embranchement</b>	Magnoliophytaou Spermaphytes Angiospermes
<b>Classe</b>	Magnoliopsida
<b>Ordre</b>	Lamiales
<b>Famille</b>	Lamiaceae
<b>Genre</b>	<i>Rosmarinus</i>
<b>Espèce</b>	<i>Rosmarinus officinalis</i>

### I.6.3. Description botanique

Le romarin peut atteindre jusqu'à 1,5 m de hauteur, voire jusqu'à 2 m en culture. Il est reconnaissable en toute saison à ses feuilles persistantes sans pétiole, coriaces, beaucoup plus longues que larges, aux bords légèrement enroulés, vert sombre luisant sur le dessus, blanchâtres en dessous. Leur odeur, très camphrée, évoque aussi l'encens d'où il doit son nom « encensier » en provençal. La floraison commence dès le mois de février, parfois en janvier, et se poursuit jusqu'en avril-mai. Certaines variétés peuvent fleurir une deuxième fois en début d'automne (**Jekka, 2006**). La couleur des fleurs, qui se présentent en grappes assez semblables à des épis, varie du bleu pâle au violet.

#### I.6.4. Substances bioactives

La plante contient plusieurs substances actives appartenant à différentes classes parmi lesquels :

- Huiles essentielles : 1,8 cinéole, alpha-pinène, camphre de romarin (Akroum, 2006) ; bornéol (Ibanez et al, 1999), camphène (Rao et al, 1998).
- Flavonoïdes : lutéoline, apigénine, quercétine (Akroum, 2008), diosmine (Serra et al, 2008).
- Diterpènes : acide carnosolique, rosmadial (Akroum, 2006).
- Triterpènes et stéroïdes : acide aléanolique, acide ursotique (Akroum, 2006).
- Tanins (Hui et al, 2010).
- Lipides : n-alkanes, isolalkanes, alkènes (Akroum, 2006).
- Rosmaricine : Acide rosmarinique (Hui et al, 2010).

#### I.6.5. Effets thérapeutiques

Le romarin fut longtemps utilisé empiriquement en phytothérapie. Le miel de romarin, aussi appelé « Miel de Narbonne » était un des multiples constituants de la thériaque de la pharmacopée maritime occidentale au XVIIIe siècle (Maïstral, 1986). Des études modernes montrent les effets du romarin sur différentes parties de l'organisme :

- Cholérétique et hépatoprotecteur : Le romarin a longtemps été utilisé empiriquement comme agent hépatoprotecteur et cholérétique. Ces effets ont été montrés expérimentalement (Joyeux et al, 1990). Le romarin permet donc d'activer les fonctions digestives, en particulier le travail de la vésicule biliaire.
- Antimycosique (Durakovic et al, 1979 ; Steinmetz, 1988) et antibactérien (Akroum, 2008). Les substances du romarin limitent le développement de certains agents pathogènes.
- Effets sur le système nerveux : L'administration d'huile de romarin, à la fois par inhalation et par voie orale, stimule l'activité du système nerveux central, respiratoire et locomotrice chez la souris (Kovar et Gropper, 1987). L'extrait alcoolique de *R. officinalis* a montré une activité antidépressive sur la nage forcée et les tests d'immobilité de la souris (Matsunaga et Lu, 1997). Le romarin serait donc recommandé pour traiter les divers cas d'asthénie.
- Effets sur la circulation sanguine : L'utilisation d'huile de romarin dans un bain stimule la circulation dermique et améliore l'hémodynamique pour les problèmes d'occlusion artérielle (Rulffs, 1984).

• Effets sur les muscles lisses : L'huile ou l'extrait aqueux de feuilles permettent d'inhiber certaines contractions induites chez les lapins et les cochons d'inde (Aqel, 1991 ; Al-Sereiti et Said, 1992). Le romarin aurait donc des effets antispasmodiques.

• Antitumorigénique et antioxydant : De nombreuses études indiquent que le romarin permettrait de prévenir et de limiter la progression de certains types de cancers (Al-Sereitia et al, 1999).

## I.7. L'espèce *Artemisia herba-alba*

### I.7.1. Définition

Connue depuis des millénaires, l'espèce *Artemisia herba-alba* (armoise herbe blanche) a été décrite par l'historien grec Xénophon, dès le début du IV<sup>e</sup> siècle av. J.-C., dans les steppes de la Mésopotamie (Francis, 2001). Elle a été répertoriée en 1779 par le botaniste espagnol Ignacio Jordán Claudio de Assoy del Rio. C'est une plante essentiellement fourragère, très appréciée par le bétail comme pâturage d'hiver. Elle présente une odeur caractéristique d'huile de thymol et un goût amer d'où son caractère astringent (Nabli, 1989). Plusieurs noms sont attribuées à l'*Artemisia herba-alba* ; thym des steppes, absinthe du désert. En Afrique du Nord et au Moyen-Orient, on l'appelle الشيح ou الخرساني selon les régions. Au Maroc occidental elle porte aussi le nom de القيسوم.

### I.7.2. Classification

*Artemisia* est le nom de genre des armoises, le tableau III reprend la classification botanique de l'espèce *Artemisia herba-alba*.

**Tableau III** : Classification botanique de l'espèce *Artemisia herba-alba* (Ghrabi et al, 2008)

<b>Règne</b>	Plantae
<b>Embranchement</b>	Spermatophyte
<b>Classe</b>	Magnoliopsida
<b>Ordre</b>	Asterales
<b>Famille</b>	Asteraceae
<b>Genre</b>	<i>Artemisia</i>
<b>Espèce</b>	<i>Artemisia herba-alba</i>

### I.7. 3. Description botanique

*Artemisia Herba-Alba* est une plante herbacée à tiges ligneuses et ramifiées, de 30 à 50 cm, très feuillées avec une souche épaisse. Les feuilles sont petites, sessiles, pubescentes et à aspect argenté. Les fleurs sont groupées en grappes, à capitules très petites (3/1,5mm) et ovoïdes. L'involucre est à bractées imbriquées, les externes orbiculaires et pubescentes. Le réceptacle floral est nu avec 2 à 5 fleurs jaunâtres par capitule toutes hermaphrodites (Pottier, 1981).

#### I.7. 4. Composition chimique

Au Maghreb, l'armoise constitue un fourrage particulièrement intéressant. En effet, la plante présente un taux de cellulose beaucoup moins élevé (17 à 33%). La matière sèche apporte entre 6 et 11% de matière protéique brute.

Le taux de  $\beta$ -carotène varie entre 1,3 et 7mg/kg selon les saisons (**Fenardji, 1974**). La valeur énergétique de l'armoise herbe blanche, très faible en hiver (0,2 à 0,4 UF/kg MS), augmente rapidement au printemps (0,92 UF/kg MS) pour diminuer de nouveau en été (0,6 UF/kg MS).

Les plantes de la famille des Astéracées, auquel appartient *Artemisia herba-alba*, ont fait l'objet de plusieurs études phytochimiques.

Les molécules identifiées sont les sesquiterpènes lactones, les coumarines et les hydrocarbures acétyléniques (**Da Silva, 2004**).

#### I.7.5. Usage thérapeutique

En pharmacopée traditionnelle, l'armoise blanche était reconnue depuis longtemps par les populations pastorales et nomades pour ses vertus purgatives. On l'utilise notamment comme vermifuge chez les ovins (**Nabli, 1989**).

**Freidman et Cool (1986)**, ont rapporté que l'infusion de l'armoise blanche est assez employée par les bédouins du Neguev (Israël) pour soulager les maux gastro-intestinaux. En Irak, elle est préparée avec le thé et constitue l'une des formes d'automédication contre le diabète non insu lino-dépendant (DNID) (**Al-Waili, 1986**).

## ***Chapitre II. Matériel et méthodes***

## II. Matériel et méthodes

### II.1. Matériel végétal

Les échantillons de la partie aérienne (tiges et feuilles) de *Rosmarinus officinalis* ont été récoltés durant le mois de Février 2019 dans la région d'Ain Taghrouit alors que ceux d'*Artemisia herba alba* ont été récoltés durant le mois d'Avril 2019 dans la région d'Ain Zadda de la Wilaya de Bordj Bou Arreridj. Les plantes récoltées ont été séchées séparément à l'ombre pendant 07 jours (*Rosmarinus officinalis*) et 22 jours (*Artemisia herba alba*) (Figure 9 et 11) puis réduites en poudre fine à l'aide d'un broyeur électrique (Figure 10 et 12). Les poudres obtenues sont conservées à l'abri de l'air, de l'humidité, et de la lumière dans des flacons en verre.



**Figure 9 :** Romarin séchée



**Figure 10 :** Poudre fine de romarin



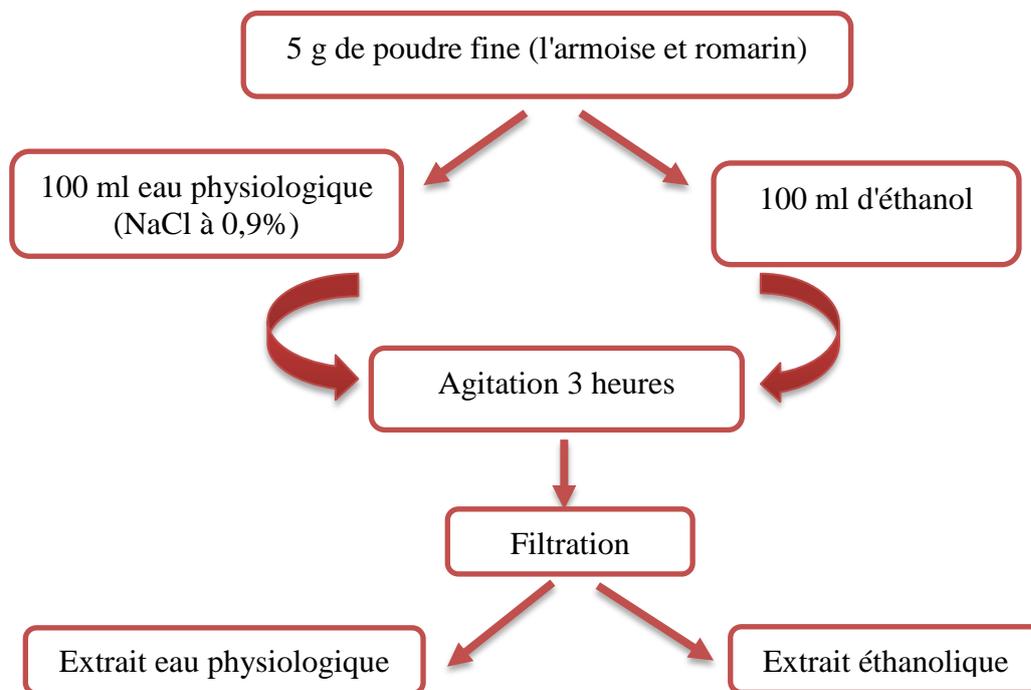
**Figure 11 :** Armoise séché



**Figure 12 :** Poudre fine d'armoise

### II.2. Extraction des composés bioactifs

L'extraction des polyphénols totaux est réalisée comme suit : 5 g de poudre des feuilles de chaque plante (armoise et romarin) sont macérés dans 100 ml d'éthanol ou d'eau physiologique (NaCl à 0.9 %). Ensuite l'ensemble est agité pendant 03 heures puis filtré (Figure 13).



**Figure 13 :** Protocol d'extraction des polyphénols totaux.

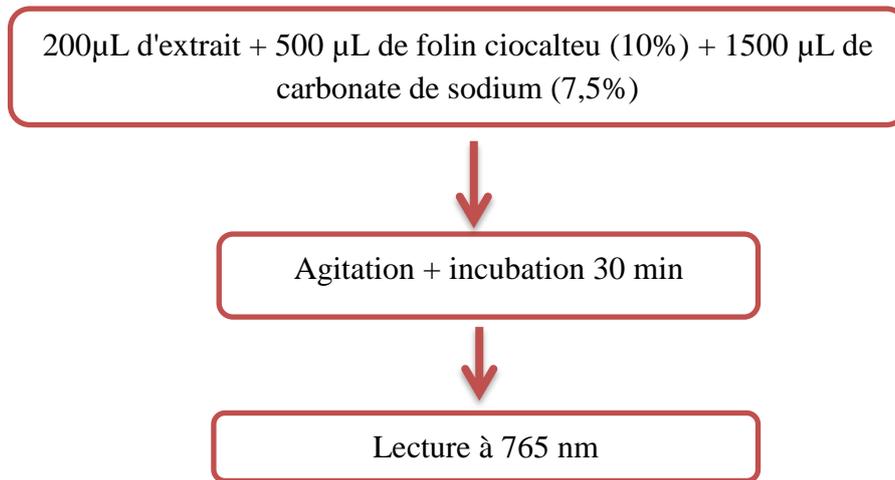
### II.3. Dosage des composés phénoliques

#### II.3.1. Principe

Le réactif de Folin Ciocalteu est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $H_3PMO_{12}O_{40}$ ). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène (**Ribéreau et Gautheret, 1968**). La coloration bleue produite, est proportionnelle à la quantité de polyphénols présente dans le milieu réactionnel.

#### II.3.2. Protocole expérimentale

Les teneurs en polyphénols totaux des extraits de romarin et de l'armoise ont été déterminées selon le protocole décrit par **Chan et al, (2008)** comme le montre la figure 14.



**Figure 14** : Dosage des phénols totaux par la méthode de Folin- Ciocalteu.

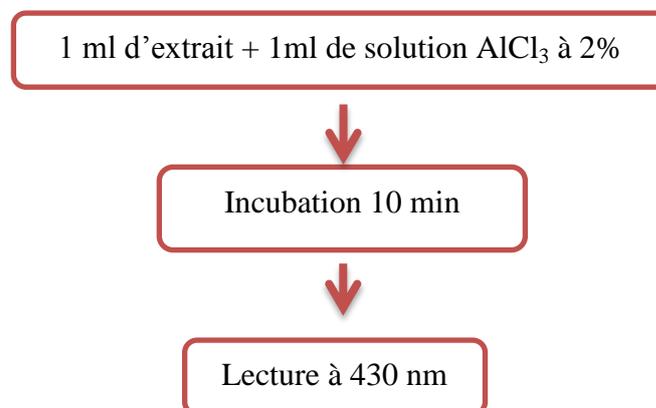
## II.4. Dosage flavonoïdes

### II.4.1. Principe

Le dosage des flavonoïdes est basé sur la formation des complexes flavonoïdes-métaux tel que l'aluminium sous forme de trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ) qui forme des complexes jaunâtres avec les atomes d'oxygène présents dans les flavonoïdes. La couleur obtenue est proportionnelle à la quantité de flavonoïdes complexés.

### II.4. 2. Protocole expérimental

L'évaluation quantitative des flavonoïdes totaux dans les différents extraits est réalisée selon la méthode du trichlorure d'aluminium (**Bahorun et al, 1996**) tel qu'illustré sur la figure 15.



**Figure 15** : Dosage des flavonoïdes totaux (**Bahorun et al, 1996**).

## II.5. Mesure de l'activité antioxydante

### II.5.1. Evaluation du pouvoir anti-radicalaire

#### II.5.1.1. Principe

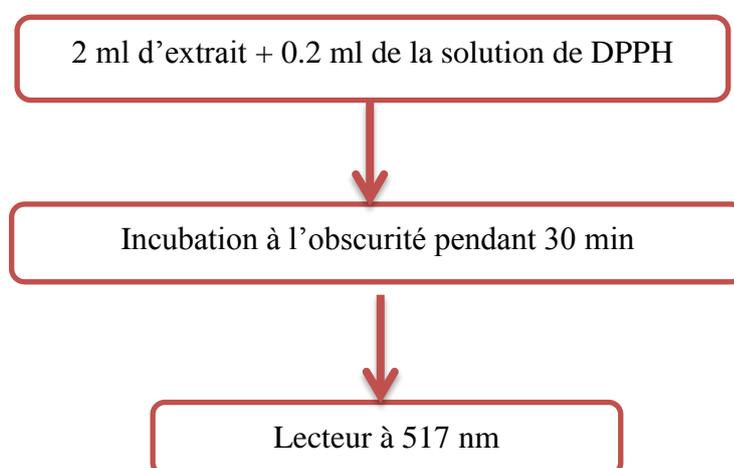
Le test au 2,2-diphényl-2-picryl-hydrasyle (DPPH.), permet de mesurer le pouvoir anti-radicalaire des substances antioxydantes contenues dans un extrait.

Le DPPH est un radical libre de couleur violette qui devient jaune quand il est réduit par un donneur de proton. Cette capacité de réduction est déterminée par une diminution de l'absorbance induite par des substances antiradicalaires (**Molyneux, 2004**).

#### II.5.1.2. Protocole expérimental

Le protocole expérimental utilisé est celui de **Brand et al, (1995)** (Figure 16). La solution de DPPH est préparée par solubilisation de 4mg de DPPH dans 100ml de méthanol. L'inhibition du radical DPPH est représenté en pourcentage (I %), calculée selon la formule suivante :  $I\% = [(A_{\text{témoin}} - A_{\text{échantillon}}) / A_{\text{témoin}}] \times 100$

Des courbes de concentration des extraits en fonction du pourcentage d'inhibition sont tracées à fin d'obtenir les IC50. L'IC50 est défini comme la concentration en composés phénoliques (mg/ml) de l'extrait nécessaire pour réduire la concentration initiale de DPPH de 50%.

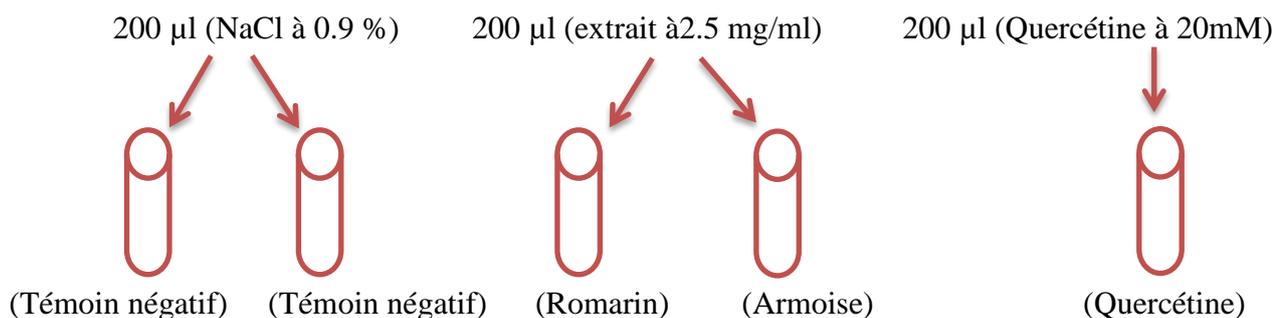


**Figure 16** : Protocole du test DPPH (**Brand et al, 1995**).

## II.5.2. Evaluation du statut antioxydant total

### II.5.2.1. Préparation du sérum

Le sang a été prélevé dans des tubes héparinés à partir des sujets non diabétiques à jeûne, d'âges proches. Le sang est réparti dans différents tubes (chaque tube contient 2ml du sang total) puis traité séparément. Il importe de noter que dans cette partie de travail seuls les extraits d'eau physiologique sont utilisés. Le sang est traité comme suit :



Après 30 min d'incubation on ajoute 800 µl de la solution de glucose à différentes concentrations (01mg/ml, 10 mg/ml et 100 mg/ml) dans tous les tubes sauf le témoin négatif auquel on ajoute 800 µl d'une solution isotonique (NaCl à 0.9 %). Les différents tubes sont incubés pendant 2h puis sont centrifugés à 3000 rpm durant 10 min.

### II.5.2.2. Protocole expérimental

L'ABTS est solubilisé dans l'eau distillée à une concentration de 7mM. Le radical (ABTS<sup>•+</sup>) est produit en faisant réagir la solution d'ABTS (2 volumes) avec du persulfate de potassium (1 volume) à une concentration finale de 2.45 mM. Le mélange est laissé au repos, à l'obscurité et à température ambiante pendant 12-16h avant utilisation. La solution ABTS<sup>•+</sup> est diluée dans un tampon phosphate (pH 7.4) à une absorbance de 0.70 +/- 0.02 à 734 nm. Après addition de 2 ml de la solution ABTS<sup>•+</sup> à 20 µl de chaque sérum ou Trolox (concentration finale 1-6 mM), la lecture est prise 6 minutes exactement après le mélange initial. Le pourcentage d'inhibition à 734 nm a été calculé et exprimé en équivalent millimolaire de Trolox (**Re et al, 1999**).

### **II.5. 3. Dosage de l'activité enzymatique de la catalase**

#### **II.5.3.1. Protocole expérimental**

Le dosage de l'activité enzymatique de la catalase a été réalisé selon la méthode d'**Aebi (1984)**. 20µl du sérum sont additionnés de 1255µl d'un tampon phosphate et la réaction est déclenchée par l'ajout de 725µl de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (33mM). Le blanc contient 20µl du sérum et 1980µl d'un tampon phosphate (pH 7.0). La diminution du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> est enregistrée à 240 nm, à 25 °C pendant 60s.

Une unité de l'activité de la catalase est définie comme l'activité nécessaire à la dégradation de 1 µmol de peroxyde d'hydrogène pendant 60s. L'activité de la catalase est exprimée en termes de µmoles de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> consommés/min/ml

### **II.6. Analyse statistique**

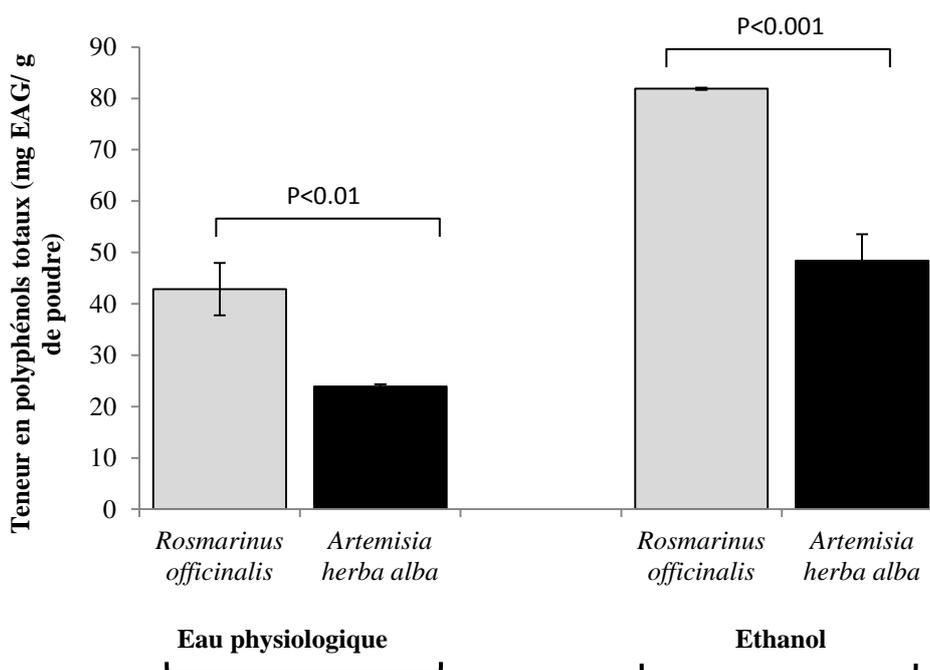
Toutes les expériences ont été réalisées au moins en trois répétitions. L'étude statistique est faite dans le but de comparer les moyennes des résultats obtenus par l'analyse de la variance (ANOVA, test T) en utilisant le logiciel STATVIEW version 5.5. Le seuil de signification est pris à p<0,05/ p<0,01/ p<0,001.

### ***III. Résultats et discussion***

### III. Résultats et discussion

#### III.1. Teneur en polyphénols totaux

Les résultats du dosage des composés phénoliques montrent que les teneurs en polyphénols totaux des deux plantes *Rosmarinus officinalis* et *Artemisia herba alba* varient entre  $23.88 \pm 0.34$  à  $81.87 \pm 0.20$  mg EAG/g de poudre (Tableau IV). La concentration la plus élevée des phénols totaux a été obtenue dans l'extrait éthanolique par rapport à l'extrait d'eau physiologique (Figure 17).



**Figure 17 :** Teneur en composés phénoliques de *Rosmarinus officinalis* et d'*Artemisia herba alba*.

Le tableau IV reprend les résultats du dosage des polyphénols totaux de *Rosmarinus officinalis* et d'*Artemisia herba alba*.

Plantes	Solvant	Teneurs mg EAG/g de poudre
<i>Rosmarinus officinalis</i>	Ethanol	$81.87 \pm 0.20$
	Eau physiologique	$42.86 \pm 5.11$
<i>Artemisia herba alba</i>	Ethanol	$48.36 \pm 5.19$
	Eau physiologique	$23.88 \pm 0.34$

Yesil-Celiktas et al, (2007) ont étudié le romarin issu de trois régions différentes de Turquie et ont rapporté des teneurs en composés phénoliques totaux qui variaient entre 70.3 à 147.3 mg EAG/g, ces résultats sont comparables à ceux obtenu dans la présente étude.

D'après les résultats, l'éthanol permet d'avoir les plus fortes concentrations en polyphénols comparé à la solution isotonique. Hernandez-Hernandez et al, (2009) a démontré également que l'éthanol était le meilleur solvant d'extraction des composés phénoliques de *Thymus vulgaris*, *Salvia officinalis*, *Origanum majorana*, *Rosmarinus officinalis* et de *Origanum vulgare*.

Plusieurs paramètres peuvent influencer significativement le taux et la nature des composés phénoliques à savoir la température de séchage, le type de solvant d'extraction, la taille des particules et le temps d'extraction (Goli et al, 2005 ; Naczk et Shahidi, 2006).

### III.2. Teneur en flavonoïdes totaux

La figure 18 illustre les résultats du dosage des flavonoïdes. D'après les résultats nous pouvons voir que la quantité des flavonoïdes dans les extraits du romarin varie entre 12.53 et 26.32 mg EQ/g de poudre. Là aussi l'éthanol donne la teneur la plus élevée en flavonoïdes (26.32 mg EQ/g de poudre) qui est 2 fois supérieur à celle obtenu en utilisant l'eau physiologique (12.53 mg EQ/g de poudre) (Tableau V). La même observation a été retenue pour *Artemisia herba alba* avec une teneur moyenne de  $28.49 \pm 0.15$  mg EQ/g de poudre pour l'extrait éthanolique contre  $15.46 \pm 0.06$  mg EQ/g de poudre dans l'extrait d'eau physiologique.

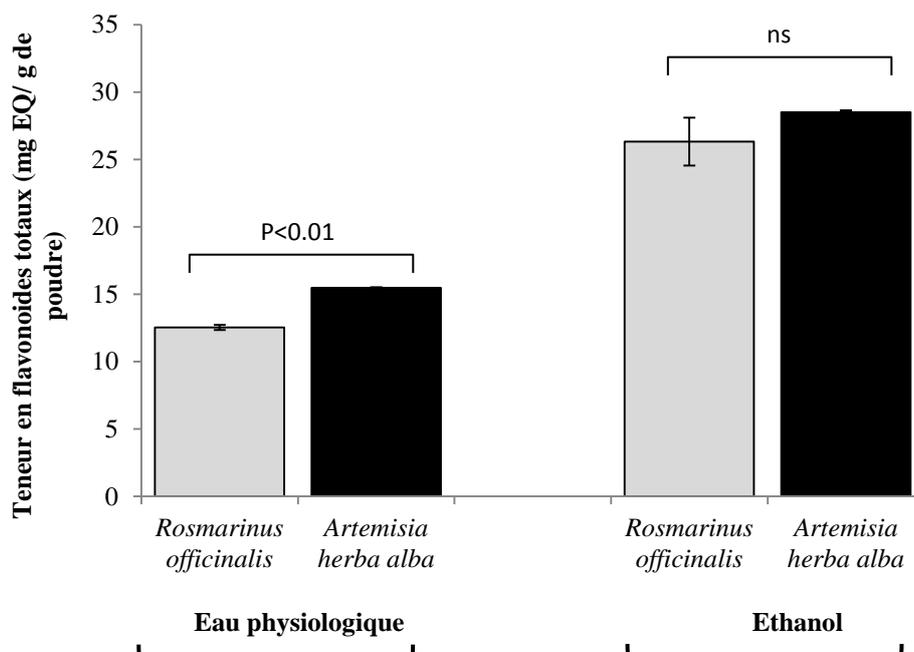


Figure 18: Teneur en composés flavonoïdes de *Rosmarinus officinalis* et d'*Artemisia herba alba*.

Le tableau V reprend les résultats du dosage des flavonoïdes totaux de *Rosmarinus officinalis* et d'*Artemisia herba alba*.

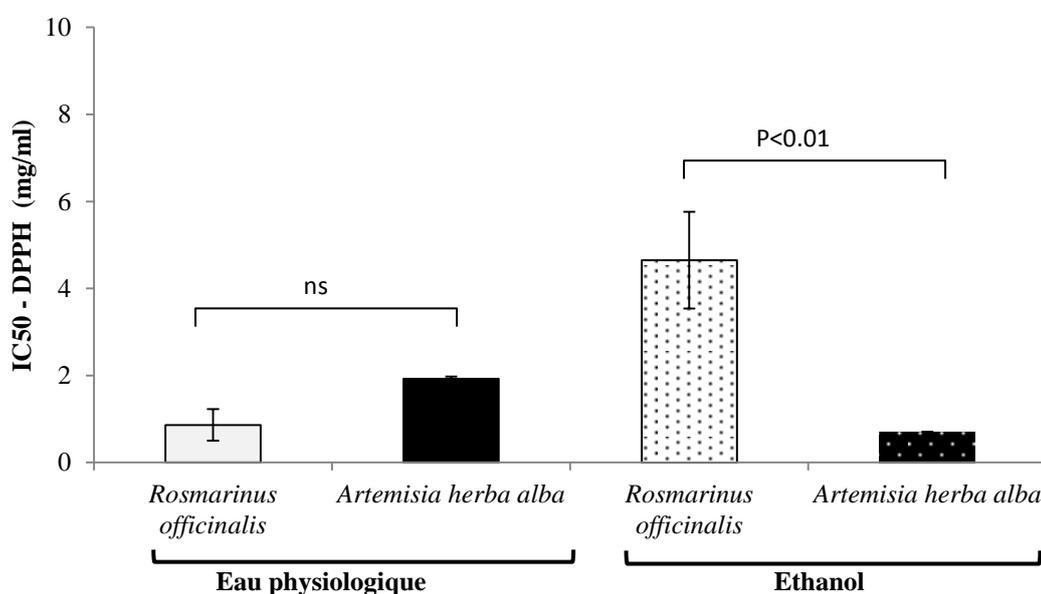
**Tableau V:** Teneur en flavonoïdes de *Rosmarinus officinalis* et d'*Artemisia herba alba*.

Plantes	Solvant	Teneurs mg EQ/g de poudre
<i>Rosmarinus officinalis</i>	Ethanol	26.324 ± 1.78
	Eau physiologique	12.531 ± 0.18
<i>Artemisia herba alba</i>	Ethanol	28.490 ± 0.15
	Eau physiologique	15.465 ± 0.06

D'après l'étude de **Stephanovits et al, (2003)** réalisée sur le romarin, l'éthanol s'avère le solvant le plus efficace dans l'extraction des flavonoïdes avec une teneur de l'ordre de 38.01 ± 0,884 mg QE/g de matière sèche. Cette valeur est un peu proche par rapport à celles obtenues dans notre étude

### III.3. Activité scavenger du radical DPPH

Les absorbances mesurées servent à calculer le pourcentage d'inhibition du radical DPPH. En effet, pour mieux comprendre le pouvoir antioxydant des extraits étudiés ; les valeurs IC<sub>50</sub> (mg/ml) ont été déterminées. La figure 19 illustre les résultats de l'activité scavenger à l'égard du radical DPPH.



**Figure 19 :** Activité anti radicalaire (DPPH) des extraits de *Rosmarinus officinalis* et d'*Artemisia herba alba*.

Dans cette étude, une bonne activité antiradicalaire a été obtenue avec l'extrait d'eau physiologique du romarin (IC<sub>50</sub> = 0.86 ± 0.36 mg/ml) et l'extrait éthanolique de l'armoise (IC<sub>50</sub>=

0.71 ± 0.0 mg/ml). **Dormana et ses collaborateurs, (2003)** ont étudié la même espèce (*R. officinalis*) et ont rapporté une IC<sub>50</sub> = 0.23 mg /ml. Ceci peut être dû à plusieurs facteurs tels que : la méthode d'extraction, la nature des composés phénolique des extraits.

#### III.4. Statut antioxydant total

Ce test est basé sur la capacité d'un antioxydant à stabiliser le radical cationique ABTS, l'absorbance est mesurée à 734 nm. L'activité antioxydante est exprimée par le statut antioxydant total "TAS" (mM équivalent Trolox).

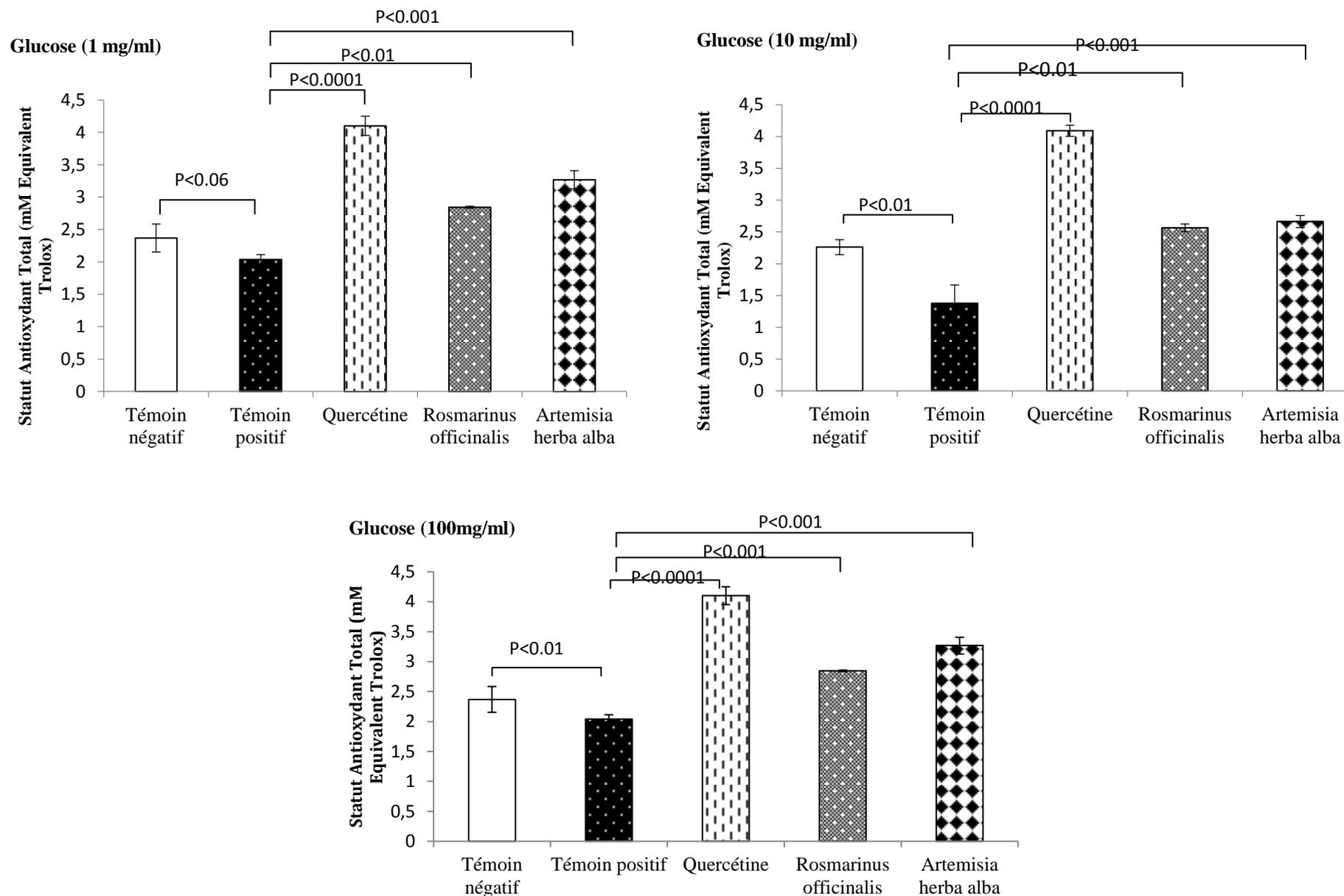
La figure 20 illustre le statut antioxydant total des échantillons du sérum humain en présence des extraits de plantes étudiés (romarin et armoise) et sous l'action de concentrations croissantes en glucose.

Les résultats obtenus montrent que pour les trois concentrations de glucose étudiées, les échantillons de sérum traités par le romarin et, en particulier, l'armoise présentent une capacité d'inhibition du radical ABTS plus importante comparé aux échantillons non traités (témoin positif). Ces résultats suggèrent un effet protecteur des deux plantes sur la composante du sang (sérum) en renforçant sa capacité antioxydante totale. Toutefois la quercétine présente des valeurs largement supérieures par rapport aux restes des échantillons étudiés (Tableau I annexe 2).

Nous pouvons constater également qu'en absence d'antioxydants, le sérum non traité présente le statut antioxydant total le plus faible (témoin positif). **Bonnefont et ses collaborateurs (2004)** ont démontré que l'état d'hyperglycémie chronique du diabète sucré conduit à un stress oxydant.

Récemment, des études *in vivo* ont montré l'efficacité des traitements des extraits de romarin, comme moyen d'éliminer les radicaux libres générés, de renforcer le système antioxydant et de prévenir du stress oxydatif. L'extrait de romarin peut aussi protéger contre les lésions histologiques et l'atteinte fonctionnelle en raison de sa capacité à diminuer le malondialdéhyde (MDA) et à augmenter la puissance antioxydante (FRAP) (**Zohrabi et al, 2012**).

Une autre étude portant sur l'effet des différentes doses d'extrait de romarin (50, 100, 200 mg/kg) administrées a deux lots de lapin, l'un hyperglycémique et l'autre normal, a révélé que la dose de 200 mg/kg a un effet hypoglycémiant optimal chez tous les lapins et que cette activité est indépendante de l'effet de l'insuline (**Bakirel et al, 2008**).



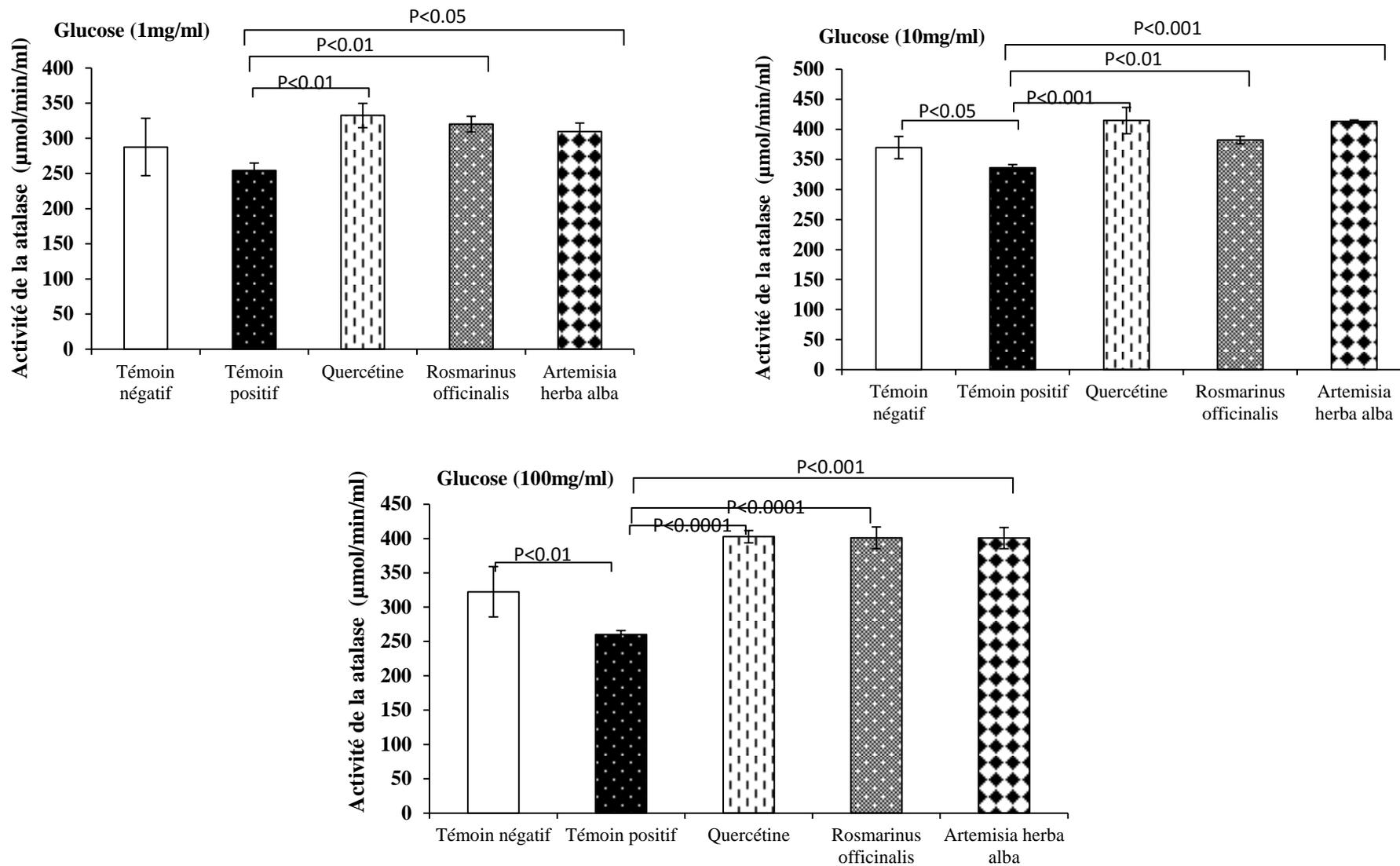
**Figure 20 :** Statut antioxydant total du sérum humain en présence d'extraits de *Rosmarinus officinalis* et d'*Artemisia herba alba* et sous l'action de différentes concentrations de glucose.

### III.5. Activité enzymatique de la catalase

La catalase constitue sans doute l'un des plus importants systèmes enzymatiques de protection car elle est capable de détoxifier le peroxyde d'hydrogène. En effet la catalase se manifeste seulement lorsque le taux du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> est élevé.

Les résultats obtenus montrent que les extraits de *Rosmarinus officinalis* et *Artemisia herba alba* possèdent une activité antioxydante importante démontrée par l'activité de la catalase pour les trois concentrations de glucose étudiées (1, 10 et 100 mg/ml). Cependant le témoin positif montre la plus faible activité de catalase (Figure 21).

Des recherches récentes ont montré que les extraits de romarin ont une variété d'activités pharmacologiques, telles que des propriétés antioxydantes, antimicrobiennes, chémoprévention du cancer, antidiabétiques, et hépatoprotectives. Ainsi, le romarin est considéré comme l'une des herbes les plus efficaces pour traiter les maux de tête, la mauvaise circulation sanguine et les maladies inflammatoires (**Rocha et al, 2015**). L'activité antioxydante de romarin a été également démontrée *in vivo*, lors du traitement des lapins avec une dose de 200 mg / kg de d'extrait de romarin pendant une semaine. Le romarin peut inhiber la peroxydation des lipides et activer les enzymes antioxydantes (**Bakirel et al, 2008**).



**Figure 21 :** Activité enzymatique de la catalase du sérum humain en présence d'extraits de *Rosmarinus officinalis* et d'*Artemisia herba alba* et sous l'action de différentes concentrations de glucose.

## IV. Conclusion

L'objectif de cette étude est d'évaluer les propriétés antioxydantes de *Rosmarinus officinalis* et d'*Artemisia herba alba* très utilisées dans la pharmacopée traditionnelle.

Les résultats obtenus montrent que les extraits éthanoliques de *Rosmarinus officinalis* et d'*Artemisia herba alba* présentent les teneurs les plus élevées en polyphénols totaux avec des valeurs de  $81.87 \pm 0.20$  et de  $48.369 \pm 5.19$  mg EAG/g de poudre, respectivement.

Le test au DPPH a révélé que l'extrait éthanolique d'*Artemisia herba alba* possède une plus forte activité antiradicalaire par rapport à celle de l'extrait d'eau physiologique. L'inverse est constaté dans le cas de *Rosmarinus officinalis*.

Nous avons également démontré que les extraits étudiés permettent d'améliorer la capacité antioxydante totale ainsi que l'activité enzymatique de la catalase.

Ces résultats restent partiels et d'autres travaux sur ces extraits s'imposent au niveau pharmacologique et phytochimique. Il serait intéressant à l'avenir d'approfondir l'étude phytochimique qui consiste en : la purification, l'identification et la caractérisation des composés actifs impliqués dans le pouvoir antioxydant.

Il serait aussi intéressant il serait judicieux d'évaluer le statut oxydatif à l'échelle moléculaire, notamment par le :

- Dosage des sous-produits de la peroxydation lipidique tel que : MDA, TBARS, 4-HNE,...
- Dosage des agents réducteurs tel que le GSH.
- Dosage des antioxydants non enzymatiques des hématies telles que la vitamine C et la vitamine E.

## Références bibliographiques

### A

**Adoui, A., Fartas, H., Mecheri, A. (2016)** « Effet du stress oxydant dans l'apparition de quelques complications du diabète mellitus ».

**Aebi, H. (1984)** "Catalase in Vitro". *Methods Enzymology*, 105, 121-126.

**Agarwal, A., and Prabakaran, S. A. (2005).** "Mechanism, measurement, and prevention of oxidative stress in male reproductive physiology.

**Aidoud A., (1989).** Les écosystèmes Armoise blanche (*Artemisia herba-alba* Asso). II: Phytomasse et productivité primaire. *Biocénoses*, 1-2 : 70-90.

**Akroum S., (2006).** Étude des propriétés biochimiques des polyphénols et tannins issus de *Rosmarinus officinalis*.

**Akroum S., (2008)** Inhibition de quelques bactéries pathogènes par les extraits éthanoliques de *rosmarinus officinalis*.

**Alberti KG, Zimmet PZ:** Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. *Diabet Med* 1998, 15(7):539- 553.

**Al-Sereiti M R & Said S A.,( 1992)** First Medical Conference of Libya.

**Al-Sereitia M R et al.,** « Pharmacology of rosemary (*Rosmarinus officinalis* Linn.) and its therapeutic potentials », *Indian Journal of Experimental Biology*, Vol. 37, February 1999, p. 124-131.

**AL-WAILI N S., 1986.** Treatment of diabetes mellitus by *Artemisia herba alba* extract: preliminary study. *Clin Exp Pharmacol physiol*. 1986. JUL; 13(7): 569-73.

**Aouadhi S., 2010-**Atlas des risques de la phytothérapie traditionnelle. Étude de 57 plantes recommandées par les herboristes. Thèse magistère : toxicologie. TUNIS : Faculté de médecine.196p.

**Aqel M B., J Ethnopharmacol**, 33 (1991) 57.

**Aubervale N., (2010).** Prévention du stress oxydant dans le diabète et ses complications par des antioxydants d'origine naturelle. Thèse de doctorat université Stratsbourg.

**Averbeek D.(2006)** Lésion radio-induites de l' ADN : Mécanisme de réparation, Inhibiteurs de la réparation . Centre universitaire d'Orsay.

## B

**Bahorun, T., Gressier, B., Trotin F., Brunet C., Dine T., Luyckx M., Vasseur J., Cazin M., Cazin J.C., and Pinkas M. (1996).** Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from haw torn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *ArzneimlForsch /Drug Research*, 46(11):1086-1089.

**Bakirel, T., Bakirel, U., Keleş, 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 Ethnopharmacol*, 116, 64-73.

**Ballasundram, N., Sundram, K., Samman, S. (2007).** Phenolic compounds in plants and agricultural products: antioxidants activity, occurrence and potential uses. *Food Chemistry*, 99:191-203.

**Barja G. (1999)** Mitochondrial oxygen radical generation and leak: sites of production in states 4 and 3, organ specificity, and relation to aging and longevity. *J Bioenerg Biomembr.* Aug;31(4):347-66.

**Bartosz, G. (2003).** Generation of reactive oxygen species in biological systems. *Comments on Toxicology*, 9: 5-21.

**Baudin, B. (2006).** "Oxidative stress and cardiovascular pathology." *MT Cardio*, 2(1), 43-52

**Baynes JW, Thorpe SR (1999):** Role of oxidative stress in diabetic complications: a new perspective on an old paradigm. *Diabetes*, 48(1):1-9.

**Berger, M .M. (2006).** Manipulations nutritionnelles du stress oxydant : état des connaissances. *Nutrition clinique et métabolisme*, 20: 48-53.

**Bernard M, Bordas-Fonfrede M, Grimaldi A, Guillemin C, Stahl A, Leutenegger M, Gillery P (1995):** [Respective value of glycated hemoglobin and fructosamine assays in the care of diabetes mellitus]. *Ann Biol Clin (Paris)*, 53(6):321-327.

**BENDJILALI. B, RICHARD. H; LIDDLE.P(1984):** chémotypes d'armoise blanche du Maroc, congrès international de la société italienne de phyto-chimie, 131-151.

**Binove, L. (2001).** oxydant/antioxydant: un équilibre important.

**Blumental Y, Belghiti J, Driessen M. (2009).** Gynécologie-obstétrique. Edition Estem. Paris : 55-6.

**Boek, D., and Larcier, S.A. (2006).** *Biochimie structurale et métabolique*. Bruxelles. 3<sup>eme</sup> éd. p327.

**Bonnefont-Rousselot D., Beaudoux J.L., Thérond P., Peynet J., Legrand A. et Delattre J. (2004).** Diabète sucré, stress oxydant et produits de glycation avancée, *Annales Pharmaceutiques Françaises* 62:147-157.

**Brand-Williams, W., Cuvelier, M., Berset, C. (1995).** Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft-und-Technologie*, 28: 25-30

**Buyschaert M. (2006).** Diabétologie clinique. Éditions de boeck ; 3<sup>e</sup> édition Bruxelles : 28-34.

## C

**Chan E.W.C., Lim Y.Y., Wong L.F., Lianto F.S., Wang S.K., Lim K.K., Joe C.E. & Lim T.Y., 2008:** antioxydante and thyrosinase inhibition properties of leaves and rhizome of ginger species. *Food Chemistry* **109**, 477-483.

**Chance B., Sies H., Boveris A. 1979.** Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. *Physiological Reviews*.59: 527-605.

**Charles MA, Eschwege E, Basdevant A:** Monitoring the obesity epidemic in France: the Obepi surveys 1997-2006. *Obesity (Silver Spring)* 2008, 16(9):2182- 218

**Chen Q, Vazquez EJ, Moghaddas S, Hoppel CL, Lesnefsky EJ (2003).** Production of reactive oxygen species by mitochondria: central role of complex III. *J Biol Chem.* 19;278(38):36027–31.

**Colin J. (2008).** Mise en évidence, par spectroscopies de Résonance Paramagnétique Electronique et d'absorption électronique UV-visible, de la formation de Radicaux Tryptophanyles et Tyrosyles par transfert d'électron intramoléculaire vers l'hème dans les catalases monofonctionnelles et peroxydase bifonctionnelle. Thèse de doctorat de l'université paris VI

**Costantini,D.,and Moller, A.P.(2008).** Carotenoids are minor antioxidants for birds. *Functional Ecology*, 22 (2):367-370.

## D

**Da Silva J. A.,(2004)** Mining the essential oils of the Anthemideae. *African Journal of Biotechnology* Vol. 3 (12), 706-720 p.

**Delattre, J., Beaudoux, J.L., Bonneont-Rousselot, D. (2005).** Radicaux libres et stress oxydant : aspects biologiques et pathologiques. Lavoisier édition TEC & DOC éditions médicales internationales, Paris. 405p.

**Dorman, H.J.D., Peltoketo, A., Hiltunen, R., Tikkanen, M.J. (2003);** Characterisation of the antioxidant properties of de-odourised aqueous extracts from selected Lamiaceae herbs. *Food Chem.* 83: 255-262.

**Droge,W.(2002).**Free Radicals in the physiological Control of Cell Fonction. *Physiological Reviews*, 82(1) : 47-95.

**Durakovic Z & Durakovic S, J (1979)** *Indian Med Assoc*, 172-175.

## E

**Eizirik DL, Miani M, Cardozo AK. (2013)** Signalling danger: endoplasmic reticulum stress and the unfolded protein response in pancreatic islet inflammation. *Diabetologia.* 56(2):234–41.

**Evans JL, Goldfine ID, Maddux BA, Grodsky GM. (2003).** Are oxidative stress- activated signaling pathways mediators of insulin resistance and beta-cell dysfunction? *Diabetes*; 52: 1-8.

## F

**Favier, A.(1997).** "Le stress oxydant: intérêt de sa mise en évidence en biologie médicale et problèmes posés par le choix d'un marqueur." Presented at Annales de biologie clinique.

**Favier, A(2003).** Le stress oxydant, Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanisme des maladies et potentiel thérapeutique. *Mécanismes biochimique*, 108-115.

**Fecka I, Turek S. (2008).** Determination of polyphenolic compounds in commercial herbal drugs and spices from Lamiaceae: thyme, wild thyme and sweet marjoram by chromatographic techniques. *Food Chemistry*. 108, 1039-1053.

**Fenardji F., Klur M., Furlon C., Ferrando R., (1974)** White Artemisia (*Artemisia herba-alba* L.). *Rev. Elev. Med. Vet. Pays Trop.*, 27(2):203-6.

**Florence., B (2016)** Stress oxydant et pathologie diabétique Impact de l'hyperglycémie et de l'albumine glyquée sur les cellules cardiaques et adipeuses 36-37.

**Fontaine, E., Barnoud, D., Schwebel,C., and Leverve, X.(2002).**Place des antioxydants dans la nutrition du patient septique. *Réamination*, 11: 411.

**Francis Joannès,(2001).** Dictionnaire de la civilisation mésopotamienne. Ed Robert Laffont , ISBN 2221092074.

**Friedman. J, Yaniz. Z, Dagni. A, Pale Witch. D, 1986.** A preliminary classification of the healing potential and medicinal plants, based on a rational analysis of an ethnopharmacological field survey among Bedouins in the negev desert, Israel. *J. Ethnopharmacol.* Jun; 16 (2-3): 275-87.

## G

**Gardès-Albert, M., Bonnefont-Rousselot, D., Abedinzade, Z. et Jore, D. (2003).** Espèce réactive de l'oxygène. *L'actualité chimique*, 91-96.

**Ghrabi Z.,(2008)** Sand RL.Artemisia herba-alba Asso. A Guide to Medicinal Plants in North Africa., 49- 49

**Giacco F, Brownlee M ;( 2010)** Oxidative stress and diabetic complications. *Circ Res*, 107(9):1058-1070.

**Gillery P, Bordas-Fonfrede M, Chapelle JP, Drouin P, Hue G, Levy-Marchal C, Perier C, Selam JL, Slama G, Thivolet C et al: (1999)** HBA1c: clinical and biological agreement for standardization of assay methods. Report by the experts of ALFEDIAM (Association de Langue

Francaise pour l'Etude du Diabète et des Maladies Métaboliques) and SFBC (Société Française de Biologie Clinique). *Diabetes Metab*, 25(3):283-287.

**Goli A H., Berzeger M and Sahari M A.(2005).** Antioxidant activity and total phenolic compounds of pistachio (*pistachia vera*) hull extracts. *Food Chemistry*. 92:521- 525

**Grimaldi A. (2009).** *Traité de Diabétologie.* MÉDECINE SCIENCES FLAMMARION; Médecine-Sciences.

**Grossin N, Wautier MP, Meas T, Guillausseau PJ, Massin P, Wautier JL;(2008)** Severity of diabetic microvascular complications is associated with a low soluble RAGE level. *Diabetes Metab* 2008, 34(4 Pt 1):392-395.

**Guillausseau PJ, Virally M, Franck MJ , Monique M , Jean-Philippe K , André W, (2000).** Diabète de type 2 : le point sur le diagnostic, la classification et la pathogénie. *Sang Thrombose Vaisseaux*; 12(10): 658-63.

**Gutteridge, J.M.C.(1995).** Lipid peroxidation and antioxidants as bio markers of tissue damage. *Clinical Chemistry*, 41(12) :1819-1828.

## H

**Hadi, M. (2004).** *La quercétine et ses dérivés: molécule à caractère pro-oxydant ou capteur de radicaux libres; études et application thérapeutiques.* Thèse de doctorat. Université Louis Pasteur (Strasbourg).

**Halliwell B, Gutteridge JM. (1990)** Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. *Methods Enzymol.* ; 186:1–85.

**Halliwell B and Gutteridge JM. (1999).** *Free Radicals in Biology and Medicine*, 3rd ed. Oxford University Press.

**Hansford RG, Hogue BA, Mildaziene V. (1997)** Dependence of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> formation by rat heart mitochondria on substrate availability and donor age. *J Bioenerg Biomembr.* 1997 Feb; 29(1):89–95.

**Harrison R. (2002)** Structure and function of xanthine oxidoreductase: where are we now? *Free Radic Biol Med.* 15; 33(6):774–97.

**Hernandez-Hernandez E., Ponce-Alquicira E., Jaramillo-Flores M.E. and Legarreta G.L. (2009).** Antioxidant effect of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) and oregano (*Origanum vulgare* L.) extracts on TBARS and colour of model raw batters. *Meat Sciences*, 81, 410-417.

**Hwang, T.S., Choi, H.K. et Han, H.S. (2007).** Differential expression of manganese superoxide dismutase, copper/zinc superoxide dismutase, and catalase in gastric adenocarcinoma and normal gastric mucosa. *The Journal of Cancer Surgery*, 33: 474-479.

**Hui Y. H. et al.,** *Handbook of Fruit and Vegetable Flavors*, 2010.

I

**Ibanez E. et al.,(1999)** Supercritical fluid extraction and fractionation of different preprocessed rosemary plants.

**IDF DIABETES ATLAS. 2013**; Sixth edition. Available from: [www.idf.org/diabetesatlas](http://www.idf.org/diabetesatlas).

**International Diabetes Federation (2010).**

**Institut de veille sanitaire (France).(2010)** Prévalence et incidence du diabète, et mortalité liée au diabète en France: synthèse épidémiologique. Saint-Maurice : Institut de veille sanitaire.

**Iserin, P., Masson, M., et Restillini, J. (2001).** "Larousse des plantes médicinales, identification."

J

**Jain Sushi1 K (1989)** Hyperglycemia Can Cause Membrane Lipid Peroxidation and Osmotic Fragility in Human Red Blood Cells Vol. 264, Issue of December 15, pp. 21340-21345.

**Jean-Claude Rameau et al, (2008)** Flore forestière française: Région méditerranéenne, 2008.

**Jekka McVicar,(2006)** Le grand livre des Herbes.

**Jomova, K. and Valko, M. (2011).** "Advances in metal-induced oxidative stress and human disease." *Toxicology*, 283(2-3): 65-87.

**Joyeux M, Rolland A, Fleurentin J, Mortier F & Dorfman P, (1990 )** *Planta Med*, 56 171.

K

**Keane KN, Cruzat VF, Carlessi R, de Bittencourt PIH, Newsholme P.(2015)** Molecular Events Linking Oxidative Stress and Inflammation to Insulin Resistance and  $\beta$ -Cell Dysfunction. *Oxid Med Cell Longev* .

**Khalil A. (2002).** [Molecular mechanisms of the protective effect of vitamin e against atherosclerosis] *Canada Journal of Physiology and Pharmacology*, vol 80(7), p.662-669.

**Korshunov SS, Skulachev VP, Starkov AA. (1997).** High protonic potential actuates a mechanism of production of reactive oxygen species in mitochondria. *FEBS letters*. 416: 15-18.

**Kovar K A, Gropper B, (1987)** Friess D & Ammon H P T, *Planta Med*, 53 315.

**Kruidenier, L. and Verspaget, H.W. (2002).** Oxidative stress as a pathogenic factor in inflammatory bowel disease - radicals or ridiculous? *Aliment Pharmacol Ther*.

## L

**Lahouel, M., Amedah, S., Zellagui, A., Touil, A., Rhouati, S., Benayache, F., Leghouchi, E., and Bousseboua, H. (2006).** The interaction of new plant flavonoids with rat liver mitochondria: relation between the anti and prooxydant effect and flavonoids concentration. *Thérapie*, 61(4):347-355.

**Lee, J., Koo, N. et Min, D.B. (2004).** Reactive oxygen species, aging, and antioxidative nutraceuticals. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 3: 21-33.

**Lytvyn Y, Perkins BA, Cherney DZI. (2015)** Uric Acid as a Biomarker and a Therapeutic Target in Diabetes. *Can J Diabetes*. 39(3):239–46.

## M

**Mastral (1986)**, in Yannick Romieux, De la hune au mortier, Éditions ACL, Nantes.

**Malek R. (2008).** épidémiologie du diabète en Algérie; revue des données, analyse et perspective. *Med. Maladie Métab*, 2 :298-302.

**Matés, J. M., Gómez, P.C. et De Castro, I.N. (1999).** Antioxidant Enzymes and Human Diseases. *Clinical Biochemistry*, 32 (8): 595–603.

**Matsunaga K, Lu X-C, (1997)** Yasuda H et al, *Nat Med*, 5 63

**Mezzetti A., Pierdomenico S.D., Costantini F., Romano F., Decesare D., Cuccurullo F., Imbustaro T., Riario-Sforza G., Digiacomo., Zullani G., Fellin R. (1998).** Copper/zinc ratio and systemic oxidant load: effect of aging and aging-related degenerative diseases. *Free Radical Biology and Medicine*, vol 25(6), p.676-681.

**Molyneux, P. (2004).** The use of the stable free radical diphenyl picryldrazyl (DPPH.) for estimating antioxidant activity Songklanakarin. *Journal of Sciences and Technologies*. 26 (2) :211-219.

## N

**NABLI, MA. 1989.** Essai de synthèse sur la végétation et la phyto-écologie tunisiennes. Tome 1. Ed MAB (faculté des sciences de Tunis) : 186-188 p

**Nacz M. et Shahidi F. 2006.** Phenolic incereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*. 41:1523- 1542

**Newsholme, P., Haber, E., Hirabara, S., Rebelato, E., Procopio, J., Morgan, D., Oliveira-Emilio, H., Carpinelli, A., and Curi, R. (2007).** "Diabetes associated cell stress and dysfunction:

role of mitochondrial and non-mitochondrial ROS production and activity." *The Journal of physiology*, 583(1), 9-24.

## P

**Pottier G.**, *Artemisia herba-alba*. Flore de la Tunisie: angiospermes–dicotylédones– gamopétales, (1981) p 1012.

**Prouillac, C. (2009)**. Synthèse et évaluation de nouveaux composés organique et phosphorés contre les effets des rayonnements ionisants. Etude de leur mécanisme d'action in vitro. Thèse de doctorat, Université Paul Sabatier Toulouse III.

## Q

**Quan W, Jo E-K, Lee M-S.(2013)** Role of pancreatic  $\beta$ -cell death and inflammation in diabetes. *Diabetes Obes Metab.* ;15 Suppl 3:141–51.

**Quezel, P., Santa, S. (1963)** ; Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II. C.N.R.S. (Ed). Paris, 565p.

## R

**Rao et al.,(1998)** Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.): Impact of drying on its flavor quality.

**Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. ET Rice-Evans, C. (1999)**.Antioxydant activity applying and inapoved ABTS radical cation decolorization assay free.

**Ribéreau-Gayon P.(1968)**. Notions générales sur les composés phénoliques. In : les composés phénoliques des végétaux. Edition dunod. Paris PP : 1-27.

**Riché MD.(2008)** Micronutrition, santé et performance: Comprendre ce qu'est vraiment la micronutrition. De Boeck Supérieur;. 386 p.

**Robertson RP. (2004)**. Chronic oxidative stress as a central mechanism for glucose toxicity in pancreatic islet cells in diabetes. *J Biol Chem* 279: 42351-42354.

**Rocha J., Eduardo-Figueira M., Barateiro A., Fernandes A., Brites D., Bronze R., Duarte C. M., et al. (2015)**. Anti-inflammatory effect of rosmarinic acid and an extract of *Rosmarinus officinalis* in rat models of local and systemic inflammation. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 116, 398-413.

**Rulffs W, (1984)** *Munch Med Wochensch*, 126 -207.

## S

**Sanz A, Stefanatos RKA. (2008)** The mitochondrial free radical theory of aging: a critical view. *Curr Aging Sci.*;1(1):10–21.

**Schrader M, Fahimi HD.(2006)** Peroxisomes and oxidative stress. *Biochim Biophys Acta BBA - Mol Cell Res.*; 1763(12):1755–66.

**Sefi M., Fetoui H., Makni M. and Zeghal N. (2010).** Mitigating effects of antioxidant properties of *Artemisia campestris* leaf extract on hyperlipidemia, advanced glycation end products and oxidative stress in alloxan-induced diabetic rats. *Food and Chem. Toxicol.* 48: 1986–19

**Sergent O, Griffon B, Cillard P, Cillard J. (2000).** Alcool et stress oxydatif. *Pathol. Biol.* 49:689-695.

**Serra H. et al.,(2008)** Prediction of intestinal absorption and metabolism of pharmacologically active flavones and flavanones,.

**Steinmetz M D, (1988)** Moulin-Traffort J & Regli P, *Mycoses*, 31- 40.

**Stephanovits Banyai E., Tulok M-H., Hegedus A., Renner C., Szololosi Varga L. (2003).** Antioxydant effect of various Rosemary (*Rosmarinus Officinalis* L.) clones, Vol 47 (1-4) : 111-113.

## V

**Valko, M., Rhodes, C.J., Moncol, J., Izakovic, M. et Mazur, M. (2006).** Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions.*160: 1. 40.

**Vincent, A. M., Russell, J. W., Low, P., and Feldman, E. L. (2004).** "Oxidative stress in the pathogenesis of diabetic neuropathy." *Endocrine reviews*, 25(4), 612-628.

## W

**Wémeau JL, Vialettes B, Schlienger JL. (2014)** *Endocrinologie, diabète, métabolisme et nutrition.* Elsevier Masson SAS: 239-243.

**Wolters, M., Hermann, S., Golf, S., Katz, N., Hahn, A.( 2005).** Selenium and antioxidantvitamin status of elderly German women. *European Journal Clinical Nutrition*, vol 24.

## Y

**Yesil-Celiktas O., Girgin G., Orhan H., Wichers H-J., Bedir E. and Vardar-Sukan F. (2007).** Screening of free radical scavenging capacity and antioxydant activities of *Rosmarinus Officinalis*

extract with Focus on location and harvesting times. European food research and technology 224: 443-51.

**Yizhong Caia., Qiong Luob., Mei Sunc. Et Harold Corkea. (2003).** Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. Life Sciences. 74:2160-2161.

**Yvon R. (2010).** Risques médicaux au cabinet dentaire en pratique quotidienne. Edition Elsevier Masson SAS : 211-231.

## 2

**Zohrabi M., Ashtiyani S. C., Hajhashemi S., Akbar Hassanpoor A. and Hosseini N. (2012).** The study of 24 h post treatment effects of the aqueous extract of Rosmarinus officinalis after renal ischemia/reperfusion in rat. Journal of Physiology and Pathophysiology,3, 12-19.

# ***Annexes***

## Annexe 1

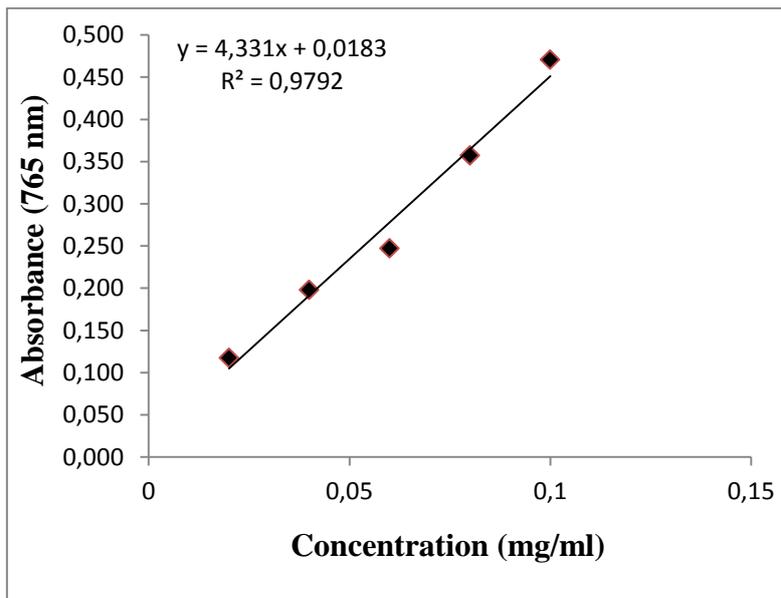


Fig.1. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

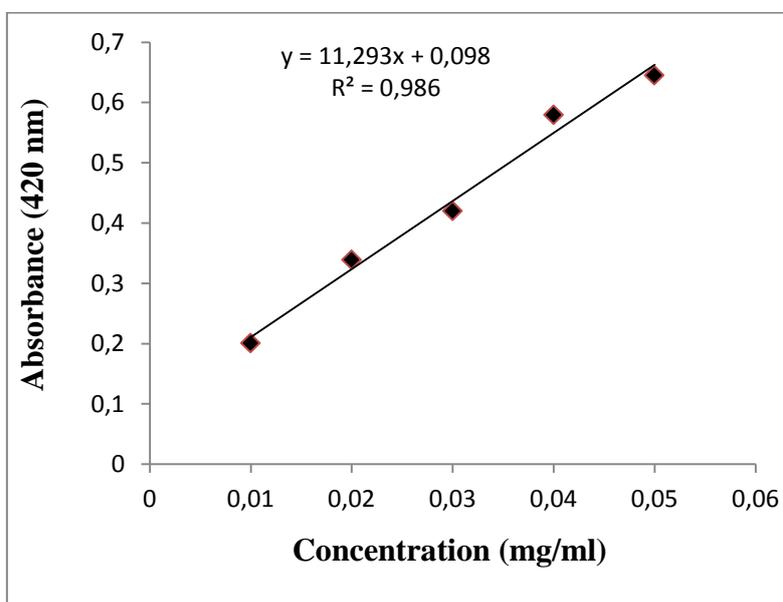
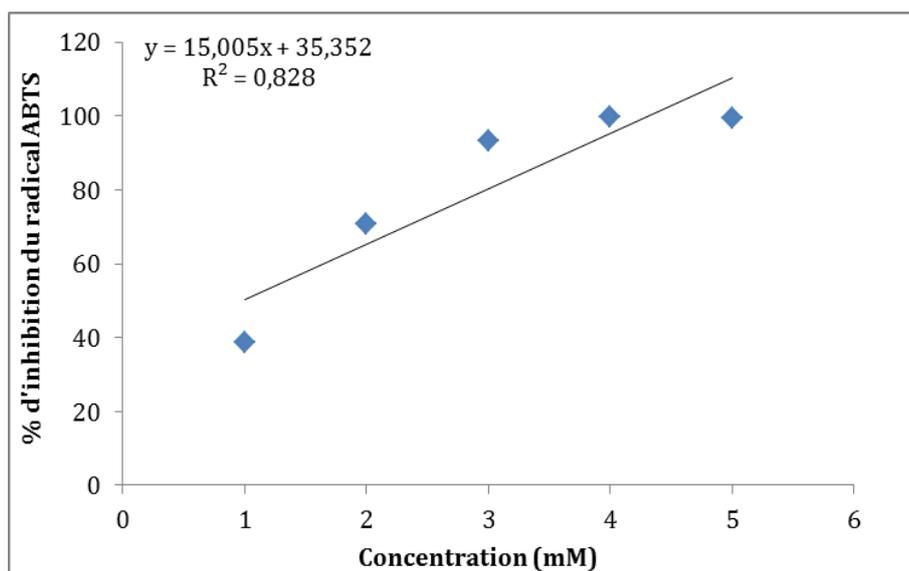


Fig.2. Courbe d'étalonnage de la quercétine



**Fig.3. Courbe d'étalonnage de Trolox**

## Annexe 2

**Tableau I** : activité antiradécalaire des extraits de *Rosmarinus officinalis* et d'*Artemisia herba alba*

[glucose]	TAS % inhib	(Témoin -)	(Témoin+)	Quercétine	Romarin	Armoise
1mg/ml	TAS	2,368 ± 0,21	2,038 ± 0,07	4,100 ± 0,14	2,844 ± 0,01	3,268 ± 0,14
	% inhib	70,879 ± 3,21	65,934 ± 1,11	96,860 ± 2,22	78,021 ± 0,22	84,379 ± 2,10
10mg/ml	TAS	2,261 ± 0,11	1,378 ± 0,28	4,090 ± 0,08	2,564 ± 0,05	2,664 ± 0,09
	% inhib	69,278 ± 1,77	56,0344 ± 4,32	96,708 ± 1,32	73,824 ± 0,88	75,313 ± 1,44
100mg/ml	TAS	2,195 ± 0,12	1,283 ± 0,29	4,083 ± 0,09	2,508 ± 0,06	2,610 ± 0,09
	% inhib	68,284 ± 1,83	54,611 ± 4,46	96,601 ± 1,37	72,977 ± 0,91	74,514 ± 1,48

**Tableau II :** activité enzymatique de la catalase des extraits de *Rosmarinus officinalis* et d'*Artemisia herba alba*

	[glucose]	(Témoin -)	(Témoin+)	Quercétine	Romarin	Armoise
<b>Activité de la catalase (µmol/min/ml)</b>	1mg/ml	287,55 ±40,78	254,12 ±10,70	332,49 ±17,34	320,06 ±11,13	309,51 ±12,16
	10mg/ml	369,72 ±18,65	336,12 ±5,51	414,90 ±21,89	382,30 ±6,26	413,18 ±2,43
	100mg	322,40 ±36,61	260,01 ±6,02	402,67 ±9,12	400,91 ±15,79	400,61 ±15,51

## Annexe 3

## Etude statistique.

## Etude statistique du dosage des TPC

Tableau ANOVA pour Abs TPC

	ddl	Somme des carrés	Carré moyen	Valeur de F	Valeur de p	Lambda	Puissance
Type de plante	3	3497,563	1165,854	87,293	,0004	261,878	1,000
Résidu	4	53,423	13,356				

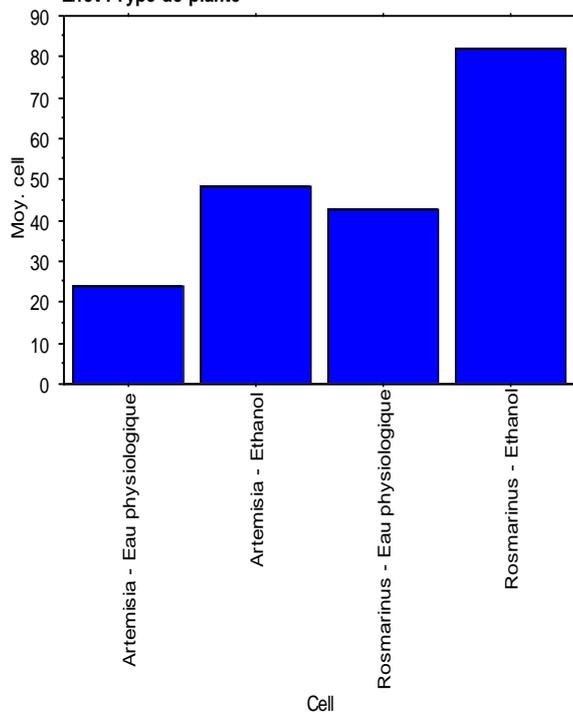
Tableau de moyennes pour Abs TPC

Effet : Type de plante

	Nombre	Moyenne	Dév. Std.	Err. Std.
Artemisia - Eau physiologique	2	23,889	,431	,305
Artemisia - Ethanol	2	48,370	5,200	3,677
Rosmarinus - Eau physiologique	2	42,868	5,115	3,617
Rosmarinus - Ethanol	2	81,871	,202	,143

Graphique des interactions pour Abs TPC

Effet : Type de plante



Test PLSD de Fisher pour Abs TPC

Effet : Type de plante

Niveau de significativité : 5 %

	Diff. moy.	Diff. crit.	Valeur p	
Artemisia - Eau physiologique, Artemisia - Ethanol	-24,480	10,147	,0026	S
Artemisia - Eau physiologique, Rosmarinus - Eau physiologique	-18,979	10,147	,0065	S
Artemisia - Eau physiologique, Rosmarinus - Ethanol	-57,982	10,147	<,0001	S
Artemisia - Ethanol, Rosmarinus - Eau physiologique	5,501	10,147	,2067	
Artemisia - Ethanol, Rosmarinus - Ethanol	-33,501	10,147	,0008	S
Rosmarinus - Eau physiologique, Rosmarinus - Ethanol	-39,002	10,147	,0004	S

## Etude statistique du dosage des flavonoides

Tableau ANOVA pour Abs Flav

	ddl	Somme des carrés	Carré moyen	Valeur de F	Valeur de p	Lambda	Puissance
Type de plante	3	301,622	100,541	93,662	,0018	280,986	1,000
Résidu	3	3,220	1,073				

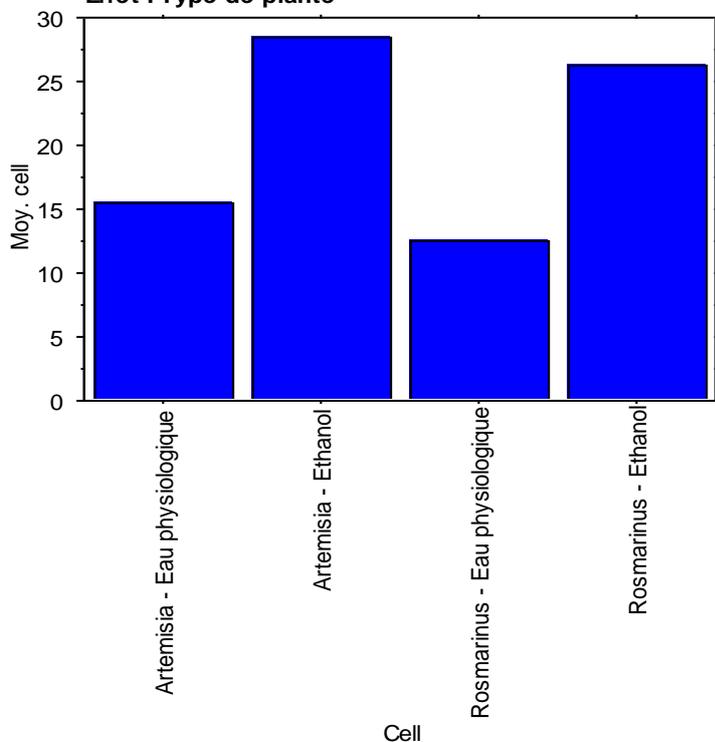
Tableau de moyennes pour Abs Flav

Effet : Type de plante

	Nombre	Moyenne	Dév. Std.	Err. Std.
Artemisia - Eau physiologique	2	15,465	,065	,046
Artemisia - Ethanol	1	28,379	•	•
Rosmarinus - Eau physiologique	2	12,531	,185	,131
Rosmarinus - Ethanol	2	26,324	1,784	1,261

Graphique des interactions pour Abs Flav

Effet : Type de plante



Test PLSD de Fisher pour Abs Flav

Effet : Type de plante

Niveau de significativité : 5 %

	Diff. moy.	Diff. crit.	Valeur p	
Artemisia - Eau physiologique, Artemisia ...	-12,914	4,038	,0020	S
Artemisia - Eau physiologique, Rosmarin...	2,934	3,297	,0661	
Artemisia - Eau physiologique, Rosmarin...	-10,859	3,297	,0019	S
Artemisia - Ethanol, Rosmarinus - Eau ph...	15,848	4,038	,0011	S
Artemisia - Ethanol, Rosmarinus - Ethanol	2,055	4,038	,2038	
Rosmarinus - Eau physiologique, Rosmar...	-13,793	3,297	,0009	S

## Etude statistique du test DPPH

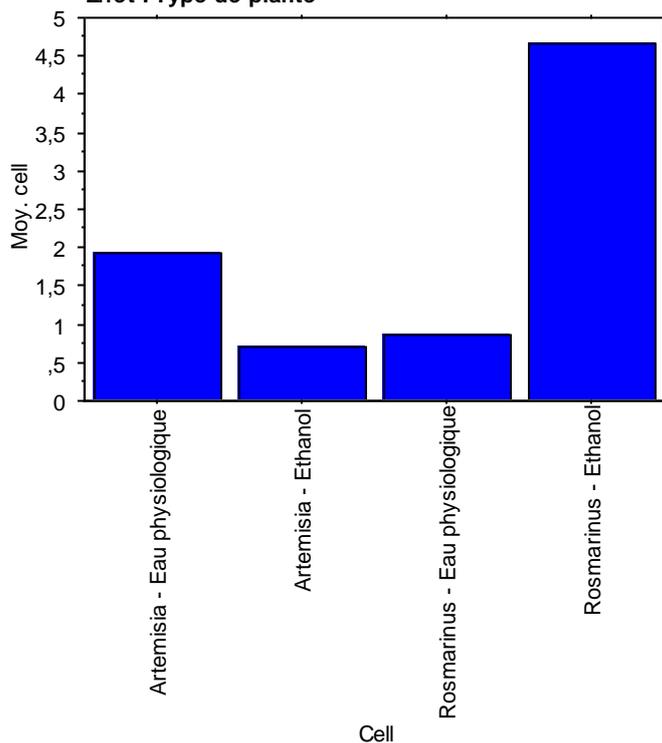
**Tableau de moyennes pour IC50 DPPH**

Effet : Type de plante

	Nombre	Moyenne	Dév. Std.	Err. Std.
Artemisia - Eau physiologique	2	1,924	,052	,037
Artemisia - Ethanol	2	,710	0,000	0,000
Rosmarinus - Eau physiologique	2	,865	,364	,257
Rosmarinus - Ethanol	2	4,649	1,110	,785

**Graphique des interactions pour IC50 DPPH**

Effet : Type de plante



**Tableau ANOVA pour IC50 DPPH**

	ddl	Somme des carrés	Carré moyen	Valeur de F	Valeur de p	Lambda	Puissance
Type de plante	3	19,937	6,646	19,433	,0076	58,300	,971
Résidu	4	1,368	,342				

**Test PLSD de Fisher pour IC50 DPPH**

Effet : Type de plante

Niveau de significativité : 5 %

	Diff. moy.	Diff. crit.	Valeur p	
Artemisia - Eau physiologique, Artemisia ...	1,214	1,624	,1065	
Artemisia - Eau physiologique, Rosmarin...	1,059	1,624	,1443	
Artemisia - Eau physiologique, Rosmarin...	-2,725	1,624	,0096	S
Artemisia - Ethanol, Rosmarinus - Eau ph...	-,155	1,624	,8047	
Artemisia - Ethanol, Rosmarinus - Ethanol	-3,939	1,624	,0025	S
Rosmarinus - Eau physiologique, Rosmar...	-3,784	1,624	,0029	S

### Activité de la catalase - Glucose 1mg/ml

**Tableau ANOVA pour Valeurs**

	ddl	Somme des carrés	Carré moyen	Valeur de F	Valeur de p	Lambda	Puissance
Echantillons	4	8773,850	2193,462	5,532	,0249	22,127	,782
Résidu	7	2775,666	396,524				

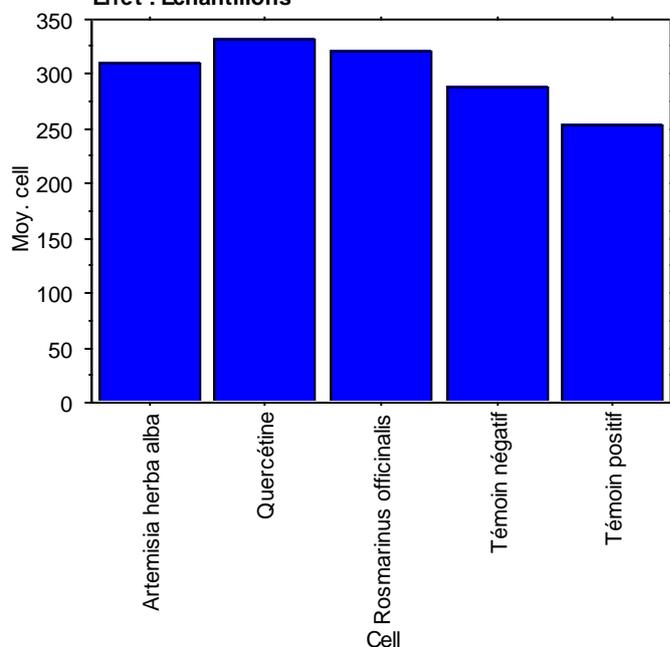
**Tableau de moyennes pour Valeurs**

Effet : Echantillons

	Nombre	Moyenne	Dév. Std.	Err. Std.
Artemisia herba alba	2	309,518	12,164	8,601
Quercétine	3	332,492	17,344	10,014
Rosmarinus officinalis	3	320,069	11,131	6,426
Témoin négatif	2	287,557	40,788	28,842
Témoin positif	2	254,128	10,704	7,569

**Graphique des interactions pour Valeurs**

Effet : Echantillons



**Test PLSD de Fisher pour Valeurs**

Effet : Echantillons

Niveau de significativité : 5 %

	Diff. moy.	Diff. crit.	Valeur p	
Artemisia herba alba, Quercétine	-22,974	42,984	,2467	
Artemisia herba alba, Rosmarinus officin...	-10,550	42,984	,5798	
Artemisia herba alba, Témoin négatif	21,961	47,087	,3066	
Artemisia herba alba, Témoin positif	55,390	47,087	,0272	S
Quercétine, Rosmarinus officinalis	12,424	38,446	,4698	
Quercétine, Témoin négatif	44,935	42,984	,0427	S
Quercétine, Témoin positif	78,364	42,984	,0035	S
Rosmarinus officinalis, Témoin négatif	32,511	42,984	,1168	
Rosmarinus officinalis, Témoin positif	65,940	42,984	,0084	S
Témoin négatif, Témoin positif	33,429	47,087	,1371	

### Activité de la catalase - Glucose 10mg/ml

**Tableau ANOVA pour Valeurs**

	ddl	Somme des carrés	Carré moyen	Valeur de F	Valeur de p	Lambda	Puissance
Echantillons	4	8607,295	2151,824	13,705	,0036	54,822	,986
Résidu	6	942,033	157,005				

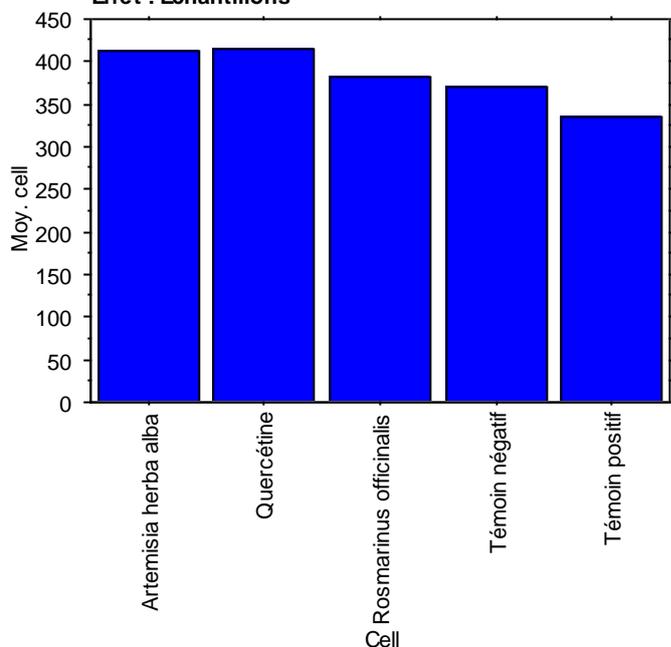
**Tableau de moyennes pour Valeurs**

Effet : Echantillons

	Nombre	Moyenne	Dév. Std.	Err. Std.
Artemisia herba alba	2	413,188	2,433	1,720
Quercétine	2	414,908	21,894	15,482
Rosmarinus officinalis	3	382,301	6,265	3,617
Témoin négatif	2	369,725	18,651	13,188
Témoin positif	2	336,124	5,514	3,899

**Graphique des interactions pour Valeurs**

Effet : Echantillons



**Test PLSD de Fisher pour Valeurs**

Effet : Echantillons

Niveau de significativité : 5 %

	Diff. moy.	Diff. crit.	Valeur p	
Artemisia herba alba, Quercétine	-1,720	30,660	,8953	
Artemisia herba alba, Rosmarinus officinalis	30,887	27,989	,0356	S
Artemisia herba alba, Témoin négatif	43,463	30,660	,0133	S
Artemisia herba alba, Témoin positif	77,064	30,660	,0008	S
Quercétine, Rosmarinus officinalis	32,607	27,989	,0292	S
Quercétine, Témoin négatif	45,183	30,660	,0113	S
Quercétine, Témoin positif	78,784	30,660	,0008	S
Rosmarinus officinalis, Témoin négatif	12,576	27,989	,3137	
Rosmarinus officinalis, Témoin positif	46,177	27,989	,0068	S
Témoin négatif, Témoin positif	33,601	30,660	,0365	S

### Activité de la catalase - Glucose 100mg/ml

**Tableau ANOVA pour Valeurs**

	ddl	Somme des carrés	Carré moyen	Valeur de F	Valeur de p	Lambda	Puissance
Echantillons	4	49558,869	12389,717	31,762	<,0001	127,050	1,000
Résidu	10	3900,748	390,075				

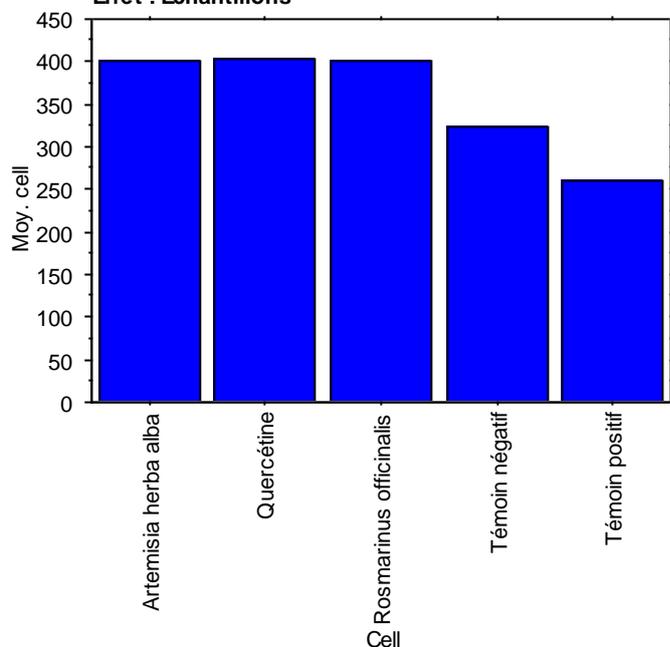
**Tableau de moyennes pour Valeurs**

**Effet : Echantillons**

	Nombre	Moyenne	Dév. Std.	Err. Std.
Artemisia herba alba	3	400,612	15,516	8,958
Quercétine	3	402,676	9,127	5,270
Rosmarinus officinalis	3	400,917	15,792	9,118
Témoin négatif	3	322,401	36,614	21,139
Témoin positif	3	260,015	6,027	3,480

**Graphique des interactions pour Valeurs**

**Effet : Echantillons**



**Test PLSD de Fisher pour Valeurs**

**Effet : Echantillons**

**Niveau de significativité : 5 %**

	Diff. moy.	Diff. crit.	Valeur p	
Artemisia herba alba, Quercétine	-2,064	35,931	,9007	
Artemisia herba alba, Rosmarinus officinalis	-,306	35,931	,9852	
Artemisia herba alba, Témoin négatif	78,211	35,931	,0007	S
Artemisia herba alba, Témoin positif	140,596	35,931	<,0001	S
Quercétine, Rosmarinus officinalis	1,758	35,931	,9153	
Quercétine, Témoin négatif	80,275	35,931	,0006	S
Quercétine, Témoin positif	142,661	35,931	<,0001	S
Rosmarinus officinalis, Témoin négatif	78,517	35,931	,0007	S
Rosmarinus officinalis, Témoin positif	140,902	35,931	<,0001	S
Témoin négatif, Témoin positif	62,385	35,931	,0031	S

## Statut antioxydant total - Glucose 1mg/ml

Tableau ANOVA pour Valeurs

	ddl	Somme des carrés	Carré moyen	Valeur de F	Valeur de p	Lambda	Puissance
Echantillons	4	5,203	1,301	69,609	,0001	278,437	1,000
Résidu	5	,093	,019				

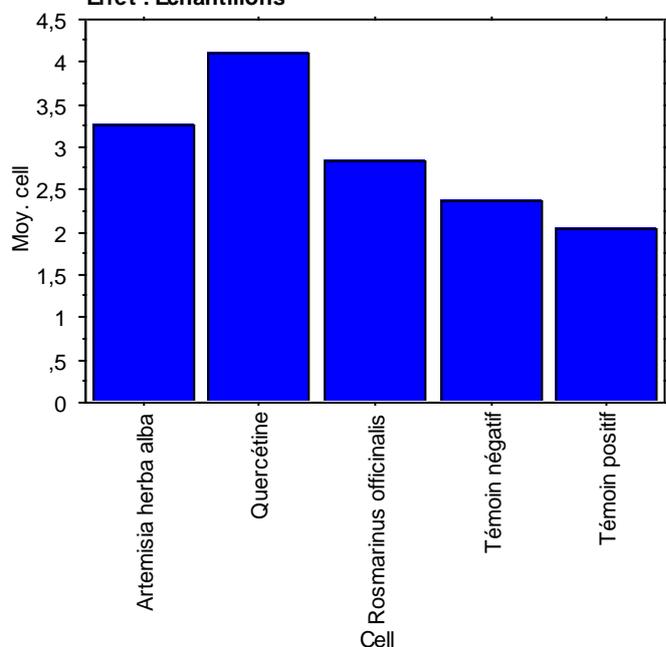
Tableau de moyennes pour Valeurs

Effet : Echantillons

	Nombre	Moyenne	Dév. Std.	Err. Std.
Artemisia herba alba	2	3,269	,141	,099
Quercétine	2	4,101	,148	,105
Rosmarinus officinalis	2	2,845	,015	,010
Témoin négatif	2	2,368	,215	,152
Témoin positif	2	2,039	,074	,052

Graphique des interactions pour Valeurs

Effet : Echantillons



Test PLSD de Fisher pour Valeurs

Effet : Echantillons

Niveau de significativité : 5 %

	Diff. moy.	Diff. crit.	Valeur p	
Artemisia herba alba, Quercétine	-,832	,351	,0017	S
Artemisia herba alba, Rosmarinus officin...	,424	,351	,0268	S
Artemisia herba alba, Témoin négatif	,900	,351	,0012	S
Artemisia herba alba, Témoin positif	1,230	,351	,0003	S
Quercétine, Rosmarinus officinalis	1,256	,351	,0003	S
Quercétine, Témoin négatif	1,732	,351	<,0001	S
Quercétine, Témoin positif	2,062	,351	<,0001	S
Rosmarinus officinalis, Témoin négatif	,476	,351	,0176	S
Rosmarinus officinalis, Témoin positif	,806	,351	,0020	S
Témoin négatif, Témoin positif	,330	,351	,0607	

## Statut antioxydant total - Glucose 10mg/ml

Tableau ANOVA pour Valeurs

	ddl	Somme des carrés	Carré moyen	Valeur de F	Valeur de p	Lambda	Puissance
Echantillons	4	7,664	1,916	81,466	<,0001	325,865	1,000
Résidu	5	,118	,024				

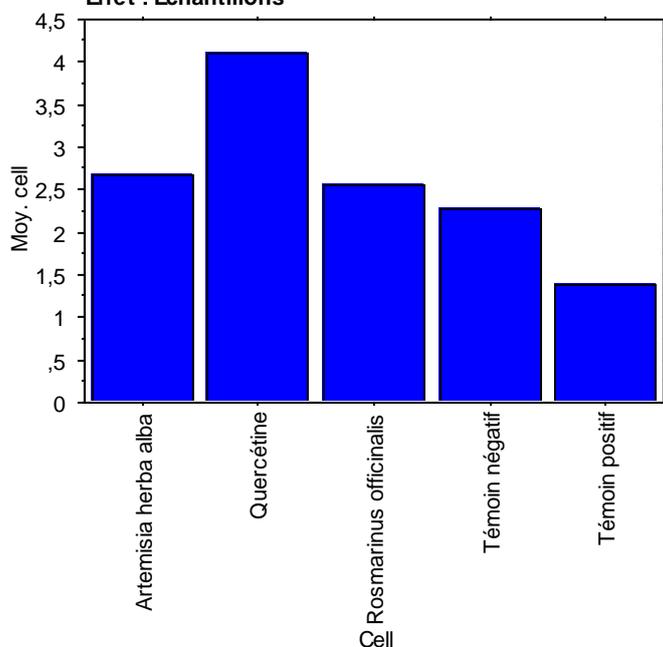
Tableau de moyennes pour Valeurs

Effet : Echantillons

	Nombre	Moyenne	Dév. Std.	Err. Std.
Artemisia herba alba	2	2,664	,096	,068
Quercétine	2	4,090	,089	,063
Rosmarinus officinalis	2	2,565	,059	,042
Témoin négatif	2	2,262	,118	,084
Témoin positif	2	1,379	,288	,204

Graphique des interactions pour Valeurs

Effet : Echantillons



Test PLSD de Fisher pour Valeurs

Effet : Echantillons

Niveau de significativité : 5 %

	Diff. moy.	Diff. crit.	Valeur p	
Artemisia herba alba, Quercétine	-1,426	,394	,0002	S
Artemisia herba alba, Rosmarinus officin...	,099	,394	,5460	
Artemisia herba alba, Témoin négatif	,402	,394	,0469	S
Artemisia herba alba, Témoin positif	1,285	,394	,0004	S
Quercétine, Rosmarinus officinalis	1,526	,394	,0002	S
Quercétine, Témoin négatif	1,829	,394	<,0001	S
Quercétine, Témoin positif	2,712	,394	<,0001	S
Rosmarinus officinalis, Témoin négatif	,303	,394	,1051	
Rosmarinus officinalis, Témoin positif	1,186	,394	,0006	S
Témoin négatif, Témoin positif	,883	,394	,0022	S

## Statut antioxydant total - Glucose 100mg/ml

Tableau ANOVA pour Valeurs

	ddl	Somme des carrés	Carré moyen	Valeur de F	Valeur de p	Lambda	Puissance
Echantillons	4	8,168	2,042	81,466	<,0001	325,865	1,000
Résidu	5	,125	,025				

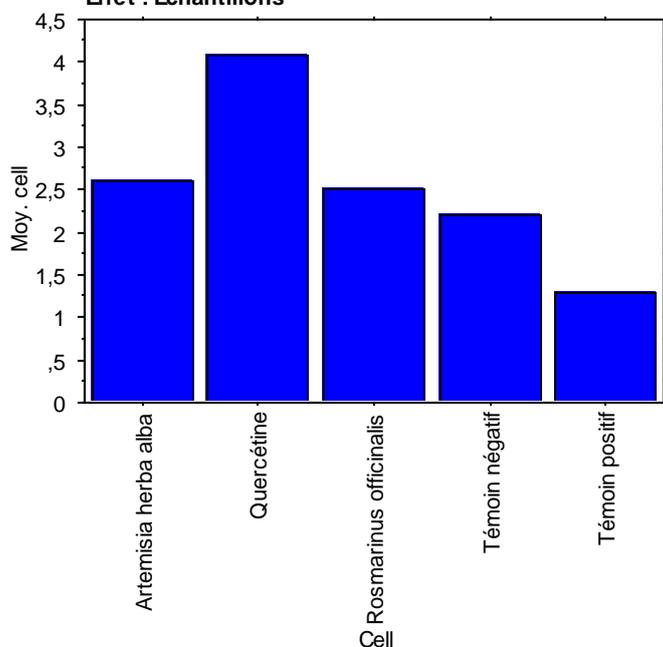
Tableau de moyennes pour Valeurs

Effet : Echantillons

	Nombre	Moyenne	Dév. Std.	Err. Std.
Artemisia herba alba	2	2,611	,099	,070
Quercétine	2	4,083	,092	,065
Rosmarinus officinalis	2	2,508	,061	,043
Témoin négatif	2	2,196	,122	,086
Témoin positif	2	1,284	,297	,210

Graphique des interactions pour Valeurs

Effet : Echantillons



Test PLSD de Fisher pour Valeurs

Effet : Echantillons

Niveau de significativité : 5 %

	Diff. moy.	Diff. crit.	Valeur p	
Artemisia herba alba, Quercétine	-1,472	,407	,0002	S
Artemisia herba alba, Rosmarinus officin...	,102	,407	,5460	
Artemisia herba alba, Témoin négatif	,415	,407	,0469	S
Artemisia herba alba, Témoin positif	1,327	,407	,0004	S
Quercétine, Rosmarinus officinalis	1,575	,407	,0002	S
Quercétine, Témoin négatif	1,888	,407	<,0001	S
Quercétine, Témoin positif	2,799	,407	<,0001	S
Rosmarinus officinalis, Témoin négatif	,313	,407	,1051	
Rosmarinus officinalis, Témoin positif	1,224	,407	,0006	S
Témoin négatif, Témoin positif	,912	,407	,0022	S

## Résumé

*Rosmarinus officinalis* et *Artemisia herba alba* sont deux plantes aromatiques utilisées depuis l'antiquité en médecine traditionnelle. Elles possèdent de multiples effets thérapeutiques et une variété d'activités biologiques ; sur cette base nous sommes intéressés à l'évaluation de leur activité antioxydante. Les extraits ont été obtenus par macération en utilisant deux solvants : l'éthanol et l'eau physiologique. Notre travail a porté sur l'étude des extraits des deux plantes en évaluant la teneur en composés phénoliques et l'activité antioxydante. Les teneurs en composés phénoliques totaux révèlent que la teneur la plus élevée des polyphénols est constatée dans la fraction éthanolique du *Rosmarinus officinalis* ( $81.870 \pm 0.2015$  mg EQ/g de poudre). De même le dosage des flavonoïdes montre que l'extrait éthanolique d'*Artemisia herba alba* présente la valeur la plus élevée ( $28.490 \pm 0.15$  mg EQ/g de poudre). L'activité antioxydante in vitro des différents extraits a été évaluée par la méthode de piégeage du radical libre DPPH. Les extraits montrent une forte activité antiradicalaire de l'extrait éthanolique de l'*Artemisia herba alba* ( $IC_{50} = 0.71$  mg/ml) et de l'extrait d'eau physiologique de *Rosmarinus officinalis* ( $IC_{50} = 0.864 \pm 0.36$  mg/ml)

Nous avons également démontré que les extraits étudiés permettent d'améliorer la capacité antioxydante totale ainsi que l'activité enzymatique de la catalase des échantillons de sérum humain.

**Mots clés :** *Rosmarinus officinalis*, *Artemisia herba alba*, polyphénols, flavonoïdes, activité antioxydante.

## Abstract

*Rosmarinus officinalis* and *Artemisia herba alba* are two aromatic plants used since ancient times in traditional medicine. They have multiple therapeutic effects and a variety of biological activities; on this basis we are interested in the evaluation of their antioxidant activity. The extracts were obtained by maceration using two solvents: ethanol and physiological saline. Our work focused on studying the extracts of both plants by evaluating the content of phenolic compounds and antioxidant activity. The levels of total phenolic compounds reveal that the highest content of polyphenols is found in the ethanolic fraction of *Rosmarinus officinalis* ( $81.870 \pm 0.2015$  mg EQ / g of powder). Similarly, the flavonoid assay shows that the ethanolic extract of *Artemisia herba alba* has the highest value ( $28.490 \pm 0.15$  mg EQ / g of powder). The in vitro antioxidant activity of the various extracts was evaluated by the DPPH free radical scavenging method. The extracts show a strong antiradical activity of the ethanolic extract of *Artemisia herba alba* ( $IC_{50} = 0.71$  mg / ml) and the physiological saline extract of *Rosmarinus officinalis* ( $IC_{50} = 0.864 \pm 0.36$  mg / ml)

We have also demonstrated that the extracts studied can improve the total antioxidant capacity as well as the enzymatic activity of catalase in human serum samples.

**Key words:** *Rosmarinus officinalis*, *Artemisia herba alba*, polyphenols, flavonoid, antioxidant activity.

## ملخص

*Rosmarinus officinalis* و *Artemisia herba alba* نوعان من النباتات العطرية المستخدمة منذ العصور القديمة في الطب التقليدي. لديهم آثار علاجية متعددة ومجموعة متنوعة من الأنشطة البيولوجية؛ على هذا الأساس ، نحن مهتمون بتقييم نشاطهم المضاد للأكسدة. تم الحصول على المستخلصات عن طريق النقع باستخدام مذيبين: الإيثانول والمحلل الفسيولوجي. ركز عملنا على دراسة مقتطفات كلا النباتين من خلال تقييم محتوى المركبات الفينولية ونشاط مضادات الأكسدة. تكشف مستويات المركبات الفينولية الكلية عن وجود أعلى نسبة من البوليفينول في الجزء الإيثانولي من *Rosmarinus officinalis* ( $81.870 \pm 0.2015$  ملليجرام مكافئ / غرام من المسحوق). وبالمثل ، يُظهر اختبار الفلافونويد أن المستخلص الإيثانولي لـ *Artemisia herba alba* له أعلى قيمة ( $28.490 \pm 0.15$  ملليجرام مكافئ / غرام من المسحوق). تم تقييم نشاط مضادات الأكسدة في المختبر من مختلف المستخلصات بواسطة طريقة إزالة الجذور الحرة DPPH. تُظهر المستخلصات نشاطاً مضاداً قوياً للمستخلص الإيثانولي لـ *Artemisia herba alba* ( $IC_{50} = 0.71$  مجم / مل) ومستخلص الملح الفسيولوجي لـ *Rosmarinus officinalis* ( $IC_{50} = 0.864 \pm 0.36$  ملغم / مل).

لقد أثبتنا أيضاً أن المقتطفات التي تمت دراستها يمكن أن تحسن القدرة الكلية لمضادات الأكسدة وكذلك النشاط الأنزيمي للكاتالاز في عينات المصل البشري.

**الكلمات المفتاحية:** *Rosmarinus officinalis* ، *Artemisia herba alba* ، المركبات الفينولية ، الفلافونويد ، نشاط مضاد للأكسدة .