

Appel à projets pour 2026

Dossier de proposition de Projets Collaboratifs et de Manifestations Scientifiques

**A transmettre avant le 20 Juin 2025, en PDF, à l'adresse sfr-tersys@univ-avignon.fr
avec l'intitulé suivant : ACRONYME_Nomporteurs_Unités_AAP2025TERSYS.pdf**

Responsable(s) du projet	Florence COSTE Christine PEPIN Sandrine PERINO
Liste des laboratoires de la SFR impliqués et des plateformes	LaPEC SAFE GREEN Plateforme métabolomique
Laboratoire gestionnaire du financement¹	<i>Nom du laboratoire et tutelle gestionnaire (Avignon Université ou INRAE pour les UMR) LaPEC « Laboratoire de Physiologie Expérimentale Cardio-vasculaire » ; Avignon université</i>
Coordonnées du/de la gestionnaire de laboratoire	Nom : Maryline SANCHEZ-JOLY ✉ : maryline.sanchez-joly@univ-avignon.fr ☎ : 04 13 95 13 43/07 81 83 84 92
Titre du projet	Potentiel cardioprotecteur d'extraits-émulsions de <i>Rosmarinus officinalis</i> L. et suivi pharmacocinétique après administration per os chez le rat.
Durée du projet	<input type="checkbox"/> 1 an <input checked="" type="checkbox"/> 1 an renouvelable

1. Résumé du projet (10-15 lignes max)

L'infarctus du myocarde (IdM), est une maladie grave sans traitement pharmacologique préventif. L'IdM est l'occlusion d'une artère coronaire entraînant une mort cellulaire cardiaque et une inflammation impliquant les espèces réactives de l'oxygène (ROS) agravant les lésions myocardiques. Certains actifs du romarin, *Rosmarinus officinalis* L., tels que l'acide carnosique et le carnosol, sont connus pour leurs propriétés anti-oxydantes, ce qui en fait un candidat intéressant pour la prévention du risque d'IdM. Ce potentiel antioxydant des extraits de romarin et leur efficacité dans la protection des patients à risque d'IdM sont largement dépendants de la biodisponibilité des actifs naturels qui les

¹ Le financement complet de chaque projet TERSYS sera de préférence géré par un seul laboratoire afin de faciliter et d'accélérer le démarrage des projets en 2026.

Appel à projets pour 2026

Dossier de proposition de Projets Collaboratifs et de Manifestations Scientifiques

composent. Des extraits de romarin issus de différentes techniques d'éco-extraction seront utilisés pour évaluer la meilleure biodisponibilité. Après administration *per os*, plasma, cœur, reins et foie seront prélevés chez les rats étudiés. Ces prélèvements seront dosés par UPLC/MS afin d'évaluer les caractéristiques pharmacocinétiques des principaux actifs antioxydants du romarin (acides carnosique, ursolique, rosmarinique, carnosol). Les tissus seront étudiés sur leur potentiel à réduire le taux de ROS.

L'objectif de ce projet est de comparer les paramètres pharmacocinétiques et la concentration tissulaire des extraits de *R. officinalis L.* issus de différentes techniques d'éco-extraction, suite à un gavage chez le rat, ainsi que les conséquences sur les ROS dans les tissus cibles.

2. Axes de la SFR TERSYS concerné(s)

Axe 3 : Analyse des effets des procédés

Axe 4 : Effets biologiques – Evaluation de la « valeur-santé »

3. Enjeu structurant pour la SFR

- Type de projet (Exploratoire, Conference, colloque, Préliminaire pour un autre projet (H2020/Horizon Europe, ANR, Région ...))
- Travail préliminaire à une demande de financement type ANR ou thèse région (avec implication d'un industriel du domaine de la naturalité).

4. Complémentarité de l'association des porteurs

La Docteurs Christine PEPIN et Sandrine PERINO et leur doctorante, Marine ESPINOSA, seront chargées de produire les différents extraits de *Rosmarinus officinalis L.* sur la base des résultats d'optimisation de la thèse. Ces extraits seront caractérisés par les chimistes (composition, activité antioxydante intrinsèque) et fournis en quantités suffisantes pour les tests biologiques ; L'analyse UPLC-MS sera réalisée à la plateforme 3A de métaboscopie par Marine ESPINOSA préalablement formée par le Docteur Vanessa KUENTZ. Le Docteur Florence COSTE, au sein du LaPEC, sera en charge de l'expérimentation animale, la récolte des échantillons biologiques pour l'analyse par LC-MS puis le prélèvement de cœurs afin d'évaluer la cardioprotection induite par les extraits.

5. Description du projet (4 pages maximum)

Enjeu, état de l'art et contexte du projet (1 page maxi)

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé, les maladies cardiovasculaires représentent la **première cause de mortalité et de morbidité dans le monde et la deuxième cause en France et dans les pays industrialisés**. Parmi ces pathologies, l'infarctus du myocarde (**IdM**) reste une des plus meurtrières et est une priorité de santé publique. L'ischémie cardiaque correspond à l'occlusion d'une artère coronaire aboutissant à une nécrose cardiaque appelée zone infarctie et à une inflammation

Appel à projets pour 2026

Dossier de proposition de Projets Collaboratifs et de Manifestations Scientifiques

majeure. Cette occlusion entraîne un arrêt ou une insuffisance de l'apport sanguin au niveau du cœur aboutissant à une diminution de l'apport en oxygène et en substrats énergétiques essentiels à son bon fonctionnement. L'inflammation est un facteur déclenché lors de l'IdM avec, notamment, l'implication d'espèces réactives de l'oxygène (**ROS**) qui contribuent à aggraver les lésions myocardiques (1). L'IdM est une pathologie grave **sans traitement pharmacologique préventif**.

Le LaPEC, s'intéresse aux **stratégies préventives naturelles** entraînant une **cardioprotection**. *Rosmarinus officinalis L.*, plante issue de l'**agriculture régionale**, présenterait un intérêt dans le cadre de la prise en charge **préventive** de patients à risque d'IdM. *Rosmarinus officinalis L.* est composé de plusieurs constituants, notamment l'acide carnosique (composé principal), le carnosol, l'acide rosmarinique et l'acide ursolique dont les rôles nous intéressent dans le cadre de la cytoprotection et de la cardioprotection. L'acide carnosique, qui est un anti-oxydant bien décrit dans la littérature, a un effet **cardioprotecteur** observé sur cardiomyocytes *in vitro* (2), et dans des **modèles d'ischémie myocardique *in vivo*** (3,4). De plus, des extraits d'acide rosmarinique, ont montré un rôle de cardioprotection dans des modèles *ex vivo* (5) et *in vivo* (6) d'ischémie myocardique. Certains composés de *R. officinalis L.* sont connus pour leurs propriétés **anti-oxydantes** (7), ce qui en feraient des candidats intéressants pour la prise en charge préventive des IdM. Un effet piégeur de ROS a été décrit pour l'acide rosmarinique, l'acide ursolique, l'acide carnosique et le carnosol de manière individuelle (8).

La composition de *R. officinalis L.* varie en fonction des conditions climatiques et des stades végétatifs. De plus, pour une même plante la technique d'extraction a un fort impact sur la composition finale de l'extrait. Ainsi de nouveaux procédés d'extraction ou de formulation peuvent moduler les effets biologiques puisque la composition tout comme la biodisponibilité peuvent être modifiés. La biodisponibilité est une propriété très importante dans le cadre d'étude de molécules d'origines végétales. La conception d'extraits issus d'une technologie innovante combinant éco-extraction (9) et formulation, aboutissant à des nanoémulsions riches en actifs lipophiles (10), fait l'objet de la thèse de Marine ESPINOSA, doctorante aux laboratoires SAFE et GREEN. Ces travaux de thèse toujours en cours ont donné lieu à une technologie récemment brevetée, combinant le pouvoir solubilisant de l'eau en conditions subcritiques aux propriétés particulières des colloïdes (11). Ces extraits-émulsions, baptisés « Extrémulsions » administrés par voie orale devraient permettre une meilleure biodisponibilité des quatre actifs antioxydants (acides carnosique, ursolique, rosmarinique, carnosol) qu'ils contiennent que les extraits non formulés disponibles dans le commerce. Les extrémulsions sont des extraits sous forme de nanoémulsions où les actifs lipophiles de *R. officinalis L.* sont encapsulés dans des gouttelettes d'huile qui devraient favoriser leur bioaccessibilité et logiquement leur biodisponibilité.

Nos expériences préliminaires ont validé l'administration possible des extrémulsions de *R. officinalis L.* par voie orale (*per os*) chez le rat et leur innocuité sur des cellules endothéliales en culture. La comparaison des capacités cytoprotectrices des différents extraits de *R. officinalis L.* suite à un stress sur cellules endothéliales est en cours d'étude. Ces effets cytoprotecteurs pourraient passer par l'inhibition du stress oxydant et donc des ROS.

Pour les composés d'origines végétales, la question de la biodisponibilité et de l'efficacité reste capitale. Les **biodisponibilités** d'extraits totaux de *Rosmarinus officinalis L.*, ainsi que d'acide carnosique, **issu de *R. officinalis L.***, ont déjà été étudiées chez le rat et étaient relativement satisfaisantes (12,13). La biodisponibilité des extraits de Romarin est améliorable et doit être évaluée pour chaque type d'extraction. De plus, la formulation de ces extraits peut grandement faire varier les concentrations sanguines puis les concentrations tissulaires dans les organes cibles des composés. La formulation est encore plus importante en fonction des propriétés lipophiles ou hydrophiles des molécules.

Objectifs du projet (1 page maxi)

Explorer le rôle cytoprotecteur des phytonutriments issus de *Rosmarinus officinalis L.*, plante issue de l'**agriculture régionale**, sera donc intéressant dans le cadre de la prise en charge **préventive** de

Appel à projets pour 2026

Dossier de proposition de Projets Collaboratifs et de Manifestations Scientifiques

patients à risque d'IdM. Le rat est un modèle d'étude pertinent car il a un système cardio-vasculaire proche de celui de l'humain.

Notre but ici sera de comparer la biodisponibilité et la concentration tissulaire des quatre actifs antioxydants d'intérêt issus de *R. officinalis L.* suite au gavage de rats avec, soit un extrait standard de romarin (donc une forme libre non encapsulée de ses principes antioxydants), soit un extrait formulé de type « extrémulsion », ainsi que les conséquences sur les ROS dans les tissus cibles.

Notre objectif sera *in fine* de comparer les biodisponibilités et les effets cardioprotecteurs de ces différents extraits de *R. officinalis L.* (standard ou extrémulsion) chez le rat.

Description du projet, contenu, attendus et calendrier (2 page maxi)

Afin de répondre aux différents objectifs de ce projet dans un premier temps, un gavage sera effectué sur des rats Wistar avec des éco-extrats « standard » de *R. officinalis* préparés par les laboratoires SAFE-GREEN. Un autre groupe recevra des extraits formulés (« Extrémulsions »). Nous disposerons donc de 3 groupes de rats à gaver : un contrôle (solvant de gavage : carboxymethylcellulose sodium salt 0.5% (14)), et deux groupes gavés avec des extraits soit « standard » contenant des actifs antioxydants sous forme libre, soit formulés ou « Extrémulsion ».

Le protocole de gavage est déjà publié (14), deux gavages seront réalisés par animal à 24h d'intervalle (animaux mis à jeun). La dose de gavage sera de 87,4 mg/kg normalisé entre les groupes en fonction du pouvoir anti-oxydant déjà évalué via un test *in vitro* acellulaire (test au DPPH).

Nous souhaiterions connaître les concentrations tissulaires et les biodisponibilités des quatre composés déjà observés dans les différents extraits : acide carnosique, carnosol (qui est également un métabolite de l'acide carnosique), acide rosmarinique et acide ursolique. Deux rats seront utilisés par temps de sacrifice afin d'évaluer la demi-vie, la concentration maximale et le temps d'atteinte de la concentration maximale de chaque composé, suite à un prélèvement de sang. A chaque temps le cœur, le foie et les reins seront également prélevés. Les sept temps choisis s'appuient sur d'autres études de pharmacocinétique sur ces molécules et sont les suivants : 5, 15, 30, 60, 120 240, 360 minutes (12, 13, 15) . Puis le sang des animaux sera prélevé et le plasma sera préparé selon un protocole établi (12). Ainsi nous aurons besoin de 2 animaux par temps, il y aura 7 temps, donc 14 animaux par groupe de rats traités et quelques animaux contrôles ; soit 32 animaux.

Les échantillons préparés au LaPEC seront analysés par Marine Espinosa, après formation à l'utilisation de l'UPLC/SM (chromatographie liquide ultra- performance/spectrométrie de masse) de la plateforme 3A de métaboscopie. L'UPLC/MS (chromatographie liquide haute performance/spectrométrie de masse) permettra une analyse qualitative et quantitative des molécules d'intérêt dans les différents tissus.

En parallèle, le taux de production de ROS sera évalué au LaPEC en utilisant une sonde dihydroéthidium (DHE) sur une partie des tissus cardiaques, rénaux et hépatiques. Le DHE pénètre dans les cellules, réagit avec l'anion superoxyde et est oxydé en 2-hydroxyéthidium fluorescent.

Mois*	Expérience
2025	<u>Au préalable</u> : Préparation des différents extraits de Romarin par les équipes SAFE et GREEN
Janvier-Février 2026	- Gavage et sacrifices rats- préparation échantillons - Pré-test UPLC/MS
Mars-Avril	- Dosages + Analyses UPLC/MS - Expérience + Analyses ROS / DHE
Mai-Juin	- Finalisation Analyses + Rédaction rapport M2 - Présentation congrès
Juillet-Décembre	Rédactions demandes de financement

Appel à projets pour 2026

Dossier de proposition de Projets Collaboratifs et de Manifestations Scientifiques

Description du consortium (1/2 page maxi)

Christine PEPIN, Sandrine PERINO et Marine ESPINOSA fourniront les différents extraits de *R. officinalis L.* Florence COSTE, aidée par un étudiant s'occupera des gavages au sein du LaPEC, elle réalisera également les différents prélèvements d'organes, de plasma et le sacrifice des rats. Ils s'occuperont également d'évaluer les ROS produits dans le cœur et le foie de ces animaux. Les analyses de biodisponibilités seront réalisées au sein de la plateforme 3A avec l'expertise de Vanessa KUENTZ. Marine ESPINOSA y sera formée et réalisera les analyses par UPLC/MS.

Budget détaillé en précisant le montant consacré aux plateformes 3 A (1/2 page maxi)

Type de dépense*	Description	Montant
Personnel	1 PhD-student (Marine ESPINOSA) – thèse déjà financée 1 M2 student	0 € 3515 €
Consommables	Achat + hébergement rongeurs	2 500 €
Plateforme 3A	Analyses par UPLC/MS	2485 €
Consommables	Extraits issus des laboratoire SAFE et GREEN	-2000 €
	Achat standards analytiques et solvants HPLC	1500 €
	Réactifs divers de biochimie, sondes gavages	1000€
	Budget chercheuse Florence COSTE	-2 000 €
	TOTAL sollicité	7 000 €

Les 2000 euros restants sont pris en charge par la part chercheuse de Florence COSTE du laboratoire LaPEC. Christine PEPIN et Sandrine PERINO fournissent les extraits et Marine ESPINOSA fera les analyses au métaboscope. Ce budget de 7000 euros permettra de mener notre nouveau projet.

Partenariat scientifique et industriel éventuel (1/2 page maxi)

A ce stade aucun industriel n'est impliqué dans le projet, mais au vu des publications existantes dans le domaine, en cas de succès, ces résultats préliminaires pourraient séduire des industriels du domaine de la naturalité (ex : marché des compléments alimentaires) qui pourraient devenir de futurs partenaires pour des demandes de financement à la région ou de projets ANR.

Références bibliographiques

1. Coste F, Boulghobra D, Reboul C. Comment l'activité physique cible la mitochondrie pour protéger le cœur ? Archives des Maladies du Coeur et des Vaisseaux - Pratique. févr 2024;2024(325):23-6.
2. Liu P, Dong J. Protective effects of carnosic acid against mitochondria-mediated injury in H9c2 cardiomyocytes induced by hypoxia/reoxygenation. Exp Ther Med [Internet]. 2 oct 2017 [cité 5 juin 2023]; Disponible sur: <http://www.spandidos-publications.com/10.3892/etm.2017.5243>
3. Hu M, Li T, Bo Z, Xiang F. The protective role of carnosic acid in ischemic/reperfusion injury through regulation of autophagy under T2DM. Exp Biol Med (Maywood). mai 2019;244(7):602-11.
4. Kocak C, Kocak FE, Akcilar R, Isiklar OO, Kocak H, Bayat Z, et al. Molecular and biochemical evidence on the protective effects of embelin and carnosic acid in isoproterenol-induced acute myocardial injury in rats. Life Sci. 15 févr 2016;147:15-23.
5. Javidanpour S, Dianat M, Badavi M, Mard SA. The cardioprotective effect of rosmarinic acid on acute myocardial infarction and genes involved in Ca²⁺ homeostasis. Free Radical Research. 2 déc 2017;51(11-12):911-23.
6. Liu Q, Tian J, Xu Y, Li C, Meng X, Fu F. Protective Effect of RA on Myocardial Infarction-Induced Cardiac Fibrosis via AT1R/p38 MAPK Pathway Signaling and Modulation of the ACE2/ACE Ratio. J Agric Food Chem. 7 sept 2016;64(35):6716-22.
7. Gonçalves C, Fernandes D, Silva I, Mateus V. Potential Anti-Inflammatory Effect of Rosmarinus officinalis in Preclinical In Vivo Models of Inflammation. Molecules. 18 janv 2022;27(3):609.

Appel à projets pour 2026

Dossier de proposition de Projets Collaboratifs et de Manifestations Scientifiques

8. Li Pomi F, Papa V, Borgia F, Vaccaro M, Allegra A, Cicero N, et al. Rosmarinus officinalis and Skin: Antioxidant Activity and Possible Therapeutical Role in Cutaneous Diseases. *Antioxidants*. 9 mars 2023;12(3):680.
9. Chemat F. Eco-extraction du végétal: procédés innovants et solvants alternatifs. Paris: Dunod; 2014.
10. Dall'armellina A, Letan M, Duval C, Contino-Pépin C. One-pot solvent-free extraction and formulation of lipophilic natural products: from curcuma to dried formulations of curcumin. *Green Chem.* 2021;23(22):8891-900.
11. FR2505650 (Mai 2025) "Extraction-formulation de substances d'intérêt en eau subcritique assistée par des nanoémulsions huile-dans-eau" C. Contino-Pépin, M. Espinosa, S. Périno, C. Duval.
12. Doolaege EHA, Raes K, De Vos F, Verhé R, De Smet S. Absorption, Distribution and Elimination of Carnosic Acid, A Natural Antioxidant from Rosmarinus officinalis, in Rats. *Plant Foods Hum Nutr.* juin 2011;66(2):196-202.
13. Romo Vaquero M, García Villalba R, Larrosa M, Yáñez-Gascón MJ, Fromentin E, Flanagan J, et al. Bioavailability of the major bioactive diterpenoids in a rosemary extract: Metabolic profile in the intestine, liver, plasma, and brain of Zucker rats. *Molecular Nutrition Food Res.* oct 2013;57(10):1834-46.
14. Yehya M, Boulghobra D, Grillet PE, Fleitas-Paniagua PR, Bideaux P, Gayrard S, et al. Natural Extracts Mitigate the Deleterious Effects of Prolonged Intense Physical Exercise on the Cardiovascular and Muscular Systems. *Antioxidants.* 22 juill 2023;12(7):1474.
15. Yan H, Wang L, Li X, Yu C, Zhang K, Jiang Y, et al. High-performance liquid chromatography method for determination of carnosic acid in rat plasma and its application to pharmacokinetic study. *Biomedical Chromatography.* juill 2009;23(7):776-81.

6. Autres informations (1/2 page maximum) Merci d'indiquer si le projet a été soumis à un autre appel d'offre et/ou s'il bénéficie d'un autre financement partiel

Ce projet n'a pas été soumis à un autre AAP et ne bénéficie daucun autre financement.

7. Avis des directeurs d'unité / laboratoire

LAPEC

Les trois projets déposés sur l'Appel à projet Tersys 2026 s'inscrivent dans les thématiques du LaPEC. Lors du conseil de laboratoire du 2 juin, les responsables et co-responsables (C Reboul, F Coste, S Antoine et A Vinet) ont présenté leur projet. Le conseil de laboratoire (en absence des porteurs) a jugé les 3 projets très intéressants et aboutis.

Avis très favorable.

Agnès Vinet-Jullian

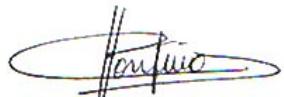


Equipe SAFE

Appel à projets pour 2026

Dossier de proposition de Projets Collaboratifs et de Manifestations Scientifiques

Ce projet s'inscrit parfaitement dans la valorisation des formulations innovantes développées dans le cadre de la thèse de Marine ESPINOSA. Il offre une belle opportunité de collaboration avec l'équipe du LaPEC et en particulier avec Florence COSTE dont l'expertise en expérimentation animale permettra de valider l'intérêt des extrémulsions pour des applications *in vivo*.



C. Contino-Pépin (directrice équipe SAFE)