

## TABLE DES MATIÈRES

SOMMAIRE.....	I
LISTE DES FIGURES.....	II
LISTE DES TABLEAUX.....	III
LISTE DES SIGLES ET DES ABRÉVIATIONS.....	IV
I. INTRODUCTION.....	1
II. MATÉRIELS ET MÉTHODES.....	4
A. PARTIE CHIMIQUE .....	4
1. Préparation de l'extrait.....	4
2. Criblage phytochimique.....	5
B. PARTIE PHARMACOLOGIQUE.....	7
1. Animaux d'Expérimentation.....	7
2. Mesure de la glycémie.....	7
3. Étude de l'effet de l'extrait AM03 sur la glycémie de base .....	7
4. Étude de l'effet de l'extrait AM03 sur l'hyperglycémie transitoire .....	8
5. Étude de l'effet de l'extrait AM03 sur l'hyperglycémie chronique .....	8
C. EXPRESSION ET ANALYSE DES RÉSULTATS.....	9
III. RÉSULTATS.....	10
A. PARTIE CHIMIQUE .....	10
1. Rendement de l'extraction.....	10
2. Résultats du criblage phytochimique.....	10
B. PARTIE PHARMACOLOGIQUE.....	10
1. Effet de l'extrait AM03 sur la glycémie de base .....	10
2. Effet de l'extrait AM03 sur l'hyperglycémie transitoire .....	11
3. Effet de l'extrait AM03 sur l'hyperglycémie chronique .....	12
IV. DISCUSSION.....	14
V. CONCLUSION.....	16
BIBLIOGRAPHIE.....	17

## LISTE DES FIGURES

- Figure 1.** Préparation de l'extrait AM03.....5
- Figure 2.** Variation de la glycémie chez le lot témoin (■) et chez les lots traités avec l'extrait AM03 aux doses de 50 mg/kg (■), 100 mg/kg (■) et 200 mg/kg (■), administré par voie orale en fonction du temps ( $\bar{m} \pm e.s.m$  ; n = 3 ; p < 0,05).....11
- Figure 3.** Variation de la glycémie après administration de 4 g/kg de glucose *per os* chez le lot témoin (■) et chez les lots traités avec l'extrait AM03 aux doses de 50 mg/kg (■), 100 mg/kg (■) et 200 mg/kg administré par voie orale (■) ( $\bar{m} \pm e.s.m$  ; n = 3 ; p < 0,05) en fonction du temps.....12
- Figure 4.** Variation de la glycémie chez les souris témoins diabétiques (■) après injection de l'alloxane 150 mg/kg par voie intra-péritonéale et chez les souris traitées (■) avec l'extrait AM03 à 200 mg/kg administré par voie orale en fonction du temps ( $\bar{m} \pm e.s.m$  ; n = 3 ; p < 0,05).....13

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau I.</b> Tests utilisés pour identifier les différentes familles chimiques présentes dans l'extrait AM03 .....	6
<b>Tableau II.</b> Résultats du criblage phytochimique effectué sur l'extrait AM03.....	10



## LISTE DES SIGLES ET DES ABRÉVIATIONS

coll	: Collaborateurs
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	: Acide sulfurique
β	: Bêta
α	: Alfa
°C	: Degré Celsius
<	: Inférieur
%	: Pourcentage
±	: Plus ou moins
e.s.m	: Ecart-type Standard à la Moyenne
FeCl <sub>3</sub>	: Chlorure de Fer
FID	: Fédération Internationale du Diabète
H	: Heures
HCl	: Acide Chloridrique
g/kg	: Gramme par kilogramme
L	: Litre
LPGPC	: Laboratoire de Pharmacologie Générale, de Pharmacocinétique et de Cosmétologie
$\bar{m}$	: Valeur en moyenne
mg/kg	: Milligramme par kilogramme
Min	: Minute
ml/kg	: Millilitre par kilogramme
mmol/l	: Millimolle par litre
N	: Nombre d'animaux utilisés
NaCl	: chlorure de sodium
OMS	: Organisation Mondiale de la Santé
P	: Degré de signification
SGLT2	: Transporteur Sodium-Glucose de type 2
T	: Temps

A large, horizontally-oriented oval with a marbled pattern in shades of gray and white. The pattern consists of irregular, vein-like shapes. The word "INTRODUCTION" is centered within this oval in a black, serif, italicized font.

# *INTRODUCTION*

## I. INTRODUCTION

Le diabète est un trouble métabolique chronique qui affecte de plus en plus de gens dans le monde. Il devient un véritable problème de santé publique (ZHOU et coll., 2009). Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), environ 108 millions de personnes sont atteintes de diabète dans le monde en 1980 contre 422 millions en 2014 (OMS, 2017). D'ici 2030, ces valeurs pourraient augmenter à environ 439 millions (SHAW J. E. et coll., 2010). En Afrique, il y aura une augmentation de 180 %, soit une hausse de 3 à 8 millions de personnes atteintes de diabète (CRUICKSHANK J. K., 2001). Selon la Fédération Internationale de Diabète (FID), 352000 personnes sont atteintes de diabète à Madagascar en 2013, et les adultes en sont les plus touchés (FID, 2013).

Le diabète est caractérisé par un état hyperglycémique chronique qui peut aller jusqu'à 1.26 g/l (7 mmol/l) d'une manière permanente, or la valeur normale de la glycémie est de 4 à 6 mmol/l (BUYSSCHAERT M. et coll., 1999 ; RACCAH D., 2004). Cette glycémie est régulée par deux hormones: l'insuline et le glucagon. L'insuline est une hormone hypoglycémisante sécrétée par les cellules  $\beta$  des îlots de Langerhans (ANDREELLI F., 2003). Tandis que le glucagon est une hormone hyperglycémisante libérée par les cellules  $\alpha$  des îlots de Langerhans (ANDREELLI F., 2003). L'élévation de la glycémie provoque la sécrétion de l'insuline (DOLZ M., 2008). Cette hormone favorise le stockage du glucose sous forme de glycogène au niveau du foie et du muscle par glycogénogenèse, ou sous forme de triglycéride dans les tissus adipeux par lipogenèse (GERALD J. et TABORSKY J. R., 2010), en favorisant la pénétration du glucose dans les myocytes et les adipocytes par l'intermédiaire des transporteurs du glucose « GLUT-4 » (MALAISSE W. J. et coll., 1982).

Tandis que la sécrétion du glucagon est stimulée par la baisse de la glycémie. Cette hormone favorise la glycogénolyse et la néoglucogenèse au niveau du foie afin de relâcher le glucose vers la circulation sanguine (GERALD J. et TABORSKY J. R., 2010). A part l'insuline et le glucagon, il existe d'autres hormones surrénaliennes qui régulent l'homéostasie glucidique telles que les hormones de croissance, l'adrénaline et le cortisol. Ces hormones agissent en cas de jeûne pour produire du glucose à partir des substrats non glucidiques comme les acides aminés ou les acides gras (TAPPY L., 2004).

L'hyperglycémie chez les diabétiques est due au défaut de sécrétion et/ou d'une mauvaise utilisation de l'insuline (NJOLSTAD P. R. et coll., 2003). Le diabète est classé en 3 groupes: le diabète de type 1, le diabète de type 2 et le diabète gestationnel. Le diabète de type 1 ou diabète insulino-dépendant (DID) résulte d'une destruction progressive des cellules  $\beta$  pancréatiques jusqu'à 90 % par un mécanisme auto-immune. Il représente environ 10 %

de l'ensemble de cas mondial, il peut survenir à tout âge mais touche le plus souvent les enfants. Dans ce cas, l'hyperglycémie apparaît lorsqu'il ne reste plus que 10 à 20 % de cellules  $\beta$  fonctionnelles. Ce processus auto-immune survient sur un terrain de prédisposition génétique et il est associé à l'apparition d'auto-anticorps dans le sang (CALOP J. et coll., 2008).

Par contre, le diabète de type 2 ou diabète non insulino-dépendant (DNID) est le type le plus répandu qui représente 90 % de cas de diabète. De nombreuses causes sont à l'origine de ce type de diabète, les facteurs génétiques associés à une altération de la sécrétion d'insuline ou à une résistance à l'insuline et aux facteurs environnementaux comme l'obésité, le manque d'exercice physique et l'âge (OZOUGWU J. C. et coll., 2013).

Enfin, le diabète gestationnel résulte d'un trouble de la tolérance au glucose pendant la grossesse (SPINAS G. A. et LEHMAN R., 2001).

Le diabète de type 1 se manifeste par une excrétion excessive d'urine ou polyurie, une sensation de soif ou polydipsie, une perte de poids et une sensation de lassitude. Ces symptômes peuvent être moins marqués dans le diabète de types 2 ou même inexistant au début de la maladie (BOREL J. P. et coll., 1999).

Le principal effet des produits antidiabétiques est de faire baisser la glycémie. Au cas où le diabète est dû au manque d'insuline, elle est substituée par l'injection d'insuline pharmaceutique. Dans le cas où la quantité d'insuline sécrétée est faible, mais les cellules sécrétrices fonctionnent encore, elles sont stimulées afin de produire assez d'insuline, comme Diamicon® (Gliclazide) et Glibénèse® (Glipizide) (PANTEN U. et coll., 1996). Par ailleurs, lorsque la quantité d'insuline sécrétée est normale, mais les tissus cibles résistent à son action, des sensibilisateurs à l'insuline sont utilisés comme Glucophage® (Metformine), Avandia® (Rosiglitazone) (CHARBONNEL B. et CARIOU B., 1997). Enfin, des inhibiteurs des co-transporteurs SGLT2 qui inhibent la réabsorption de glucose au niveau des tubules rénaux (BOLDYS A. et OKOPIEN B., 2009) et les inhibiteurs de l' $\alpha$ -glucosidase qui inhibent cette enzyme responsable de la dégradation des glucides apportés par les aliments, par exemples le Glucor® (Acarbose) ou le Diastabol® (Miglitol) (HALIMI S., 2003).

En dépit de l'existence de ces médicaments, nombreux sont les gens qui ont recours à la médecine traditionnelle pour résoudre leurs problèmes de santé. Par ailleurs, 1200 espèces de plantes sont utilisées comme médicaments dans la thérapie traditionnelle du diabète dans le monde (MARLES R. J. et FARNSWORTH N. R., 1995). D'ailleurs, de nombreux médicaments tirent leur origine des plantes médicinales, comme la Metformine®, extrait de *Galega officinalis* (FABACEAE) (OUBRE A.Y. et coll., 1997) et le Madeglucyl®

qui a été préparé à partir de l'extrait de graine de *Sizigium jambolanum* (MYRTACEAE) (KUMAR A. et coll., 2008).

En Afrique, de nombreuses plantes médicinales sont utilisées pour soigner le diabète. Parmi lesquelles, les feuilles d'*Acacia nilotica* (MIMOSACEAE), les graines de *Vigna sinensis* (FABACEAE) et toute la partie de la plante *Euphorbia hirta* (EUPHORBIACEAE) sont utilisées sous forme de décocté (MOHAMED O. et coll., 2009).

A Madagascar, la décoction de l'écorce d'*Anacardium occidentale* (ANACARDIACEA), de la tige et de la feuille d'*Adansonia digitata* (BOMBACACEAE) ainsi que de la feuille de *Ziziphus mauritiana* (RHAMNACEAE) est utilisée comme hypoglycémiant (NICOLAS J. P., 2012).

Selon les enquêtes ethnobotaniques que nous avons effectuées dans la région de SAVA, district d'Andapa, le décocté des feuilles de la plante sujet de ce mémoire, est utilisé après un repas riche en glucide et en graisse. Cela nous a permis d'avancer une hypothèse que cette plante posséderait une activité hypoglycémiant. Notre étude a pour but d'étudier l'effet de l'extrait de cette plante en suivant la variation de la glycémie des animaux traités par cet extrait. Les expériences ont été effectuées chez la souris normo-glycémique, hyperglycémique par surcharge du glucose et un modèle d'hyperglycémie chronique provoquée par l'alloxane.

A horizontal oval shape with a marbled pattern in shades of grey and white, serving as a background for the text.

*MATÉRIELS  
ET  
MÉTHODES*

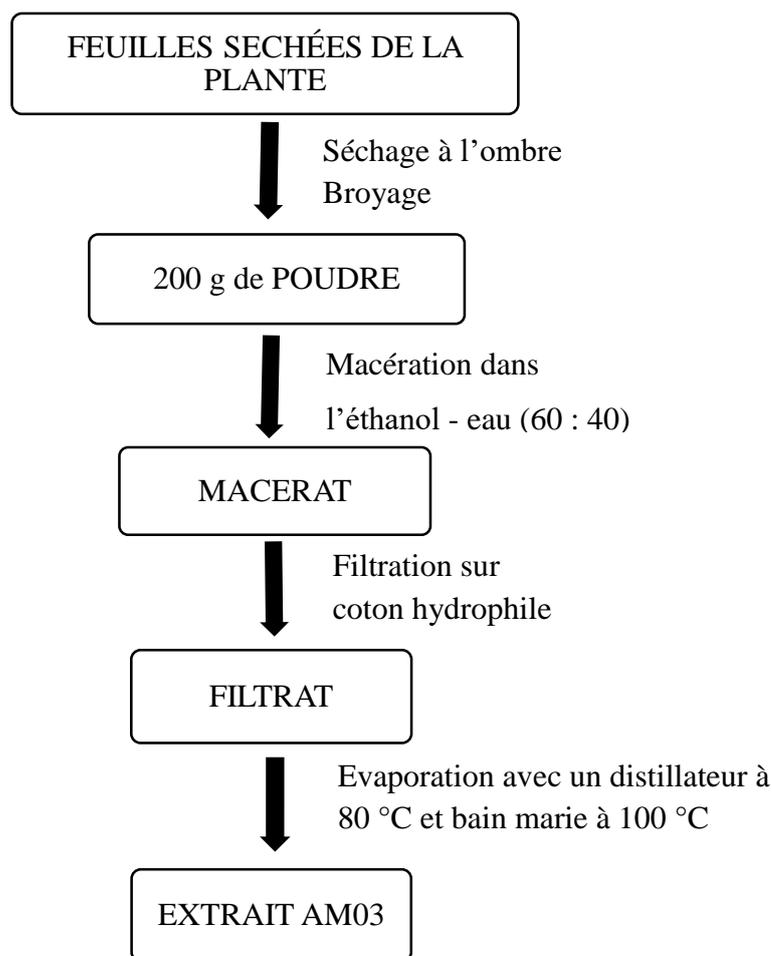
## II. MATÉRIELS ET MÉTHODES

### A. PARTIE CHIMIQUE

#### 1. Préparation de l'extrait

Les feuilles de la plante ont été récoltées à Andapa dans la région de SAVA au mois d'octobre 2016. Elles ont été séchées à l'ombre dans une salle aérée, à la température ambiante, pendant 3 mois. Une fois séchées, elles ont été broyées à l'aide d'un broyeur à marteau (BROOK CROMPTON, séries 2000). Deux cent grammes de la poudre obtenue ont été macérés dans un mélange éthanol - eau (60 : 40), à la température ambiante pendant 3 jours, en agitant une fois par jour. Ensuite, le macérât a été filtré sur du coton hydrophile et le filtrat a été évaporé à l'aide d'un distillateur à la température de 80 °C, puis au bain marie à la température de 100 °C (Figure 1). L'extrait ainsi obtenu a été codé AM03, puis pesé pour calculer le rendement selon la formule:

$$\text{Rendement}(\%) = \frac{\text{masse de l'extrait brut}(g)}{\text{masse de la poudre}(g)} \times 100$$



**Figure 1:** Préparation de l'extrait AM03

## 2. Criblage phytochimique

Un criblage phytochimique a été effectué sur l'extrait AM03 dans le but de déterminer les familles chimiques présentes dans cet extrait. Les tests utilisés lors du criblage phytochimique sont basés sur des réactions de coloration et de précipitation entre des réactifs spécifiques et les familles chimiques correspondantes présentes dans l'extrait (FONG H. H. S. et coll., 1997) (Tableau I).

Les signes suivants ont été utilisés afin de quantifier la proportion de ces différentes familles:

+++ : Présence en forte teneur

++ : Présence en teneur moyenne

+ : Présence en faible teneur

± : Présence en très faible teneur

**Tableau I:** Tests utilisés pour identifier les différentes familles chimiques présentes dans l'extrait AM03 (FONG H. H. S. et coll., 1997).

Familles chimiques	Tests	Réactifs	Observations
ALCALOÏDES		DRAGENDORFF, MAYER, WAGNER	Précipitation
TANINS		Gélatine + Na Cl	Précipitation verte
		Gélatine + Fe Cl <sub>3</sub> Méthanol	Précipitation bleue
COMPOSÉS PHÉNOLIQUES		Gélatine 1 %	Précipitation
STÉROÏDES ET TRITERPÈNES	LIERMAN BURCHARD	Anhydrides acétique + H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Coloration violette
	BADGET KEDDE	Acide picrique	Coloration rouge
	SALKOWSKI	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Anneau de séparation rouge
FLAVONOÏDES	WIL-STATER	Ruban de Mg + HCl concentré	Coloration rouge
LEUCOANTHOCYANES	BATH-SMITH	H Cl concentré + Bain- marie	Coloration rouge violacée
ANTHOCYANES		HCl à froid	Coloration rouge
POLYSACCHARIDES		+ 3 Volumes d'éthanol	Trouble
SUCRES RÉDUCTEURS		Liqueur de Fehling + Bain- marie	Précipitation rouge brique
COUMARINES		NaOH 10 %	Fluorescence à l'UV
SAPONINES	MOUSSE	HCl + Agitation	Persistance d'une mousse (3 cm d'épaisseur) après 30 mn

## **B. PARTIE PHARMACOLOGIQUE**

L'activité de l'extrait AM03 a été étudiée chez la souris de race Swiss rendue hyperglycémique. L'hyperglycémie transitoire a été provoquée par l'administration d'une solution glucosée, tandis que l'hyperglycémie chronique a été provoquée par injection d'alloxane.

### **1. Animaux d'expérimentation**

Des souris de race Swiss mâles, âgés de 3 mois pesant entre 22 et 26 g ont été utilisées. Elles ont été élevées à l'animalerie du Laboratoire de Pharmacologie Générale, de Pharmacocinétique et de Cosmétologie (LPGPC), de la Faculté des Sciences de l'Université d'Antananarivo. Ils ont été soumis à un cycle de lumière et d'obscurité 12 h/12 h à la température ambiante, nourris avec de la provende LFL 1420 et ont eu accès libre à de l'eau. Ces animaux ont été mis à jeun pendant 16 h avant toutes les manipulations, puis répartis en 4 lots: un lot témoin et 3 lots traités avec l'extrait à différentes doses.

### **2. Mesure de la glycémie**

Pour mesurer la glycémie des souris, une goutte de sang a été prélevée au niveau de leur veine mandibulaire en piquant à l'aide d'une lancette stérilisée, puis la goutte de sang qui en coulait a été recueillie sur une bandelette réactive d'un glucomètre *One Call Plus* ©. Cette bandelette a ensuite été insérée dans le glucomètre et la glycémie s'affiche sur l'écran de l'appareil.

### **3. Étude de l'effet de l'extrait AM03 sur la glycémie de base**

Pour étudier l'effet de l'extrait AM03 sur la glycémie de base, des souris normo glycémiques ont reçu l'extrait AM03 par voie orale, et la variation de leur glycémie a été suivie. Les souris ont été mises à jeun pendant 16 heures avant le test, puis réparties en quatre lots de trois souris. L'extrait a été dissout dans de l'eau distillée, et administré par voie orale. Au temps  $T_0$ , leur glycémie de base a été mesurée et immédiatement après, les souris du lot témoins ont reçu 10 ml/kg d'eau distillée, tandis que celles du lot traité ont reçu de l'extrait aux doses respectives de 50, 100 et 200 mg/kg dans 10 ml/kg d'eau distillée (DIELH K. H. et HEINZ K., 2010). Un prélèvement sanguin a été effectué toute les 30 min pendant 90 min après l'administration de l'extrait, pour suivre la variation de la glycémie de ces animaux (SY G. Y. et coll., 2008).

#### **4. Étude de l'effet de l'extrait AM03 sur l'hyperglycémie transitoire**

L'activité de l'extrait AM03 a été étudiée sur l'hyperglycémie transitoire provoquée chez les souris en leur administrant une solution glucosée par voie orale (KERNAN W. N. et coll., 2005). Elles ont été mises à jeun pendant 16 h avant l'expérience mais ont eu accès libre à de l'eau, puis ont été réparties en 4 lots de 3 souris: 1 lot témoin et 3 lots traités avec l'extrait aux différentes doses. Le lot témoin a reçu 10 ml/kg d'eau distillée, tandis que les 3 autres lots ont reçu l'extrait aux doses respectives de 50, 100 et 200 mg/kg par voie orale dans 10 ml/kg d'eau distillée (DIELH K. H. et HEINZ K., 2010).

Au temps  $T_0$ , la glycémie de base de tous les animaux a été déterminée. Ensuite, les souris du lot témoin ont reçu 10 ml/kg d'eau distillée, tandis que les souris des lots traités ont reçu respectivement de l'extrait AM03 aux doses de 50, 100 et 200 mg/kg dans 10 ml/kg d'eau distillée (DIELH K. H. et HEINZ K., 2010).

Au temps  $T_1$ , c'est à dire 30 min après l'administration de l'eau distillée et de l'extrait AM03, toutes les souris ont reçu 4 g/kg d'une solution de glucose par voie orale dans un volume de 10 ml/kg. Ensuite, toutes les 30 min et ceci pendant 90 min après l'administration de la solution de glucose, une saignée a été effectuée au niveau de la veine mandibulaire de la souris et une goutte de sang a été recueillie sur une bandelette du glucomètre One Cal Plus© pour mesurer la glycémie (SY G. Y. et coll., 2008).

#### **5. Étude de l'effet de l'extrait AM03 sur la glycémie chronique**

Pour étudier l'activité de l'extrait sur une hyperglycémie chronique, l'alloxane a été injectée par voie intra péritonéale chez la souris (DOUPA D. et coll., 2014). Des souris de sexe mâle pesant en moyenne 22 à 26 g ont été utilisées. Elles ont été mises à jeun pendant 16 h avant l'expérience mais ont eu accès à de l'eau. Puis 150 mg/kg d'alloxane dissout dans de l'eau distillée a été injecté par voie intra péritonéale dans un volume de 10 ml/kg (AHMED M. S. et coll., 2005). Trois jours après l'injection d'alloxane, leur glycémie a été mesurée à jeun (DOUPA D. et coll., 2014), les souris qui ont présenté une glycémie supérieure ou égale 6,66 mmol/l ont été retenues pour l'expérimentation (STANELY M. P. P. et coll., 1998). Ces souris ont ensuite été réparties en 2 lots de 3 souris: 1 lot témoin et 1 lot traité avec l'extrait AM03. Le premier lot a reçu 10 ml/kg d'eau distillée, tandis que le deuxième lot a reçu l'extrait à la dose de 200 mg/kg dans 10 ml/kg d'eau distillée, par voie orale, 1 fois par jour, à la même heure, pendant 7 jours. La glycémie de ces souris a été mesurée au premier jour (J1) ; puis au troisième (J3) ; au cinquième (J5) et au septième (J7) jour du traitement, à la même heure avant l'administration de l'eau et de l'extrait (DOUPA D. et coll., 2014).

### **C. EXPRESSION ET ANALYSE DES RÉSULTATS**

Les résultats obtenus ont été exprimés sous forme de moyenne plus ou moins écart-type réduit ( $\bar{X} \pm \text{e.s.m.}$ ). Le test paramétrique « t » de Student a été utilisé pour comparer les moyennes avec un degré de signification de  $P < 0,05$ .

A horizontal oval shape with a marbled, stone-like texture in shades of grey and white. The word 'RÉSULTATS' is centered within this oval in a black, serif, italicized font.

# *RÉSULTATS*

### III. RÉSULTATS

#### A. PARTIE CHIMIQUE

##### 1. Rendement de l'extraction

Après l'extraction par macération dans un mélange Ethanol - Eau (60 : 40) de 200 g de poudre des feuilles, 20 g d'extrait hydro-alcoolique AM03 sec ont été obtenus, soit un rendement de 10 %.

##### 2. Résultats du criblage phytochimique

Le criblage phytochimique, effectué sur l'extrait AM03, révèle une forte teneur en alcaloïdes, en sucres réducteurs, en polysaccharides, en stéroïdes et triterpènes. Les flavonoïdes, les composés phénoliques et les tanins y sont présents en teneur moyenne. Tandis que les anthocyanes et les leucoanthocyanes sont présents en faible teneur (Tableau II).

**Tableau II.** Résultats du criblage phytochimique effectué sur l'extrait AM03

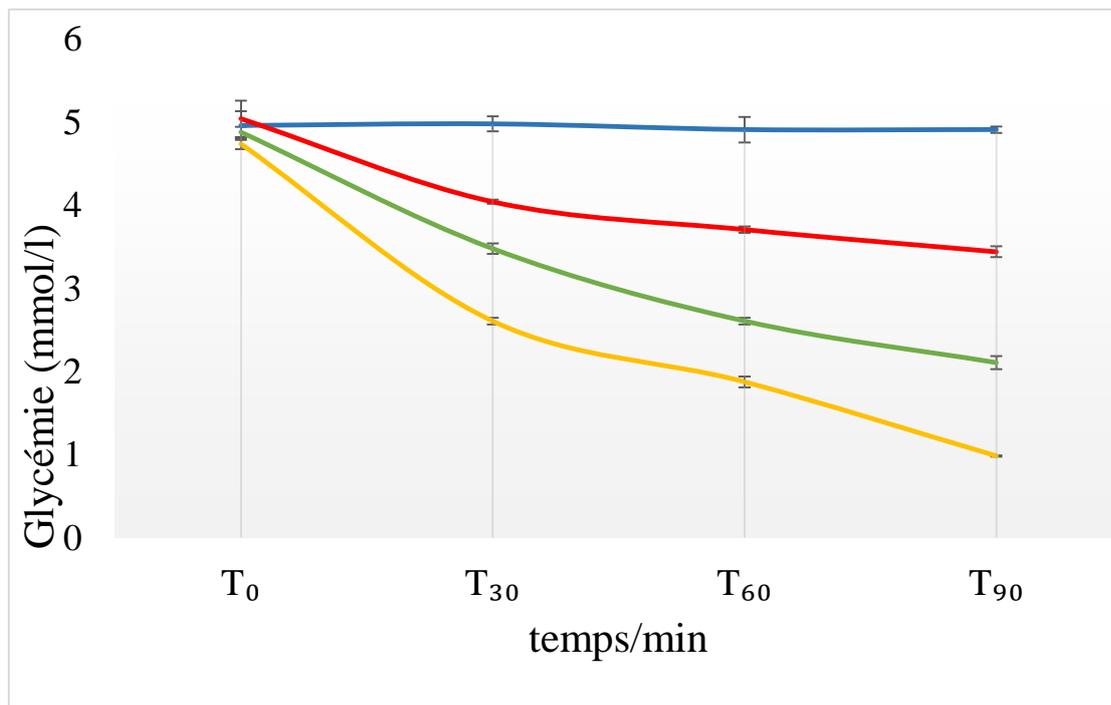
FAMILLES CHIMIQUES	TENEUR
Alcaloïdes	+++
Sucres réducteurs	+++
Polysaccharides	+++
Stéroïdes et triterpènes	+ ++
Tanins	++
Composés phénoliques	++
Flavonoïdes	++
Anthocyanes	+
Leucoanthocyanes	+

#### B. PARTIE PHARMACOLOGIQUE

##### 1. Effet de l'extrait AM03 sur la glycémie de base

L'extrait AM03, administré par voie orale, diminue la glycémie de base des souris normo-glycémiques.

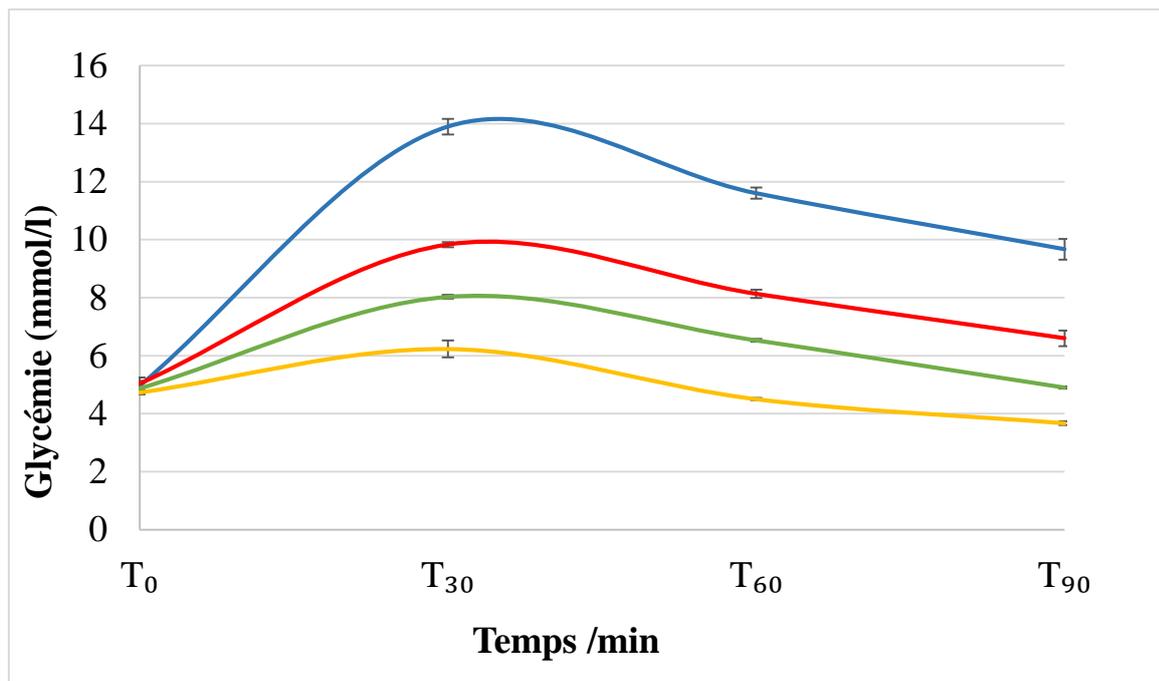
La glycémie de base des souris est en moyenne égale à  $5,03 \pm 0,21$  mmol/l. Quarante-vingt-dix minutes après l'administration de l'extrait AM03 ou de l'eau distillée, la glycémie des souris du lot témoin est égale à  $4,9 \pm 0,03$  mmol/l contre  $3,43 \pm 0,06$  ;  $2,09 \pm 0,07$  et  $0,97 \pm 0,01$  mmol/l chez les animaux traités avec l'extrait aux doses respectives de 50, 100 et 200 mg/kg ( $P < 0,05$ ) (Figure 1).



**Figure 2.** Variation de la glycémie chez le lot témoin (■) et chez les lots traités avec l'extrait AM03 aux doses de 50 mg/kg (■), 100 mg/kg (■) et 200 mg/kg administré par voie orale (■) en fonction du temps ( $\bar{m} \pm e.s.m$  ;  $n = 3$  ;  $p < 0,05$ ).

## 2. Effet de l'extrait AM03 sur l'hyperglycémie transitoire

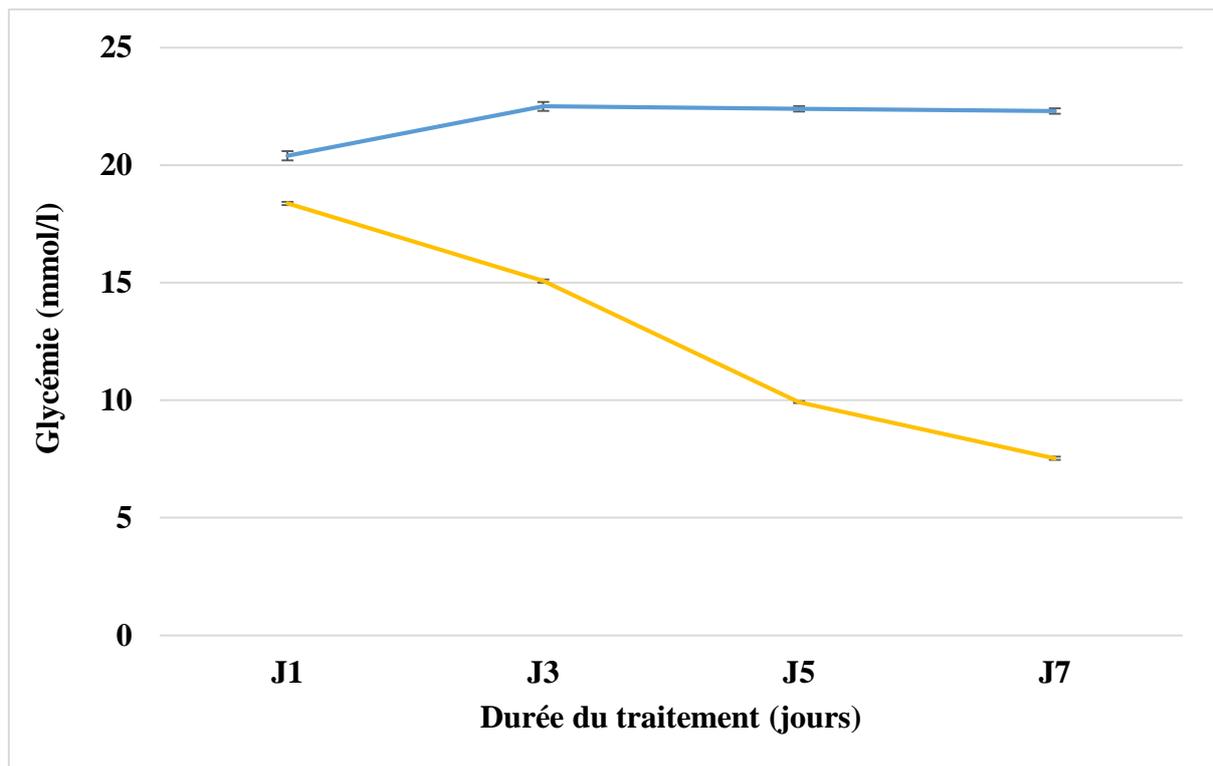
L'administration, par voie orale de la solution de glucose chez les souris, provoque une hyperglycémie transitoire. La valeur maximale de la glycémie est atteinte 30 min après l'administration de la solution glucosée. La glycémie des animaux traités avec l'extrait est inférieure à celle des animaux témoins. Chez ces derniers, elle est égale à  $13,9 \pm 0,26$  mmol/l contre  $9,83 \pm 0,08$  ;  $8,03 \pm 0,06$  et  $6,23 \pm 0,29$  mmol/l chez les animaux traités avec l'extrait aux doses respectives de 50, 100 et 200 mg/kg ( $P < 0,05$ ) (Figure 2).



**Figure 3.** Variation de la glycémie après l'administration de 4 g/kg de glucose *per os* chez le lot témoin (■) et chez les lots traités avec l'extrait AM03 aux doses de 50 mg/kg (■), 100 mg/kg (■) et 200 mg/kg administré par voie orale en fonction du temps (■) ( $\bar{m} \pm e.s.m$  ;  $n = 3$  ;  $p < 0,05$ ).

### 3. Effet de l'extrait AM03 sur l'hyperglycémie chronique

L'injection, par voie intra-péritonéale d'alloxane, provoque une hyperglycémie chez les souris. Deux jours après cette injection, la glycémie est égale à  $22,5 \pm 0,19$  mmol/l chez le lot témoin et  $15,06 \pm 0,06$  mmol/l chez les animaux du lot traité avec l'extrait à la dose de 200 mg/kg. Trois jours (J3) après l'administration de l'extrait par voie orale, la glycémie des animaux du lot témoin est toujours élevée à  $22,5 \pm 0,19$  mmol/l, contre  $15,06 \pm 0,06$  mmol/l chez les animaux traités avec l'extrait. Au 7ème jour du traitement (J7), la glycémie des animaux traités avec l'extrait est égale à  $7,53 \pm 0,06$  mmol/l, contre  $22,3 \pm 0,11$  mmol/l chez les témoins ( $P < 0,05$ ) (Figure 3).



**Figure 4.** Variation de la glycémie chez les souris témoins diabétiques (■) après l'injection de l'alloxane 150 mg/kg par voie intra-péritonéale et chez les souris traitées (■) avec l'extrait AM03 à 200 mg/kg administré par voie orale en fonction du temps ( $\bar{m} \pm e.s.m$  ;  $n = 3$  ;  $p < 0,05$ ).

A horizontal oval shape filled with a grey and white marbled pattern, serving as a background for the text.

# *DISCUSSION*

#### IV. DISCUSSION

L'objectif de notre travail a été d'étudier l'activité de l'extrait AM03 chez la souris rendue hyperglycémique par surcharge glucosée en administrant une solution de glucose, soit par prétraitement avec l'alloxane. En effet, l'administration de solution concentrée en glucose augmente temporairement la glycémie, tandis que l'alloxane, administrée par voie intra péritonéale provoque une nécrose sélective des cellules  $\beta$  des îlots de Langerhans entraînant une hyperglycémie chronique ; par analogie structurale au glucose, il pénètre à travers les transporteurs du glucose « GLUT-2 » des cellules  $\beta$  pancréatiques et établit un cycle d'oxydoréduction avec la formation de radicaux super-oxydés associés à la forte concentration de calcium cytosolique provoquant ainsi la destruction rapide des cellules  $\beta$ , provoquant l'hyperglycémie chronique observée chez la souris (WOLFRAN S. et coll., 2007 ; ANKUR R. et SHAHJAD A., 2012).

Ces méthodes sont utilisées par de nombreux chercheurs pour étudier l'effet d'extrait ou de nouvelles molécules sur l'hyperglycémie. En utilisant les mêmes approches, nos résultats montrent que l'administration par voie orale de l'extrait AM03 diminue la glycémie de base, l'hyperglycémie transitoire provoquée par la surcharge glucosée et l'hyperglycémie chronique provoquée par l'injection de l'alloxane.

Son effet sur la glycémie de base et sur l'hyperglycémie transitoire montre que l'extrait AM03 possède une activité hypoglycémiante. Ceci pourrait être dû à une meilleure absorption du glucose dans les tissus périphériques ou à la stimulation de la sécrétion de l'insuline par les cellules  $\beta$  du pancréas (DE BOECK M. et coll., 2012). Par ailleurs, des travaux effectués sur les extraits flavonoïdiques de *Biophytum sensitivum* (OXALIDACEAE) et de *Gongronema latifolium* (APOCYNACEAE), ont révélé que les flavonoïdes sont responsables de l'augmentation de la tolérance au glucose des tissus (LENZEN S. et coll., 1996). D'autres chercheurs ont trouvé que ce sont les alcaloïdes qui en sont les responsables, comme l'extrait des feuilles de *Vernonia colorata* (COMPOSEAE) ainsi que celui de *Momordica charantia* L. par l'augmentation de la sécrétion de l'insuline (CUCURBITACEAE) (RAMAN A. et LAU C., 1996). Puisque l'extrait AM03 contient également des flavonoïdes et d'alcaloïdes, nous émettons une hypothèse que son activité hypoglycémiante pourrait être due à la présence de l'une ou de ces deux familles chimiques.

Il se pourrait que l'activité hypoglycémiante de l'extrait soit due à l'augmentation de l'utilisation du glucose par des tissus périphériques comme source d'énergie ou à la stimulation de la mise en réserve hépatique et musculaire du glucose comme le cas de *Mangifera indica* (ANACARDIACEAE) (ALEDO J. et coll., 1997).

L'administration par voie intra-péritonéale de l'alloxane chez la souris augmente la glycémie de tous les animaux. Par contre, celle des animaux traités avec l'extrait diminue en cours du traitement, tandis que celle des animaux témoins reste élevée. Cela nous permet de dire que même en détruisant les cellules  $\beta$  des îlots de Langerhans, l'extrait est capable de faire baisser la glycémie des animaux. Une hypothèse peut être avancée, il se pourrait que l'alloxane n'ait pas détruit toutes les cellules  $\beta$  du pancréas, et que l'extrait ait stimulé les cellules restantes non endommagées pour sécréter plus d'insuline (FANG X. K. et coll., 2008). Comme c'est le cas rapporté sur les extraits d'*Eugenia jambolana* (MYRTACEAE), *Cassia auriculata* L. (FABACEAE) et de *Teucrium polium* (LAMIACEAE) (SHARMA B. et coll., 2008).

Le criblage phytochimique, effectué sur l'extrait AM03, révèle la présence des flavonoïdes et d'alcaloïdes. En se référant à ces travaux, l'activité hypoglycémiant de l'extrait AM03 pourrait être due à la présence de l'une ou l'autre de ces familles chimiques.

Des études approfondies, sur des molécules isolées présentes dans l'extrait AM03 responsables de son activité antidiabétique, apporteraient des précisions sur son mécanisme d'action.

A horizontal oval shape with a marbled, stone-like texture in shades of grey and white. The word "CONCLUSION" is centered within this oval in a bold, black, serif font.

***CONCLUSION***

## V. CONCLUSION

Cette étude montre que l'extrait AM03 possède une activité hypoglycémiant, il diminue la glycémie de base, l'hyperglycémie temporaire provoquée par une surcharge glucosée ainsi que l'hyperglycémie chronique provoquée par l'alloxane chez la souris. Cette activité pourrait être due aux alcaloïdes ou aux flavonoïdes présents dans l'extrait. En perspective, l'isolement du ou des principes actifs apporterait plus de précisions sur le ou leurs mécanismes d'action de ou des molécules responsables de l'activité de l'extrait AM03.

A horizontal oval shape with a marbled pattern in shades of grey and white, serving as a background for the text.

***BIBLIOGRAPHIE***

## BIBLIOGRAPHIE

- AHMED M. S., SWAMY B. M., DHANAPAL R., CHANDRASHEKARA V. M. (2005).  
Anti-diabetic activity of *Terminalia catappa* Linn. Leaf extracts in alloxan-induced diabetic rats.  
*Iran. J. Pharmacol. Ther.*, **4**: 36-39.
- ALEDO J., LAVOIE L., VOLCHUK A., KELLER S. R., KLIP A., HUNDAL H. S. (1997).  
*Identification and characterization of two distinct intracellular GLUT4 pools in rat skeletal muscle: for an endosomal and an insulin-sensitive GLUT4 compartment.*  
*Biochem. J.*, **325**: 727-732.
- ANDREELLI F. (2003).  
Diabetes and metabolism.  
*Br. J. Diabetes*, **29** (3):197-224.
- ANKUR R., SHAHJAD A. (2012).  
Alloxan induced diabetes: mechanism and effects.  
*Int. J. Res. Pharm. Biomed. Sci.*, **3** (2): 819-823.
- BOLDYS A., OKOPIEN B. (2009).  
Inhibitors of type 2 sodium glucose co-transporters—a new strategy for diabetes treatment.  
*Pharmacol. Rep.*, **61**: 778-784.
- BOREL J. P., MARQUART. F., GRILLERY. P., EXPOITO M. (1999).  
Biochimie pour le clinicien, mécanisme moléculaire et chimiques à l'origine des maladies.  
*Ed. Frison-Roche*, (Toulouse), 187-193.
- BUYSSCHAERT M., VANDELEENE B., PARUS I., HERMANS M. P. (1999).  
Le diabète sucré d'une réalité d'aujourd'hui à un défi de demain.  
*Louvain Med.*, **118**: 189-195.
- CALOP J., LIMAT S., FERNANDEZ C., 2008.  
Pharmacie clinique et thérapeutique.  
Ed.3. *Elsevier Masson*, (Paris), 417-427.
- CHARBONNEL B., CARIOU B. (1997).  
Diabète non insulino-dépendant: indications thérapeutiques.  
*Médecine thérapeutique*, **3**: 103-111.

CRUICKSHANK J. K., MBANYA J. C., WILKS R. (2001).

Sick genes, sick individuals or sick populations with chronic disease? The emergence of diabetes and high blood pressure in African-origin populations.

*Int. J. Epidemiol.*, **30**: 111-117.

DE BOECK M., JOSE G., DERRAI K., WAYNE S. (2012).

Polyphenol and glucose homeostasis in humans.

*J. Acad. Nutr. Dietetics*, **112** (6): 808-815.

DIELH K. H., HEINZ K. (2010).

A good practice guide to the administration of substances and removal of blood including rats and volume.

*J. Appl. Toxicol.*, **21**: 15-23.

DOLZ M. (2008).

Comment se parlent les cellules  $\alpha$  et  $\beta$  du pancréas ?

*Médecine des maladies Métaboliques.*, **2** (3): 223-227.

DOUPA D., BA M., WELE A., SECK S. M., BARBOZA F. S., KANE M. O., DIEYE P. M., DIALLO F. A., GUEYE L., SY G. Y. (2014).

Activité hypoglycémiante de la fraction F5 de l'extrait total méthanolique de feuilles de *Dialium guineense* (CESALPINIACEAE).

*Rev. CAMES SANTE*, **2** (1): 35-40.

FANG X. K., GAO Y., YANG H. Y., LANG S. M., WANG Q. J., YUB. Y., ZHU D. N. (2008).

Alleviating effects of active fraction of *Euonymus alatus* abundant in flavonoids on diabetic mice.

*Am. J. Clin. Med.*, **36** (1): 125-140.

FID (Fédération International du Diabète) (2013).

Atlas du diabète de la FID.

Ed.6, FID, (Bruxelles), 122-145

FONG H. H. S., TIN-WA M., FARNSWORTH N. R. (1997).

Phytochemical screening.

*Rev. College of pharmacy, University of Illinois, Chicago (USA)*, 275-277.

GERALD J., TABORSKY J. R. (2010).

The physiology of glucagon.

*J. Diabetes. Sci. Technol.*, **4** (6): 1338-1344.

HALIMI S. (2003).

Le diabète de type 2 ou diabète non insulino-dépendant(DNID).

Corpus Médical – Faculté de Médecine de Grenoble. *Alpes. Med.*, **223**: 1-12.

KERNAN W. N., VISCOLI C. M., INZUCCHI S. E., BRASS L. M., BRAVATA D. M., SHULMAN G. I., McVEETY J. C. (2005).

Prevalence of abnormal glucose tolerance following a transient ischemic attack or ischemic stroke.

*Arch. Intern. Med.*, **165**: 227-233.

KUMAR A., ILAVARASAN R., JAYACHANDRAN T., DEECARAMAN M., ARAVINDAN P., PADMANABHAN N., KRISHAN M. R. V. (2008).

Anti-diabetic activity of *Syzygium cumini* and its isolated compound againsts treptozotocin-induced diabetic rats.

*J. Med. Plant. Res.*, **2** (9): 246-249.

LENZEN S., DRINKGERN J., TIEDGE M. (1996).

Low antioxidant enzyme gene expression in pancreatic islets compared with various other mouse tissues.

*Free. Radic. Biol. Med.*, **20**: 463-466

MALAISSÉ W. J., MALAISSÉ-LAGE F., SENER A., PIPELEERS D. G. (1982).

Determinants of the selective toxicity of alloxan to the pancreatic B-cell.

*Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **79**: 927-930.

MARLES R. J., FARNSWORTH N. R. (1995).

Anti-diabetic plants and their active constituents.

*Phytomedicine*, **2**: 137-189.

MOHAMED O., HMEYADA V., ABDALLAHI A. (2009).

Contribution à l'étude des plantes médicinales de Mauritanie.

*Ann. Univ. Lomé (Togo). Ser. Sci.*, **17**: 9-27.

NICOLAS J. P. (2012).

Plantes médicinales du Nord de Madagascar. Ethnobotanique Antakarana et information scientifiques.

Ed. Jardin du monde, (France), 214 - 277.

NJOLSTAD P. R., SAGEN J. V., BJORKHAUG L., ODILI S., SHEHADEH N., BAKRY D., SARICI S. U., ALPAY F., MOLNES J., MOLVE A., SOVIK O., ANDMATSCHINSKY F. M. (2003).

Permanent neonatal diabetes caused by glucokinase deficiency: in born error of the glucose-insulin signalling pathway.

*Diabetes*, **52** (11): 2854-2860.

OMS (Organisation Mondiale de la Santé). (2017)

Le diabète

Aide-Mémoire, **312**: 1-4

OUBRE A.Y., CARLSON T. J., KING S. R., REAVEN G. M. (1997).

From plant to patient, an ethno-medical approach to the identification of news drugs for the treatment of NIDDM.

*Diabetologia*, **40**: 614-617.

OZOUGW J. C., OBIMBA K. C., BELONWU C. D., UNAKALAMBA C. B. (2013).

The pathogenesis and pathophysiology of type 1 and type 2 diabetes mellitus.

*J. Physiol. Pathophysiol.*, 4 (4): 46-57.

PANTEN U., SCHWANSTECHE M., SCHWANSTECHE C., KUHLMANN J., PLUS W. (1996).

Mode of action of sulfonylurea.

*Hand. Book. Exp. Pharmacol.*, Ed. Springer-Verlag, (Berlin)., **119**: 129-159.

RACCAH D. (2004).

Epidémiologie et physiopathologie des complications dégénératives du diabète sucré.

EMC-Endocrinologie, **1** (1): 29-42.

RAMAN A., LAU C. (1996).

Anti-diabetic properties and phytochemistry of *Momordica charantia* L.

(CUCURBITACEAE).

*Phytomed.*, **2**: 349-362.

SHARMA B., VISWANATH G., SALUNKE R., ROY P. (2008).

Effects of flavonoid-rich extract from seeds of *Eugenia jambolana* L. on carbohydrate and lipid metabolism in diabetic mice.

*Food. Chemistry.*, **110**: 697-705.

SHAW J. E., SICREE R. A., ZIMMET P. Z. (2010).

Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030.

*Diabetes Res. Clin. Pract.*, **87**: 4-14.

SPINAS G. A., LEHMAN R. (2001).

Diabète Sucré : Diagnostic, Classification Et Pathogénèse.

*Forum. Med. (Suisse)*, **20**: 519-525.

STANELY M. P. P., MENUN V. P., PARI L. (1998).

Hypoglycaemic activity of *Syzigium cumini* seeds: effects on lipid peroxidation in alloxan diabetic rats.

*J. Ethnopharmacol.*, **61**: 1-7.

SY G. Y., BARBOSA F. S., GUEYE C. D., DIEYE A. M., FAYE B., WELE A., GUEYE P. M., CISSE A., BASSENE E. (2008).

Activité anti-hyperglycémiant de la fraction F2 de l'extrait totale acétonique de feuilles de *Vernonia colorata* (COMPOSEAE).

*Pharmacopée et Médecine Traditionnelle Africaines*, **15**: 6-10.

TAPPY L. (2004).

Glucagon et glucorégulation.

*Ann. Endocrinol.*, **65** (1): 77-79.

WOLFRAN S. (2007).

Effect of green tea and ECG in cardiovascular and metabolic health.

*J. Am. Coll. Med.*, **26**: 379-388.

ZHOU I., ZHOU S., TANG J., ZHANG K., GUANG L., HUANG Y., XU Y., YING Y.,  
ZHANG L., LID. (2009).

Protective effect of berberine on beta cells in streptozotocin- and high-carbohydrate/high-fat  
diet-induced diabetic rats.

*Eur. J. Pharmacol.*, **606**: 262-268

## « Étude de l'activité hypoglycémiant de l'extrait AM93 chez la souris »

**Auteur:** RAMIARISOANIRINA Anne Marie Yonie  
**Adresse:** C.U ANKATSO II Bloc 56 Porte 2 C Tana 101  
**Année:** 2016 - 2017  
**Rapporteur:** Pr. RANDIMBIVOLOLONA Fanantenanirainy

**Laboratoire :** Laboratoire de Pharmacologie Générale, de Pharmacocinétique et de Cosmétologie  
**B.P:** 8357  
**Email:** [frandimbi@gmail.com](mailto:frandimbi@gmail.com)  
**Faculté des sciences**  
**Université d'Antananarivo**

### RÉSUMÉ

L'objectif de ce travail a été d'étudier l'activité de l'extrait AM03 sur l'hyperglycémie expérimentale chez la souris. Une surcharge glucosée ainsi qu'un prétraitement avec de l'alloxane injectée par voie intra péritonéale à la dose de 150 mg/kg ont été utilisés pour provoquer respectivement l'hyperglycémie transitoire et chronique. Nos résultats montrent que l'extrait AM03 diminue la glycémie de base. Elle est égale  $4,9 \pm 0,03$  mmol/l chez les témoins contre  $3,43 \pm 0,06$  ;  $2,09 \pm 0,07$  et  $0,97 \pm 0,01$  mmol/l chez les animaux traités avec AM03 aux doses 50, 100 et 200 mg/kg après 90 min ( $P < 0,05$ ). L'extrait AM03 diminue l'hyperglycémie transitoire provoquée par l'administration *per os* d'une solution de glucose (4 g/kg). Elle est égale à  $9,67 \pm 0,36$  g/l chez les témoins, contre  $6,6 \pm 0,27$  ;  $4,9 \pm 0,04$  ; et  $3,67 \pm 0,06$  mmol/l chez les animaux traités aux doses de 50, 100 et 200 mg/kg, 30 min après la surcharge glucosée ( $P < 0,05$ ). L'injection d'alloxane augmente la glycémie des animaux à  $20,4 \pm 0,19$  mmol/l. Au 7<sup>ème</sup> jour du traitement quotidien avec l'extrait, la glycémie des animaux est égale à  $7,53 \pm 0,06$  mmol/l contre  $22,3 \pm 0,11$  mmol/l chez les souris témoins ( $P < 0,05$ ). L'extrait AM03 possède une activité hypoglycémiant. Les flavonoïdes et/ou les alcaloïdes contenus dans l'extrait AM03 pourraient être responsables de ces effets.

**Mots clés :** hyperglycémie, hypoglycémiant, alloxane, souris.

### ABSTRACT

The objective of this study was to investigate the activity of extract AM03 on experimental hyperglycemia in mice. Glucose solution (4g/kg) administered *per os* was used to induce transient hyperglycemia while chronic hyperglycemia was induced by intraperitoneal pretreatment injection of alloxane (150 mg/kg) in the mice. Results show that extract AM03 reduces base glycemia; the extract, at doses 50, 100 and 200 mg/kg reduces base glycemia to  $3.43 \pm 0.06$ ;  $2.09 \pm 0.07$  and  $0.97 \pm 0.01$  mmol/l respectively after 90 min in the treated animals versus  $4.9 \pm 0.03$  mmol/l for the control animals ( $P < 0.05$ ). Transient glycemia induced by *per os* administration of glucose solution is reduced to  $6.6 \pm 0.27$ ;  $4.9 \pm 0.04$  and  $3.67 \pm 0.06$  mmol/l respectively in the treated animals versus  $9.67 \pm 0.36$  mmol/l noted for the control animals ( $P < 0.05$ ). Injection of alloxane increases glycemia in the animals to  $20.4 \pm 0.19$  mmol/l. Daily treatment of extract AM03 at dose 200 mg/kg reduced hyperglycemia to  $7.53 \pm 0.06$  mmol/l in the treated animals on the 7th day versus glycemia of  $22.3 \pm 0.11$  mmol/l observed in the control group ( $P < 0.05$ ). These results show that extract AM03 possesses activity hypoglycemic. The flavonoids and/or alkaloids present in the extract could be responsible for this activity.

**Key words:** hyperglycemia, hypoglycemic, alloxane, mice