

TABLES DES MATIÈRES

TABLES DES MATIÈRES.....	I
LISTE DES TABLEAUX.....	II
LISTE DES FIGURES.....	III
LISTES DES ABRÉVIATIONS ET SIGLES.....	IV
I. INTRODUCTION.....	1
II. MATÉRIELS ET MÉTHODES.....	4
A. PARTIE CHIMIQUE.....	4
1. Préparation de l'extrait.....	4
2. Criblage phytochimique.....	4
B. PARTIE PHARMACOLOGIQUE.....	6
1. Animaux d'expérimentation.....	6
2. Méthode utilisé pour mesurer la glycémie.....	6
3. Étude de l'effet de l'extrait sur l'hyperglycémie.....	7
a. Étude de l'effet de COD4 sur l'hyperglycémie transitoire.....	7
b. Étude de l'effet de l'extrait sur l'hyperglycémie chronique.....	7
C. EXPRESSION ET ANALYSE DES RÉSULTATS.....	8
III. RÉSULTATS.....	9
A. PARTIE CHIMIQUE.....	9
1. Rendement de l'extraction.....	9
2. Criblage phytochimique.....	9
B. PARTIE PHARMACOLOGIQUE.....	10
1. Activité de l'extrait COD4 sur l'hyperglycémie transitoire.....	10
2. Activité de l'extrait COD4 sur la masse et l'hyperglycémie chronique.....	11
a. Variation de la masse pendant le régime hyperlipidique.....	11
b. Effet de COD4 sur la masse des souris engraisées.....	11
c. Variation de la glycémie pendant le régime hyperlipidique.....	12
d. Effet de COD4 sur l'hyperglycémie provoquée par un régime hyperlipidique...	13
IV. DISCUSSION.....	14
V. CONCLUSION.....	16
VI. BIBLIOGRAPHIE.....	17

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I. Les tests utilisés pour détecter les familles chimiques présentes dans l'extrait COD4 (FONG H. H. S. et coll., 1977).....	5
Tableau II. Les familles chimiques présentes dans l'extrait COD4.....	9

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Facteurs contrôlant la sécrétion d'insuline	2
Figure 2. Appareil utilisé pour mesurer la glycémie des animaux.....	6
Figure 3. Variation de la glycémie des souris ayant reçu une surcharge glucosée puis traitées avec l'extrait COD4 aux doses de 200 et 400 mg/kg et de l'eau distillée par rapport à la glycémie des animaux non traités.....	10
Figure 4. Variation de la masse des souris recevant 5 g de provende hyperlipidique constituée de 3 g de provende mélangée avec 2 g de saindoux par rapport au poids des souris ayant reçu un régime normal.....	11
Figure 5. Variation de la perte de poids des souris engraisés du lot témoin et traité avec l'extrait COD4 par voie orale, aux doses de 200 et 400 mg/kg	12
Figure 6. Variation de la glycémie des souris pendant ayant reçu 5 g/jours de provende hyperlipidique constitué de 3 g de provende mélangé avec 2 g de saindoux par rapport à la glycémie des souris ayant reçu de la provende normale.....	12
Figure 7. Variation de la glycémie des souris engraisés ayant reçu de l'eau distillée et des souris engraisées traitées avec l'extrait par voie orale à la dose de 200 et 400 mg/kg et la glycémie des souris normales non traitées.....	13

LISTE DES ABRÉVIATIONS ET SIGLES

$^{\circ}\text{C}$: degré celsius
coll.	: Collaborateurs
$\bar{\sigma}$: écart type réduit
g	: gramme
h	: heure
LPGPC	: Laboratoire de Pharmacologie Générale de Pharmacocinétique et Cosmétologie
\bar{m}	: moyenne
n	: nombre d'essai
mmol/L	: milli mole par litre
mg/kg	: milligramme par kilogramme
mg	: milligramme
ml/kg	: millilitre par kilogramme
P	: seuil de signification
R	: rendement
%	: pourcent
<	: inférieur
>	: supérieur
±	: plus ou moins
min	: minutes
j	: jour
α	: alfa
β	: béta
NS	: différence non significative

INTRODUCTION

I. INTRODUCTION

Le diabète affecte beaucoup de gens partout dans le monde, il constitue un problème de santé publique. On dénombre en 2013 plus de 381,8 millions de diabétiques, dont 19,8 millions en Afrique, 56,3 millions en Europe, 34,6 million au Proche orient, 72,1 millions au Moyen orient, 138,2 millions en Extrême orient, 36,8 million en Amérique du nord et 24,1 millions en Amérique du Sud et centrale (FID., 2013). A Madagascar, en 2012, on a dénombré 704 420 cas (FID., 2013), et 1600 décès ont été imputés à cette maladie (OMS., 2014).

Le diabète est une hyperglycémie chronique avec un taux de glucose sanguin supérieure à 7 mmol/l en permanence, soit supérieur à 1,26 g/l à jeun (GRIMALDI A., 2000), sachant que la glycémie normale chez l'homme est de l'ordre de 4,5 à 6,5 mmol/l, soit 0,8 à 1 g/l (PORCHER C., 2013). La régulation de cette glycémie met en jeu le système hormonal pancréatique. Le pancréas est une glande divisé en une partie exocrine et endocrine (PORCHER C., 2013). La partie exocrine secrète un suc alcalin, riche en NaHCO_3 sert seulement à la digestion, qui gagne le duodénum par le canal pancréatique. La partie endocrine, quant à elle est composée d'amas de cellules appelées les ilots de Langerhans. Dans cet amas, on distingue les cellules α qui produisent le glucagon, une hormone hyperglycémiant, et les cellules β qui secrètent l'insuline, une hormone hypoglycémiant (SHERWOOD L. et coll., 2013).

Après un repas (état postprandial), la glycémie augmente, ce qui stimule les cellules β à secréter de l'insuline (MAGNAN C. et KTORZA A., 2005). Cette hormone facilite l'entrée du glucose dans les cellules musculaires, les adipocytes et les hépatocytes (SHERWOOD L. et coll., 2013 ; TREMBLAY L. et coll., 2009) (Figure 1). Le glucose est utilisé comme source d'énergie au niveau des muscles, ou stocké sous forme de glycogène au niveau des cellules des muscles et du foie, ou sous forme de lipide dans les adipocytes (CAPEAU J. et coll., 2009).

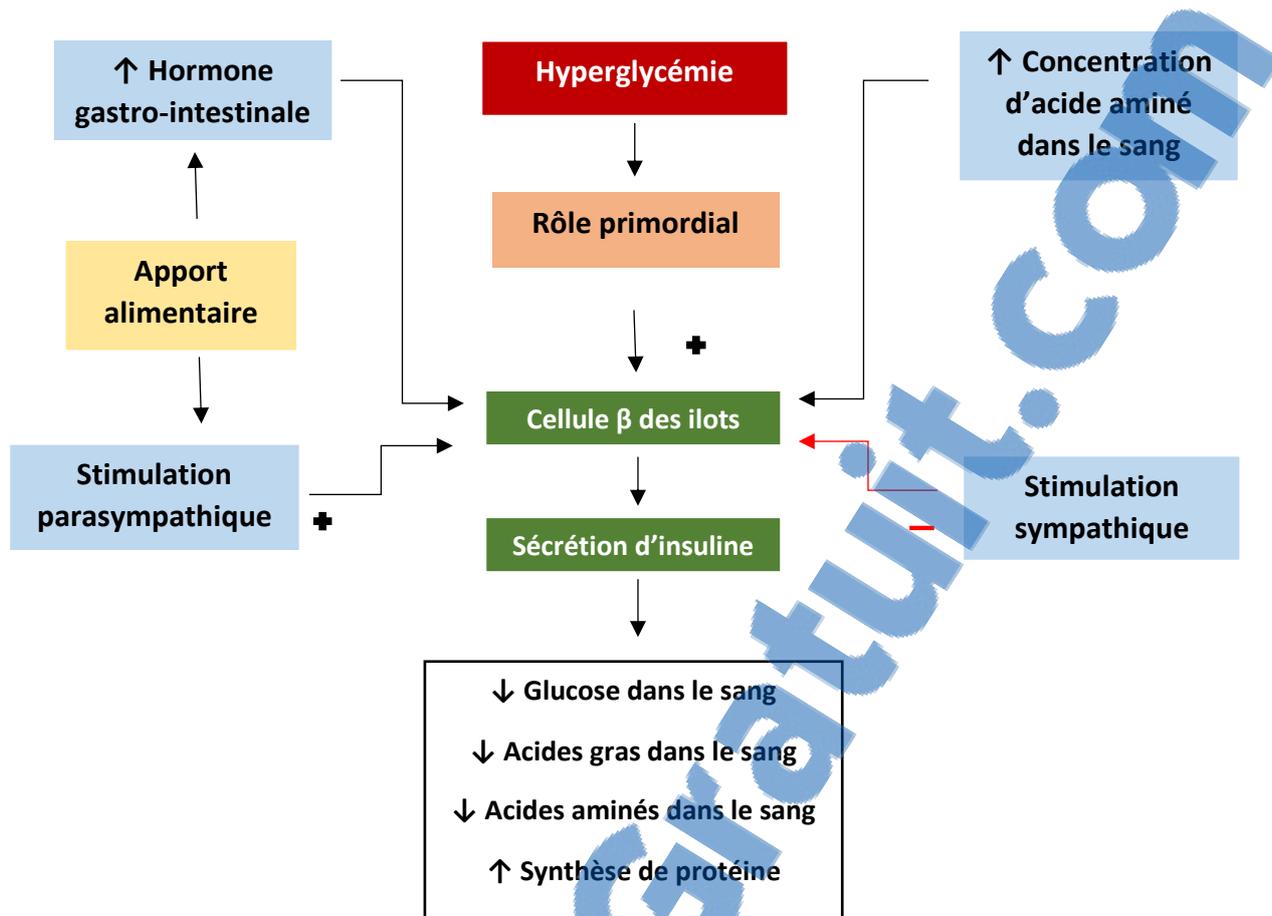


Figure 1. Facteurs contrôlant la sécrétion d'insuline (SHERWOOD L. et Coll., 2013).

La résistance de ces cellules cibles à l'insuline entraîne l'hyperglycémie, suite à la saturation en graisse des muscles et des tissus adipeux (TREMBLAY L. et coll., 2009). Cela entraîne une hypersécrétion d'insuline pour diminuer l'hyperglycémie. A la longue, la sécrétion décroît jusqu'à devenir insuffisante pour ramener le taux de glucose à la normale, c'est le cas du diabète de type 2 (GRIMALDI A., 2000).

Les formes de diabète les plus fréquentes et les plus répandues sont le diabète de type I, ou diabète insulino-dépendant et le diabète de type II ou diabète non insulino-dépendant (TREMBLAY L. et coll., 2009). Les autres formes sont : le diabète gestationnel, le diabète MODY ou diabète héréditaire autosomal dominant (GRIMALDI A., 2000).

Le diabète de type I est une maladie génétique, il est dû à l'insuffisance ou à l'absence de la sécrétion d'insuline suite à la destruction auto-immune des cellules β (SHERWOOD L. et coll., 2013).

Dans le cas du diabète de type II, la sécrétion d'insuline est normale cependant la sensibilité des cellules à l'insuline diminue suite à diverses causes, comme l'âge, les conditions environnementales.... (SHERWOOD L. et coll., 2013).

Pour le diabète de type I, un régime hypoglycémique est conseillé, et l'insulinothérapie est la seule solution pour traiter l'hyperglycémie (PAPOZ L. et coll., 1994). Pour le diabète de type II, les médicaments sont regroupés dans trois classes selon leur mécanisme d'action: les sensibilisateurs des cellules cibles de l'insuline comme les biguanides dans la famille des Metformines (Glucophage®, ActoplusMet®); les stimulateurs de la sécrétion de l'insuline comme les Sulfamides (Daonil®, Diamicron®, Amarel®) et les dérivés de l'acide benzoïque, les Glinides (Novonorm®, Starlix®); les inhibiteurs de l'alpha-glucoside comme l'Acarbose (Glucor®) et le Miglitol (Diastabol®) (EDDI A. et WAKIM R., 2014).

De nombreuses plantes sont aussi utilisées pour la prise en charge du diabète. A titre d'exemple, citons l'ail ou *Allium sativum* (ALLIACEAE), le basilic sacré ou *Ocimum sanctum* (LAMIACEAE), le jambosier ou *Syzygium cumini* (MYRTACEAE), la myrtille ou *Vaccinium myrtillus* (ERICACEAE), le gel d'*Aloe vera* (LILIACEAE) (RAJASEKARAN S. et coll ; ANDREW C., 2001).

À Madagascar, de nombreuses plantes sont utilisées pour traiter le diabète, comme : les fruits du *Syzygium jambolana* ou « rotra » (MYRTACEAE), les feuilles d'*Aloe suarezensis* (XANTHORRHOEACEAE) connu sous le nom de « sakoakenkigny », les écorces et les feuilles d'*Acajuba occidentalis* « mahabibo » (ANACARDIACEAE), les feuilles de *Catharanthus roseus* ou « vonenina » (APOCYNACEAE), les cosses *Tamarindus indica* ou « voamadilo » (FABACEAE) (NICOLAS J.P., 2012).

Les enquêtes que nous avons menées dans la commune de Bongatsara au fokotany d'Antsahabe nous ont permis de recenser des plantes utilisées pour traiter le diabète comme le « rotra » et le « vonenina ». Une autre plante citée par la population locale a été particulièrement intéressante, et elle est utilisée par la plupart des gens dans cette commune, pour traiter une soif intense accompagnée d'une polyurie et d'une fatigue. Ces données nous semblent des symptômes liés au diabète. Ce qui nous a conduit à penser que cette plante pourrait avoir une activité hypoglycémisante. Pour contribuer à la recherche de l'activité de cette plante, nous avons étudié son effet sur l'hyperglycémie expérimentale chez la souris.

MATÉRIELS
ET
MÉTHODES

II. MATÉRIELS ET MÉTHODES

A. PARTIE CHIMIQUE

1. Préparation de l'extrait

Les gousses d'une plante utilisée en médecine traditionnelle ont été récoltées dans la région d'Antananarivo vers le début du mois de novembre. Elles ont été séchées dans un endroit aéré, à l'abri du rayon solaire et à la température ambiante pendant 2 mois. Une fois séchées, 200g de gousses ont été broyées avec un broyeur électrique à marteau (BROOK CROMPTON, Série 2000) au Laboratoire de Pharmacologie Générale, de Pharmacocinétique et de Cosmétologie (LPGPC) à la Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo. La poudre obtenue a été macérée dans un solvant composé d'éthanol et d'eau, dans une proportion de (60 : 40), à la température ambiante pendant 4 jours en agitant une fois par jour. Après cette période, 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 et au bain marie à la température de 100°C afin d'obtenir l'extrait hydro alcoolique utilisé dans le test biologique. L'extrait obtenu a été codé COD4, puis pesé pour calculer le rendement de l'extraction selon la formule :

$$\text{Rendement (\%)} = \frac{\text{masse de l'extrait (g)}}{\text{masse de la poudre de plante (200g)}} \times 100$$

2. Criblage phytochimique

Ce test a pour but de détecter les principales familles chimiques présentes dans l'extrait COD4. La méthode utilisée a été celle décrite par FONG H.H.S et ses collaborateurs (1977), elle est basée sur l'utilisation des réactifs, et la présence des substances à identifier est caractérisée par la formation de précipité ou un changement de coloration (Tableau I). L'intensité de ces réactions est proportionnelle à la quantité de la substance correspondante.

Les signes suivants ont été utilisés pour quantifier l'intensité de ces réactions :

- : Absence de réaction
- + : Réaction de faible intensité
- ++ : Réaction de moyenne intensité
- +++ : Réaction de forte intensité

Tableau I. Les tests utilisés pour détecter les familles chimiques présentes dans l'extrait COD4 (FONG H. H. S. et coll., 1977).

Familles chimiques	Tests	Réactifs	Observations
ALCALOÏDES		DRAGENDORFF, MAYER, WAGNER	Précipitation
TANINS		Gélatine + NaCl	Précipitation verte
		Gélatine + FeCl ₃ Méthanol	Précipitation bleue
COMPOSÉS PHÉNOLIQUES		Gélatine 1%	Précipitation
STÉROÏDES ET TRITERPÈNES	LIERMAN BURCHARD	Anhydride acétique + H ₂ SO ₄	Coloration violette
	BADGET KEDDE	Acide picrique	Coloration rouge
	SALKOWSKI	H ₂ SO ₄	Anneau de séparation rouge
FLAVONOÏDES	WIL-STATER	Ruban de Mg + HCl concentré	Coloration rouge
LEUCOANTHOCYANES	BATH-SMITH	HCl 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 PHARMACOLOGIE

L'activité de l'extrait COD4 a été étudiée sur l'hyperglycémie expérimentale chez la souris. Une hyperglycémie transitoire a été provoquée par une surcharge glucosée par voie orale, et une hyperglycémie chronique a été provoquée par un régime hyperlipidique (LEMHADRI A. et coll., 2007).

1. Animaux d'expérimentation

Des souris de race SWISS des deux sexes âgés de 3 à 4 mois et pesant 18 à 24 g ont été utilisées. Elles ont été élevées à l'animalerie du LPGPC, avec une alternance de lumière et d'obscurité de 12/12 h, et à la température d'environ 25°C. Elles ont été nourries avec de la provende « LFL 14/20 croissance porc » et ont eu accès à de l'eau à volonté.

2. Méthode utilisée pour mesurer la glycémie

Afin de mesurer la glycémie, la veine mandibulaire de la mâchoire supérieure des animaux a été piquée, puis la goutte de sang a été récupérée sur une bandelette fournie avec le glucomètre « One call plus ©» (Figure 1).



Figure 2. Appareil utilisé pour mesurer la glycémie des animaux.

3. Étude de l'effet de l'extrait sur l'hyperglycémie

L'effet de l'extrait COD4 a été étudié sur une hyperglycémie transitoire provoquée par une solution de glucose concentrée, et sur une hyperglycémie chronique provoquée par un régime riche en lipide.

a. Étude de l'effet de COD4 sur l'hyperglycémie transitoire

Pour provoquer l'hyperglycémie transitoire, une solution de glucose à la dose de 4 g de sucre par kg de masse corporelle a été administrée par voie orale dans un volume de 10 ml/kg chez les animaux mis à jeun pendant 12 h avant la manipulation.

Les animaux ont été répartis en 4 lots : un lot témoin constitué de souris non traitées, 2 lots d'animaux traités avec l'extrait, et enfin 1 lot de souris témoin ayant reçu la solution de glucose et de l'eau distillée à la place de l'extrait.

Le taux de glucose de tous les animaux a été mesuré, puis 10 ml/kg d'eau distillée ont été administrés par voie orale chez les 2 lots témoins, tandis que les 2 autres lots ont reçu aux doses respectives de 200 et 400 mg/kg par voie orale dans 10 ml/kg d'eau distillée.

Ensuite, la solution de glucose a été administrée chez les trois lots, et la glycémie des animaux a été mesurée 30, 60 et 90 minutes après l'administration de la surcharge de glucose (LEMHADRI A. et coll., 2007 ; JONES K. et coll., 2015).

b. Étude de l'effet de l'extrait sur la masse et l'hyperglycémie chronique

L'effet de COD4 a été étudié sur une hyperglycémie chronique expérimentale, provoquée chez la souris par une alimentation riche en lipide. Ces souris ont été nourries avec un régime gras à base de provende et de saindoux (LEMHADRI A. et coll., 2007).

Les souris ont été nourries avec 5 g par jour de provende grasse, constituée de 3 g de provende « LFL croissance porc » mélangé avec 2 g de saindoux. Elles ont été nourries avec cette provende enrichie pendant 21 jours. Durant cette période, tous les matins à jeun, les souris ont été pesées et leur glycémie a été mesurée (LEMHADRI A. et coll., 2007).

Après cette période d'engraissement, la provende enrichie a été remplacée par la provende normale. Les souris ont été réparties en 3 lots : les animaux du lot témoin ont reçu 10 ml/kg d'eau distillée toutes les 24 h pendant 7 jours, et les animaux des 2 lots ont reçu l'extrait aux doses respectives de 200 et 400 mg/kg par voie orale dissouts dans 10 ml/kg d'eau distillée (JONES K. et coll., 2015). Les animaux ont été pesés tous les matins à jeun, et leur glycémie a été mesurée pendant le traitement.

C. EXPRESSION ET ANALYSE DES RÉSULTATS

Les résultats obtenus ont été exprimés en moyenne $\pm \bar{\sigma}$ ($\bar{m} \pm \bar{\sigma}$). Les moyennes ont été comparées entre elles en utilisant le test t de Student, et la différence a été considérée comme significative lorsque la valeur de $P < 0,05$.

RÉSULTATS

III. RÉSULTATS

A. PARTIE CHIMIQUE

1. Rendement de l'extraction

L'évaporation à sec du filtrat obtenu en macérant 200 g de poudre de plante sèche, donne 11 g d'extrait de couleur marron avec une texture pâteuse, ce qui donne un rendement de 5,5 %.

2. Criblage phytochimique

L'utilisation des différents réactifs chimiques sur l'extrait a permis de détecter la présence d'anthocyanes, de leucoanthocyanes, de polysaccharides, de stéroïdes et de triterpènes en quantité moyenne. Par ailleurs le criblage phytochimique a révélé la présence d'alcaloïdes et de sucres réducteurs en faible quantité dans l'extrait (Tableau II).

Tableau II. Les familles chimiques présentes dans l'extrait COD4

FAMILLES CHIMIQUES	INTENSITÉ DE LA RÉACTION
Anthocyanes	++
Leucoanthocyanes	++
Polysaccharides	++
Stéroïdes et triterpènes	++
Alcaloïdes	+
Flavonoïdes	+
Sucres réducteurs	+

Légende :

++ : Réaction de moyenne intensité

+ : Réaction de faible intensité

B. PARTIE PHARMACOLOGIQUE

1. Activité de l'extrait COD4 sur l'hyperglycémie transitoire

La glycémie de base des souris non traitées est de $5,5 \pm 0,85$ mmol/l. L'administration d'une solution de glucose par voie orale augmente le taux de glucose des souris jusqu'à l'obtention d'un pic à la 30^{ème} minute. Cette valeur diminue ensuite jusqu'à atteindre la glycémie des souris témoins à la 90^{ème} minute. La glycémie maximale des souris du lot témoin atteint $9,13 \pm 0,83$ mmol/l contre $6,23 \pm 0,48$ et $6,67 \pm 0,9$ mmol/l chez les souris traitées avec l'extrait aux doses respectives de 200 et 400 mg/kg. La différence est significative entre la glycémie des animaux du lot témoin et celle des animaux du lot traité avec l'extrait à la 30^{ème} minute de l'expérience ($P < 0,05$). Par contre il n'y a pas de différence significative entre la glycémie de souris traitées aux doses de 200 et 400 mg/kg à ce moment-là (NS), l'effet de l'extrait ne dépend pas de la dose administrée (Figure3).

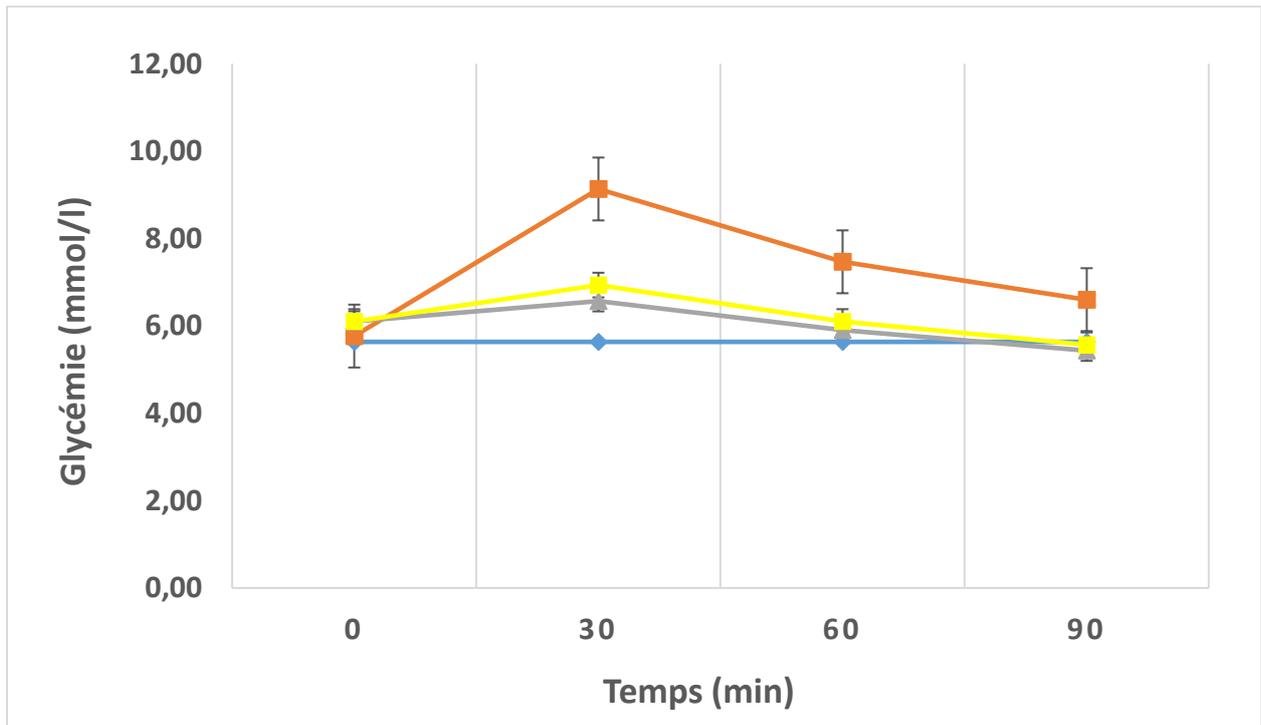


Figure 3. Variation de la glycémie des souris ayant reçu une surcharge glucosée de 4 g/kg par voie orale et traitées avec l'extrait COD4 aux doses de 200 — et 400 mg/kg — et de l'eau distillée — par rapport à la glycémie des animaux non traités — ($\bar{m} \pm \bar{\sigma}$; $n = 3$; $P < 0,05$).

2. Activité de l'extrait COD4 sur la masse et l'hyperglycémie chronique

a. Variation de la masse pendant le régime hyperlipidique

Les souris normales pèsent $24 \pm 1,5$ g, et cette masse reste constant pendant la période de 21 jours. Par contre, la masse des animaux ayant reçu le régime hyperlipidique augmente, et au bout de 21 jours ces derniers pèsent $33 \pm 3,28$ g ($P < 0,05$) (Figure 2).

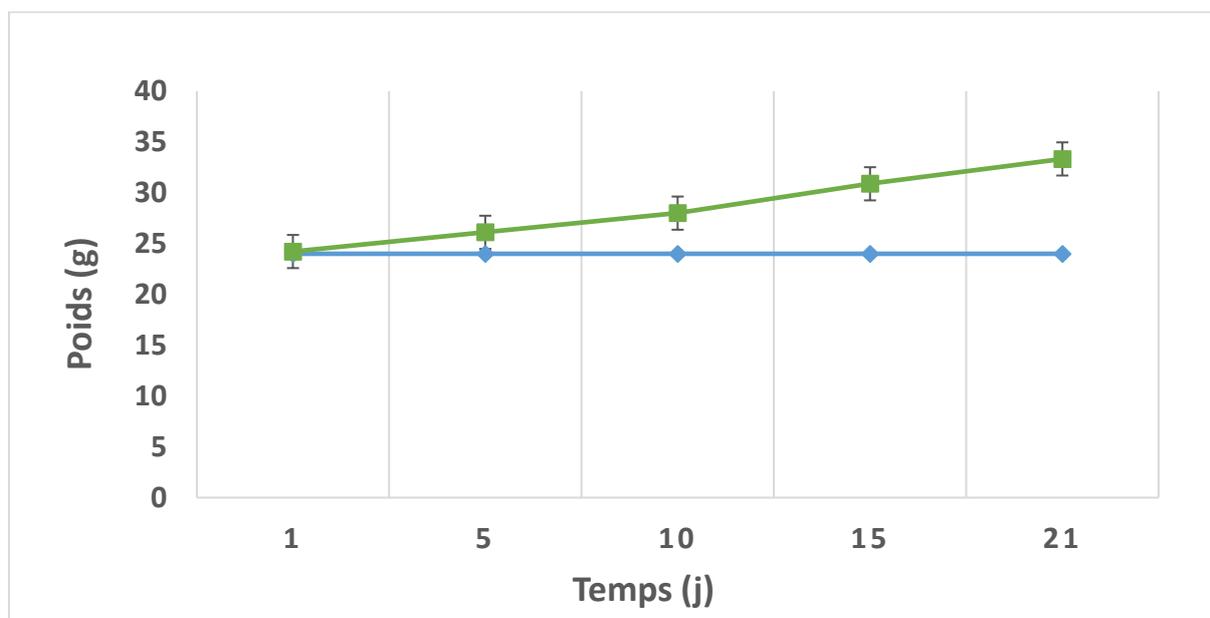


Figure 4. Variation de la masse des souris recevant 5 g de provende hyperlipidique constituée de 3 g de provende mélangée avec 2 g de saindoux — par rapport au poids des souris ayant reçu un régime normal — ($\bar{m} \pm \bar{\sigma}$; $n = 9$; $P < 0,05$).

b. Effet de COD4 sur la masse des souris engraisées

Après 7 jours de traitement avec l'extrait COD4, le poids des animaux diminue. La baisse de la masse est égale à diminution est égale à $4,33 \pm 1,52$ et $10,34 \pm 1,52$ g chez les souris traitées avec l'extrait aux doses de 200 et 400 mg/kg, contre $4 \pm 1,52$ g chez le lot témoin. La différence n'est pas significative entre la perte de poids des animaux traités avec l'extrait à la dose de 200 mg/kg et celle du lot témoin (NS), par contre elle est significative entre les animaux du lot traité avec l'extrait à la dose de 400 mg/kg et ceux du lot témoin ($P < 0,05$) (Figure 5).

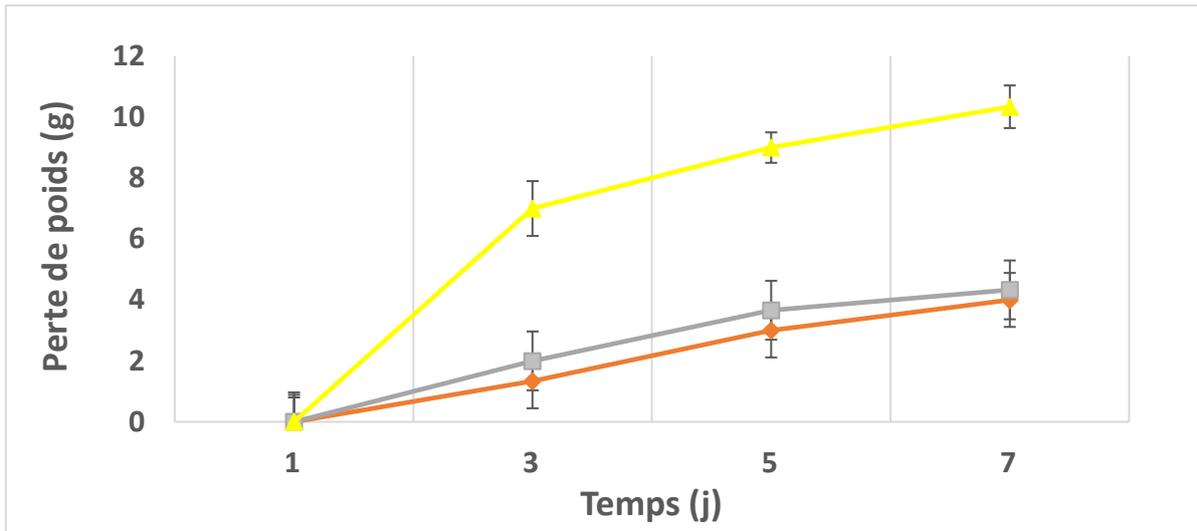


Figure 5. Variation de la perte de poids des souris du lot témoin —◆— et traitées avec l'extrait COD4 administré par voie orale, aux doses de 200 —■— et 400 mg/kg —▲— ($\bar{m} \pm \bar{\sigma}$; n = 3; P < 0,05).

c. Variation de la glycémie pendant le régime hyperlipidique

Avant le régime riche en lipide, la glycémie des animaux est égale à $5,5 \pm 0,85$ mmol/l. Chez les animaux nourris avec de la provende normale, elle reste constante jusqu'à la fin du test. Par contre celle des animaux ayant reçu le régime hyperlipidique augmente avec le temps. Au bout de 21 jours, la glycémie des souris ayant reçu le régime gras est égale à $6,99 \pm 0,18$ mmol/l (P < 0,05) (Figure 6).

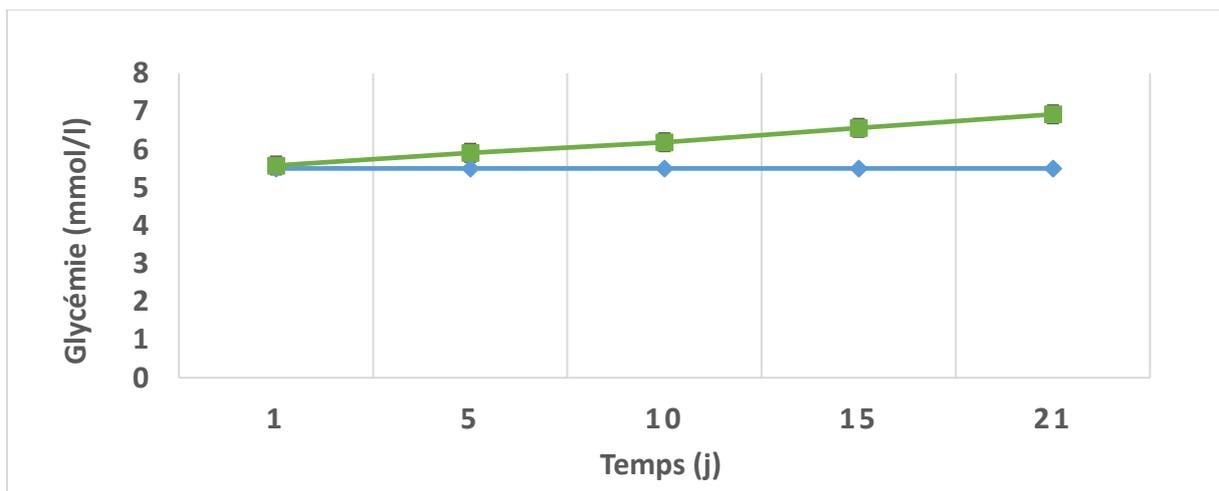


Figure 6. Variation de la glycémie des souris ayant reçu 5g/jour de provende hyperlipidique constituée de 3 g de provende mélangée avec 2 g de saindoux —■— par rapport à la glycémie des souris ayant reçu de la provende normale —◆— ($\bar{m} \pm \bar{\sigma}$; n = 9; P < 0,05).

d. Effet de COD4 sur l'hyperglycémie provoquée par un régime hyperlipidique

Après le régime hyperlipidique de 21 jours, la glycémie des souris est égale à $6,92 \pm 0,18$ mmol/l ; tandis que celle des souris saines est égale à $5,5 \pm 0,85$ mmol/l. Suite au traitement de 7 jours avec l'extrait, la glycémie des animaux diminue.

Au 5^{ème} jour, celle des animaux ayant reçu de l'eau distillée est égale à $6,53 \pm 1,15$ mmol/l contre $6 \pm 0,1$ mmol/l et $5,95 \pm 0,05$ mmol/l chez les animaux traités avec l'extrait aux doses respectives de 200 et 400 mg/kg ($P < 0,05$).

Au 7^{ème} jour, elle est égale à $6,4 \pm 1,5$ mmol/l chez le témoin, contre $5,7 \pm 0,15$ et $5,8 \pm 0,15$ mmol/l respectivement chez les animaux traités avec l'extrait aux doses de 200 et 400 mg/ml ($P < 0,05$).

La différence est significative entre la glycémie des animaux traités avec l'extrait et celle des animaux témoins au 5^{ème} et au 7^{ème} jour. Par contre, la différence n'est pas significative entre le taux de glucose des animaux des lots traités avec l'extrait aux doses de 200 et 400 mg/kg (NS) (Figure 7).

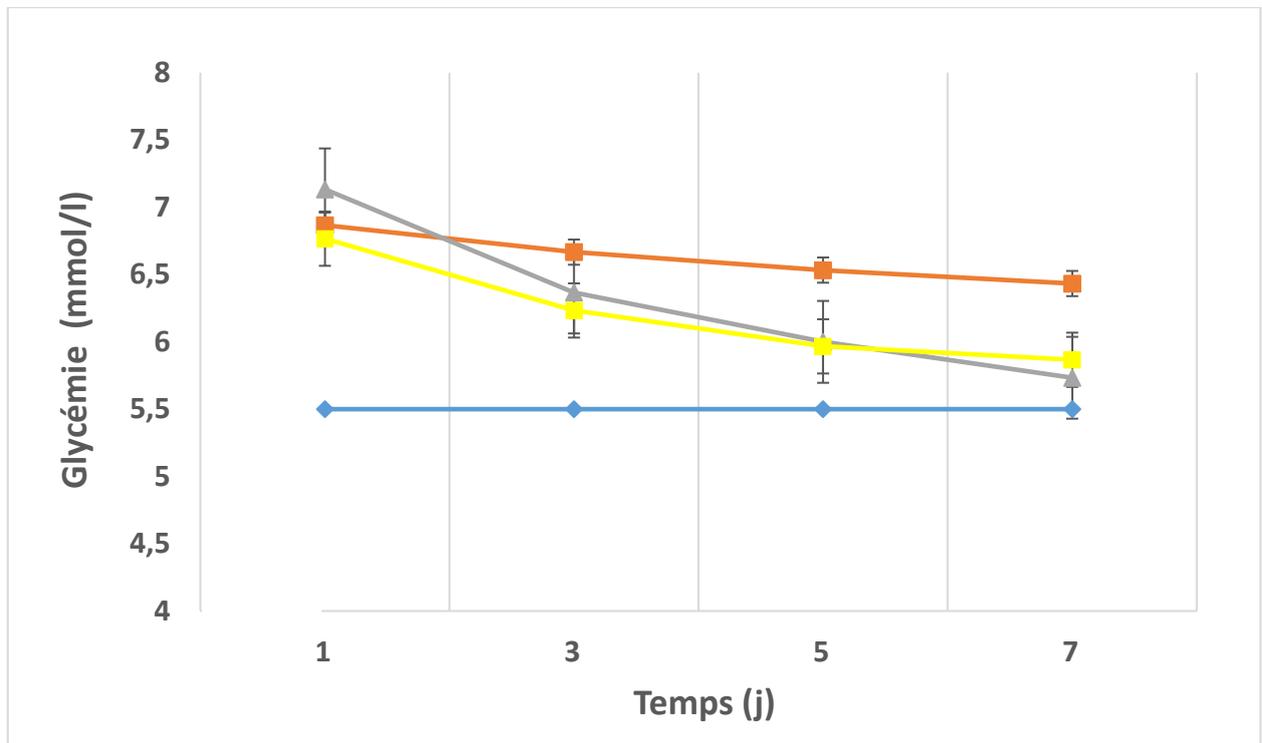


Figure 7. Variation de la glycémie des souris engraissées ayant reçu de l'eau distillée — et des souris engraissées traitées avec l'extrait par voie orale à la dose de 200 — et 400 mg/kg — et la glycémie des souris normales non traitées — ($\bar{m} \pm \bar{\sigma}$; $n = 3$; $P < 0,05$).

DISCUSSION

IV. DISCUSSION

Ce travail a eu pour objectif d'étudier l'activité de l'extrait COD4 sur l'hyperglycémie expérimentale chez la souris de race SWISS. Il a été testé sur deux types d'hyperglycémie : l'hyperglycémie transitoire provoquée par une surcharge glucosée afin d'étudier l'activité de l'extrait sur les animaux en hyperglycémie temporaire, et l'hyperglycémie chronique provoquée par un régime riche en lipide sachant que le surpoids peut conduire l'organisme à une intolérance au glucose (ZHANG Y., 1994). On parle d'intolérance au glucose lorsque la glycémie est plus élevée que la normale, mais encore insuffisante pour provoquer un diabète (inférieur à 7 mmol/l) (FID., 2013).

L'administration d'une solution concentrée de glucose par voie orale chez les animaux à jeun, provoque une hyperglycémie transitoire. Trente minutes après l'administration de la solution de glucose, la glycémie est maximale, puis diminue progressivement. Les résultats des tests que nous avons effectués montrent que la valeur maximale de la glycémie des souris traitées avec l'extrait est inférieure à celle des animaux du lot témoin. On peut avancer une hypothèse pour l'expliquer, que COD4 inhiberait l'absorption de glucose au niveau de l'intestin, ou stimulerait la sécrétion de l'insuline. Comme c'est le cas de *Curcuma longa* (ZINGIBERACEAE) (WICKENBERG J. et coll., 2010), ou des alcaloïdes comme la catharine et la vindoline (CHATTOPADHYAY R.R., 1999 ; SQUIRE P.E. et coll., 2004), ou les flavonoïdes, par exemple la quercétine, la naringénine et la chrysin, qui augmentent la sécrétion d'insuline (FORMICA J.V et REGELSON W., 1995). Il se peut aussi que COD4 mimait l'action de l'insuline comme certaines substances extraites de *Allium sativum* (LILIACEAE) pour diminuer la glycémie (PATEL D. K. et coll., 2012). Les triterpènes et les stéroïdes glucosidiques sont des composés bioactifs présents naturellement dans plusieurs plantes ayant une activité hypoglycémiant connue (RAO BK. et coll., 1994). Cette action est due en partie à la diminution du transport du glucose à travers la barrière intestinale grâce à l'inhibition de l'alfa glucosidase (MADHUSUDHAN T. et KIRANKUMAR H., 2015).

Par ailleurs, la masse et la glycémie des souris soumises au régime hyperlipidique augmentent. La hausse pondérale des souris suppose une augmentation de la masse des tissus adipeux provoquant une insulino-résistance et une intolérance au glucose (GARCEAU C. et coll., 2015). Ceci est dû à la saturation en acide gras libre dans les adipocytes et les cellules musculaires squelettiques, ce qui augmente l'oxydation lipidique et diminue l'utilisation du glucose (MONNIER L. et COLETTE C., 2014). Dans le foie cette saturation stimule la

synthèse de glucose à l'origine de l'hyperglycémie observée à la fin du régime hyperlipidique (MATSCHINSKY F. M., 1990). En traitant les animaux avec l'extrait COD4, leur glycémie diminue ainsi que leur poids par rapport à celle des animaux témoins ayant reçu de l'eau distillée. On peut supposer que cette perte pondérale correspond à la diminution de l'insulinorésistance. COD4 pourrait augmenter la sensibilité des cellules cibles à l'insuline. Des études effectuées sur des graines de *Hippophae rhamnoides* (ELAEAGNACEAE) sur des souris rendues diabétiques par un régime riche en lipide montrent qu'elles diminuent la glycémie en améliorant l'utilisation du glucose chez ces animaux grâce aux flavonoïdes qu'elles contiennent (WANG J. et coll. 2011).

Il se peut aussi qu'en inhibant l' α glucosidase, il n'y a pas de glucose disponible pour l'organisme, ce qui l'oblige à utiliser les réserves dans les adipocytes (MADHUSUDHAN T. et KIRANKUMAR H., 2015), ce qui expliquerait la baisse de la glycémie et du poids chez les animaux traités avec l'extrait COD4. Ceci est également le cas de l'extrait butanolique de *Cecropia obtusifolia* (URTICACEAE) (ANDRADE-CETTO A. et coll., 2007), ou celui des fruits de *Momordica cymbalaria* (CURCUBITACEAE) (RAO B.K., KESAVULU M.M. et coll., 1994).

L'effet hypoglycémiant de COD4 serait dû à l'action des flavonoïdes ou des alcaloïdes qui augmentent la sécrétion d'insuline, ou des triterpènes et des stéroïdes qui possèdent une activité insulino-mimétique et insulino-sécrétoire. Il se peut que ces substances agiraient seuls ou en s'associant, ce qui nécessite des études approfondies afin d'expliquer leur mécanisme d'action.

CONCLUSION

V. CONCLUSION

L'extrait COD4 possède un effet anti hyperglycémiant et hypoglycémiant. Il diminue l'hyperglycémie transitoire provoquée par une surcharge glucosée et l'hyperglycémie chronique chez les souris obèses. Ces propriétés pourraient être dues aux terpènes, stéroïdes, flavonoïdes ou aux alcaloïdes présents dans l'extrait.

Pour déterminer les molécules responsables de cette activité ainsi que leur mécanisme d'action, il serait intéressant de purifier et d'isoler les constituants chimiques de cet extrait.

BIBLIOGRAPHIE

VI. BIBLIOGRAPHIE

ANDRADE-CETTO A., BECERRA-JIMENEZ J., CARDENAS-VAZQUEZ R. (2007).
Alfa-glucosidase-inhibiting activity of some Mexican plants used in the treatment of type 2 diabetes.

J. Ethnopharmacol., **116**(1):27-32.

ANDREW C. (2001).

Encyclopédie des plantes médicinales.

Ed. Larousse. Identification, préparation, soins, chap. **I** : 60 – 118.

CAPEAU J., DESBOIS M.C., MAGRE J., CARON M., VIGOUROUX C., LASCOLS O.,
CHERQUI G. (1996).

Mécanismes moléculaires et cellulaires de l'action de l'insuline. Application à la physiologie et à la pathologie.

Nutrition Clinique et Métabolisme., **10** : 231-242.

CHATTOPADHYAY R.R. (1999).

Possible mechanism of antihyperglycemic effect of *Azadirachta indica* leaf extract.

J. Ethnopharmacol., **67**(3): 373-6.

EDDI A., WAKIM R. (2014).

Le point sur les antidiabétiques oraux.

Eur. J. Pharmacol., **86**(2): 1-8.

EDWIN J., BALAKRISHNAN S.J., CHANDRA J. D. (2008).

Diabetes and Herbal Medicines.

Iran. J. pharmacol. Ther., **7**: 97 - 106.

FONG H.H.S., TIN-WA M., FARNSWORTH N.R. (1977).

Phytochemical screening.

Rev. College of pharmacy, University of Illinois, Chicago (USA): 275 – 277.

FORMICA J.V., REGELSON W. (1995).

Review of the biology of quercetin and related bioflavonoids.

Food and Chemical Toxicology., **33**(12): 1061 - 80.

GARCEAU C., RHEAUME C., BRASSARD P. (2015).

Guide pour les patients atteints de diabète.

Ed. P.U. Laval, Québec, chap. **XIII**: 261 – 271.

GIRARD J. (2000).

Fatty acids and beta cells.

Diab. Metab., **26**(3): 6-9.

GRIMALDI A. (2000).

Diabétologie.

Questions d'internat n° 330, Université Pierre et Marie Curie (France), chap. **I**: 7 – 13,

Chap **III**: 19 – 22.

GUARIGUATA L., NOLAN T., BEAGLEY J., LINNENKAMP U., JACQMAIN O.,
AGUIRRE F., BROWN A., HAN CHO N., DAHLQUIST N., DODD S., DUNNING T., SIR
HIRST M., HWANG C., MAGLIANO D., PATTERSON C., SCOTT C., SHAW J.,
SOLTESZ G., USHER-SMITH J. (2013).

ATLAS du DIABÈTE de la FID.

Féd. Int. Diab, *6^{ème} édition*, Bruxelles (Belgique), chap. **III** : 54 – 68, chap. **VI** : 143 – 145.

JONES K., ANDREWS K., MCERLANE S. (2015).

Oral Dosing (Gavage) in Adult Mice and Rats SOP.

UBC Animal Care Guidelines, Tech. 09: 1 – 7.

LEMHADRI A., EDDOUKS M., SULPICE T., BURCELIN R. (2007).

Anti-hyperglycaemic and Anti-obesity Effects of *Capparis spinosa* and *Chamaelomelum nobile* Aqueous Extracts in HFD Mice.

Am. J. Pharm. Toxicol., **2**: 106 – 110.

MADHUSUDHAN T., KIRANKUMAR H. (2015).

In-vitro α -amylase and α -glucosidase inhibitory activity of *Adiantum caudatum* Linn. and *Celosia argentea* Linn. extracts and fractions.

Ind. J. Pharmacol., **47**(4): 425–429.

MAGNAN C., KTORZA A. (2005).

Production et sécrétion de l'insuline par la cellule β pancréatique.

EMC-Endocrinol., **2**: 241 – 264.

MAITI R., JANA D., DAS U.K., GHOSH D. (2004).

Antidiabetic effect of aqueous extract of seed of *Tamarindus indica* in streptozocin-induced diabetic rats.

J. Ethnopharmacol., **92**(1):85 – 91.

MATSCHINSKY F. M. (1990).

Glucokinase as Glucose Sensor and Metabolic Signal Generator in Pancreatic β -Cells and Hepatocytes.

Diab., **39**(6): 647 – 652.

MONNIER L., COLETTE C. (2014).

Physiopathologie des états diabétiques.

Diabétologie, 2^{ème} édition, Londres, chap. **II** : 11 – 32.

NICOLAS J.P. (2012).

Plantes médicinales du Nord de Madagascar Ethnobotanique antakarana et informations scientifiques.

Edition Jardin du monde 15, France, 31 – 277.

NG T.B., WONG C.M., LI W.W., YEUNG H.W. (1986).

Isolation and characterization of a galactose binding lectin with insulinomimetic activities. From the seeds of the bitter melon *Momordica charantia* (Family CUCURBITACEAE).

Int. J. Pept. Protein Res., **28**(2):163-72.

OMS (2014).

Profils des pays pour les maladies non transmissibles (MNT).

PAPOZ L., WILLIAMS R., FULLER J. (1994).

Le diabète en Europe.

Ed. INSERM. LIBBEY, Paris (France), chap. **IV**: 11-15.

PATEL D. K., PRASAD S. K., KUMAR R., HEMALATHA S. (2012).

An overview on antidiabetic medicinal plants having insulin mimetic property.

Asian Pac. J. Trop. Biomed., **2**(4):320-30.

PORCHER C. (2013).

Physiologie des régulations BI 632.

La régulation de la glycémie. Institut de Neurobiologie de la Méditerranée.

INSERM U901: 2 – 56.

RAJASEKARAN S., SRIRAM N., ARUSELVAN P., SUBRAMANIAN S. (2007).

Effect of *Aloe vera* leaf gel extract on membrane bound phosphatases and lysosomal hydrolases in rats with streptozotocin diabetes.

Die Pharmazie., **62**(3): 221-225.

RAO BK., KESAVULU M. M., GIRI R., RAO C.A. (1999).

Antidiabetic and hypolipidemic effects of *Momordica cymbalaria* Hook fruit powder in alloxan diabetic rats.

J. Ethnopharmacol., **67**: 103-9.

REYNAUD J., GUILLET D., TERREUX R., LUSSIGNOL M., WALCHSHOFER N. (2005).

Isoflavonoids in non-leguminous families: an update.

Nat. Prod. Rep., **22**: 504-515.

SHERWOOD L., BERTHET J., AMAR-COSTESECC A., BORLEY N.R., WHITAKER R.H., BROOKER C., DERRICKSON B., TORTORA G.J., FALLER A., SPRUMONT P., SCHÜNKE M., GOSLING J.A., HARRIS P.F., WHITMORE I., WILLAN P.L.T., MOORE K.L., DALLEY A.F., SCHMIDT R.F., TANK P., GEST T., GRABOWSKI S.R., WEIR J., ABRAHAMS P.H. (2013).

Physiologie humaine.

Ed. NOUVEAUX HORIZONS, 2^{ème} édition, Paris (France), chap. **XVII**: 562 – 572.

TREMBLAY L., FAUCHER J., BERGERON A., CHENIER L., DES ROSIER N., DUBE M.J., GUITARD J., LALANCETTE J., LAROCHELLE S., MONFETTE J., PLOUDRE P., POIRIER I., RADULY L., SPEARSON S., TON B., TURCOTE C., VALLEE C. (2009).

Apprivoiser son diabète.

Programme ambulatoire du centre d'enseignement du diabète HCLM, 3^{ème} édition, Hôpital Charles LeMoyne, 4 – 48.

SQUIRES P.E., HILLS C. E., ROGERS G.J., GARLAND P., FARLEY S.R., MORGAN N.G. (2004).

The putative imidazoline receptor agonist, harmaline, promotes intracellular calcium mobilisation in pancreatic beta-cells.

Eur. J. Pharmacol., **501**(3): 31 – 39.

WANG J., ZHANG W., ZHU D., ZHU X., PANG X., QU W. (2011).

Hypolipidaemic and hypoglycaemic effect of total flavonoids from seed residues of *Hippophae rhamnoides* L. in mice fed a high-fat diet.

J. Sci. Food. Agric., **91**(8): 1446 – 1451.

WICKENBERG J., INGENMANSSON S. L., HLEBOWICZ J. (2010).

Effect of *Curcuma longa* (turmeric) on postprandial plasma glucose and insulin in healthy subjects.

Nutr. J., **10**: 9 – 43.

ÉTUDE DE L'ACTIVITÉ DE L'EXTRAIT COD4 SUR L'HYPERGLYCÉMIE CHEZ LA SOURIS

Nom : RASOLOFOSON Mahel Miatrantsoa
Lot : III J 406 Cité BAHUAUD Soanierana
Téléphone : +261 34 25 388 53
E-mail : rmahelzx@gmail.com
Année : 2016 - 2017
Rapporteur : Pr RANDRIANAVONY Patricia

Laboratoire de Pharmacologie Général, de
Pharmacocinétique et de Cosmétologie
BP : 8351
E-mail : frandimbi@gmail.com
Faculté des Sciences
UNIVERSITÉ D'ANTANANARIVO

RÉSUMÉ

Ce travail a eu pour objectif d'étudier l'activité de l'extrait COD4 sur l'hyperglycémie expérimentale provoquée par une surcharge de glucose administrée à la dose de 4g/kg par voie orale, et sur l'hyperglycémie chronique provoquée par un régime hyperlipidique.

L'administration de la solution de glucose augmente temporairement la glycémie des souris, avec un pic de $9,13 \pm 0,83$ mmol/l chez les témoins contre $6,67 \pm 0,68$ et $6,93 \pm 0,52$ mmol/l chez les lots traités aux doses de 200 et 400 mg/kg ($P > 0,05$).

Un régime enrichi en lipide augmente le poids et la glycémie des souris. Leur poids passe de $24,22 \pm 0,5$ g à $33,33 \pm 3,28$ g et la glycémie de $5,57 \pm 0,1$ à $6,92 \pm 0,18$ mmol/l en 21 jours. L'extrait COD4 diminue ce poids et cette glycémie. Les animaux traités avec l'extrait aux doses de 200 et 400 mg/kg perdent $4,33 \pm 1,52$ et $10,34 \pm 1,52$ g respectivement après 7 jours de traitement, contre $4 \pm 1,52$ g chez les animaux témoins recevant de l'eau distillée ($P < 0,05$). Par ailleurs, la glycémie des animaux traités avec l'extrait diminue respectivement à $5,7 \pm 0,15$ mmol/l et $5,8 \pm 0,15$ mmol/l aux doses de 200 et 400 mg/kg, contre $6,4 \pm 0,15$ mmol/l chez les témoins ($P < 0,05$).

Ces effets hypoglycémisants peuvent être dus aux alcaloïdes, flavonoïdes, triterpènes et stéroïdes que COD4 contient.

Mots clés: hypoglycémiant, hyperglycémie transitoire, hyperglycémie chronique, régime gras.

ABSTRACT

The objective of this work was to study the activity of extract COD4 on experimentally induced hyperglycemic mice using glucose overload administered at a dose of 4g / kg orally, and on a high-fat-diet induced chronic hyperglycemia.

The administration of the glucose solution increases the level of blood glucose in the control mice to 9.13 ± 0.83 mmol/l versus 6.67 ± 0.68 and 6.93 ± 0.52 mmol/l in the animals treated with the extract at doses of 200 and 400 mg/kg respectively ($P > 0.05$).

The lipid-enriched-diet increases the weight and blood sugar of the mice. The weight increases from 24.22 ± 0.5 g to 33.33 ± 3.28 g while the blood glucose increases from 5.57 ± 0.1 to 6.92 ± 0.18 mmol/l in 21 days. Extract COD4 decreases the weight and blood sugar levels of these experimentally obese and hyperglycemic animals. The animals treated with the extract at doses 200 and 400 mg/kg lose 4.33 ± 1.52 g and 10.34 ± 1.52 g respectively, after 7 days of treatment versus the loss of 4 ± 1.52 g in the control animals which were given distilled water ($P < 0.05$). Glycaemia of the animals treated with the extract at does 200 and 400 mg/kg decreases to 5.7 ± 0.15 mmol/l and 5.8 ± 0.15 mmol/l respectively versus 6.4 ± 0.15 mmol/l in the control animals ($P < 0.05$).

These hypoglycemic effects could be explained by the presence of alkaloids, flavonoids, triterpenes and steroids in the extract.

Key words: hypoglycemic, transient hyperglycemia, chronic hyperglycemia, fatty diet.