

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Mécanisme de l'insulino-sécrétion dépendant du glucose dans la cellule β	5
Figure 2 : Mécanisme de régulation du glucose dans la cellule α	6
Figure 3 : Tronc de l'arbre <i>S.birrea</i>	12
Figure 4 : Fleur de <i>S.birrea</i>	12
Figure 5 : Fruit de <i>S. birrea</i>	12
Figure 6 : Fruits verts et secs de <i>S. birrea</i> ,	13
Figure 7 : Feuilles de <i>S. birrea</i> ;	13
Figure 8 : Fruits de <i>S. birrea</i> tombés au sol	13
Figure 9 : Arbre de <i>S. birrea</i>	16
Figure 10 : Rats de souche <i>Wistar</i> élevés au Laboratoire de Pharmacologie et Pharmacodynamie de la FMPO (UCAD).....	20
Figure 11 : Dispositif d'extraction par décoction.....	21
Figure 12 : Extraits aqueux total et résiduel.....	23
Figure 13 : Glucomètre <i>Accu Chek active</i> (Laboratoires Roche).....	28
Figure 14 : Réaction de caractérisation générale sur tubes de composés polyphénoliques de l'EAT	29
Figure 15 : Réaction de caractérisation sur tube de composés polyphénoliques de l'EAR	29
Figure 16 : Coloration bleue de l'EAT	30
Figure 17 : Coloration jaunâtre de l'EAR	30
Figure 18 : Caractérisation sur tubes des tanins condensés	30
Figure 19 : Caractérisation des flavonoïdes par le réactif de Shibata	31
Figure 20 : Caractérisation des flavonoïdes en milieu alcalin de l' EAT et de l'EAR	31
Figure 21 : Glycémies moyennes des rats normoglycémiques traités avec l'EP, l'EAT et l'EAR.....	34
Figure 22 : Effet anti-hyperglycémiant de l'EAT et de l'EAR chez des rats DT2	37

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Monographie de <i>Sclerocarya birrea</i>	14
Tableau II : Composition de la pulpe de fruit.....	17
Tableau III : Caractérisation de constituants phytochimiques de l'extrait aqueux total et de l'extrait aqueux résiduel.....	26
Tableau IV : Caractérisation générale des composés polyphénoliques de l'extrait aqueux total et de l'extrait aqueux résiduel.....	29
Tableau V : Caractérisation par chromatographie sur couche mince (CCM).....	32
Tableau VI : Variations de la glycémie (g/l) chez des rats normoglycémiques après administration de l'eau physiologique (10 ml/kg, <i>per os</i>).	32
Tableau VII : Variations de la glycémie (g/L) chez des rats normoglycémiques après administration de l'EAT de feuilles de <i>S. birrea</i> (300 mg/kg, <i>per os</i>).....	33
Tableau VIII : Variations de la glycémie (g/L) chez des rats normoglycémiques après administration de l'EAR des feuilles de <i>S. birrea</i> (300 mg/kg, <i>per os</i>).....	34
Tableau IX : Evolution de la glycémie chez des rats diabétiques de type 2 après administration quotidienne de l'eau physiologique (10 ml/kg, <i>per os</i>).	35
Tableau X : Evolution de la glycémie chez des rats diabétiques de type 2, après administration quotidienne de l'EAT des feuilles de <i>S. birrea</i> (300 mg/kg, <i>per os</i>).35	
Tableau XI : Evolution de la glycémie chez des rats diabétiques de type 2 après administration quotidienne de l'EAR des feuilles de <i>S. birrea</i> (300 mg/kg, <i>per os</i>).	36
Tableau XII : Evolution de la glycémie chez des rats diabétiques de type 2, après administration quotidienne de glibenclamide (0,2 mg/kg, <i>per os</i>).....	36

LISTE DES ABREVIATIONS

ADN	: Acide désoxyribonucléique
ADP	: Adenosine Diphosphate
AER	: Extrait Aqueux Résiduel
ATP	: Adénosine Triphosphate
CCM	: Chromatographie sur Couche Mince
DT2	: Diabète de type 2
EAR	: Extrait Aqueux Résiduel
EAT	: Extrait Aqueux Total
FMPO	: Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontologie
G6P	: Glucose-6-Phosphate
GDH2	: Glucose déshydrogénase
GK	: Glucokinase
GLP1	: Glucagon-Like Peptide-1
NZO	: New Zealand Obese
OMS	: Organisation Mondiale de la Santé
SH	: Sulfamide Hypoglycémiant
UCAD	: Université Cheikh Anta DIOP

SOMMAIRE

INTRODUCTION.....	1
PREMIÈRE PARTIE : REVUE DE LA LITTERATURE	
I. REGULATION DE LA GLYCEMIE.....	3
I.1. Effet du glucose sur les cellules β pancréatiques.....	4
I.2. Effet du glucose sur les cellules α pancréatiques.....	5
I.3. Mécanismes d'échange entre les cellules β et α pancréatiques.....	6
I.4. Implications pharmacologiques.....	7
I.4.1. Sulfamides hypoglycémiants (SH) et glinides.....	7
I.4.2. Le glucagon-like peptide-1 (GLP-1).....	7
II. MODELES D'ETUDE DU DIABETE DE TYPE 2 (DT2).....	7
II.1. Les modèles animaux de Diabète de Type 2 (DT2) induit par des substances chimiques.....	8
II.1.1. Diabète de type 2 induit par la streptozotocine.....	8
II.1.2. Diabète de type 2 induit par l'alloxane.....	9
II.2. Modèles animaux spontanés.....	9
II.3. Modèles transgéniques.....	9
II.3.1. Modèles de souris transgéniques.....	9
III. GÉNÉRALITÉS SUR <i>SCLEROCARYA BIRREA</i>	11
III.1. Eléments de botanique.....	11
III.1.1. Présentation dendrologique et morphologique de <i>S. birrea</i>	11
III.1.2. Monographie de <i>S. birrea</i>	14
III.1.3. Origine et répartition géographique.....	15
III.2. Eléments de phytochimie.....	17
III.2.1. Composition chimique.....	17
III.2.2. Usage de <i>S. birrea</i>	18
DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE	
I. OBJECTIFS DE L'ETUDE.....	19
I.1. Objectif général.....	19
I.2. Objectifs spécifiques.....	19
II. CADRE D'ÉTUDE.....	19

III.	MATÉRIELS	19
III.1.	Matériel végétal.....	19
III.1.1.	Cueillette du matériel végétal.....	19
III.1.2.	Identification du matériel végétal.....	19
III.1.3.	Séchage et pulvérisation de la drogue	19
III.2.	Matériel animal	19
III.3.	Matériels et réactifs.....	20
III.3.1.	Matériels et réactifs d'extraction.....	20
III.3.1.1.	Matériels d'extraction	20
III.3.1.2.	Solvant d'extraction de la drogue	21
III.3.1.3.	Matériels et réactifs de caractérisation.....	21
III.3.1.3.1.	Matériels.....	21
III.3.1.3.2.	Réactifs et solvants de caractérisation.....	22
IV.	METHODES	22
IV.1.	Extraction.....	22
IV.1.1.	Préparation de l'extrait aqueux total (EAT).....	22
IV.1.2.	Préparation de l'extrait aqueux résiduel (EAR).....	22
IV.2.	Screening phytochimique	23
IV.2.1.	Caractérisation générale sur tube de composés polyphénoliques	23
IV.2.1.1.	Recherche de tanins	24
IV.2.1.2.	Recherche de flavonoïdes	24
IV.2.2.	Caractérisation par Chromatographie sur couche mince (CCM).....	25
IV.3.	Essais pharmacologiques	26
IV.3.1.	Principe	26
IV.3.2.	Protocole expérimental	26
IV.3.2.1.	Essais chez des rats normoglycémiques	26
IV.3.2.2.	Essais chez les rats diabétiques de type 2	27
IV.3.2.3.	Dosage du glucose sanguin.....	27
IV.3.2.3.1.	Appareillage	28
IV.3.2.3.2.	Principe.....	28
IV.3.2.3.3.	Procédure.....	28

V. RESULTATS	29
V.1. Essais phytochimiques	29
V.1.1. Caractérisation générale sur tubes.....	29
V.1.1.1. Composés polyphénoliques.....	29
V.1.1.2. Recherche de tanins.....	30
V.1.1.3. Recherche de flavonoïdes	31
V.1.2. Caractérisation par chromatographie sur couche mince de constituants phytochimiques de l'EAT et de l'EAR des feuilles de S. birrea.....	32
V.2. Essais pharmacologiques	32
V.2.1. Rats normoglycémiques.....	32
V.2.1.1. Contrôle physiologique	32
V.2.1.2. Administration de l'extrait aqueux total à la dose de 300 mg/kg, per os...	33
V.2.1.3. Administration de l'EAR (300 mg/kg, per os).....	34
V.2.2. Essais chez des rats diabétiques de type 2	35
V.2.2.1. Contrôle physiologique	35
V.2.2.2. Administration de l'EAT (300 mg/kg per os).....	35
V.2.2.3. Administration de l'EAR (300 mg/kg per os).....	36
V.2.2.4. Administration de glibenclamide (0,2 mg/kg per os).....	36
VI. DISCUSSION.....	38
CONCLUSION.....	40
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	41

INTRODUCTION

Rapport-Gratuit.com

Le diabète est une maladie endocrinienne, ubiquitaire, qui touche environ 2 % de la population mondiale [6]. Des données révèlent qu'il y a environ 150 millions de diabétiques dans le monde et que leur nombre pourrait bien doubler d'ici à 2025. L'essentiel de cette prévalence concerne les pays en voie de développement et serait dû à l'accroissement démographique, au vieillissement de la population, à des régimes alimentaires déséquilibrés, à l'obésité et à un mode de vie sédentaire [6].

Dans le cas du diabète de type 1 (DT1), le pancréas est incapable de produire de l'insuline indispensable à la survie. Cette forme apparaît le plus souvent chez l'enfant et l'adolescent même si de plus en plus, des cas de diabète de type 1 sont diagnostiqués dans la population adulte. Le traitement du diabète de type 1 repose sur l'insulinothérapie. Le diabète de type 2 (DT2) résulte de troubles de l'insulinosécrétion associés à une insulino-résistance. Il est beaucoup plus fréquent et représente environ 85 à 90 % des patients diabétiques [37].

Le DT2 est traité par des antidiabétiques oraux insulino-sécréteurs comme le glibenclamide et/ou avec des molécules anti-hyperglycémiantes comme la metformine, les inhibiteurs de l' α -glucosidase, les glitasones, les glinides et les incrétinomimétiques [45].

Selon l'OMS, au Sénégal, 720 000 personnes seraient touchées par le diabète, soit un taux de prévalence nationale de l'ordre de 4 à 6 %. Entre 1980 et 2000, plus de 2500 nouveaux cas ont été recensés par an.

L'utilisation de plantes médicinales a connu un essor important ces dernières années. C'est une pratique courante en Asie, en Amérique et en Afrique [49]. Plusieurs facteurs peuvent expliquer cet engouement, comme la diminution du pouvoir d'achat, le coût élevé des médicaments conventionnels, la méfiance vis à vis des produits de synthèse. Ces différents facteurs justifient, l'utilisation de la médecine traditionnelle et/ou alternative, par les populations dans les pays développés ou en voie de développement.

Dans les pays en voie de développement, la médecine traditionnelle est un élément du patrimoine culturel. Selon l'OMS, près de 80 % des populations des pays en voie de développement de la région Afrique ont eu recours au moins une fois à la médecine traditionnelle.

La phytothérapie antidiabétique connaît quant à elle, une importante avancée du fait de la découverte d'extraits de plantes efficaces dans le traitement du diabète [2].

En Afrique, elle est souvent le premier recours pour beaucoup de patients. Au Sénégal, plusieurs plantes douées de propriétés antidiabétiques sont utilisées par les guérisseurs [36]. Une étude menée au centre Marc Sankhalé de l'Hôpital Abass Ndao a montré que beaucoup de patients diabétiques ont eu recours à l'usage d'extraits de plantes à activité antidiabétique.

Des travaux antérieurs avaient rapporté l'effet hypoglycémiant chez des rats normoglycémiques et anti-hyperglycémiant sur un modèle de diabète de type 2 de l'extrait aqueux des feuilles de *sclerocarya birrea* (*ANACARDIACEAE*).

Au plan phytochimique, l'extrait aqueux renferme essentiellement des flavonoïdes et des tanins.

La présente étude avait pour objectif, d'évaluer l'implication des flavonoïdes et des tanins dans le mécanisme de régulation de la glycémie, sur divers modèles d'étude de diabète de type 2.

Ce présent mémoire comporte deux parties :

- une première partie consacrée aux généralités sur la régulation de la glycémie et sur *Sclerocarya birrea* ;
- une seconde partie portant sur l'étude expérimentale des effets sur le glucose sanguin des flavonoïdes et des tanins des feuilles de *S. birrea*.

PREMIÈRE PARTIE :
REVUE DE LA LITTERATURE

I. REGULATION DE LA GLYCEMIE

La glycémie est le taux de glucose dans le sang. Ainsi, les cellules de l'organisme ont besoin de glucose apporté par le sang pour vivre et remplir leur fonction. Dans les conditions physiologiques, le glucose est le seul substrat énergétique utilisé par les érythrocytes et les cellules du système nerveux. Il représente une source énergétique très importante pour les cellules musculaires au travail. Le glucose est également nécessaire à l'entreposage des acides gras libres (AGL) dans les adipocytes. Il est donc une source vitale d'énergie pour les organes et tissus. C'est pour cette raison que sa concentration plasmatique est contrôlée pour la prise en charge des cas pathologiques [3].

La glycémie est contrôlée par un système de régulation. Celui-ci met en jeu un système hormonal et des organes notamment le foie, le pancréas et le rein. C'est le processus de maintien de l'homéostasie au sein de l'organisme [33].

La régulation de la glycémie vise à assurer un apport énergétique constant à tous les organes. En effet, il y a des variations de la glycémie notamment un état d'hypoglycémie ou d'hyperglycémie. L'hypoglycémie est définie par une glycémie à jeun inférieure à 0,60 g/L, alors que l'hyperglycémie correspond une glycémie à jeun supérieure ou égale à 1,26 g/L [16 ; 38].

En effet, l'apport alimentaire de glucose est discontinu, sa concentration dans le sang varie peu autour d'une valeur consigne de 1,00 g/L [3].

Dans des conditions physiologiques, l'hyperglycémie provoque une libération d'insuline par la cellule bêta pancréatique, entraînant une mise à disposition du glucose pour les cellules et une suppression de la néoglucogenèse hépatique, ce qui maintient l'homéostasie de la glycémie systémique. Au niveau périphérique, les muscles squelettiques stockent le glucose sous forme de glycogène ou induisent la glycolyse par le cycle de Krebs pour former de l'énergie [3].

Au niveau hépatique, le glucose est stocké sous forme de glycogène. En cas de surcharge, il est transformé en acide gras dans le tissu adipeux. L'hypoglycémie induit la sécrétion de glucagon par les cellules alpha pancréatiques et d'hormones contre régulatrices (adrénaline, cortisol, hormones de croissance). Ces trois hormones augmentent la concentration sanguine en glucose en stimulant la glycogénolyse hépatique et la néoglucogenèse, c'est-à-dire la formation de glucose à partir d'une source non carbohydrate et

conduisent à une lipolyse libérant les acides gras. Dans le même temps, l'effet de l'insuline sur le muscle squelettique est inhibé [3].

Une compréhension des mécanismes de cette variation de la glycémie est nécessaire pour une meilleure caractérisation des modèles d'étude et du profil des substances actives.

I.1. Effet du glucose sur les cellules β pancréatiques

L'insuline joue un rôle central dans la régulation de la glycémie. C'est la seule hormone hypoglycémisante de l'organisme [13]. Dans les conditions physiologiques, il est sécrété par les cellules β des îlots de Langerhans du pancréas endocrine. Ainsi, la cellule β fonctionne comme un « détecteur métabolique ». Elle est à même d'adapter le débit de la sécrétion d'insuline aux variations de la glycémie. En cas de défaut de sécrétion, il apparaît une hyperglycémie caractéristique du diabète sucré. En effet, la stimulation de la cellule β entraîne une cascade d'événements conduisant à l'augmentation de la concentration de calcium intracellulaire et donc à la libération d'insuline [13].

Le métabolisme du glucose dans la cellule β commence depuis sa détection comme insulino-sécrétagogue. En effet, le glucose traverse la membrane plasmique grâce au transporteur le GLUT4. À l'intérieur de la cellule β , le glucose est phosphorylé en glucose -6-phosphate (G6P). Ainsi, lorsque la concentration de glucose s'élève, l'oxydation mitochondriale augmente le rendement de la production d'ATP couplé au métabolisme du glucose. De ce fait, l'élévation du rapport ATP/ADP induit la fermeture des canaux potassiques membranaires sensibles à l'ATP. Ainsi, la diminution de la perméabilité aux ions potassiques (K^+) entraîne une dépolarisation de la cellule β . La dépolarisation membranaire au-delà d'un potentiel seuil provoque l'ouverture des canaux calciques dépendant du voltage de type L. Ce qui favorise une entrée du calcium dans la cellule β déclenchant la sécrétion d'insuline. (**Figure 1**)

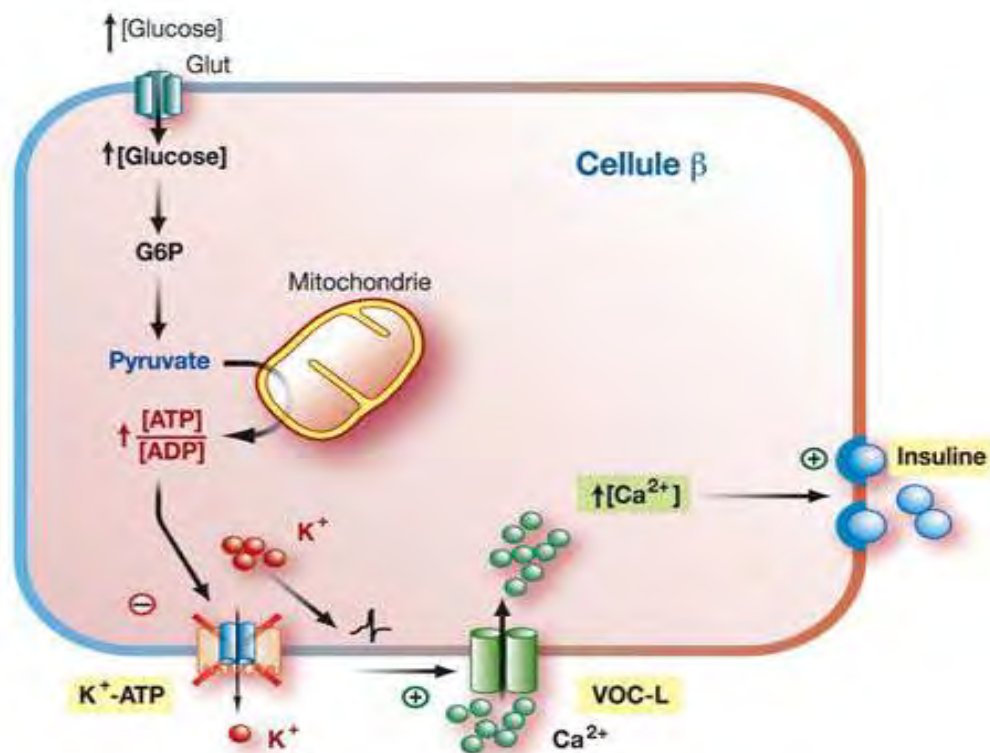


Figure 1 : Mécanisme de l'insulino-sécrétion dépendant du glucose dans la cellule β [13 ; 16]

I.2. Effet du glucose sur les cellules α pancréatiques

Le glucagon est sécrété par la cellule α des îlots de Langerhans. Il est de même important dans la régulation de la glycémie. Cette hormone est le principal contrepoint à l'effet de l'insuline. Il est sécrété en situation d'hypoglycémie pour stimuler la production hépatique du glucose.

Il a été montré que les cellules α fonctionnaient comme des détecteurs métaboliques à l'image des cellules β suite à une augmentation de la sécrétion du glucagon en réponse à une hypoglycémie. En effet, la diminution du taux de glucose stimulerait la libération de glucagon par les cellules α isolées de leur environnement insulaire ou non [13].

Dans la cellule α , le processus de détection du glucose est comparable à celui décrit dans la cellule β . En effet, la cellule α développe le GLUT1 qui est un transporteur de glucose ainsi que la glucokinase [23 ; 34]. Il est observé chez la cellule α de rat non seulement une augmentation basale du rapport ATP/ADP, ainsi qu'une stimulation des processus d'oxydation mitochondriale deux fois plus basse que dans la cellule β . De même, les canaux K^+ ATP des cellules α de souris sont plus sensibles à l'inhibition ATP que ceux des cellules β [24].

La régulation métabolique des canaux K^+ ATP est supportée par l'épreuve d'une forte activation de ces canaux lors de l'inhibition de la production d'ATP induite par l'utilisation du cytochrome C [26]. Ainsi, la fermeture des canaux K^+ ATP induite par le glucose est ainsi faible, ne pouvant pas dépolariser la membrane au niveau requis pour activer les canaux calciques dépendant du voltage de type N '(VOC-type N). Ces derniers permettent l'influx de calcium indispensable au déclenchement de l'exocytose des granules du glucagon [24]. A cela s'ajoute l'activation de canaux sodiques dépendant du voltage, qui assurent une meilleure dépolarisation membranaire et par conséquent l'activation de l'influx calcique initiateur de la libération du glucagon (**Figure 2**).

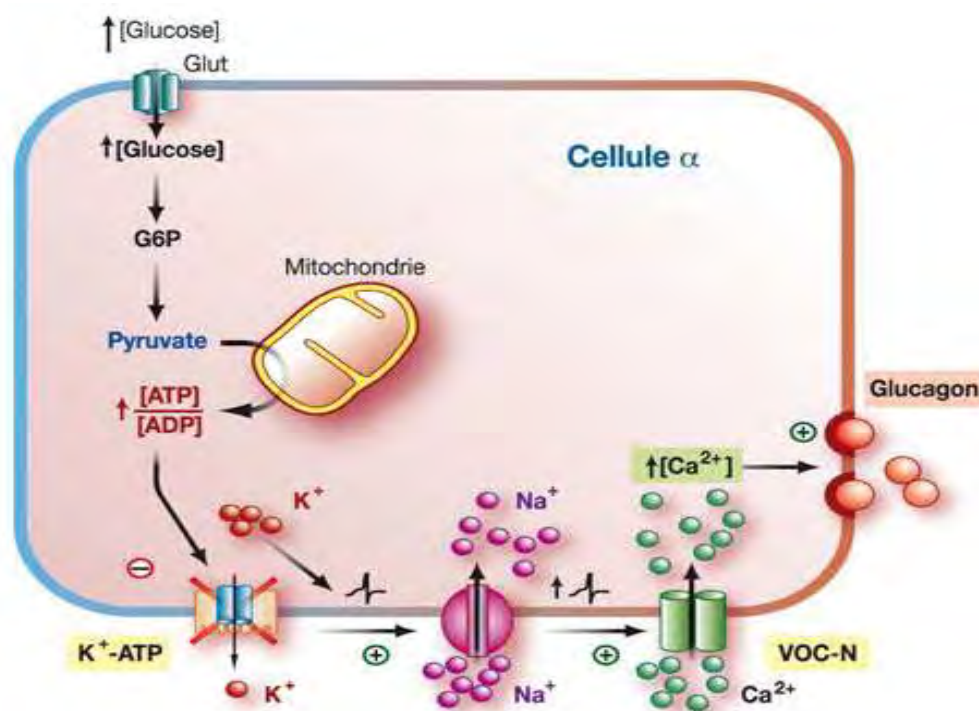


Figure 2 : Mécanisme de régulation du glucose dans la cellule α [13 ; 16].

I.3. Mécanismes d'échange entre les cellules β et α pancréatiques

Chez les cellules α , il est observé une sensibilité aux produits libérés des cellules β . C'est en ce sens que certains chercheurs ont montré dans la littérature, l'effet de l'insuline ou l'hypothèse «*switch off*». En fait, l'effet de l'insuline sur la régulation du glucagon est un sujet à controverses. L'insuline a été longtemps considérée comme le meilleur candidat parmi les produits sécrétés par les cellules β , en réponse au glucose pour assurer l'effet endocrine/paracrine inhibiteur sur l'activité des cellules α .

Chez l'homme, dans le cas du diabète type 1, lorsqu'il y a une forte altération des cellules β , le glucose peut activer la sécrétion du glucagon. Ainsi, au cours du diabète de type

2 (DT2) , il est observé une perturbation de l'effet inhibiteur physiologique de l'insuline sur l'activité des cellules α des îlots de Langerhans sécrétrices du glucagon. Ce qui se traduit par une hyperglucagonémie qui aggrave le statut du diabétique [24 ; 26].

I.4. Implications pharmacologiques

L'éclairage sur la communication entre les cellules β et α permet la compréhension des modifications hormonales en thérapeutique.

I.4.1. Sulfamides hypoglycémiantes (SH) et glinides

Les SH et les glinides sont très utilisés en thérapeutique dans le cas du DT2. Ils agissent en bloquant les canaux K^+ ATP, associés à des stimulations de l'activité électrique et de la libération de l'insuline par les cellules β . Chez l'homme, les effets des SH sont aussi variables et sont fonction de l'état du patient selon qu'il présente une sécrétion d'insuline persistante ou non. Le traitement *per os* des SH diminuerait les taux plasmatiques de glucagon chez des sujets sains et diabétiques de type 2 non insulino-requérants les exposant à un état d'hypoglycémie [44].

I.4.2. Le glucagon-like peptide-1 (GLP-1)

Le GLP-1 est un amplificateur de sécrétion insulinaire qui est au préalable activé par le glucose. Il s'agit d'une hormone glucagonostatique dépendant du glucose. Dans le cas du DT2, les sujets présentent une hyperglucagonémie à jeûne avec une absence de sécrétion de glucagon suite à un repas [29]. Cette hyperglucagonémie serait impliquée dans le maintien de l'élévation de la production hépatique de glucose et par conséquent participerait à l'hyperglycémie chronique de ces sujets diabétiques [31]. Ainsi, la réduction de la production de glucagon par l'usage thérapeutique des analogues du GLP-1 est de ce fait intéressante du point de vue clinique pour lutter contre l'hyperglycémie chronique [15 ; 28].

II. MODELES D'ETUDE DU DIABETE DE TYPE 2 (DT2)

Pour une meilleure compréhension à la fois de la pathogenèse et des agents thérapeutiques potentiels, des modèles animaux adéquats du DT2 sont nécessaires.

Cependant, pour qu'un modèle animal ait un intérêt expérimental, ses caractéristiques devraient refléter la physiopathologie ou développer des complications de la maladie avec une étiologie similaire à celle de la condition humaine. Il semble qu'il n'y ait aucun modèle animal unique qui réunisse toutes les caractéristiques souhaitées.

Une des préoccupations majeures à l'obtention d'un modèle d'étude idéal du DT2 est liée à l'histoire naturelle de la maladie, du fait que plusieurs années sont nécessaires à la survenue des complications chez l'animal [4].

L'utilisation du modèle animal approprié sur la base de ces similitudes peut fournir beaucoup de données nécessaires à la compréhension des mécanismes physiopathologiques du DT2 chez l'homme.

Toutefois, les modèles animaux du DT2 ont en commun de présenter une surcharge pondérale, une hyper-insulinémie primitive, aboutissant à des troubles de l'insulino-sécrétion, une insulino-résistance et une dyslipidémie [2].

Quel que soit le modèle d'étude utilisé, la survenue du DT2 peut être obtenue de façon spontanée ou par induction chirurgicale, chimique, endocrine, immunologique ou encore par le biais d'une sélection génétique.

II.1. Les modèles animaux de Diabète de Type 2 (DT2) induit par des substances chimiques.

Il s'agit de l'utilisation de produits chimiques notamment l'alloxane et la streptozotocine entre autres, pour la construction d'un modèle animal de DT2.

II.1.1. Diabète de type 2 induit par la streptozotocine.

La streptozotocine est un antibiotique anti-tumoral de synthèse, utilisé en chimiothérapie anticancéreuse. Elle est commercialisée par les Laboratoires *Pharmacia* (France), sous le nom de *Zanosar*®. Cette substance toxique pour le pancréas endocrine, est indiquée dans le traitement des adénocarcinomes métastasiques des îlots de Langerhans. Il s'agit d'un agent alkylant qui inhibe l'initiation de la synthèse de l'ADN. Le mécanisme de l'action diabétogène de la streptozotocine n'est pas bien connu [2]. Les mécanismes impliqués dans l'agression de la cellule β sont sujets à controverses. Certains auteurs plaident en faveur d'une réaction auto-immune à médiation cellulaire, d'autres en faveur d'une toxicité directe provoquant l'insulite [2]. En effet, administrée à fortes doses, la streptozotocine détruit les cellules β des îlots de Langerhans. A doses faibles et répétées, elle induit une insulite suivie d'une destruction des cellules β . C'est pourquoi, l'injection de streptozotocine induit chez l'animal une hyperglycémie non insulino-prive et une insulino-déficience similaires à celles obtenues suite à une pancréatectomie partielle [2].

II.1.2. Diabète de type 2 induit par l'alloxane.

L'alloxane est un agent qui a une activité cytotoxique sur les cellules β . Il établit un cycle d'oxydoréduction avec formation de radicaux superoxydes. Associé à de fortes doses de calcium cytosolique, il provoque la destruction rapide des cellules β des îlots de Langerhans. L'alloxane est utilisé chez plusieurs espèces afin d'induire un diabète chez l'animal (rat ou chien). En effet, une injection d'alloxane induit chez l'animal une hyperglycémie et une insulino-déficience comparables à celles obtenues suite à une pancréatectomie partielle [2].

II.2. Modèles animaux spontanés

L'expression phénotypique du syndrome dépend de la souche (« *background* ») génétique et des facteurs environnementaux (diététiques).

Les souris *NZO (New Zealand Obese)* présentent une maladie de mode polygénique. Ce modèle est obtenu par croisements sélectifs d'animaux à poids élevé, pendant douze générations. On obtient le phénotype obèse, une légère hyperglycémie associée à une hyperinsulinémie.

A l'inverse, l'obésité peut être modérée et le diabète plus sévère. Cette situation est rencontrée chez la souris *db/db* par exemple. Une évolution du diabète de type 2 vers un diabète insulino-prive secondaire, suite à un épuisement des cellules β , est observée dans ce modèle de souris génétiquement déterminés selon un mode autosomal récessif [2].

II.3. Modèles transgéniques

La transgénèse permet d'évaluer l'impact de l'expression ou de la suppression de certains facteurs intervenant dans la cascade des processus allant de la sécrétion d'insuline par les cellules β à son action au niveau des cellules musculaires et des adipocytes avec l'apport de glucose par ses transporteurs comme le GLUT4 [2].

II.3.1. Modèles de souris transgéniques

Dans ce modèle, les souris présentent une réduction de l'activité de la glucokinase (GK) dans les cellules β , une suppression du transporteur de glucose *GLUT4* «*Knock-out GLUT4 mice*» et une expression de l'insuline humaine. Pour confirmer la fonctionnalité, il y a la présence du peptide C humain, une hyperinsulinémie, une résistance à l'insuline, une intolérance au glucose, excepté l'hyperglycémie et l'obésité qui ne sont pas observées.

Il s'y ajoute une surexpression de l'*IGF (Insulin-like growth factor-binding proteine-1)* se traduisant par une tolérance au glucose en baisse pendant que la sensibilité à l'insuline reste normale [2].

Tous ces modèles expérimentaux de diabète démontrent bien que cette maladie possède des traits pathologiques complexes et diversifiés. Cependant, chaque modèle permet d'en étudier un aspect particulier, que ce soit au niveau cellulaire, moléculaire, biochimique ou génétique, en référence à ce qui est observé chez l'être humain. La mise au point de ces modèles a permis une meilleure compréhension de la physiopathologie et de l'évolution naturelle du diabète, notamment de type 2, dans le but unique d'une thérapie antidiabétique [28 ; 42].

III. GÉNÉRALITÉS SUR *SCLEROCARYA BIRREA* [4 ; 29]

III.1. Eléments de botanique

III.1.1. Présentation dendrologique et morphologique de *S. birrea*

L'appellation « *Sclerocarya birrea* » provient des termes grecs « *skleros* » qui signifie dur, « *karya* » qui veut dire noix, en référence au noyau retrouvé à l'intérieur des fruits charnus. Dans certaines contrées d'Afrique, « *Sclerocarya birrea* » est également appelée « *Arbre-éléphant* ». C'est un arbre dioïque, de 9 à 12 mètres de haut, pouvant mesurer jusqu'à 18 m. Le diamètre du tronc mesure en moyenne 1,3 mètre. L'arbre est à simple tronc unique et développe une cime en forme de large couronne. Le tronc est caractérisé par une écorce chinée grise. Celle-ci est aussi de couleur argenté pâle ou gris violacé, dès fois rugueux. (Figure 3)

Les fleurs mâles ont une inflorescence racème terminale ou axillaire, retombant et long de 5-12 cm. Elles sont en groupes de 3 à 4 dirigées vers la base et sont solitaires en allant vers l'apex. La fluorescence femelle est réduite, subterminale et spiciforme ayant plus ou moins deux fleurs. Les fleurs unisexuées sont régulières, de pédicelles longs qui peuvent aller jusqu'à 5 mm chez les mâles et 1 mm chez les femelles. Chez les fleurs femelles, il est décrit un ovaire supère, subglobulaire, évoluant vers une gousse. Celle-ci, une fois mûre, présente une peau jaune-clair et une chaire blanche ayant un goût âpre avec une forte saveur en térébenthine. Le fruit est une drupe obovoïde à subglobuleuse de 3 à 3,5 cm de diamètre, ayant des noyaux qui laissent échapper des graines cylindriques, lorsqu'ils sont séchés [4 ; 29] (Figure 4, 5, 6).



Figure 3 : Tronc de l'arbre *S. birrea*.



Figure 4 : Fleur de *S. birrea*.



Figure 5 : Fruit de *S. birrea*

Source : wiki média site <http://www.google.fi/url>



Figure 6 : Fruits verts et secs de *S. birrea*,

Source : wiki média site <http://www.google.fi/url>

Les feuilles sont composées de trois à sept paires de folioles opposées à subopposées et sont disposées en spirales près des extrémités des branches. Elles sont alternes, imparipennées, longues de 8- 38 cm.



Figure 7 : Feuilles de *S. birrea* ;



Figure 8 : Fruits de *S. birrea* tombés au sol

Source : wiki média site <http://www.google.fi/url>

Le système racinaire lui permet de survivre dans son environnement semi-aride, en raison de sa longue racine pivotante qui peut mesurer jusqu'à 30 mètres.

III.1.2. Monographie de *S. birrea* [1]

La position de *Sclerocarya birrea* (A. Rich.) Hochst dans la classification scientifique est naturellement le règne végétal, au sous règne des *Eucaryotes*, du groupe des *Eucaryotes chlorophylliens*, de Sous-groupe des *Embryophytes vasculaires* ; elle appartient à l'Embranchement des *Spermatophytes*, de sous-embanchement des *Angiospermes*, à la classe des *Dicotylédones*, de sous-classe des *Rosidae* , du groupe *Rosidae* obdiplostemone à ovaire super et disque nectarifère . Ainsi, la plante appartient à l'ordre des *Sapindales* , famille des *Anacardiaceae* du genre *Sclerocarya* et d'espèce *birrea* . D'où le nom binominal est *Sclerocarya birrea*.

Tableau I : Monographie de *Sclerocarya birrea* [1]

Règne	végétal
Sous règne	Eucaryotes
Groupe	Eucaryotes chlorophylliens
Sous – groupe	Embryophytes Vasculaires
Embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous classe	Rosidae
Groupe	Rosidae obdiplostemone à ovaire super et disque nectarifère
Ordre	Salmindales
Famille	Anacardiaceae
Genre	Sclerocarya
Espèce	Birrea

[1] <u>Nom scientifique</u>	: <i>Sclerocarya birrea</i> (A. Rich) Hochst.
Famille	: <i>Anacardiaceae</i> ou <i>Térébinthaceae</i>
Synonymes	: <i>Pourpartia birrea</i> (A. Rich) Aubrév, <i>Spondias birrea</i> (A.Rich).

Français : *Sclerocarya* à bière, Marula

Noms locaux :

Mali et Sénégal

Malinké	: kuntan, kunan, kuntango
Bambara	: n'gunan, kutan dao
Dogon	: bi
Peul	: he 'di, kedé, éri, hédéhi
Sonrhäi	: diné, dinégna

Niger

Haussa	: dania
Zarma	: diney
Béribéri	: koma

Haute-Volta

Môr et Mossi	: nobéga
--------------	----------

III.1.3. Origine et répartition géographique

Sclerocarya birrea encore appelée le « *prunier d'Afrique* » est principalement retrouvé en Afrique subsaharienne, en Mauritanie, du Sénégal jusqu'en Ethiopie, et en Erythrée. Elle est également retrouvée en Afrique australe (Namibie, Botswana, Zimbabwe, Mozambique, Afrique du Sud, Swaziland), au Madagascar, aux Iles Maurice et à la Réunion [30].

La plante est cultivée à titre expérimental en Israël et a été introduite en Australie, en Inde et à Oman. Il a été montré que la répartition de cette espèce sur le continent africain a suivi la migration des Bantous, car elle est un élément important de leur alimentation depuis des temps immémoriaux [30].



Figure 9 : Arbre de *S. birrea*

Source : <https://fr.wikipedia.org/wiki/Marula>

III.2. Eléments de phytochimie.

III.2.1. Composition phytochimique.

La poudre des feuilles de *S. birrea* renferme des tanins, des flavonoïdes, ainsi que des coumarines, des saponosides, des hétérosides cardiotoniques, des oses holosides et des leucoanthocyanes [1].

La pulpe de fruit de *Sclerocarya birrea* est très utilisée en alimentation. Elle contient de l'acide malique, de l'acide citrique et du sucre. Le tableau ci-dessous illustre la composition de la chair de fruit [6 ; 10].

Tableau II : Composition de la pulpe de fruit [8 ; 29]

Constituants	Teneurs en mg/100
Vitamine C	67,9
Calcium	6,2
Magnésium	10,5
Fer	0,1
Sodium	Trace
Potassium	54 ,8
Cuivre	0,04
Phosphore	8 ,7
Thiamine	0,03
Riboflavine	0,05
Acide nicotinique	0,25
Humidité	91,7
Cendres	0,2
Proteines	0,5
Graisses	0, 1
Fibres	0,5
Carbohydrate	7

III.2.2. Usage de *S. birrea*

Les drupes charnues très riches en vitamine C, (environ 8 fois la quantité trouvée dans une orange), ont un goût âpre et une forte saveur de térébenthine. Une trop forte consommation des fruits fermentés peut conduire à un état d'ébriété [6 ; 18]. À l'intérieur des fruits, il est retrouvé un noyau très dur de la taille d'une noix. Une fois séchés, ces noyaux laissent s'échapper 2 ou 3 graines cylindriques à une de leurs extrémités. Ces graines ont un goût délicat de noisettes et sont très recherchées, en particulier par de petits rongeurs qui savent ronger les noyaux exactement là où les graines sont localisées [10 ; 13]. Les amandes des graines sont riches en lipides et en protéines avec un goût subtil de noisette. Elles constituent une importante source d'énergie en cas de besoin. Les fruits sont couramment mangés frais ou utilisés pour préparer des jus, des gelées et de la liqueur (*liqueur d'amarula*®). Les fruits sont considérés comme un puissant insecticide. L'infusion des fruits est utilisée pour laver le bétail infesté par les tiques [4 ; 6].

L'huile de marula®, extraite à partir de l'amande des graines, est une des meilleures huiles africaines pour les soins de peau. Elle est riche en vitamine E, en antioxydants, en acide oléique. Les vertus de *l'huile de marula*® sont également très prisées par l'industrie cosmétique (soins pour la peau, savons, maquillage) [13 ; 14 ; 16].

S. birrea peut être utilisée pour obtenir du biocarburant à base d'éthanol [31 ; 32].

L'écorce de *S. birrea* est utilisée dans le traitement préventif de la malaria. La gomme extraite des branches est mélangée avec de l'eau et de la suie pour préparer de l'encre utilisée par certaines tribus en Afrique. L'écorce produit aussi un colorant rouge-brun utilisé dans l'artisanat traditionnel. [20] L'infusion de l'écorce de *S. birrea* est utilisée contre la douleur causée par des piqûres de scorpions ou de serpents [10 ; 20 ; 40].

Les feuilles sont mâchées pour lutter contre les indigestions et les brûlures d'estomac [20 ; 36].

DEUXIEME PARTIE :

ETUDE EXPERIMENTALE

I. OBJECTIFS DE L'ETUDE

I.1. Objectif général

Cette étude avait pour objectif général d'évaluer l'effet sur la glycémie d'extraits des feuilles de *S. birrea*, plante utilisée en médecine traditionnelle africaine dans le traitement du DT2.

I.2. Objectifs spécifiques

Les objectifs spécifiques consistaient à :

- éliminer sélectivement les tanins présents dans les feuilles de *S. birrea* ;
- évaluer l'effet sur le glucose sanguin des extraits obtenus sur différents modèles d'étude du DT2.

II. CADRE D'ÉTUDE

Cette étude a eu pour cadre les Laboratoires de Pharmacologie et Pharmacodynamie, de Pharmacognosie et Botanique de la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontologie (FMPO) de l'Université Cheikh Anta Diop de Dakar (UCAD).

III. MATÉRIELS

III.1. Matériel végétal

III.1.1. Cueillette du matériel végétal

Le matériel végétal utilisé est constitué de feuilles de *S. birrea* récoltées le 23 novembre 2014 à Sindia dans la région de Thiès (Sénégal).

III.1.2. Identification du matériel végétal

Les feuilles de *S. birrea* récoltées ont été identifiées au Laboratoire de Pharmacognosie et Botanique de la FMPO de l'UCAD.

III.1.3. Séchage et pulvérisation de la drogue

Les feuilles ont été séchées à l'ombre. Elles ont été ensuite pulvérisées à l'aide d'un broyeur électrique de type *Brabender*®. Une poudre de couleur verte a été obtenue.

III.2. Matériel animal

Des rats mâles ou femelles de souche *Wistar* ont été utilisés. Ils ont été élevés à l'animalerie du Laboratoire de Pharmacologie, sous la lumière le jour et l'obscurité la nuit.

Les rats ainsi sélectionnés ont été pesés, numérotés et gardés dans des cages tapissées de copeaux de bois. Ils ont été nourris deux fois par jour avec l'«*aliment poulette*» des moulins SENTENAC® de Dakar et ont eu un libre accès à l'eau.



Figure 10 : Rats de souche *Wistar* élevés au Laboratoire de Pharmacologie et Pharmacodynamie de la FMPO (UCAD).

III.3. Matériels et réactifs

III.3.1. Matériels et réactifs d'extraction

III.3.1.1. Matériels d'extraction

L'extraction de la poudre des feuilles de *S. birrea* a été réalisée avec les matériels ci-après :

- ballon de 2 litres ;
- chauffe-ballon ;
- balance de précision de type *Mettler*® ;
- balance électronique de précision de type *Sartorius*® ;
- évaporateur de type *Rotavapor*® ;
- broyeur de type *Brabender*® ;
- Réfrigérant ;
- Verres de montre ;
- Eprouvettes graduées ;

- Erlenmeyers ;
- Papier filtre ;
- Spatule ;
- Bain Marie ;
- Pulvérisateur ;
- Dessicateur ;
- Centrifugeuse ;
- Micropipettes ;
- ampoules à décanter de 2 litres ;
- Entonnoirs.



Figure 11 : Dispositif d'évaporation

III.3.1.2. Solvant d'extraction de la drogue

L'extraction de la drogue a été réalisée avec de l'eau distillée.

III.3.1.3. Matériels et réactifs de caractérisation

III.3.1.3.1. Matériels

Le screening de l'extrait a été réalisé avec le matériel ci-après :

- tubes à essai ;
- pipettes ;
- filtres ;
- entonnoirs ;
- Micropipettes ;
- Bain marie.

III.3.1.3.2. Réactifs et solvants de caractérisation

Le screening a été réalisé avec les réactifs et solvants ci-après :

- Eau distillée ;
- Trichlorure de fer (FeCl₃) ;
- Acide ortho phosphotungstique ;
- Carbonate de sodium à 25 % ;
- Soude ;
- Le réactif de stiasny ;
- Réactif de Shibata.

IV. METHODES

IV.1. Extraction

IV.1.1. Préparation de l'extrait aqueux total (EAT)

Cent cinquante grammes de poudre de feuilles de *S. birrea* ont été versés dans un ballon contenant 500 ml d'eau distillée. Le mélange a été porté à ébullition pendant 2 heures. Après refroidissement et filtration, le résidu a été soumis à une deuxième extraction à ébullition pendant 1 h dans 500 ml d'eau distillée. Les deux filtrats ont été mélangés, évaporés puis séchés.

IV.1.2. Préparation de l'extrait aqueux résiduel (EAR)

L'extrait aqueux résiduel (EAR) dépourvu de tanins a été préparé à partir de l'extrait aqueux total (EAT) de feuilles de *S. birrea*, sous l'action de la caséine qui a la propriété de fixer les tanins.

Vingt six grammes de caséine ont été mélangés à 260 ml de l'EAT. La solution a été soumise à une agitation magnétique pendant 4 heures, temps nécessaire pour précipiter les tanins contenus dans l'extrait. Des réactions de caractérisation des tanins ont été réalisées afin de confirmer leur élimination progressive dans le temps.

Pour ce faire, 9 ml d'eau distillée ont été mélangés à 1 ml de l'EAT dans un tube témoin.

Un prélèvement d'un ml de l'EAR a été réalisé toutes les heures pendant 4 heures. La dilution au 1/10^{ème} du prélèvement effectué a été mélangée à 1 ml d'acide ortho phosphotungstique et 3 ml de soude (NaOH).

La présence de tanins se caractérise par une coloration bleue dans le tube témoin. Celle-ci vire progressivement vers une coloration beige au bout de la 4^{ème} heure, témoignant de l'absence de tanins dans l'EAR.

A la fin de cette opération, l'EAR dépourvu de tanins a été filtré puis évaporé.



Figure 12 : Extraits aqueux total et résiduel

IV.2. Screening phytochimique

Le screening phytochimique a été réalisé par une caractérisation générale sur tubes et par chromatographie sur couche mince (CCM). A cet effet, les deux extraits (EAT, EAR) ont été dissouts dans de l'eau distillée.

IV.2.1. Caractérisation générale sur tube de composés polyphénoliques

❖ Principe

Les flavonoïdes et les tanins donnent des colorations variées avec la solution de trichlorure de fer (FeCl_3), du fait de la présence de fonctions phénoliques dans leur structure.

❖ Mode opératoire

Une solution de FeCl_3 a été ajoutée à 1 ml de l' extrait dans un tube à essai.

L'apparition d'une coloration bleue indique la présence de composés polyphénoliques tels que des flavonoïdes et des tanins.

IV.2.1.1. Recherche de tanins

❖ Caractérisation par l'acide phosphotungstique

A la solution de l'extrait aqueux résiduel diluée au 1/10^{ème}, ont été ajoutés :

- 1 ml d'une solution d'acide phosphotungstique
- 9 ml d'une solution aqueuse de carbonate de sodium à 25 %.

En présence de tanins, il apparaît une coloration bleue.

❖ Différenciation des tanins par précipitation par le réactif de Stiasny

Quatre millilitres du réactif de Stiasny ont été ajoutés à 8 ml du filtrat de l'extrait. Le mélange obtenu a été placé dans un bain-marie pendant 30 min. L'apparition d'un précipité indique la présence de tanins condensés.

Après filtration, le filtrat obtenu a été saturé à l'acétate de sodium. Après addition de quelques gouttes de FeCl₃ à la solution saturée, il apparaît une coloration bleu-noir indiquant la présence de tanins hydrolysables non précipités par le réactif de Stiasny.

IV.2.1.2. Recherche de flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des pigments naturels de couleur jaune, généralement polyphénoliques. Ils sont le plus souvent sous forme d'hétérosides appelés flavonosides dont les génines sont des dérivés de la phénylchromone (phénylbenzopyrone).

❖ Coloration en milieu alcalin

➤ Principe

En milieu alcalin, les flavonoïdes se dissolvent facilement en donnant des colorations allant du jaune au brun.

➤ Mode opératoire

Dans un tube, 2 ml d'extrait ont été mélangés avec quelques gouttes d'une solution de soude. Il apparaît une coloration jaune indiquant la présence de flavonoïdes.

❖ Réaction à la cyanidine : Shibata

➤ Principe

En solution alcoolique, en présence d'hydrogène naissant produit *in situ* par action de l'acide chlorhydrique sur du magnésium, les flavonoïdes donnent des colorations variées, allant du rouge orange au violet.

➤ **Mode opératoire**

Dans un tube à essai contenant 2 ml d'alcool chlorhydrique et quelques fragments de magnésium, ont été ajoutés 2 ml d'extrait. Il apparaît une coloration rose puis rouge se développant lentement, indiquant la présence de flavonoïdes.

IV.2.2. Caractérisation par Chromatographie sur couche mince (CCM)

❖ **Principe**

La chromatographie sur couche mince (CCM) repose principalement sur des phénomènes de séparation : la phase mobile est un solvant ou un mélange de solvants, qui progresse le long d'une phase stationnaire fixée sur une plaque de verre ou sur une feuille semi-rigide de matière plastique ou d'aluminium. Après le dépôt de l'échantillon sur la phase stationnaire, les substances migrent à une vitesse qui dépend de leur affinité avec la phase stationnaire et la nature de solvant de migration.

Lorsque la plaque sur laquelle l'échantillon a été déposé est placée dans la cuve, l'éluant monte à travers la phase stationnaire, essentiellement par capillarité. En outre, chaque composant de l'échantillon se déplace à sa propre vitesse derrière le front du solvant. Cette vitesse dépend d'une part, des forces électrostatiques retenant le composant sur la plaque stationnaire et, d'autre part, de sa solubilité dans la phase mobile. Les composés se déplacent donc alternativement de la phase stationnaire à la phase mobile, l'action de rétention de la phase stationnaire étant principalement contrôlée par des phénomènes d'adsorption.

La caractérisation par CCM a été réalisée pour les constituants phytochimiques identifiés au cours des réactions générales de caractérisation (flavonoïdes et tanins).

❖ **Préparation des extraits**

Trois milligrammes de chaque extrait ont été dissouts dans 10 ml d'éthanol.

❖ **Mode opératoire**

Le témoin et les extraits à analyser ont été déposés à l'aide d'une micropipette en appuyant légèrement et brièvement l'extrémité de la pipette sur la couche d'adsorbant en prenant soin de ne pas la détériorer. Les dépôts étaient distants de 1,5 cm les uns des autres et situés à environ 1 cm de la partie inférieure de la plaque.

La plaque a été introduite en position verticale dans la cuve de migration fermée pendant le développement. Lorsque la position du front du solvant arrive à environ 1 cm de l'extrémité supérieure de la plaque, celle-ci est retirée de la cuve. Le niveau atteint par le solvant est marqué par un trait fin, puis la plaque est séchée à l'étuve. Après séchage les constituants phytochimiques ont été révélés avec les réactifs appropriés ou observés à l'Ultra-violet (UV) à 366 nm.

Tableau III : Caractérisation de constituants phytochimiques de l'extrait aqueux total et de l'extrait aqueux résiduel.

Constituants phytochimiques	Solvants de migration	Témoins	Réactifs de révélation	Coloration obtenue
Tanins	Acétate d'éthyle/ Méthanol/ - Eau	Acide Gallique	Chlorure ferrique/Acide acétique/Eau (2 : 2 : 96 v/v)	Noire
	(40 ; 8 : 5 v/v)			
Flavonoïdes	Acide acétique à 15 % dans l'eau	Rutine	Chlorure d'aluminium à 5 % dans le mélange Eau/ Méthanol (1 v/1 v)	Fluorescence jaune (à la lumière Ultra-violet)

IV.3. Essais pharmacologiques

IV.3.1. Principe

L'effet de la poudre de feuilles de *S. birrea* sur la glycémie a été étudié chez des rats de souche *Wistar*. Ainsi, l'évolution de la glycémie a été suivie chez des rats normoglycémiques et diabétiques de type 2.

Les prélèvements de sang ont été effectués au niveau du sinus rétro-orbitaire des rats puis la glycémie a été déterminée à l'aide d'un glucomètre.

IV.3.2. Protocole expérimental

IV.3.2.1. Essais chez des rats normoglycémiques

Quinze rats ont été sélectionnés et répartis en lots de 5 rats puis mis à jeun pendant 12 heures.

Un premier prélèvement de sang au temps T0 a été effectué chez les rats avant l'administration de produit. Les extraits ou l'eau physiologique (EP) ont été administrés *per os* et des prélèvements de sang ont été effectués toutes les heures pendant 4 heures correspondant respectivement à **T1, T2, T3 et T4** :

- Lot contrôle : administration de l'eau physiologique (10 **ml/kg**, *per os*) ;
- Lot 1 : traité avec l'extrait aqueux total (**300 mg/kg**, *per os*);
- Lot 2 : traité avec l'extrait aqueux résiduel (**300 mg/kg**, *per os*).

IV.3.2.2. Essais chez les rats diabétiques de type 2

Vingt-huit rats ont été sélectionnés et divisés en quatre lots de 7.

Dans cette étude, le diabète de type 2 expérimental a été provoqué, par administration intra-péritonéale d'une solution d'alloxane à la dose unique de 100 mg/kg, afin d'induire un état d'hyperglycémie chronique chez ces rats.

Trois (3) jours après administration de l'alloxane et vérification de l'état d'hyperglycémie par détermination de la glucosurie à l'aide de bandelettes réactives, la glycémie de base des rats a été déterminée à J0, correspondant au premier jour de détermination de la glycémie. Les solutions des produits à tester ont été administrées tous les jours de J0 à J8 comme suit :

- Lot 1 : traité avec l'EAT (300 mg/kg/J, *per os*) ;
- Lot 2 : traité avec l'EAR (300 mg/kg/J, *per os*) ;
- Lot 3 : traité avec l'EP (10 ml/kg/J, *per os*)
- Lot 4 : traité avec le glibenclamide (0,2 mg/kg/J, *per os*)

Des prélèvements de sang ont été effectués tous les 2 jours.

IV.3.2.3. Dosage du glucose sanguin

Le dosage du glucose sanguin a été réalisé au Laboratoire de Pharmacologie et Pharmacodynamie de la FMPO de l'UCAD, à l'aide d'un glucomètre de marque Accu- Chek Active fabriqué par les Laboratoires Roche.

IV.3.2.3.1. Appareillage



Figure 13 : Glucomètre *Accu Chek active* (Laboratoires Roche)

IV.3.2.3.2. Principe

La bandelette est munie d'une zone réactive. Lorsque du sang est appliqué sur cette zone, l'enzyme glucose déshydrogénase (Mut.Q-GDH2) réagit en présence de glucose.

La réaction chimique ainsi provoquée se traduit par un changement de couleur de la zone réactive. Le taux de glucose dans l'échantillon est proportionnel à l'intensité de la coloration.

IV.3.2.3.3. Procédure

- Une bandelette *Accu chek* a été insérée sur le lecteur ;
- 1 à 2 gouttes de sang prélevé au niveau du sinus rétro-orbitaire du rat ont été déposées sur la partie réactive de la bandelette ;
- Après 5 secondes d'attente, le lecteur affiche la valeur de la glycémie en g/L.

V. RESULTATS

V.1. Essais phytochimiques

V.1.1. Caractérisation générale sur tubes

V.1.1.1. Composés polyphénoliques

La réaction de caractérisation générale sur tubes a permis de révéler la présence de composés polyphénoliques par l'obtention d'une coloration bleue.

Tableau IV : Caractérisation générale des composés polyphénoliques de l'extrait aqueux total et de l'extrait aqueux résiduel

	Réactions de caractérisation générale	
	Extrait aqueux total	Extrait aqueux résiduel
Composés polyphénoliques	(+)	(+)

(+) : Présence



Figure 14 : Réaction de caractérisation générale sur tubes de composés polyphénoliques de l'EAT



Figure 15 : Réaction de caractérisation sur tubes de composés polyphénoliques de l'EAR

V.1.1.2. Recherche de tanins

La réaction de caractérisation générale sur tubes a permis de révéler la présence de tanins par l'obtention d'une coloration bleue.



Figure 16 : Coloration bleue de l'EAT

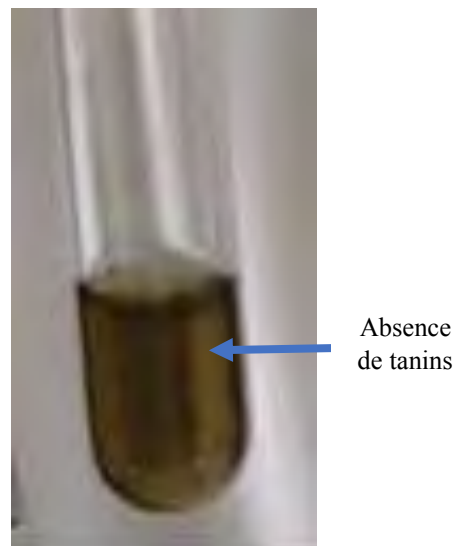


Figure 17 : Coloration jaunâtre de l'EAR

❖ Précipitation des tanins condensés par le réactif de Stiasny

La réaction de caractérisation générale sur tubes par le réactif de Stiasny a permis de révéler la présence de tanins condensés par l'obtention d'un précipité blanchâtre.

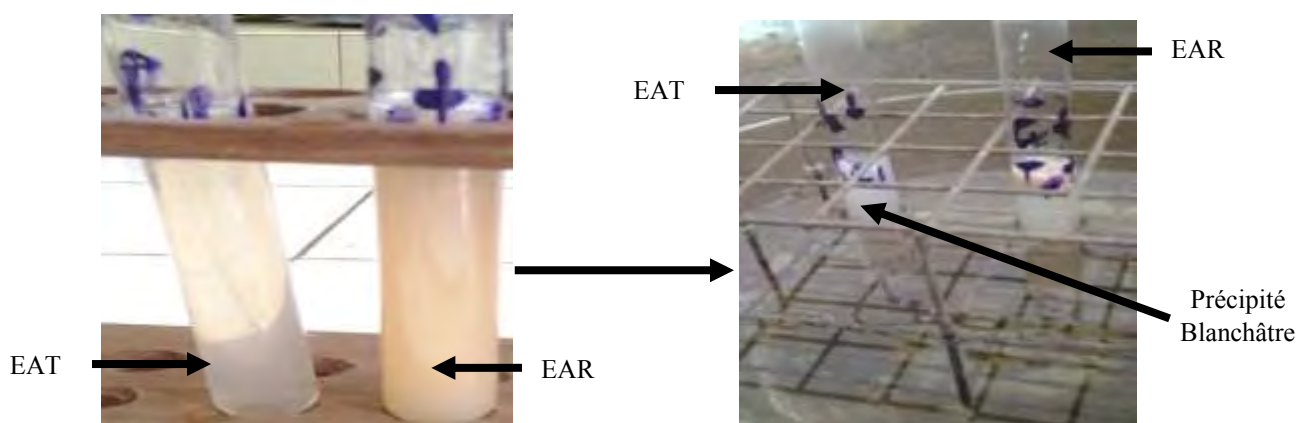


Figure 18 : Caractérisation sur tubes des tanins condensés

Après addition de quelques gouttes de FeCl_3 à la solution saturée par l'acétate de sodium, il apparaît une coloration bleu noir indiquant la présence de tanins hydrolysables non précipités par le réactif de Stiasny dans l'EAT, alors que l'EAR reste incolore attestant de l'absence de tanins (Figure 16 et 17).

V.1.1.3. Recherche de flavonoïdes

La réaction de caractérisation générale sur tubes a permis de révéler la présence de flavonoïdes par l'obtention d'une coloration jaune. Cette présence de flavonoïdes est observée dans les deux extraits.



Figure 19 : Caractérisation des flavonoïdes par le réactif de Shibata

Il apparaît une coloration rose puis rouge qui se développe lentement indiquant la présence de flavonoïdes (**Figure 19**).

❖ Recherche de flavonoïdes dans les deux extraits

- Coloration en milieu alcalin

En milieu alcalin, la présence de flavonoïdes se traduit par une coloration verdâtre (**Figure 20**).

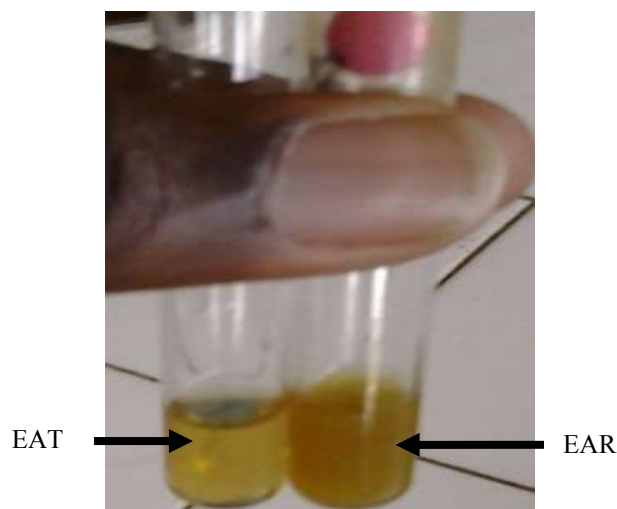


Figure 20 : Caractérisation des flavonoïdes en milieu alcalin de l' EAT et de l'EAR

V.1.2. Caractérisation par chromatographie sur couche mince de constituants phytochimiques de l'EAT et de l'EAR des feuilles de *S. birrea*.

La caractérisation par chromatographie sur couche mince (CCM) de l'EAT a permis de mettre en évidence la présence de flavonoïdes et de tanins. Elle a également permis de confirmer l'absence de tanins dans l'EAR et la présence des flavonoïdes dans ce dernier extrait (Tableau V).

Tableau V : Caractérisation par chromatographie sur couche mince (CCM).

Extraits	Composés Phytochimiques	
	Flavonoïdes	Tanins
Extrait Aqueux Total (EAT)	(+)	(+)
Extrait Aqueux Résiduel (EAR)	(+)	(-)

(+) : Présence ; (-) : Absence

V.2. Essais pharmacologiques

V.2.1. Rats normoglycémiques

V.2.1.1. Contrôle physiologique

L'administration *per os* de sérum physiologique à la dose de 10 ml/kg ne modifie pas la glycémie de base des rats normoglycémiques. Le glucose sanguin reste en effet stable au bout de 4 heures d'observation ($0,95 \pm 0,05$ vs $0,98 \pm 0,05$ g/L) (Tableau VI, Figure 21).

Tableau VI : Variations de la glycémie (g/l) chez des rats normoglycémiques après administration de l'eau physiologique (10 ml/kg, *per os*).

Rats	Temps (h)				
	T ₀	T _{1 h}	T _{2 h}	T _{3 h}	T _{4 h}
R ₁	0,83	0,88	0,92	0,98	0,95
R ₂	0,79	0,85	0,82	0,87	0,85
R ₃	0,89	0,94	0,96	0,99	0,95
R ₄	1,08	1,12	1,17	1,11	1,19
R ₅	0,87	0,93	0,97	1,02	0,99
Moy ± esm	$0,98 \pm 0,05$	$0,94 \pm 0,04$	$0,96 \pm 0,05$	$0,99 \pm 0,03$	$0,95 \pm 0,05$

V.2.1.2. Administration de l'extrait aqueux total à la dose de 300 mg/kg, per os

L'administration de l'EAT des feuilles de *S. birrea* (300 mg/kg, per os) induit une hypoglycémie. Le glucose sanguin varie de **0,80±0,04 g/L (T0)** à **0,66±0,07 g/L (T4h)**, soit une baisse de **17,5 ± 6,42 %**.

Le pic de l'effet hypoglycémiant (**0,61±0,03 g/L**) est observé 2 heures après administration de l'EAT (**Tableau VII, figure 21**).

Tableau VII : Variations de la glycémie (g/L) chez des rats normoglycémiques après administration de l'EAT des feuilles de *S. birrea* (300 mg/kg, per os).

Temps (h)					
Rats	T ₀	T _{1 h}	T _{2 h}	T _{3 h}	T _{4 h}
R ₁	0,86	0,76	0,66	0,63	0,63
R ₂	0,89	0,87	0,59	0,58	0,53
R ₃	0,83	0,75	0,70	0,66	0,66
R ₄	0,73	0,60	0,50	0,62	0,85
R ₅	0,71	0,64	0,62	0,78	0,63
Moy ± esm	0,80±0,04	0,72±0,05	0,61±0,03	0,65±0,03	0,66±0,07

V.2.1.3. Administration de l'EAR (300 mg/kg, per os)

L'EAR, dépourvu de tanins, n'entraîne pas d'effet hypoglycémiant chez des rats normoglycémiques après 4 heures d'observation.

En l'absence de tanins dans l'EAT, on note même une tendance vers une augmentation du taux de glucose sanguin ($1,00 \pm 0,08$ vs $0,71 \pm 0,02$ g/L). (Tableau VIII, figure 21)

Tableau VIII : Variations de la glycémie (g/L) chez des rats normoglycémiques après administration de l'EAR des feuilles de *S. birrea* (300 mg/kg, per os).

Rats \ Temps (h)	T ₀	T ₁ h	T ₂ h	T ₃ h	T ₄ h
R ₁	0,77	0,97	0,88	0,97	0,68
R ₂	0,75	0,86	0,72	0,97	1,26
R ₃	0,62	0,89	0,87	0,90	0,99
R ₄	0,73	0,83	0,82	0,69	1,08
Moy ± esm	0,71±0,03	0,88±0,03	0,82±0,04	0,88±0,07	1,00±0,14

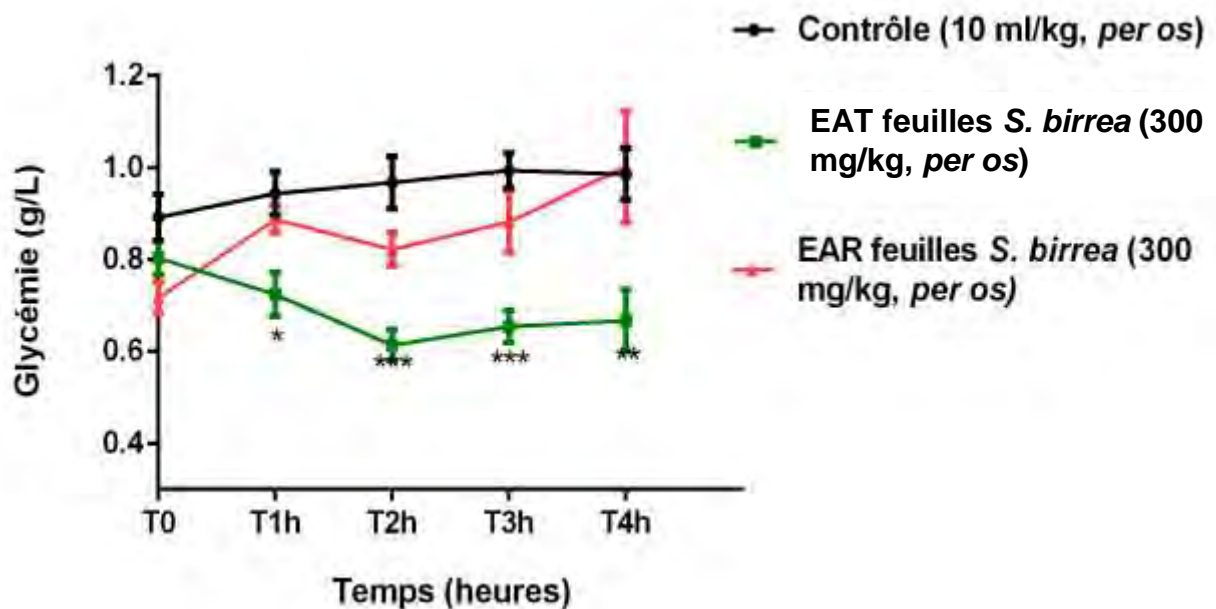


Figure 21 : Glycémies moyennes des rats normoglycémiques traités avec l'EP, l'EAT et l'EAR

V.2.2. Essais chez des rats diabétiques de type 2

V.2.2.1. Contrôle physiologique

Le traitement quotidien des rats diabétiques de type 2 avec de l'eau physiologique (10 ml/kg, *per os*) ne modifie pas l'hyperglycémie permanente observée chez ces rats ($4,04 \pm 0,15$ vs $4,00 \pm 0,14$ g/L). (Tableau IX, Figure 23)

Tableau IX : Evolution de la glycémie chez des rats diabétiques de type 2 après administration quotidienne de l'eau physiologique (10 ml/kg, *per os*).

Rat	Temps jours				
	J ₀	J ₂	J ₄	J ₆	J ₈
R ₁	4,29	4,27	4,26	4,28	4,28
R ₂	4,00	4,00	4,00	3,99	3,98
R ₃	3,67	3,66	3,60	3,67	3,64
R ₄	3,87	3,85	3,82	3,85	3,83
R ₅	4,41	4,40	4,38	4,35	4,30
Moy ± esm	$4,04 \pm 0,15$	$4,03 \pm 0,15$	$4,01 \pm 0,15$	$4,02 \pm 0,14$	$4,00 \pm 0,14$

V.2.2.2. Administration de l'EAT (300 mg/kg *per os*).

Chez des rats diabétiques de type 2, l'administration quotidienne de l'EAT des feuilles de *S. birrea* induit un effet anti-hyperglycémiant au bout de 8 jours. En effet, la glycémie varie de $3,01 \pm 0,44$ à $1,27 \pm 0,21$ g/L, soit une baisse de $57,80 \pm 4$ %. (Tableau X, Figure 23)

Tableau X : Evolution de la glycémie chez des rats diabétiques de type 2, après administration quotidienne de l'EAT des feuilles de *S. birrea* (300 mg/kg, *per os*).

Rat	Temps jours				
	J ₀	J ₂	J ₄	J ₆	J ₈
R ₁	2,81	2,30	0,93	0,78	0,67
R ₂	3,60	4,49	3,26	2,25	1,59
R ₃	2,57	2,03	1,01	1,73	1,05
R ₄	1,9	1,13	1,06	1,36	1,27
R ₅	4,17	3,30	2,70	2,63	1,78
Moy ± esm	$3,01 \pm 0,44$	$2,65 \pm 0,64$	$1,79 \pm 0,55$	$1,75 \pm 0,36$	$1,27 \pm 0,21$

V.2.2.3. Administration de l'EAR (300 mg/kg per os)

Dans une autre série d'expériences, l'administration quotidienne de l'EAR des feuilles de *S. birrea* (300 mg/kg, per os) induit une action anti-hyperglycémiant au bout de 8 jours de traitement. En effet la glycémie varie de (3.46±1,06 à 1,88±0,18 g/L), soit une baisse de 45,66 ± 7,95 % (Tableau XI, Figure 23).

Tableau XI : Evolution de la glycémie chez des rats diabétiques de type 2 après administration quotidienne de l'EAR des feuilles de *S. birrea* (300 mg/kg, per os).

Rat	Temps jours				
	J ₀	J ₂	J ₄	J ₆	J ₈
R ₁	2.85	2.95	1.88	2.03	1.57
R ₂	3.43	2.97	2.57	1.81	1,56
R ₃	3.56	3.47	2.94	2.15	2.00
R ₄	4.01	3.43	3.31	2.51	2.39
Moy ± esm	3,46±1,06	3,20±0,94	2,67±1,57	2,12±1,52	1,88±0,18

V.2.2.4. Administration de glibenclamide (0,2 mg/kg per os).

L'administration quotidienne de glibenclamide (0,2 mg/kg, per os) s'associe à une normalisation de la glycémie chez des rats diabétiques de type 2 (0,83±0.07vs 4,01±0.34g/l) (Tableau XII, Figure 23).

Tableau XII : Evolution de la glycémie chez des rats diabétiques de type 2, après administration quotidienne de glibenclamide (0,2 mg/kg, per os)

Rat	Temps jours				
	J ₀	J ₂	J ₄	J ₆	J ₈
R ₁	3,96	2,01	1,33	0,96	0,72
R ₂	4,75	2,86	1,53	1,09	0,76
R ₃	3,32	1,92	0,95	0,88	0,86
R ₄	4,01	2,77	1,39	1,06	0,98
Moy ± esm	4,01 ± 0,34	2,39 ± 0,028	1,03 ± 0,14	0,99 ± 0,06	0,83 ± 0,07

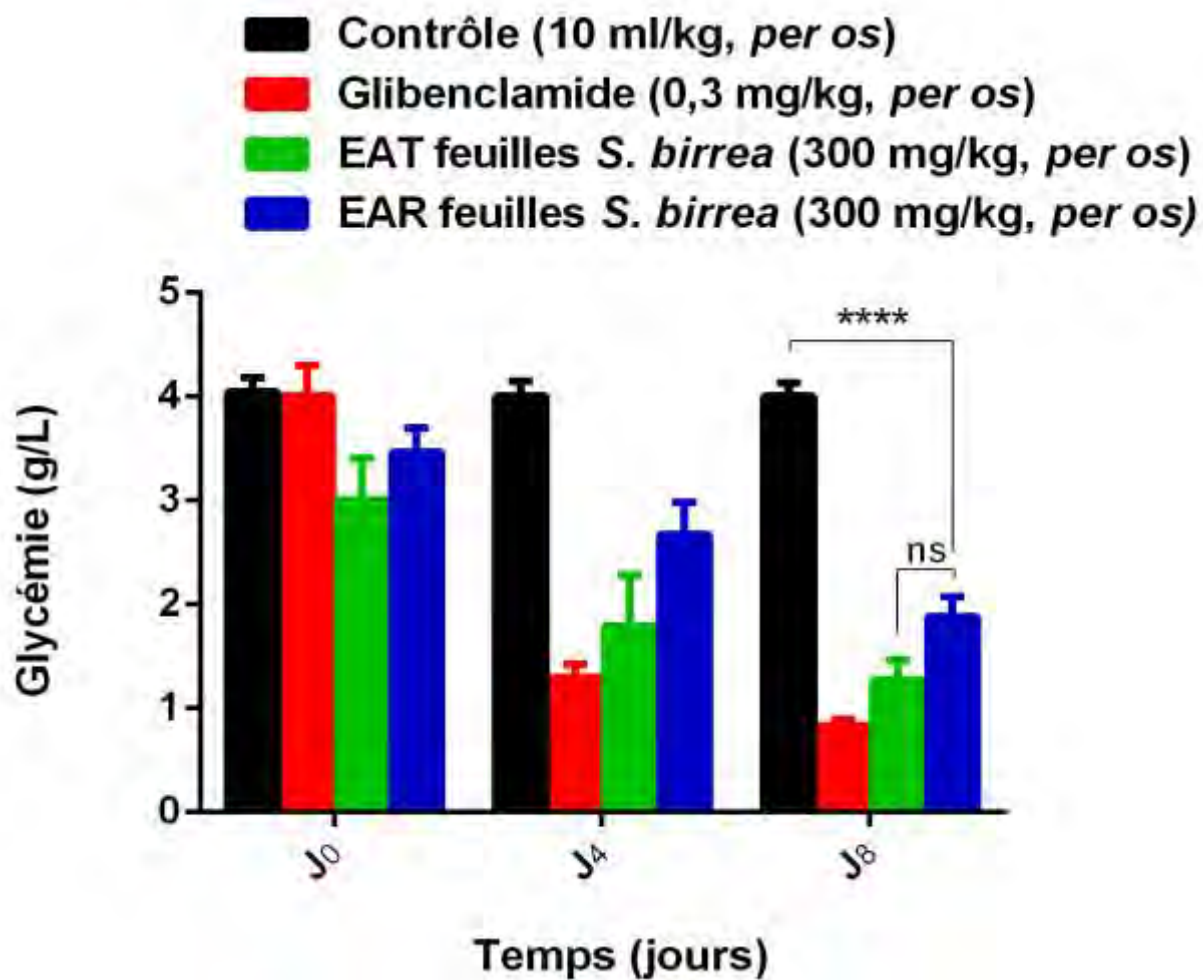


Figure 22 : Effet anti-hyperglycémiant de l'EAT et de l'EAR chez des rats DT2

VI. DISCUSSION

Des travaux antérieurs réalisés par Gueye et coll. [22] avaient rapporté l'action antihyperglycémiant de la fraction butanolique d'un extrait aqueux des feuilles de *S. birrea*, sur un test de tolérance au glucose. Dans le même sillage, Lauren et coll. [33] avaient également décrit l'action hypoglycémiant de l'extrait aqueux lyophilisé de la poudre des feuilles de *S. birrea*.

Dans la présente étude, l'EAT renfermant des tanins et des flavonoïdes, est hypoglycémiant chez des rats normoglycémiques, alors que dans les mêmes conditions, l'EAR, dépourvu de tanins, est sans effet sur la glycémie de base. On note même une tendance vers une augmentation de la glycémie. Ces résultats suggèrent que l'effet hypoglycémiant des feuilles de *S. birrea* est lié à la présence de tanins dans les extraits.

Au plan phytochimique, l'EAT renferme essentiellement des flavonoïdes et des tanins ; on note l'absence d'alcaloïdes. La présence de flavonoïdes et de tanins dans les feuilles de *S. birrea* avait été antérieurement décrite par Keita et Coll. [31].

Des études antérieures avaient mis en évidence l'action hypoglycémiant de composés phytochimiques appartenant au groupe des tanins. En effet, le *Cinchonin Ib* isolé de feuilles d'*Eriobotrya japonica*, est hypoglycémiant chez des rats normoglycémiques. Le *Diékol*, composé polyphénolique extrait d'une algue marine stimule l'expression du transporteur de glucose GLUT-4, à la surface des cellules cibles [43].

Dans la présente étude, l'action hypoglycémiant de l'EAT impliquant les tanins pourrait mettre en jeu une stimulation de la sécrétion d'insuline ou une augmentation de l'expression de GLUT-4 à l'échelle cellulaire.

L'absence d'un effet hypoglycémiant après administration de l'EAR, suggère également la non implication des flavonoïdes des feuilles de *S. birrea* dans la survenue de l'effet hypoglycémiant des extraits.

Chez des rats diabétiques de type 2, l'administration quotidienne de l'EAT et de l'EAR, s'associe à une action antihyperglycémiant significative.

L'effet antihyperglycémiant de l'EAT renfermant des tanins et des flavonoïdes, est légèrement plus marqué que celui de l'EAR ne contenant pas de tanins. Par ailleurs, l'action antihyperglycémiant de l'EAR, dépourvu de tanins, suggère une action sur la glycémie de composés autres que les tanins.

Les substances pharmacologiques entraînent leur effet anti-hyperglycémiant par divers mécanismes. Des molécules comme le *répaglinide* interagissent avec des canaux potassiques de type K_{ATP} , alors que les *biguanides* augmentent la sensibilité des tissus périphériques à l'insuline [45]. Si l'effet anti-hyperglycémiant de l'EAR devait être attribué à la présence de flavonoïdes, ces derniers mettraient en jeu probablement, soit une inhibition de l' α -glucosidase à l'instar des flavonoïdes de *Salvia chloroleuca* dont l'effet anti-hyperglycémiant est attribué à ce mécanisme, soit une interaction avec les canaux potassiques de type K_{ATP} des cellules β des îlots de Langerhans, à l'instar du *répaglinide*[43]. En effet, il a été montré que certains constituants phytochimiques antihyperglycémiant, en l'absence de tout effet hypoglycémiant, agiraient comme le répaglinide en interagissant avec les canaux potassiques de type K_{ATP} des cellules β des îlots de Langerhans. C'est le cas d'une protéine de fruit de *Momordica cymbalaria* qui n'a pas d'effet sur le glucose sanguin des rats normoglycémiques, alors que dans les mêmes conditions, elle est anti-hyperglycémiant chez des rats diabétiques de type 2 [41].

L'effet antihyperglycémiant de l'EAR chez des rats DT2, suggère la présence dans les feuilles de *S. birrea*, de composés exclusivement anti-hyperglycémiant à l'instar du *répaglinide*, de la metformine ou des inhibiteurs de l' α -glucosidase comme l'*acarbose*.

Une tendance vers une meilleure activité antihyperglycémiant de l'EAT vs EAR, plaiderait en faveur d'une éventuelle interaction entre les effets hypoglycémiant des tanins et anti-hyperglycémiant probablement des flavonoïdes, dans la régulation de la glycémie au cours du DT2.

CONCLUSION

Des travaux antérieurs avaient mis en évidence l'effet sur la glucose sanguin des extraits des feuilles de *S. birrea*.

Au plan phytochimique, les feuilles de *S. birrea* renferment des tanins, des flavonoïdes, des saponosides, des coumarines, entre autres, mais ne contiennent pas d'alcaloïdes. Plusieurs données avaient mis en évidence l'intérêt des flavonoïdes et des tanins dans la régulation de la glycémie sur des modèles d'étude de diabète de type 2.

Dans la présente étude, l'extrait aqueux total (EAT) est hypoglycémiant de façon significative chez des rats normoglycémiques. Au plan phytochimique, l'EAT renferme au moins des flavonoïdes et des tanins, révélés par des réactions de caractérisation.

Chez des rats normoglycémiques, l'extrait aqueux résiduel (EAR), renfermant des flavonoïdes et dépourvu de tanins, est sans effet sur la glycémie de base des rats normoglycémiques, suggérant ainsi, l'implication des tanins dans l'effet hypoglycémiant des feuilles de *S. birrea*. A l'inverse, les flavonoïdes des feuilles de cette plante ne sont pas du tout hypoglycémians.

Dans une autre série d'expériences, l'EAT et l'EAR sont significativement anti-hyperglycémians chez des rats diabétiques de type 2.

L'effet anti-hyperglycémians de l'EAR, suggère la présence dans les feuilles de *S. birrea*, de substances non hypoglycémiantes mais capables de s'opposer à l'augmentation de la glycémie chez des rats diabétiques de type 2.

L'effet anti- hyperglycémiant de l'EAT relativement plus marqué que celui de l'EAR suggèrerait une éventuelle potentialisation d'effets sur le glucose sanguin des rats diabétiques de types 2, entre les flavonoïdes et les tanins des feuilles de *S. birrea*.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

1. **ADIZA A.** Etude d'une recette traditionnelle des écorces de tronc de *S. birrea* et de *Uapaca togoensis*, Pax utilisée dans le traitement du diabète. Thèse de pharmacie, Bamako, 2006.
2. **BARBOZA FS.** Caractérisation pharmacologique de composés photochimiques majeurs d'extraits de feuilles de *vernonia colorata (willd.) drake (composeae)* et de *dialium guineense (cesalpiniaceae)* sur divers modèles d'étude du diabète. Thèse de doctorat en sciences du médicament, Dakar, 2016, n°211.
3. **BOREL J-P.** Biochimie pour le clinicien : Mécanismes moléculaires et chimiques à l'origine des maladies. Edition Frison Roche, Paris, 1999, 392 p.
4. **BURGER AEC.** Composition of the kernel oil and protein of the marula seed. South African Journal of Science, 1987 ; 83 : 733-735.
5. **CEFALU WT.** Modèles animaux de diabète de type 2 : Présentation clinique et physiopathologique, pertinence de la condition humaine, 2006.
6. **CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION NATIONAL DIABETES FACT SHEET:** General information and national estimate on diabetes in the United States, 2006.
7. **CHEVENNE D. TRIVIN F.** Le diabète sucré : proportion de nouvelles normes de diagnostic et de classification. Annales de biologie clinique, 1998 ; 56(4) : 643-670.
8. **CISSE M.** Caractérisation phytochimique des extraits de *Sclerocarya (Anacardiaceae)* à activité hypoglycémiante. Mémoire Master de Pharmaco-chimie, Dakar, 2014, n°185.
9. **DAHAN V.** L'organisation des soins dans le diabète. Editions ESKA, 2006.
10. **DAO A.** Etudes botaniques et phytochimiques de *Sclerocarya birrea (Anacardiaceae)*. Thèse de pharmacie, Bamako, 1988, n°38.

11. **DEME F.** Effet sur le glucose sanguin des fractions de l'extrait méthanolique de feuilles de *Sclerocarya birrea*. Thèse de pharmacie, Dakar, 2011, n°39.
12. **DETIMARY P, DEJONGHE S, LING Z.** The changes en adenine nucleotides measured in glucose-stimulated rodent islet Occur in β cells but not in α cells and are also observed in human islets. Biological chemistry, 1998.
13. **DOLZ M.** Comment se parlent les cellules α et β du pancréas. Médecine des maladies métaboliques, 2008 ; 2 : 3
14. **FALL K.** Caractérisation in vitro des effets vasorelaxant de *Sclerocarya birrea*. Thèse Pharmacie, Dakar, 2009, n°3.
15. **FERNANDES R.** *Anacardiaceae crown* Agents for Oversea Governments and Administrations, London, United Kingdom Editors Flora Zambesiaca, 1966 ; 2(2): 550–615.
16. **FROGUEL P.** Laboratoire Génomique et physiologie moléculaire des maladies métaboliques. Université Lille 2, 2008.
17. **GADIAGA NF.** Contribution à l'étude des mécanismes d'acte des extraits acétoniques et hexanique de feuilles de *Vernonia colorata* dans la régulation de la glycémie. Thèse de Pharmacie, Dakar, 2004, Dakar, n°101.
18. **GASSAMA A.** Activité anti-hyperglycémiant de la fraction F2 de l'extrait total aqueux de feuilles de *Sclerocarya birrea* (*Anacardiaceae*) sur un test de tolérance au glucose. Thèse de Pharmacie, Dakar, 2009, n°26.
19. **GILBERT MG.** *Anacardiaceae (including Pistaciaceae). Pittosporaceae to Araliaceae.* The National Herbarium, Addis Ababa University, Addis Ababa, Ethiopia and Department of Systematic Botany, Uppsala University, Uppsala, Sweden Editors Flora of Ethiopia, 1989 ; 3 : 513-532

20. **GRIMALDI A.** Diabète Insulinodépendant : Etiologie, physiopathologie, diagnostic, complications, traitement. *Revue du Praticien*, 2000 ; 50(13) : 1473-1484.
21. **GRIMALDI A.** Guide pratique du diabète. Elsevier Masson, Paris, 2005, 271 p.
22. **GUEYE M.** Contribution à l'étude pharmacodynamique d'une plante antidiabétique *sclerocarya birrea*. Thèse de Pharmacie, Dakar, 1973.
23. **GUILLAUSSEAU PJ.** Physiopathologie du diabète de type 2. *Revue Médecine Interne*, 2005 ; 24 : 730-737.
24. **HELMBERG H, DE VOS A, PIPELEERS D.** Differences in glucose transporter gene expression between rat pancreatic β and α -cell are correlated to differences in glucose transport but not in glucose utilization. *Journal of Biological Chemistry*, 1995 ; 270 : 8971-8975.
25. **INSTITUT NATIONAL DE SANTE PUBLIQUE.** Projet TAHINA, enquête nationale de santé : Transmission épidémiologique et impact sur la Santé en Afrique du Nord, 2005.
26. **INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION.** Diabetes, Atlas third Edition, 2006.
27. **JIANG G, ZHANG BB.** Glucagon and regulation of glucose metabolism. *American Journal of Physiology, Endocrinology Metabolism*, 2003; 284: 671-678.
28. **JOHN AO.** Hyperglycemic effect of *Sclerocarya birrea* (A.Rich) Hochst stem bark aqueous extract in rats *Phytotherapy research* , 2004;
29. **KALLEN J.** Quelques aspects de la régulation du système produisant de la CHHOL, de la relation entre, le rythme circadien et la glycémie, Editeur : Institut français de recherche pour l'exploitation de la mer, Actes de colloques ,1988 ; 8 : 105-108 .

30. **KEAY RWJ.** *Anacardiaceae Crown Agents for Oversea Governments and Administrations*, London, United Kingdom Editor Flora of West Tropical Africa, 1958 ; 1(2) : 726–739.
31. **KEITA A.** Etude de l'activité hypoglycémiant des feuilles de *S. birrea* (*A Rich Hochst*). *Pharmacopée et Médecine Traditionnelle Africaines*, 1998 ; 10 : 16-25.
32. **KOKWARO JO.** *Anacardiaceae* In: Polhill, R.M. (Editor), *Flora of Tropical East Africa*, Rotterdam, 1986, 59 p.
33. **LAUREN A, GIONO B, SYLLA O.** Activité antidiabétique d'extraits de feuilles de *Pourpartia birrea* (*Hochst*) Aubr. *Annales pharmaceutiques françaises*, 1997 ; 42 : 547-551.
34. **LEAKEY RRB.** Potential for novel food products from agroforestry trees: a review. *Food Chemistry*, 1999 ; 66 : 1–14.
35. **LEFEBVRE P.** Epidémiologie, coût et organisation des soins. La pandémie de diabète : un fléau cardiovasculaire et une menace pour les systèmes de santé et l'économie mondiale. *Médecine des maladies métaboliques*, 2008 ; 2 : 2
36. **LEUNG YM, AHMED I, SHEU L.** Electrophysiological characterization of pancreatic islet cells in the MIP-GFP mouse. *Endocrinology*, 2005 ; 146 : 4766-4775.
37. **LESTRADET H.** La régulation de la glycémie, *Presse médicale*, 1965.
38. **MAIGA B.** Etude de la phytochimie, de l'activité antiradicalaire et de la toxicité sub-chronique des feuilles de *Sclerocarya birrea*, (*A.Rich*) *Hoscht* (*Anacardiaceae*), utilisées dans le traitement traditionnel du diabète au Mali. Thèse de pharmacie, Bamako, 2010.
39. **MALAISSÉ W, CLEMENT S, DESMED F, PESESSE X.** The lipid phosphatase SHIP2 Controls insulin sensitivity, 2001.

40. **NERD A, MIZRAHI Y.** Domestication and introduction of marula (*Sclerocarya birrea*) as a new crop for the Negev Desert of Israel. In: Janick, J. & Simon, J.E. Edition New Crops, New York, 1993 ; 496–499.
41. **RAJASEKHAR MD, MABRI KR, KUMAR KR, KUMAR KV, BADU KR, FATIM SS.** Isolation and characterization of a novel antihyperglycemic protein from the fruits of *Momordica cymbalaria*. *Journal of Ethnopharmacology*, 2010 ; 28 : 58-62
42. **REES DA, ALCOLADO JC.** Animal models of diabetes, *Diabetic Medicine*, 2005; 22 (4) : 359- 367.
43. **SALAHIP PASGHARI B, SOMBOLINA A, EBRAHIMIN SN.** Flavonoïdes from *salvia chloroleuca* whith α -Amylase and α -glucosidase inhibitory effect. *Iranian journal of pharmaceutical Research*, 2015 ; 14(2) : 609-615
44. **SAMOIS E, TYLER JM, MIALHE P.** Suppression of pancreatic glucagon release by the hypoglycaemic sulphonylureas *Lancet*, 1969; 293:174
45. **SCHEEN A.** Le traitement du diabète de type 2 : entre insulino-sensibilisateurs et insulino-sécrétion, 2005.