



**HAL**  
open science

**EVALUATION DE L'ACTIVITE INHIBITRICE DES  
FRUITS DE BAUHINIA THONNINGII (FABACEAE)  
SUR DEUX GLYCOSIDASES ET ESSAI DE  
TRAITEMENT DU DIABETE CHEZ LE RAT  
WISTAR**

Kouassi Denis Bédou

► **To cite this version:**

Kouassi Denis Bédou. EVALUATION DE L'ACTIVITE INHIBITRICE DES FRUITS DE BAUHINIA THONNINGII (FABACEAE) SUR DEUX GLYCOSIDASES ET ESSAI DE TRAITEMENT DU DIABETE CHEZ LE RAT WISTAR. Pharmacologie. Université Félix Houphouët-Boigny Abidjan (Côte d'Ivoire), 2019. Français. NNT: . tel-02537203

**HAL Id: tel-02537203**

**<https://theses.hal.science/tel-02537203>**

Submitted on 8 Apr 2020

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



**RÉPUBLIQUE DE CÔTE D'IVOIRE**  
*Union-Discipline-Travail*

Ministère de l'Enseignement Supérieur  
et de la Recherche Scientifique



Laboratoire de  
Pharmacodynamie Biochimique

# THÈSE

Présentée pour l'obtention du Titre de Docteur de  
l'Université Félix HOUPHOUËT- BOIGNY

**Spécialité : Pharmacologie des Substances Naturelles**

Numéro d'ordre  
2216 / 2019

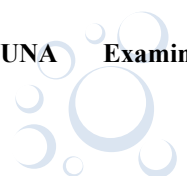
**M. BÉDOU Kouassi Denis**

## **EVALUATION DE L'ACTIVITE INHIBITRICE DES FRUITS DE *BAUHINIA THONNINGII* (FABACEAE) SUR DEUX GLYCOSIDASES ET ESSAI DE TRAITEMENT DU DIABETE CHEZ LE RAT *WISTAR***

Soutenue publiquement  
le 27 septembre 2019

Commission du jury

M. KOUASSI Kouassi Philippe	Professeur Titulaire	UFHB	Président
M. N'GUESSAN Jean-David	Professeur Titulaire	UFHB	Directeur
Mme KOUAKOU-SIRANSY Gisèle	Professeur Titulaire	UFHB	Rapporteur
M. N'GUESSAN Kouadio Florent	Maître de Conférences	UNA	Rapporteur
M. KOUAKOU KOUAKOU Léandre	Maître de Conférences	UNA	Examineur





*DÉDICACES*

*A l'ÉTERNEL DIEU, Seigneur Dieu Tout-Puissant, rien de bon sur cette terre ne peut s'accomplir sans ton consentement. C'est Toi qui as permis que cette thèse connaisse un aboutissement, et c'est chose faite aujourd'hui. Que la gloire et l'honneur te reviennent à jamais.*

*A feu mon père Monsieur BEDOU Kouassi Edouard, Merci pour ton amour, ton éducation, ta rigueur au travail qui m'ont permis d'être à ce niveau et surtout de m'avoir donné la chance d'être scolarisé. J'aurais souhaité que tu voies l'aboutissement de ce travail, mais l'Eternel en a décidé autrement. Que DIEU fasse que ton âme repose en paix.*

*A feu ma mère Madame AKAFFOU née Kouakou Amenan Elisabeth, tu as su être à mes côtés jusqu'au jour où la mort t'a emportée. Je te remercie pour m'avoir encouragé dans mes études et pour tant de sacrifices que tu as faits pour moi. Que DIEU fasse que ton âme repose aussi en paix.*

*A mon épouse KOFFI Abran Monique, ces écrits ne sont pas suffisants pour exprimer mon infinie gratitude. Merci pour ta patience et ton soutien sans faille. Tu as cru, tu y as mis du tien : assistance matérielle, financière, et morale. Reçois ce travail, fruit de tes efforts et de tout mon amour. Que Dieu te bénisse.*

*A mes enfants : Laël Melchisedek, Amenan Jécolia Merveille, Assoh Mianmo Joanna Bernice, vous êtes le meilleur cadeau que l'Eternel Dieu m'a offert. Ce mémoire, fruit de mon abnégation au travail, est le gage de mon profond amour pour vous et un exemple de vie. Que Dieu vous bénisse abondamment.*

*A tous mes frères et sœurs : ADON Désiré, ASSOË Yvonne, EZIGANI Nestor, ABBI Patrice, TAÏBA Juliana, BEKOUNOUDJO Armel-Olivier, AHIPKA Georges, THALEY Antoine, MOTHIKI Marie-Jeanne, NANAN Marthe et tous les autres frères et sœurs des familles maternelle et paternelle. Merci pour vos prières et votre soutien tant moral que matériel.*

*A toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de cette thèse. Merci à vous tous.*



*AVANT-PROPOS*

Ces travaux de recherche qui ont abouti à la rédaction de cette thèse ont été réalisés au Laboratoire de Pharmacodynamie Biochimique de l'Unité de Formation et de Recherche (UFR) Biosciences de l'Université Félix Houphouët-Boigny (UFHB) d'Abidjan, dirigé par le Professeur DJAMAN Allico Joseph, sous la direction scientifique du Professeur N'GUESSAN Jean-David.

La collaboration du Laboratoire de Biochimie médicale et fondamentale de l'IPCI dirigé par Madame DOSSO Mireille, Professeur Titulaire de Microbiologie ; de Madame CAMARA Massara Cissé, Maître de Conférence Agrégée de Biochimie Médicale et Chef de service du Laboratoire de Biochimie de l'UFR des Sciences Médicales de l'UFHB et de Monsieur SIDIBE Vally du Laboratoire des Sciences de la Vie et de la Terre de l'ENS a été nécessaire dans l'atteinte de l'objectif que nous nous sommes assigné.

Notre spécialité qui est la pharmacologie des substances naturelles a pour but la valorisation des plantes médicinales de la flore Ivoirienne. Le laboratoire de Pharmacodynamie-Biochimique de l'UFR Biosciences de l'UFHB mène des études sur les propriétés des plantes médicinales dans le but d'établir une base scientifique à l'utilisation de ces plantes et de rechercher de nouvelles substances bioactives pour la mise au point de médicaments à base de plante.

Par l'entremise de ce travail, nous espérons avoir apporté notre modeste contribution à la valorisation de la médecine traditionnelle en ce qui concerne le traitement du diabète.



*REMERCIEMENTS*

Ce travail a connu un aboutissement heureux grâce à certaines personnes à qui il est important d'adresser tous mes remerciements.

A Monsieur le Professeur **KARAMOKO Abou**, Président de l'Université Felix Houphouët-Boigny de Cocody, à Monsieur le Professeur **KOUAMELAN Essétchi Paul**, Doyen de l'UFR Biosciences ; je voudrais vous exprimer toute ma gratitude pour avoir accepté d'accorder votre autorisation pour la réalisation de ce projet de Thèse.

Je tiens à témoigner toute ma gratitude à Monsieur **DJAMAN Allico Joseph**, Professeur Titulaire de Biochimie-Parasitologie, Directeur du Laboratoire de Pharmacodynamie-Biochimique de l'UFR Biosciences à l'Université Felix Houphouët-Boigny (UFHB) d'Abidjan, Chef du Département de Biochimie Médicale et Fondamentale à l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire, Chercheur associé à l'UPR 3294 CNRS, Université Paris-Sud, Orsay (France). Je voudrais vous témoigner ma profonde reconnaissance pour votre amour du travail bien fait et pour votre disponibilité à aider les autres. Merci pour toutes ces qualités humaines. Puisse Dieu vous le rendre au centuple. L'attention particulière que vous avez à mon égard, vos encouragements et vos conseils de **père** m'ont permis d'atteindre ce niveau d'étude. Soyez assuré de mon profond respect et de ma vive reconnaissance.

J'adresse mes vifs remerciements à Monsieur **N'GUESSAN Jean-David**, Professeur Titulaire de Biochimie-Pharmacologie des Substances Naturelles, Directeur adjoint du Laboratoire de Pharmacodynamie-Biochimique et Vice-Doyen chargé de la Pédagogie de l'UFR Biosciences à l'Université Félix Houphouët-Boigny, pour avoir accepté de diriger cette thèse. Je voudrais avoir l'honneur d'exprimer toute ma reconnaissance pour votre rigueur et votre générosité. Je suis honoré d'avoir fait mon initiation à la recherche à vos côtés et je suis très reconnaissant pour tout ce que j'ai appris pendant ces années. Professeur, merci pour vos orientations et encouragements.

A Madame **DOSSO Mireille**, Professeur Titulaire de Bactériologie-virologie, Directeur de l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire pour m'avoir accueilli au sein de cet institut de recherche précisément dans le département de Biochimie médicale et fondamentale et de m'avoir permis d'y faire mes travaux de recherches.

A Monsieur **KOUASSI Kouassi Philippe**, Professeur Titulaire de Ecologie Animale du Laboratoire de Zoologie et Biologie animale de l'UFR Biosciences de l'UFHB (Président). C'est avec spontanéité que vous aviez accepté de présider le jury de ma soutenance. Votre rigueur dans le travail et votre grande culture scientifique due à votre longue et riche carrière font de vous une référence dans le domaine des Sciences Biologiques. Je suis très honoré qu'un Scientifique de votre rang soit le Président de mon jury. Vous aviez su avec brio et diplomatie orienter les critiques des autres



membres du jury dans le seul but de parfaire le présent document. Veuillez trouver ici ma reconnaissance.

A Madame **KOUAKOU-SIRANSY N'Doua Gisèle**, Professeur Titulaire de Pharmacologie au Département de Pharmacologie, Pharmacie clinique et Thérapeutique de l'UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de l'UFHB (Rapporteur). Cher maître, vos critiques et suggestions se rattachant aux travaux scientifiques ont toujours été des plus pertinentes. Vous n'aviez pas failli à cette réputation. Merci infiniment pour votre présence dans ce jury.

A Madame **EDJEME-AKE Angèle**, Maître de Conférences Agrégée de Biochimie à l'UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de l'UFHB. Vous m'avez fait partager votre expérience de doctorante. Malgré les difficultés rencontrées, vous n'avez pas faibli, mais au contraire vous avez persévéré. Votre parcours et votre exemple m'ont vraiment édifié. Je vous en remercie sincèrement.

A Madame **CISSE Camara-Massara**, Maître de Conférences Agrégée de Biochimie Médicale à l'UFR des Sciences Médicales de l'UFHB pour m'avoir reçu au sein du Laboratoire de Biochimie de cette institution et de m'avoir permis d'y faire mes travaux de recherches. Je tiens à vous remercier pour vos encouragements, votre modestie et les conseils que vous prodiguez à vos jeunes frères que nous sommes.

A Monsieur **N'GUESSAN Kouadio Florent**, Maître de Conférences du Laboratoire de Biotechnologie-Microbiologie de l'UFR des Sciences et Technologie des Aliments de l'Université Nangui Abrogoua (Rapporteur). Je vous remercie d'avoir accepté de juger cette thèse malgré vos obligations. Car avec vous, la rigueur rédactionnelle et scientifique sont de mises. Je suis très heureux d'avoir bénéficié de vos critiques, remarques, suggestions et recommandations qui ont contribué à l'amélioration de cette thèse.

A Monsieur **KOUAKOU Kouakou Léandre**, Maître de Conférences du Laboratoire de Physiologie, Pharmacologie et Pharmacopée de l'UFR des Sciences de la Nature de l'Université Nangui Abrogoua (Examineur). La qualité de la rédaction des aspects biochimiques de ce document tient de votre présence dans mon jury de soutenance de thèse. Veuillez accepter, cher Maître, mes sincères remerciements.

A Monsieur **DJYH Bernard Nazaire**, Maître-Assistant au Laboratoire de Pharmacodynamie-Biochimique. J'ai eu des échanges fructueux avec vous au sujet de l'utilisation des animaux dans les tests biologiques. Vous m'avez informé des précautions à prendre avant et au cours des manipulations. Je vous remercie pour votre assistance et pour vos conseils très avisés. Que Dieu vous bénisse.

A Monsieur **KRA Adou Matthieu**, Maître de Conférences au Laboratoire de Pharmacodynamie-Biochimique. " Nous sommes là pour vous guider et vous apporter tout notre soutien pour l'aboutissement de votre travail ", disiez-vous. Merci Docteur pour votre disponibilité et pour les conseils que vous ne cessez de nous donner.

Mes sincères remerciements vont à Monsieur **GNAHOUE Goué**, Maître de Conférence à l'Ecole Normale Supérieure (ENS), pour avoir permis la réalisation de ces travaux au sein de son Institution. Merci également à tous les travailleurs de ladite institution pour leur collaboration.

A Madame **BOYVIN Lydie**, Chargée de recherche, Responsable de l'Unité de Biochimie clinique et d'hémobiologie de l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire. Je vous exprime toute ma reconnaissance pour votre contribution à la réussite de ce travail.

A Messieurs **MEITÉ Souleymane** et **M'BOH Gervais**, Chargés de recherche à l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire. Je vous dis merci pour votre disponibilité et votre serviabilité.

A tous les enseignants-chercheurs des Laboratoires de Pharmacodynamie-Biochimique, de Biotechnologie et de Biochimie et Sciences des Aliments pour la qualité de la formation qu'ils nous ont donnée.

A tout le personnel de l'unité de Biochimie Clinique et Fondamentale de l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire. Au cours de mon stage, vous m'avez intégré totalement dans votre unité. J'ai toujours eu une réponse à toutes mes préoccupations et cela grâce à l'amitié qui est née entre nous. Merci pour tous les efforts que vous avez fournis pour que ce travail se réalise. Merci aussi à tous les stagiaires du département de Biochimie médicale et fondamentale de l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire.

A tous mes camarades et amis en l'occurrence **BABA Ould Zeine, BY Philémon, KONAN Kouassi Armand, BOGA Gogo Lucien, OUNGBE Monkoué Désiré, KONAN Martin, ZAZA Vénance, KAMO Emilie, ZOUGROU Ernest, ASSOUAN Attékéblé Jean-Firimin** ; soyez assurés de ma profonde gratitude pour vos encouragements et votre soutien.

Enfin, je voudrais remercier mes frères et sœurs, la famille **BLE**, Sa majesté Nanan **KANGA Assoumou**, Roi des Abouré Ehê de Grand-Bassam, Monsieur **OUATTARA Logossina**, Monsieur **WATTA Bogui Pierre**, Monsieur **ANZENI Djouka Albert**, Monsieur **ASSOUKROU Bilé Lambert**.... Merci pour votre amour et votre solidarité légendaire. Vous représentez pour moi bien plus que ce que vous vous imaginez. En espérant que le fruit de ce travail traduise en partie la récompense de tous vos efforts et votre dévouement.



*TABLE DES MATIERES*

DEDICACES .....	I
AVANT-PROPOS.....	III
REMERCIEMENTS.....	V
TABLE DES MATIERES .....	IX
LISTE DES FIGURES.....	XVI
LISTE DES TABLEAUX.....	XIX
LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS .....	XXI
INTRODUCTION .....	1
GENERALITES.....	5
I- Connaissances sur la plante étudiée .....	6
I-1- Position systématique de l'espèce étudiée .....	6
I-2- Description de <i>Bauhinia ou Piliostigma thonningii</i> (Schum.) Milne-Redh.....	6
I-3- Répartition géographique.....	7
I-4- Utilisation thérapeutique traditionnelle.....	9
II- Biotolérance .....	9
II-1- Toxicité.....	10
II-1-1- Toxicité aiguë.....	10
II-1-2- Toxicité à terme (subaiguë et chronique).....	11
III- Glycémie.....	13
III-1- Métabolisme et contrôle de la glycémie.....	13
III-1-1- Maintien de la glycémie.....	13
III-1-2- Pancréas .....	15
III-1-2-1- Pancréas exocrine.....	15
III-1-2-2- Pancréas endocrine.....	17
III-1-3- Glucagon et insuline.....	19
III-1-3-1- Glucagon : structure, biosynthèse, sécrétion et mécanisme d'action.....	19
III-1-3-2- Insuline : structure, biosynthèse, sécrétion et mécanisme d'action .....	24

IV- Enzymes .....	30
IV-1- Alpha-amylase.....	30
IV-1-1- Définition.....	30
IV-1-2- Nomenclature.....	30
IV-1-3- Structure.....	30
IV-1-4- Différentes origines.....	32
IV-1-5- Mode d'action.....	32
IV-1-6- Régulation de la synthèse de l' $\alpha$ -amylase.....	33
IV-2- Alpha-glucosidase .....	33
IV-2-1- Description des différentes familles .....	35
IV-2-1-1- Famille GH4 .....	35
IV-2-1-2- Famille GH13 .....	35
IV-2-1-3- Famille GH31 .....	35
IV-2-1-4- Famille GH63 .....	36
IV-2-1-5- Famille GH97 .....	36
IV-2-1-6- Famille GH122 .....	37
IV-2-2- Inhibiteurs de l' $\alpha$ glucosidase.....	37
IV-2-2-1- Thiosucres.....	38
IV-2-2-2- Iminosucres.....	38
IV-2-2-2- Déoxynojirimycine .....	38
IV-2-2-3- Castanospermine.....	38
IV-2-2-4- Tris.....	39
IV-2-2-5- Carbasucres.....	39
V- Diabète .....	41
V-1- Histoire .....	41
V-2- Définition.....	41
V-3- Epidémiologie.....	42
V-4- Physiopathologie .....	42

V-5- Critères diagnostiques .....	43
V-6- Classification .....	48
V-6-1- Diabètes primaires.....	48
V-6-1-1- Diabète de type 1 ou diabète insulino-dépendant (DID).....	48
V-6-1-2- Diabète de type 2 ou diabète non insulino-dépendant (DNID).....	49
V-6-1-3- Diabète gestationnel.....	49
V-6-2- Diabètes secondaires .....	50
V-6-3- Complications liées au diabète.....	50
V-6-3-1- Complications aiguës .....	50
V-6-3-2- Complications chroniques.....	51
V-6-3-3- Dysfonction des cellules $\beta$ pancréatiques .....	54
V-6-4- Traitements du diabète .....	56
V-6-4-1- Traitements non médicamenteux .....	56
V-6-4-2- Traitements médicamenteux .....	56
MATERIEL ET METHODES.....	59
I- Matériel .....	60
I-1- Matériel végétal.....	60
I-2- Matériel animal .....	60
I-3- Matériel chimique .....	60
I-4- Petit matériel de laboratoire .....	61
I-5- Appareillage .....	61
II- Méthodes.....	62
II-1- Préparation de l'extrait aqueux, tests phytochimiques et dosage des sucres.....	62
II-1-1- Préparation de l'extrait aqueux des fruits de <i>Bauhinia thonningii</i> .....	62
II-1-1-1- Extraction .....	62
II-1-1-2- Calcul du rendement.....	62
II-1-2- Tests phytochimiques de l'extrait aqueux .....	64
II-1-2-1- Recherche des tanins .....	64

II-1-2-2- Recherche des saponosides .....	64
II-1-2-3- Recherche des flavonoïdes .....	64
II-1-2-4- Recherche des alcaloïdes .....	64
II-1-2-5- Recherche d'anthraquinones .....	65
II-1-2-6- Recherche des quinones libres .....	65
II-1-2-7- Recherche des glycosides cardiaques.....	65
II-1-2-8- Recherche des stérols et triterpènes.....	65
II-1-2-9- Recherche des coumarines .....	65
II-1-3- Dosage des sucres.....	66
II-1-3-1- Dosage des sucres réducteurs .....	66
II-1-3-2- Dosage des sucres totaux.....	66
II-2- Etude de la toxicité aiguë.....	67
II-2-1- Animaux et condition d'hébergement .....	67
II-2-2- Etude de la toxicité aiguë de l'EABt.....	67
II-2-2-1- Détermination de la dose létale 50 (DL <sub>50</sub> ).....	68
II-2-2-2- Examen clinique .....	69
II-3- Etude <i>in vivo</i> de l'activité antidiabétique de l'extrait aqueux de <i>Bauhinia. thonninguii</i> .....	69
II-3-1- Evaluation de l'activité de l'EABt sur la glycémie de rats normoglycémiques... 69	
II-3-1-1- Test de mise en évidence de l'effet hypoglycémiant de l'EABt .....	70
II-3-1-2- Test de tolérance au glucose.....	70
II-3-2- Evaluation <i>in-vitro</i> de l'activité de l'extrait de plante sur l'α-amylase et l'α-glucosidase. ....	71
II-3-2-1- Evaluation de l'activité de l'EABt sur l'alpha-amylase .....	71
II-3-2-2- Evaluation de l'activité de l'EABt sur l'alpha-glucosidase .....	71
II-3-3- Induction du diabète à l'alloxane chez des rats <i>Wistar</i> .....	72
II-3-3-1- Traitement des animaux .....	72
II-3-3-2- Effet de l'EABt sur l'évolution de la masse corporelle des rats .....	73
II-3-3-3- Examens hématologiques .....	73

II-3-3-4- Analyse de quelques paramètres biochimiques sériques liés au diabète.....	74
II-4- Analyse statistique .....	83
RESULTATS .....	84
I- Etude phytochimique et teneur en sucres .....	85
I-1- Screening phytochimique.....	85
I-2- Teneur en sucres totaux et réducteurs de l'EABt.....	85
II- Etude de la toxicité aiguë de l'EABt.....	87
II-1- Détermination de la dose létale 50 % .....	87
II-2- Effet de l'EABt sur les paramètres biochimiques.....	87
II-3- Effet de l'EABt sur les paramètres hématologiques.....	87
II-4- Effet de l'EABt sur la masse des rats et la masse des organes .....	87
III- Etude de l'activité antidiabétique <i>in vivo</i> .....	94
III-1- Effet hypoglycémiant de l'EABt.....	94
III-2- Effet anti hyperglycémiant de l'EABt chez des rats prétraités .....	94
III-3- Activité de l'EABt sur l'alpha-amylase et l'alpha-glucosidase. ....	97
III-4- Effet de l'EABt sur des rats rendus diabétiques.....	100
III-4-1- Effet de l'EABt sur la masse corporelle des rats diabétiques .....	100
III-4-2- Effets de l'EABt sur les paramètres érythrocytaires.....	102
III-4-2-1- Effets de l'EABt sur le nombre de globules rouges.....	102
III-4-2-2- Effet de l'EABt sur le taux d'hémoglobine .....	102
III-4-2-3- Effet de l'EABt sur le taux de l'hématocrite .....	103
III-4-2-4- Effet de l'EABt sur le volume globulaire moyen (VGM) .....	105
III-4-2-5- Effet de l'EABt sur la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH).....	105
III-4-2-6- Effet de l'EABt sur la teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH) .....	107
III-4-2-7- Effet de l'EABt sur la teneur en plaquettes sanguines.....	107
III-4-3- Effets de l'EABt sur les paramètres leucocytaires.....	109
III-4-3-1- Effet de l'EABt sur le nombre de globules blancs.....	109



III-4-4- Influence de l'EABt sur les paramètres biochimiques des rats diabétiques .....	113
III-4-4-1- Influence de l'EABt sur l'activité des enzymes.....	113
III-4-4-2- Effets de l'EABt sur les paramètres métaboliques.....	117
DISCUSSION .....	130
CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	140
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	143
ANNEXES.....	ii
PUBLICATIONS.....	vi



*LISTE DES FIGURES*

<b>Figure 1</b> : Photographie de <i>Piliostigma thonningii</i> (Schum.) Milne-Redh (Fabaceae).....	8
<b>Figure 2</b> : Schéma de la régulation du métabolisme glucidique .....	14
<b>Figure 3</b> : Anatomie structurelle du pancréas .....	16
<b>Figure 4</b> : Représentation schématique du pancréas .....	18
<b>Figure 5</b> : Schéma de la molécule du glucagon.....	21
<b>Figure 6</b> : Organisation structurelle du proglucagon et des peptides dérivés .....	22
<b>Figure 7</b> : Voie de signalisation du glucagon dans la cellule hépatique. ....	23
<b>Figure 8</b> : Structure primaire de l'insuline humaine. ....	26
<b>Figure 9</b> : Expression du gène de l'insuline dans la cellule $\beta$ insulaire .....	27
<b>Figure 10</b> : Mécanisme de la sécrétion d'insuline dans les cellules $\beta$ pancréatiques.....	28
<b>Figure 11</b> : Transduction du signal par l'insuline. ....	29
<b>Figure 12</b> : Structure tridimensionnelle de l' $\alpha$ -amylase.....	31
<b>Figure 13</b> : Représentations en ruban des repliements du domaine catalytique chez les différentes familles de GH où sont retrouvées les $\alpha$ -glucosidases (EC 3.2.1.20). ....	34
<b>Figure 14</b> : Représentation du salacinol .....	40
<b>Figure 15</b> : Représentation de la déoxynojirimycine .....	40
<b>Figure 16</b> : Représentation de la castanospermine .....	40
<b>Figure 17</b> : Représentation d'une molécule de Tris .....	40
<b>Figure 18</b> : Représentation de l'acarbose .....	40
<b>Figure 19</b> : Nombre de personnes atteintes de diabète au niveau mondial et par région en 2017 et 2045.....	45
<b>Figure 20</b> : Physiopathologie du diabète de type 2 .....	46
<b>Figure 21</b> : Complications cardiovasculaires liées au diabète .....	53
<b>Figure 22</b> : Courbe de Starling du pancréas pour la sécrétion d'insuline .....	55
<b>Figure 23</b> : Diagramme d'obtention de l'extrait total aqueux des fruits de <i>Bauhinia thonningii</i> (EABt) par la méthode traditionnelle typique (décoction) .....	63
<b>Figure 24</b> : Effet de l'EABt sur les paramètres biochimiques chez les rats après 14 jours. ....	89
<b>Figure 25</b> : Effet de l'EABt sur les paramètres hématologiques érythrocytaires chez les rats après 14 jours.....	90
<b>Figure 26</b> : Effet de l'EABt sur les paramètres hématologiques leucocytaires chez les rats après 14 jours.....	91
<b>Figure 27</b> : Effet de l'extrait aqueux des fruits de <i>B. thonningii</i> sur la masse des rats .....	92
<b>Figure 28</b> : Mise en évidence de l'effet hypoglycémiant de l'EABt chez des rats .....	95

<b>Figure 29</b> : Mise en évidence de l'effet anti-hyperglycémiant de l'EABt chez des rats prétraités...	96
<b>Figure 30</b> : Evaluation <i>in vitro</i> de l'activité de l'acarbose et celle de l'EABt sur l' $\alpha$ -amylase.....	98
<b>Figure 31</b> : Evaluation <i>in vitro</i> de l'activité de l'acarbose et celle de l'EABt sur l' $\alpha$ -glucosidase ...	99
<b>Figure 32</b> : Effet de l'EABt sur la masse corporelle des différents lots de rats au cours du temps	101
<b>Figure 33</b> : Effet de l'EABt sur les concentrations de l'ALAT au cours du temps .....	114
<b>Figure 34</b> : Effet de l'EABt sur les concentrations de l'ASAT au cours du temps.....	116
<b>Figure 35</b> : Effet de l'EABt sur les concentrations de glucose au cours du temps .....	118
<b>Figure 36</b> : Effet de l'EABt sur les concentrations d'urée au cours du temps .....	120
<b>Figure 37</b> : Effet de l'EABt sur les concentrations de créatinine au cours du temps.....	122
<b>Figure 38</b> : Effet de l'EABt sur les concentrations de triglycérides au cours du temps .....	124
<b>Figure 39</b> : Effet de l'EABt sur la cholestérolémie au cours du temps.....	126
<b>Figure 40</b> : Effet de l'EABt sur la protidémie au cours du temps.....	128



*LISTE DES TABLEAUX*

<b>Tableau I</b> : Échelle de la classification des substances toxiques chez les rongeurs selon Hodge et Sterner .....	12
<b>Tableau II</b> : Critères de diagnostic du diabète .....	47
<b>Tableau III</b> : Composition chimique de l'extrait aqueux des fruits de <i>B. thonningii</i> .....	86
<b>Tableau IV</b> : Taux de sucres totaux (ST) et de sucres réducteurs (SR) dans 2 g de l'extrait aqueux des fruits de <i>B. thonningii</i> (EABt) .....	86
<b>Tableau V</b> : Effet de l'extrait aqueux des fruits de <i>B. thonningii</i> sur la masse du cœur, du foie et des reins des rats après 14 jours. ....	93
<b>Tableau VI</b> : Valeurs des globules rouges, d'hémoglobine et d'hématocrites des rats diabétiques traités à l'EABt.....	104
<b>Tableau VII</b> : Valeurs de VGM et de CCMH des rats diabétiques traités à l'EABt. ....	106
<b>Tableau VIII</b> : Valeurs de TCMH et de plaquettes des rats diabétiques traités à l'EABt.....	108
<b>Tableau IX</b> : Nombres de globules blancs, taux de neutrophiles et de lymphocytes des rats diabétiques traités à l'EABt. ....	110
<b>Tableau X</b> : Taux de monocytes, d'éosinophiles et de basophiles des rats diabétiques traités à l'EABt .....	112



*LISTE DES SIGLES  
ET ABRÉVIATIONS*

**ADA** : American Diabete Association

**ALAT** : Alanine aminotransférase

**ANAES** : Agence Nationale d'Accréditation et d'Evaluation en Santé

**ARNm** : Acide ribonucléique messenger

**ASAT** : Aspartate aminotransférase

**ASPC** : Agence de la santé publique du Canada

**CI50** : Concentration inhibitrice 50 %

**DL50** : Dose létale 50 %

**G6P** : Glucose-6-Phosphate

**GDH** : Glutamate déshydrogénase

**GK** : Glucokinase

**GLUT 2 et 4** : Transporteur 2 et 4 du glucose

**HbA1** : Hémoglobine glyquée

**HGPO** : Hyperglycémie provoquée par voie orale

**MODY**: Maturity Onset Diabetes of Young

**MPGF** : Major Proglucagon Fragment

**OCDE** : Organisation de Coopération et de Développement Economique

**OMS** : Organisation Mondiale de la Santé

**SHG** : Système général harmonisé de classification et d'étiquetage des produits chimiques

**TTX** : Tétrodotoxine

**UKPDS** : United Kingdom Prospective Diabetes Study

**WHO** : World Health Organisation





*INTRODUCTION*

A l'origine, la nature constituée de végétaux, servait d'alimentation aux hommes et aux animaux peuplant la terre. Mais à côté de cette fonction nutritionnelle, l'homme découvrit bien d'autres fonctions des végétaux, en l'occurrence, le pouvoir de guérir. En effet, cette faculté de guérison des hommes avec les plantes fut connue de nos ancêtres depuis les temps reculés. Elle deviendra plus tard la médecine traditionnelle avec toutes les avancées qu'on peut lui attribuer. Elle demeure, sans le moindre doute, le recours principal pour une grande majorité des populations pour résoudre leurs problèmes de santé (**Carillon, 2000**).

Selon l'OMS, la médecine traditionnelle existe depuis toujours : elle est la somme totale des connaissances, compétences et pratiques qui reposent sur les théories, croyances et expériences propres à une culture et qui sont utilisées pour maintenir les êtres humains en bonne santé, ainsi que pour prévenir, diagnostiquer, traiter et guérir des maladies physiques et mentales.

L'utilisation des plantes pour se soigner est une question de culture et de tradition en Afrique. Il est à noter que pour les besoins de santé primaire, une grande frange de la population africaine a recours à la médecine traditionnelle, dont les remèdes sont essentiellement à base de plantes (**Karou et al., 2011 ; Tchacondo et al., 2011**). L'art de guérir par les plantes est connu et pratiqué en Afrique depuis bien longtemps, car il exploite des savoirs transmis oralement de génération en génération à certaines catégories d'individus initiés que sont les tradipraticiens de santé et les herboristes (**Cisse et al., 2016**).

Comme pour les autres pathologies, le diabète est aussi pris en charge en médecine traditionnelle. En effet, le diabète est une maladie potentiellement mortelle responsable chaque année dans le monde de près de 4,0 millions de décès (**IDF, 2017**). C'est une maladie considérée par l'OMS comme une épidémie et dont la prévalence a augmenté de façon très importante au cours de ces dernières années. Actuellement, près de 425 millions de personnes dans le monde sont atteintes de diabète. Si l'augmentation de la prévalence se poursuit, le nombre total de diabétiques atteindra 629 millions d'ici 2045, soit une augmentation de 48 % (**WHO, 2003 ; United Nations, 2015 ; IDF, 2017**). En plus de ces chiffres alarmants, il faut tenir compte des personnes qui ignorent qu'elles sont diabétiques car le développement de la pathologie est silencieux et sournois (30 à 80 % des personnes atteintes non diagnostiquées) (**Beagley et al., 2014**). Selon l'OMS (**2016**), la prévalence en Côte d'Ivoire est estimée actuellement à près de 5 %. De plus, un mauvais équilibre dans le fonctionnement de l'organisme du diabétique est responsable de l'apparition de complications cardiovasculaires par altération des vaisseaux sanguins, et représente (**Study Research Group, 2005**) :

- 3 à 6 fois plus de risques de développer des maladies cardiaques,
- 25 % des atteintes rénales nécessitant une dialyse,
- la première cause de cécité,

- 50 % des amputations des membres inférieurs.

La particularité du diabète est qu'il a une prise en charge très contraignante dans la médecine moderne, notamment la prise régulière des antidiabétiques oraux (ADO), leurs effets secondaires et l'injection journalière de l'insuline. Au-delà de ces contraintes, les moyens financiers et l'irrégularité des approvisionnements en médicaments est aussi un problème majeur (**De Clerck, 2005 ; Carmoi et al., 2007**) pour le suivi conduisant ainsi les populations des pays en développement à se tourner manifestement vers la médecine traditionnelle pour la prise en charge du diabète (**Matheka & Demaio, 2013**). C'est après un constat de la limite de la médecine hospitalière, coûteuse, calquée sur celle des pays nantis, que l'OMS a incité les pays du tiers monde à accorder une large part à leur pharmacopée traditionnelle (**Adjanohoun et al., 1981**). Aussi, vu que l'efficacité de certaines plantes par les populations africaines est confirmée par les résultats de recherches scientifiques, l'OMS a-t-il proposé un protocole allégé pour la production de préparations génériques à base de plantes de la pharmacopée traditionnelle pour faire face aux priorités sanitaires locales ; ceci en vue de mettre à disposition des médicaments traditionnellement améliorés (MTA) dont le coût serait à la portée des bourses des populations.

C'est dans cette perspective que s'inscrit ce travail de recherche entrepris par le Laboratoire de Pharmacodynamie-Biochimique de l'UFR Biosciences de l'Université Félix Houphouët-Boigny (Côte d'Ivoire). Il s'agit dans cette étude d'apporter une contribution à la valorisation scientifique des plantes de la pharmacopée ivoirienne et de rechercher de nouvelles molécules naturelles à vertu thérapeutique sur des pathologies émergentes de notre siècle telles que le diabète.

Dans ce contexte, cette étude s'est intéressée à *Bauhinia thonningii* (Fabaceae), une plante de la flore médicinale ivoirienne, utilisée dans le traitement du diabète par les populations de l'Afrique de l'Ouest en général (**Bekele-Tesemma, 2007**) et particulièrement en Côte d'Ivoire comme l'a révélé l'étude ethnobotanique réalisée par **Baba et al. (2017)**.

Des études antérieures menées sur cette même plante ont montré ses nombreux effets thérapeutiques. En effet, elles ont mis en évidence les activités antibactérienne, antalgique, analgésique, anti-inflammatoire, antiémétique, antiparasitaire et antifongique des feuilles, des écorces et des fleurs de cette espèce de plante (**Ibewuike et al., 1997 ; Asuzu et al., 1999 ; Aderogba et al., 2006 ; Salawu et al., 2007 ; Madara et al., 2012**). Tout cela justifierait notre choix porté sur cette plante.

Ce travail qui a porté sur les fruits de *B. thonningii* vise à étudier l'activité antidiabétique de cette plante en vue de mettre au point un médicament traditionnel amélioré (MTA) pour la prise en charge du diabète.

Pour parvenir à la mise en œuvre de cet objectif général, les objectifs spécifiques ci-après ont été définis :

- 1- Déterminer la composition phytochimique et les teneurs en sucres de l'extrait aqueux des fruits de *B. thonningui* ;
- 2- Evaluer la toxicité aiguë de l'extrait aqueux des fruits de *B. thonningui*,
- 3- Evaluer les effets hypoglycémiant et anti-hyperglycémiant de l'extrait aqueux des fruits de *B. thonningui* chez des rats normoglycémiques et rechercher son potentiel effet antidiabétique chez des rats rendus diabétiques.



*GÉNÉRALITÉS*

## I- Connaissances sur la plante étudiée

### I-1- Position systématique de l'espèce étudiée

Règne	: Végétal
Embranchement	: Spermaphytes
Sous-embranchement	: Angiosperme
Classe	: Dicotylédones
Ordre	: Leguminosales
Famille	: Légumineuses
Sous-famille	: Caesalpinioideae
Genre	: <i>Bauhinia</i>
Espèce	: <i>thonningii</i>

Source : (Wikipedia the free encyclopedia, 2019)

### I-2- Description de *Bauhinia* ou *Piliostigma thonningii* (Schum.) Milne-Redh.

*Piliostigma thonningii* (Schum.) Milne-Redh. ou *Bauhinia. thonningii* est un arbre caducifolié, dioïque de 10 à 40 m de haut, parfois arbustif. Il est dépourvu de branches sur 2 et 3 m de hauteur qui sont tordues et atteignant entre 30 et 35 cm de diamètre. L'écorce externe rugueuse, fissurée longitudinalement est d'un brun foncé. L'écorce interne et fibreuse vire du rose au rouge-brun foncé à la coupe. La cime est étalée avec des branches recouvertes d'un tomentum brun rouille, plus ou moins glabrescentes.

Les feuilles alternes sont distinctement bilobées jusqu'à un tiers de la longueur. Les stipules de 3 à 6 mm de long sont caduques avec un pétiole pubescent de 2 à 7 cm de long. Le limbe atteignant 17 cm × 21 cm à la base est fortement cordée avec un apex et des lobes arrondis. La face supérieure est glabre alors que la face inférieure, à poils cassants est d'un brun rouille avec des nervures réticulées bien visibles.

L'inflorescence, panicule et de façon alternée aux feuilles, est axillaire le long des branches. On distingue deux types d'inflorescences. L'inflorescence mâle qui est pyramidale, atteignant 25 cm × 5,5 cm et l'inflorescence femelle de 7 cm de long, ne produisant que quelques fleurs aux axes brun-tomentelleux. Les fleurs sont unisexuées et parfumées avec un calice en coupe de 1 à 2,5 cm de long, des pétales blancs ou roses de 1 à 2,5 cm de long, ridés, à bord fortement ondulé. Les étamines de 10 à 11 cm atteignent à peine la gorge de la fleur.

Les fruits en forme de gousse oblongue longs de 12 à 37 cm et larges de 3 à 7 cm sont d'un brun-pubescent à l'état jeune mais glabrescents par la suite. Ils se développent sur l'arbre mais tombent et pourrissent au sol après la senescence. Ils contiennent de nombreuses graines ellipsoïdes de 4 à 9 mm × 2 à 7 mm × 3 à 4 mm de couleur brun foncé et noirâtre. Les plantules ont une germination épigée (**figure 1**) (**PROTA4U, 1827**).

### **I-3- Répartition géographique**

*Piliostigma thonningii* est une espèce originaire d'Afrique tropicale (**Bekele-Tesemma, 2007**). Elle est répandue dans la région soudano-guinéenne depuis le Sénégal jusqu'en Erythrée et se rencontre vers le sud jusqu'en Namibie, au Botswana, au Mozambique et en Afrique du Sud. Elle est également présente au Yémen. Elle pousse sur tous les types de sol, mais préfère les sols argileux lourds ou limoneux moyens. On la trouve en zone de forêt claire et dans les savanes arborées et arbustives, souvent dans les vallées fluviales. Elle est connue sous d'autres appellations à savoir : Pied de bœuf (Français), Carmel's foot (Anglais), Msabuni (Swali) et Gnaman (Malinké) en Côte d'Ivoire.



**Figure 1** : Photographie de *Piliostigma thonningii* (Schum.) Milne-Redh (Fabaceae)

(Photo © Bédou, 2018)



#### **I-4- Utilisation thérapeutique traditionnelle**

Cette espèce est couramment utilisée en médecine traditionnelle africaine. En effet, des préparations avec ses racines sont des remèdes contre la toux, les rhumes, les douleurs thoraciques, la pneumonie, la diarrhée, la dysenterie, les vers et autres problèmes intestinaux, et contre les morsures de serpent. Elles s'appliquent en outre sur les blessures, les ulcères et les infections cutanées. On prête à l'écorce une action analgésique et elle est utilisée en traitement du mal de gorge, des maux de dents, des affections gingivales, du mal d'oreille, des maux d'estomac et des algies corporelles (Salawu *et al.*, 2007). La décoction d'écorce se frictionne ou s'emploie en bain de vapeur pour le traitement des rhumatismes, des douleurs musculaires et des inflammations osseuses (Ibewuike *et al.*, 1997 ; Aderogba *et al.*, 2006). Elle s'ingère également comme antiémétique. L'infusion d'écorce se prend en traitement des abcès internes, de l'hématurie et les helminthoses (Asuzu *et al.*, 1999). L'infusion d'écorces associées aux feuilles est utilisée contre le paludisme (Madara *et al.*, 2012). En Afrique de l'Est, le jus ou le décocté d'écorce dans du lait ou encore dans des soupes, se boit en traitement de la gonorrhée (Aderogba *et al.*, 2006). En Gambie, le jus de l'écorce s'utilise pour provoquer des étourdissements chez les danseurs. La cendre de bois vert se frictionne avec de l'huile contre les douleurs à la poitrine (Ibewuike *et al.*, 1997). En Côte d'Ivoire la pâte, à base de jeunes feuilles et de boutons floraux broyés, est diluée dans de l'eau et ingérée contre les palpitations. La poudre de fleurs séchées se consomme dans la nourriture, se boit dans l'eau ou se fume comme du tabac contre la toux. Les décoctés de fruits sont utilisés dans le traitement de la toux, de la bronchite et des maux de tête. On applique des lamelles de fruit sur les blessures comme pansement (Kerharo & Bouquet, 1950 ; Adjanohoun & Ake Assi, 1979 ; Lafage, 1995).

#### **II- Biotolérance**

La biotolérance se définit, dans le contexte actuel des essais *in vivo*, comme l'étude portant sur la variabilité ou non des constantes biologiques chez des sujets traités par un ou plusieurs produits issus des médicaments de synthèse ou des substances naturelles. Elle est une étape importante des tests de toxicologie. Elle permet d'évaluer les effets secondaires sur le plan biologique chez les sujets traités d'une part et de mettre en place une banque de données expérimentales pour les essais *in vivo* d'autre part. Les données de la biotolérance sont, par ailleurs, indispensables pour constituer une base scientifique et éthique en vue d'une première autorisation d'administration à l'homme (Claude, 1998).

## II-1- Toxicité

Un toxique est une substance capable de perturber, immédiatement ou à long terme, de façon passagère ou durable, le fonctionnement normal d'un organisme vivant, pouvant aller jusqu'à sa suppression complète et amener la mort (**Viala & Botta, 2007**). La toxicité des plantes médicinales peut être liée à des mélanges de composés actifs qu'elles contiennent, leurs interactions avec d'autres herbes, les médicaments et les contaminants. Les plantes contiennent des mélanges complexes de terpènes, d'alcaloïdes, de saponines et autres substances chimiques, ce qui augmente le risque de réactions indésirables par les effets additifs ou synergiques des interactions chimiques (**Trevoux et al., 2000 ; Saad et al., 2006**).

La toxicité d'une substance au niveau de l'organisme dépend de la nature de la substance, de la dose, de la durée d'exposition, des différents facteurs liés à l'individu (sexe, âge, état nutritionnel et hormonal), des facteurs environnementaux et de l'exposition simultanée ou antérieure à d'autres produits chimiques. Les facteurs propres à chaque individu peuvent modifier l'absorption, la distribution, l'excrétion, les transformations métaboliques et la sensibilité du récepteur dans l'organe cible (**Tron et al., 2002**). Selon la fréquence et la durée de l'exposition ou l'administration du toxique, on peut distinguer plusieurs formes de toxicité dont la toxicité aiguë et la toxicité à terme : subaiguë et chronique.

### II-1-1- Toxicité aiguë

La toxicité aiguë englobe tous les phénomènes spécifiques et les signes adverses qui se manifestent juste après l'exposition de l'organisme à une prise unique ou plusieurs prises très rapprochées d'un agent chimique. L'effet toxique aigu est généralement considéré comme un effet qui se produit immédiatement ou dans les premiers jours après l'exposition (**LeBlanc, 2010**). Une façon pratique de caractériser et classer la toxicité d'une substance consiste à déterminer sa dose létale 50 % (**DL<sub>50</sub>**). Celle-ci désigne la dose d'une substance qui peut causer la mort de 50 % d'une population animale dans des conditions d'expérimentation précises (**Lapointe, 2004**). De ce fait, la mesure de la DL<sub>50</sub> peut établir un classement pour ces substances: plus elle est faible, plus la substance est toxique, (**Frank, 1992 ; OECD, 2001**) (**Tableau I**).

Cependant, la DL<sub>50</sub> a une valeur très limitée, car elle ne concerne que la mortalité et ne donne aucune information sur les mécanismes mis en jeu et la nature des lésions. Il s'agit d'une appréciation grossière et préliminaire (première analyse) qui peut être influencée par plusieurs facteurs tels que l'espèce animale, le sexe, l'âge, le moment de traitement, etc. (**Lapointe, 2004**). La DL<sub>50</sub> est déterminée soit par la méthode graphique de **Miller & Tainter (1944)**, soit par l'équation de

**Dragstedt & Lang (1957)**. Cependant, ces différentes méthodes utilisent beaucoup d'animaux pour leur réalisation. D'autres méthodes utilisant peu d'animaux sont recommandées par la ligne directive 423 de l'OCDE (2001). L'étude de la toxicité aiguë permet ainsi d'identifier les produits chimiques hautement toxiques et fournit des informations sur les risques possibles qui pourraient survenir quand les humains sont exposés (**Frank, 1992 ; OECD, 1998**).

### **II-1-2- Toxicité à terme (subaiguë et chronique)**

L'étude de la toxicité subaiguë permet de reconnaître les principaux sites et éventuellement des mécanismes d'action du toxique. Elle permet aussi de déterminer la dose qui ne produit pas d'effets toxiques (**Diezi, 1989**). Certains effets néfastes peuvent mettre plusieurs semaines ou de nombreuses années avant d'être diagnostiqués et éventuellement se révéler irréversibles (exemple : Neurotoxicité de l'hexane). L'évaluation de la toxicité aiguë d'une substance ne permet pas de prédire ce type de toxicité. Des études destinées à évaluer la toxicité subaiguë et chronique doivent donc être effectuées (**Reichl, 2004**).

La toxicité subaiguë est due à l'exposition répétée à une dose du toxique qui ne cause aucune toxicité aiguë évidente, pendant une période assez prolongée, mais à condition de ne pas constituer une partie significative de la vie de l'espèce examinée. Dans les essais de la toxicité subaiguë, l'administration orale pendant 28 jours est préconisée chez le rat (ou bien la souris) ou le chien (**OCDE, 2008 ; Hodgson & Eroo, 2010**). Il est utile de choisir la dose la plus élevée de façon à faire apparaître des effets nocifs, les doses inférieures permettent alors de situer la marge de tolérance du nouveau produit chez l'animal. L'appréciation des effets toxiques est faite sur la base de l'examen du comportement, de la croissance, de la formule sanguine et des épreuves fonctionnelles ainsi que sur la base des comptes-rendus nécrosiques, accompagnés des examens histologiques qui s'y rattachent (**OCDE, 2008**).

Le terme chronique est utilisé pour décrire l'ensemble des effets cumulatifs, beaucoup plus insidieux et irréversibles, apparaissant après une longue période d'exposition à l'administration de très faibles doses de l'agent chimique en question (**Hodgson & Cunny, 2010**). Ces doses sont assez faibles qu'aucun effet néfaste ne se manifeste que quelques mois à quelques années, voire dizaines d'années plus tard. Cependant, la durée de l'administration constitue une partie significative de la vie de l'espèce mise en expérience (généralement 90 jours chez le rat et la souris).

**Tableau I :** Échelle de la classification des substances toxiques chez les rongeurs selon Hodge et Sterner (Frank, 1992)

<b>DL50</b>	<b>Indice de toxicité</b>
<b>Jusqu'à 1 mg/kg</b>	Extrêmement toxique
<b>1 à 50 mg/kg</b>	Hautement toxique
<b>50 à 500 mg/kg</b>	Modérément toxique
<b>500 à 5000 mg/kg</b>	Légèrement toxique
<b>5000 à 15000 mg/kg</b>	Presque pas toxique
<b>Plus de 15000 mg/kg</b>	Relativement inoffensif

### **III- Glycémie**

#### **III-1- Métabolisme et contrôle de la glycémie**

Tous les organes ont besoin de sucre pour fonctionner et le cerveau en est le plus gros consommateur (environ 100 g par jour). Le glucose est une des principales sources énergétiques métaboliques et est dégradé dans le cycle de la glycolyse pour générer une molécule de pyruvate et de l'énergie sous forme d'ATP. Les sources de glucose sont majoritairement exogènes (origine alimentaire) mais aussi endogènes.

##### **III-1-1- Maintien de la glycémie**

Une des fonctions importantes de l'organisme est de réguler la glycémie à environ 1 g/L soit 5 mmol/L. Lorsque la glycémie est supérieure à 1 g/L, suite à un repas, une hormone hypoglycémiante, l'insuline, synthétisée par le pancréas est activée et permet au glucose de rentrer directement dans les cellules via des transporteurs spécifiques ou d'être stocké sous forme d'unités répétées de glucose, le glycogène, par glycogénogenèse.

En revanche, lorsque la glycémie est trop basse (inférieure à 1 g/L), notamment après un effort, une hormone hyperglycémiante, le glucagon, synthétisée également par le pancréas, va permettre de déstocker les réserves de glucose, situées dans le foie et le muscle, par glycogénolyse. Lors des hypoglycémies, ce sont notamment les réserves du foie qui sont sollicitées : le glycogène est dégradé en glucose-6-phosphate (G6P) puis en glucose et celui-ci est libéré dans la circulation sanguine (**Jacqueminet & Grimaldi, 2005**) (**Figure 2**).

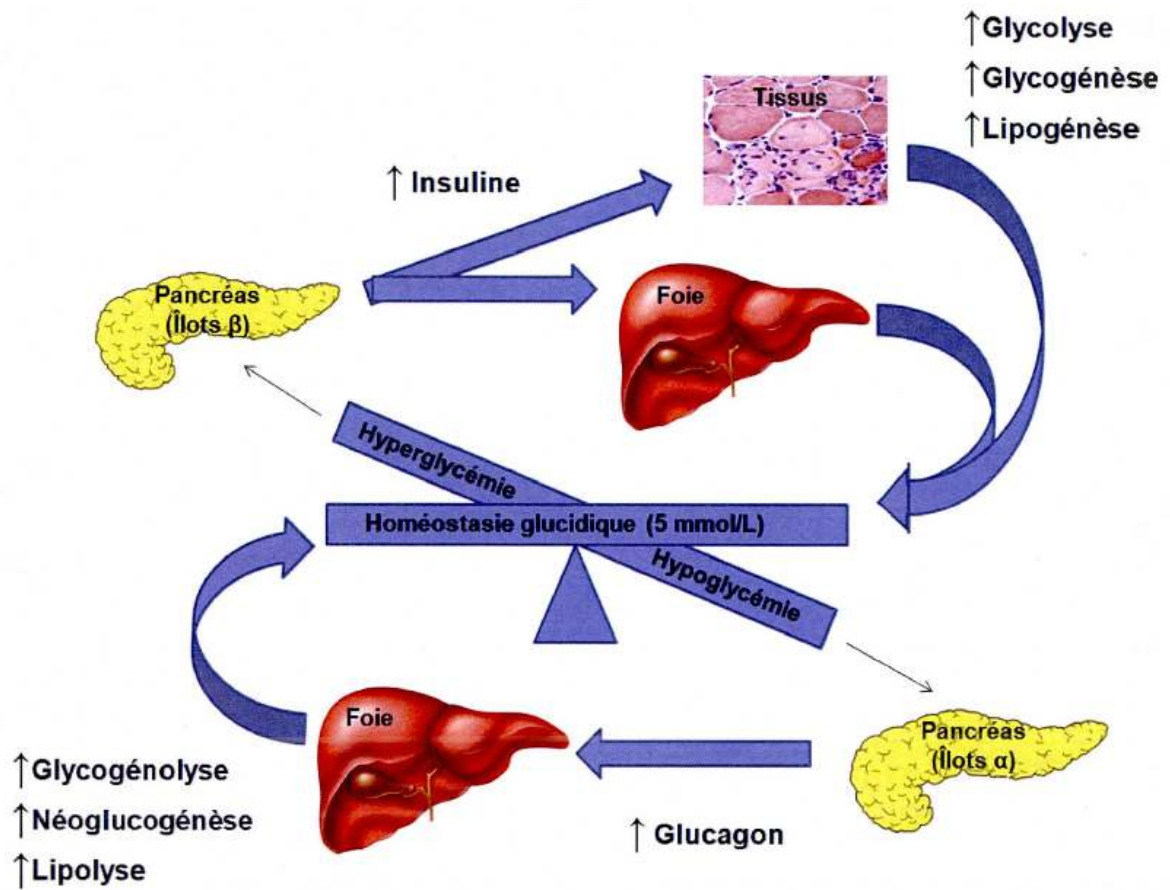


Figure 2 : Schéma de la régulation du métabolisme glucidique (Moore *et al.*, 2003)

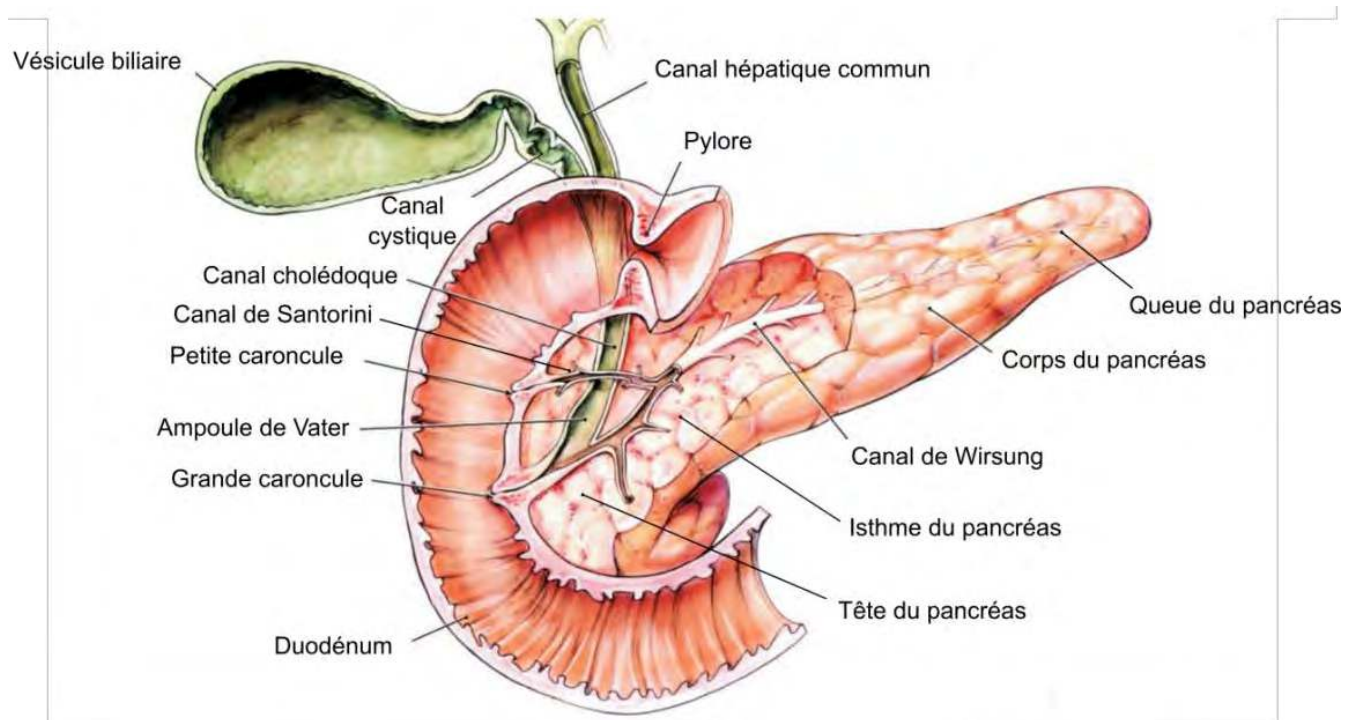
### **III-1-2- Pancréas**

Le pancréas est un organe mesurant entre 12 et 20 cm, et pouvant peser jusqu'à 110g chez l'homme adulte. Il se situe profondément dans la cavité abdominale, ce qui rend son exploration particulièrement difficile.

La tête du pancréas est située sous le foie, elle est bordée par le duodénum et se voit traversée par le canal cholédoque qui achemine la bile vers le bol alimentaire. L'isthme est la partie la plus étroite et se situe en avant des vaisseaux de l'intestin (artère et veine mésentériques supérieures). Le corps du pancréas s'étend obliquement vers le haut de l'abdomen, en avant du rein gauche. Enfin, la queue est accolée à la rate et à ses vaisseaux (artère et veine spléniques). Dans toute sa longueur, le pancréas est traversé par le canal de Wirsung, dont la fonction est la collecte et l'acheminement vers le duodénum des sucs digestifs pancréatiques. Le canal excréteur accessoire, ou canal de Santorini, parcourt la tête et s'abouche dans le duodénum par la petite caroncule (**Figure 3**)(Müller, 2016).

#### ***III-1-2-1- Pancréas exocrine***

Le pancréas exocrine est la partie glandulaire acineuse du pancréas et comporte donc les acini pancréatiques et les canaux excréteurs. La fonction exocrine du pancréas est de produire et de sécréter des sucs (ou enzymes) nécessaires à la transformation des aliments en substances simples, absorbables par l'intestin. Ainsi, les acini sont composés de cellules glandulaires possédant toutes les caractéristiques morphologiques des cellules sécrétrices de protéines. Le contenu enzymatique des vésicules de sécrétion est composé de protéases (trypsinogène, chymotrypsinogène, carbosylpolypeptidase), de lipases, d'amylases ainsi que de ribonucléases et désoxyribonucléases. D'autre part, les cellules épithéliales formant la paroi des canaux excréteurs élaborent et déversent dans leur lumière une sécrétion aqueuse, riche en bicarbonates et dépourvue d'enzymes, qui contribue, avec la sécrétion enzymatique des acini, à former le « suc pancréatique » finalement déversé dans le duodénum. Ce fluide alcalin a pour but de neutraliser l'acidité du bol alimentaire à la sortie de l'estomac (Pocock & Richards, 2004 ; Wack & Aprahamian, 2005).



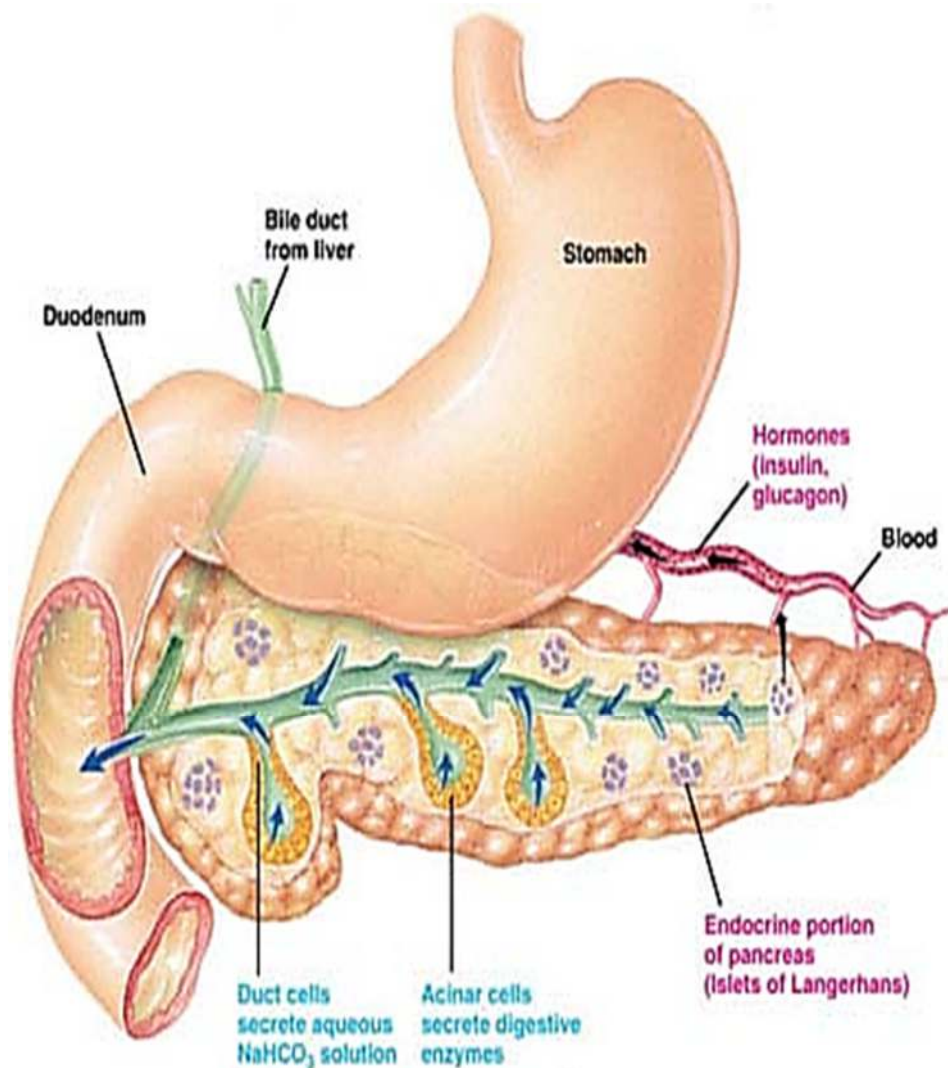
**Figure 3** : Anatomie structurelle du pancréas (Müller, 2016)



### ***III-1-2-2- Pancréas endocrine***

La sécrétion endocrine du pancréas s'effectue par l'intermédiaire des cellules endocrines, qui constituent environ 2 à 3 % du volume total du pancréas. Ces cellules sont regroupées sous forme d'unités fonctionnelles ou micro-organes localisés au sein du parenchyme exocrine du pancréas : les îlots de Langerhans. Les îlots de Langerhans possèdent une innervation parasymphatique et sympathique bien développée (plus de 3 terminaisons synaptiques au contact d'une cellule endocrine) ainsi qu'un riche système de vascularisation : en effet, chaque îlot est alimenté par 3 artérioles issues des artères mésentérique, splénique et hépatique et drainé par 8 veinules se déversant dans la veine pancréatique (**Motta *et al.*, 1997**). Ceci permet de réguler, par voie hormonale mais également par voie nerveuse, la libération des différentes hormones intervenant dans l'homéostasie du glucose. Les îlots regroupent au moins 4 à 5 types de cellules produisant et sécrétant ces hormones de manière spécifique. Ces cellules sont différemment localisées au sein de l'îlot selon les espèces (**Wieczorek *et al.*, 1998**) : chez les rongeurs, les cellules  $\beta$  sont plutôt regroupées au centre des îlots et sont entourées d'une couche hétérogène de cellules  $\alpha$ ,  $\delta$  et PP, suggérant l'organisation de l'îlot en sous-compartiments (**Orci & Unger, 1975**).

Au contraire, chez l'Homme, les cellules  $\beta$  sont localisées de manière beaucoup plus aléatoire partout au sein de l'îlot, en petits groupes ou isolées le long des capillaires sanguins. Cette différence de localisation semble être fonctionnellement importante, notamment pour entretenir les oscillations de la sécrétion pancréatique chez l'Homme (**Cabrera *et al.*, 2006**) (**Figure 4**).



**Figure 4** : Représentation schématique du pancréas (Cabrera *et al.*, 2006)

Comme indiqué, les cellules exocrines sécrètent le suc pancréatique (mélange d'une solution aqueuse alcaline sécrétée par les cellules du ducte et d'enzymes digestives sécrétées par les cellules acineuses), qui circule dans le ducte pour être déversé à la sortie de l'estomac afin de neutraliser l'acidité du bol gastrique. Les cellules endocrines des îlots de Langerhans sécrètent leurs hormones (principalement l'insuline pour les cellules  $\beta$  et le glucagon pour les cellules  $\alpha$ ) directement dans la circulation sanguine.

### III-1-3- Glucagon et insuline

#### *III-1-3-1- Glucagon : structure, biosynthèse, sécrétion et mécanisme d'action*

Découverte et décrite pour la première fois par **Kimball & Murlin (1923)**, la séquence en acides aminés du glucagon n'est connue que depuis 1950. Le glucagon est un polypeptide de faible poids moléculaire de 3,5 kDa, composé de 29 acides aminés (**Figure 5**).

La biosynthèse du glucagon débute par la transcription de son gène situé sur le chromosome 2 humain, d'une séquence de 9,4 kb (**Lefebvre, 1995**) en un ARNm codant pour le proglucagon, un peptide de 160 acides aminés. Le proglucagon est également synthétisé dans d'autres organes, principalement l'intestin (dont les cellules endocrines du pancréas sont issues du point de vue phylogénétique) et le cerveau. Dans ces organes, le proglucagon est clivé en d'autres peptides, les plus connus étant les incrétines GLP-1 et GLP-2 produites par les cellules L intestinales (**Whalley et al., 2011**). Dans les cellules  $\alpha$ , le proglucagon est clivé au niveau des 2 peptides intermédiaires (IP) par la prohormone proconvertase 2 (**Rouillé et al., 1995**) pour donner trois peptides de plus petite taille : le polypeptide lié à la glicentine (GRPP, résidus 1-30), le glucagon (résidus 33-61) et le fragment proglucagon majeur (MPGF, résidus 72-158) (**Figure 6**).

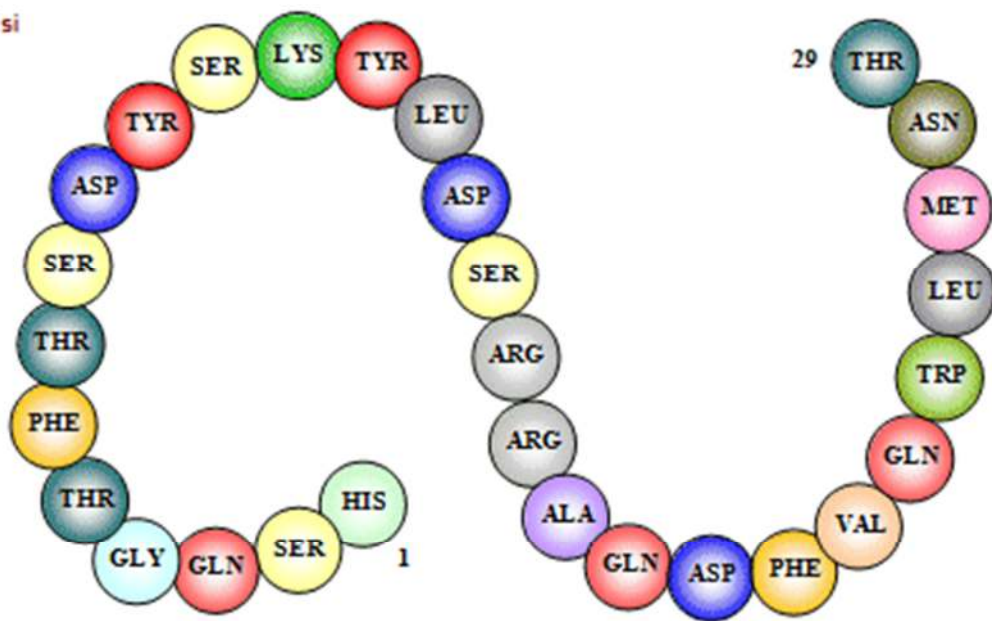
Le glucagon est produit par les cellules  $\alpha$  du pancréas, uniquement lorsque la glycémie diminue de manière significative au-dessous de 0,65 g/L. En effet, dans un état de normoglycémie ou d'hyperglycémie, le glucose empêche les cellules  $\alpha$  de sécréter du glucagon dans le sang. Mais lorsqu'il y a hypoglycémie, la sécrétion d'insuline est bloquée et l'inhibition des cellules  $\alpha$  est levée. La libération du glucagon par les cellules  $\alpha$  résulte d'une entrée massive de calcium dans la cellule suite à une dépolarisation membranaire (**Figure 7**).

L'hormone rejoint les cellules cibles du foie par les vaisseaux sanguins et se fixe sur les récepteurs spécifiques des hépatocytes. Il existe également des récepteurs au niveau rénal, cervical, adipeux et musculaire ainsi que sur les cellules  $\beta$ . Le glucagon se fixe sur son récepteur couplé aux protéines G. La sous-unité  $\alpha$  de la protéine G va stimuler l'adénylate cyclase et augmenter la production intracellulaire d'AMPc, induisant une activation des protéines kinase (PKA). Cela provoque une accélération de la glycogénolyse d'où une augmentation de la [G6P] intracellulaire.

Le foie va hydrolyser le Glucose-6-Phosphate en glucose grâce à la Glucose-6-Phosphatase. Le mécanisme entraîne une libération du glucose stocké dans le foie qui en contient environ de 50 g à 100 g. Le glucagon accroît la capture des acides aminés par les hépatocytes et favorise ainsi la néoglucogénèse à partir des acides aminés. De plus, le tissu adipeux va fournir des acides gras libres

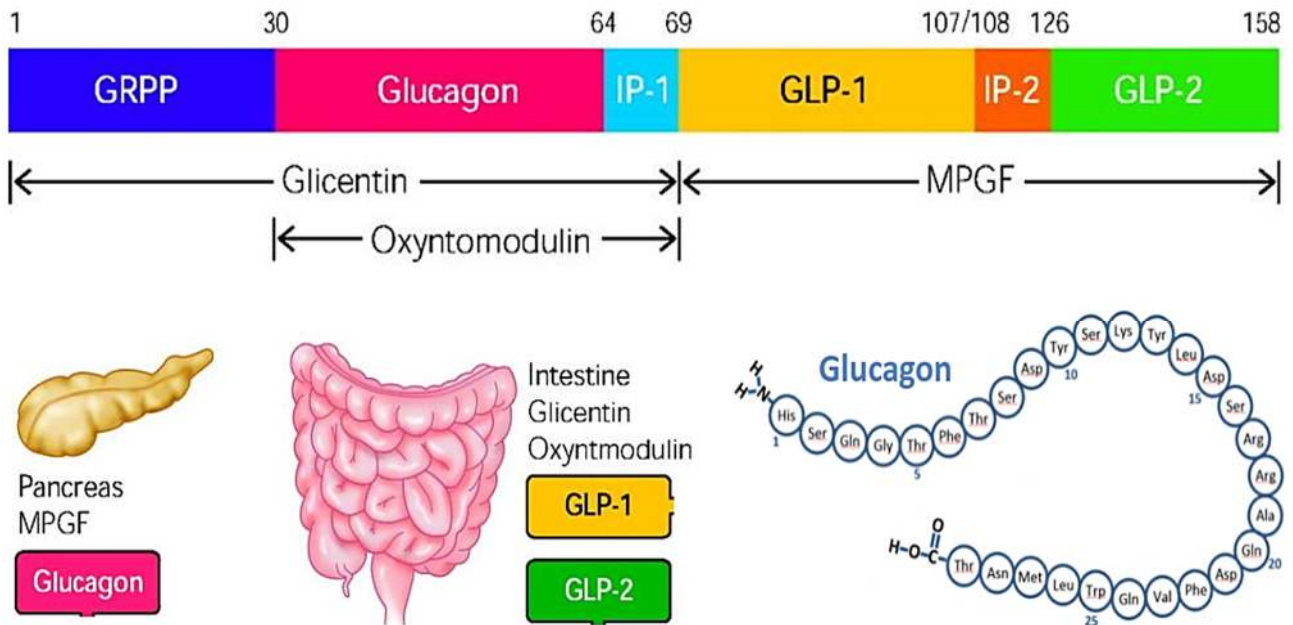
nécessaires aux muscles par lipolyse et celui-ci va les utiliser pour fabriquer des corps cétoniques, autre substrat énergétique en l'absence de glucose. La glycémie est ainsi rétablie à un taux normal.

© Georges Dolisi



ALA = alanine ; Arg = arginine ; ASN : acide aspartique ; ASP = asparagine ;  
GLN = glutamine ; GLY = glycine ou glycolle ; HIS = histidine ; LEU = leucine ;  
LYS = lysine ; MET= méthionine ; PHE = phénylalanine ; SER = sérine ;  
THR = thréonine ; TRP = tryptophane ; TYR = tyrosine ; VAL = valine

**Figure 5** : Schéma de la molécule du glucagon (Anonyme, 2017)



**Figure 6** : Organisation structurale du proglucagon et des peptides dérivés  
(Sinclair & Drucker, 2005)

*Les peptides libérés spécifiquement dans le pancréas ou l'intestin sont indiqués sous la séquence complète du proglucagon. Les numéros au-dessus de la structure du proglucagon indiquent les positions relatives des acides-aminés des différents peptides qui en dérivent. GLP, glucagon-like peptide ; GRPP, glicentin-related pancreatic peptide ; MPGF, major proglucagon-derived fragment ; IP, intervening peptide.*

*Tout à droite est donnée la structure primaire du glucagon.*

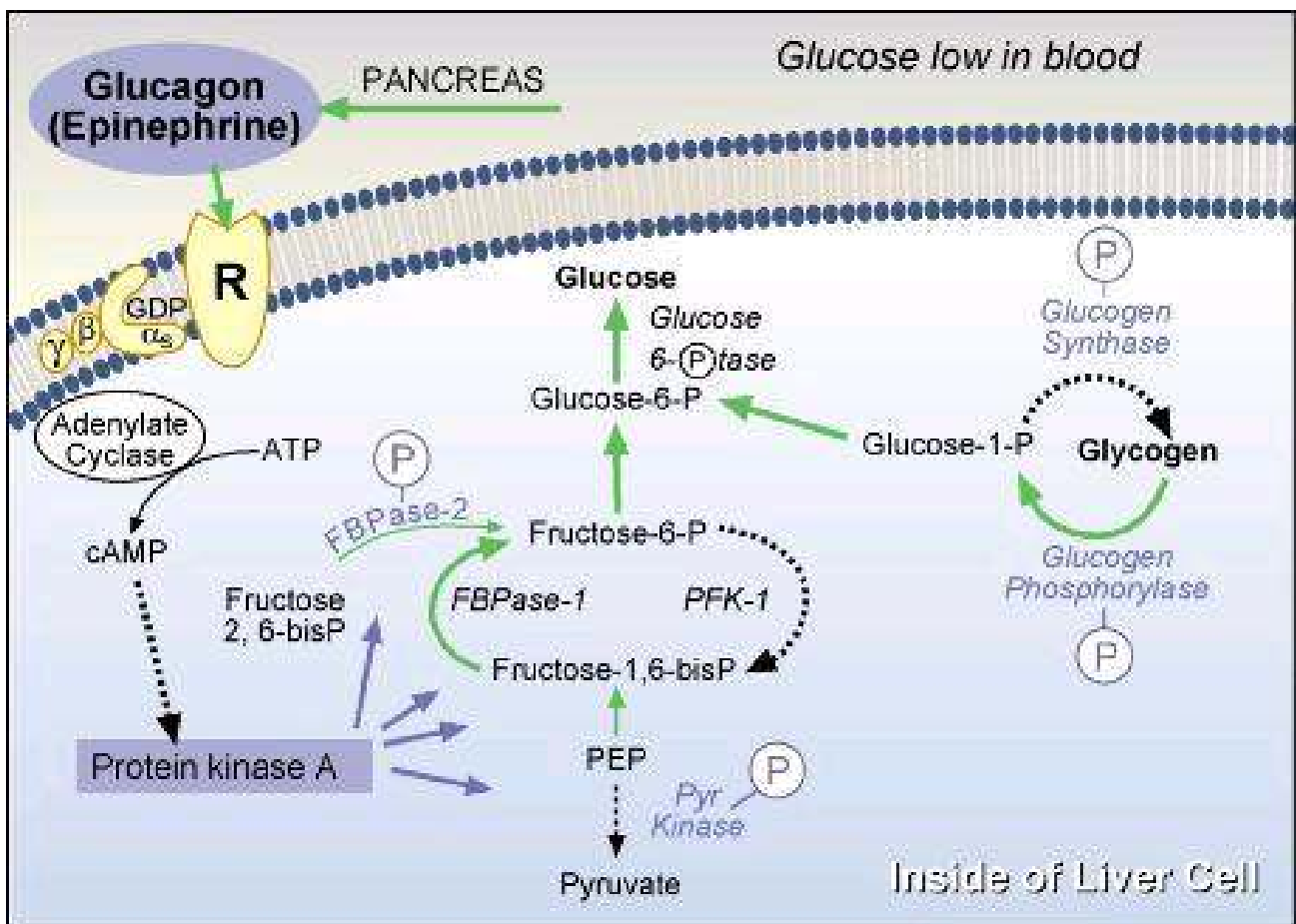


Figure 7 : Voie de signalisation du glucagon dans la cellule hépatique. (Auberval, 2010)

### ***III-1-3-2- Insuline : structure, biosynthèse, sécrétion et mécanisme d'action***

Cette substance a été découverte par Frederick Grant Banting et Charles Herbert Best dans le laboratoire de John James Richard MacLeod et suite aux travaux importants de Nicolas Paulescu (**Rosenfeld, 2002**). Banting et MacLeod ont été les lauréats du Prix Nobel de physiologie et de médecine en 1923 récompensant leurs travaux.

L'insuline est un peptide de 51 acides aminés et se compose de deux chaînes polypeptidiques : une chaîne A de 21 acides aminés et une chaîne B de 30 acides aminés, qui sont unies par deux ponts disulfures et un pont disulfure intra-chaîne dans la chaîne A (**Figure 8**).

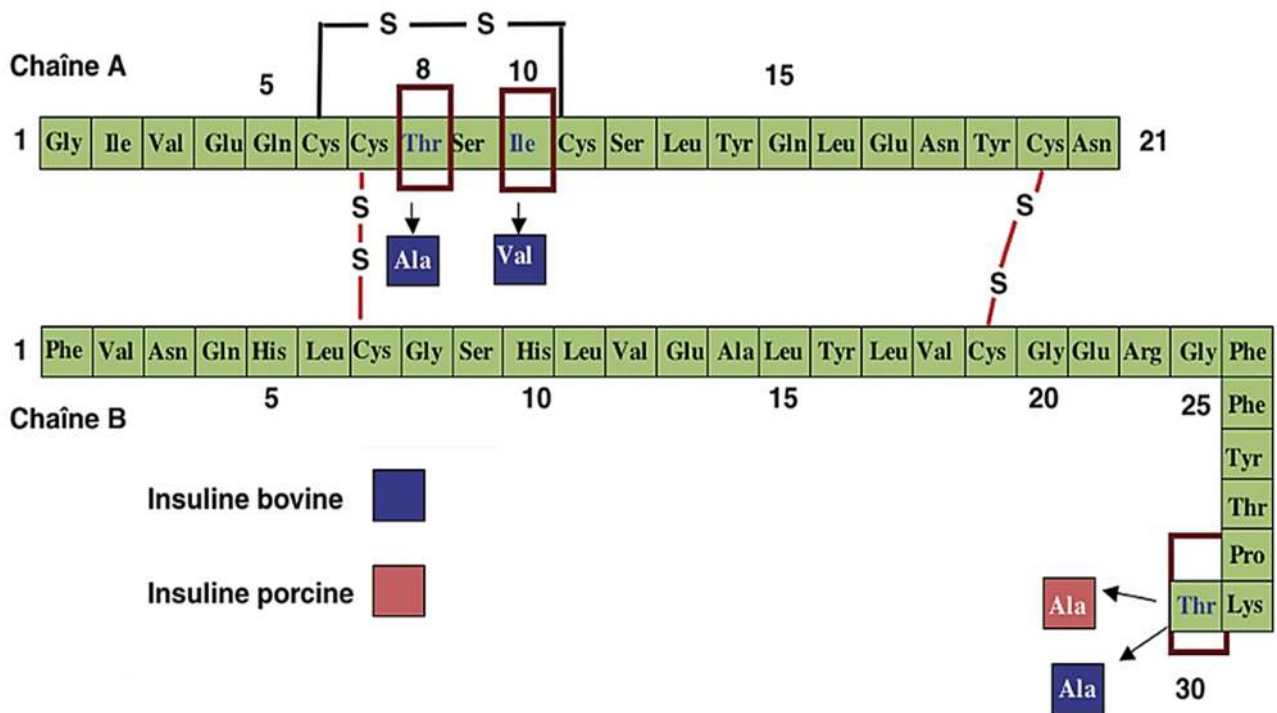
L'insuline est synthétisée dans les cellules  $\beta$  sous forme de pré-pro-insuline inactive. Chez l'homme, elle est codée par un gène se trouvant sur le chromosome 11. Après la transcription en ARNm du gène codant la pré-pro-insuline, l'ARNm est exporté du noyau vers le cytoplasme pour atteindre les ribosomes se trouvant à la surface du réticulum endoplasmique (RE). La traduction de la pré-pro-insuline se réalise à l'entrée du RE. La molécule subit alors un remodelage, acquiert sa structure quaternaire avec ses deux ponts disulfures et perd sa séquence signal. La pro-insuline ainsi obtenue est constituée de 86 acides aminés ayant un poids moléculaire de 9 kDa. Dans l'appareil de Golgi, sous l'action d'une protéase spécifique, la pro-insuline est clivée pour donner le peptide-C (31 acides aminés ayant un poids moléculaire de 3 kDa) et un peptide bicaténaire, l'insuline d'une taille finale de 51 acides aminés et de poids moléculaire de 6 kDa. Ces deux peptides sont stockés dans des granules jusqu'à sécrétion (**Auberval, 2010**) (**Figure 9**).

L'augmentation du rapport ATP/ADP inhibe le canal KATP, provoquant une fermeture du canal, une dépolarisation de la membrane de la cellule  $\beta$ , un influx de calcium (ouverture des canaux calciques voltage sensibles) et une libération par exocytose d'insuline. Celle-ci passe dans le sang par transcytose (endocytose + exocytose) à travers l'endothélium du capillaire. La sécrétion d'insuline est stimulée par l'oxydation du glucose, par la glucokinase (GK) et par l'oxydation du glutamate stimulé par la leucine et par la glutamate déshydrogénase (GDH). Une augmentation anormale des concentrations en pyruvate dans les cellules  $\beta$  stimule la sécrétion d'insuline. (**Figure 10**).

L'insuline libérée permet d'augmenter le captage du glucose par les adipocytes et les cellules musculaires. Ce phénomène est régulé par des mécanismes d'exocytose et d'endocytose des récepteurs GLUT4 insulino-dépendant en présence de l'hormone. Dans le foie et le muscle, le glucose est stocké sous forme de glycogène par le processus de glycogénogenèse et il est utilisé dans le cycle de la glycolyse dans les myocytes pour produire de l'énergie. De plus, au niveau du tissu adipeux, elle induit un stockage des acides gras en favorisant la lipogenèse (**Papin & Lang, 2009**).

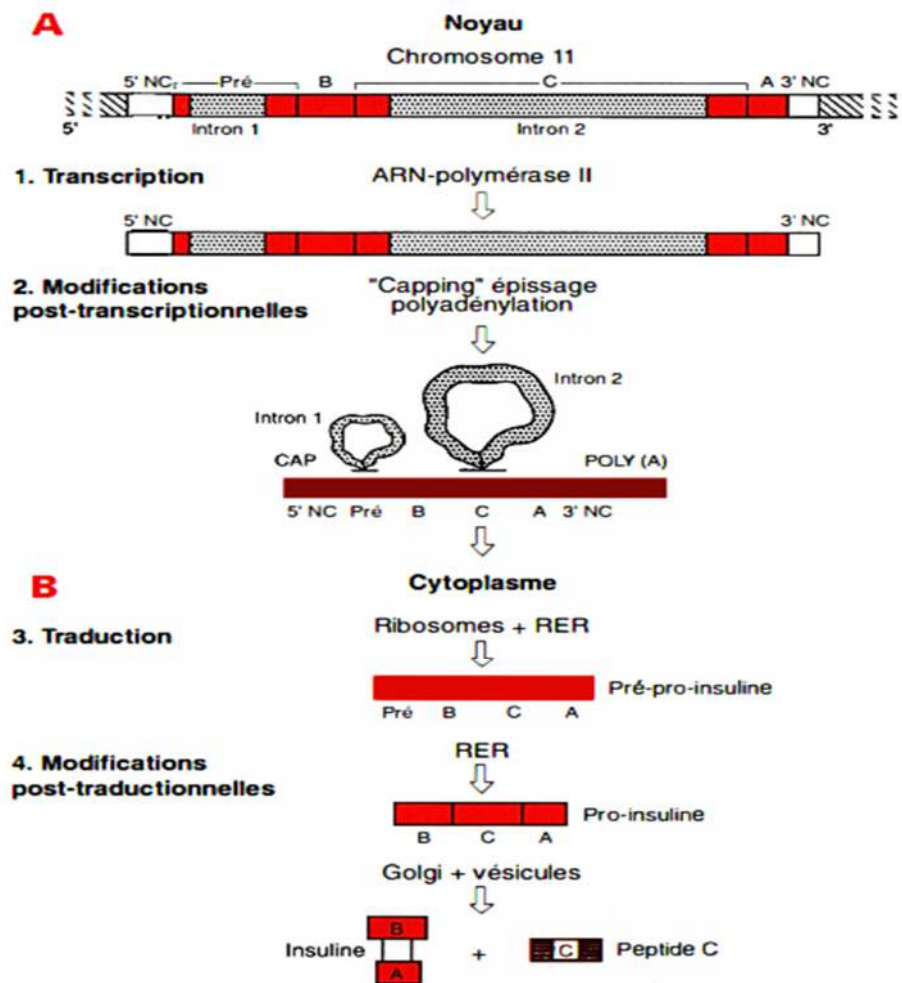


La liaison de l'insuline à son récepteur IR induit son autophosphorylation sur plusieurs résidus tyrosine de ses sous unité  $\beta$ . Plusieurs protéines dont Shc, Gab-1, le complexe APS/Cbl et les protéines IRS, se fixent sur ces résidus phosphorylés afin d'être eux-mêmes phosphorylés par le récepteur insulinique activé. Shc recrute Grb2 et sa protéine associée Sos, ce qui active la protéine Ras associée à Raf1 pour activer les cascades de phosphorylation par la MAP kinase (MAPK). Cette cascade régule l'expression des gènes impliqués dans la prolifération cellulaire et la différenciation. La cascade PI3K conduit à des modifications de l'état de phosphorylation de plusieurs enzymes dont Akt et mTOR, permettant de stimuler la synthèse de glycogène et de protéines. La cascade PI3K, *via* PDK1, participe également au contrôle de la translocation du transporteur de glucose GLUT4 vers la surface de la cellule et donc à l'augmentation de la vitesse d'entrée du glucose dans la cellule (Auberval, 2010) (Figure 11).



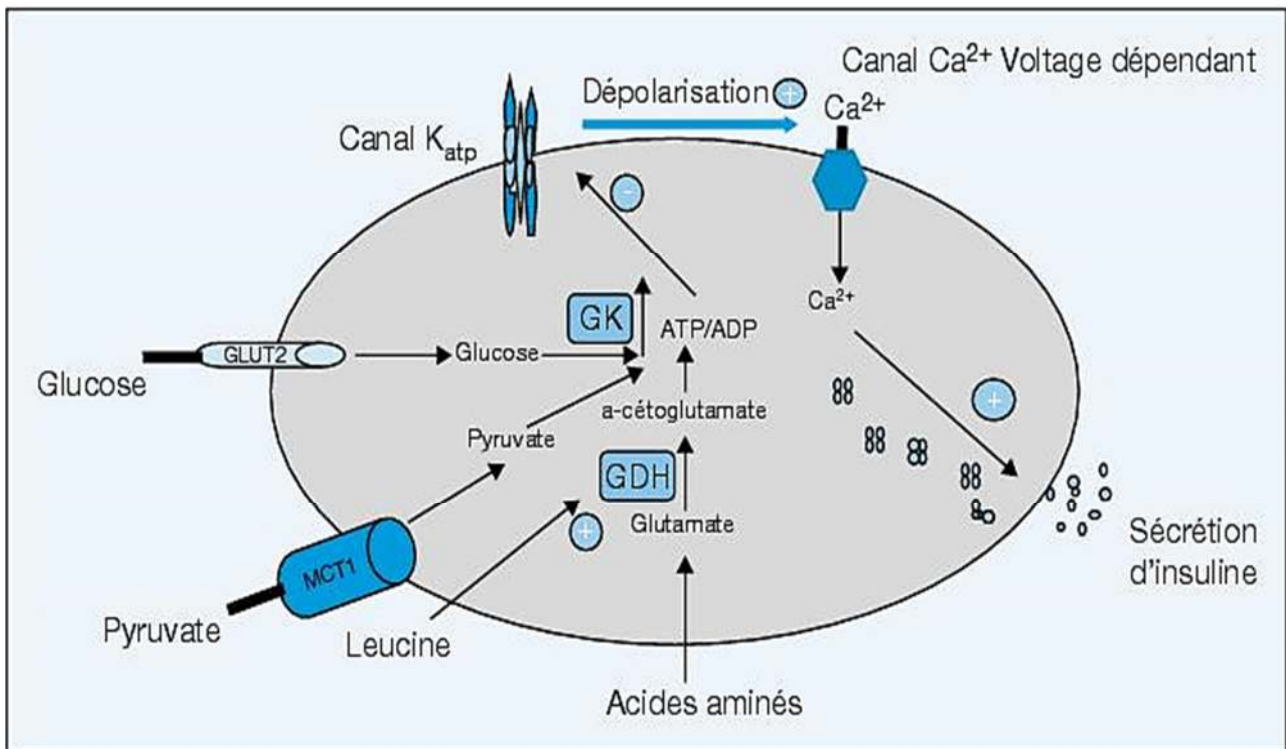
**Figure 8 :** Structure primaire de l'insuline humaine. (Brown *et al.*, 1955)

*L'insuline porcine ne diffère de l'insuline humaine que par un seul acide aminé (la thréonine en position 30 de la chaîne B est remplacée par une alanine). Trois acides aminés différencient l'insuline bovine de l'insuline humaine : une alanine et une valine, respectivement en position 8 et 10 de la chaîne A, remplacent la thréonine et l'isoleucine. L'acide aminé 30 de la chaîne B est une alanine au lieu d'une thréonine.*



**Figure 9** : Expression du gène de l'insuline dans la cellule  $\beta$  insulaire (Chirgwin, 1990)

Les étapes décrites en A correspondent à la transcription proprement dite du gène (étape 1) et à la modification post-transcriptionnelle nucléaire du produit de transcription (étape 2). Chez l'homme, le gène de l'insuline est situé sur le bras court du chromosome 11. NC = région non codante. RER : réticulum endoplasmique rugueux. Les étapes décrites en B sont toutes cytoplasmiques et correspondent à la traduction de l'ARNm mature (étape 3) et aux modifications post-traductionnelles (étape 4) du produit de la traduction.

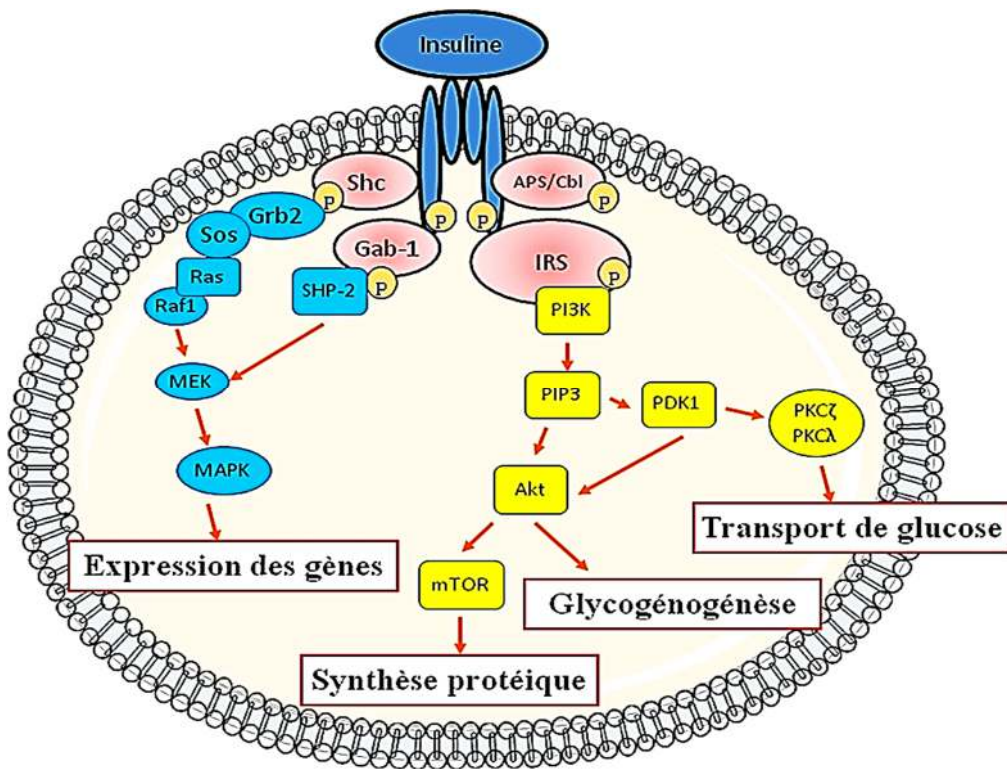


**Figure 10** : Mécanisme de la sécrétion d'insuline dans les cellules  $\beta$  pancréatiques.

(Palladino *et al.*, 2009)

*Le glucose circulant est en contact des cellules  $\beta$  via les capillaires sanguins et la lymphe interstitielle. Lorsque la concentration en glucose sanguin augmente, la cellule  $\beta$  importe le glucose grâce à un transporteur membranaire insulino-indépendant GLUT2, prédominant également dans le foie. Le métabolisme du glucose dans la cellule  $\beta$  augmente le rapport ATP/ADP ce qui induit la fermeture du canal potassique ATP dépendant et bloque la fuite d'ions potassium K.*

*GK : glucokinase ; GDH : glutamate déshydrogénase ; MCT1 : Mitochondrie*



**Figure 11** : Transduction du signal par l'insuline. (Voet & Voet, 2005)

## IV- Enzymes

Il existe plusieurs types d'enzymes intervenant dans le métabolisme des oses surtout celles agissant dans le catabolisme de ces derniers pendant la digestion. L' $\alpha$ -amylase et l' $\alpha$ -glucosidase interviennent dans l'hydrolyse des glucides.

### IV-1- Alpha-amylase

#### IV-1-1- Définition

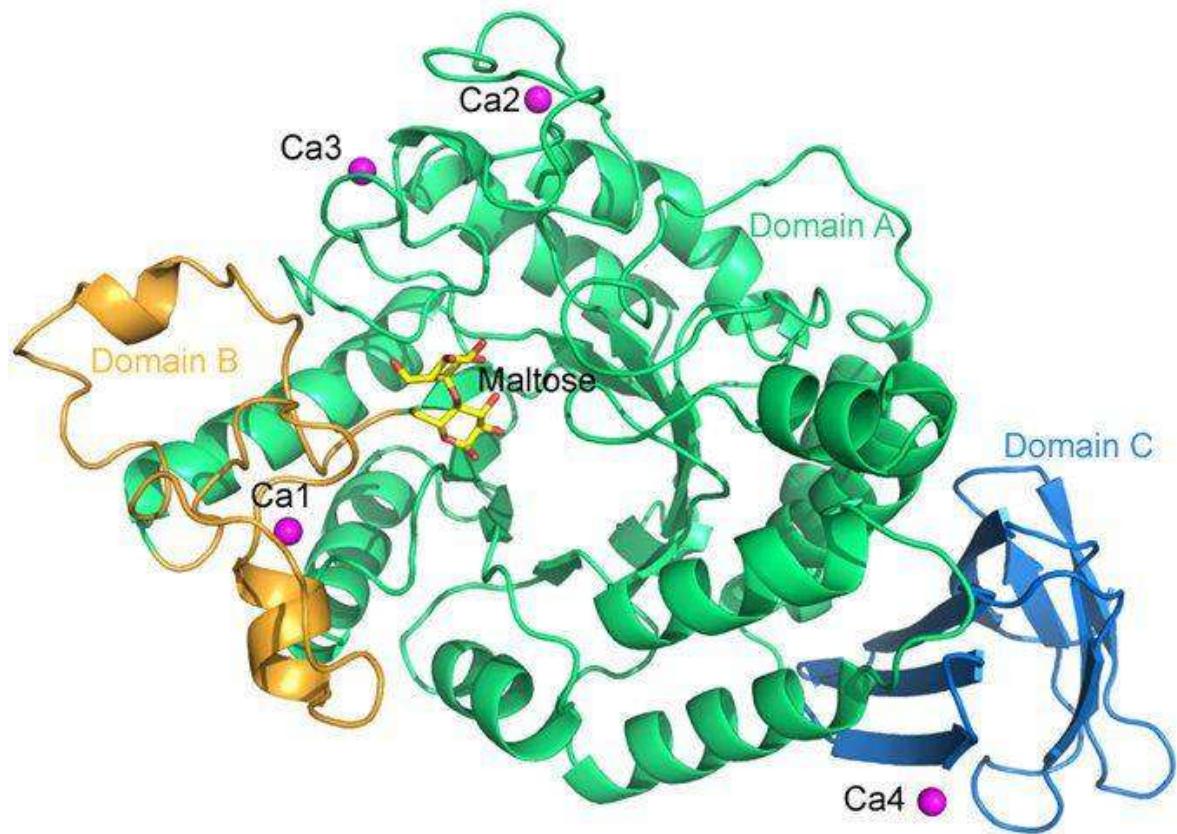
L' $\alpha$ -amylase comme toutes les enzymes est une macromolécule appartenant à la classe des protéines globulaires (Nouadri, 2011). Elle est une enzyme ubiquitaire, synthétisée chez tous les êtres vivants (Merabti, 2006). C'est une endo-enzyme, de masse moléculaire comprise entre 40 et 70 kDa (Panchal, 1990), qui hydrolyse au hasard les liaisons osidiques (1,4) de l'amylose, de l'amylopectine, de l'amidon et du glycogène à l'exclusion des liaisons terminales de ces chaînes. Elle provoque la libération du glucose, du maltose et surtout d' $\alpha$ -dextrines (Kelly *et al.*, 1997).

#### IV-1-2- Nomenclature

- Nom codifié : EC 3.2.1.1
- Nom commun :  $\alpha$ -amylase
- Nom systématique: 1,4- $\alpha$ -D-glucane,4-glucano hydrolase (Merabti, 2006).
- Synonymes : glycogénase, endoamylase, maxilase, taka-amylase A.(Schomburg & Salzmann, 1991 ; Dauter *et al.*, 1999 ; Nouadri, 2011).

#### IV-1-3- Structure

Les  $\alpha$ -amylases sont également considérées comme des glycoprotéines renfermant 478 acides aminés répartis en 3 domaines globulaires (Nouadri, 2011). Ces domaines sont associés par une chaîne polypeptidique constituée principalement de résidus hydrophobes (Figure 12). La partie glucidique est formée essentiellement de maltose, les résidus constituant le site de fixation du substrat ainsi que ceux constituant le site catalytique sont localisés dans le domaine A qui montre que l' $\alpha$ -amylase est formée de 8 feuillets  $\beta$  plissés et de 8 hélices  $\alpha$  (Chiba, 1988 ; Nouadri, 2011).



**Figure 12** : Structure tridimensionnelle de l' $\alpha$ -amylase (Kraulis, 1991).

*L' $\alpha$ -amylase fongique, comportant trois domaines globulaires (A, B, et C). Le domaine A (couleur verte), forme un tonneau ( $\beta / \alpha$ ) 8 feuillets et porte le site actif à la partie C-terminale des feuillets  $\beta$ . Le domaine B (couleur jaune), forme une boucle à partir du milieu du domaine A et constitue une sorte de « couvercle ». Quant au domaine C (couleur bleue), il constitue un tonneau de 8 feuillets  $\beta$  antiparallèles et l'ion de calcium (sphère violet) (Benaouida, 2008).*

#### IV-1-4- Différentes origines

Les  $\alpha$ -amylases sont abondantes dans tous les règnes, elles ont été isolées par extraction à partir des tissus végétaux et animaux ou par fermentation par des cellules microbiennes (**Haq *et al.*, 2003 ; Srinivasa Rao *et al.*, 2004**).

➤ Origine animale : l' $\alpha$ -amylase animale est généralement extraite de la salive humaine et du pancréas des mammifères tels que les porcs et les veaux (**Bertheau *et al.*, 1985 ; Chatterton *et al.*, 1996**).

➤ Origine végétale : l' $\alpha$ -amylase joue chez les plantes un rôle important dans le métabolisme glucidique, où elle participe à l'hydrolyse de l'amidon en produisant des sucres réducteurs (glucose et maltose) directement assimilables (**Badot & Merlin, 1984**). Cette enzyme végétale est généralement obtenue par extraction à partir des céréales notamment le blé, l'orge, le son ou le riz (**Srinivasa Rao *et al.*, 2004**). Elle est souvent formée au cours de la germination des grains (**Charles *et al.*, 2003**).

➤ Origine microbienne : on distingue les  $\alpha$ -amylases fongiques et bactériennes. Les  $\alpha$ -amylases fongiques diffèrent des amylases bactériennes par une inactivation par la température, un pouvoir élevé de saccharification et un pH optimal faible (4-5) (**Costes, 1982**).

#### IV-1-5- Mode d'action

En général, les  $\alpha$ -amylases peuvent agir par différents modes d'action. Selon les conditions (température, pH, taille et structure du substrat), l'enzyme peut utiliser l'un ou l'autre mécanisme et même une combinaison entre plusieurs mécanismes (**Mazur & Nakatani, 1993 ; Nielson *et al.*, 2001**).

➤ Attaque aléatoire ou au hasard : n'importe quelle liaison  $\alpha$ -(1-4) peut être hydrolysée à partir de l'extrémité réductrice. Elle provoque la formation de glucose, maltose et surtout du D-dextrine (**Scriban, 1999**).

➤ Attaque préférée : l' $\alpha$ -amylase montre une préférence pour certaines liaisons glucosidiques dans le substrat (**Berry & Paterson, 1990**).

➤ Attaque multiple ou répétitive : elle implique le déplacement de l'enzyme tout au long de la chaîne du substrat et l'enzyme hydrolyse les liaisons glucosidiques sans se dissocier du substrat (**Kandra *et al.*, 1997**).

➤ Mécanisme uni-chaîne : l'enzyme dégrade une chaîne avant de passer à l'autre. Une fois que l'enzyme forme le complexe actif avec le premier substrat, elle catalyse la réaction et ne forme pas un autre complexe actif avec d'autres substrats jusqu'à l'achèvement de la dégradation de la première chaîne (**Berry & Paterson, 1990**).



➤ Mécanisme multi-chaîne : toutes les chaînes sont dégradées parallèlement (**Pazur & Marchetti, 1992**).

#### **IV-1-6- Régulation de la synthèse de l' $\alpha$ -amylase**

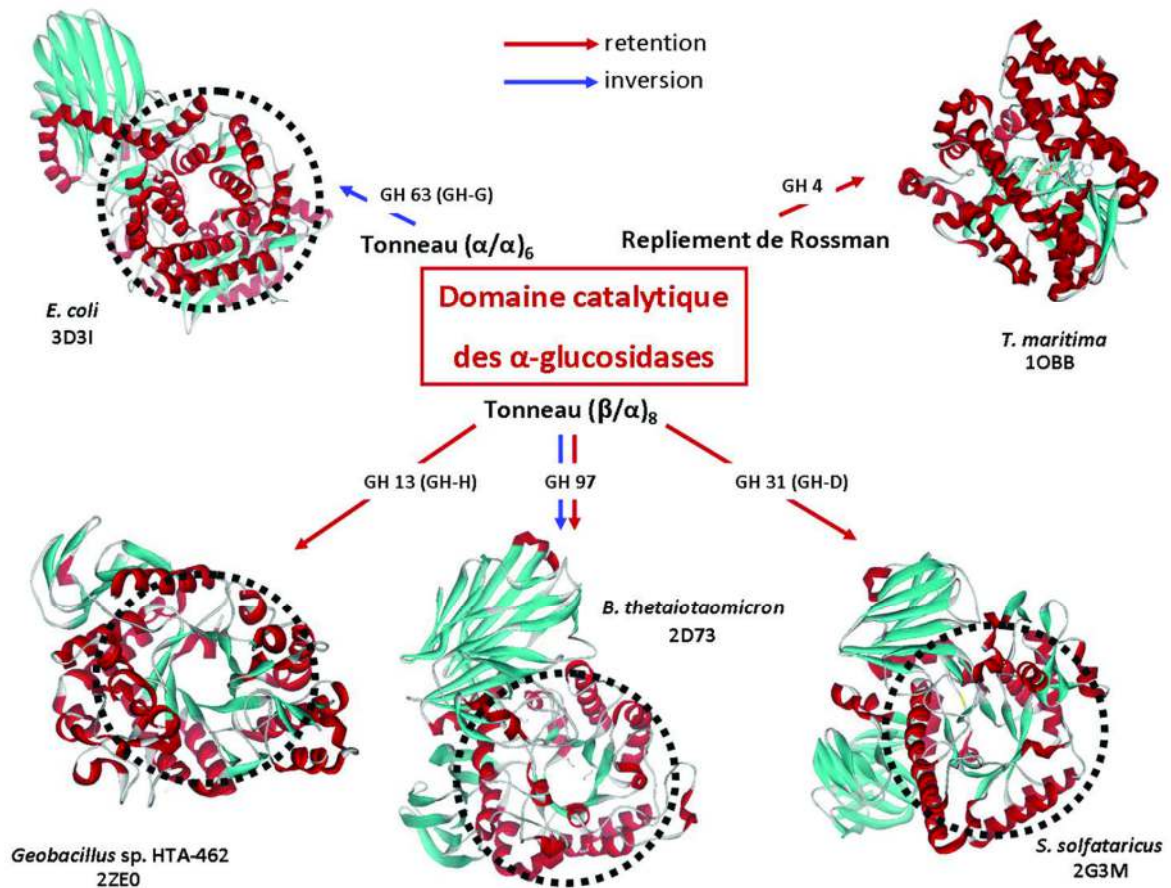
La répression catabolique de l'expression des gènes est un système de normalisation fondamental et omniprésent, afin de répondre aux changements de disponibilité nutritive. Des études ont démontré que la biosynthèse de l' $\alpha$ -amylase est régulée uniquement par répression au cours de la transcription et/ou au cours de la traduction (**Bhella & Altosaar, 1987**).

Chez les micro-organismes, le glucose ou d'autres sources de carbone rapidement métabolisables, répriment l'expression des gènes qui codent pour des enzymes liées au métabolisme d'autres sources de carbone (**Chung-An *et al.*, 1998**).

#### **IV-2- Alpha-glucosidase**

D'après la nomenclature IUPAC-IUBMB, les  $\alpha$ -glucosidases (EC 3.2.1.20,  $\alpha$ -D-glucoside glucohydrolase) sont définies comme des exo-glycosidases catalysant majoritairement l'hydrolyse des liaisons  $\alpha$ -1,4-glycosidiques d'un substrat (comme chez les malto-oligosaccharides ou le glycogène par exemple) pour libérer un  $\alpha$ -D-glucose. Elles peuvent également catalyser des réactions de trans-glycosylation pour synthétiser des composés  $\alpha$ -D-glucosylés (**Kato *et al.*, 2002 ; Ferrer *et al.*, 2005 ; Seo *et al.*, 2011**). L'activité de trans-glycosylation des  $\alpha$ -glucosidases est utilisée dans l'industrie pour produire des oligosaccharides et des sucres conjugués dans le but d'améliorer leurs propriétés chimiques et leurs fonctions physiologiques (**Kren & Martinkova, 2001 ; Murata & Usui, 2006**).

Ces enzymes sont retrouvées dans six familles différentes de glycoside hydrolases répertoriées dans la base de données CAZy : GH4, 13, 31, 63, 97 et 122 (**Comfort *et al.*, 2008**) (**Figure 13**).



**Figure 13** : Représentations en ruban des repliements du domaine catalytique chez les différentes familles de GH où sont retrouvées les  $\alpha$ -glucosidases (EC 3.2.1.20). (Dejob, 2013)

*Les flèches rouges et bleues indiquent selon quel mécanisme les différentes familles agissent.*

## IV-2-1- Description des différentes familles

### IV-2-1-1- Famille GH4

Dans cette famille sont retrouvées les activités enzymatiques : maltose-6-phosphate glucosidase (EC 3.2.1.122),  $\alpha$ -galactosidase (EC 3.2.1.22), 6-phospho- $\beta$ -glucosidase (EC 3.2.1.86),  $\alpha$ -glucuronidase (EC 3.2.1.139) et  $\alpha$ -glucosidase (EC 3.2.1.20). Les enzymes de cette famille sont retrouvées très majoritairement chez les Eubactéries et aussi chez quelques Archées. Elles catalysent les réactions d'hydrolyse selon un mécanisme inhabituel impliquant le NAD<sup>+</sup> dont la dépendance a été mise en évidence dès 1971 (**Burstein & Kepes, 1971**). Cette famille a la particularité de regrouper des enzymes ayant des spécificités pour des liaisons  $\alpha$ - ou  $\beta$ -glycosidiques (**Pikis *et al.*, 2002**).

### IV-2-1-2- Famille GH13

Cette famille appartenant au clan GH-H est la famille majeure agissant sur les substrats possédant des liaisons  $\alpha$ -glucosidiques. Initialement appelée famille des  $\alpha$ -amylases, elle fut définie comme GH13 lors de la création de la classification basée sur les séquences en 1991 (**Henrissat, 1991**) et est présente chez les six règnes du Vivant. Différentes classes d'enzymes sont retrouvées dans cette famille comme des hydrolases (EC 3.x.x.x), des glycosyltransférases (EC 2.4.x.x) et des isomérases (EC 5.x.x.x) (**MacGregor *et al.*, 2001**). Il a même été rapporté que des transporteurs d'acides aminés d'origine animale, sans activité glycosidase, appartenaient également à cette famille (**Fort *et al.*, 2007 ; Gabrisko & Janecek, 2009**).

Il a été démontré que les enzymes de cette famille agissaient selon un mécanisme de rétention de la configuration du carbone anomérique (**Isoda *et al.*, 1992**). Le site actif est constitué d'une triade catalytique composée de deux acides aspartiques : un ayant le rôle de nucléophile, le second participant à la stabilisation de l'état de transition (**Uitdehaag *et al.*, 1999**) et un acide glutamique défini comme le résidu acide/base (**Sinnott, 1998 ; Rydberg *et al.*, 2002**).

### IV-2-1-3- Famille GH31

Cette famille appartient au clan GH-D dans laquelle sont retrouvées les activités  $\alpha$ -glucosidase (EC 3.2.1.20),  $\alpha$ -1,3-glucosidase (EC 3.2.1.84), sucrase-isomaltase (EC 3.2.1.48, EC 3.2.1.10),  $\alpha$ -xylosidase (EC 3.2.1.177),  $\alpha$ -glucane lyase (EC 4.2.2.13) et isomaltosyltransférase (EC 2.4.1.-). Les enzymes de cette famille sont présentes chez les Archées, les Bactéries et les Eucaryotes.

Les enzymes de la famille GH31 agissent selon un mécanisme de rétention de la configuration du carbone anomérique et semblent suivre le mécanisme de Koshland classique à deux étapes (**Frandsen & Svensson, 1998**). Cette idée est confortée par des études sur l'inactivation de l' $\alpha$ -glucosidase par du conduritol B epoxide (**Hermans *et al.*, 1991 ; Iwanami *et al.*, 1995**). Des études ultérieures ont permis de mettre en évidence des intermédiaires catalytiques en utilisant des réactifs de type 5-fluoroglycosyl fluoride (**Lee *et al.*, 2001 ; Lovering *et al.*, 2005**). Les résidus catalytiques acide/base et nucléophile sont toujours des acides aspartiques. Cela a été prouvé par plusieurs techniques dont celle du conduritol B epoxide (**Hermans *et al.*, 1991 ; Iwanami *et al.*, 1995**), du 5-fluoro- $\alpha$ -D-glucopyransyl fluoride couplé à un séquençage par LC/MS/MS (**Lee *et al.*, 2001**), des études cristallographiques (**Lovering *et al.*, 2005**) et de la mutagenèse dirigée (**Kim *et al.*, 2006b**).

#### ***IV-2-1-4- Famille GH63***

Les enzymes de cette famille ont des activités  $\alpha$ -glucosidase processive (EC 3.2.1.106),  $\alpha$ -1,3-glucosidase (EC 3.2.1.84) ou encore  $\alpha$ -glucosidase (EC 3.2.1.20) et appartiennent au clan GH-G. Celles issues d'organismes eucaryotes hydrolysent spécifiquement les liaisons  $\alpha$ -1,2-glucosidique du Glc3Man9GlcNAc2 (**Herscovics, 1999 ; Dhanawansa *et al.*, 2002**), un précurseur de N-glycoprotéines (**Dairaku & Spiro, 1997**). Des gènes codant des enzymes de la famille GH63 ont également été retrouvés chez les Archaea et les bactéries avec des activités  $\alpha$ -1,3-glucosidase ou  $\alpha$ -glucosidase. Une de ces enzymes issue d'*Escherichia coli*, YgjK, a une forte activité hydrolytique sur le nigerose (Glc- $\alpha$ -1,3-Glc) (**Kurakata *et al.*, 2008**).

Elles agissent selon un mécanisme d'inversion de la configuration du carbone anomérique, ce qui a été montré par RMN avec l' $\alpha$ -glucosidase processive de *Saccharomyces cerevisiae* (**Palcic *et al.*, 1999**). Les résidus catalytiques ne sont pas définis expérimentalement mais ont été déduits par comparaison des domaines catalytiques des enzymes de la famille GH15 et GH37. Ainsi le résidu catalytique acide est prédit comme étant un acide aspartique tandis que le résidu catalytique base serait un acide glutamique (**Kurakata *et al.*, 2008**).

#### ***IV-2-1-5- Famille GH97***

Les enzymes de cette famille sont toutes issues d'organismes archées ou bactériens. Jusqu'à présent, il a été rapporté qu'elles ont une activité  $\alpha$ -glucosidase (3.2.1.20) ou  $\alpha$ -galactosidase (EC 3.2.1.22) (**Gloster *et al.*, 2008 ; Kitamura *et al.*, 2008**). Cette famille permet de comprendre les deux principaux mécanismes d'hydrolyse. En effet, l' $\alpha$ -glucosidase étudiée agit selon un mécanisme d'inversion de la configuration du carbone anomérique, comme l'ont démontré les analyses par RMN

et HPLC (Gloster *et al.*, 2008 ; Kitamura *et al.*, 2008). A l'inverse, l' $\alpha$ -galactosidase agit selon un mécanisme de rétention de la configuration du carbone anomérique également confirmé par RMN et HPLC (Gloster *et al.*, 2008 ; Kitamura *et al.*, 2008 ; Okuyama *et al.*, 2009). Étant donné qu'une multitude de glutamates est retrouvée au niveau du site actif, il n'est pas aisé de définir les résidus catalytiques. Toutefois, des alignements structuraux avec la famille GH27 et des alignements de séquences tendent à prouver que le résidu catalytique donneur de proton serait dans tous les cas un acide glutamique. Le résidu nucléophile, quant à lui, serait un acide glutamique dans le cas d'un mécanisme par inversion, ou un acide aspartique pour un mécanisme par rétention (Gloster *et al.*, 2008 ; Kitamura *et al.*, 2008 ; Okuyama *et al.*, 2009).

#### ***IV-2-1-6- Famille GH122***

Très peu d'informations sont rapportées pour cette famille. Elle a été créée après des études bioinformatiques suggérant la découverte d'une nouvelle famille de GH (Comfort *et al.*, 2008). Sont retrouvées dans cette famille des enzymes issues d'organismes appartenant au règne des Archaea et considérés comme extrémophiles. Une seule enzyme de cette famille a été caractérisée (Costantino *et al.*, 1990) révélant ainsi son caractère hyperthermophile. Jusqu'à présent, il n'existe aucun représentant structural pour cette famille et le mécanisme d'hydrolyse n'est pas encore connu.

#### **IV-2-2- Inhibiteurs de l' $\alpha$ glucosidase**

De manière générale, de nombreux inhibiteurs de glucosidases sont développés du fait des implications fondamentales de ces enzymes dans plusieurs processus biochimiques comme (1) l'hydrolyse de polysaccharides alimentaires en unités monosaccharidiques absorbées et utilisées par l'organisme, (2) le catabolisme lysosomal de glycoconjugués et la transformation des glycoprotéines et (3) la biosynthèse d'unités oligosaccharidiques dans les glycoprotéines et glycolipides. Ainsi, ces multiples fonctions justifient les recherches sur les inhibiteurs, notamment en vue d'être utilisés dans le traitement du diabète, de l'obésité, des maladies de surcharge lysosomale, les infections à V.I.H. ou encore les tumeurs en général (Borges de Melo *et al.*, 2006). En outre, sur un plan plus fondamental, ces ligands sont des outils précieux pour l'étude des mécanismes de ces enzymes.

Lors de l'hydrolyse des glycosides, l'état de transition (de très courte durée) implique généralement un intermédiaire de type ion oxocarbénium. Ceci consiste en des liaisons partiellement formées ou rompues entre le nucléophile qui attaque l'oxygène glycosidique du groupe partant. A ce stade, il y a accumulation de charges positives au niveau du cycle pyranose provoquant une distorsion du substrat proche de l'état de transition (Gloster & Davies, 2010). Certains inhibiteurs mimeraient cet état de transition formé furtivement durant le processus d'hydrolyse du glycoside. Ceci n'a été démontré que dans quelques cas où le ligand mimant l'état de transition se fixe à l'enzyme avec une

très grande affinité (**Wolfenden & Snider, 2001**). Dans les années 1940, Pauling a fait le postulat que les inhibiteurs ont de meilleures affinités pour une enzyme lorsqu'ils miment la structure d'un « complexe activé contraint » (c'est-à-dire, l'état de transition) (**Pauling, 1946; 1948**).

Il existe différents types chimiques d'inhibiteurs pour les  $\alpha$ -glucosidases comme les thiosucres, les iminosucres et les carbasucres, par exemple.

#### ***IV-2-2-1- Thiosucres***

Ces composés consistent en le remplacement de l'atome d'oxygène cyclique par un atome de soufre. Le salacinol (**Figure 14**), un composé naturel de cette famille, a été isolé de la plante *Salacia reticulata* et est traditionnellement utilisé en Inde et au Sri Lanka pour traiter le diabète (**Yoshikawa et al., 1997**).

#### ***IV-2-2-2- Iminosucres***

Les iminosucres, isolés de plantes ou de microorganismes, sont capables de mimer l'état de transition des substrats naturels des glycosidases. En effet, ils peuvent imiter la conformation et la charge de l'intermédiaire oxocarbenium.

#### ***IV-2-2-2- Déoxynojirimycine***

Historiquement, le premier analogue du glucose découvert fut la nojirimycine en 1966. Cette molécule issue d'une souche de *Streptomyces sp* comprend un atome d'azote endocyclique à la place de l'atome d'oxygène pyranosique (**Inouye et al., 1966**). Toutefois, il s'agit d'un composé très instable du fait de la présence d'un groupement hydroxyle au niveau du carbone C-1 (**Inouye et al., 1968**). La synthèse d'un composé plus stable, dérivé de celui-ci, auquel manque cet hydroxyl a donc été réalisée par Paulsen et collaborateurs (**Paulsen et al., 1967**). Il s'avère que cette molécule appelée déoxynojirimycine (**Figure 15**) est également naturellement présente dans les racines de mûrier (**Daigo et al., 1986**). Un dérivé de cet inhibiteur, le miglitol est commercialisé comme antidiabétique.

#### ***IV-2-2-3- Castanospermine***

Cette molécule trouvée dans l'arbre *Castanospermum australe* consiste en la fusion de cycles pipéridine et pyrrolidine. Plus schématiquement, il s'agit d'un dérivé de la déoxynojirimycine associé à un cycle à 5 atomes avec l'atome d'azote en commun à la jonction, et présentant des propriétés

structurales et biologiques similaires (**Figure 16**). Cette structure engendre une certaine rigidité expliquant son activité anti-glucosidase (**Borges de Melo et al., 2006**).

#### ***IV-2-2-4- Tris***

Les molécules présentées jusqu'alors possédaient une structure relativement proche des substrats naturels des  $\alpha$ -glucosidases avec certaines modifications chimiques leur conférant leurs propriétés inhibitrices.

Le Tris (Tris(hydroxyméthyl)aminométhane) est un exemple radicalement différent d'inhibiteur (**Figure 17**). Il a été rapporté à plusieurs reprises que ce composé inhibait de façon compétitive des  $\alpha$ -glucosidases (**Bravo-Torres et al., 2004 ; Kitamura et al., 2008 ; Zhou et al., 2009**).

#### ***IV-2-2-5- Carbasucres***

Il s'agit d'analogues de sucres dont l'oxygène intracyclique est remplacé par un atome de carbone ; l'exemple le plus connu étant l'acarbose. Il est possible de traiter des patients diabétiques avec ce composé qui peut être industriellement produit chez les actinomycètes (**Wehmeier & Piepersberg, 2004**).

L'acarbose est un pseudotétrасaccharide (**Figure 18**) dont l'acarviosine est lié à un maltose (**Junge et al., 1984**). L'acarviosine est composée d'une unité de valiénamine (le carbasucré) lié à un dideoxyglucose par une liaison *N*-glycosidique qui mime la liaison *O*-glycosidique des substrats naturels. Il s'agit d'une molécule capable d'inhiber des  $\alpha$ -glucosidases d'origine diverses : bactériennes (**Kitamura et al., 2008**) ou mammifères (**Sim et al., 2008**) par exemple.

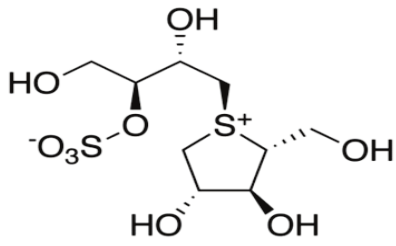


Figure 14 : Représentation du salacinol

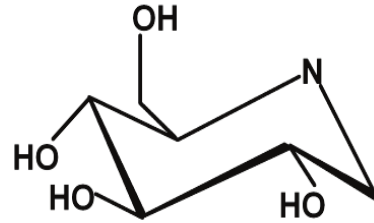


Figure 15 : Représentation de la déoxynojirimycine

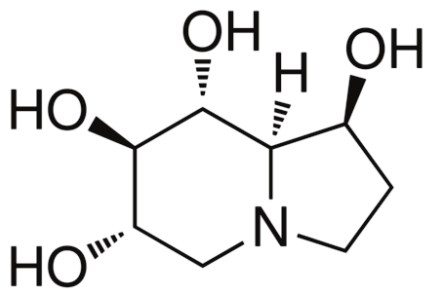


Figure 16 : Représentation de la castanospermine

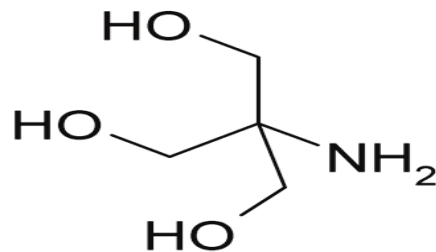


Figure 17 : Représentation d'une molécule de Tris

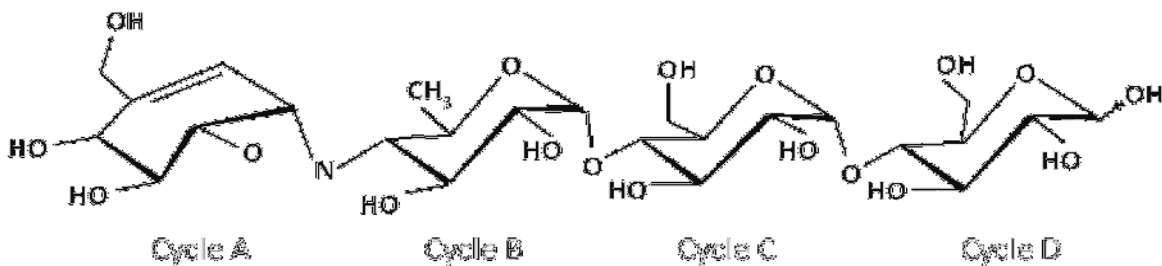


Figure 18 : Représentation de l'acarbose

*Le cycle A seul correspond à l'unité valiénamine. Le dihéterside A+B correspond à l'acarviosine*

Source : Dejob (2013)



## V- Diabète

### V-1- Histoire

Le diabète est l'une des maladies métaboliques les plus vieilles qui furent signalées dès l'Antiquité. Le papyrus Ebers fait mention de cette maladie à partir de 1550 ans avant Jésus Christ (J.-C) (**Jouzier, 2007**). Il est mieux défini dans le traité indien Sushruta Samhita qui daterait de 500 ans av. J.-C. (**Bhattacharya & Sushrutha, 2009**). Le terme « diabète » vient du grec ancien et signifie passer au travers en référence à deux symptômes caractéristiques de la maladie, la soif (polydipsie) et le besoin fréquent d'uriner (polyurie). Le terme latin « mellitus » signifiant sucré comme le miel a été ajouté par le médecin anglais Thomas Willis après avoir noté le goût sucré des urines de patients diabétiques (**Willis, 1674**). Ce n'est que 275 ans avant J.-C. que le terme « diabète », signifiant « qui passe à travers », fut utilisé par le grec Démétrios d'Apnée. Cette maladie ne fut décrite et étudiée qu'au premier siècle après J.-C. (**Delluc et al., 2003**). Jusqu'à présent, le diabète est une maladie encore mal connue étant donné son étiologie complexe. Le diabète est devenu la 4<sup>ème</sup> ou la 5<sup>ème</sup> cause de mortalité dans la plupart des pays développés selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) et contrairement aux idées reçues, sa progression est fulgurante dans les pays en voie de développement et notamment en Afrique.

### V-2- Définition

Le diabète est un groupe de maladies métaboliques, d'étiologies diverses, caractérisé par une hyperglycémie chronique, accompagnée par une perturbation des métabolismes glucidique, lipidique et protéique, résultant d'un défaut de sécrétion et/ou d'action de l'insuline (**DeFronzo et al., 2015**). Cette hyperglycémie chronique est associée, à des degrés divers, à des complications à long terme, touchant en particulier les yeux, les reins, les nerfs, le cœur et les vaisseaux sanguins (**ADA, 2008 ; Rodier, 2008**).

Il correspond à une hyperglycémie chronique, soit une glycémie à jeun supérieure à 1,26 g/L (7 mmol/L) ou une glycémie supérieure à 2 g/L (11,1 mmol/L) à n'importe quel moment ou lors d'une hyperglycémie provoquée par voie orale (HGPO) à deux reprises (deux heures après le début d'un repas ou après ingestion de glucose orale de 75 g). Cette définition est fondée sur le seuil glycémique à risque de microangiopathie, en particulier à risque de rétinopathie (**Sachon et al., 2004 ; ADA, 2007**).

### V-3- Epidémiologie

Le diabète sucré est un problème de santé majeur présent partout dans le monde. Les études épidémiologiques ont montré qu'il touche indistinctement toutes les populations et toutes les tranches d'âge. À l'échelle mondiale, le nombre de patients diabétiques est en augmentation spectaculaire ces dernières années.

En Afrique sub-saharienne, bien que les données soient insuffisantes, la prévalence et le nombre de cas, estimés respectivement à 4,8 % et 19,1 millions, seront respectivement de 5,7 % et 41,4 millions en 2035, soit une progression de 109 % comparée à celle de 55 % dans le reste du monde (**Diop & Diédhiou, 2015**). Une personne meurt du diabète toutes les 6 secondes dans le monde, soit plus que le SIDA, la tuberculose et la malaria (**IDF, 2015**). À l'heure actuelle, environ 15,5 millions de personnes (20-79 ans) sont atteintes de diabète (3,3 %) ; 40,1 millions d'autres (8,6 %), atteintes d'une intolérance au glucose, présentent un risque élevé de contracter la maladie – un chiffre alarmant qui devrait encore augmenter pour atteindre 102,0 millions d'ici à 2045 (**IDF, 2017**). Le diabète est en progression dans le monde entier et les pays peinent à suivre le rythme selon la Fédération Internationale du Diabète (**IDF, 2017**) (**Figure 19**).

### V-4- Physiopathologie

L'insuline est l'hormone principale de l'homéostasie du glucose. Trois principales anomalies métaboliques conduisent à l'hyperglycémie dans le diabète de type 2 : l'insulinopénie relative, la résistance périphérique à l'action de l'insuline et l'augmentation de la production hépatique de glucose. Chacune de ces altérations est actuellement bien caractérisée. Leur part relative est éminemment variable selon les patients, ce qui met en exergue l'extrême hétérogénéité physiopathologique du diabète de type 2 (**Bastard & Hainque, 1995**). Des anomalies de la sécrétion d'insuline sont observées chez les patients atteints de diabète de type 2, avec une détérioration progressive de la sécrétion d'insuline avec la durée d'évolution de la maladie selon l'**UKPDS (1995)**.

L'insulinorésistance se définit comme un état de diminution de la réponse cellulaire et tissulaire à cette hormone en présence d'une glycémie normale au prix d'une insulïnémie élevée. En effet, tant que la sécrétion  $\beta$  pancréatique est suffisante pour contrer la résistance à l'insuline, la glycémie reste normale ou modérément altérée. Ainsi, le syndrome métabolique se traduit biologiquement soit par une hyper insulïnémie et une altération de la tolérance au glucose, soit une évolution vers un diabète de type 2 lorsque les capacités sécrétoires du pancréas sont dépassées. Cette insulinorésistance concerne en premier lieu le foie, les muscles et les tissus adipeux. De même, la résistance de la cellule  $\beta$  pancréatique entraîne une altération de la sécrétion d'insuline qui précipite l'évolution vers l'hyperglycémie chronique (**Bastard et al., 2001**).

Il existe, de plus, une corrélation étroite entre la production hépatique de glucose et la glycémie à jeun, ce qui indique un rôle primordial du foie dans l'élévation glycémique du réveil. L'augmentation de la production hépatique de glucose correspond principalement à une accélération de la néoglucogenèse (**Broussolle *et al.*, 1990**).

Le diabète de type 2 associé à l'obésité est caractérisé par l'augmentation de la concentration de glucose dans le sang, suite à une dysfonction des cellules  $\beta$ - pancréatiques, une élévation de la production de glucose par le foie (gluconéogenèse et glycogénolyse) et une diminution de la capture de glucose par les tissus périphériques (**Wellen & Hotamisligil, 2005**). Dans les conditions physiologiques normales, les patients qui développent une résistance à l'insuline suite à l'obésité peuvent augmenter la sécrétion d'insuline et maintenir l'homéostasie de glucose pour une longue période, évitant le développement du diabète (**Marchetti *et al.*, 2006**). Au contraire, chez les patients qui subissent une dysfonction des cellules  $\beta$ -pancréatiques, la sécrétion d'insuline devient progressivement trop basse pour répondre à la demande des tissus périphériques (**Prentki & Nolan, 2006**). Par conséquent, la glycémie s'élève, passant de l'état normal à l'intolérance au glucose et éventuellement à la manifestation du diabète (**Chang-Chen *et al.*, 2008**).

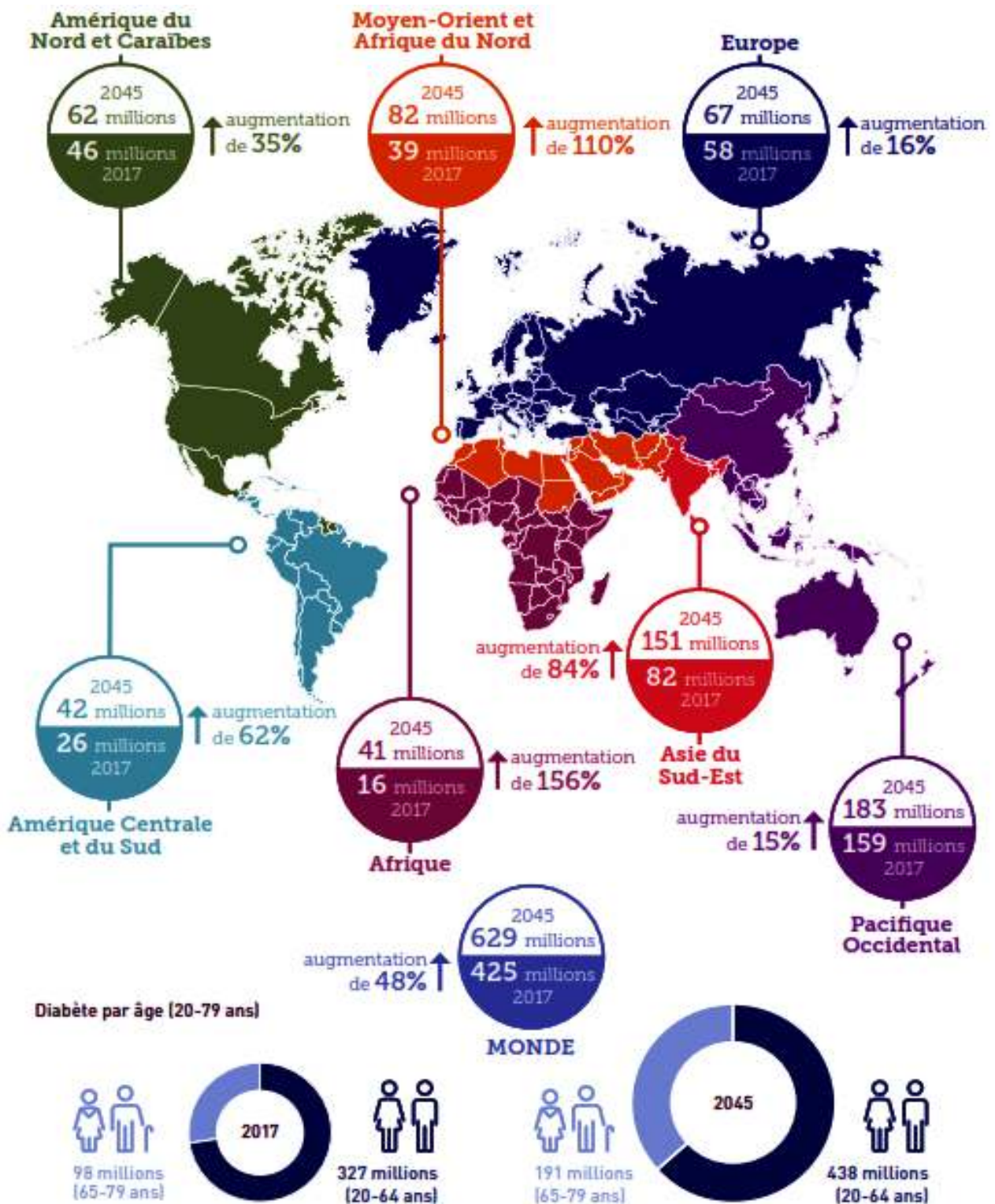
La glucotoxicité et la lipotoxicité sont les deux principaux facteurs acquis causant le dommage des cellules  $\beta$ -pancréatiques (**Chang-Chen *et al.*, 2008**). L'exposition prolongée de ces cellules à une concentration élevée en glucose stimule toutes les voies conduisant à l'augmentation de la production des radicaux libres (les ROS : Reactive oxygen species) et du stress oxydatif via la phosphorylation oxydative, la suractivation de la voie d'hexosamine et l'activation de la PKC (Protéine kinase C) (**Prentki & Nolan, 2006**). En parallèle, l'accumulation des acides gras et de leurs métabolites dans les cellules  $\beta$ -pancréatiques induit l'inhibition de l'expression du gène de l'insuline (**Prentki & Nolan, 2006**). De plus, la glucotoxicité et la lipotoxicité augmentent l'apoptose des cellules  $\beta$ -pancréatiques (**Andreozzi *et al.*, 2004**) (**Figure 20**).

### **V-5- Critères diagnostiques**

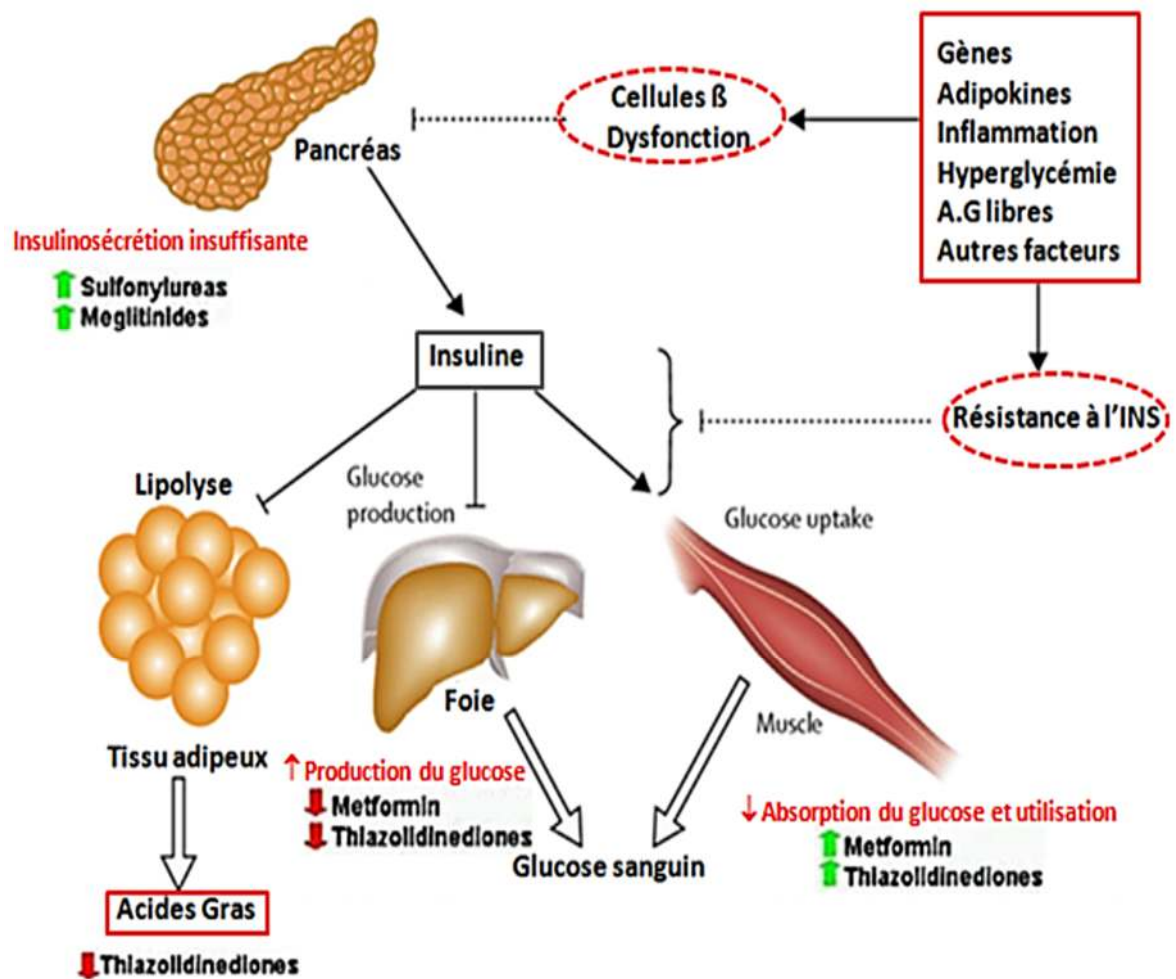
Les critères de diagnostic du diabète ont fait l'objet de débats et de mises à jour au fil des décennies, mais les critères actuels de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) préconisent d'observer l'élévation des taux de glucose dans le sang pour diagnostiquer le diabète (**Tableau II**).

Les valeurs ci-après sont utilisées comme critères diagnostiques : pour le diagnostic du diabète sucré, il faut observer un taux d'hémoglobine glyquée (HbA1c)  $> 6,5$  %, comparable à un taux de glucose plasmatique à jeun  $> 7,0$  mmol/l (1,26 g/L) ou un taux de glucose plasmatique après deux heures d'hyperglycémie provoquée par voie orale (HGPO)  $> 11,1$  mmol/L (2 g/L) ou un taux de glucose plasmatique  $> 11,1$  mmol/L accompagné de symptômes hyperglycémiques (**ADA, 2010**).

Pour le diagnostic de pré-diabète, il faut un taux de HbA1c situé entre 5,7 et 6,4 % ; ce qui correspond à un taux plasmatique de glucose à jeun de 5,6 – 6,9 mmol/L (1-1,26 g/L) ou à un taux de glucose plasmatique après deux heures d'HGPO situé entre 7,8 et 11,1 mmol/L (1,4-2 g/L) (**ADA, 2010**).



**Figure 19** : Nombre de personnes atteintes de diabète au niveau mondial et par région en 2017 et 2045. (Atlas du diabète de la **IDF** (2017) - 8ème Édition)



**Figure 20 :** Physiopathologie du diabète de type 2 (Negrato & Gomes, 2013).

*Le diabète de type 2 touche 4 principaux organes ; Le pancréas, le tissu adipeux, le foie et le muscle. Une dysfonction au niveau des cellules  $\beta$  engendre une sécrétion insuffisante de l'insuline (INS). Une altération au niveau du foie mène à une surproduction du glucose hépatique. Aux niveaux des tissus adipeux, on remarque une activation de la lipolyse menant à un taux anormal des acides gras (A.G). Une anomalie au niveau du muscle conduit à une diminution de l'absorption du glucose et de son utilisation. Tous ces facteurs mènent à une hyperglycémie*

**Tableau II** : Critères de diagnostic du diabète (WHO, 2006 ; ADA, 2017).

<b>Un diabète doit être diagnostiquée si un ou plusieurs des critères suivants sont satisfaits</b>	<b>Une intolérance au glucose (IG) doit être diagnostiquée lorsque les deux critères suivants sont remplis</b>	<b>Une anomalie de la glycémie à jeun (AGJ) doit être diagnostiquée lorsque les deux critères suivants sont satisfaits</b>
Glycémie à jeun $\geq 7,0$ mmol/L (126 mg/dL)	Glycémie à jeun $< 7,0$ mmol/L (126 mg/dL)	Glycémie à jeun 6,1-6,9 mmol/L (110 à 125 mg/ dL)
Glycémie à deux heures après ingestion de glucose orale de 75 g (test oral de tolérance au glucose (HGPO)) $\geq 11,1$ mmol/L (200 mg/dL)	Glycémie à deux heures après ingestion de glucose orale de 75 g de 7,8-11,1 mmol/L (140-200 mg/dL)	Glycémie à deux heures après ingestion de glucose orale de 75 g de $< 7,8$ mmol/L (140 mg/dL)
Glycémie aléatoire $> 11,1$ mmol/L (200 mg/dL) ou HbA1c $\geq 48$ mmol/mol (équivalent à 6,5 %)		

## **V-6- Classification**

La classification du diabète a longuement été revue et révisée depuis sa première classification en 1979 (**Spinas & Lehmann, 2001**). Finalement, l'Association Américaine du Diabète (ADA) a proposé de nouveaux critères de diagnostic ainsi qu'une nouvelle classification selon laquelle il faut distinguer les diabètes primaires et les diabètes secondaires (**ADA, 1997**).

### **V-6-1- Diabètes primaires**

Les diabètes primaires sont classés en 3 types : le diabète de type 1 (environ 5 à 10 % de la population diabétique), le diabète de type 2 (90 à 95 %) et le diabète gestationnel.

#### ***V-6-1-1- Diabète de type 1 ou diabète insulino-dépendant (DID)***

Le diabète de type 1, autrement appelé diabète insulino-dépendant ou diabète juvénile, est une maladie majoritairement auto-immune (90 % des cas). Il est le résultat de la destruction des cellules  $\beta$  des îlots de Langerhans du pancréas. Dans des cas rares, ce type de diabète est considéré comme étant idiopathique, où les causes restent encore inconnues. La destruction des cellules  $\beta$  conduit à une carence quasi complète de l'insuline et par conséquent, une élévation de la glycémie sanguine. Lorsque cette hyperglycémie se manifeste cliniquement, près de 80 % des cellules  $\beta$  sont ravagées. C'est une maladie silencieuse qui débute souvent vers le jeune âge (enfance ou adolescence) et se manifeste la plupart du temps vers la vingtaine. Elle est diagnostiquée par une glycémie élevée ainsi que par la présence d'auto-anticorps (contre les îlots pancréatiques et contre l'insuline) dans la circulation sanguine (**Spinas & Lehmann, 2001**).

Les personnes atteintes de cette forme de diabète ont besoin d'insuline chaque jour afin de maintenir leur glycémie sous contrôle. Sans insuline, les personnes atteintes de diabète de type 1 ne peuvent survivre. En général, le diabète de type 1 apparaît de manière soudaine et se traduit par des symptômes tels que la soif excessive et la bouche sèche, les mictions fréquentes, le manque d'énergie, la fatigue extrême, la faim constante, la perte de poids soudaine, la cicatrisation lente des plaies, les infections récurrentes, la vision trouble, etc.

Les personnes atteintes de diabète de type 1 peuvent mener une vie saine et normale grâce à la combinaison d'une insulinothérapie quotidienne, d'une surveillance étroite, d'une alimentation saine et de la pratique régulière d'une activité physique. Le nombre de personnes atteintes de diabète de type 1 est en augmentation. Les raisons de cette hausse ne sont pas encore connues avec certitude mais des modifications des facteurs de risque environnementaux, des événements survenant aux



premiers stades de la grossesse, l'alimentation au début de la vie et des infections virales pourraient jouer un rôle (You & Henneberg, 2016).

#### ***V-6-1-2- Diabète de type 2 ou diabète non insulino-dépendant (DNID)***

Le diabète de type 2 est la forme la plus courante de la maladie et représente environ 90 % de tous les cas (Evans *et al.*, 2000 ; Holman *et al.*, 2015). Il touche généralement les adultes plus âgés, mais est de plus en plus souvent observé chez des enfants, des adolescents et des adultes (Beers *et al.*, 2006). Chez les personnes atteintes de diabète de type 2, l'organisme est capable de produire de l'insuline, mais soit la quantité produite est insuffisante, soit l'organisme ne réagit pas à l'action de l'insuline, ce qui entraîne une accumulation de glucose dans le sang. De nombreuses personnes atteintes de diabète de type 2 en sont longtemps inconscientes car plusieurs années peuvent s'écouler avant que les symptômes apparaissent ou soient reconnus. Pendant ce temps, l'excès de glucose dans le sang provoque des dommages à l'organisme. Le diagnostic n'est souvent posé que lorsque des complications du diabète se sont déjà développées (cf. Complications du diabète).

Bien que les raisons de l'apparition du diabète de type 2 soient encore inconnues, il existe plusieurs facteurs de risque importants, entre autres l'obésité, une alimentation peu équilibrée, l'inactivité physique, un âge avancé, des antécédents familiaux de diabète impliquant des éléments génétiques (Vazquez *et al.*, 2007 ; Forouzanfar *et al.*, 2015). En effet, l'hérédité augmente d'environ 2 à 4 fois le risque de contracter ce type de diabète, si un des parents en a souffert (Stumvoll *et al.*, 2005), l'ethnie, une glycémie élevée pendant la grossesse qui affecte l'enfant à la naissance, etc.

Contrairement aux personnes atteintes de diabète de type 1, la majorité des personnes atteintes de diabète de type 2 n'ont pas besoin de doses quotidiennes d'insuline pour survivre. De nombreuses personnes parviennent à gérer leur maladie grâce à une alimentation saine et à davantage d'activité physique ou à des médicaments pris par voie orale. De l'insuline peut toutefois leur être prescrite si elles ne parviennent pas à réguler leur glycémie. Le nombre de personnes atteintes de diabète de type 2 augmente rapidement à travers le monde. Cet accroissement est associé au développement économique, au vieillissement des populations, à l'urbanisation galopante, à des changements d'alimentation, à une diminution de l'activité physique et à d'autres modifications du mode de vie (ASPC, 2011).

#### ***V-6-1-3- Diabète gestationnel***

Les femmes qui développent une résistance à l'insuline et, par conséquent, une glycémie élevée pendant leur grossesse sont atteintes de diabète gestationnel (Guariguata *et al.*, 2014). Le diabète

gestationnel apparaît généralement à un stade plus avancé de la grossesse, souvent vers le 2<sup>ème</sup> ou 3<sup>ème</sup> trimestre. Ce trouble survient parce que l'action de l'insuline est inhibée, probablement par les hormones de croissance et placentaires ; ce qui provoquerait une insensibilité à l'insuline (également appelée insulino-résistance). Comme le diabète gestationnel apparaît généralement plus tard au cours de la grossesse, le fœtus est déjà bien formé, même si son développement n'est pas terminé (**Hunt & Schuller, 2007 ; ASPC, 2011**). Le risque immédiat pour le bébé n'est donc pas aussi important que pour les enfants dont la mère était atteinte de diabète de type 1 ou de type 2 avant la grossesse. Néanmoins, un diabète gestationnel non maîtrisé peut avoir des conséquences graves à la fois pour la mère et le bébé (**Hunt & Schuller, 2007 ; Ali & Dornhorst, 2011 ; Negrato & Gomes, 2013**).

### **V-6-2- Diabètes secondaires**

Les autres types de diabètes sont souvent appelés diabètes spécifiques, puisqu'ils sont liés à une cause bien définie. Ces causes peuvent être de nature génétique, comme le diabète MODY (Maturity Onset Diabetes of the Young), et affecter la fonction des cellules  $\beta$ . Il est aussi appelé diabète monogénique et est responsable d'environ 1 à 5 % de tous les cas de diabète (**Slingerland, 2006 ; Fendler *et al.*, 2012**). Le diabète secondaire peut aussi découler de l'évolution d'une autre maladie, telles que les maladies endocrines (Syndrome de Cushing ou acromégalie, hyperthyroïdie), les maladies du pancréas (pancréatite, cancer du pancréas) et les maladies du foie (cirrhose, hépatite C). Certains médicaments comme les corticoïdes peuvent aussi induire ce type de diabète.

### **V-6-3- Complications liées au diabète.**

#### ***V-6-3-1- Complications aiguës***

##### ***V-6-3-1-1- Hyperglycémie***

Elle est caractérisée par une augmentation importante du glucose dans le sang et se traduit par un dessèchement de la bouche, une soif extrême, un besoin fréquent d'uriner (polyurie), une somnolence accrue, des nausées et vomissements, associés à une perte de poids. Ces symptômes ont des origines métaboliques. En effet, la destruction des cellules  $\beta$  dans le diabète de type 1 et 2 diminue ou inhibe la production d'insuline et il en résulte une non pénétration du glucose dans les cellules et par conséquent une hyperglycémie. De plus, celle-ci s'accompagne d'une production hépatique de glucose par processus de néoglucogenèse et de glycogénolyse. Malgré la présence de glucose, les cellules doivent trouver un autre substrat biologique pour produire de l'énergie. Elles vont alors utiliser les acides gras et les acides aminés. Ces derniers vont subir des réactions de désamination et de transamination pour pouvoir entrer dans le cycle de Krebs. En parallèle, les acides gras libres subissent le cycle de la  $\beta$ -oxydation pour aller dans le cycle de Krebs. Cependant, lors de la  $\beta$ -

oxydation, il y a formation de corps cétoniques toxiques (acétone,  $\beta$ -hydroxypyruvate et acétoacétate) qui se comportent comme des acides dans le sang et diminuent considérablement le pH sanguin ; c'est l'acidocétose. Si celle-ci n'est pas rapidement traitée, elle peut provoquer une hypotension, une altération de la fonction myocardique, une vasodilatation cérébrale et un coma, parfois mortel.

De plus, l'hyperglycémie a pour conséquence la non réabsorption du glucose par le tubule rénal, ce qui entraîne une glycosurie. Elle induit également une hyper-osmolarité extracellulaire, provoquant le passage de l'eau et du potassium de la cellule vers le compartiment extracellulaire. Les signes spécifiques de cette fuite hydrique sont la polyurie et la polydipsie. Si cette déshydratation n'est pas soignée, elle peut engendrer un coma hyperosmolaire (**Godoy-Matos, 2014**).

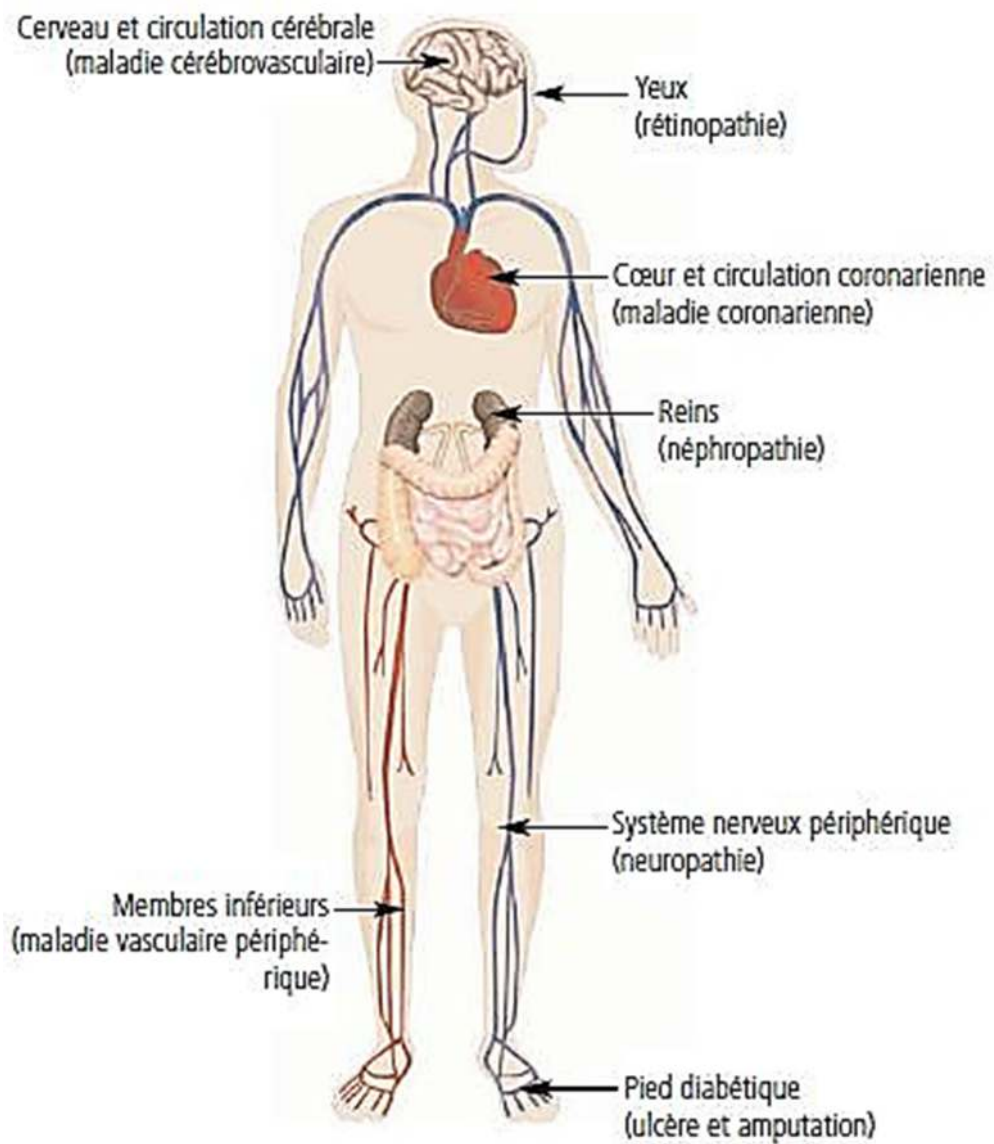
#### *V-6-3-1-2- Hypoglycémie*

Les symptômes qui caractérisent l'hypoglycémie sont une faim insatiable, des tremblements et étourdissements, des troubles visuels associés à des maux de tête et à des changements de caractères, ainsi qu'une transpiration importante et une fatigue extrême. Elle peut survenir en cas d'inadéquation du traitement chez le patient diabétique de type 1 ou si le diabète est très fortement instable. En effet, si les doses d'insuline sont trop fortes par rapport aux besoins (efforts physiques ou alimentation), la glycémie passe sous le seuil de 0,8 g/L. Lorsque les symptômes apparaissent, il faut rapidement ingérer des glucides ayant un index glycémique élevé (haut pouvoir sucrant) comme le sucre ou la confiture. Si l'hypoglycémie apparaît pendant la période d'action d'une insuline rapide, il est recommandé d'ingérer des glucides ayant au contraire un index glycémique plus faible comme les fruits ou le pain pour remonter la glycémie. Parfois, il peut se produire des hypoglycémies sévères pouvant entraîner des pertes de connaissance. Le recours à des injections intraveineuses de glucose ou de glucagon est indispensable pour rétablir la glycémie (**Smilek et al., 2014**).

#### *V-6-3-2- Complications chroniques*

Les complications chroniques du diabète représentent aujourd'hui les causes essentielles de morbidité et de mortalité chez le patient diabétique. L'hyperglycémie à long terme aboutit à des lésions au niveau des vaisseaux à l'origine de graves complications cardiovasculaires (**Eeg-Olofsson et al., 2010**). Le risque de maladies cardiovasculaires est de 2 à 3 fois plus élevé chez les diabétiques que dans l'ensemble de la population (**IDF, 2016**). Les lésions concernant les petits vaisseaux sont appelées microangiopathies. Elles touchent essentiellement le rein (**Berbel et al., 2011**), l'œil (**Hammes et al., 2011**), et certains nerfs périphériques. A l'inverse, les atteintes des vaisseaux plus gros ou vaisseaux de conductance sont les macroangiopathies. Elles peuvent entraîner des accidents

vasculaires cérébraux (AVC) (**Davis & Davis, 2010**) et des infarctus du myocarde (**Kautzky-Willer et al., 2013**). Ces complications cardiovasculaires peuvent aller jusqu'à des comas (**Figure 21**).



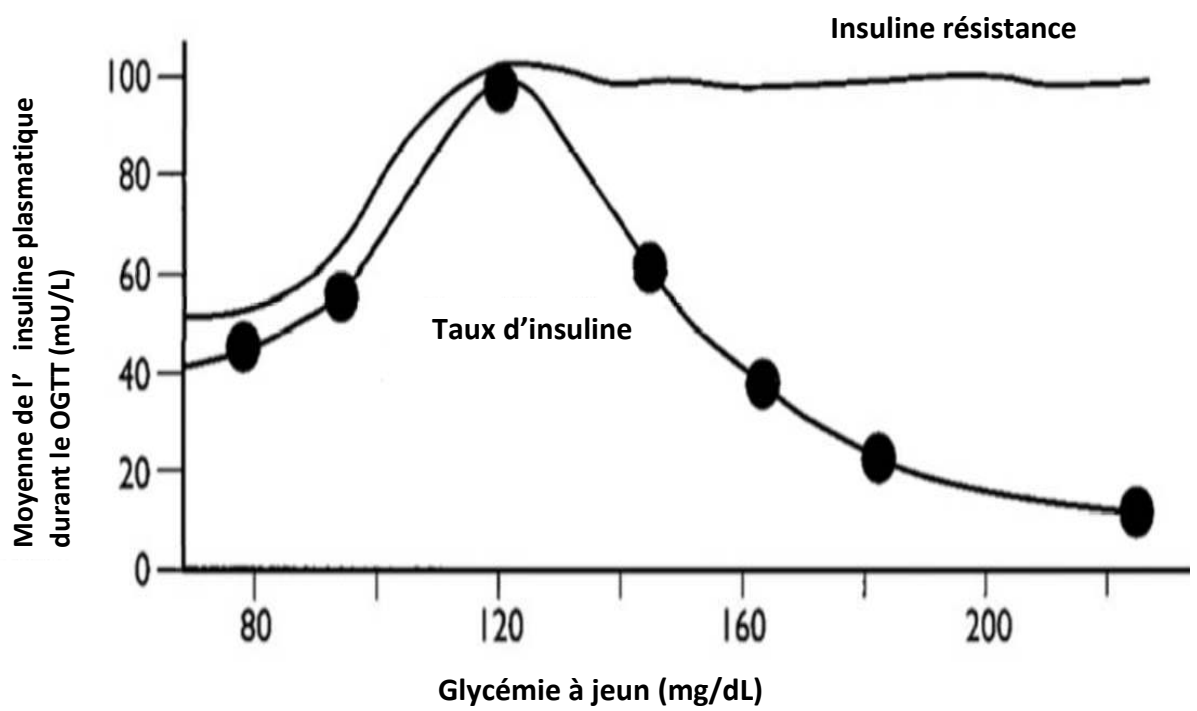
**Figure 21** : Complications cardiovasculaires liées au diabète  
(Jellinger, 2007)

### *V-6-3-3- Dysfonction des cellules $\beta$ pancréatiques*

Les anomalies de la sécrétion de l'insuline sont un dénominateur commun de toutes les formes du diabète. Le dysfonctionnement des cellules  $\beta$  pancréatiques apparaissent au tout début de la maladie, aux stades modérés de l'hyperglycémie à jeun et de l'intolérance au glucose.

On remarque chez les diabétiques une relation entre la sécrétion de l'insuline et la glycémie à jeun, formant une courbe appelée « courbe de Starling » (**Figure 22**). Cette courbe en forme de cloche représente l'insulinémie (en ordonnées) et la glycémie à jeun (en abscisse). L'insulinémie augmente en fonction de la glycémie jusqu'à l'atteinte du seuil limite fixé à 7,2 mM (1,30 g/L), où l'insulinosécrétion diminue avec l'ascension de la glycémie (**Pégorier & Girard, 2004**). Ce seuil de transition représente l'incapacité des cellules  $\beta$  pancréatiques à libérer les granules d'insuline et à s'adapter à cette hyperglycémie. Ceci marque le début du diabète de type 2.

Il est à noter que la sécrétion basale de l'insuline chez les individus sains s'effectue selon un mode pulsatile (**Guillausseau & Laloi-Michelin, 2003**) avec des oscillations plus ou moins amples. Cette sécrétion pulsatile s'avère être beaucoup plus faible chez les diabétiques après ingestion d'un repas. Il y a alors perte du rythme oscillatoire rapide de la sécrétion de l'insuline.



**Figure 22** : Courbe de Starling du pancréas pour la sécrétion d'insuline  
 [adapté et modifié de *Stumvoll et al. (2005)*]

## V-6-4- Traitements du diabète

Les traitements du diabète sont de deux types, les non médicamenteux (traitement hygiéno-diététiques) et les médicamenteux (antidiabétiques oraux (ADO) et insulinothérapie). La recherche d'un équilibre glycémique optimal avec un taux de l'hémoglobine glyquée (HbA1c) < 6,5 % repose sur les résultats de l'étude prospective britannique du diabète de type 2. Cette étude a montré que la réduction de l'hyperglycémie chronique, attestée par le dosage de l'HbA1c, permettait une diminution des complications, principalement microvasculaires et nerveuses, mais aussi cardiovasculaires (UKPDS, 1998).

### V-6-4-1- Traitements non médicamenteux

La réduction pondérale et la pratique régulière de l'activité physique (adaptée et contrôlée) ont un effet favorable sur le contrôle de la glycémie, ce dernier ayant un effet favorable sur l'insulinorésistance. Des mesures hygiéno-diététiques doivent être mises en œuvre dès que l'HbA1c est supérieure à 6. Une alimentation équilibrée est conseillée, avec une diminution des apports en graisses saturées, des sucres et de l'alcool. Une activité physique adaptée aux possibilités de chaque patient est recommandée chez le diabétique de type 2 (DT2) car elle contribue à une amélioration de la situation métabolique (insulinosensibilité, niveau glycémique, pression artérielle, profil lipidique etc...) et pourrait être utile pour le contrôle du poids (ANAES, 2000).

### V-6-4-2- Traitements médicamenteux

#### V-6-4-2-1- Antidiabétiques oraux (ADO)

En général, les ADO sont prescrits après un échec des règles hygiéno-diététiques durant 3 à 6 mois. Il existe 5 classes d'ADO, le traitement étant adapté à chaque patient diabétique :

- Les biguanides (*metformine*) : ils réduisent l'insulinorésistance en favorisant l'action de l'insuline sur les tissus-cibles, en inhibant la néoglucogenèse hépatique et en diminuant l'absorption intestinale de glucose. Ils sont indiqués chez des patients en surcharge pondérale et sont préconisés chez des patients sans surcharge pondérale ou en association avec un autre ADO.
- Les sulfamides hypoglycémisants (*carbutamide, glipizide, glibenclamide, gliclazide, glibornuride, glimépiride*) : ils stimulent la sécrétion d'insuline.
- Les glitazones (*pioglitazone et rosiglitazone*) : ce sont des molécules qui améliorent la sensibilité à l'insuline et la fonction  $\beta$  cellulaire, en diminuant l'insulino-résistance par action sur les récepteurs PPAR $\gamma$ .



➤ Les inhibiteurs des alpha-glucosidases (*acarbose, miglitol*) : ralentissent l'absorption digestive des glucides complexes.

➤ Les glinides (*répaglinide*) : ce sont des insulino-sécréteurs qui stimulent le pic précoce d'insulino-sécrétion.

Les ADO sont administrés majoritairement à des patients diabétiques de type 2, mais certains ADO sont administrés chez des patients diabétiques de type 1, comme les biguanides et les inhibiteurs des alpha-glucosidase, pour retarder l'absorption des glucides par l'intestin.

#### *V-6-4-2-2- Nouvelles classes d'antidiabétiques*

De nouveaux agents antidiabétiques mettent à profit des systèmes de régulation non exploités jusqu'ici dans le traitement du diabète : le système des incrétones et celui des endocannabinoïdes (**Archambeaud, 2008**).

##### ***a- Les incrétones :***

Elles présentent de réels intérêts comme alternative au traitement du DT2. Les incrétones sont des hormones peptidiques secrétées par la muqueuse digestive lors du passage du bol alimentaire. Ces incrétones libérées, en particulier le Glucose-dépendant Insulinotropic Polypeptide (GIP) et le Glucagon-Like Peptide-1 (GLP-1), passent dans le sang et induisent une augmentation de la sécrétion d'insuline par les cellules  $\beta$  du pancréas ; le GLP-1 étant le plus puissant stimulant de la sécrétion d'insuline. Par ailleurs, les incrétones sont détruites rapidement, en quelques minutes, par les enzymes peptidiques, en particulier la plus importante, la Dipeptidyl Peptidase-4 (DPP-4). Chez les diabétiques de type 2, la diminution de l'effet de l'insuline produite par les incrétones est due à une diminution de la capacité sécrétoire de la muqueuse digestive des hormones peptidiques, en particulier les deux principales, le GIP et le GLP-1. Pour pallier cette carence de l'effet des incrétones, deux solutions sont à l'heure actuelle proposées. Il peut être administré :

➤ soit un inhibiteur de l'enzyme détruisant les incrétones physiologiques ; ce sont des inhibiteurs de la DPP-4 (siagliptine, Januvia R, 100 mg par voie orale) ;

➤ soit un incrétinomimétique synthétique (analogues des incrétones), agoniste des récepteurs GLP-1, résistant à l'action de la DPP-4, analogue du GLP-1 physiologique (exenatide, Byetta R, stylo prérempli de 5 et 10  $\mu$ g en solution injectable sous cutanée) (**Tan & Pillon, 2009**)

##### ***b- Les endocannabinoïdes :***

L'inhibition du récepteur CB1 des endocannabinoïdes endogènes améliore la sensibilité à l'insuline, abaisse la glycémie et ralentit l'athérosclérose (**De-Miguel-Yanes et al., 2011**)

#### *V-6-4-2-3- Insulinothérapie*

En cas d'échec du traitement antidiabétique oral chez le DT2, il apparaît nécessaire d'instaurer l'insulinothérapie précocement pour préserver le capital insulinosécrétoire résiduel (**Bosquet & Hartemann-Heurtier, 2004**).

Il est recommandé actuellement d'utiliser des associations d'insuline et d'ADO dont les mécanismes d'action diffèrent afin d'obtenir un équilibre glycémique dans des conditions de sécurité maximale (**Halimi, 2005**). L'insulinothérapie définitive devient bien évidemment nécessaire en cas de contre-indication à la poursuite des ADO (insuffisance rénale, hépatique...) (**Bosquet & Hartemann-Heurtier, 2004**).

La régulation de la glycémie chez le patient diabétique doit être fine et permettre le retour à une homéostasie glycémique. Malgré tous les médicaments, traitements et mesures hygiéno-diététiques qui ont été présentés dans ce chapitre, il reste difficile de réguler le taux de glucose dans le sang chez ces patients.



*MATÉRIEL  
ET  
MÉTHODES*

## I- Matériel

### I-1- Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé est constitué des fruits secs de *Bauhinia thonningii* (Fabaceae) (**Figure 1-C**). Ces fruits non comestibles ont été achetés à l'avenue de la Mé non loin du forum des marchés à Adjamé et sélectionnés après une enquête ethnobotanique. La plante collectée sur le site de vente a été identifiée au Centre National de Floristique à l'Université Felix Houphouët-Boigny de Cocody à l'aide de la flore analytique. Elle a été séchée à l'ombre, environ 25 °C, pendant un mois et a été ensuite pulvérisée à l'aide d'un broyeur de type Vorwerk Thermomix 3000. Les poudres obtenues ont été soumises à une extraction aqueuse.

### I-2- Matériel animal

Le matériel animal est constitué exclusivement des rats albinos (*Rattus norvegicus*) de souche *Wistar*. Ils ont été fournis par l'animalerie de la Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de l'Université Félix Houphouët-Boigny. Ces rats étaient âgés de 8 à 14 semaines selon le test biologique à effectuer, avec des poids compris entre 95 et 250 g. Ils ont été mis en cage et acclimatés durant deux semaines à l'animalerie de l'Ecole Normale Supérieure (ENS) d'Abidjan Cocody. Dans ces locaux, ces animaux ont été nourris avec un régime standard de rongeurs (mélange d'aliments composés de pains de blé, d'arachides, de maïs, de poudre de soja et de poissons secs) et ont eu un accès libre à l'eau (eau de robinet).

### I-3- Matériel chimique

Plusieurs réactifs et produits chimiques ont été utilisés pour mener cette étude. Il s'est agi de : l'alpha-amylase d'*Aspergillus oryzae*, l'amyloglucosidase d'*Aspergillus niger* et le para-nitrophenyl- $\alpha$ -D glucopyranoside (PNP-G) fournis par Sigma Aldrich Chemical Co. (St. Louis, USA) ; le carbonate de sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) (Société Chimique de France, France) ou Tris/mes utilisé comme tampon ; le phosphate de sodium-dihydrogène (Langfang Huinuo Fine Chemical Co., Ltd., Chine) pour l'arrêt de la réaction enzymatique ; l'amidon soluble de 1 % (tamponné au phosphate de 100 millimètres ; pH 6,8) comme substrat ; le chlorure de sodium (NaCl) ; l'acide 3,5-dinitrosalicylique (DNS) ; la soude (NaOH) ; le tartrate double de sodium et de potassium ; le glucose anhydre pour la préparation de la solution mère de glucose de concentration 1 mg/mL (Chengdu Zhongcheng Chemical Co., Ltd., Chine) ; le phénol 5 % ; l'acide sulfurique concentré ; l'acarbose à différentes concentrations (0,1 – 0,5 mg/mL) a été utilisé comme l'inhibiteur de référence ; l'eau salée isotonique 0,9 % ; l'eau distillée.

#### **I-4- Petit matériel de laboratoire**

Le petit matériel de laboratoire est constitué comme suit : la plaque de 96 puits comme support de milieu réactionnel ; le pH-mètre ; les tubes rouges (tubes secs), violet (contenant l'acide éthylène diamine tétra-acétique (EDTA)) et gris (contenant le fluorure de potassium + EDTA) pour les prélèvements sanguins ; l'amidon soluble (le supplément pur) ; Les cassettes COBAS C311 destinées à la mesure des paramètres biochimiques (F. Hoffmann-La Roche Ltd, Suisse).

#### **I-5- Appareillage**

L'appareillage a été constitué d'un appareil Accu-Check (Roche, USA) pour le dosage de la glycémie caudale (**Annexe 3**) ; d'un spectrophotomètre pour la lecture de la DO à 540 et 490 nm de marque Spectrumlab 23A (Guangdong, China) ; d'un lecteur de plaque Elisa de marque Gentaur (96 puits) (**Annexe 5**) ; d'un évaporateur rotatif de marque Heidolph (Allemagne) ; de 2 appareils pour le dosage des paramètres biochimiques Analyzer Hitachi 902<sup>®</sup> (USA) et COBAS C311 (Suisse) ; de 2 appareils pour le dosage des paramètres hématologiques SYSMEX XN-1000 (Japon) et Myndray BC-3000 (USA) et d'une centrifugeuse Centrifuge B 4i (USA).

## II- Méthodes

### II-1- Préparation de l'extrait aqueux, tests phytochimiques et dosage des sucres

#### II-1-1- Préparation de l'extrait aqueux des fruits de *Bauhinia thonningii*

##### II-1-1-1- Extraction

L'extrait aqueux des fruits de *Bauhinia thonningii* a été préparé en suivant la méthode préconisée en médecine traditionnelle (décoction) (Konkon *et al.*, 2006). Pour cette étude expérimentale, la méthode a été adaptée aux réalités de laboratoire.

Un échantillon de la matière végétale a été finement pulvérisé dans un blender (Thermomix 3000, VORWERK®). Cent (100) g de la poudre de fruits obtenue ont été délayés dans 2 litres d'eau distillée contenue dans un récipient adapté (marmite métallique). Le tout a été porté à ébullition pendant 30 min à l'aide d'un réchaud électrique. Après refroidissement, l'homogénat obtenu a été filtré une fois sur un carré de tissu blanc et plusieurs fois sur du coton hydrophile. Le filtrat obtenu a été recueilli dans des cristalloirs et séché à l'étuve de type VENTICELLE pour séchage à 50°C pendant 48 heures. La poudre sèche de couleur marron obtenue constitue l'extrait aqueux des fruits de *Bauhinia thonningii* (EABt). Cette opération a été reprise plusieurs fois pour avoir la quantité d'extrait nécessaire pour les différents tests (Figure 23).

##### II-1-1-2- Calcul du rendement

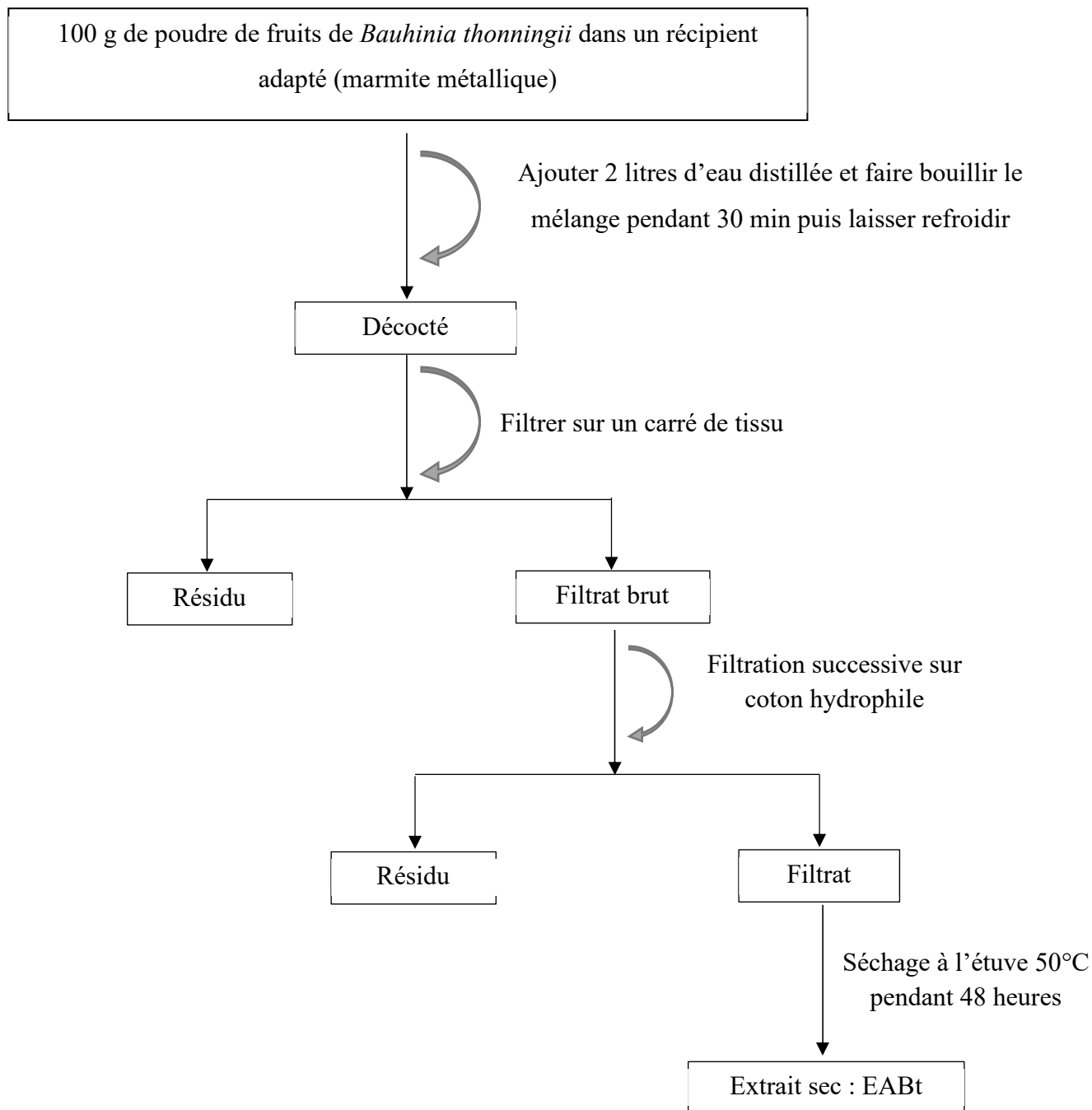
Le rendement de l'extraction aqueuse des fruits de *Bauhinia thonningii* (EABt) est donné par la formule suivante le même :

$$\mathbf{R (\%) = M / M_0 \times 100} \quad (1)$$

**(R)** : Rendement exprimé en %.

**M** : Masse en gramme de l'extrait sec obtenu

**M<sub>0</sub>** : Masse en gramme du matériel végétal à traiter



**Figure 23** : Diagramme d'obtention de l'extrait total aqueux des fruits de *Bauhinia thonningii* (EABt) par la méthode traditionnelle typique (décoction)

## **II-1-2- Tests phytochimiques de l'extrait aqueux**

L'extrait préparé a fait l'objet de tests phytochimiques selon les méthodes décrites par **Bekro et al. (2007)** afin de détecter la présence ou l'absence de certaines familles de métabolites secondaires. Pour cela, des tests de caractérisation des différents groupes de composés ont été effectués sur l'extrait obtenu :

### ***II-1-2-1- Recherche des tanins***

Deux (2) à trois (3) gouttes de  $\text{FeCl}_3$  2 % ont été ajoutées à 2 mL de chaque extrait total à 27 mg/mL. Il apparaît au bout de quelques minutes une coloration verdâtre qui indique la présence des tanins catéchiques ou bleu-noirâtre qui révèle l'existence des tanins galliques (**Bruneton, 1999**).

### ***II-1-2-2- Recherche des saponosides***

La détection des saponosides est réalisée en ajoutant un peu d'eau à 2 ml de l'extrait aqueux, puis la solution est fortement agitée. Ensuite, le mélange est laissé reposer pendant 20 minutes et la teneur en saponosides est évaluée (**Trease & Evans, 1987**) :

- pas de mousse = test négatif.
- mousse moins de 1 cm = test faiblement positif.
- mousse de 1-2 cm = test positif.
- mousse plus de 2 cm = test très positif.

### ***II-1-2-3- Recherche des flavonoïdes***

À 5 mL de chaque extrait, sont ajoutées 1 ml d'HCl concentré et 0,5 g de tournures de magnésium. La présence des flavonoïdes est mise en évidence si une couleur rose ou rouge se développe après 3 minutes (**Paris & Moyse, 1969**).

### ***II-1-2-4- Recherche des alcaloïdes***

On ajoute 5 mL d'HCL (1 %) à 1 mL de chaque extrait, le tout est chauffé au bain-marie, puis divisé en deux volumes égaux. Un volume est traité par le réactif de Mayer, l'autre par le réactif de Wagner.

La formation d'un précipité blanc ou brun révèle la présence des alcaloïdes.

Les réactifs de Mayer et de Wagner sont préparés comme suit :



- Réactif de Mayer : Dissoudre 1,358 g d' $\text{HgCl}_2$  dans 60 ml d'eau distillée, puis 5 g de KI dans 10 ml d'eau distillée. Mélanger les deux solutions et ajuster le volume total à 100 ml.
- Réactif de Wagner : Dans 75 ml d'eau distillée, dissoudre 2 g de KI et 1,27 g de  $\text{I}_2$ . Le volume obtenu est ajusté à 100 ml avec l'eau distillée (Bruneton, 1999 ; Kambouche *et al.*, 2009 ; N'guessan *et al.*, 2009).

#### ***II-1-2-5- Recherche d'antraquinones***

Un (1) gramme d'extrait est bouilli, pendant 10 minutes en présence de 10 mL de KOH 0,5 N et 1mL de  $\text{H}_2\text{O}_2$  5 %. Après refroidissement, le mélange a été filtré et acidifié à l'aide de l'acide acétique. Après une extraction dans 10 mL de benzène, l'extrait benzénique a été agité dans 5 mL de NaOH 10 %. La coloration rouge obtenue au niveau de la couche alcaline est caractéristique de la présence des antraquinones (Bruneton, 1999 ; Oloyede, 2005)

#### ***II-1-2-6- Recherche des quinones libres***

Sur un volume de l'extrait, quelques gouttes de NaOH à 1 % sont ajoutées. L'apparition d'une couleur qui vire au jaune, rouge ou violet indique la présence des quinones libres (Oloyede, 2005).

#### ***II-1-2-7- Recherche des glycosides cardiaques***

Leur extraction s'est faite selon le test de Keller-killini : 0,4 N d'acide acétique est mélangé à quelques gouttes de  $\text{FeCl}_3$  et 0,5 mL d'acide sulfurique concentré. En cas de réaction positive, il apparaît une coloration bleue (Oloyede, 2005 ; Mathieu *et al.*, 2014).

#### ***II-1-2-8- Recherche des stérols et triterpènes***

Une quantité de 0,5 g d'extrait est dissoute dans 0,5 mL de chloroforme. Un volume de 0,5 mL d'anhydride acétique et quelques gouttes d'acide sulfurique fumant ( $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentré) y sont ajoutés. Un changement de coloration de violet à bleu est caractéristique des stérols ou des triterpènes lorsque ce changement se fait du violet au vert (Bruneton, 1999 ; Edeoga *et al.*, 2005).

#### ***II-1-2-9- Recherche des coumarines***

Quelques milligrammes de l'extrait sont solubilisés dans 2 mL d'eau chaude. La solution obtenue est divisée en deux parties égales :

- la première représente un témoin ;
- la seconde est traitée avec 0,5 mL de NH<sub>4</sub>OH à 10 %.

L'examen est réalisé sous la lumière ultraviolette et l'apparition d'une fluorescence intense révèle la présence de coumarines (**Hocine, 2000**).

### **II-1-3- Dosage des sucres**

#### ***II-1-3-1- Dosage des sucres réducteurs***

La teneur en sucres réducteurs est déterminée selon la méthode au DNS telle que décrite par **Bernfeld (1955)**.

Un volume de 100 µL d'EABt est prélevé et complété avec 100 µL d'eau distillée contenue dans un tube à essai. Puis, 200 µL d'acide 3, 5 dinitrosalicylique (DNS) y sont ajoutés. Le mélange est porté au bain-marie bouillant pendant 5 min. Après refroidissement, la lecture de la densité optique (DO) se fait au spectrophotomètre à la longueur d'onde de 540 nm. Le blanc sans sucres hydrosolubles a été traité dans les mêmes conditions que les essais.

Le dosage des sucres réducteurs est fait sur la base d'une gamme-étalon (**Annexe 1b**) établie à partir d'une solution mère de glucose de 1 mg/mL. La quantité de sucres réducteurs contenue dans les échantillons d'extrait a été déterminée à partir de l'équation de la droite de régression établie à l'aide de la gamme étalon.

#### ***II-1-3-2- Dosage des sucres totaux***

La teneur en sucres totaux est déterminée selon la méthode au phénol-sulfurique telle que décrite par **Dubois et al. (1956)**

Le principe repose sur l'hydrolyse des liaisons glycosidiques des carbohydrates en milieu acide et à chaud ainsi que la déshydratation intramoléculaire des oses simples libérés qui forment alors des dérivés furfuraux. La fonction aldéhyde des dérivés furfuraux se condense ainsi en milieu acide avec l'hydroxyle d'un composé phénolique pour donner des acétals ou héli-acétals de couleur rougeâtre qui absorbent dans le visible (490 nm).

Un volume de 100 µL d'AEBt est prélevé dans un tube à essai. A ce volume, 200 µL de phénol 5 % et 1 mL d'acide sulfurique concentré sont ajoutés successivement. Après refroidissement, la densité optique est lue au spectrophotomètre à 490 nm contre un blanc sans extrait hydrosoluble de sucres préparé dans les mêmes conditions que les essais.

Une gamme étalon (**Annexe 1a**) est préparée à partir d'une solution mère de glucose de concentration 1 mg/mL, dans les mêmes conditions que l'échantillon afin de déterminer la quantité de sucres totaux contenue dans chaque extrait.

## **II-2- Etude de la toxicité aiguë**

### **II-2-1- Animaux et condition d'hébergement**

Les animaux utilisés pour cette étude sont des rats de sexe femelle, de souche *Wistar*, âgés de 8 à 9 semaines dont le poids varie entre 95 et 130 g. Dès leur réception, les rats sont repartis en groupes dans des cages standard pour une période d'acclimatation (2 semaines) avant d'être utilisés dans les différentes expériences. Pendant cette période, les animaux ont un accès à la nourriture (croquettes provenant de la société de production des animaux) et à l'eau. Ils sont maintenus dans une animalerie à température de  $25 \pm 3$  °C, soumis à un cycle de lumière/obscurité de 12/12h.

La voie d'administration utilisée pendant toute l'expérimentation est la voie orale (gavage) (**Annexe 4**).

### **II-2-2- Etude de la toxicité aiguë de l'EABt**

C'est une analyse quantitative et qualitative de l'altération irréversible des fonctions vitales après administration unique d'une substance dans un délai de quelques minutes à quelques jours (2 semaines). C'est le premier test qu'un toxicologiste effectue sur un nouveau composé destiné à être utilisé comme médicament (**Ruckebush, 1981**).

#### ***Principe***

Cette étude toxicologique a été réalisée selon la ligne directrice 423 de l'Organisation de Coopération et de Développement Economique (OCDE). Ladite méthode ne vise pas le calcul d'une valeur précise de la DL50. Comme la mort d'une partie des animaux reste le principal effet observé, la méthode permet de déterminer dans quelle gamme de doses la substance doit être considérée létale. Le principe de cet essai est qu'avec un processus séquentiel, utilisant un nombre minimum d'animaux par étape, des informations sur la toxicité aiguë de la substance, suffisantes pour les besoins de classification sont obtenues. Une dose déterminée de la substance est administrée par voie orale à un groupe d'animaux. La substance est testée dans un processus séquentiel dans lequel trois animaux d'un seul sexe (normalement des femelles) sont utilisés à chaque étape. L'absence ou la manifestation de mortalité liée à la substance dans un groupe ayant reçu une dose à une étape donnée détermine l'étape suivante, c'est à dire :

- arrêt de l'essai ;
- administration de la même dose à trois animaux supplémentaires ;

- administration de la dose immédiatement supérieure ou inférieure à trois animaux supplémentaires.

### **Mode opératoire**

Le volume maximal de liquide qui peut être administré en une seule fois dépend de la taille de l'animal d'essai. Pour les rongeurs, le volume ne doit pas dépasser 1 mL/100 g de poids corporel (pc). Les animaux doivent être à jeûn avant l'administration de la substance ; pour les rats, on supprime la nourriture, mais pas l'eau, pendant la nuit durant trois à quatre heures. Après la période de jeûne, les animaux doivent être pesés et ensuite la substance d'essai leur est administrée. Après l'administration de la substance, les animaux peuvent être à nouveau privés de nourriture, pendant trois à quatre heures. Chaque étape nécessite trois animaux. Pour la dose initiale, on choisit parmi les quatre suivantes : 5, 50, 300 et 2000 mg/kg de pc. Le niveau choisi est celui pour lequel on peut s'attendre à observer de la mortalité parmi quelques-uns des animaux traités.

Les animaux doivent être observés individuellement au moins une fois pendant les premières 30 minutes et régulièrement pendant les premières 24 heures après le traitement. Une attention particulière s'impose pendant les premières 4 heures et quotidiennement pendant 14 jours après l'administration de la substance. Le poids individuel de chaque animal doit être déterminé peu de temps avant l'administration de la substance d'essai et ensuite au moins une fois par semaine. Les changements de poids doivent être calculés et enregistrés jusqu'à la fin de l'essai.

L'étude a porté sur douze rats blancs « *Rattus norvegicus* » regroupés en 4 lots de 3 rats. L'extrait aqueux a été administré par voie orale (dose unique par groupe). Les expériences ont été effectuées au sein de l'animalerie (vivarium) de l'Ecole Normale Supérieure d'Abidjan Cocody.

#### **II-2-2-1- Détermination de la dose létale 50 (DL<sub>50</sub>)**

Cette étude a été adaptée à celle décrite par la ligne directrice 423 de l'OCDE (OCDE, 2001) pour les essais des produits chimiques – méthode par classe de toxicité aiguë.

Les concentrations de l'EABt ont été préparées sur la base du principe selon lequel les concentrations à administrer doivent être ramenées au poids corporel (pc) des rats, ainsi les doses ont été exprimées en mg/kg de pc. Une solution mère de l'extrait aqueux de *Bauhinia thonningii* a été obtenue à partir de la dissolution de 25 g de produits dans 100 mL d'eau distillée soit 250 mg/mL. A partir de cette solution mère, différentes dilutions ont été effectuées pour obtenir des concentrations de 15 et 100 mg/mL, correspondant respectivement aux doses de 300 et 2000 mg/kg de pc. La solution mère permet d'obtenir la dose de 100 mg/kg de pc. Les différents lots d'animaux ont été traités à différentes doses de l'EABt contre le lot témoin recevant de l'eau distillée. Les animaux de chaque

lot essai ont été gavés un à un avec un temps d'observation. Lorsque le lot traité ne présente aucun mort et aucun signe de toxicité, le lot suivant est traité. Au terme de l'expérience, tous les lots sont traités et les animaux ont été observés individuellement au moins une fois pendant les 30 premières minutes et régulièrement après administration des doses puis quotidiennement pendant 14 jours afin de noter les éventuelles modifications de leur comportement (**Bürger *et al.*, 2005 ; Ogonnia *et al.*, 2008**)

Quatorze jours après le traitement des rats, le sang est prélevé en vue d'évaluer d'éventuels effets toxiques à travers les paramètres hématologiques et biochimiques tels que l'urée, la créatinine, l'aspartate aminotransférase (ASAT), l'alanine aminotransférase (ALAT). Après le prélèvement, les rats sont sacrifiés et le foie, le cœur et les reins ont été isolés, pesés et conservés dans du Bouin aqueux. La masse relative des organes a été calculé selon la formule suivante :

$$\text{Masse relative de l'organe} = \frac{\text{Masse absolue de l'organe}}{\text{Masse corporelle de l'animal J14 (g)}} \times 100 \quad (2)$$

#### ***II-2-2-2- Examen clinique***

L'examen clinique a porté sur l'état général : le comportement (la mobilité, la sensibilité au bruit et pincement, tremblement), les mouvements respiratoires (appréciés à vue) et l'activité somatomotrice par jour (**Taziebou *et al.*, 2007**).

### **II-3- Etude *in vivo* de l'activité antidiabétique de l'extrait aqueux de *Bauhinia thonningui***

#### **II-3-1- Evaluation de l'activité de l'EABt sur la glycémie de rats normoglycémiques.**

Pour cette expérience des rats « *Rattus norvegicus* », de souche *Wistar*, de sexe mâle, âgés de 10 à 14 semaines dont le poids varie entre 150 et 250 g, ont été utilisés. Les expériences ont été effectuées au sein de l'animalerie de l'ENS d'Abidjan Cocody. Les animaux ont été conditionnés de la même manière que ceux utilisés dans l'étude de la toxicité aigüe.

L'administration des produits s'est faite par gavage à l'aide d'une sonde. L'extrait a été mis en suspension dans une solution d'eau distillée et à partir de la solution mère, les différentes

concentrations ont été obtenues. Les animaux normoglycémiques ont été répartis en lots recevant en une seule prise les différentes doses de l'extrait par voie orale et un groupe témoin négatif qui reçoit de l'eau distillée tandis que le témoin positif reçoit la solution de glibenclamide (produit de référence : médicament hypoglycémiant) (N'guessan *et al.*, 2011).

Selon la méthode utilisée, la glycémie est mesurée à l'aide d'un lecteur glucomètre (**Annexe 2**) à bandelettes réactives sur une goutte de sang prélevée à partir de l'extrémité caudale des animaux (sang veineux). Généralement, les glucomètres sont constitués d'une couche absorbante sur laquelle la goutte de sang est déposée, finement poreuse ou recouverte d'une membrane sur sa face interne. Elle retient les globules rouges et ne laisse diffuser que le plasma vers les couches inférieures où se trouve le réactif constitué essentiellement du glucose-oxydase (hexokinase) associé à un chromogène. La coloration obtenue est mesurée par réflectométrie dans le lecteur de la glycémie (Desch, 2001) (**Annexes 3**).

#### ***II-3-1-1- Test de mise en évidence de l'effet hypoglycémiant de l'EABt***

Vingt-cinq (25) rats normoglycémiques ont été répartis en 5 lots de 5 rats et mis à jeun pendant 12 heures. Au temps T<sub>0</sub>, c'est à dire avant les traitements, la glycémie a été d'abord déterminée (glycémie initiale). L'eau distillée, le glibenclamide (10 mg/kg de pc) et l'extrait aqueux à différentes doses (50, 100 et 150 mg/kg de pc) ont été ensuite administrés aux différents lots. Ces doses ont été choisies suite aux tests préliminaires réalisés dans le cadre de cette étude. Des prélèvements de sang ont été effectués toutes les 30 min pendant 2 heures et la glycémie a été mesurée à l'aide d'un glucomètre de marque Accu-Cheik Active avec des bandelettes réactives (**Annexe 2**). Le pourcentage de variation de la glycémie par rapport à la glycémie initiale a été calculé (**Formule 3**) (N'doua *et al.*, 2015).

#### ***II-3-1-2- Test de tolérance au glucose***

Six (6) lots de 5 rats ont été préalablement mis à jeun pendant 12 heures. Au temps T<sub>0</sub>, c'est-à-dire 30 min après les prétraitements, 5 lots de rats ont été gavés avec une solution de glucose à la dose de 4 g/kg pc. Les prétraitements ont consisté au gavage à l'extrait aqueux à différentes doses (50, 100 et 150 mg/kg de pc), à l'eau et au glibenclamide. La glycémie des rats de chaque lot a été mesurée juste avant l'administration de la solution de glucose, puis après le traitement, à des intervalles de 30 minutes, pendant 2 heures 30 min à l'aide d'un glucomètre de marque Accu-Cheik Active avec des bandelettes réactives (**Annexe 2**) (N'doua *et al.*, 2015). Les pourcentages d'induction et de réduction de l'hyperglycémie provoquée ont été alors calculés comme suit :

$$\text{Pourcentage de variation de la glycémie (\%)} = \frac{(G_t - G_0) \times 100}{G_0} \quad (3)$$

$G_0$  : glycémie de base à temps initial

$G_t$  : glycémie au temps t (30 ; 60 ; 90 et 120 min).

### II-3-2- Evaluation *in-vitro* de l'activité de l'extrait de plante sur l' $\alpha$ -amylase et l' $\alpha$ -glucosidase.

#### II-3-2-1- Evaluation de l'activité de l'EABt sur l'alpha-amylase

L'effet de l'extrait sur l'activité catalytique de l'alpha-amylase a été effectué selon le procédé de **Sudha *et al.* (2011)** avec une légère modification. Sur une plaque de 96 puits, un mélange réactionnel contenant 50  $\mu$ L de tampon phosphate (50 mM, pH = 6,8), 10  $\mu$ L d'alpha-amylase (10 UI / mL) [Sigma ;  $\alpha$ -Amylase from *Aspergillus oryzae* 86250] et 20  $\mu$ L de concentrations variables d'extraits (1 ; 0,01 ; 0,0001 et 0,000001 mg/mL) a été pré-incubé à 37 °C pendant 10 min. Ensuite, 20  $\mu$ L d'amidon soluble (0,05 %) sont ajoutés en tant que substrat, puis le tout est incubé encore à 37 °C pendant 15 min. La réaction a été arrêtée en ajoutant 20  $\mu$ L de HCl 1N, suivie de l'addition de 100  $\mu$ L de réactif iodé (5 mM de I<sub>2</sub> et 5 mM de KI, stocké dans une bouteille de couleur ambrée). L'absorbance a été lue à 620 nm à l'aide d'un lecteur de plaque ELISA (Micro Plate Read, Gentaur). Chaque expérience a été effectuée 3 fois avec les témoins appropriés. L'acarbose à diverses concentrations (0,01 - 0,1 mg/mL) a été inclus comme contrôle positif. Le contrôle négatif sans extrait a été effectué parallèlement. L'activité de l'EABt sur l'alpha-amylase est déterminée par la **formule 4**.

#### II-3-2-2- Evaluation de l'activité de l'EABt sur l'alpha-glucosidase

L'effet de l'extrait sur l'activité catalytique de l'alpha-glucosidase a été réalisée selon la méthode de **Bachhawat *et al.* (2011)** avec une légère modification. Dans une plaque de 96 puits, un mélange réactionnel contenant 50  $\mu$ L de tampon phosphate (50 mM, pH = 6,8), 10  $\mu$ L d'alpha-glucosidase (1 U/mL) [Sigma ;  $\alpha$ -Glucosidase from *Bacillus stearothermophilus* G5003] et 20  $\mu$ L de concentrations variables d'extrait (1 ; 0,01 ; 0,0001 et 0,000001 mg/mL) a été pré-incubé à 37 °C pendant 15 min. Ensuite, on ajoute 20  $\mu$ L de p-Nitrophenyl  $\alpha$ -D-glucopyranoside (PNPG) (1 mM) [C<sub>12</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>8</sub> ; Sigma : 3767-28-0] en tant que substrat et on incube encore à 37 °C pendant 30 min.

La réaction a été arrêtée en ajoutant 50 µL de carbonate de sodium (0,1 M). La couleur jaune produite a été lue à 405 nm en utilisant un lecteur de plaque ELISA (Micro Plate Read, Gentaur). L'expérience a été effectuée 3 fois avec les témoins appropriés. L'acarbose à diverses concentrations (0,2 - 1 mg/mL) a été inclus comme contrôle positif. Le contrôle négatif sans extraits a été dosé parallèlement.

Le résultat est exprimé en pourcentage d'inhibition, qui a été calculé selon la formule suivante :

$$\text{Inhibition (\%)} = (A_{\text{Contrôle Négatif}} - A_{\text{Test}} / A_{\text{Contrôle Négatif}}) \times 100 \quad (4)$$

où A est l'absorbance

Le résultat a été également exprimé en valeur de contrôle CI50 selon une équation de droite de degré 1 :  $y = Ax + B$ .

### II-3-3- Induction du diabète à l'alloxane chez des rats *Wistar*

#### *Principe*

Le diabète a été induit par injection d'une solution composée de monohydrate d'alloxane (Sigma A7413-160,08MG ; 98 %) avec du sérum salé (0,9 %) selon la méthode décrite par **Dunn & Mclethie (1943)** ; **Bhattacharya (1995)** avec une légère modification.

#### *Mode opératoire*

Les animaux ont été privés de nourriture pendant 16 heures, mais ont disposé d'eau à volonté. Ils ont reçu par voie intra péritonéale une dose unique de 150 mg/kg pc de la solution d'alloxane fraîchement préparée. Après l'induction, les rats ont reçu une solution de glucose anhydre (5 %) pendant toute la nuit afin de surmonter le choc hypoglycémique induit suite à l'action de l'alloxane. Soixante-douze heures (72 h) après l'injection, un prélèvement sanguin a été effectué par amputation caudale afin de doser la glycémie. Les rats dont les glycémies sont supérieures à 1,9 g/L ont été retenus pour la suite de l'expérience (**Annexe 4**).

#### *II-3-3-1- Traitement des animaux*

Pour le traitement des animaux, 6 lots de 5 rats chacun ont été constitués et le traitement s'est fait sur une période de 24 jours comme suit :

- T Norm : lot constitué de rats témoins non diabétiques n'ayant reçu que de l'eau distillée pendant toute l'expérimentation.
- T Pos : lot constitué de rats diabétiques, n'ayant reçu que l'antidiabétique de référence (glibenclamide à la dose de 10 mg/kg pc) tout le long de l'expérimentation.



- T Nég : lot constitué de rats diabétiques n'ayant reçu aucun traitement.
- EABT50 ; 100 et 150 : lots constitués de rats diabétiques traités avec l'extrait aqueux aux doses respectives de 50 ; 100 et 150 mg/kg pc.

Au bout de chacune des semaines, les animaux ont été pesés puis anesthésiés, et un prélèvement sanguin par amputation caudale a été effectué. Le sang a été prélevé dans 2 tubes différents dont un tube contenant un anticoagulant (EDTA) pour le dosage des paramètres hématologiques et un autre (tube sec) pour le dosage des différents paramètres biochimiques. Ce dernier a été centrifugé à l'aide d'une centrifugeuse de marque Centrifuge B 4i à 3000 tour/min pendant 10 min. Le prélèvement du sang à la 3<sup>ème</sup> semaine a été réalisé après avoir sacrifié les rats. Le sérum obtenu a été conservé à -20°C.

### ***II-3-3-2- Effet de l'EABt sur l'évolution de la masse corporelle des rats***

Afin de déterminer l'influence de l'extrait sur la masse corporelle et la croissance des rats, l'évolution de la masse corporelle des rats traités et témoins a été suivie périodiquement (chaque semaine) tout au long de l'expérimentation. La masse corporelle est mesurée à l'aide d'une balance électronique (SARTORIUS) et les variations de la masse corporelle des rats par rapport au 1<sup>er</sup> jour sont exprimées en pourcentage (%) et calculées selon la formule suivante :

$$\text{Variations de la masse corporelle (\%)} = \frac{(M_j - M_{j_0}) \times 100}{M_{j_0}} \quad (5)$$

M<sub>j0</sub> : masse corporelle le 1<sup>er</sup> jour

M<sub>j</sub> : masse corporelle le jour J

### ***II-3-3-3- Examens hématologiques***

L'hémogramme est réalisé à partir du sang total contenu dans des tubes à anticoagulant EDTA à l'aide d'un analyseur hématologique automatique (Myndray BC-3000) qui donne directement les valeurs des paramètres suivants : le nombre de globules rouges (GR), le nombre de globules blancs (GB), l'hémoglobine (Hb), le taux d'hématocrite (HCT), le volume globulaire moyen (VGM), la teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH), la concentration moyenne d'hémoglobine corpusculaire (CMHC), le nombre de plaquettes et les pourcentages de lymphocytes, de neutrophiles,

de monocytes et d'éosinophiles. C'est un appareil qui donne les résultats en 86 secondes après aspiration de l'échantillon (Tangara, 2004).

#### *II-3-3-4- Analyse de quelques paramètres biochimiques sériques liés au diabète*

Les prélèvements sanguins ont été effectués par amputation de l'extrémité caudale (quantité recherchée  $\geq 1,5$  mL). Le sang total obtenu, recueilli dans des tubes secs, est centrifugé à 3000 tours par minute pendant 10 minutes grâce à l'automate de marque Centrifuge B 4i (Jouan quality System ISO 9001, USA) pour obtenir le sérum. Celui-ci recueilli dans des tubes Eppendorff est conservé à  $-20$  °C en vue d'analyses des paramètres biochimiques. Les paramètres biochimiques ont été analysés et programmés sur un automate de biochimie de marque Analyzer Hitachi 902<sup>®</sup> à l'aide de kits de dosages standards commercialisés (CHEMELEX, S.A., Espagne). Les dosages de chaque paramètre ont été effectués selon les méthodes décrites par les fabricants.

Les paramètres biochimiques dosés sont :

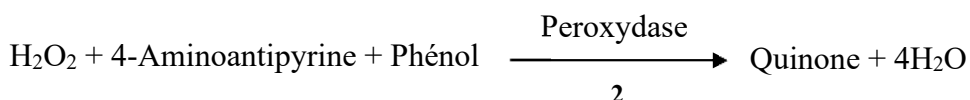
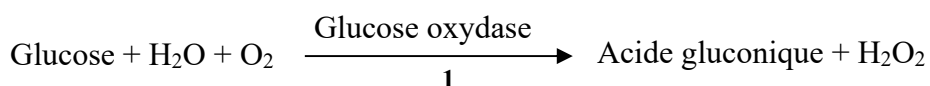
- Métabolites : l'urée, la créatinine, le cholestérol total, les triglycérides, les protéines totales et la glycémie.
- Enzymes : l'ASAT et l'ALAT

##### *II-3-3-4-1- Dosage de la glycémie*

Le glucose présent dans le sérum est déterminé selon la méthode à la glucose oxydase.

#### **Principe**

La détermination du glucose par la méthode enzymatique à la glucose oxydase se fait selon les réactions suivantes :



Cette méthode est plus sensible et plus spécifique que la technique à l'orthotoluidine.

### Mode opératoire

Dans une série de trois tubes (blanc, calibrateur et échantillon) contenant un millilitre de la solution enzymatique de glucose ont été ajoutés 10 µL d'eau distillée, 10 µL du calibrateur et 10 µL du sérum à tester. Le mélange est incubé à 37°C pendant 10 min. La densité optique est mesurée à 500 nm contre le blanc composé de la solution enzymatique. La concentration du glucose est déterminée à l'aide de la formule ci-dessous.

$$\text{Concentration de glucose (g/L)} = \frac{\text{DO échantillon}}{\text{DO étalon}} \times \text{Concentration étalon} \quad (6)$$

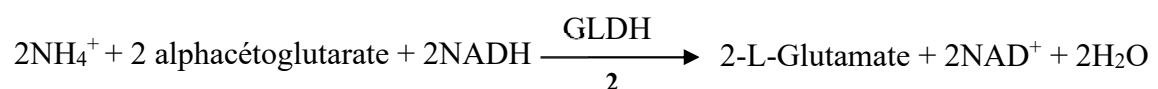
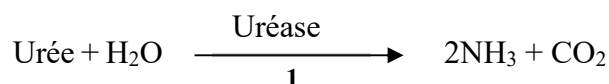
### II-3-3-4-2- Dosage de l'urée

L'urée a été dosée selon la méthode de Berthelot (**Fawcett, 1960**). L'urée  $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$  provient du catabolisme des protéines et des acides aminés par transamination ou par désamination. Elle est formée dans le foie à partir de l'ammoniac ( $\text{NH}_3$ ). Elle passe dans la circulation sanguine et est éliminée essentiellement par le rein. Le taux d'urée dépend à la fois de la fonction rénale, de la production hépatique, des apports azotés alimentaires, du catabolisme protidique et de l'état d'hydratation.

### Principe

L'urée est hydrolysée en présence d'eau et d'uréase pour produire de l'ammoniac et du dioxyde de carbone. L'ammoniac, en présence de glutamate déshydrogénase (GLDH) et de nicotinamide adénine dinucléotide sous forme réduite (NADH), se combine à l' $\alpha$ -cétoglutarate ( $\alpha$ -CG) pour former du L-glutamate et un complexe coloré en bleu-vert. La diminution de la concentration de NADH dans le milieu qui s'observe par la diminution de l'absorbance de la coloration à 340 nm est proportionnelle à la concentration en urée de l'échantillon.

La détermination enzymatique de l'urée par méthode cinétique se fait selon les réactions suivantes :



GLDH = 2-L-Glutamate déshydrogénase

Cette méthode est plus sensible et plus spécifique que la technique à la diacétyl-monoxime.

### **Mode opératoire**

Dans une série de trois tubes (étalon, blanc, essais) contenant chacun 1000 µL de milieu réactionnel, ont été ajoutés 100 µL d'étalon urée, 100 µL d'eau distillée et 100 µL d'échantillon. Après agitation automatique pendant 1 min et incubation à la température ambiante (25 °C), les densités optiques de chaque tube ont été lues au spectrophotomètre à 340 nm contre le blanc contenant le milieu réactionnel, pour déterminer la concentration sérique de l'urée. Cette concentration est calculée comme suit :

$$\text{Concentration de l'urée (g/L)} = \frac{\text{DO Echantillon}}{\text{DO Etalon}} \times \text{Concentration Etalon} \quad (7)$$

### *II-3-3-4-3- Dosage de la créatinine*

La créatinine présente dans le sérum est déterminée selon la méthode cinétique appliquée à la réaction de **Jaffé (1886)**. La créatine est formée dans le foie à partir de l'arginine, de la glycine et de la méthionine. Elle est véhiculée par le sang vers le muscle qui la transforme en créatine phosphate grâce à une enzyme, la créatine phosphokinase pour constituer une réserve d'énergie. Au cours de son utilisation par le muscle, la créatine va se déshydrater spontanément en créatinine qui passe dans le plasma, puis sera éliminée par le rein. La créatininémie dépend à la fois de la production de créatinine par le muscle et de la capacité de son élimination par le rein où elle subit une filtration glomérulaire. Elle n'est par la suite ni réabsorbée ni sécrétée au niveau du tubule rénal et donc sa clairance permet de mesurer le volume de filtration glomérulaire par minute.

### **Principe**

Il est basé sur la mesure de la formation d'un complexe coloré entre la créatinine et le picrate alcalin selon la méthode de **Murray & Kaplan (1984)** ; **Burtis & Ashwood (1999)**. La vitesse de formation de ce complexe est proportionnelle à la concentration de créatinine présente dans l'échantillon. Cette technique a l'avantage d'être automatisable. Par ailleurs, au cours de la méthode cinétique, les effets des substances interférentes sont réduits, ce qui rend cette méthode plus sensible et plus précise que la technique en point final.

### **Mode opératoire**

Dans une série de trois tubes (étalon, blanc et essais) contenant chacun 500 µL du milieu réactionnel, ont été ajoutés 100 µL d'étalon créatinine, 100 µL d'eau distillée et 100 µL d'échantillon.

Les tubes sont agités, et après 30 secondes une première absorbance  $A_1$  de chaque tube est lue à 500 nm contre le blanc contenant le milieu réactionnel. Quarante-vingt-dix (90) secondes après la première lecture, une deuxième absorbance  $A_2$  est lue à 500 nm au spectrophotomètre. La concentration de la créatinine se calcule comme suit :

$$\text{Concentration de la créatinine (mg/L)} = \frac{(A_2 - A_1) \text{ échantillon}}{(A_2 - A_1) \text{ étalon}} \times \text{concentration étalon} \quad (8)$$

La clairance de la Créatinine est importante dans l'exploration de la fonction rénale et dans la surveillance des insuffisances rénales et des hémodialysés. Elle apprécie la valeur de la filtration glomérulaire.

$$C = (U * V) / P \quad (9)$$

Valeur normale :  $C = 80$  à  $120$  mL/min

$C$  = clairance de la créatinine ;       $P$  = concentration plasmatique de la créatinine ;

$U$  = concentration urinaire de la créatinine ;       $V$  = débit urinaire

#### *II-3-3-4-4- Dosage des protéines totales*

Les protéines totales présentes dans le sérum sont déterminées selon la méthode de biuret.

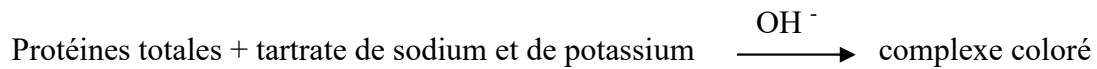
Les protéines sont des chaînes d'acides aminés unis par des liaisons peptidiques. Elles entrent dans la structure des tissus de l'organisme et de nombreuses fonctions vitales dépendent des protéines. Leur rôle est multiple. Elles transportent de nombreuses molécules et assurent une pression oncotique. Les protéines sont à la base de l'immunité humorale. De même, elles ont un rôle hormonal, enzymatique et énergétique. L'électrophorèse des protides met en évidence 5 fractions qui sont l'albumine, les alpha-1-globulines, les alpha-2-globulines, les bêta-globulines et les gamma-globulines. Les gamma-globulines se subdivisent à leur tour en 5 classes les IgG, les IgA, les IgM, les IgD et les IgE.

#### **Principe**

Les protéines sériques forment un complexe coloré en présence des sels de cuivre en milieu alcalin selon la réaction de biuret (**Lowry *et al.*, 1951**). L'intensité de la coloration obtenue est proportionnelle à la concentration en protéines. Cette technique s'applique difficilement à des

solutions diluées de protéines (LCR, urines et liquides de ponction) et reste peu sensible lorsque la concentration en protéines est inférieure à 6 g/L.

En présence de tartrate de sodium et de potassium en milieu alcalin, les protéines contenues dans le sérum produisent un complexe coloré.



### **Mode opératoire**

A 1 mL de milieu réactionnel contenant du chlorure de sodium (0,15 mol/L), de l'hydroxyde de sodium (0,75 mol/L), de tartrate de sodium et potassium (6 mmol/L), d'iodure de potassium (6 mmol/L) et de sulfate cuivrique (6 mmol/L), est ajouté 0,02 mL de sérum. Après une agitation automatique et une incubation à la température ambiante pendant 10 min, l'absorbance est lue au spectrophotomètre à 550 nm. Une solution de protéine de titre connu est utilisée comme solution étalon. La concentration des protéines est déterminée selon la formule suivante :

$$\text{Concentration des protéines} = \frac{\text{Abs}_{\text{échantillon}}}{\text{Abs}_{\text{étalon}}} \times \text{Concentration étalon} \quad (10)$$

où  $\text{Abs}_{\text{échantillon}}$  : absorbance de l'échantillon et  $\text{Abs}_{\text{étalon}}$  : absorbance de l'étalon.

### *II-3-3-4-5- Dosage du cholestérol total*

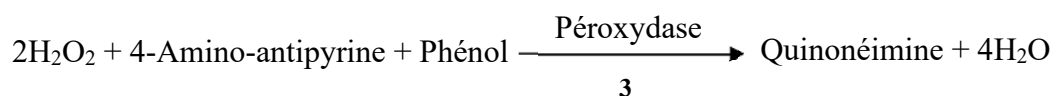
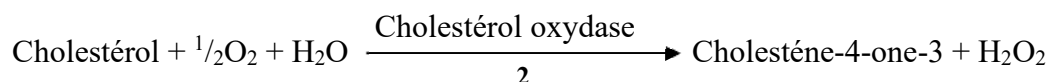
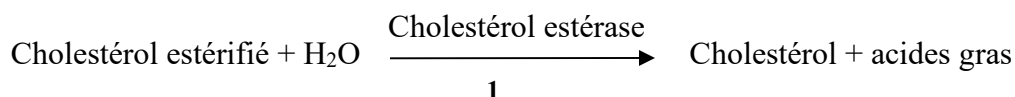
Le cholestérol total présent dans le sérum est déterminé selon la méthode enzymatique de **Naito & Kaplan (1984)**.

Le cholestérol est un stéroïde indispensable pour le renouvellement et la synthèse des membranes de toutes les cellules de l'organisme. Le foie joue un rôle essentiel dans sa fabrication. Le cholestérol entre dans la synthèse de plusieurs hormones stéroïdes et vitamines. Il est largement répandu dans les cellules animales, mais il est absent des graisses végétales.

### **Principe**

Le cholestérol sanguin se présente sous deux formes, la forme libre et la forme estérifiée. La forme estérifiée est hydrolysée par le cholestérol estérase pour donner la forme libre et des acides gras. En présence du cholestérol oxydase, le cholestérol libre s'oxyde pour former du cholestène -4-

one-3 et du peroxyde d'hydrogène. Le peroxyde d'hydrogène réagit avec l'acide hydroxybenzoïque (HBA) et de la 4-aminoantipirine pour former la quinonéimine de couleur rouge. L'absorbance de cette coloration mesurée à 500 nm est directement proportionnelle à la quantité de cholestérol contenue dans le sérum. La réaction est la suivante.



Quinone : chromogène oxydé de couleur rose

### *Mode opératoire*

Dans un tube EDTA contenant 1000 µL de réactif pré-incubé à 37 °C pendant 2 à 3 minutes, 10 µL de l'échantillon à doser ont été ajoutés. Après agitation pendant 1 minute et incubation automatique à la température ambiante (16 à 25 °C) pendant 10 minutes, la densité optique est lue au spectrophotomètre à 500 nm contre le blanc contenant le milieu réactionnel, afin de déterminer la concentration du cholestérol selon l'expression suivante :

$$\text{Concentration du cholestérol (g/L)} = \frac{\text{DO Echantillon}}{\text{DO étalon}} \times \text{Concentration étalon} \quad (11)$$

### *II-3-3-4-6- Dosage des triglycérides*

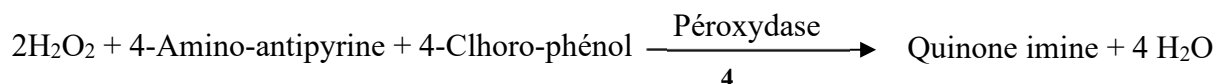
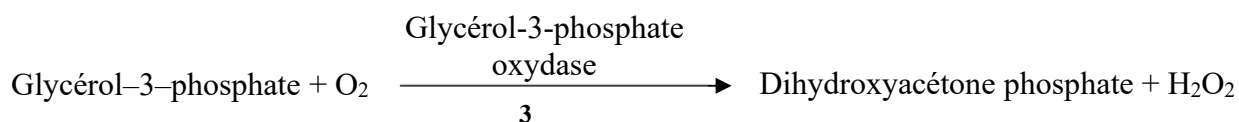
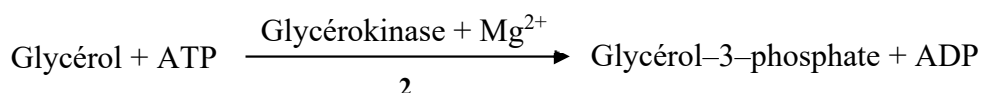
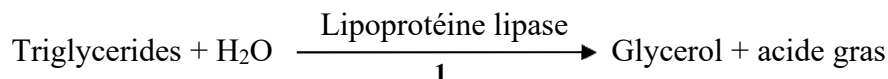
Les triglycérides présents dans le sérum sont déterminés selon la méthode enzymatique de **Fossati *et al.* (1983)**.

Les triglycérides sont des graisses neutres. Ce sont des esters de glycérol. Leur synthèse a lieu dans les microsomes et les mitochondries. Au cours de leur absorption intestinale, les triglycérides passent dans le torrent circulatoire sous forme de chylomicrons qui confèrent au sérum la lactescence post prandiale. Après action de la lipoprotéine lipase, les triglycérides partiellement hydrolysés vont

gagner le foie où ils vont constituer des réserves énergétiques et vont participer à diverses voies métaboliques.

### **Principe**

La détermination des triglycérides par la méthode enzymatique se fait selon les réactions suivantes :



### **Mode opératoire**

Il faut s'assurer avant emploi que les réactifs et les échantillons sont à la température ambiante pendant 10 à 20 minutes. Le coffret contient 2 réactifs dont R1 et R2. La solution de travail est obtenue en dissolvant le réactif 2 dans le réactif 1. Elle est stable pendant 1 semaine à 20-25°C.

Dans une série de trois tubes (blanc, calibrateur et échantillon) contenant 1 mL de la solution enzymatique (solution de travail) de triglycérides ont été ajoutés 10 µL d'eau distillée, 10 µL du calibrateur et 10 µL du sérum à tester. Le mélange est incubé à 37°C pendant 10 min. La densité optique est mesurée à 500 nm contre le blanc composé de la solution enzymatique. La concentration des triglycérides est déterminée à l'aide de la formule ci-dessous :

$\text{Concentration des triglycérides (g/L)} = (\text{DO échantillon} \times \text{Concentration étalon}) / \text{DO étalon} \quad (12)$
---



### II-3-3-4-7- Dosage de l'aspartate aminotransférase (ASAT) ou Transaminases glutamo-oxaloacétique (TGO)

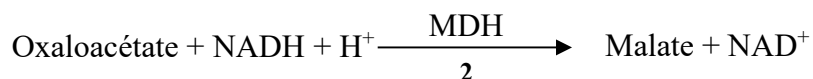
C'est une réaction cinétique (**Desjarlais, 2006**). Les transaminases sont des enzymes qui transportent un groupement amine d'un acide aminé à un acide cétonique avec formation d'un nouvel acide aminé et d'un nouvel acide alpha cétonique. L'ASAT est présente dans le myocarde, le muscle squelettique et le foie.

#### **Principe**

L'ASAT transfère son groupement aminé sur l'atome de carbone de l' $\alpha$ -cétoglutarate avec formation de glutamate et d'oxaloacétate. L'oxaloacétate est ensuite réduit en malate par la malate déshydrogénase (MDH) en présence de NADH réduit qui s'oxyde en  $\text{NAD}^+$ .

La quantité de NADH réduit est directement proportionnelle à l'intensité de l'oxaloacétate présent dans le sérum et donc à l'intensité de l'activité de l'ASAT. Cette activité catalytique est obtenue par la détermination de la disparition du NADH à 340 nm contre le blanc contenant le milieu réactionnel.

La réaction est la suivante :



#### **Mode opératoire**

Dans un tube EDTA hépariné contenant 500  $\mu\text{L}$  de réactif (volume total) pré-incubé à 37°C pendant 2 à 3 minutes, 50  $\mu\text{L}$  de l'échantillon à doser ont été ajoutés. Après agitation pendant 1 minute, les densités optiques ont été lues au spectrophotomètre à 340 nm pour déterminer l'activité enzymatique sérique de l'ASAT. Cette activité est calculée à partir de  $\lambda$  (340 nm) et du facteur ASAT, ( $F_{ASAT}$ ) selon la formule ci-dessous :

$$\text{Activité enzymatique de l'ASAT (UI)} = \frac{\Delta\text{DO}}{\lambda} \times F_{ASAT} \quad (13)$$

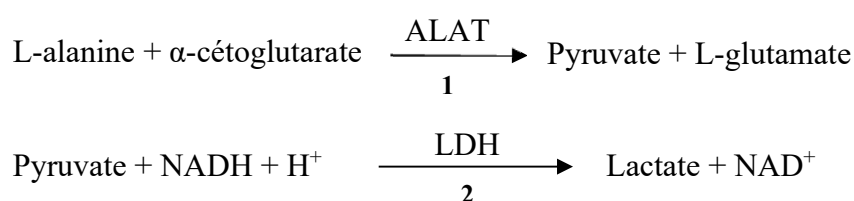
Le facteur ( $F_{ASAT}$ ) est donné par le fabricant.

### II-3-3-4-8- Dosage de l'alanine aminotransférase (ALAT) ou Transaminase glutamo-pyruvique (TGP)

Les transaminases sont des enzymes qui transportent un groupement amine d'un acide aminé à un acide cétonique avec formation d'un nouvel acide aminé et d'un nouvel acide alpha cétonique. L'ALAT est présente dans le foie mais aussi dans le myocarde et le muscle squelettique.

#### **Principe**

L'alanine aminotransferase (ALAT) catalyse le transfert du groupement amine de l'alanine sur l' $\alpha$ -cétoglutarate pour former du pyruvate et de la L-glutamate. Le pyruvate est converti en lactate par la lactate déshydrogénase (LDH) tel qu'illustré dans l'équation suivante (Valdiguie, 2000) :



Le taux de réduction du NADH est proportionnel à la quantité de pyruvate formé dans le milieu et donc à l'activité de l'alanine. Cette activité est déterminée par la mesure de l'absorbance à 350 nm contre le blanc contenant le milieu réactionnel.

#### **Mode opératoire**

Dans un tube EDTA hépariné contenant 500  $\mu\text{L}$  de réactif (volume total) pré-incubé à 37°C pendant 2 à 3 minutes, 50  $\mu\text{L}$  de l'échantillon à doser ont été ajoutés. Après agitation pendant 1 minute, les densités optiques ont été lues au spectrophotomètre à 350 nm contre le blanc contenant le milieu réactionnel, pour déterminer l'activité enzymatique sérique de l'ALAT. Cette activité est calculée à partir de  $\lambda$  (350 nm) et du facteur ALAT, ( $F_{ALAT}$ ) selon la formule ci-dessous.

$$\text{Activité enzymatique de l'ALAT (UI)} = \frac{\Delta\text{DO}}{\lambda} \times F_{ALAT} \quad (14)$$

Le facteur ( $F_{ALAT}$ ) est donné par le fabricant.

## II-4- Analyse statistique

L'analyse statistique des données et la représentation graphique est effectuée à l'aide du logiciel GraphPad Prism 8.0.2 (San Diego, Californie, USA). Les valeurs ont été données sous forme de moyennes suivies de l'erreur standard sur la moyenne ( $M \pm SEM$ ). La différence entre deux valeurs a été donnée par le test t de student lequel a été complété par le test de Turkey-Kramer comme post test. Le seuil de significativité est fixé à  $P < 0,05$  pour l'expression des résultats.

La corrélation faite par la régression linéaire est exprimée par le coefficient de détermination ( $R^2$ ) selon Pearson.

La notation suivante est utilisée pour toute différence significative :

- non significative ( ) :  $p > 0,05$  ;
- peu significative (\*) ou (<sup>a</sup>) :  $p < 0,05$  ;
- significative (\*\*) ou (<sup>aa</sup>) :  $p < 0,01$  ;
- très significative (\*\*\*) ou (<sup>aaa</sup>) :  $p < 0,001$  ;
- hautement significative (\*\*\*\*) ou (<sup>aaaa</sup>) :  $p < 0,0001$ .



*RÉSULTATS*

## **I- Etude phytochimique et teneur en sucres**

### **I-1- Screening phytochimique**

Les résultats de la caractérisation phytochimique ont révélé que l'extrait aqueux des fruits de *B. thonningii* contient des saponosides, des polyphénols, des flavonoïdes et des tanins catéchiques. Par contre, il est dépourvu d'alcaloïdes, de quinones (libres et combinés), de stérols et terpènes et de coumarines (**Tableau III**).

### **I-2- Teneur en sucres totaux et réducteurs de l'EABt**

Le dosage des sucres a montré que la teneur en sucres totaux est de  $477,73 \pm 4,78$  mg (23,89 % de la masse de l'extrait) contre  $49,83 \pm 12,05$  mg de sucres réducteurs (2,49 % de la masse de l'extrait) pour 2 g d'EABt. Les résultats de cette étude sont consignés dans le **Tableau IV**.

### ***Conclusion partielle***

Le screening phytochimique de l'extrait total aqueux des fruits de *B. thonningii* a révélé que cet extrait renferme un certain nombre de groupes chimiques recherchés, à savoir, les polyphénols, les flavonoïdes, les saponosides, les tanins catéchiques sauf les alcaloïdes. Par ailleurs il contient respectivement 23,89 et 2,49 % de sucres totaux et réducteurs dans 2 g de l'EABt.

**Tableau III** : Composition chimique de l'extrait aqueux des fruits de *B. thonningii*.

Groupes chimiques		Extrait aqueux des fruits de <i>B. thonningii</i>
<b>Saponosides</b>		+
<b>Polyphénols</b>		+
<b>Flavonoïdes</b>		+
<b>Stérols et Terpènes</b>		-
<b>Tanins</b>	Catéchiques	+
	Galliques	-
<b>Alcaloïdes</b>		-
<b>Quinones libres et combinés</b>		-
<b>Coumarines</b>		-

(+) : présence du groupe chimique mis en évidence dans l'extrait ;

(-) : absence du groupe chimique mis en évidence dans l'extrait.

**Tableau IV** : Taux de sucres totaux (ST) et de sucres réducteurs (SR) dans 2 g de l'extrait aqueux des fruits de *B. thonningii* (EABt)

Masse EABt (2 g)	Pourcentage (%)		Rapport ST/SR
	Sucres Totaux	Sucres réducteurs	
	23,89	2,49	9,59

## **II- Etude de la toxicité aiguë de l'EABt**

L'extraction a permis d'obtenir 9,46 g d'extrait sec à partir de 100 g de matières végétales (fruits de *Bauhinia thonningii*) soit un rendement de 9,46 %.

### **II-1- Détermination de la dose létale 50 %**

L'administration de la dose de 300 et 2000 mg/kg pc de l'EABt par voie orale aux rats n'a causé aucun signe de toxicité. Les rats n'ont présenté aucun changement dans l'apparence physique. Aucun d'eux n'a présenté ni tremblements ni convulsions. A la suite des traitements, aucune mortalité ni morbidité n'a été observée après 30 min, 24 heures et 14 jours d'observation.

L'administration de la dose de 5000 mg/kg pc du produit n'a également entraîné aucun effet de toxicité pendant les mêmes temps d'observation.

Ces résultats ont permis de classer l'extrait dans la catégorie 5 ou non classée du Système de Classification Globalement Harmonisé (SGH) et d'estimer la  $DL_{50}$  à une valeur supérieure à 5000 mg/kg pc.

### **II-2- Effet de l'EABt sur les paramètres biochimiques**

Quatorze jours après l'administration de l'EABt à la dose de 5000 mg/kg pc aux animaux, aucune variation significative ( $p > 0,05$ ) des différents paramètres (urée, créatinine, ASAT et ALAT) n'a été observée chez les rats traités par rapport aux rats témoins normaux (TN). Les résultats de cette étude sont consignés dans la **Figure 24**.

### **II-3- Effet de l'EABt sur les paramètres hématologiques**

Les résultats de cette étude n'ont révélé aucune variation significative ( $p > 0,05$ ) des différents paramètres hématologiques chez les rats traités par rapport au rat témoin normal (TN). Les résultats sont présentés par les **figures 25 et 26**. Le nombre des globules blancs (GB), des globules rouges (GR), les taux d'hémoglobine (HGB) et d'hématocrites (HCT), ainsi que le volume globulaire moyen (VGM), la concentration corpusculaire moyenne d'hémoglobine (CCMH), la teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH) et le nombre de plaquettes (PLT) n'ont pas subi de variation significative par rapport à ceux du témoin normal (Tém).

### **II-4- Effet de l'EABt sur la masse des rats et la masse des organes**

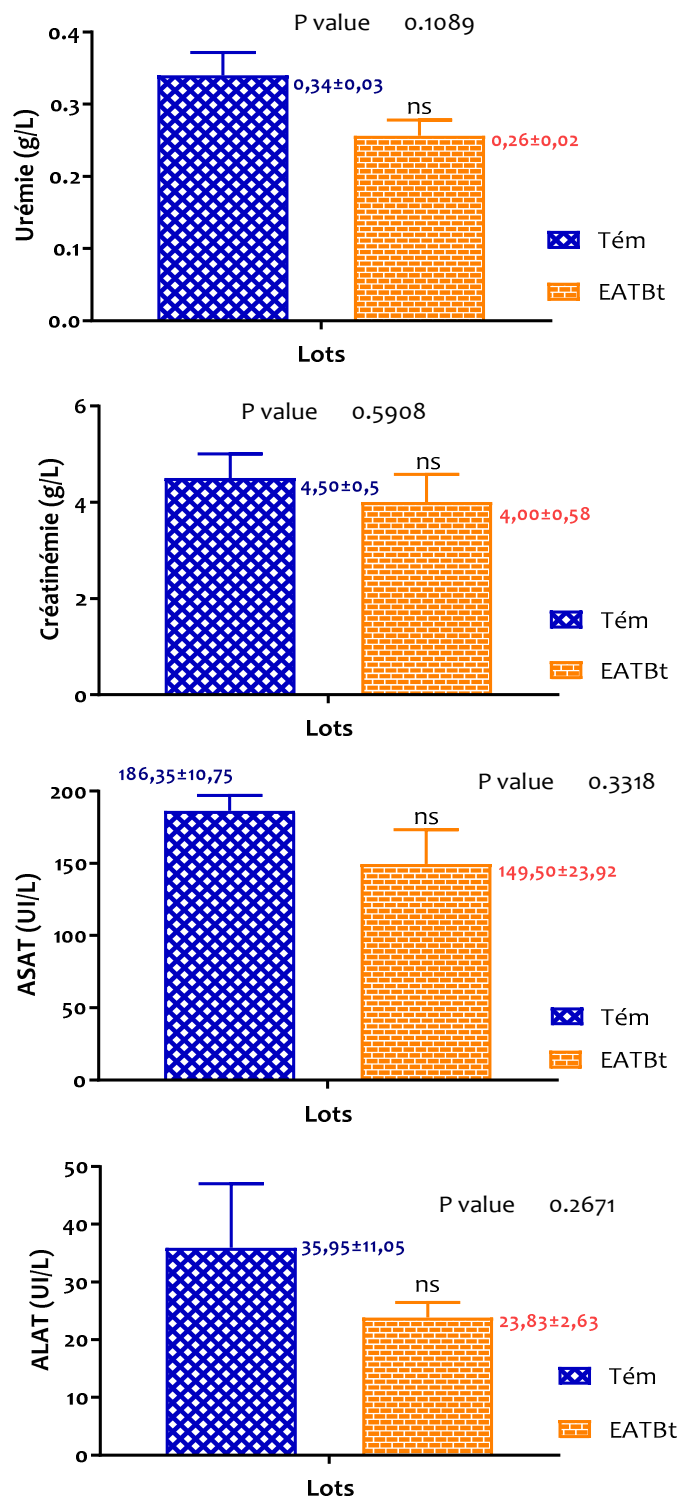
L'analyse des résultats indique un gain de poids aussi bien chez les animaux du lot témoin que ceux traités avec l'EABt à la dose de 5000 mg/kg pc à l'issue des 14 jours d'expérimentation. Quant

à l'effet du traitement sur la masse des différents organes à savoir le cœur, le foie et les reins, aucune variation significative n'a été observée à la fin de la période expérimentale. Les résultats sont consignés dans la **Figure 27** et le **Tableau V**.

### ***Conclusion partielle***

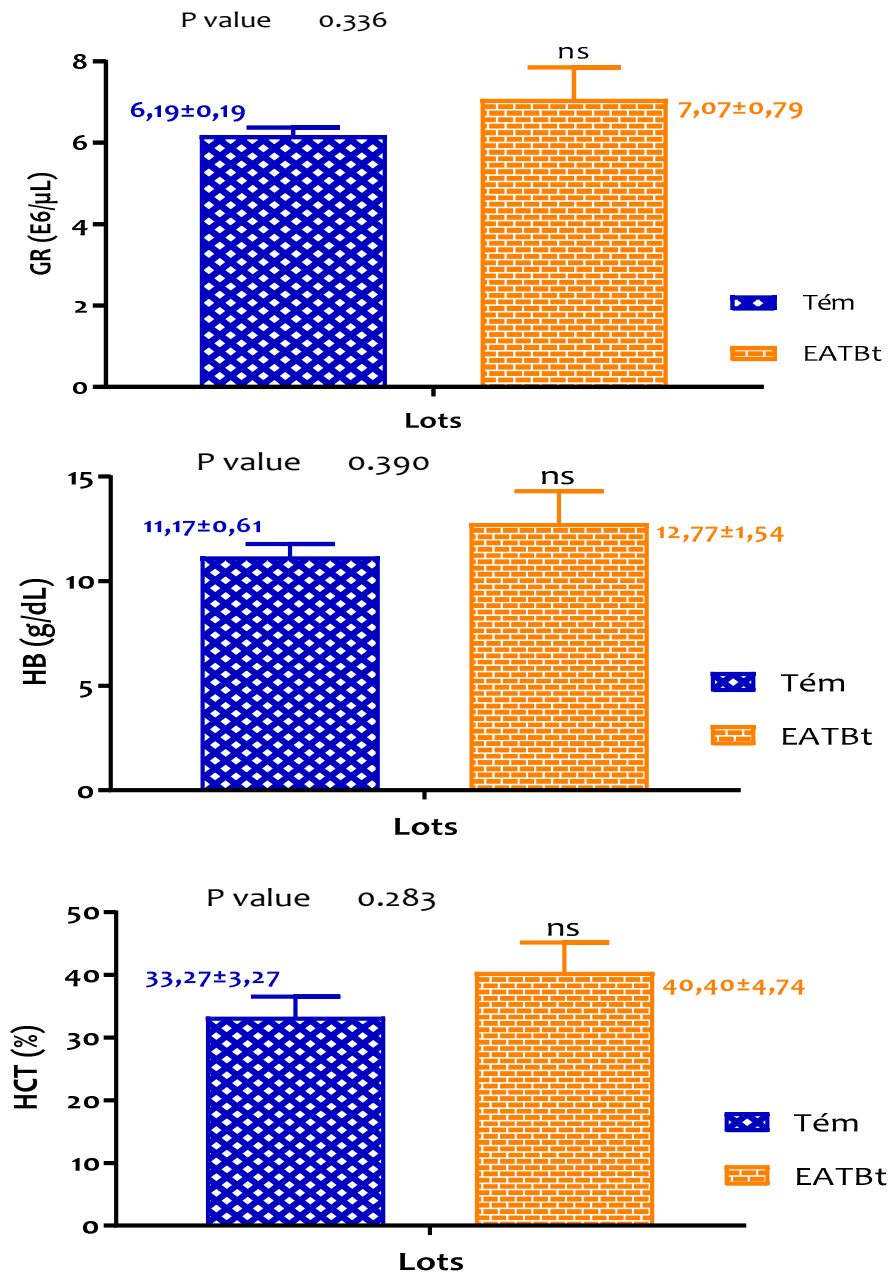
Il ressort de l'ensemble de ces résultats que l'extrait total aqueux des fruits de *B. thonningii* administré par voie orale aux rats est bien toléré et son activité n'entraîne aucun préjudice sur les organes, les paramètres biochimiques et hématologiques ainsi que sur la masse des animaux comparativement à ceux des rats normaux.





**Figure 24:** Effet de l'EABt sur les paramètres biochimiques chez les rats après 14 jours.

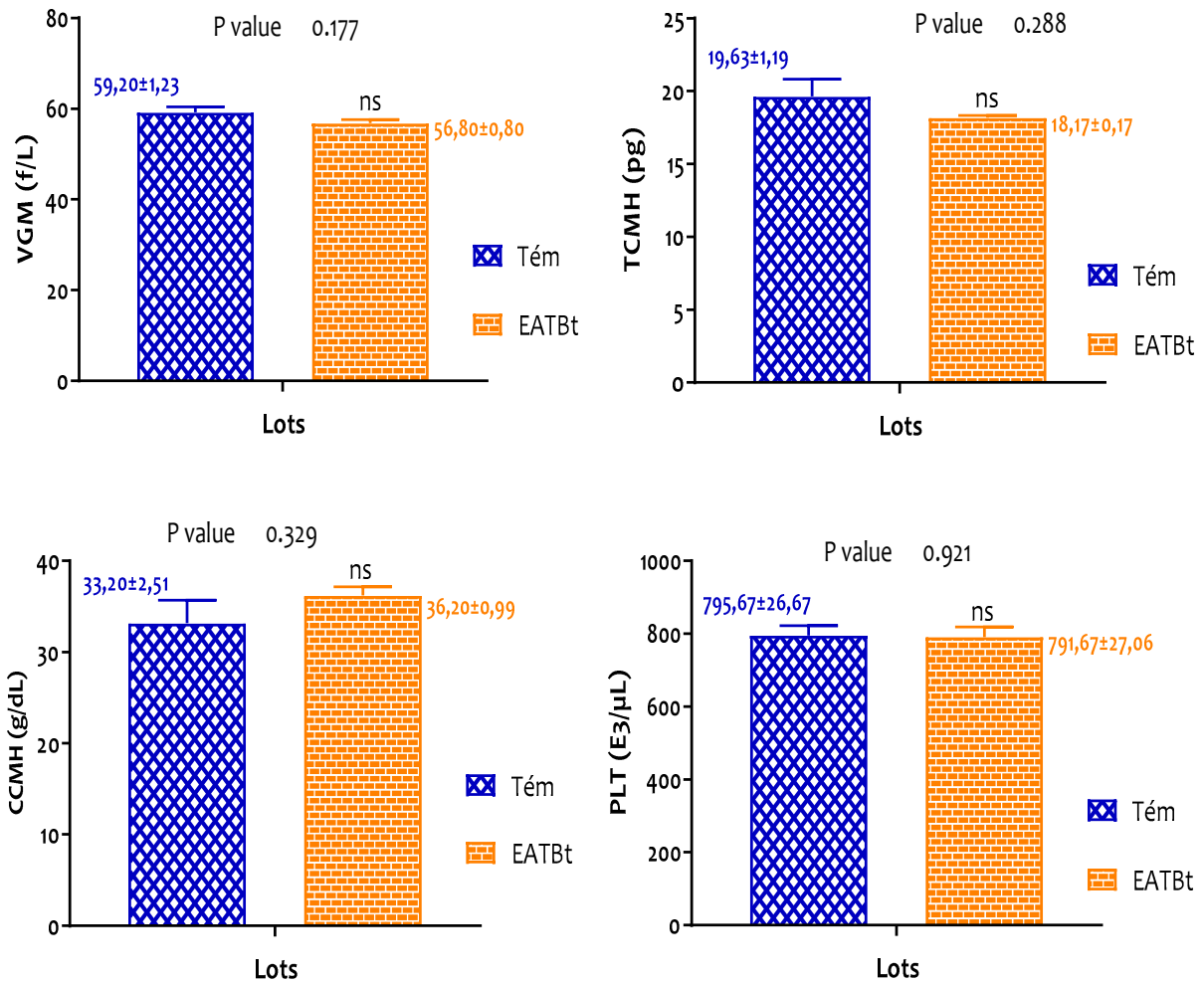
Les données sont exprimées en moyenne  $\pm$  SEM,  $n = 3$ . Les significativités statistiques sont : non significative (ns) si  $p > 0,05$ , significative (\*) si  $p < 0,05$ , très significative (\*\*) si  $p < 0,01$  et hautement significative (\*\*\*) si  $p < 0,001$  par rapport aux rats du lot témoin (Tém) selon le test de student.



**Figure 25:** Effet de l'EABt sur les paramètres hématologiques érythrocytaires chez les rats après 14 jours.

Les données sont exprimées en moyenne  $\pm$  SEM,  $n=3$ . Les significativités statistiques sont : non significative (ns) si  $p > 0,05$ , significative (\*) si  $p < 0,05$ , très significative (\*\*) si  $p < 0,01$  et hautement significative (\*\*\*) si  $p < 0,001$  par rapport aux rats du lot témoin (Tém) selon le test de student.

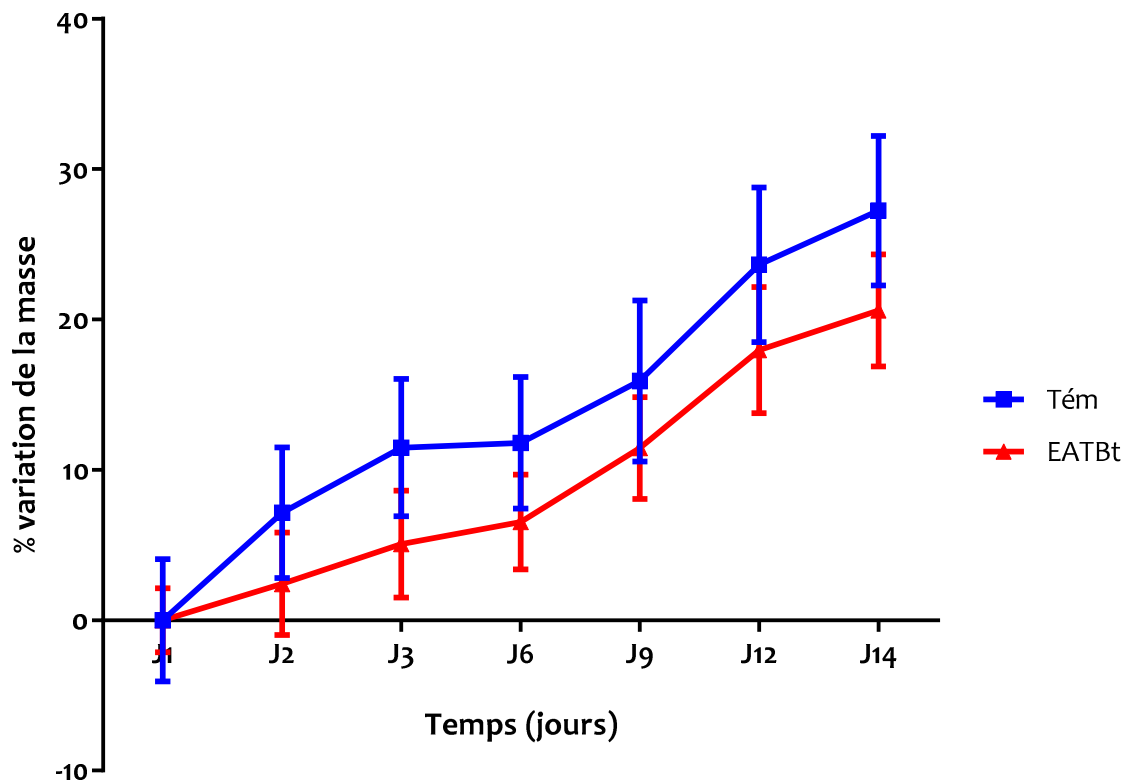
GR : globules rouges ; HB : hémoglobine ; HCT : hématocrite



**Figure 26:** Effet de l'EABt sur les paramètres hématologiques leucocytaires chez les rats après 14 jours.

Les données sont exprimées en moyenne  $\pm$  SEM,  $n = 3$ . Les significativités statistiques sont : non significative (ns) si  $p > 0,05$ , significative (\*) si  $p < 0,05$ , très significative (\*\*) si  $p < 0,01$  et hautement significative (\*\*\*) si  $p < 0,001$  par rapport aux rats du lot témoin (Tém) selon le test de student.

VGM : volume globulaire moyen, CCMH : concentration corpusculaire moyen en hémoglobine ; TCMH : teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine ; PLT : plaquettes.



**Figure 27:** Effet de l'extrait aqueux des fruits de *B. thonningii* sur la masse des rats

Les données sont exprimées en moyenne  $\pm$  SEM,  $n=3$ . Les significativités statistiques sont : non significative ( ) si  $p > 0,05$ , significative (\*) si  $p < 0,05$ , très significative (\*\*) si  $p < 0,01$  et hautement significative (\*\*\*) si  $p < 0,001$  selon le test de student par rapport aux rats du lot témoin (Tém). EABt : extrait aqueux de *B. thonningii*.

**Tableau V** : Effet de l'extrait aqueux des fruits de *B. thonningii* sur la masse du cœur, du foie et des reins des rats après 14 jours.

	<b>Tém. Normal (Eau distillée)</b>	<b>EABt (5000 mg/kg pc)</b>
	<b>Masse des organes (g)</b>	
<b>Cœur</b>	0,430 ± 0,02	0,420 ± 0,02 <sup>ns</sup>
<b>Foie</b>	3,846 ± 0,23	2,875 ± 0,52 <sup>ns</sup>
<b>Reins</b>	0,743 ± 0,06	0,63 ± 0,23 <sup>ns</sup>
	<b>Masse relative (%)</b>	
<b>Cœur</b>	0,405 ± 0,02	0,316 ± 0,02
<b>Foie</b>	3,628 ± 0,24	2,161 ± 0,40
<b>Reins</b>	0,701 ± 0,06	0,473 ± 0,17

Les données sont exprimées en moyenne ± SEM, n= 3. Les significativités statistiques sont : non significative (ns) si  $p > 0,05$ , significative (\*) si  $p < 0,05$ , très significative (\*\*) si  $p < 0,01$  et hautement significative (\*\*\*) si  $p < 0,001$  selon le test de student par rapport aux rats du lot témoin (Tém). EABt : extrait aqueux de *B. thonningii*.

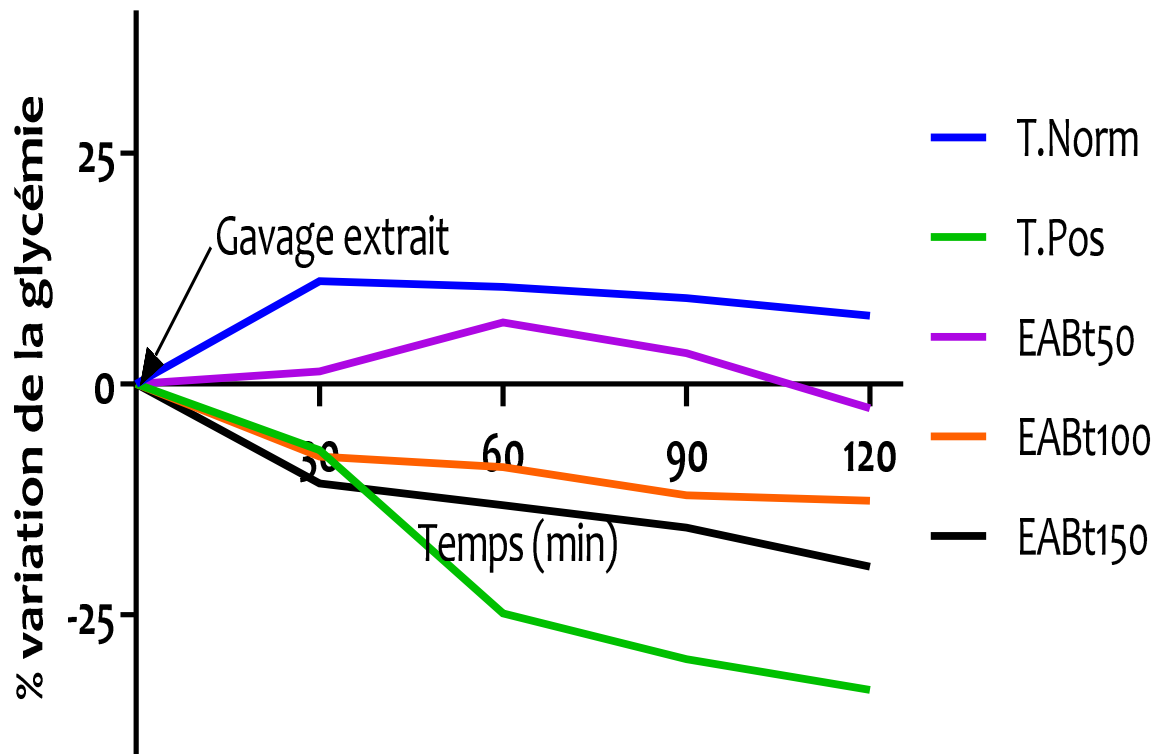
### III- Etude de l'activité antidiabétique *in vivo*

#### III-1- Effet hypoglycémiant de l'EABt

La glycémie de base des différents lots de rats a baissé progressivement pendant les 2 heures d'expérience. Les taux de variation ont été respectivement de 2,67 % ( $0,73 \pm 0,02$  vs  $0,75 \pm 0,05$  g/L) pour le lot 50 ; de - 12,65 % ( $0,72 \pm 0,02$  vs  $0,83 \pm 0,01$  g/L) pour le lot 100 ; - 19,76 % ( $0,67 \pm 0,01$  vs  $0,83 \pm 0,05$  g/L) pour le lot 150 mg/kg pc et de - 36,65 % ( $0,60 \pm 0,01$  vs  $0,95 \pm 0,01$  g/L) pour le témoin positif (glibenclamide) à la 2<sup>ème</sup> heure d'expérience. Cependant, la variation de la glycémie demeure faible et presque inexistante chez le témoin normal (Eau distillée) avec un taux de réduction de 4,40 % ( $0,87 \pm 0,03$  vs  $0,91 \pm 0,01$  g/L) par rapport à la glycémie initiale. L'effet hypoglycémiant de l'EABt est dose-dépendant en allant de 50 à 150 mg/kg pc et non significatif par rapport à la glycémie initiale ( $p = 0,073$ ) (**Figure 28**).

#### III-2- Effet anti hyperglycémiant de l'EABt chez des rats prétraités

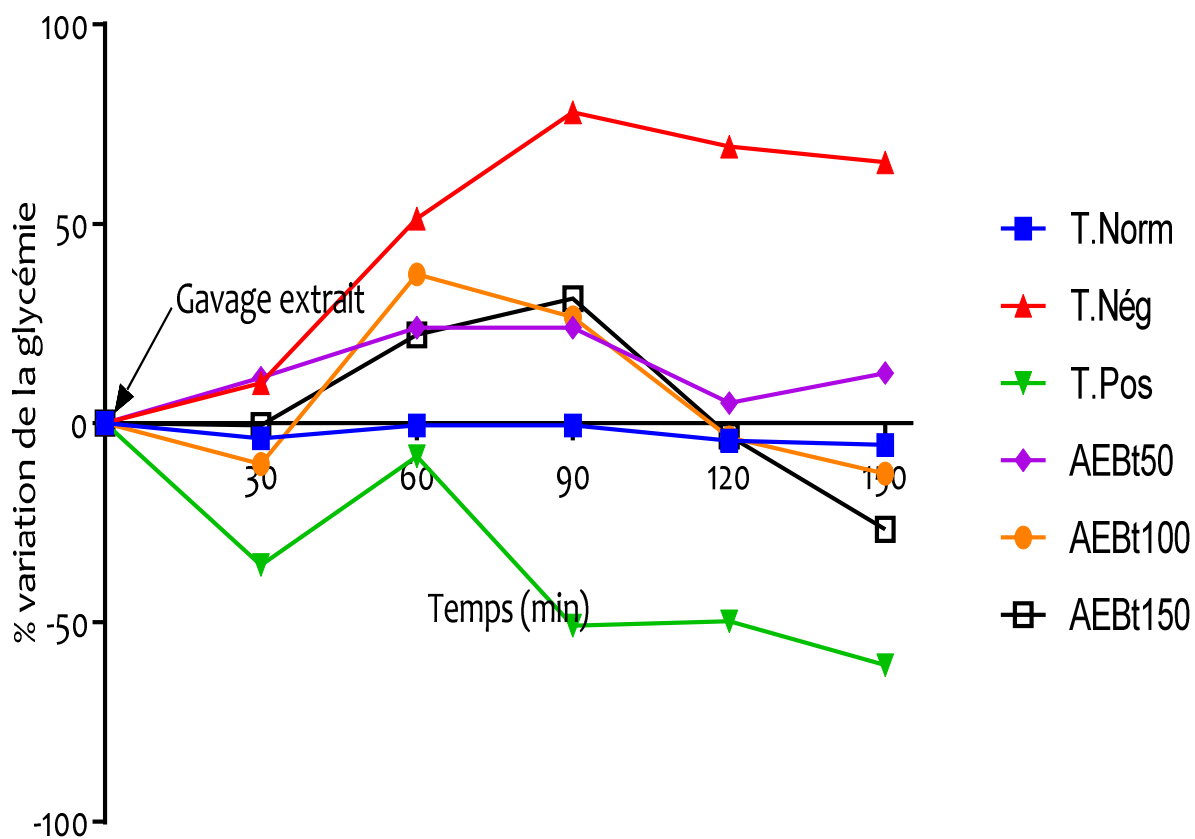
L'administration du glucose à la dose de 4 g/kg pc a entraîné une élévation de la glycémie chez tous les animaux prétraités par rapport à la glycémie du lot témoin normal. Le pic d'hyperglycémie est apparu 30 min après l'administration du glucose chez les rats prétraités avec l'EABt à la dose 100 mg/kg pc et le témoin positif (glibenclamide) et à la 60<sup>ème</sup> min pour les doses 50, 150 mg/kg pc et chez le contrôle négatif (glucose). On note une réduction progressive de l'hyperglycémie qui a abouti à un retour à la glycémie initiale observée que chez les rats ayant reçu les doses 100 et 150 mg/kg pc respectivement vers les 115 et 120 min de l'expérience. Il n'existe pas de retour à la glycémie initiale chez le témoin négatif ; mais une hypoglycémie accentuée est observée chez le témoin positif jusqu'à la fin de l'expérience. L'effet anti-hyperglycémiant est significatif ( $p = 0,039$ ) et plus marqué à la dose 150 mg/kg pc de l'extrait de *B. thoningii* avec un taux de réduction de  $-26,62 \pm 4,55$  % par rapport à la glycémie initiale. Toutefois, cet effet est inférieur à celui du glibenclamide qui est de  $- 60,73 \pm 0,56$  % (**Figure 29**).



**Figure 28** : Mise en évidence de l'effet hypoglycémiant de l'EABt chez des rats

*Tém Norm : témoin normal (lot gavé à l'eau distillée) ; Tém Pos : témoin positif (lot gavé à la substance de référence : glibenclamide) ; AEbt50, 100 et 150 : lots expérimentaux gavés respectivement aux doses 50, 100 et 150 mg/kg de PC des rats à l'extrait aqueux de B. thoningii.*

*Le pourcentage de variation de la glycémie a été calculé par rapport à la glycémie initiale à T0*



**Figure 29** : Mise en évidence de l'effet anti-hyperglycémiant de l'EABt chez des rats prétraités

*Tém Norm* : témoin normal (lot gavé à l'eau distillée) ; *Tém Nég* : témoin négatif (lot gavé au glucose) ; *Tém Pos* : témoin positif (lot gavé à la substance de référence : glibenclamide) ; *AEBt50, 100 et 150* : lots expérimentaux gavés respectivement aux doses 50, 100 et 150 mg/kg de PC des rats à l'extrait aqueux de *B. thoningii*.

*Le pourcentage de variation de la glycémie a été calculé par rapport à la glycémie initiale à T0*

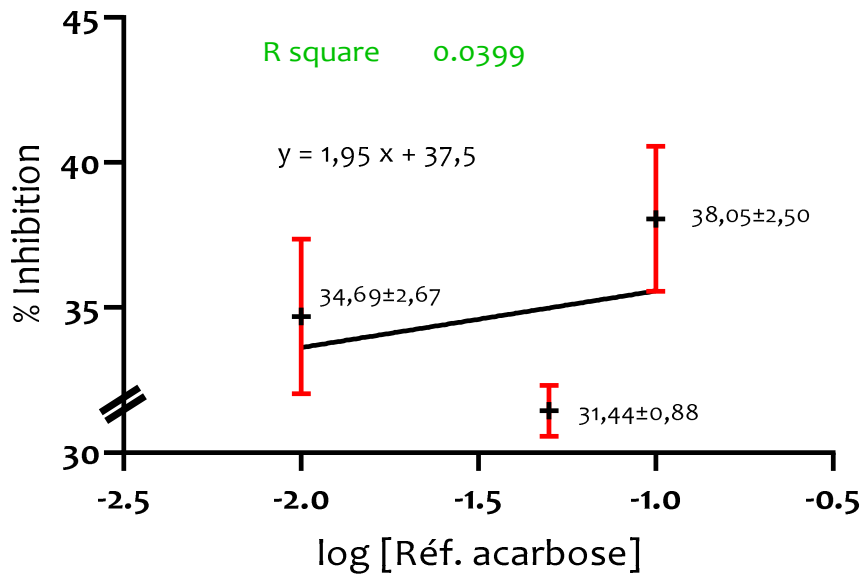


### III-3- Activité de l'EABt sur l'alpha-amylase et l'alpha-glucosidase.

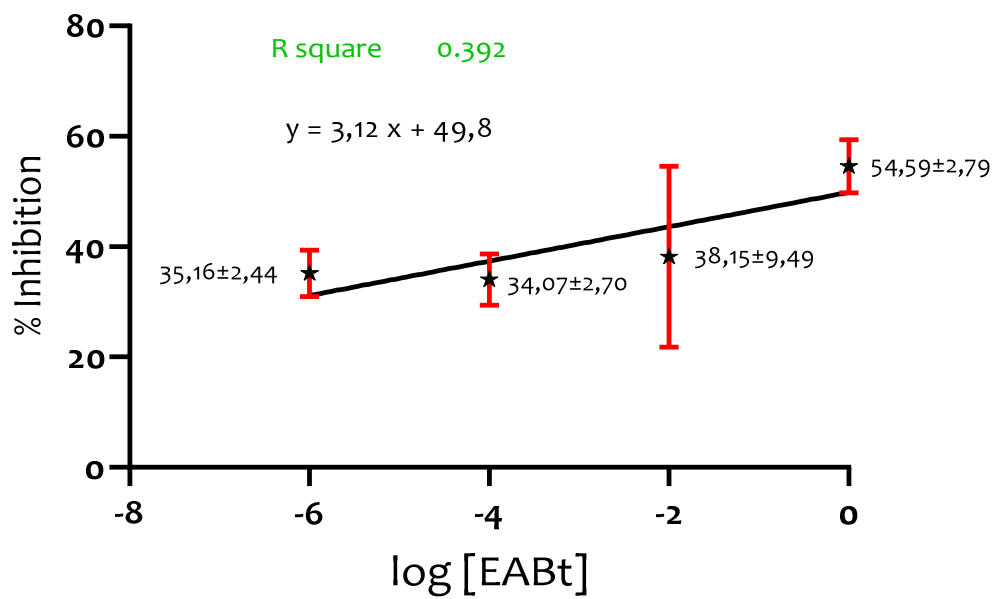
Les résultats de l'évaluation de l'activité de l'EABt sur l' $\alpha$ -amylase et l' $\alpha$ -glucosidase sont représentés par les **Figures 30** et **31**. Au vu de l'allure des droites, il est constaté que l'EABt a une activité inhibitrice à la fois sur les deux enzymes avec un effet dose-réponse. Il est aussi constaté une inhibition de la substance de référence (acarbose) sur l'alpha-glucosidase alors qu'elle est presque inexistante sur l'alpha-amylase. La corrélation issue de l'évolution de la concentration de l'extrait et son inhibition est faible sur l' $\alpha$ -amylase, mais reste forte sur l' $\alpha$ -glucosidase : ( $r = 0,626$  avec  $P = 0,0294$  sur l' $\alpha$ -amylase) et ( $r = 0,964$  avec  $P < 0,0001$  sur l' $\alpha$ -glucosidase). Celle de l'acarbose est faible sur l' $\alpha$ -amylase ( $r = 0,199$  avec  $P = 0,6062$ ) et forte sur l' $\alpha$ -glucosidase ( $r = 0,969$  avec  $P < 0,0001$ ).

La  $CI_{50}$  de l'EABt sur l' $\alpha$ -amylase a été de 1,159 mg/mL alors que celle de l'acarbose a été de 2,57 E+06 mg/mL. La  $CI_{50}$  de l'EABt sur l' $\alpha$ -glucosidase a été de 3,82 E-02 mg/mL alors que celle de l'acarbose a été de 3,13 E-01 mg/mL.

L'extrait aqueux préparé à partir des fruits de *B. thonninguii* inhibe les 2 enzymes. Cependant, son effet inhibiteur est plus prononcé sur l' $\alpha$ -amylase que l' $\alpha$ -glucosidase.

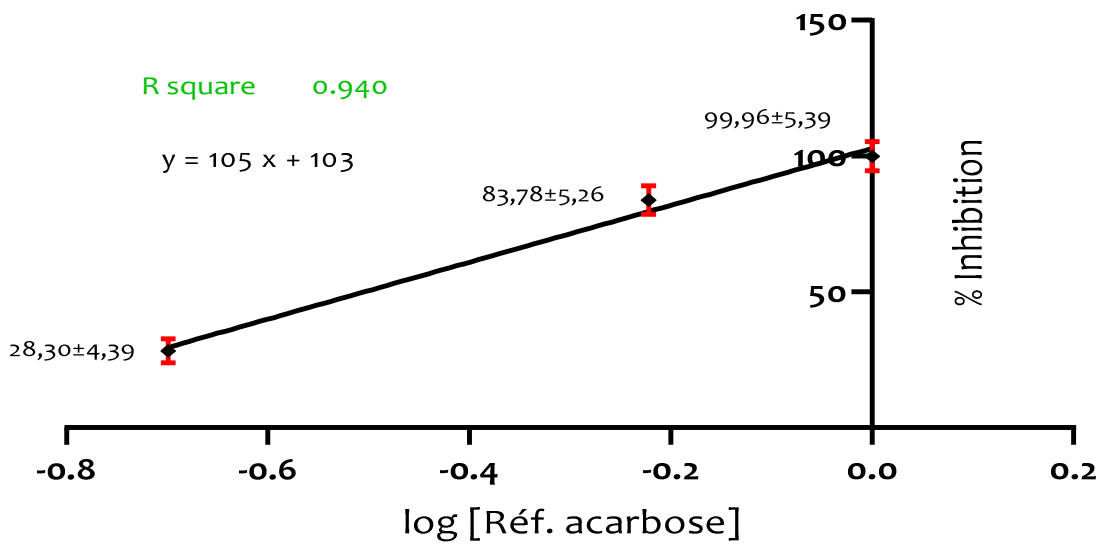


### Taux d'inhibition de l'acarbose sur l'a-amylase

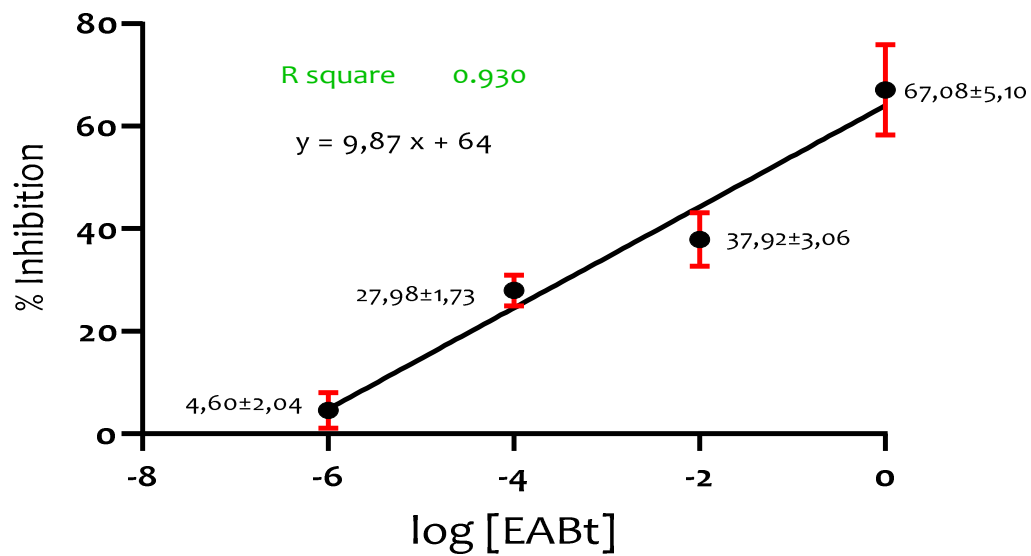


### Taux d'inhibition de l'EABt sur l'a-amylase

Figure 30 : Evaluation *in vitro* de l'activité de l'acarbose et celle de l'EABt sur l' $\alpha$ -amylase.



### Taux d'inhibition de l'acarbose sur l' $\alpha$ -glucosidase



### Taux d'inhibition de l'EABt sur l' $\alpha$ -glucosidase

Figure 31 : Evaluation *in vitro* de l'activité de l'acarbose et celle de l'EABt sur l' $\alpha$ -glucosidase

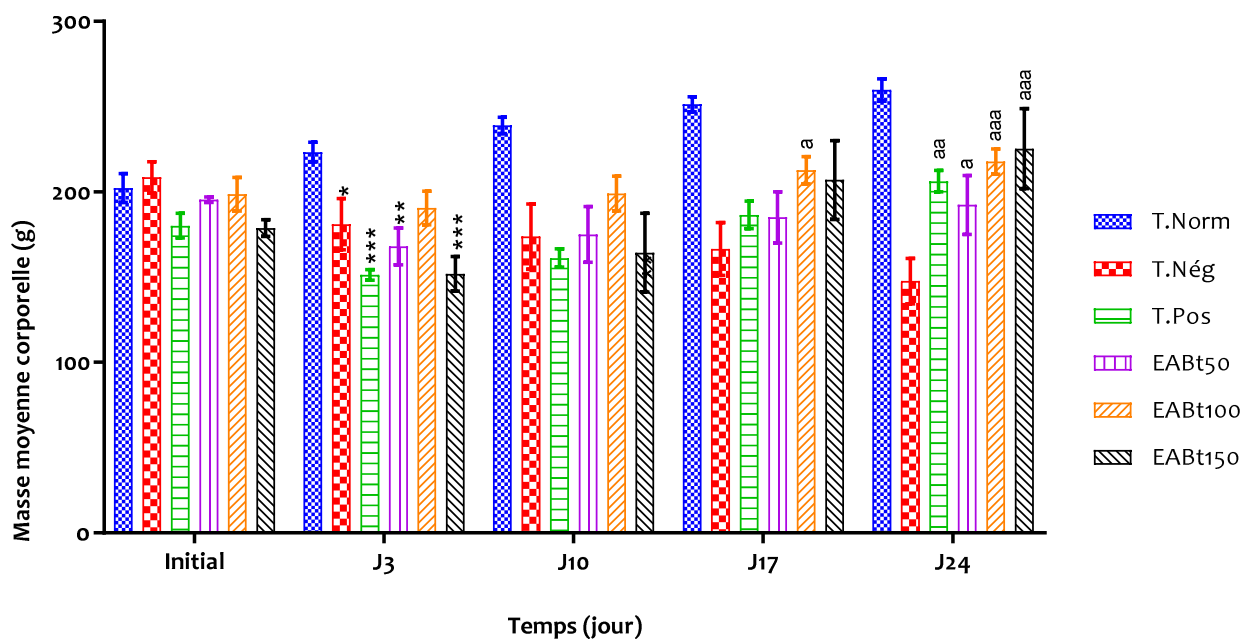
### III-4- Effet de l'EABt sur des rats rendus diabétiques

#### III-4-1- Effet de l'EABt sur la masse corporelle des rats diabétiques

Ces résultats révèlent que la masse corporelle des différents lots d'animaux, au temps initial, oscille entre 179 et 209 grammes. Il n'y a pas de différence significative entre la masse corporelle du lot des animaux T Norm et celle des animaux des autres lots.

Du 1<sup>er</sup> au 3<sup>ème</sup> jour, la masse corporelle baisse chez tous les animaux intoxiqués. Cette baisse observée est significative chez les lots T Nég, T Pos, EABt50 et EABt150 par rapport au T Norm ( $p < 0,05$ ), cependant elle demeure non significative chez EABt100 ( $p > 0,05$ ). Les taux de réduction sont de : -  $18,92 \pm 7,04$  % pour T Nég ; -  $32,25 \pm 2,25$  % pour T.Pos ; -  $24,75 \pm 5,18$  % pour EABt50 ; -  $14,67 \pm 4,98$  % pour EABt100 ; -  $31,91 \pm 2,87$  % pour EABt150 en comparaison du témoin non intoxiqué à J3.

De 10<sup>ème</sup> au 24<sup>ème</sup> jour de traitement, une augmentation de la masse corporelle est observée chez tous les lots de rats intoxiqués et traités en comparaison au lot des rats diabétiques non traités (T Nég). Cette variation est significative par rapport à T Nég à la 2<sup>ème</sup> semaine du traitement (J17) chez le lot de rats EABt100 ( $p < 0,05$ ) et à la 3<sup>ème</sup> semaine (J24) chez tous les lots de rats intoxiqués ( $p < 0,05$  ; 0,01 ; 0,001). Les taux d'augmentation sont de  $39,59 \pm 13,28$  % pour T.Pos ; de  $30,17 \pm 16,57$  % pour EABt50 ; de  $47,38 \pm 14,23$  % pour EABt100 ; de  $52,51 \pm 16,53$  % pour EABt150 par rapport au T Nég à J24 (**Figure 32**).



**Figure 32** : Effet de l'EABt sur la masse corporelle des différents lots de rats au cours du temps

\*  $p < 0,05$  ; \*\*  $p < 0,01$  ; \*\*\*  $p < 0,001$  = différence significative entre le lot non diabétique et les lots diabétiques

<sup>a</sup> $p < 0,05$  ; <sup>aa</sup> $p < 0,01$  ; <sup>aaa</sup> $p < 0,001$  : différence significative entre le lot diabétique non traité et les lots diabétiques traités.

Les données sont exprimées en masse corporelle moyenne (g)  $\pm$  SEM,  $n = 5$

T Norm : lot non diabétique ; T Pos : lot diabétique traité avec la substance de référence (glibenclamide) ; T Nég : lot diabétique non traité ; EABt 50 ; 100 ; 150 : lots diabétiques traités à l'extrait aqueux total de Bauhinia thonningii aux doses respectivement de 50 ; 100 et 150 mg/kg de PC.

### III-4-2- Effets de l'EABt sur les paramètres érythrocytaires

#### III-4-2-1- Effets de l'EABt sur le nombre de globules rouges

Les valeurs moyennes du nombre de globules rouges avant traitement varient de  $7,86 \pm 0,29$  à  $9,38 \pm 0,34$  E6/ $\mu$ L chez tous les lots avant l'induction du diabète avec l'alloxane. Aucune valeur du nombre de globules rouges des différents lots de rats n'est significative par rapport au témoin normal : T Norm ( $8,61 \pm 0,3$  E6/ $\mu$ L).

Au 3<sup>ème</sup> jour aucune variation significative du nombre de globules rouges n'est observée par rapport au témoin normal ( $p > 0,05$ ).

Ces valeurs varient très peu après l'induction du diabète aussi bien chez les lots témoins que chez les lots expérimentaux. Cependant, une hausse est observée à la 3<sup>ème</sup> semaine du traitement après induction du diabète avec des variations significatives ( $p < 0,05$ ) chez les animaux des lots T.Pos, EABt100 et EABt150 par rapport aux animaux du lot T.Nég. Les taux de variation du nombre de globules rouges, à J24 de l'induction, des différents lots de rats sont :  $21,02 \pm 8,39$  % pour EABt150 ;  $16,65 \pm 8,74$  % pour EABt100 ;  $9,29 \pm 7,45$  % pour EABt50 ;  $17,71 \pm 8,59$  % pour T.Pos (**Tableau VI**).

#### III-4-2-2- Effet de l'EABt sur le taux d'hémoglobine

Au temps initial, les valeurs moyennes du taux d'hémoglobine sont comprises entre  $15,08 \pm 0,61$  et  $16,24 \pm 0,45$  g/dL chez tous les lots d'animaux. Elles sont non significatives comparativement à celle du lot des rats témoins non intoxiqués : T Norm ( $15,41 \pm 0,39$  g/dL).

Le taux d'hémoglobine varie peu chez tous les différents lots d'animaux au 3<sup>ème</sup> jour de l'expérience après induction du diabète. Cette variation reste non significative ( $p > 0,05$ ) par rapport au lot témoin non diabétique (T.Norm). Les pourcentages de variation sont de  $0,14 \pm 2,54$  % pour T.Nég ; de  $0,84 \pm 4,34$  % pour T.Pos ; de  $- 4,45 \pm 7,08$  % pour EABt50 ; de  $- 7,54 \pm 6,38$  % pour EABt100 et de  $- 2,75 \pm 3,44$  % pour EABt150.

A partir du 17<sup>ème</sup> jour de traitement, il est observé une hausse du taux d'hémoglobine chez tous les lots de rats comparé à celui des rats du lot témoin T.Nég. Cette hausse est significative au 21<sup>ème</sup> jour du traitement chez les lots des rats EABt100 ( $p < 0,01$ ) et EABt150 ( $p < 0,001$ ) par rapport au lot témoin diabétique non traité T.Nég. Les taux d'augmentation sont de  $9,56 \pm 5,67$  % pour T Pos ; de  $8,30 \pm 5,35$  % pour EABt50 ; de  $15,70 \pm 5,50$  % pour EABt100 et de  $23,66 \pm 5,71$  % pour EABt150 à J24 (**Tableau VI**).


### *III-4-2-3- Effet de l'EABt sur le taux de l'hématocrite*

Ces résultats révèlent que les taux moyens d'hématocrites des différents lots d'animaux, au temps initial, oscille entre 43,10 et 48,73 %. Il n'y a pas de différence significative entre le taux d'hématocrite du lot des animaux T Norm et celui des animaux des autres lots.

Le taux d'hématocrite au 3<sup>ème</sup> jour a baissé de manière non significative chez tous les lots après induction du diabète par rapport au lot du témoin normal.

Du 10<sup>ème</sup> au 24<sup>ème</sup> jour après induction du diabète, une augmentation non significative ( $p > 0,05$ ) est observée chez tous lots d'animaux traités avec les différentes doses d'extrait de plante et le glibenclamide par rapport à T Nég. Les taux d'augmentation d'hématocrites sont de  $12,64 \pm 6,98$  % pour le lot T Pos, de  $6,98 \pm 7,21$  % pour le lot EABt50, de  $18,18 \pm 8,02$  % pour le lot EABt100 et de  $18,44 \pm 8,52$  % pour le lot EABt150 à J24 (**Tableau VI**).

**Tableau VI** : Valeurs des globules rouges, d'hémoglobine et d'hématocrites des rats diabétiques traités à l'EABt

Globules Rouges (E6/ $\mu$ L)	Lots	Inject IP Alloxane				
		Initial ou J0 	J3	J10	J17	J24
Globules Rouges (E6/ $\mu$ L)	T Norm	8,61 $\pm$ 0,30	9,06 $\pm$ 0,40	8,76 $\pm$ 0,11	8,65 $\pm$ 0,58	8,66 $\pm$ 0,27
	T Nég	8,65 $\pm$ 0,50	8,35 $\pm$ 0,29	8,88 $\pm$ 0,65	8,21 $\pm$ 0,47	8,12 $\pm$ 0,54
	T Pos	9,38 $\pm$ 0,34	8,65 $\pm$ 0,38	8,59 $\pm$ 0,20	8,40 $\pm$ 0,57	9,56 $\pm$ 0,28 <sup>a</sup>
	EABt50	8,52 $\pm$ 0,29	9,08 $\pm$ 0,15	8,39 $\pm$ 0,48	8,64 $\pm$ 0,40	8,87 $\pm$ 0,12
	EABt100	8,06 $\pm$ 0,38	8,39 $\pm$ 0,30	8,82 $\pm$ 0,35	9,05 $\pm$ 0,31	9,47 $\pm$ 0,32 <sup>a</sup>
	EABt150	7,86 $\pm$ 0,29	7,62 $\pm$ 0,18	8,63 $\pm$ 0,31	8,91 $\pm$ 0,29	9,82 $\pm$ 0,18 <sup>aa</sup>
Hémoglobine (g/dL)	T Norm	15,41 $\pm$ 0,39	14,73 $\pm$ 0,37	14,78 $\pm$ 0,45	15,41 $\pm$ 0,39	15,54 $\pm$ 0,29
	T Nég	15,60 $\pm$ 0,56	14,85 $\pm$ 0,45	15,08 $\pm$ 0,45	13,93 $\pm$ 0,69	13,58 $\pm$ 0,43
	T Pos	16,24 $\pm$ 0,45	15,85 $\pm$ 0,52	15,20 $\pm$ 1,21	15,29 $\pm$ 0,49	15,70 $\pm$ 0,48
	EABt50	15,08 $\pm$ 0,61	13,58 $\pm$ 0,64	13,98 $\pm$ 0,57	15,20 $\pm$ 0,51	15,52 $\pm$ 0,41
	EABt100	16,15 $\pm$ 0,39	13,62 $\pm$ 0,87	15,23 $\pm$ 0,69	15,67 $\pm$ 0,64	16,58 $\pm$ 0,38 <sup>aa</sup>
	EABt150	15,20 $\pm$ 0,37	14,33 $\pm$ 0,36	14,58 $\pm$ 0,46	16,38 $\pm$ 0,50	17,72 $\pm$ 0,35 <sup>aaa</sup>
Hématocrites (%)	T Norm	48,73 $\pm$ 1,65	48,93 $\pm$ 2,28	48,00 $\pm$ 4,32	47,29 $\pm$ 3,77	50,70 $\pm$ 3,63
	T Nég	44,53 $\pm$ 3,33	46,25 $\pm$ 0,05	43,00 $\pm$ 3,94	41,46 $\pm$ 2,68	40,30 $\pm$ 2,23
	T Pos	48,38 $\pm$ 1,35	44,79 $\pm$ 2,50	48,70 $\pm$ 1,32	40,96 $\pm$ 1,30	45,39 $\pm$ 1,26
	EABt50	44,40 $\pm$ 1,61	44,38 $\pm$ 1,75	45,50 $\pm$ 2,68	46,48 $\pm$ 2,65	43,11 $\pm$ 1,65
	EABt100	45,88 $\pm$ 1,20	46,50 $\pm$ 1,54	48,28 $\pm$ 2,80	46,97 $\pm$ 1,65	47,62 $\pm$ 1,86
	EABt150	43,10 $\pm$ 2,17	41,53 $\pm$ 3,03	47,75 $\pm$ 1,86	45,98 $\pm$ 2,13	47,73 $\pm$ 2,19

Les données sont exprimées en moyenne  $\pm$  SEM, n= 5.

<sup>a</sup>p < 0,05 ; <sup>aa</sup>p < 0,01 ; <sup>aaa</sup>p < 0,001 : différence significative entre le lot diabétique non traité et les lots diabétiques traités.

T Norm : lot non diabétique, T Pos : lot diabétique traité avec la substance de référence (glibenclamide) ; T Nég : lot diabétique non traité ; EABt 50 ; 100 ; 150 : lots diabétiques traités à l'extrait aqueux total de *Bauhinia thonningii* aux doses respectives de 50 ; 100 et 150 mg/kg de PC.



#### ***III-4-2-4- Effet de l'EABt sur le volume globulaire moyen (VGM)***

Les valeurs du VGM avant le début des traitements sont comprises entre  $51,08 \pm 1,71$  fL et  $56,40 \pm 0,97$  fL chez tous les lots de rats présents. Il n'existe pas de différence significative entre les différents lots de rats et celui des rats non intoxiqués (T Norm).

Au 3<sup>ème</sup> jour après l'induction du diabète, les valeurs de VGM baissent chez tous les lots. Ces variations de VGM des différents lots de rats, pendant cette période, ne sont pas significatives ( $p > 0,05$ ) par rapport au lot des rats non diabétiques (T Norm).

Le traitement des animaux avec les différentes doses d'extrait et la substance de référence provoque une augmentation du taux de VGM préalablement diminué par l'administration de l'alloxane. Cette hausse est significative ( $p < 0,05$ ) à J21 du traitement avec un taux d'augmentation de  $23,16 \pm 14,38$  % chez les animaux du lot EABt100 comparativement au témoin diabétique non traité T Nég (**Tableau VII**).

#### ***III-4-2-5- Effet de l'EABt sur la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH)***

Les valeurs de CCMH avant l'induction du diabète sont comprises entre  $34,29 \pm 2,35$  g/dL et  $39,51 \pm 0,65$  g/dL chez tous les lots d'animaux. Au temps initial les valeurs de CCMH des différents lots ne sont pas significatives par rapport au lot non intoxiqué :  $34,29 \pm 2,35$  g/dL (T Norm) ;  $36,77 \pm 1,79$  g/dL (T Nég) ;  $39,51 \pm 0,65$  g/dL (T Pos) ;  $37,40 \pm 1,51$  g/dL (EABt50) ;  $39,23 \pm 2,27$  g/dL (EABt100) et  $35,68 \pm 1,13$  g/dL (EABt150).

Ces valeurs ont varié pour tous les animaux des différents lots comparativement ceux du lot T.Norm du 1<sup>er</sup> au 3<sup>ème</sup> jour de l'induction. Les taux de variations sont les suivants :  $1,73 \pm 14,08$  % pour T.Nég ;  $- 10,60 \pm 7,91$  % pour T.Pos ;  $- 4,25 \pm 8,22$  % pour EABt50 ;  $5,07 \pm 8,35$  % pour EABt100 et  $-13,70 \pm 7,21$  % pour EABt150 par rapport au lot T Norm. Ces variations ne sont pas significatives ( $p > 0,05$ ).

Du 10<sup>ème</sup> au 24<sup>ème</sup> jour après l'induction du diabète, les valeurs de CCMH n'ont pas varié significativement ( $p > 0,05$ ) par rapport au lot diabétique non traité T Nég (**Tableau VII**).

**Tableau VII** : Valeurs de VGM et de CCMH des rats diabétiques traités à l'EABt.

	Lots	Inject IP Alloxane		Jours de traitement		
		Initial ou J0	J3	J10	J17	J24
VGM (fL)	T Norm	55,41±1,71	57,70±0,70	53,72±2,86	54,66±1,96	59,97±4,02
	T Nég	56,37±1,49	53,35±0,15	49,63±3,90	49,71±4,71	49,47±5,67
	T Pos	56,40±0,97	53,86±2,10	57,80±0,67	50,58±0,36	58,85±1,43
	EABt50	52,55±3,24	49,80±2,14	53,90±4,48	56,53±1,53	53,52±2,45
	EABt100	53,40±3,54	53,74±4,07	59,15±0,63	56,93±4,24	60,92±1,37 <sup>a</sup>
	EABt150	51,08±1,71	47,05±0,82	53,20±1,47	55,20±1,52	59,62±1,23
CCMH (g/dL)	T Norm	34,29±2,35	35,63±2,62	34,82±3,22	36,32±2,55	33,67±3,57
	T Nég	36,77±1,79	36,25±4,25	33,48±1,93	34,53±0,90	32,57±0,41
	T Pos	39,51±0,65	31,86±1,57	29,50±1,45	32,34±1,36	35,30±1,63
	EABt50	37,40±1,51	34,12±1,51	31,58±2,03	33,35±1,34	35,70±0,97
	EABt100	39,23±2,27	37,44±1,14	31,13±2,90	33,77±2,20	37,64±1,98
	EABt150	35,68±1,13	30,75±1,23	30,08±0,52	35,78±1,06	38,72±1,26

Les données sont exprimées en moyenne ± SEM, n= 5.

<sup>a</sup>*p* < 0,05 ; <sup>aa</sup>*p* < 0,01 ; <sup>aaa</sup>*p* < 0,001 : différence significative entre le lot diabétique non traité et les lots diabétiques traités.

T Norm : lot non diabétique, T Pos : lot diabétique traité avec la substance de référence (glibenclamide) ; T Nég : lot diabétique non traité ; EABt 50 ; 100 ; 150 : lots diabétiques traités à l'extrait aqueux total de *Bauhinia thonningii* aux doses respectivement de 50 ; 100 et 150 mg/kg de PC.

### ***III-4-2-6- Effet de l'EABt sur la teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH)***

Les valeurs de TCMH avant l'induction du diabète sont comprises entre  $16,93 \pm 0,58$  pg et  $18,06 \pm 0,88$  pg chez tous les lots de rats. Au temps initial les valeurs de TCMH des différents lots ne sont pas significatives par rapport au lot non intoxiqué :  $17,81 \pm 0,43$  pg (T Norm) ;  $16,93 \pm 0,58$  pg (T Nég) ;  $18,06 \pm 0,88$  pg (T Pos) ;  $17,70 \pm 0,63$  pg (EABt50) ;  $17,80 \pm 0,24$  pg (EABt100) et  $17,74 \pm 0,87$  pg (EABt150).

La valeur moyenne de TCMH, du 1<sup>er</sup> au 3<sup>ème</sup> jour, diminue chez tous les animaux des lots T.Pos, EABt50, EABt100 et EABt150 avec des taux de variation respectifs de  $-7,02 \pm 3,94$  % ;  $-7,64 \pm 5,33$  % ;  $-8,33 \pm 3,44$  % et  $-5,00 \pm 6,74$  % alors qu'elle augmente chez les animaux du T.Nég ( $5,28 \pm 10,96$  %). Ces variations ne sont pas significatives par rapport à celle des animaux du lot T.Norm.

Du 10<sup>ème</sup> au 24<sup>ème</sup> jour après l'induction, la variation de la TCMH est non significative ( $p > 0,05$ ) chez tous les lots d'animaux exceptés chez celle des animaux du lot EABt150 ( $p < 0,05$ ) au 24<sup>ème</sup> jour par rapport à celle des animaux du lot T.Nég (**Tableau VIII**).

### ***III-4-2-7- Effet de l'EABt sur la teneur en plaquettes sanguines***

Les concentrations de plaquettes sanguines des différents lots varient entre  $662 \pm 111$  et  $960 \pm 42$   $10^3/\mu\text{L}$  au temps initial et ne sont pas significatives par rapport à celles du lot normal T Norm.

Du 1<sup>er</sup> au 3<sup>ème</sup> jour, la concentration de plaquettes diminue de façon non significative sauf celle du lot EABt150 comparé à celle du lot des animaux non diabétiques T Norm.

Au 24<sup>ème</sup> jour après l'induction du diabète, une augmentation de la teneur en plaquettes sanguines est observée dans tous les lots comparativement au lot T Nég. Les taux de variation de la teneur en plaquettes des différents lots d'animaux sont :  $17,81 \pm 10,74$  % pour T Pos ;  $17,39 \pm 10,38$  % pour EABt50 ;  $23,94 \pm 6,56$  % pour EABt100 et  $22,38 \pm 6,78$  % pour EABt150 (**Tableau VIII**).

**Tableau VIII : Valeurs de TCMH et de plaquettes des rats diabétiques traités à l'EABt**

	Lots	Inject IP Alloxane		Jours de traitement		
		Initial ou J0	J3	J10	J17	J24
TCMH (pg)	T Norm	17,81±0,43	18,00±0,65	17,39±0,09	19,20±0,38	20,53±0,44
	T Nég	16,93±0,58	18,95±1,85	16,63±0,68	16,40±0,68	17,35±0,52
	T Pos	18,06±0,88	16,74±0,37	17,13±0,98	16,70±0,20	19,35±0,99
	EABt50	17,70±0,63	16,63±0,75	16,68±0,79	18,20±0,86	18,40±0,62
	EABt100	17,80±0,24	16,50±0,16	17,28±0,33	17,73±0,39	19,24±0,22
	EABt150	17,74±0,87	17,10±1,04	16,60±0,39	18,68±0,68	19,64±0,76 <sup>a</sup>
Plaquettes (10 <sup>3</sup> /μL)	T Norm	896,25±58,06	919,00±29,67	900,67±40,18	943,50±38,18	960,00±24,03
	T Nég	787,67±27,55	808,00±92,00	788,50±20,26	761,33±28,34	706,00±34,39
	T Pos	926,40±30,40	851,00±55,71	690,00±37,90	824,75±21,00	831,75±64,09
	EABt50	916,75±86,10	810,50±35,16	726,25±54,96	791,00±57,23	828,80±61,15
	EABt100	803,00±35,12	765,00±47,54	707,25±48,98	725,33±14,44	875,00±18,11
	EABt150	765,00±19,49	661,67±64,36*	682,50±21,06	756,25±20,04	864,00±22,87

Les données sont exprimées en moyenne ± SEM, n= 5.

<sup>a</sup>p < 0,05 ; <sup>aa</sup>p < 0,01 ; <sup>aaa</sup>p < 0,001 : différence significative entre le lot diabétique non traité et les lots diabétiques traités.

T Norm : lot non diabétique, T Pos : lot diabétique traité avec la substance de référence (glibenclamide) ; T Nég : lot diabétique non traité ; EABt 50 ; 100 ; 150 : lots diabétiques traités à l'extrait aqueux total de *Bauhinia thonningii* aux doses respectivement de 50 ; 100 et 150 mg/kg de PC.

### III-4-3- Effets de l'EABt sur les paramètres leucocytaires

#### III-4-3-1- Effet de l'EABt sur le nombre de globules blancs

Ces résultats révèlent que le nombre de globules blancs des rats à jeun et avant tout traitement varie entre  $7,78 \pm 0,34$  et  $9,91 \pm 0,44$  E3/ $\mu$ L. Au temps initial le nombre moyen de globules blancs des différents lots ne sont pas significatives ( $p > 0,05$ ) par rapport au lot non intoxiqué.

A J3 après l'induction du diabète, une augmentation significative des concentrations de globules blancs est observée que chez les animaux des lot intoxiqués T Pos et EABt100 par rapport à la concentration de globules blancs des rats du lot T.Norm ou lot témoin non diabétique ( $p < 0,05$ ). Les taux d'augmentation sont de  $8,36 \pm 5,26$  % ;  $39,86 \pm 8,13$  % ;  $6,74 \pm 5,23$  % ;  $29,45 \pm 10,10$  % et  $18,10 \pm 9,43$  % respectivement pour les lots T Nég, T Pos, EABt50, EABt100 et EABt150.

Du 1<sup>er</sup> (J3) au 14<sup>ème</sup> jour (J17) de traitement, aucune variation significative du nombre de globules blancs n'est observée chez tous lots de rats intoxiqués par rapport au lot témoin non intoxiqué non traité (T.Nég) ( $p > 0,05$ ).

Au 21<sup>ème</sup> jour (J24) de traitement, une baisse de la concentration de globules blancs est observée dans tous les lots traités. Cette baisse de la concentration des leucocytes est significative ( $p < 0,05$ ) chez le lot EABt150 comparativement à T.Nég (**Tableau IX**).

#### III-4-3-1-1- Effet de l'EABt sur le taux de lymphocytes

Les résultats révèlent que le taux de lymphocytes des rats, avant tout traitement, varie entre  $69,95 \pm 1,67$  et  $75,13 \pm 0,44$  %. Du 1<sup>er</sup> au 3<sup>ème</sup> jour de l'induction du diabète, ce taux ne varie pas significativement ( $p > 0,05$ ) par rapport au lot témoin non intoxiqué.

Des diminutions significatives sont observées à J17 et à J24 chez les lots EABt100 et EABt150 ( $p < 0,05$ ) comparativement aux rats du lot témoin intoxiqué non traité (T.Nég). Les taux variation sont de : -  $7,36 \pm 2,90$  % pour T Pos ; -  $4,92 \pm 1,29$  % pour T Pos ; -  $4,92 \pm 1,29$  % pour EABt50 ; -  $8,19 \pm 1,63$  % pour EABt100 et -  $12,54 \pm 1,81$  % pour EABt150 à J24 (**Tableau IX**).

#### III-4-3-1-2- Effet de l'EABt sur le taux de neutrophiles

Les résultats révèlent que le taux de neutrophiles des rats, avant tout traitement, varie entre  $17,80 \pm 0,36$  et  $19,93 \pm 0,28$  %. Du 1<sup>er</sup> au 3<sup>ème</sup> jour de l'induction du diabète, ce taux augmente de façon non significative ( $p > 0,05$ ) par rapport au lot non intoxiqué.

Au 21<sup>ème</sup> jour (J24) de traitement, une baisse non significative ( $p > 0,05$ ) du taux de neutrophiles est enregistrée comparativement aux rats du lot témoin intoxiqué non traité (T.Nég). Les taux de réduction sont de :  $13,85 \pm 4,67$  % pour T Pos ;  $0,67 \pm 6,92$  % pour EABt50 ;  $15,57 \pm 5,42$  % pour EABt100 ;  $14,56 \pm 5,07$  % pour EABt150 à J24 (**Tableau IX**).

**Tableau IX** : Nombres de globules blancs, taux de neutrophiles et de lymphocytes des rats diabétiques traités à l'EABt.

Globules Blancs (E3/ $\mu$ L)	Lots	Inject IP Alloxane				
		Initial ou J0	J3	J10	J17	J24
Globules Blancs (E3/ $\mu$ L)	T Norm	9,20 $\pm$ 0,53	8,93 $\pm$ 0,37	8,89 $\pm$ 0,16	9,08 $\pm$ 0,34	8,95 $\pm$ 0,35
	T Nég	8,87 $\pm$ 0,27	9,68 $\pm$ 0,25	10,11 $\pm$ 0,18	10,14 $\pm$ 0,46	10,90 $\pm$ 0,46
	T Pos	9,91 $\pm$ 0,44	12,49 $\pm$ 0,51**	11,48 $\pm$ 0,38	11,28 $\pm$ 0,69	10,10 $\pm$ 0,42
	EABt50	7,78 $\pm$ 0,34	9,54 $\pm$ 0,25	9,69 $\pm$ 0,64	8,80 $\pm$ 0,64	8,61 $\pm$ 0,56
	EABt100	8,59 $\pm$ 0,42	11,56 $\pm$ 0,77*	10,13 $\pm$ 0,35	9,65 $\pm$ 0,45	8,51 $\pm$ 0,63
	EABt150	8,51 $\pm$ 0,61	10,55 $\pm$ 0,72	9,60 $\pm$ 0,54	8,83 $\pm$ 0,49	8,05 $\pm$ 0,78 <sup>a</sup>
Neutrophiles (%)	T Norm	19,93 $\pm$ 0,28	19,90 $\pm$ 0,30	20,51 $\pm$ 0,51	19,38 $\pm$ 1,08	18,68 $\pm$ 0,68
	T Nég	18,67 $\pm$ 0,27	22,07 $\pm$ 0,27	22,14 $\pm$ 0,26	21,82 $\pm$ 0,51	21,75 $\pm$ 1,15
	T Pos	19,59 $\pm$ 2,21	22,85 $\pm$ 2,15	22,07 $\pm$ 1,44	21,63 $\pm$ 1,51	18,74 $\pm$ 0,22
	EABt50	19,83 $\pm$ 1,86	22,88 $\pm$ 1,17	23,70 $\pm$ 0,95	22,43 $\pm$ 1,55	21,60 $\pm$ 0,98
	EABt100	17,80 $\pm$ 0,36	20,06 $\pm$ 1,51	19,90 $\pm$ 0,23	18,70 $\pm$ 0,47	18,36 $\pm$ 0,67
	EABt150	18,06 $\pm$ 0,50	20,78 $\pm$ 0,46	20,64 $\pm$ 1,03	19,45 $\pm$ 0,67	18,58 $\pm$ 0,49
Lymphocytes (%)	T Norm	70,88 $\pm$ 0,65	71,17 $\pm$ 1,19	68,86 $\pm$ 0,71	70,76 $\pm$ 0,95	69,53 $\pm$ 1,18
	T Nég	71,90 $\pm$ 0,56	78,13 $\pm$ 0,47	76,65 $\pm$ 0,82	76,67 $\pm$ 1,80	76,63 $\pm$ 0,32
	T Pos	73,17 $\pm$ 2,24	77,86 $\pm$ 2,42	75,80 $\pm$ 2,57	72,06 $\pm$ 2,15	70,99 $\pm$ 2,20
	EABt50	75,13 $\pm$ 2,44	78,05 $\pm$ 3,17	77,55 $\pm$ 2,74	76,14 $\pm$ 1,36	72,86 $\pm$ 0,94
	EABt100	69,95 $\pm$ 1,67	77,78 $\pm$ 1,48	72,25 $\pm$ 0,97	70,40 $\pm$ 0,93 <sup>a</sup>	70,36 $\pm$ 1,21 <sup>a</sup>
	EABt150	72,44 $\pm$ 1,84	79,70 $\pm$ 1,13	73,35 $\pm$ 1,73	68,75 $\pm$ 0,85 <sup>aa</sup>	67,02 $\pm$ 1,36 <sup>aaa</sup>

Les données sont exprimées en moyenne  $\pm$  SEM, n= 5.

\* $p < 0,05$  ; \*\* $p < 0,01$  ; \*\*\* $p < 0,001$  : différence significative entre le lot non diabétique et les lots diabétiques.

<sup>a</sup> $p < 0,05$  ; <sup>aa</sup> $p < 0,01$  ; <sup>aaa</sup> $p < 0,001$  : différence significative entre le lots diabétique non traité et les lots diabétiques traités.

T Norm : lot non diabétique, T Pos : lot diabétique traité avec la substance de référence (glibenclamide) ; T Nég : lot diabétique non traité ; EABt 50 ; 100 ; 150 : lots diabétiques traités à l'extrait aqueux total de *Bauhinia thonningii* aux doses respectivement de 50 ; 100 et 150 mg/kg de PC de l'animal.

#### *III-4-3-1-3- Effet de l'EABt sur le taux d'éosinophiles*

Les résultats révèlent que le taux de neutrophiles des rats, avant tout traitement, varie entre  $1,30 \pm 0,12$  et  $1,83 \pm 0,36$  %. Du 1<sup>er</sup> au 3<sup>ème</sup> jour de l'induction du diabète, ce taux ne varie pas significativement ( $p > 0,05$ ) par rapport au lot non intoxiqué.

Le même constat a été fait du 7<sup>ème</sup> (J10) au 21<sup>ème</sup> jour (J24) de traitement comparativement aux rats du lot témoin intoxiqué non traité (T.Nég). Les taux de variation sont de :  $- 10,64 \pm 10,13$  % pour T Pos ;  $9,79 \pm 13,82$  % pour EABt50 ;  $- 17,02 \pm 8,92$  % pour EABt100 ;  $- 1,70 \pm 16,27$  % pour EABt150 à J24 (**Tableau X**).

#### *III-4-3-1-4- Effet de l'EABt sur le taux des monocytes*

Initialement les valeurs du taux de monocytes des différents lots de rats oscillent entre  $2,60 \pm 0,37$  % et  $3,57 \pm 0,49$  %. Ces valeurs du taux moyen de monocytes des différents lots de rats augmentent de façon non significative par rapport au lot témoin non intoxiqué T Norm ( $p > 0,05$ ) à J3.

L'augmentation du taux des monocytes induite par l'alloxane est réduite à la suite des différents traitements effectués du 14<sup>ème</sup> au 21<sup>ème</sup> jour. Cette réduction est significative ( $p > 0,05$ ) chez le lot diabétique traité à la dose 150 mg/kg de l'EABt au 21<sup>ème</sup> jour (J24) du traitement avec un taux de réduction de  $43,61 \pm 11,47$  % comparativement au lot T.Nég (**Tableau X**).

#### *III-4-3-1-5- Effet de l'EABt sur le taux des basophiles*

Ces résultats révèlent que le taux des basophiles des rats, avant tout traitement, varie entre  $0,35 \pm 0,06$  et  $0,44 \pm 0,09$  %. A J3 une augmentation du taux des basophiles est observée ( $p > 0,05$ ).

L'EABt et le glibenclamide réduisent augmentation du taux des basophiles provoquée par l'alloxane de J10 à J24. Cette réduction est non significative ( $p > 0,05$ ) comparativement au lot des rats intoxiqués et non traité (T.Nég) (**Tableau X**).

**Tableau X : Taux de monocytes, d'éosinophiles et de basophiles des rats diabétiques traités à l'EABt**

	Lots	Inject IP Alloxane				
		Initial ou J0	J3	J10	J17	J24
Monocytes (%)	T Norm	3,57±0,49	3,87±0,64	3,67±0,20	3,18±0,13	2,70±0,31
	T Nég	3,17±0,27	5,20±0,20	4,50±0,67	4,35±0,76	4,15±0,76
	T Pos	2,60±0,37	4,38±1,26	4,05±0,88	3,44±0,16	2,86±0,36
	EABt50	3,30±0,44	4,68±0,40	4,25±0,45	3,40±0,26	3,12±0,40
	EABt100	3,20±0,57	5,54±0,35	5,00±0,84	3,57±0,62	2,88±0,13
	EABt150	3,34±0,26	5,27±0,41	4,70±0,39	3,33±0,36	2,34±0,21 <sup>a</sup>
Eosinophiles (%)	T Norm	1,70±0,15	1,83±0,28	1,70±0,12	1,60±0,11	1,60±0,20
	T Nég	1,30±0,36	1,80±0,06	1,79±0,07	1,67±0,03	1,57±0,15
	T Pos	1,30±0,12	1,72±0,14	1,63±0,15	1,58±0,13	1,40±0,09
	EABt50	1,80±0,11	2,08±0,13	1,93±0,34	1,77±0,27	1,72±0,15
	EABt100	1,83±0,36	1,92±0,25	1,65±0,26	1,45±0,10	1,30±0,07
	EABt150	1,56±0,14	2,27±0,38	2,18±0,30	1,58±0,26	1,54±0,21
Basophiles (%)	T Norm	0,35±0,06	0,40±0,09	0,40±0,12	0,38±0,09	0,37±0,12
	T Nég	0,40±0,09	0,55±0,06	0,56±0,07	0,50±0,08	0,47±0,14
	T Pos	0,40±0,13	0,56±0,09	0,54±0,06	0,44±0,12	0,40±0,19
	EABt50	0,43±0,11	0,61±0,16	0,55±0,10	0,45±0,13	0,38±0,07
	EABt100	0,38±0,09	0,56±0,12	0,46±0,13	0,40±0,07	0,34±0,09
	EABt150	0,44±0,09	0,58±0,09	0,45±0,10	0,40±0,07	0,38±0,08

Les données sont exprimées en moyenne ± SEM, n= 5.

<sup>a</sup>p < 0,05 ; <sup>aa</sup>p < 0,01 ; <sup>aaa</sup>p < 0,001 : différence significative entre le lot diabétique non traité et les lots diabétiques traités.

T Norm : lot non diabétique, T Pos : lot diabétique traité avec la substance de référence (glibenclamide) ; T Nég : lot diabétique non traité ; EABt 50 ; 100 ; 150 : lots diabétiques traités à l'extrait aqueux total de *Bauhinia thonningii* aux doses respectivement de 50 ; 100 et 150 mg/kg de PC.



### III-4-4- Influence de l'EABt sur les paramètres biochimiques des rats diabétiques

#### III-4-4-1- Influence de l'EABt sur l'activité des enzymes

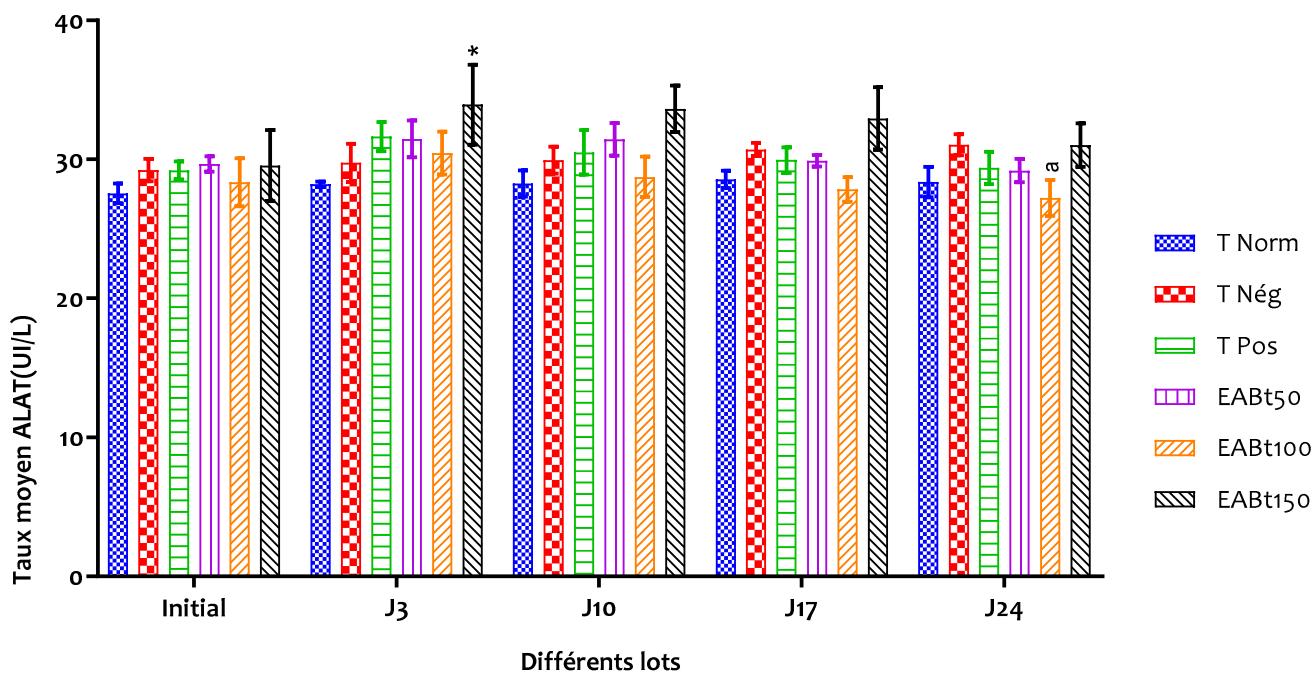
##### III-4-4-1-1- Influence de l'EABt sur l'activité de l'alanine aminotransférase (ALAT)

La **figure 33** montre l'effet des différents traitements sur l'activité de l'alanine aminotransférase (ALAT) des différents lots de rats pendant 24 jours.

Avant l'induction du diabète avec l'alloxane, la valeur moyenne de l'activité de l'ALAT chez les tous lots de rats était comprise entre  $27,55 \pm 0,70$  et  $29,54 \pm 1,14$  UI/L. L'activité de l'ALAT des différents lots de rats sont non significatives par rapport à celle des rats du lot témoin normal (T Norm) : T Norm ( $27,55 \pm 0,70$  UI/L) ; T Nég ( $29,22 \pm 0,80$  UI/L), T Pos ( $29,21 \pm 0,64$  UI/L), EABt50 ( $29,65 \pm 0,55$  UI/L), EABt100 ( $28,35 \pm 1,71$  UI/L) et EABt150 ( $29,54 \pm 1,14$  UI/L).

Du 1<sup>er</sup> au 3<sup>ème</sup> jour de l'induction, on observe une augmentation non significative ( $p < 0,05$ ) de l'activité de l'ALAT chez tous les lots de rats intoxiqués excepté le lot EABt150 par rapport à celle du lot des rats témoins non intoxiqués (T Norm).

Du 17<sup>ème</sup> au 24<sup>ème</sup> jour après l'induction du diabète, une diminution non significative de l'activité de l'ALAT est observée chez tous les lots de rats intoxiqués par rapport à celle du lot des rats témoins diabétiques non traités ( $p > 0,05$ ) excepté le lot EABt100 où cette diminution est significative ( $p = 0,03$ ) à la fin du traitement (24<sup>ème</sup> jour). Le taux de diminution de l'activité de l'ALAT, au 24<sup>ème</sup> jour, par rapport à celle de T Nég est de  $- 5,35 \pm 4,44$  % pour T Pos ; de  $- 5,98 \pm 3,57$  % pour EABt50 ; de  $- 12,32 \pm 4,66$  % pour EABt100 ; de  $- 0,06 \pm 3,80$  % pour EABt150.



**Figure 33** : Effet de l'EABt sur les concentrations de l'ALAT au cours du temps

\*  $p < 0,05$  = différence significative entre le lot non diabétique et les lots diabétiques

<sup>a</sup> $p < 0,05$  = différence significative entre le lot diabétique non traité et les lots diabétiques traités.

Les données sont exprimées en concentrations moyennes de triglycérides (g/L)  $\pm$  SEM, n= 5

T Norm : lot non diabétique ; T Pos : lot diabétique traité avec la substance de référence (glibenclamide) ; T Nég : lot diabétique non traité ; EABt 50 ; 100 ; 150 : lots diabétiques traités à l'extrait aqueux total de *Bauhinia thonningii* aux doses respectivement de 50 ; 100 et 150 mg/kg de PC.

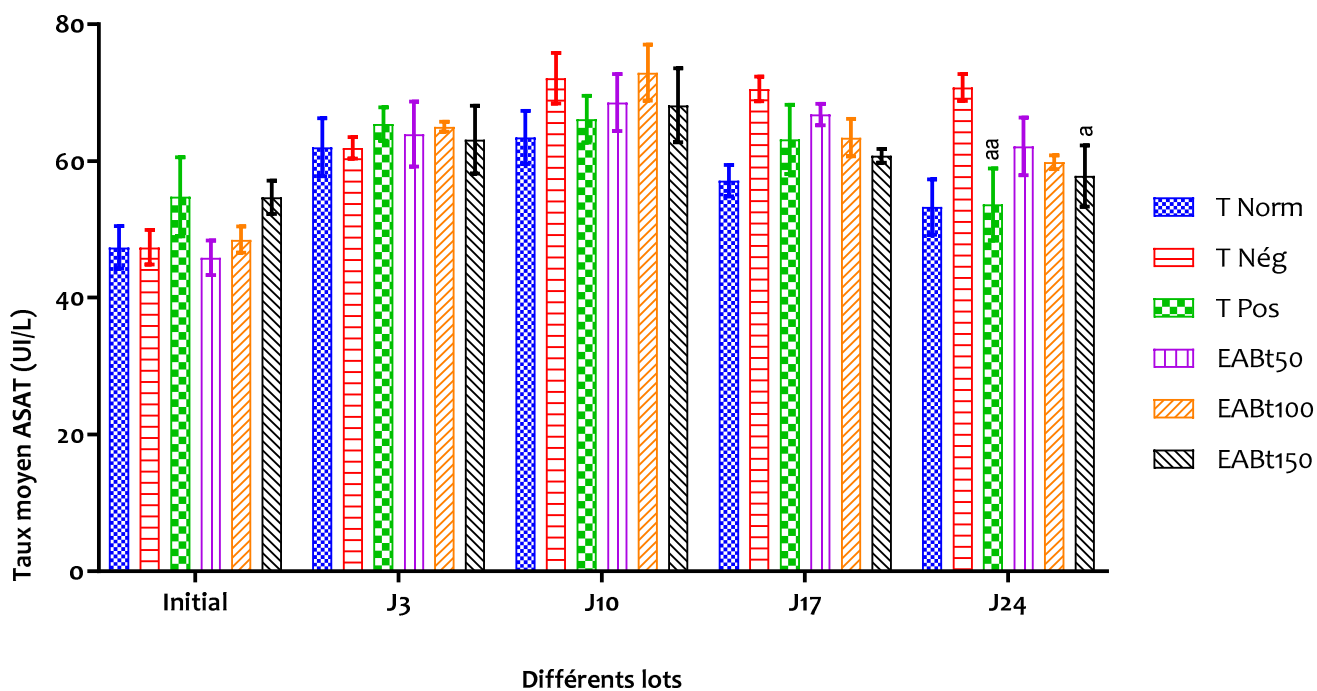
### III-4-4-1-2- Influence de l'EABt sur l'activité de l'aspartate aminotransférase (ASAT)

La **figure 34** montre l'effet des différents traitements sur l'activité de l'aspartate aminotransférase (ASAT) des différents lots de rats pendant 24 jours.

Avant l'induction du diabète avec l'alloxane, la valeur moyenne de l'activité de l'ASAT chez les rats de tous les lots était comprise entre  $45,86 \pm 2,54$  et  $54,77 \pm 5,79$  UI/L. L'activité de l'ASAT des différents lots de rats sont non significatives par rapport à celle des rats du lot témoin normal (T Norm) : T Norm ( $47,36 \pm 3,12$  UI/L) ; T Nég ( $47,37 \pm 2,51$  UI/L), T Pos ( $54,77 \pm 5,79$  UI/L), EABt50 ( $45,86 \pm 2,54$  UI/L), EABt100 ( $48,51 \pm 1,94$  UI/L) et EABt150 ( $54,69 \pm 1,41$  UI/L).

Au 3<sup>ème</sup> jour de l'induction, on observe une augmentation non significative ( $p > 0,05$ ) de l'activité de l'ASAT chez tous les lots de rats intoxiqués par rapport à celle du lot des rats témoins non diabétiques. Ce taux d'augmentation de l'activité moyenne de l'ASAT est de  $2,08 \pm 5,74$  % pour T Nég ; de  $7,80 \pm 6,72$  % pour T Pos ; de  $5,37 \pm 9,46$  % pour EABt50 ; de  $7,14 \pm 5,52$  % pour EABt100 et de  $4,05 \pm 7,04$  % pour EABt150.

Du 7<sup>ème</sup> (J10) au 21<sup>ème</sup> jour (J24) de traitement, on observe une diminution l'activité de l'ASAT chez tous les lots de rats intoxiqués comparée à celle des rats du lot T Nég. Cette diminution est significative au 21<sup>ème</sup> jour de traitement des rats pour les lots T Pos ( $p < 0,01$ ) et EABt150 ( $p < 0,05$ ) par rapport à celle du lot des rats témoins diabétiques non traités (T Nég).



**Figure 34** : Effet de l'EABt sur les concentrations de l'ASAT au cours du temps

<sup>a</sup> $p < 0,05$  ; <sup>aa</sup> $p < 0,01$  : différence significative entre le lot diabétique non traité et les lots diabétiques traités.

Les données sont exprimées en concentrations moyennes de l'ASAT (UI/L)  $\pm$  SEM,  $n = 5$

T Norm : lot non diabétique ; T Pos : lot diabétique traité avec la substance de référence (glibenclamide) ; T Nég : lot diabétique non traité ; EABt 50 ; 100 ; 150 : lots diabétiques traités à l'extrait aqueux total de *Bauhinia thonningii* aux doses respectivement de 50 ; 100 et 150 mg/kg de PC.

### ***III-4-4-2- Effets de l'EABt sur les paramètres métaboliques***

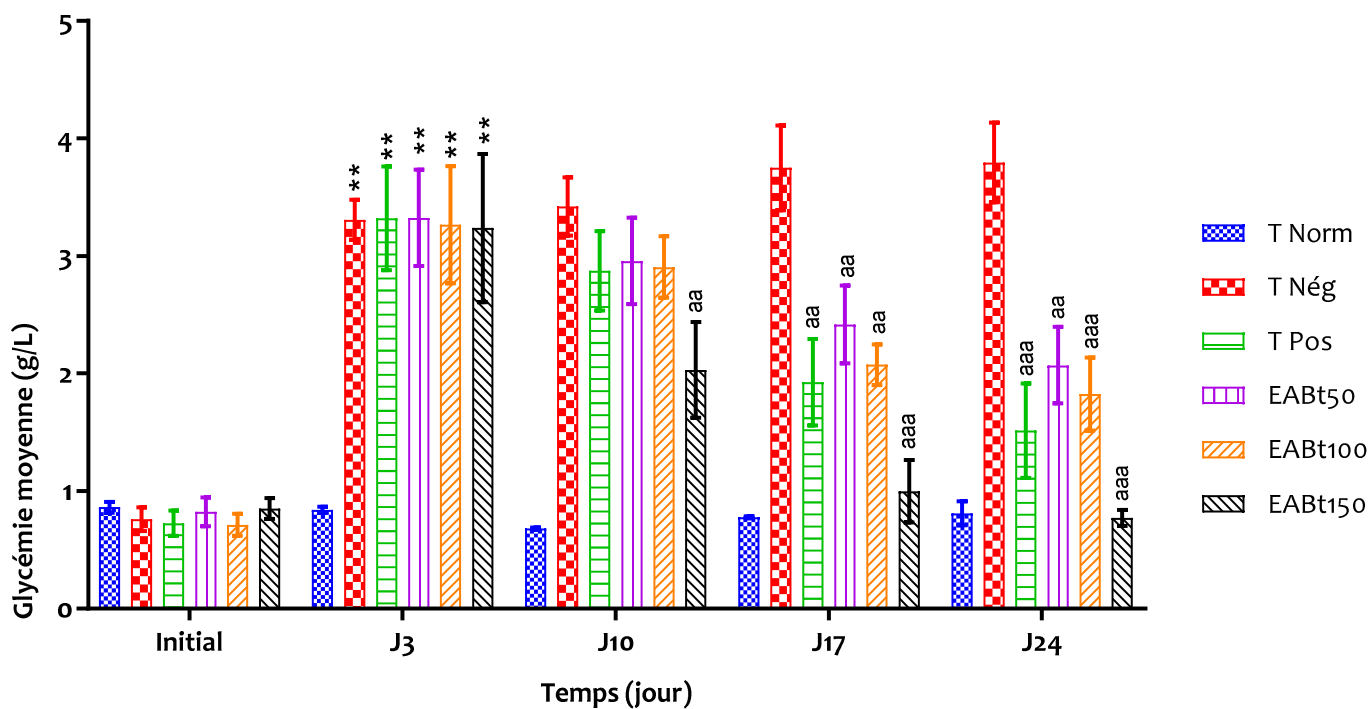
#### *III-4-4-2-1- Effet de l'EABt sur les concentrations de glucose*

La **figure 35** montre l'effet des différents traitements sur les glycémies des différents lots de rats pendant 24 jours.

Avant l'induction du diabète avec l'alloxane, la valeur moyenne de la glycémie chez les rats de tous les lots est comprise entre  $0,71 \pm 0,09$  et  $0,86 \pm 0,05$  g/L. Cependant, trois jours après l'induction du diabète, la glycémie augmente significativement ( $p < 0,01$ ) chez les rats intoxiqués à l'alloxane par rapport aux rats du lot témoin normal (T Norm). En effet la glycémie chez les rats n'ayant pas reçu l'alloxane vaut  $0,84 \pm 0,03$  g/L alors que chez les rats diabétiques la glycémie est comprise entre  $3,24 \pm 0,32$  g/L et  $3,32 \pm 0,44$  g/L.

Au septième (7<sup>ème</sup>) jours du traitement, seule la glycémie des rats traités avec l'extrait à la dose 150 mg/kg pc a significativement diminué ( $p < 0,01$ ) par rapport à ceux des rats diabétiques non traités. La valeur de la glycémie chez les rats traités avec l'extrait à la dose 150 mg/kg pc est  $2,03 \pm 0,20$  g/L alors qu'elle est de  $3,42 \pm 0,25$  g/L chez les rats du témoin non traité.

Du 14<sup>ème</sup> au 21<sup>ème</sup> jour du traitement, la glycémie des rats diabétiques traités avec la substance de référence (T Pos) et ceux traités avec les différentes doses d'extrait a diminué de façon significative ( $p < 0,001$ ) par rapport à celle des rats diabétiques non traités (T Nég). La valeur de la glycémie au 21<sup>ème</sup> jour du traitement est de  $3,80 \pm 0,34$  g/L (T Nég) ;  $2,07 \pm 0,33$  g/L (EABt50) ;  $1,83 \pm 0,31$  g/L (EABt100) et  $0,77 \pm 0,03$  g/L (EABt150) et représente des inhibitions de  $60,12 \pm 11,16$  % pour T Pos ; de  $45,45 \pm 9,86$  % pour EABt50 ; de  $51,91 \pm 9,21$  % pour EABt100 et de  $79,64 \pm 2,03$  % pour EABt150 respectivement par rapport à l'hyperglycémie induite par l'alloxane au 21<sup>ème</sup> jour de traitement comparativement à T Nég.



**Figure 35** : Effet de l'EABt sur les concentrations de glucose au cours du temps

\*  $p < 0,05$  ; \*\*  $p < 0,01$  = différence significative entre les lots non diabétiques et les lots diabétiques

<sup>aa</sup> $p < 0,01$  ; <sup>aaa</sup> $p < 0,001$  : différence significative entre le lot diabétique non traité et les lots diabétiques traités.

Les données sont exprimées en concentrations moyennes de glucose (g/L)  $\pm$  SEM,  $n = 5$

T Norm : lot non diabétique ; T Pos : lot diabétique traité avec la substance de référence (glibenclamide) ; T Nég : lot diabétique non traité ; EABt 50 ; 100 ; 150 : lots diabétiques traités à l'extrait aqueux total de *Bauhinia thonningii* aux doses respectivement de 50 ; 100 et 150 mg/kg de PC de l'animal

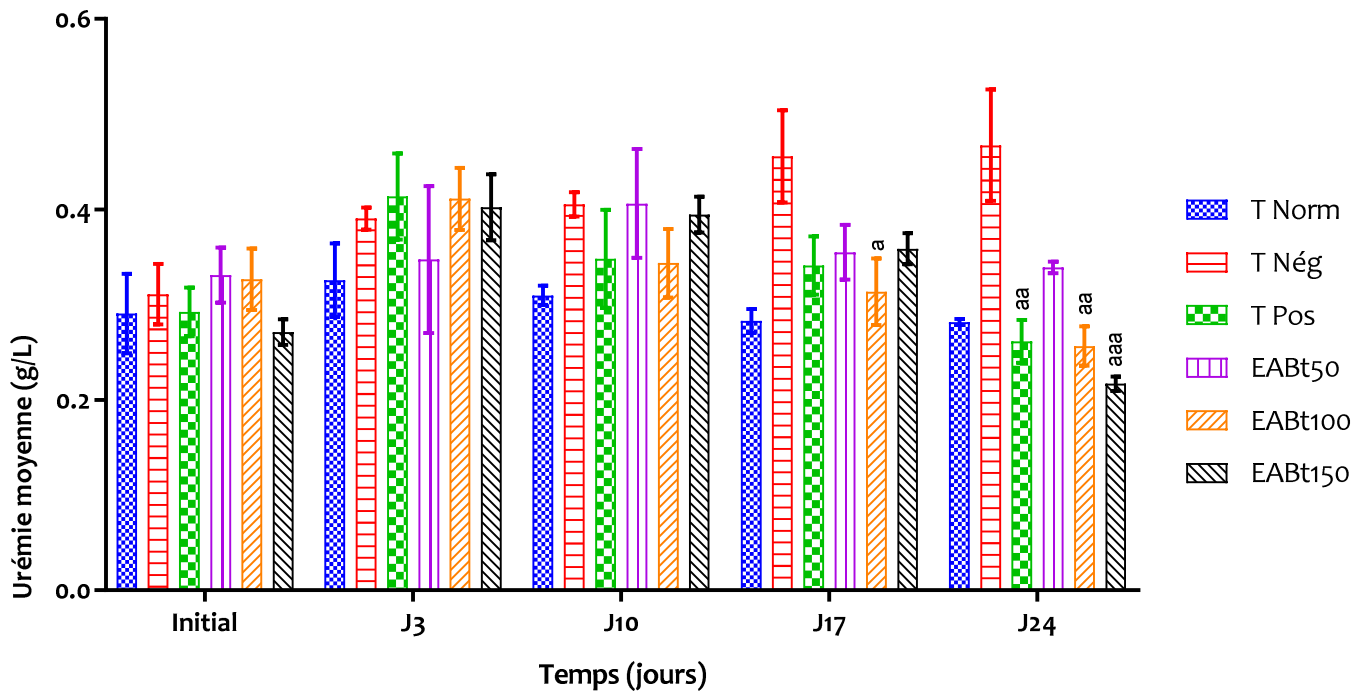
#### *III-4-4-2-2- Effet de l'EABt sur les concentrations de l'urée*

La **figure 36** montre l'effet des différents traitements sur les urémies des différents lots de rats pendant 24 jours.

Avant l'induction du diabète avec l'alloxane, la valeur moyenne de l'urémie chez les rats de tous les lots était comprise entre  $0,27 \pm 0,01$  et  $0,33 \pm 0,03$  g/L.

A J3 l'alloxane induit une augmentation non significative ( $p > 0,05$ ) de l'urémie.

Du 7<sup>ème</sup> (J10) au 21<sup>ème</sup> jour (J24) après de traitement, l'urémie diminue significativement ( $p < 0,05$ ) au 14<sup>ème</sup> jour chez les rats du lot diabétique traité à la dose d'extrait 100 mg/kg pc et au 21<sup>ème</sup> jour chez le lot diabétique traité au glibenclamide et chez ceux traités aux doses 100 et 150 mg/kg pc par rapport aux rats du lot diabétique non traité (T Nég). Le taux de diminution de l'urémie par rapport à T Nég, au 21<sup>ème</sup> jour de traitement, atteint  $44,08 \pm 8,49$  % pour T Pos ;  $27,44 \pm 9,17$  % pour EABt50 ;  $45,14 \pm 8,16$  % pour EABt100 et  $53,58 \pm 6,04$  % pour EABt150.



**Figure 36 :** Effet de l'EABt sur les concentrations d'urée au cours du temps

<sup>a</sup>  $p < 0,05$  ; <sup>aa</sup>  $p < 0,01$  ; <sup>aaa</sup>  $p < 0,001$  : différence significative entre le lot diabétique non traité et les lots diabétiques traités.

Les données sont exprimées en concentrations moyennes d'urée (g/L)  $\pm$  SEM,  $n = 5$

T Norm : lot non diabétique ; T Pos : lot diabétique traité avec la substance de référence (glibenclamide) ; T Nég : lot diabétique non traité ; EABt 50 ; 100 ; 150 : lots diabétiques traités à l'extrait aqueux total de *Bauhinia thonningii* aux doses respectivement de 50 ; 100 et 150 mg/kg de PC.



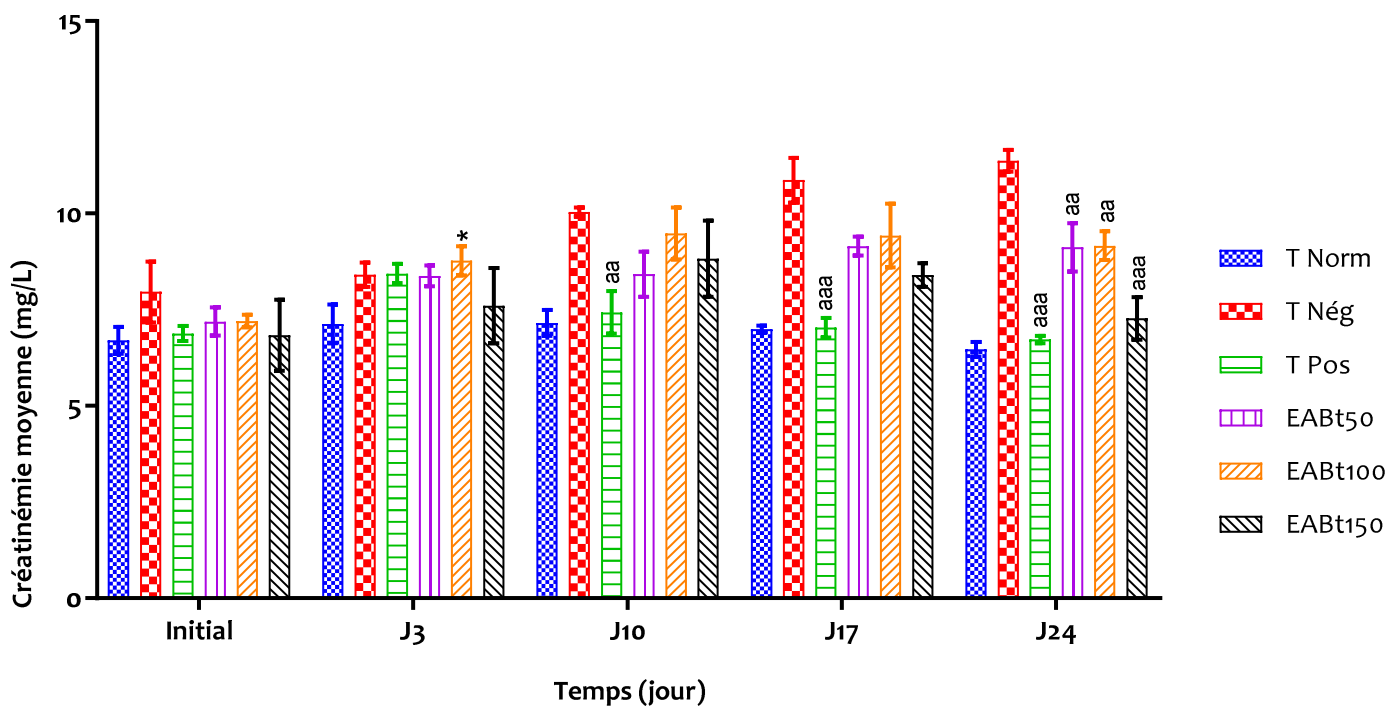
### III-4-4-2-3- Effet de l'EABt sur les concentrations de créatinine

La **figure 37** montre l'effet des différents traitements sur les créatinémies des différents lots de rats pendant 24 jours.

Avant l'induction du diabète avec l'alloxane, la valeur moyenne de la créatinémie chez les rats de tous les lots était comprise entre  $6,70 \pm 0,35$  et  $7,96 \pm 0,79$  mg/L. Les créatinémies des différents lots de rats sont non significatives par rapport à celle des rats du lot témoin normal (T Norm) : T Norm ( $7,96 \pm 0,35$  mg/L), T Nég ( $7,96 \pm 0,79$  mg/L), T Pos ( $6,88 \pm 0,19$  mg/L), EABt50 ( $7,19 \pm 0,36$  mg/L), EABt100 ( $7,20 \pm 0,16$  mg/L) et EABt150 ( $6,84 \pm 0,66$  mg/L).

Le 3<sup>ème</sup> jour après l'induction du diabète, la créatinémie augmente chez tous les lots de rats intoxiqués par rapport à celle des rats du lot témoin normal (T Norm) et ne devient significative ( $p < 0,05$ ) que chez les rats du lot diabétique EABt100.

Du 10<sup>ème</sup> au 24<sup>ème</sup> jour après l'induction du diabète les diminutions de la créatinémie, par rapport à celle du lot des rats diabétiques non traités (T Nég), sont significatives ( $p < 0,01$  et  $< 0,001$ ) les 7<sup>ème</sup> (J10) et 14<sup>ème</sup> jour (J17) de traitement que chez les rats du lot diabétique traité avec la substance de référence et au 21<sup>ème</sup> jour de traitement chez tous les lots intoxiqués. Les taux de diminution à la fin du traitement sont de  $40,86 \pm 1,72$  % ;  $19,76 \pm 5,89$  % ;  $19,42 \pm 3,84$  % et  $36,03 \pm 3,23$  % respectivement pour les animaux des lots T Pos, EABt50, EABt100 et EABt150 par rapport à ceux du lot T Nég.



**Figure 37 :** Effet de l'EABt sur les concentrations de créatinine au cours du temps

\*  $p < 0,05$  = différence significative entre le lot non diabétique et les lots diabétiques

<sup>aa</sup>  $p < 0,01$  ; <sup>aaa</sup>  $p < 0,001$  : différence significative entre le lot diabétique non traité et les lots diabétiques traités.

Les données sont exprimées en concentrations moyennes de créatinine (mg/L)  $\pm$  SEM,  $n = 5$

T Norm : lot non diabétique ; T Pos : lot diabétique traité avec la substance de référence (glibenclamide) ; T Nég : lot diabétique non traité ; EABt 50 ; 100 ; 150 : lots diabétiques traités à l'extrait aqueux total de *Bauhinia thonningii* aux doses respectivement de 50 ; 100 et 150 mg/kg de PC.

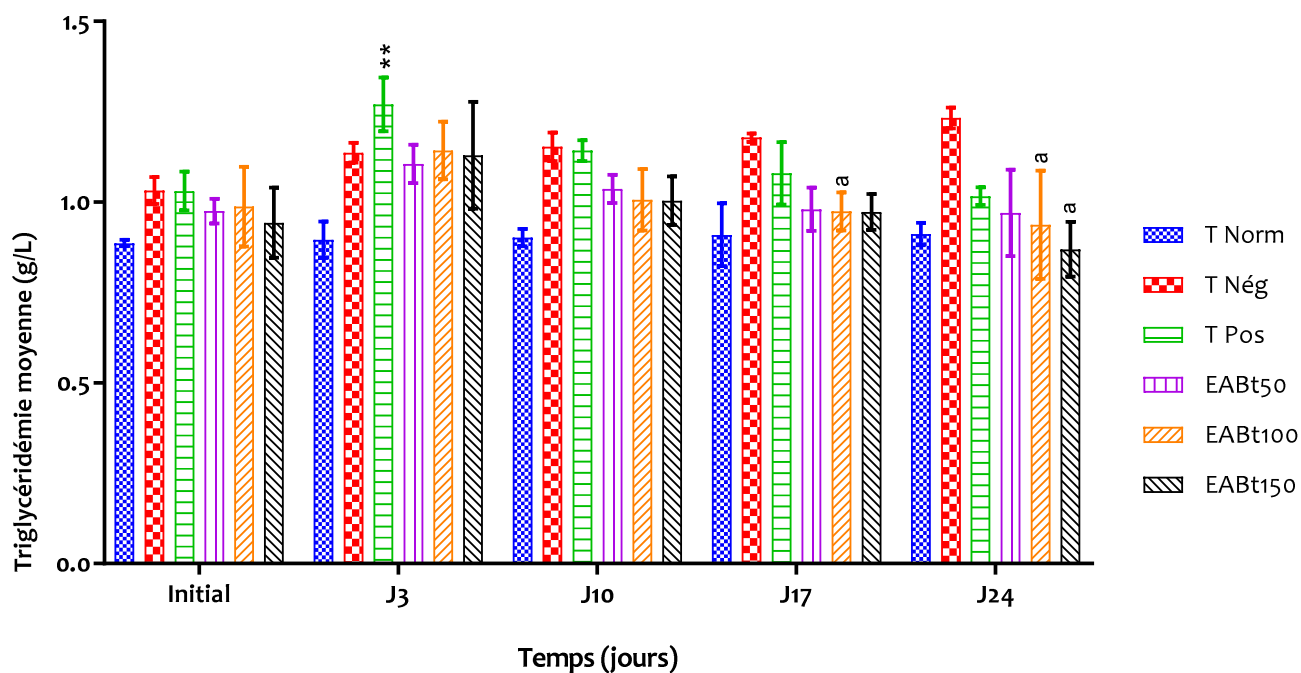
#### III-4-4-2-4- Effet de l'EABt sur les concentrations de triglycérides

La **figure 38** montre l'effet des différents traitements sur les triglycéridémies des différents lots de rats pendant 24 jours.

Avant l'induction du diabète avec l'alloxane, la valeur moyenne de la triglycéridémie chez les rats de tous les lots était comprise entre  $0,89 \pm 0,01$  et  $1,03 \pm 0,04$  g/L. Les triglycéridémies des différents lots de rats sont non significatives par rapport à celle des rats du lot témoin normal (T Norm) : T Norm ( $0,89 \pm 0,01$  g/L) ; T Nég ( $1,03 \pm 0,04$  g/L), T Pos ( $1,03 \pm 0,05$  g/L), EABt50 ( $0,97 \pm 0,03$  g/L), EABt100 ( $0,99 \pm 0,11$  g/L) et EABt150 ( $0,94 \pm 0,06$  g/L).

Du 1<sup>er</sup> au 3<sup>ème</sup> jour de l'induction, une augmentation non significative ( $p > 0,05$ ) de la triglycéridémie est observée chez tous les lots de rats intoxiqués excepté ceux du lot T Pos par rapport à celle du lot des rats témoins non diabétiques.

Du 10<sup>ème</sup> au 24<sup>ème</sup> jour après l'induction du diabète, on observe une diminution de la triglycéridémie chez tous les lots de rats intoxiqués comparée à celle du lot des rats témoins non traités. La diminution de la triglycéridémie, par rapport à celle du lot des rats témoins non traités, est significative ( $p < 0,05$ ) au 14<sup>ème</sup> jour (J17) de traitement chez les rats du lot EABt100 et au 21<sup>ème</sup> jour (J24) chez les rats des lots EABt100 et EABt150. Les pourcentages de diminution du taux de triglycérides ont atteint  $17,57 \pm 2,74$  % pour T Pos ;  $21,35 \pm 9,85$  pour EABt50 ;  $23,97 \pm 12,24$  % pour EABt100 et  $29,48 \pm 3,91$  % pour EABt150.



**Figure 38** : Effet de l'EABt sur les concentrations de triglycérides au cours du temps

\*\*  $p < 0,01$  : différence significative entre le lot non diabétique et les lots diabétiques

<sup>a</sup>  $p < 0,05$  : différence significative entre le lot diabétique non traité et les lots diabétiques traités.

Les données sont exprimées en concentrations moyennes de triglycérides (g/L)  $\pm$  SEM, n= 5

T Norm : lot non diabétique ; T Pos : lot diabétique traité avec la substance de référence (glibenclamide) ; T Nég : lot diabétique non traité ; EABt 50 ; 100 ; 150 : lots diabétiques traités à l'extrait aqueux total de *Bauhinia thonningii* aux doses respectivement de 50 ; 100 et 150 mg/kg de PC.

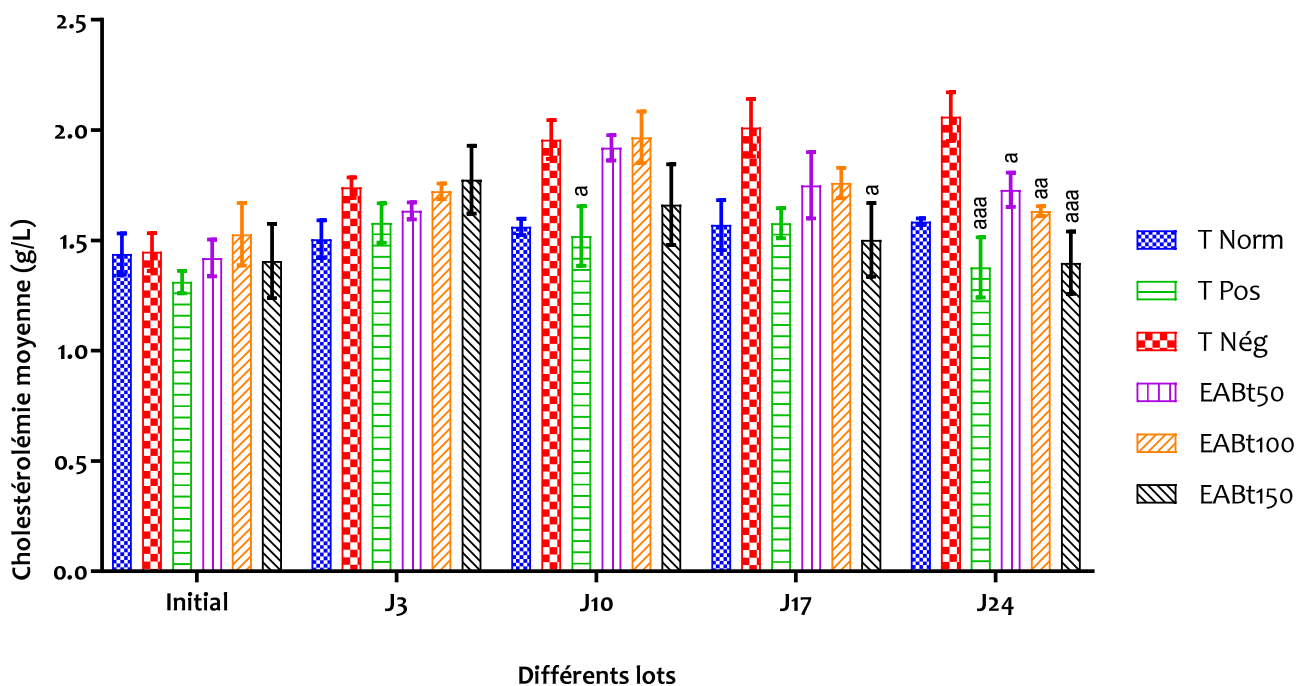
#### III-4-4-2-5- Effet de l'EABt sur les concentrations de cholestérol total

La **figure 39** montre l'effet des différents traitements sur les cholestérolémies des différents lots de rats pendant 24 jours.

Avant l'induction du diabète avec l'alloxane, la valeur moyenne de la cholestérolémie chez les rats de tous les lots était comprise entre  $1,24 \pm 0,12$  et  $1,53 \pm 0,14$  g/L.

L'alloxane induit une augmentation non significative de la cholestérolémie dans tous les lots comparativement au lot T Norm au 3<sup>ème</sup> jour de l'induction.

Du 7<sup>ème</sup> (J10) au 21<sup>ème</sup> (J24) jour de traitement, on observe une diminution de la cholestérolémie chez tous les lots de rats intoxiqués comparativement à celle du lot des rats témoins non traités. La diminution de la cholestérolémie, par rapport à celle du lot des rats témoins non traités, est significative ( $p < 0,05$ ) au 14<sup>ème</sup> jour (J17) de traitement chez les rats du lot EABt100 et au 21<sup>ème</sup> jour (J24) dans tous les lots de rats traités. Les taux de réduction de la cholestérolémie à la fin du traitement sont de :  $33,19 \pm 7,52$  % ;  $16,12 \pm 5,89$  % ;  $20,75 \pm 4,39$  % et  $32,11 \pm 5,01$  % respectivement pour les animaux des lots T Pos, EABt50, EABt100 et EABt150 par rapport à ceux du lot T Nég.



**Figure 39** : Effet de l'EABt sur la cholestérolémie au cours du temps

<sup>a</sup>  $p < 0,05$  ; <sup>aa</sup>  $p < 0,01$  ; <sup>aaa</sup>  $p < 0,001$  : différence significative entre le lot diabétique non traité et les lots diabétiques traités.

Les données sont exprimées en concentrations moyennes de cholestérol (g/L)  $\pm$  SEM,  $n= 5$

T Norm : lot non diabétique ; T Pos : lot diabétique traité avec la substance de référence (glibenclamide) ; T Nég : lot diabétique non traité ; EABt 50 ; 100 ; 150 : lots diabétiques traités à l'extrait aqueux total de *Bauhinia thonningii* aux doses respectivement de 50 ; 100 et 150 mg/kg de PC.

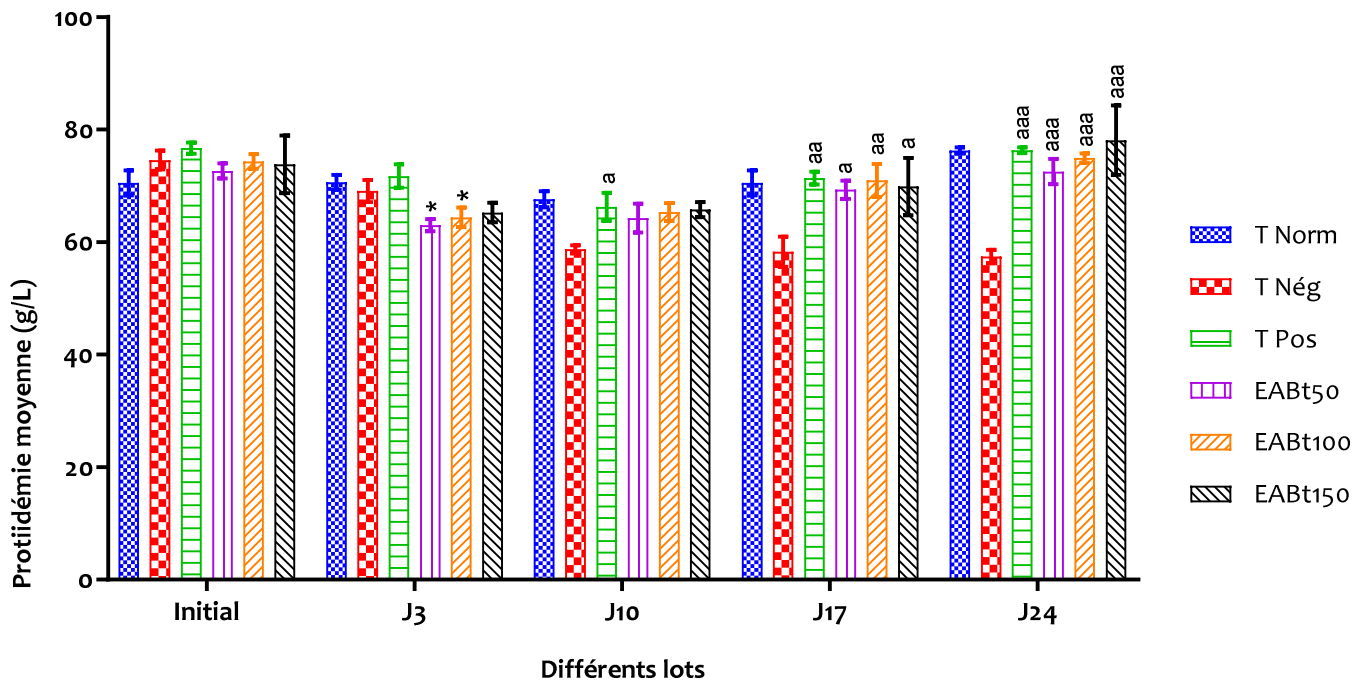
#### *III-4-4-2-6- Effet de l'EABt sur les concentrations de protéines totales*

La **figure 40** montre l'effet des différents traitements sur la valeur moyenne de protidémie des différents lots de rats pendant 24 jours.

Avant l'induction du diabète avec l'alloxane, la valeur moyenne de la protidémie chez les rats de tous les lots était comprise entre  $70,51 \pm 2,23$  et  $76,69 \pm 0,98$  g/L. La protidémie des différents lots de rats sont non significatives par rapport à celle des rats du lot témoin normal (T Norm).

Du 1<sup>er</sup> au 3<sup>ème</sup> jour de l'induction, une diminution de la valeur moyenne de la protidémie est observée chez tous les lots de rats intoxiqués en comparaison au lot de rats non diabétiques. Ces diminutions ne sont significatives ( $p < 0,05$ ) que chez les lots de rats diabétiques traités aux doses 50 et 100 mg/kg pc de l'extrait par rapport à celle du lot des rats témoins non diabétiques (T Norm).

Du 10<sup>ème</sup> au 24<sup>ème</sup> jour de l'induction du diabète, on observe une augmentation de la valeur moyenne de la protidémie chez tous les lots de rats en comparaison au lot de rats diabétiques non traités. Ces différentes variations ne sont significatives ( $p < 0,05$ ), au 7<sup>ème</sup> jour (J10), que chez le lot diabétique traité à la substance de référence et successivement au 14<sup>ème</sup> jour (J17) et au 21<sup>ème</sup> jour (J24) chez tous les lots traités. Les taux d'augmentation des protéines totales à la fin du traitement sont de  $32,90 \pm 2,87$  % ;  $26,27 \pm 4,70$  % ;  $30,49 \pm 3,05$  % et  $36,01 \pm 6,81$  % respectivement pour les lots de rats T Pos ; EABt50 ; EABt100 et EABt150.



**Figure 40** : Effet de l'EABt sur la protidémie au cours du temps

\*  $p < 0,05$  = différence significative entre le lot non diabétique et les lots diabétiques

<sup>a</sup>  $p < 0,05$  ; <sup>aa</sup>  $p < 0,01$  ; <sup>aaa</sup>  $p < 0,001$  : différence significative entre le lot diabétique non traité et les lots diabétiques traités.

Les données sont exprimées en concentrations moyennes de protéines totales (g/L)  $\pm$  SEM,  $n = 5$

T Norm : lot non diabétique ; T Pos : lot diabétique traité avec la substance de référence (glibenclamide) ; T Nég : lot diabétique non traité ; EABt 50 ; 100 ; 150 : lots diabétiques traités à l'extrait aqueux total de *Bauhinia thonningii* aux doses respectivement de 50 ; 100 et 150 mg/kg de PC de l'animal



### ***Conclusion partielle***

Les résultats de cette étude ont montré que l'extrait provoque des effets hypoglycémiant non significatif et anti-hyperglycémiant significatif de façon dose-dépendante. L'extrait aux concentrations expérimentales a montré une capacité à corriger la glycémie et les doses 100 et 150 mg/mL pc semblent être les doses expérimentales efficaces. L'EABt tend à régulariser les différents paramètres biochimiques et hématologiques modifiés par l'alloxane au cours des différentes expérimentations. Par ailleurs, l'extrait inhibe à la fois l' $\alpha$ -amylase et l' $\alpha$ -glucosidase.



*DISCUSSION*

L'étude de la toxicité aigüe de EABt chez les rats a permis de montrer que cet extrait, administré par voie orale, n'entraîne aucune mortalité pour des doses allant jusqu'à 5000 mg/kg de poids corporel (pc). La  $DL_{50}$  est donc supérieure à 5000 mg/kg pc. Selon **Hodge & Sterner (1943)** et **Diezi (1989)**, les substances ayant une  $DL_{50}$  comprise entre 50 et 500 mg/kg pc sont toxiques et celles avec une  $DL_{50}$  supérieure à 5000 mg/kg sont pratiquement non toxiques. En se rapportant à cette classification, l'extrait aqueux des fruits de *Bauhinia thonningii* est pratiquement non toxique par voie orale. Cette observation permet de classer cet extrait dans la catégorie 5 du système de classification globalement harmonisé (SGH) des substances chimiques. Cette catégorie caractérise les substances faiblement toxiques (**OCDE, 2001**). **Ukwuani et al. (2012)** ont trouvé une  $DL_{50}$  supérieure à 5000 mg/kg pc avec l'extrait hydrométhanolique des feuilles de cette même plante. L'avantage de cette méthode est qu'elle ne nécessite pas un grand nombre d'animaux pour l'estimation des paramètres toxicologiques.

De nos jours, nous disposons d'un ensemble d'outils thérapeutiques pour soigner les diverses formes de diabète et l'une des stratégies thérapeutiques antidiabétiques actuelle est l'inhibition des enzymes digérant les hydrates de carbone tels que l' $\alpha$ -amylase et l' $\alpha$ -glucosidase (**Narkhede et al., 2011**). L' $\alpha$ -amylase hydrolyse les amidons complexes en oligosaccharides, tandis que l' $\alpha$ -glucosidase hydrolyse les oligosaccharides en glucose et autres monosaccharides. L'inhibition de ces enzymes produit un effet antihyperglycémique postprandial en réduisant la vitesse et l'étendue de l'absorption du glucose (**He, 1998 ; Okoli et al., 2011**). Actuellement, il existe 5 classes de médicaments antidiabétiques classiques ; cependant divers effets secondaires sont associés à ces médicaments (**Chakrabarti & Rajagopalan, 2002**). Il existe donc un besoin urgent d'identifier et d'explorer les sources naturelles avec moins d'effets secondaires pour de tels inhibiteurs car selon **Lebovitz (1997)** et **Tundis et al. (2010)**, les inhibiteurs naturels de l' $\alpha$ -glucosidase et de l' $\alpha$ -amylase ont moins d'effets secondaires ou pas.

La présente étude a permis d'évaluer l'effet de l'extrait aqueux préparé à partir des fruits de *B. thonningii* sur les 2 enzymes par des tests *in vitro*. Les résultats ont montré que l'extrait aqueux des fruits de *B. thonningii* présente une inhibition ( $CI_{50} = 1,16$  mg/mL) nettement supérieure que celle de l'acarbose ( $CI_{50} = 2,57 \text{ E}+06$  mg/mL) sur l' $\alpha$ -amylase. Cet effet serait dû à la présence des métabolites secondaires tels que les polyphénols, les flavonoïdes et les tanins cathéchiques inhérents à la composition des fruits de la plante. Ces métabolites ont été révélés lors du screening phytochimique. De plus, **Hanhineva et al. (2010)** ont prouvé que les flavonoïdes, les acides phénoliques et les tanins empêchent l'activité des enzymes tels l' $\alpha$ -amylase et l' $\alpha$ -glucosidase qui sont des enzymes clés dans le métabolisme des glucides. **Boudjelthia et al. (2017)** ont suggéré que cet effet inhibiteur ou par ricochet antidiabétique serait lié à la richesse des extraits en tanins et saponines. Dans une autre étude, des extraits riches en polyphénols de diverses baies ont été testés

sur l'alpha-amylase montrant que *Rubus idaeus* L. et *Sorbus aucuparia* L. étaient les plus efficaces, ce qui suggère qu'elles contiennent des inhibiteurs puissants (**Grussu et al., 2011**).

Nos résultats montrent que l'extrait a un effet plus prononcé sur l'activité de l' $\alpha$ -amylase. En effet, les résultats ont montré que la  $CI_{50}$  de l'EABt sur l' $\alpha$ -glucosidase est 30 fois moindre que celle du même extrait sur l' $\alpha$ -amylase. Les études menées par **Maria et al. (2011)** ont donné des résultats similaires. Selon ces auteurs, les extraits méthanoliques de *Croton bonplandianum* ont montré une activité inhibitrice maximale sur l' $\alpha$ -glucosidase. De plus, ces extraits contiendraient des composés bioactifs qui pourraient être des flavonols ou des acides phénoliques puisque la littérature montre un lien évident entre les polyphénols et l'activité antidiabétique des extraits de plantes (**Maria et al., 2011**).

La toxicité hépato-rénale a été étudiée par le dosage de certains paramètres biochimiques tels que l'aspartate aminotransférase (ASAT), l'alanine aminotransférase (ALAT), l'urée et la créatinine. L'alanine aminotransférase est une enzyme cytosolique sécrétée dans les cellules hépatiques d'où elle est libérée dans le sang en cas de nécrose cellulaire hépatique (**Kaneko et al., 1997 ; Dufour et al., 2000**). C'est une enzyme spécifique au foie, ce qui en fait un important indicateur très sensible de l'hépatotoxicité (**Pratt & Kaplan, 2000 ; Al-Habori et al., 2002**). L'aspartate aminotransférase est également un indicateur de la destruction des hépatocytes même si en plus du foie on la retrouve dans le cœur, les muscles squelettiques, les poumons et les reins (**Dufour et al., 2000**). Les taux d'ALAT et d'ASAT s'élèvent rapidement lorsque le foie est endommagé pour diverses raisons incluant les nécroses cellulaires hépatiques, l'hépatite, les cirrhoses ainsi que l'hépatotoxicité de certaines drogues (**Dufour et al., 2000 ; Pratt & Kaplan, 2000**). Dans cette étude, la concentration de ces deux enzymes (ALAT et ASAT) a baissé non significativement ( $P > 0,05$ ) chez les animaux traités par l'EABt à la dose de 5000 mg/kg pc comparativement aux animaux témoins. Ce constat témoigne que l'EABt, à cette dose, n'a causé aucun dommage sur les cellules du foie et aussi sur leur fonctionnement pendant le traitement.

Selon **Sirwal et al. (2004)**, la créatinine et l'urée constituent tous deux d'excellents marqueurs de la fonction rénale. Leur augmentation reflète un dysfonctionnement rénal. L'administration d'une dose unique de 5000 mg/kg pc n'a entraîné aucune variation significative de ces paramètres. Cela indiquerait que l'extrait n'a pas causé d'effets toxiques dans les tissus rénaux.

En ce qui concerne les paramètres hématologiques, il faut savoir que le système hématopoïétique et les cellules sanguines font partie des cibles les plus sensibles aux composés toxiques (**Mukinda & Syce, 2007**). Selon **Olson et al. (2000)**, les données obtenues à partir des études réalisées sur le système hématopoïétique chez des animaux ont une valeur prédictive pour la toxicité humaine. Dans le présent travail, les effets de l'EABt sur les cellules sanguines ont été évalués

par le biais des analyses hématologiques. Ces analyses effectuées ont montré une augmentation non significative du taux d'hémoglobine (HB), du nombre de globules rouges (GR), du taux d'hématocrite (HCT) et de la CCMH chez tous les animaux traités à la dose de 5000 mg/kg de poids corporel par rapport aux animaux du lot témoin. Par ailleurs, les résultats ont montré qu'il y a une diminution non significative du VGM, du TCMH et du nombre de plaquettes à la même dose.

Au cours de la présente étude, les résultats obtenus ont révélé que la masse corporelle n'est pas influencée par l'extrait aqueux de *Bauhinia thonningii* mais plutôt par le temps. Cependant l'augmentation de la masse corporelle, en fonction du temps, est observée aussi bien chez les animaux du lot témoin que dans les lots traités. De ce fait, la croissance observée chez les rats, au cours de cette étude, ne serait pas le fait de l'action de l'extrait aqueux de *B. thonningii* dans le temps, mais plutôt la conséquence du processus normal de la croissance des rats. Des résultats similaires ont été obtenus par **Pieme et al. (2006)** et **Tra-Bi et al. (2010)** avec les extraits de *Senna alata* et de *Morinda morindoides*. En outre, selon **Harizal et al. (2010)**, l'augmentation de la masse corporelle chez les animaux peut être aussi liée étroitement à l'accumulation de graisse plutôt qu'aux effets toxiques des médicaments ou des produits chimiques.

La grande majorité des composés exogènes administrés à l'organisme, le sont par voie gastro-intestinale. Ces composés seront donc par la suite distribués dans le foie pour être métabolisés avant d'être éliminés par les reins (**Trimbrell, 2009**). Le cœur qui est un organe vital subit également l'effet toxique des substances (**Guindo, 2006**). L'analyse du poids relatif des organes étudiés a montré qu'ils sont tous statistiquement identiques à ceux des témoins. Cela suggère que ni la masse du cœur, ni la masse du foie, ni même la masse des reins n'ont été significativement modifiés par le traitement administré à l'issue des 15 jours.

L'étude pharmacologique a révélé que l'extrait aqueux de *Bauhinia thonningii* entraîne un effet hypoglycémiant non significatif chez les rats normoglycémiques ( $p > 0,05$ ) et un effet antihyperglycémiant significatif chez les rats rendus hyperglycémiques ( $p < 0,0001$ ). Les substances que contient *B. thonningii* seraient responsables des activités pharmacologiques de cet extrait. En effet, les résultats du screening phytochimique ont révélé la présence de saponines, de polyphénols et des tanins cathéchiques dans l'extrait aqueux des fruits de cette plante. Des travaux antérieurs ont permis de poser l'hypothèse de l'existence d'un lien probable entre l'effet sur le taux de glucose sanguin et la nature phytochimique des composés présents dans les végétaux (**Bi et al., 2008**). Les substances telles que les polyphénols et les flavonoïdes sont généralement reconnues comme ayant des effets hypoglycémiant (**Huang et al., 2004 ; Kim et al., 2006a ; Mangambu et al., 2014**). Aussi, cette diminution dose-dépendante serait-elle due probablement à la faible ou forte présence de ces composés chimiques naturels dans la gamme de concentrations préparées. L'effet

serait comparable à celui des sulfamides hypoglycémiant dont fait partie le glibenclamide. En effet, les sulfamides hypoglycémiant se lient à un récepteur spécifique, sur la membrane des cellules  $\beta$  pancréatiques au voisinage du canal potassique ATP dépendant et provoquent la fermeture de ce dernier. Ceci va entraîner une dépolarisation membranaire des cellules  $\beta$  avec ouverture des canaux calciques voltage dépendant et un influx de  $\text{Ca}^{2+}$ , déclenchant ainsi par exocytose l'extrusion des granules de sécrétion d'insuline (**Ragunathan & Sulochana, 1994 ; Grimaldi *et al.*, 2009**). De même, **Fang *et al.* (2008)** ont montré que la fraction d'acétate d'éthyle de *Euonymus alatus* riche en flavonoïdes aurait des propriétés stimulantes sur la libération d'insuline et serait à l'origine des effets hypoglycémiant de cette plante chez des souris normoglycémiques et antihyperglycémiant chez des souris présentant un diabète de type 2. Aussi, d'autres travaux comme ceux effectués par l'équipe de **Kambouche *et al.* (2009)** ont-ils montré que les saponines auraient un effet antihyperglycémiant.

Concernant l'étude de l'activité antidiabétique, le diabète a été induit par l'alloxane. Il a été rapporté que l'alloxane est un analogue structural du glucose qui pénètre à travers les transporteurs de glucose (GLUT2) des cellules  $\beta$  pancréatiques. Dans le cytosol, l'alloxane est réduit en acide dialurique par plusieurs agents tels que le glutathion réduit, la cystéine, l'acide ascorbique et les groupements SH des protéines. Aussi, l'alloxane possède-t-il un groupe 5 carbonyle central qui réagit avec des groupes thiol. La glucokinase, enzyme riche en groupement thiol, est le plus sensible de la cellule  $\beta$  des îlots de Langerhans. À des concentrations élevées, l'alloxane peut inhiber de nombreux enzymes fonctionnellement importants, ainsi que d'autres protéines et fonctions cellulaires (**Lenzen, 2008**) impliqués dans les différents métabolismes de l'organisme. Il se lie à deux groupements thiol du site actif de la glucokinase formant un pont disulfure et inactivant ainsi l'enzyme (**Lenzen *et al.*, 1988**). L'inhibition de la glucokinase réduit l'oxydation du glucose et par conséquent la génération de l'ATP. Cet état de fait supprime le signal d'ATP qui déclenche la sécrétion d'insuline, hormone hypoglycémiant. Pareillement l'alloxane est aussi impliqué dans l'inhibition de la sécrétion de l'insuline glucose-dépendante en augmentant la perméabilité des membranes des cellules  $\beta$  (**Watkins *et al.*, 1964**). Cette absence ou hyposécrétion d'insuline aura pour conséquence une hyperglycémie. Ce qui expliquerait, au plan biochimique, cette augmentation significative de la glycémie des rats diabétiques par rapport à la glycémie des rats témoins normaux à partir du 3<sup>ème</sup> jour de l'induction intrapéritonéale. En effet, les résultats ont montré que la moyenne de la glycémie des rats diabétiques sans traitement est près de 3 à 4 fois supérieure à celle des rats non diabétiques initialement. Ces résultats sont conformes aux travaux de **Aruna *et al.* (1999)** et **Nagappa *et al.* (2003)** qui ont induit le diabète aux rats par injection intrapéritonéale à l'alloxane. Les 21 jours de traitement ont montré que l'extrait issu des fruits de *B. thonninguii* a, en plus de l'effet hypoglycémiant et antihyperglycémiant, un effet antidiabétique comparativement aux témoins non traités. En effet la glycémie des rats traités était 2 à 3 fois inférieure à celle des rats non traités. Cette réponse dose-

dépendante serait certainement imputée d'une part à la concentration des différents métabolites inhérents à la composition de cet extrait et d'autre part à leur activité. Aussi, pouvons-nous dire que l'activité anti-hyperglycémique de l'extrait pourrait être due à une activité insulino-génique par la stimulation de la sécrétion d'insuline à partir du reste des cellules- $\beta$  (**Chattopadhyay, 1999 ; Pari & Latha, 2002**). En effet il a été rapporté que l'alloxane peut avoir selon la concentration une action cytotoxique sur des cellules- $\beta$ . Le mécanisme possible par lequel l'extrait induit son action antihyperglycémique peut être par l'induction de la sécrétion d'insuline pancréatique à partir de cellules- $\beta$  d'îlots de Langerhans ou grâce au transport accru du glucose sanguin vers les tissus périphériques (**Pari & Latha, 2002**).

Au cours de cette phase de traitement du diabète, l'effet de l'extrait sur le rein, le foie et le cœur (**Danaei *et al.*, 2006**) a également été évalué. En effet, le diabète est associé à des désordres métaboliques pouvant également affecter ces organes (**USRDS, 2014**).

Le rein produit de l'urine qui contient des déchets métaboliques que sont l'urée et la créatinine. Il joue également un rôle vital dans le maintien de l'équilibre de l'eau et des électrolytes dans le corps (**James *et al.*, 2006**). Tout phénomène ou substance capable de modifier ces différentes fonctions rénales (la filtration glomérulaire, la réabsorption et la sécrétion tubulaires) conduit inévitablement à la modification des concentrations plasmatiques de l'urée, de la créatinine au niveau des métabolites (**Stevens *et al.*, 2006 ; Tsinalis & Binet, 2006 ; Gowda *et al.*, 2010**). L'urée et la créatinine restent des paramètres sémiologiques usuels pour établir un diagnostic sur la fonction rénale (**El Hilaly *et al.*, 2003**).

A l'issue des 21 jours de traitement, l'urémie n'a pas varié de façon significative par rapport à celle du témoin normal alors que sa variation a été significative par rapport au témoin non traité. Ceci indique que les doses de l'extrait utilisées n'auraient pas eu d'impact préjudiciable sur le métabolisme de l'urée. Quant à la créatinine, il y a eu une augmentation de sa concentration dans le sang des animaux traités à toutes les doses durant le temps de l'expérimentation. Les différentes concentrations de l'EABt ont eu un effet significatif à l'issue des 3 semaines d'exposition sur le métabolisme de la créatinine. Ces résultats sont similaires à ceux de **Lohoues *et al.* (2006)** qui ont montré que le latex de *Calotropis procera* ne pourrait pas entraîner dans le temps, une perturbation de la filtration glomérulaire.

Concernant le bilan lipidique, l'analyse des résultats a révélé une augmentation significative du taux du cholestérol total et des triglycérides chez les animaux du lot diabétique non traité du 1<sup>er</sup> au 21<sup>ème</sup> jour du traitement après l'induction du diabète et par rapport aux autres lots expérimentaux. En effet les taux élevés des triglycérides et de cholestérol total chez les rats diabétiques sont des

éléments caractéristiques d'une dyslipidémie. Cette dyslipidémie résulterait à la fois d'un déficit de l'insulino-sécrétion et/ou d'une insulino-résistance caractéristiques d'un diabète de type 2.

Généralement, le diabète sucré est associé à une hyperlipidémie. L'hyperlipidémie est définie comme le taux élevé de lipides dans le sang (excès de graisses) incluant principalement le cholestérol et les triglycérides. Les concentrations des lipides, tels que le cholestérol et le triglycéride sont corrélées et sont significativement élevées ( $p \leq 0,01$ ) chez les rats diabétiques non traités par rapport aux groupes des rats témoin non diabétique et diabétique traité. Cette augmentation de la lipidémie peut être due à l'insuffisance de l'insuline, qui est responsable de l'accumulation des lipides et la diminution de la sécrétion d'insuline provoquant ainsi l'augmentation de ceux-ci au niveau des tissus adipeux (**Rajalingam et al., 1993 ; Pattabiraman & Muthukumar, 2011**).

L'effet antihyperlipémiant, constatée du 1<sup>er</sup> au 21<sup>ème</sup> jour du traitement, serait dû à la réduction de la glycémie et pourrait s'expliquer par une régénération des cellules bêta du pancréas endommagées par l'alloxane (**Ma et al., 2013**). Une étude similaire menée par **Saidur et al. (2015)** a imputé cet effet anti-hyperglycémiant à la présence des saponines, des tannins, des flavonoïdes, des alcaloïdes et des terpènes dans l'extrait éthanolique de parties aériennes de *Cynodon dactylon*. Ces mêmes métabolites présents dans l'extrait aqueux de *B. thonningii* ont été révélés comme agents antidiabétiques (**Maithili et al., 2011**) et aussi joueraient un rôle très important dans les fonctions de protection contre l'incidence de la peroxydation lipidique et des maladies cardiovasculaires (**Tandon & Highlights, 2005**).

Il a été prouvé que la plupart des anomalies lipidiques les plus courantes dans le diabète sont l'hypertriglycéridémie et l'hypercholestérolémie (**Khan et al., 1995**). La diminution des lipides circulant est sensiblement bénéfique pour les sujets atteints de diabète et de maladies cardiovasculaires. Une étude menée par **Ighodaro & Omole (2012)** a permis d'obtenir les mêmes effets pharmacologiques avec les feuilles de *B. thonningii*. Selon ces auteurs, il serait possible que l'extrait possède la capacité de faciliter le transport du cholestérol et des triglycérides du sang vers les tissus. Ces activités antilipidémique et anticholestérolémique, observées chez les rats traités, seraient probablement dues à l'inhibition ou à la suppression de certaines enzymes essentielles au métabolisme de ces lipides. De même, ces baisses observées avec l'EABt peuvent-elles être bénéfiques dans la prévention des complications du diabète ainsi que l'amélioration du métabolisme des lipides chez les diabétiques (**Gupta et al., 2005 ; Ozen et al., 2012**).

L'aspartate aminotransférase (ASAT) et l'alanine aminotransférase (ALAT) sont des enzymes d'origine mitochondriale et cytoplasmique. Ainsi, toute nécrose cellulaire, destruction du parenchyme hépatique ou une augmentation de la perméabilité membranaire des hépatocytes peut



mener à l'écoulement de ces enzymes dans la circulation sanguine et donc à l'augmentation de leurs taux sériques (**Adeneye et al., 2006 ; Jodynis-Liebert et al., 2010**).

Les résultats biochimiques ont montré que l'extrait, à toutes les doses, pourrait avoir un effet hépatoprotecteur à l'instar de l'extrait éthanolique des fruits de *Passiflora foetida* dont les effets hépatoprotecteurs ont été mis en évidence par **Ramasamy et al. (2009)**. Ces auteurs ont d'autre part, démontré que l'extrait exerce un effet hépatoprotecteur et qu'il contient des flavonoïdes, molécules connues comme étant hépatoprotectrices (**Narayana et al., 2001**). Dans le présent travail, l'étude phytochimique réalisée a montré que l'extrait de *B. thonningii* est riche également en flavonoïdes ; molécules ayant prouvé son activité hépatoprotectrice dans d'autres études antérieures réalisées par **Yaye (2013)** et **Kokora et al. (2015)**. Ceux-ci ont montré que l'extrait hydro-alcoolique de *Terminalia mantaly* a un effet hépatoprotecteur qui pourrait être dû à la présence des flavonoïdes contenus dans cette plante.

Globalement, la variation significative ou la présence d'une variation légère et transitoire de ces paramètres indiqueraient que l'EABt n'a pas eu d'effet nocif sur l'intégrité tissulaire et le métabolisme hépatique et par conséquent, sur les hépatocytes (**Jodynis-Liebert et al., 2010 ; Li et al., 2010**).

Quant à la masse corporelle, après 21 jours de traitement des animaux, un gain pondéral a été observé chez les animaux des lots diabétiques traités. En effet, le traitement des animaux par l'EABt a entraîné une augmentation significative du taux des protéines des rats diabétiques traités par rapport aux rats non traités. Cela pourrait s'expliquer par la baisse de la glycémie chez ces rats traités. Selon **Kamalakkanan et al. (2003)** et **Babu & Stanely (2004)**, la baisse de la glycémie chez les rats diabétiques s'accompagne d'un gain de poids chez ces derniers. Ces résultats peuvent aussi suggérer que l'extrait contient des composés capables d'inhiber la protéolyse ou encore des substances capables de restaurer l'activité de l'insuline. D'après **Daisy et al. (2009)**, l'insuline joue un rôle important dans le maintien de l'équilibre des protéines, car non seulement elle stimule l'absorption des acides aminés et la synthèse des protéines, mais aussi inhibe la dégradation des protéines.

En ce qui concerne les paramètres hématologiques, il faut savoir que le système hématopoïétique et les cellules sanguines font partie des cibles les plus sensibles aux composés toxiques (**Mukinda & Syce, 2007**). **Adeneye & Adokiye (2008)** n'en diront pas moins quand ils affirment que le système hématopoïétique est très sensible aux substances toxiques et qu'il est très important dans la physiologie de l'organisme animal ainsi que de l'être humain. Les résultats obtenus ont montré des variations non significatives du nombre des globules rouges, des taux de l'hémoglobine et des hématocrites chez tous les animaux diabétiques traités par l'EABt et le

glibenclamide pendant la période de traitement. Cependant cette variation n'a été significative au terme des 21 jours de traitement que chez les animaux traités aux doses de 100 et 150 mg/kg pc sauf au niveau du taux d'hématocrites. Mais cette diminution de ces paramètres chez le témoin diabétique non traité est demeurée non significative. Le même constat a été fait par **Marmouch et al. (2010)**. Selon cet auteur, l'anémie est l'anomalie hématologique la plus fréquente chez le diabétique mais elle est généralement modérée et peut révéler plusieurs maladies associées. Elle pourrait s'expliquer aussi par une augmentation de la destruction des globules rouges et en même temps une diminution de leurs synthèses.

Il faut savoir que la réduction de l'hématocrite, du taux de l'hémoglobine et du nombre de globules rouges, à l'exemple du lot diabétique non traité, est utilisée dans le diagnostic de l'anémie chez la plupart des animaux (**Coles, 1986**). Les globules rouges sont des cellules dont la fonction principale est le transport de l'oxygène et du dioxyde de carbone assuré par l'hémoglobine qu'ils contiennent (**Bernard et al., 1996**).

Par ailleurs le même constat a été fait avec les taux de VGM, CCMH et TCMH. La réduction du nombre de globules rouges associée à une diminution du taux de VGM indiquerait une anémie microcytaire et à contrario une augmentation du taux de VGM indiquerait une anémie macrocytaire. Aussi, la réduction du nombre de globules rouges associée à une diminution de la teneur en CCMH symboliserait une anémie hypochrome (**Wagner, 2000 ; Ayed, 2015**). En outre, la diminution du nombre de globules rouges, des taux d'hémoglobine et d'hématocrite est également due à des perturbations excessives qui ont lieu au niveau des métabolismes et de l'hématopoïèse (**Moussa, 1999 ; Khaled & Huda, 2013**). Les résultats obtenus indiquent donc que l'EABt pourrait rétablir ces perturbations du système hématopoïétique aux doses 100 et 150 mg/kg de pc des rats diabétiques.

Au niveau de la formule leucocytaire, les résultats obtenus, ont également montré une augmentation du nombre de globules blancs chez tous les animaux des lots diabétiques au 3<sup>ème</sup> jour de l'induction comparativement à ceux du lot témoin non diabétique. L'augmentation de ces cellules sanguines témoigne d'un état inflammatoire général (**Fahim et al., 2012**) dû aux dommages causés par la toxicité et la destruction des cellules  $\beta$  (**Ibtissem, 2014**). Cet état de fait pourrait s'expliquer par la stimulation du système immunitaire entraînant ces augmentations (**Alex & Lawrence, 2013**). En plus, cette élévation des globules blancs est marquée par la lignée des polynucléaires neutrophiles. Ces résultats sont similaires à ceux de **Jelena et al. (2014)** qui ont constaté une augmentation significative des leucocytes du sang périphérique, des neutrophiles par rapport au témoin sur des rats traités par injection intra-péritonéale au cadmium à 1mg/kg de pc pendant 48 heures.

Ces résultats sont corroborés aussi par ceux de **Miloudi (2015)** relativement à une étude menée sur la cétoacidose diabétique. En effet selon cet auteur, Il est fréquent d'observer une

hyperleucocytose à polynucléaires neutrophiles au cours de l'acidocétose diabétique, liée à la démargination des leucocytes secondaires à l'acidose. Cependant elle ne témoigne pas pour autant de l'existence d'un syndrome infectieux sous-jacent. Le même constat a été observé au cours de notre expérience avec les animaux du lot diabétique non traité alors que le taux de leucocytes des animaux traités aux différentes doses de l'EABt a été rétabli à l'issue des 21 jours du traitement.



*CONCLUSION  
ET  
PERSPECTIVES*

## Conclusion

L'étude pharmacologique de l'extrait total aqueux des fruits de *Bauhinia thonningii* (Fabaceae) (EABt) obtenue par la méthode traditionnelle (décoction) a eu pour cible le traitement du diabète sucré, une maladie émergente de nos jours. Cette étude, à travers l'analyse phytochimique, a permis de mettre en évidence une hétérogénéité de groupes chimiques dans l'EABt (des saponosides, des polyphénols, des flavonoïdes, des tanins cathéchiques et les composés réducteurs) qui ont eu une activité inhibitrice sur l'alpha amylase et l'alpha glucosidase *in vitro*.

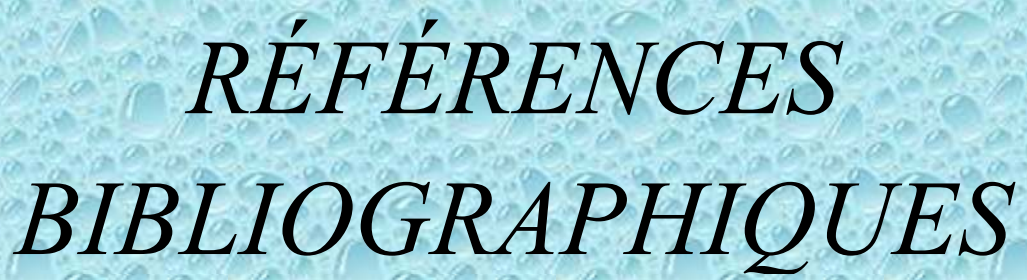
Les résultats de l'étude *in vivo* ont révélé que l'EABt possède un effet dose dépendante antihyperglycémiant avéré en HPGO (bonne tolérance au glucose) par la voie orale chez des rats. Les doses efficaces déterminées, comprises entre 100 et 150 mg/kg pc, se sont révélées comme de bons régulateurs de la glycémie chez des rats rendus diabétiques après induction par l'alloxane. Ces doses n'ont pas provoqué de changements importants des paramètres biochimiques sériques évalués (urée, créatinine, glycémie, transaminases, cholestérol total, triglycéride et protéine totale) et hématologiques (érythrocytaire et leucocytaire) ainsi que du poids. Tous ces résultats viennent justifier les nombreuses utilisations de la plante *Bauhinia thonningii* en médecine traditionnelle car elle a présenté une innocuité par voie orale chez les rats.

## Perspectives

Ce travail de recherche, loin d'être terminé doit se poursuivre dans le but de :

- effectuer les coupes histologiques des organes étudiés à savoir le cœur, les reins et le foie afin de confirmer les résultats fournis par les analyses biochimiques ;
- réaliser la toxicité subaiguë et chronique afin d'évaluer les effets nocifs de l'extrait après un traitement à long terme ;
- isoler et identifier les principes actifs impliqués dans les différentes activités pharmacologiques étudiées ;
- tester à nouveau les principes actifs qui seraient isolés, sur les marqueurs biologiques des organes tels que le cœur, le foie et les reins ;
- faire des essais cliniques en associant les médecins afin de produire des médicaments traditionnels améliorés ;
- produire une formulation galénique de l'extrait de la plante, efficace et sans danger pour la population.

Comme le recommande l'OMS, la validation de l'usage des drogues végétales comme remède traditionnel dans le traitement des maladies émergentes comme le diabète devrait passer par l'évaluation de leur efficacité, de leur innocuité et la standardisation de leur emploi. Il pourrait constituer un moyen complémentaire dans le traitement du diabète et favoriser leur intégration dans le système de soins conventionnels.



*RÉFÉRENCES  
BIBLIOGRAPHIQUES*

- ADA, 1997.** - Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*, **20(7)**: 1183-1197.
- ADA, 2007.** - Standards of medical care in diabetes. *Diabetes Care*, **30(1)**: S4-S41.
- ADA, 2008.** - Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*, **31 (1)**: S55-S60.
- ADA, 2010.** - Standards of medical care in diabetes. *Diabetes Care*, **33 Suppl 1**: S11-61. doi: 10.2337/dc10-S011.
- ADA, 2017.** - Classification and diagnosis of diabetes. In *Diabetes Care. Edited by American Diabetes Association, USA*. pp. S11-S24.
- Adeneye A.A. & Adokiye S.B., 2008.** - Protective effect of the aqueous leaf and seed extract of *Phyllanthus amarus* on gentamicin and acetaminophen- induced nephrotoxic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, **118**: 318–332.
- Adeneye A.A., Ajagbonna O.P., Adeleke T.I. & Bello S.O., 2006.** - Preliminary toxicity and phytochemical studies of the stem bark aqueous extract of *Musanga cecropioides* in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, **105**: 374-379.
- Aderogba M.A., Okoh E.K., Okeke I.N., Olajide A.O. & Ogundaini A.O., 2006.** - antimicrobial and anti-inflammatory effects of *Piliostigma reticulatum* leaf extract. *International Journal of Pharmacology*, **2(1)**: 70-74. doi: 10.3923/ijp.2006.70.74.
- Adjanohoun E. & Ake Assi L., 1979.** - Contribution au recensement des plantes médicinales de Côte-d'Ivoire. In *Centre National de Floristique, Abidjan, Côte-d'Ivoire*.
- Adjanohoun E.J., Ake-Assi L., Floret J.J., Ginko S., Koumaré M., Ahyin A.M.R. & Raynal J., 1981.** - Médecine traditionnelle et pharmacopée : contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au Mali. 3<sup>ème</sup> ed. Agence de Coopération Culturelle et Technique, Paris, France. pp. 291.
- Al-Habori M., Al-Aghbari A., Al-Mamary M. & Baker M., 2002.** - Toxicological evaluation of *Catha edulis* leaves: a long term feeding experiment in animals. *Journal of Ethnopharmacology*, **83**: 209-217.
- Alex A. & Lawrence I., 2013.** - The effects of sub lethal concentrations of cadmium on haematological indices of two amphibians. *International Conference on Medical, Biological and Pharmaceutical Sciences*, **4(5)**: 216-219.
- Ali S. & Dornhorst A., 2011.** - Diabetes in pregnancy: health risks and management. *Postgraduate Medical Journal*, **87(1028)**: 417-427. doi: 10.1136/pgmj.2010.109157.



**ANAES, 2000.** - Stratégie de prise en charge du patient diabétique de type 2 à l'exclusion de la prise en charge des complications. *In* Service des Recommandations et Références Professionnelles. Agence Nationale d'Accréditation et d'Evaluation en Santé, Paris.

**Andreozzi F., D'Alessandris C., Federici M., Laratta E., Del Guerra S., Del Prato S., Marchetti P., Lauro R., Perticone F. & Sesti G., 2004.** - Activation of the hexosamine pathway leads to phosphorylation of insulin receptor substrate-1 on Ser307 and Ser612 and impairs the phosphatidylinositol 3kinase/Akt/mammalian target of rapamycin insulin biosynthetic pathway in RIN pancreatic beta-cells. *Endocrinology*, **145(6)**: 2845-2857.

**Anonyme, 2017.** - Les diabètes. Available from <https://www.bio-top.net/Schemas/Glucagon1.gif>. Consulté le 18-05-2017.

**Archambeaud F., 2008.** - Actualités thérapeutiques dans le diabète de type 2. *Actualités Pharmaceutiques Hospitalières*, **14**: 13-17.

**Aruna R.V., Ramesh B. & Kartha V.N., 1999.** - Effect of betacarotene on protein glycosylation in alloxan induced diabetic rats. *Indian Journal of Experimental Biology*, **37**: 399–401.

**ASPC, 2011.** - Le diabète au Canada : Perspective de santé publique sur les faits et chiffres. Ottawa. p. 134.

**Asuzu I.U., Gray A.I. & Waterman P.G., 1999.** - The anthelmintic activity of D-3-O methylchiroinositol isolated from *Piliostigma thonningii* stem bark. *Fitoterapia*, **70(1)**: 77–79.

**Auberval N., 2010.** - Prévention du stress oxydant dans le diabète et ses complications par des antioxydants d'origine naturelle. *In* Physiologie et biologie des organismes-populations-interactions. Université de Strasbourg, France. p. 257.

**Ayed A., 2015.** - Classification des Anémies. *In* Anémies. Edited by S.T.d.B. Clinique, Centre d'Expertise de Medecine Aeronautique de Tunis. p. 25.

**Baba O.Z.M.A.S., Bédou K.D., Konkon N.d.G., Djaman A.J. & N'guessan J.-D., 2017.** - Ethnobotanic and toxicological study of some medecinal plants used in treatment of diabetes. *The Journal of Phytopharmacology*, **6(1)**: 45-52.

**Babu P.S. & Stanely M.P.P., 2004.** - Antihyperglycaemic and antioxidant effect of hyponidd, an Ayurvedic herbomineral formulation in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, **56**: 1435–1442.

**Bachhawat A., Shihabudeen M. & Thirumurugan K., 2011.** - Screening of fifteen Indian Ayurvedic plants for alpha-glucosidase inhibitory activity and enzyme kinetics. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, **3**: 267-274.

- Badot R.M. & Merlin D., 1984.** - Métabolisme énergétique et mouvement révolutif chez le haricot (*Phaseolus vulgaris*). In *Annales Scientifiques, Biologie Végétale*. Université de Franche-Comté. pp. 7-12.
- Bastard J.P. & Hainque B., 1995.** - Mécanismes d'action cellulaire de l'insuline et insulino-résistance périphérique. *Sang Thrombose Vaisseaux*, **7**: 365-374.
- Bastard J.P., Vigouroux C. & Capeau J., 2001.** - Syndrome métabolique ou syndrome d'insulinorésistance. *Encyclopédie médico-chirurgicale, Endocrinologie-Nutrition*, **10**: 1-7.
- Beagley J., Guariguata L., Weil C. & Motala A.A., 2014.** - Global estimates of undiagnosed diabetes in adults. *Diabetes Research and Clinical Practice*, **103(2)**: 150-160. doi: 10.1016/j.diabres.2013.11.001.
- Beers M.H., Porter R.S. & Jones T.V., 2006.** - The Merck Manual of Diagnosis and Therapy. Merck. p. 3000.
- Bekele-Tesemma A., 2007.** - Useful trees and shrubs for Ethiopia: identification, propagation and management for 17 agroclimatic zones. In *Technical Manual No 6. RELMA in ICRAF Project, Nairobi, Kenya*. p. 552.
- Bekro Y.-A., Mamyrbekova J., Boua B.B., Bi F.T. & Ehile E.E., 2007.** - Étude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthamiana* (Baill.) Herend. et Zarucchi (Caesalpinaceae). *Sciences & Nature*, **4(2)**: 217-225.
- Benaouida K., 2008.** - Etude de l' $\alpha$ -amylase des levures isolées d'un écosystème extrême (sol environnant les sources thermale) et cultivées sur milieu à base de lactosérum. In *Biotechnologie microbienne*. Université Mentouri, Constantine, République Algérienne Démocratique et Populaire. p. 67.
- Berbel M.N., Pinto M.P., Ponce D. & Balbi A.L., 2011.** - Nutritional aspects in acute kidney injury. *Revista da Associacao Medica Brasileira*, **57**: 600-606.
- Bernard J., Lévy J.P., Varet B., Clauvet J.P., Rain J.D. & Sultan Y., 1996.** - Abrégés d'hématologie. In *Le globule rouge et pathologie*. P Masson, Paris, France. pp. 68-74.
- Bernfeld P., 1955.** - Amylases : alpha and beta methods. *Enzymology*, **1**: 149-158.
- Berry D. & Paterson A., 1990.** - Enzymes in food industry. In *Sucking C.J. Enzyme chemistry impact and application*. Edition champman and hall, London. pp. 306-351.
- Bertheau Y., Kotoujansky A. & Colenoa A., 1985.** - Sources actuelles et potentielles d'enzymes d'hymolyses et de dépolymérisation. In *Mouranche A. et Coste C. (Ed) : Hydrolyses et dépolymérase enzymes, d'intérêt industriel*. Gautier-Villard. pp. 47-108.

- Bhattacharya S.K., 1995.** - Activity of shilajit on alloxan induced hypoglycaemia in rats. *Fitoterapia*, **116(4)**: 328-332.
- Bhattacharya S.K. & Sushrutha I., 2009.** - Our proud heritage. *Indian journal of plastic surgery*, **42**: 223-225.
- Bhella R.S. & Altosaar I., 1987.** - Translational control of alpha-amylase gene expression in *Aspergillus awamori*. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, **9(4)**: 287-293.
- Bi F.T., Irie G.M., N'Gaman K. & Mahou C., 2008.** - Études de quelques plantes thérapeutiques utilisées dans le traitement de l'hypertension artérielle et du diabète : deux maladies émergentes en Côte d'Ivoire. *Journal Sciences Nature*, **5(1)**: 39-48.
- Borges de Melo E., Da Silveira Gomes A. & Carvalho I., 2006.** - Alpha-and beta-Glucosidase inhibitors: chemical structure and biological activity. *Tetrahedron*, **62**: 10277-10302.
- Bosquet F. & Hartemann-Heurtier A., 2004.** - Insulinothérapie dans le diabète de type 2. *EMC-Endocrinologie*, **1**: 55-65.
- Boudjelthia K., Hammadi K., Kouidri M. & Djebli N., 2017.** - Evaluation of antidiabetic activity of two plants *Berberis vulgaris* and *Zygophyllum geslini*. *Journal of Physical Chemistry and Biophysics*, **7**: 236.
- Bravo-Torres J.C., Villagomez-Castro J.C., Calvo-Mendez C., Flores-Carreón A. & Lopez-Romero E., 2004.** - Purification and biochemical characterisation of a membrane-bound alpha-glucosidase from the parasite *Entamoeba histolytica*. *International Journal for Parasitology*, **34(4)**: 455-462. doi: 10.1016/j.ijpara.2003.11.015.
- Broussolle C., Orgiazzi J. & Noël G., 1990.** - Physiopathologie du diabète non insulino-dépendant: données actuelles et conséquences thérapeutiques. *La Revue de Médecine Interne*, **11(2)**: 143-148.
- Brown H., Sanger F. & Kitai R., 1955.** - The structure of pig and sheep insulins. *Biochemical Journal*, **60(4)**: 556-565.
- Bruneton J., 1999.** - Tanin, Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales. In *Technique et Documentation*. Lavoisier, Paris, France. pp. 370-404.
- Bürger C., Fisher D.R., Cordenunzi D.A., Batschauer A.P.B., Filho V.C. & Soares A.R.S., 2005.** - Acute and subacute toxicity of hydroalcoholic extract from *Wedelia paludosa* (Acmeliabrasiliensis) (Asteraceae) in mice. *Journal of Pharmacology Pharmaceutic Scientific*, **8(2)**: 370-373.

- Burstein C. & Kepes A., 1971.** - The alpha-galactosidase from *Escherichia coli* K12. *Biochimica et Biophysica Acta*, **230(1)**: 52-63.
- Burtis A. & Ashwood E.R., 1999.** - Tietz textbook of clinical chemistry. In Association des Agences-Conseil en Communication Presse. WB Washinton DC, Philadelphia. pp. 1530-1569.
- Cabrera O., Berman D., Kenyon N., Ricordi C., Berggren P. & Caicedo A., 2006.** - The unique cytoarchitecture of human pancreatic islets has implications for islet cell function. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **103(7)**: 2334-2339.
- Carillon E., 2000.** - La phytothérapie face à l'évolution médicale. pp. 10-15.
- Carmoi T., Verret C., Debonne J.M. & Klotz F., 2007.** - Prise en charge du diabète de type 2 en Afrique subsaharienne : Constats actuels et perspectives. *Médecine Tropicale : Revue du Corps de Santé Colonial*, **67**: 601-606.
- Chakrabarti R. & Rajagopalan R., 2002.** - Diabetes and insulin resistance associated disorders : Disease and the therapy. *Current Science*, **83**: 1533-1538.
- Chang-Chen K.J., Mullur R. & Bernal-Mizrachi E., 2008.** - Beta-cell failure as a complication of diabetes. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*, **9(4)**: 329-343.
- Charles A., Guy L. & Laurent M., 2003.** - Biochimie alimentaire. In l'abrégé, Dunod, Paris.
- Chatterton J.-R., Vogelsong K.-M., Lu Y- Ellman A.-B. & Hudgens G.-A., 1996.** - Salivary - amylase as a measure of endogenous adrenergic activity. *Physiology Journal*, **16(4)**: 344-348.
- Chattopadhyay R.R., 1999.** - Possible mechanism of antihyperglycemic effect of *Azadirachta indica* leaf extract. Part.V. *Journal of Ethnopharmacology*, **67**: 373-376.
- Chiba S., 1988.** - Amyloglycosidase. In Handbook of Amylases and related enzymes. The Amylase Research Society of Japan, Pergamum Press, Oxford, U.K. pp. 104-116.
- Chirgwin J.M., 1990.** - Molecular biology for nonmolecular biologists. *Diabetes Care*, **13(3)**: 188-197.
- Chung-An L., Eng-Kiat L. & Su-May Y., 1998.** - Sugar response sequence in the promoter of a rice  $\alpha$ -amylase gene serves as a transcriptional enhancer. *Journal of Biological Chemistry*, **17**: 10120-10131.
- Cisse A., Gueye M., Ka A., Ndiaye F., Koma S. & Akpo L.E., 2016.** - Ethnobotanique des plantes médicinales chez les bergers peuls de Widou Thiengoly de la commune de Téssékéré (Ferlo-Nord Sénégal). *Journal of Applied Biosciences*, **98(0)**: 9301 – 9308. doi: 10.4314/jab.v98i1.6.

- Claude J.R., 1998.** - Investigations toxicologiques pour un nouveau médicament. *In Pharmacologie Clinique Bases Thérapeutiques*. Expression scientifique française. p. 2352.
- Coles E.H., 1986.** - Veterinary clinical pathology. *In* W. B. Saunders Compagny, Philadelphia, USA. pp. 10-42.
- Comfort D.A., Chou C.J., Conners S.B., VanFossen A.L. & Kelly R.M., 2008.** - Functional-genomics-based identification and characterization of open reading frames encoding alpha-glucoside-processing enzymes in the hyperthermophilic archaeon *Pyrococcus furiosus*. *Applied and Environmental Microbiology*, **74(4)**: 1281-1283. doi: 10.1128/AEM.01920-07.
- Costantino H.R., Brown S.H. & Kelly R.M., 1990.** - Purification and characterization of an alpha-glucosidase from a hyperthermophilic archaebacterium, *Pyrococcus furiosus*, exhibiting a temperature optimum of 105 to 115 degrees C. *Journal of Bacteriology*, **172(7)**: 3654-3660.
- Costes C., 1982.** - Les enzymes. *In* Production et utilisations industrielles, Bordas, Paris. pp. 37-195.
- Daigo K., Inamori Y. & Takemoto T., 1986.** - Studies on the constituents of the water extract of the root of mulberry tree (*Morus bombycis* KOIDZ). *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, **34**: 2243-2246.
- Dairaku K. & Spiro R.G., 1997.** - Phylogenetic survey of endomannosidase indicates late evolutionary appearance of this N-linked oligosaccharide processing enzyme. *Glycobiology*, **7**: 579-586.
- Daisy P., Kanakappan S. & Rajathi M., 2009.** - Antihyperglycemic and antihyperlipidemic effects of *Clitoria ternatea* Linn. in alloxan-induced diabetic rats. *African Journal of Microbiology Research*, **3**: 287-291.
- Danaei G., Lawes C.M., Vander Hoorn S., Murray C.J. & Ezzati M., 2006.** - Global and regional mortality from ischaemic heart disease and stroke attributable to higher-than-optimum blood glucose concentration: comparative risk assessment. *Lancet*, **368(9548)**: 1651-1659. doi: 10.1016/S0140-6736(06)69700-6.
- Dauter Z., Dauter M., Brzozowski A.M., Christensen S., Borchert T.V., Beier L., Wilson K.S. & Davies G.J.J.B., 1999.** - X-ray structure of Novamyl, the five-domain "maltogenic"  $\alpha$ -amylase from *Bacillus stearothermophilus*: maltose and acarbose complexes at 1.7 Å resolution. **38(26)**: 8385-8392.
- Davis W. & Davis T., 2010.** - Cardiovascular risk prediction in adults with type 1 diabetes : the Fremantle Diabetes Study. *Diabetes Research and Clinical Practice*, **90**: e75-78. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.diabres.2010.09.015>.
- De-Miguel-Yanes J.M., Manning A.K., Shrader P., J.B. M.A., Goel A., Hamsten A., Hamsten A., Procardis F.C.S., Florez J.C., Dupuis J. & Meigs J.B., 2011.** - Variants at the

endocannabinoid receptor CB1 gene (CNR1) and insulin sensitivity, type 2 diabetes and coronary heart disease. *Obesity (Silver Spring)*, **19(10)**: 2031-2037.

**De Clerck M., 2005.** - L'éducation au diabète en Afrique : ce qu'il faut savoir. *Diabetes Voice*, **3**: 12-14.

**DeFronzo R.A., Ferrannini E., Alberti K.G.M.M., Zimmet P. & Alberti G., 2015.** - International Textbook of Diabetes Mellitus, 2 volume Set. John Wiley & Sons. p. 1228.

**Dejob M., 2013.** - Études structurales et fonctionnelles d'alpha-glucosidases bactériennes. *In* Biochimie [qbio.BM]. Université Claude Bernard Lyon I, France. p. 266.

**Delluc G., Delluc B. & Roques M., 2003.** - La nutrition préhistorique. *In* Ellipses. p. 223.

**Desch G., 2001.** - Aspects biochimiques et analytiques du diagnostic et de la surveillance du diabète. *Médecine Nucléaire – Imagerie Fonctionnelle et Métabolique*, **25(2)**: 61-72.

**Desjarlais F., 2006.** - Aspartate aminotransferase. Fiches cliniques. *In* Annales de Biologie Clinique, Québec. pp. 40-43.

**Dhanawansa R., Faridmoayer A., van der Merwe G., Li Y.X. & Scaman C.H., 2002.** - Overexpression, purification, and partial characterization of *Saccharomyces cerevisiae* processing alpha glucosidase I. *Glycobiology*, **12(3)**: 229-234.

**Diezi J., 1989.** - Toxicologie: principes de base et répercussions cliniques. *In* Pharmacologie des concepts fondamentaux aux applications thérapeutiques, Schorderet M., Slatkine-Genève. pp. 33-44.

**Diop S.N. & Diédhiou D., 2015.** - Le diabète sucré en Afrique sub-saharienne : aspects épidémiologiques et socioéconomiques. *Médecine des Maladies Métaboliques*, **15**: 123-129.

**Dragstedt A. & Lang B., 1957.** - Etude de la toxicité par administration unique d'un nouveau médicament. *In* Annales Pharmaceutiques français. p. 11.

**Dubois M., Gilles K.A., Hamilton J.K., Rebers P. & Smith F., 1956.** - Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical chemistry*, **28(3)**: 350-356.

**Dufour D.R., Lott J.A., Nolte F.S., Gretch D.R., Koff R.S. & Seeff L.B., 2000.** - Diagnosis and monitoring of hepatic injury II. Recommendation for use of laboratory tests in screening, diagnosis and monitoring. *Clinical Chemistry*, **46**: 2050-2068.

**Dunn J. & Mclethie N., 1943.** - Experimental alloxan diabetes in the rat. *Lancet*, **245**: 484-487.

- Edeoga H.O., Okwu D.E. & Mbaebie B.O., 2005.** - Phytochemical constituents of some Nigerian medicinal plants. *African Journal of Biotechnology*, **4(7)**: 685-688.
- Eeg-Olofsson K., Cederholm J., Nilsson P.M., Zethelius B., Svensson A.M., Gudbjornsdottir S. & Eliasson B., 2010.** - Glycemic control and cardiovascular disease in 7,454 patients with type 1 diabetes: an observational study from the Swedish National Diabetes Register (NDR). *Diabetes Care*, **33(7)**: 1640-1646. doi: 10.2337/dc10-0398.
- El Hilaly J., Israili Z.H. & Lyoussi B., 2003.** - Acute and chronic toxicological studies of *Ajuga iva* in experimental animals. *Journal of Ethnopharmacology*, **91**: 43-50.
- Evans J.M., Newton R.W., Ruta D.A., MacDonald T.M. & Morris A.D., 2000.** - Socio-economic status, obesity and prevalence of Type 1 and Type 2 diabetes mellitus. *British Diabetic*, **17(6)**: 478-480. doi: <http://dx.doi.org/10.1046/j.1464-5491.2000.00309.x>.
- Fahim M., Nemmar A., Dhanasekaran S., Singh S., Shafiullah Y.Y., Zia S. & Hasan M., 2012.** - Acute cadmium exposure causes systemic and thromboembolic events in mice. *Physiological Research*, **61**: 73-80.
- Fang X.K., Gao Y., Yang H.Y., Lang S.M., Wang Q.J., Yu B.Y. & Zhu D.N., 2008.** - Alleviating effects of active fraction of *Euonymus alatus* abundant in flavonoids on diabetic mice. *American Journal of Chinese Medicine Journal*, **36(1)**: 125-140. doi: 10.1142/S0192415X08005643.
- Fawcett J.K., 1960.** - A rapid and precise method for the determination of urea. *Journal of Clinical Pathology*, **13**: 156-159.
- Fendler W., Borowiec M., Baranowska-Jazwiecka A., Szadkowska A., Skala-Zamorowska E., Deja G., Jarosz-Chobot P., Techmanska I., Bautembach-Minkowska J., Mysliwiec M., Zmyslowska A., Pietrzak I., Malecki M.T. & Mlynarski W., 2012.** - Prevalence of monogenic diabetes amongst Polish children after a nationwide genetic screening campaign. *Diabetologia*, **55(10)**: 2631-2635. doi: 10.1007/s00125-012-2621-2.
- Ferrer M., Golyshina O.V., Plou F.J., Timmis K.N. & Golyshin P.N., 2005.** - A novel alpha-glucosidase from the acidophilic archaeon *Ferroplasma acidiphilum* strain Y with high transglycosylation activity and an unusual catalytic nucleophile. *Biochemical Journal*, **391(Pt 2)**: 269-276. doi: 10.1042/BJ20050346.
- Forouzanfar M., Alexander L., Anderson H. & et al., 2015.** - Global, regional and national comparative risk assessment of 79 behavioural, environmental and occupational and metabolic risks or clusters of risks in 188 countries, 1990–2013 : a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *The Lancet*, **386**: 2287–2323. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S01406736\(15\)00128-2](http://dx.doi.org/10.1016/S01406736(15)00128-2).
- Fort J., De la Ballina L.R., Burghardt H.E., Ferrer-Costa C., Turnay J., Ferrer-Orta C., Uson I., Zorzano A., Fernandez-Recio J., Orozco M., Lizarbe M.A., Fita I. & Palacin M., 2007.**

- The structure of human 4F2hc ectodomain provides a model for homodimerization and electrostatic interaction with plasma membrane. *Journal of Biological Chemistry*, **282(43)**: 31444-31452. doi: 10.1074/jbc.M704524200.

**Fossati P., Principe L. & Berti G., 1983.** - Enzymatic Creatinine Assay : A new colorimetric method based on hydrogen peroxide measurement. *In Clinical Chemistry*. pp. 1494-1496.

**Frandsen T.P. & Svensson B., 1998.** - Plant alpha-glucosidases of the glycoside hydrolase family 31. Molecular properties, substrate specificity, reaction mechanism and comparison with family members of different origin. *Plant Molecular Biology*, **37(1)**: 1-13.

**Frank C., 1992.** - Toxicologie, Données générales, procédures d'évaluation, organes cibles, évaluation du risque. Paris. pp. 73-202.

**Gabrisko M. & Janecek S., 2009.** - Looking for the ancestry of the heavy-chain subunits of heteromeric amino acid transporters rBAT and 4F2hc within the GH13 alpha-amylase family. *FEBS Journal*, **276**: 7265-7278.

**Gloster T.M. & Davies G.J., 2010.** - Glycosidase inhibition: assessing mimicry of the transition state. *Organic & Biomolecular Chemistry*, **8(2)**: 305-320. doi: 10.1039/b915870g.

**Gloster T.M., Turkenburg J.P., Potts J.R., Henrissat B. & Davies G.J., 2008.** - Divergence of catalytic mechanism within a glycosidase family provides insight into evolution of carbohydrate metabolism by human gut flora. *Chemistry & Biology*, **15**: 1058-1067.

**Godoy-Matos A.F., 2014.** - The role of glucagon on type 2 diabetes at a glance. *Diabetology & Metabolic Syndrome*, **6**: 91.

**Gowda S., Desai B.P., Kulkarni S.S., Hull V.V., Math A.A.K. & Vernekar S.N., 2010.** - Markers of renal function tests. *North American Journal of Medical Sciences*, **2(4)**: 170-173.

**Grimaldi A., Hartemann-Heurtier A., Jacqueminet S., Bosquet F., Masseboeuf N., Halbran M. & Sachon C., 2009.** - Guide Du Diabète. *In* Masson.

**Grussu D., Stewart D. & McDougall G., 2011.** - Berry polyphenols inhibit alpha-amylase in vitro : Identifying active components in rowanberry and raspberry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **59**: 2324-2331.

**Guariguata L., Linnenkamp U., Beagley J., Whiting D.R. & Cho N.H., 2014.** - Global estimates of the prevalence of hyperglycaemia in pregnancy. *Diabetes Research and Clinical Practice*, **103(2)**: 176-185. doi: 10.1016/j.diabres.2013.11.003.

**Guillausseau P.J. & Laloi-Michelin M., 2003.** - [Pathogenesis of type 2 diabetes mellitus]. *Revue de Médecine Interne*, **24(11)**: 730-737.



- Guindo I., 2006.** - Etude du traitement traditionnel de l'hypertension artérielle au mali. *In* Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie. Université de Bamako, Mali. p. 139.
- Gupta R.K., Kesari A.N., Watal G., Murthy P.S., Chandra R. & Tandon V., 2005.** - Nutritional and hypoglycemic effect of fruit pulp of *Annona squamosa* in normal healthy and alloxan-induced diabetic rabbits. *Annals of Nutrition and Metabolism*, **49**: 407–413.
- Halimi S., 2005.** - Nouvelles stratégies thérapeutiques dans le diabète de type 2. *Presse Médicale*, **34**: 1287-1292.
- Hammes H.P., Feng Y., Pfister F. & Brownlee M., 2011.** - Diabetic retinopathy : targeting vasoregression. *Diabetes*, **60**: 9-16.
- Hanhineva K., Törrönen R., Bondia-Pons I., Pekkinen J., Kolehmainen M., Mykkänen H. & Poutanen K., 2010.** - Impact of Dietary Polyphenols on Carbohydrate Metabolism. *International Journal of Molecular Sciences*, **11**: 1365-1402.
- Haq I., Ahsraf H., Labal J. & Qadeer M.A., 2003.** - Production of  $\alpha$ -amylase by *Bacillus licheniformis* using an economical medium, In: Behal A., Singh J., Sharama M.K., Pur P and Batra N., Characterisation of Alkaline  $\alpha$ -Amylase from *Bacillus* sp AB 04. *International Journal of Agriculture & Biology*, **08(1)**: 80-83.
- Harizal S.N., Mansor S.M., Hasnan J., Tharakan J.K.J. & Abdullah J., 2010.** - Acute toxicity study of the standardized methanolic extract of *Mitragyna speciosa* Korth in Rodent. *Journal of Ethnopharmacology*, **131**: 404-409.
- He L., 1998.** - Alpha-glucosidase inhibitors as agents in the treatment of diabetes. *Diabetes Reviews*, **6**: 132–145.
- Henrissat B., 1991.** - A classification of glycosyl hydrolases based on amino acid sequence similarities. *Biochemical Journal*, **280(Pt 2)**: 309-316.
- Hermans M.M., Kroos M.A., van Beeumen J., Oostra B.A. & Reuser A.J., 1991.** - Human lysosomal alpha-glucosidase. Characterization of the catalytic site. *Journal of Biological Chemistry*, **266(21)**: 13507-13512.
- Herscovics A., 1999.** - Processing glycosidases of *Saccharomyces cerevisiae*. *Biochimica et Biophysica Acta*, **1426(2)**: 275-285.
- Hocine B., 2000.** - Valorisation de certaines plantes médicinales à activité hypoglycémisante comme la coloquinte. *In* Département de Chimie. Université de Tlemcen-Abou Bekr Belkaid, République Algérienne Démocratique et Populaire.

- Hodge H.C. & Sterner J.H., 1943.** - Determination of substance acute toxicity by LD50. *American Industrial Hygiene Association*, **10**: 93-96.
- Hodgson E. & Cunny H., 2010.** - Toxicity Testing. *In A Textbook of Modern Toxicology*. John Wiley & Sons, Hoboken, New Jersey. pp. 409-456.
- Hodgson E. & Eroe R., 2010.** - Metabolism of Toxicants. *In A Textbook of Modern Toxicology*. John Wiley & Sons, Hoboken, New Jersey. pp. 115-167.
- Holman N., Young B. & Gadsby R., 2015.** - Current prevalence of Type 1 and Type 2 diabetes in adults and children in the UK. *Journal of the British Diabetic Association*, **32**: 1119–1120. doi: <http://dx.doi.org/10.1111/dme.12791>.
- Huang D.-J., Chun-Der L., Hsien-Jung C. & Yaw-Huei L., 2004.** - Antioxidant and antiproliferative activities of sweet potato (*Ipomoea batatas* [L.] LamTainong 57') constituents. *In Botanical Bulletin of Academia Sinica*. p. 45.
- Hunt K.J. & Schuller K.L., 2007.** - The increasing prevalence of diabetes in pregnancy. *Obstetrics and Gynecology Clinics of North America*, **34(2)**: 173-199, vii. doi: 10.1016/j.ogc.2007.03.002.
- Ibewuiké J.C., Ogungbamila F.O., Ogundaini A.O., Okeke I.N. & Bohlin L., 1997.** - Antiinflammatory and antibacterial activities of C-methylflavonols from *Piliostigma thonningii*. *Phytotherapy Research*, **11(4)**: 281–284.
- Ibtissem B., 2014.** - Etude comparative de l'alloxane et de la streptozocine dans le diabète expérimental chez le rat blanc. Etude histologique du pancréas endocrine et la variation des paramètres sanguins. *In Biologie Animale*. Constantine 1, République Algérienne Démocratique et Populaire. p. 109.
- IDF, 2015.** - Diabetes Atlas IDF, 7th édition. Brussels, Belgium.
- IDF, 2016.** - Diabetes and Cardiovascular Disease. *In The International Diabetes Federation*, 166 Chaussée de La Hulpe, B-1170 Brussels, Belgium, [www.idf.org/cvd](http://www.idf.org/cvd). Consulté le 22-05-2017.
- IDF, 2017.** - Atlas du diabète, 8ème édition Available from atlas@idf.org I [www.diabetesatlas.org](http://www.diabetesatlas.org). Consulté le 22-05-2017.
- Ighodaro O.M. & Omole J.O., 2012.** - Effects of nigerian *Piliostigma thonningii* species leaf extract on lipid profile in Wistar Rats. *ISRN pharmacology*, **2012**: 387942. doi: 10.5402/2012/387942.
- Inouye S., Tsuruoka T., Ito T. & Niida T., 1968.** - Structure and synthesis of nojirimycin. *Tetrahedron*, **24(5)**: 2125-2144.

- Inouye S., Tsuruoka T. & Nida T., 1966.** - The structure of nojirimycin, a piperidinose sugar antibiotic. *Journal of Antibiotics (Tokyo)*, **19(6)**: 288-292.
- Isoda Y., Shimizu Y., Hashimoto A., Fujiwara H., Nitta Y. & Kagemoto A., 1992.** - Mechanism of hydrolyses of phenyl alpha-maltosides catalyzed by taka-amylase A. *Journal of Biochemistry*, **111(2)**: 204-209.
- Iwanami S., Matsui H., Kimura A., Ito H., Mori H., Honma M. & Chiba S., 1995.** - Chemical modification and amino acid sequence of active site in sugar beet alpha-glucosidase. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, **59(3)**: 459-463.
- Jacqueminet S. & Grimaldi A., 2005.** - Guide pratique du diabète, *In 2 : Quand et comment diagnostiquer un diabète.* Edited by Elsevier Masson, France. p. 271.
- Jaffé M., 1886.** - Ueber den Niederschlag welchen Pikrinsäure in normalen und über eine Harn erzeugt neue reaction Kreatinins. *Hoppe-Seyler's Zeitschrift fur Physiologische Chemie*, **10**: 39-400.
- James S., Mitchel G., Carl A.B., Edward R. & David E., 2006.** - Physiology and disorder of water electrolytes and acid base metabolism. *In Textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics.* Elsevier Inc, New Delhi. pp. 1747-1776.
- Jelena D.A., Ivana M., Marina N., Aleksandra P.A., Lidija Z.B., Dragan K.A.C. & Milena K.A.D., 2014.** - Acute cadmium administration to rats exerts both immunosuppressive and proinflammatory effects in spleen. *Toxicology*, **326**: 96–108.
- Jellinger P.S., 2007.** - Metabolic consequences of hyperglycemia and insulin resistance. *Clinical Cornerstone*, **8**: S30-42.
- Jodynys-Liebert J., Nowicki M., Murias M., Adamska T., Ewertowska M., Kujawska M., Piotrowska H., Konwerska A., Ostalska-Nowicka D. & Pernak J., 2010.** - Cytotoxicity, acute and subchronic toxicity of ionic liquid, didecyldimethylammonium saccharinate, in rats. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, **57**: 266-273.
- Jouzier É., 2007.** - Diabète et philatélie. *Bulletin de la Société de Pharmacie de Bordeaux*, **(146)**: 159-178.
- Junge B., Heiker F.R., Kurz J., Müller L., Schmidt D.D. & Wünsche C., 1984.** - Untersuchungen zur struktur des alpha-D-glucosidase inhibitors acarbose. *Carbohydrate Research*, **128**: 235-268.
- Kamalakkanan N., Rajadurai M. & Prince P.S., 2003.** - Effect of Aegle marmelos fruits on normal and streptozotocin diabetic Wistar rats. *Journal of Medicinal Food*, **6**: 93–98.

- Kambouche N., Merah B., Derdour A., Bellahouel S., Bouayed J., Dicko A., Younos C. & Soulimani R., 2009.** - Hypoglycemic and antihyperglycemic effects of *Anabasis articulata* (Forssk) Moq (Chenopodiaceae), an Algerian medicinal plant. *African Journal of Biotechnology*, **8(20)**: 5589-5594.
- Kandra L., Gyemant G., Farakas E. & Liptak A., 1997.** - Action pattern of porcine pancreatic - amylase on three different series of beta-maltooligosaccharide glycoside. *Carbohydrate Research*, **289(3)**: 237-242.
- Kaneko J.J., Harvey J.W. & Bruss M.L., 1997.** - Clinical Biochemistry of Domestic Animals. In Academic Press, San Diego (Californie). p. 932.
- Karou S., Tchacondo T., Djikpo T.M., Abdoul-Rahaman S., Anani K. & Koudouvo K., 2011.** - Ethnobotanical study of medicinal plants used in the management of diabetes mellitus and hypertension in the Central Region of Togo. *Pharmaceutical Biology*, **49(12)**: 1286-1297.
- Kato N., Suyama S., Shirokane M., Kato M., Kobayashi T. & Tsukagoshi N., 2002.** - Novel alpha-glucosidase from *Aspergillus nidulans* with strong transglycosylation activity. *Applied and Environmental Microbiology*, **68(3)**: 1250-1256.
- Kautzky-Willer A., Stich K., Hintersteiner J., Kautzky A., Kamyar M.R., Saukel J., Johnson J. & Lemmens-Gruber R., 2013.** - Sex-specific-differences in cardiometabolic risk in type 1 diabetes : a cross-sectional study. *Cardiovascular Diabetology*, **12**: 78. doi: <http://dx.doi.org/10.1186/1475-2840-12-78>.
- Kelly C.T., Bolton D. & Fogarty W.M., 1997.** - Bi-phasic production of a-amylase of *Bacillus flavothermus* in batch fermentation. *Biotechnology*, **19(7)**: 675-677.
- Kerharo J. & Bouquet A., 1950.** - Plantes médicinales et toxiques de la Côte-d'Ivoire et de la Haute-Volta. In Vigot frères, Paris, France.
- Khaled S.A.A. & Huda A., 2013.** - Effect of cadmium in drinking water on growth, some haematological and biochemical parameters of chicken. *European Journal of Experimental Biology*, **3(5)**: 287-291.
- Khan B.A., Abraham A. & Leelamma S., 1995.** - Hypoglycemic action of *Murraya Koenigii* (curry leaf) and *Brassica juncea* (mustard): Mechanism of action. *Indian Journal of Biochemistry and Biophysics*, **32**: 106-108.
- Kim S.H., Hyun S.H. & Choung S.Y., 2006a.** - Anti-diabetic effect of cinnamon extract on blood glucose in db/db mice. *Journal of Ethnopharmacology*, **104(1-2)**: 119-123. doi: 10.1016/j.jep.2005.08.059.
- Kim Y.W., Lovering A.L., Chen H., Kantner T., McIntosh L.P., Strynadka N.C. & Withers S.G., 2006b.** - Expanding the thioglycoligase strategy to the synthesis of alpha-linked

thioglycosides allows structural investigation of the parent enzyme/substrate complex. *Journal of the American Chemical Society*, **128(7)**: 2202-2203. doi: 10.1021/ja057904a.

**Kimball C. & Murlin J., 1923.** - Aqueous extracts of pancreas. III. Some precipitation reactions of insulin. *Journal of Biological Chemistry*, **58(1)**: 337-346.

**Kitamura M., Okuyama M., Tanzawa F., Mori H., Kitago Y., Watanabe N., Kimura A., Tanaka I. & Yao M., 2008.** - Structural and functional analysis of a glycoside hydrolase family 97 enzyme from *Bacteroides thetaiotaomicron*. *Journal of Biological Chemistry*, **283(52)**: 36328-36337. doi: 10.1074/jbc.M806115200.

**Kokora A., Ackah B., Nanga Z., Kra K., Yao G.L. & Adama C., 2015.** - Antibacterial activity of ethanolic and aqueous extracts of four medicinal plants *in vitro* growth of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Journal of Drug on the Delivery & Therapeutic*, **3**: 113-116.

**Konkon G.N., Simaga D., L. A.A., E. N.g.K., Zirihi C.N. & Koné B.D., 2006.** - Etude phytochimique *Demitragyna inermis* (willd) O. ktze (rubiaceae), plante à feuille antidiabétique. *Pharmacopée et Médecine Traditionnelle Africaine*, **14**: 73-74.

**Kraulis P.J., 1991.** - MOLSCRIPT : A program to produce both detailed and schematic plots of protein structures. *Journal of Applied Crystallography*, **24(5)**: 946-950. doi: 10.1107/s0021889891004399.

**Kren V. & Martinkova L., 2001.** - Glycosides in medicine: "The role of glycosidic residue in biological activity". *Current Medicinal Chemistry*, **8**: 1303-1328.

**Kurakata Y., Uechi A., Yoshida H., Kamitori S., Sakano Y., Nishikawa A. & Tonzuka T., 2008.** - Structural insights into the substrate specificity and function of *Escherichia coli* K12 YgjK, a glucosidase belonging to the glycoside hydrolase family 63. *Journal of Molecular Biology*, **381**: 116-128.

**Lafage S., 1995.** - Terminologie populaire et floristique ivoirienne (Lettres D, E, F). *ROFCAN*, **10**: 49-69.

**Lapointe G., 2004.** - Notions de Toxicologie. In Commission de la santé et de la sécurité du travail, Québec, Canada. pp. 16-20.

**LeBlanc G., 2010.** - Acute toxicity. In A Textbook of Modern Toxicology. John Wiley & Sons. Inc, Hoboken, New Jersey. pp. 125-236.

**Lebovitz H.E., 1997.** - Alpha-glucosidase inhibitors. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*, **26**: 539-551.

- Lee S.S., He S. & Withers S.G., 2001.** - Identification of the catalytic nucleophile of the Family 31 alpha-glucosidase from *Aspergillus niger* via trapping of a 5-fluoroglycosyl-enzyme intermediate. *Biochemical Journal*, **359**(Pt 2): 381-386.
- Lefebvre P.J., 1995.** - Glucagon and its family revisited. *Diabetes Care*, **18**(5): 715-730.
- Lenzen S., 2008** -The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia*, **51**: 216–226.
- Lenzen S., Freytag S. & Panten U., 1988.** - Inhibition of glucokinase by alloxan through interaction with SH groups in the sugar-binding site of the enzyme. *Molecular Pharmacology*, **34**: 395-400.
- Li X., Luo Y., Wang L., Li Y., Shi Y., Cui Y. & Xue M., 2010.** - Acute and subacute toxicity of ethanol extracts from *Salvia przewalskii* Maxim in rodents. *Journal of Ethnopharmacology*, **131**: 110-115.
- Lohoues E.E., Camara C.M., Tiahou G.G., Aké M. & Sess E.D., 2006.** - Le latex de *Calotropis procera* : Effets sur des marqueurs biochimiques et de fonctions organiques chez le rat. *Pharmaceutique Médecine Traditionnelle Africaine*, **14**: 81-95.
- Lovering A.L., Lee S.S., Kim Y.W., Withers S.G. & Strynadka N.C., 2005.** - Mechanistic and structural analysis of a family 31 alpha-glycosidase and its glycosyl-enzyme intermediate. *Journal of Biological Chemistry*, **280**(3): 2105-2115. doi: 10.1074/jbc.M410468200.
- Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L. & Randall R.J., 1951.** - Protein measurement with the folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, **193**: 265-275.
- Ma M., Ramos S., Cordero-Herrero I., Bravo L. & Goya L., 2013.** - Cocoa phenolic extract protects pancreatic beta cells against oxidative stress. *Nutrients*, **5**(8): 2955-2968.
- MacGregor E.A., Janecek S. & Svensson B., 2001.** - Relationship of sequence and structure to specificity in the alpha-amylase family of enzymes. *Biochimica et Biophysica Acta*, **1546**(1): 1-20.
- Madara A.A., Tijani A.Y. & Nandi E.P., 2012.** - Antiplasmodial activity of ethanolic root bark extract of *Piliostigma thonningii* Schum. (Caesalpinaceae) in mice infected with *Plasmodium berghei*. **4**: 62- 67.
- Maithili V., Dhanabal S., Mahendran S. & Vadivelan R., 2011.** - Antidiabetic activity of ethanolic extract of tubers of *Dioscorea alata* in alloxan induced diabetic rats. *Indian Journal of Pharmacology*, **43**(4): 455-459.

- Mangambu M., Mushagalusa K. & Kadima N., 2014.** - Contribution à l'étude phytochimique de quelques plantes médicinales antidiabétiques de la ville de Bukavu et ses environs (Sud-Kivu, RD Congo). *Journal of Applied Biosciences*, **75(1)**: 6211-6220.
- Marchetti P., Del Prato S., Lupi R. & Del Guerra S., 2006.** - The pancreatic beta-cell in human Type 2 diabetes. *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases*, **16 Suppl 1**: S3-6. doi: 10.1016/j.numecd.2005.10.017.
- Maria J.K.M., Rajesh J., Mandal A. & Sampath N., 2011.** - Antioxidant and antimicrobial activity of individual catechin molecules: A comparative study between gallated and epimerized catechin molecules. *European Journal of Experimental Biology*, **1(3)**: 145-153.
- Marmouch H., Baba A., Hamza N., Khochtali I. & Mahjoub S., 2010.** - P142 Diabète et anémie. *Diabetes & Metabolism*, **36**. doi: [http://10.1016/s1262-3636\(10\)70290-1](http://10.1016/s1262-3636(10)70290-1).
- Matheka D. & Demaio A., 2013.** - Complementary and alternative medicine use among diabetic patients in Africa: a Kenyan perspective. *Pan African Medical Journal*, **15**: 110.
- Mathieu N., Patricia K.D., Moise N.A., Inocent G. & Clergé T., 2014.** - Evaluation de l'activité antidiabétique des extraits de feuilles de *Gnetum africanum* et *Gnetum bulchozzianum* (Gnétacées). *Sciences, Technologies et Développement*, **15**: 60-65.
- Mazur A.K. & Nakatani H., 1993.** - Multiple attack mechanism in the porcine pancreatic  $\alpha$ -amylase hydrolysis of amylose and amylopectine. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **306(1)**: 29-38.
- Merabti R., 2006.** - Isolement et caractérisation de souches levuriennes amylolytiques à partir de sol saharien algérien. Université Mentouri, Constantine. p. 85.
- Miller L.C. & Tainter M.C., 1944.** - Estimation of LD50 and its Error by means of logarithmic-Probit Graph Paper. *Proceedings of Experimental Biology*, **57**: 261-264.
- Miloudi A., 2015.** - Etude sur la cétoacidose diabétique. In Service de Médecine Interne. Aboubekr Belkaid de Tlemcen, République Algérienne Démocratique et Populaire. p. 49.
- Moore M., Cherrington A. & Wasserman D., 2003.** - Regulation of hepatic and peripheral glucose disposal. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*, **17(3)**: 343-364.
- Motta P.M., Macchiarelli G., Nottola S.A. & Correr S., 1997.** - Histology of the exocrine pancreas. *Microscopy Research and Technique*, **37(5-6)**: 384-398. doi: 10.1002/(SICI)1097-0029(19970601)37:5/6<384::AID-JEMT3>3.0.CO;2-E.
- Moussa M.A., 1999.** - Biological and physiological studies on the effect of the gramoxon and stomp herbicides on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). In Faculty of Science Zoology Department. Cairo University. p. 200.

- Mukinda J.T. & Syce J.A., 2007.** - Acute and chronic toxicity of the aqueous extract of *Artemisia afra* in rodents J. in rodents. *Journal Ehtnopharmacology*, **112(1)**: 138-144.
- Müller D., 2016.** - Conséquences traductionnelles de la perte de 4E-BP1 dans l'adénocarcinome pancréatique. In ED BSB : Cancérologie. Université Toulouse 3 Paul Sabatier (UT3 Paul Sabatier), Toulouse, France. p. 222.
- Murata T. & Usui T., 2006.** - Enzymatic synthesis of oligosaccharides and neoglycoconjugates. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, **70(5)**: 1049-1059. doi: 10.1271/bbb.70.1049.
- Murray R.L. & Kaplan A., 1984.** - Creatinine, clinical chemistry the C.V. In Mosby Co.St Louis, Toronto Princeton. pp. 1261-1266.
- N'guessan K., Fofié N.g.B.Y. & Zirihi G.N., 2011.** - Effet of aqueous extract of *Terminalia catappa* lives on the glycemia of rabbits. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, **01(08)**: 59-64.
- N'doua L.A.R., Abo K.J.C., Aoussi S., Gbogbo M., Yapo A.P. & Ehile E.E., 2015.** - Effets hypoglycemique et antihyperglycemique de l'extrait ethanologique 70% de racines de *Rauvolfia vomitoria* afzel (apocynaceae). *European Scientific Journal*, **11**: 176-190.
- N'guessan K., Kadja B., Zirihi G., Traoré D. & Aké-Assi L., 2009.** - Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d'Ivoire). *Sciences & Nature*, **6(1)**: 1-15. doi: <http://dx.doi.org/10.4314/scinat.v6i1.48575>.
- Nagappa A.N., Thakurdesai P.A., Venkat Rao N. & Jiwan S., 2003.** - Antidiabetic activity of *Terminalia catappa* Linn fruits. *Journal of Ethnopharmacology*, **88**: 45–50.
- Naito H.K. & Kaplan A., 1984.** - Cholesterol. Clinical Chemistry the C.V. In Mosby co, St Louis Toronto, Princeton. pp. 1194-11206.
- Narayana R., Reddy S., Chaluvadi M. & Krishna D., 2001.** - Bioflavonoids classification, Pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. . *Indian Journal of Pharmacology*, **33**: 2-16.
- Narkhede M.B., Ajimire P.V., Wagh A.E., Mohan M. & Shivashanmugam A.T., 2011.** - In vitro antidiabetic activity of *Caesalpina digyna* (R.) methanol root extract. *Asian Journal of Plant Science and Research*, **1**: 101-106.
- Negrato C.A. & Gomes M.B., 2013.** - Historical facts of screening and diagnosing diabetes in pregnancy. *Diabetology & Metabolic Syndrome*, **5(1)**: 22. doi: <http://10.1186/1758-5996-5-22>.
- Nielson J.-E., Borchert T.-V. & Vriend G., 2001.** - The determinant of -amylase pH-activity profiles. Protein Engineering. *Oxford University Press*, **14(7)**: 505-512.



- Nouadri T., 2011.** - L'α-amylase de *Penicillium camemberti* PL21 : Production, Purification, Caractérisation et Immobilisation. Université Mentouri, Constantine. p. 160.
- OCDE, 2001.** - Lignes directrices de l'OCDE pour les essais produits chimiques n 423 : Toxicité orale aiguë-méthode par classe de toxicité aiguë. 14.
- OCDE, 2008.** - Ligne directrice de l'OCDE pour les essais de produits chimiques. *In* étude toxicité orale à dose répétée pendant 28 jours sur les rongeurs. OCDE 407. p. 9.
- OECD, 1998.** - Harmonized integrated hazard classification system for human health and environmental effects of chemical substances. *In* Organization for Economic Co-operation and Development, , Paris, France.
- OECD, 2001.** - Guidelines for the testing of chemicals 423 [accessed 20/03 2017].
- Ogbonnia S., Adekunle A.A., Bosa M.K. & Enwuru V.N., 2008.** - Evaluation of acute and subacute toxicity of *Alstonia congensis engler* (Apocynaceae) bark and *Xylopiya aethiopica* (Dunal) A. Rich (Annonaceae) fruits mixtures used in the treatment of diabetes. *Africa Journal of Biotechnology*, **7(6)**: 701-705.
- Okoli C., Obidike I., Ezike A., Akah P. & Salawu O., 2011.** - Studies on the possible mechanisms of antidiabetic activity of extract of aerial parts of *Phyllanthus niruri*. *Pharmaceutical Biology*, **49**: 248-255.
- Okuyama M., Kitamura M., Hondoh H., Kang M.S., Mori H., Kimura A., Tanaka I. & Yao M., 2009.** - Catalytic mechanism of retaining alpha-galactosidase belonging to glycoside hydrolase family 97. *Journal of Molecular Biology*, **392(5)**: 1232-1241. doi: 10.1016/j.jmb.2009.07.068.
- Oloyede O., 2005.** - Chemical profile of unripe pulp of *Carica papaya*. *Pakistan journal of nutrition*, **4(6)**: 379-381.
- Olson H.G., Betton D., Robinson K., Thomas A., Monro G., Kolaja P., Lilly J., Sanders G., Sipes W., Bracken M., Dorato K., Van Deun P., Smith B. & Heller A., 2000.** - Concordance of the toxicity of pharmaceuticals in humans and in animals. *Regular Toxicology Pharmacology*, **32(1)**: 56-67.
- OMS, 2016.** - Profils des pays pour le diabète. *In* Côte d'Ivoire. Organisation Mondiale de la Santé. Consulté le 26/06/2019.
- Orci L. & Unger R.H., 1975.** - Functional subdivision of islets of Langerhans and possible role of D cells. *Lancet*, **2(7947)**: 1243-1244. doi: 10.1016/s0140-6736(75)92078-4.

- Ozen E., Pons A. & Tur J.A., 2012.** - Worldwide consumption of functional foods : a systematic review. *Nutrition Reviews*, **70(8)**: 472–481.
- Palcic M.M., Scaman C.H., Otter A., Szpacenko A., Romaniouk A., Li Y.X. & Vijay I.K., 1999.** - Processing alpha-glucosidase I is an inverting glycosidase. *Glycoconjugate Journal*, **16**: 351-355.
- Palladino A.A., Bennett M.J. & Stanley C.A., 2009.** - Hyperinsulinisme de l'enfant et de l'adolescent : quand la détermination de la concentration en insuline n'est pas toujours suffisante (version française). *Annales de Biologie Clinique*, **67(3)**: 245-254.
- Panchal C.J., 1990.** - Yeasts strain selection. *In* Marcel Dekker, USA. p. 189.
- Papin J. & Lang J., 2009.** - Bases moléculaires des défauts sécrétoires des cellules  $\beta$  pancréatiques lors de la glucotoxicité. *In* Sciences de la vie et de la santé. Bordeaux 1 Bordeaux, France. p. 192.
- Pari L. & Latha M., 2002.** - Effect of *Cassia auriculata* flowers in blood sugar levels , serum and tissue lipids in streptozotocin diabetic rats. *Singapore Medical Journal*, **43**: 617-621.
- Paris R. & Moyse H., 1969.** - Précis de matière médicale. *In* Masson, Paris.
- Pattabiraman K. & Muthukumar P., 2011.** - Antidiabetic and Antioxidant Activity of *Morinda tinctoria* roxb Fruits Extract in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Asian Journal of Pharmaceutical Technology*, **1(2)**: 34-39.
- Pauling L., 1946.** - Molecular architecture and biological reactions. *In* Chemical & Engineering News. pp. 1375-1377.
- Pauling L., 1948.** - Nature of forces between large molecules of biological interest. *Nature*, **161**: 707-709.
- Paulsen H., Sangster I. & Heyns K., 1967.** - Monosaccharide mit stickstoffhaltigem Ring, XIII. Synthese und Reaktionen von Keto-piperidinosen. *Chemische Berichte*, **100**: 802-815.
- Pazur J.H. & Marchetti N.T., 1992.** - Action patterns of amyolytic enzymes as determined by the [1-<sup>14</sup>C]mlto-oligo-saccharides mapping method. *Carbohydrate Research*, **227**: 215-225.
- Pégorier J.-P. & Girard J., 2004.** - Thiazolidinediones et insulino-sensibilité : rôle du récepteur nucléaire PPAR $\gamma$ . *Annales d'Endocrinologie*, **65**: 65-72. doi: AE-02-2004-65-1-0003-4266-101019-ART12.

- Pieme C.A., Penlap V.N., Nkegoum B., Taziebou C.L., Tekwu E.M., Eto F.X. & Ngongang J., 2006.** - Evaluation of acute and subacute toxicities of aqueous ethanolic extract of leaves of *Senna alata* (L.) Roxb (Cesalpiniaceae). *Africa Journal Biotechnology*, **5**: 283-289.
- Pikis A., Immel S., Robrish S.A. & Thompson J., 2002.** - Metabolism of sucrose and its five isomers by *Fusobacterium mortiferum*. *Microbiology*, **148(Pt 3)**: 843-852. doi: 10.1099/00221287-148-3-843.
- Pocock G. & Richards D.C., 2004.** - Fonction exocrine du pancréas. *In* Physiologie humaine : les fondements de la médecine. Masson, Paris, France. pp. 422-426.
- Pratt D.S. & Kaplan M.M., 2000.** - Evaluation of abnormal liver-enzyme results in asymptomatic patients. *New England Journal of Medicine*, **342**: 1266-1271.
- Prentki M. & Nolan C.J., 2006.** - Islet beta cell failure in type 2 diabetes. *Journal of Clinical Investigation*, **116(7)**: 1802-1812. doi: 10.1172/JCI29103.
- PROTA4U, 1827.** - *Piliostigma thonningii* (Schumach.) Milne-Redh. Available from [https://prota4u.org/database/protav8.asp?fr=1&g=pe&p=Piliostigma+thonningii+\(Schumach.\)+Milne-Redh](https://prota4u.org/database/protav8.asp?fr=1&g=pe&p=Piliostigma+thonningii+(Schumach.)+Milne-Redh). Consulté le 17/11/2019.
- Ragunathan V. & Sulochana N., 1994.** - A new flavonol bioside from the flower of *Hibiscus vitifolius* Linn. and its hypoglycaemic activity. *Journal of Indian Chemical Society*, **71**: 705-706.
- Rajalingam R., Srinivasan N. & Govindarajulu P., 1993.** - Effect of alloxan induced diabetes on lipid profiles in renal cortex and medulla of mature albino rats. *Indian Journal of Experimental Biology*, **31**: 577-579.
- Ramasamy A., Balasundaram J., Sundararaman J., Rajappan M. & Raju S., 2009.** - Effect of fruits of *Passiflora foetida* Linn. on CCl<sub>4</sub> induced hepatic injury in rats. *Journal Pharmacology Research*, **2(3)**: 413-415.
- Reichl F.X., 2004.** - Guide pratique de toxicologie. *In* DeBoeck & Larcier, Bruxelles. pp. 4-16.
- Rodier M., 2008.** - Définition et classification du diabète. *Médecine Nucléaire – Imagerie fonctionnelle et métabolique*, **25(2)**: 5-18.
- Rosenfeld L., 2002.** - Insulin: discovery and controversy. *Clinical Chemistry*, **48(12)**: 2270-2288.
- Rouillé Y., Martin S. & Steiner D., 1995.** - Differential processing of proglucagon by the subtilisin-like prohormone convertases PC2 and PC3 to generate either glucagon or glucagon-like peptide. *Journal of Biological Chemistry*, **270**: 26488-26496.

- Ruckebush Y., 1981.** - Physiologie, pharmacologie, thérapeutique animales.
- Rydberg E.H., Li C., Maurus R., Overall C.M., Brayer G.D. & Withers S.G., 2002.** - Mechanistic analyses of catalysis in human pancreatic alpha-amylase: detailed kinetic and structural studies of mutants of three conserved carboxylic acids. *Biochemistry*, **41(13)**: 4492-4502.
- Saad B., Azaizeh H., Abu-Hijleh G. & Said O., 2006.** - Safety of traditional Arab herbal medicine. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, **3(4)**: 433-439.
- Sachon C., Cornet P. & Grimaldi A., 2004.** - Diagnostic du diabète. In Diabète de type II. coordonné par Grimaldi A. , EMC référence, Elsevier, Paris. pp. 83-101.
- Saidur R.M., Rasheda A., Santosh M., Faridul I., Nusrat J.M., Nemai C.N. & Abu S.M.M., 2015.** - Antidiabetic and antidiarrhoeal potentials of ethanolic extracts of aerial parts of *Cynodon dactylon* Pers. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, **5(8)**: 658–662. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.apjtb.2015.04.011>.
- Salawu O.A., Tijani A.Y., Obidike I.O. & Chindo B., 2007.** - Evaluation of anti-diarrhoeal properties of *Piliostigma reticulatum* methanolic root extract in rats. *Journal of Phytomedicine and Therapeutics*, **12**: 44-50.
- Schomburg D. & Salzmann M., 1991.** - Enzyme Hand In Classe 3 : Hydrolases. Edited by 4. Springer, Berlin Heidelberg. Germany. pp. 1-12.
- Scriban R., 1999.** - Biotechnologies. In Techniques et Documentation-Lavoisier. pp. 149-157.
- Seo S.H., Choi K.H., Hwang S., Kim J., Park C.S., Rho J.R. & Cha J., 2011.** - Characterization of the catalytic and kinetic properties of a thermostable *Thermoplasma acidophilum* alpha-glucosidase and its transglucosylation reaction with arbutin. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, **72**: 305-312.
- Sim L., Quezada-Calvillo R., Sterchi E.E., Nichols B.L. & Rose D.R., 2008.** - Human intestinal maltase-glucoamylase: crystal structure of the N-terminal catalytic subunit and basis of inhibition and substrate specificity. *Journal of Molecular Biology*, **375(3)**: 782-792. doi: 10.1016/j.jmb.2007.10.069.
- Sinclair E.M. & Drucker D.J., 2005.** - Proglucagon-derived peptides: mechanisms of action and therapeutic potential. *Physiology (Bethesda)*, **20**: 357-365. doi: 10.1152/physiol.00030.2005.
- Sinnott M., 1998.** - Comprehensive Biological Catalysis-A mechanistic reference. Academic Press, London.
- Sirwal I.A., Banday K.A., Reshi A.R., Bhat M.A. & Wani M.M., 2004.** - Estimation of Glomerular Filtration Rate (GFR). *JK Science*, **6**: 121–123.

- Slingerland A., 2006.** - Monogenic diabetes in children and young adults : Challenges for researcher, clinician and patient. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*, **7**: 171–185. doi: <http://dx.doi.org/10.1007/s11154-006-9014-0>.
- Smilek D.E., Ehlers M.R. & Nepom G.T., 2014.** - Restoring the balance: immunotherapeutic combinations for autoimmune disease. *Disease Models & Mechanisms*, **7**: 503-513.
- Spinas G.A. & Lehmann R., 2001.** - Diabète sucré: Diagnostic, classification et pathogénèse. *CURRICULUM Forum Medical Suisse*, **(20)**: 519-525.
- Srinivasa Rao M., Reddy G., Venkateswara Rao G. & Sambasiva Rao K.R.S., 2004.** - Studies on the extraction and characterisation of thermostable -amylase from pericarp of *Borassus indica*. *African Journal of Biotechnology*, **4**: 289-291.
- Stevens L.A., Coresh J., Greene T. & Levey A.S., 2006.** - Assessing kidney function-measured and estimated glomerular filtration rate. *New England Journal of Medicine*, **354**: 2473-2483.
- Study Research Group, 2005.** - The Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications (DCCT/EDIC). Intensive diabetes treatment and cardiovascular disease in patients with type 1 diabetes. *New England Journal of Medicine*, **353**: 2643–2653. doi: <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa05218>.
- Stumvoll M., Goldstein B.J. & van Haeften T.W., 2005.** - Type 2 diabetes: principles of pathogenesis and therapy. *Lancet*, **365(9467)**: 1333-1346. doi: 10.1016/S0140-6736(05)61032-X.
- Sudha P., Zinjarde S., Bhargava S. & Kumar A., 2011.** - Potent amylase inhibitory activity of Indian Ayurvedic medicinal plants. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, **11**: 5.
- Tan K. & Pillon F., 2009.** - Les incrétines, nouvelle stratégie pour traiter le diabète de type 2. *Pratique thérapeutique, Actualités pharmaceutiques*, **481**: 19-82.
- Tandon S.J.C.R. & Highlights D., 2005.** - Phytochemicals and cardiovascular health. **28**: 18-22.
- Tangara O., 2004.** - Co-infection hépatite B et hépatite C chez les donneurs de sang au CNTS de Bamako. Thèse pharmacie. p. 57.
- Taziebou L.C., Etoa F., Nkegoum B., Pieme C. & Dzeufiet D., 2007.** - Acute and subacute toxicity of *Aspilia africana* leaves. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, **4(2)**: 127-134.
- Tchacondo T., Karou S., Batawila K., Agban A., Ouro-Bang'na K. & Anani K., 2011.** - Herbal remedies and their adverse effects in Tem tribe traditional medicine in Togo. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, **8(1)**: 45-60.

- Tra-Bi O., Djyh B.N., Bahi C., Méité S. & N'guessan J.-D., 2010.** - A study of the hepatic tolerance of the Ethyl Acetate fraction of *Morinda morindoides* (Baker) Milner-redhead (Rubiaceae) Extract in Rabbit. *Tropical journal of Pharmacology Research*, **9(6)**: 573-557.
- Trease E. & Evans W.C., 1987.** - Pharmacognosie. In Karumi Y., Onyeyili P.A., Ogugduaja V.O. 2004. Identification des principes actifs de l'extrait de feuilles de *M. balsamia* (Baume du pommé). *Journal of Medicine and Scientific*. 4 :179-182. Billiaire Tindall, London. pp. 61-62.
- Trevoux R., Arnal-Schnebelen B. & Schnebelen J., 2000.** - Interactions médicamenteuses Interactions entre les plantes médicinales et la médication traditionnelle. *Actualités reproduction humaine*, **8(1)**: 28-32.
- Trimbrell J.A., 2009.** - Principles of biochemical toxicology. In Informa healthcare, New York (USA). pp. 76-77.
- Tron I., Piquet O. & Baert A., 2002.** - Toxon : manuel de toxicologie. *Agence de l'Environnement et de la Maîtrise de l'Energie*, **26-27**: 32-34.
- Tsinalis D. & Binet I., 2006.** - Appréciation de la fonction rénale: créatininémie, urée et filtration glomérulaire. In Forum Médecine, Suisse. pp. 414-419.
- Tundis R., Loizzo M.R. & Menichini F., 2010.** - Natural products as alpha-amylase and alphasglucosidase inhibitors and their hypoglycaemic potential in the treatment of diabetes : an update. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, **10(4)**: 315-331.
- Uitdehaag J.C., Mosi R., Kalk K.H., van der Veen B.A., Dijkhuizen L., Withers S.G. & Dijkstra B.W., 1999.** - X-ray structures along the reaction pathway of cyclodextrin glycosyltransferase elucidate catalysis in the alpha-amylase family. *Nature Structural & Molecular Biology*, **6(5)**: 432-436. doi: 10.1038/8235.
- UKPDS, 1995.** - United Kingdom Prospective Diabetes Study 16. Overview of 6 years' therapy of type II diabetes : a progressive disease. *Diabetes*, **44**: 1249-1258.
- UKPDS, 1998.** - Intensive blood glucose control with sulfonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). *Lancet*, **325**: 837-853.
- Ukwuani A., Ihebunna O., Samuel R. & Peni I., 2012.** - Acute oral toxicity and antiulcer activity of *Piliostigma thonningii* leaf fraction in albino rats. *Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences*, **2**: 41-45.
- United Nations, 2015.** - World Population Prospects, the 2015 revision. New York : United Nations.

- USRDS, 2014.** - International Comparisons. *In* Epidemiology of kidney disease in the United States. Edited by United States Renal Data System. National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, Bethesda (MD). pp. 188–210.
- Valdiguie P., 2000.** - Biochimie clinique. *In* Editions Médicales Internationales, France. p. 340.
- Vazquez G., Duval S., Jacobs D.R., Jr. & Silventoinen K., 2007.** - Comparison of body mass index, waist circumference, and waist/hip ratio in predicting incident diabetes: a meta-analysis. *Epidemiologic Reviews*, **29**: 115-128. doi: 10.1093/epirev/mxm008.
- Viala A. & Botta A., 2007.** - Toxicologie. *In* Lavoisier. p. 03.
- Voet D. & Voet J., 2005.** - Biochimie. *In* Edition De Boeck. p. 1600.
- Wack S. & Aprahamian M., 2005.** - Etude de modalités multi thérapeutiques et diagnostiques appliquées au cancer du pancréas : Aspects moléculaires et cellulaires de la biologie. Strasbourg 1, Strasbourg, France. p. 197.
- Wagner A., 2000.** - Le rôle du laboratoire dans l'exploration du métabolisme du fer. *In* Revue de l'ACOMEN. pp. 23–51.
- Watkins D., Cooperstein S.J. & Lazarow A., 1964.** - Effect of alloxan on permeability of pancreatic islet tissue *in vitro*. *American Journal of Physiology*, **207(2)**: 436-440. doi: 10.1152/ajplegacy.1964.207.2.436.
- Wehmeier U.F. & Piepersberg W., 2004.** - Biotechnology and molecular biology of the alpha-glucosidase inhibitor acarbose. *Applied Microbiology and Biotechnology*, **63**: 613-625.
- Wellen K.E. & Hotamisligil G.S., 2005.** - Inflammation, stress, and diabetes. *Journal of Clinical Investigation*, **115(5)**: 1111-1119. doi: 10.1172/JCI25102.
- Whalley N., Pritchard L., Smith D. & White A., 2011.** - Processing of proglucagon to GLP-1 in pancreatic  $\alpha$ -cells: is this a paracrine mechanism enabling GLP-1 to act on  $\beta$ -cells? *Journal of Endocrinology*, **211(1)**: 99-106.
- WHO, 2003.** - The WHO STEPwise approach to Surveillance of noncommunicable diseases (STEPS). *In* Noncommunicable Diseases and Mental Health. World Health Organization, 20 Avenue Appia 1211 Geneva 27, Switzerland. p. 50.
- WHO, 2006.** - Definition and diagnosis of diabetes mellitus and intermediate hyperglycemia. *In* WHO/IDF consultation. World Health Organization, Geneva, Switzerland. p. 50.
- Wieczorek G., Pospischil A. & Perentes E., 1998.** - A comparative immunohistochemical study of pancreatic islets in laboratory animals (rats, dogs, minipigs, nonhuman primates).

*Experimental and Toxicologic Pathology*, **50(3)**: 151-172. doi: 10.1016/S0940-2993(98)80078-X.

**Wikipedia the free encyclopedia, 2019.** - *Piliostigma thonningii* (Schum.) Milne-Redh. Available from [https://en.wikipedia.org/wiki/Piliostigma\\_thonningii](https://en.wikipedia.org/wiki/Piliostigma_thonningii) [accessed 17 november 2019].

**Willis T., 1674.** - Pharmaceutice rationalis, sive, Diatriba de medicamentorum operationibus in humano corpore. [Oxford] : E. Theatro Sheldoniano, Prostant apud Robertum Scott Bibliopolam Londinensem, M. DC. LXXIV [1674]. pp. [1]-[6] at end. Available from <https://lib.ugent.be/catalog/rug01:001562974>.

**Wolfenden R. & Snider M.J., 2001.** - The depth of chemical time and the power of enzymes as catalysts. *Accounts of Chemical Research*, **34**: 938-945.

**Yaye Y.G., 2013.** - Evaluation et essais d'optimisation de l'activité antifongique des extraits de *Terminalia mantaly* H. Perrier, sur la croissance *in vitro* de *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans* et *Trichophyton mentagrophytes*. In Biosciences. Université Félix-Houphouët Boigny, Abidjan-Côte d'Ivoire. p. 157.

**Yoshikawa M., Murakami T., Shimada H., Matsuda H., Yamahara J., Tanabe G. & Muraoka O., 1997.** - Salacinol, potent antidiabetic principle with unique thiosugar sulfonium sulfate structure from the Ayurvedic traditional medicine *Salacia reticulata* in Sri Lanka and India. *Tetrahedron Letters*, **38**: 8367-8370.

**You W. & Henneberg M., 2016.** - Type 1 diabetes prevalence increasing globally and regionally : the role of natural selection and life expectancy at birth. *British Medical Journal Open Diabetes Research & Care*, **4**. doi: <http://dx.doi.org/10.1136/bmjdr-2015-000161>.

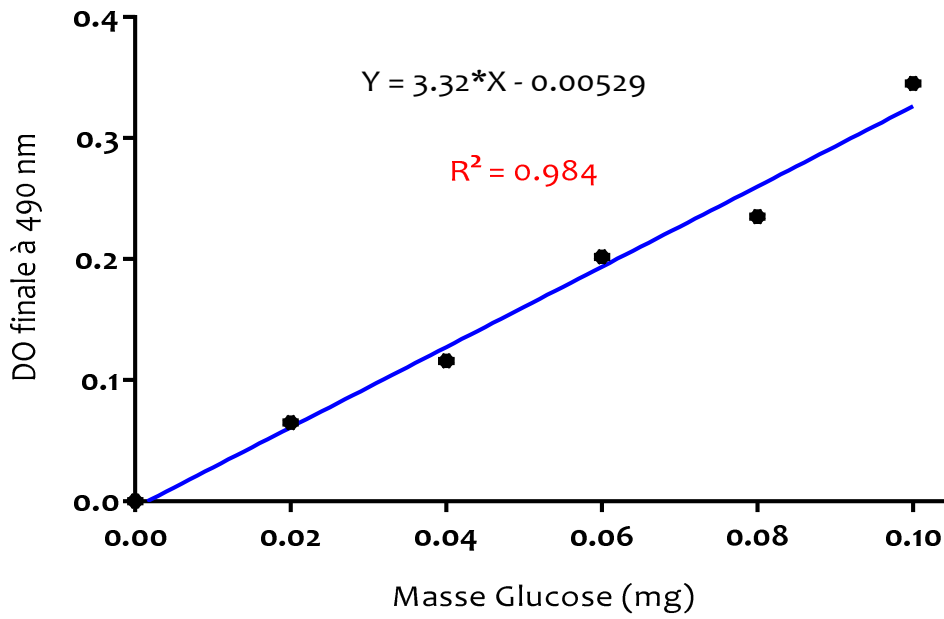
**Zhou C., Xue Y., Zhang Y., Zeng Y. & Ma Y., 2009.** - Recombinant expression and characterization of *Thermoanaerobacter tengcongensis* thermostable alphanaglucosidase with regioselectivity for high yield isomaltooligosaccharides synthesis. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, **19**: 1547-1556.



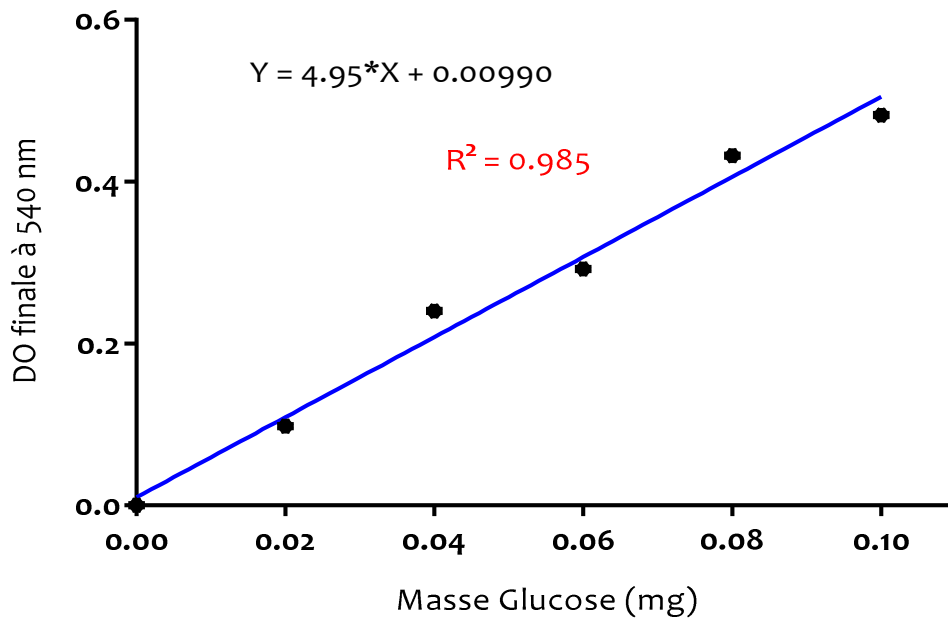


*ANNEXES*

Annexe 1 : Droites d'étalonnage des sucres totaux (a) et sucres réducteurs (b)



a- Droite étalon Sucres Totaux



b- Droite étalon Sucres Réducteurs

**Annexe 2** : Glucomètre à bandelettes réactives de marque Accu-Chek Active



**Annexe 3** : Dosage de la glycémie caudale d'un rat Wistar



**Annexe 4 : Gavage d'extrait à un rat Wistar**



**Annexe 5 : Lecteur de plaque ELISA**





*PUBLICATIONS*



Research article

Indexed in CAS and CABI  
Impact factor:0.64

## Hypoglycemic and antihyperglycemic activities of *Bauhinia thonningii* (caesalpinaceae) fruit in rat wistar

Bédou Kouassi Denis<sup>1</sup>, Baba O Zeine Mohamed Anouar Sadat<sup>1</sup>, Konkon N'dri Gilles<sup>2</sup>, Edjeme-Aké angèle<sup>3,4</sup>, Djaman Allico Joseph<sup>1,4</sup>, N'guessan Jean-David<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratory of Pharmacodynamics-Biochemistry, Unit of Formation and Research Biosciences, University Félix Houphouët-Boigny

<sup>2</sup> Botanical Laboratory, Training and Research Unit Biosciences, Félix Houphouët-Boigny University

<sup>3</sup> Laboratory of Biochemistry, Unit of Formation and Research of Pharmaceutical and Biological Sciences, University Félix Houphouët-Boigny

<sup>4</sup> Laboratory of Biochemistry, Pasteur Institute of Côte d'Ivoire

\*Corresponding author: Bédou Kouassi Denis, Laboratory of Pharmacodynamics-Biochemistry, Training and Research Unit Biosciences, Félix Houphouët-Boigny University, Abidjan, Côte d'Ivoire Tel: 00225 78474010  
E-mail: [bkd.melkisedek74@gmail.com](mailto:bkd.melkisedek74@gmail.com)

### ABSTRACT

**Keywords:**  
*Bauhinia thonningii*,  
hypoglycemia, anti-  
hyperglycemia,  
glibenclamide  
**Article Info:**  
Received: 20-01-2018  
Revised: 15-02-2018  
Accepted: 28-02-2018

Diabetes is a metabolic disease characterized by chronic hyperglycemia resulting from a defect in the secretion of insulin and / or the action of this hormone. The therapeutic management of this pathology in most developing countries is costly given the low purchasing power of the populations. The traditional African pharmacopoeia offers an alternative to synthetic antidiabetics. The objective of this study is to demonstrate the hypoglycaemic and anti-hyperglycemic properties of *Bauhinia thonningii* (Caesalpinaceae) fruits in rats. The aqueous extract of the fruits of this plant was administered orally to different batches of normoglycemic rats and then to hyperglycemic rats at doses of 25, 50, 100 and 150 mg / kg body weight (bw). The results of this study showed that the fruits of *Bauhinia thonningii* possess hypoglycaemic ( $p = 0.0356$ ) and anti-hyperglycemic ( $p < 0.0001$ ) properties.

### 1. INTRODUCTION

Diabetes is a chronic metabolic disease characterized by disturbance of the metabolism of carbohydrates, lipids and proteins. It is due to the lack of insulin secretion by the islet cells of Langerhans and / or to the ineffectiveness of its action on the target organs<sup>1</sup>. The number of diabetics around the world has increased from 108 million in 1980 to 422 million in 2014<sup>2</sup>. In 2000, the global prevalence of diabetes was estimated at 2.8%, which could reach 4.4% by 2030<sup>3,4</sup>. It has increased more rapidly in low- and middle-income countries<sup>5</sup>. The prevalence in Côte d'Ivoire is estimated at 4.94% according to the International Diabetes Federation<sup>6</sup>. Diabetes is responsible for 6% of deaths due to noncommunicable diseases (NCDs)<sup>7</sup>. It would be the seventh leading cause of death in the world by 2030<sup>8</sup>. When treated poorly, diabetes can lead to complications. These complications may be cardiovascular, neurological, nephrological, retinal or renal. Therapeutic management of diabetes is currently based on strict diets, insulin injections and oral antidiabetic drugs<sup>9</sup>. This solution is obviously costly for the sick, given the low purchasing power of the populations in most of the developing countries.

Traditional medicine offers solutions that reach the populations of these countries. Indeed, several medicinal plants are used in the treatment of diabetes mellitus<sup>10-12</sup>. Nevertheless, although these plants are commonly used to treat diabetes, it is clear that their use remains empirical in general. There is therefore a need to carry out scientific work to establish evidence of their therapeutic activity and to identify the compounds that are responsible for these activities.

It is in this context that we are interested in a plant of traditional Ivorian medicine namely *Bauhinia thonningii* (Caesalpinaceae). This plant is traditionally used by the Ivorian populations to treat diabetes. The objective of this study is to evaluate the activity of *Bauhinia thonningii* (Caesalpinaceae) fruits on the glycemia of normoglycemic rats and rats subjected to the glucose tolerance test.

### 2. MATERIAL AND METHODS

**Animal equipment:** The animal material consists of Wistar strain normoglycemic rats aged 90 days and weighing between 150 and 180 g. These rats were bred at the animal facility of the Ecole Normale Supérieure in Abidjan. The temperature of the breeding room was 25 °C with 12 hours of light and 12 hours of darkness.

They were fed a diet of wheat breads, peanuts, corn, soybean powder and dried fish in carbohydrate proportions 55%, 33% lipids and 12% protein and free access to water.

**Plant material:** The plant material used is the fruit of *Bauhinia thonningii* (Caesalpiniaceae). These fruits were bought in Avenue de la Mé near the marketplace in Ajamé (Abidjan). A sample of the fruit was transferred to the National Floristic Center of the University Félix HOUPOUËT-BOIGNY of Abidjan where it was identified using the analytical flora. The fruits were dried out of the sun at room temperature, about 25 °C, for one month. They were then pulverized using a Vorwerk Thermomix 3000 mill. The powder obtained was subjected to an aqueous extraction.

**Preparation of the aqueous extract:** One hundred and fifty (150) grams of vegetable powder was macerated in 1.5 L of distilled water for 1 hour. The macerate was then filtered on Whatman No. 1 paper and then evaporated using a Heidolph type rotary evaporator (Germany). After concentration, the extract obtained was dried in an oven at 50° C. and then weighed to determine the yield.

The extraction yield was calculated by the following formula:

$$R (\%) = M / M_0 \times 100$$

M: Mass in grams of the resulting dry extract

M<sub>0</sub>: Mass in grams of the plant material to be treated.

**Phytochemical Screening:** Phytochemical analysis of the aqueous extract of *Bauhinia thonningii* (EABt) was carried out according to the methods described by Bekro, Mamyrbekova, Boua, Bi and Ehile<sup>13</sup>. Thus, chemical groups such as tannins, saponins, flavonoids, polyphenols, alkaloids, quinones, terpenes and sterols have been found in the extract of this plant.

**Study of Acute Toxicity in Rats:** The acute toxicity of the aqueous extract of *B. thonningii* was evaluated in accordance with the guidelines of the Organization for Economic Co-operation and Development 423<sup>14</sup> for chemical testing. Rats weighing between 95 and 130 g were divided into four different batches of three animals each. The aqueous extract of *B. thonningii* was administered orally (single dose per group) at doses of 300 and 2000 and finally 5000 mg / kg body weight (BW). The control batch received distilled water (10 mL / kg of bw). The animals thus treated were subjected to continuous observation during the 24 hours that followed the treatment and then for 14 days. When zero or one death is observed after two days, three other rats are used in a second step for the confirmatory test. If, after two days, the same results are observed, then the higher dose is used according to the same method. During the two weeks, the number of deaths and the clinical signs observed for each batch were noted. Study of the activity of *Bauhinia thonningii* (AEBt) fruit

extract on rat glucose. The blood glucose in rats is measured using an Accu-Chek Active glucometer and test strips. In this study, the rats were fasted for 12 hours before the experiments. Substances are administered orally.

**EABt dose-response effects on blood glucose levels in normoglycemic rats:** For this study, 30 rats were used.

They were divided into 6 lots of 5 rats.

Lot 1: normoglycemic rats receiving distilled water (10 mL / kg PC) (normal control).

Lot 2: rats treated with glibenclamide (reference substance) at a dose of 10 mg / kg PC (positive control).

Lot 3: rats treated with AEBt at the dose of 25 mg / kg of BW.

Lot 4: rats treated with AEBt at the dose of 50 mg / kg of BW.

Lot 5: rats treated with AEBt at the dose of 100 mg / kg of BW.

Lot 6: rats treated with AEBt at the dose of 150 mg / kg BW.

Blood glucose is first determined just before treatment; this is the initial blood glucose (t<sub>0</sub>). After the animals are treated, blood glucose is measured every 30 minutes for 2 hours and the percentage change in blood glucose relative to the initial blood glucose is calculated.

**Dose-response effects of EABt in the glucose tolerance test on blood glucose in pretreated rats:**

Hyperglycaemia is caused by oral administration of glucose to rats at a dose of 4 g / kg body weight. For this study, 35 rats were divided into 7 batches of 5 rats.

Lot 1: rats receiving distilled water (10 mL / kg of PC) only (normal control).

Lot 2: rats receiving distilled water (10 ml / kg PC), and 30 minutes after, 4 g / kg of glucose PC (negative control).

Lot 3: rats receiving glibenclamide (10 mg / kg of PC), then 4 g / kg of glucose PC 30 minutes later (positive control).

Lot 4: rats receiving 25 mg / kg of EABt PC, then 4 g / kg of glucose PC 30 minutes later.

Lot 5: rats receiving 50 mg / kg of PC EABt, then 4 g / kg of glucose PC 30 minutes later.

Lot 6: rats receiving 100 mg / kg of EABt PC, then 4 g / kg of glucose PC 30 minutes later.

Lot 7: rats receiving 150 mg / kg of EABt PC, then 4 g / kg of glucose PC 30 minutes later.

The blood glucose levels of the rats in each batch are measured just before the administration of the substances or distilled water and then, after treatment, at intervals of 30 minutes, for 2 hours. The percentage of induction of hyperglycemia and the percentage of reduction of the induced hyperglycemia are then calculated.

$$\text{Rate of blood glucose changes (\%)} = \frac{G_1 - G_0}{G_0} \times 100$$

G<sub>0</sub>: Initial blood glucose at time = 0 min and G<sub>1</sub>: Blood glucose at time 30 min after.

**Expression of results and statistical analysis:** Blood glucose values were expressed as mean  $\pm$  standard error at mean ( $M \pm$  ESM). Analysis of variance (ANOVA) and the Tukey test for multiple data comparisons were used for statistical analysis using Graph Pad Prism 7.00 (San Diego CA USA). The change in blood glucose was considered significant at the  $P < 0.05$  threshold.

### 3. RESULTS AND DISCUSSION

**Phytochemical Screening:** The results of the phytochemical characterization revealed that the aqueous extract of the fruits of *B. thonningii* contained saponins, polyphenols, flavonoids and catechial tannins. On the other hand, it is devoid of alkaloids and quinones.

**Table.1. Chemical composition of the aqueous extract of *B.thonningii* fruits**

Chemical groups		Aqueous extract of <i>B. thonningii</i> fruits
Saponosides		+
Polyphénols		+
Flavonoïds		-
Sterols et Terpenes		-
Tannins	Catechin	+
	Gallic	-
Alcaloïdes	Bouchardat	-
	Dragendorf	-
Free and combined Quinones		-

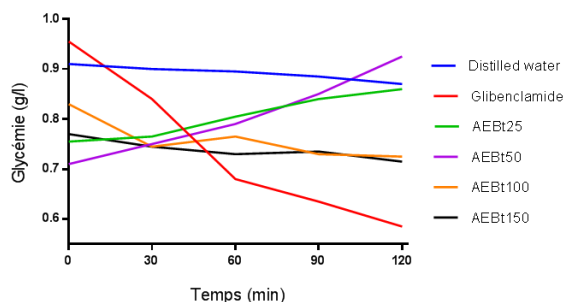
(+): presence of the chemical group highlighted in the extract;

(-): absence of the chemical group highlighted in the extract.

**Acute toxicity:** Administration of the aqueous extract of the fruit of *B. thonningii* to the respective doses of 300, 2000 and 5000 mg / kg bw resulted in no change in the physical appearance of the rats. Similarly, no mortality was recorded during the two weeks of observation. The lethal dose 50 (LD 50) of this extract is therefore greater than 5000 mg / kg. Test to demonstrate the hypoglycemic effect of the aqueous extract of the fruits of *B. thonningii*. The basal glucose levels of the batches of rats treated with distilled water, glibenclamide and the 100 and 150 mg / kg PC doses of the aqueous extract of *B. thonningii* decreased gradually

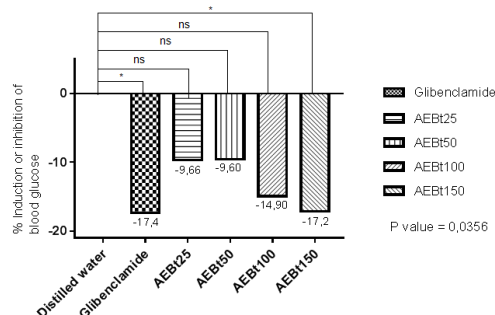
during the 2 hours of the experiment except for the doses 25 and 50 mg / kg PC (Figure 1-a). In the batches of rats treated with distilled water, the reduction rate was 3.85% ( $0.87 \pm 0.04$  vs  $0.91 \pm 0.01$  g / L) relative to the initial blood glucose.

The reduction in blood glucose is significant at the 150 mg / kg bw dose and glibenclamide level with respective reduction rates of 17.20% ( $0.72 \pm 0.01$  vs  $0.77$  g / L) and 17, 40% ( $0.59 \pm 0.01$  vs  $0.96 \pm 0.01$ g / L) compared with normal control (Figure 1-b). However, the hypoglycaemic effect was not significant at doses 25, 50 and 100 mg / kg PC of this extract.



**Figure.1a. Hypoglycemic effect of the aqueous extract of *B. thonningii***

Test to demonstrate the anti-hyperglycemic effect of the aqueous extract of *B. thonningii*. Glucose administration at a dose of 4 g / kg bw resulted in a significant increase in blood glucose levels in all pretreated animals relative to the initial blood glucose level ( $P$  value  $< 0.0001$ ) (Figure 2-a). The peak of hyperglycemia appeared 30 min after administration of glucose in rats pretreated with the aqueous extract of *B. thonningii* (EABt) at doses of 25, 50 and 100 mg / kg bw and glibenclamide. On the other hand, this peak appeared at the 60th min at the dose of 150 mg / kg bw and with the negative control (glucose) batch.



**Figure.1b. Hypoglycemic effect of the aqueous extract of *B. thonningii***

In rats pretreated with all doses of the aqueous extract of the fruits of *B. thonningii*, there is a gradual reduction in hyperglycemia. As for the animals in the batch pretreated with glibenclamide, the initial blood glucose is found at the 45th min followed by a marked hypoglycemia from the 90th min to the end of the experiment (Figure 2-a). The antihyperglycaemic effect is more pronounced at a dose of 150 mg / kg bw of *B. thonningii* extract with a 3.93% reduction rate and not significant compared to the normal control (distilled water). However, this effect is lower than that of glibenclamide which is 33.60% (Figure 2-b).



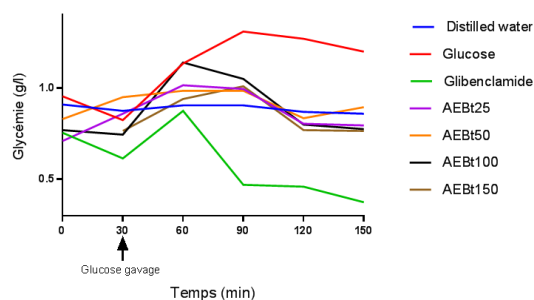


Figure.2a. Glucose tolerance test of the aqueous extract of *B. thonningii*

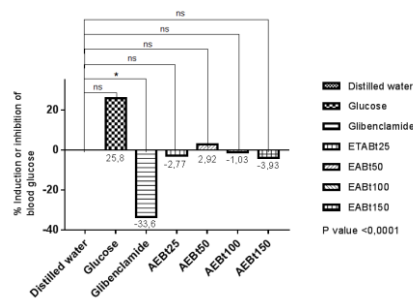


Figure.2b. Glucose tolerance test of the aqueous extract of *B. thonningii*

**Discussion:** This work is the result of the evaluation of the hypoglycaemic and antihyperglycaemic activity of the fruits of *Bauhinia thonningii* (Caesalpinaceae) on the glycemia of normoglycemic rats and rats subjected to the glucose tolerance test.

The study of the acute toxicity of the aqueous extract of the fruit of *Bauhinia thonningii* (Caesalpinaceae) in rats showed that this extract, administered orally, does not cause any mortality for doses up to the dose of 5000 mg / kg. The LD50 is therefore greater than 5000 mg / kg. According to the Globally Harmonized System of Classification of Chemical Substances, *Bauhinia thonningii* aqueous extract is classified as non-toxic or class 5<sup>15</sup>.

The pharmacological study revealed that the aqueous extract of *Bauhinia thonningii* results in a significant hypoglycemic effect in both normoglycemic (P value = 0.0356) and hyperglycemic (P value < 0.0001) rats. The substances contained in *B. thonningii* would be responsible for the pharmacological activities of this extract. Indeed, the triphochemical results revealed the presence of saponins, polyphenols and catheter tannins in the aqueous extract of the fruits of this plant. Previous studies have led to the hypothesis of a probable link between the effect on blood glucose levels and the phytochemical nature of medicinal plant compounds<sup>16, 17</sup>. Substances such as polyphenols and flavonoids are generally recognized to have hypoglycaemic effects<sup>18-20</sup>. The effect would be comparable to the mechanism of action of the sulfonylureas of which glibenclamide is a part. Indeed, sulphonylurea hypoglycemic agents bind to a specific receptor on the membrane of pancreatic  $\beta$  cells in the vicinity of the dependent potassium channel ATP and cause the latter to close. This will lead to membrane depolarization of the  $\beta$ -cells causing the opening of the voltage-dependent calcium channels and an influx of  $Ca^{2+}$ , thereby triggering by exocytosis the extrusion of the insulin secretion granules<sup>21, 22</sup>. Similarly, Fang, Gao, Yang, Lang, Wang, Yu and Zhu<sup>23</sup> showed that the ethyl acetate fraction of flavonoid-rich *E. alatus* had stimulating properties on insulin release and was responsible for the hypoglycaemic effects of this enzyme in normoglycemic and antihyperglycemic mice in of mice with type 2 diabetes.

Also, other studies such as those carried out by Kambouche, Merah, Derdour, Bellahouel, Bouayed, Dicko, Younos and Soulimani<sup>24</sup> have shown that saponins have an antihyperglycemic effect. However, it would be difficult to approximate the mode of action of the aqueous extract to that of glibenclamide, the reference hypoglycemic product in this study, because of the mixture of compounds which may interfere or have a synergistic action in this extract.

#### 4. CONCLUSION

The results of this study revealed that the aqueous extract of *Bauhinia thonningii* fruits used in traditional Ivorian medicine has hypoglycaemic and antihyperglycaemic properties in rats. The alkaloids, flavonoids and saponins present in this extract would be responsible for these pharmacological activities. Thus, this study justifies the ethnomedicinal use of the fruits of this plant in the treatment of diabetes.

#### REFERENCES

1. Resmi C, Fathima A, Sinilal B and Latha M. Anti-diabetic effect of a herbal drug in alloxan-diabetic rats. *Indian drugs*, 38, 2001, 319-322.
2. WHO. Diabète. Genève 2016.
3. Etuk E, Bello S, Isezuo S and Mohammed B. Ethnobotanical survey of medicinal plants used for the treatment of Diabetes mellitus in the north western region of Nigeria. *Asian Journal of Experimental Biological Sciences*, 1, 2010, 55-59.
4. Sarah W, Gojka R, Anders G, Richard S and Hilary K. Global Prevalence of Diabetes (Estimates for the year 2000 and projections for 2030). *Diabetes Care*, 27, 2004, 1047-1053.
5. WHO. Rapport mondial sur le diabète - résumé d'orientation. Genève: Organisation mondiale de la Santé, 2016.
6. Fédération Internationale du Diabète. ATLAS du DIABÈTE de la FID, Sixième édition ed 2013.
7. WHO. Diagnostic Criteria and Classification of Hyperglycaemia First Detected in Pregnancy: World Health Organization, 2013.

8. Mathers C and Loncar D. Projections of global mortality and burden of disease from 2002 to 2030. *PLoS Med*, 3, 2006, 442.
9. Chang-Chen KJ, Mullur R and Bernal-Mizrachi E. Beta-cell failure as a complication of diabetes. *Rev Endocr Metab Disord*, 9, 2008, 329-343.
10. Akah PA, Okoli CO and Nwafor SV. Phytotherapy in the management of Diabetes mellitus. *Journal of natural remedies*, 2, 2002, 01-10.
11. Colca JR. Insulin sensitizers may prevent metabolic inflammation. *Biochemical pharmacology*, 72, 2006, 125-131.
12. Verspohl EJ. Recommended testing in diabetes research. *Planta Med*, 68, 2002, 581-590.
13. Bekro Y-A, Mamyrbekova J, Boua BB, Bi FT and Ehile EE. Étude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthiana* (Baill.) Herend. et Zarucchi (Caesalpiniaceae). *Sciences & Nature*, 4, 2007, 217-225.
14. OCDE. Lignes directrices de l'OCDE pour les essais de produits chimiques, Section 4: Effets sur la santé. In: OECDiLibrary, ed. Essai n° 423: Toxicité orale aiguë - Méthode par classe de toxicité aiguë 2002: 14.
15. OCDE. Lignes directrices de l'OCDE pour les essais produits chimiques n 423 : Toxicité orale aiguë - méthode par classe de toxicité aiguë. 2001, 14.
16. Fézan H, Tra B, Irié GM, Kohué CC, N'Gaman and Mohou CHB. Études de quelques plantes thérapeutiques utilisées dans le traitement de l'hypertension artérielle et du diabète: deux maladies émergentes en Côte d'Ivoire. *Sciences & Nature*, 5, 2008, 39 – 48.
17. Somayeh K, Sedigheh A, Jamal M, Mahmoud R, Azadeh A and Fatemeh S. Liver-protective effects of hydroalcoholic extract of *Allium hirtifolium* Boiss. In rats with alloxan-induced di-abetes mellitus. *Arya Atheroscler*, 6, 2010, 11-15.
18. Huang d-j, Lin c-d, Lhen h-j and Lin y-h. Antioxidant and antiproliferative activities of sweet potato (*Ipomoea batatas* [L.] Lam 'Tainong 57') constituents. *Botanical Bulletin of Academia Sinica*, 45, 2004, 179-186.
19. Kim SH, Hyun SH and Choung SY. Anti-diabetic effect of cinnamon extract on blood glucose in db/db mice. *J Ethnopharmacol*, 104, 2006, 119-123.
20. Mangambu M, Mushagalusa K and Kadima N. Contribution à l'étude photochimique de quelques plantes médicinales antidiabétiques de la ville de Bukavu et ses environs (Sud-Kivu, RD Congo). *Journal of Applied Biosciences*, 75, 2014, 6211-6220.
21. Grimaldi A, Hartemann-Heurtier A, Jacqueminet S, Bosquet F, Masseboeuf N, Halbran M and Sachon C. *Guide Du Diabète*. Masson 2009.
22. Rangunathan V and Sulochana N. A new flavonol bioside from the flower of *Hibiscus vitifolius* Linn. and its hypoglycaemic activity. *Journal of Indian Chemical Society*, 71, 1994, 705-706.
23. Fang XK, Gao Y, Yang HY, Lang SM, Wang QJ, Yu BY and Zhu DN. Alleviating effects of active fraction of *Euonymus alatus* abundant in flavonoids on diabetic mice. *Am J Chin Med*, 36, 2008, 125-140.
24. Kambouche N, Merah B, Derdour A, Bellahouel S, Bouayed J, Dicko A, Younos C and Soulimani R. Hypoglycemic and antihyperglycemic effects of *Anabasis articulata* (Forssk) Moq (Chenopodiaceae), an Algerian medicinal plant. *African Journal of Biotechnology*, 8, 2009, 5589-5594.

# The Journal of Phytopharmacology

(Pharmacognosy and phytomedicine Research)

## Research Article

ISSN 2230-480X

JPHYTO 2016; 6(1): 45-52

January- March

© 2017, All rights reserved

**Baba O Zeine Mohamed Anouar Sadat**

Research Scholar, Laboratory of Biochemical-Pharmacodynamic, Training Unit and Research in Biosciences, Félix Houphouët-Boigny University Cocody, Abidjan, Côte d'Ivoire

**Bedou Kouassi Denis**

Research Scholar, Laboratory of Biochemical-Pharmacodynamic, Training Unit and Research in Biosciences, Félix Houphouët-Boigny University Cocody, Abidjan, Côte d'Ivoire

**Konkon N' dri gilles**

Senior Lecturer, Laboratory of Botany, Training Unit and Research in Biosciences, Training Unit and Research in Biosciences, Félix Houphouët-Boigny University Cocody, Abidjan, Côte d'Ivoire

**Djaman A. Joseph**

Professor, Laboratory of Biochemical-Pharmacodynamic, Training Unit and Research in Biosciences, Félix Houphouët-Boigny University Cocody, Abidjan, Côte d'Ivoire

**N'guessan Jean-David**

Professor, Laboratory of Biochemical-Pharmacodynamic, Training Unit and Research in Biosciences, Félix Houphouët-Boigny University Cocody, Abidjan, Côte d'Ivoire

## Correspondence:

**Baba O Zeine Mohamed Anouar Sadat**

Research Scholar, Laboratory of Biochemical-Pharmacodynamic, Training Unit and Research in Biosciences, Félix Houphouët-Boigny University Cocody, Abidjan, Côte d'Ivoire

Email: mohamedzeine78[at]gmail.com

## Ethnobotanic and toxicological study of some medicinal plants used in treatment of diabetes

Baba O Zeine Mohamed Anouar Sadat\*, Bedou Kouassi Denis, Konkon N' dri gilles, Djaman A. Joseph, N'guessan Jean-David

### ABSTRACT

**Aim:** These ethnobotanical investigations within drug sellers of medicinal plants in Côte d'Ivoire (CI) were performed in order to contribute to a better knowledge of plants with antidiabetic effect. They were carried in Adjamé "Quartier rouge" in the district of Abidjan. **Methods and Results:** The results obtained allowed to inventory 16 species of medicinal plants belonging to 13 families. All of these species are used in the treatment of various pathologies such as diabetes. In order to establish the safety of these plants in the diabetic treatment, acute toxicity tests were performed. To this end, the LD<sub>50</sub> was determined in rats. It was determined haematological and biochemical parameters after repeated dosing of 2000 mg/kg of body weight (bw) of aqueous extract of *Calotropis procera*' leaf, *Bauhinia thonningi*' fruit, *Fagara zanthoxyloides*' barks and *Cassia siberiana*' roots to those rats during 14 days. The aqueous extracts had no effect on most of blood parameters tests. These studies have shown that aqueous extracts of these plants were not toxic in the experimental dose. **Conclusion:** This study was conducted in the context to perform pharmacological and toxicological experiments for implementation of innovative initiatives in Côte d'Ivoire. That may lead in the future, to the manufacture of improved traditional drugs (TID).

**Keywords:** Ethnobotanical Investigations, Diabetes, Acute toxicity, LD<sub>50</sub>, Blood parameters.

### INTRODUCTION

Diabetes is one of no communicable diseases (NCD) the most widespread in the world.<sup>[1]</sup> It is a metabolic disease characterized by a disorder in the regulation of blood glucose.<sup>[1]</sup> According to World Health Organization, WHO, more than 176 million peoples are affected by this disease in the world.<sup>[2]</sup> It is directly responsible for 3.5% of deaths caused by NCD.<sup>[3]</sup> Furthermore, estimated to 2.8% in 2000, its prevalence will reach 4.4% of world population in 2030.<sup>[4;5]</sup>

Among all continents, Africa is the most affected by this disease.<sup>[6]</sup> In Côte d'Ivoire, 2014 recorded 500,000 diabetics with a prevalence rate of 4.94 % according to the coordinator of the National Program for the Fight against Metabolic Diseases (DFI).<sup>[7]</sup> Faced with the expansion of this disease whose support is high, WHO encouraged ethnobotanical studies and pharmaceutical research. This could improve drugs based to medicinal plants (DMP) to promote their optimal uses in health care delivery systems.<sup>[9;8]</sup>

Although many ethnobotanical investigations were performed on the antidiabetic plants in African countries<sup>[5;6]</sup> and elsewhere<sup>[1,2,10,11]</sup>, it should be noted that few studies have been carried out on those used in Cote d'Ivoire.

otherwise, according to the OECD directives establishing the safety and efficacy of a new drug, toxicology is an important aspect of pharmacology. It treats the deleterious effect of the organic active substance given by organic material before its use as a drug or chemical in clinical use.<sup>[12]</sup>

So we felt it necessary to conduct an ethnobotanical investigation followed by an assessment of acute toxicity on: *Calotropis procera*'s leaves, *Bauhinia thonningi*'s fruit, *Fagara zanthoxyloides*'s bark and *Cassia siberiana*'s roots. This is intended to provide the scientific community with a database on the medicinal plants used in the treatment of diabetes and sold in the district of Abidjan.

## MATERIALS AND METHODS

### Material

#### Description of the study area



#### Ethnobotanical investigation

We collected some parts (leaves, fruit, bark or root) of medicinal plants commonly used in the treatment of diabetes in Adjamé, a township of Abidjan. These are: *Uapaca togoensis*, *Cataranthus roseus*, *Bauhinia thonningii*, *Picralima nitida*, *Khaya senegalensis*, *Boscia senegalensis*, *Cassia sieberiana*, *Sclerocarya birrea*, *Coelocaryon oxycarpum*, *Ziziphus mauritiana*, *Fagara zanthoxyloides*, *Calotropis procera*, *Crescentia cujete*, *Hallea ledermannii*, *Opilia celtidifolia* and *Terminalia catappa*.

#### Acute toxicity

##### Vegetal material

We used some parts of most used plants such as *Calotropis procera*'s leaves, *Bauhinia thonningii*'s fruit, *Fagara zanthoxyloides*'s bark and *Cassia siberiana*'s roots. Each of these different parts of plants were dried outdoors in the shade at room temperature and then crushed by an electric grinder (Vorwerk Thermomix 3000) to obtain the powder.

##### Animal material

We used "Wistar" nulliparous and non gravidic female rats from the pet of the National High School(NHS) in Abidjan. They were aged 8 to 10 weeks and had a body weight between 94 and 126g. They were fed with pellets (IVOGRAIN), dried fish, grains and tap water in bottles without interruption. The temperature was  $27 \pm 5^\circ \text{C}$ , 12 hours of light and 12 hours of darkness during the experiment. They were used for the acute toxicity tests by oral route.

### Methods

#### Ethnobotanical investigation

##### Study methods

Our investigations were based on the method of Semi-Structured interview<sup>[13,14]</sup>. They were held with 19 of medicinal plants sellers at "Plants market" in Adjamé "quartier rouge" from March to May, 2015. These sellers have answered to our surveys through dialogue in local languages (Malinke or Baoule Moré) or in French. The informations were concerned to the resource person's profile (age, sex,

region, and level of education) and ethnopharmacological data such as local or common names, the usually parts of plants, preparation methods, ways of administration, banned and side effects associated with each recipe.

#### Identification of plant species

The plants collected on the sales site (plants market in Adjamé, Quartier-rouge) were identified at the National Centre for Floristic of Felix Houphouët-Boigny University using analytical flora.

#### Method of preparation

The sellers ignore the weight and specific measures in the preparation and the dosage form of herbal drugs. The accuracy is lacking on several plants such quantities of plant organs to prepare, the solvent used, the time required for preparation of solutions (decoction, infusion, fumigation, poultice, maceration and brushing) and the precise dose to prescribe.

#### Preparation of the aqueous extract

Using a magnetic stirrer, 50 g of the powder from each organ of used plants were soaked in 1 liter of distilled water for 2 hours. The macerated was then filtered using a filter paper (Whatman No. 1). The filtrate obtained was finally dried in an oven at  $50^\circ \text{C}$  for one week.

#### Acute toxicity

##### Distribution of rats

15 female rats were divided into 5 groups of 3 rats

Lot 1: Normal Witnesses Rats (RTN) stuffed with distilled water.

Lot 2: normal rat treated with the extract A (*Fagara zanthoxyloides*'s Bark).

Lot 3: normal rat treated with extract B (*Calotropis procera*'s leaves).

Lot 4: Normal Rats treated with the extract C (*Cassia siberiana*'s roots).

Lot 5: Normal Rats treated with the extract D (*Bauhinia thonningii*'s fruit). The change in body weight was monitored periodically throughout the experiment.

#### Haematological analysis

Blood samples collected in tubes containing anticoagulant (EDTA) were immediately used to determine levels of white blood cells, red blood cells, hemoglobin and hematocrit platelets according to standard methods.<sup>[15,16]</sup>

#### Biochemical parameters

Blood samples in tubes without anticoagulant were centrifuged at 3000 revolutions/min during 10 min. Collected serum were stored at  $-20^\circ \text{C}$ . Thus, they were used to assay the alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) by the colorimetric method of Reitman and Frankel.<sup>[17]</sup> Creatinine was measured through the method of reaction with picrate in alkaline centre.<sup>[18]</sup>

### Statistical analysis

The data recorded on the investigation sheets were processed by the GraphPad Prism 6.01 software. The citation frequency (Fc) of each plant was determined by the formula:

$$Fc = \frac{\text{Number of citations for considered plant}}{\text{Number of citations for all plants}} \times 100$$

The values derived from biological tests, are expressed as mean ± standard deviation. After variance analysis, comparing mean values between different lots of rats was performed by the "Student test" with the graphpad Prism 6.01 software. Significant value was obtained for ( $P < 0.05$ )

## RESULTS

### Ethnobotanical investigation

#### Distribution of Sellers according to the sex

Ethnobotanical instigations in the field have allowed to interview 19 people including 92.31% female.

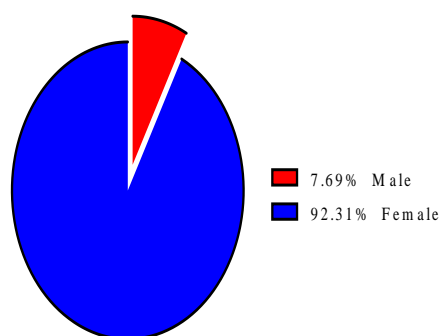


Figure 1: Distribution of Sellers according to the sex

#### Distribution of sellers according to age and level of study

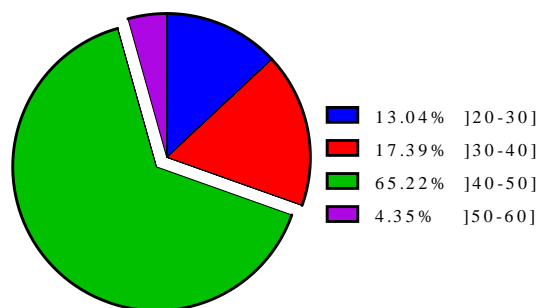


Figure 2: Distribution of sellers according to age

Sale of medicinal plants in this area were mainly practiced by adults whose age ranged within 41 and 50 years (65.22% of sellers) (Figure 2). 37.04% of those interviewed were illiterate while 33.33% had a primary level of study (Figure 3).

#### Distribution of plants according to the botanical families

The collected data have identified 16 species of plant belonging to 13 botanical families. The most represented were the Apocynaceae and the Caesapinaceae (Figure 4).

#### Distribution of plants according to the method of preparation, method of use and the used part

The aqueous decoction (62.79%) and the infusion (23.26%) remain the most used methods of preparation (Figure 5-a).

The oral route is the route of administration which is the most recommended by traditional healers (80.95%) (Figure 5b).

The leaves (37.04%) are the most used in herbal medicine. Then come the fruits and bark used to 25.93% for each of these parts (Figure 5-c).

We found an increase in body weight (bw) in control rats with a growth rate of about 19.70g after oral gavage with 2000 mg/kg of bw. 17g. During 14 days of observations, this increase was near to lots 3 and 5, respectively 19g and 17g. The Lot 2 had a slower growth an order of 15g in contrary to Lot 4, which had a slight increase of 23g. However, body weight observed in animals of these 4 lots treated with 2000 mg/kg of bw have shown no significant difference (Table 2).

The hematology analysis showed no significant change between the numbers of white blood cells, platelets, red blood and hematocrit cells in dose of 2000 mg/kg of bw between the control group and the test lots (Table 3).

In dose of 2000 mg/kg of bw aqueous extracts have induced no significant changes in creatinine, urea, GOT (glutamic oxaloacetic transaminase) and TGP (glutamic pyruvic transaminase) in the blood of rats all lots.

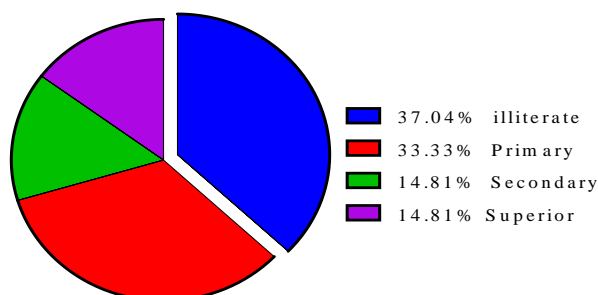


Figure 3: Study level informants

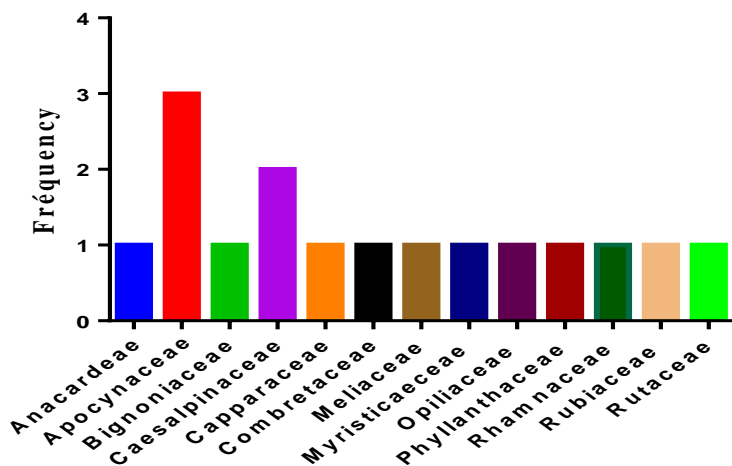


Fig 4: Frequency of botanical families

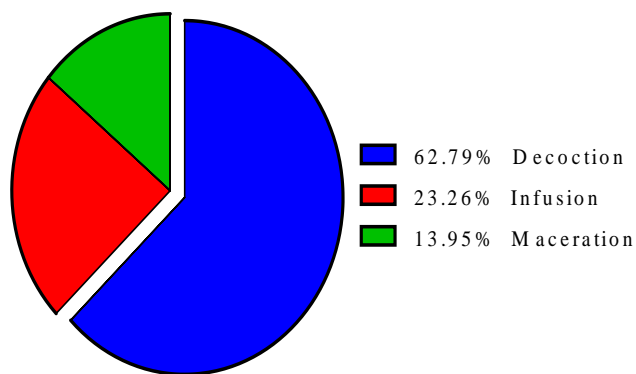


Figure 5-a : Method of preparation

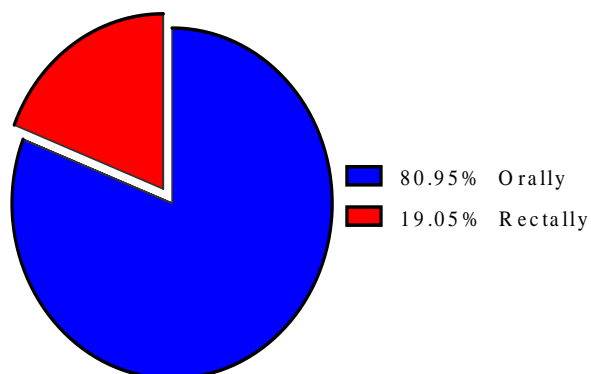


Figure 5-b : Method of use

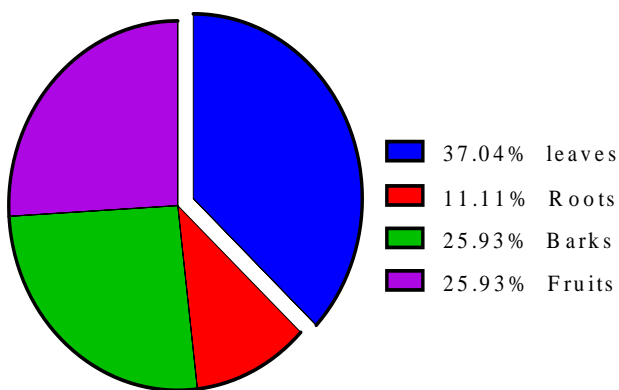


Figure 5-c : Used part of plant

**Table 1:** General state of the animals after administration of the aqueous extract of different plants

Lot/temps clinical signs	Lot 1		Lot 2		Lot 3		Lot 4		Lot 5	
	24h	48h	24h	48h	24h	48h	24h	48h	24h	48h
Fur	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
Eyes	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
Mucous	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
Absence	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
Salivation	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
Lethargies	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
Heartbeat	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
Aggressiveness	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
Drowsiness	No	No	No	No	Yes	No	No	No	Yes	No
Food	Yes	Yes	Yes	Yes	No	Yes	Yes	Yes	No	Yes
Mobility	Yes	Yes	No	No	No	Yes	Yes	Yes	No	Yes
Mortality	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No

N : Normal ; A : Absence

During observation period, the rats of Lots 1 and 3 showed no abnormal behavior. However, those of lots 2 and 4 had mild drowsiness, weakness, mobility and lack of appetite in the early hours followed by a rapid recovery. After 14 days, all lots have recorded no deaths or morbidity of sustainable state.

**Table 2:** Evaluation of body weight of rats during two weeks

Lots	Lot 1	Lot 2	Lot 3	Lot 4	Lot 5
<b>Days</b>					
<b>D<sub>1</sub></b>	89.30±3.39	118.13 ± 6.36	96.54 ± 6.27	101.15 ± 10.16	113.00± 4.47
<b>D<sub>2</sub></b>	92.89± 3.60	121.57± 8.18	99.93±7.67	106.29± 8.34	115.93± 4.62
<b>D<sub>5</sub></b>	93.16± 3.09	122.47± 9.04	102.72± 6.98	106.91± 9.06	117.53± 3.96
<b>D<sub>8</sub></b>	96.59± 4.54	127.00± 9.93	107.05±4.25	111.17± 9.29	122.97± 4.24
<b>D<sub>11</sub></b>	103.03± 3.91	129.80± 13.13	111.70± 1.20	117.23± 7.64	130.17± 5.44
<b>D<sub>14</sub></b>	109.03± 3.71	133.97± 12.98	115.45± 0.85	124.03± 7.24	130.07± 4.71

1: normal control rats (NCR) stuffed with distilled water

2: Lot of rats receiving the extract of *Fagara / Zanthoxylum zanthoxyloides*

3: Lot of rats receiving the extract of *Opilia celtidifolia*

4: Lot of rats receiving the extract of *Cassia sieberiana*

5: Lot of rats receiving the extract of *Bauhinia thonningii*

D: Day

**Table 3:** Assessment of blood formed elements after two weeks

Lots Parameters haematological		Lot 1	Lot 2	Lot 3	Lot 4	Lot 5
Blood count	Red blood cells	6.89	6.46	7.47	6.53	7.06
	Hemoglobin	11.17	11.87	12.87	10.30	12.77
	Hematocrit	33.27	37.10	40.60	31.55	40.30
	MCV	59.20	59.70	54.33	57.10	56.93
	MCHC	19.63	17.57	18.77	18.65	18.03
	MCCH	33.20	32.57	35.80	36.50	36.20
	Platelets	795.67	850.67	859.00	871.00	791.67
	White blood cells	9.10	10.08	8.84	9.09	8.29
	Leukocyte count					
	Neutrophil	10.03	10.55	12.58	11.64	11.83
	Eosinophil	0.08	0.13	0.20	0.57	0.17
	Lymphocytes	40.93	38.75	38.03	34.75	34.83
	Monocytes	0.08	0.25	0.16	0.31	0.32

MCV: Mean Corpuscular Volume

MCHC: MeanCorpuscular Hemoglobin Content

MCCH: Mean Concentration of Corpuscular Hemoglobin

**Table 4:** Determination of some of biochemical parameters for each lot

Lot biochemical parameter	Lot 1	Lot 2	Lot 3	Lot 4	Lot 5
Urea g/l	0.34± 0.05	0.39 ±0.02	0.34±0.13	0.34±0.13	0.22±0.02
Creatinine mg/l	4.50±0.71	5.33±1.53	6.33±0.3	6.33±1.15	6.67±1.15
TGO (UI/l)	186.35±15.20	210.63±29.46	265.57±0.52	199.23±0.49	149.50±0.74
TGP (UI/l)	35.95± 0.03	30.43±0.02	41.23±0.02	31.43±0.01	33.83±0.03

**Table 5:** Average weight of organs (liver, heart, kidneys) from different lots of plant

Lot Organ	Lot 1	Lot 2	Lot 3	Lot 4	Lot 5
Rat	109±5.01	134 ±12.1	103±1.13	122±11.8	132±8.29
Kidney	0.74±0.1	0.72±0.03	0.65±0.06	0.71±0.06	0.63±0.33
Liver	3.85±0.4	3.8±0.29	2.79±0.52	3.98±0.49	2.88±0.74
Heart	0.43±0.03	0.48±0.02	0.4±0.02	0.46±0.01	0.42±0.03

## DISCUSSION

### Ethnobotanic investigations

#### Sex of sellers

Ethnobotanical investigations in the field have allowed to interview 19 people including 92.31% of women. These results confirm other ethnobotanical studiessuch as Mehdioui and Kahouadji’s one (2007) <sup>[21]</sup> in Maroc intoAmsittène forest (Province of Essaouira) that have

shown that women are holders of traditional herbal knowledge.This can be explained by the fact that women use medicinal plants in other areas that therapy and their responsibility as mothers. In fact, they are the bodies whose give first aid especially for their children.The results of Fah *et al.*, In 2013 in Benin are similar because according to them, herbalists are predominantly females.<sup>[19]</sup> Also, this could be justified by the fact that in Benin, selling items to the market is usually reserved for women.



### Age and Study level of sellers

Sale of medicinal plants was mainly exercised by adults, predominantly among people belonging to the age group ranging from 41 to 50 years (65.22% of sellers) (Figure 3). The average age was 43 years. In fact, seniors are expected to provide more reliable information, because they hold much of the ancestral knowledge that is transmitted orally. The transmission of this knowledge is threatened now because it is not always ensured.<sup>[20,22]</sup> Moreover, the majority of interviewed were illiterate or had a primary school level (70.37%) (Figure 3). They are people whose have spent most of their lives in rural areas where school enrollment remains low. According to Orch *et al.*, 75% of interviewed were illiterate or had a primary school level.

### Plants according to the botanical families

The collected data have identified 16 species of plant belonging to 13 botanical families of which the most represented are the Apocynaceae and Caesapiniaceae (Figure 4). These results are almost similar to those of Tra Bi *et al.* in 2008 during a study in Ivory Coast.<sup>[8]</sup> In fact, these have shown that the Euphorbiaceae, Asteraceae and Poaceae were respectively the most represented. Then, came in second place, the Caesalpiniaceae and the Apocynaceae. This slight difference is due to the fact that their studies were focused on therapeutic plants used in the treatment of high blood pressure and diabetes, while ours was focused specially on diabetes and in one district of Abidjan. According to Tra Bi, this is also explained by the fact that these families are part of the majority species and kinds of Ivorian flora.<sup>[23,24]</sup> Futhermore, our investigations have shown that 50% of the plants sold come from outside the country especially from Mali, Burkina Faso and sometimes of Guinea. The results of Fa *et al.* in 2013 are contrary to ours. In fact, they have shown in their study that rather the family of Asteracea was the most represented. This difference is understandable because the geographies area differ among studies. The use of plants is different according to the countries. Futhermore, this study relates to the plants used against diabetes in both sexes while those studied by Fah *et al.* were intended exclusively to pregnant women with diabetes.<sup>[19]</sup>

### Method of preparation, method of use the part of plant used

The majority of herbalists was unaware about the toxicity and the methods of use (the method of preparation and the recommended doses) of plants. Futhermore, informations concerning the quantities vegetal material of plant to prepare the solvent or the vehicle used, the time required for preparation of solutions (decoction, infusion, powder, fumigation, poultice, maceration and brushing) varies according to the traditional healer. The use of medicinal plants should be streamlined in the objective to profit and avoid the risks. Studies of this aim are needed. However, the aqueous decoction (62.79%), infusion (23.26%) and maceration (13.95%) remain the most used methods of preparation (Figure 5-a). These preparations are generally administered orally (Figure 5-b). This requirement can be explained by the fact that this pathology is linked to deep organs. To reach them any compound must pass through the digestive system to facilitate its assimilation.<sup>[8]</sup> Furthermore, the results also show that the sheets are the most used organs, followed by the fruit, bark and roots (Figure 5-c). This observation is characteristic of many ethnobotanical studies in Africa and in the world.<sup>[8,25,26]</sup> Sweet food consumption is prohibited during the treatment. As part of this study, herbalists reported that no adverse effect was associated with the use of these revenues.

### Acute toxicity

The extract A that was administered at a dose of 2000 mg/kg of bw did not result in any abnormal behavior and no mortality in rats of Lot 1.

These results are close to those obtained by Ghosh in 1984 showing that *Fagara zanthoxyloides* was not orally toxic but could be slightly toxic by intraperitoneale way since the LD<sub>50</sub> was between 0.5 and 5 g/kg.<sup>[29]</sup>

However, other species such as *Zanthoxylum zanthoxyloides* (Lam), *Zepernick*, *TimlerZanthoxylum Macrophyllum Oliv*, *Zanthoxylum madagascariensis* are known for their toxicity by sub dermal, intramuscular and intravenous route. They are used to advantage in West Africa to manufacture poisons for hunt using bark, roots and stems.<sup>[27]</sup> In accordance with the study of Clarke and Clarke in 1977, a plant whose LD<sub>50</sub> is greater than 1000 mg/kg of bw is considered as non-toxic in animal tests.<sup>[28]</sup>

It can be concluded that the aqueous extract of *F. zanthoxyloides* is relatively nontoxic in normal doses and orally. Therefore it could be recommended.

Compared with controls, rats of Lot 3 had presented no mortality after receiving a dose of 2000 mg/kg of bw of the extract B. Nevertheless, they had slight difficulties such as lower mobility, drowsiness and loss of appetit. however, they had hematological and biochemical values similar to those of control rats. It was the same for the weight of donated organs. These observations are similar to those obtained by Ghosh in 1984 who found that the viscera (liver, kidney and heart) of animals (rats) after oral gavage with aqueous extract of *Opilia celtidifolia* showed no macroscopic change which could result in death.<sup>[29]</sup> They are also similar to the results obtained by Makan Soumare in 2012 revealing that the aqueous extract of *Opilia celtidifolia*'s leaf did not result in acute toxicity at the dose of 2000 mg/kg of bw in mice.<sup>[30]</sup>

The limit dose of 5000 mg/kg of bw aqueous extract of *Cassia bark siberiana* has caused any consequence or abnormal clinical sign: No mortality observed during the study of acute toxicity on mice and rats during 48 hours in short term and 14 days in long-term of observation. It suggest that the LD<sub>50</sub> of the extract (5000 mg/kg of bw) in both species has led to no significant differences between the test and control. Therefore, the extract may not have deleterious effects on bone marrow function.<sup>[31]</sup>

Similarly, in our study, rats of Lot 4 those had received 2000 mg/kg of bw of aqueous extract of *Cassia siberiana*'s root have shown no abnormal behavior and no mortality. This goes in the same direction as the results of studies of Nartey *et al.* 2012, which revealed that the LD<sub>50</sub> inrats is 2000 mg/kg of bw because the gavage wi the aqueous extract of *Cassia sieberiana*'s root and bark produced no morbidity or mortality.<sup>[32]</sup>

According to the balance of Hodge *et al.* in 1943, the fruit of *Cassia sieberiana* whose LD<sub>50</sub> is between 500 and 2000 mg / kg have a low toxicity.<sup>[33]</sup>

This could be related to the fact that drugs and orally administered compounds undergo some events that potentially decrease the systemic circulation. That would prevent the attainment of sufficient quantity for pharmacological effects.<sup>[31]</sup>

The aqueous extract of *Bauhinia thonningii*'s fruit has led to no deaths after being administered to rats of Lot 5. However, some passenger abnormal behaviors related to immobility, drowsiness, and anorexia were observed. As for hematological and biochemical values, they did not show significant differences with the controls. The weights of the organs were no lethal micro or macroscopic change.

This is similar to the results of Daniyan S.Y *et al.* in 2011 that showed that acute and sub-acute toxicity of the extract of *Bauhinia tonningii*'s leaf with doses of 2000 mg/kg and 5000 mg/kg had led to no death during the experimental period. Hematological, biochemical and weight of different collected organs, have shown no significant difference in acute toxicity.<sup>[34]</sup>

## CONCLUSION

Four plants were the subject of this study: *Fagara/Zanthoxylum zanthoxyloide*, *Opilia celtidifolia*, *Cassia siberiana* and *Bauhinia thonningii*. The toxicity study in vivo involving each of these plants showed that the LD<sub>50</sub> was greater than 2000 mg/kg of body weight. Consequently, they are not harmful. These results shall contribute to the evolution of diabetes pharmacotherapy. However, further histological studies on rat organs should be carried out subsequently to verify whether there is any harmful action of the extracts at this stage.

## Acknowledgments

We are grateful to the Superior National School and the National Center Floristic from the Felix Houphouët Boigny University which provided us respectively the framework for this work and the identification of the plants listed on the flat market.

## REFERENCES

- Pavani M., Sankara Rao M., Mahendra Nath M. and Appa Rao Ch. Ethnobotanical explorations on anti-diabetic plants used by tribal inhabitants of seshachalam forest of Andhra Pradesh, India. Indian Journal of Fundamental and Applied Life Sciences. 2012, 2 (3): 100-105.
- Jayakumar G, Ajithabai M D, Sreedevi S, Viswanathan P K, Remeshkumar. Ethnobotanical survey of the plants used in the treatment of diabetes. Indian Journal of Traditional Knowledge. 2010, 9(1): 100-104.
- WHO. Principles for modeling dose-response for the risk assessments for chemicals. Environmental health criteria (2009). IPCS INCHEM; 239.
- Sarah, W., Gojka, R., Anders, G., Richard, S. and Hilary, K. Global prevalence of diabetes. Diabetes Care 2004, 27: 1047-1053.
- Etuk, E.U, Bello, S.O., Isezuo, S.A., Mohammed, B.J. Ethnobotanical Survey of Medicinal Plants used for the Treatment of Diabetes Mellitus in the North Western Region of Nigeria. Asian J. Exp. Biol. Sci. 2010, 1 (1):55-59.
- Erasto PPO Adebola, DS Grierson and AJ Afolayan. An ethnobotanical study of plants used for the treatment of diabetes in the Eastern Cape Province, South Africa. African J. of Biotechnology 2005, 4 (12), 1458-1460pp.
- Fédération International Diabète, Prévalence du diabète en Côte d'Ivoire, 2014. <http://news.abidjan.net/h/554847.html>
- Trabi Fézan H, Irié Guy M, N'gaman Kohué CC. & Mohou Clejesson HB, Études de quelques plantes thérapeutiques utilisées dans le traitement de l'hypertension artérielle et du diabète : deux maladies émergentes en Côte d'Ivoire. Sciences & Nature 2008, 5 (1):39-48.
- Ghourri M Zidane L Douira A. Usage des plantes médicinales dans le traitement du Diabète Au Sahara marocain (Tan -Tan). Journal of Animal & Plant Sciences. 2013, 17(1): 2388-2411.
- Adolfo Andrade-Cetto and Michael Heinrich, Mexican plants with hypoglycaemic effect used in the treatment of diabetes. J. of Ethnopharmacology. 2005, 99: 325-348
- Thirumalai T, Beverly CD, Sathiyaraj K, Senthilkumar B, David E. Ethnobotanical Study of Anti-diabetic medicinal plants used by the local people in Javadhu hills Tamilnadu, India. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 2012. S910-S913.
- OECD/ OCDE, OECD Guideline for Testing of Chemicals, Acute Oral Toxicity- Acute Toxicity Class Method, 423. Adopted 17th December, 2001.
- Dibong SD, Mpondo ME, Ngoye A, Kwin M F, Betti Jean Lagarde. Ethnobotanique et phytomédecine des plantes médicinales de Douala. J. Appl. Biosci. 2011, (37); 2496-2507.
- Klotóé JR, Dougnon TV, Koudouvo K, Atègbo J-M, Loko F, Akoègninou A, Aklikokou K, Dramane K, Gbeassor M, Ethnopharmacological survey on antihemorrhagic medicinal plants in South of Benin. European Journal of Medicinal Plants. 2013, 3(1): 40-51.
- Baker, D.N, Whisler, F.D., Parton, W.L., Klepper, E.L., Cole, C.V., Willis, W.O., Smika, D.E., Black, A.L. and Bauer, A.. The development of WINTER WHEAT: a physical physiological process model. In: W.O. Willis (Editor), ARS Wheat Yield Project. ARS-38, USDA Agricultural Research Service, National Technical Information Service, Springfield, VA 1985, 176-187 pp.
- Jain, N. C. Schalm's Veterinary Hematology. 4th ed. Lea and Febiger, 600. Washington square, Philadelphia, 1986. USA.
- Reitman SN, Frankel S., A colorimetric method for the determination of SGPT and SGPT. Am. J. Clin. Pathol., 1957, 25: 5662.
- Chesbrough M., District Laboratory Practice in Tropical Country Part 2 (Second Edition Cambridge University press, 2005), 299 - 320.
- Fah L, Klotóé JR, Dougnon V, Koudokpon H, Fanou VBA, Dandjesso C, Loko F., Étude ethnobotanique des plantes utilisées dans le traitement du diabète chez les femmes enceintes à Cotonou et Abomey-Calavi (Bénin). Journal of Animal & Plant Sciences. 2013, 18 (1) : 2647-2658 ;
- Weniger, B. Interest and limitation of a global ethnopharmacological survey. Journal of Ethnopharmacology 1991, 32:37-41.
- Mehdioui R. et Kahouadji A., Étude ethnobotanique auprès de la population riveraine de la forêt d'Amsittène: cas de la Commune d'Imi n'Tlit (Province d'Essaouira). Bulletin de l'Institut Scientifique, Rabat, section Sciences de la Vie 2007, n°29: 11-20
- Anyinam C., Ecology and ethnomedicine: exploring links between current environmental crisis and indigenous medical practices. Social Science and Medicine 1995, 4: 321-329.
- Aké Assi L., Flore de la Côte-d'Ivoire: étude descriptive et biogéographique, avec quelques notes ethnobotaniques. Tomes I, II, III. Thèse Doctorat ès-Sciences Naturelles, FAST. Université d'Abidjan (Côte-d'Ivoire). 1984, 1205 pp.
- Kouamé NF, Influence de l'exploitation forestière sur la végétation et la flore de la forêt classée du Haut-Sassandra (Centre-Ouest de la Côte d'Ivoire). Thèse 3ème cycle. Université de Cocody-Abidjan (Côte d'Ivoire). 1998, 227 pp.
- Tahri Nabila, El basti Abdelkrim, Zidane Lahcen, Rochdi Atmane, Douira Allal Kastamonu Üni., Orman Fakültesi Dergisi (Kastamonu Univ., Journal of Forestry Faculty) 2012, 12 (2): 192-208.
- Hicham ORCH, Allal DOUIRA et Lahcen ZIDANE Étude ethnobotanique des plantes médicinales utilisées dans le traitement du diabète, et des maladies cardiaques dans la région d'Izarène (Nord du Maroc) Journal of Applied Biosciences. 2015, 86:7940-7956
- Neuwinger, H.D. African Ethnobotany. Poisons and Drugs: Chemistry, Pharmacology, Toxicology. 1996. Chapman & Hall, London.
- Clarke EGC, Clarke ML, Veterinary Toxicology. Cassel and Colier Macmillan Publishers, London. 1977, 268-277 pp.
- Ghosh, MN Fundamentals of Experimental Pharmacology, 2nd Edition. Scientific Book Agency, Calcutta, 1984, 154-157.
- Makan Soumare thèse, Etude de l'activité appétissante du décocté de feuilles de *Opilia celtidifolia* Guill. et Perr ( Opiliaceae) chez les rats. 2012, 76-85p
- Kofi Donkor, Laud NK, Okine, Wonder KM, Abotsi, Eric Woode. Acute and Sub-Chronic Toxicity Studies of Aqueous Extract of Root Bark of *Cassia Sieberiana* D.C. in Rodents. J App Pharm Sci, 2014, 4 (04) : 084-089
- Nartey ET, Ofosuhene M, Kudzi W, Agbale CM. Antioxidant and gastric cytoprotective prostaglandin properties of *Cassia sieberiana* roots bark extract as an anti-ulcerogenic agent. BMC Complementary and Alternative Medicine, 2012; 12:65.
- Hodge HC, Sterner JH (1943). Determination of substances acutotoxicity by LDB50B. Amer. Industrial Hyg. Assoc. 10: 93.
- Daniyan SY, Galadima M, Ijah UJ, Odama LE. Short term acute and subacute toxicity Studies on *Piliostigma Thonningii* leaf extract in rats. International J. of Research in Ayurveda & Pharmacy. 2011, 2(2), 481-483.

### HOW TO CITE THIS ARTICLE

Sadat Baba-O-Zeine MA, Denis BK, N'drighilles K, Joseph DA, Jean-David N. Ethnobotanic and toxicological study of some medicinal plants used in treatment of diabetes. J Phytopharmacol 2017; 6(1):45-52.

## Communications scientifiques

### 🚩 Communication orale

**Thème : ETUDES HYPOGLYCÉMIQUE ET ANTIHYPERGLYCÉMIQUE DES FRUITS DE *BAUHINIA THONNINGI* (FABACEAE) UTILISÉES DANS LA PHARMACOPÉE IVOIRIENNE**

**Bedou Kouassi Denis**<sup>1</sup>, Baba O Zeine Mohamed Anouar Sadat<sup>1</sup>, Konkon N'dri Gilles<sup>2</sup>, Edjème-Aké Angèle<sup>3</sup>, Djaman A. Joseph<sup>1,3</sup>, N'guessan Jean-david<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire de Pharmacodynamie-Biochimique, Université Félix Houphouët-Boigny d'Abidjan ,  
22 BP 582 Abidjan 22,

<sup>2</sup> Laboratoire de Botanique, <sup>3</sup> Laboratoire de Biochimie, Institut Pasteur de Côte d'Ivoire, 01 BP 490  
Abidjan 01.

🚩 **Journée scientifique de l'Unité Ethnobotanique et Substances Naturelles d'Intérêt Thérapeutique-ESNIT (Laboratoire de Botanique) sous le thème : “De la Plante Médicinale au Médicament Traditionnel Amélioré” du 13 au 14 Juin 2017 à l'Université Félix HOUPHOUËT- BOIGNY**

## RESUMÉ

*Bauhinia thonningii* (Schum.) Milne-Redh (Caesalpinaceae) est reconnue en Afrique et particulièrement en Afrique de l'ouest pour ses nombreuses vertus thérapeutiques. Depuis des décennies, cette plante est l'objet de plusieurs études scientifiques afin de mettre en évidence ses différentes propriétés thérapeutiques avérées en médecine traditionnelle et de comprendre son mécanisme d'action. C'est dans ce cadre que s'inscrit ce travail de recherche qui est une contribution à l'étude de la plante *Bauhinia thonningii*.

L'étude expérimentale a porté essentiellement sur l'extrait total aqueux des fruits de *Bauhinia thonningii* (EABt) obtenue par la méthode traditionnelle (décoction). Après l'extraction (rendement 9,46 %) et les analyses phytochimiques, l'effet potentiel diabétique *in vivo* chez des rats *Wistar* par voie orale et l'évaluation de l'activité de l'EABt sur l' $\alpha$ -amylase et l' $\alpha$ -glucosidase *in vitro* ont été recherchés. L'analyse phytochimique de l'EABt basée sur des réactions de coloration et/ou de précipitation a révélé la présence d'une hétérogénéité de groupes chimiques (saponosides, polyphénols, flavonoïdes, tanins cathéchiques et composés réducteurs). Avant la recherche de l'effet potentiel antidiabétique *in vivo*, une analyse de la toxicité aiguë par voie orale chez les rats a été entreprise. La  $DL_{50}$  obtenue a été supérieure à 5000 mg/kg pc, aucune mortalité et aucun signe clinique de toxicité n'a été observé chez tous les animaux. Aussi les paramètres biochimiques liés au foie, rein et au cœur ainsi que leurs différents poids relatifs n'ont montré aucune différence significative par rapport à ceux des rats normaux. Aussi les organes prélevés (cœur, foie et reins) pouvant subir des préjudices éventuels de toxicité n'ont présenté aucune anomalie pendant les 14 jours d'observation. L'effet potentiel antidiabétique *in vivo* a été recherché tout en déterminant la ou les doses efficaces expérimentales. Les résultats de cette étude ont montré que l'extrait provoque un effet hypoglycémique non significatif ( $p = 0,073$ ) et un effet anti-hyperglycémique significatif ( $p = 0,041$ ) chez des rats normaux après une administration de 1 mL/100 g pc à dose unique. Ces 2 effets sont dose-dépendants car l'EABt à des concentrations croissantes (50 ; 100 et 150 mg/mL) diminue la glycémie de base au terme de 2 heures respectives de l'ordre de -2,67 ; -12,65 et -19,76 %. Le test de tolérance au glucose, à ces mêmes concentrations respectives, a montré un effet anti-hyperglycémiant de l'ordre de 12,58 ; -12,65 et -26,62 % en prétraitement à l'issue des 2 h 30 min. Ces effets sont différents des effets provoqués par le produit de référence le glibenclamide 0,25 mg/ml qui induit une réduction de la glycémie de l'ordre -36,65 % (hypoglycémie) et -60,73% (anti-hyperglycémie). L'extrait à ces différentes concentrations a montré une capacité à corriger la glycémie et pareillement les doses 100 et 150 mg/mL pc semblent être les doses expérimentales efficaces. Par ailleurs, l'induction du diabète a aussi révélé que l'EABt, aux mêmes concentrations précédentes, n'a présenté aucune perturbation du poids, des profils glucidique (glucose), hépatique (ASAT et ALAT), rénal (urée et créatinine), lipidique (cholestérol total et triglycérides) et hématologique (érythrocytes et leucocytes) chez les rats expérimentaux rendus diabétiques et traités pendant 21 jours.

L'étude *in vitro* de l'évaluation de l'activité de l'EABt sur l' $\alpha$ -amylase et l' $\alpha$ -glucosidase sur le lecteur de plaque ELISA a montré son effet inhibiteur à la fois sur ces 2 enzymes. Les  $IC_{50}$  de l'EABt sur l' $\alpha$ -amylase et l' $\alpha$ -glucosidase ont été de 1,159 mg/mL et de 3,82 E-02 mg/mL respectivement alors que celles de l'acarbose ont été de 2,57 E+06 mg/mL et 3,13 E-01 mg/mL.

**Mots clés :** *Bauhinia thonningii* (Schum.) Milne-Redh, médecine traditionnelle, diabète, toxicité aiguë.

## SUMMARY

*Bauhinia thonningii* (Schum.) Milne-Redh (Caesalpinaceae) is recognized in Africa and especially in West Africa for its many therapeutic virtues. For decades, this plant has been the subject of several scientific studies in order to highlight its various proven therapeutic properties in traditional medicine and to understand its mechanism of action. It is within this framework that this research work which is a contribution to the study of the plant *Bauhinia thonningii*.

The experimental study focused on the total aqueous extract of fruit from *Bauhinia thonningii* (EABt) obtained by the traditional method (decoction). After extraction (yield 9.46%) and phytochemical analyses, the oral potential diabetic effect in Wistar rats and the assessment of the activity of EABt on  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glycosidase *in vitro* were investigated. Phytochemical analysis of EABt based on coloring and/or precipitation reactions revealed a heterogeneity of chemical groups (saponosides, polyphenols, flavonoids, catechic tannins and reducing compounds). Prior to the investigation of the potential antidiabetic effect *in vivo*, an analysis of acute oral toxicity in rats was undertaken. The resulting  $LD_{50}$  was greater than 5000 mg/kg bw, no mortality and no clinical signs of toxicity were observed in all animals. Also the biochemical parameters related to the liver, kidney and heart as well as their different relative weights showed no significant differences from those of normal rats. Also the organs taken (heart, liver and kidney) that may be adversely affected by toxicity did not exhibit any abnormalities during the 14 days of observation. Potential antidiabetic effect *in vivo* was investigated while determining the experimental effective dose(s). The results of this study showed that the extract causes a non-significant hypoglycemic effect ( $p = 0.073$ ) and a significant anti-hypoglycemic effect ( $p = 0.041$ ) in normal rats after a single dose administration of 1 mL/100 g bw. These two effects are dose-dependent because the increasing concentrations of EABt (50; 100 and 150 mg/mL) decrease basic blood sugar levels after 2 hours of -2.67 respectively; -12.65 and -19.76 %. Glucose tolerance test, at the same respective concentrations, showed an anti-hyperglycemic effect of 12.58; -12.65 and -26.62 % in pretreatment after 2 h 30 min. These effects are different from the effects caused by the reference product glyburide 0.25 mg/ml which induces a reduction in blood sugar of -36.65 % (hypoglycemia) and -60.73% (anti-hyperglycemia). The extract at these different concentrations showed an ability to correct blood sugar levels and similarly doses 100 and 150 mg/mL bw appear to be effective experimental doses. Induction of diabetes also revealed that EABt, at the same previous levels, showed no weight disturbance, glucose, liver (ASAT and ALAT), kidney (urea and creatinine) profiles, lipid (total cholesterol and triglycerides) and hematological (erythrocytes and leukocytes) in experimental rats rendered diabetic and treated for 21 days.

The *in vitro* study of the assessment of the activity of EABt on  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glycosidase on the ELISA plate reader showed its inhibitory effect on both enzymes. The  $IC_{50}$ s of  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glycosidase were 1.159 mg/mL and 3.82 E-02 mg/mL, respectively, while those of Acarbose were 4.57 E+06 mg/mL and 3.13 E-01 mg/mL.

**Keywords:** *Bauhinia thonningii* (Schum.) Milne-Redh, traditional medicine, diabetes, acute toxicity.