

REPUBLIQUE DE CÔTE D'IVOIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Année Académique

2021 - 2022

N° d'ordre :

N° 063/2022

# MEMOIRE

Présenté pour obtention du diplôme de

**MASTER**

**BIOLOGIE SANTE**

Option : Phytothérapie et Pharmacologie des Substances Naturelles d'Intérêt (PPSNI)

Par

**NAHOURY Kobli Moïse**

---

**THEME :**

**Etude de la toxicité aiguë et évaluation de l'activité anti-hyperglycémiant de l'extrait aqueux des feuilles de *Piliostigma thonningii* (Schum.) Milne Redh (Fabaceae) chez des souris albinos *Mus musculus* (Muridae) de souche Swiss**

---

Soutenu publiquement le 26/ 09 /2022 devant un jury composé de :

M.OUATTARA Abou, Maître de Conférences,

M. OKOU Obou Constantin, Maître de Conférences,

M.KAHOU BI Gohi Parfait, Maître - Assistant,

M. GBOGBO Moussa, Maître de Conférences,

UJLoG, **Président du jury**

UJLoG, **Directeur Scientifique**

UJLoG, **Encadreur**

UJLoG, **Examineur**

## **DEDICACE**

Je dédie ce mémoire :

A mon père FEU BALIE Nahoury Paul qui m'a toujours appris le respect à l'égard des aînés et qui m'a beaucoup motivé dans mes études ;

A ma mère KOUADI Badi Odile qui m'a donné suffisamment d'amour maternel et beaucoup d'encouragement.

## **AVANT – PROPOS**

Ce mémoire a été conçu sous la direction scientifique du Docteur OKOU Obou Constantin en vue de l'obtention du diplôme de Master en Biologie Santé et Substances Naturelles d'Intérêts, option Phytothérapie et Pharmacologie des substances naturelles. L'encadrement technique a été assuré par le Docteur KAHOU BI Gohi Parfait.

Les travaux de ce mémoire ont été réalisés conjointement à l'Unité de Formation et de Recherche (UFR) Agroforesterie de l'Université Jean Lorougnon Guédé de Daloa, et l'Unité de Formation et de Recherche (UFR) des Sciences Biologiques et Pharmaceutiques d'Abidjan. Par ailleurs, ils apportent une contribution à la valorisation de la médecine traditionnelle en vue d'améliorer la qualité de soins des populations en Côte d'Ivoire.

## REMERCIEMENTS

Au terme de ce parcours de Master, je rends grâce à Dieu pour son soutien et ses faveurs envers ma personne. Le présent mémoire a été possible grâce à la contribution et à la disponibilité des personnes qui méritent notre reconnaissance.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude :

Au **Professeur TIDOU Abiba Sanogo Epouse KONE**, spécialité Ecotoxicologie, Présidente de l'Université Jean Lorougnon Guédé(UJLoG) de Daloa pour avoir autorisé mon inscription en Master 2 et pour ses encouragements à la recherche scientifique, ainsi que pour le cadre propice de travail ;

Au **Professeur KONE Tidiani**, spécialité hydrologie, Vice-président chargé de la Pédagogie, de la Vie Universitaire, de la Recherche et de l'Innovation à l'Université Jean Lorougnon Guédé(UJLoG) de Daloa pour son dévouement à la bonne marche de notre l'Université ;

Au **Professeur AKAFFOU Doffou Sélastique**, spécialité Génétique, Vice-président chargé de la Planification, de la Programmation et des Relations Extérieures à l'Université Jean Lorougnon Guédé(UJLoG) de Daloa pour tous les efforts consentis pour rendre plus attractive et compétitive notre prestigieuse institution ;

Au **Docteur TONESSIA Dolou Charlotte**, Maître de Conférences de Phytopathologie et Directrice de Unité de Formation et de Recherche (UFR) Agroforesterie pour tous ses enseignements et services apportés pour le bon fonctionnement de ladite UFR ;

Au **Docteur ACKAH Jacques Alfred Auguste Bognan**, Maître de Conférences de Biochimie-Microbiologie et Responsable de la filière Biologie-Santé, merci pour son dynamisme et d'avoir été pour nous plus qu'un simple responsable de parcours ;

Au **Docteur OUATTARA Abou**, Maître de Conférences de Biochimie à l'Université Jean Lorougnon Guédé (Daloa) pour avoir accepté de présider ce jury ;

Au **Docteur OKOU Obou Constantin**, Maître de Conférences de Biochimie – Pharmacologie à l'Université Jean Lorougnon Guédé (Daloa) pour ses conseils scientifiques avisés et pour avoir accepté la direction scientifique de ce travail ;

Au **Docteur KAHOU BI Gohi Parfait**, Maitre-Assistant de Physiologie Animale et Pharmacologie à l'Université Jean Lorougnon Guédé (Daloa), pour m'avoir confié ce travail et aussi œuvré pour sa réalisation. Il a initié, dirigé ce travail depuis sa conception jusqu'à sa réalisation. Ses qualités intellectuelles et humaines, son amour pour le travail bien fait m'ont beaucoup marqué. Je prie qu'il trouve ici l'expression de mon profond respect et de ma gratitude ;

Au **Docteur GBOGBO Moussa**, Maitre de Conférences de toxicologie et de pharmacologie, qui malgré son emploi du temps chargé, a bien voulu juger mon travail ;

**Aux Enseignants-chercheurs** de l'Université Jean Lorougnon Guédé pour les connaissances scientifiques et pédagogiques transmises au cours de mon parcours universitaire ;

A tous mes frères et sœurs, pour l'amour fraternel et leurs conseils qu'ils m'apportent puis à tous ceux qui me sont chers, mon oncle **DEKAHE Grégoire** pour son soutien moral et financier.

# TABLE DES MATIERES

	Pages
DEDICACE.....	i
AVANT – PROPOS.....	ii
REMERCIEMENTS.....	iii
TABLE DES MATIERES.....	v
LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS.....	viii
LISTE DES TABLEAUX.....	ix
LISTE DES FIGURES.....	x
INTRODUCTION.....	1
I - Généralités sur <i>Piliostigma thonningii</i> et sur la glycémie.....	3
1 - Généralités sur <i>Piliostigma thonningii</i> (Schum.) Milne-Redh.....	3
1-1-Position systématique.....	4
1-2 - Répartition géographique .....	4
1-3 - Utilisation thérapeutique traditionnelle.....	5
2-Généralités sur la glycémie.....	6
2-1- Notion de glycémie.....	6
2-2-Organes impliqués dans la régulation de la glycémie.....	6
2-2-1- Rôle du foie.....	7
2-2-2- Rôle du pancréas.....	7
2-2-3- Rôle des reins.....	8
2-2-4- Rôle de l'intestin grêle.....	8
3- Régulation hormonale de la glycémie.....	9
3-1- Hormone hypoglycémiante : l'insuline.....	9
3-1-1- Production de l'insuline.....	9
3-1-2- Récepteur de l'insuline.....	10
3-1-3- Stimulation de la sécrétion de l'insuline par le glucose.....	10
3-1-4- Effets de l'insuline sur le métabolisme glucidique.....	11
3-2- Hormones hyperglycémiantes.....	12
3.2.1.- Glucagon.....	12
3.2.2- Adrénaline.....	12
3.2.3- Glucocorticoïdes.....	12
3-2-4 -Autres hormones.....	12

4.- Régulation nerveuse de la glycémie.....	13
4-1- Innervation des îlots de Langerhans.....	13
4-1-1- Rôle du nerf sympathique.....	13
4-1-2- Rôle du nerf parasympathique.....	13
II- MATERIEL ET METHODES.....	15
1- MATERIEL.....	15
1-1-Matériel animal.....	15
1-2- Matériel végétal.....	15
1-3- Matériel technique.....	16
1-3-1- Verrerie.....	16
1-3-2- Appareillage.....	16
1-3-3- Produits chimiques et pharmacologiques.....	16
2- METHODES.....	17
2-1- Préparation d'un extrait aqueux de <i>Piliostigma thonningii</i> .....	17
2-2- Etudes toxicologiques.....	18
2-3- Etude de la toxicité aiguë chez la souris par gavage.....	18
2-4- Etudes pharmacologiques sur la glycémie chez la souris.....	18
2-4-1- Techniques de mesure de la glycémie à l'aide du glucomètre Accu-Chek.....	18
2-4-2- Mesure de la glycémie chez les souris normoglycémiques.....	19
2-4-3- Mesure de la glycémie chez des souris hyperglycémiques.....	20
2-4-4- Mesure de la glycémie chez les souris hyperglycémiques prétraitées.....	20
2-4-5- Mesure de la glycémie chez les souris hyperglycémiques post- traitées.....	20
2-5- Mise en évidence de quelques métabolites secondaires de l'extrait aqueux de <i>Piliostigma thonningii</i> .....	20
2-5-1- Mise en évidence des stéroïdes et polyterpènes.....	21
2-5-2- Mise en évidence des polyphénols.....	21
2-5-3- Mise en évidence des flavonoïdes.....	21
2-5-4- Mise en évidence des composés quinoniques.....	21
2-5-5- Mise en évidence des alcaloïdes.....	22
2-5-6- Mise en évidence des tanins.....	22

3-Préparation des doses à administré.....	22
4- Traitement des résultats.....	23
III-RESULTATS ET DISCUSSION.....	24
1- RESULTATS.....	24
1-1- Toxicité aiguë de l'extrait aqueux de <i>Piliostigma thonningii</i> administré à des souris par voie orale.....	24
1-1-1- Signes cliniques des souris après administration par voie orale de l'extrait aqueux de <i>Piliostigma thonningii</i> .....	24
1-1-2- Mortalité des souris après administration par voie orale de l'extrait aqueux de <i>Piliostigma thonningii</i> .....	24
1-2- Effets pharmacologiques de l'extrait aqueux de <i>Piliostigma Thonningii</i> (Fabaceae) sur la glycémie des souris.....	24
1-2-1- Effets dose-réponse de l'extrait aqueux de <i>Piliostigma thonningii</i> sur la glycémie chez des souris normoglycémiques.....	24
1-2-2- Effets de l'extrait aqueux de <i>Piliostigma thonningii</i> sur la glycémie chez des souris hyperglycémiques.....	25
1-2-2-1- Variation de la glycémie chez des souris hyperglycémiques prétraitées.....	25
1-2-2-2- Variation de la glycémie chez des souris hyperglycémiques post-traitées.....	27
1-3- Identification des phytoconstituants de <i>Piliostigma Thonningii</i> .....	28
2- DISCUSSION.....	30
CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	32
IV – REFERENCES.....	34

## LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS

ADP : Adénosine diphosphate

ATP : Adénosine-Triphosphate

ACh : Acétylcholine

ACTH : Adreno cortico-Tropie Hormone

ADr : Adrénaline

CNF : Centre National Floristique

DL : Dose Létale

EAPt : Extrait Aqueux de *Piliostigma thonningii*

GIP: Glucose dependent insulintropic peptide

GLP-1: Glucagon Like peptide 1

g : gramme

Kg : kilogramme

L : Litre

mg : Milligramme

OCDE : Organisation de Coopération et de Développement Economique

PC: Poids corporel

PTB: Phosphotyrosine binding

## LISTE DES TABLEAUX

Pages

<b>Tableau 1</b> : Résultats des réactions en tube pour la mise en évidence de quelques métabolites secondaires dans l'extrait aqueux de <i>Piliostigma thonningii</i> .....	29
--	----

## LISTES DES FIGURES

	Pages
Figure 1: Rameaux de feuilles de <i>Piliostigma thonningii</i> .....	4
Figure 2: Représentation schématique du pancréas.....	8
Figure 3: Structure primaire de l'insuline humaine .....	9
Figure 4: Structure du récepteur de l'insuline.....	11
Figure 5: Schéma de l'innervation de l'îlot par le système nerveux autonome.....	14
Figure 6: Souris albinos <i>Mus musculus</i> de souche Swiss.....	15
Figure 7 : Schéma synoptique de l'extraction aqueuse de <i>Piliostigma thonningii</i> (Schum.)Milne-Redh (Fabaceae).....	17
Figure 8: Photographie du glucomètre Accu-Chek (Roche Diagnostics,).....	19
Figure 9 : Effets dose-réponse de l'extrait aqueux de <i>Piliostigma thonningii</i> sur la glycémie de souris normoglycémiques.....	25
Figure 10: Evolution en fonction du temps de la glycémie chez des souris hyperglycémiques prétraitées avec l'extrait aqueux de <i>Piliostigma</i> <i>thonningii</i> ou le glibenclamide.....	27
Figure 11: Evolution en fonction du temps de la glycémie chez des souris hyperglycémiques post-traitées avec l'extrait aqueux de <i>Piliostigma thonningii</i> ou le glibenclamide.....	28

# **INTRODUCTION**

## INTRODUCTION

La médecine traditionnelle demeure depuis toujours pour les pays en voie de développement le moyen le plus sollicité pour soulager ou guérir les malades. Les thérapies de cette médecine traditionnelle englobent les thérapies médicamenteuses qui impliquent l'usage des médicaments à base de plantes, d'animaux et/ou de minéraux (Carillon, 2000).

Dans les pays en développement, en dépit des efforts consentis par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), plus d'un tiers de la population n'a pas accès aux médicaments. C'est pourquoi l'OMS, dans sa résolution AFR/RC 50/R3 du 31 Août 2000, invite les pays africains à utiliser les plantes pour satisfaire leurs besoins sanitaires.

En Afrique, l'utilisation des plantes pour se soigner est une question de tradition et de culture. 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). 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). Les remèdes à base de plantes sont beaucoup plus sollicités pour le traitement de plusieurs pathologies notamment le diabète, considérés par l'OMS comme un problème majeur de santé publique. Cette pathologie 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 ; 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 (30 à 80 % des personnes atteintes non diagnostiquées) (Beagley *et al.*, 2014). D'après les études ethnobotaniques réalisées en Côte d'Ivoire et en Zambie, *Piliostigma thonningii* (Fabaceae), est l'une des espèces de la flore fréquemment utilisée contre le diabète (Baba *et al.*, 2017). La présente étude consiste donc à évaluer l'effet pharmacologique d'un extrait aqueux des feuilles de *Piliostigma thonningii* (Fabaceae) sur l'hyperglycémie induite.

Ce travail a pour objectif général d'étudier la toxicité aiguë et d'évaluer l'activité anti-hyperglycémiant de l'extrait aqueux des feuilles de *Piliostigma thonningii* chez les souris albinos.

Les objectifs spécifiques de cette étude sont les suivants :

- étudier la toxicité aiguë d'un extrait aqueux de *Piliostigma thonningii* par la détermination de la dose létale 50 % (DL<sub>50</sub>) ;
- évaluer les effets de cet extrait sur la glycémie à jeun chez des souris normoglycémiques et chez des souris hyperglycémiques ;
- réaliser un screening phytochimique afin d'identifier les différents groupes chimiques présents dans l'extrait aqueux de *Piliostigma thonningii*.

Ce mémoire comporte, outre l'introduction, la conclusion et les perspectives, trois grandes parties :

- la première partie se consacre à la revue bibliographique sur *Piliostigma thonningii*(Fabaceae) et sur le diabète ;
- la deuxième partie décrit le matériel et les méthodes utilisés ;
- la troisième partie présente les résultats de cette étude et la discussion qui leur sont appliqués.

**PREMIERE PARTIE :  
GENERALITES**

## **I- Généralités sur *Piliostigma thonningii* et sur la glycémie**

### **1- Généralités sur *Piliostigma thonningii* (Schum.) Milne-Redh**

*Piliostigma thonningii* est un arbuste touffu atteignant 6 m de haut, avec un tronc tordu, très branchu, quelquefois sarmenteux (Maydell, 1983). Son écorce est brun foncé fibreux à tranche rose ou marron foncé. Les feuilles sont simples, alternes, bilobées, distiques, coriaces, pubescentes en dessous (Arbonnier, 2000). Le limbe a une base profondément cordée avec un sommet ayant une échancrure angulaire profonde, un peu plus petite qu'un angle droit (Berhaut, 1975). *P. thonningii* est une espèce dioïque.

La floraison se passe en saison sèche ou après les premières pluies notamment peu après la feuillaison. Les fleurs sont en racème spéciforme terminal, long de 10 à 15 cm et portant des fleurs blanches à pédicelles simples ou ramifiés. Les fleurs mâles contiennent dix étamines dont trois plus petites tandis que les fleurs femelles portent seulement un style épais muni au sommet d'un stigmate en forme de calotte (Berhaut, 1975). L'espèce porte trois types de fleurs: des fleurs mâles, des fleurs femelles et des fleurs hermaphrodites en petit nombre.

L'inflorescence est en panicule axillaire ou terminale de 10 à 25 cm de long (Arbonnier, 2000). Les fruits sont des longues gousses indéhiscentes, aplaties de couleur brune, coriaces et dures avec une longueur et une largeur moyenne respectivement de 15 et 5 cm (Ouédraogo, 2006). Le péricarde des gousses est dur et fendu.

L'ensemble de la gousse n'évolue pas uniformément à maturité; les zones lignifiées et sèches se forment et s'étendent progressivement. Les gousses atteignent leur maturité vers la fin de l'année et persistent longtemps sur l'arbre. Les gousses portent des graines ovoïdes régulièrement dispersées dans un tissu fibro-ligneux (Berhaut, 1975). On dénombre en moyenne 64 graines par gousse. Les caractéristiques de *P. thonningii* sont quasiment identiques à celles de *P. reticulatum*. L'espèce se différencie de *P. reticulatum* par ses feuilles et ses fruits légèrement plus grands, et la pubescence de tous ses organes (Arbonnier, 2000) (**Figure 1**).



**Figure 1:** Rameaux de feuilles de *Piliostigma thonningii* (Schum. Milne Redh).

### 1-1- Position systématique

*Piliostigma thonningii* (Schum), longtemps appelé *Bauhinia thonningii* (Schum) appartient à:

- l'embranchement	: Spermaphytes
- le sous embranchement	: Angiospermes
- la classe	: Dicotylédones
- l'ordre	: Rosales
- la famille	: Fabaceae
- la sous famille	: Caesalpinioideae
- le genre	: <i>Piliostigma</i>
- l'espèce	: <i><b>Piliostigma thonningii</b></i>

### 1-2- 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, surtout 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. En Côte d'Ivoire, elle est connue sous d'autres appellations qui sont pied de bœuf (Français), et gnaman (Malinké).

### **1-3- 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. L'écorce a une action analgésique et elle est utilisée pour le soin des affections gingivales, du mal d'oreille, des maux d'estomac (Salawu *et al.*, 2007).

La décoction d'écorce s'emploie en bain de vapeur pour le traitement des rhumatismes, des douleurs musculaires et des inflammations osseuses (Ibewuike *et al.*, 1997). 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).

## **2- Généralités sur la glycémie**

### **2-1- Notion de glycémie**

La glycémie est le taux de glucose dans le sang, ou plus exactement dans le plasma sanguin. Elle est mesurée en général en milli moles de glucose par litre de sang, en milligramme de glucose par décilitre de sang, ou encore en gramme de glucose par litre de sang. La régulation de la glycémie est un système de régulation complexe, mettant en œuvre des hormones dont les deux principaux antagonistes, l'insuline qui fait diminuer la glycémie (hormone hypoglycémiant), et le glucagon qui fait augmenter la glycémie (hormone hyperglycémiant) ainsi que divers organes, tels que le pancréas, le foie, le rein (Andreelli *et al.*, 2009). Elle varie aussi en fonction de l'âge et en cas de gestation principalement.

Les valeurs normales de glycémie sont différentes d'une espèce animale à une autre. Chez l'Homme, la valeur maximale à jeun, admissible pour ne pas être considérée diabétique, qu'autre fois était de 1,4 g/L a été ramenée à 1,26 g/L dans les années 1990. C'est un seuil basé sur des analyses statistiques au-delà duquel le risque de rétinopathie, liée à la glucotoxicité, augmente (Röder *et al.*, 2016). La glycémie est très finement régulée. Les valeurs de glycémie varient selon l'état nutritionnel (et le stress), en particulier la différence entre la glycémie à jeun et la glycémie post-prandiale (c'est-à-dire après un repas) est importante. Lorsque la glycémie est trop élevée, on parle d'hyperglycémie. Si elle est trop basse, on parle d'hypoglycémie.

### **2-2- Organes impliqués dans la régulation de la glycémie**

La régulation de la glycémie est le processus par lequel le taux de glucose dans le sang, dit glycémie, est maintenu proche d'une valeur bénéfique pour l'organisme. Cette régulation fait partie des processus de maintien de l'homéostasie au sein de l'organisme. La glycémie à jeun normale chez l'Homme est statistiquement comprise entre 0,80 et 1,26 g/L, soit entre 4,5 et 7,0 mmol/L (Andreelli, *et al.*, 2009). Elle met en jeu le système hormonal ainsi que plusieurs organes : pancréas, foie et rein principalement ; et diverses substances : l'insuline qui fait décroître le taux de sucre, ainsi que le glucagon, l'adrénaline, le cortisol en période de stress, et l'hormone de croissance, qui ont l'effet inverse et sont pour cela appelées communément hormones de la contre-régulation.

### 2-2-1- Rôle du foie

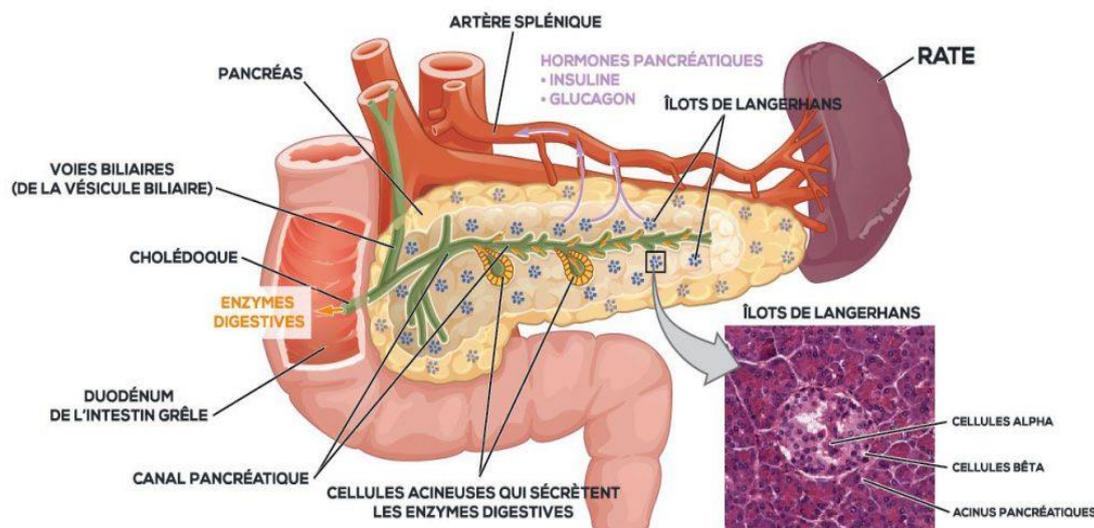
Le foie constitue la source prédominante de glucose dans l'organisme, en dehors des prises alimentaires. En effet, lors d'un apport en nutriments (repas riche en glucides) par l'alimentation, le rôle du foie est de stocker le glucose excédentaire sous une forme polymérisée (glycogène) et de le libérer lors des périodes de jeûne prolongé afin de maintenir la glycémie constante (Claude-Bernard, 1853). Ainsi, le foie régule la production et le stockage du glucose grâce à trois voies métaboliques :

- la glycogénogénèse qui permet le stockage du glucose dans le foie sous forme de glycogène ;
- la glycogénolyse qui libère le glucose sous forme de glucose-1-phosphate par l'enzyme glycogène phosphorylase ;
- la néoglucogénèse qui produit du glucose à partir de lactate, de pyruvate, de glycérol ou en dernier recours, d'acides aminés. Elle est déclenchée par une baisse de la glycémie en dessous de sa valeur normale associée à un épuisement des réserves de glycogène.

### 2-2-2-Rôle du pancréas

Le pancréas est une glande exocrine, mais aussi endocrine. Le pancréas est d'aspect lobulé de couleur jaune pâle. Son poids varie chez l'adulte entre 60 et 125 grammes et sa longueur est de l'ordre de 12 à 15 centimètres. La partie exocrine est la plus volumineuse. La partie endocrine est représentée par les îlots de Langerhans disséminés dans le parenchyme, prédominant au niveau de la queue (Laguesse, 1984). Les îlots de Langerhans sont de petits organes endocrines dispersés dans le pancréas exocrine. Ils ne représentent que 1 % de la masse pancréatique totale. Les îlots sont constitués de quatre types cellulaires : les cellules  $\beta$  qui sécrètent l'insuline, les cellules  $\alpha$  qui sécrètent le glucagon, les cellules  $\lambda$  qui sécrètent la somatostatine et les cellules PP qui sécrètent le polypeptide pancréatique (Agostini *et al.*, 2005).

De par ses fonctions exocrine et endocrine, le pancréas joue un rôle très important dans la régulation de la glycémie. En plus du suc pancréatique servant à la digestion, le pancréas produit des hormones hyperglycémiantes (glucagon sécrété par les cellules  $\alpha$ ) et hypoglycémiantes (insuline sécrétée par les cellules  $\beta$ ) qui interviennent dans le maintien de l'homéostasie glucidique (Lebreton, 2014) (**Figure 2**).



**Figure 2:** Représentation schématique du pancréas (Lebreton, 2014)

### 2-2-3- Rôle des reins

Le rein est un producteur de glucose endogène. Il n'est pas capable de produire du glucose par glycogénolyse en raison de l'absence de la glucose-6-phosphatase dans les cellules rénales. La production de glucose par le rein provient donc en totalité de la néoglucogenèse.

En plus de sa production de glucose par néoglucogenèse et de sa propre utilisation de glucose, le rein peut également influencer l'homéostasie du glucose en opérant une réabsorption du glucose contenu dans le filtrat glomérulaire pour une glycémie inférieure à 1,8 g/L (seuil rénal de glucose) chez des sujets sains. Ce mécanisme met en jeu des co-transporteurs sodium/glucose. Lorsque la capacité maximale de réabsorption est dépassée (seuil rénal de glucose), comme c'est le cas lors d'hyperglycémie prononcée, le glucose contenu dans le filtrat glomérulaire ne repasse pas dans le sang, mais dans les urines, provoquant une glycosurie (Shrayyef & Gerich, 2010).

### 2-2-4- Rôle de l'intestin grêle

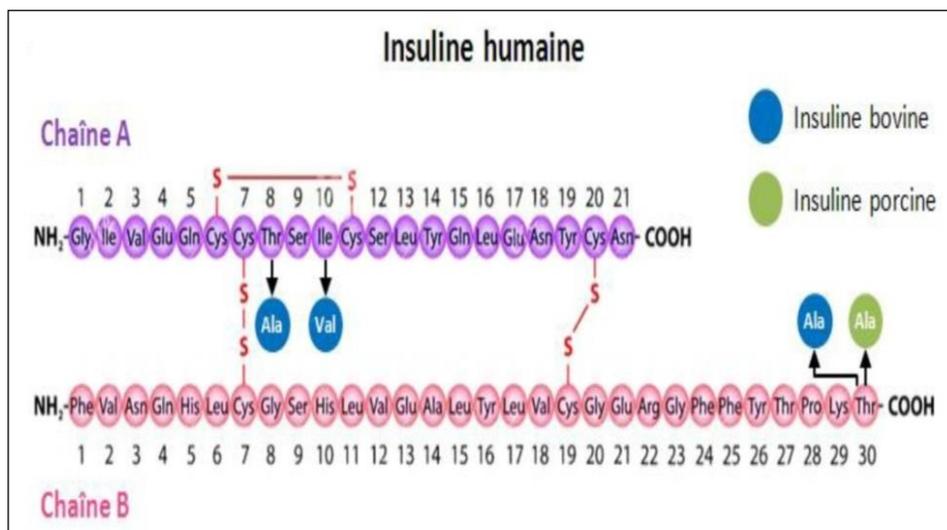
L'intestin grêle est l'organe chargé du transfert dans la circulation sanguine des nutriments essentiels issus de l'alimentation. Il a récemment été découvert que l'intestin était capable de produire du glucose par néoglucogenèse ; la production intestinale de glucose représentant 20 à 25 % de la production de glucose endogène totale pendant le jeûne (Mithieux & Gautier-Stein, 2014). Ainsi, l'intestin grêle opère une régulation hormonale de la glycémie en sécrétant des hormones peptidiques nommées incrétines lors du passage du bol

alimentaire dans le tractus intestinal. Les hormones incrétines principales sont le glucagon-like peptide-1 (GLP-1), libéré par les cellules de type L de l'iléum, et le glucose-dépendent insulintropic peptide (GIP) libéré par les cellules de type K du duodénum et du jéjunum proximal. Ces incrétines libérées dans la circulation sanguine vont préparer les cellules  $\beta$  endocrines du pancréas à l'augmentation imminente de la glycémie (Cho *et al.*, 2014). Elles ont pour effet de potentialiser la réponse sécrétoire au glucose émise par celles-ci. Le glucagon-like peptide-1 (GLP-1) agit au niveau central en augmentant la satiété et régule ainsi l'appétit (Parker *et al.*, 2014).

### 3- Régulation hormonale de la glycémie

#### 3-1- Hormone hypoglycémiante : l'insuline

L'insuline est la seule hormone hypoglycémiante. C'est une hormone polypeptidique d'un poids moléculaire de 6 kDa, composée de 2 chaînes A et B reliées par 2 ponts disulfures (Figure 3). Cette conformation résulte des modalités de sa synthèse.



**Figure 3:** Structure primaire de l'insuline humaine (Lawson- Evi, 2009)

#### 3-1-1- Production de l'insuline

L'insuline est produite par les cellules  $\beta$  des îlots de Langerhans du pancréas. Le précurseur de l'insuline (pré pro-insuline) comporte un peptide signal, qui dirige la chaîne peptidique vers le réticulum endoplasmique. Dans le réticulum apparait la pro-insuline par clivage du peptide signal et formation de ponts disulfures. Celle-ci est conduite dans l'appareil de Golgi et enveloppée dans des vésicules, les granules  $\beta$ . Dans ces granules,

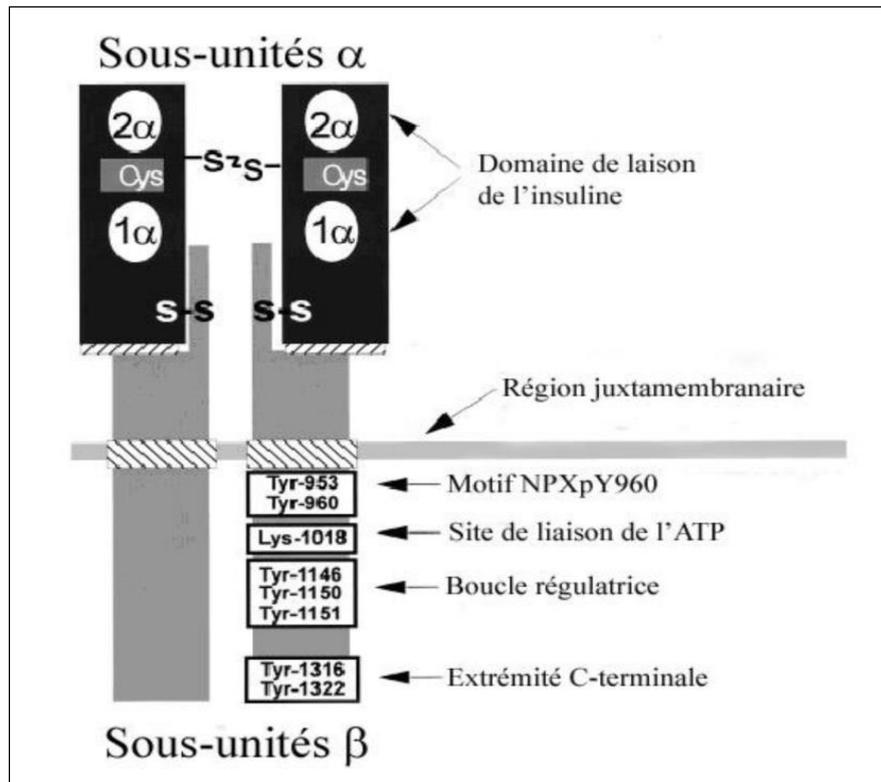
l'insuline mature est formée par élimination du peptide C et conservée jusqu'à leurs excréctions (insuline + peptide C) par exocytose. (Bouglé & Annane., 2009).

### **3-1-2- Récepteur de l'insuline**

Le récepteur de l'insuline est constitué de 4 peptides glycosylés reliés par des ponts disulfures. Ils forment une glycoprotéine de 400 kDa. On distingue deux paires de sous-unités: deux sous-unités transmembranaires  $\beta$  (80 kDa) qui ont une activité enzymatique de protéine kinase, et deux sous-unités  $\alpha$  (120 kDa) qui se retrouvent à la surface de la membrane cellulaire et assurent la fixation de l'hormone grâce à leur partie glucidique. L'ensemble des 4 sous-unités a une forme cylindrique et appartient à la famille des récepteurs à activité tyrosine kinase qui sont tous composés de plusieurs domaines fonctionnellement distincts (**Figure 4**). L'insuline active son récepteur en se liant aux sous-unités  $\alpha$  permettant une activation de la tyrosine kinase de l'une des deux sous-unités  $\beta$ , suivi d'une rapide autophosphorylation des résidus tyrosine des sous-unités transmembranaires : Tyr960 (région juxtamembranaire), Tyr1146, 1150 et 1151 (boucle régulatrice) et Tyr1316 et 1322 (extrémité C-terminale). La phosphorylation de Tyr960 est essentielle à la liaison des substrats du récepteur de l'insuline (IRS) contenant un domaine de liaison à la phosphotyrosine PTB (phosphotyrosine binding) selon le motif reconnu NPXpY960 (Capeau, 2003). Une mutation de ce résidu inhibe la phosphorylation des IRS (insuline récepteur substrat) et entraîne une absence de réponse biologique induite par l'insuline, malgré une activation normale du récepteur (Feener *et al.*, 1993) ; Les sous-unités  $\alpha$  présentent leur site de liaison avec l'insuline du côté N-terminal et le côté C-terminal sert de site de fixation du facteur de croissance insulinaire 1 (IGF1) (Kaburagi *et al.*, 1993).

### **3-1-3- Stimulation de la sécrétion de l'insuline par le glucose**

Le glucose pénètre dans la cellule  $\beta$  par l'intermédiaire d'un transporteur spécifique (GLUT-2). Il est ensuite phosphorylé en glucose-6-phosphate par la glucokinase, puis utilisé principalement par la voie de la glycolyse et de la respiration oxydative. Le métabolisme du glucose dans la cellule  $\beta$  est à l'origine d'une production d'ATP. Les taux d'ATP et d'ADP contrôlent l'ouverture du canal  $K^+$  formé de deux sous-unités. En effet, le pore, constitué par la protéine Kir6.2 (*inwardly rectifying K<sup>+</sup> channel*), est un canal composé de 4 sous-unités identiques de 45 kDa qui se ferme sous l'effet direct d'ATP et la sous-unité régulatrice. Cette dernière est constituée par la protéine SUR1 (*sulfonylurea receptor1*, protéine de 140 kDa) qui ouvre le pore en présence d'ADP (Aguilar-Bryan & Bryan, 1999).



**Figure 4:** Structure du récepteur de l'insuline (White, 2002)

La fermeture du canal  $K^+$  ATP-dépendant, provoquée par l'augmentation de la concentration d'ATP, entraîne une dépolarisation de la membrane cellulaire et l'ouverture de canaux  $Ca^{2+}$  voltage-dépendants, aboutissant finalement à l'augmentation massive de la concentration cytosolique du calcium et la stimulation de l'exocytose des granules de sécrétion d'insuline (Koster *et al.*, 2005 ; Magnan & Ktorza 2005). La libération d'insuline permet la capture du glucose sanguin excédentaire par le transporteur GLUT4 et son stockage sous forme de glycogène par l'activation de l'enzyme glycogène synthase et l'inactivation de l'enzyme glycogène phosphorylase.

### 3-1-4- Effets de l'insuline sur le métabolisme glucidique

L'insuline favorise l'entrée du glucose dans les cellules des tissus insulinosensibles. Au niveau de ces cellules cibles, l'insuline facilite la pénétration du glucose dans le cytoplasme en augmentant la perméabilité de leur membrane au moyen d'un recrutement de récepteurs GLUT4 (Madsen *et al.*, 1991). Dans le foie, l'insuline diminue la production de glucose par blocage de la synthèse d'enzymes clés de la néoglucogenèse, par diminution de la disponibilité des substrats nécessaires à cette voie (acides aminés et glycérol) et par

inhibition de la sécrétion du glucagon. Elle empêche en plus la glycogénolyse en inhibant l'enzyme glycogène phosphorylase (Bouglé& Annane, 2009).

Dans le muscle, l'insuline favorise son stockage sous forme de glycogène par induction du glycogène synthase. Il favorise également son entrée en permettant la translocation de transporteurs spécifiques du glucose (GLUT 4) depuis des vésicules intracellulaires vers la membrane plasmique et son oxydation en stimulant des enzymes de la glycolyse (Girard, 2008).

### **3-2- Hormones hyperglycémiantes**

#### **3-2-1- Glucagon**

Le glucagon est produit par les cellules  $\alpha$  des îlots de Langerhans. C'est une hormone hyperglycémiant dont les effets s'opposent à ceux de l'insuline, c'est-à-dire mobilisation des substrats énergétiques stockés dans le foie et dans le tissu adipeux. Le glucagon stimule la glycogénolyse, la néoglucogenèse hépatique et inhibe la glycogénèse. Il favorise la lipolyse et la protéolyse (Lawson-Evi, 2009).

#### **3-2-2-Adrénaline**

La sécrétion de l'adrénaline est essentiellement nerveuse (sympathique). C'est une hormone hyperglycémiant, qui agit plus par blocage d'insulino-sécrétion que par la glycogénolyse qu'elle provoque. Aux doses physiologiques, elle agit plus sur le foie que sur le muscle. Elle stimule aussi la néoglucogenèse en cas de stress et entraîne une lipolyse majeure au niveau du tissu adipeux (Lawson- Evi, 2009).

#### **3-2-3- Glucocorticoïdes**

Il s'agit du cortisol qui est sécrété par la corticosurrénale. Le cortisol stimule la néoglucogenèse au niveau du foie, diminue la consommation du glucose et augmente le catabolisme protidique (fournissant les acides aminés au foie) au niveau des tissus périphériques (Mantha & Deshaies, 2000).

#### **3-2-4- Autres hormones**

L'hormone de croissance (sécrétée par l'antéhypophyse) stimule la néoglucogenèse, la sécrétion du glucagon et entraîne une lipolyse. Les hormones thyroïdiennes ont une action hyperglycémiant beaucoup plus faible que celle des autres. Néanmoins, elles stimulent la glycogénolyse et l'absorption intestinale du glucose. L'ACTH (*Adreno-corticotrophic*

*hormone*) est une hormone hyperglycémisante. Elle stimule la sécrétion de cortisol, la lipolyse périphérique et la néoglucogenèse (Lawson- Evi, 2009).

#### **4- Régulation nerveuse de la glycémie**

##### **4-1- Innervation des îlots de Langerhans**

Les îlots de Langerhans sont densément innervés et les fibres nerveuses autonomes pénètrent très clairement le parenchyme endocrine de ces îlots pour aller connecter les cellules endocrines. Les axones parasympathiques connectent à la fois les cellules  $\alpha$  et  $\beta$ , et les fibres sympathiques innervent plutôt les cellules  $\alpha$  (**Figure 5**). Les nerfs sympathiques, partant du cerveau, innervent le ganglion cœliaque (ou para vertébral). Les nerfs sympathiques post-ganglionnaires vont ensuite connecter les îlots de Langerhans et y innervent les cellules  $\alpha$ , mais pas les cellules  $\beta$ . Les nerfs parasympathiques passent du cerveau jusqu'aux ganglions intra pancréatiques par le nerf vague principalement, puis les nerfs parasympathiques postganglionnaires passent dans les îlots de Langerhans, où ils innervent les vaisseaux sanguins et les cellules  $\alpha$  et  $\beta$  (Lebreton, 2014).

##### **4-1-1- Rôle du nerf sympathique**

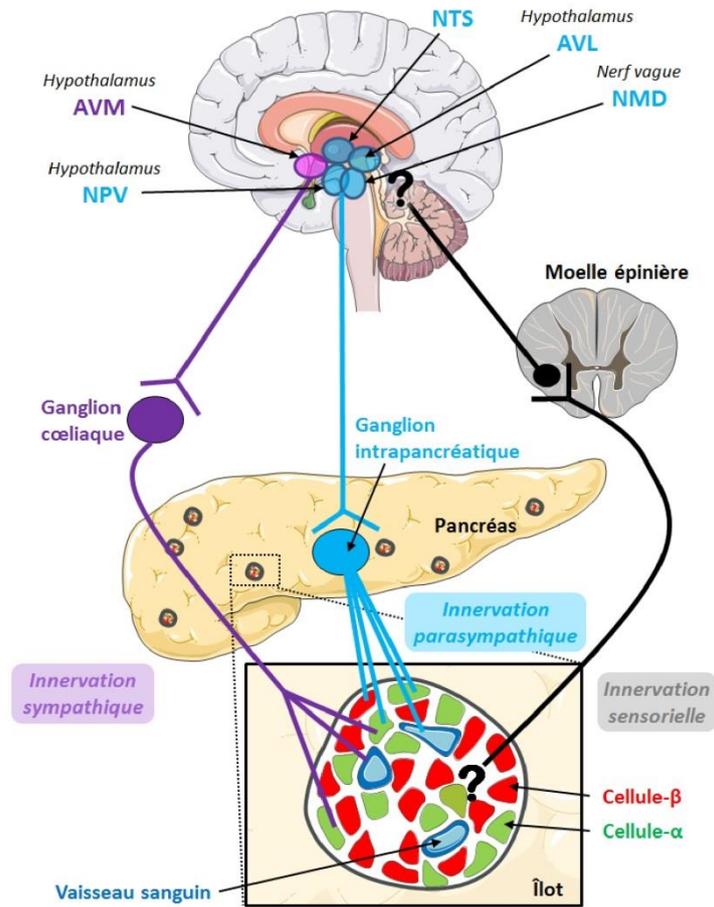
Le sympathique joue un rôle crucial lorsque la glycémie baisse soudainement. Une diminution de glucose stimule les récepteurs hormonaux et, par l'intermédiaire d'un mécanisme réflexe qui agit sur la médullosurrénale, entraîne la libération d'adrénaline (Adr) qui aura tendance à augmenter la sécrétion de glucagon et à diminuer celle de l'insuline (stimulation  $\alpha$  adrénergique) (Lawson- Evi, 2009).

L'activation du système sympathique a un effet inhibiteur sur la sécrétion d'insuline et serait impliquée dans l'adaptation de la réponse des îlots de Langerhans dans les situations de stress, que ce soit des stress métaboliques (hypoglycémie), afin de ré-augmenter la glycémie ou encore, en cas d'hypovolémie, pour compenser la perte de liquide sanguin en augmentant sa pression osmotique par une hausse de sa concentration en glucose (Lebreton, 2014).

##### **4-1-2-Rôle du nerf parasympathique**

Le parasympathique participe à la coordination des réponses hyperglycémiques et hypoglycémiques. Il intervient à la fois par son effet insulino-sécréteur et, à moindre degré, par une stimulation de la sécrétion du glucagon (Mei, 1986). En cas d'hyperglycémie, le système nerveux parasympathique (nerf vague), médié par son neurotransmetteur principal qui est l'ACh, entraîne une baisse de la glycémie. Ainsi, le système nerveux parasympathique

agit comme un synchronisateur de l'activité des îlots de Langerhans au sein du pancréas afin d'assurer une sécrétion d'insuline pulsatile dans la circulation portale (Lebreton, 2014).



**Figure 5:** Schéma de l'innervation de l'îlot par le système nerveux autonome

**DEUXIEME PARTIE :**  
**MATERIEL ET METHODES**

## II- MATERIEL ET METHODES

### 1- MATERIEL

#### 1-1- Matériel animal

Des souris albinos *Mus musculus* (Muridae), de souches parentales homogènes Swiss, pesant entre 18 g et 32 g, ont servi à la réalisation des tests de toxicité et d'étude pharmacologique sur la glycémie. Elles ont été élevées dans des conditions standard de température (29 °C), de nutrition et de pression atmosphérique (**Figure 6**).



**Figure 6:** Souris albinos *Mus musculus* de souche Swiss

#### 1-2- Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé est constitué de feuilles sèches de *Piliostigma thonningii* (Schum) Milne-Redh (Fabaceae), récoltées en février 2022 dans la commune de Daloa (Côte d'Ivoire). La plante a été identifiée à l'UFR Agroforesterie de l'Université Jean Lorougnon Guédé.

### **1-3- Matériel technique**

#### **1-3-1- Verrerie**

Le matériel de laboratoire utilisé pour la manipulation est constitué de :

- une éprouvette graduée de 1L utilisé pour mesurer la quantité d'eau distillée lors de la préparation de l'extrait aqueux de *Piliostigma thonningii* (EAPt);
- erlenmeyers de 1,5 L utilisés comme récipients pour la décoction et la filtration de l'EAPt ;
- un ballon à fond plat et des béchers de 50 mL pour faire les différentes dilutions et dissolutions ;
- entonnoirs, du coton hydrophile et du papier Wattman pour la filtration;
- une sonde à gavage pour administrer les différentes substances aux animaux par voie orale.

#### **1-3-2- Appareillage**

Il est constitué de :

- une balance électronique de précision qui a servi à mesurer le poids corporel des animaux et la quantité d'extrait sec à utiliser ;
- un electrothermal qui a permis de faire la décoction des feuilles de *Piliostigma thonningii*;
- une étuve qui a permis les échanges du filtrat ;
- un Bain-Marie ayant servi au maintien des substances à température adéquat lors de la caractérisation des composés pendant l'étude phytochimique de l'EAPt ;
- un glucomètre de marque (Accu-check, Roche diagnostics, Allemagne) pour mesurer la glycémie des souris.

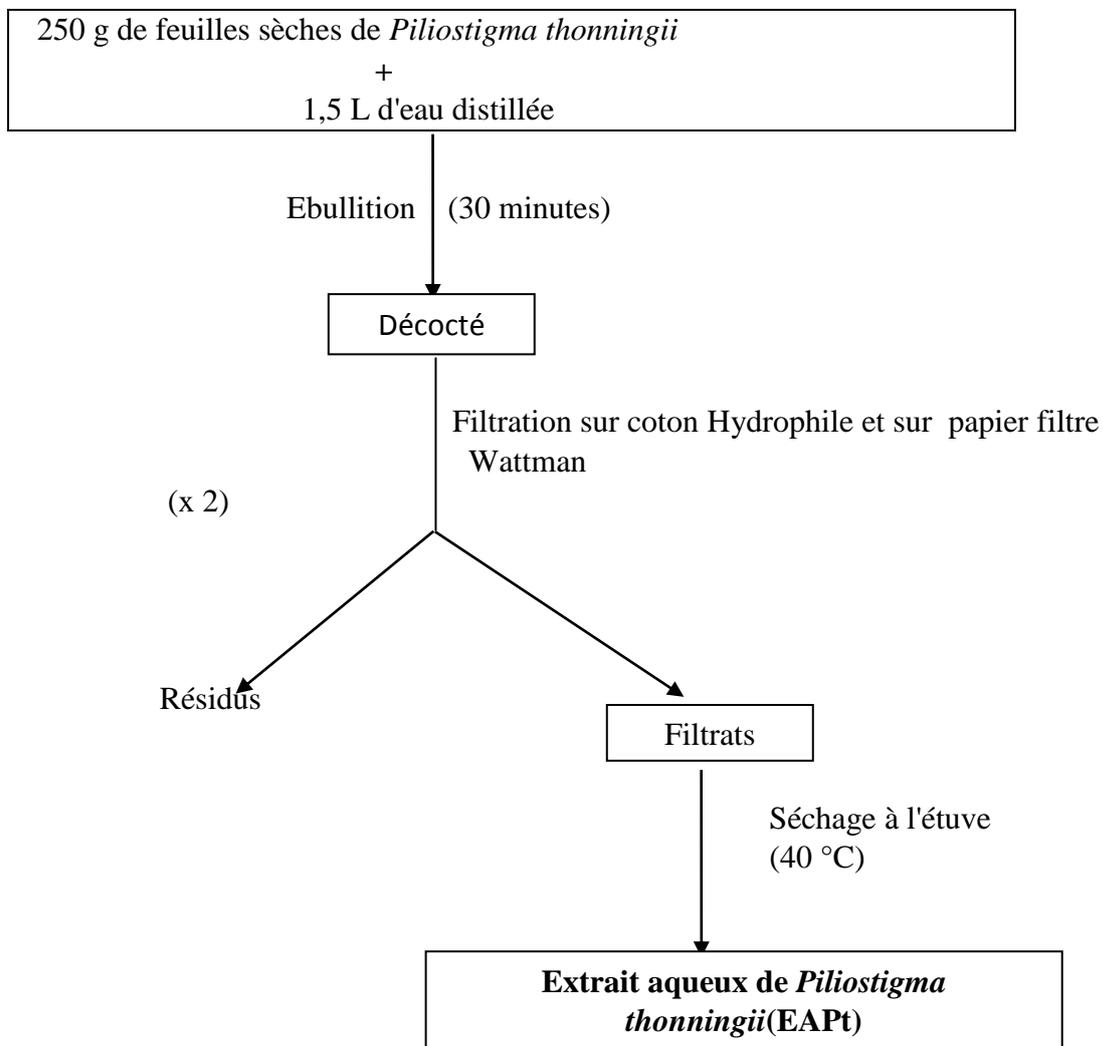
#### **1-3-3- Produits chimiques et pharmacologiques**

Il a été utilisé entre autres comme produits chimiques et pharmacologiques, le glibenclamide (sulfamide hypoglycémiant). Le glucose anhydre, des réactifs tels que les réactifs de Bouchardat, de Dragendorff, de Stiansy, le chloroforme, l'anhydride acétique, l'acide sulfurique, le chlorure ferrique, l'alcool chlorhydrique et l'alcool iso amylique. Quant au glucose anhydre, il a été utilisé pour induire une hyperglycémie provoquée par voie orale (gavage). Tandis que les réactifs précédemment cité sont été utilisés pour réaliser le tri-phytochimique.

## 2- METHODES

### 2-1- Préparation d'un extrait aqueux de *Piliostigma thonningii*

Pour la préparation d'un extrait aqueux de *Piliostigma thonningii*, une quantité de 250 g de feuilles sèches de cette plante ont été découpées en morceaux, puis portée à ébullition pendant 30 minutes dans 1,5 litre d'eau distillée. Le décocté obtenu a été filtré deux fois sur du coton hydrophile et une fois sur du papier filtre Wattman. Le filtrat recueilli a été séché à l'étuve à 40 °C pendant 72 heures après séchage, l'extrait aqueux de *Piliostigma thonningii* (EAPt) se présente sous forme de poudre. A partir de 250 g de feuilles, 19,6 g d'EAPt a été obtenue ; soit un rendement d'extraction de 7,84 %. Ce produit (EAPt) a été utilisé pour les tests de toxicité et les études pharmacologiques sur la glycémie. La préparation de cet extrait aqueux est résumée dans le diagramme de la **Figure 7**.



**Figure 7:** Schéma synoptique de l'extraction aqueuse de *Piliostigma thonningii* (Schum.)Milne-Redh (Fabaceae)

## **2-2- Etudes toxicologiques**

Des études de toxicité aiguë de l'extrait aqueux de *Piliostigma thonningii* (Schum.) Milne-Redh (Fabaceae) ont été réalisées sur des souris par gavage. Elles ont pour but de déterminer éventuellement les limites de dose à ne pas excéder dans le cadre d'une étude pharmacologique basée sur une administration unique.

## **2-3- Etude de la toxicité aiguë chez la souris par gavage**

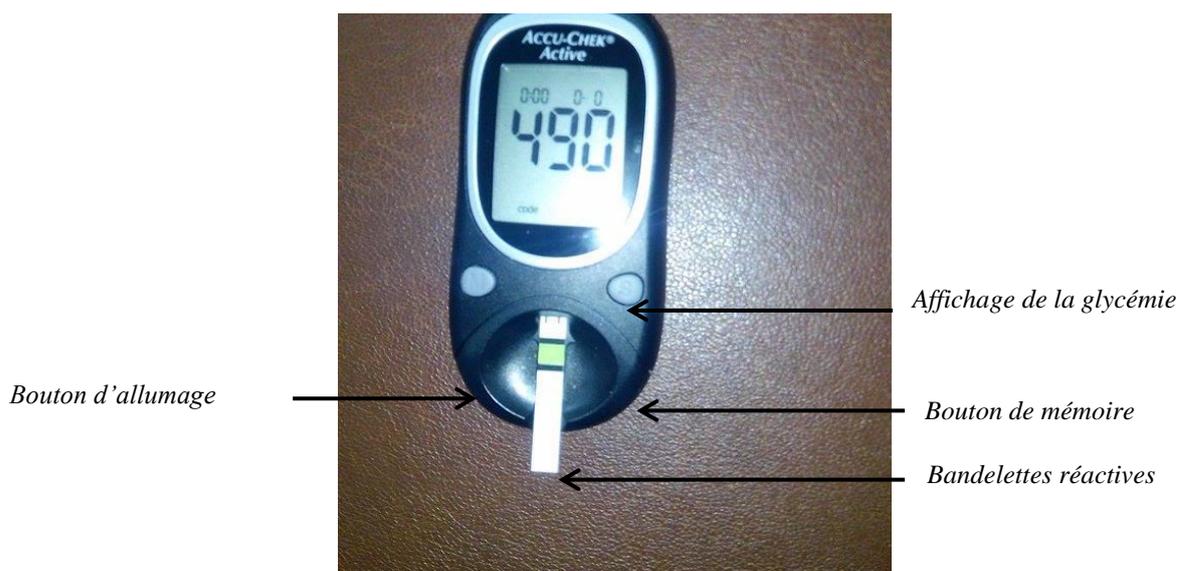
L'étude de la toxicité aiguë par voie orale a été effectuée sur 30 souris regroupées en 6 lots de 5 souris, de poids compris entre 18 et 32 g. Cette étude a été menée selon les lignes directrices de l'OCDE 423(OCDE, 2001). Chaque souris a reçu 0,2 mL d'une dose unique, évaluée en mg/Kg de poids corporel (mg/Kg PC) de la substance, avec des doses prédéfinies de 50, 300, 500, 2000 et 5000 mg/Kg PC pour 5 lots tests. Les souris du lot témoin ont reçu chacune également 0,2 mL d'eau distillée.

L'expérimentation a été conduite séquentiellement, lot par lot. D'abord le premier lot de souris a reçu la dose unique de 50 mg/Kg PC. Ensuite, ils ont été mis en observation pendant les premières 4 heures qui ont suivi le gavage, et cela durant 24 heures. Les effets sur le comportement des animaux traités ont été observés et les troubles symptomatiques ont été notés. Le nombre de souris mortes a été comptabilisé 48 heures après l'administration de la substance. L'absence de mortalité observée avec les animaux de ce premier lot a permis d'administrer la dose supérieure qui est de 300 mg/kg PC au second lot. Cette opération a été réalisée avec la dose de 500mg/kg PC, 2000mg/kg PC et 5000 mg/kg PC pour chaque lot respectif restant.

## **2-4- Etudes pharmacologiques sur la glycémie chez la souris**

### **2-4-1- Techniques de mesure de la glycémie à l'aide du glucomètre Accu-Chek**

La glycémie a été mesurée à l'aide d'un lecteur de glucose (glucomètre Accu-Chek à bandelettes réactives). Ce glucomètre renferme un orifice dans lequel a été introduite une bandelette réactive pour la lecture de la glycémie. Cette bandelette comporte une couche absorbante sur laquelle une goutte de sang a été déposée. La couche absorbante est finement poreuse ou recouverte d'une membrane sur sa face interne qui retient les globules rouges et ne laisse diffuser que le plasma vers les couches inférieures où se trouve le réactif : la glucose-oxydase associée à un chromogène. La coloration obtenue a été mesurée par réflectométrie dans le lecteur de la glycémie et la valeur de la glycémie s'est affichée sur l'écran du glucomètre (**Figure 8**). Cette valeur a été donnée en g/L (Desch, 2001).



**Figure 8:** Photographie du glucomètre Accu-Chek (Roche Diagnostics, Allemagne)

#### 2-4-2- Mesure de la glycémie chez les souris normoglycémiques

L'évaluation des effets de *Piliostigma thonningii* sur la glycémie chez les souris normoglycémiques, a été suivie à court terme durant 240 minutes (4 heures) après gavage des animaux avec différentes doses de l'extrait aqueux de feuilles de cette plante. Cette expérience a été faite sur 20 souris de souche Swiss pesant entre 18 et 32 g. Ces animaux ont été répartis en 4 lots de 5 souris et ont été initialement mis à jeun pendant 12 heures. Le poids moyen de chaque lot a été déterminé.

- Les souris du lot 1 (lot témoin) ont reçu 0,2 mL d'eau distillée.

- Les souris des lots 2, 3 et 4 (lots tests) ont reçu respectivement les doses 200 mg/Kg PC, 400 mg/Kg PC et 600 mg/Kg PC de l'extrait aqueux de *Piliostigma thonningii* (EAPt).

La glycémie chez ces souris a été mesurée à des intervalles de temps réguliers de 0, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240 minutes après. Cette méthode a consisté à déterminer l'effet-dose de l'extrait aqueux de *Piliostigma thonningii* sur la glycémie des souris normoglycémiques.

#### 2-4-3- Mesure de la glycémie chez des souris hyperglycémiques

#### 2-4-4- Mesure de la glycémie chez les souris hyperglycémiques prétraitées

Des souris normoglycémiques, de poids compris entre 18 et 32 g ont été mises à jeun 12 heures avant l'expérience. Quatre lots de 5 souris ont été constitués et le poids moyen de chaque lot a été déterminé. Ces lots de souris ont été répartis comme suit :

- le lot 1 (R-T) est le lot témoin où les souris ont reçu 0,2 mL d'eau distillée ;
- le lot 2 (R-T +) constitue le témoin positif. C'est le lot composé de souris témoins hyperglycémiques. Les souris de ce lot ont reçu de l'eau distillée et, 30 minutes après, 4 g/Kg PC de glucose anhydre ;
- le lot 3 (R-Glib) est constitué des souris qui ont reçu le glibenclamide (sulfamide hypoglycémiant oral) à la dose 5mg/Kg PC et, 30 minutes après, 4 g/Kg PC de glucose anhydre ;
- le lot 4 (R-EAPt) où les souris ont reçu 600 mg/Kg PC de l'EAPt et, 30 minutes après, 4 g/kg PC de glucose anhydre ;

L'évaluation des effets de *Piliostigma thonningii*(Fabaceae) sur la glycémie chez les souris de cette série d'expérience, a été suivie à court terme durant 240 minutes (4heures). Chez ces souris, la glycémie a été mesurée juste avant le premier gavage (0 min) ensuite à 30 min, 60 min, 90 min, 120 min, 150 min, 180 min, 210 min et 240 min après.

#### **2-4-5- Mesure de la glycémie chez les souris hyperglycémiques post- traitées**

Le protocole a été quasiment le même que celui des souris prétraitées à la différence que dans le présent cas, l'EAPt à la dose de 600 mg/Kg PC ou le glibenclamide (5 mg/Kg PC) ont été administrés 30 minutes après l'hyperglycémie induite.

#### **2-5- Mise en évidence de quelques métabolites secondaires de l'extrait aqueux de *Piliostigma thonningii***

La mise en évidence des métabolites secondaires consiste en des essais de caractérisation des grands groupes de composés chimiques contenus dans l'extrait aqueux de *Piliostigma thonningii* (Fabaceae). La détection de ces composés est basée sur le principe qu'ils induisent des réactions chimiques en présence de réactifs appropriés (Wagner & Bladt, 2001). Ces tests ont été réalisés par les techniques analytiques décrites dans les travaux de (Lazureski *et al.*, 1966). Pour ces tests, une solution de l'EAPt a été préparée en dissolvant 5 g de l'extrait dans 50 mL d'eau distillée.

##### **2-5-1- Mise en évidence des stérols et polyterpènes**

Pour mettre en évidence les stérols et les polyterpènes, un volume de 5mL de solution de l'EAPt a été évaporé à sec, sans carboniser le résidu, dans une capsule sur bain de sable. Le résidu a été ensuite dissout à chaud dans 1 mL d'anhydre acétique puis il a été ajouté avec précaution un volume de 0,5 mL d'acide sulfurique concentré le long de la paroi du tube à

essai contenant la solution. L'apparition d'un anneau pourpre ou violet virant au bleu puis au vert a indiqué une réaction positive. Un essai témoin a été réalisé avec une solution chloroformique de cholestérol.

#### **2-5-2- Mise en évidence des polyphénols**

Dans un tube à essai contenant 2 mL de solution aqueuse de l'EAPt, une goutte de solution alcoolique de chlorure ferrique à 2 % a été ajoutée. L'apparition d'une coloration bleue noirâtre ou verte a témoigné de la présence des dérivés polyphénoliques. Un essai témoin a été réalisé avec une solution alcoolique d'acide gallique.

#### **2-5-3- Mise en évidence des flavonoïdes**

Dans une capsule, un volume de 2 mL de solution aqueuse de l'EAPt a été évaporé à sec puis le résidu a été repris par 5 mL d'alcool chlorhydrique. La solution a été versée dans un tube à essai et 2 à 3 copeaux de magnésium y ont été ajoutés. La coloration rose orangée ou violacée obtenue a indiqué une réaction positive. La coloration a été comparée à celle du quercétol standard (0,05 mg/mL) traité avec la même quantité de réactif pour témoigner de la présence des flavonoïdes.

#### **2-5-4- Mise en évidence des composés quinoniques**

Le réactif de Borntraeger permet de détecter les substances quinoniques. Pour cela, un volume de 2 mL de solution aqueuse de l'EAPt a été évaporé à sec dans une capsule. Le résidu obtenu a été trituré dans 5 mL d'acide chlorhydrique puis mis au bain-Marie bouillant pendant 30 minutes. Après refroidissement, l'hydrolysât a été extrait avec 2 mL de chloroforme dans un tube à essai. Enfin, la phase chloroformique a été recueillie dans un autre tube à essai ensuite 0,5 mL d'ammoniaque dilué au demi (réactif de Borntraeger) y a été ajouté. L'apparition d'une coloration allant du rouge au violet a indiqué la présence des quinones. Un témoin a été réalisé avec de la vitamine E.

#### **2-5-5- Mise en évidence des alcaloïdes**

La caractérisation des alcaloïdes a débuté avec l'évaporation à sec de 6 mL de solution de l'EAPt dans une capsule. Le résidu a été repris par 6 mL d'alcool à 60°. La solution alcoolique obtenue a été répartie dans 2 tubes à essai. Dans le premier tube, il a été ajouté deux gouttes de réactifs de Dragendorff. L'apparition d'un précipité d'une coloration brun-rougeâtre a indiqué une réaction positive. Dans le deuxième tube, deux gouttes de réactifs de

Bouchardât ont été ajoutées. L'apparition d'un précipité d'une coloration brun-rougeâtre a indiqué une réaction positive. Dans ces deux tests, un essai témoin a été réalisé avec de la quinine.

### **2-5-6- Mise en évidence des tanins**

Il existe deux groupes de tanins :

- les tanins galliques, dérivés de l'acide gallique et combinés sous forme d'hétérosides hydrolysables ;
- les tanins catéchiques, de nature non hydrolysable, formés de polymères de catéchols sous forme condensée.

Ainsi, leur mise en évidence va se faire par deux réactions différentes :

#### **- Tanins catéchiques**

Dans ce cas, un volume de 5 mL de la solution de EAPt a été évaporé à sec dans une capsule, puis un volume de 15 mL de réactif de Stiasny (formol 30 % - HCl concentré) a été ajouté au résidu obtenu. Le mélange a été maintenu au bain-Marie à 80°C pendant 30 minutes puis refroidi. L'observation de précipité en gros flocons a caractérisé la présence de tanins catéchiques. La catéchine sert de témoin.

#### **- Tanins galliques**

La solution précédente a été filtrée à l'aide d'un papier filtre. Ensuite, de l'acétate de sodium a été ajouté au filtrat. L'addition de trois gouttes de FeCl<sub>3</sub> à 2 % a provoqué l'apparition d'une coloration bleu noire intense traduisant la présence de tanins galliques. Un essai témoin a été réalisé avec l'acide gallique.

### **3-Préparation des doses à administrer**

Pour chaque dose à administrer, une solution mère de concentration C (mg/ml) en faisant dissoudre une quantité Q (mg) de produit dans un volume V (ml) d'eau distillée tout en tenant compte du nombre d'animaux à traiter. Un volume v de la solution correspondant à la dose D (mg/kg de PC) à administrer a été calculé suivant la formule :

$$v = D \cdot P / C$$

Où P désigne le poids corporel de l'animal (kg), Le volume est ensuite prélevé avant d'être administré à l'animal à l'aide d'une sonde à gavage.

Le pourcentage d'augmentation de la glycémie sur un intervalle de temps donnée se calcule comme suite :

$$\frac{Pf - Pi}{Pi} \times 100$$

Pf = Glycémie finale

Pi = Glycémie initiale

#### 4- Traitement des résultats

Le programme informatique *GraphPad InStat* (San Diego CA, USA) a été utilisé pour l'analyse statistique des résultats. Les valeurs ont été données sous forme de moyenne suivie de l'erreur standard sur la moyenne.

La différence entre deux valeurs a été déterminée par le test de comparaison *Student-Newman-keuls*. Elle a été considérée comme non significative (ns) pour une probabilité supérieure à 5 % ( $P > 0,05$ ) ou significative : (\*) pour  $P < 0,05$  ; (\*\*) pour  $P < 0,01$  ; (\*\*\*) pour  $P < 0,001$ . Le programme informatique *GraphPad InStat* (San Diego CA, USA) a été utilisé pour tracer les courbes.

**TROISIEME PARTIE :**  
**RESULTATS ET DISCUSSION**

### **III- RESULTATS ET DISCUSSION**

#### **1- RESULTATS**

##### **1-1- Toxicité aiguë de l'extrait aqueux de *Piliostigma thonningii* administré à des souris par voie orale**

Les études toxicologiques ont consisté à déterminer chez des souris la toxicité aiguë d'un extrait aqueux de *Piliostigma thonningii* (EAPt) administré par voie orale (gavage). Ces études ont pour but d'observer les comportements symptomatologiques des souris après administration d'EAPt puis de déterminer les paramètres toxicologiques et la limite de l'innocuité de cet extrait. Cette démarche scientifique vise non seulement à prévoir les risques liés à l'administration de ce produit, mais aussi à déterminer un intervalle de doses non létales pour les études pharmacologiques ultérieures.

##### **1-1-1- Signes cliniques des souris après administration par voie orale de l'extrait aqueux de *Piliostigma thonningii***

Après administration des doses prédéfinies de 50, 300, 500, 2000 et 5000 mg/Kg de poids corporel (PC), il a été remarqué uniquement pour les doses de 2000 et 5000 mg/Kg PC dans les 20 premières minutes du gavage, que les souris se déplacent en longeant les recoins de la cage. Après cela, les animaux se déplacent normalement, s'abreuvent, puis mangent normalement. Ces observations ne sont pas faites pour les doses de 50, 300, 500 mg/Kg PC.

##### **1-1-2- Mortalité des souris après administration par voie orale de l'extrait aqueux de *Piliostigma thonningii***

L'étude de la toxicité aiguë effectuée en tenant compte des recommandations de l'OCDE (2001) a montré que l'administration de l'EAPt aux doses successives de 50, 300, 500, 2000 et 5000 mg/Kg PC n'engendre aucune mort de souris pendant toute la durée de l'expérimentation.

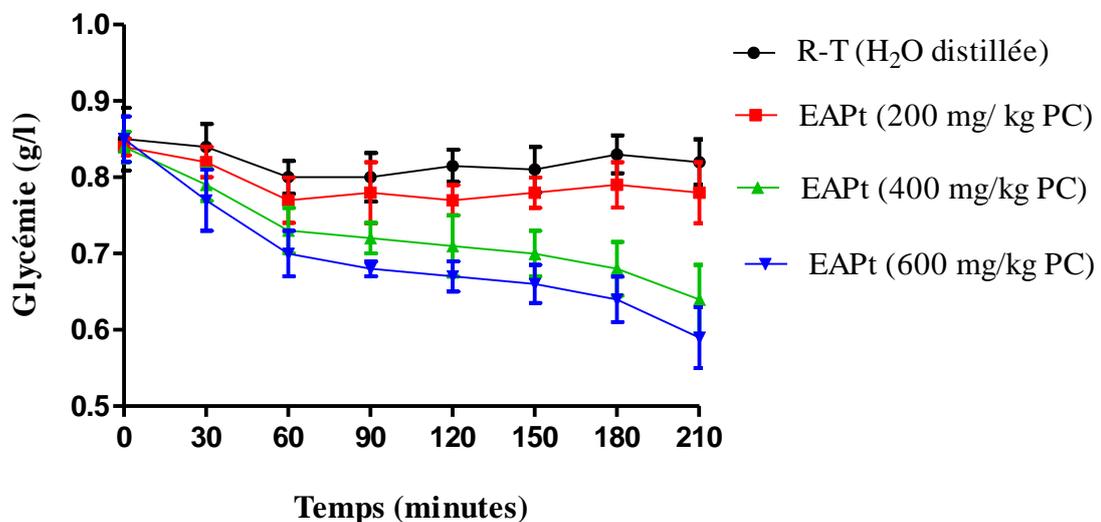
##### **1-2- Effets pharmacologiques de l'extrait aqueux de *Piliostigma thonningii* (Fabaceae) sur la glycémie de souris**

##### **1-2-1- Effets dose-réponse de l'extrait aqueux de *Piliostigma thonningii* sur la glycémie chez des souris normoglycémiques**

Les effets de l'administration par voie orale de l'extrait aqueux de *Piliostigma thonningii* (EAPt) aux doses respectives de 200, 400 et 600 mg/Kg PC sur la glycémie des souris normoglycémiques sont présentés par la **Figure 9**.

Il apparaît que la glycémie des souris témoins n'ayant reçu que de l'eau distillée ne varie pas significativement ( $P > 0,05$ ) pendant toute la durée de cette étude (210 minutes). Elle est de l'ordre de  $0,85 \pm 0,04$  g/L.

L'extrait aqueux *Piliostigma thonningii* à la dose de 200 mg/kg PC n'entraîne pas également une baisse significative ( $P > 0,05$ ) de la glycémie des souris traitées. Par contre, l'extrait aqueux de *Piliostigma thonningii* aux doses de 400 et 600 mg/Kg PC fait apparaître des baisses significatives et dose-dépendantes de la glycémie des souris traitées. En effet, avec EAPt à la dose de 400 mg/Kg PC, la baisse de la glycémie devient significative ( $P < 0,05$ ) au-delà de 60 minutes. Ainsi, 210 minutes après l'administration de l'EAPt à cette dose, la glycémie qui était initialement de  $0,85 \pm 0,04$  g/L passe à  $0,64 \pm 0,045$  g/L ; soit une baisse de la glycémie de 24,70 % ( $P < 0,01$ ). La dose de 600 mg/Kg PC de EAPt entraîne une baisse plus importante de la glycémie. En effet avec cette dose (600 mg/Kg de l'EAPt) une heure après, la glycémie initiale de  $0,84 \pm 0,05$  g/L passe déjà à  $0,7 \pm 0,04$  g/L soit une réduction de 16,66 % ( $P < 0,01$ ). Elle s'accroît avec le temps pour atteindre, par rapport à la valeur de la glycémie basale, soit une réduction de l'ordre de 29,76 % ( $P < 0,01$ ) et cela après 210 minutes.



**Figure 9** : Effets dose-réponse de l'extrait aqueux de *Piliostigma thonningii* sur la glycémie de souris normoglycémiques

Les résultats sont exprimés en moyenne  $\pm$  ESM ; (n = 5).

\*\*  $P < 0,01$  par rapport aux souris témoins (RT).

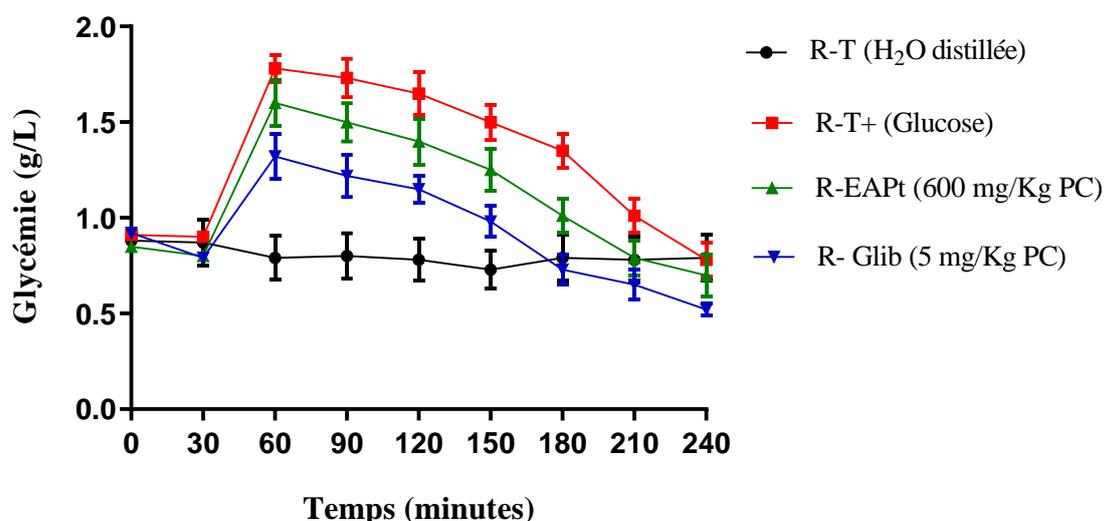
## **1-2-2- Effets de l'extrait aqueux de *Piliostigma thonningii* sur la glycémie chez des souris hyperglycémiques**

### **1-2-2-1- Variation de la glycémie chez des souris hyperglycémiques prétraitées**

Dans cette série d'expériences, 30 minutes après le traitement des souris avec EAPt à 600 mg/Kg PC ou avec le glibenclamide à 5 mg/Kg PC, il n'y a pas de variation significative ( $P > 0,05$ ) de la glycémie de ces animaux par rapport à leur glycémie basale. Pendant toute la durée de cette étude (240 minutes), la glycémie des souris témoins (n'ayant reçu que de l'eau distillée, R-T) ne varie pas significativement. Par contre, les animaux traités avec le glucose ont présenté, 30 minutes après, des pics d'hyperglycémie dont les valeurs varient selon que les animaux ont été prétraités ou non avec EAPt ou le glibenclamide. En effet, chez les souris témoins hyperglycémiques ou témoins positifs (R-T+), cette augmentation de la glycémie est de  $0,88 \pm 0,07$  g/L alors que chez celles qui ont été prétraitées avec EAPt à 600 mg/kg PC (R-EAPt) ou le glibenclamide à 5 mg/Kg PC (R-Glib), la glycémie augmente de  $0,7 \pm 0,04$  g/L et  $0,53 \pm 0,06$  g/L respectivement. Ainsi, comparativement à l'hyperglycémie induite par le glucose chez les souris témoins positifs, en présence d'EAPt ou le glibenclamide, cette hyperglycémie est réduite respectivement de 20,45 % et 39,77 %

Chez les souris qui ont reçu du glucose, après les pics hyperglycémiques, la glycémie diminue progressivement et le temps du retour à la valeur de la glycémie basale initiale varie en fonction de la substance pré-administrée ou pas.

A partir des pourcentages de réduction de l'hyperglycémie induite, il ressort que, dans le cas des animaux qui ont reçu uniquement 4 g/Kg PC de glucose (R-T+), la glycémie basale est retrouvée 210 min après l'administration du glucose. Par contre, chez les souris prétraitées avec EAPt ou avec le glibenclamide (R-Glib), la glycémie basale a été retrouvée après 210 minutes et 180 minutes respectivement et, par la suite, apparaissent des hypoglycémies de  $0,10 \pm 0,02$  et  $0,21 \pm 0,08$  g/L (**Figure 10**).



**Figure 10:** Evolution en fonction du temps de la glycémie chez des souris hyperglycémiques prétraitées avec l'extrait aqueux de *Piliostigma thonningii* ou le glibenclamide

*R-T* : souris témoins ayant reçu de l'eau distillée

*R-T +* : souris témoins hyperglycémiques ayant reçu du glucose (4 g/Kg PC)

*R-EAPt* : souris ayant reçu EAPt (600 mg/kg PC), puis du glucose (5 g/Kg PC)

*R-Glib* : souris ayant reçu le glibenclamide (5 mg/kg PC), puis du glucose (4 g/kg PC)

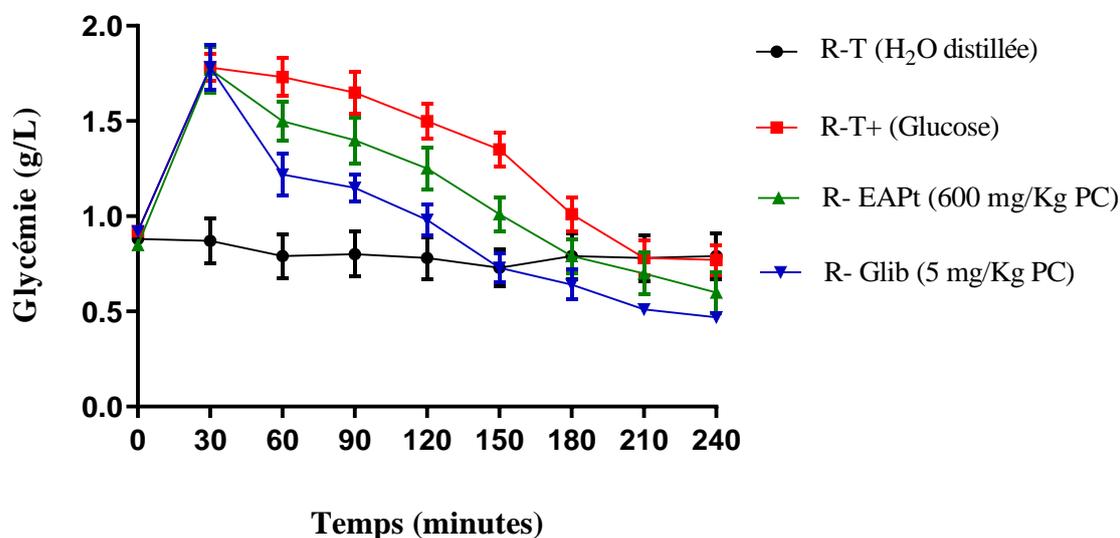
### 1-2-2-2- Variation de la glycémie chez des souris hyperglycémiques post-traitées

Les effets du traitement des souris avec EAPt à 600 mg/Kg PC ou le glibenclamide à 5 mg/kg PC, 30 minutes après l'administration de 4 g/Kg PC de glucose anhydre à ces animaux, sont présentés par la **Figure 11**.

L'administration du glucose aux souris fait apparaître, 30 min après, des pics d'hyperglycémie de l'ordre de  $0,86 \pm 0,03$  g/L. Par la suite, ces hyperglycémies diminuent progressivement jusqu'au retour aux valeurs de glycémies basales initiales. Mais, ces baisses d'hyperglycémie induites par le glucose et le temps du retour à la glycémie basale initiale sont variables selon que les souris ont reçu ou pas par la suite EAPt ou le glibenclamide.

Les pourcentages de réduction, en fonction du temps, de l'hyperglycémie induite par le glucose chez des souris post-traitées ou pas avec EAPt ou le glibenclamide ont indiqué que dans le cas des souris témoins hyperglycémiques (*R-T+*), le retour à la glycémie basale initiale est survenu 240 minutes après l'administration du glucose aux souris. Par contre, lorsque les souris ont été post-traitées avec EAPt à 600 mg/Kg PC ou le glibenclamide à 5 mg/Kg PC, le retour à la glycémie basale initiale est survenu après 180 minutes et 150

minutes respectivement après l'administration du glucose aux souris. Dans ces deux cas, il s'ensuit des hypoglycémies allant jusqu'à  $0,19 \pm 0,01$  g/L et  $0,26 \pm 0,04$  g/L respectivement jusqu'à la fin de cette expérience.



**Figure 11:** Evolution en fonction du temps de la glycémie chez des souris hyperglycémiques post-traitées avec l'extrait aqueux de *Piliostigma thonningii* ou le glibenclamide

R-T : souris témoins ayant reçu de l'eau distillée

R-T+ : souris témoins positifs (hyperglycémiques) ayant reçu du glucose (4 g/kg PC)

R-EAPt : souris ayant reçu du glucose (4 g/Kg PC), puis EAPt (600 mg/Kg PC)

R-Glib : souris ayant reçu du glucose (4 g/Kg PC), puis le glibenclamide (5 mg/Kg PC)

### 1-3- Identification des phytoconstituants de *Piliostigma thonningii*

Le screening phytochimique a permis de mettre en évidence quelques groupes de composés chimiques contenus dans l'extrait aqueux de feuilles de *Piliostigma thonningii* (EAPt) (**Tableau I**). Dans ce tableau, les tests en tubes de mise en évidence des métabolites secondaires ont révélé la présence de polyphénols, de flavonoïdes, de saponosides, d'alcaloïdes et de tanins catéchiques dans cet extrait. Par contre, des composés comme les tanins galliques, stérols et polyterpènes, composés quinoniques se caractérisent par leur absence.

**Tableau 1 : Résultats des réactions en tube pour la mise en évidence de quelques métabolites secondaires dans l'extrait aqueux de *Piliostigma thonningii***

Composés chimiques recherchés		Réactions / Réactifs	Résultats
Polyphénols		Réaction au chlorure ferrique	+
Stérols et polyterpènes		Réaction de Liebermann- Bouchard	-
Flavonoïdes		Réaction à la cyanidine	+
Saponosides		Agitation vigoureuse	+
Composés quinoniques		Réaction de Borntraeger	-
Alcaloïdes		Réactif de Dragendorff	+
		Réactif de Bouchardât	+
Tanins	catéchiques	Réactif de Stiasny	+
	galliques	Réactif à l'acide chlorhydrique	-

+ : composés détectés (tests positifs)

- : composés non détectés (tests négatifs)

## 2-DISCUSSION

L'étude de la toxicité aiguë a montré que l'EAPt administré par voie orale à la dose de 5000 mg/Kg PC n'a entraîné aucune mortalité chez les souris traitées. Selon Hodge & Sterner (1943) et Diezi (1989), les substances ayant une DL<sub>50</sub> comprise entre 50 et 500 mg/Kg PC sont toxiques et celles avec une DL<sub>50</sub> supérieure à 5000 mg/Kg sont pratiquement non toxiques. Ce qui signifierait que l'EAPt est non toxique par voie orale. De plus, à cette dose, l'extrait n'a pas entraîné de modifications importantes du comportement des souris traitées. Ces résultats sont en accord avec les travaux de Bedou (2019) qui a montré que l'extrait aqueux des fruits de *Bauhinia thonningii* administré par voie orale, n'entraînait aucune mortalité chez des souris pour des doses supérieures ou égale à 5000 mg/Kg PC. La DL<sub>50</sub> de cet extrait est donc supérieure à 5000 mg/Kg de PC. Les mêmes résultats ont été aussi obtenus par Kahou Bi (2017) qui a montré que l'extrait aqueux de *Pseudarthria hookeri* était non toxique à la dose de 5000 mg/Kg PC.

L'étude des effets pharmacologiques de l'extrait aqueux de *Piliostigma thonningii* (EAPt) administré aux doses de 400 mg/Kg PC et 600 mg/Kg PC tout comme le glibenclamide (molécule de référence) a induit une diminution hautement significative de la glycémie des souris normoglycémiques et hyperglycémiques par rapport aux souris témoins non traitées.

De même, chez les animaux rendus hyperglycémiques par administration de glucose et par la suite traités avec le glibenclamide ou avec l'EAPt, le retour de la glycémie à la normale a été plus rapide et plus prononcée, comparativement aux souris témoins hyperglycémiques. Dans ces cas, après le retour à la glycémie basale, une hypoglycémie a été observée.

Ces résultats indiqueraient que l'EAPt tout comme le glibenclamide, en plus d'être hypoglycémiant, a été une substance antihyperglycémiant, et que cet extrait pourrait également prévenir les risques d'une hyperglycémie chronique. En effet, ces résultats sont en accord avec ceux de Kahou Bi (2017) dont les travaux ont montré que l'extrait aqueux de *Pseudarthria hookeri*, aux doses de 1000mg/Kg PC et 1200 mg/Kg PC entraînait une baisse significative de la glycémie chez les rats normoglycémiques et hyperglycémiques.

Les effets antihyperglycémiant du glibenclamide peuvent s'expliquer par le fait que cette substance peut diminuer la glycémie de façon aiguë et pourrait stimuler la libération d'insuline par le pancréas. En effet, le glibenclamide, administré à jeun, stimule l'insulinosécrétion, diminue la sécrétion du glucagon, inhibe la libération hépatique du glucose et potentialise les effets de l'insuline au niveau du foie (Jackson & Bressler, 1981

Lecaque, 2011 ; Gebreyohannins *et al.*, 2014 ; Kahou Bi, 2017 ). Les effets similaires de l'EAPt et du glibenclamide sur la glycémie suggéraient que l'extrait aqueux pourrait agir par le même mécanisme que la substance anti hyperglycémique de référence utilisée. Ainsi, l'hypoglycémie et la réduction de l'hyperglycémie observées chez les souris traitées avec l'EAPt pourraient s'expliquer par une stimulation de la sécrétion de l'insuline (mécanisme résiduel) et/ou, probablement, par une augmentation de l'utilisation périphérique du glucose en présence de l'extrait. Ceci ferait de l'extrait aqueux total de *Piliostigma thonningii* un potentiel antidiabétique chez les diabétiques de type 2.

Ainsi, ces propriétés pharmacologiques seraient dues aux métabolites secondaires présents dans cet extrait. Par ailleurs, le screening phytochimique a révélé la présence dans l'extrait aqueux de *Piliostigma thonningii*, de polyphénols, les flavonoïdes, les saponosides, les alcaloïdes et les tanins catéchiques. Par contre, les tanins galliques, les composés quinoniques et les stérols et polyterpènes n'ont pas été mis en évidence dans cet extrait par les tests en tubes. Ces résultats diffèrent de ceux de Bedou (2019) dont les travaux ont révélé l'absence d'alcaloïdes dans l'extrait aqueux du fruit de *Baunia thonningii*. Ces différences pourraient s'expliquer par le fait que les conditions de récoltes, les conditions de vie du spécimen et même les procédés d'extraction soient différents. En effet, selon plusieurs auteurs, la composition chimique d'une essence végétale peut varier en fonction des conditions environnementales, des saisons de récolte, de la méthode de séchage, du stade de maturité des organes utilisés et de la méthode d'extraction (Iqbal & Bangher, 2005 ; Sreelatha & Padma, 2009 ; Sultana *et al.*, 2009).

Ainsi, la présence d'alcaloïdes, de flavonoïdes et de tanins constitueraient un indicateur important d'une activité hypoglycémiant ou antidiabétique probable de cet extrait. En effet, des travaux ont indiqué que ces métabolites secondaires seraient doués de cette activité (Guerci *et al.*, 2001). En effet, d'autres travaux ont montré que les flavonoïdes peuvent prévenir le diabète en inhibant l'alcalose réductase (Tringali, 2001 ; Huang *et al.*, 2004 ; Raccah, 2004). Les alcaloïdes possèdent plusieurs applications pharmaceutiques chez l'être humain. La vincamine est un alcaloïde indolique reconnue pour ses propriétés vasodilatatrices et hypoglycémiantes (Pamplona, 2001). Les travaux de Kim (1999) ont mis en évidence l'inhibition de l' $\alpha$ -glucosidase par les alcaloïdes. Par ailleurs, l'hypoglycémie est plus prononcée lorsque des composées de types flavonoïdes et alcaloïdes agissent de façon synergique (Kim *et al.*, 2006 ; Sy *et al.*, 2008).

## **CONCLUSION ET PERSPECTIVES**

## CONCLUSION ET PERSPECTIVES

La présente étude vise à prouver scientifiquement les potentiels effets pharmacologiques sur la glycémie d'un extrait aqueux de *Piliostigma thonningii* (EAPt).

Les études de toxicité aiguë ont révélé que l'EAPt est non toxique à la dose de 5000 mg/Kg PC lorsqu'il est administré par voie orale. Aussi, les résultats des effets pharmacologiques de l'EAPt sur la glycémie montrent que cet extrait possède des propriétés hypoglycémiantes et antihyperglycémiantes chez les souris. Par ailleurs, le screening phytochimique a mis en évidence la présence de polyphénols, de flavonoïdes, d'alcaloïdes, de saponosides, de tanins catéchiques dans l'EAPt. Ces métabolites secondaires seraient responsables des effets pharmacologiques observés lors de l'administration de cet extrait (400 mg/Kg PC et 600 mg/Kg PC) aux souris. Les propriétés hypoglycémiantes et antihyperglycémiantes de l'extrait justifieraient l'utilisation de cette plante par les tradithérapeutes dans le traitement du diabète. Mais avant cela, des études complémentaires sont nécessaires.

Ainsi, il sera ultérieurement envisagé de :

- tester cet extrait par voie intrapéritonéale afin de savoir sa tolérance par cette voie et de faire une étude comparée avec l'administration par la voie orale ;
- tester l'EAPt sur le diabète induit expérimentalement chez les rats par la streptozotocine ou chez les lapins par l'alloxane ;
- réaliser des fractionnements bio-guidés pour mettre en évidence la ou les fractions bioactives de l'extrait total ;
- identifier les composés bioactifs issus du fractionnement de l'extrait total et élucider leur mécanisme d'action.

## **REFERENCES**

#### IV-REFERENCES

- 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.
- Aguilar-Bryan L., Bryan J.(1999). Molecular biology of adenosine triphosphate-sensitive potassium channels. *Endocrine Reviews*,20 : 101-135.
- Agostini S., Garçon S., Durieux O., Guénat R., Peretti R. (2005).Aspects du pancréas normal, variantes et malformations, *Journal Radiologie*, 86 : 719-732.
- Arbonnier M. (2000). Arbres, arbuste et lianes des zones sèches l'Afrique d- l'Ouest cirad/mnhn/uicn, 541p.
- Andreelli A.A., Ajagbonna O.P., Adeleke T.I. & Bello S.O.(2009). Preliminary toxicity and phytochemical studies of the stem bark aqueous extract of *Musanga cecropioides* in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 105: 374-379
- 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.
- 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 medicinal plants used in treatment of diabète. *The Journal of Phytopharmacology*, 6(1): 45-52.
- 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.
- 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*,552 p.
- Bedou K D.(2019).Evaluation de l'activité inhibitrice des fruits de *Bauhinia thonningii* (Fabaceae) sur deux glycosidases et essai de traitement du diabete chez le rat wistar. Thèse de Doctorat de l'Université Félix Houphouët-Boigny (Abidjan, Cote d'Ivoire) 131p.
- Berhaut J. (1975). *Flore Illustrée du Sénégal, Dicotylédones, tome III, Connaracées à Euphorbiacées*. Sénégal. Gouvernement du Sénégal Ministère du développement 625p.
- Bouglé A., Annane D. (2009). Les effets de l'insuline : de la cellule à l'organisme entier, *Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation*,28 : 193-199.

- Capeau J. (2003). Voies de signalisation de l'insuline : mécanismes affectés dans l'insulinorésistance. *Medecine / Sciences*, 19 : 834-839.
- Carillon E.(2000). - La phytothérapie face à l'évolution médicale. *European Scientific Journal*, 10-15.
- 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 (FerloNord Sénégal). *Journal of Applied Biosciences*, 98(0): 9301 – 9308.
- Cho Y. M., Fujita Y., Kieffer T. J.(2014). "Glucagon-like peptide-1: glucose homeostasis and beyond." *Annual Review Physiology*, 76:535-559.
- Claude-Bernard.(1853).Recherche sur une nouvelle fonction du foie considéré comme organe producteur de matière sucrée chez l'homme et les animaux. *Thèse de Doctorat de Zoologie de la Faculté des Sciences de Paris (France)*, 99 p.
- Desch G.(2001). Aspects biochimiques et analytiques du diagnostic et de la surveillance du diabète : imagerie fonctionnelle et métabolique. *Médecine Nucléaire*, 25(2)61-72.
- Diezi J.(1989). Toxicologie: principes de base et répercussions cliniques. In : Pharmacologie des concepts fondamentaux aux applications thérapeutiques, Schorderet M., Slatkine-Genève, 33-44.
- Feener E., Backer J., King G., Wilden P., Sun X., Kahn B., White M. (1993). Insulin stimulates serine and tyrosine phosphorylation in the juxtamembrane region of the insulin receptor. *Biological Chemistry*, 268: 11256-11264.
- Andreelli F, Girard J. (2009). «Régulation de l'homéostasie glucidique,» chez *Traité de Diabétologie (tome 1), chapter (2), Métabolisme énergétique et physiologie*, In Grimaldi, 2009, pp. 22 - 40.
- Gebreyohannis T., Shibeshi W., Asres K.(2014). Effects of Solvent Fractions of *Caylusea abyssinica* (Fresen.) Fisch. & Mey. on Blood Glucose Levels of Normoglycemic, Glucose Loaded and Streptozotocin-induced Diabetic Rodents. *Journal of Natural Remedies*, 14 : 67-75.
- Girard J.(2008).Les actions physiologiques de l'insuline, *Médecine des maladies Métaboliques*, 2 : 124-129.
- Guerci B., Bohme P., Kearney-Schwartz A., Zannad F. et Drouin P. (2001). Endothelial dysfunction and type 2 diabetes. *Diabetes Metabolism*, 27: 436-447.
- Hodge H.C. & Sterner J.H.(1943). Détermination of substance acute toxicity by LD50. *American Industrial Hygiene Association*, 10: 93-96.

- Huang D. J, Lin C. D, Chen H. J, Lin Y. H.(2004). Antioxidant and antiproliferative activities of sweet potato (*Ipomoea batatas* [L.] Lam ‘Tainong 57’) constituents. *Botanical Bulletin- Academia Sinica*, 45 : 179-186.
- IDF. (2017). Atlas du diabete, 8ème édition Available from atlas@idf.org www.diabetesatlas.org. Consulté le 22-05-2017.
- Ibewuike 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.
- Iqbal J. & Hussein M. M. (2005). Evidence for multiple complementary path ways for efficient cholesterol absorption in mice. *The Journal of Lipids Resources*, 46: 1491-1501.
- Jackson J. E. et Bressler R., 1981. Clinical pharmacology of sulphonylurea hypoglycemic agents. Part I. *DRUG*; 212 : 211-245.
- Kaburagi Y., Momomura K., Yamamoto-Honda R., Tobe K., Tamori Y., Sakura H., Akanuma Y., Yazaki Y., Kadowaki T.(1993). Site-directed mutagenesis of the juxtamembrane domain of the human insulin receptor. *The Journal of Biological Chemistry*,268: 16610-16622.
- Kahou Bi G. P. (2017). Etudes toxicologiques, phytochimiques et effets pharmacologiques d’un extrait aqueux de *Pseudarthria hookeri* (Fabaceae) chez les rats sains et chez les rats diabétiques. Thèse de Doctorat Unique en Physiologie Animale, Phytothérapie et Pharmacologie. Université Félix Houphouët-Boigny de Cocody (Abidjan, Côte d’Ivoire), 165p.
- 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.
- Kerharo J. & Bouquet A.(1950). Plantes médicinales et toxiques de la Côte-d'Ivoire et de la Haute-Volta. In *Vigot frères*, Paris, France, 22p.
- Kim H., (1999).  $\alpha$ -glucosidase inhibitor from *Commelina communis*. *Biosciences Biotechnology*,65 : 437-439.
- Kim S. H., Hyun S. H., Choung S. Y. (2006). Anti-diabetic effect of cinnamon extract on blood glucose in db/db mice. *Journal of Ethnopharmacology*,104(1–2) : 119-123.
- Koster J., Permutt M., Nichols C.(2005). Perspectives in diabetes: diabetes and insulin secretion the ATP-sensitive K-channel (KATP) connection. *Diabetes*,54: 3065-3072.

- Laguesse E.(1984). Sur la formation des îlots de Langerhans dans le pancréas. Comptes rendus des séances de la société de biologie et de ses filiales, Paris (France), 46 : 819-820
- Lazureski G. V., Terenteva I. V. et Chamchurin A. A.(1966).Practiceskii raboti po khimii soedinienii. *Edition Vischaya Chkola, Moscou* (Russie), 334 p.
- Lawson-Evi P.(2009).Evaluation pharmacologique et toxicologique des extraits de *Phyllanthus amarus* Schum & Thonn (Euphorbiaceae), une plante à activité antidiabétique. Thèse de Doctorat de Biologie de Développement, option : Physiologie/ Pharmacologie de l'Université de Lomé (Togo), 133 p.
- Lebreton F.(2014). Signaux électriques des îlots pancréatiques enregistrés sur matrices de microélectrodes : caractérisation et application au phénotype d'animaux transgéniques. Thèse de Doctorat de Biologie Cellulaire et Physiopathologie de l'Université de Bordeaux (France), 222 p.
- Lecaque J. (2011). Place de pharmacien d'officine dans les campagnes de dépistage du diabète de type 2 et dans l'éducation thérapeutique de patient diabétique. Thèse de Doctorat en Pharmacie. Université Henri Poincare-Nancy I (Paris, France),128p.
- Madara A.A., Tijani A.Y. & Nandi E.P.(2012). Antiplasmodial activityof ethanolic root bark extract of *Piliostigma thonningii* Schum. (*Caesalpinaceae*) in mice infected with *Plasmodium berghei*,4: 62- 67.
- Madsen N. B.(1991). Glycogen phosphorylase and glycogen synthase in Kuby. *A study of Enzymes*,2:139-158.
- Magnan C. et Ktorza A.(2005). Production et sécrétion de l'insuline par la cellule  $\beta$  pancréatique. *EMC-Endocrinologie*,2: 241–264.
- Maydell V.H.J.(1983). Arbres et arbustes du Sahel, leurs caractéristiques et leurs utilisations. GTZ, 532 p.
- Mantha L., Deshaies Y.(2000). Energy intake-independent modulation of triglyceride metabolism by glucocorticoids in the rat. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*; 278: R1424–R1432.
- Mei N.(1986). Rôle du système nerveux autonome dans la régulation du transit, de l'absorption et du stockage des nutriments. *Reproduction Nutrition Development*,26:1151-1162.
- Miller L. C., Tainter M. C.(1944).Estimation of LD<sub>50</sub> and its Error by means of logarithmic-Probit Graph Paper. *Proceedings of Experimental Biology*, 57: 261-264.

- Mithieux G., Gautier-Stein A.(2014). "Intestinal glucose metabolism revisited." *Diabetes Research and Clinical Practice*, 105(3): 295-301.
- Ouedraogo C. R. N.(2006). Evaluation des rendements et des attaques parasitaires et fongiques des fruits de quelques espèces locales (*Parkia biglobosa*, (Jacq.)). Mémoire de fin d'étude IDR/UPB, 66p.
- Parker H. E., Gribble F. M., Riemann F.(2014). The role of gut endocrine cells in control of metabolism and appetite. *Experimental Physiology*,99(9): 1116-1120.
- Petersen M. C. & Shulman G. I. (2018). Mechanism of insulin action and insulin resistance. *Physiol. Rev.*, 98: 2133-2223.
- Pamplona R G.(2001). Guide des plantes médicinales.Vol.2, Bibliothèque, *Education et Santé*, Madrid, Paris : 585-719.
- Raccach D. (2004). Epidémiologie et physiopathologie des complications dégénératives du diabète sucré. *Encyclopédie Médico Chirurgicale-Endocrinologie*, 1 : 29-42.
- Röder B. Wu Y. Liu et W. Han.(2016). «Pancreatic regulation of glucose homeostasis.» *Experimental & molecular medicine*, 48(13), 219 p.
- 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.
- Shrayyef M. Z., Gerich J.(2010). Normal Glucose Homeostasis. Principles of Diabetes Mellitus. *Leoni,Poretsky, Springer*: 19-35.
- Skim F., Lazrek B.H., El Amri H., Kaaya A., Jana M. (1998). Toxicological studies on *Globularia alypum* and *Zygophyllum gaetulum* in rats. *Phytoterapy Research*,12:592-594.
- Sreelatha S., Padma P. R. (2009). Antioxydant activities and total phenolic content of *Moringa olifera* leaves in two stages of maturity. *Plant.The Food Humain Nutritonal*,64: 303-311.
- Sultana B. Anwar F. & Ashraf M. (2009). Effects of extraction solvent technique onthe antioxydant activity of selected medicinal plant extracts. *Molecule.*, 14: 2167-2180.
- Sy-Gy., Faye F. S., Wele A., Gueye P. M., Gueye C. D., Cissé A., Diaye A. M., Bassene E., Faye B.(2008).Activité antihyperglycémiant de la fraction F2 de l'extrait total acétonique des feuilles de *Vernonia colorata* (Composeae). *Pharmacopée et Médecine Traditionnelle Africaines*,15 : 6-10.
- Tringali C.(2001). Bioactive Compounds from Natural Sources: Isolation Characterization and Biological Properties. *Taylor &Francis*,36 : 339-367.

- Wagner H. et Blatt S., 2001. Plant drug analysis. A thin layer chromatography atlas. 2<sup>ème</sup> édition, *springer (ed), Berlin, heidelberg, Allemagne* ; 384 p
- White M F.(2002). IRS proteins and the common path to diabetes. *American Journal of Physiology, Endocrinology and Metabolism*,283: E413-E422.
- WHO.(2003). The WHO STE Wise approach to Surveillance of communicable diseases (STEPS). In communicable Diseases and Mental Health. *World Heath Organization, 20 Avenue Appia 1211 Geneva 27, Switzerland*,50 p.

## RÉSUMÉ

Le présent travail vise à évaluer la toxicité aiguë orale et l'activité antihyperglycémique de l'extrait aqueux des feuilles de *Piliostigma tonninghii*. Ainsi, après une étude phytochimique de l'extrait, 2 lots de souris ont servi à l'étude toxicologique, les lots 1 et 2 ont reçu respectivement de l'eau distillée et 5000 mg/kg de PC de l'extrait par voie orale. Quant à l'évaluation de l'activité antihyperglycémique, un test sur l'effet dose-réponse a été effectué sur 5 lots de 5 souris normoglycémiques. Le lot 1 témoin a reçu de l'eau distillée, le lot 2 a reçu du glibenclamide à la dose de 5 mg/kg de PC, les lots 3 à 5 ont reçu les doses de 200, 400 et 600 mg/kg de PC de l'EAPt, et la glycémie des animaux a été relevée avant administration, puis de 30 min, 1h, jusqu'à 4h après administration des différentes substances. Ensuite, l'effet antihyperglycémique a été évalué par prétraitement puis par un post-traitement avec administration des substances pharmacologiques aux doses de 400 et 600 mg/Kg de PC pendant 4 heures de temps sur 4 lots de 5 souris. Les résultats ont montré que l'extrait aqueux des feuilles de *piliostigma thonningii* n'était pas toxique par gavage à la dose de 5000 mg/Kg de PC; Aussi les résultats des effets pharmacologiques de l'EAPt sur la glycémie ont montré que cet extrait possédait des propriétés hypoglycémiques et antihyperglycémiques aux doses de 400 et 600 mg/Kg de PC chez les souris. Par ailleurs, le screening phytochimique a mis en évidence la présence de polyphénols, les alcaloïdes, les saponosides, les flavonoïdes, les tanins catéchiques, les polyterpènes et les stérols. Ces métabolites secondaires seraient responsables des effets pharmacologiques observés lors de l'administration de cet extrait aux souris. Les propriétés hypoglycémiques et antihyperglycémiques de l'extrait justifieraient l'utilisation de cette plante par les tradithérapeutes dans le traitement du diabète.

**Mots clés:** toxicité, glycémie, antihyperglycémique, souris

## ABSTRACT

The present work aims to evaluate the acute oral toxicity and the antihyperglycemic activity of the aqueous extract of the leaves of *Piliostigma tonninghii*. Thus, after a phytochemical study of the extract, 2 batches of mice were used for the toxicological study, batches 1 and 2 received respectively distilled water and 5000 mg/kg of BW of the extract orally. As regards the evaluation of the antihyperglycemic activity, a test on the dose-response effect was carried out on 5 batches of 5 normoglycemic mice. Control lot 1 received distilled water, lot 2 received glibenclamide at a dose of 5 mg/kg of BW, lots 3 to 5 received doses of 200, 400 and 600 mg/kg BW of EAPt, and the glycemia of the animals was recorded before administration, then from 30 min, 1 hour, up to 4 hours after administration of the various substances. Then, the antihyperglycemic effect was evaluated by pretreatment and then by post-treatment with administration of pharmacological substances at doses of 400 and 600 mg/Kg of BW for 4 hours in 4 groups of 5 mice. The results showed that the aqueous extract of the leaves of *piliostigma thonningii* was not toxic by gavage at a dose of 5000 mg/Kg of BW; Also the results of the pharmacological effects of EAPt on glycaemia showed that this extract had hypoglycemic and antihyperglycemic properties at doses of 400 and 600 mg/Kg of BW in mice. In addition, the phytochemical screening revealed the presence of polyphenols, alkaloids, saponosides, flavonoids, catechic tannins, polyterpenes and sterols. These secondary metabolites are responsible for the pharmacological effects observed when this extract is administered to mice. The hypoglycemic and antihyperglycemic properties of the extract justify the use of this plant by traditional therapists in the treatment of diabetes.

**Key Words:** Toxicity, Blood Sugar, Antihyperglycemic, Mouse