



Original Paper

<http://ajol.info/index.php/ijbcs>

<http://indexmedicus.afro.who.int>

Effet de l'extrait aqueux de l'écorce de tige de *Anthocleista djalensis* A. Chev (Gentianaceae) sur la glycémie des lapins

Ehoulé KROA^{1*}, Stéphane Koffi DOH³, Yves Niabith SOKO⁴, Kevin Sylvestre YOHO², Omer Jean-Jacques Déassio KOULAI¹, Moussa GBOGBO¹, Koffi N'GUESSAN³, Joseph AKA⁵ et Dinard KOUASSI²

¹Programme Nationale de Promotion de la Médecine Traditionnelle, BPV 16 Abidjan, Côte d'Ivoire.

²Laboratoire de Biologie et de Recherche Médicale, Institut National de Santé Publique, BP V 47 Abidjan, Côte d'Ivoire.

³Laboratoire de Botanique, UFR Biosciences, Université Félix Houphouët Boigny BP V 34 Abidjan, Côte d'Ivoire.

⁴Laboratoire de Nutrition, Institut National de Santé Publique BP V 47 Abidjan, Côte d'Ivoire.

⁵Département d'Epidémiologie et Biostatistique, UFR Sciences Médicales, Université Félix Houphouët Boigny BP V 34 Abidjan, Côte d'Ivoire.

*Auteur correspondant ; E-mail: ekroa2002@yahoo.fr; Tel: 225 01 16 30 01

RESUME

En Côte d'Ivoire, le diabète sucré est un problème majeur de santé publique avec une prévalence estimée à 9,6%. Les remèdes à base de plantes constituent une alternative thérapeutique pour la prise en charge de cette pathologie. Parmi les phytomédicaments les plus utilisés pour le traitement du diabète, figure l'extrait aqueux des écorces de tige de *Anthocleista djalensis*. L'objectif de l'étude était de rechercher l'effet hypoglycémiant de l'extrait aqueux des écorces de tige de *Anthocleista djalensis* chez le lapin. Ainsi, l'effet hypoglycémiant de l'extrait aqueux a été mis en évidence par voie orale chez les lapins normoglycémiques et rendus hyperglycémiques en comparaison avec un lot témoin et un lot de référence sous glibenclamide. Au total, vingt quatre (24) lapins répartis en 8 lots de 3 ont été utilisés durant quatre heures d'expérimentation. Les résultats ont mis en évidence les propriétés hypoglycémiantes de l'extrait aqueux des écorces de tige de *Anthocleista djalensis* à la concentration de 2500 mg/kg de poids corporel (p.c) chez les lapins traités. Toutefois, l'évaluation de l'effet hypoglycémiant sur une période d'expérimentation plus longue et l'étude de son innocuité sont à envisager.

© 2016 International Formulae Group. All rights reserved.

Mots clés : Extrait aqueux, *Anthocleista djalensis*, hypoglycémiant, diabète.

Effect of the aqueous extract of *Anthocleista djalensis* A. Chev (Gentianaceae) stem bark on the glycaemia of rabbits

ABSTRACT

In Côte d'Ivoire, diabetes mellitus is a major public health problem with an estimated prevalence of 9.6%. Herbal remedies constitute a therapeutic alternative for the treatment of this pathology. Among phytomedicines commonly used for the treatment of diabetes, the aqueous extract of the stem bark of

Anthocleista djalonenensis was described. The hypoglycemic effect of the aqueous extract was demonstrated by the oral route in normoglycemic and hyperglycemic rabbits in comparison with a control group and a batch of reference under glibenclamide. A total of twenty four (24) rabbits divided into eight batches of 3 were used for four hours of experimentation. The results showed the hypoglycemic properties of the aqueous extract of the stem bark *Anthocleista djalonenensis* at a concentration of 2500 mg/kg.p.c in the treated rabbits. However, the evaluation of the hypoglycemic effect over a longer period of experimentation and study of its safety are considered.

© 2016 International Formulae Group. All rights reserved.

Keywords: Aqueous extract, hypoglycemic effect, *Anthocleista djalonenensis*, diabetes.

INTRODUCTION

Le diabète sucré est une pathologie chronique insidieuse dont l'évolution se fait avec acuité. Selon les estimations de l'OMS (2010), sa prévalence mondiale était de 9% chez les adultes ayant au moins 18 ans avec 1,5 millions de décès dans plus de 80% des pays à revenu faible ou intermédiaire. En Côte d'Ivoire, cette maladie chronique non transmissible fait des ravages, avec 1000 nouveaux cas dépistés par an. La Fédération Internationale du Diabète (FID) estimait en 2014 en Côte d'Ivoire, la prévalence du diabète sucré à 9,6%. En médecine moderne, malgré les progrès réalisés pour prévenir la survenue de complications, le coût financier de ces traitements reste élevé les rendant inaccessibles à la majorité des patients dans les pays en développement. Par ailleurs, des thérapeutiques traditionnelles ayant des propriétés pharmacologiques méconnues sont de plus en plus proposées aux diabétiques. C'est dans ce cadre que s'inscrit cette étude dont l'objectif est d'évaluer l'effet hypoglycémiant de l'extrait aqueux des écorces de tige de *Anthocleista djalonenensis* (Gentianaceae) chez des lapins.

MATERIEL ET MÉTHODES

Matériel végétal et préparation de l'extrait total aqueux

Les écorces de tige de *Anthocleista djalonenensis* ont été collectées au marché de Port-bouët 2 dans la commune de Yopougon (District d'Abidjan). L'extrait brut a été obtenu à partir du décocté d'écorces de tiges de *Anthocleista djalonenensis* codifiée EETAD.

Pour obtenir le décocté aqueux, 1000 g d'écorces fraîches rincées à l'eau, ont été portées à ébullition dans 6000 ml d'eau durant 45 min. Le décocté obtenu a été filtré deux fois sur du coton hydrophile puis sur papier Whatman 3 mm. Le filtrat a été ensuite concentré au rotavapor puis séché à l'étuve à 60 °C. Au bout de 2 jours, les cristaux obtenus ont été pulvérisés en une fine poudre qui représentait l'extrait aqueux. La poudre a été conservée au réfrigérateur.

Animaux utilisés

Vingt quatre (24) lapins de l'espèce *Oryctolagus cuniculus* (Leporidae) ont été utilisés pour l'étude. Ils ont été acclimatés dans des cages métalliques pendant cinq jours avant le début des expérimentations. Ils étaient âgés de 6 à 10 semaines avec une masse corporelle comprise entre 1000 et 1800 g. Leurs nourritures étaient constituées de granulés avec de l'eau de robinet à volonté. La température ambiante du laboratoire était de 27 ± 2 °C et une photopériode de 12 heures sur 24 heures. Ces animaux ont été traités selon les bonnes pratiques de laboratoire (OCDE, 1998).

Répartition des animaux par lot

Les lapins ont été répartis en 8 lots de 3 lapins chacun de la façon suivante :

Lot témoin 1 : lapins en normoglycémie traités avec de l'eau distillée;

Lot témoin 2 : lapins en hyperglycémie ;

Lot référence 3: lapins en normoglycémie traités avec le glibenclamide à 250 mg/kg.p.c ;
Lot référence 4: lapins en hyperglycémie traités avec le glibenclamide à 250 mg/kg.p.c ;
Lot test 5: lapins en normoglycémie traités à 2500 mg/kg.p.c d'extrait (*A. djalensis*) ;
Lot test 6: lapins en hyperglycémie traités à 25 mg/kg.p.c d'extrait (*A. djalensis*) ;
Lot test 7: lapins en hyperglycémie traités à 250 mg/kg.p.c d'extrait (*A. djalensis*) ;
Lot test 8: lapins en hyperglycémie traités à 2500 mg/kg.p.c d'extrait (*A. djalensis*).
Le choix des différentes doses ont été faites conformément aux normes OCDE qui recommandent que les doses à administrer soient comprises entre 5 et 5000 mg de poids corporel.

Induction de l'état d'hyperglycémie

L'hyperglycémie provoquée par voie orale chez les lapins a été réalisée avec du glucose anhydre en solution à la concentration de 4 g.l⁻¹ grâce à une canule d'intubation (Kwashié et al. 1998; Gharras et al. 1999). Des lapins à jeun, depuis 12h ont été utilisés pour les tests (Kadja, 1998; Djédjé, 2002). L'administration du glucose s'est faite à raison de 0,2 ml de glucose pour 20 g de poids corporel soit 10 mg/kg.p.c. Seuls les lots 2, 4, 6, 7, 8 ont reçu du glucose au temps T₀ après détermination de la glycémie initiale à jeun.

Prélèvement sanguin

Le sang des lapins a été prélevé à travers la veine marginale de l'oreille à intervalle régulier d'une heure sur une période de quatre heures, au moyen d'épicrâniennes adaptées. Pour chaque prélèvement, 3 ml de sang ont été recueillis dans des tubes à hémolyse contenant un anticoagulant (oxalate et fluorure de sodium). Une heure avant l'administration de l'extrait aqueux de *Anthocleista djalensis* et de la molécule de référence, le sang des animaux a été prélevé pour la détermination de la glycémie initiale. Dans l'ensemble, 5 prélèvements ont été réalisés sur chaque animal durant 4 heures d'expérimentation.

Détermination de la glycémie

La glycémie a été déterminée par la méthode enzymatique au glucose oxydase décrite par Tietz (1987). La lecture des densités optiques s'est faite à l'aide d'un spectrophotomètre de marque KENZA.

Analyses statistiques

Les données relatives à l'étude de la glycémie des lapins ont été soumises à une analyse de variance à mesures répétées. Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne accompagnée d'écart-type. L'écart entre les valeurs appariées est obtenu à l'aide du test de Student Newman-Keuls. Le logiciel utilisé pour le traitement des données est Statistica 6.0. L'analyse de variance est significative lorsque la probabilité (p) est inférieure à la probabilité théorique au risque $\alpha = 5\%$.

RÉSULTATS

Effet du glibenclamide et du phytomédicament à 2500 mg/kg.p.c sur la glycémie de base des lapins

La Figure 1 montre l'évolution de la glycémie dans les groupes de lapins normoglycémiques traités avec le glibenclamide (lapins du lot 3) et avec l'extrait EETAD (lapins du lot 5) comparativement aux valeurs observées chez les lapins normoglycémiques traités avec l'eau distillée. Les résultats ont indiqué que la glycémie des lapins normoglycémiques traités avec le glibenclamide et avec l'extrait EETAD baisse progressivement respectivement de 1,15 à 0,8 g.l⁻¹ et de 1,17 g.l⁻¹ à 1 g.l⁻¹. La baisse est de l'ordre de 30,43% avec le glibenclamide contre 14,53% avec l'extrait EETAD.

Le produit de référence exerce un effet hypoglycémiant significatif ($p < 0,05$) sur la glycémie de base à partir du temps T₂ jusqu'à la fin des expérimentations sur les lapins par rapport au lot témoin normoglycémique (lot 1).

L'administration de l'extrait EETAD n'a pas entraîné une baisse significative ($p > 0,05$) de la glycémie de base comparativement aux valeurs observées chez les témoins du lot 1.

Evolution de la glycémie après la surcharge en glucose

La Figure 2 indique l'effet du glibenclamide et de l'extrait aqueux des écorces de tige de *Anthocleista djalensis* sur l'hyperglycémie induite par la surcharge de glucose chez les lapins. D'une manière générale, un pic hyperglycémique a été observé dans l'ensemble des lots traités avec le glucose au temps T1.

La molécule de référence à la concentration de 250 mg/kg.p.c, a entraîné un effet hypoglycémiant significatif ($p < 0,001$) après son administration jusqu'au temps T4 comparativement aux valeurs observées chez les témoins du lot 2.

L'extrait aqueux à la concentration de 25 mg/kg.p.c n'a pas provoqué d'effets hypoglycémiant significatifs ($p > 0,05$) chez les lapins du lot 6 comparativement au lot témoin 2. L'administration de l'extrait aqueux à la concentration de 250 mg/kg.p.c n'a pas provoqué une baisse immédiate de la glycémie chez les lapins du lot 7 comparativement au lot témoin 2. A la concentration de 2500 mg/kg.p.c, l'extrait aqueux a provoqué aux temps T3 et T4, un retour à la glycémie de base. Un effet hypoglycémiant a donc été observé chez les lapins du lot 8 par rapport aux témoins du lot 2. Les résultats ont montré que l'extrait aqueux, à la concentration de 2500 mg/kg.p.c a entraîné une baisse de l'hyperglycémie de 1,23 g.l⁻¹ à 0,98 g.l⁻¹ soit 20,49% contre 1,24 g.l⁻¹ à 0,72 g.l⁻¹ soit 41,93% pour la molécule de référence.

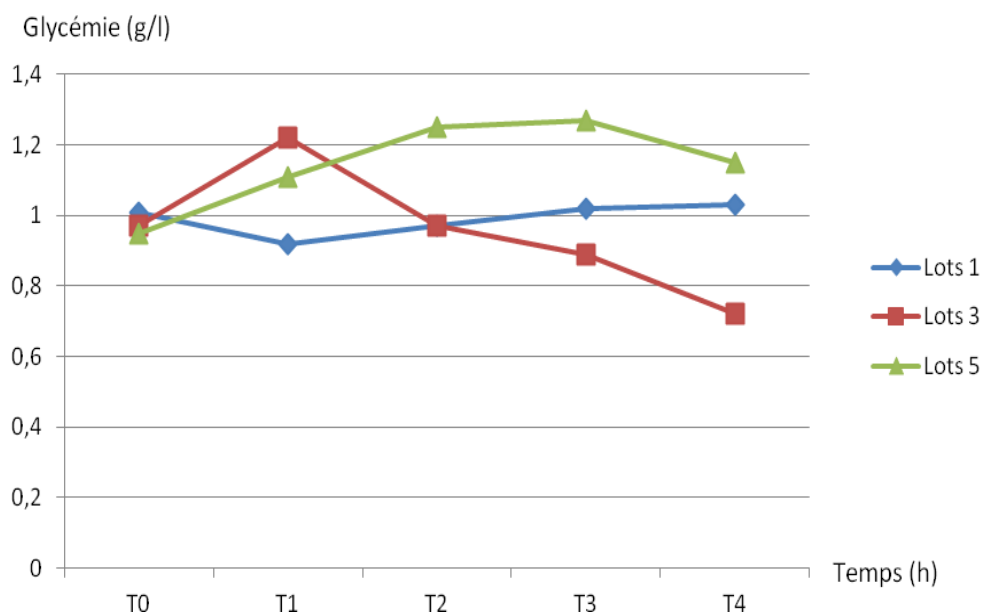


Figure 1: Effets de l'EETAD et du glibenclamide sur l'évolution de la glycémie de base des lapins.

Lot témoin 1: lapins en normoglycémie traités avec de l'eau distillée.

Lot référence 3: lapins en normoglycémie traités avec le glibenclamide à 250 mg/kg.p.c

Lot test 5: lapins en normoglycémie traités à 2500 mg /kg.p.c d'extrait (*A. djalensis*).

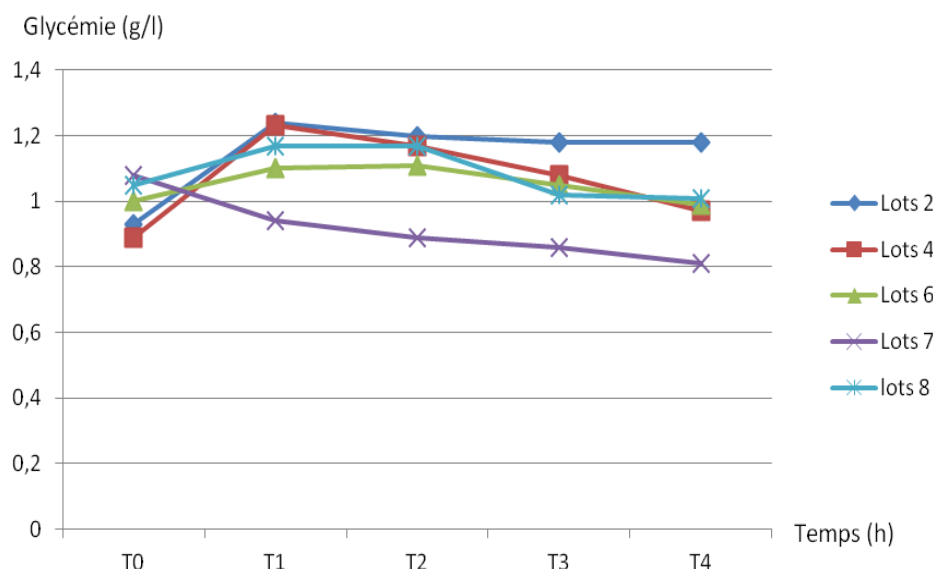


Figure 2: Effets de l'EETAD et du glibenclamide sur l'évolution de la glycémie chez des lapins en hyperglycémie.

Lot témoin 2 : lapins en hyperglycémie.

Lot référence 4: lapins en hyperglycémie traités avec le glibenclamide à 250 mg/kg.p.c

Lot test 6: lapins en hyperglycémie traités à 250 mg/kg.p.c d'extrait (*A. djalensis*).

Lot test 7: lapins en hyperglycémie traités à 250 mg/kg.p.c d'extrait (*A. djalensis*).

Lot test 8: lapins en hyperglycémie traités à 2500 mg/kg.p.c d'extrait (*A. djalensis*).

DISCUSSION

Le traitement non insulinique du diabète utilise des hypoglycémisants du type des sulfamides, des biguanides et les inhibiteurs des alpha-glucosidases. L'effet des sulfamides auxquelles appartient le glibenclamide est bien connu (Kwashié et al. 1998). L'extrait EETAD n'a pas provoqué une baisse significative ($p > 0,05$) de la glycémie de base chez les lapins normoglycémiques. Ces résultats sont semblables à ceux obtenus par Badila et al. (2007). En effet, ces auteurs ont montré que l'extrait aqueux des feuilles de *Rauvolfia vomitoria*, administré par voie orale aux doses de 400, 800 et 1200 mg.kg⁻¹ de poids corporel, n'entraîne aucune baisse significative de la glycémie des rats normoglycémiques, contrairement au tolbutamide, substance hypoglycémisante de référence utilisée dans cette étude.

Donc, à la concentration de 2500 mg/kg.p.c, l'extrait total aqueux des écorces de tige de *Anthocleista djalensis* n'aurait pas d'effet hypoglycémiant significatif chez le lapin normoglycémique.

Le glibenclamide exerce un effet hypoglycémiant, en accord avec les résultats de Gharras et al. 1999. La fixation du glibenclamide sur son récepteur membranaire favorise l'entrée du glucose dans la cellule, prévenant ainsi l'accumulation du glucose dans le sang, ce qui explique la réduction de l'hyperglycémie observée. Le glibenclamide induit un effet hypoglycémiant significatif 1 heure après son administration chez le lapin en surcharge de glucose. Toutes fois, la valeur observée reste supérieure à la valeur normale de la glycémie au bout de 4 heures d'expérimentation. Ces observations confortent bien les résultats de certains auteurs (Thomas et al., 1995) qui ont

démontré que la demi-vie plasmatique du glibenclamide se situe entre 5 et 6 heures après administration aigüe.

L'extrait aqueux aux concentrations de 25 et 250 mg /kg.p.c, n'a pas provoqué d'effet hypoglycémiant significatif. L'extrait aux faibles concentrations, n'aurait pas donc d'activité hypoglycémiant soutenue. Ces résultats ne corroborent pas ceux obtenus par Okokon et al., 2012 qui ont démontré au cours de leur étude que, l'administration de l'extrait éthanolique des racines de *Anthocleista djalensis* aux doses allant de 37 à 111 mg/kg de poids corporel entraîne une baisse significative de l'hyperglycémie induite par l'alloxane. Au regard de ces résultats, on pourrait affirmer que l'activité hypoglycémiant des extraits de *Anthocleista djalensis* serait liée au choix du solvant d'extraction et de l'organe végétal utilisé.

Toutefois, à la concentration de 250 mg/kg.p.c, l'extrait aqueux a provoqué un retour à la valeur initiale de la glycémie chez les lapins en hyperglycémie aux temps T3 et T4. Ce résultat suggérerait qu'à forte dose, l'extrait aqueux des écorces de tige de *Anthocleista djalensis* entraîne une normalisation de l'hyperglycémie induite. Ainsi, la réduction de l'hyperglycémie observée chez les lapins traités avec la forte concentration de l'extrait aqueux pourraient s'expliquer par une stimulation de la sécrétion de l'insuline par le pancréas (Magnan et Ktorza, 2005) et/ou, probablement, par une augmentation de l'utilisation périphérique du glucose en présence de l'extrait (Yasodha et al., 2008).

Conclusion

L'extrait aqueux des écorces de tige de *Anthocleista djalensis* exerce à la concentration de 2500 mg/kg.p.c, une activité hypoglycémiant. Des études ultérieures d'évaluation du niveau d'efficacité, de l'innocuité et du mécanisme d'action à des concentrations plus élevées sur une longue période seraient nécessaires.

CONFLITS D'INTERET

Les auteurs déclarent qu'ils n'ont aucun conflit d'intérêts.

CONTRIBUTION DES AUTEURS

SKD, MG et KN ont permis l'identification du matériel végétal au Laboratoire de Botanique. DK, KSY et YNS ont réalisé les glycémies au sein du Laboratoire de Biologie. Les analyses statistiques ont été effectuées par JA. Ces auteurs ont tous contribué à la préparation de cette publication.

REMERCIEMENTS

Nous adressons nos remerciements aux laboratoires de Nutrition, de Biologie et de recherche médicale de l'Institut National de Santé publique ; au laboratoire de Botanique de l'Unité de Formation et de Recherche (UFR) de Biosciences et au Département d'Epidémiologie et Bio-statistique de l'UFR de Médecine pour leur assistance technique et conseils.

REFERENCES

- Badila C, Diatewa M, Ngoma Mouanda HL, Ampa R, Abena AA. 2007. Evaluation des propriétés hypoglycémiant et antihyperglycémiant de l'extrait aqueux des feuilles de *Rauwolfia vomitoria* chez le rat. *Annales de l'Université Marien NGOUABI*, **8**(4): 88-93.
- Bosede MA, Oyelola BO. 2013. Antihyperglycaemic and antihyperproteinaemic activities of extracts of *Picralima nitida* seed and *Tapinanthus bangwensis* leaf on Alloxan-induced diabetic rabbits. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, **3**(4): 1125-1131. <http://www.issr-journals.org/ijias/>, IJIAS-13-156-17.
- Djédjé H. 2002. Etude prospective pour la réduction et la stabilisation de la glycémie chez le Lapin diabétique, par DIACODA, une substance de source végétale. Diplôme d'Etudes Approfondies de

- Biotechnologie. Université de Cocody-Abidjan, U.F.R. Biosciences, Laboratoire de Biochimie, 5-31.
- Gentilini M. 1993. *Médecine Tropicale*. Edition Flammarion : Paris ; 928p.
- Gharras L, Hmamouchi M, Lamnouar D, Bengoumi M. 1999. Etude comparative de l'effet hypoglycémiant de six plantes de la pharmacopée traditionnelle marocaine. *Revue Médecine et Pharmacie Afrique*, **13**: 71-80.
- Hobou DRAC. 2013. Etude phytochimique et évaluation de l'activité pharmacodynamique de *Stachytarpheta indica* (Verbenaceae), une plante utilisée en médecine traditionnelle, dans le traitement du diabète. Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie. Université de Cocody-Abidjan (Côte-d'Ivoire), U.F.R. des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Laboratoire de Pharmacognosie, Botanique et Cryptogamie, 81 p.
- Kadja B. 1998. Evolution de quelques paramètres de diagnostic diabétique au cours d'un essai thérapeutique par un phytomédicament (DIACODA). Diplôme d'Etudes Approfondies, 15-30.
- Kwashié EG, Kodjo A, Messanvi G. 1998. Effet de *Sterospermum kunthianum* et *Oxynanthera abyssinica* sur la glycémie. *Revue de Médecines et Pharmacopées Africaines*, **12** : 89-98.
- Magnan C., Ktorza A., (2005). Production et sécrétion de l'insuline par la cellule β pancréatique. *EMC-Endocrinologie* ; **2** : 241-264.
- N'Guessan K, Fofié NBY, Kouassi KH. 2011a. Effect of aqueous extract of *Boerhavia diffusa* leaves on the glycaemia of rabbits. *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology*, **2**(3): 330-338.
- N'Guessan K, Fofié NBY, Zirihi GN. 2011b. Effect of aqueous extract of *Terminalia catappa* leaves on the glycaemia of rabbits. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, **1** (8): 59-64. ISSN 2231-3354
- OCDE 1998. Série sur les principes de bonnes pratiques de laboratoire et vérification du respect de ces principes. ENV/MC/CHEM **17** : 22-23.
- Okokon JE, Antia BS, Udobang JA. 2012. Antidiabetic activities of ethanolic extract and fraction of *Anthocleista djalensis*. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.*, **2**(6): 461-464. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S2221-1691\(12\)60076-8](http://dx.doi.org/10.1016/S2221-1691(12)60076-8)
- Oga ASS, Tebi A, Aka J, Adouéni KV, Malan KA, Kouadio LP, Lokrou A. 2006. Le diabète sucré diagnostiqué en Côte d'Ivoire: des particularités épidémiologiques. *Med. Trop.*, **66**: 241-246. ISSN: 0025-682X
- Paris L, Amarnath MS. 2004. Antidiabetic activity of *Boerhavia diffusa* L.: effect on hepatic key enzymes in experimental diabetes. *Journal of Ethnopharmacology*, **91**: 109-113. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2003.12.013>
- Thomas PM, Cote GJ, Wohllk N. 1995. Mutations in the sulfonylurea receptor gene in familial persistent hyperinsulinemic hypoglycemia of infancy. *Science*, **268**: 426 - 429.
- World Health Organization. Geneva. 2014. Global Health Estimates: Deaths by Cause, Age, Sex and Country to 2000-2012.
- World Health Organization. Geneva. 2014. Global status report on non-communicable diseases 2014.
- Yasodha KJ, Jayaveera KN, Ravindra RK, Rupesh K, Raghavendra D. 2008. Anti-diabetic activity of aqueous extract of *Tali-num cuncifolium* in rats. *Pharmacology on line*, **2** : 198-206. ISSN: 1857 - 7431.