

Evaluation des activités antihyperglycémiantes et antihyperglycémique de l'extrait hydroéthanolique des écorces de *Bauhinia rufescens* (caesalpiniaaceae)

DOUPA D.^{1,2*}, SÉRIGNE S. S.^{1,3}, DIA DG¹, DIA AD¹, SARR A³, RAMDE-TIENDREBEOGO A.⁴, SENE M⁵, SECK S. M.^{1,2}, FALL A. D.^{2,3}.

¹ Service de Biochimie UFR des sciences de la santé/UGB-Saint-Louis.

² IRL-3189 Environnement, Santé, Société Côte d'Ivoire.

³ Service de Pharmacognosie UCAD/Dakar.

⁴ Service de Biochimie/Burkina-Faso.

⁵ Service de Pharmacologie UCAD/Dakar.

Date de réception : 01 Mars 2024 ; Date de révision : 24 Juin 2024 ; Date d'acceptation : 14 Juillet 2024.

Résumé :

L'objectif de cette présente étude était d'évaluer l'effet sur le glucose sanguin de l'extrait hydroéthanolique (EHA) des écorces de *Bauhinia rufescens*. Cet extrait obtenu a été caractérisé au plan phytochimique et testé chez des rats normoglycémiques, par un test de tolérance au glucose et chez des rats rendus hyperglycémiques. La caractérisation phytochimique a révélé la présence de flavonoïdes, de tanins et de saponosides. L'EHA est sans effet sur la glycémie de base des rats normoglycémiques ($0,82 \pm 0,10$ g/L vs $0,70 \pm 0,08$ g/L) et ($0,77 \pm 0,11$ vs $0,75 \pm 0,06$ g/L) respectivement aux doses de 100 mg/kg et 300 mg/kg per os. Toutefois, il est antihyperglycémiant non dose-dépendant sur un test de tolérance au glucose. En effet, aux doses de 100 mg/kg et 300 mg/kg per os de l'EHA, le pic hyperglycémique après administration de glucose (4 g/kg, per os) était respectivement $0,74 \pm 0,07$ g/L à 1,20 g/L et $0,75 \pm 0,04$ g/L à $1,24 \pm 0,4$ g/L. L'EHA est antihyperglycémiant sur un modèle de diabète induit par l'alloxane. En effet, à la dose de 100 mg/kg per os, le glucose sanguin, au bout de huit (08) jours d'observation, était de $3,05 \pm 0,41$ g/L à J0 à $1,22 \pm 0,04$ g/L à J8. L'effet antihyperglycémiant de l'EHA pourrait être lié à la présence des flavonoïdes dans l'extrait. Un fractionnement bioguidé par l'utilisation des techniques fines pourrait conduire à l'obtention d'un phytomédicament.

Mots clés : *Bauhinia rufescens*, flavonoïdes, glucose sanguin, hyperglycémie chronique.

Evaluation of antihyperglycemic activity of hydroethanolic extract of *Bauhinia rufescens* bark (caesalpiniaaceae)

Abstract:

The objective of this study was to evaluate the effect on blood glucose of the total hydro-ethanolic extract of *Bauhinia rufescens* bark. The obtained hydro-alcoholic extract (HAE) was phytochemically characterized and tested in normoglycemic rats, on a glucose tolerance test and in type 2 diabetic rats. Phytochemical characterization revealed the presence of flavonoids, tannins and saponosides. HEA has no effect on baseline blood glucose in normoglycemic rats (0.82 ± 0.10 vs 0.70 ± 0.08 g/L) and (0.77 ± 0.11 vs 0.75 ± 0.06 g/L) at doses of 100 mg/kg and 300 mg/kg per os, respectively. However, it is dose-dependent anti-hyperglycemic on a glucose tolerance test. Indeed, at doses of 100 and 300 mg/kg per os of EHA, the hyperglycemic peak after glucose administration (4 g/kg, per os) was respectively 0.74 ± 0.07 at 1.20 g/L and 0.75 ± 0.04 at 1.24 ± 0.4 g/L. EHA is antihyperglycemic on a model of diabetes induced by alloxane. Indeed, at the dose of 100 mg/kg per os, blood glucose, after eight (08) days of treatment, was 3.05 ± 0.41 g/L at J0 to 1.22 ± 0.04 g/L at J8. The anti-hyperglycemic effect of HAE may be related to the presence of flavonoids in the extract. Bioguided fractionation by the use of fine techniques could lead to a phyto-medicine

Key words: *Bauhinia rufescens*, flavonoids, blood glucose, chronic hyperglycemia.

Introduction

Le diabète sucré est une maladie métabolique caractérisée par une hyperglycémie chronique résultant d'un défaut de la sécrétion de l'insuline ou de l'action de l'insuline ou de ces deux anomalies associées (Rodier et al., 2001). L'hyperglycémie chronique est associée à long terme à des complications organiques spécifiques touchant particulièrement les yeux, les reins, les nerfs, le cœur et les vaisseaux (Droin et al., 1999). Le diabète est confirmé par une glycémie à jeun supérieure ou égale à 1,26 g/L (7 mmol/L) après deux dosages glycémiques consécutifs ; ou une glycémie aléatoire supérieure ou égale à 2 g/L

(13 mmol/L) (Raguso et al., 2008). Selon les projections de l'Organisation mondiale de la santé (OMS), la population diabétique devrait atteindre 300 millions ou plus d'ici 2025 (Boyle et al., 2002).

Pour sa prise en charge, l'insulinothérapie qui concerne surtout le diabète de type 1, consiste en un traitement conventionnel qui implique une thérapie de remplacement nécessitant une administration d'insuline exogène.

La voie injectable, qu'elle soit intramusculaire, intradermique ou sous-cutanée, s'est très tôt imposée en tant que voie d'administration par

(*) Correspondance : Doupa D. ; e-mail : dominique.doupa@ugb.edu.sn ; tél. : (+221) 776490562

excellence.

A ce jour, le protocole thérapeutique de la quasi-totalité des diabétiques de type 1 repose sur trois ou quatre injections sous-cutanées par jour auxquelles il faut ajouter les autocontrôles de glycémie capillaire, ce qui représente au total 12 à 15 piqûres par jour en particulier dans le cadre d'une insulinothérapie fonctionnelle (Becquemin et al., 2008). Afin d'améliorer le confort des malades diabétiques insulino-requérants et les dispenser de cette voie d'administration par injection qui s'avère traumatisante, d'autres voies ont été explorées et de nouvelles perspectives thérapeutiques envisagées (Diouf et al., 2015). Les thérapies actuellement disponibles pour le diabète comprennent en plus de l'insuline divers agents antidiabétiques oraux tels que les sulfonylurées, les biguanides, les inhibiteurs de l' α -glucosidase, les glinides, qui sont utilisés en monothérapie ou en association pour obtenir une meilleure régulation glycémique surtout dans le diabète de type 2. Beaucoup de ces antidiabétiques oraux peuvent provoquer des effets indésirables graves (Zhang et al., 2000), poussant bon nombre de patients à s'orienter vers une médecine dite d'alternative basée sur l'utilisation d'extraits de plantes. Ainsi, plusieurs espèces de plantes ont été décrites comme ayant des propriétés antidiabétiques (Sy et al., 2005). En effet, l'utilisation d'extraits de plantes pour traiter

le diabète est une pratique courante dans la médecine traditionnelle africaine (Sy et al., 2005).

Selon l'Organisation Mondiale de la santé (OMS), près de 80 % des populations des pays en voie de développement de la région Afrique ont eu recours au moins une fois à la médecine traditionnelle (Mubanga et al., 2017).

Au Sénégal, plusieurs extraits de plantes présentant des propriétés antidiabétiques sont utilisés en médecine traditionnelle dans le traitement du diabète de type 2 (Sow et al., 2018). C'est dans ce contexte que nous sommes intéressés aux plantes médicinales décrites comme ayant des propriétés antidiabétiques. Notre étude portera sur une plante médicinale retrouvée au Sénégal connue sous le nom de *Bauhinia rufescens* Lam dont le nom vernaculaire au Sénégal est « RAND » en wolof.

Notre étude avait pour objectif général d'étudier l'activité antihyperglycémique de l'extrait total alcoolique des écorces de *Bauhinia rufescens* avec comme objectifs spécifiques :

- préparer l'extrait l'hydroalcoolique des écorces de *Bauhinia rufescens*
- caractériser le profil phytochimique de l'extrait total
- évaluer l'extrait total sur divers modèles d'étude de l'hyperglycémie

Matériel et Méthodes

1. Matériel

1.1. Matériel végétal

Les écorces de *B. rufescens* (*Caesalpinaceae*) ont été récoltées au nord du Sénégal dans la zone de reboisement de la grande muraille verte au courant du mois de Décembre 2022. Une identification (5373, Flora of Sénégal) des écorces récoltées a été réalisée au laboratoire de Pharmacognosie et Botanique de la FMPO de l'UCAD selon les caractéristiques botaniques des plantes. Les écorces ont été séchées au laboratoire de Pharmacologie, à l'ombre et à la température ambiante de 25°C pendant deux semaines. Elles ont été ensuite pulvérisées à l'aide d'un broyeur électrique de type *Brabender*®. Une poudre de couleur ocre rougeâtre d'odeur caractéristique de la plante a été obtenue.

1.2. Matériel animal

Des rats mâles de souche *Wistar* ont été utilisés. Ils ont été élevés à l'animalerie du laboratoire de Pharmacologie à la température de 25°C et nourris à l'aliment Poulette des moulins SENTENAC de Dakar et ont eu accès à l'eau libre contenue dans des biberons conçus à cet effet. Les expériences ont été réalisées chez des rats

adultes, de poids compris entre 200 g et 225 g. L'âge moyen des rats est de 8 mois avec des extrêmes allant de 0-6 mois.

Considérations éthiques :

Les principes éthiques ont été de mise tout au long du déroulement de cette étude

2. Méthodes

2.1. Extraction

La poudre des écorces de *B. rufescens* (50 g) a été traitée par extraction hydro-alcoolique à 80% d'éthanol dans un ballon de 4 L. L'ensemble a été soumis à ébullition pendant 30 minutes sous réfrigérant en présence de quelques morceaux de pierres ponce (Garcia-Vaquero M, et al 2020). Après refroidissement, le mélange a été filtré dans un erlenmeyer. Le filtrat a été ensuite évaporé au rotavapor jusqu'à obtention d'un résidu sec.

2.2. Caractérisation phytochimique

2.2.1. Tests en tubes

Les tests de criblage préliminaires en tubes sont des réactions d'identification permettant de caractériser certains constituants ou familles de constituants à l'aide de réactions chimiques

simples aboutissant en général à une coloration ou à une précipitation. Il a été fait selon la méthode décrite par Ciulei (1982).

- **Réactifs de caractérisation**

Les réactifs ci-après ont été utilisés pour la caractérisation générale des composés phytochimiques de l'extrait hydroalcoolique de la poudre des écorces de *B. rufescens* le réactif de DRAGENDORFF (solution iodo-bismuthite de potassium) ;

- le chlorure ferrique (FeCl_3) ;
- le réactif de STIASNY (formaldéhyde chlorhydrique) ;
- chlorure d'aluminium (AlCl_3) ;
- l'acétate de sodium.
- d'hydrolysat hydroalcoolique d'ammoniaque 10%

2.2.2. Recherche de tanins

- **Principe**

Les tanins sont des composés généralement amorphes, solubles dans l'eau, l'alcool et l'acétone, insolubles dans les solvants apolaires.

- **Mode opératoire**

Cinq grammes d'extrait ont été dissouts dans 50 mL d'eau chaude pendant 30 min puis l'ensemble a été filtré au bout de 30 min.

▪ **Réactions générales de caractérisation**

- **Caractérisation par le chlorure ferrique**

A 2 mL de filtrat ont été ajoutés 2 à 3 gouttes de la solution de chlorure ferrique à 2 %. Après agitation, l'apparition d'une coloration brun vert est caractéristique de la présence de tanins.

▪ **Différenciation des tanins**

Précipitation par le réactif de Stiasny

- **Principe**

Les tanins condensés précipitent à chaud par addition à une partie du filtrat, le réactif de Stiasny (formaldéhyde + acide chlorhydrique).

Dans le filtrat, les tanins hydrolysables ont été mis en évidence par addition du perchlore de fer à 2%. On note l'apparition d'une coloration bleu noir.

- **Mode opératoire**

A 4 ml de filtrat, ajouter 2 mL du réactif de Stiasny puis chauffer pendant 30 min au bain-marie. L'apparition de précipité indique la présence de tanins condensés.

Le filtrat obtenu a été saturé à l'acétate de sodium. Après addition de quelques gouttes de chlorure ferrique à 2% à la solution saturée, apparaît une coloration bleu noir indiquant la présence de tanins hydrolysables non précipités par le réactif de Stiasny (Mibindzou, 2004).

- **Oxydation des tanins condensés**

- **Principe**

Par chauffage en milieu chlorhydrique, les tanins condensés s'oxydent en phlobaphènes colorés en rouge.

- **Mode opératoire**

L'addition de 1 mL d'acide chlorhydrique à 2 mL de l'infusé fait apparaître une coloration rouge après ébullition. Cela signe la présence de tanins condensés.

2.2.3. Recherche des flavonoïdes

▪ **Caractérisation des flavonoïdes**

Dissoudre environ 50 mg d'extrait sec dans de l'eau bouillante. Ajouter 0,5 g de carbonate de calcium. Agiter jusqu'à homogénéisation totale.

▪ **Coloration en milieu alcalin**

- **Principe**

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

- **Mode opératoire**

Dans un tube, 2 mL de la solution extractive ont été mélangés avec quelques gouttes d'une solution de soude au 1/10^{ème}. L'apparition d'une coloration jaune orangé indique la présence de flavonoïdes.

▪ **Coloration par le perchlore de fer**

- **Principe**

Les flavonoïdes donnent des colorations variées avec des solutions diluées de FeCl_3 du fait de la présence des fonctions phénoliques dans leur génine.

- **Mode opératoire**

A 1 mL de la solution extractive, ajouter 2 à 3 gouttes d'une solution diluée de FeCl_3 , l'apparition d'une coloration verdâtre indique la présence de composés phénoliques.

▪ **Réaction à la cyanidine**

- **Principe**

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

- **Mode opératoire**

Dans un tube à essai, additionner à 2 mL de la solution extractive, 2 mL d'acide chlorhydrique (alcool 96° / eau / acide chlorhydrique concentré, 2V/2V/1V) et quelques fragments de magnésium. En présence de flavonoïdes, une coloration rose puis rouge se développe lentement (Mibindzou, 2004)

2.2.4. Recherche des alcaloïdes

- **Principe**

Les réactions générales de caractérisation des alcaloïdes sont des réactions de précipitation. En solution aqueuse acide (pH entre 1 et 2), les sels d'alcaloïdes donnent avec les complexes iodés

de métaux lourds, des précipités colorés caractéristiques.

- Mode opératoire

Dans un tube à essai, introduire 1 mL de solution extractive aqueuse sulfurique puis ajouter 2 à 3 gouttes de réactif de DRAGENDORFF.

On recherche la formation de précipités caractéristiques des alcaloïdes (Togola et al., 2019).

2.2.5. Recherche des hétérosides cardiotoniques

- Principe

La caractérisation des hétérosides cardiotoniques est réalisée par l'action des dérivés nitrés en milieu alcalin sur l'extrait sec.

- Mode opératoire

Le filtrat obtenu après extraction par le mélange chloroforme-éthanol a été réparti dans trois tubes à essai. Ensuite, verser respectivement dans chaque tube :

- Tube 1 : 0,5 mL de réactif de BALJET ;
- Tube 2 : 0,5 mL de réactif de KEDDE ;
- Tube 3 : 0,5 mL de réactif de RAYMOND-MARTHOUD.

Dans chaque tube, ajouter deux gouttes de lessive de soude diluée au 1/5^{ème} dans l'alcool à 95°C. Agiter et vérifier que le pH est alcalin.

Après agitation, les colorations suivantes sont attendues en présence d'hétérosides cardiotoniques :

- Tube 1 : rouge orangé stable
- Tube 2 : rouge pourpre stable
- Tube 3 : violet fugace.

2.2.6. Recherche des Saponosides

▪ Caractérisation des Saponosides

Ils ont été mis en évidence par le test de mousse persistante : sur 2 mL d'extrait aqueux, ajouter 2 mL d'eau distillée puis agiter laisser au repos pendant 20 minutes. La présence des saponosides est révélée comme suit :

- pas de mousse = test négatif
- Mousse moins de 1 cm = test faiblement positif
- Mousse de 1-2 cm = test positif
- Mousse plus de 2 cm = test très positif (Trease et Evans, 1987)

2.2.7. Chromatographie en couche mince (CCM)

C'est un test complémentaire au test en tube permettant de chercher ces mêmes groupes chimiques en utilisant une fine couche de silice comme phase stationnaire et un éluant de migration. L'éluant entraîne les composés à

identifier le long de la plaque par capillarité en fonction de leur solubilité et des forces électrostatiques retenant les composés sur la phase stationnaire.

Le criblage phytochimique a été réalisé sur des chromatoplaques (60 F₂₅₄, support en verre 20 x 20 cm, Fluka -Silica gel). Il s'est agi de rechercher les grands groupes chimiques par la chromatographie sur couche mince (CCM).

Chaque extrait sec est solubilisé dans son solvant d'extraction à la concentration de 10 mg/mL (10 mg dans 1 mL de solvant) et 5 µL sont déposés sur la plaque CCM pour le développement du chromatogramme. Les chromatogrammes sont développés sur un parcours de 8 cm dans les systèmes de solvants Acétate d'éthyle -acide formique - eau (8-1-1 V/V/V).

Plusieurs réactifs spécifiques ont servi à révéler ces groupes de composés :

- le réactif de vanilline sulfurique pour les terpènes et stérols (Brou et al, 2010 Dohou et al, 2003),
- le réactif de KOH méthanolique à 5% (V/V) pour les coumarines (Ladigina et al, 1983),
- le réactif de NEU pour les flavonoïdes (Wagner et al, 2001),
- le réactif FeCl₃ pour les tanins et les composés phénoliques (Dohou et al, 2003),
- le réactif de l'anisaldéhyde sulfurique pour les saponosides (Wagner et al, 1996).

2.3. Essais pharmacologiques

2.3.1. Essais chez des rats normoglycémiques

Quinze rats ont été sélectionnés et répartis en lots de 5 rats chacun, puis mis à jeun pendant 12 heures avant le début de l'expérience.

- lot 1 : traité avec le sérum physiologique (NaCl 0,9%) (10 mg/kg, per os) ;
- lot 2 : traité avec l'extrait hydroalcoolique à la dose de (100 mg/kg, per os) ;
- lot 3 : traité avec l'extrait hydroalcoolique à la dose (300 mg/kg, per os).

Des prélèvements de sang ont été réalisés toutes les heures pendant 4 heures au niveau du sinus rétro-orbitaire (Sy et al. 2005)

2.3.2. Essais chez des rats en hyperglycémie temporaire

Après un jeûne de 12 heures, un prélèvement de sang a été réalisé pour déterminer la glycémie de base. Les rats ont été gavés avec une solution de glucose à la dose de 4 g/kg de poids corporel.

Les rats ont été sélectionnés puis répartis en plusieurs lots de 5 rats chacun :

- lot 1 : traité avec le sérum physiologique (10 mg/kg,-per os);
- lot 2 : traité avec l'extrait hydroalcoolique à la dose de (100 mg/kg per os à T-90 min) ;

- lot 3 : traité avec l'extrait hydroalcoolique à la dose de (300 mg /kg, per os à T-90 min).

Un premier prélèvement de sang a été effectué à T-90 min avant administration du produit à tester. Des prélèvements ont été effectués ensuite à T₀ avant administration de glucose (4 g/kg, per os) et toutes les 30 min pendant 120 min (Chandhary et al. 2016).

2.3.3. Essais chez des rats en hyperglycémie chronique

L'hyperglycémie chronique a été induite chez des rats par injection sous-cutanée d'une solution fraîchement préparée de monohydrate d'alloxane en solution dans du sérum physiologique (NaCl 0,9%) à la dose de 100 mg/kg. Trois jours après, un prélèvement de sang a été effectué pour déterminer la glycémie à J₀. Les rats ayant présenté une glycémie comprise entre 2 g/L et 3 g/L ont été sélectionnés puis répartis en lots de 3 rats et traités quotidiennement avec le produit à tester pendant 8 jours (Sy et al. 2005).

Neuf (9) rats ont été sélectionnés et répartis-en 3 lots de 3 :

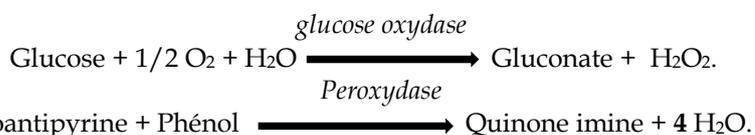
- lot 1 : traité avec le sérum physiologique (10 mg/kg/j per os) ;
- lot 2 : traité avec l'extrait hydroalcoolique à (100 mg/kg/j per os)
- lot 3 : traité avec du glibenclamide (300 mg/kg /j per os).

Les rats ont été gavés quotidiennement, des prélèvements de sang ont été effectués une fois tous les deux jours pendant 8 jours

2.4. Détermination de la glycémie

La glycémie a été déterminée par la méthode à la glucose-oxydase/péroxydase dont le principe est le suivant :

- **Principe** : le glucose, sous l'action de la glucose-oxydase, était transformé en gluconate et en H₂O₂, qui réagit avec un chromogène en présence de peroxydase pour former un complexe coloré (Quinone imine). L'intensité de la coloration était proportionnelle à la concentration du glucose dans la prise d'essai (Wu A.H.B., (2006):



La lecture de l'intensité de la coloration est effectuée au spectrophotomètre Cyan Smart à la longueur d'onde de 510 nm après 15 mn d'incubation

2.5. Analyse et expression des résultats

Les résultats ont été exprimés sous la forme de moyenne ± erreur standard à la moyenne (Moy ± ESM). L'homogénéité des paramètres de base a

été confirmée par analyse de variance (ANOVA). La comparaison des résultats a été réalisée avec le test de *Student*. Une valeur de p<0,05 a été considérée comme étant significative. (n) représente le nombre d'expériences dans chaque groupe.

Résultats

3.1. Criblage phytochimique

Les essais de caractérisation réalisés sur l'extrait hydroalcoolique (EHA) ont révélé la présence des constituants majeurs tels que les flavonoïdes, les tanins et les saponosides comme l'illustre le

(tableau I). Les flavonoïdes étaient majoritaires dans l'extrait (figure 1).

La CCM a également confirmé l'absence d'alcaloïdes et d'hétérosides cardiotoniques

Tableau I : Composés phytochimiques de l'extrait

Groupes chimiques	Résultats de la caractérisation
Flavonoïdes	+++
Tanins	+
Saponosides	+
Alcaloïdes	-
Hétérosides cardiotoniques	-

(+) : présence ; (-) : absence.

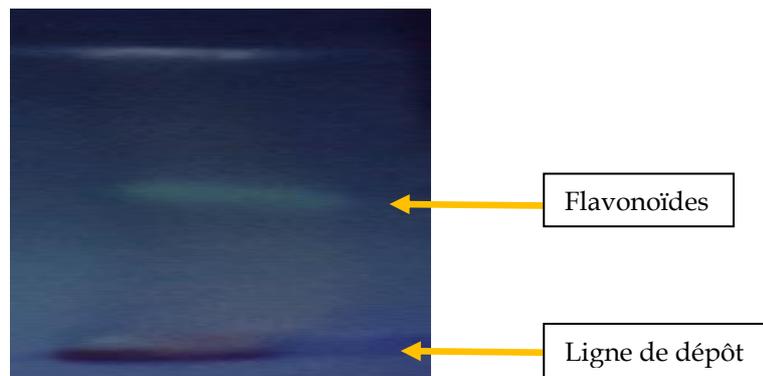


Figure 1 : mise en évidence des flavonoïdes de l'extrait hydroéthanolique par CCM.

3.2. Essais chez les rats normoglycémiques

L'administration *per os* de l'eau physiologique à la dose de 10 ml/kg n'entraîne pas à une variation de la glycémie de base ($0,95 \pm 0,11$ g/L vs $0,84 \pm 0,02$ g/L) (n=5). Des résultats similaires

ont été obtenus avec l'extrait total hydroalcoolique aux doses de 100 mg/kg et 300 mg/kg comme l'illustre la figure 2.

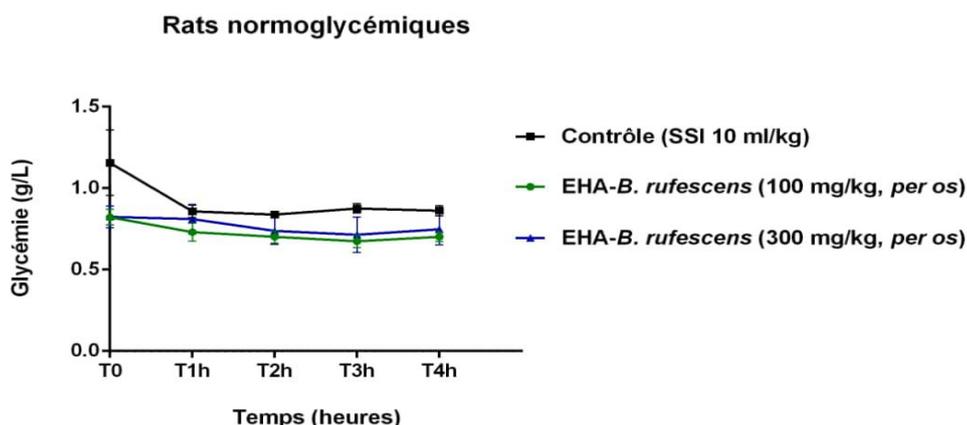


Figure 2 : glycémies moyennes de l'extrait total hydroalcoolique (EHA) à la dose de 100 mg/kg et 300 mg/kg chez des rats normoglycémiques (n=5).

3.3. Effet antihyperglycémiant de l'extrait total hydroalcoolique (EHA) sur un test de tolérance au glucose

Chez des rats normoglycémiques préalablement traités avec de l'eau physiologique à la dose de 10 ml/kg *per os*, l'administration orale de glucose à la dose de 4 g/kg induit une hyperglycémie franche dont le pic apparaît au bout de 30 min d'observation. Le glucose sanguin varie de $0,86 \pm 0,09$ g/L à $2,04 \pm 0,1$ g/L ($p < 0,05$; n = 5). Par contre, l'administration d'EHA à la dose de 100 mg/kg *per os* prévient de façon significative l'apparition du pic d'hyperglycémie à T30 min.

Toutefois, la glycémie varie de $0,74 \pm 0,07$ g/L à $1,20 \pm 0,4$ g/L. Un effet similaire est également obtenu avec l'extrait total hydroalcoolique à la dose de 300 mg/kg puisque la glycémie moyenne varie de $0,75 \pm 0,09$ g/L vs $1,24 \pm 0,1$ g/L après prétraitement. Ces résultats confirment donc l'effet antihyperglycémiant de l'extrait total hydroalcoolique sur un test de tolérance au glucose. Cependant cette activité antihyperglycémiant n'est pas dose dépendante puisque l'effet anti hyperglycémiant est plus important avec la dose de 100 mg/kg qu'avec la dose de 300 mg/kg comme l'illustre la figure 3.

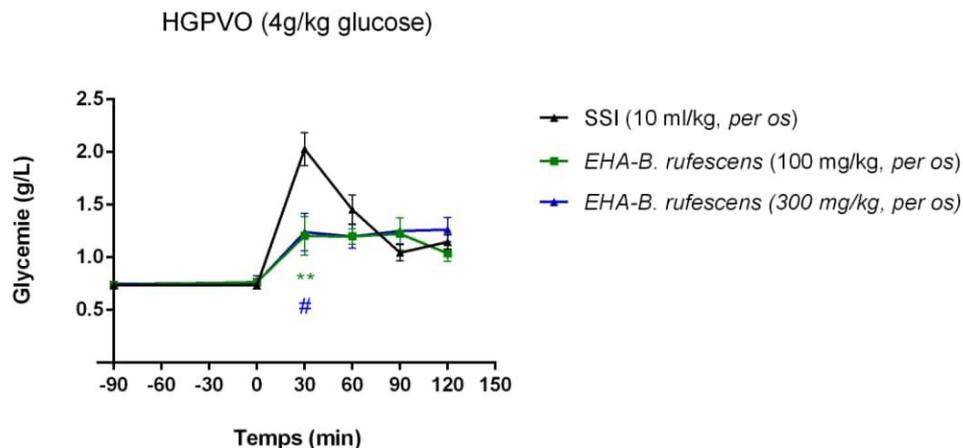


Figure 3 : Effet antihyperglycémiant de l'extrait hydroalcoolique (EHA) (100 et 300 mg/kg, per os) au cours d'un test de tolérance au glucose.

3.4. Effets de l'extrait total hydroalcoolique (EHA) chez des rats en hyperglycémie chronique

Les rats ont été rendus hyperglycémiques par l'administration de l'alloxane à la dose de 100 mg/kg, par voie intra péritonéale. L'administration quotidienne de l'eau physiologique ne modifie pas l'hyperglycémie permanente chez des rats diabétiques de type 2. Au bout de 8 jours, la glycémie moyenne est de $3,89 \pm 0,22$ g/L vs $3,96 \pm 0,05$ g/L. La variation de la glycémie est de $0,07 \pm 0,01$ g/L. Toutefois l'administration quotidienne de l'EHA à la dose de 100 mg/kg /j per os chez des rats diabétiques entraîne une baisse significative de la glycémie au bout de 8 jours d'observation. Le glucose

sanguin varie de $3,05 \pm 0,41$ g/L à J0 à $1,22 \pm 0,04$ g/L à J8. Par ailleurs l'administration du glibenclamide chez des rats en hyperglycémie chronique entraîne une baisse significative de la glycémie au bout de 8 jours d'observation ($3,6 \pm 0,14$ g/L vs $1,91 \pm 0,19$ g/L) ($p < 0,05$; $n=5$). Notons ici que l'effet de l'extrait hydroalcoolique à la dose de 100 mg/kg sur la baisse de la glycémie est plus important au bout de 8 jours d'observation qu'avec le Glibenclamide avec une différence statistiquement significative ($P < 0,05$). La figure 4 illustre les effets combinés de l'extrait total hydroalcoolique à la dose de 100 mg/kg et du Glibenclamide à la dose de 0,3 mg/kg/J per os.

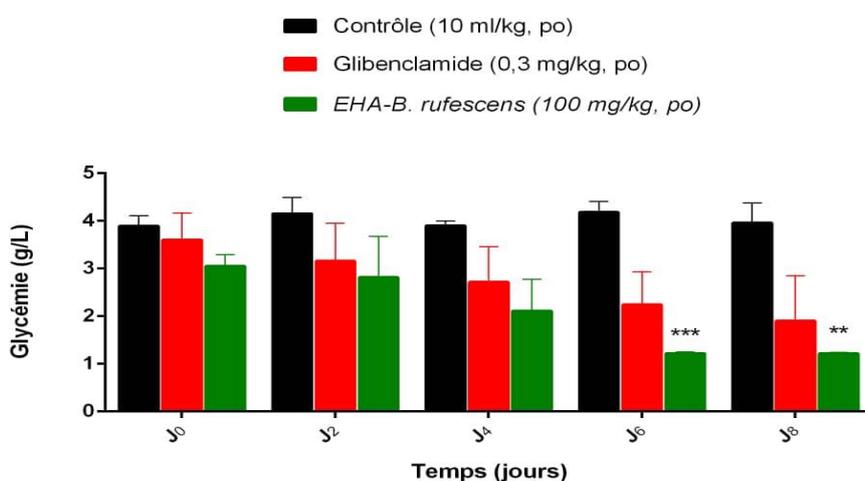


Figure 4 : Glycémies moyennes des rats en hyperglycémie chronique traités par de l'extrait hydroalcoolique (EHA) à la dose de 100 mg/kg/J et du Glibenclamide à la dose de 0,3 mg/kg/J, per os.

Discussion

La présente étude avait pour objectif d'évaluer l'effet sur le glucose sanguin, de l'extrait total hydro-alcoolique (EHA) d'écorces de *B. rufescens*. Les objectifs spécifiques qui en découlent consistaient à :

- préparer l'extrait hydroalcoolique des écorces de *B. rufescens*,
- caractériser le profil phytochimique de l'extrait total,
- évaluer l'extrait total sur divers modèles d'étude de l'hyperglycémie.

Les résultats de notre étude ont montré que l'extrait hydro-alcoolique d'écorces de *B. rufescens* n'entraîne pas un effet hypoglycémiant dépendant de la dose chez des rats normoglycémiques. Ces résultats étaient similaires à ceux réalisés par Diatta et al., (2003) à partir de la fraction acétate d'éthyle-butanol (FAEB) des feuilles de *D. guineense* chez des rats normoglycémiques. Par contre la fraction acétate d'éthyle-butanol (FAEB) dépourvue de tanins (FAEB-DT) est hypoglycémiant chez des rats normoglycémiques. L'absence d'effet hypoglycémiant de la FAEB, chez des rats normoglycémiques, pourrait être due à la présence dans l'extrait, de composés entraînant des effets opposés. Ces résultats suggèrent que les tanins condensés des écorces de *B. rufescens* auraient une action hyperglycémiant, ce qui expliquerait en outre, l'effet hyperglycémiant de la fraction F1 de *D. guineense*, observé dans les travaux de (Barboza et al 2020). L'absence d'effet hypoglycémiant d'extraits total hydro-alcoolique d'écorces de *B. rufescens*, pourrait être attribuée à la présence de tanins condensés dans cet extrait.

Sur un test de tolérance au glucose, l'EHA (100 mg/kg et 300 mg/kg, *per os*) prévient l'apparition du pic d'hyperglycémie, suggérant l'implication de composés phytochimiques dans l'action antihyperglycémiant des extraits d'écorces de *B. rufescens*, sur un modèle d'étude d'hyperglycémie temporaire. Des travaux antérieurs réalisés au laboratoire de pharmacologie de la faculté de médecine, de pharmacie et d'odontostomatologie de Dakar ont montré un effet antihyperglycémiant de la fraction F5 de l'extrait total méthanolique de feuilles de *Dialium guineense* riche en flavonoïdes (caesalpiniaceae) (Doupa et al., 2014). Notre étude a retrouvé un résultat similaire puisque l'administration quotidienne de l'extrait hydroalcoolique d'écorces de *Bauhinia rufescens* à la dose 100 mg/kg *prévenait* l'apparition du pic hyperglycémique. Cette action antihyperglycémiant retrouvée dans cette

présente étude n'était pas dose dépendante puisqu'à la dose de 300 mg/kg l'effet était similaire à celui observé avec la dose de 100 mg/kg. L'absence de screening phytochimique dans la présente étude ne nous permettait pas d'attribuer cet effet aux composés spécifiques retrouvés dans la caractérisation phytochimique. Dans l'étude réalisée par Doupa et al., (2014), l'effet antihyperglycémiant était lié à la forte concentration de flavonoïdes dans la fraction F5. On pourrait évoquer cela dans cette présente étude car l'extrait total alcoolique des écorces de *B. rufescens* renfermait également des flavonoïdes.

Plusieurs travaux ont mis en évidence l'existence d'un lien entre la présence de flavonoïdes dans l'extrait, et une action antihyperglycémiant. En effet, les extraits de feuilles d'*Icacina senegalensis*, renfermant, des flavonoïdes, n'ont pas d'effet sur la glycémie de base des rats normoglycémiques mais sont toutefois antihyperglycémiant sur un modèle de tolérance au glucose et chez des rats diabétiques de type 2 (Manga et al., 2013). La séparation des composés des extraits d'*I. senegalensis* a révélé la présence de deux flavones, probablement responsables de l'action antihyperglycémiant préalablement observée sur des modèles d'hyperglycémie temporaire et chronique (Manga et al., 2013 ; Doupa et al., 2014). Le fractionnement de l'extrait total alcoolique de *B. rufescens* permettrait de confirmer ce lien.

Chez des rats en hyperglycémie chronique, induit par l'alloxane, l'administration quotidienne de l'EHA (100 mg/kg, *per os*) montre une tendance vers une baisse du glucose sanguin. Ces résultats sont similaires à ceux obtenus antérieurement par Seck sur le même modèle avec les feuilles de *Zizyphus mauritiana* (Seck et al., 1999). Au plan phytochimique, l'extrait de feuilles *Zizyphus mauritiana* renferme des saponosides, des tanins et des flavonoïdes (Pari et al., 2002) ; or l'extrait hydroalcoolique d'écorces de *Bauhinia rufescens* renferme des saponosides, des tanins et des flavonoïdes. Ceci pourrait suggérer l'existence d'un mécanisme d'action antihyperglycémiant commun entre les deux plantes, qu'il convient de démontrer. Par conséquent, nous pouvons émettre l'hypothèse de la responsabilité soit des flavonoïdes, soit des saponosides ou des tanins qui sont à l'origine de l'activité antihyperglycémiant.

Toutefois, des travaux supplémentaires sont nécessaires pour éprouver le caractère

antihyperglycémiant de l'extrait hydroalcoolique d'écorces de cette plante.

Conclusion

Les résultats de cette étude montrent que l'EHA d'écorces de *B. rufescens* possède plutôt un effet antihyperglycémiant chez les rats en hyperglycémie chronique. Le glucose sanguin varie de $3,05 \pm 0,41$ g/L à J0 à $1,22 \pm 0,04$ g/L à J8. Cependant cette activité antihyperglycémiant n'est pas dose dépendante puisque l'effet anti hyperglycémiant est plus important avec la dose de 100 mg/kg qu'à la dose de 300 mg/kg comme l'illustre les résultats obtenus. Toutefois, ce travail préliminaire focalisé sur l'activité antihyperglycémiant de cette plante, ouvre la porte pour de nouvelles perspectives, ainsi nous suggérons :

- de fractionner l'extrait hydroalcoolique par des techniques plus fines telles que la chromatographie liquide haute

performance afin d'isoler la ou les molécules responsables de cette activité,

- de caractériser leur structure chimique
- d'étudier la relation structure - activité afin de déboucher sur un phytomédicament.

Conflit d'intérêts

Les auteurs déclarent n'avoir aucun conflit d'intérêt.

Remerciements

Les auteurs remercient les services de Botanique, de Pharmacognosie de l'UCAD et du Burkina Faso pour la caractérisation phytochimique de l'extrait total hydroalcoolique, le service de Pharmacologie de l'UCAD pour les essais pharmacologiques, et l'IRL3189-Environnement, Santé, Société pour le financement des travaux.

Références

- Barbosa F. S., Sene M., Doupa D., Ba M., Welle A., Sy G.Y., 2020. Opposite effects of F1 and F5 fractions of total methanol leaf-extract of *Dialium guineense* (Cesalpiniaceae) on blood Glucose in Rat. *Journal of Advances in Medical and Pharmaceutical Sciences*, 22(2) :1-8.
- Becquemin M. H., Chamuzeau J.P., 2008. L'insuline par voie inhalée : un modèle pour l'absorption systémique pulmonaire. *Revue des Maladies Respiratoires*, 25(2) :209-22.
- Boyle P.J., King A.B., Olansky L., Marchetti A., Lau H., Magar R., et Matin J., 2002. Effects of pioglitazone and rosiglitazone on blood lipid levels and glycemic control in patients with type 2 diabetes mellitus: A retrospective review of randomly selected medical records. *Clinical Therapeutics*, 24(3) :378-96.
- Brou, K.G., Mamyrbekova-Békro, J.A., Dogbo, D.O., Gogbeu, S.J. and Békro, Y.-A., 2010. On the Qualitative Phytochemical Composition of Crude Hydromethanolic Extracts of the Leaves of 6 Varieties of *Manihot Esculenta* Crantz of Côte d'Ivoire. *European Journal of Scientific Research*, 45 : 200-211.
- Chandhary S., Semwal A., Kumar H., Verma H.C., Kumar A., 2016. In-vivo study for antihyperglycemic potential of aqueous extract of basil seeds (*Ocimum basilicum* Linn) and its influence on biochemical parameters, serum electrolytes and haematological indices. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 84 :2008-2013.
- Diatta C., 2023. Approche intégrée de l'étude des propriétés de composés phytochimiques des feuilles de *Dialium guineense* (caesalpiniaceae) et de *Chrozophora senegalensis* (Euphorbiaceae) sur divers modèles d'études du diabète. Thèse Doctorat Unique N°31, Faculté de Médecine, Pharmacie, Odontologie Dakar, Sénégal.
- Ciulei I., 1982. Methodology for Analysis of Vegetable Drugs. Practical Manual of the Industrial of Medicinal and Aromatic plants. *Bucharest Romania*, p1-6
- Diouf L.A.D., Mbaye G., Ndiaye A., Sy P.M., Djibouna A.R, Cissé A.J., 2015. Multiple emulsions for oral administration of insulin». *International Journal of Current Research*, 7(11) : 22420-22423.
- Dohou N., Yamni K., Tahrouch S., Idrissi Hassani L. M., 2003. Screening phytochimique d'une endémique ibéro-marocaine, *Thymelaea lythroïdes*". *Bulletin de la Société de Pharmacie de Bordeaux*, 142 : 61-78.
- Doupa D., Ba M., Welle A., Seck S.M., Barboza F.S, 2014. Etude de l'activité hypoglycémiant de la fraction F5 de l'extrait total méthanolique des feuilles de *Dialium guineense*. *Revue Cames santé*, 1(2) : 35-40.
- Droin P., Blicke J.F., Charbonnel B., Eschwege E., Guillaudeau P.J., Ploquin P.F., Daninos J.M., Balarac N., Sauvanet J.P., 1999. Diagnostic et classification du diabète sucré. Les nouveaux critères ; 25 :72-83
- Garcia-Vaquero M., Rajauria G. & Tiwari B., 2020. Conventional extraction techniques : Solvent extraction. In Sustainable seaweed technologies (pp. 171-189). Elsevier.
- Manga A., Gassama A., Fall A. D., Diatta K., Diatta W., Sy G. Y. Bassène E, 2013. Etude pharmacologie de fractions antidiabétiques de feuilles d'*Icacina oliviformis* (Poiret) Raynal, Médecine d'Afrique Noire ; 6012 : 507-512.
- Ladigina E.Y., Safronich L.N., Otriacheva V.E., Balandina I.A., Grinkevich N.I., Sorokina A.A., Glizin V.I., Molodojnikova L.M., Mitin Y.S., 1983. Analyse chimique des plantes médicinales, édition Moskva vischaya chkola.; p. 172 pp (traduit du russe).
- Manga A., Gassama A., Sy G. Y., Bassène E., 2013. Structural determination of new flavones C6 glycosides and trans (S, E) - (-) clovamide isolated

Icacina senegalensis Juss leavz (Icacinaceae). *Médecine d'Afrique Noire*, **035** : 15-27.

Mibindzou Mouellet A., 2004. Screening phytochimique de deux espèces de plantes : *Crotalia retusa* L (papilionaceae) et *Hallea ciliata* Aubrev & Pellegr. (rubiaceae) récoltées au Gabon, thèse de doctorat, Mali, 58 p.

Mubanga M., Byeberg L., Nowak C., 2017. Dog ownership and the risk of cardiovascular disease and death – a nationwide cohort study. *Scientific reports* **17**, **7**(1):15821.

Pari L., Venkateswarans S., 2002. Hypoglycaemic activity of *Scoparia dulcis* L. extraction in alloxan induced hyperglycaemic rats. *Phytotherapy, Research*, **2**, **16**(7) : 662-664.

Seck F., 1999. Recherche de l'activité antidiabétique des extraits lyophilisés de feuilles de *Zizyphus mauritiana* Lam (Rhamnaceae). Thèse N°44, Faculté de Médecine, Pharmacie, Odontologie pharmacie, Dakar, Sénégal.

Sow D., Diédhiou D., Diallo I.M., Ndour M.A., Diouf M., Cissé M.K., Sarr A., Mbaye M.Nd., 2018. Morbi infectious mortality of diabetics hospitalized at the medical clinic of Abass Ndao Health Center, *Open Journal of Endocrine and Metabolic Diseases*, **8**: 1-8.

Sy G.cY., Cissé A., Ngonierma R. B., Sarr M., Mbodj N. A., FAYE B., 2005. Hypoglycaemic and antidiabetic activity of acetonic extract of *Vernonia colorata* leaves in

normoglycaemic and alloxan-induced diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, **98**(1):171-5.

Togola I., Konaré M.A., Diakité M., Diarra N., Tounkara F., Sanogo R., Dembélé D., 2019. Evaluation de la teneur en alcaloïdes totaux à différents stades de développement de *Datura innoxia* Mill, plante utilisée dans la médecine traditionnelle du Mali. *American Journal of Innovative Research and Applied Sciences*, **9**(2): 200-207.

Trease E. & Evans W.C., 1987. Pharmacognosie, Billiaire Tindall. London 13th ed.

Raguso C.A., Helary C., Philippe J., 2008. Importance de la glycémie postprandiale dans la prise en charge du diabète de type 2, *Revue Médicale Suisse*, **4**: 1383-1386.

Rodier M., 2001. Définition et classification du diabète, *Médecine Nucléaire-imagerie Fonctionnelle et Métabolique*, **25** (2) : 5-18

Zhang B. B., Moller D. E., 2000. New approaches in the treatment of type 2 diabetes. *Current Opinion in Chemical Biology*, **4**(4): 461-67

Wagner H. 1996. Plant drug analysis, a thin layer chromatography. 2 nd Ed. Berlin, p. 384.

Wagner H., 2001. Plant Drug Analysis. A Thin Layer Chromatography. Atlas. Springer. New- York. p 368.

Wu A.H.B., 2006. Clinical Guide to laboratory Test. Saunders/Elsevier 4ème édition, **564** :444-451.