

Article original

ACTIVITE ANTI-HYPERGLYCEMIANTE DE LA FRACTION F₂ DE L'EXTRAIT TOTAL ACETONIQUE DE FEUILLES DE *VERNONIA COLORATA* (COMPOSEAE)

SY¹ GY., BARBOSA¹ FS., WELE² A., GUEYE³ PM., GUEYE¹ CD., CISSE³ A., DIEYE¹ AM., BASSENE⁴ E., FAYE¹ B.

1. Laboratoire de Pharmacologie, Faculté de Médecine, de Pharmacie, et d'Odonto-stomatologie, BP 5005, Dakar, Sénégal
2. Laboratoire de Chimie Thérapeutique, Faculté de Médecine, de Pharmacie, et d'Odonto-stomatologie, BP 5005, Dakar, Sénégal
3. Laboratoire de Biochimie Pharmaceutique, Faculté de Médecine, de Pharmacie, et d'Odonto-stomatologie, BP 5005, Dakar, Sénégal
4. Laboratoire de Pharmacognosie, Faculté de Médecine, de Pharmacie, et d'Odonto-stomatologie, BP 5005, Dakar, Sénégal

Auteur Correspondant : Guata Yoro SY, Laboratoire de Pharmacologie, Faculté de Médecine, de Pharmacie, et d'Odonto-stomatologie, BP 5005, Dakar, Sénégal Tél : 00221 76 596 01 68
E-mail : guatayoro_sy@yahoo.fr

Résumé :

L'objectif de cette étude était d'évaluer l'effet sur le glucose sanguin des fractions de l'extrait acétonique de feuilles de *V. colorata*. Le fractionnement des composés de l'extrait acétonique a été réalisé par chromatographie d'exclusion diffusion. L'effet sur le glucose sanguin de ces fractions a été testé chez des rats normoglycémiques et sur un test de tolérance au glucose. Chez des rats normoglycémiques, la fraction F₂ entraîne une hypoglycémie significative qui est transitoire avec un retour de la glycémie à la ligne de base. Les fractions F₁, F₃ et F₄ n'ont pas du tout d'effet hypoglycémiant. Sur un test de tolérance au glucose, la fraction F₂ est anti-hyperglycémiant. Ces résultats montrent que la fraction F₂ est anti-hyperglycémiant sur un modèle d'hyperglycémie temporaire alors que l'extrait acétonique présente un caractère hypoglycémiant chez des rats normoglycémiques. Cette différence serait probablement liée à une variation de composition phytochimique entre l'extrait total acétonique de feuilles de *V. colorata* et la fraction F₂.

Mots clés : *Vernonia colorata*, glucose sanguin, phytothérapie, diabète

Introduction

Le diabète est une maladie endocrinienne ubiquitaire qui touche environ 2 % de la population mondiale (King et al, 1998). Des données récentes révèlent qu'il y a environ 150 millions de diabétiques dans le monde et que ce nombre pourrait bien doubler d'ici à 2025. La prévalence du diabète concerne essentiellement les pays en voie de développement et serait due à l'accroissement démographique, au vieillissement de la population, à des régimes alimentaires déséquilibrés, à l'obésité, et à un mode de vie sédentaire (Boyle et al, 2001). Le diabète de type 1 est lié à un tarissement de la sécrétion d'insuline, et apparaît généralement chez l'enfant et l'adolescent, même s'il existe des cas qui sont diagnostiqués dans la population adulte. Son traitement repose sur l'insulinothérapie. Le diabète de type 2 résulte de troubles de l'insulinosécrétion associés à une insulino-résistance, apparaît en

général vers la quarantaine, représente 85 à 90 % de la population diabétique. Son traitement fait appel aux antidiabétiques insulinosécréteurs comme les sulfamides hypoglycémiant, les glinides ou des molécules qui diminuent l'insulino-résistance en augmentant la sensibilité des tissus périphériques à l'insuline, comme c'est le cas des biguanides et des glitazones. Au Sénégal, en milieu traditionnel, les plantes médicinales ont connu un essor important du fait de leur utilisation courante en médecine dite traditionnelle. Cet engouement peut s'expliquer par la baisse du pouvoir d'achat, le coût élevé des médicaments conventionnels, la méfiance vis-à-vis des produits de synthèse dits modernes. 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 dans leur vie, à la médecine traditionnelle (Koumaré, 1989). Une enquête récente réalisée au centre de référence Marc Sankhalé de traitement du

diabète au Sénégal, a révélé que les patients diabétiques ont eu recours au moins une fois à la phytothérapie antidiabétique, confirmant ainsi les conclusions de l'OMS sur l'usage de plantes médicinales dans les pays en voie de développement (Dièye et al, 2008).

Vernonia colorata est une plante de la famille des COMPOSEAE, utilisée au Sénégal, en milieu traditionnel, dans le traitement du diabète. Elle est répandue en Afrique, en particulier au Bénin, au Cameroun, en Côte d'Ivoire, au Sénégal et au Togo. Au Sénégal, elle pousse dans les sols frais de la Basse Casamance mais également près de la zone des Niayas aux alentours de la région de Dakar. En milieu traditionnel, les feuilles sont utilisées dans le traitement de la bilharziose, de la dysenterie amibienne, des éruptions cutanées et du diabète. Au plan chimique, les feuilles renferment des flavonoïdes, des tanins, des sesquiterpènes lactones comme le vernolide et l'hydroxyvernolide (Rabe et al, 2002 ; Tona et al, 2004).

Des travaux antérieurs ont montré que l'extrait acétonique de feuilles de *V. colorata* entraîne un effet hypoglycémiant chez des rats normoglycémiques et anti-hyperglycémiant sur un test de tolérance au glucose et chez des rats diabétiques de type 2 (Sy et al, 2005). L'objectif de cette présente étude était de : i) fractionner l'extrait total acétonique de feuilles de *V. colorata*, par chromatographie d'exclusion diffusion sur gel de Sephadex. ii) Caractériser au plan phytochimique les différentes fractions. iii) Evaluer l'effet sur le glucose sanguin des fractions obtenues chez des rats normoglycémiques et sur un test de tolérance au glucose.

Matériels et méthodes :

Matériels :

Matériel végétal :

Le matériel végétal utilisé est constitué de feuilles fraîches de *V. colorata* cueillies dans les quartiers Colobane et Zone B de Dakar. Les feuilles ont été identifiées au laboratoire de Pharmacognosie et Botanique de la Faculté de Médecine, de Pharmacie, et d'Odonto-stomatologie de l'Université Cheikh Anta DIOP de Dakar. Les feuilles ont été séchées à l'ombre à la température ambiante, environ 25 °C, pendant deux semaines. Elles ont été ensuite pulvérisées à l'aide d'un broyeur. La poudre obtenue est de saveur amère et de couleur verte. Elle possède un pouvoir sternutatoire.

Matériel animal :

Il est constitué de rats normoglycémiques de souche *Wistar*, élevés à l'animalerie du laboratoire de Pharmacologie, à 25 °C et sous la lumière le jour et l'obscurité la nuit. Ils ont été nourris à l'aliment *Poulette* des moulins SENTENAC de Dakar, et ont eu un accès libre à l'eau.

Méthodes :

Extraction : Un échantillon de feuilles de *V. colorata* a été finement pulvérisé. La poudre obtenue (200 g) a été soumise à une décoction dans 1500 ml d'acétone pendant 1 heure à 70 °C. L'extrait total acétonique a été filtré à chaud. Cet extrait a été introduit dans un ballon adapté à un évaporateur. L'évaporation de l'acétone a été accélérée sous l'effet combiné de la chaleur à 70 °C, du vide et de la rotation du ballon à la vitesse de 70 tours/min. Après concentration, l'extrait mou obtenu a été séché dans un dessiccateur puis pesé.

Fractionnement : Les composés de l'extrait total acétonique évaporé à sec, ont été séparés par chromatographie d'exclusion diffusion sur colonne ouverte de gel de Sephadex LH 20. Cette technique sépare les molécules en fonction de leur taille. Les molécules suffisamment petites pénètrent dans les réseaux moléculaires des grains de gel tandis que les grosses molécules en sont exclues. Ces dernières ont été éluées en premier du fait qu'elles ne sont pas retenues par les mailles du gel. Un échantillon

de 2 g d'extrait sec acétonique a été dissout dans 4 ml d'acétone. Un volume de 500 µl de la solution obtenue a été prélevé à l'aide d'une seringue puis déposé sur la partie supérieure du gel. La colonne a été éluée avec la phase mobile constituée par le mélange acétone/méthanol. Les fractions ont été recueillies dans des tubes numérotés de 1 à 19. Un volume d'éluat de 15 ml environ a été recueilli dans chaque tube. Cette opération a été répétée jusqu'à épuisement de l'échantillon. Entre deux séries de chromatographies, la colonne a été rincée avec du méthanol pour enlever les résidus de l'extrait sur le gel. Une chromatographie sur couche mince a été réalisée pour chaque éluat. Les éluats présentant un chromatogramme similaire après révélation ont été regroupés, permettant l'obtention au total de 4 fractions F₁, F₂, F₃ et F₄.

Chromatographie sur couche mince : Un échantillon de 10 mg de l'extrait total acétonique a été dissout dans 1 ml de méthanol. Les dépôts ont été effectués à l'aide de micropipettes sur une microplaque de gel de silice, à 1 cm du bord inférieur, sur la ligne de base, à différents endroits. Les dépôts ont concerné l'extrait total acétonique, les différentes fractions et des témoins de tanins, d'alcaloïdes et de flavonoïdes. La plaque a été séchée dans une étuve pendant 10 secondes, puis introduite dans une cuve chromatographique contenant le solvant de migration. Après migration, la plaque a été retirée de la cuve et séchée dans l'étuve à 100 °C pendant 5 min. La révélation des constituants chimiques a été réalisée par pulvérisation de réactifs spécifiques. (tableau I) Au besoin, une lampe UV a été utilisée pour identifier la nature des constituants à 366 nm. Les spots ont été repérés et les distances de migration des spots et du solvant ont été mesurées.

Tableau I : Solvants et témoins utilisés pour la caractérisation de constituants phytochimiques de feuilles de *Vernonia colorata* par chromatographie sur couche mince.

Constituants phytochimiques	Solvants de migration	Témoins	Réactifs de révélation
Tanins	Acétate d'éthyle/Méthanol/Eau (40 : 8 : 5)	Acide tannique	Chlorure ferrique/Acide acétique/Eau (2 : 2 : 96)
Flavonoïdes	Acide acétique à 15 % dans l'eau	Lutéoline Vitexine	Chlorure d'aluminium à 5 % dans le mélange Méthanol/Eau (1 : 1)
Alcaloïdes	Chloroforme/Diéthylamine (45 : 5)	Atropine Quinine	Réactif de Dragendorff

Essais chez des rats normoglycémiques : Les rats ont été mis à jeun pendant 12 heures. Ils ont été répartis en lots de 5 rats. Au temps T₀, un prélèvement de sang a été effectué au niveau du sinus rétro-orbitaire. L'eau physiologique (10 ml/kg, *per os*) et les fractions (30 mg/kg, *per os*) ont été administrées aux différents lots. Des prélèvements de sang ont été effectués toutes les heures pendant 4 heures.

Test d'hyperglycémie provoquée par voie orale : Deux lots de 5 rats ont été préalablement mis à jeun pendant 12 heures, des prélèvements de sang ont été effectués au temps T₋₉₀ min, c'est-à-dire 90 min avant l'administration *per os* de glucose (4 g/l).

Immédiatement après, les rats ont été gavés avec de l'eau physiologique (10 ml/kg) ou la fraction F₂ (30 mg/kg). Au temps T₀ c'est-à-dire 90 min après prétraitement par l'eau physiologique ou la fraction F₂, les rats ont été gavés avec une solution de glucose à la dose de 4 g/kg. Des prélèvements de sang ont été effectués toutes les 30 min pendant 90 min.

Détermination de la glycémie : le glucose sanguin a été dosé par la méthode à la glucose oxydase.

Analyse et expression des résultats :

Les résultats ont été exprimés en moyenne plus ou moins erreur standard à la moyenne (moy±esm). L'homogénéité des différents groupes a été vérifiée par analyse de variance (ANOVA). La comparaison statistique a été réalisée avec le test de scheffer. Une valeur de p<0,05 a été fixée comme seuil de significativité, n = 5 est le nombre d'expériences dans chaque groupe.

Résultats :

Caractérisation phytochimique des constituants de l'extrait total acétonique

La caractérisation de l'extrait total acétonique de feuilles de *V. colorata* a révélé la présence d'alkaloïdes avec une forte teneur, de tanins et de flavonoïdes. Après chromatographie d'exclusion diffusion de l'extrait total acétonique, la CCM des différentes fractions obtenues a montré la présence d'alkaloïdes dans toutes les fractions, de tanins dans les fractions F₃ et F₄, et de flavonoïdes dans les fractions F₂, F₃, et F₄. (tableau II)

Tableau II : Constituants phytochimiques caractérisés dans l'extrait total acétonique de feuilles de *Vernonia colorata* et dans les différentes fractions. (+) : présence, (-) : absence

	Alcaloïdes	Tanins	Flavonoïdes
Extrait total acétonique	+++	+	+
F ₁	+	-	-
F ₂	++	-	+
F ₃	++	+	++
F ₄	+	+	++++

Administration per os des fractions de l'extrait total acétonique de feuilles de *Vernonia colorata* chez des rats normoglycémiques

L'administration per os de l'eau physiologique à la dose de 10 ml/kg, ne modifie pas la glycémie de base des rats normoglycémiques. Le glucose sanguin reste en effet stable au bout de 4 heures d'observation (0,85±0,01 vs 0,80±0,0 g/l) (ns, n=5). De façon similaire, l'administration de la fraction F₁ de

l'extrait total acétonique ne s'accompagne pas d'une baisse significative de la glycémie (0,80±0,04 vs 0,78±0,04 g/l) (ns, n=5). En revanche, l'administration per os de la fraction F₂ à la dose de 30 mg/kg per os entraîne une baisse significative de la glycémie au bout de 2 heures (0,78±0,04 vs 0,98±0,04 g/l) (p<0,05, n=5). Cette baisse est toutefois transitoire puisque la glycémie se stabilise autour de 0,92±0,06 g/l au bout de 4 heures. La fraction F₂, à une plus forte dose, entraîne une tendance vers une baisse de la glycémie qui n'est toutefois pas franche et durable. La glycémie varie en effet de 0,75±0,01 à 0,71±0,07 (ns, n=5) au bout de 2 heures, avec une valeur qui atteint 0,79±0,09 g/l, 4 heures après administration de la fraction F₂. L'administration per os, selon le même protocole, des fractions F₃ et F₄ ne s'accompagne pas d'une baisse de la glycémie. Les résultats montrent une tendance vers une augmentation du glucose sanguin. En effet, à la dose de 30 mg/kg, la fraction F₃ fait varier la glycémie de 0,70±0,02 à 1,02±0,11 g/l (p<0,05, n=5), alors que dans les mêmes conditions la variation de la glycémie vers une hausse est plus importante avec la fraction F₃ (1,28±0,20 vs 0,94±0,07 g/l) (p<0,05, n=5). (figures 1 et 2)

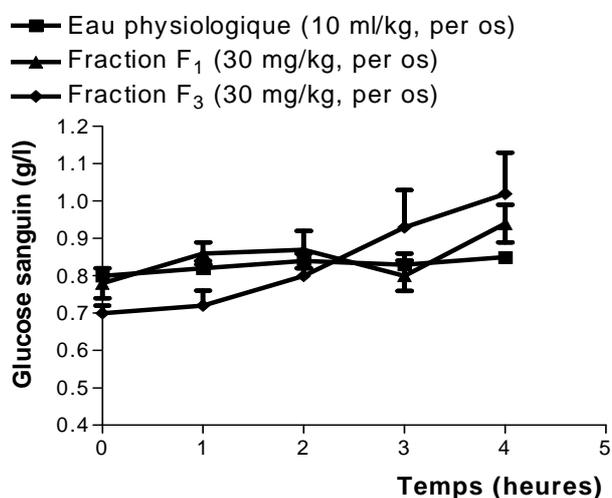


Figure 1 : Administration des fractions F₁ et F₃ de l'extrait total acétonique de feuilles de *Vernonia colorata* chez des rats normoglycémiques. n = 5.

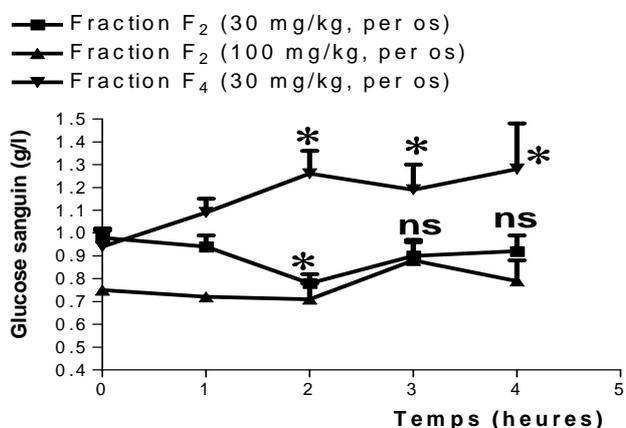


Figure 2 : Effet hypoglycémiant transitoire de la fraction F₂ de l'extrait total acétonique de feuilles de *Vernonia colorata*. * p<0,05 vs valeur de base. n = 5.

Effet anti-hyperglycémiant de la fraction F₂ sur un test de tolérance au glucose

Chez des rats normoglycémiques, l'administration *per os* de glucose (4g/kg), après prétraitement à l'eau physiologique à la dose de 10 mg/kg *per os*, entraîne une hyperglycémie transitoire avec un pic qui apparaît au bout de 30 min (2,63±0,32 vs 1,44±0,10 g/l) ($p < 0,05$, $n = 5$), correspondant à une variation Δ de la glycémie qui est de 1,19±0,8 g/l. Un traitement préalable par la fraction F₂, 90 min avant le gavage au glucose comme précédemment, prévient de façon significative l'apparition d'un pic d'hyperglycémie franc, au bout de 30 min après administration du glucose. La variation Δ de la glycémie est de 0,72±0,08 g/l. Elle est significativement différente de celle observée chez le groupe contrôle. (figure 3)

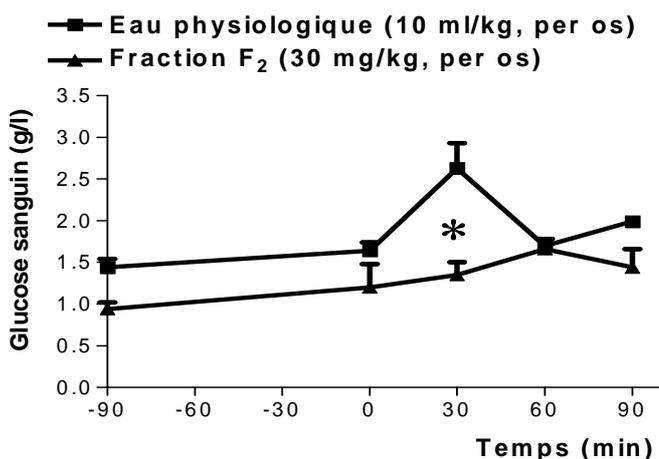


Figure 3 : Figure 3 : Effet anti-hyperglycémiant de la fraction F₂ de l'extrait total acétonique de feuilles de *Vernonia colorata* sur un test de tolérance au glucose. * $p < 0,05$ vs contrôle. $n = 5$.

Discussion :

Des travaux antérieurs réalisés par Sy et al (2004 ; 2005 ; 2006), ont montré que l'extrait total acétonique de feuilles de *V. colorata* est hypoglycémiant chez des rats normoglycémiques et anti-hyperglycémiant chez des rats diabétiques de type 2, suggérant l'existence dans cet extrait de composés présentant un effet sur le glucose sanguin sur ces modèles d'étude. En revanche, l'extrait acétonique n'a pas du tout d'effet sur la glycémie des rats diabétiques de type 1 (Sy et al, 2004 ; 2005 ; 2006). Ces observations ont permis de poser l'hypothèse de l'existence d'un lien probable entre l'effet sur le glucose sanguin de cet extrait, et la présence de l'insuline chez les rats normoglycémiques ou les rats diabétiques de type 2. L'acétone étant un solvant polaire, il est susceptible après extraction, de recueillir de la poudre de feuilles de *V. colorata*, des composés de nature polaire comme des tanins, des flavonoïdes et des alcaloïdes. Dans le but d'améliorer l'efficacité des composés de l'extrait total acétonique sur la régulation de la glycémie, et de déterminer la nature phytochimique des composés responsables de l'effet sur la glycémie, cet extrait a été fractionné par chromatographie d'exclusion diffusion. Les fractions obtenues ont été testées chez des rats normoglycémiques à des doses dix fois moins élevées (30 mg/kg, *per os*) que celles qui ont été utilisées antérieurement pour l'extrait total acétonique (Sy et al, 2004 ; 2005 ; 2006). Dans ces conditions, les résultats ont montré que seule la fraction F₂ de l'extrait total acétonique est hypoglycémiant. Toutefois l'effet hypoglycémiant est transitoire puisqu'il est suivi d'un retour de la glycémie à la ligne de base, suggérant une modification importante

de la cinétique d'effet sur le glucose sanguin de la fraction F₂ vis-à-vis de l'extrait total acétonique. Cette observation nous a conduit à évaluer l'effet anti-hyperglycémiant de la fraction F₂ sur un test de tolérance au glucose. L'administration préalable de la fraction F₂ réduit de façon significative le pic d'hyperglycémie observé lors d'un test de tolérance au glucose. Les essais pharmacologiques réalisés chez des rats normoglycémiques et sur le test de tolérance au glucose montrent que la fraction F₂ est plutôt anti-hyperglycémiant alors que l'extrait total acétonique est hypoglycémiant chez des rats normoglycémiques et anti-hyperglycémiant sur un test de tolérance au glucose et chez des rats diabétiques de type 2. Le fractionnement par chromatographie d'exclusion diffusion aurait probablement séparé les composés actifs de l'extrait total acétonique, suggérant que l'effet sur le glucose sanguin de ce dernier serait lié à la présence de composés qui agiraient de façon synergique.

Au plan phytochimique, la caractérisation de l'extrait total acétonique par chromatographie sur couche mince (CCM) a révélé la présence de tanins, de flavonoïdes et d'alcaloïdes. Après fractionnement, les flavonoïdes et les alcaloïdes ont été également retrouvés dans la fraction F₂ qui est la seule présentant un effet sur le glucose sanguin à la dose testée. La fraction F₂ ne renferme pas de tanins, son effet sur la glycémie ne devrait donc pas être lié à la présence de tanins dans les feuilles de *V. colorata*. Des études avaient rapporté auparavant un effet hypoglycémiant de composés de type flavonoïde sur différents modèles d'étude du diabète, montrant par exemple un effet hypoglycémiant significatif d'un flavonol dérivé de fleurs d'*Hibiscus vitifolius* Linn sur un test de tolérance au glucose (Ragunathan et Sulochana, 1994). Plus récemment, il a été montré que la fraction d'acétate d'éthyle de *E. alatus* riche en flavonoïdes aurait des propriétés stimulantes sur la libération d'insuline et serait à l'origine de l'effet hypoglycémiant de cette plante chez des souris normoglycémiques et anti-hyperglycémiant chez des souris présentant un diabète de type 2 (Fang et al, 2008). Les travaux antérieurs de Sy et al (2006) avaient montré que l'extrait total acétonique de feuilles de *V. colorata* présente un effet hypoglycémiant chez des rats normoglycémiques alors que cet effet sur la glycémie est complètement aboli chez des rats diabétiques de type 1 suggérant que l'effet sur le glucose sanguin de cet extrait aurait un caractère insulino-dépendant. Ces arguments associés aux observations de Fang et al (2008) sur l'effet des flavonoïdes de *E. alatus* sur la sécrétion d'insuline et à la présence de flavonoïdes dans la fraction F₂ permettent de poser l'hypothèse d'un effet anti-hyperglycémiant de la fraction F₂ probablement lié à un mécanisme mettant en jeu la sécrétion d'insuline.

L'appréciation semi-quantitative des spots des fractions de l'extrait total acétonique obtenus par chromatographie sur couche mince a révélé une plus forte concentration des alcaloïdes dans la fraction F₂ alors que les flavonoïdes étaient plus présents dans les fractions F₃ et F₄ que dans la fraction F₂. Il a été montré que des alcaloïdes isolés des espèces du genre *Lupinus* augmentent la sécrétion d'insuline (Lopez et al, 2004). Par ailleurs, l'effet antidiabétique d'extraits de plantes pourrait s'expliquer par la présence d'un ou de plusieurs composés qui agiraient séparément ou de façon synergique sur la glycémie comme cela a été montré par Marles et Farnsworth (1995). L'effet hypoglycémiant significatif et durable de l'extrait total acétonique pourrait bien être lié à la présence à la fois de composés de types flavonoïde et alcaloïde agissant probablement de façon synergique. Ces composés sont présents dans la fraction F₂ mais avec une teneur en alcaloïdes beaucoup plus faible. Cela pourrait expliquer la différence de l'effet sur le glucose sanguin entre l'extrait total acétonique et la fraction F₂.

Plusieurs substances pharmacologiquement actives entraînent un effet hypo- ou anti-hyperglycémiant en interagissant avec la sécrétion d'insuline. C'est le cas de l'effet hypoglycémiant des sulfamides comme le glibenclamide et de l'effet anti-hyperglycémiant du répaglinide mettant en jeu la sécrétion d'insuline. Ces deux molécules, favorisent la sécrétion d'insuline par interaction avec le canal potassique de type K_{ATP} (Fulhendorff et al, 1998 ; Malaisse, 1999). Le profil pharmacologique de la fraction F_2 sur le glucose sanguin ressemble beaucoup plus à celui du répaglinide alors que des études antérieures réalisées par Sy et al (2005) avaient montré que l'effet sur le glucose sanguin de l'extrait total acétonique serait identique à celui du glibenclamide. Cette différence pourrait être liée à la variation de la teneur en flavonoïdes et en alcaloïdes entre l'extrait total acétonique et la fraction F_2 . Si l'effet anti-hyperglycémiant de la fraction F_2 devait se confirmer sur plusieurs autres modèles d'hyperglycémie, cela permettrait l'obtention d'une préparation présentant un intérêt en thérapeutique.

Références :

Benoit-Vical F., Santillana Hayat M., Kone-Bamba D., Mallie M., Derouin F. 2000. Anti-toxoplasma activity of vegetal extracts used in west african traditional medicine. *Parasite*, 7 : 3-7.

Boyle JP., Honneycutt AA., Narayan KM. 2001. Projections of diabetes burden through 2050: Impact of changing demography and disease prevalence in the US. *Diabetes Care*, 24 : 1936-1940.

Dièye AM., Sarr A., Diop SN., Ndiaye M., Sy GY., Diarra M., Rajraji GI., Ndiaye SA., Faye B. 2008. Medicinal plants and the treatment of diabetes in Senegal: survey with patients. *Fundamental and Clinical Pharmacology*, 22 (2) : 211-216.

Fang XK., Gao Y., Yang HY., Lang SM., Wang QJ., Yu BY., Zhu DN. 2008. Alleviating effects of active fraction of *Euonymus alatus* abundant in flavonoids on diabetic mice. *American Journal of Chinese Medicine*, 36 (1) : 125-140.

Fulhendorff J., Rorsman P., Kofod H., Brand CL., Rolin B., Mackay P. 1998. Stimulation of insulin release by repaglinide and glibenclamide involves both common and distinct processes. *Diabetes*, 47 : 345-351.

Kelmasson JE., Jäger AK., Van Staden J. 2000. Zulu medicinal plants with antibacterial activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 69 : 241-246.

King H., Aubert RE., Herman W. 1998. Global burden of diabetes 1995-2025: prevalence, numerical estimates and projections. *Diabetes Care*, 21 : 1414-1431.

Koumare M. 1989. Expérience de la médecine traditionnelle dans les pays de la sous région africaine. Bureau Régional OMS, Brazaville.

Lopez G., Wysocka W., Maizitaigui B., Alzugaray ME., Del Zotto H., Borelli MI. 2004. Quinolizidine alkaloids isolated from *Lupinus* species enhance insulin secretion. *European Journal of Pharmacology*, 504 (1-4) : 139-142.

Malaisse WJ. 1999. Repaglinide, a new oral antidiabetic agent: a review of recent preclinical studies. *European Journal of Clinical Investigation*, 26 : 21-29.

Marles RJ., Farnsworth NR. 1995. Antidiabetic plants and their active constituents. *Phytomedicine*, 2 : 137-189.

Rabe T., Mullholland D., Van Staden J. 2002. Isolation and identification of antibacterial compounds from *Vernonia colorata* leaves. *Journal of Ethnopharmacology*, 80 : 91-94.

Ragunathan V., Sulochana N. 1994. A new flavonol bioside from the flower of *Hibiscus vitifolius* Linn. and its hypoglycaemic activity. *Journal of Indian Chemical Society*, 71 : 705-706.

Sy GY., Nongonierma RB., Sarr M., Cissé A., Faye B. 2004. Activité antidiabétique de feuilles de *Vernonia colorata* (Willd.) Drake (COMPOSEAE) sur un modèle de diabète alloxanique chez le rat. *Dakar Médical*, 49 : 36-39.

Sy GY., Cissé A., Nongonierma RB., Sarr M., Mbodj NA., 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 : 171-175.

Sy GY., Nongonierma RB., Cissé A., Dièye AM., Wélé A., Gadiaga NF., Faye B. 2006. Mécanismes d'action des extraits acétonique et hexanique de feuilles de *Vernonia colorata* Willd. (Drake) (COMPOSEAE) sur la régulation de la glycémie. *Dakar Médical*, 51(1) : 42-46.

Tona L., Cimanga RK., Mesia K., Musuamba CT., De Bruyne T., Apers S., Hermans N., Van Miert S., Pieters L., Totté J., Vlietinck AJ. 2004. In vitro anti-plasmodial activity of extracts and fractions from seven medicinal plants used in the Democratic Republic of Congo. *Journal of Ethnopharmacology*, 93 : 27-32.