

CONTROLE DE QUELQUES COMPOSANTES DU SYNDROME METABOLIQUE PAR DES EXTRAITS HYDROETHANOLIQUES D'*AFRAMOMUM AULACOCORPUS*, *A.CITRATUM* ET *A.DANIELLII* (HOOK.F) K.SCHUM

LR. Nguélé¹, CN. Fokunang^{2*}, CB. Etoundi¹, RM. Chakokam¹, JL. Ngondi¹, JE. Oben¹

¹Laboratory of Food Sciences and Metabolism, Department of Biochemistry, P.O. Box 812, Faculty of science, University of Yaoundé I, Cameroon

²Department of Pharmaceutical Sciences and traditional pharmacopoeia, Faculty of medicine and Biomedical Science, University of Yaoundé I, Cameroun .

*Corresponding author. Dr Charles Fokunang ; Tel (237)70902446
Email address:charlesfokunang@yahoo.co.uk

RESUME

Les composés bioactifs des épices potentiellement antioxydant, hypoglycémiant et hypolipidémiant sont considérés comme des facteurs nutritionnels de choix dans la stratégie de prévention du syndrome métabolique (Smet). Le but de cette étude était d'évaluer les propriétés antihyperglycémiant, antihyperlipidémiant et antilipoperoxydative des extraits hydroéthanoliques (EHE) de trois épices locales : *Aframomum aulacocarpus*, *Aframomum citratum* et *Aframomum daniellii*. L'EHE d'*A.daniellii* a été plus actif pour l'inhibition des activités amylasique (99,19%) et invertasique (94,68%) comparé aux autres extraits ($p < 0,05$) tandis que l'EHE d'*A.aulacocarpus* a significativement inhibé la lipase (93,33%). Les tests aigus ont montré que l'EHE d'*A.aulacocarpus* avait un effet antihyperlipidémiant important (77% ; $p < 0,05$) alors que l'effet antihyperglycémiant était plus élevé avec l'EHE d'*A.daniellii* (78,48%) ($p < 0,05$).

Mots clés : *Aframomum*, antioxydant, hypoglycémiant, hypolipidémiant, syndrome métabolique.

SUMMARY

The bioactive compounds of potentially antioxidant species; hypoglycemic and hypolipidemic are regarded as nutritional factors of choice in the strategy of prevention of metabolic syndrome (MetS). The aim of this study was to evaluate the antihyperglycemic, antihyperlipidemic and antilipoperoxydative properties of hydroethanolic extracts (HEE) of three local spices: *Aframomum aulacocarpus*, *Aframomum citratum* and *Aframomum daniellii*. The HEE of *A.daniellii* was more active for the inhibition of activities of amylase (99.19%) and invertase (94.68%) compared to the other extracts ($p < 0.05$) while the HEE of *A.aulacocarpus* significantly inhibited lipase (93.33%). The acute tests showed that the HEE of *A.aulacocarpus* had significant antihyperlipidemic effect (77%; $p < 0.05$) whereas the antihyperglycemic effect was higher with the HEE of *A.daniellii* (78.48%) ($p < 0.05$).

Key words: *Aframomum*, antioxidant, hypoglycemic, hypolipidemic, metabolic syndrome.

INTRODUCTION

De nos jours, les maladies cardiovasculaires (MCV) représentent l'une des principales causes de mortalité dans les pays industrialisés, sans doute en raison d'une augmentation de la prévalence des différents facteurs de risque cardiovasculaires tels que l'obésité abdominale, l'insulinorésistance, la dyslipidémie et l'hypertension artérielle (Alberti *et al.*, 2005). Une tendance au regroupement chez un même individu de plusieurs de ces anomalies métaboliques a été observée, donnant naissance au concept de Syndrome Métabolique (Smet) (Reaven, 2000). Le Smet est caractérisé par une constellation de facteurs de risque de MCV et de diabète de type 2 incluant l'obésité abdominale, de faibles concentrations plasmatiques de cholestérol dans les lipoprotéines de haute densité (HDL) et des concentrations plasmatiques élevées de triglycérides (TG), l'hypertension artérielle et l'hyperglycémie. (Alberti *et al.*, 2005 ; Grundy, 2005). Le nombre de sujets atteints par le Smet ne cesse d'augmenter tant dans les pays industrialisés que dans les pays en développement (Desroches et Lamarche, 2007 ; Cameron *et al.*, 2004 ; Mandob *et al.*, 2007).

Cette épidémie, qui est révélatrice d'un problème croissant de santé publique, est liée à des conditions principalement environnementales, où les erreurs alimentaires occupent une place prépondérante (Wirfalt *et al.*, 2001). L'adoption d'un style de vie sain par l'augmentation de l'activité physique, la perte de poids, et le maintien du poids grâce à un régime alimentaire antiathérogène, constitue la base du traitement du Smet. De nombreuses études indiquent aussi que l'adoption d'un régime riche en antioxydants était associée à une faible incidence de Smet (Grundy *et al.*, 2002 ; Davy *et al.*, 2003). En effet, les sujets souvent en surpoids et développant un Smet s'installent dans un stress oxydant non contrôlé qui entraîne des dommages cellulaires et vasculaires. En parallèle, chez ces patients, les défenses antioxydantes sont souvent abaissées, aggravant ainsi le stress oxydant. Les antioxydants d'origine alimentaire sont donc, dans le Smet, et de façon générale, des facteurs importants de lutte et de prévention. Compte tenu de la diminution de la sensibilité à l'insuline qui se développe également dans cette pathologie, les facteurs nutritionnels qui améliorent cette sensibilité à l'insuline et qui ont, de surcroît, un fort pouvoir antioxydant, devraient agir efficacement et réduire les altérations métaboliques et l'incidence du diabète et des MCV chez ces patients (Grundy, 2006 ; Grundy *et al.*, 2005). Depuis quelques années, plusieurs équipes de recherche se sont investies dans l'identification des aliments ou constituants alimentaires aux effets hypocholestérolémiants, hypoglycémiant, hypotriglycéridémiant, hypotenseurs ou même insulinosensibilisateurs. Le but de ce travail était donc d'évaluer les propriétés biologiques de trois épices couramment utilisées dans la préparation des sauces traditionnelles : *Aframomum aulacocarpus*, *Aframomum*

citratum et *Aframomum daniellii*, genre de la famille des Zingiberaceae.

MATERIELS ET METHODE

Collecte du matériel végétal et tests *in vitro*

Trois épices d'*A.aulacocarpus*, *A.citratum*, et *A.daniellii* ont été achetées au marché du Mfoundi à Yaoundé (Cameroun). Les épices sèches ont été écrasées en une poudre fine à l'aide d'un broyeur à hélices type Moulinex. Les broyâts obtenus ont été soumis à des extractions hydroéthanoliques.

Extraction aqueuse

Les broyâts de chaque épices ont été dissouts dans de l'eau distillée en proportion 1/4 (500g de plante pour 2L d'eau distillée). Le mélange a été macéré pendant 48h à température ambiante puis filtré. Le filtrat a été séché à l'étuve de type Kotterman 2718 à 50 °C pendant 72h. Les rendements d'extraction ont été de 15,21%, 10,46% et 18,26% respectivement pour *A. aulacocarpus*, *A. citratum* et *A. daniellii*.

Extraction hydroéthanolique

Les broyâts ont été dissouts dans un mélange eau : éthanol 1 :1 (v/v) en proportion 1/4 (500g de plante pour 2L de solvant). Le mélange a été macéré pendant 48h à température ambiante puis filtré. Le filtrat a été séché à l'étuve à 50°C. Les rendements d'extraction ont été de 18,25%, 14,46% et 23,36% respectivement pour *A. aulacocarpus*, *A. citratum* et *A. daniellii*.

Extraction éthanolique

Les broyâts ci-dessus ont été dissouts dans de l'éthanol 95% en proportion 1/4 (500g de plante pour 2L de solvant). Le mélange a été macéré pendant 48h à température ambiante puis filtré. Le filtrat obtenu a été séché à l'étuve comme décrit ci-dessus. Les rendements d'extraction ont été de 14,35%, 13,06% et 19,3% respectivement pour *A. aulacocarpus*, *A. citratum* et *A. daniellii*. Les extraits obtenus ont été conservés à l'abri de la lumière et de l'humidité puis, utilisés pour la suite du travail.

Évaluation du potentiel antioxydant

Détermination de la teneur en polyphénols (méthode utilisant le réactif de Folin-ciocalteu)

Mode opératoire

La concentration polyphénolique de l'extrait a été mesurée en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu (Sigma Chemical Co. St Louis, MO) dilué 10 fois avant utilisation. Pour cela, après l'ajout de 30µL d'extrait dans 1mL de solution de Folin diluée 10 fois, l'absorbance a été mesurée à 750 nm après 30 min de réaction à température ambiante à l'aide d'un spectrophotomètre. La catéchine (Sigma) a été utilisée comme standard (Singleton et Rossi, 1965).

Évaluation de l'activité DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl) anti-radicalaire

Mode opératoire

Un volume (20 µL) de chaque échantillon ont été introduits dans 2 mL d'une solution méthanolique de DPPH (0,3mM). Après 30 min d'incubation à l'obscurité, l'absorbance a été mesurée au spectrophotomètre à 517nm. Un contrôle constitué de DPPH sans extrait a été utilisé. Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH par les spécimens a été calculé selon la formule de **Yen et Duh (1994)**.

$$\% \text{ d'inhibition} = \frac{(\text{Absorbance}_{(\text{contrôle})} - \text{Absorbance}_{(\text{essai})})}{\text{Absorbance}_{(\text{contrôle})}} \times 100$$

Évaluation de l'activité ABTS (Acide 2,2'-azino-bis (3-éthylbenz-thiazoline-6-sulfonique)) anti-radicalaire

Mode opératoire

Vingt microlitres (20 µL) de chaque solution d'extrait de plante ont été introduits dans 1mL d'une solution d'ABTS⁺. Après 30 min d'incubation à l'obscurité, l'absorbance a été mesurée au spectrophotomètre à 734nm. Un contrôle constitué d'ABTS⁺ sans extrait a été utilisé. Le pourcentage d'inhibition du radical ABTS par les spécimens a été calculé selon la formule de **Yen et Duh (1994)**.

Détermination du pouvoir réducteur du fer (méthode de FRAP)

(Benzie et Strain, 1996)

Mode opératoire

Pour la détermination du pouvoir réducteur, 75µl d'extrait ont été pipetés et introduits dans un tube à essai contenant 2 mL du réactif de FRAP. Après 30 min d'incubation à température ambiante, les densités optiques sont lues à 593nm contre le blanc.

Après le screening de l'activité antioxydante, les extraits de chaque plante ayant présenté les meilleurs pourcentages d'inhibition des radicaux DPPH et ABTS, les meilleurs pouvoirs réducteurs du fer (FRAP) ainsi que les meilleurs teneurs en polyphénols seront choisis pour la suite du travail.

Évaluation de l'effet des extraits sur l'activité antilipasique (EC 3.1.1.3)

Protocole expérimental

Le mélange réactionnel contenant 250µL de trioléine (Sigma Aldrich), 1100µL de tampon tris-HCl Ph 8,6 est pré incubé à 37°C pendant 15 min. Ensuite la réaction est initiée par ajout de 50µL d'enzyme en solution et la décroissance de la turbidimétrie est mesurée à 340nm. Pour mesurer l'activité inhibitrice, 100µL d'aliquote des extraits les plus actifs de chaque épice sont ajoutés et le processus suit comme décrit ci-dessus.

Évaluation de l'effet des extraits sur l'activité anti-amylasique (EC 3.2.1.1)

Protocole expérimental

L'activité de l'amylase est évaluée par quantification de l'amidon non digéré sous des conditions réactionnelles. Le mélange réactionnel contenant 20µL d'enzyme (30µg/mL), 1380µL de tampon tris-HCl Ph 6,8, est pré incubé à 30 C pendant 20 min. Ensuite, la réaction est initiée par ajout de 100µL d'amidon (1%) en solution. Après 20 min d'incubation, la réaction enzymatique est arrêtée par ajout de 2mL d'iode acidifié et l'absorbance est lue à 580nm. Pour mesurer l'activité inhibitrice, 100µL d'aliquotes des extraits les plus actifs de chaque épice sont ajoutés dans le milieu réactionnel. Après 20 min de pré incubation à 30 C, le substrat est ajouté et le processus suit comme précédemment décrit.

Expression des résultats

$$\% \text{ d'inhibition} = \frac{(\text{Absorbance}_{(\text{contrôle})} - \text{Absorbance}_{(\text{essai})})}{\text{Absorbance}_{(\text{contrôle})}} \times 100$$

Évaluation de l'effet des extraits sélectionnés sur l'activité anti-invertasique

Protocole expérimental

La composition du milieu réactionnel est indiquée dans le tableau suivant :

Tubes	0	1	2	3	4	5
Tampon Tris-HCl 0,05M pH 6,9 (µl)	470	420	370	370	370	370
Enzyme (30µg/mL) (µl)	30	30	30	30	30	30
Extrait (µl)	0	0	50 µl (5mg/mL)	50µl (10mg/mL)	50µl (20mg/mL)	50µl (40mg/mL)
Sucrose (3%) (µl)	0	Pré-incuber au bain Marie à 37°C pendant 5 min				
		50	50	50	50	50
		Agiter et incuber à 37°C pendant 10 minutes				
Porter au bain marie bouillant pendant 5min pour arrêter la réaction enzymatique						
DNS (µl)	750	750	750	750	750	750
Homogénéiser, boucher les tubes avec du papier aluminium et porter au bain marie bouillant pendant 5 min exactement. Laisser refroidir, lire l'absorbance à 540nm						

Un témoin extrait est réalisé suivant le protocole décrit dans le tableau ci-dessous:

Tableau 3 : Composition du milieu réactionnel pour le témoin extrait

Tubes	1	2	3	4
Tampon Tris-HCl 0,05M pH 6,9 (µl)	420	420	420	420
Enzyme (µl)	30	30	30	30
Extrait (µl)	50 µl (5mg/ml)	50µl (10mg/ml)	50µl (20mg/ml)	50µl (40mg/ml)
	Pré-incuber au bain Marie à 37°C pendant 10 min			
	Agiter et incuber à 37°C pendant 15 minutes			
	Porter au bain marie bouillant pendant 5min			
DNS (µl)	750	750	750	750
Homogénéiser, boucher les tubes avec du papier aluminium et porter 5 min exactement au bain marie bouillant. Laisser refroidir ; lire l'absorbance à 540nm				

Expression des résultats

Les pourcentages d'inhibition sont calculés selon la formule suivante :

$$\% \text{ d'inhibition} = \frac{\text{Absorbance}_{(\text{contrôle})} - \text{Absorbance}_{(\text{essai})}}{\text{Absorbance}_{(\text{contrôle})}} \times 100$$

Traitements aigus

Étude de l'effet des extraits sélectionnés sur la glycémie des animaux

Les expériences ont été menées sur des rats mâles albinos de souche Wistar pesant au moins 200g. Cinq (5) groupes de 5 rats chacun ont été constitués. Les rats ont été mis à jeun pendant 12 heures depuis la veille et pendant toute la durée de l'expérience. L'accès à l'eau était *ad libitum*. Les extraits les plus actifs (400mg/kg) dissouts dans l'eau distillée ont été administrés par gavage unique à l'aide d'une sonde

œsophagienne. Une légère piqure au bout distal de la queue a permis d'obtenir une légère saignée qui a été déposée sur une bandelette réactive (*SD Check*) imprégnée de glucose oxydase. La lecture de la glycémie s'est effectuée à l'aide du glucomètre (marque *Gluco-Plus*), 10 secondes après le dépôt de la goutte de sang sur la bandelette.

Test de l'activité antihyperglycémiant avec le sucrose

La glycémie initiale a été prise pour tous les groupes. Puis, les témoins négatif (TN) et témoin positif (TP) ont reçu 1 mL d'eau distillée tandis que les trois groupes essais ont reçu chacun par gavage 1 mL de l'un des extraits les plus actifs d'*A. aulacocarpus*, *citratum* et *daniellii* à la dose 400mg/kg. Trente (30) min après administration des extraits, 1 mL d'une solution de

sucrose (2g/kg a été administrée aux animaux de tous les groupes sauf le groupe TN qui a reçu 1 mL d'eau distillée. Les glycémies ont été déterminées par la suite aux instants 30, 60 et 120 min après administration du sucrose. Les pourcentages d'inhibition ont été calculées par à partir de l'incrément glycémique total en faisant la somme des augmentations de la glycémie après l'administration de la surcharge orale de sucrose (**Madar, 1989**).

Test de l'activité antihyperglycémiant avec l'amidon
Le schéma expérimental est le même que précédemment. On remplace le sucrose par l'amidon (1g/kg) et les glycémies ont été prises aux instants 30 ; 60 ; 90 et 180 min après administration de la solution d'amidon.

Effets des extraits sélectionnés sur la triglycéridémie postprandiale

L'expérience s'est faite suivant le protocole de **Toshiyuki (2003)**. Pour cela, 25 rats mâles albinos de souche Wistar pesant au moins 200g ont été divisés en 5 groupes de 5 rats chacun.

Le sang a tout d'abord été prélevé grâce à une légère incision à l'extrémité distale de la queue au temps initial. Puis, les TN et TP ont reçu 1 mL d'eau distillée tandis que les trois groupes essais ont reçu chacun par gavage 1 mL de l'un des extraits les plus actifs d'*A. aulacocarpus*, *A. citratum* et *A. daniellii* à la dose de 400mg/kg. 30 min après administration des extraits, le groupe TN a reçu 5ml d'eau distillée alors que le groupe TP et les 3 groupes essais ont reçu 5 ml de trioléine à la dose 5ml/kg. Le sang a été prélevé aux instants 30min, 1h30min, 3h et 5h après administration de la trioléine. Les triglycérides ont été dosés selon le principe de **Fossati et Principe (1982)** tel que décrit au dosage du profil lipidique ci-dessous.

Analyse statistique

Le logiciel SPSS (*Statistical Package for Social Science*) Version 10.1 pour Windows a été utilisé pour l'analyse statistique des résultats. L'analyse de la variance entre les différents groupes a été faite grâce au test d'ANOVA (*Analysis of variance*) à un facteur. Les tests *post hoc* de comparaison de Tamhane et Duncan ont été utilisés pour comparer les valeurs de l'étude *in vivo*. Le test de Kolmogorov-Smirnov a servi pour la comparaison de deux groupes indépendants. Tous les résultats ayant un $p < 0,05$ ont été considérés comme significatifs. Les résultats sont exprimés sous la forme de moyenne \pm erreur standard.

RESULTATS

Résultats de l'évaluation de l'activité antioxydante à travers des systèmes utilisant des oxydants synthétiques FRAP, DPPH et ABTS

Il a été question ici d'évaluer l'activité antioxydante en utilisant des méthodes qui mettent en jeu des oxydants synthétiques tels que l'ABTS, le DPPH et le FRAP. Ceci nous donne une idée de la teneur en polyphénols (Folin), du pouvoir réducteur (FRAP) et du pouvoir anti-radicalaire comparé vis-à-vis du radical DPPH et du radical cation ABTS. Le tableau ci-dessous résume la teneur en polyphénols et du potentiel antioxydant des extraits.

Tableau 8: Potentiel antioxydant et teneur en polyphénols des différents extraits d'*A.aulacocarpus*, *citratum* et *daniellii*

Plantes	Extraits	Folin (mg d'EC/g de plante)	DPPH (%) d'inhibition)	FRAP (mg d'EC/g de plante)	ABTS (%) d'inhibition)
<i>A. aulacocarpus</i>	aqueux	15,556±1,032 ^a	5,614±1,780 ^a	0,006±0,002 ^a	28,629±0,433 ^c
	Ethanolique	75,255±1,223 ^b	80,722±0,096 ^b	0,005±0,001 ^a	55,904±1,265 ^a
	Hydroéthanolique	150,031±2,111^c	89,367±0,024^b	0,023±0,001^b	95,679±1,337^d
<i>A. citratum</i>	aqueux	51,546±1,099 ^b	42,072±0,697 ^c	0,009±0,001 ^a	55,904±1,265 ^a
	Ethanolique	225,303±5,696 ^d	5,886±1,010 ^a	0,007±0,002 ^a	91,462±0,433 ^d
	Hydroéthanolique	272,364±9,722^d	75,689±4,691^b	0,022±0,001^b	98,565±0,361^d
<i>A. daniellii</i>	aqueux	19,946±1,114 ^a	25,723±1,003 ^d	0,007±0,001 ^a	17,561±2,277 ^b
	Ethanolique	64,765±3,837 ^b	85,675±1,491 ^b	0,003±0,001 ^c	24,718±5,675 ^b
	Hydroéthanolique	102,520±8,615^c	87,682±0,240^b	0,053±0,007^d	54,626±0,325^a

EC : Equivalent catéchine. Les résultats sont présentés sous forme de moyennes \pm erreur standard ^{abcd}. Les colonnes avec les lettres différentes sont significativement différents à $p < 0,05$

Il ressort de ce tableau que l'extrait Hydroéthanolique (EHE) d'*A.citratum* est plus riche en polyphénols (272,364±9,722 mg d'EC/g de plante) suivi de l'EHE d'*A.aulacocarpus*. L'EHE d'*A.daniellii* vient en troisième position. La différence entre les trois est significative ($p < 0,05$). Le pouvoir anti-radicalaire mesuré avec le radical cation ABTS suit à peu près la même tendance mais, on note une diminution ($p < 0,05$) du pourcentage d'inhibition dans l'EHE d'*A.daniellii*, comparé aux autres extraits. Avec le radical DPPH, on note également que les extraits hydroéthanoliques sont les plus actifs.

Les extraits hydroéthanoliques de chaque épice ont présenté les meilleures teneurs en composés phénoliques (Folin), pouvoir réducteur (FRAP) et les pourcentages d'inhibition élevés pour le potentiel anti-radicalaire (DPPH, ABTS). Ils ont donc été choisis pour la suite du travail.

Effet des extraits hydroéthanoliques d'*A.aulacocarpus*, *A.citratum* et *A.daniellii* sur l'activité de quelques enzymes digestives *in vitro*

Résultats de l'activité anti-amylasique

L'activité de l' α -amylase a été évaluée en présence de l'iode et du DNS. Pour le premier cas, l'activité de l' α -amylase pancréatique de porc (30 μ g/ml) a été étudiée en présence et en absence des concentrations variées d'extraits et fixe d'amidon et d'enzyme. La figure 7 ci-dessous présente les pourcentages d'inhibition des trois extraits.

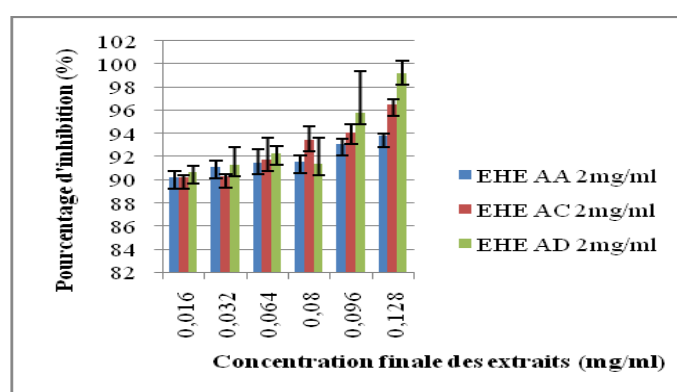


Figure 7 : Profil d'inhibition de l' α -amylase par différentes concentrations d'extraits par la méthode utilisant l'iode

D'après cette figure, le pourcentage d'inhibition augmente avec la concentration en extrait. On note une augmentation significative ($p < 0,05$) du pourcentage d'inhibition de l'EHE AD 2mg/ml comparé aux autres extraits pour 0,128mg/ml d'extrait.

Pour l'étude de l'activité de l'alpha amylase avec l'acide 3,5-Dinitrosalicylique (DNS), 4 solutions d'extraits à différentes concentrations (5mg/ml ; 10mg/ml ; 20mg/ml ; 40mg/ml) et 4 solutions d'empois d'amidon (1% ; 2% ; 3% ; 5%) ont été préparées. Les pourcentages d'inhibitions ont été calculés à partir du control (sans extrait). Les résultats sont consignés dans le tableau ci-dessous.

Effet des extraits d'intérêts sur l'activité antiinvertasique

Pour l'effet des extraits d'Aframomum sur l'invertase en présence du DNS, le protocole décrit ci-dessus dans le cas de l' α -amylase a été suivi et les résultats sont présentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 9 : Effet des extraits hydroéthanoliques des trois épices sur l'activité antiinvertasique par la méthode utilisant le DNS

Pourcentage d'inhibition (%)				
Extraits	5mg/ml	10mg/ml	20mg/ml	40mg/ml
<i>A.aulacocarpus</i>	36,615±5,619 ^a	57,630±5,295 ^a	63,508±9,944 ^a	79,756±1,780 ^a
<i>A.citratum</i>	5,809±0,935 ^b	33,846±2,479 ^b	72,908±2,110 ^b	89,625±1,671 ^b
<i>A.daniellii</i>	10,020±2,507 ^c	35,165±2,886 ^b	66,615±1,945 ^c	78,384±2,298 ^a

Les résultats sont présentés sous forme de moyennes \pm erreur standard abc. Les colonnes avec les lettres différentes sont significativement différents à $p < 0,05$

Il ressort de ce tableau que le pourcentage d'inhibition est fonction de la concentration en extrait. Pour tous les

extraits, on note une augmentation significative du pourcentage d'inhibition à 40mg/ml d'extrait. L'EHE d'*A.citratum* 40mg/ml présente une inhibition de 89,625% ($p < 0,05$).

Effet des extraits choisis sur l'activité antilipasique *in vitro*

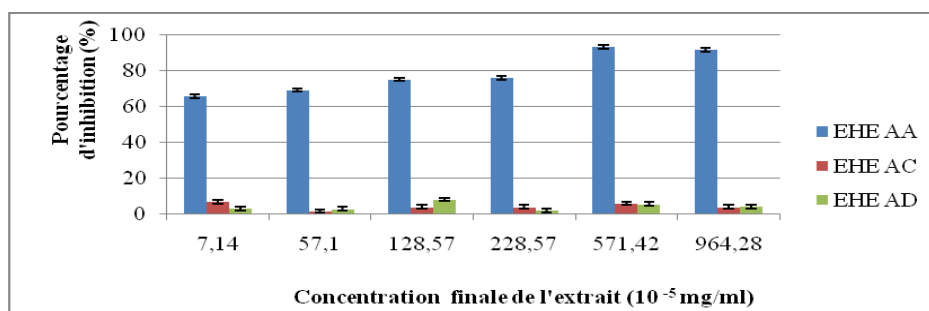


Figure 8 : Effet des extraits hydroéthanoliques d'*A.aulacocarpus* (AA), *citratum* (AC) et *daniellii* (AD) sur l'activité antilipasique *in vitro*

On note une augmentation significative du pourcentage d'inhibition ($p < 0,05$) avec l'EHE d'*A.aulacocarpus* comparé aux autres extraits. Le pourcentage d'inhibition est fonction de la concentration d'extrait.

Résultats des études *in vivo*

Le test de l'activité antihyperglycémiant a été réalisé dans le but d'évaluer la capacité régulatrice de l'organisme vis-à-vis d'une surcharge glucidique provoquée par voie orale. Pour cela, l'amidon (1g/kg de poids corporel) et le sucrose (2g/kg PC) ont été utilisés. Les résultats sont présentés sous forme de graphiques (figure 9).

Effets des extraits hydroéthanoliques d'*A.aulacocarpus*, *A.citratum* et *A.daniellii* sur la glycémie après ingestion d'amidon

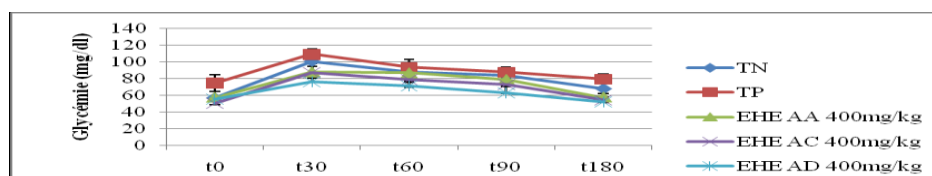


Figure 9 : Effet de l'administration orale des extraits EHE d'*A.aulacocarpus*, *citratum* et *daniellii* sur l'hyperglycémie provoquée par ingestion d'amidon

Ce graphique montre que le pic glycémique a été atteint après 30 min. on note une augmentation significative de la glycémie dans le témoin positif (TP) comparé au témoin négatif ($p < 0,05$). Tous les extraits entraînaient une baisse de la glycémie par rapport au TP.

Le calcul des pourcentages d'inhibition montre que l'extrait hydroéthanolique d'*A.daniellii* est plus actif (78,48%), suivi de l'EHE d'*A.citratum* (56,52%) et enfin l'EHE d'*A.aulacocarpus* (37,75%) ($p < 0,05$). Le tableau suivant présente les pourcentages d'inhibition.

Tableau 9 : Calcul des pourcentages d'inhibition de l'activité antihyperglycémiant avec l'amidon

Extraits hydroéthanoliques	<i>A.aulacocarpus</i>	<i>A.citratum</i>	<i>A.daniellii</i>
Pourcentage d'inhibition de la glycémie (%)	37,75±3,46 ^a	56,52±6,38 ^b	78,48±4,57 ^c

Les résultats sont présentés sous forme de moyennes \pm erreur standard ^{abc}. Les lignes avec les lettres différentes sont significativement différents à $p < 0,05$

Effets des extraits hydroéthanoliques d'*A.aulacocarpus*, *A.citratum* et *A.daniellii* sur la glycémie après ingestion du sucrose

La figure 11 suivante présente les résultats de l'activité antihyperglycémiant réalisée avec le sucrose (2g/kg de poids corporel).

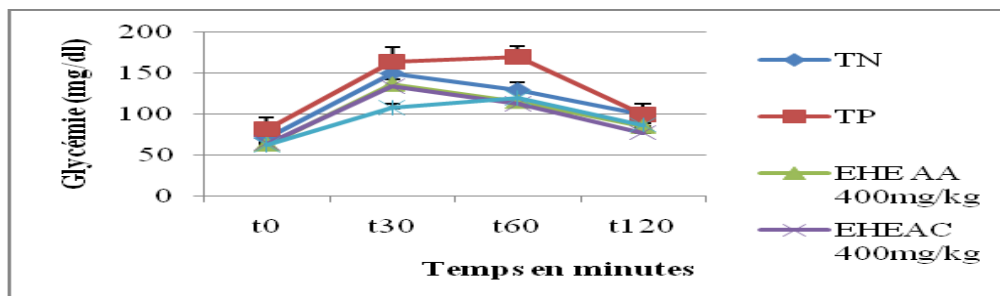


Figure 11: Effet de l'administration orale des extraits EHE d'*A.aulacocarpus*, *citratum* et *daniellii* sur l'hyperglycémie provoquée par ingestion de sucrose

La figure ci-dessus montre un pic glycémique à 60 min pour le TP et à 30 min pour les autres groupes. On observe une augmentation ($p < 0,05$) de la glycémie dans le TP comparé au TN et une diminution significative de la glycémie dans les groupes traités

($p < 0,05$). Le tableau ci-dessus présente les pourcentages d'inhibition de chaque extrait. L'EHE d'*A.daniellii* est plus actif (35,76%) suivi d'*A.citratum* (27,52%). L'*A.aulacocarpus* vient en troisième position (22,82%) ($p < 0,05$).

Tableau 11: Pourcentages d'inhibition de l'activité antihyperglycémiant après ingestion de sucrose

Extraits hydroéthanoliques	<i>A.aulacocarpus</i>	<i>A.citratum</i>	<i>A.daniellii</i>
Pourcentage d'inhibition de la glycémie (%)	22,82±1,41 ^a	27,52±2,31 ^b	35,76±3,97 ^c

Les résultats sont présentés sous forme de moyennes \pm erreur standard ^{abc}. Les lignes avec les lettres différentes sont significativement différents à $p < 0,05$

Effet des extraits hydroéthanoliques d'*A.aulacocarpus*, *citratum* et *daniellii* sur la triglycéridémie postprandiale

Le test d'hypertriglycéridémie provoqué par la trioléine par voie orale avait pour but d'évaluer la capacité régulatrice de nos extraits vis-à-vis d'une surcharge lipidique. Les résultats sont présentés dans le graphique suivant (figure 11):

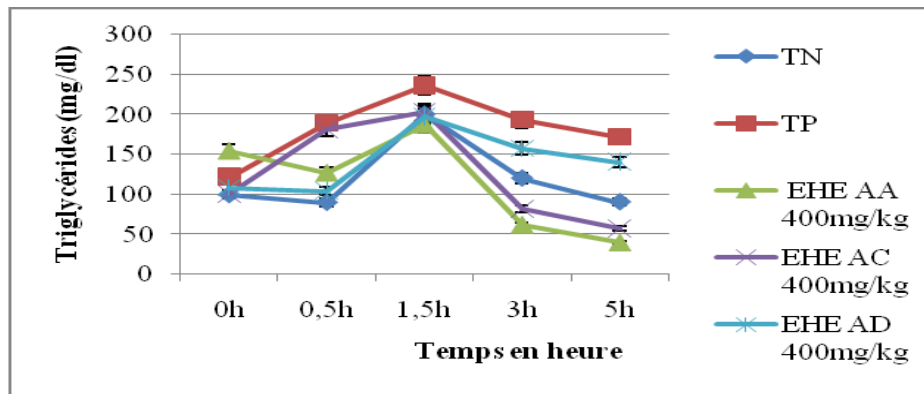


Figure 11: Évolution de la triglycéridémie postprandiale en présence et en absence des extraits d'*A.aulacocarpus*, *citratum* et *daniellii*

Comme on peut le constater, le pic triglycéridémique est atteint pour tous les groupes après 1h30min. On note une augmentation significative ($p < 0,05$) des triglycérides du témoin positif comparé au témoin négatif. Une baisse significative des triglycérides a été notée dans tous les groupes traités comparé au témoin positif ($p < 0,05$). L'EHE d'*A.aulacocarpus* 400mg/kg baisse significativement les triglycérides (39,43mg/dl), suivi de l'EHE d'*A.citratum* (56,65mg/dl) et enfin l'EHE d'*A.daniellii* (140,21 mg/dl) ($p < 0,05$).

DISCUSSION

Le potentiel antioxydant des extraits peut être mesuré à travers plusieurs tests *in vitro*. Cependant, une seule méthode n'est pas recommandée pour l'évaluation de l'activité antioxydante de différents produits à cause de la complexité de leur composition (Shahidi, 2008). Par conséquent, la capacité antioxydante des produits naturels devrait être évaluée en associant plusieurs tests *in vitro* pour obtenir des résultats probants. Les méthodes de FRAP (solvant aqueux), ABTS (solvants aqueux et éthanolique) et DPPH (solvant alcoolique) ont été citées comme reflétant l'activité antioxydante des échantillons (Gorinstein et al., 2004). FRAP mesure l'habileté d'un échantillon à réduire les métaux alors qu'ABTS et DPPH mesurent la capacité de l'échantillon à piéger les radicaux libres. Pour FRAP et ABTS, il ya transfert d'un électron alors que DPPH combine des réactions de transfert d'électron et d'hydrogène (Prior et al., 2005). Dans cette étude, la capacité antioxydante des extraits telle que mesurée par FRAP variait significativement et les extraits hydroéthanoliques étaient les plus actifs ($p < 0,05$). Le piégeage des radicaux ABTS \cdot^+ et DPPH \cdot suivait

à peu près la même tendance. Les valeurs de FRAP, ABTS et DPPH étaient faibles par rapport aux concentrations en composés phénoliques. Ceci pourrait s'expliquer par le fait que l'activité antioxydante des composés phénoliques dépend de leur structure et du nombre de groupements hydroxyles par molécules (Van Hacker et al., 1996).

Les inhibiteurs de l'alpha-amylase (acarbose), de la lipase (orlistat) et de l'invertase sont diversifiés et généralement synthétiques et utilisés comme médicament contre le diabète. Beaucoup de plantes médicinales sont connues dans ce domaine. Plusieurs études ont démontré l'habileté des substances polyphénoliques à interagir avec les enzymes digestives en les inhibant (Arts et al., 2002 ; Rhom et al., 2002). Le mécanisme par lequel les flavonoïdes inhibent les enzymes digestives serait lié au nombre de groupement hydroxyle pouvant causer des changements conformationnels dans la structure de l'enzyme (Kim et al., 2000). L'un des effets métaboliques des inhibiteurs de l' α -amylase et l'invertase est la réduction du pic glycémique postprandial ; ce qui constitue une approche

thérapeutique pour le traitement des hyperglycémies chez les diabétiques (**Obiro et al., 2008**). Les résultats obtenus *in vitro* ont été confirmés *in vivo*. Par conséquent, le décalage et la réduction du pic glycémique postprandial observés chez les rats traités aux EHE d'*A.aulacocarpus*, *A.citratum* et *A.daniellii* 400mg/kg après une charge orale d'amidon (1g/kg) et de sucrose (2g/kg) serait le résultat de l'inhibition de ces enzymes comme observé dans les tests *in vitro*. Ces résultats corroborent les travaux de **Tsujita et al., (2008)** qui ont montré qu'un inhibiteur des enzymes digestives pouvait réduire l'augmentation des taux de glucose sanguin après une surcharge orale.

Le fait que les extraits testés réduisent la triglycéridémie postprandiale pourrait s'expliquer par le fait que les extraits supprimeraient ou retarderaient la sécrétion des chylomicrons dans la lymphe ou encore inhiberaient la lipase pancréatique, enzyme clé de l'absorption intestinale des lipides alimentaires. Ces résultats corroborent ceux obtenus par **Dakam (2009)** travaillant sur l'effet d'extrait végétal sur la glycémie, le profil lipidique et le statut antioxydant chez les rats dont la triglycéridémie postprandiale a été induite avec la trioléine (5mL/kg de poids corporel). Les chylomicrons qui sont les lipoprotéines riches en triglycérides sont synthétisés et sécrétés dans les entérocytes en phase postprandiale et sont directement fonction du taux d'absorption des lipides. L'hyperlipidémie postprandiale contribuerait au développement de l'athérosclérose et des maladies coronariennes. Plusieurs études ont démontré que l'hypertriglycéridémie postprandiale peut altérer la fonction endothéliale suggérant donc le rôle des triglycérides dans l'initiation et la progression de l'athérosclérose (**Ferreira et al., 2004**).

CONCLUSION

Les extraits hydroéthanoliques d'*A.aulacocarpus*, *A.citratum* et *A.daniellii* ont présenté une inhibition vis-à-vis des activités de l' α -amylase, l'invertase et la lipase *in vitro* ;

Les extraits hydroéthanoliques d'*A.aulacocarpus*, *A.citratum* et *A.daniellii* ont montré une influence sur le métabolisme glucidique et lipidique. Administrés 30 min avant le substrat glucidique ou lipidique, ils réduisent l'évolution normale de la glycémie et de la triglycéridémie postprandiale ;

REFERENCES

Alberti KG, Zimmet P, Shaw J. The metabolic syndrome—a new Worldwide définition. *Lancet* 2005;366:1059-62.
Alberti KGMM, Zimmet P, Shaw J. Metabolic syndrome—a new world-wide definition. A

Consensus Statement from the International Diabetes Federation. *Diabet. Med.* 2006 Mai; 23(5):469-480.

ou http://www.idf.org/webdata/docs/IDF_Metasyndrome_definition.pdf, December 2006.

Benzie, I. & Strain, J. (1996). The Ferric Reducing Ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxydant power: The FRAP assay. *Anal. Biochem.*, **239**, 70-76.

Cameron AJ, Magliano DJ, Zimmet PZ, Welborn TA, Colagiuri S, Tonkin AM, Shaw JE. The metabolic syndrome as a tool for predicting future diabetes: the AusDiab study. *J. Intern. Med.* 2008 Août; 264(2):177-186.

Cameron AJ, Shaw JE, Zimmet PZ. The metabolic syndrome: prevalence in Worldwide populations. *Endocrinol.Metab Clin.North Am.* 2004;33:351-75, table.

Davy BM, Melby CL. The effect of fiber-rich carbohydrates on features of Syndrome X. *J Am Diet.Assoc* 2003;103:86-96.

Desroches S, Lamarche B. The evolving definitions and increasing prevalence of the metabolic syndrome. *Appl.Physiol Nutr Metab* 2007;32:23-32.

Dhandapani, R. (2007). Hypolipidemic activity of *Eclipta prostrata* leaf extract in atherogenic diet induced hyperlipidemic rats. *Indian J. of Experim. Biol.*, **45**, 617-619.

Fossati, P. and Principe, L. (1982). Serum triglycerides determined colorimetrically with an enzyme that produces hydrogen peroxide. *Clin. Chem.*, **28**, 2077-2080.

Gorinstein, S., Zachwieja, Z., Katrich, E., Pawelszik, E., Hauekit, RR., Trakhtenaerg, S., Martin Belloso, O. (2004). Comparison of the Contents of the main antioxydant compounds and the antioxydant activity of white grapefruit and the new hybrid. *Lebensm-wiss.u.Technol.*, **37** :337-343.

Grundy SM, Abate N, Chandalia M. Diet composition and the metabolic syndrome: what is the optimal fat intake? *Am J Med* 2002; 113 Suppl 9B:25S-9S.

Grundy SM, Cleeman JI, Daniels SR et al. Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. *Circulation* 2005; 112:2735-52.

Grundy SM, Cleeman JI, Daniels SR, Donato KA, Eckel RH, Franklin BA, Gordon DJ, Krauss RM, Savage PJ, Smith SC, Spertus JA, Costa F. Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. *Circulation.* 2005 Oct 25; 112(17):2735-2752.

Grundy SM. Atherogenic dyslipidemia associated with metabolic syndrome and insulin resistance. *Clin Cornerstone.* 2006;8 Suppl ES21-S27.

Grundy SM. Drug therapy of the metabolic syndrome: minimizing the emerging crisis in polypharmacy. *Nat.Rev.Drug Discov.* 2006;5:295-309.

Grundy, SM. (1998). Statin trials and goals of cholesterol-lowering therapy. *Circulation*, **97**, 1436-1439.

Kim HJ, Lee JS, Kim CK. Effect of exercise training on muscle glucose transporter 4 protein and intramuscular lipid content in elderly men with impaired glucose tolerance. *Eur. J. Appl. Physiol.* 2004 Déc; 93(3):353-358.

Obiro, WC., Zhang, T., Jrang, B. (2008). The nutraceutical role of the *Phaseolus vulgaris* α -amylase inhibitor, *Br. J. Nutr.*, **100** (1) :1-12.

Prior, RL., Wu, X., Schaich. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary

supplements. *J. Agric. Food Chem.*, **53** : 4290-4302.

Reaven GM. The fourth musketeer from Alexandre Dumas to Claude Bernard. *Diabetologia.* 1995 Jan; 38(1):3-13.

Shahidi, F. (2008). Antioxidants : extraction, identification, application and efficacy measurement. *EJEAFche.*, 7 :3325-3330.

Singleton, V. & Rossi, J. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolydic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vitic.*, **16** :144-158.

Wirfalt E, Hedblad B, Gullberg B et al. Food patterns and components of the metabolic syndrome in men and women: a cross-sectional study within the Malmo Diet and Cancer cohort. *Am J Epidemiol* 2001; 154:11 50-9