

Effet de l'extrait hydro-éthanolique des feuilles de *Trilepisium madagascariense* Leeuwenberg D.C. (Moraceae) contre le stress oxydant associé au diabète sucré chez le rat

Raoul AMPA¹, Martin DIATEWA², Gabriel AHOMBO¹, Théophile DIMO³, Etienne NGUIMBI¹,
et Ange Antoine ABENA²

¹Laboratoire de Biologie Cellulaire et Moléculaire, Faculté des Sciences et Techniques,
Université Marien NGOUABI, Brazzaville, Congo

²Laboratoire de Biochimie et Pharmacologie, Faculté des Sciences de la Santé,
Université Marien NGOUABI Brazzaville, Congo

³Laboratoire de Biologie et Physiologie Animales, Faculté des Sciences, Université de Yaoundé 1, Cameroun

* Correspondance, courriel : ampa_ampa@yahoo.fr

Résumé

Trilepisium madagascariense (Moraceae) est une plante utilisée en médecine traditionnelle congolaise pour traiter le diabète dont l'hyperglycémie est un symptôme cardinal. L'hyperglycémie permanente entraîne un stress oxydatif qui est à l'origine de l'apparition de plusieurs complications du diabète (hypertension artérielle, cataracte, insuffisance rénale, ...). C'est ainsi que, la présente étude a été entreprise pour évaluer l'effet antioxydant de l'extrait hydro-éthanolique de cette plante chez les rats rendus diabétiques par injection de la streptozotocine. L'administration quotidienne de cet extrait à la dose thérapeutique de 400mg/kg et de l'insuline à 5UI/kg aux rats diabétiques pendant trois semaines a provoqué une augmentation significative de l'activité des enzymes anti-oxydantes (superoxyde dismutase ou SOD et catalase) et des taux de glutathion réduit (GSH) et de monoxyde d'azote (NO), comparativement aux rats diabétiques non traités (ou recevant essentiellement de l'eau), chez lesquels, on a observé une baisse de l'activité de ces enzymes, de GSH et de NO. L'augmentation des marqueurs oxydatifs constatée chez les rats diabétiques traités à l'extrait hydro-éthanolique et à l'insuline est un effet compensatoire en réponse au stress oxydatif provoqué par l'hyperglycémie ; alors que leur baisse est le signe d'une atteinte oxydative qui conduit à l'installation des complications du diabète. En conclusion, *Trilepisium madagascariense* possède un grand potentiel antioxydant qui lui permet de prévenir ou de minimiser l'installation des complications du diabète.

Mots-clés : *Trilepisium madagascariense*, stress oxydant, prévention, complications, diabète.

Abstract

Trilepisium madagascariense (Moraceae) is a plant used in Congolese traditional medicine to treat diabetes whose hyperglycemia is a cardinal symptom. The permanent oxidative stress leads to hyperglycemia which is responsible for the appearance of several complications of diabetes (hypertension, cataract, renal failure, ...). Thus, the present study was undertaken to evaluate the hydro-ethanolic extract of the antioxidant effect of this plant in rats made diabetic by injection of streptozotocin.

Daily administration of this extract at the therapeutic dose of 400mg/kg and insulin 5UI/kg to diabetic rats for three weeks caused a significant increase in the activity of antioxidant enzymes (superoxide dismutase or SOD and catalase) and reduced glutathione (GSH) and nitrogen monoxide (NO), compared to untreated diabetic rats (receiving or essentially water), in which was observed a decrease in activity of these enzymes, GSH and NO. Increased oxidative markers found in diabetic rats treated with ethanolic extracts and insulin is a compensatory effect in response to oxidative stress induced by hyperglycaemia; while their decrease is a sign of oxidative attack that leads to the installation of the complications of diabetes. In conclusion, *Trilepisium madagascariense* has great potential antioxidant that enables it to prevent or minimize the installation of diabetic complications.

Keywords : *Trilepisium madagascariense*, oxidative stress, prevention, complications, diabete.

1. Introduction

Le diabète est une affection métabolique due à une mauvaise utilisation du glucose par l'organisme, entraînant une hyperglycémie chronique. Il est maintenant prouvé que le diabète est étroitement lié au stress oxydant [1] et plusieurs études ont montré qu'il est associé à une augmentation de la production des radicaux libres d'une part, et d'une diminution du potentiel oxydant d'une autre part. En effet, les concentrations élevées en glucose dans les milieux extra ou intracellulaires induisent un stress oxydant, considéré comme le moteur mobilisant les différents facteurs pathologiques vers les complications du diabète et les organes associés [5-7]. Les plantes ont pris un grand intérêt comme source énorme d'antioxydants [8] et les études révèlent leur effet antidiabétique accompagné du pouvoir antioxydant élevé, ce qui donne plus d'espoir pour prévenir et ou guérir le diabète et ses complications [9-11]. C'est ainsi que devant les perspectives à l'horizon 2025 qui s'orientent vers une prévalence mondiale de 300 millions d'adultes atteints de diabète [3], la présente étude a été entreprise avec *Trilepisium madagascariense* qui est une plante réputée antidiabétique en médecine traditionnelle congolaise

2- Matériel et méthodes

2-1. Matériel

2-1-1. Matériel végétal

Les feuilles fraîches de *Trilepisium madagascariense* ont été récoltées au mois de juin 2013 dans une parcelle de l'arrondissement 2, Bacongo (non loin de l'ancien site de la Faculté des Sciences). L'identification botanique de la plante a été faite à l'herbier du centre d'études des ressources végétales par comparaison à l'échantillon N° 3640 collecté par J. KOEHLIN en mars 1956 à Loudima. Les feuilles ont été séchées sur la paillasse du Laboratoire de Biologie Cellulaire et Moléculaire de la Faculté des Sciences, à l'abri de la lumière du soleil pendant 3 semaines, puis broyées en poudre.

2-1-2. les animaux

Les animaux utilisés étaient des rats mâles albinos de souche Wistar (*Rattus norvegicus*), élevés dans l'animalerie du Laboratoire de Biologie et Physiologie Animales de l'Université de Yaoundé I. Les animaux étaient âgés de 3 mois au moins et n'étaient sélectionnés que ceux qui pesaient entre 200 et 300g. De l'eau de boisson et de la nourriture leur étaient données à volonté.

2-2. Méthodes

2-2-1. Préparation de l'extrait hydro-éthanolique

Cet extrait a été préparé par macération à la température ambiante de 500g de poudre dans 5 litres de mélange eau distillée-éthanol 95° (20:80) pendant 3 jours avec agitation de temps en temps. Après filtration par le papier filtre, le filtrat a été évaporé à 45°C en utilisant un évaporateur rotatif. Cette opération a été répétée 3 fois avec le résidu. Le concentré du filtrat a été placé à l'étuve à 55°C pour obtenir un extrait sec. 75g d'extrait sec a été obtenu, soit un rendement d'extraction de 15%. L'unique dose de 400 mg/kg de cet extrait a été utilisée par ce qu'elle s'était révélée comme la dose thérapeutique contre le diabète [13].

2-2-2-Induction du diabète de type 1

L'induction du diabète de type 1 a été réalisée par injection de la streptozotocine préalablement dissoute dans le chlorure de sodium (NaCl) à 0,9% dans la veine dorsale du pénis de chaque animal après anesthésie au diéthyl-éther à raison de 55mg/kg. Le dépistage se faisait 3 jours après. Etaient considérés comme diabétiques et sélectionnés dans le processus expérimental, les animaux qui présentaient une glycémie à jeun supérieure ou égale à 300mg/dL. Les animaux utilisés comme témoins recevaient de l'eau distillée à 10mL/kg.

2-2-3. Répartition des animaux et traitement

4 lots de huit (8) animaux chacun ont été constitués. Le nombre de 8 animaux par lot a été choisi pour prévoir les éventuels décès des rats diabétiques, dus à l'effet drastique de la streptozotocine et aux difficultés d'entretien des rats diabétiques au cours des 3 semaines de traitement. Les lots ont été constitués ainsi qu'il suit :

- 1 lot d'animaux normaux recevant de l'eau distillée 10mL/kg;
- 1 lot d'animaux diabétiques recevant de l'eau distillée 10mL/kg;
- 1 lot d'animaux diabétiques traités à l'insuline 5UI/kg ;
- 1 lot d'animaux diabétiques traités à l'extrait hydro-éthanolique à la dose de 400mg/kg.

Les animaux étaient traités pendant 3 semaines, tous les matins, après un bon nettoyage des cages et des animaux pour la plupart mouillés des urines (à cause de la polyurie). Après la pesée de chaque animal, l'eau et l'extrait étaient administrés par gavage et l'insuline par injection sous cutanée à des endroits différents de l'abdomen.

2-2-4. Constitution des échantillons

2-2-4-1. Sacrifice et collecte du sang

24 heures après le dernier gavage, les rats soumis préalablement à 14 heures de jeûne ont été sacrifiés par décapitation. Le sang artérioveineux de chaque animal était recueilli dans des tubes secs, puis centrifugé à 3000 trs/min pendant 15 minutes. Le surnageant recueilli constituait notre sérum qui a été collecté, aliquoté et conservé à -20°C pour les dosages biochimiques ultérieurs.

2-2-4-2. Prélèvement des organes et réalisation des homogénats

Les reins et le foie de chaque animal ont été prélevés immédiatement après le sacrifice, débarrassés des graisses et pesés. Les reins et le foie ont servi à réaliser des homogénats pour les dosages ultérieurs des marqueurs tissulaires du stress oxydatif.

2-2-5. Analyse statistique des résultats

Les résultats ont été exprimés en moyenne \pm EMS. L'analyse statistique des résultats était faite à l'aide du logiciel SPSS. L'analyse de la variance (ANOVA) a été utilisée pour la comparaison des résultats des différents traitements à ceux des deux contrôles, et le test de DUNNET pour comparer la moyenne d'un groupe essai à celle d'un groupe contrôle. La différence était considérée comme statistiquement significative à $p < 0,05$.

3. Résultats

3-1. Dosage de la superoxyde dismutase (SOD)

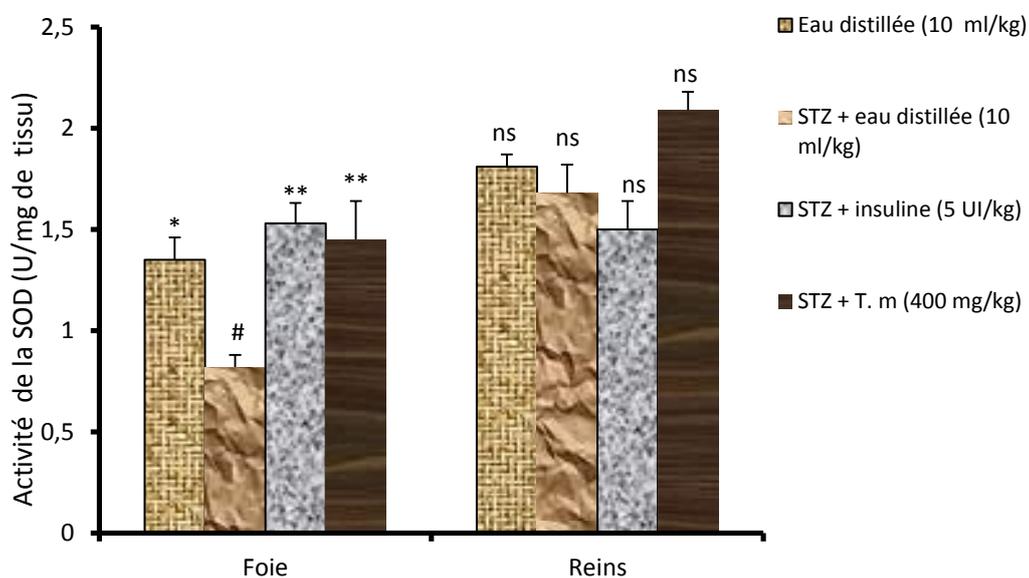


Figure 1 : Effets de l'extrait hydro-éthanolique des feuilles de *Trilepisium madagascariense* sur l'activité de la superoxyde dismutase après trois semaines de traitement

Les valeurs désignent les moyennes \pm EMS par groupe d'animaux ; $n=5$ (nombre d'animaux par groupe) ;

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$: significativité par rapport au contrôle diabétique (diabétiques traités au NaCl) ;

$p < 0,05$; ## $p < 0,01$: significativité par rapport au contrôle normal (rats normaux traités l'eau).

Eau distillée = rats normaux traités à l'eau distillée essentiellement (10mL/kg) ;

STZ + eau distillée = rats diabétiques traités à l'eau distillée (10mL/kg) ;

STZ + insuline = rats diabétiques traités à l'insuline (5UI/kg) ;

STZ + T.m. = rats diabétiques traités à l'extrait hydro-éthanolique de *Trilepisium madagascariense* (400mg/kg).

3-2. Dosage de la catalase

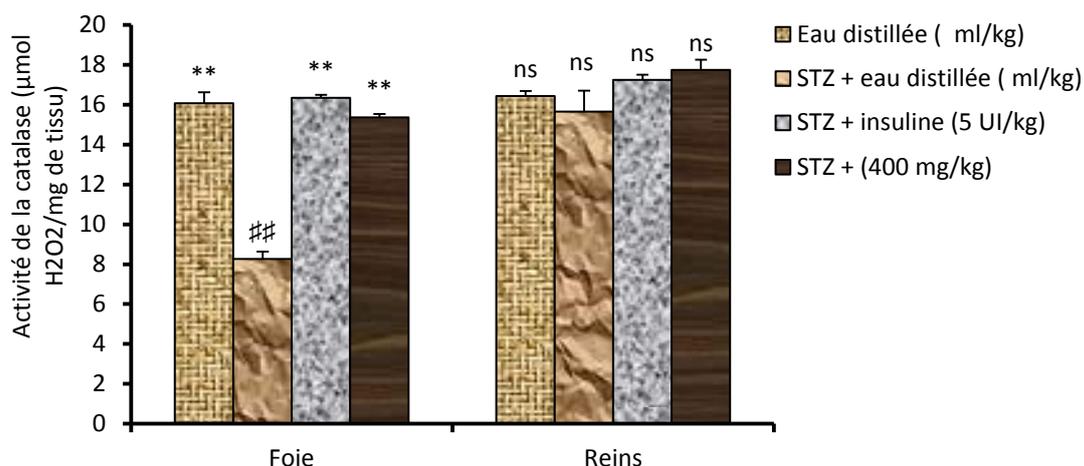


Figure 2 : Effets de l'extrait hydro-éthanolique des feuilles de *Trilepisium madagascariense* sur l'activité de la catalase au niveau tissulaire après trois semaines de traitement

Les valeurs désignent les moyennes \pm EMS par groupe d'animaux ; $n=5$ (nombre d'animaux par groupe). * $p<0,05$; ** $p<0,01$: significativité par rapport au contrôle diabétique (rats diabétiques traités à l'eau distillée) ; ## $p<0,05$; ### $p<0,01$: significativité par rapport au contrôle normal (rats normaux traités à l'eau distillée). Eau distillée = rats normaux traités essentiellement à l'eau distillée (10mL/kg) ; STZ+eau distillée = rats diabétiques traités à l'eau distillée (10mL/kg) ; STZ+insuline = rats diabétiques traités à l'insuline (5UI/kg) ; STZ+T.m. = rats diabétiques traités à l'extrait hydro-éthanolique de *Trilepisium madagascariense* (400mg/kg).

3-3-Dosage de Glutathion réduit (GSH)

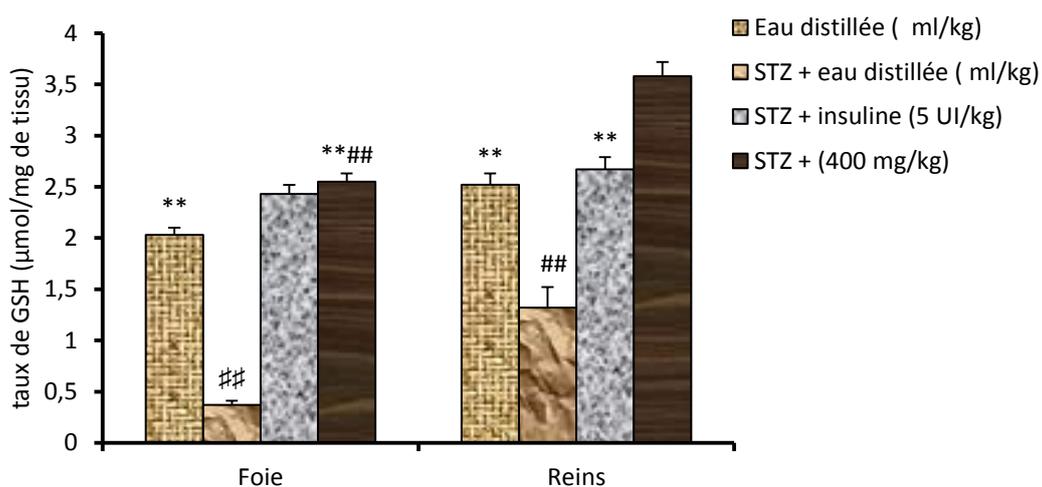


Figure 3 : Effets de l'extrait hydro-éthanolique des feuilles de *Trilepisium madagascariense* sur les taux de glutathion réduit hépatique et rénal après trois semaines de traitement

Les valeurs désignent les moyennes \pm EMS par groupe d'animaux ; $n=5$ (nombre d'animaux par groupe).

* $p<0,05$; ** $p<0,01$: significativité par rapport au contrôle diabétique; # $p<0,05$; ### $p<0,01$: significativité par rapport au contrôle normal. Eau distillée = rats normaux traités à l'eau distillée (10mL/kg); STZ+eau distillée = rats diabétiques traités à l'eau distillée (10mL/kg); STZ+Insuline = rats diabétiques traités à l'insuline (5UI/kg); STZ+T.m. = rats diabétiques traité à l'extrait hydro-éthanolique de *Trilepisium madagascariense* (400mg/kg).

3-4. Dosage du monoxyde d'azote (NO)

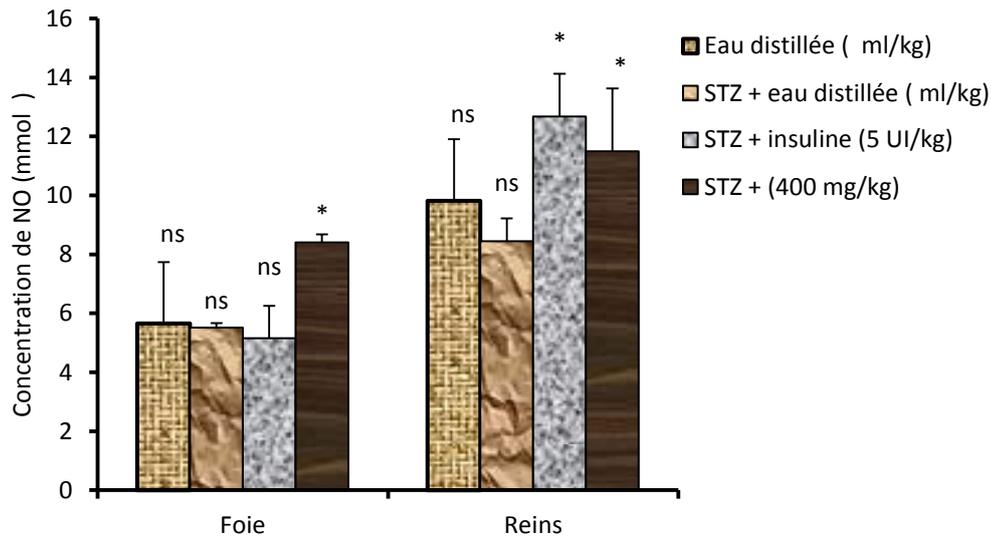


Figure 4 : Effets de l'extrait hydro-éthanolique des feuilles de *Trilepisium madagascariense* sur la production du monoxyde d'azote dans le foie et les reins des rats diabétiques après trois semaines de traitement

Les valeurs désignent les moyennes \pm EMS par groupe d'animaux ; $n=5$ (nombre d'animaux par groupe);

* $p<0,05$; ** $p<0,01$: significativité par rapport au contrôle diabétique; # $p<0,05$; ### $p<0,01$: significativité par rapport au contrôle normal. Eau distillée = rats normaux traités à l'eau distillée (10mL/kg); STZ+Eau distillée = rats diabétiques traités à l'eau distillée (10mL/kg);

STZ+Insuline = rats diabétiques traités à l'insuline (5UI/kg); STZ+T.m. = rats diabétiques traités à l'extrait hydro-éthanolique de *Trilepisium madagascariense* (400mg/kg).

4. Discussion

Il est admis qu'il existe une corrélation entre le diabète et le stress oxydant [1]. Ce dernier semble jouer un rôle primordial dans l'apparition des complications du diabète [5-7]. Aujourd'hui, les plantes antidiabétiques ont pris un grand intérêt comme source énorme d'antioxydants [8]. Des études menées sur les plantes à effet antidiabétique, ont révélé que certaines possèdent des propriétés anti-oxydantes, donnant ainsi l'espoir de prévenir les complications du diabète [9,15]. Dans ce cadre, les antioxydants enzymatiques (SOD et catalase) et non enzymatiques (GSH) et un marqueur du stress oxydatif (NO) ont été dosés dans les reins et le foie des rats diabétiques traités pendant 3 semaines avec l'extrait hydro-éthanolique en vue d'évaluer le pouvoir antioxydant de ce dernier.

Les augmentations significatives ($p < 0,01$) et non significatives des activités de la SOD et de la catalase, respectivement, dans le foie et les reins des rats diabétiques traités à l'insuline et à l'extrait hydro-éthanolique, comparativement aux rats diabétiques non traités (**Figures 1 et 2**) témoignent d'une suppression ou inhibition du stress oxydatif induit par le diabète. La baisse des activités de ces enzymes chez les rats diabétiques non traités est le signe d'une atteinte oxydative [16]. Chez les rats diabétiques non traités, la SOD et la catalase ont été inactivées par la présence permanente des espèces réactives de l'oxygène [17]. En d'autres termes, l'extrait hydro-éthanolique contient des substances antioxydantes qui neutralisent les espèces réactives de l'oxygène, empêchant ainsi l'inactivation ou la destruction de la SOD et de la catalase et, donc, favorisant la protection du foie et des reins contre tout dommage tissulaire induit par ces composés réactifs. Un résultat similaire a été obtenu par Ouali et al. [18]. Pour ces derniers, l'augmentation de la SOD et de la catalase est un effet compensatoire en réponse au stress oxydatif résultant de l'accumulation de l'eau oxygénée endogène et de l'épuisement du glutathion réduit. Les données de la présente étude sont similaires à celles obtenues avec les extraits de *Dodonaea viscosa* [19], *Modus indica* et *Asystasia gangetica* [20], *Senna auriculata* [21], *Pterocarpus marsupium* [22], *Polygala rosmarinifolia* [23].

Le glutathion réduit (GSH), constitue la première ligne de défense antiradicalaire. C'est le régulateur et le régénérateur des cellules immunitaires et l'agent détoxifiant le plus efficace de l'organisme [24]. Sa diminution significative ($p < 0,01$) chez les rats diabétiques non traités (Figure 3) témoigne d'un épuisement de GSH dû à une production élevée des espèces réactives de l'oxygène, et donc d'un faible pouvoir de défense du système antiradicalaire [25]. L'augmentation significative ($p < 0,01$) des taux de GSH hépatique et rénal chez les rats diabétiques traités avec l'extrait hydro-éthanolique suggère que l'extrait améliore les performances antioxydantes de l'organisme. Des résultats semblables ont été obtenus avec les extraits de *Cassia simea* [26], *Zygophyllum cornutum* [27], *Pterocarpus marsupium* [22], *Polygala rosmarinifolia* [23]. Anciennement appelé EDRF (endothelium derived relaxing factor), le monoxyde d'azote est une molécule endogène libérée par les cellules endothéliales, les macrophages, les cellules du foie, les neurones. L'augmentation significative ($p < 0,05$) du taux du monoxyde d'azote dans les tissus hépatique et rénal des rats diabétiques traités avec l'extrait hydro-éthanolique, comparativement aux rats diabétiques non traités et aux rats diabétiques traités avec l'insuline (Figures 4), révèle que l'extrait hydro-éthanolique restaure la production de monoxyde d'azote.

De par sa capacité à favoriser la production du monoxyde d'azote, l'extrait hydro-éthanolique a aussi bien un potentiel antioxydant qu'une activité vasodilatatrice pouvant lui conférer des potentialités de lutte contre les maladies cardiovasculaires. Cette hypothèse a été également émise pour expliquer les propriétés anti-hypertensives attribuées à *Terminalia superba* par Dimo et collaborateurs [28]. Le présent résultat permet de justifier l'utilisation de *Trilepisium madagascariense* en médecine traditionnelle dans le traitement de l'hypertension artérielle [29]. Les flavonoïdes et les composés polyphénoliques présents dans l'extrait hydro-éthanolique [13] peuvent être responsables des effets antioxydants observés chez les rats diabétiques traités. En effet, les flavonoïdes inhibent la formation des radicaux libres et s'opposent à l'oxydation des macromolécules comme les protéines, l'ADN [30]; ils formeraient des espèces radicalaires intermédiaires peu réactives. Ils sont des métabolites secondaires réputés comme les plus antioxydants et très efficaces dans le traitement des maladies dégénératives dont le diabète, comme le démontrent plusieurs travaux [31-36].

5. Conclusion

Les résultats de cette étude confirment qu'une hyperglycémie continue augmente les perturbations métaboliques et la production des radicaux libres, cause principale de l'installation d'autres maladies chez les diabétiques. *Trilepisium madagascariense*, plante utilisée en médecine traditionnelle congolaise contre le diabète, a révélé son grand potentiel antioxydant pouvant justifier son utilisation chez le diabétique, non seulement pour baisser la glycémie, mais aussi pour prévenir ou minimiser l'apparition des complications du diabète.

Références

- [1] - S.A. Moussa. Oxidative stress in diabetes mellitus. Romanian Journal of Biophysic., (2008); 18(3): 225-236.
- [2] - M. Lorenzy, P.J. Oates. The polyol pathway and diabetic retinopathy. Ed: Johnstone, (2005); Humana. Press. In TOtawa N.J.
- [3] - A. Kassab, S. Laradi, S. Ferchichi, A. Omezzine, B. Chafeddine, H. Amar, L. Chaieb et A. Miled. 2003. Paramètres du stress oxydant dans le diabète de type 2. Immuno-analyse et Biologie spécialisée, (2003) 18 : 79-85.
- [4] - G.H. Werstuck. Molecular and cellular mechanisms by which diabetes mellitus promotes the development of atherosclerosis. Biochemistry of atherosclerosis, (2006); Ed: S.K. choma springer NEW-YORK 284-297.
- [5] - R.K. Gupta., A.N. Kesari, S. Diwakar, A.Tyagi, V.Tandon, R. Chandra, G. Watal. In vivo evaluation of antioxidant and anti-lipidimic potential of *Annona scanosa* aqueous extract in type 2 diabetic models. Journal of ethnopharmacology (2008); 118: 21-25.
- [6] - K.N. Srinivasan, K.V. Pugaloudi, G. Sambandam, M. Ramakrishna, P.V. Menon. Diabetes mellitus, lipid peroxydation and antioxidant status in rural patients. Clinical chemical Acta, (1997); 259: 183- 186.
- [7] - Vinik, M. Flemner. Diabetes and macrovascular disease. Journal of diabetes and its complications, (2002); 16: 235-245.
- [8] - B. Halliwell. Effect of diadet on cancer development is oxidative DNA damage a biomarker. Free radical biology and medecin, (2002) Vol 10: 968-974.
- [9] - M.M. Anwar, M.A. Moustafa. The effect of melatonin on eye lens of rats exposed to ultraviolet radiation. Comp. biochem. Physiol. (2001) 129, 57-63.
- [10] - G. Manonmani, V. Bhavapriya, S. Kalpana. Antioxidant activity of *Cassia fistula* (Liun) flowers in alloxan induced diabetic rats: Journal of Ethnopharmacology, (2005); 97:39-42.
- [11] - S. Rajasekaran, K. Sivagnanam, S. Subramaniam. Antioxidant effect of *Aloe vera* gel extract in streptozotocin – induced diabetes in rats. Pharm Rep., (2005); 57(1): 90-96.
- [12] - E.J. Adjanohoun, A.M. Ahyi, J. Ake Assi, J. Baniakissa, P. Chibon, G. Cusset, V. Doulou, A. Eutanga, J. Ehme, E. Goudote, A. Keita, C. Mbemba, J. Mollet, J.M. Moutsambote, J. Mpati, P. Sita. Médecine Traditionnelle et Pharmacopée : Contributions aux études ethnobotaniques et floristiques en République du Congo. Agence de coopération culturelle et technique (1988) ; Paris. 605P
- [13] - R. Ampa, G. Ahombo, E. Nguimbi, M. Diatewa, T. Dimo, J.M. Ouamba, A.A. Abena. Evaluation of hypoglycemic, antihyperglycemic and antidiabetics properties of *Trilepisium madagascariense* D.C. Leeuwenberg (Moraceae). E3 Journal of Biotechnology and Pharmaceutical Research (2013); Vol. 4(3), pp.48-53.

- [14] - A. Kassab, S. Laradi, S. Ferchichi, A. Omezzine, B. Chafeddine, H. Amar, L. Chaieb et A. Miled. 2003. Paramètres du stress oxydant dans le diabète de type 2. *Immuno-analyse et Biologie spécialisée*, (2003) 18 : 79-85.
- [15] - B.K. Pandeya, P.I. Tripathi, K.M. Mishra, N. Dwivedi, Y. Pardhi, A. Kamal, P. Gupta, N. Dwivedi, C. Mishra. A critical review on traditional herbal drugs: an emerging alternative drug for diabetes. *International Journal of Organic chemistry*, (2013) 3: 1-22
- [16] - K.V. Anil Kumar., R. Satish, T. Rama, D. Babul, J. Samhitha. Hepatoprotective effect of *Feminga strobilifera* on paracetamol induced hepatotoxicity in rats. *Int Journal pharm. Tech Res* (2010); 2(3): 1924- 1931.
- [17] - S. Wassmann, K. Wassmann, G. Nickenig. Modulation of oxidant and antioxidant enzyme expression and function in vascular cells. *Hypertension*, (2004); 44(4): P381-386.
- [18] - K. Ouali, F. Trea, M.L. Toumi, M. Bairi, P. Siaud, M. Guellati. Oxidative stress in streptozotocin induced experimental diabetes in rats is associated with changes of antioxidant status of heart tissue. *Science and Technology*, (2007); C-N25/ 18-23.
- [19] - V.P. Veerapur, K.R. Prabhakar, Vipin Kumar Parihar, Punit Bansal, K.K. Srinivasan, K.I. Priyadarsini, M.K. Unnikrishnan. Antidiabetic, hypolipidaemic and antioxidant activity of *Dodonaea viscosa* aerial parts in streptozotocin-induced diabetic rats. *International Journal of Phytomedicine*, (2010); 2: 59-70.
- [20] - A. Koumar, R. Ilavarasan, T. Jayachandran, M. Decaraman, P. Aravindhan, N. Padmanabhan and M.R.V. Krishnan. 2009. Phytochemicals investigation on a tropical plant, *Syzygium cumini* from Kattuppalayam, Erode District, Tamil Nadu, South India. *Pakistan journal of nutrition*, (2009); 8 (1): 83-85.
- [21] - R. Shanmugasundaram, V. Kalpana Devi, P. Tresina Soris, A. Maruthupandian, V.R. Mohan. Antidiabetic, antihyperlipidaemic and antioxidant activity of *Senna auriculata* (L.) Roxb. Leaves in alloxan induced diabetic rats. *International Journal of Pharm Tech Research*, (2011); 2 (3): 747-756.
- [22] - A. Maruthupandian, V.R. Mohan. Antidiabetic, antihyperlipidaemic and antioxidant activity of *Pterocarpus marsupium* Roxb. In alloxan induced diabetic rats. *International Journal of Pharmaceutical Tech Research*, (2011); 3 (3): 1681-1687.
- [23] - A. Nishanthini, V.R. Mohan. Antioxidant activity of *Polygala rosmarinifolia* Wight and ARN Whole plant in alloxan induced diabetic rats. *International Research Journal of Pharmacy*, (2012); 3 (9): 223-225.
- [24] - S. Raja, K.F.H. Nazeer — Ahamed, V. Kumar, K. Mukherjee, A. Bandyopadhyay, P.K. Mukherjee. Antioxidant effect of *Cytisus scoparius* against carbon tetrachloride treated liver injury in rats. *Journal of ethnopharmacology*, (2007); 109: 41-47.
- [25] - J. Haleng, J. Pincemail, J.O. Defraigne, C. Vharlier, J.P. Chapelle. Le stress oxydant. *Revue de médecine de Liège*, (2006); 62(10): 628-638.
- [26] - K. Gurpreet, A.M. Sawar, J. Zoobi, J. Kaleem, A. Mohammad. Evaluation of antioxidant activity of *Cassia simea* flowers. *Journal of ethnopharmacology*, (2006); 108: 340-348.
- [27] - Boumaza A. Effet de l'extrait méthanolique de *Zygophyllum cornutum* Coss contre le stress oxydant associé au diabète sucré et les organes en relation. Mémoire du diplôme de Magister en biologie cellulaire et moléculaire. Université MENTOURI Constantine de l'Algérie ; (2009) ; 125P
- [28] - T. Dimo, T.F. Ngueguim, P. Kamtchouing, E. Dongo, P.V. Tan (2006). Glucose lowering efficacy of the aqueous stem bark extract of *Trema orientalis* Linn Blume in normal and streptozotocin rats. *Die pharmazie*, (2006); 61: 233-236.
- [29] - G. Ahombo, R. Ampa, M. Diatwa, J. Mpati, A.A. Abena, J.M. Ouamba. Investigating on related diabetes therapeutic plants used in traditional medicine at Brazzaville. *Journal of Medicinal Plants Research* (2012); 6(44): 5630-5639.

- [30] - S.AB.E. Van Acker, D.J. Van Den Berg, M.N.J.L. Tromp, D.H. Griffioen, W.J.F. Van DerVijgh, A. Bast. Structural aspect of antioxidant activity of flavonoids. *Free rad Biol Med.*, (1996); 20: 331-342
- [31] - W. Bors, C. Michel, K. Stettmaier (1997). Antioxidant effects of flavonoids. *Biofactors* (1997); 6 399-402.
- [32] - B. Dzingira, M. Muchuweti, Mureye. Phenolic content and phospholipids peroxidation inhibition by methanolic extracts of two medicinal plants: *Elionorus miticus* and *Hypoxis hemerallidea*. *African Journal Biochemistry, Res.* (2007); 1:137-141.
- [33] - T. Hennebelle. Investigations chimique, chimiotaxonomique et pharmacologique de Lamiales productrices d'antioxydants. Thèse de doctorat, Université des Sciences technologiques de Lille, (2007) 1, 195 p.
- [34] - M. Hiroko, I. Hideo. Activité antioxydante de l'acide caféique à travers un nouveau mécanisme sous irradiation UV. *J. Clin. Nutr Biochem*, (2009) ;45 (1) : 49-55.
- [35] - P. Ju-Young, K. Seung-Woo, P. Ho-Joon, I. Weon Bin, L. Ja-Kyeong, Y. Sung-HWA. Effet antioxydant de synthèse et d'analogues de l'acide caféique portant un groupe carboxy et hydroxyméthyl. *Bull. KoreanChem.*, (2010) 31 (12).
- [36] - P. Montoro, A. Braca, C. Pizza. Structure antioxidant activity relationship of flavonoids isolated from different plant species. *Food Chem*, (2005) 92: 349-355.