



HAL
open science

Intérêt de deux alcaloïdes issus de la Pervenche de Madagascar dans le diabète : vindogentianine et vindoline

Jimmy Rajaonarivony

► **To cite this version:**

Jimmy Rajaonarivony. Intérêt de deux alcaloïdes issus de la Pervenche de Madagascar dans le diabète : vindogentianine et vindoline. Sciences pharmaceutiques. 2018. dumas-02021373

HAL Id: dumas-02021373

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-02021373>

Submitted on 15 Feb 2019

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

UNIVERSITE DE PICARDIE JULES VERNE

UFR DE PHARMACIE

THESE N°

POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE JEUDI 14 JUIN 2018

Par Jimmy RAJAONARIVONY

**Intérêt de deux alcaloïdes issus de la Pervenche
de Madagascar dans le diabète :
vindogentianine et vindoline**

JURY

Président : Monsieur le Docteur Jean-Pierre ARNOULD, Maître de Conférences des Universités-HDR,
Biologiste des Hôpitaux

Directeur de thèse : Monsieur le Docteur Roland MOLINIE, Maître de Conférences des Universités

Membres : Madame Sylvie CHAPLAIN, Docteur en Pharmacie
Madame Sophie BODDAERT, Docteur en Pharmacie

Remerciements

Je remercie le Docteur Jean-Pierre ARNOULD, Maître de Conférences des Universités-HDR, Biologiste des Hôpitaux, de me faire l'honneur de présider le jury, d'avoir pris le temps de bien relire ma thèse et de m'avoir bien conseillé pour la présentation orale. Je vous remercie pour votre disponibilité et votre gentillesse. Merci également pour vos cours de Toxicologie en 3^e année où j'ai pris beaucoup de plaisir à vous écouter. Je vous transmets toute ma reconnaissance et mon profond respect.

Merci au Docteur Roland MOLINIE, Maître de Conférences des Universités, Enseignant de Pharmacognosie, d'avoir accepté d'être mon Directeur de thèse ; j'ai apprécié vos conseils, votre patience, votre disponibilité et votre attention portée à la rédaction de ma thèse. Veuillez trouver ici l'expression de toute ma reconnaissance et de mon profond respect.

Merci au Docteur Sylvie CHAPLAIN, Pharmacien à l'hôpital de Crèvecœur-le-Grand, d'avoir accepté de siéger parmi les membres de mon jury et je vous remercie également de votre aide et de votre patience lors de mon stage en Pharmacovigilance. Veuillez trouver ici l'expression de ma respectueuse considération.

Merci au Docteur Sophie BODDAERT, Pharmacien au Centre hospitalier universitaire d'Amiens, d'avoir accepté de siéger parmi les membres de mon jury. Je te remercie pour ses trois merveilleux mois de stage en essai clinique lors de mon année hospitalo-universitaire. Avec toi et Mickaël, j'ai appris à travailler avec rigueur et précision et cela m'aide beaucoup dans ma pratique professionnelle.

Merci également à tout le personnel de la scolarité et de la bibliothèque de l'UFR de Pharmacie de l'Université de Picardie Jules Verne pour leur aide et leur disponibilité lors de la préparation de cette thèse.

Je remercie mes parents, Pharmaciens, qui m'ont accompagné et soutenu durant toute ma scolarité, en plus d'être à mes côtés dans la vie de tous les jours, et sans qui je ne serais jamais arrivé là aujourd'hui. Je remercie également toute ma famille pour leurs encouragements et leur soutien durant mes études. Merci à mon oncle Mamy RARISON, Pharmacien, pour l'entretien qu'il m'a accordé pour ce mémoire.

Je remercie le Docteur Jean-Charles RANDRIANASOLO, le Docteur Ndimbiarivola RATSIMANDRESIARISOA ainsi que le Docteur Vony ANDRIAMASY, d'avoir pris le temps de répondre à mon questionnaire sur l'utilisation de *Catharanthus roseus* à Madagascar.

Je remercie toute l'équipe de la Pharmacie Principale à Goussainville pour leur travail et leur bonne humeur et un remerciement spécial à Michel pour son aide, ses conseils et son sens de la pédagogie.

Je veux également remercier Aissa, Alexia, Frédéric, Danielle, Florine, Mayeul, Nicolas, Okba qui m'ont apporté leur aide au cours des différentes années de mon parcours universitaires et avec qui j'ai fait de belles rencontres. Je vous transmets mon amitié et mon respect et je vous souhaite le meilleur que ce soit dans votre pratique professionnelle que dans votre vie personnelle.

Enfin, je tiens à remercier toutes les personnes présentes lors de ma soutenance.

SOMMAIRE

Liste des abréviations	8
Liste des figures	9
Liste des tableaux	11
Introduction	12
I- Généralités sur le diabète	14
1. Définition	14
2. Physiopathologie	14
3. Symptômes	15
4. Diagnostic	15
5. Classification	16
5.1 Diabète type 1	16
5.2 Diabète type 2	16
6. Complications	17
7. Différents traitements médicamenteux	18
7.1 sulfamides hypoglycémiantes	18
7.1.1 Mécanisme d'action	18
7.1.2 Spécialités	19
7.1.3 Effets secondaires	19
7.2 Biguanides	20
7.2.1 Mécanisme d'action	20
7.2.2 Spécialités	20
7.2.3 Effets secondaires	20
7.3 Inhibiteurs des alpha-glucosidases	20
7.3.1 Mécanisme d'action	20
7.3.2 Spécialités	21
7.3.3 Effets secondaires	21
7.4 Inhibiteurs DPP-4	21
7.4.1 Mécanisme d'action	21
7.4.2 Spécialités	22
7.4.3 Effets secondaires	22
7.5 Alpha-amylase	22

7.6 Insuline	22
7.6.1 Structure de l'insuline	22
7.6.2 Synthèse de l'insuline	23
7.6.3 Spécialités	24
7.6.4 Effets secondaires	24
7.7 Analogue du Glucagon-like-peptide-1 (GLP-1).....	25
7.7.1 Mécanisme d'action	25
7.7.2 Spécialités	25
7.7.3 Effets secondaires	25
7.8 Inhibiteurs du co-transporteur soduim-glucose de type 2 (SGLT2)	25
7.8.1 Mécanisme d'action	25
7.8.2 Spécialités	25
7.8.3 Effets secondaires	25
II- La Pervenche de Madagascar	27
1. Généralités	27
1.1 Description botanique	27
1.2 Ecologie	28
1.3 Compositions de la plante	29
1.4 Propriétés médicinales et utilisations	30
2. Principaux alcaloïdes de la pervenche de Madagascar	30
2.1 Compositions	30
2.2 Biosynthèse et hémisynthèse des principaux alcaloïdes	33
2.2.1 Hémisynthèse de la vinblastine	34
2.2.2 Hémisynthèse de la vincristine	35
2.2.3 Hémisynthèse de la vindesine	36
2.2.4 Hémisynthèse de la vinorelbine	36
2.2.5 Biosynthèse de la vindoline	37
2.3 Activités pharmacologiques des principaux alcaloïdes de la pervenche de Madagascar	39
2.3.1 Mécanisme d'action	39
2.3.2 Indications	39
2.3.3 Effets secondaires	40
2.3.4 Spécialités	40
2.3.5 Toxicité des principaux alcaloïdes de la pervenche de Madagascar	40

III- L'utilisation de la vindogentianine et vindoline dans le diabète	43
1. La vindogentianine	43
1.1 Structure de la vindogentianine	43
1.2 La gentianine	44
1.2.1 Structure	44
1.2.2 Biosynthèse	44
1.3 Extraction et isolation de la vindogentianine	47
1.3.1 Extraction de la vindogentianine	47
1.3.2 Extraction des cultures cellulaires et isolation des îlots	47
2. Mécanismes d'actions de la vindogentianine et de la vindoline	47
2.1 Etude d'innocuité de la vindogentianine	47
2.1.1 Matériels et méthodes	47
2.1.2 Résultats	48
2.1.3 Discussion	49
2.2 Mécanisme d'action de la vindogentianine	49
2.2.1 Activité hypoglycémiant de la vindogentianine	49
2.2.1.1 Matériels et méthodes	49
2.2.1.2 Résultats	49
2.2.1.3 Discussion	50
2.2.2 vindogentianine et Protein-tyrosine phosphatase 1B (PTP-1B)	51
2.2.2.1 Matériels et méthodes	51
2.2.2.2 Résultats	51
2.2.2.3 Discussion	52
2.3 Etude d'innocuité de la vindoline	52
2.3.1 Matériels et méthodes	52
2.3.2 Résultats	52
2.3.3 Discussion	53
2.4 Mécanisme d'action de la vindoline	54
2.4.1 vindoline et sécrétion d'insuline	54
2.4.1.1 Matériels et méthodes	54
2.4.1.2 Résultats	54
2.4.1.3 Discussion	56
2.4.2 vindoline et canaux Ca ²⁺	57
2.4.2.1 Matériels et méthodes	57
2.4.2.2 Résultats	57

2.4.2.3 Discussion	58
2.4.3 vindoline et canaux K ⁺	58
2.4.3.1 Matériels et méthodes	58
2.4.3.2 Résultats	58
2.4.3.3 Discussion	59
2.4.4 vindoline et homéostasie du glucose <i>in vivo</i>	60
2.4.4.1 Matériels et méthodes	60
2.4.4.2 Résultats	60
2.4.4.3 Discussion	61
2.5 Effet hypoglycémiant de la vindoline	62
2.5.1 Matériels et méthodes	62
2.5.2 Résultats	62
2.5.3 Discussion	63
 IV- Utilisation de <i>Catharanthus roseus</i> à Madagascar	 65
 V- Conclusion	 69
 Annexe	 71
 Bibliographie	 73

Liste des abréviations

AVC : Accident vasculaire cérébral

ASC : Aire sous la courbe

CLHP : Chromatographie liquide haute performance

CI₅₀ : Concentration inhibitrice 50

DAT: Deacetylvindoline-4-*O*- acétyltransférase

DA : Extrait brut d'alcaloïde

DCM: Dichlorométhane

DE : Extrait de dichloromethane

DMSO : Diméthylesulfoxyde

DPP-4 : Dipeptidyl peptidase-4

Fig. : Figure

FSK : Forskoline

GIP : Peptide insulino-trope dépendant au glucose

GLP-1 : Glucagon-like peptide-1

Gly : Glibenclamide

GSIS : Sécrétion d'insuline stimulée par le glucose

HAS : Haute autorité de santé

HbA1c : Hémoglobine glyquée

IPP : Isopentényl diphosphate

KRB : Krebs-Ringer Bicarbonate

LAME : Ester méthylique de l'acide linoléique

MeOH : Methanol

MEP : 2-C-méthyl-D-érythritol-4-phosphate

MVA : Acide mévalonique cytosolique

2-NBDG : 2-*N*-7-Nitrobenz-2-oxa-1,3-diazol-4-ylAmino-2-Deoxyglucose

NBS : N-bromosuccinimide

OMS : Organisation mondiale de la santé

PTP-1B : Protein-tyrosine phosphatase 1B

SGLT2 : Inhibiteurs du co-transporteur sodum-glucose de type 2

TEA : Tetraethylammonium

THF : Tétrahydrofurane

Liste des figures

Figure 1 : Régulation de la glycémie chez un sujet sain

Figure 2 : Physiopathologie du diabète de type 1

Figure 3 : Physiopathologie du diabète de type 2

Figure 4 : Mécanisme d'action des sulfamides hypoglycémiant

Figure 5 : Mécanisme d'action des inhibiteurs des alpha-glucosidases

Figure 6 : Mécanisme d'action des incrétino-mimétiques et inhibiteurs de la DPP-4

Figure 7 : Structure de l'insuline humaine

Figure 8 : Synthèse de l'insuline

Figure 9 : Représentation schématique et photographie de la Pervenche de Madagascar *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. ; (a) partie aérienne de la plante ; (b) fruit ; (c) graine

Figure 10 : Structure chimique de la vinblastine

Figure 11 : Structure chimique de la vincristine

Figure 12 : Structure chimique de la vinorelbine

Figure 13 : Structure chimique de la vindesine

Figure 14 : Structure chimique de la vindoline

Figure 15 : Biosynthèse et hémisynthèse des principaux alcaloïdes de la Pervenche de Madagascar

Figure 16 : Hémisynthèse de Boger *et Coll*

Figure 17 : Hémisynthèse de la vincristine

Figure 18 : Hémisynthèse de la vindesine

Figure 19 : Hémisynthèse de la vinorelbine

Figure 20 : Biosynthèse de la vindoline

Figure 21 : Schéma du mécanisme d'action des Vinca-alcaloïdes

Figure 22 : Cytotoxicité des principaux alcaloïdes de la Pervenche de Madagascar

Figure 23 : Structure chimique de la vindogentianine

Figure 24 : Structure chimique de la gentianine

Figure 25 : Voie de biosynthèse des gentiopicrosides

Figure 26 : Surveillance en temps réel de la croissance des cellules C2C12

Figure 27 A : Absorption de glucose par les cellules β -TC6 et C2C12 après administration de 25,0 μg / mL de vindogentianine

Figure 27 B : Intensité de fluorescence du 2-NBDG absorbée par les cellules β -TC6 et les cellules C2C12 en fonction de la concentration de vindogentianine

Figure 28 A : Pourcentage des cellules apoptotiques en fonction des concentrations de cytokines et de vindoline (20 et 50 μM)

Figure 28 B : Quantification des cellules apoptotiques à partir de la figure 28 A

Figure 29 : Concentrations en insuline en fonction des différentes substances (vindoline 50 μM , TEA 15 mM, FSK 10 μM , Gly 0,5 μM) avec une concentration en glucose de 2,8 mM (blanc) et 16,8 mM (noir)

Figure 30 : Concentration d'insuline en fonction des différentes concentrations de vindoline à 10, 20, 50, 80 et 100 μM

Figure 31 A : Concentration d'insuline en fonction des différentes concentrations de vindoline à 10, 20, 50, 80 et 100 μM

Figure 31 B : Concentration en insuline en fonction de la solution témoin et de la vindoline avec une concentration en glucose de 2,8 mM (blanc) et 16,8 mM (noir)

Figure 32 : Concentration d'insuline en fonction des différentes substances (50 μM de vindoline, 5 μM de Nifédipine, 50 μM de Vindoline avec 5 μM de Nifédipine)

Figure 33 A : Concentration d'insuline en fonction des différentes substances (50 μM vindoline, 200 μM de Diazoxide, 50 μM de vindoline avec 200 μM de Diazoxide)

Figure 33 B : Concentration d'insuline en fonction des différentes substances (50 μM de vindoline, 20 μM de LAME, 50 μM de vindoline avec 20 μM de LAME)

Figure 34 A : Concentration de glucose plasmatique en fonction du temps chez des souris traitées par la substance témoin et la vindoline

Figure 34 B : ASC de la substance témoin et de la vindoline

Figure 34 C : Concentration d'insuline de la substance témoin et de la vindoline

Figure 35 : Concentration plasmatique d'HbA1c chez des souris traitées par la substance témoin et la vindoline

Figure 36 : Concentration de glucose plasmatique en fonction du temps chez des souris traitées par de la vindoline (50 mg / kg) et du Tolbutamide (50 mg / kg)

Figure 37 : Boîte de 10 infusettes de VONENINA (Pervenche de Madagascar), les 4 faces du conditionnement

Liste des tableaux

Tableau I : Concentrations (mg/g) des différents éléments chimiques de la plante

Tableau II : Inhibition de l' α -amylase, de l' α -glucosidase et de la PTP-1B par la vindogentianine par rapport aux médicaments de références en termes de CI_{50}

Introduction :

Le diabète de type 2 est une maladie mondiale sévère qui se caractérise principalement par la résistance à l'insuline et un dysfonctionnement progressif des cellules bêta du pancréas. Une fois que les cellules bêta ne parviennent plus à sécréter suffisamment d'insuline pour compenser la diminution de la sensibilité à l'insuline, le diabète de type 2 se produit. Une diminution de la concentration d'insuline peut conduire à une hyperglycémie, ce qui peut entraîner des problèmes de santé comme par exemple une perte de vision, une insuffisance rénale, un AVC etc... Les mécanismes physiopathologiques du diabète de type 2 sont complexes ; le dysfonctionnement des cellules bêta s'avère être la principale cause. Aujourd'hui, il existe plusieurs traitements antidiabétiques sur le marché mondial mais bon nombre de malades n'ont pas accès à ces traitements, essentiellement pour des raisons économiques. Ces patients diabétiques n'ont pas d'autre choix que de recourir à des produits naturels pour se soigner comme par exemple des plantes médicinales. De plus aucun des traitements actuels n'a permis de contrôler les complications microvasculaires et macrovasculaires à long terme (1).

En 2017, il y avait 425 millions de diabétiques dans le monde. Ce chiffre pourrait atteindre 629 millions en 2045. En 2017, on dénombre 4 millions de sujets décédés à cause du diabète. Selon l'OMS, le diabète sera la 7^e cause de décès dans le monde en 2030. Avec 9 personnes sur 10, le diabète de type 2 est le plus fréquent des diabètes. En 2017, il y a eu 613 milliards d'euros de dépenses de santé dues au diabète. Le coût des traitements et des soins risque d'être fortement augmenté durant les années à venir (2,3).

Actuellement, il existe de nombreuses recherches médicamenteuses afin de trouver de nouvelles cibles thérapeutiques pour le diabète.

J'ai choisi d'étudier la Pervenche de Madagascar car cette plante est connue pour ses nombreuses propriétés médicinales, notamment ses propriétés antidiabétiques. En effet, des études sur le diabète ont été réalisées juste avant de découvrir l'activité anticancéreuse de *Catharanthus roseus*. Mais ces études se sont révélées peu concluantes en raison de la toxicité de certains alcaloïdes. J'ai décidé de poursuivre le travail sur l'utilisation de *Catharanthus roseus* dans le traitement du diabète en essayant de bien cibler d'une part les mécanismes d'action des deux alcaloïdes (vindogentianine et vindoline) et d'autre part, leur toxicité envers les cellules.

Catharanthus roseus (L.) G. Don est une plante médicinale utilisée dans de nombreuses pratiques traditionnelles permettant de traiter le diabète. Elle est originaire de Madagascar et possède plus de 130 alcaloïdes. Cette plante est également utilisée dans plusieurs pays comme la Malaisie, la Chine, l'Inde, l'Afrique du sud et le Mexique. Les études menées sur l'activité hypoglycémiante de cette plante ont mené à la découverte de deux médicaments anticancéreux : la Vinblastine et la Vincristine. De ce fait, les chercheurs se sont plus intéressés à l'activité anticancéreuse de ces deux alcaloïdes. Par ailleurs, plusieurs études ont rapporté l'activité antidiabétique *in vitro* et *in vivo* de cette plante (4).

Dans ce mémoire, nous allons voir quels sont les alcaloïdes de la Pervenche de Madagascar utilisés dans la pathologie du diabète. Pour cela, dans une première partie, nous allons rappeler la pathologie du diabète et voir les différents traitements qui existent aujourd'hui. Dans une deuxième partie, nous allons étudier la Pervenche de Madagascar en développant sa description botanique, sa composition, ses principaux alcaloïdes et ses propriétés médicinales. Dans une troisième partie, nous allons voir le mécanisme d'action de deux alcaloïdes de la Pervenche de Madagascar qui possèdent des propriétés antidiabétiques. Enfin, dans une dernière partie, nous allons voir comment la Pervenche est utilisée à Madagascar.

I- Généralités sur le diabète

1. Définition

Le diabète est une maladie chronique qui se caractérise par une augmentation anormale du taux de glucose dans le sang. L'hyperglycémie chronique est une autre appellation du diabète. Selon la Haute autorité de santé (HAS), le diabète de type 2 est défini par une glycémie supérieure à 1,26 g/L (7,0 mmol/L) après un jeûne de 8 heures et vérifiée à deux reprises. Cette hyperglycémie peut être due soit à un déficit de l'insuline ou soit à une défaillance de cette hormone (5).

2. Physiopathologie

En temps normal, les cellules bêta pancréatiques sécrètent de l'insuline après chaque repas pour permettre l'augmentation de l'entrée du glucose dans les cellules en cas d'hyperglycémie (Fig.1). L'insuline est une hormone qui permet de réguler le taux de sucres dans le sang et de faire rentrer le glucose dans les cellules. Il existe 2 principaux types de diabète : le diabète de type 1 et le diabète de type 2. Lorsque les cellules bêta ne peuvent plus du tout produire de l'insuline, le diabète de type 1 est diagnostiqué. Elles peuvent produire de l'insuline mais de moins bonne qualité et en quantité moindre, c'est le diabète de type 2. Le diabète de type 2 est le plus fréquent et concerne environ 90 % des personnes diabétiques (6).

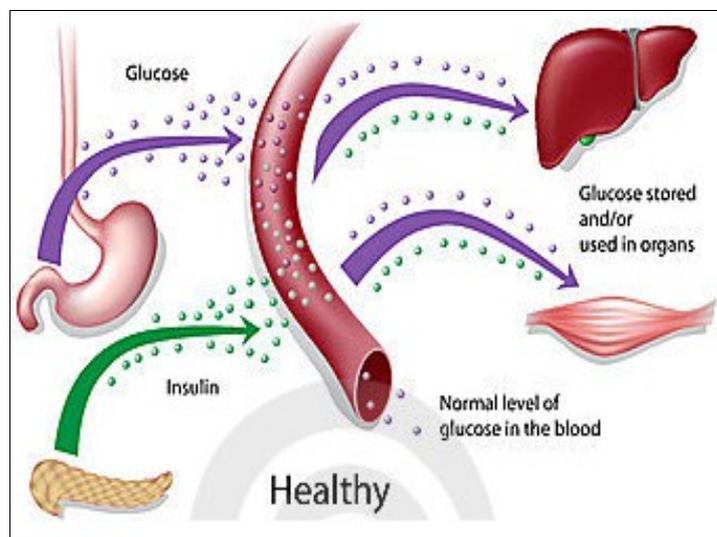


Figure 1 : Régulation de la glycémie chez un sujet sain (7)

3. Symptômes

Les principaux symptômes cliniques retrouvés dans le diabète du type 1 sont caractérisés par une soif intense (polydipsie), des urines abondantes (polyurie), une augmentation de l'appétit avec une absence de sensation de satiété (polyphagie) et un amaigrissement important. Dans le diabète de type 2, le principal symptôme retrouvé est une augmentation anormale de la glycémie à jeun. Cette augmentation est latente et peut durer plusieurs années. Cette augmentation peut être due à une alimentation mal équilibrée ou encore un manque d'activité physique (8).

4. Diagnostic

Le diagnostic du diabète se fait lors de la détermination de la glycémie. Le taux de glucose normal dans le sang varie de 0,7 à 1,10 g/L à jeun. La valeur normale 2h après un repas doit être inférieure à 1,40 g/L. Une personne pourra être considérée comme diabétique si sa glycémie est supérieure à 1,26 g/L à deux reprises dans la journée ou supérieure à 2 g/L à n'importe quel moment de la journée. Pendant la phase du prédiabète, le patient ne présente malheureusement aucun symptôme mais peut déjà souffrir d'une intolérance au glucose, c'est-à-dire lorsque l'organisme réagit moins bien à l'effet de l'insuline. L'intolérance au glucose se caractérise par une glycémie postprandiale¹ comprise entre 1,40 g/L et 2 g/L (7,8 et 11 mmol/L) et l'hyperglycémie à jeun par une glycémie comprise entre 1,10 g/L et 1,26 g/L (6 et 7 mmol/L). Les sujets qui présentent l'une ou l'autre de ces altérations ont de fortes chances de faire un diabète de type 2 mais cette évolution peut être évitée notamment par une alimentation et une hygiène de vie adaptée (10). Le diagnostic du diabète se fait également par la détermination de l'hémoglobine glyquée dans un prélèvement sanguin. Cette dernière permet d'avoir un meilleur reflet de la glycémie sur une plus longue durée (environ 3 mois). Véhiculé par le sang, le glucose possède un rôle crucial. Il apporte l'énergie nécessaire pour le bon fonctionnement de notre organisme. Il se fixe de manière irréversible sur l'hémoglobine puis s'accumule progressivement dans les hématies. Ces dernières vivent en moyenne 3 mois et se renouvellent en permanence. Chez un sujet non diabétique, il y a une très faible quantité de glucose dans les hématies. Plus la glycémie augmente, plus le glucose va se fixer sur l'hémoglobine. Les valeurs normales de l'hémoglobine glyquée se situent entre 5,2 et 7,8%. La mesure de l'hémoglobine glyquée est recommandée par l'OMS pour le diagnostic du diabète de type 2 (11).

1 Petite élévation de la glycémie qui ne dure pas et diminue en peu de temps pour redevenir à la normale

5. Classification

5.1 Diabète type 1

Ce type de diabète concerne 1 cas diabétique sur 10. Il touche essentiellement les enfants ou les jeunes adultes qui possèdent des antécédents familiaux de diabète mais ils peuvent survenir à tout âge ; il concerne principalement le sujet mince. Il se caractérise par la destruction des cellules bêta du pancréas (situées dans les îlots de Langerhans) responsable de la production d'insuline (Fig.2). De ce fait, le pancréas ne pourra plus produire ou produira moins d'insuline. Le traitement de ce type de diabète sera essentiellement de l'insuline grâce à un stylo injecteur ou une pompe. C'est pour cela qu'il est appelé aussi le diabète insulino-dépendant (12).

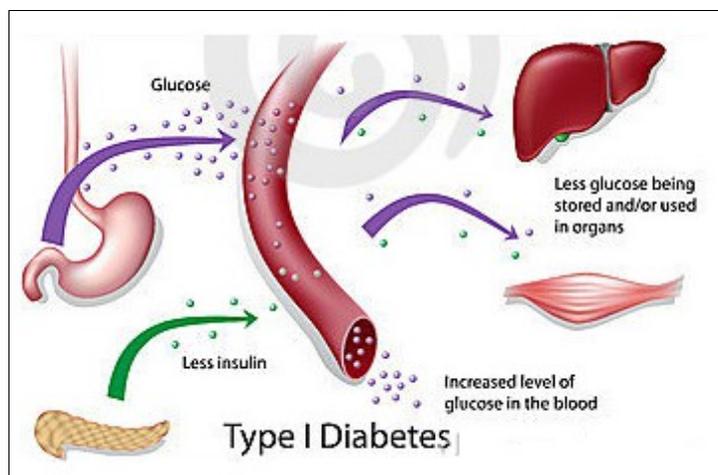


Figure 2 : Physiopathologie du diabète de type 1 (7)

5.2 Diabète type 2

Le diabète de type 2 est le plus fréquent des diabètes. Il touche 9 personnes diabétiques sur 10. Il survient quand le pancréas ne produit pas assez d'insuline ou que le pancréas produit de l'insuline mais en efficacité moindre (Fig.3). Il apparaît de manière fortuite. Il touche surtout les personnes de plus de 40 ans avec un surpoids mais il peut aussi toucher les jeunes adultes (13). Le traitement par l'insuline ne sera mis en place qu'après plusieurs années d'évolution de la maladie. Enfin il existe un troisième type de diabète qui est le diabète gestationnel. Ce type de diabète survient au cours de la grossesse et peut présenter des risques considérables pour la santé du fœtus et de la mère. Le diabète gestationnel se caractérise par une diminution de la sensibilité à l'insuline avec l'avancement de la grossesse. Cette diminution est due à l'augmentation croissante de la progestérone et des œstrogènes (14,15).

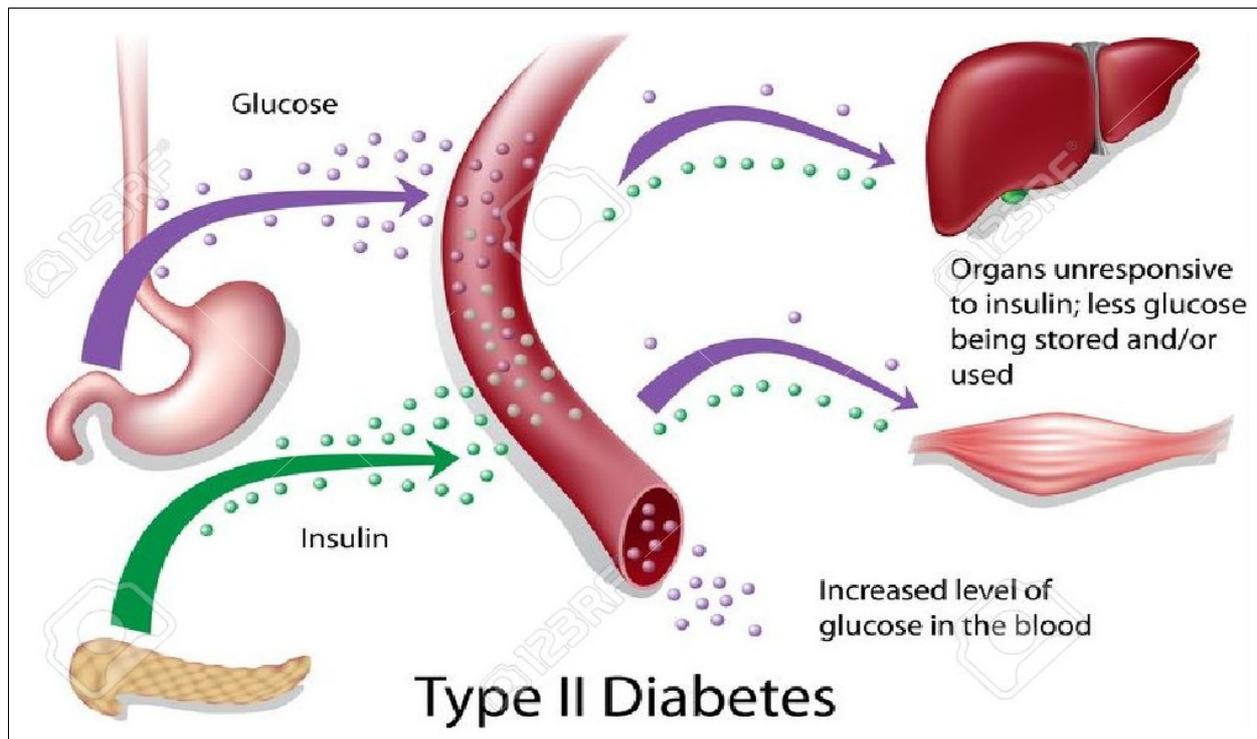


Figure 3 : Physiopathologie du diabète de type 2 (16)

6. Complications

La principale complication du diabète de type 1 est la cétoacidose diabétique. Cette dernière se caractérise par une hyperglycémie $> 2,5$ g/l, par une cétonémie ou cétonurie positive et par un pH sanguin veineux $< 7,25$. Elle résulte d'un déficit absolu et relatif en insuline (arrêt de l'insulinothérapie, panne d'une pompe à l'insuline etc...). Dans le diabète de type 1, 30% des cas sont dus à la cétoacidose. Elle est très rare dans le diabète de type 2. Il existe plusieurs types de complications dans le diabète de type 2. Il y a d'une part la microangiopathie ; c'est-à-dire l'ensemble des lésions qui va toucher les petits vaisseaux de l'organisme et d'autre part, la macroangiopathie qui va toucher les gros vaisseaux. En ce qui concerne la microangiopathie, les principales complications seront oculaires avec comme conséquence une possible perte de vue ; on note également des complications rénales pouvant conduire à l'incontinence urinaire, aux infections urinaires, voire à une insuffisance rénale. Nous observerons également des complications neurologiques avec par exemple une perte de la sensibilité des membres inférieurs, des douleurs importantes ou une impuissance (9). Pour la macroangiopathie, il y aura développement d'infections opportunistes (*Streptococcus pneumoniae*, *Myxovirus influenzae*, *Escherichia coli*, *Candida* etc..) ou encore des maladies cardiovasculaires (Angor, Infarctus du myocarde, Accident vasculaire cérébral) avec un risque multiplié par 2 ou 3 chez le patient diabétique (2). Le pied diabétique est une autre complication du diabète. Cela peut augmenter le risque d'apparition d'ulcères des pieds, d'infections ou voir même d'amputation des

membres. Il peut être en rapport avec le diabète lui-même (atteinte vasculaire ou infection), avec une mauvaise hygiène ou provoqué par le port de chaussures de sport, des chaussettes ou par le mode de vie (17).

7. Différents traitements médicamenteux

Dans cette partie, nous nous attarderons plus particulièrement sur le mécanisme d'action des sulfamides hypoglycémiantes car cette classe d'anti-diabétique aura un mécanisme d'action similaire à celui de la Vindoline dont nous allons détailler le mécanisme d'action dans la troisième partie.

7.1 sulfamides hypoglycémiantes

7.1.1 Mécanisme d'action

Cette classe de médicament va permettre la production d'insuline par les cellules bêta du pancréas. Elle aura une action hypoglycémiante. Pour cela, les sulfamides hypoglycémiantes vont réduire la perméabilité membranaire du potassium ; ce qui va entraîner une dépolarisation de la membrane. Cela aura pour conséquence d'une part le blocage des canaux potassiques et l'arrêt du flux sortant des ions K^+ de la cellule et d'autre part, une entrée des ions Ca^{2+} qui va entraîner la migration des vésicules d'insuline vers la membrane plasmique et leur exocytose (Fig.4) (18). Parallèlement, les sulfamides hypoglycémiantes vont inhiber la production de glucagon. Cette dernière est une hormone produite lorsque le taux de glucose est faible dans la circulation sanguine. Les sulfamides hypoglycémiantes ont une biodisponibilité élevée. En effet, ils atteignent les pics de concentration plasmatique entre 1h30 et 4h suivant l'administration du médicament. Ils sont métabolisés par le foie et sont éliminés par voie rénale et biliaire. Ils ont une durée d'action pouvant aller jusqu'à 24h selon les différents médicaments (19,20).

Il y a une autre famille d'antidiabétique qui a aussi une action hypoglycémiante, ce sont les glinides. Ces derniers vont aussi agir sur les cellules bêta du pancréas et auront une action plus rapide que les sulfamides hypoglycémiantes (21).

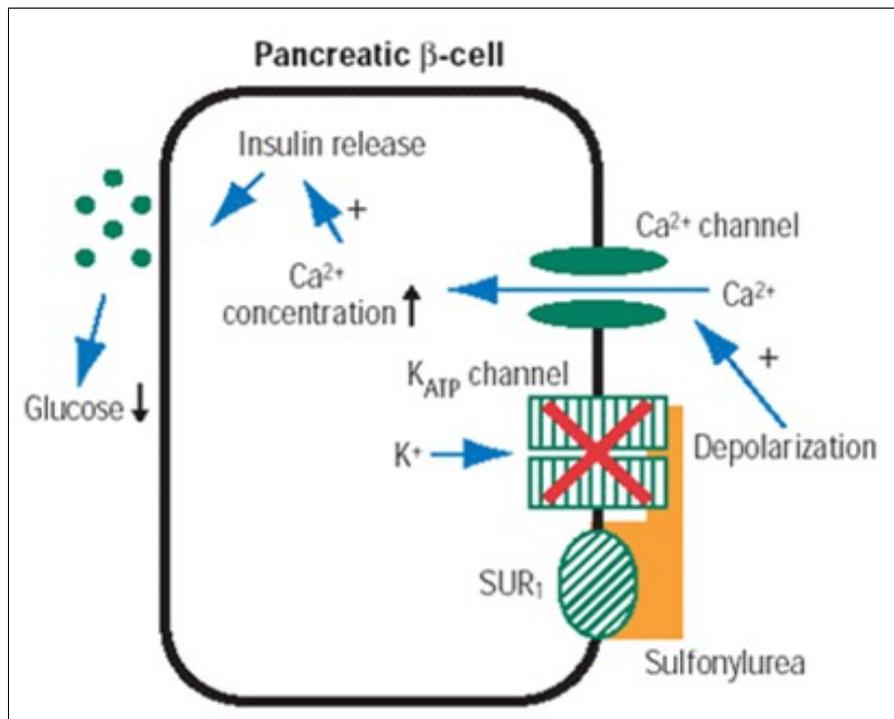


Figure 4 : Mécanisme d'action des sulfamides hypoglycémiant (22)

7.1.1.2 Spécialités

Les spécialités pharmaceutiques commercialisées comprennent le Diamicon[®] (Gliclazide), l'Amarel[®] (Glimépiride), le Daonil[®] (Glibenclamide), l'Ozidia[®] (Glipizide) et le Novonorm[®] (Repaglinide).

7.1.1.3 Effets secondaires

L'hypoglycémie et l'augmentation de l'appétit sont les principaux effets secondaires des sulfamides hypoglycémiant. Elle est causée par l'augmentation de la sécrétion d'insuline. L'effet antabuse² est aussi un effet secondaire connu des sulfamides hypoglycémiant. L'effet antabuse est causé par certains médicaments qui vont augmenter la concentration d'acétaldéhyde fabriqué à partir de l'alcool grâce à l'alcool déshydrogénase. Cela va entraîner l'apparition de différents symptômes : bouffées de chaleur, vasodilatation (rougeur de la face), tachycardie, malaise, vertige, vomissements etc... (23).

² correspond à la prise simultanée de boissons alcoolisées et de certaines substances médicamenteuses (Sirop, Métronidazole, sulfamides hypoglycémiant etc...)

7.2 Biguanides

7.2.1 Mécanisme d'action

Cette classe de médicament est indiquée en première intention dans le diabète de type 2 après la mise en place des mesures hygiéno-diététiques. Les biguanides vont augmenter le glucose au niveau des tissus périphériques. De plus, ils diminuent la production hépatique de glucose la nuit. Leur avantage est qu'ils n'ont pas d'action sur la production d'insuline. Ils n'entraînent donc pas d'hypoglycémie ce qui explique leur utilisation en première intention. Il faudra être vigilant chez les personnes qui sont insuffisants rénaux car les biguanides peuvent entraîner une acidose lactique (24).

7.2.2 Spécialités

Les spécialités commercialisées comprennent le Stagid[®] et le Glucophage[®] (Metformine)

7.2.3 Effets secondaires

Les principaux effets secondaires concernent des troubles gastro-intestinaux, de la diarrhée, des douleurs abdominales et la perte d'appétit.

7.3 Inhibiteurs des alpha-glucosidases

7.3.1 Mécanisme d'action

Les alpha-glucosidases vont permettre la dégradation des disaccharides alimentaires (saccharose, maltose) en monosaccharides. Ils vont donc agir lors du dernier stade de la digestion des sucres. Le fait d'inhiber cette enzyme va entraîner un retard à l'absorption des glucides alimentaires et va diminuer le pic d'hyperglycémie post prandiale (Fig.5).

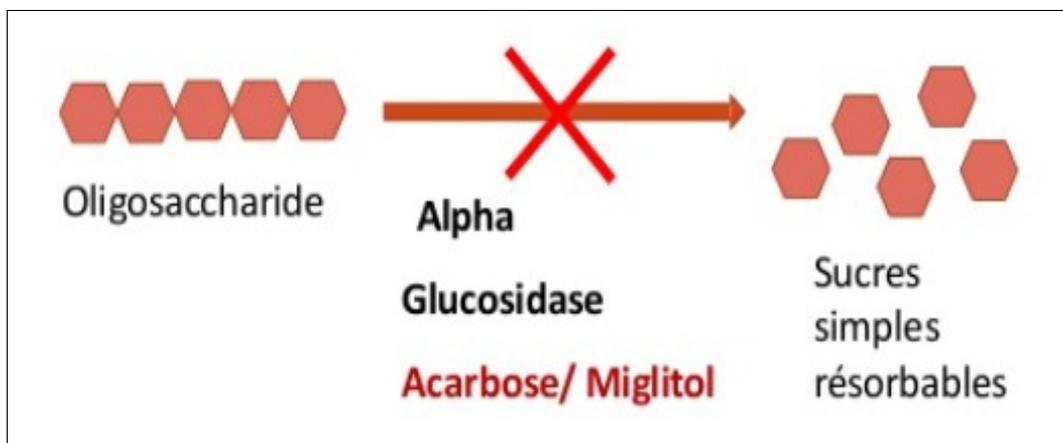


Figure 5 : Mécanisme d'action des inhibiteurs des alpha-glucosidases (25)

7.3.2 Spécialités

Les spécialités commercialisées comprennent le Glucor® (Acarbose) et le Diastabol® (Miglitol)

7.3.3 Effets secondaires

Les principaux effets secondaires notés sont des flatulences, des diarrhées et des douleurs dans l'hypocondre.

7.4 Inhibiteurs de la dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4)

7.4.1 Mécanisme d'action

La dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4) est une enzyme qui va inactiver les incrétines (GLP-1 et GIP). Ces substances sont des hormones gastro-intestinales qui vont stimuler la sécrétion d'insuline lorsque la glycémie est trop élevée. Le fait d'inhiber l'enzyme (DPP-4) va permettre d'augmenter la production d'insuline (Fig.6).

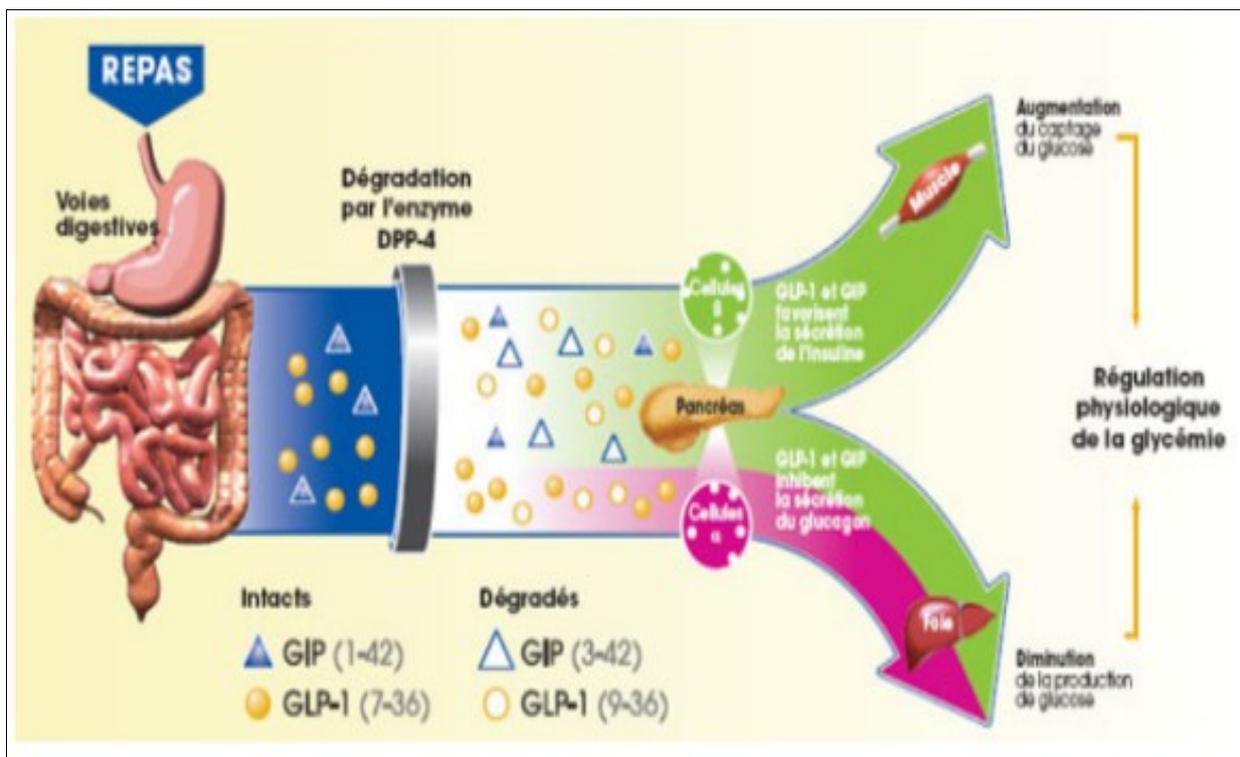


Figure 6 : Mécanisme d'action des incrétino-mimétiques et inhibiteurs de la DPP-4 (26)

7.4.2 Spécialités

Les spécialités commercialisées comprennent le Galvus[®] (Vildagliptine), le Januvia[®], le Xelvia[®] (Sitagliptine) et l'Onglyza[®] (Saxagliptine).

7.4.3 Effets secondaires

Les principaux effets secondaires observés sont l'hypoglycémie, des céphalées ou encore des réactions d'hypersensibilité.

7.5 Alpha-amylase

L'alpha-amylase est une enzyme digestive qui va hydrolyser les polysaccharides. Elle provient du suc pancréatique et de la salive. Cette enzyme joue un rôle dans le catabolisme des glucides. En effet, elle a pour fonction de couper les polymères de glucose. Son dosage sanguin va permettre de détecter et de confirmer un diagnostic de pancréatite aiguë. La stratégie thérapeutique pour le diabète de type 2 sera d'utiliser un inhibiteur des alpha-amylases. Ce dernier va empêcher l'hydrolyse des polysaccharides (27).

7.6 Insuline :

7.6.1 Structure de l'insuline

L'insuline est une hormone qui a un rôle important chez les patients atteints du diabète. Elle est sécrétée par les cellules bêta des îlots de Langerhans³ du pancréas. En effet, cette hormone est sécrétée après chaque repas pour diminuer et réguler la glycémie. Sa dose dépend de la quantité de sucres ingérée. Dans l'espèce humaine, la chaîne A comporte 21 acides aminés et la chaîne B en comporte 30 (Fig.7). Ces chaînes sont reliées entre elles par des ponts disulfures. Un pont disulfure intracaténaire relie les acides aminés 6 et 11 de la chaîne A. Deux ponts disulfures inter-chaînes sont engagés entre les résidus de cystéine A7 et B7 et A20 et B19 des chaînes A et B respectivement (28).

3 Cellules endocrines du pancréas permettant la production d'insuline

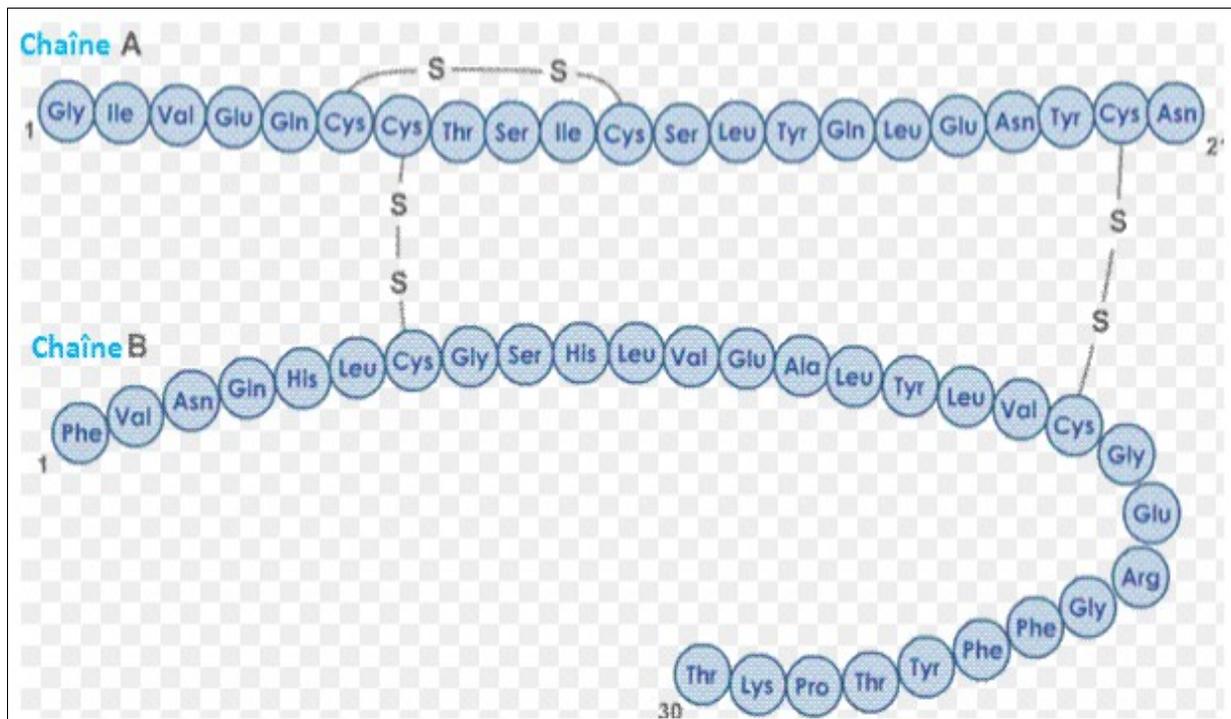


Figure 7 : Structure de l'insuline humaine (29)

7.6.2 Synthèse de l'insuline

Tout d'abord, l'insuline est synthétisée à partir d'un précurseur qui est la pré-pro-insuline (Fig.8). Ce précurseur se situe dans les cellules bêta des îlots de Langerhans. La pré-pro-insuline comporte 4 peptides : un peptide signal en N-terminal permettant son adressage au réticulum endoplasmique, la chaîne B, le peptide C et la chaîne A. Une fois dans le réticulum endoplasmique, la pré-pro-insuline est clivée en pro-insuline. Cette dernière forme à son tour l'insuline et le peptide C dans l'appareil de Golgi. Ensuite, l'insuline va être libérée par un phénomène d'exocytose⁴ et va passer dans la circulation sanguine (30).

4 Mécanisme au cours duquel les éléments contenus dans le cytoplasme d'une cellule sont libérés à l'extérieur de la cellule

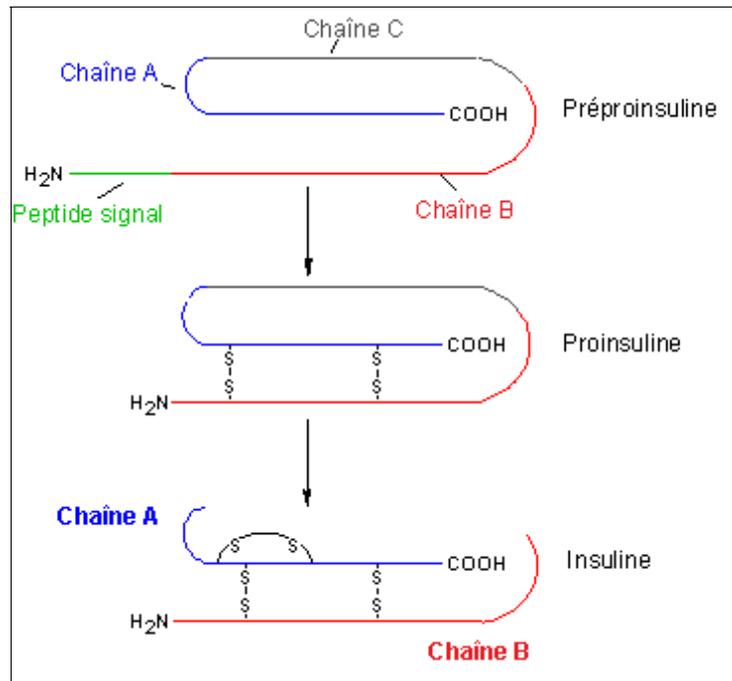


Figure 8 : Synthèse de l'insuline (30)

7.6.3 Spécialités

Il existe plusieurs types d'insuline :

- Les insulines à action lente (Lantus[®], Levemir[®], Toujeo[®], Abasaglar[®])
- Les insulines à action intermédiaire (Humalog MIX[®], Novomix[®])
- Les insulines à action rapide (Apidra[®], Humalog[®], Novorapid[®])

La voie d'administration de ces insulines se fait par voie sous-cutanée. De plus, il existe plusieurs formes galéniques pour ces insulines : stylos, cartouches et flacons.

7.6.4 Effets secondaires

Les principaux effets secondaires observés concernent l'hypoglycémie, des douleurs au point d'injection, des éruptions cutanées, de l'hypokaliémie.

7.7 Analogue du Glucagon-like-peptide-1 (GLP-1)

7.7.1 Mécanisme d'action

Cette classe de médicaments va augmenter de façon glucose-dépendante la sécrétion d'insuline par les cellules béta pancréatiques et inhibent la sécrétion de glucagon, connue pour être anormalement élevée dans le diabète de type II.

7.7.2 Spécialités

Les spécialités commercialisées comprennent le Byetta[®], le Bydureon[®] (Exénatide), le Victoza[®] (Liraglutide), et le Trulicity[®] (Dulaglutide).

7.7.3 Effets secondaires

Les principaux effets secondaires observés concernent des nausées, des vomissements, une anorexie, des céphalées ou encore des sensations vertigineuses.

7.8 Inhibiteurs du co-transporteur sodum-glucose de type 2 (SGLT2) (31)

7.8.1 Mécanisme d'action

Cette classe de médicament est commercialisée en Europe. Le SGLT2 est une protéine qui va réabsorber le glucose présent dans l'urine vers la circulation sanguine, lorsque le sang est filtré dans les reins. Le fait de bloquer la SGLT2 va permettre l'élimination d'une plus grande quantité de glucose via l'urine. Cela va avoir pour conséquence une diminution des taux de glucose dans le sang.

7.8.2 Spécialités

Les spécialités commercialisées comprennent l'Invokana[®] (Canaglifozine), et le Forxiga[®] (Dapaglifozine).

7.8.3 Effets secondaires

Les principaux effets secondaires observés concernent une hypoglycémie, une infection des voies urinaires, une polyurie ou encore une pollakiurie.

Après avoir rappelé les généralités sur le diabète, nous pouvons dire qu'il existe de nombreux traitements à l'heure actuelle qui permettent de soigner cette maladie. Mais certains patients dans le monde ne peuvent pas avoir accès à ces médicaments pour diverses raisons, notamment pour des problèmes économiques. C'est pour cela qu'aujourd'hui, de nombreuses études cherchent à montrer que des produits extraits à partir de plantes peuvent avoir une action antidiabétique. Dans la deuxième partie, nous allons voir en détail la Pervenche de Madagascar, sa description, sa composition en alcaloïdes et ses propriétés thérapeutiques.

II- La Pervenche de Madagascar

1. Généralités

1.1 Description botanique



Figure 9 : Représentation schématique et photographie de la Pervenche de Madagascar *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. ; (a) partie aérienne de la plante ; (b) fruit ; (c) graine (32)

La Pervenche de Madagascar est une plante endémique de l'île de Madagascar où elle pousse jusqu'à une altitude de 1600-1800 mètres. Elle appartient à la famille des apocynacées et fournit de nombreuses plantes dont les propriétés toxiques et pharmacologiques sont importantes. Comme son nom l'indique, elle provient de Madagascar. Elle est retrouvée dans de nombreuses régions tropicales et subtropicales où elle est utilisée comme plante ornementale. Cette plante est largement cultivée en Espagne, aux États-Unis, en Chine, en Afrique, en Australie, en Inde et en Europe du Sud pour ses utilisations thérapeutiques. Elle se développe sur de nombreux types de sols et fleurit toute l'année dans un endroit ensoleillé (20,32).

Son nom scientifique est *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. Dans *Catharanthus roseus* ; *Catharanthus* signifie "fleur propre ou pur" en grec ; *roseus* la couleur "rose" en latin, (L) est l'abréviation pour Linné (Carl von Linné) celui qui a d'abord publié la description de la plante et G. Don pour Georges Don qui l'a classé dans le genre *Catharanthus* en 1837. Le genre *Catharanthus* comporte 8 espèces dont 7 sont endémiques à Madagascar. Son autre nom scientifique est *Vinca rosea*. A Madagascar, elle est connue sous diverses

appellations selon les régions : vonenina, befala, tonga, felatananamba, heladolo, rivotambelona, salotra, befala, tongatse, felabaratra, tonga, tsimatirinina, tsingevika. La pervenche de Madagascar est une plante légendaire qui est connue grâce à ses deux alcaloïdes antitumoraux : la vincristine et la vinblastine (34).

La partie aérienne de cette plante est constituée d'un buisson de 20 à 60 cm généralement mais pouvant aller jusqu'à un mètre de hauteur. Les tiges font 30 à 100 cm de long. Elles sont généralement verticales et parfois même décombantes. Elles sont semi ligneuses, rougeâtres et contiennent un latex (Fig. 9a)(35). Les feuilles sont persistantes, simples, spiralées et opposées. Elles sont ovales à lancéolées de 5 à 7 cm de long, à marge ondulée et avec un pétiole court. Elles sont sans poil des deux côtés et leur face supérieure est brillante, vert moyen à sombre. Les feuilles de la Pervenche sont le siège d'une intense activité biologique conduisant à la biosynthèse d'une centaine d'alcaloïdes. Les fleurs de 3 à 4 cm sont roses ou blanches avec un point rose au centre. Elles sont présentes toute l'année si le climat est approprié. Elles sont axillaires, tubulaires à corolle à 5 pétales de 3 à 4 cm qui peuvent être blanches, roses ou mauves. Les fruits sont deux follicules cylindriques déhiscent, long de 3 cm (Fig. 9b) contenant chacun 12 à 20 graines brunâtres et arrondies (Fig. 9c). Les racines s'étendent jusqu'à 70 cm de profondeur (33,36).

1.2 Ecologie

La Pervenche de Madagascar est une plante tolérante contre les stress abiotiques tels que la sécheresse, la chaleur et la salinité. La Pervenche de Madagascar peut survivre dans divers habitats tels que les sols sableux, les prairies, les rivières, les dunes, les terrains vagues, les bords de routes, les roches calcaires et même les plages. Cela s'explique par sa résistance aux conditions de vie difficiles. Elle pousse avec un pH aux sols de 5,5-6,5. La Pervenche de Madagascar ne peut pas supporter trop d'eau, de sols humides ou de températures fraîches (0-10°C). Dans des conditions météorologiques défavorables ou dans des sols mal drainés, la Pervenche de Madagascar peut prendre une coloration jaune-vert, tandis que la surexploitation des sols peut causer des maladies bactériennes et fongiques au niveau de la tige et de la racine (34).

1.3 Compositions de la plante

La Pervenche de Madagascar possède plusieurs activités biologiques. C'est l'une des plantes médicinales les plus étudiées à ce jour.

La Pervenche de Madagascar appartient à la classe des alcaloïdes indoliques terpéniques. Elle est constituée d'alcaloïdes mono-indoliques (Catharanthine, Vindoline). Ces alcaloïdes sont constitués d'une partie indolique et d'une partie monoterpénique dont la teneur est d'environ 0,1 % dans les feuilles de la plante. Ils ont une faible activité antimitotique. Les alcaloïdes bis-indoliques (Vinblastine, Vincristine) sont également trouvés dans les feuilles de la plante. Ces alcaloïdes sont constitués par le couplage de plusieurs molécules. La plante possède également différents groupes chimiques tels que les polyphénols, les stéroïdes, les glycosides, les flavonoïdes et les anthocyanes (33,37).

Plusieurs éléments chimiques importants sont également retrouvés dans la plante (Tableau I). Par exemple, dans les feuilles il y a une forte concentration en Na, Ca, Mg, Cr, Fe, Al, Cu alors que dans les fleurs de la pervenche, il y a une forte concentration en K et en Zn (38).

Tableau I : Concentrations (mg/g) des différents éléments chimiques de la plante (38)

Eléments	Feuilles	Fleurs
Na	4.7200 ± 0.530	2.3100 ± 0.2600
K	23.0700 ± 4.980	23.4200 ± 5.0500
Ca	36.1900 ± 3.040	6.0500 ± 5.0500
Mg	5.1300 ± 0.260	1.7500 ± 0.0900
Cr	0.0090 ± 0.001	0.0020 ± 0.0004
Fe	1.0400 ± 0.083	0.5590 ± 0.0440
Zn	0.0230 ± 0.002	0.0480 ± < 0.0050
Al	0.0350 ± 0.004	0.0220 ± 0.0050
Cu	0.0060 ± < 0.001	0.0020 ± < 0.0010
Pb	0.0008 ± < 0.001	0.0003 ± < 0.0010
Cd	0.0002 ± < 0.001	0.0001 ± < 0.0010
Mn	0.1300 ± 0.009	0.0200 ± 0.0010
Ni	0.0060 ± 0.001	0.0024 ± < 0.0010

1.4 Propriétés médicinales et utilisations

Tout d'abord, les malgaches utilisaient la pervenche de Madagascar pour ses propriétés « coupe-faim ». Ils l'utilisaient aussi en curative, comme vermifuge, contre les piqûres de guêpes, pour désinfecter les plaies, contre le paludisme... Les racines sont utilisées comme hypotenseur mais aussi comme purgatif, dépuratif, hémostatique et contre les douleurs dentaires. Les décoctions de feuilles sont employées traditionnellement comme antidiabétique (34). En pratique, il est conseillé de faire bouillir 30 g de feuilles dans 1 litre d'eau, à boire dans la journée (33,39). C'est d'ailleurs en essayant de vérifier scientifiquement cette dernière activité, que des chercheurs ont découvert l'action antimototique des parties aériennes de cette plante, en 1957 .

La pervenche de Madagascar est surtout connue pour ses propriétés anticancéreuses. En effet, cette plante est utilisée pour soigner de nombreux cancers comme par exemple, la leucémie lymphoblastique aiguë, les lymphomes hodgkiniens et non hodgkiniens, le myélome multiple ou encore le lymphome. La Pervenche de Madagascar possède également des propriétés médicinales contre le paludisme, le virus de la dengue, les infections dysentériques, les infections de la peau, la diarrhée, la leucémie, l'irritation des yeux, les maux de dents ou encore le mal de gorge. Les racines de la plante possèdent des propriétés tranquillisantes, toniques et ont un effet hypotenseur et sédatif. Comme nous allons le voir dans la troisième partie, cette plante possède des propriétés hypoglycémiantes (40). Aux Philippines, les feuilles sont utilisées pour traiter les crampes d'estomac. En Inde, le jus des feuilles est utilisé pour soigner les piqûres de guêpes tandis que les racines et les feuilles sont utilisées comme agents anticancérigènes. En Chine elle trouvait sa place comme diurétique et comme remède contre la toux (en tisanes). En Europe la Pervenche possédait des propriétés magiques, d'où son surnom de « *violette des sorciers* », et les Jamaïcains l'utilisaient comme remède contre le diabète (en tisanes) (21).

2. Principaux alcaloïdes de la pervenche de Madagascar

2.1 Composition

Tout d'abord, nous allons rappeler la définition des alcaloïdes. Les alcaloïdes sont des molécules hétérocycliques, d'origine naturelle renfermant des groupements azotés, carbonés, hydrogènes et qui possèdent des propriétés biologiques, voir même pharmacologiques. Ils réagissent comme des bases et sont dérivés d'acides aminés. Toutes les parties de la plante possèdent plusieurs alcaloïdes actifs avec un groupement indole (C₈H₇N).

Les principaux alcaloïdes de la pervenche de Madagascar sont (34):

- La vinblastine (Fig.10)

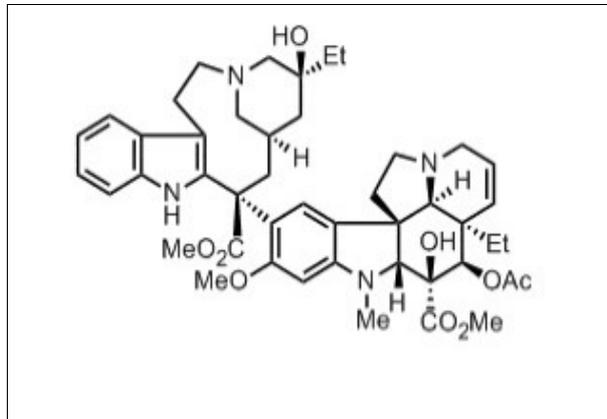


Figure 10 : Structure chimique de la vinblastine (41)

- La vincristine (Fig.11)

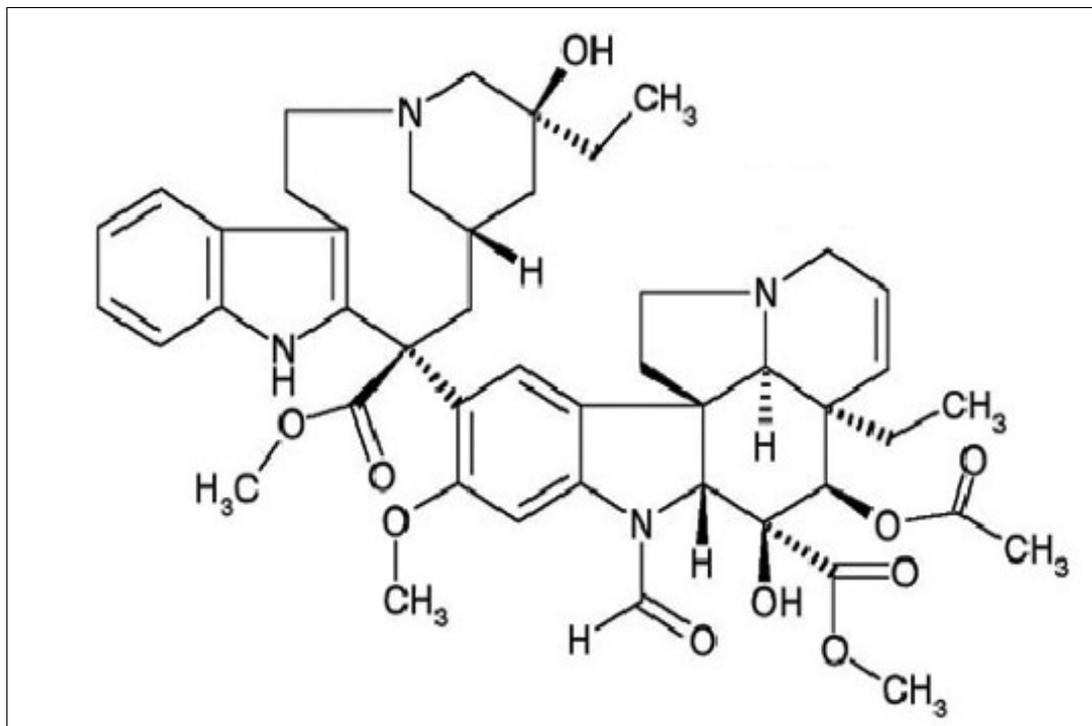


Figure 11 : Structure chimique de la vincristine (42)

- La vinorelbine (Fig.12)

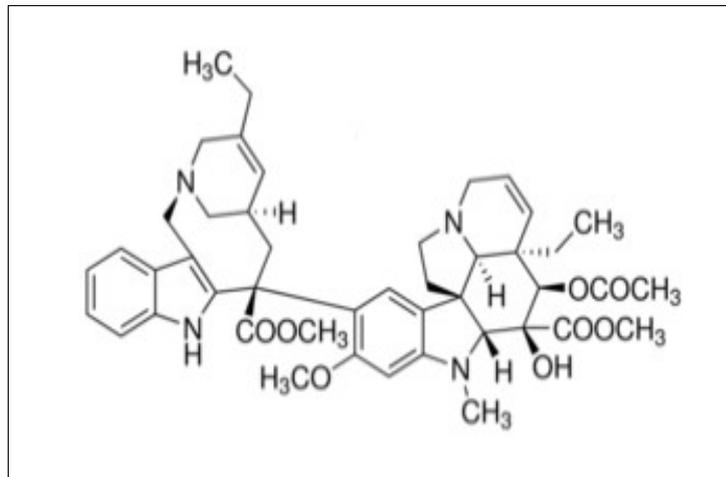


Figure 12 : Structure chimique de la vinorelbine (43)

- La vindesine (Fig.13)

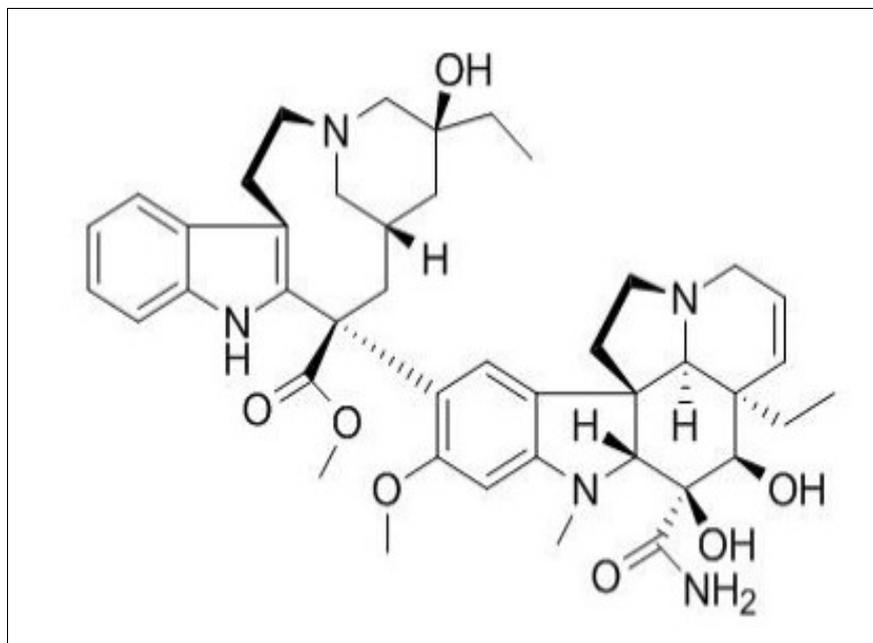


Figure 13 : Structure chimique de la vindesine (44)

- La vindoline (Fig.14), dont nous allons voir le mécanisme d'action dans le paragraphe suivant, est un précurseur chimique de la vinblastine.

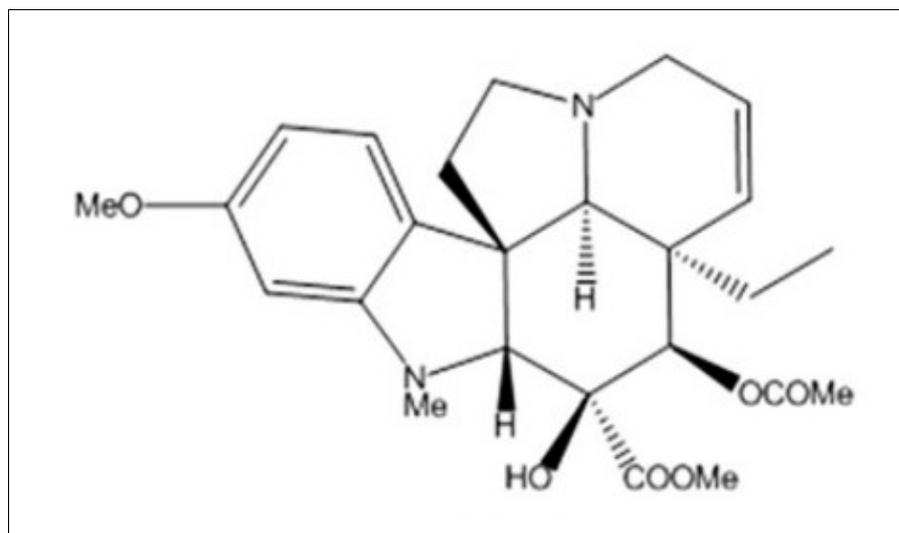


Figure 14 : Structure chimique de la vindoline (1)

2.2 Biosynthèse et hémisynthèse des principaux alcaloïdes

La Pervenche de Madagascar comporte de nombreux alcaloïdes indoliques terpéniques composés notamment de deux anticancéreux : la Vinblastine et la Vincristine. Malgré les faibles teneurs en alcaloïdes (0,0002 %) dans les feuilles, ils continuent à être utilisés dans le traitement de certains cancers. Les parties aériennes de la plante renferment 0,2 à 1 % alcaloïdes. La teneur maximale en alcaloïdes se trouvent dans la racine (1-2 %). La teneur en alcaloïdes est plus élevée au stade de la floraison. Ceux-ci forment un mélange très complet à partir duquel plus de 130 alcaloïdes ont été extraits de la pervenche de Madagascar. Parmi ces 130 alcaloïdes, 25 sont des alcaloïdes binaires, c'est-à-dire des alcaloïdes obtenus à partir du couplage d'au moins deux molécules. Et parmi ces 25 alcaloïdes binaires, deux sont commercialisés : la vinblastine et la vincristine. La biosynthèse de ces deux derniers alcaloïdes nécessite au moins 35 réactions intermédiaires et l'intervention de plus de 30 enzymes. Certains de ces alcaloïdes possèdent des propriétés médicinales. Les alcaloïdes indoliques terpéniques de la Pervenche de Madagascar sont formés à partir de 2 voies de biosynthèse : la voie indolique et la voie des terpénoïdes (Fig.15). La tryptamine est formée à partir de la voie indolique et la sécologanine est formée à partir de la voie des terpénoïdes. La tryptamine est produite à partir du tryptophane grâce à la tryptophane décarboxylase. La sécologanine est produite à partir du Loganine grâce à la sécologanine synthase. La sécologanine et la tryptamine se condensent pour donner la strictosidine. La strictosidine va donner différents alcaloïdes dont la vindoline, catharanthine, vinblastine et vincristine (45).

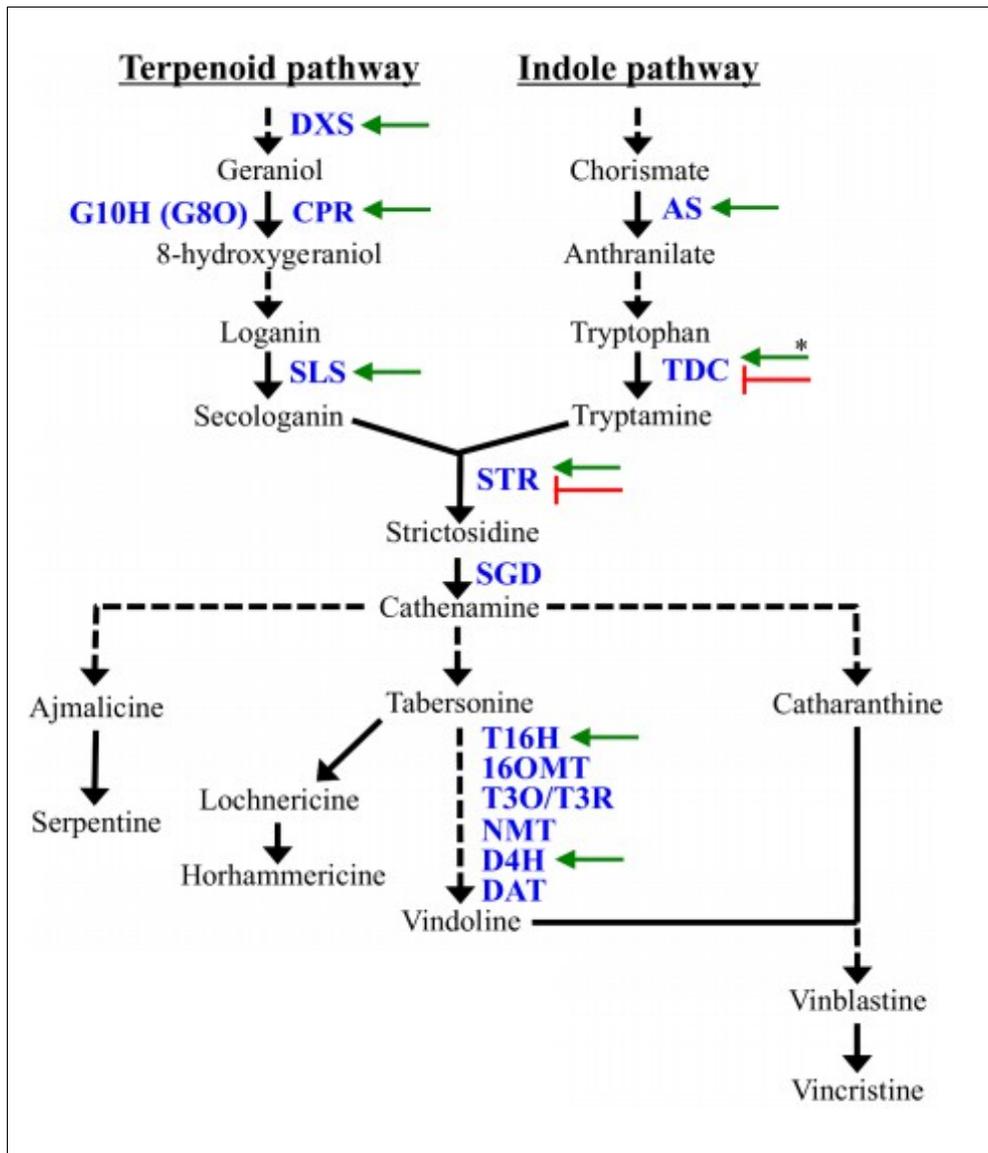


Figure 15 : Biosynthèse et hémisynthèse des principaux alcaloïdes de la Pervenche de Madagascar (45)

Nous allons maintenant détailler l'hémisynthèse des principaux alcaloïdes de la Pervenche de Madagascar.

2.2.1 Hémisynthèse de la vinblastine

Il existe plusieurs types d'hémisynthèses pour arriver à la vinblastine. Ici, nous allons détailler l'hémisynthèse de Boger *et coll* (2005) (Fig.16) qui se sont inspirés d'un protocole d'oxydation développé par Kutney en 1975. Boger *et Coll* ont couplé deux composés présents dans la plante : la Catharanthine et la vindoline. Le couplage ferrique de la catharanthine et de la vindoline a mené à l'iminium ($\text{CH}_2\text{C}=\text{N}^+$). Ce dernier va donner la vinblastine grâce à une étape d'oxydation par le système $\text{Fe}_2(\text{Ox})_3/\text{air}$ et une étape de réduction par NaBH_4 . Le rendement obtenu est de 30% (33).

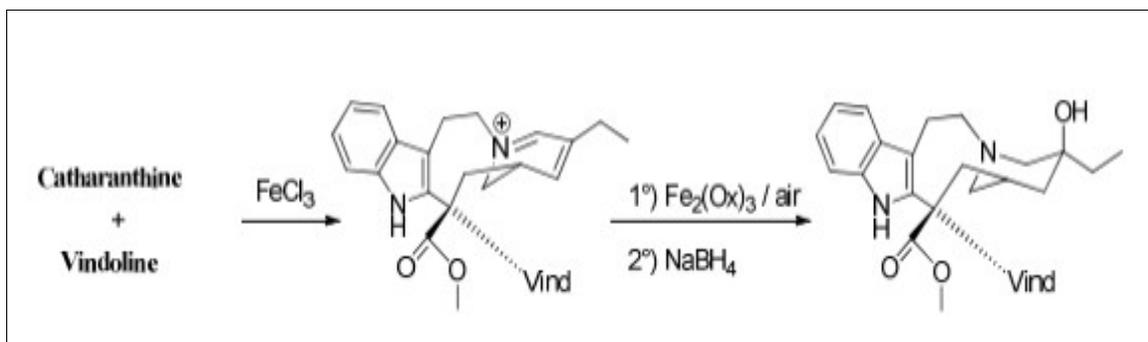


Figure 16 : Hémisynthèse de Boger *et Coll* (2005) (32)

2.2.2 Hémisynthèse de la vincristine

L'hémisynthèse de la vincristine (Jovanovics et Szasz) se fait à partir de la vinblastine dont nous venons de voir l'hémisynthèse ci-dessus. En effet, il va y avoir une déméthylation de la vinblastine qui va donner la déméthylvinblastine. Ce dernier composé va donner la Vincristine grâce à une réaction d'oxydation (Fig.17). La vincristine peut également être obtenue grâce à une réaction de formylation à partir de la déméthylvinblastine. Le rendement obtenu est de 23% (33).

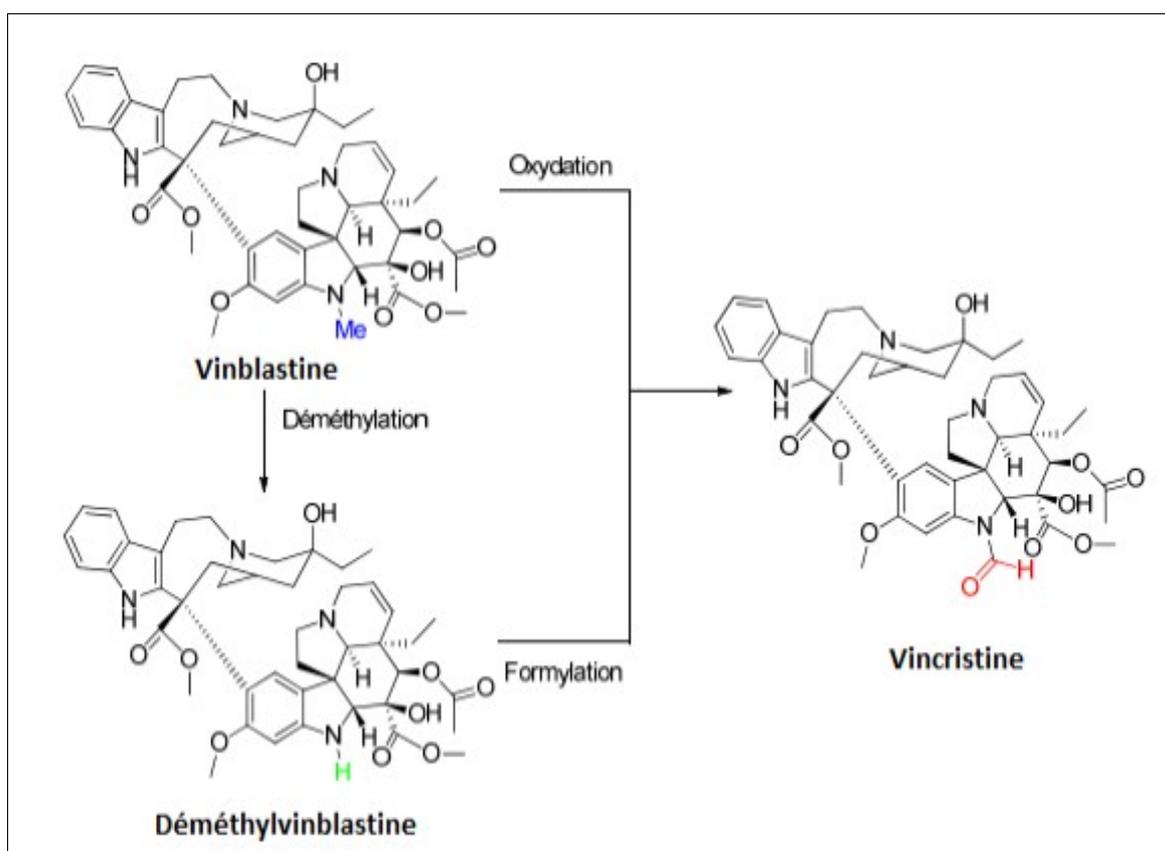


Figure 17 : Hémisynthèse de la vincristine (32)

2.2.3 Hémisynthèse de la vindésine

La vindésine possède les mêmes similarités structurales que la vinblastine. Par rapport à la vinblastine, l'ester est remplacé par une fonction amide primaire et l'acétate a été hydrolysé en alcool secondaire (Fig.18). L'hémisynthèse de la vindésine (Keve et Acs) peut se faire à partir de la vinblastine. En effet, la vinblastine va donner la vindésine grâce à une ammonolyse directe en présence de NH_3 (33).

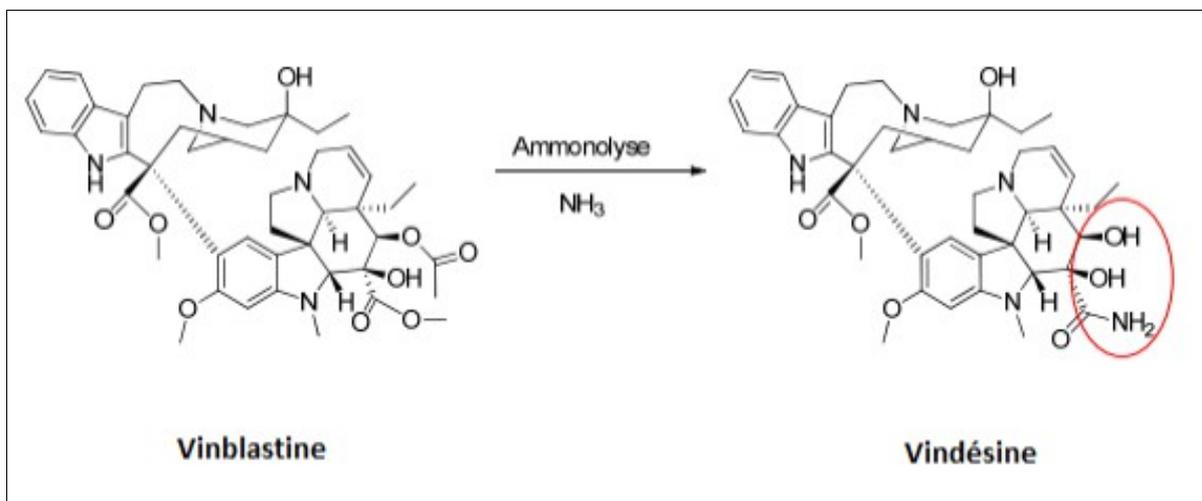


Figure 18 : Hémisynthèse de la vindésine (32)

2.2.4 Hémisynthèse de la vinorelbine

L'hémisynthèse de la vinorelbine (Andriamialisoa et Langlois) peut être réalisée à partir de l'anhydrovinblastine (Fig.19). La première étape va consister en l'activation électrophile de la position C9' par une source de Br^+ conduisant à la formation de la bromo-9'-indolénine. Cette dernière va induire la fragmentation du pont éthylénique grâce au sel d'argent (AgBF_4). L'utilisation de N-bromosuccinimide (NBS) à basse température va permettre l'obtention de la bromoindolénine. Cette dernière va mener à la Navelbine[®] grâce à l'ajout d'une molécule d'eau et du tétrahydrofurane (THF). Le rendement global obtenu à partir de l'anhydrovinblastine est de 80% (33).

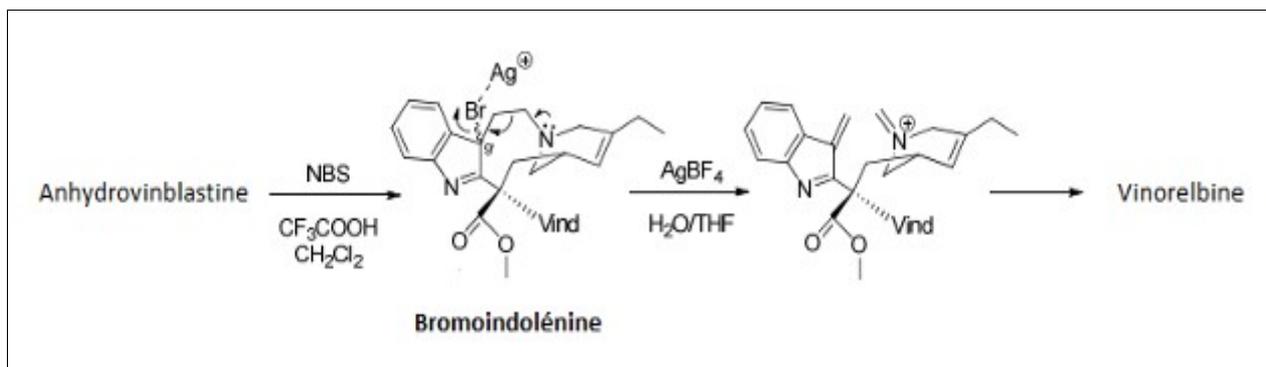


Figure 19 : Hémisynthèse de la vinorelbine (32)

2.2.5 Biosynthèse de la vindoline

Avant de détailler la biosynthèse de la Vindoline, il faut savoir que plus de 30 étapes sont nécessaires pour la biosynthèse de nombreux alcaloïdes comme par exemple la vindoline, la catharanthine, vincristine ou encore la vinblastine. Les auteurs (Besseau *et al*) ont constaté que la vindoline peut être formée à partir de la tabersonine (Fig.20). Cette dernière est un alcaloïde indolique présent dans la feuille de *Catharanthus roseus*.

Dans la figure ci-dessous, les auteurs (Besseau *et al*) ont distingué six étapes pour pouvoir arriver à la tabersonine. La première étape consiste en une hydroxylation de la tabersonine en position 16 grâce à la tabersonine 16-hydroxylase. Cela va donner le 16-hydroxytabersonine. La deuxième étape va consister en une méthylation du groupement hydroxyle toujours en position 16 grâce à la 16-hydroxyméthyltransférase. Cette étape va donner le 16-méthoxytabersonine. La troisième étape consiste en une hydroxylation pour former le 16-méthoxy-2,3-dihydro-3-hydroxytabersonine. Dans une quatrième étape, grâce à la N-méthyltransférase, la formation de la désacétoxyvindoline est possible. La cinquième étape résulte d'une hydroxylation catalysée par la desacétoxyvindoline-4-hydroxylase qui va donner la deacetylvindoline. Enfin, la dernière étape va permettre la formation de Vindoline par une acétylation. Cette réaction est catalysée par la deacetylvindoline-4-O- acétyltransférase (DAT). Dans les racines, la tabersonine va permettre la formation de hörhammericine et echitovenine grâce notamment à une étape d'hydroxylation. Dans cette dernière étape, une enzyme de la famille des cytochromes P450, la DAT va donner la vindoline (46).

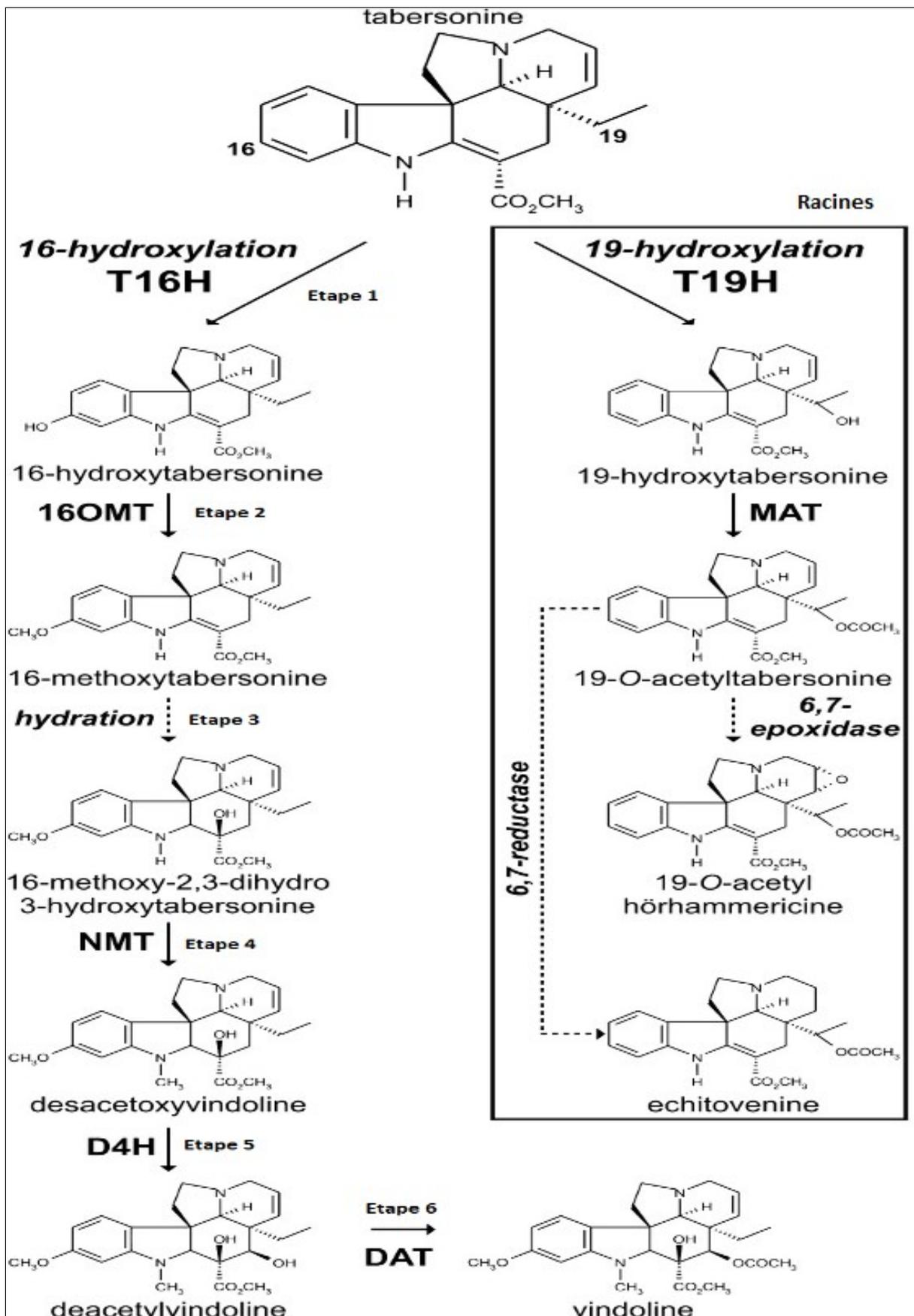


Figure 20 : Biosynthèse de la vindoline (46)

2.3 Activités pharmacologiques des principaux alcaloïdes de la pervenche de Madagascar

2.3.1 Mécanisme d'action

Les principaux mécanismes d'action des différents alcaloïdes que nous venons de voir ci-dessus sont dus à leurs interactions avec la tubuline (Fig.21). Cette dernière est une protéine structurale des microtubules retrouvés dans le cytosquelette. Les microtubules sont nécessaires pour la division cellulaire. En effet, les alcaloïdes qui vont se lier avec la tubuline vont inhiber sa polymérisation et désorganiser le réseau microtubulaire lors de la mitose. Cela va provoquer directement l'arrêt de la métaphase et donc l'arrêt de la prolifération de cellules cancéreuses. Les alcaloïdes de la Pervenche de Madagascar ont également le pouvoir d'inhiber l'angiogenèse des tumeurs bénignes (47,48).

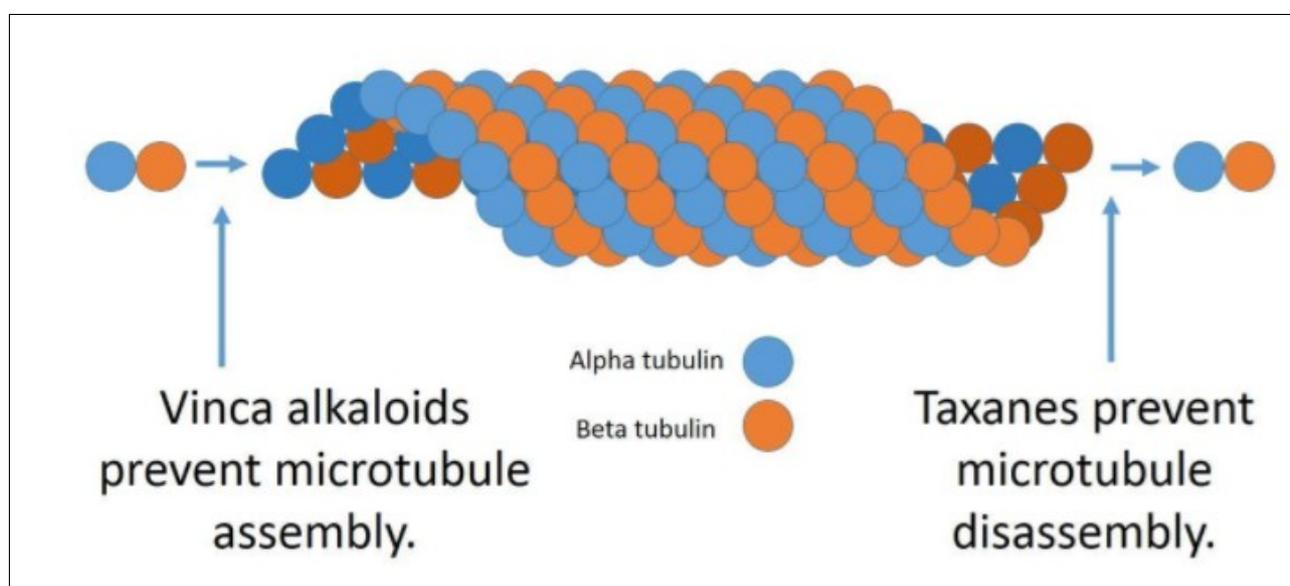


Figure 21 : Mécanisme d'action des Vinca-alcaloïdes (48)

2.3.2 Indications

Les Vinca-alcaloïdes sont principalement indiqués dans le traitement du cancer des testicules, des seins, de certaines leucémies (leucémie aiguë lymphoblastique) ou encore dans le traitement des cellules tumorales osseuses. Ils peuvent également être indiqués dans les thrombocytopénies auto-immunes, dans le syndrome hémolytique et urémique (47,49).

2.3.3 Effets secondaires

Les principaux effets secondaires des Vinca-alcaloïdes concernent principalement la neurotoxicité périphérique mais aussi des douleurs thoraciques, des infections, de l'anémie et de la fièvre (49).

2.3.4 Spécialités pharmaceutiques

Actuellement les spécialités pharmaceutiques qui existent sur le marché sont :

- Velbe[®] (Vinblastine)
- Oncovin[®] (Vincristine)
- Navelbine[®] (Vinorelbine)
- Eldisine[®] (Vindésine)

Ces Vinca-alcaloïdes sont généralement administrés par bolus intraveineux mais peuvent être administrés sous forme de perfusion afin de maintenir des concentrations plasmatiques élevées de ces médicaments. La Vinorelbine est le seul Vinca-alcaloïde à être administré par voie orale et par voie intraveineuse ; elle a une action pharmacocinétique similaire aux autres Vinca-alcaloïdes administrés par voie intraveineuse (50).

Une spécialité antidiabétique à base de cette plante fut commercialisée en Afrique du Sud et en Angleterre sous les noms respectifs de COVINCA[®] et VIN-Q-LIN[®] dans les années 1920, mais en raison de leur toxicité, ils furent retirés du marché (51).

2.3.5 Toxicité des principaux alcaloïdes de la pervenche de Madagascar

Les alcaloïdes évoqués ci-dessus, possèdent un profil toxicologique comparable en ce qui concerne la neurotoxicité. La toxicité neurologique est cependant plus marquée pour la vincristine et la vinblastine. C'est une toxicité neurologique cumulative et d'apparition progressive, réversible en plusieurs semaines à plusieurs mois : paresthésies et troubles sensoriels, puis douleurs névritiques et enfin difficultés motrices, imposant l'arrêt du traitement. En cas de neurotoxicité, il faut suspendre le traitement, diminuer les doses et la fréquence d'administration. Bien qu'un certain nombre d'antidotes comme la thiamine, la vitamine B 12, l'acide folinique, la pyridoxine et les agents neuro-actifs ont été appliqués, ces traitements ne se sont pas révélés efficaces. Des effets toxiques gastro-intestinaux sont également retrouvés comme par exemple des ballonnements, constipations et des douleurs abdominales. Des nausées, des vomissements et de la diarrhée peuvent également survenir. Ces symptômes surviennent le plus souvent avec la Vincristine ou à

de fortes doses avec les autres Vinca-alcaloïdes. Ces alcaloïdes peuvent également entraîner des lésions tissulaires importantes comme par exemple une ischémie cardiaque, des douleurs thoraciques, des troubles respiratoires, des neutropénies, des infections ou encore des thrombopénies. Ces médicaments ne doivent pas être pris par une patiente enceinte, qui planifie une grossesse ou qui allaite car des malformations congénitales peuvent être observées. Les patients ne doivent pas recevoir de vaccins pendant la prise de ces médicaments car ces derniers vont affaiblir le système immunitaire et les vaccins n'auront aucun effet. Cela peut entraîner une maladie vaccinale généralisée qui peut conduire au décès. Enfin, les patients prenant ces médicaments doivent avertir leurs médecins des autres prises de médicaments et de pathologies comme la varicelle, l'herpès, les maladies neurodégénératives ou encore les calculs rénaux par diminution du débit de filtration glomérulaire (DFG) (47).

En ce qui concerne la cytotoxicité des principaux alcaloïdes de la Pervenche de Madagascar, la Vindoline présente une faible toxicité envers les cellules dans les 8 types de tumeurs (leucémie, mélanome, tumeur du cerveau, cancers du côlon, du sein, du poumon, du rein et de l'ovaire) présentés dans la figure ci-dessous contrairement aux autres alcaloïdes (Fig.22). En effet, les lignées cellulaires des différents types de tumeurs ont révélé une cytotoxicité élevée pour la Vinblastine et la Vincristine contrairement à la Catharanthine et la Vindoline (52). Cette faible toxicité pourrait être un avantage pour la Vindoline si celle-ci est utilisée pour ses propriétés antidiabétiques.

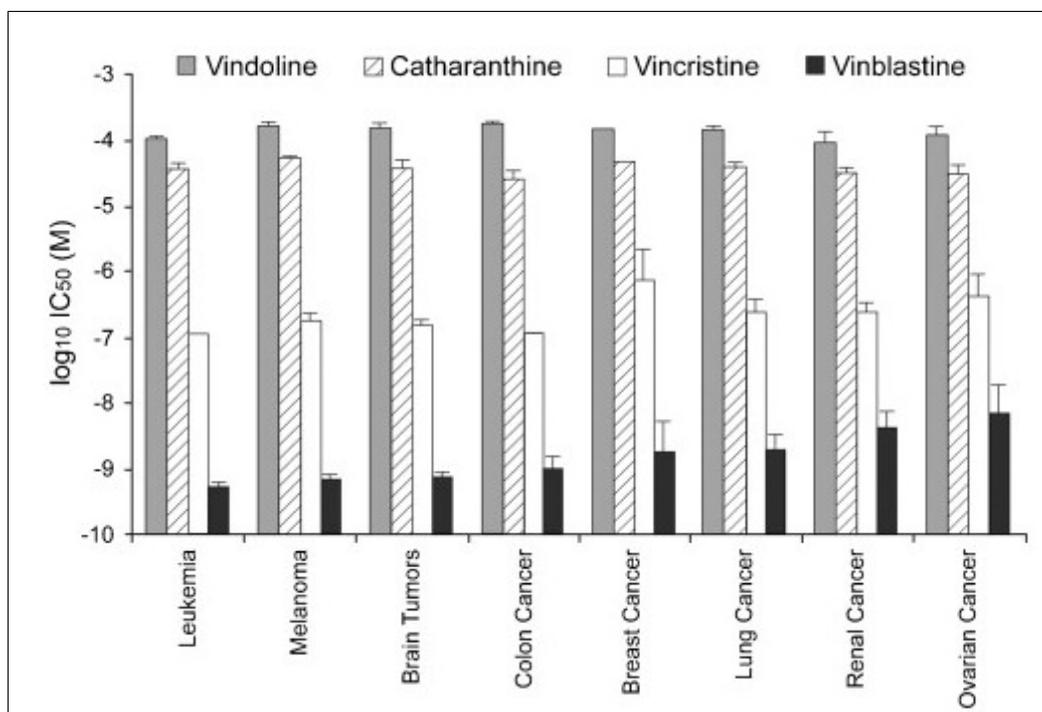


Figure 22 : Cytotoxicité des principaux alcaloïdes de la Pervenche de Madagascar (52)

Dans cette deuxième partie, nous avons vu que la Pervenche de Madagascar était une plante riche en alcaloïdes avec de nombreuses propriétés thérapeutiques. Nous avons également étudié la biosynthèse des principaux alcaloïdes, leurs différentes activités pharmacologiques et leurs effets toxiques. Nous allons maintenant voir deux alcaloïdes extraits de la Pervenche de Madagascar qui pourraient être utilisés dans le traitement du diabète.

III- L'utilisation de la vindogentianine et vindoline dans le diabète

A la fin des années 1950, des auteurs (Robert Noble *et al*) ont réalisé des études sur des rats diabétiques afin de tester l'activité antidiabétique de la Pervenche de Madagascar mais ces études se sont révélées infructueuses. En effet, au lieu d'observer une forte diminution de la glycémie, ils ont observé une diminution importante du nombre de globules blancs. De ce fait, les chercheurs se sont moins intéressés à la diminution de la glycémie et se sont plus attentionnés à l'activité anticancéreuse (53,54).

1. La vindogentianine

1.1 Structure de la vindogentianine

La vindogentianine (Fig. 23) est un nouvel alcaloïde indole. Les auteurs (Soon Huat Tiong *et al*) l'ont isolé à partir de l'extrait de feuille de *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. Leurs structures ont été étudiées grâce à des techniques spectroscopiques : les rayonnements ultraviolets (UV), l'infrarouge (IR), la Résonance magnétique nucléaire (RMN) et la Spectrométrie de masse (MS). La vindogentianine est un dimère (molécule avec deux sous-unités) contenant une fraction de la vindoline (dont nous venons de voir la biosynthèse dans le chapitre précédent (II.2.2.5) couplée à un fragment de Gentianine dont nous allons voir la biosynthèse dans le paragraphe suivant (III.1.2.2) (4).

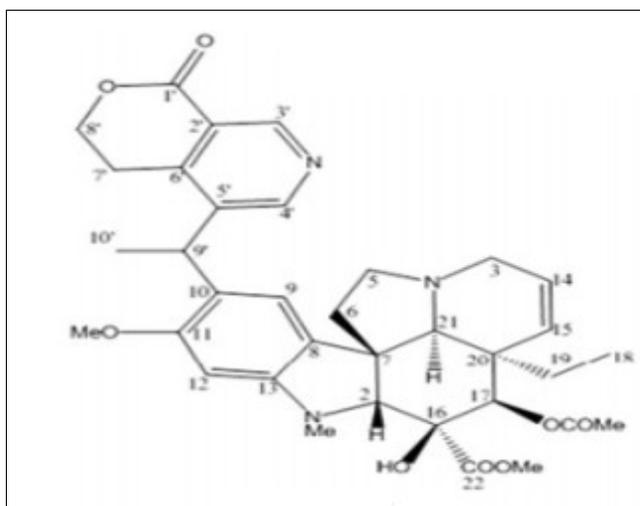


Figure 23 : Structure chimique de la vindogentianine (4)

1.2 La gentianine

1.2.1 Structure

La gentianine (Fig.24) est un alcaloïde majeur de l'espèce *Gentiana macrophylla*. Cette dernière appartient à la famille des Gentianacées. *Gentiana macrophylla* est une plante médicinale prescrite en Chine depuis l'Antiquité pour traiter l'accident vasculaire cérébral, l'hémiplégie, la malnutrition infantile, l'hypertension, le diabète ou encore l'arthrose. Ses racines séchées sont officiellement répertoriées dans la Pharmacopée chinoise sous le nom de *Radix Gentianae Macrophyllae* (*Qin-jiao* en chinois) et sont fréquemment utilisées contre les rhumatismes et la douleur (55,56).

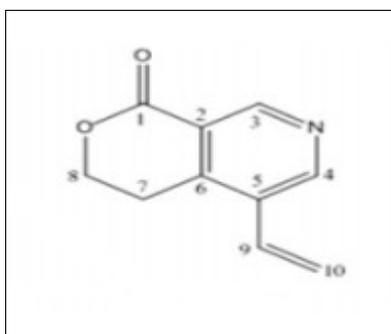


Figure 24 : Structure chimique de la gentianine (4)

1.2.2 Biosynthèse

Les auteurs (Xiaoyan Cao *et al*) ont constaté que la Gentianine est formée à partir d'une transformation de la dégradation de gentiopicrosides. Ces derniers sont des glycosides sécoiridoïdes couramment utilisés dans les espèces de Gentianacées. Les sécoiridoïdes sont des formes spéciales d'iridoïdes. Ces derniers sont constitués d'un cycle cyclopentane fusionné à un cycle à 6 atomes. La gentiopicroside est une substance abondante de *Radix Gentianae Macrophyllae*. C'est la substance active la plus importante des glycosides sécoiridoïdes totaux et elle possède des propriétés anti-inflammatoires, analgésiques et antibactériennes significatives, ainsi qu'une activité biologique pour traiter l'arthrose et renforcer la motilité gastro-intestinale. La gentiopicroside est synthétisée via la voie des sécoiridoïdes. Cette voie a été bien étudiée (De Luca Vincenzo et Miettinen Karel) et revue dans la plante *Catharanthus roseus* et la plupart des étapes ont été identifiées. Dans la première étape, l'isopentényl diphosphate (IPP), un précurseur des terpénoïdes, est formé soit à partir de la 2-C-méthyl-D-érythritol-4-phosphate (MEP) ou soit à partir de l'acide mévalonique

cytosolique (MVA) (Fig.25). L'isomère allylique de l'IPP, le diméthylallyl diphosphate, réagit avec un IPP de manière à former le géranyl diphosphate, qui est ensuite catalysé et transformé en géraniol. La voie des sécoïridoïdes commence avec le Géraniol et passe par une série d'étapes conduisant à la formation de la sécologanine. Enfin, la sécologanine est convertie en gentiopicroside et autres secoïridoïdes à travers plusieurs étapes encore inconnues (57).

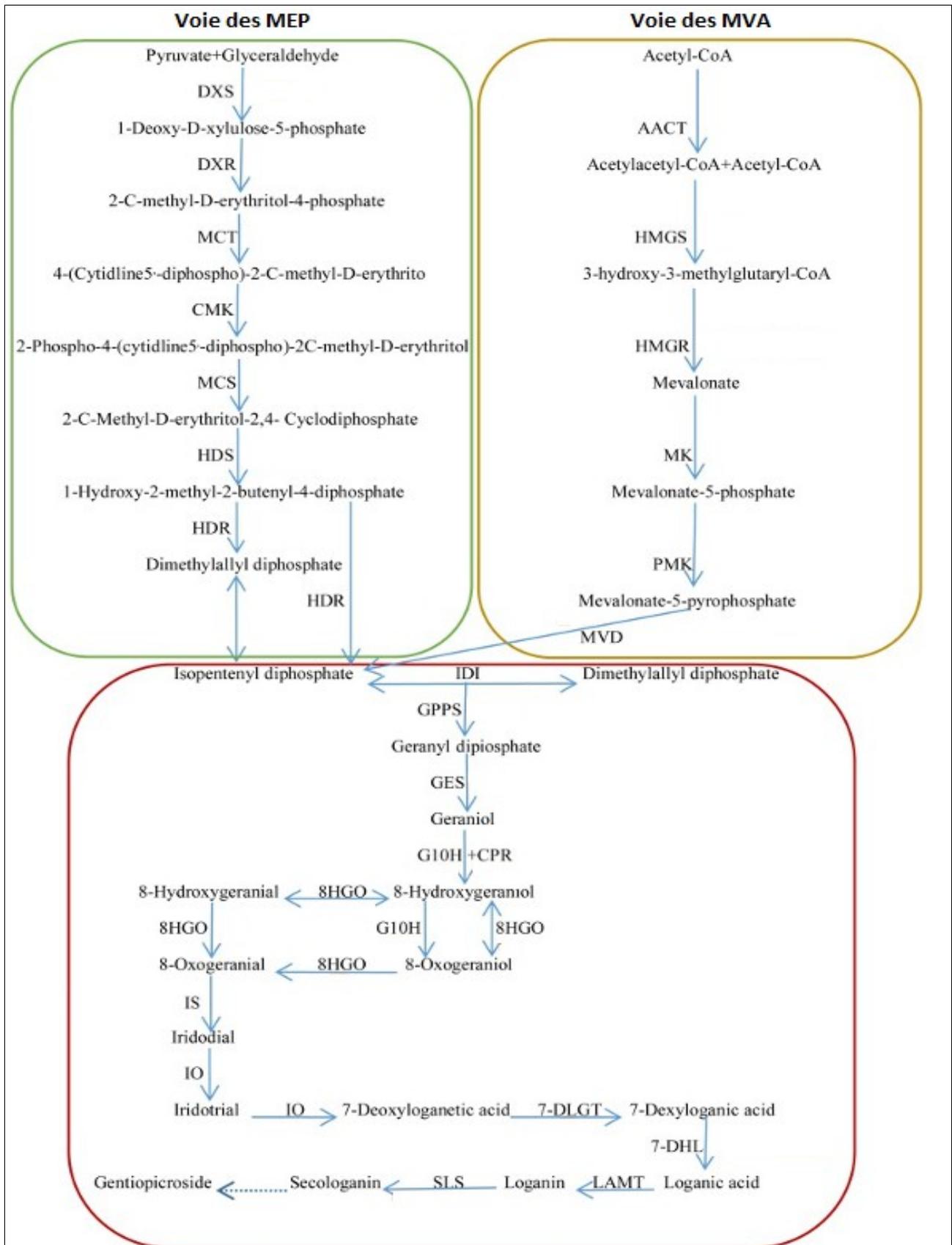


Figure 25 : Voie de biosynthèse des gentiopicosides (57)

1.3 Extraction et isolation de la vindogentianine (4)

1.3.1 Extraction de la vindogentianine

Les feuilles sèches de *Catharanthus roseus* ont été dégraissées au moyen du n-hexane puis extraits avec du dichlorométhane (DCM). Puis, elles ont été macérées avec du n-hexane (10L) pendant 3 jours à température ambiante. Ensuite, le résidu de la plante a été humidifié avec 25% d'ammoniaque pendant 1h puis ce résidu a été trempé avec du DCM (10L) pendant 3 jours à température ambiante. L'extrait de DCM (DE) a été obtenu après filtration et séché sous pression réduite. Cet extrait (42,6 g) a été soumis à une seconde extraction acide-base en utilisant de l'acide chlorhydrique à 5% et une solution d'ammoniac à 25% pour obtenir un extrait brut d'alcaloïdes (4,2 g) (DA).

1.3.2 Purification de la vindogentianine

L'extrait brut d'alcaloïdes a été soumis à une chromatographie liquide haute performance (CLHP) avec comme phase stationnaire le gel de silice. L'éluant est un mélange DCM:MeOH, avec des rapports de 95:5, 90:10, 85:15, 80:20, 75:25, 70:30, 65:35, 60:40, 55:45 et 50:50 (v / v). La CLHP a ensuite été rincé à l'aide d'un mélange solvant de DCM et de MeOH dans un rapport de 40:60, 20:80 (v / v). Chaque rapport de solvant a été élué à un volume de 1000 ml. L'éluant a été recueilli par fraction de 100 ml chacune. Un total de 15 fractions a été obtenu (Fractions 1-15).

2. Mécanismes d'action de la Vindogentianine et de la vindoline

Avant de détailler le mécanisme d'action de la vindogentianine, nous allons étudier l'innocuité de cette substance envers les cellules C2C12⁵ de souris *in vitro*.

2.1 Etude d'innocuité de la vindogentianine

2.1.1 Matériels et méthodes

Les cellules C2C12 de souris ont étéensemencées dans une plaque de 96 micropuits et incubées pendant 18 h à 37°C avec 5% de CO₂, de manière à pouvoir surveiller la croissance des cellules. Puis ces cellules ont été traitées avec de la Vindogentianine, du diméthylesulfoxyde (DMSO) et des médicaments anticancéreux

5 Lignée de cellules myoblastiques de souris utilisée pour exprimer diverses protéines cibles

de référence Doxorubicine⁶ et Paclitaxel⁷. La croissance cellulaire est surveillée pendant les 24 heures suivantes.

2.1.2 Résultats

Les résultats n'ont montré aucune différence dans la prolifération des cellules C2C12 traitées avec du DMSO et les cellules traitées avec différentes concentrations de Vindogentianine pendant 24 heures. En effet, selon l'étude réalisée par Soon Huat Tiong et Khalijah Awang, à 42h, l'index de prolifération cellulaire est de 1,4 pour la DMSO et de 1,2 pour la Vindogentianine aux différentes concentrations (Fig.26). En revanche, la mort cellulaire était observée dans les échantillons traités avec 10 µg/ml de Doxorubicine ou de Paclitaxel. Cela peut se voir avec un index de prolifération cellulaire à 0,05 pour ces deux médicaments contre 1,2 pour la Vindogentianine (Fig.26).

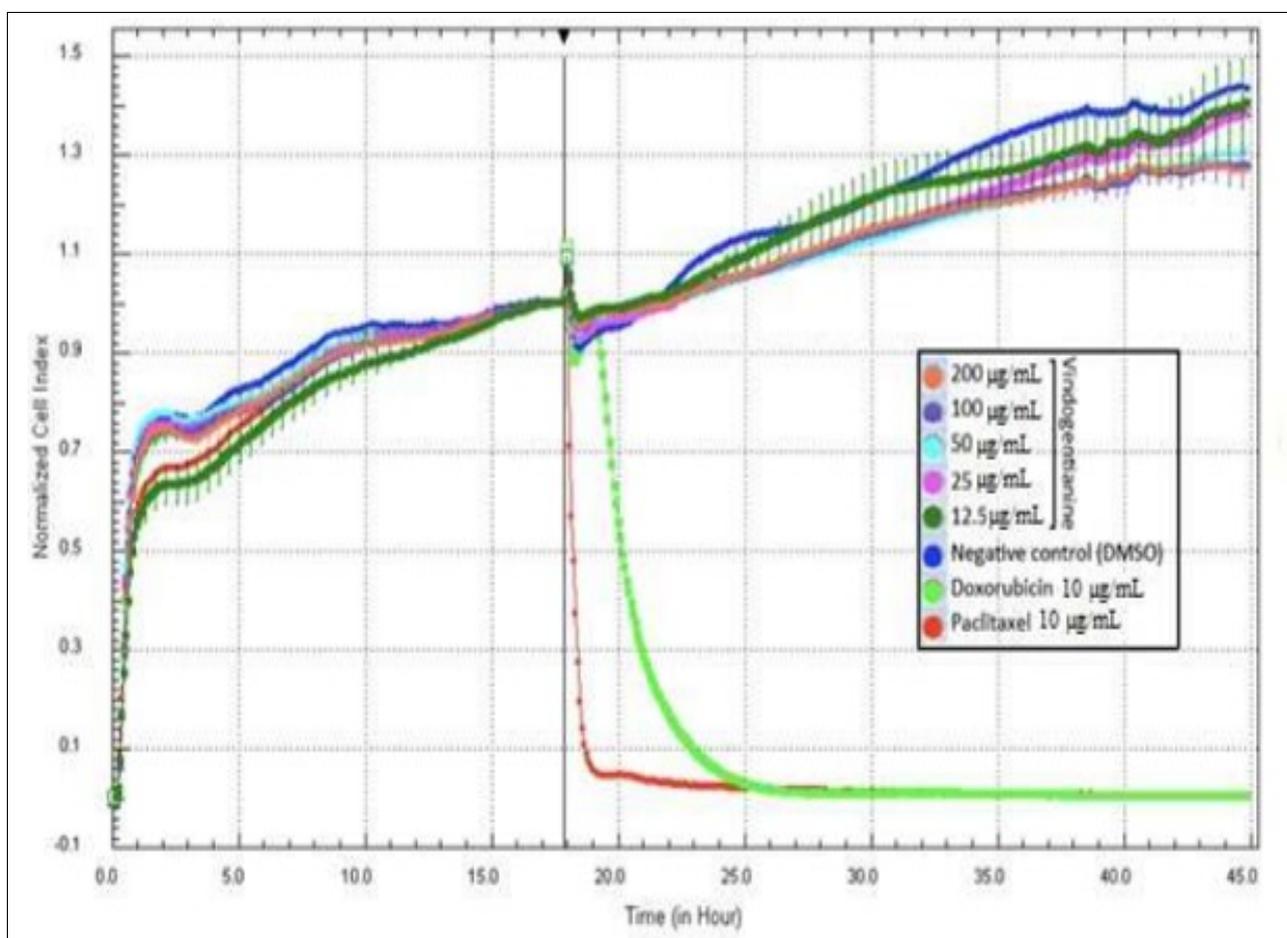


Figure 26 : Surveillance en temps réel de la croissance des cellules C2C12 (4)

6 Médicament appartenant à la famille des Anthracyclines

7 Médicament appartenant à la famille des Taxacées

2.1.3 Discussion

Ces résultats ont montré que la vindogentianine entraîne peu d'effet toxique sur les cellules C2C12. Cette absence de toxicité pourrait être un avantage pour la vindogentianine si celle-ci est utilisée pour ses propriétés antidiabétiques.

2.2 Mécanisme d'action de la vindogentianine

Les auteurs (Soon Huat Tiong *et al*) ont constaté que la vindogentianine exerce un effet sur l'absorption du glucose.

2.2.1 Activité hypoglycémiante de la vindogentianine

2.2.1.1 Matériels et méthodes

Les auteurs (Soon Huat Tiong *et al*) ont utilisé le 2-NBDG, un analogue fluorescent du glucose, qui va permettre de surveiller l'absorption du glucose dans les cellules de souris vivantes. Le colorant de Hoechst⁸ a également été utilisé pour mesurer le transport du glucose dans les cellules (4,58).

2.2.1.2 Résultats

Les auteurs (Soon Huat Tiong *et al*) ont montré que la vindogentianine possède une activité hypoglycémique à des concentrations plus élevées (25, 50, et 100 µg/ml) par rapport aux cellules β-TC6⁹ et C2C12 non traitées par la vindogentianine (Fig 27B). Par exemple, avec une concentration de vindogentianine à 100,0 µg/ml, nous avons une intensité de fluorescence de 450 et 325 dans les cellules β-TC6 et C2C12 respectivement. De plus, il y a une forte coloration verte dans les cellules β-TC6 et C2C12 lorsque la vindogentianine est rajoutée alors que sans la vindogentianine, la coloration verte est absente (Fig 27A).

8 Colorant fluorescent utilisé pour marquer l'ADN

9 Cellules produisant de l'insuline

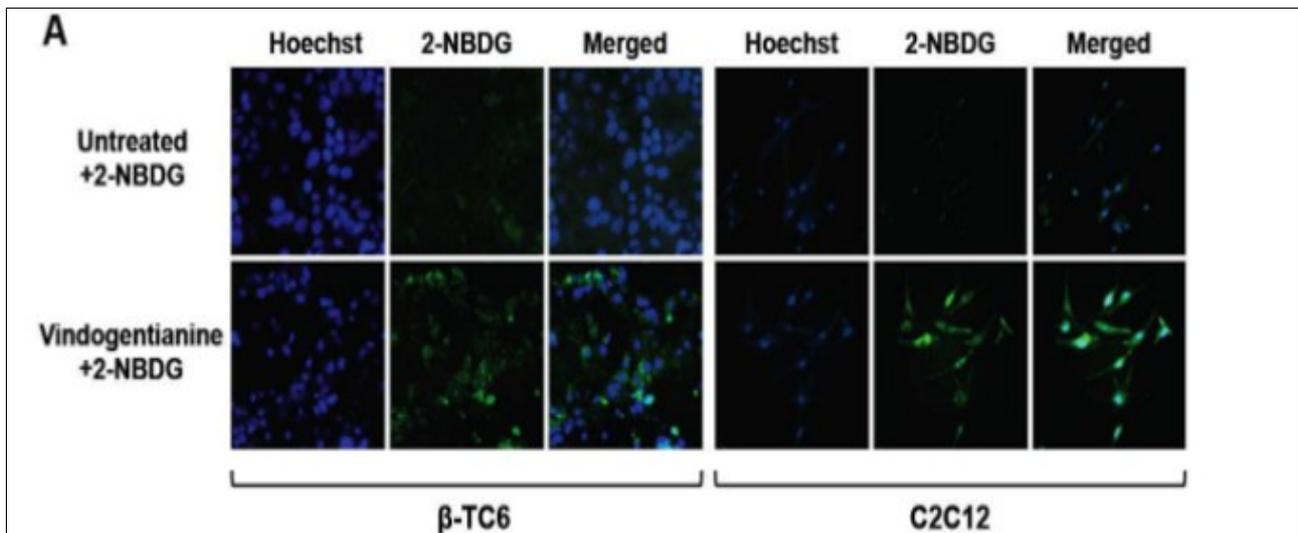


Figure 27 A: Absorption de glucose par les cellules β -TC6 et C2C12 après administration de 25,0 μ g / mL de vindogentianine (4)

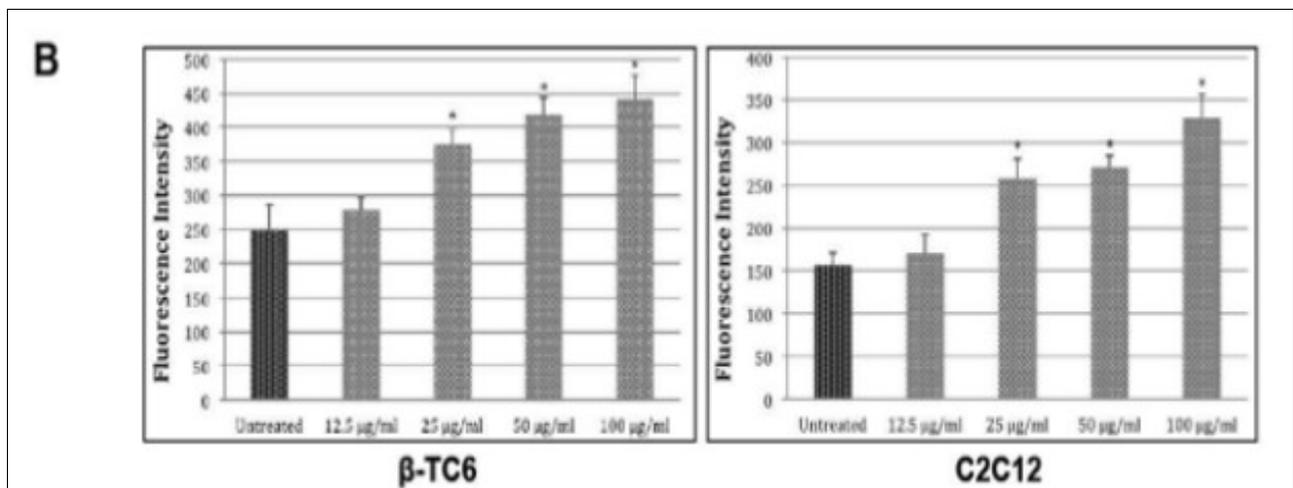


Figure 27 B: Intensité de fluorescence du 2-NBDG absorbée par les cellules β -TC6 et les cellules C2C12 en fonction de la concentration de vindogentianine (4)

2.2.1.3 Discussion

Les intensités variables de fluorescence dans les cellules β -TC6 et C2C12, traitées par la vindogentianine, ont montré une amélioration de l'absorption du glucose dans les cellules ce qui va permettre de diminuer la glycémie. La vindogentianine peut augmenter l'absorption du glucose dans les cellules à des concentrations plus élevées et donc peut diminuer la glycémie.

2.2.2 Vindogentianine et Protein-tyrosine phosphatase 1B (PTP-1B)

2.2.2.1 Matériels et méthodes

Dans cette même étude, les auteurs (Soon Huat Tiong *et al*) ont testé l'activité inhibitrice de la vindogentianine vis à vis de l' α -amylase, de l' α -glucosidase et de la PTP-1B¹⁰ sur des souris *in vitro*. La substance est considérée comme ayant un effet d'inhibition significative si sa CI_{50} ¹¹ est inférieure à 50 $\mu\text{g/ml}$.

2.2.2.2 Résultats

Les résultats ont montré une inhibition non significative de l' α -amylase (CI_{50} de $74,43 \pm 9,38 \mu\text{g/ml}$) par rapport à l'Acarbose, un inhibiteur de l' α -glucosidase (CI_{50} de $28,35 \pm 3,64 \mu\text{g/ml}$) (tableau II). Les résultats de l' α -glucosidase ont montré que la vindogentianine a une CI_{50} de $269,72 \pm 15,44 \text{ pg / ml}$ par rapport à l'Acarbose qui est le médicament de référence : CI_{50} de $165,35 \pm 8,52 \text{ pg / ml}$. D'autre part, les faibles valeurs de CI_{50} pour la PTP-1B observés pour la vindogentianine (CI_{50} de $15,28 \pm 2,59 \text{ pg / ml}$) ont indiqué ses effets potentiels pour l'inhibition de la PTP-1B par rapport au RK-682 (un inhibiteur de la tyrosine kinase) et à l'acide ursolique (un anticancéreux), deux substances de références (59).

Tableau II : Inhibition de l' α -amylase, de l' α -glucosidase et de la PTP-1B par la vindogentianine par rapport aux médicaments de référence en terme de CI_{50} (4)

Enzymes inhibées	Substances	CI_{50} ($\mu\text{g/ml}$)
α -Amylase	Vindogentianine	74.43 ± 9.38
	Acarbose	28.35 ± 3.64
α -Glucosidase	Vindogentianine	269.72 ± 15.44
	Acarbose	165.35 ± 8.52
PTP-1B	Vindogentianine	15.28 ± 2.59
	RK-682	5.17 ± 1.22
	Ursolic acid	4.73 ± 0.84

10 Régulateur négatif de la voie de signalisation de l'insuline *in vitro*

11 Concentration d'un médicament nécessaire pour une inhibition à 50 % *in vitro*

2.2.2.3 Discussion

Le fait d'inhiber la PTP-1B par la vindogentianine va permettre une augmentation de la sécrétion d'insuline. De plus, l'inhibition de l' α -glucosidase par la vindogentianine peut permettre de réduire l'hyperglycémie post-prandiale. Enfin, l'inhibition de l' α -amylase par la vindogentianine pourraient empêcher la coupure des polymères de glucose. Mais parmi ces 3 inhibiteurs d'enzymes, seule la PTP-1B peut être une cible efficace et significative pour la vindogentianine afin de diminuer la glycémie contrairement à l' α -amylase et l' α -glucosidase, étant donné que la CI_{50} de la PTP-1B est inférieure à 50 μ g/ml.

2.3 Etude d'innocuité de la Vindoline

Avant de détailler le mécanisme d'action de la vindoline, les auteurs (Wei *et al*) ont constaté que la vindoline peut diminuer l'apoptose des cellules bêta pancréatiques responsables de la production d'insuline.

2.3.1 Matériels et méthodes

Les cellules de souris MIN6 ont été pré-incubées avec de la vindoline à la concentration de 20 et 50 μ M pendant 4 heures. Cette étape est prolongée par une incubation avec des cytokines apoptotiques et de la vindoline toujours à la concentration de 20 et 50 μ M pendant 24 h (60).

2.3.2 Résultats

Le nombre de cellules MIN6 apoptotiques était de 9 % dans les conditions normales, et ce chiffre est passé à 26 % avec des cytokines apoptotiques pendant 24 h. En présence de la vindoline à la concentration de 20 et 50 μ M, le nombre de cellules apoptotiques a diminué respectivement à 24 % et 16 % dans les cellules MIN6 (Fig. 28A et 28B).

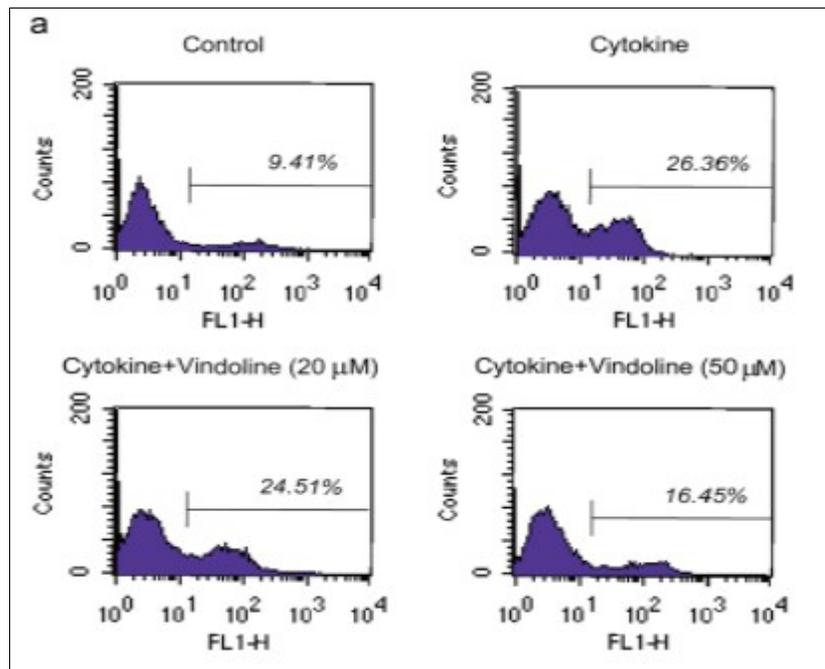


Figure 28 A : Pourcentage des cellules apoptotiques en fonction des concentrations de cytokines et de vindoline (20 et 50 μ M) (1)

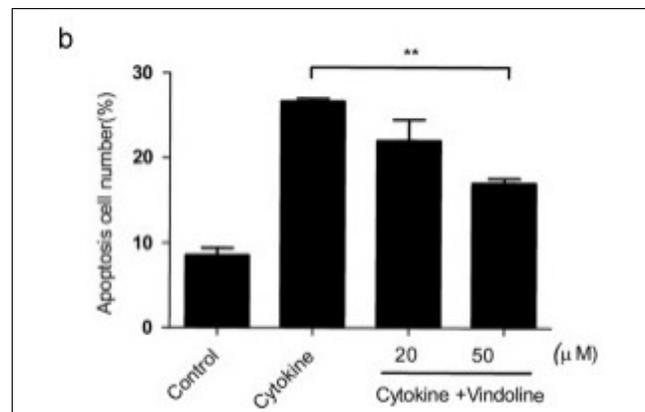


Figure 28 B : Quantification des cellules apoptotiques à partir de la figure 28 A (1)

2.3.3 Discussion

Ces résultats montrent bien que plus la concentration en vindoline augmente, plus le nombre de cellules apoptotiques diminue. De ce fait, les cellules bêta resteront intactes et pourront encore produire de l'insuline.

2.4 Mécanisme d'action de la vindoline

2.4.1 vindoline et sécrétion d'insuline

Dans ce chapitre, des auteurs (Xin-gang Yao *et al*) ont constaté que la vindoline peut stimuler la sécrétion d'insuline. En effet, ils ont constaté que la vindoline a amélioré la sécrétion d'insuline stimulée par le glucose (GSIS) dans des cellules de souris MIN6¹² et dans les îlots pancréatiques. En 2008, Yong Liu (Institute for Nutritional Sciences, SIBS, Chinese Academy of Sciences) a utilisé des cellules MIN6 et a cultivé ces cellules dans un milieu de Eagle¹³ contenant 10% de sérum de veau fœtal (Gibco) à pH 7,2 et du glucose (1).

2.4.1.1 Matériels et méthodes

Dans le graphique ci-dessous, après 2 h d'incubation avec le tampon KRB¹⁴ exempt de glucose, les cellules MIN6 ont été stimulées avec les substances indiqués (Vindoline 50 μ M, TEA 15 mM, FSK 10 μ M, Gly 0,5 μ M) avec une concentration en glucose de 2,8 mM (blanc) ou 16,8 mM (noir) (Fig.29). Puis ces cellules ont été soumises à un test de sécrétion à l'insuline. Ensuite, la vindoline a été incubée dans les cellules MIN6 en présence d'une concentration en glucose à 16,8 mM. Enfin, la stimulation de GSIS induite par la vindoline a également été étudiée dans les îlots pancréatiques. Dans la Figure 30A et 30B, les îlots ont été isolés chez des souris *in vitro* et incubés avec du tampon KRB sans glucose pendant 2 h, puis stimulées avec différentes concentrations de glucose, en présence ou en absence de vindoline pendant 2 h.

2.4.1.2 Résultats

Les auteurs (Xin-gang Yao *et al*) ont constaté que la Vindoline a stimulé la sécrétion d'insuline dans les cellules avec une concentration en glucose de 16,8 mM. En effet, la concentration en insuline est de 7,5 ng/ml/2h avec une concentration en glucose de 16,8 mM, alors qu'elle est de 0,5 ng/ml/2h avec une concentration en glucose de 2,8 mM. De plus, comme le montrent les résultats obtenus (Fig.30), la Vindoline a amélioré la GSIS (EC50 = 50 μ M 50 % de l'effet maximal est observé). Enfin, les résultats obtenus (Fig.31A et 31B) montrent que la Vindoline augmente la sécrétion d'insuline que ce soit avec une concentration en glucose de 2,8 mM ou de 16,8 mM (61,62).

12 Cellules bêta qui vont permettre la sécrétion de l'insuline

13 Milieu de culture cellulaire utilisé pour l'apport d'éléments nutritifs nécessaire à la prolifération des cellules

14 Solution basique qui va permettre de maintenir le pH physiologique du milieu et de maintenir aussi l'équilibre cellulaire

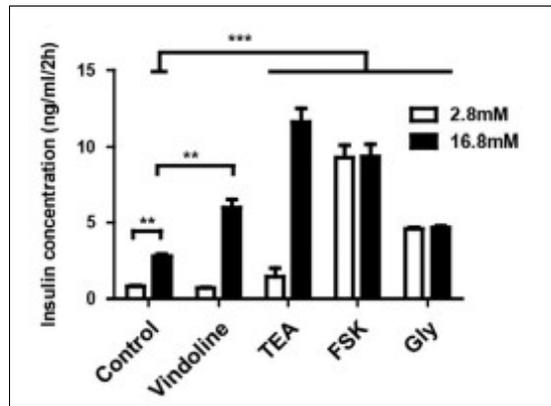


Figure 29 : Concentrations en insuline en fonction des différentes substances (vindoline 50 μ M, TEA 15 mM, FSK 10 μ M, Gly 0,5 μ M) avec une concentration en glucose de 2,8 mM (blanc) et 16,8 mM (noir) (1)

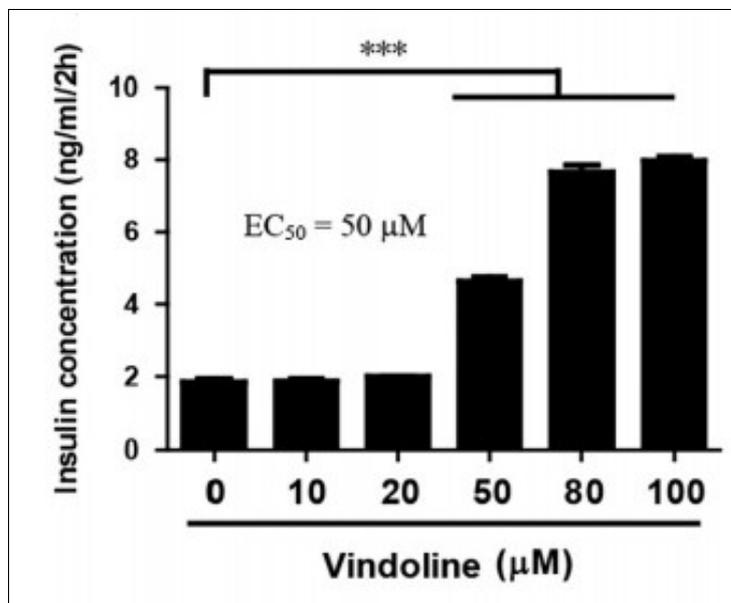


Figure 30 : Concentration d'insuline en fonction des différentes concentrations de vindoline à 10, 20, 50, 80 et 100 μ M (1)

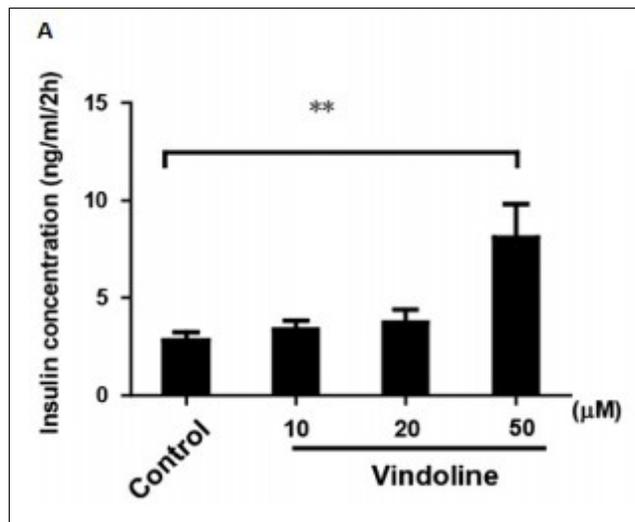


Figure 31 A : Concentration d'insuline en fonction des différentes concentrations de vindoline à 10, 20, 50, 80 et 100 μM (1)

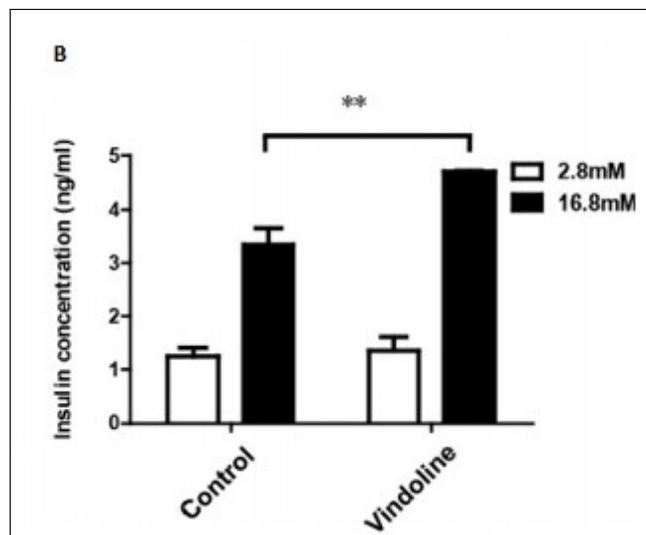


Figure 31 B : Concentration en insuline en fonction de la solution témoin et de la vindoline avec une concentration en glucose de 2,8 mM (blanc) et 16,8 mM (noir) (1)

2.4.1.3 Discussion

Les auteurs (Xin-gang Yao *et al*) ont démontré qu'à des concentrations plus élevées en glucose, la vindoline peut stimuler la sécrétion d'insuline. En effet, plus la concentration en vindoline est élevée et plus la concentration en insuline augmente. La Vindoline peut avoir une action glucose-dépendant comme le Tetraethylammonium (TEA). Ainsi, ces résultats montrent que la vindoline peut avoir une action insulinosécrétoire.

Les auteurs (Xin-gang Tao *et al*) ont observé à travers ces différentes expériences que la vindoline peut stimuler l'absorption de glucose à des concentrations plus élevées. La vindoline peut agir en stimulant la sécrétion d'insuline et donc en exerçant une action hypoglycémiante.

2.4.2 vindoline et canaux Ca^{2+}

Après avoir constaté que la vindoline pouvait stimuler la sécrétion d'insuline, des auteurs (Boyd *et al*) ont étudié l'activité de la vindoline sur l'ouverture des canaux Ca^{2+} afin de stimuler la sécrétion d'insuline.

2.4.2.1 Matériels et méthodes

Ces auteurs (Boyd *et al*) ont constaté que les canaux calciques, situés dans les cellules bêta, participent à la régulation de la sécrétion d'insuline avec dépolarisation de la membrane et influx d'ions Ca^{2+} . Ils ont voulu comparer l'action de la vindoline par rapport à la Nifedipine¹⁵. Cette dernière bloque l'ouverture des canaux calciques.

2.4.2.2 Résultats

Ils ont constaté que la présence simultanée de la Nifedipine et de la vindoline a diminué la concentration en insuline (Fig.32). Parallèlement, nous pouvons observer que la concentration d'insuline augmente nettement en présence de la vindoline seule. En effet, on a une concentration d'insuline de 8 ng/ml/2h pour une concentration en vindoline de 50 μM , alors qu'on a une concentration d'insuline réduite de moitié (4 ng/ml/2h) si on rajoute la Nifedipine avec la vindoline (63,64).

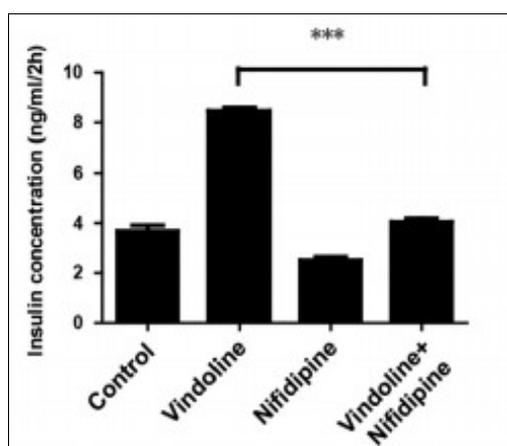


Figure 32 : Concentration d'insuline en fonction des différentes substances (50 μM de vindoline, 5 μM de Nifédipine, 50 μM de vindoline avec 5 μM de Nifédipine) (1)

15 Médicament utilisé dans le traitement de l'hypertension artérielle

2.4.2.3 Discussion

Ces résultats démontrent bien que la vindoline possède une assez forte activité hypoglycémiant en stimulant l'ouverture des canaux Ca^{2+} .

2.4.3 vindoline et canaux K^+

Les auteurs (Ashcroft *et al*) ont étudié l'activité de la vindoline sur les canaux K^+ .

2.4.3.1 Matériels et méthodes

Les cellules de souris MIN6 ont été incubées avec du tampon KRB exempt de glucose pendant 2 h en présence ou en absence de Diazoxide¹⁶ (200 μM), puis stimulées avec différentes substances (50 μM de vindoline, 200 μM de Diazoxide, 50 μM de vindoline avec 200 μM de Diazoxide) pendant 2 h avec une concentration en glucose de 16,8 mM. Ensuite, ils ont réalisé la même expérience en remplaçant le Diazoxide par de l'ester méthylique de l'acide linoléique (LAME¹⁷).

2.4.3.2 Résultats

La stimulation de la vindoline sur la sécrétion d'insuline a été inhibée par le Diazoxide ou l'ester méthylique de l'acide linoléique (LAME) (Fig. 33A et 33B). En effet, comme le montre la figure 33A, la concentration d'insuline est de 8 ng/ml/2h pour une concentration en vindoline de 50 μM , alors qu'elle est de 3,5 ng/ml/2h si on rajoute le Diazoxide avec de la vindoline. De même, dans la figure 33B, la concentration d'insuline est de 2 ng/ml/2h pour une concentration en vindoline de 50 μM , alors qu'elle est de 1,25 ng/ml/2h si on rajoute l'ester méthylique de l'acide linoléique (LAME) avec de la vindoline (65,66).

16 Médicament utilisé pour traiter les hypoglycémies (ouvreurs des canaux potassiques)

17 substance qui va ouvrir les canaux potassiques

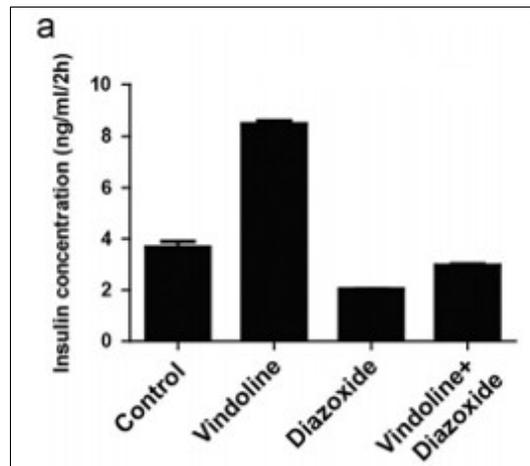


Figure 33 A : Concentration d'insuline en fonction des différentes substances (50 μ M vindoline, 200 μ M de Diazoxide, 50 μ M de vindoline avec 200 μ M de Diazoxide) (1)

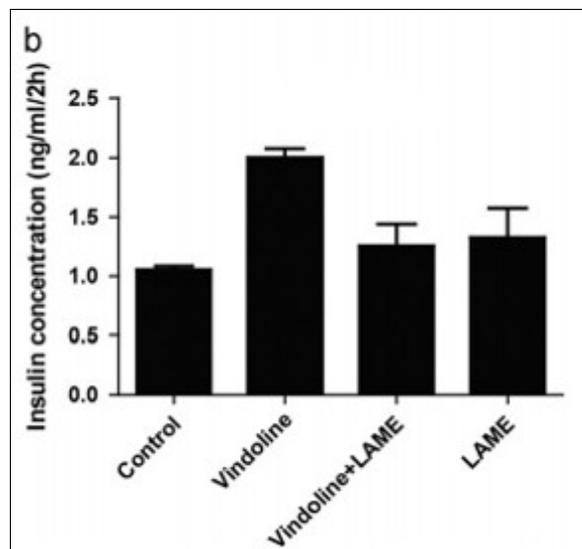


Figure 33 B : Concentration d'insuline en fonction des différentes substances (50 μ M de vindoline, 20 μ M de LAME, 50 μ M de vindoline avec 20 μ M de LAME) (1)

2.4.3.3 Discussion

Les résultats ci-dessus montrent bien que le blocage des canaux potassiques a été impliqué dans la sécrétion de l'insuline par la vindoline. Donc la vindoline peut avoir une action hypoglycémiant similaire aux sulfamides hypoglycémiant ; en bloquant l'ouverture des canaux potassiques.

2.4.4 vindoline et homéostasie du glucose *in vivo*

2.4.4.1 Matériels et méthodes

Dans ce chapitre, les auteurs (Cui *et al*) ont constaté que la vindoline améliore l'homéostasie du glucose *in vivo*. Pour cela, ils ont effectué des essais *in vivo* sur la base des modèles de souris db / db¹⁸. Les taux de glucose plasmatique ont été déterminés chez ces souris (Fig.34).

2.4.4.2 Résultats

Sur la figure 34A, nous remarquons que la vindoline a réduit la glycémie à jeun au cours du temps par rapport à la substance témoin. Cela peut également se voir sur la figure 34B avec l'aire sous la courbe (ASC) du glucose qui est très réduit en présence de Vindoline par rapport à la substance témoin. En outre, la vindoline a augmenté la concentration en Insuline, ce qui va permettre de stocker le glucose dans les cellules et donc de diminuer la glycémie (Fig.34C).

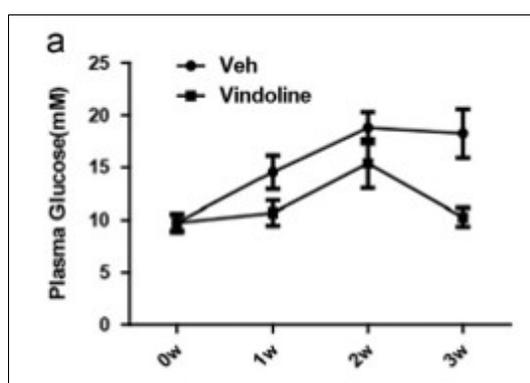


Figure 34 A : Concentration de glucose plasmatique en fonction du temps chez des souris traitées par la substance témoin et la vindoline (1)

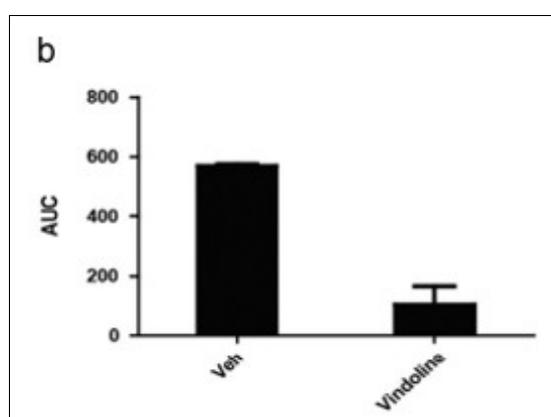


Figure 34 B : ASC de la substance témoin et de la vindoline (1)

¹⁸ Souris diabétiques mutantes par modification au niveau du gène « db » et induites par un régime riche en graisse

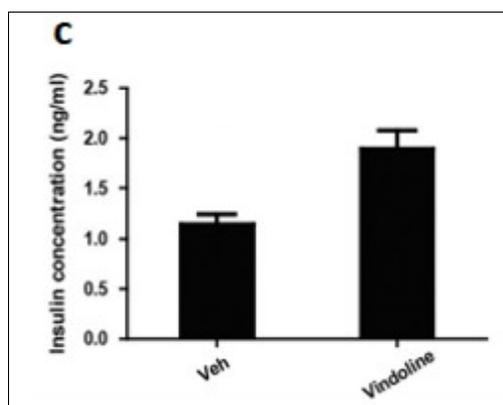


Figure 34 C : Concentration d'insuline de la substance témoin et de la vindoline (1)

Par ailleurs, comme le montrent les résultats obtenus (Fig.35), la vindoline a diminué le taux d'HbA1c par rapport à la substance témoin. En effet l'HbA1c de la vindoline est de 1,3%, alors que celui de la substance témoin est de 1,7%. Cela démontre bien que la vindoline peut jouer un rôle clé dans l'homéostasie du glucose en jouant sur l'absorption du glucose (67).

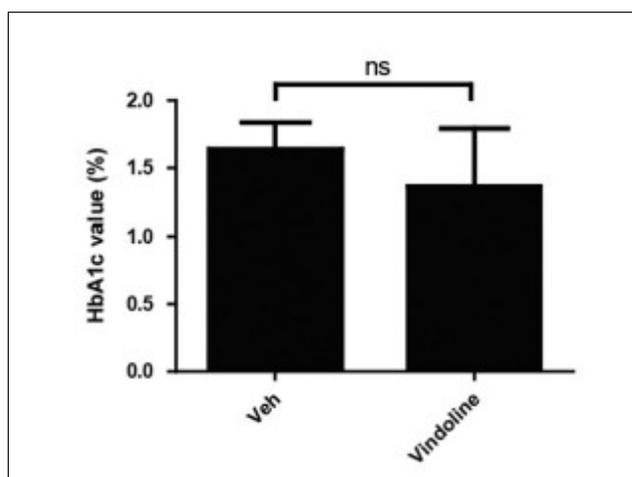


Figure 35 : Concentration plasmatique d'HbA1c chez des souris traitées par la substance témoin et la vindoline (1)

2.4.4.3 Discussion

Les résultats ci-dessus montrent bien que la vindoline améliore l'homéostasie du glucose *in vivo*. De ce fait, la vindoline va permettre le stockage de glucose dans les cellules et donc de diminuer la glycémie.

2.5 Effet hypoglycémiant de la vindoline

2.5.1 Matériels et méthodes

Les auteurs (Xin-gang Yao *et al*) ont constaté que la vindoline entraîne peu d'hypoglycémie en comparaison avec le Tolbutamide. Ce dernier est un autre sulfamide hypoglycémiant commercialisé aux Etats-Unis. La vindoline (50 mg/kg) et le Tolbutamide (50 mg/kg) ont été administrés par voie orale après un jeûne de 12 h chez des souris *in vitro*. Les taux de glucose plasmatique ont été déterminés à partir du sang de la queue de souris à 0, 1, 2, 4, 6 et 8 h.

2.5.2 Résultats

Sur la Figure 36, le traitement instauré en présence de Tolbutamide a réduit la glycémie à jeun, alors que la vindoline exerce peu d'effet à ce niveau. En effet, la concentration en glucose est de 4,9 mM à 8 h pour la Tolbutamide contre 5,1 mM pour la vindoline. Or, un des effets secondaires des sulfamides hypoglycémiants est l'hypoglycémie ; c'est pour cette raison qu'ils ne sont pas utilisés en première intention.

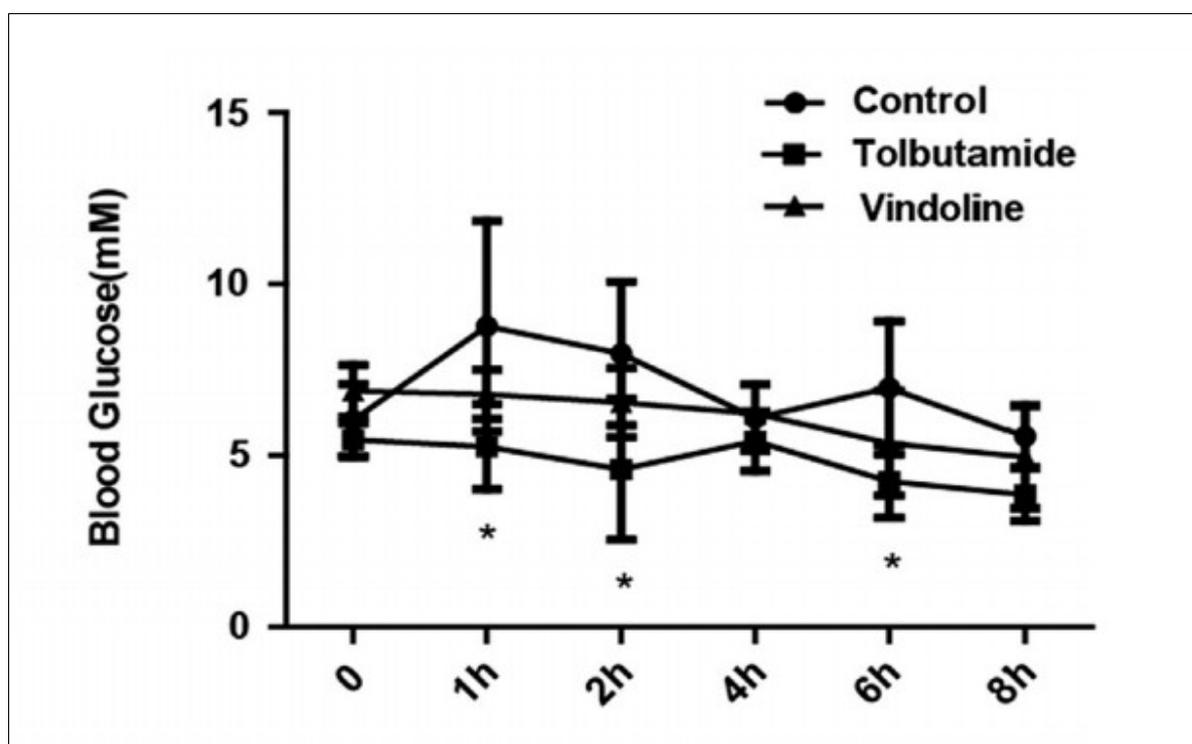


Figure 36 : Concentration de glucose plasmatique en fonction du temps chez des souris traitées par de la vindoline (50 mg / kg) et du Tolbutamide (50 mg / kg) (1)

2.5.3 Discussion

Les résultats obtenus montrent bien que la vindoline peut entraîner très peu d'hypoglycémie en comparaison avec la Tolbutamide. Mais ces résultats devront être confirmés avec d'autres sulfamides hypoglycémiantes.

Dans cette troisième partie, plusieurs auteurs ont constaté que la vindogentianine et la vindoline peuvent avoir une action antidiabétique. Tout d'abord, ils ont observé que, comparativement aux autres alcaloïdes connus de la Pervenue de Madagascar, la vindogentianine n'affectait pas la prolifération des cellules de souris C2C12, ce qui aura pour conséquence une toxicité moindre. Ensuite, ils ont constaté que la vindogentianine peut diminuer la glycémie en inhibant la PTP-1B. En ce qui concerne la vindoline, ils ont observé que son effet hypoglycémiant est dû à la stimulation de la sécrétion de l'insuline, en agissant sur les canaux K^+ , sur les canaux Ca^{2+} , sur la diminution de l'apoptose des cellules de souris MIN6 et sur l'amélioration de l'homéostasie du glucose *in vivo* sur des souris db/db. Donc la vindoline pourrait agir sur les mêmes récepteurs que les sulfamides hypoglycémiant tout en diminuant le risque d'hypoglycémie.

Par ailleurs, en 2017, des auteurs (Chengqian Xiao *et al*) ont constaté que des dérivés de la vindoline (nomenclature des substances chimiques non encore définies) ont stimulé la sécrétion d'insuline dans des cellules de souris MIN6 (68).

IV- Utilisation de *Catharanthus roseus* à Madagascar

Dans ce chapitre, nous vous proposons de découvrir l'usage de la Pervenche de Madagascar par des médecins et des pharmaciens exerçant dans cette île. Pour cela, j'ai contacté, dans un premier temps, par téléphone ces différents praticiens et leur ai adressé, dans un second temps, un questionnaire figurant en annexe.

Mes interlocuteurs m'ont confirmé l'existence de nombreuses plantes médicinales à Madagascar. De nombreux Malgaches les utilisent pour se soigner. Ces plantes médicinales sont retrouvées sur tous les marchés de l'île. Elles sont vendues en vrac sous forme de feuilles, de racines, de branches ou encore de fleurs séchées. La Pervenche de Madagascar se développe de façon ubiquitaire dans l'île et en particulier dans les régions du haut-plateau et du sud de Madagascar.

La pervenche est utilisée à l'état frais, séchée, le plus souvent sous forme de décocté. Seul un laboratoire exploite cette plante sous forme d'une tisane présentée en sachets-dose ; il s'agit de la spécialité VONENINA (racines de Pervenche de Madagascar) commercialisée par HOMEOPHARMA, laboratoire pharmaceutique malgache implanté à Antananarivo, agréé par le Ministère de la Santé et l'Ordre des Pharmaciens malgache.



Figure 37 : Boîte de 10 infusettes de VONENINA (Pervenche de Madagascar), les 4 faces du conditionnement

Selon Mamy RARISON¹⁹, Docteur en Pharmacie installé à d'Antananarivo, Capitale de Madagascar, les Malgaches achètent les infusettes de Pervenche proposées par ce laboratoire car ils connaissent les indications. Les Malgaches connaissent les propriétés des différentes plantes poussant sur l'île. Ces connaissances empiriques se transmettent de génération en génération. Le pharmacien est un relais important du système de santé. Il conseille surtout aux sujets diabétiques d'aller consulter un médecin pour un suivi médical. Cependant, Madagascar est un pays en voie de développement dont les habitants disposent d'un salaire moyen de 51,73 €/mois. Ceci explique pourquoi les sujets n'ont pas les moyens de se soigner. Ils préfèrent acheter au marché ou chez les guérisseurs des plantes médicinales dont le prix moyen

¹⁹ Pharmacien diplômé de l'Université Louis Pasteur de Strasbourg, ancien Président de l'Ordre des Pharmaciens de Madagascar, Fondateur de la Fédération des Pharmaciens de l'océan indien à visée de formation post universitaire régionale, ancien membre de bureau de la Fédération des ordres des Pharmaciens francophones qui siège à Paris, ancien membre de la Fédération internationale pharmaceutique anglophone qui siège à LA HAYE, rédacteur du premier code de déontologie des pharmaciens malgaches, initiateur de la mise en place des inspecteurs pharmaceutiques à Madagascar et également de la création de la Faculté de Pharmacie à l'Université de Madagascar.

est d'environ 20 centimes les 100 grammes. A Madagascar, la Pervenche tropicale est utilisée empiriquement pour le traitement du diabète. La posologie conseillée est d'utiliser 33 à 36 feuilles de Pervenche de Madagascar (de préférence de couleur blanche) et de le faire bouillir dans 1 L d'eau, à consommer dans la journée.

Quant au Docteur Ndimbiarivola RATSIMANDRESIARISOA²⁰, Médecin généraliste de ville à Antananarivo, il insiste sur le fait que les thérapeutes traditionnels n'ont pas de diplôme et leur légitimité est acquise par la tradition. Ils exercent surtout la « médecine des ancêtres » dans les campagnes isolées où il n'y a aucune structure médicale.

Jean-Charles RANDRIANASOLO²¹, Pharmacien à Antananarivo, a également référencé les boîtes de 10 infusettes de 2 g de VONENINA. Ce produit est traditionnellement utilisé dans le diabète, dans l'hypertension artérielle, dans la diarrhée, dans certaines formes de tumeurs et de cancers, dans les troubles de la mémoire, contre les vertiges et la fatigue. Il est vendu pour toutes ces indications en raison de la présence de plusieurs alcaloïdes qui ont ces effets thérapeutiques. La pharmacie d'Analakely vend le VONENINA dans sa pharmacie pour répondre à une demande de la clientèle car cette préparation n'est pas trop onéreuse (équivalent de 2 euros en France). Il conseille donc de ne prendre qu'une seule infusette par jour au maximum, et de l'utiliser de manière occasionnelle pour essayer d'atténuer l'effet du diabète. De plus, selon Mamy RARISON, Docteur en Pharmacie à Antananarivo, le conditionnement en boîte est mieux présenté contrairement à la présentation en vrac vendue sur les marchés. Il m'a confirmé que des patients diabétiques lui demandaient ce produit pour traiter leur diabète. Cela confirme bien l'utilisation de cette plante pour ses propriétés antidiabétiques.

Cependant les pharmaciens insistent sur la toxicité de cette plante même s'ils pensent que la concentration en alcaloïdes est faible dans la tisane. C'est pour cela que le Dr Vony ADRIAMASY²², médecin de formation à Antananarivo, reste prudent quant à l'utilisation de cette plante, car il est difficile de prescrire les plantes médicinales sans connaître leurs effets secondaires. En effet, la Pervenche de Madagascar peut entraîner des effets secondaires graves, comme l'insuffisance rénale. Il met en garde les personnes qui ne sont même pas au courant de leur pathologie ou qui se traitent avec des plantes médicinales sans savoir qu'ils sont diabétiques. Il y a aussi le cas de certains patients traités par des médicaments antidiabétiques avec des taux de glycémie stables, qui continuent à prendre les infusions de Pervenche, et qui encourent les risques

20 Médecin généraliste traitant privé, exerçant également à la Clinique des sœurs à Ankadifotsy – Antananarivo

21 Pharmacien titulaire de la Pharmacie VOLAHANTA à Anosibe – Antananarivo, Membre titulaire du Conseil de l'Ordre National des Pharmaciens de Madagascar

22 Médecin généraliste, Ministère de l'Education Nationale, Antananarivo

de faire une hypoglycémie. Ce dernier préfère donc, dans l'état des connaissances actuelles, suivre ses patients diabétiques exclusivement avec des traitements médicamenteux.

Ces avis de quelques praticiens malgaches montrent bien que, même si l'intérêt principal de la Pervenche de Madagascar reste dans le traitement de certains cancers, son effet antidiabétique reste également une des propriétés bien connue à Madagascar. Cette tisane restera toujours le remède de premier choix pour les patients diabétiques qui n'ont pas beaucoup de moyens financiers. La délivrance de cette plante doit être associée aux conseils hygiéno-diététiques habituels (régime équilibré, pauvre en sucres, sport etc...).

Ces interviews confirment bien l'intérêt des plantes médicinales dont la Pervenche de Madagascar dans le traitement du diabète dans les pays en voie de développement.

V- Conclusion

Le diabète est une maladie qui existe depuis fort longtemps, et constitue jusqu'à nos jours une des plus importantes épidémies à l'échelle mondiale.

Bien que la prévention et le traitement du diabète de type 2 reposent essentiellement sur les mesures hygiéno-diététiques, la prise de médicaments reste le moyen thérapeutique le plus approprié pour obtenir un bon équilibre glycémique. Des progrès considérables ont été réalisés depuis sa découverte dans l'Antiquité et ont permis à chaque patient de mieux gérer sa maladie.

Les antidiabétiques oraux permettent de faire baisser la glycémie à condition de respecter l'observance du traitement. Cependant, nombreux sont les effets secondaires qui ont été rapportés : des troubles digestifs, des atteintes rénales ou hépatiques avec une élévation isolée et asymptomatique des transaminases. L'insuline est le traitement de choix lorsque les autres traitements ne permettent pas d'atteindre l'objectif glycémique, mais présente quant à lui, le risque de baisser dangereusement la glycémie, au risque de provoquer de l'hypoglycémie.

A travers ce mémoire, nous pouvons dire que la Pervenche de Madagascar est une plante qui est très étudiée à ce jour grâce notamment à ses nombreux alcaloïdes. De nos jours, la demande en médicaments à base de plantes augmente dans le monde entier. La Pervenche de Madagascar est une plante remarquable en raison de son large spectre d'applications. En effet, différentes études pharmacologiques ont prouvé que *Catharanthus roseus* pouvait être utilisée pour traiter de nombreuses maladies. Elle est largement retrouvée et cultivée dans de nombreuses régions tropicales et subtropicales. D'autre part, nous pouvons dire que la Pervenche de Madagascar possède des activités antidiabétiques et que dans le futur, la vindoline et la vindogentianine pourraient être commercialisées. Nous venons de voir, à travers différentes études, que les extraits de feuilles de la Pervenche pouvaient augmenter l'utilisation du glucose dans les cellules et diminuer la glycémie. Pour la vindogentianine, les études ont montré que cette dernière pouvait avoir une action hypoglycémiant en agissant sur l'absorption du glucose dans les cellules et en agissant sur l'inhibition de la PTP-1B. En ce qui concerne la vindoline, les études ont suggéré que cette dernière peut avoir une action antidiabétique en agissant sur le dysfonctionnement des cellules bêta. Ces différents mécanismes d'actions que nous venons de voir sont similaires aux médicaments déjà commercialisés dans le traitement du diabète : Metformine, Gliclazide. En termes d'effet secondaires, la vindoline a montré très peu d'effet hypoglycémiant lorsque cette dernière agissait sur les cellules bêta du pancréas. Mais cet effet hypoglycémiant devra être évalué chez l'Homme. De plus, la vindoline a montré très peu de toxicité envers les cellules contrairement aux autres Vinca-alcaloïdes déjà commercialisés. Bien que la balance bénéfice-risque ne soit pas encore évaluée, cela pourrait être deux arguments de poids si la Vindoline venait à être commercialisée en tant que médicament contre le diabète.

En attendant le développement futur de ces 2 molécules sous une forme galénique conventionnelle, toutes ces études scientifiques ne font déjà que rassurer les populations qui n'ont pas accès aux médicaments classiques, sur l'utilisation « empirique » de cette plante, dont les feuilles sont employées traditionnellement comme antidiabétique.

ANNEXE

UTILISATION DU VONENINA (*Catharanthus roseus*)

EN MEDECINE TRADITIONNELLE A MADAGASCAR

1/ Est ce que cette plante est très utilisée par vos patients à Madagascar ?

2/ Dans quelles principales indications est-elle utilisée à Madagascar ?

3/ Quels sont les lieux de vente (pharmacie, marché, supermarché,...) ou comment les patients peuvent-ils s'en procurer?

4/ Est ce que vous conseillez cette plante à vos patients dans le traitement du Diabète ?

5/ Quelles sont les conseils que vous donnez à vos patients sur cette plante ?

6/ A Madagascar, est ce que tous les diabétiques accèdent aux traitement médicamenteux ou est-ce que certains diabétiques utilisent des plantes médicinales pour se soigner faute de moyen financier ou par conviction?

Questionnaire destiné aux Médecins ou Pharmaciens exerçant à Madagascar ou d'origine de ce pays, dans le but de compléter les données pour la thèse de Doctorat en Pharmacie de Jimmy RAJAONARIVONY, étudiant en pharmacie à la Faculté d'Amiens, et qui s'intitule : « Intérêt de deux alcaloïdes issus de la Pervenche de Madagascar dans le diabète : Vindogentianine et Vindoline »

Bibliographie

1. Yao X., Chen F., Li P., Quan L., Chen J., Yu L., et al. Natural product Vindoline stimulates insulin secretion and efficiently ameliorates glucose homeostasis in diabetic murine models. *J Ethnopharmacol.* oct 2013;150(1):285-297.
2. OMS | Diabète [Internet]. [cité 28 oct 2017]. Disponible sur: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/fr/>
3. International Diabetes Federation - Epidemiology & research [Internet]. [cité 25 déc 2017]. Disponible sur: <https://www.idf.org/our-activities/epidemiology-research.html>
4. Tiong SH., Looi CY., Arya A., Wong WF., Hazni H., Mustafa MR., et al. Vindogentianine, a hypoglycemic alkaloid from *Catharanthus roseus* (L.) G. Don (Apocynaceae). *Fitoterapia.* avr 2015;102:182-188.
5. Watkins Peter J. What is diabetes? *Br Med J.* 1982;284:1690-1692.
6. Kohei K. Pathophysiology of type 2 diabetes and its treatment policy. *JMAJ.* 2010;53(1):41-46.
7. type-1-diabetes-19063415.jpg (JPEG Image, 1130 × 1300 pixels) [Internet]. [cité 12 nov 2017]. Disponible sur: <https://thumbs.dreamstime.com/z/type-1-diabetes-19063415.jpg>
8. Somogyi A., Mathé C., Anciaux M-L. *Endocrinologie, diabétologie* A.Somogyi, C.Mathé, M-L Anciaux, Masson; 2006,2-3.
9. Le Grand N. *Démarche de l'ethnopharmacologie appliquée : plantes antidiabétiques de Madagascar.* UNIVERSITÉ RENNES; 2008,23-25
10. Buysschaert M., Slama G. *Diabétologie clinique* M.Buysschaert ; préface de G.Slama. 4e édition, De Boeck; 2011,2-3.
11. Kim JM., Kim D-J. The Optimal Cutoff Value of Glycated Hemoglobin for Detection of Diabetic Retinopathy. *Diabetes Metab J.* févr 2015;39(1):16-26.

12. Beudaert C (1983-), Cavé G. Prise en charge du diabète de type 1 et évolution des techniques de traitement par C.Beudaert ; [sous la direction de] Monsieur G.Cave, ... [s.n.]; 2008,11-15.
13. Grimaldi A (1944-). Diabète de type 2 coord. par André Grimaldi ; préf. d'A.Grimaldi. Elsevier ; 2004,170-199.
14. Grimaldi A (1944-). Traité de diabétologie coordonné par A.Grimaldi. 2e édition, Flammarion médecine-sciences; 2009,401-404.
15. Baz B., Riveline J-P., Gautier J-F. ENDOCRINOLOGY OF PREGNANCY: Gestational diabetes mellitus: definition, aetiological and clinical aspects. Eur J Endocrinol. 2 janv 2016;174(2):43-51.
16. Type 2 diabetes stock vector. Image of hormone, energy - 19063417 [Internet]. [cité 12 nov 2017]. Disponible sur: <https://www.dreamstime.com/royalty-free-stock-photography-type-2-diabetes-image19063417>
17. Perlemuter L (1936-), Sélam J-L, Collin de L'Hortet G. Diabète et maladies métaboliques, L. Perlemuter, J-L.Sélam, G.Collin de l'Hortet, 4e éd, Masson ; 2003,247-248.
18. Petit J-M (1956-), Altman J-J., Belon J-P (1946-). Endocrinologie, diabétologie, J-M.Petit, J-J.Altman, J-P.Belon. Masson; 2005,95.
19. VIDAL : Base de données médicamenteuse pour les prescripteurs libéraux [Internet]. VIDAL. [cité 10 déc 2017]. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/>
20. .Tahrani AA., Barnett AH., Bailey CJ. Pharmacology and therapeutic implications of current drugs for type 2 diabetes mellitus. Nat Rev Endocrinol. oct 2016;12(10):566-592.
21. Alberti K. Treating type 2 diabetes—today's targets, tomorrow's goals. Diabetes Obes Metab. 2001;3(s1):3–10.
22. Kourlas H., Papadopoulas J. Clinical Pharmacy Corner: How Do Sulfonylureas Work? | Clinical Correlations [Internet]. [cité 12 nov 2017]. Disponible sur: <http://www.clinicalcorrelations.org/?p=500>

23. Ellis PM, Dronsfield AT. Antabuse's diamond anniversary: Still sparkling on?: Antabuse's diamond anniversary. *Drug Alcohol Rev.* juill 2013;32(4):342-344.
24. Napolitano A., Miller S., Nicholls AW., Baker D., Van Horn S., Thomas E., et al. Novel Gut-Based Pharmacology of Metformin in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus. *PLoS ONE.* Juill 2014;9(7):1-14.
25. Jaoued E., Zidi H., Chekir M. Les médicaments du diabète [Internet]. [cité 12 nov 2017]. Disponible sur: <https://www.slideshare.net/palmariumnovembre/les-mdicaments-du-diabte>
26. inhibiteurs dpp4 - Recherche Google [Internet]. [cité 12 nov 2017]. Disponible sur: https://www.google.fr/search?q=inhibiteurs+dpp4&source=lnms&tbn=isch&sa=X&ved=0ahUKEwjR3uGek7rXAhVO_KQKHTD3D_AQ_AUICygC&biw=1093&bih=530#imgdii=fn3eooE-c7hTWM:&imgsrc=sGLpaf1nepOeM:
27. Tundis R., Loizzo MR., Menichini F. Natural products as alpha-amylase and alpha-glucosidase inhibitors and their hypoglycaemic potential in the treatment of diabetes: an update. *Mini Rev Med Chem.* avr 2010;10(4):315-331.
28. Prevost E. Place de l'INSULINOTHERAPIE FONCTIONNELLE dans la prise en charge du diabète de type 1. *UNIVRESITE LILLE 2*; 2015,78-81.
29. Werner , Wolfgang. Inuline et Insuline [Internet]. [cité 27 nov 2017]. Disponible sur: <http://sciences-physiques.ac-montpellier.fr/ABCDORGA/Famille4/INULINEF.htm>
30. Bioproduction - home [Internet]. [cité 27 nov 2017]. Disponible sur: <https://bioproduction.wikispaces.com/>
31. European Medicines Agency - Find medicine - Invokana [Internet]. [cité 20 juin 2018]. Disponible sur: http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/human/medicines/002649/human_med_001707.jsp&mid=WC0b01ac058001d124
32. HANNEWALD P. Substances naturelles se fixant sur la tubuline – mise en œuvre d'un criblage par spectrométrie de masse. *UNIVERSITÉ NANCY 1*; 2009,13-21.

33. Leroux S. Synthèse d'alkaloïdes de Vinca et nouvelle approche de la synthèse de la (D)-méquitazine. Université Paris Sud-Paris XI; 2011,14-41.
- 34 .Nejat N., Valdiani A., Cahill D., Tan Y-H., Maziah M., Abiri R. Ornamental Exterior versus Therapeutic Interior of Madagascar Periwinkle (*Catharanthus roseus*): The Two Faces of a Versatile Herb. Sci World J. 2015;2015:1-19.
35. Van Der Heijden R., Jacobs DI., Snoeijer W., Hallard D., Verpoorte R. The *Catharanthus* alkaloids: pharmacognosy and biotechnology. Curr Med Chem. mars 2004;11(5):607-628.
36. Boiteau P., Allorge-Boiteau L. Plantes médicinales de Madagascar:cinquante-huit plantes médicinales utilisées sur le marché de Tananarive (Zoma) à Madagascar /Pierre Boiteau et Lucile Allorge-Boiteau;préface de Jean-Martin Razafinsalama. ACCT Karthala ICSN; 1993,28-29.
37. Aslam J., Khan SH., Siddiqui ZH., Fatima Z., Maqsood M., Bhat MA., et al. *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. An important drug: it's applications and production. Pharm Glob IJCP. 2010;4(12):1–16.
38. Aziz S., Saha K., Sultana N., Nur HP., Ahsan MA., Ahmed S., et al. Comparative studies of elemental composition in leaves and flowers of *Catharanthus roseus* growing in Bangladesh. Asian Pac J Trop Biomed. janv 2016;6(1):50-54.
39. Pousset J-L. Plantes médicinales africaines. Utilisation pratique - [Internet]. Société Française d'Ethnopharmacologie. 1989 [cité 3 déc 2017]. Disponible sur: <http://www.ethnopharmacologia.org/bibliotheque-ethnopharmacologie/plantes-medicinales-africaines-utilisation-pratique/>
40. Pan Q., Saiman MZ., Mustafa NR., Verpoorte R., Tang K. A simple and rapid HPLC-DAD method for simultaneously monitoring the accumulation of alkaloids and precursors in different parts and different developmental stages of *Catharanthus roseus* plants. J Chromatogr B. 1 mars 2016;1014:10-16.
41. Miyazaki T. , Yokoshima S. , Simizu S. , Osada H. , Tokuyama H. , Fukuyama T. Total Synthesis of Vinblastine by Fukuyama [Internet]. 2007 [cité 13 nov 2017]. Disponible sur: <http://www.organic-chemistry.org/totalsynthesis/totsyn03/vinblastine-fukuyama.shtm>

42. CST - Vincristine [Internet]. [cité 13 nov 2017]. Disponible sur: <https://www.cellsignal.com/products/activators-inhibitors/vincristine/13043>
43. Vinorelbine ditartrate salt hydrate \geq 98% (HPLC), powder | Sigma-Aldrich [Internet]. [cité 13 nov 2017]. Disponible sur: <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/v2264?lang=en®ion=US>
44. Vindesine | CAS:53643-48-4 | Product Use Citation | ChemFaces [Internet]. [cité 13 nov 2017]. Disponible sur: <http://www.chemfaces.com/natural/Vindesine-CFN90465.html>
45. Rizvi NF., Weaver JD., Cram EJ., Lee-Parsons CWT. Silencing the Transcriptional Repressor, ZCT1, Illustrates the Tight Regulation of Terpenoid Indole Alkaloid Biosynthesis in *Catharanthus roseus* Hairy Roots. Dhaubhadel S, éditeur. PLOS ONE. 28 juill 2016;11(7):1-17.
46. Besseau S., Kellner F., Lanoue A., Thamm AMK., Salim V., Schneider B., et al. A Pair of Tabersonine 16-Hydroxylases Initiates the Synthesis of Vindoline in an Organ-Dependent Manner in *Catharanthus roseus*. PLANT Physiol. 1 déc 2013;163(4):1792-1803.
47. Moudi M., Go R., Yien C., Nazre M. Vinca Alkaloids. Int J Prev Med. nov 2013;4(11):1231-1235.
48. Microtubules [Internet]. [cité 27 nov 2017]. Disponible sur: <https://pharmacomedicale.org/medicaments/par-specialites/item/microtubules>
49. Accueil - Base de données publique des médicaments [Internet]. [cité 17 déc 2017]. Disponible sur: <http://base-donnees-publique.medicaments.gouv.fr/>
50. Bates D., Eastman A. Microtubule destabilising agents: far more than just antimetabolic anticancer drugs. Br J Clin Pharmacol. 1 févr 2017;83(2):255-268.
51. *Catharanthus_roseus* [Internet]. [cité 3 déc 2017]. Disponible sur: http://www.imra-ratsimamanga.org/catharanthus_roseus.htm
52. Sertel S., Fu Y., Zu Y., Rebacz B., Konkimalla B., Plinkert PK., et al. Molecular docking and pharmacogenomics of Vinca alkaloids and their monomeric precursors, Vindoline and catharanthine. Biochem Pharmacol. 15 mars 2011;81(6):723-735.

53. Noble RL. The discovery of the vinca alkaloids--chemotherapeutic agents against cancer. *Biochem Cell Biol Biochim Biol Cell*. déc 1990;68(12):1344-1351.
54. Noble R. L., Beer C. T., Cutts J. H. Role of chance observations in chemotherapy: vinca rosea*. *Ann N Y Acad Sci*. 22 déc 2006;76(3):882-894.
55. Wu X., Tang S., Jin Y., Wang S., Wang X., Hattori M., et al. Determination of the metabolic profile of gentianine after oral administration to rats by high performance liquid chromatography/electrospray ionization-trap mass spectrometry. *J Chromatogr B*. 1 mai 2015;989:98-103.
56. Mirzaee F., Hosseini A., Jouybari HB., Davoodi A., Azadbakht M. Medicinal, biological and phytochemical properties of *Gentiana* species. *J Tradit Complement Med*. oct 2017;7(4):400-408.
57. Cao X., Guo X., Yang X., Wang H., Hua W., He Y., et al. Transcriptional Responses and Gentiopicroside Biosynthesis in Methyl Jasmonate-Treated *Gentiana macrophylla* Seedlings. *PLoS ONE*. 16 nov 2016;11(11):1-20.
58. Zou C., Wang Y., Shen Z. 2-NBDG as a fluorescent indicator for direct glucose uptake measurement. *J Biochem Biophys Methods*. 30 sept 2005;64(3):207-215.
59. Tolambiya P. Identification of cost effective drug through in-silico approach of *Catharanthus roseus* plant ligand-receptor docking for type 2 diabetes NIDDM. *World J Pharm Pharm Sci*. 1 avr 2017;1029-1049.
60. Wei D., Li J., Shen M., Jia W., Chen N., Chen T., et al. Cellular production of n-3 PUFAs and reduction of n-6-to-n-3 ratios in the pancreatic beta-cells and islets enhance insulin secretion and confer protection against cytokine-induced cell death. *Diabetes*. févr 2010;59(2):471-478.
61. Rasineni K., Bellamkonda R., Singareddy SR., Desireddy S. Antihyperglycemic activity of *Catharanthus roseus* leaf powder in streptozotocin-induced diabetic rats. *Pharmacogn Res*. 5 janv 2010;2(3):195.
62. Svoboda GH., Gorman M., Root MA. Alkaloids of *Vinca rosea* (*Catharanthus roseus*). XXVIII. A preliminary report on hypoglycemic activity. *Lloydia*. 1 janv 1964;27:361-363.
63. Boyd AE. The role of ion channels in insulin secretion. *J Cell Biochem*. mars 1992;48(3):235-241.

64. Ihara Y., Yamada Y., Fujii Y., Gono T., Yano H., Yasuda K., et al. Molecular diversity and functional characterization of voltage-dependent calcium channels (CACN4) expressed in pancreatic beta-cells. *Mol Endocrinol Baltim Md.* Janv 1995;9(1):121-130.
65. Ashcroft FM., Gribble FM. ATP-sensitive K⁺ channels and insulin secretion: their role in health and disease. *Diabetologia.* août 1999;42(8):903-919.
66. MacDonald PE., Sewing S., Wang J., Joseph JW., Smukler SR., Sakellaropoulos G., et al. Inhibition of Kv2.1 voltage-dependent K⁺ channels in pancreatic beta-cells enhances glucose-dependent insulin secretion. *J Biol Chem.* 22 nov 2002;277(47):44938-44945.
67. Cui Y., Huang L., Elefteriou F., Yang G., Shelton JM., Giles JE., et al. Essential role of STAT3 in body weight and glucose homeostasis. *Mol Cell Biol.* janv 2004;24(1):258-269.
68. Xiao C., Tian Y., Lei M., Chen F., Gan X., Yao X., et al. Synthesis and glucose-stimulate insulin secretion (GSIS) evaluation of Vindoline derivatives. *Bioorg Med Chem Lett.* 1 mars 2017;27(5):1316-1318.

Jimmy Rajaonarivony

Intérêt de deux alcaloïdes issus de la Pervenche de Madagascar dans le diabète : vindogentianine et vindoline

Thèse pour le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie

Université de Picardie Jules Verne

2018

Mots clés : vindogentianine, vindoline, Alcaloïdes, Diabète, *Catharanthus roseus*

Key words : vindogentianine, vindoline, Alkaloids, Diabetes, *Catharanthus roseus*

Résumé

Aujourd'hui, le diabète est un sujet de préoccupation mondiale. En effet, chaque année, le nombre de sujets diabétiques augmente et tous ne peuvent pas avoir accès aux différents traitements existants. C'est pour cela qu'un très grand nombre de sujets préfère se soigner avec des plantes. La Pervenche de Madagascar est une plante qui est retrouvée dans de nombreuses régions tropicales et subtropicales. Elle possède de nombreuses propriétés médicinales grâce à ses nombreux alcaloïdes. C'est en voulant faire des recherches sur l'activité antidiabétique de cette plante que les chercheurs remarquèrent que la Pervenche de Madagascar présentait également des propriétés antitumorales. Des études récentes ont montré que la vindogentianine et la vindoline possédaient des propriétés hypoglycémiantes en agissant essentiellement sur la stimulation de la sécrétion d'insuline.

Summary

Today, diabetes is a topic of global concern. Indeed, each year, the number of diabetic subjects increases and all cannot have access to the different existing treatments. This is why a very large number of people prefer to take care of plants. Madagascar periwinkle is a plant found in many tropical and subtropical regions. They have many medicinal properties thanks to these many alkaloids. By researching the antidiabetic activity of this plant, the researchers noticed that the Madagascar periwinkle had also antitumor properties. Recent studies shown that vindogentianin and vindolin had hypoglycemic properties by acting mainly on the stimulation of insulin secretion.

JURY

Président : Monsieur le Docteur Jean-Pierre ARNOULD, Maître de Conférences des Universités-HDR,
Biologiste des hôpitaux

Directeur de thèse : Monsieur le Docteur Roland MOLINIE, Maître de Conférences des Universités

Membres : Madame Sylvie CHAPLAIN, Docteur en Pharmacie
Madame Sophie BODDAERT, Docteur en Pharmacie