

Activité hypoglycémique de l'extrait aqueux d'*Ajuga iva* L. schreber chez les rats diabétiques induite par l'alloxane

Dalila CHABANE^{1*}, Fairouz SAIDI¹, Abdelhak ROUIBI¹ et Kenza AZINE²

¹ Département de biologie, Université Saâd DAHLAB- BLIDA, Algérie

² Centre de développement et de la Recherche-SAIDAL, Algérie

* Correspondance, courriel : chabilila4@gmail.com

Résumé

Ajuga iva (L) schreber est utilisé en médecine traditionnelle dans le traitement du diabète. Le but de cette étude était d'évaluer l'activité hypoglycémique de l'extrait aqueux de la partie aérienne de cette plante sur un modèle animal. L'extrait a été préparé dans de l'eau bouillante et le filtrat aqueux a été lyophilisé et conservé. *A iva* est une plante capable d'induire une hypoglycémie chez les rats diabétiques. Alloxane a été administré en dose unique (150 mg poids corporel / kg) par injection intra-péritonéal. Des rats femelles Wistar (n = 30) pesant 200 ± 2 g divisés en 5 groupes, ont reçu des doses différentes (0,05 g/mL, 0,10 g/mL, 0,15 g/mL) par voie orale. Cette opération est répétée tous les jours pendant 3 semaines. La glycémie a été déterminée par la méthode enzymatique colorimétrique par spectrophotométrie. Seul l'extrait aqueux à forte dose a diminué le taux du glucose sanguins de $62,96 \pm 7,30\%$ comparativement au groupe control. Dans la présente étude, le potentiel hypoglycémiant de *A iva* est démontré chez le rat. Ces résultats confirment l'utilisation de cette plante comme antidiabétique.

Mots-clés : *Ajuga iva*, extrait aqueux, alloxane, activité hypoglycémique, diabète.

Abstract

Hypoglycemic Activity of the aqueous extract of *Ajuga iva* L. in diabetic rats induced by alloxan

Ajuga iva (L) schreber is used in traditional medicine in the treatment of diabetes, The purpose of this study was to evaluate hypoglycemic effect of the aqueous extract of aerial parts of this plant on animal model. The extract was prepared in boiling water and the aqueous filtrate was lyophilized and conserved. *A iva* is a plant capable of inducing hypoglycemia in diabetic rats. Alloxan was administered as a single dose (150 mg body weight / kg) injection intaperitoneal injection. Female Wistar rats (n = 30) weighing 200 ± 2 g divided into 5 groups received different doses (0.05 GML-1, 0.10 GML-1, 0.15 g / mL) by oral route. This is repeated every day for three weeks. Blood glucose was determined by the enzymatic and colorimetric method by spectrophotometry. Only the aqueous extract high dose rate decreased blood glucose of $62,96 \pm 7,30\%$ compared with the control group. In the present study, the hypoglycemic potential of the *A iva* was demonstrated in rats. These results give support to the traditional use of this plant as antidiabetic herbal medicine.

Keywords : *Ajuga iva* L, aqueous extract, alloxan, diabetes, hypoglycemic activity.

1. Introduction

Les plantes médicinales sont utilisées comme traitement traditionnel pour de nombreuses maladies humaines depuis de nombreuses années dans de nombreuses régions dans le monde [1]. Le diabète sucré est provoqué par une déficience dans la production d'insuline du pancréas, ou par l'inefficacité de l'insuline produite. Il s'agit d'un problème mondial et le nombre de personnes touchées augmente de jour en jour. Les plantes constituent une source potentielle de médicaments hypoglycémisants composés dérivés de plantes ont été utilisées dans le traitement du diabète. Le diabète touche environ 5% de la population mondiale [2] et la gestion du diabète sans aucun effet secondaire est toujours un défi pour le système de santé [3]. Beaucoup de plantes algériennes ont été étudiées pour leur utilisation bénéfique dans différents types de diabète et les résultats sont rapportés dans de nombreuses revues scientifiques. Le diabète sucré est divisé en deux groupes principaux, à savoir, diabète de type I qui résulte de l'incapacité du corps à produire de l'insuline et exige que la personne se injecte de l'insuline, et de type II et la résistance à l'insuline et un dysfonctionnement des cellules bêta. Bien que cette maladie peut être contrôlée par la nutrition et de l'exercice physique [4], la plupart des patients ont besoin d'hypoglycémisants oraux pour contrôler leur glycémie.

Dans la pratique médicale traditionnelle, le diabète sucré est diagnostiqué par des symptômes tels que la chaleur interne du corps qui se traduit par l'émission d'un volume élevé d'urine, la faiblesse du corps, perte de poids [5], et ce qui peut être qualifié de "fourmis colline test" laquelle le patient est invité à uriner à côté d'une fourmilière ou d'un trou et d'observer l'activité des fourmis sur la tache d'urine après quelques minutes. Si les fourmis sont considérées pour assiéger à l'endroit où l'urine a été émise, il est révélateur du diabète qui résulte de la concentration élevée de glucose dans l'urine. L'utilisation à long terme des médicaments hypoglycémisants, tels que les sulfonurées, la metformine et d'autres qui sont le séjour principal pour la gestion du diabète ont été observées pour avoir un large éventail d'effets secondaires [6,7], y compris une diminution progressive de leur efficacité appelé «échec secondaire». Cette condition se produit à la suite de la perte accrue de la fonction des cellules bêta et la sensibilité à l'insuline due à la progression de la maladie. D'autres problèmes observés sont le coût élevé et l'utilisation à long terme des médicaments par les patients, conduisant à la non-conformité et l'aggravation des conditions telle que la génération d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) ou les radicaux libres et par conséquent l'induction de réactions en chaîne, comme la peroxydation lipidique [8], sont parmi les complications les plus fréquentes chez les patients diabétiques.

Ces radicaux libres sont connus pour être extrêmement réactifs et donc interagir avec certaines macromolécules essentielles, y compris les lipides, les acides nucléiques et les protéines [9]. Le diabète sucré induit des changements dans le contenu des tissus et l'activité des enzymes antioxydantes [10,11]. *Aiva* est une plante qui a été utilisée pendant de nombreuses années, la partie aérienne de la plante est souvent ajoutée aux préparations de thé afin de réduire le glucose dans le sang et dans ces dernières années, cette plante a été signalée comme possédant un pouvoir antioxydant puissant [12,13], comme antimicrobienne [14], antimitotiques [15], dépurative [16], diurétique [17], anti-inflammatoire et antiparasitaire [18], hypocholestérolémiant [19], antidiabétique [20], vasorelaxante [21], et cicatrisante [22-25]. Dans ce contexte, nous avons estimé l'activité hypoglycémisante de l'extrait aqueux de ce fait, nous avons provoqué le diabète sucré (hyperglycémie) à des rats par l'administration de 1 mL / rat, par la voie sous cutanée, une solution de monohydrate alloxane à raison de (150mg / kg).

2. Matériel et méthodes

2-1. Matériel végétal

Partie aérienne de la plante a été recueillie à Médéa (Blida) en Juin 2010. La plante a été authentifiée par le Dr Hassen (Institut National Agronomique). Les feuilles et les branches ont été séchées à l'air à libre à température ambiante, puis broyé en utilisant un broyeur à couteau pour obtenir une poudre fine.

2-2. Matériel animal

Les rats Wistar utilisés sont des femelles en bonne santé entre 2 et 3 mois, pesant 200 ± 2 g. Les animaux ont été logés dans des cages en polypropylène standards (6 par cage) et maintenus dans des conditions standard de laboratoire (12 h cycle lumière-obscurité, température de 20 ± 2 °C. Ils ont été nourris avec un régime alimentaire standard de rat granulés (office national de l'alimentation du bétail) et avait accès à l'eau ad libitum. Les animaux du laboratoire (Centre de recherches pour le développement) ont été suivis pendant toute la durée de l'expérience.

Mode opératoire

Dans cette partie expérimentale, nous avons suivi le protocole du Laboratoire de Pharmacologie du CRD de SAIDAL selon le document de référence de NOVES PANDA., (2001). Alloxane utilisé pour l'induction du diabète chez les rats Wistar a été obtenus auprès de Sigma Co. et le diabenil auprès des Laboratoires (Centre de recherches pour le développement). Alloxane est dissous dans une solution saline pour une administration intrapéritonéale et diabenil a été dissous dans de l'eau distillé. L'extrait de plante a été dissous dans de l'eau distillée et administrée par voie orale. Une solution saline de diabenil à 200mg/kg a été administrée par voie orale comme contrôle positifs et une solution saline comme témoins négatifs respectivement. : Le sang est prélevé de l'animal légèrement anesthésié par voie respiratoire (en utilisant de l'éther), par ponction au niveau du sinus recto-orbital à l'aide d'un tube capillaire, le taux de glucose dans le sang a été déterminée par la méthode du glucose oxydase. Les rapports de changement de la glycémie ont été calculés pour chaque animal selon l'équation 1.

$$C = \frac{DO_{\text{essai}}}{DO_{\text{étalon}}} * N \quad (1)$$

C : Taux de glucose (g/L)

DO_{essai} : Densité optique de l'échantillon

D_{étalons} : Densité optique standard

2-3. L'analyse statistique

Nous avons comparé, par un test de Student, les variations de la glycémie entre les différents échantillons (témoin eau, témoin Diabenil), essais E₁ à E₃) pour chaque période (de la 1^{ère} à la 3^{ème} semaine). Un test de Levène d'homogénéité des variances accompagne systématiquement le test de Student pour la lecture des degrés de signification p adéquats (selon l'homogénéité ou l'hétérogénéité des variances).

3. Résultats et discussion

Nous avons 5 échantillons de 6 rats chacun (eau, Diabenil, E1, E2 et E3) dont on mesure la glycémie à cinq temps (T_0 puis S_0 à S_3). Nous avons à T_0 les rats sains, puis vient le temps S_0 qui est celui du diabète correspondant à la glycémie provoquée. S_1 , S_2 et S_3 correspondent respectivement à la 1^{ère}, 2^{ème} et 3^{ème} semaine après S_0 . Notre étude a consisté en 3 étapes :

- Une comparaison par des tests de Student des glycémies des divers lots par rapport au témoin à S_0 , S_1 , S_2 et S_3 .
- Une mise en évidence des pourcentages de réduction pour chaque lot dans le temps (de S_0 à S_3).

Enfin, une comparaison des effets à la fin de l'expérimentation par rapport aux rats sains. Nous constatons tout d'abord, grâce à un test ANOVA, que les glycémies initiales à T_0 sont comparables et varient entre 1,03 et 1,10 g/L ($F=0,419$; $p=0,79 >> 0,05$; **Tableau 1**. Nous voyons ensuite qu'à S_0 (même tableau), les glycémies moyennes des divers groupes sont comparables à celles du groupe témoin (eau). Les degrés de signification sont tous non significatifs : témoin-Diabenil ($p=0,071$), témoin- E_1 ($p=0,085$), témoin- E_2 ($p=0,127$) et témoin- E_3 ($p=0,335$).

Tableau 1 : Les glycémies moyennes ($\bar{x} \pm SEM$) des divers lots

	T_0	S_0	S_1		S_2		S_3	
	Glycémie (g/L)	Glycémie (g/L)	Glycémie (g/L)	% de réduction	Glycémie (g/L)	% de réduction	Glycémie (g/L)	% de réduction
Eau	1,07±0,05	2,58±0,03	2,37±0,02	8,20±2,17	2,22±0,01	14,20±1,81	1,80±0,04	30,15±3,24
Diabenil	1,10±0,04	2,78±0,09	2,54±0,10	8,52±6,75	2,22±0,07	20,28±6,12	1,45±0,02***	47,81±5,42
E₁	1,07±0,04	2,78±0,09	2,39±0,10	14,01±7,56	1,89±0,01***	32,04±4,75	1,79±0,03	35,87±5,62
E₂	1,03±0,02	2,76±0,09	2,51±0,13	8,77±8,48	1,74±0,06***	36,72±6,67	1,57±0,04**	43,19±6,12
E₃	1,04±0,05	2,70±0,10	2,28±0,11	15,52±8,65	1,44±0,10***	46,63±9,44	1,00±0,03***	62,96±7,30

$n=6$ pour chaque groupe ; les étoiles en exposant (*) dénotent une différence significative par rapport au témoin eau (* $p<0,05$; ** $p<0,01$; *** $p<0,001$)

Pour la 1^{ère} semaine, les glycémies moyennes de tous les groupes restent comparables à celles du groupe témoin ; avec des valeurs comprises entre 2,28 et 2,54 g/l Nous avons témoin-Diabenil ($p=0,134$), témoin- E_1 ($p=0,835$), témoin- E_2 ($p=0,332$) et témoin- E_3 ($p=0,454$). Pour la 2^{ème} semaine, la glycémie moyenne du groupe «Diabenil» est comparable à celle du témoin ($p=1,00$), mais nous constatons une baisse de la glycémie avec des différences hautement significatives ($p<0,001$) entre les glycémies moyennes du témoin (glycémie 2,22±0,01 g/L) et des groupes :

- E_1 ($p=0,0000$), glycémie 1, 89± 0, 01 g/L
- E_2 ($p=0,00030$), glycémie 1, 74±0, 06 g/L
- E_3 ($p=0,00059$), glycémie 1, 47±0, 10 g/L

Pour la 3^{ème} semaine, la glycémie moyenne du groupe E₁ est comparable à celle du témoin (p=0,738) ; mais là aussi, nous constatons une baisse de la glycémie avec des différences très (à hautement) significatives entre les glycémies moyennes du témoin (glycémie 1,80±0,04 g.) et des groupes :

- Diabénil (p=0,00037), glycémie 1,45±0,02 g/L
- E₂ (0,0018), glycémie 1,57±0,04 g/L
- E₃ (p=0,00000), glycémie 1,00±0,03 g/L

La **Figure 1** montre l'évolution des pourcentages de réduction pour les divers lots (eau, Diabénil, E₁, E₂ et E₃) dans le temps (de la 1^{ère} à la 3^{ème} semaine).

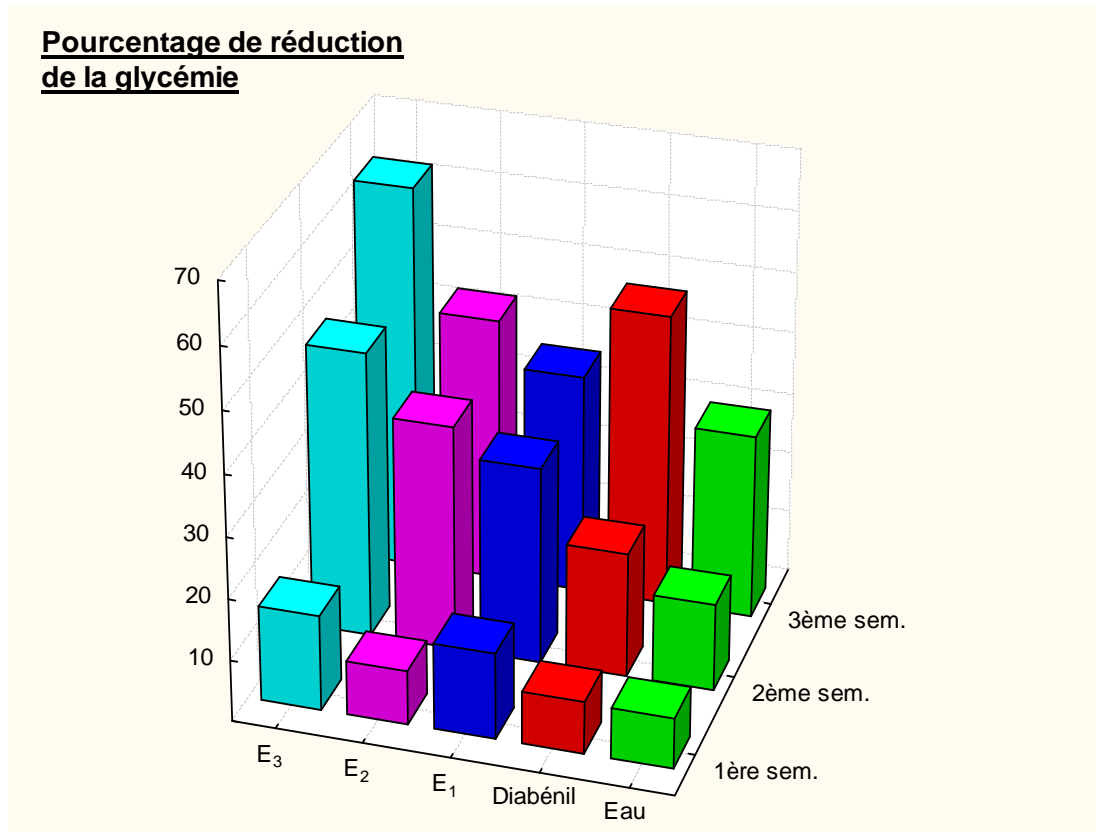


Figure 1 : Evolution du pourcentage de réduction de la glycémie des divers lots en fonction du temps

Un autre résultat d'intérêt apparaît lorsque nous comparons la glycémie à la fin de l'expérimentation (S₃) à ce qu'elle était chez les rats sains (T₀, donc avant S₀). Un test de Student montre que malgré les diminutions significatives de S₀ à S₃, dues au diabénil et aux concentrations faibles (E₁) et moyenne (E₂) de l'extrait, la glycémie finale reste significativement élevée par rapport à celle relevée à T₀. Seul l'extrait fort (E₃) fait retomber celle-ci à un niveau comparable à celui des rats sains. En effet, entre le temps initial (T₀) et final (S₃), les différences restent significatives pour :

- Le témoin (eau) (p=0,00000), glycémie 1,80 g/L contre 1,07 g/L
- Le Diabénil (p=0,00004), glycémie 1,45 g/L contre 1,10 g/L
- E₁ (p=0,00000), glycémie 1,79 g/L contre 1,07 g/L
- E₂ (p=0,00000), glycémie 1,57 g/L contre 1,03 g/L

4. Conclusion

Seul l'extrait aqueux de la plante à forte concentration (E_3) s'est avéré parfaitement efficace et a ramené la glycémie à une valeur comparable à celle du début de l'expérimentation (à T_0); nous avons une glycémie de 1,00 g/L à S_3 contre 1,04 g/L à T_0 ($p=0,5026>0,05$). L'effet hypoglycémiant de ce dernier dépasse celui du Diabenil à la 3^{ème} semaine du traitement avec un pourcentage de réduction de $62,96 \pm 7,30$ contre seulement $47,81 \pm 5,42\%$ pour le Diabenil. A l'heure actuelle, il n'est pas possible d'identifier le mécanisme exact de l'effet hypoglycémiant ; néanmoins, *Ajuga iva* L. n'a aucun effet sur la concentration de l'insuline plasmatique [27].

Des études sur l'effet hypoglycémiant d'autres espèces de la même famille ont démontré que cet effet est dû à un mécanisme extrapancréatique, à savoir sur une sensibilisation des tissus périphériques quant à l'utilisation du glucose [28-30]. L'analyse phytochimique de la plante a révélé la présence de flavonoïdes qui pourraient être responsables de l'effet hypoglycémiant d'*Ajuga iva* [31,32]. Des recherches récentes ont démontré que les hétérosides flavoniques en sont responsables [33].

Références

- [1] - E.A. Palombo. Traditional medicinal plant extracts and natural products with activity against oral bacteria: potential application in the prevention and treatment of oral diseases. Evidenced-based Complementary and Alternative Medicine. 2011: Article ID 680354 , p15. doi: 10.1093/ecam/nep 067.
- [2] - R. Chakrabarti, R.K. Vikramadithyan, R. Mullangi, V.M. Sharma, H. Jagadheshan, Rao, et al, Hypoglycemic and hypolipidemic activity of *Helicteres isora* in animal models. Journal of Ethnopharmacology, 81(2002) 343–349.
- [3] - B. Kameswara Rao, M.M. Kesavulu, C. Apparao, Evaluation of hypoglycemic effect of *Momordica cymbalaria* fruit in alloxan-diabetic rats. Fitoterapia, (2003a) 74: 7–13.
- [4] - C.S. Shaw, J. Clark, J.M. Wagenmakers, Effect of exercise and nutrition on intramuscular fat metabolism and insulin sensitivity, Annual Review of Nutrition,30 (2010) 13–34
- [5] - C.P. Salguero, A Thai Herbal: Traditional Recipes for Health and Harmony. Findhorn Press. (2003). Available from: <http://www.thaihealingalliance.com>.
- [6] - S.E. Nissen, K. Wolski, Effect of Rosiglitazone on the risk of myocardial infarction and death from cardiovascular causes. New England Journal of Medicine, 356 (2007) 2457–2471.
- [7] - S.E. Nissen, Setting the record straight. Journal of American Medical Association, 303(2010), p. 1194–1195.
- [8] - C. Cross, B. Helh well, B. Borish. Oxygen radical and human diseases . Annal Internal Medicine, 107 (1987), pp. 526–545 In: H.U. Nwanjo, Free radical scavenging potential
- [9] - D.H. Nia, E.E. Paper, O.H. Essie, K.C. Oladimoji, B. Iyadi, W.Franz, Investigation in vitro radical scavenging and in vivo anti-inflammatory potential of *Tridax procumbens*. Nigerian Journal of Physiological Science, (2003); pp. 39–43.
- [10] - R.K. Genet, N.Z. Kale Bager, Alteration on antioxidant enzymes and oxidative damage in experimental diabetic rat tissue: effect of vanadate and fenugreek (*Trigonella faenum graecum*), Molecular and Cellular Biochemistry.,236 (2002), p. 7–12.
- [11] - W. Jia, W.Gao, L.Ta. Antidiabetic herbal drugs officially approved in China. Phytother Res 2003; 17:1127-3

- [12] - A. Chenni, D.A. Yahia, , F.O. Boukourt, J. Prost, M.A. Lacaille-Dubois, M. Bouchenak Effect of aqueous extract of *Ajuga iva* supplementation on plasma lipid profile and tissue antioxidant status in rats fed a high-cholesteroldiet. *J. Ethenopharmacol.* 2007; 109: 207-213.
- [13] - D. Taleb-Senouci, H. Ghomari, D. Krouf, S. Bouderbala, J.Prost, M.A. Lacaille-Dubois, et al , Antioxidant effect of *Ajuga iva* aqueous extract in streptozotocin-induced diabetic rats, *Phytomedicine*,16 (2009) 623-631.
- [14] - H. Chen, X. TR, Z.L. Liu, Y. Zhang, L.Yan, Antibacterial neoclerodane diterpinoids from *Ajuga lipulina*. *Journal of Natural Products*, 59(1996) 668-670.
- [15] - M. Takarezaki, H. Tokuda, H. Nishino, T. Konoshima, Cancer chemo preventive agents (antitumor-promoters) from *Ajuga decumbens*. *J. Nat. Pro*, 62 (1999) 972-975.
- [16] - J. Belakhdar, R. Claisse, J. Fleurentin, C. Younos, Repertory of standard herbal drugs in the Moroccan pharmacopeia. *J. Ethnopharmacol*, 35 (1991) 123-143.
- [17] - G. Alliotto, A. Pollio, Useful plants in renal therapy according to pliny the elder. *Am. J. Nephrol*, 14 (1994) 399-411.
- [18] - Bondi ML, M.R.Y AL-Hillo, K. Lamara, M. Ladjel, M. Bruno, F. Piozzi, M.S.J Simmonds, Occurrence of the antifeedant 14,15dihydroajugapitin in the aerial parts of *Ajuga iva* from Algeria, *Biochemical systematics and Ecology*, 28 (2000) 1023-1025.
- [19] - S. Bouderbala, M. Lamri-Senhadji, J. Prost, M.A. Lacaille-Dubois, M. Bouchenak, Changes in antioxidant defense status in hypercholesterolemic rats treated with *Ajuga iva*. *Phytomedicine*, 15 (2008) 453–46.
- [20] - J. El Hilaly, B. Lyoussi, Hypoglycemic effect of the lyophilized aqueous extract of *Ajuga iva* in normal and streptozotocin diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 80 (2002) 109-113.
- [21] - J. El Hilaly, B. Lyoussi, N. Wibo, Aqueous extract *Ajuga iva* in rat aorta. *Journal of Ethnopharmacology*, 93 (2004) 69-74.
- [22] - R. Ikan, U. Ravid, The isolation and identification of cyasterone from *Ajugaiva*, *Planta Med*, 20, (1971) 33-35.
- [23] - D. Brown, *Encyclopedia of Herbs and Their Uses*. Dorling Kindersly, London. (1995), 424p.
- [24] - Smith & Nephew joins with Saudi Arabia Ministry of Health to launch 'Diabetic Foot Academy'. <http://www.ameinfo.com/260451.html>.
- [25] - W. Jia, W. Gao, L. Ta. Antidiabetic herbal drugs officially approved in China. *Phytother Res*.17 (2003) 1127-34.
- [26] - A. Novoes-Panda, Preliminary of the hypoglycemic of some Brazilian medicinal plants. *Therapy*, 56 (2001) 427-430.
- [27] - J. Jimens, S. Risco, T. Ruiz, Zareulo A, Hypoglycemic activity of *Salvia lavandula lalifolia*. *Planta Med* , 4 (1986) 260-262.
- [28] - M. Eddouks, A. Lemhadri , N.A. Zegghwagh, J.B. Michel, Potent hypoglycemic activity of the aqueous extract of *Chamaemelum nobile* in normal in normal and streptozotocin-induced diabetic rats, *Diabetes Res. Clin. Pract*, 67(2005)189-195.
- [29] - M. Maghrani, J.B. Michel. M. Eddouks, Hypoglycaemic activity of *Retama raetamin* rats. *Phytother . Res*, 19 (2005) 125-128.
- [30] - J.F. Alaoui, Y. Lagorce, M. Cherrah, H. Amarouch, M. Roquehert, Activité analgésique et anti-inflammatoire des saponines *d'argania spinosa*, in : *Annales pharmaceutiques Françaises*, (1998) 220-228.
- [31] - R. Deraedt, S. Journey, Benzouni J, Peterfalvi M, Release of prostaglandins E and F in algogenic reaction and inhibition, *Eur. J.* 1980; 61: 17-24. *Fitoterapia* , 80 (2009) 475–477.

- [32] - M. Areej, S.P. Al-Taweel , A.F. Ghada, A. Saleh Ibrahim , E.H. Kamal El Tahir, New flavane gallates isolated from the leaves of *Plicosepalus curviflorus* and their hypoglycemic activity, *Fitoterapia*, 83(2012),1610–1615.
- [33] - M.S. Deutschländer, N. Lall, M. Van de Venter, S. Dewanjee, The hypoglycemic activity of *Euclea undulata* Thunb. var. *myrtina* (Ebenaceae) root bark evaluated in a streptozotocin–nicotinamide induced type 2 diabetes rat model. *South African Journal of Botany*, 80 (2012) 9–12.