

CrossRef DOI of original article:

Potential Effects of a Herbal Remedy "DD3" on Free Radical Inhibition and Glucose Tolerance in Orally Hyperglycemic Wistar Rats

Kroa Ehoule

Received: 1 January 1970 Accepted: 1 January 1970 Published: 1 January 1970

Abstract

This study aimed to evaluate antihyperglycemic and antioxidant activities of an herbal medicinal product codified "DD3". From dry aqueous extract, the different tests were carried out. Phytochemical screening showed presence of alkaloids, polyphenols, flavonoids, saponosides, sterols and terpenes. Regarding antioxidant activities, DPPH test showed that DD3 remedy ($IC_{50} = 59.39 \pm 0.69 \mu\text{g/mL}$) had a lower antioxidant potential than vitamin C ($IC_{50} = 7.93 \pm 0.45 \mu\text{g/mL}$), and that was identical for ABTS test for which $IC_{50} = 94.34 \pm 0.73 \mu\text{g/mL}$ for the Remedy against $IC_{50} = 25.87 \pm 0.46 \mu\text{g/mL}$ for Gallic acid. About antihyperglycaemic test, unlike glibenclamide which induced hypoglycaemia after 3 hours, the remedy at 500 mg/kg bw brings blood sugar levels back to normal values after this time. The DD3 remedy could be used as a blood sugar regulator.

Index terms— activity, antioxidant, antihyperglycemic, medicine, plant.

1 Introduction

Le diabète est une maladie chronique qui apparaît lorsque le pancréas ne produit pas suffisamment de l'insuline ou que l'organisme n'utilise pas correctement l'insuline qu'il produit (OMS, 2015). Actuellement considéré comme une pandémie par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), le diabète est l'une des maladies non transmissibles les plus répandues dans le monde, avec près de 463 millions de personnes atteintes en 2019 (FID, 2019). En 2010, il était estimé que près de 438 millions de personnes dans le monde seraient atteintes de diabète en 2025. Cependant, cette prévision a déjà explosé (soit 25 millions de cas en plus). Selon les estimations de la Fédération Internationale du Diabète (FID), 578 millions d'adultes seront atteints de diabète d'ici 2030, et 700 millions d'ici 2045 (FID, 2019). Par conséquent, le diabète pourrait être la septième cause de décès dans le monde d'ici 2030, au vu des prévisions de l'OMS (AIP, 2019). Les dépenses allouées au diabète sont énormes en Afrique, et représenteraient environ 23 % du budget total de la santé (FID, 2019). Près de 9,5 milliards USD a été dépensés pour le diabète sur le continent africain en 2019. En Côte d'Ivoire, le diabète représente un problème majeur de santé publique de par sa prévalence élevée (6,2 %), soit 700 000 personnes atteintes dans la population (AIP, 2019).

Malgré d'importants progrès réalisés dans le traitement de cette maladie, des recherches sur de nouveaux médicaments contre le diabète continuent car plusieurs des médicaments de synthèse existant ont montré leurs limites. Parmi les solutions préconisées, il y a la phytothérapie antidiabétique. Cette approche offre à ce jour, une alternative intéressante du fait de la découverte de plus en plus croissante d'extraits de matériel animal. Au total douze (12) rats de l'espèce *Rattus norvegicus*, de souche Wistar (Figure ??), âgés de 6 à 8 semaines, et pesant en moyenne 110 g ont été utilisés pour les tests. Tous les animaux ont été soumis à une température de $25 \text{ }^\circ\text{C} \pm 2$ et à une alternance de 12 heures de lumière et 12 heures d'obscurité.

2 c) Screening phytochimique

Le screening phytochimique permet d'avoir une idée générale sur les différentes familles de métabolites secondaires présentes dans les plantes sans toutefois renseigner sur la structure d'une molécule bien déterminée. A partir

44 de l'extrait aqueux du lyophilisat du remède « DD3 » nous avons recherché les groupes chimiques tels que les
 45 alcaloïdes, les polyphénols totaux, les flavonoïdes, les quinones, les tanins, les saponosides et les polyterpènes grâce
 46 aux méthodes décrites par Trease & Evans (2002 vi. Recherche des quinones: Dans une capsule en porcelaine, 2
 47 mL du remède liquide ont été évaporés à sec au bain de sable, puis triturés avec 5 mL d'acide chlorhydrique dilué
 48 au 1/5. L'ensemble est porté au bain-marie brouillant pendant 30 minutes. Après refroidissement, la solution a
 49 été additionnée à 20 mL de chloroforme dans un tube à essai. La phase chloroformique est ensuite saturée avec
 50 0,5 mL d'ammoniaque dilué au demi.

51 vii. Recherche des stérols et polyterpènes: 5 mL du remède ont été évaporés à sec dans une capsule en
 52 porcelaine au bain de sable. Le résidu a été dissout à chaud dans 1 mL d'anhydride acétique. L'ensemble est
 53 renversé dans un tube à essai auquel on ajoute 0,5 mL d'acide sulfurique concentré.

54 3 d) Evaluation du Potentiel antioxydant du remède

55 -Test DPPH (2,2-diphényl-1-1-picryl-hydrazyl) L'activité de piégeage des radicaux libres a été mesurée par la
 56 méthode de DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) selon les travaux de (Hammoudi, 2015). La solution mère a
 57 été préparée par la dissolution de 24 mg de DPPH dans 100 mL de méthanol. La solution obtenue possède une
 58 absorbance d'environ $0,98 \pm 0,021$ à 517 nm en utilisant le spectrophotomètre. 1,68 mL de cette solution a été
 59 mélangée avec 1600 μ L de l'échantillon à diverses concentrations (3,125 à 100 μ g/mL). Le mélange réactionnel a
 60 été bien agité et incubé dans l'obscurité pendant 30 min à température ambiante. Ensuite, l'absorbance a été
 61 mesurée à 517 nm. Le contrôle a été préparé comme ci-dessus, sans aucun échantillon.

62 Chaque test a été répété trois fois, les résultats ont été présentés par la moyenne des trois essais Le pourcentage
 63 de piégeage du radical DPPH a été calculé selon l'équation suivante Torres (2005):?? (%) = ??? ???? ?
 64 ??? ???? ???? ???? ???? ???? ???? ???? ???? ???? ???? ???? ???? ???? ???? ???? ???? ???? ???? ?
 65

65 Les CI 50 ont été déterminées graphiquement par les régressions linéaires des graphes tracés; pourcentages
 66 d'inhibition en fonction des différentes concentrations des fractions testées. Plus la CI 50 est faible plus l'activité
 67 antioxydante est importante.

68 -Test de l'ABTS « acide 2,2'-azino-bis-(3éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) La méthode utilisée a été celle
 69 décrite par Leong et Shui (2002) Une quantité de 38,40 mg de ABTS a été préalablement dissoute dans 10 mL
 70 d'eau avant ajout de 6,75 mg de persulfate de potassium. Le mélange obtenu a été conservé à l'obscurité et
 71 à température ambiante pendant 12h avant usage. Il a été par la suite dilué avec de l'éthanol afin d'obtenir
 72 une absorbance de l'ordre de 0,7 à 734 nm. L'activité antioxydante a été mesurée en additionnant 2 mL d'une
 73 solution éthanolique du lyophilisat de l'extrait aqueux du remède à tester à 2 mL de la solution de ABTS+?. Les
 74 extraits ont été testés aux concentrations suivantes : 2,5; 10; 100 et 200 μ g/mL. L'acide gallique, utilisé comme
 75 antioxydant de référence a été testé aux mêmes concentrations. La lecture de l'absorbance a été faite au bout de
 76 2 minutes au spectrophotomètre à 734 nm en utilisant l'éthanol comme blanc. Trois mesures de l'absorbance ont
 77 été effectuées pour chaque concentration testée. L'expression des résultats s'est faite comme précédemment (test
 78 DPPH), c'est-à-dire le calcul des pourcentages d'inhibition et des concentrations inhibitrices à 50 % (CI 50).

79 4 e) Activité antihyperglycémiant de l'extrait de DD3

80 Douze (12) animaux repartis en 4 lots de 3 rats chacun ont été utilisés. Tous les animaux ont été mis à jeun
 81 depuis la veille. Un prélèvement sanguin a été effectué 30 minutes avant de rendre hyperglycémiques par voie
 82 orale tous les rats grâce à une solution de glucose anhydre (250 mg/mL) ??Lawson-Evi & Gadegbeku, 1997). Un
 83 prélèvement sanguin a été réalisé 30 min après l'induction de l'hyperglycémie provoquée puis, les animaux ont
 84 reçu immédiatement après, 2 mL pour 100 g de poids corporel un traitement. B Ainsi, le lot 1 ou lot témoin
 85 négatif était composé de rats qui ont reçu uniquement de l'eau distillée par gavage; les rats du lot 2 et 3 ont été
 86 traités avec l'extrait aqueux de « DD3 » aux doses respectives de 100 et 500 mg/kg de poids corporel. Le lot 4
 87 ou témoin positif a été traité avec du glibenclamide (Daonil 5mg), la substance hypoglycémiant de référence.
 88 Un prélèvement sanguin a été effectué aux temps 90 min (T90), 150 min (T150) et 210 min (T210) pour évaluer
 89 l'effet des différents traitements sur l'hyperglycémie. Aussi le glucose a été dosé directement à partir du sang
 90 total à l'aide d'un glucomètre de marque Accu-check® (Roche Diagnostics) selon la méthode de glucose oxydase
 91 ?? IV.

92 5 Discussion

93 La présente étude avait pour objectif de déterminer grâce à un screening phytochimique, la présence des
 94 métabolites secondaires dans le remède « DD3 », et d'en évaluer les potentiels anti-radicalaires et anti-
 95 hyperglycémiant. Les résultats ont mis en évidence différentes molécules bioactives telles que les polyphénols, les
 96 flavonoïdes, les saponosides, les alcaloïdes, les stérols et terpènes qui ont été retrouvés dans le remède « DD3 ». Ces
 97 résultats sont similaires à ceux obtenus par Choho et al., (2022) qui ont montré qu'un remède à base de plantes
 98 nommé « Daoutra Epigastro » utilisé dans le traitement des gastrites contenait également les polyphénols,
 99 les flavonoïdes, les saponosides, et les stérols/polyterpènes. Les phytocomposés retrouvés dans le remède «
 100 DD3 » pourraient suggérer des activités pharmacologiques intéressantes. En effet, les flavonoïdes sont souvent
 101 présentés comme des anti-inflammatoires, hépatoprotecteurs (Bruneton, 2009). On leur revendique aussi des
 102 propriétés antioxydantes, vasculo-protectrices (oedèmes, antihémorroïdaires), antihépatotoxiques, antiallergiques,

103 antiulcéreuses et même anti-tumorales significatives (Elliott et al., 2000;Fenglin et al., 2004). Les saponosides
104 sont fongicides, molluscicides, antiinflammatoires, anti-oedémateuses, analgésiques, spermicides, anti-tussives et
105 expectorants mais peuvent également faciliter l'absorption des éléments nutritifs ??Bruneton, 1999;Nacoulma,
106 1996).

107 Le test de piégeage des radicaux libres DPPH est un modèle largement utilisé pour évaluer la capacité
108 antioxydante de divers composés. Comparativement au remède avec une CI50= $59,39 \pm 0,69$ g/mL, la vitamine
109 C (avec une CI50 plus base de $7,84 \pm 0,45$?g/mL) a présenté une meilleure activité de piégeage des radicaux
110 libres. En comparant nos résultats à ceux de (Koua, 2018) qui a obtenu pour le même test de piégeage des
111 radicaux libres DPPH, les CI50 suivantes: la vitamine C (CI50 de $6,052$?g/mL), l'extrait aqueux (2740 ?g/mL)
112 de *Crinum scillifolium* (Amaryllidaceae). Il ressort que le remède « DD3 » a présenté un meilleur L'évolution
113 des valeurs des glycémies des rats au cours de cette étude sont consignées dans le Tableau III. Ainsi à T 0
114 , c'est-à-dire avant traitement des rats, la glycémie à jeun n'a pas indiqué de différence significative entre les
115 quatre lots expérimentaux. En revanche, à T 30 c'est-à-dire 30 min après traitement avec le glucose anhydre,
116 une hyperglycémie a été observée dans l'ensemble des lots des animaux.

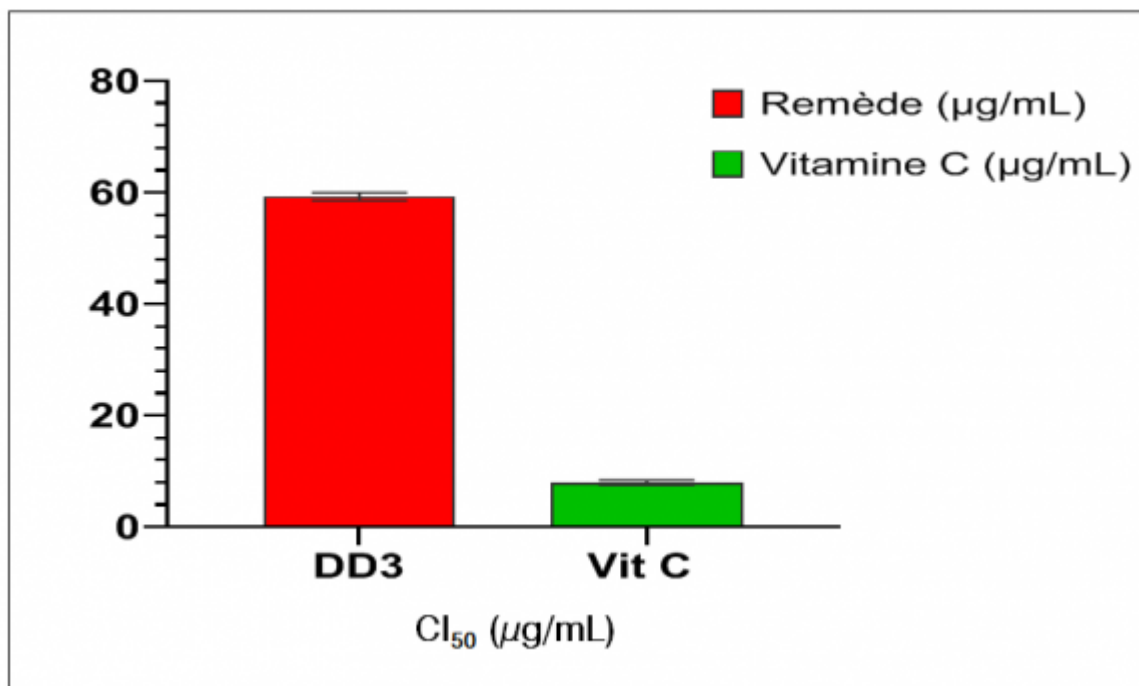
117 Par ailleurs, après traitement des lots expérimentaux avec le remède « DD3 » et le glibenclamide notamment
118 aux temps T 90 et T 150 , une baisse significative et très significative de la glycémie a été observée dans ces lots
119 comparativement au lot témoin ayant reçu l'eau distillée. Ainsi, des diminutions de -26,58% et -37,07% ; -26,25%
120 et -32,20% et -22,79% et -25,30% ont été constatées respectivement chez les rats traités avec le glibenclamide,
121 et ceux ayant reçu les doses de 100 et 500 mg/kg de poids corporel du remède comparativement au lot témoin
122 négatif (Tableau III). En revanche, à T 210 , une baisse significative de la glycémie chez les rats traités avec
123 le glibenclamide a été observée par rapport au lot témoin négatif alors qu'avec les extraits, la glycémie revient
124 presque à sa valeur initiale. Les résultats du deuxième test, basé sur la capacité de piégeage du proton par
125 le radical cationique ABTS^o+ viennent corroborer ceux déjà obtenus avec le test de la DPPH sur l'aptitude
126 antioxydante du remède. En effet, en analysant les concentrations efficaces à 50% (CI 50) obtenues, il ressort
127 que l'acide gallique (CI 50 = $25,87 \pm 0,46$ g/mL) et le remède (CI 50 = $94,34 \pm 0,73$ g/mL) inhibent tous le radical
128 cationique ABTS^o+mais le remède à un degré moindre. Les composés phénoliques (polyphénols, flavonoïdes,
129 tanins) contenus dans ce remède pourraient être un groupe majeur de composés qui agissent comme antioxydants
130 primaires de radicaux libres ??Ayoola et al., 2008). Ce qui confirme le potentiel antioxydant du remède.

131 Le glibenclamide a exercé une activité hypoglycémique par rapport au remède « DD3 » durant l'e xpérience.
132 L'usage du remède « DD3 » pourrait être une alternative dans la prise en charge d'une pathologie telle qu'une
133 hyperglycémique. Au terme de l'expérience, le glibenclamide a exercé une importante activité hypoglycémique
134 par rapport au remède « DD3 » qui a ramené la glycémie à sensiblement égales aux valeurs initiales. Le remède
135 « DD3 » aurait une action régulatrice de la glycémie ce qui constituerait une importante alternative dans la prise
136 en charge d'une pathologie telle qu'une hyperglycémique.

137 V. La présente étude avait pour objectif d'étudier les activités antioxydantes et antihyperglycémique du remède
138 codé « DD3 ». Le screening phytochimique a permis de montrer que ce remède contient des stérols, des terpènes,
139 des flavonoïdes, des polyphénols, des alcaloïdes et des saponosides. La présence de ces composés confère à
140 ce remède un potentiel antioxydant réel. Toutefois, avec des valeurs de CI 50 plus élevées, ce potentiel est
141 moins fort que celui de la vitamine C dans la gamme de concentrations évaluées. L'évaluation du potentiel
142 antihyperglycémique du remède chez les rats a montré une très bonne activité sur la tolérance orale au glucose
143 comparativement au témoin négatif. En d'autres termes, l'utilisation de ce remède contribuerait à ramener la
144 glycémie à sa valeur normale au bout de 3h30 en cas d'hyperglycémie par voie alimentaire là où le glibenclamide
145 ramènerait cette valeur à la normale au bout 3h mais avec un effet sous-jacent d'hypoglycémie par la suite.

146 6 Conclusion Bibliographie

147 1



1234

Figure 1: Figure 1 :Figure 2 :Figure 3 :Figure 4 :

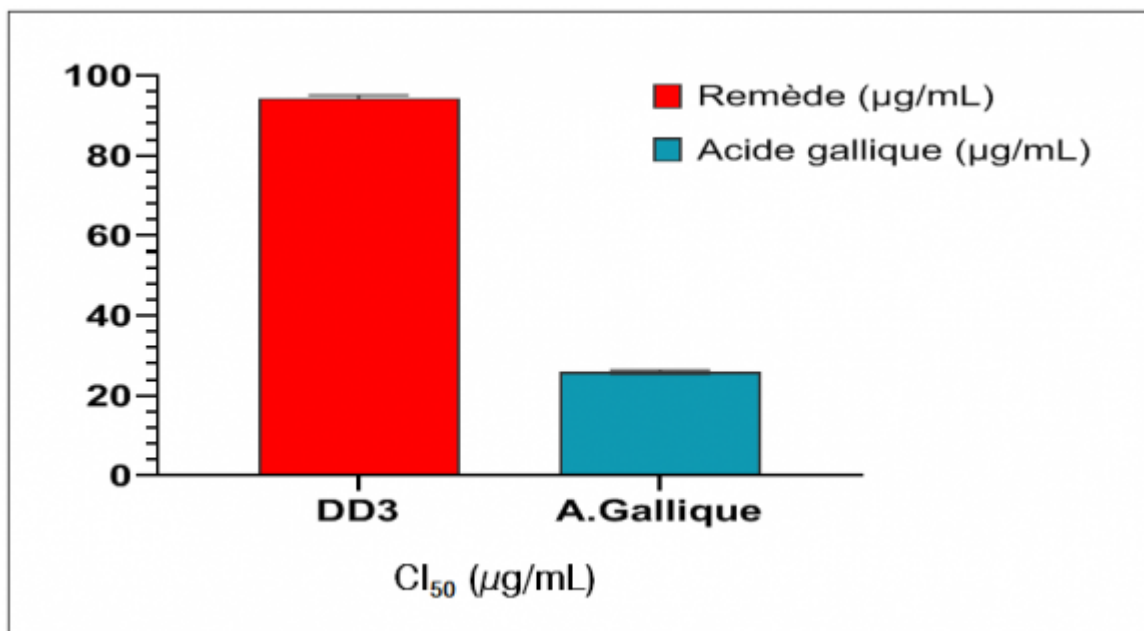


Figure 2: Tableau III:

iii.

2014). A ce sujet, les polyphénols (anthocyanes, flavonoïdes, leucoanthocyanes and tanins ont montré des résultats intéressants à la fois comme

Year hypoglycémians et antioxydants. En effet, ces résultats suscitent de plus en plus de l'intérêt pour la pr
2022

36

Vol-
ume
XXII

Is-
sue
III
Ver-
sion

I

D Noms scientifiques

D

D

D

)

B

(Nauclea lotifolia

Medicinalis ferruginea Zingiber officinale Anogeis-

Re- sus leiocarpus

search

Global
Jour-
nal
of

fabricants, ce remède est supposé avoir des effets
la régulation de la glycémie. C'est dans l'élan de
recherche de nouveaux composés antidiabétiques
cette présente étude se propose comme objectif
général d'évaluer les potentialités antihyperglycémiques
du remède traditionnel « DD3 » utilisé par certains
patients souffrant de Diabète. De façon spécifique
s'agira de: (1) caractériser les métabolites secondaires
du remède; (2) évaluer le potentiel antioxydant du
remède; (3) étudier l'activité antihyperglycémique
remède « DD3 » chez des rats en hyperglycémie
provoquée par voie orale.

Familles botaniques

Noms

ver-

nac-

u-

lares

(Baoulé)

Alobogna

Rubiaceae

Connaraceae

Zin-

gib-

er-

aceae

Com-

bre-

taceae

Recherche des alcaloïdes: Un échantillon de 6

de solution aqueuse obtenue à partir du lyophilisat

DRAGENDORFF

ont

été

ad-

di-

tion-

nées.

-Dans le tube B, deux gouttes de réactif de

BOUCHARDAT

ont

été

aussi

ad-

TEG =

Glycémie finale ? Glycémie i

Ces tests nous donnent le degré de significativité pour $p < 0,05$.

III. Résultat

a) Screening phytochimique

Le tri phytochimique a permis de mettre en évidence la présence des principaux groupes chimiques dans l'extrait total aqueux. Il a révélé la présence des alcaloïdes, des polyphénols, des flavonoïdes, des Saponosides, des tanins, galliques et catéchiqes, des quinones, des Stérois et terpènes. Les résultats sont

Métabolites secondaires	Résultats
Alcaloïdes	+
Polyphénols	+
Flavonoïdes	+
Tanins galliques	-
Saponosides	+
Quinones	-
Stérois et terpènes	+
Tanins catéchiqes	-

+ : Présence ; - : Absence

-Test au DPPH (2,2-diphényl-1 picrylhydrazyle) vitamine C tendait vers 100% soit un CI 50 égale à 7,84 µg/mL alors que celle du remède n'a pas pu atteindre les 70 % avec une CI 50 égale à 59,39 µg/mL. L'analyse des figures 1 et 2 a montré que la vitamine C a une activité antioxydante plus élevée que celle du remède.

Les résultats de l'activité antioxydante de la vitamine C et du remède sur le radical libre au DPPH sont représentés sur les figures 1 et 2. Dans la gamme de concentrations fixées, ces résultats ont indiqué que la concentration inhibitrice du radical DPPH par la

Figure 4:

- 148 [Pharmacopée Médecine Traditionnelle Africaine] , *Pharmacopée Médecine Traditionnelle Africaine* 21 (1) p. .
- 149 [Aecaceae). *Intertional Journal of Biological and Chemical Sciences*] , *Aecaceae*). *Intertional Journal of Biological and Chemical Sciences* 8 (6) p. .
- 150
- 151 [Forman (menispermaceae)] , Forman (menispermaceae) . *European Scientific Journal* 14 (30) p. .
- 152 [Trease et al. ()] , G Trease , S M Evans , Pharmacognosy , Edinburgh , Saunders . 2002. New York. p. 35.
- 153 [Lacopini et al. ()] , F Lacopini , A Dormeier , T A Masunda . 2008.
- 154 [Lawson and Eklu ()] ‘Activité hypoglycémiant de quelques plantes médicinales’. E P Lawson , G Eklu . *Revue Médecine Traditionnelle Africaine* 1997. 1 (9) p. .
- 155
- 156 [Hammoudi ()] *Activités biologiques de quelques métabolites secondaires extraits de quelques plantes médicinales du Sahara méridional Algériens*, R Hammoudi . 2015. p. 166. Université kadi Merbah-Ouargla (Thèse Doctorat d’Etat des Sciences en biologie)
- 157
- 158
- 159 [Fid ()] *Atlas du Diabète de la FID*, Fid . 2019. Bruxelles. 9.
- 160 [Torres and Velazquez ()] ‘Commercial opportunities and research challenges in the highpressure processing of foods’. J A Torres , G Velazquez . *Journal of Food Engineering* 2005. 67 p. 11.
- 161
- 162 [Riserus et al. ()] ‘Dietary fats and prevention of type 2 diabetes’. U Riserus , W Willet , F B Hu . *Progress in Lipid Research* 2009. 48 (1) p. .
- 163
- 164 [Kouassi et al. ()] ‘Epidemiological Features of Diabetic Retinopathy in Abidjan (Côte d’Ivoire): A Study about 448 Patients’. F X Kouassi , C E Koman , A N S Kra , M Soumahoro , T Y C Sowagnon , R & N’dohi . *Open Journal of Ophthalmology* 2021. 8 p. .
- 165
- 166
- 167 [Katemo et al. ()] ‘Ethnopharmacological survey of plants used against diabetes in Kisangani city (DR Congo)’. M Katemo , P T Mpiana , B L Mbala , S O Mihigo , K N Ngbolua , D S T Tshibangu , P R Koyange . *Journal Ethnopharmacology* 2012. 144 p. .
- 168
- 169
- 170 [Koua ()] ‘Evaluation des activités anticonvulsive, sédatrice, analgésique, antiinflammatoire et antioxydante des extraits de *Crinum scillifolium* A.Chev. (Amaryllidaceae)’. K B D Koua . *UFR Biosciences* 2018. 187 p. .
- 171
- 172
- 173
- 174 [Fenglin et al. ()] ‘Free Radical scavenging activity of Flavonoids from *Kaempferia parviflora*’. H Fenglin , L Rulin , H Bao , M Liang . *Fitoterapia* 2004. 75 p. .
- 175
- 176 [Tietz ()] *Fundamentals of Clinical Chemistry*, N Tietz . 1987. Ed WB Saunders Co: Philadelphia. p. 427.
- 177 [Nacoulma ()] O G Nacoulma . *Plantes médicinales et Pratiques médicales Traditionnelles au Burkina Faso: cas du plateau central T1 & T2*. Thèse Doctorat d’Etat ès Sciences Naturelles, (Burkina Faso) 1996. p. 158. Université de Ouagadougou
- 178
- 179
- 180 [Pitocco et al. ()] D Pitocco , F Martini , G Scavone , F Zaccardi , G Ghirlanda . *Oxidative Stress and Diabetes in Systems Biology of Free Radicals and Antioxidants, Laher I*, (Berlin) 2014. p. .
- 181
- 182 [Leong and Shui ()] ‘Polyphenols, Carotenoids, Vitamin C Content in tropical Fruits and Vegetables and Impacts of Processing Methods an Investigation of Antioxidant Capacity of Fruits in Singapore Markets’. L P Leong , G Shui . *Food Chemistry* 2002. 76 p. .
- 183
- 184
- 185 [Diomandé et al. ()] *Pouvoir antioxydant et teneurs en composés phénoliques de deux espèces du genre *Albertisia*: *Albertisia cordifolia* (Mangenot & J. Miège) Forman et *Albertisia scandens**, A Diomandé , K Yao , Y Sylla , B F H Tra , A Bakayoko , M W Kone . 2018. Mangenot & J. Miège.
- 186
- 187
- 188 [Zhang and Tan ()] ‘Propriété Antidiabétique de l’extrait éthanolique de *Paniculata* chez les rats rendus diabétiques à la streptozotocine’. X F Zhang , B K Tan . *Pharmacology* 2000. 21 p. .
- 189
- 190 [Stratégie de l’OMS pour la médecine traditionnelle pour OMS ()] ‘Stratégie de l’OMS pour la médecine traditionnelle pour’. *OMS* 2015. 2014-2023, 45.
- 191
- 192 [Elliott et al. ()] ‘The effects of plant flavonoids on Mammalian cells: implications for inflammation, Heart disease, and Cancer’. M J Elliott , K Chithan , T C Theorides . *Pharmacological Reviews* 2000. 52 (4) p. .
- 193
- 194