

Contribution à l'étude expérimentale de l'action hypoglycémiante du Rotra (*EUGENIA JAMBOLANA LAMARCK*)

par J.D. RANDRIAMIARINTSOA et J. MARK

Laboratoires de Chimie Biologique de l'Hôpital Général de Tananarive
et de l'Ecole Nationale de Médecine

Parmi les multiples propriétés attribuées à *Eugenia Jambolana Lamarck* (Rotra, Jamblon), l'une d'elle a plus particulièrement attiré l'attention des chercheurs ces dernières années. A notre tour, nous nous proposons une contribution à l'étude des propriétés hypoglycémiantes de cette plante.

Dans la première partie de ce travail, nous avons procédé à une chromatographie de l'extrait total de Rotra suivie de la caractérisation des fractions. Nous avons étudié les effets de chacune d'elles sur la glycémie de lapins normaux et diabétiques.

La deuxième partie est consacrée à des essais thérapeutiques dans le diabète humain à partir de l'extrait total de Rotra.

I. — FRACTIONNEMENT DE L'EXTRAIT TOTAL DE ROTRA. CARACTERISATION DES FRACTIONS OBTENUES ET ESSAIS SUR LA GLYCEMIE DU LAPIN NORMAL ET DIABETIQUE.

1) Matériel et méthodes

L'extrait total de Rotra a été préparé par dissolution des comprimés FN 44 des Laboratoires Laroche Navarron ou par décoction des graines et de l'écorce de Rotra.

Après centrifugation et filtration, nous avons procédé à une chromatographie sur colonne de Dowex 50x4 (200 - 400 mesh, 0,9 cm de diamètre, 15 cm de hauteur) tamponnée avec du citrate de sodium 0,05 M, pH = 2,2. Une partie aliquatée de l'extrait total a été adsorbée sur la résine. L'effluent et l'eau de lavage de la colonne constituent la fraction A. L'éluat obtenu avec une solution aqueuse de pyridine à 10% correspond à la fraction B.

Les deux fractions ont été évaporées à sec, reprises dans du sérum physiologique et injectées dans la veine marginale de l'oreille de lapin. Chaque dose équivalait à 750 mg/kg d'extrait total de Rotra.

Les lapins dont le poids variait entre 2,5 et 3,5 kg ont été répartis en deux groupes :

- le premier était constitué de lapins normaux n'ayant subi aucun traitement préalable;
- le second d'animaux rendus diabétiques par injection intrapéritonéale de 200 à 250 mg/kg d'alloxane. Tous les animaux ont été soumis à un jeûne d'une durée de 12 à 14 heures avant l'expérience.

Les prélèvements sanguins ont été effectués avant et à des intervalles réguliers après administration du Rotra.

La glycémie a été déterminée sur le sang total par la méthode de Folin et Wu (1, 2) et par la méthode enzymatique à la glucose oxydase (3).

Nous avons mis en oeuvre diverses réactions, afin d'identifier certains composés chimiques dans les deux fractions. Pour la recherche des glucides, nous avons choisi les réactions de Bertrand, Molish, Bial, Berg, Selivanoff et Rosenthaler. Les réactions pratiquées pour l'identification des acides aminés et des protéines ont été les suivantes : réaction de biuret, réaction à la ninhydrine, réaction xanthoprotéique, réaction de Millon. Pour la mise en évidence des composés guanidiques, nous avons utilisé la réaction de Sakaguchi. Les substances réductrices ont été dosées par la méthode de Folin et Wu.

2) Résultats

Les résultats des recherches qualitatives effectuées sur les fractions A et B sont consignés dans le tableau I. La fraction A contient des oses et des composés azotés : les réactions caractéristiques des aldoses, des cétooses, des pentoses et des substances guanidiques sont positives. La fraction B renferme des acides aminés libres. Les substances réductrices sont concentrées dans la fraction A. Leur teneur, exprimée en glucose, est égale à 0,10 g pour 0,25 g d'extrait de Rotra.

- IDENTIFICATION DES GLUCIDES, DES ACIDES AMINÉS ET DES COMPOSÉS GUANIDIQUES DANS CHAQUE FRACTION

Réactions d'identification	Comprimés		Décoction	
	A	B	A	B
A) GLUCIDES				
— Réaction de Molish	+	—	+	—
— Réaction de Bial (pentoses)	+	—	+	—
— Réaction de Berg (aldoses)	+	—	+	—
— Réaction de Selivanoff (cétooses)	+	—	+	—
— Réaction de Rosenthaler (cétooses)	+	—	+	—
B) ACIDES AMINÉS				
— Réaction de biuret	—	—	—	—
— Réaction de Millon	—	—	—	—
— Réaction xanthoprotéique	—	+	—	+
— Réaction à la ninhydrine	—	+	—	+
C) COMPOSÉS GUANIDIQUES				
— Réaction de Sakaguchi	+	—	+	—

Tableau I.

**— ACTION DE LA FRACTION A
SUR LA GLYCEMIE DU LAPIN NORMAL**

Glycémie (g/l)	Avant injection	Après injection i.v. de la fraction A	
		60 mn	120 mn
Méthode de Folin et Wu	0,64 ± 0,16	0,66 ± 0,06	0,85 ± 0,04
Méthode enzymatique	0,42 ± 0,08	0,25 ± 0,09★	0,43 ± 0,05

Chaque valeur représente la moyenne de 4 résultats

★ $p = < 0,05$

Tableau 2.

**— ACTION DE LA FRACTION A
SUR LA GLYCEMIE DU LAPIN DIABETIQUE**

Glycémie (g/l)	Avant injection	Après injection i.v. de la fraction A	
		60 mn	120 mn
Méthode Folin et Wu	0,95 ± 0,03	0,89 ± 0,05	0,89 ± 0,03
Méthode enzymatique	0,76 ± 0,09	0,59 ± 0,07★	0,77 ± 0,09

Chaque valeur représente la moyenne de 4 résultats.

★ $p = < 0,05$

Tableau 3.

Une heure après l'administration d'une dose unique de la fraction A, on observe une baisse de la glycémie vraie de 40% chez les lapins normaux et de 23% chez les lapins diabétiques. Le retour de la glycémie à sa valeur initiale a lieu 2 heures environ après l'injection. Lorsque le taux de glucose sanguin est mesuré par la méthode de Folin et Wu, l'effet hypoglycémiant de la fraction A est masqué (Tableaux 2 et 3).

Quant à la fraction B, son injection au lapin normal n'a aucun effet sur la glycémie.

3) Discussion

Dans tous les cas, les valeurs de la glycémie sont faibles. Ceci est dû au fait que les dosages ont été pratiqués sur le sang total d'animaux maintenus au jeûne durant 12 heures. Nous avons vérifié que la glycémie mesurée à partir du sang total ne représente que 61% de la valeur obtenue après son dosage dans le plasma. Par ailleurs, chez les lapins soumis à un jeûne de 12 heures, la glycémie est diminuée de 42%.

Pour fixer l'horaire des prélèvements, nous nous sommes référés à des résultats antérieurs (4). En effet, dans un travail précédent nous avons montré qu'une chute de 36% de la glycémie chez les lapins normaux et diabétiques survenait une heure après l'injection intraveineuse d'un extrait total de Rotra.

Les divergences que l'on rencontre dans les résultats expérimentaux entre les valeurs de la glycémie déterminée par la méthode enzymatique et celles obtenues par la méthode de Folin et Wu seraient dues au fait que la diminution du taux de glucose est exactement compensée par une augmentation des substances réductrices dans la première fraction.

Nos résultats corroborent les observations de Sigogneau et ses collaborateurs (5, 6), qui ont étudié l'action hypoglycémiant du Rotra après administration orale ou intrapéritonéale d'un extrait total ou d'une fraction purifiée à des rats normaux et diabétiques.

Récemment, Randriamampandry et Ramarojaona (7) ont décrit après injection intraveineuse d'un extrait de Rotra à des lapins diabétiques une baisse significative de glucose sanguin et plasmatique avec une augmentation concomitante du glucose érythrocytaire. Ces variations sont maximales 45 minutes après une injection parentérale de 16 mg/kg d'extrait total de Rotra. Chez les lapins normaux par contre, une dose identique est sans effet.

II. — ESSAIS THERAPEUTIQUES DANS LE DIABETE HUMAIN

Nous avons pratiqué chez 15 malades diabétiques, dont 7 femmes et 8 hommes, vus en consultation externe, une étude sur l'action thérapeutique du jamblon.

Il s'agissait dans la majorité des cas de sujets aux alentours de la cinquantaine, de poids normal ou légèrement pléthorique. Tous ces malades ont été suivis au laboratoire durant des périodes allant de 4 semaines à 30 semaines. Les contrôles du traitement ont été pratiqués régulièrement chaque semaine. Les examens biologiques ont comporté la glycosurie et la glycémie à jeun. Chez certains malades, nous avons fait un bilan systématique avant et pendant le traitement. Tous ont été soumis à un régime comprenant comme base du maïs en remplacement du riz.

1) Traitement

25 g de fragments d'écorces ou de graines sont bouillis dans un litre d'eau jusqu'à ce que celle-ci soit réduite au tiers environ. Après refroidissement, la décoction est filtrée à l'aide d'un carré d'étoffe pour éliminer le précipité, qui a une astringence désagréable. Le filtrat est fractionné en trois prises quotidiennes.

Chez certains malades, il nous a fallu augmenter la dose en cours de traitement.

Aucun traitement complémentaire n'a été administré à nos malades pendant la durée de l'expérimentation.

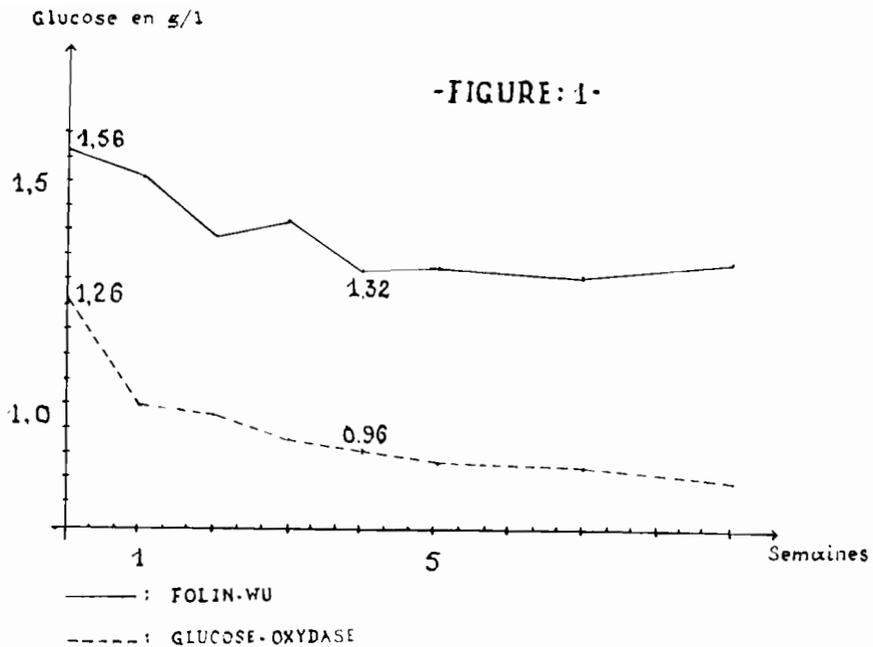
2) Résultats

a. Diabétiques non traités

Ce sont des diabétiques connus ayant interrompu le traitement antidiabétique plusieurs semaines avant l'expérimentation ou de découverte récente. Nous avons réparti ces malades en 2 groupes : la glycémie des sujets du premier groupe était inférieure à 1,8 g/l, celle du second groupe égale ou supérieure à cette valeur.

Dans tous les cas, les résultats ont été favorables tant du point de vue de l'effet hypoglycémiant que de la tolérance clinique et biologique.

Dans le diabète modéré, l'effet hypoglycémiant est manifeste dans les premiers jours (Figure 1). La négativation de la glycosurie est obtenue durant la première semaine. La glycémie vraie se stabilise aux alentours de 0,95 g/l à partir de la quatrième semaine.



Dans les cas de diabète plus sévère, la glycémie vraie diminue également dès la première semaine. L'abaissement est ensuite plus progressif; la normalisation du taux se situant à la huitième semaine (Figure 2). Les urines ne contiennent plus de glucose et de corps cétoniques après deux semaines de traitement. Il faut souligner que si la glycémie est déterminée par la méthode Folin et Wu une augmentation des substances réductrices du sang peut être mise en évidence.

Si nous analysons conjointement les résultats concernant la glycémie vraie des deux groupes de diabétiques avant le traitement et quatre semaines après, nous constatons une diminution significative de 34% de la glycémie (Tableau 4).

Sur le plan clinique, la tolérance est bonne pour une dose journalière correspondant à 25 g de fragments d'écorces ou de graines de *Rotra*. Cependant, une légère constipation est notée durant les deux premières semaines. Des troubles plus sérieux apparaissent pour une dose égale ou supérieure à 50 g; les malades se plaignent de céphalées, de nausées et constipation opiniâtre. Ces manifestations d'intolérance nous ont amené à réduire progressivement la dose. Nous avons été obligés d'interrompre le traitement dans un seul cas. Après quelques jours de traitement, polyurie et polydipsie disparaissent, l'état général s'améliore.

Sur le plan biologique, nous avons observé une diminution du taux de cholestérol chez un certain nombre de sujets présentant une hypercholestérolémie. Une de nos malades avait une albuminurie importante; celle-ci a regressé et a même disparu par la suite.

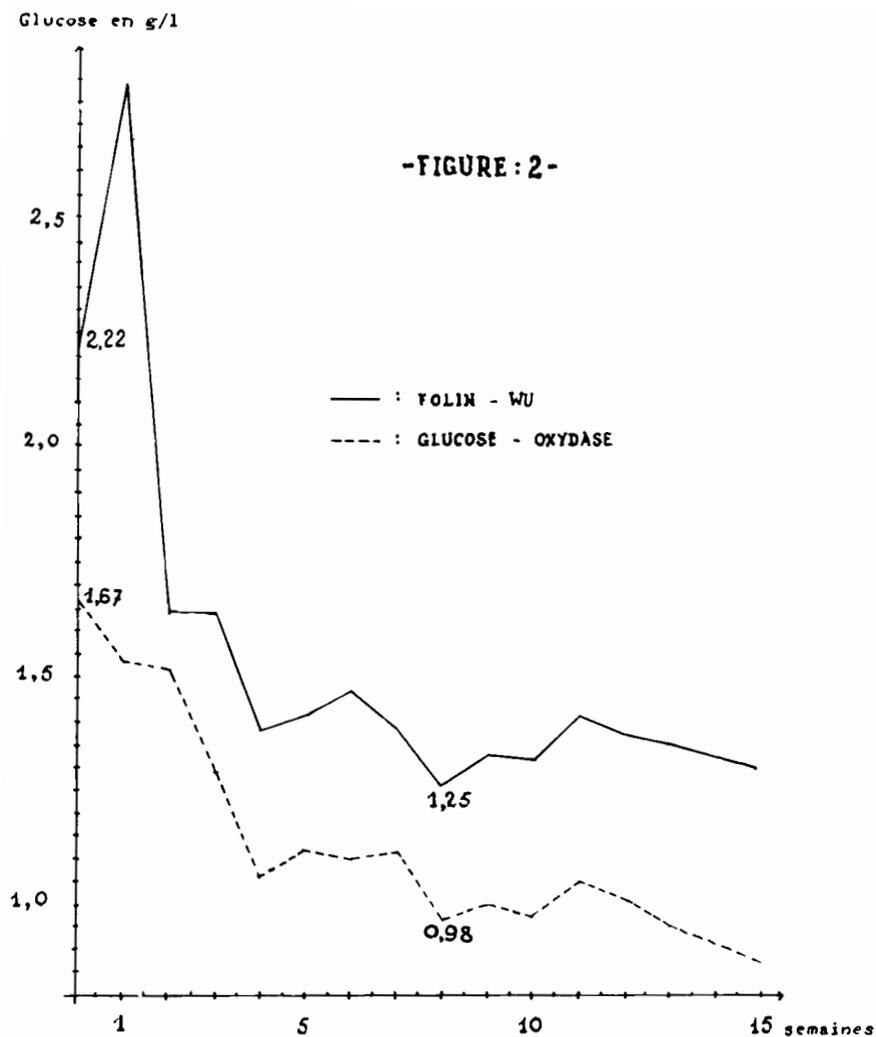


Tableau 4. — DIABETIQUES NON TRAITES

Glycémie à jeûn (g/l)	Avant le traitement	Après le traitement de 4 semaines
Méthode de Folin et Wu	1,80 ± 0,30	1,33 ± 0,18
Méthode enzymatique	1,50 ± 0,32	1,01 ± 0,11

Chaque valeur représente la moyenne de 6 résultats.

: $p = < 0,01$

b. Diabétiques anciens traités

Dans les trois cas de substitution de l'extrait de Rotra à la thérapeutique hypoglycémiante, la glycémie se maintient à sa valeur antérieure (Tableau 5).

— SUBSTITUTION DE TRAITEMENT

EVOLUTION DE LA GLYCEMIE (g/l)

Tableau 5.

Sujets	Traitement antérieur	avant	1ère semaine	2ème sem	3ème sem	4ème sem	5ème sem	6ème sem	7ème sem
M. RAV...	Insuline								
56 ans	Diabinese	1,12	1,20	1,08	0,99	0,98			
M. RAL...	Glucophage	1,00	1,00		1,39 [★]	1,19		0,99	
M. RABEV...	Dolipol								
47 ans	Insoral	1,19	1,25	1,18		1,02	0,99		0,96

★ : Arrêt momentané du traitement.

III. — CONCLUSIONS

Nous avons effectué une expérimentation animale et clinique destinée à étudier les propriétés hypoglycémiantes d'Eugenia Jambolana Lamarck.

Une fraction contenant le principe hypoglycémiant a été isolée à partir de l'extrait total. Celle-ci présente les réactions caractéristiques des composés glucidiques et guanidiques. Nos résultats restent néanmoins fragmentaires, et de nombreuses investigations seront encore nécessaires avant de pouvoir isoler et identifier le principe actif.

Nos essais dans le diabète humain montrent que l'administration par voie orale de Rotra fait disparaître les signes biologiques essentiels du diabète.

L'ensemble de nos résultats permet de dire que le principe hypoglycémiant contenu dans Eugenia Jambolana s'avère aussi actif dans les formes non compliquées du diabète humain que les drogues hypoglycémiantes orales actuellement connues. Cette médication a l'avantage de présenter un prix de revient faible à la portée des bourses modestes. Sa préparation est facile à partir d'un matériel que l'on rencontre en très grande abondance à Madagascar.

BIBLIOGRAPHIE

- 1) FOLIN et WU, **J. Biol. Chem.** (1920) 41, 368.
- 2) GUILLAUMIN Ch.O., **J. Pharm. Chim.** (1920) 22, 378.
- 3) HUGGETT A.S.G. et NIXON D.A., **Lancet II**, 368.
- 4) RANDRIAMIARINTSOA J.D., **Thèse**, Paris (1972).
- 5) SIGOGNEAU - JAGODZINSKI M., BIBAL-PROT P., CHANEZ M., BOITEAU P. et RAKOTO-RATSIMAMANGA A., **C.R. Acad. Sc.**, Paris (1967) 264, 1119.
- 6) SIGOGNEAU - JAGODZINSKI M., BIBAL-PROT P., CHANEZ M., BOITEAU P. **C.R. Acad. Sc.**, Paris (1967) 264, 1223.
- 7) RANDRIAMAMPANDRY et RAMAROJAONA J., **C.R. Soc. Biol.**, (1972) 166, 484.