

MAST-BIO-130/ce

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministre d'enseignement et de la recherche scientifique
UNIVERSITE ABOU BAKR BELKAID_TLEMCEM

Faculté des sciences
Département de biologie

Mémoire en vue de l'obtention du Diplôme de Master en biologie

Année de N° 5664
2011-2012

Option : Biochimie appliquée



Recherche d'effets antihyperglycémiantes des glycosides extraits des graines de la coloquinte Citrillus colocynthis chez les rats normaux et rendus diabétiques par la streptozotocine.

Présenté par : *FILLALI Halima*

Soutenu devant le juré composé du :

Président : *M^r DJAZIRI R.* Maître de conférences, Université de Tlemcen

Examineur : *M^r LAHFA F.* Chargé de cours Université de Tlemcen

Promoteur : *M^r AZZI R.* Maître assistant, Université de Tlemcen

Année universitaire : 2010/20111

Remerciement

Je remercie Dieu de m'avoir accordé des connaissances de la science
et

de m'avoir aidé à faire ce travail

Au terme de ce modeste travail, je tiens à remercier chaleureusement tous ceux
qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce projet de fin d'étude,
à savoir :

Mon encadreur Mr Azzi R, maitre assistant au département de biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie et sciences de la terre et de l'univers, université Abou Bekr Belkaïd Tlemcen, pour le soutien qu'il m'a toujours accordé, pour la facilité de travail qu'il m'a procuré et pour les précieux conseils qu'il m'a prodigué tout au long de notre travail.

Recevez ici ma profonde reconnaissance pour vos qualités scientifiques.

Je tiens à remercier Monsieur Djaziri R, Maitre de conférences au département de biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie et sciences de la terre et de l'univers, université Abou Bekr Belkaïd Tlemcen, pour avoir accepté de diriger et suivi mon travail avec disponibilité, patience et bienveillance.

Mes vifs remerciements vont à Monsieur Lahfa F, chargé de cours au département de biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie et sciences de la terre et de l'univers, université Abou Bekr Belkaïd Tlemcen, d'avoir accepté d'examiner et discuter ce travail.

Je tiens à remercier aussi toutes personnes ayant contribué à la réalisation de ce mémoire, en particulier M^{elle} Belkacem , Houria et aux responsables des laboratoires.



Dédicaces

A l'aide d'ALLAH j'ai pu réaliser ce modeste travail que je dédie à :

Mon très cher père Mahdjoub qu'il me manque beaucoup, je souhaite qu'ALLAH aille l'accepter dans son paradis.

à

Ma très chère mère Aicha pour son amour, ses sacrifices et son encouragement tout au long de mon chemin de vie et d'études qu'Allah me la protéger.

A mes frères : Ahmed et le petit abdelkrim

A mes sœurs et toutes mes familles Fillali, Azzaoui et Khaled.

A mes chères amies que je les considère comme mes sœurs : Bachiri H, Gasmi M et Mimouni F, mes amies et toute la promotion de biologie LMD option Biochimie appliquée

A M^f AZZI pour ses précieux conseils et sa disponibilité.

A tous ceux qui ont apporté une touche à ce travail.

HALIMA

Résumé

Ce travail porte sur la recherche d'effets antihyperglycémiant d'extrait éthanolique des glycosides cucurbitacines des graines de coloquinte (*Citrullus colocynthis*) « Handal », famille des cucurbitacées, sur des rats Wistar normaux et rendus diabétiques par la Streptozotocine.

Cette plante est utilisée comme remède traditionnel pour le traitement du diabète sucré dans la région du Maghreb et du Moyen- Orient.

L'effet antidiabétique a été expérimenté sur un modèle de rat diabétique : diabète induit par la Streptozotocine (hyperglycémie permanente).

L'influence de cet extrait sur le taux de glucose sanguin chez les rats normaux et chez les rats diabétiques a été suivi à court terme (0, 1, 2 et 3h) et à moyen terme (durant 2 semaines) après une injection unique, par voie intra-péritonéale d'extrait éthanolique des glycosides cucurbitacines de *Citrullus colocynthis* à la dose de 50 mg/kg p.c.

D'autres paramètres (la cholestérolémie, la triglycéridémie et le poids corporel) ont été évalués.

Les résultats obtenus montrent un effet antihyperglycémiant d'extrait éthanolique des glycosides cucurbitacines de la coloquinte, il réduit l'hyperglycémie à 18,18% après 3h. Cet effet persiste durant 1 semaine.

Mots clés : *Citrullus colocynthis*, diabète sucré, glycosides cucurbitacines, rats, Streptozotocine.

Sommaire.....	I
Listes des figures.....	III
Liste des tableaux.....	III
Liste d'abréviation.....	IV
Introduction générale	01

1ère Partie : Synthèse bibliographique

Chapitre 1 : Diabète sucré

1. Généralités sur le diabète	03
1.1. Définition	03
1.2. Classification du diabète sucré	03
1.3. Physiopathologie du diabète	03
1.4. Traitement du diabète de type 2	04

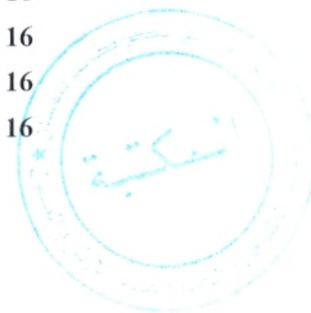
Chapitre 2 : Plantes antidiabétiques

1. Plantes antidiabétiques	05
2. Etudes ethnobotaniques et ethno pharmacologiques des plantes antidiabétiques	06
2.1. Dans le monde	06
2.2. Dans la région de Tlemcen	08
3. Substances naturelles à effets antidiabétiques	10
4. Etudes biologiques d'effets antidiabétiques des plantes	12
5. La coloquinte <i>Citrullus colocynthis</i>	12
5.1. Classification classique	12
5.2. Noms vernaculaires	13
5.3. Description morphologiques	13
5.4. Origine et distribution	13
5.5. Actions thérapeutiques	13
5.6. Composition chimique	13
5.7. Toxicité	14
5.8. <i>Citrullus colocynthis</i> comme plante anti- diabétique	14

2ème Partie : Partie expérimentale

Chapitre 1 : Matériels et méthodes

1. Enquête ethnobotanique	15
2. Analyses phytochimiques	16
2.1. Matériel végétal	16
2.2. Dégraissage du matériel végétal	16
2.3. Tests phytochimiques	16



2.4.	Extraction des glycosides cucurbitacines	19
2.5.	Caractérisation des glycosides	19
3.	Analyses biologiques	19
3.1.	Les animaux	19
3.2.	Induction du diabète expérimental	19
3.3.	Répartitions des lots de rats	19
3.4.	Les effets antidiabétiques des extraits de la coloquinte	20
	A court terme	20
	A moyen terme	20
	Dosage de la glycémie	21
	Dosage de la cholestérolémie	21
	Dosage de la triglycéridémie	22
4.	Analyses statistiques	22

Chapitre 2 : Résultats et interprétation

1.	Enquête ethnobotanique	24
1.1.	Information sur les diabétiques questionnés	24
1.2.	Etats cliniques des diabétiques	25
1.3.	L'utilisation des plantes antidiabétiques	26
2.	Analyses phytochimiques	27
2.1.	Tests phytochimiques	27
2.2.	Extraction des glycosides cucurbitacines	27
3.	Induction du diabète par la Streptozotocine (STZ)	28
4.	Les effets antidiabétiques des extraits de la coloquinte.....	28
4.1.	Effets à court terme	28
4.2.	Effets à moyen terme	30
	Evolution de la glycémie	30
	Evolution du poids corporel	31
	Evolution des paramètres biochimiques	32
	Discussion	34
	Conclusion générale	37
	Références bibliographiques	38
	Annexe	43

Listes des figures

Figure n°01 : La Coloquinte.....	13
Figure n°02 : dégraissage par appareil de soxhlet.....	16
Figure n°03 : Diagramme montrant l'extraction des glycosides cucurbitacines selon la méthode de Natiq et al. ,1989	18
Figure n°04 : Evolution de la glycémie chez les rats normaux témoins et traités par l'extrait éthanolique des glycosides cucurbitacines de la coloquinte durant 3 heures	29
Figure n°05 : Evolution de la glycémie chez les rats diabétiques témoins et traités par l'extrait éthanolique des glycosides cucurbitacines de la coloquinte durant 3 h	29
Figure n°06 : Evolution de la glycémie chez les rats normaux et diabétiques témoins et traités par l'extrait éthanolique des glycosides cucurbitacines de <i>Cirullus colocynthis</i> durant 14 jours	30
Figure n°07 : Evolution du poids corporel chez les rats traités par l'extrait éthanolique des glycosides cucurbitacines de la coloquinte durant 14 jours	31
Figure n°08 : Evolution la triglycéridémie chez les rats normaux et diabétiques, témoins et traités par les glycosides cucurbiacines de la coloquinte <i>Cirullus colocynthis</i> durant deux semaines	32
Figure n°09 : Evolution de la cholestérolémie chez les rats normaux et diabétiques, témoins et traités par les glycosides cucurbiacines de <i>Cirullus colocynthis</i> durant deux semaines	32

Listes des tableaux

Tableau n°01 : exemple des plantes antidiabétiques, leurs principes actifs et leurs espèces les plus utilisées ;.....	05
Tableau n°02 : Résultats de quelques études ethnobotaniques sur les plantes antidiabétiques dans différentes régions du monde	07
Tableau n°03 : Quelques plantes antidiabétiques utilisées dans la région de Tlemcen, parties utilisées et leurs modes de préparations traditionnelles	08
Tableau n°04 : quelques substances naturelles à effets antidiabétiques, leurs modes d'action et leurs sources végétales	11
Tableau n°05 : Répartition des lots expérimentaux et injection des extraits des graines de la coloquinte pour les tests antidiabétiques à court terme	20
Tableau n°06 : Répartition des diabétiques selon sexe, poids, âge, traitement et complications liées au diabète	24



Tableau n°07 : Répartition des diabétiques selon le traitement et les complications liées au diabète	25
Tableau n°08 : Répartition de la population diabétique selon l'utilisation des plantes antidiabétiques et leurs efficacités	26
Tableau n°09: les plantes antidiabétiques recensées par familles, noms vernaculaires, parties utilisées et modes de préparation	26
Tableau n°10: Résultats des tests phytochimiques	27
Tableau n°11: analyses phytochimiques d'extrait éthanolique des glycosides cucurbitacines des graines de coloquinte	28
Tableau n°12: l'évolution de la glycémie chez les rats normaux et diabétiques témoins et traités par les extraits éthanoliques des glycosides des graines de <i>Citrullus colocynthis</i> durant 3 heures par rapport aux T0	30
Tableau n°13: l'évolution de la glycémie chez les rats normaux et diabétiques témoins et traités par les différents extraits de glycosides des graines de <i>Citrullus colocynthis</i> durant 14 jours par rapport aux T0	31

Liste d'abréviations

STZ : Streptozotocine .	FID : Fédération Internationale du Diabète
I.P : Inta péritonéale	OMS : Organisation Mondiale de la Santé
p.c.: Poids corporel	HGPO: Hyperglycémie Provoquée par voie Orale
POD: peroxydase.	GLUT 4: Glucose Transporter 4.
GOD: Glucose Oxydase	CHE: Cholestérol Estérase.

Liste des unités

% : Pourcent	°C : Degré Celsius
µl : Micro litre	g/l : Gramme par Litre
g : Gramme	mg/kg : milligramme par Kilogramme
min : Minute	h : Heure

Introduction générale

La médecine traditionnelle (la médecine alternative ou la phytothérapie) est l'ensemble de pratiques thérapeutiques existant depuis des centaines d'années avant le développement et la diffusion de la médecine moderne [Malher, 1991]. Cependant, malgré la progression de l'industrie pharmaceutique, les gens ne cessèrent jamais de faire appel à cette médecine pour le traitement de diverses maladies [Fourché *et al.*, 2000].

Durant ces dernières décennies, la recherche en phytothérapie devient une des plus grandes préoccupations scientifiques [Nyah Njike *et al.*, 2005]. De fait, l'OMS a mis une stratégie pour la médecine traditionnelle dont le but est de maximiser les possibilités de cette forme de médecine en tant qu'une source de soins de santé, et de protéger la matière première surtout dans le cas des plantes [OMS, 2002].

Le directeur de l'organisation mondiale de la santé, Halfdan Mahler, écrivait ces lignes dans un numéro spécial de la revue de l'OMS en 1977 "World Health" : "*Cela fait trop longtemps que le système traditionnel de médecine et la médecine moderne cheminent séparément, dans la plus grande antipathie mutuelle. Mais leurs objectifs ne sont-ils pas les mêmes : améliorer la santé de l'humanité et donc la qualité de la vie ? Seuls les esprits bornés oseraient soutenir que chacune de ses deux écoles n'a rien à apprendre de l'autre*" [Spurgeon, 1995].

Traiter, soigner, ou guérir les maladies, c'est le but des phytothérapeutes, de ce fait plusieurs maladies qui posent de très graves problèmes à l'échelle mondiale sont prises en charge par les chercheurs dans ce domaine fin de trouver de nouveaux remèdes.

Une des maladies les plus dangereuses est le diabète sucré qui est considéré parmi les maladies les plus fréquentes de notre civilisation. Le diabète sucré est un groupe de maladies métaboliques caractérisées par une hyperglycémie chronique résultante d'un défaut de la sécrétion de l'insuline et/ou de l'action de cette hormone [Racciah, 2004].

Il apparaît donc impérieux de recenser et d'identifier des plantes utilisées dans le traitement du diabète [Zhang *et al.*, 2000].

Les traitements de cette affection consistent, à contrôler le niveau glycémique des malades par des mesures diététiques, des antidiabétiques oraux ou par l'insulinothérapie pour les diabétiques de type 2, et par l'insulinothérapie dans le cas des diabétiques de type 1 [Charbonnel et cariou, 1997]. Ces différentes voies thérapeutiques restent ou deviennent inefficaces chez beaucoup de diabétiques en raison de non disponibilité des médicaments et d'une prise en charge médicale correcte. Pour cela, une grande partie de la population dans le monde se tournent vers les traitements à base des plantes. [Marles et Farnsworth, 1996].

Plusieurs études ethnopharmacologiques ont été réalisées dans la région du Maghreb dont la population est reconnue par l'usage de plantes médicinales, montrent la diversité des plantes médicinales utilisées pour le traitement du diabète comme la *Citrullus colocynthis*, *Berberis vulgaris*,...[Ziyyat *et al.*, 1997 ; Jouad *et al.*,2001 ; Bnouham *et al.*,2002].

Ainsi une grande partie de la population diabétique en Algérie comme dans les autres pays du reste du monde se tournent de plus en plus vers les traitements traditionnels à base des plantes [Marles et Farnsworth, 1996 ; Ourbe *et al.*, 1997]

De nombreux travaux se sont consacrés aux propriétés antidiabétiques de la coloquinte (*Citrullus colocynthis*) [Abdel-Hassen *et al.*, 2000 ; Nmila *et al.*, 2000 ; Azzi, 2007]

De notre part nous nous sommes intéressés à l'étude des effets antidiabétiques des glycosides cucurbitacines extraits des graines de coloquinte (*Citrullus colocynthis*) chez les rats normaux et rendus diabétiques par la streptozotocine :à court durant les 3 premières heures après l'injection intra péritonéale des différentes doses d'extrait et à long terme durant 3 à 4 semaines de suivie de la glycémie et d'autres paramètres biochimiques (cholestérol, triglycéride,...).

Les objectifs de notre recherche sont d'apporter une modeste contribution:

- ❖ Aux recherches entreprises sur les plantes médicinales en vue de sauvegarder le patrimoine culturel scientifique;
- ❖ Au recensement et à l'identification des plantes utilisées en médecine traditionnelle pour le traitement du diabète en vue de leur vulgarisation et de leur utilisation dans les systèmes de soins de santé moderne.
- ❖ Aux recherches des substances naturelles à effets antidiabétiques.



I. Généralités sur le diabète

➤ Définition :

Le diabète sucré est un désordre métabolique chronique des carbohydrates, des lipides et des protéines, dû à un déficit relatif ou absolu de la sécrétion et/ou de l'action de l'insuline [Jenkins, 2007 ; Rahimi *et al.*, 2005].

Donc, le diabète n'est pas une maladie unique mais c'est une constellation d'anomalies métaboliques et pathologiques avec une variété de causes [Lais *et al.*, 2008] environnementales et héréditaires [Beaudeau, 2005].

Le nombre total de cas de diabète, estimé actuellement est de 285 millions. Il peut atteindre plus de 438 millions en 2030 [FID, 2009].

➤ Différentes formes de diabète :

Une nouvelle classification du diabète a été proposée par l'American Diabetes Association (ADA) en 1997. Elle différencie quatre grands types de diabète :

- ❖ *Le diabète de type 1* : l'hyperglycémie est due à une carence absolue en insuline. Cette forme de diabète comprend les cas attribuables à un processus auto-immun conduisant à la destruction auto-immune des cellules β des îlots de Langerhans.
- ❖ *Le diabète de type 2* : la carence en insuline est relative et l'hyperglycémie est liée à l'association, à des degrés divers, d'une insulino-résistance hépatique et périphérique et d'une insulino-pénie. Il a de graves conséquences en termes de morbidité, de mortalité et de prise en charge médicale très coûteuse.
- ❖ *Le diabète gestationnel* : correspond à un trouble ou à une intolérance au glucose apparaissant entre la 24^{ème} et la 28^{ème} semaine de grossesse et disparaissant après l'accouchement.
- ❖ *Autres types du diabète «spécifique»* : secondaires à une maladie pancréatique, à une endocrinopathie ou encore liés à des anomalies génétiques. [The expert Committee..., 1997].

➤ Physiopathologie

Elle est complexe et associée :

- ❖ Un trouble de l'**insulino-sécrétion** :
 - Qualitativement, diminution du pic de réponse précoce aux aliments, en particulier au glucose,
 - Quantitativement, diminution des capacités insulino-sécrétoires qui se majorent progressivement dans le temps pour aboutir de façon plus ou moins tardive à une insulino-pénie profonde.
- ❖ Des troubles de la **sensibilité à l'insuline ou insulino-résistance** :

Diminution des effets de l'insuline sur les tissus insulino-sensibles (tissus musculaires, tissus adipeux, foie). L'insulino-résistance est donc caractérisable au niveau des tissus périphériques, en particulier, du transport du glucose dans le muscle, dans le tissu adipeux et de la production hépatique de glucose. Cette insulino-résistance est aggravée par l'hyperglycémie et l'excès d'acide gras libre circulants ou de triglycérides stockés en excès dans le muscle [Halimi, 2003].

➤ Traitement du diabète du type 2 :

❖ Antidiabétiques oraux :

Les anti-hyperglycémiantes oraux sont le 3^{ème} volet du traitement après **la diététique et l'activité physique**. [Grimaldi, 2004]

Le traitement antidiabétique oral s'articule actuellement autour de **4** classes thérapeutiques, dirigé contre **3** cibles physiologiques différentes :

Une stimulation de l'insulino-sécrétion par les **sulfamides hypoglycémiantes** et les **glinides**.

Une diminution de l'insulinorésistance par les **biguanides** et les **thiazolidinediones**.

Un ralentissement de l'absorption intestinale du glucose par les inhibiteurs des α glucosidases. [Charbonnel et Cariou, 1997]

❖ Insulinothérapie :

En cas d'échec du traitement antidiabétique oral chez le diabétique de type 2, il paraît nécessaire d'instaurer précocement une insulinothérapie pour préserver le capital insulinsécrétoire résiduel. [Grimaldi, 2004]

En générale, tous les agents antidiabétiques (antidiabétiques oraux, insuline) ne répondent pas aux besoins des patients en tant qu'un traitement efficace. Eventuellement, plusieurs accidents risquent d'être à l'origine d'un état indésirable.

Actuellement, le recours au traitement du diabète sucré par les plantes attire tous les flashes.

II. Plantes antidiabétiques

Ardemment, plus de 1200 plantes sont utilisées traditionnellement pour traiter le diabète sucré et d'un nombre important de plantes ont montré une activité hypoglycémique d'après le laboratoire d'essai [Marles et Farnsworth, 1996]. Cependant, juste une minorité de ces plantes connaissent une évolution scientifique, citons essentiellement, *Momordica charantia*, *Catharanthus roseus*, *Trigonella foenum-graecum*, *Allium cepa*, *Allium sativum*, et autres [Al-Achi, 2005]. Ce qui est remarquable, c'est l'existence de plusieurs composés d'origine végétale, semblent donner cet effet bénéfique. Leur nature différente les fait agir à différents sites.

Bnouham et al., en 2006, ont regroupé l'ensemble des plantes antidiabétiques étudiées et reportées dans la littérature entre 1990 et 2000. Ils ont recensé 176 espèces plantes intégrées dans 84 familles à pouvoir antidiabétique clair. La plus part des plantes étudiées ont confirmé leur pouvoir hypoglycémiant, soit en corrigeant les anomalies métaboliques ou en retardant les complications du diabète.

Tableau n°01: exemple des plantes antidiabétiques, leurs principes actifs et leurs espèces les plus utilisées ; [Bnouham et al., 2006]

Familles	Espèces	Partie utilisée Principe actif	Effets antidiabétiques sur	Références
Araliaceae	<i>Acanthopanax senticosus</i>	Feuilles (saponines)	100, 200 mg/kg i.p. pour souris avec hyperglycémie induite par adrénaline, glucose et alloxane)	Sui et al., 1994
	<i>Aralia elata</i>	Écorce des racines (elatosides saponins; acides oleanoliques glycosides)	Tolérance au glucose chez les rats	Yoshikawa et al., 1994
Asteraceae	<i>Brickellia veronicaefolia</i>	Extrait d'hexane	300 mg/Kg i.p pour des souris normales et diab.	Perez- Gutierrez et al., 1998
	<i>Brickellia veronicaefolia</i>	Extraits chloroformique des feuilles (Flavone)	10-50 mg/Kg. Souris normaux et diab.(alloxane)	Perez et al., 2000
	<i>Gynura procumbens</i>	Extraits éthanoliques des feuilles	50,150 et 300 mg/Kg par voie orale chez les rats diabétiques par STZ	Zhang et Tan, 2000
Cucurbitaceae	<i>Citrullus</i>	Alcaloïde,	Administration	Abdel-Hassan

	<i>colocynthis</i>	saponoside et glycoside de l'épicarpe des fruits	orale d'extraits chez les lapins diab. (Alloxane)	<i>et al., 2000</i>
	<i>Momordica charantia L.</i>	Extraits 50% méthanolique et extrait n-butanolique	30 mg /Kg administré par voie orale chez des rats diabétiques STZ	Higashino et al., 1992
Euphorbiaceae	<i>Croton cajucara</i>	Diterpène extrait de l'écorce	Rats diab. Alloxane	Farias et al., 1997
	<i>Phyllanthus urinaria Linn</i>	Extraits 50% méthanolique et extrait n-butanolique	Diminution de la glycémie 3 h après l'administration de 30mg/Kg par voie orale chez des rats diab. STZ	Higashino et al., 1992
	<i>Maprounea africana</i>	Extraits ethanologiques	Diminution de glucose après l'administration orale chez les souris	Carney et al., 1999
Lamiaceae	<i>Ocimum sanctum</i>	Extraits alcooliques des feuilles	Administration orale chez des rats normaux diab. STZ	Chattopadhyay, 1993
	<i>Marrubium vulgare</i>	Extrait brut par décoction	Administration intra gastrique chez des lapins avec hyperglycémie temporaire (solution de 50% dextrose 4ml/Kg)	Roman-Ramos et al., 1992
	<i>Salvia lavandifolia</i>	10mg/Kg Résidu secs	Rats diabétiques STZ	Zaruelo et al., 1990
	<i>Salvia fruticosa</i>	Extrait brut de Feuille par infusion	Administration orale chez les lapins diab. Alloxane	Perfumi et al., 1990

I.P : Inta péritonéale

Diab. : Diabétiques

STZ : Streptozotocine

III. Etudes ethnobotaniques et ethno pharmacologiques des plantes antidiabétiques

❖ Dans le monde :

Au cours de ces dernières années, l'étude ethnobotanique des plantes utilisées comme antidiabétiques a suscité un grand intérêt, le nombre de travaux publiés dans les revues spécialisées le montre bien [Bnouham, 2006 ; Calleja, 1990], l'étude pharmacologique des propriétés régulatrices de la glycémie donne une explication rationnelle sur l'effet thérapeutique et l'utilisation des plantes.

Plusieurs études ethnobotaniques et ethno-pharmacologiques montrent la diversité des plantes utilisées traditionnellement par la population diabétique dans le monde :

80% de la population mondiale utilise les plantes médicinales pour se soigner et traiter les maladies (diabète, hypertension, cancer,...), dont plus de 1200 espèces de plantes, recensées par les ethno pharmacologues, sont expérimentées contre le diabète de type 2. Ces plantes représentent 725 genres et 183 familles. 81% de ces plantes testées sur les animaux de laboratoire montrent une réduction de l'hyperglycémie [Marles et Farnsworth, 1996].

Au Maroc, Ziyat *et al.*, 1997 ; Merzouki *et al.*, 2000 ; Jouad *et al.*, 2001 ; Bnouham *et al.*, 2002 ; El Amrani *et al.*, 2010 ont classé plus de 100 plantes médicinales destinées au traitement du diabète dans ce pays.

Tableau n°02 : Résultats de quelques études ethnobotaniques sur les plantes antidiabétiques dans différentes régions du monde [Azzi, 2007]:

Pays (régions)	Nombre d'espèce	Référence
Algérie (région de Tlemcen)	80	[Benmehdi, 2000]
Algérie (région Ouest Algérien)	56	[Allali <i>et al.</i> 2008]
Maroc	41	[Ziyat <i>et al.</i> , 1997]
Maroc	94 espèces pour 38 familles	[Bnouham <i>et al.</i> , 2002]
Maroc (région de Fez- Boulomane : Nord Centre)	54	[Jouad <i>et al.</i> , 2001]
Israël, Golan et Palestine	26	[Said <i>et al.</i> , 2002]
Afrique du Sud (région d'Eastern Cape Province)	14 espèces pour 6 familles	[Erasto <i>et al.</i> , 2005]
Canada (Québec)	18 espèces pour 9 familles	[Leduc <i>et al.</i> , 2006]
Mexique	269	[Hernandez-Galicia1 <i>et al.</i> , 2002]
Inde	48	[Satyavati <i>et al.</i> , 1989]
Inde	800	[Grover <i>et al.</i> , 2002]
Inde (région de Sikkim et Darjeeling Himalayen)	37 espèces pour 28 familles	[Chherti <i>et al.</i> , 2005]
Chine	20	[Dharmananda, 2003]
le monde entier	53	[Bailey et Day, 1989]
le monde entier	389	[Padavala <i>et al.</i> , 2006]

❖ Dans la région de Tlemcen :

Dans la région de Tlemcen, une enquête ethnobotanique révèle que plus de 80 plantes sont traditionnellement utilisées pour traiter le diabète. La coloquinte (*Citrullus colocynthis*) est la plante la plus utilisée après le fenugrec [Benmehdi, 2000].

Ajad et Gurgabou, 2010, ont réalisé une enquête ethnobotanique auprès de 176 diabétiques de la région de Maghnia Wilaya de Tlemcen. Les résultats obtenus, soulignent 22% des diabétiques questionnés utilisent les plantes pour se traiter, cette étude a permis de recenser 27 espèces des plantes antidiabétiques réparties dans 18 familles, utilisées traditionnellement pour traiter le diabète.

Tableau n°03 : Quelques plantes antidiabétiques utilisées dans la région de Tlemcen [Benmehdi, 2000], parties utilisées et leurs modes de préparations traditionnelles [Bnouham et al., 2002] :

Familles Botanique	Noms scientifiques	Noms vernaculaires	Méthode de préparation	Parties utilisés
Apiaceae	<i>Daucus carota</i> L.	Zroudia	Jus, purée	Racines
	<i>Ferula asafoetida</i>	Hantit	Décoction	Résine
	<i>Foeniculum dulce</i> DC.	Besbas,	Décoction, inhalation	Résine, graines, feuilles, racine
Apocinaceae	<i>Nerium oleander</i> L.	Defla	Décoction, infusion, macération, fumigé	Feuilles
	<i>Ptychotis verticillata</i> L.	Nûnkha	Infusion	Partie aérienne
Brassicaceae	<i>Lepidium sativum</i> L.	Habb er sad, rchad,	Décoction, poudre	Graines
Cistaceae	<i>Cistus libanotis</i> L.	Yazir lahmir	Décoction	Feuilles
Compositae	<i>Artemisia arborescens</i> L.	Chhiba	Infusion	Partie aérienne
	<i>Artemisia herba-alba</i> Asso.	Shih,	Poudre	Racine, feuilles
	<i>Cynara scolymus</i> L.	Kharchouf,	Décoction	Racines, feuilles
Cucurbitaceae	<i>Citrullus colocynthis</i> L.	Handal	Maceration, utilisation externe	Fruits, pulpe
Cupressaceae	<i>Juniperus phoenicea</i> L.	Arâar	Décoction, poudre	
Fabaceae	<i>Glycyrrhiza glabra</i> L.	Arqsouss	Décoction	Fruits, racines
Geraniaceae	<i>Geranium robertianum</i> L.	Laatarcha	Infusion	Feuilles, fleurs, tige
Globulariaceae	<i>Globularia alypum</i> L.	Ain lamab	Décoction, infusion	Feuilles
Gramineae	<i>Cynodon</i>	Til, njem,	Décoction	Rhizomes

	<i>dactylon</i> L.	affie, tagamait		
	<i>Sorghum vulgare</i> L.	Bachna, tafsût	Bouillant	Graines
	<i>Stipa tenacissima</i> L.	EL Halfa	Lamiaceae	
Lamiaceae	<i>Ajuga iva</i> L.	Chendgora	Décoction, poudre	Partie aérienne
	<i>Lavandula dentata</i> L.	Khzama, taymerza	Décoction, infusion Poudre	Plante entier, fleurs
	<i>Marrubium vulgare</i> L.	Marrîwa	Décoction	Partie aérienne
	<i>Mentha pulegium</i> L.	Fliou	Infusion	Partie aérienne
	<i>Origanum compactum</i> Benth.	Zâtar	Infusion	Feuilles
	<i>Thymus ciliatus</i> (Desf.) Benth.	Z'atar, z'îtra	Décoction, Poudre	Feuilles
	<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	Yazir, barkella	Décoction, infusion	Partie aérienne
Leguminosae	<i>Trigonella foenum-graecum</i> L.	Halba	Décoction, poudre macération,	Graines
Liliaceae	<i>Allium sativum</i> L.	Toum,	Cru	bulbe
	<i>Allium cepa</i> L.	Elbesla	Cru	Bulbe
	<i>Aloe socotrina</i> Lamk.r	Sibr, sabr	Poudre, jus, sec	Feuilles
Moraceae	<i>Ficus carica</i> L.	Karma, kermôs	Extrait, poudre	Fruits, feuilles
Myrtaceae	<i>Eucalyptus globulus</i> Labill.	Kalitûs	Décoction, infusion Poudre	Feuilles, fleurs
	<i>Myrtus communis</i> L.	Raihane	Décoction, infusion	Fruits, feuilles
	<i>Syzigium aromaticum</i>	Qrûnfûl	Décoction, poudre	Fruits, feuilles
Oleaceae	<i>Olea europea</i> L. Var. oleaster	Zitoun, zebbouj	Décoction	Feuilles
Palmae	<i>Phoenix dactylifera</i> L.	Nakhla, ttmer	Infusion, poudre	Fruits, graines
	<i>Chamaerops humilis</i> L.	Doum		Résine
Punicaceae	<i>Punica granatum</i> L.	Qchour romman	Décoction, poudre	Péricarpe

Ranunculaceae	<i>Nigella sativa</i> L.	Sanouj	Poudre	Graines
Rhamnaceae	<i>Zizyphus lotus</i> L.	Sadra, nnbeg	Décoction, poudre	Fruits, feuilles
	<i>Zizyphus spina-christi</i>	Aroug essfizef	Décoction, poudre	Raciness
	<i>Rhamnus alaternus</i>	Meliles		
Rosaceae	<i>Prunus amygdalus Stokes var. Amara</i> D.C.	Louz mar, louz harr	Extraits	Graines
	<i>Cudonya oblonga</i>	Sferjel		
Rutaceae	<i>Ruta montana</i> L.	Fidjel	Décoction, infusion Poudre	Partie aérienne
Urticaceae	<i>Urtica urens</i> L.	Harrigua	Infusion	Partie aérienne
Zingiberaceae	<i>Zingiber officinae Roscoe.</i>	Zanjabil, skinjibir	Macération	Rhizomes
Zygophyllaceae	<i>Peganum harmala</i> L.	Harmal	Poudre, infusion	Graines
	<i>Zygophyllum album</i> L. ssp.	Aggaya	Décoction, infusion Poudre	Feuilles, tiges

IV. Substances naturelles à effets antidiabétiques

Des espèces végétales réputées antidiabétiques semblent agir à des niveaux différents. Leurs principes actifs sont de nature organique: polysaccharides, acides aminés [Al-Achi, 2005], flavonoïdes, saponosides, acides gras, alcaloïdes [Marles et Farnsworth, 1996 ; Dey *et al.*, 2002] ou de nature minérale, tel que chez *Atriplex halimus* où le chrome organique régule la glycémie en potentialisant l'effet de l'insuline [Aharonson *et al.*, 1969 ; Evans et Bowman, 1992].

Des composés ont été identifiés à partir d'une série de plantes ayant subi une évaluation scientifique. Ces composés, leur nature, leur mode d'action ainsi que leur source végétale sont classés dans le tableau suivant :

Tableau n°04 : quelques substances naturelles à effets antidiabétiques, leurs modes d'action et leurs sources végétales [Dey *et al.*, 2002]:

Composé	Nature chimique	Source	Mécanisme d'action possible
Polypeptide P	Polypeptide	<i>Momordica charantia</i>	Insulinomimétique administré par voie sous cutanée chez des diabétiques de type I [Marles et Farnsworth, 1996].
Charantine	Hétéroside stéroïdique	<i>Momordica Charantia</i> [Dey <i>et al.</i> , 2002] <i>Momordica foetida</i> [Marles et Farnsworth, 1996]	Mécanisme d'action exacte reste inconnu. Des études ont rapporté que : Le jus de <i>M. charantia</i> peut améliorer la tolérance au glucose chez les diabétiques de type 2 [Welihinda <i>et al.</i> , 1986]. L'extrait aqueux de <i>M. charantia</i> diminue la glycémie post prandial avec une réduction du taux de l'hémoglobine glycosylé [Srivastava <i>et al.</i> , 1993], augmente l'utilisation hépatique du glucose et inhibe la néoglucogenèse, il réprime l'insulinorésistance en augmentant le taux des transporteurs membranaires de glucose [Al-Achi, 2005]
Trigonelline	Alcaloïde	<i>Trigonella foenumgreacum</i> [Marles et Farnsworth, 1996; Dey <i>et al.</i> , 2002]	Les études réalisées sur les extraits bruts ont montré les effets suivants : Diminution de la glycémie post prandial. Diminution du taux de glucagon, somatostatine, insuline, cholestérol total et des triglycérides avec une augmentation de taux d'HDL-Cholestérol [Ribes <i>et al.</i> , 1984]. Ré sensibilisation des cellules à l'action de l'insuline [Al-Achi, 2005]
Allyl propyl disulfid	Dérivés de la cystéine	<i>Allium cepa</i>	Ces deux composés semblent agir par compétition avec l'insuline sur son récepteur [Marles et Farnsworth, 1996 ; Dey <i>et al.</i> , 2002 ; Al-Achi, 2005].
Diallyl disulfide Oxide	Dérivés de la cystéine	<i>Allium sativum</i>	
Ginsenosides	Hétéroside stéroïdique	<i>Panax ginseng</i>	La plante provoque une augmentation du nombre des transporteurs de glucose au niveau du foie avec stimulation de la synthèse de l'insuline [Al-Achi, 2005].

V. Etudes biologiques d'effets antidiabétiques des plantes

➤ à court terme :

Dans le but de suivre le début d'action des extraits des plantes, l'évolution de la glycémie peut être suivie à court terme durant les trois ou quatre premières heures après l'injection des différentes doses, selon le mode d'administration sélectionné, chez les rats rendus diabétiques ; comparés avec des témoins normaux et diabétiques.

➤ à moyen terme :

Les rats peuvent être aussi suivis au moyen ou à long terme, dans le but de suivre les effets et la durée d'action des extraits des plantes. En plus de la glycémie, d'autres paramètres biochimiques sériques (Cholestérolémie, Triglycéridémie, transaminases, créatinine, urée,...) et même urinaires (glucosurie, protéinurie, corps cétonique, pH, et trace du sang) peuvent être étudiés.

L'évolution du poids corporel est suivie périodiquement tout au long de l'expérimentation.

➤ In vitro :

La première caractéristique du diabète de type 2 est la désensibilisation du foie, des muscles squelettiques et du tissu adipeux à l'action de l'insuline. Ce processus, qui caractérise l'insulinorésistance, induit secondairement une insuffisance des cellules beta pancréatiques, insulino-sécrétrices, qui conduit à l'hyperglycémie. GLUT4 est le transporteur de glucose qui permet la captation du glucose circulant par les muscles et le tissu adipeux en réponse à l'insuline. [Bryant *et al.*, 2002].

➤ HGPO :

L'hyperglycémie provoquée par voie orale ou HGPO constitue une épreuve de diagnostic du diabète sucré. Elle est fondée sur l'élévation transitoire de la *glycémie* après un apport de glucose par voie orale. En pratique, elle consiste (après un premier prélèvement sanguin) à ingérer 75 grammes de glucose chez l'adulte (1,75 g/kg de poids chez l'enfant) en 5 minutes maximum, dilué dans 250 à 300 ml d'eau. Puis d'autres prélèvements sanguins sont réalisés toutes les 30 minutes pendant 120 minutes, pour dosage de la glycémie. Habituellement, les glycémies à jeun et à 120 minutes suffisent au diagnostic de diabète. [Bryant *et al.*, 2002]

VI. La coloquinte : « Citrillus colocynthis »

❖ Classification classique :

<u>Règne</u>	Végétale	<u>Sous classe</u>	Dialypétales
<u>Sous règne</u>	plantes vasculaires	<u>Ordre</u>	Violales
<u>Super division</u>	Spermaphytes	<u>Famille</u>	Cucurbitacées
<u>Division</u>	Angiospermes	<u>Genre</u>	<i>Citrullus</i>
<u>Classe</u>	Dicotylédones	<u>Espèce</u>	<i>Colocynthis</i>



Figure n°01 : La Coloquinte

❖ Nom binomial : Citrillus colocynthis

Classification phylogénétique :

Ordre : Cucurbitales

Famille : Cucurbitacée

❖ Noms vernaculaires (communs):

Arabe: Handal, Hadag, Handhal; Hantal, Hadjja; oorky,

Berber: Taberka, Tefersite, Tadjellet, alkat, Taferzizt

Français : coloquinte, chicotin

Anglais : Colocynth, bitter apple, bitter gourd

Allemand : Bitterzitrulle, Bitterapfel

Italien : coloquintida, popone amaro coloquinte [Sincich, 2002 ; Batanouny, 1999 ; John et Cincinnati, 1898 ; Merad, 1973 ; Bedevian, 1936 ; Carter, 1997 ; Ozenda, 1991; Assamarkandi, 1994].

❖ Description morphologique :

- La coloquinte est une plante rampante herbacée, annuelle ou vivace.
- Les tiges sont angulaires, rugueuses et ridés.
- Les feuilles de 5-10 cm de longueur ont un limbe découpé en 5 à 7 lobes.
- Les fleurs jaunes verdâtres, monoïques à sexes séparés, solitaires, apparaissent l'été : entre Mai et Aout à l'aisselle des feuilles.
- Les fruits ronds de 7-10 cm de diamètre ressemblent à une petite pastèque, de couleur verte panachée de jaune clair, devient complètement jaune à maturité.
- Chaque plante produit 15-30 fruits.
- Les graines de petite taille (≈6mm de longueur) ovoïdes, de couleur variant de l'orange au brun noirâtre et une saveur amère mucilagineuse. [Feinbrun, 1978 ; John et Cincinnati, 1898; Duke, 1983]

❖ Origine et distribution:

Originnaire de zones sèches d'Afrique du Nord, étant commune à travers le Sahara, les zones du Maroc, l'Egypte et le Soudan, l'est à travers l'Iran vers l'Inde et d'autres parties de l'Asie tropicale. Est connue depuis les temps bibliques et cultivées dans la région méditerranéenne, notamment à Chypre et en Inde depuis de nombreux siècles. [Duke, 1978].

❖ Action thérapeutique :

Pendant des périodes bibliques, les fruits ont été recueillis et considérés comme poison mortel. La plante est considérée comme cathartique, emménagogue, fébrifuge, hydragogue, purgative et vermifuge. La coloquinte est employée contre le diabète, l'ascite, la leucémie, le rhumatisme, des tumeurs et des troubles urogénitaux. [Duke, 1978]

❖ Composition chimique :

Les résultats d'examen phytochimique présenté par **Benmehdi en 2000** montrent la présence des alcaloïdes dans toutes les parties de la coloquinte surtout dans les graines et l'épicarpe, les stéroïdes et les tanins sont retrouvés dans toutes les parties et à des quantités moindres des flavonoïdes et les saponines. [Benmehdi, 2000]

❖ Cultivation :

Facile à cultiver à partir de graines, car elle se développe rapidement, ne nécessitant aucune attention une fois les champs ont été ensemencés [Duke, 1978].

❖ toxicité :

A des doses élevées, cette plante est hautement toxique pour les animaux et les humains. Les signes d'intoxication sont : douleurs gastro-intestinales avec diarrhée, vomissement, rétention urinaire, fatigue, hypothermie, désordre cardiaque et congestion cérébrale produisant un effondrement fatal [Charnot, 1945].

❖ *Citrullus colocynthis* comme plante anti-diabétique :

Plusieurs études ethno pharmacologiques classent la coloquinte comme étant une plante traditionnelle utilisée pour traiter le diabète. **Bnouham et al. en 2006**, ont classé la coloquinte parmi les plantes antidiabétiques les plus étudiées dans les recherches scientifiques entre 1990 et 2000 [Bnouham et al., 2006].

Au Maroc, elle est sélectionnée parmi les 94 plantes utilisées dans le traitement du diabète [Bnouham et al., 2002].

D'autres effets hypoglycémiantes et anti hyperglycémiantes ont été recherchés sur des extraits isolés à partir de différentes parties de la coloquinte ; citant :

En 2000, **Azzi et Boumellah** ont vérifié les effets antidiabétiques des saponosides et des glycosides extraits des graines de la coloquinte (*Citrullus colocynthis*) sur des rats Wistar rendus diabétique par la STZ. Ils ont constaté que l'injection de 20mg/kg p.c des saponosides ou 20mg/kg p.c des glycosides cucurbitacines extrait chloroformique par voie intra péritonéale provoquent une diminution significative de la glycémie durant 5 semaines chez les rats diabétiques [Azzi et Boumellah, 2002].

En 2003, **Benariba** a étudié l'effet antidiabétique d'extrait brut aqueux, des saponosides, des flavonoïdes et les acides aminés libres extraits des graines de la coloquinte (*Citrullus colocynthis*), *in vivo* sur des rats normaux et rendus diabétiques par la STZ (hyperglycémie permanente et hyperglycémie provoquée par voie orale) et *in vitro* sur les îlots de Langerhans isolés du pancréas de rat normal (évaluer l'effet insulinosécrétoire de chaque extrait). Elle a observé que ces extraits provoquent une diminution significative de l'hyperglycémie 6 heures après leurs injections aux rats diabétiques. De plus ils exercent un effet insulino- sécrétoire sur les îlots de Langerhans isolés [Benariba, 2003].

Aux Emirats Arabe Unis, **Wasfi (1994)** a recherché l'effet de l'extrait chloroformique et méthanolique des graines de *Citrullus colocynthis* sur des rats normaux et des rats rendus diabétique par la streptozotocine, durant 4 heures après une hyperglycémie provoquée par voie orale. Il a noté que l'administration par voie orale, avec 1g/kg du glucose, de 5ml/kg d'extrait chloroformique ou 500mg/kg d'extrait méthanolique ne provoquent aucun changement significative de la glycémie chez les rats normaux et même diabétiques. [Wasfi, 1994].

D'autres travaux ont été réalisés par **Nmila et al, en 2000**, ont montré l'effet insulino-tropique des extraits de fruits de *Citrullus colocynthis*. Ils ont observé que la perfusion durant 20 min de 0.1 mg/ml d'extrait brut ou d'extrait alcoolique aqueux ou de béta-pyrazol-1-ylalanine, stimule la sécrétion d'insuline dans le pancréas et les îlots de Langerhans isolés des rats, en présence de 8.3 mM du glucose [Nmila et al., 2000]

I. Enquête ethnobotanique :

Afin d'étudier l'utilisation des plantes antidiabétiques dans la wilaya d'ADRAR par la population diabétique, nous avons réalisé un questionnaire qui regroupe des informations sur les diabétiques que se soit de type 1, de type 2 ou autres types, son mode de vie, leur traitements éventuels, complications et surtout le recensement des plantes antidiabétiques utilisées par cette population.

- ❖ Nombre des diabétiques questionnés : 20 (8 type 1 ,10 type 2 et 2 type gestationnel)
- ❖ Enquête effectuée auprès de la population diabétique locale de la wilaya d'ADRAR.
- ❖ Durée d'enquête (15 jours) ;

Questionnaire diabète

I-Identification

N° :.....

Prénom :.....

Sexe :..... Age :..... Poids :.....

Adresse :..... Ville :..... Willaya :.....

II-Information sur diabète

Quelle est la date du diagnostic de diabète :.....

Type de diabète :

Diabète type 1 Diabète type 2
Diabète gestationnel Autres types

Quels traitements suivez-vous ?

Diététique Insulinothérapie
Antidiabétiques oraux (précisez la classe utilisée :.....)

Avez-vous souffert de :

Trouble de la vue Trouble cardiaque et de circulation
Trouble rénaux Hypertension artérielle

III-Information sur les plantes antidiabétiques

Connaissez-vous des plantes traditionnelles pour le traitement de diabète ?

Oui Non

Si oui, lesquelles ?.....

Utilisez-vous les plantes traditionnelles pour traiter le diabète ?

Oui Non

Si oui, lesquelles ?.....

Pensez-vous que les plantes médicinales sont efficaces que les autres traitements commercialisés ?

Oui Non

Date de questionnaire :..... réalisé par :.....

Source d'information :.....

II. Analyses phytochimiques

1- Matériel végétal :

L'étude a été faite sur des graines de la coloquinte *Citrullus colocynthis*, récoltées à maturité durant le mois de septembre dans la région d'Ain safra de la wilaya de Naama.

Au laboratoire, les graines sont récupérées à partir des fruits et séchées à l'abri de la lumière. Les graines sont ensuite broyées en poudre fine à l'aide d'un moulin à café.

2- Dégraissage du matériel végétal :

A fin d'éliminer les graisses et autres substances lipophiles qui peuvent perturber le processus extractif ultérieur, notamment en induisant la formation d'émulsions, il a été procédé à un dégraissage préalable des graines de coloquinte broyées, par percolation à l'aide d'un soxhlet.

Pour ce faire, Le corps de soxhlet, contenant une cartouche remplie de 100g des graines de coloquinte broyées, est monté sur un ballon rempli par 500ml d'hexane et est surmonté d'un réfrigérant. L'ensemble est porté à reflux pendant 6 heures à l'aide d'une chauffe ballon avec une température d'ébullition stable.

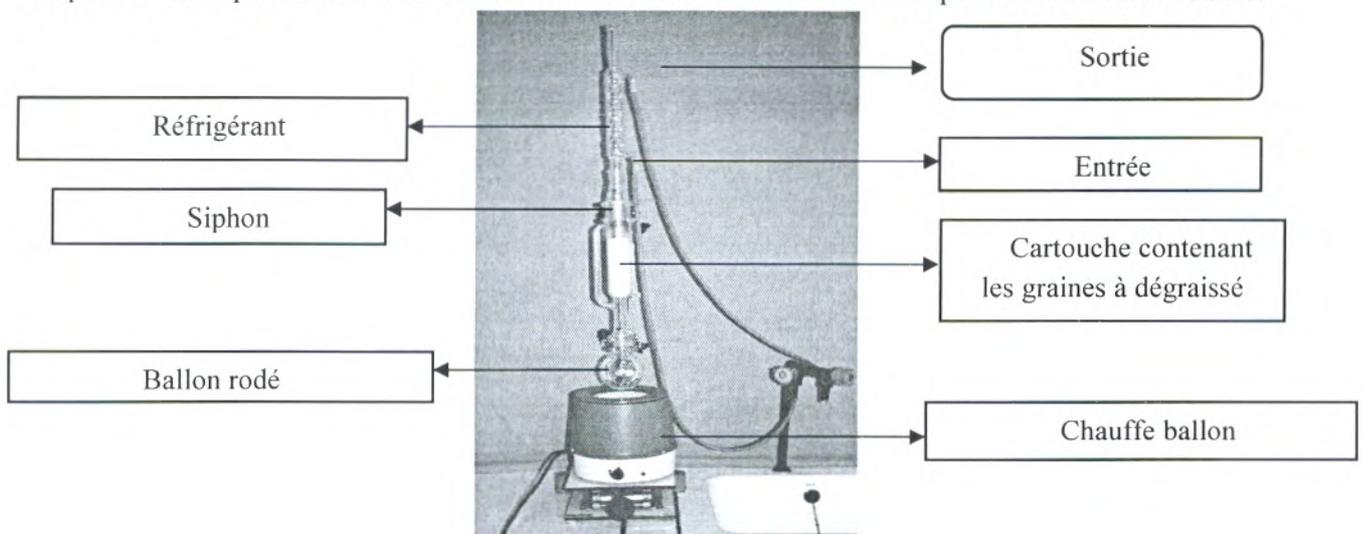


Figure n° 02: dégraissage par appareil de soxhlet.

3- Tests phytochimiques :

Nous avons réalisé une décoction des deux milieux pour faire ces tests:

- ❖ **Milieu chloroformique :** 10g des graines de *Citrullus colocynthis* dans 100 ml de chloroforme, à reflux pendant 2heures.
- ❖ **Milieu hydro-alcoolique :** 10g des graines de coloquinte dans un milieu de 70 ml méthanol/ 30 ml eau, à reflux pendant 2heures.

Il est indispensable de connaître la composition des plantes pour comprendre comment elles agissent sur l'organisme. Dans notre étude, nous voulons connaître de quoi est riche la coloquinte ?

❖ **Stérols et terpènes**

Réaction de Liebermann-Buchard : 5ml de solution chloroformique ou hydro-alcoolique sont mélangées séparément avec 5ml d'anhydride acétique et quelques gouttes d'acide sulfurique concentré y sont ajoutées. L'ensemble est agité et laissé au repos pendant 15min à température ambiante.

La formation d'un anneau rouge-brunâtre ou violet à la zone de contact des deux liquides et la coloration verte ou violette de la couche surnageante révèlent la présence de stérols et de triterpènes respectivement.

❖ Flavonoïdes

Recherche d'anthocyanes : A 5ml de solution à analyser, ajouter 5ml d'acide sulfurique puis 5ml d'hydroxyde d'ammonium (NH₄OH). Si la coloration s'accroît par acidification puis vire au bleu violacé en milieu basique, conclure à la présence d'anthocyanes.

❖ Tanins

Introduire dans un tube à essais 5ml de solution à analyser et ajouter 1ml de solution aqueuse diluée de FeCl₃ à 1%. En présence de tanins, il se développe une coloration verdâtre ou bleu-noirâtre.

❖ Alcaloïdes

Réactions de précipitation : Prendre trois tubes à essais pour chaque extrait, introduire 1ml de chaque extrait dans ses 3 tubes correspondant, ajouter cinq gouttes de réactif de **Mayer** dans le tube n°1, cinq gouttes de réactif de **Dragendorff** dans le tube n°2 et cinq gouttes de réactif de **Wagner** dans le tube n°3. En laissant reposer 10 minutes.

La présence des alcaloïdes est révélée par précipité blanc réactif de Mayer, brun (Wagner) et orange (Dragendorff).

❖ Saponosides

Caractérisation : Préparer 2 tubes à essais, chacun contient 5ml de l'un de ces extraits, ajuster le volume dans chaque tube à 10ml avec de l'eau distillée et agiter chaque tube dans le sens de la longueur pendant 15 secondes à raison de 2 agitations par seconde. Laisser reposer pendant 15 minutes et mesurer la hauteur de la mousse dans chaque tube. Le tube dans lequel la hauteur de la mousse est de 1cm permet de calculer l'indice de mousse.

4- Extraction des glycosides cucurbitacines :

- ❖ Extraction sous reflux, pendant 6 h, de 50g des graines de la coloquinte broyées et dégraissées en présence de 150ml de chloroforme ;
- ❖ Filtration de mélange et récupération du filtrat ;
- ❖ Elimination des traces d'eau qui peuvent refermer le solvant organique par l'addition de Na₂SO₄ ;
- ❖ Filtration ;
- ❖ Concentration de la phase organique à sec à l'aide d'un rotavapor ; les glycosides cucurbitacines (extrait chloroformique) sont obtenus sous forme un liquide visqueux de couleur marron.
- ❖ Extraction du même marc avec 200 ml d'éthanol 80% pendant 6heures ;
- ❖ Filtration et récupération du filtrat ;
- ❖ Extraction liquide-liquide du filtrat (3 à 4 fois) avec 50 ml d'acétate d'éthyle à l'aide d'une ampoule à décanté ;
- ❖ Elimination des traces d'eau qui peuvent refermer le solvant organique décanté par l'addition de MgSO₄ ;
- ❖ Concentration de la phase organique à sec à l'aide d'un rotavapor ;

Les glycosides cucurbitacines (extrait éthanolique) sont obtenus sous forme un solide de couleur brun.

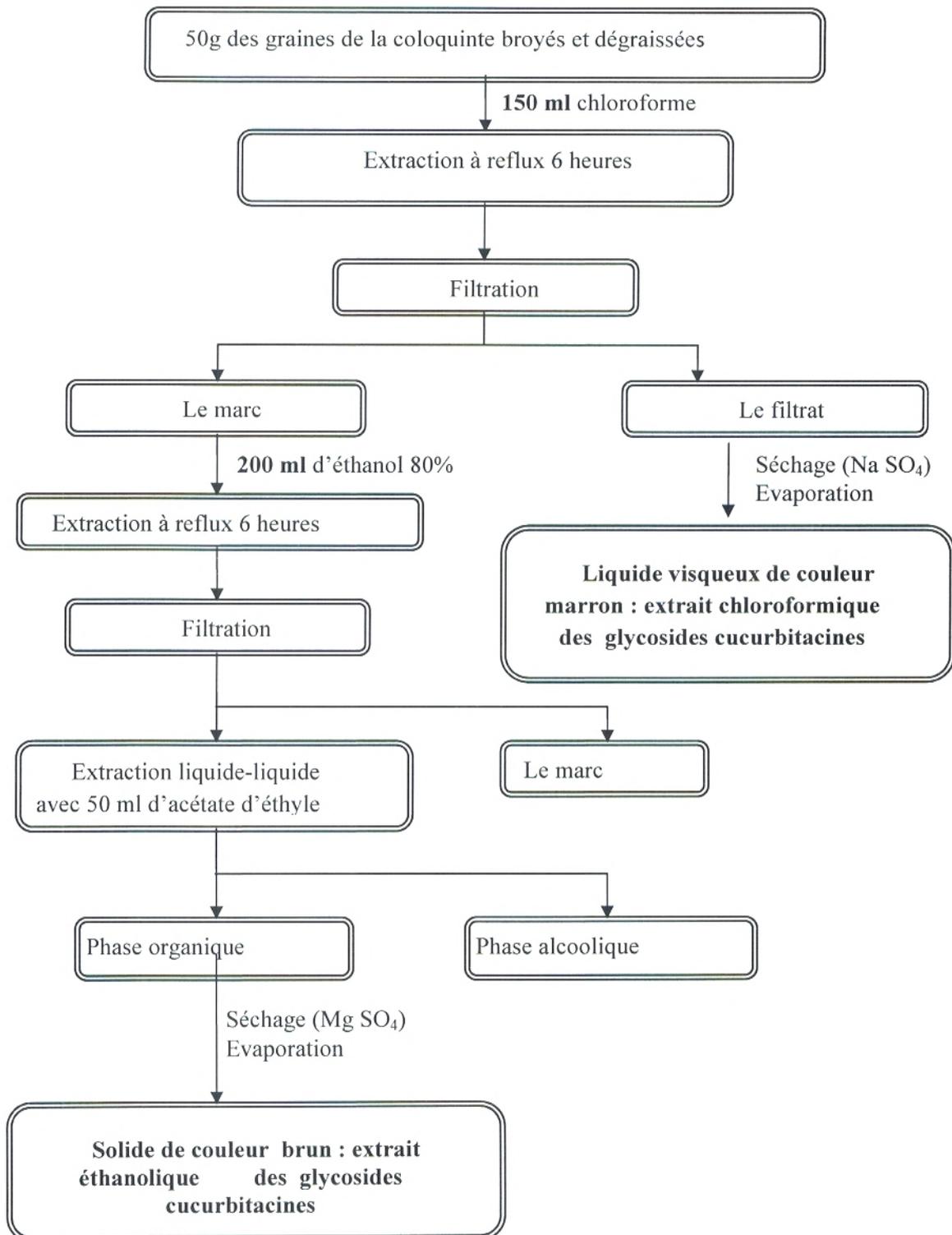


Figure n°03: Diagramme montrant l'extraction des glycosides cucurbitacines selon la méthode de Natiq et al. ,1989

5- Caractérisation des glycosides

Réaction de Liebermann Burchardt

5ml de solution éthanolique sont mélangées avec 5ml d'anhydride acétique et quelques gouttes d'acide sulfurique concentré y sont ajoutées. L'ensemble est agité et laissé au repos pendant 30min à température ambiante. Cette réaction donne avec les glycosides stéroïdiques et tritèrpeniques respectivement des colorations verte et verte violette.

III. Analyses biologiques :

L'extrait éthanolique des glycosides cucurbitacines des graines de *Citrullus colocynthis* est analysé pour l'effet anti-hyperglycémiant sur des rats Wistar normaux et rendus diabétiques à court et à moyen terme.

1- Les animaux :

Dans ce travail, nous avons utilisé des rats blancs (*Rattus norvegicus*) variété *Wistar* de sexe mâle et femelle âgés de 2 à 3 mois ayant un poids de 150 - 200g.

Les rats sont maintenus dans les conditions favorables d'élevage (au niveau de l'animalerie du département de biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie et sciences de la terre et de l'univers, université Abou Bekr Belkaïd (Tlemcen).

Les animaux sont nourris avec un aliment complet standard sous forme de granulés. Il est composé de maïs, tourteaux de soja, issus de meunerie, plus un complexe minéralo- vitaminiques (glucides 55%, protéines brutes 18%, matière grasse brute 3.4%, cellulose brute 3%, cendres brutes 4.9%, humidité 14%, vitamines 1.7%).

L'eau et l'aliment leur sont fournis ad libitum.

2- Induction du diabète expérimental :

Les rats sont rendus diabétiques par une injection intra-péritonéale de 55 mg/kg p.c. de STZ (Sigma Aldrich) préparée fraîchement dans une solution tampon de citrate (0,1 M, pH= 4,5).

Au bout de quelque jour, les rats sont suivis par la mesure de la glycosurie, la glycémie et le poids corporel.

Des bandelettes réactives (labstix) sont utilisées pour rechercher dans les urines : le glucose, les protéines, les corps cétoniques et les traces du sang et mesure du pH.

Les rats ayant une glycémie à jeun supérieur à 2 g/l et une glycosurie +++ sont considérés diabétiques et sont retenus pour l'expérimentation.

L'évolution du poids corporel est suivie périodiquement tout au long de l'expérimentation.

3- Répartition des lots des rats :

16 rats mâles et femelles sont utilisés, ils sont répartis en 4 lots de 4 rats chacun :

- ❖ Lot 1 : Rats témoins normaux **RNT**
- ❖ Lot 2 : Rats témoins diabétiques **RDT**
- ❖ Lot 3 : Rats normaux traités par les glycosides **RNTGly**
- ❖ Lot 4 : Rats diabétiques traités par les glycosides cucurbitacines éthanoliques **RDTGly**

4- Recherche d'effets anti hyperglycémiantes des extraits bruts éthanoliques des glycosides cucurbitacines :

4.1. A court terme

Les rats sont mis à jeun 18 heures avant l'injection des extraits.

Une glycémie basale est mesurée au début de l'expérimentation

Des doses de 50 mg/kg p.c. (poids corporel) des glycosides cucurbitacines (extrait éthanolique) des graines de coloquinte (*Citrullus colocynthis*) sont administrées par voie intra-péritonéale aux rats des lots 3 et 4. Les autres lots (1 et 2) reçoivent une injection intra-péritonéale d'eau physiologique (Na cl 0.9%) (Voir tableau n° 05).

Les rats sont suivis à court terme par des prélèvements sanguins, effectués au niveau de la veine caudale, à des temps réguliers : 0, 1, 2, 3h.

La glycémie est mesurée à l'aide d'un lecteur du glucose (glucomètre à bandelettes réactives One Touch ultra).

Tableau n°05: Répartition des lots expérimentaux et injection des extraits des graines de la coloquinte pour les tests antidiabétiques à court terme.

Lots	Effectifs	Poids moyen (g)	Extraits injectés	Doses injectés
RNT	04	211,3	Eau physiologique	0.9%
RDT	04	197,4		
RNTGly	04	162,5	Glycosides cucurbitacines éthanoliques	50mg/kg p.c.
RDTGly	04	173,7		

Les teneurs en glucose sont exprimées en g/l et les variations de la glycémie sont exprimées en pourcentage par rapport à la glycémie basale et calculée comme suit :

$$\text{Pourcentage de variation de la glycémie (\%)} = \frac{(G_t - G_0) \times 100}{G_0}$$

G_0 : glycémie basale (temps=0min)

G_t : glycémie à temps t.

4.2. A moyen terme

Les effets anti-hyperglycémiantes des extraits bruts éthanoliques des glycosides cucurbitacines des graines de la coloquinte, ont été recherchés durant 14 jours chez les rats normaux et rendus diabétiques décrits précédemment ; après une injection, unique, intra-péritonéale de 50 mg/kg p.c. d'extrait éthanolique aux rats des lots 3 et 4 et de NaCl 0.9% aux ceux des lots 1 et 2.

Les taux de glucose plasmatique, de cholestérol plasmatique et de triglycéride plasmatique sont mesurés au début et à la fin de l'expérimentation, à partir du sang prélevé du sinus rétro-orbital de rat à jeun. Le sang obtenu est centrifugé à 3000 tours par minute pendant 10 minutes.

Les teneurs en glucose sont exprimées en g/l et les variations de la glycémie sont exprimées en pourcentage par rapport à la glycémie basale.

➤ **Dosage de la glycémie**

❖ **Principe**

En présence de glucose-oxydase (GOD), le glucose est oxydé en acide gluconique et peroxyde d'hydrogène. Ce dernier, en présence de peroxyde (POD) et phénol, oxyde un chromogène (4-aminoantipyrine) incolore en un colorant rouge à structure quinoneimie. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration de glucose. [Trinder., 1969]



Réactif1 : Etalon de glucose à 1g/l. **Réactif2** : solution phénolique. **Réactif3** : Enzyme + amino-4-antipyrine + tampon phosphate 0.1M.

❖ **Méthode de dosage**

	Blanc	Etalon	Dosage
Solution du travail	1ml	1ml	1ml
Réactif	-	10µl	-
Sérum	-	-	10 µl

On mélange et on attend 10 mn à température ambiante, puis on lit la densité optique de dosage à 505 nm (DOD) contre la densité optique de l'étalon (DOE).

Calcul :

$$\text{Taux de glucose} = (\text{DOD}/\text{DOE}) \times 1\text{g/l.}$$

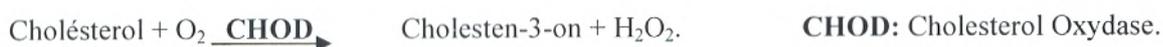
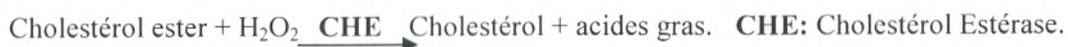
Les teneurs en glucose sont exprimées en g/l et les variations des la glycémie sont exprimées en pourcentage.

➤ **Dosage de la cholestérolémie**

❖ **Principe**

Le cholestérol est ses esters sont libérés à partir des lipoprotéines par des détergents.

Le cholestérol estérase hydrolyse les esters. H_2O_2 est formé dans l'oxydation enzymatique consécutive du cholestérol par le cholestérol oxydase selon les réactions suivantes [Trinder., 1969] :



Réactif1: tampon, PH 6.9, **Réactif2:** enzymes (CHE, CHOD et POD), **Réactif3:** Etalon de cholestérol ; (2g/l).

❖ Méthode de dosage

	Blanc	Etalon	Dosage
Etalon (Réactif3)		10 µl	
Sérum			10 µl
Solution du travail	1ml	1ml	1ml

On mélange, et on attend 5 mn à 37°C ou 10 mn de 20 à 25°C. Puis on lit la densité optique de dosage à 505 nm (DOD) contre la densité optique de l'étalon (DOE).

• Calcul :

$$\text{Taux de cholestérol} = (\text{DOD}/\text{DOE}) \times 2\text{g/l.}$$

➤ Dosage de la Triglycéridémie

Des techniques enzymatiques sont utilisées par plus de 90 % des laboratoires. Elles reposent sur le **dosage enzymatique du glycérol libéré après action de la lipase**. Le glycérol libre préexistant est en quantité très faible dans le sérum.

❖ Méthode de dosage

	Blanc	Etalon	Dosage
Etalon (Réactif3)		10 µl	
Sérum			10 µl
Solution du travail	1ml	1ml	1ml

On mélange, et on attend 5 mn à 37°C ou 10 mn de 20 à 25°C. Puis on lit la densité optique de dosage à 505 nm (DOD) contre la densité optique de l'étalon (DOE).

• Calcul :

$$\text{Taux de Triglycérides} = (\text{DOD}/\text{DOE}) \times 2\text{g/l.}$$

5- Analyses statistiques

Les calculs statistiques sont souvent utiles aux biologistes pour la détermination des valeurs normales ou plus exactement des valeurs de référence comme pour l'évaluation de précision et l'exactitude d'analyse.

❖ La moyenne :

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_i x_i$$

❖ La variance :

$$V_x = \frac{1}{n} \sum_i (x_i - \bar{x})^2$$

❖ L'écart-type :

$$\sigma_x = \sqrt{V_x}$$

❖ Test de Student :

Dans les études biologiques il est important de savoir si deux échantillons d'individus ou encore deux ou plusieurs séries de résultats d'expériences ou d'observations doivent être considérés comme réellement différents. On a impliqué ce test à but pour comparer deux moyennes.

- En cas de petits échantillons (n_1 et/ou $n_2 < 30$)

Comme notre cas on a 4 rats dans chaque lot, on applique cette loi ; Dans un premier temps on calcule la variance commune comme suit :

$$\sigma^2 = \sigma_1^2 + \sigma_2^2 = \frac{\sum(x-m_1)^2 + \sum(x-m_2)^2}{n_1+n_2-2} \Leftrightarrow \sigma^2 = \frac{n_1\sigma_1^2 + n_2\sigma_2^2}{n_1+n_2-2}$$

Dans ces conditions, la variance standard de la différence des moyennes est :

$$S_d^2 = \sigma^2 \left[\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right]$$

Pour comparer les deux moyennes on applique le teste de Student, à ν degrés de liberté qui dépend de la taille de l'échantillon :

$$\nu = d.l.l = n_1 + n_2 - 2$$

$$t_e = \frac{m_1 - m_2}{\sqrt{\sigma^2 \left[\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right]}}$$

Si le t calculé ou expérimentale est plus élevé que t_ν de la table de Student, la différence entre les moyennes des deux échantillons est significative [Schwartz D, 1992 ; Amotte M, 1971].

La valeur de « t » nous donne le degré de signification « p » lu sur la table de Student. La différence entre deux moyennes est :

- ❖ Peu significative : $P < 0.05$ (*) ;
- ❖ Significative: $P < 0.01$ (**) ;
- ❖ Très significative: $P < 0.001$ (***) ;
- ❖ Hautement Significative : $P < 0.0001$ (****)

I- Enquête ethnobotanique

Ce questionnaire est réalisé en trois parties :

- ❖ Des renseignements sur les diabétiques (l'âge, le poids et le sexe);
- ❖ L'état clinique des diabétiques (la date du diagnostic, type, traitements et complications du diabète) ;
- ❖ L'utilisation des plantes antidiabétiques chez la population étudiée (plante utilisée, efficacité et mode d'emploi)

1- Information sur les diabétiques questionnés

Tableau n°06: Répartition des diabétiques selon sexe, poids, âge, traitement et complications liées au diabète.

Questions	Répartition	Nombre	Type diabète	Nombre
Sexe	Masculin	07 (35%)	Type 1	03(15%)
			Type 2	04(20%)
	Féminin	13 (65%)	Type 1	06(30%)
			Type 2	05(25%)
Gestationnel			02(10%)	
Poids	25-60 kg	05(25%)	Type 1	02(10%)
			Type 2	03(15%)
	65-80 kg	13 (65%)	Type 1	03(15%)
			Type 2	09(45%)
			Gestationnel	02(10%)
	> 80 kg	01(05%)	Type 1	00(00%)
Type 2			01(05%)	
Age	10-50 ans	09(45%)	Type 1	05(25%)
			Type 2	02(10%)
			Gestationnel	02(10%)
	50- 75 ans	08(40%)	Type 1	01(05%)
			Type 2	07(35%)
	> 75ans	03(15%)	Type 1	01(05%)
Type 2			02(10%)	

- La répartition de la population étudiée selon le sexe présente un nombre élevée de sexe féminin que masculin d'ordre **65%** et **35%** respectivement. Des facteurs de risque tels que l'obésité, la sédentarité généralement plus présents chez la femme, peuvent expliquer ces différences entre les deux sexes. Mais, le sexe comme tel n'est pas considéré comme un facteur de risque pour le diabète de type 2.
- Le poids des diabétiques renseigne sur le risque d'obésité. Le gain de poids et la localisation abdominale de la graisse sont des facteurs de risque majeur de diabète type2 [Fumeron, 2005].

25% des cas recensés, dans notre étude, ont un poids normal entre 25-60kg, 65% des diabétiques étudiés, présentent un risque d'obésité dont le poids est entre 65-80 kg et 05% représentent un poids très élevé plus de 80kg.

- Nous avons noté des faibles cas des diabétiques de type 2 entre l'âge de 10 ans et 50 ans et une augmentation de nombre de diabétiques de type 2 après l'âge de 50ans. Ce qui confirme la classification de diabète donnée par l'OMS et ADA en 1997, où ils signalent que le diabète de type 1 auto-immune apparaît chez les sujet jeune et le diabète de type 2 touche généralement les personnes adultes.

La fréquence des diabétiques diminue significativement après l'âge de 75ans à cause de l'augmentation des taux de mortalité.

2- Etats cliniques des diabétiques

Tableau n° 07: Répartition des diabétiques selon le traitement et les complications liées au diabète.

Questions	Répartition	Nombre	Type diabète	Nombre
Traitement	Diététique	11 (55%)	Type 1	04(20%)
			Type 2	07(35%)
	Insulinothérapie	05 (25%)	Type 1	04(20%)
			Type 2	01 (5%)
	Antidiabétiques oraux	06 (30%)	Type 1	00 (5%)
			Type 2	06(25%)
Complications	Trouble de la vue	11 (55%)	Type 1	06(30%)
			Type 2	05(25%)
	Trouble rénaux	08 (40%)	Type 1	03(15%)
			Type 2	03(15%)
			Gestationnel	02(10%)
	Trouble cardiaque	02 (10%)	Type 1	01 (5%)
			Type 2	01 (5%)
	Hypertension artérielle	10 (50%)	Type 1	02(10%)
			Type 2	06(30%)
			Gestationnel	02(10%)

- Dans notre échantillon le nombre des diabétique de type 1 et de type 2 sont presque identique d'ordre de 40 % et 50% respectivement. Ces valeurs ne respresentent pas la répartition des types de diabète dans le monde publiée par l'OMS et l'ADA , qui soulignent la prédominance de nombre des daibétiques type 2 (90%) par rapport au diabétiques de type 1 (10%), de plus nous avons souligné 2 cas de type gestationnel.
- D'après les résultats obtenus, nous avons constaté qu'un faible nombre des diabétiques (55%), quelque soit de type de diabète 1 ou 2, prennent en considération les mesures diététiques comme un moyen pour traiter et soulager le diabète.

Dans notre enquête tous les diabétiques de type1 reçoivent l'insuline comme traitement unique et la majorité des diabétiques de type 2 se traitent par les antidiabétiques oraux.

- Dans notre étude, nous avons constaté que la plupart des diabétiques recensés souffrent des complications micro-angiopathique et macro angiopathique. Plus de 55% entre eux souffrent des troubles de vue et plus 50% d'hypertension artérielle, d'autres moins fréquents comme les troubles rénaux (40%) et cardiaques (10%).

De même. Il y a des cas, qui présentent plus d'une complication et d'autre ne présente aucune complication (05%).

3- Utilisation des plantes antidiabétiques :

Tableau n°08 : Répartition de la population diabétique selon l'utilisation des plantes antidiabétiques et leurs efficacités

Questions	Nombre	Type diabète	Nombre
Utilisent les plantes	08 (40%)	Type 1	01 (5%)
		Type 2	05 (25%)
		Gestationnel	02 (10%)
N'utilisent pas les plantes	12 (60%)	Type 1	08 (40%)
		Type 2	04 (20%)
Les plantes sont efficaces pour le traitement du diabète	05 (25%)	Type 1	00 (00%)
		Type 2	03 (15%)
		Gestationnel	02 (10%)
Les plantes ne sont pas efficaces pour le traitement du diabète	03 (15%)	Type 1	01 (5%)
		Type 2	02 (10%)

- Cette partie de questionnaire nous a permis de constater l'avis des diabétiques sur l'utilisation des plantes, leurs efficacités et surtout de recenser les différentes plantes antidiabétiques utilisées traditionnellement par cette population.
- D'après les réponses déclarées par les diabétiques questionnées, nous avons enregistré que 40% des diabétiques utilisent les plantes antidiabétiques et que 25% des diabétiques jugent l'efficacité de ces plantes.
- La bonne prise en charge des diabétiques par l'état, l'amélioration du niveau socioculturel, les risques de toxicité des plantes sont parmi les causes qui font que les diabétiques sont moins satisfaits de l'efficacité des plantes médicinales.

Enfin, l'enquête ethnopharmacologie réalisée les 20 diabétiques de la région d'Adrar nous a conduits à réaliser un tableau de 07 plantes antidiabétiques organisées par leurs familles, nom scientifique, nom vernaculaire, parties utilisées et modes de préparation.

Tableau n°09: les plantes antidiabétiques recensées par familles, noms vernaculaires, parties utilisées et modes de préparation :

Famille (nom scientifique)	Nom vernaculaire	Parties utilisées et méthodes de préparation	Nombre citation
Lamiacées <i>Rosmarinus officinalis L</i>	Azir	Parties aériennes	01 (5%)
Fabacées <i>Trigonella foenum-graecum L</i>	Halba	Graines en décoction ou en macération	07(35%)
Composées <i>Artemisia herba-alba</i>	Chih	Tiges, parties aériennes	01(5%)
Cucurbitacées <i>Citrullus colocynthis</i>	handhal	Graines, infusion	01(5%)

Cupressacées <i>Tertraclinis articulata</i> <i>Masters</i>	Araar	Feuilles en macération cônes	01(5%)
Punicacées <i>Punica granatum L</i>	Roman	Péricarpe en décoction	01 (5%)
Oléacées <i>Olea europea L</i>	Zitoun	Feuilles en décoction	01 (5%)

II. Analyses phytochimiques

I.1. Tests phytochimiques :

Notre étude nous a permis d'identifier les différents groupes chimiques présents dans les graines de la coloquinte (*Citrullus colocynthis*), préparées par décoction dans un milieu chloroformique ou hydro-alcoolique, à travers des réactions de caractérisation.

Tableau n°10: Résultats des tests phytochimiques

	Décoction en milieu chloroformique			Décoction en milieu hydro-alcoolique		
	Mayer	Wagner	Dragondroff	Mayer	Wagner	Dragondroff
Alcaloïdes	-	-	-	-	+ ou traces	-
Glycosides	++			-		
Flavonoïdes	-			-		
Tanins	-			+ ou traces		
Saponosides	-			-		

Le nombre de « + » est en fonction de l'intensité de la coloration et/ou des précipités.

+++ : Hautement positive, ++ : Très positive, + : positive, - : négative

Le screening phytochimique de ces graines a montré la présence des glycosides (stérols et triterpènes) dans les deux milieux avec une abondance dans celui chloroformique et un taux très faible des tanins dans le milieu hydro-alcoolique.

De plus, il a été observé l'absence des saponosides, flavonoïdes (anthocyanes), d'alcaloïdes en milieu chloroformique et des tanins dans le milieu hydro-alcoolique.

I.2. Extraction des glycosides cucurbitacines

Au cours de l'extraction, le matériel végétal est épuisé respectivement avec le chloroforme puis une solution hydroalcoolique (éthanol 80%)

Tableau n°11: analyses phytochimiques d'extrait éthanolique des glycosides cucurbitacines des graines de coloquinte :

Extrait, aspect physique	Masse (mg)	Rendement (%)
Solide de couleur brun	1500 mg	3%

L'extraction des glycosides cucurbitacines par l'éthanol 80% à partir de 50g des graines de coloquinte broyées et dégraissées, permet de récupérer 1500 mg d'un produit solide de couleur brune, avec un rendement de 3%.

II. Induction de diabète par Streptozotocine (STZ)

72h après l'injection de 55 mg/kg de STZ aux rats des lots 2,4 des deux groupes, Les observations suivantes ont été faites :

- ❖ Apparition des symptômes comportementaux : Polyurie ; Polydipsie et Polyphagie
- ❖ L'analyse Urinaire à l'aide des bandelettes «Labstrix» révèle :
 - Glycosurie : de ++ à +++ ;
 - pH : de 6 à 6,5 ;
 - Protéine : trace ;
 - Corps cétonique : - - - -
- ❖ L'analyse sanguine du taux de glucose :

La mesure de la glycémie montre un taux de glucose sanguin > à 2.5 g/l chez tous les rats ayant reçu une injection de STZ et ayant survécus.

III. Les effets antidiabétiques des extraits glycosidiques de la coloquinte :

III.1. Effets à court terme

L'évolution de la glycémie chez les rats diabétiques et normaux a été suivie durant les 3 premières heures (0, 1,2et 3h) qui suivent une injection unique intra-péritonéale d'extrait éthanolique des glycosides cucurbitacines des graines coloquinte (*Citrullus colocynthis*) à la dose de 50mg/kg p.c. aux normaux (Lot3) et rendus diabétiques (Lot4).

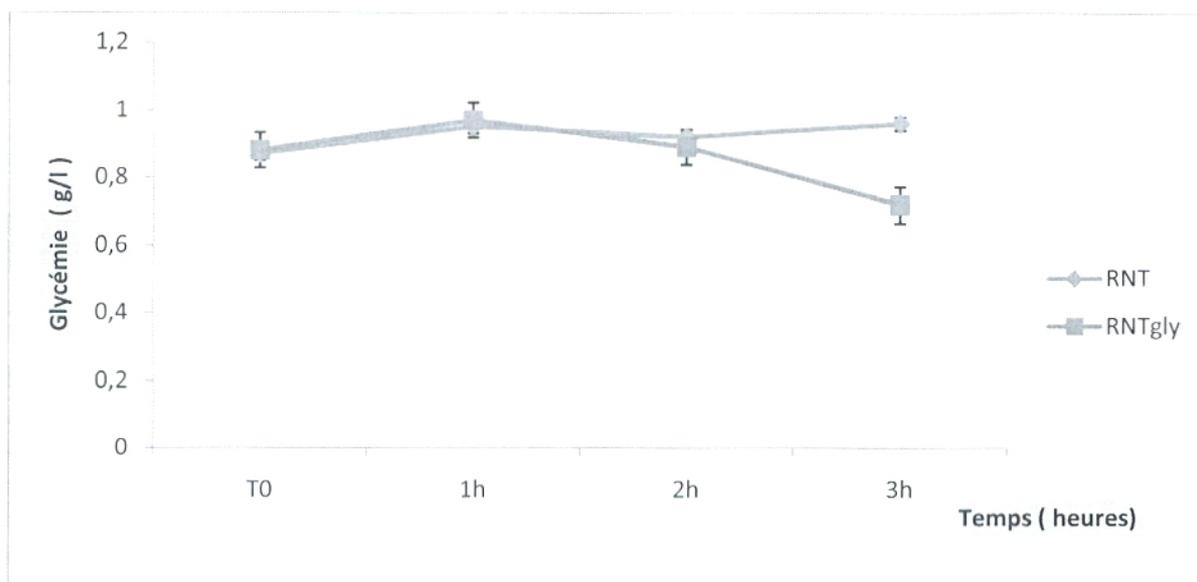


Figure n°04 : Evolution de la glycémie chez les rats normaux témoins et traités par l'extrait éthanolique des glycosides cucurbitacines de la coloquinte durant 3 heures.

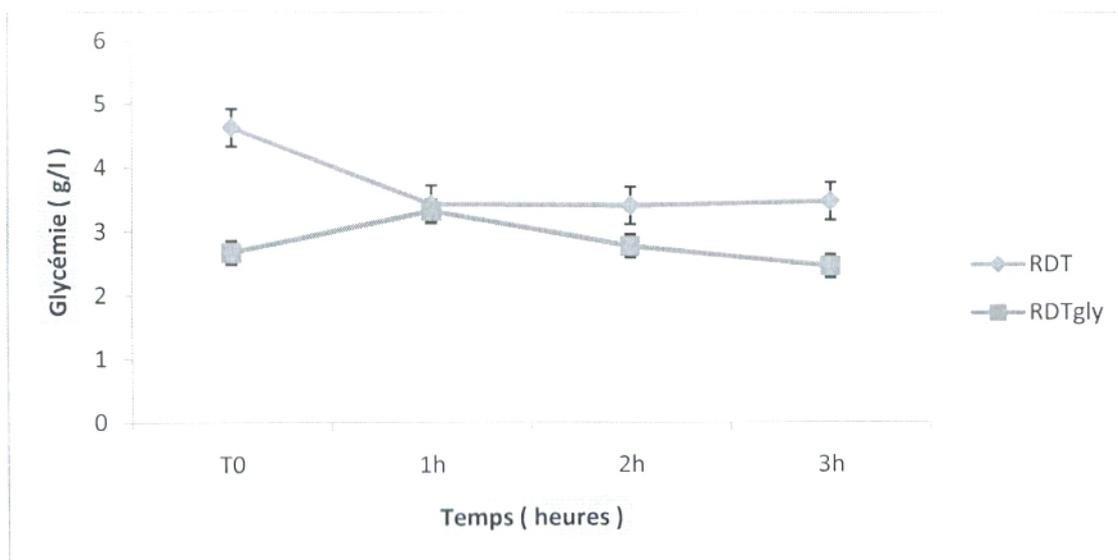


Figure n°05 : Evolution de la glycémie chez les rats diabétiques témoins et traités par l'extrait éthanolique des glycosides cucurbitacines de la coloquinte durant 3 h

Tableau n°12: l'évolution de la glycémie chez les rats normaux et diabétiques témoins et traités par les extraits éthanoliques des glycosides des graines de *Citrullus colocynthis* durant 3 heures par rapport aux T0.

Lots	N	pourcentage de variation de la glycémie (%) ± SEM			
		T0	1h	2h	3h
RNT	4	0,87±0,20	9,19±0,11	5,75±0,22	10,34±0,12
RDT	5	4,81±1,75	-22,87±1,36	-23,49±1,20	-24,67±1,53
RNTgly 50mg/kg	4	0,88±0,14	10,23±0,38	1,13±0,34	-18,18±0,31
RDTgly 50mg/kg	4	3,10±2,01	-21,93±2,15	-2,90±1,79	-2,25±1,60

3 heures après l'injection intra péritonéale de 50mg/kg p.c. d'extrait éthanolique des glycosides cucurbitacines aux rats diabétiques, il a été observé une légère diminution (non significative) de la glycémie par rapport aux T₀ d'ordres 2,25%. Dans les mêmes conditions nous avons enregistré une diminution de la glycémie chez les rats témoins diabétiques d'ordre de 24%.

Chez les rats normaux nous avons noté une diminution non significative de la glycémie chez les rats traités par 50mg/kg de l'extrait d'ordre de 18,18% par rapport au T₀.

III.2. Effete à long terme

❖ Evolution de la glycémie

Trois jours après l'installation du diabète chez les rats des lots 2,4 par l'injection de 55 mg/kg de STZ, une injection intra-péritonéale d'extrait éthanolique des glycosides cucurbitacines extraits des graines de la coloquinte (*Citrullus colocynthis*) aux rats diabétiques et normaux a été effectuée.

L'évolution de la glycémie chez les rats normaux et diabétiques :

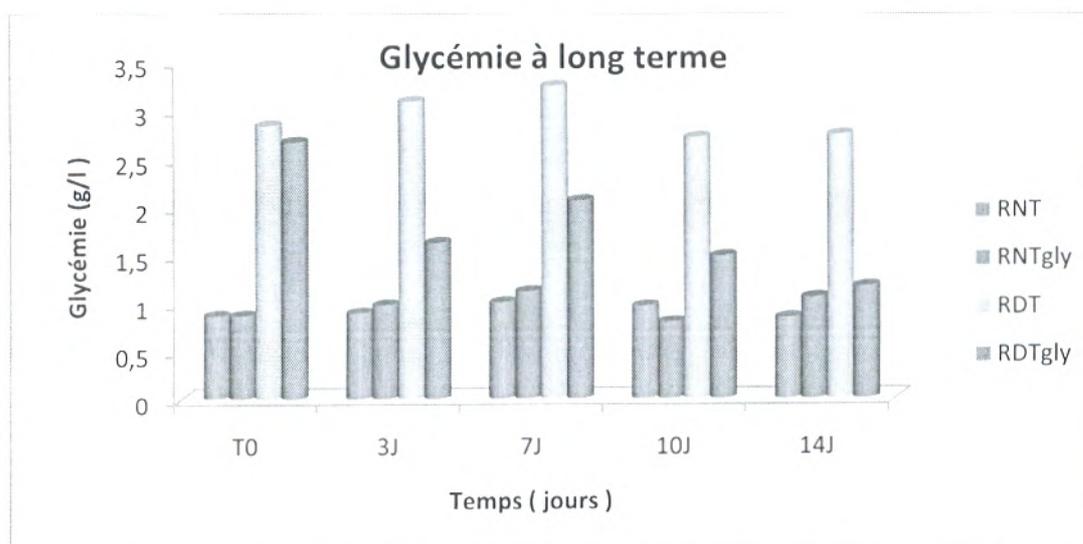


Figure n°06 : Evolution de la glycémie chez les rats normaux et diabétiques témoins et traités par l'extrait éthanolique des glycosides cucurbitacines de la coloquinte durant 14 jours.

Tableau n°13: l'évolution de la glycémie chez les rats normaux et diabétiques témoins et traités par l'extrait éthanolique des glycosides des graines de *Citrullus colocynthis* durant 14 jours par rapport aux T0.

Lots	N	pourcentage de variation de la glycémie (%) ± SEM				
		T0	3j	7j	10j	14j
RNT	4	0,87±0,20	+4,60±0,19	+14,94±0,15	+18,39±0,17	+1,14±0,20
RDT	4	4,81±1,75	-35,76±0,16	-32,43±0,13	-43,45±0,79	-42,83±0,43
RNTgly 50mg/kg	4	0,88±0,14	+11,36±0,12	+27,27±0,30	-9,09±0,15	-5,68±0,18
RDTgly 50mg/kg	4	3,10±2,01	-47,42±0,86	-33,22±0,80	-51,93±0,47	-62,26±0,34

Après l'injection intra péritonéale de 50mg/kg p.c. des glycosides aux rats diabétiques, nous avons noté une diminution d'ordre 62,26% de l'hyperglycémie par rapport aux T0 vers les valeurs normales de la glycémie qui persiste durant une semaine.

De plus, on note une diminution non significative de la glycémie chez les rats normaux traités par rapport aux rats témoins normaux d'ordre 5,68%.

❖ Evolution du poids corporel

Les résultats relatifs à l'évolution du poids corporel des animaux traités et témoins sont indiqués dans la figure :

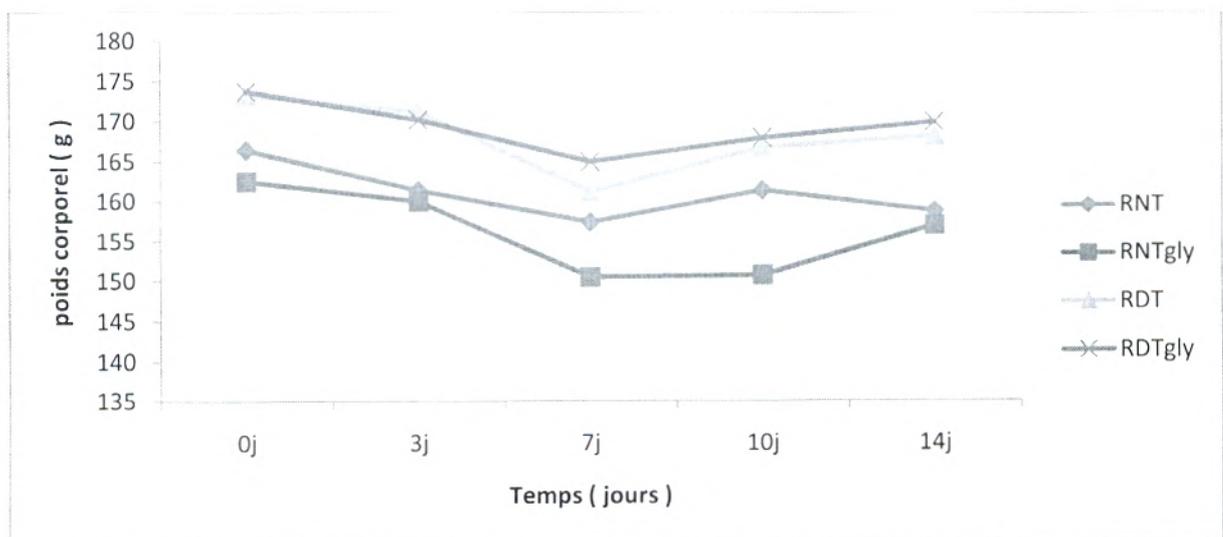


Figure n°07 : Evolution du poids corporel chez les rats traités par l'extrait éthanolique des glycosides cucurbitacines de la coloquinte durant 14 jours.

L'injection de 55mg/kg de STZ a provoqué une diminution significative du poids corporel des rats diabétiques.

Chez les rats diabétiques et normaux traités par l'injection de 50mg/kg d'extrait éthanolique des glycosides par voie intra péritonéale, il a été observé une légère diminution non significative du poids corporel, rapidement courgée à la fin de l'expérimentation. Cette diminution est due probablement à l'effet de l'extrait et même au régime alimentaire mal équilibré.

❖ *Evolution des paramètres biochimiques : triglycéridémie et cholestérolémie*

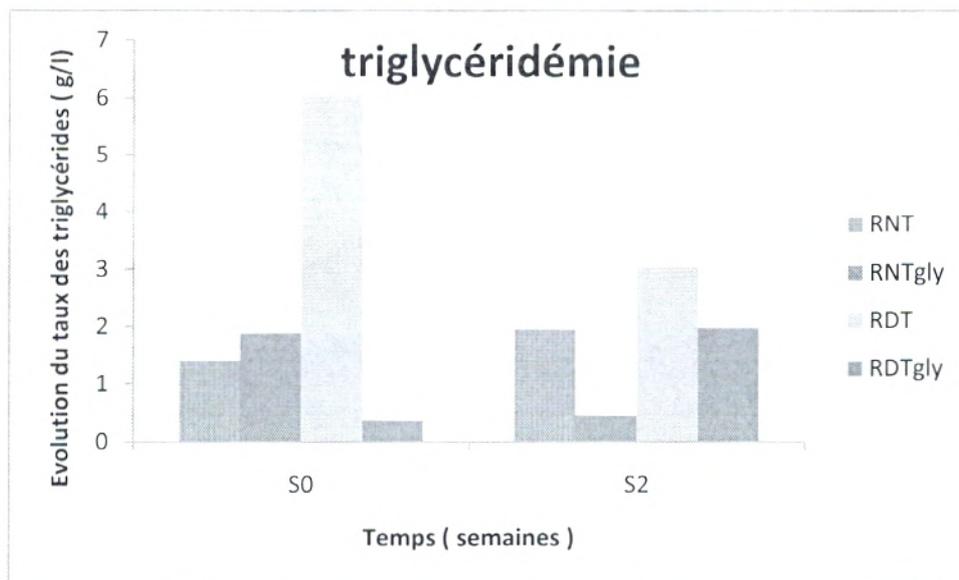


Figure n°08 : Evolution de la triglycéridémie chez les rats normaux et diabétiques témoins et traités par les glycosides cucurbitacines de la coloquinte durant deux semaines

Les résultats obtenus ne présentent aucune influence de l'extrait des glycosides cucurbitacines extraits des graines de la coloquinte sur la triglycéridémie chez les rats normaux et même diabétiques.

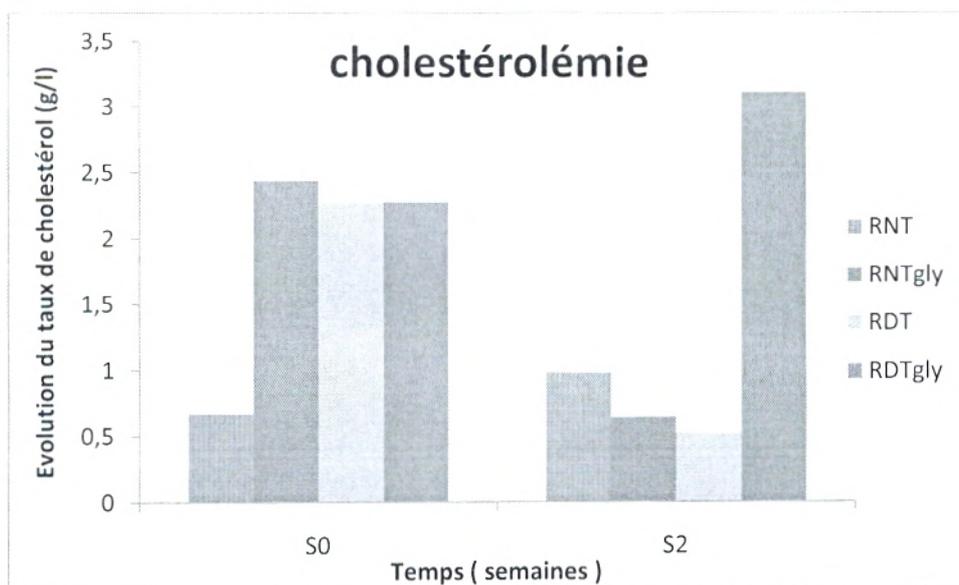
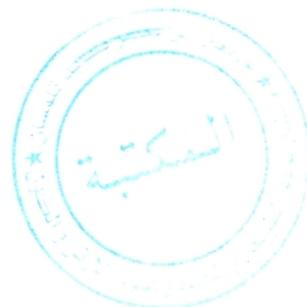


Figure n°09 : Evolution de la cholestérolémie chez les rats normaux et diabétiques, témoins et traités par les glycosides cucurbiacines de la coloquinte durant deux semaines.

Après deux semaines, un état d'hypercholestérolémie a été enregistré chez rats diabétiques traités par l'extrait des glycosides de la coloquinte par rapport au S0.

Par contre nous n'avons pas noté des différences significatives de la cholestérolémie chez les rats normaux.



Discussion:

L'enquête ethnobotanique réalisée auprès de 20 diabétiques de la région d'Adrar nous a amené à recenser 07 plantes utilisées traditionnellement pour traiter le diabète.

Ces plantes sont présentées dans un tableau qui résume le nom scientifique de la plante, la famille, le nom vernaculaire courant utilisé dans la région étudiée, la partie utilisée (plante entière, partie aérienne, tige, racines, feuilles, fruits,...) et les méthodes de préparation traditionnelle (infusion, décoction, macération,...).

Plus de 1200 espèces de plantes recensées par les ethnopharmacologues, sont expérimentées contre le diabète de type 2. 81% de ces plantes testées sur les animaux de laboratoire montrent une réduction de l'hyperglycémie [Marles et Farnsworth, 1996].

Plusieurs études ethnobotaniques et ethno-pharmacologiques montrent la diversité des plantes antidiabétiques utilisées traditionnellement par la population algérienne, magrébines, arabe et partout dans le monde :

Au Maroc, Ziyat et al., 1997 ; Merzouki et al., 2000 ; Jouad et al., 2001 ; Bnouham et al., 2002 et El Amrani et al., 2010 ont classé plus de 100 plantes médicinales destinées au traitement du diabète dans ce pays .

Bnouham et al., en 2006, ont regroupé dans leur synthèse bibliographique l'ensemble des plantes antidiabétiques étudiées et reportées dans la littérature entre 1990 et 2000. Ils ont recensé 176 espèces de plantes intégrées dans 84 familles à pouvoir antidiabétique clair.

Allali et al. en 2008, ont recensé 56 plantes antidiabétiques utilisées par la population de l'Ouest d'Algérie. De même, Benmehdi en 2000, a enregistré dans son enquête ethnobotanique 80 plantes traditionnellement utilisées pour traiter le diabète dans la région de Tlemcen (Algérie)

Dans notre étude, nous nous sommes intéressés par l'effet antidiabétique d'extraits éthanoliques des glycosides cucurbitacines des graines de la coloquinte (*Citrullus colocynthis*).

Plusieurs études ethnopharmacologiques classent la coloquinte comme étant une plante traditionnelle utilisée pour traiter le diabète. Bnouham et al. en 2006, ont classé la coloquinte parmi les plantes antidiabétiques les plus étudiées dans les recherches scientifiques entre 1990 et 2000 [Bnouham et al., 2006].

En Arabie saoudite, Emirats Arabes unies, Jordanie, Israël, Palestine et Golan, les graines et les fruits de la coloquinte sont recommandés aux diabétiques pour leurs effets antidiabétiques [Wasfi, 1994 ; Lev et Amar, 2002 ; Saïd et al., 2002].

Les résultats de screening phytochimique de ces graines, préparées par décoction dans deux milieux chloroformique et hydro-alcoolique, ont montré la présence des glycosides (stérols et triterpènes) dans les deux milieux avec une abondance dans celui chloroformique et un taux très faible des tanins dans le milieu hydro-alcoolique. De plus, il a été observé l'absence des saponosides, flavonoïdes (anthocyanes), d'alcaloïdes et des tanins dans le milieu hydro-alcoolique.

Les résultats d'examen phytochimique présentés par Benmehdi en 2000, montrent la présence des alcaloïdes dans toutes les parties de la coloquinte surtout dans les graines et l'épicarpe. Les stéroïdes et

les tanins sont retrouvés dans toutes les parties, et à des quantités moindres les flavonoïdes et les saponines. Il a aussi mentionné que les coumarines, les anthracénosides, les anthraquinones, les ergolines et les émодols sont totalement absents [Benmehdi, 2000].

D'après Sawaya et al, 1986, Les Graines de coloquinte contiennent 26,6% d'huiles 13,5% des protéines, 2,1% des cendres, 52,9% des fibres brutes, 4,9% d'azote libre et contient 322 mg/100g de potassium, 119 mg/100g de phosphore et 3,3 mg/100 g de fer [Sawaya et al, 1986]. Contiennent aussi la phytosteroline (ipurand), 2 phytosterols, 2 hydrocarbures, saponines, alcaloïdes, polysaccharides, glycosides, et des tannins [Duke, 1978].

L'extraction des glycosides cucurbitacines à partir de 50g des graines de coloquinte broyées et dégraissées permet de récupérer 1500mg d'un produit solide de couleur brun, avec un rendement de 3%.

Darwish –Sayed et al. En 1974, ont montré que les graines de la coloquinte récoltées dans la région de Marsa –Mtrouh (Egypte) extraites avec le chloroforme contiennent quatre glycosides cucurbitacines .Et huit lorsqu'ils sont extraites par l'éthanol, dans un mélange du solvant contenant n-Butanol, l'acide acétique et l'eau (4/1/5)

De même ,Natiq et al .en 1989, ont identifié quatre glycosides cucurbitacines (2-O-β-D-glucopyranosyl-cucurbitacine I, 2-O-β-D-glycopyranosyl-cucurbitacine E, 2 -O-β-D-glucopyranosyl-cucurbitacine L e et 2-O-β-D-glucopyranosyl-(22-27) hexanorcucurbitacine I) à partir d'extrait chloroformique de la partie aérienne et les fruits delà coloquinte broyées et dégraissées récoltées dans la région de Basrah (Sud Iraq)et seulement deux glycosides cucur

Kbitacines (2-O-β-D-glucopyranosyl-cucurbitacine I, 2-O- β-Dglucopyranosyl-cucurbitacine L) à partir d'extrait éthanolique des même parties utilisées .la phase mobile utilisé est formé par le chloroforme et méthanol (17 :3).

Delazar et al .en 2006, ont été isolé et identifié à partir des fruits trois flavones glycosides : isosaponarine, isovitexine et isoorientine 3'-O-méthyl éther, et deux glycisides cucurbitacines :2-O- β-D-glucopyranosyl-cucurbitacine I et 2-O- β-D-glucopyranosyl –cucurbitacine L.

L'injection de 55mg /kg de streptozotocine(STZ) provoque la destruction sélective partielle des cellules β des ilots de langerhans. Elle induit une élévation aigue de la glycémie entre la première et la deuxième heures (en rapport avec une glycogénolyse intense du stress), puis diabète sucré durable ; entraînant une hyperglycémie chronique et une altération du métabolisme lipidique et protéique, résultant d'un défaut de la sécrétion d'insuline [Giroud et al., 1988 ; West et al., 1996 ;Szkudelski 2001].

Les résultats des analyses biologiques in vivo (à court et à moyen terme) obtenus dans notre étude montrent bien les effets anti hyperglycémiant des extraits des glycosides cucurbitacines des graines de la coloquinte *Citrullus colocynthis*:

L'administration intra-péritonéale de l'extrait éthanolique des glycosides cucurbitacines à des doses de 50 mg/kg p.c chez les rats diabétiques provoque une diminution de l'hyperglycémie à court terme durant 3 heures avec des taux de variation de la glycémie de (- 18 ,18%, 2,25% respectivement.

De même, l'administration intra-péritonéale d'une dose unique provoque une diminution de l'hyperglycémie à moyen terme qui persiste une semaine.

Plusieurs recherches confirment l'effet antidiabétique d'extrait éthanoliques des glycosides citant :

Azzi en 2007, a montré que l'extrait chloroformique et éthanoliques des glycosides (20mg/kg) de la coloquinte provoque une diminution de l'hyperglycémie chez les rats rendus diabétiques par la streptozotocine à court terme et à long terme.

Abdel-Hassan et al. (2000), ont montré que l'administration par voie orale de 50 mg/kg des glycosides extraits de l'épicarpe de *Citrullus colocynthis* (la coloquinte) provoque une diminution significative de la glycémie après 2h et 3h et très significative après 6h chez des lapins normaux.

Zhang et Tan (2000), ont montré qu'une seule dose (150mg/kg p.c) d'extrait éthanolique de *Gynura procumbens* Merr, famille des Astéracée, administrée par voie orale, provoque une diminution significative de la glycémie chez les rats rendus diabétiques par la STZ. De même, ils n'ont pas noté un effet hypoglycémiant chez les rats normaux.

Abdel-barry et al. (1997), ont démontré que l'administration intra-péritonéale de 0.8g/kg d'extrait éthanolique des feuilles de *Trigonella foenum-graecum* L. (Fenugrec) famille des légumineuses provoque une diminution significative de la glycémie chez les rats rendus diabétiques par l'alloxane. De même, ils n'ont pas noté un effet hypoglycémiant chez les rats normaux.

Pushparaj et al. (2000), ont noté que les tests de tolérance orale au glucose chez des rats rendus diabétiques par l'alloxane, montrent que l'administration orale deux fois par jour de 125mg/kg d'extrait éthanolique des feuilles d' *Averrhoa bilimbi* L. (Bilimbi) famille des Oxalidées; réduit la glycémie à 50% et la triglycéridémie à 130% chez les rats diabétiques par rapport aux témoins.

Kako et al. (1995), ont étudié l'effet hypoglycémiant de Senegin-II, principal glycoside isolé des rhizomes de *Polygala senga* l. (*Senga radis*) famille des polygalacée. Ils ont montré que l'administration intra-péritonéale de 2.5mg/kg p.c réduit (après 4 heures) significativement la glycémie chez les souris KK-Ay (model des souris diabétiques) et les souris normales.

L'effet d'extrait éthanolique des graines d'*Eugenai jambolana* famille des myrtacées a été étudié par **Sharma et al (2003)**. Ils ont trouvé que l'administration orale de 100mg/kg p.c d'extrait éthanolique provoque une diminution significative de la glycémie de 18.9% à court terme (après 90 min de traitement) et 21%, 90 min après un gavage de 2.5g/l du glucose (test tolérance au glucose) chez les lapins rendus diabétiques par l'alloxane.

Conclusion générale

L'enquête ethnobotanique, réalisée sur 20 diabétiques de la région d'ADRAR, nous a permis de recenser 07 plantes médicinales antidiabétiques utilisées traditionnellement par cette population, parmi eux, on cite la coloquinte.

A allumière des résultats des analyses biologiques, nous pouvons conclure que les doses de 50mg/kg p.c. d'extrait éthanolique des glycosides cucurbitacines extraits des gaines de coloquinte (*Citrullus colocynthis*), administrées par voie intra péritonéale chez les rats normaux et rendus diabétiques par la streptozotocine (55mg/kg), présentent un effet anti hyperglycémiant à court et à moyen terme.

Ces résultats mériteraient d'être approfondis et des travaux complémentaires seraient nécessaires tels que :

- Etablir un questionnaire auprès des herboristes et des médecins.
- Identifier, caractériser, et séparer des différentes fractions des glycosides cucurbitacines par les méthodes d'analyses chimiques : Chromatographie sur colonne, HPLC, CPG, RMN,...
- Utiliser d'autres espèces animales et modèles expérimentaux,...
- Dosage d'autres paramètres plasmatiques : l'insulinémie, hémoglobine glycosylé ... ;
- Élargir le nombre des rats expérimentaux.

X-References bibliographiques:

1. **Abdel-barry JA, Abdel-Hassan IA et Al-Hakiem MH ., 1997.** Hypoglycaemic and anti-hyperglycaemic effects of *Trigonella foenum-graecum* leaf in normal and alloxan induced diabetic rats. *J Ethnopharmacol*; 58: 149- 155.
2. **Abdel-Hassan I , Abdel-Barry J A et Mohammeda S T., 2000.** The hypoglycaemic and antihyperglycaemic effect of *Citrullus colocynthis* fruit aqueous extract in normal and alloxan diabetic rabbits. *Journal of Ethnopharmacology*; 71: 325-330
3. **Aharonson Z , Shani J (Mishkinsky), Sulman FG., 1969.** Hypoglycaemic effect of the salt bush (*Atriplex halimus*) - a Feeding source of the sand rat (*Psammomys obesus*). *Diabetologia*; 5: 379-383.
4. **Ajad et Gurgabou, 2010.** Plantes antidiabétiques de la région de Maghnia et recherche d'effets antihyperglycémiant d'alcaloïdes des graines de la coloquinte (*Citrullus colocynthis*) chez les rats normaux et rendus diabétiques. DES Biochimie Département de biologie, faculté des sciences, Université de Tlemcen.
5. **Al amrani F, Rhallab A, Alaoui T, El Badaoui K et Chakir S., 2010.** Etude ethnopharmacologique de quelques plantes utilisées dans le traitement du diabète dans la région de Meknès-Tafilalet (Maroc).
6. **Allali H, Benmehdi H , Dib M A, Tabti B, Ghalem S et Benabadji N., 2008.** Phytotherapy of Diabetes in West Algeria. *Asian journal of chemistry* ; 20 (04) : 2701-2710.
7. **Azzi R et Boumellah O, 2002.** Contribution à l'étude des effets antidiabétiques des saponosides et des glucosides extraits de la coloquinte (*Citrullus colocynthis*) sur des rats Wistar rendus diabétique par la Streptozotocine et la recherche de ses effets antifongiques sur *Fusarium oxysporum*. Mémoire DES en Biochimie. Département de Biologie, Faculté des sciences, Université de Tlemcen.
8. **Azzi R, 2007.** Contribution à la recherché des effets antidiabétiques des alcaloïdes et des glycosides cucurbitacines extraits des graines de coloquinte (*citrullus colocynthis*) chez les rats Wistar rendus diabétiques par la streptozotocine. Mémoire Magistère en biologie. Département de biologie, faculté des sciences, Université de Tlemcen.
9. **Baily C J et Day C, 1989.** Traditional plant medecines as treatments for diabetes. *Diabetes Care*; 12(8):553-564
10. **Batanouny K H, Abou Tabl S, Shabana M et Soliman F., 1999.** Wild medicinal plants in Egypt: An Inventory to Support Conservation and Sustainable Use. Academy of Scientific Research and Technology, Egypt International Union for Conservation (IUCN).
11. **Beaudeau J.L and Dominique B.R., 2005.** Radicaux libres et stress oxydant. Aspects
12. **Bedevian A K, 1936.** Illustrated Polyglottic Dictionary of Plant names. Cairo, Argus D Papazian Presses.
13. **Benariba N, 2003.** Contribution a l'etude antidiabétique des extraits de graine de la coloquinte (*Citrullus colocynthis*) chez le rat Wistar rendu diabétique par la Streptozotocine. Mémoire de Magistère en Biologie Moléculaire et Cellulaire. Département de biologie, Faculté des sciences, Université de Tlemcen.
14. **Benmehdi H, 2000.** valorisation de certaines plantes médicinales à activité hypoglycémiantes comme la coloquinte. Mémoire de magistère en chimie organique appliquée. Département de chimie faculté des sciences Université Tlemcen.
15. **Bnouham M, Mekhfi H, Legssyer A et Ziyat A., 2002.** Ethnopharmacology Forum Medicinal plants used in the treatment of diabetes in Morocco. *Int J Diabetes & Metabolism*; 10: 33-50.
16. **Bnouham M, Ziyat A, Mekhfi H, Tahri A et Legssyer A., 2006.** Medicinal plants with potential antidiabetic activity - A review of ten years of herbal medicine research (1990-2000). *Int J Diabetes & Metabolism*; 14: 1-25.

17. **Bryant NJ, Govers R, James DE., 2002.** Regulated transport of the glucose transporter GLUT4. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 3:267-277.
18. **Carter I, 1997.** Plantes protectrices pastèque sauvage. *Revue Pas à Pas Tear Fund (Angleterre)* ; 32 : 9.
19. **Charbonnel B et cariou B, 1997.** Diabète non insulino-dépendant: indications thérapeutiques. *Médecine thérapeutique* ; 3.hs: 103-11.
20. **Charnot A, 1945.** la toxicologie au Maroc. *Mémoire de Soc. Nat. Du Maroc, Rabat, n°XLVII* : 826.
21. **Chhetri D R, Parajuli P et Subba G C., 2005.** Antidiabetic plants used by Sikkim and Darjeeling Himalayan tribes, India. *Journal of Ethnopharmacology*; 99:199-202.
22. **Darwish-Sayed M, Balbaa S I et Afifi MSA ; 1973 :** Nitrogenous bases of the different organs of *Citrullus colocynthis*. *Planta Medica* 24(3) : 260-265.
23. **Delazar A ,Gibbons S, Kosari A R, Nazemiyeh H, Modarressi M, Nahar L et Satyajit D; 2006 :** Flavone C-Glycosides and cucurbitacin Glycosides from *Citrullus colocynthis*. *DARU*. 14(3) :109-114.
24. **Dey et al.; 2002.** Dey lucey MD, Anoja S, Attele DDS, Chun-Su Yuan MD . Alternative therapies for type 2 diabetes. *Alternative medicine Review.*; 7(1): 45-58.
25. **Dharmananda S, 2003.** Treatment of diabetes with Chinese herbs and acupuncture. *Internet journal of the institute for traditional medicine and preventive health care.*
26. **Dirckx JH, 1998.**The Honeyed Siphon: Diabetes Mellitus Past, Present and Future. *Perspectives Fall*. 35-41.
27. **Duke J A, 1978.** The quest for tolerant germplasm.. In: ASA Special Symposium 32, Crop tolerance to suboptimal land conditions. *Am. Soc. Agron. Madison, WI*: 1-61.
28. **Duke J A, 1983.** *Citrullus colocynthis* (L) Schad. *Handbook of Energy Crops.*
29. **Eddouks M , Maghrani M et Michel J,B., 2005.** Hypoglycemic effect of *Triticum repens* P. Beauv in normal and diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 102: 228-232
30. **Erasto P, Adebola P O, Grierson D S et Afolayan A J., 2005.** An ethnobotanical study of plants used for the treatment of diabetes in the Eastern Cape Province, South Africa. *African Journal of Biotechnology*; 4 (12): 1458-1460.
31. **Evans GW et Bowman TD, 1992.** Chromium Picolinate Increases Membrane Fluidity and rate of Insulin Internalization. *J of Inorganic Biochemistry*. 46: 243-250.
32. **Farias RA , Rao VS , Viana GS., 1997.** Hypoglycaemic effect of trans-dehydrocrotonin, a nor-clerodane diterpene from *Croton cajucara*. *Planta Med*; 63: 558-560.
33. **Feinbrum Dothan N, 1978.** *Flora Palaestina. Part III.* The Israeli Academy of Sciences and Humanities, Jerusalem.
34. **FID, 2009.** Fédération Internationale du Diabète ; *Diabetes Atlas. 4th Edition.* International Diabetes Federation.
35. **Gin H et Rigalleau V, 1999.** Diabétiques et diabète. *EMC Endocrinology nutrition.* ; 10-366-R-10:6p.
36. **Giroud J P ,Tchobrotsky J ,Slama G et Chast F., 1988.** Pharmacologie clinique :base de la thérapeutique. *Expansion scientifique française 2^{ème} éd.* 1921 :2311-12.
37. **Grimaldi A, 2004.** Diabétologie. *Question d'internat.* CHU-PS/15-23.99-129.
38. **Grover J K , Yadav S et Vats., 2002.** Medicinal Plants of India With anti-diabetic potential. *Journal of Ethnopharmacology*; 81:81-100.
39. **Herman MP, 1998.** Diabète de type 2 et adaptation thérapeutique. *Louvain Med*; 118 : S2-S8.
40. **Hernandez-Galicia E , Aguilar-Contreras A , Aguilar-Santamaria L , Roman-Ramos R , Chavez-Miranda A A , Garcia- Vega L M , Flores-Saenz J L et Alarcon-Aguilar F J.,**

2002. Studies on Hypoglycemic Activity of Mexican Medicinal Plants. Proc. West. Pharmacol. Soc. ; 45: 118-124.
41. **Higashino H , Suzuki A et Tanaka Pootakham K., 1992.** Hypoglycemic effects of Siamese *Momordica charantia* and *Phyllanthus urinaria* extracts in streptozotocin-induced diabetic rats. *Nippon Yakurigaku Zasshi*; 100:515-521.
 42. **Jaspreet V , Sivakami S , Shahani S , Sulhar AC , Banavalikar MM , Biyani MK., 2003.** Jaspreet Antihyperglycemic effect of three extracts from *Momordica charantia*. *J of ethnopharmacology*; 88: 107-111.
 43. **Jenkins A.J , Hill M.A and Rowley K.G., 2007.** Diabetes and Oxidant Stress. *Atherosclerosis and Oxidant Stress. A New Perspective.* Holtzman J.L (ed).p123-160.
 44. **John U et Cincinnati O, 1898.** *Citrullus colocynthis*. Reprinted from the Western druggist. Chicago.
 45. **Jouad H , Haloui M , Rhiouni H , El Hilaly J et Eddouks M., 2001.** Ethnobotanical survey of medicinal used for the treatment of diabetes, cardiac and renal diseases in the North center region of Morocco (Fez- boulemane). *Journal of Ethnopharmacology*; 77: 175-182.
 46. **Kako M, Miura T et Usami M., 1995.** Effect of Senegin-II on blood sugar in normal and NIDDM mice. *Biol Pharm Bull* 1995; 18: 1159-1161
 47. **Lavis V.R , Picosos M.K and willerson J.T., 2008.** Endocrino disorders and the heart.ISC 2295-2315.
 48. **Leduc C , Coonishish J , Haddad P et Currier A., 2006.** Plants used by Cree Nation of Eeyou Istchee (Quebec, Canada) for treatment of diabetes: A novel approach in quantitative ethnobotany. *Journal of Ehtnopharmacology*; 105: 55-63.
 49. **Lev E et Amar Z ;2002** :Ethnopharmacology survey of traditional drugs sold in the Kingdom of Jordan.*Journal of Ethnopharmacology* ;82 :131.145.
 50. **Marles R J et Farnsworth N, 1996.** antidiabetic plants and their active constituent. *Prot. J Bot Med* ; 1 (3) : 85-135.
 51. **Merad Chiali R, 1973.** Plantes thérapeutiques : traditions, pratiques officinales, science et thérapeutique. Tec. Doc.
 52. **Merzouki A , Ed-Derfoufi F et M olero M E S A J., 2000.** contribution to knowledge of rifian traditional medecine.2 : Flok medecine in Ksar Lekbir (NW Morocco). *Fitoterapia*; 71-278-307.
 53. **Natiq A R H , Donald A W et Nahia J Y., 1989.** Cucurbitacin glycosides from *Citrullus colocynthis*. *Phytochemistry*; 28 (4): 1268-1271.
 54. **Niyah Njike G , Watcho P , Nguelefack TB , Kamanyi A., 2005.** Hypoglycaemic activity of the leaves of *Bersama engleriana* in rats. *Afr J Trad.*; 2(3): 215-221.
 55. **Nmila R , Gross R , Rachid H , Roye M , Manteghetti M , Petit P , Tijane M , Ribes G et Sauvare Y., 2000.** insolinotropic Effect of *Citrullus colocynthis* fruit extracts. *Planta Medica*; 66: 418-423.
 56. **Ohnishi Y, Takagi S, Miura T., 1996.** Effect of ginseng radix on Glut 2 protein content in mouse liver in normal and epinephrine-induced hyperglycemic mice. *Biol Pharm Bull* ; 19: 1238-1240.
 57. **OMS (Organisation Mondiale de la Santé), 2002.** Diabète sucré. Aide mémoire ; N°138.
 58. **Padavala A B , Gadde , Radha , Vedurupaka , Talluru , Yellapu et Kolli., 2006.** A database of 389 medicinal plants for diabetes. *Bioinformation* ; 1(4): 130-131.
 59. **Perez RM , Cervantes H , Zavala MA., 2000.** Isolation and hypoglycemic activity of 5,7,3'-trihydroxy-3,6,4'-trimethoxyflavone from *Brickellia veronicaefolia*.*phytomedicine*;

60. **Perez-Gutierrez R M , Perez-Gonzalez , C,Zavala MA et Perez- Gutierrez S., 1998.** Hypoglycemic activity of *Bouvardia terniflora* , *Brickillia veronicaefolia*, and *Parmentiera edulis*. *Salud Publica Mex*;40:354-358.
61. **Perfumi M , Arnold N et Tacconi R., 1991.** Hypoglycaemic activity of *Salvia fruticosa* Mill. From Cyprus. *Ethnopharmacol*; 34: 135-140.
62. **Professeur Serge HALIMI, 2003.** Le diabète de type 2 ou diabète non insulinodépendant (DNID) (223b)
63. **Pushparaj P, Tan CH et Tan BK; 2000.** Effects of *Averrhoa bilimbi* leaf extract on blood glucose and lipids in streptozotocin-diabetic rats. *J Ethnopharmacol*; 72: 69-76.
64. **Raccah, 2004.** Epidémiologie et physiopathologie des complications dégénératives du diabète sucré. *EMC-Endocrinologie*.1(1) : 29-42.
65. **Rahimi R , Nikfar S , Larijani B and Abdollahi M., 2005.** A review on the role of antioxidants in the management of diabetes and its complications. *Biomedicine and pharmacotherapy* 59:365-373.
66. **Ribes G , Sauvaire Y et Baccou JC., 1984.** Effects of fenugreek seeds on endocrine pancreatic secretions in dogs. *Ann Nutr Metab*.28:37-43.
67. **Roman-Ramos R , Lara-Lemus A et Alarcon-Aguilar F., 1992.** Hypoglycemic activity of some antidiabetic plants. *Arch Med Res* ;23:105-109.
68. **Said O , Khalil K , Fulder S et Azaizeh H., 2002.** Ethno pharmacology survey of medicinal herbs in Israel. the Golan height and the West Bank region. *Journal of Ethnopharmacology*; 83:251-265.
69. **Satyavati G V , Neeraj T et Madhu S., 1989.** Indigenous plant drugs for diabetes mellitus.
70. **Sawaya W N , Dagher N J et Khalil J K., 1986.** *Citrullus colocynthis* seeds as a potential source of protein for food and feed. *Journal-of Agricultural and Food Chemistry*; 34: 2, 285-88.
71. **Sharma S B, Nasir A, Prabhu K M, Murthy et Dev G; 2003.** Hypoglycemic and hypolipidemic effect of ethanolic extract of seeds of *Eugenia jambolana* in alloxan-induced diabetic rabbits. *Journal of ethnopharmacology*; 85: 201-206.
72. **Sincich F, 2002 .** Bedouin Traditional Medicine in the Syrian Steppe. Rome, FAO: 114-115.
73. **Spurgeon David, 1995.** À chacun son rythme. Dans *Vents du Sud: La contribution du monde en développement à la science*. CRDI: 154. ISBN 0-88936-737-X.
74. **Srivastava Y , Venkatakrisna-Bhatt H , Verma Y., 1993.** Antidiabetic and adaptogenic properties of *Momorica charantia* extract. An experimental and clinical evaluation. *Phytother Res*.7:285-289.
75. **Sui DY , Lu Z.Z , Li SH et Cai Y., 1994** Hypoglycaemic effect of Saponin isolated from leaves of *Acanthopanax senticosus* (Rupr. Et Maxim.) Harms]. *Chung Kuo Chung Yao Tsa Chih*; 19: 683-685.
76. **Szkudelski T; 2001: The mechanism of Alloxan and Streptocotocin action in B cells of the rat panceas .***Physiol .Res*.50 :536-546.
77. **The expert Committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus., 1997.** Report of the Expert Committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* ; 20: 1183-1197.
78. **Trinder P ,1969.** Determiration of Glucose in Blood using Glucose Oxidase with an alternative oxygen acceptor. *Ann clin Biochem*; 6: 24–27.
79. **Wang BX , Yang M et Jin Y L., 1990.** Studies on the hypoglycemic effect of ginseng polypeptide. *Yao Hsueh Pao*; 401-405.
80. **Wasfi I, 1994 .** some pharmacological Studies on *Citrullus colocynthis* .*Journal of Herbs, spices and Medicinal plants* ;2(2) :65-79.

81. **Welihinda J , Karunanayake EH , Sheriff MH and Jayasinghe KS., 1986.** Effect of *Momorica charantia* on glucose tolerance in maturity onset diabetes. *J Ethnopharmacology*.17:277-282.
82. **West E,Simon O R et Morrison E Y ;1996 :**Streptozotocin alters pancreatic beta – cell responsiveness to glucose within six hours of injection into rats.*West Indian Med.J*.45 :60-62.
83. **Yoshikawa M , Matsuda H , Harada E., 1994.** A new hypoglycemic principle from the root corex of *Aralia elata* seem; Structure-related hypoglycemic activity of eleanolic acid glycosides.*Chem Pharm Bull (Tokyo)*;42: 1354-1356.
84. **Zarzuolo A , Risco S , Gamez MJ., 1990.** Hypoglycaemic action of *Salvia lavandulifolia* Vahl. Spp. *Oxyodon*: a contribution to studies on the mechanism of action. *Life Sci*; 47: 909-915.
85. **Zhang XF et Tan BK., 2000.** Effects of an ethanolic extract of *Gynura procumbens* on serum glucose, cholesterol and triglyceride levels in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Singapore Med J.*; 41: 9-13.
86. **Ziyyat A , Legssyer A , Mekhfi H , Dassouli , Serhrouchni M et Benjelloun W., 1997.** Phytotherapy of hypertension and diabetes in oriental Morocco. *Journal of Ethnopharmacology* ; 58: 45-54.

ANNEXES:

I. Tableaux des résultats d'effet antidiabétique des extraits de coloquinte à court terme

1.1. Chez les rats normaux

Tableau 1 : Evolution de la glycémie chez les rats témoins normaux (Na cl 0.9%).

	T0	1h	2h	3h
R1	0,81	0,87	0,69	0,8
R2	0,56	1,04	1,13	1,03
R3	0,97	0,84	0,79	0,93
R4	1,13	1,06	1,08	1,08
Moy	0,87	0,95	0,92	0,96
ecart type	0,24	0,11	0,22	0,12

Tableau 2 : Evolution de la glycémie chez les rats normaux traités par glycosides cucurbitacines (50mg/kg).

	T0	1h	2h	3h
R1	1,06	1,37	1,15	1,02
R2	0,84	1,06	0,94	0,94
R3	0,73	0,46	0,4	0,39
R4	0,88	0,99	1,07	0,51
Moy	0,88	0,97	0,89	0,72
ecart type	0,14	0,38	0,34	0,31

1.1. Chez les rats diabétiques

Tableau 3 : Evolution de la glycémie chez les rats témoins diabétiques (Na cl 0.9%).

	T0	1h	2h	3h
R1	1,72	1,49	1,85	1,32
R2	6	4,29	4,01	4,5
R3	5,49	4,64	4,64	4,65
R4	5,3	3,32	3,16	3,48
Moy	4,62	3,43	3,41	3,48
ecart type	1,96	1,41	1,20	1,53



Tableau 4 : Evolution de la glycémie chez les rats diabétiques traités par les glycosides cucurbitacines (50mg/kg)

	T0	1h	2h	3h
R1	1,41	1,25	1,45	1,32
R2	1,37	1,79	1,49	1,39
R3	1,9	4,27	2,18	2,02
R4	6	6	6	5,15
Moy	2,67	3,33	2,78	2,47
écartype	2,23	2,21	1,99	2,03

II. Tableaux des résultats d'effet antidiabétique des extraits de coloquinte à moyen terme

1.1. Evolution de la glycémie chez les rats normaux

Tableau 5: Evolution de la glycémie chez les rats témoins normaux (Na cl 0.9%).

	3J	7J	10J	14J
R1	0,91	0,77	1,21	1,09
R2	1,01	1,05	1,15	1,02
R3	1,1	1,08	0,83	0,68
R4	0,65	1,12	0,96	0,75
Moy	0,91	1,00	1,03	0,88
écartype	0,19	0,15	0,17	0,20

Tableau 6: Evolution de la glycémie chez les rats normaux traités par les glycosides cucurbitacines .

	3J	7J	10J	14J
R1	1,13	1,51	1,01	1,1
R2	1,02	1,04	0,64	0,78
R3	0,96	0,77	0,82	0,76
R4	0,82	1,17	0,75	0,69
Moy	0,98	1,12	0,80	0,83
Ecartype	0,12	0,30	0,15	0,18

1.2. Evolution de la glycémie chez les rats diabétiques

Tableau 7: Evolution de la glycémie chez les rats témoins diabétiques (Na cl 0.9%).

	3J	7J	10J	14J
R1	2,96	3,11	3,36	2,26
R2	3,09	3,25	1,56	2,79
R3	2,98	3,44	3,01	3,31
R4	3,31	3,2	2,95	2,63
Moy	3,09	3,25	2,72	2,75
écartype	0,16	0,13	0,79	0,43

Tableau 8: Evolution de la glycémie chez les rats diabétiques traités par les glycosides cucurbitacines.

	3J	7J	10J	14J
R1	1,32	0,93	0,81	1,29
R2	1,13	2,31	1,76	1,45
R3	1,16	2,23	1,54	0,78
R4	2,92	2,81	1,86	
Moy	1,63	2,07	1,49	1,17
écartype	0,86	0,80	0,47	0,34

1.1. Evolution du poids corporel chez les rats normaux

Tableau 9: Evolution du poids corporel chez les rats témoins normaux (Na cl 0.9%).

	0j	3j	7j	10j	14j
R1	150	148	142	150	144
R2	188	180	160	162	157
R3	177	172	171	176	174
R4	161	154	163	161	160
Moy	169	163,5	157,4	159	158,8
Ecartype	15,69	13,81	11,19	9,42	10,68

Tableau 10: Evolution du poids corporel chez les rats normaux traités par les glycosides cucurbitacines.

	0j	3j	7j	10j	14j
R1	168	160	157	155	164
R2	151	152	141	148	150
R3	177	170	160	155	165
R4	154	158	144	145	149
Moy	162,5	160	150,5	150,75	157
Ecartype	12,17	7,48	9,39	5,05	8,67

2.1. Evolution du poids corporel chez les rats diabétiques

Tableau 11: Evolution du poids corporel chez les rats témoins diabétiques (Na cl 0.9%).

	0j	3j	7j	10j	14j
R1	215	208	208	215	206
R2	158	152	142	149	152
R3	150	155	128	133	140
R4	170	170	167	170	175
Moy	173,25	171,25	161,25	166,75	168,25
Ecartype	29,02	25,73	35,09	35,55	29,05

Tableau 12 : Evolution du poids corporel chez les rats diabétiques traités par les glycosides cucurbitacines.

	0j	3j	7j	10j	14j
R1	170	170	157	159	145
R2	215	210	198	200	185
R3	182	181	187	190	180
R4	128	120	118	123	
Moy	173,75	170,25	165	168	170
Ecartype	35,94	37,50	35,80	34,70	21,79

❖ Les résultats des paramètres biochimiques :

➤ RNT

GLY	1 jour	14 jours
R1	1,34	1,26
R2	1,25	1,05
R3	1,59	1,24
R4	0,98	0,78
Moy	1,29	1,0825
écartype	0,25	0,22

TRIGLY	1 jour	14 jours
R1	1,77	2,57
R2	1,87	1,76
R3	0,97	2,14
R4	1,05	1,35
Moy	1,41	1,95
Ecartype	0,47	0,52

CHOLES	1 jour	14 jours
R1	0,5	0,63
R2	0,63	0,88
R3	0,64	0,97
R4	0,94	1,44
Moy	0,67	0,98
Ecartype	0,18	0,33

➤ **RNTgly**

GLY	S0	S2
R1	1,24	1,9
R2	0,94	0,47
R3	0,99	0,47
R4	1,31	0,72
Moy	1,12	0,89
écartype	0,18	0,68

TRIGLY	S0	S2
R1	2,1	
R2	1,8	0,03
R3	1,76	1,01
R4	1,92	0,33
Moy	1,89	0,46
écartype	0,15	0,40

CHOLES	S0	S2
R1	2,61	
R2	2,31	0,5
R3	2,17	0,5
R4	2,68	0,93
Moy	2,44	0,64
écartype	0,24	0,24

➤ **RDT :**

GLY	S0	S2
R1	3,71	0,77
R2	2,75	1,17
R3	3,03	1,32
R4	3,18	1,29
Moy	3,16	1,13
Ecartype	0,41	0,25

TRIGLY	S0	S2
R1	4,82	2
R2	5,32	3,65
R3	7,58	5,65
R4	6,46	0,82
Moy	6,04	3,03
Ecartype	1,23	2,10

CHOLE	S0	S2
R1	2,09	0,5
R2	2,07	0,49
R3	3,29	0,4
R4	1,63	0,7
Moy	2,27	0,52
écartype	0,61	0,12

➤ **RDTgly:**

GLY	S0	S2
R1	1,32	1,29
R2	2,06	0,5
R3	2,1	1,53
R4	1,88	
Moy	1,84	1,10
écartype	0,35	0,53

TRIGLY	S0	S2
R1	0,26	4,85
R2	0,4	1,04
R3	0,38	0,07
R4	0,48	
Moy	0,38	1,98
Ecartype	0,09	2,52

CHOLE	S0	S2
R1	2,62	8,17
R2	2,9	0,48
R3	0,76	0,69
R4	2,84	
Moy	2,28	3,11
Ecartype	1,02	4,38

