

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Université ABOU BEKR BELKAID –Tlemcen-  
Faculté des sciences de la vie et science de la terre et de l'univers  
Département de biologie

Laboratoire :

Antibiotiques, Antifongiques, Physico-chimie, Synthèse et Activité Biologique

Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de master en biologie

Option : biochimie appliquée

Thème :

*Toxicité aigue et effet hypoglycémiant d'alkaloïdes  
totaux extraits des graines de coloquinte  
(Citrullus colocynthis) chez les Rats Wistar*

Présenté par : Mlle BOUAZZAOUI Khaldia

Soutenu le : 01/07/2012

Devant le jury :

Mlle BENARIBAN MAA

Présidente

Mme HEDAME N MCA

Examinatrice

AZZI R MAA

Promoteur

Année universitaire : 2011-2012.

## **Remerciements**

*Avant toute chose, je tiens à remercier Dieu le tout puissant, pour m'avoir donnée la force et la patience.*

*J'exprime d'abord mes profonds remerciements à mon encadreur Monsieur Azzi Rachid, Maitre assistant de classe A au département de biologie, faculté des sciences, Université Abou Bakr Belkaid -Tlemcen-, pour sa confiance, son soutien, son attention, ses bons conseils, ses qualités humaines. Pour tout cela, je tiens à lui exprimer toute ma gratitude.*

*Je remercie les membres de jury d'avoir bien voulu accepter de juger ce travail, je vous en suis très reconnaissante et en espérant être à l' hauteur de votre confiance.*

*Que Mlle Benariba Nabila maitre assistante de classe A au département de biologie, faculté des sciences, Université Abou Bakr Belkaid -Tlemcen- , trouve ici l'expression de mes respectueuses gratitudes et le témoignage de nos profonds remerciements pour avoir accepté de présider cette thèse.*

*Je remercie également l'examinatrice de ce travail, Mme Heddame Nahida Maitre de Conférences de classe B, je vous adresse mes sincères remerciements et de mon profond respect.*

*Je remercie toutes personnes ayant contribuées à la réalisation de ce travail et surtout aux responsables des laboratoires.*

# Dédicace

A mes chers parents, de votre affection de votre sacrifice et de tous les efforts que vous avez déployés durant toute ma vie j'espère que ce travail soit l'expression de ma pleine gratitude et de mon profond respect.

A mon beau frère Abdelrahmane qu'il trouve ici toute ma gratitude pour leur soutien tout au long de mes études.

A mes deux chers frères Mohamed et Samir.

A mes sœurs Khadîdja, Kadaria et chaimae.

A mes grands-parents, que dieu donne long vie et bon santé.

A mes nièces noor et rahmate ellow.

A mes chers amies Youcef, Abbassia, Fatima, Keltoume, Fayza et Asma

A tous ceux qui me sont chers...



## Résumé :

La *Citrullus colocynthis* est l'un des plusieurs remèdes traditionnels utilisés pour le traitement du diabète sucré dans la région du Maghreb et du Moyen-Orient. Mais elle devient très toxique voir mortelle à des doses élevées.

Notre étude a porté sur la recherche d'effet toxique et hypoglycémiant des alcaloïdes totaux extraits des graines de coloquinte (*Citrullus colocynthis*), famille des cucurbitacées, sur des rats Wistar normaux glycémiques.

Pour cette raison, un screening phytochimiques d'un extrait préparé en milieu acide et un extrait préparé une infusion en milieu aqueux ont été réalisés. Les résultats ont montré la présence de différents composés: les alcaloïdes, les saponosides et tanins.

L'étude de la toxicité aigue chez les rats Wistar normaux glycémiques traités par les alcaloïdes totaux extraits des graines de coloquinte (*Citrullus colocynthis*) par voie intra-péritonéale a été évaluée par la détermination de la **DL<sub>50</sub>** et la **DL<sub>100</sub>**.

La valeur de la **DL<sub>100</sub>** était de **800mg/kg p.c** et de la **DL<sub>50</sub>** est calculée par la méthode de Litchfield et Wilcoxon, était de **683,91 mg/kg p.c**.

De même, les résultats obtenus montrent que cet extrait d'alcaloïdes totaux provoque un effet hypoglycémiant à des doses supérieures à **600mg/kg**.

**Mots clés :** *Citrullus colocynthis*, toxicité aigue, diabète sucré, alcaloïdes totaux, DL50, rats Wistar.

# Sommaire

Sommaire.....	I
Liste des figures.....	IV
Liste des tableaux.....	V
Liste d'abréviation.....	VI
<b>Introduction générale.....</b>	<b>01</b>

## Synthèse bibliographique

### *Chapitre 1 : Diabète*

Généralité sur le diabète .....	03
---------------------------------	----

### *Chapitre 2: Plantes antidiabétiques*

1. Les plantes antidiabétiques .....	10
2. Utilisation de plante contre le diabète en Algérie .....	11
3. Principe actifs isolés des plantes antidiabétiques .....	14
4. Les antidiabétiques : de l'efficacité à la toxicité .....	15
5. Toxicité des plantes antidiabétiques .....	16

### *Chapitre 3 : Citrullus colocynthis plante anti- diabétique*

1. Noms vernaculaires .....	19
2. Taxonomie .....	19
3. Description morphologique .....	19
4. Répartition géographique .....	20
5. Composition chimique .....	20
6. Utilisation traditionnelle de la coloquinte et action thérapeutique .....	21
7. Toxicité de la coloquinte .....	23

### *2<sup>ème</sup> Partie : Partie expérimentale*

#### *Chapitre 1 : Matériels et méthodes*

<b>I. Analyses phytochimiques.....</b>	<b>24</b>
1. Matériel .....	
2. Dégraissage du matériel végétal.....	24

3. Extraction des alcaloïdes totaux.....	24
3.1. Extraction en milieu acide.....	24
3.2. Calcul du rendement.....	27
3.3. Caractérisation des alcaloïdes .....	27
3.4. Identification des alcaloïdes .....	27
4. Tests phytochimiques chimiques.....	28
4.1. Préparation des extraits.....	29
4.2. tests phytochimiques.....	29
<b>II. Analyses biologiques.....</b>	<b>31</b>
1. Les animaux .....	31
2. Répartition des rats .....	31
3. Préparation des doses à tester.....	31
4. Administration des doses aux différents lots.....	31
5. Evaluation de la toxicité aigue chez les rats Wistar.....	32
6. Détermination de la DL <sub>50</sub> .....	32
7. La suivie des poids corporel des rats.....	33
8. Effet hypoglycémiant des différentes doses des alcaloïdes totaux .....	33
<b>III. Analyses statistiques.....</b>	<b>34</b>

### *Chapitre 2 : Résultats et interprétation*

<b>I. Analyses phytochimiques.....</b>	<b>36</b>
1. Extraction des alcaloïdes totaux.....	36
2. Analyse chromatographique sur couche mince des alcaloïdes totaux.....	36
3. Balayage spectral.....	37
4. Tests phytochimiques.....	38
<b>II. Analyses biologiques.....</b>	<b>39</b>
1. Evaluation de la toxicité aigue.....	39
1.1. Observation du comportement et détermination de la dose létale (DL <sub>50</sub> et DL <sub>100</sub> ).....	39
1.2. Le suivie des signes de toxicité et l'effet des alcaloïdes totaux des graines de <i>Citrullus colocynthis</i> sur les poids des rats pendant 21 .....	
2. Recherche d'effet hypoglycémiant des alcaloïdes totaux des graines de <i>citrullus colocynthis</i> à différentes .....	42
2.1. Effet des alcaloïdes totaux sur la glycémie à courte terme.....	42
2.2. Effet des alcaloïdes totaux sur la glycémie à moyenne terme.....	44
<b>Discussion.....</b>	<b>46</b>
<b>Conclusion générale.....</b>	<b>49</b>
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>50</b>
<b>Annexes.....</b>	<b>62</b>

## Listes des figures

<b>Figure 1</b> : Schéma de critère de diagnostic selon ADA 1997.....	5
<b>Figure 2</b> : <i>Citrullus colocynthis</i> .....	20
<b>Figure 3</b> : Extraction liquide-liquide à l'aide d'une ampoule à décanté.....	25
<b>Figure 4</b> : Evaporation d'extrait par rotavapor.....	25
<b>Figure 5</b> : diagramme montrant l'extraction d'alcaloïdes totaux en milieu acide selon la méthode de Harborne,1998.....	26
<b>Figure 6</b> : photo du chromatogramme résultant de l'analyse des alcaloïdes totaux par le système chloroforme/Méthanol (9/1).....	37
<b>Figure 7</b> : Détermination de la DL <sub>50</sub> par la méthode de Litchfield et Wilcoxon.....	40
<b>Figure 8</b> : Evolution du poids corporel chez les rats normaux glycémiques après l'injection IP d'alcaloïdes totaux durant 21jours.....	41
<b>Figure 9</b> : Evolution de la glycémie chez les rats traités par l'injection IP de différentes doses d'alcaloïdes totaux durant 3 heures.....	43
<b>Figure 10</b> : Evolution de la glycémie chez les rats traités par l'injection IP de différentes doses d'alcaloïdes totaux à moyenne terme.....	45

## Liste des tableaux

<b>Tableau01:</b> Complications du diabète .....	08
<b>Tableau 02:</b> Résultats de quelques études ethnobotaniques sur les plantes antidiabétiques dans différents régions du monde .....	10
<b>Tableau 03:</b> Quelques plantes antidiabétiques utilisées dans la région de Tlemcen .....	11
<b>Tableau 04 :</b> Quelques plantes à pouvoir antidiabétique recensées par Bnouham et al., 2006, montrant leur partie utilisée ou principe actif et leur effet.....	14
<b>Tableau 05 :</b> détermination des doses létales des alcaloïdes totaux injectées aux rats par voie intra-péritonéale.....	32
<b>Tableau 06 :</b> rendement des alcaloïdes totaux extrait des graines de coloquinte.....	36
<b>Tableau 07 :</b> Résultats de la chromatographie sur couche mince des alcaloïdes totaux extrait des graines de coloquinte.....	37
<b>Tableau 08 :</b> Résultat de balayage spectral des alcaloïdes totaux extrait des graines de coloquinte .....	38
<b>Tableau 09 :</b> Résultats des tests phytochimiques des extraits acides et aqueux des graines de coloquinte ( <i>Citrullus colocynthis</i> ).....	38
<b>Tableau 10:</b> Les symptômes apparus chez les rats normaux glycémiques après l'injection de différentes doses des alcaloïdes totaux.....	39
<b>Tableau 1 :</b> Mortalité des rats normaux glycémiques après l'injection de différentes doses des alcaloïdes totaux.....	40
<b>Tableau 12 :</b> Résultats de l'évolution du poids corporel en (g) et la variation de taux de croissance en (%) pendant 21 jours qui suit l'injection d'extrait.....	41
<b>Tableau 13 :</b> Variation de la glycémie durant 3heurs après l'injection intra-péritonéale des alcaloïdes totaux des graines de <i>Citrullus colocynthis</i> .....	42
<b>Tableau 14 :</b> évolution de la glycémie durant 3semaines après l'injection intra-péritonéale des alcaloïdes totaux des graines de <i>Citrullus colocynthis</i> .....	44

## Liste des abréviations

<b>ADA:</b>	American Diabetic Association.
<b>CAP :</b>	Centre Anti Poison.
<b>DID :</b>	Diabète Insulino -Dépendant.
<b>DL100 :</b>	Dose létale
<b>DL50 :</b>	Dose médiane
<b>DME:</b>	La dose maximale sans effet toxique
<b>DNID :</b>	Diabète Non Insulino-Dépendant.
<b>HAS :</b>	Haute Autorité de Santé.
<b>HGPO :</b>	Hyperglycémie Provoquée par voie Orale
<b>I.P :</b>	Intra-péritonéale
<b>OMS :</b>	Organisation Mondiale de la Santé.
<b>RDM:</b>	Recommandation de la direction des médicaments.
<b>DSA (INPES) :</b>	Institut national de prévention et d'éducation pour la santé
<b>CSST :</b>	Commission de la santé et de la sécurité du travail du Québec.
<b>p.c :</b>	Poids corporel
<b>U.V :</b>	Ultra violet

# 1ere PARTIE

## SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

## **Introduction générale :**

Le diabète est une maladie métabolique caractérisée par un désordre au niveau de la régulation du métabolisme des glucides entraînant une hyperglycémie. A l'origine, le terme "diabète" désignait diverses maladies caractérisées par une élimination importante d'urines, une déshydratation et une soif intense [Calop et al., 2008]. Donc, le diabète n'est pas une maladie unique mais c'est une constellation d'anomalies métaboliques et pathologiques avec une variété de causes [Lavis Vet al., 2008] environnementales et héréditaires [Beaudeau, 2005].

Cette pathologie est répandue dans le monde où on dénombre 5 à 7% de la population mondiale [Weaber, 2007 ; Sharma et al., 2008 ; Singh and Kakkar, 2009 ; Zhou et al., 2009]. En 2011, il y a 366 millions de personnes atteints de diabète et ce chiffre devrait augmenter à 552 millions en 2030. La plupart des personnes atteintes de diabète vivent dans des pays à faibles revenus et à revenu intermédiaire, et ces pays verront également la plus forte augmentation au cours des 19 prochaines années [Whiting et al., 2011].

Le diabète de type 2 est caractérisé par une altération de l'insulinosécrétion et des anomalies de l'action de l'insuline sur ses tissus cibles (insulinosensibilité). C'est une maladie chronique et évolutive dans le temps, lourde de conséquences par ses complications. [Halimi et coll., 1999]

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].

Malgré l'utilisation des hypoglycémifiants comme drogues antidiabétiques, le diabète et ses complications constituent une grande problématique dans la prise en charge thérapeutique des diabétiques et la réussite du traitement serait d'un intérêt grandiose, malgré l'avancée de nouvelles molécules thérapeutiques. Les médicaments modernes, y compris l'insuline et les hypoglycémifiants oraux (les biguanides, les sulfonylurées), leur administration régulière engendrent des effets indésirables [Nissen et Wolski, 2007]. Récemment, les diabétologues sont arrivés à l'évidence d'un complément thérapeutique constitué par les extraits de plantes est nécessaire pour optimiser le traitement du diabète [Bagchi et al., 1997 ; Kim et al., 2002 ; Jin et al., 2008 ].

D'après Marles et Farnsworth, 1996, 80% de la population mondiale utilise les plantes médicinales pour se soigner et traiter les maladies (diabète, hypertension, cancer,...), dont plus de 1123 espèces de plantes, recensées par les ethnopharmacologues, sont expérimentées contre le diabète de type 2 [Marles et Farnsworth, 1996].

Les plantes médicinales trouvent encore leurs indications thérapeutiques dans le traitement de plusieurs maladies en Algérie, y compris le diabète, mais ce traitement traditionnel n'est pas mis en place au niveau des hôpitaux et reste limité aux patients et herboristes.

Dans la région de Tlemcen, une enquête ethnobotanique révèle que plus de 56 plantes sont traditionnellement utilisées pour traiter le diabète. La coloquinte (*Citrullus colocynthis*) est la plante la plus utilisée après le fenugrec [Benmehdi, 2000 ; Allali et al.,2008].

Par ailleurs, la recherche d'un traitement bon marché amène parfois des malades du diabète à utiliser un peu n'importe quelle plante, certaines peuvent être antidiabétiques mais à des doses qui les rendent toxiques, d'autres sont trop dangereuses pour un usage antidiabétique [Hurt, 2003].

Notre étude porte sur l'effet hypoglycémiant et la toxicité de différentes doses d'extrait d'alcaloïdes totaux des graines de la coloquinte injecter aux rats normaux par voie intrapéritonéale.

Pour cela, nous allons proposer un protocole expérimental en deux types d'analyses, phytochimique et biologiques :

❖ Analyses phytochimiques:

- Récupération des graines de coloquinte broyées et dégraissées et conservaton ;
- Préparation d'extrait d'alcaloïdes des graines de coloquinte broyées et dégraissées ;
- tests phytochimiques des différentes familles des métabolites secondaires (alcaloïdes, tanins, flavonoïdes, saponosides, glycosides, coumarines, ...)
- séparation des différents composants d'extrait préparé par chromatographie sur couche mince dans différents systèmes.

❖ Analyses biologiques:

- Elevage des rats Wistars ;
- Recherche d'effet hypoglycémiant des différentes doses d'extrait d'alcaloïdes sur des rats normaux durant 3 heures après une injection intra-péritonéale ;
- Suivre d'effets toxiques ( $DL_{50}$  et  $DL_{100}$ ) dans les 3 semaines qui suivent l'injection intra-péritonéale des différentes doses d'extrait d'alcaloïdes.

## **I. Généralité sur le diabète :**

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 [Rodier, 2001 ; Sharma et al., 2008].

En 1979, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) a défini le diabète sucré comme un état d'hyperglycémie chronique résultant de nombreux facteurs, qu'ils soient environnementaux ou génétiques, qui agissent le plus souvent ensemble [Derot, 1985].

L'hyperglycémie chronique est associée à terme avec des complications organiques spécifiques touchant particulièrement les yeux, les nerfs, les reins, le cœur et les vaisseaux [Raccah, 2004].

Les études épidémiologiques ont montré que le diabète sucré frappe indistinctement toutes les populations et tous les groupes d'âge. Le diabète de type 2 (diabète non insulino dépendant DNID) touche au moins 90% de cette population [Barceló, 1996].

Sans être classée dans les maladies émergentes, le diabète se développe de manière épidémique dans le monde. C'est une priorité de santé publique [DSA INPS, 2005].

Le diabète est répandue dans le monde où on dénombre 5 à 7% de la population mondiale [Weaber, 2007 ; Sharma et al., 2008 ; Singh et Kakkar, 2009 ; Zhou et al., 2009].

La prévalence du diabète augmente d'environ 6% par an dans les pays industrialisés [Beaudeau, 2005]. En 2011, il y a 366 millions de personnes atteints de diabète et ce chiffre devrait augmenter à 552 millions en 2030. La plupart des personnes atteintes de diabète vivent dans des pays faible revenu et à revenu intermédiaire, et ces pays verront également la plus forte augmentation au cours des 19 prochaines années [Whiting et al., 2011].

La société algérienne de diabétologie, estime approximativement, de son côté, le nombre de diabétique de 1 à 1.5 millions de personnes. Selon cette même source, 90% de cette population de diabétiques présentent le diabète de type 2 [Larbi, 2006]. Dans la Wilaya de Tlemcen, des données statistiques déclarées en l'an 2000 par l'association d'aide aux diabétiques de la Wilaya de Tlemcen, révèle qu'il y a environ 18272 cas de diabète dans la Wilaya [Association d'aide aux diabétiques Tlemcen, 2000]. En 2007 une étude menée dans cette région sur 7 656 individus a révélé une prévalence du diabète de type 2 de 10,5 % et du type 1 de 3,7 %. [Zaoui et al., 2007].

De nouveaux critères de diagnostics du diabète ont été proposés, en juin 1997, par l'American Diabètes Association (ADA) sur la base des études épidémiologiques qui ont permis de corrélés les niveaux de la glycémie et le risque de survenue ultérieure d'une micro-angiopathie (rétinopathie,

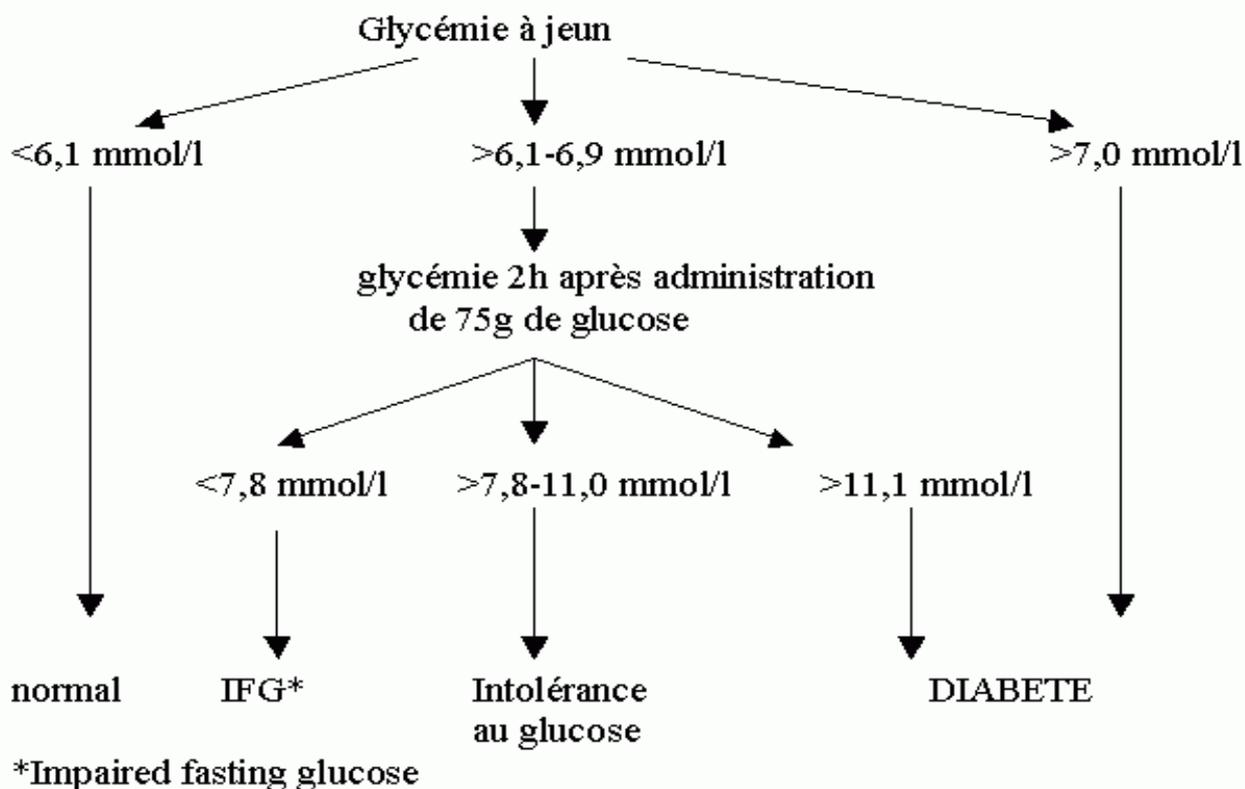
néphropathie et neuropathie), de complications cardiovasculaires (coronaropathie et artérite des membres inférieurs) [The expert Committee..., 1997].

Une glycémie plasmatique à jeun de 110 mg/dl (6,1 mmol/l) a été choisie comme limite supérieure de la normale, de même qu'une valeur de 140 mg/dl (7,8mmol/l) à la deuxième heure d'une H GPO (75 g glucose): hyperglycémie provoquée par voie orale. Les critères de diagnostics modifiés permettent désormais d'établir de trois manières la présence d'un diabète sucré tel que sont indiqué dans la figure 1. Chacune doit cependant être confirmée ultérieurement (un autre jour) par une des trois méthodes. Il est cependant conseillé de privilégier le diagnostic du diabète sur la mesure de la glycémie à jeun  $\geq 126$  mg/dl ( $\geq 7$ mmol/l).

Le Comité d'Experts a également identifié un groupe intermédiaire de sujets chez lesquels les valeurs glycémiques, bien qu'inférieures aux nouvelles limites, sont considérées comme excessives pour être qualifiées de normales. Les sujets situés dans cette zone «frontière» présentent ce qu'il est désormais convenu d'appeler une «homéostasie glucidique anormale». Ils consistent en un groupe présentant une intolérance glucidique «classique» (définie par une valeur  $\geq 140$  et  $< 200$  mg/dl ( $\geq 7,8$  mmol/l et  $< 11,1$ mmol/l) à la deuxième heure d'une HGPO, et un deuxième groupe de sujets présentant «seulement» une hyperglycémie à jeun  $\geq 110$  et  $< 126$  mg/dl (*schéma diagnostic*).

Le dosage de l'hémoglobine glyquée (HbA1c) reste utile pour documenter la qualité intégrée du contrôle glycémique récent, mais son dosage n'est pas recommandé pour établir la présence d'un diabète sucré [Buysschaert et Hermans, 1998].

### Schéma diagnostique :



**Figure 1** : Schéma de critère de diagnostic selon ADA 1997 [Bessire, 2000].

Depuis 1997, une nouvelle classification du diabète sucré a été proposée par un groupe d'experts sous la responsabilité de l'Association Américaine du Diabète (ADA) remplace celle élaborée en 1979 par le "National Diabetes Data group" et entérinée en 1980 par l'OMS [Rodier, 2001].

Cette classification différencie quatre grands types de diabète :

- **Diabète de Type 1(ex-insulino-dépendant DID)** : Le diabète de type 1 représente 10% environ de tous les cas de diabète [OMS, 2002]. Concerne le plus souvent les enfants, mais il peut survenir à tout âge. Les cellules  $\beta$  qui sécrètent l'insuline sont détruites jusqu'à 90% de leur quantité normale (causes auto-immunes ou idiopathiques [Raccah, 2004 ; Calop et al., 2008]).
- **Diabète de type 2(ex-non- insulino-dépendant DNID)** : Ce type de diabète débute généralement après l'âge de 40 ans et représente 90% de l'ensemble des cas mondiaux [Buyschaert et al., 1999 ; Raccah, 2004]. Il résulte de l'incapacité de l'organisme à réagir correctement à l'action de l'insuline. L'insuline est soit basse ou soit élevée (insulinopénie prédominante ou insulino-résistance prédominante) [Calop et al., 2008 ; Raccah, 2004]. Cette dernière se traduit par une augmentation de la production hépatique de glucose et une diminution de la translocation des transporteurs de glucose au niveau musculaire [Schulman, 2000].

➤ **Le diabète gestationnel:** est défini comme un trouble de la tolérance glucidique conduisant à une hyperglycémie de sévérité variable, débutant ou diagnostiqué pour la première fois pendant la grossesse, quel que soit le traitement nécessaire et l'évolution dans le post-partum [OMS, 1999]. Les femmes ayant présenté un diabète gestationnel ont un risque élevé de développer par la suite un diabète de type 2. [Fenichel et al., 1998].

➤ **Autres types de diabète : le diabète secondaire (ex-spécifique) :**

Un diabète sucré peut être secondaire à une pancréatopathie (pancréatite chronique ou aiguë, mucoviscidose, tumeur), à l'hémochromatose, à des cirrhoses, à diverses endocrinopathies (phéochromocytomes, acromégalie, syndrome de Cushing, hyperthyroïdie, tumeurs endocrines pancréatiques et digestives ou iatrogènes). Il peut être à l'origine d'une destruction des îlots pancréatiques et donc d'une insulino-pénie, d'une insulino-résistance ou d'une association des deux. [Maugendre et al., 2007].

Le diabète de type 2 est une maladie chronique, évolutive, insidieuse qui représente un véritable problème de santé publique [Grimaldi, 2003]. Il est diagnostiqué, dans la majorité des cas, par la découverte fortuite d'une hyperglycémie ou d'une glucosurie. A l'inverse du type 1, il réside une sécrétion endogène d'insuline [Buysschaert, 1998].

Le diabète de type 2 est une maladie hétérogène, multifactorielle, où se conjuguent des facteurs héréditaires et environnementaux. [Raccach et al., 1999.]

Il est établi que les facteurs d'environnement jouent un rôle fondamental dans la genèse du diabète de type 2. L'obésité constitue le principal facteur de risque de diabète de type 2 [Golditz et al., 1995].

Le gain de poids et la localisation abdominale de la graisse sont des facteurs de risque majeur de diabète type 2 [Fumeron, 2005].

D'autre part, la consommation de certains aliments (tout particulièrement les graisses et les sucres raffinés) a été associée à un risque plus élevé de présenter un diabète [Feskens et al., 1991].

Plusieurs études épidémiologiques ont montré que l'exercice physique joue un rôle protecteur contre le diabète car le manque d'activité physique fait diminuer la sensibilité insulinique et la tolérance au glucose [OMS, 1985].

L'âge s'accompagne physiologiquement d'une réduction progressive de la sécrétion d'insuline et de la masse maigre utilisatrice du glucose [Rigalleau et al., 2003] et peut être, d'une diminution de sa sensibilité à l'insuline [Ferrannini et al., 1996] qui favorisent l'augmentation de prévalence du diabète de type 2 et diminué après l'âge de 85ans.[Dorman,1994] .

Les principales anomalies impliquées dans l'étiologie du diabète de type 2 sont : une résistance aux diverses actions de l'insuline; une perturbation de la sécrétion d'hormones pancréatiques; Il est à noter que toutes ces perturbations peuvent varier en fonction de la sévérité et la durée de l'obésité, de la résistance à l'insuline et du diabète [Girard, 1999; Porte et Sherwin, 1997]. Ces anomalies ont été plus facilement mises en évidence avec la mise au point du dosage radio- immunologique de l'insuline et des peptides apparentés sécrétés -par la cellule  $\beta$ : pro-insuline et pro-insulines clivées [Sobey et al., 1989].

- **L'insulinorésistance** : La résistance à l'insuline se définit comme un état de diminution de la réponse cellulaire et donc tissulaire de l'hormone avec toutefois la présence d'une sécrétion normale de l'insuline. L'insulinorésistance reste constante chez les sujets diabétiques de type 2 et est spécifique de l'état diabétique. Elle se traduit par un trouble métabolique, caractérisé par une augmentation de la production hépatique de glucose. Cette dernière est directement corrélée au degré d'hyperglycémie observé à jeun. [Grimaldi et al., 2004].

-**L'insulinosécrétion** : L'insulinosécrétion des patients atteints de diabète de type 2 est caractérisée par sa réduction progressive avec le temps. Ceci se traduit par une insulino-déficience qui est en partie responsable de l'hyperglycémie et du diabète de type 2. Ce phénomène est précédé par 10 à 20 ans d'hyperinsulinisme euglycémique qui est la conséquence d'une insulinorésistance. [Virallya et al., 2007].

Le but principal du praticien face à un patient diabétique sera d'éviter l'apparition des complications inhérentes à la maladie. Ces complications sont de deux types : aiguës et chroniques :

**Tableau01:** Complications du diabète [Capet et al., 1999].

<b>Complications aiguës</b>	hypoglycémie (suite au traitement) hyperglycémie	acidocétose coma hyperosmolaire acidose lactique
<b>Complications chroniques</b>	microvasculaires (microangiopathie)  macrovasculaires (macroangiopathie)	rétinopathie néphropathie neuropathie Cardio vasculaire

## **Les autres complications :**

**Les complications infectieuses :** Elles sont liées à une diminution de l'immunité ainsi qu'à l'hyperglycémie qui reste un facteur majeur dans le développement infectieux. [Grimaldi et al., 2004].

**Le pied diabétique :** La notion de pied diabétique regroupe l'ensemble des affections atteignant le pied, directement liées aux conséquences de la maladie diabétique. En effet, il traduit une complication tardive du diabète qui survient surtout chez les patients âgés de 60 ans et plus. [Grimaldi et al., 2004 ; Grimaldi et al., 2005].

Le patient diabétique a besoin d'une prise en charge thérapeutique adaptée. Le traitement vise à éliminer les signes cliniques liés à l'hyperglycémie et à la glycosurie (c'est à dire la polyurie-polydipsie, la polyphagie) et à prévenir les complications liées au diabète sucré, au traitement ou à la survenue de maladies intercurrentes [Fanny et al., 2009]. Les trois grands moyens thérapeutiques sont : la diététique, les médicaments et l'exercice physique [Lecor, 2000].

### **Traitement non médicamenteux :**

Le traitement du diabète de type 2 repose d'abord sur des modifications du style de vie (régime, perte de poids et exercice physique) et sur la prise en charge des facteurs de risque cardiovasculaire associés.

Selon les recommandations de l'HAS (Haute Autorité de Santé) de 2006, la diététique est la première étape de la prise en charge du diabète de type 2. Une alimentation équilibrée est conseillée, avec une augmentation des apports en glucides lents et une diminution des apports en graisses saturées [Grimaldi, 2005].

L'exercice régulier est bénéfique dans le diabète de type 2; il améliore le contrôle glycémique grâce à une augmentation de la sensibilité à l'insuline. De plus, la pratique de l'exercice physique associé à des conseils diététiques retarde la progression de l'état pré-diabétique vers le diabète.

Lorsque les mesures précédentes n'apportent pas un contrôle suffisant de la glycémie, l'introduction d'un hypoglycémiant oral s'avère nécessaire [Ducobu, 2003].

### **Traitement médicamenteux (Les antidiabétiques oraux) :**

Le traitement antidiabétique oral s'articule actuellement autour de 5 classes thérapeutiques, dirigé contre 3 cibles physiopathologiques différentes :

- Une stimulation de l'insulino-sécrétion par les sulfamides hypoglycémiantes et les glinides ;
- Une diminution de l'insulino-résistance par les biguanides et les thiazolidinediones ;

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

➤ **Insulinothérapie chez les diabétiques de type2 :**

Si environ 70 % des diabétiques de type 2 sont initialement correctement contrôlés par un traitement antidiabétique oral, mais 5 à 10 % échappent au traitement oral chaque année [Kreider et al. 1997].

Les mises à l'insuline se font dans un contexte d'urgence immédiate ou à très court terme. Ces situations aiguës conduisent à une insulinothérapie dont la nécessité doit être réévaluée après l'épisode aiguë [Brun et al., 1995].

Il est recommandé actuellement d'utiliser des associations d'insuline et d'antidiabétiques oraux dont les mécanismes d'action diffèrent, afin d'obtenir un équilibre glycémique dans des conditions de sécurité maximale [Halimi, 1999].

Parmi les nombreuses voies de recherche qui essayent de développer d'autres médicaments contre le diabète, un intérêt particulier est porté sur le traitement par les plantes médicinales. [Ivorra MD et al., 1989 ; Li et al., 2004 ; Esmaeili, 2004].

## II. Plantes antidiabétiques :

Pour pallier aux effets secondaires des traitements antidiabétiques, les recherches scientifiques portent sur 1123 plantes utilisées traditionnellement 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].

Le tableau suivant résume quelques études ethnobotaniques sur les plantes antidiabétiques dans différentes régions du monde.

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

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

## 1. Utilisation de plante contre le diabète en Algérie :

L'Algérie bénéficie d'un climat très diversifié, les plantes poussent en abondance dans les régions côtières, montagneuses et également sahariennes. Ces plantes constituent des remèdes naturels potentiels qui peuvent être utilisés en traitement curatif et préventif [Belouad, 1998; Mahmoudi, 1986].

Des publications anciennes et récentes ont en effet rapporté qu'un grand nombre de plantes médicinales sont utilisées pour le traitement de diverses maladies [Hammiche et Maiza, 2006].

Des enquêtes ethnobotaniques récentes effectuées dans le but de répertorier les plantes médicinales antidiabétiques dans l'Est et l'Ouest Algérien [Allali et al., 2008; Hamza et al., 2009] soulignent l'importance qu'occupe ce patrimoine végétal dans la pharmacopée traditionnelle et surtout dans le traitement du diabète.

## 2. Utilisation des plantes antidiabétiques dans la région de Tlemcen :

Une étude ethnobotanique réalisée dans la région de Tlemcen, a recensé plus de 56 espèces dont 23 sont les plus utilisées par les diabétiques de la région, notamment, *Trigonella foenum graecum* (Halba), *Berberis vulgarise* (Ghris), *Nerium oleander* (Defla), *Laurus nobilis* (Rend), *Nigella sativa* (Sanouj), *Punica granatum* (Romman) et *citrullus colocynthis* (Handal) [Benmehdi, 2000 ;Allali et al.,2008]

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

Familles Botanique	Nom scientifique	Nom vernaculaire	Méthode de préparation	Parties utilisés
Apiaceae	<i>Ammi visnaga</i> Lam.	Bachnikha	Décoction	Fruits
	<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,fumier	Feuilles
	<i>Ptychotis verticillata</i> L.	Nûnkha	Infusion	Partie aérienne
Apparaceae	<i>Capparis spinosa</i> L.	Kebbar	Décoction, poudre	Fruits, graines
Brassicaceae	<i>Lepidium sativum</i> L.	Habb er sad, rchad,	Décoction, poudre	Graines

Chenopodiaceae	<i>Chenopodium ambrosioides</i>	Mkhinza	Infusion , Jus frais	Feuilles, fleurs
Cistaceae	<i>Cistus ladaniferus</i> L.	Taouzla	Décoction,infusion	Feuilles
	<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>Artemisia campestris</i> L.	Allal	Décoction	Feuilles, fleurs
	<i>Cynara scolymus</i> L.	Kharchouf,	Décoction	Racines, feuilles
	<i>Taraxacum officinale</i>	Garnina	Décoction	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
Gentianaceae	<i>Centaurium erythraea</i> Rafn.	Merrâret, lehnech	Infusion	Partie aérienne
Geraniaceae	<i>Geranium robertianum</i> L.	laatarcha	Infusion	Feuilles, fleurs, tige
Globulariaceae	<i>Globularia alypum</i> L.	Ain larnab	Décoction,infusion	Feuilles
Gramineae	<i>Cynodon dactylon</i> L.	Til, njem, affie, tagamait	Décoction	Rhizomes
	<i>Sorghum vulgare</i> L.	Bachna, tafsût	Bouillant	Graines
	<i>Stipa tenacissima</i> L.	EL Halfa		
	<i>Zea mays</i>	Châr eddora		
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>	Halba	Décoction, poudre	Graines

	L.		macération,	
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
Lythraceae	<i>Lapa communis</i> B.	Bardane, arkitoun	Feuilles fraîche, Décoction,infusion	Racines, feuilles, fleurs
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, nmbeg	Décoction, poudre	Fruits, feuilles
	<i>Zizyphus spina-christi</i>	Aroug essfizef	Décoction, poudre	Raciness
	<i>Rhamnus alaternus</i>	Meliles		
Rosaceae	<i>Prunus amygdalus</i> Stokes var. <i>Amara</i> D.C.	Louz mar, louz harr	Extraits	Graines
	<i>Rubus fruticosus</i>	Ouraq elâligue, Tût lakhla	Infusion	Fruits, feuilles, fleurs
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</i> Roscoe.	Zanjabil, skinjbir	Macération	Rhizomes
Zygophyllaceae	<i>Peganum harmala</i> L.	Harmal	Poudre, infusion	Graines
	<i>Zygophyllum album</i> L. ssp.	Aggaya	Décoction, infusion , poudre	Feuilles, tiges

### 3. Principe actifs isolés des plantes antidiabétiques :

La plupart des espèces végétales qui poussent dans le monde entier possèdent des vertus thérapeutiques car elles contiennent des principes actifs qui agissent directement sur l'organisme. On les utilise aussi bien en médecine classique qu'en phytothérapie; elles présentent, en effet, des avantages dont les médicaments sont dépourvus [Ticli, 1997].

Les agents thérapeutiques isolés des plantes sont essentiellement des métabolites secondaires caractéristiques du monde végétal, et ne paraissent pas essentiels à la vie de la plante [Marles et Norman, 1995].

Il existe plus de 200.000 métabolites secondaires, dont plus de 200 présentent une activité hypoglycémiant; ce sont principalement des alcaloïdes, des glycosides, des huiles essentielles, des tanins et les principes amers [Marles et Fransworth, 1996 ; Sanjay ,2002].

**Tableau 08 :** Quelques plantes à pouvoir antidiabétique recensées par Bnouham et al., 2006, montrant leur partie utilisée ou principe actif et leur effet.

Familles	Espèces	Partie utilisée Principe actif	Effets antidiabétiques sur	Référence
Araliaceae	<i>Panax ginseng</i>	Racine (ginseng polypeptides)	Rats (50-200mg/kg i.v) et souris (50-100 mg/Kg S.c) normaux et hyperglycémie induit par adrénaline, glucose et alloxane)	Yang et al. 1990; Wang et al., 1990
	<i>Acanthopanax senticosus</i>	Feuilles (saponins)	100, 200 mg/kg i.p. pour souris avec hyper-glycémie induite par adrénaline, glucose et alloxane)	Sui et al., 1994
	<i>Aralia elata</i>	Ecorce des racines (elatosides saponins; acides oleanoliques glycosides)	Tolérance au glucose chez les rats	Yoshikawa et al., 1994b
Asteraceae	<i>Brickellia veronicaefolia</i>	Extrait d'hexane	300 mg/Kg i.p pour des souris normaux et diab.	Perez-Gutierrez et al., 1998
	<i>Brickellia veronicaefolia</i>	Extrats chloroformique des feuilles ( Flavone)	10-50 mg/Kg .Souris normaux et diab.(alloxane)	Perez et al., 2000

	<i>Psacalium decompositum</i>	Extrait par décoction des racines	Souris normaux voie i.p et lapin à hyperglycémie temporaire	<b>Roman-Ramos et al., 1992b</b>
Cucurbitaceae	<i>Citrullus colocynthis</i>	Alcaloïde, saponoside et glycoside de l'épicarpe des fruits	Administration orale d'extraits chez les lapin diab. (Alloxane)	<b>Abdel-Hassan et al., 2000</b>
	<i>Momordica charantia L.</i>	Extraits 50% méthanolique et extrait n-butanolique	30 mg /Kg adiministré par vois orale chez des rats diabétiques STZ	<b>Higashino et al., 1992</b>
	<i>Momordica cymbalaria</i>	Poudre de fruits	Traitement de 15 jours pour des rat diab. Alloxane	<b>Rao et al., 1999</b>
Euphorbiaceae	<i>Croton cajucara</i>	Diterpène extrait de l'écorce	Rats diab. alloxane	<b>Farias et al., 1997</b>
	<i>Phyllanthus urinaria Linn</i>	Extraits 50% méthanolique et extrait n-butanolique	Diminution de la glycémie 3 heures après l'administration de 30mg/Kg par vois orale chez des rats diab. STZ	<b>Higashino et al., 1992</b>
Lamiaceae	<i>Ocimum sanctum</i>	Extraits alcooliques des feuilles	Administration orale chez des rats normaux diab. STZ	<b>Chattopadhyay; 1993</b>
	<i>Marrubium vulgare</i>	Extrait brut par décoction	Administration intra gastrique chez des lapins avec hyperglycémie temporaire (solution de 50% dextrose 4ml/Kg)	<b>Roman-Ramos et al., 1992a</b>

#### 4. Les antidiabétiques : de l'efficacité à la toxicité :

Généralement, tous les agents antidiabétiques causent différents effets secondaires qui varient selon la classe et la génération du médicament. Précisément, les sulfamides, insulinosécrétagogues, provoquent un effet d'hypoglycémie. Cet effet est considéré comme principal à coté de l'hyponatrémie, l'hépatite, les atteintes hématologiques, l'éventuelle réaction dermatologique ainsi qu'un gain de poids dû à l'hyperinsulinémie [Marles et Farnsworth, 1994 ; Marles et Farnsworth, 1995 ; Dey lucey et al., 2002].

Suite à leurs effets secondaires néfastes, certains biguanides, inhibiteurs de la néoglucogénèse et l'absorption intestinale du glucose, sont éliminés du marché. La metformine, le biguanide le plus

commercialisé dans le monde, n'est plus disponible qu'aux USA car il provoque une acidose lactique, une fatigue, des nausées et une toxicité rénale [Dey lucey et al., 2002].

L'acarbose (C<sub>25</sub>H<sub>43</sub>NO<sub>18</sub>), un médicament de la classe des inhibiteurs des alpha-glucosidases présente divers effets secondaires, comme les gaz, le ballonnement et la diarrhée. [Marles et Farnsworth, 1995 ; Dey lucey et al., 2002].

### **5. Toxicité des plantes antidiabétiques :**

L'emploi des plantes médicinales peuvent poser des problèmes d'empoisonnement, les atteintes toxiques concernent la plus part des organes, ce sont essentiellement les atteintes hépatiques qui sont les plus remarquables [Larrey, 1998 ; Larrey, 1997].

Plus de 377 espèces associées au traitement du diabète sucré sont considérées toxiques, l'hypoglycémie provoquée est accompagnée d'un effet  $\beta$ -bloquant adrénergique d'une hépatotoxicité [Marle et Norman, 1994 ; Marle et Farnsworth, 1996].

Une plante est considérée toxique lorsqu'elle contient une ou plusieurs substances nuisibles pour l'homme ou pour les animaux et dont l'utilisation provoque des troubles variés plus ou moins graves voire mortels [Fournier, 2001].

Les plantes sont à l'origine de 5% des intoxications signalées au CAP (Centre Anti Poison) de Strasbourg et 3.2% des intoxications selon l'Association Américaine des Centres Anti Poison [Patrick, 2003 ; Flesch, 2005]. Parmi l'ensemble des plantes réputées toxiques, certaines présentent un danger réel en cas d'ingestion alors que d'autres ne provoquent que des troubles mineurs, principalement digestifs. Tous les organes de la plante contiennent les principes toxiques, mais surtout les racines et les graines, renferment des alcaloïdes di terpéniques dont le principal est l'aconitine qui a une toxicité principalement neurologique et cardiaque [Flesch, 2005].

Selon la nature des principes toxiques, le mode de préparation des remèdes et la manière d'administration, cette toxicité est variable d'une espèce à une autre .De ce fait, la voie intra-péritonéale facilite l'absorption et la passage rapide de la drogue dans la circulation sanguine, contrairement à la voie orale ou l'absorption de la drogue au niveau du tractus gastro-intestinal est freinée par la présence d'aliments, le temps de passage à travers l'épithélium intestinal, ainsi que la digestion de la drogue par les enzymes et le suc gastrique acide [Marles et Farnsworth, 1996] .

### **a) L'évaluation d'un effet toxique :**

L'évaluation de la toxicité s'appuie sur des études qualitatives (non mesurables) ou quantitatives (mesurables) adéquates. Il existe plusieurs types d'études qui nous permettent d'évaluer les effets d'un toxique. On peut les classer dans quatre catégories :

- Les études épidémiologiques, qui comparent plusieurs groupes d'individus ou les études de cas ;
- Les études expérimentales *in vivo*, utilisent des animaux (ex. : lapin, rat et souris) ;
- Les études *in vitro*, effectuées sur des cultures de tissus ou des cellules ; et
- Les études théoriques par modélisation (ex. : structure-activité) [CSST, 2004].

### **Toxicité par administration unique : Toxicité aiguë :**

Elle se manifeste rapidement, voire immédiatement, après une prise unique ou à court terme après plusieurs prises rapprochées. C'est l'étude qualitative et quantitative des phénomènes toxiques qu'il est possible de rencontrer après administration unique de la ou des substances actives contenues dans le médicament. Cette étude décrit les symptômes observés, y compris les phénomènes locaux et fournit pour autant que cela soit possible, l'indication de la  $DL_{50}$  avec ses limites de confiance (95%). L'étude sur l'animal de laboratoire doit être effectuée sur un nombre égal d'animaux mâles et femelles. La durée de l'observation des animaux est précisée par l'expérimentateur. En général elle n'est pas inférieure à une semaine [Ruckebusch, 1981]. L'étude de la toxicité aiguë permet d'exprimer la dose qui tue 50% des animaux d'expérience ( $DL_{50}$ ) ainsi que la dose maximale sans effet toxique (DME) c'est à dire la dose la plus élevée pour laquelle aucun effet toxique n'est relevé par rapport au lot témoin [Traore, 1999].

### **❖ Détermination de la dose létale $DL_{100}$ , $DL_{50}$ :**

- la dose létale  $DL_{100}$  : c'est la dose qui entraîne la mort de la population des animaux d'essais. La  $DL_{100}$  est un indice de létalité qui mène à mentionner le degré de toxicité d'un produit chimique donné [Bonvalot, 2002].
- la dose létale  $DL_{50}$  : la dose létale médiane la c'est la valeur statistique de la dose d'une substance chimique qui provoque la mort de 50% des organismes d'une population donnée dans des conditions expérimentales définies [Laigneau, 2000].

### **b) Toxicité par administration répétée : toxicité sub-aiguë et chronique :**

Ces épreuves ont pour objet de mettre en évidence les altérations fonctionnelles et/ou pathologiques consécutives aux administrations répétées de la substance active examinée et d'établir les conditions d'apparition de ces altérations en fonction de la posologie. Les expérimentations se font sur deux espèces de mammifères dont un non-rongeur. Une des deux épreuves durera 2 à 4 semaines, l'autre 3 à 6 mois. Le choix de la ou des voies d'administration doit tenir compte de la voie pour l'emploi thérapeutique et des possibilités de résorption. Le mode et le rythme des administrations ne sont pas

codifiés strictement mais doivent être clairement indiqués ainsi que la durée des essais. Il est utile de choisir la dose la plus élevée de façon à faire apparaître des effets nocifs, les doses inférieures permettent alors de situer la marge de tolérance du nouveau produit chez l'animal. L'appréciation des effets toxiques est faite sur la base de l'examen du comportement, de la croissance, de la formule sanguine et des épreuves fonctionnelles particulièrement celles qui se rapportent aux organes extérieurs ainsi que la base des comptes rendus nécropsiques, accompagnés des examens histologiques qui s'y rattachent [**Ruckebusch, 1981**].

La majorité des études pharmacologiques commencent par une étude toxicologique descriptive chez l'animal et par des observations cliniques chez l'humain. Idéalement les études animales devraient comporter des observations chimiques et comportementales. Le plus souvent, les analyses portent sur l'urine et le sang [**RDM, 1990 ; Berthiaum, 1995**]

### **III-Coloquinte (*Citrullus colcoynthis*) :**

#### **1. Noms vernaculaires**

Arabe : Handal, Hadag, Handhal ; Hantal, Hadja ;

Berber : Taberka, Tefersite, Tadjellet,

Français : coloquinte, chicotin

Anglais : Colocynth, bitter apple, bitter gourd

Allemand : Bitterzitrulle, Bitterapfel

Inde : Tumba ou Gartoomba

Italien : coloquintida, popone amaro coloquinte [Sincich, 2002 ; Batanouny coll., 1999 ; John et Cincinnati, 1898 ; Merad Chiali, 1973 b ; Bedevian, 1936 ; Carter, 1997].

#### **2.Taxonomie**

Règne	Végétale
Sous règne	plantes vasculaires
Super division	spermaphytes
Division	angiospermes
Classe	dicotylédones
Sous classe	dialypétales
Ordre	violales
Famille	cucurbitacées
Genre	<i>Citrullus</i>
Espèce	<i>colocynthis</i>

#### **3. Description morphologique :**

C'est une espèce annuelle ou vivace, liane herbacée à tiges angulaires, rampantes ou migrantes, munir de leurs jaune verdâtre à sexes séparés, pédonculées, solidaires aux axiles des feuilles. Les feuilles sont larges de 5 à 10 cm de longueur, rugueuses et découpées en 3 à 7 lobes. Chaque plante produit 15-30 fruits appelés gourdes, de 8 à 12 cm de diamètre, dont la couleur varie du jaune clair au roux, garnis de pulpe intérieure, spongieuse dans la quelle se fixent les graines [Merad Chiali R, 1973 a].



**Figure 02 :** *Citrullus colocynthis*

#### **4. Répartition géographique :**

La coloquinte, originaire des sols arides, est très fréquente dans les régions tropicales humides ou modérément sèches, elle est peu présente dans les zones tempérées [Bruneton, 1996]. Elle occupe une région très vaste qui s'étend du Nord Africain, du Sahara, Egypte, Arabie Saoudite jusqu'au Inde, ainsi que la région méditerranéenne [Batanouny coll., 1999 ; John et Cincinnati, 1898].

#### **5. Composition chimique :**

Le screening phytochimique de différentes parties de la coloquinte (racines, tiges, graines et feuilles) permis de caractériser les familles de composés chimiques existants dans la plante.

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].

Les fruits de la coloquinte contiennent trois flavonoïdes : 3'-méthoxy-iso-orientine, iso-orientine et iso-vitexine. Les feuilles contiennent aussi trois flvonoïdes : 8-C-*p*-hydroxybenzoyl- iso-vitexine, 6-C-*p*-hydroxylvitexine et 8-C-*p*-hydroxybenzoyl- iso-vitexine 4' -O- glucoside [Maatooq et al, 1997].et quatre triterpènes tetra cyclique ont été isolés à partir du fruit : 2-O-B-D glucopyranosylcucurbitacins I, J, K et L [Seger et al., 2005].

La coloquinte est riche en alcaloïdes : deux alcaloïdes sont déterminés dans tous les organes de la plante ( $C_{10}H_{15}O_3$  et  $C_{16}H_{24}O_3$ ), alors qu'un troisième alcaloïde ( $C_{20}H_{36}O_6$ ) est présent au niveau des graines, pulpes, feuilles et racines [Afifi et al, 1973].

## 6. Utilisation traditionnelle de la coloquinte et action thérapeutique :

L'utilisation traditionnelle de cette espèce varie dans le monde d'une région à l'autre en fonction du climat et son écologie.

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].

Une enquête ethnobotanique effectuée par Benmehdi en 2000 sur 80 plantes traditionnellement utilisées pour traiter le diabète dans la région de Tlemcen (Algérie), révèle que la coloquinte est la plante la plus utilisée après le fenugrec [Benmehdi, 2000].

De même Ziyat et al 1997, ont cité cette espèce parmi les 41 plantes médicinales destinées au traitement du diabète au Maroc. En Arabie Saoudite et Emirats Arabes Unis, les graines sont recommandées aux diabétiques pour leur effet hypoglycémiant. Cependant, en Tunisie, la coloquinte est connue pour son effet antirhumatismal [Boukef et Souissi, 1986 ; Wasfi et al.,1995].

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

En 2002, 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 intrapéritonéale 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'extait 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].

En Iraq, Abdel-Hassan et al. (2000), ont recherché les effets hypoglycémisants et antihyperglycémisants des extraits aqueux, des saponosides, des glycosides et des alcaloïdes de fruit de *Citrullus colocynthis* chez les lapins normaux et rendus diabétiques par l'Alloxane. Ils ont noté que l'administration orale de 300mg/kg d'extrait aqueux, aux lapins normaux, provoque une diminution de la glycémie après une heure et une diminution hautement significative après 2,3 et 6h. [Abdel-Hassan et al., 2000].

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*. Il ont observé que la perfusion durant 20 min de 0.1 mg/ml d'extrait brut ou d'extrait alcoolique aqueux ou de bêta-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].

Pendant des périodes bibliques, les fruits de la coloquinte ont été recueillis et considérés comme poison mortel [Yanif et al., 1999]. la plante est considérée comme cathartique, émménagogue, hydraqogue, purgative et vermifuge [DuKe,1978].

Le fruit de cette espèce est largement répandu en médecine naturelle, car elle possède diverses propriétés thérapeutiques elle est utilisée dans le traitement des infections génito-urinaires, dont l'aménorrhée en provoquant une contraction de l'utérus [Ozaki,1990 ; Harvey,1898]

Ce fruit est cité également pour le traitement du cancer, les hémorroïdes et la fièvre et il est réputé être un excellent anti-inflammatoire [Wasfi et al.,1995 ; James et DuKe,1992]

Les racines sont employées dans les traitements de l'ictère, les maladies urinaires et le rhumatisme, les douleurs de joint, l'inflammation et extérieurement dans les maladies ophtalmiques. Les feuilles sont employées pour le traitement de l'ictère et l'athisme [Kirtikar et Basu, 1984 ; Baquare et Tasnif, 1984].

De nombreux travaux se sont consacrés aux propriétés antidiabétiques de la coloquinte (*Citullus colocynthis*) :

**Abdel-Hassen et al., 2000 ; Nmila et al., 2000 ; Azzi et Boumellah, 2002 ; Benariba, 2003 ; Azzi,2007 ;...** ont démontré que des extraits de la coloquinte : extrait brut aqueux, flavonoïdes, saponosides, alcaloïdes, glycosides, acides aminés libres, présentent tous des effets antihyperglycémisants.

## **7. Toxicité de la coloquinte :**

A des doses élevés, cette plante est hautement toxique pour les animaux et les humaines. 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].

# 2eme PARTIE

## ETUDE EXPERIMENTALE

## **I. Analyse phytochimique :**

### **1. Matériel végétal :**

Notre étude a été réalisée sur les graines de la coloquinte (*Citrullus colocynthis*) qui sont récoltées à maturité le mois d'Octobre dans la région d'Adrar.

Les fruits sont séchés à l'air et à l'abri de la lumière.

Les graines sont isolées et broyées en poudre fine à l'aide d'un moulin à café.

### **2. Dégraissage du matériel végétal :**

A fin d'éliminer les graisses et d'autres substances lipophiles qui peuvent perturber le processus extractif ultérieur, notamment en induisant la formation d'émulsions. Il a été procédé à une délipidation (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 500 ml d'hexane, est surmonté d'un réfrigérant et l'ensemble est porté à reflux pendant 6 heures à l'aide d'une chauffe ballon avec une température d'ébullition stable.

### **3. Extraction des alcaloïdes totaux :**

#### **3.1. Extraction en milieu acide :**

Cette extraction est faite selon la méthode de Harborne, 1989 :

- ◆ Macération sous reflux avec agitation, pendant 48 heures, de 100g de graines de coloquinte broyées et dégraissées en présence de 250ml de HCl 2% et 105ml d'acétate d'éthyle ;
- ◆ Filtration du mélange et récupération du filtrat ;
- ◆ Adition du  $\text{NH}_4\text{OH}$  à la phase acide jusqu'à ce que pH soit ajusté entre 9.5-10 ;
- ◆ Filtration du mélange et récupération du filtrat et de précipité;
- ◆ Extraction liquide-liquide de précipité et de filtrat (3 à 4 fois) à l'aide d'une ampoule à décanté avec 50ml d'acétate d'éthyle jusqu'à épuisement total des alcaloïdes de la phase aqueuse ;

- ◆ Elimination des traces d'eau qui peuvent refermer la phase organique par l'adition de  $MgSO_4$  ;
- ◆ Filtration ;
- ◆ Concentration de la phase organique à sec à l'aide d'un rotavapor à une température inférieure à  $40^{\circ}C$  afin d'éviter la dénaturation des alcaloïdes.

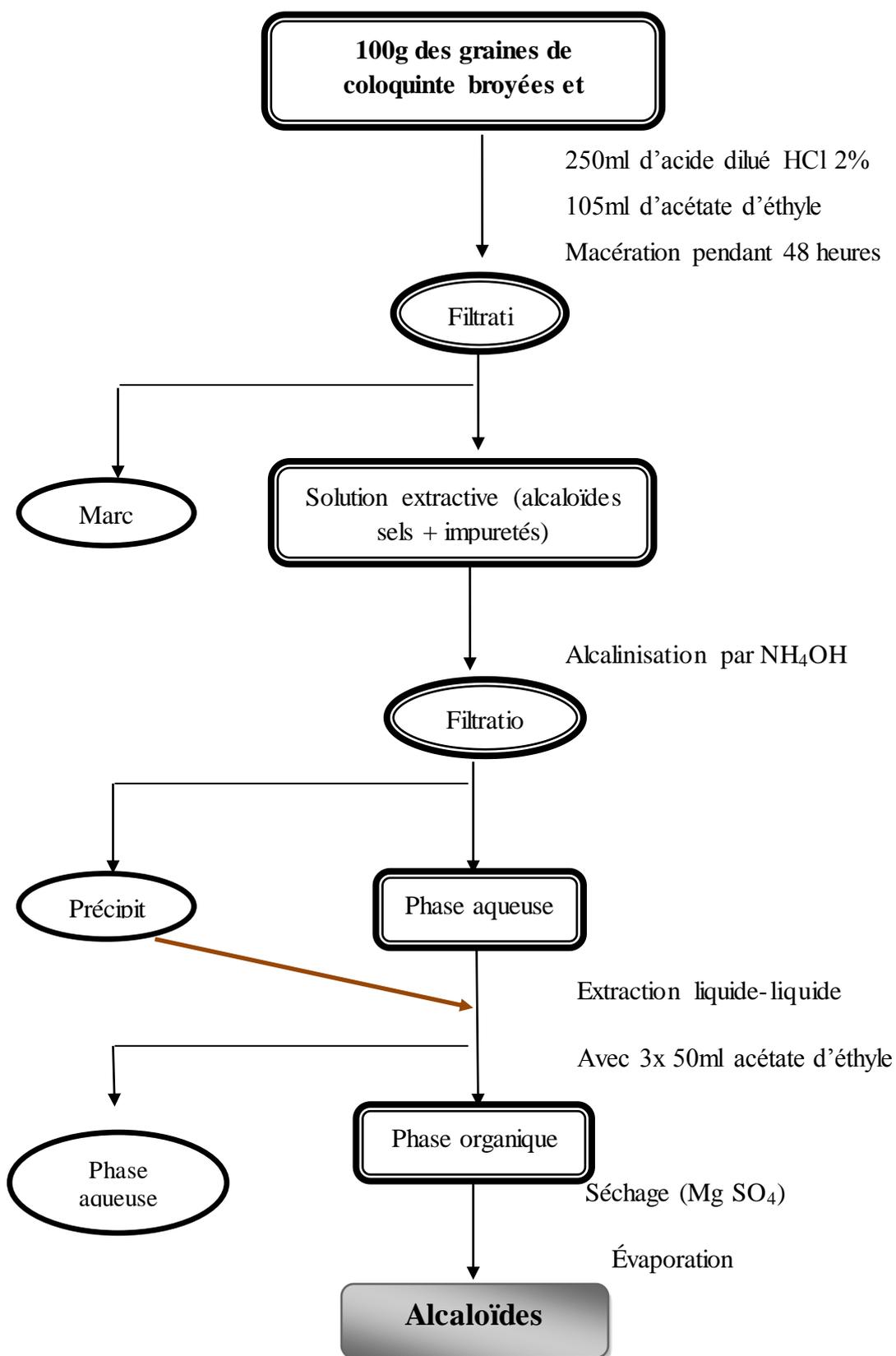
Les alcaloïdes totaux sont obtenus sous forme un résidu sec cristallisé, de couleur jaune.



**Figure 01** : Extraction liquide-liquide à laide d'une ampoule à décanté



**Figure 02** : Evaporation d'extrait par rotavapor



**Figure 03** : Diagramme montrant l'extraction d'alcaloïdes totaux en milieu acide selon la méthode de Harborne, 1998.

### 3.2. Calcul du rendement :

Le pourcentage en alcaloïdes totaux est calculé par la formule :

$$R(\%) = (M/M_0) \times 100$$

**R** : Rendement des tanins en (%)

**M** : Masse en grammes de l'extrait sec résultant

**M<sub>0</sub>** : Masse en grammes du matériel végétal de départ

### 3.3. Caractérisation des alcaloïdes :

Elle a été effectuée par des réactions de précipitation avec les réactifs généraux des alcaloïdes :

#### ⊕ Réactif de Mayer

Il est préparé à partir de deux solutions :

- ✓ Solution A : 1.358g de chlorure de mercure  $HgCl_2$  sont dissous dans 60 ml d'eau distillée.
- ✓ Solution B : 5g d'iodure de potassium KI sont dissous dans 10ml d'eau distillée.
- ✓ Les solutions A et B sont mélangées extemporanément et le volume final est ajusté à 100ml avec d'eau distillée.
- ✓ Le test de 0.5ml d'extrait avec 2 à 3 gouttes de ce réactif, entraîne la formation d'un précipité blanc, qui indique la présence des alcaloïdes.

#### ⊕ Réactif de Wagner

- ✓ 2g de KI et 1.27g de I sont dissous dans 75ml d'eau distillée, puis ajustés à 100ml avec d'eau distillée.
- ✓ Le test de 0.5ml d'extrait avec 2 à 3 gouttes de ce réactif, entraîne la formation d'un précipité brun, qui indique la présence des alcaloïdes.

### 3.4. Identification des alcaloïdes :

#### ⊕ Chromatographie sur couche mince (CCM)

La CCM est une méthode de séparation physico-chimique faisant intervenir une phase stationnaire ou adsorbant et une phase mobile ou éluant.

La CCM n'est pas suffisante pour identifier un produit mais elle apporte des renseignements susceptibles d'orienter vers une hypothèse de structures, Par exemple: fluorescence, coloration, Rapport frontal (Rf) (**Villars, 1971**).

La mise en œuvre d'une CCM nécessite plusieurs étapes :

- ✓ Choix de la phase stationnaire : gel de silice fluorescent (Merck) 5x10cm ;
- ✓ Choix de la phase mobile :

Système 1 : Chloroforme/Méthanol (9/1)

Nous avons fait dissoudre 10 mg de l'échantillon d'alcaloïdes dans 0.5 ml de chloroforme ; À l'aide d'une pipette pasteur, nous avons déposé l'échantillon en petits spots (3à 4 fois) sous forme des points sur la plaque qu'elle était activée dans l'étuve à 100°C pendant 30min;

Ce plaque est ensuite placée dans une cuve conventionnelle en verre, remplis à environ 0.5cm avec une phase mobile. La recouvrir, afin que l'atmosphère dans la cuve reste saturée en vapeurs d'éluant.

Après développement et lorsque le solvant a atteint 1 cm du bord supérieur, la plaque est observée à l'extinction de la fluorescence à 366 nm et après révélation par vapeur d'iode afin de mettre en évidence des constituants ou classes de constituants présents dans l'échantillon.

On détermine alors, pour chaque constituant, le rapport frontal (Rf) :

$$\mathbf{Rf} = \frac{\text{Distance parcourue par le constituant}}{\text{Distance parcourue par le front de l'éluant}}$$

#### ✦ Balayage spectral :

Dans le but de déterminé le spectre d'absorption des différents composants de notre extrait nous avons dilué 5g d'alcaloïdes totaux extraits des graines de coloquinte dans 5ml de DMSO et leur spectre UV-visible est mesuré à l'aide d'un spectrophotomètre.

#### 4. Tests phytochimiques :

L'espèce sélectionnée fait l'objet d'une étude phytochimique qui consiste à détecter les différents composés chimiques existant dans la plante.

Deux solvants de polarité différente l'eau, et HCl ont été utilisés, l'extraction se fait par infusion et macération du matériel végétal pendant 24 heures. Le mélange est filtré et ensuite soumis aux différents tests phytochimiques, qui sont basés sur des essais de solubilité, des réactions de coloration et de précipitation ainsi que des examens en lumière ultraviolette.

#### **4.1. Préparation des extraits :**

- **Macération en milieu acide**

On mélange 10g des graines de coloquinte (*Citrullus colocynthis*) broyées et dégraissées avec 100ml d'HCl 2% ; on laisse macérer sous agitation, à température ambiante pendant 24h à l'abri de la lumière. Après filtration, on récupère le filtrat acide dans un flacon opaque afin de réaliser des tests phytochimiques.

- **Infusion dans l'eau distillée**

On verse 100 ml d'eau distillée bouillante sur 10g de graines de coloquinte (*Citrullus colocynthis*) broyées et dégraissées, on mélange bien et laisse le mélange refroidir.

Après filtration, on récupère le filtrat sous forme d'extrait aqueux dans un flacon opaque afin de réaliser des tests phytochimiques.

#### **4.2. Tests phytochimiques :**

- **Les alcaloïdes**

Dans deux tubes à essai nous avons introduit 1 ml de filtrat et ajouté 5 gouttes de réactif de Mayer dans le premier tube et 5 gouttes de réactif de Wagner dans le second. La présence d'alcaloïdes est confirmée par l'apparition d'un précipité blanc et brun respectivement

- **Les substances polyphénoliques**

**-les tanins :** Dans un tube à essai, nous avons introduit 5 ml de filtrat et ajouté 1 ml de solution aqueuse de  $FeCl_3$  à 1 %. En présence de tanin, il se développe une coloration verdâtre ou bleu-noirâtre.

**-les flavonoïdes :** nous avons introduit dans un tube à essai 5 ml de filtrat et ajouté 5 ml d'alcool chlorhydrique, 1 ml d'alcool iso amylique puis quelques copeaux de magnésium.

L'apparition d'une coloration rose ou rouge indique la présence des flavonoïdes.

- **Les saponosides :**

Dans un tube à essai, nous avons introduit 1 ml de filtrat et ajouté 5 ml de l'eau distillée. Ensuite, nous avons agité bien le tube dans le sens de la longueur pendant 15 secondes en raison de 2 agitations par seconde.

Le tube dans lequel la mousse persiste durant 15 minutes indique la présence des saponosides.

➤ **Les coumarines : Fluorescence U.V**

Nous avons introduit 2 ml d'extrait dans un tube à essai, La présence de coumarines est révélée après ajout dans le tube de 0,5 ml de  $\text{NH}_4\text{OH}$  à 25 % et observation de la fluorescence intense sous une lampe UV à 366nm.

➤ **Stérols et triterpènes : la réaction de Liebermann Buchard.**

Nous avons évaporé à sec 10 ml de l'extrait, après nous avons dissout le résidu dans 5 ml d'anhydride acétique puis 5 ml de chloroforme. Nous avons mis dans le fond du tube à essai à l'aide d'une pipette 1 ml de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentré sans agité. A la zone de contact des deux liquides, la formation d'un anneau rouge brunâtre ou violet, la couche surnageant devenant verte ou violette révèle la présence de stérols et triterpènes.

➤ **Les composés réducteurs :**

Nous avons introduit 2 ml d'extrait dans un tube à essai, et ajouté 1 ml de liqueur de Fehling (1 ml de réactif A et 1 ml de réactif B) après nous avons porté l'ensemble 8 min dans le bain marie bouillant. L'obtention d'un précipité rouge-brique indique la présence de composés réducteurs.

## **Analyses biologiques :**

Le but recherché de ces tests est de déterminer la toxicité aigue et l'effet hypoglycémiant d'alcaloïdes totaux extraits des graines de coloquinte sur des rats Wistar normaux en fonction des différentes doses administrées par voie intra-péritonéale.

### **1. Les animaux :**

Notre étude expérimentale est réalisée sur les rats blancs « *Rattus norvegicus* » variété Wistar, âgés de 2 à 3 mois avec un poids corporel de 100 à 150g. L'élevage de ces animaux s'est déroulé au sein de l'animalerie du département de biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre et de l'univers, Université Abou Bekr Belkaid-Tlemcen, Algérie.

Les rats sont hébergés dans des cages en plastique et maintenus dans les conditions favorables d'élevage et disposés d'eau du robinet et de nourriture standard, la litière est renouvelée trois fois par semaine.

Les animaux sont nourris avec un aliment complet (El ALF) d'AIN FEZZA sous forme de granulés. Il est composé de Céréales, Issus de Céréales, Tourteaux de soja, Huile de soja, Phosphate monocalcique, Carbonate de Calcium, Lysine, Méthionine, Choline, plus un complexe minéralo-vitaminiques (protéines brutes 18%, grasses brutes 2.50%, minérales brutes 4.20%, cellulose brute 3.90% et vitamines).

### **2. Répartition des rats :**

Cette expérimentation a été faite sur 25 rats répartis en 5 lots de 5 rats dans chaque lot qui doit recevoir une dose unique de l'extrait préparé (voir tableau 01).

### **3. Préparation des doses à tester :**

Les alcaloïdes totaux extraits des graines de coloquinte à tester est préparé par la solubilisation du solides brun des alcaloïdes dans 0.5ml de DMSO et dilué dans de l'eau physiologique jusqu'à le volume voulu.

#### 4. Administration des doses aux différents lots :

Les animaux sont privés de nourriture 16 heures avant les tests. Ils sont pesés au moment de l'application de l'extrait et identifiés par une marque au niveau de la queue.

Ensuite, une glycémie basale ( $T_0$ ) est mesurée, pour l'ensemble des rats, à l'aide d'un lecteur du glucose (glucomètre à bandelettes réactives One Touch Ultra).

L'évolution de la glycémie à jeun, ainsi que le poids des rats des différents groupes est contrôlée dès le premier jour de l'injection.

Les alcaloïdes totaux extraits des graines de coloquinte (*Citrullus colocynthis*) sont administrés à différentes doses, par voie intra-péritonéale, à raison d'une dose par lot.

**Tableau 01** : détermination des doses létales des alcaloïdes totaux injectés aux rats par voie intra-péritonéale.

extrait	Lot	N <sup>o</sup> Lot	Nombre de rats	Poids moyen (g)	Dose injectés en I.P. mg/kg (p.c)
1 : Témoin	RTN	1	05	159.5	1ml Na Cl 0.9%
2 : Les alcaloïdes totaux des graines de coloquinte	RN150	2	05	180.4	150
	RN300	3	05	140.4	300
	RN600	4	05	151.6	600
	RN800	5	05	152.75	800

IP : intra-péritonéale.

#### 5. Evaluation de la toxicité aiguë chez les rats Wistars

Les essais de la toxicité aiguë permettent d'évaluer les effets toxiques qui apparaissent dans un temps court (de 1 à 21 jours).

Après l'administration de l'extrait de graines, les animaux sont observés individuellement chaque une heure pendant 3 heures, le premier jour et tous les jours pendant 21 jours.

Pendant toute la durée de l'expérience, nous notons le nombre de morts ainsi que les troubles symptomatologique observés.

Les principaux effets recherchés sont :

- ⊕ les signes cliniques,
- ⊕ les modifications pathologiques visibles à l'œil nu,
- ⊕ et la létalité (mortalité).

## 6. Détermination de la DL50 :

Après administration des différentes doses des alcaloïdes totaux des graines de coloquinte, par voie intra-péritonéale, aux différents lots. On évalue la DL 50 (dose létale 50) c'est-à-dire la dose unique qui détermine dans un délai de 21 jours la mort de 50 % des animaux traités. A partir de ces données, on trace la courbe : nombre de rats morts = f (log dose mg/kg).

La DL50 et son intervalle de confiance sont calculés par la méthode graphique de Litchfield et Wilcoxon.

## 7. La suivie des poids corporel des rats :

Pendant la période d'expérience, le poids corporel et la croissance des rats sont suivis après l'injection des différentes doses des alcaloïdes totaux par voie intra-péritonéale.

Le poids est mesuré à l'aide d'une balance en gramme (g) et le taux de croissance des rats par rapport au 1<sup>er</sup> jour est exprimé en % et calculé selon la formule suivante :

$$\text{Taux de croissance (\%)} = \frac{(P_j - P_{j0}) \times 100}{P_{i0}}$$

**P<sub>j0</sub> : poids du 1<sup>er</sup> jour**

**P : poids du jour J**

## 8. Effet hypoglycémiant des différentes doses des alcaloïdes totaux :

Le pouvoir hypoglycémiant est mesuré afin de déterminer la dose la plus faible des alcaloïdes totaux qui provoque un risque d'hypoglycémie chez le rat.

Pour cela, l'évolution de la glycémie des rats des différents lots est suivie à court termes durant 3 heures (T<sub>0</sub>, 1h, 2h, 3h) après l'injection intra-péritonéale d'extrait.

Le sang est prélevé à partir de la veine caudale et la glycémie est mesurée à l'aide d'un lecteur de glucose (glucomètre à bandelettes réactives One Touch ultra).

Les teneurs en glucose sont exprimées en g/l et les variations de la glycémie sont exprimées en pourcentage (%).

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

**G<sub>0</sub> : glycémie basale ;  
(temps = 0 min) T<sub>0</sub>.**

**G<sub>t</sub> : glycémie à temps T.**

La glycémie des rats survivants des différents lots son suivie à moyen terme durant 3 semaines (2<sup>ème</sup>, 7<sup>ème</sup>, 14<sup>ème</sup> et 21<sup>ème</sup> jour).

### Analyse statistiques :

L'ensemble des résultats est analysé par des calculs statistiques qui 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

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

◆ L'écart-type

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

◆ L'erreur standard de la moyenne (Sm)

$$S_m = \frac{\sigma}{\sqrt{n-1}} = \sqrt{\frac{\sum(x-\bar{x})^2}{n(n-1)}}$$

◆ 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 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 5 rats dans chaque lot, on applique cette loi ; dans un premier temps on calcule la variance commune comme suit :

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

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

Pour comparer les deux moyennes on applique le teste de student, à  $\nu$  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  $t_\nu$  de la table de Student, la différence entre les moyennes des deux échantillons est significative [Schwartz, 1992 ; Amotte, 1971].

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

- ✓ Peu significative si  $p < 0,05$  (\*)
- ✓ Significative si  $p < 0,01$  (\*\*)
- ✓ Très significative si  $p < 0,001$  (\*\*\*)
- ✓ Hautement significative si  $p < 0,0001$  (\*\*\*\*)

## Résultat et interprétation:

### Analyse phytochimique :

#### 1. L'extraction des alcaloïdes totaux :

L'extraction des alcaloïdes totaux des graines de coloquinte nous a permis de calculer le rendement.

Le rendement qui a été déterminé par rapport à 100 g de matériel végétal sec, broyé et dégraissé est exprimé en pourcentage. Les résultats obtenus sont illustrés dans le tableau:02

**Tableau 02** : rendement des alcaloïdes totaux extrait des graines de coloquinte :

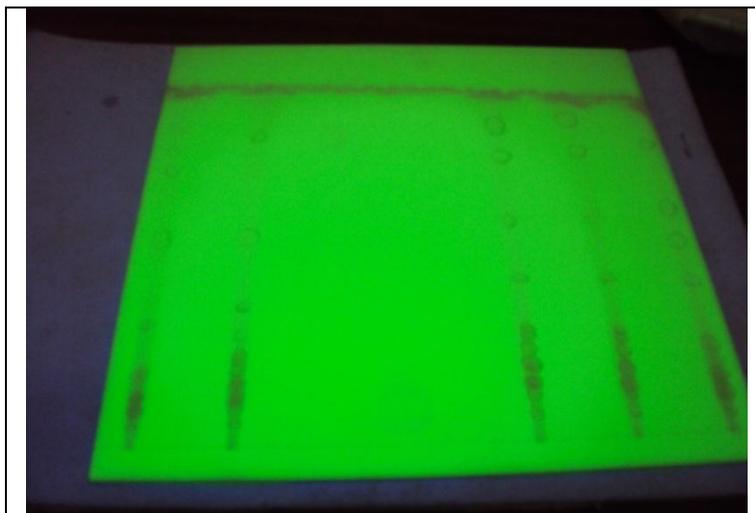
Extrait, aspect physique	Masse (g)	Rendement (%)
Cristallisé de couleur jaune	0,5	0,5

L'extraction des alcaloïdes totaux obtenus à partir du 100g des graines de la coloquinte permet de récupérer 0,5 g d'un produit solide cristallisé de couleur jaune, avec un rendement de 0,5%. Ce résidu donne un test positif avec les réactifs de Mayer et Wagner.

#### 2. Analyse chromatographique sur couche mince des alcaloïdes totaux :

Pour un essai d'analyse qualitative du contenu de notre extrait on a eu recours à l'utilisation de la chromatographie sur couche mince (CCM) puisqu'elle est l'une des méthodes de séparation des différents constituants d'un extrait végétal et qui est plutôt simple à mettre en œuvre.

Dans notre étude, nous avons réalisé une chromatographie sur couche mince pour les alcaloïdes totaux extrait des graines de coloquinte sur une plaque de gel de silice en utilisant le système suivant : **chloroforme/méthanol (9/1)**. Les résultats obtenus sont démontrés dans la **figure 04** et résumés dans **le tableau 03**.



**Figure 04 :** Photo du chromatogramme résultant de l'analyse des alcaloïdes totaux par le système chloroforme/Méthanol (9/1)

**Tableau 03 :** Résultats de la chromatographie sur couche mince des alcaloïdes totaux extrait des graines de coloquinte :

Extrait	Eluant	Proportion	Nombre de taches	Rfs
Alcaloïdes totaux	Chloroforme/Méthanol	9/1	11	0.05
				0.08
				0.11
				0.14
				0.19
				0.22
				0.23
				0.37
				0.54
				0.75
				0.86

L'analyse du résidu par chromatographie sur couche mince révèle la présence de 11 taches importantes avec le système Chloroforme/Méthanol (9/1).

### 3. Balayage spectral :

Les alcaloïdes totaux extraits des graines de coloquinte sont dissous dans DMSO et leur spectre UV-visible est mesuré à l'aide d'un spectrophotomètre.

Les données issues de ces mesures sont reprises dans le tableau 04 suivant :

**Tableau 04 :** Résultat de balayage spectral des alcaloïdes totaux extrait des graines de coloquinte :

La gamme	Nombre de pic	Pic
190-400	7	220, 230, 260, 270, 300, 310, 350

### 4. Tests phytochimiques

Les tests phytochimiques consistent à détecter les différentes familles de composés existantes dans la partie étudiée de la plante par les réactions qualitatives de caractérisation. Ces réactions sont basées sur des phénomènes de précipitation ou de coloration par des réactifs spécifiques à chaque famille de composé.

Les résultats des tests phytochimiques effectués sur les deux extraits préparés par macération en milieu acide ou infusion en milieu aqueux des graines de coloquinte sont regroupés dans le **tableau 04** suivant :

**Tableau 05 :** Résultats des tests phytochimiques des extraits acides et aqueux des graines de coloquinte (*Cirtullus colocynthis*).

Métabolites	Réaction et réactif	Macération en milieu acide	Infusion en milieu aqueux
Les alcaloïdes	Mayer	+++	+
	Wagner	+++	++
Les tanins	FeCl <sub>3</sub> à 1%	-	+

<b>Les flavonoïdes</b>	<b>Mg<sup>2+</sup></b>	-	-
<b>Les saponosides</b>	<b>Test de mousse</b>	-	+
<b>Les coumarines</b>	<b>NH<sub>4</sub>OH</b>	-	-
<b>Stérols et triterpènes</b>	<b>Réaction de Libermann Buchardt</b>	+	-
<b>Les composés réducteurs</b>	<b>Liqueur de Fehling</b>	+++	-

**+ : positif ; ++ : très positif ; +++ : hautement positif ; - : négatif.**

D'après les résultats obtenus, nous avons constaté la présence des alcaloïdes dans les deux extraits, les tanins et saponosides dans l'extrait préparé par infusion ; les hétérosides (Stérols et triterpènes) et les composés réducteurs dans l'extrait préparé par macération. De même nous avons noté l'absence des flavonoïdes et les coumarines dans les deux extraits.

## Analyses biologiques :

### 1. Evaluation de la toxicité aigue :

Après l'administration intra-péritonéale des différentes doses (de 150 mg/kg à 800mg/kg) des alcaloïdes totaux extraits des graines de coloquinte (*Citrullus colocynthis*), aux différents lots des rats, nous avons obtenu les résultats suivants :

#### 1.1. Observation du comportement et détermination de la dose létale (DL50 et DL100) :

Dès le début du traitement et ceci même pour les doses faibles, nous avons constaté chez les animaux une carte clinique caractérisée par des symptômes graves :

- ▶ une difficulté de respiration et agitation,
- ▶ l'activité des animaux se réduit, leur démarche devient lente, puis peu à peu ils se couchent sur le ventre, et enfin ils se rangent les uns à côté des autres .
- ▶ La mort survient à partir de la 2<sup>ème</sup> heures jusqu'à 24<sup>ème</sup> heures.
- ▶ Après 48 heures, les animaux survivants ont retrouvé un comportement normal comparable à celui des témoins.

Les Symptômes observés et la mortalité notée des rats durant les 24 h sont résumés dans les **Tableau 06** et **07** respectivement.

**Tableau 06:** Les symptômes apparus chez les rats normaux glycémiques après l'injection de différentes doses des alcaloïdes totaux.

Lot	RTN	RN150	RN300	RN600	RN800
Dose (mg/kg)	NaCl (9 g/l)	150	300	600	800
symptômes					
Comportement anormal	0	0	5	5	5
Marche anormale	0	0	4	5	5
Activité réduite	0	0	4	5	5
Contraction abdominal	0	0	0	3	5
Gonflement de la partie d'injection	0	0	0	4	5
Sang dans l'urine	0	0	0	0	1

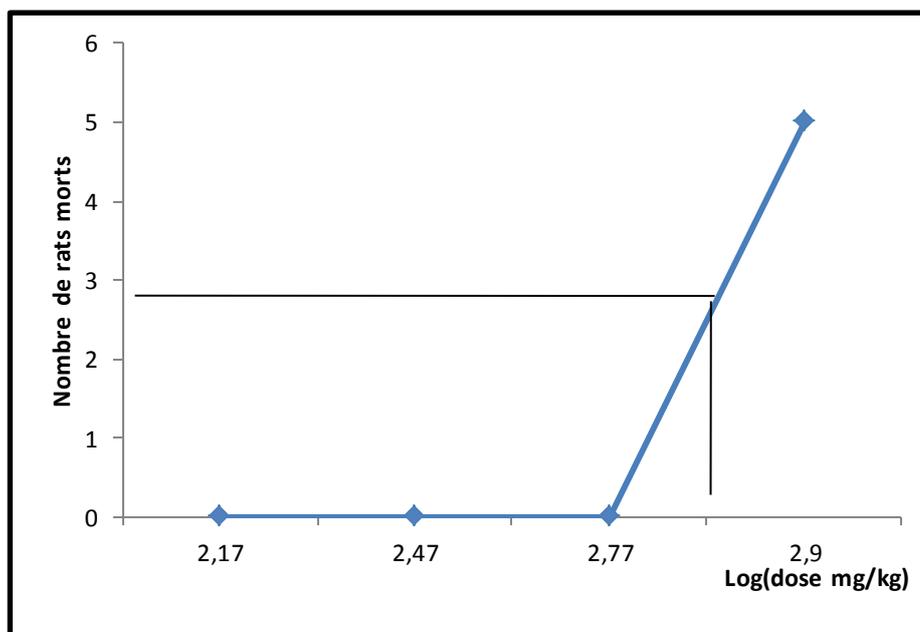
agitation	0	0	0	0	3
Coma	0	0	0	0	1

**Tableau 2 :** Mortalité des rats normaux glycémiques après l'injection de différentes doses des alcaloïdes totaux.

Lots	Dose (mg/kg)	Après 3h	Après 24h	Totale mortalité
RN150	150	0	0	0
RN300	300	0	0	0
RN600	600	0	0	0
RN800	800	4	1	5

D'après les résultats ci-dessus, la dose létale  $DL_{100}$  (la dose qui entraîne la mort de 100% de l'effectif des rats du lot) des alcaloïdes totaux administrés par voie intra-péritonéale chez les rats Wistars serait de **800mg/kg**.

❖ Détermination de la  $DL_{50}$ , (par la méthode de Litchfield et Wilcoxon ;1985)



**Figure 06:** Détermination de la  $DL_{50}$  par la méthode de Litchfield et Wilcoxon (taux de mortalité en fonction de logarithme la dose injectée).

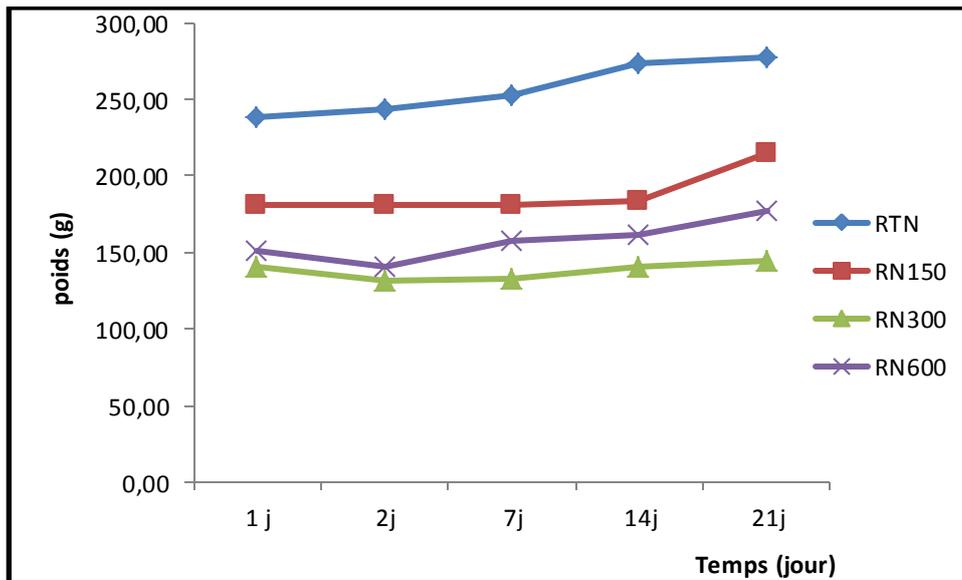
D'après la figure 06, qui présente la courbe de nombre des rats mort en fonction log la dose injectée en mg/kg , nous avons déduit une dose létale médiane DL50 de **683,91** mg/kg p.c pour les alcaloïdes totaux administrés par voie intra-péritonéale chez les rats Wistars

## 1.2. Le suivie des signe de toxicité et l'effet des alcaloïdes totaux des graines de *Citrullus colocynthis* sur les poids des rats pendant 21 jours :

Tous les rats survivants se trouvent à l'état normal pendant toute la semaine qui suit l'injection intra-péritonéale.

**Tableau 08 :** Résultats de l'évolution du poids corporel en (g) et la variation de taux de croissance en (%) pendant 21 jours qui suit l'injection d'extrait.

Lot	Doses injectés I.P. mg/kg p.c	Evolution du poids corporel (g) ± écarte type				
		Variation taux de croissance (%)				
		1 <sup>er</sup> jour	2 <sup>ème</sup> jour	7 <sup>ème</sup> jour	14 <sup>ème</sup> jour	21 <sup>ème</sup> jour
RTN	NaCl 0,9%	238,12±17,59	243,52±17,23 +2,27%	252,88±23,78 +6,20%	274,08±21,57 +15,10%	277,20±21,45 +16,41%
RN150	150	180,40±25,53	180,60±29,04 +0,11%	181,40±33,16 +0,55%	184,20±36,07 +2,11%	215,4±37,84 +19,40%
RN300	300	140,4±13,01	131,80±11,34 -6,13%	132,20±10,40 -5,84%	140,2±9,23 -0,14%	144,6±7,83 +2,99%
RN600	600	151,60±15,92	140,8±13,59 -7,12%	158,00±14,78 +4,22%	161,6±14,29 +6,60%	177,2±16,60 +16,89%



**Figure 07:** Evolution du poids corporel chez les rats normaux glycémiques après l'injection IP d'alcaloïde totaux.

Chez les rats témoins et les rats (RTN) nous avons constaté une croissance régulière du poids corporel.

Nous avons noté une diminution des taux de croissances chez la plupart des lots de rats, une semaine après l'injection intra-péritonéale des différentes doses d'alcaloïdes totaux des graines de coloquinte, par rapport aux rats témoins, avant le retour d'une croissance régulière à la fin d'expérimentation. De plus nous avons noté des chutes de poids corporel, au 2<sup>ème</sup> jour, chez certains lots qui peut arriver à -7,12% et -6,13% chez les rats de lot (RN600 et RN 300) qui reçoivent une injection de 600mg/kg et 300mg/kg respectivement. Cette chute peut être expliquée par l'effet toxique des alcaloïdes administrés.

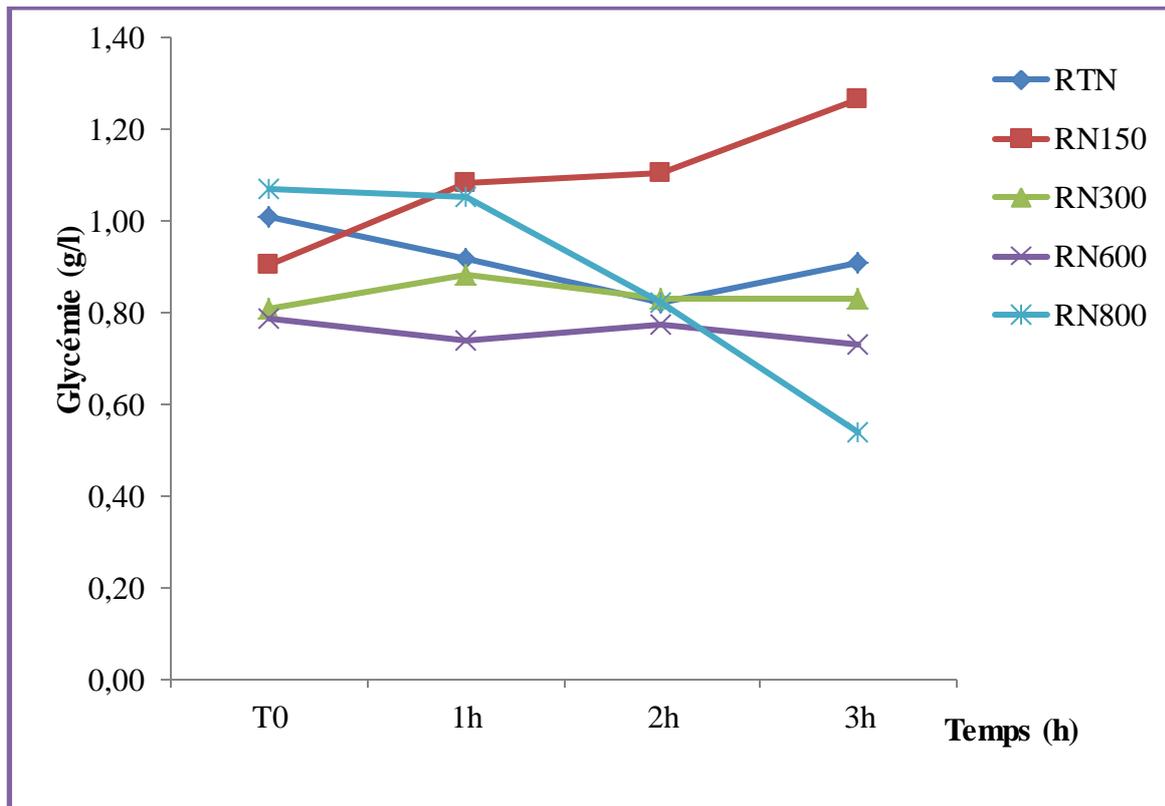
## 2. Recherche d'effet hypoglycémiant des alcaloïdes totaux des graines de *Citrullus colocynthis* à différentes doses :

### 1.2. Effet des alcaloïdes totaux sur la glycémie à courte terme :

Le tableau 09 : présente l'évolution de la glycémie durant 3heurs chez les rats Wistar normaux glycémique soumis à des injections intra-péritonéales des différents dose des alcaloïdes totaux des graines de *Citrullus colocynthis*. Cette variation de la glycémie est exprimée en % par rapport au la glycémie basale de temps 0min ( $T_0$ ).

**Tableau 09 :** Variation de la glycémie durant 3heurs après l'injection intra-péritonéale des alcaloïdes totaux des graines de *Citrullus colocynthis*.

Lot	Doses injectés I.P. mg/kg p.c	Glycémie basale au temps T0(g/l)	Evolution de la glycémie ± écarte type		
			Variation de la glycémie(%)		
			1h	2h	3h
<b>RTN</b>	NaCl 0,9%	1,01±0,26	0,92±0,28 -8,93	0,82±0,15 -18,68	0,91±0,13 -9,75
<b>RN150</b>	150	0,90±0,16	1,08±0,30 +19,91	1,11±0,31 +22,35	1,26±0,38 +39,82
<b>RN300</b>	300	0,81±0,21	0,88±0,12 +8,89	0,83±0,12 +2,72	0,83±0,15 +2,47
<b>RN600</b>	600	0,79±0,09	0,74±0,32 -6,09	0,77±0,19 -1,78	0,73±0,24 -7,36
<b>RN800</b>	800	1,07±0,14	1,05±0,64 -1,64	0,82±0,20 -23,36	0,54±0,45 -49,53



**Figure 08 : Evolution de la glycémie chez les rats traités par l'injection intra-péritonéale de différentes doses d'alcaloïdes totaux à courte terme.**

Après l'injection intra-péritonéale de différentes doses d'alcaloïdes totaux extraits des graines de coloquinte chez les rats normaux glycémiques, nous avons enregistré un effet hypoglycémique (une glycémie au dessous de 0,55g/l) après une dose de 800mg/kg marqué par une diminution de la glycémie d'ordre de 49% (de 1,07 à 0.54 g/l) par rapport à la glycémie basale au temps T0.

De plus, nous n'avons pas noté un effet hypoglycémique durant 3 heures chez les rats normaux glycémiques des autres lots (RTN, RN150, RN300et RN600).

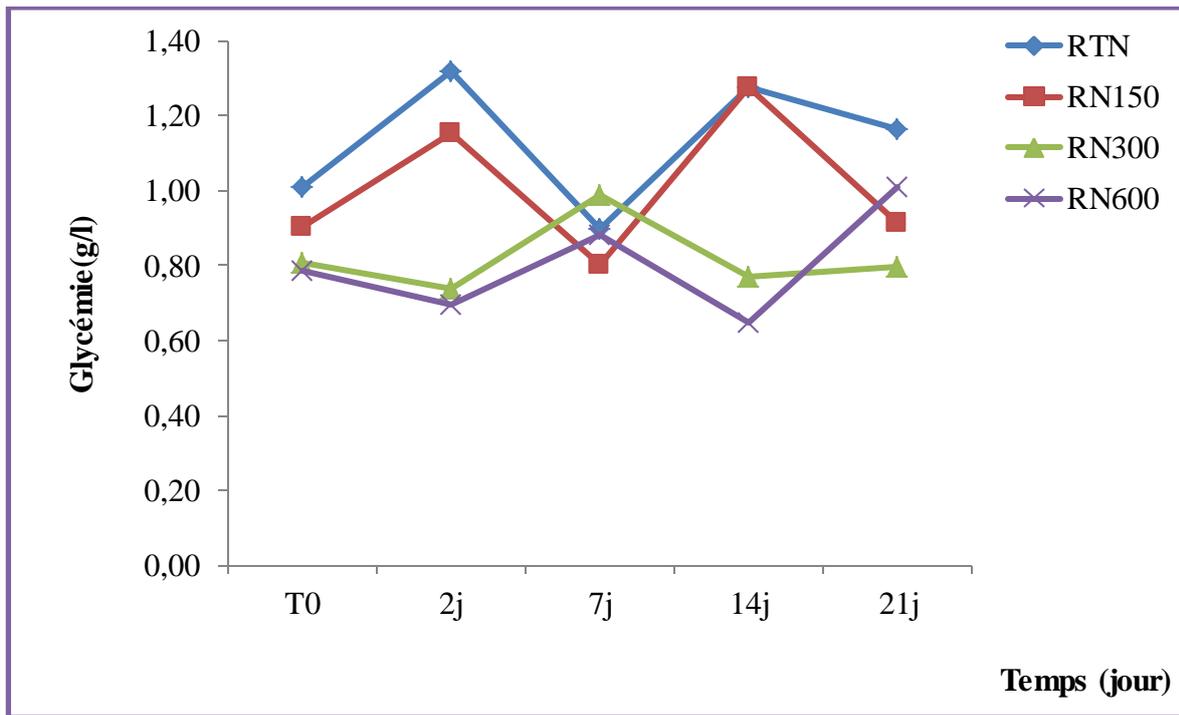
Par contre, nous avons constaté une augmentation de la glycémie l'ordre de **39,82% et 8,89%** par rapport aux T<sub>0</sub>, chez les rats normaux soumis à une injection intra-péritonéal de 150mg/kg et de 300mg/kg d'alcaloïdes totaux respectivement.

## 2.2. Effet des alcaloïdes totaux des graines de *Citrullus colocynthis* sur la glycémie à moyenne terme :

Après l'injection intra-péritonéale de différentes doses d'alcaloïdes totaux extraits des graines de coloquinte ; Les rats sont suivis chaque semaine (durant 3 semaines) .Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 10 et la figure 09 suivants :

**Tableau 10 :** évolution de la glycémie durant 3 semaines après l'injection intra-péritonéale des alcaloïdes totaux des graines de *Citrullus colocynthis*.

Lot	Doses injectés I.P. mg/kg p.c	Glycémie basale (T0) (g/l)	Evolution de la glycémie ± écarte type			
			Variation de la glycémie(%)			
			2j	7j	14j	21j
RTN	NaCl 0,9%	1,01±0,26	1,32±10,12	0,9±0,12	1,28±0,13	1,16±0,11
			30,9	-10,74	26,61	15,21
RN150	150	0,90±0,16	1,15±0,09	0,80±0,05	1,28±0,23	0,92±0,18
			+27,43	-11,06	+41,37	+1,33
RN300	300	0,81±0,21	0,74±0,09	0,99±0,16	0,77±0,09	0,80±0,11
			-9,14	21,98	-4,94	-1,48
RN600	600	0,79±0,09	0,70±0,10	0,88±0,28	0,65±0,29	1,01±0,31
			-11,42	11,68	-17,51	+28,43



**Figure 09 : Evolution de la glycémie chez les rats traités par l'injection intra-péritonéale de différentes doses d'alcaloïdes totaux à moyenne terme.**

Durant 3 semaines de suivis nous avons noté le retour à l'état normal de la glycémie, sans noté d'effet hypoglycémiant, chez les différents lots des rats soumis à différentes doses d'alcaloïdes totaux extraits des graines de coloquinte.

## **Discussion :**

L'utilisation des plantes médicinales est aujourd'hui la forme de médecine la plus répandue à travers le monde. Le recours au traitement par les plantes ainsi que la recherche de nouvelles substances à activité biologiques constituent une des plus grandes préoccupations scientifiques.

De ce fait, plusieurs travaux ont été réalisés pour l'évaluation des secrets des plantes médicinales dont la présente étude qui est consacrée à la recherche de toxicité et l'effet hypoglycémiant à partir des alcaloïdes totaux extraits des graines de coloquinte (*Citrullus colocynthis*).

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

**Wasfi, 1994 ; Lev et Amar, 2002 ; Saïd et al., 2002** ont constaté que en: Arabie saoudite, Emirats Arabe unie, Jordanie, Israël, Palestine et Golan, les graines et les fruits de la coloquinte sont recommandées aux diabétiques pour leur effets antidiabétiques.

Plusieurs recherches confirment l'effet antidiabétique d'extrait alcaloïde citant :

**Azzi en 2007**, a montré que les alcaloïdes totaux (80mg/kg) extraits des graines de coloquinte provoquent une diminution de l'hyperglycémie chez les rats rendus diabétiques par la streptozotocine à court terme et à long terme.

**Zekri et Dib (2000)**, ont trouvé que l'administration intra-péritonéale d'un extrait d'alcaloïdes des graines de *Citrullus colocynthis* (coloquinte) améliore l'homéostasie du glucose chez des rats rendus diabétiques par STZ par rapport aux rats diabétiques témoins. Cette diminution persiste pendant 4 semaines.

**Day et al. (1990)**, ont isolé des alcaloïdes à partir des fruits de *Momordica charantia* L., famille des cucurbitacées (même famille que la coloquinte), par une extraction en milieu alcalin et du chloroforme, lavé en suite par un acide et du chloroforme. Les résidus d'alcaloïdes obtenus ont un effet antihyperglycémiant sur des souris rendues diabétiques par la STZ.

L'extraction des alcaloïdes totaux à partir de 100g des graines de coloquinte broyées et dégraissées permet de récupérer un produit cristallisé de couleur jaune, avec un rendement de **0,5%**.

En effet, d'après l'analyse chromatographique en couche mince en présence d'une phase mobile contenant du chloroforme et du méthanol (9 :1).l'extrait des alcaloïdes serait composé d'au moins **11** constituants.

**Darwish-Sayed et al. en 1973**, ont séparé, par chromatographie sur couche mince, en plus d'une choline trois alcaloïdes à partir des graines de coloquinte récoltées dans la région de Marsa-Matrouh (Egypte) en utilisant une phase mobile contenant du chloroforme et du méthanol (9 :1). Ces alcaloïdes sont identifiés par RMN : ( $C_{10}H_{15}NO_3$  et  $C_{20}H_{32}NO$ ) sont considérés comme des dérivés de la pyridine, tandis que le troisième ( $C_{16}H_{24}NO_7$ ) a été suggéré être le dérivé de la quinoléine.

D'après **Azzi en 2007**, l'analyse chromatographique par CCM, en présence d'un mélange de solvant contenant chloroforme et méthanol (9 :1), les alcaloïdes totaux extraits des graines de la coloquinte révèle au moins 3 substances.

D'après les différentes analyses biologiques *in vivo* que nous avons réalisés sur l'effet hypoglycémiant d'extraits d'alcaloïdes totaux des graines de *Citrullus colocynthis*. Nous avons constaté que cet extrait n'a pas un effet hypoglycémiant à faible doses (moins de 600mg/kg). Seul un effet hypoglycémiant marqué par une diminution de la glycémie d'ordre de -49.53%, après une injection intra-péritonéale de 800 mg/kg est enregistré.

**D'après Abdel-Hassan et al. (2000)**, l'administration orale de 50mg/kg d'alcaloïdes de l'épicarpe de *citrullus colocynthis* chez lapins normaux glycémiques ne provoque aucun effet hypoglycémiant.

De même, **Raman et Lau (1996)**, ont noté que l'administration intra-péritonéale d'un alcaloïde pyrimidine nucléoside (Vicine) extrait des fruits de *Momordica charantia* L. cause un effet hypoglycémiant chez des rats normaux à jeun.

**Canal et al. (2000)**, ont montré que l'administration d'un extrait des feuilles de figue (*Ficus carica* L.) famille des Moracée, préparé par décoction des feuilles avec du HCl, traité par du NaOH et extrait par du chloroforme (mode d'extraction des alcaloïdes), provoque une diminution de l'hyperglycémie chez des rats diabétiques, **Hammouda et Amer (1966)**, ont

montré que l'administration de tecomine et tecostanine, deux alcaloïdes isolés des feuilles de *Tcoma stans* famille des bignoniacée, provoquent une diminution de la glycémie chez des lapins normaux et rendus diabétiques par l'alloxane

La recherche de l'effet toxique des alcaloïdes totaux extraits des graines de coloquinte (*Citrullus colocynthis*), nous a conduits à des résultats montrant un effet toxique clair et une chute de la glycémie chez les rats normaux glycémiques à plusieurs niveaux de doses.

L'étude de la toxicité aiguë (détermination de la DL50) par les alcaloïdes totaux des graines de coloquinte (*Citrullus colocynthis*), a permis de estimer les valeurs de la DL50 chez rats normaux glycémiques par la méthode graphique de **Litchfield et Wilcoxon** qui était de **683,91** mg/kg p.c et une DL100 enregistré de 800mlg/kg .

Ces valeurs nous a permis de constater que cet extrait ne provoque pas l'effet toxique sévère chez les rats Wistar.

D'après **Azzi R en 2007**, La détermination de la dose létale 50 (DL<sub>50</sub>) des alcaloïdes totaux extraits des graines de coloquinte (*Citrullus colocynthis*), administrée par voie intra péritonéale chez les rats Wistar nous a permis de confirmer la toxicité relative de cet extrait, qui a été de 800mg/kg

**Mahdeb (2002)**, a montré que l'administration par voie orale de 100 mg/kg des alcaloïdes totaux extraits des feuilles du *Datura stramonium* L ne provoque aucun effet toxique.

**Benouadah (2009)**, a noté que la détermination de la dose létale 50 (DL<sub>50</sub>) des alcaloïdes totaux extraits des graines de *Datura stramonium* L. administrée par voie oral chez les rats blanc (*Albinos Wistars*) a permis de confirmer la toxicité relative de cet extrait, qui a été de DL50 =303.38mg/kg chez les males et (294,44mg/kg) chez les femelles.

**Charnot (1945)**, a noté qu'à 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.

## Conclusion générale :

A la lumière des résultats obtenus, nous avons conclu que l'injection intra-péritonéale des différentes doses d'alcaloïdes totaux extraits des graines de coloquinte (*Citrullus colocynthis*) chez les rats Wistar normaux glycémiques ont un léger effet toxique avec une DL<sub>50</sub> estimée de **683,91** mg/kg p.c. et DL<sub>100</sub> enregistrée de 800mg/kg p.c.

De même, cet extrait d'alcaloïde ne provoque pas d'effet hypoglycémiant à des doses inférieures à 600mg/kg.

Par contre l'injection intra-péritonéale de différentes doses d'extrait ont montré une influence négative sur la croissance régulière des rats.

En perspectives; on propose :

- L'étude de la toxicocinétique.
- l'identification, caractérisation, et séparation des différentes fractions des alcaloïdes par les méthodes d'analyses chimiques : Chromatographie sur colonne, HPLC, CPG, RMN,...
- Tester des composés purifiés afin de déterminer le principe actif de chaque extrait.
- Utiliser d'autres espèces animales et modèles expérimentaux.

## Références bibliographique :

1. **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.
2. **ADA (American Diabetes Association); 1998.** The Expert Committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. Report of the Expert Committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 21:5-19.
3. **ADA (American Diabetes Association); 2006.** Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*; 29 (supp 1): S43-S48.
4. **Affi M., Darwish S ; 1973.** Nitrogenous bases of different organ of *Citrullus colocynthis*. *Planta media* ;24 (3) :260-265.
5. **Allali H., Benmehdi H., M.A. DIB., Tabti B., Ghalem S., Benabadji N ;2008.** “ Phytoterapy of Diabetes in West Algeria ”. *Asian Journal of Chemistry* ; Vol. 20, N°4 : 2701-2710.
6. **Amotte M ; 1971.** Initiation aux méthodes statistiques en biologie 2<sup>ème</sup> edit. Paris ; Masson et Cie.
7. **Association d'aide aux diabétiques Tlemcen ;2000.** Sidi Cheker.Tlemcen.
8. **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.
9. **Azzi R ; 2007.** contribution à la recherche des effets antidiabétiques des alcaloïdes et glycosides cucurbitacines extraits des graines de coloquinte (*citrullus colocynthis*) chez le rat rendu diabétique par la Streptozotocine. Mémoire de magistere, Université de Tlemcen.
10. **Bagchi D, Garg A, Krohn R, Bagchi M, Tran M, Stohs S., 1997.** Oxygen free radical scavenging abilities of vitamins C and E, and a grape seed proanthocyanidin extract in vitro. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol*; 95:179–90.
11. **Bailey C J et Day C; 1989.** Traditional plant medicines as treatments for diabetes. *Diabetes Care*; 12 (8): 553-564.
12. **Baquar S R et Tasnif M; 1984.** Medicinal plants of Southern West Pakistan. Periodical export Book Agency. (Delhi).
13. **Barceló A; 1996.** Série de monographie sur les maladies liées au vieillissement : diabète sucré non insulino dépendant (DNID) ; vol. 17 N°1.

- 14. 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).
- 15. Beaudeau J.L and Dominique B.R ;2005.** Radicaux libres et stress oxydant. Aspects biologiques et pathologiques. Edition médicales. Internationales ; p : 550.
- 16. Bedevian A K; 1936.** Illustrated Polyglottic Dictionary of Plant names. Cairo, Argus D Papazian Presses.
- 17. Benariba N ; 2003.** Contribution a l'étude 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.
- 18. Belouad A ; 1998.** Plantes médicinales d'Algérie. Office de la publication Universitaire, Algérie : 273p.
- 19. Benouadah Z ., ; 2009.** Etude de l'effet de la toxicité du *Datura stramonium L.* sur le rein du rat blanc (*Albinos Wistars*). mémoire de **magistère en Biologie et Physiologie Animale, UNIVERSITE MENTOURI CONSTANTINE**
- 20. 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.
- 21. Berthium Yves; 1995.** Les canadiens pour la recherche médicale.
- 22. Bessire N; 2000.** Acidocetose diabétique et grossesse .Mémoire de doctorat, Université de Genève.
- 23. 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.
- 24. 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.
- 25. 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.
- 26. Bonvalot N; 2002.** Méthode d'élaboration : 14.

- 27. Boukef K et Souissi H R ; 1986.** Contribution à l'étude des plantes utilisées en médecine populaire tunisienne. Faculté de Pharmacie Monastir : 31-44.
- 28. Brun JM., Cathelineau G., Charbonnel B et al. ; 1995.** Recommandations de l'ALFEDIAM. Mise à l'insuline du diabétique non-insulino-dépendant (diabétique de type 2). Diabète et métabolisme (Paris); 21 : 291-294.
- 29. Buyschaert M et Hermans M P ; 1998.** Critères révisés et nouvelle classification des diabètes sucrés. Louvain MED; 117: 1-6.
- 30. Buyschaert M., Vandeleene B., Parus I., Hermans MP ; 1999.** Le diabète sucré d'une réalité d'aujourd'hui à un défi de demain. *Louvain Med* ; 118: S189-S195.
- 31. Calop J., Limat S., Fernandez C ; 2008.** Pharmacie clinique et thérapeutique. 3ème Ed. Masson. Elsevier Masson. Paris ; pp.417-427.
- 32. Canal JR, Torres MD, Romero A et Perez C; 2000.** A chloroform extract obtained from a decoction of *Ficus carica* leaves improves the cholesterolaemic status of rats with streptozotocin-induced diabetes. *Acta Physiol Hung*; 87: 71-76.
- 33. Capet F., Debaille R., Tafforeau J et Van Oyen H ; 1999.** Situation Actuelle et Eléments pour le Développement d'une Politique de Santé : diabète épidémiologie. CROSP ; 19 : 1-12 ; 27-28.
- 34. Carter I ; 1997.** Plantes protectrices pastèque sauvage. *Revue Pas à Pas Tear Fund (Angleterre)* ; 32 : 9.
- 35. Charbonnel B et Cariou B ; 1997.** Diabète non insulino-dépendant. Indications thérapeutiques. *Médecine thérapeutique* ; 3.hs: 103-11.
- 36. Charnot ; 1945.** la toxicologie au Maroc. *Mémoire Soc. Sci. Nat. Du maroc, Rabat* ; n° XL VII : 826.
- 37. Chattopadhyay RR; 1993.** Hypoglycaemic effect of *Ocimum sanctum* leaf extract in normal and streptozotocin diabetic rats. *Indian J Exp Biol*; 31: 391-393.
- 38. 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.
- 39. CSST (Commission de la santé et de la sécurité du travail du Québec) ; 2004.** Notion de toxicologie. bibliothèque nationale Québec ; 2ème édition, ISBN 2-551-22538-8.
- 40. Darwish-Sayed M, Balbaa S I et Affi M S A; 1973.** Nitrogenous base of the different organs of *Citrullus colocynthis*. *Planta Medica*; 24 (3): 260-265.
- 41. Day C, Cartwright T, Provost T et Bailey C; 1990.** hypoglycemic effect of *Momordica charantia* extracts. *Planta Med.*; 56: 426-429.

- 42. Derot M ; 1985.** Diabète, In: Encyclopaedia Universalis. Paris: Encyclopaedia Universalis France SA ; 6 : 66-70.
- 43. Dey lucey MD., Anoja S., Attele DDS., Chun-Su Yuan MD ; 2002.** Alternative therapies for type 2 diabetes. *Alternative medicine Review* ; 7(1): 45-58.
- 44. Dharmananda S; 2003.** Treatment of diabetes with Chinese herbs and acupuncture. Internet journal of the institute for traditional medicine and preventive health care.
- 45. Dorman T ; 1994.** Diabetes in the elderly: epidemiology. *J R Soc Med*; 87: 609-12.
- 46. DSA (INPES) ; 2005.** La prévention des complications du diabète. *Dossier de presse* ; 32p.
- 47. Ducobu J ; 2003.** Oral antidiabetic drugs in 2003. *Rev Med Brux* ; 24 :361-368.
- 48. 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.
- 49. Erasto1 P,Adebola P O, Grierson D S et Afolayan1 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.
- 50. Esmaeili M A., Yazdanparast R; 2004.** Hypoglycaemic effect of *Teucrium polium*: studies with rat pancreatic islet. *J Ethnopharmacol* ;95(1):27-30.
- 51. Fanny., Michèle., Maryse., Maria Klein ; 2009.** Relations entre le diabète sucre de type 2 et l'amyloïdose chez le chat .étude bibliographique-tou ; 3 -4010
- 52. Fari A ; 1990.** Modifications des constantes biologiques au cours de la grossesse. *Gazette médicale de France* : 97 : 47-53.
- 53. Farias RA, Rao VS, Viana GS, et al.; 1997.** Hypoglycaemic effect of trans-dehydrocrotonin, a nor-clerodane diterpene from *Croton cajucara*. *Planta Med*; 63: 558-560.
- 54. Fenichel P., Hieronimus S., Gillet J.Y., Harter M ; 1998.** Diabète et grossesse. In :Encyclopédie Médico-Chirurgicale . Endocrino-Nutrition. Paris : *Editions scientifiques et médicales Elsevier Masson SAS* ; 10-366-G-10 : 7p.
- 55. Ferrannini E., Vichi S., Natali A., Severi S ; 1996.** Cardiac disease in diabetic patients. *J. Cardiovasc. Pharmacol* ; 28. (Suppl. 4) S16/22
- 56. Feskens E.J.M., Bowles C.H.et Kromhout D ; 1991.** Carbohydrate intake and body mass index in relation to the risk of glucose tolerance in an elderly population. *Am.J.Clin.Nutr* ; 54 :136-140.
- 57. Flesch F; 2005.** Intoxication d'origine végétale plant poisoning F.Flesch (Praticien hospitalier) *Centre antipoison, hopitaux universitaires de Strasbourg*.

- 58. Fumeron F ; 2005.** De l'obésité au diabète de type 2 : épidémiologie et physiopathologie. *Cholédodoc* ; N°88.
- 59. Golditz G A., Willett W C., Rotnizky A et Manson J E; 1995.** Weight gain as a risk factor for clinical diabetes mellitus in women. *Ann Intern Med*; 122: 481-486.
- 60. Grimaldi A., Hartemann-Heurtier A., Jacqueminet S et al ; 2005.** Guide pratique du diabète. Edition MASSON. Paris.
- 61. Grimaldi A et al ; 2004.** Diabète de type 2. EMC-Endocrinologie. Elsevier SAS. Paris.
- 62. Grimaldi A ; 2003.** Diabète de type 2. L'épidémie annoncée est en cours. Huveaux France. *Rev Prat* ; 53 : 1067-8.
- 63. Girard J ; 1999.** Physiopathological fundamentals of type 2 diabetes. *Rev Prat* ; 49 : 22-29.
- 64. Grover J K Yadav S et Vats V 2002.** Medicinal plants of India with anti-diabetic potential. *Journal of Ethnopharmacology*; 81:81-100.
- 65. Halimi S et coll ; 1999.** Traitement médicamenteux du diabète de type 2. Agence française de sécurité des produits de santé. recommandation de bonne pratique ; 13-19.
- 66. Hammiche V., Maiza K ; 2006.** Traditional medicine in central Sahara: Pharmacopoeia of Tassili N'ajjer. *Journal of Ethnopharmacology* ; 105: 358-367.
- 67. Hammouda Y et Amers M S; 1966.** Antidiabetic effect of tecomine and tecostanine. *J Phar Sci*; 55: 1452-54.
- 68. Hamza N., Berké B., Chèze C., Le Garrec R., Agli A., Moore N., Gin H ; 2009.** Effet hypoglycémiant de deux extraits de plantes médicinales traditionnellement utilisées dans l'Est algérien, sur un modèle de souris diabétique. Communication affichée, rencontres nationales de la Société française de pharmacie de la Méditerranée Latine, Bourges (France), septembre
- 69. Harborne J B ; 1998.** Phytochemical methods : A guide to modern techniques of plant analysis. Chapman et Hall Thomson Science (U K) ; 3<sup>ème</sup> ed. : 203-234.
- 70. Harvey W.F.M.D., John Urithayd; 1898.** *Colocynthis*(U.S.P)king's American Dispensatory.
- 71. Hernandez-Galicia<sup>1</sup> E, Aguilar-Contreras A, Aguilar-Santamaria L, Roman-Ramos R, Chavez-Miranda<sup>1</sup> A A, Garcia- Vega<sup>1</sup> L M, Flores-Saenz<sup>1</sup> J L et Alarcon-Aguilar<sup>1</sup> F J ; 2002.** Studies on Hypoglycemic Activity of Mexican Medicinal Plants. *Proc. West. Pharmacol. Soc.* ; 45: 118-124.

- 72. Higashino H, Suzuki A et Tanaka Pootakham K;1992.** Hypoglycaemic effects of Siamese *MomordicaCharantia* and *phyllantus urinaria* extracts in streptozotocin-induced diabetic rats. *NipponYakurigaku Zasshi*; 100: 515-521.
- 73. Hurt J M ; 2003.** Plantes médicinales et diabète.TERRAHERBA.
- 74. Ivorra MD., Paya M., Villar A ; 1989.** Areview of natural products and plants as potential antidiabetic drugs.*J Ethnopharmacol* ; 27 :243-75.
- 75. James A.DUKE; 1992.** Handbook of phytochemical constituents of GRASherbs and other economic plants.Boco.Raton,FL.CRC Press.Handbook of energy crops.
- 76. 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) :123-160.
- 77. Jin, L., Xue, H.Y., Jin, L.J., Li, S.Y., Xu, Y.P., 2008.** Antioxidant and pancreas-protective effect of aucubin on rats with streptozotocin-induced diabetes. *Eur. J. Pharmacol.* 582:162–167.
- 78. John U et Cincinnati O ; 1898.** *Citrullus colocynthis*. Reprinted from the Western druggist. Chicago.
- 79. 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.
- 80. Kahn BB ; 1998.**Type 2 diabetes: when insulin secretion fails to compensate for insulin resistance. *Cell* ;92: 593-6.
- 81. Kim, Y.Y., Kang, H.J., Ko, S.K., Chung, S.H., 2002.** Sopungsungi-won (SP) prevents the onset of hyperglycemia and hyperlipidemia in Zucker diabetic fatty rats. *Arch.Pharm. Res.* 25: 923–931.
- 82. Kirtikar et Basu ; 1984.** Indian medicinal plants. Bishen Singh, Mahendra Pal Singh, Dchra Dern ...022.
- 83. Kreider M., Gerich J et Wittlin S; 1997.** Bedtime insulin in non-insulin dependent diabetes mellitus: rationale, safety, efficacy and recommendations. *Diabetes Nutr. Metab. Clin. Exp*; 10: 82-93.
- 84. Laigneau Jaques ; 2000.** Mort annoncée du pire des tests.
- 85. Larbi ; 2006.** Le guide de la médecine de la santé en Algérie. (en ligne).
- 86. Larrey D ; 1997.** Hypatototoxicity of herbal. *Tretement ief .J.Hypatol* ; 26(1) :47-51.

- 87. Larrey D ; 1998.** Phytothérapie et hépatotoxicité . Service d'hépto-gastroentérologie et de transplantation hépatique. Hospital Faint-Eloi. Montpellier.
- 88. Lecor PA ; 2000.** Prise en charge des parodontopathies facteur d'équilibre du diabète sucré. (Etude prospective Cas- Témoins à propos de 90 malades au Centre Marc) Sankalé de Dakar. Thèse Chir Dent.Dakar ; N° 6 bis.
- 89. 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.
- 90. Lev E et Amar Z; 2002.** Ethnopharmacology survey of traditional drugs sold in the Kingdom of Jordan. *Journal of Ethnopharmacology*; 82: 131-145.
- 91. Litchfield, J.J., F. Wilcoxon.** A simplified method of evaluating dose effective experiment. In Kalayanova. (1985). Sofia.
- 92. Li WL., Zheng HC., Bukuru J., DeKimpe N ; 2004.**Natural medicines used in the traditional Chinese medical system for therapy of diabètes mellitus. *J Ethnopharmacol* ;92 :1-21.
- 93. Maatooq GT., El-Sharkawy SH., Afifi MS et Rosazza PN; 1997.**C-p- Hydroxybenzoylglycoflavones from *Citrullus colocynthis*. *Phytochemistry* ;44 (1) : 187-190.
- 94. Mahdeb N ; 2002.** Etudes toxiques du *Datura stramonium* L. Effet de l'extrait des feuilles sur le cerveau et le foie des rats. Thèse de Magistère. Université Farhet Abbas Sétif. pp. 77-78.
- 95. Mahmoudi Y ; 1986.**la thérapeutique par les plantes les plus communes en Algérie. Palis des livres. Blida ; 105p.
- 96. Marles R.J., Farnsworth N.R ; 1994.** Plants as sources of antidiabetic agents. *Econ Med Plant Res*; 6:149-187.
- 97. Marles R et J Norman ; 1994.** Plants as sources of antidiabétic agents.In « Economic and Medicinal Plant Research,vol.6, » H.Wagner and N. R . Farnsworth, edf ; Academic Treff, London, chapter4.
- 98. Marles R.J., Farnsworth N.R ; 1995.** Antidiabetic plants and their .active constituents. *Phytomedicine*. Chapter 4.2: 137-189
- 99. Marles R et fransworth N ; 1996.** Antidiabetic plants and their active constituents. *Prot. J Bot Med* ; 1(3) :85-135.
- 100. Maugendre D., Yaouanq J., Guilhem I., Campion L., Lorcy Y., Leguerrier A.M ., Allannic H ; 2007.** Etiologie et physiopathologie des diabètes secondaires. In : Encyclopédie Médico-Chirurgicale. Endocrinologie-Nutrition. Paris : Editions scientifiques et médicales Elsevier Masson SAS ; 10-366-D-20 : 6.

- 101.Merad Chiali R ; 1973 a.** Contribution à la connaissance de la pharmacopée traditionnelle Algérienne. Les inventaires du grand Alger. Partie II. Thèse pour le doctorat d'Etat en Pharmacie.
- 102.Merad Chiali R; 1973 b.** Plantes thérapeutiques : traditions, pratiques officinales, science et thérapeutique. Tec. Doc.
- 103.Nissen, S.E., Wolski, K., 2007.** Effect of rosiglitazone on the risk of myocardial infarction and death from cardiovascular causes, *N. Engl. J. Med.* 356: 2457–2471.
- 104.Nmila R., Gross R., Rachid H., Roye M., Manteghetti M., Petit P., Tijane M., Ribes G et Sauvaire Y ; 2000.** insulintropic Effect of *Citrullus colocynthis* fruit extracts. *Planta Medica*; 66: 418-423.
- 105. OMS (Organisation Mondiale de la Santé) ; 1985.** Diabetes Mellitus: Report of a WHO Study Group. Geneva; WHO: Technical Report Series 727.
- 106. OMS (Organisation Mondiale de la Santé) ; 2002.** Diabète sucré. Aide mémoire ; N°138.
- 107.OMS (Organisation mondiale de la Santé) ; 1999.** La définition, le diagnostic et la classification du diabète sucré et ses complications. Rapport d'une consultation de l'OMS Genève, Département des maladies Noncommunicable.
- 108.Ozaki Y., Ma J.P; 1990.**Inhibitory effects of tetra methyl pyrazine and ferulicacide on spontaneous movement of rat uterus in situ.*chem.pharm.bull*;38(6):1620-1623.
- 109.Padavala A B, Gadde, Radha, Vedurupaka, Talluru , Yellapu et Kolli ; 2006.** A database of 389 medicinal plants for diabetes. *Bioinformation* ; 1(4): 130-131.
- 110.Palitzsch K-D, Bollheimer C ; 2000.** Pathophysiologie des Diabetes mellitus Typ 2. In: Böhm BO, Palitzsch K-D, Rosak C, Spinass GA, Hrsg. *Klinische Diabetologie*. Berlin: Springer; S.31-48.
- 111.Patrick N; 2003.** Intoxications par les végétaux: plantes et baies. Editions Scientifiques et médicales Elsevier SAS.
- 112. Peppas M., Uribarri J and Vlassara H ; 2005.** Diabetes and advanced glycoxidation End products. Ed:M.T Jhonstone. Humana press Inc. Totowa N.J.
- 113. Perez RM, Cervantes H, Zavala MA, et al.; 2000.** Isolation and hypoglycaemic activity of 5, 7, 3'-trihydroxy-3, 6, 4'-trimethoxyflavone from *Brickellia veronicaefolia*. *Phytomedicine*; 7: 25-29.
- 114. Perez-Gutierrez RM, Perez-Gonzalez C, Zavala- Sanchez MA et Perez-Gutierrez S.; 1998.** Hypoglycaemic activity of *Bouvardia terniflora*, *Brickellia veronicaefolia*, and *Parmentiera edulis*. *Salud Publica Mex*; 40: 354-358.
- 115.Porte DJ and Sherwin RS ; 1997.** *Ellenberg and Rifkin's Diabetes Mellitus*. Stamford

Appleton & Lange : 373-397.

**116.Raccah D ; 2004.** Epidémiologie et physiopathologie des complications dégénératives du diabète sucré. *EMC-Endocrinologie*. 1(1) : 29-42.

**117.Raccah D., Janand-deleenne B., Vague P ; 1999.** Diabète non insulino-dépendant. Huveaux France. *Rev Prat* ; 49 : 629-634.

**118.RDM (recommandation de la direction des médicaments); 1990.** Evaluation toxicologique. Direction general de la protection de la santé, santé Canada.

**119. Rao BK, Kesavulu MM, Giri R et Appa Rao C; 1999.** Antidiabetic and hypolipidemic effects of *Momordica cymbalaria* Hook. Fruit powder in alloxan-diabetic rats. *J Ethnopharmacol*; 67: 103-119.

**120.Rigalleau V., Lasseur C., Perlemoine C., Barthe N., Raffaitin C., Chauveau P., Combe C., Gin H ; 2003.** Cockcroft-Gault formula is biased by body weight in diabetic patients with renal impairment. *Metabolism* ; 55(1): 108-112.

**121.Rodier M ; 2001.** Définition et classification du diabète. *Médecine Nucléaire – Imagerie fonctionnelle et métabolique* ; vol.25 - n°2 : 5-18.

**122. Roman-Ramos R, Alarcon-Aguilar F, Lara-Lemus A et Flores-Saenz JL; 1992a.** Hypoglycaemic effect of plants used in Mexico as antidiabetics. *Arch Med Res*; 23: 59- 64.

**123. Roman-Ramos R, Lara-Lemus A et Alarcon-Aguilar F ; 1992b.** Hypoglycaemic activity of some antidiabetic plants. *Arch Med Res*; 23: 105-109.

**124.Ruckebusch Y ; 1981.** Physiologie, pharmacologie, thérapeutique animales, 2 ème Edit.Maloine S.A. Paris.

**125.Said O, Khalil K, Fulder S et Azaizeh H; 2002.** Ethnopharmacology survey of medicinal herbs in Israel, the Golan height and the West Bank region. *Journal of Ethnopharmacology*; 83: 251-265.

**126.**

**127.Sanjay M ; 2002.** Herbal Drugs as antidiabetic : An overview.*CRIPS* ; 13(2) :9-13.

**128.Satyavati G V, Neeraj T et Madhu S, 1989.** Indigenous plant drugs for diabetes mellitus.

**129.Schulman ; 2000.** G.U. Cellular mechanisms of insuline resistan. *J. clin. Invest* ; 106(2) :171-20-46.

**130.Schwartz, SH .,1992.** Méthodes statistiques à l'usage des médecins et des biologistes. 3<sup>ème</sup> edit. Paris ; Flammarion medecine-Sciences.

- 131. Seger C H., Strum S., Mair M E., Ellmerer E P et Stuppner H ; 2005.** H and <sup>13</sup>C NMR signal assignment of cucurbitacin derivatives from *Citrullus colocynthis* (L) Scharder and *Ecballium elaterium* L. (Cucurbitaceae). Magn. Reson. Chem; 43: 489-491.
- 132. Sharma B., Viswanath G., Salunke R., Roy P ; 2008.** Effects of flavonoid-rich extract from seeds of *Eugenia jambolana* (L.) on carbohydrate and lipid metabolism in diabetic mice. Food Chemistry ; 110: 697-705. 907-913.
- 133. Sincich F ; 2002.** Bedouin Traditional Medicine in the Syrian Steppe. Rome, FAO: 114-115.
- 134. Singh J., Kakkar P ; 2009.** Antihyperglycemic and antioxidant effect of *Berberis aristata* root extract and its role in regulating carbohydrate metabolism in diabetic rats. J. Ethnopharmacol; 123(1):22-6.
- 135. Sui DY, Lu ZZ, 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.
- 136. 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.
- 137. Tici B ; 1997.** L'herbier de santé. 1<sup>o</sup> édition. Paris. édition VECCHI SAO ; 01 :206 p.
- 138. Traore D (1999).** Médecine et Magie Africaine. Edit présence Africaine. Paris ; 569 P.
- 139. Villars G., 1971.** Chromatographie sur couche minces. Tec et Doc(Ed). Paris, 370p.
- 140. Virallya M., Blickléb J.F., Girardc J., Halimid S., Simone D., Guillausseau P.J ; 2007.** Type 2 diabetes mellitus: epidemiology, pathophysiology, unmet needs and therapeutical perspectives. Diabetes & Metabolism ; 33 : 231-244.
- 141. Wang BX, Yang M, Jin YL, et al.; 1990.** Studies on the hypoglycaemic effect of ginseng polypeptide. Yao Hsueh Hsueh Pao; 25: 401-405.
- 142. Wasfi I A ; 1994.** Some pharmacological Studies on *Citrullus colocynthis*. Journal of Herbs, spices and Medicinal plants; 2 (2): 65-79.
- 143. Wasfi I.A., Bashi A.A., Abdalla N.B., Tarina M.o.M; 1995.** Anti-inflammatory activity of some medicinal plants of the United Arab Emirates. International journal of pharmacognosy; 33(22):124-128.
- 144. Weaber G ; 2007.** Diabétologie expérimentale. *Revue médicale de la Suisse Romande*. 120: 907-913.

- 145. Werstuck G.H ; 2006.** Molecular and cellular mechanisms by which diabetes Mellitus promotes the development of atherosclerosis. *Biochemistry of atherosclerosis* ed.S.K Choma. Springer, New York ; 284-297.
- 146. Whiting D R, Leonor-Guariguata L., Clara Weil C., Jonathan Shaw ; 2011.** IDF Diabetes Atlas: Global estimates of the prevalence of diabetes for 2011 and 2030. *Diabetes Research and Clinical Practice* ; 94 :311 – 321.
- 147. Yanif Z, Ellashelsky et Schafferman D; 1999.** Colocynth: Potential arid land oil seed from an ancient cucurbit. Dans: J. Janick ( Ed). *Perspectives on new crops and new use*. ASHS press; Alexandria V A.
- 148. Yang M, Wang BX, Jin YL, et al.; 1990.** Effects of ginseng polysaccharides on reducing blood glucose and liver glycogen. *Chung Kuo Yao Li Hsueh Pao*; 11: 520-524.
- 149. Yoshikawa M, Matsuda H, Harada E, et al.; 1994b.** A new hypoglycaemic principle from the root cortex of *Aralia elata* Seem; Structure-related hypoglycaemic activity of oleanolic acid glycosides. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*; 42: 1354-1356.
- 150. Zaoui S., Biémont C., Meguenni K; 2007.** Approche épidémiologique du diabète en milieu urbain et rural dans la région de Tlemcen (Ouest algérien). *Cahiers Santé* ; vol. 17- n° 1.
- 151. Zekri M A et Dib A H et; 2001.** Etude de l'effet hypoglycémiant des extraits d'alcaloïdes et de flavonoïdes de *Citrullus colocynthis* sur les paramètres biochimiques plasmatiques de rats rendus diabétiques. Mémoire DES en Biochimie. Département de Biologie, Faculté des sciences, Université de Tlemcen.
- 152. Zhou I., Zhou S., Tang J., Zhang K., Guang L., Huang Y., Xu Y., Ying Y., Zhang L., Li D ; 2009.** Protective effect of berberine on beta cells in streptozotocin- and high-carbohydrate/high-fat diet-induced diabetic rats. *European Journal of Pharmacology* ; 606 : 262.
- 153. Ziyat 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.

**Tableau 01 :** Variation de la glycémie durant 3heurs après l'injection intra-péritonéale de NaCl 0.9% chez les rats normaux témoins

Rat	T0	1h	2h	3h
1	0,64	0,37	0,52	1,13
2	1,33	0,92	0,82	0,94
3	1,03	0,93	0,89	0,76
4	1,12	1,09	0,84	0,92
5	0,75	1,08	0,91	0,79
6	1,18	1,12	0,94	0,92
<b>RTN</b>	<b>1,01</b>	<b>0,92</b>	<b>0,82</b>	<b>0,91</b>
<b>%</b>		<b>-8,93</b>	<b>-18,68</b>	<b>-9,75</b>

**Tableau 02 :** Variation de la glycémie durant 3 semaines après l'injection intra-péritonéale de NaCl 0.9% chez les rats normaux témoins

rat	T0	48h	7jour	14jour	21jour
1	0,64	1,37	0,91	1,38	1,05
2	1,33	1,41	0,97	1,42	1,16
3	1,03	1,12	0,91	1,27	1,14
4	1,12	1,41	0,97	1,27	1,25
5	0,75	1,37	0,67	1,27	1,05
6	1,18	1,24	0,97	1,05	1,32
<b>RTN</b>	<b>1,01</b>	<b>1,32</b>	<b>0,9</b>	<b>1,28</b>	<b>1,16</b>
<b>%</b>		<b>30,91</b>	<b>-10,74</b>	<b>26,61</b>	<b>15,21</b>

**Tableau 03:** Variation de la glycémie durant 3 heures après l'injection intra-péritonéale de 150mg/kg d'alcaloïdes totaux chez les rats normaux glycémique.

rat	T0	1h	2h	3h
1	1	1,43	1,31	1,29
2	0,72	0,85	0,87	0,98
3	1,12	1,4	1,55	1,4
4	0,86	0,82	0,82	1,81
5	0,82	0,92	0,98	0,84
<b>RN150</b>	<b>0,90</b>	<b>1,08</b>	<b>1,11</b>	<b>1,26</b>
<b>%</b>		<b>19,91</b>	<b>22,35</b>	<b>39,82</b>

**Tableau 04:** Variation de la glycémie durant 3 semaines après l'injection intra-péritonéale de 150mg/kg d'alcaloïdes totaux chez les rats normaux glycémique.

rat	T0	48h	7j	14j	21j
1	1	1,13	0,81	1,68	0,71
2	0,72	1,17	0,76	1,24	0,83
3	1,12	1,11	0,79	1,23	1,14
4	0,86	1,06	0,89	1,12	0,84
5	0,82	1,29	0,77	1,12	1,06
<b>RN150</b>	<b>0,90</b>	<b>1,15</b>	<b>0,80</b>	<b>1,28</b>	<b>0,92</b>
%		27,43	-11,06	41,37	1,33

**Tableau 05:** Variation de la glycémie durant 3 heures après l'injection intra-péritonéale de 300mg/kg d'alcaloïdes totaux chez les rats normaux glycémique

rat	T0	1h	2h	3h
1	0,84	0,86	0,8	0,94
2	1,09	0,94	0,92	0,93
3	0,91	1,06	0,95	0,93
4	0,64	0,73	0,64	0,63
5	0,57	0,82	0,85	0,72
<b>RN300</b>	<b>0,81</b>	<b>0,88</b>	<b>0,83</b>	<b>0,83</b>
%		8,89	2,72	2,47

**Tableau 06:** Variation de la glycémie durant 3 semaines après l'injection intra-péritonéale de 300mg/kg d'alcaloïdes totaux chez les rats normaux glycémique

rat	T0	48h	7j	14j	21j
1	0,84	0,71	1,19	0,79	0,78
2	1,09	0,82	0,98	0,84	0,9
3	0,91	0,61	0,75	0,7	0,91
4	0,64	0,82	1,05	0,66	0,63
5	0,57	0,72	0,97	0,86	0,77
<b>RN300</b>	<b>0,81</b>	<b>0,74</b>	<b>0,99</b>	<b>0,77</b>	<b>0,80</b>
%		-9,14	21,98	-4,94	-1,48

**Tableau 07:** Variation de la glycémie durant 3 heures après l'injection intra-péritonéale de 600mg/kg d'alcaloïdes totaux chez les rats normaux glycémique

rat	T0	1h	2h	3h
1	0,79	0,91	0,82	0,85
2	0,91	1,12	1,08	1,07
3	0,67	0,27	0,62	0,53
4	0,75	0,75	0,68	0,7
5	0,82	0,65	0,67	0,5
<b>RN600</b>	<b>0,79</b>	<b>0,74</b>	<b>0,77</b>	<b>0,73</b>
<b>%</b>		<b>-6,09</b>	<b>-1,78</b>	<b>-7,36</b>

**Tableau 08:** Variation de la glycémie durant 3 semaines après l'injection intra-péritonéale de 600mg/kg d'alcaloïdes totaux chez les rats normaux glycémique

rat	T0	2j	7j	14j	21j
1	0,79	0,82	1,18	0,83	1,03
2	0,91	0,65	0,55	0,45	0,93
3	0,67	0,8	1,06	1,07	1,53
4	0,75	0,59	0,61	0,38	0,76
5	0,82	0,63	1	0,52	0,81
<b>RN600</b>	<b>0,79</b>	<b>0,70</b>	<b>0,88</b>	<b>0,65</b>	<b>1,01</b>
<b>%</b>		<b>-11,42</b>	<b>11,68</b>	<b>-17,51</b>	<b>28,43</b>

**Tableau 09:** Variation de la glycémie durant 3heurs après l'injection intra-péritonéale de 800mg/kg d'alcaloïdes totaux chez les rats normaux glycémique

rat	t0	1h	2h	3h
1	1,21	1,07	0,68	0,22
2	1,15	0,31	-	-
3	0,89	0,96	0,96	0,86
4	1,03	1,87	-	-
5	1,1	0,9	-	-
<b>RN800</b>	<b>1,07</b>	<b>1,02</b>	<b>0,82</b>	<b>0,54</b>
<b>%</b>		<b>-5,02</b>	<b>-23,36</b>	<b>-49,53</b>

**Tableau 10 :** Résultats de l'évolution du poids corporel en (g) et la variation de taux de croissance en (%) pendant 21 chez les rats témoins

1 j	2j	7j	14j	21j
223,2	225,4	222,3	250,9	260,7
230	239	247	263,8	257,2
228,2	236,3	281,1	307,7	310,8
242,2	245,4	241,8	267,4	274,5
267	271,5	272,2	280,6	282,8
238,12	243,52	252,88	274,08	277,20
	2,27	6,20	15,10	16,41

**Tableau 11 :** Résultats de l'évolution du poids corporel en (g) et la variation de taux de croissance en (%) pendant 21 jours qui suit l'injection de 150mg/kg d'extrait.

1 j	2j	7j	14j	21j
221	225	228	233	266
169	165	161	164	192
189	195	205	212	246
166	162	159	161	189
157	156	154	151	184
180,40	180,60	181,40	184,20	215,4
	0,11	0,55	2,11	19,40

**Tableau 12 :** Résultats de l'évolution du poids corporel en (g) et la variation de taux de croissance en (%) pendant 21 jours qui suit l'injection de 300mg/kg d'extrait.

1 j	48h	7j	14j	21j
123	114	116	127	134
149	139	141	146	153
130	127	128	134	140
152	141	140	148	151
148	138	136	146	145
140,4	131,80	132,20	140,2	144,6
	-6,13	-5,84	-0,14	2,99

**Tableau13 :** Résultats de l'évolution du poids corporel en (g) et la variation de taux de croissance en (%) pendant 21 jours qui suit l'injection de 600mg/kg d'extrait.

<b>1 j</b>	<b>48h</b>	<b>7j</b>	<b>14j</b>	<b>21j</b>
144	125	149	150	177
140	134	151	156	176
178	161	184	185	204
155	146	156	165	170
141	138	150	152	159
151,60	140,8	158,00	161,6	177,2
	-7,12	4,22	6,60	16,89