

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement supérieur
et de la recherche scientifique



UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAID - Tlemcen

Faculté des sciences de la nature et de la vie

Sciences de la terre et de l'univers

Département : biologie

*Laboratoire de recherche : Antibiotiques, Antifongique, physico-chimie,
Synthèse et activité biologique*

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

Option : Biochimie appliquée

THEME

*Evolution des paramètres biochimiques sériques chez
les rats wistar traités par l'extrait chloroformique des
graines de la coloquinte Citrullus colocynthis.*

Présenté par : M^{elle} MEDANE Abbassia.

Soutenu le : 02/07/2012

Devant le jury

M. DJAZIRI R.

MCA

Président

M^{elle} BENARIBA N.

MAA

Examinatrice

M. AZZI R.

MAA

Promoteur

Année universitaire 2011 - 2012

REMERCIEMENTS

Je remercie notre bon Dieu de tout puissant de m'avoir guidé, aidé et donné la foi et le courage pour accomplir ce travail.

En premier lieu je tiens à exprimer mes sincères remerciements à mon encadreur Monsieur, Azzi Rachid, Maître Assistant de classe A au département de biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie sciences de la terre et de l'univers, Université Abou Bekr Bekaid- Tlemcen- pour la confiance qu'il a voulu m'accorder en réalisant ce modeste travail.

Le grand merci à Monsieur Djaziri R, Maître de conférence de classe A au département de biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie sciences de la terre et de l'univers, Université Abou Bekr Bekaid- Tlemcen-, d'avoir d'accepté de présider le jury

Ma profonde reconnaissance et mes respects à BENARIBA Nabila, Maître Assistante de classe A au département de biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie sciences de la terre et de l'univers, Université Abou Bekr Bekaid- Tlemcen- d'avoir accepté d'examiner et discuter ce travail.

Ma reconnaissance va tout spécialement Bekacem Nacéra, Maître Assistante de classe B au département de biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie sciences de la terre et de l'univers, Université Abou Bekr Bekaid- Tlemcen pour sa patience, son pragmatisme et ses précieux conseils.

Mes remerciements s'adressent aussi aux membres du laboratoire substances bioactives et activités antifongiques et qui ont mis à ma disposition les conditions matérielles nécessaires pour la réalisation de ce travail tout au long de la période de recherche. Qu'ils trouvent ici mon respect et ma reconnaissance.

Je tiens à remercier, également, tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.

RESUME

Ce travail s'intéresse à l'évolution de quelques paramètres biochimiques sériques chez les rats wistar soumis à une injection intra-péritonéale de différentes doses d'extrait chloroformique des graines de la coloquinte *Citrullus colocynthis* 'Handal' famille des cucurbitacées.

Cette plante est utilisée comme remède traditionnelle pour le traitement du diabète sucré dans la région de Maghreb et du Moyen-Orient. Mais, elle devient très toxique voir mortelle à des doses élevées.

La présente étude est divisée en deux parties essentielles. La première est l'étude phytochimique de l'extrait chloroformique des graines de *Citrullus colocynthis* qui a révélé la présence de quelques groupes chimiques (les tanins, les stérols, les triterpènes et les composés réducteurs).

En revanche, la deuxième partie consiste de l'évolution de la glycémie, le cholestérol total, les triglycérides, les transaminases (TGO, TGP, ALP) et la créatinine avant et 21 jours après l'injection intra-péritonéale de différentes doses (250mg/kg, 150mg/kg, 75 mg/kg, 50mg/kg).

Les résultats obtenus montrent que notre extrait présente un effet toxique à une dose de 75 mg/kg p.c où nous avons marqué une toxicité hépatique et rénale chez les rats soumis à la même dose.

Mots clés : *Citrullus colocynthis*, diabète sucré, rats wistar, les paramètres biochimiques sériques, extrait chloroformique.

Sommaire

Sommaire	I
Liste des figures	II
Liste des tableaux	III
Liste d'abréviation	IV
Introduction générale	01
<i>1^{ère} Partie : Synthèse bibliographique</i>	
<i>I. Généralités sur le diabète</i>	04
<i>II. Utilisation traditionnelles des plantes antidiabétiques</i>	09
1.1. Utilisation traditionnelles plantes antidiabétiques dans le monde.....	09
1.2. Utilisation traditionnelles plantes antidiabétiques à Tlemcen.....	12
2. La coloquinte " <i>Citrullus colocynthis</i> "	14
2.1. Classification classique	14
2.2. Noms vernaculaire.....	14
2.3. Description morphologique	15
2.4. Origine et distribution	15
2.5. Composition chimique.....	15
2.6. Toxicité	16
2.7. <i>Citrullus colocynthis</i> une plante antidiabétique	16
<i>III. Les paramètres biochimiques plasmatiques et urinaires</i>	18
1. Dosage des paramètres biochimiques.....	18

2. Examens plasmatiques liés à la fonction hépatique	18
3. Examens plasmatique liés à la fonction rénale	18

2^{ème} partie : Partie expérimentale

Chapitre 1 : Matériels et méthodes

I-Analyse phytochimique	19
1. Matériel végétal.....	19
2. Dégraissage du matériel végétal.....	19
3. Tests phytochimiques.....	19
3.1 Préparation de l'extrait.....	20
3.2. Tests phytochimiques.....	20
3.3. Etude qualitative par chromatographie sur couche mince.....	22
4. Préparation d'extrait chlorogormique pour l'analyse biologique.....	23
II. Analyses biologiques	25
1. Préparation des rats.....	25
2. Répartition des rats.....	25
3. Administration de l'extrait.....	25
4. Prélèvement du sang.....	26
5. Le suivie de poids corporel des rats.....	26
6. Techniques d'analyse des paramètres sanguins.....	26
7. Analyse statistique.....	31

Chapitre 2 : Résultats et interprétations

I. Analyse phytochimique	34
1. Tests phytochimiques.....	34
2. Le rendement.....	35

3. La chromatographie sur couche mince.....	35
II. Analyses biologiques.....	36
1. Suivre des poids des rats à j0 et j21	37
2. Le suivi des paramètres biochimiques sériques lipidiques et glucidiques.....	38
3. L'évolution de quelques enzymes hépatiques	39
4. L'évolution de la créatinine.....	41
III. Discussion.....	43
IV. Conclusion générale.....	48
V. Références bibliographiques.....	49

Listes des figures

Figure n° 1 :

La coloquinte.....14

Figure n°2 :

Diagramme montrant l'extraction chloroformique des graines de coloquinte (*Citrullus colocynthis*) selon la méthode de **Natiq et al., 1989**.....24

Figure n°3:

Chromatogramme de séparation par CCM d'extrait chloroformique des graines de coloquinte.....36

Figure n°4 :

Evolution du poids des rats normaux traités par l'extrait chloroformique de la coloquinte « *Citrullus colocynthis* » à différentes doses.....37

Figure n°5:

Evolution des paramètres biochimiques sériques chez des rats normaux traités par l'extrait chloroformique de la coloquinte « *Citrullus colocynthis* » à différentes doses.....39

Figure n°6 :

Evolution des enzymes hépatiques avant et 21 jours après l'injection intrapéritonéale d'extrait.....40

Figure n°7:

Variation de la créatinine chez les normaux expérimentaux traités par l'extrait chloroformique.....42

Liste des tableaux

Tableau n° 1 : Critères diagnostiques pour le diabète sucré et les intolérances au glucoseselon(ADA).....	05
Tableau n°2 : Résultats de quelques études ethnobotanique sur les plantes antidiabétiques dans différentes régions du monde.....	10
Tableau n°3 : exemple des plantes antidiabétiques, leurs principes actifs et leurs espèces les plus utilisées.....	11
Tableau n°4 : quelques plantes antidiabétiques utilisées traditionnellement dans la région de Tlemcen, parties utilisées et leurs modes de préparation traditionnelles.....	12
Tableau n°5 : Résultats des tests phytochimiques de l'extrait chloroformique des graines de « <i>Citrullus colocynthis</i> ».....	34
Tableau n°6 : le rendement de l'extrait chloroformique	35
Tableau n°7 : les résultats de la chromatographie sur couche mince de l'extrait chloroformique des graines de coloquinte.....	36
Tableau n°8 : Résultats de l'évolution du poids corporel à j0 et 21 jours après injection intra-péritonéale d'extrait chloroformique des graines de coloquinte	37
Tableau n°9 : Résultats de l'évolution des paramètres biochimiques sériques avant et 21 jours après injection intra-péritonéale d'extrait chloroformique des graines de coloquinte.....	38
Tableau n°10 : Résultats de l'évolution des enzymes hépatiques avant et 21 jours après injection intra-péritonéale d'extrait chloroformique des graines de coloquinte.....	40
Tableau n°11 : variations de la créatinine avant et après 21 jours de l'injection intra-péritonéale d'extrait chloroformique des graines de coloquinte.....	41

Liste d'abréviations

ADA : American Diabetes Association

ALAT: Alanine Amino Transférase

ALP : Phosphatase Alcaline

ASAT : AspartateAmino Transférase

CHE : Cholestérol Estérase

CHOD :Cholesterol Oxydase

Diab : Diabète

DID : Diabète Insulino- Dépendant

DNID : Diabète Non Insulino- Dépendant

FID : Fédération Internationale du Diabète

GOD : Glucose Oxydase

HGPO : Hyperglycémie Provoquée par voie Orale.

I.P : Intra péritoniale

LDH : Lactate Déshydrogénase

MDH : Malate Déshydrogénase

LPL : Lipoprotéine lipase

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

p.c : poids corporel

PM : poids moléculaire

POD : Peroxydase

STZ : Streptozotocine

TGO : Transaminase Glutamo-Oxaloacétique

TGP : Transaminase Glutamo-Pyruvique

Introduction générale :

L'humanité n'a pas attendu la seconde moitié du XX^e siècle pour se soigner. Depuis des millénaires, tous les peuples ont élaboré des médecines selon leur intelligence, leur génie, leur conception culturelle de la santé et de la maladie et les rapports qu'ils entretenaient avec leur environnement. L'utilisation des plantes à des fins thérapeutiques est une pratique aussi vieille que l'histoire de l'humanité [Eddouks et al ., 2007]. Cependant, malgré la progression de l'industrie pharmaceutique, les gens ne cessèrent jamais à faire appel à cette médecine pour le traitement de diverses maladies [Fouché et al ., 2000]. Il est aujourd'hui largement reconnu que le monde végétal constitue la source majeure de médecine grâce à la richesse des produits dits métabolites secondaires, celles-ci produisent des molécules variées permettant aux plantes de contrôler leur environnement animal et végétal [Fabrican et al ., 2001 , Fransworth et al., 1985].

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

Une des maladies les plus dangereuses est le diabète sucré qui est considéré parmi les maladies les plus fréquentes de notre civilisation [Raccah, 2004]. 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].

Parmi les traitements du diabète de type 2, on trouve également des traitements par phytothérapie ou de médecine traditionnelle. Ces traitements sont fréquemment utilisés, surtout en dehors des pays industrialisés et sont en général peu ou mal étudiés

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

Ainsi une grande partie de la population diabétique en Algérie comme dans les autres pays du reste du monde se tournent de plus en plus vers les traitements traditionnels à base des plantes.

Dans le but de valoriser l'utilisation des plantes médicinales, une enquête a été réalisée par **Benmehdi (2000)**. Lors de cette enquête ethnobotanique, plus de 80 plantes ont été recensées dans la région de Tlemcen pour le traitement du diabète. **[Benmehdi, 2000]**.

De nombreux travaux se sont consacrés aux propriétés antidiabétiques de la coloquinte (*Citrullus colocynthis*) **[Abdel-Hassen et al., 2000 ; Nmila et al., 2000 ; Azzi et Boumellah, 2002 ; Benariba, 2003 ; Azzi, 2007]**.

Tous montrent que les gens se tournent, de nouveau vers la médecine traditionnelle et surtout vers les plantes médicinales donc, quelle est la solution qui permet d'élargir l'utilisation de ces plantes à condition d'éviter les risques d'intoxication ?

Dans notre travail nous nous sommes intéressés à l'étude de l'évolution des paramètres biochimiques sériques de l'extrait chloroformique de la coloquinte (*Citrullus colocynthis*) chez les rats Wistar durant 3 semaines après l'injection intra-péritonéale de différentes doses.

Pour se faire, nous allons proposer un protocole expérimental en deux parties :

Analyses phytochimiques :

- préparation des graines de coloquinte broyées et dégraissées ;
- extraction d'extrait chloroformique des graines de coloquinte par décoction à reflux durant 6 heures ;
- 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 différentes phases mobiles.

Analyses biologiques

- élevages et préparation des rats Wistars ;
- injection intra-péritonéale de différentes doses de l'extrait chloroformique ;

- suivie de l'évolution de quelques paramètres biochimiques sériques (glycémie, cholestérolémie, triglycéridémie, transaminases, et créatinine) avant et 3 semaines après l'injection d'extrait ;

1^{ère} Partie :
Synthèse bibliographique

I-Généralités sur le diabète

Le diabète sucré est un groupe de maladies métaboliques caractérisées par une hyperglycémie résultant soit d'un défaut de la sécrétion soit de l'action de l'insuline, ou des deux conjuguées [**The expert Committee ..., 1997**].

Le diabète sucré est défini par l'élévation chronique de la concentration du glucose dans le sang (hyperglycémie). L'hyperglycémie chronique est la cause principale de la survenue des complications dégénératives de la maladie diabétique mais celles-ci sont néanmoins susceptibles d'être évitées ou tout au moins retardées par un traitement adéquat [**Rodier, 2001**].

Le diabète sucré est un problème de santé majeur présent partout dans le monde. Selon la fédération Internationale des diabétiques (FID), le nombre des diabétiques dans le monde est dépassé les 366 millions en 2011. Ce chiffre peut atteindre les 552 millions en 2030 [**Whiting et al., 2001**].

L'Algérie n'échappe pas à l'épidémie du diabète, celle-ci répond pratiquement aux mêmes changements de conditions de vie constatés dans le monde. La société algérienne de diabétologie ; estime approximativement, de 1 à 1.5 millions de personnes, selon cette même source, 90% de cette population présente le diabète de type 2 [**Larbi, 2006**]

Une étude dans la région de Tlemcen (Ouest algérien) sur un échantillon de 7 656 individus a révélé une prévalence globale des diabétiques de 14.2%. Une prévalence de 10.5% pour les diabétiques de type 2 et 3.7% pour les diabétiques de type 1. Les hommes avec une prévalence de 20,4 % étant plus touchés que les femmes (10,7 %). Cette prévalence est de 15,3 % en milieu urbain et de 12,9 % en milieu rural [**Zaoui et al., 2007**].

Fondés sur des études épidémiologiques, les critères de diagnostic (tableau1) et la classification de diabète ont été définis par l'ADA, l'American Diabetes Association, (1997) et approuvés par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) [**The expert Committee ..., 1997**].

Tableau 1 : critères diagnostiques pour le diabète sucré et les intolérances au glucose selon (ADA) [Halimi et Benhamou, 1997] et l'OMS [Albert et Zimmet, 1998].

Stade	Glycémie (plasma veineux) ; mg/dl		
	A jeun	Au hasard	A 2 h (HGPO)
Normal	< 110		< 140
Altération de l'homéostasie glucidique Glycémie à jeun anormale (impaired fasting glycaemia IFG) Intolérance glucidique (impaired glucose tolérance IGT)	≥110<126		≥ 140<200
Diabète sucré	≥ 126	≥200 et symptômes	≥ 200

On peut distinguer plusieurs types de diabète :

➤ **Diabète de type 1** (anciennement insulino-dépendant (DID)) :

Touche le plus souvent les enfants, mais il peut survenir à tout âge. Il est lié à un déficit en insuline. Les cellules 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 1 auto immun**

Cette forme de diabète, est la conséquence d'une destruction progressive des cellules β pancréatiques par un processus auto-immun à médiation cellulaire [Atkinson et Mac Laren, 1994]. Ce processus survient sur un terrain génétique de susceptibilité et est associé à la présence d'auto anticorps dirigés contre le pancréas, marqueurs de processus auto immun sans être en eux mêmes pathogènes [Tournant et al., 2004].

❖ **Diabète de type 1 idiopathique**

Chez certains patients présentant un diabète de type 1 typique avec nécessité vitale d'un traitement insulinique, les marqueurs d'auto-immunité anti cellules d'ilots sont absents. Ceci correspond à un faible nombre de patients présentant un diabète de

type 1 et apparaît plus souvent dans les populations d'origine asiatique ou africaine par des besoins insuliniques [The expert Committe..., 1997].

➤ *Diabète de types 2* (anciennement 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 [Buysschaert et al., 1998; 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].

➤ *Diabète gestationnel*

Est un diabète qui commence à se manifester en cours de grossesse et, dans de nombreux cas, la maladie disparaît à l'issue de celle-ci [Wens et al, 2007]. Ce diabète, présent dans 2 à 4 % des grossesses, peut parfois avoir des conséquences néfastes aussi bien sur le bébé que sur la mère [OMS, 1999].

Dans la plupart des cas, il disparaît après la naissance. Le diabète sucré de la grossesse représente un très important facteur de risque d'apparition du diabète de type 2 plus tard au cours de la vie [Sante de Canada, 2002].

➤ *Autres types de diabète*

La classe des autres types particuliers de diabètes secondaires est associée à une cause bien définie. Il s'agit des diabètes pancréatiques (hémochromatose, pancréatite chronique/ pancréatectomie, mucoviscidose...), endocriniens (acromégalie, hyperthyroïdie...), des formes mono géniques de diabète ou des diabètes associés à un syndrome génétique ou provoqués par des agents chimiques. Toutefois, ces affections sont relativement peu connues [OMS, 1999].

Le diabète de type 2 se caractérise par une insulino-résistance et une détérioration progressive de la fonction des cellules β :

***Des altérations de l'insulinosécrétion :**

- ✓ Qualitativement, diminution du pic de réponse précoce aux aliments, en particulier au glucose.
- ✓ Quantitativement, diminution des capacités insulinosécrétoires qui se majorent progressivement dans le temps pour aboutir de façon plus ou moins tardive à une insulino-pénie profonde.

***Des anomalies des effets de l'insuline sur ses tissus cibles insulinosensibilité (insulinorésistance)**

L'insulinorésistance est donc caractérisable au niveau des tissus périphériques, en particulier, du transport du glucose dans le muscle, dans les tissus adipeux et de la production hépatique de glucose. Cette insulinorésistance est aggravée par l'hyperglycémie et l'excès d'acide gras libre circulant ou de triglycérides stockés en excès dans le muscle [**Halimi, 2003 ;Guillausseau et al ., 1997**].

Les complications de diabète sont importantes et sont de deux types : des complications aiguës qui sont très répondues chez le diabète de type 1(acidocétose, coma hyperosmolaire, acidose lactique) et autres chroniques qui se trouvent surtout chez le diabétique de type 2 (rétinopathie, néphropathie, neuropathie...) [**Halimi, 2003**].

Lorsque les mesures diététiques et l'exercice physique ne procurent pas les résultats souhaités, on a habituellement recours à un seul agent de n'importe quelle classe d'antihyperglycémiant oraux ; l'administration précoce d'un traitement d'association est une autre option pour la prise en charge du diabète de type 2 à l'aide d'agents antihyperglycémiant oraux [**Hanna et al ., 2003**].

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

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

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

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

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

Parmi de 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. En effet, plus de 1200 plantes ont été inventoriées comme antidiabétiques, mais seulement quelques-unes ont été évaluées scientifiquement [Ivorra et al., 1989].

II-L'utilisation des plantes antidiabétique :

1- Utilisation traditionnelles des plantes antidiabétiques

Depuis des temps immémoriaux, les plantes ont servi comme première source de médicaments pour les hommes, et elles ont continué à fournir à l'humanité, des remèdes thérapeutiques nouveaux et originaux jusqu'à aujourd'hui. L'intérêt de l'étude et de l'utilisation des plantes médicinales a mené à la caractérisation et à l'identification de molécules majeures, et à l'isolation de composés chimiques actifs d'une importance thérapeutique incontestable. Pour le diabète de type 2, un médicament largement utilisé, qui est la metformine, est historiquement dérivé d'une plante : *Galega officinalis* familles des fabacées [Leduc, 2006].

❖ Dans le monde

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

Plusieurs enquêtes ethno pharmacologiques ont été menées à travers le monde pour recenser les plantes antidiabétiques utilisées dans les différentes pharmacopées traditionnelles (Ziyat *et al.*, 1997; Jouad *et al.*, 2001; Grover *et al.*, 2002; Li *et al.*, 2004; Bnouham *et al.*, 2006 ; Allali *et al.*, 2008). Les estimations ethnobotaniques montrent que plus de 1200 espèces végétales, soit plus de 725 genres appartenant à 183 familles, sont utilisées pour leurs propriétés hypoglycémiantes et antihyperglycémiantes [Bailey et Day, 1989; Marles et Farnsworth, 1995].

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

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

Tableau n°2: Résultats de quelques études ethnobotaniques sur les plantes antidiabétiques dans différents régions du monde [Azzi, 2007].

Pays (région)	Nbre d'espèces	Références
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]
Israel,Golan et Palestine	26	[Said et al., 2002]
Afrique du Sud (région d'Eastern Cap Province)	14 espèces pour 6 familles	[Erasto et al., 2005]
Canada (Québec)	18 espèces pour 9 familles	[Leduc et al., 2006]
Mexique	269	[Hernandez- Galicial 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	[Padavada et al., 2006]

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

Tableau n°3 : exemple des plantes antidiabétiques, leurs principes actifs et leurs espèces les plus utilisées [Bnouham et al., 2006]

Famille	Espèce	Partie utilisée Principe actif	Effets antidiabétiques sur	Références
Araliacées	<i>Acanthopaax senticosus</i>	Feuilles (saponines)	100,200 mg/kg i.p.pour souris avec hyperglycémie induite par adrénaline, glucose et alloxane)	<i>Sui et al., 1994</i>
	<i>Aralia elata</i>	Ecorce des racines (elatosides saponins ; acides oleanoliques glycosides)	Tolérance au glucose chez les rats	<i>Yoshikawa et al., 1994</i>
	<i>Brickellia veronicaefolia</i>	Extrait d'hexane	300mg/kg i.p pour des souris normales et diab.	<i>Perz-Gutierrez et al., 1998</i>
Asteracées	<i>Brickellia veronicaefolia</i>	Extraits chloroformique des feuilles (Flavone)	10-50 mg/kg. Souris normaux et diab.(alloxane)	<i>Perez et al., 2000</i>
	<i>Gynura procumbens</i>	Extraits éthanoliques des feuilles	50,150 et 300 mg/kg par voie orale chez les rats diab par STZ	<i>Zhang et Tan, 2000</i>
Cucurbitacées	<i>Citrullus colocynthis</i>	Alcaloïde, saponoside de l'épicarpe des fruits	Administration orale d'extraits chez les lapins diab. (alloxane)	<i>Abdel-Hassan et al ., 2000</i>
	<i>Momordica charantia L.</i>	Extrait 50% méthanolique et extrait n-butanolique	30mg/kg administré par voie orale chez des rats diabétiques STZ	<i>Higashino et al., 1992</i>
Euphorbiacées	<i>Croton cajucara</i>	Diterpène extrait de l'écorce	Rats diab. Alloxane	<i>Farias et al ., 1997</i>
	<i>Phyllanthus urinaria Linn</i>	Extrait 50% méthanolique et extrait n-butanolique	Diminution de la glycémie 3 h après l'administration de 30 mg/kg par voie orale chez des rats diab.STZ	<i>Higashino et al., 1992</i>
	<i>Maprouneaafricana</i>	Extrait éthanolique	Diminution de glucose après l'administration orale chez les souris	<i>Carney et al ., 1999</i>
Lamiacées	<i>Ocimum sanctum</i>	Extrait alcoolique des feuilles	Administration orale chez des rats normaux diab.STZ	<i>Chattopadhyay, 1993</i>
	<i>Marrubium vulgare</i>	Extrait brut par décoction	Administration intra gastrique chez des lapins avec hyperglycémie temporaire (solution de 50% dextrose 4 ml/kg)	<i>Roman-Ramos et al ., 1992</i>
	<i>Salvia lavandifolia</i>	10 mg/kg Résidus secs	Rats diabétiques STZ	<i>Zerzuelo et al ., 1990</i>
	<i>Salvia fruticosa</i>	Extrait brut de Feuille par infusion	Administration orale chez les lapins diab. Alloxane	<i>Perfumi et al 1990</i>

i.p: intra-péritonéale Diab. : Diabétiques STZ: Streptozotocine

❖ **A Tlemcen**

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

Tableau n°4 : quelques plantes antidiabétiques utilisées traditionnellement dans la région de Tlemcen [Benmehdi, 2000], parties utilisées et leurs modes de préparation traditionnelles [Bnouham et al., 2002]

Familles Botaniques	Noms scientifique	Noms vernaculaires	Méthode de préparation	Parties utilisée
Apiacées	<i>Foeniculum dulce DC.</i>	Besbas	Décoction, inhalation	Résine, graines, feuille, racine
	<i>Daucus carota L.</i>	Zroudia	Jus, purée	Racines
Apocinacées	<i>Ptychotis verticillata L.</i>	Nùnkha	Infusion	Partie aérienne
	<i>Nerium oleander L.</i>	Defla	Décoction, infusion, macération, fumigé	Feuilles
Brassicacées	<i>Lepidium sativum L.</i>	Habb er sad, rchad,	Décoction, poudre	Graines
Cistacées	<i>Cistus libanotis L.</i>	Yazilahmir	Décoction	Feuilles
Composés	<i>Artemisia arborescens L.</i>	Chhiba	Infusion	Partie aérienne
	<i>Artemisia herba-alba Asso</i>	Shih	Poudre	Racine, feuilles
Cucurbitacées	<i>Citrullus colocynthis L.</i>	Handal	Maceration , utilisation externe	Fruit, pulpe
Cupressacées	<i>Juniperus phoenicea L.</i>	Araar	Decoction, poudre	
Fabacées	<i>Glycyrrhiza glabra L.</i>	Arqsouss	Décoction	Fruit, Racine
Géraniacées	<i>Geranium robertianum L.</i>	Laatarcha	Infusion	Feuilles, fleurs, tige
Globulariacées	<i>GlobulariaalypumL.</i>	Ain larnab	Decoction, infusion	Feuilles
Graminées	<i>Cynodon</i>	Til,njem	Decoction	Rhizomes
Lamiacées	<i>Lavandula dentata L.</i>	Khzama, tayerza	Decoction, Infusion, poudre	Plante entire, fleurs
	<i>Marrubium vulgare L.</i>	Mariwa	Decoction	Partie aérienne
	<i>Mentha pulegium L.</i>	Filou	Infusion	Feuille
	<i>Origanum compactum Benth</i>	Zatar	Infusion	Feuilles
Légumineuses	<i>Trigonella foenum-graecum L.</i>	Halba	Decoction, poudre, macération	Graines
Liliacées	<i>Allium cepa L.</i>	Elbasla	Cru	Bulbe
	<i>Allium sativum L.</i>	Toum	Cru	bulbe

Moracées	<i>Ficus carica</i> L.	Karma, Karmos	Extrait, poudre	Fruit, feuilles
Myrtacées	<i>Eucalyptus globulus</i> <i>Labill.</i>	Kalitus	Decoction Infusion, Poudre	Feuilles, fleures
	<i>Myrtus communis</i> L.	Raihane	Decoction, Infusion	Fruits, feuilles
Oléacées	<i>Olea europea</i> L. Var .oleaster	Zitoun zebbouj	Decoction	feuilles
Palmées	<i>Phoenix dactylifera</i> L.	Nakhla, Ttmer	Infusion, poudre	Fruits, feuilles
Punicacées	<i>Punica granatum</i> L.	Qchour romman	Decoction, poudre	péricarpe
Rannunculacées	<i>Nigella sativa</i> L.	Sanouj	Poudre	graines
Rhamnacées	<i>Zizyphus lotus</i> L.	Sadra, nnbeg	Decoction, poudre	racines
Rutacées	<i>Ruta Montana</i> L.	Fidjel	Decoction, Infusion, poudre	Partie aérienne
Urticacées	<i>Urticaurens</i> L.	Harrigua	infusion	Partie aérienne
Zingibéracées	<i>Zingiber officinae</i> <i>Roscoe.</i>	Zanjabil, skinjbir	Maceration	rhizomes
Zygophyllacées	<i>Peganum harmala</i> L.	Harmal	Poudre ,infusion	

2- La coloquinte “*Citrullus colocynthis*”

➤ Classification classique :

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



Figure n°01 : la coloquinte (*Citrullus colocynthis*)

➤ **Nom binomial** : *Citrullus colocynthis*

➤ **Noms vernaculaires (communs)** :

Arabe: Handal, Hadag, Handhal, Hadjja, oorky

Berber: Taberka, Tefersite, Tadjellet, alkat, Taferzizt

Français: Coloquinte, chicotin

Anglais: Colocynth, bitter apple, bitter gourd

Allemand : Bitterzitrulle, Bitterapfel

Italien: colouintida, popone amaro colouinte [Sincich, 2002 ; Batouny coll., 1999 ; John et Cincinnati, 1898 ; Merad Chiali, 1973 ; Bedevian, 1936 ; Carter, 1997].

➤ **Description morphologique** :

Citrullus colocynthis est une plante rampante, herbacée, annuelle ou vivace, avec des tiges angulaires et rudes. Les feuilles sont larges de 5 à 10 cm de longueur, rugueuses et découpées en 3 à 7 lobes. Les fleurs jaunes verdâtre, monoïques à sexes séparés, solitaires. Chaque plante produit 15 à 30 fruits ronds appelés : gourdes, d'un diamètre environ 7 à 10 cm, de couleur verte avec des ondulations jaunes devenant partout jaune à maturation. Les fruits sont remplis d'une pulpe spongieuse de couleur jaune orangé très amère à cause de son contenu riche en colocynthine et colocynthéine. Les graines sont ovoïdes et aplaties, comestible et petites (6 cm de longueur) lisse et brunâtre à maturation et possédant un gout amère [Ducke , 1983 ; Yaniv et al , 1999] .

➤ **Origine et distribution** :

La coloquinte est originaire des sols arides, est très fréquente dans les régions tropicales humides ou modérément sèches, elle est peu présentée dans les zones tempérées. Elle occupe une région très vaste qui s'étend du nord Africain du Sahara, Arabie Saoudite, Egypte jusqu'au Inde, ainsi que les régions méditerranéenne [Batonouny et al., 1999].

➤ **Composition chimique :**

Les résultats d'examens phytochimiques 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 des *flavonoïdes* et les *saponines* [**Benmehdi, 2000**].

Les flavonoïdes :

Le terme flavonoïde ressemble une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Leur fonction principale semble être la coloration des fleurs, des fruits et parfois les feuilles [**Bruneton, 1999**]. Elles se divisent généralement en 5 classes : flavonols, anthocyanidines, flavones, flavonones et chalcones [**Peterson, 1998**]. Trois flavonoïdes ont été isolés de la coloquinte : l'isovitexine, l'iso-orientine et l'iso-orientine-3-méthylène [**Benmehdi, 2000**].

Les saponosides :

Les saponosides constituent un vaste groupe d'hétérosides très fréquents chez les végétaux. Ils sont caractérisés par leurs propriétés tensioactives. Ils se dissolvent dans l'eau en formant des solutions moussantes. La plupart des saponosides présentent des propriétés hémolytiques [**Bruneton, 1999**].

Au niveau de la coloquinte quatre triterpènes tétra cyclique ont été isolés à partir du fruit : 2-O-β-D glucopyranosylcucurbitacins I, J, K et L [**Seeger et al., 2005**].

Les alcaloïdes :

En plus de la choline qui est connue comme constituant des cucurbitacées. **Darwish-Sayed et al. en 1973**, ont révélé la présence de trois autres alcaloïdes :

($C_{10}H_{15}NO_3$ et $C_{20}H_{32}NO$) 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 péricidine ou de la quinoline [**Darwish-Sayed et al., 1973**].

➤ **Toxicité :**

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 urinaires, fatigue, hypothermie, désordre cardiaque et congestion cérébrale produisant un effondrement fatal [Charnot, 1945].

➤ ***Citrullus colocynthis* une plante antidiabétique :**

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

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

D'autres effets hypoglycémiant et anti hyperglycémiant ont été recherchés sur 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 diabétiques par la STZ. Ils ont constaté que l'injection de 20 mg/ kg p.c des saponosides ou 20 mg/kg p.c des glycosides cucurbitacines extrait chloroformique par voie intra péritonéale provoquent une diminution significatives de la glycémie durant 5 semaines chez les rats diabétiques [Azzi et Boumellah, 2002].

En 2003, **Benariba** à étudié l'effet antidiabétique de l'extrait brut aqueux, des saponosides, des flavonoïdes et les acides aminés libres extrait 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 heurs après leurs injection aux rats diabétiques. De plus ils exercent un effet insulinosécrétoire sur les îlots de Langerhans isolés [Benariba, 2003].

Aux Emirat Arabe Unis, **Wasfi (1994)** a recherché l'effet de l'extrait chloroformique et méthanolique des graines de *Citrullus colocynthis* sur des rats

normaux et des rats rendus diabétique par la streptozotocine, durant 4 heures après une hyperglycémie provoquée par voie orale.

Il a noté que l'administration par voie orale, avec 1 g/kg du glucose, de 5 ml/kg d'extrait chloroformique ou 500 mg / kg d'extrait méthanolique ne provoquent aucun changement significative de la glycémie chez les rats normaux et même diabétiques [Wasfi, 1994]

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

III- Les paramètres biochimiques sériques :

La majorité des études pharmacologiques commencent par une étude toxicologique descriptive chez l'animal et par des observations chimiques 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 [**Liston, 1991 ; RDM, 1990 ; Berthiaum, 1995**]

Pour étudier la toxicité de la coloquinte, nous avons intéressé de suivre l'évolution

1. des paramètres biochimiques sériques

- ⊕ **La glycémie ;**
- ⊕ **La cholestérolémie ;**
- ⊕ **La triglycéridémie ;**

Le foie et les reins, organes qui réagissent d'ordinaire le métabolisme et l'excrétion, sont particulièrement sensibles aux agents toxiques potentiels ; leurs fonction doit donc être surveillée dans les études toxicologiques de longue durée.

On peut suivre la toxicité rénale de la plante par le dosage :

2. Des paramètres biochimiques liés à la fonction rénale :

- ⊕ **La créatinine ;**
- ⊕ **L'urée ;**

Comme on peut suivre la toxicité hépatique par le dosage des enzymes suivants :

3. Des paramètres biochimiques liés à la fonction hépatique:

- ⊕ **TGO Transaminase Glutamo-Oxaloacétique ;**
- ⊕ **TGP : Transaminase Glutamo-Pyruvique ;**
- ⊕ **ALP : Phosphatase Alcaline ;**
- ⊕ **LDH : Lactate Déshydrogénase**

2^{ème} partie

Partie expérimentale

L'étude expérimentale a été effectuée au laboratoire 'Antibiotiques, Antifongiques : Physico-chimie, Synthèse et activité Biologique' du département de biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie et sciences de la terre et de l'univers, université Abou Bekr Belkaïd (Tlemcen). Notre objectif c'est de tester l'influence des différentes doses de l'extrait chloroformique de *Citrullus colocynthis* sur les paramètres biochimiques sériques chez les rats Wistar.

En parallèle, il était nécessaire de réaliser une étude phytochimique de la plante et de l'extrait en question pour identifier les grandes familles des composés existantes.

I. Analyse phytochimique :

1. Matériel végétal :

Les fruits de la coloquinte « *Citrullus colocynthis* » sont récoltés à maturité durant le mois d'Octobre dans la région d'Adrar. Les graines sont récupérées, nettoyées du reste de la pulpe puis séchées, à l'air libre et à l'abri de la lumière dans le laboratoire. Les graines sont broyées en poudre fine à l'aide d'un moulin à café.

2. Dégraissage du matériel végétal :

Il a été procédé à une délipidation (dégraissage) préalable des graines de coloquinte broyées, par percolation à l'aide d'un soxhlet. Cette étape est faite pour éliminer les graisses et d'autres substances lipophiles qui peuvent perturber le processus extractif ultérieur par la formation d'émulsions.

Pour ce faire, le corps de soxhlet, contenant une cartouche remplie de 100 g 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. Tests phytochimiques :

Il s'agit d'une analyse qualitative basée sur des réactions de coloration et/ou de précipitation. Celle-ci est effectuée sur l'extrait chloroformique des graines de la coloquinte « *Citrullus colocynthis* »

3.1. Préparation d'extrait :

Mélanger 10 g des graines de coloquinte « *Citrullus colosynthis* » broyées et dégraissées avec 100 ml de chloroforme ; l'ensemble est porté à une décoction sous reflux pendant 3 heures. Après refroidissement, le mélange est filtré et le filtrat est récupéré.

On lance la même extraction pendant 1h 30 minute

3.2. Tests phytochimiques : Selon Trease et evans (1989) :

Préparer une série de tubes en verre et réaliser les tests suivants :

✦ Les alcaloïdes

Elle été effectuée par des réactions de précipitation avec les réactifs de Mayer, de Wagner.

❖ *Réactif de Mayer :*

Il est préparé à partir de deux solutions

- ✓ Solution A : 1.36 de chlorure de mercure $HgCl_2$ sont dissous dans 60 ml d'eau distillée.
- ✓ Solution B : 5 g d'iodure de potassium KI sont dissous dans 10 ml d'eau distillée.
- ✓ Les solutions A et B sont mélangées extemporément et le volume final est ajusté à 100 ml avec d'eau distillée.

❖ *Réactif de Wagner :*

- ✓ 2g de KI et 1.27g d'iode sont dissous dans 75 ml d'eau distillée, puis ajustés à 100 ml avec d'eau distillée.

Dans deux tubes à essai qui contient 1ml d'extrait à analyser, nous avons ajouté 5 gouttes de réactif de Mayer dans le premier et 5gouttes de réactif de Wagner dans le second, l'apparition d'un précipité blanc et brun respectivement, révèle la présence des alcaloïdes.

✦ Les substances polyphénoliques :

-Les tanins :

A 5 ml de l'extrait à tester, nous avons ajouté 1 ml de la solution aqueuse de FeCl_3 à 1 %. Après quelques minutes d'incubation, un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration verdâtre ou bleu-noirâtre.

-Les flavonoïdes :

Traiter 5 ml d'extrait avec 5 ml de l'acide chlorhydrique (HCl). Ajouter 1 ml d'alcool iso amylique et quelques copeaux de magnésium. La présence de flavonoïdes est confirmée par l'apparition du couleur rose ou rouge.

✦ Les saponosides : Indice de mousse

Introduire dans un tube à essai 5 ml de la solution à analyser. Ajuster le volume de tube à 10 ml avec l'eau distillé. Agiter fort dans le sens de la longueur du tube pendant 15 secondes à raison de 2 agitations par seconde. L'apparition d'une mousse qui persiste durant 15min, indique la présence des saponosides.

✦ Les coumarines : Fluorescence U.V

A 2 ml de notre extrait, nous avons ajouté 0,5 ml de NH_4OH à 25 %. Mélanger et observer sous UV à 366 nm, une fluorescence intense indique la présence des coumarines.

✦ Stérois et triterpènes : La réaction de Libermann Buchard

Evaporer a sec 10 ml de la solution à analyser. Ajouter 1 ml de l'anhydride acétique et 1 ml de chloroforme et quelques gouttes de H_2SO_4 concentré sur les parois de tube sans agité , la formation d'un anneau rouge brunâtre à la zone de contact des deux liquides et une coloration violette de la couche surnageant révèlent la présence de stérois et triterpènes.

✦ Anthraquinone libres : Réaction de Bornträger

Introduire dans un tube à essai 1 ml d'extrait chloroformique préparé, ensuite ajouter 1 ml de NH_4OH dilué puis agiter. La coloration plus ou moins rouge indique la présence des anthraquinones libres.

✦ Les sucres réducteurs

- ✓ **Solution A** (solution de sulfate de cuivre) : dissoudre 40 g de sulfate de cuivre (CuSO_4) dans 900 mL d'eau distillée et chauffer pour dissoudre le sel. Compléter à 1 L.
- ✓ **Solution B** (solution basique de tartrate double) : dissoudre 200 g de sel de Seignette (tartrate double de sodium et de potassium) et 150 g de soude dans 1 L d'eau distillée.

Introduire 2 ml d'extrait dans un tube, ajouter 2 ml de liqueur de Fehling (1 ml réactif A et 1 ml réactif B) et porter l'ensemble 8 min dans le bain marie bouillant. L'apparition d'un précipité rouge brique indique la présence des composés réducteurs.

3.3. Étude qualitative par Chromatographie sur couche mince

C'est une méthode analytique de contrôle qui, à chaque stade de séparation permet de :

- suivre l'efficacité des extractions avec différents solvants,
- suivre la composition de différentes fractions obtenues au cours des séparations,
- vérifier la pureté des produits isolés.

Les techniques chromatographiques ne sont pas suffisantes pour identifier un produit mais elles apportent des renseignements susceptibles d'orienter vers une hypothèse de structures, par exemple: fluorescence, coloration, rapport frontal R_f .

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

- ❖ Choix de la phase stationnaire ; gel de silice fluorescent (Merck) 5×200 cm ;
- ❖ Activation de la plaque dans l'étuve à 100°C pendant 30 min ;
- ❖ Choix de la phase mobile

✦ Système : chloroforme/méthanol (17/3) ;

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

4. Préparation d'extrait chlorformaique pour l'analyse biologique

Cette extraction est faite selon la méthode de Natiq et al., 1989 :

- Extraction sous reflux pendant 6h, de 50 g des graines de la coloquinte broyées et dégraissées en présence de 150 ml de chloroforme ;
- Filtration de mélange et récupération du filtrat ;
- Elimination des traces d'eau qui peuvent refermer le solvant organique par addition de NaSO_4 (pour fixer les molécules d'eau);
- Filtration
- Concentration de la phase organique à sec à l'aide d'un rotavapor,

50g des graines de la coloquinte broyées et dégraissés



Extraction pendant 6 heures



Filtration



Filtrat

Desséchant (NaSO₄)

Evaporation



Liquide visqueux de couleur marron : extrait chloroformique

Figure n°2 : diagramme montrant l'extraction chloroformique des graines de coloquinte (*Citrullus colcyntis*) selon la méthode de Natiq et al., 1989.

II-Analyse biologique :

1. Préparation des rats :

Les animaux d'expérience sont des rats albinos (*Rattus norvegicus*) variété Wistar; de sexe mâle et femelle âgés de 2 à 3 mois ayant un poids supérieur à 120 g. L'élevage des animaux ainsi que les différents tests ont été réalisés au sein de l'animalerie de département de biologie, Faculté des sciences de la nature et de la vie et sciences de la terre et de l'univers, université de Tlemcen).

Les animaux sont nourris avec un aliment complet standard sous forme granulé (*il est composé de maïs, tourteaux de soja, issus de meunerie, plus un complexe minéralo- vitaminique : glucides 55%, protéines brutes 18%, matière grasse brute 3,4%, cellulose brute 3%, cendre brute 4,9%, humidité 14%, vitamine 1,7%*), maintenues dans des conditions contrôlées, une température constante avec libre accès à l'eau de robinet et à la nourriture, la litière est renouvelée trois fois par semaine.

2. Répartition des rats :

25 rats mâles et femelles sont utilisés, ils sont réparties en 5 lots de 5 rats chacun :

Lot 1 : Rats témoins normaux RTN

Lot 2 : Rat normaux traités par 50 mg/kg d'extrait chloroformique RN50

Lot 3 : Rat normaux traités par 75 mg/kg d'extrait chloroformique RN75.

Lot 4 : Rats normaux traités par 125 mg/kg d'extrait chloroformique RN125.

Lot 5 : Rats normaux traités par 250 mg/kg d'extrait chloroformique RN250.

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

3. Administration de l'extrait :

Les animaux sont privés de nourriture 16 heures avant les tests. Ils sont pesés au moment de l'application de l'extrait.

L'extrait chloroformique des graines de coloquinte (*Citrullus colocynthis*) est administré à différentes doses (à raison d'une dose par lot), par voie intra-péritonéale.

4. Prélèvement du sang :

Le prélèvement du sang est effectué à l'aide d'une pipette pasteur à travers le sinus rétro-orbital au niveau de l'œil, avant et 3 semaines après l'injection des différentes doses. Le sang total récupéré est ensuite centrifugé à 3000 t/min pendant 15 min.

Le sérum est recueilli dans des tubes et conservé à -20°C en vue de l'analyse des paramètres biochimiques [glycémie, triglycémie, cholestérolémie, transaminases : (TGO, TGP, ALP), et la créatinine].

5. Le suivi de poids corporel des rats :

Le poids corporel et la croissance des rats sont suivie avant et 3 semaine après l'injection intra-péritonéale des différentes doses d'extrait chloroformique. Le poids est mesuré à l'aide d'une balance en gramme (g) et le taux de croissance des rats par rapport du 1^{er} jour est exprimé en % et calculé selon la formule suivante

$$\text{Taux de croissance (\%)} = \frac{(P_j - P_{j_0}) \times 100}{P_{j_0}}$$

P_{j₀} : poids du 1^{er} jour

6. Techniques d'analyse des paramètres sanguins :

Les paramètres biochimiques sont effectués sur le sérum.

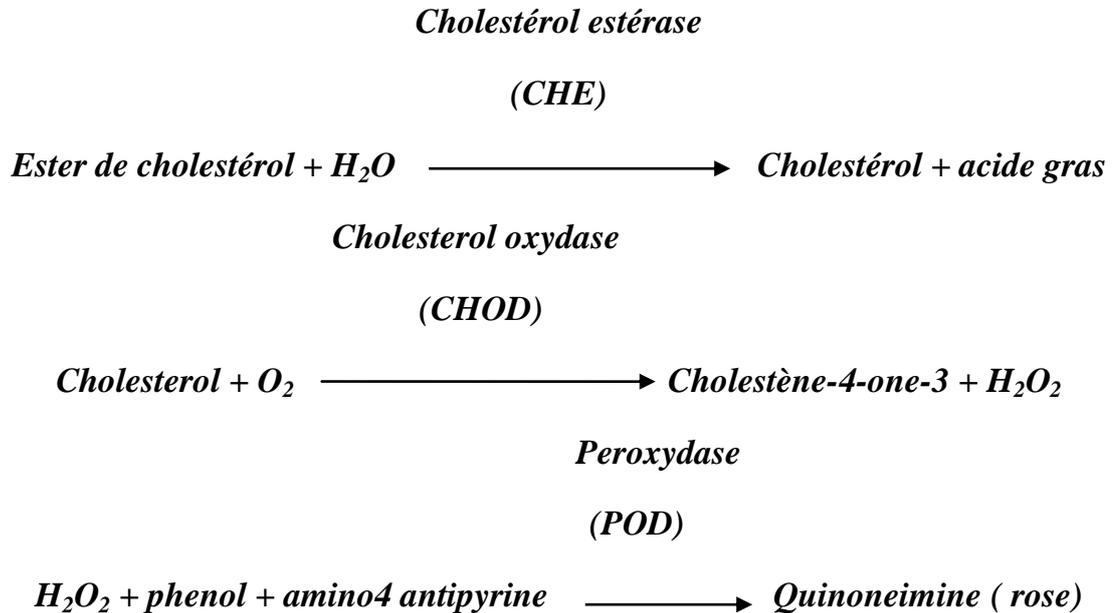
✦ Dosage de la glycémie :

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) et les teneurs en glucose sont exprimées en g/l.

✦ Dosage de la cholestérolémie :

La détermination du cholestérol dans le sang se fait par des dosages enzymatiques, à l'aide de Kit de SPINREACT. Selon la méthode de **Fasce [1982]**.

Principe :



Réactif 1 : tampon, pH 6.9 ;

Réactif 2 : enzymes (CHE, CHOD et POD) ;

Réactif 3 : Etalon de cholestérol ; (200 mg/dl).

➤ **Méthode de dosage**

	Blanc	Étalon	Dosage
Étalon (Réactif 3)	-	10µl	-
Sérum	-	-	10µl
Solution du travail	1 ml	1 ml	1 ml

On mélange, et on attend 5 mn et on lit l'absorbance à une longueur d'onde 505nm

➤ **Calcul :** Taux du cholestérol = $\frac{DOD}{DOE} \times 200 \text{ mg/dl}$

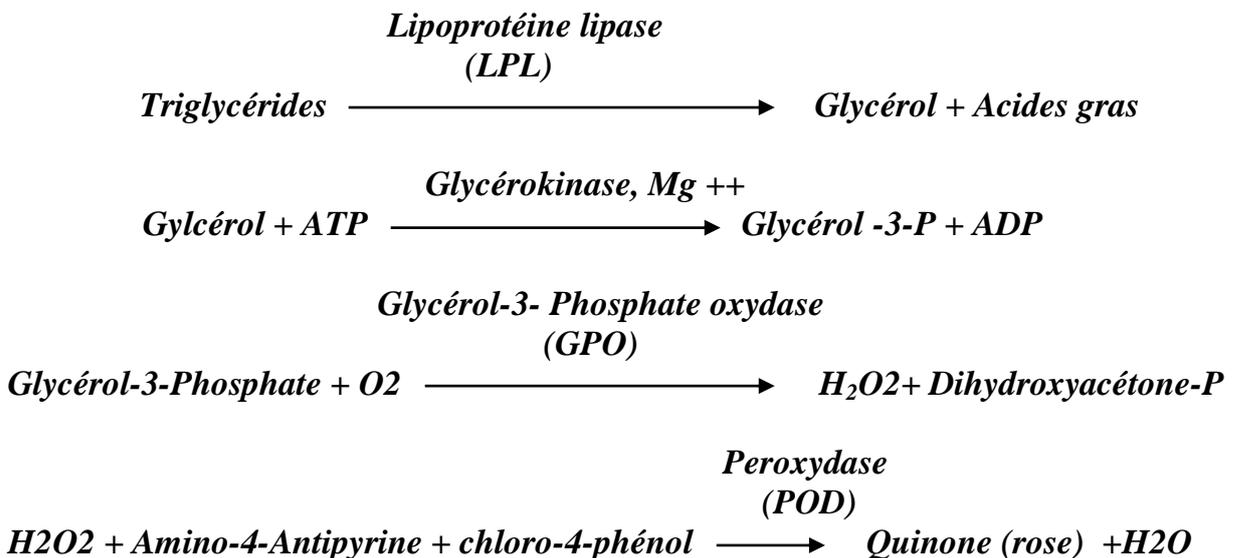
DOD : Absorbance du dosage.

DOE : Absorbance de l'étalon.

✦ Dosage de triglycéridémie :

Le dosage des triglycérides a été effectué suivant une méthode enzymatique colorimétrique, quantifiant le glycérol libéré après action de la lipase, à l'aide de Kit de SPINREACT [Buccolo et al., 1973, Fossati et al., 1982]

➤ Principe :



Réactif 1 : tampon-p-chlorophénol ; **Réactif 2** : enzymes (GPO, POD) + 4-Aminophénazone ; **Réactif 3** : Etalon de triglycéride ; (200 mg / dl)

➤ Méthode de dosage :

	Blanc	Etalon	Sérum
Solution de travail (ml)	1	1	1
Etalon (µl)	-	10	-
Sérum (µl)	-	-	10

On mélange, et on attend 5 mn et on lit l'absorbance à une longueur d'onde 505nm

➤ Calcul : Taux de triglycéride = DOD/ DOE × 200 mg/dl

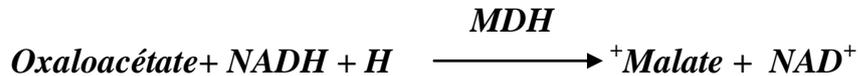
DOD : Absorbance du dosage

DOE : Absorbance de l'étalon

✦ Dosage d'Aspartate Amino Transférase (ASAT ou TGO)

C'est une technique enzymatique à l'aide de Kit de SPINREACT selon les réactions suivante : [Kaplan et al., 1984, Young, 1995]

➤ Principe :



Réactif 1 : tampon L-Aspartate ; **Réactif 2 :** NADH, MDH, α- Ketoglutarate.

TGO : Transaminase Glutamo-Oxaloacétique

MDH : Malate déshydrogénase

LDH : Lactate déshydrogénase

➤ Méthode de dosage :

Solution de travail (ml)	1
Sérum (µl)	100

On mélange et on incube pendant 1 minute et on lit l'absorbance du sérum dans un intervalle de 3 minutes. Longueur d'onde 340nm

Calcul : $\Delta \text{DO}/\text{min} \times 1750 \text{ U/L d'ASAT (TGO)}$

✦ Dosage d'Alanine Amono Transférase (ALAT ou TGP) :

Le dosage se fait à l'aide de Kit de SPINREACT selon les réactions suivante. [Kaplan et al., 1984, Young, 1995]

➤ Principe :

TGP



Réactif 1 : tampon L-Alanine ; **Réactif 2** : NADH, LDH, α - Ketoglutarate.

TGP : *Transaminase Glutamo-Pyruvique*

LDH : *Lactate déshydrogénase*

➤ **Méthode de dosage :**

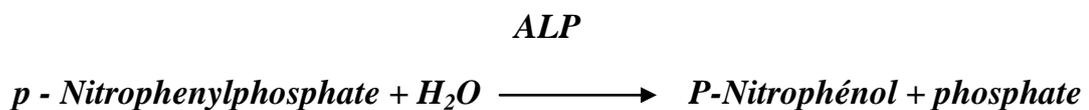
Solution de travail (ml)	1
Sérum (µl)	100

On mélange et on incube pendant 1 minute et on lit l'absorbance du sérum dans un intervalle de 3 minutes. Longueur d'onde 340nm.

Calcul: $\Delta \text{DO}/\text{min} \times 1750 \text{ U/L d'ALAT (TGP)}$

⊕ **Dosage de phosphatase Alcaline (ALP):**

La phosphatase alcaline est présente dans de nombreux tissus incluant le foie et les os. L'enzyme catalyse l'hydrolyse de p- nitrophenyl phosphate à pH= 10,4 selon la réaction suivante [Kaplan et al., 1984, Rosalkiet al.,1993]



➤ **Principe :**

Réactif 1 : tampon (Diethanolamine DEA+ Magnésium chloride) ; **Réactif 2** : p-Nitrophenolphosphate pNPP).

➤ **Méthode de dosage :**

Solution de travail (ml)	1.2
Sérum (µl)	20

On mélange et on incube pendant 1 minute et on lit l'absorbance du sérum dans un intervalle de 3 minutes. Longueur d'onde 504 nm.

Calcul : $\Delta \text{DO}/\text{min} \times 3300 \text{ U/L d'ALP}$

✦ **Dosage de créatinine :**

Le dosage est basé sur la réaction de la créatinine avec le picrate de sodium comme décrit par Jaffe. [Kaplan et al., 1984, Young, 1995].

➤ **Principe :**

Réactif 1 : acide picrique; **Réactif 2 :** hydroxyde de sodium ; **Réactif 3 :** Etalon de créatinine ;(2 mg / dl).

➤ **Méthode de dosage :**

	Blanc	Etalon	Sérum
Solution de travail (ml)	1	1	1
Etalon (µl)	-	100	-
Sérum (µl)	-	-	100

On mélange et on lit l'absorbance à 492 nm après 30 sec et 90 sec.

Calcul : $\text{Taux de créatinine} = \text{DOD}/\text{DOE} \times 2\text{mg/dl}$

DOD : L'absorbance du dosage

DOE : L'absorbance de l'étalon

7. Analyse statistique :

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

Les résultats obtenus sont exprimés sous forme de moyenne \pm écartype. Après analyse de variance, la comparaison des moyennes entre différents lots de rats est réalisée par le « test de Student ».

❖ **La moyenne (m) :** $\bar{X} = \frac{1}{n} \sum X_i$

❖ *L'écart-type :*

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

❖ *Test de Student :*

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

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

Comme notre cas nous avons 5 rats dans chaque lot, nous appliquons cette loi ; dans un premier temps nous avons calculé la variance commune comme suit :

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

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

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

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

$$V = dll = n_1 + n_2 - 2$$

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

Si le t calculé ou expérimentale est plus significative [Schwartz D, 1992 ; Amotte M, 1971].

La valeur de « t » nous donne le degré de signification « p » lu sur la table de Student.

La différence entre deux moyennes est :

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

I. Analyses phytochimiques

1. Tests phytochimiques

Les résultats des tests phytochimiques de l'extrait chloroformique de la coloquinte « *Citrullus colocynthis* » sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau n °5 : Résultats des tests phytochimiques de l'extrait chloroformique des graines de « *Citrullus colocynthis* »

Familles		Réactif/Réaction	1h30	3h
Les alcaloïdes		Mayer	-	-
		Wagner	++	++
Les substances polyphénoliques	Les tanins	FeCl ₃ 1%	+	+
	Les flavonoïdes	Mg ²⁺	-	-
Les saponosides		Test de mousse	-	-
Les coumarines		Fluorescence U.V	-	-
Les composés réducteurs		Liqueur de Fehling	+	+++
Stérols et triterpènes		la réaction de Liebermann Buchard	++	+++
Les anthraquinones		Réaction de Borntrager	-	-

+ : positif ; ++ : Très positif ; +++ : Hautement positif

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

Les tests phytochimiques réalisés sur deux extraits chloroformiques des graines de coloquinte, préparés par décoction en 1 heure 30 minute et 3 heures, ont révélé la présence des stérols et des triterpènes, et sucres réducteurs et en quantités moindres les tanins et les alcaloïdes. De même nous avons noté l'absence des flavonoïdes, les coumarines, les saponosides et les anthraquinones.

2. Le rendement :

Le rendement est déterminé par le rapport du poids de l'extrait sec après évaporation sur le poids de la matière végétale sèche utilisée pour l'extraction multiplié par 100% [Bekhechi-Benhabib, 2001].

$$\text{Rd \%} = (m_1 \times 100) / m_2$$

m_1 : la masse de l'extrait sec après évaporation

m_2 : la masse de la matière végétale sèche

Tableau n°06 : Le rendement de l'extrait chloroformique

Aspect	Masse(g)	%
Liquide visqueux de couleur marron	0,836	1,672 %

3. La chromatographie sur couche mince (CCM) :

La chromatographie sur couche mince de l'extrait chloroformique des graines de la coloquinte « *Citrullus colocynthis* » a permis de séparer 6 composés qui ont apparus sous forme de stâches visibles en UV 254 nm

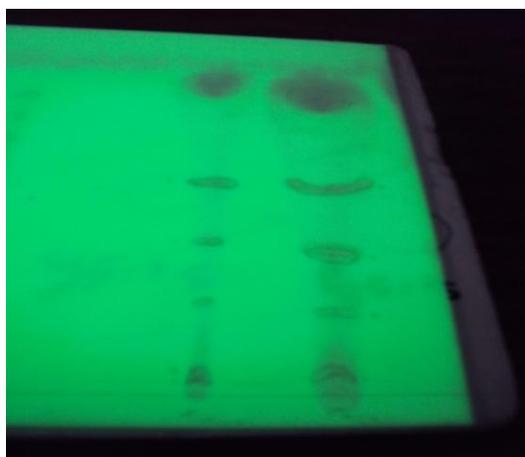


Figure n°3: Chromatogramme de séparation par CCM d'extrait chloroformique des graines de coloquinte.

Les résultats de CCM sont indiqués dans le tableau suivant :

Tableau n°7 : les résultats de la chromatographie sur couche mince de l'extrait chloroformique des graines de coloquinte.

<i>Système</i>	<i>Tâches</i>	<i>Rf</i>
<i>chloroforme/méthanol</i> (17/3)	1	0,30
	2	0,046
	3	0,184
	4	0,326
	5	0,50
	6	0,809

II. Analyses biologiques

Après administration de l'extrait chloroformique des graines de la coloquinte « *Citrullus colocynthis* », par voie intra-péritonéale, aux différents lots des rats avec les doses suivantes : 50mg/kg, 75 mg/kg, 125 mg/kg, 250 mg/kg, nous avons obtenu les résultats suivants :

Les rats soumis à des doses 250 mg/kg p.c et 125 mg/kg p.c sont mort après 24 heures d'injection intra-péritonéale.

1. Le suivie des poids des rats à j0 et à j21

Les résultats de suivie du poids corporels sont notés dans le tableau suivant :

Tableau n°8 : Résultats de l'évolution du poids corporel à j0 et 21 jours après injection intra-péritonéale d'extrait chloroformique des graines de coloquinte

Lots	Doses injectées Par voie intra- péritonéale mg/kg p.c	Poids corporel (g) ± écarte type Taux de croissance (%)	
		J0	J21
RTN	Nacl 0.9%	238,12±17,59 (0%)	277,20±21,45 (+16,41%)

RN50	50	174,20±38,83 (0%)	184,40±19,30 (+5,86%)
RN75	75	189,20±33,83 (0%)	191±46,44 (+0,95%)

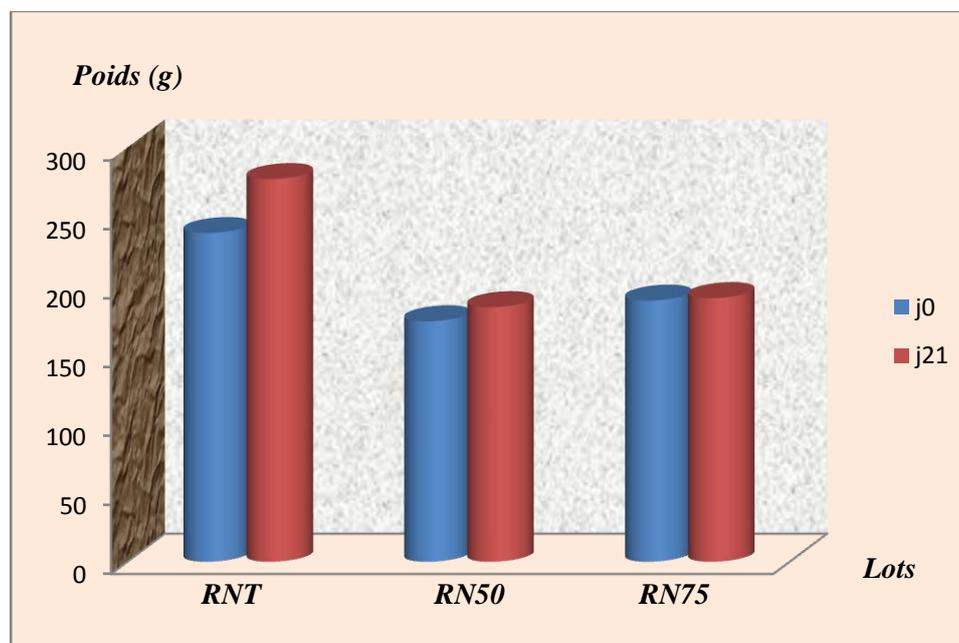


Figure n°4 : Evolution du poids des rats normaux traités par l'extrait chloroformique de la coloquinte « *Citrullus colocynthis* » à différentes doses.

La variation du poids des rats constitue un paramètre très important, le suivi des animaux nous a amené à obtenir des valeurs relatives à la figure (3). Nous avons constaté une augmentation des taux de croissance d'ordre (5,85 et 0,95%) après l'injection intra-péritonéale de 50 et 75mg/kg p.c, respectivement, par rapport aux rats témoins qui présentent un taux de croissance supérieur à 16 % dans la même période.

2. Le suivi des paramètres biochimiques sériques lipidiques et glucidiques :

Le tableau suivant présente l'évolution des paramètres biochimiques sériques lipidiques (Triglycérides et cholestérol) et glucidiques (glucose).

Tableau n°9: Résultats de l'évolution des paramètres biochimiques sériques avant et 21 jours après injection intra-péritonéale d'extrait chloroformique des graines de coloquinte.

Lots	Doses	Evolution des paramètres (g/l) ± écarte type
------	-------	--

	injectées Par voie I.P mg/kg p.c	Variation par rapport J0(%)					
		<i>Cholestérolémie</i>		<i>Triglycéridémie</i>		<i>La glycémie</i>	
		<i>J0</i>	<i>J21</i>	<i>J0</i>	<i>J21</i>	<i>J0</i>	<i>J21</i>
RTN	Nacl 0,9%	0,50±0,30 (0%)	0,74±0,34 (+47,71 %)	1,80±0,55 (0%)	2,42±0,91 (+34,73%)	1,02±0,27 (0%)	1,16±0,26 (+14,08%)
RN50	50	1,52±0,32 (0%)	1,73±0,32 (+14,25%)	0,54±0,12 (0%)	0,63±0,30 (+16,67%)	0,99±0,16 (0%)	0,75±0,20 (-23,68%)
RN75	75	0,74±0,14 (0%)	0,62±0,25 (-16,54)	1,55±0,59 (0%)	0,60±0,21 (-61,34 %)*	0,87±0,09 (0%)	0,86±0,08 (-0,46%)

I.P : injection intra-péritonéale.

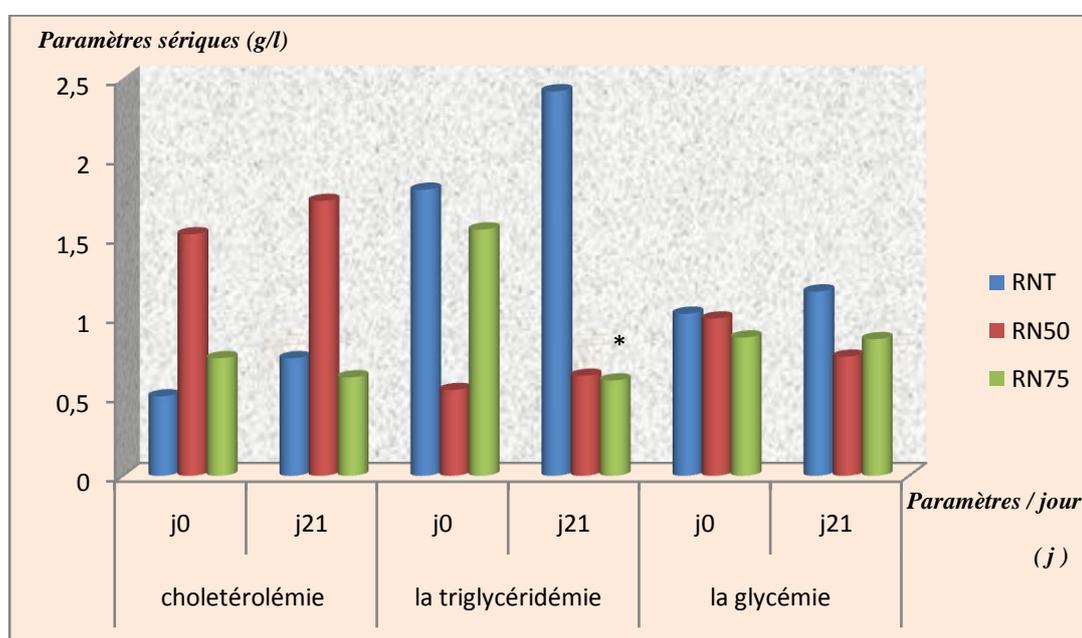


Figure n°5: Evolution des paramètres biochimiques sériques chez des rats normaux traités par l'extrait chloroformique de la coloquinte « *Citrullus colocynthis* » à différentes doses.

Trois paramètres biochimiques sériques sont suivis, la cholestérolémie, la triglycéridémie et la glycémie. Les résultats accordés à la figure (4) montrent une diminution peu significative de la triglycéridémie d'ordre (- 61,34%) après 21 jours d'injection intra-péritonéale de la dose 75 mg/kg, dans les mêmes conditions nous avons noté une élévation du taux de triglycérides chez les groupes RNT et RN50.

En ce qui concerne le cholestérol total, nous avons observé que ce dernier, chez le groupe de RN75 à marqué une diminution non significative d'ordre 16,54%.

Les résultats obtenus dans la figure (4) présente l'évolution de la glycémie à j0 et 21 jours après l'injection intra-péritonéale des différentes doses d'extrait chloroformique de la coloquinte «*Citrullus colocynthis*» où nous avons noté une diminutions non significative de la glycémie chez les rats traités par 50 mg/kg de l'extrait d'ordre 23,68 %, dans les mêmes conditions nous avons enregistré une légère diminution de la glycémie chez les RN75 d'ordre 0,46% par rapport au j0

3. L'évolution de quelques enzymes hépatiques (TGO, TGP, ALP) :

Tableau n°10 : Résultats de l'évolution des enzymes hépatiques avant et 21 jours après injection intra-péritonéale d'extrait chloroformique des graines de coloquinte.

Lots	Doses injectées Par voie LP mg/kg p.c	Evolution des enzymes hépatiques (UI/L) ± écarte type Variation par rapport au temps J0 (%)					
		TGO		TGP		ALP	
		J0	J21	J0	J21	J0	J21
RTN	Nacl 0,9%	39.14±11,10 (0%)	31,09±8,88 (-20,57%)	19,95±8,62 (0%)	24,97±2,03 (25,15%)	147,75±13,06 (0%)	156,75±5,87 (6,47%)
RN50	50	46,90±5,67 (0%)	16,02±1,41 (-65,85%)	21,86±9,55 (0%)	23,25±1,17 (6,39%)	158,07±48,72 (0%)	83,99±50,91 (-46,87%)
RN75	75	27,13±5,58 (0%)	74,05±7,82 (73,41%)*	22,80±6,32 (0%)	11,73±2,02 -48,56% *	108,79±4,95 (0%)	96,47±1,49 (-11,32%)*

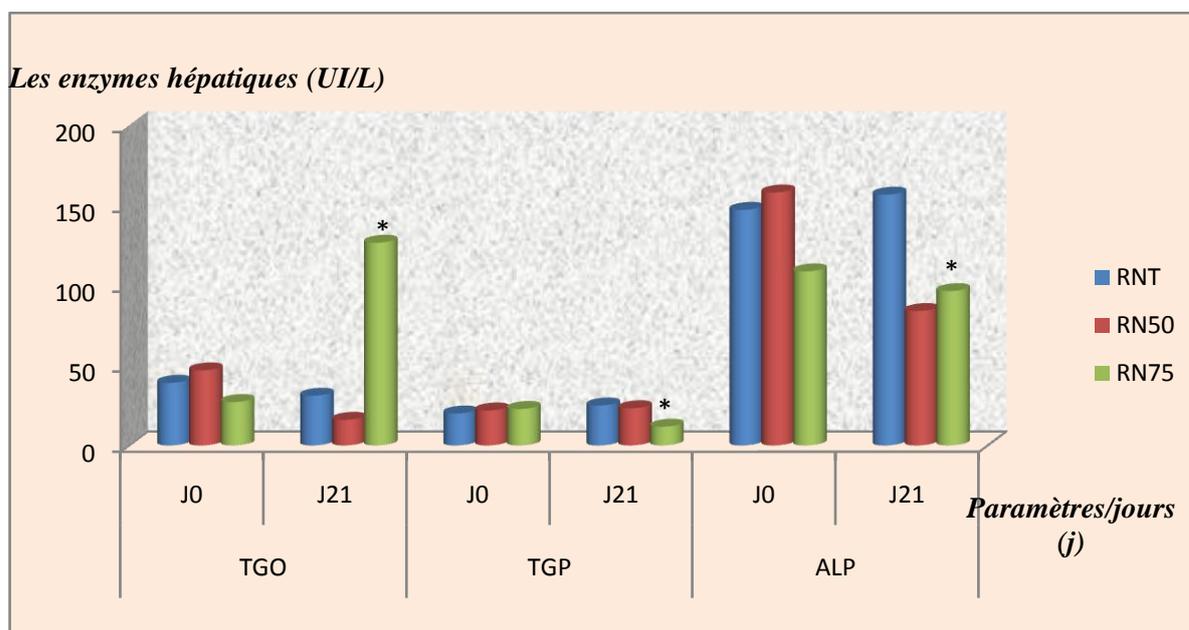


Figure n °6 : Evolution des enzymes hépatiques avant et 21 jours après l'injection intra-péritonéale d'extrait.

Après l'analyse de quelques enzymes hépatiques (TGO **transaminase glutamo-oxaloacétique**, TGP **transaminase glutamo-pyruvique** et ALP **phosphatase alcaline**) sur le sérum des rats prélevé à j0 et après 21 jours d'injection intra-péritonéale de différentes doses d'extrait chloroformique, nous avons constaté une diminution non significative de TGO et de ALP d'ordre 65,85% et 46,78% respectivement chez les rats soumis à une injection intra-péritonéale du dose 50mg/kg d'extrait chloroformique, paradoxalement nous avons noté une légère augmentation de TGP d'ordre 6,39% chez les rats soumis à la même dose.

Par contre nous avons noté une augmentation peu significative pour la TGO d'ordre 73,41% et une diminution peu significative de TGP et ALP d'ordre de 48,56% et 11,32% respectivement chez les rats soumis à une injection intra-péritonéale de la dose 75 mg/kg.

L'augmentation de TGO chez les rats soumis à une injection intra-péritonéale de 75mg/kg d'extrait chloroformique signale une toxicité probable dans le foie qui reste à justifier vue que les autres paramètres (TGP et ALP) ont resté dans un intervalle normale.

4. L'évolution de la créatinine :

Le tableau ci-dessus présente la variation d'un paramètre lié à la fonction rénale (la créatinine) à j0 et 21 jours après l'injection intra-péritonéale de l'extrait chloroformique de la coloquinte « *Citrullus colocynthis* ».

Tableau n°11 : variations de la créatinine avant et après 21 jours de l'injection intra-péritonéale d'extrait chloroformique des graines de coloquinte.

Lots	Doses injectées Par voie intra- péritonéale mg/kg p.c	Evolution de la créatinine (g/l) ± écarte type Variation par rapport J0(%)	
		J0	J21
RTN	NaCl 0,9%	0,34±0,34 (0%)	0,37±0,45(8,82%)
RN50	50	0,47±0,11 (0%)	0,55±0,09 (+16,97%)
RN75	75	0,33±0,15 (0%)	0,89±0,27 (166,20%)

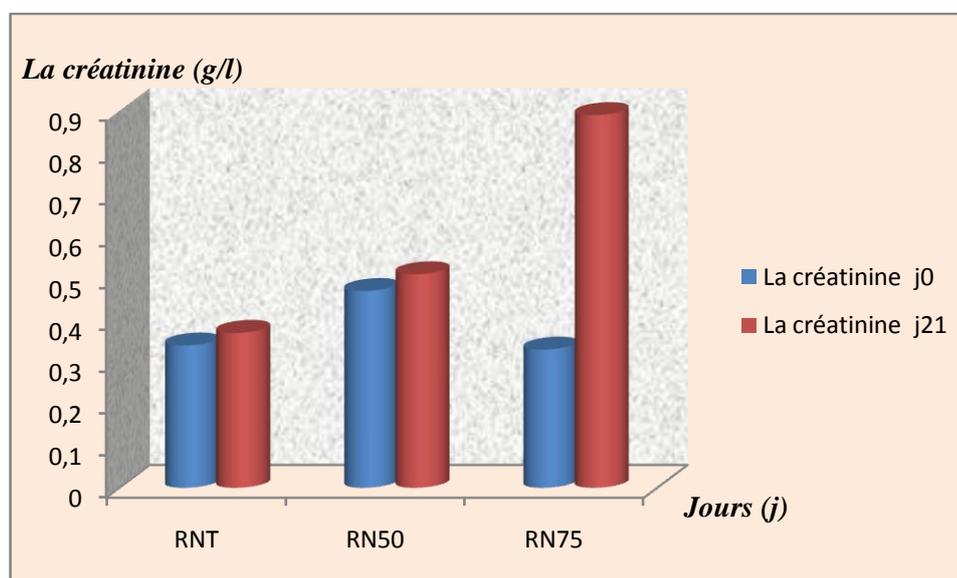


Figure n°7: Variation de la créatinine chez les normaux expérimentaux traités par l'extrait chloroformique

Les résultats de la variation de la créatinine sont schématisés dans la figure (5), à j0 et 21 jours après injection intra-péritonéale de différentes doses de notre extrait où nous avons noté une augmentation de la créatinine d'ordre de plus 166% au 21^{ème} jour chez les rats soumis à une injection de 75mg/kg d'extrait, par rapport au J0. de même nous avons observé une légère augmentation d'ordre 16,97% chez les rats

normaux traités par 50 mg/kg d'extrait chloroformique, contrairement au rats témoins où nous n'avons pas enregistré des différences significatives.

Ces résultats nous montrent bien l'effet toxique probable de notre extraits sur les rats à une dose de 75mg/kg et plus. Mais cela reste à confirmer par des analyses sériques (l'urée) et urinaires afin de déduire la clairance rénale des rats soumis à des doses de notre extrait.

III-Discussion

L'utilisation des plantes médicinales est aujourd'hui la forme de médecine la plus rependue à travers le monde. Le recours au traitement par les plantes ainsi que la recherche de nouvelles substances à activité biologique 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 d'éventuels effet de l'extrait chloroformique de la coloquinte (*Citrullus colocynthis*) sur les paramètres biochimiques sériques : la glycémie, le cholestérol total, triglycérides, transaminases (TGO, TGP, ALP) et la créatinine après 21 jours de l'injection, unique, intra-péritonéale de deux doses (50 et 75mg/kg p.c).

La coloquinte (*Citrullus colocynthis*) famille des cucurbitacées, comme d'autre plantes du même genre est très utilisée pour traiter le diabète sucré, notamment chez les populations, marocaine et algérienne.

Allali et al., 2008 et **Benmehdi en 2000**, ont recensé respectivement 56 et 80 plantes antidiabétiques utilisées par la population de l'Ouest d'Algérie. Dont la coloquinte est citée.

Au Maroc, **Ziyyat et al.,1997** ; **Merzouki et al.,2000** ; **Jouad et al., 2001** ; **Bnouham et al ., 2002** et **El Amrani et al .,2010** ont classé la coloquinte parmi les 100 plantes médicinales destinées au traitement du diabète dans ce pays.

Wasfi, 1994, Lev et Amar, 2002 ; **Saïd et al., 2002** ont constaté que dans : 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.

L'extrait chloroformique à partir de 50g des graines de la coloquinte broyées et dégraissées permet de récupérer un produit visqueux de couleur brun, avec un rendement de 1,67%. Tandis que l'analyse des cette extrait par chromatographie sur couche mince révèle 6 constituants.

D'après **Darwish-Sayed et al. en 1974**, l'analyse chromatographique par CCM, en présence d'un mélange de solvant contenant n-Butanol, acide acétique et eau (4/1/5),

de l'extrait chloroformique des graines de la coloquinte, récoltées dans la région de Marsa-Matrouh (Egypte), révèle quatre glycosides cucurbitacines (E, B, I, L) seulement.

De même, **Natiq et al. en 1989**, ont identifié quatre glycosides cucurbitacines (2-O- β -D-gluco-pyranosyl-cucurbitacine I, 2-O- β -D-glucopyranosyl-cucurbitacine E, 2-O- β -D-glucopyranosyl-cucurbitacine L et 2-O- β -D-glucopyranosyl-(22-27) hexanorcucurbitacine I) à partir d'extrait chloroformique de la partie aérienne et les fruits des la coloquinte broyés et dégraissés récoltés dans la région de Basrah (Sud Iraq). La phase mobile utilisée est formée par le mélange chloroforme / méthanol (17 :3).

Ben salah et al., 1986 ont trouve que la coloquinte renferme 2 principes actifs : la colocynthe et la colocynthine. Cette dernière confère à la plante un effet purgatif extrêmement violent et dangereux, qui provoque généralement des hémorragies intestinales dont l'issue est souvent fatale. L'intérêt de cette plante réside dans les substances pharmacologiques qu'on a pu en titrer et auxquels on reconnaît un effet hypoglycémiant. Les manifestations cliniques rapportées à l'intoxication par la coloquinte comprennent des vertiges, des épigastralgies, des nausées, des vomissements et une diarrhée.

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

Plusieurs recherches confirment l'effet antidiabétique de l'extrait chloroformique citant :

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

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

Perez-Gutierrez et al. (1998), ont montré que l'administration intra-péritonéale de 300mg/kg d'extrait chloroformique de *Parmentiera edulis* DC famille des Bignoniacée provoque une diminution de la glycémie de 43.75% chez des souris diabétiques et 29.61% chez des souris normales. De même, ils ont noté que l'administration intra-péritonéale de 300mg/kg d'extrait chloroformique de *Bouvardia ternifolia* Schlecht. Famille des Rubiacée provoque une diminution de la glycémie de 58.6% chez les souris diabétiques et de 33.4% chez les souris normales.

Paris et Umamaheswari (2000), ont constaté que l'extrait chloroformique des fleurs de *Musa sapientum* (Banane) famille des Musacée a un effet antihyperglycémiant et antioxydant; ils ont trouvé que l'administration par voie orale de 1.5, 0.2 et 0.25g/kg p.c 30 jours cause une diminution de la glycémie chez les rats rendus diabétiques par l'alloxane.

En ce qui concerne les paramètres biochimiques lipidiques cholestérolémie et triglycéridémie nous avons constaté que l'extrait chloroformique provoque une diminution peu significative de triglycérides et une diminution non significative de cholestérol total.

Au regard de ces résultats on peut dire que l'extrait chloroformique de la coloquinte ne présente pas un grand effet sur ces paramètres.

Azzi et Boumellah (2002), ont noté que l'administration intra-péritonéale de 20mg/kg p.c de l'extrait chloroformique des glycosides cucurbitacines des graines de la coloquinte sur des rats rendus diabétiques par la STZ ; corrige les perturbations métaboliques glucidiques et lipidiques. Il provoque une diminution significative de la glycémie qui persiste pendant 5 semaines.

Une étude évaluant l'effet des graines de *Citrullus colocynthis* sur le profil lipidique des lapins hyperlipédimiques, a suggéré que l'extrait eau-méthanol (30-70) obtenu par macération pendant 24 heures à une dose 100 mg/kg , diminue significativement le taux de triglycérides et cholestérol total [**Zamani et al., 2007**].

Azzi en 2007, a montré que l'extrait chloroformique et éthanoliques des glycosides (20 mg/kg) de la coloquinte administré par voie intra-péritonéale aux rats wistar normaux et rendus diabétiques par la Streptozotocine (65 mg/kg), ont un effet

antihyperglycémiant (à court et à long terme), corrigeraient les désordres lipidiques (hypercholestérolémi et même probablement autres perturbations).

Concernant les transaminases, l'extrait chloroformique des graines de la coloquinte « *Citrullus colocynthis* » induit une augmentation peu significative de TGO et une diminution peu significative de TGP et ALP chez les rats qui reçoivent une dose de 75 mg/kg, donc on peut dire que cette dose est toxique et elle peut provoquer une toxicité hépatique.

Les résultats d'évolution de la créatinine montre bien l'effet toxique probable de notre extraits sur la fonction rénale des rats à une dose de 75mg/kg et plus.

Atole et al., 2009 ont constaté que l'administration de l'extrait aqueux de la coloquinte (50 et 100 mg/kg p.c) chez les rats ne présente aucune différence significative des paramètres biochimiques sériques (TGO, TGP, ALP, LDH Créatinine, urée, albumine).

Abd El-Baky et al., 2009 ont montré que le traitement des rats normaux et diabétiques par l'extrait de *Citrullus colocynthis* (50 mg/kg/jour) provoque une augmentation significative de TGO, TGP et ALP dans le sérum.

Cehghali F et Cangehshahim MR, 2006 ont étudié l'effet toxique de l'extrait alcoolique de *Citrullus colocynthis* sur le foie des rats (50, 100, 200,400 mg/kg p.c). Ils ont constaté que les doses 50 et 100 n'assurent pas un effet toxique, mais l'effet est remarquable pour les doses 200 et 400 mg/kg. Alors, ils ont conclu que « *Citrullus colocynthis* » à sa dose antidiabétique est sans danger et ne provoque aucun effet toxique.

Al-Ghaithi et al., 2004 ont montré l'administration orale de l'extrait aqueux des graines de coloquinte »*Citrullus colocynthis* » chez les rats normaux et rendus diabétiques par la Streptozotocine réduit significativement le taux de TGO et provoque une diminution significative d'ALP, mais provoque pas des différences significatives de la créatinine.

V- Conclusion générale

A la lumière des résultats obtenus nous avons conclu que l'extrait chloroformique de la coloquinte « *Citrullus colocynthis* » de famille des cucurbitacées à un effet toxique après l'administration intra-péritonéale de 75 mg/kg p.c chez les rats wistar.

Cette plante riche en stérols, triterpènes et sucres réducteurs dont l'ensemble peut former des glycosides.

De même, cet extrait peut influencer sur la croissance des rats.

Cette étude mérite d'être compléter par d'autres travaux :

- Augmenter le nombre des rats
- Essayer d'autres modes d'administration (voie orale par exemple)
- Utiliser d'autres espèces animales et modèles expérimentaux
- Faire des coupes histologiques pour le foie et les reins
- Identification, caractérisation, et séparation des différentes fractions de l'extrait chloroformique par les méthodes d'analyses chimiques : Chromatographie sur colonne, HPLC, ...

VI-Les references bibliographiques:

1. **Abde El Baky A, Abdulla A, Abd El Mawgoud., 2009.** Hypoglycemic and hypolipidemic Action of Better Melon on Normoglycemic and Hyperglycemic Diabetic rats. Research journal of Medecine and Medical Siences, 4(2): 519-525.
2. **Abdel-Hassen I, Abdel- Barry JA et Mohammeda ST., 2000.**The hypoglycemic and antihyperglycemic effect of *Citrulluscolocynthis* fruit aqueous extract in normal and alloxan diabetic rabbits. Journal of Ethno pharmacology; 71: 325-330.
3. **Afifi, M.D, Sayed, M.F, Balbaa, S.I, 1973.** Nitrogenous bases of different organ of *Citrullus colocynthis*. Planta Medica. 24 (3): 260-265.
4. **Alberti KG et Zimmet PZ (for the WHO Consultation); 1998.** Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Diabetic Medicine; 15: 539-553.
5. **Al-Ghaiti F, El-Ridi M, Ernest A et Amiri M., 2004.** Biochemical effects of *Citrullus colocynthis* in normal and diabetic rats. Molecular and cellular Biochemistry xxx: 1-7.
6. **Allali H, Benmehdi H, Dib M A, Tabti B, Ghalem S et Benabadji N., 2008.** Phytotherapy of Diabetes in West Algeria. Asian journal of chimistry; 20(04): 2701-2710.
7. **American Diabetes Association (ADA), 2005.** Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes Care; 28: S37-42.
8. **Atkinson M AE et Mac Laren N K ; 1994.** The pathogenesis of insulin-dependant diabetes. NEnglJMed ; 331 :1428-36
9. **Atole SK, Jangde CR, Preety Philip, Rekhe DS, Aghav DV, Waghode H et Chougule AM., 2009.** Safety evolution studies of *Citrullus colocynthis* for diabetes in rats. Veterinary; Vol 2(11):423-425.
10. **Azzi R et Boumellah O, 2002.** Contribution à l'étude des effets antidiabétiques des saponosines et des glucosides extraits de la coloquinte (*Citrulluscolocynthis*) sur des rats Wistar rendus diabétiques par la streptozotocine et la recherche de ses antifo,giques sur *Fusariumoxysporum*. Mémoire DES en Biochimie. Département de Biologie, Faculté des sciences, Université de Tlemcen.
11. **Azzi R, 2007.** Contribution à la recherche fes effets antidiabétiques des alcaloides et des glycosides cucurbitacines extraits des graines de coloquinte (*Citrulluscolocynthis*) chez des rats Wistar rendus diabétiques par streptozotocine.Mémoire Magistère en biologie. Département de biologie, faculté des sciences. Université de Tlemcen.
12. **Baily C j et Day C, 1989.** Traditional plant medicines as treatments for diabetes. Diabetes Care; 12 (8):553-564.
13. **Batanouny K H, AbouTabl S, Shabana M ET Soliman F., 1999.** Wild medicinal plants in Egypt: AN Inventory to Support Conservation and

- Sustainable Use. Academy on Scientific Research and Technology, Egypt International Union for Conservation (IUCN).
14. **Bedevian A K, 1936.** Illustrated Polyglottic Dictionary of Plant names. Cairo, Argus D Papazian Presses.
 15. **Bekhechi-Benhabib, C., 2001.** Analyse d'huile essentielle d'*Amoïdes verticillata* (Nûnkha) de la region Tlemcen et étude de son pouvoir antimicrobien. Thèse de magister de Biologie, Université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen. Algérie.
 16. **Ben Salah N, Amamou M. Jerbi Z; Ben Salah F et Yacoub M., 1986.** Un cas de surdosage en *Peganum Harmala* L .Journal de toxicologie clinique et expétale.
 17. **Benariba N, 2003.** Contribution à l'étude antidiabétique des extraits de graine de la coloquinte (*Citrullscolocynthis*) chez les rats de Wistar rendu diabétique par la Sterptozotocine. Mémoire de Magistère en Biologie Moléculaire et Cellulaire. Département de Biologie, Faculté des sciences, Université de Tlemcen.
 18. **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 de Tlemcen.
 19. **Berthiaum Yves ; 1995.** Les canadiens pour la recherche médicale.
 20. **Bnouham M, Mekhfi H, Tahri A et Legssayer A et ziyyat A ., 2002.** Ethno pharmacology forum Medicinal plants used in the treatment of diabetes in Morocco. Int J Diabetes & Metabolism; 10:33-50.
 21. **Bnouham M, Ziyyat A, Mekhfi H, Tahri A et Legssayer A., 2006.** Medicinal plants with potential antidiabetic activity- A review of ten years of medicine research (1990-200).Int J Diabetes & Metabolism; 14:1-25.
 22. **Bruneton, J ; 1993.** Pharmacognosie- phytochimie- plantes médicinales.TEC.DOC.
 23. **Buccolo G et al., 1973.** Quantitative dtermination of serum triglycerides by use of enzymes.Clin Chem19(5):476-482.
 24. **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.
 25. **Calop J., Limat S., Frnandez C., 2008.** Pharmacie clinique et thérapeutique. 3ème Ed.Masson, Elsevier Masson, Paris. pp.417-427.
 26. **Carney JR, Krenisky JM, Williamson RT, et al.;1999.** Maprouneacin, a new daphnane diterpenoid with potent antihyperglycaemic activity from Maprounea africana.J Nat Prod; 62: 345-347.
 27. **Carter I ,1997.** Plantes protectrices pastèque sauvage. Revue Pas à Pas Tear Fund (Angleterre) ; 32 :9.

28. **Calleja suarez, J.M,1990.** Les méthodes pharmacologiques d'évaluation des propriétés antidiabétiques de substances naturelles. Actes du 1^{er} colloque Européen d'Ethnopharmacologie.22-25 .
29. **Charbonnel B et Cariou B ; 1997.** Diabète non insulino-dépendant : indications thérapeutiques. Médecine thérapeutique ; 3.hs : 103-11.
30. **Charnot A, 1945.** La toxicologie au Maroc. Mémoire de Soc. Nat. Du Maroc, Rebat, n°XLVII : 826.
31. **Chattopadhyay RR; 1993.** Hypoglycaemic effect of *Ocimum sanctum* leaf extract in normal and streptozotocin diabetic rats. *Indian J Exp Biol*; 31: 391-393.
32. **Cehghali F et Cangehshahim MR,2006.** The toxic effect of alcoholic extract of *Citrullus colocynthis* rat liver. *Journal of pharmacology and therapeutic (ICTP)*5(2)
33. **Chhetri DR, Parajuli P et Subba GC, 2005.** Antidiabetic plants used by Sikkim and Darjeeling Himalayan tribes, India. *Journal of Ethnopharmacology*; 99:199-202.
34. **Darwish-Sayed M, Balbaa S I et Afifi M S A; 1974.** The glycosidal content of the different organs of *Citrullus colocynthis*. *Planta Medica*; 26: 293-298.
35. **Dharmananda S; 2003.** Treatment of diabetes with Chinese herbs and acupuncture. *Internet journal of the institute for traditional medicine and preventive health care.*
36. **Delazar A, Gibbons S, Kosari A R, Nazemiyeh H, Modarressi M, Nahar L et Satyajit D; 2006.** Flavone C-Glycosides and cucurbitacin Glycosides from *Citrullus colocynthis*. *DARU*; 14 (3): 109-114.
37. **Ducke J A, 1983.** *Citrullus colocynthis* (L) Schars. *Handbook of Energy Corps.*
38. **Eddouks M, Ouahidi M.L, Farid O, Moufid A, Khalidi A, Lemhadri A, 2007.** L'utilisation des plantes médicinales dans le traitement du diabète au Maroc.
39. **El Amrani F, Rhallab A, Alaoui T, El Badaoui K et Chakir S.2010.** Etude ethnopharmacologique de quelques plantes utilisées dans le traitement du diabète dans la région de Meknès – Tafilalet (Maroc)
40. **Erasto 1 P, Adebola PO, Grierson DS et Afolayan 1 AJ ; 2005.** An ethnobotanical study of plants used for the treatment of diabetes in the Eastern Cap Province, South Africa. *African Journal of Biotechnology*; 4(12) 1458-1460.
41. **Fabrican DS, Fransworth NR, 2001.** The value of plants used in traditional medicine for drug discovery. *Environ Health Perspect* 109 :69-75.
42. **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.

43. **Fasce C F; 1982.** Serum Cholesterol determined calorimetrically with enzyme. ClinChem; 18: 901.
44. **Fossati P, Prencipe L; 1982.** Serum triglycerides determined colorimetrically with an enzyme that produces hydrogen peroxide. Clin chem.; 28:2077-2080.
45. **Fouché ;J.G , Marquet,A , Hambukers,A, 2000.** Les plantes medicinales de la plantes au medicament. Exposition temporaire 30-60.
46. **Fransworth NR, Akerele O, Bingel AS, et al., 1985.** Medical plants in therapy. Bull World Health Organ 63 : 965-81
47. **Desch G, 2004.** Aspects biochimiques et analytiques du diagnostic et de la surveillance du Diabète American Diabetes Association. Type 2 diabetes in children and adolescents. *Pediatrics*2000, 105, 671 - 680.
48. **Grimaldi A Charbonnel B et Cariou B, 1997.** Diabète non insulinodépendant : indicationthérapeutiques.Medecine thérapeutique ; 3.hs :103-11
49. **Grover J K Yadav S et Vats V, 2002.** Medicinal plants if India with anti-diabetic potential. Journal of Ethnopharmacology; 81:81-100.
50. **Guillausseau PJ, Tielmans D, Virally-Monod M, Assayag M; 1997.**Diabetes: from phenotypes to genotypes. Diabetes Metab ; 23 :14-21
51. **Halimi S, 2003.** Le diabète de type 2 ou diabète non insulinodépendant(DNID) (223b),
52. **Halimi S et Benhamou PY ; 1997.** Critères diagnostiques du diabète non insulinodépendant et dépistage dans la population générale, diagnostic et traitement. In médecine thérapeutique ; vol.3 hs
53. **Hanna A, Woo V, Dawson K G, Stewart B et Harris ; 2003.** pharmacothérapie du diabète de type 2 .comité d'expert des lignes directrices de pratique Clinique ; Association canadienne du diabète : S42-S47.
54. **Hernandez-Galicial E, Aguilar-Contreras A, Aguilar- Santamaria L, Roman –Ramos R, Chavez- MirandalA A, Garcia- Vegal L M , Flores-Saenzl J L et Alarcon-Aguilar1 F J ; 2002.**Studies on Hypoglycemic Activity of Mexican Medical Plant.Proc.West.Pharmacol.Soc. ; 45:118-124.
55. **Higashino H, Suzuki A et Tanaka Pootakham K; 1992.** Hypoglycemic effects of Siamese *MomordicaCharantia* and *phyllantus urinaria* extracts in streptozotocin-induced diabetic rats. NipponYakurigaku Zasshi; 100: 515-521.
56. **Ivorra M D, Paya M, Villar A ., 1998.** A review of natural products and plants as potential antidiabetic drugs. Ethnopharmacol 27: 243-75.
57. **John U et Cincinnati O, 1898.** *Citrullus colocynthis*. Reprinted from the Western druggist.Chicago.
58. **Jouad H, Haloui M, Rhiouni H, El Hilaly J, 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.
59. **Kaplan A et al., 1984.** Aspartate aminotransferase. *Clin Chem The VC Mosby Co.* St Louis. Toronto. Princeton. 1112-1116.
 60. **Larbi, 2006.** Le guide de la médecine de la santé en Algérie. (En ligne).
 61. **Leduc C, 2006.** Plants used by the Cree Nation of EeyouIstchee (Quebec, Canada) for the treatment of diabetes: A novel approach in quantitative ethnobotany," *J. Ethnopharmacol.* 105, no. 1-2: 55-63.
 62. **Lev E et Amar Z; 2002.** Ethnopharmacology survey of traditional drugs sold in the Kingdom of Jordan. *Journal of Ethnopharmacology*; 82: 131-145.
 63. **Li .wl, Zheng. HC, Bukuru.J., 2004.** National medicines used in the traditional Chinese medical system for therapy of diabetes mellitus. *J Ethnopharmacol.* 92:1-21.
 64. **Liston, AJ, 1991.** Toxicologie.
 65. **Marles R J et Farnsworth N, 1995.** Antidiabetic plantes and their active constituent. *Prit.J Bot Med*; 1(3):85-135.
 66. **Merad Chiali R ,1973.** Plantes thérapeutiques: traditions, pratiques officinales, sciences et thérapeutiques. Tec.Doc.
 67. **Merzouki A, Ed-Derfoufi F et Molero M ES AJ., 2000.** Contribution to knowledge of rifian traditional medicine2 : Flok medecine in Ksar Lekbir (NW Morocco). *Fitoterapia*; 71-278-307.
 68. **Natiq A R H, Donald A W et Nahia J Y; 1989.** Cucurbitacin glycosides from *Citrullus colocynthis*. *Phytochemistry*; 28 (4): 1268-1271.
 69. **Nmila R, Gross R, Rachid H, Roye M, Manteghtti M, Petit P, Tijane M, Ribes G et Saivaire Y., 2000.** Insolinotropic Effect of *Citrullus colocynthis* fruit extracts. *Planta Medica*; 66:418-423.
 70. **OMS (Organisation Mondiale de la Santé) ; 1999.** Definition, Diagnosis and Classification of **Diabetes Mellitus and its Complications. Report of a WHO Consultation**, Part1 :Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus :1-49
 71. **OMS (Organisation Mondiale de la Santé) ; 2002.** Diabète sucré. Aide mémoire ; N°138.
 72. **Padavala A B, Gadde, Radha, Vedurupaka, Talluru , Yellapu et Kolli ; 2006.** A database of 389 medicinal plants for diabetes. *Bioinformation* ; 1(4): 130-131.
 73. **Pari L et Umamaheswari J; 2000.** Antihyperglycaemic activity of *Musa sapientum* flowers: effect on lipid peroxidation in alloxan diabetic rats. *Phytother Res*; 14:136- 138.
 74. **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.

75. **Perez-Gutierrez RM, Perez-Gonzalez C, Zavala- Sanchez M A et Perez-Gutierrez S.; 1998.** Hypoglycaemic activity of *Bouvardia terniflora*, *Brickellia veronicaefolia*, and *Parmentiera edulis*. *Salud Publica Mex*; 40: 354-358.
76. **Perfumi M, Arnold N et Tacconi R; 1991.** Hypoglycaemic activity of *Salvia fruticosa* Mill. From Cyprus. *Ethnopharmacol*; 34: 135-140.
77. **Peterson, j., D, M; 1998.** Flavonoïds: Dietary occurrence and biochemical activity. *Nutrition Res.* 18: 1995-2018.
78. **Raccah D., 2004.** Epidémiologie et physiopathologie des complications dégénératives du diabète sucré. *EMC-Endocrinologie.* 1(1): 29-42.
79. **RDM (Recommandations de la direction des médicaments); 1990.** Evaluation toxicologique. Direction générale de la protection de la santé, santé Canada.
80. **Rodier M ; 2001.** le diabète de type 1 : imagerie fonctionnelle et métabolique. *Médecine Nucléaire ; 25-2 : 95-101.*
81. **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.
82. **Roman-Ramos R, Lara-Lemus A et Alarcon-Aguilar F ; 1992b.** Hypoglycaemic activity of some antidiabetic plants. *Arch Med Res*; 23: 105-109.
83. **Said O, Khalil K, FulderS etAzaizeh H; 2002.** Ethnopharmacology survey of medicinal hersin Israel, the Golden height and the West Bank region. *Journal of Ethnopharmacology*; 83: 251-265.
84. **Santé de canada ; 2002.** Le diabète au canada. Sa Majesté la Reine du Chef du Canada 2 émeedition, No de cat H49-121/2002F, ISBN 0-662-88134-6.
85. **Satyavati GV, Neeraj T et Madhu S, 1989.** Indigenous plant drugs for diabetes mellitus.
86. **Seger C H, strum S, Mair M E, Ellmerer E P et stuppner H; 2005.** ¹H and ¹³C NMR signal assignment of cucurbitacin derivatives from *Citrullus colocynthis* (L) Scharder and *Ecballium elaterium* L. (Cucurbitaceae). *Magn. Reson. Chem.*; 43 : 489-491.
87. **Sincich F; 2002.** Bedouin Traditional Medicine in the Syrian Steppe. Rome, FAO: 114-115.
88. **Sui DY, Lu Z.Z, Li SH et Cai Y; 1994.** Hypoglycaemic effect of Saponin isolated from leaves of *Acanthopanax senticosus* (Rupr. Et Maxim.) Harms]. *Chung Kuo Chung Yao Tsa Chih*; 19: 683-685.

89. **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.
90. **Timsit J ; 1996.** Ethiopathogénité du diabète de 1. *La revue de praticien* .Paris; 46 :560-64
91. **Trease GE, Evans WC, 1989.** Pharmacognosy 2^{end} EDN.Braille Ttridel and Macmillan Publishers.
92. **Trinder P., 1969.** Determination of glucose in blood using Glucose Oxidase with an alternative oxygen acceptor. *Ann clinBiochem*: 6:24-27.
93. **Tournant F, Heurtier A, Bosquet F et Grimaldi A ; 2004.** Classification du diabète sucré critères diagnostiques et dépistage. In *Diabète de type II*, coordonné par Grimaldi A.EMC référence, Elsevier, Paris : 45-82.
94. **Wasfi I, 1994.** Some pharmacological Studies on *Citrullus colocynthis*. *Journal oh Herbs, spices and Medicinal plants*; 2(2): 65-79.
95. **Wens J, Sunaert P , Nobels F , Feyen L , Van Crombruggen P , Bastiaens H , Van Royen P.,2007 .** Recommandations de bonne pratique. Diabète de type 2. Validé par le CEBAM sous le numéro 2005/02
96. **Whiting DR, Guariguata L, Weil C, Shaw J (2001).** IDF Diabetes Atlas: Global estimates of the prevalence of diabetes for 2011 and 2030. *Diab. Res. Clin. Pract.* 94: 311-321.
97. **Wild S, Roglic G, Green A, et al.** Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care*2004; 27: 1047-53.
98. **Yaniv Z; Shabelsky E; Schafferman D; 1999.**Colocynth: Potential arid land oil seed from an ancient cucurbit in: J Janick (ED). *Perspectives on new corps and new uses*. ASHS. Press. Alexandeeia.AV; 257-261.
99. **Yoshikawa M, Harada E, Murakami T et al.;1994.** Escins-Ia, Ib, IIa, IIb and IIIa bioactive triterpene oligoglycosides from the seeds of *Aesculus hippocastanum* L: Their inhibitory effects on ethanol absorption, and hypoglycaemic activity on glucose tolerance test. *Chem Pharm Bull (Tokyo)* ; 42: 1357-1359.
100. **Young D et Destaner L ; 1975.** *Clin chem* 21-5.
101. **Young DS, 1995.** Effect of drugs on Clinical Lab. Tests, 4 th ed AACC Pres
102. **Zamani M, Aireza O, Rahimi Reza Mohdavi, Nikbakhsk M, Morteza V Jabbari, Haasan R, Delazar A, Nahar L, Satyajit D., 2007.** Assessment of anti-hyperlipidemic effect of *Citrullus colocynthis*. *Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Parmacognosu* 17(4) : 492-496, Out/Dez. 2007.
103. **Zaoui S, Biemont C, Meguenni K; 2007 .**Epidemiology of diabetes in urban and rural regions of Tlemcen (Western Algeria)]. *Santé*; 17:15-21.

104. **Zarzuelo A, Risco S, Gamez MJ, et al.; 1990.** Hypoglycaemic action of *Salvia lavandulifolia* Vahl. Spp. Oxyodon: a contribution to studies on the mechanism of action. *Life Sci*; 47: 909-915.
105. **Zhang XF et Tan BK., 2000.** Effects of an ethanolic extract of *Gynuraprocumbens* on serum glucose, cholesterol and triglyceride levels in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Singapore Med J.*; 41 :9-13.
106. **Ziyyat A, Legssyer A, Mekhfi H, Dassouli, Serhrouchni M et Benjelloun W., 1997.** Phytotherapy of hypertension and diabetes in oriental Morocco. *Journal of Ethnopharmacology*; 58: 45-54.