

*République Algérienne Démocratique et populaire*  
*Ministère d'enseignement et de la recherche scientifique*  
**UNIVERSITÉ ABOU BAKR BELKAID –TLEMCE-**  
*Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de*  
*l'Univers*

*Département de biologie*

*Laboratoire antibiotique antifongique physico-chimique synthèse et activité*  
*biologique*



**Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de Master en Biologie**

**Option : «Biochimie Appliquée»**

**Thème**

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

**Présentée par : M<sup>elle</sup> Bouiddouh Fatima Zohra**

**Soutenu le : 02/07/2012**

**Devant le jury composé de :**

M <sup>r</sup> DJAZIRI R.	M.C.A	Président	Université de Tlemcen
M <sup>elle</sup> Benariba N.	M.A.A	Examinatrice	Université de Tlemcen
M <sup>r</sup> Azzi R.	M.A.A	Promoteur	Université de Tlemcen

**Année universitaire : 2011-2012**

## Résumé

Le présent travail porte sur l'effet de l'extrait éthanolique des graines de la coloquinte (*Citrullus colocynthis*) «Handal», famille des cucurbitacées, sur l'évolution quelques paramètres biochimiques sériques chez les rats Wistar.

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

Les tests phytochimique de l'extrait éthanolique des graines de *Citrullus colocynthis* nous a permis de révéler la présence des: tanins, alcaloïdes, glycosides (stérols et triterpènes) et des composés réducteurs. Par ailleurs, la chromatographie sur couche mince a permis la séparation de 9 taches pour notre extrait.

L'influence de l'extrait éthanolique des graines de la coloquinte (*Citrullus colocynthis*) sur l'évolution de paramètres biochimiques (glycémie, TGO, TGP, ALP, cholestérol, triglycéride, créatinine) et poids corporel a été suivie 21 jours après l'injection intra-péritonéale des différents doses (75, 100, 200mg/kg).

Les résultats obtenus montrent une augmentation des paramètres enzymatiques hépatiques et de créatinine chez les rats wistars qui reçoivent au moins une dose de 100mg/kg d'extrait éthanolique des graines de la coloquinte (*Citrullus colocynthis*).

De plus, une augmentation significative de triglycéride a été enregistrée ; par contre le changement de cholestérol n'être pas significatif.

A partir des résultats obtenus nous pouvons conclure que l'extrait éthanolique des graines de *Citrullus colocynthis* a un effet toxique remarquable sur la fonction hépatique et rénale des rats Wistar.

**Mots clés :** *Citrullus colocynthis*, extrait éthanolique, paramètres biochimiques, rats.

# *Remerciement*

Je remercie Dieu d'avoir donné à l'homme le pouvoir de raisonner et d'exploiter et d'expliquer les vérités de l'univers.

En premier lieu Je tiens à exprimer mes sincères remerciements à mon encadreur Mr Azzi R, maitre assistant de classe A au département de biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie et sciences de la terre et de l'univers, Université Abou Bakr Belkaid –Tlemcen- pour avoir accepté de diriger et suivi ce travail, pour la facilité de travail qu'il m'a procuré, pour les précieux conseils qu'il m'a prodigué tout au long de notre travail, pour sa patience et bienveillance.

J'exprime également ma profonde reconnaissance à Monsieur Djaziri R, Maître de conférence de classe A au département de biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie et sciences de la terre et de l'univers, Université Abou Bakr Belkaid – Tlemcen-, d'avoir accepté de présider le jury.

Mes vifs remerciements vont à Melle Benariba N, maitre assistante de classe A au département de biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie et sciences de la terre et de l'univers, Université Abou Bakr Belkaid –Tlemcen- pour avoir accepté d'examiner et discuter ce travail.

J'adresse aussi mes remerciements à Melle Belkacem N, maitre assistante de classe B, au Département de biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie et sciences de la terre et de l'univers, Université Abou Bakr Belkaid –Tlemcen-, d'avoir accepté de faire partie de ce jury.

Je remercie également toute l'équipe du laboratoire antibiotique antifongique physico-chimique synthèse et activité biologique (ATB ATF).

Enfin, je remercie tous ceux qui ont attribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

# Dédicaces

*Je dédie ce travail :*

*A mes chers parents Hommad et Yamna, pour leur amour, leur soutien, leur sacrifice et pour tous les efforts qu'ils ont déployé durant toute ma vie, je vous aime énormément ;*

*A mes deux chers frères Omar et Ismaïl ;*

*A mon grand-père, que dieu lui donne longue vie et bonne santé ;*

*A mes Tantes et toute ma famille ;*

*A mes chères amies chaque une par son nom et toute la promotion de master Option biochimie appliquée 2011-2012;*

*A Mr Azzi Rachid et toute personne qui m'a aidé d'un mot, d'une idée ou d'un encouragement ;*

*Je dis « Merci ».*

*Fatima Zohra*

## Sommaire

Sommaire.....	I.
Liste des figures.....	IV.
Liste des tableaux.....	V.
Liste d'abréviations.....	VI.
Introduction générale.....	1.

### *Synthèse bibliographique*

I. Généralités sur diabète.....	3
II. Les plantes médicinales.....	08
III. Les plantes antidiabétiques.....	08
1. Etudes ethnobotaniques et ethnopharmacologiques des plantes antidiabétiques.....	10
2. Etude des plantes antidiabétiques.....	13
2.1. Principes actifs isolés des plantes antidiabétiques.....	13
2.2. Mécanismes d'action.....	14
V. La coloquinte « <i>Citrullus colocynthis</i> ».....	15
1. Noms vernaculaires .....	15
2. Position taxonomique de la coloquinte.....	16
3. Description morphologique et répartition géographique.....	16
4. Propriétés thérapeutiques.....	17
5. <i>Citrullus colocynthis</i> comme plante anti-diabétique.....	17
6. Composition chimique.....	18
7. Toxicité de <i>Citrillus colocynthis</i> .....	19

## *Matériels et méthodes*

<b>I.</b>	<b>Analyses phytochimiques.....</b>	<b>20</b>
	1. Matériel végétal.....	20
	2. Dégraissage du matériel végétal.....	20
	3. Tests phytochimiques.....	20
	4. Préparation d'extrait éthanolique des graines de coloquinte.....	22
	5. Séparation des constituant de l'extrait éthanolique par chromatographie sur couche mince (CCM).....	24
	6. Spectre d'absorption UV.....	24
<b>II.</b>	<b>Analyses biologiques.....</b>	<b>25</b>
	1. Les animaux.....	25
	2. Répartition des lots des rats.....	25
	3. Dosages de quelques paramètres biochimiques sériques.....	26
	<b>3. 1.</b> Dosage de la glycémie.....	26
	<b>3. 2.</b> Dosages enzymatiques des paramètres lipidiques.....	26
	<b>3. 3.</b> Dosages des transaminases.....	29
	<b>3. 4.</b> Dosage de la créatinine.....	32
<b>III.</b>	<b>Analyses statistiques.....</b>	<b>33</b>

## *Résultats et interprétation*

<b>I.</b>	<b>Analyses phytochimiques.....</b>	<b>36</b>
	1. Extraction.....	36
	2. Tests phytochimiques .....	36
	3. Analyses d'extrait éthanolique par chromatographie sur couche mince	37
	4. Spectre d'absorption d'extrait éthanolique.....	37
<b>II.</b>	<b>Effet de l'extrait éthanolique sur quelques paramètres biochimiques sériques</b>	<b>37</b>

1. Evolution de la glycémie.....	38
2. Evolution de quelques enzymes hépatique.....	39
3. Evolution des paramètres lipidiques.....	41
4. Evolution de la créatinine.....	43
<b>III. Evolution du poids corporel.....</b>	<b>44</b>
<b>Discussion.....</b>	<b>45</b>
<b>Conclusion.....</b>	<b>51</b>
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>52</b>

## Liste des figures

<b>Figure 01</b> : <i>Citrullus colcoythis</i> .....	<b>15</b>
<b>Figure 02</b> : Montage d'une extraction sous reflux .....	<b>22</b>
<b>Figure 03</b> : Rotavapor .....	<b>22</b>
<b>Figure 04</b> : Diagramme montrant la préparation d'extrait éthanologique selon la méthode de Natiq et al., 1989.....	<b>23</b>
<b>Figure 05</b> : Evolution de la glycémie chez les rats normaux témoins et traités par l'extrait éthanologique des graines de la coloquinte durant 3 semaines. ....	<b>38</b>
<b>Figure 06</b> : Evolution de quelques enzymes hépatique (TGO, TGP, ALP) chez les rats normaux témoins et traités par l'extrait éthanologique des graines de la coloquinte durant 3 semaines.....	<b>40</b>
<b>Figure 07</b> : Evolution de quelques paramètres lipidiques (triglycéridémie, cholestérolémie) chez les rats normaux témoins et traités par l'extrait éthanologique des graines de la coloquinte durant 3 semaines.....	<b>42</b>
<b>Figure 08</b> : Evolution de la créatinine chez les rats normaux témoins et traités par l'extrait éthanologique des graines de la coloquinte durant 3 semaines.....	<b>43</b>
<b>Figure 09</b> : Evolution du poids corporel chez les rats normaux témoins et traités par l'extrait éthanologique des graines de la coloquinte durant 3 semaines .....	<b>44</b>



## Liste des tableaux

<b>Tableau 01</b> : Critères diagnostiques pour le diabète de type 2.....	<b>05</b>
<b>Tableau 02</b> : Quelques plantes à pouvoir antidiabétique sélectionnées par <b>Bnouham et al., 2006</b> reporté dans la littérature entre 1990 et 2000, montrant leur partie utilisée ou principe actif et leur effet.....	<b>09</b>
<b>Tableau 03</b> : Quelques études ethnobotaniques sur les plantes antidiabétiques recensées dans différentes régions du monde .....	<b>10</b>
<b>Tableau 04</b> : Quelques plantes antidiabétiques utilisées dans la région de Tlemcen, parties utilisées et leurs modes de préparations traditionnelles .....	<b>11</b>
<b>Tableau 05</b> : Principes actifs hypoglycémiants isolés de quelques plantes médicinales...	<b>13</b>
<b>Tableau 06</b> : Répartition des lots des rats wistar soumis à une injection unique intrapéritonéale des différentes doses d'extraits éthanoliques des graines de la coloquinte ( <i>Citrullus colocynthis</i> ) .....	<b>26</b>
<b>Tableau 07</b> : Rendement de l'extrait éthanolique des graines de coloquinte.....	<b>36</b>
<b>Tableau 08</b> : Résultats des tests phytochimiques d'extraits éthanolique des graines de coloquinte broyées et dégraissées préparés par décoction durant 1h 30min et 3h.....	<b>36</b>
<b>Tableau 09</b> : Résultats de l'analyse par CCM d'extrait éthanolique des graines de coloquinte .....	<b>37</b>
<b>Tableau 10</b> : Résultats de l'analyse de spectre d'absorption d'extrait éthanolique des graines de coloquinte .....	<b>37</b>
<b>Tableau 11</b> : Variation de la glycémie chez les rats normaux témoins et traités par l'extrait éthanolique des graines de la coloquinte durant 3 semaines.....	<b>38</b>
<b>Tableau 12</b> : Evolution de quelques enzymes hépatiques chez les rats normaux témoins et traités par l'extrait éthanolique des graines de la coloquinte durant 3 semaines.....	<b>39</b>
<b>Tableau 13</b> : Evolution de quelques paramètres lipidiques (triglycéridémie, cholestérolémie) chez les rats normaux témoins et traités par l'extrait éthanolique des graines de la coloquinte durant 3 semaines.....	<b>41</b>
<b>Tableau 14</b> : Evolution de la créatinine chez les rats normaux témoins et traités par l'extrait éthanolique des graines de la coloquinte durant 3 semaines.....	<b>43</b>
<b>Tableau 15</b> : Variation du taux de croissance chez les rats normaux témoins et traités par l'extrait éthanolique de la coloquinte durant 3 semaines.....	<b>44</b>

## Liste d'abréviation

<b>ADA :</b>	American Diabetes Association
<b>ADP :</b>	Adénosine diphosphate
<b>ALAT :</b>	ALanine Amino Transférase
<b>ALP :</b>	Alcaline phosphatase
<b>ASAT :</b>	ASpartate Amino Transférase
<b>ATP:</b>	Adénosine Triphosphate
<b>CHE:</b>	Cholestérol Estérase.
<b>CHOD:</b>	Cholesterol Oxydase
<b>Diab :</b>	Diabétiques
<b>DMSO :</b>	Diméthyl Sulfox Oxyde
<b>DNID :</b>	Diabète Non Insulino-Dépendant.
<b>FID :</b>	Fédération Internationale du Diabète
<b>GPO :</b>	Glycérol phosphate dehydrogenase
<b>IGT:</b>	Intolérance au glucose
<b>INSP:</b>	Institut national de la santé publique
<b>I.P :</b>	Intra-péritonéale
<b>LDH :</b>	Lactate déshydrogénase
<b>LPL:</b>	lipoprotéïnlipase
<b>MDH:</b>	Malate déshydrogénase
<b>MODY:</b>	Maturity Onset Diabetes of the Young
<b>OMS :</b>	Organisation Mondiale de la Santé.
<b>p.c:</b>	Poids corporel
<b>POD:</b>	Peroxydase
<b>STZ:</b>	Streptozotocine
<b>TOTG:</b>	Test oral de tolérance au glucose
<b>TGO:</b>	Transaminase Glutamo-oxalo-actétique
<b>TGP:</b>	Transaminase glutamopyruvique
<b>UV:</b>	Ultraviolet

Depuis des millénaires, tous les peuples ont élaboré des médecines selon leurs intelligences, leurs génies, leurs conceptions culturelles de la santé, de la maladie et les rapports qu'ils entretenaient avec leur environnement [Eddouks et al., 2007].

L'échec des traitements pharmaceutiques conventionnels, surtout dans le cas de maladies chroniques, la forte incidence des effets indésirables qui leur sont associés et l'insuffisance des infrastructures sanitaires dans les pays en voie de développement font qu'une large tranche de la population mondiale dépend essentiellement de la médecine naturelle, complémentaire ou parallèle pour se soigner.

Traiter, soigner, ou guérir les maladies, c'est le but des phytothérapeutes à travers le monde. 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. Le diabète sucré est un groupe de maladies métaboliques dont la caractéristique principale est une hyperglycémie chronique résultant d'un défaut de sécrétion, d'action de l'insuline ou de ces deux anomalies associées [The Expert Committee...,1997].

Il est l'une des principales maladies non transmissibles dont la fréquence augmente à une vitesse alarmante partout dans le monde, aussi bien dans les pays développés que dans les pays en voie de développement.

L'impact de cette pathologie sur les systèmes de santé est très lourd à travers les pertes humaines et les coûts liés aux traitements, à la prise en charge et aux complications. Les traitements actuels représentés essentiellement par l'insuline et les hypoglycémifiants oraux visent à soigner et non à guérir la maladie. Au cours des dernières décennies, une attention particulière a ciblé l'utilisation des plantes médicinales dans le traitement et le contrôle de cette maladie conformément aux recommandations de l'OMS [Eddouks et al., 2007].

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

Plusieurs études ethnopharmacologiques ont été réalisées dans la région du Maghreb, dont la population est reconnue par l'usage de plantes médicinales, montrent la diversité des

plantes médicinales utilisées pour le traitement du diabète comme la *Citrullus colocynthis*, *Berberis vulgaris*, *Trigonella Foenum*, ... [Ziyyat et al, 1997 ; Jouad et al., 2001 ; Bnouham et al., 2002].

De nombreux travaux se sont consacrés aux propriétés antidiabétiques de la coloquinte (*Citullus colocynthis*) : Abdel-Hassen et al., 2000 ; Nmila et al., 2000 ; Azzi et Boumellah, 2002 ; Benariba, 2003 ,... ont démontré que les extraits de la coloquinte présentent des effets antihyperglycémiant.

De notre part, nous nous sommes intéressées à l'étude de l'évolution des paramètres biochimiques sériques chez les rats Wistar traités par l'extrait éthanolique des graines de la coloquinte (*Citrullus colocynthis*).

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

Analyses phytochimiques :

- préparation des graines de coloquinte broyées et dégraissées ;
- extraction d'extrait éthanolique 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 Wistar;
- injection intra-péritonéale des différentes doses d'extrait éthanolique (une injection chaque semaine);
- suivie l'évolution de quelques paramètres sériques biochimiques (glycémie, cholestérolémie, triglycéridémie, transaminases, urée et créatinine) avant et 3 semaines après l'injection d'extrait.

## I. Généralités sur le diabète

Le diabète sucré est défini par un désordre métabolique, d'étiologies diverses, caractérisé par la présence d'une hyperglycémie chronique accompagnée d'une perturbation des métabolismes glucidique, lipidique et protéique, résultant d'un défaut de sécrétion d'insuline, de son activité ou des deux associés [Widjaja et al., 1999].

Il est aussi défini par une glycémie supérieure à 1,26g/l (7mmol/l) à deux reprises. Cette définition est fondée sur le seuil glycémique à risque de microangiopathie, en particulier à risque de rétinopathie [Sachon et al., 2004].

Une glycémie toujours élevée peut causer des dommages à long terme et provoquer la dysfonction et la défaillance de divers organes comme les reins, les yeux, les nerfs, le cœur et les vaisseaux sanguins. Les complications qui touchent ces organes peuvent entraîner la mort. [Santé canada, 2002]

Selon les données récentes de Fédération Internationale du Diabète (FID), le nombre des personnes touchées par le diabète dans le monde entier a augmenté de façon spectaculaire ces dernières années. Il a passé de 177 millions diabétiques en 2001 [IDF, 2005] à 286 millions diabétiques en 2010 [Tiphaine, 2010]. Actuellement, il y a plus de 366 millions de diabétiques dans le monde et il peut augmenter à 552 millions ou plus d'ici l'an 2030 [Whiting et al., 2011].

Ainsi, en Algérie, la prévalence du diabète n'a cessé d'augmenter ces quinze dernières années : 2,1 % à Alger en 1992 [Bezzaoucha, 1992], 8,7 % en 1995 [Kemali, 1995].

Selon les données épidémiologiques publiées par l'Institut national de la santé publique (INSP) (Algérie) en 2005, le diabète sucré est la deuxième pathologie chronique après l'hypertension, en Algérie. Sa prévalence est de 12,29% sans différence significative selon le sexe (11,93% pour les hommes et 12,54% pour les femmes) [Tahina, 2007].

Dans la région de Tlemcen (Ouest algérien) une étude menée sur un échantillon de 7 656 individus a révélé une prévalence du diabète estimée à 14,2 % (10,5 % prévalence de diabète de type 2 et 3,7 % prévalence de diabète de type 1) [Zaoui et al., 2007].

En ce qui concerne les types de diabète, une nouvelle classification du diabète a été proposée par l'American Diabetes Association (ADA) en 1997. Cette classification différencie quatre grands types de diabète : [The expert Committee..., 1997]

**1-Le diabète de type 1** (anciennement insulino-dépendant) : est une affection auto-immune, caractérisée par la destruction des cellules  $\beta$  du pancréas. Le manque d'insuline qui en découle rend l'administration de cette hormone indispensable. Cette affection apparaît généralement pendant la jeunesse. Il est divisé en 2 sous types :

- *Le diabète de type 1 auto-immune*

-*Le diabète de type 1 idiopathique* [Wens et al., 2007; Drouin, 1999].

**2-Diabète de type 2:** anciennement appelé le diabète non insulino-dépendant (DNID), Il est peut être surtout attribuable à une résistance à l'insuline accompagnée d'une carence insulinaire relative ou à une anomalie de la sécrétion d'insuline accompagnée d'une insulino-résistance [Girard, 1999 ; Halimi et al., 1999 ; Drouin et al., 1999 ; Association Canadienne du diabète, 2003].

**3-Diabète gestationnel** : cette forme de diabète est généralement transitoire et disparaît dans les semaines suivant l'accouchement. Les femmes qui ont souffert du diabète gestationnel risquent davantage de développer un diabète type 2 par la suite [Naylor et al., 1997].

**4-Autres types de diabète spécifiques (ex-secondaires)** : Il s'agit d'un ensemble hétérogène d'affections du pancréas exocrine, d'endocrinopathies, de diabètes médicamenteux ou chimiques, et d'affections génétiques, en particulier au niveau de la cellule  $\beta$  (diabète MODY [Maturity Onset Diabetes of the Young] et diabète mitochondrial) [Buysschaert et Hermans, 1998].

L'*American Diabetes Association* (ADA) propose, pour la pratique clinique, de déterminer la glycémie à jeun sur du plasma veineux. Le test est simple à effectuer, non inconfortable pour le patient, peu onéreux et relativement bien reproductible. «À jeun » signifie que le patient n'a absorbé aucun aliment (calories) dans les 8 heures au moins précédant le test. Le test TOTG (Test oral de tolérance au glucose) est uniquement recommandé à des fins de recherche ou pour le diagnostic du diabète de grossesse [ADA, 2005].

**Tableau 1** : Critères diagnostiques pour le diabète de type 2 [ADA, 2005]

Stade (état)	Concentration en glucose	Diagnostic
<b>À jeun</b>	< 100 mg/dl (5.5 mmol/l)	normal
	≥100 mg/dl et < 126 mg/dl (5,5 mmol/l et 7,0 mmol/l)	glycémie à jeun anormale
	>126 mg/dl (7,0 mmol/l)	diabète sucré
<b>(Au hasard) Non à jeun</b>	≥126 mg/dl et < 200 mg/dl (7,0 mmol/l et 11.1 mmol/l)	répéter à jeun
	≥200 mg/dl (11,1 mmol/l)	diabète sucré
<b>2 heures après la prise à 75 g de glucose (TOTG*)</b>	≥140 mg/dl et < 200 mg/dl (7,8 mmol/l et 11.1 mmol/l)	Intolérance au glucose (IGT**)
	≥200 mg/dl	diabète sucré

\* TOTG : Test oral de tolérance au glucose

\*\*IGT : Impaired Glucose Tolerance

Le diabète type2 est la forme de diabète la plus répandue représentant près de 90% des cas diagnostiqués. Ce type de diabète se manifeste communément à l'âge adulte [OMS, 2002].

Il est le plus souvent associé à plusieurs facteurs de risque : la prédisposition génétique, l'âge, l'obésité dans 80% des cas, la sédentarité et l'intolérance au glucose [Buchbrafin et Pignet, 2001 ; Girard, 1999; Vaag, 1999].

Il est aujourd'hui admis que l'hyperglycémie des sujets diabétiques de type 2 est la conséquence de deux troubles interdépendants [Arbouche, 2007].

❖ Un trouble 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 insulinopénie profonde.

### ❖ Des troubles de **la sensibilité à l'insuline ou insulino-résistance** :

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

La prévalence des complications liées au diabète varie suivant la durée du diabète et la régulation de la glycémie. Les maladies macro- et microvasculaires sont les causes les plus importantes de morbidité et de mortalité attribuées au diabète. Le diabète est la cause la plus importante de cécité chez l'adulte, ainsi que d'amputation non traumatique des membres inférieurs et d'insuffisance rénale impliquant transplantation et dialyse. De plus, le risque de maladie coronarienne est deux à quatre fois plus élevé chez les patients diabétiques et le risque d'accident vasculaire cérébral et de maladie vasculaire périphérique augmente fortement [**ADA, 2005**].

Ces complications non traitées conduisent à un taux de mortalité élevé ; d'où le traitement présente alors un intérêt essentiel [**Stratton et al., 2000**].

Pour cette raison, le traitement du diabète a pour objectif d'améliorer le bien-être du patient diabétique pour qu'il puisse mener une vie similaire du point de vue qualitatif et quantitatif à celle d'une personne ne souffrant pas du diabète.

Concrètement, cela signifie:

- éviter les symptômes liés à l'hyperglycémie,
- prévenir les complications aiguës (hypoglycémie, hyperglycémie),
- éviter les complications chroniques,
- diminuer la mortalité,
- maintenir l'autonomie du patient,
- contrer la discrimination sociale [**Wens et al., 2007**].

Toute prise en charge du patient diabétique de type 2 doit commencer par des mesures nutritionnelles associées à un exercice physique régulier.



Ces deux mesures améliorent la sensibilité des tissus à l'insuline. Elles peuvent suffire, tout au moins au début de la maladie, à atteindre les objectifs glycémiques recommandés [Avignon et al., 2001].

Lorsque les mesures diététiques et l'exercice 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. Chez certaines personnes atteintes de diabète de type 2, on a généralement recours à l'insulinothérapie [Hanna et al., 2003].

Les médicaments existant du diabète de type 2 (antidiabétiques oraux) se répartissent en trois familles pharmacologiques :

- les agents insulino-stimulants, capables de restaurer la réponse insulémique pancréatique : ce sont les sulfonylurées ou substances apparentées (glinides), qui stimulent la sécrétion d'insuline en agissant sur le canal potassique-ATP dépendant présent sur la membrane de la cellule  $\beta$  pancréatique.

- les agents agissant sur l'action de l'insuline sur les tissus cibles extra-pancréatiques ; ce sont des insulino-sensibilisateurs. Le chef de file est un biguanide, la metformine. Plus récemment ont été développées les glitazones.

- les inhibiteurs des  $\alpha$  glucosidases qui réduisent l'absorption intestinale de glucose (acarbose et substances apparentées) [Charbonnel et Cariou, 1997].

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

L'insuline est souvent temporairement nécessaire en cas de dérèglement aigu de la glycémie, comme lors d'une infection, d'un infarctus du myocarde, d'une intervention chirurgicale, de l'utilisation de corticostéroïdes, etc [Yki-Järvinen et al., 1999].

Ainsi, étant donné le nombre croissant de diabétiques de type 2, la recherche de nouveaux agents pharmacologiques ou l'identification de nouvelles cibles pharmacologiques s'est intensifiée ces dernières années. Les plantes peuvent fournir la source pour de nouveaux médicaments antidiabétiques, et des centaines de plantes ont été citées dans le traitement traditionnel du diabète [Ivorra et al., 1989].

## II. Les plantes médicinales

Il y a environ 500000 plantes sur terre ; environ 10000 d'entre elles, possèdent des propriétés médicinales [Larousse, 1997].

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 [Leduc, 2006].

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

Selon les estimations de l'Organisation mondiale de la santé (OMS), plus de 80% de la population mondiale, surtout dans les pays sous-développés, ont recours aux traitements traditionnels pour satisfaire leurs besoins en matière de santé et de soins primaires [Farnsworth et al., 1985].

## III. Les plantes antidiabétiques

Pour pallier aux effets secondaires des traitements antidiabétiques, les recherches scientifiques portent sur 1123 plantes utilisées traditionnellement contre le diabète [Marles et Farnsworth, 1996]. Cependant, juste une minorité de ces plantes connaissent une évolution scientifique, citons essentiellement, *Momordica charantia*, *Catharanthus roseus*, *Trigonella foenum-greacum*, *Allium cepa*, *Allium sativum*, et autres [Al Achi, 2005].

Bnouham et al., en 2006, ont regroupé 176 espèces des plantes appartenant à 84 familles montrant un pouvoir antidiabétique et reporté dans la littérature entre 1990 et 2000. La plus part des plantes étudiées ont confirmé leur pouvoir hypoglycémiant, soit en corrigeant les anomalies métaboliques ou en retardant les complications du diabète [Bnouham et al., 2006].

**Tableau 02:** Quelques plantes à pouvoir antidiabétique sélectionnées par **Bnouham et al., 2006** reporté dans la littérature entre 1990 et 2000, montrant leur partie utilisée ou principe actif et leur effet.

Familles	Espèces	Partie utilisée Principe actif	Effets antidiabétiques sur	Référence
<b>Araliacées</b>	<i>Panax ginseng</i>	Racine (ginseng polypeptides)	Rats (50-200mg/kg i.v) et souris (50-100 mg/Kg S.c) normaux et hyperglycémie induit par adrénaline, glucose et alloxane)	<b>Yang et al. 1990; Wang et al., 1990</b>
	<i>Ginseng Radix</i>	Extrait aqueux	Souris (normaux et hyperglycémie induit par adrénaline)	<b>Ohnishi et al., 1996</b>
	<i>Aralia elata</i>	Ecorce des racines (elatosides saponins; acides oleanoliques glycosides)	Tolérance au glucose chez les rats	<b>Yoshikawa et al., 1994</b>
<b>Astéracées</b>	<i>Brickellia veronicaefolia</i>	Extrait d'hexane	300 mg/Kg i.p pour des souris normaux et diab.	<b>Perez-Gutierrez et al., 1998</b>
		Extraits chloroformiques des feuilles (Flavone)	10-50 mg/Kg .Souris normaux et diab. (alloxane)	<b>Perez et al., 2000</b>
	<i>Gynura procumbens</i>	Extraits éthanoliques des feuilles	50,150 et 300 mg/Kg par voie orale chez les rats diabétiques par STZ	<b>Zhang et Tan, 2000</b>
<b>Cucurbitacées</b>	<i>Citrullus colocynthis</i>	Alcaloïde, saponoside et glycoside de l'épicarpe des fruits	Administration orale d'extraits chez les lapins diab. (Alloxane)	<b>Abdel-Hassan et al., 2000</b>
	<i>Momordica charantia L.</i>	Extraits 50% méthanolique et extrait n-butanolique	30 mg /Kg administré par vois orale chez des rats diabétiques STZ	<b>Higashino et al., 1992</b>
		Poudre de fruits	Traitement de 15 jours pour des rat diab. Alloxane	<b>Rao et al., 1999</b>
<b>Euphorbiacées</b>	<i>Croton cajucara</i>	Diterpène extrait de l'écorce	Rats diab. alloxane	<b>Farias et al., 1997</b>
	<i>Phyllanthus urinaria Linn</i>	Extraits 50% méthanolique et extrait n-butanolique	Diminution de la glycémie 3 heures après l'administration de 30mg/Kg par vois orale chez des rats diab. STZ	<b>Higashino et al., 1992</b>
	<i>Maprounea africana</i>	Extraits éthanoliques	Diminution de glucose après l'administration orale chez les souris	<b>Carney et al., 1999</b>
<b>Lamiacées</b>	<i>Ocimum sanctum</i>	Extraits alcooliques des feuilles	Administration orale chez des rats normaux diab. STZ	<b>Chattopadhyay; 1993</b>

	<i>Marrubium vulgare</i>	Extrait brut par décoction	Administration intra gastrique chez des lapins avec hyperglycémie temporaire (solution de 50% dextrose 4ml/Kg)	<b>Roman-Ramos et al., 1992</b>
	<i>Salvia lavandifolia</i>	10mg/Kg Résidu secs	Rats diab. STZ	<b>Zarzuelo et al., 1990</b>

STZ: Streptozotocine; Diab: Diabétiques

## 1. Etudes ethnobotaniques et ethnopharmacologiques des plantes antidiabétiques

### ❖ Dans le monde

Plusieurs enquêtes ethnopharmacologiques ont été menées à travers le monde pour recenser les plantes antidiabétiques utilisées dans les différentes pharmacopées traditionnelles [Eddouks et al., 2007]. Par exemple au Maroc, **Ziyyat 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 03 :** Quelques études ethnobotaniques sur les plantes antidiabétiques recensées dans différentes régions du monde [Azzi, 2007].

Pays (régions)	Nombre d'espèce	Référence
Algérie (région de Tlemcen)	80	[Benmehdi, 2000]
Maroc	152 espèces (45 familles)	[Eddouks et al., 2007]
Maroc	176 espèces (84 familles)	[Bnouham et al., 2006]
Israël, Golan et Palestine	26	[Said et al., 2002]
Afrique du Sud (région d'Eastern Cape Province)	14 espèces pour 6 familles	[Erasto et al., 2005]
Canada (Québec)	18 espèces pour 9 familles	[Leduc et al., 2006]
Mixique	269	[Hernandez-Galicia1 et al., 2002]
Inde (région de Sikkim et Darjeeling Himalayan)	37 espèces pour 28 familles	[Chherti et al., 2005]
Chine	20	[Dharmananda, 2003]
le monde entier	53	[Bailey et Day, 1989]
le monde entier	389	[Padavala et al., 2006]

❖ Dans la région de Tlemcen

En Algérie, comme dans tous les pays du Maghreb et les pays en voie de développement le recours à la médecine traditionnelle est largement répandu, et plusieurs remèdes à base de plantes utilisés individuellement ou en combinaison sont recommandés pour soigner le diabète.

Dans la région de Tlemcen, les informations ethnobotaniques recueillies par Benmehdi en 2000 confirment l'importante dépendance de la population locale vis-à-vis des plantes médicinales pour traiter le diabète. Plus de 80 espèces de plantes médicinales ont été répertoriées dans cette région et sont utilisées seules ou en combinaison avec les médicaments de synthèses. La coloquinte (*Citrullus colocynthis*) est la plante la plus utilisée après le fenugrec [Benmehdi, 2000].

**Tableau 04** : Quelques plantes antidiabétiques utilisées dans la région de Tlemcen [Benmehdi, 2000], parties utilisées et leurs modes de préparations traditionnelles [Bnouham et al., 2002].

Familles Botanique	NOM SCIENTIFIQUE	Nom vernaculaire	Méthode de préparation	Parties utilisés
<b>Apiacées</b>	<i>Ammi visnaga</i> Lam.	Bachnikha	Décoction	Fruits
	<i>Daucus carota</i> L.	Zroudia	Jus, purée	Racines
	<i>Foeniculum dulce</i> DC.	Besbas,	Décoction, inhalation	Résine, graines, feuilles, racine
<b>Apocinacées</b>	<i>Nerium oleander</i> L.	Defla	Décoction, infusion, macération, fumiger	Feuilles
	<i>Ptychotis verticillata</i> L.	Nûnkha	Infusion	Partie aérienne
<b>Apparacées</b>	<i>Capparis spinosa</i> L.	Kebbar	Décoction, poudre	Fruits, graines
<b>Brassicacées</b>	<i>Lepidium sativum</i> L.	Habb er sad, rchad,	Décoction, poudre	Graines
<b>Chénopodiacées</b>	<i>Chenopodium ambrosioides</i>	Mkhinza	Infusion, Jus frais	Feuilles, fleurs
<b>Cistacées</b>	<i>Cistus ladaniferus</i> L.	Taouzla	Décoction, infusion	Feuilles
	<i>Cistus libanotis</i> L.	Yazir lahmir	Décoction	Feuilles
<b>Composités</b>	<i>Artemisia arborescens</i> L.	Chhiba	Infusion	Partie aérienne
	<i>Artemisia herba-alba</i> Asso.	Shih,	Poudre	Racine, feuilles
	<i>Taraxacum officinale</i>	Garnina	Décoction	Feuilles
<b>Cucurbitacées</b>	<i>Citrullus colocynthis</i> L.	Handal	Maceration,	Fruits, pulpe

## Synthèse bibliographique

			utilisation externe	
<b>Fabacées</b>	<i>Glycyrrhiza glabra</i> L.	Arqsouss	Décoction	Fruits, racines
<b>Geraniacées</b>	<i>Geranium robertianum</i> L.	laatarcha	Infusion	Feuilles, fleurs, tige
<b>Globulariacées</b>	<i>Globularia alypum</i> L.	Ain larnab	Décoction, infusion	Feuilles
<b>Graminées</b>	<i>Cynodon dactylon</i> L.	Til, njem, affie, tagamait	Décoction	Rhizomes
	<i>Sorghum vulgare</i> L.	Bachna, tafsût	Bouillant	Graines
	<i>Lavandula dentata</i> L.	Khzama, taymerza	Décoction, infusion poudre	Plante entier, fleurs
	<i>Mentha pulegium</i> L.	Fliou	Infusion	Partie aérienne
	<i>Origanum compactum</i> Benth.	Zâtar	Infusion	Feuilles
	<i>Thymus ciliatus</i> (Desf.) Benth.	Z'atar, z'itra	Décoction, poudre	Feuilles
	<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	Yazir, barkella	Décoction, infusion	Partie aérienne
<b>Leguminosés</b>	<i>Trigonella foenum-graecum</i> L.	Halba	Décoction, poudre macération,	Graines
<b>Liliacées</b>	<i>Allium sativum</i> L.	Toum,	Cru	bulbe
	<i>Allium cepa</i> L.	Elbesla	Cru	bulbe
	<i>Aloe socotrina</i> Lamk.r	Sibr, sabr	Poudre, jus, sec	Feuilles
<b>Lythracées</b>	<i>Lapa communis</i> B.	Bardane, arkitoun	Feuilles fraîche, Décoction, infusion	Racines, feuilles, fleurs
<b>Moracées</b>	<i>Ficus carica</i> L.	Karma, kermôs	Extrait, poudre	Fruits, feuilles
<b>Myrtacées</b>	<i>Eucalyptus globulus</i> Labill.	Kalitûs	Décoction, infusion poudre	Feuilles, fleurs
	<i>Myrtus communis</i> L.	Raihane	Décoction, infusion	Fruits, feuilles
<b>Oleacées</b>	<i>Olea europea</i> L. Var. oleaster	Zitoun, zebbouj	Décoction	Feuilles
<b>Palmés</b>	<i>Phoenix dactylifera</i> L.	Nakhla, ttmer	Infusion, poudre	Fruits, graines
<b>Punicacées</b>	<i>Punica granatum</i> L.	Qchour romman	Décoction, poudre	Péricarpe
<b>Ranunculacées</b>	<i>Nigella sativa</i> L.	Sanouj	Poudre	Graines
<b>Rhamnacées</b>	<i>Zizyphus lotus</i> L.	Sadra, nnbeg	Décoction, poudre	Fruits, feuilles
	<i>Zizyphus spina-christi</i>	Aroug essfizef	Décoction, poudre	Raciness
<b>Rosacées</b>	<i>Prunus amygdalus</i> Stokes var. <i>Amara</i> D.C.	Louz mar, louz harr	Extraits	Graines
	<i>Rubus fruticosus</i>	Ouraq el âligue, Tût lakhla	Infusion	Fruits, feuilles, fleurs
<b>Rutacées</b>	<i>Ruta montana</i> L.	Fidjel	Décoction, infusion, poudre	Partie aérienne

## 2. Etude des plantes antidiabétiques

Il est aujourd'hui largement reconnu que le monde végétal constitue la source majeure de médicaments, grâce à la richesse des produits dits des métabolites secondaires, celui-ci produit des molécules variées permettant aux plantes de contrôler leur environnement animal et végétal [Fabricant et Farnsworth, 2001; Farnsworth et al., 1985].

### 2.1. Principes actifs isolés des plantes antidiabétiques

Il existe plus de 200. 000 métabolites secondaires, dont plus de 200 présentent une activité hypoglycémiant ; ce sont principalement des alcaloïdes, des glycosides, des huiles essentielles, des tanins et les principes amers [Marles et Farnsworth, 1996 ; Sanjay, 2002]. Le tableau n°5 regroupe l'effet antidiabétique des principes actifs isolés de quelques plantes médicinales.

**Tableau 05 :** Principes actifs hypoglycémiant isolés de quelques plantes médicinales [Benariba, 2003].

Nature	Principe actif	Plante	Action thérapeutique
<b>Alcaloïdes</b>	Leurosine, vindoline, vindolinine, catharanthis	<i>Catharantus roseus</i>	100 mg/kg présente un effet hypoglycémiant [Farnsworth et Segelman, 1971].
	Trigonelline	<i>Trigonella foenum graecum</i>	Effet hypoglycémiant chez rats normaux et diabétiques [Ajabnoor et Tilimsani, 1988].
	Castranospermine	<i>Castranospermine austrle</i>	Diminution de l'hyperglycémie provoquée par le glucose et le saccharose [Marles et Norman, 1994].
	Diphenylamine	<i>Allium cepa L.</i>	100mg/kg réduisent l'hyperglycémie induite par le glucose chez le lapin [Krawya et al., 1984].
<b>Flavonoïdes</b>	Bengalenoside	<i>Ficus benglensis</i>	Réduction légère de la glycémie de rongeurs normaux et diabétiques [Brahmachari et Augusti, 1964].
	Catéchines	<i>Théa sinensis</i>	Activité anti-oxydante 4 fois supérieure à celle de la vitamine E et C [Robin et Roucky, 2001].

<b>Glycosides</b>	B-sisterol-D-glycoside, stigmodyne glucose	<i>Monordica charantia</i>	Provoque une réduction de l'hyperglycémie chez les patients DNID [Cliford et al., 1989].
	Neomyrtilline	<i>Vaccinium myrtillus</i>	Diminution de l'hyperglycémie post-prandiale chez les diabétiques [Cliford et al., 1989].
<b>Saponosides</b>	Ginsenosides	<i>Panax gensis</i>	Stimulation des îlots de Langerhans et de la glycogénèse hépatique [Waki et al., 1982].
<b>Composés sulfonylurés</b>	Allylpropyl Disulfure Diallyl disulfide-oxyde	<i>Allium cepa</i> <i>Allium sativum</i>	1g/kg diminue le glucose sanguine de 7 à 18% pendant 1 à 2h [Augusti, 1974 ; Augusti et Benaim, 1975].
<b>Acides aminés</b>	Hypoglycine A, Hypoglycine B	<i>Belghia sapida</i>	100µg/l à 1mMol/l stimuli la sécrétion d'insuline des îlots de Langerhans isolés [Sauvaire et al., 1998].
	4-hydroxy-isoleucine	<i>Trigonella foenum graecum</i>	
<b>Ions organiques</b>	Chrome, Manganèse, Sels de magnésium	<i>Atriplex halimus</i>	Potentialisation de l'effet de l'insuline sur l'utilisation du glucose par les cellules adipeuses de l'épididyme de rats La complexe protéine tyrosine kinase associé au récepteur de l'insuline est dépendante du manganèse [Olivier et Zahnd, 1979].
<b>Polysaccharides et Glycanes</b>	Aconitan A, B, C, D	<i>Aconitum charmichaelis</i>	Active la phosphofruktokinase et le glycogène synthétase hépatique [Kinno et al., 1985].
	Galactomanane	<i>Cerotonia silique</i>	Diminution de l'absorption intestinale du glucose [Raghuran et al., 1994].

## 2. 2. Mécanismes d'action

Une très grande variété de mécanismes est impliquée dans la baisse du niveau de glucose du sang ceci est dû à la grande variété des classes chimiques des constituants hypoglycémisants provenant des plantes. Certains de ces composés se révèlent véritablement hypoglycémisants et pourraient avoir un potentiel thérapeutique, alors que d'autres produisent simplement une hypoglycémie comme effet parallèle de leur toxicité, particulièrement hépatique.

L'activité antidiabétique des plantes peut dépendre de plusieurs mécanismes [Edwin, 2008]:

- Réduction de la résistance à l'insuline



- Stimulation de la sécrétion d'insuline à partir des cellules bêta ou/et inhibition du processus de dégradation de l'insuline.
- Apport de quelques éléments nécessaires comme le Calcium, le Zinc, le Magnésium, le Manganèse et le Cuivre pour les cellules bêta.
- Régénération ou/et réparation des cellules pancréatiques bêta
- Effet protecteur de la destruction des cellules bêta
- Augmentation du volume et du nombre de cellules dans les îlots de Langerhans
- Inhibition de la réabsorption rénale du glucose
- Inhibition de  $\beta$ -galactosidase, de  $\alpha$ -glucosidase et de  $\alpha$ -amylase.
- prévention du stress oxydatif, qui peut être impliqué dans le dysfonctionnement des cellules beta remarqué dans le diabète.
- Stimulation de la glycogénèse et de la glycolyse hépatique.
- Prévention de la conversion de l'amidon en glucose.
- Diminution des activités du cortisol.

#### IV. La coloquinte «*Citrullus colocynthis*»



**Figure 01** : *Citrullus colocynthis* L. Schard, Linnaea 12 : 414 (1838) Cucurbitacées

##### 1. Noms vernaculaires

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

**Berber** : Taberka, Tefersite, Tadjellet,

**Français** : coloquinte, chicotin

**Anglais** : Colocynth, bitter apple, bitter gourd

**Allemand** : Bitterzitrulle, Bitterapfel

**Inde** : Tumba ou Gartoomba

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

## 2. Position taxonomique de la coloquinte

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

## 3. Description morphologique et répartition géographique

*Citrullus colocynthis* est une espèce rampante herbacée, annuelle ou vivace, munie de fleurs jaune verdâtre à sexes séparés, pédonculées, solitaires, apparaissent l'été : entre Mai et Aout à l'aisselle des feuilles. Les feuilles sont larges de 5 à 10 cm de longueur, rugueuses et découpées en 5 à 7 lobes. Chaque plante produite 15-30 fruits appelés gourdes, de 7 à 10 cm de diamètre ressemblent à une petite pastèque, de couleur verte panachée de jaune clair, devient complètement jaune à maturité, garnis de pulpe intérieure, spongieuse dans laquelle se fixent les graines. Les graines sont de petite taille (6mm de longueur) ovoïdes, de couleur variant de l'orange au brun noirâtre et une saveur amère mucilagineuse [Feinbrun, 1978 ; John et Cincinnati, 1898 ; Duke, 1983 ; Debuigne, 1984 ; Merad Chiali, 1973].

La coloquinte, originaire des sols arides, est très fréquente dans les régions tropicales humides ou modérément sèches, elle est peu présente dans les zones tempérées [Bruneton, 1996]. **Elle pousse en abondance** dans les zones sèches d'Afrique du Nord, le Sahara, les zones du Maroc, l'Egypte et le Soudan, à l'est par l'Iran à l'Inde, et d'autres parties de l'Asie tropicale, ainsi que la région méditerranéenne [Duke, 1978 ; Dane et al., 2007].

#### 4. Propriétés thérapeutiques

les fruits de la coloquinte sont largement répandus dans la médecine traditionnelle, car ils possèdent diverses propriétés thérapeutiques : purgatives, anti-tumorale [Abdel-Hassan et al., 2000 ; Al-Yahya et al., 2000 ; Ziyat et al., 1997 ; Sayed et al., 1973 ], anti-inflammatoire [Al Ghaithi et al., 2004 ; Barth, et al., 2002], antirhumatismal [Boukef et Souissi, 1986], laxative [Ziyat et al., 1997 ; Al Faraj, 1995 ] et contre les troubles urogénitaux, la leucémie, l'ictère la fièvre , l'ascite, les désordres biliaires, les hémorroïdes,... [Duke,1978; Ziyat et al., 1997]. Des études récentes ont montré que la coloquinte peut avoir un antidiabétique, cancérigènes, antioxydant, des effets antibactériens et toxiques [Al-Ghaithi et al., 2004; Deghani et al., 2008; Kumar et al., 2008; Dallak et al., 2009; Memon et al., 2003].

#### 5. *Citrullus colocynthis* comme plante anti-diabétique

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

Au Maroc, Ziyat et al., en 1997 et Bnouham et al., en 2002, ont classé les fruits de la coloquinte parmi les plantes médicinales destinées au traitement du diabète dans ce pays [Ziyat et al., 1997 ; Bnouham et al., 2002].

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

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

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

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

En 2004 Al Ghaithi et al., ont examiné les effets de l'extrait aqueux des graines de la coloquinte *Citrullus colocynthis* sur les paramètres biochimiques des rats normaux et des rats rendus diabétiques par l'injection de 60mg/kg de STZ. Ils ont constaté que l'administration orale de l'extrait réduit significativement les taux plasmatiques de l'aspartate amino transférase (AST) et de lactique aspartique (LDH). Il baisse les taux plasmatiques de gamma-glutamyl transférase (GGT) et d'alcaline phosphatase (ALP) chez les rats diabétiques. De même, ils n'ont pas observé des différences significatives pour les taux plasmatiques de créatinine,  $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Ca^{2+}$  et P chez les rats normaux et diabétiques [Al Ghaithi et al., 2004].

### 6. Composition chimique

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

Afifi et al 1973, ont déterminé la présence de deux alcaloïdes :  $C_{10}H_{15}NO_3$  et  $C_{16}H_{24}NO_3$  dans tous les organes de la plante alors qu'un troisième alcaloïde ( $C_{20}H_{36}NO_6$ ) est présent au niveau des graines, pulpes, feuilles et racines [Afifi et al., 1973].

Ainsi que, les fruits de la coloquinte contiennent trois flavonoïdes : 3'-méthoxy-iso-orientine, iso-orientine et iso-vitexine. Les feuilles contiennent aussi trois flavonoïdes : 8-C-*p*-hydroxybenzoyl- iso-vitexine, 6-C-*p*-hydroxylvitexine et 8-C-*p*-hydroxybenzoyl- iso-vitexine 4' -*o*- glucoside [Maatooq et al, 1997].

*Citrullus colocynthis* renferme divers glycosides, Meissner et Vauquelin 1898, ont identifié pour la première fois un colocynthin ( $C_{56}H_{34}O_{23}$ ), qui est responsable de l'amertume et des propriétés médicinales de la pulpe [John et al., 1998]. Ces glycosides se trouvent en grande quantité (0,22%) dans la pulpe. Les graines, les tiges et les feuilles renferment des taux respectifs de l'ordre de 0,18%, 0,17%, 0,15% [Darwish et al, 1974]. C'est  $\beta$ -cistosol-D-

glucoside qui est reconnu essentiellement par son effet antidiabétique, alors que les cucurbitacées A et B, sont responsables de l'activité anticancéreuse et insectifuge [Duke, 2002].

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

### 7. Toxicité de *Citrillus colocynthis*

Pendant des périodes bibliques, les fruits de la coloquinte ont été recueillis et considérés comme poison mortel [Yanif et al, 1999]. Elle 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 [Ben Salah et al, 1986].

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

Pour déterminer l'effet toxique de *Citrullus colocynthis*, il est possible de réaliser des études expérimentales. Parmi ces études, l'évolution des paramètres biochimiques sériques:

- **Les paramètres hépatiques:** TGO (Transaminase Glutamo-oxalo-acétique), TGP (Transaminase glutamopyruvique), ALP (Alanine Amino Transférase, LDH (Lactat deshydrogénase), GGT (gamma-glutamyl transférase),...etc.

- **Les paramètres rénaux :** créatinine, urée, micro albuminurie, corps cétonique,...etc.

-**D'autres paramètres :** cholestérol, triglycéride, glycémie, fructosamine,...etc.

Ainsi, la réalisation des coupes histologiques du foie, reins, cerveau,...etc.

## I. Analyses phytochimiques

### 1. Matériel végétal

Notre étude est portée sur les graines de la coloquinte (*Citrullus colocynthis*); récoltées à maturité durant le mois de novembre dans la wilaya d'Adrar.

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

### 2. Dégraissage du matériel végétal

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

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

### 3. Tests phytochimiques [Harborne, 1973 ; Trease et Evans, 1989]

Nous avons réalisé une décoction de 10 g des graines de *Citrullus colocynthis* dans 100 ml de l'éthanol (80%), à reflux pendant 1 heure : 30minutes et 3 heures.

Afin de mettre en évidence la présence ou l'absence de certains métabolites secondaires, un criblage phytochimique est réalisé dans les deux extraits préparés.

#### ➤ Les alcaloïdes

Les tests sont réalisés par des réactions de précipitation avec les réactifs de Mayer et de Wagner.

Prendre 1ml de l'extrait dans 2 tubes à essai et ajouter 5 gouttes du réactif de Mayer dans le premier tube et 5 gouttes du réactif de Wagner dans le second tube, l'apparition de précipité blanc et brun, respectivement, révèle la présence d'alcaloïdes.

### ➤ **Les substances polyphénoliques**

#### ❖ **Les tanins**

Dans un tube à essai, introduire 5 ml d'extrait à analyser et ajouter 1 ml de solution aqueuse de  $\text{FeCl}_3$  à 1%. En présence de tanins, il se développe une coloration verdâtre ou bleu-noirâtre.

#### ❖ **Les flavonoïdes**

A 5 ml d'extrait à tester, ajouter 5 ml d'acide chlorhydrique, 1 ml d'alcool iso amylique et quelques copeaux de magnésium, l'apparition d'une coloration rose ou rouge indique la présence des flavonoïdes.

### ➤ **Les saponosides**

Préparer 2 tubes à essais, chacun contient 5 ml de l'un de ces extraits, ajuster le volume dans chaque tube à 10ml avec de l'eau distillée et agiter chaque tube dans le sens de la longueur pendant 15 secondes à raison de 2 agitations par seconde. Une mousse persistance durant 15 minutes indique la présence des saponosides.

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

Introduire 2 ml d'extrait dans un tube, ajouter 0,5 ml de  $\text{NH}_4\text{OH}$  à 25%. Mélanger et observer sous UV à 366 nm, une fluorescence intense indique la présence de coumarines.

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

Evaporer à sec 10 ml de la solution à analyser, dissoudre le résidu dans 5 ml d'anhydride acétique puis 5 ml de chloroforme. A l'aide d'une pipette ajouter 1 ml de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentré au fond du tube sans agiter. Laisser reposer 30 minutes. 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 stérols et triterpènes.



➤ **Les sucres réducteurs**

Introduire 2 ml d'extrait dans un tube, ajouter 2 ml de liqueur de Fehling (1 ml réactif A et 1ml 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.

**4. Préparation de l'extrait éthanoliques des graines de coloquinte**

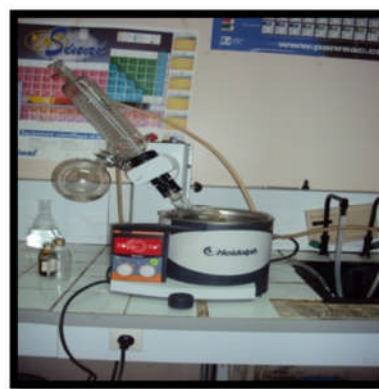
Extraction sous reflux, pendant 6 heures, de 50g des graines de la coloquinte broyées et dégraissées en présence de 200ml d'éthanol 80%.

- Filtration du mélange et récupération du filtrat;
- Extraction liquide – liquide du filtrat (3 à 4 fois) à l'aide d'une ampoule à décanté avec 50ml d'acétate d'éthyle
- Elimination des traces d'eau qui peuvent renfermer le solvant organique décanté par l'adition de  $Mg SO_4$  ;
- Filtration ;
- Concentration de la phase organique à sec à l'aide d'un rotavapor ;

Un résidu solide de couleur brune est obtenu.

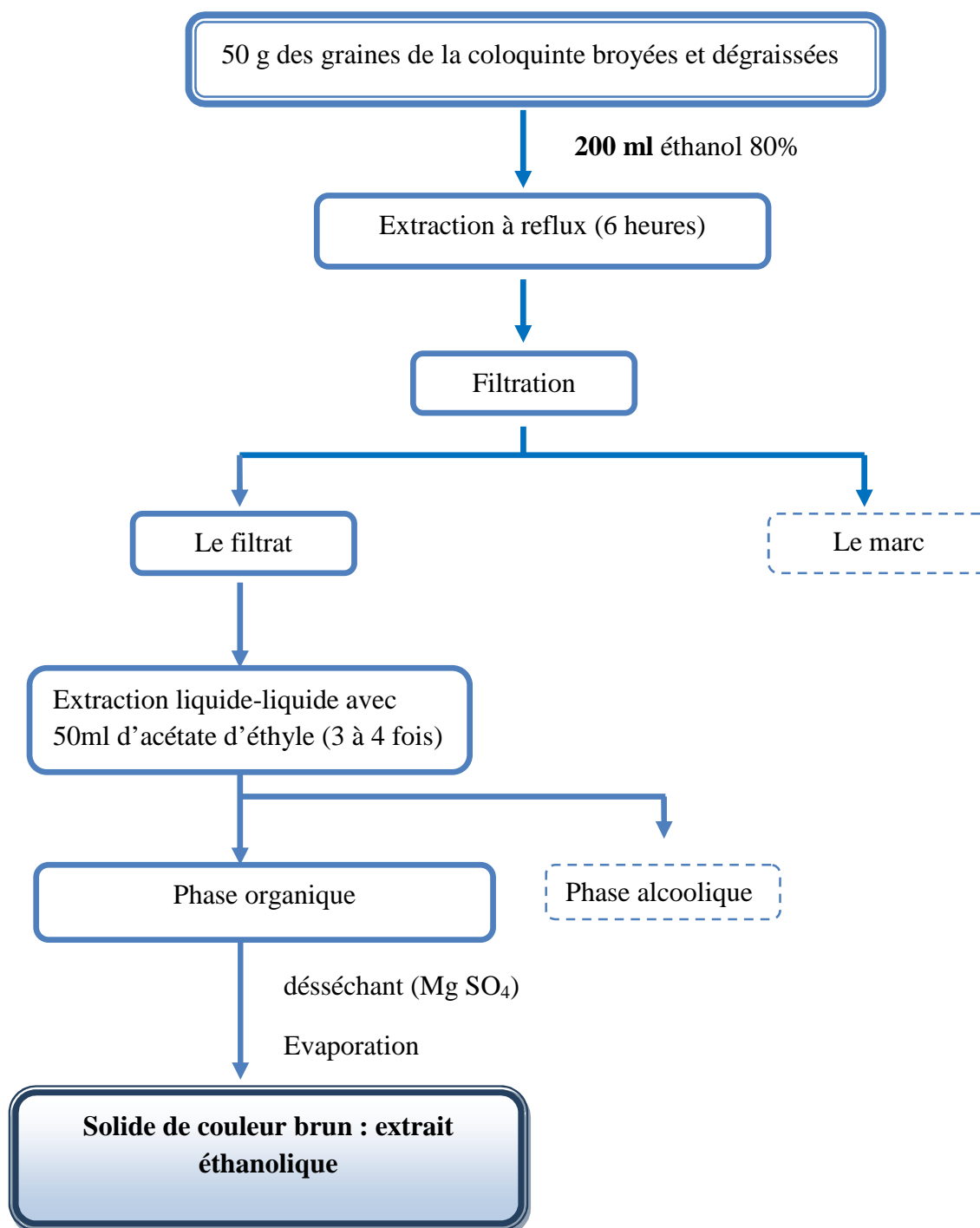


**Figure 02** : Montage d'une extraction sous reflux



**Figure 03** : Rotavapor





**Figure 04 :** Diagramme montrant la préparation d'extrait éthanolique selon la méthode de **Natiq et al., 1989.**

## 5. Séparation des constituants de l'extrait éthanolique par chromatographie sur couche mince (CCM)

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

- Choix de la phase stationnaire : gel de silice fluorescent (Merck) 5 x 20cm;
- Activation de la plaque dans l'étuve à 100°C pendant 30 min ;
- Choix de la phase mobile : Chloroforme/méthanol (17/3)
- Saturation de la cuve par les solvants d'éluion ;
- Préparation de 10mg de l'échantillon d'extrait éthanolique dans 0.5ml d'acétate d'éthyle;
- Dépôts d'échantillon en petits spots (3 à 4 fois) sous forme des points ;
- Introduction de la plaque dans la cuve saturée ;
- Suivre le développement du chromatogramme jusqu' à l'arrivé du solvant au front supérieur ;
- Révélation : lampe UV (longueurs d'ondes  $\lambda = 254$  nm) et vapeur d'iode ;
- Délimitation des taches colorées à l'aide d'un crayon ;
- Calcul pour chaque constituant le rapport frontal **Rf** :

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

## 6. Spectre d'absorption UV

Le spectre UV de l'extrait éthanolique isolés a été mesuré en solution DMSO à l'aide d'un spectrophotomètre UV/Visible, piloté par un ordinateur et géré par un logiciel d'application.

$\lambda$  max (nm) représente la longueur d'onde de maximum d'absorption.

## II. Analyses biologiques

### 1. Les animaux

Dans cette étude, nous avons travaillé sur des rats albinos (*Rattus norvegicus*) de variété *Wistar* de sexe mâle et femelle âgés de 2 à 3 mois ayant un poids de 120 à 200g.

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

Ces animaux sont nourris avec un aliment complet standard sous forme de granulés. Il est composé de céréales, tourteaux de soja, issues de céréales, huile de soja, phosphate monocalcique, carbonate de calcium, lysine, méthionine, choline plus un complexe minéralo-vitaminiques (glucides 55%, protéines brutes 18%, matière grasse brute 2.5%, cellulose brute 3.9%, cendres brutes 4.9%, humidité 14%, vitamines 1.7%).

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

### 2. Répartition des lots des rats

- 20 rats mâles et femelles sont utilisés, ils sont répartis en 4 lots de 5 rats chacun
- Les animaux sont privés de nourriture 18 heures avant les tests et ils sont pesés au moment de l'injection de l'extrait.
- Les extraits éthanoliques des graines de coloquinte (*Citrullus colocynthis*) sont administrés à différentes doses, par voie intra-péritonéale, à raison d'une dose par lot.
- 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, triglycéridémie, cholestérolémie, transaminases : (TGO, TGP, phosphatase alcaline) et créatinine).
- Le poids corporel et la croissance des rats sont suivie avant et 3 semaine après l'injection intra-péritonéale des différentes doses d'extrait éthanolique.

**Tableau 06 :** Répartition des lots des rats wistar soumis à une injection unique intra-péritonéale des différentes doses d'extraits éthanoliques des graines de la coloquinte (*Citrullus colocynthis*)

Lots	N°Lot	Nombre de	Poids	Doses injectés
<b>RTN</b>	<b>1</b>	05	159.5	0.9% NaCl
<b>RN75</b>	<b>2</b>	05	183,6	75
<b>RN100</b>	<b>3</b>	05	173	100
<b>RN200</b>	<b>4</b>	05	185,6	200

### 3. Dosage de quelques paramètres biochimiques sériques

#### 3.1. Dosage de la glycémie

La mesure de la glycémie a été effectuée à l'aide d'un glucomètre à bandelettes réactives «One Touch Ultra», dont le principe est basé sur une réaction au glucose oxydase et au ferricyanure de potassium.

Une goutte de sang prélevée à partir de l'extrémité caudale des rats (sang veineux) déposée sur la bandelette est mise en contact avec :

-Un glucose oxydase qui libère de l'oxygène, ce dernier oxyde un réactif chimique «réducteur», le ferricyanure en ferrocyanure de potassium, cette oxydation produit des électrons qui sont mesurés par l'électrode. Le ferrocyanure produit est proportionnel à la concentration du glucose sanguin [Dufaire-Patouraux et al., 2003].

Les teneurs en glucose sont exprimées en g/l.

#### 3.2. Dosages enzymatiques des paramètres lipidiques

Le taux du cholestérol total et des triglycérides sériques est déterminé par une technique enzymatique colorimétrique à l'aide d'un spectrophotomètre par un kit de SPINREACT spécifique pour chaque paramètre.

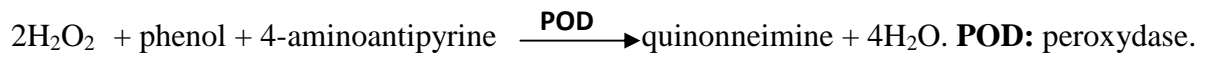
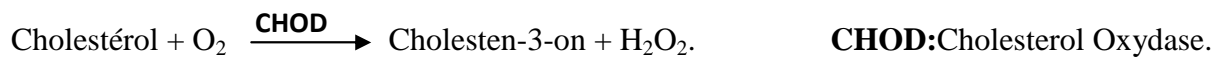
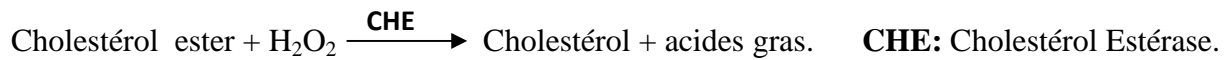
❖ **Dosage de la cholestérolémie**

La détermination du cholestérol se fait selon la méthode de [Fasce, 1982]

➤ **Principe**

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

Le cholestérol estérase hydrolyse les esters. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> est formé dans l'oxydation enzymatique consécutive du cholestérol par le cholestérol oxydase selon les réactions suivantes :



**Réactif1:** tampon, PH 6.9.

**Réactif2:** enzymes (CHE, CHOD et POD).

**Réactif3:** Etalon de cholestérol (2g/l).

➤ **Solution de travail**

Dissoudre le contenu du réactif 2 avec la solution tampon (réactif1).

La solution est stable pendant 14 jours de 20 à 25°C ou 56 jours de 2 à 8°C.

➤ **Méthode de dosage**

	Blanc	Étalon	Dosage
<b>Solution du travail (ml)</b>	1	1	1
<b>Étalon (Réactif 3) (µl)</b>		10	
<b>Sérum (µl)</b>			10

- Mélanger, et attendre 5 min à 37°C ou 10 min de 20 à 25°C. Puis lire la densité optique de dosage à 505 nm (DOD) contre la densité optique de l'étalon (DOE).

**Calcul :**

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

Les teneurs en cholestérol sont exprimées en g/l.

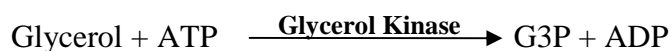
### ❖ Dosage de la Triglycéridémie

La détermination du triglycéride dans le sang se fait selon la méthode de [Fossati et al., 1982].

#### ➤ Principe

L'échantillon de triglycérides incubé avec lipoprotéïnlipase (LPL), libérer le glycérol et des acides gras. Le glycérol est transformé en glycérol-3-phosphate (G3P) et adenosine-5-diphosphate (ADP) par le glycérol kinase et l'ATP. Glycérol-3-phosphate (G3P) est ensuite transformé par le glycérol phosphate dehydrogenase (GPO) en dihydroxyacétone phosphate (DAP) et peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>).

Dans la dernière réaction, le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) réagit avec amino-4-antipyrine (4-AP) et p-chlorophenol en présence de peroxydase (POD) pour donner une couleur rouge :



**POD** : peroxydase

L'intensité de la coloration formée est proportionnelle à la quantité de triglycérides contenue dans l'échantillon du sérum.

**Réactif1**: tampon, PH 7.5

**Réactif2**: enzymes (LPL, GK, GPO, POD, 4-AP et ATP).

**Réactif3**: Etalon de triglycéride (2g/l).

#### ➤ Solution de travail

Dissoudre le contenu du réactif 2 avec la solution tampon (réactif1).

La solution est stable pendant 14 jours de 20 à 25°C ou 56 jours de 2 à 8°C.

➤ **Méthode de dosage**

	<b>Blanc</b>	<b>Etalon</b>	<b>Dosage</b>
<b>Solution du travail (ml)</b>	1	1	1
<b>Etalon (µl)</b>		10	
<b>Sérum (µl)</b>			10

- Mélanger, et attendre 5 min à 37°C ou 10 min de 20 à 25°C. Puis lire la densité optique de dosage à 505 nm (DOD) contre la densité optique de l'étalon (DOE).

**Calcul :**

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

Les teneurs en triglycéride sont exprimées en g/l

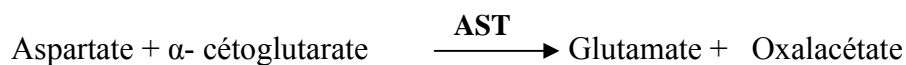
### 3.3. Dosages des transaminases

Le taux des transaminases est déterminé par une cénitique enzymatique colorimétrique à l'aide d'un spectrophotomètre par un kit de SPINREACT spécifique pour chaque paramètre.

#### ❖ **Transaminase Glutamo-oxalo-acétique (TGO)**

##### ➤ **Principe**

Aspartate aminotransferase (AST) ou Transaminase Glutamo-oxalo-acétique (TGO) catalyse la réaction suivante :



**AST** : Aspartate aminotransferase



**MDH** : Malate déshydrogénase

le taux de diminution de la concentration de NADH, Mesuré photométriquement, est proportionnelle à la concentration de catalyseur de AST présente dans l'échantillon [Murray et al., 1984].

**Réactif 1** : tampon, pH 7.8

**Réactif 2** : substrat (NADH, LDH, MDH,  $\alpha$ -cétoglutarate).

➤ **Solution de travail**

Dissoudre le contenu du réactif 2 avec la solution tampon (réactif1).

La solution est stable pendant 21 jours de 2 à 8°C ou 72 heures de 15 à 25°C.

➤ **Méthode de dosage**

<b>Solution du travail (ml)</b>	1
<b>Sérum (<math>\mu</math>l)</b>	100

- Mélanger, et attendre 1 min ;
- lire à 340nm l'absorbance après 1min, 2min et 3min ;
- Calculer la différence entre les absorbances et la moyenne de la différence par minute ( $\Delta A/\text{min}$ ).
- Le blanc de cette réaction est l'eau distillé

**Calcul :**

$$\Delta A/\text{min} \times 1750 = \text{TGO (UI/L)}$$

❖ **Transaminase glutamopyruvique (TGP)**

➤ **Principe**

Alanine aminotranferase (ALT) ou Transaminase glutamopyruvique (TGP) catalyse le transfert réversible d'un groupe amine de l'alanine à l'acide  $\alpha$ -cétoglutarique ont formant l'acide glutamique et l'acide pyruvique.

L'acide pyruvique produit est réduit en acide lactique par lactate déshydrogénase (LDH) et NADH:





le taux de diminution de la concentration de NADH, mesuré photométriquement, est proportionnelle à la concentration de catalyseur de ALT présente dans l'échantillon [Murray et al., 1984].

**Réactif 1** : tampon, pH 7.8

**Réactif 2** : substrat (NADH, LDH, MDH,  $\alpha$ -cétoglutarate).

➤ **Solution de travail**

Dissoudre le contenu du réactif 2 avec la solution tampon (réactif1).

La solution est stable pendant 21 jours de 2 à 8°C ou 72 heures de 15 à 25°C.

➤ **Méthode de dosage**

Solution du travail (ml)	1
Sérum ( $\mu$ l)	100

- Mélanger, et attendre 1 mn ;
- lire à 340nm l'absorbance après 1mn, 2mn et 3mn ;
- Calculer la différence entre les absorbances et la moyenne de la différence par minute ( $\Delta A/\text{min}$ ).
- Le blanc de cette réaction est l'eau distillé

**Calcul :**

$$\Delta A/\text{min} \times 1750 = \text{TGP (UI/L)}$$

❖ **Alcaline phosphatase (ALP)**

➤ **Principe**

L'Alcaline phosphatase (ALP) catalyse l'hydrolyse de p-nitrophenyl phosphate au pH 10.4, ont libérant p-nitrophenol et phosphate, selon la réaction suivant :



Le taux de la formation de p-Nitrophenol, mesuré photométriquement, est proportionnel à la concentration catalyseur de l'Alcaline phosphatase présente dans le sérum [Wenger et al., 1984 ; Rosalki et al., 1993].

**Réactif 1** : tampon, pH 10.4

**Réactif 2** : substrat (pNPP).

➤ **Solution de travail**

Dissoudre le contenu du réactif 2 avec la solution tampon (réactif 1).

La solution est stable pendant 21 jours de 2 à 8°C ou 5 jours de 15 à 25°C.

➤ **Méthode de dosage**

<b>Solution du travail (ml)</b>	1.2
<b>Sérum (µl)</b>	20

- Mélanger, et attendre 1 min ;
- lire à 405 nm l'absorbance après 1min, 2min et 3min ;
- Calculer la différence entre les absorbances et la moyenne de la différence par minute ( $\Delta A/\text{min}$ ).
- Le blanc de cette réaction est l'eau distillé

**Calcul :**

$$\Delta A/\text{min} \times 3300 = \text{ALP (UI/L)}$$

**Unité :** 1 unité internationale (UI) est la quantité d'enzyme nécessaire pour transformer 1µmol de substrat par minute. La concentration est exprimée par unité par litre de sérum (UI/L).

### 3.4. Dosage de la créatinine

Le taux de créatinine est déterminé par une technique enzymatique colorimétrique à l'aide d'un spectrophotomètre par un kit de SPINREACT.

➤ **Principe**

Le test est basé sur la réaction chimique de la créatinine avec le picrate de sodium comme décrit par Jaffe.

Créatinine réagit avec le picrate alcalin formant un complexe rouge. L'intervalle de temps choisi pour les mesures évite les interférences provenant d'autres constituants du sérum. L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de créatinine dans l'échantillon [Murray et al., 1984].

**Réactif 1** : réactif picrique.    **Réactif 2** : réactif alcalin

**Réactif 3** : Ethalon de créatinine 2g/l

➤ **Solution de travail**

Mélanger des volumes égaux de réactif 1 et réactif 2.

Dissoudre le contenu du réactif 2 avec la solution tampon (réactif 1).

La solution de travail est stable pour 10 jours de 15 à 25°C.

➤ **Méthode de dosage**

	Blanc	Etalon	Dosage
<b>Solution du travail (ml)</b>	1	1	1
<b>Etalon (µl)</b>		100	
<b>Sérum (µl)</b>			100

- Mélanger;
- Lire à 492 nm (490-510) l'absorbance ( $A_1$ ) après 30 secondes et après 90 secondes ( $A_2$ ) de sérum ;
- Calculer :  $\Delta A = A_2 - A_1$

**Calcul :**

$$\frac{\Delta A \text{ sample}}{\Delta A \text{ Ethalon}} \times 2 = g/l \text{ de créatinine dans le sérum}$$

#### 4. Analyses statistiques

Les calculs statistiques sont souvent utiles aux biologistes pour la détermination des valeurs normales ou plus exactement des valeurs de référence. Comme pour l'évaluation de précision et l'exactitude d'analyse [Schwartz, 1992 ; Amotte, 1971].

❖ **La moyenne**

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

❖ **La variance**

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

❖ **L'écart-type**

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

❖ **L'erreur standard de la moyenne (Sm)**

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

❖ **Test de Student**

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

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

Comme notre cas on a 5 rats dans chaque lot, on applique cette loi ; Dans un premier temps on calcule la variance commune comme suit :

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

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

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

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

$$v = d.l.l = n_1 + n_2 - 2$$

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

Si le  $t$  calculé ou expérimentale est plus élevé que  $t_v$  de la table de Student, la différence entre les moyennes des deux échantillons est significative.

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. Extraction

L'extrait éthanolique des graines de la coloquinte est récupéré sous forme d'un solide de couleur brune, avec un rendement de 0,772%.

**Tableau 07 :** Rendement de l'extrait éthanolique des graines de coloquinte

Extrait, aspect physique	Masse (mg)	Rendement (%)
Solide de couleur brun	386	0,772

### 2. Tests phytochimiques

Les tests phytochimiques consistent à détecter les différentes familles de composés qui existent dans les graines de la coloquinte (*Citrullus colocynthis*), par des réactions de précipitation ou de coloration, en utilisant des réactifs spécifiques à chaque famille de composés, les résultats obtenus sont représentés dans le **tableau n°08**.

**Tableau 08 :** Résultats des tests phytochimiques d'extraits éthanolique des graines de coloquinte broyées et dégraissées préparés par décoction durant 1h 30min et 3h.

Familles		Réaction, réactif	Extrait éthanolique 1h 30min	Extrait éthanolique 3h
Les alcaloïdes		Mayer	++	++
		Wagner	++	++
Les substances polyphénoliques	Tanins	FeCl <sub>3</sub> à 1%	+++	+++
	Flavonoïdes	HCl, Mg <sup>2+</sup>	-	-
Les saponosides		La mousse	-	-
Les coumarines		NH <sub>4</sub> OH, UV	-	-
Les glycosides (Stérols et triterpènes)		Liebermann Buchard	+	+
Les sucres réducteurs		Liqueur de Fehling	+	++

(+) : positif ; (++) : Très positif ; (+++) : Hautement positif ; (-) : négatif

Selon les résultats résumés dans le tableau ci-dessus, nous avons constaté l'absence totale des flavonoïdes, des saponosides et des coumarines dans les deux extraits, par contre nous avons noté un test positif des tanins, des alcaloïdes et des glycosides (stérols et triterpènes), et les composés réducteurs.

### 3. Analyse d'extrait éthanolique par chromatographie sur couche mince

**Tableau 09 :** Résultats de l'analyse par CCM d'extrait éthanolique des graines de coloquinte

Eluant	Nombre de taches	Rf
Chloroforme /méthanol (17/ 3)	9	0.089, 0.173, 0.217, 0.255, 0.320, 0.440, 0.603, 0.679, 0.763

Après révélation sous lampe UV à 254 nm de la plaque de CCM, nous avons constatés que le système Chloroforme/méthanol (17/3) a permis la séparation de 9 taches pour l'extrait éthanolique.

### 4. Spectre d'absorption d'extrait éthanolique

**Tableau 10 :** Résultats de l'analyse de spectre d'absorption de l'extrait éthanolique des graines de coloquinte

	$\lambda_{max}$ (nm)
<b>Pics d'absorbance</b>	190, 200, 230, 240, 250, 270, 280, 290, 300, 320, 230, 340, 350, 360, 370

Le spectre UV de l'extrait éthanolique étudié dans une solution de DMSO par un spectrophotomètre UV/visible donne (15) pics d'absorbance maximal entre 190-370nm.

## II. Effet de l'extrait éthanolique sur quelques paramètres biochimiques sériques

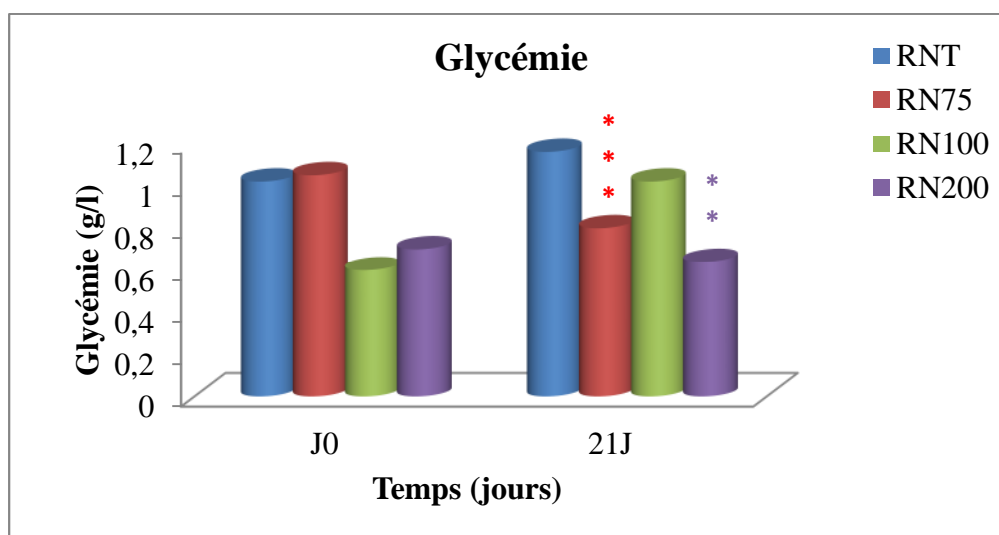
Le but de cette partie est de suivre la variation de quelques paramètres sériques, hépatique (transaminases), rénale (Créatinine), lipidiques (Cholestérol et triglycéride) et glucidique (glucose) chez les rats Wistar, avant et après 3 semaines de l'unique injections intra-péritonéale de différentes doses d'extraits éthanolique des graines de coloquinte (75, 100 et 200mg/kg p.c) et de rechercher d'éventuel effet toxique à travers ces paramètres

## 1. Evolution de la glycémie

**Tableau 11** : Variation de la glycémie chez les rats normaux témoins et traités par l'extrait éthanolique des graines de la coloquinte durant 3 semaines.

Lot	Doses injectés par voie intra-péritonéale (mg/kg)	Glycémie (g/l) $\pm$ écarte type Variation de la glycémie (%)	
		J0	21J
RNT	NaCl 0.9%	1,02 $\pm$ 0,27	1,16 $\pm$ 0,11 (14,08%)
RN75	75	1,05 $\pm$ 0,08	0,80 $\pm$ 0,03 (-24,05%) ***
RN100	100	0,60 $\pm$ 0,07	1,02 $\pm$ 0,12 (70,57%) **
RN200	200	0,70 $\pm$ 0,10	0,64 $\pm$ 0,13 (-9,54%)

\* : degré de signification par rapport à J0,



**Figure 05** : Evolution de la glycémie chez les rats normaux témoins et traités par l'extrait éthanolique des graines de la coloquinte durant 3 semaines.

Dans le **tableau 10** et la **figure n°05**, nous avons remarqué une diminution très significative de l'ordre de 24,05% chez les rats soumis à une injection intra-péritonéale de



75mg/kg d'extrait éthanolique des graines de la coloquinte. Ainsi, une diminution non significative de l'ordre de 9,54% chez les rats traités par 200mg/kg de l'extrait éthanolique. Mais ces valeurs restent dans l'intervalle normal de la glycémie chez les rats, sans avoir un effet hypoglycémiant pour ces doses.

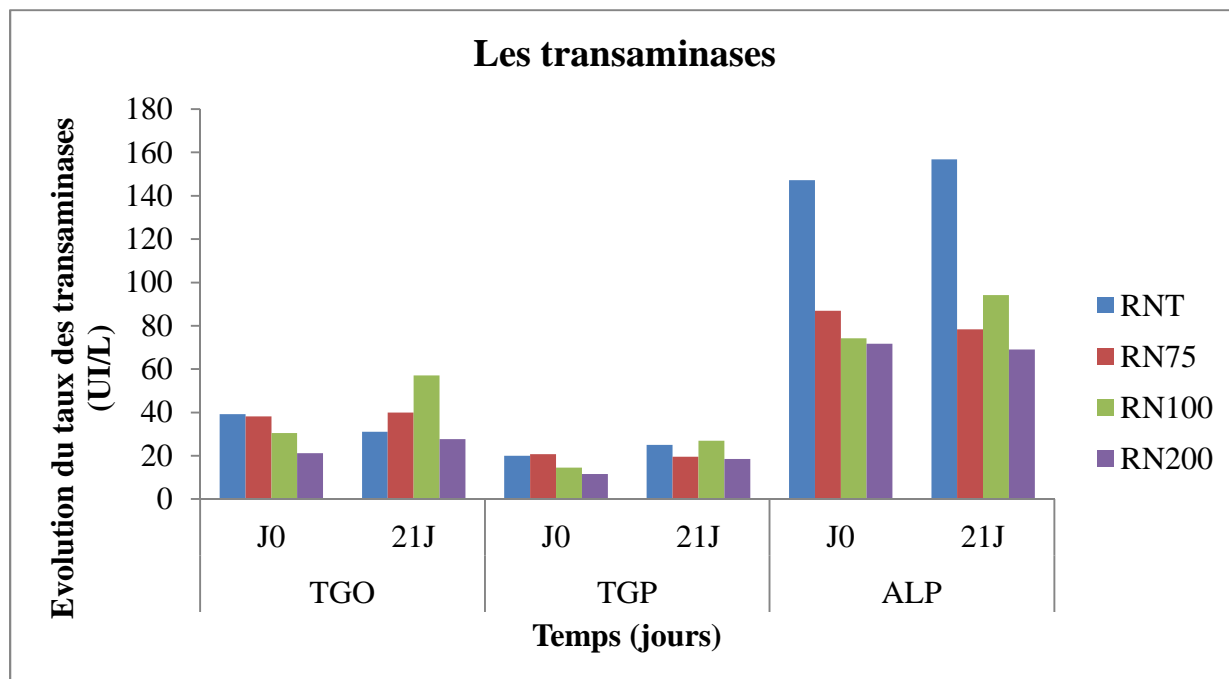
Par contre chez les rats traités par 100mg/kg, il a été observé une augmentation significative, dont le taux d'augmentation est de 70,57%.

## 2. Evolution de quelques enzymes hépatique (TGO, TGP, ALP)

**Tableau 12 :** Evolution de quelques enzymes hépatiques chez les rats normaux témoins et traités par l'extrait éthanolique des graines de la coloquinte durant 3 semaines.

Lot	Doses injectés (i.p) mg/kg p.c	Evolution des enzymes hépatiques (UI/L) ± écarte type Variation par rapport au temps J0 (%)					
		TGO		TGP		ALP	
		J0	21J	J0	21J	J0	21J
<b>RNT</b>	NaCl 0,9%	39,14±11,10	31,09±8,88 (-20,57%)	19,95±8,62	24,97±2,03 (25,15%)	147,22±13,06	156,75±5,87 (6,47%)
<b>RN75</b>	75	38,24±8,66	39,97±7,86 (4,53%)	20,81±3,57	19,50±6,04 (-6,31%)	86,89±20,19	78,34±27,10 (-9,84%)
<b>RN100</b>	100	30,52±15,08	57,02±20,88 (86,80%)	14,53±0,74	26,95±6,90 (85,54%)	74,17±11,38	94,22±19,54 (27,03%)
<b>RN200</b>	200	21,26±1,11	27,74±4,21 (30,44%)	11,55±2,10	18,51±5,38 (60,22%)	71,78±35,24	69,06±22,28 (-3,79%)

i.p : intra-péritonéale



**Figure 06 :** Evolution de quelques enzymes hépatique (TGO, TGP, ALP) chez les rats normaux témoins et traités par l'extrait éthanolique des graines de la coloquinte durant 3 semaines.

❖ **TGO (transaminase glutamo-oxaloacétique) ou ASAT (Aspartate aminotransférase)**

Nous avons observé une augmentation non significative d'enzymes TGO, 21 jours après l'injection intra-péritonéale de différentes doses d'extrait éthanoliques au rats Wistar. Cette augmentation est très remarquable d'ordre de 86,80% chez les rats de lot **RN100** qui reçoivent 100mg/kg d'extrait.

Alors que chez les RNT, nous avons noté une diminution non significative de TGO dans le même intervalle du temps (21J).

❖ **TGP (transaminase glutamo-pyruvique) ou ALAT (Alanine Amino Transférase)**

Nous avons constaté une augmentation non significative de TGP d'ordre de; 85,54% et 60,22% Chez les rats soumis à une seule injection intra-péritonéale de 100mg/kg et 200mg/kg d'extrait éthanolique des graines de coloquinte, respectivement.

Tandis que, nous avons noté une diminution d'ordre de 6,31% chez les rats de lot RN75 qui reçoivent une injection intra-péritonéale de 75mg/kg.

❖ **ALP (phosphatase alcaline)**

Concernant l'ALP, une augmentation non significative a été observée chez les rats de lot RN100 d'ordre 27% par rapport à l'ALP du 1<sup>er</sup> jour (J0)

Par contre, une diminution non significative de l'ordre de 9,84% et 3,79% a été enregistré chez les rats des lots RN75 et les RN200 respectivement.

❖ **Conclusion**

Une augmentation des paramètres enzymatiques hépatiques étudiés a été enregistrée chez les rats wistar qui reçoivent au moins une dose de 100mg/kg d'extrait éthanolique des graines de coloquinte (*Citrullus colocynthis*).

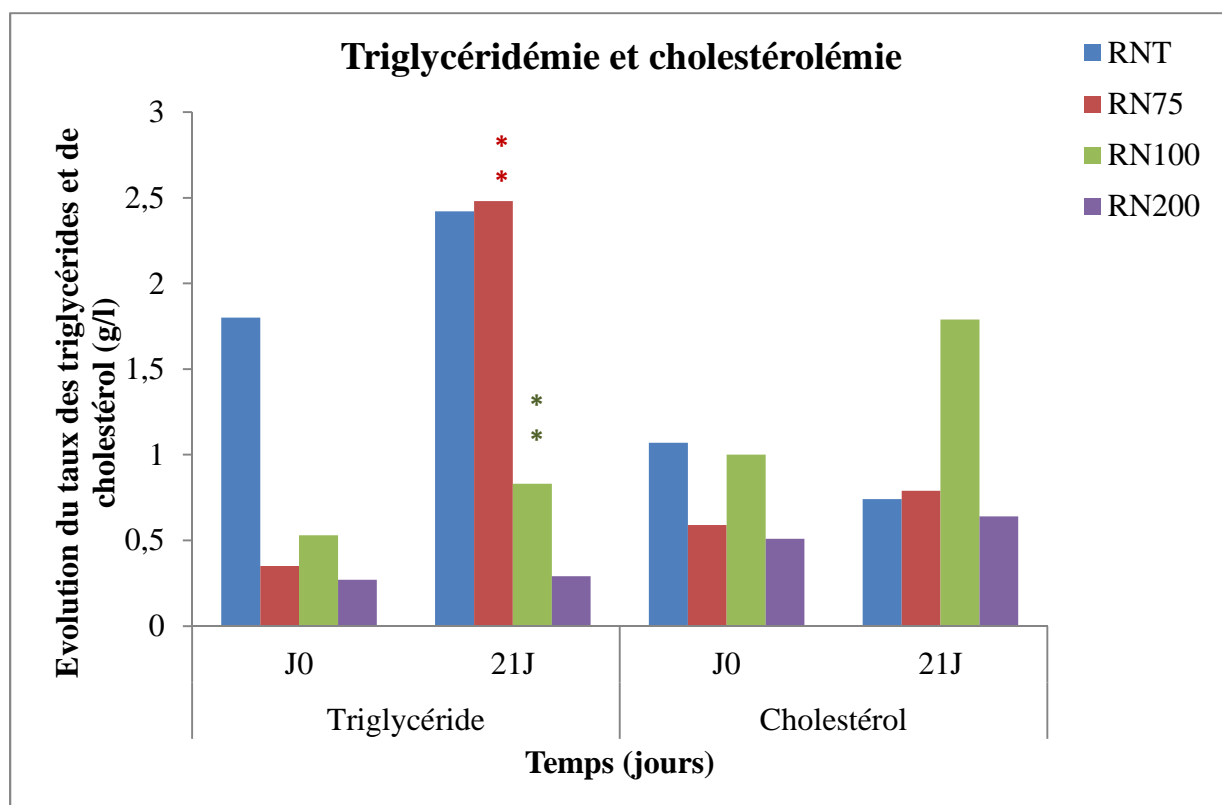
**3. Evolution des paramètres lipidiques**

Au cours de notre expérimentation, deux paramètres lipidiques sont suivis, la triglycéridémie et la cholestérolémie total ; les résultats obtenus sont représentés dans la figure 08 et tableau 13.

**Tableau 13 :** Evolution de quelques paramètres lipidique (triglycéridémie, cholestérolémie) chez les rats normaux témoins et traités par l'extrait éthanolique des graines de la coloquinte durant 3 semaines.

Lot	Doses injectés (i.p) mg/kg p.c	Evolution des paramètres lipidiques (g/l) ± écarte type Variation par rapport J0(%)			
		Triglycéridémie		Cholestérolémie	
		J0	21J	J0	21J
RNT	0,9% NaCl	1,80±0,55	2,42±0,91 (34,73%)	1,07±0,63	0,74±0,34 (-31,44%)
RN75	75	0,35±0,20	2,48±0,97 (605,87%) **	0,59±0,18	0,79±0,27 (33,67%)
RN100	100	0,53±0,09	0,83±0,13 (55,42%) **	1,00±0,20	1,79±1,42 (78,30%)
RN200	200	0,27±0,04	0,29±0,09 (8,86%)	0,51±0,16	0,64±0,05 (24,68%)

\* : degré de signification par rapport au J0



**Figure 07 :** Evolution de quelques paramètres lipidiques (triglycéridémie, cholestérolémie) chez les rats normaux témoins et traités par l'extrait éthanolique des graines de la coloquinte durant 3 semaines.

#### ❖ Triglycérides

Chez les rats normaux traités par 75mg/kg de l'extrait éthanolique et même chez les rats traités par 100mg/kg nous avons noté une augmentation significative du triglycéride de l'ordre de 605,85% et 55,42% respectivement.

Alors que chez les rats traités par 200mg/kg de notre extrait et même chez les rats normaux témoins, nous avons observés une augmentation non significative.

#### ❖ Cholestérol total

Concernant le taux de cholestérol, nous avons remarqué une augmentation non significative de l'ordre de 33,67%, 78,30 et 24,68% respectivement chez les rats soumis à une injection intra-péritonéale de 75, 100 et 200mg/kg de l'extrait éthanolique des graines de la coloquinte.

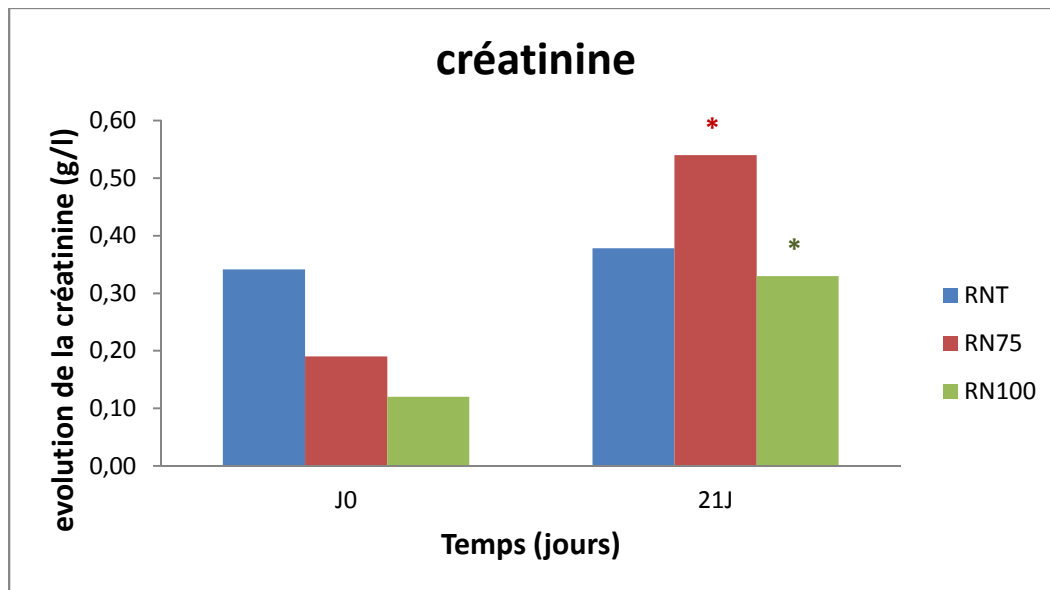
Par contre, chez les rats normaux témoins nous avons noté une diminution non significative (31,44%).

#### 4. Evolution de la créatinine

**Tableau 14 :** Evolution de la créatinine chez les rats normaux témoins et traités par l'extrait éthanolique des graines de la coloquinte durant 3 semaines.

Lot	Doses injectés (i.p) mg/kg p.c	Evolution de créatinémie (g/l) ± écarte type Variation par rapport J0(%)	
		J0	21J
RNT	NaCl 0,9%	0,34±3,40	0,38±4,50 (10,72%)
RN75	75	0,19±0,12	0,54±0,30 (182,32%) *
RN100	100	0,12±0,007	0,33±0,1 (189,83%) *

\* : degré de signification par rapport à J0



**Figure 08 :** Evolution de la créatinine chez les rats normaux témoins et traités par l'extrait éthanolique des graines de la coloquinte durant 3 semaines.

Une augmentation peu significative de la créatinine d'ordre de 182,32 et 189,83% a été observée chez les rats soumis à une seule injection intra-péritonéale de 75 et 100mg/kg de l'extrait éthanolique des graines de coloquinte, respectivement. Ce qui peut justifier un risque

d'atteinte rénal pour les rats traités par des fortes doses d'extrait éthanolique (au-delà de 75mg/kg p.c).

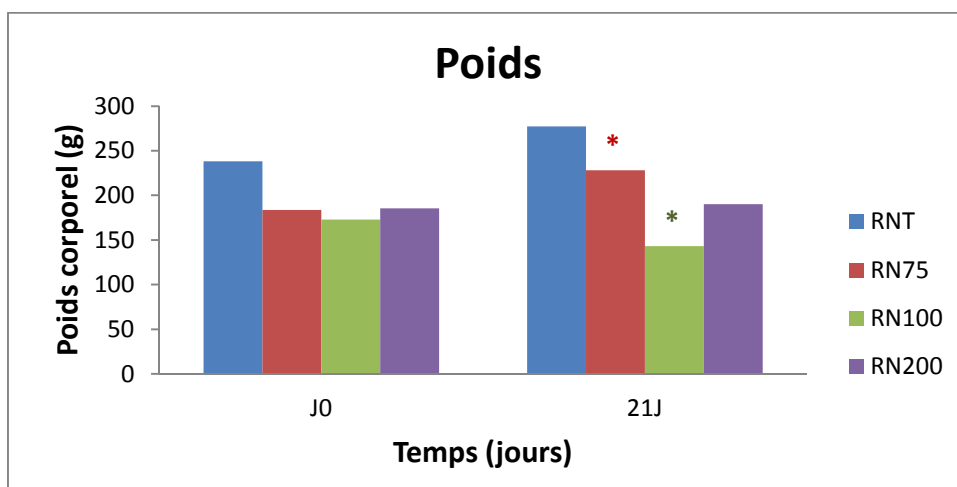
### III. Evolution du poids corporel

Le suivi régulier du poids corporel des rats normaux témoins et traités par les différentes doses de l'extrait éthanolique, nous a amené d'obtenir les résultats représentés dans la **figure n°06** et le **tableau 11**.

**Tableau 15** : Variation du taux de croissance chez les rats normaux témoins et traités par l'extrait éthanolique de la coloquinte durant 3 semaines.

Lot	Doses injectés (i.p) mg/kg p.c	Poids corporel (g) ± écarte type Taux de croissance (%)	
		J0	21J
RNT	NaCl 0.9%	238,12±17,59	277,2±21,45 (16.41%)
RN75	75	183,6±26,06	228±19,80 (24,18%)*
RN100	100	173±9,30	143,25±15,90 (-17,20%) *
RN200	200	185,6±14,79	190±7,07 (2,37%)

\* : degré de signification par rapport à J0.



**Figure 09** : Evolution du poids corporel chez les rats normaux témoins et traités par l'extrait éthanolique des graines de la coloquinte durant 3 semaines

Nous avons observé une augmentation de croissance régulière d'ordre de 16,14% et 24,18% chez les rats témoins RTN et les rats traités par 75mg/kg de l'extrait éthanolique (RN75) respectivement. De même, une faible croissance non significative a été enregistrée chez les rats traités par 200mg/kg de l'extrait éthanolique (RN200) d'ordre de 2,37%

Par contre, les rats normaux traités par 100mg/kg de l'extrait éthanolique (RN100) subissent une chute peu significative du poids, d'ordre 17,20% (de 173g à 143,25g).

La valorisation des plantes médicinales utilisées traditionnellement pour le traitement du diabète sucré, ainsi que la recherche de nouvelles substances à activité antidiabétique, constituent aujourd'hui une des plus grandes préoccupations scientifiques, devant la complexité métabolique de la maladie et son importante prévalence mondiale [Vulksan et Sievenpiper, 2005].

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

De nombreux travaux se sont consacrés aux propriétés antidiabétiques de la coloquinte (*Citullus colocynthis*) : **Abdel-Hassen et al., 2000 ; Nmila et al., 2000 ; Azzi et Boumellah, 2002 ; Benariba, 2003** ,... ont démontré que les extraits de la coloquinte présentent des effets antihyperglycémiant.

Pour cela, cette plante a fait l'objet de notre recherche où nous nous sommes intéressés à l'effet de l'extrait éthanolique des graines de la coloquinte sur l'évolution de quelques paramètres biochimiques sériques chez les rats normaux.

Les résultats des tests phytochimiques de l'extrait éthanolique des graines de la coloquinte ont montré, la présence des tanins, des alcaloïdes, des glycosides et des composés réducteurs, mais l'absence des flavonoïdes, des saponosides et des coumarines dans les deux extraits (1h : 30min et 3h)

Les résultats d'examen phytochimiques présentés par **Benmehdi en 2000**, montrent la présence des alcaloïdes dans tous les parties de la coloquinte surtout dans les graines et l'épicarpe. Les stéroïdes et les tanins sont retrouvés dans toutes les parties, et à des quantités moindres les flavonoïdes et les saponines. Il a aussi mentionné que les coumarines, les anthracénosides, les anthraquinones, les ergolines et les émodols sont totalement absents [Benmehdi en 2000].

Cependant, le dépistage phytochimique qualitatif de l'extrait éthanolique des graines de *Citrullus colocynthis* a noté la présence des tanins, alcaloïdes, flavonoïdes et des glucosides [Najafi et al., 2010].

En effet, **Benlahcen en 2010 ; Djedidi et Sahi en 2009**, ont indiqué la présence des flavonoïdes, tanins, saponosides et terpénoïdes, et l'absence des alcaloïdes, des



anthraquinones, des quinones libres et des sucres réducteurs dans l'extrait eau-méthanol des graines broyées et dégraissées de la coloquinte.

En **2009 Marzouk et al.**, ont révélé la présence des flavonoïdes et des stéroïdes et l'absence des anthraquinones et des coumarines dans l'extrait acétone de graines de la coloquinte.

D'après l'analyse chromatographique, l'extrait éthanolique serait composé d'au moins 9 substances.

**Darwish-Sayed et al. en 1974**, ont montré que 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 ; alors que l'extrait éthanolique révèle 8 composés (4 glycosides cucurbitacines et 4 formes aglycones des cucurbitacines).

De même, **Natiq et al. en 1989**, ont identifié quatre glycosides cucurbitacines (2-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl-cucurbitacine I, 2-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl-cucurbitacine E, 2-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl-cucurbitacine L et 2-O- $\beta$ -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) et seulement deux glycosides cucurbitacines (2-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl-cucurbitacine I, 2-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl-cucurbitacine L) à partir d'extrait éthanolique des mêmes parties utilisés. La phase mobile utilisée est formée par le mélange chloroforme / méthanol (17 :3).

**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- $\beta$ -D-glucopyranosyl-cucurbitacine I et 2-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl-cucurbitacine L.

**Nayab et al., 2006** ont signalé la présence de deux nouveaux glycosides cucurbitacines : 2-O-beta-D-glucopyranosyl-cucurbitacine B (arvenin I) (2) et de 2,25-di-O-beta-D-glucopyranosyl-cucurbitacine L (3), dans l'extrait méthanolique du fruit de la coloquinte par RMN 1D et 2D.

Au cours de notre expérimentation, nous nous sommes intéressées par le suivie de quelques paramètres biochimiques : glycémie, cholestérol total, triglycérade, transaminases

(TGO, TGP, ALP) et créatinine 21 jours après l'injection intra-péritonéale des différentes doses de notre extrait et de rechercher d'éventuel effet toxique à travers ces paramètres.

Dans notre étude, l'extrait éthanolique des graines de la coloquinte à 75, 100, 200mg/kg ne présente pas un effet hypoglycémiant pour les rats normaux à moyenne terme durant 21 jours.

De même, **Azzi en 2007** a démontré que l'extrait éthanolique et chloroformique de graines de *Citrullus colocynthis* n'ont pas un effet hypoglycémiant chez les rats normaux traités par l'injection intra-péritonéale de 20mg/kg des extraits.

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

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

Concernant les paramètres lipidiques, nous avons constaté que l'extrait éthanolique provoque une augmentation significative de triglycéride, mais il entraîne une augmentation non significative de cholestérol.

De ce fait, on peut dire que l'injection intra-péritonéale de notre extrait n'assure pas une grande modification de ces paramètres lipidiques.

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

**Benlahcene en 2010**, a noté que l'injection intra-péritonéale de l'extrait eau-méthanol (100mg/kg) de graines broyées et dégraissés de *Citrullus colocynthis*, ne provoque aucune modification de la cholestérolémie et la triglycéridémie.

**Azzi en 2007**, a démontré que l'extrait éthanolique et l'extrait chloroformique (20 mg/kg) de graines de *Citrullus colocynthis* administrés par voie intra-péritonéale aux rats wistar normaux et rendus diabétiques par la Streptozotocine (65mg/kg), ont un effet antihyperglycémiant (à court et à long terme), corrigeraient les désordres métaboliques glucidiques (hyperglycémie) et lipidiques (hypercholestérolémie et même probablement autres perturbations)

**Abd El-Baky et al., (2009)**, ont noté que l'extrait de *Citrullus colocynthis* diminue significativement le taux de glucose, cholestérol et triglycéride dans le sang. Donc, ils ont conclu que *Citrullus colocynthis* exerce un effet hypoglycémiant, hypolipidique et antioxydant chez les rats normaux et diabétiques.

Suivant nos résultats, l'extrait éthanolique des graines de la coloquinte induit une augmentation des enzymes hépatiques (TGO, TGP, ALP) chez les rats qui reçoivent au moins une dose de 100mg/kg.

De même, l'injection intrapéritonéale de l'extrait éthanolique (75, 100mg/kg p.c) provoque une augmentation peu significative de la créatinine. Ce qui peut justifier un risque d'atteinte rénal pour les rats traités par des fortes doses d'extrait éthanolique (au-delà de 75mg/kgp.c).

D'après **Phillipe (1983)**, la teneur plasmatique de la créatinine nous renseigne sur le métabolisme endogène. De plus, ce taux est proportionnelle à la masse musculaire de l'organisme [**Alain et al., 1980**].

**Al-Ghaiti et al en 2004**, ont trouvé que l'administration orale de l'extrait aqueux des graines de *Citrullus colocynthis* chez les rats normaux et rendus diabétiques par STZ réduit significativement le taux d'AST (Aspartate aminotransferase) et provoque une diminution significative de GGT (Gamma-Glutamyl transferase) et d'ALP (phosphatase alcaline), mais ne provoque pas des différences significatives de la créatinine.

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

Selon **Abd El-Baky et al., (2009)**, le traitement des rats normaux et diabétiques par l'extrait de *Citrullus colocynthis* (50mg/kg/jour) provoque une augmentation significative de TGO, TGP et ALP dans le sérum. Ces résultats sont confirmés par l'étude de [**Ethan, 2003**]

qui ont démontré que l'administration orale de l'extrait des graines de la coloquinte chez les rats augmente significativement  $\gamma$ -glutamyltransferase et l'alcaline phosphatase.

**Fallah Huseini et al. (2009)**, ont montré que le traitement des diabétiques de type 2 par des gélules de la coloquinte (100mg) 3 fois/jour et pendant 2 mois n'assure aucun changement significative des paramètres sériques (TGO, TGP, ALP, urée et créatinine).

**Al-Yahya et al., (2000)**, ont noté que l'aliment composé de 10% de fruit de *Citrullus colocynthis* ou 10% des feuilles de *Nerium oleander* ou le mélange de (5%+5%) cause une altération de l'activité des enzymes hépatique AST, ALT, ALP.

**Dehghani et Panjehshahin (2006)**, ils ont constaté que les doses 50 et 100 d'extrait alcoolique de *Citrullus colocynthis* n'assurent pas un effet toxique, mais ce dernier est remarquable pour les doses 200 et 400mg/kg. Alors, ils ont conclu que *Citrullus colocynthis* à sa dose antidiabétique est sans danger et ne provoque aucun effet toxique.

**Al-Qarawi et Adam (2000)**, ont trouvé que le mélange de 1 :1(5%+5%) de *Citrullus colocynthis* et *Capsicum frutescens* provoque chez les rats : la lésion des organes vitaux accompagnée par l'anémie, la leucémie, un changement de l'activité d'ALP, AST, ALT et aussi une modification de la concentration de protéine total, albimune, urée et autres constituants de sérum.

D'après **Adam et al., 2000**, l'administration orale d'un mélange de *Citrullus colocynthis* et *Rhazya stricta* (0,25%g+0,25g) est toxique pour les moutons et provoque des enterohepatonephrotoxicity, gélatinisation des lipides rénale et cardiaque, altération de la fonction de TGO et la concentration de protéine total, d'albimun, de cholestérol et d'autres paramètres sériques.

Selon **Bakhiet et Adam (1995)**, les poussins nourris par un aliment contient 10% de *Citrullus colocynthis* présentent un gain de poids et une augmentation de : LDH, AST et de la concentration des lipides total.

La recherche de l'effet d'extrait éthanolique des graines de coloquinte (*Citrullus colocynthis*) sur quelques paramètres biochimique sérique, nous a conduis à des résultats montrant un effet toxique surtout sur les enzymes hépatique et les reins mais à partir des doses élevées.

A l'issue de ce travail, nous pouvons conclure que l'extrait éthanolique des graines de coloquinte (*Citrullus colocynthis*), administré par voie intra péritonéale chez les rats normaux à partir de la dose 100mg/kg p.c, influence négativement sur la concentration des transaminases liée à la fonction hépatique et la concentration de créatinine liée à la fonction rénale et provoque aussi des perturbations lipidique.

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

- Tester les composés purifiés afin de déterminer la structure chimique et le principe actif de l'extrait
- Utiliser d'autres méthodes d'analyse chimique de l'extrait éthanolique (Chromatographie sur colonne, HPLC, CPG, RMN,...)
- Doser d'autres paramètres biochimiques plasmatiques : HDL- cholestérol, l'insulinémie, hémoglobine glycosylé, urée, albuminurie, LDH... ;
- Utiliser d'autres espèces animales et modèles expérimentaux,...
- Elargir le nombre des rats expérimentaux et la durée de l'expérimentation.
- Utiliser d'autres modes d'administration.

1. **Abdel-barry J.A, Abdel-Hassan I.A et Al-Hakiem M.H; 1997.** Hypoglycaemic and anti- hyperglycaemic effects of *Trigonella foenum-graecum* leaf in normal and alloxan induced diabetic rats. *J Ethnopharmacol*; 58: 149- 155.
2. **Abd El-Baky A, Abdulla A, Abd El-Mawgoud H, Abd El-Hay E; 2009.** Hypoglycemic and hypolipidaemic action of bitter melon on normoglycemic and hyperglycaemic diabetic rats. *Research Journal of Medicine and Medical Sciences*, 4(2): 519-525.
3. **Abdel-Hassan I, Abdel-Barry J.A et Mohammeda S.T; 2000.** The hypoglycaemic and antihyperglycaemic effect of *Citrullus colocynthis* fruit aqueous extract in normal and alloxan diabetic rabbits. *Journal of Ethnopharmacology*; 71: 325-330.
4. **Adam S.E.I, Al-Farhan A.H, Al-Yahya A ; 2000.** Effect of combined *Citrullus colocynthis* and *Rhazya stricta* use in Najdi sheep. Department of Veterinary Medicine, College of Agriculture and Veterinary Medicine, King Saud University, Al-Qassim, Saudi Arabia. 71(4):385-91
5. **Afifi M, Darwish S, Balba S; 1973.** Nitrogenous bases of different organ of *Citrullus colocynthis*. *Planta media*.24 (3):260-265.
6. **Al-Achi A; 2005.** Herbs that affect blood glucose levels. *Women's Health in Primary Care*.8 (7): 325-330.
7. **Alain B, Bertrand M, Fourestier M; 1980.** Dictionnaire des constantes biologiques et physiques. 5<sup>ème</sup> édition *Maloin* : 523.
8. **Al Faraj S; 1995.** haemorrhagic colitis induced by *Citrullus colocynthis*. *Annual Tropic parasitology*; 89 (6): 695-696.
9. **Al-Ghaithi F, El-Ridi M.R, Adeghate E et Amiri M.H ; 2004.** Biochemical effects of *Citrullus colocynthis* in normal and diabetic rats. *Molecular and Cellular Biochemistry*; xxx: 1-7.
10. **AL-Qarawi A.A, Adam S.E.I; 2000.** Effect of combination of *Capsicum frutescens* and *Citrullus colocynthis* on growth, haematological and pathophysiological parameters of rats. 28(3-4):385-90.
11. **Al-Yahya M.A, Al-Farhan A.H et adem S.E.I; 2000.** Preliminary toxicity study on the individual and combined effects of *citrullus colocynthis* and *Nerium oleander* in rats. *Fitoterapia*; 71: 385-391.
12. **American Diabetes Association (ADA); 2005.** Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* ; 28 : S37-42

13. **Amotte M; 1971.** Initiation aux méthodes statistiques en biologie 2<sup>ème</sup> edit. Paris ; Masson et Cie.
14. **Ajabnoor M.A, Tilimsani A.K; 1988.** Effet of *Trigonella graecum* on blood glucose levels in normal and alloxan diabetic mice. Journal of Ethnopharmacol. 22:45-49.
15. **Arbouche L.Z ; 2007.** Les effets du traitement substitutif hormonal post ménopausique chez la diabétique de type 2, sur le métabolisme des lipoprotéines et le métabolisme glucidique.
16. **Association Canadienne du diabète; 2003.** Insulinothérapie et diabète de type; comité d'experts des lignes directrices de pratique clinique : 36-41.
17. **Atole S.K, Jangde C.R, Preetry Philip, Rekhe D.S, Aghav D.V, Waghode, Chougule A.M; 2009.**Safety evaluation studies of *Citrullus colocynthis* for diabetes in rats. Veterinary World, Vol.2(11): 423-425.
18. **Augusti K.T; 1974.** Effet on alloxan diabetes of allyl propyl disulphide obtained from onion. Naturwissenschaften. 61:172-173.
19. **Augusti K.T, Benaim M.E; 1975.** Effet of essential oil of onion (allyl propyl disulphide) on blood glucose, free Fatty acid and insulin levels of normal subjects. Clinckian Acta. 60:121-123.
20. **Avignon A et coll., 2001.** Diabète de type 2. Prise en charge. *Cah. Nutr. Diét.*edition Masson 36, hors série 1 :2S78-2S82.
21. **Azzi R et Boumellah O ; 2002.** Contribution à l'étude des effets antidiabétiques des saponosides et des glucosides extraits de la coloquinte (*Citrullus colocynthis*) sur des rats Wistar rendus diabétique par la Streptozotocine et la recherche de ses effets antifongiques sur *Fusarium oxysporum*. Mémoire DES en Biochimie. Département de Biologie, Faculté des sciences, Université de Tlemcen.
22. **Azzi R ; 2007.** Contribution à la recherche des effets antidiabétiques des alcaloïdes et glycosides cucurbitacines extraits des graines de coloquinte (*Citrullus colocynthis*) chez le rat rendu diabétique par la Streptozotocine. Mémoire de majistère, Université de Tlemcen.
23. **Bailey C.J, Day C; 1989.** Traditional plant medcines as treatments for diabetes. Diabetes Care, 12:553-64.
24. **Bakhiet A.O, Adam S.E.I; 1995.** An estimation of *Citrullus colocynthis* toxicity for chicks. Veterinary and Human Toxicology 37(4): 356-358.

25. **Barth A, Müller D et Dürrling K; 2002.** *In vitro* investigation of a standardized dried extract of *Citrullus colocynthis* on liver toxicity in adult rats. *Exp Toxic Pathol*; 54: 223-230.
26. **Batanouny K.H, Abou Tabl S, Shabana M et Soliman F; 1999.** Wild medicinal plants in Egypt: An Inventory to Support Conservation and Sustainable Use. Academy of Scientific Research and Technology, Egypt International Union for Conservation (IUCN).
27. **Bedevian A.K; 1936.** Illustrated Polyglottic Dictionary of Plant names. Cairo, Argus D Papazian Presses.
28. **Benariba N ; 2003.** Contribution à l'étude antidiabétique des extraits de graine de la coloquinte (*Citrullus colocynthis*) chez le rat Wistar rendu diabétique par la Streptozotocine. Mémoire de Magistère en Biologie Moléculaire et Cellulaire. Département de biologie, Faculté des sciences, Université de Tlemcen.
29. **Benlahcene Y ; 2010.** Contribution à l'étude de l'effet de l'extrait eau-méthanol des graines de *Citrullus colocynthis* sur l'hyperglycémie des rats mâles Wistar rendus diabétiques par la streptozotocine. Mémoire de master en biologie moléculaire et cellulaire. Université de Tlemcen.
30. **Benmehdi H; 2000.** valorisation de certaines plantes médicinales à activité hypoglycémiantes comme la coloquinte. Mémoire de magistère en chimie organique appliquée. Département de chimie, faculté des sciences, Université Tlemcen.
31. **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 expétole*,
32. **Bezzaoucha A ; 1992.** Le diabète sucré connu à Alger : fréquence et conséquences. *Diabetes Metab*; 18 : 229-35.
33. **Bnouham M, Mekhfi H, Legssyer A et Ziyat A; 2002.** Ethnopharmacology Forum Medicinal plants used in the treatment of diabetes in Morocco. *Int J Diabetes & Metabolism*; 10: 33-50.
34. **Bnouham M, Ziyat A, Mekhfi H, Tahri A et Legssyer A; 2006.** Medicinal plants with potential antidiabetic activity - A review of ten years of herbal medicine research (1990-2000). *Int J Diabetes & Metabolism*; 14: 1-25.
35. **Boukef K et Souissi H.R; 1986.** Contribution à l'étude des plantes utilisées en médecine populaire tunisienne. *Faculté de Pharmacie Monastir* : 31-44.
36. **Brahmachari H.D, Augusti K.T; 1964.** Isolation of orally effective hypoglycaemic compounds from bengalensis. *Ind.J.Physiol. Pharmacol.* 8:60-64.



37. **Bruneton J; 1996.** plante toxique : Végétaux dangereux pour l'homme et les animaux. Tec Doc (Paris).
38. **Bucsh-brafin M.S et Pignet M ; 2001.** Le diabète de type 2. Médecine Nucléaire Imagerie fonctionnelle et métabolique. 25 :103-114.
39. **Buyschaert M et Hermans M.P ; 1998.** Critères révisés et nouvelle classification du diabète sucré. Louvin MED; 117: 1-6.
40. **Carney J.R, Krenisky J.M, Williamson R.T, et al.; 1999.** Maprouneacin, a new daphnane diterpenoid with potent antihyperglycaemic activity from Maprounea africana. J Nat Prod; 62: 345-347.
41. **Carter I ; 1997.** Plantes protectrices pastèque sauvage. Revue Pas à Pas Tear Fund (Angleterre) ; 32 : 9.
42. **Charnot A; 1945.** La toxicology au Maroc. Mémoire de Soc. Sci. Nat. Du Maroc, Rabat, n° XLVII, p 826.
43. **Chattopadhyay R.R; 1993.** Hypoglycaemic effect of Ocimum sanctum leaf extract in normal and streptozotocin diabetic rats. Indian J Exp Biol; 31: 391-393.
44. **Chhetri D.R, Parajuli P et Subba G.C; 2005.** Antidiabetic plants used by Sikkim and Darjeeling Himalayan tribes, India. Journal of Ethnopharmacology; 99:199-202.
45. **Dallak M, Al-Khateeb M, Abbas M, Elessa R, Al-Hashem F, Bashir N, Khalil M ; 2009.** In vivo, Acute, Normo-hypoglycemic, Antihyperglycemic, Insulinotropic Actions of Orally Administered Ethanol Extract of *Citrullus colocynthis* (L.) Schrad Pulp. Am.J.Biochem.Biotechnol. 5(3): 119-126.
46. **Dane F, Liu J, Zhang C; 2007.** Phylogeography of the bitter apple, *Citrullus colocynthis*. Genet. Res. Crop Evol. 54: 327-336.
47. **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.
48. **Debuigne G; 1984.** Larousse des plantes qui guérissent.
49. **Dehghani F, Panjehshahin M.R ; 2006.** The toxic effect of alcoholic extract of *Citrullus colocynthis* on rat liver. Iranian Journal of Pharmacology & Therapeutics (IJPT), 5(2).
50. **Dehghani F, Azizi M, Panjehshahin M.R, Talaei-Khozani T, Mesbah F; 2008.** Toxic effects of hydroalcoholic extract of *Citrullus colocynthis* on pregnant mice. Iranian J.Vet.Res., 9:(1):42-45.

- 51. 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.
- 52. Dharmananda S; 2003.** Treatment of diabetes with Chinese herbs and acupuncture. Internet journal of the institute for traditional medicine and preventive health care.
- 53. Djedidi R, Sahi R; 2009.** Contribution à l'étude de l'activité antioxydante des extraits des grains de *Citrullus colocynthis*. D.E.S en biologie moléculaire et cellulaire. Université de Tlemcen.
- 54. Drouin P, Blickle J.F, Charbonnel B, Eschwege E, Guillausseau P.J, Daninos J. M, Balarac N et Sauvanet J.P ; 1999.** Diagnostic et classification du diabète sucré. Les nouveaux critères. Diabète et Métabolisme. Paris; 25.1: 72-83.
- 55. Dufaire-Patouraux L, Vague P, Lassman-Vague V; 2003.** Technologie et fiabilité de l'autosurveillance glycémique : histoire et état actuel. Diabetes & Metabolism. 29 :2S7-2S14
- 56. Duke S; 2002.** Phytochemical and ethnobotanical databases.USDA-ARS-NGRL. Beltsville Agricultural Research Center.EDT.
- 57. Duke J.A; 1983.** *Citrullus colocynthis* (L.) Schrad. Handbook of Energy Crops.
- 58. Duke J.A; 1978.** The quest for tolerant germplasm. In: ASA Special Symposium 32, Crop tolerance to suboptimal land conditions. Am. Soc. Agron. Madison, WI: 1-61.
- 59. 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. Physiologie et pharmacologie endocrinienne, Faculté des sciences et techniques Errachidia, BP 509, Boutalamine, Errachidia. Maroc.Phytothérapie 5 :194-203.
- 60. Edwin J, Balakrishnan S.J and Chandra J.D; 2008.** Diabetes and Herbal Medicines. Iranian journal of pharmacology & therapeutics 97-106.
- 61. El Amrani F, Rhallab A, Alaoui T, El Badaoui K et Chakir S; 2010.** Etude ethno pharmacologique de quelques plantes utilisées dans le traitement du diabète dans la région de Meknès-Tafilalet(Maroc). Phytothérapie 3: 1-1
- 62. Erasto1 P, Adebola P.O, Grierson D.S et Afolayan1 A.J; 2005.** An ethnobotanical study of plants used for the treatment of diabetes in the Eastern Cape Province, South Africa. African Journal of Biotechnology; 4 (12): 1458-1460.
- 63. Ethan B.w; 2003.** Steven Gabardi and Catherine Ulbricht, Bitter Melon (*Momordica charantia*): A Review of Efficacy and Safety. Am.J.Health-Syst Pharm., 60.

64. **Fabricant D.S, Farnsworth N.R; 2001.** The value of plants used in traditional medicine for drug discovery. *Environ Health Perspect* 109: 69-75
65. **Fallah Huseini H, Darvishzadeh F, Heshmat R, Jafariazar Z, Rasa M, Larijani B; 2009.** The clinical investigation of *Citrullus colocynthis* (L.) Schrad fruit in treatment of type 2 diabetic patients: A Randomized, Double Blind, Placebo-controlled Clinical Trial. *Phytotherapy research, phytother. Res.* 23.1186-1189
66. **Farias R.A, Rao V.S, Viana G.S, et al.; 1997.** Hypoglycaemic effect of trans-dehydrocrotonin, a nor-clerodane diterpene from *Croton cajucara*. *Planta Med*; 63: 558-560.
67. **Fasce C.F; 1982.** Serum Cholesterol determined colorimetrically with enzyme. *Clin Chem* ; 18 : 901
68. **Farnsworth N.R et Segelman A.B; 1971.** hypoglycemic plants. *Tile Till*; 57: 52-55.
69. **Farnsworth N.R, Akerele O, Bingel A.S, et al.; 1985.** Medicinal plants in therapy. *Bull World Health Organ* 63 :965-81
70. **Feinbrun-Dothan N; 1978.** Flora Palaestina. Part III. The Israeli Academy of Sciences and Humanities, Jerusalem. organes cibles, évaluation du risque. Paris pp 73-202.
71. **Fossati P, Prencipe L; 1982.** Serum triglycerides determined colorimetrically with an enzyme that produces hydrogen peroxide. *Clin Chem*; 28:2077-2080.
72. **Girard J ; 1999.** Fondements physiopathologiques du diabète de type II. *La revue du praticien.* 49:22-29.
73. **Grimaldi A; 2004.** Diabétologie. Question d'internat. CHU-PS/15-23.99-129.
74. **Halimi S et coll. ; 1999.** traitement médicamenteux du diabète de type 2. Agence française de sécurité des produits de santé. recommandation de bonne pratique:13-19.
75. **Halimi S ; 2003.** Le diabète de type 2 ou diabète non insulino-dépendant (DNID). *Corpus Médical – Faculté de Médecine de Grenoble. Alpes Med* ; 223b : 1-12.
76. **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.
77. **Harborne J.B; 1973.** Methods of plant analysis. In: *Phytochemical methods.* Chapman and Mall, London.
78. **Hernandez-Galicia<sup>1</sup> E, Aguilar-Contreras A, Aguilar-Santamaria L, Roman-Ramos R, Chavez-Miranda<sup>1</sup> A.A, Garcia- Vega<sup>1</sup> L.M, Flores-Saenz<sup>1</sup> J.L et**

- Alarcon-Aguilar1 F.J ; 2002.** Studies on Hypoglycemic Activity of Mexican Medicinal Plants. Proc. West. Pharmacol. Soc.; 45: 118-124.
- 79. Higashino H, Suzuki A et Tanaka Pootakham K; 1992.** Hypoglycaemic effects of Siamese *MomordicaCharantia* and *phyllantus urinaria* extracts in streptozotocin-induced diabetic rats. NipponYakurigaku Zasshi; 100: 515-521.
- 80. International Diabetes Federation (IDF); 2005.** IDF Clinical Guidelines Task Force. Global guideline for type 2 diabetes. Brussels ;, <http://www.eatlas.idf.org/>
- 81. Ivorra M.D, Paya M, Villar A; 1989.** Review natural products and plants as potential antidiabetic drugs. J. Ethnopharmacol, 27: 243-75.
- 82. Jouad H, Haloui M, Rhiouni H, El Hilaly J et Eddouks M ; 2001.** Ethnobotanical survey of medicinal used for the treatment of diabetes, cardiac and renal diseases in the North center region of Morocco (Fez- boulemane). Journal of Ethnopharmacology; 77: 175-182.
- 83. John U et Cincinnati O ; 1898.** *Citrullus colocynthis*. Reprinted from the Western druggist. Chicago.
- 84. Kemali Z, Hanaizi H, Kara B, Kanoun N, Kemali N, Ferrah T; 1995.** Le diabète sucré et ses facteurs de risque dans une population adulte. Rev. Alg Santé Mil; XXIV : 7-14.
- 85. Kinno C, Moryano M, Sugiyama K, Murahami M, Takahashi M, Hikino H; 1985.** Isolation and hypoglycemic activity of aconitans A, B, C and D glycans of Aconitum caramachaeli roots. Planta. Med.51.1960-1961.
- 86. Krawya M.S, Wahab S.M, El-Olemy M.M and Farrag N.M; 1984.** Diphenylamine and anti-hyperglycaemic agent from onion and tea. Journal of natural products. 47:775-780.
- 87. Kumar S, Kumar D, Manjusha D, Saroha K, Singh N, Vashishta B; 2008.** Antioxidant and free radical scavenging potential of *Citrullus colocynthis* (L.) Schrad. Methanolic fruit extract. Acta. Pharm., 58 : 215-220.
- 88. Larousse; 1997.** Encyclopédie des plantes médicinales. Identification, préparation, soins. Larousse.
- 89. Leduc C, Coonishish J, Haddad P et Currier A; 2006.** Plants used by Cree Nation of Eeyou Istchee (Quebec, Canada) for treatment of diabetes: A novel approach in quantitative ethnobotany. Journal of Ehtnopharmacology; 105: 55-63

90. Maatooq G.T, El-Sharkawy S.H, Afifi M.S et Rosazza P.N; 1997. C-p-Hydroxybenzoylglyco-flavones from *Citrullus colocynthis*. *Phytochemistry*; 44 (1): 187-190.
91. Marles R.J, Farnsworth N; 1996. Antidiabetic plants and their active constituents. *Prot. J Bot Med.* 1(3):85-135.
92. Marles R.J, Norman R.F; 1994. Plants as sources of antidiabetic agents. In "Economic and Medicinal Plant Research, vol. 6," H. Wagner and N.R. Farnsworth, eds., Academic Press, London, Chapter 4.
93. Marzouk B, Marzouk Z, Décor R, Edzri H, Heloui E, Fenina N, Mahjoub A; 2009. Antibacterial and antifungal screening of Tunisian *Citrullus colocynthis* Schrad. *Forum Medicine. Journal of ethnopharmacology.* 125:344-349.
94. Memon U, Brohi A.H, Ahmed S.W, Azhar I, Bano H; 2003. Antibacterial screening of *Citrullus colocynthis*. *Pakistan J. Pharmaceut. Sci.*, 16(1) : 1-6.
95. Merad Chiali R; 1973. Plantes thérapeutiques : traditions, pratiques officinales, science et thérapeutique. *Tec. Doc.*
96. Merzouki A, Ed-Derfoufi F et Molero Mesa J ; 2000. Contribution to knowledge of Rifian traditional medicine. II: Folk medicine in Ksar Lakbir (NW Morocco). *Fitoterapia*; 71: 278-307.
97. Murray R; 1984. Aspartate aminotransferase, Alanine aminotransferase, Créatinine. Kaplan A et al. *Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton*; 1112-116.
98. Najafi S, Sadeghi Nejad B, Ashofteh Beiragi M, Sanadgol E; 2010. Phytochemical screening and antibacterial activity of *Citrullus colocynthis* (Linn.) Schrad against *Staphylococcus aureus*. *Journal of Medicinal Plants Research.* 4(22): 2321-2325.
99. Natiq A.R.H, Donald A.W et Nahia J.Y; 1989. Cucurbitacin glycosides from *Citrullus colocynthis*. *Phytochemistry*; 28 (4): 1268-1271.
100. Nayab D, Ali D, Arshad N, Malik A, Choudhary M.I, Ahmed Z; 2006. Cucurbitacin glucosides from *Citrullus colocynthis*. *Nat Prod Res*, 10; 20(5):409-13.
101. Naylor C.D, Sermer M, Chen E et coll.; 1997. Selective screening for gestational diabetes mellitus. *N Engl J Med*; 337: 1591-96.
102. Njike Niyah G, Watcho P, Nguelefack T.B, Kamanyi A; 2005. Hypoglycaemic activity of the leaves of *Bersama engleriana* in rats. *Afr J Trad.*; 2(3): 215-221.

103. **Nmila R, Gross R, Rachid H, Roye M, Manteghetti M, Petit P, Tijane M, Ribes G et Sauvaire Y; 2000.** insolinotropic Effect of *Citrullus colocynthis* fruit extracts. *Planta Medica*; 66: 418-423.
104. **Ohnishi Y, Takagi S, Miura T, et al.; 1996.** Effect of ginseng radix on Glut 2 protein content in mouse liver in normal and epinephrine-induced hyperglycaemic mice. *Biol Pharm Bull*; 19: 1238-1240.
105. **Olivier B, Zahnd G.R; 1979.** Plants with oral hypoglycemic action. *Quarterly journal of crude drug research*. 17:139-196.
106. **OMS (Organisation Mondiale de la Santé) ; 2002.** Diabète sucré. Aide mémoire ; N°138.
107. **Padavala A.B, Gadde, Radha, Vedurupaka, Talluru, Yellapu et Kolli ; 2006.** A database of 389 medicinal plants for diabetes. *Bioinformation*; 1(4): 130-131.
108. **Perez R.M, Cervantes H, Zavala M.A, et al.; 2000.** Isolation and hypoglycaemic activity of 5, 7, 3'-trihydroxy-3, 6, 4'-trimethoxyflavone from *Brickellia veronicaefolia*. *Phytomedicine*; 7: 25-29.
109. **Perez-Gutierrez R.M, 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.
110. **Philippe M; 1983.** Physiologie humaine, édition *Flammarion*. Pages: 1002-1010.
111. **Rao B.K, Kesavulu M.M, Giri R et Appa Rao C; 1999.** Antidiabetic and hypolipidemic effects of *Momordica cymbalaria* Hook. Fruit powder in alloxan-diabetic rats. *J Ethnopharmacol*; 67: 103-119.
112. **Raghuran T.C, Sharma R.D, Sivakumar B; 1994.** Effet of fenugreek seedes on intravenous dluose disposition in non-insuline dependent diabetic patient. *Phytotherapy research*. 8:83-86.
113. **Robin J.M, Roucky A; 2001.** Le traitement phytonutritionnel du diabète. Science, nutrition, prévention et santé. *Nutranews*.
114. **Roman-Ramos R, Alarcon-Aguilar F, Lara-Lemus A et Flores-Saenz J.L; 1992.** Hypoglycaemic effect of plants used in Mexico as antidiabetics. *Arch Med Res*; 23: 59- 64.
115. **Rosalki S et al., 1993.** *Clin Chem* ; 39/4 : 648-652.
116. **Sachon C, Cornet P et Grimaldi A ; 2004.** Diagnostic du diabète. In *Diabète de type II*, coordonné par Grimaldi A. EMC référence, Elsevier, Paris : 83-101.

117. **Said O, Khalil K, Fulder S et Azaizeh H; 2002.** Ethnopharmacology survey of medicinal herbs in Israel, the Golan height and the West Bank region. *Journal of Ethnopharmacology*; 83: 251-265.
118. **Sanjay M.J; 2002.** Herbal Drugs as Antidiabetics: An Overview. *CRIPS*. 13(2):9-13.
119. **Santé Canada; 2002,** Le Diabète au Canada, Sa Majesté la Reine du Chef du Canada 2<sup>ème</sup> édition, No de cat : H49-121/2002F, ISBN 0-662-88134-6)
120. **Sauvaire Y, Petit P, Broca C.H, Manteghetti M, Baissac Y, Fernandez-Alvarez J, Gross R, Leconte A, Gomis R, Ribes G ; 1998.** 4-Hydroxyisoleucine, a novel amino acid potentiator of insulin secretion. *Diabetes*. 74:206-210.
121. **Sawaya W.N, Dagher N.J et Khalil J.K; 1986.** *Citrullus colocynthis* seeds as a potential source of protein for food and feed. *Journal-of Agricultural and Food Chemistry*; 34: 2, 285-88.
122. **Schwartz D; 1992.** Méthodes statistiques à l'usage des médecins et des biologistes. 3<sup>ème</sup> edit. Paris ; Flammarion médecine-Sciences.
123. **Sincich F; 2002.** Bedouin Traditional Medicine in the Syrian Steppe. Rome, FAO: 114-115.
124. **Stratton I.M, Adler A.I, Neil A.W; 2000.** Association of glycaemia with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 35): prospective observational study. *BMJ*. 321:405-412.
125. **Tahina: Epidemiological Transition and Health Impact in North Africa, INSP: Institut National de Santé Publique (2007).** Enquête Nationale Santé 2005. Transition épidémiologique et système de santé Projet TAHINA, (Contrat n° ICA3-CT-2002-10011). Algérie.
126. **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.
127. **Tiphaine V.T; 2010.** Prise en charge thérapeutique du diabète gestationnel dans le service de diabetologie de la pitie Salpetriere entre 1999 et 2009. Faculté de Médecine Paris Descartes. Université Paris Descartes (Paris 5).
128. **Trease G.E et Evans W.C, 1989.** Pharmacognosy 2<sup>nd</sup> Edn. Braille Tiridel and Macmillan Publishers.



129. **Vaag A; 1999.** On the pathophysiology of late onset non insulin dependent diabetes mellitus. Current controversies and new insights. *Dam Med Bull.* 46:197-234.
130. **Vulksan V, Sievenpiper J.L; 2005.** Herbal remedies in the management of diabetes: Lessons learned from the study of ginseng. *Nutrition, Metabolism & cardiovascular Diseases.* 15: 149-160.
131. **Waki I, Kyo H, Yasuda M, Kimura M; 1982.** Effect of a hypoglycemic component of ginseng radix on insulin biosynthesis in normal and diabetic animals. *Journal of pharmacodynamics.* 5:547-554.
132. **Wang B.X, Yang M, Jin Y.L, et al.; 1990.** Studies on the hypoglycaemic effect of ginseng polypeptide. *Yao Hsueh Hsueh Pao;* 25: 401-405.
133. **Wenger C. et al., 1984.** Alkaline phosphatase. Kaplan A et al. *Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton;* 1094-1098.
134. **Wens J, Sunaert.P, Nobels.F, Feyen.L, Crombruggen P.V, Bastiaens.H, Royen P.V; 2007.** DIABÈTE SUCRÉ DE TYPE 2- Société Scientifique de Médecine Générale (Validé par le CEBAM sous le numéro 2005/02) SSMG
135. **Widjaja A, Morris R.J, Levy J.C, Frayn K.N, Manley S.E, Turner R.C; 1999.** Within-and between-subject variation in commonly measured anthropometric and biochemical variables. *Clin.Chem.* 45 : 561-566
136. **Whiting D.R, Guariguata L, Weil C, Shaw J; 2011.** Diabetes Atlas; IDF Diabetes Atlas: Global estimates of the prevalence of diabetes for 2011 and 2030. Elsevier Ireland Ltd. All rights reserved. diabetes research and clinical practice 94 (2011) 311 – 321
137. **Yang M, Wang B.X, Jin Y.L, et al.; 1990.** Effects of ginseng polysaccharides on reducing blood glucose and liver glycogen. *Chung Kuo Yao Li Hsueh Pao;* 11: 520-524.
138. **Yanif Z, Ellashabelsky et Schafferman D; 1999.** Colocynth: Potential arid land oil seed from an ancient cucurbit. Dans: J. Janick (Ed). Perspectives on new crops and new use. ASHS press; Alexandria V A.
139. **Yoshikawa M, Matsuda H, Harada E, et al.; 1994.** A new hypoglycaemic principle from the root cortex of *Aralia elata* Seem; Structure-related hypoglycaemic activity of oleanolic acid glycosides. *Chem Pharm Bull (Tokyo);* 42: 1354-1356.
140. **Yki-Järvinen H, Ryysy L, Nikkila K, et al., 1999.** Comparison of bedtime insulin regimens in patients with type 2 diabetes mellitus. A randomized controlled trial. *Ann Intern Med;* 130: 389-96.



141. **Zamani M, Rahimi A.O, Mahdavi R, Nikbakhsh M, Jabbari M.V, Rezazadeh H, Delazar A, Nahar L, Sarker S.D; 2007.** Assessment of anti-hyperlipidemic effect of *Citrullus colocynthis*. Revista Brasileira de Farmacognosia. Brazilian Journal of Pharmacognosy.17(4) :492-496.
142. **Zaoui.S, Biémont C, Meguenni K; 2007.** Approche épidémiologique du diabète en milieux urbain et rural dans la région de Tlemcen (Ouest algérien), Cahiers Santé vol. 17, n° 1, janvier-février-mars 2007
143. **Zarzuelo A, Risco S, Gamez M.J, 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.
144. **Zhang X.F et Tan B.K; 2000.** Effects of an ethanolic extract of *Gynura procumbens* on serum glucose, cholesterol and triglyceride levels in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. Singapore Med J.; 41: 9-13.
145. **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.